



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ
ΤΟ ΕΝΖΥΜΟ ΛΑΚΤΑΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΟΙ
ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ

ΕΙΣΗΓΗΤΡΙΑ: ΜΟΥΡΕΛΑΤΟΥ ΕΛΕΝΗ (17167)
ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ: ΜΠΑΤΡΙΝΟΥ ΑΝΘΙΜΙΑ

ΑΘΗΝΑ 2022

ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ

1. Επιβλέπουσα Καθηγήτρια

Μπατρίνου Ανθιμία

Βιολόγος MSc, PhD, Λέκτορας Βιοτεχνολογίας Τροφίμων και Λέκτορας Εφαρμογών Εργαστηρίου Μικροβιολογίας Τροφίμων, Σχολή Επιστημών Τροφίμων , Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής

2. Μέλος Επιτροπής

Στρατή Ειρήνη

Χημικός MSc, PhD, Επίκουρη Καθηγήτρια , Λέκτορας με γνωστικό αντικείμενο «Χημεία και Ανάλυση Τροφίμων» Εργαστήριο Χημείας, Ανάλυσης και Σχεδιασμού Διεργασιών Επεξεργασίας Τροφίμων, Σχολή Επιστημών Τροφίμων , Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής

3. Μέλος Επιτροπής

Ζουμπουλάκης Παναγιώτης

Χημικός MSc, PhD, Πρόεδρος Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, Αναπληρωτής Καθηγητής του Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων στο Εργαστήριο Χημείας Ανάλυσης και Σχεδιασμού Διεργασιών Επεξεργασίας Τροφίμων, Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής

ΥΠΕΥΘΥΝΗ ΔΗΛΩΣΗ ΜΗ ΛΟΓΟΚΛΟΠΗΣ

Δηλώνω υπεύθυνα και γνωρίζοντας τις κυρώσεις του νόμου περί Πνευματικής Ιδιοκτησίας, ότι είμαι η αποκλειστική συγγραφέας της παρούσας πτυχιακής εργασίας, η οποία δεν αποτελεί προϊόν αντιγραφής, ούτε προέρχεται από ανάθεση σε τρίτους. Όλες οι πηγές (κάθε είδους, μορφής και προέλευσης) που χρησιμοποιήθηκαν για την συγγραφή της περιλαμβάνονται στην βιβλιογραφία. Δηλώνω, επίσης, ότι αναλαμβάνω τις συνέπειες, όπως αυτές νομίμως ορίζονται, σε περίπτωση που αποδειχθεί διαχρονικά ότι η εργασία αυτή αποτελεί προϊόν λογοκλοπής.

Μουρελάτου Ελένη



ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το ανθρώπινο γαστρεντερικό σύστημα φιλοξενεί έναν δυναμικό και πολυσύνθετο πληθυσμό μικροοργανισμών, τη μικροχλωρίδα του εντέρου, που ασκεί σημαντική επίδραση στον ξενιστή τόσο κατά την ομοιόσταση όσο και σε περιόδους ασθένειας. Πολλοί παράγοντες συμβάλλουν στη σύνθεση της μικροχλωρίδας του ανθρώπινου εντέρου κατά τη βρεφική ηλικία. Η διατροφή θεωρείται ως ένας από τους κύριους πυλώνες στη διαμόρφωση της μικροχλωρίδας του εντέρου σε όλη τη διάρκεια της ζωής. Τα βακτήρια του εντέρου διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στη διατήρηση της ανοσολογικής και μεταβολικής ομοιόστασης και στην προστασία από παθογόνα. Μια νέα τάση στη διατροφή είναι η κατανάλωση «λειτουργικών τροφίμων». Τα προβιοτικά αποτελούν ένα παράδειγμα λειτουργικών τροφίμων για τα οποία διατυπώνονται ισχυρισμοί για οφέλη στην υγεία που βασίζονται σε κλινικές μελέτες. Τα περισσότερα προβιοτικά προϊόντα στην αγορά προέρχονται από γαλακτοκομικά. Η λακτόζη είναι ένας φυσικός δισακχαρίτης που περιέχεται στα γαλακτοκομικά προϊόντα. Ένα σημαντικό μέρος του παγκόσμιου πληθυσμού πάσχει από δυσανεξία στη λακτόζη, που συνδέεται με μια γενετικά καθορισμένη ανεπάρκεια του ενζύμου λακτάση, το οποίο είναι ένας από τους κύριους λόγους για τη μείωση της κατανάλωσης των γαλακτοκομικών προϊόντων από τα άτομα που πάσχουν από πρωτογενή ή επίκτητη δυσανεξία στο σάκχαρο γάλακτος. Για τον λόγο αυτό, στην αγορά διατίθενται ορισμένα προϊόντα χωρίς λακτόζη που παρασκευάζονται από υδρολυμένο γάλα λακτόζης ή από εναλλακτικές πηγές γάλακτος, όμως αυτές οι λύσεις έχουν υψηλή τιμή σε σύγκριση με τα τυπικά τρόφιμα που περιέχουν λακτόζη. Τα τελευταία χρόνια, καθώς υπάρχουν στοιχεία που τεκμηριώνουν τις ευεργετικές επιδράσεις των προβιοτικών μικροοργανισμών στην υγεία, αρκετές πρώτες ύλες όπως τα φρούτα, τα λαχανικά και τα δημητριακά έχουν διερευνηθεί εκτενώς για να καθοριστεί η επάρκεια τους ως υποστρώματα για την παραγωγή νέων μη γαλακτοκομικών προβιοτικών μικροοργανισμών. Έχει βρεθεί ότι τα παραδοσιακά τρόφιμα που έχουν υποστεί ζύμωση μπορεί να περιέχουν βιώσιμους προβιοτικούς μικροοργανισμούς.

Λέξεις κλειδιά: λειτουργικά τρόφιμα, προβιοτικά, ανεπάρκεια λακτάσης

ABSTRACT

The human gastrointestinal tract hosts a dynamic and complex population of microorganisms, the intestinal microflora, which has a significant effect on the host during homeostasis and during periods of illness. Many factors contribute to the composition of the human gut microflora during infancy. Nutrition is considered as one of the main pillars in the formation of intestinal microflora throughout life. Intestinal bacteria play a critical role in maintaining immune and metabolic homeostasis and protecting against pathogens. A new trend in nutrition is the consumption of "functional foods". Probiotics are an example of a functional food that claims to have health benefits based on clinical trials. Most probiotic products on the market come from dairy. Lactose is a natural disaccharide found in dairy products. A significant proportion of the global population suffers from lactose intolerance, which is associated with a genetically determined deficiency of the enzyme lactase, which is one of the main reasons for the reduction of dairy consumption by people suffering from primary or acquired intolerance of milk sugar. For this reason, some lactose-free products made from hydrolyzed lactose milk or alternative milk sources are available on the market, but these solutions are more expensive than standard lactose-containing foods. In recent years, as there is evidence of the beneficial effects of probiotic microorganisms on health, several raw materials such as fruits, vegetables and cereals have been extensively investigated to determine their suitability as substrates for the production of new non-dairy probiotic microorganisms. It has been found that fermented traditional foods may contain viable probiotic microorganisms.

Keywords: functional foods, probiotics, lactase deficiency

Περιεχόμενα

ΥΠΕΥΘΥΝΗ ΔΗΛΩΣΗ ΜΗ ΛΟΓΟΚΛΟΠΗΣ.....	3
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	4
ABSTRACT.....	5
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ.....	8
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ.....	9
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	10
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 : ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΟΙ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ.....	12
<i>1.1 Το ανθρώπινο μικροβίωμα.....</i>	<i>12</i>
<i>1.2 Εντερική Μικροχλωρίδα.....</i>	<i>13</i>
<i>1.3 Εντερική Χλωρίδα και Ασθένειες.....</i>	<i>14</i>
<i>1.4 Λειτουργικά Τρόφιμα.....</i>	<i>15</i>
<i>1.4.1 Ορισμός και Ιστορία.....</i>	<i>15</i>
<i>1.4.2 Ομαδοποίηση Λειτουργικών Τροφίμων.....</i>	<i>17</i>
<i>1.5 Προβιοτικοί Μικροοργανισμοί.....</i>	<i>17</i>
<i>1.5.1 Ορισμός και Ιστορία.....</i>	<i>17</i>
<i>1.5.2 Κριτήρια επιλογής προβιοτικών μικροοργανισμών.....</i>	<i>18</i>
<i>1.5.3 Ασφάλεια Προβιοτικών.....</i>	<i>19</i>
<i>1.5.4 Εφαρμογή Προβιοτικών στα Τρόφιμα.....</i>	<i>19</i>
<i>1.5.5 Προβιοτικά Είδη.....</i>	<i>20</i>
<i>1.6 Πρεβιοτικά.....</i>	<i>24</i>
<i>1.7 Συμβιοτικά.....</i>	<i>25</i>
<i>1.8 Μεταβιοτικά.....</i>	<i>25</i>
<i>1.9 Μηχανισμός Δράσης.....</i>	<i>26</i>
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 : ΤΟ ENZYMO ΛΑΚΤΑΣΗ.....	28
<i>2.1 Ένζυμα.....</i>	<i>28</i>
<i>2.1.1 Τα ένζυμα στις γαλακτοβιομηχανίες.....</i>	<i>28</i>
<i>2.2 Το ένζυμο λακτάση.....</i>	<i>29</i>
<i>2.3 Γενετική Λακτάσης.....</i>	<i>31</i>
<i>2.4 Υπολακτασία, δυσπεψία στη λακτόζη, δυσαπορρόφηση και δυσανεξία.....</i>	<i>33</i>
<i>2.4.1 Ανεπάρκεια Λακτάσης.....</i>	<i>35</i>
<i>2.4.2 Δυσανεξία στην λακτόζη: κλινικά χαρακτηριστικά και επιπλοκές.....</i>	<i>36</i>
<i>2.5 Διάγνωση.....</i>	<i>38</i>
<i>2.6 Θεραπεία.....</i>	<i>40</i>
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΟΙ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΩΝ ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΩΝ ΣΤΗΝ ΔΥΣΑΝΕΞΙΑ ΤΗΣ ΛΑΚΤΟΖΗΣ.....	48

3.1 Οκτώ Προβιοτικά Στελέχη στη Θεραπεία της Δυσανεξίας στη Λακτόζη.....	48
3.2 Δοκιμή Συμπληρώματος με Ένζυμα Και Προβιοτικά.....	60
3.3 Πρεβιοτικά, Προβιοτικά και Συμπτώματα Δυσανεξίας στη Λακτόζη	63
3.4 Καινοτόμα Προβιοτική Φόρμουλα	64
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗΣ ΛΑΚΤΟΖΗΣ	66
4.1 Παρουσία του ζυμομύκητα <i>Brettanomyces</i> στη Βιομηχανία	67
4.1.1 Βιοτεχνολογικές Δυνατότητες.....	68
4.1.2 Υποπροϊόντα που περιέχουν λακτόζη ως υποστρώματα για τη ζύμωση <i>B. clausenii</i>	68
4.2 Λακτοσσυκρόζη	71
4.2.1 Οφέλη από την Κατάποση Λακτοσσυκρόζης.....	73
4.2.2 Πιθανές Εφαρμογές Λακτοσσυκρόζης	76
4.3 Γαλακτοολιγοσακχαρίτες	76
4.3.1 Πηγές υποστρώματος για σύνθεση GOS.....	78
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΜΗ ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΚΑ ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ	80
5.1 Η Ανάγκη Ανάπτυξης Μη Γαλακτοκομικών Προβιοτικών.....	80
5.1.1 Ανταπόκριση Αγοράς για Μη Γαλακτοκομικά Προβιοτικά	81
5.2 Εφαρμογή προβιοτικών σε μη γαλακτοκομικά προϊόντα.....	82
5.2.1 Φρούτα & Λαχανικά.....	82
5.2.2 Δημητριακά & Όσπρια.....	88
5.2.3 <i>Bushera</i>	89
5.2.4 <i>Mahewu</i>	89
5.2.5 <i>Togwa</i>	90
5.2.6 <i>Boza</i>	90
5.3 Κρέας.....	90
5.4 Σοκολάτα	91
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΧΩΡΙΣ ΛΑΚΤΟΖΗ.....	93
6.1 Λακτόζη	93
6.2 <i>Lactose-free</i> προϊόντα.....	93
6.2.1 Όρια λακτόζης στα προϊόντα.....	94
6.3 Παραγωγή γάλακτος με χαμηλή περιεκτικότητα λακτόζης	95
6.3.1 Παραγωγή άλλων προϊόντων με χαμηλή περιεκτικότητα λακτόζης.....	97
6.4 Σημασία ανάπτυξης προϊόντων χωρίς λακτόζη.....	98
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ	100
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	103

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1: Ηλεκτρονική μικρογραφία σάρωσης του στελέχους <i>L.casei</i> (Garssen et al.,2003).....	21
Εικόνα 2 Ορισμός προβιοτικών, πρεβιοτικών, συμβιοτικών και μεταβιοτικών (Salminen et al.,2020)	25
Εικόνα 3 Αντίδραση διάσπασης της λακτόζης στους δύο μονοσακχαρίτες, γλυκόζη και γαλακτόζη (Dusty,2006)	30
Εικόνα 4 Τετραμερές λακτάσης (Dusty,2006).....	31
Εικόνα 5 Α: Φυσιολογική αφομοίωση λακτόζης παρουσία λακτάσης , Β: Δυσανεξία στη λακτόζη λόγω ανεπάρκειας ή απουσίας λακτάσης και επακόλουθη εμφάνιση συμπτωμάτων (Catanzaro et al.,2021).....	37
Εικόνα 6 Ηλεκτρονική μικρογραφία σάρωσης <i>Bifidobacterium longum</i> (Ανακτήθηκε από https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/The_role_of_Bifidobacterium_longum_in_a_healthy_human_gut_community)	50
Εικόνα 7 Εμπορικά συμπληρώματα <i>Saccharomyces Boulardii</i> (Α: https://www.yamamotonutrition.com/eng/saccharomyces_boulardii_pr31335?country=Iran , Β: https://www.evitamins.com/saccharomyces-boulardii-now-foods-355133)..	59
Εικόνα 8 Πιθανές αντιδράσεις που εμπλέκονται στη σύνθεση της λακτοσοουκρόζης που καταλύονται από το ένζυμο β-γαλακτοσιδάση (Duarte et al.,2017).	73
Εικόνα 9 Ενζυμική σύνθεση GOS μέσω διαγαλακτοζύλιωσης παρουσία β-D-γαλακτοσιδάσης (Zhang,2019).	78
Εικόνα 10 Προϊόντα με προβιοτικά	82
Εικόνα 11 Σχηματική αναπαράσταση των διεργασιών παρτίδας (αριστερά) και ασηπτικής (δεξιά) που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή γάλακτος χωρίς λακτόζη (Dekker at al.,2019)	96

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Ορισμοί που αφορούν τα λειτουργικά τρόφιμα	16
Πίνακας 2: Βασικοί Προβιοτικοί Μικροοργανισμοί	23
Πίνακας 3: Προέλευση γάλακτος και αντίστοιχη περιεκτικότητα του δισακχαρίτη λακτόζη	29
Πίνακας 4: Γονότυποι ανάλογα με την παρουσία λακτάσης στον οργανισμό	33
Πίνακας 5: Καταστάσεις που οφείλονται στην δράση του ενζύμου λακτάση	34
Πίνακας 6: Συστάσεις για την βελτίωση της διατροφικής επάρκειας, την αποφυγή των ελλείψεων και την ανακούφιση των συμπτωμάτων ατόμων που έχουν διαγνωστεί με δυσανεξία στην λακτόζη	41
Πίνακας 7: Θετικές επιδράσεις από την χορήγηση λακτοσουκρόζης	75
Πίνακας 8: Παραδείγματα προβιοτικών προϊόντων από φρούτα και λαχανικά	87

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το ανθρώπινο σώμα αποτελείται από πλήθος μικροοργανισμών. Όλοι αυτοί οι μικροοργανισμοί είναι γνωστοί με τον όρο ανθρώπινο μικροβίωμα. Γενικά το μικροβίωμα λαμβάνει σπουδαίο ρόλο στην εξέλιξη της ζωής του ανθρώπου. Μάλιστα μεγάλο ποσοστό αυτού, εντοπίζεται στην εντερική περιοχή την οποία διαπερνούν τόνοι τροφίμων και συγχρόνως μικροβίων στην διάρκεια ζωής ενός ανθρώπου, συνιστώντας την εντερική χλωρίδα. Η διατάραξη της εντερικής χλωρίδας ονομάζεται δυσβίωση. Η δυσβίωση είναι συνδεδεμένη με παθήσεις όπως ο καρκίνος, η φλεγμονώδης νόσος του εντέρου και τα καρδιαγγειακά προβλήματα.

Με το πέρασμα του χρόνου το ενδιαφέρον του πληθυσμού για την ένταξη υγιεινών προτύπων διατροφής σε καθημερινή βάση αυξήθηκε. Έτσι εισήχθησαν στην αγορά τα λειτουργικά τρόφιμα. Πρόκειται για προϊόντα διατροφής με που συνδυάζουν διάφορα πλεονεκτήματα. Φέρουν ενσωματωμένα ευεργετικά συστατικά ή έχουν αφαιρεθεί από αυτά επιβλαβή στοιχεία.

Ως απόρροια των ανωτέρω, στο επίκεντρο της επιστημονικής κοινότητας εμφανίστηκαν τα προβιοτικά. Αυτά ορίζονται ως βιώσιμες καλλιέργειες βακτηρίων, τα οποία όταν καταναλωθούν σε επαρκή ποσότητα από τον άνθρωπο παρέχουν οφέλη για την υγεία του. Τα γένη *Bifidobacteria* και *Lactobacillus* αποτελούν τα πιο συχνά χρησιμοποιούμενα προβιοτικά στελέχη στα γαλακτοκομικά προϊόντα που έχουν παρέλθει από την διεργασία της ζύμωσης.

Στο ίδιο πλαίσιο, έχει διερευνηθεί και η δράση των πρεβιοτικών. Τα πρεβιοτικά τρόφιμα εμπεριέχουν μη αφομοιώσιμα συστατικά που έχουν ευεργετική δράση στο άτομο που τα καταναλώνει, ενεργοποιώντας επιλεκτικά την θετική επιρροή των μικροοργανισμών που ήδη υπάρχουν στην φυσική εντερική χλωρίδα. Τα προ- και πρεβιοτικά έχουν την ικανότητα να προλαμβάνουν εντερικές λοιμώξεις και να ενισχύουν το ανοσοποιητικό σύστημα.

Απαραίτητο συστατικό της διατροφής των ανθρώπων είναι το γάλα. Το σάκχαρο του γάλακτος, η λακτόζη υδρολύεται από ένα ένζυμο της κατηγορίας των β-γαλακτοζιδασών την λακτάση. Το ένζυμο αυτό διασπά την λακτόζη στον εντερικό βλεννογόνο σε γαλακτόζη και γλυκόζη. Ωστόσο, ένα σημαντικό ποσοστό του ενήλικου πληθυσμού (75%), αδυνατεί να αφομοιώσει το σάκχαρο λακτόζη. Η ανεπάρκεια λακτάσης μπορεί να οδηγήσει σε δυσανεξία στη λακτόζη, η οποία προκαλεί μια σειρά από προβλήματα υγείας όπως κοιλιακό άλγος, φούσκωμα και διάρροια. Συχνά τα δυσανεκτικά στη λακτόζη άτομα τείνουν να αποφεύγουν την κατανάλωση γαλακτοκομικών προϊόντων με αποτέλεσμα να στερούνται πολύτιμα συστατικά όπως είναι το ασβέστιο κι η βιταμίνη D κι έτσι παρουσιάζουν επιπλέον προβλήματα υγείας όπως οστεοπόρωση.

Γνωρίζοντας ότι οι προβιοτικοί μικροοργανισμοί προάγουν την πέψη της λακτόζης σε μη ανεκτικά άτομα, η επιστημονική κοινότητα και η βιομηχανία τροφίμων πέρα από τα προβιοτικά συμπληρώματα, ανέπτυξαν προϊόντα με μη γαλακτοκομικά προβιοτικά και προϊόντα με μειωμένη περιεκτικότητα λακτόζης ή ακόμη και χωρίς λακτόζη. Επίσης, επεξεργάστηκαν διάφορα παραδοσιακά ροφήματα για τις προβιοτικές τους ιδιότητες. Στην παρούσα βιβλιογραφική ανασκόπηση αναλύονται τα χαρακτηριστικά και τα οφέλη των προβιοτικών μικροοργανισμών. Ακόμη, ιδιαίτερη έμφαση δίνεται στο ένζυμο λακτάση και στις επιδράσεις της δραστηριότητάς του στους ανθρώπους. Εκτός αυτών, περιγράφονται πειραματικές μελέτες που αφορούν την προσφορά των προβιοτικών στους πάσχοντες από δυσανεξία, δυσαπορρόφηση και μη ανεκτικότητα στην λακτόζη.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 : ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΟΙ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ

1.1 Το ανθρώπινο μικροβίωμα

Ο όρος ανθρώπινο μικροβίωμα αναφέρεται στο πλήθος των οργανισμών που κατοικούν στο ανθρώπινο σώμα και αλληλεπιδρούν με αυτό. Συγκεκριμένα, το ανθρώπινο μικροβίωμα ορίζεται ως το σύνολο των γονιδίων των οργανισμών που εντοπίζονται σε μια ορισμένη περιοχή του ανθρώπινου σώματος. Οι περιοχές αυτές, μπορεί να είναι το δέρμα, ο βλεννογόμος, η γαστρεντερική ή η αναπνευστική οδός καθώς και το ουρογεννητικό σύστημα αλλά και ο μαστικός αδένας. Οι μικροοργανισμοί αυτοί λοιπόν, διαμορφώνουν ένα σύνθετο και ταυτόχρονα ξεχωριστό οικοσύστημα που προσαρμόζεται στις περιβαλλοντικές συνθήκες κάθε θέσης. Οι Hair & Sharpe θεωρούν ότι ο άνθρωπος στην πραγματικότητα είναι μικρόβια και μάλιστα περισσότερα από εκατό τρισεκατομμύρια από αυτά, με την πλειονότητα να ανιχνεύεται στο παχύ έντερο του ανθρώπου (Hair & Sharpe, 2014; Ogunrinola et al., 2020).

Είναι αξιοσημείωτο ότι ο αριθμός των μικροοργανισμών που κατοικούν στον πεπτικό σωλήνα περιλαμβάνει δεκαπλάσια βακτηριακά κύτταρα από τον αριθμό των κυττάρων του ανθρώπινου σώματος (Thursby & Juge, 2017). Από την στιγμή της γέννησης, ξεκινά η συμβίωση -σταθερή αλληλεπίδραση- μεταξύ του ανθρώπινου οργανισμού και του μικροβιώματός του. Οι αλληλεπιδράσεις αυτές διαδραματίζουν σπουδαίο ρόλο σε αρκετές λειτουργίες του οργανισμού όπως η πέψη, η ρύθμιση του ανοσοποιητικού συστήματος και η προστασία από άλλα βακτήρια που προκαλούν ασθένειες. Ακόμη, λαμβάνουν μέρος και στο σχηματισμό βιταμινών όπως βιταμίνη Κ η οποία είναι απαραίτητη για την πήξη του αίματος, η βιταμίνη Β12, θειαμίνη και ριβοφλαβίνη (Hair & Sharpe, 2014). Μέσω αυτών των δράσεων εξασφαλίζεται η διατήρηση της υγείας και της ευημερίας του οργανισμού. Για τον λόγο αυτό οι μικροοργανισμοί αποτελούν μέρος του ανθρώπινου σώματος όπου από την στιγμή της σύλληψης μέχρι τη στιγμή του θανάτου, οδηγούν σε πλήθος μεταβολών. Ορισμένοι παράγοντες καθορίζουν την εξέλιξη του ανθρώπινου μικροβιώματος στην διάρκεια ζωής του ατόμου. Αυτοί είναι η ηλικία, η διατροφή και γενικά ο τρόπος ζωής, οι ορμονικές αλλαγές, τα γονίδια και τα υποκείμενα νοσήματα (Ogunrinola et al., 2020).

Οι μικροοργανισμοί που αποικίζουν στον ανθρώπινο οργανισμό έχουν ευεργετικές ιδιότητες ωστόσο ορισμένες παθήσεις όπως ο διαβήτης, η ρευματοειδής αρθρίτιδα ή η

σκλήρυνση κατά πλάκας συνδέονται με δυσλειτουργία του μικροβιώματος. Ο όρος δυσβίωση αναφέρεται σε οποιαδήποτε αλλαγή στην σύνθεση του ανθρώπινου μικροβιώματος, η οποία ενδέχεται να επιφέρει απειλή για την ζωή. Τα μικρόβια που είναι υπεύθυνα για ορισμένες ασθένειες με την πάροδο του χρόνου συγκεντρώνονται προκαλώντας ασυνήθιστη ανοσοαπόκριση ως προς τους ιστούς και τις ουσίες που εντοπίζονται φυσιολογικά στο ανθρώπινο σώμα. Αυτό συμβαίνει εξαιτίας μεταβολών στην γονιδιακή έκφραση και στις μεταβολικές διεργασίες . Σύμφωνα με τους Hair & Sharpe τα αυτοάνοσα νοσήματα είναι φανερό ότι κληρονομούνται από γενιά σε γενιά μέσω της μεταβίβασης του μικροβιώματος και όχι με την ανεξάρτητη μεταβίβαση των γονιδίων (Hair & Sharpe, 2014; Ogunrinola et al., 2020).

1.2 Εντερική Μικροχλωρίδα

Η μέγιστη συγκέντρωση του ανθρώπινου μικροβιώματος στο σώμα εντοπίζεται στο έντερο. Σύμφωνα με μελέτες, οι συγκεκριμένοι μικροοργανισμοί αποτελούν κρίσιμους παράγοντες στην διατήρηση της υγείας καθώς αλλαγές στο ανοσοποιητικό σύστημα παρουσιάζουν άμεση σχέση με μια διαταραγμένη εντερική χλωρίδα. Στο σώμα του ανθρώπου, μία από τις μεγαλύτερες διεπιφάνειες μεταξύ του ξενιστή, των περιβαλλοντικών παραγόντων και των αντιγόνων είναι ο γαστρεντερικός σωλήνας. Κατά τον μέσο όρο διάρκειας ζωής ενός ανθρώπου, διεισδύουν στην γαστρεντερική οδό εξήντα τόνοι τροφίμων μαζί με πληθώρα μικροοργανισμών από το περιβάλλον, οι οποίοι απειλούν την ακεραιότητα του εντέρου. Το σύνολο των βακτηρίων , των αρχαίων και των ευκαρυωτικών μικροοργανισμών που διαμένουν στον ανθρώπινο γαστρεντερικό σωλήνα αποτελούν την μικροχλωρίδα του εντέρου (Thursby & Juge, 2017; Ogunrinola et al., 2020).

Ο όρος εντερική χλωρίδα (*gut microbiota*) αναφέρθηκε στην επιστημονική κοινότητα για πρώτη φορά από τον Τζόσουα Λέντερμπεργκ, ο οποίος την χαρακτήρισε ως οικολογική κοινότητα των συμβιωτικών και παθογόνων μικροοργανισμών που κατοικούν στο ανθρώπινο σώμα. Ωστόσο, δεν αναγνωρίζονταν ως καθοριστικοί παράγοντες για την πρόκληση ασθενειών. Ο ανθρώπινος οργανισμός, αποτελείται από τρισεκατομμύρια μικρόβια, κυρίως εντός του γαστρεντερικού σωλήνα δηλαδή του λεπτού και του παχέος εντέρου. Η μικροχλωρίδα του εντέρου έχει την ικανότητα να

ζυμώνει μη εύπεπτους υδατάνθρακες, οι οποίοι είναι γνωστοί ως πρεβιοτικά, συμπεριλαμβανομένων των φρουκτοολιγосακχαριτών, ολιγοφρουκτόζης, ινουλίνης, γαλακτόζης και ξυλόζης, που περιέχουν ολιγοσακχαρίτες για να καλύψουν τις ενεργειακές απαιτήσεις (Md. Abul Kalam Azad et al. , 2018).

1.3 Εντερική Χλωρίδα και Ασθένειες

Ορισμένες καταστάσεις υγείας μπορούν να καταστούν ιδιαίτερα επικίνδυνες για την ανθρώπινη ζωή. Τέτοιες παθήσεις μπορεί να είναι ο καρκίνος, η φλεγμονώδης νόσος του εντέρου ακόμα και οι αλλεργικές αντιδράσεις και έχουν συνδεθεί με την δυσβίωση, δηλαδή την διατάραξη της μικροχλωρίδας του εντέρου.

Καρκίνος: Σπουδαίο ρόλο στην ευεξία του ανθρώπινου οργανισμού διαδραματίζει το εντερικό μικροβίωμα. Σύμφωνα με μελέτες, οι επαναλαμβανόμενες ενδοκοιλιακές λοιμώξεις, τα αντιμικροβιακά φάρμακα ή και τα δύο αποτελούν αιτία για την πρόκληση διαταραχής της εντερικής χλωρίδας, καθώς μπορούν να οδηγήσουν στην εμφάνιση καρκίνου του παχέος εντέρου. Επίσης, τα τελικά προϊόντα που απελευθερώνονται από το εντερικό μικροβίωμα επηρεάζουν την κάλυψη των εντερικών κυττάρων ευνοώντας την καρκινογένεση ή καταστέλλοντας την ογκογένεση. Το ελικοβακτήριο του πυλωρού (*H.pylori*) έχει συσχετισθεί με τον καρκίνο του στομάχου. Σε ασθενείς με τον συγκεκριμένο τύπο καρκίνου έχουν βρεθεί σε μεγάλη συγκέντρωση τα γένη *Fusobacterium* και *Clostridium* (Ogunrinola et al., 2020).

Φλεγμονώδης νόσος του εντέρου: Μια ανώμαλη ανοσολογική απόκριση ενάντια στους ιστούς του σώματος προκαλείται από την συσσώρευση οργανισμών που πυροδοτούν ασθένειες. Λόγω της συν εξέλιξης του ανθρώπινου μικροβιώματος και του ανοσοποιητικού συστήματος δημιουργείται μια ισορροπημένη αλληλεπίδραση με το πέρασμα του χρόνου. Ωστόσο, αλλαγή στο μικροβίωμα του ξενιστή επηρεάζει αυτή την αλληλεπίδραση δημιουργώντας πρόβλημα στην ανοσολογική απόκριση με συνέπεια την εμφάνιση φλεγμονώδους διαταραχής (Ogunrinola et al., 2020).

Καρδιαγγειακές παθήσεις: Η παραγωγή μεταβολιτών N-οξειδίου της τριμεθυλαμίνης εμπλέκεται σε καρδιακές παθήσεις. Το εντερικό μικροβίωμα έχει την ικανότητα να μεταβολίζει την τριμεθυλαμίνη που εντοπίζεται σε δίαιτες πλούσιες σε L- καρνιτίνη, χολίνη και φωσφατιδυλοχολίνη σε N-οξείδιο τριμεθυλαμίνης. Το N-οξείδιο της

τριμεθυλαμίνης (TMAO) επηρεάζει την μεταφορά λιπιδίων στο σώμα και προάγει την σκλήρυνση των αρτηριών στα ζωικά μοντέλα. Κλινική μελέτη πραγματοποιήθηκε για δύο ομάδες ατόμων. Η μία ομάδα αφορά άτομα με χαμηλό κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου και η άλλη άτομα με αυξημένο κίνδυνο. Βρέθηκε λοιπόν, ότι μια διαταραγμένη εντερική χλωρίδα συνδέεται με υψηλότερο κίνδυνο εμφάνισης καρδιακής πάθησης (Ogunrinola et al., 2020).

Αλλεργικές Αντιδράσεις: Τα μωρά που γεννιούνται με καισαρική επέμβαση εμφανίζουν μεγαλύτερη ευαισθησία ως προς τις αλλεργικές αντιδράσεις. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι κατά τον τοκετό δεν έρχονται σε επαφή με την φυσιολογική χλωρίδα της μητέρας. Πρόσφατα επιδημιολογικά δεδομένα έδειξαν μια σημαντική σύνδεση μεταξύ της διαταραγμένης εντερικής χλωρίδας και της παραγωγής αλλεργικού αντιγόνου (IgE) με αποτέλεσμα την εμφάνιση παθήσεων στην αναπνευστική οδό των παιδιών (Ogunrinola et al., 2020).

1.4 Λειτουργικά Τρόφιμα

1.4.1 Ορισμός και Ιστορία

Η ανθρωπότητα ανέκαθεν έδειχνε ενδιαφέρον για το φαγητό και για τον λόγο αυτό η ανάπτυξη των λειτουργικών τροφίμων (*functional foods*) αποτέλεσε το σημείο σύγκλισης δύο σημαντικών παραμέτρων για την ανθρώπινη ζωή, της διατροφής και της υγείας. Όπως έχει αναγνωρισθεί παγκοσμίως, θεμέλιο της προληπτικής διατροφής είναι η σχέση μεταξύ των ασθενειών και του φαγητού. Μπορεί η έννοια των λειτουργικών τροφίμων να θεωρείται νεοφερμένη ωστόσο περιγράφηκε για πρώτη φορά στα κείμενα της Βεδικής περιόδου στην ιστορία της Ινδίας και στην παραδοσιακή ιατρική της Κίνας. Στην Ιαπωνία, την δεκαετία του 1980 αποφασίστηκε η ανάπτυξη λειτουργικών τροφίμων όταν το κόστος υγείας οξύνθηκε. Τότε, το Υπουργείο Υγείας και Πρόνοιας θέσπισε ένα σύστημα για την έγκριση ορισμένων τροφίμων με καταγεγραμμένα οφέλη για την υγεία, σύμφωνα με τους οποίους διεξάγεται το συμπέρασμα ότι τα λειτουργικά τρόφιμα δημιουργήθηκαν για να προσφέρουν στην ανθρώπινη υγεία το μέγιστο δυνατό όφελος μέσω της διατροφής (Henry ,2010).

Πίνακας 1: Ορισμοί που αφορούν τα λειτουργικά τρόφιμα

Κυβερνητικός Οργανισμός Υγείας Καναδά	Παρόμοια σε εμφάνιση με τα κοινά τρόφιμα, που καταναλώνονται ως μέρος της κλασσικής διατροφής με τεκμηριωμένα φυσιολογικά οφέλη ή/και την μείωση του κινδύνου χρόνιας νόσου πέρα από τις βασικές διατροφικές λειτουργίες
Διεθνές Συμβούλιο Πληροφοριών Τροφίμων	Τρόφιμα ή διαιτητικά συστατικά που μπορεί να παρέχουν οφέλη για την υγεία πέρα από την βασική διατροφή
Διεθνές Ινστιτούτο Επιστημών Ζωής της Βόρειας Αμερικής	Τρόφιμα που εξαιτίας των φυσιολογικά δραστικών συστατικών των τροφίμων παρέχουν οφέλη για την υγεία πέρα από την βασική διατροφή
Συντονισμένη Δράση της Ευρωπαϊκής Επιτροπής για την Λειτουργική Επιστήμη των Τροφίμων στην Ευρώπη	Λειτουργικά χαρακτηρίζονται τα τρόφιμα αν έχει αποδειχθεί σε ικανοποιητικό βαθμό ότι επηρεάζουν ευεργετικά μία ή περισσότερες λειτουργίες-στόχους στο σώμα, πέρα από επαρκείς διατροφικές επιδράσεις, με τρόπο που σχετίζεται είτε με την βελτίωση της κατάστασης της υγείας και της ευημερίας ή/και τη μείωση του κινδύνου ασθένειας

(Henry,2010)

1.4.2 Ομαδοποίηση Λειτουργικών Τροφίμων

Σε γενικές γραμμές τα λειτουργικά τρόφιμα ταξινομούνται ως εξής:

- Κλασσικές τροφές οι οποίες περιέχουν εκ φύσεως κάποια βιοδραστική ουσία. Για παράδειγμα, ο πολυσακχαρίτης β-γλυκάνη στην βρώμη που συμβάλλει στην μείωση της χοληστερόλης στο αίμα.
- Επεξεργασμένα τρόφιμα που έχουν εμπλουτιστεί με βιοδραστικά συστατικά, όπως είναι η προστιθέμενη φυτοστερόλη στην μαργαρίνη που μειώνει την χοληστερόλη στον ορό.
- Συνθετικές ύλες τροφίμων, όπως ορισμένοι εξειδικευμένοι υδατάνθρακες που προστίθενται ώστε να επιφέρουν αποτελέσματα των πρεβιοτικών μικροοργανισμών.

Συμπερασματικά, ένα λειτουργικό τρόφιμο μπορεί να είναι, ένα φυσικό τρόφιμο, τρόφιμο στο οποίο έχει προστεθεί ή αφαιρεθεί ένα συστατικό, τρόφιμο στο οποίο έχει τροποποιηθεί ένα ή περισσότερα συστατικά, τρόφιμο στο οποίο έχει τροποποιηθεί η βιοδιαθεσιμότητα ή οποιοσδήποτε συνδυασμός των παραπάνω (Henry,2010).

1.5 Προβιοτικοί Μικροοργανισμοί

1.5.1 Ορισμός και Ιστορία

Ο όρος προβιοτικό (*probiotic*) προέρχεται από την λατινική ρίζα *pro* που σημαίνει "για" και από την ελληνική βίος που σημαίνει "ζωή". Χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά το 1954 με σκοπό να υποδείξει τις ουσίες που είναι απαραίτητες για την διατήρηση της υγείας. Στην βιβλιογραφία αναγράφονται αρκετοί ορισμοί, ωστόσο ο ευρέως αποδεκτός και χρησιμοποιούμενος είναι αυτός που προτείνεται από την Διεθνή Οργάνωση Τροφίμων και Γεωργίας (FAO) και από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (WHO), ο οποίος ορίζει τα προβιοτικά ως : "*Ζωντανοί μικροοργανισμοί οι οποίοι, όταν χορηγούνται σε ικανοποιητικές ποσότητες, προσδίδουν στον ξενιστή ένα υγιές όφελος.*"

Η αρχική θεώρηση, ότι ορισμένα βακτήρια μπορούν να ωφελήσουν την ανθρώπινη υγεία αποδίδεται στον Έλια Μέτσνικοφ, ο οποίος στις αρχές του 20ου αιώνα εργάστηκε

στο Ινστιτούτο Παστέρ και οι ιδέες του εξακολουθούν να έχουν απήχηση έως σήμερα. Εκείνος ανέφερε :*"Η εξάρτηση των εντερικών μικροοργανισμών από τα τρόφιμα καθιστά δυνατή τη λήψη μέτρων για την τροποποίηση της μικροχλωρίδας στο σώμα και την αντικατάσταση των επιβλαβών μικροβίων από χρήσιμους μικροοργανισμούς. Ακόμη, θα πρέπει να γίνουν συστηματικές έρευνες όσο αφορά τη σχέση των μικροοργανισμών του εντέρου με την πρόωγη γήρανση και την επίδραση των διαιτών που αποτρέπουν την εντερική σήψη στην παράταση της ζωής και τη διατήρηση των δυνάμεων του σώματος"*

Την ίδια περίπου χρονική περίοδο ένας Γάλλος παιδίατρος, ο Χένρι Τισσέρ, ασχολήθηκε με τα περιστατικά διάρροιας σε μικρά παιδιά και παρατήρησε πως στα κόπρανά τους υπήρξε μικρότερος αριθμός διακλαδισμένων βακτηριών σε σχήμα Υ (bifid) από τα κόπρανα υγιών συνομηλίκων τους. Έτσι, παρότρυνε ασθενείς με συμπτώματα διάρροιας να την αντιμετωπίσουν με τα βακτήρια αυτά βοηθώντας την αποκατάσταση του εντερικού μικροβιώματος (Binns,2013).

1.5.2 Κριτήρια επιλογής προβιοτικών μικροοργανισμών

Αναμφισβήτητο είναι το γεγονός ότι τα προβιοτικά μπορούν να ωφελήσουν τον ξενιστή όσον αφορά την αντιμετώπιση παθογόνων μικροοργανισμών, που ευθύνονται για την πρόκληση ασθενειών, καθώς δρώντας με αμυντικό τρόπο βελτιώνουν την εντερική μικροχλωρίδα. Ωστόσο, για να υπάρξουν προβιοτικά στελέχη με λειτουργικές ιδιότητες και με αναμενόμενα οφέλη για την υγεία απαιτείται συντονισμένη προσπάθεια για την επιλογή του στελέχους. Βασικό βήμα για την επιλογή είναι να πληρούνται ορισμένες προϋποθέσεις όπως, η καλλιέργεια σε μεγάλη κλίμακα, η γενετική σταθερότητα και η διατήρηση της βιωσιμότητας σε ένα τρόφιμο ή συμπλήρωμα. Φερεπειν, για να είναι ικανά τα προβιοτικά να δράσουν στην περιοχή του στομάχου πρέπει να προβάλλουν αντίσταση στα ένζυμα του σάλιου , στο οξύ του στομάχου, στις εκκρίσεις του λεπτού εντέρου και της χολής καθώς επίσης και στις αλλαγές του pH και το χημικό περιβάλλον άλλων τροφίμων και ποτών που θα έρθουν σε επαφή μέσω του γαστρεντερικού σωλήνα (Kailasapathy & Chin, 2000; Binns, 2013).

Ο έλεγχος των μικροοργανισμών για πιθανώς αξιόλογα προβιοτικά είδη πραγματοποιείται με γνώμονα την ανάγκη το στέλεχος να είναι βιώσιμο και μεταβολικά ενεργό στον γαστρεντερικό σωλήνα καθώς και βιολογικά ενεργό έναντι του αναγνωρισμένου στόχου. Ακόμη, αξίζει να σημειωθεί πως η βιωσιμότητα του προβιοτικού είδους και η σταθερότητα των επιθυμητών χαρακτηριστικών του διατηρούνται τόσο κατά την εμπορική παραγωγή όσο και στο τελικό προϊόν (Kailasapathy & Chin, 2000).

1.5.3 Ασφάλεια Προβιοτικών

Οι περισσότεροι προβιοτικοί μικροοργανισμοί ανήκουν σε μια λειτουργική ομάδα βακτηρίων, γνωστή με τον όρο βακτήρια του γαλακτικού οξέος ή οξυγαλακτικά βακτήρια (*LAB: Lactic Acid Bacteria*), τα οποία θεωρούνται ασφαλή αφού καταναλώνονται εδώ και πολλές δεκαετίες. Η Ευρωπαϊκή Κοινότητα με σκοπό να διασφαλίσει αυτή την αντίληψη συνέθεσε ένα σύστημα αξιολόγησης ασφάλειας ενός προϊόντος πριν από την διάθεση του στην αγορά. Το σύστημα αυτό φέρει τον τίτλο πιστοποιημένο τεκμήριο ασφάλειας και αποδίδεται ως *Qualified Presumption of Safety (QPS)*. Στο πλαίσιο αυτό, για την εκτίμηση της ασφάλειας των ομάδων μικροοργανισμών που έχουν επιλεχθεί γίνεται χρήση των πληροφοριών τεσσάρων βασικών παραγόντων. Οι οποίοι είναι: ταυτότητα, σύνολο γνώσεων, πιθανότητα παθογένειας και τελική χρήση. Εφόσον, η ομάδα μικροοργανισμών δεν εγείρει αμφιβολίες για την ασφάλεια μπορεί να λάβει την ετικέτα του “QPS status” και να μην υποβληθεί ξανά σε πλήρη αξιολόγηση ασφάλειας παρά μόνο σε δοκιμές για αντοχή σε αντιβιοτικά (Binns, 2013).

1.5.4 Εφαρμογή Προβιοτικών στα Τρόφιμα

Αρκετοί ερευνητές έχουν στραφεί στην μελέτη της παραγωγής προβιοτικών τροφίμων και την αλληλεπίδρασή τους με το μικροβίωμα του εντέρου, καθώς βρέθηκε ότι η λήψη προβιοτικών ειδών ευνοεί την αντιμετώπιση ασθενειών των ανθρώπων και των ζώων. Η διερεύνηση της σημασίας της κατανάλωσης τροφών πλούσιων σε μείγμα προβιοτικών ειδών διεξάγεται από τις αρχές του προηγούμενου αιώνα. Κατά κοινή

ομολογία, η γιαούρτη αναδείχθηκε ως «μέσο» διατήρησης της υγείας του πεπτικού συστήματος και πρόληψης διαφόρων εκφυλιστικών ασθενειών (Md. Abul Kalam Azad et al. , 2018).

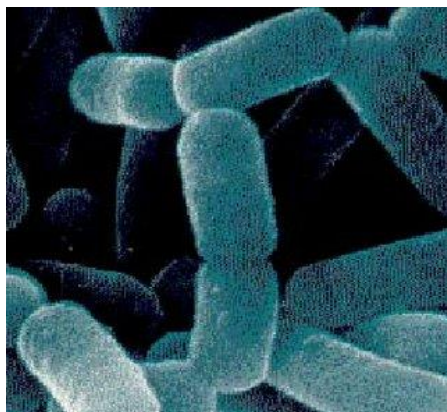
Είναι γεγονός ότι οι προβιοτικοί μικροοργανισμοί χρησιμοποιούνται σε μεγάλο εύρος τροφίμων και ειδικότερα στα γαλακτοκομικά προϊόντα, όμως εντοπίζονται στην αγορά και ως συμπλήρωμα διατροφής με τη μορφή κάψουλας ή δισκίου. Όπως έχει προαναφερθεί, η βιωσιμότητα είναι σημαντικός παράγοντας για την λειτουργία του προβιοτικού γι' αυτό κρίνεται αναγκαίο στο τελικό προϊόν να περιέχεται επαρκής ποσότητα ζώντων μικροβίων έως το τέλος της διάρκειας της ζωής του. Υποστηρίζεται, ότι η προσθήκη προβιοτικών σε ένα τρόφιμο ή σε κάποιο συμπλήρωμα πραγματοποιείται με την προϋπόθεση και μόνο ότι υπάρχουν καταγεγραμμένα οφέλη για τον άνθρωπο βασισμένα σε δοκιμές που αφορούν το σχετικό προϊόν διατροφής στο οποίο εμπεριέχεται το προσδιορισμένο στέλεχος κάθε φορά. Φυσικά, ακολουθώντας πάντα την νομοθεσία για την ασφάλεια των τροφίμων τα εμπορικά προϊόντα που περιέχουν προβιοτικούς μικροοργανισμούς πρέπει να συμμορφώνονται με τις εκάστοτε απαιτήσεις πριν από την διάθεση στην αγορά (Binns, 2013).

1.5.5 Προβιοτικά Είδη

Τα προβιοτικά που χρησιμοποιούνται κατά κόρον στα τρόφιμα είναι τα γένη *Lactobacillus* και *Bifidobacterium*. Παράλληλα, τα βακτηριακά γένη *Bacillus*, *Escherichia*, *Propionibacterium* περιλαμβάνουν πολλά υποσχόμενα προβιοτικά στελέχη. Έχουν όμως χρησιμοποιηθεί και ζύμες όπως το είδος *Saccharomyces*.

Lactobacillus: Σε έρευνες για την μικροχλωρίδα του εντέρου το γένος *Lactobacillus* αναφέρεται ως το σπουδαιότερο προβιοτικό από την ομάδα των οξυγαλακτικών βακτηρίων. Το γένος αυτό περιλαμβάνει είδη, θετικά κατά Gram, σε σχήμα ράβδου, προαιρετικά αναερόβια που δεν παράγουν καταλάση. Πολυετής είναι η χρήση γαλακτοβακίλλων στην παραγωγή ζυμωμένων τροφίμων με προέλευση τόσο ζωική όσο και φυτική. Το πλήθος των γαλακτοβακίλλων που εντοπίζονται στον γαστρεντερικό σωλήνα του ανθρώπου διαφοροποιείται ανάλογα με την ηλικία του ατόμου και την θέση στο εσωτερικό του εντέρου. Τα αντιπροσωπευτικά είδη περιλαμβάνουν τα *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus gasseri*,

Lactocaseibacillus casei, *Lacticaseibacillus rhamnosus*. Λόγω του αβλαβούς χαρακτήρα τους διαθέτουν ένα κύρος ασφάλειας GRAS (*Generally Regarded As Safe*) και χρησιμοποιούνται συχνά στη βιο-επεξεργασία (Garssen et al.,2003; Md. Abul Kalam Azad et al. , 2018; Zhang et al., 2018).



Εικόνα 1: Ηλεκτρονική μικρογραφία σάρωσης του στελέχους *L.casei* (Garssen et al.,2003)

***Bifidobacterium*:** Τα είδη που ανήκουν στο συγκεκριμένο γένος είναι θετικά κατά Gram, μη κινητά και μη σπορογόνα, αναερόβια βακτήρια. Απαντώνται με διακλαδισμένη μορφή, σχήματος Y και τους έχουν αποδοθεί σακχαρολυτικές ιδιότητες. Μέχρι σήμερα έχουν αναγνωριστεί 94 υποείδη. Είναι γεγονός, ότι έχουν απομονωθεί από διάφορες θέσεις όπως είναι το αίμα του ανθρώπου, η στοματική κοιλότητα, τα λύματα, το γάλα που έχει υποστεί ζύμωση ή το νωπό και το οπίσθιο έντερο πτηνών κι εντόμων. Ωστόσο, το μεγαλύτερο μέρος των πλέον χαρακτηριστικών ειδών προέρχεται από τον γαστρεντερικό σωλήνα του ανθρώπου και άλλων θηλαστικών. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα, τα μέλη του γένους *Bifidobacterium* να θεωρούνται συμβιωτικοί μικροοργανισμοί που κατοικούν στην πεπτική οδό ευρείας ποικιλίας ζώων, ειδικότερα εκείνων που προσφέρουν γονική φροντίδα στους απογόνους τους (Alessandri et al., 2021).

***Enterococcus*:** Οι εντερόκοκκοι είναι επίσης θετικά κατά Gram βακτήρια της οικογένειας των οξυγαλακτικών βακτηρίων, εμφανίζονται σε ζεύγη ή κοντές αλυσίδες, είναι μη σπορογόνα, προαιρετικά αναερόβια και αρνητικά στην δοκιμή καταλάσης και οξειδάσης. Πρόκειται για μεσόφιλα βακτήρια με δυνατότητα ανάπτυξης από 10°C - 45°C αλλά βέλτιστη θερμοκρασία από 30°C - 35°C. Επίσης, έχουν την δυνατότητα να

αναπτύσσονται σε μεγάλη κλίμακα pH από 4,4 – 9,6. Ορισμένα στελέχη εντεροκόκκων όπως το *E.faecium* M74 και *E.faecium* SF-68 εμπεριέχονται σε σκευάσματα προβιοτικών συμπληρωμάτων διατροφής καθώς έχει αποδειχθεί ότι είναι αποτελεσματικά και ασφαλή. Ως εκ τούτου, τα εντεροκοκκικά προβιοτικά μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την αντιμετώπιση ή/και την πρόληψη ασθενειών ανθρώπων και ζώων, όπως η ανακούφιση των συμπτωμάτων από το σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου καθώς και η επαγόμενη από τα αντιβιοτικά διάρροια (Ben-Braiek & Smaoui, 2019).

***Lactococcus*:** Το γένος αυτό ανήκει επίσης στην ομάδα των βακτηρίων του γαλακτικού οξέος. Συγκεκριμένα, είναι κόκκοι θετικοί κατά Gram και ομοζυμωτικά βακτήρια παράγουν δηλαδή ένα μόνο προϊόν, το L- γαλακτικό οξύ. Απαντάται κυρίως στα φυτά και στο δέρμα των ζώων. Ακόμη, έχουν χρησιμοποιηθεί σε καλλιέργειες εκκίνησης για την ζύμωση γαλακτοκομικών προϊόντων όπως είναι τα τυριά, η κρέμα γάλακτος και το βούτυρο (Casalta & Montel, 2008).

***Streptococcus*:** Το συγκεκριμένο γένος βακτηρίων αφορά θετικούς κατά Gram κόκκους, αρνητικούς στην δοκιμή καταλάσης που αναπτύσσονται υπό προαιρετικά αναερόβιες συνθήκες. Ορισμένοι, απαιτούν προσθήκη διοξειδίου του άνθρακα για να αναπτυχθούν. Παράγουν L-γαλακτικό οξύ ως κύριο τελικό προϊόν της ζύμωσης γλυκόζης. Το είδος *Streptococcus thermophilus* συνδέεται με άμεσα τα γαλακτοκομικά προϊόντα. Αποτελεί, μία από τις πιο χρησιμοποιούμενες καλλιέργειες εκκίνησης στην παραγωγή διαφόρων γαλακτοκομικών. Ο βασικός του ρόλος είναι η μετατροπή της λακτόζης σε γαλακτικό οξύ συνεπώς η μείωση του pH για την διατήρηση του προϊόντος. Παράλληλα, έχει αποδειχθεί ότι είναι ενεργό έναντι βακτηρίων που ευθύνονται για αλλοιώσεις του γάλακτος και των προϊόντων του (Toit et al., 2014).

***Propionibacterium*:** Τα είδη αυτού του γένους αναγνωρίζονται ως θετικά κατά Gram και αναερόβια βακτήρια. Στο γένος αυτό περιλαμβάνονται δύο κατηγορίες από διαφορετικούς οικοτόπους. Η μία ομάδα αφορά τα στελέχη που βρίσκονται στο δέρμα του ανθρώπου και είναι γνωστή ως «ομάδα ακμής» και η άλλη σχετίζεται με στελέχη που απομονώνονται από το γάλα ή τα προϊόντα του και αναφέρεται ως η ομάδα με τα

«γαλακτοκομικά» ή «κλασσικά» στελέχη αυτού του γένους. Το είδος *Propionibacterium freudenreichii* χρησιμοποιείται ως εκκινητής ωρίμανσης σε ελβετικού τύπου τυριά. Επιπλέον, αξίζει να αναφερθεί ότι αυτό το είδος απομονώθηκε πριν από έναν αιώνα περίπου από το τυρί έμμενταλ λόγω της ικανότητας του να σχηματίζει οπές και να προσδίδει γεύση σε αυτό το είδος τυριών. Αυτό συμβαίνει, γιατί το γαλακτικό οξύ μετατρέπεται σε προπιονικό και οξικό οξύ αλλά και σε διοξείδιο του άνθρακα. Τελευταία, τα «γαλακτοκομικά» στελέχη έχουν θεωρηθεί προβιοτικά (Meile et al., 2007).

***Escherichia coli*:** Είναι βακτήριο αρνητικό κατά Gram που ανήκει στην οικογένεια των εντεροβακτηριοειδών. Πρόκειται για ένα γνωστό προβιοτικό είδος με ευεργετικές επιδράσεις στην ομοίωση της εντερικής χλωρίδας. Συγκεκριμένα ,το στέλεχος *Escherichia coli Nissle* (EcN) είναι από τα περισσότερο χρησιμοποιούμενα.

***Saccharomyces*:** Ευρέως γνωστή ζύμη που χρησιμοποιείται στην παραγωγή προβιοτικών τροφίμων. Τα τελευταία χρόνια, τα είδη *S. cerevisiae* και *S. Boulardii* έχουν επιδείξει προοπτικές ως προβιοτικοί μικροοργανισμοί (Md. Abul Kalam Azad et al. , 2018).

Πίνακας 2: Βασικοί Προβιοτικοί Μικροοργανισμοί

ΕΙΔΟΣ	ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ
Lactobacillus	Gram + Σχήμα ράβδου Προαιρετικά αναερόβια βακτήρια Καταλάση -
Bifidobacterium	Gram + Διακλαδισμένη μορφή (Y) Μη κινητό /Μη σπορογόνο Αναερόβια βακτήρια

Enterococcus	Gram + Κόκκοι Προαιρετικά αναερόβια βακτήρια Μη σπορογόνα Καταλάση - Οξειδάση -
Lactococcus	Gram + Κόκκοι Ομοζυμωτικά βακτήρια
Streptococcus	Gram + Κόκκοι Προαιρετικά αναερόβια καταλάση -

1.6 Πρεβιοτικά

Οι πρώτοι που αναγνώρισαν την αξία των ζυμωμένων ολιγοσακχαριτών ήταν οι Ιάπωνες. Σε πρώτο στάδιο στην εκτροφή των χοίρων κι έπειτα με την αναγνώριση των ολιγοσακχαριτών του ανθρώπινου γάλακτος. Η Διεθνής Επιστημονική Ένωση Προβιοτικών και Πρεβιοτικών το 2010 πρότεινε το εξής ορισμό: “Διατροφικό πρεβιοτικό είναι ένα συστατικό που έχει υποστεί επιλεκτική ζύμωση κι έχει ως αποτέλεσμα συγκεκριμένες αλλαγές στη σύνθεση ή/και τη δραστηριότητα της εντερικής μικροχλωρίδας, ευνοώντας έτσι στην υγεία του ξενιστή.”

Οι περισσότερες έρευνες σχετικά με την πρεβιοτική δράση, έχουν στραφεί στις φρουκτάνες, δηλαδή στις ενώσεις που ανήκουν στην ομάδα των υδατανθράκων και στους γαλακτο-ολιγοσακχαρίτες. Για παράδειγμα, ο πολυσακχαρίτης ινουλίνη ή οι φρουκτο-ολιγοσακχαρίτες που προέρχονται από διάφορες καλλιέργειες ή από σακχαρόζη. Τα υποψήφια πρεβιοτικά είδη απαιτούν περαιτέρω ενδείξεις όσον αφορά την υγεία του ανθρώπου για να καθιερωθούν πλήρως ως πρεβιοτικά. Τέτοια ενδεχομένως να είναι ο δισακχαρίτης λακτουλόζη, πολυσακχαρίτες όπως πολυδεξτρόζες και πολυόλες όπως η λακτιτόλη και η ισομαλιτόλη.

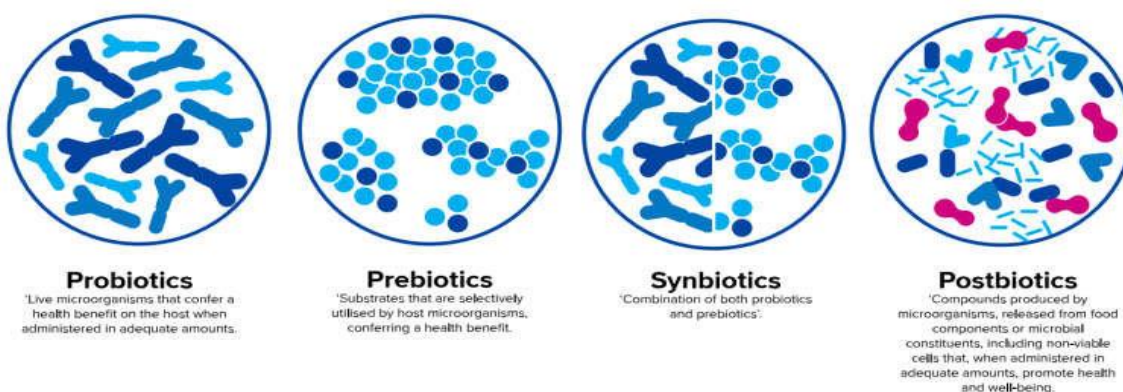
Ορισμένα πρεβιοτικά περιέχονται εκ φύσεως στις τροφές, όπως το κιχώριο, τα δημητριακά, η αγαύη και το γάλα. Εντούτοις, ανιχνεύονται σε χαμηλά επίπεδα στην καθημερινή διατροφή και για τον λόγο αυτό η βελτιστοποίηση της δράσης τους πραγματοποιείται ύστερα από ενζυμική, χημική ή θερμική επεξεργασία έτσι ώστε να επέλθουν ικανοποιητικά επίπεδα στα τρόφιμα για την εμφάνιση πρεβιοτικής δράσης. (Binns,2013)

1.7 Συμβιοτικά

Τα συμβιοτικά αποτελούν συνδυασμό των προβιοτικών και πρεβιοτικών. Προσφέρουν συνεργιστική δράση ευνοώντας διεργασίες που λαμβάνουν χώρα στο πεπτικό σύστημα (Binns,2013). Οι συμβιοτικές ουσίες επιδρούν θετικά στον ξενιστή καθώς διεγείρουν την ανάπτυξη ή/και ενεργοποιούν τον μεταβολισμό ενός ή περισσότερων αλλά περιορισμένου αριθμού βακτηρίων που προάγουν την υγεία (Pandey et al,2015).

1.8 Μεταβιοτικά

Τα μεταβιοτικά είναι βιοδραστικά προϊόντα μιας διεργασίας ζύμωσης, που μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε συνδυασμό με θρεπτικά συστατικά προς όφελος της υγείας. Αυτές οι ενώσεις δεν είναι ζωντανοί μικροοργανισμοί, σε αντίθεση με τα προβιοτικά. Επίσης, έχουν την ικανότητα να διατηρούν τους μικροοργανισμούς σε ένα προϊόν βιώσιμους και σταθερούς με αποτέλεσμα τα δραστικά συστατικά να διανέμονται στην επιθυμητή θέση στο έντερο, βελτιώνοντας έτσι τη διάρκεια ζωής καθώς και τις συνθήκες αποθήκευσης και μεταφοράς του προϊόντος (Wegh et al,2019).



Εικόνα 2 Ορισμός προβιοτικών, πρεβιοτικών, συμβιοτικών και μεταβιοτικών (Salminen et al.,2020)

1.9 Μηχανισμός Δράσης

Τα προβιοτικά και πρεβιοτικά αλληλεπιδρούν με τον ξενιστή κυρίως με δύο τρόπους δράσης ή συνδυασμό αυτών. Συγκεκριμένα, οι τρόποι αυτοί είναι, είτε η επίδραση των μικροοργανισμών ή των μεταβολιτών τους στην γαστρεντερική οδό του ξενιστή και στο μικροβίωμά του, είτε η αλληλεπίδραση με τα κύτταρα και το ανοσοποιητικό σύστημα του ξενιστή (Binns,2013)

Πρόληψη Εντερικών Λοιμώξεων: Οι προβιοτικοί μικροοργανισμοί ενισχύουν την αντίσταση του οργανισμού έναντι των παθογόνων βακτηριακών επιθέσεων, μέσω αντιμικροβιακών μηχανισμών. Αυτοί περιλαμβάνουν αποίκιση προβιοτικών μικροοργανισμός με ανταγωνιστικό τρόπο και παραγωγή οργανικών οξέων (γαλακτικό οξύ, οξικό οξύ), βακτηριοσινών και άλλων πρωτογενών μεταβολιτών, όπως υπεροξειδίο του υδρογόνου, διοξειδίο του άνθρακα και διακετύλιο. Τα προβιοτικά βακτήρια είναι σε θέση να αναστέλλουν την προσκόλληση των γαστρεντερικών παθογόνων στον εντερικό βλεννογόνο. Όσον αφορά την παραγωγή οργανικών οξέων από προβιοτικούς μικροοργανισμούς, μειώνει pH του εντέρου συνεπώς αναστέλλεται η ανάπτυξη παθογόνων. Επίσης, το γαλακτικό και οξικό οξύ αυξάνουν την περισταλτική κίνηση έτσι ώστε να απομακρύνονται έμμεσα τα παθογόνα με την επιτάχυνση του ρυθμού διέλευσης μέσω του εντέρου.

Σχετικά με το υπεροξειδίο του υδρογόνου που παράγεται από τους γαλακτοβάκιλλους αξίζει να σημειωθεί ότι λειτουργεί μέσω του συστήματος λακτοϋπεροξειδάσης -θειοκυανικού στο οποίο το υπεροξειδίο του υδρογόνου οξειδώνει το θειοκυανικό ώστε να απελευθερώσει υδροκυάνιο που είναι επιβλαβές για τα παθογόνα βακτήρια που μεταδίδονται μέσω των τροφίμων. Παράλληλα, το διοξειδίο του άνθρακα και το διακετύλιο που συντίθενται από τα οξυγαλακτικά βακτήρια αναστέλλουν κι εκείνα την ανάπτυξη των παθογόνων μικροοργανισμών. Οι βακτηριοσίνες δρουν έναντι ενός ευρέως φάσματος τροφιμογενών παθογόνων ανάλογα με την εξειδίκευσή τους.

Ενίσχυση του Ανοσοποιητικού: Η επιθηλιακή επένδυση του ανθρώπινου γαστρεντερικού συστήματος προσφέρει μια μεγάλη επιφάνεια για την απορρόφηση διαφόρων μορίων, αλλά αποτελεί εμπόδιο στον υπεράριθμο των εξωτερικών αντιγόνων που μπορεί να διαπεράσουν την εντερική κοιλότητα. Ύστερα από έρευνα, σε βρέφη που έλαβαν συμπλήρωμα με στέλεχος *L.casei* σημειώθηκε βελτίωση της κυτταρικής απόκρισης που οφείλεται στο αντίσωμα IgA και προλαμβάνει την διάρροια. Τόσο *in vitro* όσο και *in vivo* μελέτες συμβάλλουν στην αποσαφήνιση της δραστηριότητας των προβιοτικών βακτηρίων στις ανοσολογικές αποκρίσεις του ξενιστή. Στο εσωτερικό της εντερικής κοιλότητας, τα προβιοτικά εμφανίζουν την επιρροή τους αναστέλλοντας την ανάπτυξη εντερικών παθογόνων μέσω της παραγωγής γαλακτικού οξέος και αντιμικροβιακών πεπτιδίων. Όταν λοιπόν τα προβιοτικά χορηγούνται σε επαρκή ποσότητα, προσκολλώνται στα εντερικά κύτταρα και αποτρέπουν τη σύνδεση παθογόνων μέσω της διαδικασίας του ανταγωνιστικού αποκλεισμού. Κατά μία έννοια, η ικανότητα των προβιοτικών βακτηρίων να ρυθμίζουν την ανοσία και να βελτιώνουν την μικροβιακή ισορροπία των εντερικών βακτηρίων προσφέρει στον καταναλωτή μία πιο βιολογικά αποτελεσματική λύση για την διατήρηση της υγείας από την κατανάλωση φαρμακευτικών σκευασμάτων.

(Kailasapathy & Chin, 2000)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 : ΤΟ ΕΝΖΥΜΟ ΛΑΚΤΑΣΗ

2.1 Ένζυμα

Οι πρωτεΐνες που καταλύουν μια συγκεκριμένη αντίδραση ονομάζονται ένζυμα. Πρόκειται για ενώσεις με ακρίβεια στην δράση τους. Κάθε ένζυμο προορίζεται να ξεκινήσει μια συγκεκριμένη αντίδραση και να επιφέρει ένα συγκεκριμένο αποτέλεσμα. Το ανθρώπινο σώμα φιλοξενεί πλήθος ενζύμων και κάποια από αυτά λαμβάνουν μέρος στον χειρισμό και τον τύπο του γάλακτος και στην τυροκομία. Υπάρχουν όμως και εξωγενή ένζυμα που εξυπηρετούν ειδικούς σκοπούς. Τέτοιοι ενδεχομένως να είναι, η αλλαγή της πήξης του γάλακτος, η προετοιμασία και η παλαίωση του τυριού και η βελτίωση της διάρκειας ζωής των τροφίμων.

2.1.1 Τα ένζυμα στις γαλακτοβιομηχανίες

Η χρήση ενζύμων στις βιομηχανίες γάλακτος εντοπίζεται στην επεξεργασία της γιαούρτης, του γάλακτος, του τυριού τσένταρ και άλλων προϊόντων. Γενικά, στον επιστημονικό κλάδο της Τεχνολογίας Τροφίμων κάποια ένζυμα είναι ευρέως γνωστά. Σημαντική δράση λαμβάνει η πτυιά, ένα μείγμα πεψίνης και χυμοσίνης που παράγεται από ζωντανούς μικροοργανισμούς αλλά και εργαστηριακά και χρησιμοποιείται για την πήξη του γάλακτος. Ακολουθως, ευρεία χρήση αποδίδεται στις πρωτεάσες διαφόρων τύπων που χρησιμοποιούνται για την επιτάχυνση της γήρανσης του τυριού ή και για την ελάττωση των αλλεργικών αντιδράσεων εξαιτίας της παρουσίας αγελαδινού γάλακτος σε βρεφικές τροφές, μέσω διαφοροποίησης της πρωτεΐνης γάλακτος. Όσον αφορά την λιπάση, αξιοποιείται κατά κύριο λόγο στην ωρίμανση του τυριού για την βελτίωση της γεύσης. Η λακτάση χρησιμοποιείται με σκοπό της υδρόλυση της λακτόζης στα σάκχαρα γλυκόζη και γαλακτόζη. Επίσης συμβάλλει στη αύξηση της διαλυτότητας και της γλυκιάς γεύσης διαφόρων γαλακτοκομικών προϊόντων (Mir Khan & Selamoglou, 2019).

2.2 Το ένζυμο λακτάση

Το γάλα περιέχει ένα συγκεκριμένο είδος σακχάρου, τη λακτόζη. Η λακτόζη είναι ένας δισακχαρίτης που εντοπίζεται μόνο στο γάλα των θηλαστικών και στα παράγωγά του, καθώς συντίθεται στον μαστικό αδένα από το σύστημα συνθετάσης της λακτόζης, το οποίο ενώνει ένα μόριο D-γαλακτόζης με ένα μόριο D-γλυκόζης με β-1,4 γλυκοζιτικό δεσμό (Fassio et al., 2018). Η συνθετάση της λακτόζης είναι ένα ένζυμο αποτελούμενο από δύο υπομονάδες: μία με καταλυτική δράση, τη γαλακτοζυλο-τρανσφεράση και μία δεύτερη, με ρυθμιστικές λειτουργίες. Αυτές οι υπομονάδες καταλύουν τον δεσμό γαλακτόζης και γλυκόζης με αποτέλεσμα το σχηματισμό του δισακχαρίτη.

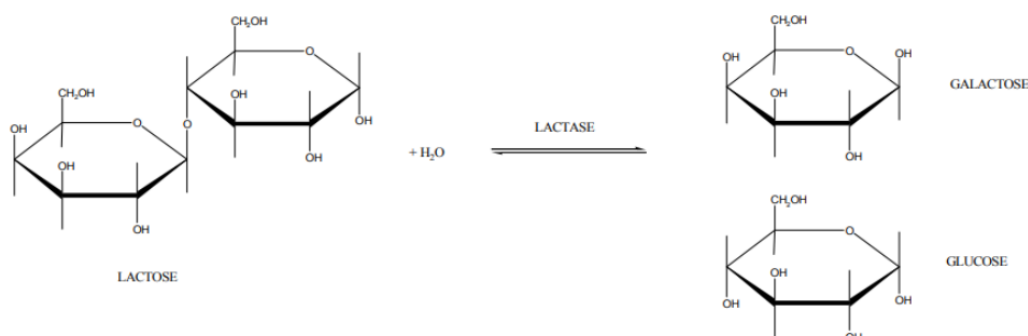
Πίνακας 3: Προέλευση γάλακτος και αντίστοιχη περιεκτικότητα του δισακχαρίτη λακτόζη

ΕΙΔΟΣ ΓΑΛΑΚΤΟΣ	ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ
Ανθρώπινο μητρικό γάλα	7,0 mg/100 mL
Αγελαδινό γάλα	4,7-5,0 mg/100 mL
Πρόβειο γάλα	4,4-4,8 mg/100 mL
Κατσικίσιο γάλα	4,2-4,8 mg/100 mL
Βουβαλίσιο γάλα	4,8-5,0 mg/100 mL
Ρόφημα από καρπούς, ρύζι, βρώμη, σόγια	–

(Catanzaro et al.,2021)

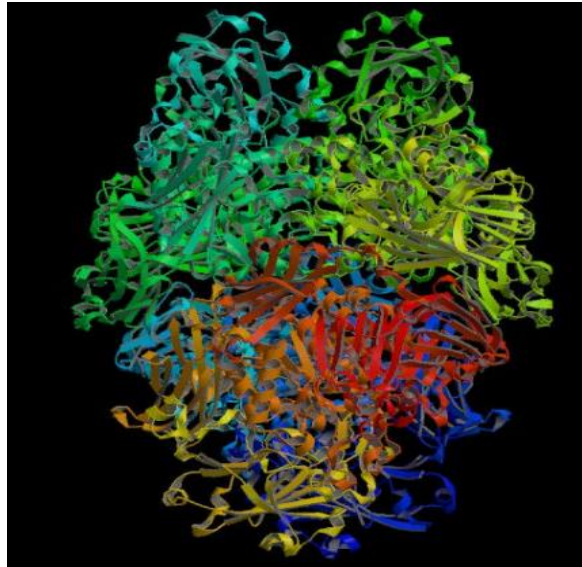
Για να αξιοποιηθεί από τον ανθρώπινο οργανισμό, η λακτόζη πρέπει να υδρολυθεί σε γλυκόζη και γαλακτόζη. Το ένζυμο λακτάση εντοπίζεται σε ανθρώπους και άλλους οργανισμούς. Στον ανθρώπινο εντερικό σωλήνα, η λακτάση συνδυάζεται με ένα άλλο ένζυμο που ονομάζεται υδρολάση της φλωριζίνης για να σχηματίσει ένα διαμεμβρανικό ενζυμικό σύμπλεγμα που ονομάζεται υδρολάση λακτάσης-φλωριζίνης (*LHP*). Έχει αποδειχθεί ότι το τμήμα λακτάσης αυτού του συμπλέγματος ενζύμων είναι το μόνο ενεργό τμήμα στη διάσπαση της λακτόζης (Dusty, 2006).

Η λακτάση κωδικοποιείται από το γονίδιο *LCT*, το οποίο εκτείνεται σε 50 kilo-base και εδράζεται στο χρωμόσωμα 2, θέση 2q21. Αυτό το γονίδιο μπορεί να υποστεί μεταλλάξεις, ορισμένες από τις οποίες έχουν συσχετιστεί με δυσανεξία στη λακτόζη (Catanzaro et al.,2021). Αναλυτικότερα, η λακτάση είναι μια β-γαλακτοσιδάση που μπορεί να βρεθεί στην ανώτερη επιφάνεια των εντεροκυττάρων στις μικρολάχνες του λεπτού εντέρου και εκφράζεται σε μέγιστο βαθμό στη νήστιδα. Εν συνεχεία, το ένζυμο αυτό υδρολύει ένα μόριο λακτόζης σε δύο μονοσακχαρίτες, τη γλυκόζη και τη γαλακτόζη, οι οποίοι, κατά την πέψη, απορροφώνται με ταχύ ρυθμό από τα εντεροκύτταρα και ακολούθως η γλυκόζη χρησιμοποιείται ως πηγή ενέργειας, ενώ η γαλακτόζη χρησιμοποιείται ως μέρος γλυκοπρωτεϊνών και γλυκολιπιδίων (Fassio et al.,2018).



Εικόνα 3 Αντίδραση διάσπασης της λακτόζης στους δύο μονοσακχαρίτες, γλυκόζη και γαλακτόζη (Dusty,2006)

Η δομή της λακτάσης είναι κατά κανόνα πολύπλοκη. Η κρυσταλλική δομή του ενζύμου περιέχει τέσσερις πανομοιότυπες υπομονάδες. Κάθε υπομονάδα περιέχει μια αλυσίδα 1023 αμινοξέων. Πρόκειται για ένα μεγάλο ένζυμο. Η συνολική δομή είναι ένα τετραμερές που αποτελείται από τέσσερις ίδιες αλυσίδες. Υποστηρίζεται, ότι τα μεμονωμένα μονομερή σχηματίζονται πρώτα, ακολουθεί ο σχηματισμός διμερών και μετά ο διμερισμός των διμερών για να σχηματιστεί το τετραμερές. Κάθε περιοχή έχει έναν υδρόφοβο πυρήνα. Υπάρχουν τέσσερις ενεργά πεδία σε κάθε τετραμερές. Κάθε περιοχή σχηματίζεται από την αλληλεπίδραση δύο μονομερών. Επίσης, κάθε περιοχή επισημαίνεται από δύο μεταλλικά σύμπλοκα, Na⁺ και Mg²⁺ (Dusty,2006).



Εικόνα 4 Τετραμερές λακτάσης (Dusty,2006)

Από την όγδοη εβδομάδα της κύησης, η λακτάση αρχίζει να δραστηριοποιείται στην επιφάνεια του εντερικού βλεννογόνου. Αυτή η δραστηριότητα αυξάνεται προοδευτικά έως ότου φτάσει στο μέγιστο κατά τη στιγμή της γέννησης. Η ικανότητα πέψης της λακτόζης στη διάρκεια του θηλασμού είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη και τη ζωή του νεογνού. Στην πραγματικότητα, μια συγγενής ανεπάρκεια όσο αφορά τη δράση της λακτάσης έχει βρεθεί ότι είναι θανατηφόρα εάν δεν διαγνωστεί αμέσως μετά τη γέννηση (Catanzaro et al.,2021).

2.3 Γενετική Λακτάσης

Υπάρχουν τρεις γονότυποι για την δραστηριότητα της λακτάσης: ομόζυγα άτομα με ανθεκτικότητα στη λακτάση (*LP: Lactose Persistent*), ομόζυγα άτομα μη ανεκτικά στη λακτάση (*LNP: Lactase Non-Persistent*) και τα ετερόζυγα άτομα. Η ενδιάμεση ενζυμική δραστηριότητα στους ετεροζυγώτες υποδηλώνει ότι οι παραλλαγές των αλληλομόρφων που δρουν ως ρυθμιστικός παράγοντας βρίσκονται σε γειτονία με το γονίδιο της λακτάσης και ευθύνονται για τον πολυμορφισμό (Bayless et al.,2017).

Στους Καυκάσιους πληθυσμούς, η ανθεκτικότητα ή μη της έκφρασης της λακτάσης συνδέεται αυστηρά με τον πολυμορφισμό ενός νουκλεοτιδίου (SNP) *C/T-13910* που βρίσκεται προς τα πάνω από το γονίδιο που κωδικοποιεί την λακτάση (*LCT*), με

rs4988235. Αυτός ο πολυμορφισμός εμφανίζεται στις παραλλαγές CC, CT ή TT. Αποδείχθηκε ότι στους Καυκάσιους, η παραλλαγή CC είναι εξαιρετικός δείκτης πρόβλεψης για την μείωση της εντερικής λακτάσης και επομένως σχετίζεται με την υπολακτασία, ενώ ο γονότυπος TT λειτουργεί ως μέσο πρόβλεψης όσον αφορά την ανοχή στη δραστηριότητα του ενζύμου. Η παρουσία του γονότυπου CT χαρακτηρίζεται από την παρουσία ενδιάμεσων επιπέδων έκφρασης λακτάσης, τα οποία είναι συνήθως επαρκούν για την πέψη της λακτόζης.

Καθώς η δυσαπορρόφηση της λακτόζης είναι μια υπολειπόμενη κατάσταση, ένας ετερόζυγος γονότυπος ως προς το συγκεκριμένο γονίδιο δεν θα πρέπει να εμφανίζει συμπτώματα της πάθησης. Έχει αποδειχθεί ότι το μεγαλύτερο ποσοστό του mRNA της λακτάσης που υπάρχει σε άτομα με ανθεκτικότητα στην δραστηριότητα του ενζύμου σε ετερόζυγη κατάσταση, προέρχεται μόνο από ένα αλληλόμορφο. Αυτό το αποτέλεσμα είναι ιδιαίτερα κατατοπιστικό, διότι φανερώνει καθαρά ότι η υπολακτασία των ενηλίκων προκαλείται από μια μεταγραφική σίγαση που ενεργεί στο γονίδιο της λακτάσης μέσω cis μηχανισμού καθώς και ότι τα μεμονωμένα αλληλόμορφα λακτάσης ρυθμίζονται ανεξάρτητα (Fassio et al.,2018). Αξίζει να επισημανθεί ότι, οι cis μηχανισμοί επηρεάζουν την γονιδιακή έκφραση σε συγκεκριμένο χρωμοσωμικό αλληλόμορφο και γενικότερα περιλαμβάνουν ρυθμιστικές γονιδιωματικές περιοχές (Reuveni et al.,2018).

Σύμφωνα με μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε εννέα Φινλανδικές οικογένειες με δυσαπορρόφηση στην λακτόζη ελήφθησαν τα εξής δεδομένα: Δύο παραλλαγές συνδέθηκαν με ανθεκτικότητα στην λακτάση. Ο ένας πολυμορφισμός λοιπόν κωδικοποιείται ως *LCT-13910C/T* κι έδειξε πλήρης συσχέτιση ενώ η δεύτερη παραλλαγή που κωδικοποιείται ως *LCT-22018G/A* δεν συσχετίστηκε πλήρως. Εν συνεχεία, δύο γονότυποι συσχετίστηκαν με τον φαινότυπο ανθεκτικότητας στην λακτάση κι αυτοί είναι: α) *LCT-13910CT* και β) *LCT-13910TT* υποδηλώνοντας ότι η παρουσία ενός μεμονωμένου αλληλόμορφου σε ετερόζυγη κατάσταση έχει επικρατέστερη δράση καθιστώντας το άτομο ικανό να επιτελέσει την πέψη της λακτόζης. Απεναντίας, όταν το αλληλόμορφο ανθεκτικότητας απουσιάζει επικρατεί ο γονότυπος *LCT-13910CC*, που συνάδει με δυσπεψία στην λακτόζη. Ασθενείς με τον γονότυπο *LCT-13910CC* εμφάνισαν επίσης και τον γονότυπο *LCT-22018GG* ενώ άτομα με τον γονότυπο *LCT-13910CT* είχαν και τον *LCT-22018GA* γονότυπο (Mattar et al,2012).

Η μετάλλαξη του ρυθμιστικού γονιδίου έχει γίνει αποδεκτή ως η αιτία της υπολακτασίας. Ο γονότυπος CC υποδεικνύει άτομα μη ανεκτικά στην λακτάση. Από την άλλη, ο γονότυπος TT είναι επικρατής και υποδεικνύει την ανθεκτικότητα στην λακτάση και ο ετεροζυγώτης οργανισμός CT σχετίζεται με ένα ενδιάμεσο επίπεδο δραστηριότητας λακτάσης. Τα ετερόζυγα άτομα (CT) εμφανίζουν κάποιες ενδείξεις δυσαπορρόφησης λακτόζης με υψηλότερα επίπεδα υδρογόνου στην αναπνοή και περισσότερο φούσκωμα και μετεωρισμός μετά από λήψη 50 g λακτόζης συγκριτικά με τα ομόζυγα άτομα με TT. Σε ενήλικες ασθενείς ομοζυγώτες ως προς την ανθεκτικότητα, τα επίπεδα ενζύμων στο όριο της νήστιδας είναι δέκα φορές υψηλότερα από ό,τι σε βιοψίες από ομοζυγώτες που δεν εμφανίζουν ανθεκτικότητα. Η εκ γενετής δυσανεξία στη λακτόζη, η οποία εμφανίζεται κατά την έναρξη του θηλασμού, είναι μια σπάνια διαταραχή που προκαλείται από σοβαρές μεταλλάξεις και στα δύο αλληλόμορφα του γονιδίου της λακτάσης και εμφανίζεται είτε με σύνθετο ετερόζυγο, είτε με ομόζυγο μοτίβο κληρονομικότητας. Σαφώς, τα γονιδιακά πρότυπα είναι διαφορετικά από αυτά που παρατηρούνται στους ενήλικες με μη ανεκτικότητα στη λακτάση (Bayless et al.,2017).

Πίνακας 4: Γονότυποι ανάλογα με την παρουσία λακτάσης στον οργανισμό

ΓΟΝΟΤΥΠΟΣ	ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ
LCT-13910CC	Υπολακτασία
LCT-22018GG	Δυσπεψία/Δυσαπορρόφηση λακτάσης
LCT-13910TT	Ανθεκτικότητα λακτάσης
LCT-13910CT	Ενδιάμεσα επίπεδα έκφρασης λακτάσης
LCT-22018GA	

2.4 Υπολακτασία, δυσπεψία στη λακτόζη, δυσαπορρόφηση και δυσανεξία

Ο όρος υπολακτασία αναφέρεται στην ανεπάρκεια του ενζύμου λακτάσης. Αυτό συνεπάγεται δυσαπορρόφηση της λακτόζης, η οποία ορίζεται ως αναποτελεσματική αφομοίωση του δισακχαρίτη, ο οποίος, με τη σειρά του, μπορεί να οδηγήσει σε

δυσανεξία στη λακτόζη, μια κλινική κατάσταση που αναγνωρίζεται με την εμφάνιση γαστρεντερικών προβλημάτων.

Πίνακας 5: Καταστάσεις που οφείλονται στην δράση του ενζύμου λακτάση

ΠΑΘΗΣΗ	ΟΡΙΣΜΟΣ
Υπολακτασία	Οποιαδήποτε έλλειψη του ενζύμου λακτάση
Μη ανθεκτικότητα στη λακτάση	Θεωρείται κατάσταση «άγριου τύπου», καθώς τα περισσότερα άτομα έχουν μειωμένη δραστηριότητα λακτάσης στα όρια της νήστιδας μετά τον απογαλακτισμό. Σε μια μειοψηφία ανθρώπων, υπάρχει υψηλό επίπεδο δραστηριότητας του ενζύμου λακτάσης κατά την ενήλικη ζωή (φαινότυπος ανοχής στη λακτάση)
Δυσπεψία στη λακτόζη	Αναποτελεσματική πέψη της λακτόζης, λόγω ανεπάρκειας λακτάσης (είτε λόγω μη επιμονής της λακτάσης είτε άλλων εντερικών παθήσεων)
Δυσαπορρόφηση λακτόζης	Ανεπαρκής απορρόφηση της λακτόζης, καθώς ο δισακχαρίτης δεν μπορεί να αφομοιωθεί σε άπεπτη μορφή
Δυσανεξία στη λακτόζη	Γαστρεντερικά προβλήματα που οφείλονται σε δυσαπορρόφηση της λακτόζης

2.4.1 Ανεπάρκεια Λακτάσης

Αναφορικά με την ανεπάρκεια λακτάσης, χρειάζεται να σημειωθεί ότι η συγγενής ανεπάρκεια λακτάσης (αλακτασία), η οποία είναι εξαιρετικά σπάνια, οφείλεται στην κληρονομικότητα 2 ελαττωματικών αλληλόμορφων του γονιδίου LCT. Το βρέφος μπορεί να υποφέρει από υδαρή διάρροια αφού τραφεί με μητρικό γάλα ή τροφή που περιέχει γάλα και μπορεί να γίνει σοβαρή κατάσταση, καθώς η έλλειψη θρεπτικών συστατικών μπορεί να οδηγήσει σε καθυστέρηση ανάπτυξης, αφυδάτωση και αλκάλωση. Πριν από τον 20ο αιώνα, τα βρέφη με συγγενή ανεπάρκεια λακτάσης δεν ήταν εφικτό να επιβιώσουν καθώς δεν ήταν προσιτά επαρκή υποκατάστατα γαλακτος χωρίς λακτόζη.

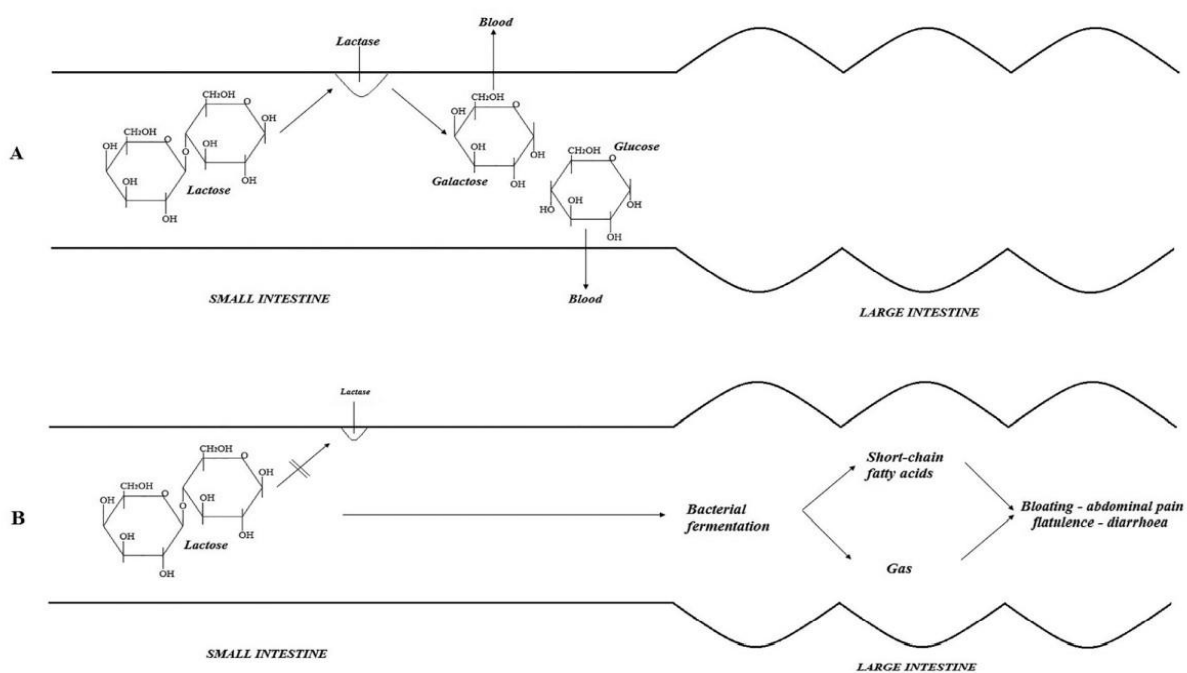
Επιπλέον, η πρωτοπαθής ανεπάρκεια λακτάσης, κοινώς υπολακτασία των ενηλίκων προκαλείται από τη μη ανθεκτικότητα στη λακτάση, με τα επίπεδα των ενζύμων να μειώνονται προοδευτικά ξεκινώντας από την ηλικία των 2-5 ετών, ανάλογα με την εθνικότητα. Η δευτερογενής υπολακτασία περιλαμβάνει την απώλεια του ενζύμου λακτάσης λόγω άλλων κλινικών καταστάσεων που επηρεάζουν τον εντερικό σωλήνα. Δεδομένου ότι αυτό το ένζυμο βρίσκεται στην κορυφή της δωδεκαδακτυλικής λάχνης, όλες οι παθολογικές καταστάσεις που αφορούν τις μικρολάχνες μπορεί να έχουν ως αποτέλεσμα τη μείωση της λακτάσης. Μόλις επιλυθεί το κύριο πρόβλημα, τα προϊόντα που περιέχουν λακτόζη μπορούν συχνά να καταναλωθούν κανονικά. Οι κλινικές καταστάσεις που οδηγούν σε δευτεροπαθή υπολακτασία μεταξύ άλλων είναι :

- σοβαρός υποσιτισμός
- κοιλιοκάκη
- φλεγμονώδεις ασθένειες του εντέρου (νόσος του Crohn, ελκώδης κολίτιδα)
- ορισμένες φαρμακολογικές θεραπείες (καναμυκίνη, νεομυκίνη, πολυμυκίνη, τετρακυκλίνη, κολχικίνη και άλλα χημειοθεραπευτικά φάρμακα)
- ορισμένες μετεγχειρητικές καταστάσεις, όπως το σύνδρομο στάσιμου βρόχου ή το σύνδρομο βραχέος εντέρου (Fassio et al.,2018).

2.4.2 Δυσανεξία στη λακτόζη: κλινικά χαρακτηριστικά και επιπλοκές

Η δυσανεξία στη λακτόζη χαρακτηρίζεται από την εμφάνιση συμπτωμάτων που επηρεάζουν το πεπτικό σύστημα. Κατά κύριο λόγο, προκύπτουν από τη ζύμωση της λακτόζης στην περιοχή του παχέος εντέρου όμως η απορρόφησή της είναι μειωμένη λόγω ανεπάρκειας του ενζύμου λακτάσης (Leis et al.,2020). Τα πιο συχνά συμπτώματα που παρουσιάζουν τα άτομα με δυσανεξία στην λακτόζη είναι: κοιλιακό άλγος, υπέρμετρη παραγωγή αερίων, διάρροια ή δυσκοιλιότητα, ναυτία και εμετό. Κατά μέσο όρο εμφανίζονται συνήθως μία ώρα μετά την κατανάλωση τροφών που περιέχουν λακτόζη. Γενικά, τα συμπτώματα της παθογένειας παρουσιάζονται όταν το ποσοστό δραστηριότητας της λακτάσης είναι μικρότερο από 50%. Αναμφίβολα, η παραγωγή αερίων επιφέρει πόνο, κοιλιακή διάταση και μετεωρισμό καθώς και ήχους βουητών εξαιτίας της κίνησης των αερίων στο πεπτικό σύστημα. Αυτό συμβαίνει επειδή η λακτόζη δεν αφομοιώνεται στο λεπτό έντερο εντούτοις ζυμώνεται από την βακτηριακή χλωρίδα του εντέρου. Όπως είναι φυσικό, δεν εμφανίζουν όλοι οι ασθενείς συμπτώματα της ίδιας έντασης κι αυτό γιατί η ποσότητα του αερίου που παράγεται διαφέρει από άτομο σε άτομο και εντοπίζεται εξάρτηση από την ευαισθησία στην κοιλιακή διάταση. Επιπλέον, σημαντικό ρόλο λαμβάνει η βακτηριακή χλωρίδα του παχέος εντέρου όπου σε περίπτωση αλλοίωσης μπορεί να συμβάλλει στην αυξανόμενη παραγωγή αερίων καθώς και στον πολλαπλασιασμό των βακτηρίων.

Εκτός από την παραγωγή αερίων, ένα σύμπτωμα που επηρεάζει την ποιότητα ζωής των ασθενών είναι η διάρροια. Αιτία πρόκλησης είναι η οξίνιση του εντερικού περιεχομένου η οποία είναι αποτέλεσμα της έντονης παραγωγής λιπαρών οξέων βραχείας αλυσίδας που αυξάνουν το οσμωτικό φορτίο. Χρειάζεται, επίσης, να σημειωθεί ότι μέρος των ατόμων με δυσανεξία κυριαρχείται από αισθήματα άγχους, κόπωσης ή/και κατάθλιψης. Πράγματι, η κατάσταση αυτή μπορεί να οδηγήσει σε μια διατροφική διαταραχή αφού οι ασθενείς τείνουν να μειώνουν την ημερήσια πρόσληψη τροφής με σκοπό την αποφυγή από τα προαναφερθέντα χαρακτηριστικά συμπτώματα της δυσανεξίας στη λακτόζη (Catanzaro et al.,2021).



Εικόνα 5 Α: Φυσιολογική αφομοίωση λακτόζης παρουσία λακτάσης , **Β:** Δυσανεξία στη λακτόζη λόγω ανεπάρκειας ή απουσίας λακτάσης και επακόλουθη εμφάνιση συμπτωμάτων (Catanzaro et al.,2021).

Είναι γεγονός ότι σε άτομα με δυσανεξία στην λακτόζη ενδεχομένως να παρουσιαστούν ορισμένα προβλήματα έξω από την εντερική περιοχή, όπως επιδείνωση μνήμης, πονοκέφαλος, μυοσκελετικοί πόνοι, διαταραχές του καρδιακού ρυθμού, έλκη στο στόμα, δυσπαρενία, διαταραχές του εμμηνορροϊκού κύκλου, έκζεμα και άλλες παθολογικές αντιδράσεις που βασίζονται σε αλλεργίες (ιγμορίτιδα, ρινίτιδα, άσθμα) ακόμη ακμή, πολυουρία. Όλα αυτά αποδίδονται στην υπερβολική παραγωγή χημικών ουσιών όπως ακετόνη, ακεταλδεϋδη, αιθανόλη και πεπτίδια που σχηματίζονται κατά

τη διάρκεια δυσαπορρόφησης της λακτόζης και τα οποία έχουν τοξικές επιδράσεις στον οργανισμό.

Πέρα όμως από τις διαταραχές που έχουν άμεση σχέση με τον τροποποιημένο μεταβολισμό της λακτόζης, είναι αλήθεια ότι τα άτομα με δυσανεξία έχουν μεγαλύτερη ευαισθησία στην ανάπτυξη ορισμένων ασθενειών. Αυτό πιθανόν να συμβαίνει λόγω της αλλοίωσης που έχει υποστεί το εντερικό μικροβίωμα αλλά και εξαιτίας της παραγωγής τοξικών ουσιών όπως σημειώθηκαν παραπάνω. Μπορεί να μην έχει αποσαφηνιστεί πλήρως ωστόσο, είναι ευρύτατα διαδεδομένη η άποψη ότι οι ουσίες που περιέχονται στα γαλακτοκομικά προϊόντα φέρουν ευεργετικές ιδιότητες και η αποτυχία αφομοίωσής τους εκθέτει τα άτομα με δυσανεξία σε αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης ασθενειών συμπεριλαμβανομένων ορισμένων τύπων καρκίνου (Catanzaro et al.,2021).

2.5 Διάγνωση

Στην αρχή, η πιο ακριβής διαθέσιμη μέθοδος για την διάγνωση της δυσανεξίας στην λακτόζη ήταν η βιοχημική ανάλυση της δραστηριότητας της λακτάσης σε δείγμα προερχόμενο από την περιοχή της νήστιδος. Η διαδικασία αυτή πραγματοποιούταν με την χρήση του αντιδραστηρίου οξειδάση της γλυκόζης, το οποίο ανιχνεύει την γλυκόζη που απελευθερώνεται από την λακτόζη. Αργότερα, η διαδικασία αυτή αντικαταστάθηκε από την ενδοσκοπική βιοψία δωδεκαδακτύλου. Οι δοκιμές ανοχής στην λακτόζη αναπτύχθηκαν με στόχο την επιβεβαίωση της ικανότητας της εντερικής λακτάσης να υδρολύει και να απορροφά την λακτόζη, αποφεύγοντας τις την εξέταση βιοψίας (Mattar et al,2012).

Απ' όλες τις έμμεσες δοκιμές ανοχής στη λακτόζη, ο έλεγχος αναπνοής υδρογόνου (Hydrogen Breath Test) βασίζεται στην ζύμωση της άπεπτης λακτόζης από την εντερική χλωρίδα, απελευθερώνοντας υδρογόνο, μεθάνιο και διοξείδιο του άνθρακα. Αέρια που προξενούν φούσκωμα, μετεωρισμό, διάρροια και κοιλιακό άλγος. Ενώ η δοκιμή αυτή έχει ευρεία χρήση, η αξιοπιστία της υπόκειται στην δραστηριότητα της βακτηριακής χλωρίδας. Ενδεχομένως, μπορεί να προκύψει ένα ψευδώς αρνητικό αποτέλεσμα εάν έχουν χορηγηθεί στο διάστημα ενός μήνα πριν την εξέταση αντιβιοτικά, ή εάν το pH του παχέος εντέρου είναι ιδιαίτερα όξινο ώστε να διακόψει

τη βακτηριακή δραστηριότητα, ακόμη κι αν έχει υπάρξει προσαρμογή στη βακτηριακή χλωρίδα ως αποτέλεσμα της συνεχούς έκθεσης στη λακτόζη (Mattar et al,2012).

Πέρα όμως από τα ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα, μπορούν να ληφθούν και ψευδώς θετικά επίσης. Οι αιτίες δύναται να εντοπιστούν σε ορισμένες καταστάσεις όπως, η έντονη σωματική άσκηση με μικρή χρονική απόκλιση από την πραγματοποίηση της εξέτασης. Επιπλέον, η πρόσφατη χορήγηση φαρμάκων φερειπείν ασπιρίνης ή αναστολείς της αντλίας πρωτονίων μπορεί να οδηγήσει σε ψευδώς θετικό αποτέλεσμα. Ένας ακόμη παράγοντας, είναι το κάπνισμα καθώς η καύση του καπνού επιφέρει αύξηση των αερίων συγκαταλέγοντας το υδρογόνο. Θα ήταν παράληψη να μην αναφερθούν τρόφιμα όπως τα φασόλια και το καλαμπόκι που προκαλούν αύξηση της παραγωγής υδρογόνου, του οποίου η συγκέντρωση σημειώνει ανοδική πορεία στον εκπνεόμενο από τον άνθρωπο αέρα (Catanzaro et al.,2021).

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, έχουν εντοπιστεί πολυμορφισμοί ως προς το γονίδιο που κωδικοποιεί την λακτάση και έχουν συσχετισθεί με την εμφάνιση της πάθησης. Εύλογα λοιπόν πραγματοποιείται έλεγχος δυσανεξίας στη λακτόζη μέσω γενετικού τεστ, που βασίζεται στην απομόνωση DNA από δείγμα αίματος και ανάλυση των παραλλαγών *LCT-13910C/T* και *LCT-22018G/A*. Ωστόσο, αυτή η δοκιμή υπόκειται σε περιορισμούς. Η παρουσία ενός πολυμορφισμού C/C ή G/G δημιουργεί προδιάθεση για δυσανεξία χωρίς όμως να υπάρχει δυνατότητα πρόβλεψης, αν ή ποτέ θα παρουσιαστεί. Επίσης, η μέθοδος αυτή δεν επιτρέπει την ανίχνευση δευτερογενούς δυσανεξίας μολονότι είναι σημαντικό να διακριθεί η πρωτοπαθής από την δευτεροπαθή έλλειψη λακτάσης ώστε ο ασθενής να λάβει την κατάλληλη αγωγή. Επομένως, το γενετικό τεστ συνιστάται να διενεργηθεί αφού εξακριβωθεί με χρήση άλλης μεθόδου η δυσανεξία στην λακτόζη για να αποκλειστεί ή να επιβεβαιωθεί μια πρωτοπαθής μορφή. Μία περίπτωση στην οποία το γενετικό τεστ προτιμάται ως αρχική επιλογή διάγνωσης είναι η ύπαρξη συνθηκών που δεν επιτρέπουν να πραγματοποιηθούν οι άλλες μέθοδοι είναι για παράδειγμα τα παιδιά ηλικίας κάτω των 6 ετών.

Η γρήγορη δοκιμή λακτάσης (Quick Lactase Test) βασίζεται στη διενέργεια εξέτασης βιοψίας του δωδεκαδακτύλου. Ακολουθεί επώαση με λακτόζη σε δοκιμαστική πλάκα στοχεύοντας στον έλεγχο της παρουσίας ή απουσίας δραστηριότητας της λακτάσης. Εάν εντοπιστεί δραστηριότητα λακτάσης, εμφανίζεται μια σκούρα μπλε αντίδραση. Εάν υπάρχει μερική ενζυμική δραστηριότητα θα εμφανιστεί ένα ανοιχτό μπλε χρώμα.

Ενώ αν δεν αναπτυχθεί χρώση συνεπάγεται πλήρης απουσία λακτάσης άρα υπολακτασία.

Τέλος, ο έλεγχος δυσανεξίας στην λακτόζη (Lactose Tolerance Test) περιλαμβάνει την χορήγηση 50 g λακτόζης και ακολούθως μέτρηση της γλυκόζης στο αίμα πριν από την λήψη της ποσότητας λακτόζης αλλά και μετά το πέρας 30, 60 και 120 λεπτών από την λήψη. Η αφομοίωση της λακτόζης επιφέρει αύξηση της περιεκτικότητας της γλυκόζης στο αίμα. Απεναντίας, όταν δεν παρατηρείται αυτή η αύξηση συνεπάγεται με αδυναμία απορρόφησης λακτόζης. Πρέπει να αναφερθεί ότι η δοκιμή αυτή λαμβάνει χώρα σπάνια εξαιτίας της χαμηλής ευαισθησίας και ακρίβειας που προσφέρει. Υποστηρίζεται εσφαλμένα τεστ εμφανίζονται στο 20% των φυσιολογικών ατόμων. Τα αποτελέσματα αυτά αποδίδονται στον χρόνο εκκένωσης του στομάχου, ο οποίος ποικίλει από ασθενή σε ασθενή και στον μεταβολισμό της γλυκόζης που είναι επίσης υποκειμενική παράμετρος (Catanzaro et al.,2021).

2.6 Θεραπεία

Ένα θέμα που απασχολεί την ιατρική κοινότητα είναι η μη επαρκής λήψη απαραίτητων θρεπτικών συστατικών των γαλακτοκομικών τροφίμων εξαιτίας της αποφυγής τους από τα άτομα με δυσανεξία στη λακτόζη. Για παράδειγμα, το ασβέστιο κι η βιταμίνη D είναι αναγκαία συστατικά για την ανάπτυξη και τη συντήρηση των οστών σε παιδιά και ενήλικες, αντίστοιχα. Τα γαλακτοκομικά προϊόντα προμηθεύουν τον οργανισμό με περισσότερο ασβέστιο, πρωτεΐνες, μαγνήσιο, κάλιο, ψευδάργυρο και φώσφορο ανά θερμίδα από οποιαδήποτε άλλη τροφή που βρίσκεται στο διατροφικό πρόγραμμα των ενηλίκων καθώς η διαθεσιμότητα και το σχετικά χαμηλό κόστος των γαλακτοκομικών προϊόντων κάνει την κατανάλωσή τους πιο βολική. Ωστόσο, τα άτομα με δυσανεξία που υποφέρουν από ορισμένα συμπτώματα χρήζουν λήψης πρόσθετης θεραπείας πέρα από την μειωμένη πρόσληψη λακτόζης που όπως είναι φυσικό δεν αρκεί. Ακολουθούν εναλλακτικές προτάσεις :

Προϊόντα χωρίς / μειωμένη λακτόζη: Η αποφυγή όλων των γαλακτοκομικών προϊόντων σε ασθενείς με δυσανεξία στη λακτόζη δεν προτείνεται πλέον. Η πλειοψηφία των ατόμων με δυσανεξία στη λακτόζη δύνανται να ανεχθούν έως και 12-15 g λακτόζης / ημέρα. Είναι θεμιτό τα άτομα αυτά να καθοδηγούνται να μετριάσουν

αντί να αποφεύγουν τη λακτόζη έτσι ώστε να εμπλουτίσουν με μερικά γαλακτοκομικά προϊόντα τη διατροφή τους και να επωφεληθούν από τα σχετικά θρεπτικά συστατικά και την υψηλότερη βιοδιαθεσιμότητά τους. Σημαντικό κομμάτι της θεραπείας αποτελεί η ενημέρωση των καταναλωτών από τους παρόχους υγείας σχετικά με τις διατροφικές δυσαναλογίες μεταξύ των γαλακτοκομικών προϊόντων και των μη γαλακτοκομικών υποκατάστατων. Παράλληλα, η βιομηχανία τροφίμων μπορεί να συμβάλει βελτιώνοντας τις ετικέτες των προϊόντων, υποδεικνύοντας την περιεκτικότητα σε λακτόζη και παρακάμπτοντας παραπλανητικούς ισχυρισμούς. Όσο αφορά την κυβέρνηση θα ήταν συνετό να θεσπίσει νομοθεσία που να τυποποιεί τον ορισμό «χωρίς λακτόζη» και «μειωμένη λακτόζη» και να καταστήσει υποχρεωτική την αναφορά περιεκτικότητας λακτόζης στις διατροφικές ετικέτες (Szilagyi & Ishaq, 2018). Περισσότερες πληροφορίες για τα προϊόντα αυτής της κατηγορίας αναγράφονται στο κεφάλαιο 6.

Πίνακας 6: Συστάσεις για την βελτίωση της διατροφικής επάρκειας, την αποφυγή των ελλείψεων και την ανακούφιση των συμπτωμάτων ατόμων που έχουν διαγνωστεί με δυσανεξία στην λακτόζη

Σταδιακή ένταξη του αγελαδινού γάλακτος	Εκκίνηση με 30–60 mL/ημέρα και βαθμιαία αύξηση με μέγιστο όριο 250 mL/ημέρα. Η κατανάλωση συνιστάται να γίνεται συνοδεία γευμάτων και όχι με άδειο στομάχι για να επιβραδύνει την απελευθέρωση της λακτόζης στο λεπτό έντερο. Το πλήρες γάλα ενδέχεται να είναι καλύτερα ανεκτό λόγω του πιο αργού χρόνου μεταφοράς. Η συνοχή της κατανάλωσης σε καθημερινή βάση είναι το κλειδί για την δόμηση ανεκτικότητας
Ένταξη παλαιωμένων τυριών	Γενικώς ανεκτά λόγω της χαμηλής περιεκτικότητάς τους σε λακτόζη (0,1–0,9 g λακτόζης σε 30 g σκληρού τυριού)
Ένταξη γαλακτοκομικών προϊόντων με μειωμένη λακτόζη	Είναι διατροφικά όμοια με τα τυπικά γαλακτοκομικά προϊόντα

Χρήση δισκίων και σταγόνων λακτόζης	Μπορεί να ληφθεί πριν από την κατανάλωση γαλακτοκομικών τροφίμων ή ταυτόχρονα
Εισαγωγή άλλων πηγών ασβεστίου όπως όπως σκούρα πράσινα φυλλώδη λαχανικά, αποξηραμένα φασόλια και όσπρια	Τα πράσινα φυλλώδη λαχανικά έχουν το πρόσθετο πλεονέκτημα ότι συνεισφέρουν σε βιταμίνη Κ, η οποία παίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση του ασβεστίου και στο σχηματισμό των οστών. Η βιοδιαθεσιμότητα του ασβεστίου από αυτά τα τρόφιμα είναι χαμηλότερη από αυτή των γαλακτοκομικών λόγω των ινών, του φυτικού και οξαλικού οξέος. Πηγές μη γαλακτοκομικών τροφίμων που αξιολογήθηκαν ότι προσφέρουν την ίδια ποσότητα ασβεστίου με μία μερίδα γαλακτοκομικών (250 mL γάλα) είναι το ρόφημα σόγιας, το αποστεωμένο ψάρι και πράσινα φυλλώδη λαχανικά. Αξίζει να σημειωθεί ότι αυτά τα τρόφιμα δεν παρέχουν το ισοδύναμο προφίλ άλλων θρεπτικών συστατικών και οι ποσότητες που απαιτούνται μπορεί να είναι μη ρεαλιστικό να καταναλωθούν σε ορισμένες περιπτώσεις
Κατανάλωση προϊόντων που έχουν υποστεί ζύμωση όπως η γιαούρτη	Τέτοια προϊόντα προκύπτουν από βακτηριακή ζύμωση της λακτόζης του γάλακτος σε γαλακτικό οξύ. Τα γιαούρτια είναι επίσης πηγή προβιοτικών και πρεβιοτικών και ασκούν ευεργετικά αποτελέσματα στη μικροχλωρίδα του γαστρεντερικού συστήματος. Τα τεχνητά καλλιεργημένα βιολογικά γιαούρτια και γάλατα που περιέχουν επιπλέον βακτηριακά στελέχη έχουν κυκλοφορήσει στην αγορά τα τελευταία χρόνια.

Μη γαλακτοκομικά υποκατάστατα και σύγκριση εγγενών θρεπτικών συστατικών με γαλακτοκομικά προϊόντα: Η κατανάλωση μη γαλακτοκομικών υποκατάστατων έχει αυξηθεί και η βιομηχανία τροφίμων ανταποκρίθηκε προμηθεύοντας τα ράφια των σούπερ μάρκετ με αυτά. Τέτοια προϊόντα προέρχονται κυρίως από φυτά, όπως η σόγια, το ρύζι, η κάνναβη, η βρώμη, η καρύδα, το αμύγδαλο και άλλοι ξηροί καρποί. Δύναται να ενισχυθούν με ένα ή περισσότερα από τα ακόλουθα: ασβέστιο, βιταμίνες D, A, B12 και ριβοφλαβίνη. Ορισμένες εταιρείες παραγωγής χρησιμοποιούν τον όρο «γάλα» στο

όνομα των προϊόντων τους και επιθυμούν αυτά να τοποθετούνται στον διάδρομο των ψυγείων δίπλα στο γαλακτοκομικό γάλα, πιθανώς με σκοπό να παραπλανούν τους καταναλωτές ώστε να πιστεύουν ότι αυτά τα εναλλακτικά προϊόντα έχουν ίδια θρεπτική αξία με το γάλα.

Το προφίλ θρεπτικών συστατικών, όπως αναγράφεται στις ιστοσελίδες των εμπορικών εταιρειών που ασχολούνται με την παραγωγή φυτικών μη γαλακτοκομικών ποτών που διατίθενται στα ράφια των καναδικών υπεραγορών συγκρίθηκε με αυτό του πλήρους αγελαδινού γάλακτος σύμφωνα με τη βάση δεδομένων Canada Nutrient File. Τα προϊόντα που αναλύθηκαν ήταν συνθέσεις πρωτότυπων (χωρίς γεύση) και χωρίς ζάχαρη ποικιλιών. Αναμφίβολα, το γαλακτοκομικό γάλα είναι μια εξαιρετική πηγή πολλών θρεπτικών συστατικών, όπως ασβεστίου, βιταμίνης D, καθώς και πρωτεΐνης. Η ποιότητα της πρωτεΐνης, η οποία βασίζεται στη σύνθεση αμινοξέων, την ευπεψία και τη βιοδιαθεσιμότητα, πρέπει επίσης να λαμβάνεται υπόψη. Η πρωτεΐνη αγελαδινού γάλακτος λαμβάνει ποσοστό >100% DIAAS (Digestible Indispensable Amino Acid Score) που την καθιστά πρωτεΐνη υψηλότερης ποιότητας (Szilagyi & Ishayek,2018). Εάν ένα τρόφιμο έχει τιμή DIAAS μεγαλύτερη από εκατό, μπορεί να θεωρηθεί ως πηγή πρωτεΐνης «άριστης ποιότητας». Ενώ εάν το τρόφιμο λαμβάνει τιμή DIAAS μεταξύ 75 και 99 μπορεί να θεωρηθεί πηγή πρωτεΐνης «καλής» ποιότητας. Ωστόσο, ένα τρόφιμο με τιμή DIAAS μικρότερη από 75 δεν συγκαταλέγεται ως πρωτεΐνη (FAO, όπως αναφέρουν οι Bailey & Stein,2019).

Μέχρι πρόσφατα, το εμπλουτισμένο ρόφημα σόγιας ήταν δεύτερο στην κατάταξη προτίμησης μετά το γαλακτοκομικό γάλα. Σύντομα όμως αναπτύχθηκε ένα νέο μη γαλακτοκομικό ρόφημα με την ετικέτα «μη γαλακτοκομικό φυτικό γάλα» ή «γάλα μπιζελιού». Παρασκευάζεται από απομονωμένη πρωτεΐνη κίτρινου άλευρου μπιζελιού. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι υπερτερεί του γαλακτοκομικού γάλακτος σε περιεκτικότητα πρωτεϊνών και ασβεστίου, αλλά η βιοδιαθεσιμότητα παραμένει άγνωστη. Δεν παρασκευάζονται όλα τα φυτικής προέλευσης ποτά σύμφωνα με τα ίδια πρότυπα και στις εμπλουτισμένες παραλλαγές προστίθενται θρεπτικά συστατικά σε ποσότητες που μιμούνται εκείνες που υπάρχουν στο γάλα. Ωστόσο, η αναλογία αυτών των θρεπτικών συστατικών που απορροφώνται μετά τον εμπλουτισμό δεν έχει αποσαφηνιστεί. Η βιταμίνη D που προστίθεται στα ροφήματα φυτικής προέλευσης έχει τη μορφή D2 (εργοκαλσιφερόλης) φυτικής προέλευσης και υπάρχουν επιστημονικά

δεδομένα που υποδεικνύουν την ανώτερη βιοδιαθεσιμότητα της D3 (χοληκαλσιφερόλη) με την οποία εμπλουτίζεται το γαλακτοκομικό γάλα.

Τα φυτικά υποκατάστατα γαλακτοκομικών, όταν καταναλώνονται ως κύρια ποτά, μπορεί να έχουν σημαντικές επιπτώσεις στην υγεία, ειδικά για τα μικρά παιδιά (1-8 ετών). Μια καναδική μελέτη ανέφερε ότι η κατανάλωση αυτών των ποτών συσχετίστηκε με χαμηλότερο ύψος στην παιδική ηλικία. Πηγή ικανοποιητικού επιπέδου θρεπτικών συστατικών θεωρούνται το αγελαδινό γάλα και το εμπλουτισμένο ρόφημα σόγιας για αυτήν την ηλικιακή ομάδα. Η πρωτεΐνη, το ασβέστιο και η βιταμίνη D είναι απαραίτητα για την ανάπτυξη του ανθρώπου. Επιπλέον, η κατανάλωση μη γαλακτοκομικών υποκατάστατων όσο αφορά τα παιδιά μπορεί να οδηγήσει σε πρόιμο κορεσμό, να μειώσει την πείνα και να υποκαταστήσει άλλα πιο θρεπτικά τρόφιμα. Πολλά από αυτά τα υποκατάστατα με την προσθήκη ζάχαρης, μελιού, αγαύης, ή άλλων γλυκαντικών συμβάλλουν με κενές θερμίδες στη διατροφή (Szilagyι & Ishayek,2018).

Χρήση Ενζύμων: Η λακτάση που παράγεται σε μεγάλο βαθμό από μύκητες ή ζυμομύκητες υπάρχει η δυνατότητα να ληφθεί πριν το φαγητό ή να προστεθεί στα γαλακτοκομικά γεύματα για να βοηθήσει στην πέψη της λακτόζης. Τα ένζυμα αυτά εντοπίζονται στην αγορά με την μορφή γέλης, υγρού, κάψουλας ή δισκίου. Μελέτη που δημοσιεύτηκε πριν από 20 χρόνια περίπου συνέκρινε τρία σκευάσματα λακτάσης με 3000 και 6000 IU β-γαλακτοσιδάσης για γάλα περιεκτικότητας 20 ή 50 g λακτόζης. Στην περίπτωση του γάλακτος που περιέχει 20 g λακτόζης τα επίπεδα υδρογόνου στην αναπνοή μειώθηκαν σημαντικά. Επίσης, δεν σημειώθηκαν σημαντικές αλλαγές με κανένα από τα σκευάσματα λακτόζης των 50 g. Οι συνδυασμοί του ενζύμου λακτάση με λυοφιλοποιημένη γιαούρτη, έδειξαν ότι βελτιώνουν τη μεταβλητότητα του υδρογόνου της αναπνοής και των συμπτωμάτων. Σε μια, τυχαία, ελεγχόμενη δοκιμή σε 24 ασθενείς, δοκιμάστηκαν 12,5 g λακτόζης με την κατανάλωση λυοφιλοποιημένης γιαούρτης σε συνδυασμό με λακτάση. Το αποτέλεσμα έδειξε ότι η υδρόλυση της λακτόζης στην περίπτωση αυτή ήταν πληρέστερη συγκριτικά με την λήψη ποσότητας σκευάσματος λακτάσης (Szilagyι & Ishayek,2018).

Προσαρμογή και Πρεβιοτικά: Η έννοια της προσαρμογής στη δυσανεξία στη λακτόζη χρονολογείται στα μέσα του 20ου αιώνα, όταν σε κάποιες αναπτυσσόμενες χώρες χορηγήθηκε γάλα σε σκόνη. Τα πρωταρχικά συμπτώματα της τυπικής δυσανεξίας μειώθηκαν και δεν ήταν λίγες οι περιπτώσεις όπου μετά από περίπου ένα μήνα τακτικής κατανάλωσης γάλακτος σε σκόνη υποχώρησαν εντελώς. Η αρχή της προσαρμογής υποδείχθηκε από τους Hertzler και Saviano όταν 16 άτομα με δυσπεψία στη λακτόζη και με αναμενόμενες ενδείξεις υδρογόνου στην αναπνοή μετατράπηκαν σε άτομα που απορροφούν την λακτόζη μετά από 16 ημέρες καθημερινής και αυξανόμενης κατανάλωσης λακτόζης (Hertzler & Saviano, όπως αναφέρουν οι Szilagyi & Ishayek, 2018). Επίσης, σημειώθηκε βελτίωση στο πρήξιμο, αλλά όχι στη διάρροια. Αυτές οι ευνοϊκές ενδείξεις μπορούν εν μέρει να εξηγηθούν ως πιθανή επίδραση του εικονικού φαρμάκου, όμως το βελτιωμένα επίπεδα υδρογόνου στην αναπνοή είναι πιο δύσκολο να ερμηνευτούν. Τα χαρακτηριστικά αυτών των προσαρμοστικών μεθόδων αναπαράχθηκαν αργότερα. Οι διαφορές αποδόθηκαν από εναλλακτικές ενέργειες χορήγησης λακτόζης όπως τακτική λήψη χαμηλής δόσης λακτουλόζης. Η κλινική προσαρμογή αποδείχθηκε επίσης ότι οφείλεται σε αυξημένο αριθμό βακτηρίων γαλακτικού οξέος τόσο *in vitro* όσο και *in vivo*. Πρόσφατα, μια κλινική δοκιμή από την Κίνα έδειξε ότι στα άτομα με δυσαπορρόφηση στη λακτόζη, η χορήγηση ενός φλυτζανιού πλήρους γάλακτος (250 mL) για τέσσερις εβδομάδες επέφερε σημαντικές αλλαγές στα μικροβιακά είδη σε σύγκριση με όσους αφομοιώνουν κανονικά το σάκχαρο. Ωστόσο, οι δείκτες λιπαρών οξέων βραχείας αλυσίδας ή καρδιομεταβολικοί δείκτες δεν διέφεραν σημαντικά. Βάση φαρμακευτικής θεραπείας, η συστηματική λήψη των πρεβιοτικών, γαλακτο-ολιγοσακχαριτών έχει αποδειχθεί ότι βελτιώνει τόσο τα συμπτώματα όσο και την απόκριση υδρογόνου στην αναπνοή. Πλέον, το σκεύασμα αυτό έχει εγκριθεί από τον FDA και είναι διαθέσιμο (Szilagyi & Ishayek, 2018).

Προβιοτικά: Τα βακτήρια που διαθέτουν β-D-γαλακτοσιδάση είναι ενδεχομένως χρήσιμα για την πέψη της περίσσειας της εντερικής λακτόζης και έτσι αποφεύγονται τα συμπτώματα της δυσανεξίας. Πολλά τέτοια βακτήρια παράγουν γαλακτικό οξύ και είναι γνωστά ως προβιοτικά. Τα προβιοτικά όπως έχει ήδη αναφερθεί, ορίζονται ως ζωντανοί μικροοργανισμοί που όταν χορηγούνται σε επαρκείς ποσότητες συμβάλουν στην διατήρηση της υγείας του ξενιστή. Τα προβιοτικά μπορούν να χορηγηθούν με

φυσικό τρόπο ως μέρος της ζύμωσης του γάλακτος και των γαλακτοκομικών προϊόντων όπως η γιαούρτη, το κεφίρ και άλλα. Τα προβιοτικά μπορούν να προστεθούν επιπλέον σε αυτά ή να χορηγηθούν ανεξάρτητα από άλλα τρόφιμα. Η γιαούρτη παράγεται μέσω ζύμωσης από βακτήρια του γαλακτικού οξέος. Οι μικροοργανισμοί που χρησιμοποιούνται παραδοσιακά είναι ο *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* και ο *Streptococcus thermophilus*. Άλλα βακτήρια με προβιοτικές ιδιότητες, όπως άλλα στελέχη γαλακτοβακίλλων και *bifidobacteria*, μπορούν να προστεθούν για την παραγωγή γιαούρτης με προβιοτικές ιδιότητες. Αυτά τα βακτήρια διαθέτουν β-γαλακτοσιδάση, η οποία υδρολύει τη λακτόζη και μειώνει το pH της γιαούρτης. Επιπροσθέτως, έχει βρεθεί ότι η βακτηριακή πέψη της λακτόζης συνεχίζεται στο λεπτό έντερο με αποτέλεσμα να προκαλούνται λιγότερες ωσμωτικές δυνάμεις από τη λακτόζη που οδηγούν σε παρατεταμένο χρόνο διέλευσης της τροφής από το στόμα στο τυφλό έντερο, καθώς και σε λιγότερα αέρια και κοιλιακό άλγος. Ωστόσο, η υψηλή συγκέντρωση λακτόζης εξακολουθεί να μην ενδείκνυται για κατανάλωση από άτομα με δυσανεξία στη λακτόζη. Το όφελος από την άμεση κατανάλωση προβιοτικών είναι εν μέρει ασαφές καθώς οι μελέτες που δείχνουν ποικίλα αποτελέσματα.

Αν και τα προβιοτικά για την πέψη της λακτόζης γενικά διαθέτουν β-γαλακτοσιδάση, μια έρευνα αντιπαρέβαλλε την μικροχλωρίδα του παχέος εντέρου που περιέχει β-γαλακτοσιδάση μεταξύ ατόμων με ανθεκτικότητα στη λακτόζη και μη ανεκτικών και δεν εντοπίστηκαν στατιστικά αξιοσημείωτες διαφορές. Όπως σημειώθηκε στην περίπτωση της γιαούρτης, το ένζυμο λακτάση ενεργοποιείται μερικώς στο λεπτό έντερο λόγω της επιβράδυνσης της εντερικής διέλευσης. Σε ένα μοντέλο ποντικού, η χορήγηση του μικροοργανισμού *Ligilactobacillus salivarius* βρέθηκε να έχει ανεπαίσθητα εναλλασσόμενα αποτελέσματα. Αυτά αποδόθηκαν στην παραγωγή βακτηριοτοξικών πρωτεϊνών από τον *L. salivarius*. Έτσι, στην περίπτωση της άμεσης κατανάλωσης προβιοτικών, ο τρόπος χορήγησης και κυρίως, η διάρκεια χορήγησης είναι λιγότερο σαφής.

Για παράδειγμα, παρουσιάστηκαν βραχυπρόθεσμα οφέλη από τη χορήγηση του *Limosilactobacillus reuteri* με μειωμένο υδρογόνο της αναπνοής και βελτιωμένη συμπτωματολογία μετά από 10 ημέρες. Απεναντίας, μια άλλη μελέτη δεν κατάφερε να δείξει βελτίωση στο υδρογόνο της αναπνοής ή στα συμπτώματα μετά από 43 ημέρες υψηλής δόσης προβιοτικών. Ακόμη, μια άλλη μελέτη που χρησιμοποίησε δύο προβιοτικά στελέχη, το *Lacticaseibacillus casei* Shirota και το *Bifidobacterium breve*

φανέρωσε θετικές ενδείξεις σε σύντομο χρονικό διάστημα, περίπου μετά από τέσσερις εβδομάδες, ακόμη και μετά από τρεις μήνες, όταν η λήψη προβιοτικών είχε ήδη σταματήσει. Μια ακόμη πρόσφατη συστηματική ανασκόπηση αποτελούμενη από 15 τυχαίες ελεγχόμενες δοκιμές με συνδυασμό 8 διαφορετικών προβιοτικών στελεχών κατεύθυνε τους ερευνητές στο συμπέρασμα ότι, ενώ η αποτελεσματικότητα διαφοροποιούταν από άτομο σε άτομο, υπήρχε ένα γενικό όφελος σε αυτό το είδος θεραπείας (Szilagyι & Ishayek,2018).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΟΙ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΩΝ ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΩΝ ΣΤΗΝ ΔΥΣΑΝΕΞΙΑ ΤΗΣ ΛΑΚΤΟΖΗΣ

3.1 Οκτώ Προβιοτικά Στελέχη στη Θεραπεία της Δυσανεξίας στη Λακτόζη

Οι προβιοτικοί μικροοργανισμοί προάγουν την πέψη της λακτόζης σε μη ανεκτικά άτομα αυξάνοντας τη συνολική ικανότητα υδρόλυσης της στο λεπτό έντερο ταυτόχρονα με την ενίσχυση της εντερικής βακτηριακής ζύμωσης. Τα προβιοτικά έχουν την ικανότητα να μειώνουν τη συγκέντρωση λακτόζης στα προϊόντα που έχουν υποστεί ζύμωση καθώς και να αυξάνουν την ενεργότητα του ενζύμου λακτάση, το οποίο εισέρχεται στο λεπτό έντερο μέσω των προϊόντων που έχουν υποστεί ζύμωση. Παρακάτω αναλύεται η δράση οκτώ προβιοτικών στελεχών που μπορούν να συνεισφέρουν στην θεραπεία της δυσανεξίας στην λακτόζη.

Bifidobacterium longum : Το *Bifidobacterium longum* είναι ένα Gram-θετικό, μη κινητό και μη σπορογόνο βακτήριο του γαλακτικού οξέος. Είναι το περισσότερο διαδεδομένο στο ανθρώπινο σώμα κατά την πρώιμη βρεφική ηλικία. Μεταδίδεται από τη μητέρα στο παιδί μέσω της διαδικασίας της γέννησης και του θηλασμού. Ιδιαίτερο γνώρισμα του *B. longum* είναι η ικανότητά του να ζυμώνει υδατάνθρακες, ιδιαίτερα ολιγοσακχαρίτες. Το *B. longum* συνθέτει αρκετές γλυκοζυλ-υδρολάσες έτσι ώστε να μεταβολίσει σύνθετους ολιγοσακχαρίτες με σκοπό την λήψη άνθρακα και ενέργειας. Επίσης, το προβιοτικό στέλεχος *B. longum* επηρεάζει ευνοϊκά τη ζύμωση αμινοξέων, η οποία μπορεί να ενισχύσει τη διατήρηση των μυών και τη συνολική κυτταρική δομή. Ακόμη, έχουν γίνει αναφορές ότι *B. longum* φέρει διάφορες φυσιολογικές επιδράσεις, όπως: α) αποτελέσματα κατά των αλλεργικών αντιδράσεων, β) μείωση επιβλαβών βακτηρίων και γ) βελτίωση του εντερικού περιβάλλοντος όσο αφορά τη συχνότητα της αφόδευσης και τα χαρακτηριστικά των κοπράνων.

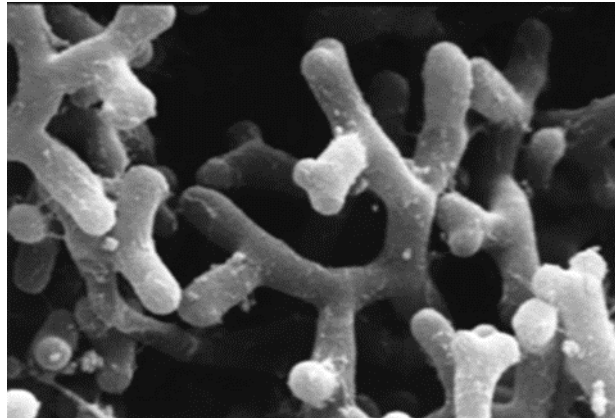
Ο μικροοργανισμός αυτός λοιπόν, αξιολογήθηκε σε μια μελέτη διάρκειας δύο εβδομάδων με συμμετέχοντες έντεκα άτομα με δυσανεξία στη λακτόζη. Η μελέτη έδειξε ότι το *B. longum* μπορεί να τροποποιεί τη σύνθεση και τις μεταβολικές δραστηριότητες της μικροχλωρίδας του παχέος εντέρου. Για να διεξαχθεί το συμπέρασμα αυτό πραγματοποιήθηκε μέτρηση του συνόλου των βακτηρίων της ομάδας *Eubacterium rectale* / *Clostridium coccoides* στα κόπρανα. Υπό το πρίσμα αυτό, αυξήθηκε σημαντικά η δραστηριότητα της β-γαλακτοζιδάσης κατά τη διάρκεια

της συμπληρωματικής λήψης. Το ίδιο παρατηρήθηκε και στον αριθμό των μπιφιδοβακτηρίων τόσο κατά τη διάρκεια της λήψης του προβιοτικού συμπληρώματος όσο και μετά από αυτή. Στο σημείο αυτό, πρέπει να αναφερθεί ότι δεν παρουσιάστηκε καμία αλλαγή στον βαθμό πέψης της λακτόζης στο λεπτό έντερο αλλά και στον χρόνο διέλευσης της τροφής από την στοματική κοιλότητα στο εντερικό τυφλό τόσο πριν όσο και μετά τη λήψη συμπληρώματος. Σε γενικές γραμμές, η ένταση της συμπτωματολογίας μετά την κατανάλωση λακτόζης μειώθηκε έπειτα από τη λήψη του συμπληρώματος.

Μελέτη του 2003 επιβεβαίωσε ότι η προσθήκη του συγκεκριμένου μπιφιδοβακτηρίου σε κάψουλες και σε γιαούρτη παρέχει τη δυνατότητα αντίστασης στις επιδράσεις του γαστρικού οξέος και του χολικού άλατος και δύναται να επιβιώνει στο κόλον. Ο ρόλος του *B.longum* εξετάστηκε σύμφωνα με τρεις πρόσθετες κλινικές δοκιμές σε άτομα που δεν εμφάνιζαν ανθεκτικότητα στη λακτόζη. Τα βακτήρια του παχέος εντέρου έδειξαν να επηρεάζονται από την χορήγηση του *B.longum*. Η μικροχλωρίδα του παχέος εντέρου φανέρωσε αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες που προστατεύουν τα κύτταρα από τις τοξίνες και βοηθούν στην ομαλή λειτουργία των κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος. Αργότερα το 2006, ερευνητές αξιολόγησαν την προσκόλληση του *B. longum* στην ανθρώπινη εντερική βλέννα και αντιπαρέβαλλαν τα αποτελέσματα με εκείνα των πειραμάτων ελέγχου που διεξήχθησαν με τα αρχικά ευαίσθητα σε οξύ στελέχη. Παρατήρησαν ότι στις μισές από τις τέσσερις περιπτώσεις που μελετήθηκαν, το ανθεκτικό στο οξύ παράγωγο δείχνει μεγαλύτερη ικανότητα προσκόλλησης στην ανθρώπινη εντερική βλέννα από το αρχικό ευαίσθητο σε οξύ στέλεχος. Επομένως, η ανθεκτικότητα σε οξύ που εμφανίζει το στέλεχος *B.longum* ενδέχεται να αποτελεί μια αξιολογη στρατηγική για την επιλογή στελεχών με ενισχυμένη σταθερότητα και βελτιωμένες επιφανειακές ιδιότητες που ευνοούν την λειτουργικότητά τους ως προβιοτικά έναντι συγκεκριμένων παθογόνων.

Συμπερασματικά, έξι μελέτες έδειξαν ότι η λήψη συμπληρωμάτων *B. longum* μπορεί να καλυτερέψει παθήσεις του εντέρου συμπεριλαμβανομένης της δυσανεξίας στη λακτόζη. Από τις μελέτες αυτές, κάποιες διερεύνησαν τις επιδράσεις των διαφορετικών υποστρωμάτων ανάπτυξης, της ευαισθησίας της χολής και της πέψης της λακτόζης συνεργιστικά με το *B. longum*. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το *B.longum* τροποποιεί το πλήθος και τις μεταβολικές δραστηριότητες του μικροβιώματος του παχέος εντέρου και ανακουφίζει από τα συμπτώματα της δυσανεξίας στη λακτόζη. Ωστόσο,

λαμβάνονται υπόψιν ορισμένα μειονεκτήματα που αφορούν πιθανές ανησυχίες για την υγεία για άτομα με εξασθενημένο ανοσοποιητικό σύστημα, σύνδρομο βραχέως εντέρου, κεντρικούς φλεβικούς καθετήρες, καρδιακή βαλβίδα και βρέφη πρόωρου τοκετού (Oak & Jha,2018).



Εικόνα 6 Ηλεκτρονική μικρογραφία σάρωσης *Bifidobacterium longum* (Ανακτήθηκε από https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/The_role_of_Bifidobacterium_longum_in_a_healthy_human_gut_community)

Bifidobacterium animalis: Το *Bifidobacterium animalis* είναι ένα θετικό κατά Gram, αναερόβιο βακτήριο σε σχήμα ράβδου που βρίσκεται στο παχύ έντερο. Το στέλεχος αυτό είναι ένα από τα πιο κοινά βακτήρια που βρίσκονται στη μικροχλωρίδα του εντέρου κι ένα από τα προβιοτικά που έχει τεκμηριωθεί περισσότερο. Τα οφέλη του *B.animalis* εμπερικλείουν μειωμένα επίπεδα χοληστερόλης ορού, προστασία από καρκίνο του παχέος εντέρου, ρύθμιση του χρόνου διέλευσης του εντέρου, βελτίωση της δυσκοιλιότητας και μείωση της φλεγμονής του εντέρου μέσω της διατήρησης της υγείας της μικροχλωρίδας του εντέρου. Το *B.animalis* εμφανίζει ανεκτικότητα στο γαστρικό οξύ και το χολικό άλας και παράγει υδρολάση χολικού άλατος (Oak & Jha,2018). Αυτό το βακτήριο φέρει σθεναρές ιδιότητες προσκόλλησης στον εντερικό βλεννογόνο, αναστέλλει τους παθογόνους μικροοργανισμούς και βελτιώνει τη λειτουργία του εντερικού φραγμού. Επίσης, ενισχύει την πέψη της λακτόζης και βελτιώνει τον χρόνο διέλευσης σε ασθενείς με δυσανεξία (Leis et al.,2020). Αποτελέσματα ερευνών έχουν υπογραμμίσει προστατευτικές ενδείξεις έναντι της διάρροιας και σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της μικροχλωρίδας του παχέος εντέρου.

Στη μελέτη του Le Luyer, τα συμπληρώματα με *B.animalis* και *B.longum* τροποποίησαν τη σύνθεση και τις μεταβολικές δραστηριότητες της μικροχλωρίδας του παχέος εντέρου. Οι μηχανισμοί με τους οποίους το *B.animalis* ασκεί τα αποτελέσματά του προς το παρόν δεν είναι πλήρως ευνόητοι, ωστόσο, οι παράγοντες που συνεισφέρουν είναι πιθανό να περιλαμβάνουν την μεταρρύθμιση του pH του εντέρου, την έκφραση της β-γαλακτοζιδάσης και την θετική επιρροή σχετικά με τις εντερικές λειτουργίες και τη μικροχλωρίδα του παχέος εντέρου.

Μια άλλη μελέτη από τον Zhong έδειξε ότι τα συμπτώματα της δυσανεξίας μειώθηκαν σημαντικά μετά τη λήψη συμπληρώματος *B. animalis*. Συγκεκριμένα, η δοκιμή πραγματοποιήθηκε με έντεκα άτομα με δυσανεξία στη λακτόζη και διεκπεραιώθηκε σε τρία στάδια: τη βασική περίοδο 7 ημερών, την περίοδο συμπλήρωσης 14 ημερών και την περίοδο 7 ημερών μετά τη χορήγηση του συμπληρώματος. Στο πλαίσιο αυτό, πραγματοποιήθηκαν δύο δοκιμασίες σχετικά με τη λακτόζη, η μία ημέρα πριν και η άλλη μία ημέρα μετά το χρονικό διάστημα λήψης του συμπληρώματος αξιολογήθηκε η ένταση των συμπτωμάτων και τα επίπεδα υδρογόνου στην αναπνοή. Γενικά, ο αριθμός των βακτηρίων στη μικροχλωρίδα του εντέρου αυξήθηκε σημαντικά κατά την περίοδο λήψης του προβιοτικού συμπληρώματος. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης, υποστηρίχθηκε ότι η λήψη του *B.animalis* θα μπορούσε:

- να ασκήσει επιρροή στα βακτήρια του παχέος εντέρου
- να αυξήσει τον αριθμό των κύριων ομάδων της μικροχλωρίδας του παχέος εντέρου, η οποία μπορεί να διαδραματίσει αξιόλογο ρόλο στην ανακούφιση των συμπτωμάτων της δυσανεξίας στη λακτόζη.

Το 2001 έλαβε χώρα η μελέτη των Bouvier et al., στην οποία χρησιμοποιήθηκε γάλα που έχει υποστεί ζύμωση και έχει εμπλουτιστεί με το στέλεχος *B.animalis*. Αποδείχθηκε ότι η καθημερινή κατανάλωση γάλακτος που έχει υποστεί ζύμωση και περιέχει *B.animalis* μπορεί να βελτιώσει τον συνολικό χρόνο διέλευσης της τροφής στον γαστρεντερικό σωλήνα σε άτομα με δυσανεξία στη λακτόζη. Ακόμη, η συχνότητα των κοπράνων βελτιώθηκε μετά τη λήψη προβιοτικού συμπληρώματος. Απεναντίας, σε μελέτη των Lenzi et al., εξήλθε το συμπέρασμα ότι η χορήγηση προβιοτικών συμπληρωμάτων *B.animalis* δεν ανακούφισε τα συμπτώματα της δυσανεξίας στη λακτόζη στους ενήλικες, καθώς δεν σημειώθηκαν σημαντικές αλλαγές στη συχνότητα

της διάρροιας, της κοιλιακής δυσφορίας και του μετεωρισμού μετά την κατανάλωση γάλακτος ή γαλακτοκομικών προϊόντων με προσθήκη *B.animalis*.

Εν κατακλείδι, οι διαθέσιμες κλινικές μελέτες για το *B.animalis* και την επίδρασή του στη δυσανεξία της λακτόζης δείχνουν έναν πιθανό ρόλο στην ανακούφιση της συμπτωματολογίας, που χρήζει βαθύτερης διερεύνησης (Le Luyer 2010. Zhong 2006. Bouvier et al. 2001. Levri et al. 2005, όπως αναφέρουν οι Oak & Jha,2018).

***Lactobacillus bulgaricus*:** Ο *Lactobacillus bulgaricus* είναι ένα θετικό κατά Gram, προαιρετικά αναερόβιο, μη κινητό βακτήριο του γαλακτικού οξέος. Όπως και άλλα οξυγαλακτικά βακτήρια, το *L.bulgaricus* είναι ανθεκτικό στα οξέα και έχει αυστηρά ζυμωτικό μεταβολισμό. Είναι ένα από τα πρώτα στελέχη προβιοτικών που μελετήθηκαν. Ο Στάμεν Γκριγκόροφ ήταν Βούλγαρος γιατρός και ανακάλυψε αυτό το προβιοτικό σε ξινόγαλα που έχει υποστεί ζύμωση. Το *L.bulgaricus* λαμβάνει εξέχουσα σημασία στην χώρα της πεπτικής οδού. Οι μηχανισμοί του περιλαμβάνουν τη μείωση των εντερικών λοιμώξεων με την απέκκριση οξέων που μεταβάλλουν το pH του γαστρεντερικού σωλήνα. Το χαμηλότερο εύρος τιμών pH προασπίζει τον γαστρεντερικό σωλήνα από παθογόνους μικροοργανισμούς. Το γαλακτικό οξύ που παράγεται από το *L. bulgaricus* βοηθά στη διατήρηση του pH του λεπτού εντέρου σε χαμηλά επίπεδα. Επίσης, το στέλεχος αυτό παράγει φυσικά αντιβιοτικά και εμποδίζει τις θέσεις προσκόλλησης παθογόνου βακτηρίου στο βλεννογόνο στρώμα του εντέρου. Έρευνες για το *L.bulgaricus* έχουν δείξει ότι βελτιώνει την πέψη της λακτόζης και εξαλείφει τα συμπτώματα της δυσανεξίας. Σε μια μελέτη των Rizkalla et al., αναλύθηκαν οι επιδράσεις της γιαούρτης με (δηλ., φρέσκιας) ή χωρίς (δηλ., που έχει θερμανθεί) ζωντανές βακτηριακές καλλιέργειες *L.bulgaricus* και *Streptococcus thermophilus*. Η γιαούρτη που έχει θερμανθεί, παρήχθη με τον ίδιο τρόπο με τη φρέσκια γιαούρτη και υπέστη παστερίωση για να καταστραφούν τα οξυγαλακτικά βακτήρια. Σε άτομα που αδυνατούν να αφομοιώσουν την λακτόζη, η κατανάλωση φρέσκιας γιαούρτης για 15 ημέρες αύξησε την παραγωγή προπιονικού συγκριτικά με τις αρχικές τιμές στην ίδια ομάδα ατόμων. Η παραγωγή υδρογόνου της αναπνοής ήταν χαμηλότερη μετά την κατανάλωση φρέσκιας γιαούρτης από ό,τι μετά από κατανάλωση θερμαινόμενης γιαούρτης.

Τέσσερις άλλες μελέτες επιβεβαίωσαν ότι το *L.bulgaricus* μπορεί να μειώσει τα συμπτώματα της δυσανεξίας στη λακτόζη. Αυτή η θετική αναφορά μπορεί να συνδέεται με τον υποτύπο, το στέλεχος ή τη συγκέντρωση του προβιοτικού συμπληρώματος. Αντίθετα, σε μια μελέτη του 1991 με επικεφαλής τον Lin, έγινε σύγκριση δύο προβιοτικών στελεχών, *S.thermophiles* και *L.bulgaricus* σε δύο διαφορετικές συγκεντρώσεις, με το γάλα αναφοράς. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι θεραπείες με προβιοτικά δεν επέδειξαν σημαντικές αλλαγές στο μέσο υδρογόνο της αναπνοής. Από τις οκτώ θεραπείες με προβιοτικά μόνο μία κατάφερε να εξαλείψει τα συμπτώματα της δυσανεξίας στη λακτόζη. Μια έρευνα των Ballesta et al., επιβεβαίωσε αυτό το εύρημα. Οι Ballesta et al., το 2008 διαπίστωσαν ότι δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές στα αποτελέσματα που προέκυψαν για μικροβιολογικές ή ανοσολογικές παραμέτρους, για ανακούφιση του πεπτικού συστήματος ή για την δοκιμή λακτόζης με το συμπλήρωμα *L. bulgaricus*. Επιπλέον, φάνηκε ότι η διέλευση μέσω του γαστρεντερικού σωλήνα επηρεάζει την επιβίωση του *L. bulgaricus*.

Συμπερασματικά, είναι σημαντικό να υπολογιστούν οι αποκλίσεις στην προετοιμασία και στη συγκέντρωση των προβιοτικών. Ακόμη, αποτελεί περιορισμό η έλλειψη ενιαίας παρουσίας δεδομένων για το υδρογόνο της αναπνοής και τα συμπτώματα. Επιπροσθέτως, οι μελέτες σημείωσαν ότι σχετικά με τη δραστηριότητα της β-γαλακτοζιδάσης, η ικανότητα προσκόλλησης στον εντερικό βλεννογόνο, το πάχος του κυτταρικού τοιχώματος και άλλοι παράγοντες μπορούν να επηρεάσουν την κλινική αποτελεσματικότητα της θεραπείας με προβιοτικά. Σε γενικό πλαίσιο, υπάρχουν περιορισμένα στοιχεία που υποδηλώνουν ότι το *L. bulgaricus* είναι αποτελεσματικό στη βελτίωση της πέψης της λακτόζης και στην εξάλειψη των συμπτωμάτων της δυσανεξίας στη λακτόζη (Rizkalla et al. 2000. Lin 1991. Ballesta et al. 2008, όπως αναφέρουν οι Oak & Jha,2018).

***Limosilactobacillus reuteri*:** Το *Limosilactobacillus reuteri* είναι ένα Gram-θετικό προβιοτικό στέλεχος που βρίσκεται εκ φύσεως στο γαστρεντερικό σωλήνα του ανθρώπου, ωστόσο δεν εντοπίζεται σε όλα τα άτομα. Η από του στόματος χορήγηση *L.reuteri* έχει αποδειχθεί αποτελεσματική στον σχηματισμό αποικίας στο έντερο υγιών ανθρώπων. Η παρουσία του στο σώμα, ωφελεί τον ξενιστή με διάφορους τρόπους, ιδιαίτερα καταπολεμώντας επιβλαβείς λοιμώξεις και λειτουργώντας ως

διαμεσολαβητής του ανοσοποιητικού συστήματος. Μερικά από τα βασικά πλεονεκτήματα του *Limosilactobacillus reuteri* αφορούν την προστασία από επιβλαβή βακτήρια χωρίς να αλλοιώνεται η ισορροπία της μικροχλωρίδας, την σταθεροποίηση της εντερικής διαπερατότητας και τη μείωση της ναυτίας, του μετεωρισμού και της διάρροιας. Το *L.reuteri* φέρει υψηλή δραστηριότητα β-γαλακτοζιδάσης και αυξάνει την έκκριση ινσουλίνης, πιθανόν λόγω της αυξημένης απελευθέρωσης ινκρετίνης.

Μία από τις πιο καλά τεκμηριωμένες επιδράσεις αυτού του προβιοτικού στελέχους είναι στη θεραπεία των διαρροϊκών ασθενειών στα παιδιά, όπου έχει αποδειχθεί ότι μειώνει σημαντικά τη διάρκεια των συμπτωμάτων. Τα θετικά αποτελέσματα του *L. reuteri* έχει φανεί ότι είναι δοσοεξαρτώμενα. Όσον αφορά την πρόληψη των λοιμώξεων του εντέρου, το *L.reuteri* έχει υποστηριχθεί ότι είναι πιο ανθεκτικό από άλλους προβιοτικούς μικροοργανισμούς (Oak & Jha,2018). Ο όρος τιλακτάση αναφέρεται σε μια β-d-γαλακτοζιδάση προερχόμενη από τον μύκητα *Aspergillus oryzae* (Portincasa et al.,2008).Σε μια συγκριτική μελέτη των Ojetti et al., χρησιμοποιήθηκε τιλακτάση και το στέλεχος *Limosilactobacillus reuteri*. Τα δύο σχήματα θεραπείας (τιλακτάση ή *Limosilactobacillus reuteri*) κρίθηκαν χρήσιμα αμφότερα για τη θεραπεία της δυσανεξίας στη λακτόζη, καθώς βελτίωσαν σημαντικά τόσο τα επίπεδα υδρογόνου στο τεστ αναπνοής, όσο τα σχετικά συμπτώματα αναφορικά με την επίδραση εικονικού φαρμάκου. Το αποτέλεσμα ήταν καλύτερο με την χρήση τιλακτάσης από ότι με τη θεραπεία με *Limosilactobacillus reuteri*. Φαίνεται δύσκολο να εξηγηθούν οι λόγοι της μικρότερης ανταπόκρισης που παρατηρήθηκε μετά τη θεραπεία με *L. reuteri* σε σχέση με αυτή που παρατηρήθηκε στα άτομα που έλαβαν θεραπεία με τιλακτάση. Η μεγάλη διακύμανση στο επίπεδο της ανεπάρκειας του ενζύμου της λακτάσης σε ασθενείς με δυσανεξία στη λακτόζη θα μπορούσε να είναι μία από τις πιθανές εξηγήσεις.

Η χρήση του *L.reuteri* για τη θεραπεία της δυσανεξίας στη λακτόζη είναι εξειδικευμένη και φέρει ορισμένα πλεονεκτήματα σε σχέση με τη συμπλήρωση τιλακτάσης. Στην περίπτωση της θεραπείας με τιλακτάση, ο ασθενής πρέπει πάντα να υπολογίζει την ποσότητα του εξωγενούς ενζύμου που θα λάβει με βάση την ποσότητα λακτόζης που υπάρχει στο φαγητό που θέλει να καταναλώσει. Επιπλέον, η επίδραση της τιλακτάσης περιορίζεται αυστηρά στη στιγμή της κατάποσής της, επομένως το φάρμακο πρέπει να λαμβάνεται κάθε φορά που οι ασθενείς πρόκειται να καταναλώσουν προϊόντα που περιέχουν λακτόζη. Από την άλλη πλευρά, το προβιοτικό χορηγείται σε μια τυπική

δόση, ανεξάρτητα από τη δόση της λακτόζης που πρόκειται να λάβουν οι ασθενείς. Ακόμη, η επίδρασή του μπορεί να παραμείνει μετά τη διακοπή της λήψης του φαρμάκου, καθώς η δραστηριότητα της β-γαλακτοζιδάσης που ασκείται από το προβιοτικό θα πρέπει να παραμείνει ενεργή καθ' όλη τη διάρκεια της αποίκισης στο έντερο. Αυτός ο χρόνος πιθανότατα διαφέρει από ασθενή από ασθενή και είναι άγνωστος προς το παρόν. Σίγουρα, απαιτούνται περαιτέρω μελέτες για την αξιολόγηση του ρόλου του *Limosilactobacillus reuteri*, ιδίως όσον αφορά την καλύτερη δόση αλλά και τη διάρκεια αυτής της θεραπείας που σχετίζεται με την καλύτερη πέψη της λακτόζης (Ojetti et al.,2010)

Συμπερασματικά, υπάρχουν περιορισμένα στοιχεία για το ρόλο του *L.reuteri* στη δυσανεξία στη λακτόζη. Αναλύθηκαν δύο κλινικές δοκιμές και οι δύο απέδωσαν θετικά αποτελέσματα. Ωστόσο, πρέπει να διεξαχθούν περισσότερες μελέτες προκειμένου να αποσαφηνιστεί μια πιθανή θεραπευτική σχέση. Στο πλαίσιο άλλων παθήσεων του εντέρου, το *L. reuteri* είναι ένα από τα πιο επιστημονικά τεκμηριωμένα προβιοτικά, τόσο από άποψη αποτελεσματικότητας όσο και ασφάλειας. Έχει πλέον καθιερωθεί ως ένας από τους περισσότερο διαδεδομένους συμμετέχοντες των φυσικών βακτηρίων του εντέρου (Oak & Jha,2018).

***Lactobacillus acidophilus*:** Ο *Lactobacillus acidophilus* είναι ένα θετικό κατά Gram βακτήριο με καλά τεκμηριωμένη ιστορική χρήση στη γαλακτοβιομηχανία και πιο πρόσφατα γνωστό ως προβιοτικό. Εμφανίζεται εκ φύσεως στον γαστρεντερικό σωλήνα και στο στόμα του ανθρώπου και των ζώων. Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι η κατανάλωση γαλακτοκομικών προϊόντων που περιέχουν *L. acidophilus* ωφελεί τον ξενιστή ποικιλοτρόπως. Για παράδειγμα, συνεισφέρει στην πρόληψη ή τον έλεγχο των εντερικών λοιμώξεων, στη βελτίωση της πέψης της λακτόζης σε άτομα που εμφανίζουν δυσανεξία, στην εξισορρόπηση των επιπέδων χοληστερόλης στον ορό και στην άσκηση αντικαρκινικής δράσης. Ως προβιοτικό, ο ρόλος του στη δυσανεξία στη λακτόζη έχει συζητηθεί με πολλαπλές αντικρουόμενες κλινικές δοκιμές.

Στη μελέτη των Saltzman et al., σαράντα δύο άτομα με δυσανεξία στην λακτόζη υποβλήθηκαν σε ελέγχους υδρογόνου της αναπνοής ύστερα από την κατάποση *L. Acidophilus* για περισσότερο από μια εβδομάδα. Το αποτέλεσμα έδειξε ότι δεν υπήρξε σημαντική αλλαγή στα τεστ και στην ένταση των συμπτωμάτων. Παρόμοια

αποτελέσματα ελήφθησαν επίσης, όταν έντεκα διαγνωσμένα άτομα με δυσανεξία δεν εμφάνισαν καμία αλλαγή στις δοκιμές αναπνοής-υδρογόνου με την χορήγηση τεσσάρων στελεχών *L. acidophilus*. Η επίδραση της ευαισθησίας της χολής, της μεταφοράς της λακτόζης και της ανθεκτικότητας σε οξέα του *L. acidophilus* μελετήθηκαν και τα πορίσματα επέδειξαν ότι η ανθεκτικότητα στη χολή και στα οξέα μπορεί να είναι σημαντικοί παράγοντες που πρέπει να ληφθούν υπόψη όταν επιλέγονται στελέχη *L. acidophilus* για τη βελτίωση της πέψης και της ανοχής στη λακτόζη. Τέσσερις άλλες κλινικές δοκιμές δεν ανέφεραν αξιοσημείωτες αλλαγές μεταξύ των δοκιμών και των ομάδων ελέγχου. Οι ερευνητές απέδωσαν αυτή την έλλειψη επίδρασης στην ανεπαρκή βιωσιμότητα και επιβίωση του *L. acidophilus* σε εμπορικά σκευάσματα διατροφής. Η επιλογή καλύτερων λειτουργικών προβιοτικών στελεχών και η υιοθέτηση βελτιωμένων μεθόδων για την ενίσχυση της επιβίωσης, συμπεριλαμβανομένης της χρήσης κατάλληλων πρεβιοτικών και του βέλτιστου συνδυασμού συμβιωτικών μπορεί να ενισχύσει τα αποτελέσματα του *L. acidophilus*. Ωστόσο, πρέπει να διεξαχθούν περισσότερες μελέτες σχετικά με το ζήτημα αυτό.

Από τις εννέα μελέτες που αναλύθηκαν, ο *L. acidophilus* δεν έδειξε σημαντική δυνατότητα θεραπείας της δυσανεξίας στη λακτόζη. Ωστόσο, πρέπει να αναφερθεί ότι σε έρευνα των Vesa et al., η ικανότητα πέψης και η ανοχή στη λακτόζη αξιολογήθηκαν στο πλαίσιο του *L. acidophilus*. Οι δοκιμές μέτρησης αναπνοής υδρογόνου σε δεκαπέντε άτομα με δυσανεξία έδειξαν ότι η λήψη συμπληρώματος *L. acidophilus* αύξησε την συγκέντρωση της λακτάσης. Επιπλέον, τα συμπτώματα της δυσανεξίας μειώθηκαν. Όμως, ο βαθμός δυσπεψίας της λακτόζης δεν διέφερε σημαντικά. Ως εκ τούτου, παρά τις διαφορές στην περιεκτικότητα της λακτάσης και των βακτηρίων, η λακτόζη δεν ήταν καλά αφομοιωμένη και ανεκτή από το βακτηριακό στέλεχος *L. Acidophilus* (Saltzman et al. 1999, Vesa et al. 1996, όπως αναφέρουν οι Oak & Jha, 2018).

***Lacticaseibacillus rhamnosus*:** Ο *Lacticaseibacillus rhamnosus* είναι ένα Gram-θετικό βακτήριο γαλακτικού οξέος που εντοπίζεται στη μικροχλωρίδα του εντέρου. Είναι ένα ακόμα καλά μελετημένο προβιοτικό στέλεχος, που είναι γνωστό ότι έχει ισχυρή πρόσφυση στο εντερικό τοίχωμα. Το στέλεχος αυτό απομονώθηκε για πρώτη φορά το 1983 από την ανθρώπινη εντερική χώρα από τον ερευνητή Μπάρτι Γκόλντιν και τον

Σέργουντ Γκόρμπαχ. Τα ευρήματα έδειξαν ότι το βακτήριο *L. rhamnosus* έχει μια αξιοσημείωτη ανεκτικότητα στα σκληρά οξέα που βρίσκονται συνήθως στο στομάχι και στο πεπτικό σύστημα. Έχει μελετηθεί ευρέως για τη χρήση του στη διέγερση του ανοσοποιητικού συστήματος. Το βακτήριο αυτό, βρίσκεται συνήθως στη γιαούρτη και στα γαλακτοκομικά προϊόντα όπως το ζυμωμένο και μη παστεριωμένο γάλα ή το ημίσκληρο τυρί. Αν και θεωρείται οργανισμός που προάγει την υγεία, ο *L. rhamnosus* μπορεί να μην είναι ευεργετικός για ορισμένες ομάδες πληθυσμού. Σε σπάνιες περιπτώσεις, ειδικά εκείνες που αφορούν άτομα με εξασθενημένο ανοσοποιητικό σύστημα ή βρέφη, μπορεί να επιφέρει παρενέργειες. Ο *L. rhamnosus* έχει αναφερθεί ότι βελτιώνει την πέψη της λακτόζης και εξαλείφει τα συμπτώματα της δυσανεξίας.

Μια μελέτη από τους Agustina et al., έδειξε ότι η διάρκεια της διάρροιας ήταν ιδιαίτερα μικρότερη στην ομάδα μελέτης από ό,τι στην ομάδα ελέγχου μεταξύ 58 ατόμων με δυσανεξία. Άλλες μελέτες έχουν εξετάσει το ρόλο του *L. rhamnosus* και υποστήριξαν ότι μπορεί να ενισχύσει τις συστημικές κυτταρικές ανοσοαποκρίσεις και μπορεί να είναι χρήσιμο ως συμπλήρωμα διατροφής για την ενίσχυση της φυσικής ανοσίας. Ο Γκόλντιν, έχει αναφέρει ότι άτομο με δυσανεξία στην λακτόζη δεν εμφανίζουν φλεγμονώδη αντίδραση μετά την κατανάλωση γαλακτοκομικών προϊόντων με *L.rhamnosus*. Έτσι, διαπιστώνεται ότι το στέλεχος *L. rhamnosus* ενθαρρύνει την ανάπτυξη μικροοργανισμών στην πεπτική οδό που έχουν παρόμοια λειτουργία με το ένζυμο λακτάση. Επιπλέον, είναι σε θέση να επιβιώσει στις πολύ όξινες συνθήκες του ανθρώπινου στομάχου, καθώς και του εντερικού σωλήνα. Είναι χρήσιμο να τονισθεί ότι η αποτελεσματικότητα του προβιοτικού στελέχους βασίζεται στην ικανότητά του να επιβιώνει στο γαστρικό οξύ και να προσκολλάται στα εντερικά κύτταρα. (Agustina et al. 2007, όπως αναφέρουν οι Oak & Jha,2018).

Συνεπώς, το βακτήριο *Lacticaseibacillus rhamnosus* μπορεί να έχει ευεργετικές επιδράσεις σε άτομα με δυσανεξία στην λακτόζη συμβάλλοντας στην πρόληψη της διάρροιας, στη ρύθμιση των κινήσεων του εντέρου και στην ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος.

***Saccharomyces boulardii*:** Ο *Saccharomyces boulardii* είναι ένας μη παθογόνος ζυμομύκητας. Είναι ένας μικροοργανισμός ανθεκτικός στα οξέα και στη θερμοκρασία που δεν επηρεάζεται από αντιβακτηριακούς παράγοντες. Ο *S. boulardii* ενισχύει την δραστηριότητα των εντερικών ενζύμων όπως οι δισακχαριδάσες, α-γλυκοζιδάσες,

αλκαλικές φωσφατάσες και αμινοπεπτιδάσες. Ο *S.boulevardii* αυξάνει την εντερική απορρόφηση της D-γλυκόζης που μπορεί να ενισχύσει την πρόσληψη νερού και ηλεκτρολυτών κατά τη διάρκεια της διάρροιας. Έχει αναφερθεί ότι αυξάνει τις συγκεντρώσεις των λιπαρών οξέων βραχείας αλυσίδας στα κόπρανα που τρέφουν τα κύτταρα του βλεννογόνου του παχέος εντέρου. Αν και ο *S.boulevardii* έχει χρησιμοποιηθεί εκτενώς ως προβιοτικό συμπλήρωμα διατροφής, υπήρχε έλλειψη έρευνας για την απόδειξη της αποτελεσματικότητας αυτής της ζύμης στο πλαίσιο της δυσανεξίας στη λακτόζη.

Τα τελευταία χρόνια, ένας μικρός αριθμός ερευνητικών μελετών εξέτασε τον ρόλο του *S. boulevardii* σε βρέφη με οξεία διάρροια. Σε μια ελεγχόμενη μελέτη των Le Luyer et al., η αποτελεσματικότητα του *S. boulevardii* δοκιμάστηκε σε μια πορεία θεραπείας 14 ημερών. Εβδομήντα βρέφη συμμετείχαν στη μελέτη και τα αποτελέσματα έδειξαν σημαντικά μειωμένη διάρκεια διάρροιας και ταχύτερη ανάκτηση βάρους από μια τυπική φόρμουλα.

Τα αποτελέσματα μιας μελέτης του Herbrecht, έδειξαν ότι το *S. boulevardii* παράγει μια πρωτεάση που μπορεί να αφομοιώσει τις τοξίνες A και B του *Clostridium difficile*. Αυτό το εύρημα μπορεί να εξηγήσει τις προστατευτικές ενέργειες του *S.boulevardii* έναντι της διάρροιας που σχετίζεται με αυτό το βακτήριο. Επιπλέον, η πρωτεάση του *S.boulevardii* έδειξε ότι μειώνει την ικανότητα των τοξινών A και B να συνδέονται στους υποδοχείς της ανθρώπινης μεμβράνης του παχέος εντέρου. Επί του παρόντος, ο *S. boulevardii* έχει μελετηθεί ως θεραπευτικός παράγοντας σε αρκετές οξείες και χρόνιες γαστρεντερικές παθήσεις. Πολλές κλινικές δοκιμές και πειραματικές μελέτες έχουν προτείνει ότι ο *S. boulevardii* έχει πολλές προστατευτικές επιδράσεις στην φυσιολογική χλωρίδα του εντέρου. Με εξαίρεση τους ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς, δεν έχουν σημειωθεί αξιοσημείωτες ανεπιθύμητες ενέργειες σε αυτές τις μελέτες. Ωστόσο, οι μηχανισμοί δράσης της ζύμης πρέπει να διευκρινιστούν περαιτέρω προκειμένου να θεωρηθεί μια πιθανή θεραπευτική επιλογή (Le Luyer et al. 2010. Herbrecht 2005, όπως αναφέρουν οι Oak & Jha,2018).



Εικόνα 7 Εμπορικά συμπληρώματα *Saccharomyces Boulardii*
(A: https://www.yamamotonutrition.com/eng/saccharomyces_boulardii_pr31335?country=Iran, B: <https://www.evitamins.com/saccharomyces-boulardii-now-foods-355133>)

Streptococcus thermophilus: Ο *Streptococcus thermophilus* είναι ένα βακτήριο του γαλακτικού οξέος που εντοπίζεται στα γαλακτοκομικά προϊόντα που έχουν υποστεί ζύμωση. Γενικά, χρησιμοποιείται στην παραγωγή γιαουρτής. Ο *S. thermophilus* είναι από άποψη φυσιολογίας αλλά και βιοχημικά, λιγότερο πολυχρηστικό συγκριτικά με άλλα οξυγαλακτικά βακτήρια. Οι ζωντανές καλλιέργειες του *S.thermophilus* διευκολύνουν τους ασθενείς με δυσανεξία στη λακτόζη να αφομοιώσουν τα γαλακτοκομικά προϊόντα διασπώντας τη λακτόζη. Η κυτταρική δομή του *S. thermophilus* επιτρέπει στα βακτήρια να αντέξουν σε υψηλές θερμοκρασίες και σε χαμηλό εύρος pH. Το στέλεχος *S. thermophilus* στερείται γονιδίων που περιέχουν επιφανειακές πρωτεΐνες, οι οποίες εμποδίζουν τα επιβλαβή βακτήρια να προσκολληθούν στους βλεννογόνους ιστούς και να διαφύγουν από τις αμυντικές ενέργειες του σώματος. Η αποτελεσματικότητα των προβιοτικών από τη λήψη μέσω του στόματος σε ενήλικες με δυσανεξία στη λακτόζη εξετάστηκε με εννέα μελέτες. Από αυτές τις τυχαίες δοκιμές κατά τις οποίες μετρήθηκαν τα επίπεδα υδρογόνου αναπνοής, τρεις μελέτες ήταν θετικές, τρεις ήταν αρνητικές και τρεις είχαν θετικά και αρνητικά αποτελέσματα. Επιπλέον, επτά μελέτες αξιολόγησαν την ένταση των συμπτωμάτων και τα αποτελέσματα απέδωσαν ένα θετικό αποτέλεσμα, πέντε αρνητικά αποτελέσματα και ένα με θετικά και αρνητικά αποτελέσματα.

Ο Agustina μελέτησε την επίδραση της συγκέντρωσης του *S. thermophilus* στο επιθήλιο του παχέος εντέρου ασθενών με δυσανεξία. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι ο *S. thermophilus* ενίσχυσε τον μεταβολισμό των υδατανθράκων στο

πεπτικό σύστημα συνδυαστικά με τον ευεργετικό ρόλο της κατανάλωσης γάλακτος που έχει υποστεί ζύμωση για την βελτίωση των συμπτωμάτων της δυσανεξίας. Ωστόσο, τέσσερις άλλες τυχαίες αλλά ελεγχόμενες με εικονικό φάρμακο, κλινικές δοκιμές έδειξαν ότι η χορήγηση συμπληρώματος προβιοτικών με *S. thermophilus* δεν ανακούφισε από τα συμπτώματα και τα σημάδια της δυσανεξίας στη λακτόζη στους ενήλικες. Υπάρχουν κάποια στοιχεία που υποδηλώνουν ότι συγκεκριμένες συγκεντρώσεις και σκευάσματα είναι αποτελεσματικά, ωστόσο, περαιτέρω κλινικές δοκιμές ορισμένων στελεχών και συγκεντρώσεων είναι απαραίτητες για να επιβεβαιωθεί αυτή η θεραπευτική στρατηγική (Agustina 2007, όπως αναφέρουν οι Oak & Jha, 2018).

Συνοψίζοντας, τα αποτελέσματα από τις δοκιμές που πραγματοποιήθηκαν με βάση τα οκτώ προαναφερθέντα προβιοτικά στελέχη διεξάγεται το πόρισμα ότι υπάρχουν ευνοϊκές ενδείξεις που υποδηλώνουν την κλινική δυνατότητα χρήσης των προβιοτικών έναντι της δυσανεξίας στην λακτόζη. Προκειμένου να αποσαφηνιστεί η πιθανή θεραπευτική σχέση μεταξύ των προβιοτικών μικροοργανισμών και της δυσανεξίας, πρέπει να αναπτυχθούν νέες στρατηγικές που αφορούν συγκεκριμένα στελέχη, συγκεντρώσεις και εμπορικά σκευάσματα προβιοτικών. Από τα ανωτέρω στελέχη, το βακτηριακό στέλεχος *B. animalis* φαίνεται να είναι από τα περισσότερο μελετημένα και αποτελεσματικά στελέχη. Φυσικά, απαιτούνται περαιτέρω μελέτες για να προσδιοριστούν κι άλλες λειτουργίες των προβιοτικών συμπληρωμάτων και αντιστοίχως οι μηχανισμοί δράσης τους.

3.2 Δοκιμή Συμπληρώματος με Ένζυμα Και Προβιοτικά

Οι εύπεπτοι δι-, ολιγο- και πολυσακχαρίτες διασπώνται στα αντίστοιχα μονομερή τους πριν το στάδιο απορρόφησής τους στο λεπτό έντερο. Όμως, σε ορισμένες παθολογικές καταστάσεις, όπως στην περίπτωση της δυσανεξίας στη λακτόζη, αυτοί οι υδατάνθρακες παρουσιάζουν ιδιαίτερη δυσκολία στην υδρόλυση και απορρόφησή τους και φτάνουν στην εντερική κοιλότητα όπου ζυμώνονται από την εντερική μικροχλωρίδα. Πιθανή λύση του ζητήματος είναι ο περιορισμός του γάλακτος και των γαλακτοκομικών προϊόντων και η πρόσληψη προϊόντων με μειωμένη λακτόζη ή χωρίς λακτόζη. Υπό αυτή την έννοια, ορισμένες μελέτες έχουν δείξει ότι όταν προστίθεται λακτάση πριν από τη θερμική επεξεργασία του προϊόντος, το αποτέλεσμα μπορεί να

σχετίζεται με ισχυρή εξέλιξη της αντίδρασης Maillard, που οδηγεί σε ελάττωση θρεπτικής αξίας λόγω απώλειας αμινοξέων κυρίως λυσίνης και σε αλλαγές στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Έχει συζητηθεί, να γίνεται η προσθήκη του ενζύμου μετά τη θερμική επεξεργασία καθώς μετά την υδρόλυση, η αύξηση της γαλακτόζης και της γλυκόζης μπορεί να ευνοήσει πολύ την εξέλιξη αυτής της αντίδρασης. Ωστόσο, αυτό συνεπάγεται τη χρήση ασηπτικών συνθηκών με επακόλουθη αύξηση της τιμής των προϊόντων. Επιπλέον, η προσθήκη λακτάσης στη συσκευασία μετά την αποστείρωση του γάλακτος μπορεί να έχει δυσμενείς οργανοληπτικές και διατροφικές επιδράσεις που σχετίζονται με την πρωτεολυτική δραστηριότητα του ενζύμου, ειδικά για εκτεταμένο χρόνο αποθήκευσης. Η πρόσληψη σκευασμάτων ενζύμου λακτάσης του εμπορίου σε στερεή μορφή με προέλευση μυκήτων ή ζυμομυκήτων πριν από την κατανάλωση λακτόζης έχει επίσης προταθεί ως δυνατότητα για άτομα με αυτά τα προβλήματα. Αν και υπήρξαν ενδιαφέρουσες μελέτες που υπογράμμισαν τις πιθανές εφαρμογές τους, η χρησιμότητά τους δεν έχει τεκμηριωθεί πλήρως λόγω τεχνικών και δοσομετρικών ενδοιασμών. Παρόλα αυτά, η ομάδα της EFSA για τα διαιτητικά προϊόντα, τη διατροφή και τις αλλεργίες κατέληξε στο συμπέρασμα ότι υπάρχει σχέση αιτίου-αποτελέσματος μεταξύ της κατανάλωσης και της διάσπασης της λακτόζης σε άτομα με ενεργή συμπτωματολογία δυσσαπορρόφηση της λακτόζης.

Πρόσφατα, προσφέρθηκε ένα νέο εμπορικό προϊόν με ένζυμα (πρωτεάση, λακτάση, λιπάση και αμυλάση) και μη γαλακτοκομικά, ανθεκτικά στη θερμότητα και ανθεκτικά στα οξέα του στομάχου προβιοτικά (*Lactobacillus gasseri*, *Bifidobacterium bifidum* και *Bifidobacterium longum*) ως συμπλήρωμα για την υποστήριξη του υγιούς πεπτικού συστήματος. Υπάρχουν ενδείξεις, ότι βοηθούν στην ανακούφιση των περιστασιακών αερίων και του φουσκώματος. Το ίδιο συμπλήρωμα χωρίς ένζυμα έχει αποδειχθεί ότι έχει αντιφλεγμονώδη δράση λόγω των αλλαγών στις μικροβιολογικές αποικίες του εντέρου. Μια μελέτη έδειξε ότι ένα υψηλό ποσοστό από τους συμμετέχοντες εμφάνισε αύξηση στα μπιφιδοβακτήρια και τους γαλακτοβάκιλλους στα δείγματα κοπράνων τους κατά τη διάρκεια της παρέμβασης προβιοτικών έναντι του εικονικού φαρμάκου. Οι Ferreira-Lazarte et al., μελέτησαν την πιθανή εφαρμογή αυτού του σκευάσματος στη διαχείριση της μη ανεκτικότητας στη λακτόζη. Για να αξιολογηθεί η ανθεκτικότητα της λακτόζης στο ενζυμικό παρασκεύασμα, πραγματοποιήθηκαν αρκετές δοκιμές πέψης της λακτόζης με χρήση διαφορετικών αναλογιών υδατάνθρακα-ενζυμικού παρασκευάσματος. Οι συγκεντρώσεις λακτόζης που επιλέχθηκαν

αποσκοπούσαν στην κάλυψη των περισσότερων εμπορικών προϊόντων με περιεκτικότητα στο σάκχαρο, όπως γάλα, γιαούρτη, τυρί ακόμη και προϊόντα χωρίς λακτόζη. Σχετικά με το ενζυμικό παρασκεύασμα, οι δόσεις επιλέχθηκαν βάση της προτεινόμενης συνταγής δηλαδή 2 κάψουλες /920 mg την ημέρα. Έτσι, 460 mg (1 κάψουλα), 1000 mg και 155 mg του παρασκευάσματος δοκιμάστηκαν με κάθε συγκέντρωση λακτόζης.

Το εμπορικό συμπλήρωμα ενζύμων και προβιοτικών, στην ποσότητα των 1000 mg, ή αναλογικά σε δύο κάψουλες κρίθηκε επαρκές για την υδρόλυση της λακτόζης σε παρασκευασμένα διαλύματα λακτόζης με συγκέντρωση από 0,25 - 5 % και σε εμπορικά γαλακτοκομικά προϊόντα όπως, γάλα περιεκτικότητας 5% σε λακτόζη και σε γιαούρτια περιεκτικότητας 3% λακτόζης. Οι τιμές της υδρόλυσης της λακτόζης κυμάνθηκαν από 27 έως 99%, σύμφωνα με την αναλογία παρασκευάσματος ενζύμου/λακτόζη και τον τύπο του προϊόντος. Η υψηλότερη τιμή υδρόλυσης βρέθηκε στα προκαθορισμένα διαλύματα λακτόζης και στη συνέχεια στα γιαούρτια. Ιδιάζον ενδιαφέρον επέδειξε το πλήρες γάλα καθώς σε αυτό το προϊόν, παρατηρήθηκε υδρόλυση μεγαλύτερη από 55%. Η ποσότητα των 1000 mg, που χρησιμοποιήθηκε στην μελέτη συνεπάγεται πρόσληψη λιγότερο από 12 g λακτόζης, όπως προβλέπεται από την επιτροπή της EFSA για τα άτομα με δυσανεξία στη λακτόζη. Επιπλέον, λόγω της δράσης διαγαλακτοζυλίωσης της λακτάσης που εντοπίζεται σε αυτό το εμπορικό παρασκεύασμα, σχηματίζονται γαλακτοολιγοσακχαρίτες (GOS) που φέρουν πρεβιοτική δράση, επεκτείνοντας τις εφαρμογές των προβιοτικών και των ενζύμων (Ferreira-Lazarte et al., 2018). Συγκεκριμένα, οι γαλακτο-ολιγοσακχαρίτες (GOS) έχει αποδειχθεί ότι αυξάνουν την αφθονία των ειδών *Bifidobacterium*, *Faecalibacterium*, *Lactobacillus* και *Roseburia* που ζυμώνουν τη λακτόζη στο έντερο. Ωστόσο, πρέπει να σημειωθεί ότι οι μηχανισμοί δράσης των GOS από τα βακτήρια του εντέρου δεν έχουν κατανοηθεί πλήρως και τόσο η αποτελεσματικότητα όσο και η απόκριση ποικίλλουν μεταξύ των στελεχών (Azcarate-Peril et al., 2017).

3.3 Πρεβιοτικά, Προβιοτικά και Συμπτώματα Δυσανεξίας στη Λακτόζη

Οι Leis et al., μέσω επτά συστηματικών ανασκοπήσεων αξιολόγησαν τις επιδράσεις των πρεβιοτικών ή των προβιοτικών στα συμπτώματα της δυσανεξίας στην λακτόζη σε 170 άτομα που εμφάνιζαν ενδείξεις δυσαπορρόφησης λακτόζης μετά από κατάποση 2–50 g/kg λακτόζης. Μία μελέτη που περιλάμβανε συμπληρώματα πρεβιοτικών χρησιμοποιήθηκε για την αξιολόγηση του ποσοστού εξάλειψης του κοιλιακού πόνου. Οι υπόλοιπες έξι μελέτες αξιολόγησαν τα γαστρεντερικά συμπτώματα χρησιμοποιώντας διαφορετικές τυποποιημένες κλίμακες (από 0-4 ή 0-100) για να κριθεί η ένταση των συμπτωμάτων. Μόνο μία από αυτές τις επτά μελέτες δεν απέφερε σημαντική επίδραση της παρέμβασης. Η εν λόγω μελέτη πραγματοποιήθηκε για το διάστημα έξι εβδομάδων, χρησιμοποιώντας υψηλή ημερήσια δόση προβιοτικών (10^{10} CFU *L. plantarum* + 10^{10} CFU *B. animalis*). Ωστόσο, στην ίδια αυτή μελέτη, μια αξιολόγηση που πραγματοποιήθηκε δύο εβδομάδες μετά την ολοκλήρωση της αγωγής φανέρωσε ότι η λήψη προβιοτικών συμπληρωμάτων συσχετίστηκε με σημαντική μείωση της διάρροιας και του μετεωρισμού.

Επιπροσθέτως, φανερώθηκε σε ένα γενικό πλαίσιο ότι η λήψη του συμπληρώματος μειώνει σημαντικά τις κοιλιακές κράμπες, τη διάρροια, τον έμετο, το φούσκωμα και/ή τον μετεωρισμό. Αυτή η επίδραση, σε συνδυασμό με τη μείωση του υδρογόνου της αναπνοής που σημειώθηκε μπορεί να εξηγηθεί με διάφορους μηχανισμούς. Αρχικά, τα προβιοτικά όταν φτάσουν στο πεπτικό σύστημα λειτουργούν ως πηγή λακτάσης, αυξάνοντας τη συνολική ικανότητα υδρόλυσης και τη διεργασία της ζύμωσης στο παχύ έντερο. Δεύτερον, τα προβιοτικά εκκρίνουν ουσίες που μοιάζουν με αντιβιοτικά, οι οποίες έχουν την ικανότητα να προσκολλώνται στον βλεννογόνο και να ρυθμίζουν τη διαπερατότητα του εντερικού φραγμού. Όσο αφορά τα πρεβιοτικά, όπως είναι γνωστό είναι λειτουργικές τροφές που διεγείρουν την ανάπτυξη ωφέλιμων βακτηρίων που υπάρχουν στο έντερο και αυξάνουν τη διαπερατότητα του παχέος εντέρου, απαλώνοντας τα συμπτώματα της δυσανεξίας (Leis et al.,2020).

3.4 Καινοτόμα Προβιοτική Φόρμουλα

Το 2019 οι Gingold-Belfer et al., μελέτησαν την αποτελεσματικότητα ενός μοναδικού σκευάσματος προβιοτικών όπου χορηγήθηκε σε 8 γυναίκες ασθενείς με συμπτώματα δυσανεξίας στην λακτόζη, για διάστημα 6 μηνών. Κατά τη διάρκεια της μελέτης, οι συμμετέχοντες δεν τροποποίησαν τις τυπικές διατροφικές συνήθειές τους (συμπεριλαμβανομένων των γαλακτοκομικών προϊόντων), τη σωματική δραστηριότητα και γενικότερα την ρουτίνα της καθημερινότητάς τους. Όσοι ασθενείς επιλέχθηκαν είχαν διαγνωστεί με δυσανεξία στην λακτόζη, ενώ απορρίφθηκαν ασθενείς ηλικίας κάτω των 18 ετών, όσοι είχαν λάβει προβιοτικά και αντιβιοτικά έως και 3 εβδομάδες πριν την έναρξη της μελέτης και οι εγκυμονούσες ή θηλάζουσες γυναίκες.

Κατά την έναρξη της μελέτης οι συμμετέχοντες συμπλήρωσαν ένα δημογραφικό ημερολόγιο που περιλάμβανε το φύλο, την ηλικία και τον δείκτη μάζας σώματος (ΔΜΣ), την ένταση και την συχνότητα εμφάνισης των συμπτωμάτων. Οι απαντήσεις παρακολούθηθηκαν τέσσερις φορές: στην αρχή και στη συνέχεια κάθε 8 εβδομάδες από την αρχική θεραπεία με προβιοτικά μέχρι το τέλος της μελέτης. Οι ασθενείς υποβλήθηκαν σε θεραπεία με μια φόρμουλα που περιείχε 11 διαφορετικά στελέχη προβιοτικών βακτηρίων. Η φόρμουλα αυτή ονομάστηκε Bio-25 και πρόκειται για ένα αποκλειστικό προβιοτικό σκεύασμα εξαιτίας των βακτηρίων του που παράγουν λακτάση όπως τα *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *L. casei*, *B. breve*, *S. thermophilus*, *B. longum* και *B. infantis* σε μοναδικό μείγμα 25 δισεκατομμυρίων ενεργών βακτηρίων σε κάθε κάψουλα.

Το Bio-25 σχεδιάστηκε για να ανακουφίζει τα συμπτώματα κοινών πεπτικών προβλημάτων, όπως διάρροια, γαστρεντερίτιδα από ιογενή ή βακτηριακή προέλευση, φούσκωμα, μετεωρισμό και δυσανεξία στη λακτόζη. Κατά τη διαδικασία παρασκευής, όλες οι κάψουλες επικαλύπτονται διπλά με ένα μείγμα πρωτεϊνών για να αποτραπεί η έκθεση των βακτηρίων στο όξινο γαστρικό περιεχόμενο, διασφαλίζοντας έτσι την απελευθέρωση των βακτηρίων στο λεπτό έντερο. Όλες οι κάψουλες διατηρήθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου σε σκοτεινό και ξηρό μέρος. Ένα προβιοτικό χάπι χορηγήθηκε σε όλους τους ασθενείς 2 ώρες μετά το τελευταίο τους γεύμα τις βραδινές ώρες, για 6 μήνες. Τα αποτελέσματα του Bio-25 έδειξαν σημαντική βελτίωση στη σοβαρότητα των

συμπτωμάτων για το φούσκωμα και τον μετεωρισμό, αλλά όχι για τη διάρροια ή την κοιλιακή δυσφορία.

Οι οκτώ ασθενείς, που είχαν προηγουμένως διαγνωστεί με δυσανεξία στη λακτόζη, κατά τη διάρκεια της ερευνητικής περιόδου, πραγματοποίησαν τρεις ελέγχους για τα επίπεδα υδρογόνου στην αναπνοή, σε διαστήματα 2 μηνών για να αξιολογηθεί η αποτελεσματικότητα των προβιοτικών στη θεραπεία της δυσανεξίας στη λακτόζη. Δύο ασθενείς, φερειπείν Α και Β, απέκτησαν ανοχή στη λακτόζη μετά το διάστημα 2 και 4 μηνών αντίστοιχα μετά τη θεραπεία με το Βιο-25. Οι άλλοι έξι ασθενείς παρέμειναν θετικοί ως προς τη δυσανεξία στη λακτόζη για όλη τη διάρκεια της μελέτης, αλλά τα επίπεδα απέκκρισης υδρογόνου μειώθηκαν καθ' όλη τη διάρκεια του χρόνου που πέρασε. Επιπλέον, όλοι οι ασθενείς δήλωσαν βελτίωση των προηγούμενων γαστρεντερικών συμπτωμάτων όσο περνούσε ο χρόνος από την αρχική κατανάλωση των προβιοτικών.

Εν κατακλείδι, ακόμη και με μια τόσο μικρή ομάδα ατόμων, η θεραπεία με Βιο-25 συνδέθηκε με σημαντική ανακούφιση των περισσότερων συμπτωμάτων, σε σύγκριση με τις αρχικές δηλώσεις των ασθενών. Όσο αφορά το τεστ υδρογόνου της αναπνοής δεν βρέθηκε σημαντική επίδραση σε όλους τους συμμετέχοντες. Το γεγονός αυτό δείχνει ότι δεν ανταποκρίθηκαν όλοι οι ασθενείς με τον ίδιο τρόπο στα προβιοτικά. Είναι πιθανό, ότι υπήρχε διαφοροποίηση στην αφομοίωση των διαφορετικών στελεχών των προβιοτικών στο πεπτικό σύστημα λόγω της ποικιλομορφίας του μικροβιώματος μεταξύ των συμμετεχόντων. Ένας άλλος παράγοντας που μπορεί να αλλάξει τα αποτελέσματα είναι η ηλικία των συμμετεχόντων καθώς η διαφοροποίηση αυτή παρατηρήθηκε σε δύο γυναίκες κάτω των 30 ετών (Gingold-Belfer et al., 2019).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗΣ ΛΑΚΤΟΖΗΣ

Τα τελευταία χρόνια αυξάνεται ραγδαία η ζήτηση των καταναλωτών για λειτουργικά προϊόντα που προάγουν την υγεία. Για τον λόγο αυτό, οι βιομηχανίες ποτών και αναψυκτικών έχουν διευρύνει την παραγωγή τους με την προσθήκη ζυμούμενων ροφημάτων. Ροφήματα όπως το κεφίρ και η κομπούχα, που έχουν υποστεί ζύμωση, εντοπίζονται εδώ και αιώνες σε διάφορους πολιτισμούς και είναι αναγνωρισμένα για τα οφέλη τους στην υγεία. Η προσοχή στράφηκε στα ροφήματα αυτά λόγω των ωφέλιμων μικροοργανισμών που εντοπίζονται και μπορούν να παράγουν χρήσιμες ενώσεις κατά τη ζύμωση, όπως οργανικά οξέα.

Πολλά από αυτά τα ποτά, ειδικά αυτά που έχουν βάση τα γαλακτοκομικά προϊόντα, περιέχουν σε αφθονία βακτήρια του γαλακτικού οξέος, που είναι γνωστά προβιοτικά είδη. Αυτά τα ποτά δεν περιέχουν λακτόζη μετά την παραγωγή τους λόγω της κατανάλωσης του υδατάνθρακα από τους μικροοργανισμούς. Η ιδιότητα αυτή είναι σημαντική καθώς το 70% περίπου των ενηλίκων στον κόσμο υποφέρουν από δυσανεξία στη λακτόζη και συχνά στρέφονται σε μη γαλακτοκομικά ροφήματα και χωρίς λακτόζη και για να καλύψουν τις ανάγκες τους σε ασβέστιο και άλλα θρεπτικά συστατικά. Οι μικροοργανισμοί που υπάρχουν στα ποτά που έχουν υποστεί ζύμωση, μπορεί να ποικίλλουν από καθαρές καλλιέργειες, όπως ένα στέλεχος προβιοτικών βακτηρίων γαλακτικού οξέος, έως μια σύνθετη συμβιωτική σχέση μεταξύ πολλών βακτηρίων και ζυμομυκήτων.

Πέρα όμως από τα βακτήρια του γαλακτικού οξέος, στην παραγωγή ζυμωμένων ποτών συμμετέχουν και βακτήρια του οξικού οξέος σε συνδυασμό με άλλους οργανισμούς έτσι ώστε να παράγουν ενώσεις που προσθέτουν γεύση και προάγουν της υγεία. Οι Lawton et al., μελέτησαν τον ζυμομύκητα *Brettanomyces claussenii* και τις βιοτεχνολογικές του δυνατότητες για την παραγωγή καινοτόμων ποτών που έχουν υποστεί ζύμωση από μη συμβατικά υποστρώματα, όπως γεωργικά υποπροϊόντα με έμφαση σε εκείνα που περιέχουν λακτόζη (Lawton et al., 2021).

4.1 Παρουσία του ζυμομύκητα *Brettanomyces* στη Βιομηχανία

Το *Brettanomyces spp.* έχει απομονωθεί από διάφορες πηγές, κυρίως από προϊόντα αλκοολικής ζύμωσης όπως μπίρα, κρασί ή μηλίτη, αλλά και από το παραδοσιακό ρόφημα κομπούχας, από αναψυκτικά και χυμούς φρούτων, καθώς και από ορισμένα γαλακτοκομικά προϊόντα όπως το γάλα που έχει υποστεί ζύμωση, το γιαούρτι και το τυρί. Υπάρχουν πέντε καθιερωμένα είδη για το *Brettanomyces*: *B. bruxellensis*, *B. clausenii*, *B. custersianus*, *B. naardenensis* και *B. nanus*. Ένα έκτο στέλεχος, το *B. acidodurans* έχει εντοπιστεί και προταθεί, αλλά δεν έχει γίνει επίσημα αποδεκτό λόγω μεγάλων γενετικών διαφορών που παρατηρήθηκαν. Το *B. clausenii* είναι το είδος που αναγνωρίζεται ότι έχει τον φαινότυπο με την ικανότητα να ζυμώνει τη λακτόζη.

Στον κλάδο της οινοποιίας, εντοπίζεται κυρίως το είδος *B. bruxellensis*, η παρουσία του οποίου είναι ανεπιθύμητη λόγω των δυσάρεστων γευστικών και αρωματικών ενώσεων που μπορεί να παράγει στο τελικό προϊόν. Αυτός ο μικροοργανισμός έχει αποδειχθεί ότι επιβιώνει σε σκληρά περιβάλλοντα, δηλαδή στο τέλος μιας ζύμωσης κρασιού όπου τα σάκχαρα είναι οριακά, το pH είναι χαμηλό και τα επίπεδα αιθανόλης είναι υψηλά. Όσο αφορά τον μηλίτη, ο *Brettanomyces spp.* έχει επίσης απομονωθεί ως μικροοργανισμός αλλοίωσης καθώς παράγει φαινολικές ουσίες μέσω της ενζυμικής δραστηριότητας της αποκαρβοξυλάσης του φαινολικού οξέος και της αναγωγής της βινυλφαινόλης (Lawton et al., 2021). Στη βιομηχανία μπίρας το είδος *Brettanomyces* μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως μαγιά για πρωτογενή, δευτερογενή ζύμωση αλλά και ζύμωση σε μπουκάλια, διευκολύνοντας τη διαδικασία παραγωγής μπίρας με την προσαρμογή σε ακραίες συνθήκες. Ακόμη, το *Brettanomyces* αποδίδει φυσικές γεύσεις και συνδυάζεται ικανοποιητικά με άλλα συστατικά μπίρας όπως είναι ο λυκίσκος (Serra-Colomer et al., 2018).

4.1.1 Βιοτεχνολογικές Δυνατότητες

Τα είδη του *Brettanomyces spp.* έχουν εισαχθεί σε διάφορα υποστρώματα για την παραγωγή βιοαιθανόλης και ροών αποβλήτων ζύμωσης. Αυτό το γένος έχει μελετηθεί για τη χρήση του στη παραγωγή αιθανόλης από ανανεώσιμες πηγές λόγω της ικανότητάς του να επιβιώνει σε χαμηλό pH και να ζυμώνει διάφορα μη παραδοσιακά υποστρώματα. Ο ζυμομύκητας *Brettanomyces spp.* μπορεί να αναπτυχθεί σε διάφορα υποστρώματα και σε ένα ευρύ φάσμα συνθηκών καλλιέργειας σε σχέση με τη θερμοκρασία και το pH. Η ικανότητα ανάπτυξης σε αυτά τα διάφορα υποστρώματα είναι μεταβλητή και εξαρτάται από το στέλεχος. Ακόμη, τα είδη του *Brettanomyces spp.* είναι σε θέση να ζυμώνουν τη γλυκόζη σε αιθανόλη υπό αναερόβιες συνθήκες. Επιπλέον, υπό αερόβιες συνθήκες, ορισμένα είδη *Brettanomyces* μπορούν να παράγουν υψηλά επίπεδα οξικού οξέος. Δεδομένου ότι ο *Brettanomyces spp.* θεωρείται οργανισμός αλλοίωσης του κρασιού, η παραγωγή οξικού οξέος είναι ανεπιθύμητο χαρακτηριστικό στο κρασί. Ωστόσο, η αιθανόλη και το οξικό οξύ είναι πολύτιμα συστατικά των ποτών που έχουν υποστεί ζύμωση καθώς η βιομηχανική χρήση του *Brettanomyces spp.* εμπνέει ενθαρρυντικές προοπτικές ειδικά για τον μετασχηματισμό και τη βιοαποκατάσταση ρευμάτων αποβλήτων (Lawton et al., 2021).

4.1.2 Υποπροϊόντα που περιέχουν λακτόζη ως υποστρώματα για τη ζύμωση *B. clausenii*

Για την διεργασία της ζύμωσης πιθανές επιλογές υποστρώματος αποτελούν τα λύματα γαλακτοκομικών προϊόντων όπως ο ορός γάλακτος. Τα υποπροϊόντα από γαλακτοκομικές διεργασίες (π.χ. παραγωγή τυριού και γιαουρτίς) είναι σε πλεόνασμα σε παγκόσμιο επίπεδο λόγω της μεγάλης αναλογίας υποπροϊόντος προς προϊόν (Lawton et al., 2021). Ειδικά ο όξινος ορός γάλακτος συνιστά μια ροή αποβλήτων από την παραγωγή γιαούρτις ελληνικού τύπου. Επί του παρόντος, αποτελεί σημαντικό ζήτημα απόρριψης για τη γαλακτοκομική βιομηχανία στις Ηνωμένες Πολιτείες λόγω του χαμηλού pH και της υψηλής βιολογικής απαίτησης σε οξυγόνο που τον καθιστούν ακατάλληλο για άμεση αποκομιδή (Smithers, 2015). Ο γλυκός ορός γάλακτος, από την παραγωγή τυριού, χρησιμοποιείται σε μεγάλο βαθμό στην παραγωγή σκόνης ορού γάλακτος λόγω της περιεκτικότητάς του σε πρωτεΐνη. Ο όξινος ορός γάλακτος μπορεί

να έχει χαμηλότερη συγκέντρωση πρωτεΐνης, όμως εξακολουθεί να περιέχει ορισμένα πολύτιμα συστατικά όπως βιταμίνες, μέταλλα και υδατάνθρακες. Το κύριο σάκχαρο που υπάρχει στον όξινο ορό γάλακτος είναι η λακτόζη, ένα πιθανό υπόστρωμα για ζύμωση με *Brettanomyces spp.*

Η χρήση του ορού γάλακτος σε ποτά χρονολογείται από την ελληνική αρχαιολογική εποχή και χρησιμοποιείται εδώ και αιώνες ως θεραπευτική θεραπεία για κοινές παθήσεις. Τις τελευταίες δεκαετίες, η συχνότητα χρήσης του στα ποτά έχει αυξηθεί. Ο ορός γάλακτος έχει χρησιμοποιηθεί ως βάση σε ποτά με πρόσθετες γεύσεις, αλλά συχνά, η γεύση γάλακτος, το χαμηλό pH και άλλες εγγενείς γεύσεις μπορεί να είναι ενοχλητικές για τους καταναλωτές. Η ζύμωση ορού γάλακτος χρησιμοποιώντας βακτήρια και μαγιά για την παραγωγή ποτών που περιέχουν αλκοόλ και οξικό οξύ είναι μια επιλογή όχι μόνο για να ξεπεραστεί αυτό το πρόβλημα αλλά και να προστεθούν λειτουργικές ιδιότητες στο προϊόν. Να σημειωθεί ότι, ο ορός γάλακτος έχει ζυμωθεί με βακτήρια γαλακτικού οξέος για την παραγωγή δυνητικά προβιοτικών προϊόντων. Έχει επίσης ζυμωθεί με την χρήση, μη παραδοσιακών μεθόδων για την παραγωγή προϊόντων που περιέχουν αιθανόλη ή οξικό οξύ. Με τη λακτόζη ως κύριο συστατικό, η διαδικασία αυτή πραγματοποιείται με διάφορους τρόπους όπως, η χρήση ζύμης που ανήκει στην ομάδα των *non-Saccharomyces*, η αρχική υδρόλυση λακτόζης και επακόλουθη ζύμωση με *S. cerevisiae* ή μέσω μεθόδων ανασυνδυασμού. Προς το παρόν, οι περισσότερες ζυμώσεις που περιέχουν λακτόζη εστιάζουν στη χρήση του *Kluyveromyces spp.* για την παραγωγή αιθανόλης. Αυτή η εναλλακτική μαγιά έχει την ικανότητα να χρησιμοποιεί λακτόζη, σε αντίθεση με το *S. cerevisiae*. Η επακόλουθη ζύμωση με βακτήρια οξικού οξέος οδηγεί στην παραγωγή ροφημάτων τύπου ξυδιού από ορό γάλακτος (Zotta et al., 2020; Lawton et al., 2021).

Εντούτις, υπάρχουν λίγες μελέτες που εστιάζουν στη λακτόζη ως υπόστρωμα για την παραγωγή αιθανόλης ή οξικού οξέος από το *Brettanomyces*, παρά το γεγονός ότι το είδος *B. clausenii* έχει την ικανότητα να καταναλώνει λακτόζη. Το 1983, οι Sandhu & Waraich παρουσίασαν την ανάπτυξη του *B. clausenii* σε ορό γάλακτος τυριού και την παραγωγή β-γαλακτοσιδάσης από μαγιά. Το 1986, οι Bothast et al., δημοσίευσαν σχετικά με τη χρήση του *B. clausenii* και πολλών άλλων ειδών ζυμομύκητα για την παραγωγή αιθανόλης σε διάφορες ποσότητες λακτόζης. Η μελέτη κατέληξε στο συμπέρασμα ότι το είδος δεν ήταν αποτελεσματικό στην παραγωγή αιθανόλης από λακτόζη. Πιο πρόσφατα, το *B. clausenii* αποδείχθηκε ότι παράγει αιθανόλη και οξικό

οξύ από συνθετικά μέσα λακτόζης και απόβλητα γαλακτοκομικών προϊόντων. Αυτό δημιουργεί μια πιθανή ευκαιρία παραγωγής προϊόντων προστιθέμενης αξίας από γαλακτοκομικά υποπροϊόντα και επέκτασης στην κατηγορία των λειτουργικών ποτών που έχουν υποστεί ζύμωση (Sandhu & Waraich 1983. Bothast et al., 1986, όπως αναφέρουν οι Lawton et al., 2021)

Τα ζυμούμενα ποτά τύπου ξιδιού, όπως η κομπούχα, έχουν ιστορικά προωθηθεί και διερευνηθεί για τα οφέλη τους στην υγεία. Αυτά τα οφέλη περιλαμβάνουν μείωση της χοληστερόλης, χαμηλό επίπεδο γλυκόζης στο αίμα και αντιμικροβιακές δράσεις, συμπεριλαμβανομένου του ελικοβακτηρίου του πυλωρού. Θεμελιώδεις μελέτες, έχουν επίσης ερευνήσει τα οφέλη για την υγεία που αποδίδονται στο ίδιο το ξίδι. Μερικές λειτουργικές ιδιότητες του ξιδιού περιλαμβάνουν σε μεγάλο βαθμό τη μείωση της αρτηριακής πίεσης, τη θεραπεία της υπεργλυκαιμίας, τη μειωμένη χοληστερόλη, τη συμβολή στην απώλεια βάρους και την εμφάνιση αντιμικροβιακών δράσεων. Πολλές από αυτές τις ιδιότητες αναγνωρίζονται ως επενέργεια του οξικού οξέος στο ξίδι ή στο ρόφημα κομπούχα. Τα ποτά που περιέχουν οξικό οξύ είναι δυνατό να εμπίπτουν στην κατηγορία των λειτουργικών ποτών.

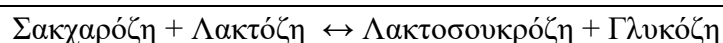
Συνεπώς, η αξιοποίηση της υδρόλυσης της λακτόζης από το *B. clausenii* φέρνει την δυνατότητα για καινοτόμα ποτά που υπόκεινται σε ζύμωση με βάση τα γαλακτοκομικά προϊόντα. Αυτή η μαγιά μπορεί να επιβιώσει σε σκληρές συνθήκες όπως το περιβάλλον χαμηλού pH του όξινου ορού γάλακτος, να παράγει ευεργετικά παραπροϊόντα, π.χ. οξικό οξύ και μπορεί να προσφέρει μοναδικές γευστικές ενώσεις. Επιπλέον, η ικανότητα του *B. clausenii* να ζυμώνει τη λακτόζη παρέχει μια εξαιρετική πηγή υποστρώματος. Τέλος, παρουσιάζεται η ευκαιρία για αξιοποίηση των ροών αποβλήτων των γαλακτοκομικών προϊόντων με σκοπό την διεύρυνση της βιομηχανίας γαλακτοκομικών στην αγορά μέσω λειτουργικών ποτών που έχουν υποστεί ζύμωση (Lawton et al., 2020).

4.2 Λακτοσουκρόζη

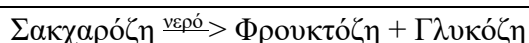
Η λακτοσουκρόζη είναι ένας συνθετικός τρισακχαρίτης που αποτελείται από γαλακτόζη, γλυκόζη και φρουκτόζη και παρουσιάζει μοριακό βάρος 504,44. Η λακτοσουκρόζη δεν αφομοιώνεται σε μεγάλο βαθμό στον ανώτερο γαστρεντερικό σωλήνα και μπορεί να φτάσει στο κόλον σχεδόν άθικτη. Επίσης, η λακτοσουκρόζη χαρακτηρίζεται από σημαντική ικανότητα συγκράτησης νερού, η οποία θεωρείται απαραίτητη παράμετρος τόσο σε φυσιολογικό όσο και σε βιομηχανικό επίπεδο. Η υψηλή ικανότητα συγκράτησης νερού αυξάνει την περισταλτικότητα του εντέρου και βελτιώνει το σχηματισμό και την παραγωγή κοπράνων. Στην επεξεργασία τροφίμων, η αύξηση της ικανότητας συγκράτησης νερού μπορεί να μειώσει τη συναίρεση ή τον διαχωρισμό ορού κατά την αποθήκευση του προϊόντος. Για την ικανοποίηση των καταναλωτών, αυτή είναι μια σημαντική προοπτική όταν εξετάζονται τα γαλακτοκομικά προϊόντα που έχουν υποστεί ζύμωση, όπως τα γιαούρτια ή το τυρί, τα οποία είναι ευαίσθητα στη συσσώρευση ορού ή του ορού γάλακτος στην επιφάνεια. Η ικανότητα της λακτοσουκρόζης να συγκρατεί νερό μπορεί να υποδηλώνει τη χρήση της ως υποκατάστατο λίπους σε αυτού του είδους τα προϊόντα, συμβάλλοντας στη μείωση της συνέργειας και βελτιώνοντας ορισμένα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά όπως η σύσταση και η υφή.

Η λακτοσουκρόζη έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως στην παρασκευή λειτουργικών τροφίμων. Στην Ιαπωνία το 2005, συμπεριλήφθηκε στον κατάλογο των τροφίμων για συγκεκριμένες χρήσεις υγείας. Από τότε η ζήτησή της αυξήθηκε και το 2007 το μέγεθος της αγοράς της λακτοσουκρόζης υπολογίστηκε σε περίπου 3000 τόνους ετησίως με ετήσιο ρυθμό αύξησης 10%. Η παραγωγή λακτοσουκρόζης επιτυγχάνεται με ενζυμικές διεργασίες που περιλαμβάνουν ένζυμα ικανά να καταλύουν τόσο τις αντιδράσεις υδρόλυσης όσο και τις αντιδράσεις μεταφοράς. Διαφορετικά ένζυμα μπορούν να εμπλέκονται στη σύνθεση του τρισακχαρίτη, αλλά όλα χρησιμοποιούν τα ίδια υποστρώματα: λακτόζη και σακχαρόζη. Ωστόσο, η απόδοση της αντίδρασης δεν είναι ιδιαίτερα υψηλή λόγω της περίπτωσης της αποδόμησης του προϊόντος (Silverio et al., 2015).

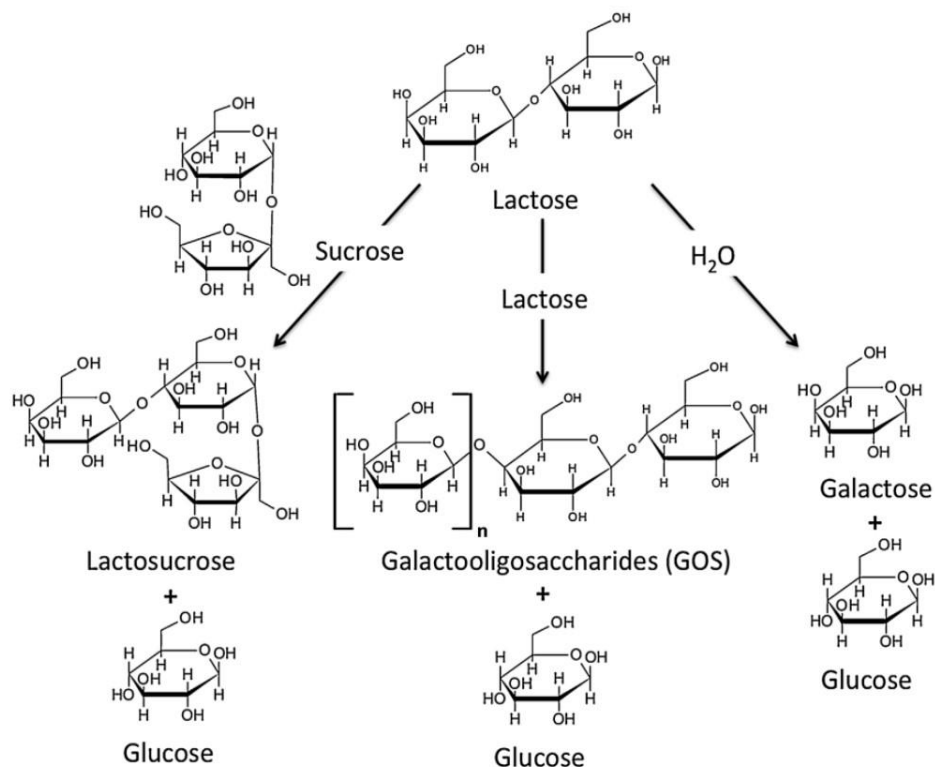
Η αντίδραση που περιγράφει την παραγωγή λακτοσοκρόζης είναι η εξής:



όπου η β-φρουκτοφουρανοσιδάση καταλύει τη μεταφορά του υπολείμματος φρουκτοζυλίου από τη σακχαρόζη στη λακτόζη. Ωστόσο, άλλες ενώσεις αντί της λακτόζης μπορούν να δράσουν ως δέκτες, όπως το νερό ή η σακχαρόζη. Όταν το νερό είναι ο δέκτης, εμφανίζεται η εξής αντίδραση υδρόλυσης:



Εάν η σακχαρόζη είναι ο δέκτης, λαμβάνει χώρα η σύνθεση του φρουκτοολιγосακχαρίτη (FOS). Εκτός από τις αντιδράσεις μεταφοράς, τα ένζυμα μπορούν επίσης να καταλύσουν την παράλληλη υδρόλυση του νεοσχηματισμένου προϊόντος, η οποία μπορεί να θέσει σε κίνδυνο την απόδοση της παραγωγής λακτοσοκρόζης. Ένα άλλο ένζυμο που εμπλέκεται στη σύνθεση της λακτοσοκρόζης είναι η β-γαλακτοσιδάση, η οποία καταλύει τη μεταφορά του υπολείμματος γαλακτοζυλίου από τη λακτόζη (δότης) στη σακχαρόζη (δέκτης). Όμως και σε αυτή την περίπτωση, η σχηματιζόμενη λακτοσοκρόζη μπορεί να λειτουργήσει ως δότης γαλακτοζυλίου, μειώνοντας έτσι την απόδοση (Silverio et al., 2015).



Εικόνα 8 Πιθανές αντιδράσεις που εμπλέκονται στη σύνθεση της λακτοσοουκρόζης που καταλύονται από το ένζυμο β-γαλακτοσιδάση (Duarte et al.,2017).

4.2.1 Οφέλη από την Κατάποση Λακτοσοουκρόζης

Αρκετά οφέλη έχουν σημειωθεί από την κατανάλωση λακτοσοουκρόζης. Αυτά τα οφέλη, στην ουσία προκύπτουν από την αντοχή της στην πέψη και την ικανότητά της να ζυμώνεται από την εντερική μικροχλωρίδα. Η λακτοσοουκρόζη, ως πιθανό πρεβιοτικό, λαμβάνει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της σύνθεσης της μικροχλωρίδας. Επιπλέον, η μικροβιακή ζύμωση της λακτοσοουκρόζης δημιουργεί ιδιάζοντα τελικά προϊόντα όπως λιπαρά οξέα βραχείας αλυσίδας (SCFAs). Αυτές οι ενώσεις φέρουν ευεργετική επίδραση στον ξενιστή μειώνοντας το εντερικό pH και ενισχύοντας τη βιοδιαθεσιμότητα των ανόργανων στοιχείων. Η κατανάλωση λακτοσοουκρόζης από υγιείς ενήλικες και ηλικιωμένους ασθενείς με δυσκοιλιότητα είχε θετικό αντίκτυπο στον αριθμό των ευεργετικών βακτηρίων, όπως ο *Lactobacillus* και το *Bifidobacterium spp.*, και μια αρνητική επίδραση στον αριθμό των παθογόνων βακτηρίων, όπως το *Clostridium sp.* Επιπροσθέτως, τα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα ή ινσουλίνης στον ορό σε υγιείς ενήλικες δεν μεταβλήθηκαν σημαντικά μετά την κατάποση λακτοσοουκρόζης. Οι πιο σημαντικές αλλαγές σημειώθηκαν στο pH των κοπράνων, το οποίο υπέστη σημαντική μείωση λόγω της παραγωγής SCFAs. Μειώθηκε επίσης η συγκέντρωση

επιβλαβών προϊόντων σήψης στα κόπρανα, όπως της αμμωνίας (Kumemura et al., 1992; Silverio et al.,2015).

Η πρόσληψη λακτοσουκρόζης μπορεί να έχει πρακτική επιρροή στην αύξηση της συχνότητας, του βάρους και της υγρασίας των κοπράνων. Επιπλέον, μετά την κατάποση λακτοσουκρόζης, η αίσθηση της κένωσης του εντέρου μπορεί να βελτιωθεί. Αξίζει να σημειωθεί ότι, δεν παρουσιάστηκαν ενοχλητικά συμπτώματα όπως κοιλιακό άλγος, διάταση, βουητό στομάχου ή ναυτία μετά την κατάποση (Kumemura et al.,1992). Η χορήγηση του τρισακχαρίτη είχε θετικό αντίκτυπο στην αποκατάσταση του περιβάλλοντος του παχέος εντέρου σε ασθενείς με εκτομή μέρους του παχέος εντέρου. Ακόμη, σε μια γυναίκα ασθενή που έπασχε από διάρροια μετά από ολική κολεκτομή η λακτοσουκρόζη συνέβαλλε στην ομαλοποίηση της εντερικής μικροχλωρίδας. Ο συνθετικός τρισακχαρίτης μπορεί επίσης να έχει ευεργετική επίδραση στη θεραπεία ασθενών με χρόνιες φλεγμονώδεις νόσους του εντέρου, όπως η νόσος του Crohn και η ελκώδης κολίτιδα. Η πρόληψη των κοιλιακών συμπτωμάτων σε ασθενείς με δυσανεξία στη λακτόζη μπορεί να επιτευχθεί επίσης με τη χορήγηση λακτοσουκρόζης.

Επιπλέον, η μακροχρόνια κατανάλωση λακτοσουκρόζης έχει δείξει ενίσχυση της εντερικής απορρόφησης ασβεστίου, μαγνησίου και φωσφόρου και μείωση την οστικής απορρόφησης σε υγιείς νεαρές γυναίκες. Η αποτελεσματική δοσολογία της λακτοσουκρόζης με φυσιολογική επίδραση στη χλωρίδα των κοπράνων και στους μεταβολίτες των κοπράνων για υγιείς ανθρώπους προσδιορίστηκε σε 1–3 g/ημέρα. Επιπλέον, η λήψη μιας δεδομένης ημερήσιας ποσότητας του τρισακχαρίτη, διαιρεμένης σε δύο ή περισσότερες δόσεις μείωσε την εμφάνιση διάρροιας συγκριτικά με την κατάποση της ίδιας ποσότητας σε μία μόνο δόση. Το καθαρτικό όριο της λακτοσουκρόζης προσδιορίστηκε σε 0,802 g/kg σωματικού βάρους, το οποίο είναι σημαντικά υψηλότερο από εκείνο που αναφέρεται για άλλους μη αφομοιώσιμους υδατάνθρακες όπως ο δισακχαρίτης λακτουλόζη (0,26 g/kg σώματος). Η ραφινόζη που βρίσκεται εκ φύσεως σε ορισμένα λαχανικά, είναι ένα ισομερές της λακτοσουκρόζης και μπορεί επίσης να παρουσιάσει κάποια πιθανή πρεβιοτική δράση (Silverio et al.,2015).

Πίνακας 7: Θετικές επιδράσεις από την χορήγηση λακτοσουκρόζης

Πρεβιοτική δράση	Ρύθμιση της σύνθεσης της μικροχλωρίδας
Μικροβιακή ζύμωση	Λιπαρά οξέα βραχείας αλύσου (SCFAs) ως τελικά προϊόντα
SCFAs	Μείωση εντερικού pH και ενίσχυση της βιοδιαθεσιμότητας των ανόργανων στοιχείων
Υγιείς ενήλικες και ηλικιωμένοι ασθενείς με δυσκοιλιότητα	Αύξηση αριθμού ευεργετικών βακτηρίων (<i>Lactobacillus</i> , <i>Bifidobacterium spp.</i>) και αρνητική επίδραση στο πλήθος των παθογόνων βακτηρίων (<i>Clostridium sp.</i>)
Υγιείς ενήλικες	Τα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα ή ινσουλίνης στον ορό δεν μεταβλήθηκαν σημαντικά μετά την κατάποση λακτοσουκρόζης
Ασθενείς ύστερα από αφαίρεση με χειρουργική τομή (κολεκτομή)	Αποκατάσταση της εντερικής μικροχλωρίδας
Χρόνιες φλεγμονώδεις νόσους του εντέρου	Ευεργετική επιρροή κατά την θεραπευτική αγωγή
Πολυετής κατανάλωση	Ενίσχυση της εντερικής απορρόφησης ασβεστίου, μαγνησίου και φωσφόρου και μείωση την οστικής απορρόφησης σε υγιείς νεαρές γυναίκες
Πρόσληψη 1–3 g /ημέρα από υγιή άτομα	Βελτίωση μικροχλωρίδας κοπράνων

4.2.2 Πιθανές Εφαρμογές Λακτοσουκρόζης

Η λακτοσουκρόζη, ως γλυκαντικό χαμηλής πέψης και χαμηλής επιβλαβούς δράσης στα δόντια, μπορεί να συμπεριληφθεί σε τρόφιμα και ποτά όπως προϊόντα αρτοποιίας, γιαούρτια, παγωτά, βρεφικά γάλατα, σνακ, μπισκότα, επιδόρπια ή καραμέλες. Η ενσωμάτωσή του σε σοκολάτες, τσίγλες, στιγμιαίο χυμό, στιγμιαία σούπα και μεταλλικό νερό έχει διεκδικηθεί σε πολλά διπλώματα ευρεσιτεχνίας. Επιπλέον, η λακτοσουκρόζη προστέθηκε στις τροφές για κατοικίδια ζώα έτσι ώστε να ρυθμίσει την εντερική μικροχλωρίδα και ταυτοχρόνως να μειώσει τη δυσάρεστη οσμή των κοπράνων και των ούρων, καθώς και στις τροφές των ψαριών για τη βελτίωση της απορρόφησης θρεπτικών συστατικών και τη μείωση της πιθανότητας αυτομόλυνσης με την απέκκριση. Η εφαρμογή της λακτοσουκρόζης σε φαρμακευτικά και καλλυντικά προϊόντα περιγράφηκε σε ορισμένες ευρεσιτεχνίες, όπου δρα ως έκδοχο, ως θρεπτική υποστήριξη και ρυθμιστής μικροχλωρίδας ή ως δραστικό συστατικό στην πρόληψη ορισμένων δερματικών παθήσεων. Πρόσθετες εφαρμογές της λακτοσουκρόζης περιλαμβάνουν τη χρήση της ως απομίμηση προϊόντων τρανσγλυκοζυλίωσης σε ενζυμικές δοκιμές υδρόλυσης από μεταλλαγμένη β-γαλακτοσιδάση για την παραγωγή α-γαλακτοσιδάσης και τη σταθεροποίηση πρωτεϊνών (Silverio et al., 2015).

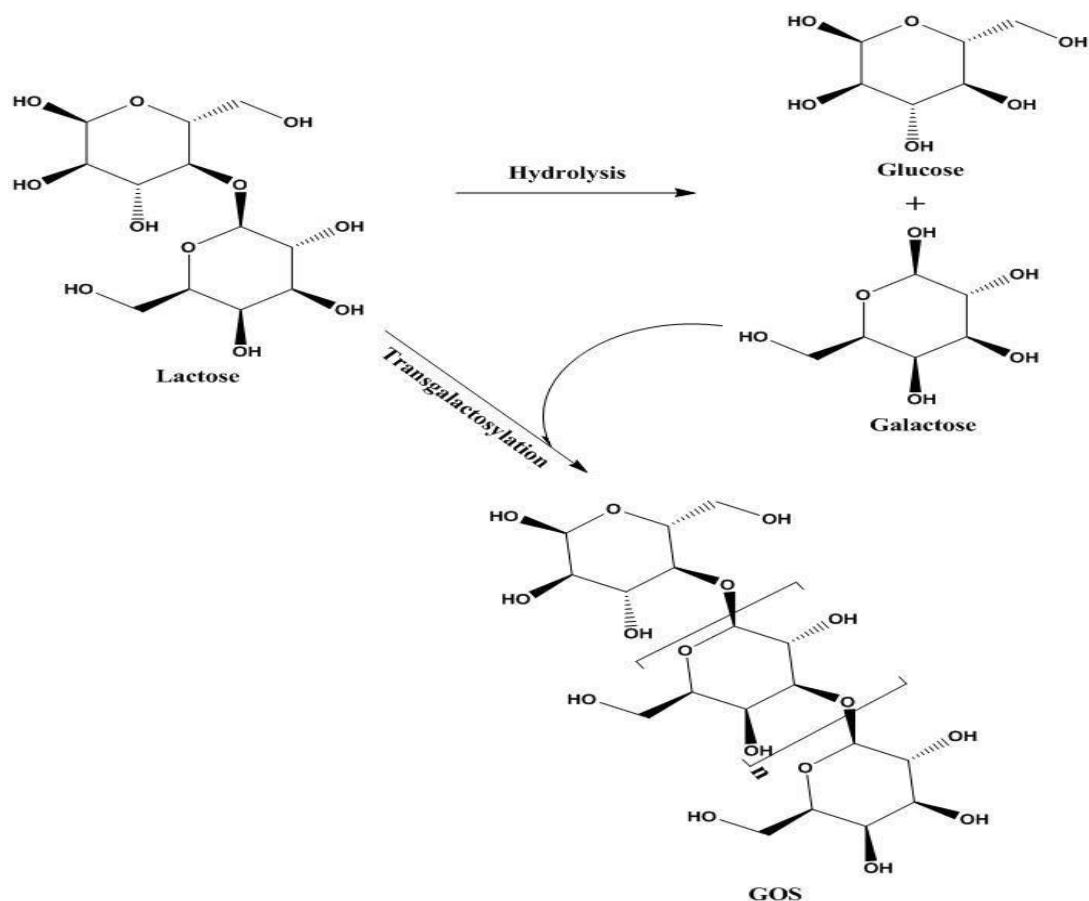
4.3 Γαλακτοολιγοσακχαρίτες

Οι γαλακτο-ολιγοσακχαρίτες (GOS: Galacto-oligosaccharides) είναι ολιγοσακχαρίτες που παράγονται με υπόστρωμα την λακτόζη και αποτελούνται από έναν μεταβλητό αριθμό μονάδων γαλακτόζης σε συνδυασμό με έναν ακροδέκτη γλυκόζης μέσω σχηματισμού γλυκοζιτικών δεσμών. Οι GOS είναι μη πεπτόμενοι από τον ανθρώπινο γαστρεντερικό σωλήνα και μπορούν να λειτουργήσουν ως πρεβιοτικά, διεγείροντας τον πολλαπλασιασμό των βακτηρίων του γαλακτικού οξέος και των μπιφιδοβακτηρίων (Gonzalez-Delgado et al., 2016). Η δράση της τρανσγαλακτοσιδάσης της λακτάσης μέσω της οποίας παράγεται ένα ευρύ φάσμα γαλακτοολιγοσακχαριτών από τη λακτόζη είναι γνωστή για περισσότερο από 60 χρόνια. Ωστόσο, τα τελευταία χρόνια ένεκα της αναγνώρισής τους ως πρεβιοτικά είδη, έχουν αποκτήσει ιδιαίτερο ενδιαφέρον καθώς

αποτελούν πιο καινοτόμους ολιγοσακχαρίτες που προέρχονται από λακτόζη και διατίθενται στην αγορά.

Η σύνθεσή τους πραγματοποιείται μέσω μιας διαδικασίας που ονομάζεται διαγαλακτοζυλίωση της λακτόζης και επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από διάφορους παράγοντες όπως η πηγή ενζύμου, η συγκέντρωση της λακτόζης, η σύνθεση του υποστρώματος και οι συνθήκες αντίδρασης (θερμοκρασία, χρόνος και pH). Κατά τη διαδικασία σύνθεσης, η β-D-γαλακτοσιδάση διασπά τους β-1,4-d-γλυκοζιτικούς δεσμούς της λακτόζης και στη συνέχεια μεταφέρει τα τμήματα γαλακτοζυλίου σε διαφορετικά μόρια-δέκτες που περιέχουν υδροξύλιο. Δημιουργούνται GOS όταν το γαλακτοζύλιο μεταφέρεται σε άλλα σάκχαρα. Διαφορετικές β-γαλακτοσιδάσες έχουν και διαφορετική τοποχημική εκλεκτικότητα, οδηγώντας έτσι σε διαφορετική θέση των γλυκοζιτικών δεσμών (Zhang,2019; Moreno et al.,2010).

Η χημική σύνθεση των γαλακτοολιγοσακχαριτών είναι επίσης εφικτή, αλλά απαιτεί πολλά στάδια αντίδρασης λόγω της απαραίτητης προστασίας των υδροξυλομάδων, κάτι που δεν συμβαίνει κατά την ενζυμική σύνθεση. Επίσης, οι ενζυμικές διεργασίες είναι ευκολότερα εφαρμόσιμες, πιο ευνοϊκές για το περιβάλλον και λιγότερο δαπανηρές από τις χημικές (Otiemo, 2010).



Εικόνα 9 Ενζυμική σύνθεση GOS μέσω διαγαλακτοζύλιωσης παρουσία β-D-γαλακτοσιδάσης (Zhang,2019).

4.3.1 Πηγές υποστρώματος για σύνθεση GOS

Η ποσότητα λακτόζης, ως συστατικό των γαλακτοκομικών υποπροϊόντων, που συσσωρεύεται παγκοσμίως ανέρχεται περίπου σε 3,3 εκατομμύρια τόνους ετησίως. Ωστόσο, το μισό από αυτό χρησιμοποιείται για ανθρώπινη κατανάλωση ή ζωοτροφές και το υπόλοιπο απορρίπτεται, προκαλώντας περιβαλλοντικά προβλήματα. Τα γαλακτοκομικά προϊόντα που περιέχουν λακτόζη καθώς και καθαρά διαλύματα λακτόζης είναι επομένως τα κύρια υποστρώματα από τα οποία δύναται να συντεθούν GOS με την χρήση του ενζύμου β-γαλακτοσιδάση. Για παράδειγμα, η γιαούρτη μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως βασικό υλικό για την παραγωγή GOS μέσω της χρήσης των καλλιεργειών εκκίνησής της κατά την περίοδο επώασης. Μάλιστα, η γιαούρτη που περιέχει *Bifidobacterium Infantis* έχει αναφερθεί ότι έχει υψηλότερη συγκέντρωση GOS από τη γιαούρτη που περιέχει άλλα μπιφιδοβακτήρια, υποδηλώνοντας έτσι μια υψηλότερη σε απόδοση αντίδραση διαγαλακτοζύλιωσης από τη β-γαλακτοσιδάση και αυτόν τον μικροοργανισμό (Otiemo, 2010).

Επίσης, για την παραγωγή GOS έχει χρησιμοποιηθεί η διαδικασία σύνθεσης γαλακτοζυλοτρανσφεράσης με χρήση υποστρωμάτων νουκλεοτιδίων φωσφοσακχάρων. Ειδικά ενζυμικά υποστρώματα όπως η ο-νιτροφαινυλ γαλακτοπυρανοσίδη (ο-NPG) θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για τη σύνθεση GOS χρησιμοποιώντας β-D-γαλακτοσιδάση. Υποστηρίζεται ότι, οι GOS έχουν παραχθεί από συγκεκριμένα υποστρώματα ενισχυμένα από ειδικούς καταλύτες ιόντων. Για παράδειγμα, η β-γαλακτοσιδάση από τον μύκητα *Kluyveromyces lactis* δύναται να παράγει GOS από ο-NPG με την προσθήκη Mg^{2+} και Mn^{2+} . Ακόμη, τα στοιχεία Co^{2+} , Zn^{2+} και Ni^{2+} έχουν την ικανότητα να ενεργοποιούν την αντίδραση υδρόλυσης του ενζύμου ο-NPG ενώ αναστέλλουν την ικανότητα υδρόλυσης της λακτόζης (Otiemo, 2010). Σύμφωνα με τους Albuquerque et al., όταν το υπόστρωμα είναι λακτόζη η σταθεροποίηση των διαφορετικών κατιόντων υπακούει στην ακόλουθη σειρά: $Na^+ > NH_4^+ > K^+$. Από την άλλη πλευρά, όταν χρησιμοποιείται το υπόστρωμα ο-NPG, το K^+ ή το Na^+ προσφέρουν καλύτερη σταθεροποίηση του ενζύμου KI-β-gal (Albuquerque et al., 2021).

Από όλα τα παραπάνω γίνεται φανερό ότι, η σύνθεση των γαλακτοολιγοσακχαριτών (GOS) χρησιμοποιώντας το ένζυμο β-γαλακτοσιδάση σε γαλακτοκομικά προϊόντα είναι ένα πολλά υποσχόμενο εγχείρημα για την παραγωγή νέων λειτουργικών συστατικών που είναι σημαντικά για την προαγωγή της υγείας εκατομμυρίων καταναλωτών σε όλο τον κόσμο. Εξίσου σημαντικό είναι το γεγονός ότι αυτά τα συστατικά μπορούν να ληφθούν από υποστρώματα χαμηλής κοστολογικής αξίας όπως η λακτόζη από ορό γάλακτος. Το διεθνές εμπόριο διευρύνεται συνεχώς κι η ζήτηση για θρεπτικά τρόφιμα με βάση τους GOS αυξάνεται. Αυτή η τάση αναμφίβολα αντιπροσωπεύει μια ευκαιρία για τη δημιουργία προϊόντων υψηλής διατροφικής αξίας.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΜΗ ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΚΑ ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ

5.1 Η Ανάγκη Ανάπτυξης Μη Γαλακτοκομικών Προβιοτικών

Τα προβιοτικά είναι ζωντανοί μικροοργανισμοί που έχουν ευεργετική επίδραση στον ξενιστή όταν χορηγούνται σε κατάλληλες ποσότητες. Παραδοσιακά, οι προβιοτικοί μικροοργανισμοί έχουν προστεθεί στο γιαούρτι και άλλα γαλακτοκομικά προϊόντα που έχουν υποστεί ζύμωση. Στις σημερινές μέρες, υπάρχει μια αυξανόμενη ζήτηση των καταναλωτών για προβιοτικά προϊόντα που δεν έχουν ως βάση τα γαλακτοκομικά, αλλά ενσωματώνονται σε πόσιμα διαλύματα ή διατίθενται στο εμπόριο ως συμπλήρωμα διατροφής με τη μορφή δισκίων, καψουλών και λυοφιλοποιημένων παρασκευασμάτων όπως είναι τα εξής: Enterogermina, UltraLevure, Florastor (Rivera-Espinoza & Gallardo-Navarro,2008).

Ακόμη, οι καλλιέργειες προβιοτικών εφαρμόζονται με επιτυχία σε πολλές φόρμουλες τροφίμων. Πολλά προϊόντα διατροφής, όπως γαλακτοκομικά, κρέατα, ποτά, δημητριακά, λαχανικά και φρούτα έχουν χρησιμοποιηθεί ως μέσα παράδοσης για προβιοτικά. Οι προβιοτικοί μικροοργανισμοί είναι ως επί το πλείστον ανθρώπινης ή ζωικής προέλευσης, ωστόσο ορισμένες μελέτες δείχνουν ότι στελέχη που αναγνωρίζονται ως προβιοτικά βρίσκονται επίσης σε μη γαλακτοκομικά υποστρώματα που έχουν υποστεί ζύμωση. Πράγματι, μια σειρά από οφέλη για την υγεία έχουν συνδεθεί με την κατανάλωση προβιοτικών προϊόντων, όπως η θεραπεία της διάρροιας, η ανακούφιση των συμπτωμάτων της δυσανεξίας στη λακτόζη, η μείωση της χοληστερόλης στο αίμα, η θεραπεία του συνδρόμου ευερέθιστου εντέρου καθώς και η εμφάνιση αντικαρκινικών ιδιοτήτων, η σύνθεση βιταμινών και ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος (Rivera-Espinoza & Gallardo-Navarro,2008; Aspri et al.,2020).

Οι παθήσεις που αναφέρθηκαν προηγουμένως αποτελούν περιοριστικούς παράγοντες όσο αφορά την εξέλιξη των προβιοτικών στην γαλακτοβιομηχανία. Είναι ευρύτατα διαδεδομένο το γεγονός ότι η πλειοψηφία του παγκόσμιου πληθυσμού υποφέρει από δυσανεξία στην λακτόζη. Ο συγκεκριμένος υδατάνθρακας είναι πρωταρχικής σημασίας για την προαγωγή της υγείας των νεογέννητων. Η δραστηριότητα του

εντερικού ενζύμου λακτάση κατά τη μεταγεννητική περίοδο είναι σε μέγιστα επίπεδα στα περισσότερα βρέφη και μειώνεται περαιτέρω με το πέρασμα του χρόνου. Ωστόσο, μεταξύ των παιδιών ηλικίας δύο έως δώδεκα ετών, αυτή η συσσώρευση εμφανίζεται σε δύο διακριτές ομάδες, συγκεκριμένα είναι η ομάδα ατόμων με υπολακτασία και η ομάδα με ανοχή στην λακτάση, που αντιστοιχεί στο νεογνικό επίπεδο δραστηριότητας της λακτάσης ακόμη και μετά τη φάση της βρεφικής ηλικίας. Πέρα όμως από τα πάσχοντα άτομα, τα τελευταία χρόνια έχει σημειωθεί αύξηση των χορτοφάγων καταναλωτών τόσο στις ανεπτυγμένες όσο και στις αναπτυσσόμενες χώρες και για τον λόγο αυτό υπάρχει μεγάλη ζήτηση για φυτικά προβιοτικά προϊόντα. Στην αναζήτηση εναλλακτικών γαλακτοκομικών με επαρκώς θρεπτικά συστατικά συνέβαλαν επίσης, η υψηλή περιεκτικότητα σε χοληστερόλη στα τυπικά γαλακτοκομικά προϊόντα και φυσικά οι οικονομικοί λόγοι (Panghal et al., 2017).

5.1.1 Ανταπόκριση Αγοράς για Μη Γαλακτοκομικά Προβιοτικά

Εξαιτίας της αυξημένης ευαισθητοποίησης των καταναλωτών σχετικά με τον αντίκτυπο των τροφίμων στην υγεία η αγορά προβιοτικών τροφίμων αυξάνεται, παγκοσμίως, πολύ γρήγορα. Σήμερα, τα προβιοτικά προϊόντα αποτελούν μεταξύ 60% και 70% της συνολικής αγοράς λειτουργικών τροφίμων. Το 2011 το σύνολο της παγκόσμιας αγοράς προβιοτικών τροφίμων και ποτών κοστολογήθηκε σε περίπου 24,8 δισεκατομμύρια ευρώ ενώ το 2015 ξεπέρασε το ποσό των 31,1 δισεκατομμυρίων ευρώ. Το πρώτο μη γαλακτοκομικό προβιοτικό προϊόν προήλθε από σουηδική εταιρεία, την Skane Dairy το 1994 με την επωνυμία ProViva. Το βασικό υπόστρωμα του προϊόντος συνιστά το πλιγούρι βρώμης που ζυμώνεται από το στέλεχος *Lactiplantibacillus plantarum* 299n και στην συνέχεια προστίθεται στο προϊόν βυνοποιημένο κριθάρι για τη βελτίωση της υγροποίησης του προϊόντος. Ένα παρόμοιο προϊόν ονόματι Good Belly, παρασκευασμένο από πλιγούρι βρώμης και *Lactiplantibacillus plantarum* 299n ήταν το πρώτο μη γαλακτοκομικό προβιοτικό ποτό στην αγορά των ΗΠΑ το 2006.

Επιπλέον, πρόσφατα διατέθηκαν στο εμπόριο αρκετά προϊόντα με προβιοτικά δημητριακά, όπως οι μπάρες δημητριακών CornyActiv® στη Γερμανία, οι προβιοτικές νιφάδες Muesli® στην Πορτογαλία και τα δημητριακά πρωινού ολικής αλέσεως Weetaflakes® στη Γαλλία (Aspri et al.,2020). Ακολουθώντας την τάση της αγοράς η εταιρεία Danisco λάνσαρε μη γαλακτοκομικά προβιοτικά όπως ενεργειακά ποτά, χυμούς φρούτων και παγωτό. Ακόμη, μια καλή προσπάθεια για τη μείωση των πιθανοτήτων αλλεργικών αντιδράσεων λόγω των πρωτεϊνών του πλήρους αγελαδινού γάλακτος αποτελεί η προβιοτική βρεφική φόρμουλα «Good Start» της Nestle (Panghal et al, 2017).



Εικόνα 10 Προϊόντα με προβιοτικά

A: <http://www.abcd-diaries.com/2011/08/> , B: <https://cornershopapp.com/en-ca/products/b9sd-good-start-nestle-good-start-probiotic-with-pro-blend-stage-2-baby-formula-new-look-600-g-powder>

5.2 Εφαρμογή προβιοτικών σε μη γαλακτοκομικά προϊόντα

5.2.1 Φρούτα & Λαχανικά

Τα φρούτα και τα λαχανικά είναι αξιόλογοι μη γαλακτοκομικοί φορείς για προβιοτικά και είναι συμβατά με δημοφιλείς επιλογές διατροφής, όπως η χορτοφαγία και ο βιγκανισμός. Τα λαχανικά παρέχουν ένα ευεργετικό περιβάλλον που προστατεύει τη βιωσιμότητα των προβιοτικών από παράγοντες άγχους κατά τη διάρκεια ζωής του προϊόντος, όπως η επεξεργασία για ενσωμάτωση στη μήτρα των τροφίμων, η αποθήκευση και η μεταφορά μέσω της εντερικής διέλευσης, η θερμοκρασία (ζέστη/κρύο), τα οξέα, το οξειδωτικό στρες και η χολή (Lillo-Perez et al.,2021). Το

γεγονός αυτό, μπορεί να τα καταστήσει ιδανικά υποστρώματα για την καλλιέργεια προβιοτικών, καθώς περιέχουν ήδη ευεργετικά θρεπτικά συστατικά όπως μέταλλα, βιταμίνες, διαιτητικές ίνες και αντιοξειδωτικά, ενώ στερούνται των γαλακτοκομικών αλλεργιογόνων που θα μπορούσαν να εμποδίσουν την κατανάλωση από ορισμένα τμήματα του πληθυσμού. Το ενδιαφέρον των βιομηχανιών έχει κεντρίσει η ανάπτυξη λειτουργικών ροφημάτων με βάση χυμούς φρούτων με προβιοτικά, επειδή η φόρμουλα αυτή φέρει γευστικά προφίλ που είναι αποδεκτά απ' όλες τις ηλικιακές ομάδες, επίσης θεωρούνται μια υγιεινή και ταυτόχρονα δροσιστική επιλογή για όλες τις ώρες της μέρας (Rivera-Espinoza & Gallardo-Navarro,2008).

Ένα ακόμη πλεονέκτημα είναι ότι αυτοί οι χυμοί παραμένουν πολύ λιγότερο χρόνο στο στομάχι και έτσι τα προβιοτικά είδη περνούν πολύ λιγότερο χρόνο στο σκληρό όξινο περιβάλλον αυτού. Πολλά φρούτα και λαχανικά όπως μήλα, πορτοκάλια, φραγκοστάφυλο, μπανάνα, μύρτιλο, ανανάς, μήλο κάσιους (*Anacardium occidentale* L.), πεπόνι, βατόμουρο, χυμός ροδιού, καρότο, παντζάρι και ανάμεικτος χυμός λαχανικών αξιοποιούνται για το σκοπό αυτό. Ο πληθυσμός των βιώσιμων κυττάρων του *Lactocaseibacillus casei* στον χυμό μήλου κάσιους ακόμη και μετά από αποθήκευση για 6 εβδομάδες βρέθηκαν να είναι περισσότεροι από 10^8 cfu/mL κι ως εκ τούτου, αποδείχθηκαν εξίσου αποτελεσματικοί με τα γαλακτοκομικά προϊόντα για την ανάπτυξη αυτού του προϊόντος. Παρόμοιες ενδείξεις σημειώθηκαν σε χυμό ανανά και χυμό πεπονιού. Επίσης, κατά την ανάπτυξη ενός προβιοτικού ζυμωμένου χυμού φρούτων η σταθερότητα και η αισθητηριακή αποδοχή λαμβάνονται υπόψη. Σε αυτό το πλαίσιο, οι νέοι προβιοτικοί χυμοί φραγκοστάφυλου με βάση την καλλιέργεια *L.plantarum* 299n βρέθηκαν να έχουν καλό άρωμα και γεύση σε σύγκριση με τους μη προβιοτικούς χυμούς φραγκοστάφυλου (Vijaya- Kumar et al.,2015).

Τέσσερα στελέχη οξυγαλακτικών βακτηρίων χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό καταλληλότητας της τομάτας, του χυμού από παντζάρι και του χυμού λάχανο. Αυτά είναι τα:

- *Lactobacillus acidophilus*
- *Lactiplantibacillus plantarum*
- *Lactocaseibacillus casei*
- *Lactobacillus delbrueckii*

Το πλήθος βιώσιμων κυττάρων των τεσσάρων βακτηρίων γαλακτικού οξέος σε όλα τα προϊόντα μετά από την διεργασία της ζύμωσης κυμάνθηκαν από 10^5 έως 10^8 cfu/mL μετά από 4 εβδομάδες αποθήκευσης στο ψυγείο στους 4 °C (Aspri et al.,2020).

Σύμφωνα με τους Sheehan et al., τα στελέχη *Lacticaseibacillus casei* DN-114 001, *Lacticaseibacillus rhamnosus* GG και *Lacticaseibacillus paracasei* NFBC43338 έχουν πολλά υποσχόμενες δυνατότητες εκμετάλλευσης ως λειτουργικά συμπληρώματα στους χυμούς φρούτων λόγω της εντυπωσιακής ανοχής τους σε όξινα περιβάλλοντα καθώς δύνανται να επιβιώσουν σε χυμό πορτοκαλιού και ανανά για τουλάχιστον 12 εβδομάδες αποθήκευσης στο ψυγείο με αριθμούς κυττάρων άνω των 10^7 cfu/mL και 10^6 cfu/mL αντίστοιχα (Sheehan et al.,2007). Οι Kun et al., επέδειξαν ότι οι βακτηριακά στελέχη του γένους *Bifidobacterium*: *B.lactis* Bb-12, *B.bifidum* B 7.1 και *B.bifidum* B3.2 μπορούσαν να αναπτυχθούν καλά με καθαρό χυμό καρότου χωρίς εμπλουτισμό θρεπτικών συστατικών. Όλα τα στελέχη φανέρωσαν υψηλές αρχικές μετρήσεις βιώσιμων κυττάρων της τάξης των 10^{10} cfu/mL (Kun et al.,2008).

Παράλληλα, οι Wang et al. μελέτησαν εάν είναι κατάλληλος ο χυμός noni ως πρώτη ύλη για την παραγωγή προβιοτικών. Το Noni (*Morinda citrifolia*) είναι ένα τροπικό φυτό που φύεται στα νησιά του Ειρηνικού. Λαμβάνει ιδιαίτερο ενδιαφέρον από τους Πολυνήσιους για πάνω από 2.000 χρόνια λόγω των φυσικών φαρμακευτικών ιδιοτήτων του. Διαφορετικά μέρη του φυτού, συμπεριλαμβανομένων των καρπών, των φύλλων, του φλοιού και της ρίζας, έχει αποδειχθεί ότι περιέχουν διάφορες βιολογικά ενεργές ενώσεις. Στην παραδοσιακή φαρμακοποιία επικρατεί η άποψη ότι, ο χυμός, τα εκχυλίσματα ή οι απομονωμένες βιολογικές ενώσεις από το noni προλαμβάνουν και θεραπεύουν πολλές ασθένειες. Έχουν υιοθετηθεί κυρίως για την τόνωση του ανοσοποιητικού συστήματος, την αναστολή της οξειδωσης των λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας, την εξάλειψη των ελεύθερων ριζών, την παροχή αντιφλεγμονωδών ιδιοτήτων και τη ρύθμιση της χοληστερόλης. Ήρθαν στο συμπέρασμα λοιπόν, ότι τα στελέχη *Bifidobacterium longum* και *Lactiplantibacillus plantarum* έχουν την ικανότητα να είναι τα βέλτιστα προβιοτικά για τον ζυμωμένο χυμό noni (Wang et al.,2009).

Στην μελέτη των Fonteles et al., διαπιστώθηκε ότι το προβιοτικό στέλεχος *Lactocaseibacillus casei* B-442 μπορεί να χρησιμοποιηθεί με επιτυχία για τη ζύμωση του χυμού πεπονιού. Οι μελετητές παρατήρησαν ότι ένα αρχικό pH (6,1) είχε ως

αποτελεσμα καλή κυτταρική βιωσιμότητα, της τάξης των 10^8 cfu/mL και αυτό το επίπεδο διατηρήθηκε για τις 42 ημέρες αποθήκευσης στο ψυγείο (Fonteles et al.,2011). Οι συγγραφείς Perreira et al., μελέτησαν την ικανότητα του *Lactocaseibacillus casei* NRRL B442 να ζυμώνεται και να επιβιώνει σε χυμό μήλου κάσιους και βρήκαν ότι κατά τη διάρκεια αποθήκευσης 42 ημερών στο ψυγείο, το *L.casei* είχε αριθμό βιώσιμων κυττάρων μεγαλύτερο από 10^8 cfu/mL συνεπώς υψηλή βιωσιμότητα (Perreira et al.,2010).

Χρειάζεται επίσης να σημειωθεί ότι οι Nagpal et al., το 2012 αξιολόγησαν δύο στελέχη του γένους *Lactobacillus*, το *Lactiplantibacillus plantarum* και το *Lactobacillus acidophilus*, τα οποία έχουν την ικανότητα να επιβιώνουν σε ζυμωμένους χυμούς φρούτων με υψηλή οξύτητα και χαμηλό pH. Για την διεξαγωγή της μελέτης χρησιμοποιήθηκαν χυμοί από πορτοκάλι, σταφύλι και τομάτα. Τα αποτελέσματα οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι οι χυμοί αυτών των φρούτων θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως μέσα για τη ζύμωση και την προσφορά προβιοτικών βακτηρίων γαλακτικού οξέος. Αυτά τα εμπλουτισμένα με προβιοτικά προϊόντα φρούτων δύναται να χρησιμοποιηθούν ως λειτουργικό υγιεινό ρόφημα για την υποστήριξη της ευεξίας και για την προαγωγή μιας υγιεινής διατροφής του πληθυσμού, με έμφαση στα άτομα που είναι αλλεργικά ή δυσανεκτικά στα προϊόντα με βάση το γάλα ή προτιμούν να τα εμπεριέχουν στις διατροφικές τους συνήθειες (Nagpal et al.,2012).

Επιπροσθέτως, οι Aspri et al., κάνουν λόγο για την αποτελεσματικότητα του χυμού από κεράσι τύπου Cornelian, ο οποίος παρήχθη με την εφαρμογή του προβιοτικού στελέχους *Lactiplantibacillus plantarum* ATCC 14917. Το συγκεκριμένο στέλεχος παρέμεινε βιώσιμο σε όλη τη διάρκεια της περιόδου ψυχρής αποθήκευσης. Επίσης το ίδιο προβιοτικό στέλεχος μπορεί να χρησιμοποιηθεί επιτυχώς για τη ζύμωση χυμού ροδιού (Aspri et al.,2020). Το φρούτο καραμπόλα (*Averrhoa carambola*), γνωστό ως star fruit λόγω του σχήματός του, καλλιεργείται και καταναλώνεται ευρέως στη Νοτιοανατολική Ασία λόγω της υψηλής αντιοξειδωτικής του ικανότητας και των διαφόρων θρεπτικών συστατικών. Οι Lu et al., αξιολόγησαν την δυνατότητα αυτού του φρούτου να υποστηρίζει την ανάπτυξη και τη βιωσιμότητα τριών εμπορικών προβιοτικών στελεχών, των *Lactobacillus helveticus* L10, *Lactocaseibacillus paracasei* L26 και *Lactocaseibacillus rhamnosus* HN001. Όλα τα στελέχη έδειξαν ικανοποιητική ανάπτυξη με τον τελικό πληθυσμό κυττάρων να ανέρχεται περίπου σε 10^8 cfu/mL. Ο χυμός της καραμπόλας που ζυμώθηκε από το *L. rhamnosus* παρήγαγε

την υψηλότερη ποσότητα γαλακτικού οξέος, με αποτέλεσμα σημαντικά χαμηλότερο pH (=4,41) από αυτό των *L. helveticus* (=4,76) και *L. paracasei* (=4,71). Οι περισσότερες ενδογενείς αλδεΐδες και εστέρες που υπάρχουν στον χυμό του star fruit, μειώθηκαν σημαντικά ή ακόμα και σε σημείο μη ανίχνευσης, ενώ οι κετόνες, οι αλκοόλες και τα λιπαρά οξέα που παρήχθησαν σε διάφορα επίπεδα μπορούν να προσδώσουν διαφορετικές νότες αρώματος στα ροφήματα (Lu et al.,2018).

Το βερίκοκο αφενός είναι ένα δημοφιλές φρούτο πλούσιο σε υδατάνθρακες, βιταμίνες και ιχνοστοιχεία καθώς και με υψηλή αντιοξειδωτική ικανότητα, αφετέρου έχει το πλεονέκτημα ο χυμός του να χρησιμοποιείται ως υπόστρωμα για την παραγωγή ενός καινοτόμου μη γαλακτοκομικού προβιοτικού ροφήματος. Στο πλαίσιο της έρευνα των Bujna et al., διερευνήθηκαν μονοκαλλιέργειες και μεικτές καλλιέργειες. Όλα τα ελεγμένα στελέχη χρησιμοποιήθηκαν για τη ζύμωση του χυμού, η οποία πραγματοποιήθηκε μεμονωμένα με τη χρήση προβιοτικών βακτηρίων και έδωσε τις παρακάτω αποδόσεις κυττάρων:

- *Bifidobacterium lactis Bb-12* → 7,2 log (cfu/mL h)
- *Bifidobacterium longum Bb-46* → 7,25 log (cfu/mL h)
- *Lactocaseibacillus casei 01* → 7,06 (cfu/mL h)
- *Lactobacillus acidophilus La-5* → 7,16 log (cfu/mL h)

Εντούτοις, η ογκομετρική παραγωγικότητα των προβιοτικών βακτηριακών κυττάρων ενισχύθηκε από την διεργασία ζύμωσης με μικτές καλλιέργειες (Bujna et al.,2017). Επίσης, οι συγγραφείς Aspri et al., αναφέρουν ότι ο χυμός ανανά μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή προβιοτικών ροφημάτων με προβιοτικά βακτήρια *Lactobacillus* και *Bifidobacterium*. Αμφότερα αυτά τα δύο γένη βακτηρίων παρουσίασαν καλές ιδιότητες ανάπτυξης στο χυμό ανανά κατά τη διάρκεια της καθορισμένης περιόδου αποθήκευσης (Aspri et al., 2020).

Το μήλο χαρακτηρίζεται από ευχάριστη γεύση και παγιωμένη θρεπτική αξία. Είναι ένα φρούτο που καταναλώνεται ικανοποιητικά απ' όλες τις ηλικιακές ομάδες. Οι θρεπτικές και οργανοληπτικές ιδιότητες του μήλου πιστεύεται ότι αποδίδονται εν μέρει στην πλούσια περιεκτικότητά του σε πολυφαινόλες. Η μελέτη των Li et al., εστίασε στη διερεύνηση της ικανότητας ενός συγκεκριμένου στελέχους από τα οξυγαλακτικά βακτήρια, του *Lactiplantibacillus plantarum ATCC14917*, να ενισχύσει την

αντιοξειδωτική δράση του χυμού μήλου. Εξετάσθηκε λοιπόν, η επίδραση της ζύμωσης του προβιοτικού στελέχους στη χημική σύνθεση και την αντιοξειδωτική δράση του χυμού μήλου. Τα ευρήματα έδειξαν ότι η ζύμωση του *Lactiplantibacillus plantarum ATCC14917* μπορεί να είναι ένας αποτελεσματικός τρόπος για την ενίσχυση της βιοδιαθεσιμότητας των φαινολικών ενώσεων και την προστασία των κυττάρων από το οξειδωτικό στρες (Li et al., 2019).

Ο χυμός Sohiong (*Prunus nepalensis*) έχει χρησιμοποιηθεί για την ανάπτυξη ενός πιθανού προβιοτικού προϊόντος. Ο καρπός είναι ευρέως διαθέσιμος στο βορειοανατολικό τμήμα της Ινδίας. Είναι πλούσιο σε βιταμίνες, μέταλλα, πολυφαινόλες και ανθοκυανίνη. Ωστόσο, λόγω έλλειψης κατάλληλων τεχνικών προσθήκης αξίας, ο καρπός παραμένει αγρησιμοποίητος. Οι Vivek et al., απέδειξαν ότι είναι δυνατό να χρησιμοποιηθεί ο χυμός Sohiong (*Prunus nepalensis*) για την ανάπτυξη ενός πιθανού προβιοτικού προϊόντος. Ο χυμός ζυμώθηκε χρησιμοποιώντας το προβιοτικό στέλεχος *Lactiplantibacillus plantarum MCC 2974* σε δύο διαφορετικά αρχικά φορτία. Κατά τη διάρκεια της ζύμωσης, ο αριθμός των βιώσιμων προβιοτικών κυττάρων αυξήθηκε, η συγκέντρωση της φρουκτόζης και της γλυκόζης μειώθηκε σημαντικά, ενώ η συνολική περιεκτικότητα σε φαινόλη και ανθοκυανίνη αυξήθηκε. Ο πληθυσμός των προβιοτικών μικροβίων ήταν υψηλότερος από 10^6 CFU/mL, ακόμη και μετά από τέσσερις εβδομάδες αποθήκευσης στους 4 ± 1 °C (Vivek et al., 2019).

Πίνακας 8: Παραδείγματα προβιοτικών προϊόντων από φρούτα και λαχανικά

ΠΡΟΪΟΝ	ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΟΣ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΣ
Μήλο κάσιους	<i>Lacticaseibacillus casei</i>
Φραγκοστάφυλο	<i>Lactiplantibacillus plantarum 299v</i>
Τομάτα	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> , <i>Lacticaseibacillus casei</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii</i>
Παντζάρι	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> , <i>Lacticaseibacillus casei</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii</i>

Λάχανο	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> , <i>Lacticaseibacillus casei</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii</i>
Πορτοκάλι	<i>Lacticaseibacillus casei</i> DN-114 001, <i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i> GG, <i>Lacticaseibacillus paracasei</i> NFBC43338
Ανανάς	<i>Lacticaseibacillus casei</i> DN-114 001, <i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i> GG, <i>Lacticaseibacillus paracasei</i> NFBC43338, <i>Bifidobacterium</i>
Καρότο	<i>Bifidobacterium lactis</i> Bb-12, <i>Bifidobacterium bifidum</i> B7, <i>Bifidobacterium bifidum</i> B 3.2
Noni (<i>Morinda citrifolia</i>)	<i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Lactiplantibacillus plantarum</i>
Πεπόνι	<i>Lacticaseibacillus casei</i> B-442
κεράσι τύπου Cornelian	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> ATCC 14917
Ρόδι	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>
Βερίκοκο	<i>Bifidobacterium lactis</i> Bb-12, <i>Bifidobacterium longum</i> Bb-46, <i>Lacticaseibacillus casei</i> 01, <i>Lactobacillus acidophilus</i> La-5
Star fruit (<i>Averrhoa carambola</i>)	<i>Lactobacillus helveticus</i> L10, <i>Lacticaseibacillus paracasei</i> L26, <i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i> HN001
Sohiong (<i>Prunus nepalensis</i>)	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> MCC 2974

5.2.2 Δημητριακά & Όσπρια

Τα δημητριακά και τα όσπρια είναι η πιο σημαντική και μεγαλύτερη ομάδα φυτών που είναι υπεύθυνη για την κάλυψη των διατροφικών απαιτήσεων σε παγκόσμιο επίπεδο (Panghal et al, 2017). Έχουν τη δυνατότητα να χρησιμοποιούνται ως πηγές μη εύπεπτων υδατανθράκων που εκτός από την προώθηση πολλών ευεργετικών φυσιολογικών επιδράσεων μπορούν να διεγείρουν επιλεκτικά την ανάπτυξη *Lactobacilli* και *Bifidobacteria* που υπάρχουν στο κόλον, δρώντας ως προβιοτικά. Τα δημητριακά περιέχουν υδατοδιαλυτές φυτικές ίνες όπως β-γλυκάνη και

αραβινοξυλάνη, ολιγοσακχαρίτες όπως γαλακτο- και φρουκτοολιγοσακχαρίτες και έναν τύπο αμύλου που δεν αφομοιώνεται στο λεπτό έντερο αλλά ζυμώνεται στο παχύ έντερο και τροφοδοτεί τα ευεργετικά βακτήρια αυτού. Έτσι, τα δημητριακά έχουν επισημανθεί ως μέρος των πρεβιοτικών. Τα δημητριακά ολικής αλέσεως είναι επίσης πηγές πολλών φυτοχημικών, συμπεριλαμβανομένων φυτοοιστρογόνων, φαινολικών ενώσεων, αντιοξειδωτικών, φυτικού οξέος και στερολών. Η θρεπτική ποιότητα των δημητριακών είναι μερικές φορές κατώτερη σε σύγκριση με το γάλα λόγω:

- i. της χαμηλότερης περιεκτικότητάς τους σε πρωτεΐνες,
- ii. της ανεπάρκειας ορισμένων απαραίτητων αμινοξέων (φεριπειν λυσίνη),
- iii. της χαμηλής διαθεσιμότητας αμύλου,
- iv. των ενώσεων που μειώνουν την ικανότητα του σώματος να απορροφά απαραίτητα θρεπτικά συστατικά όπως το φυτικό οξύ και οι πολυφαινόλες
- v. της χονδροειδούς φύσης των κόκκων (Rivera-Espinoza & Gallardo-Navarro,2008).

5.2.3 Bushera

Το Bushera είναι το πιο κοινό παραδοσιακό ρόφημα που παρασκευάζεται στα δυτικά της Ουγκάντα. Το Bushera παρασκευάζεται με βάση το σόργο ή το αλεύρι από κεχρί. Τα βακτήρια του γαλακτικού οξέος που απομονώθηκαν από το προϊόν αυτό είναι του γένους *Lactobacillus*, κυρίως *Levilactobacillus brevis*, αλλά και *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus* και *Streptococcus*. Το προϊόν καταναλώνεται τόσο από μικρά παιδιά όσο και από ενήλικες (Muyanja et al.,2002).

5.2.4 Mahewu

Στη Νότια Αφρική, ένα προβιοτικό προϊόν που καταναλώνεται είναι το Mahewu, το οποίο είναι ένα ξινό δημητριακό. Παρασκευάζεται από ένα μείγμα πολλών κόκκων που μπορεί να περιλαμβάνει καλαμπόκι, σόργο, κεχρί, βύνη και αλεύρι σίτου. Η διαδικασία της αυτόματης ζύμωσης εκτελείται από τη φυσική μικροχλωρίδα της βύνης σε θερμοκρασία δωματίου. Ο κύριος μικροοργανισμός που απομονώθηκε από το Mahewu είναι ο *Lactococcus lactis subsp. Lactis* (Aspri et al,2020).

5.2.5 Togwa

Ένα προβιοτικό προϊόν που εξελίχθηκε από την Ιαπωνία και την Κίνα είναι το Togwa. Παράγεται με ζύμωση πολλών κόκκων όπως καλαμπόκι, σόργο, αλεύρι από κεχρί με προβιοτικά βακτήρια όπως *Lactiplantibacillus plantarum* και *Streptococcus* (Aspri et al,2020) .

5.2.6 Boza

Η μπόζα είναι ένα ζυμωμένο, μη αλκοολούχο, απαλό κίτρινο, παχύρρευστο παραδοσιακό ποτό με γλυκιά ή ξινή γεύση. Η ζύμωση του ροφήματος πραγματοποιείται με πρώτες ύλες όπως το κεχρί, το καλαμπόκι, το σιμιγδάλι σίτου ή ρυζιού από ζυμομύκητες και βακτήρια του γαλακτικού οξέος. Η σύνθεση του Boza διαφοροποιείται ανάλογα με τη χρήση διαφορετικών τύπων και ποσοτήτων δημητριακών και των προϊόντων τους και ανάλογα με τις συνθήκες ζύμωσης. Η μπόζα ζυμώνεται από τα βακτήρια γαλακτικού οξέος όπως *Lactiplantibacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus* , *Leuconostoc reffinolactis*, *Levilactobacillus brevis* , *Limosilactobacillus fermentum*, *Leuconostoc mesenteroides* και άλλα είδη όπως ο μύκητας *Coprophilous*, ή ο *Saccharomyces uvarum*. Αυτό προβιοτικό προϊόν έχει ευχάριστη γεύση και καλές θρεπτικές ιδιότητες. Καταναλώνεται στην Τουρκία, τη Ρουμανία, τη Βουλγαρία και ορισμένες άλλες χώρες (Panghal et al,2017).

5.3 Κρέας

Το κρέας έχει αποδειχθεί ότι είναι εξαιρετικό μέσο για τα προβιοτικά. Η ρυθμιστική ικανότητα του κρέατος μπορεί να οφείλεται στο αυξημένο pH του μικροπεριβάλλοντος των βακτηρίων που υπάρχουν στην επιφάνειά του. Επιπλέον, το κρέας έχει βρεθεί ότι προστατεύει τα οξυγαλακτικά βακτήρια από τη θανατηφόρα δράση της χολής. Το κρέας κυρίως με τη μορφή λουκάνικων χρησιμοποιείται ως εναλλακτικός φορέας των προβιοτικών τροφών με βάση τα γαλακτοκομικά (Rivera-Espinoza & Gallardo-Navarro,2008 ; Vijaya- Kumar et al.,2015).

Ο ενοφθαλμισμός του λουκάνικου με καλλιέργεια εκκίνησης από επιλεγμένα οξυγαλακτικά βακτήρια, βελτιώνει την ποιότητα και την ασφάλεια του τελικού προϊόντος και συνεργεί στην ομαλοποίηση της διαδικασίας παραγωγής. Αφού δεν υπάρχει επαρκής ποσότητα γλυκόζης στο κρέας έτσι ώστε να μειωθεί σημαντικά το pH, προστίθεται γλυκόζη σε ποσοστό 0,4–0,7% (w/w) στη μήτρα του λουκάνικου. Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι ορισμένα οξυγαλακτικά βακτήρια όπως το είδος *Lactobacillus sakei* μπορούν να ζυμώσουν τη λακτόζη. Τα βακτηριακά στελέχη του γαλακτικού οξέος που χρησιμοποιούνται συνήθως σε καλλιέργειες εκκίνησης κρέατος περιλαμβάνουν το *L.casei*, *L. curvatus*, *L. pentosus*, *L. Plantarum*, *L. sakei*, *Pediococcus acidilactici* και *P.pentosaceus*. Οι λειτουργικές καλλιέργειες εκκίνησης προσφέρουν πρόσθετες ευεργετικές ιδιότητες σε σύγκριση με τις κλασικές καλλιέργειες εκκίνησης και συνιστούν έναν τρόπο βελτίωσης της διαδικασίας της ζύμωσης των λουκάνικων και βοηθούν στην δημιουργία πιο νόστιμων, ασφαλέστερων και περισσότερο υγιεινών προϊόντων (Rivera-Espinoza & Gallardo-Navarro,2008).

5.4 Σοκολάτα

Η σοκολάτα αποτελεί ένα από τα πιο γνωστά προϊόντα, με την μεγαλύτερη κατανάλωση στον κόσμο, λόγω της καλής γεύσης, της υψηλής θρεπτικής ενέργειας και του γρήγορου μεταβολισμού. Προς το παρόν, μια από τις πιο σημαντικές τάσεις που έχει προκύψει στην παραγωγή σοκολάτας προέρχεται από τη ζήτηση των καταναλωτών για ένα λειτουργικό προϊόν, όπως ένα σοκολατένιο σκεύασμα, που όχι μόνο δεν επηρεάζει αρνητικά την υγεία, αλλά έχει την ικανότητα να προλαμβάνει ασθένειες όπως καρδιοπάθειες, οστεοπόρωση, καρκίνος, διαβήτης. Το κακάο ανήκει στις λειτουργικές τροφές επειδή είναι πλούσιο σε αντιοξειδωτικά φλαβονοειδή, μέταλλα, πρωτεΐνες και υδατάνθρακες. Αρκετοί μελετητές έχουν ισχυριστεί ότι η σοκολάτα είναι ένα καλό υπόστρωμα για τα προβιοτικά βακτήρια καθώς το κλάσμα λιπιδίων του βουτύρου κακάο παρέχει προστασία στα προβιοτικά κατά την αποθήκευση και κατά τη διέλευσή τους στον ανώτερο γαστρεντερικό σωλήνα (Aspri et al., 2020).

Σύμφωνα με τους Nebesny et al., λυοφιλοποιημένα προβιοτικά βακτήρια, *Lactocaseibacillus casei* και *Lactocaseibacillus paracasei* συμπληρωμένα σε μαύρη σοκολάτα μπορούν να παραμείνουν βιώσιμα κατά τη διάρκεια 12 μηνών αποθήκευσης

είτε στους 4 °C είτε στους 18 °C. Ομοίως, οι Aragon – Alegro et al., υποστήριξαν ότι η μους σοκολάτας είναι ένας εξαιρετικός φορέας για την ενσωμάτωση του *Lactocaseibacillus paracasei subsp. paracasei* LBC 82 μόνο του ή σε συνδυασμό με το πρεβιοτικό συστατικό ινουλίνη. Μια νεότερη έρευνα από τους Mirkovic et al., προστέθηκαν σε μαύρη σοκολάτα ενθυλακωμένο προβιοτικό στέλεχος *Lactiplantibacillus plantarum* 564 και εμπορικό προβιοτικό στέλεχος *Lactiplantibacillus plantarum* 299v. Τα αποτελέσματα έδωσαν ιδιαίτερες καλές ενδείξεις επιβίωσης και των δύο προβιοτικών στελεχών μετά την παραγωγή και κατά την αποθήκευση, φτάνοντας τους δύο πρώτους τα 10^8 cfu/g και πάνω από 10^6 cfu/g έως το διάστημα έξι μηνών (Aragon – Alegro et al., 2006 ; Nebesny et al.,2006 ; Mirkovic et al.,2018).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΧΩΡΙΣ ΛΑΚΤΟΖΗ

6.1 Λακτόζη

Η λακτόζη, όπως αναφέρθηκε και στα προηγούμενα κεφάλαια, είναι ένας από τους βασικούς υδατάνθρακες του γάλακτος των θηλαστικών, που πέπτεται από το εντερικό ένζυμο λακτάση και βρίσκεται συνήθως σε γαλακτοκομικά προϊόντα, όπως το γάλα, η γιαούρτη, η κρέμα, το βούτυρο, το παγωτό και το τυρί. Ακόμη, αποτελεί τον πρώτο διατροφικό υδατάνθρακα στον οποίο εκτίθενται τα νεογνά. Η ίδια η λακτόζη είναι ένα ζυμώσιμο υπόστρωμα, το οποίο αρχικά υδρολύεται από αναερόβιους μικροοργανισμούς, επιτρέποντας τον αναερόβιο μεταβολισμό των απλών σακχάρων που προκύπτουν. Ωστόσο, η λακτόζη μπορεί επίσης να βρεθεί σε ορισμένα αρτοσκευάσματα και ψημένα τρόφιμα, έτοιμα προς κατανάλωση δημητριακά πρωινού, στιγμιαίες σούπες, γλυκά, μπισκότα, σάλτσες για σαλάτες, λουκάνικα, μείγματα ποτών και μαργαρίνη: η λεγόμενη «κρυμμένη λακτόζη». Επιπλέον, η λακτόζη μπορεί επίσης να κρύβεται σε συνταγογραφούμενα και μη συνταγογραφούμενα φάρμακα (Solomons, 2002; Fassio et al., 2018).

6.2 Lactose-free προϊόντα

Η γαλακτοβιομηχανία ανταποκρίθηκε στην ανάγκη των ατόμων με δυσανεξία στη λακτόζη αναπτύσσοντας διάφορα προϊόντα χαμηλής περιεκτικότητας σε λακτόζη ή χωρίς λακτόζη όπως το γάλα (*UHT: ultra-high temperature*), γαλακτοκομικά επιδόρπια, ζαχαρούχο γάλα, γιαούρτη και γάλα σε σκόνη (Fialho et al., 2018). Πολλά διαφορετικά γαλακτοκομικά προϊόντα χωρίς λακτόζη παράγονται με την τεχνολογία επεξεργασίας λακτάσης, με αποτέλεσμα οι συγκεντρώσεις λακτόζης να φτάνουν σε όριο κάτω του 0,1% και να είναι κατάλληλα για άτομα που υποφέρουν από συμπτώματα που προκαλούνται από σημαντικά μειωμένη δραστηριότητα λακτάσης.

Για να εξασφαλιστεί μια επιτυχημένη διαδικασία υδρόλυσης, το επίπεδο της υπολειμματικής λακτόζης (*residual lactose*) πρέπει να αναλύεται τακτικά. Ωστόσο, ο ποσοτικός προσδιορισμός των χαμηλών επιπέδων λακτόζης σε αυτά τα προϊόντα συχνά

παρεμποδίζεται από τα υψηλά επίπεδα γλυκόζης και γαλακτόζης που απελευθερώνονται από την επεξεργασία με λακτάση.

Η έννοια της λειτουργικής τροφής έχει οριστεί πολλές φορές, και διαφέρει από χώρα σε χώρα. Αυτά τα τρόφιμα τα οποία μπορούν να θεωρηθούν λειτουργικά τρόφιμα στην Ευρωπαϊκή Ένωση, είναι εκείνα που έχουν θετικό φυσιολογικό αντίκτυπο λόγω της θρεπτικής τους σύνθεσης, όπως τα τρόφιμα χωρίς λακτόζη. Όπως αναφέρθηκε στο κεφάλαιο 5, υπάρχει μια μεγάλη ποικιλία από παραδοσιακά μη γαλακτοκομικά τρόφιμα που έχουν αναπτυχθεί σε όλο τον κόσμο. Πολλά από αυτά είναι μη αλκοολούχα ποτά που παρασκευάζονται με κύρια πρώτη ύλη τα δημητριακά. Για παράδειγμα, έγινε λόγος για την μπόζα (φτιαγμένη από ζυμωμένα δημητριακά), η οποία είναι ένα κρύο ρόφημα που καταναλώνεται στη Βουλγαρία, την Αλβανία, την Τουρκία και τη Ρουμανία. Επίσης, το Bushera είναι το πιο κοινό παραδοσιακό ρόφημα με βάση τα δημητριακά που παρασκευάζεται στην Ουγκάντα. Το Mahewu είναι ένα ξινό ρόφημα που παρασκευάζεται από αλεύρι καλαμποκιού, που βρίσκεται στην Αφρική και σε ορισμένες χώρες του Περσικού Κόλπου. Στην ίδια κατηγορία συμπεριλαμβάνεται και το Pozol είναι ένα δροσιστικό ρόφημα, που παράγεται ευρέως στο Νοτιοανατολικό Μεξικό και παρασκευάζεται με κακάο και καλαμποκάλευρο. Τέλος, το Togwa είναι ένα παραδοσιακό ρόφημα σακχαροποιημένο με άμυλο που καταναλώνεται στην Αφρική και έχει χρησιμοποιηθεί ως προβιοτικό μέσο (Prado et al., 2008 ; Verhagen et al., 2010 ; Bigliardi & Galati, 2013).

Είναι ενδιαφέρον να αναφερθεί ότι όσον αφορά τις ευκαιρίες για τα λειτουργικά προϊόντα να εισέλθουν στην εγχώρια αγορά, κρίνεται αναγκαίο να υπάρχουν ανταγωνιστικά πλεονεκτήματα στη γεωργική βιομηχανία και στη βιομηχανία τροφίμων, ώστε να μπορούν να διαδραματίσουν αποτελεσματικό ρόλο στην ανάπτυξη λειτουργικών τροφίμων (Kiss et al., 2019; Szakos et al., 2020).

6.2.1 Όρια λακτόζης στα προϊόντα

Τα πρότυπα για τα γαλακτοκομικά προϊόντα με μειωμένη λακτόζη με βάση την ποσότητα υπολειμματικής περιεκτικότητας σε λακτόζη δεν έχουν φτάσει ακόμη σε κάποια διεθνή συναινετική συμφωνία. Οι ευρωπαϊκές χώρες θεωρούν το όριο χωρίς λακτόζη ως <1000 mg/L ενώ χώρες όπως η Κίνα ορίζουν ότι η περιεκτικότητα σε

λακτόζη κάτω από 5000 mg/L θεωρείται «χωρίς» λακτόζη (EFSA, 2010). Στην Ινδία, το FSSAI το 2019 διευκρίνισε ότι το γάλα με χαμηλή περιεκτικότητα σε λακτόζη θα πρέπει να περιέχει λακτόζη σε συγκέντρωση <math><10000 \text{ mg/L}</math>, ενώ η περιεκτικότητα σε λακτόζη σε προϊόντα χωρίς λακτόζη θα πρέπει να είναι <math><100 \text{ mg/L}</math> (Maindola & Delhi, 2019). Ως εκ τούτου, για την παράδοση προϊόντων υψηλής ποιότητας και για την κάλυψη των απαιτήσεων επισήμανσης σε εθνικό επίπεδο, υπάρχει ανάγκη για ακριβή και ισχυρό ποσοτικό προσδιορισμό της υπολειμματικής λακτόζης στα γαλακτοκομικά προϊόντα (Churakova et al., 2019).

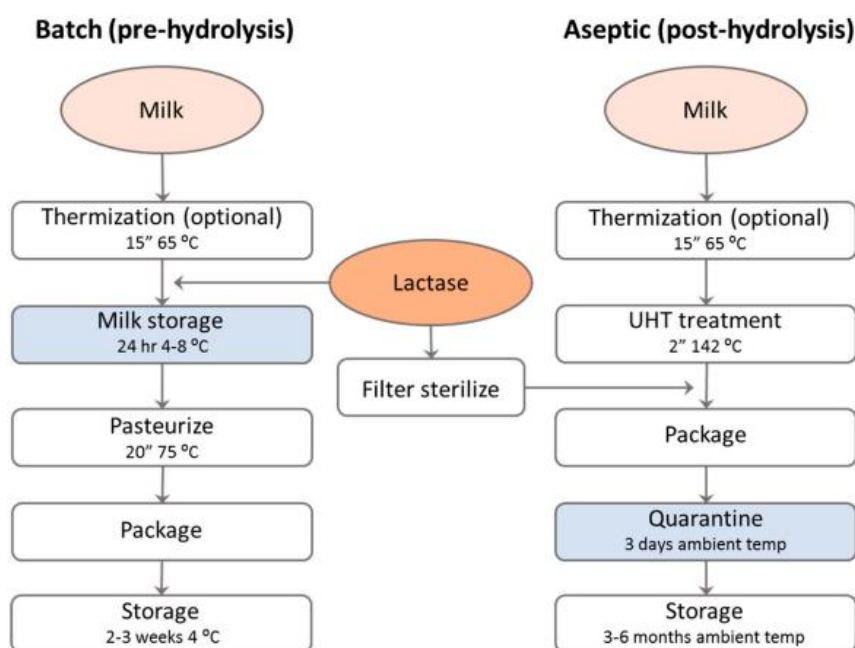
6.3 Παραγωγή γάλακτος με χαμηλή περιεκτικότητα λακτόζης

Η ενζυμική υδρόλυση της λακτόζης με το ένζυμο λακτάση χρησιμοποιείται για την παρασκευή γαλακτοκομικών προϊόντων χαμηλής περιεκτικότητας σε λακτόζη ή/ και χωρίς λακτόζη (Dutra-Rosolen et al., 2015). Για την ακρίβεια, επί του παρόντος, δύο διεργασίες (παρτίδα και άσηπτη) χρησιμοποιούνται για την παραγωγή γάλακτος χωρίς λακτόζη (Troise et al., 2016), όπου και οι δύο διαδικασίες χρησιμοποιούν διαλυτό ένζυμο λακτάσης.

Η πρώτη μέθοδος είναι η διαδικασία παρτίδας (Εικόνα 11 στην αριστερή στήλη), που αποτελείται από μια διαδικασία προ-υδρόλυσης κατά την οποία προστίθεται ουδέτερη λακτάση στο νωπό γάλα και συνήθως επωάζεται για σχεδόν 24 ώρες υπό μέτρια ανάδευση για να αποφευχθεί η δημιουργία κρέμας. Επιπλέον, αυτή η διαδικασία εκτελείται στους $4-8 \text{ }^\circ\text{C}$ για την αναστολή της μικροβιακής ανάπτυξης καθώς το γάλα δεν είναι ακόμη αποστειρωμένο. Μετά την επώαση, το γάλα παστεριώνεται, ομογενοποιείται και συσκευάζεται. Δεν υπάρχει υπολειπόμενη ενζυμική δραστηριότητα στο τελικό προϊόν επειδή το ένζυμο αδρανοποιείται σε όλο το στάδιο της αποστείρωσης/παστερίωσης (Dekker, et al., 2019).

Σύμφωνα με τους ίδιους επιστήμονες, η δεύτερη μέθοδος (Εικόνα 11, δεξιά στήλη) είναι μια άσηπτη διαδικασία μετά την υδρόλυση, κατά την οποία το γάλα αποστειρώνεται χρησιμοποιώντας τη διαδικασία εξαιρετικά υψηλής θερμοκρασίας (UHT). Μετά από αυτό, ένα αποστειρωμένο παρασκεύασμα λακτάσης προστίθεται στο γάλα λίγο πριν από τη συσκευασία. Η μετατροπή της λακτόζης λαμβάνει χώρα απευθείας στη συσκευασία του γάλακτος κι επειδή το γάλα εξαιρετικά υψηλής θερμοκρασίας συχνά διατηρείται σε καραντίνα για σχεδόν 3 ημέρες, υπάρχει αρκετός χρόνος για να

επιτευχθεί η υδρόλυση πριν αποσταλεί το προϊόν στο κατάστημα λιανικής. Δεδομένου ότι τόσο η θερμοκρασία όσο και ο χρόνος επώασης είναι υψηλότερες σε αυτή τη μέθοδο, η ποσότητα του ενζύμου μπορεί να είναι πολύ χαμηλότερη σε σύγκριση με τη διαδικασία παρτίδας (Dekker et al., 2019).



Εικόνα 11 Σχηματική αναπαράσταση των διεργασιών παρτίδας (αριστερά) και ασηπτικής (δεξιά) που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή γάλακτος χωρίς λακτόζη (Dekker et al., 2019)

Διεργασίες που βασίζονται σε ένα ακινητοποιημένο ένζυμο έχουν προταθεί στην επιστημονική βιβλιογραφία αρκετά χρόνια πριν, και έχουν ακόμη δοκιμαστεί σε πιλοτική κλίμακα. Ωστόσο, η ακινητοποίηση της λακτάσης δεν χρησιμοποιήθηκε στη βιομηχανική πρακτική για την παραγωγή γάλακτος χωρίς λακτόζη μέχρι σήμερα λόγω προβλημάτων με τη μικροβιακή σταθερότητα του τελικού προϊόντος.

Η περιεκτικότητα σε λακτόζη θα πρέπει να είναι μικρότερη από 100 mg/L προκειμένου να συμμορφώνεται με κάποια νομικά πρότυπα των γαλακτοκομικών προϊόντων χωρίς λακτόζη. Κατά την παρασκευή προϊόντων χωρίς λακτόζη, η υδρόλυση της λακτόζης αυξάνει το επίπεδο γλυκόζης και γαλακτόζης στο γάλα μαζί με γαλακτοολιγοσακχαρίτες (GOS) λόγω της δραστηριότητας διαγαλακτοζυλίωσης του ενζύμου

λακτάσης. Αυτά τα τμήματα υδατανθράκων παρεμβαίνουν στην ακριβή εκτίμηση της λακτόζης στο γάλα χωρίς λακτόζη (Idda et al., 2016; Trani et al., 2017).

6.3.1 Παραγωγή άλλων προϊόντων με χαμηλή περιεκτικότητα λακτόζης

Τα περισσότερα άτομα με δυσανεξία στη λακτόζη μπορούν να τρώνε γιαούρτη χωρίς να εμφανίζουν τυπικά συμπτώματα. Η γιαούρτη είναι μια τροφή που έχει υποστεί ζύμωση και περιέχει ζωντανά βακτήρια, που παράγονται από γάλα που έχει υποστεί ζύμωση. Επιπλέον, η κατανάλωση γιαούρτης προτείνεται ως κατάλληλη διατροφική στρατηγική για την επίτευξη της συνιστώμενης ημερήσιας πρόσληψης ασβεστίου για τα άτομα με την εν λόγω ευαισθησία. Συγκεκριμένα, ορισμένοι μικροοργανισμοί καλλιέργειας γιαούρτης είναι σε θέση να παράγουν β-γαλακτοσιδάση ως μέρος της πορείας χρήσης της λακτόζης και πιθανόν να προάγουν την πέψη της λακτόζης *in vivo* (Silanikove et al., 2015; Kok & Hutkins, 2018; Oak & Jha, 2019).

Εν τούτοις, η περιεκτικότητα σε λακτόζη μειώνεται μόνο εν μέρει από την αρχική ζύμωση του γιαουρτιού και το μεγαλύτερο μέρος της λακτόζης επιβιώνει στο τελικό προϊόν. Ωστόσο, πολλές συστηματικές ανασκοπήσεις έχουν περιγράψει ότι αυτά τα προβιοτικά βακτήρια μπορεί να διαφέρουν ως προς την ικανότητά τους να βελτιώνουν την πέψη της λακτόζης και να μειώνουν τα συμπτώματα δυσπεψίας. Πιο συγκεκριμένα και σύμφωνα με την ομάδα εμπειρογνομόνων, υπάρχει επαρκής απόδειξη ότι υπήρχε συσχέτιση αιτίου-αποτελέσματος μεταξύ της κατανάλωσης γιαουρτιού και της βελτιωμένης πέψης της λακτόζης και αποδείχθηκε επαρκώς για να υποστηρίξει έναν ισχυρισμό υγείας για εκείνα τα γιαούρτια που περιέχουν περισσότερες από 10^8 μονάδες σχηματισμού αποικιών (CFU) ανά γραμμάριο (Oak & Jha, 2019 ; Kok & Hutkins, 2018).

Είναι χρήσιμο να επισημανθεί ότι, υπάρχουν πολλά είδη τυριών χωρίς λακτόζη διαθέσιμα στην αγορά. Αυτά τα τυριά παράγονται με επώαση του γάλακτος τυριού με λακτάση πριν από την πυτιά. Αυτή η τεχνική είναι χρήσιμη κυρίως για φρέσκα τυριά που περιέχουν σημαντική ποσότητα λακτόζης. Κατά τη διάρκεια της διαδικασίας παρασκευής τυριού, το γάλα πήζει και το τυρόπηγμα, δηλαδή τα στερεά μέρη, απομονώνονται από τον ορό γάλακτος, το οποίο είναι το τμήμα όπου βρίσκεται το μεγαλύτερο μέρος της λακτόζης. Ο ορός γάλακτος στραγγίζεται πριν γίνει το τυρί, οπότε αφαιρείται αρκετή λακτόζη (Silanikove et al., 2015; Dekker et al., 2019).

6.4 Σημασία ανάπτυξης προϊόντων χωρίς λακτόζη

Παγκοσμίως, το 70% του ενήλικου πληθυσμού έχει περιορισμένη έκφραση του ενζύμου λακτάσης με μεγάλη ποικιλία μεταξύ των διαφόρων περιοχών και χωρών (Forsgard, 2019). Η δραστηριότητα της λακτάσης μειώνεται στη μετέπειτα παιδική ηλικία και σε όλη τη διάρκεια της ζωής στην πλειονότητα του παγκόσμιου πληθυσμού οδηγώντας σε δυσανεξία στη λακτόζη. Μια αυστηρή διαίτα χωρίς λακτόζη μειώνει τις πιθανότητες μακροχρόνιων επιπλοκών στην υγεία (Dekker et al., 2019).

Για να ξεπεραστεί αυτή η πρόκληση, το γάλα και τα γαλακτοκομικά προϊόντα χωρίς λακτόζη έχουν αναδειχθεί ως όφελος για τα άτομα με δυσανεξία στη λακτόζη σε όλο τον κόσμο. Για να καλύψει τις διατροφικές απαιτήσεις σε ασβέστιο και πρωτεΐνη υψηλής ποιότητας των ατόμων με ευαισθησία στη λακτόζη, η παγκόσμια γαλακτοκομική βιομηχανία έχει αναπτύξει προϊόντα χωρίς λακτόζη χρησιμοποιώντας την προσθήκη εξωγενούς λακτάσης, β-γαλακτοσιδάσης, η οποία προ-χωνεύει τη λακτόζη στο γάλα (Churakova et al., 2019). Ανάλογα τόσο με την ποσότητα της λακτόζης που προσλαμβάνεται όσο και με τη δραστηριότητα της λακτάσης, τα άτομα που υποφέρουν από δυσαπορρόφηση λακτόζης μπορεί να εμφανίσουν πολυάριθμα γαστρεντερικά και εξω-εντερικά συμπτώματα και εκδηλώσεις.

Η παραγωγή υψηλών διατροφικά υποκατάστατων για όλα τα άτομα με δυσανεξία στη λακτόζη καθίσταται απαραίτητη για όλες τις ηλικίες και για όλες τις κοινωνικές τάξεις. Η πρωτεΐνη, το ασβέστιο και η βιταμίνη D, άλλα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά για την ανάπτυξη των παιδιών, θα μπορούσαν επίσης να τεθούν σε κίνδυνο εάν η διατροφή τους βασίζεται αποκλειστικά σε μη γαλακτοκομικά ποτά αντικατάστασης (Palacios et al., 2009; Wahlqvist, 2015).

Μια εναλλακτική λύση χωρίς λακτόζη δεν θα πρέπει απλώς να στερείται λακτόζης, αλλά μάλλον να συγκριθεί με το διατροφικό προφίλ των προϊόντων που περιέχουν λακτόζη και να έχει το ανάλογο προφίλ για να αποτελεί αντίστοιχη διατροφικά πλούσια εναλλακτική (Suri et al., 2019). Υπάρχει έντονη ανάγκη να αναπτυχθεί το θρεπτικό και οικονομικό προϊόν διατροφής χωρίς λακτόζη, λαμβάνοντας παράλληλα υπόψη πολλές εκ των προτέρων εκτιμήσεις, όπως αποκλεισμός όλων των πιθανών πρώτων υλών που περιέχουν λακτόζη, επιλογή εναλλακτικής πηγής γάλακτος, βελτίωση της διατροφικής

ποιότητας του προϊόντος, την ασφάλεια και την επισήμανση του προϊόντος (Dekker et al., 2019).

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Η μικροχλωρίδα του εντέρου έχει συμβιωτική σχέση με τον ξενιστή. Η δυσβίωση της μικροχλωρίδας του εντέρου μπορεί να οδηγήσει σε παθολογικές καταστάσεις. Σύμφωνα με όσα αναφέρθηκαν, είναι σαφές ότι η σύνθεση, η πληθώρα και η ποικιλομορφία της μικροχλωρίδας του εντέρου επηρεάζονται από τη διατροφή και τα διατροφικά πρότυπα, τα οποία με τη σειρά τους επηρεάζουν την υγεία του ανθρώπου. Στην παρούσα ανασκόπηση λοιπόν, μελετήθηκαν πολλά υποσχόμενα προβιοτικά στελέχη όπως το *B.animalis* , το *L.rhamnosus* κ.ά. όπου σύμφωνα με κλινικές δοκιμές μπορούν να βελτιώσουν τις παθήσεις του εντέρου συμπεριλαμβανομένης της δυσανεξίας στην λακτόζη. Επίσης, ένα πρωτοποριακό σκεύασμα έντεκα προβιοτικών βακτηρίων που παράγουν λακτάση , το Bio- 25 έδειξε ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως θεραπεία στην περίπτωση δυσαπορρόφησης της λακτόζης. Μελετήθηκε κι ένα ακόμη εμπορικό μείγμα προβιοτικών κι ενζύμων για τον καθορισμό της εφαρμογής του στη διαχείριση της μη ανθεκτικότητας στη λακτάση, που όχι μόνο έδωσε αξιόλογα ποσοστά υδρόλυσης της λακτόζης αλλά μετά από την χορήγησή του ανιχνεύθηκε σχηματισμός πρεβιοτικών γαλακτο-ολιγοσακχαριτών, αυξάνοντας έτσι τα πιθανά οφέλη του ενζυμικού σκευάσματος στο γαστρεντερικό σύστημα. Συν τοις άλλοις, ο ζυμομύκητας *Brettanomyces clauseni* έχει κεντρίσει το ενδιαφέρον των ερευνητών λόγω των βιοτεχνολογικών δυνατοτήτων του. Συγκεκριμένα, αυτό το είδος έχει την ικανότητα να χρησιμοποιεί λακτόζη και να παράγει οξικό οξύ. Έτσι, δίνονται ευκαιρίες ανακύκλωσης γαλακτοκομικών υποπροϊόντων που περιέχουν λακτόζη σε λειτουργικά ποτά που έχουν υποστεί ζύμωση κι έχουν ευεργετικές ιδιότητες στην υγεία του καταναλωτή.

Το αυξανόμενο ενδιαφέρον των καταναλωτών για λειτουργικά τρόφιμα και η υιοθέτηση ενός υγιεινού τρόπου ζωής ώθησε την βιομηχανία τροφίμων στην ανάπτυξη μη γαλακτοκομικών προβιοτικών προϊόντων, επιτρέποντας την κατανάλωση αυτών των ευεργετικών μικροοργανισμών από άτομα που πάσχουν από δυσανεξία στην λακτόζη ή από αλλεργία στα συστατικά του γάλακτος ή τα γαλακτοκομικά προϊόντα δεν είναι της αρεσκείας τους. Τα προβιοτικά και τα πρεβιοτικά μη γαλακτοκομικά προϊόντα προβλέπεται να έχουν σπουδαίο εμπορικό μέλλον, καθώς πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι η εφαρμογή στελεχών σε εναλλακτικές μήτρες τροφίμων πέρα από τα προϊόντα γάλακτος, πραγματοποιείται με επιτυχία. Βέβαια, υπάρχουν δύο κύριες

προκλήσεις κατά την παραγωγή αυτών των προϊόντων: α) η διατήρηση της βιωσιμότητας των προβιοτικών κατά τη διάρκεια ζωής των προϊόντων και στον γαστρεντερικό σωλήνα μετά την κατάποση και β) η διατήρηση των φυσικοχημικών και οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των συμβατικών προϊόντων. Μολονότι, όλες οι καλλιέργειες ή τα στελέχη μπορεί να μην φέρουν προβιοτικές ιδιότητες, η επιλογή των στελεχών με πιθανές προβιοτικές ιδιότητες παίζει σημαντικό ρόλο στην επιτυχία των μη γαλακτοκομικών προβιοτικών προϊόντων. Θα αποτελούσε σοβαρή παράλειψη να μην τονισθεί εκ νέου ότι η χρήση πρεβιοτικών σε συνδυασμό με μη γαλακτοκομικά προβιοτικά προϊόντα μπορεί επίσης να αξιοποιηθεί για την δημιουργία συμβιοτικών προϊόντων. Οι λειτουργικές ιδιότητές τους είναι εξαιρετικά σημαντικές για την απόκτηση ανταγωνιστικού πλεονεκτήματος στην παγκόσμια αγορά. Ως εκ τούτου, θα πρέπει να δίνεται προσοχή στην επιβεβαίωση των λειτουργικών χαρακτηριστικών των καλλιεργειών πριν από την ενσωμάτωση στο προϊόν. Παρά τις προκλήσεις, το μέλλον των μη γαλακτοκομικών προβιοτικών προϊόντων είναι πολλά υποσχόμενο. Εν ολίγοις, τα ερευνητικά μη γαλακτοκομικά προβιοτικά προϊόντα μπορούν να διευρυνθούν ώστε να κατανοηθούν καλύτερα και τα οφέλη των μη γαλακτοκομικών προβιοτικών προϊόντων να αξιοποιηθούν σε μέγιστο βαθμό για την ανθρωπότητα.

Υπάρχουν επίσης και τα γαλακτοκομικά προϊόντα χωρίς λακτόζη τα οποία κυριαρχούν όλο και περισσότερο και παρέχουν εξαιρετικές ευκαιρίες σε άτομα με δυσανεξία στη λακτόζη να επωφεληθούν από την ευρεία παλέτα διαφορετικών θρεπτικών και γευστικών προϊόντων που παρασκευάζονται από γάλα. Η ευαισθητοποίηση των καταναλωτών για τη διατροφική σημασία των γαλακτοκομικών προϊόντων σε συνδυασμό με την προώθηση πολλών διαφορετικών γαλακτοκομικών χωρίς λακτόζη και τα οφέλη τους μπορεί να αυξήσει ακόμη περισσότερο τη διείσδυση αυτών των προϊόντων στην αγορά. Για μεμονωμένους παραγωγούς γαλακτοκομικών προϊόντων, ο τομέας προϊόντων χωρίς λακτόζη φαίνεται να είναι μια εξαιρετικά ενδιαφέρουσα, κερδοφόρα και διευρυνόμενη αγορά όπου μπορούν να ανθίσουν καινοτόμα δημιουργήματα. Για τη γαλακτοκομική βιομηχανία στο σύνολό της, τα προϊόντα χωρίς λακτόζη μπορούν να προσελκύσουν διαφορετικούς καταναλωτές που δεν είχαν τη δυνατότητα να εξυπηρετηθούν επαρκώς από τα παραδοσιακά γαλακτοκομικά προϊόντα, και ως εκ τούτου, τα προϊόντα να προσφέρουν τη δυνατότητα επέκτασης της συνολικής αγοράς. Στο μέλλον, αναμένεται να κυκλοφορήσουν πολλά διαφορετικά προϊόντα σε αυτόν τον ταχέως αναπτυσσόμενο τομέα της γαλακτοβιομηχανίας.

Κατά συνέπεια, η αξιοποίηση προβιοτικών καλλιεργειών ακόμα και σε συνδυασμό με πρεβιοτικά συστατικά ή σε συνδυασμό με ένζυμα σε καινοτόμα μη γαλακτοκομικά προϊόντα γεννά ελπίδες ότι θα βοηθήσει τους ανθρώπους που ταλαιπωρούνται από την δραστηριότητα του ενζύμου λακτάση και θα αναβαθμίσει την ποιότητα ζωής τους μέσω της ανακούφισης των συμπτωμάτων που προκαλεί η δυσανεξία στο σάκχαρο του γάλακτος, την λακτόζη. Επίσης, τα προϊόντα αυτά μπορούν να προσδώσουν την δυνατότητα ένταξης τροφίμων στην καθημερινή διατροφή αυτών των ατόμων που προηγουμένως είχαν την τάση να αποφεύγουν. Όπως είπε ο Ιπποκράτης «*Φάρμακο ας γίνει η τροφή και η τροφή ας γίνει φάρμακο*».

BIBΛIOΓΡΑΦΙΑ

Albuquerque, T. L., de Sousa, M., Gomes e Silva, N. C., Girão Neto, C. A. C., Gonçalves, L. R. B., Fernandez-Lafuente, R., & Rocha, M. V. P. (2021). β -Galactosidase from *Kluyveromyces lactis*: Characterization, production, immobilization and applications - A review. In *International Journal of Biological Macromolecules* (Vol. 191, pp. 881–898). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.09.133>

Alessandri, G., van Sinderen, D., & Ventura, M. (2021). The genus *bifidobacterium*: From genomics to functionality of an important component of the mammalian gut microbiota running title: Bifidobacterial adaptation to and interaction with the host. In *Computational and Structural Biotechnology Journal* (Vol. 19, pp. 1472–1487). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2021.03.006>

Aragon-Alegro, L. C., Alarcon Alegro, J. H., Roberta Cardarelli, H., Chih Chiu, M., & Isay Saad, S. M. (2007). Potentially probiotic and synbiotic chocolate mousse. *LWT - Food Science and Technology*, 40(4), 669–675. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2006.02.020>

Aspri, M., Papademas, P., & Tsaltas, D. (2020). Review on non-dairy probiotics and their use in non-dairy based products. In *Fermentation* (Vol. 6, Issue 1). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/fermentation6010030>

Azad, M. A. K., Sarker, M., Li, T., & Yin, J. (2018). Probiotic Species in the Modulation of Gut Microbiota: An Overview. In *BioMed Research International* (Vol. 2018). Hindawi Limited. <https://doi.org/10.1155/2018/9478630>

Azcarate-Peril, M. A., Ritter, A. J., Savaiano, D., Monteagudo-Mera, A., Anderson, C., Magness, S. T., & Klaenhammer, T. R. (2017). Impact of short-chain galactooligosaccharides on the gut microbiome of lactose-intolerant individuals. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114(3), E367–E375. <https://doi.org/10.1073/pnas.1606722113>

Bailey, H. M., & Stein, H. H. (2019). Can the digestible indispensable amino acid score methodology decrease protein malnutrition. *Animal Frontiers*, 9(4), 18–23. <https://doi.org/10.1093/af/vfz038>

Bayless, T. M., Brown, E., & Paige, D. M. (2017). Lactase Non-persistence and Lactose Intolerance. In *Current Gastroenterology Reports* (Vol. 19, Issue 5). Current Medicine Group LLC 1. <https://doi.org/10.1007/s11894-017-0558-9>

Ben Braïek, O., & Smaoui, S. (2019). Enterococci: Between Emerging Pathogens and Potential Probiotics. In *BioMed research international* (Vol. 2019, p. 5938210). NLM (Medline). <https://doi.org/10.1155/2019/5938210>

- Bigliardi, B., & Galati, F. (2013). Innovation trends in the food industry: The case of functional foods. *Trends in Food Science & Technology*, 31(2), 118–129.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.03.006>
- Binns Nino (2013). PROBIOTICS, PREBIOTICS AND THE GUT MICROBIOTA, ILSI EUROPE CONCISE MONOGRAPH SERIE. <https://ilsi.org/europe/wp-content/uploads/sites/3/2016/05/Prebiotics-Probiotics.pdf>
- Bujna, E., Farkas, N. A., Tran, A. M., Dam, M. S., & Nguyen, Q. D. (2018). Lactic acid fermentation of apricot juice by mono- and mixed cultures of probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains. *Food Science and Biotechnology*, 27(2), 547–554. <https://doi.org/10.1007/s10068-017-0269-x>
- Casalta, E., & Montel, M. C. (2008). Safety assessment of dairy microorganisms: The *Lactococcus* genus. *International Journal of Food Microbiology*, 126(3), 271–273.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.08.013>
- Catanzaro, R., Sciuto, M., & Marotta, F. (2021). Lactose intolerance: An update on its pathogenesis, diagnosis, and treatment. In *Nutrition Research* (Vol. 89, pp. 23–34). Elsevier Inc.
<https://doi.org/10.1016/j.nutres.2021.02.003>
- Churakova, E., Peri, K., Vis, J. S., Smith, D. W., Beam, J. M., Vijverberg, M. P., Stor, M. C., & Winter, R. T. (2019). Accurate analysis of residual lactose in low-lactose milk: Comparing a variety of analytical techniques. *International Dairy Journal*, 96, 126–131. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2019.02.020>
- Dekker, P. J. T., Koenders, D., & Bruins, M. J. (2019). Lactose-free dairy products: Market developments, production, nutrition and health benefits. *Nutrients*, 11(3), 1–14.
<https://doi.org/10.3390/nu11030551>
- Dusty Carroll Lesson Plan 4: Getting to know Lactase Background Information. (2006).
- Dutra Rosolen, M., Gennari, A., Volpato, G., & Volken de Souza, C. F. (2015). Lactose Hydrolysis in Milk and Dairy Whey Using Microbial β -Galactosidases. *Enzyme research*, 2015, 806240.
<https://doi.org/10.1155/2015/806240>
- EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA) (2010). Scientific Opinion on lactose thresholds in lactose intolerance and galactosaemia. *EFSA Journal*, 8(9), 1–29.
<https://doi.org/10.2903/j.efsa.2010.1777>
- Fassio, F., Facioni, M. S., & Guagnini, F. (2018). Lactose maldigestion, malabsorption, and intolerance: a comprehensive review with a focus on current management and future perspectives. In *Nutrients* (Vol. 10, Issue 11). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/nu10111599>

Ferreira-Lazarte, A., Moreno, F. J., & Villamiel, M. (2018). Application of a commercial digestive supplement formulated with enzymes and probiotics in lactase non-persistence management. *Food and Function*, 9(9), 4642–4650. <https://doi.org/10.1039/c8fo01091a>

Fialho, T. L., Martins, E., Silva, C. R. de J., Stephani, R., Tavares, G. M., Silveira, A. C. P., Perrone, Í. T., Schuck, P., de Oliveira, L. F. C., & de Carvalho, A. F. (2018). Lactose-hydrolyzed milk powder: Physicochemical and technofunctional characterization. *Drying Technology*, 36(14), 1688–1695. <https://doi.org/10.1080/07373937.2017.1421551>

Fonteles, T. V., Costa, M. G. M., de Jesus, A. L. T., & Rodrigues, S. (2012). Optimization of the Fermentation of Cantaloupe Juice by *Lactobacillus casei* NRRL B-442. *Food and Bioprocess Technology*, 5(7), 2819–2826. <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0600-0>

Forsgård, R. A. (2019). Lactose digestion in humans: intestinal lactase appears to be constitutive whereas the colonic microbiome is adaptable. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 110(2), 273–279. <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqz104>

Garsen, J. (n.d.). Immunomodulation by probiotics: a literature survey Sensitizing potency of low molecular weight chemicals View project Internship View project. <https://www.researchgate.net/publication/27451925>

Gingold-Belfer, R., Levy, S., Layfer, O., Pakanaev, L., Niv, Y., Dickman, R., & Perets, T. T. (2020). Use of a Novel Probiotic Formulation to Alleviate Lactose Intolerance Symptoms—a Pilot Study. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 12(1), 112–118. <https://doi.org/10.1007/s12602-018-9507-7>

González-Delgado, I., López-Muñoz, M. J., Morales, G., & Segura, Y. (2016). Optimisation of the synthesis of high galacto-oligosaccharides (GOS) from lactose with β -galactosidase from *Kluyveromyces lactis*. *International Dairy Journal*, 61, 211–219. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2016.06.007>

Hair & Sharpe, The Human Microbiome. (2014). https://depts.washington.edu/ceeh/downloads/FF_Microbiome.pdf

Henry, C. J. (2010). Functional foods. In *European Journal of Clinical Nutrition* (Vol. 64, Issue 7, pp. 657–659). <https://doi.org/10.1038/ejcn.2010.101>

Idda, I., Spano, N., Ciulu, M., Nurchi, V. M., Panzanelli, A., Pilo, M. I., & Sanna, G. (2016). Gas chromatography analysis of major free mono- and disaccharides in milk: Method assessment, validation, and application to real samples. *Journal of Separation Science*, 39(23), 4577–4584. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jssc.201600583>

Kailasapathy, K., & Chin, J. (2000). Survival and therapeutic potential of probiotic organisms with reference to *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. *Immunology and Cell Biology*, 78(1), 80–88. <https://doi.org/10.1046/j.1440-1711.2000.00886.x>

- Kiss, A., Popp, J., & Oláh, J. (2019). The Reform of School Catering in Hungary: Anatomy of a Health-Education Attempt. *Nutrients*, 11(4), 716. <https://doi.org/10.3390/nu11040716>
- Kok, C. R., & Hutkins, R. (2018). Yogurt and other fermented foods as sources of health-promoting bacteria. *Nutrition Reviews*, 76(Supplement_1), 4–15. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nyy056>
- Kumemura, M., Hashimoto, F., Fujii, C., Matsuo, K., Kimura, H., Miyazoe, R., Okamatsu, H., Inokuchi, T., Ito, H., Oizumi, K., & Oku3, T. (n.d.). Subjective Sensation of Defecation in the Elderly with Constipation. In *J. Clin. Biochem. Nutr* (Vol. 13).
- Kun, S., Rezessy-Szabó, J. M., Nguyen, Q. D., & Hoschke, Á. (2008). Changes of microbial population and some components in carrot juice during fermentation with selected *Bifidobacterium* strains. *Process Biochemistry*, 43(8), 816–821. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2008.03.008>
- Lawton, M. R., deRiancho, D. L., & Alcaine, S. D. (2021). Lactose utilization by *Brettanomyces clausenii* expands potential for valorization of dairy by-products to functional beverages through fermentation. In *Current Opinion in Food Science* (Vol. 42, pp. 93–101). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.05.006>
- Leis, R., de Castro, M. J., de Lamas, C., Picáns, R., & Couce, M. L. (2020). Effects of prebiotic and probiotic supplementation on lactase deficiency and lactose intolerance: A systematic review of controlled trials. In *Nutrients* (Vol. 12, Issue 5). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/nu12051487>
- Li, Z., Teng, J., Lyu, Y., Hu, X., Zhao, Y., & Wang, M. (2019). Enhanced antioxidant activity for apple juice fermented with *Lactobacillus plantarum* ATCC14917. *Molecules*, 24(1). <https://doi.org/10.3390/molecules24010051>
- Lillo-Pérez, S., Guerra-Valle, M., Orellana-Palma, P., & Petzold, G. (2021). Probiotics in fruit and vegetable matrices: Opportunities for nondairy consumers. In *LWT* (Vol. 151). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112106>
- Lu, Y., Tan, C. W., Chen, D., & Liu, S. Q. (2018). Potential of three probiotic lactobacilli in transforming star fruit juice into functional beverages. *Food Science and Nutrition*, 6(8), 2141–2150. <https://doi.org/10.1002/fsn3.775>
- Maindola, A., & Delhi, N. (2019). FSSAI notifies draft regulation containing mozzarella cheese definition. 2019.
- Mattar, R., Mazo, D. F. de C., & Carrilho, F. J. (2012). Lactose intolerance: Diagnosis, genetic, and clinical factors. In *Clinical and Experimental Gastroenterology* (Vol. 5, Issue 1, pp. 113–121). Dove Medical Press Ltd. <https://doi.org/10.2147/CEG.S32368>

- Meile, L., Le Blay, G., & Thierry, A. (2008). Safety assessment of dairy microorganisms: Propionibacterium and Bifidobacterium. *International Journal of Food Microbiology*, 126(3), 316–320. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.08.019>
- Mir Khan, U., & Selamoglu, Z. (2020). Use of enzymes in dairy industry: A review of current progress. In *Archives of Razi Institute* (Vol. 75, Issue 1, pp. 131–136). Razi Vaccine and Serum Research Institute. <https://doi.org/10.22092/ARI.2019.126286.1341>
- Mirković, M., Seratlić, S., Kilcawley, K., Mannion, D., Mirković, N., & Radulović, Z. (2018). The sensory quality and volatile profile of dark chocolate enriched with encapsulated probiotic lactobacillus plantarum bacteria. *Sensors (Switzerland)*, 18(8). <https://doi.org/10.3390/s18082570>
- Moreno, F.J., Montilla, A., Villamiel, M., Corzo, N. and Olano, A. (2014), Analysis, structural characterization, and bioactivity of oligosaccharides derived from lactose. *ELECTROPHORESIS*, 35: 1519-1534. <https://doi.org/10.1002/elps.201300567>
- Muyanja, C. M. B. K., Narvhus, J. A., Treimo, J., & Langsrud, T. (n.d.). Isolation, characterisation and identification of lactic acid bacteria from bushera: a Ugandan traditional fermented beverage. www.elsevier.com/locate/ijfoodmicro
- Nagpal, R., Kumar, A., & Kumar, M. (2012). Fortification and fermentation of fruit juices with probiotic lactobacilli. *Annals of Microbiology*, 62(4), 1573–1578. <https://doi.org/10.1007/s13213-011-0412-5>
- Nebesny, E., Żyzelewicz, D., Motyl, I., & Libudzisz, Z. (2007). Dark chocolates supplemented with Lactobacillus strains. *European Food Research and Technology*, 225(1), 33–42. <https://doi.org/10.1007/s00217-006-0379-9>
- Oak, S. J., & Jha, R. (2019). The effects of probiotics in lactose intolerance: A systematic review. In *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* (Vol. 59, Issue 11, pp. 1675–1683). Taylor and Francis Inc. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1425977>
- Ogunrinola, G. A., Oyewale, J. O., Oshamika, O. O., & Olasehinde, G. I. (2020). The Human Microbiome and Its Impacts on Health. *International Journal of Microbiology*, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/8045646>
- Ojetti, V., Gigante, G., & Ainora, M. E. (n.d.). The effect of oral supplementation with Lactobacillus reuteri or tilactase in lactose intolerant patients: Randomized trial. <https://www.researchgate.net/publication/43146952>
- Otieno, D. O. (2010). Synthesis of β -Galactooligosaccharides from Lactose Using Microbial β -Galactosidases. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(5), 471–482. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2010.00121.x>

- Palacios, O. M., Badran, J., Drake, M. A., Reisner, M., & Moskowitz, H. R. (2009). Consumer Acceptance Of Cow's Milk Versus Soy Beverages: Impact Of Ethnicity, Lactose Tolerance And Sensory Preference Segmentation. *Journal Of Sensory Studies*, 24(5), 731–748.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1745-459X.2009.00236.x>
- Pandey, K. R., Naik, S. R., & Vakil, B. V. (2015). Probiotics, prebiotics and synbiotics- a review. In *Journal of Food Science and Technology* (Vol. 52, Issue 12, pp. 7577–7587). Springer India.
<https://doi.org/10.1007/s13197-015-1921-1>
- Panghal, A., Janghu, S., Virkar, K., Gat, Y., Kumar, V., & Chhikara, N. (2018). Potential non-dairy probiotic products – A healthy approach. In *Food Bioscience* (Vol. 21, pp. 80–89). Elsevier Ltd.
<https://doi.org/10.1016/j.fbio.2017.12.003>
- Pereira, A. L. F., Maciel, T. C., & Rodrigues, S. (2011). Probiotic beverage from cashew apple juice fermented with *Lactobacillus casei*. *Food Research International*, 44(5), 1276–1283.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.11.035>
- Portincasa, P., Di Ciaula, A., Vacca, M., Montelli, R., Wang, D. Q. H., & Palasciano, G. (2008). Beneficial effects of oral tilactase on patients with hypolactasia. *European Journal of Clinical Investigation*, 38(11), 835–844. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2362.2008.02035.x>
- Prado, F. C., Parada, J. L., Pandey, A., & Socol, C. R. (2008). Trends in non-dairy probiotic beverages. *Food Research International*, 41(2), 111–123.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2007.10.010>
- Reuveni, E., Getselter, D., Oron, O., & Elliott, E. (2018). Differential contribution of cis and trans gene transcription regulatory mechanisms in amygdala and prefrontal cortex and modulation by social stress. *Scientific Reports*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-24544-3>
- Rivera-Espinoza, Y., & Gallardo-Navarro, Y. (2010). Non-dairy probiotic products. In *Food Microbiology* (Vol. 27, Issue 1, pp. 1–11). <https://doi.org/10.1016/j.fm.2008.06.008>
- Salminen, S., Stahl, B., Vinderola, G., & Szajewska, H. (2020). Infant formula supplemented with biotics: Current knowledge and future perspectives. In *Nutrients* (Vol. 12, Issue 7, pp. 1–20). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/nu12071952>
- Serra Colomer, M., Funch, B., & Forster, J. (2019). The raise of *Brettanomyces* yeast species for beer production. In *Current Opinion in Biotechnology* (Vol. 56, pp. 30–35). Elsevier Ltd.
<https://doi.org/10.1016/j.copbio.2018.07.009>
- Sheehan, V. M., Ross, P., & Fitzgerald, G. F. (2007). Assessing the acid tolerance and the technological robustness of probiotic cultures for fortification in fruit juices. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 8(2), 279–284. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2007.01.007>

- Silanikove, N., Leitner, G., & Merin, U. (2015). The Interrelationships between Lactose Intolerance and the Modern Dairy Industry: Global Perspectives in Evolutional and Historical Backgrounds. *Nutrients*, 7(9), 7312–7331. <https://doi.org/10.3390/nu7095340>
- Silvério, S. C., Macedo, E. A., Teixeira, J. A., & Rodrigues, L. R. (2015). Perspectives on the biotechnological production and potential applications of lactosucrose: A review. In *Journal of Functional Foods* (Vol. 19, pp. 74–90). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.09.014>
- Smithers, G. W. (2015). Whey-ing up the options - Yesterday, today and tomorrow. In *International Dairy Journal* (Vol. 48, pp. 2–14). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2015.01.011>
- Solomons, N. W. (2002). Fermentation, fermented foods and lactose intolerance. *European Journal of Clinical Nutrition*, 56(4), S50–S55. <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1601663>
- Suri, S., Kumar, V., Prasad, R., Tanwar, B., Goyal, A., Kaur, S., Gat, Y., Kumar, A., Kaur, J., & Singh, D. (2019). Considerations for development of lactose-free food. *Journal of Nutrition and Intermediary Metabolism*, 15(January 2018), 27–34. <https://doi.org/10.1016/j.jnim.2018.11.003>
- Szakos, D., Ózsvári, L., & Kasza, G. (2020). Perception of Older Adults about Health-Related Functionality of Foods Compared with Other Age Groups. *Sustainability*, 12. <https://doi.org/10.3390/su12072748>
- Szilagyi, A., & Ishayek, N. (2018). Lactose intolerance, dairy avoidance, and treatment options. In *Nutrients* (Vol. 10, Issue 12). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/nu10121994>
- Thursby, E., & Juge, N. (2017). Introduction to the human gut microbiota. In *Biochemical Journal* (Vol. 474, Issue 11, pp. 1823–1836). Portland Press Ltd. <https://doi.org/10.1042/BCJ20160510>
- Toit, M.d., Huch, M., Cho, G.-S. and Franz, C.M. (2014). The genus *Streptococcus*. In *Lactic Acid Bacteria* (eds W.H. Holzapfel and B.J. Wood). <https://doi.org/10.1002/9781118655252.ch28>
- Trani, A., Gambacorta, G., Loizzo, P., Cassone, A., Fasciano, C., Zambrini, A. V., & Faccia, M. (2017). Comparison of HPLC-RI, LC/MS-MS and enzymatic assays for the analysis of residual lactose in lactose-free milk. *Food Chemistry*, 233, 385–390. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.134>
- Troise, A. D., Bandini, E., De Donno, R., Meijer, G., Trezzi, M., & Fogliano, V. (2016). The quality of low lactose milk is affected by the side proteolytic activity of the lactase used in the production process. *Food Research International*, 89, 514–525. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.08.021>
- Verhagen, H., Vos, E., Francl, S., Heinonen, M., & van Loveren, H. (2010). Status of nutrition and health claims in Europe. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 501(1), 6–15. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.abb.2010.04.012>

- Vijaya Kumar, B., Vijayendra, S. V. N., & Reddy, O. V. S. (2015). Trends in dairy and non-dairy probiotic products - a review. In *Journal of Food Science and Technology* (Vol. 52, Issue 10, pp. 6112–6124). Springer India. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1795-2>
- Vivek, K., Mishra, S., Pradhan, R. C., & Jayabalan, R. (2019). Effect of probiotification with *Lactobacillus plantarum* MCC 2974 on quality of Sohiong juice. *LWT*, 108, 55–60. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.03.046>
- Wahlqvist, M. L. (2015). Lactose nutrition in lactase nonpersisters. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 24(December), S21–S25. <https://doi.org/10.6133/apjcn.2015.24.s1.04>
- Wang, C. Y., Ng, C. C., Su, H., Tzeng, W. S., & Shyu, Y. T. (2009). Probiotic potential of noni juice fermented with lactic acid bacteria and bifidobacteria. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60(SUPPL. 6), 98–106. <https://doi.org/10.1080/09637480902755095>
- Wegh, C. A. M., Geerlings, S. Y., Knol, J., Roeselers, G., & Belzer, C. (2019). Postbiotics and their potential applications in early life nutrition and beyond. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 20, Issue 19). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms20194673>
- Zhang, W. (n.d.). Mechanism of Maillard reactions in Lactose-hydrolyzed UHT milk and Strategy of Inhibition by Galacto-oligosaccharides Nanofiltration technologies of milk protein concentrates View project Inhibition of Maillard reactions and advanced glycation endproducts via enzymatic removal of reactive carbonyls in lactose-hydrolyzed milk View project. <https://www.researchgate.net/publication/334593597>
- Zhang, Z., Lv, J., Pan, L., & Zhang, Y. (2018). Roles and applications of probiotic *Lactobacillus* strains. In *Applied Microbiology and Biotechnology* (Vol. 102, Issue 19, pp. 8135–8143). Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9217-9>
- Zotta, T., Solieri, L., Iacumin, L., Picozzi, C., & Gullo, M. (2020). Valorization of cheese whey using microbial fermentations. In *Applied Microbiology and Biotechnology* (Vol. 104, Issue 7, pp. 2749–2764). Springer. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10408-2>