

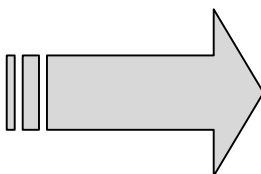
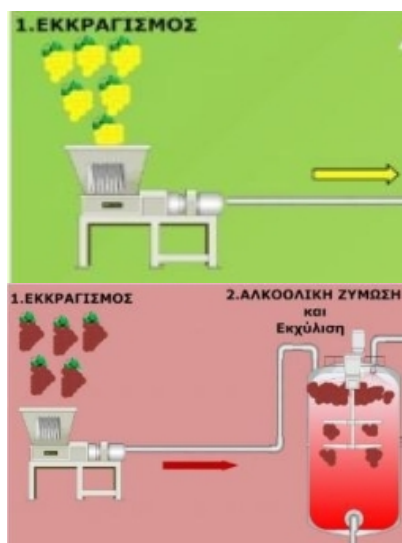


ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΠΜΣ ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑ – ΔΙΑΤΡΟΦΗ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ
ΧΟΥΧΟΥΛΗ Α. ΒΑΪΑΣ

*ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΜΕ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΕΣ
ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΩΝ
ΑΠΟ ΥΠΟΠΡΟΪΟΝΤΑ ΟΙΝΟΠΟΙΙΑΣ*



ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ:
ΚΑΛΟΓΕΡΟΠΟΥΛΟΣ Ν.

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:
ΚΑΛΟΓΕΡΟΠΟΥΛΟΣ Ν.
ΚΑΡΑΘΑΝΟΣ Β.
ΠΑΠΑΔΑΚΗΣ Σ.

ΑΘΗΝΑ, ΦΕΒΡΟΥΑΡΙΟΣ 2012

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα μελέτη εκπονήθηκε υπό την επίβλεψη του Δρ. Ν. Καλογερόπουλου , τον οποίο θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά για τη βοήθεια , το ενδιαφέρον την κατανόηση και την εμπιστοσύνη που μου έδειξε. Η συνεργασία μας ήταν πολύτιμη και πολύ δημιουργική για μένα . Θα ήθελα ακόμη να ευχαριστήσω τον Δρ. Β. Καραθάνο και τον Δρ. Σ. Παπαδάκη για το χρόνο και τις σημαντικές και εποικοδομητικές υποδείξεις τους.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Δρ. Κοντελέ Σπύρο για τη βοήθεια, την υπομονή, το ζήλο του για την εκπόνηση αυτής της μελέτης και την ηθική υποστήριξη που μου παρείχε σε όλη τη διάρκεια της συνεργασίας μας, καθώς και τον Καθηγητή Μικροβιολογίας του Τμήματος Τεχνολογίας Τροφίμων των ΤΕΙ Αθήνας, κ Τυμπή για τη φιλοξενία στο εργαστήριο και την παροχή εγκαταστάσεων και εξοπλισμού.

Πολύτιμη ήταν η συνεργασία μου με τη Δρ. Ευαγγελία Καρβέλα, η οποία με μεγάλη προθυμία και με τη μεταδοτικότητα που τη διακρίνει μου δίδαξε τις μεθόδους, με καθοδήγησε και με υποστήριξε σε ό,τι χρειαζόμουν.

Θα ήθελα ακόμη να ευχαριστήσω την κα Μαργαρίτα Χρηστέα για τη σημαντική βοήθειά της στο εργαστήριο καθ'όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της μεταπτυχιακής μου διατριβής.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ θα ήθελα να πω σε όλους τους Καθηγητές του Μεταπτυχιακού Πρόγραμματος καθώς με βοήθησαν να εμπλουτίσω τις γνώσεις μου και να διευρύνω τους γνωστικούς μου ορίζοντες.

Θα ήθελα ακόμα να ευχαριστήσω θερμά τον Διευθύνοντα Σύμβουλο της εταιρείας I & Σ Σκλαβενίτης ΑΕΕ, κ. Γεράσιμο Σκλαβενίτη για την εμπιστοσύνη του και τις γενναιόδωρες διευκολύνσεις που μου παρείχε έτσι ώστε να μπορέσω να παρακολουθήσω το Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών. Πολύ σημαντική για εμένα ήταν επίσης και η υποστήριξη της Υπεύθυνης του Τμήματος Ελέγχου Ποιότητας της εταιρείας I & Σ Σκλαβενίτης ΑΕΕ κας Λουίζας Δόμπρετς, καθώς και του συναδέλφου μου κ. Λορέντζου Σταμάτη, οι οποίοι υποστήριξαν και ενθάρρυναν τις επιλογές μου καθ'ολη τη διάρκεια της φοίτησής μου.

Ένα πολύ πολύ μεγάλο ευχαριστώ θα ήθελα να εκφράσω στην οικογένεια μου, στους γονείς και την αδερφή μου, που πάντα στέκονται αρωγοί σε κάθε μου προσπάθεια, με στηρίζουν και με υποστηρίζουν . Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά το Νίκο, για την

πολύτιμη βοήθεια του στην αναζήτηση ηλεκτρονικών πηγών και την υποστήριξη που μου παρείχε σε όλη τη διάρκεια των σπουδών μου.

Τη διατριβή μου θα ήθελα να αφιερώσω στους γονείς μου, που χωρίς εκείνους τίποτα από όλα αυτά δεν θα είχε συμβεί.

*Παρασκευή λειτουργικών τροφίμων με αντιοξειδωτικές ιδιότητες με χρήση
πολυφαινολικών εκχυλισμάτων από υποπροϊόντα οινοποίησης*

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	8
ABSTRACT.....	10
Κεφάλαιο 1 ^ο :ΤΡΟΦΙΜΑ & ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΑ ΤΡΟΦΙΜΑ	12
1.1 Ορισμός για τα τρόφιμα.....	12
1.2 Λειτουργικά τρόφιμα	13
Κεφάλαιο 2 ^ο : ΖΥΜΩΜΕΝΑ ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ.....	15
2.1 Ιστορία των ζυμωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων.....	15
2.2 Γιαούρτι	20
2.2.1 Ορισμός και είδη γιαουρτιού	20
2.2.2 Θρεπτική αξία του γιαουρτιού.....	25
2.2.3 Οι θεραπευτικές ιδιότητες του γιαουρτιού.....	28
Κεφάλαιο 3 ^ο : ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΕΣ	29
3.1 Κατάταξη πολυφαινολών.....	29
3.2 Παράγοντες που επηρεάζουν την περιεκτικότητα και τη μορφή των πολυφαινολών στα τρόφιμα.	32
3.3 Η σημασία των πολυφαινολικών ενώσεων για την υγεία του ανθρώπου.....	34
3.3.1 Αντιοξειδωτική δράση	35
3.3.2 Αντιφλεγμονώδης δράση	36
3.3.3 Αντικαρκινική δράση.....	37
3.4 Βιοδιαθεσιμότητα των πολυφαινολών.....	38
Κεφάλαιο 4 ^ο : ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΕΣ ΣΕ ΚΡΑΣΙ ΚΑΙ ΣΤΑΦΥΛΙ	40
4.1 Πολυφαινόλες σε υποπροϊόντα οινοποιίας	41
Κεφάλαιο 5 ^ο : ΣΚΟΠΟΣ	42
Κεφάλαιο 6 ^ο : ΜΕΘΟΔΟΙ ΚΑΙ ΥΛΙΚΑ	43
6.1. Γιαούρτι	43
6.2. Εκχυλίσματα υποπροϊόντων οινοποιίας.....	43

6.3. Αντιδραστήρια και συσκευές.....	45
6.4. Παρασκευή Δειγμάτων	45
6.5. Οργανοληπτική εξέταση	46
6.6. Μέτρηση pH.....	48
6.7. Μικροβιολογικές αναλύσεις	49
6.8. Προετοιμασία δειγμάτων για χημικές αναλύσεις	50
6.8.1 Λυοφιλίωση	50
6.8.2. Εκχύλιση πολυφαινόλων από τα δείγματα	50
6.9. Προσδιορισμός ολικών πολυφαινόλων.....	51
6.10. Προσδιορισμός ικανότητας δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH'	54
6.11 Προσδιορισμός ικανότητας αναγωγής του Fe^{+3} (FRAP).....	55
Κεφάλαιο 7 ^ο :: ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	57
Κεφάλαιο 8 ^ο : ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	58
8.1 Οργανοληπτική εξέταση	58
8.2 Αξιολόγηση pH.....	63
8.3 Μικροβιολογικές αναλύσεις	64
8.4. Προσδιορισμός Ολικών πολυφαινόλων (TP)	67
8.5. Προσδιορισμός ικανότητας δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH'	71
8.6 Προσδιορισμός ικανότητας αναγωγής του Fe^{+3} (FRAP).....	73
8.7 Εξισώσεις κινητικής.....	76
Κεφάλαιο 9 ^ο : . ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	78
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ	80
Πίνακας 1:Τιμές L^* , a^* , b^*	80
Πίνακας 2: pH των δειγμάτων γιαουρτιού.....	81
Πίνακας 3: Λογάριθμοι των πληθυσμών των λακτοβακίλλων (log cfu/ g) στα δείγματα γιαουρτιού	82
Πίνακας 4. Ολικές πολυφαινόλες στα δείγματα γιαουρτιού (mg GAE / 100g νωπού βάρους).....	83

Πίνακας 5.: Ικανότητα δέσμευσης ελεύθερης ρίζας DPPH των δειγμάτων γιαουρτιού (mg TE /100g νωπού βάρους)	84
Πίνακας 6.: Αναγωγική δύναμη των δειγμάτων γιαουρτιού -Ferric ion reducing power- (mg AAE /100g νωπού βάρους)	85
Βιβλιογραφία	86

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το γιαούρτι είναι ένα δημοφιλές ζυμωμένο γαλακτοκομικό προϊόν, το οποίο έχει αναγνωριστεί ως λειτουργικό τρόφιμο με ευεργετικές για την υγεία ιδιότητες. Έχουν γίνει αρκετές προσπάθειες για τον εμπλουτισμό γιαουρτιών με πλούσια σε πολυφαινόλες συστατικά, όπως κρασί, και εκχυλίσματα κυδωνιού, τσαγιού, μήλου κ.α.. Η ανάπτυξη προϊόντων που συνδυάζουν τα οφέλη των προβιοτικών μικροοργανισμών και τις αντιοξειδωτικές ιδιότητες των πολυφαινόλων παρουσιάζει ενδιαφέρον για την παραγωγή λειτουργικών τροφίμων. Επίσης, στην αναζήτηση πλούσιων σε πολυφαινόλες πηγών οι οποίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ανάπτυξη λειτουργικών προϊόντων, είναι πολύ σημαντική η αξιοποίηση υποπροϊόντων, των οποίων η ανακύκλωση θα απέφερε περιβαλλοντικά και οικονομικά οφέλη.

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η δυνατότητα εμπλουτισμού δύο ειδών γιαουρτιού, πλήρους με 4% λιπαρά (FF) και χωρίς λιπαρά (NF) , με πλούσια σε πολυφαινόλες, εκχυλίσματα υποπροϊόντων οινοποιίας, προερχόμενα από δύο ελληνικές ποικιλίες σταφυλιού το Αγιωργίτικο και το Μοσχοφίλερο. Τα εκχυλίσματα από βόστρυχες και γίγαρτα των δύο αυτών ποικιλιών σταφυλιού παραλήφθηκαν υπό συνθήκες (περιεκτικότητα % αιθανόλης, pH, χρόνου εκχύλισης) που εξασφάλιζαν τη μέγιστη αντιοξειδωτική ικανότητα τους και με διαλύτες κατάλληλους για τρόφιμα. Τα παρασκευασθέντα δείγματα γιαουρτιών αποθηκεύτηκαν επί 32ημέρες σε συνθήκες ψύξης και ανά εβδομάδα γινόταν καταγραφή του pH και του πληθυσμού των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB). Επίσης ανά εβδομάδα προσδιοριζόταν το πολυφαινολικό τους περιεχόμενο, με τη μέθοδο Folin Ciocalteu και οι αντιοξειδωτικές τους ιδιότητες μέσω της μέτρησης της ικανότητας δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH και της ικανότητας αναγωγής του Fe^{+3} .

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης έδειξαν ότι η προσθήκη εκχυλισμάτων από προϊόντα οινοποιίας σε έτοιμα γιαούρτια δεν επηρέασε τη δομή, την υφή και τη γεύση τους, ενώ υπήρξαν μικρές διαφοροποιήσεις στο χρώμα, οι οποίες αξιολογήθηκαν με τη χρήση οργάνου μέτρησης χρώματος.

Το pH και ο πληθυσμός των οξυγαλακτικών βακτηρίων δεν επηρεάστηκαν από την προσθήκη των εκχυλισμάτων. Τα εμπλουτισμένα δείγματα είχαν αυξημένο πολυφαινολικό περιεχόμενο, σε σύγκριση με τους μάρτυρες, που εμφάνισε μείωση με το χρόνο. Η ικανότητα δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH και της αναγωγής του Fe^{+3} των δειγμάτων ήταν

σημαντικά μεγαλύτερη από εκείνη των μαρτύρων καθόλη τη διάρκεια αποθήκευσης των προϊόντων ακόμα και την 32^η ημέρα.

Παρατηρήθηκε ότι η παρουσία των λιπαρών αύξησε την απόδοση εμπλουτισμού των γιαουρτιών με πολυφαινόλες, ενώ από την άλλη επιτάχυνε τη μείωση της συγκέντρωσης τους με την πάροδο του χρόνου , προφανώς λόγω της κατανάλωσής τους για την προστασία των λιπαρών από την οξείδωση.

Συμπεραίνεται ότι ο εμπλουτισμός των έτοιμων γιαουρτιών με εκχυλίσματα από υποπροϊόντα οινοποιίας είναι εφικτός. Θα πρέπει να αναφέρουμε ότι όταν επιχειρήθηκε ο εμπλουτισμός πριν τη ζύμωση του προϊόντος, δεν ανιχνεύθηκαν πολυφαινόλες και τα δείγματα δεν έδειξαν αντιοξειδωτικές ιδιότητες.

ABSTRACT

Yoghurt is a very popular fermented dairy product, which has been recognized as a functional food due to its health promoting constituents. Several attempts to produce polyphenol supplemented yoghurts have been made, by means of polyphenol rich extracts such as wine extract, quince scalding water, tea and apple infusions. The development of products that combine the benefits arising from the presence of probiotic microorganisms and the antioxidant activities of polyphenols is interesting and challenging. In addition, the exploitation of the potential use of agricultural by-products to produce functional foods is in line with the trend for recycling/reusing and sustainability.

The present study evaluated the feasibility of supplementing yogurts with polyphenol-rich winery by-products, namely grape seeds and stems, obtained from two Greek grape varieties, Agiorgitiko and Moschofilero. Fortification was carried out in full fat (4% fat, FF) and non-fat (0% fat, NF) yogurts with 67 mg extract per 100g yogurt. The by-product extracts had been obtained under optimised extraction conditions to exhibit maximum antioxidant capacity, by employing food grade solvents. Both fortified and control yogurt samples were stored in refrigerator for 32 days, and on a weekly basis pH, surviving lactic acid bacteria (LAB), and total polyphenolic content were determined, while the DPPH radical scavenging capacity, and the ferric ion reducing capacity were assayed.

The fortification of plain yoghurt with winery by-product extracts did not affect the structure, texture and flavour of yoghurt, while slight colour alterations occurred, which required the use of colorimeter for their evaluation.

pH and LAB population were not affected by fortification. The polyphenolic content of the supplemented samples was higher than that of controls and it was degraded gradually during storage, though with a faster rate in the case of FF samples. The enriched samples exerted significantly higher DPPH scavenging and ferric ion reducing capacity compared to controls throughout the storage period -even after the 32nd day.

It was documented that the presence of fat improved the retention of polyphenols in FF yoghurts, while on the other hand it accelerated their depletion, compared to the NF samples. This was obviously the result of polyphenols degradation to preserve lipids' peroxidation.

It must be noted that the production of functional yogurts supplemented with grape seeds and stems polyphenols was feasible when the extract was added in plain yoghurt. On

the contrary, when the extracts were added prior to galactic fermentation, the obtained yogurts did not contain detectable amounts of polyphenols and did not exhibit any antiradical or antioxidant capacity.

Κεφάλαιο 1^ο :ΤΡΟΦΙΜΑ & ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΑ ΤΡΟΦΙΜΑ

1.1 Ορισμός για τα τρόφιμα

Σύμφωνα με τον ΕΚ 178 / 2002 «τρόφιμα» (ή «είδη διατροφής») νοούνται ουσίες ή προϊόντα, είτε αυτά έχουν υποστεί πλήρη ή μερική επεξεργασία είτε όχι, τα οποία προορίζονται για βρώση από τον άνθρωπο ή αναμένεται ευλόγως ότι θα χρησιμεύσουν για τον σκοπό αυτόν. Στα «τρόφιμα» περιλαμβάνονται ποτά, τσίχλες και οποιαδήποτε ουσία, περιλαμβανομένου του νερού, η οποία ενσωματώνεται σκόπιμα στα τρόφιμα στη διάρκεια της παραγωγής, της παρασκευής ή της επεξεργασίας τους όπως ορίζεται στο άρθρο 6 της οδηγίας 98/83/ΕΚ και με την επιφύλαξη των απαιτήσεων των οδηγιών 80/778/ΕΟΚ και 98/83/ΕΚ. Στα «τρόφιμα» δεν περιλαμβάνονται τα ακόλουθα:

- α) ζωοτροφές,
- β) ζώντα ζώα, εκτός εάν παρασκευάζονται για διάθεση στην αγορά για ανθρώπινη κατανάλωση,
- γ) φυτά πριν από τη συγκομιδή,
- δ) φαρμακευτικά προϊόντα κατά την έννοια των οδηγιών 65/65/ΕΟΚ και 92/73/ΕΟΚ του Συμβουλίου,
- ε) καλλυντικά κατά την έννοια της οδηγίας 76/768/ΕΟΚ του Συμβουλίου ,
- στ) καπνός και προϊόντα καπνού κατά την έννοια της οδηγίας 89/622/ΕΟΚ του Συμβουλίου ,
- ζ) ναρκωτικές ή ψυχοτρόποι ουσίες κατά την έννοια της ενιαίας σύμβασης των Ηνωμένων Εθνών για τα ναρκωτικά του 1961, και της σύμβασης των Ηνωμένων Εθνών για τις ψυχοτρόπους ουσίες του 1971,

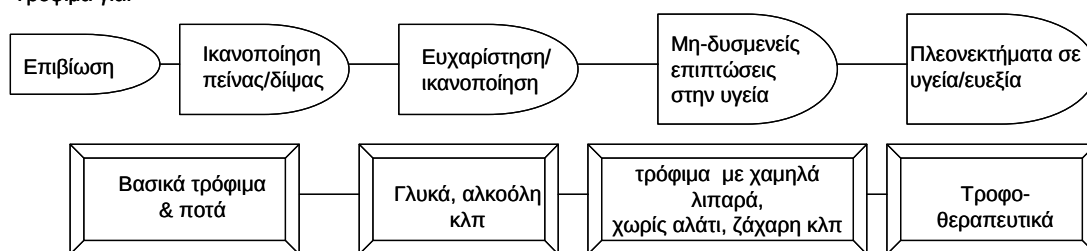
η) τα κατάλοιπα και οι μολυσματικές προσμείξεις. (Eurolex, 2002).

1.2 Λειτουργικά τρόφιμα

Πολύ νωρίτερα, μόλις το 400 π.Χ , ο Ιπποκράτης είχε δώσει μια ακόμα διάσταση στην έννοια των τροφίμων, καθώς δίδασκε : «Η τροφή να είναι το φάρμακό σου και το φάρμακό σου να είναι η τροφή σου ».

Η κατανάλωση των διαφόρων ειδών τροφίμων συναρτάται με τις ανάγκες που καλούνται οι τροφές να καλύψουν και έχει σαφώς μεταβληθεί δια μέσου της ιστορικής διαδρομής του ανθρώπου. Έτσι ενώ αρχικά η τροφή κάλυπτε τις ανάγκες του ανθρώπου για επιβίωση, η σταδιακή βελτίωση των συνθηκών ζωής και η αύξηση της παραγωγής με την επακόλουθη ευμάρεια οδήγησε στην επιθυμία κάλυψης και άλλων αναγκών, όπως φαίνεται στο Σχήμα 1 που ακολουθεί, για να φθάσουμε στις μέρες μας όπου υπάρχουν πλέον διαθέσιμα και διαδεδομένα τρόφιμα με συστατικά που δεν επιβαρύνουν ή/και συνεισφέρουν θετικά στην υγεία και την ευεξία (Χίου, Καλογερόπουλος, & Ανδρικόπουλος, 2010).

Τρόφιμα για:



ΣΧΗΜΑ 1.1. Εξέλιξη των αναγκών που καλούνται να καλύψουν τα τρόφιμα και των ειδών που τις καλύπτουν (Χίου, Καλογερόπουλος, & Ανδρικόπουλος, 2010)

Για την κάλυψη των νέων αναγκών του ανθρώπου έχουν δημιουργηθεί νέες κατηγορίες τροφίμων, όπως είναι τα λειτουργικά, τα ιατρικά, τα σχεδιασμένα, τα

διατροφοδραστικά (neutraceuticals) τρόφιμα. Για κάθεμία από τις παραπάνω κατηγορίες υπάρχουν διαφορές και επικαλύψεις στην ορολογία και στη νομοθεσία σε διάφορες χώρες.

Για τα λειτουργικά τρόφιμα δεν υπάρχει ένα κοινά αποδεκτός όρος, καθώς σε Ευρώπη, Ιαπωνία και Αμερική ισχύουν διαφορετικοί ορισμοί. Σύμφωνα με τον IFIC (International Food Information Council) είναι τα τρόφιμα τα οποία παρέχουν ευεργετικά για την υγεία οφέλη, πέραν της βασικής διατροφικής τους αξίας (IFIC, 2006). Στην Ιαπωνία σαν λειτουργικά τρόφιμα εννοούνται τα «τρόφιμα με ειδικές χρήσεις για την υγεία» (Food with Specific Health Use, FOSHU), τα οποία μπορούν να έχουν και μορφή κάψουλας ή ταμπλέτας, ενώ χρειάζεται η λήψη έγκρισης από το αρμόδιο Υπουργείο για να μπορούν να φέρουν τους αντίστοιχους ισχυρισμούς υγείας. Σύμφωνα με τις οδηγίες της Ευρωπαϊκής Ένωσης και σύμφωνα με τις τελευταίες έρευνες και τη γενική αντίληψη που επικρατεί στο ευρύ κοινό: Λειτουργικό τρόφιμο είναι εκείνο το τρόφιμο το οποίο περιέχει πρόσθετα συστατικά, ή από το οποίο έχουν αφαιρεθεί συστατικά – είτε από το ίδιο το τρόφιμο είτε ως απόρροια ειδικής παραγωγής του – με αποτέλεσμα το τελικό προϊόν να εμφανίζει ευεργετικές ιδιότητες για την υγεία του ανθρώπου (Χίου, Καλογερόπουλος, & Ανδρικόπουλος, 2010).

Το ενδιαφέρον των καταναλωτών για τα λειτουργικά τρόφιμα είναι συνεχές και αυξανόμενο, καθώς οι σύγχρονοι καταναλωτές είναι περισσότερο ευαισθητοποιημένοι και ενημερωμένοι σε θέματα διατροφής και υγείας. Είναι γνωστό ότι παρόλο που η κληρονομικότητα παίζει σημαντικό ρόλο στην εμφάνιση χρόνιων και απειλητικών ασθενειών, όπως τα καρδιαγγειακά νοσήματα, ο καρκίνος, ο διαβήτης, η σωστή διατροφή, η σωματική δραστηριότητα και η υιοθέτηση ενός πιο υγιεινού τρόπου ζωής, μπορούν να συμβάλλουν σημαντικά στην πρόληψη και τη μείωση της εμφάνισής τους (Wildman, 2007). Η επιστημονική έρευνα στο πεδίο των τροφίμων και της διατροφής για την αναγνώριση βιοδραστικών συστατικών με ευεργετικές ιδιότητες για την υγεία είναι συνεχής. Σκοπός των

επιστημόνων είναι η ανάπτυξη λειτουργικών τροφίμων τα οποία θα συνδυάζουν, ευεργετικές για την υγεία ιδιότητες , ελκυστικά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και προσιτό κόστος.

Κεφάλαιο 2^ο : ΖΥΜΩΜΕΝΑ ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ

2.1 Ιστορία των ζυμωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων

Η ζύμωση είναι μια από τις παλαιότερες μεθόδους που έχουν εφαρμοστεί από τον άνθρωπο για την μετατροπή του γάλακτος σε προϊόντα με παρατεταμένη διάρκεια ζωής. Η ακριβής προέλευση των ζυμωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων είναι δύσκολο να προσδιοριστεί, αλλά υπολογίζεται πριν από 10 – 15.000 χρόνια, όταν ο άνθρωπος από τροφοσυλλέκτης εξελίχθηκε σε παραγωγό τροφίμων (Pederson, 1979). Η εξέλιξη αυτή συμπεριλάμβανε επίσης και την εξημέρωση των ζώων (αγελάδα, πρόβατο, κατσίκια, βουβάλι και καμήλα) και είναι πολύ πιθανό η μετάβαση αυτή να έλαβε χώρα σε διαφορετικές χρονικές στιγμές στα διάφορα μέρη του κόσμου. Αρχαιολογικά στοιχεία δείχνουν ότι ορισμένοι πολιτισμοί , όπως οι Σουμέριοι, οι Μεσσοποτάμιοι, οι Αιγύπτιοι και οι Ινδοί είχαν αναπτύξει μεθόδους γεωργίας , κτηνοτροφίας και παραγωγής ζυμωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων, όπως το γιαούρτι (Chandan 2006, Tamime 1999, Chandan 1982).

Αν και δεν υπάρχουν διαθέσιμες εγγραφές για την προέλευση των ζυμωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων, πιστεύεται ότι πιθανώς κατάγονται από τη Μικρά Ασία και την Ινδία, η ακριβής καταγωγή τους όμως αποτελεί θέμα συζήτησης (Robinson, 2002).

Ειδικότερα, το γιαούρτι πιστεύεται ότι κατάγεται από τη Μικρά Ασία και η εξέλιξή του μέσα στους αιώνες αποδίδεται στις μαγειρικές ικανότητες των νομάδων που ζούσαν στην περιοχή εκείνη (Campbell-platt, 1987). Η παραγωγή του γάλακτος στις περιοχές αυτές ήταν ανέκαθεν χρονικά περιορισμένη, λάμβανε χώρα μόνο λίγους μήνες το χρόνο, κυρίως

διότι δεν είχε αναπτυχθεί οργανωμένη κτηνοτροφία και οι κτηνοτρόφοι ακόμα και στην πρόσφατη ιστορία ήταν νομάδες , οι οποίοι μετακινούνταν συνεχώς. Οι νομάδες βρίσκονταν για αρκετό χρονικό διάστημα μακριά από τις κατοικημένες περιοχές, στις οποίες θα μπορούσαν να διαθέσουν τα προϊόντα τους. Επίσης, στη Μ. Ασία το κλίμα ήταν σχεδόν τροπικό και το καλοκαίρι η θερμοκρασία μπορούσε να φτάσει τους 40°C. Σε τέτοιες συνθήκες το γάλα μπορεί να ξινίσει και να πήξει σε γρήγορο χρονικό διάστημα, ειδικά κάτω από άσχημες συνθήκες υγιεινής υπό τις οποίες παραγόταν, καθώς το άρμεγμα των ζώων γινόταν χειρωνακτικά, δεν υπήρχε δυνατότητα ψύξης του γάλακτος και ο κίνδυνος επιμόλυνσης του από μικροοργανισμούς, που βρίσκονταν στον αέρα, στα ζώα και στα χέρια των αρμεχτών, ήταν πολύ μεγάλος. Κάτω από αυτές τις συνθήκες η μεταφορά και διατήρηση του γάλακτος για κάποιο χρονικό διάστημα ήταν αδύνατη. Έτσι η πλειονότητα του πληθυσμού μπορούσε σπάνια να καταναλώσει γάλα, ενώ ακόμα και οι νομάδες έπρεπε να καταναλώνουν άμεσα το γάλα που παρήγαγαν.

Οι νομάδες βοσκοί παρατήρησαν πολύ νωρίς ότι το ξίνισμα του γάλακτος ήταν μια αυτόματη διαδικασία. Όμως η ζύμωση που οφειλόταν σε βακτήρια διαφορετικά από τα γαλακτικά βακτήρια, οδηγούσε στην παραγωγή προϊόντων με δυσάρεστα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά , ακανόνιστο και γεμάτο οπές πήγμα, ενώ παρουσίαζε και υπερβολική συναίρεση. Αντίθετα, το ξίνισμα του γάλακτος που προκαλούσαν τα γαλακτικά βακτήρια, οδηγούσε στην παραγωγή προϊόντων, τα οποία μπορούσε κανείς ευχάριστα να φάει ή να πιει.

Οι φυλές των νομάδων της Μ. Ασίας απέκτησαν τον έλεγχο της ζύμωσης του γάλακτος των ζώων (αγελάδες, κατσίκες, πρόβατα, καμήλες) που εξέτρεφαν. Η επαναλαμβανόμενη αποθήκευση του νωπού γάλακτος σε δοχεία από πηλό ή δέρμα ζώων οδήγησε στην ανάπτυξη συγκεκριμένων μικροοργανισμών , οι οποίοι στις δεδομένες κλιματολογικές συνθήκες οδηγούσαν στην παραγωγή προϊόντων ζύμωσης με μοναδικά χαρακτηριστικά (Robinson, 2002) . Έτσι παρόλο που αρχικά η διαδικασία της παραγωγής

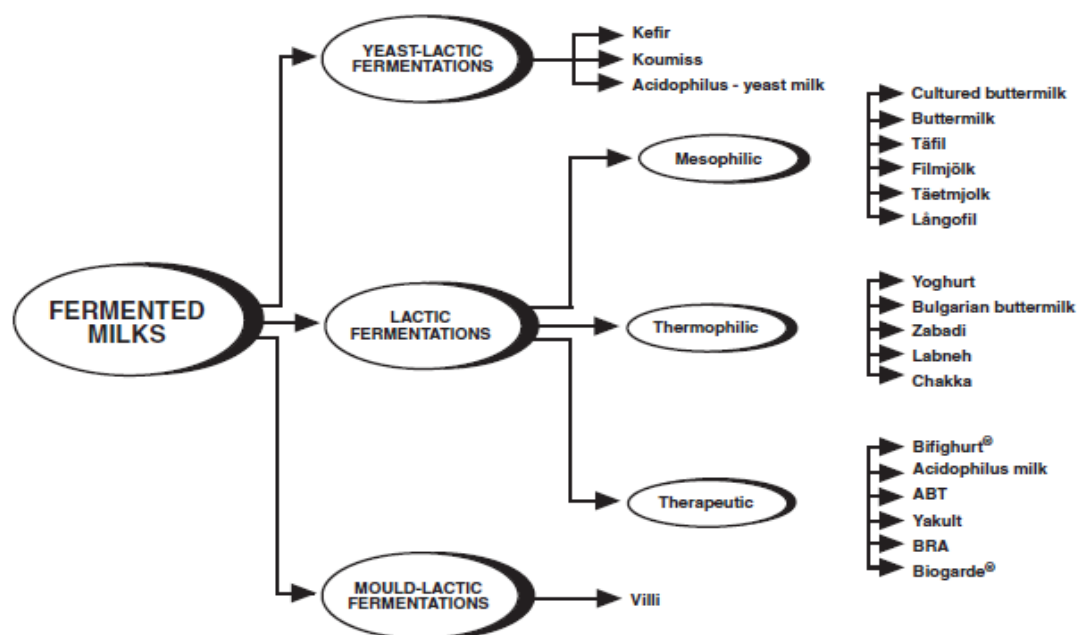
ζυμωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων γινόταν με τυχαίο μη ελεγχόμενο τρόπο, σύντομα καθιερώθηκε ως μέθοδος συντήρησης, ενώ από τις αρχές του 20^{ου} αιώνα καθορίστηκαν και οι μικροοργανισμοί που θα συμμετείχαν στην παραγωγή των ζυμωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων τα οποία θα παράγονταν πλέον σε βιομηχανική κλίμακα. Σταδιακά η μέθοδος αυτή συντήρησης του γάλακτος έγινε γνωστή σε όλο τον κόσμο, ενώ ο κυριότερος εκπρόσωπος των ζυμωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων, το γιαούρτι, έκανε την εμφάνισή του στην Ευρώπη και την Αμερική.

Περίπου 400 είδη ζυμωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων παράγονται σε όλο τον κόσμο (Kurman 1992), τα κυριότερα από τα οποία αναφέρονται στον Πίνακα (2.1) . Τα προϊόντα αυτά μπορεί να διαφέρουν στην ονομασία, πρακτικά όμως είναι τα ίδια. Οι Robinson & Tamime (1990) πρότειναν την κατάταξη των ζυμωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων σε τρεις κατηγορίες λαμβάνοντας υπόψη α) το είδος του γάλακτος από το οποίο παράγονται, β) το είδος των μικροοργανισμών που κυριαρχούν στη μικροβιακή τους χλωρίδα και γ) τους κυριότερους εκπροσώπους των παραγόμενων προϊόντων. Η κατηγοριοποίηση αυτή φαίνεται στο Σχήμα (2.1). Επίσης, στον Πίνακα (2.2) αναφέρονται οι καλλιέργειες μικροοργανισμών που χρησιμοποιούνται σε ορισμένα από τα πιο γνωστά ζυμωμένα γαλακτοκομικά προϊόντα.

Πίνακας (2.1): Τα κυριότερα είδη ζυμωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων που παράγονται στον κόσμο.

Product Name	Major Country/Region
Acidophilus milk	United States, Russia
Ayran/eyran/jugurt	Turkey
Busa	Turkestan
Chal	Turkmenistan
Cieddu	Italy
Cultured buttermilk	United States
Dahi/dudhee/dahee	Indian subcontinent
Donskaya/varenetes/kurugna/ryzhenka/guslyanka	Russia
Dough/abdoogh/mast	Afghanistan, Iran
Ergo	Ethiopia
Filmjolk/fillbunke/fillbunk/surmelk/taettemjolk/tettemelk	Sweden, Norway, Scandinavia
Gioddu	Sardinia
Gruzovina	Yugoslavia
Iogurte	Brazil, Portugal
Jugurt/eyran/ayran	Turkey
Katyk	Transcaucasia
Kefir, Koumiss/Kumys	Russia, Central Asia
Kissel maleka/naja/yaourt/urgotnic	Balkans
Kurunga	Western Asia
Leben/labani/labani rayeb	Lebanon, Syria, Jordan
Mazun/matzoos/matsun/matsoni/madzoos	Armenia
Mezzoradu	Sicily
Pitkapiima	Finland
Roba/rob	Iraq
Shosim/sho/thara	Nepal
Shrikhand	India
Skyr	Iceland
Tarag	Mongolia
Tarho/taho	Hungary
Viili	Finland
Yakult	Japan
Yiaourti	Greece
Ymer	Denmark
Zabady/zabade	Egypt, Sudan

Πηγή: (Chandan , 2002, Tamime , 1999)



Σχήμα (2.1) : Κατηγοριοποίηση των ζυμωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων σύμφωνα με τους Robinson και Tamime (1990)

Πίνακας (2.2): οι καλλιέργειες μικροοργανισμών που χρησιμοποιούνται σε ορισμένα από τα πιο γνωστά ζυμωμένα γάλατα

Product	Primary Microorganism(s)	Secondary/Optional Microorganism(s)	Incubation Temperature and Time	Major Function of Culture
Yogurt	<i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> , <i>Strept. thermophilus</i>	<i>Lb. acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Bifidobacterium infantis</i> , <i>Lb. casei</i> , <i>Lb. lactis</i> , <i>Lb. rhamnosus</i> , <i>Lb. helveticus</i> , <i>Lb. reuteri</i>	43–45°C for 2.5 hours	Acidity, texture, aroma, flavor, probiotic
Cultured butter milk and sour cream	<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> , <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> , <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> var. <i>diacephalactis</i>	<i>Leuc. lactis</i> , <i>Leuc. mesenteroides</i> subsp. <i>cremoris</i>	22°C for 12–14 hours	Acidity, flavor, aroma
Probiotic Fermented milks	<i>S. thermophilus</i> , <i>Lb. acidophilus</i> , <i>Lb. reuteri</i> , <i>Lb. rhamnosus</i> GG, <i>Lb. johnsoni</i> , <i>Lb. casei</i> , <i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Bifidobacterium bifidus</i>	<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> , <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	22–37°C/37–40°C for 8–14 hours	Acidity, flavor, probiotic
Kefir	<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> , <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> , <i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> , <i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>lactis</i> , <i>Lb. casei</i> , <i>Lb. helveticus</i> , <i>Lb. brevis</i> , <i>Lb. kefir</i> , <i>Leuc. mesenteroides</i> , <i>Leuconostoc dextranicum</i>	Yeasts: <i>Kluyveromyces marxianus</i> subsp. <i>marxianus</i> , <i>Torulaspora delbrueckii</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Candida kefir</i> Acetic acid bacteria: <i>Acetobacter aceti</i>	15–22°C for 24–36 hours	Acidity, aroma, flavor, gas (CO ₂), alcohol, probiotic
Koumiss	<i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> , <i>Lb. kefir</i> , <i>Lb. lactis</i> Yeasts: <i>Saccharomyces lactis</i> , <i>Saccharomyces cartilaginosus</i> , <i>Mycoderma</i> spp.	Acetic acid bacteria: <i>Acetobacter aceti</i>	20–25°C for 12–24 hours	Acidity, alcohol, flavor, gas (CO ₂)

Πηγή: (Chandan & Shahani 1995, Hassan & Frank 2001, Robinson 2002)

2.2 Γιαούρτι

2.2.1 Ορισμός και είδη γιαουρτιού

Σύμφωνα με τον Ελληνικό Κώδικα Τροφίμων και Ποτών (ΚΤΠ), ως «Γιαούρτι» χαρακτηρίζεται το προϊόν, το οποίο προκύπτει μετά από πήξη αποκλειστικά και μόνο νωπού γάλακτος της αντίστοιχης προς την ονομασία φύσης και προέλευσης, με την επίδραση καλλιέργειας ζύμης που προκαλεί ειδική για αυτό ζύμωση. Το γιαούρτι πρέπει να περιέχει λίπος και στερεό υπόλειμμα άνευ λίπους (ΣΥΑΛ) αυξημένο κατά 10% τουλάχιστον από τα όρια που καθορίζονται στο αντίστοιχο άρθρο του ΚΤΠ για το νωπό γάλα, των αντίστοιχων ειδών γάλακτος, από τα οποία παρασκευάστηκε αυτό. (ΓΧΚ, 2009):

Σύμφωνα με τους διεθνείς οργανισμούς FAO, WHO και Codex Alimentarius, το γιαούρτι είναι ένα προϊόν πηγμένου γάλακτος το οποίο υπόκειται σε γαλακτική ζύμωση μέσω της δράσης των βακτηρίων *Streptococcus thermophilus* και *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Οι μικροοργανισμοί αυτοί πρέπει να είναι βιώσιμοι και να βρίσκονται σε αφθονία στο τελικό προϊόν. Στη γαλλική νομοθεσία ορίζεται επίσης ότι το γιαούρτι θα πρέπει να περιέχει τουλάχιστον 10^7 βιώσιμα κύτταρα βακτηρίων ανά γραμμάριο τροφίμου (Sozzi & Smiley, 1980). Γενικότερα, το γιαούρτι ή διαφορετικά η γιαούρτη, είναι ένα ημίρρευστο ζυμωμένο γαλακτοκομικό προϊόν το οποίο παράγεται από θερμικά επεξεργασμένο γάλα με την επίδραση του παραπάνω μίγματος συμβιωτικής καλλιέργειας Σε ορισμένες χώρες, όπως και στην Ελλάδα, η χρήση των παραπάνω καλλιεργειών για τη ζύμωση του γάλακτος είναι απαραίτητη για να ονομαστεί το προϊόν γιαούρτι. Σε άλλες χώρες δεν υπάρχει αυτός ο περιορισμός και έτσι γιαούρτι ονομάζονται και προϊόντα που περιέχουν και άλλους προβιοτικούς μικροοργανισμούς όπως *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus casei*, and *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lactobacillus gasseri*, and *Lactobacillus johnsonii* LA1 (Chandan, 1999). Επίσης, στην Ελλάδα απαγορεύεται η προσθήκη πρόσθετων ουσιών (συντηρητικά, γλυκαντικά κ.α.). Για

την παραγωγή γιαουρτιού μπορεί να χρησιμοποιηθεί γάλα από αγελάδα, βουβάλι, κατσίκια, πρόβατο, καθώς και από άλλα θηλαστικά, στη βιομηχανική παραγωγή όμως κυριαρχεί το αγελαδινό γάλα.

Η βασική διαδικασία παραγωγής γιαουρτιού περιλαμβάνει τα παρακάτω στάδια:

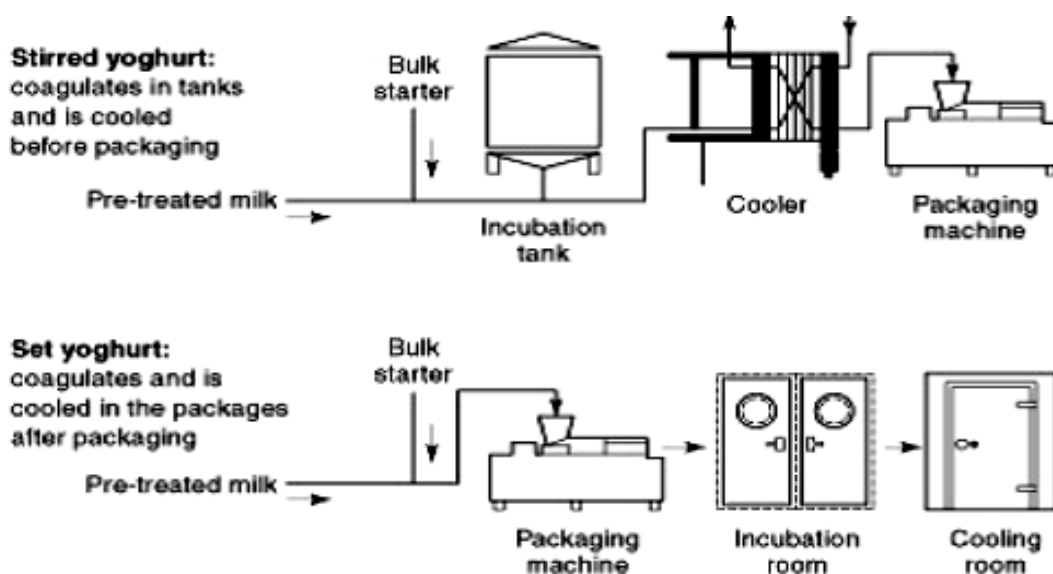
1. Τυποποίηση του νωπού γάλακτος
2. Ομογενοποίηση του γάλακτος
3. Θερμική επεξεργασία του γάλακτος (90 - 95 °C, 5-10 min)
4. Ψύξη σε θερμοκρασία επώασης 37 - 43 °C
5. Προσθήκη καλλιέργειας και επώαση (περίπου 3h)
6. Ψύξη
7. Συσκευασία

Για την παραγωγή των διαφόρων τύπων γιαουρτιού γίνονται κάποιες διαφοροποιήσεις στην παραπάνω βασική διαδικασία παραγωγής (Κεχαγιάς, 1997).

Οι κύριοι τύποι γιαουρτιού που κυκλοφορούν στην παγκόσμια αγορά είναι (Κεχαγιάς 1997, Lee & Lucey 2010):

α) Το στερεό γιαούρτι (set type yoghurt ή natural yoghurt). Πρόκειται για το παραδοσιακό προϊόν ζύμωσης του γάλακτος με την όξινη γεύση και τη συνεκτική υφή. Η ζύμωση του γάλακτος σε αυτή την περίπτωση λαμβάνει χώρα μέσα στα κεσεδάκια. Στην Ελλάδα παράγεται επίσης και στερεή γιαούρτη με πέτσα, για την παραγωγή της οποίας χρησιμοποιείται μη ομογενοποιημένο γάλα (Κεχαγιάς 1997)

β) Το ανακατεμένο γιαούρτι (stirred type yoghurt). Η ζύμωση του γάλακτος στην ανακατεμένη γιαούρτι λαμβάνει χώρα στις δεξαμενές. Στο είδος αυτό του γιαουρτιού συχνά προστίθενται και άλλα συστατικά, όπως φρούτα, χυμός φρούτων, ζάχαρη κ.α. Για την ελληνική νομοθεσία το προϊόν αυτό δεν μπορεί να ονομαστεί “γιαούρτι”, αλλά φέρει την ονομασία “επιδόρπιο γιαουρτιού” (Κεχαγιάς, 1997).



Σχήμα 2.2: Τα κύρια στάδια της παραγωγής του “Stirred type” και “Set type” γιαουρτιού (Robinson, 1999)

Στην Ελλάδα, αλλά πρόσφατα και στην παγκόσμια αγορά (Robinson, 2002), κυριαρχεί άλλο ένα είδος γιαουρτιού, το στραγγιστό ή ελληνικού τύπου γιαούρτι (strained yoghurt). Ο τύπος αυτός της γιαούρτης ζυμώνεται σε δεξαμενές, η απομάκρυνση του ορού γίνεται παραδοσιακά με τουλπάνι, ενώ στη βιομηχανική παραγωγή χρησιμοποιούνται φυγοκεντρικοί διαχωριστήρες (Κεχαγιάς, 1997).

Η αυξανόμενη ζήτηση του γιαουρτιού και οι σύγχρονες απαιτήσεις των καταναλωτών και οι ανάγκες που έχει δημιουργήσει ο σύγχρονος τρόπος ζωής, έχουν οδηγήσει στη δημιουργία ενός ευρέως φάσματος προϊόντων γιαουρτιού. Έτσι, πρώτα έκαναν την εμφάνισή τους τα προϊόντα γιαουρτιού με διάφορες γεύσεις, ενώ ακολούθησε η

εμφάνιση των γιαουρτιών με χαμηλά ή και καθόλου λιπαρά, και τα προϊόντα ροφημάτων γιαούρτης. Έχουν επίσης δημιουργηθεί προϊόντα γιαουρτιού που εξυπηρετούν διαιτητικούς ή θεραπευτικούς σκοπούς, τα οποία απευθύνονται σε συγκεκριμένο καταναλωτικό κοινό (Tamime 1999, Chandman & O' Reil 2006). Έτσι πέρα από τα παραπάνω βασικά είδη γιαουρτιού στη σύγχρονη αγορά μπορεί κανείς να βρει και (Tamime 1999):

1. Το Ρόφημα γιαούρτης (Drinking yoghurt): Πρόκειται για προϊόν ανακατεμένης γιαούρτης (stirred yoghurt), το οποίο έχει χαμηλό ιξώδες. Χαρακτηριστικό προϊόν αυτής της κατηγορίας είναι το Αριάνι, παραδοσιακό τούρκικο προϊόν. Στην Ευρώπη και την Αμερική το τύπος αυτός γιαουρτιού παρασκευάζεται από γάλα χαμηλών λιπαρών.
2. Το Ανθρακούχο γιαούρτι (Carbonated yoghurt): Το προϊόν αυτό μπορεί να είναι είτε σε στερεή είτε σε ξηρή κατάσταση. Στην πρώτη κατηγορία ανήκουν ροφήματα γιαουρτιού με διάφορες γεύσεις και διοξείδιο του άνθρακα. Η στερεή μορφή του ανθρακούχου γιαουρτιού απελευθερώνει το CO₂ κατά την ανασύστασή του με νερό.
3. Το γιαούρτι με Υδρολυμένη Λακτόζη (Lactose hydrolysed yoghurt -LHY): Κατά την παραγωγή του γιαουρτιού μόνο ένα μέρος της λακτόζης χρησιμοποιείται από την καλλιέργεια των μικροοργανισμών σαν πηγή ενέργειας προς παραγωγή γαλακτικού οξέος. Το υπόλοιπο της λακτόζης μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την αύξηση της γλυκύτητας και των θερμίδων του γιαουρτιού. Αυτό μπορεί να γίνει μέσω της υδρόλυσης της λακτόζης σε γλυκόζη και γαλακτόζη με την προσθήκη της β-γαλακτοσιδάσης.
4. Το Παγωμένο γιαούρτι (Frozen yoghurt): Το παγωμένο γιαούρτι μοιάζει με το παγωτό και διακρίνεται σε μαλακό, σκληρό και μους. Συνδυάζει την όξινη γεύση του γιαουρτιού με την παγωμένη αίσθηση του παγωτού. Στο προϊόν αυτό προστίθεται ζάχαρη και άλλα πρόσθετα, όπως γαλακτωματοποιητές και σταθεροποιητές, προκειμένου να έχει την εμφάνιση του παγωτού.

5. Το αποξηραμένο γιαούρτι (Dried yoghurt): Το προϊόν αυτό δημιουργήθηκε προκειμένου να μετατραπεί το γιαούρτι σε ένα προϊόν σταθερό και έτοιμο προς χρήση. Παραδοσιακά η παραγωγή του γίνεται με την αποξήρανση στον ήλιο γιαουρτιού χαμηλών λιπαρών (Kurman, Rasic, & Kroger, 1992). Το αποξηραμένο γιαούρτι χρησιμοποιείται από ανθρώπους που κατοικούν στην έρημο για την παρασκευή διαφόρων γευμάτων.
6. Το Bio – γιαούρτι (Bio yoghurt): Πρόκειται για είδη γιαουρτιού που παράγονται για διαιτητικούς ή/και θεραπευτικούς σκοπούς. Το προϊόν αυτό περιέχει και μικροοργανισμούς που ανήκουν κυρίως στα γένη *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus* και *Pediococcus* (Marshall & Tamine, 1997), καθώς τα περισσότερα στελέχη των *L. delbrueckii* subsp *S. Thermophilus* που αποτελούν την κλασσική καλλιέργεια της γιαούρτης καταστρέφονται στον γαστρεντερικό σωλήνα.
7. Το γιαούρτι με φυτικά λιπαρά (Vegetable oil yoghurt): Για την παραγωγή αυτού του προϊόντος χρησιμοποιείται αποβουτυρωμένο γάλα σε σκόνη και λιπαρά από φυτικά λίπη και έλαια προκειμένου να αντικαταστήσουν τα λιπαρά του γάλακτος. Παρόλο που τα προϊόντα αυτά δεν αναγνωρίζονται από τη Διεθνή Ομοσπονδία Γάλακτος (IDF), κυκλοφορούν εδώ και αρκετές δεκαετίες.
8. Το γιαούρτι με υποκατάστατα λιπαρών (Fat-substitutes yoghurt): Πρόκειται για προϊόντα γιαουρτιού με χαμηλά λιπαρά και χαμηλές θερμίδες στα οποία έχουν χρησιμοποιηθεί υποκατάστατα λίπους. Οι δύο κύριες κατηγορίες υποκατάστατων λίπους που χρησιμοποιούνται είναι τα τροποποιημένα άμυλα και οι πρωτεΐνης.
9. Το Χημικά Οξινομένο γιαούρτι (Chemically acidified yoghurt): Το προϊόν αυτό παράγεται με την προσθήκη οργανικών οξέων (ασκορβικό, οξικό, φουμαρικό, μηλικό, γαλακτικό, τρυγικό, οξαλικό, ηλεκτρικό και φωσφορικό) ή γλυκονο-δ- λακτόνης (GDL) στο γάλα, η οποία έχει σαν αποτέλεσμα την δημιουργία πηγματος σε pH <4,6. Το χημικά

οξινισμένο γιαούρτι ομοιάζει με το γιαούρτι ως προς την εμφάνιση και την υφή, αλλά δεν έχει το τυπικό άρωμα, τη γεύση και τις θεραπευτικές ιδιότητες του γιαουρτιού.

10. Το γιαούρτι από γάλα σόγιας (Soy-milk yoghurt): Το προϊόν αυτό δημιουργήθηκε στα πλαίσια της προσπάθειας που διεξάγεται για την ανεύρεση και αξιοποίηση εναλλακτικών πηγών πρωτεΐνης, κυρίως για την αντιμετώπιση του υποσιτισμού στις αναπτυσσόμενες χώρες.

2.2.2 Θρεπτική αξία του γιαουρτιού

Αν και το γιαούρτι και άλλα παρόμοια προϊόντα έχουν εδώ και καιρό καταλάβει μια θέση στην καθημερινή διατροφή των λαών από τη Μέση Ανατολή και την Κεντρική Ευρώπη, στον δυτικό κόσμο τα προϊόντα αυτά έφτασαν πολύ αργότερα, όταν επιβεβαιώθηκαν οι φήμες για τις ευεργετικές για την υγεία ιδιότητες. Ειδικότερα, οι απόψεις του Metchnikoff (1910) για τη σύνδεση της μακροζωίας των ορεινών φυλών της Βουλγαρίας με την κατανάλωση γιαούρτης προκάλεσαν πυροδότηση του ενδιαφέροντος για τα προϊόντα αυτά. Σήμερα το γιαούρτι είναι ένα ευρέως διαδεδομένο ζυμωμένο γαλακτοκομικό προϊόν το οποίο έχει αναγνωριστεί ως λειτουργικό τρόφιμο, με ευεργετικές για την υγεία ιδιότητες (Allgeyer, Miller, & Lee, 2010)

Τα δεδομένα που εμφανίζονται στον Πίνακα 2.3 αναφέρουν τα βασικά θρεπτικά στοιχεία ορισμένων τύπων γιαουρτιού και του γάλακτος από τα οποία προέκυψαν. Το αυξημένο στερεό υπόλειμμα άνευ λίπους (ΣΥΑΛ) βελτιώνει τη σύνθεση του γιαουρτιού σε σχέση με εκείνη του γάλακτος (Robinson, 1999), π.χ. ενώ στο γάλα η πρωτεΐνη είναι 3,2%, στο γιαούρτι υπολογίζεται στο 5,1%. Επιπρόσθετα το γιαούρτι έχει και ευεργετικές ιδιότητες για τον ανθρώπινο οργανισμό.

Η διαθεσιμότητα των θρεπτικών συστατικών του γιαουρτιού στον ανθρώπινο οργανισμό αυξάνεται λόγω της ζύμωσης που έχει υποστεί (Robinson, 1999). Οι πρωτεΐνες που λαμβάνει ο ανθρώπινος οργανισμός καταναλώνοντας γιαούρτι δεν είναι μόνο περισσότερες, σε σύγκριση με το γάλα, αλλά και πιο εύκολα αφομοιώσιμες. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι α) οι πρωτεΐνες έχουν υποστεί πρωτεόλυση από τους μικροοργανισμούς κατά τη διάρκεια της επώασης και της αποθήκευσης (Breslaw & Kleyn 1973, Butikofer, Eberhard, Fuchs, & Sieber 1995) και β) οι πρωτεΐνες του γάλακτος στο γιαούρτι είναι ήδη σε μορφή “μαλακού πήγματος” όταν φτάνουν στο στομάχι, με αποτέλεσμα να μην προκαλείται δυσφορία κατά την πέψη (Jay, 1975) . Έτσι, το γιαούρτι είναι μια εξαιρετική πηγή πρωτεΐνης.

Πίνακας 2.3: Θρεπτική αξία γάλακτος και γιαουρτιού

Some typical values of the major constituents of milk and yoghurt (all units 100g ⁻¹)						
Constituent	Milk		Yoghurt*			
	Whole	Skim	Full fat	Low fat	Low fat/fruit	Greek-style
Water (g)	87.8	91.1	81.9	84.9	77.0	77.0
Energy value (kcal)	66	33	79	56	90	115
Protein (g)	3.2	3.3	5.7	5.1	4.1	6.4
Fat (g)	3.9	0.1	3.0	0.8	0.7	9.1
Carbohydrate (g)	4.8	5.0	7.8	7.5	17.9	NR
Calcium (mg)	115	120	200	190	150	150
Phosphorus (mg)	92	95	170	160	120	130
Sodium (mg)	55	55	80	83	64	NR
Potassium (mg)	140	150	280	250	210	NR
Zinc (mg)	0.4	0.4	0.7	0.6	0.5	0.5

* The nutrient levels in fruit yoghurt will vary with the type of fruit and stabiliser.
NR: Not reported.

Πηγή: (Holland, Welch, Unwin, Buss, Paul, & Southgate, 1991), (Buttriss, 1997)

Από τον Πίνακα (2.3) είναι φανερό ότι στο γιαούρτι υπάρχει μεγαλύτερη συγκέντρωση ιχνοστοιχείων σε σχέση με το γάλα. Οι συγκεντρώσεις του φωσφόρου, του μαγνησίου, και του ψευδάργυρου είναι σχεδόν διπλάσιες εκείνων του γάλακτος, ενώ βρίσκονται σε μορφές που πιθανότατα ευνοούν την απορρόφησή τους από τον ανθρώπινο οργανισμό (Buttriss,

1997). Αξιοσημείωτη είναι η περιεκτικότητα σε ασβέστιο καθώς και η μορφή του που το καθιστά καλύτερα αφομοιώσιμο από τον ανθρώπινο οργανισμό (Rasic, 1987). Θεωρείται ότι λόγω του γαλακτικού οξέος το ασβέστιο μετατρέπεται στην ιονική του μορφή, γεγονός που επιτρέπει τη μεταφορά του στα κύτταρα του βλεννογόνου του εντέρου (Fernandes, Chandan, & Shahani, 1992).

Σε αντίθεση με τα ιχνοστοιχεία ο προσδιορισμός της διαθεσιμότητας των βιταμινών (Πίνακας 2.4) στο γιαούρτι είναι πολύ πιο δύσκολο να υπολογιστεί, καθώς είναι πιο ευαίσθητες στις συνθήκες της παρασκευής του γιαουρτιού. Ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι βιταμίνες του συμπλέγματος Β οι οποίες συντίθενται από τους μικροοργανισμούς ανάλογα με τις συνθήκες παρασκευής του γιαουρτιού (Kneifel, Holub, & Wirthman, 1989). Για το λόγο αυτό είναι σημαντική η χρήση επιλεγμένων στελεχών μικροοργανισμών και συνθηκών, προκειμένου να διατηρηθούν οι θρεπτικές ιδιότητες του γιαουρτιού.

Πίνακας 2.4 : Περιεκτικότητα βιταμινών σε γάλα και γιαούρτι

Some typical vitamin contents of milk and yoghurt (all units 100g ⁻¹)					
Vitamin	Milk		Yoghurt		
	Whole	Skimmed	Full fat	Low fat	Low fat/fruit
Retinol (μg)	52	1	28	8	10
Carotene (μg)	21	Tr	21	5	4
Thiamin (B ₁) (μg)	30	40	60	50	50
Riboflavin (B ₂) (μg)	170	170	270	250	210
Pyridoxine (B ₆) (μg)	60	60	100	90	80
Cyanocobalamine (B ₁₂) (μg)	0.4	0.4	0.2	0.2	0.2
Vitamin C (mg)	1	1	1	1	1
Vitamin D (μg)	0.03	Tr	0.04	0.01	0.01
Vitamin E (μg)	90	Tr	50	10	10
Folic acid (μg)	6	5	18	17	16
Nicotinic acid (μg)	100	100	200	100	100
Pantothenic acid (μg)	350	320	500	450	330
Biotin (μg)	1.9	1.9	2.6	2.9	2.3
Choline (mg)	12.1	4.8	–	0.6	–

Tr: Trace.

Πηγή: (Holland, Welch, Unwin, Buss, Paul, & Southgate, 1991, Deeth & Tamime, 1981)

Τα σάκχαρα που υπάρχουν στο γιαούρτι (Πίνακας 2.3) είναι κυρίως λακτόζη ενώ σε μικρά ποσοστά υπάρχουν μονο- και δι-σακχαρίτες. Παρόλη την παρουσία λακτόζης, το γιαούρτι είναι προϊόν που μπορεί να καταναλωθεί από άτομα με δυσανεξία στη λακτόζη. Η πιο πιθανή εξήγηση για το γεγονός αυτό είναι ότι οι μικροοργανισμοί στο γιαούρτι συνεχίζουν να μεταβολίζουν τη λακτόζη ακόμα και μετά την κατάποση ή ότι κατά την λύση των μικροοργανισμών απελευθερώνεται το ένζυμο λακτάση, με το οποίο μεταβολίζεται η εναπομένουσα λακτόζη (Robinson 1999, Gallagher, Molleson, & Caldwell 1974, Desmaison, Pascaud, & Tixier, 1990). Με τον ένα ή τον άλλο τρόπο, η λακτόζη που φτάνει στο κόλον είναι σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις για να προκαλέσει προβλήματα.

2.2.3 Οι θεραπευτικές ιδιότητες του γιαουρτιού

Στο γιαούρτι έχουν αποδοθεί διάφορες θεραπευτικές ιδιότητες οι οποίες οφείλονται στους μικροοργανισμούς που περιέχει. Για την εκδήλωση των ευεργετικών αυτών ιδιοτήτων για την υγεία του ανθρώπου, το γιαούρτι θα πρέπει να περιέχει κατ' ελάχιστο 10^6 cfu/g τροφίμου (Dave & Shah, 1997, Haddad, 2003, Moreno, Collado, Ferrus, Hernandez, & Hernandez, 2005).

Υπάρχουν ενδείξεις ότι οι μικροοργανισμοί που υπάρχουν στο γιαούρτι, όταν αυτό καταναλώνεται συχνά, βοηθούν στην διατήρηση των ευεργετικών πληθυσμών του γένους *Lactobacilli* που ενδημούν στο άνω μέρος του λεπτού εντέρου, καθώς και των πληθυσμών του γένους *Bifidobacteria* που ενδημούν στο κόλον. Ο ακριβής μηχανισμός δεν είναι ακόμα ξεκάθαρος, αλλά πιθανότατα να οφείλεται στην απελευθέρωση βιταμινών ή άλλων αυξητικών παραγόντων που απελευθερώνονται από τα κατεστραμμένα κύτταρα της καλλιέργειας γιαουρτιού (Robinson, 1999, 1989). Επίσης έρευνες έχουν δείξει ότι η

κατανάλωση μεγάλων ποσοτήτων γιαουρτιού σχετίζεται με τη μείωση της χοληστερόλης στο αίμα (Mann & Spoerry, 1974, Hepner, Fried, Joer, Fusetti, & Morin, 1979, Kiessling, Schneider, & Jahreis, 2002, Bernardeau, Vernoux, Dubemet, & Guegen, 2008).

Θεραπευτικές ιδιότητες έχουν αποδοθεί στο γιαούρτι και όσον αφορά τον καρκίνο του παχέος εντέρου, που αποτελεί τη δεύτερη αιτία θανάτου στον κόσμο (Adolfsson, Meydani, & Russel, 2004). Οι έρευνες έχουν γίνει κυρίως σε πειραματόζωα. Μια άλλη ευεργετική επίδραση του γιαουρτιού στην επίδραση της ανθρώπινης υγείας είναι η ενίσχυση της ανοσοποιητικού συστήματος. Τα γαλακτικά βακτήρια του γιαουρτιού έχει βρεθεί ότι ενισχύουν την αντίσταση του οργανισμού σε παθογόνους ξενιστές. Ειδικότερα, έχει αναφερθεί ότι τα γαλακτικά βακτήρια δρουν ενάντια στα τροφογενή παθογόνα βακτήρια και τις τοξίνες που εκκρίνουν, τα οποία προκαλούν διάρροιες (Heyman, 2000).

Κεφάλαιο 3^ο : ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΕΣ

3.1 Κατάταξη πολυφαινολών

Οι πολυφαινόλες είναι ουσίες ευρέως διαδεδομένες στο φυτικό βασίλειο. Αποτελούν χαρακτηριστικό συστατικό των φυτών, ή ακόμα και κάποιου συγκεκριμένου οργάνου ή ιστού του φυτού (Scalbert & Williamson, 2000). Το όνομά τους οφείλεται στον αρωματικό δακτύλιο που φέρουν στο μόριό τους, ο οποίος μπορεί να περιέχει ένα ή περισσότερα υδροξύλια (Morton, Caccetta, Puddery, & Croft, 2000). Οι πολυφαινολικές ενώσεις αποτελούν μια μεγάλη ομάδα ενώσεων οι οποίες κατατάσσονται σε 15 κύριες τάξεις (Χίου 2003):

1. Απλές φαινόλες

2. Βενζοκινόνες
3. Φαινολικά οξέα
4. Ακετοφαινόνες και Φαινυλοξικά οξέα
5. Φαινυλοπροπανοειδή
6. Υδροξυκιναμμωμικά οξέα
7. Κουμαρίνες και Ισοκουμαρίνες
8. Χρωμόνες
9. Ναφθοκινόνες
10. Ξανθόνες
11. Στιλβένια
12. Ανθοκινόνες
13. Φλαβονοειδή
14. Ανθοκυανιδίνες
15. Λιγνάνες, Νεολιγνάνες και Λιγνίνες

Από τις παραπάνω κατηγορίες η σημαντικότερη είναι αυτή των φλαβονοειδών, η οποία διακρίνεται σε 13 υποκατηγορίες και απαριθμεί περισσότερες από 5000 ενώσεις. Οι επιμέρους κατηγορίες των φλαβονοειδών είναι (Χίου 2003):

1. Οι χαλκόνες
2. Οι διϋδροχαλκόνες

3. Οι χρυσόνες
4. Οι φλαβόνες
5. Οι φλαβονόλες
6. Οι διϋδροφλαβανόλες
7. Οι φλαβονόνες
8. Οι φλαβανόλες
9. Οι φλαβανοδιόλες
10. Οι ανθοκυανιδίνες
11. Τα ισοφλαβονοειδή
12. Τα διφλαβονοειδή
13. Οι προανθοκυανιδίνες ή συμπυκνωμένες ταννίνες.

Οι πολυφαινόλες είναι δευτερογενείς μεταβολίτες των φυτών και εκτελούν ποικίλες λειτουργίες σε αυτά. Προστατεύουν το φυτό από φυτοφάγους και παθογόνους οργανισμούς, προσελκύουν τους επικονιαστές, μειώνουν την αύξηση ανταγωνιστικών φυτών και προάγουν τη συμβιωτική σχέση με τα αζωβακτήρια (Wildman 2007) . Υπάρχουν ορισμένα μεταβολικά μονοπάτια μέσω των οποίων γίνεται η βιοσύνθεση των πολυφαινολών, με σημαντικότερα τα μεταβολικά μονοπάτια του σικιμικού και του μηλονικού οξέος. Η σύνθεση των πολυφαινολών μέσω του σικιμικού οξέος είναι πιο σημαντική κυρίως στα ανώτερα φυτά, χωρίς όμως να αποκλείεται και η σύνθεση μέσω του μηλονικού οξέος (Taiz & Zeiger, 1998), η οποία είναι και η κυρίαρχη στην παραγωγή δευτερογενών μεταβολιτών γενικότερα σε κατώτερα φυτά, μύκητες και βακτήρια.

Για τα περισσότερα φυτικά προϊόντα η σύνθεσή τους σε πολυφαινόλες είναι πολύ λίγο γνωστή και συνήθως περιορίζεται σε μία ή λίγες ποικιλίες, ή στα μη εδώδιμα μέρη του φυτού (Κουντούρη, 2007). Τα φρούτα και τα ποτά όπως το τσάι και το κόκκινο κρασί αποτελούν τις βασικότερες διατροφικές πηγές πολυφαινολών (Κουντούρη, 2007). Οι πολυφαινόλες ευθύνονται και για τη διαμόρφωση του οργανοληπτικού τους χαρακτήρα (στυφή και πικρή γεύση). Στις περισσότερες περιπτώσεις τα τρόφιμα περιέχουν ένα σύνθετο μίγμα πολυφαινολών η σύσταση του οποίου δεν μπορεί να διευκρινιστεί πλήρως πολλές φορές λόγω της μεγάλης ποικιλίας στη δομή και το MB των συστατικών, όπως συμβαίνει πχ με τις προανθοκυανιδίνες (Manach, Morand, Gil-Izquierdo, Bouteloup-Demange, & Remesy, 2003).

3.2 Παράγοντες που επηρεάζουν την περιεκτικότητα και τη μορφή των πολυφαινολών στα τρόφιμα.

Η σύνθεση του πολυφαινολικού κλάσματος του τροφίμου επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες, όπως η ποικιλία, το στάδιο ωρίμανσης κατά τη συγκομιδή, περιβαλλοντικοί παράγοντες, η αποθήκευση και η επεξεργασία του φυσικού προϊόντος (Κουντούρη, 2007).

Οι περιβαλλοντικοί παράγοντες, όπως το έδαφος, οι κλιματικές συνθήκες, και το είδος της καλλιέργειας -βιολογική, υδροπονική ή συμβατική- διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη σύνθεση και την περιεκτικότητα των τροφίμων σε πολυφαινόλες. Ο βαθμός ωρίμανσης είναι επίσης πολύ σημαντικός παράγοντας στη συγκέντρωση και την αναλογία των πολυφαινολών στα φυτά. Γενικότερα οι έρευνες έχουν δείξει ότι με την ωρίμανση μειώνεται η περιεκτικότητα σε φαινολικά οξέα, ενώ αυξάνεται η περιεκτικότητα σε ανθοκυανίνες. Όσον αφορά την επίδραση των καλλιεργητικών μεθόδων στο πολυφαινολικό προφίλ των φυτών, έρευνες έχουν δείξει ότι το φαινολικό περιεχόμενο λαχανικών οργανικής καλλιέργειας είναι μεγαλύτερο από τα αντίστοιχα που έχουν παραχθεί με συμβατικές ή εναλλακτικές

καλλιέργειες (Asami, Hong, Barrett, & Mitchell, 2003). Επίσης, σύμφωνα με τον Macheix και τους συνεργάτες του (1990) οι πολυφαινόλες σχετίζονται σημαντικά με τη ανταπόκριση του φυτού σε διάφορους τύπους στρες. Έτσι συνεισφέρουν στην επούλωση κατεστραμμένων περιοχών, και παρουσιάζουν αντιμικροβιακές ιδιότητες. Για αυτό το λόγο, η περιεκτικότητά τους αυξάνεται μετά από κάποια μόλυνση του φυτού (Macheix, Fleuriet, & Billot, 1990). Εκτός από τους περιβαλλοντικούς παράγοντες σημαντικό ρόλο στην παραγωγή πολυφαινολών από τα φυτά παίζουν και οι γενετικοί παράγοντες (Manach, Scalbert, Morand, Remesy, & Jimenez, 2004).

Η αποθήκευση και η επεξεργασία των φυτών μετά τη συγκομιδή επηρεάζουν σημαντικά το πολυφαινολικό περιεχόμενό τους. Οι πολυφαινόλες οξειδώνονται εύκολα με αποτέλεσμα να δημιουργούνται περισσότερο ή λιγότερο πολυμερισμένες ενώσεις, οι οποίες επιφέρουν αλλαγές στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των τροφίμων. Οι αλλαγές αυτές άλλοτε είναι επιθυμητές και άλλοτε όχι. Η κάθε πολυφαινόλη έχει διαφορετική συμπεριφορά στις συνθήκες αποθήκευσης.

Οι μέθοδοι προετοιμασίας των τροφίμων κατά το μαγείρεμα έχουν επίσης μια σημαντική επίδραση στο πολυφαινολικό περιεχόμενο των τροφίμων. Μεγάλη απώλεια κατά το μαγείρεμα και 100% απώλεια σε φαινολικά οξέα βρέθηκε σε τηγανιτές ή πολτοποιημένες πατάτες (Clifford, 2000). Επίσης επεξεργασίες όπως το ξεφλούδισμα, η αποφλοιώση και η άλεση μπορούν να οδηγήσουν σε απώλεια ορισμένων πολυφαινολών. Αντίθετα, οι διαδικασίες εκχύλισης διευκολύνουν τη διάχυση των πολυφαινολών στο χυμό. Η διαδικασία αυτή είναι υπεύθυνη για τη δεκαπλάσια περιεκτικότητα του κόκκινου κρασιού σε πολυφαινόλες σε σύγκριση με το άσπρο κρασί (Vinson & Hontz, 1995), και με το χυμό σταφυλιών (Abu-Amsa, Croft, Puddey, Proudfoot, & Beilin, 1996).

3.3 Η σημασία των πολυφαινολικών ενώσεων για την υγεία του ανθρώπου

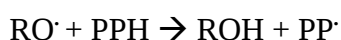
Οι πολυφαινόλες είναι πιθανότατα οι περισσότερες μελετημένες χημικές ενώσεις με διατροφικό ενδιαφέρον. Πάρα πολλές μελέτες έχουν συνδέσει την κατηγορία αυτή των ενώσεων με ευεργετικές για την υγεία ιδιότητες, και έχουν διεξαχθεί πολυάριθμες έρευνες για να εξηγήσουν το μηχανισμό δράσης των πολυφαινολών στον ανθρώπινο οργανισμό (Del Rio, Costa, Lean, & Crozier, 2010). *In vitro* και *ex vivo* μελέτες έχουν δείξει ότι οι πολυφαινόλες μπορούν να παρεμποδίσουν τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων, έχουν αντιοξειδωτική δράση, αγγειοπροστατευτικό ρόλο και βελτιώνουν την έκκριση της ινσουλίνης (Silva, et al., 2008, Ferguson, Kurowska, Freeman, Chambers, & Koropatnick, 2004). Δύο μεγάλα προβλήματα που παρουσιάζονται σε αυτές τις μελέτες είναι οι ενώσεις και οι ποσότητες των πολυφαινολών που χρησιμοποιούνται στα πρωτόκολλα (Del Rio, Costa, Lean, & Crozier, 2010). Στις περισσότερες μελέτες οι συγκεντρώσεις των πολυφαινολών ήταν κατά πολύ μεγαλύτερες από εκείνες που απαντούν στο πλάσμα και τα ούρα στις μελέτες βιοδιαθεσιμότητας. Άλλωστε οι πολυφαινόλες που προσλαμβάνονται διατροφικά από τον άνθρωπο δεν είναι απαραίτητα και οι πιο δραστικές στον ανθρώπινο οργανισμό. Το εύρος της συγκέντρωσης που είναι αναγκαίο για να υπάρχει κάποια δράση *in vitro* ποικίλλει από $<0,1\mu\text{mol/L}$ έως και $>100\mu\text{mol/L}$. Οι περισσότερες πολυφαινόλες απορροφώνται σε κάποιο ποσοστό και συνήθως η συγκέντρωση των πολυφαινολών δεν ξεπερνά τα $10\mu\text{mol/L}$. Έτσι οποιαδήποτε δράση *in vitro* αναφέρεται σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες της τάξης αυτής, μπορεί να μην εμφανίζεται *in vivo*, εκτός από την περίπτωση του γαστρεντερικού συστήματος. Αυτό μπορεί να οφείλεται στη μικρή απορροφητικότητα στο έντερο ή στο γεγονός ότι μεταβολίζονται προς άλλα μόρια ή αποβάλλονται γρήγορα από τον οργανισμό (Κουντούρη, 2007). Ο μεταβολισμός των πολυφαινολών ξεκινά στο λεπτό έντερο και μπορεί να συνεχιστεί στο ήπαρ και σε άλλα όργανα (Manach, Williamson, Morand, Scalbert, & Remesy, 2005, Mullen, Edwards, & Crozier, 2006). Επίσης ορισμένα φλαβονοειδή δεν απορροφώνται στο λεπτό έντερο και περνούν στο παχύ έντερο, όπου

υφίσταται δομική τροποποίηση από τη χλωρίδα του εντέρου (Del Rio, Costa, Lean, & Crozier, 2010)

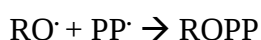
3.3.1 Αντιοξειδωτική δράση

Η κύρια αντιοξειδωτική δράση που σχετίζεται με τις πολυφαινόλες είναι η ικανότητά τους να δεσμεύουν ελεύθερες ρίζες. Οι πολυφαινόλες παρεμβαίνουν και διακόπτουν/αναστέλλουν την οξείδωση μέσω ελευθέρων ριζών με τους εξής τρόπους:

- Δρουν κυρίως ως δότες Η στις ελεύθερες ρίζες που παράγονται στον οργανισμό και τις εξουδετερώνουν κατά την αντίδραση:



Μέσω αυτής της πορείας καθίστανται οι ίδιες ελεύθερες ρίζες, οι οποίες όμως είναι πολύ σταθερές ακριβώς λόγω της πολυφαινολικής δομής, η οποία μέσω δομών συντονισμού σταθεροποιείται σημαντικά. Επίσης, μπορούν να δράσουν ως τερματιστές της αλυσιδωτής αντίδρασης των ριζών, αντιδρώντας με άλλες ρίζες όπως στην παρακάτω αντίδραση (Κουντούρη, 2007):



- Δρουν ως δεσμευτές μεταλλικών ιόντων, τα οποία πολύ συχνά είναι οι εκκινητές της οξείδωσης. Αυτό γίνεται μέσω της δημιουργίας ενός χηλικού συμπλόκου με το μεταλλικό ιόν (Χίου 2003).
- Αναγεννούν τη βιταμίνη Ε, ένα σημαντικό αντιοξειδωτικό του οργανισμού (Χίου Α 2003) .

Έτσι, προκειμένου μια πολυφαινόλη να θεωρείται αντιοξειδωτική πρέπει να ικανοποιεί δύο προϋποθέσεις: να είναι ικανή να καθυστερεί, να αναβάλλει ή να εμποδίζει την αυτοοξείδωση

ή την οφειλόμενη σε ελεύθερες ρίζες οξείδωση και η ρίζα που δημιουργείται να είναι σταθερή (Rice-Evans, Miller, & Paganga, 1996).

Μέσω της αντιοξειδωτικής τους δράσης οι πολυφαινόλες ασκούν προστατευτική δράση έναντι των καρδιαγγειακών παθήσεων. Η αντιοξειδωτική τους δράση εκδηλώνεται με την προστασία της LDL από οξείδωση και κατά συνέπεια μείωση της αποτιθέμενης χοληστερόλης στους ιστούς, αλλά και με δράση έναντι των οξειδωτικών παραγόντων του επιθηλιακού ιστού με αποτέλεσμα να μειώνονται οι πιθανότητες σχηματισμού αθηρωματικής πλάκας (Χίου 2003).

Συγκεκριμένες πολυφαινόλες μπορούν επίσης να επάγουν ένζυμα της φάσης II του μεταβολισμού, όπως την τρανσφεράση της γλουταθειόνης, με αποτέλεσμα να αυξάνεται η απέκκριση οξειδωτικών παραγόντων από τον οργανισμό, ή άλλα οξειδωτικά ένζυμα, όπως τη μεταλλοθειονίνη ή το κυτόχρωμα P450(CYPs) ή να αναστέλλουν ένζυμα που έχουν οξειδωτικές ιδιότητες όπως οι κυκλοξυγονάσες και οι λιποξυγονάσες, ή να προστατεύουν άλλα ενδογενή ή εξωγενή αντιοξειδωτικά όπως τη γλουταθειόνη, τη βιταμίνη E, το β-καροτένιο και το λυκοπένιο (Κουντούρη, 2007).

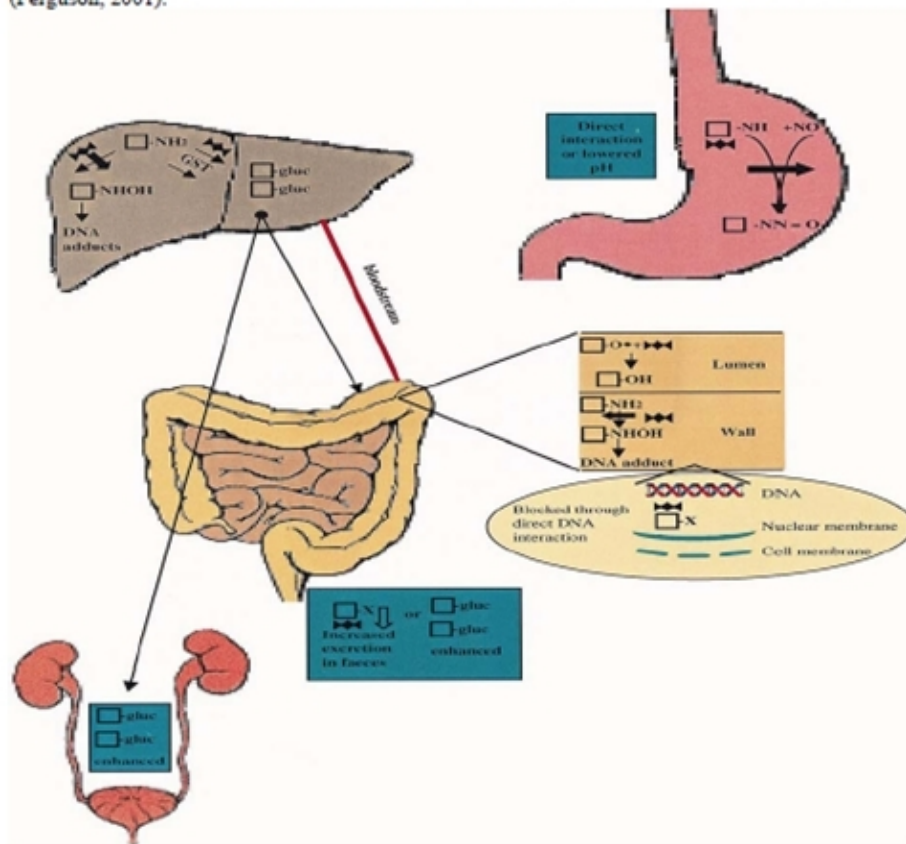
3.3.2 Αντιφλεγμονώδης δράση

Οι πολυφαινόλες έχει φανεί ότι έχουν αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες. Ο βασικός μηχανισμός της αντιφλεγμονώδους δράσης τους μπορεί να περιλαμβάνει χωρίς να περιορίζεται μόνο, στην παρεμπόδιση ενζύμων που σχετίζονται με τη φλεγμονή, όπως οι κυκλοξυγονάσες (COX), οι λιποξυγονάσες (LOX) (Κουντούρη, 2007).

3.3.3 Αντικαρκινική δράση

Η αντικαρκινική δράση των πολυφαινολών έχει μελετηθεί σε πολλά όργανα-στόχους και έχει αποδοθεί στο γεγονός ότι επηρεάζει σημαντικά όλα τα στάδια της καρκινογένεσης, την έναρξη, την προαγωγή- προώθηση, την εξέλιξη- εγκατάσταση και τη μετάσταση (Ioannides & Yoxall, 2003). Στο Σχήμα 3.1 απεικονίζονται ορισμένες δράσεις των πολυφαινολών ως προς συγκεκριμένα καρκινογόνα και τα όργανα που μπορεί να λαμβάνουν μέρος. Φαίνεται ότι το ήπαρ ή το κόλον είναι τα όργανα που οι πολυφαινόλες προστατεύουν από την προκαλούμενη από τις αμίνες καρκινογένεση. Ο στόμαχος είναι το όργανο όπου δρουν κατά των N-νιτροζαμινών. Επίσης μέσω της νεφρικής οδού και της ρύθμισης της μεταφοράς της γλουταθειόνης (GST) οι πολυφαινόλες αυξάνουν την απέκκριση των συζευγμένων καρκινογόνων. Η δέσμευση ενεργών μορφών οξυγόνου εμφανίζεται κυρίως στον αυλό του κόλον (Κουντούρη, 2007, Fergusson, 2001).

Σχήμα 3.1 Μερικοί από τους μηχανισμούς της αντιμεταλλαξιογόνου δράσεως των πολυφαινολών και τα όργανα στόχοι. (►♦◄) πολυφαινόλη; (◻-NH) Αμίνη; (◻-NH₂) Αρυλαμίνη; (◻-O) Ελεύθερη ρίζα; (◻-gluc) γλυκοζυλιωμένο καρκινογόνο; (◻-X) καρκινογόνο; (◻-NN=O) νιτροζαμίνη; (◻-NHOH) ενεργή αρυλαμίνη; (◻-OH) αδρανή μέρη (Ferguson, 2001).



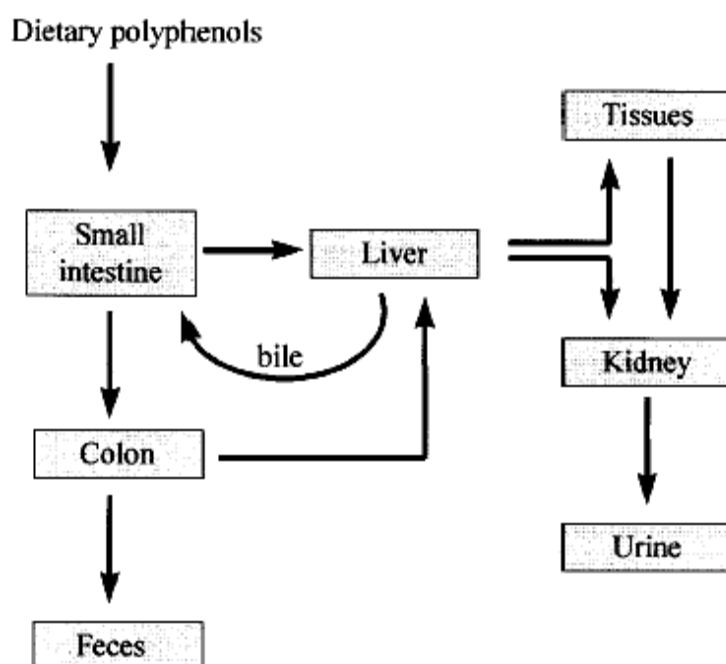
3.4 Βιοδιαθεσιμότητα των πολυφαινολών

Η βιολογική δράση των πολυφαινολών εξαρτάται από τη βιοδιαθεσιμότητά τους. Ο βαθμός απορρόφησης και μεταβολισμού μια πολυφαινόλης από τον οργανισμό εξαρτάται από παράγοντες όπως η χημική δομή, η βασική δομή, η σύζευξη με άλλες πολυφαινόλες, σάκχαρα και οξέα, το μοριακό βάρος, ο βαθμός πολυμερισμού και η διαλυτότητα των πολυφαινολών (Χίου 2003). Επίσης οι διατητικές συνήθειες, η νηστεία, ο βαθμός ζύμωσης των βακτηρίων του εντέρου, η σύνθεση της χλωρίδας του εντέρου και ο χρόνος διάβασης από αυτό, καθώς και η ηλικία (Zheng, Hu, Murphy, Alekel, Franke, & Hendrich, 2003, Zubik & Meydani 2003) μπορούν να επηρεάσουν τη διαθεσιμότητα των πολυφαινολών από τα διάφορα τρόφιμα στο γαστρεντερικό σύστημα.

Η χημική δομή των πολυφαινολών προσδιορίζει το βαθμό εντερικής απορρόφησης και τη φύση των μεταβολιτών που ανακυκλώνονται στο πλάσμα (Ιωάννου, 2007). Η γλυκοζυλίωση επηρεάζει τις χημικές, φυσικές και βιολογικές ιδιότητες των πολυφαινολών. Το προσδεδεμένο σάκχαρο είναι συνήθως γλυκόζη ή ραμνόζη, αλλά μπορεί να είναι και άλλα σάκχαρα. Στα τρόφιμα επίσης οι πολυφαινόλες εμφανίζονται με τη μορφή εστέρων, γλυκοζιτών ή ως πολυμερή, τα οποία δεν μπορούν να απορροφηθούν ως έχουν (Manach, Scalbert, Morand, Remesy & Jimenez, 2004). Η απορρόφηση των γλυκοζυλιωμένων μορφών των πολυφαινολών πραγματοποιείται στο κατώτερο μέρος του εντέρου, όπου υπάρχουν τα ένζυμα για τη διάσπαση των γλυκοζιτικών δεσμών, ενώ οι ελεύθερες μορφές φαίνεται να απορροφούνται νωρίς στο πεπτικό σύστημα (Bugianesi, Catasta, Spingo, D'Uva, & Maiani, 2002).

Η κινητική και ο βαθμός απορρόφησης των πολυφαινολών από τον ανθρώπινο οργανισμό έχει υπάρξει αντικείμενο πολλών ερευνών. Στις έρευνες αυτές προσδιορίζονται οι συγκεντρώσεις των πολυφαινολών στο πλάσμα και η απέκκρισή τους στα ούρα μετά από τη χορήγηση πολυφαινολών ως καθαρή ένωση ή ως εκχύλισμα από ένα φυτό ή ως τρόφιμο ή ποτό. Τα αποτελέσματα των ερευνών αυτών δείχνουν τη μεγάλη ποικιλομορφία που υπάρχει στη βιοδιαθεσιμότητα των διαφόρων πολυφαινολών (Manach, Williamson, Morand, Scalbert, & Remesy, 2005). Έτσι είναι αποδεκτό πλέον ότι δεν είναι οι πολυφαινόλες που υπάρχουν στα τρόφιμα αυτές που κυκλοφορούν στον ανθρώπινο οργανισμό, αλλά οι μεταβολίτες τους (Del Rio, Costa, Lean, & Crozier, 2010).

Σχήμα 3.4: Πιθανή πορεία απορρόφησης πολυφαινολών στον ανθρώπινο οργανισμό



Πηγή:(Scalbert & Williamson, 2000)

Κεφάλαιο 4^ο : ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΕΣ ΣΕ ΚΡΑΣΙ ΚΑΙ ΣΤΑΦΥΛΙ

Οι πολυφαινόλες του κρασιού είναι φαινολικά οξέα, ανθοκυανιδίνες, ταννίνες και διάφορα φλαβονοειδή (κερκετίνη, επικατεχίνη, μυρισετίνη, ρουτίνη κ.α.). Οι προανθοκυανιδίνες, τα πολυμερή και τα олиγομερή παράγωγα της κατεχίνης κυριαρχούν στο κόκκινο κρασί και ιδιαίτερα στα γίγαρτα των σταφυλιών (Soleas, Diamandis, & Goldberg, 1997, Hertog, Hollman, & Van de Purte, 1993). Στο χυμό και στο φλοιό των σταφυλιών περιέχονται ανθοκυανιδίνες και φλαβονοειδή (κερκετίνη, μυρισετίνη) (Lanningham - Foster, Chen, Chance, & Loo, 1995). Επίσης στο κρασί απαντώνται κινναμωμικά παράγωγα, τυροσόλη, πτητικές φαινόλες, υδρολυμένες ταννίνες καθώς και ρεσβερατόλη (Dubick & Omaye, 2006). Το κόκκινο κρασί εκτιμάται ότι περιέχει γύρω στα 1200mg/L ολικές πολυφαινόλες, ενώ υπάρχουν μελέτες που έχουν βρει ακόμα και 4000mg/L (Soleas & Goldberg, 1999). Το ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο του λευκού κρασιού έχει βρεθεί γύρω στα 200 με 300 mg/L (Frankel, Waterhouse, & Teissedre, 1995) .

4.1 Πολυφαινόλες σε υποπροϊόντα οινοποιίας

Στη βιομηχανία κρασιού είναι πολύ σημαντικό το ζήτημα της περιβαλλοντικής και οικονομικής διαχείρισης των υποπροϊόντων οινοποιίας. Στην Ευρώπη εκτιμάται ότι σε ετήσια βάση παράγονται 14,5 εκατομύρια τόνοι υποπροϊόντων οινοποιίας (Pinelo, Arnous, & Meyer 2006). Έτσι, το ενδιαφέρον πολλών ερευνητών έχει στραφεί τα τελευταία χρόνια στην αξιοποίηση των αποβλήτων της οινοποιίας, δεδομένου ότι είναι πλούσια σε πολυφαινόλες (Pezzuto, 2008).

Οι έρευνες για την ανάκτηση των πολυφαινολών από τα απόβλητα της οινοποιίας έχουν εστιάσει κυρίως στα στέμφυλα των κόκκινων σταφυλιών, που χαρακτηρίζονται από σχετικά υψηλή περιεκτικότητα σε φαινολικές ενώσεις και χρωστικές (Ju & Howard 2005, Kammerer, Claus, Schieber, & Carle 2005, Spingo, Tramelli, & De Faveri 2007).

Τα γίγαρτα αποτελούν ξεχωριστό παραπροϊόν της οινοποιίας καθώς έχουν χαρακτηριστικό προφίλ φλαβονοειδών (Guendez, Kallithraka, Makris, & Kefalas, 2005) και οι ολικές πολυφαινόλες που περιέχουν μπορούν να φτάσουν μέχρι και το 13,8% επί ξηρού βάρους (Makris, Boskou, & Andrikopoulos, 2007) .

Οι βόστρυχες αποτελούν επίσης μέρος των αποβλήτων οινοποιίας, στους οποίους έχει δοθεί σχετικά μικρή προσοχή. Σύγχρονες έρευνες έχουν δείξει ότι περιέχουν πολυφαινόλες οι οποίες δεν υπάρχουν σε άλλα υποπροϊόντα οινοποιίας όπως φλαβονόλες, στυλβένια, μονομερείς και πολυμερείς φλαβανόλες (Makris, Boskou, Chiou, & Andrikopoulos, 2008), ενώ το πολυφαινολικό περιεχόμενο των βοστρύχων υπολογίστηκε γύρω στο 5,8% επί ξηρού βάρους (Makris, Boskou, & Andrikopoulos, 2007).

Η ανάκτηση φυτοχημικών συστατικών από διάφορα μέρη φυτών με τη χρήση υδραλκοολικών μέσων έχει υπάρξει αντικείμενο διαφόρων μελετών. Επίσης, έχει μελετηθεί η εκχύλιση πολυφαινολών από γίγαρτα σταφυλιών (Shi, Yu, Pohorly, Young, Bryan, & Wu

2003, Yilmaz & Toledo 2006, Makris, Boskou, Chiou, & Andrikopoulos 2008), ενώ η βελτιστοποίηση των συνθηκών για την παραλαβή πολυφαινολών από γίγαρτα και βόστρυχες ελληνικών ποικιλιών σταφυλιών, με τη χρήση νερού και αιθανόλης μελετήθηκε από τους Karvela et al (2009a, 2009b). Στις μελέτες αυτές χρησιμοποιήθηκαν γίγαρτα και βόστρυχες από τρεις ευρέως καλλιεργούμενες Ελληνικές ποικιλίες σταφυλιού, μια ποικιλία λευκού σταφυλιού, το Σαββατιανό και δύο κόκκινου σταφυλιού, το Μοσχοφίλερο, που χρησιμοποιείται για την παραγωγή λευκού κρασιού, και το Αγιωργίτικο που χρησιμοποιείται για ερυθρή οινοποίηση. Οι βόστρυχες συλλέχθηκαν μετά την απομίσχωση των σταφυλιών. Τα γίγαρτα συλλέχθηκαν αμέσως μετά την επεξεργασία των σταφυλιών, με εξαίρεση τα γίγαρτα του Αγιωργίτικου που πριν τη συλλογή τους είχαν παραμείνει σε επαφή με το ζυμούμενο μούστο για 12 ημέρες.

Τα αποτελέσματα των μελετών αυτών έδειξαν ότι οι συνθήκες εκχύλισης παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στην παραλαβή των πολυφαινολών και ότι μπορεί να διαφέρουν από ποικιλία σε ποικιλία καθώς και στα διάφορα μέρη του φυτού. Τα γίγαρτα περιείχαν κυρίως φλαβανόλες και διμερή αυτών, τα οποία καθορίζουν ως επί το πλείστον την αντιοξειδωτική τους ικανότητα. Επίσης η επαφή των γιγάρτων με το μούστο κατά την παραγωγή του κόκκινου κρασιού, οδήγησε στη μερική απώλεια των πολυφαινολών από αυτά. Οι βόστρυχες βρέθηκε ότι περιέχουν κυρίως φλαβανόλες και γλυκοζίτες των φλαβονών, ενώ η αντιοξειδωτική τους ικανότητα οφείλεται κυρίως στα ολιγομερή ή τα πολυμερή των φλαβονών.

Κεφάλαιο 5ο : ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η αξιολόγηση της δυνατότητας εμπλουτισμού δύο ειδών γιαουρτιού, πλήρους με 4% λιπαρά (FF) και χωρίς λιπαρά με 0% (NF) λιπαρά, με πλούσια σε πολυφαινόλες, εκχυλίσματα υποπροϊόντων οινοποιίας, προερχόμενα από δύο ελληνικές ποικιλίες σταφυλιού το Αγιωργίτικο και το Μοσχοφίλερο. Τα εκχυλίσματα από

βόστρυχες και γίγαρτα των δύο αυτών ποικιλιών σταφυλιού είχαν παραληφθεί υπό συνθήκες που εξασφάλιζαν τη μέγιστη αντιοξειδωτική ικανότητα τους (περιεκτικότητα % αιθανόλης, pH, χρόνου εκχύλισης) και με διαλύτες κατάλληλους για χρήση σε τρόφιμα.

Κεφάλαιο 6^ο : ΜΕΘΟΔΟΙ ΚΑΙ ΥΛΙΚΑ

6.1. Γιαούρτι

Για την παρασκευή των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκαν δύο είδη γιαουρτιού από αγελαδινό γάλα, γιαούρτι πλήρες με 4% λιπαρά (FF) και γιαούρτι άπαχο με 0% λιπαρά (NF), τα οποία –σύμφωνα με τις ετικέτες τους- είχαν διάρκεια ζωής 26 και 33 ημέρες αντίστοιχα. Και τα δύο είδη γιαουρτιού που χρησιμοποιήθηκαν προέρχονταν από επώνυμα εμπορικά τυποποιημένα προϊόντα, τα οποία αγοράστηκαν από κατάστημα τροφίμων και μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο την ημέρα της παρασκευής των δειγμάτων.

ΓΙΑΟΥΡΤΙ 4% ΛΙΠΑΡΑ (FF)	Συστατικά: Γάλα αγελάδος και γάλα αγελάδος συμπυκνωμένο άπαχο (96%), ανθόγαλα (4%), μαγιά γιαουρτιού (μίγμα καλλιέργειας <i>L. Bulgaricus</i> και <i>S. Thermophilus</i>)
	Διαθρεπτικά στοιχεία ανά 100g: Ενέργεια 335 kJ/80 kcal Πρωτεΐνες 4,5g Υδατάνθρακες 6,5g Λιπαρά 4g
ΓΙΑΟΥΡΤΙ 0% ΛΙΠΑΡΑ (LF)	Συστατικά: Γάλα αγελάδος άπαχο και γάλα αγελάδος συμπυκνωμένο άπαχο (100%), μαγιά γιαουρτιού (μίγμα καλλιέργειας <i>L. Bulgaricus</i> και <i>S. Thermophilus</i>)
	Διαθρεπτικά στοιχεία ανά 100g: Ενέργεια 213 kJ/50 kcal Πρωτεΐνες 5g Υδατάνθρακες 7,5g Λιπαρά 0g

Σχήμα 5.1: Γιαούρτια 4% και 0% λιπαρά που χρησιμοποιήθηκαν και οι σημάνσεις που έφεραν

6.2. Εκχυλίσματα υποπροϊόντων οινοποιίας

Για την παρασκευή των λειτουργικών γιαουρτιών χρησιμοποιήθηκαν εκχυλίσματα από γίγαρτα και βόστρυχες που προέρχονται από δύο ποικιλίες σταφυλιών που χρησιμοποιούνται ευρέως στην Ελληνική οινοποιία: (α) Μοσχοφίλερο, ποικιλία κόκκινου

σταφυλιού που χρησιμοποιείται για την παραγωγή του ομώνυμου λευκού οίνου και (β) Αγιωργίτικο, ποικιλία κόκκινου σταφυλιού που χρησιμοποιείται για την παραγωγή κόκκινου κρασιού.

Τα υποπροϊόντα οινοποιίας συλλέχθηκαν από οινοποιία των Μεγάρων. Τα γίγαρτα του Μοσχοφίλερου συλλέχθηκαν αμέσως μετά την επεξεργασία των σταφυλιών, ενώ τα γίγαρτα του Αγιωργίτικου συλλέχθηκαν από τα στέμφυλα τα οποία είχαν παραμείνει σε επαφή με το ζυμούμενο μούστο για 12 ημέρες. Οι βόστρυχες και των δύο ποικιλιών συλλέχθηκαν αμέσως μετά τη διαδικασία απομάκρυνσής τους (αποβοστρύχωση) από τα σταφύλια. Τα υποπροϊόντα οινοποιίας μεταφέρθηκαν άμεσα μετά τη συλλογή τους στο εργαστήριο, όπου αποθηκεύτηκαν στους -40 °C . Τα εκχυλίσματα από τα παραπάνω υποπροϊόντα της οινοποιίας παραλήφθηκαν υπό συνθήκες που εξασφάλιζαν τη μέγιστη αντιοξειδωτική ικανότητα τους (συνδυασμοί % αιθανόλης, pH, χρόνου εκχύλισης) και με διαλύτες φιλικούς προς τον άνθρωπο (Karvela et al, 2009).

Παράμετροι				
	Εκχύλισμα από γίγαρτα Αγιωργίτικου	Εκχύλισμα από γίγαρτα Μοσχοφίλερου	Εκχύλισμα από βόστρυχες Αγιωργίτικου	Εκχύλισμα από βόστρυχες Μοσχοφίλερου
Ολικές πολυφαινόλες (mg GAE/g αφυδατωμένο εκχύλισμα)	76,1 ± 6,7	151,6 ± 3,6	107,12 ± 0,46	109,16 ± 0,55
Φλαβανόλες (mg CatE/g αφυδατωμένο εκχύλισμα)	35,5 ± 0,43	58,1 ± 0,68	37,13 ± 1,13	31,67 ± 0,28
Φλαβόνες (mg RutE/g αφυδατωμένο εκχύλισμα)	1,89 ± 0,23	1,28 ± 0,10	3,83 ± 0,32	4,82 ± 0,15
Προανθοκυανιδίνες (mg CyE/g αφυδατωμένο εκχύλισμα)	2,98 ± 0,13	6,10 ± 0,71	2,99 ± 0,40	2,42 ± 0,24
Ικανότητα δέσμευσης ελευθέρων ριζών (mg TE/g αφυδατωμένο εκχύλισμα)	58,93 ± 6,98	94,75 ± 5,83	248,80 ± 9,85	325,14 ± 7,56
Αναγωγική δύναμη (mg AAE/g αφυδατωμένο εκχύλισμα)	143,9 ± 13,7	202,5 ± 12,1	73,80 ± 7,6	72,2 ± 3,5

Σχήμα 6.2: Τα εκχυλίσματα από υποπροϊόντα οινοποιίας και τα χαρακτηριστικά τους όπως υπολογίστηκαν από τους Karvela et al (Karvela, Makris, Kalogeropoulos, & Karathanos, 2009a; 2009b)

6.3. Αντιδραστήρια και συσκευές

- Ελεύθερη ρίζα 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH[•]), (Sigma (Steinheim, Germany)).
- Ασκορβικό οξύ (ascorbic acid), Sigma (Steinheim, Germany).
- Κατεχίνη (catechin), Sigma (Steinheim, Germany).
- Γαλλικό οξύ (gallic acid) , Sigma (Steinheim, Germany).
- 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox®), Fluka (Steinheim, Germany).
- FeCl₃
- Na₂CO₃
- HCl
- 2,4,6-Tri (2 –pyridyl)-1,3,5 triazine (TPTZ), Alfa Aesar (Germany).
- Αντιδραστήριο Folin Ciocalteu, Merck (Darmstad, Germany)
- MRS agar, Merck (Darmstad, Germany).
- Buffered Peptone Water(Oxoid)
- bis-(trimethylsilyl)-trifluoroacetamide (BSTFA), (Steinheim, Germany).
- Μεθανόλη χρωματογραφικής καθαρότητας (HPLC) Merck (Darmstad, Germany)
- Φασματοφωτόμετρο ορατού/υπεριώδους διπλής δέσμης Specord 200- Analytikjena,
- Αεριοχρωματογράφος με ανιχνευτή μάζας GC/MS; Agilent (Wallborn, Germany),
- Πεχάμετρο pH metre, Crison GLP 21 (Spain) ,
- Χρωματόμετρο Mini Scan XE plus (Daylight colour D65 10°, Hunterlab, USA)
- Συσκευή λυοφιλίωσης Heto Lyolab 3000, Heto-Holten, Allerod, Denmark.
- Stomacher Lab Blender , PBI International
- Φυγοκέντρικός εξατμιστήρας Speed Vac
- Αναλυτικός ζυγός ,Analytical Standard Model AS1120

6.4. Παρασκευή Δειγμάτων

Για την παρασκευή κάθε δείγματος χρησιμοποιήθηκαν 150 g γιαουρτιού στο οποίο προστέθηκαν 100mg εκχυλίσματος διαλυμένο σε 2 ml αποστειρωμένο πόσιμο νερό. Στους μάρτυρες (control) προστέθηκαν 2ml αποστειρωμένου πόσιμου νερού. Μετά την προσθήκη του διαλυμένου εκχυλίσματος τα δείγματα αναδεύτηκαν ήπια, τοποθετήθηκαν σε αποστειρωμένους κλειστούς περιέκτες και αποθηκεύτηκαν σε θάλαμο συντήρησης για 32

ημέρες σε θερμοκρασία $<5^{\circ}\text{C}$. Τα δείγματα παρασκευάστηκαν εις διπλούν και κωδικοποιήθηκαν ως εξής:

- FF = Γιαούρτι 4% λιπαρά (μάρτυρας)
- NF = Γιαούρτι 0% λιπαρά (μάρτυρας)
- FFSdM= Γιαούρτι 4% + εκχύλισμα από Γίγαρτα Μοσχοφίλερου
- NFSdM= Γιαούρτι 0% + εκχύλισμα από Γίγαρτα Μοσχοφίλερου
- FFStM= Γιαούρτι 4% + εκχύλισμα από Βόστρυχες Μοσχοφίλερου
- NFStM= Γιαούρτι 0% + εκχύλισμα από Βόστρυχες Μοσχοφίλερου
- FFSdAG = Γιαούρτι 4% + εκχύλισμα από Γίγαρτα Αγιωργίτικου
- LFSdAG = Γιαούρτι 0% + εκχύλισμα από Γίγαρτα Αγιωργίτικου
- FFStAG = Γιαούρτι 4% + εκχύλισμα από Βόστρυχες Αγιωργίτικου
- NFStAG = Γιαούρτι 0% + εκχύλισμα από Βόστρυχες Αγιωργίτικου

Σε χρόνους T_1 , T_7 , T_{14} , T_{21} και T_{32} ημέρες λήφθηκαν δείγματα από το καθένα από τα παραπάνω δείγματα, προκειμένου να πραγματοποιηθούν μικροβιολογικές αναλύσεις (καταμέτρηση λακτοβακίλλων) και χημικές αναλύσεις (μέτρηση pH, προσδιορισμός ολικού πολυφαινολικού περιεχομένου, εκτίμηση ικανότητας δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH $^{\bullet}$, μέτρηση ικανότητας αναγωγής του Fe^{+3} , προσδιορισμός πολυφαινολών με GC/MS). Επίσης την 1η ημέρα έγινε οργανοληπτικός έλεγχος και μέτρηση χρώματος όλων των δειγμάτων.

6.5. Οργανοληπτική εξέταση

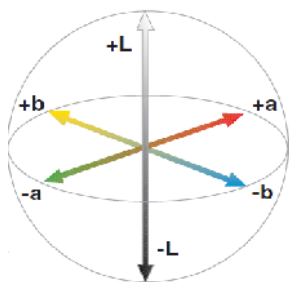
Όργανα / αντιδραστήρια

Χρωματόμετρο Mini Scan XE plus ,(Hunterlab)

Πορεία:

Η οργανοληπτική εξέταση των δειγμάτων έλαβε χώρα την ημέρα παρασκευής των δειγμάτων. Κάθε δείγμα δοκιμάστηκε σε σχέση με τον αντίστοιχο μάρτυρα (γιαούρτι 4% και γιαούρτι 0%). Κατά τη γευστική δοκιμή πριν από κάθε δείγμα οι δοκιμαστές έπιναν νερό προκειμένου να μην υπάρχει σύγχυση γεύσης μεταξύ των δειγμάτων. Στην οργανοληπτική εξέταση συμμετείχαν 2 άτομα.

Για την αξιολόγηση του χρώματος χρησιμοποιήθηκε η συσκευή μέτρησης χρώματος Mini Scan XE plus. Αρχικά πραγματοποιήθηκε βαθμονόμηση του οργάνου χρησιμοποιώντας λευκό και μαύρο πλακίδιο. Σε κάθε δείγμα μετρήθηκαν εις τριπλούν οι τιμές L^* , a^* , b^* . Οι μετρήσεις έλαβαν χώρα στο φως της ημέρας και υπό γωνία 10° .

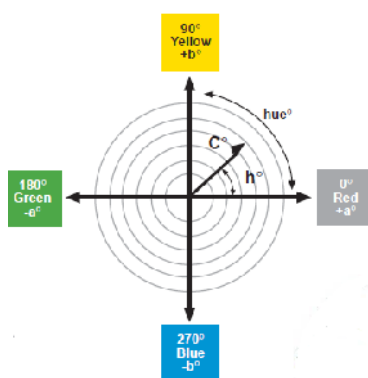


Εικόνα 6.5.1: Οι τιμές L^* , a^* , b^*



Εικόνα 6.5.2.: Χρωματόμετρο Mini Scan XE plus.

Ακολουθώντας, χρησιμοποιώντας τις μαθηματικές εξισώσεις του χρωματικού μοντέλου CIELab υπολογίστηκαν η Χρωματική πυκνότητα (C^*), η Χροιά (h) καθώς και ο παράγοντας ΔE_{cmc} ο οποίος καταδεικνύει τη χρωματική απόκλιση από την επιθυμητή χρωματική απόχρωση, στη βιομηχανία. Τυπικά θεωρήθηκε ότι η αναλογία l (lightness) : c (chroma) είναι 2:1 και ότι ο cf (commercial factor) είναι 1 (www.hunterlab.com, 2001).



Εικόνα 6.5.3. : Οι τιμές C^* (Chroma), h^* (hue angle)

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2}$$

$$h = 180^\circ + \tan\left(\frac{b^*}{a^*}\right), \quad \text{όταν } a^* < 0$$

$$\Delta E_{\text{CMC}} = \text{cf} \sqrt{\left(\frac{\Delta L^*}{IS_i}\right)^2 + \left(\frac{\Delta C^*}{cS_c}\right)^2 + \left(\frac{\Delta H^*}{S_h}\right)^2}, \text{ όπου}$$

$$S_i = \frac{0,040975 L^*}{1+0,1765L^*}C$$

$$S_c = \frac{0,0638 \Delta C_{ab}^*}{1 + 0,131 \Delta C_{ab}^*} + 0,638$$

$$S_h = S_c(FT + 1 - F), \text{ όπου } h$$

$$F = \sqrt{\frac{(\Delta C_{ab}^*)^4}{(\Delta C_{ab}^*)^4 + 1900}} \text{ και } T = 0,56 + |0,2 \cos(H_{ab}) + 168| \Delta E$$

6.6. Μέτρηση pH

Όργανα / αντιδραστήρια

- ✓ Πεχάμετρο (Crison GLP 21)
- ✓ Ζυγός ακρίβειας 0,01g
- ✓ Buffer solutions pH4 και pH7
- ✓ Πλαστικοί περιέκτες 50ml

Πορεία:

Σε πλαστικούς περιέκτες 50ml τοποθετήθηκαν περίπου 10g από κάθε δείγμα. Η μέτρηση του pH έλαβε χώρα σε θερμοκρασία περιβάλλοντος $\approx 25^\circ\text{C}$ και αφού είχε προηγηθεί βαθμονόμηση του οργάνου Crison GLP 21 με πρότυπα διαλύματα (buffer solutions) pH 4 και pH 7. Οι μετρήσεις έγιναν εις διπλούν για κάθε δείγμα.

6.7. Μικροβιολογικές αναλύσεις

Όργανα / αντιδραστήρια

- ✓ Ζυγός ακρίβειας 0,01g
- ✓ Laminar flow cabinet
- ✓ Επωαστικός κλίβανος
- ✓ Stomacher Lab Blender (PBI International)
- ✓ Αποικιομετρητής
- ✓ Αυτόματες πιπέτες μεταβλητού όγκου
- ✓ MRS agar (Merck)
- ✓ Buffered Peptone Water (Oxoid)
- ✓ Αποστειρωμένες σακούλες, τριβλία petri, tips
- ✓ Αυτόματες πιπέτες μεταβλητού όγκου

Πορεία:

Για τον προσδιορισμό του πληθυσμού των βακτηρίων γαλακτικού οξέος (LAB) ακολουθήθηκε η παρακάτω διαδικασία:

1. 10 g από κάθε δείγμα μεταφέρθηκαν ασηπτικά σε αποστειρωμένες σακούλες stomacher ,
2. Προστέθηκαν 90ml αποστειρωμένου Buffered peptone water
3. Ακολούθησε ανάδευση των δειγμάτων σε συσκευή stomacher για 1min.
4. Τα δείγματα μεταφέρθηκαν σε απαγωγό laminar flow όπου έγιναν οι διαδοχικές δεκαδικές αραιώσεις σε κάθε δείγμα
5. Εμβολιάστηκαν τα αντίστοιχα σεσημασμένα τριβλία petri με 1ml από την 3^η, 4^η και 5^η αραιώση και ακολούθησε ενσωμάτωση του ενοφθαλμίσματος σε 15ml περίπου MRS agar.
6. Τα τριβλία επώαστηκαν σε αναερόβιες συνθήκες (Gas-Pack System) σε θερμοκρασία 37°C για 72ώρες.

7. Μετά το πέρας της επώασης έγινε καταμέτρηση των τυπικών γαλακτόμορφων και στρογγυλού σχήματος αποικιών που αναπτύχθηκαν.

6.8. Προετοιμασία δειγμάτων για χημικές αναλύσεις

6.8.1 Λυοφιλίωση

Όργανα / αντιδραστήρια

- ✓ Συσκευή λυοφιλίωσης
- ✓ Ζυγός ακρίβειας 0,01g
- ✓ Πλαστικά δοχεία με πάμα

Πορεία:

Σε πλαστικούς περιέκτες 50ml τοποθετήθηκαν περίπου 10g από κάθε δείγμα. Τα δείγματα τοποθετήθηκαν στους -18°C για 24ώρες. Στη συνέχεια τα προζυγισμένα δείγματα τοποθετήθηκαν στις φιάλες του λυοφιλιωποιητή και τέθηκαν προς λυοφιλίωση για 24ώρες σε συνθήκες $P < 1$ mbar και Θ -40°C - -50 °C . Μετά το πέρας της διεργασίας τα δείγματα ζυγίστηκαν ξανά, προκειμένου να υπολογιστεί η αρχικά περιεχόμενη υγρασία τους. Τα δείγματα αποθηκεύτηκαν στους -40°C.

6.8.2. Εκχύλιση πολυφαινολών από τα δείγματα

Όργανα / αντιδραστήρια

- ✓ Αναλυτικός ζυγός (Analytical Standard Model AS1120)
- ✓ Vortex
- ✓ Φυγόκεντρος
- ✓ Μεθανόλη (Merck)
- ✓ Γυάλινοι δοκιμαστικοί σωλήνες με πάμα
- ✓ Πιπέτες Pasteur

- ✓ Γυάλινες πιπέτες
- ✓ Syringe filters PET -0,20μm
- ✓

Πορεία:

Για την εκχύλιση των πολυφαινολών από τα δείγματα ακολουθήθηκε η παρακάτω πειραματική διαδικασία:

1. Ποσότητα 0,5g περίπου από κάθε λυοφιλιωμένο δείγμα ζυγίστηκε σε αναλυτικό ζυγό σε γυάλινο δοκιμαστικό σωλήνα με πώμα.
2. Προστέθηκαν 5 ml μεθανόλης σε κάθε σωλήνα.
3. Κάθε δείγμα αναδεύτηκε ισχυρά με τη χρήση vortex για 5 min,
4. Τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν για 10min σε 3000rpm
5. Η υπερκείμενη στοιβάδα κάθε δείγματος μεταγγίστηκε σε άλλο γυάλινο σωλήνα με πιπέτα Pasteur.
6. Στο εναπομένον ίζημα προστέθηκαν άλλα 5 ml μεθανόλης και ακολουθήθηκε η παραπάνω διαδικασία (2-4)
7. Μετά τη φυγοκέντρωση έγινε συνένωση των δύο υπερκείμενων στοιβάδων.
8. Τα 10 ml περίπου που προέκυψαν από την εκχύλιση διηθήθηκαν με φίλτρο σύριγγας PET 0,20-μm και αποθηκεύτηκαν στους -40°C.

6.9. Προσδιορισμός ολικών πολυφαινολών

Αρχή της μεθόδου

Η μέθοδος είναι φωτομετρική και βασίζεται σε οξειδοαναγωγική αντίδραση με την οποία προσδιορίζεται το συνολικό φαινολικό περιεχόμενο χωρίς διαχωρισμό μεταξύ μονομερών, διμερών και πολυμερών φαινολικών συστατικών. Το Folin Ciocalteu είναι διάλυμα σύνθετων πολυμερών ιόντων που σχηματίζονται από φωσφομολυβδαινικά και φωσφοβολφραμικά ετεροπολυμερή οξέα. Οξειδώνει τα φαινολικά ιόντα με ταυτόχρονη αναγωγή των ετεροπολυμερών οξέων ($P_2W_{18}O_{62}^{-7} \rightarrow H_4P_2W_{18}O_{62}^{-8}$, $H_2P_2Mo_{18}O_{62}^{-6} \rightarrow H_6P_2Mo_{18}O_{62}^{-7}$). Το προϊόν είναι σύμπλοκο μολυβδαινίου – βολφραμίου (Mo –W)

χαρακτηριστικής μπλε χρώσης που απορροφά στο ορατό φάσμα, με μέγιστο μήκος κύματος τα 765nm (Κουντούρη, 2007). Η ένταση της απορρόφησης του φωτός σε αυτό το μήκος κύματος είναι ανάλογη με την απορρόφηση των πολυφαινολών (Waterhouse, 2002). Το κορεσμένο διάλυμα Na_2CO_3 20% w/v χρησιμοποιείται για τη ρύθμιση της αλκαλικότητας διότι δεν διαταράσσει τη σταθερότητα του Folin Ciocalteau και του προϊόντος αντίδρασής του (Κουντούρη, 2007). Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως ισοδύναμα γαλλικού (GAE) ή καφεϊκού (CAE) οξέος.

Ο Singleton υιοθέτησε τη μέθοδο αυτή για την ανάλυση του κρασιού από το 1965 (Singleton & Rossi, 1965) και έχει γράψει 2 κύριες ανασκοπήσεις για τη χρήση της, (Singleton, Orthofer, & Lamuela-Raventos, 1999) (Singleton V. , 1974). Ο οργανισμός Office International de la Vigne et du Vin (OIV) (OIV, 1990), ο οποίος αποτελεί το διεθνή οργανισμό που πιστοποιεί τις ειδικές μεθόδους για την ανάλυση του κρασιού, έχει επίσης αναγνωριστεί ως επίσημη μεθοδολογία για τον προσδιορισμό των ολικών πολυφαινολών στο κρασί (Waterhouse, 2002).

Όργανα / αντιδραστήρια

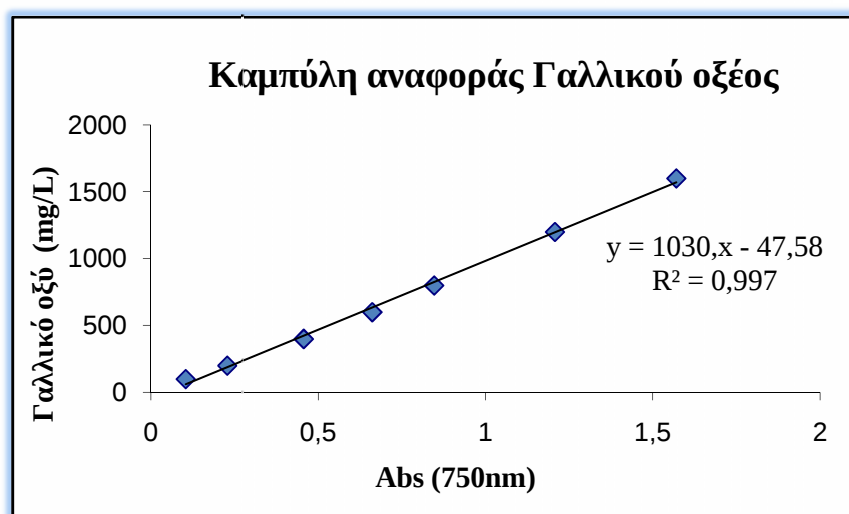
- ✓ Φωτόμετρο διπλής δέσμης (Specord 200- Analytikjera)
- ✓ Αναλυτικός ζυγός (Analytical Standard Model AS1120)
- ✓ Αυτόματες πιπέτες μεταβλητού όγκου
- ✓ Vortex
- ✓ Folin Ciocalteau (Merck)
- ✓ Na_2CO_3 20% w/w
- ✓ Γαλλικό οξύ (galic acid) (Sigma)
- ✓ Eppendorf vials 1,5 ml

Πορεία:

Ο προσδιορισμός των ολικών πολυφαινολών στα εκχυλίσματα που προέκυψαν από την παραπάνω διαδικασία έγινε σύμφωνα με την πειραματική διαδικασία που ακολουθεί, η οποία έχει δημοσιευτεί από τους (Arnous, Makris, & Kefalas, 2002).

1. Σε eppendorf προστέθηκαν 10μl εκχυλίσματος δείγματος, 790μl απιονισμένο νερό, 50μl Folin Ciocalteau και 150μl Na_2CO_3 20% w/w. Κάθε δείγμα παρασκευάστηκε εις τριπλούν

2. Για τους 2 μάρτυρες ακολουθήθηκε η παραπάνω διαδικασία με τη διαφορά ότι το δείγμα ήταν απιονισμένο νερό. Έτσι η συνολική ποσότητα νερού που προστέθηκε σε κάθε erpendorf ήταν 800μl.
3. Ακολούθησε ισχυρή ανάδευση με Vortex.
4. Τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε σκοτεινό χώρο για 120min
5. Μετά το πέρας των 120min μετρήθηκαν οι απορροφήσεις στο φωτόμετρο στα 750 nm. Οι δύο μάρτυρες χρησιμοποιήθηκαν αρχικά για το μηδενισμό του οργάνου.
6. Για τον υπολογισμό των συγκεντρώσεων των πολυφαινολών στο δείγμα κατασκευάστηκε η καμπύλη γαλλικού οξέος (MB 170,12), έτσι ώστε οι συγκεντρώσεις των πολυφαινολών να εκφραστούν ως Gallic Acid Equivalents (mg/L GAE). Η καμπύλη γαλλικού οξέος κατασκευάστηκε ως εξής:
 - Ζυγίστηκαν 8mg γαλλικού οξέος και διαλύθηκαν σε 10ml μεθανόλη έτσι ώστε να δημιουργηθεί η συγκέντρωση των 800mg/L. Με διαδοχικές αραιώσεις του παραπάνω πυκνού διαλύματος παρασκευάστηκαν οι συγκεντρώσεις 600mg/L, 400mg/L, 200mg/L, 100mg/L, 50mg/L, 25mg/L.
 - Στη συνέχεια ακολουθήθηκαν τα παραπάνω βήματα 1-5.
 - Τέλος σχηματίστηκε η καμπύλη της μορφής $y = ax + b$



6.10. Προσδιορισμός ικανότητας δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH

Αρχή της μεθόδου

Το DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) είναι μια από τις λίγες σταθερές, εμπορικά διαθέσιμες οργανικές ρίζες αζώτου ($\lambda_{\max}$ 515nm). Τα αντιοξειδωτικά δεσμεύουν αυτή τη σταθερή ρίζα, το διάλυμα, αρχικού χρώματος μωβ, αποχρωματίζεται και η ελάττωση της απορρόφησης μετράται στα 515nm. Το ποσοστό του DPPH που απομένει είναι ανάλογο της συγκέντρωσης της αντιοξειδωτικής ουσίας. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως ισοδύναμα Trolox®.

Όργανα / αντιδραστήρια

- ✓ Φωτόμετρο διπλής δέσμης (Specord 200- Analytikjera)
- ✓ Αναλυτικός ζυγός (Analytical Standard Model AS1120)
- ✓ Αυτόματες πιπέτες μεταβλητού όγκου
- ✓ Vortex
- ✓ 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH') 100μm (Sigma)
- ✓ Μεθανόλη (Merck)
- ✓ 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox®) (Fluka)
- ✓ Eppendorf vials 1,5 ml

Πορεία:

Ο προσδιορισμός της ικανότητας δέσμευσης της ρίζας DPPH από τα εκχυλίσματα που προέκυψαν από την παραπάνω διαδικασία έγινε σύμφωνα με την πειραματική διαδικασία που έχει δημοσιευτεί από τους (Arnous, Makris, & Kefalas, 2002).

1. Σε eppendorf προστέθηκαν 25μl δείγματος και 975μl DPPH 100μM. Κάθε δείγμα παρασκευάστηκε εις τριπλούν.
2. Για τους 2 μάρτυρες προστέθηκαν σε eppendorf 975μl μεθανόλη
3. Για τα 2 τυφλά προστέθηκαν σε eppendorf 975μl DPPH 100μM.
4. Ακολούθησε ελαφριά ανάδευση
5. Σε χρόνο T_0 μετρήθηκε η απορρόφηση των τυφλών στα 515nm, αφού είχε προηγουμένως μηδενιστεί το φωτόμετρο με τη χρήση των δύο μαρτύρων.

6. Μετά από 30min (T_{30}) μετρήθηκε η απορρόφηση και των δειγμάτων στα 515nm, αφού είχε προηγουμένως μηδενιστεί το φωτόμετρο με τους δύο μάρτυρες.

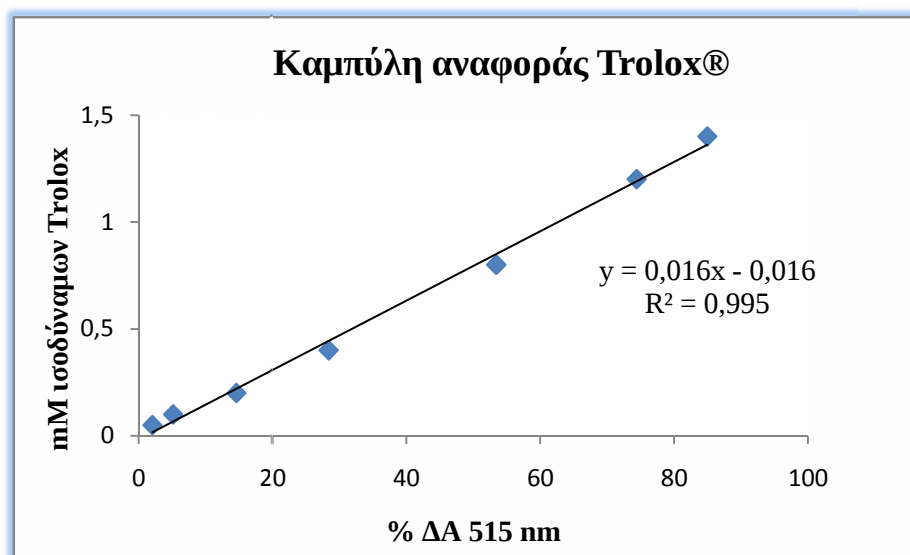
7. Η απορρόφηση των δειγμάτων υπολογίσθηκε με τη βοήθεια της συνάρτησης

$$\% \Delta A_{515} = [(A_{515(0)} - A_{515(30)}) / A_{515(0)}] \times 100 \times 250,3$$

8. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε ισοδύναμα Trolox (Trolox Equivalents, TE).

Η καμπύλη Trolox® (MB 250,3) κατασκευάστηκε ως εξής:

- Ζυγίστηκαν 4mg Trolox® και διαλύθηκαν σε 10ml μεθανόλη έτσι ώστε να προκύψει διάλυμα συγκέντρωσης 1,6mM. Με διαδοχικές αραιώσεις του παραπάνω πυκνού διαλύματος παρασκευάστηκαν οι συγκεντρώσεις 1,2 mM, 0,8mM, 0,4mM, 0,2mM, 0,1mM, 0,05mM.
- Στη συνέχεια ακολουθήθηκαν τα παραπάνω βήματα 1-7.
- Τέλος χαράχθηκε η καμπύλη της μορφής $y = ax + b$



6.11 Προσδιορισμός ικανότητας αναγωγής του Fe^{+3} (FRAP)

Αρχή της μεθόδου

Στη μέθοδο αυτή (Ferric Reducing Power assay, FRAP) ο Fe^{+3} ανάγεται προς Fe^{+2} από τα αντιοξειδωτικά των προς ανάλυση εκχυλισμάτων, ο οποίος σχηματίζει έγχρωμο σύμπλοκο με την τριαζίνη (TPTZ, 2,4,6-Tri(2-pyridyl)-1,3,5 triazine). Η απορρόφηση του έγχρωμου,

χρώματος μπλε, συμπλόκου $[\text{Fe}(\text{TPTZ})_2]^{2+}$ μετράται στα 620nm. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως ισοδύναμα ασκορβικού οξέος.

Όργανα / αντιδραστήρια

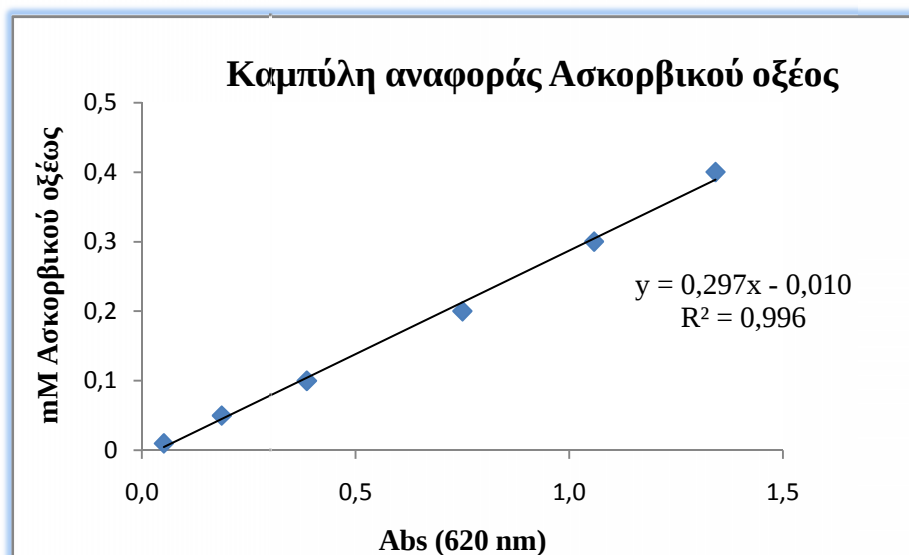
- ✓ Φωτόμετρο διπλής δέσμης (Specord 200- Analytikjera)
- ✓ Αναλυτικός ζυγός (Analytical Standard Model AS1120)
- ✓ Υδατόλουτρο
- ✓ Αυτόματες πιπέτες μεταβλητού όγκου
- ✓ Vortex
- ✓ 1mM 2,4,6-Tri(2 -pyridyl)-1,3,5 triazine (TPTZ) σε 0,05mM HCl
- ✓ 3mM FeCl_3 σε 5mM HCl
- ✓ Ασκορβικό οξύ (Sigma)
- ✓ Eppendorf vials 1,5 ml

Πορεία:

Ο προσδιορισμός της ικανότητας αναγωγής του Fe^{+3} από τα εκχυλίσματα που προέκυψαν από την παραπάνω διαδικασία έγινε σύμφωνα με την πειραματική διαδικασία που περιγράφουν οι [Makris, Boskou, & Andrikopoulos \(2007\)](#) :

1. Σε eppendorf προστέθηκαν 50μl δείγμα, 50μl FeCl_3 . Κάθε δείγμα παρασκευάστηκε εις τριπλούν.
2. Για τους 2 μάρτυρες ακολουθήθηκε η παραπάνω διαδικασία με τη διαφορά ότι το δείγμα ήταν απιονισμένο νερό.
3. Τα δείγματα επώαστηκαν στους 37°C σε υδατόλουτρο
4. Ακολούθησε προσθήκη 900μl TPTZ και ισχυρή ανάδευση με Vortex..
5. Μετά από 10min μετρήθηκε η απορρόφηση και των δειγμάτων στα 620nm, αφού είχε προηγουμένως μηδενιστεί το φωτόμετρο με τους δύο μάρτυρες.
6. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε ισοδύναμα ασκορβικού οξέως (Ascorbic Acid Equivalents, AAE). Η καμπύλη του ασκορβικού οξέος (MB 176,1) κατασκευάστηκε ως εξής:

- Ζυγίστηκαν 0,7mg ασκορβικού οξέος και διαλύθηκαν σε 10ml απιονισμένου νερού έτσι ώστε να προκύψει διάλυμα συγκέντρωσης 0,4mM. Με διαδοχικές αραιώσεις του παραπάνω πυκνού διαλύματος παρασκευάστηκαν οι συγκεντρώσεις 0,3mM, 0,2mM, 0,1mM, 0,05mM, 0,01mM.
- Στη συνέχεια ακολουθήθηκαν τα παραπάνω βήματα 1-5.
- Τέλος χαράχθηκε η καμπύλη της μορφής $y=ax + b$



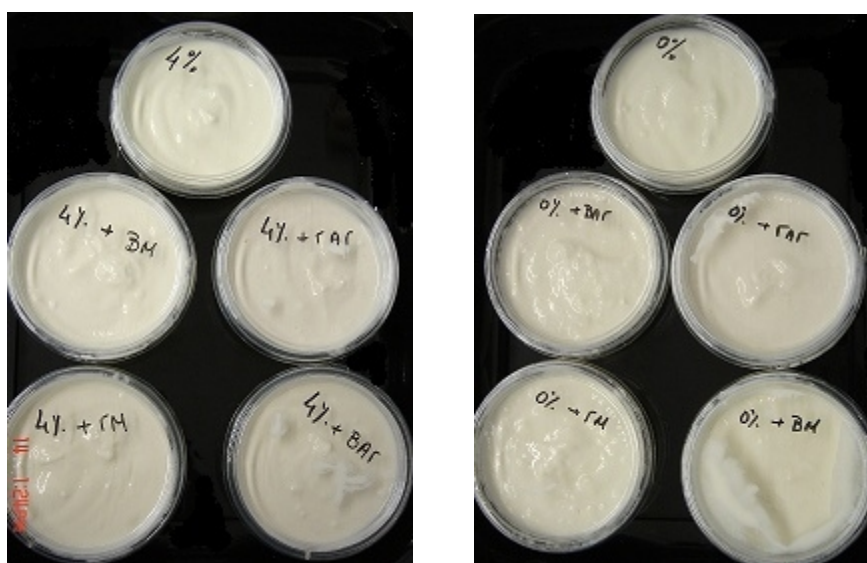
Κεφάλαιο 7^ο :: ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Όλες οι χημικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν εις τριπλούν, σε διαφορετική περίπτωση γίνεται αναφορά. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως Μέση Τιμή $\pm$ Τυπική Απόκλιση. Για τους υπολογισμούς χρησιμοποιήθηκε το Microsoft Excel. Επιπλέον χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πρόγραμμα Statgraphics Centurion 16.1.11 για τον έλεγχο της ανάλυσης της διακύμανσης (Analysis of Variance: ANOVA) για τη σύγκριση των μέσων τιμών των παραμέτρων. Η διόρθωση για τον έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων (Post Hoc) έγινε με τη χρήση του Dunkan multirage test. Σε όλες τις αναλύσεις το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ήταν $p \leq 0,05$.

Κεφάλαιο 8^ο : ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

8.1 Οργανοληπτική εξέταση

Τα δείγματα αξιολογήθηκαν οργανοληπτικά την ημέρα της παρασκευής τους από δύο δοκιμαστές. Η γεύση και η οσμή των δειγμάτων δεν διέφερε από τα τυπικά χαρακτηριστικά των δύο ειδών γιαουρτιού. Η εμφάνιση των δειγμάτων αξιολογήθηκε με γυμνό οφθαλμό καθώς και με τη συσκευή μέτρησης χρώματος Mini Scan XE plus. Τα δείγματα οπτικά δεν παρουσίαζαν σημαντικές διαφορές. Παρακάτω απεικονίζονται φωτογραφίες από όλα τα δείγματα σε σχέση με το μάρτυρα.



Σχήμα 8.1.: Φωτογραφίες εμπλουτισμένων γιαουρτιών με εκχυλίσματα από βόστρυχες και γίγαρτα Μοσχοφίλερου και Αγιωργίτικου σταφυλιού σε σύγκριση με τους αντίστοιχους μάρτυρες. ΒΜ = Βόστρυχες Μοσχοφίλερου, ΓΜ= Γίγαρτα Μοσχοφίλερου, ΒΑΓ= Βόστρυχες Αγιωργίτικου, ΓΑΓ= Γίγαρτα Αγιωργίτικου

Στον Πίνακα 8.1 παρουσιάζονται οι τιμές L^* , a^* , b^* , καθώς και οι τιμές C^* , h^* , ΔL^* , Δa^* , Δb^* , ΔC^* , ΔH , ΔE_{cmc} οι οποίες έχουν προκύψει από τις εξισώσεις του χρωματικού μοντέλου CIELAB χρησιμοποιώντας τους μέσους όρους των αντίστοιχων παραμέτρων.

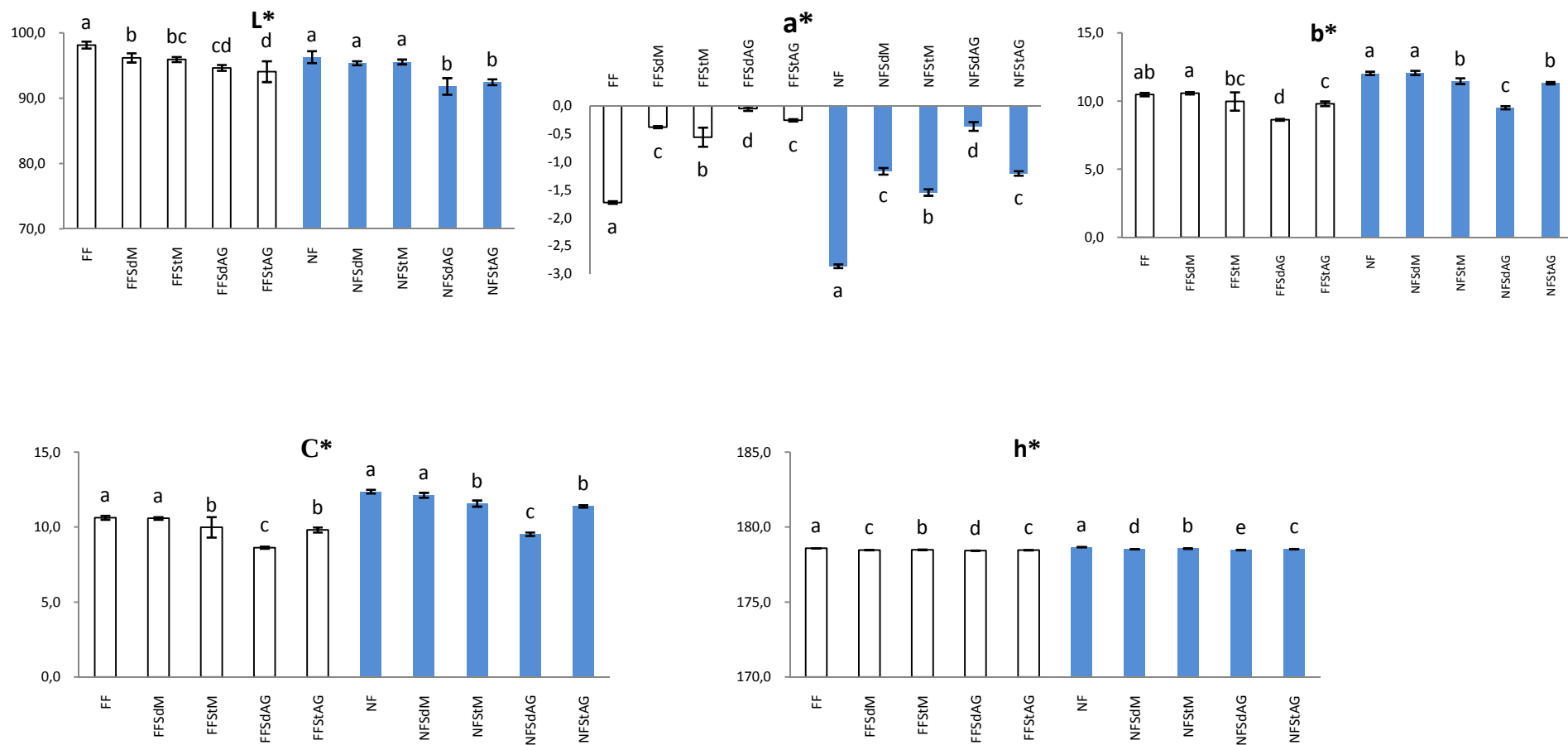
Πίνακας 8.1: Μετρήσεις Χρώματος (L^* , a^* , b^* , Chroma, Hue angle) των εμπλουτισμένων δειγμάτων γιαουρτιών FF και NF

Δείγμα	L^*	a^*	b^*	Chroma (C^*)	Hue angle (h^*)	ΔL^*	Δa^*	Δb^*	ΔE^*	ΔC^*	ΔH	ΔE_{cmc}
FF γιαούρτια												
FF	$98,16 \pm 0,52^a$	$-1,73 \pm 0,02^a$	$10,49 \pm 0,12^{ab}$	$10,63 \pm 0,13^a$	$178,59 \pm 0,00^a$							
FFSdAG	$94,65 \pm 0,45^{cd}$	$-0,05 \pm 0,04^d$	$8,63 \pm 0,07^d$	$8,63 \pm 0,07^c$	$178,44 \pm 0,01^d$	-3,51	1,68	-1,86	4,31	-2,00	1,51	9,69
FFSdM	$96,20 \pm 0,71^b$	$-0,38 \pm 0,02^c$	$10,57 \pm 0,09^a$	$10,58 \pm 0,09^a$	$178,47 \pm 0,00^c$	-1,96	1,35	0,09	2,38	-0,05	1,35	4,96
FFStAG	$94,07 \pm 1,60^d$	$-0,26 \pm 0,02^c$	$9,80 \pm 0,17^c$	$9,81 \pm 0,17^b$	$178,46 \pm 0,00^c$	-4,09	1,47	-0,68	4,40	-0,82	1,40	9,75
FFStM	$95,94 \pm 0,40^{bc}$	$-0,56 \pm 0,17^b$	$9,97 \pm 0,67^{bc}$	$9,99 \pm 0,68^b$	$178,49 \pm 0,01^b$	-2,22	1,17	-0,51	2,56	-0,64	1,10	5,50
NF γιαούρτια												
NF	$96,30 \pm 0,91^a$	$-2,87 \pm 0,03^a$	$12,03 \pm 0,12^a$	$12,37 \pm 0,13^a$	$178,66 \pm 0,00^a$							
NFSdAG	$91,83 \pm 1,27^b$	$-0,37 \pm 0,08^d$	$9,52 \pm 0,12^c$	$9,52 \pm 0,12^c$	$178,47 \pm 0,01^e$	-4,47	2,50	-2,52	5,71	-2,85	2,12	14,58
NFSdM	$95,38 \pm 0,31^a$	$-1,17 \pm 0,06^c$	$12,07 \pm 0,16^a$	$12,13 \pm 0,16^a$	$178,53 \pm 0,00^d$	-0,92	1,70	0,04	1,93	-0,24	1,68	3,44
NFStAG	$92,46 \pm 0,44^b$	$-1,21 \pm 0,04^c$	$11,32 \pm 0,087^b$	$11,39 \pm 0,08^b$	$178,54 \pm 0,01^c$	-3,84	1,66	-0,71	4,24	-0,98	1,51	9,34
NFStM	$95,57 \pm 0,36^a$	$-1,55 \pm 0,06^b$	$11,47 \pm 0,21^b$	$11,47 \pm 0,21^b$	$178,56 \pm 0,01^b$	-0,72	1,32	-0,56	1,61	-0,80	1,19	2,97

Τα δεδομένα εκφράστηκαν ως μέσος όρος $\pm$ τυπική απόκλιση ($n=3$).

Οι τιμές στην ίδια στήλη με διαφορετικούς δείκτες υποδεικνύουν στατιστικά σημαντική διαφορά ($p<0,05$)

Οι τιμές ΔL^* , Δa^* , Δb^* , ΔC^* , ΔH , ΔE_{cmc} έχουν προκύψει από τις εξισώσεις του χρωματικού μοντέλου CIELAB χρησιμοποιώντας τους μέσους όρους των αντίστοιχων παραμέτρων



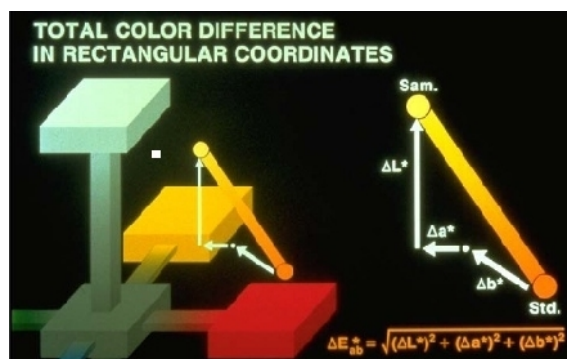
Σχήμα 8.1: Μετρήσεις Χρώματος (L^* , a^* , b^* , Chroma, Hue angle) των εμπλουτισμένων δειγμάτων.
Οι διαφορετικοί δείκτες ανά κατηγορία δειγμάτων (FF και NF) υποδεικνύουν στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0,05$)

Από τον Πίνακα 8.1 προκύπτει ότι ανάμεσα στα εμπλουτισμένα δείγματα, τόσο από εκχυλίσματα βοστρύχων όσο και από εκχυλίσματα γιγάρτων, και τους μάρτυρες υπήρχαν χρωματικές διαφορές οι οποίες δεν ήταν σημαντικές με γυμνό οφθαλμό αλλά ήταν μετρήσιμες με τη χρήση του χρωματομέτρου και αποδείχτηκαν και στατιστικά σημαντικές μετά την μαθηματική και στατιστική επεξεργασία των δεδομένων που προέκυψαν.

Προκύπτει λοιπόν ότι όλα τα εμπλουτισμένα δείγματα ήταν πιο σκούρα ($\Delta L^* < 0$), περισσότερο κόκκινα ($\Delta a^* > 0$) και περισσότερο θαμπά ($\Delta C^* < 0$) από τους μάρτυρες. Επίσης όλα τα δείγματα πλην αυτού στο οποίο είχε προστεθεί εκχύλισμα από γιγάρτα Μοσχοφίλερου ήταν λιγότερο κίτρινα από τους μάρτυρες ($\Delta b^* < 0$). Αντίθετα τα δείγματα FFsDM και NFsDM ήταν οριακά περισσότερο κίτρινα από τους μάρτυρες ($\Delta b^* > 0$).

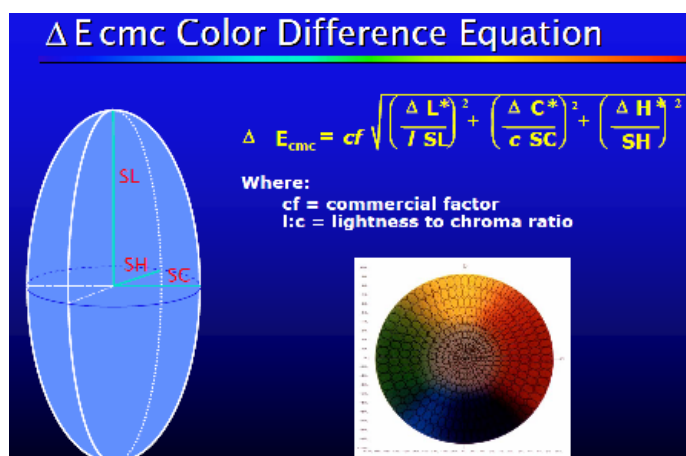
Από τον Πίνακα 8.1 προκύπτει ακόμα ότι και στα FF και στα NF δείγματα υπάρχει διαφορά στη χροιά του χρώματος $\Delta H > 0$ τους σε σχέση με τους αντίστοιχους μάρτυρες. Επίσης, ο δείκτης ΔE , ο οποίος εκφράζει τη συνολική διαφορά χρώματος από τους μάρτυρες, σε ορθογώνιο σύστημα πολικών συντεταγμένων, κυμαίνεται από 1,93 -5,7 για τα δείγματα εμπλουτισμένα με εκχυλίσματα γιγάρτων και από 1,61 – 4,40 για τα δείγματα εμπλουτισμένα με εκχυλίσματα βοστρύχων. Επίσης φαίνεται ότι τα δείγματα με εκχυλίσματα Αγιωργίτικιου παρουσιάζουν μεγαλύτερες τιμές ΔE από αυτές των δειγμάτων με εκχυλίσματα Μοσχοφίλερου.

Στο χώρο της βιομηχανίας τροφίμων έχουν επικρατήσει 4 εύρη τιμών για το ΔE κάθε ένα από τα οποία καθορίζει το κατά πόσο η διαφορά χρώματος είναι αντιληπτή από τον καταναλωτή ενός προϊόντος ή όχι. Ειδικότερα όταν οι τιμές ΔE κυμαίνονται από 0 - 1,1 CIELAB τότε θεωρείται ότι η διαφορά χρώματος δε γίνεται αντιληπτή ακόμα και από άτομα που μπορούν να διακρίνουν χρώματα με πολύ μεγάλη ακρίβεια. Όταν το ΔE βρίσκεται στο εύρος 1,1 – 2,8 CIELAB η διαφορά χρώματος θεωρείται αντιληπτή από τέτοιου είδους άτομα, όχι όμως και από ανθρώπους με μέση ικανότητα διάκρισης χρωμάτων. Όταν το ΔE είναι μεταξύ των 2,8 – 5,6 CIELAB οι διαφορές στα χρώματα δε γίνονται αντιληπτές μόνο από άτομα χαμηλής διακριτικής ικανότητας, ενώ για τιμές $\Delta E > 5,6$ CIELAB η διαφορά χρώματος είναι αισθητή θεωρητικά σε όλους τους ανθρώπους που δεν αντιμετωπίζουν προβλήματα όρασης (Lee & Coates, 1999) (Melgosa, Hita, Poza, Alman, & Berns, 1997, Melendez-Martinez, Vicario, & Herendia, 2005, 2009).



Σχήμα 8.1.1.: Ορθογώνιο σύστημα πολικών συντεταγμένων για την αξιολόγηση της χρωματικής διαφοράς (Hunterlab, 2001)

Ο δείκτης ΔΕ δεν είναι πάντα αξιόπιστος από μόνος του, για το λόγο αυτό επινοήθηκε ο δείκτης ΔΕ_{cmc}, ο οποίος εκφράζει αν το προϊόν είναι αποδεκτό / μη αποδεκτό σε σχέση με το μάρτυρα σε ένα χώρο ανοχής τρισδιάστατων συντεταγμένων. Ο χώρος ανοχής ορίζεται από τη σχέση Φωτεινότητα (Lightness – l): Χρώμα (Colour-c), και από τον Εμπορικό παράγοντα (Commercial factor- cf). Οι παράγοντες αυτοί μπορούν να πάρουν να πάρουν διάφορες τιμές, ανάλογα με τις απαιτήσεις της βιομηχανίας.



Σχήμα:8.1.2-διάστατο σύστημα αξιολόγησης της χρωματικής διαφοράς. (Hunterlab, 2001)

Στη συγκεκριμένη περίπτωση όσον αφορά τη σχέση l:c δόθηκαν οι τιμές 2:1 και σαν cf ορίστηκε το 1. Οι τιμές αυτές θεωρούνται μια καλή αρχή αξιολόγησης των παραγόμενων προϊόντων. Από τον Πίνακα 8.1 προκύπτει ότι σε όλα τα δείγματα ο δείκτης ΔΕ_{cmc} >1, επομένως τα δείγματα ήταν διαφορετικά από τους μάρτυρες. Φαίνεται επίσης ότι τα εμπλουτισμένα με

εκχυλίσματα Αγιωργίτικου παρουσίαζαν μεγαλύτερη διαφορά από τους μάρτυρες σε σχέση με τα εμπλουτισμένα με εκχυλίσματα Μοσχοφίλερου δείγματα.

8.2 Αξιολόγηση pH

Το pH των δειγμάτων παρακολουθήθηκε καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος. Οι τιμές που μετρήθηκαν στους χρόνους 1, 7, 14, 21 και 32 ημέρες συνοψίζονται στον Πίνακα 8.2

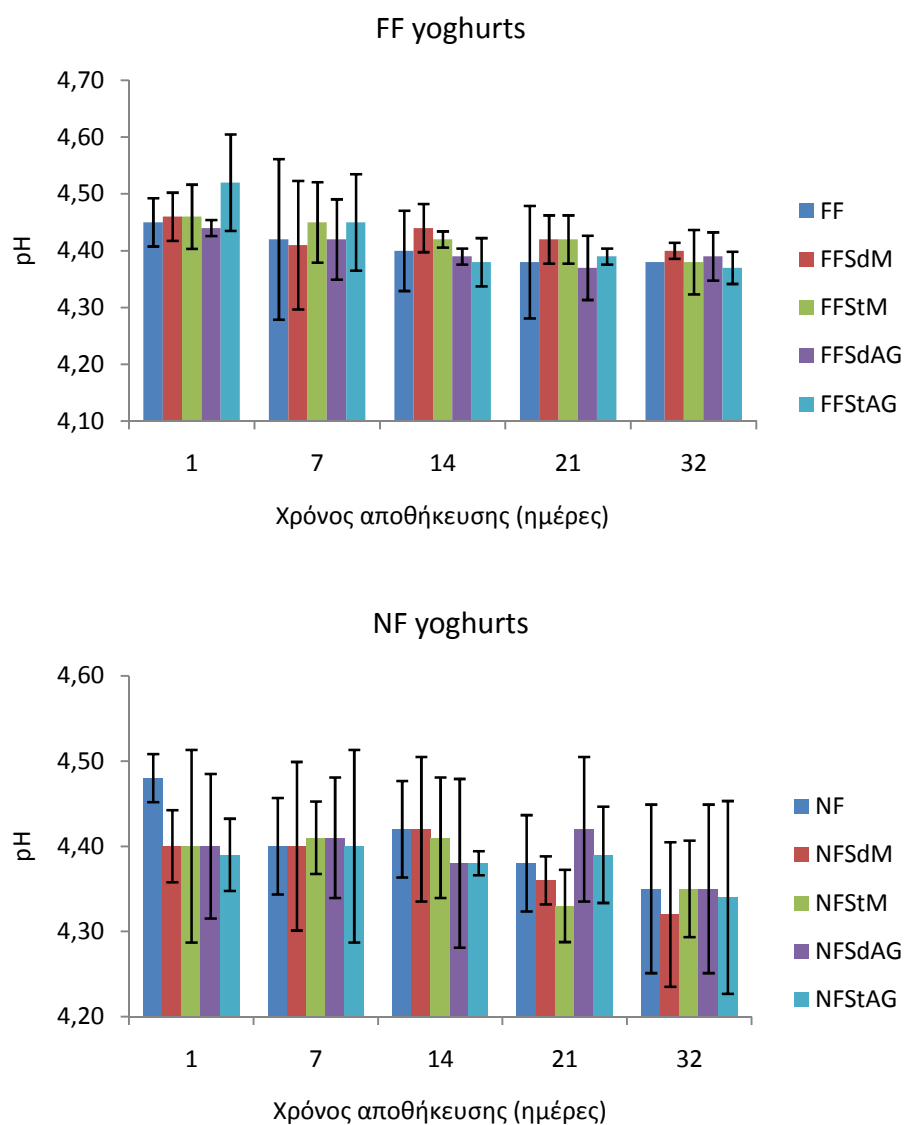
Πίνακας 8.2: Τιμές pH κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης των εμπλουτισμένων δειγμάτων γιαουρτιών FF και NF

Δείγμα	Χρόνος αποθήκευσης (ημέρες)				
	1	7	14	21	32
	pH				
	FF γιαούρτια				
FF	4,45 ± 0,04	4,42 ± 0,14	4,40 ± 0,07	4,38 ± 0,10	4,38 ± 0,02
FFSdAG	4,44 ± 0,01	4,42 ± 0,07	4,39 ± 0,01	4,37 ± 0,06	4,39 ± 0,04
FFSdM	4,46 ± 0,04	4,41 ± 0,11	4,44 ± 0,04	4,42 ± 0,04	4,40 ± 0,01
FFStAG	4,52 ± 0,08	4,45 ± 0,08	4,38 ± 0,04	4,39 ± 0,01	4,37 ± 0,03
FFStM	4,46 ± 0,06	4,45 ± 0,07	4,42 ± 0,01	4,42 ± 0,04	4,38 ± 0,06
NF γιαούρτια					
NF	4,48 ± 0,03	4,40 ± 0,06	4,42 ± 0,07	4,38 ± 0,06	4,35 ± 0,10
NFSdAG	4,40 ± 0,08	4,41 ± 0,07	4,38 ± 0,10	4,42 ± 0,08	4,35 ± 0,10
NFSdM	4,40 ± 0,04	4,40 ± 0,10	4,42 ± 0,08	4,36 ± 0,03	4,32 ± 0,08
NFStAG	4,39 ± 0,04	4,40 ± 0,11	4,38 ± 0,01	4,39 ± 0,04	4,34 ± 0,11
NFStM	4,40 ± 0,11	4,41 ± 0,04	4,41 ± 0,07	4,33 ± 0,04	4,35 ± 0,06

Τα δεδομένα εκφράστηκαν ως μέσος όρος ± τυπική απόκλιση (n=2).

Δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δειγμάτων και των μαρτύρων (p>0,05) στις διάφορες χρονικές στιγμές

Από τον παραπάνω πίνακα φαίνεται ότι καθ' όλη τη διάρκεια της αποθήκευσης δεν υπήρξε στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των τιμών pH των δειγμάτων και των μαρτύρων, καθώς και των δειγμάτων στις διάφορες χρονικές στιγμές. Συμπεραίνεται λοιπόν ότι ο εμπλουτισμός των δύο ειδών γιαουρτιού με εκχυλίσματα από γίγαρτα και βόστρυχες δεν επηρέασε το pH των δειγμάτων.



Σχήμα 8.2 : Το pH δειγμάτων και μαρτύρων κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης

8.3 Μικροβιολογικές αναλύσεις

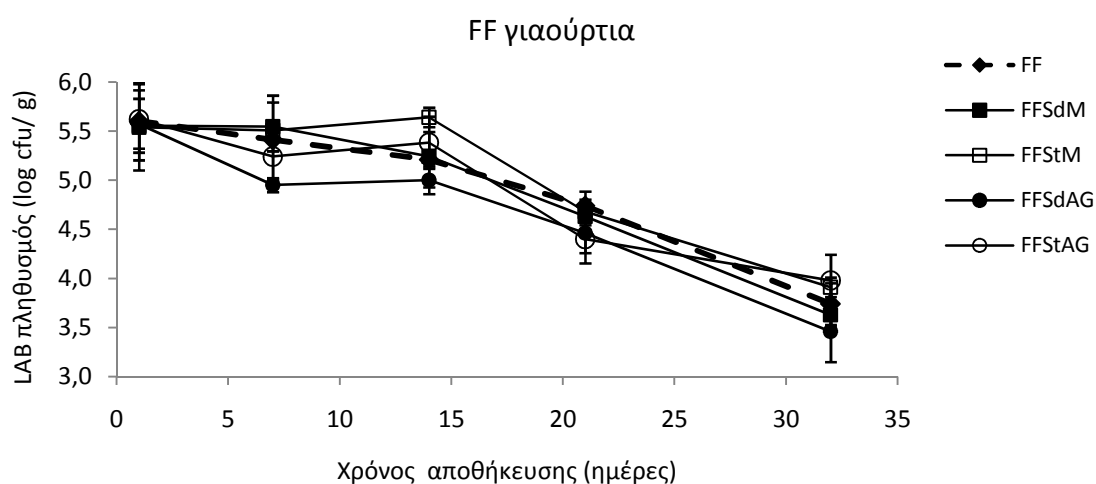
Ο πληθυσμός των LAB βακτηρίων παρακολούθηθηκε καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος. Οι πληθυσμοί των LAB βακτηρίων υπολογίστηκαν στους χρόνους 1, 7, 14, 21 και 32 ημέρες και συνοψίζονται στον Πίνακα 8.3

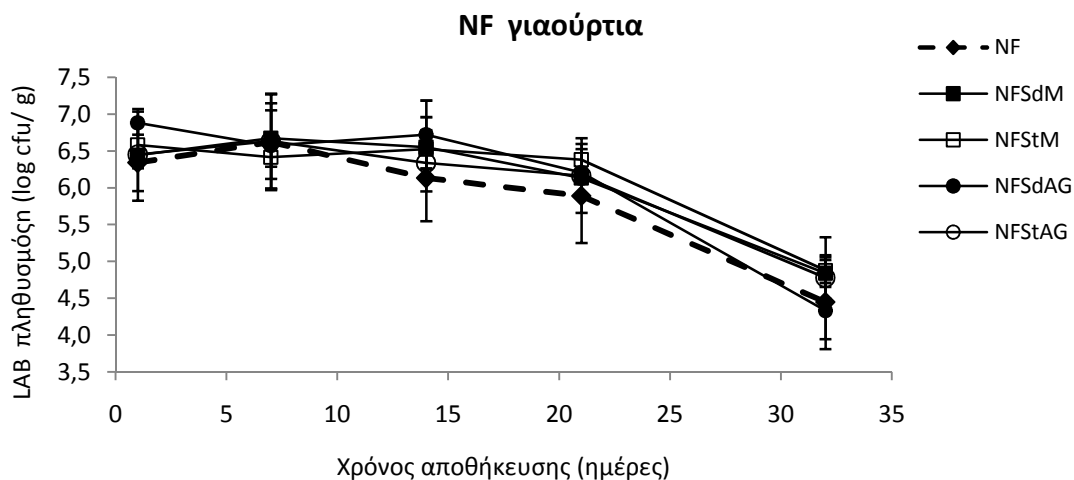
Πίνακας 8.3: Λογάριθμοι των πληθυσμών των LAB βακτηρίων κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης των εμπλουτισμένων δειγμάτων γιαουρτιών FF και NF

Δείγμα	Χρόνος αποθήκευσης (ημέρες)				
	1	7	14	21	32
	Log LAB (cfu/g)				
FF γιαούρτια					
FF	5,60 ± 0,40	5,41 ± 0,45	5,21 ± 0,28	4,74 ± 0,06	3,74 ± 0,21
FFSdAG	5,57 ± 0,06	4,95 ± 0,07	5,00 ± 0,14	4,46 ± 0,31	3,46 ± 0,03
FFSdM	5,56 ± 0,27	5,54 ± 0,25	5,24 ± 0,07	4,63 ± 0,14	3,63 ± 0,11
FFStAG	5,62 ± 0,30	5,24 ± 0,24	5,38 ± 0,27	4,40 ± 0,14	3,98 ± 0,26
FFStM	5,54 ± 0,44	5,51 ± 0,09	5,64 ± 0,10	4,68 ± 0,21	3,91 ± 0,10
NF γιαούρτια					
NF	6,34 ± 0,06	6,62 ± 0,65	6,13 ± 0,58	5,89 ± 0,64	4,45 ± 0,64
NFSdAG	6,88 ± 0,10	6,57 ± 0,58	6,72 ± 0,47	6,20 ± 0,08	4,33 ± 0,38
NFSdM	6,44 ± 0,48	6,67 ± 0,38	6,55 ± 0,41	6,13 ± 0,47	4,84 ± 0,18
NFStAG	6,45 ± 0,62	6,63 ± 0,65	6,34 ± 0,38	6,16 ± 0,08	4,78 ± 0,28
NFStM	6,58 ± 0,31	6,42 ± 0,29	6,52 ± 0,26	6,38 ± 0,30	4,88 ± 0,45

Τα δεδομένα εκφράστηκαν ως μέσος όρος ± τυπική απόκλιση (n=2).

Δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δειγμάτων και των μαρτύρων (p>0,05) στις διάφορες χρονικές στιγμές





Σχήμα 8.3: Λογάριθμοι πληθυσμών LAB βακτηρίων κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης σε δείγματα και μάρτυρες

Ο έλεγχος του πληθυσμού των μικροοργανισμών στα δείγματα και τους μάρτυρες καθ' όλη τη διάρκεια της αποθήκευσης τους ήταν απαραίτητος καθώς, όπως ορίζεται και από τον National Yoghurt Association (NYA) στα εμπορικά γιαούρτια ο πληθυσμός των μικροοργανισμών που περιέχουν θα πρέπει να παραμένει ζωντανός μέχρι το τέλος της διάρκειας ζωής του προϊόντος (Chandan & O'Reil, 2006).

Από τον παραπάνω πίνακα φαίνεται ότι κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ του πληθυσμού των δειγμάτων και των μαρτύρων, στις διάφορες χρονικές στιγμές. Συμπεραίνεται λοιπόν ότι ο εμπλουτισμός των δύο ειδών γιαουρτιού με εκχυλίσματα από γίγαρτα και βόστρυχες δεν επηρέασε τη βιωσιμότητα των LAB βακτηρίων του γιαουρτιού. Ο πληθυσμός των μικροοργανισμών μειώθηκε εξίσου στα δείγματα και στους μάρτυρες κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης. Παρατηρήθηκε επίσης ότι καθ' όλη τη διάρκεια αποθήκευσης τα δείγματα χωρίς λιπαρά περιείχαν περισσότερα LAB βακτήρια σε σύγκριση με τα δείγματα με 4% λιπαρά. Το εύρημα αυτό αναφέρεται και από άλλους ερευνητές (Biorollo, Reinheimer, & Vinderola, 2000).

Οι φαινολικές ενώσεις είναι γνωστό ότι έχουν αντιμικροβιακές ιδιότητες και ότι εμποδίζουν την ανάπτυξη των παθογόνων μικροβίων και των μυκήτων (O' Connella & Fox, 2001). Επίσης το 2009 έρευνα των Rodriguez et al έδειξε ότι πολλές φαινολικές ενώσεις εμποδίζουν την ανάπτυξη γαλακτικών βακτηρίων, πιθανότατα προκαλώντας αλλαγές στην κυτταροπλασματική τους μεμβράνη (Rodriguez, Curiel, , Landete, , De la Rivas, De Felipe, Gomez-Cordoves, Mancheno, Munoz, 2009.). Στον αντίποδα των προηγούμενων ερευνών έρευνα των Kalogeropoulos et al το 2010 έδειξε ότι τα πλούσια σε πολυφαινόλες εκχυλίσματα πρόπολης εμφάνισαν μικρή ή καμία επίδραση σε διάφορα στελέχη λακτοβακίλλων (Kalogeropoulos, Ioannou, Karathanos, Andrikopoulos, 2010).

8.4. Προσδιορισμός Ολικών πολυφαινολών (TP)

Οι TP προσδιορίστηκαν καθ' όλη τη διάρκεια αποθήκευσης των δειγμάτων. Ο προσδιορισμός τους έγινε με τη μέθοδο Folin Ciocalteu. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως ισοδύναμα γαλλικού οξέος (GAE) ανά 100g νωπού προϊόντος, συνοψίζονται στον Πίνακα 8.4 και απεικονίζονται στο Σχήμα 8.4.

Πίνακας 8.4: Ολικές πολυφαινόλες δειγμάτων και μαρτύρων κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης

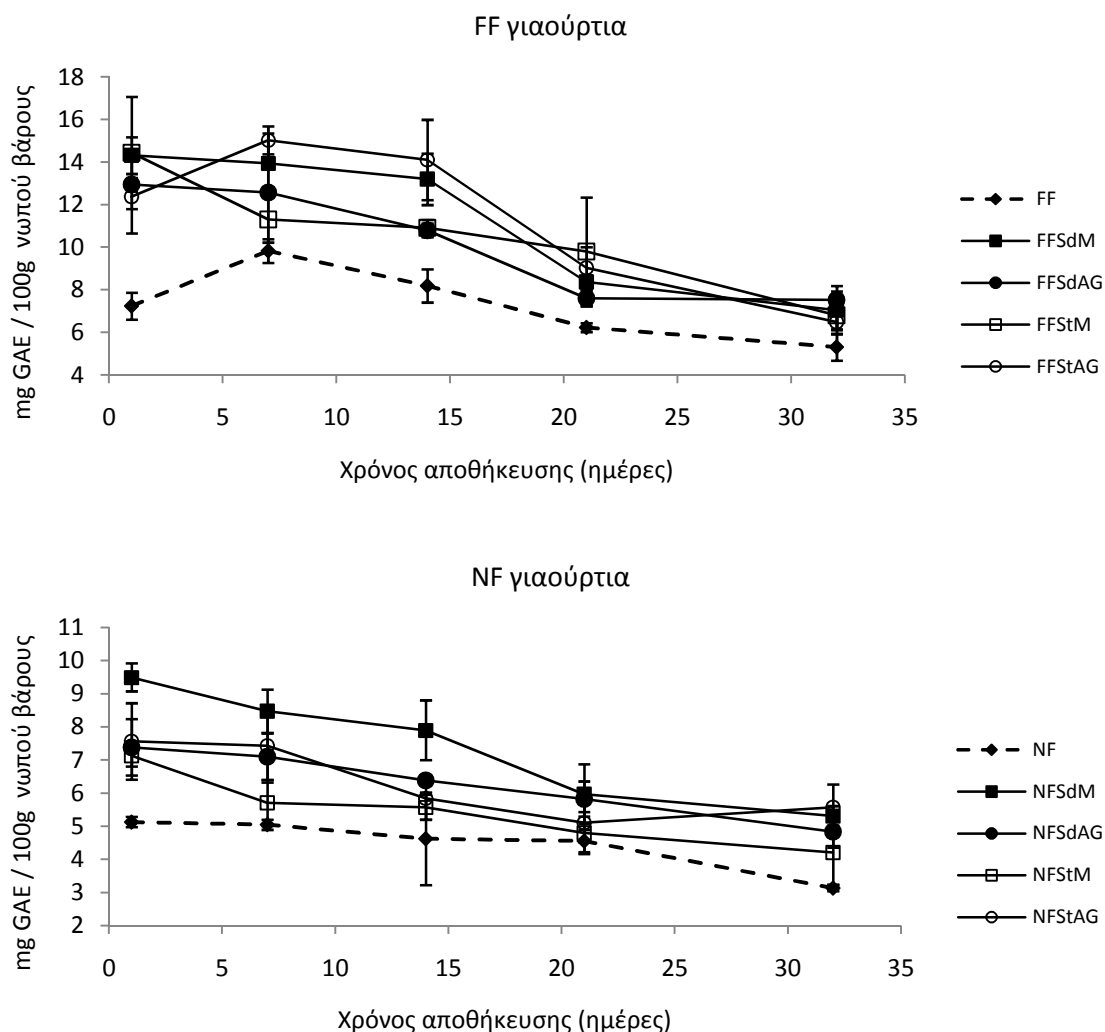
Δείγμα	Χρόνος αποθήκευσης (ημέρες)				
	1	7	14	21	32
	mg GAE / 100g νωπού βάρους				
	FF γιαούρτια				
FF	7,24 ± 0,63 ^{a,2,3}	9,83 ± 0,55 ^{a,4}	8,19 ± 0,78 ^{a,3}	6,23 ± 0,21 ^{a,1,2}	5,31 ± 0,63 ^{a,1}
FFSdAG	12,94 ± 0,32 ^{b,1}	12,57 ± 0,23 ^{bc,1}	10,80 ± 0,32 ^{b,2}	7,60 ± 0,36 ^{ab,3}	7,52 ± 0,66 ^{b,3}
FFSdM	14,31 ± 0,86 ^{b,1}	13,94 ± 1,41 ^{cd,1}	13,20 ± 1,21 ^{c,1}	8,36 ± 0,34 ^{ab,2}	7,04 ± 0,89 ^{b,2}
FFStAG	12,37 ± 1,27 ^{b,3}	15,03 ± 0,66 ^{d,4}	14,11 ± 1,88 ^{c,3,4}	9,03 ± 0,98 ^{b,2}	6,48 ± 0,56 ^{ab,1}
FFStM	14,44 ± 2,63 ^{b,1}	11,30 ± 1,08 ^{ab,1,2}	10,91 ± 0,38 ^{b,2}	9,80 ± 2,54 ^{b,2,3}	6,80 ± 0,69 ^{b,3}
	NF γιαούρτια				
NF	5,13 ± 0,16 ^{a,1}	5,04 ± 0,15 ^{a,1}	4,62 ± 1,40 ^{a,1}	4,55 ± 0,34 ^{a,1}	3,13 ± 0,09 ^{a,2}
NFSdAG	7,39 ± 0,85 ^{b,1}	7,10 ± 0,70 ^{b,1}	6,39 ± 0,15 ^{b,1,2}	5,82 ± 0,53 ^{b,2,3}	4,84 ± 0,48 ^{bc,3}
NFSdM	9,50 ± 0,42 ^{c,1}	8,47 ± 0,65 ^{b,2,3}	7,90 ± 0,90 ^{c,3}	5,97 ± 0,91 ^{b,4}	5,32 ± 0,29 ^{bc,4}
NFStAG	7,56 ± 1,15 ^{b,1}	7,43 ± 1,11 ^{b,1,2}	5,85 ± 0,65 ^{ab,2,3}	5,11 ± 0,60 ^{ab,3}	5,57 ± 0,69 ^{c,3}
NFStM	7,13 ± 0,33 ^{b,1}	5,70 ± 0,69 ^{a,2}	5,57 ± 0,38 ^{ab,2}	4,80 ± 0,63 ^{ab,2,3}	4,20 ± 0,97 ^{ab,3}

Τα δεδομένα εκφράστηκαν ως μέσος όρος ± τυπική απόκλιση (n=3).

Οι τιμές στην ίδια στήλη με διαφορετικά γράμματα υποδεικνύουν στατιστικά σημαντική διαφορά (p<0,05)

Οι τιμές στην ίδια γραμμή με διαφορετικούς αριθμούς υποδεικνύουν στατιστικά σημαντική διαφορά (p<0,05)

Το GAE αποτελεί συντομογραφία για το Gallic Acid Equivalents



Σχήμα 8.4: Ολικές πολυφαινόλες των δειγμάτων και των μαρτύρων εκφρασμένες σε mg GAE/100g νωπού βάρους καθ' όλη τη διάρκεια αποθήκευσης.

Το φαινολικό περιεχόμενο των δειγμάτων ήταν υψηλότερο από εκείνο των μαρτύρων καθ' όλη τη διάρκεια της αποθήκευσης ($p < 0,05$). Οι TP που προσδιορίστηκαν στους μάρτυρες προέρχονται μερικά τουλάχιστον από τις ζωοτροφές, οι οποίες περιέχουν πολυφαινόλες και οι οποίες στη συνέχεια περνούν στο γάλα των ζώων (Lopez & Lindsay, 1993, Besle, Viala., Martin, Pradel, Meunier, Berdagué, Fraise, Lamaison, Coulon, 2010.).

Παρατηρήθηκε ότι δείγματα που ήταν εμπλουτισμένα με εκχύλισμα από γίγαρτα Μοσχοφίλερου είχαν υψηλότερο πολυφαινολικό περιεχόμενο από τα αντίστοιχα με εκχύλισμα από γίγαρτα Αγιωργίτικου. Αυτό δικαιολογείται από το γεγονός ότι τα γίγαρτα του Αγιωργίτικου συλλέχθηκαν αφού είχαν παραμείνει σε επαφή με το μούστο για 12 ημέρες. Το γεγονός αυτό προκάλεσε τη μερική εκχύλιση ή απομάκρυνση των πολυφαινολών από αυτά. Παρόλα αυτά οι διαφορές τους δεν βρέθηκαν πάντα στατιστικά σημαντικές κατά τη διάρκεια του πειράματος, τόσο στα FF όσο και στα NF δείγματα. Υψηλότερο πολυφαινολικό

περιεχόμενο είχαν αρχικά και τα δείγματα που ήταν εμπλουτισμένα με εκχύλισμα από βόστρυχες Μοσχοφίλερου σε σχέση με τα αντίστοιχα με εκχύλισμα από βόστρυχες Αγιωργίτικου, χωρίς να είναι πάντα στατιστικά σημαντικές οι διαφορές τους. Όμως φαίνεται ότι κατά τη διάρκεια της αποθήκευσής τους, τα δείγματα με το εκχύλισμα από βόστρυχες Αγιωργίτικου διατήρησαν πιο υψηλά το πολυφαινολικό τους περιεχόμενο.

Το πολυφαινολικό περιεχόμενο όλων των δειγμάτων μειώθηκε κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης των δειγμάτων, ενώ οι διαφορές σε κάθε χρονική στιγμή εξέτασης ήταν τις περισσότερες φορές στατιστικά σημαντικές ($p < 0,05$). Μέχρι και την 32^η ημέρα όμως παρατηρούμε ότι υπήρχαν πολυφαινόλες στα δείγματα.

Για την παρασκευή των δειγμάτων όπως αναφέραμε προστέθηκαν 100mg εκχυλίσματος σε 150g γιαουρτιού. Αυτό σημαίνει ότι στα 100g γιαουρτιού προστέθηκαν 66,7 mg εκχυλίσματος. Αν λάβουμε υπόψη το φαινολικό περιεχόμενο που συνοψίζεται στον Πίνακα 5.2, υπολογίζουμε το θεωρητικό περιεχόμενο σε πολυφαινόλες των δειγμάτων που παρασκευάσαμε. Έτσι θεωρητικά στα γιαούρτια προστέθηκε εκχύλισμα γιγάρτων Αγιωργίτικου (SdAG) με πολυφαινολικό περιεχόμενο ισοδύναμο 5,1mg γαλλικού οξέος (GAE), εκχύλισμα γιγάρτων Μοσχοφίλερου (SdM) με πολυφαινολικό περιεχόμενο ισοδύναμο 10,1mg GAE, εκχύλισμα βοστρύχων Αγιωργίτικου (StAG) με πολυφαινολικό περιεχόμενο ισοδύναμο 7,1 mg GAE και εκχύλισμα βοστρύχων Μοσχοφίλερου (StM) με πολυφαινολικό περιεχόμενο 7,3mg GAE. Συγκρίνοντας τις θεωρητικές τιμές με τις πειραματικές τιμές των δειγμάτων την 1^η ημέρα του εμπλουτισμού υπολογίζουμε τη διατήρηση των πολυφαινολών (retention), η οποία παρουσιάζεται στον Πίνακα 8.4.1

Πίνακας 8.4.1: Διατήρηση Πολυφαινολών (%) των εκχυλισμάτων στα εμπλουτισμένα γιαούρτια

Δείγμα	Χρόνος αποθήκευσης (ημέρες)
	1
	Διατήρηση πολυφαινολών (%)
	FF γιαούρτια
FFSdAG	89,0 ± 4,9 ^a
FFSdM	70,0 ± 8,5 ^a
FFStAG	71,9 ± 17,8 ^a
FFStM	78,6 ± 11,6 ^a
	NF γιαούρτια
NFSdAG	36,2 ± 8,3 ^b
NFSdM	33,1 ± 6,5 ^b
NFStAG	41,0 ± 15,3 ^b
NFStM	27,5 ± 4,5 ^b

Τα δεδομένα εκφράστηκαν ως μέσος όρος ± τυπική απόκλιση (n=3).

Οι τιμές στην ίδια στήλη με διαφορετικούς δείκτες υποδεικνύουν στατιστικά σημαντική διαφορά (p<0,05)

Όπως φαίνεται στον Πίνακα 8.4.1 η ανάκτηση του φαινολικού περιεχομένου ήταν μεγαλύτερη σε όλα τα πλήρη λιπαρών (FF) δείγματα σε σχέση με τα αντίστοιχα ελεύθερου λίπους (NF) δείγματα, ενώ οι διαφορές τους ήταν στατιστικά σημαντικές (p<0,05).

Ανάμεσα στις πολυφαινόλες των γιγάρτων και των βοστρύχων των δύο αυτών ποικιλιών σταφυλιού κυριαρχούν μονομερή και ολιγομερή παράγωγα φλαβονολών και φλαβονών, δηλαδή είδη πολυφαινολών που είναι ισχυροί δεσμευτές ελεύθερων ριζών και παρουσιάζουν αντιοξειδωτικές ιδιότητες σε γαλακτώματα της μορφής λάδι-σε-νερό (Pazos, Gallardo, Torres, & Medina, 2005). Τα FF γιαούρτια περιέχουν πρόσθετο ανθόγαλα (Σχήμα 5.1) το οποίο έχει αναφερθεί ότι επηρεάζει την υφή του γιαουρτιού μέσω της ενσωμάτωσης των λιποσφαιρίων του γάλακτος στη δομή του γιαουρτιού (Sodini & Tong, 2006). Συνήθως το ανθόγαλα προστίθεται στο γάλα πριν τη ζύμωση. Ακολουθεί η ομογενοποίηση του γάλακτος και στη συνέχεια γίνεται ο εμβολιασμός με τη καλλιέργεια της γιαούρτης. Κατά την ομογενοποίηση η μεμβράνη των λιποσφαιρίων των λιπαρών του γάλακτος απομακρύνεται και δημιουργείται μια νέα μεμβράνη η οποία σταθεροποιεί τα ομογενοποιημένα λιποσφαίρια (lucy, Munro, & Singh, 1998) και λειτουργεί ως “προαγωγός δομής” (structure promoter). Τα φλαβονοειδή έχει αναφερθεί ότι μπορούν να προσροφηθούν στην επιφάνεια των λιποσφαιρίων σε γαλακτώματα της μορφής λάδι-σε-νερό (Luo, Murray, Yosoff, Morgan, Povey, & Day, 2011). Τα FF γιαούρτια είναι πλούσια σε λιποσφαίρια στα οποία οι πολυφαινόλες μπορούν να

προσροφηθούν και να αποτραπεί έτσι η αλληλεπίδρασή τους με τις πρωτεΐνες, με τις οποίες είναι γνωστό ότι αντιδρούν (Rawel, Kroll, & Hohland, 2001) .

Σε πρόσφατη έρευνα (Najgebauer-Lejko, Sady, Grega, & Walczycka, 2011) βρέθηκε ότι η αντιοξειδωτική δράση των εμπλουτισμένων με εκχυλίσματα τσαγιού γιαουρτιών επηρεάστηκε σημαντικά από την αναλογία πρωτεϊνών/πολυφαινόλων τσαγιού σε αυτά. Στα NF γιαούρτια τα λιποσφαίρια είναι σχετικά λίγα και η προστασία που θα μπορούσαν να προσφέρουν στις πολυφαινόλες είναι μικρή. Έτσι οι αντιδράσεις μεταξύ πολυφαινόλων και πρωτεϊνών δεν μπορούν να παρεμποδιστούν, και το γεγονός αυτό μπορεί να εξηγήσει τη χαμηλή ανάκτησή τους από τα εμπλουτισμένα NF γιαούρτια.

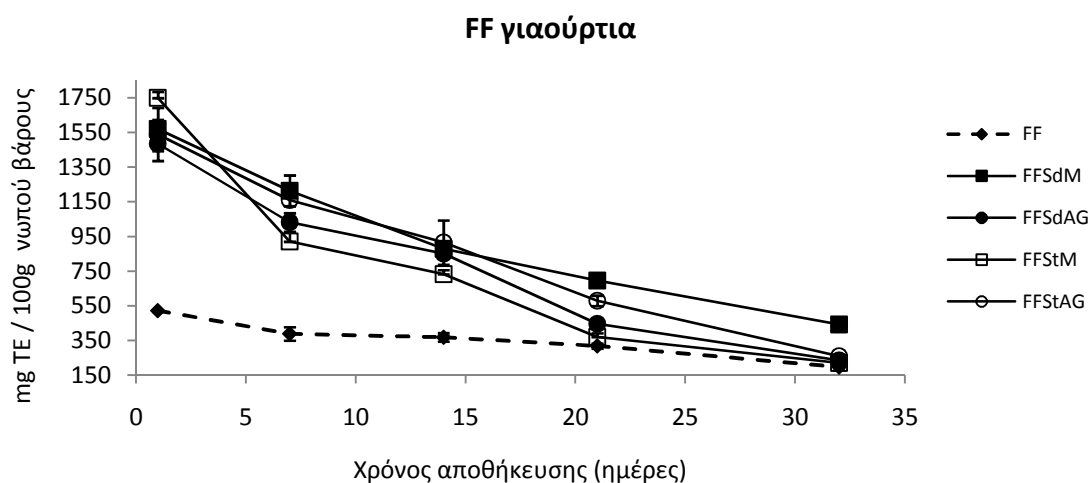
8.5. Προσδιορισμός ικανότητας δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH

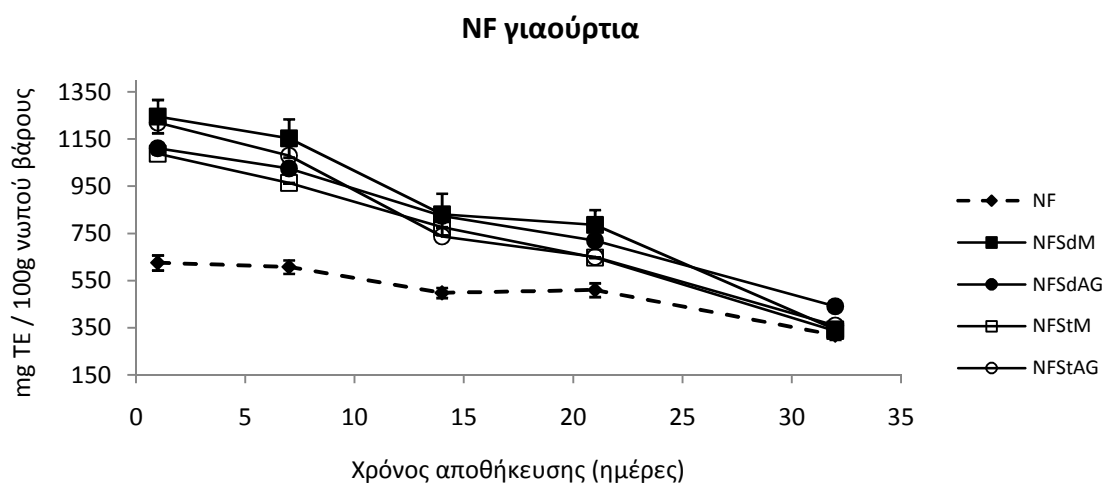
Η Ικανότητας δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH[•] προσδιορίστηκε καθ' όλη τη διάρκεια αποθήκευσης των δειγμάτων. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως mg ισοδύναμων Trolox® (TE) ανά 100g νωπού προϊόντος, συνοψίζονται στον Πίνακα 8.5 και εικονίζονται στο Σχήμα 8.5.

Πίνακας 8.5: Ικανότητας δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH· δειγμάτων και μαρτύρων κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης

Δείγμα	Χρόνος αποθήκευσης (ημέρες)				
	1	7	14	21	32
	mg TE / 100g νωπού βάρους				
FF γιαούρτια					
FF	521,10 ±4,25 ^{a,1}	387,95±38,94 ^{a,2}	367,93±24,78 ^{a,2,3}	317,87±14,16 ^{a,3}	195,23±17,70 ^{a,4}
FFSdAG	1484,22±42,48 ^{b,1}	1031,19±53,09 ^{bc,2}	849,73±15,93 ^{c,3}	445,52±17,70 ^{c,4}	235,27±21,24 ^{a,5}
FFSdM	1569,32±53,09 ^{bc,1}	1213,91±88,49 ^{d,2}	878,52±28,32 ^{c,3}	695,81±10,62 ^{e,4}	441,76±40,71 ^{b,5}
FFStAG	1538,78±153,1 ^{b,1}	1159,09±35,22 ^{cd,1}	915,07±127,43 ^{c,3}	579,19±30,1 ^{d,4}	259,05±7,1 ^{a,5}
FFStM	1748,98±34,87 ^{c,1}	920,82±83,6 ^{b,2}	732,70±23,01 ^{b,3}	369,93±21,24 ^{b,4}	220,26±38,94 ^{a,5}
NF γιαούρτια					
NF	625,73±31,86 ^{a,1}	608,20±28,32 ^{a,1}	498,08±21,24 ^{a,2}	509,97±29,20 ^{a,2}	317,87±17,70 ^{a,3}
NFSdAG	1111,29±84,95 ^{b,1}	1026,19±17,70 ^{b,1}	824,08±71,68 ^{b,2}	718,96±34,51 ^{bc,2}	440,51±56,63 ^{c,3}
NFSdM	1246,44±70,79 ^{b,1}	1153,84±81,41 ^{b,1}	830,96±88,49 ^{b,2}	785,91±63,71 ^{c,2}	342,90±4,78 ^{a,3}
NFStAG	1219,91±79,64 ^{b,1}	1079,25±166,36 ^{b,1}	736,85±65,48 ^{b,2}	649,75±53,09 ^{b,2}	359,67±32,74 ^{bc,3}
NFStM	1088,01±261,93 ^{b,1}	963,87±70,79 ^{b,1,2}	776,90±69,02 ^{b,1,2}	648,00±38,94 ^{b,2,3}	336,14±33,63 ^{a,3}

Τα δεδομένα εκφράστηκαν ως μέσος όρος ± τυπική απόκλιση (n=2).
Οι τιμές στην ίδια στήλη με διαφορετικά γράμματα υποδεικνύουν στατιστικά σημαντική διαφορά (p<0,05)
Οι τιμές στην ίδια γραμμή με διαφορετικούς αριθμούς υποδεικνύουν στατιστικά σημαντική διαφορά (p<0,05)
Το TE αποτελεί συντομογραφία για το Trolox® Equivalents





Σχήμα 8.5: Ικανότητας δέσμωσης της ελεύθερης ρίζας DPPH των δειγμάτων και των μαρτύρων εκφρασμένη σε mg TE/100g νωπού βάρους καθ' όλη τη διάρκεια αποθήκευσης.

Η ικανότητα δέσμωσης της ελεύθερης ρίζας DPPH των δειγμάτων ήταν σημαντικά υψηλότερη από εκείνη των μαρτύρων ($p < 0,05$) καθ' όλη τη διάρκεια αποθήκευσης. Εξάιρεση αποτελούν το NFStM και το NFSdM την 32^η ημέρα. Υπάρχει σταδιακή μείωση στην ικανότητα δέσμωσης της ελεύθερης ρίζας DPPH κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης, ενώ οι διαφορές σε κάθε χρονική στιγμή εξέτασης ήταν τις περισσότερες φορές στατιστικά σημαντικές ($p < 0,05$). Τις δύο πρώτες εβδομάδες τα FF δείγματα παρουσίασαν υψηλότερες τιμές σε σχέση με τα αντίστοιχα NF δείγματα. Τις επόμενες εβδομάδες όμως αυτό αντιστράφηκε. Επίσης παρατηρήσαμε στις 3 πρώτες εβδομάδες ότι στα NF δείγματα υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δειγμάτων με το μάρτυρα, δεν υπήρχε όμως στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δειγμάτων.

8.6 Προσδιορισμός ικανότητας αναγωγής του Fe^{+3} (FRAP)

Η ικανότητα αναγωγής του Fe^{+3} προσδιορίστηκε καθ' όλη τη διάρκεια αποθήκευσης των δειγμάτων. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως mg ισοδύναμων ασκορβικού οξέος (AAE) ανά 100g νωπού προϊόντος, συνοψίζονται στον Πίνακα 8.6 και απεικονίζονται στο Σχήμα 8.6.

Πίνακας 8.6: Ικανότητα αναγωγής του Fe^{+3} δειγμάτων και μαρτύρων κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης

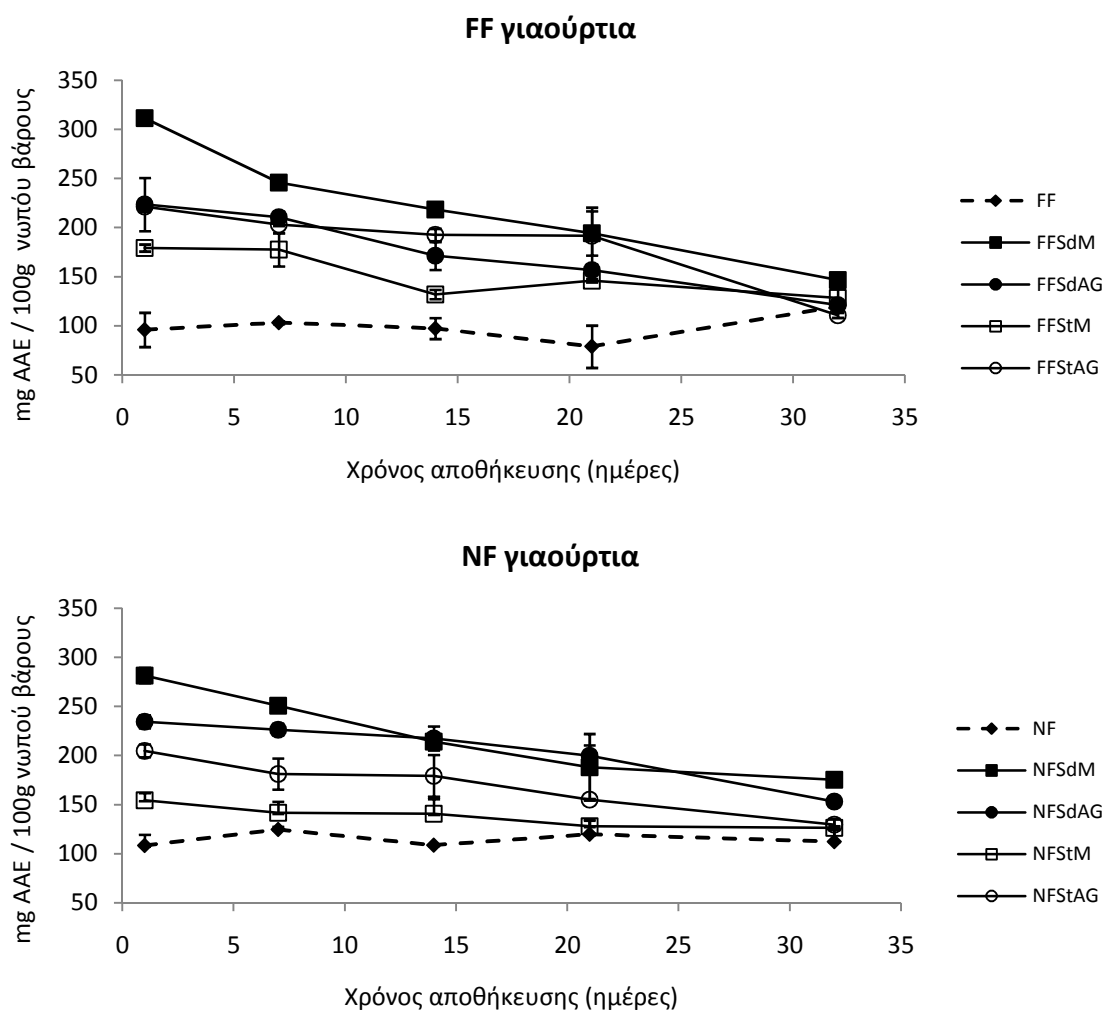
Δείγμα	Χρόνος αποθήκευσης (ημέρες)				
	1	7	14	21	32
	mg AAE / 100g νωπού βάρους				
	FF γιαούρτια				
FF	95,99 ± 17,44 ^{a,1}	103,31 ± 1,47 ^{a,1}	97,33 ± 10,69 ^{a,1}	78,84 ± 21,54 ^{a,1}	119,52 ± 3,01 ^{ab,1}
FFSdAG	223,52 ± 27,05 ^{c,1,}	210,623 ± 23,90 ^{c,1,2}	171,22 ± 14,14 ^{c,2,3}	156,605 ± 0,62 ^{ab,3,3}	121,24 ± 1,73 ^{ab,4}
FFSdM	311,27 ± 4,67 ^{d,1}	245,705 ± 2,95 ^{d,2}	218,505 ± 2,61 ^{d,2,3}	194,127 ± 22,51 ^{c,3}	146,42 ± 6,0 ^{c,4}
FFStAG	221,32 ± 5,13 ^{c,1}	203,08 ± 1,17 ^{bc,1}	192,70 ± 6,25 ^{c,1}	191,54 ± 28,89 ^{ab,1}	110,79 ± 2,63 ^{a,2}
FFStM	179,33 ± 3,59 ^{b,1}	177,48 ± 16,82 ^{b,1}	132,0 ± 4,70 ^{b,2}	146,06 ± 1,59 ^{b,2}	128,33 ± 9,65 ^{b,2}
	NF γιαούρτια				
NF	108,22 ± 11,05 ^{a,1}	124,8 ± 2,55 ^{a,1}	108,75 ± 6,58 ^{a,1}	119,67 ± 14,93 ^{a,1}	112,27 ± 15,70 ^{a,1}
NFSdAG	234,23±6,62 ^{d,1}	226,317±6,03 ^{c,1,2}	217,255 ± 12,28 ^{d,2,3}	203,903 ± 10,15 ^{c,3}	153,2 ± 1,97 ^{c,4}
NFSdM	281,335±7,86 ^{e,1}	250,595±0,7 ^{d,1,2}	214,25 ± 3,37 ^{d,2,3}	188,045 ± 33,81 ^{bc,3}	175,355 ± 2,08 ^{d,3}
NFStAG	204,74 ± 6,59 ^{c,1}	181,05 ± 15,73 ^{b,1,2}	179,24 ± 21,22 ^{c,1,2}	155,17 ± 0,49 ^{ab,2,3}	129,69 ± 5,65 ^{b,3}
NFStM	154,52 ± 7,12 ^{b,1}	141,53 ± 11,35 ^{a,1}	140,63 ± 15,0 ^{b,1}	128,03 ± 16,35 ^{a,1}	126,45 ± 1,34 ^{ab,1}

Τα δεδομένα εκφράστηκαν ως μέσος όρος ± τυπική απόκλιση (n=3).

Οι τιμές στην ίδια στήλη με διαφορετικά γράμματα υποδεικνύουν στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0,05$)

Οι τιμές στην ίδια γραμμή με διαφορετικούς αριθμούς υποδεικνύουν στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0,05$)

Το AAE αποτελεί συντομογραφία για το Ascorbic Acid Equivalents



Σχήμα 8.6: Ικανότητα αναγωγής του Fe^{+3} εκφρασμένη σε mg AAE/100g fresh weight καθ' όλη τη διάρκεια αποθήκευσης.

Η ικανότητα αναγωγής του Fe^{+3} των δειγμάτων ήταν σημαντικά υψηλότερη από εκείνη των μαρτύρων ($p < 0,05$) καθ' όλη τη διάρκεια αποθήκευσης. Εξαιρέση αποτελούν το FFSdAG την 32^η ημέρα και το NFStM την 7^η και την 21^η ημέρα. Παρατηρούμε ότι η ικανότητα δέσμευσης του Fe^{+3} μειώνεται σταδιακά κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης, ενώ οι διαφορές σε κάθε χρονική στιγμή εξέτασης ήταν τις περισσότερες φορές στατιστικά σημαντικές ($p < 0,05$). Επίσης μέχρι την 32^η ημέρα βλέπουμε ότι υπήρχε δραστηριότητα. Τα γίγαρτα και των δύο ποικιλιών παρουσίασαν μεγαλύτερες τιμές σε σχέση με τους βόστρυχες. Επίσης στα FF δείγματα οι τιμές ήταν υψηλότερες μέχρι την 14^η ημέρα, μετά τα NF δείγματα παρουσίασαν υψηλότερες τιμές.

8.7 Εξισώσεις κινητικής

Με τη χρήση του στατιστικού προγράμματος Statgraphics Centurion 16.1.11 πραγματοποιήθηκε απλή παλινδρόμηση στα αποτελέσματα των ολικών πολυφαινολών (TP), της Ικανότητας δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH[•] και της ικανότητας αναγωγής του Fe⁺³, προκειμένου να προσδιοριστεί ποια κινητική εξίσωση περιγράφει τη μείωση των τιμών των παραπάνω παραμέτρων κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης, σε επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας $p \leq 0,05$. Τις περισσότερες φορές η εκθετική εξίσωση (κινητική 1^{ης} τάξης) είχε καλύτερη εφαρμογή στα δεδομένα από τη γραμμική εξίσωση (κινητική 0^{ης} τάξης), ενώ σε ορισμένες περιπτώσεις και οι δύο εξισώσεις είχαν εξίσου καλή εφαρμογή στα δεδομένα. Συνήθως οι κινητικές των αντιδράσεων στα τρόφιμα ακολουθούν εξισώσεις μηδενικής ή 1^{ης} τάξης (Labuza & Riboh., 1982). Έτσι χρησιμοποιήθηκε η εκθετική εξίσωση 1^{ης} τάξης και οι σταθερές της μείωσης (k) υπολογίστηκαν από τις κλίσεις της πρώτης παραγώγου της εξίσωσης :

$$C = C_0 \times \exp(-k \times t)$$

Όπου,

C = Η τιμή της παραμέτρου τη στιγμή t

C₀= Η αρχική τιμή της παραμέτρου (χρόνος 0)

t = Ο χρόνος αποθήκευσης

Επίσης, ο χρόνος ημιζωής των παραμέτρων υπολογίστηκε από την εξίσωση:

$$t_{1/2} = \ln(2)/k.$$

Οι τιμές των σταθερών k καθώς και οι χρόνοι ημίσειας ζωής αναφέρονται στον Πίνακα 8.7

Πίνακας 8.7: Οι σταθερές της μείωσης (k), οι χρόνοι ημίσειας ζωής για τη μείωση των ολικών πολυφαινόλων, της ικανότητας αναγωγής της ελεύθερης ρίζας DPPH· και της ικανότητας αναγωγής του Fe^{+3}

Δείγμα	Ολικές πολυφαινόλες			Ικανότητα αναγωγής DPPH·			Ικανότητα αναγωγής Fe^{+3}		
	k (d^{-1})	$t_{1/2}$ (d)	R	k (d^{-1})	$t_{1/2}$ (d)	R	k (d^{-1})	$t_{1/2}$ (d)	R
FF γιαούρτια									
FFSdAG	0,020	34,7	0,932	0,058	11,8	0,989	0,020	34,0	0,975
FFSdM	0,023	30,1	0,947	0,040	17,5	0,999	0,022	31,5	0,993
FFStAG	0,024	28,9	0,922	0,056	12,4	0,989	0,022	31,5	0,974
FFStM	0,022	31,5	0,971	0,065	10,7	0,988	0,011	63,0	0,988
NF γιαούρτια									
NFSdAG	0,013	53,3	0,989	0,029	24,0	0,978	0,013	54,6	0,928
NFSdM	0,019	36,5	0,976	0,039	17,7	0,950	0,016	43,1	0,953
NFStAG	0,021	33,0	0,967	0,039	17,8	0,988	0,014	49,5	0,982
NFStM	0,015	46,2	0,970	0,037	18,7	0,975	0,009	77,0	0,985

k = η σταθερά μείωσης της κινητικής εξίσωσης 1^{ης} τάξης

$t_{1/2}$ = χρόνος ημίσειας ζωής

d = ημέρα

Από τον Πίνακα 8.7 φαίνεται ότι σε όλα τα FF δείγματα οι ρυθμοί μείωσης των ολικών πολυφαινόλων, της ικανότητας αναγωγής της ελεύθερης ρίζας DPPH καθώς και της ικανότητας αναγωγής του Fe^{+3} ήταν υψηλότεροι από ότι στα NF δείγματα. Αντίστροφα οι χρόνοι ημιζωής ήταν μεγαλύτεροι στα NF δείγματα σε σχέση με τα αντίστοιχα εμπλουτισμένα FF δείγματα. Αυτό πιθανότατα οφείλεται στο γεγονός ότι τα FF δείγματα περιέχουν περισσότερα λιποσφαίρια. Οι μεμβράνες των λιποσφαιρίων είναι πλούσιες σε φωσφολιπίδια, τα οποία είναι πλούσια σε πολυακόρεστα οξέα, γεγονός που τα καθιστά ευοξειδωτά (Fox, 2002). Στις μεμβράνες των λιποσφαιρίων όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως προσροφούνται και φλαβονοειδή (Luo, Murray, Yosoff, Morgan, Povey, & Day, 2011), τα οποία περιέχονται στα εκχυλίσματα που προσθέσαμε στα δείγματα. Έτσι φαίνεται ότι τα φλαβονοειδή «θυσιάζονται» για να προστατέψουν τα λιπαρά από την οξείδωση.

Κεφάλαιο 9^ο : . ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η παραγωγή λειτουργικών τροφίμων που περιέχουν προβιοτικούς μικροοργανισμούς και πολυφαινόλες με ευεργετικές για την ανθρώπινη υγεία ιδιότητες παρουσιάζει ενδιαφέρον. Προς αυτή την κατεύθυνση έχουν γίνει αρκετές προσπάθειες για τον εμπλουτισμό γιαουρτιών με πλούσια σε πολυφαινόλες συστατικά, όπως εκχύλισμα κρασιού (Howard, Nigdikar, Rajput-Williams, & Williams, 2000), πυκνογενόλη, εκχύλισμα από φλοιό πεύκου (Ruggeri, Straniero, Pacifico, Aguzzi, & Virgili, 2008), εκχύλισμα από κυδώνι (Trigueros, Perez - Alvarez, Viuda-Martos, & Sendra, 2011), εκχύλισμα τσαγιού (Najgebauer-Lejko, Sady, Grega, & Walczycka, 2011).

Η παρούσα έρευνα έδειξε ότι τα εκχυλίσματα από γίγαρτα και βόστρυχες δύο δημοφιλών Ελληνικών ποικιλιών σταφυλιού μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον εμπλουτισμό γιαουρτιών με πλήρη ή μειωμένα λιπαρά. Η προσθήκη των εκχυλισμάτων σε γιαούρτια που περιείχαν 4% ή 0% λιπαρά, δεν επηρέασε τη δομή, το pH και τη μικροβιακή χλωρίδα των εμπλουτισμένων δειγμάτων σε σύγκριση με τα δείγματα ελέγχου. Επίσης η υφή και η γεύση των γιαουρτιών δεν επηρεάστηκαν. Στο χρώμα οι μεταβολές δεν ήταν εύκολα εμφανείς με γυμνό οφθαλμό, όμως κατά την αξιολόγηση των δειγμάτων με χρωματόμετρο, αποδείχτηκε ότι υπήρχαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των μαρτύρων και των δειγμάτων. Όλα τα εμπλουτισμένα γιαούρτια παρουσίασαν μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα καθώς και καλύτερη ικανότητα δέσμευσης ελευθέρων ριζών καθ' όλη τη διάρκεια αποθήκευσής τους (4 εβδομάδες). Επίσης παρατηρήθηκε ότι η παρουσία των λιπαρών αύξησε την απόδοση του εμπλουτισμού των γιαουρτιών με πολυφαινόλες, ενώ παράλληλα επιτάχυνε τη μείωση της συγκέντρωσής τους με την πάροδο του χρόνου, λόγω της κατανάλωσής τους για την προστασία των λιπιδίων από την οξείδωση.

Θα πρέπει επίσης να αναφερθεί ότι ο εμπλουτισμός των γιαουρτιών ήταν επιτυχής όταν η προσθήκη των εκχυλισμάτων έγινε σε έτοιμη γιαούρτι. Όταν τα εκχυλίσματα προστέθηκαν πριν τη ζύμωση του προϊόντος, δεν κατέστη δυνατή η ανίχνευση πολυφαινολών στο τελικό προϊόν ενώ τα γιαούρτια δεν παρουσίασαν αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Το γεγονός αυτό ίσως να οφείλεται στις βιοχημικές διεργασίες και τη μετουσίωση των πρωτεϊνών του γάλακτος που λαμβάνουν χώρα κατά τη γαλακτική ζύμωση.

Τα εκχυλίσματα από υποπροϊόντα οινοποιίας, μπορούν να αποτελέσουν ένα ενδιαφέροντα μέσον εμπλουτισμού των γιαουρτιών. Έτσι το προβιοτικό αυτό προϊόν, το οποίο προσελκύει όλο και περισσότερο καταναλωτικό κοινό, λόγω των ευεργετικών για την υγεία ιδιοτήτων του, μπορεί να αποκτήσει και αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Με τον τρόπο αυτό επιτυγχάνεται παράλληλα και η αξιοποίηση/ανακύκλωση των υποπροϊόντων οινοποιίας.

Θα πρέπει να γίνει περαιτέρω έρευνα σχετικά με τη βιοδιαθεσιμότητα των πολυφαινόλων που προσλαμβάνονται από εμπλουτισμένα με πολυφαινόλες γιαούρτια. Επίσης, αντικείμενα για περαιτέρω έρευνα μπορούν να αποτελέσουν η επίδραση της παρουσίας λιπαρών σε σχέση με την απόδοση εμπλουτισμού τροφίμων με πολυφαινόλες, καθώς και η αιτία αποτυχίας εμπλουτισμού γιαουρτιών με πολυφαινόλες, όταν αυτές προστίθενται πριν τη ζύμωση.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ

Πίνακας 1: Τιμές L^ , a^* , b^**

ΔΕΙΓΜΑ	L^*	a^*	b^*
FF	98,3	-1,74	10,59
FF	97,58	-1,7	10,35
FF	98,6	-1,74	10,52
FFSdM	96,96	-0,36	10,5
FFSdM	96,07	-0,4	10,55
FFSdM	95,56	-0,38	10,67
FFSdAG	94,33	-0,11	8,57
FFSdAG	95,22	-0,03	8,64
FFSdAG	94,26	-0,03	8,59
FFSdAG	94,79	-0,03	8,72
FFStM	95,48	-0,37	9,21
FFStM	96,17	-0,61	10,24
FFStM	96,17	-0,7	10,47
FFStAG	92,5	-0,24	9,61
FFStAG	94,03	-0,25	9,91
FFStAG	95,69	-0,28	9,89
NF	95,46	-2,82	11,85
NF	95,99	-2,89	12,12
NF	96,15	-2,86	12,07
NF	97,59	-2,89	12,09
NFSdM	95,52	-1,11	11,89
NFSdM	95,02	-1,17	12,13
NFSdM	95,59	-1,23	12,19
NFSdAG	92,44	-0,39	9,65
NFSdAG	92,67	-0,28	9,44
NFSdAG	90,37	-0,43	9,46
NFStM	95,16	-1,48	11,68
NFStM	95,82	-1,59	11,47
NFStM	95,74	-1,57	11,26
NFStAG	92,96	-1,17	11,42
NFStAG	92,27	-1,2	11,3
NFStAG	92,14	-1,25	11,25

Πίνακας 2: pH των δειγμάτων γιαουρτιού

ΔΕΙΓΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ (ΗΜΕΡΕΣ)				
	1	7	14	21	32
FFC	4,42	4,32	4,35	4,31	4,38
FFC	4,48	4,52	4,45	4,45	4,38
FFSdM	4,49	4,33	4,41	4,39	4,39
FFSdM	4,43	4,49	4,47	4,45	4,41
FFSdAG	4,43	4,37	4,38	4,33	4,36
FFSdAG	4,45	4,47	4,40	4,41	4,42
FFStM	4,50	4,40	4,41	4,39	4,42
FFStM	4,42	4,50	4,43	4,45	4,34
FFStAG	4,46	4,39	4,41	4,38	4,39
FFStAG	4,58	4,51	4,35	4,40	4,35
NF	4,46	4,44	4,46	4,34	4,42
NF	4,50	4,36	4,38	4,42	4,28
NFSdM	4,43	4,47	4,36	4,34	4,38
NFSdM	4,37	4,33	4,48	4,38	4,26
NFSdAG	4,34	4,46	4,45	4,48	4,28
NFSdAG	4,46	4,36	4,31	4,36	4,42
NFStM	4,48	4,44	4,46	4,30	4,31
NFStM	4,32	4,38	4,36	4,36	4,39
NFStAG	4,36	4,32	4,37	4,35	4,42
NFStAG	4,42	4,48	4,39	4,43	4,26

Πίνακας 3: Λογάριθμοι των πληθυσμών των λακτοβακίλλων ($\log \text{ cfu/g}$) στα δείγματα γιαουρτιού

ΔΕΙΓΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ (ΗΜΕΡΕΣ)				
	1	7	14	21	32
FFC	5,32	5,73	5,01	4,78	3,59
FFC	5,88	5,09	5,41	4,69	3,89
FFSdM	5,75	5,72	5,19	4,53	3,71
FFSdM	5,36	5,37	5,29	4,73	3,55
FFSdAG	5,61	4,90	4,90	4,25	3,24
FFSdAG	5,53	5,00	5,10	4,68	3,68
FFStM	5,85	5,44	5,57	4,53	3,98
FFStM	5,23	5,57	5,71	4,82	3,84
FFStAG	5,83	5,07	5,57	4,30	3,79
FFStAG	5,41	5,41	5,19	4,50	4,16
NF	6,30	7,08	5,72	5,44	4,00
NF	6,38	6,16	6,54	6,34	4,90
NFSdM	6,78	6,94	6,26	6,46	4,97
NFSdM	6,10	6,40	6,84	5,80	4,71
NFSdAG	6,77	6,16	6,39	6,26	4,06
NFSdAG	6,99	6,98	7,05	6,15	4,60
NFStM	6,36	6,62	6,34	6,17	4,56
NFStM	6,80	6,21	6,71	6,59	5,20
NFStAG	6,01	6,18	6,61	6,22	4,98
NFStAG	6,89	7,09	6,07	6,11	4,58

Πίνακας 4. Ολικές πολυφαινόλες στα δείγματα γιαουρτιού (mg GAE / 100g νωπού βάρους)

ΔΕΙΓΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ (ΗΜΕΡΕΣ)				
	1	7	14	21	32
FF	12,00	10,22	8,50	6,00	5,26
FF	7,68	9,43	8,76	6,30	5,96
FF	6,79	15,73	7,30	6,40	4,71
FFSdM	13,73	12,51	14,05	15,38	6,49
FFSdM	13,91	14,00	12,34	8,13	6,55
FFSdM	15,31	15,32	15,18	8,60	8,07
FFSdAG	12,96	12,80	11,16	7,98	6,77
FFSdAG	13,25	12,56	10,57	7,25	7,83
FFSdAG	12,62	12,34	10,67	7,56	7,98
FFStM	17,40	10,9	10,5	8,7	6,0
FFStM	12,36	12,5	10,9	12,7	7,4
FFStM	13,56	10,5	11,3	8,0	7,0
FFStAG	12,79	15,8	15,0	10,0	6,0
FFStAG	10,95	14,8	11,9	9,0	7,1
FFStAG	13,38	14,6	15,4	8,0	6,4
NF	5,08	4,87	5,99	4,78	3,08
NF	5,00	5,10	3,20	4,72	3,24
NFSdM	9,04	8,10	7,19	6,10	5,00
NFSdM	9,59	8,09	8,92	6,80	5,37
NFSdM	9,87	9,23	7,59	5,00	5,58
NFSdAG	8,26	6,42	6,32	5,73	4,94
NFSdAG	6,56	7,07	6,29	5,34	4,31
NFSdAG	7,33	7,82	6,56	6,39	5,26
NFStM	6,79	6,39	5,79	5,40	5,33
NFStM	7,45	5,01	5,13	4,86	3,71
NFStM	7,16	5,71	5,79	4,13	3,58
NFStAG	7,29	7,66	6,45	5,71	6,29
NFStAG	6,57	6,22	5,16	4,51	5,51
NFStAG	8,83	8,40	5,93	5,12	4,91

Πίνακας 5.: Ικανότητα δέσμευσης ελεύθερης ρίζας DPPH των δειγμάτων γιαουρτιού (mg TE /100g νωπού βάρους)

ΔΕΙΓΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ (ΗΜΕΡΕΣ)				
	1	7	14	21	32
FF	518,10	360,42	350,41	307,86	182,71
FF	524,11	415,48	385,45	327,88	207,74
FFSdM	1531,77	1151,33	858,49	688,30	412,98
FFSdM	1606,86	1276,48	898,54	703,31	470,55
FFSdAG	1454,18	993,65	838,47	433,00	220,26
FFSdAG	1514,25	1068,74	861,00	458,03	250,29
FFStM	1724,50	968,62	748,37	387,95	247,79
FFStM	1773,81	871,01	715,83	357,91	192,72
FFStAG	1430,41	1133,81	951,10	600,70	254,04
FFStAG	1646,91	1183,62	823,45	558,15	264,06
NF	603,20	588,18	483,06	489,32	305,35
NF	648,25	628,23	513,09	530,61	330,38
NFSdM	1196,39	1096,27	768,39	740,86	325,38
NFSdM	1296,50	1211,40	893,54	830,96	360,42
NFSdAG	1051,22	1013,67	773,40	694,55	400,46
NFSdAG	1171,36	1038,70	874,76	743,36	480,56
NFStM	1273,98	1013,67	728,34	675,78	312,86
NFStM	903,55	913,56	825,96	620,72	360,42
NFStAG	1276,48	961,11	688,30	613,21	382,94
NFStAG	1163,85	1196,39	780,90	688,30	336,64

Πίνακας 6.: Αναγωγική δύναμη των δειγμάτων γιαουρτιού -Ferric ion reducing power- (mg AAE /100g νωπού βάρους)

ΔΕΙΓΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ (ΗΜΕΡΕΣ)				
	1	7	14	21	32
FF	83,65	104,42	89,76	56,23	90,00
FF	108,32	103,86	104,89	81,15	117,33
FF	43,49	101,64	121,94	99,14	121,70
FFSdM	261,42	191,13	175,54	168,20	112,95
FFSdM	307,97	243,62	220,35	205,47	142,18
FFSdM	314,57	247,79	216,66	208,71	150,66
FFSdAG	192,61	183,42	181,22	121,10	95,42
FFSdAG	235,06	228,27	161,22	156,17	120,02
FFSdAG	242,89	220,18	399,03	157,04	122,46
FFStM	123,11	158,07	108,53	130,85	96,82
FFStM	176,79	187,87	135,32	144,93	121,50
FFStM	181,87	186,50	128,67	147,19	135,16
FFStAG	172,42	168,26	153,06	159,72	84,57
FFStAG	217,69	203,91	197,12	216,16	108,93
FFStAG	224,95	202,25	188,28	198,73	112,65
NF	95,47	98,48	96,53	28,16	101,17
NF	114,23	123,00	114,41	130,23	123,38
NF	114,95	126,60	115,30	109,11	128,54
NFSdM	245,53	201,58	122,34	125,00	146,35
NFSdM	275,78	250,10	211,87	211,95	173,88
NFSdM	286,89	251,09	216,63	164,14	176,83
NFSdAG	192,83	228,78	208,57	192,51	155,28
NFSdAG	229,55	230,72	225,94	207,24	151,35
NFSdAG	238,91	219,45	399,03	211,96	152,97
NFStM	119,26	113,61	123,71	109,68	105,49
NFStM	149,48	133,50	145,87	133,36	125,50
NFStM	159,55	149,56	152,32	141,06	127,40
NFStA	159,24	164,86	156,29	125,86	91,94
NFStA	200,08	182,01	183,28	154,82	133,69
NFStA	209,40	196,29	198,14	155,52	125,69

Βιβλιογραφία

Abu-Amsa, C., Croft, K., Puddey, I., Proudfoot, J., & Beilin, L. (1996). Phenolic content of various beverages determines the extent of inhibition of human serum and low-density lipoprotein oxidation in vitro: identification and mechanism of action of some cinnamic acid derivatives from red wine. *Clinical Science*, 91, 449-58.

Adolfsson, O., Meydani, S., & Russel, R. (2004). Yoghurt and gut function. *American Journal of Clinical Nutrition*, 80, 245-56.

Allgeyer, L., Miller, M., & Lee, S. (2010). Drivers of liking for yoghurt drinks with prebiotics and probiotics. *Journal of Food Science*, 75, S212-S219.

Arnous, A., Makris, D., & Kefalas, P. (2002). Correlation of pigment and flavanol content with antioxidant properties in selected aged regional wines from Greece. *Journal of Food Composition and Analysis*, 15, 655 - 656.

Asami, D., Hong, Y., Barrett, D., & Mitchell, A. (2003). Comparison of the total phenolic and ascorbic acid content of freeze-dried and air-dried marionberry, strawberry and corn growing using conventional, organic and sustainable agricultural practices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 1237-1241.

Bernardeau, M., Vernoux, J., Dubemet, S., & Guegen, M. (2008). Safety assessment of dairy microorganisms: *Lactobacillus* genus. *International Journal of Food Microbiology*, 26(3), 278-85.

Besle, J., Viala, D., Martin, B., Pradel, P., Meunier, B., Berdagué, J.L., Fraise, D., Lamaison, J.L., Coulon, J.B. (2010.). Ultraviolet - absorbing compounds in milk are related to forage polyphenols. *Journal of Dairy Science*, 93, 2846 - 2856.

Birollo, G., Reinheimer, J., & Vinderola, C. (2000). Viability of lactic acid microflora in different types of yoghurt. *Food Research International*, 33, 799 - 805.

Breslaw, E., & Kleyn, D. (1973). In vitro digestibility of protein in yoghurt at various stages of processing. *Journal of Food Science*, 38, 1016-1021.

Bugianesi, R., Catasta, G., Spingo, P., D'Uva, A., & Maiani, G. (2002). Naringenin from cooked tomato paste is bioavailable in men. *Journal of Nutrition*, 132, 3349 - 3352.

Bütikofer, U., Eberhard, P., Sieber, R., Fuchs, D. (1995). Über Veränderungen der freien Aminosäuren während der Lagerung von Joghurt. *Schweizerische Milchwirtschaftliche Forschung*. 24 (1), 3-6

Buttriss, J. (1997). Nutritional properties of fermented milk products. *International Journal of Dairy Technology*, 50 (1), 21-27.

Campbell-platt, G. (1987). *Fermented Foods of the World: a dictionary and guide*. London: Butterworths.

Chandan, R. (2002). Benefits of live fermented milks: Present diversity of products. *Proceedings of International Dairy Congress*. Paris.

Chandan, R. C. (1982). Chandan RC. 1982. Fermented dairy products. In P. a. Dunn, *Industrial Microbiology* .4th edition , 113 -184. Westport, CT: AVI publication.

Chandan, R. (1999). Enhancing market value of milk by adding cultures. *Journal of Dairy Science* , 82, 2245 - 2256.

Chandan, R. (2006). History and consumption trends. In W. C. R.C. Chandan, *Manufacturing Yoghurt and Fermented milks* .1st edition . Iowa: Blackwell Publishing.

Chandan, R., & O'Reil, K. (2006). Yoghurt plant :Quality assurance. In R. Chandan, H. White, A. Kilara, & H. Hui, *Manufacturing yoghurt and fermented milks*. 247 - 265. Blackwell Publishing.

Chandan, R., & Shahani, K. (1995). Other fermented dairy products. In G. Reed, & T. Nagodawithana, *Biotechnology. Enzymes, Biomass, Food and Feed*. 2nd edition , Vol. 9, 386 - 418. Weinheim, Germany, VCH publications.

Chandman, R., & O' Reil, K. (2006). Manufacture of various types of yoghurt. In R. Chandman, *Manufacturing Yoghurt and Fermented Milks*. Iowa , USA: Blackwell Publishing.

Clifford, M. (2000). Chlorogenic acids and other cinnamates:nature, occurrence, dietary burden, absorption and metabolism. *Journal of the Science and Food and Agriculture*, 80, 1033-1043.

Dave, R., & Shah, N. (1997). Viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made from commercial starter cultures. *Internation Dairy Journal* , 17, 31-41.

Deeth, H., & Tamime, A.Y (1981). Yoghurt: nutritive and theraputic aspects. *Journal of Food Protection*, 44, 78 - 86.

Del Rio, D., Costa, L., Lean, M., & Crozier, A. (2010). Polyphenols and health: What compounds are involved. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*, 20, 1-6.

Desmaison, A., Pascaud, H., & Tixier, M. (1990). Science des Aliments.

Dubick, M., & Omaye, S. (2006). Grape wine and tea polyphenols inthe modulation of atherosclerosis and heart disease. In R. Wildman, *Nutraceuticals and functional foods*, 101 - 130. CRC Press.

Eurolex. (2002). *EUR-lex*. Ανάκτηση από <http://eur-lex.europa.eu/el/index.htm>

Ferguson, R. (2001). Role of plant polyphenols in genomic stability (Review). *Mutation Research* . 475, 89 - 111.

Ferguson, P., Kurowska, E., Freeman, D., Chambers, A., & Koropatnick, D. (2004). A flavonoid fraction from cranberry extract inhibits poliferation of human tumor cell lines. *Journal of Nutrtition*, 134 , 1529-1535.

Fernandes, C., Chandan, R., & Shahani, K. (1992). Fermented dairy products and health. In B. Wood, Lactic Acid Bacteria . Vol 1, 279 -339. New York: Elsevier.

Fox, P. F. (2002). Fat globules in milk. In J. W. Fuquay, P. F. Fox, & H. Roginski (Eds.), *Encyclopedia of dairy sciences*. 1564-1568. Academic Press.

Frankel, E., Waterhouse, A., & Teissedre, P. (1995). Principal phenolic phytochemicals in selected California wines and their antioxidant activity in inhibiting oxidation of human low density lipoproteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 890 -994.

Fresco, P., Borges, F., Diniz, C., & Marques, M. (2006). New insights on the anticancer properties of dietary polyphenols. *Medicinal Research Reviews* , 26(6) , 747 - 66.

Gallagher, C.R., Molleson, A.L, & Caldwell, J.H. (1974). Lactose intolerance and fermented dairy products. *Journal of the American Dietetics Association*, 65, 418.

Guendez, R., Kallithraka, S., Makris, D., & Kefalas, P. (2005). An analytical survey of the polyphenols of seeds of varieties of grape (*Vitis vinifera* sp.) cultivated in Greece: implications for exploitation as a source of value - added phytochemicals. *Phytochemical analysis*. 16, 17 - 23.

Haddad, K. (2003). Surviving of Salmonella in bio-yoghurt. *International Journal of Dairy Technology* , 56 (4), 199-202.

Hassan, A., & Frank, J. (2001). Starter cultures and their use. In E. Marth, & J. Steele, *Applied Microbiology* . 2nd edition. 151-205. New York, Mercel Dekker.

Hepner, G., Fried, R., Joer, S., Fusetti, L., & Morin, R. (1979). Hypocholesterolemic effect of yogurt and milk. *American Journal of Clinical Nutrition*, 32 (1), 19-24.

Hertog, M., Hollman, P., & Van de Putte, B. (1993). Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusions, wines and fruit juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41, 1242 - 1246.

Heyman, M. (2000). Effect of Lactic Acid Bacteria on Diarrheal Diseases. *Journal of the American College of Nutrition* , 19, 137S-146S.

Holland, B., Welch, A., Unwin, I., Buss, D., Paul, A., & Southgate, D. (1991). The Composition of Food. In McCance, & Widdowson. Cambridge: The Royal Society of Chemistry.

IFIC. (2006). <http://ific.org/nutrition/functional/Index.cfm>.

Ioannides, C., & Yoxall, V. (2003). Antimutagenic activity of tea:role of polyphenols. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care* , 6, 649 - 656.

Jay, J. (1975). *International Flavours and Food Additives* .Vol. 6.

Ju, Z., & Howard, L. (2005). Subcritical water and sulphured water extraction of anthocyanins and other phenols from dried red grape skin. *Journal of Food Science* , 70, 270 - 276.

Kalogeropoulos, N., A., C., Ioannou, M., Karathanos, V., M., H., & Andrikopoulos, N. (2010). Nutritional evaluation and bioactive microconstituents (phytosterols, tocopherols, polyphenols, triterpenic acids) in cooked dry legumes usually consumed in the Mediterranean countries. *Food Chemistry* , 121, 682 - 690.

Kammerer, D., Claus, A., Schieber, A., & Carle, R. (2005). A novel process for the recovery of polyphenols from grape (*Vitis vinifera* L.) pomace. *Journal of Food Science* , 70, 157 - 163.

Karvela, E., Makris, D., Kalogeropoulos, N., & Karathanos, V. (2009a). Deployment of response surface methodology to optimise recovery of grape (*Vitis vinifera*) stem polyphenol. *Talanta* . 79 (5), 1311 - 1312.

Karvela, E., Makris, D., Kalogeropoulos, N., Karathanos, V., & Kefalas, P. (2009b). Factorial design optimisation of grape (*Vitis vinifera*) seed polyphenol extraction. *European Food Research and Technology* , 229 (5), 731 - 742.

Kiessling, G., Schneider, J., & Jahreis, G. (2002). Long- term consumption of fermented dairy products over 6 months increases HDL cholesterol. *European. Journal of Clinical Nutrition* . , 56 (9), 843-9.

Kneifel, W., Holub, S., & Wirthman, M. (1989). Monitoring of B-complex vitamins in yogurt during fermentation. *Journal of Dairy Research*, 56, 651-656.

Kurman J.A, R. J. (1992). *Encyclopedia of Fermented Fresh Milk Products*. New York: Van Nostrand Reinhold.

Kurman, J., Rasic, J., & Kroger, M. (1992). In *Encyclopedia of Fermented Fresh Milk Products*. New York, Van Nostrand Reinhold.

Labuza, T.P., & Riboh, D. (1982). Theory and application of Arrhenius kinetics to the prediction of nutrient losses in foods. *Food Technology*, 36, 66–74.

Lanningham - Foster, L., Chen, C., Chance, D., & Loo, G. (1995). Grape extract inhibits lipid peroxidation of human low density lipoprotein. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* , 18 (10), 1347 -1351.

Lee, D., & Lucey, J. (2010, September). Formation and Physical Properties of Yogurt. *Asian-Australian Journal of Animal Science.*, 23 (9), 1127 - 1136.

Lee, H., & Coates, G. (1999). Thermal pasteurization effects on color of red grapefruit juices. *Journal of Food Science*, 64, 636 - 666.

Lopez, V., & Lindsay, R. (1993). Metabolic conjugates as precursors for characteristising flavor compounds in ruminant milks. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41, 446 - 454.

Lucey, J., Munro, P., & Singh, H. (1998). Rheological properties and microstructure of acid milk gels as affected by fat content and heat treatment. *Journal of Food Science*, 63, 660 - 664.

Luo, Z., Murray, B., Yosoff, A., Morgan, M., Povey, M., & Day, A. (2011). Particle stabilizing effects of flavonoids at the water interface. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 59, 2636 - 2645.

Macheix, J., Fleuriet, A., & Billot, J. (1990). *Fruit phenolics*. Boca Raton, FL: CRC Press.

Makris, D., Boskou, G., & Andrikopoulos, N. (2007). Polyphenolic content and in vitro antioxidant characteristics of wine industry and other agri-food solid waste extracts. *Journal of Food Composition and Analysis* , 20, 125 -132.

Makris, D., Boskou, G., Chiou, A., & Andrikopoulos, N. (2008). An investigation on factors: affecting recovery of antioxidant phenolics and anthocyanins from red grape (*Vitis vinifera* L.) pomace employing water/ethanol - based solution. *American Journal of Food Technology*, 3, 164 - 173.

Manach, C., Morand, C., Gil-Izquierdo, A., Bouteloup-Demange, C., & Remesy, C. (2003). Bioavailability in humans of the flavanones hesperidin and narirutin after the ingestion of two doses orange juice. *European Journal of Clinical Nutrition* , 57, 235-242.

Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Remesy, C., & Jimenez, L. (2004). Polyphenols:Food sources and bioavailability. *American Journal of Nutrition*, 79, 727 -747.

Manach, C., Williamson, G., Morand, C., Scalbert, A., & Remesy, C. (2005). Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I, Review of 97 bioavailability studies. *American Journal Clinical Nutrition*, 81 (1), 230S-242S.

Mann, G., & Spoerry, A. (1974). Studies of a surfactant and cholesteremia in the Maasai. *American Journal of Clinical Nutrition*, 27, 464-469.

Marshall, V., & Tamime, A. (1997). *Microbiology and Biochemistry of Cheese and Fermented Milk* . 2nd edition . London, Blackie & Academic Professional.

Melendez-Martinez, A., Vicario, I., & Herendia, F. (2009). Effect of ascorbic acid on deterioration of carotenoids and color in ultrafrozen orange juice. *Journal of Food Composition and Analysis* , 22, 295 - 302.

Melendez-Martinez, A., Vicario, I., & Herendia, F. (2005). Instrumental measurement of orange juice color:A review. *Journal of Science of Food and Agriculture* , 85, 894 - 901.

Melgosa, M., Hita, E., Poza, A., Alman, D., & Berns, R. (1997). Suprathreshold color difference ellipsoids for surface colors. *Color Research and Application*, 22, 148-155.

- Moreno, Y., Collado, M., Ferrus, J., Hernandez, C., & Hernandez, M. (2005). Viability assessment of lactic acid bacteria in commercial dairy products stored at 4 using LIVE/DEAD BacLight™ staining and conventional plate counts. *International Journal of Food Science and Technology* , 41, 275-280.
- Morton, L., Caccetta, R., Puddery, I., & Croft, K. (2000). Chemistry and biological effects of dietary phenolic compounds: relevance to cardiovascular disease. *Clinical and Experimental . Pharmacology and Physiology*, 27, 152-159.
- Mullen, W., Edwards, C., & Crozier, A. (2006). Absorption, excretion and metabolite profiling of methyl-, glucuronyl-, glucosyl- and sulfo- conjugates of quercetin in human plasma and urine after ingestion of onions. *British Journal of Nutrition*, 96 , 107 -116.
- Najgebauer-Lejko, D., Sady, M., Grega, T., & Walczycka, M. (2011). The impact of tea supplementation on microflora, pH and antioxidant capacity of yoghurt. *International Dairy Journal* , 21, 568 - 574.
- O' Connella, J., & Fox, P. (2001). Significance and applications of phenolic compounds in the production and quality of milk and dairy products : A review. *International Dairy Journal* , 11, 103 - 112.
- OIV. (1990). Indice de Folin - Ciocalteu. In *Receuil des Methodes Internationales d'Analyses des Vins et des Mouts* . 269 - 270. Paris, OIV.
- Pazos, M., Gallardo, J., Torres, J., & Medina, I. (2005). Activity of grape polyphenols as inhibitors of the oxidation of fish lipids and frozen fish muscle. *Food Chemistry* , 92, 547 - 557.
- Pederson, C. (1979). In *Microbiology of Food Fermentation* (2nd Edition ed.). Connecticut: AVI.
- Pezzuto, J. (2008). Grapes and human health: a perspective. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* , 56, 6777 - 6784.

- Pinelo, M., Arnous, A., & Meyer, A. (2006). Upgrading of grapes skins significance of plant cell-wall structural components and extraction techniques for phenol release. *Trends in Food Science & Technology* , 17, 579 - 590.
- Rasic. (1987). Nutritive value of yoghurt. *Cultured Dairy Products Journal*. 22 (3), 6-9.
- Rawel, H., Kroll, J., & Hohland, U. (2001). Model studies on reactions of plant phenols with whey proteins. *Nahrung/Food* , 45, 72- 81.
- Rice-Evans, C., Miller, N., & Paganga, G. (1996). Structure - antioxidant activity relationships of flavonoids and phenoli acids. *Free Radical Biology & Medicine* , 20 (7), 933 - 956.
- Robinson, R. (1989). Special yoghurts : the potential benefits. *Dairy Industries International* , 54 (7), 23-25.
- Robinson, R. (1999). Yoghurt. In *Fermented milks*. UK: University of Reading, Academic Press.
- Robinson, R. (2002). Fermented milks. *Yoghurt Type and Manufacture*. In H Robinski, J.W. Fuquay, P.F. Fox, editors. Encyclopedia of Dairy science. London: Academic Press, 1055-1058
- Robinson, R., & Tamime, A. (1990). The Microbiology of Milk Products. In R. Robinson, *Dairy Microbiology* , .2, 291 -343. London: Elsevier Applied Science Publishers.
- Rodriguez, H., Curiel, J., Landete, J., De la Rivas, B., De Felipe, F., Gomez-Cordoves, C., Mancheno, J.M. Munoz, R.,. (2009.). Food phenolics and lactic acid bacteria. *Internation Journal of Food Microbiology* , 132, 79 - 90.
- Scalbert, A., & Williamson, G. (2000). Dietary Intake and Bioavailability of polyphenols. *Journal of Nutrition*, 130, 2073S-2085S.
- Shi, J., Yu, J., Pohorly, J., Young, J., Bryan, M., & Wu, Y. (2003). Optimization of the extraction of polyphenols from grape seed meal by aqueous ethanol solution. *Journal of Food Agriculture and the Environment* , 1, 42-47.

Silva, A., Pinheiro, A., Souza, C., Freitas, S., Vasconcellos, V., Freire, S., et al. (2008). The flavonoid rutin induces astrocyte and microglia activation and regulates TNF - α and NO release in primary glial cell cultures. *Cell Biology and Toxicology*, 24, 75-86.

Singleton, V. (1974). Analytical fractionation of the phenolic substances of grapes and wine and some practical uses of such analyses. In A. Webb, *Chemistry of Winemaking* , 184 - 211. Washington D.C., American Chemical Society.

Singleton, V., & Rossi, J. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic - phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144 - 158.

Singleton, V., Orthofer, R., & Lamuela-Raventos, R. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin -Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152- 178.

Sodini, I., & Tong, P. (2006). Milk and milk based dairy ingredients. In R. Chandan, C. White, A. Kilara, & H. Hui. *Manufacturing yoghurt and fermented milks* , 167 - 168.

Soleas, G., & Goldberg, D. (1999). Analysis of antioxidant wine polyphenols by gas chromatography mass spectrometry. *Methods in Enzymology*, 229, 137-151.

Soleas, G., Diamandidis, E., & Goldberg, D. (1997). Wine as a biological fluid: history, production and role in disease prevention. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 11 (5), 287 - 313.

Sozzi, T., & Smiley, M. (1980). Antibiotic resistances of yoghurt starter cultures *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*. *Applied and Environmental Microbiology* , 40 (5), 862-865.

Spingo, G., Tramelli, L., & De Faveri, D. (2007). Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc polyphenolics. *Journal of Food Engineering*, 81, 200 - 208.

Taiz, L., & Zeiger, E. (1998). Plant defenses. In *Plant Physiology*. 2nd edition . Sunderland: Sinauer Associates.

Tamime A.Y., R. R. (1999). *Yoghurt, Science and Technology* (Second edition ed.). Cambridge, Woodhead Publishing Limited.

Vinson, J., & Hontz, B. (1995). Pnenol antioxidant index: comparative antioxidant effectiveness of red and white wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 401-403.

Waterhouse, A. (2002). Determination of total phenolics. In *Current Protocols in Food Analytical Chemistry* , 1.1.1 - 1.1.8.

Wildman Robert E.C., K. M. (2007). *Neutraceuticals and Functional Foods*. Boca Raton: CRC Press.

www.hunterlab.com. (2001). The Basics of color perception and measurments.

Yilmaz, Y., & Toledo, R. (2006). Oxygen radical absorbance capacities of grape / wine industry by products and effect of solvent type on extraction of grape seed polyphenols. *Journal of Food Composition and Analysis* , 19, 41-48.

Zheng, Y., Hu, J., Murphy, P., Alekel, D., Franke, W., & Hendrich, S. (2003). Rapid gut transit time and slow fecal isoflavone disapperarance phenotype are associated with greater genistein bioavailability in women. *Journal of Nutrition*, 133, 3110 - 3116.

Zubik, L., & Meydani, M. (2003). Biavailability of soyabean isoflavones from aglycone and glucoside forms in American women. *Americal Journal of Clinical Nutritrion*, 77, 1459 -65.

ΓΧΚ. (2009). *Κώδικας Τροφίμων και Ποτών*. Ανάκτηση από <http://www.gcs1.gr/media/trofima/82-iss1.pdf>

Ιωάννου, Μ. (2007). Μεταπτυχιακή διατριβή. Αντιοξειδωτικό περιεχόμενο και αντιοξειδωτική δράση ξηρών καρπών και οσπρίων από την ελληνική αγορά. Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο.

Κεχαγιας, Χ. (1997). *Ποιότητα Γάλακτος και Γαλακτοκομικών προϊόντων*. Αθήνα, ΙΩΝ.

Κουντούρη, Α. (2007). Διδακτορική διατριβή. Μελέτη της βιολογικής και αντιοξειδωτικής δράσης συστατικών τροφίμων και φυσικών προϊόντων. Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο.

Χίου, Α. (2003). *Φυτικοχημεία και Χημεία τροφίμων.Σημειώσεις Φροντιστηρίου*. Χαροκοπειο Πανεπιστημιο.

Χίου, Α., Καλογερόπουλος, Ν., & Ανδρικόπουλος, Ν. (2010). Λειτουργικά τρόφιμα και συγγενείς κατηγορίες. Στο Ν. Κατσιλάμπρος, *Κλινική Διατροφή*. Αθήνα, Εκδόσεις Βήτα. 24, 259 - 274.