



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ  
ΑΙΓΑΙΟΥ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΙΓΑΙΟΥ  
ΣΧΟΛΗ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ  
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**ΘΕΜΑ:** Προσδιορισμός προβλεπόμενης βιοδιαθεσιμότητας βιοδραστικών συστατικών καινοτόμων νιφάδων βρώμης και κλινική μελέτη ελέγχου της επίδρασης τους σε μεταβολικούς βιοδείκτες



Όνοματεπώνυμο: Στυλιανού Μαρία Ελένη

A.M.: 6112019133

Μέλη Τριμελούς Εξεταστικής Επιτροπής:

Κουτελιδάκης Αντώνιος (Επιβλέπων)

Γκιαούρης Ευστάθιος

Αργυρίου Αναγνώστης

DEPARTMENT OF FOOD SCIENCE AND NUTRITION (D.F.S.N.)

**Title:** Determination of predicted bioavailability of bioactive components of innovative oat flakes and clinical control study of their effect on metabolic biomarkers

Λήμνος, Σεπτέμβριος 2023

### **Ευχαριστίες**

Η παρούσα Διπλωματική Εργασία πραγματοποιήθηκε στα πλαίσια της ολοκλήρωσης των σπουδών μου στο τμήμα Επιστήμης και Διατροφής του Πανεπιστημίου Αιγαίου. Πρώτα απ' όλα, θέλω να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή μου κ. Αντώνιο Κουτελιδάκη, για την εμπιστοσύνη που έδειξε στο πρόσωπό μου, την υποστήριξη, τη συνεργασία και την καθοδήγησή του, ώστε να ολοκληρώσω με επιτυχία την πτυχιακή μου εργασία. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα και την κα Πανωραία Μπουσδούνη, υποψήφια Διδάκτορα στη διατροφή του ανθρώπου, για την ανεκτίμητη καθημερινή βοήθειά της, την τεχνογνωσία και την υποστήριξή της – παράγοντες που ήταν καθοριστικοί για την πρόοδο και την ολοκλήρωση της Διπλωματικής Εργασίας μου.

Δράττομαι της ευκαιρίας να ευχαριστήσω θερμά και τον καθηγητή μου κ. Δημήτρη Σαρρή που πίστεψε σε μένα και με δική του προτροπή και ενθάρρυνση συμμετείχα και ολοκλήρωσα το τελευταίο βμηνο των σπουδών μου μέσω Erasmus στο Πανεπιστήμιο Wageningen της Ολλανδίας. Εμπειρία πολύτιμη σε κάθε επίπεδο που θα θυμάμαι πάντα.

Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στην οικογένειά μου για όλη τη βοήθεια και την ενθάρρυνση κατά τη διάρκεια της ακαδημαϊκής μου σταδιοδρομίας.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Περίληψη .....	6
Abstract .....	7
Θεωρητικό Μέρος .....	8
Εισαγωγή.....	8
<b>Κεφάλαιο 1: Λειτουργικά τρόφιμα.....</b>	<b>8</b>
1.1 Ορισμός & Ιστορικά στοιχεία .....	8
1.2 Κατηγορίες λειτουργικών τροφίμων.....	8
1.2.1 Ποια θεωρούνται λειτουργικά; .....	8
1.2.2 Παραδείγματα λειτουργικών τροφίμων και επίδραση στην υγεία του ανθρώπου .....	10
1.3 Βιοδραστικά συστατικά των λειτουργικών τροφίμων.....	10
1.4 Μέθοδοι προσδιορισμού των βιοδραστικών συστατικών των λειτουργικών τροφίμων.....	13
1.4.1 Μέθοδοι προσδιορισμού των αντιοξειδωτικών συστατικών .....	13
1.5 Βιοδιαθεσιμότητα των βιοδραστικών συστατικών των λειτουργικών τροφίμων.....	13
1.5.1 Εισαγωγή στην έννοια της βιοδιαθεσιμότητας των βιοδραστικών συστατικών ..	13
1.5.2 Διαδικασίες απορρόφησης και βιοπροσβασιμότητας των βιοδραστικών συστατικών .....	14
1.5.3 Παράγοντες που επηρεάζουν τη βιοδιαθεσιμότητα των βιοδραστικών συστατικών .....	15
1.5.4 Μέθοδοι εκτίμησης της βιοδιαθεσιμότητας των βιοδραστικών συστατικών in vitro .....	16
1.6 Μικροχλωρίδα του εντέρου .....	16
<b>Κεφάλαιο 2: Προβιοτικά.....</b>	<b>17</b>
2.1 Ορισμός & Προβιοτικοί Μικροοργανισμοί .....	17
2.2 Πηγές προβιοτικών .....	17
2.2.1 Γιαούρτι.....	17
2.2.2 Γάλα .....	18
2.2.3 Φέτα.....	18
2.2.4 Κεφίρ.....	18
2.3 Οφέλη προβιοτικών στην υγεία του ανθρώπου .....	19
2.3.1 Αντιμετώπιση και πρόληψη γαστρεντερικών διαταραχών.....	19
2.3.2 Παχυσαρκία και διαβήτης .....	19
2.3.3 Επίδραση σε βιοδείκτες λιπαιμίας & γλυκαιμίας .....	19
2.3.4 Μηχανισμοί προσαρμογής στον ξενιστή.....	19
2.3.5 Κριτήρια επιλογής των προβιοτικών μικροοργανισμών .....	20
<b>Κεφάλαιο 3: Βρώμη.....</b>	<b>20</b>

3.1 Ορισμός.....	20
3.2 Φυτικές Ίνες.....	21
3.3 Χημεία των διαιτητικών ινών .....	22
3.3.1 Πολυσακχαρίτες .....	22
3.3.2 Λιγνίνη.....	23
<b>Ερευνητικό Μέρος .....</b>	<b>26</b>
<b>Σκοπός πειραματικής μελέτης .....</b>	<b>26</b>
<b>Κεφάλαιο 4: Πειραματική Πορεία .....</b>	<b>26</b>
<b>Μέρος Α: Προσδιορισμός προβλεπόμενης γλυκαιμικής απόκρισης βρώμης εμπλουτισμένης με     προβιοτικά μέσω in vitro γαστρεντερικής πέψης .....</b>	<b>26</b>
4.1 Υλικά και Μέθοδοι.....	26
4.1.1 Προετοιμασία δειγμάτων βρώμης .....	26
4.1.2 Προετοιμασία Δειγμάτων .....	26
4.2 Προσδιορισμός προβλεπόμενης γλυκαιμικής απόκρισης σε δείγματα βρώμης μέσω in vitro προσομοίωσης γαστρεντερικής πέψης.....	27
4.2.2 Υλικά .....	27
4.2.3 Δείγματα .....	27
4.2.4 Αρχή της Μεθόδου .....	27
4.2.5 Πειραματική Διαδικασία.....	27
Στοματική Φάση.....	27
Γαστρική Φάση.....	27
Εντερική Φάση .....	28
4.3 Διαδικασία προσδιορισμού γλυκαιμικής απόκρισης - Μέθοδος 3,5 – Dinitrosalicylic acid (DNS) .....	29
4.3.1 Αρχή της Μεθόδου .....	29
4.3.2 Πειραματική Διαδικασία.....	29
.....	29
4.3.3 Κατασκευή πρότυπης καμπύλης αναφοράς .....	29
<b>Μέρος Β: Διερεύνηση της επίδρασης προβιοτικών στελεχών ακινητοποιημένα σε βρώμη σε βιοδείκτες αίματος και ούρων.....</b>	<b>30</b>
4.4 Εθελοντές .....	30
4.5 Σχεδιασμός Μελέτης.....	31
4.6 Κανόνες ηθικής και δεοντολογίας της έρευνας .....	32
4.7 Συλλογή & Ανάλυση Βιολογικών δειγμάτων .....	33
4.8 Έλεγχος κατανάλωσης του τροφίμου .....	33
4.9 Στατιστική Ανάλυση.....	33
<b>Κεφάλαιο 5: Αποτελέσματα .....</b>	<b>34</b>

<b>Μέρος Α</b> .....	34
5.1 Προσδιορισμός προβλεπόμενης γλυκαιμικής απόκρισης βρώμης εμπλουτισμένης με προβιοτικά μέσω in vitro γαστρεντερικής πέψης.....	34
<b>Μέρος Β</b> .....	35
5.2 Εθελοντές.....	35
5.3 Βιοχημικές αναλύσεις.....	39
5.4 Ανοσολογικές αναλύσεις.....	41
5.5 FRAP.....	42
<b>Κεφάλαιο 6: Συζήτηση</b> .....	42
<b>Κεφάλαιο 7: Συμπεράσματα</b> .....	49
<b>Βιβλιογραφία</b> .....	50

## Περίληψη

**Εισαγωγή:** Στη σύγχρονη εποχή, οι καταναλωτές ενδιαφέρονται όλο και περισσότερο για τη διατήρηση μιας ισορροπημένης διατροφής ενώ αναζητούν ολοένα και περισσότερα τρόφιμα με συστατικά που έχουν ευεργετική επίδραση στην υγεία, με αποτέλεσμα η έρευνα για την ανάπτυξη λειτουργικών να είναι συνεχώς αυξανόμενη. Λειτουργικά συστατικά, όπως τα προβιοτικά, λόγω των ευεργετικών ιδιοτήτων τους, έχουν κεντρίσει κατά πολύ το ενδιαφέρον και έχουν βρεθεί στο επίκεντρο των ερευνητικών μελετών, ως μέσω ενίσχυσης εμπλουτισμού συμβατικών τροφίμων.

**Σκοπός:** Η παρούσα μελέτη έχει σκοπό την αξιολόγηση λειτουργικού προϊόντος βρώμης εμπλουτισμένης με ακινητοποιημένα προβιοτικά στελέχη *Lactococcus lactis*, μέσω *in vitro* αξιολόγησης της γλυκαιμικής απόκρισης και ελέγχου της επίδρασης μακροπρόθεσμης κατανάλωσής της σε βιοδείκτες σχετιζόμενους με την υγεία του ανθρώπου.

**Μεθοδολογία:** Η αξιολόγηση της προβλεπόμενης γλυκαιμικής απόκρισης πραγματοποιήθηκε μέσω προσομοίωση της γαστρεντερικής πέψης σε απλό και εμπλουτισμένο δείγμα βρώμης. Παράλληλα, πραγματοποιήθηκε κλινική μελέτη-διατροφική παρέμβαση μακροπρόθεσμου σχεδιασμού σε 60 υγιείς εθελοντές, διάρκειας 6 εβδομάδων. Οι εθελοντές διαχωρίστηκαν σε ομάδα ελέγχου και ομάδα παρέμβασης και κλήθηκαν να καταναλώνουν 5 g προϊόντος βρώμης ημερησίως ενώ από αυτούς λήφθηκαν βιολογικά δείγματα αίματος και ούρων πριν την έναρξη και στο τέλος της παρέμβασης. Το βιολογικά δείγματα αναλύθηκαν εξετάζοντας δείκτες σχετιζόμενους με τα επίπεδα λιπαιμίας, γλυκαιμίας, φλεγμονής, αντιοξειδωτικής ικανότητας, βιοδείκτες σχετιζόμενους με την λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος αλλά και δείκτες όπως το ουρικό οξύ και τα επίπεδα μαγνησίου και φωσφορικών ούρων.

**Αποτελέσματα:** Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η βρώμη με προβιοτικά παρουσιάζει χαμηλότερη γλυκαιμική απόκριση σε σχέση με την συμβατική βρώμη ( $p < 0,05$ ). Παράλληλα, η επίδραση του προϊόντος σε βιοδείκτες αίματος και ούρων φάνηκε να επιφέρει στατιστικώς σημαντικά αποτελέσματα στα επίπεδα της ιντερλευκίνης-6 (IL-6), όπου κατά το τέλος της 6<sup>ης</sup> εβδομάδας παρέμβασης η ομάδα του εμπλουτισμένου προϊόντος βρώμης σημείωσε χαμηλότερες τιμές συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου ( $p < 0,05$ ).

**Συμπεράσματα:** Συμπερασματικά, η ανάπτυξη ενός προϊόντος βρώμης εμπλουτισμένο με προβιοτικά συστατικά φαίνεται να έχει πιθανή συσχέτιση με την επίδραση στην ανθρώπινη υγεία. Η επίδραση του σε βιοδείκτη σχετιζόμενο με την φλεγμονή στον ανθρώπινο οργανισμό, προτρέπει για περαιτέρω μελέτη αυτό σε μη υγιείς ομάδες, οι οποίες παρουσιάζουν αυξημένους δείκτες φλεγμονής, όπως άτομα με καρδιαγγειακά νοσήματα. Παράλληλα, με δεδομένο, ότι το εμπλουτισμένο προϊόν φαίνεται να παρουσιάζει ομαλότερη γλυκαιμική απόκριση *in vitro*, είναι πιθανό σε μεγαλύτερο διάστημα παρέμβασης να εντοπίζονται στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε βιοδείκτες σχετιζόμενους με την λιπαιμία.

**Λέξεις κλειδιά:** Βρώμη, προβιοτικά, βιοδείκτες, εμπλουτισμός, χοληστερόλη

## Abstract

**Introduction:** In modern times, consumers are more and more interested in maintaining a balanced diet while looking for more and more foods with ingredients that have a beneficial effect on health, with the result that research on the development of functionals is constantly increasing. Functional ingredients such as probiotics, due to their beneficial properties, have attracted a lot of interest and have been the focus of research studies as means of enhancing the fortification of conventional foods.

**Purpose:** The present study aims to evaluate a functional oat product enriched with immobilized *Lactococcus lactis* probiotic strains, through in vitro evaluation of the glycemic response and control of the effect of its long-term consumption on biomarkers related to human health.

**Methodology:** Evaluation of the predicted glycemic response was performed by simulating the gastrointestinal digestion of plain and fortified oat samples. At the same time, a clinical study-nutritional intervention of long-term design was carried out in 60 healthy volunteers, lasting 6 weeks. The volunteers were divided into a control group and an intervention group and asked to consume 5 g of oat product daily while biological blood and urine samples were taken from them before the start and at the end of the intervention. The biological samples were analyzed by examining indicators related to the levels of lipemia, glycemia, inflammation, antioxidant capacity, biomarkers related to the function of the immune system, but also indicators such as uric acid and urine magnesium and phosphate levels.

**Results:** The results showed that oats with probiotics have a lower glycemic response than conventional oats ( $p < 0.05$ ). At the same time, the effect of the product on blood and urine biomarkers appeared to have statistically significant effects on interleukin-6 (IL-6) levels, where at the end of the 6th week of intervention the enriched oat product group scored lower values compared to the control ( $p < 0.05$ ).

**Conclusions:** In conclusion, the development of an oat product enriched with probiotic ingredients seems to have a possible correlation with the effect on human health. Its effect on a biomarker related to inflammation in the human body, prompts for further study of this in unhealthy groups, which present increased markers of inflammation, such as people with cardiovascular diseases. At the same time, given that the enriched product seems to present a smoother glycemic response in vitro, it is possible that statistically significant differences in biomarkers related to lipemia will be found in a longer intervention period.

**Key words:** Oats, probiotics, biomarkers, enrichment, cholesterol

## Θεωρητικό Μέρος

### Εισαγωγή

## Κεφάλαιο 1: Λειτουργικά τρόφιμα

### 1.1 Ορισμός & Ιστορικά στοιχεία

Ο όρος "λειτουργικά τρόφιμα" χαρακτηρίζει τρόφιμα που επιπλέον των θρεπτικών συστατικών που περιέχουν, διαθέτουν και πρόσθετες ιδιότητες με οφέλη για την υγεία του ανθρώπου (Τζιά, 2004). Ο όρος "λειτουργικά τρόφιμα" (functional foods ή nutraceuticals) χρησιμοποιείται για να αναφερθεί σε φυσικά (δηλαδή μη γενετικά τροποποιημένα καθημερινά τρόφιμα) ή εμπλουτισμένα τρόφιμα που, σύμφωνα με έρευνες και επίσημα επιστημονικά πορίσματα, έχουν συγκεκριμένη επίδραση στον οργανισμό (Τζιά, 2004). Τα τρόφιμα αυτά συχνά αποκαλούνται "διατροφικά θεραπευτικά τρόφιμα" επειδή είναι διαθέσιμα σε κάθε καταναλωτή και περιέχουν θρεπτικά συστατικά και ουσίες που έχουν θετική επίδραση σε συγκεκριμένες λειτουργίες του οργανισμού. Τα τρόφιμα αυτά περιέχουν συνήθως πρόσθετες βιταμίνες, μικροθρεπτικά συστατικά και συγκεκριμένες ουσίες με συγκεκριμένες επιδράσεις, όπως στερόλες, ωμέγα-3 λιπαρά οξέα και προβιοτικά (Dimosthenopoulos, 2007).

Ως όρος τα λειτουργικά τρόφιμα πρωτοεμφανίστηκαν στην Ιαπωνία στα μέσα της δεκαετίας του 1980 όταν οι οργανισμοί υγείας της χώρας αναγνώρισαν ότι η βελτίωση της ποιότητας ζωής μέσω της επιλογής τροφίμων με οφέλη υγείας, σχετίζεται άμεσα με την μείωση του κόστους περίθαλψης του συνεχούς αυξανόμενου πληθυσμού των ηλικιωμένων (Κουτελιδάκης Α., 2019). Ο όρος τότε αναφερόταν σε επεξεργασμένα τρόφιμα, στα οποία περιέχονται συστατικά που βοηθούν συγκεκριμένες λειτουργίες του σώματος εκτός από το ότι είναι θρεπτικά. Η Ιαπωνία το ίδιο χρονικό διάστημα εισήγαγε νόμο για τα λειτουργικά τρόφιμα, γνωστός ως FOSHU (Foods for Specified Health Use), δηλαδή "Τρόφιμα για Προδιαγραφόμενη Υγιεινή Χρήση" στον οποίο πρόσθεταν τα λειτουργικά συστατικά που είχαν ένα συγκεκριμένο υγιεινό αποτέλεσμα. Αξίζει να τονιστεί ότι ένα τρόφιμο που είναι FOSHU οφείλει να φέρει σφραγίδα έγκρισης από το Υπουργείο Υγείας και Πρόνοιας της Ιαπωνίας (Kaur et al., 2011).

### 1.2 Κατηγορίες λειτουργικών τροφίμων

#### 1.2.1 Ποια θεωρούνται λειτουργικά;

Τα λειτουργικά τρόφιμα πρόκειται για τρόφιμα που προάγουν την υγεία και την ευεξία. Είναι εκείνα, τα οποία έχουν την ικανότητα να συμβάλλουν στην προαγωγή της υγείας και ενισχύουν την ποιότητα ζωής (π.χ. μειώνοντας τη χοληστερίνη, προλαμβάνοντας την οστεοπόρωση, ρυθμίζοντας την αρτηριακή πίεση) (Dernini, 2006). Επιπλέον, είναι εκείνα, τα οποία ενισχύουν το αμυντικό σύστημα του οργανισμού αλλά και συμβάλουν στον περιορισμό πολλών ασθενειών (καρκίνος, διαβήτης, στεφανιαία νόσος, υπέρταση), λόγω της ύπαρξης κάποιων ουσιών σε αυτά. Ακόμη, τα τρόφιμα αυτά συμπληρώνουν την διατροφή η οποία παρουσιάζει ανεπάρκειες (Heinrich et al, 2006). Τέλος, μπορούν να συμβάλουν στη



μείωση του κόστους της ιατροφαρμακευτικής περίθαλψης, αφού προλαμβάνουν αρκετά προβλήματα στον οργανισμό (π.χ. παχυσαρκία) (El Khoury et al., 2012).

Σήμερα, τα τρόφιμα που περιέχουν ορισμένα μέταλλα, βιταμίνες, πολυακόρεστα λίπη ή διαιτητικές ίνες θεωρούνται λειτουργικά τρόφιμα και κατατάσσονται σε διάφορες κατηγορίες με βάση τα χαρακτηριστικά τους (Ntrigkiou et al., 2018). Στις κατηγορίες λειτουργικών τροφίμων περιλαμβάνουν τρόφιμα με συστατικά προστιθέμενης αξίας που είναι είτε φυσικά βιολογικά ενεργά (όπως τα προβιοτικά), είτε βιοδραστικά (όπως φυτοχημικά, πολυφαινόλες και άλλα αντιοξειδωτικά), καθώς και προβιοτικά που περιέχουν ζωντανές, χρήσιμες καλλιέργειες και πρεβιοτικά. Οι καταναλωτές εντοπίζουν αυτά τα λειτουργικά τρόφιμα που είναι φυσικά ή συμβατικά και που περιέχουν μια ποικιλία βιοδραστικών ουσιών (Song, 2018). Μερικά από αυτά είναι οι πλούσιες σε λυκοπένιο ντομάτες, το τσάι, το οποίο είναι σημαντική πηγή βιοδραστικών κατεχινών, τα πλούσια σε πολυφαινόλες φαρμακευτικά βότανα και τα ρόδια, τα οποία είναι πλούσια σε βασικές ανθοκυανίνες (Birch & Bonwick, 2019).

Τα τρόφιμα που έχουν υποστεί κάποια βιομηχανική επεξεργασία και παράγονται για την υποστήριξη ορισμένων διατροφικών λειτουργιών ή για την αύξηση της κατανάλωσης ορισμένων θρεπτικών συστατικών από ένα συγκεκριμένο τμήμα του γενικού πληθυσμού αναφέρονται ως λειτουργικά τρόφιμα για ειδικές διατροφικές εφαρμογές. Οι βρεφικές κρέμες και τα γεύματα χωρίς γλουτένη και λακτόζη είναι μερικά παραδείγματα των τροφίμων αυτής της κατηγορίας (Min et al., 2019).

Τα εμπλουτισμένα ή ενισχυμένα τρόφιμα εμπίπτουν στην κατηγορία των λειτουργικών τροφίμων. Πιο συγκεκριμένα, τα εμπλουτισμένα τρόφιμα, είναι εκείνα τα οποία έχουν τροποποιηθεί με σκοπό την αύξηση της συγκέντρωσης κάποιου ωφέλιμου συστατικού τους το οποίο ήδη περιέχουν από τη φύση τους (Ashwell, M. 2001). Η κατανάλωση τους έχει σκοπό να συμπληρώσει ένα έλλειμμα που έχει εντοπιστεί στην ομάδα στόχο. Χυμοί και συμπληρώματα με φυτικές στερόλες και στανόλες καθώς και τρόφιμα εμπλουτισμένα με βιταμίνη C είναι ενδεικτικά παραδείγματα αυτής της κατηγορίας. Ακόμα κι αν τα γενετικά τροποποιημένα τρόφιμα δεν πωλούνται στην ελληνική αγορά, η μοριακή βιολογία και η μηχανική τροφίμων είναι κρίσιμες τεχνικές για την παρασκευή καινοτόμων γευμάτων (Rai et al., 2019).

Τα ενισχυμένα τρόφιμα είναι εκείνα στα οποία γίνεται προσθήκη κάποιου ενεργού συστατικού που έχει αποδεδειγμένη ωφέλιμη επίδραση στην υγεία του καταναλωτή και δεν περιέχεται με φυσικό τρόπο στο τρόφιμο αυτό (Ashwell, M. 2001). Επιπροσθέτως, τα τρόφιμα προστιθέμενης αξίας προστέθηκαν πρόσφατα στους τύπους λειτουργικών τροφίμων που περιεγράφηκαν προηγουμένως. Αυτά τα τρόφιμα δημιουργήθηκαν με την εφαρμογή βιοδιαδικασιών τροφίμων για την εξαγωγή βιοδραστικών συστατικών από υποπροϊόντα τροφίμων (Dimou et al., 2017).

### 1.2.2 Παραδείγματα λειτουργικών τροφίμων και επίδραση στην υγεία του ανθρώπου

Οι καταναλωτές, πλέον, έχουν την δυνατότητα να επιλέξουν ανάμεσα σε μια πληθώρα συμβατικών και καινοτόμων λειτουργικών τροφίμων. Η συσχέτιση αυτών με την προαγωγή ανθρώπινης υγείας στηρίζεται από ερευνητικά δεδομένα, όπως περιγράφεται παρακάτω. Συγκεκριμένα, επιλογές λειτουργικών τροφίμων στο ράφι αποτελούν:

1) γαλακτοκομικά προϊόντα που έχουν υποστεί ζύμωση, όπως το γιαούρτι με προβιοτικές καλλιέργειες (που περιέχουν ζωντανούς, ευεργετικούς μικροοργανισμούς και προβιοτικά βακτήρια) που βελτιώνουν τη λειτουργία του πεπτικού συστήματος (Dimosthenopoulos, 2007).

2) Μαλακή μαργαρίνη, γιαούρτι και τυρί κρέμα. Σύμφωνα με τους Diplock et al. (1999), αποτελούν καλή πηγή φυτοστερολών και στανολών. Κατά συνέπεια, σύμφωνα με ορισμένες επιστημονικές μελέτες, η κατανάλωση αυτών μειώνει τα επίπεδα χοληστερόλης και επομένως μειώνεται και ο κίνδυνος από καρδιακές παθήσεις.

3) Τρόφιμα πλούσια σε αντιοξειδωτικά, όπως τα φυσικά ροφήματα φρούτων και λαχανικών.

4) Χυμοί, μαργαρίνη και μπάρες που περιέχουν ωμέγα-3 ή αυγά με υψηλή περιεκτικότητα σε ωμέγα-3 λιπαρά οξέα (κατανάλωση αυτών 3-4 φορές την εβδομάδα) παρέχει τη συνιστάμενη ποσότητα (Sirinopoulos, 1991). Η κατανάλωση τους στα πλαίσια μια ισορροπημένης διατροφής προάγει την υγεία μέσω της ιδιότητας των ωμέγα-3 λιπαρά οξέα μειώνουν τον κίνδυνο από καρδιακές παθήσεις (Μανιάτη, 2020).

5) Για τον έλεγχο της υψηλής αρτηριακής πίεσης, τα γαλακτοκομικά προϊόντα και τα ροφήματα χυμών παρασκευάζονται με την προσθήκη ενός πεπτιδίου που ονομάζεται καζοκινίνη ή προστιθέμενο κάλιο, αντίστοιχα (Klassen et al., 1999).

6) Τα δημητριακά πρωινού πλούσια σε φυλλικό οξύ, βοηθούν στη μείωση του κινδύνου για παθήσεις όπως η δισχιδής ράχη (Functional Foods and Global Perspectives, 2002).

7) Ψωμιά και μούσλι πλούσια σε ισοφλαβόνες, η προσθήκη των οποίων μειώνει τον καρκίνο του μαστού, τον καρκίνο του προστάτη, τις καρδιαγγειακές παθήσεις, τα καρδιαγγειακά νοσήματα, τις καρδιακές παθήσεις, την οστεοπόρωση κ.λπ. (Ludwig et al., 1999).

### 1.3 Βιοδραστικά συστατικά των λειτουργικών τροφίμων

Με τον όρο βιοενεργά ή βιοδραστικά συστατικά εννοούμε τα συστατικά εκείνα των τροφίμων για τα οποία υπάρχουν επαρκώς τεκμηριωμένα επιστημονικά δεδομένα ότι μπορούν να επιτελέσουν μια συγκεκριμένη λειτουργία εντός του οργανισμού (Soumya et al., 2021). Πρόκειται για ουσίες που βρίσκονται σε συμβατικά τρόφιμα και που αποδεικνύεται από in vitro, κλινικές και επιδημιολογικές μελέτες ότι συμβάλλουν στη βελτίωση της υγείας μέσω της μείωσης του κινδύνου εμφάνισης ασθενειών ή της βελτίωσης της λειτουργίας των συστημάτων του οργανισμού (Biesalski et al., 2009).

Λόγω των πιθανών λειτουργικών τους ιδιοτήτων, τα φυτοχημικά παρουσιάζουν ιδιαίτερο επιστημονικό ενδιαφέρον μεταξύ των διαφόρων βιοδραστικών συστατικών που έχουν ανακαλυφθεί (Abuajah et al., 2015). Αυτοί είναι δευτερογενείς μεταβολίτες που είναι φυσιολογικά ενεργοί και μπορούν να βρεθούν σε μια ποικιλία φυτικών τροφίμων, όπως

φρούτα, λαχανικά, δημητριακά ολικής αλέσεως, ξηρούς καρπούς, σπόρους, αρωματικά βότανα και μπαχαρικά (Κουτελιδάκης, 2019 ; Soumya et al., 2021).

Η βιολογική τους λειτουργία περιλαμβάνει τις αντιοξειδωτικές (Taylor et al., 2008) και αντιμικροβιακές (Hartmann et al., 2007) τους ιδιότητες, καθώς και τη συμβολή τους στον έλεγχο της ενζυμικής αποτοξίνωσης, των αμυντικών μηχανισμών του ανοσοποιητικού συστήματος (Kurumukon, 2013) και του ορμονικού μεταβολισμού. Έχουν επίσης δείξει αντικαρκινικές ιδιότητες και την ικανότητα να μειώνουν τη συσσώρευση αιμοπεταλίων (Kurumukon, 2013).

Επιπλέον, έχει τεκμηριωθεί ότι μια ποικιλία βιοδραστικών πεπτιδίων, βοηθητικών βακτηρίων του μικροβιώματος και λιπιδίων μακράς αλυσίδας από ζωικές πηγές έχουν πλεονεκτήματα για την υγεία που προκαλούνται από τα βιοενεργά συστατικά τους. Εκτός από την ανοσοτροποποιητική, αντιπηκτική και αντιφλεγμονώδη δράση, η βιοδραστηριότητά τους αποδίδεται κυρίως σε μηχανισμούς προστασίας που είναι αντιβακτηριδιακοί και αντιοξειδωτικοί (Taylor et al., 2013; Hartmann & Meisel, 2007).

Πίνακας 1 Βιοενεργά συστατικά λειτουργικών τροφίμων και δράσεις αυτών (Bagherniya, 2018; Maqsood et al., 2020)

Βιοενεργά συστατικά	Φυσικές Πηγές	Πλεονεκτήματα Υγείας
<b>ΚΑΡΟΤΕΝΟΕΙΔΗ</b>		
<b>α-καροτένιο</b>	καρότα	εξουδετέρωση ελεύθερων ριζών και προστασία κυττάρων από οξειδώσεις
<b>β-καροτένιο</b>	καρότα, γλυκοπατάτα, ντομάτα	εξουδετέρωση ελευθέρων ριζών
<b>Λουτεΐνη</b>	πράσινα λαχανικά(μαρούλι σπανάκι, μπρόκολο)	συμβολή στη διατήρηση υγιούς οράσεως
<b>Λυκοπένιο</b>	ντομάτα, καρπούζι	μείωση κινδύνου για καρκίνο του προστάτη
<b>Ζεοξανθίνη</b>	αυγά, καλαμπόκι, εσπεριδοειδή	συμβολή στη διατήρηση υγιούς οράσεως
<b>ΔΙΑΙΤΗΤΙΚΕΣ ΙΝΕΣ</b>		
<b>Αδιάλυτες ίνες</b>	πίτουρο σίτου, φλοιός φρούτων	μείωση κινδύνου καρκίνου του μαστού και παχέος εντέρου
<b>β-γλυκάνη</b>	βρώμη , αλεύρι, κριθάρι	μείωση κινδύνου εμφάνισης καρδιαγγειακών παθήσεων
<b>Διαλυτές ίνες</b>	φασόλια,εσπεριδοειδή	μείωση κινδύνου εμφάνισης

		καρδιαγγειακών παθήσεων
<b>ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ</b>		
<b>Μονοακόρεστα λιπαρά οξέα</b>	καρύδια, ελαιόλαδο	μείωση κινδύνου εμφάνισης στεφανιαίας νόσου
<b>Πολυακόρεστα λιπαρά οξέα- Ω-3 λιπαρά οξέα- ALA</b>	καρύδια, λιναρόσπορος	διατήρηση υγείας καρδιάς και οφθαλμών
<b>Ω-3 λιπαρά οξέα- DHA, EPA</b>	σολομός, τόνος, θαλασσινά, ιχθυέλαια	μείωση κινδύνου καρδιαγγειακών νοσημάτων βελτίωση όρασης
<b>ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΗ</b>		
<b>Ανθοκυανίνες</b>	μούρα, κεράσια, κόκκινο σταφύλι	αντιοξειδωτική δράση, διατήρηση υγιούς λειτουργίας του εγκεφάλου
<b>Κατεχίνες</b>	πράσινο & μαύρο τσάι, μήλο, σταφύλια, μαύρη σοκολάτα	αντιοξειδωτική δράση
<b>Φλαβονόνες</b>	εσπεριδοειδή	αντιοξειδωτική δράση
<b>Φλαβόνες</b>	κρεμμύδι, μήλο, τσάι, μπρόκολο	αντιοξειδωτική δράση
<b>ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΟΞΕΑ</b>		
<b>Καφεϊκό οξύ</b>	μήλο, αχλάδι, εσπεριδοειδή, καφές	αντιοξειδωτική δράση
<b>Φερουλικό οξύ</b>	φρούτα, λαχανικά	αντιοξειδωτική δράση
<b>ΦΥΤΟΣΤΕΡΟΛΕΣ/ΣΤΑΝΟΛΕΣ</b>		
<b>Σιτοστερόλη/στανόλη,στιγμαστερόλη, καμπεστερόλη</b>	σόγια, σιτάρι, καλαμπόκι	μείωση κινδύνου εμφάνισης στεφανιαίας νόσου μέσω μείωσης επιπέδων LDL και χοληστερόλης στο αίμα
<b>ΦΥΤΟΟΙΣΤΡΟΓΟΝΑ</b>		
<b>Ισοφλαβόνες (γενιστεΐνη, νταζεΐνη)</b>	τροφές με βάση τη σόγια	μείωση μετεμμηνοπαυσιακών συμπτωμάτων
<b>Λιγνίνες</b>	λινάρι, σίκαλη, λαχανικά, φακές	προστασία από καρδιαγγειακά
<b>ΠΡΕΒΙΟΤΙΚΑ / ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΑ</b>		

<b>Ινσουλίνη, φρουτοολιγοσακχαρίτες</b>	κρεμμύδι, σκόρδο, μέλι, μπανάνια	βελτίωση γαστρεντερικής λειτουργίας
<b>Γαλακτοβάκιλλοι</b>	γαλακτοκομικά, γιαούρτι	βελτίωση γαστρεντερικής λειτουργίας

## 1.4 Μέθοδοι προσδιορισμού των βιοδραστικών συστατικών των λειτουργικών τροφίμων

### 1.4.1 Μέθοδοι προσδιορισμού των αντιοξειδωτικών συστατικών

Η συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα *in vitro* μετράται μέσω της συγκέντρωσης ελεύθερων ριζών που έχουν παραμείνει αδέσμευτες παρουσία αντιοξειδωτικών συστατικών, τόσο σε λειτουργικά τρόφιμα όσο και σε βιολογικά δείγματα (Araç et al., 2013).

Οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για την αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας/δραστικότητας βασίζονται σε δύο μηχανισμούς: τον μηχανισμό μεταφοράς ατόμου υδρογόνου (HAT), ο οποίος περιλαμβάνει τη μεταφορά ενός ατόμου υδρογόνου και τον μηχανισμό μεταφοράς απλού ηλεκτρονίου (SET), ο οποίος περιλαμβάνει τη μεταφορά ενός ενιαίου ηλεκτρονίου.

Οι μέθοδοι της πρώτης κατηγορίας βασίζονται στη δέσμευση ριζών υπεροξειδίου, όπως η αναγωγική/αντιοξειδωτική ισχύς χαλκού (CUPRAC), η αναγωγική/αντιοξειδωτική ισχύς σιδήρου (FRAP), το συνολικό αντιδραστικό αντιοξειδωτικό δυναμικό (TRAP) και η ικανότητα απορρόφησης ριζών οξυγόνου (ORAC). Τα προϊόντα οξείδωσης που περιλαμβάνουν μηλονοδιαλδεΰδη (MDA), αντιδραστικές ουσίες θειοβαρβιτουρικού οξέος (TBARS) και οξειδωμένα λιπίδια όπως η οξειδωμένη λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας χοληστερόλη (ox-LDL-c) αξιολογούνται όταν χρησιμοποιούνται οι τεχνικές της δεύτερης ομάδας. Φυσικά, χρωματογραφικές τεχνικές όπως η αέρια χρωματογραφία και η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) χρησιμοποιούνται επίσης για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής δράσης *in vitro* με μεγαλύτερη ακρίβεια (Siddeeg et al., 2013).

Η πιο δημοφιλής μέθοδος για τον υπολογισμό της συνολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας, η μέθοδος FRAP, βασίζεται στην ικανότητα των αντιοξειδωτικών ενώσεων να μετατρέπουν το κίτρινο σύμπλεγμα τρισθενούς σιδήρου (Fe<sup>3+</sup>) - TPTZ στο μπλε σύμπλεγμα τρισθενούς σιδήρου (Fe<sup>2+</sup>) - TPTZ ως δότες ηλεκτρονίων. σε αλκαλικό περιβάλλον. Στα 595 nm, μπορεί να φανεί το μπλε σύμπλεγμα (Karadag et al., 2009).

## 1.5 Βιοδιαθεσιμότητα των βιοδραστικών συστατικών των λειτουργικών τροφίμων

### 1.5.1 Εισαγωγή στην έννοια της βιοδιαθεσιμότητας των βιοδραστικών συστατικών

Η βιολογική δραστηριότητα των λειτουργικών συστατικών τροφίμων έχει λάβει μεγαλύτερη προσοχή τα τελευταία χρόνια, η οποία επηρεάζει τις μεταβολικές διεργασίες και έχει θετικές επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία (Rein et al., 2013). Ο σχεδιασμός και η ανάπτυξη νέων

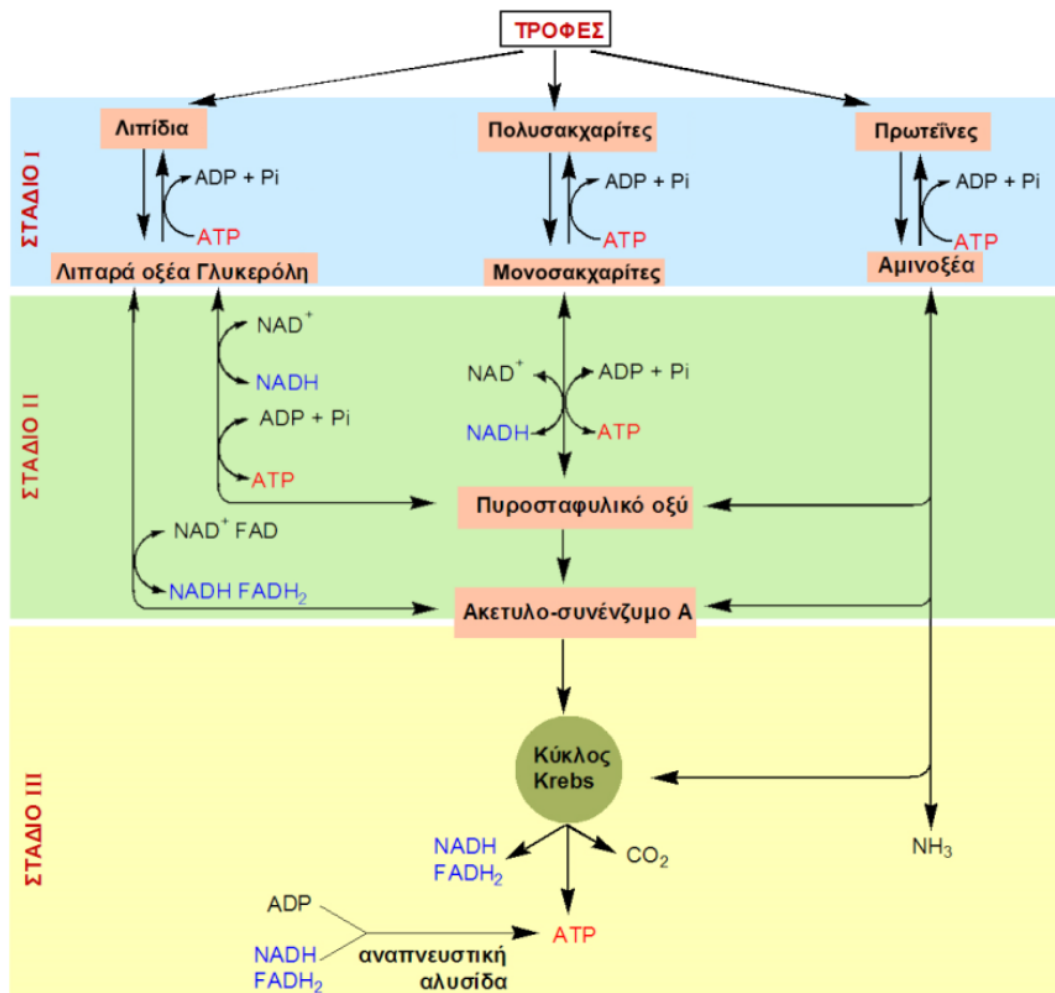
λειτουργικών τροφίμων που εμπλουτίζονται ή ενισχύονται με βιοενεργά συστατικά έχει προσελκύσει αυξημένο ερευνητικό ενδιαφέρον. Η εκτιμώμενη βιοδιαθεσιμότητα των βιοδραστικών ουσιών εξαρτάται από την απορρόφηση, την κατανομή, το μεταβολισμό και την απέκκρισή τους. Σε αυτές τις περιπτώσεις, είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι τα θετικά αποτελέσματα που μπορούν να προσφέρουν τα λειτουργικά τρόφιμα εξαρτώνται από το ποσοστό των βιοδραστικών ενώσεων που φτάνουν στη συστηματική κυκλοφορία (ροή αίματος), όπου μπορούν να διανεμηθούν στα όργανα και τους ιστούς στόχους και να επιδείξουν τη βιοδραστηριότητά τους (McClements & Peng, 2020). Ως εκ τούτου, ένα κρίσιμο βήμα στη δημιουργία νέων λειτουργικών γευμάτων είναι η πλήρης κατανόηση του μεταβολισμού και της αναμενόμενης βιοδιαθεσιμότητας των βιοδραστικών συστατικών προκειμένου να εξεταστεί σωστά ο βιολογικός αντίκτυπός τους (McClements & Peng, 2020).

### 1.5.2 Διαδικασίες απορρόφησης και βιοπροσβασιμότητας των βιοδραστικών συστατικών

Κατά την ανάπτυξη νέων λειτουργικών τροφίμων, μια κρίσιμη τεχνική για την διαπίστωση της βιοδιαθεσιμότητας των βιοδραστικών ουσιών είναι η έρευνα της απορρόφησης και του μεταβολισμού τους. Οι συνθήκες του γαστρεντερικού σωλήνα, λόγω των ενζύμων που εντοπίζονται κατά την πέψη και του pH που διαμορφώνεται, διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στην πέψη και απορρόφηση λειτουργικών συστατικών. Η αφομοίωση του γεύματος σε μια ημιυγρή μάζα (χυμός) μέσα στο στομάχι και η μάσηση της τροφής διαχωρίζουν τις βιοδραστικές χημικές ουσίες από τη μήτρα των τροφίμων για να ξεκινήσει η διαδικασία (Bao et al., 2019). Μετά από αυτό, αποστέλλεται μέσω του δωδεκαδακτύλου για περαιτέρω επεξεργασία πριν φτάσει στο λεπτό έντερο, όπου απορροφάται η πλειονότητα των βιοδραστικών χημικών ουσιών. Υπάρχουν τέσσερις μέθοδοι με τις οποίες αυτές οι χημικές ουσίες μεταφέρονται σε όλο το εντερικό επιθήλιο: α) χρησιμοποιώντας μεσοκυττάρια και παρακυτταρικά κανάλια για παθητική διάχυση, β) μέσω της χρήσης μεταφορέων γ) μέσω μεταφοράς που μεσολαβούν οι υποδοχείς δ) μέσω διαδικασιών εκροής (Gambini et al., 2015). Η παθητική διάχυση και η μεταφορά με τη μεσολάβηση των υποδοχέων είναι οι κύριοι τρόποι απορρόφησης υδρόφοβων ουσιών, όπως η ρεσβερατρόλη στο κρασί. Η διάχυση με τη μεσολάβηση του μεταφορέα είναι ο κύριος μηχανισμός μέσω του οποίου απορροφώνται βιοενεργοί πολυσακχαρίτες, πολυπεπτίδια, ακόρεστα λιπαρά οξέα και πολυφαινόλες, συμπεριλαμβανομένων των κατεχινών του τσαγιού (Bao et al., 2019).

Με βάση τα παραπάνω, διαπιστώνεται ότι μόνο μέρος της δόσης πολυφαινόλων που καταναλώνεται σε ένα τρόφιμο/γεύμα ικανοποιεί τις απαιτήσεις σταθερότητας, απελευθέρωσης, διαλυτότητας και διάχυσης γίνεται βιοδιαθέσιμο. Οι πολυφαινόλες έχουν διαφορετικά ποσοστά κλασματικής βιοδιαθεσιμότητας με βάση την ουσία, το είδος της τροφικής μήτρας (περιεκτικότητα σε μακροθρεπτικά συστατικά, φυσική μορφή) και ολόκληρο το γεύμα (Neilson et al., 2017). Οι πολυφαινόλες μπορούν να απορροφηθούν από το στομάχι και το λεπτό έντερο και ένα μικρότερο τμήμα τους μπορεί επίσης να απορροφηθεί μέσω του παχέος εντέρου αφού μεταβληθούν χημικά από τη μικροχλωρίδα του παχέος εντέρου. Οι λιγότερο περίπλοκες πολυφαινόλες μετατρέπονται σε

υδατοδιαλυτούς μεταβολίτες στα εντεροκύτταρα πριν μεταφερθούν στο ήπαρ με σημαντική βιομετατροπή φάσης I (οξειδωση, αναγωγή ή υδρόλυση) μετά την απορρόφηση στο λεπτό έντερο. Μέσω των ηπατοκυττάρων, αυτές οι ενώσεις μεταφέρονται στο ήπαρ, όπου και πάλι περνούν από μια διαδικασία βιομετατροπής φάσης II (σύζευξη-μεθυλίωση, γλυκουρονίωση και θείωση) (Swallah et al., 2020). Οι μεταβολίτες των πολυφαινολών φτάνουν τελικά στη συστηματική κυκλοφορία και στη συνέχεια παραδίδονται στα επιθυμητά όργανα.



Εικόνα 1 Αναλυτικά τα τρία στάδια του μεταβολισμού (Berg et al., 2014)

### 1.5.3 Παράγοντες που επηρεάζουν τη βιοδιαθεσιμότητα των βιοδραστικών συστατικών

Επειδή οι γαστρεντερικοί φραγμοί πρέπει να ξεπεραστούν πριν απορροφηθούν τα βιοενεργά συστατικά των λειτουργικών γευμάτων, αυτό έχει ως αποτέλεσμα περιορισμένη βιοδιαθεσιμότητα αυτών των συστατικών σε ζωντανούς οργανισμούς. Επιπλέον, οι περιβαλλοντικοί στρεσογόνοι παράγοντες όπως το χαμηλό pH, το φως, η θερμότητα και το οξυγόνο έχουν αντίκτυπο στη σταθερότητα των βιοδραστικών χημικών ουσιών (Heger et al., 2014).

Επιπλέον, η βλέννα που επικαλύπτει την επιφάνεια του γαστρεντερικού συστήματος μπορεί να λειτουργήσει ως ανασταλτικός παράγοντας στην προσβασιμότητα των βιοενεργών συστατικών στα εντεροκύτταρα για πρόσθετη απορρόφηση λόγω του φτωχού ρυθμού διάχυσής τους. Οι φυσικοχημικές ιδιότητες των βιοδραστικών ενώσεων, όπως η χημική τους σύνθεση, η διαλυτότητα και η λιποφιλικότητα, μπορούν επίσης να επηρεάσουν τη βιοδιαθεσιμότητά τους (Abdulkarim et al., 2015). Η υψηλή διαλυτότητα και λιποφιλικότητα των βιομορίων έχουν συνδεθεί με τον υψηλό βαθμό *in vitro* αναμενόμενης βιοδιαθεσιμότητας. Η επακόλουθη εκροή αυτών των ουσιών υπό τον έλεγχο των μεταφορέων κατά τη διέλευσή τους από την εντερική επιθηλιακή μεμβράνη μπορεί να οδηγήσει σε αναστροφή των βιοδραστικών ουσιών στον εντερικό αυλό, αποτρέποντας τη βιοδιαθεσιμότητά τους (Jafari & McClements, 2017). Τελευταίο αλλά εξίσου σημαντικό, η αλληλεπίδραση βιοδραστικών ουσιών με άλλα θρεπτικά συστατικά —όπως πρωτεΐνες ή λίπη— μπορεί να οδηγήσει σε μείωση της αναμενόμενης βιοδιαθεσιμότητας και, τελικά, της βιοδραστικότητας (Kardum & Glibetic, 2018).

#### 1.5.4 Μέθοδοι εκτίμησης της βιοδιαθεσιμότητας των βιοδραστικών συστατικών *in vitro*

Κατά τη δημιουργία νέων λειτουργικών γευμάτων, είναι σημαντικό να προσδιορίζεται η βιοδιαθεσιμότητα πριν συμπεριληφθούν βιοενεργά συστατικά. Πολυάριθμες μέθοδοι *in vitro* έχουν αναπτυχθεί και χρησιμοποιηθεί για την αξιολόγηση της βιοδιαθεσιμότητας βιοδραστικών ουσιών σε ένα μοντέλο γαστρεντερικού σωλήνα. Η βιοπροσβασιμότητα των βιοδραστικών ουσιών έχει πρόσφατα αξιολογηθεί χρησιμοποιώντας μια σειρά μοντέλων γαστρεντερικής οδού (GIT), που κυμαίνονται από μεμονωμένα στατικά έως πολυδιάστατα, δυναμικά συστήματα. Λόγω της συνέπειας, της ευκολίας του δείγματος, της εξοικονόμησης εργασίας και χρόνου, του φθηνού κόστους και της αποφυγής ηθικών εμποδίων, οι τεχνικές *in vitro* είναι προτιμότερες από τα πειράματα *in vivo* (Mackie et al., 2020).

#### 1.6 Μικροχλωρίδα του εντέρου

Βακτηριακές καλλιέργειες με μεταβολικές, ανοσολογικές και ρυθμιστικές δραστηριότητες συνθέτουν τη μικροχλωρίδα του εντέρου. Η υγεία του οργανισμού και η μικροχλωρίδα είναι αλληλεξαρτώμενες, καθώς τυχόν αλλαγές στην ομοίωση του οργανισμού μπορεί να έχουν δυσμενείς επιπτώσεις και να οδηγήσουν σε ασθένειες (Tannock, 1999). Ταυτόχρονα, αλλαγές στη μικροχλωρίδα του εντέρου μπορεί να προκύψουν από συνθήκες διαμονής και άλλες περιβαλλοντικές μεταβλητές (Tzonou et al., 2008). Η αναζήτηση για τρόφιμα που θα βοηθούσαν στη διατήρηση αυτής της ομοιομορφίας έχει προκληθεί από αυτόν τον «φαύλο» κύκλο μεταξύ της ισορροπίας της μικροβιακής ομοιόστασης και της υγείας του οργανισμού (Butel, 2014).

Στο παχύ έντερο πραγματοποιείται η σύνθεση «καλών» αλλά και «κακών» βακτηρίων. Τα γαλακτικά βακτήρια ανήκουν στην ομάδα καλών βακτηρίων, τα οποία μετατρέπουν τα σάκχαρα σε γαλακτικό οξύ (τελικό προϊόν της ζύμωσης). Η βασική τους αρμοδιότητα είναι να αποτρέπουν την ανάπτυξη «κακών» βακτηρίων στο έντερο. Η παραγωγή γαλακτικού



οξέος είναι απαραίτητη καθώς τα παθογόνα δεν μπορούν να αναπτυχθούν σε όξινο περιβάλλον. Επιπλέον, τα γαλακτικά βακτήρια δημιουργούν και τα δικά τους αντιβιοτικά, όπως για παράδειγμα το *Lactobacillus bulgaricus* παράγει *bulgarican* (Vaughan et al., 1999).

## Κεφάλαιο 2: Προβιοτικά

### 2.1 Ορισμός & Προβιοτικοί Μικροοργανισμοί

Τα προβιοτικά προϊόντα είναι προϊόντα που περιέχουν προβιοτικά βακτήρια, ζωντανό μικροβιόκοσμο, κυρίως βακτήρια γαλακτικού οξέος (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus* και *Streptococcus*). Ο όρος προβιοτικά προέρχεται από το συνδυασμό των λέξεων "pro-" που σημαίνει "για" και "bios" που σημαίνει "βιος" δηλαδή "ζωή". Συνεπώς, πρόκειται για τρόφιμα που υποστηρίζουν τη ζωή. Ο όρος "προβιοτικά" επινοήθηκε από τον Γερμανό επιστήμονα Werner Kollert το 1953. Αυτός όρισε τα προβιοτικά ως «δραστικές ουσίες που είναι απαραίτητες για μια υγιή ανάπτυξη της ζωής». Ο ορισμός αυτός έχει αναθεωρηθεί και είναι πλέον σύμφωνος με τα αποτελέσματα των ερευνών σχετικά με τις επιδράσεις των προβιοτικών (Pineiro and Stanton 2007). Το γένος *Lactobacillus* περιέχει περισσότερα από 170 είδη προαιρετικών, αναερόβιων, αρνητικών στην καταλάση, θετικών κατά Gram, μη σπορωδών βακτηρίων. Ταξινομικά ταξινομείται ότι ανήκει στο γένος *Firmicutes*, ομοταξία *Bacilli*, τάξη *Lactobacillales* και οικογένεια *Lactobacillaceae*. Από την αρχαιότητα, οι γαλακτοβάκιλλοι χρησιμοποιούνται στη ζύμωση γευμάτων που παρασκευάζονται τόσο από φυτά όσο και από ζώα (λαχανικά και δημητριακά καθώς και γάλα και κρέας). Ακόμη, τα προβιοτικά βακτήρια είναι ανθεκτικά στη διαδικασία της πέψης και διεισδύουν στο έντερο. Έχουν ευεργετική επίδραση στο πεπτικό σύστημα. Στα προβιοτικά γαλακτοκομικά προϊόντα ανήκουν κυρίως στα γένη *Lactobacillus* και *Bifidobacterium* (Dimosthenopoulos, 2007). Οι λακτοβάκιλλοι αυτοί ενισχύουν το ανοσοποιητικό σύστημά του ανθρώπου, καθώς το κύριο μέρος του ανθρωπίνου ανοσοποιητικού συστήματος εντοπίζεται στις ενδότερες στοιβάδες του εντέρου, βελτιώνοντας την γαστρεντερική λειτουργία και ελαχιστοποιώντας παράλληλα περιστατικά διάρροιας που προκαλούνται από διάφορα βακτήρια (Bangchi, 2006).

### 2.2 Πηγές προβιοτικών

#### 2.2.1 Γιαούρτι



Τα προβιοτικά είναι ειδικοί τύποι βακτηρίων που βοηθούν το σώμα σας να λειτουργεί καλύτερα. Ορισμένα τρόφιμα, όπως το γιαούρτι, παρασκευάζονται με προβιοτικά. Το γιαούρτι μπορεί να παρασκευαστεί από διάφορα προβιοτικά βακτήρια, αλλά μερικά από τα πιο κοινά είναι τα βακτήρια *Streptococcus* και *Thermophilus* και *Lactobacillus bulgaricus*. Μετά τη ζύμωση, το

γιαούρτι μπορεί να ακολουθηθεί από θερμική επεξεργασία που σκοτώνει τα βακτήρια που

δίνουν στο γιαούρτι τις προβιοτικές του ιδιότητες. Αυτό σημαίνει ότι δεν υπάρχουν όλα τα προβιοτικά συστατικά στο γιαούρτι (Amai, 2022). Ένα παράδειγμα προβιοτικού γιαουρτιού που είναι δημοφιλές στην αγορά είναι το γιαούρτι Activia της εταιρίας Danone.

### 2.2.2 Γάλα



Το γάλα που έχει καλλιεργηθεί με *Lactobacillus acidophilus*, που μερικές φορές αναφέρεται ως «γάλα *Acidophilus*», είναι μια πλούσια πηγή προβιοτικών. Οι γιατροί σε πολλά έθνη συμβουλεύουν τους ασθενείς τους να πίνουν αυτό το γάλα εάν έχουν γαστρεντερικές παθήσεις όπως δυσκοιλιότητα, μη ελκώδης κολίτιδα ή διάρροια (Suva et al., 2016).

### 2.2.3 Φέτα



Ιδιαίτερα καλή πηγή προβιοτικών είναι η φέτα. Είναι προφανές ότι έχει πολλές προβιοτικές επιδράσεις αφού το προβιοτικό *Lactobacillus plantarum* κυριαρχεί στη μικροχλωρίδα του. Σύμφωνα με τους Λιτοπούλου-Τζανετάκη και Τζανετάκη (2011), περιέχει ποικιλία γαλακτοβακίλλων, συμπεριλαμβανομένων των *L.*

*casei*, *L. paracasei subsp. paracasei*, *L. paracasei subsp. tolerans*, *L. plantarum*, *L. curvatus*, *L. Confusus* και *L. Brevis*.

### 2.2.4 Κεφίρ



Ένα χαρακτηριστικό γαλακτοκομικό προϊόν που έχει υποστεί ζύμωση είναι το κεφίρ. Τα είδη *Bifidobacterium bifidum*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus kefiranofaciens*, *Lactococcus lactis* και *Leuconostoc* είναι μεταξύ των προβιοτικών βακτηρίων που υπάρχουν σε αυτό το ρόφημα. Είναι ένα πολύ σημαντικό και δημοφιλές προβιοτικό προϊόν και η μελέτη του έχει αυξηθεί ως αποτέλεσμα των υποτιθέμενων πλεονεκτημάτων του για την ανθρώπινη υγεία. Μερικά από αυτά τα πλεονεκτήματα περιλαμβάνουν μείωση των συμπτωμάτων δυσανεξίας στη λακτόζη, ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος, μείωση

της χοληστερόλης και αντι-μεταλλαξιγόνες και αντικαρκινογόνες ιδιότητες (Suva et al., 2016).

## 2.3 Οφέλη προβιοτικών στην υγεία του ανθρώπου

### 2.3.1 Αντιμετώπιση και πρόληψη γαστρεντερικών διαταραχών

Τα προβιοτικά έχουν αποδειχθεί αποτελεσματικά κατά της διάρροιας τόσο θεραπευτικά όσο και προληπτικά. Τα φαρμακευτικά τους οφέλη βασίζονται στην παραγωγή λακτάσης, η οποία ανακουφίζει από τα συμπτώματα δυσανεξίας στη λακτόζη, ανακουφίζει από τη δυσκοιλιότητα, αντιμετωπίζει την κολίτιδα και διεγείρει τη γαστρεντερική ανοσία. Επιπλέον, χρησιμοποιούνται κυρίως σε φτωχά έθνη για τη θεραπεία της διάρροιας των ταξιδιωτών και της βρεφικής διάρροιας. Τα προβιοτικά είδη *Lactobacillus GG*, *Lactobacillus reuteri*, *S. Boulardii* και *Bifidobacteria spp.* είναι μερικά παραδείγματα από αυτά που χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία του (Masoumi et al., 2021).

### 2.3.2 Παχυσαρκία και διαβήτης

Η χλωρίδα του εντέρου μπορεί να επηρεάσει την αντίσταση στην ινσουλίνη και την αύξηση βάρους, σύμφωνα με έρευνα που διεξήχθη τόσο σε ανθρώπους όσο και σε ζώα (Ley et al., 2006; Turnbaugh et al., 2006). Ως ελεγκτές της εντερικής χλωρίδας, τα προβιοτικά μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη θεραπεία και την πρόληψη του διαβήτη και της παχυσαρκίας. Σύμφωνα με μια έρευνα (Yadav et al., 2008), το προβιοτικό γιαούρτι dahi μείωσε σημαντικά την αντίσταση στην ινσουλίνη που προκαλείται από τη διατροφή ενισχύοντας το αντιοξειδωτικό σύστημα. Η ανάγκη για μεγαλύτερη έρευνα προκύπτει από το γεγονός ότι η πλειονότητα των μελετών με ενθαρρυντικά ευρήματα έχουν πραγματοποιηθεί σε ζώα, ενώ ο μικρός αριθμός αξιοσημείωτων μελετών σε ανθρώπους (Stojanov et al., 2020).

### 2.3.3 Επίδραση σε βιοδείκτες λιπαιμίας & γλυκαιμίας

Η κατανάλωση προβιοτικών συμπληρωμάτων μπορεί να έχει ένα ευρύ φάσμα ευεργετικών επιπτώσεων στον οργανισμό. Τα προβιοτικά βοηθούν στην καταπολέμηση των εντερικών και άλλων διαταραχών, μειώνουν τα επίπεδα χοληστερόλης στο αίμα, καθώς και τα επίπεδα του ζαχάρου αλλά και ενισχύουν το ανοσοποιητικό σύστημα λόγω της αντιβακτηριδιακής τους δράσης (Saarela et al., 2000).

### 2.3.4 Μηχανισμοί προσαρμογής στον ξενιστή

Για να εξασφαλιστεί η επιβίωση, η προσαρμογή και ο αποικισμός, οι γαλακτοβάκιλλοι πρέπει να προσαρμοστούν καλύτερα στο εντερικό περιβάλλον του ξενιστή προκειμένου να ασκήσουν τα προβιοτικά τους αποτελέσματα (Meybodi et al., 2020). Πρώτον, καθώς κινούνται μέσω του γαστρεντερικού συστήματος, αυτά τα βακτήρια χρησιμοποιούν ορισμένες στρατηγικές επιβίωσης ως απόκριση σε μια ποικιλία επιβλαβών περιβαλλοντικών ερεθισμάτων (όπως οξέα, χολή, οξειδωση, ώσμωση και πείνα) (Moszak et al., 2020). Επιδιορθώνουν, θωρακίζουν και εξάγουν μακρομόρια, καθώς και αναζητούν στρεσογόνους

παράγοντες, για να διατηρήσουν την ακεραιότητα του κυττάρου. Αυτές οι στρατηγικές επιβίωσης περιλαμβάνουν τον έλεγχο της έκφρασης ή την καταστολή γονιδίων που ελέγχουν διάφορες κυτταρικές λειτουργίες, συμπεριλαμβανομένου του μεταβολισμού του DNA, της κυτταρικής διαίρεσης, της δημιουργίας μεμβράνης και της μοριακής μεταφοράς (Shukla et al., 2017).

### 2.3.5 Κριτήρια επιλογής των προβιοτικών μικροοργανισμών

Η επιλογή των προβιοτικών στελεχών θα πρέπει να βασίζεται σε στοιχεία όπως η προέλευση και η παθογένεια, ξεκινώντας από τις απαιτήσεις ασφάλειας (Binda et al. 2020). Ειδικότερα, τα στελέχη που κατά προτίμηση προέρχονται από ανθρώπους ευνοούνται για ανθρώπινη χρήση. Ένα προβιοτικό στέλεχος φαίνεται να λειτουργεί και να επιβιώνει καλύτερα σε ένα περιβάλλον που είναι συγκρίσιμο με αυτό από το οποίο απομονώθηκε αρχικά. Ωστόσο, πιο πρόσφατες μελέτες διαψεύδουν και αμφισβητούν αυτόν τον ισχυρισμό επειδή είναι πρακτικά δύσκολο να προσδιοριστεί η πραγματική αρχική προέλευση ενός βακτηρίου (Scott et al., 2020). Τα στελέχη πρέπει επίσης να προέρχονται από ένα υγιές περιβάλλον (το ανθρώπινο πεπτικό σύστημα), να είναι απαλλαγμένα από παθογόνους μικροοργανισμούς και να μην συνδέονται με ασθένειες όπως μολυσματικές ασθένειες ή γαστρεντερικά προβλήματα (Frakolaki et al. 2021). Τέλος, δεν πρέπει να αποζευγνύουν τα χολικά άλατα, καθώς κάτι τέτοιο θα έχει κακό αντίκτυπο στο λεπτό έντερο και δεν θα φέρει γονίδια που κάνουν τους ανθρώπους ανθεκτικούς στα αντιβιοτικά, σύμφωνα με τους Saarela et al. (2000).

## Κεφάλαιο 3: Βρώμη

### 3.1 Ορισμός



Η βρώμη είναι ένα είδος δημητριακών ολικής αλέσεως (*Avena sativa* L.). Με υψηλά επίπεδα διαλυτών διαιτητικών ινών, βήτα-γλυκάνες, λιποδιαλυτή βιταμίνη E και πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, θεωρείται ένα υγιεινό γεύμα. Είναι μια καλή πηγή φυτικών ινών, ακόρεστων λιπαρών οξέων και βιταμινών και μετάλλων (Rasane et al, 2015).

Αν και η βρώμη χρησιμοποιήθηκε κυρίως ως ζωτροφή, οι θετικές επιπτώσεις της στην υγεία οδήγησαν στη χρήση της ως πηγή τροφής για τον

άνθρωπο. Αυτά τα σημαντικά οφέλη είναι αποτέλεσμα των φυσικοχημικών ιδιοτήτων και των φυτοχημικών συστατικών του. Συγκεκριμένα, είναι ένα γεύμα που είναι άφθονο σε αντιοξειδωτικές ουσίες όπως -γλυκάνη, λειτουργική πρωτεΐνη, φλαβονοειδή και πολυφαινόλες (Sterna et al., 2016). Υπάρχουν 113 διαφορετικές φυτοχημικές ουσίες που βρίσκονται στη βρώμη. Ξεπερνά τα άλλα δημητριακά επειδή μπορεί να ευδοκιμήσει σε πιο απαιτητικούς περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως η υγρασία και το όξινο έδαφος. Έχει

επίσης περισσότερα φυτοχημικά συστατικά από άλλα δημητριακά. Η απουσία γλουτένης είναι ένα πολύ σημαντικό χαρακτηριστικό (Raguindin et al., 2021).

Μία κλινική μελέτη (Ντρίγιος και Ντρίγιου, 2017) κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η κατανάλωση βρώμης καθημερινά βοηθά, μαζί με άλλους παράγοντες, στη μείωση σε σημαντικό βαθμό του λίπους του σώματος και στην πιθανή θετική αύξηση του νερού του σώματος. Αυτό δικαιολογείται επειδή η κατανάλωση της βρώμης βοηθά στον έλεγχο του επιπέδου των σακχάρων στο αίμα, προλαμβάνει την οστεοπόρωση και την παχυσαρκία και αποτελεί μια από τις καλύτερες πηγές ενέργειας (Tong et al, 2014; Martinez-Villaluenga, 2017).

### 3.2 Φυτικές Ίνες

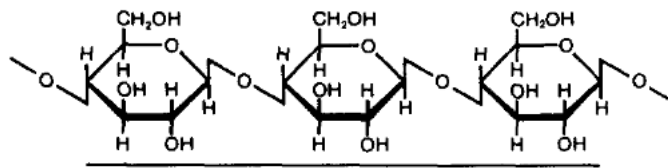
Οι διαιτητικές ίνες είναι μια ειδική κατηγορία ενώσιων που λαμβάνεται από φυτά, τις οποίες το ανθρώπινο πεπτικό σύστημα δεν μπορεί να διασπάσει. Οι φυτικές ίνες μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε δύο κύριες χημικές ομάδες: λιγνίνες και πολυσακχαρίτες μη άλφα-γλυκάνης, συμπεριλαμβανομένης της κυτταρίνης, της ημικυτταρίνης και της πηκτίνης (Aspinall, 1973). Οι διαιτητικές ίνες λειτουργούν ως πολυμερής μήτρα με ποικίλα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά, συμπεριλαμβανομένης της ευαισθησίας στη βακτηριακή ζύμωση, της ικανότητας συγκράτησης νερού, της ανταλλαγής κατιόντων και των προσροφητικών δραστηριοτήτων στο γαστρεντερικό σύστημα. Αυτά τα χαρακτηριστικά ελέγχουν τις φυσιολογικές επιδράσεις των ινών και επηρεάζονται από τη φυσική και χημική τους σύνθεση. Ως αποτέλεσμα της βακτηριακής ενζυματικής δραστηριότητας στο κόλον, οι ίνες υφίστανται αλλοιώσεις στη σύνθεση. Σε συγκεκριμένες ανωμαλίες της εντερικής λειτουργίας καθώς και στο μεταβολισμό της γλυκόζης και των λιπιδίων, οι διαιτητικές ίνες είναι κλινικά σημαντικές (Preston, 1974).

Οι διαιτητικές ίνες αυξάνουν το βάρος των κοπράνων μεταφέροντας το νερό των κοπράνων και ενισχύοντας τον όγκο των βακτηρίων στα κόπρανα. Είναι γενικά γνωστό ότι οι φυτικές ίνες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη θεραπεία της απλής εκκολπωματίτιδας και της δυσκοιλιότητας. Οι φυτικές ίνες αυξάνουν τον όγκο των κοπράνων ενώ μειώνουν τις συγκεντρώσεις του χολικού οξέος και άλλων χημικών στα κόπρανα (Van et al., 1976). Ορισμένες ίνες επιβραδύνουν τον ρυθμό απορρόφησης γλυκόζης και μειώνουν τις μεταγευματικές αυξήσεις στο σάκχαρο και την ινσουλίνη στο αίμα. Οι βλενώδεις τύποι ινών μειώνουν τα επίπεδα χοληστερόλης στο πλάσμα. Μια αύξηση στην απέκκριση όξινης στερόλης στα κόπρανα φαίνεται να παίζει ρόλο στη μεσολάβηση αυτού του αποτελέσματος (Schubert, 1965).

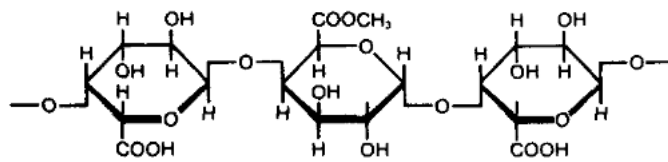
### 3.3 Χημεία των διαιτητικών ινών

#### 3.3.1 Πολυσακχαρίτες

##### CELLULOSE

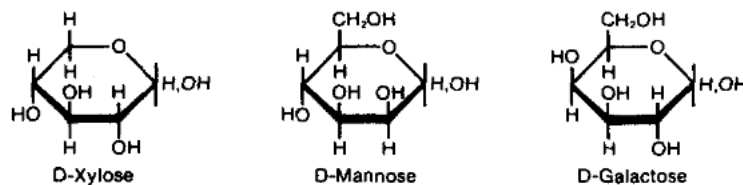


##### PECTIN

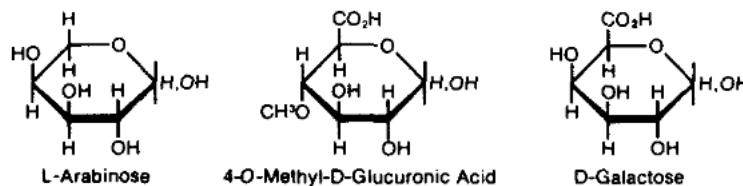


##### HEMICELLULOSE (major component sugars)

###### a) Backbone Chain



###### b) Side Chains



Εικόνα 2 Οι κύριοι πολυσακχαρίτες που βρίσκονται στις διαιτητικές ίνες. Το D-γαλακτουρονικό οξύ είναι το κύριο συστατικό των πηκτικών ενώσεων. Ο βαθμός μεθυλίωσης των καρβοξυλομάδων ποικίλλει. Οι ετερογενείς πολυσακχαρίτες που είναι τυπικά διακλαδισμένοι περιλαμβάνουν ημικυτταρίνες. Απεικονίζονται τα κύρια σάκχαρα που αποτελούν τις πλευρικές αλυσίδες και τη ραχοκοκαλιά.

Το βήτα ισομερές του αμύλου, η κυτταρίνη είναι το πιο διαδεδομένο μόριο στη φύση. Είναι ένα μακρύ (έως 10.000 υπολείμματα ζάχαρης) γραμμικό πολυμερές 1,4 και συνδεδεμένων μονάδων γλυκόζης. Τα κρυσταλλικά μικροϊνίδια δημιουργούνται όταν υπολείμματα ζάχαρης σε γειτονικές αλυσίδες σχηματίζουν δεσμούς υδρογόνου μεταξύ τους. Τα ισχυρά αλκάλια καθιστούν την κυτταρίνη αδιάλυτη (Aspinall, 1970). Πολυάριθμες ετερογλυκάνες με ένα μείγμα από πεντόζες, εξόζες και ουρονικά οξέα συγκαταλέγονται στους μη κυτταρινικούς πολυσακχαρίτες (πίνακας 2). Το ημιθάνιο και οι πηκτικές ουσίες είναι δύο από τα πιο σημαντικά NCP (Southgate, 1976). Μετά την απομάκρυνση των υδατοδιαλυτών και των πηκτικών πολυσακχαριτών, το υδατικό αλκάλιο διαλυτοποιεί τους πολυσακχαρίτες του κυτταρικού τοιχώματος γνωστούς ως ημικυτταρίνες. Διαφέρουν από την κυτταρίνη στο ότι είναι μικρότερα σε μέγεθος (γενικά λιγότερα από 200 υπολείμματα ζάχαρης), περιέχουν ποικιλία σακχάρων και συχνά είναι διακλαδισμένα. Περιέχουν επίσης ραχοκοκαλιά από σάκχαρα πυρανοσίδης με μελάνη p-1,4-1. Το πρωτογενές μονομερές υπόλειμμα σακχάρου χρησιμοποιείται για την υποκατηγορία των ημικυτταρινών. Το γλυκουρονικό και το

γαλακτουρονικό οξύ υπάρχουν σε διαφορετικές ποσότητες σε όξινες και ουδέτερες μορφές (Theander & Aman, 1979). Δεδομένου ότι τα υπολείμματα σακχάρου μπορούν τώρα να χρησιμοποιηθούν για μεθυλίωση, αμίδωση και δημιουργία συμπλοκών κατιόντων, η σύνθεση του ουρονικού οξέος, η οποία απαιτεί την οξείδωση του τερματικού - CH<sub>2</sub>OH σε - COOH, είναι σημαντική για τις βιολογικές διεργασίες (Kertesz, 1963). Σε σύγκριση με την κυτταρίνη, οι ημικυτταρίνες είναι ελαφρώς πιο προσιτές στα βακτηριακά ένζυμα, ιδιαίτερα στα συστατικά της εξόζης και του ουρονικού οξέος (Southgate et al., 1976).

Το D-γαλακτουρονικό οξύ είναι ένα βασικό συστατικό της σύνθετης ομάδας πολυσακχαριτών που είναι γνωστές ως πηκτικές ενώσεις. Χρησιμεύουν τόσο ως διακυτταρικοί τσιμεντοποιητικοί παράγοντες όσο και ως δομικά στοιχεία των φυτικών κυτταρικών τοιχωμάτων. Η πρωτοπηκτίνη, ένα μη διαλυτό στο νερό μητρικό μόριο, τα πηκτινικά και πηκτικά οξέα και η πηκτίνη είναι όλα παρόντα. Μια μη διακλαδισμένη αλυσίδα μονάδων D-γαλακτουρονικού οξέος που συνδέονται με αξονική-(1+4)-συνθέτει τη δομή ραχοκοκαλιάς της πηκτίνης. Μπλοκ μονάδων πλούσιων σε L-ραμνόζη διασπούν μακριές αλυσίδες γαλακτουρονάνης, προκαλώντας κάμψη του μορίου. Τα ουδέτερα σάκχαρα, κυρίως η αραβινόζη και η γαλακτόζη, και σε μικρότερο βαθμό η ξυλόζη, η ραμνόζη και η γλυκόζη, συνδέονται ομοιοπολικά με αρκετές πηκτίνες ως πλευρικές αλυσίδες. Επιπρόσθετα, έχει αποδειχθεί ότι μικροσκοπικές ποσότητες γλυκουρονικού οξέος μπορεί να σχηματίσουν έναν σύνδεσμο πλευρικής αλυσίδας με την πηκτίνη (Knuss, 1974).

Τα δευτερεύοντα υδροξύλια των γαλακτουρονικών οξέων μπορούν να ακετυλιωθούν, ενώ οι καρβοξυλικές ομάδες είναι εν μέρει μεθυλιωμένες. Τα βακτήρια του παχέος εντέρου μεταβολίζουν σχεδόν εξ ολοκλήρου την πηκτίνη, η οποία είναι πολύ υδατοδιαλυτή (Werch & Ivy, 1941). Ο **πίνακας 2** παραθέτει άλλα NCPs, όπως κόμμεα, βλεννογόνους και πολυσακχαρίτες φυκιών.

### 3.3.2 Λιγνίνη

Σε αντίθεση με τη δημοφιλή πεποίθηση, η λιγνίνη δεν είναι πολυσακχαρίτης αλλά μάλλον ένα σύνθετο τυχαίο πολυμερές που αποτελείται από περίπου 40 οξυγονωμένες μονάδες φαινυλοπροπανίου, συμπεριλαμβανομένων των κωνφερυλικών, σιναπυλικών και π-κουμαρυλικών αλκοολών (Theander & Aman, 1979). Το μοριακό βάρος και η περιεκτικότητα σε μεθοξύλια των λιγνινών ποικίλλουν. Η λιγνίνη είναι πολύ αδρανής εξαιτίας του ισχυρού ενδομοριακού δεσμού, ο οποίος περιλαμβάνει δεσμούς άνθρακα με άνθρακα. Χημικά, συχνά χαρακτηρίζεται ως λιγνίνη Klason, ένα υποπροϊόν του κυτταρικού τοιχώματος που είναι αδιάλυτο σε θειικό οξύ 72% (Southgate et al., 1976). Άλλα φυσικά πολυμερή είναι λιγότερο ανθεκτικά στην πέψη από τη λιγνίνη.

Πίνακας 2 Χημική ταξινόμηση διαιτητικών ινών (Kay RM., 1982)

<b>Χημικά συστατικά</b>			
<b>Φυτικές ίνες</b>	<b>Κύρια Αλυσίδα</b>	<b>Πλευρική αλυσίδα</b>	<b>Περιγραφή</b>
<b>Πολυσακχαρίτες</b>			
<b>Κυτταρίνη</b>	Γλυκόζη	Καμία	Κύριο συστατικό του φυτικού κυτταρικού τοιχώματος. Αδιάλυτο σε συμπυκνωμένα αλκάλια. Διαλυτό σε πυκνό οξύ.
<b>Ημικυτταρίνη</b>	Ξυλόζη, μαννόζη, γαλακτόζη, γλυκόζη	Αραβινόζη, γαλακτόζη, γλυκουρονικό οξύ	Πολυσακχαρίτες κυτταρικού τοιχώματος που περιέχουν σκελετό 1-4 συνδεδεμένων σαγγάρων πυρανοσίδης. Διαφέρουν ως προς τον βαθμό διακλάδωσης και την περιεκτικότητα σε ουρονικό οξύ. Διαλυτό σε αραιά αλκάλια.
<b>Πηκτικές ουσίες</b>	Γαλακτουρονικό οξύ	Ραμνόζη, αραβινόζη, ξυλόζη, φουκόζη	Τα συστατικά του πρωτογενούς κυτταρικού τοιχώματος και του μεσαίου ελάσματος ποικίλλουν ως προς την περιεκτικότητα σε μεθυλεστέρα. Γενικά υδατοδιαλυτό και σχηματίζει γέλη.
<b>Βλενώματα</b>	Γαλακτόζη-μαννόζη, γλυκόζη-μαννόζη, αραβινόζη-ξυλόζη, γαλακτουρονικό οξύ ραμνόζη	Γαλακτόζη	Συντίθεται από φυσικά εκκρινικά κύτταρα, αποτρέπει την αποξήρανση του ενδοσπερμίου των σπόρων. Χρήση στη βιομηχανία τροφίμων, υδρόφιλο, σταθεροποιητής, π.χ. γκουάρ.
<b>Κόμμι (gums)</b>	Γαλακτόζη, γλυκουρονικό οξύ-μαννόζη, γαλακτουρονικό οξύ- ραμνόζη	Ξυλόζη, φουκόζη, γαλακτόζη	Εκκρίνεται στο σημείο του τραυματισμού του φυτού από εξειδικευμένα εκκρινικά κύτταρα. Τροφική και φαρμακευτική χρήση, π.χ. κόμμι Karaya



<b>Πολυσακχαρίτες φυκιών</b>	Μαννόζη, ξυλόζη, γουλουρονικό οξύ, γλυκόζη	Γαλακτόζη	Προέρχεται από άλγη και φύκια. Διαφέρουν ως προς την περιεκτικότητα σε ουρονικό οξύ και την παρουσία θεικών ομάδων. Τροφική και φαρμακευτική χρήση π.χ. καραγεννάνη, άγαρ.
<b>Λιγνίνη</b>	Σιναπυλική αλκοόλη, κωνοφερυλική αλκοόλη, π-κουμαρυλική αλκοόλη	Τρισδιάστατη δομή	Συστατικό κυτταρικού τοιχώματος χωρίς υδατάνθρακες. Σύνθετο πολυμερές φαινυλοπροπανίου με σταυροειδείς δεσμούς. Αδιάλυτο σε 72% θειικό οξύ Αντοχή στη βακτηριακή αποικοδόμηση.

## Ερευνητικό Μέρος

### Σκοπός πειραματικής μελέτης

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι ο προσδιορισμός της γλυκαιμικής απόκρισης σε απλή βρώμη του εμπορίου και βρώμη εμπλουτισμένη με προβιοτικό στέλεχος *Lactococcus lactis* μέσω *in vitro* γαστρεντερικής πέψης. Παράλληλα, στόχο αποτελεί η αξιολόγηση της επίδρασης βρώμης εμπλουτισμένης με προβιοτικό στέλεχος *Lactococcus lactis* σε βιοδείκτες αίματος και ούρων. Συγκεκριμένα, μελετήθηκαν βιοδείκτες λιπαίμιας (όπως HDL-C, LDL-C, TC, TG), βιοδείκτες γλυκαιμίας (όπως GLU, INS, HbA1c), φλεγμονής (όπως hs-CRP), ουρικού οξέος και ανοσολογικοί βιοδείκτες (όπως Cortisol, VitB12, VitD, IgA, Folate). Επίσης, διερευνήθηκε η αντιοξειδωτική ικανότητα πλάσματος. Στα δείγματα ούρων μελετήθηκε η συγκέντρωση μαγνησίου και φωσφορικών αλάτων.

## Κεφάλαιο 4: Πειραματική Πορεία

### Μέρος Α: Προσδιορισμός προβλεπόμενης γλυκαιμικής απόκρισης βρώμης εμπλουτισμένης με προβιοτικά μέσω *in vitro* γαστρεντερικής πέψης

#### 4.1 Υλικά και Μέθοδοι

##### 4.1.1 Προετοιμασία δειγμάτων βρώμης

###### **Δείγματα**

Το δείγμα απλής βρώμης που χρησιμοποιήθηκε προμηθεύτηκε από το εμπόριο ενώ τα εμπλουτισμένα δείγματα βρώμης παράχθηκαν και προμηθεύτηκαν από το Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, ακολουθώντας όλους τους κανόνες υγιεινής και ασφάλειας τροφίμων.

Η θρεπτική αξία των δειγμάτων, βάση ετικέτας, φαίνεται στον παρακάτω πίνακα.

*Πίνακας 3 Διαθρεπτική επισήμανση δειγμάτων ανά 100g*

Δείγμα Τροφίμου	Ενέργεια (kcal)	Πρωτεΐνες (g)	Λιπαρά (g)	Υδατάνθρακες (g)	Φυτικές ίνες (g)
Απλή βρώμη	393	14,1	6,6	61	10,1
Βρώμη με προβιοτικά	393	14,1	6,6	61	10,1

##### 4.1.2 Προετοιμασία Δειγμάτων

Για την διεξαγωγή της πειραματικής πορείας προετοιμάστηκαν μερίδες δειγμάτων, οι οποίες περιείχαν 0,25 g διαθέσιμου υδατάνθρακα. Συγκεκριμένα:

Για την διεξαγωγή της πειραματικής διαδικασίας προετοιμάστηκαν τα δύο δείγματα βρώμης: απλή βρώμη και βρώμη εμπλουτισμένη με προβιοτικά.

Έγινε ζύγιση 18g απλής βρώμης, προσθήκη 5ml νερού θερμοκρασίας περιβάλλοντος. Ακολούθησε ομογενοποίηση του μείγματος και ύστερα τοποθέτηση στον επωαστήρα για 15 λεπτά στους 37 βαθμούς. Η ίδια διαδικασία ακολουθήθηκε και για το δείγμα της βρώμης με προβιοτικά.

Η ίδια διαδικασία ακολουθήθηκε και για τα δύο δείγματα βρώμης.

## 4.2 Προσδιορισμός προβλεπόμενης γλυκαιμικής απόκρισης σε δείγματα βρώμης μέσω in vitro προσομοίωσης γαστρεντερικής πέψης

### 4.2.2 Υλικά

Όλα τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν προμηθεύτηκαν από την εταιρεία Sigma – Aldrich (Steinheim, Germany).

### 4.2.3 Δείγματα

Τα δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν 1 δείγμα απλής βρώμης και 1 δείγμα βρώμης με προβιοτικά.

### 4.2.4 Αρχή της Μεθόδου

Υπάρχουν τρία στάδια για την in vitro προσομοίωση γαστρεντερικής πέψης (GI). Το πρώτο στάδιο προσομοιώνει το μάσημα της τροφής και τη δραστηριότητα του ενζύμου α-αμυλάση. Το δεύτερο στάδιο προσομοιώνει την πεπτική διαδικασία που συμβαίνει στο στομάχι. Η τρίτη φάση μιμείται τελικά την εντερική φάση. Στο τέλος του τελικού σταδίου, λαμβάνεται ένα δείγμα για την αξιολόγηση της απόκρισης γλυκόζης σε πέντε διαφορετικά διαστήματα (0, 30,60,90,120 λεπτά).

### 4.2.5 Πειραματική Διαδικασία

Η πειραματική διαδικασία περιλαμβάνει τα εξής στάδια:

#### Στοματική Φάση

Ποσότητα τροφής ομοιογενοποιείται (Ultra Turrax T25 Basic, Cole-Parmer Instrument Co. Ltd., London, UK) με την διπλάσια ποσότητα απιονισμένου νερού και επωάζεται με το ένζυμο α-αμυλάση 185 U/g διαθέσιμου υδατάνθρακα (type XIII-A A1031-1KU, Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Germany) για 15 λεπτά στους 37°C σε κινούμενο επωαστήρα με ταχύτητα 110 RPM(ES-20/60, Biosan, Riga, Latvia).

#### Γαστρική Φάση

Μετά το χρονικό διάστημα των 15 λεπτών επώασης, στο δείγμα τροφίμου γίνεται ρύθμιση του pH στο 2,5 με την χρήση HCL 1M και HCL 37% (πυκνό) . Έπειτα, ποσότητα που περιέχει 0,25g διαθέσιμου υδατάνθρακα τοποθετείται σε 6-well plate μέχρι τελικό όγκο 2ml (όπου απαιτείται συμπληρώνεται απιονισμένο νερό). Για τον υπολογισμό των διαθέσιμων υδατανθράκων των τροφίμων γίνεται η αφαίρεση των φυτικών ινών από την συνολική ποσότητα υδατανθράκων. Σε κάθε θέση του 6-well plate γίνεται προσθήκη 0,1ml διαλύματος

πεψίνης (porcine pepsin, P-7000, Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Germany) με χρονική διαφορά 20'. Η παρασκευή του διαλύματος πεψίνης έγινε με την ανάμειξη 0,2g πεψίνης και 5ml διαλύματος HCl 0,1 M και ύστερα τοποθέτηση στον επωαστήρα (37°C,110 RPM) για 20 λεπτά. Για την αποφυγή δημιουργίας συσσωματωμάτων ακολούθησε χειροκίνητη ανάδευση και τοποθέτηση του plate στον επωαστήρα για 2 ώρες (37°C,110 RPM).

### Εντερική Φάση

Μετά το πέρασμα των 2 ωρών επώασης, σε κάθε θέση του 6 – well plate γίνεται τοποθέτηση κυλινδρικού ένθετου με μεμβράνη (molecular weight cutoff of 6–8 kDa, Spectrum Laboratories, Inc., Rancho Dominguez, CA, USA), το οποίο προετοιμάζεται με κομμάτι μεμβράνης (3cm μεμβράνης /κυλινδρικό ένθετο) που εμβαπτίζεται σε ποτήρι ζέσεως με απιονισμένο νερό και επώάζεται στους 37°C για 1 ώρα. Ύστερα, η μεμβράνη δένεται με ελαστική λωρίδα στην κορυφή του κυλινδρικού ενθέτου, γίνεται ξανά εμβάπτισή της σε απιονισμένο νερό και τοποθέτησή της στον επωαστήρα έως 30' πριν ολοκληρωθεί η επώαση του δείγματος. Στη συνέχεια, αφού γίνεται η τοποθέτηση των δειγμάτων στο 6-well plate, στο άνω μέρος της μεμβράνης προστίθεται 2ml ρυθμιστικού διαλύματος Pipes (pH = 6,3), με χρονική διαφορά 20'. Το ρυθμιστικό διάλυμα Pipes παρασκευάζεται προσθέτοντας 2,5975g Pipes σε 50ml απιονισμένου νερού, και γίνεται ρύθμιση του pH προσθέτοντας HCl 37% w/w (12M). Ακολουθεί επώαση του 6-well plate για 30 λεπτά. Αφού περάσουν τα πρώτα 30 λεπτά λαμβάνεται δείγμα 0,2mL (t =0 min) από το υπερκείμενο της μεμβράνης και προστίθεται κάτω από το δακτύλιο με την μεμβράνη, 10mL αμυλογλυκοζιδάσης (3260U/mL) και 0,5mL διαλύματος παγκρεατίνης-χολικών αλάτων με χρονική διαφορά 20'. Για το διάλυμα παγκρεατίνης – χολικών διαλύονται 0,02 g παγκρεατίνης και 0,12 g χολικών αλάτων σε 10ml NaHCO<sub>3</sub> 0,1M. Επανατοποθετείται το κυλινδρικό ένθετο και επώαση για 2 ώρες (37°C,110 RPM).



Εικόνα 3 Διεξαγωγή δοκιμής in vitro γαστρεντερικής πέψης σε 6-well plate

### 4.3 Διαδικασία προσδιορισμού γλυκαιμικής απόκρισης- Μέθοδος 3,5 – Dinitrosalicylic acid (DNS)

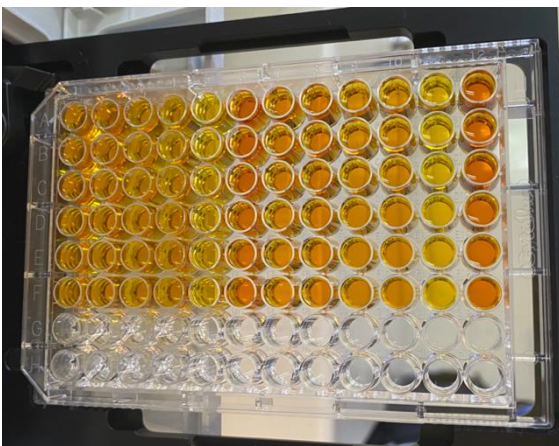
#### 4.3.1 Αρχή της Μεθόδου

Η μέθοδος βασίζεται στην αναγωγή του 3,5-δινιτροσαλυκυλικού οξέος προς 3-αμινο- 5-νιτροσαλυκυλικό οξύ, παρουσία NaOH και την ταυτόχρονη οξείδωση της γλυκόζης προς γλυκονικό οξύ.

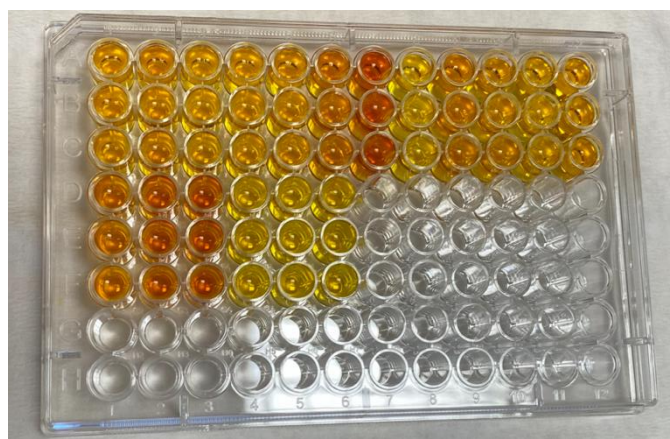
#### 4.3.2 Πειραματική Διαδικασία

Γίνεται τοποθέτηση 0,05 ml υπερκειμένου αιθανολικού δείγματος και 0,25 ml ρυθμιστικού διαλύματος (pH=5.2) με 1% αμυλογλυκοζιδάση σε γυάλινους δοκιμαστικούς σωλήνες με μεταλλικό καπάκι. Έπειτα τα δείγματα επωάζονται στους 37 °C για 10 λεπτά. Στη συνέχεια γίνεται προσθήκη στους δοκιμαστικούς σωλήνες 0,75ml αντιδραστήριου DNS mix και τα δείγματα θερμαίνονται σε υδατόλουτρο στους 97°C για 15 λεπτά. Ύστερα, για το σταμάτημα της αντίδρασης, οι δοκιμαστικοί σωλήνες ψύχονται κάτω από νερό βρύσης και ακολουθεί προσθήκη 4ml απιονισμένου νερού σε κάθε δοκιμαστικό σωλήνα. Ποσότητα 0,3 ml από κάθε δείγμα μεταφέρεται σε 96 -well plate και ακολουθεί μέτρηση απορρόφησης στα 562 nm.

Για την παρασκευή του αντιδραστήριου DNS mix χρησιμοποιείται η αναλογία 1:1:5 0,5mg/ml γλυκόζη, 4M NaOH και αντιδραστήριο DNS αντίστοιχα. Για το αντιδραστήριο DNS 2 μέρες πριν την εκτέλεση του πειράματος, διαλύονται 5g δινιτροσαλυκυλικού οξέος και 201,44g τετραένυδρου ταρταρικού σε 100ml διαλύματος NaOH 2M και συμπληρώνεται με απιονισμένο νερό μέχρι τελικό όγκο 250 ml.



Εικόνα 5 Διεξαγωγή δοκιμής σε DNS 96-well plate

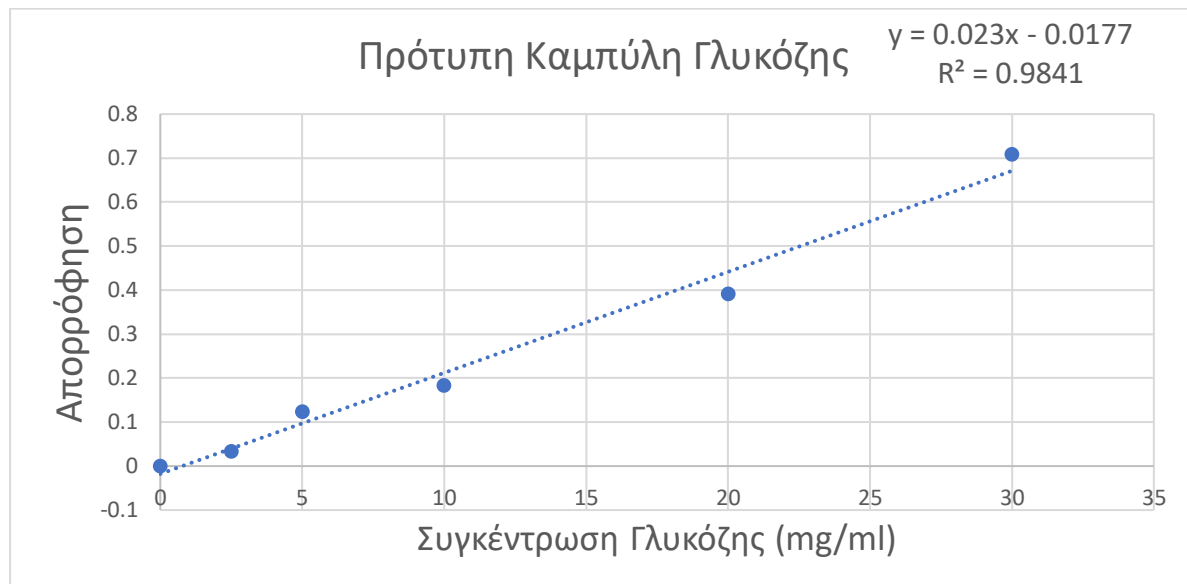


Εικόνα 4 Διεξαγωγή δοκιμής σε DNS 96-well plate

#### 4.3.3 Κατασκευή πρότυπης καμπύλης αναφοράς

Για την παρασκευή της πρότυπης καμπύλης γλυκόζης παρασκευάστηκαν διαλύματα γλυκόζης συγκεντρώσεων από 0 έως 30 mg/mL και στη συνέχεια δημιουργήθηκαν διαλύματα μικρότερων συγκεντρώσεων με διαδοχικές αραιώσεις (0, 2.5, 5, 10, 20, 30mg/ml). Έγινε τοποθέτηση 0,05 ml από κάθε διάλυμα γλυκόζης και 0,25 ml ρυθμιστικού διαλύματος (pH=5.2) με 1% αμυλογλυκοζιδάση σε γυάλινους δοκιμαστικούς σωλήνες με μεταλλικό καπάκι. Έπειτα ακολούθησε επωασμός των διαλυμάτων στους 37°C για 10'. Στη συνέχεια

στους δοκιμαστικούς σωλήνες έγινε προσθήκη 0,75ml αντιδραστήριου DNS mix και τα δείγματα θερμάνθηκαν σε υδατόλουτρο στους 97°C για 15 λεπτά. Έπειτα οι δοκιμαστικοί σωλήνες ψύχθηκαν κάτω από νερό βρύσης και ακολούθησε προσθήκη 4ml απιονισμένου νερού σε κάθε δοκιμαστικό σωλήνα. Ποσότητα 0,3 ml από κάθε δείγμα μεταφέρθηκε σε 96-well plate και ακολούθησε μέτρηση απορρόφησης στα 562 nm. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε mg γλυκόζης ανά ml δείγματος.



Γράφημα 1 Πρότυπη καμπύλη αναφορά γλυκόζης

## Μέρος Β: Διερεύνηση της επίδρασης προβιοτικών στελεχών ακινητοποιημένα σε βρώμη σε βιοδείκτες αίματος και ούρων

### 4.4 Εθελοντές

Η παρούσα μελέτη κοινοποιήθηκε σε πιθανούς εθελοντές μέσω φυλλαδίων ενημέρωσης, όπου παρουσιάζονταν αναλυτικά τα βήμα και οι στόχοι της μελέτης και οι υποχρεώσεις των συμμετεχόντων. Οι εθελοντές που δέχτηκαν να συμμετέχουν στην έρευνα κλήθηκαν να απαντήσουν σε ερωτηματολόγιο ελέγχου κριτηρίων εισόδου/εξόδου, ώστε να αξιολογηθεί η ικανότητα συμμετοχής τους στην έρευνα. Συγκεκριμένα, οι ενδιαφερόμενοι έπρεπε να βρίσκονται ηλικιακά μεταξύ 18 και 65 ετών κατά την έναρξη της έρευνας ενώ ήταν απαραίτητη η συμπλήρωση υπογεγραμμένου εντύπου συγκατάθεσης συμμετοχής στην μελέτη. Παράλληλα, εθελοντές που πληρούσαν ένα ή περισσότερα από τα ακόλουθα κριτήρια αποκλεισμού δεν συμμετείχαν στην διεξαγωγή της μελέτης για λόγους ασφάλειας και αποτελεσματικότητας αυτής. Συγκεκριμένα, κριτήρια αποκλεισμού αποτέλεσαν:

- Ιστορικό δυσανεξίας στη λακτόζη  
Ιστορικό εμφάνισης τροφικών αλλεργιών και άτομα, τα οποία παρουσιάζουν υπερευαισθησία σε κάποιο από τα συστατικά του, όπως η πρωτεΐνη του γάλακτος

- Άτομα, τα οποία λαμβάνουν προβιοτικά συμπληρώματα ή φάρμακα που επηρεάζουν την εντερική λειτουργία
- Άτομα, τα οποία λαμβάνουν αντισυλληπτικά χάπια
- Άτομα με ΔΜΣ > 40 kg/m<sup>2</sup>
- Έγκυες ή θηλάζουσες
- Όσοι κάνουν χρήση παράνομων ναρκωτικών, είναι χρόνιοι αλκοολικοί ή καταναλώνουν περισσότερο από 50 ml/ημέρα αλκοόλ
- Όσοι πάσχουν από κάποιο χρόνια νόσημα με διάγνωση (καρκίνος, ενεργός ηπατική νόσος, σοβαρή νεφρική νόσος, σοβαρή νεφρική νόσος, σοβαρός σακχαρώδης διαβήτης, σοβαρό εγκεφαλικό επεισόδιο τους τελευταίους έξι μήνες και διαταραχές που συνδέονται με αυξημένο κίνδυνο αιμορραγίας)
- Άτομα, τα οποία έχουν μια ιατρική κατάσταση και θα τα δυσκόλευε να συμμετάσχουν σε μια δοκιμή διαιτητικής παρέμβασης
- Άτομα τα οποία ο ερευνητής θεωρεί αναξιόπιστα, τα οποία προβλέπεται να ζήσουν συντομότερη ζωή από την προβλεπόμενη διάρκεια της μελέτης λόγω ασθένειας ή τα οποία βρίσκονται σε οποιαδήποτε κατάσταση που, κατά την κρίση του ερευνητή, εμποδίζει την ασφαλή συμμετοχή (εθισμός στα ναρκωτικά, κατάχρηση αλκοόλ)

#### 4.5 Σχεδιασμός Μελέτης

Η παρούσα έρευνα αποτελεί μια τυχαιοποιημένη, τυφλή κλινική δοκιμή διατροφικής παρέμβασης με παράλληλο σχεδιασμό δύο αξόνων διεξαγόμενη σε δείγμα 60 υγιών εθελοντών, ο αριθμός των οποίων καθορίστηκε από ένα στατιστικό πρόγραμμα, GPower 3.1 (Πανεπιστήμιο του Ντίσελντορφ, Γερμανία) για τον υπολογισμό του απαραίτητου μεγέθους δείγματος για την έρευνα, προκειμένου να εξαχθούν ασφαλή και αξιόπιστα συμπεράσματα. Η δοκιμή είχε μια ομάδα ελέγχου στην οποία συμμετείχαν οι μισοί συμμετέχοντες (n=30) και μια ομάδα παρέμβασης στην οποία έλαβαν μέρος οι υπόλοιποι συμμετέχοντες (n=30). Η μελέτη για κάθε συμμετέχοντα διήρκησε 6 εβδομάδες.

Μία εβδομάδα πριν από την έναρξη της παρέμβασης, προγραμματίστηκε για τους εθελοντές μια δια ζώσης συνάντηση όπου υπέγραφαν ένα έντυπο συγκατάθεσης και εθελοντικής συμμετοχής, καθώς λάμβαναν αναλυτικές οδηγίες σχετικά με τον τρόπο διεξαγωγής της μελέτης.

Για να κατανοήσουν οι εθελοντές τον τρόπο κατανάλωσης του τροφίμου και την προετοιμασία που έπρεπε να κάνουν πριν από κάθε συνάντηση, κατά τη διάρκεια της μελέτης, οι οδηγίες διατίθονταν σε φυσικό αντίγραφο ως ενημερωτικό φυλλάδιο. Οι συμμετέχοντες λάμβαναν οδηγίες για το πώς να καταναλώνουν 5g βρώμης κάθε μέρα για μια περίοδο 6 εβδομάδων. Οι εθελοντές πρόσθεταν τη βρώμη σε έναν φορέα τροφίμων της επιλογής τους. Οι συμμετέχοντες στην ομάδα παρέμβασης έλαβαν συγκεκριμένες οδηγίες για τη λήψη προβιοτικών μικροοργανισμών που έχουν ακινητοποιηθεί στη βρώμη. Παρόμοια με την ομάδα παρέμβασης, οι συμμετέχοντες στην ομάδα ελέγχου κλήθηκαν να τρώνε την ίδια ποσότητα απλής βρώμης (placebo) για το αντίστοιχο χρονικό διάστημα.

Την ίδια στιγμή, οι εθελοντές λάμβαναν επίσης τα απαραίτητα αναλώσιμα για τη συλλογή βιολογικών δειγμάτων. Προκειμένου να συλλέξουν αυτά τα δείγματα πριν από την έναρξη της διατροφικής παρέμβασης, παραλάμβαναν από την ερευνητική ομάδα συγκεκριμένα έναν ουροσυλλέκτη και μαζί έντυπες οδηγίες. Η ερευνητική ομάδα σύλλεγε τα προαναφερθέντα βιολογικά δείγματα και τα τοποθετούσε για διατήρηση μέχρι την εξέτασή τους στις κατάλληλες εγκαταστάσεις αποθήκευσης. Πριν από την έναρξη της παρέμβασης, οι εθελοντές κλήθηκαν να συμπληρώσουν ένα ερωτηματολόγιο για την αξιολόγηση του ιατρικού τους ιστορικού και των επιλογών του τρόπου ζωής τους (ιδίως των διατροφικών τους συνηθειών).

#### 1<sup>η</sup> εβδομάδα

Οι εθελοντές επισκέπτονταν τον χώρο του γενικού νοσοκομείου κατά την πρώτη εβδομάδα της μελέτης για να συλλέξουν βιολογικά δείγματα ούρων για τους ερευνητές σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες που περιγράφονται παραπάνω. Παράλληλα, μετά από 12ωρη νηστεία, συμπλήρωναν μία φόρμα ανάκλησης 24ώρου και έπειτα λαμβάνονταν 10ml αίματος με φλεβοκέντηση. Ακόμη, γινόταν λιπομέτρηση έτσι ώστε να διαπιστωθεί η σύσταση σώματος του καθενός στην αρχή της μελέτης. Το προϊόν-τρόφιμο παρέμβασης 6 εβδομάδων, ένας ουροσυλλέκτης για τη συλλογή ούρων που συνδέονται με τα βιολογικά δείγματα που λήφθηκαν κατά την έκτη εβδομάδα της παρέμβασης, παραδίδονταν στη συνέχεια στους συμμετέχοντες.

#### 6<sup>η</sup> εβδομάδα

Η δεύτερη και τελευταία συνεδρία πραγματοποιούνταν στο τέλος της έκτης εβδομάδας, κατά τη διάρκεια της οποίας οι συμμετέχοντες κλίνονταν να δώσουν ένα δεύτερο δείγμα ούρων και αίματος, καθώς και να συμπληρώσουν τα προαναφερθέντα ερωτηματολόγια για άλλη μια φορά σχετικά με τα γεύματα της προηγούμενης μέρας και με πρόσθετες λεπτομέρειες σχετικά με τις διατροφικές τους συνήθειες από την έναρξη της έρευνας έως την ολοκλήρωσή της.

#### 4.6 Κανόνες ηθικής και δεοντολογίας της έρευνας

Όλες οι βασικές κατευθυντήριες γραμμές για ηθική, επιστημονική και ερευνητική συμπεριφορά τηρήθηκαν κατά τη διάρκεια αυτής της μελέτης. Η Επιτροπή Βιοηθικής και Δεοντολογίας της Έρευνας του Πανεπιστημίου Αιγαίου και του Δημοκρίτειου Πανεπιστημίου Θράκης, καθώς και η επιστημονική επιτροπή των Γενικών Νοσοκομείων, υπέβαλαν αίτηση για την έγκριση της χρόνιας κλινικής δοκιμής. Ο στόχος της έρευνας, η εμπιστευτικότητα των δεδομένων και ο εθελοντικός χαρακτήρας της συμμετοχής των συμμετεχόντων εξηγήθηκαν παράλληλα στους εθελοντές, στους οποίους δόθηκε και στην συνέχεια υπογράφηκε ένα έντυπο άδειας σχετικά με την συμμετοχή τους σε αυτή.



#### 4.7 Συλλογή & Ανάλυση Βιολογικών Δειγμάτων

Η αιμοληψία πραγματοποιούνταν από εκπαιδευμένο προσωπικό του Γενικού νοσοκομείου. Μετά από φυγοκέντρηση στις 3000 στροφές για 15 λεπτά τα δείγματα αποθηκεύονταν σε βαθιά κατάψυξη σε erpendorfs στους  $-80^{\circ}\text{C}$  μέχρι την ανάλυση τους.

Μετά την παραλαβή του δείγματος ούρων από τους εθελοντές γινόταν ρύθμιση του pH στο 3 για την ανάλυση του φωσφόρου και αποθήκευση των δειγμάτων στους  $4^{\circ}\text{C}$  έως την χρήση τους. Για την ανάλυση του μαγνησίου αντίστοιχα γινόταν ρύθμιση του pH στο 1 και αποθήκευση των δειγμάτων σε βαθιά κατάψυξη στους  $-80^{\circ}\text{C}$  μέχρι να αναλυθούν.

Τα δείγματα αίματος και ούρων των εθελοντών υποβλήθηκαν σε ανάλυση για την καταγραφή βιοδεικτών (όπως το λιπιδαιμικό προφίλ, η γλυκόζη, δείκτες φλεγμονής, δείκτες ενδοθηλιακής λειτουργίας, αιμόστασης, οξειδωτικού στρες κ.λπ.). Η προσδιορισμένη ανάλυση έγινε χρησιμοποιώντας ειδικό βιοχημικό και ανοσολογικό αναλυτή. Συγκεκριμένα, κατά την ολοκλήρωση της μελέτης τα δείγματα πλάσματος αναλύθηκαν στον βιοχημικό αναλυτή COBAS c111 (Roche, Basel, Switzerland), εξετάζοντας τις τιμές ολικής χοληστερόλης, LDL, HDL, τριγλυκεριδίων, γλυκόζης αίματος, ουρικού οξέος, hs-CRP, φωσφορικό ούρων και μαγνήσιο ούρων. Παράλληλα, στον ανοσολογικό αναλυτή Maglumi 2000 Plus (Snibe, Shenzhen, China) ολοκληρώθηκαν οι εξετάσεις ινσουλίνης, κορτιζόλης, βιταμίνης D, βιταμίνης B12, ιντερλευκίνης 6 (IL-6), Ig-A και φυλλικού οξέος.

#### 4.8 Έλεγχος κατανάλωσης του τροφίμου

Κάθε φορά που επισκέπτονταν οι εθελοντές το νοσοκομείο για συνάντηση, γινόταν ζύγισμα στο σακουλάκι βρώμης που είχε σκοπό τον προσδιορισμό της ποσότητας κατανάλωσης. Επιπλέον, οι εθελοντές προμηθεύονταν από την ερευνητική ομάδα στο τέλος κάθε συνάντησης ένα ημερολόγιο καταγραφής, στο οποίο συμπλήρωναν καθημερινά τον τρόπο που συνδύαζαν το προϊόν-τρόφιμο με άλλες τροφές, καθώς και πιθανά σχόλια σχετικά με αυτό. Το έντυπο αυτό το παρέδιδαν στους ερευνητές για περαιτέρω ανάλυση.

#### 4.9 Στατιστική Ανάλυση

Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως μέσος όρος  $\pm$  τυπική απόκλιση. Για τη στατιστική ανάλυση χρησιμοποιήθηκε το πακέτο SPSS Statistics, έκδοση 16.1 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA). Η κανονική κατανομή των συνεχών μεταβλητών ελέγχθηκε τη διαδικασία Shapiro-Wilk. Οι διαφορές μεταξύ των μεταβλητών που ακολουθούσαν κανονική κατανομή ελέγχθηκαν με student's t-test και ANOVA. Η στατιστική διαφορά μεταξύ των δειγμάτων έγινε αποδεκτή όταν η μηδενική υπόθεση απορρίφθηκε σε επίπεδο  $p < 0,05$ .

## Κεφάλαιο 5: Αποτελέσματα

### Μέρος Α

#### 5.1 Προσδιορισμός προβλεπόμενης γλυκαιμικής απόκρισης βρώμης εμπλουτισμένης με προβιοτικά μέσω *in vitro* γαστρεντερικής πέψης

Η συγκέντρωση της γλυκόζης μετρήθηκε σε διάφορα χρονικά σημεία (0, 30, 60, 90 και 120 λεπτά) μετά από την πειραματική διαδικασία προσομοίωσης της γαστρεντερικής πέψης *in vitro*.

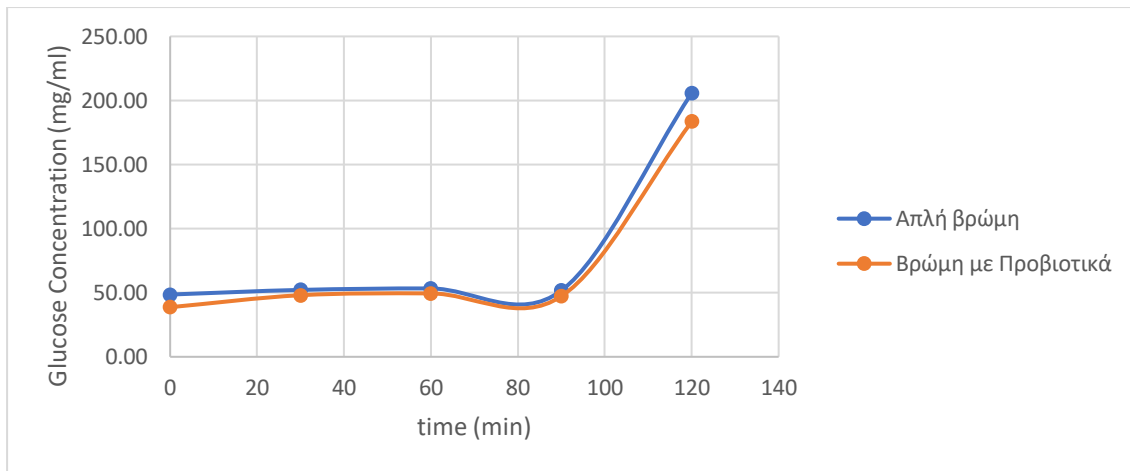
Οι μετρήσεις συγκέντρωσης γλυκόζης για την απλή βρώμη και την βρώμη με προβιοτικά (**Πίνακας 4, Γράφημα 2**) έδειξαν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους ( $p < 0,05$ ). Συγκεκριμένα, στα 0 λεπτά η στατιστική διαφορά ήταν  $p < 0,05$ , και στους υπόλοιπους χρόνους (30,60,90,120) υπήρξε αύξηση, δηλαδή με στατιστική διαφορά  $p < 0,01$ . Σχετικά με το **γράφημα 2**, στο χρονικό διάστημα των 120 λεπτών διακρίνεται στην βρώμη με τα προβιοτικά χαμηλότερη συγκέντρωση γλυκόζης σε σχέση με την απλή βρώμη, κατά την προσομοίωση της γαστρεντερικής πέψης.

Η υψηλότερη συγκέντρωση γλυκόζης βρέθηκε στα 120 λεπτά στην απλή βρώμη (205,78 mg/ml) και στην βρώμη με προβιοτικά (183,47 mg/ml). Για την απλή βρώμη παρατηρήθηκε η χαμηλότερη συγκέντρωση γλυκόζης (48,57 mg/ml) καθώς και για την βρώμη με προβιοτικά (38,70 mg/ml) κατά τη διάρκεια των πρώτων 30 λεπτών.

*Πίνακας 4 Γλυκαιμική απόκριση απλής βρώμης και βρώμης με προβιοτικά μετά από *in vitro* γαστρεντερική πέψη, εκφρασμένη σε (mg/ml)*

Time (min)	Απλή βρώμη (mg/mL)	Βρώμη με προβιοτικά (mg/mL)	p-value
0	48,57 ± 13,44	38,70 ± 10,50	<0,05
30	52,20 ± 18,18	48,05 ± 12,38	<0,01
60	53,34 ± 17,51	49,46 ± 12,79	<0,01
90	51,68 ± 15,30	47,25 ± 11,27	<0,01
120	205,78 ± 61,81	183,47 ± 44,38	<0,01

P-value: Παρατηρούμενο επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας



Γράφημα 2 Συγκέντρωση γλυκόζης (mg/mL) απλής βρώμης και βρώμης με προβιοτικά κατά την *in vitro* προσομοίωση γαστρεντερική πέψη σε διάφορους χρόνους

## Μέρος Β

### 5.2 Εθελοντές

Η παρούσα μελέτη ξεκίνησε με 60 εθελοντές και με την ολοκλήρωση της ο αριθμός των εθελοντών ήταν 52. Κατά την διάρκεια της μελέτης αποχώρησαν 8 άτομα, καθώς δεν μπορούσαν να ανταποκριθούν στις υποχρεώσεις και το χρονικό πλαίσιο αυτής.

Στον **πίνακα 5**, παρουσιάζονται τα γενικά χαρακτηριστικά των εθελοντών που συμμετείχαν στην έρευνα. Συγκεκριμένα, παρατηρείται ότι από τους 52 εθελοντές, n=27 ήταν άνδρες (52%) και n=25 ήταν γυναίκες (48%) (Γράφημα 3), από τους συμμετέχοντες αυτούς ο μέσος όρος ηλικίας ήταν τα 35 έτη. Αναφορικά με το ύψος, ο μέσος όρος ήταν 1,67 με τυπική απόκλιση 0,1 και για το βάρος ο μέσος όρος φάνηκε να είναι 70,81 και 15,84 τυπική απόκλιση αντίστοιχα. Ο δείκτης μάζας σώματος παρουσιάζεται να είναι 25,21 με τυπική απόκλιση 4,83, και η περιφέρεια ισχίου με μέσο όρο 0,81 και τυπική απόκλιση 0,07. Στην τελευταία στήλη του πίνακα παρατηρείται το ποσοστό των καπνιστών των εθελοντών στη μελέτη που είναι 26,31%.

Στο **γράφημα 4** αποτυπώνονται οι διατροφικές συνήθειες των εθελοντών κατά την έλξη της μελέτης. Μπορεί να παρατηρηθεί ότι χαμηλό ποσοστό εθελοντών επιλέγει πάνω από μία μερίδα φρούτων και λαχανικών ημερησίως, ενώ πηγές υδατανθράκων και γαλακτοκομικά προϊόντα (**γράφημα 6 και 7**) εντάσσονται στο καθημερινό διαιτολόγιο αυτών. Παράλληλα, στο **γράφημα 5** παρατηρούνται οι διατροφικές συνήθειες των εθελοντών κατά την έκτη εβδομάδα, όπου σημειώνονται μικρές αποκλίσεις. Συγκεκριμένα, παρουσιάζεται μείωση πρόσληψης λαχανικών, αλλά αύξηση κατανάλωσης υδατανθράκων και βρώμης.

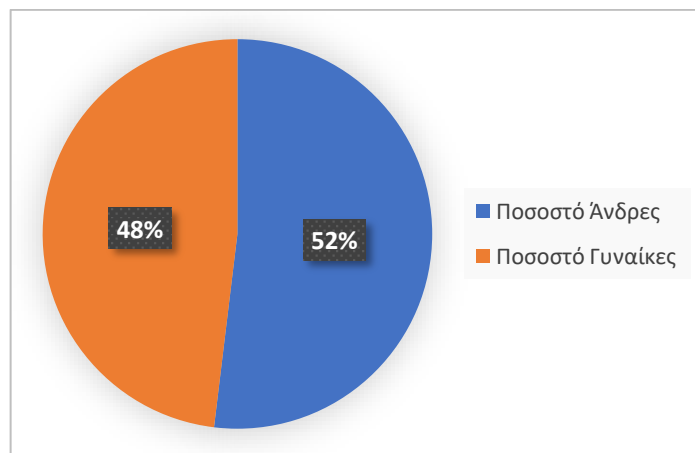
Στο **γράφημα 6** φαίνεται ότι κατά την έναρξη της 1ης εβδομάδας υψηλό ποσοστό των εθελοντών προτιμούν την χαμηλή κατανάλωση γιαουρτιού (1-2 φορές την εβδομάδα), ενώ ελάχιστο ποσοστό των ατόμων καταναλώνουν κεφίρ και ξινόγαλο. Στο **γράφημα 7**, που αφορά την 6η εβδομάδα, παρατηρείται μικρή αύξηση στην κατανάλωση του γιαουρτιού, και σχεδόν αμετάβλητες τιμές στο κεφίρ και το ξινόγαλο.

Υψηλό ποσοστό των εθελοντών εντάσσουν στο διαιτολόγιό τους την κατανάλωση κρέατος, μεταξύ της 1ης και 6ης εβδομάδας το λευκό, κόκκινο κρέας καθώς και το ψάρι εμφανίζουν ελάχιστη απόκλιση. Ωστόσο, στο **γράφημα 9** διακρίνεται αύξηση στην κατανάλωση αυγών σε μικρότερη συχνότητα (1-2 φορές την εβδομάδα).

Σχετικά με το **γράφημα 10**, παρατηρείται ότι υψηλό ποσοστό των συμμετεχόντων εντάσσουν τουλάχιστον 1 φορά την ημέρα στο διαιτολόγιό τους, τους ξηρούς καρπούς. Ωστόσο, στο **γράφημα 11**, διακρίνεται μείωση κατανάλωσης αυτών. Αναφορικά με το ελαιόλαδο, φαίνεται υψηλό ποσοστό ατόμων ότι επιλέγουν να το καταναλώνουν στην έναρξη της μελέτης πάνω από μία φορά ημερησίως. Στην 6η εβδομάδα (**γράφημα 11**) παρατηρείται μείωση της συχνότητας αυτής.

Ενδιαφέρον παρουσιάζει και η κατανάλωση του αλκοόλ, η οποία την 1η εβδομάδα (**γράφημα 10**) κατέγραψε μεγάλο ποσοστό εθελοντών που το εντάσσουν στην διατροφή τους, τουλάχιστον 1-2 φορές την εβδομάδα, την 6η εβδομάδα όμως (**γράφημα 11**) παρατηρείται μείωση αυτή της επιλογής.

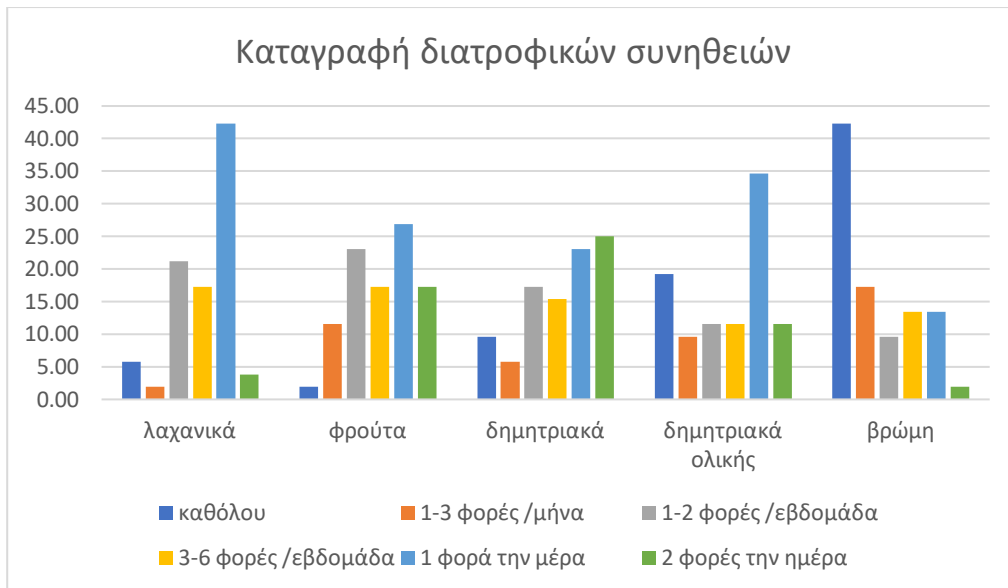
Όπως γίνεται φανερό από το **γράφημα 12** για την 1<sup>η</sup> εβδομάδα αρκετό ποσοστό από τους συμμετέχοντες (32,69%) διατηρούν ένα χαμηλό επίπεδο φυσικής δραστηριότητας. Μέτριο επίπεδο διατηρεί μόλις το 19,23%, ενώ αθλείται συστηματικά το 38,46% αυτών. Παρατηρείται μείωση της φυσικής δραστηριότητας στις 6 εβδομάδες, ενώ το ποσοστό των εθελοντών που δεν ασκείται παραμένει σταθερό.



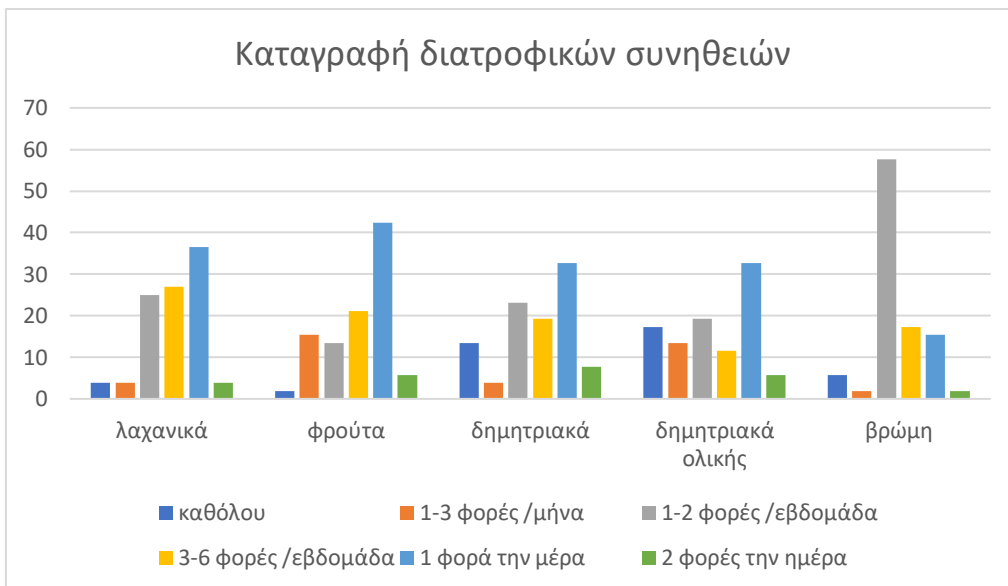
Γράφημα 3 Κατανομή δειγμάτων ανά φύλο

Πίνακας 5 Γενικά χαρακτηριστικά εθελοντών

Γενικά χαρακτηριστικά							
Άνδρες (n)	Γυναίκες (n)	Ηλικία (έτη)	Ύψος (m)	Βάρος (kg)	Δείκτης μάζας σώματος	Περιφέρεια μέσης ισχύου (WHR)	Καπνιστές (%)
27	25	35 ± 13,06	1,67 ± 0,1	70,81 ± 15,84	25,21 ± 4,83	0,81 ± 0,07	26,31

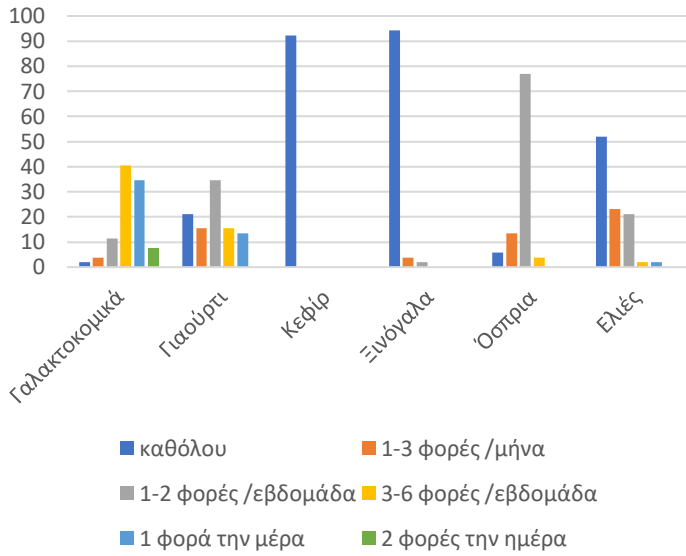


*Γράφημα 4 Συχνότητα κατανάλωσης τροφίμων εθελοντών 1<sup>η</sup> εβδομάδα*



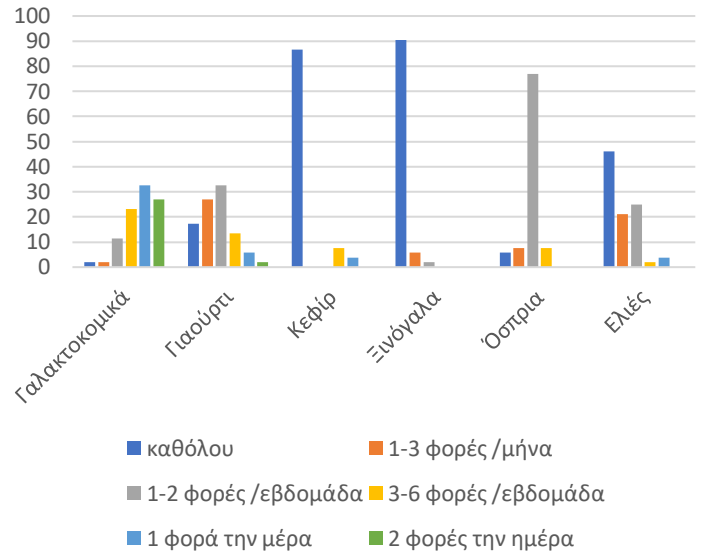
*Γράφημα 5 Συχνότητα κατανάλωσης τροφίμων εθελοντών 6<sup>η</sup> εβδομάδα*

### Καταγραφή διατροφικών συνηθειών



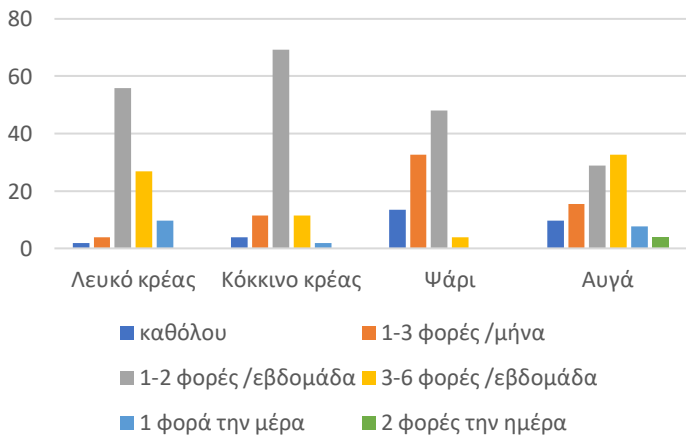
Γράφημα 7 Συχνότητα κατανάλωσης τροφίμων 1η εβδομάδα

### Καταγραφή διατροφικών συνηθειών



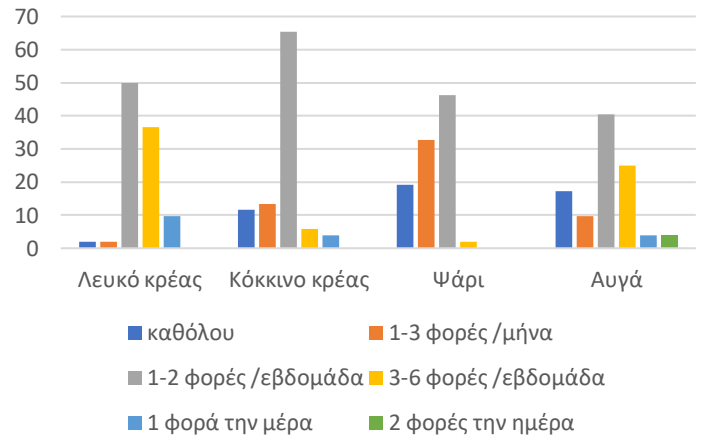
Γράφημα 6 Συχνότητα κατανάλωσης τροφίμων 6η εβδομάδα

### Καταγραφή διατροφικών συνηθειών

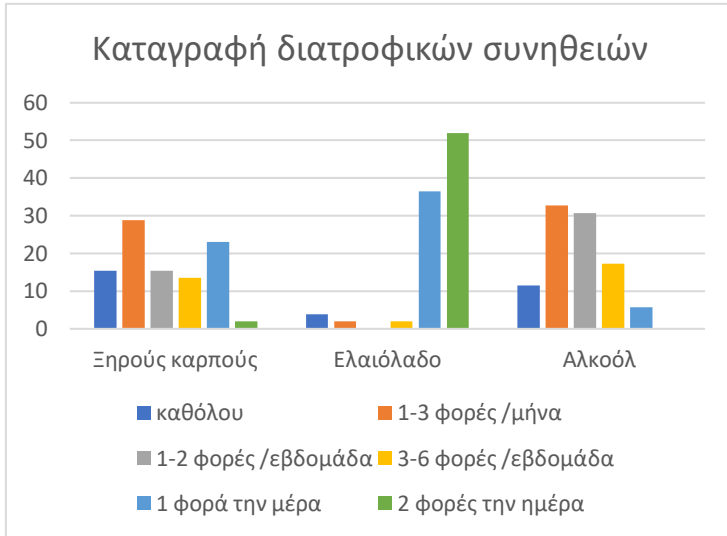


Γράφημα 9 Συχνότητα κατανάλωσης τροφίμων 1η εβδομάδα

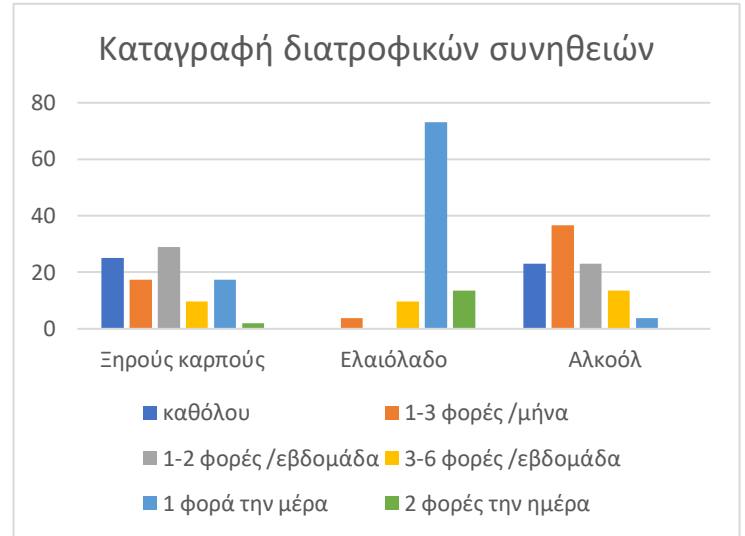
### Καταγραφή διατροφικών συνηθειών



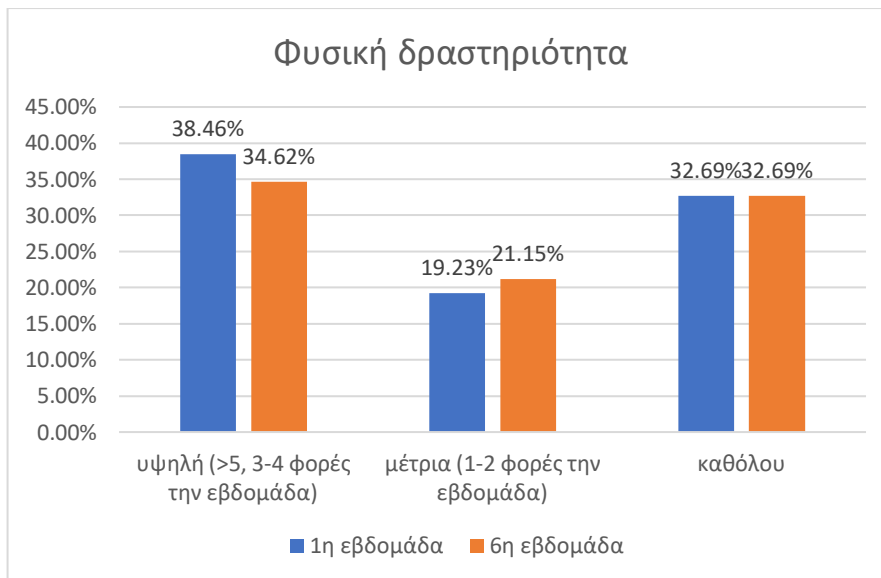
Γράφημα 8 Συχνότητα κατανάλωσης τροφίμων 6η εβδομάδα



Γράφημα 11 Συχνότητα κατανάλωσης τροφίμων 1η εβδομάδα



Γράφημα 10 Συχνότητα κατανάλωσης τροφίμων 6η εβδομάδα



Γράφημα 12 Συχνότητα φυσικής δραστηριότητας των εθελοντών

### 5.3 Βιοχημικές αναλύσεις

Στον **πίνακα 6**, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των βιοχημικών αναλύσεων των δύο ομάδων παρέμβασης, κατά την 1<sup>η</sup> και 6<sup>η</sup> εβδομάδα παρέμβασης. Με βάση τα αποτελέσματα, δεν εντοπίστηκαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές στις βιοχημικές αναλύσεις των εθελοντών μεταξύ της ομάδας παρέμβασης και της ομάδας ελέγχου.

Πίνακας 6 Αποτελέσματα Βιοχημικών αναλύσεων

Βιοχημικές αναλύσεις		Μέσος όρος, Τυπική απόκλιση (mg/dL)		p-value
		1η εβδομάδα	6η εβδομάδα	
Ολική χοληστερόλη	Απλή Βρώμη	179,84 ± 32,24	183,04 ± 43,10	>0,05
	Βρώμη με προβιοτικά	176,30 ± 30,23	192,67 ± 38,44	
HDL	Απλή Βρώμη	54,70 ± 10,95	55,32 ± 12,87	>0,05
	Βρώμη με προβιοτικά	56,77 ± 14,44	54,41 ± 18,05	
LDL	Απλή Βρώμη	88,65 ± 24,92	86,03 ± 32,68	>0,05
	Βρώμη με προβιοτικά	91,89 ± 24,76	94,37 ± 35,09	
Τριγλυκερίδια	Απλή Βρώμη	102,80 ± 106,55	84,00 ± 51,98	>0,05
	Βρώμη με προβιοτικά	73,74 ± 28,92	76,74 ± 34,90	
Γλυκόζη Αίματος	Απλή Βρώμη	80,60 ± 9,70	89,20 ± 18,08	>0,05
	Βρώμη με προβιοτικά	80,48 ± 11,91	91,11 ± 18,53	
Ουρικό οξύ	Απλή Βρώμη	4,51 ± 1,02	4,08 ± 1,37	>0,05
	Βρώμη με προβιοτικά	4,62 ± 1,37	3,89 ± 1,79	
hs-CRP	Απλή Βρώμη	9,06 ± 8,67	7,90 ± 10,39	>0,05
	Βρώμη με προβιοτικά	20,10 ± 21,57	20,94 ± 31,66	
Φωσφορικό Ούρων	Απλή Βρώμη	94,83 ± 44,16	88,60 ± 40,39	>0,05
	Βρώμη με προβιοτικά	10,79 ± 5,50	104,87 ± 46,89	
Μαγνήσιο Ούρων	Απλή Βρώμη	9,53 ± 7,50	7,69 ± 7,11	>0,05
	Βρώμη με προβιοτικά	10,79 ± 5,50	7,79 ± 3,76	

Στον **πίνακα 7** παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του δείκτη υγείας HDL/LDL σύμφωνα με τα οποία, παρατηρήθηκε αύξηση της αναλογίας HDL/LDL στην ομάδα ελέγχου, ενώ στην ομάδα



των προβιοτικών παρέμεινε σταθερή, χωρίς να υποδεικνύεται κάποια στατιστικώς σημαντική μεταβολή.

Πίνακας 7 Αποτελέσματα HDL/LDL ratio

HDL/LDL ratio		Μέσος όρος, Τυπική απόκλιση		p value
		1η εβδομάδα	6η εβδομάδα	
HDL/LDL ratio	Απλή Βρώμη	0,66 ± 0,19	0,72 ± 0,27	>0,05
	Βρώμη με προβιοτικά	0,67 ± 0,29	0,67 ± 0,36	

#### 5.4 Ανοσολογικές αναλύσεις

Στον **πίνακα 8**, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των ανοσολογικών αναλύσεων των δύο ομάδων παρέμβασης, κατά την 1<sup>η</sup> και 6<sup>η</sup> εβδομάδα παρέμβασης. Με βάση τα αποτελέσματα, εντοπίστηκαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές στον δείκτη IL-6, όπου παρατηρήθηκε σημαντική μείωση του κατά την 6<sup>η</sup> εβδομάδα παρέμβασης.

Πίνακας 8 Αποτελέσματα Ανοσολογικών αναλύσεων

Ανοσολογικές αναλύσεις		Μέσος όρος, Τυπική απόκλιση		p-value
		1η εβδομάδα	6η εβδομάδα	
Ινσουλίνη (uIU/mL)	Απλή Βρώμη	8,03 ± 3,43	8,09 ± 4,68	>0,05
	Βρώμη με προβιοτικά	9,26 ± 3,22	7,60 ± 2,78	
Κορτιζόλη (ng/mL)	Απλή Βρώμη	152,97 ± 48,53	137,58 ± 50,12	>0,05
	Βρώμη με προβιοτικά	168,29 ± 63,99	134,70 ± 43,98	
Ig-A (ug/mL)	Απλή Βρώμη	2130,42 ± 1186,94	2451,86 ± 1255,72	>0,05
	Βρώμη με προβιοτικά	2277,75 ± 955,37	2379,40 ± 774,06	
Φυλλικό Οξύ (ng/mL)	Απλή Βρώμη	7,47 ± 4,78	7,53 ± 5,37	>0,05
	Βρώμη με προβιοτικά	8,09 ± 3,42	7,13 ± 3,26	
Βιταμίνη B12 (pg/mL)	Απλή Βρώμη	476,12 ± 179,86	510,36 ± 159,75	>0,05
	Βρώμη με προβιοτικά	465,26 ± 113,56	505,15 ± 98,93	

<b>IL-6 (pg/mL)</b>	Απλή Βρώμη	2,97 ± 1,83	1,45 ± 0,92	<0,05
	Βρώμη με προβιοτικά	4,30 ± 2,50	2,36 ± 1,96	
<b>Βιταμίνη D (ng/mL)</b>	Απλή Βρώμη	22,88 ± 7,90	23,18 ± 8,18	>0,05
	Βρώμη με προβιοτικά	23,95 ± 9,34	22,71 ± 8,42	

## 5.5 FRAP

Ο πίνακας 9 παρουσιάζει τα αποτελέσματα της αντιοξειδωτικής ικανότητας για την ομάδα ελέγχου και την ομάδα των προβιοτικών, το διάστημα 1<sup>ης</sup> και 6<sup>ης</sup> εβδομάδας. Παρατηρήθηκε ελάχιστη αύξηση και στις δύο ομάδες την 6<sup>η</sup> εβδομάδα, χωρίς να εντοπίζεται κάποια στατιστικώς σημαντική διαφορά.

Πίνακας 9 Αποτελέσματα της ανάλυσης FRAP

FRAP	Μέσος όρος, Τυπική απόκλιση (mmol/L)		p-value
	1η εβδομάδα	6η εβδομάδα	
Απλή Βρώμη	0,83 ± 0,05	0,85 ± 0,07	>0,05
Βρώμη με προβιοτικά	0,84 ± 0,07	0,88 ± 0,07	

## Κεφάλαιο 6: Συζήτηση

Έρευνες που πραγματοποιήθηκαν σε ανθρώπους και ζώα, καθώς και επιδημιολογικές μελέτες, έχουν αποδείξει ότι μια διατροφή πλούσια σε διαλυτές φυτικές ίνες έχει ευεργετικές επιπτώσεις στον έλεγχο της γλυκόζης και της ινσουλίνης, μειώνοντας τον κίνδυνο εμφάνισης διαβήτη τύπου 2 (Keogh et al., 2003). Συγκεκριμένα, το υψηλό ιξώδες της β-γλυκάνης μπορεί να έχει ιδιαίτερα ευεργετική επίδραση στη μείωση της μεταγευματικής γλυκαιμίας, με αρκετές μελέτες να δείχνουν ότι προϊόντα με κριθάρι και βρώμη έχουν επισημάνει σημαντική μείωση στη γλυκαιμική ανταπόκριση (Keogh et al., 2003). Ακόμη, έπειτα από μελέτη των Barros et al., (2021) αποδείχθηκε ότι η αναστολή των ενζύμων α-αμυλάσης και α-γλυκοσιδάσης προκαλεί μείωση στη γλυκαιμική απόκριση, πιθανόν λόγω της παρουσίας λιπαρών οξέων μικρής αλυσίδας (SCFAs). Πρέπει να αναφερθεί ότι υπεργλυκαιμία μετά από τα γεύματα αποτελεί μία από τις δυσμενείς παραμέτρους του διαβήτη. Έτσι, η αναστολή αυτών των ενζύμων καθυστερεί την υδρόλυση υδατανθράκων, με αποτέλεσμα τη μείωση της απορρόφησης της γλυκόζης και την μείωση των επιπέδων της στο αίμα.

Σύμφωνα με την παρούσα μελέτη, η γλυκαιμική απόκριση μεταξύ των δύο διαφορετικών δειγμάτων βρώμης εμφάνισε στατιστικώς σημαντικές διαφορές. Συγκεκριμένα, τα αποτελέσματα αποδεικνύουν ότι η βρώμη με προβιοτικά παρουσιάζει χαμηλότερη γλυκαιμική απόκριση, όπως ήταν αναμενόμενο. Παράλληλα, η απλή βρώμη φάνηκε να παρουσιάζει την υψηλότερες εκτιμώμενες τιμές γλυκαιμικού δείκτη (205,78 mg/ml), σε σχέση με την βρώμη εμπλουτισμένη με προβιοτικά που ακολουθεί με τιμή 183,47 mg/ml. Η βρώμη, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, ήταν αναμενόμενο να επηρεάζει θετικά τα αποτελέσματα γλυκαιμικής απόκρισης, παρόλα αυτά η ενσωμάτωση προβιοτικών στελεχών στο τελικό προϊόν φάνηκε να ευνοεί ακόμα περισσότερο τις τιμές αυτές, καταλήγοντάς σε ένα τρόφιμο με λειτουργικές ιδιότητες.

Με βάση πρόσφατα ερευνητικά δεδομένα έχει διαπιστωθεί ότι η ενσωμάτωση προβιοτικών σε τρόφιμα αποτελεί ένα συνεχώς αυξανόμενο πεδίο έρευνας και ενδιαφέροντος. Με έναυσμα την πρόσφατη παγκόσμια πανδημία, οι καταναλωτές έχουν επικεντρωθεί περισσότερο στο ανοσοποιητικό σύστημα και στην προαγωγή της υγείας, με αποτέλεσμα να αναζητούν τρόφιμα με αποδεδειγμένη ευεργετική επίδραση στην υγεία. Για το λόγο αυτό, η χρήση προβιοτικών σε συστήματα τροφίμων είναι μια τάση που έχει αποκτήσει δυναμική τα τελευταία χρόνια, ενώ εξετάζονται τρόφιμα-φορείς που βρίσκονται ήδη στο καθημερινό διαιτολόγιο των σύγχρονων καταναλωτών. Αν και τόσο τα προβιοτικά τρόφιμα όσο και τα προβιοτικά συμπληρώματα είναι αποτελεσματικοί προβιοτικοί φορείς, τα προβιοτικά τρόφιμα φαίνεται να προτιμώνται περισσότερο από του σύγχρονους καταναλωτές (Homayoni Rad et al., 2016). Μερικά από τα τρόφιμα που έχουν μελετηθεί ως φορείς προβιοτικών συστατικών εξετάζονται παρακάτω.

Οι Ozer et al. (2009) και Heidebach et al. (2012) διερεύνησαν την μικροενηλάκωση προβιοτικών σε μορφή μικροκαψουλών στο τυρί και φάνηκε ότι ένα ποσοστό ενίσχυσης 3% στο τελικό προϊόν, δεν επηρέασε τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των τυριών. Ωστόσο, αναφέρθηκε μια ελαφρά αίσθηση τραχύτητας στα τυριά τα οποία έχουν ενισχυθεί με προβιοτικά συστατικά μέσω μικροενηλάκωσης. Παράλληλα, μελέτη για τη χρήση προβιοτικών συστατικών μέσω μικροενηλάκωσης έχει πραγματοποιηθεί και από τους Khalil & Mansour, (1998), όπου αναδείχθηκε μια βελτιωμένη αίσθηση στη μαγιονέζα που είχε ενθυλακωμένα κύτταρα προβιοτικών, σε ό,τι αφορά τη γευστική εμπειρία και την υφή της.

Ακόμη, ένα άλλο προϊόν που χρησιμοποιείται για την ενσωμάτωση προβιοτικών είναι το γιαούρτι. Μέχρι σήμερα, το γιαούρτι έχει αποτελέσει το προϊόν με την υψηλότερη αναζήτηση για συμπληρώματα, ενώ η προβιοτική δραστηριότητα που παρουσιάζει είναι συχνά περιορισμένη. Με την μελέτη των Heidebach et al. (2012), προκύπτει ότι η ενθυλάκωση διαφορετικών προβιοτικών στελεχών σε υδροκολλοειδείς γέλες ενισχύει την επιβίωσή τους κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης στο γιαούρτι, αυξάνοντας τους αριθμούς τους κατά περίπου 0,5 έως 3 log CFU (μονάδα σχηματισμού αποικιών). Αυτή η προστατευτική επίδραση εξηγείται συνήθως από την περιορισμένη διάχυση ανασταλτικών ουσιών, όπως μεταβολικά προϊόντα από τις καλλιέργειες εκκίνησης, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, γαλακτικό οξύ και

βακτηριοσίνης, στις κάψουλες. Στη μελέτη του Adhikari et al. (2000), οι οργανοληπτικές αναλύσεις απέδειξαν πως οι καταναλωτές προτιμούν το γιαούρτι με ελεύθερα προβιοτικά κύτταρα περισσότερο από αυτό με προβιοτικές μικροκάψουλες, ταξινομώντας το με υψηλότερη "συνολική επιθυμία". Ενώ δεν υπάρχει απόλυτη σαφήνεια για το αν τα χαμηλότερα αισθητηριακά χαρακτηριστικά οφείλονται σε παράξενη γεύση ή σε μια αίσθηση τραχύτητας. Επιπλέον, στη μελέτη του Adhikari et al., (2000), εκτελέστηκαν δοκιμές επιβίωσης χρησιμοποιώντας απλό γιαούρτι, ενώ για την αξιολόγηση των αισθητικών χαρακτηριστικών χρησιμοποιήθηκε γιαούρτι με επιπλέον 13% μαρμελάδα βατόμουρου. Οι υπεύθυνοι παρατήρησαν μια "κοκκώδη δομή" στα γιαούρτια που περιείχαν προβιοτικές μικροκάψουλες και μια χαμηλότερη "συνολική αποδοχή" σε σύγκριση με τα γιαούρτια που περιείχαν ελεύθερα κύτταρα (Heidebach et al., 2012). Ομοίως, μελέτη του Kailasapathy, (2006), κατέγραψε πως οι αισθητικές αναλύσεις αποκάλυψαν μια ελαφριά υφή τραχύτητας στα 30 δείγματα γιαουρτιών που περιείχαν μικροκάψουλες, σε αντίθεση με εκείνα με ελεύθερα κύτταρα.

Πέρα από τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και την καταναλωτική αποδοχή, οι προβιοτικοί μικροοργανισμοί μελετώνται και για την επίδραση τους σε βιοδείκτες άμεσα σχετιζόμενους με την υγεία του ανθρώπου. Η μελέτη μπορεί να διεξαχθεί με *in vitro* μοντέλα προσομοίωσης, όπως περιεγράφηκε παραπάνω, ενώ ενθαρρυντικά αποτελέσματα *in vitro* μπορούν να οδηγήσουν στην διεξαγωγή κλινικών μελετών. Σε μελέτη των Tonucci et al. (2017) διερευνήθηκε ο αντίκτυπος των προβιοτικών στον γλυκαιμικό έλεγχο, το λιπιδαιμικό προφίλ, τη φλεγμονή, το οξειδωτικό στρες και τα λιπαρά οξέα βραχείας αλύσου σε σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2. Στη μελέτη συμμετείχαν 50 ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 σύμφωνα με τα κριτήρια της ADA, οι οποίοι είχαν ηλικία 35-60 ετών, με δείκτη μάζας σώματος (ΔΜΣ) μικρότερο από 35 kg/m<sup>2</sup> και ήταν διαγνωσμένοι για τουλάχιστον ένα έτος με διαβήτη τύπου 2. Οι συμμετέχοντες κατανεμήθηκαν σε δύο ομάδες: μια ομάδα προβιοτικών που κατανάλωναν γάλα ζύμωσης που περιείχε *Lactobacillus* La-5 και *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* BB-12 (109 cfu/mL το καθένα) και μια ομάδα ελέγχου, η οποία κατανάλωνε κανονικό γάλα ζύμωσης. Η περίοδος μελέτης ήταν έξι εβδομάδες.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η πρόσληψη προβιοτικών βελτίωσε τον γλυκαιμικό έλεγχο, αλλά η πρόσληψη ζυμωμένου γάλακτος φάνηκε να εμπλέκεται και σε άλλες μεταβολικές αλλαγές, όπως η μείωση των φλεγμονωδών κυτταροκινών (TNF- $\alpha$  και ρεζιστίνη) και η αύξηση του οξικού οξέος.

Σε κλινική μελέτη των Kobyliak et al. (2018), φάνηκε ότι οι ευεργετικές επιδράσεις των προβιοτικών μπορούν να επηρεάσουν το σωματικό βάρος, να επηρεάσουν τον μεταβολισμό της γλυκόζης και του λίπους, καθώς και βελτιώνουν την ευαισθησία στην ινσουλίνη. Ειδικότερα, συνολικά 53 ασθενείς με διαβήτη τύπου 2 πληρούσαν τα κριτήρια ένταξης. Ανατέθηκε τυχαία στους στο 50% των εθελοντών να λάβουν το πολυπροβιοτικό "*Symbiter*" (συμπυκνωμένη βιομάζα 14 προβιοτικών βακτηρίων γενών *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Propionibacterium*) που χορηγήθηκε ως σκεύασμα φακελίσκου και το υπόλοιπο 50% αποτελούσε την ομάδα ελέγχου, η οποία λάμβανε εικονικό φάρμακο για 8 εβδομάδες

που χορηγήθηκε ως σκεύασμα φακελίσκου. Η πρωταρχική κύρια έκβαση ήταν η εκτίμηση της αντίστασης στην ινσουλίνη, και οι δευτερεύουσες εκβάσεις ήταν οι μεταβολές των παραμέτρων που σχετίζονται με τον γλυκαιμικό έλεγχο, των ανθρωπομορφικών μεταβλητών και των κυτταροκινών. Με βάση τα αποτελέσματα, η κατανάλωση των παραπάνω προβιοτικών στελεχών συνέβαλλε στην βελτίωση της αντίστασης στην ινσουλίνη σε ασθενείς με διαβήτη τύπου 2. Σε αντίθεση με τα παραπάνω στοιχεία, στην παρούσα μελέτη, τα αποτελέσματα που σχετίζονται με το γλυκαιμικό προφίλ των εθελοντών δεν σημείωσαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές, παρόλο που τα *in vitro* αποτελέσματα ήταν ενθαρρυντικά. Το γεγονός αυτό, είναι πιθανό να οφείλεται στο ότι οι εθελοντές της παρούσας μελέτης ήταν υγιείς ενώ χρησιμοποιήθηκε ένα στέλεχος παρέμβασης. Ακόμα, το χρονικό διάστημα παρέμβασης μπορεί να μην ήταν αρκετό για την ευεργετική δράση των στελεχών.

Συγκεκριμένα, μελέτη των Zhang et al. (2016) υποδεικνύει ότι η κατανάλωση προβιοτικών μπορεί να βελτιώσει σε μέτριο βαθμό το μεταβολισμό της γλυκόζης, με δυνητικά μεγαλύτερη επίδραση όταν η διάρκεια της παρέμβασης είναι  $\geq 8$  εβδομάδες ή όταν καταναλώνονται πολλά είδη προβιοτικών. Στο χρονικό διάστημα αυτό, παρατηρήθηκε ότι τα προβιοτικά μπορεί να βελτιώσουν το μεταβολισμό της γλυκόζης αυξάνοντας τη βιοδιαθεσιμότητα της γλικλαζίδης, αναστέλλοντας ή καθυστερώντας την εντερική απορρόφηση της γλυκόζης και αλλάζοντας τη δραστηριότητα του αυτόνομου νευρικού (Borthakur et al., 2008). Έχει επίσης αποδειχθεί ότι τα προβιοτικά μπορούν να μειώσουν τη γλυκόζη του αίματος μέσω της βελτίωσης της φλεγμονής και της αποτροπής της καταστροφής των  $\beta$ -κυττάρων σε ζωικά μοντέλα (Al-Salami et al., 2008). Ωστόσο, οι κλινικές μελέτες σε ανθρώπους με τη χρήση διαφόρων προβιοτικών έχουν δώσει μικτά αποτελέσματα, με ορισμένες μελέτες να μην βρίσκουν καμία επίδραση (Mazloom et al., 2013), ενώ άλλες έχουν εντοπίσει σημαντική επίδραση στη μείωση της γλυκόζης (Ejtahed et al., 2012). Επιπλέον, το μέγεθος του δείγματος αυτών των μελετών είναι μικρό. Ορισμένες προηγούμενες μελέτες για τα προβιοτικά ανέφεραν ότι η κατανάλωση προβιοτικού γιαουρτιού μπορεί να βελτιώσει σημαντικά το μεταβολισμό της γλυκόζης, ενώ άλλες μελέτες δεν έδειξαν κανένα όφελος. Ένας ακόμη βιοδείκτης που εμφάνισε μέτρια επίδραση στην παρούσα μελέτη μέσω της κατανάλωσης των προβιοτικών ήταν επίσης η αντίσταση στην ινσουλίνη. Παρομοίως όπως και στην γλυκόζη, είναι αναγκαία η εξέταση για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, έτσι ώστε να φανεί η ευεργετική επίδραση και στο δείκτη αυτόν.

Παράλληλα, μελέτες *in vitro* έχουν πραγματοποιηθεί, για να εξηγήσουν την επίδραση προβιοτικών στελεχών στην μείωση της χοληστερόλης. Λόγω της συνδυασμένης δράσης βρώμης και κυττάρων, μπορεί να υπάρχουν πρόσθετα οφέλη από τα προβιοτικά που ακινητοποιούνται στις νιφάδες βρώμης. Αφενός, επειδή η βρώμη είναι πλούσια σε διαλυτές ίνες όπως η  $\beta$ -γλυκάνη, η οποία συμβάλλει στη μείωση του ολικού επιπέδου χοληστερόλης στο αίμα, με έμφαση στη μείωση της λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας και της λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας. Από την άλλη, η διατήρηση μιας υγιούς εντερικής χλωρίδας μέσω της πρόσληψης προβιοτικών μπορεί να βοηθήσει στη βελτίωση διαφόρων

δυσμενών συνθηκών. Μερικές από τις πιο σημαντικές επιδράσεις είναι η βελτίωση των συμπτωμάτων της παχυσαρκίας και της δυσλιπιδαιμίας με τη μείωση της χοληστερόλης στο αίμα. Ειδικότερα, η ενζυματική αποσύζευξη των χολικών οξέων από την υδρολάση των χολικών αλάτων των προβιοτικών είναι μία από τις υποτιθέμενες διαδικασίες. Όταν καταναλώνεται τροφή, η χοληδόχος κύστη αποθηκεύει και συγκεντρώνει τη χολή, ένα υδατοδιαλυτό υποπροϊόν της παραγωγής χοληστερόλης στο ήπαρ, και την απελευθερώνει στο δωδεκαδάκτυλο (Wang et al., 2008). Περιέχει φωσφολιπίδια, συζευγμένα χολικά οξέα, χολικές χρωστικές, ηλεκτρολύτες και χοληστερόλη. Τα χολικά οξέα αποβάλλονται με τα κόπρανα αφού αποσυζευχθούν επειδή είναι λιγότερο διαλυτά και απορροφώνται ευκολότερα από το έντερο. Σε μια ομοιοστατική αντίδραση, η χοληστερόλη χρησιμοποιείται για τη δημιουργία νέων χολικών οξέων, γεγονός που μειώνει τη χοληστερόλη στο αίμα (Wang et al., 2008). Χρησιμοποιώντας *Lactobacillus plantarum*, οι Jones et al. (2004) διεξήγαγαν μια in vitro έρευνα για να αξιολογήσουν τη λειτουργία της υδρολάσης των χολικών αλάτων στη μείωση της χοληστερόλης. Οι συγγραφείς ανακάλυψαν την υδρόλυση του συζευγμένου γλυκοδεοξυχολικού οξέος και του ταυροδεοξυχολικού οξέος από τη δραστηριότητα της BSH, η οποία έχει ως αποτέλεσμα την αποσυζεύξη του γλυκο- και του ταυροδεοξυχολικού οξέος. Η ικανότητα των προβιοτικών να δεσμεύουν τη χοληστερόλη στο λεπτό έντερο έχει επίσης συνδεθεί με τα υποχοληστερολαιμικά τους αποτελέσματα. Ο Usman et al. (2000) ανέφερε νωρίτερα ότι ορισμένα στελέχη του *Lactobacillus gasseri* έχουν την ικανότητα να προσκολλώνται σε κυτταρικές επιφάνειες και να αποβάλλουν τη χοληστερόλη από το εργαστηριακό μέσο. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι η ικανότητα δέσμευσης χοληστερόλης φάνηκε να εξαρτάται από την ανάπτυξη και το στέλεχος.

Αργότερα, οι Gorenjak et al. (2014) υποστήριξαν αυτή την ιδέα εξετάζοντας τον τρόπο με τον οποίο τα προβιοτικά κύτταρα απομακρύνουν τη χοληστερόλη υπό διάφορες συνθήκες ανάπτυξης. Τα λιπίδια των προβιοτικών υπάρχουν κυρίως στη μεμβράνη, γεγονός που υποδηλώνει ότι η ενσωμάτωση χοληστερόλης στην κυτταρική μεμβράνη άλλαξε τη σύνθεση των λιπαρών οξέων των κυττάρων. Η ποσότητα των κορεσμένων και ακόρεστων λιπαρών οξέων αυξήθηκε ως αποτέλεσμα της ενσωμάτωσης της χοληστερόλης στις κυτταρικές μεμβράνες, αυξάνοντας την αντοχή της μεμβράνης και, με τη σειρά της, την αντίσταση των κυττάρων στη λύση (Jones et al., 2014; Yamanashi et al., 2012). Σύμφωνα με την μελέτη Tonucci et al. (2017), όσον αφορά την επίδραση των προβιοτικών στο λιπιδαιμικό προφίλ, διαπιστώθηκε ότι η κατανάλωση προβιοτικών ζυμωμένου γάλακτος αυξάνει τα επίπεδα ολικής χοληστερόλης. Η κατανάλωση προβιοτικών ζυμωμένου γάλακτος οδήγησε σε αύξηση των επιπέδων ολικής χοληστερόλης (TC) και λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας LDL-C. Με την ολοκλήρωση της μελέτης, δεν υπήρξε σημαντική επίδραση στα επίπεδα HDL, LDL και τριγλυκεριδίων και στις δύο ομάδες.

Ακόμη, σε έρευνα των Adli et al. (2023), τα προβιοτικά εμπλέκονται σε μηχανισμούς που μειώνουν τα λιπίδια στη μεταφορά του αίματος που ακολουθείται από μείωση των επιπέδων τριγλυκεριδίων (Sjofjan et al. 2021a). Επιπλέον, η μείωση των επιπέδων των τριγλυκεριδίων συσχετίζεται με τη μείωση της υπολειπόμενης λιποπρωτεΐνης και την ανακατανομή των λιπιδίων από το πλάσμα στα όργανα-στόχους, στην περίπτωση αυτή στο

ήπαρ (Fathi et al.2017). Στην παρούσα μελέτη, δεν εντοπίστηκαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε βιοδείκτες σχετιζόμενους με το λιπιδαιμικό προφίλ των εθελοντών, γεγονός που μπορεί να οφείλεται στην δράση του στελέχους σε δείκτες λιπαιμίας αλλά και στις διατροφικές συνήθειες των εθελοντών κατά την διάρκεια της μελέτης. Αξίζει να σημειωθεί πως η κατανάλωση προβιοτικών συνέβαλε στην βελτίωση επίσης της αντίστασης στη φλεγμονή (hs-CRP) μέσω της διαμόρφωσης της έκφρασης του TNF- $\alpha$  και της μείωσης της δεσμευτικής δραστηριότητας του NF- $\kappa$ B (Ma et al., 2008).

Τα αποτελέσματα της έρευνας φαίνεται να συμφωνούν με την βιβλιογραφία, αφού η ομάδα ελέγχου φαίνεται πως είχε ελάχιστη αύξηση στην ινσουλίνη, σε σχέση με την ομάδα των προβιοτικών που στην 6<sup>η</sup> εβδομάδα παρατηρήθηκε μείωση βάσης του μέσου όρου κατά 1,6 μονάδες (ομάδα προβιοτικών 1<sup>η</sup>εβδομάδα:  $9.26 \pm 3.22$ , 6<sup>η</sup>εβδομάδα:  $7.60 \pm 2.78$ ). Όμως, στον δείκτη hs-CRP παρατηρήθηκε μείωση στην ομάδα ελέγχου και ελάχιστη αύξηση έως σταθερή στην ομάδα των προβιοτικών, αντίθετα με την βιβλιογραφία. Αυτό το γεγονός μπορεί να οφείλεται στις διαφορετικές ηλικιακές ομάδες των εθελοντών ή μπορεί να υπήρχε κάποια έξαρση αυτοάνοσων καταστάσεων, συμπεριλαμβανομένης της ρευματοειδούς αρθρίτιδας (RA), του λύκου και ορισμένων τύπων φλεγμονώδους νόσου του εντέρου.

Εξετάζοντας την επίδραση των προβιοτικών στον δείκτη ουρικού οξέος, μια τυχαίοποιημένη, ελεγχόμενη έρευνα των Zhao et al., (2022), διεξήχθη με 120 εθελοντές με υψηλά επίπεδα ουρικού οξέος στον ορό ( $>420$   $\mu$ mol/L), οι οποίοι χωρίστηκαν σε δύο ομάδες: 60 εθελοντές που κατανάλωναν ένα προβιοτικό γιαούρτι που περιείχε ένα στέλεχος *Limosilactobacillus fermentum* GR-3, το οποίο έχει την δυνατότητα να αποικοδομεί το ουρικό οξύ (UA), και 60 εθελοντές που κατανάλωναν ένα συμβατικό γιαούρτι. Οι εθελοντές έπρεπε να καταναλώνουν 250 γραμμάρια γιαούρτι καθημερινά και στην ομάδα των προβιοτικών το γιαούρτι περιείχε  $2,0 \times 10^{12}$  CFU/g του βακτηριακού στελέχους, ενώ η κλινική μελέτη. Στόχος ήταν η διερεύνηση αν το γιαούρτι με προβιοτικά βοηθάει στη μείωση των επιπέδων ουρικού οξέος στον ανθρώπινο πληθυσμό που βρίσκεται σε κίνδυνο. Τα επίπεδα UA στον ορό έδειξαν ότι το γιαούρτι εμπλουτισμένο με προβιοτικά προκάλεσε σημαντική μείωση σε σχέση με την κατανάλωση συμβατικού γιαουρτιού. Σε αντίθεση με τα παραπάνω δεδομένα, στην παρούσα μελέτη δεν υπήρξαν στατιστικώς σημαντικές μεταβολές μεταξύ των ομάδων ελέγχου και παρέμβασης, γεγονός που μπορεί να αποδοθεί στο ότι τα επίπεδα ουρικού οξέος των εθελοντών βρίσκονταν σε φυσιολογικά όρια κατά την έναρξη της μελέτης.

Επιπροσθέτως, προβιοτικά στελέχη έχουν μελετηθεί για την επίδραση τους σε βιοδείκτες σχετιζόμενους με το ανοσοποιητικό σύστημα του ανθρώπου. Αξίζει να σημειωθεί ότι σε έρευνα των Tagliari et al., (2022) μελετήθηκαν τραυματισμένα ποντίκια και φάνηκε ότι στην συγκεκριμένη περίπτωση τα προβιοτικά βοηθούν στην αυξημένη έκφραση της IL-6. Γενικότερα, IL-6 διεγείρει τον πολλαπλασιασμό των κερατινοκυττάρων και την παραγωγή κολλαγόνου στο χόριο από τους ινοβλάστες - η άμεση και παροδική έκφραση της IL-6 εμφανίζεται ως απόκριση σε παράγοντες όπως η λοίμωξη και ο τραυματισμός των ιστών. Τα αποτελέσματά έδειξαν αύξηση των επιπέδων της IL-6 με την πάροδο του χρόνου και στις δύο

ομάδες. Σε αυτή τη μελέτη, παρατηρήθηκε στις δύο ομάδες την 6<sup>η</sup> εβδομάδα μείωση της ιντερλευκίνης-6, και σε μεγαλύτερο βαθμό στην ομάδα των προβιοτικών ( $p < 0,05$ ), γεγονός που πιθανόν οφείλεται στην αντιφλεγμονώδη δράση τους. Παράλληλα, βάση των Maldonado et al. (2006), τα τρόφιμα που περιέχουν προβιοτικά βακτήρια είναι σε θέση να διεγείρουν την ανοσοαπόκριση της ανοσοσφαιρίνης A (Ig-A). Συγκεκριμένα, σε έρευνα των Schultz et al. (2000), τα στελέχη των γαλακτοβακίλλων αποδείχθηκαν ότι αυξάνουν την έκκριση Ig-A. Ωστόσο, στα αποτελέσματα της παρούσας κλινικής μελέτης δεν υπήρξε στατιστικώς σημαντική διαφορά στον παράγοντα Ig-A, μεταξύ της ομάδας παρέμβασης και της ομάδας ελέγχου. Τα αποτελέσματα αυτά μπορεί να οφείλονται στο γεγονός ότι στην κλινική μελέτη των Schultz et al. (2000) εξετάστηκαν εθελοντές με γαστρεντερικές παθήσεις, σε σχέση με την παρούσα μελέτη που συμμετείχαν υγιείς εθελοντές.

Αναφορικά με την επίδραση στην κορτιζόλη, βάση μίας μελέτης των Sajedi et al. (2021), η οποία διεξάχθηκε σε ποντίκια και με χρονική διάρκεια οκτώ εβδομάδων, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η λήψη προβιοτικών συμβάλλει στην μείωση αυτού του βιοδείκτη. Τα ίδια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και εδώ αφού υπήρξε μεγαλύτερη μείωση της κορτιζόλης στους εθελοντές με την κατανάλωση των προβιοτικών σε σχέση με εκείνους που κατανάλωναν την απλή βρώμη.

Προχωρώντας στην αξιολόγηση των ερευνητικών αποτελεσμάτων της παρούσας μελέτης, αξίζει να αναφερθεί ότι τα προβιοτικά βακτήρια μπορούν να παράγουν σημαντικές θρεπτικές ουσίες και παράγοντες ανάπτυξης, ο σημαντικότερος εκ των οποίων είναι η βιταμίνη B12, η οποία δεν συντίθεται στα φυτά. Για παράδειγμα το *Propionibacterium chermani* μπορεί να παράγει βιταμίνη B12, προπιονικό οξύ και άλλους χρήσιμους μεταβολίτες (Piwowarek et al., 2018). Εκτός από τη βιταμίνη B12, τα προβιοτικά βακτήρια μπορούν να παράγουν ορισμένες βιταμίνες του συμπλέγματος B, όπως το φυλλικό οξύ και τη θειαμίνη. Σε κλινική μελέτη των Chugh et al. (2020), ερευνήθηκε η δράση των προβιοτικών σε πληθυσμό σαράντα τεσσάρων βαριατρικών ασθενών με χρονική διάρκεια 6 μηνών. Οι ασθενείς χωρίστηκαν τυχαία σε δύο ομάδες, στην ομάδα με τα προβιοτικά και στην ομάδα ελέγχου. Οι ασθενείς που κατανάλωναν προβιοτικά είχαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα βιταμίνης B12 από την ομάδα ελέγχου. Συγκεκριμένα στους 3 μήνες, η προβιοτική ομάδα είχε τα υψηλότερα επίπεδα βιταμίνης B12). Παρομοίως, τα αποτελέσματα στη συγκεκριμένη έρευνα έδειξαν υψηλότερες τιμές της βιταμίνης B12 στους εθελοντές με τα προβιοτικά. Η παρούσα μελέτη δεν παρουσίασε στατιστικώς σημαντικές διαφορές στα αποτελέσματα που αφορούν τις βιταμίνες D και B12 αλλά και ως προς το φυλλικό οξύ.

Παράλληλα, έρευνα των Hoffmann et al. (2021), έδειξε ότι τα προβιοτικά βοηθούν στην βελτίωση της αντιοξειδωτικής ικανότητας. Αναφέρουν ότι τα προβιοτικά μπορούν να δράσουν άμεσα εξουδετερώνοντας τα οξειδωτικά με την έκφραση αντιοξειδωτικών ενζύμων. Ειδικότερα, αναλύθηκε σε ποντίκια η αντιοξειδωτική δράση του *Lactobacillus acidophilus* (ATCC 4356) και του *Bifidobacterium longum* (ATCC 15708) με τη μορφή ενδοκυτταρικών εκχυλισμάτων χωρίς κύτταρα ή ανέπαφων κυττάρων. Παρατηρήθηκε



αναστολή της υπεροξειδωσης του λινολεϊκού οξέος και από τους δύο μικροοργανισμούς, η οποία κυμάνθηκε από 38% έως 48%, γεγονός που δείχνει ότι το *Lactobacillus acidophilus* και το *Bifidobacterium longum* παρουσιάζουν ισχυρή αντιοξειδωτική δράση. Τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας έδειξαν ελάχιστη αύξηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας και στις δύο ομάδες, χωρίς να σημειωθεί κάποια στατιστικώς σημαντική διαφορά.

Τέλος, εξετάζοντας βιοδείκτες σχετιζόμενου με τα βιολογικά δείγματα ούρων, μελέτη των Scholz-Ahrens et al. (2016), φάνηκε ότι με την κατανάλωση προβιοτικών υπήρξε αύξηση στο φωσφορικό των ούρων. Στην έρευνα πήραν μέρος ποντίκια τα οποία χωρίστηκαν σε πέντε ομάδες, την ομάδα των προβιοτικών, την ομάδα των πρεβιοτικών, την ομάδα των προβιοτικών-πρεβιοτικών, την ομάδα που κατανάλωνε το πιθανό προβιοτικό *Lactobacillus acidophilus* NCC90 και την ομάδα ελέγχου. Η χρονική περίοδος διήρκεσε 16 εβδομάδες με ημερήσια κατανάλωση 8,5 g μίας ημιπολυθερμιδικής διαίτας. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα προβιοτικά προκαλούν μεγαλύτερη αύξηση στα φωσφορικά των ούρων σε σχέση με τα πρεβιοτικά. Παρομοίως με την βιβλιογραφία, στη συγκεκριμένη έρευνα φάνηκε στην ομάδα των προβιοτικών μεγάλη αύξηση στο φωσφορικό των ούρων, ενώ στην ομάδα ελέγχου παρουσιάστηκε μικρή μείωση, χωρίς όμως η διαφορά αυτή να είναι στατιστικώς σημαντική. Σχετικά με το μαγνήσιο ούρων, παρατηρήθηκε μείωση και στις δύο ομάδες, αυτό μπορεί να οφείλεται σε μεγάλες αλλαγές στο διατροφικό πρόγραμμα των εθελοντών.

Όσον αφορά τους περιορισμούς της μελέτης, είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι κατά την διεξαγωγή αυτής δεν υπήρχε έλεγχος του διαιτολογίου των εθελοντών σε καθημερινό επίπεδο, παρόλα αυτά υπήρχαν οδηγίες προς τους εθελοντές κατά τις οποίες έπρεπε να διατηρήσουν σταθερές τις διατροφικές του συνήθειες. Παράλληλα, κατά την διεξαγωγή της μελέτης δεν δόθηκε δοσομετρητής για τον υπολογισμό της καθημερινής μερίδας βρώμης και η μερίδα οριζόταν με την χρήση οικιακών σκευών (κουταλάκι του γλυκού). Το γεγονός αυτό, θα μπορούσε να επηρεάσει την δόση των προβιοτικών στελεχών που λάμβανε κάθε εθελοντής. Τέλος, το τρόφιμο παρέμβασης, λόγω του εμπλουτισμού του με προβιοτικά συστατικά, διατηρούνταν σε συνθήκες ψύξης καθ' όλη την διάρκεια της μελέτης, ενώ σε περίπτωση μη σωστής διαχείρισης του η συγκέντρωση των προβιοτικών συστατικών μειωνόταν. Ο τρόπος διαχείρισης του τροφίμου παρέμβασης ελέγχθηκε μέσω τηλεφωνικής επικοινωνίας με τους εθελοντές, παρόλα αυτά αποτελεί έναν αστάθμητο παράγοντα στην διεξαγωγή της μελέτης.

## Κεφάλαιο 7: Συμπεράσματα

Στην παρούσα μελέτη εξετάστηκε η επίδραση βρώμης με ακινητοποιημένα προβιοτικά, σε βιοδείκτες σχετιζόμενους με την υγεία του ανθρώπου. Αρχικά, το προϊόν βρώμης ελέγχθηκε *in vitro* μέσω μοντέλου προσομοίωσης της γαστρεντερικής πέψης, όπου το προϊόν βρώμης ενισχυμένο με προβιοτικά συστατικά φάνηκε να αποδίδει καλύτερες τιμές γλυκαιμικής

απόκρισης συγκριτικά με την απλή βρώμη. Αξίζει να αναφερθεί ότι η προσομοίωση ενός *in vitro* συστήματος πέψης δεν είναι ικανή να αναπαραστήσει πλήρως το ανθρώπινο γαστρεντερικό σύστημα, γεγονός που οφείλεται στην δυσκολία να προσομοιωθούν πλήρως οι εγγενείς πολυπλοκότητες του ανθρώπινου γαστρεντερικού συστήματος, όπως η κινητικότητα, ο μεγάλος αριθμός ενζύμων που περιλαμβάνει και οι ορμόνες που παράγονται κατά την πέψη των τροφών. Ωστόσο, *in vitro* μοντέλα πρόβλεψης μπορούν να αποτελέσουν καταλύτη στο πεδίο έρευνας, δίνοντας ώθηση για περαιτέρω μελέτη στον ανθρώπινο οργανισμό, μέσω διεξαγωγής κλινικών μελετών.

Παρά τα αισιόδοξα *in vitro* αποτελέσματα, οι αναλύσεις που αφορούν το γλυκαιμικό προφίλ των εθελοντών δεν κατέδειξαν στατιστικά σημαντικές αλλαγές. Πιθανόν οφείλεται στο ότι τα άτομα για την τρέχουσα μελέτη ήταν σε καλή υγεία όταν χρησιμοποιήθηκε ένα στέλεχος παρέμβασης. Εκτός από αυτό, μία μελέτη που βασίζεται σε τρόφιμο παρέμβασης εξαρτάται από τις διατροφικές συνήθειες των εθελοντών αυτών κατά την διάρκεια διεξαγωγής της μελέτης. Στην συγκεκριμένη μελέτη δεν δόθηκε κάποιο συγκεκριμένο διαιτολόγιο στους συμμετέχοντες, οπότε δεν υπήρχε πλήρης έλεγχος της διατροφής, παράγοντας που επηρεάζει την δράση του στελέχους. Παρόλο που η ερευνητική ομάδα προέβαινε σε έλεγχο της ποσότητας κατανάλωσης της βρώμης (ζύγισμα) για την συνέπεια των εθελοντών, πάντα υπάρχει ο αστάθμητος ανθρώπινος παράγοντας. Ακόμα, είναι πιθανό τα ευνοϊκά αποτελέσματα των στελεχών του προβιοτικού να μην φάνηκαν πλήρως καθ' όλη τη διάρκεια της παρέμβασης λόγω του μη επαρκούς χρονικού διαστήματος παρέμβασης. Επομένως, σε μία έρευνα υπάρχουν αρκετοί παράγοντες που παίζουν ρόλο στα τελικά αποτελέσματα αυτής.

Εν κατακλείδι, παρατηρείται ότι τα λειτουργικά τρόφιμα έχουν ευεργετική επίδραση στην υγεία του ανθρώπου και θα ήταν καλό να γίνουν καμπάνιες ενημέρωσης του καταναλωτικού κοινού για την κατανάλωση των προϊόντων αυτών σε συνδυασμό πάντα με άσκηση και ισορροπημένη διατροφή έτσι ώστε να επιτυγχάνεται το καλύτερο δυνατό αποτέλεσμα στη διατροφή, στην ενέργεια αλλά και στην καλύτερη διάθεση μετά την κατανάλωση αυτών.

Με βάση τα παραπάνω ερευνητικά αποτελέσματα, το υπό μελέτη λειτουργικό προϊόν θα μπορούσε να μελετηθεί μελλοντικά σε μη υγιείς ομάδες εθελοντών, όπως άτομα με σακχαρώδη διαβήτη ή ασθενείς με καρδιαγγειακές παθήσεις.

## Βιβλιογραφία

- Abdulkarim, M.; Agulló, N.; Cattoz, B.; Griffiths, P.; Bernkop- Schnürch, A.; Gómez Borros, S.; Gumbleton, M. (2015). Nanoparticle Diffusion within Intestinal Mucus: Three-Dimensional Response Analysis Dissecting the Impact of Particle Surface Charge, Size and Heterogeneity across Polyelectrolyte, Pegylated and Viral Particles. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 97, 230–238. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2015.01.023>.
- Abuajah, C. I.; Ogbonna, A. C.; Osuji, C. M. Functional Components and Medicinal Properties of Food: A Review *J. Food Sci. Technol.*, 2015, 52 (5), 2522–2529. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1396-5>.

- Adhikari.K, Mustapha.A, Grun.I.U, Fernando.L, (2000). Viability of microencapsulated bifidobacteria in set yogurt during refrigerated storage. J. Dairy Sci, 83: 1946–1951.
- Adli, D. N., Sjöfjan, O., Sholikin, M. M., Hidayat, C., Utama, D. T., Jayanegara, A., ... Puspita, P. S. (2023). The effects of lactic acid bacteria and yeast as probiotics on the performance, blood parameters, nutrient digestibility, and carcass quality of rabbits: a meta-analysis. Italian Journal of Animal Science. Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2023.2172467>
- Al-Salami H, Butt G, Fawcett JP, Tucker IG, Golocorbin-Kon S, Mikov M. (2008). Probiotic treatment reduces blood glucose levels and increases systemic absorption of gliclazide in diabetic rats. Eur J Drug Metabol Pharmacokinet;33 (2):101–6.
- Amal Bakr Shori, (2022). Application of *Bifidobacterium spp.* in beverages and dairy food products: an overview of survival during refrigerated storage, Food Science and Technology, Volume: 42, <https://doi.org/10.1590/fst.41520>
- and bioactive natural compounds in the treatment of non-alcoholic fatty liver disease: A clinical review', Pharmacological Research 130, 213-240.
- Apak, R.; Gorinstein, S.; Böhm, V.; Schaich, K. M.; Özyürek, M.; Güçlü, K. (2013). Methods of Measurement and Evaluation of Natural Antioxidant Capacity/Activity (IUPAC Technical Report). Pure Appl. Chem., 85 (5), 957–998. <https://doi.org/10.1351/PAC-REP-12-07-15>.
- Ashwell, M. (2001). “Functional foods: a simple scheme for establishing the scientific basis for all claims.” Public Health Nutrition 4, 859-862
- Aspinnall, G. O. (1970). Polysaccharides. Pergamon Press, Oxford, U.K. 130-144
- Aspinnall, G. O. (1973). Carbohydrate polymers of plant cell walls. In Biogenesis of Plant Cell Wall Polysaccharides. F. Loewas, editor. Academic Press, New York. 95-115.
- Bagchi D., (2006), Nutraceuticals and Functional Foods regulations in the United States and Around the World, Toxicology 221, (1) :1-3
- Bagherniya, M.; Nobili, V.; Blesso, C. N. & Sahebkar, A. (2018), 'Medicinal plants
- Bao, C.; Jiang, P.; Chai, J.; Jiang, Y.; Li, D.; Bao, W.; Liu, B.; Liu, B.; Norde, W.; Li, Y. The Delivery of Sensitive Food Bioactive Ingredients: Absorption Mechanisms, Influencing Factors, Encapsulation Techniques and Evaluation Models. Food Res. Int., 2019, 120 (September 2018), 130–140. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.02.024>.
- Barros CP, Grom LC, Guimaraes JT, Balthazar CF, Rocha RS, Silva R, et al. Paraprobiotic obtained by ohmic heating added in whey-grape juice drink is effective to control postprandial glycemia in healthy adults. Food Research International. 2021 Feb 1; 140:109905.
- Berg, J.M., Tymoczko, J.L., Stryer, L. (απόδοση στα ελληνικά: Δραΐνας, Δ., Χατζηλουκάς, Ε., Παπαδόπουλος, Γ.Κ., Αλετράς, Α., Κωνσταντίνου, Α., Κούβελας, Η.) (2014). Βιοχημεία (1η έκδοση). Ηράκλειο: Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης

- Biesalski, H. K., Dragsted, L. O., Elmadfa, I., Grossklaus, R., Müller, M., Schrenk, D., ... Weber, P. (2009). Bioactive compounds: Definition and assessment of activity. *Nutrition*, 25(11–12), 1202–1205. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2009.04.023>
- Binda S, Hill C, Johansen E, Obis D, Pot B, Sanders ME, Tremblay A and Ouwehand AC (2020) Criteria to Qualify Microorganisms as “Probiotic” in Foods and Dietary Supplements. *Front. Microbiol.* 11:1662. doi: 10.3389/fmicb.2020.01662
- Birch, C. S.; Bonwick, G. A. Ensuring the Future of Functional Foods. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2019, 54 (5), 1467–1485. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14060>.
- Borthakur A, Gill RK, Tyagi S, Koutsouris A, Alrefai WA, Hecht GA, et al. The probiotic *Lactobacillus acidophilus* stimulates chloride/hydroxyl exchange activity in human intestinal epithelial cells. *J Nutr* 2008;138(7):1355–9.
- Butel, M. J. (2014, January). Probiotics, gut microbiota and health. *Medecine et Maladies Infectieuses*. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2013.10.002>
- Charalampia, D.; Antonios, K. E.; Constantina, N.; Haralabos, K. C. Current Trends and Emerging Technologies in Biopigment Production Processes: Industrial Food and Health Applications. *Int. J. Hortic. Agric. Food Sci.*, 2017, 1 (2), 33–46.
- Chugh, B., & Kamal-Eldin, A. (2020, April 1). Bioactive compounds produced by probiotics in food products. *Current Opinion in Food Science*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.02.003>
- Comparison of Food and Supplement as Probiotic Delivery Vehicles. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 56, 896–909. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.733894>
- Dernini, S. (2006). Towards the advancement of the Mediterranean food cultures. *Public health nutrition*, 9(1a), 103-104.
- Diplock, A., Aggett, P., Ashwell, M. et al. (1999). “Scientific Concepts of Functional Foods in Europe: Consensus Document.” *British Journal of Nutrition* 81(No 4): S1-S27.
- Ejtahed HS, Mohtadi-Nia J, Homayouni-Rad A, Niafar M, Asghari-Jafarabadi M, Mofid V. Probiotic yogurt improves antioxidant status in type 2 diabetic patients. *Nutrition* 2012;28(5):539–43.
- El Khoury, D., Cuda, C., Luhovyy, B. L., & Anderson, G. H. (2012). Beta glucan: health benefits in obesity and metabolic syndrome. *Journal of nutrition and metabolism*, 2012.
- Fathi M, Abdelsalam M, Al-Homidan I, Ebeid T, El-Zarei M, Abou-Emera O. 2017. Effect of probiotic supplementation and genotype on growth performance, carcass traits, hematological parameters and immunity of growing rabbits under hot environmental conditions. *Anim Sci J.* 88(10):1644–1650.
- Frakolaki, G., Giannou, V., Kekos, D., & Tzia, C. (2021). A review of the microencapsulation techniques for the incorporation of probiotic bacteria in functional foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. Bellwether Publishing, Ltd. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1761773>

- Functional Foods and Global Perspectives (2002), British Journal of Nutrition 88 (2)
- Gambini, J.; Inglés, M.; Olaso, G.; Lopez-Grueso, R.; Bonet-Costa, V.; Gimeno-Mallench, L.; Mas-Bargues, C.; Abdelaziz, K. M.; Gomez-Cabrera, M. C.; Vina, J.; et al. Properties of Resveratrol: In Vitro and In Vivo Studies about Metabolism, Bioavailability, and Biological Effects in Animal Models and Humans. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 2015, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/837042>.
- Gorenjak, M., Gradišnik, L., Trapecar, M., Pistello, M., et al., Improvement of lipid profile by probiotic/protective cultures: study in a non-carcinogenic small intestinal cell model. *New Microbiologica* 2014, 37, 51-64.
- Hartmann, R.; Meisel, H. Food-Derived Peptides with Biological Activity: From Research to Food Applications. 2007, 163–169. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2007.01.013>.
- Heger, M.; van Golen, R. F.; Broekgaarden, M.; Michel, M. C. The Molecular Basis for the Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Curcumin and Its Metabolites in Relation to Cancers. *Pharmacol. Rev.*, 2014, 66 (1), 222–307. <https://doi.org/10.1124/pr.110.004044>.
- Heidebach T, Först P, Kulozik U, 2012. Microencapsulation of probiotic cells for food applications. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 52: 291-311.
- Heinrich, M., Müller, W. E., & Galli, C. (Eds.). (2006). Local Mediterranean food plants and nutraceuticals (Vol. 59). Karger Medical and Scientific Publishers.
- Hoffmann, A., Kleniewska, P., & Pawliczak, R. (2021). Antioxidative activity of probiotics. *Archives of Medical Science*, 17(3), 792–804. <https://doi.org/10.5114/aoms.2019.89894>
- Homayoni Rad, A., Vaghef Mehrabany, E., Alipoor, B., Vaghef Mehrabany, L., 2016. The industry. *Appl Microbiol Biotechnol* 2018, 102:515–538. This review provides the insight into the current literature concerned with the possibilities of using *Propionibacterium* spp. To produce valuable metabolites. It also discusses the biosynthetic pathways as well as the impact of the genetic and environmental factors on the efficiency of their production.
- Jafari, S. M.; McClements, D. J. Nanotechnology Approaches for Increasing Nutrient Bioavailability, 1st ed.; Elsevier Inc., 2017; Vol. 81. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2016.12.008>.
- Jones, M. L., Chen, H., Ouyang, W., Metz, T., & Prakash, S. (2004). Microencapsulated genetically engineered *Lactobacillus plantarum* 80 (pCBH1) for bile acid deconjugation and its implication in lowering cholesterol. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2004(1), 61–69. <https://doi.org/10.1155/S1110724304307011>
- Jones, M. L., Tomaro-Duchesneau, C., Prakash, S., The gut microbiome, probiotics, bile acids axis, and human health. *Trends. Microbiol.* 2014, 22, 306-308.
- Kailasapathy, K., 2006. Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yogurt. *Lwt-Food Sci. Technol*, 39: 1221–1227.

- Karadag, A.; Ozcelik, B.; Saner, S. Review of Methods to Determine Antioxidant Capacities. *Food Anal. Methods*, 2009, 2 (1), 41–60. <https://doi.org/10.1007/s12161-008-9067-7>.
- Kardum, N.; Glibetic, M. *Polyphenols and Their Interactions with Other Dietary Compounds: Implications for Human Health*, 1st ed.; Elsevier Inc., 2018; Vol. 84. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2017.12.001>.
- Kaur, S. and Das, M. "Functional foods: An overview," *Food Science and Biotechnology* (20:4), 2011, pp. 861--875.
- Kay RM. (1982) Dietary fiber. *Journal of Lipid Research*. Feb;23(2):221-242. PMID: 6281350.
- Keogh G. F., Cooper G. JS., Mulvey T. B., McArdle B. H., Coles G. D., Monro J. A. & Poppitt S. D. (2003). Randomized controlled crossover study of the effect of a highly a-glucan-enriched barley on cardiovascular disease risk factors in mildly hypercholesterolemic men. *Am. J. Clin. Nutr.*, American Society for Clinical Nutrition,78: 711-718.USA
- Kertesz, Z. I. (1963). Polyuronides. In *Comprehensive Biochemistry*. M. Florkin and E. H. Stotz, editors. Elsevier, New York. 5: 233.
- Khalil.A H, Mansour.E.H, 1998. Alginate encapsulated bifidobacteria survival in mayonnaise. *J. Food Sci*, 63: 702–705.
- Klassen T., Riedel W.J., Deutz N., A. van Someren and N.M. van Praag, (1999) *Phychopharmacology* 141, pp: 249-286
- Knuss, H. (1974). Biosynthesis of pectin and hemicellulose. In *Plant Carbohydrate Chemistry*. J. B. Pridham, editor. Academic Press, New York. 191-205
- Kobylak, N., Falalyeyeva, T., Mykhalchyshyn, G., Kyriienko, D., & Komissarenko, I. (2018). Effect of alive probiotic on insulin resistance in type 2 diabetes patients: Randomized clinical trial. *Diabetes and Metabolic Syndrome: Clinical Research and Reviews*, 12(5), 617–624. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2018.04.015>
- Kurmukov, A. G. *Phytochemistry of Medicinal Plants*. Med. Plants Cent. Asia Uzb. Kyrg., 2013, 1 (6), 13–14. [https://doi.org/10.1007/9781-4614-3912-7\\_4](https://doi.org/10.1007/9781-4614-3912-7_4).
- Litopoulou-Tzanetaki, E., & Tzanetakis, N. (2011). Microbiological characteristics of Greek traditional cheeses. *Small Ruminant Research*, 101(1–3), 17–32. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2011.09.022>
- Ludwig D.S. , Pereira M.A., Kroenke C.H., Hilner J.E., Slattery M.C. and Jacobs D. (1999), *Journal of the american medical association* 282, pp: 1539-1546
- Ma X, Hua J, Li Z. Probiotics improve high fat diet-induced hepatic steatosis and insulin resistance by increasing hepatic NKT cells. *J Hepatol* 2008;49(5):821–30.
- Mackie, A.; Mulet-Cabero, A. I.; Torcello-Gomez, A. *Simulating Human Digestion: Developing Our Knowledge to Create Healthier and More Sustainable Foods*. *Food Funct.*, 2020, 11 (11), 9397–9431. <https://doi.org/10.1039/d0fo01981j>.
- Maldonado Galdeano, C., & Perdigón, G. (2006). The probiotic bacterium *Lactobacillus casei* induces activation of the gut mucosal immune system through innate immunity.

Clinical and Vaccine Immunology, 13(2), 219–226.  
<https://doi.org/10.1128/CVI.13.2.219-226.2006>

- Maqsood, S., Adiamo, O., Ahmad, M., & Mudgil, P. (2020, March 5). Bioactive compounds from date fruit and seed as potential nutraceutical and functional food ingredients. *Food Chemistry*. Elsevier Ltd.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125522>
- Maria Saarela, Ilkka Virkajärvi, Hanna-Leena Alakomi, Pia Sigvart-Mattila, Jaana Mättö, Stability and functionality of freeze-dried probiotic Bifidobacterium cells during storage in juice and milk, *International Dairy Journal*, Volume 16, Issue 12, 2006, Pages 1477-1482, ISSN 0958-6946, <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2005.12.007>
- Martínez-Villaluenga, C. & Peñas, E. (2017), 'Health benefits of oat: current evidence and molecular mechanisms', *Current Opinion in Food Science* 14, 26 -31.
- Masoumi, SJ, Mehrabani, D, Saberifiroozi, M, Fattahi, MR, Moradi, F, Najafi, M. The effect of yogurt fortified with Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium sp. probiotic in patients with lactose intolerance. *Food Sci Nutr*. 2021; 9: 1704– 1711.  
<https://doi.org/10.1002/fsn3.2145>
- Mazloom Z, Yousefinejad A, Dabbaghmanesh MH. Effect of probiotics on lipid profile, glycemic control, insulin action, oxidative stress, and inflammatory markers in patients with type 2 diabetes: a clinical trial. *Iran J Med Sci* 2013;38 (1):38–43.
- McClements, D. J.; Peng, S. F. Current Status in Our Understanding of Physicochemical Basis of Bioaccessibility. *Curr. Opin. Food Sci.*, 2020, 31, 57–62.  
<https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.11.005>.
- Meybodi, N.M., Mortazavian, A.M., Arab, M., Nematollahi, A., 2020. Probiotic viability in yoghurt: A review of influential factors. *International Dairy Journal* 109, 104793.  
<https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104793>
- Min, M.; Bunt, C. R.; Mason, S. L.; Hussain, M. A. Non-Dairy Probiotic Food Products: An Emerging Group of Functional Foods. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 2019, 59 (16), 2626–2641. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1462760>.
- Moszak, M., Szulińska, M., Bogdański, P., 2020. You Are What You Eat—The Relationship between Diet, Microbiota, and Metabolic Disorders—A Review. *Nutrients* 12, 1096. <https://doi.org/10.3390/nu12041096>
- Neilson, A. P.; Goodrich, K. M.; Ferruzzi, M. G. Bioavailability and Metabolism of Bioactive Compounds from Foods, Fourth Edi.; Elsevier Inc., 2017.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802928-2.000151>.
- Ntrigiou, V.; Ntrigios, I.; Rigopoulos, N.; Dimou, C.; Koutelidakis, A. E. Functional Food Consumption Correlates With Anthropometric Characteristics and Body Composition in Healthy Adults. *Curr. Top. Nutraceutical Res.*, 2018, 16 (4), 279–288.
- Ozer, B, Kirmaci, H.A, Senel, E, Atamer, M, Hayaloglu, A, 2009. Improving the viability of Bifidobacterium bifidum BB-12 and Lactobacillus acidophilus LA-5 in white-brined cheese by microencapsulation. *Int. Dairy J*, 19: 22–29.

- Pineiro, M., & Stanton, C. (2007). Probiotic bacteria: Legislative framework - Requirements to evidence basis. In *Journal of Nutrition* (Vol. 137). American Institute of Nutrition. <https://doi.org/10.1093/jn/137.3.850s>
- Piwowarek K, Lipińska E, Hać-Szymańczuk E, Kieliszek M, Ścibisz I: Propionibacterium
- Preston, R. D. (1974). Plant cell walls. In *Dynamic Aspects of Plant Ultrastructure*. A. W. Robards, editor. McGraw-Hill, Maidenhead, U.K. 256
- Raguindin, P.F., Adam Itodo, O., Stoyanov, J., Dejanovic, G.M., Gamba, M., Asllanaj, E., Minder, B., Bussler, W., Metzger, B., Muka, T., Glisic, M., Kern, H., 2021. Asystematic review of phytochemicals in oat and buckwheat. *Food Chemistry* 338, 127982. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127982>
- Rai, A. K.; Pandey, A.; Sahoo, D. Biotechnological Potential of Yeasts in Functional Food Industry. *Trends Food Sci. Technol.*, 2019, 83, 129–137. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.11.016>.
- Rasane, P., Jha, A., Sabikhi, L., Kumar, A., Unnikrishnan, V.S., 2015. Nutritional advantages of oats and opportunities for its processing as value added foods - a review. *J Food Sci Technol* 52, 662–675. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-1072-1>
- Rein, M. J.; Renouf, M.; Cruz-Hernandez, C.; Actis-Goretta, L.; Thakkar, S. K.; da Silva Pinto, M. Bioavailability of Bioactive Food Compounds: A Challenging Journey to Bioefficacy. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 2013, 75 (3), 588–602. <https://doi.org/10.1111/j.13652125.2012.04425.x>.
- Saarela, M., Mogensen, G., Fondén, R., Mättö, J., & Mattila-Sandholm, T. (2000, December 28). Probiotic bacteria: Safety, functional and technological properties. *Journal of Biotechnology*. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(00\)00375-8](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(00)00375-8)
- Sajedi, D., Shabani, R., & Elmieh, A. (2021). Changes in leptin, serotonin, and cortisol after eight weeks of aerobic exercise with probiotic intake in a cuprizone-induced demyelination mouse model of multiple sclerosis. *Cytokine*, 144. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2021.155590>
- Saudi J. Biol. Sci., 2021, 28 (3), 1633–1644. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.11.064>.
- Scholz-Ahrens, K. E., Adolphi, B., Rochat, F., Barclay, D. V., de Vrese, M., Açil, Y., & Schrezenmeir, J. (2016). Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on mineral metabolism in ovariectomized rats - impact of bacterial mass, intestinal absorptive area and reduction of bone turn-over. *NFS Journal*, 3, 41–50. <https://doi.org/10.1016/j.nfs.2016.03.001>
- Schubert, W. J. (1965). *Lignin Biochemistry*. Academic Press, New York. 2-6
- Schultz M, Sartor RB. Probiotics and inflammatory bowel diseases. *Am Gastroenterol*. 2000 Jan;95(1 Suppl):S19-21. doi: 10.1016/s0002-9270(99)00812-6
- Scott, K. P., Grimaldi, R., Cunningham, M., Sarbini, S. R., Wijeyesekera, A., Tang, M. L. K., ... Gibson, G. R. (2020, April 1). Developments in understanding and applying prebiotics in research and practice—an ISAPP conference paper. *Journal of Applied Microbiology*. Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/jam.14424>



- Shahidi, F.; Varatharajan, V.; Oh, W. Y.; Peng, H. Phenolic Compounds in Agri-Food by-Products, Their Bioavailability and Health Effects J. Food Bioact., 2019, 5 (April). <https://doi.org/10.31665/jfb.2019.5178>.
- Shukla, S.D., Budden, K.F., Neal, R., Hansbro, P.M., 2017. Microbiome effects on immunity, health and disease in the lung. Clinical & Translational Immunology 6, e133. <https://doi.org/10.1038/cti.2017.6>
- Siddeeg, A.; AlKehayez, N. M.; Abu-Hiamed, H. A.; Al-Sanea, E. A.; AL-Farga, A. M. Mode of Action and Determination of Antioxidant Activity in the Dietary Sources: An Overview.
- Sirnopoulos A., (1991). Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development in American Journal of Clinical Nutrition, Vol.54, pp: 438-463
- Sjoefjan O, Adli DN, Harahap RP, Jayanegara A, Utama DT, Seruni AP. 2021a. The effects of lactic acid bacteria and yeasts as probiotics on the growth performance, relative organ weight, blood parameters, and immune responses of broiler: a meta-analysis. F1000Res. 10(10):183.
- Song, M. R.; Im, M. Moderating Effects of Food Type and Consumers' Attitude on the Evaluation of Food Items Labeled "Additive-Free." J. Consum. Behav., 2018, 17 (1), e1–e12. <https://doi.org/10.1002/cb.1671>.
- Soumya, N. P. P.; Mini, S.; Sivan, S. K.; Mondal, S. Bioactive Compounds in Functional Food and Their Role as Therapeutics. Bioact. Compd. Heal. Dis., 2021, 4 (3), 24–39. <https://doi.org/10.31989/bchd.v4i3.786>.
- Southgate, D. A. T. (1976). The chemistry of dietary fiber. In Fiber in Human Nutrition. G. A. Spiller and R. J. Amen, editors. Plenum Press, New York. 31-72.
- Southgate, D. A. T., W. J. Branch, M. J. Hill, B. S. Draser, P. S. Davies, and I. McLean-Baird (1976). Metabolic responses to dietary supplements of bran. Metabolism. 25: 1129-1 135
- Sterna, V., Zute, S., Brunava, L., 2016. Oat Grain Composition and its Nutrition Benefice. Agriculture and Agricultural Science Procedia, Florence "Sustainability of Well-Being International Forum". 2015: Food for Sustainability and not just food, Florence SWIF2015 8, 252–256. <https://doi.org/10.1016/j.aaspro.2016.02.100>
- Stojanov S, Berlec A, Štrukelj B. The Influence of Probiotics on the Firmicutes/Bacteroidetes Ratio in the Treatment of Obesity and Inflammatory Bowel disease. Microorganisms. 2020; 8(11):1715. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8111715>
- Suva, M., Sureja, V., & Kheni, D. (2016). Novel insight on probiotic Bacillus subtilis: Mechanism of action and clinical applications. *Journal of Current Research in Scientific Medicine*, 2(2), 65. <https://doi.org/10.4103/2455-3069.198381>
- Swallah, M. S.; Fu, H.; Sun, H.; Affoh, R.; Yu, H. The Impact of Polyphenol on General Nutrient Metabolism in the Monogastric Gastrointestinal Tract. J. Food Qual., 2020, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/5952834>.

- Tagliari, E., Campos, L. F., Casagrande, T. A. C., Fuchs, T., de Noronha, L., & Campos, A. C. L. (2022). Effects of oral probiotics administration on the expression of transforming growth factor  $\beta$  and the proinflammatory cytokines interleukin 6, interleukin 17, and tumor necrosis factor  $\alpha$  in skin wounds in rats. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 46(3), 721–729. <https://doi.org/10.1002/jpen.2216>
- Tannock G.W. 1999. The normal microflora:an introduction in Medicinal Importance of Normal microflora 1-23, Kluwer Academic Publishers, London, UK
- tao TONG, L.; ya LIU, L.; ZHONG, K.; WANG, Y.; na GUO, L. & mei ZHOU, S. (2014), 'Effects of Cultivar on Phenolic Content and Antioxidant Activity of Naked Oat in China', *Journal of Integrative Agriculture* 13(8), 1809 - 1816.
- Taylor, P.; Elias, R. J.; Kellerby, S. S.; Decker, E. A.; Elias, R. J.; Kellerby, S. S.; Decker, E. A. Antioxidant Activity of Proteins and Peptides Antioxidant Activity of Proteins and Peptides. 2008, No. June 2013, 37–41. <https://doi.org/10.1080/10408390701425615>
- Theander, O., and P. Aman (1979). The chemistry, morphology and analysis of dietary fiber components. In *Dietary Fibers: Chemistry and Nutrition*. G. Inglett and I. Falkehag, editors. Academic Press, New York. 214-244.
- Tonucci LB, dos Santos KMO, de Oliveira LL, Ribeiro SMR, Martino HSD. Clinical application of probiotics in type 2 diabetes mellitus: A randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Clinical Nutrition*. 2017; 36: 85-92.
- Turnbaugh, P. J., Ley, R. E., Mahowald, M. A., Magrini, V., Mardis, E. R., & Gordon, J. I. (2006). An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*, 444(7122), 1027–1031. <https://doi.org/10.1038/nature05414>
- Tzonuis X, Vulevic J, Kuhnle GG, George T, Leonczak J, Gibson GR, et al. (2008). Flavanol monomer-induced changes to the human faecal microflora. *Br J Nutr*; 99:782–92.
- Usman, Hosono, A. (2000). Effect of administration of *Lactobacillus gasseri* on serum lipids and fecal steroids in hypercholesterolemic rats. *J. Dairy Sci.*, 83, 1705-1711.
- Van Denffer, D., W. Schumacher, K. Magdefrau, and F. Ehrendorfer (1976). Excretory and secretory tissues. In *Strasburger's Textbook of Botany*. Longman, New York. 118-121
- Vaughan E., Mollet B., DeVos W. (1999). Functionality of probiotics and intestinal lactobacilli: light in the intestinal tract tunnel. *Current Opinion in Biotechnology*, 10, 505–510.
- Wang, Y., Rogers, P., Su, C., Varga, G., et al. (2008). Regulation of cholesterologenesis by the oxysterol receptor, LXRalpha. *J. Biol. Chem.*, 283, 26332–26339.
- Werch, S. C., and A. C. Ivy (1941). A study of the metabolism of ingested pectin. *Am. J. Dis. Child.* 6 2 499- 511.
- Yadav, H., Jain, S., & Sinha, P. (2008). Oral administration of dahi containing probiotic *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* delayed the progression of streptozotocin-induced diabetes in rats. *Journal of Dairy Research*, 75(2), 189-195. <https://doi.org/10.1017/S0022029908003129>

- Yamanashi, Y., Tappei, T., Jun-Ichi, S., Hiroshi, S. (2012) .Novel function of niemann-pick C1-like 1 as a negative regulator of niemann-pick C2 protein. *Hepatology*, 55, 953-964.
- Zhang, Q., Wu, Y., & Fei, X. (2016). Effect of probiotics on glucose metabolism in patients with type 2 diabetes mellitus: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Medicina (Lithuania)*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.medici.2015.11.008>
- Zhao S, Feng P, Hu X, Cao W, Liu P, Han H, Jin W, Li X. (2022). Probiotic *Limosilactobacillus fermentum* GR-3 ameliorates human hyperuricemia via degrading and promoting excretion of uric acid. *iScience*. Sep 28;25(10):105198. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.105198>
- Κουτελιδάκης Αντώνιος (2015). “Λειτουργικά Τρόφιμα: Ο ρόλος τους στην προαγωγή της υγείας” Εκδόσεις ΖΗΤΗ
- Κουτελιδάκης, Α. Ε. Λειτουργικά Τρόφιμα, 2nd ed.; Εκδόσεις ΖΗΤΗ: Θεσσαλονίκη, (2019)
- Μανιάτη Ελένη (2020). Πτυχιακή: «ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΑΠΟΨΗΣ-ΑΠΟΔΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΣΥΧΝΟΤΗΤΑΣ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ, ΣΥΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΗΣ ΜΕ ΑΝΘΡΩΠΟΜΕΤΡΙΚΟΥΣ ΔΕΙΚΤΕΣ, ΣΕ ΔΕΙΓΜΑ ΚΥΠΡΙΩΝ ΚΑΤΑΝΑΛΩΤΩΝ
- Ντρίγιος Ι. & Ντρίγιου Β. (2017) «ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΗΣ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΜΕ ΑΝΘΡΩΠΟΜΕΤΡΙΚΟΥΣ ΔΕΙΚΤΕΣ ΣΕ ΑΤΟΜΑ ΗΛΙΚΙΑΣ 45-65 ΕΤΩΝ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ», Πανεπιστήμιο Αιγαίου, Πτυχιακή Μελέτη
- Τζιά Κ. (2004). Λειτουργικά τρόφιμα: Τεχνολογία, προοπτικές, χρήσεις. Διαθέσιμο στον [δικτυακό τόπο: https://helios-eie.ekt.gr/EIE/bitstream/10442/538/1/M01.036.19.pdf](https://helios-eie.ekt.gr/EIE/bitstream/10442/538/1/M01.036.19.pdf)