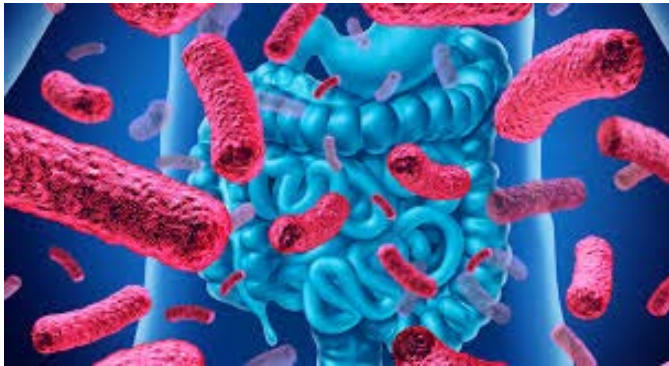


# Λειτουργικά Τρόφιμα



**Ιωάννης Κουρκουτάς, PhD**  
**Καθηγητής Δ.Π.Θ.**

**Εργαστήριο Εφαρμοσμένης Μικροβιολογίας  
& Βιοτεχνολογίας**  
**Τμήμα Μοριακής Βιολογίας & Γενετικής**  
**Δημοκρίτειο Παν/μιο Θράκης**



Εργαστήριο Εφαρμοσμένης  
Μικροβιολογίας & Βιοτεχνολογίας

[ikourkou@mbg.duth.gr](mailto:ikourkou@mbg.duth.gr)  
<https://lamb.mbg.duth.gr>

## Λειτουργικά Τρόφιμα

- Τα λειτουργικά τρόφιμα αποτελούν μια νέα κατηγορία καινοτόμων προϊόντων με μεγάλο ερευνητικό και τεχνολογικό ενδιαφέρον.
- Ο όρος «λειτουργικά τρόφιμα» αναφέρεται σε εδώδιμα προϊόντα με ευεργετικά οφέλη για την υγεία των καταναλωτών και σήμερα θεωρούνται πολύ σημαντικά ως συμπληρωματικές και εναλλακτικές μέθοδοι πρόληψης, αλλά και πιθανόν, θεραπείας.

**Definition of Functional Food:** *The Functional Food Center defines “functional foods” as “Natural or processed foods that contain biologically-active compounds; which, in defined, effective, non-toxic amounts, provide a clinically proven and documented health benefit utilizing specific biomarkers, to promote optimal health and reduce the risk of chronic/viral diseases and manage their symptoms.” (Functional Food Center, USA)*

# Προβιοτικά και πρεβιοτικά Η σημασία τους στη διατροφή



# Τι είναι τα προβιοτικά?

«Ζωντανοί μικροοργανισμοί, οι οποίοι κατά την κατανάλωσή τους σε επαρκείς πληθυσμούς, επιφέρουν ευεργετικές επιδράσεις στην υγεία του ξενιστή» (FAO/WHO, 2002)

# Λίγη ιστορία...

- 1908. Elie Metchnikof: υπέθεσε ότι η υγιής ζωή των αγροτών της Βουλγαρίας ήταν αποτέλεσμα της κατανάλωσης ζυμωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων.

- 1989. Füller: όρισε τα προβιοτικά ως προϊόντα που περιέχουν ζωντανούς μικροοργανισμούς που επηρεάζουν ευεργετικά τον ξενιστή βελτιώνοντας τη μικροβιακή εντερική χλωρίδα.

- 1989. Πολλοί ερευνητές υποστηρίζουν ότι τα ευεργετικά οφέλη δύναται να οφείλονται ακόμα και σε συστατικά κυττάρων (π.χ. συστατικά κυτταρικών τοιχωμάτων) και όχι αποκλειστικά σε ζωντανά κύτταρα (Ouwehand and Salminen 1998, Salminen et al. 1999).



*Elie Metchnikof*

# Ευεργετικά Οφέλη των Προβιοτικών

1. Διατήρηση της κατάλληλης μικροβιακής ισορροπίας στο γαστρεντερικό σωλήνα παρεμποδίζοντας την ανάπτυξη παθογόνων μικροοργανισμών (de Waard et al., 2002, Montesi et al., 2005, Liong and Shah, 2006).
2. Βελτίωση συμπτωμάτων δυσκοιλιότητας και δυσανεξίας στην λακτόζη (Zarate et al., 2000).
3. Προστασία έναντι διαρροιών που σχετίζονται με τη λήψη αντιβιοτικών (D' Souza et al., 2002).
4. Διέγερση του ανοσοποιητικού συστήματος (Korpp-Hoolihan, 2001).

# Ευεργετικά Οφέλη των Προβιοτικών

5. Μείωση επιπέδων χοληστερόλης (Liong and Shah, 2006).
6. Προστασία έναντι του *Helicobacter pylori* (Penner et al., 2005).
7. Προστασία έναντι της ασθένειας του Crohn (Penner et al., 2005).
8. Προστασία έναντι παγκρεατίτιδας (Penner et al., 2005).
9. Προστασία έναντι της νεκρωτικής εντεροκολίτιδας στα νεογνά (Embleton and Yates, 2008).

# Ευεργετικά Οφέλη των Προβιοτικών

10. Προστασία έναντι του συνδρόμου ευερέθιστου εντέρου (irritable bowel syndrome) (Penner et al., 2005).
11. Προστασία έναντι διαφόρων αλλεργιών (Korpp-Hoolihan, 2001).
12. Προστασία έναντι συγκεκριμένων μορφών καρκίνου (Korpp-Hoolihan, 2001; Tiptiri-Kourpeti et al., 2016).





# Κριτήρια Χαρακτηρισμού Μικροβιακών Στελεχών ως «Προβιοτικών»

## Κριτήρια ασφάλειας

- Να είναι ανθρώπινης προέλευσης ή να έχουν απομονωθεί από τρόφιμα.
- Να μην είναι παθογόνα.
- Να χαρακτηρίζεται γενικά ως ασφαλή (Generally Recognized As Safe-GRAS).
- Να μην έχουν επίκτητα γονίδια ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά.

# Κριτήρια Χαρακτηρισμού Μικροβιακών Στελεχών ως «Προβιοτικών»

## Λειτουργικά κριτήρια (απαραίτητα)

- Να είναι ανθεκτικά στο όξινο περιβάλλον του στομάχου και τα χολικά άλατα του εντέρου.
- Να επιβιώνουν στο εντερικό οικοσύστημα και να εγκαθίσταται στο γαστρεντερικό σωλήνα σε σύντομο χρονικό διάστημα.
- Να μπορούν να προσκολλώνται στο επιθηλιακό ιστό του εντέρου των ξενιστών.

# Κριτήρια Χαρακτηρισμού Μικροβιακών Στελεχών ως «Προβιοτικών»

## Λειτουργικά κριτήρια

- Να είναι ωφέλιμα για τον ξενιστή (απαραίτητο κριτήριο).

### Παραδείγματα:

- Να ρυθμίζουν τους αμυντικούς μηχανισμούς του ξενιστή.
- Να σταθεροποιούν την μικροβιακή χλωρίδα του εντέρου.



# Κριτήρια Χαρακτηρισμού Μικροβιακών Στελεχών ως «Προβιοτικών»

## Λειτουργικά κριτήρια

- Να εμφανίζουν ανταγωνιστική δράση έναντι παθογόνων βακτηρίων.
- Να παράγουν ουσίες με αντιμικροβιακή δράση (π.χ. βακτηριοσίνες).
- Να επηρεάζουν τις ανθρώπινες μεταβολικές δραστηριότητες (π.χ. αφομοίωση της χοληστερόλης, δράση β-γαλακτοσιδάσης, παραγωγή βιταμινών, κλπ).

# Κριτήρια Χαρακτηρισμού Μικροβιακών Στελεχών ως «Προβιοτικών»

## Τεχνολογικά κριτήρια

- Να είναι ανθεκτικά κατά την διαδικασία παραγωγής και επεξεργασίας των τροφίμων, όπως για παράδειγμα η λυοφιλίωση.
- Να είναι δυνατή η παραγωγή τους σε μεγάλη κλίμακα.

# Προβιοτικά

## Lactobacilli

- *L. acidophilus* spp.; *L. acidophilus* LA-1
- *L. casei* spp.
- *L. rhamnosus* GG
- *L. reuteri*
- *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*
- *L. plantarum* spp.; *L. plantarum* 299 V
- *L. fermentum* KLD
- *L. johnsonii*

## Bifidobacteria

- *Bifidobacterium bifidum*
- *B. breve*
- *B. infantis*
- *B. longum*



# Προβιοτικά

## Άλλα βακτήρια

- *Enterococcus faecium*
- *Escherichia coli* Nissle 1917
- *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*

## Yeast

- *Saccharomyces boulardii*

# Πρεβιοτικά

- Πρεβιοτικά ή πρεβιοτικές ίνες αποκαλούνται τα άπεπτα συστατικά της τροφής που δρουν ευεργετικά στον οργανισμό, ενεργοποιώντας επιλεκτικά την ανάπτυξη ή/και τη δραστηριότητα των προβιοτικών μικροοργανισμών στο έντερο.
- Κυριότερα πρεβιοτικά είναι η ινουλίνη, οι γαλακτο-ολιγοσακχαρίτες και οι φρουκτο-ολιγοσακχαρίτες, τα οποία αποτελούν στοιχεία φρούτων, λαχανικών και δημητριακών.





# Πρεβιοτικά

Για να θεωρηθεί ένα συστατικό της τροφής ως πρεβιοτική ίνα θα πρέπει:

1. Να μην υδρολύεται ή απορροφάται στο ανώτερο τμήμα της γαστρεντερικής οδού,
2. Να αποτελεί υπόστρωμα για τους προβιοτικούς μικροοργανισμούς στο παχύ έντερο, ενεργοποιώντας την ανάπτυξή τους,
3. Να παρεμποδίζει την ανάπτυξη των παθογόνων βακτηρίων ρυθμίζοντας την εντερική μικροβιακή χλωρίδα και ασκώντας προστατευτική δράση στο έντερο.



# Πίνακας 1. Σημαντικότερα πρεβιοτικά και οι επιδράσεις τους επί των προβιοτικών.



Τρόφιμο	Πρεβιοτικά	Προβιοτικά	Επίδραση επί προβιοτικών
Γιαούρτι	Άμυλο	<i>L. acidophilus</i> <i>L. casei</i>	Αύξηση και ζωτικότητα
	Ινουλίνη	<i>L. acidophilus</i> <i>L. casei</i> <i>L. rhamnosus</i> <i>L. reuteri</i> <i>Bifidobacterium</i>	Αύξηση και ζωτικότητα
Ζυμωμένο γάλα	Φρουκτο-ολιγοσακχαρίτες	<i>L. acidophilus</i> <i>L. casei</i> <i>L. rhamnosus</i> <i>Bifidobacterium spp.</i>	Ζωτικότητα και παραγωγή λιπαρών οξέων
	Πολυ-δεξτρόζη	<i>L. acidophilus</i> <i>L. rhamnosus</i> <i>B. lactis</i>	Αύξηση και ζωτικότητα
	Φρουκτο-ολιγοσακχαρίτες	<i>L. acidophilus</i> <i>L. rhamnosus</i> <i>B. lactis</i>	Αύξηση και ζωτικότητα
Παγωτό	Ινουλίνη	<i>L. acidophilus</i> <i>B. lactis</i>	Αύξηση και ζωτικότητα
Τυρί και προϊόντα τυριού	Φρουκτο-ολιγοσακχαρίτες	<i>L. acidophilus</i> <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i>	Αύξηση, ζωτικότητα και παραγωγή λιπαρών οξέων
	Ινουλίνη	<i>L. acidophilus</i> <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i>	Αύξηση, ζωτικότητα και παραγωγή λιπαρών οξέων
	Καρβοξυ-μεθυλ-κυτταρίνη	<i>P. freudenreichii</i> subsp. <i>shermanii</i>	Αύξηση

# Συμβιωτικά

Τα συμβιωτικά προϊόντα είναι μία κατηγορία τροφίμων που περιέχουν προβιοτικούς μικροοργανισμούς και πρεβιοτικά συστατικά, τα οποία ωφελούν τον καταναλωτή, βελτιώνοντας την επιβίωση και την εγκατάσταση επιλεγμένων ζωντανών μικροοργανισμών στο πεπτικό σύστημα.



# Ακινητοποίηση Προβιοτικών Μικροοργανισμών

Ευεργετικά οφέλη από προβιοτικά τρόφιμα

## Βασική Προϋπόθεση

Υψηλός αριθμός ζωντανών βακτηρίων  $10^6$ - $10^7$  cfu/g.

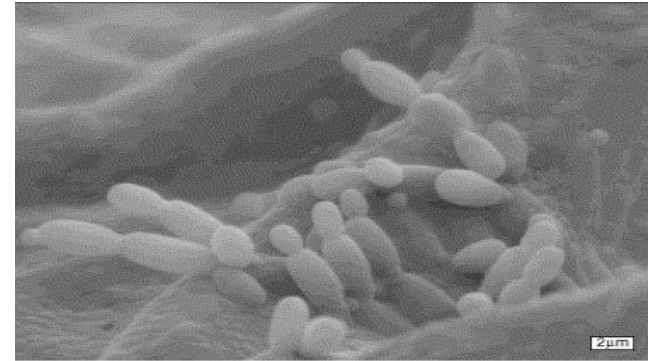
Κατανάλωση 100g προϊόντων ημερησίως έτσι ώστε να επιτευχθεί λήψη  $10^8$ - $10^9$  προβιοτικών κυττάρων.

**Η ακινητοποίηση των κυττάρων βελτιώνει σημαντικά τη ζωτικότητα των  
προβιοτικών καλλιεργειών.**



# Ακινητοποίηση Προβιοτικών Μικροοργανισμών

- ❑ Άμυλο (Mattila-Sandholm et al. 2002).
- ❑ Κομμάτια φρούτων (Kourkoutas et al., 2005; 2006; Sidira et al., 2013).
- ❑ Σιτάρι (Bosnea et al., 2009).
- ❑ Πρωτεΐνη γάλακτος & τυρογάλακτος (Dimitrellou et al., 2008; 2014).



*Kourkoutas et al., 2005*

# Εφαρμογές στην Τεχνολογία Τροφίμων



## Εργαστήριο Εφαρμοσμένης Μικροβιολογίας και Βιοτεχνολογίας: Έρευνα και Καινοτομία

### ❑ Προβιοτικά γαλακτοκομικά προϊόντα:

- Ξινόγαλα (ακινητοποίηση σε φρούτα, *Kourkoutas et al., 2005*).

- Γιαούρτι (ακινητοποίηση σε φρούτα και δημητριακά, *Sidira et al., 2013*).

- Τυρί (ακινητοποίηση σε φρούτα και πρωτεΐνη τυρογάλακτος, *Kourkoutas et al., 2006; Dimitrellou et al., 2014*).

(Δίπλωμα Ευρεσιτεχνίας OBI, Αριθμ. 1005393, 2006).

- Παγωτό (ακινητοποίηση σε ξηρούς καρπούς και σε προϊόντα ζαχαροπλαστικής, Δίπλωμα Ευρεσιτεχνίας OBI, Αριθμ.1008050, 2013).

### ❑ Προβιοτικά προϊόντα κρέατος:

- Ζυμωμένα λουκάνικα (ακινητοποίηση σε σιτάρι, *Sidira et al., 2014; Δίπλωμα Ευρεσιτεχνίας OBI, Αριθμ. 1007555, 2012*).

# Εφαρμογές στην Τεχνολογία Τροφίμων

Εργαστήριο Εφαρμοσμένης Μικροβιολογίας και Βιοτεχνολογίας:

Έρευνα και Καινοτομία

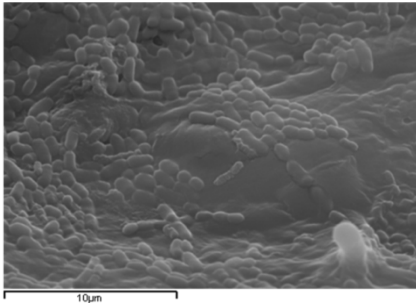


## □ Προβιοτικές παιδικές κρέμες:

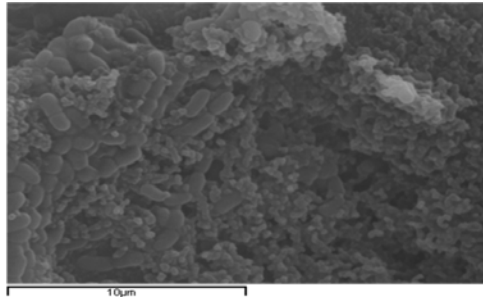
- Παιδικές κρέμες με λυοφιλιωμένα ή θερμικά αποξηραμένα ακινητοποιημένα προβιοτικά βακτήρια σε φρούτα, καζεΐνη ή πρωτεΐνη τυρογάλακτος (Δίπλωμα Ευρεσιτεχνίας, ΟΒΙ, Αριθμ. 1008754, 2016).

# Προβιοτικά Γαλακτοκομικά Προϊόντα

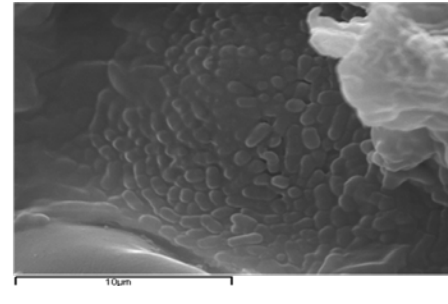
Ακίνητοποίηση *L. casei* ATCC 393 σε φρούτα και δημητριακά για παραγωγή προβιοτικού γιαουρτιού (Sidira et al., 2013)



(α)



(β)



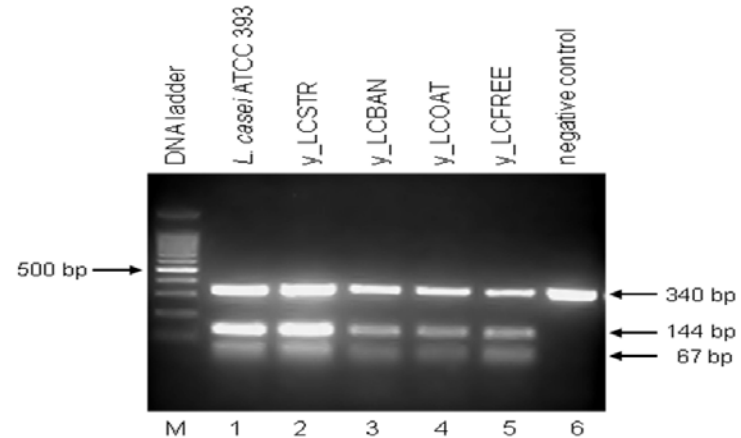
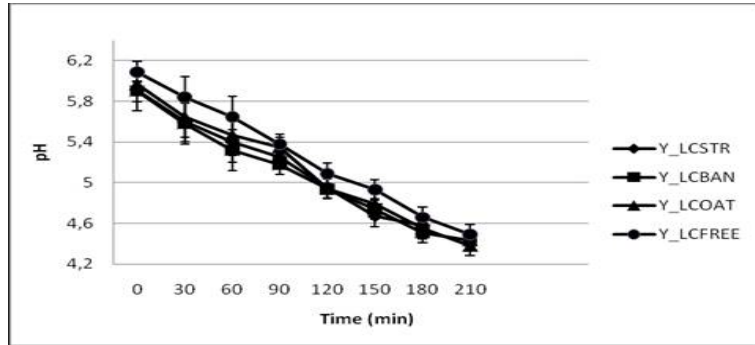
(γ)

Φωτογραφίες ηλεκτρονικού μικροσκοπίου ακινητοποιημένων κυττάρων *L. casei* ATCC 393 σε κομμάτια (α) φράουλας, (β) μπανάνας και (γ) βρώμης.



# Προβιοτικά Γαλακτοκομικά Προϊόντα

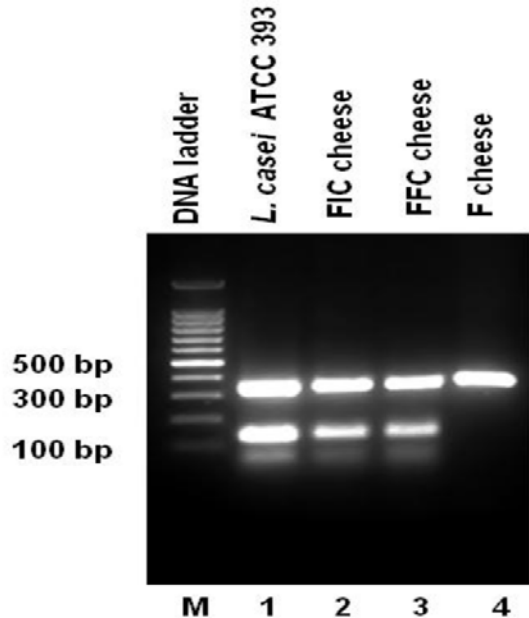
## Κινητική ζύμωσης γάλακτος



Μοριακή ταυτοποίηση *L. casei* ATCC 393 σε επίπεδα  $\geq 6$  logcfu/g με strain-specific Multiplex PCR στα προβιοτικά προϊόντα μετά από 30 ημέρες στους 4°C. LC: *L. casei* ATCC 393, STR: ακινητοποιημένα κύτταρα σε φράουλα, BAN: ακινητοποιημένα κύτταρα σε μπανάνα, OAT: ακινητοποιημένα κύτταρα σε βρώμη, FREE: ελεύθερα κύτταρα (Sidira et al., 2013).

# Προβιοτικά Γαλακτοκομικά Προϊόντα

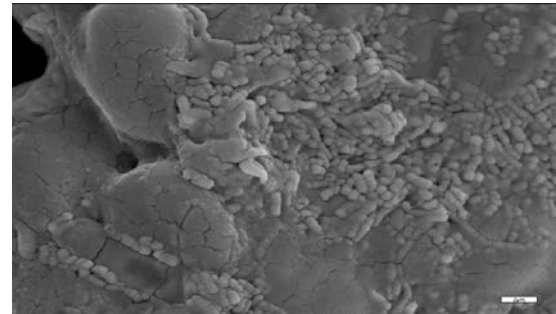
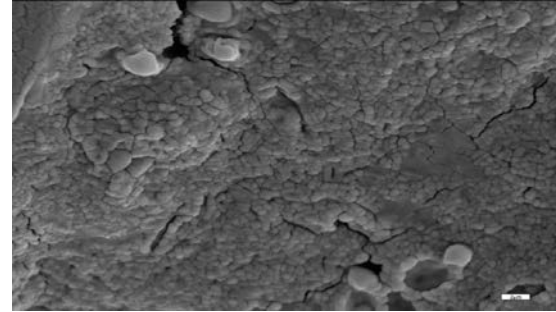
Ακίνητοποίηση *L. casei* ATCC 393 σε πρωτεΐνη τυρογάλακτος για παραγωγή  
προβιοτικού τυριού τύπου φέτας (Dimitrellou et al., 2014)



Μοριακή ταυτοποίηση *L. casei* ATCC 393 σε επίπεδα  $\geq 6 \log_{cfu}/g$  με strain-specific Multiplex PCR στα προβιοτικά προϊόντα μετά από 70 ημέρες ωρίμανσης. FIC: τυρί με ακινητοποιημένα κύτταρα *L. casei* ATCC 393 σε πρωτεΐνη τυρογάλακτος, FFC: τυρί με ελεύθερα κύτταρα *L. casei* ATCC 393, F: τυρί χωρίς αρχική καλλιέργεια.

# Προβιοτικά Προϊόντα Κρέατος

- ❑ Ακινητοποίηση *L. casei* ATCC 393 σε σιτάρι.
- ❑ Παραγωγή προβιοτικών ζυμωμένων λουκάνικων (Sidira et al., 2014a; 2014b).

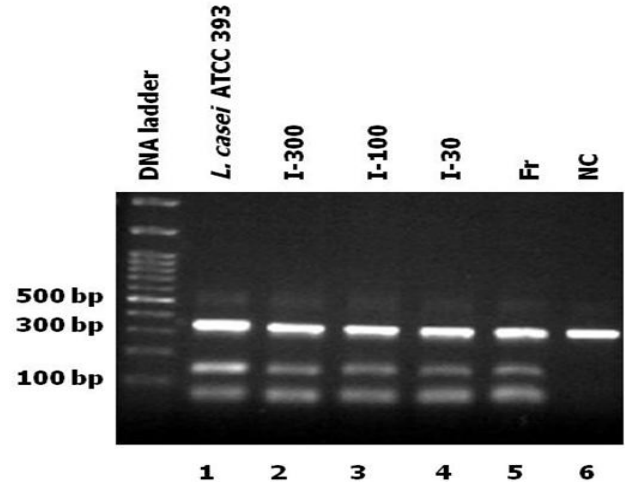


*Bosnea et al., 2009*

# Προβιοτικά Προϊόντα Κρέατος

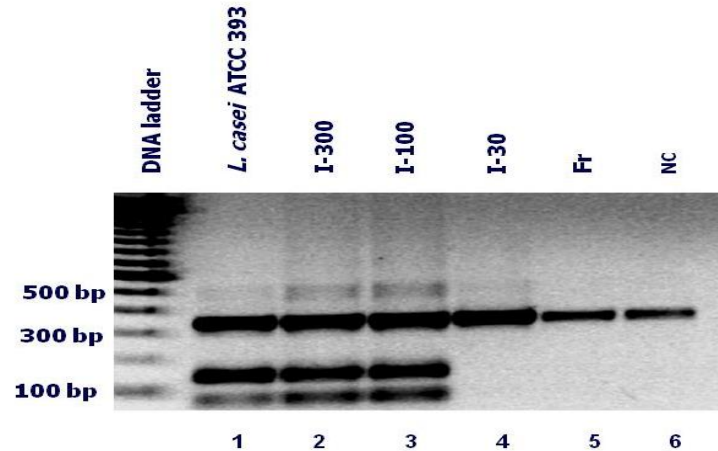
Μοριακή ταυτοποίηση *L. casei* ATCC 393 σε επίπεδα  $\geq 6 \log_{cfu}/g$  με strain-specific Multiplex PCR στα προβιοτικά ζυμωμένα λουκάνικα μετά από 66 ημέρες ωρίμανσης (Sidira et al., 2014a).

I-300: 300g ακινητοποιημένων κυττάρων/kg κρεατομάζας.  
I-100: 100g ακινητοποιημένων κυττάρων/kg κρεατομάζας.  
I-30: 30g ακινητοποιημένων κυττάρων/kg κρεατομάζας.  
Fr: 1.0g υγρό βάρος ελεύθερων κυττάρων/kg κρεατομάζας.  
NC: Χωρίς αρχική καλλιέργεια.



# Προβιοτικά Προϊόντα Κρέατος

Μοριακή ταυτοποίηση *L. casei* ATCC 393 σε επίπεδα  $\geq 6 \log_{cfu}/g$  με strain-specific Multiplex PCR στα προβιοτικά ζυμωμένα λουκάνικα μετά από ήπια θέρμανση (70-72°C για 10-12min) (Sidira et al., 2014a).



I-300: 300g ακινητοποιημένων κυττάρων/kg κρεατομάζας.  
I-100: 100g ακινητοποιημένων κυττάρων/kg κρεατομάζας.  
I-30: 30g ακινητοποιημένων κυττάρων/kg κρεατομάζας.  
Fr: 1.0g υγρό βάρος ελεύθερων κυττάρων/kg κρεατομάζας.  
NC: Χωρίς αρχική καλλιέργεια.

# Προβιοτικά Προϊόντα Κρέατος

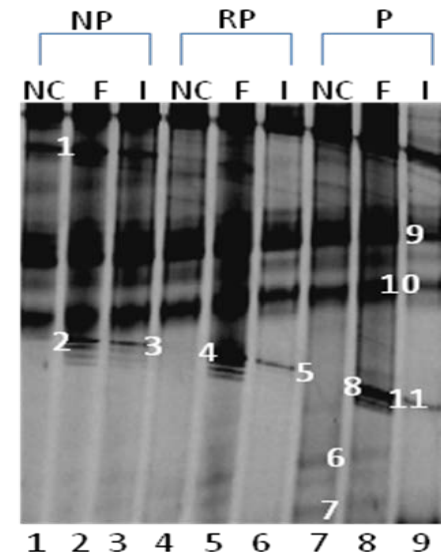
Τα προβιοτικά ως προστατευτικοί παράγοντες έναντι της αλλοίωσης  
(Sidira et al., 2014b)

Κωδικός Δείγματος	Συντηρητικά	Αρχική καλλιέργεια	Ημέρα αλλοίωσης
I-P	0.02% NaNO <sub>2</sub> , 0.02% NaNO <sub>3</sub> , 2% NaCl	Ακίνητοποιημένα	No
F-P		Ελεύθερα	No
NC-P		Χωρίς καλλιέργεια	No
I-RP	0.01 % NaNO <sub>2</sub> , 0.01% NaNO <sub>3</sub> , 1% NaCl	Ακίνητοποιημένα	71
F-RP		Ελεύθερα	54
NC-RP		Χωρίς καλλιέργεια	48
I-NP	Χωρίς συντηρητικά	Ακίνητοποιημένα	63
F-NP		Ελεύθερα	52
NC-NP		Χωρίς καλλιέργεια	38

# Προβιοτικά Προϊόντα Κρέατος

DGGE-PCR ανάλυση του βακτηριακού πληθυσμού  
(Sidira et al., 2014b)

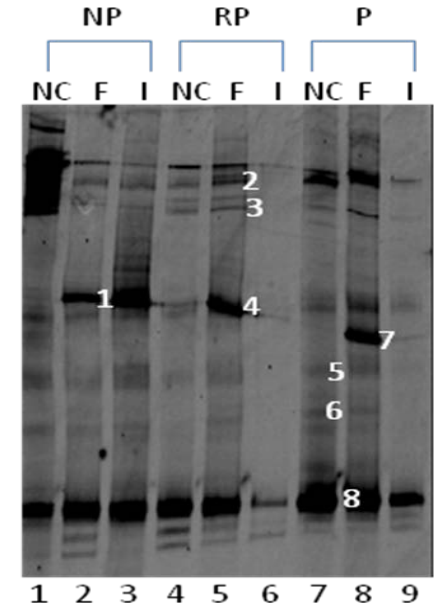
Band <sup>a</sup>	Most closely related species	Identity (%)	Accession Number <sup>b</sup>
1	<i>Lactococcus</i> sp. 14A	100	HQ289889.1
	Uncultured bacterium clone B5	100	GU977202.1
2	<i>Lactobacillus casei</i> ATCC 393	99	NR_041893.1
	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> strain V92	99	JF444753.1
3	<i>Lactobacillus casei</i> ATCC 393	99	NR_041893.1
	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> clone WWC_C4AKM117	99	GU429394.1
4	<i>Lactobacillus casei</i> ATCC 393	99	NR_041893.1
	<i>Lactobacillus paracasei</i> clone WWC_C4MLM108	99	GU425011.1
5	<i>Lactobacillus casei</i> ATCC 393	98	NR_041893.1
	<i>Lactobacillus casei</i> LOCK919	98	CP005486.1
6	<i>Rhodococcus erythropolis</i>	94	KF313553.1
	<i>Rhodococcus globerulus</i>	94	AB828263.1
7	<i>Saccharothrix</i> sp. EGI 80154	94	KF040433.1
	<i>Micromonospora</i> sp. EGI 80045	94	KF040413.1
8	<i>Lactobacillus casei</i> ATCC 393	98	NR_041893.1
	<i>Lactobacillus casei</i> LOCK919	98	CP005486.1
9	<i>Lactobacillus sakei</i> strain EC7	99	JN851763.1
	<i>Lactobacillus sakei</i> strain N2MR5	98	KF193896.1
10	<i>Lactobacillus fuchuensis</i> strain MFPC41A28-08	98	JF756333.1
11	<i>Lactobacillus casei</i> ATCC 393	99	NR_041893.1
	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> clone WWC_C4MKM113	99	JF444753.1



# Προβιοτικά Προϊόντα Κρέατος

## DGGE-PCR ανάλυση ευκαρύων (Sidira et al., 2014b)

Band <sup>a</sup>	Most closely related species	Identity (%)	Accession Number <sup>b</sup>
1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> strain NL32	97	JX141338.1
2	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	89	KC512907.1
	<i>Kluyveromyces lactis</i>	89	HE799667.1
3	<i>Debaryomyces hansenii</i>	80	JQ916047.1
	<i>Priceomyces carsonii</i>	80	JX456534.1
4	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> strain NL21	96	HM191652.1
5	<i>Alium fistulosum</i>	93	JQ283850.1
6	<i>Alium fistulosum</i>	93	JQ283850.1
7	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> strain NL38	95	HM191669.1
8	<i>Candida ethanolica</i>	95	EF550225.1
	<i>Pichia deserticola</i>	95	GQ222353.1



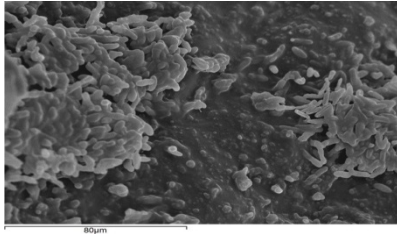


# Προβιοτικά Προϊόντα Παγωτού

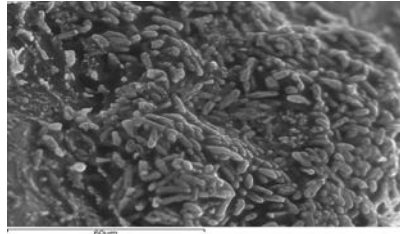
## Στάδια παραγωγής (συνοπτικά):

- Ακινητοποίηση κυττάρων *L. casei* ATCC 393 σε ξηρούς καρπούς και σε προϊόντα ζαχαροπλαστικής.
- Ξήρανση ελεύθερων και ακινητοποιημένων κυττάρων *L. casei* ATCC 393.
- Παραγωγή προβιοτικού παγωτού με ελεύθερα ή ακινητοποιημένα κύτταρα σε ξηρούς καρπούς και σε προϊόντα ζαχαροπλαστικής.

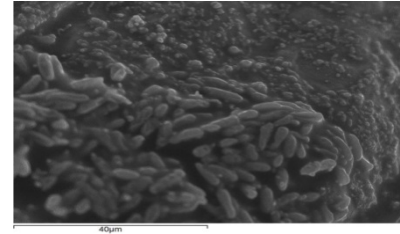
# Προβιοτικά Προϊόντα Παγωτού



(α)



(β)

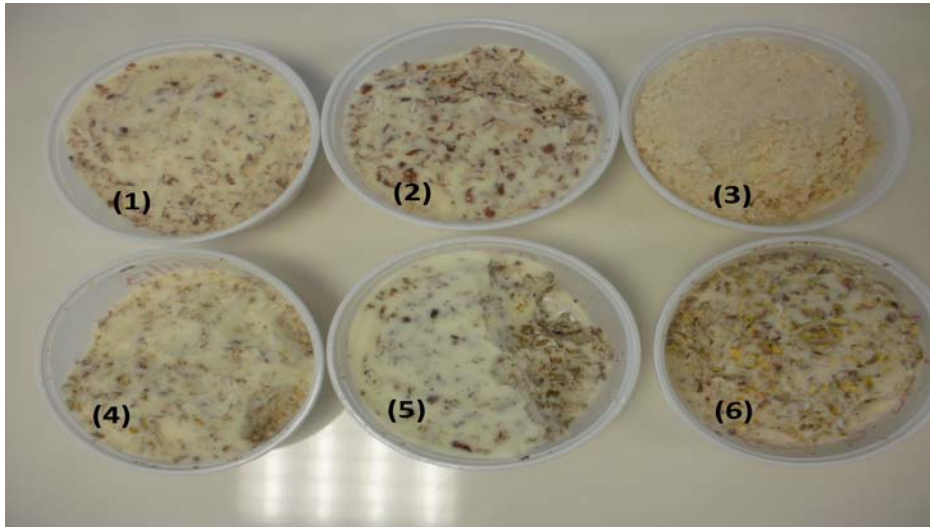


(γ)

Φωτογραφίες ηλεκτρονικού μικροσκοπίου ακινητοποιημένων κυττάρων *L. casei* ATCC 393 σε κομμάτια (α) αμυγδάλου, (β) φιστικιού και (γ) μπισκότου.

# Προβιοτικά Προϊόντα Παγωτού

Παραγωγή προβιοτικού παγωτού με ακινητοποιημένα κύτταρα σε ξηρούς καρπούς



(1) Προβιοτικό παγωτό με υγρά ακινητοποιημένα κύτταρα *L. casei* ATCC 393 σε αμύγδαλο.

(2) Προβιοτικό παγωτό με θερμικά αποξηραμένα ακινητοποιημένα κύτταρα *L. casei* ATCC 393 σε αμύγδαλο.

(3) Προβιοτικό παγωτό με λυοφιλιωμένα ακινητοποιημένα κύτταρα *L. casei* ATCC 393 σε αμύγδαλο.

(4) Προβιοτικό παγωτό με υγρά ακινητοποιημένα κύτταρα *L. casei* ATCC 393 σε φιστίκι.

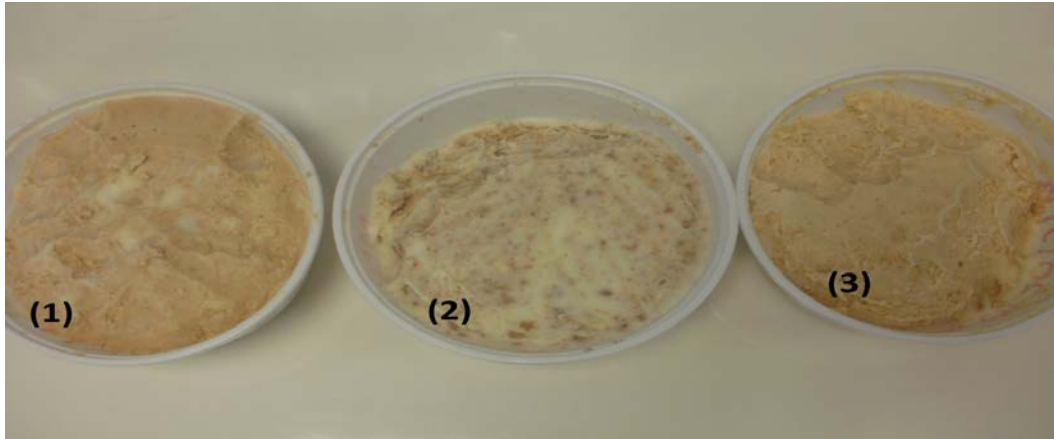
(5) Προβιοτικό παγωτό με θερμικά αποξηραμένα ακινητοποιημένα κύτταρα *L. casei* ATCC 393 σε φιστίκι.

(6) Προβιοτικό παγωτό με λυοφιλιωμένα ακινητοποιημένα κύτταρα *L. casei* ATCC 393 σε φιστίκι.

# Προβιοτικά Προϊόντα Παγωτού



Παραγωγή προβιοτικού παγωτού με ακινητοποιημένα κύτταρα σε προϊόντα ζαχαροπλαστικής



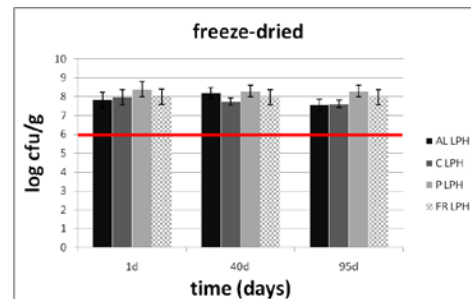
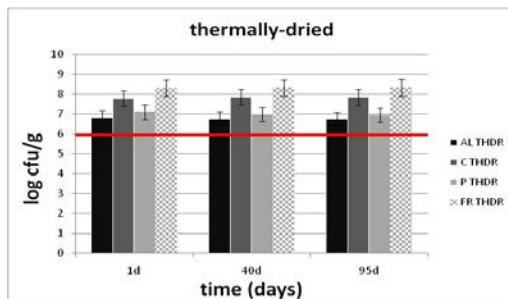
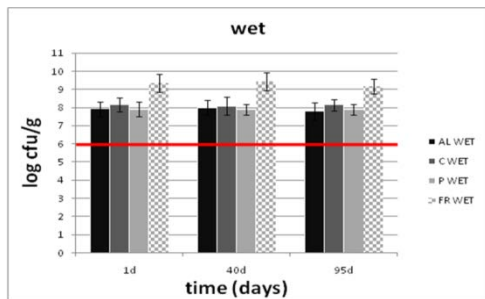
(1) Προβιοτικό παγωτό με υγρά ακινητοποιημένα κύτταρα *L. casei* ATCC 393 σε μπισκότο.

(2) Προβιοτικό παγωτό με θερμικά αποξηραμένα ακινητοποιημένα κύτταρα *L. casei* ATCC 393 σε μπισκότο.

(3) Προβιοτικό παγωτό με λυοφιλωμένα ακινητοποιημένα κύτταρα *L. casei* ATCC 393 σε μπισκότο.

# Προβιοτικά Προϊόντα Παγωτού

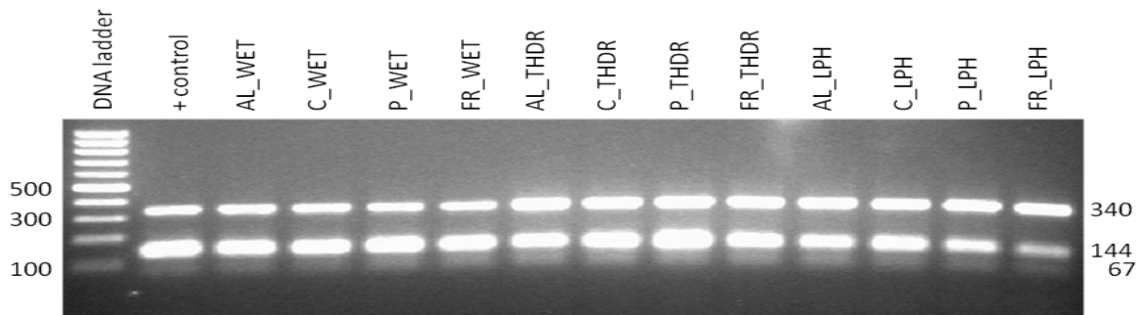
Επίδραση της αποθήκευσης των προβιοτικών παγωτών στους  $-18^{\circ}\text{C}$  στη βιωσιμότητα του *L. casei* ATCC 393



AL: ακινητοποιημένα κύτταρα σε αμύγδαλο, C: ακινητοποιημένα κύτταρα σε μπισκότο, P: ακινητοποιημένα κύτταρα σε φιστίκι, FR: ελεύθερα κύτταρα, WET: υγρά κύτταρα, THDR: θερμικά αποξηραμένα κύτταρα, LPH: λυοφιλιωμένα κύτταρα.

# Προβιοτικά Προϊόντα Παγωτού

Μοριακή ταυτοποίηση *L. casei* ATCC 393 σε επίπεδα  $\geq 6 \log_{cfu}/g$  με strain-specific Multiplex PCR μετά από 95 ημέρες αποθήκευσης στους  $-18^{\circ}C$



AL: ακινητοποιημένα κύτταρα σε αμύγδαλο, C: ακινητοποιημένα κύτταρα σε μπισκότο, P: ακινητοποιημένα κύτταρα σε φιστίκι, FR: ελεύθερα κύτταρα, WET: υγρά κύτταρα, THDR: θερμικά αποξηραμένα κύτταρα, LPH: λυοφιλιωμένα κύτταρα.

# Προβιοτικά Προϊόντα Παγωτού

Παρουσίαση έργου 15NEW2009 στην 79<sup>η</sup> ΔΕΘ (Σεπτέμβριος 2014)



# Μεταφέροντας έρευνα του Εργαστηρίου Εφαρμοσμένης Μικροβιολογίας & Βιοτεχνολογίας του Τμήματος Μοριακής Βιολογίας & Γενετικής στην καρδιά του κόσμου των Nutraceuticals



*VitaFoods Europe, Geneva, 15-17 May 2018*

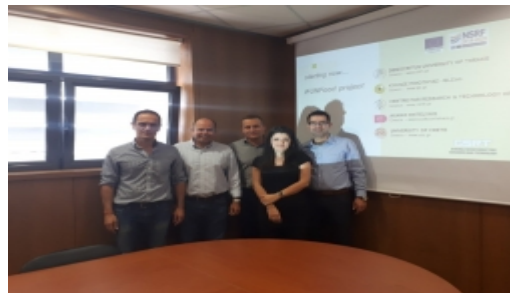
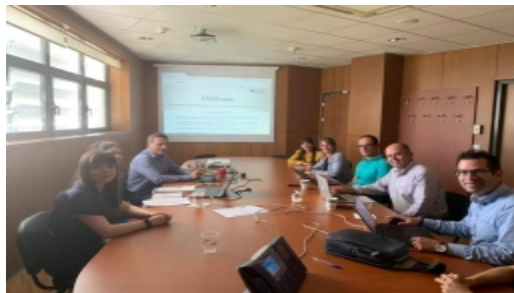


# iFUNFoods - Καινοτόμα Λειτουργικά Τρόφιμα: Ανάπτυξη, Παραγωγή, Χαρακτηρισμός, Ιδιότητες



[www.ifunfoods.gr](http://www.ifunfoods.gr)

Προϋπολογισμός: 952.434,78 €  
Συντονιστής και ΕΥ: Κουρκουτάς Ιωάννης,  
Καθηγητής Δ.Π.Θ.



**CERTH**  
CENTRE FOR  
RESEARCH & TECHNOLOGY  
HELLAS



Co-financed by Greece and the European Union



# Transferring the research of the iFUNFoods project to the heart of the probiotic industry

<https://www.linkedin.com/feed/update/urn:li:activity:6502628116974829568>



**Probiota-2019, Copenhagen 13-15 February 2019**



# 41st International Congress of the Society for Microbial Ecology in Health and Disease (SOMED) Alexandroupolis, 14-16 June 2022



# First poster presentation award and a great oral presentation for the iFINE Foods project in the 15th International Conference on Probiotics, Prebiotics and Synbiotics – IPC2022



based on Immobilised



**1st award**

Probiotic Strain on Obesity-  
Resistant High Fat Diet



Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης

# iFUNcultures - Καινοτόμες ακινητοποιημένες λειτουργικές αρχικές καλλιέργειες: Χαρακτηρισμός και εφαρμογή στην παραγωγή νέων τροφίμων με δυνητικά ευεργετικά οφέλη χρησιμοποιώντας αγροτικά απόβλητα



[www.ifuncultures.gr](http://www.ifuncultures.gr)



Προϋπολογισμός: 170.000,00 €

ΕΥ: Κουρκουτάς Ιωάννης,  
Καθηγητής Δ.Π.Θ.





**FOODBIOMES**  
INNOVATIONS IN MICROBIOME APPLICATIONS



HELLenic REPUBLIC  
MINISTRY OF  
DEVELOPMENT AND INVESTMENTS  
SPECIAL SECRETARIAT FOR  
ERDF & CF PROGRAMMES  
MANAGING AUTHORITY OF ERANEF

EPAnEK 2014-2020  
OPERATIONAL PROGRAMME  
COMPETITIVENESS  
ENTREPRENEURSHIP  
INNOVATION



Co-financed by Greece and the European Union

FOODBIOMES  
INNOVATIONS IN MICROBIOME APPLICATIONS



# MICROBIOME APPLICATIONS IN FOOD SYSTEMS

**FOLLOW**  
US ON LINKEDIN  
@FOODBIOMES



**VISIT OUR WEBSITE**

<https://foodbiomes.eu/>



 **KYKLOS POIOTHTAS-QLCon**



# Ερευνητικό πεδίο της FOODBIOMES

Εφαρμογές μικροβιώματος σε συστήματα τροφίμων



# Υπηρεσίες

## Υπηρεσίες Έρευνας & Ανάπτυξης

Απομόνωση και ταυτοποίηση μικροοργανισμών

Ανίχνευση βιοδραστικών μορίων και μεταβολιτών

*In vitro* έλεγχος λειτουργικών ιδιοτήτων

Αλληλούχηση γονιδιωμάτων

Ανάλυση μικροβιώματος τροφίμων και ανθρώπου

Ανάπτυξη λειτουργικών τροφίμων

Διεξαγωγή προ-κλινικών και κλινικών μελετών διατροφής

## Εκπαίδευση & Κατάρτιση

✓ Σεμινάρια

✓ Workshops

✓ Webinars

## Πρόσβαση σε εγκαταστάσεις

Πρόσβαση σε εξοπλισμό

Πρόσβαση σε εργαστήρια



# Οι Δημοσιεύσεις μας



Functional modulation of gut microbiota in diabetic rats following dietary intervention with pistachio nuts (*Pistacia vera* L.)  
 Amalia K. Vami<sup>1,2</sup>, Georgia Mitsopoulou<sup>3</sup>, Ioanna Praga<sup>4</sup>, Georgios Aggelogiannis<sup>5</sup>, Nikolaos Kostasopoulos<sup>6</sup>, Eugenia Beratzoglou<sup>7</sup>, Yiannis Kourkostas<sup>8</sup>, Vasilis Karamitros<sup>9</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Microbiology, Agricultural Chemistry of Foods, Department of Nutrition and Dietetics, Democritus University of Thrace, Xanthi, Greece  
<sup>2</sup>Laboratory of Food Microbiology and Food Packaging, Department of Food Science and Nutrition, Democritus University of Thrace, Xanthi, Greece  
<sup>3</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece  
<sup>4</sup>Department of Food Technology, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece  
<sup>5</sup>Laboratory of Food Quality and Food Preservation, Institute of Food Science, Democritus University of Thrace, Xanthi, Greece  
<sup>6</sup>Laboratory of Food Quality and Food Preservation, Institute of Food Science, Democritus University of Thrace, Xanthi, Greece  
<sup>7</sup>Laboratory of Food Quality and Food Preservation, Institute of Food Science, Democritus University of Thrace, Xanthi, Greece  
<sup>8</sup>Laboratory of Food Quality and Food Preservation, Institute of Food Science, Democritus University of Thrace, Xanthi, Greece  
<sup>9</sup>Laboratory of Food Quality and Food Preservation, Institute of Food Science, Democritus University of Thrace, Xanthi, Greece



RESEARCH ARTICLE  
**Lactobacillus casei** Exerts Anti-Proliferative Effects Accompanied by Apoptotic Cell Death and Up-Regulation of TRAIL in Colon Carcinoma Cells

Angeliki Eftaxi Karagiani<sup>1\*</sup>, Katerina Egepostidou<sup>2,3</sup>, Vasilios Bontarakis<sup>4</sup>, Georgia Mitsopoulou<sup>5</sup>, Eugenia Beratzoglou<sup>6</sup>, Eleftherios S. Lambertaki<sup>7</sup>, Ioanna Praga<sup>8</sup>, Vasilis Karamitros<sup>9</sup>, Vasilis Kourkostas<sup>10</sup>, Evangelos S. Lampros<sup>11</sup>, Constantinos Simosopoulos<sup>12</sup>, Katerina Chalkiadaki<sup>13</sup>, Alex Galanis<sup>14</sup>, Yvonne Kourkoulaki<sup>15</sup>, Dimitris Dimitrellou<sup>16</sup>, Maranthi Sidira<sup>17</sup>

<sup>1</sup>Department of Molecular Biology and Genetics, School of Health Sciences, Democritus University of Thrace, Xanthi, Greece  
<sup>2</sup>Department of Microbiology and Immunology, School of Health Sciences, Democritus University of Thrace, Xanthi, Greece  
<sup>3</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece  
<sup>4</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece  
<sup>5</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece  
<sup>6</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece  
<sup>7</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece  
<sup>8</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece  
<sup>9</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece  
<sup>10</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece  
<sup>11</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece  
<sup>12</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece  
<sup>13</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece  
<sup>14</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece  
<sup>15</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece  
<sup>16</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece  
<sup>17</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece



Effective survival of immobilized *Lactobacillus casei* during ripening and heat treatment of probiotic dry-fermented sausages and investigation of the microbial dynamics

Maranthi Sidira<sup>1,2</sup>, Athanasios Karapantazis<sup>3</sup>, Alex Galanis<sup>4</sup>, Maria Kanellaki<sup>5</sup>, Yiannis Kourkostas<sup>6,7</sup>

<sup>1</sup>Food Biotechnology Group, Section of Analytical, Environmental and Applied Chemistry, Department of Chemistry, University of Patras, 26500 Patras, Greece  
<sup>2</sup>Applied Microbiology and Food Packaging Research Group, Department of Food Science and Nutrition, Democritus University of Thrace, Xanthi, Greece  
<sup>3</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece  
<sup>4</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece  
<sup>5</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece  
<sup>6</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece  
<sup>7</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece



Evaluation of *Lactobacillus casei* ATCC 393 protective effect against spoilage of probiotic dry-fermented sausages

Maranthi Sidira<sup>1,2</sup>, Alex Galanis<sup>3</sup>, Anastasios Nikolau<sup>4</sup>, Maria Kanellaki<sup>5</sup>, Yiannis Kourkostas<sup>6,7</sup>

<sup>1</sup>Food Biotechnology Group, Section of Analytical, Environmental and Applied Chemistry, Department of Chemistry, University of Patras, 26500 Patras, Greece  
<sup>2</sup>Applied Microbiology and Food Packaging Research Group, Department of Food Science and Nutrition, Democritus University of Thrace, Xanthi, Greece  
<sup>3</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece  
<sup>4</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece  
<sup>5</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece  
<sup>6</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece  
<sup>7</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece

J. Dairy Sci. 97:4875–4885  
 http://dx.doi.org/10.3168/jds.2018-15587  
 © American Dairy Science Association, 2018

Free and immobilized *Lactobacillus casei*/ATCC 393 on whey protein as starter cultures for probiotic *Pasta-type* cheese production

Eleftherios S. Lambertaki<sup>1</sup>, Maranthi Sidira<sup>2</sup>, Athanasios A. Koutinas<sup>3</sup> and Yiannis Kourkostas<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece  
<sup>2</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece  
<sup>3</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece  
<sup>4</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece



Survival, Intestinal Mucosa Adhesion, and Immunomodulatory Potential of *Lactobacillus plantarum* Strains

Valentini Santarmaki<sup>1</sup>, Yiannis Kourkostas<sup>2</sup>, Georgia Zompepoulou<sup>3</sup>, Eleni Metyropoulou<sup>4</sup>, Mihalis Kourtellos<sup>5</sup>, Vihos Christomopoulos<sup>6</sup>, Chrysothia Tassou<sup>7</sup>, Effie Tsakalidou<sup>8</sup>, Constantinos Simosopoulos<sup>9</sup>, Petros Vysantidis<sup>10</sup>

<sup>1</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece  
<sup>2</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece  
<sup>3</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece  
<sup>4</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece  
<sup>5</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece  
<sup>6</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece  
<sup>7</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece  
<sup>8</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece  
<sup>9</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece  
<sup>10</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece

J. Dairy Sci. 96:3369–3377  
 http://dx.doi.org/10.3168/jds.2013-6343  
 © American Dairy Science Association, 2013

Monitoring survival of *Lactobacillus casei* ATCC 393 in probiotic yogurts using an efficient molecular tool

Maranthi Sidira,<sup>1\*</sup> Georgia Saxami,<sup>2</sup> Dimitra Dimitrellou,<sup>3</sup> Valentini Santarmaki,<sup>4</sup> Alex Galanis,<sup>5</sup> and Yiannis Kourkostas<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Applied Microbiology and Food Packaging Research Group, Department of Food Science and Nutrition, Democritus University of Thrace, Xanthi, Greece  
<sup>2</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece  
<sup>3</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece  
<sup>4</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece  
<sup>5</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece  
<sup>6</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece



Functionality of freeze-dried *L. casei* cells immobilized on wheat grains

Loulouada A. Bosnea<sup>1</sup>, Yiannis Kourkostas<sup>2</sup>, Natalia Athanasiou<sup>3</sup>, Constantina Tsa<sup>4</sup>, Athanasios A. Koutinas<sup>5</sup>, Maria Kanellaki<sup>6,7</sup>

<sup>1</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece  
<sup>2</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece  
<sup>3</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece  
<sup>4</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece  
<sup>5</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece  
<sup>6</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece  
<sup>7</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece

J. Dairy Sci. 89:1439–1451  
 © American Dairy Science Association, 2006.

Probiotic Cheese Production Using *Lactobacillus casei* Cells Immobilized on Fruit Pieces

Y. Kourkostas, L. Bosnea, S. Taboukos, C. Baras, D. Lambrou, and M. Kanellaki<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Food Biotechnology Group, Section of Analytical, Environmental and Applied Chemistry, Department of Chemistry, University of Patras, 26500 Patras, Greece



*Lactobacillus casei* cell immobilization on fruit pieces for probiotic additive, fermented milk and lactic acid production

Y. Kourkostas<sup>1</sup>, V. Xolias<sup>2</sup>, M. Kallits<sup>3</sup>, E. Beratzoglou<sup>4</sup>, M. Kamellaki<sup>5,6</sup>

<sup>1</sup>Food Biotechnology Group, Section of Analytical, Environmental and Applied Chemistry, Department of Chemistry, University of Patras, 26500 Patras, Greece  
<sup>2</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece  
<sup>3</sup>Laboratory of Microbiology, School of Medicine, University of Ioannina, Ioannina GR-45110, Greece  
<sup>4</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece  
<sup>5</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece  
<sup>6</sup>Department of Nutrition, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece

# Παρουσίαση ProbiYogi στην 87η ΔΕΘ (Σεπτέμβριος 2023)



# Ερευνητική ομάδα



Laboratory of Applied  
Microbiology & Biotechnology



# Βιβλιογραφία

- ΑΧΑΪΚΟ ΕΝΤΕΛΒΑΪΣ ΑΒΕΕ, Πανάς Π, Κουρκουτάς Ι (2013) Δίπλωμα Ευρεσιτεχνίας, OBI, Αριθμ. 1008050.
- Bosnea L, Kourkoutas Y, Albantaki N, Tzia C, Koutinas AA, Kanellaki M (2009) LWT- Food Sci Technol 42:1696.
- Chaibi A, Ababouch LH, Belasri K, Boucetta S, Busta FF (1997) Food Microbiol 14:161.
- Chouliara E, Karatapanis A, Savvaidis IN, Kontominas MG (2007) Food Microbiol 24:607.
- Cosentino S, Tuberoso CIG, Pisano B, Satta M, Mascia V, Arzedi E, Palmas F (1999) Lett Appl Microbiol 29:130.
- de Waard R, Garssen J, Bokken, GCAM, Vos JG (2002) Int J Food Microbiol 73:93.
- D' Souza AL, Rajkumar C, Cooke J, Bulpitt CJ (2002) BMJ 324:1.
- Δημητρέλλου Δ, Κανδύλης Π, Κουρκουτάς Ι (2016) Δίπλωμα Ευρεσιτεχνίας, OBI, Αριθμ. 1008754.
- Embleton ND, Yates R (2008) Semin Fetal Neonatal Med 13:35.
- FAO/WHO:Food and Agriculture Organization of United Nation and World Health Organization Working Group Report on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food (2002) London, FAO.
- Κανελλάκη Μ, Κουρκουτάς Ι, Μπουνέα Λ, Σιδηρά Μ (2012) Δίπλωμα Ευρεσιτεχνίας, OBI, Αριθμ. 1007555.
- Κανελλάκη Μ, Κουτίνης ΑΑ, Κουρκουτάς Ι, Μπουνέα Λ (2006) Δίπλωμα Ευρεσιτεχνίας, OBI, Αριθμ. 1005393.
- Kopp-Hoolihan L (2001) J Am Diet Assoc 101:229.
- Kourkoutas Y, Ksolis V, Kallis M, Bezirtzoglou E, Kanellaki M (2005) Process Biochem 40:411.
- Kourkoutas Y, Bosnea L, Taboukos S, Baras C, Lambrou D, Kanellaki M (2006) J Dairy 89:1431.
- Liong MT, Shah NP (2006) J Dairy Sci 89:1390.
- Mattila-Sandholm T, Myllarinen P, Crittenden R, Mogensen G, Fonden R, Saarela M (2002) Int Dairy J 12:173.
- Mitropoulou G, Fitsiou E, Stavropoulou E, Papavasiliopoulou E, Vamvakias M, Pappa A, Oreopoulou A, Kourkoutas Y. (2015) Microb Ecol Health Dis 26 26543-  
<http://dx.doi.org/10.3402/mehd.v26.26543>.
- Montesi A, García-Albiach R, Pozuelo MJ, Pintado C, Goñi I, Rotger R (2005) Int J Food Microbiol 98: 281.
- Penner R, Fedorak RN, Madsen KL (2005) Curr Opin Pharm 5:596.
- Santarmaki V, Kourkoutas Y, Zoumpopoulos G, Mavrogonatou E, Kiourtzidis M, Chorianopoulos N, Tassou C, Tsakalidou E, Simopoulos C, Ypsilantis P. (2017) Curr Microbiol doi: 10.1007/s00284-017-1285-z.
- Sidira M, Karapetsas A, Galanis A, Kanellaki M, Kourkoutas Y (2014a) Meat Sci 96:948.
- Sidira M, Galanis A, Nikolaou A, Kanellaki M, Kourkoutas Y (2014b) Food Control 42:315.
- Sidira M, Saxami G, Dimitrellou D, Santarmaki V, Galanis A, Kourkoutas Y (2013) J Dairy Sci 96:3369.
- Singh N, Singh RK, Bhunia AK, Stroshine RL (2002) Lebensm Wiss u Technol 35:720.
- Tiptiri-Kourpeti A, Spyridopoulou K, Santarmaki V, Aindelis G, Tompoulidou E, Lamprianidou EE, Saxami G, Ypsilantis P, Lampri ES, Simopoulos C, Kotsianidis I, Galanis A, Kourkoutas Y, Dimitrellou D, Chlichlia K. (2016) PLoS ONE 11(2) e0147960, doi:10.1371/journal.pone.0147960.
- Zarate G, Chaia AP, Gonzalez S, Oliver G (2000) J Food Prot 63:1214.