



ΑΛΕΞΑΝΔΡΕΙΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ & ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ &
ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΧΡΟΝΟΥ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗΣ ΣΤΙΣ
ΡΕΟΛΟΓΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΚΕΦΙΡ ΑΠΟ
ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΠΟΙΗΜΕΝΗ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΕΚΚΙΝΗΣΗΣ ΜΕ
ΤΗΝ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΥΠΕΡΗΧΩΝ**



ΚΑΡΑΤΖΕΤΖΟΥ ΑΙΚΑΤΕΡΙΝΗ

ΧΑΛΚΙΔΟΥ ANNA ΜΑΡΙΑ

ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ 2017

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΧΡΟΝΟΥ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗΣ ΣΤΙΣ ΡΕΟΛΟΓΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ
ΚΕΦΙΡ ΑΠΟ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΠΟΙΗΜΕΝΗ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΕΚΚΙΝΗΣΗΣ ΜΕ ΤΗΝ
ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΥΠΕΡΗΧΩΝ

ΚΑΡΑΤΖΕΤΖΟΥ ΑΙΚΑΤΕΡΙΝΗ

ΧΑΛΚΙΔΟΥ ANNA ΜΑΡΙΑ

Υποβολή Πτυχιακής διατριβής που αποτελεί μέρος των απαιτήσεων για την απονομή του Πτυχίου του Τμήματος Τεχνολογίας Τροφίμων του ΤΕΙ Θεσσαλονίκης.

Σεπτέμβριος 2017

Εισηγητής
Δημητρέλη Γεωργία

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΧΡΟΝΟΥ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗΣ ΣΤΙΣ ΡΕΟΛΟΓΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΚΕΦΙΡ ΑΠΟ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΠΟΙΗΜΕΝΗ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΕΚΚΙΝΗΣΗΣ ΜΕ ΤΗΝ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΥΠΕΡΗΧΩΝ

ΚΑΡΑΤΖΕΤΖΟΥ ΑΙΚΑΤΕΡΙΝΗ
ΧΑΛΚΙΔΟΥ ANNA MARIA

Περίληψη

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η επίδραση του χρόνου συντήρησης στις ρεολογικές ιδιότητες δειγμάτων κεφίρ, τα οποία παρασκευάστηκαν από δραστηριοποιημένη καλλιέργεια εκκίνησης (κόκκοι κεφίρ) με τη χρήση υπερήχων. Οι υπέρηχοι εφαρμόστηκαν σε δύο διαφορετικές τιμές ισχύος (50W και 100W), ενώ ο χρόνος εφαρμογής τους ήταν 2,5 min, 5 min, 7,5 min και 10 min. Επίσης, παρασκευάστηκε και δείγμα κεφίρ χωρίς δραστηριοποιημένη καλλιέργεια εκκίνησης (μάρτυρας). Η μελέτη της ρεολογικής συμπεριφοράς των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του δυναμικού ρεομέτρου Bohlin εφαρμόζοντας τη δυναμική δοκιμή και προσδιορίζοντας το ιξώδες τους.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, τα δείγματα κεφίρ εμφάνισαν μειωμένους χρόνους επώασης σε σχέση με το μάρτυρα. Τα δείγματα κεφίρ που παρασκευάστηκαν από δραστηριοποιημένη καλλιέργεια εκκίνησης με την εφαρμογή ισχύος 100 W εμφάνισαν μειωμένους χρόνους επώασης σε σχέση με τα αντίστοιχα δείγματα, στα οποία εφαρμόστηκε ισχύς 50 W. Το μικρότερο χρόνο επώασης εμφάνισε το δείγμα που παρασκευάστηκε από κόκκους κεφίρ με εφαρμογή ισχύος 100W για χρόνο 7,5 min. Η αύξηση του χρόνου συντήρησης προκάλεσε τη μείωση της τιμής pH των δειγμάτων. Τα δείγματα κεφίρ αμέσως μετά την παρασκευή τους (0 ημέρες συντήρησης) εμφάνισαν μεγαλύτερες τιμές του συντελεστή ελαστικότητας σε σχέση με το μάρτυρα. Τη μεγαλύτερη τιμή του συντελεστή ελαστικότητας εμφάνισε το δείγμα που παρασκευάστηκε από κόκκους κεφίρ με εφαρμογή υπερήχων ισχύος 50 W για χρόνο 7,5 min. Η εφαρμογή ισχύος 50 W είχε ως αποτέλεσμα την παραγωγή δειγμάτων, στα οποία παρατηρήθηκε αύξηση της συνεκτικότητας τους κατά τη διάρκεια διατήρησής τους. Αντίθετα, τα δείγματα όπου εφαρμόστηκε ισχύς 100 W εμφάνισαν σημαντική μείωση της συνεκτικότητάς τους κατά τη διάρκεια αποθήκευσής τους. Η χρησιμοποίηση μεγάλων χρόνων εφαρμογής υπερήχων σε μικρές τιμές ισχύος (50 W) οδήγησε σε μείωση του ιξώδους χαρακτήρα των δειγμάτων. Αντίθετα, ο ιξώδης χαρακτήρας των δειγμάτων αυξήθηκε με τη χρησιμοποίηση μεγάλων τιμών ισχύος (100 W), όταν ο χρόνος έκθεσης στον υπέρηχο ήταν επίσης μεγάλος. Η εφαρμογή ισχύος 100 W είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση των τιμών της $\tan \delta$ στο τέλος του χρόνου συντήρησης των δειγμάτων. Αντίθετα, η εφαρμογή ισχύος 50 W οδήγησε σε μείωση των τιμών της $\tan \delta$ κατά τη διατήρηση των δειγμάτων. Ο συντελεστής συνεκτικότητας μειώθηκε με την αύξηση του χρόνου εφαρμογής υπερήχων και αυξήθηκε κατά τη διάρκεια διατήρησης των δειγμάτων στην ψύξη. Ο δείκτης ρεολογικής συμπεριφοράς δεν επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τους μελετούμενους παράγοντες.

1. Εισαγωγή	[1]
2. Βιβλιογραφική ανασκόπηση	[2]
2.1. Κεφίρ	[2]
2.1.1. Κόκκοι κεφίρ	[2]
2.1.2. Μικροχλωρίδα κόκκων κεφίρ	[3]
2.1.3. Προετοιμασία κόκκων κεφίρ	[4]
2.1.4. Τεχνολογία παρασκευής κεφίρ	[5]
2.1.4.1. Παραδοσιακή τεχνική	[5]
2.1.4.2. Βιομηχανική τεχνική	[6]
2.1.5. Διατητική και θρεπτική αξία του κεφίρ	[6]
2.1.6. Κεφιράνη	[7]
2.2. Υπέρηχοι	[7]
2.2.1. Υπέρηχοι στη τεχνολογία τροφίμων	[7]
2.2.2. Μηχανισμοί δράσης των υπερήχων	[8]
2.2.3. Η χρήση των υπερήχων στην επεξεργασία των τροφίμων	[9]
2.3. Μελέτη της ρεολογικής συμπεριφοράς του κεφίρ	[9]
2.3.1. Δυναμική δοκιμή	[10]
2.3.2 Προσδιορισμός ιξώδους	[13]
3. Σκοπός της Εργασίας	[16]
4.Υλικά και μέθοδοι	[17]
4.1. Παρασκευή δειγμάτων κεφίρ	[17]
4.2. Μελέτη της ρεολογικής συμπεριφοράς των δειγμάτων	[18]

4.2.1. Δυναμική δοκιμή ή δοκιμή ταλάντωσης.....	[18]
4.2.2. Προσδιορισμός ιξώδους.....	[19]
4.3. Μέτρηση pH.....	[19]
4.4. Στατιστική ανάλυση.....	[19]
5. Αποτελέσματα και συζήτηση	[21]
5.1 Χρόνος επώασης.....	[21]
5.2. Τιμή pH.....	[23]
5.3. Μελέτη ρεολογικών ιδιοτήτων.....	[25]
5.3.1. Δυναμική δοκιμή.....	[25]
5.3.2. Προσδιορισμός ιξώδους	[30]
6. Συμπεράσματα.....	[34]
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	[36]

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το κεφίρ είναι ένα ζυμωμένο γαλακτοκομικό προϊόν που παράγεται από τη μεταβολική δραστηριότητα μικροοργανισμών που υπάρχουν σε μία συμβιωτική σχέση στους κόκκους κεφίρ, οι οποίοι αποτελούν την αρχική καλλιέργεια του κεφίρ. Οι κόκκοι κεφίρ είναι ζελατινώδεις και το σχήμα τους είναι ακανόνιστο, ενώ έχουν ένα ελαφρύ κίτρινο ή λευκό χρώμα. Αποτελούνται από βακτήρια γαλακτικού οξέος, οξικού οξέος και ζύμες που περιέχονται εντός ενός πλέγματος από πρωτεΐνες και πολυσακχαρίτες, κυρίως της κεφιράνης. Αρκετές μελέτες αποδεικνύουν πως το κεφίρ και τα συστατικά του έχουν ευεργετικές ιδιότητες που επηρεάζουν θετικά το ανοσοποιητικό και το γαστρεντερικό σύστημα (Farnworth, 2005). Οι αναφορές σχετικά με τις ευεργετικές ιδιότητες του κεφίρ και τη θρεπτική του αξία οδήγησαν σε αύξηση της κατανάλωσης και παραγωγής του (Ottles & Cagindi, 2003).

Ο υπέρηχοι, οι οποίοι τα τελευταία χρόνια βρίσκουν πολλές εφαρμογές στην επιστήμη των τροφίμων, είναι φιλικό προς το περιβάλλον, μειώνουν τους φυσικούς και τους χημικούς κινδύνους και πλεονεκτούν στην απόδοση, την επεξεργασία και στη βελτίωση της ποιότητας (Chemat et al., 2011). Η χρησιμοποίησή τους στην τεχνολογία γάλακτος είναι μία πολλά υποσχόμενη τεχνική (Nguyen et al., 2009). Συγκεκριμένα, οι υπέρηχοι χαμηλής συχνότητας αυξάνουν το ρυθμό ανάπτυξης των οξυγαλακτικών βακτηρίων (Tamime & Robinson, 2007; Nguyen et al., 2009), καθώς επίσης και τη δραστηριότητα διαφόρων ενζύμων (Barton et al., 1996).

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η επίδραση του χρόνου συντήρησης στις ρεολογικές ιδιότητες δειγμάτων κεφίρ, τα οποία παρασκευάστηκαν από δραστηριοποιημένη καλλιέργεια εκκίνησης (κόκκοι κεφίρ) με την εφαρμογή υπερήχων. Η μελέτη της ρεολογικής συμπεριφοράς των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του δυναμικού ρεομέτρου Bohlin εφαρμόζοντας τη δυναμική δοκιμή και προσδιορίζοντας το ιξώδες τους.

2. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

2.1. Κεφίρ

Το κεφίρ είναι ένα ζυμούμενο γαλακτοκομικό προϊόν, το οποίο παράγεται από την δράση βακτηρίων και ζυμών, που περιέχονται στους κόκκους κεφίρ (Farnworth, 2005). Είναι παχύρρευστο ποτό, αφρίζον, ξινό με δριμεία γεύση. Από την περιγραφή αυτή μπορεί να συμπεράνει κανείς ότι έχει πολυσακχαρίτες, οι οποίοι προσδίδουν σε αυτό ιξώδες και ότι υπάρχουν μικροοργανισμοί που παράγουν αέρια, συγκεκριμένα διοξείδιο του άνθρακα οπότε και δίνει την αίσθηση του αφρώδους. Η οξύτητα του οφείλεται τόσο σε γαλακτικό οξύ όσο και σε οξικό οξύ και άλλα οξέα. Χαρακτηριστικό προϊόν μεταβολισμού της καλλιέργειας είναι επίσης και η παραγωγή αλκοόλης. Η χαρακτηριστική γεύση του προϊόντος οφείλεται βέβαια στο σύνολο των προϊόντων μεταβολισμού και στην ισόρροπη σχέση μεταξύ τους (Ζερφυρίδης, 2001).

2.1.1. Κόκκοι κεφίρ

Οι κόκκοι κεφίρ εμφανίζονται σαν κομμάτια κοραλλιού ή μικρές συμπαγείς μάζες κουνουπιδιού και έχουν μέγεθος από 3 έως 20mm σε διάμετρο και μοιάζουν με ζελατινώδη άσπρα ή κίτρινα σωματίδια (Otlés & Cagindi, 2003). Χαρακτηρίζονται από την ακανόνιστη μορφή, την διπλωμένη ή ανομοιόμορφη επιφάνεια και την ελαστική τους συνοχή. Οι κόκκοι περιέχουν οξυγαλακτικά βακτήρια (λακτοβάκιλους, λακτόκοκκους, λευκονοστόκια), οξικά βακτήρια και ζύμες σχηματίζοντας συμπαγή μάζα μαζί με την καζεΐνη και ένα πλέγμα πολυσακχαριτών. Ο κύριος πολυσακχαρίτης που υπάρχει στους κόκκους κεφίρ είναι μια υδατοδιαλυτή ουσία γνωστή ως κεφιράνη. Οι κόκκοι του κεφίρ είναι αποτέλεσμα ενός δυνατού και ειδικού συμβιωτικού σχηματισμού, έχουν μια ξεκάθαρη δομή και συμπεριφέρονται σαν βιολογικά ζωντανοί οργανισμοί, αναπτύσσουν διαδίδουν και μεταδίδουν τις ιδιότητες τους στους νέους κόκκους (Koroleva, 1988).

Οι κόκκοι παραμένουν βιώσιμοι μεταφέροντας τους καθημερινά μέσα σε φρέσκο γάλα και επιτρέποντας τους να αναπτυχθούν για περίπου 20 ώρες, σε θερμοκρασία 20-25°C, όπου σε αυτόν τον χρόνο αυξάνουν την μάζα τους κατά περίπου 25%. Οι παλιοί και οι ξεροί κόκκοι έχουν μικρή ή καμία ικανότητα να αναπαραχθούν (Farnworth, 2005). Οι κόκκοι

περιλαμβάνουν 85-90% νερό και η ξηρή τους ουσία αποτελείται από ~57% υδατάνθρακες, ~33% πρωτεΐνες, ~4% λίπος και ~6% τέφρα (Stephaniak & Fetlinski, 2002).

Ο τρόπος της πρώτης δημιουργίας των κόκκων είναι ακόμη άγνωστος γι' αυτό υπάρχουν διάφορες θεωρίες για την προέλευση τους. Η πιο πιθανή φαίνεται να είναι εκείνη σύμφωνα με την οποία το γάλα στην περιοχή του Καυκάσου φυλαγόταν σε ασκούς από κατσικίσιο δέρμα, όπου γινόταν η ζύμωση. Καθώς το ζυμούμενο γάλα καταναλωνόταν, φρέσκο γάλα το αντικαθιστούσε και η ζύμωση συνεχιζόταν για πολλές εβδομάδες. Έτσι στα τοιχώματα του ασκού δημιουργούνταν μικρά σωματίδια πρωτεϊνικής φύσεως, τα οποία με τον καιρό μεγάλωναν, με την προσθήκη νέων στρωμάτων πρωτεΐνης και με σύγχρονη ενσωμάτωση από την μικροχλωρίδα ζύμωσης. Έτσι, η μικροχλωρίδα βρίσκεται μέσα στον κόκκο εγκλωβισμένη μέσα σε ένα πλέγμα, το οποίο δένεται από τους πολυσακχαρίτες (Libudzisz & Piatkiewicz, 1990). Παρά τις προσπάθειες κανένας δεν κατάφερε την απόκτηση των κόκκων κεφίρ από την ανάμεικτη καλλιέργεια των μικροοργανισμών που υπάρχουν στην μικροχλωρίδα των αρχικών κόκκων. Στην πράξη νέα τμήματα κόκκων κεφίρ σχηματίζονται μέσω της διάσπασης των αρχικών κόκκων (Koroleva, 1988).

2.1.2. Μικροχλωρίδα κόκκων κεφίρ

Η μικροχλωρίδα των κόκκων βρίσκεται σε μια δυναμική κατάσταση συμβίωσης και αποτελείται από βακτήρια και ζύμες. Αυτή η συμβιωτική κατάσταση κάνει την ταυτοποίηση και την μελέτη των υπαρχόντων μικροοργανισμών μέσα στους κόκκους κεφίρ δύσκολη (Koroleva, 1988).

Τα είδη των μικροβίων και η σχέση μεταξύ τους διαφέρει από την επιφάνεια προς το κέντρο των κόκκων. Τα βαθύτερα στρώματα των κόκκων έχουν ζύμες που δε ζυμώνουν τη λακτόζη, ενώ οι ζύμες της επιφάνειας ζυμώνουν τη λακτόζη. Τόσο τα βαθύτερα όσο και τα επιφανειακά στρώματα είναι πλούσια σε μεσόφιλους λακτόκοκκους και σε μεσόφιλους και θερμοφίλους ομοζυμωτικούς και ετεροζυμωτικούς λακτοβάκιλλους γαλακτικού και οξικού οξέος. Τα γαλακτικά βακτήρια είναι περισσότερα (10^8 - 10^9) από τις ζύμες (10^5 - 10^6) και τα οξικά βακτήρια (10^5 - 10^6) (Koroleva, 1988). Τα κολοβακτηρίδια κι άλλοι παθογόνοι μικροοργανισμοί δεν υπάρχουν στα ενδιάμεσα στρώματα των κόκκων, μπορούν όμως να προσκολληθούν στην επιφάνεια αλλά μπορούν να

απομακρυνθούν με επανειλημμένες εκπλύσεις με αποστειρωμένο νερό (Ζερφυρίδης, 2001).

Συγκεκριμένα, η μικροχλωρίδα των κόκκων αποτελείται από λακτοβάκιλλους, λακτόκοκκους, οξικά βακτήρια και ζύμες. Οι λακτοβάκιλλοι αυξάνουν το ιξώδες και τη σταθερότητα του κεφίρ. Κυρίαρχα είδη είναι οι *L.brevis*, *L.casei*, *L.bulgaricus* και *L.helveticus*. Από τους λακτόκοκκους υπάρχουν κυρίως οι *L.lactis*, *L.cremoris* και *L.durans*, οι οποίοι παράγουν γαλακτικό οξύ με γρήγορο ρυθμό στα αρχικά στάδια. Επίσης βρίσκονται οι *L.dextranicum*, και *Leuconostoc mesenteroides*, οι οποίοι συμβάλλουν στη γεύση και στο άρωμα του κεφίρ. Από τα οξικά βακτήρια συναντώνται κυρίως τα *Acetobacter acetii* και *A.rascens*, τα οποία παράγουν οξικό οξύ κατά τη ζύμωση του γάλακτος, αυξάνουν το ιξώδες και τη σταθερότητα. Όσον αφορά τις ζύμες, παρέχουν θρεπτικά συστατικά όπως αμινοξέα, βιταμίνες που μεταβάλλουν το pH και παράγουν αιθανόλη και CO₂, συνεισφέρουν στο άρωμα και στη γεύση. Ζύμες που έχουν ταυτοποιηθεί στους κόκκους κεφίρ είναι οι *Sacchamyses cerevisiae*, *Kluynemyces marxianus* και *Candida kefir*. (Ζερφυρίδης, 2001)

2.1.3. Προετοιμασία κόκκων κεφίρ

Η καλλιέργεια του κεφίρ είναι οι κόκκοι κεφίρ, οι οποίοι αρχικά μπορεί να είναι αποξηραμένοι ή από κατάψυξη. Οι κόκκοι πρέπει να δραστηριοποιηθούν με επανειλημμένες επώσεις σε γάλα στους 18-25°C. Αν και οι κόκκοι είναι η άμεση καλλιέργεια, εντούτοις λόγω ελλείψεως επαρκούς ποσότητας κόκκων ή μέσω διαχωρισμού τους από το ζυμωθέν προϊόν, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως καλλιέργεια και το πρώτο κεφίρ που προέρχεται κατευθείαν από τους κόκκους (Ζερφυρίδης, 2001).

Το υγρό κεφίρ δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί περαιτέρω σαν καλλιέργεια διότι αλλάζουν οι συσχετίσεις στη μικροχλωρίδα και το προϊόν που προκύπτει χάνει βαθμιαία τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του (Ζερφυρίδης, 2001). Είναι προφανές ότι η καλλιέργεια του κεφίρ υπό μορφή κόκκων πρέπει να διαχωρίζεται από το υγρό κεφίρ, οι μεν κόκκοι να επαναχρησιμοποιηθούν ως καλλιέργεια και το δε υγρό κεφίρ να καταναλωθεί. Οι κόκκοι διαχωρίζονται με ηθμούς (στραγγιστήρια) από ανοξειδωτο χάλυβα. Οι ηθμοί από ύφασμα δεν ενδείκνυται ούτε και σε οικιακή παραγωγή, διότι το υγρό κεφίρ είναι παχύρευστο και δεν διέρχεται από αυτούς, καθώς επίσης και επειδή υπάρχει κίνδυνος επιμόλυνσης (Ζερφυρίδης, 2001).

Μετά τον διαχωρισμό τους οι κόκκοι είναι έτοιμοι να επαναχρησιμοποιηθούν είτε αφού εκλυθούν με νερό είτε χωρίς έκλυση. Στη δεύτερη περίπτωση η επαναχρησιμοποίηση τους σε φρέσκο γάλα δίνει πιο γρήγορη ανάπτυξη οξύτητας από ότι στην πρώτη περίπτωση. Η έκλυση γίνεται μόνο εφόσον οι κόκκοι μολύνθηκαν από κολοβακτηριοειδή και στην περίπτωση αυτή το νερό πρέπει να είναι αποστειρωμένο (Ζερφυρίδης, 2001). Η χρησιμοποίηση των κόκκων θεωρητικά είναι απεριόριστη και εφόσον δεν χρησιμοποιούνται συνεχώς θα πρέπει να φυλάγονται στο ψυγείο μέσα σε νερό ή γάλα, αλλά θα πρέπει να δραστηριοποιούνται ανά 8ημερο, ώστε να είναι έτοιμοι πάντα για χρησιμοποίηση (Ζερφυρίδης, 2001).

2.1.4. Τεχνολογία παρασκευής κεφίρ

Για την παρασκευή του κεφίρ χρησιμοποιούνται τόσο παραδοσιακές όσο και βιομηχανικές μέθοδοι, καθώς επίσης μελετώνται νέες τεχνικές για την παραγωγή του, διατηρώντας τα ίδια χαρακτηριστικά με το παραδοσιακό κεφίρ. Ο τύπος γάλακτος που θα χρησιμοποιηθεί ποικίλει και μπορεί να είναι αγελαδινό, κατσικίσιο, πρόβειο, καρύδας, ρυζιού ή σόγιας (Garrote et al., 1997).

2.1.4.1. Παραδοσιακή τεχνική

Συνήθως, με τη παραδοσιακή μέθοδος για την παραγωγή κεφίρ χρησιμοποιείται αγελαδινό γάλα, είτε πλήρες είτε ημιαποβουτυρωμένο. Το γάλα θερμαίνεται μέχρι βρασμού ή εναλλακτικά ηπιότερη θέρμανση στους 85°C για 15min. Ακολουθεί ψύξη στους 25°C και γίνεται ο εμβολιασμός με κόκκους κεφίρ σε ποσοστό 3%-5%. Η επώαση γίνεται στους 22-24°C μέχρι η οξύτητα να γίνει 90°D (0,9% γαλακτικό οξύ) σε 18-20 ώρες περίπου. Κατά την επώαση γίνεται ανακίνηση του περιέκτη 2-3 φορές, γιατί οι κόκκοι του κεφίρ δεν κατανέμονται ομοιόμορφα στο γάλα και η ανακίνηση βοηθάει στην ομοιόμορφη ανάπτυξη της οξύτητας και στην επιτάχυνση της ανάπτυξης της καλλιέργειας. Ακολουθεί μια δεύτερη επώαση στους 10-12°C για 24 ώρες και στη συνέχεια απομακρύνονται οι κόκκοι από το υγρό κεφίρ, το οποίο μπορεί να καταναλωθεί συντηρώντας το στο ψυγείο (Ζερφυρίδης, 2001).

2.1.4.2. Βιομηχανική τεχνική

Κατά τη βιομηχανική παραγωγή, το γάλα υφίσταται επιπλέον και ομογενοποίηση, η δε λιποπεριεκτικότητα μπορεί να ρυθμιστεί στα επιθυμητά επίπεδα. Λόγω της μεγάλης ποσότητας κατά τη βιομηχανική παραγωγή, οι κόκκοι του κεφίρ χρησιμοποιούνται για τη παραγωγή της καλλιέργειας, η οποία συγκεντρώνεται σε δεξαμενή και χρησιμοποιείται σαν καλλιέργεια σε ποσοστό μέχρι 3% στο γάλα για τη μαζική παραγωγή του κεφίρ (Ottles & Cagindi, 2003).

Το κεφίρ αυτό έχει συνήθως χαμηλά επίπεδα αλκοόλης (0,01%), καθώς και διοξειδίου του άνθρακα (0,6g/l). Επειδή όμως και τα δύο αυτά συστατικά συμβάλουν στα τυπικά χαρακτηριστικά του κεφίρ, θα πρέπει να επιδιώκεται η εξασφάλιση τους με τις κατάλληλες καλλιέργειες και συνθήκες παραγωγής (Ζερφυρίδης, 2001).

2.1.5. Διαιτητική και θρεπτική αξία του κεφίρ

Το κεφίρ είναι ένα φυσικό προβιοτικό προϊόν με υψηλή θρεπτική αξία που αφομοιώνεται εύκολα από τον οργανισμό. Περιέχει σημαντικές ποσότητες ασβεστίου, μαγνησίου και φωσφόρου, λόγω του γάλακτος που περιέχει, ενώ είναι πλούσιο σε βιταμίνες, όπως τη βιοτίνη, το φυλλικό οξύ και τη βιταμίνη B₁₂. Οι πρωτεΐνες του είναι υψηλής βιολογικής αξίας, που αφομοιώνονται εύκολα από τον ανθρώπινο οργανισμό. Είναι κατάλληλο για όσους έχουν δυσανεξία στη λακτόζη, επειδή περιέχει ελάχιστες ποσότητες λακτόζης. Χαρακτηριστικό γνώρισμα του είναι η παρουσία διοξειδίου του άνθρακα που συντελεί στη δημιουργία λεπτοτεμαχισμένου πηγματος, με αποτέλεσμα να έρχεται αυτό σε καλύτερη επαφή με τα πεπτικά υγρά και να απορροφάται καλύτερα. Παρέχει ευεργετικά βακτηρίδια και ζύμες, συμβάλλοντας στην πρόληψη του καρκίνου του παχέος εντέρου. Έχει διαπιστωθεί ότι η συστηματική χρήση του έχει την ιδιότητα να επιδρά σε ολόκληρο το σώμα, συμβάλλοντας σε ένα υγιές ανοσοποιητικό σύστημα. Συνιστάται ιδιαίτερα σε παιδιά, διότι προάγει τη σωστή εντερική λειτουργία τους, σε εγκύους για την αντιμετώπιση προβλημάτων δυσκοιλιότητας ή σε γυναίκες που θηλάζουν λόγω του ασβεστίου που περιέχει, καθώς και σε ηλικιωμένους, διότι συμβάλλει στην αντιμετώπιση των έντονων διαρροιών ή δυσκοιλιότητων που συνήθως παρουσιάζουν (Davidov & Sokolovsky, 1968).

2.1.6. Κεφιράνη

Κεφιράνη ονομάζεται ο κύριος πολυσακχαρίτης του κεφίρ και περιέχει D-γλυκόζη και D-γαλακτόζη σε αναλογία 1:1. Η προτεινόμενη της δομή είναι μια επαναλαμβανόμενη μονάδα έξα- ή επτά-σακχαρίτη, η οποία αποτελείται από μία κανονική μονάδα πεντασακχαρίτη στην οποία ένα ή δύο υπολείμματα σακχάρου συνδέονται τυχαία (Rimada & Abraham, 2006).

Έχει αναφερθεί ότι η κεφιράνη κατέχει αντιβακτηριακή και αντικαρκινική δραστηριότητα, βοηθάει στην ρύθμιση του ανοσοποιητικού συστήματος του εντέρου και επίσης προστατεύει τα επιθηλιακά κύτταρα από τον *Bacillus cereus* και από εξωτερικούς παράγοντες. Οι ιδιότητες της αυτές της προσδίδουν την ιδιότητα του λειτουργικού πρόσθετου. Επιπλέον, η κεφιράνη μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν τροποποιητής υφής σε ζυμωμένα προϊόντα γάλακτος εφ' όσον έρευνες έχουν δείξει ότι ενισχύει τις ρεολογικές ιδιότητες των όξινων πηκτών αποβουτυρωμένου γάλακτος με τη χρήση γλύκονο-δ-λακτόνης (GDL) (Rimada & Abraham, 2006; Piermaria et al., 2008).

2.2. Υπέρηχοι

Οι υπέρηχοι αποτελούν ηχητικά κύματα που χαρακτηρίζονται από υψηλότερη συχνότητα από εκείνη που μπορεί να γίνει αντιληπτή από την ανθρώπινη ακοή. Η φυσιολογική ανθρώπινη ακοή μπορεί να ανιχνεύσει ήχους με εύρος συχνότητας από 0,016 έως 18 ή 20 kHz (Ashokkumar et al., 2010).

2.2.1. Υπέρηχοι στη τεχνολογία τροφίμων

Το κύριο πλεονέκτημα των υπερήχων για τη βιομηχανία τροφίμων είναι ότι θεωρούνται ως μια μη επιβλαβή τεχνολογία, η οποία είναι ευρέως αποδεκτή από το ευρύ καταναλωτικό κοινό. Το φάσμα των υπερήχων μπορεί να διαιρεθεί σε δύο υποζώνες, τους υπερήχους υψηλής έντασης με συχνότητα μεταξύ 20 kHz έως 1 MHz και τους υπερήχους χαμηλής έντασης ή διαγνωστικούς υπερήχους με συχνότητα μεγαλύτερη του 1MHz, οι οποίοι χρησιμοποιούνται στην ιατροδιαγνωστική απεικόνιση, τη χημική ανάλυση, τον ποιοτικό έλεγχο των τροφίμων (ωριμότητα, σύνθεση) και σε μη καταστρεπτικές μεθόδους ανάλυσης. Αντίθετα, οι υπέρηχοι υψηλής έντασης μεταξύ 10 και 1000W/cm² που

χαρακτηρίζονται από συχνότητες μεταξύ 20 έως 100 kHz προορίζονται για εφαρμογές επεξεργασίας τροφίμων που μετατρέπουν την ηλεκτρική ενέργεια σε ηχητική μέσω δονήσεων (Ashokkumar et al., 2010).

2.2.2. Μηχανισμοί δράσης των υπερήχων

Οι υπέρηχοι αυξάνουν την παραγωγικότητα και την αποδοτικότητα των διεργασιών μέσω της μείωσης του χρόνου επεξεργασίας, ενισχύουν την ποιότητα των παραγόμενων προϊόντων, μειώνουν την πιθανότητα φυσικών και χημικών κινδύνων και είναι περισσότερο φιλικό στο περιβάλλον. Όταν τα ηχητικά κύματα των υπερήχων προσπίπτουν στην επιφάνεια ενός υλικού (υγρού μέσου) δημιουργούν κύματα που μεταφέρονται στο εσωτερικό του μέσου και σχηματίζουν εναλλασσόμενες ζώνες υψηλής και χαμηλής πίεσης (συμπίεση-διαστολή υγρού). Προκύπτουν έτσι τοπικές μεταβολές πίεσης και θερμοκρασίας που υπό συνθήκες δημιουργούν κοιλότητες αέρα και φυσαλίδες στο υγρό (Berliner, 1984).

Η διακύμανση της πίεσης αναφέρεται ως πλάτος πίεσης (amplitude) και είναι ανάλογη της ποσότητας ενέργειας που εφαρμόζεται στο σύστημα. Στην περίπτωση που οι διακυμάνσεις της πίεσης είναι αρκετά υψηλές (3.000 MPa), τότε ένα υγρό μέσο μπορεί να αποδομηθεί και να σχηματιστούν μικροφυσαλίδες αερίου και ατμού, οι οποίες όταν φθάσουν σε ένα κρίσιμο μέγεθος εξαιτίας των μηχανικών δυνάμεων που δημιουργούνται, καταστρέφονται. Το φαινόμενο αυτό είναι γνωστό ως σπηλαιώση (cavitation). Αποτέλεσμα της σπηλαιώσης είναι το σπάσιμο και η διάτμηση των κυτταρικών τοιχωμάτων, τα οποία οδηγούν στον κυτταρικό θάνατο. Κατά τη διάρκειά της σπηλαιώσης αναπτύσσονται τοπικά υψηλές θερμοκρασίες (~5000K) και πιέσεις (~2000 atm). Οι φυσαλίδες είναι δυνατόν να διασπώνται και να επαναδημιουργούνται συνεχώς επιφέροντας αλλαγές στη δομή του μέσου που υφίσταται την επίδραση των υπερηχητικών κυμάτων (Berliner, 1984).

2.2.3. Η χρήση των υπερήχων στην επεξεργασία των τροφίμων

Η χρήση υπερήχων υψηλής έντασης αποτελεί για τη βιομηχανία τροφίμων την τελευταία δεκαετία ένα πολύ αποδοτικό μέσο για διεργασίες μεγάλης κλίμακας όπως η γαλακτωματοποίηση, η ομογενοποίηση, η εκχύλιση, η κρυσταλλοποίηση, η αφυδάτωση, η παστερίωση χαμηλής θερμοκρασίας, η απαέρωση, η απενεργοποίηση ενζύμων, η μείωση του μεγέθους σωματιδίων και η τροποποίηση του ιξώδους. Το ξαφνικό αυτό άλμα φυσικά που σημειώθηκε στη χρήση των υπερήχων οφείλεται καταρχήν στον πιο στοχευμένο σχεδιασμό και τη μεγαλύτερη αποδοτικότητα των συστημάτων επεξεργασίας μεγάλης κλίμακας και συνεχούς ροής.

Εφαρμογές των υπερήχων στη βιομηχανία γάλακτος, συνθήκες εφαρμογής και πλεονεκτήματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 2.1 (Mohammadi et al., 2014).

Πίνακας 2.1: Εφαρμογές των υπερήχων στη βιομηχανία γάλακτος.

Εφαρμογές των υπερήχων	Συνθήκες	Πλεονεκτήματα
Αδρανοποίηση των μικροοργανισμών	Συχνότητες περίπου 20 kHz, υψηλής ισχύος	1.Μικρές διακυμάνσεις στις φυσικοχημικές και θρεπτικές ιδιότητες 2.Μεγάλη διάρκεια ζωής 3.Λιγότερη κατανάλωση ενέργειας
Ζύμωση	Χαμηλές συχνότητες και υψηλή ένταση υπερήχων	1.Επιτάχυνση της διαδικασίας 2.Καλύτερη ποιότητα των προϊόντων 3. Λιγότερο ανεπιθύμητη γεύση
Μείωση του ιξώδους	Συχνότητα 20 kHz και υψηλές τιμές ισχύος	1. Έλεγχος του ιξώδους στα γαλακτοκομικά προϊόντα

2.3. Μελέτη της ρεολογικής συμπεριφοράς του κεφίρ

Η ρεολογία είναι ο κλάδος της επιστήμης που μελετά τη δομή των υλικών υποβάλλοντας τα σε παραμόρφωση υπό την επίδραση τάσης (δύναμης/επιφάνεια) που ασκείται σε αυτά σε συνάρτηση με το χρόνο άσκησης της τάσης. Η κατεύθυνση εφαρμογής της δύναμης σε σχέση με την υπό τάση επιφάνεια καθορίζει και τον τύπο της τάσης. Δηλαδή αν η δύναμη εφαρμόζεται κάθετα στην επιφάνεια, τότε η τάση ονομάζεται κανονική (normal stress). Σ' αυτή τη περίπτωση το υλικό στο οποίο εφαρμόζεται η δύναμη θα βρίσκεται υπό

καθεστώς συμπίεσης ή εφελκυσμού. Όταν η δύναμη εφαρμόζεται παράλληλα (εφαπτομενικά) με την επιφάνεια του υλικού στην οποία ασκείται τότε ονομάζεται τάση διάτμησης (shear stress) (Steffe, 1996).

Με βάση τα ανωτέρω, έχουν αναπτυχθεί σειρά από ρεολογικές δοκιμές οι οποίες χρησιμοποιούνται για να χαρακτηρίσουν τη δομή ενός υλικού ανάλογα με τη φύση του δηλαδή αν πρόκειται για ρευστό(αέριο, υγρό), πηκτική ή στερεό.

Δεδομένου ότι το κεφίρ μετά την ολοκλήρωση της πήξης πολτοποιείται, το προϊόν θεωρείται ως ρευστό, οπότε για τη μελέτη της ρεολογικής συμπεριφοράς του είναι δυνατόν να προσδιοριστεί το ιξώδες του. Επίσης, για τη μελέτη των ρεολογικών ιδιοτήτων του κεφίρ μπορούν να εφαρμοστούν και δοκιμές μικρής παραμόρφωσης, οι οποίες θα δώσουν πληροφορίες τον ιξωδοελαστικό χαρακτήρα του προϊόντος (Dogan, 2011).

Στις δοκιμές μικρής παραμόρφωσης το υλικό μπορεί να συμπιεσθεί στα όρια της γραμμικής του ελαστικότητας (Steffe, 1996), δηλαδή να θραυσθεί ένας αριθμός από τους πλέον ασθενείς δευτερεύοντες δεσμούς κατά τη διάρκεια της παραμόρφωσης του υλικού, οι οποίοι όμως ξαναδημιουργούνται με την άρση εφαρμογής της τάσης. Για τη μελέτη του ιξωδοελαστικού χαρακτήρα του κεφίρ θα περιγραφεί η δυναμική δοκιμή.

2.3.1. Δυναμική δοκιμή

Κατά αυτή τη δοκιμή το δείγμα υποβάλλεται σε περιοδική τάση διάτμησης ή συμπίεσης μέσα στα όρια της γραμμικής ελαστικότητας του (μικρό ποσοστό παραμόρφωσης) (Ferry, 1980). Το δείγμα βρίσκεται μεταξύ δύο παράλληλων πλακών εκ των οποίων η κάτω παραμένει ακίνητη ενώ η επάνω κινείται παλινδρομικά και στη περίπτωση της διάτμησης κινείται σε οριζόντια διεύθυνση πάντα σε επαφή με το δείγμα. Αν υποτεθεί ότι εφαρμόζεται απλή ημιτονοειδής διάτμηση τότε η παραμόρφωση γ σε συνάρτηση με το χρόνο t δίνεται από τη σχέση:

$$\gamma = \gamma_0 \sin(\omega t) \quad (1)$$

όπου γ_0 είναι το πλάτος της παραμόρφωσης και ω είναι η συχνότητα σε rad/s.

Οπότε, στη περίπτωση αυτή ο περιοδικός ρυθμός διάτμησης προκύπτει από τη σχέση (1) ως παράγωγος της παραμόρφωσης:

$$\dot{\gamma} = \frac{d\gamma}{dt} = \dot{\gamma} = \frac{d(\gamma_o \sin(\omega t))}{dt} \quad (2)$$

η οποία μετατρέπεται σε:

$$\dot{\gamma} = \gamma_o \omega \cos(\omega t) \quad (3)$$

Για παραμορφώσεις εντός των ορίων της γραμμικής ελαστικότητας κατά την προαναφερθείσα παραμόρφωση αναπτύσσεται η ακόλουθη διατμητική τάση σ :

$$\sigma = \sigma_o \sin(\omega t + \delta) \quad (4)$$

όπου σ_o είναι το πλάτος της διατμητικής τάσης και δ είναι η καθυστέρηση φάσης ή μετατόπιση φάσης. Αν αμφότεροι οι όροι της εξίσωσης διαιρεθούν με γ_o προκύπτει

$$\frac{\sigma}{\gamma_o} = \left[\frac{\sigma_o}{\gamma_o} \right] \sin(\omega t + \delta) \quad (5)$$

Η διατμητική τάση που προκύπτει από μια ημιτονοειδή παραμόρφωση μπορεί να γραφεί και ως:

$$\sigma = G' \gamma + (G'' / \omega) \dot{\gamma} \quad (6)$$

και

$$G'' = \left[\frac{\sigma_o}{\gamma_o} \right] \sin(\delta) \quad (7)$$

Το $G' \gamma_o$ μπορεί να ερμηνευθεί ως το μέρος της τάσης σε φάση με τη παραμόρφωση και το $G'' \gamma_o$ το μέρος της τάσης που είναι κατά 90° εκτός φάσης με τη παραμόρφωση. Άλλες παράμετροι περιλαμβάνουν το μιγαδικό συντελεστή (complex modulus, G^*):

$$G^* = \left[\frac{\sigma_o}{\gamma_o} \right] = \sqrt{(G')^2 + (G'')^2} \quad (8)$$

και το μιγαδικό ιξώδες η^* (complex viscosity):

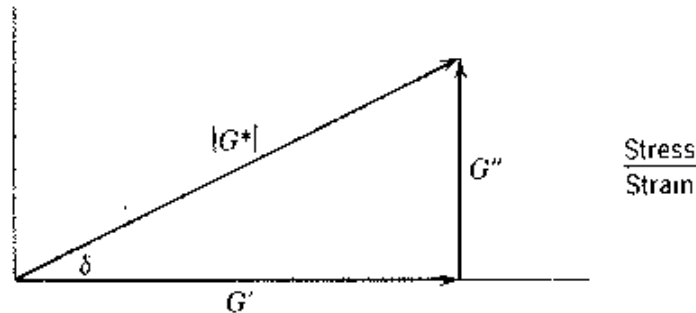
$$\eta^* = \frac{G^*}{\omega} = \sqrt{(\eta')^2 + (\eta'')^2} \quad (9)$$

όπου, η' είναι το δυναμικό ιξώδες και η'' είναι το εκτός φάσης μέρος του η^* .

Μια άλλη παράμετρος που συχνά χρησιμοποιείται είναι η εφαπτομένη της γωνίας δ που επίσης είναι συνάρτηση της συχνότητας:

$$\tan \delta = \frac{G''}{G'} \quad (10)$$

Η παράμετρος αυτή εκφράζει το λόγο της απώλειας ενέργειας ανά κύκλο ταλάντωσης προς την ενέργεια που αποθηκεύεται, ανά κύκλο ταλάντωσης (Σχήμα 2.1).

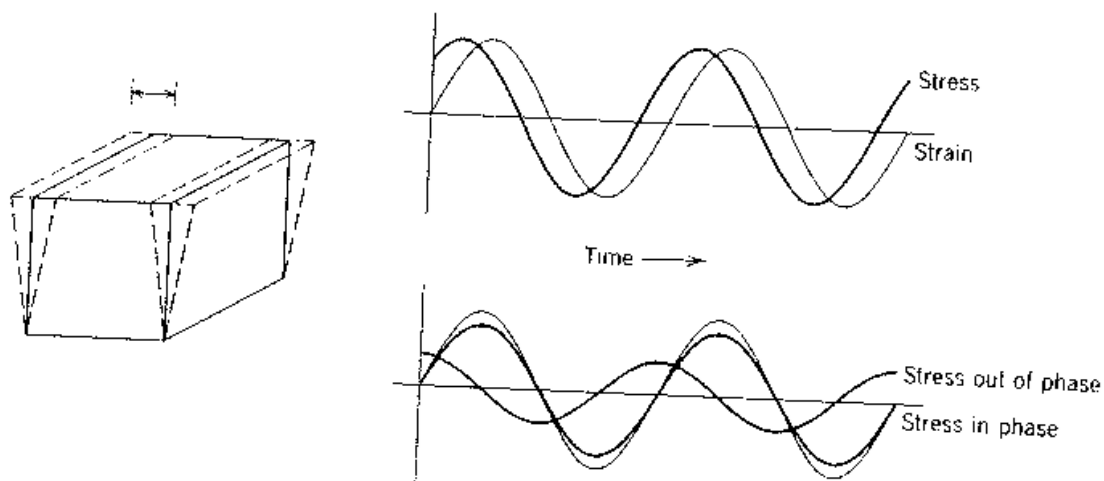


Σχήμα 2.1: Διανυσματική ανάλυση των συντελεστών απώλειας διάτμησης και ελαστικότητας διάτμησης σε ημιτονοειδή διάτμηση (Ferry, 1980).

Αναφορικά με τη δοκιμή ταλάντωσης υπό καθεστώς διάτμησης οι ρεολογικές παράμετροι που συνήθως μετρούνται είναι ο συντελεστής ελαστικότητας (storage modulus, G'), ο συντελεστής απώλειας (loss modulus, G'') και η εφαπτομένη δ ($\tan\delta$).

Για καλύτερη κατανόηση της φυσικής σημασίας των παραμέτρων αυτών θα αναφερθεί η συμπεριφορά των ιδανικών στερεών υλικών (Hookean solids) και των ιδανικών υγρών υλικών (Newtonian liquids). Η ρεολογική συμπεριφορά των στερεών χαρακτηρίζεται από το ότι η τάση με τη παραμόρφωση είναι σε φάση και η γωνία δ έχει τιμή μηδέν. Οπότε G'' και η' είναι μηδέν γιατί δεν υπάρχει καμιά απώλεια ενέργειας λόγω απουσίας του ιξώδους και το G' είναι σταθερό και ίσο με το συντελεστή διάτμησης G . Η ρεολογική

συμπεριφορά των υγρών χαρακτηρίζεται από το ότι η τάση με τη παραμόρφωση είναι εκτός φάσης κατά 90° . Σε αυτή την περίπτωση το G' και το η'' είναι μηδέν γιατί το υλικό δεν έχει την ιδιότητα να αποθηκεύει ενέργεια. Οπότε, το η' είναι ίσο με το νευτώνειο ιξώδες (Σχήμα 2.2).



Σχήμα 2.2: Γεωμετρία και χρονικό προφίλ ενός απλού πειράματος διάτμησης με ημιτονοειδή διάτμηση (Ferry, 1980).

2.3.2 Προσδιορισμός ιξώδους

Η πιο σημαντική φυσική ιδιότητα ενός ρευστού που επηρεάζει την ενεργειακή απώλεια που υφίσταται το ρευστό κατά την ροή του είναι το ιξώδες του, που αποτελεί το μέτρο μέτρησης της εσωτερικής τριβής του ρευστού. Το ιξώδες ενός ρευστού προκαλεί την ανάπτυξη δυνάμεων που αντιστέκονται στη σχετική κίνηση γειτονικών στοιβάδων ρευστού (McClements, 1999).

Αν δυο παράλληλα επίπεδα στη μάζα ενός ρευστού κινούνται το ένα σχετικά με το άλλο, έχει βρεθεί ότι μια σταθερή δύναμη θα πρέπει να εξασκείται ώστε να διατηρείται μια σταθερή σχετική πίεση. Αν τα επίπεδα βρίσκονται σε απόσταση z το ένα από το άλλο και αν η σχετική τους ταχύτητα είναι u , τότε η δύναμη F που απαιτείται για να διατηρήσει την κίνηση έχει βρεθεί πειραματικά να είναι ανάλογη της u και αντίστροφα ανάλογη της Z για πολλά ρευστά. Ο συντελεστής αναλογίας ονομάζεται ιξώδες του ρευστού και συμβολίζεται ως η . Από τον ορισμό του ιξώδους έχουμε:

$$\frac{F}{A} = \eta \times \frac{u}{Z} \quad (11)$$

Όπου F είναι η ασκούμενη δύναμη, A η επιφάνεια στην οποία ασκείται η δύναμη, Z η απόσταση μεταξύ των επίπεδων, u η ταχύτητα των επίπεδων σχετικά το ένα ως προς το άλλο και η το ιξώδες. Επίσης, ο λόγος u/z ονομάζεται ρυθμός διάτμησης $\dot{\gamma}$ (Perry, 1999). Από τον θεμελιώδη ορισμό του ιξώδους προκύπτει η διαφορική σχέση:

$$\frac{F}{A} = \eta \times \frac{du}{dZ} \quad (12)$$

η οποία μπορεί να γραφεί ως:

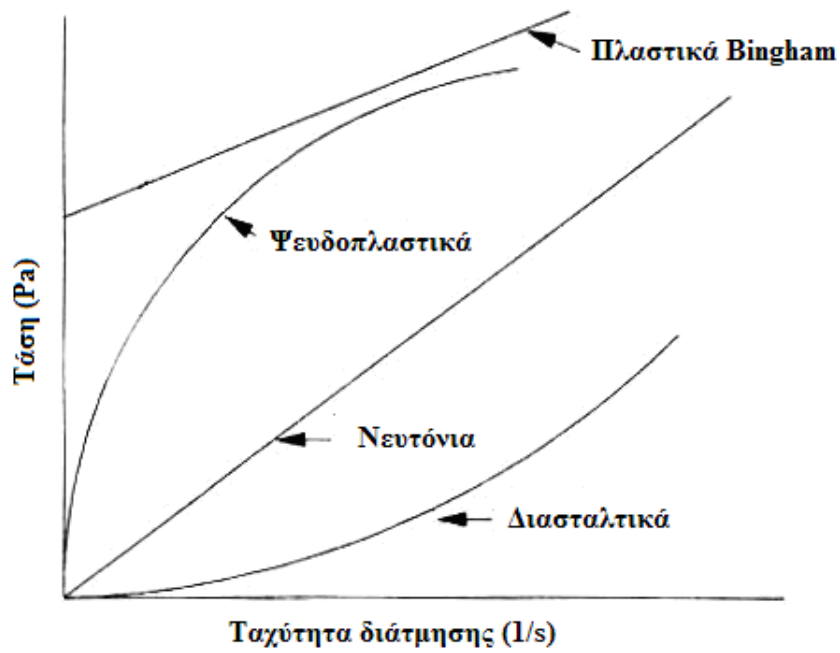
$$\tau = \eta \times \dot{\gamma} \quad (13)$$

όπου τ είναι η διατμητική τάση του ρευστού. Η εξίσωση αυτή αρχικά προτάθηκε από τον Νεύτωνα και ισχύει για ρευστά όπως το νερό. Όμως για πολλά ρευστά που χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία τροφίμων, οι μετρήσεις του ιξώδους δείχνουν απόκλιση από αυτή την απλή σχέση και για αυτόν το λόγο προτάθηκε μια πιο γενική σχέση:

$$\tau = \tau_0 + k \times \dot{\gamma}^n \quad (14)$$

που ονομάζεται γενική εξίσωση του εκθετικού νόμου (powerlaw) και όπου το k είναι ο συντελεστής συνεκτικότητας, n ο δείκτης ρεολογικής συμπεριφοράς και τ_0 η τάση διαρροής, η οποία απαιτείται σε ορισμένα υγρά για να αρχίσουν να ρέουν. Όταν ο εκθέτης έχει τιμή 1 και $\tau_0 = 0$ τότε το ρευστό ονομάζεται Νευτώνειο, γιατί υπακούει στο νόμο του Νεύτωνα. Σε διαφορετική περίπτωση το ρευστό ονομάζεται μη-Νευτώνειο. Γραφικά οι αποκλίσεις από το νόμο του Νεύτωνα παρίστανται στην ακόλουθη γραφική παράσταση (Σχήμα 2.3). Τα ρευστά με $n < 1$ και $\tau_0 = 0$ ονομάζονται ψευδοπλαστικά και από το σχήμα της καμπύλης τους φαίνεται ότι το ιξώδες τους είναι υψηλό σε χαμηλές τιμές του ρυθμού διάτμησης και όσο αυξάνει ο ρυθμός διάτμησης τόσο το ιξώδες ελαττώνεται. Αντίθετα αν $n > 1$ και $\tau_0 = 0$ τότε το ρευστό ονομάζεται διασταλτικό, που σημαίνει ότι σε χαμηλές τιμές του ρυθμού διάτμησης το ιξώδες είναι χαμηλό και όσο αυξάνει ο ρυθμός διάτμησης τόσο αυξάνει και το ιξώδες. Τέλος, αν $n = 1$ και $\tau_0 > 0$ τα ρευστά ονομάζονται Bingham (Darby, 1996).

Πρέπει να σημειωθεί ότι στα ρευστά τα οποία το ιξώδες τους δεν παραμένει σταθερό αλλά μεταβάλλεται με το ρυθμό διάτμησης, έχει καθιερωθεί ο όρος φαινομενικό ιξώδες η_a .



Σχήμα 2.3: Συμπεριφορά των ρευστών ανάλογα με την τιμή του δείκτη ρεολογικής συμπεριφοράς και της διατμητικής τάσης.

3. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η μελέτη της επίδρασης του χρόνου συντήρησης στις ρεολογικές ιδιότητες δειγμάτων κεφίρ, τα οποία παρασκευάστηκαν από δραστηριοποιημένη καλλιέργεια εκκίνησης (κόκκοι κεφίρ) με τη χρήση υπερήχων. Οι υπέρηχοι εφαρμόστηκαν σε δύο διαφορετικές τιμές ισχύος (50W και 100W), ενώ ο χρόνος εφαρμογής τους ήταν 2,5 min, 5 min, 7,5 min και 10 min. Επίσης, παρασκευάστηκε και δείγμα κεφίρ χωρίς δραστηριοποιημένη καλλιέργεια εκκίνησης (μάρτυρας). Η μελέτη της ρεολογικής συμπεριφοράς των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του δυναμικού ρεομέτρου Bohlin εφαρμόζοντας τη δυναμική δοκιμή και προσδιορίζοντας το ιξώδες τους.

4.ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

4.1. Παρασκευή δειγμάτων κεφίρ

Για την παρασκευή των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκαν κόκκοι κεφίρ (καλλιέργεια εκκίνησης οικιακής παραγωγής) και παστεριωμένο, ομογενοποιημένο αγελαδινό γάλα λιποπεριεκτικότητας 3,5%.

Η εφαρμογή των υπερήχων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση συσκευής υπερήχων UP 100H (Ultrasonic Processor Hielscher, Teltow, Germany) μετά την προσθήκη των κόκκων κεφίρ (δείγματα κεφίρ). Χρησιμοποιήθηκαν δύο διαφορετικές τιμές ισχύος (50W και 100W), ενώ ο χρόνος εφαρμογής των υπερήχων ήταν 2,5 min, 5 min 7,5 min και 10 min. Στο μάρτυρα δεν εφαρμόστηκαν υπέρηχοι.

Προετοιμασία γάλακτος: Για να επιτευχθεί ο επιθυμητός βαθμός μετουσίωσης των πρωτεϊνών, έγινε θερμική επεξεργασία του γάλακτος στους 85°C για 15 min και μετά ακολούθησε ψύξη με νερό βρύσης μέχρι τους 25°C.

Προετοιμασία των κόκκων κεφίρ: Για την αναζωογόνηση των κόκκων, γάλα εμβολιάστηκε με κόκκους και επώαστηκε στους 25°C μέχρι η τιμή του pH να μειωθεί περίπου στο 4,4. Ακολούθησε διαχωρισμός των κόκκων με τη βοήθεια ηθμού, στον οποίο κατακρατήθηκαν οι κόκκοι και καθαρίστηκαν με αποστειρωμένο νερό. Η διαδικασία αυτή επαναλήφθηκε μέχρι η επιθυμητή τιμή pH να επιτυγχάνεται περίπου σε διάστημα 24 h. Οι ενεργοποιημένοι κόκκοι στη συνέχεια προστέθηκαν στο θερμικά επεξεργασμένο γάλα σε ποσοστό 3%.

Παρασκευή μάρτυρα: Ποσότητα θερμικά επεξεργασμένου γάλακτος (50mL) προστέθηκε σε αποστειρωμένο γυάλινο περιέκτη. Ακολούθησε ο εμβολιασμός του γάλακτος με τους ενεργοποιημένους κόκκους κεφίρ σε ποσοστό 3%. Στη συνέχεια ο περιέκτης τοποθετήθηκε σε κλίβανο για επώαση στους 25°C μέχρι τελικής τιμής pH 4,4.

Παρασκευή δειγμάτων κεφίρ: Ποσότητα θερμικά επεξεργασμένου γάλακτος (50mL) προστέθηκε σε αποστειρωμένο γυάλινο περιέκτη. Ακολούθησε ο εμβολιασμός του γάλακτος με τους ενεργοποιημένους κόκκους κεφίρ σε ποσοστό 3% και εφαρμογή υπερήχων (στις συνθήκες που προαναφέρθηκαν) με ταυτόχρονη μέτρηση της θερμοκρασίας του γάλακτος, ώστε να παραμένει σταθερή και ίση με 25°C. Συγκεκριμένα, κατά την εφαρμογή των υπερήχων ένας μεγαλύτερης επιφάνειας περιέκτης με νερό και

πάγο περιέβαλε τον αποστειρωμένο γυάλινο περιέκτη με το γάλα. Όταν απαιτούνταν, επιπλέον ποσότητα πάγου προσθέτονταν. Στη συνέχεια οι περιέκτες τοποθετήθηκαν σε κλίβανο για επώαση στους 25°C μέχρι τελικής τιμής pH 4,4.

Συντήρηση μάρτυρα και δειγμάτων κεφίρ: Τα δείγματα και ο μάρτυρας κεφίρ μετά την παρασκευή τους τοποθετήθηκαν στους 4°C για συνολικό διάστημα 14 ημερών. Ο προσδιορισμός της τιμής pH και η μελέτη των ρεολογικών ιδιοτήτων όλων των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε στις 0 ημέρες (αποθήκευση για 12 h στους 4°C μετά το τέλος της επώασης), στις 6 ημέρες και τέλος στις 14 ημέρες.

Η παρασκευή όλων των δειγμάτων έγινε εις διπλούν.

4.2. Μελέτη της ρεολογικής συμπεριφοράς των δειγμάτων

Για τη μελέτη της ρεολογικής συμπεριφοράς των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε ο δυναμικός μηχανικός αναλυτής Bohlin C-VOR 150 (Malvern Instruments Ltd, Worcestershire, UK). Στα δείγματα εφαρμόστηκε η δυναμική δοκιμή και προσδιορίστηκε το ιξώδες τους. Η θερμοκρασία μέτρησης κατά τη διάρκεια των πειραμάτων ήταν 25°C. Οι ρεολογικές μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν δυο φορές για κάθε δείγμα.

4.2.1. Δυναμική δοκιμή ή δοκιμή ταλάντωσης

Στη δοκιμή ταλάντωσης χρησιμοποιήθηκαν οι συνθήκες σάρωσης συχνοτήτων ταλάντωσης με ελεγχόμενη παραμόρφωση (frequency sweep-strain control). Η συχνότητα κυμαινόταν από 0,01-10Hz, ενώ οι μετρήσεις έγιναν υπό καθεστώς ελεγχόμενης παραμόρφωσης, ώστε να διασφαλίζεται ότι η δοκιμή θα πραγματοποιούνταν εντός της περιοχής της γραμμικής ελαστικότητας (καθορίστηκε με προκαταρκτικές δοκιμές). Η παραμόρφωση των δειγμάτων ήταν $1,07 \times 10^{-5}$. Ποσότητα δείγματος τοποθετήθηκε μεταξύ δύο πλακών, οι οποίες είχαν οδοντωτή (serrated) επιφάνεια για να αποφευχθούν φαινόμενα ολίσθησης. Η κάτω πλάκα ήταν κατάλληλα κατασκευασμένη ώστε να μπορεί να συγκρατήσει επαρκή ποσότητα δείγματος, ενώ η επάνω πλάκα μετακινήθηκε προς το δείγμα μέχρι να έρθει σε επαφή μαζί του. Στη συνέχεια δόθηκε εντολή για έναρξη της μέτρησης. Από την εφαρμογή της δοκιμής προσδιορίστηκαν ο G' και η $\tan\delta$.

4.2.2. Προσδιορισμός ιξώδους

Το ιξώδες των δειγμάτων προσδιορίστηκε σε διαφορετικές τιμές ταχύτητας διάτμησης (από 0,1 έως 100 s^{-1}). Ποσότητα δείγματος τοποθετήθηκε στο δειγματοφορέα του οργάνου. Το σύστημα μέτρησης που χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό του ιξώδους ήταν αυτό του κώνου – πλάκας. Ο κώνος, ο οποίος σχημάτιζε γωνία 4° μετακινήθηκε προς το δείγμα, έτσι ώστε να δημιουργηθεί διάκενος χώρος μεταξύ του κώνου και της πλάκας 150 μm . Η περίσσεια του δείγματος αφαιρέθηκε με τη βοήθεια σπάτουλας και στη συνέχεια δόθηκε εντολή για έναρξη της μέτρησης. Από τις καμπύλες ροής των δειγμάτων υπολογίστηκαν ο συντελεστής συνεκτικότητας και ο δείκτης ρεολογικής συμπεριφοράς.

4.3. Μέτρηση pH

Το pH των δειγμάτων κεφίρ προσδιορίστηκε με την βοήθεια του εργαστηριακού πεχάμετρου EDT Instruments GP 353 ATC pHMETER. Το πεχάμετρο ελέγχεται και ρυθμίζεται με την χρήση ρυθμιστικών διαλυμάτων (Buffer 4 και 7). Η θερμοκρασία του πεχάμετρου προσαρμόζεται στην θερμοκρασία του δείγματος και το ηλεκτρόδιο εμβαπτίζεται στο δείγμα του κεφίρ. Στην συνέχεια σημειώνεται η ένδειξη του πεχάμετρου και σαν τιμή του pH λαμβάνεται ο μέσος όρος δυο μετρήσεων.

4.4. Στατιστική ανάλυση

Στα στοιχεία του πειράματος εφαρμόστηκε η ανάλυση διακύμανσης δύο επιλέξιμων παραγόντων (Two-Way ANOVA): ισχύς (2 επίπεδα: 50 W, 100 W) και χρόνος εφαρμογής υπερήχων (4 επίπεδα: 2,5 min, 5,0 min, 7,5 min, 10 min) για την ανάλυση των τιμών του χρόνου επώασης των δειγμάτων, καθώς επίσης και η ανάλυση διακύμανσης τριών επιλέξιμων παραγόντων (Three-Way ANOVA): ισχύς (2 επίπεδα: 50 W, 100 W), χρόνος εφαρμογής υπερήχων (4 επίπεδα: 2,5 min, 5,0 min, 7,5 min, 10 min) και χρόνος συντήρησης (0 ημέρες, 6 ημέρες και 14 ημέρες) για την επεξεργασία των δεδομένων από τον προσδιορισμό του pH και τη μελέτη της ρεολογικής συμπεριφοράς. Σε περίπτωση που τα αποτελέσματα της ANOVA εμφάνισαν στατιστική σημαντικότητα του μελετούμενου παράγοντα, εφαρμόστηκε ο έλεγχος των πολλαπλών συγκρίσεων του Tukey, ώστε να εντοπιστούν αυτές οι διαφορές (Πετρίδης, 2000). Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων έγινε με τη χρήση του προγράμματος Minitab 16.

Για τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων, και προκειμένου να βρεθούν αλληλεπιδράσεις μεταξύ των μελετούμενων παραγόντων, χρησιμοποιήθηκαν τα δεδομένα από τις μετρήσεις των δειγμάτων κεφίρ. Αναφορά στις μετρήσεις του μάρτυρα γίνεται μόνο στην περίπτωση όπου αυτή βοηθάει στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

5.1. Χρόνος επώασης

Στον Πίνακα 5.1 φαίνονται οι χρόνοι επώασης των δειγμάτων κεφίρ και του μάρτυρα. Όπως παρατηρείται, όλα τα δείγματα εμφάνισαν μειωμένους χρόνους επώασης σε σχέση με το μάρτυρα. Η εφαρμογή των υπερήχων επομένως, είχε ως αποτέλεσμα τη δραστηριοποίηση της καλλιέργειας εκκίνησης και τη μείωση του χρόνου που απαιτείται για να μειωθεί η τιμή pH των δειγμάτων.

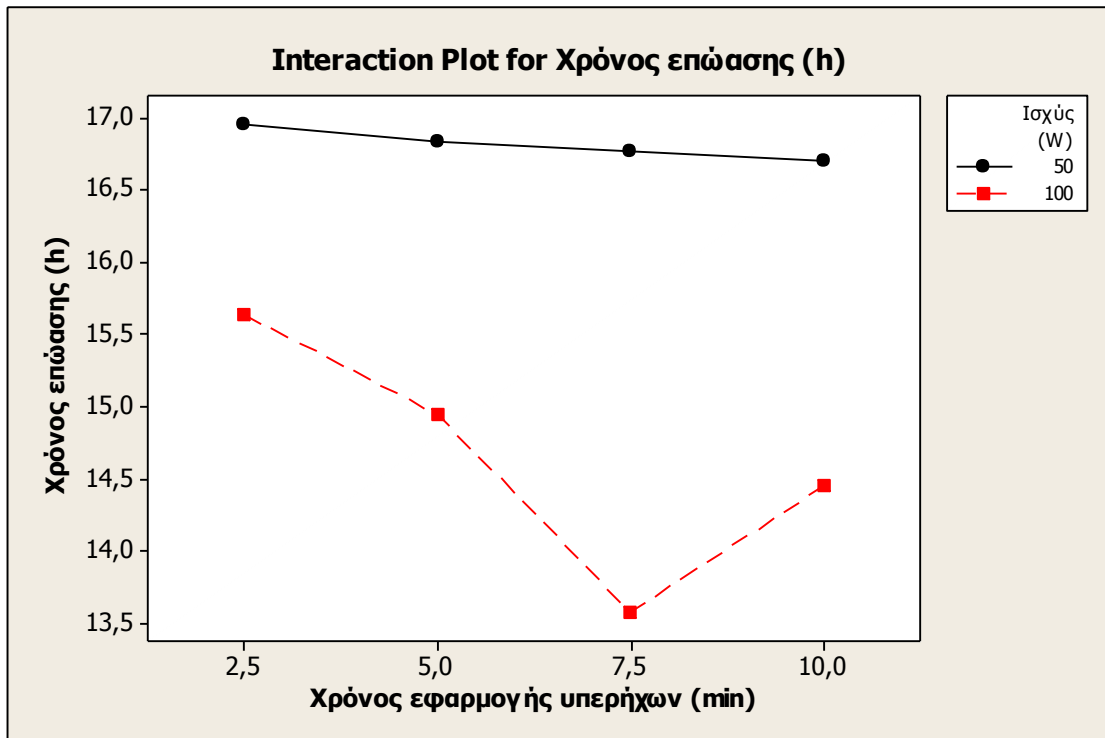
Πίνακας 5.1: Χρόνος επώασης των δειγμάτων κεφίρ και του μάρτυρα μέχρι την επιθυμητή τιμή pH.

Ισχύς (W)	Χρόνος εφαρμογής υπερήχων (min)	Χρόνος επώασης (h)
50	2,5	17,0
50	5,0	16,8
50	7,5	16,8
50	10,0	16,7
100	2,5	15,6
100	5,0	14,9
100	7,5	13,6
100	10,0	14,4
<i>Μάρτυρας</i>		18,2

Η μείωση του χρόνου επώασης με την εφαρμογή υπερήχων μπορεί να αποδοθεί στην αύξηση της δραστηριότητας των μικροοργανισμών της καλλιέργειας εκκίνησης. Συγκεκριμένα, η εφαρμογή υπερήχων καταστρέφει το κυτταρικό τοίχωμα με αποτέλεσμα την απελευθέρωση τόσο ενζύμων, όπως της β-γαλακτοσιδάσης η οποία διασπά τη λακτόζη σε γλυκόζη και γαλακτόζη, όσο και διαφόρων άλλων ουσιών που διεγείρουν την

ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Και οι δύο μηχανισμοί συμβάλουν στην επιτάχυνση της έναρξης της μεταβολικής δραστηριότητας των μικροοργανισμών της καλλιέργειας εκκίνησης. Ταυτόχρονα όμως, λαμβάνει χώρα και ένα δεύτερο φαινόμενο, η μείωση των ζωντανών κυττάρων, εξαιτίας της διάσπασης της μεμβράνης τους. Τα ζωντανά κύτταρα είναι αυτά που εμφανίζουν μεταβολική δραστηριότητα και παρατηρείται μείωση του pH του γάλακτος. Η δραματική επομένως μείωση του αριθμού τους μπορεί να οδηγήσει σε μείωση του ρυθμού παραγωγής γαλακτικού οξέος και φυσικά σε αύξηση του χρόνου επώασης. Για να μπορέσει η εφαρμογή υπερήχων να είναι επιτυχής πρέπει να λαμβάνουν χώρα ταυτόχρονα δύο φαινόμενα: η αύξηση της ποσότητας της β-γαλακτοσιδάσης που απελευθερώνεται από τα κύτταρα και η επιβίωση επαρκούς αριθμού μικροοργανισμών, οι οποίοι να μπορούν να πολλαπλασιαστούν και να επιταχύνουν τη ζύμωση. Δηλαδή θα πρέπει η θετική επίδραση των υπερήχων να υπερτερεί της αρνητικής τους (Nguyen et al., 2009).

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της ANOVA, ο χρόνος επώασης επηρεάστηκε από την ισχύ ($p < 0,05$), από το χρόνο εφαρμογής υπερήχων ($p < 0,05$), αλλά και από την αλληλεπίδραση των δύο παραγόντων (Σχήμα 5.1). Όπως παρατηρείται στο Σχήμα 5.1, τα δείγματα κεφίρ που παρασκευάστηκαν από δραστηριοποιημένη καλλιέργεια εκκίνησης με την εφαρμογή ισχύος 100 W εμφάνισαν μειωμένους χρόνους επώασης σε σχέση με τα αντίστοιχα δείγματα, στα οποία εφαρμόστηκε ισχύς 50 W. Επίσης, ο χρόνος εφαρμογής υπερήχων επηρέασε σε πολύ μεγάλο βαθμό το χρόνο επώασης των δειγμάτων στην περίπτωση εφαρμογής ισχύος 100 W. Συγκεκριμένα, η αύξηση του χρόνου εφαρμογής υπερήχων από 2,5 min έως και 7,5 min είχε ως αποτέλεσμα την επιτάχυνση του χρόνου που απαιτείται για να ολοκληρωθεί η ζύμωση. Περαιτέρω, όμως αύξηση του χρόνου εφαρμογής υπερήχων από τα 7,5 min στα 10 min προκάλεσε αύξηση του χρόνου επώασης. Οι καλύτερες συνθήκες επομένως για τη δραστηριοποίηση των κόκκων κεφίρ ήταν η εφαρμογή ισχύος 100W για χρόνο 7,5 min. Η εφαρμογή ισχύος 100W για περισσότερο χρόνο προκάλεσε αντιστροφή της ισορροπίας μεταξύ της απελευθερούμενης ποσότητας β-γαλακτοσιδάσης και του αριθμού των μικροοργανισμών της καλλιέργειας εκκίνησης που επιβίωναν τις συνθήκες εφαρμογής υπερήχων με αποτέλεσμα την αύξηση του χρόνου επώασης.



Σχήμα 5.1: Επίδραση της ισχύος και του χρόνου εφαρμογής υπερήχων στο χρόνο επώασης των δειγμάτων κεφίρ.

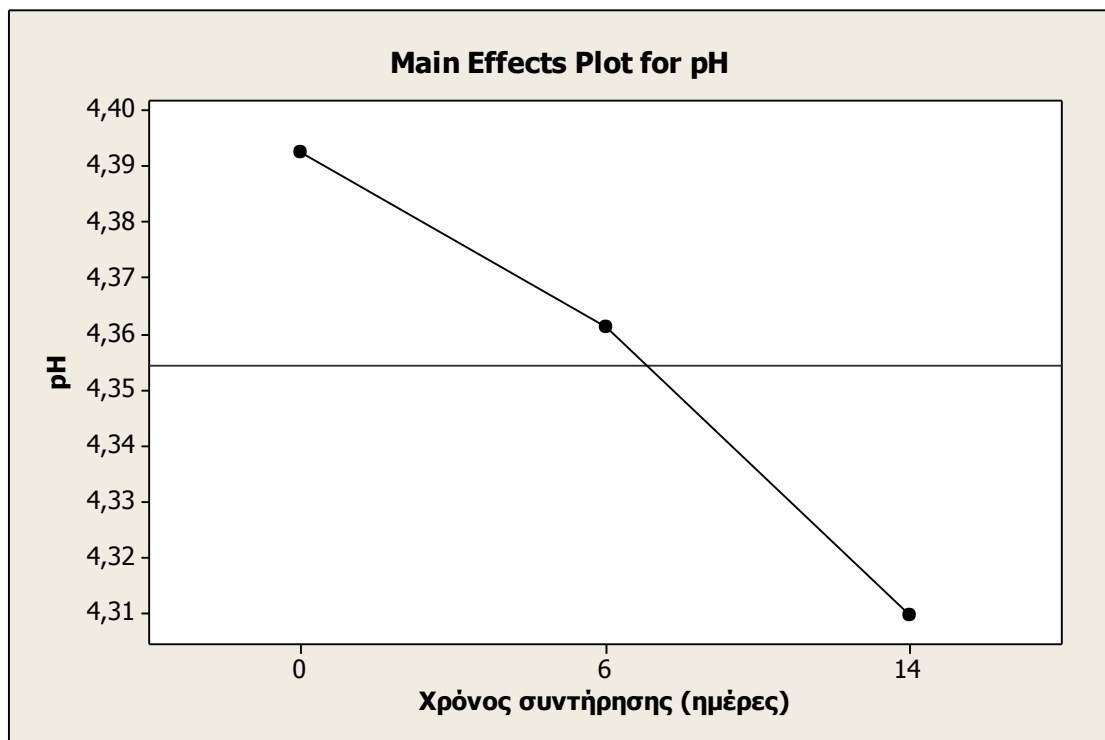
5.2. Τιμή pH

Στον Πίνακα 5.2 παρουσιάζονται οι τιμές pH των δειγμάτων κεφίρ και του μάρτυρα κατά τη διάρκεια συντήρησής τους.

Η εφαρμογή της ANOVA έδειξε ότι το pH των δειγμάτων κεφίρ επηρεάστηκε μόνο από το χρόνο συντήρησης ($p < 0,05$). Σύμφωνα με το Σχήμα 5.2, η αύξηση του χρόνου συντήρησης προκάλεσε τη μείωση της τιμής pH. Η κατάταξη των δειγμάτων κατά φθίνουσα σειρά σύμφωνα με τον έλεγχο των πολλαπλών συγκρίσεων του Tukey είναι η εξής: 0 > 6 > 14. Η μείωση του pH κατά την αποθήκευση των δειγμάτων κεφίρ μπορεί να αποδοθεί στη μεταβολική δραστηριότητα των μικροοργανισμών της καλλιέργειας εκκίνησης, η οποία συνεχίζεται με αργό ρυθμό ακόμη και σε θερμοκρασίες ψύξης (Tamime & Robinson, 2007). Μείωση της τιμής pH κατά τη διάρκεια συντήρησης εμφάνισε και ο μάρτυρας (Πίνακας 5.2).

Πίνακας 5.2: Τιμή pH των δειγμάτων κεφίρ και του μάρτυρα κατά τη διάρκεια συντήρησής τους.

Ισχύς (W)	Χρόνος εφαρμογής υπερήχων (min)	Χρόνος συντήρησης (ημέρες)	pH
50	2,5	0	4,39
		6	4,35
		14	4,34
50	5,0	0	4,40
		6	4,39
		14	4,37
50	7,5	0	4,40
		6	4,36
		14	4,31
50	10,0	0	4,40
		6	4,29
		14	4,26
100	2,5	0	4,39
		6	4,34
		14	4,25
100	5,0	0	4,40
		6	4,39
		14	4,32
100	7,5	0	4,39
		6	4,38
		14	4,28
100	10,0	0	4,40
		6	4,43
		14	4,38
<i>Μάρτυρας</i>		0	4,40
		6	4,35
		14	4,26



Σχήμα 5.2: Επίδραση του χρόνου συντήρησης στην τιμή pH των δειγμάτων κεφίρ.

5.3 . Μελέτη ρεολογικών ιδιοτήτων

5.3.1. Δυναμική δοκιμή

Στον Πίνακα 5.3 φαίνονται οι τιμές του συντελεστή ελαστικότητας και της $\tan \delta$ όλων των δειγμάτων κεφίρ και του μάρτυρα κατά τη διάρκεια συντήρησης τους.

Όπως παρατηρείται, τα δείγματα κεφίρ αμέσως μετά την παρασκευή τους (0 ημέρες συντήρησης) εμφάνισαν μεγαλύτερες τιμές του συντελεστή ελαστικότητας σε σχέση με το μάρτυρα. Εξάιρεση αποτελεί μόνο το δείγμα που παρασκευάστηκε από δραστηριοποιημένους κόκκους με την εφαρμογή υπερήχων 100 W για χρόνο 2,5 min.

Κατά την εφαρμογή υπερήχων, όπως προαναφέρθηκε, απελευθερώνεται ποσότητα β-γαλακτοσιδάσης, η οποία ζυμώνει τη λακτόζη προς γλυκόζη και γαλακτόζη. Η γαλακτόζη που παράγεται χρησιμοποιείται από τα γαλακτικά βακτήρια της καλλιέργειας εκκίνησης του κεφίρ για τη βιοσύνθεση της κεφίρανης (Zajsek et al., 2013). Με την αύξηση επομένως της ποσότητας της γαλακτόζης στο υπόστρωμα ευνοείται η σύνθεση του

πολυσακχαρίτη. Ταυτόχρονα, η απελευθέρωση διαφόρων άλλων ουσιών από τη διάσπαση του κυτταρικού τοιχώματος των βακτηρίων διεγείρει την ανάπτυξη των μικροοργανισμών που επιβιώνουν, γεγονός το οποίο συμβάλει επίσης στην αύξηση της ποσότητας της παραγόμενης κεφίρανης. Η παραγωγή του πολυσακχαρίτη σε αυξημένα επίπεδα οδηγεί σε αύξηση της ελαστικότητας των δειγμάτων κεφίρ σε σχέση με αυτήν που εμφανίζει ο μάρτυρας. Οι Rimada & Abraham (2006) αναφέρουν ότι η προσθήκη κεφίρανης σε συγκέντρωση μέχρι 300mg/L αυξάνει τον ελαστικό χαρακτήρα των όξινων πηκτών γάλακτος, οι οποίες παρασκευάστηκαν με τη χρήση GDL.

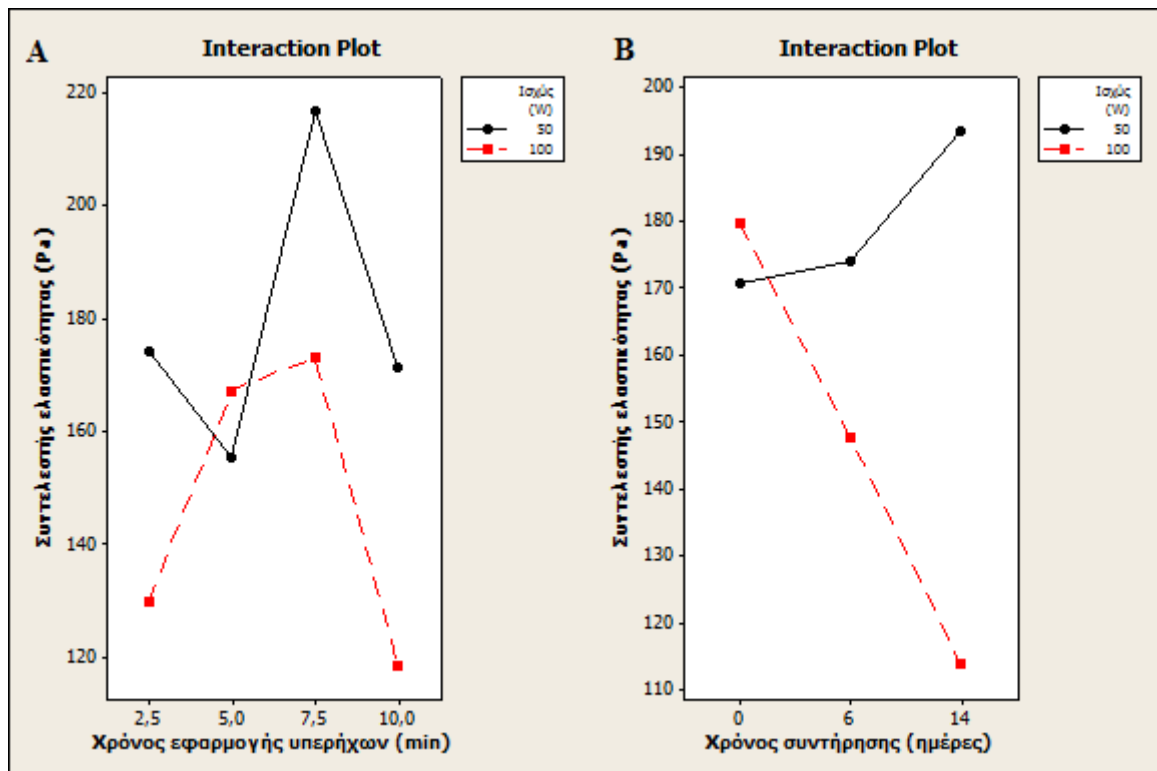
Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της ANOVA, ο συντελεστής ελαστικότητας επηρεάστηκε από την ισχύ ($p < 0,05$), από το χρόνο εφαρμογής υπερήχων ($p < 0,05$), από το χρόνο συντήρησης ($p < 0,05$), αλλά και από την αλληλεπίδραση των μελετούμενων παραγόντων. Αξιοσημείωτες είναι οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ της ισχύος και του χρόνου εφαρμογής υπερήχων (Σχήμα 5.3A) και μεταξύ της ισχύος και του χρόνου συντήρησης (Σχήμα 5.3B).

Όπως παρατηρείται στο Σχήμα 5.3A, τη μεγαλύτερη τιμή του συντελεστή ελαστικότητας εμφάνισε το δείγμα που παρασκευάστηκε από κόκκους κεφίρ με εφαρμογή υπερήχων ισχύος 50 W και για χρόνο εφαρμογής 7,5 min. Όταν η εφαρμογή υπερήχων έγινε στην ίδια τιμή ισχύος αλλά σε μικρότερο ή μεγαλύτερο χρόνο οδήγησε σε δείγματα με μειωμένες τιμές ελαστικότητας. Όσον αφορά την τιμή ισχύος 100 W, όταν η εφαρμογή της έγινε σε 5 min ή 7,5 min είχε ως αποτέλεσμα την παραγωγή δειγμάτων με αυξημένη συνεκτικότητα σε σχέση με εκείνα, όπου η εφαρμογή υπερήχων έγινε σε 2,5 min ή 10 min.

Αν και το μικρότερο χρόνο επώασης εμφάνισε το δείγμα που παρασκευάστηκε από δραστηριοποιημένη καλλιέργεια εκκίνησης με εφαρμογή υπερήχων ισχύος 100 W για χρόνο 7,5 min, τη μεγαλύτερη συνεκτικότητα εμφάνισε δείγμα (ισχύς 50 W για χρόνο 7,5 min) που είχε αρκετά μεγαλύτερο χρόνο επώασης από το συγκεκριμένο (ισχύς 100 W για χρόνο 7,5 min). Σύμφωνα με τους Zajsek et al. (2013) η παραγωγή εξωκυτταρικών πολυσακχαριτών, όπως η κεφίρανη, από τα γαλακτικά βακτήρια μπορεί να είναι αυξημένη στις μη άριστες συνθήκες ανάπτυξης τους. Επειδή ο ρόλος των πολυσακχαριτών είναι η προστασία των βακτηριακών κυττάρων, πιθανόν η παραγωγή τους να ευνοείται στις δυσμενείς συνθήκες ανάπτυξης των μικροοργανισμών που τους παράγουν.

Πίνακας 5.3: Τιμές του συντελεστή ελαστικότητας και της $\tan \delta$ των δειγμάτων κεφίρ και του μάρτυρα κατά τη διάρκεια συντήρησής τους.

Ισχύς (W)	Χρόνος εφαρμογής υπερήχων (min)	Χρόνος συντήρησης (ημέρες)	Συντελεστής ελαστικότητας (Pa)	$\tan \delta$
50	2,5	0	166,9	0,657
		6	170,5	0,619
		14	184,9	0,555
50	5,0	0	132,0	0,706
		6	140,4	0,685
		14	194,1	0,685
50	7,5	0	142,2	0,707
		6	216,0	0,527
		14	292,6	0,346
50	10,0	0	242,5	0,288
		6	169,0	0,311
		14	102,7	0,590
100	2,5	0	88,0	0,818
		6	121,0	0,694
		14	180,4	0,593
100	5,0	0	265,0	0,672
		6	167,9	0,764
		14	68,8	0,914
100	7,5	0	215,3	0,598
		6	182,0	0,713
		14	122,0	0,837
100	10,0	0	151,0	1,008
		6	120,2	0,935
		14	83,8	0,982
<i>Μάρτυρας</i>		0	119,3	0,898
		6	124,5	0,810
		14	133,0	0,737



Σχήμα 5.3: Αλληλεπίδραση μεταξύ της ισχύος και του χρόνου εφαρμογής υπερήχων (A) και μεταξύ της ισχύος και του χρόνου συντήρησης (B) στο συντελεστή ελαστικότητας των δειγμάτων κεφίρ.

Όσον αφορά την επίδραση του χρόνου συντήρησης (Σχήμα 5.3B), η εφαρμογή ισχύος 50 W είχε ως αποτέλεσμα την παραγωγή δειγμάτων, στα οποία παρατηρήθηκε αύξηση της συνεκτικότητας τους κατά τη διάρκεια αποθήκευσης τους σε θερμοκρασία ψύξης. Η αύξηση αυτή μάλιστα ήταν πιο έντονη προς το τέλος του χρόνου συντήρησης. Αντίθετα, τα δείγματα όπου εφαρμόστηκε ισχύς 100 W, εμφάνισαν σημαντική μείωση της συνεκτικότητάς τους σε όλη τη διάρκεια αποθήκευσής τους.

Δεδομένου ότι η μεταβολική δραστηριότητα των μικροοργανισμών συνεχίζεται κατά την αποθήκευσή τους σε θερμοκρασίες ψύξης, η αύξηση της συνεκτικότητας των δειγμάτων θα μπορούσε να αποδοθεί σε παραγωγή του πολυσακχαρίτη κεφιράνη κατά τη διάρκεια συντήρησης τους. Μάλιστα η παραγωγή της κεφιράνης πιθανόν να επηρεάστηκε από τις συνθήκες εφαρμογής υπερήχων και συγκεκριμένα από την ισχύ, δεδομένου ότι η συνεκτικότητα του μάρτυρα δεν αυξήθηκε σε μεγάλο βαθμό κατά τη διάρκεια αποθήκευσης (Πίνακας 5.3), καθώς επίσης και ότι τα δείγματα με εφαρμογή ισχύος 100 W εμφάνισαν μείωση των τιμών του συντελεστή ελαστικότητας με την αύξηση του

χρόνου συντήρησης. Η εφαρμογή υπερήχων μικρότερης ισχύος πιθανόν είχε ως αποτέλεσμα την επιβίωση μεγαλύτερου αριθμού βακτηρίων που παράγουν τον πολυσακχαρίτη, τα οποία κατά την διάρκεια συντήρησης των δειγμάτων συνέχισαν τη σύνθεση του.

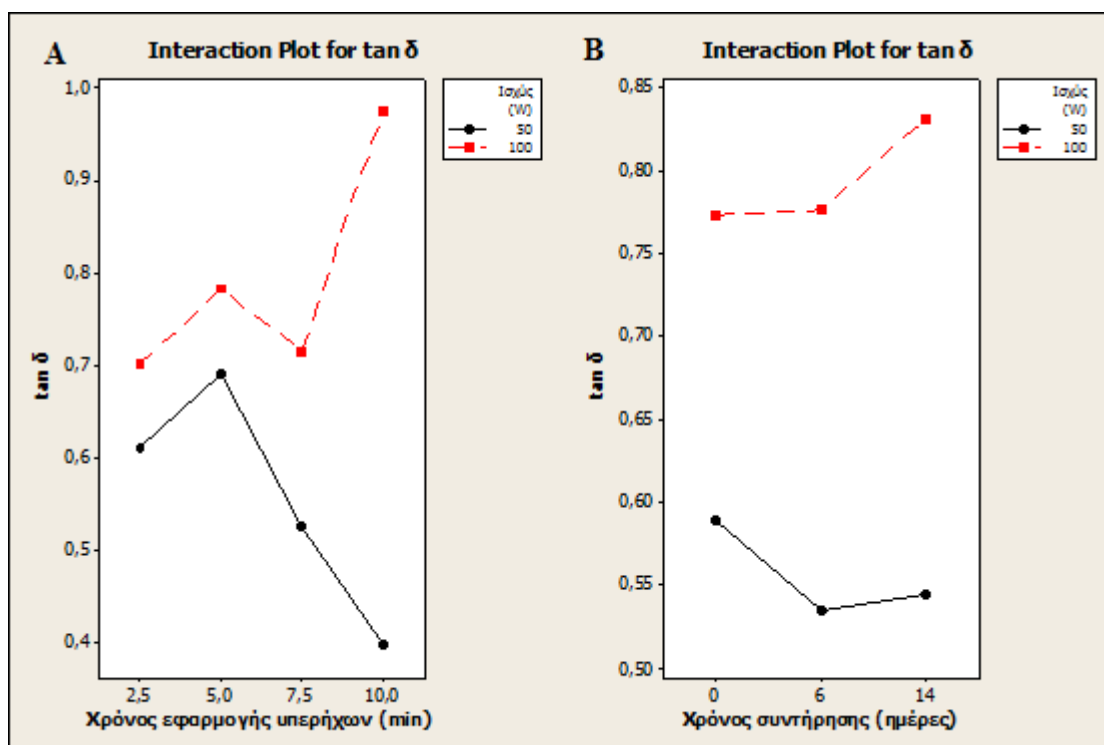
Η μείωση της συνεκτικότητας των δειγμάτων κατά τη συντήρηση τους οφείλεται σε διάσπαση του πρωτεϊνικού πλέγματος από διάφορα πρωτεολυτικά ένζυμα. Πιθανόν, η εφαρμογή υπερήχων ισχύος 100 W να συνέβαλε στην απελευθέρωση μεγαλύτερου αριθμού πρωτεολυτικών ενζύμων από τα κύτταρα ή και να ευνόησε την ανάπτυξη τους μέσω της απελευθέρωσης από τα κύτταρα ουσιών που διεγείρουν την ανάπτυξη τους. Επίσης, η εφαρμογή υπερήχων μεγαλύτερης ισχύος πιθανόν να συνέβαλλε στη μείωση του αριθμού των βακτηρίων που επιβίωσαν και που παράγουν την κεφίρανη, με αποτέλεσμα η διάσπαση του πρωτεϊνικού πλέγματος να υπερισχύει της σύνθεσης του πολυσακχαρίτη, μειώνοντας έτσι τη συνεκτικότητα των δειγμάτων.

Η ANOVA έδειξε ότι και η $\tan\delta$ επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από την ισχύ ($p<0,05$), από το χρόνο εφαρμογής υπερήχων ($p<0,05$), από το χρόνο συντήρησης ($p<0,05$), αλλά και από την αλληλεπίδραση των μελετούμενων παραγόντων. Αξιοσημείωτες είναι οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ της ισχύος και του χρόνου εφαρμογής υπερήχων (Σχήμα 5.4A) και μεταξύ της ισχύος και του χρόνου συντήρησης (Σχήμα 5.4B).

Η χρησιμοποίηση μεγάλων χρόνων εφαρμογής υπερήχων σε μικρές τιμές ισχύος (50 W) οδήγησε σε μείωση του ιξώδους χαρακτήρα των δειγμάτων. Αντίθετα, ο ιξώδης χαρακτήρας των δειγμάτων αυξήθηκε με τη χρησιμοποίηση μεγάλων τιμών ισχύος (100 W), όταν ο χρόνος έκθεσης στου υπέρηχους ήταν μεγάλος (Σχήμα 5.4A). Η μείωση του ιξώδους χαρακτήρα των δειγμάτων κατά την εφαρμογή υπερήχων 50 W, οφείλεται στην παραγωγή του πολυσακχαρίτη σε αυξημένα επίπεδα, όταν οι συνθήκες πολλαπλασιασμού τους δεν είναι τόσο ευνοϊκές (μεγάλοι χρόνοι επώασης).

Η αύξηση των τιμών της $\tan\delta$ στο τέλος του χρόνου συντήρησης των δειγμάτων που παρασκευάστηκαν από δραστηριοποιημένους κόκκους κεφίρ με την εφαρμογή ισχύος 100 W (Σχήμα 5.4B), υποδηλώνει εξασθένιση του πρωτεϊνικού πλέγματος και αύξηση του ιξώδους χαρακτήρα των δειγμάτων, εξαιτίας της πιθανής δράσης διαφόρων πρωτεολυτικών ενζύμων και της μειωμένης παραγωγής του πολυσακχαρίτη κατά τη

συντήρηση. Αντίθετα, η μείωση των τιμών της $\tan \delta$ κατά τη διατήρηση των δειγμάτων που παρασκευάστηκαν από δραστηριοποιημένους κόκκους κεφίρ με την εφαρμογή ισχύος 50 W οφείλεται σε πιθανή αυξημένη παραγωγή της κεφιράνης από τα γαλακτικά βακτήρια.



Σχήμα 5.4: Αλληλεπίδραση μεταξύ της ισχύος και του χρόνου εφαρμογής υπερήχων (A) και μεταξύ της ισχύος και του χρόνου συντήρησης (B) στην τιμή $\tan \delta$ των δειγμάτων κεφίρ.

5.3.2. Προσδιορισμός ιξώδους

Οι τιμές του συντελεστή συνεκτικότητας και του δείκτη ρεολογικής συμπεριφοράς που προέκυψαν από τις καμπύλες ροής των δειγμάτων κεφίρ και του μάρτυρα κατά τη διάρκεια συντήρησης τους φαίνονται στον Πίνακα 5.4.

Πίνακας 5.4: Τιμές του συντελεστή συνεκτικότητας και του δείκτη ρεολογικής συμπεριφοράς των δειγμάτων κεφίρ και του μάρτυρα κατά τη διάρκεια συντήρησής τους.

Ισχύς (W)	Χρόνος εφαρμογής υπερήχων (min)	Χρόνος συντήρησης (ημέρες)	Συντελεστής συνεκτικότητας ($\text{Pa} \times \text{s}^n$)	Δείκτης ρεολογικής συμπεριφοράς
50	2,5	0	2,806	0,346
		6	3,287	0,328
		14	3,115	0,328
50	5,0	0	2,856	0,349
		6	3,164	0,339
		14	3,436	0,323
50	7,5	0	2,890	0,360
		6	3,083	0,338
		14	3,873	0,297
50	10,0	0	2,501	0,359
		6	2,778	0,339
		14	3,514	0,320
100	2,5	0	2,896	0,342
		6	3,689	0,317
		14	3,776	0,308
100	5,0	0	2,380	0,368
		6	3,600	0,319
		14	3,693	0,322
100	7,5	0	2,537	0,342
		6	3,239	0,312
		14	2,802	0,326
100	10,0	0	1,781	0,361
		6	3,164	0,309
		14	3,146	0,322
<i>Μάρτυρας</i>		0	2,387	0,353
		6	3,076	0,332
		14	3,113	0,335

Σύμφωνα με την ANOVA, ο συντελεστής συνεκτικότητας επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από το χρόνο εφαρμογής υπερήχων ($p < 0,05$) και από το χρόνο συντήρησης ($p < 0,05$) (Σχήμα 5.5).

Η αύξηση του χρόνου εφαρμογής υπερήχων είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση του συντελεστή συνεκτικότητας. Η κατάταξη των δειγμάτων κατά φθίνουσα σειρά, καθώς και οι επικαλύψεις των μέσων όρων σύμφωνα με τον έλεγχο των πολλαπλών συγκρίσεων του Tukey είναι οι εξής:

$$\underline{2,5} \quad \underline{5,0} \quad \underline{7,5} \quad 10,0$$

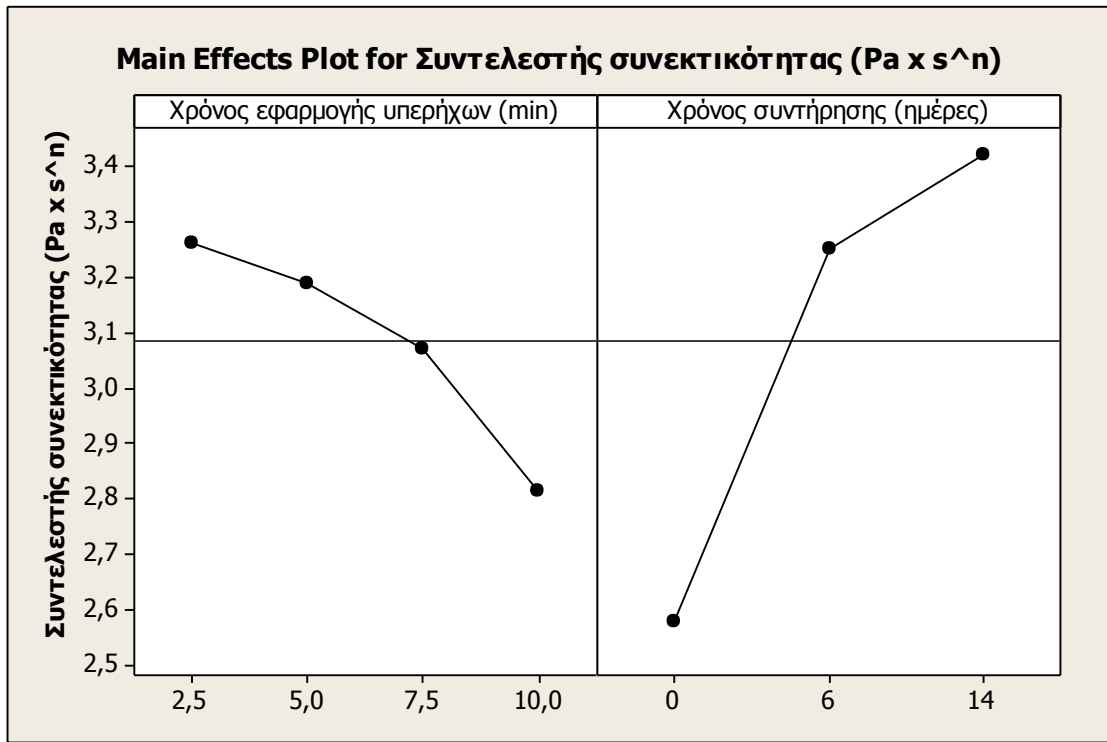
Όπως παρατηρείται στο Σχήμα 5.1, η χρησιμοποίηση μεγάλων χρόνων εφαρμογής υπερήχων οδήγησε σε επιτάχυνση της επώασης εξαιτίας της αυξημένης μεταβολικής δραστηριότητας των μικροοργανισμών. Ωστόσο, όπως προαναφέρθηκε η παραγωγή της κεφίρανης πιθανόν να αυξάνεται σε μη ευνοϊκές για τον πολλαπλασιασμό των βακτηρίων συνθήκες. Αυτό σημαίνει ότι σε μικρούς χρόνους εφαρμογής υπερήχων η παραγωγή της κεφίρανης είναι μεγαλύτερη. Ο συντελεστής συνεκτικότητας αποτελεί μέτρο του ιξώδους των δειγμάτων. Η αύξηση επομένως της συγκέντρωσης του πολυσακχαρίτη αυξάνει τον αριθμό των μορίων του συστήματος με αποτέλεσμα κατά την εφαρμογή της τάσης να αυξάνεται η αντίσταση των μορίων στη ροή και επομένως και το ιξώδες των δειγμάτων. Αύξηση του φαινομενικού ιξώδους μετά την προσθήκη κεφίρανης σε συγκέντρωση μέχρι 300mg/L δειγμάτων όξινων πηκτών γάλακτος, οι οποίες παρασκευάστηκαν με τη χρήση GDL, αναφέρουν οι Rimada & Abraham (2006).

Η αύξηση του χρόνου συντήρησης είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση του συντελεστή συνεκτικότητας. Η κατάταξη των δειγμάτων κατά αύξουσα σειρά, καθώς και οι επικαλύψεις των μέσων όρων σύμφωνα με τον έλεγχο των πολλαπλών συγκρίσεων του Tukey είναι οι εξής:

$$0 < \underline{7,5} \quad 14$$

Η αύξηση της συγκέντρωσης του πολυσακχαρίτη στα δείγματα με εφαρμογή υπερήχων ισχύος 50 W κατά τη διάρκεια συντήρησης τους, είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση του αριθμού των μορίων του συστήματος και επομένως και του ιξώδους των δειγμάτων. Επίσης, και η διάσπαση του πρωτεϊνικού πλέγματος των δειγμάτων με εφαρμογή υπερήχων ισχύος 100 W κατά την αποθήκευσή τους οδήγησε σε αύξηση του αριθμού των

συσσωματωμάτων του συστήματος με αποτέλεσμα να αυξάνεται η αντίσταση τους στη ροή και επομένως και το ιξώδες των δειγμάτων.



Σχήμα 5.5: Επίδραση του χρόνου εφαρμογής υπερήχων και του χρόνου συντήρησης στο συντελεστή συνεκτικότητας των δειγμάτων κεφίρ.

Ο δείκτης ρεολογικής συμπεριφοράς, σύμφωνα με τα αποτελέσματα της ANOVA, δεν επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τους μελετούμενους παράγοντες.

6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα δείγματα κεφίρ εμφάνισαν μειωμένους χρόνους επώασης σε σχέση με το μάρτυρα.

Τα δείγματα κεφίρ που παρασκευάστηκαν από δραστηριοποιημένη καλλιέργεια εκκίνησης με την εφαρμογή ισχύος 100 W εμφάνισαν μειωμένους χρόνους επώασης σε σχέση με τα αντίστοιχα δείγματα, στα οποία εφαρμόστηκε ισχύς 50 W.

Το μικρότερο χρόνο επώασης εμφάνισε το δείγμα που παρασκευάστηκε από κόκκους κεφίρ με εφαρμογή ισχύος 100W για χρόνο 7,5 min.

Η αύξηση του χρόνου συντήρησης προκάλεσε τη μείωση της τιμής pH των δειγμάτων.

Τα δείγματα κεφίρ αμέσως μετά την παρασκευή τους (0 ημέρες συντήρησης) εμφάνισαν μεγαλύτερες τιμές του συντελεστή ελαστικότητας σε σχέση με το μάρτυρα.

Τη μεγαλύτερη τιμή του συντελεστή ελαστικότητας εμφάνισε το δείγμα που παρασκευάστηκε από κόκκους κεφίρ με εφαρμογή υπερήχων ισχύος 50 W για χρόνο 7,5 min.

Η εφαρμογή ισχύος 50 W είχε ως αποτέλεσμα την παραγωγή δειγμάτων, στα οποία παρατηρήθηκε αύξηση της συνεκτικότητας τους κατά τη διάρκεια διατήρησής τους. Αντίθετα, τα δείγματα όπου εφαρμόστηκε ισχύς 100 W εμφάνισαν σημαντική μείωση της συνεκτικότητάς τους κατά τη διάρκεια αποθήκευσής τους.

Η χρησιμοποίηση μεγάλων χρόνων εφαρμογής υπερήχων σε μικρές τιμές ισχύος (50 W) οδήγησε σε μείωση του ιξώδους χαρακτήρα των δειγμάτων. Αντίθετα, ο ιξώδης χαρακτήρας των δειγμάτων αυξήθηκε με τη χρησιμοποίηση μεγάλων τιμών ισχύος (100 W), όταν ο χρόνος έκθεσης στου υπέρηχους ήταν επίσης μεγάλος.

Η εφαρμογή ισχύος 100 W είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση των τιμών της $\tan \delta$ στο τέλος του χρόνου συντήρησης των δειγμάτων. Αντίθετα, η εφαρμογή ισχύος 50 W οδήγησε σε μείωση των τιμών της $\tan \delta$ κατά τη διατήρηση των δειγμάτων.

Η αύξηση του χρόνου εφαρμογής υπερήχων είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση του συντελεστή συνεκτικότητας των δειγμάτων κεφίρ.

Η αύξηση του χρόνου συντήρησης οδήγησε σε αύξηση του συντελεστή συνεκτικότητας.

Ο δείκτης ρεολογικής συμπεριφοράς δεν επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τους μελετούμενους παράγοντες.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ξένη

- Ashokkumar, M., Bhaskaracharya, R., Kentish, S., Lee, J., Palmer, M., & Zisu B., (2010). The ultrasonic processing of dairy products-An overview. *Dairy Science Technology*, 90, 147-168.
- Barton, S., Bullock, C., & Weir, D. (1996). The effects of ultrasound on the activities of some glycosidase enzymes of industrial importance. *Enzyme and Microbial Technology*, 18, 190-194.
- Berliner, S. (1984). Application of ultrasonic processors. *International Biotechnology Laboratory*, 2, 42
- Chemat, F., Huma, Z., & Muhammed Kamran Khan, M. K. (2011). Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18, 813-835.
- Darby, R. (1996). *Chemical engineering fluid mechanics*. New York, Basel, Hong Kong: Marcel Dekker.
- Davidov, R. B., & Sokolovsky, V. P. (1968). *Milk and milk products in human nutrition*. Moscow: Medicina.
- Dogan, M. (2011). Rheological behavior and physicochemical properties of kefir with honey. *Journal of Consumer Protection and Food Safety*, 6, 327-332.
- Farnworth, E. R. (2005). Kefir – a complex probiotic. *Food Science and Technology Bulletin: Functional Foods* 2 (1) 1–17.
- Ferry, J. D. (1980). *Viscoelastic Properties of Polymers*, 3rd Ed. New York: J. Wiley & Sons.
- Garrote, G. L., Abraham, A. G., & De Antoni, G. L. (1997). Preservation of Kefir Grains, a Comparative Study. *Academic Press Limited*, 30, 77–84.
- Koroleva, N. S. (1988). Technology of kefir and koumis. *Bulletin of the International Dairy Federation*, 227, 96-100.
- Libudzisz, Z., & Piatkiewicz, A. (1990). Kefir production in Poland. *Diary Industries International*, 55, 31-33.

- McClements, D. J. (1999). *Food Emulsions: Principles, practice and techniques*. Boca Raton, London, New York, Washington: CRC Press LLC.
- Mohammadi, V., Ghasemi-Varnamkhasi, M., Ebrahimi, R., & Abbasvali M. (2014). Ultrasonic techniques for the milk production industry. *Measurement*, 58, 93-102.
- Nguyen, T. M. P., Lee, Y.K., & Zhou, W. (2009). Stimulating fermentative activities of bifidobacteria in milk by high intensity ultrasound. *International Dairy Journal*, 19, 410-416.
- Otles, S., & Cadingi, O. (2003). Kefir: A probiotic dairy-composition, nutritional and therapeutic aspects. *Pakistan Journal of Nutrition*, 2, 54-59.
- Perry, H. R. (1999). *Perry's Chemical Engineers' Handbook, 7th Edition*. Singapore: McGraw – Hill Book Company.
- Piermaria, J.A., de la Canal, M. L., & Abraham, A. G. (2008). Gelling properties of kefiran, a food-grade polysaccharide obtained from kefir grain. *Food Hydrocolloids*, 22, 1520–1527.
- Rimada, P. S., & Abraham, A. G. (2006). Kefiran improves rheological properties of glucono- δ -lactone induced skim milk gels. *International Dairy Journal*, 16, 33–39.
- Steffe, J. F. (1996). *Rheological methods in food process engineering*. 2nd edition. Freeman Press. USA.
- Tamime, A. Y. & Robinson, R. K. (2007). *Tamine and Robinson's yogurt. Science and technology* (3rd ed.). Boca Raton, Boston, New York, Washington, DC: CRC Press.
- Zajšek, K., Goršek, A., & Kolar, M. (2013). Cultivating conditions effects on kefiran production by the mixed culture of lactic acid bacteria imbedded within kefir grains. *Food Chemistry*, 139, 970–977.

Ελληνική

- Ζερφυρίδης, Γ. (2001). Τεχνολογία προϊόντων γάλακτος – Τυροκομία. Θεσσαλονίκη: Εκδόσεις Γιαχούδη.

- Πετρίδης, Δ. (2000). Εφαρμοσμένη Στατιστική (με έμφαση στην επιστήμη των τροφίμων). 1η Έκδοση. Θεσσαλονίκη: Όμηρος Εκδοτική.