



**ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΚΑΙ
ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΤΕΧΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΔΙΕΘΝΕΣ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΤΗΣ ΕΛΛΑΔΟΣ



ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΧΗΜΙΚΗΣ ΣΥΣΤΑΣΗΣ ΚΑΙ ΤΟΥ
ΧΡΟΝΟΥ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗΣ ΣΤΙΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΥΡΙΟΥ
ΑΛΟΙΦΩΔΟΥΣ ΥΦΗΣ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ
ΕΚΚΙΝΗΣΗΣ ΚΕΦΙΡ

ΚΩΣΤΙΚΙΔΟΥ ΕΛΙΣΑΒΕΤ

ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ 2023

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΧΗΜΙΚΗΣ ΣΥΣΤΑΣΗΣ ΚΑΙ ΤΟΥ ΧΡΟΝΟΥ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗΣ ΣΤΙΣ
ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΥΡΙΟΥ ΑΛΟΙΦΩΔΟΥΣ ΥΦΗΣ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ
ΕΚΚΙΝΗΣΗΣ ΚΕΦΙΡ

Διεθνές Πανεπιστήμιο της Ελλάδος, Σχολή Γεωτεχνικών Επιστημών,
Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, Τ.Θ. 141, Τ.Κ. 57400,
Θεσσαλονίκη

ΚΩΣΤΙΚΙΔΟΥ ΕΛΙΣΑΒΕΤ

Υποβολή μεταπτυχιακής διατριβής που αποτελεί μέρος των απαιτήσεων για την απονομή
του Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης
του Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων

Δήλωση μη λογοκλοπής

Δηλώνω υπεύθυνα ότι είμαι η συγγραφέας αυτής της μεταπτυχιακής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της, είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, έχω κάνει σαφείς αναφορές (συντάκτη, χρονολογία, εργασία, σελίδα) τις όποιες πηγές από τις οποίες κάναμε χρήση δεδομένων, προτάσεων, ιδεών ή λέξεων, είτε αυτές αναφέρονται ακριβώς είτε είναι παραφρασμένες. Καταλαβαίνω ότι η αποτυχία να γίνει αυτό, ανέρχεται σε λογοκλοπή και θα θεωρηθεί λόγος αποτυχίας, σε αυτή την Μεταπτυχιακή Εργασία και του συνολικού βαθμού της.

Όνομα: Κωστικίδου Ελισάβετ

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την καθηγήτρια κα. Δημητρέλη Γεωργία κυρίως για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε, και την υπομονή που έκανε κατά τη διάρκεια υλοποίησης της μεταπτυχιακής εργασίας, όπως επίσης και για την πολύτιμη βοήθεια και καθοδήγηση της, για την επίλυση διάφορων θεμάτων.

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΧΗΜΙΚΗΣ ΣΥΣΤΑΣΗΣ ΚΑΙ ΤΟΥ
ΧΡΟΝΟΥ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗΣ ΣΤΙΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΥΡΙΟΥ
ΑΛΟΙΦΩΔΟΥΣ ΥΦΗΣ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ
ΕΚΚΙΝΗΣΗΣ ΚΕΦΙΡ**

ΚΩΣΤΙΚΙΔΟΥ ΕΛΙΣΑΒΕΤ

Περίληψη

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η επίδραση της χημικής σύστασης και του χρόνου διατήρησης στις φυσικοχημικές, ρεολογικές και μικροβιολογικές ιδιότητες τυριών αλοιφώδους υφής παρασκευασμένων με τη χρήση καλλιέργειας εκκίνησης κεφίρ. Συγκεκριμένα, παρασκευάστηκαν δείγματα, στα οποία πραγματοποιήθηκε προσθήκη πρωτεϊνών γάλακτος σε ποσοστό 2% και κρέμας γάλακτος σε ποσοστό 10%. Επίσης, παρασκευάστηκε και δείγμα μάρτυρας χωρίς προσθήκη κρέμας και πρωτεϊνών γάλακτος. Ως καλλιέργεια εκκίνησης χρησιμοποιήθηκε εμπορική καλλιέργεια κεφίρ. Τα δείγματα εξετάστηκαν αμέσως μετά την παρασκευή τους και μετά την αποθήκευσή τους στους 4°C για 20 και 40 ημέρες. Όσον αφορά τα δείγματα που αποθηκεύτηκαν στους 4°C, συσκευάστηκαν τόσο σε κενό, όσο και σε περιβάλλον τροποποιημένης ατμόσφαιρας (30% CO₂ και 70% N₂). Οι φυσικοχημικές αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν περιλάμβαναν τον προσδιορισμό του pH, της υγρασίας, του λίπους και των πρωτεϊνών. Όσον αφορά τις ρεολογικές ιδιότητες των δειγμάτων, μελετήθηκαν εφαρμόζοντας δύο δοκιμές μικρής παραμόρφωσης (δυναμική δοκιμή και δοκιμή ερπυσμού) και προσδιορίζοντας το ιξώδες τους. Από τη δυναμική δοκιμή υπολογίστηκε ο συντελεστής ελαστικότητας και η $\tan \delta$, από τη δοκιμή ερπυσμού προσδιορίστηκαν η στιγμιαία ελαστικότητα και η καθυστερούμενη ελαστικότητα, ενώ από τις καμπύλες ροής υπολογίστηκαν το φαινομενικό ιξώδες στα 40s⁻¹. Οι μικροβιολογικές αναλύσεις περιλάμβαναν τον προσδιορισμό των οξυγαλακτικών βακτηρίων, των ζυμών και των κολοβακτηριοειδών.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, η προσθήκη πρωτεϊνών γάλακτος προκάλεσε την αύξηση της απόδοσης, της τιμής pH, της υγρασίας, της συγκέντρωσης των πρωτεϊνών, του φαινομενικού ιξώδους, του συντελεστή ελαστικότητας, της στιγμιαίας ελαστικότητας και της καθυστερούμενης ελαστικότητας των δειγμάτων. Η προσθήκη κρέμας γάλακτος οδήγησε σε αύξηση της απόδοσης, της λιποπεριεκτικότητας των δειγμάτων και των τιμών της $\tan \delta$, ενώ προκάλεσε τη μείωση της υγρασίας, του φαινομενικού ιξώδους και της στιγμιαίας ελαστικότητας. Ο πληθυσμός των οξυγαλακτικών βακτηρίων και των ζυμών δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντική μεταβολή, ενώ κολοβακτηριοειδή δε βρέθηκαν σε κανένα δείγμα. Τα δείγματα που συσκευάστηκαν υπό κενό παρουσίασαν αύξηση της τιμής pH και μείωση όλων των ρεολογικών ιδιοτήτων εκτός από την $\tan \delta$, η οποία αυξήθηκε, και την καθυστερούμενη ελαστικότητα που δεν επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά, κατά την αποθήκευσή τους στην ψύξη για 40 ημέρες. Σε αντίθεση, η εφαρμογή MAP διατήρησε αμετάβλητες τις ιδιότητες των δειγμάτων κατά την αποθήκευσή τους.

Abstract

In the present study, we investigated the impact of chemical composition and preservation time on the physicochemical, rheological, and microbiological properties of spreadable-type cheeses prepared using a kefir starter culture. Specifically, created products with added milk proteins at 2% and cream at 10%, as well as a control sample without the addition of cream and milk proteins. To initiate fermentation, a commercial kefir culture was used as a starter culture. Samples were analyzed both immediately after preparation and following storage for 20 and 40 days at 4°C. The products stored at 4°C were packed in both vacuum and modified atmosphere environments (30% CO₂ and 70% N₂). Physicochemical analyses were conducted, including pH, moisture, milk fat, and protein determination. Rheological properties of the products were studied using two small deformation tests (dynamic and creep tests) to determine viscosity. From the dynamic test, the elastic modulus and $\tan \delta$ were calculated. The creep test provided data for the instantaneous and retardant elasticity. The flow curves allowed for the calculation of the apparent viscosity at 40s⁻¹. Technical abbreviations will be fully explained upon their initial use. Microbiological analyses involved identifying lactic acid bacteria, yeasts, and coliforms. Technical term abbreviations are explained when first used.

According to the results, milk protein addition resulted in a rise in yield, pH value, moisture content, protein concentration and elasticity coefficients of the samples. Cream addition led to an increase in yield and milk fat content of the samples, along with raised $\tan \delta$ values. However, it also caused a decrease in moisture content, apparent viscosity, and instantaneous elasticity. The population of lactic acid bacteria and yeasts remained statistically stable, whereas no coliforms were detected in any samples. During storage time for 40 days, vacuum-packed products exhibited an increase in pH and a decrease in all rheological properties except for $\tan \delta$, which increased, and delayed elasticity, which was not significantly impacted. On the other hand, samples treated with MAP remained unaffected throughout their storage time.

Περιεχόμενα

Δήλωση μη λογοκλοπής	i
Ευχαριστίες	ii
Περίληψη	iii
Abstract	iv
1. Εισαγωγή	1
2. Βιβλιογραφική ανασκόπηση	2
2.1. Διατροφή και υγεία.....	2
2.2. Λειτουργικά τρόφιμα.....	2
2.2.1. Προβιοτικά	5
2.2.2. Πρεβιοτικά.....	7
2.3. Προϊόντα ζύμωσης	9
2.3.1. Τυριά αλοιφώδους υφής	10
2.3.2. Παρασκευή τυριών αλοιφώδους υφής.....	12
2.3.3. Ποιότητες και ελαττώματα των τυριών αλοιφώδους υφής	15
2.3.4. Αξιολόγηση τυριών αλοιφώδους υφής.....	16
2.3.5. Πρόσφατες μελέτες στα τυριά αλοιφώδους υφής.....	16
2.3.6. Πήξη του γάλακτος.....	17
2.3.7. Παράγοντες που επηρεάζουν την πήξη του γάλακτος.....	18
2.4. Κεφίρ	19
2.4.1. Χαρακτηριστικά του κεφίρ.....	21
2.4.2. Κόκκοι του κεφίρ	22
2.4.3. Διατηρησιμότητα του κεφίρ	23
2.4.4. Μέθοδοι παρασκευής του κεφίρ.....	24
2.4.5. Βιολογικά συστατικά του κεφίρ	25
2.4.6. Οφέλη του κεφίρ.....	26
3. Σκοπός της εργασίας.....	28
4. Υλικά και μέθοδοι.....	29
4.1. Υλικά.....	29
4.2. Κωδικοποίηση δειγμάτων	29
4.3. Παρασκευή δειγμάτων	29
4.4. Φυσικοχημικές αναλύσεις	30
4.4.1. Προσδιορισμός pH	30
4.4.2. Προσδιορισμός ξηρής ουσίας.....	30

4.4.3. Προσδιορισμός λίπους.....	30
4.4.4. Προσδιορισμός πρωτεϊνών.....	31
4.5. Μελέτη ρεολογικών ιδιοτήτων.....	32
4.5.1. Δυναμική δοκιμή.....	32
4.5.2. Δοκιμή ερπυσμού.....	33
4.5.3 Προσδιορισμός ιξώδους.....	33
4.6. Μικροβιολογικές Αναλύσεις.....	34
4.7. Στατιστικός έλεγχος.....	36
5. Αποτελέσματα και Συζήτηση.....	37
5.1 Απόδοση.....	37
5.2 Φυσικοχημικές ιδιότητες.....	38
5.3 Ρεολογικές ιδιότητες.....	42
5.4 Μικροβιολογικές αναλύσεις.....	48
5.5 Επίδραση της συσκευασίας και του χρόνου αποθήκευσης.....	48
6.Συμπεράσματα.....	54
7.Προτάσεις για μελλοντική έρευνα.....	55
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	56

1. Εισαγωγή

Τα τελευταία χρόνια, μεγάλος αριθμός ερευνών αλλά και η καθημερινή πρακτική πολλών ανθρώπων, έχουν επιβεβαιώσει και αναδείξει τη σημαντική συμβολή της μεσογειακής διατροφής στην υγεία του ανθρώπου. Η αξία αυτή αντανακλά στη σωστή και ισορροπημένη ανάπτυξη των νεαρών ατόμων, αλλά και στην καλή υγεία και ευεξία που επιδεικνύουν εν γένει οι πληθυσμοί που έχουν ενσωματώσει στις διατροφικές τους συνήθειες, εκείνες τις τροφές, οι οποίες παραδοσιακά απαντώνται στο διαιτολόγιο των λαών της λεκάνης της Μεσογείου.

Η μεσογειακή διατροφή περιλαμβάνει μια ποικιλία υγιεινών και συνάμα απολαυστικών τροφίμων, ικανών να παρέχουν όλα όσα χρειάζεται ένας άνθρωπος, όχι μόνο για να ανταπεξέλθει στις καθημερινές απαιτήσεις του οργανισμού, αλλά και για να προστατευτεί κατά το δυνατόν από διάφορα νοσήματα και δυσλειτουργίες, όπως στεφανιαία νόσο, σακχαρώδη διαβήτη, παχυσαρκία αλλά και από ορισμένες μορφές καρκίνου όπως του παχέος εντέρου.

Βασικό πυλώνα της μεσογειακής διατροφής αποτελούν τα γαλακτοκομικά προϊόντα. Φυσικά, γαλακτοκομικά προϊόντα υπάρχουν στις περισσότερες διατροφικές κουλτούρες ανά τον κόσμο. Αυτό όμως που κάνει την καθεμία να ξεχωρίζει είναι ο τρόπος με τον οποίο έχει ενσωματώσει ο κάθε λαός τα γαλακτοκομικά προϊόντα και κυρίως οι διαφορετικές μέθοδοι επεξεργασίας του γάλακτος που εφαρμόζονται. Προκύπτουν λοιπόν αναρίθμητα διαφορετικά προϊόντα όσον αφορά τη σύσταση, την υφή, τη διατροφική αξία και τη γεύση, παρόλο που προέρχονται από την ίδια πρώτη ύλη.

Σε κάποιες μάλιστα περιπτώσεις, προκύπτουν προϊόντα τα οποία έχουν αποκτήσει ιδιαίτερες ευεργετικές ιδιότητες, πέραν της αμιγώς διατροφικής τους αξίας που αφορά στα παρεχόμενα θρεπτικά συστατικά. Ανήκουν δηλαδή, στην κατηγορία εκείνη των τροφίμων που ονομάζονται 'λειτουργικά'. Σ' αυτά συγκαταλέγεται και το ρόφημα κεφίρ, ένα παράγωγο του γάλακτος που έχει τις ρίζες του στους λαούς περιοχών εγγύς της ανατολικής μεσογείου, και το οποίο προκύπτει από ζύμωση μέσω της επώασής του με τη μικροχλωρίδα που περιέχεται στους κόκκους κεφίρ (Dimitrellou et al., 2008; Kivanc & Yarıci, 2015; Awaisheh et al., 2016).

Τα τυριά αλοφώδους υφής είναι λευκά, ελαφρώς όξινα και έχουν γεύση και άρωμα διακετυλίου, ενώ η επιφάνειά τους είναι λεία και χωρίς διαχωρισμό ορού. Η παρασκευή τους όπως περιγράφεται και στο άρθρο ανασκόπησης (Phadungath, 2005) πραγματοποιείται χρησιμοποιώντας καλλιέργειες οξυγαλακτικών βακτηρίων. Τα τυριά αυτά διατηρούνται απαραίτητα σε χαμηλές θερμοκρασίες (συνθήκες ψύξης) και έχουν σύντομη χρονική διάρκεια κατά την οποία μπορούν να καταναλωθούν. Τα τυριά αυτού του τύπου μπορούν να καταναλωθούν αμέσως μετά την παρασκευή τους, χωρίς να απαιτείται ωρίμανση (Fox et al., 2004).

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η δημιουργία ενός καινοτόμου τυριού αλοφώδους υφής, που ως καλλιέργεια εκκίνησης θα χρησιμοποιούνταν κεφίρ, για την εκμετάλλευση των ευεργετικών της ιδιοτήτων, καθώς και η μελέτη της επίδρασης της προσθήκης πρωτεϊνών γάλακτος και της λιποπεριεκτικότητας του γάλακτος στα φυσικοχημικά, ρεολογικά και μικροβιολογικά χαρακτηριστικά των δειγμάτων κατά την αποθήκευσή τους.

2. Βιβλιογραφική ανασκόπηση

2.1. Διατροφή και υγεία

Η αναγνώριση της κεφαλαιώδους σημασίας που έχει η διατροφή στην ανθρώπινη υγεία ήταν κοινός τόπος από την αρχαιότητα, όταν ο πατέρας της Ιατρικής, Ιπποκράτης, προέτρεπε στην υιοθέτηση μιας ισορροπημένης διατροφής (Hasler, 2002), τονίζοντας επιπλέον «Το φάρμακο σας γίνει η τροφή σας και η τροφή σας γίνει το φάρμακο σας». Η ρήση αυτή έτεινε να απαξιωθεί κατά τον 19^ο αιώνα, θύμα της περιφρόνησης των παλαιών συνηθειών υπό την επήρεια του γενικού κλίματος έπαρσης που καλλιέργησε η αλματώδης ανάπτυξη των τεχνολογικών επιστημών και ειδικότερα της θεραπευτικής αγωγής με τη χρήση φαρμακευτικών σκευασμάτων. Σύντομα, ωστόσο, βαδίζοντας στον 20^ο αιώνα, ο σημαντικός ρόλος της διατροφής στην πρόληψη ασθενειών καθώς και στην εν γένει προαγωγή της υγείας των ανθρώπων, επανήλθε στο προσκήνιο.

Κατά το πρώτο μισό του 20^{ου} αιώνα, η επιστημονική κοινότητα επικεντρώθηκε στην ταυτοποίηση στοιχειωδών συστατικών, συγκεκριμένα των βιταμινών, στα τρόφιμα, και στη μελέτη του ρόλου τους στην πρόληψη διαφόρων ασθενειών των οποίων η αιτιολογία αποδίδεται συνήθως στην ελλιπή πρόσληψη αυτών των συστατικών. Ωστόσο, σταδιακά η προσοχή μετατοπίστηκε στο άλλο άκρο, ώστε κατά τη διάρκεια της δεκαετίας του 1970 να παρατηρείται μετάβαση από τον όρο ‘υποσιτισμό’ στον ‘υπερσιτισμό’, ο οποίος εν τω μεταξύ είχε αρχίσει να συνδέεται με μεγάλες ανησυχίες όσον αφορά στην δημόσια υγεία. Προς απάντηση αυτών των προβληματισμών, εκδόθηκαν μια πλειάδα οδηγιών από διάφορους φορείς στις Η.Π.Α., στοχεύοντας στην ευαισθητοποίηση του πληθυσμού όσον αφορά στη σημασία της υιοθέτησης ενός διαιτολογίου με χαρακτηριστικά τη χαμηλή περιεκτικότητα σε κορεσμένα λίπη και την υψηλή σε λαχανικά, φρούτα, προϊόντα ολικής αλέσεως και όσπρια, ώστε να μειωθεί ο κίνδυνος εμφάνισης χρόνιων νοσημάτων όπως καρδιακές παθήσεις, καρκίνος, οστεοπόρωση, διαβήτης και εγκεφαλικά (Hasler, 2002).

Παράλληλα, ξεκίνησε η ανίχνευση άλλων φυσιολογικώς ενεργών συστατικών των τροφίμων, φυτικής ή ζωικής προέλευσης (γνωστών ως φυτοχημικά και ζωοχημικά αντίστοιχα) τα οποία δυνητικά μειώνουν τον κίνδυνο εμφάνισης τέτοιων νοσημάτων. Έτσι, ποικίλοι παράγοντες όπως ο γηράσκοντας πληθυσμός, η ευαισθητοποίηση του κόσμου σε θέματα υγείας, οι αλλαγές στο κανονιστικό πλαίσιο, οι πολυάριθμες τεχνολογικές εξελίξεις και μια αγορά έτοιμη να υποδεχθεί προϊόντα υγιεινής διατροφής, συνέτειναν ώστε να διαμορφωθεί το ρεύμα των ‘λειτουργικών τροφών’ (Guine et al., 2004).

2.2. Λειτουργικά τρόφιμα

Ο όρος λειτουργικά τρόφιμα εισήχθη τα τελευταία χρόνια στις επιστήμες υγείας και διατροφής, χωρίς όμως να υπάρχει απόλυτη σύμπνοια όσον αφορά τον ορισμό αυτό. Επιχειρώντας μια σύνθεση των διαφορετικών προσεγγίσεων, μπορούμε να πούμε ότι λειτουργικά ονομάζονται εκείνα τα τρόφιμα τα οποία, είτε στην ολότητά τους είτε ενισχυμένα, εμπλουτισμένα ή

βελτιωμένα, παρέχουν ευεργετήματα υγείας πέραν των βασικών θρεπτικών συστατικών (π.χ. βιταμίνες και μεταλλικά στοιχεία), όταν καταναλώνονται σε επαρκείς ποσότητες ως μέρος μιας ισορροπημένης διατροφής σε συστηματική βάση (Hardy, 2000; Guine et al., 2004; Milner, 1999; Natarajan et al., 2019).

Ιστορικά, η πρώτη εμφάνιση του όρου προέρχεται από το Υπουργείο Υγείας της Ιαπωνίας στη δεκαετία του 1980, σε μια προσπάθεια να θεσπιστεί ένα κανονιστικό σύστημα πιστοποίησης συγκεκριμένων τροφίμων με τεκμηριωμένα οφέλη στη υγεία, ελπίζοντας με αυτό τον τρόπο στη βελτίωση της υγείας ενός πληθυσμού που γερνάει πληθυσμού υπό το φάσμα του αυξανόμενου κόστους υγειονομικών παροχών. Τα συγκεκριμένα τρόφιμα, αποκτώντας μέσω αυτού του πλαισίου το δικαίωμα να φέρουν αντίστοιχη σήμανση, μπορούσαν πλέον να αναγνωρίζονται ως ‘Τρόφιμα για Συγκεκριμένη Χρήση Υγείας’ (Foods for Specified Health Use – FOSHU) (International Life Sciences Institute, 1999).

Στη συνέχεια διατυπώθηκαν κι άλλοι ορισμοί, ο καθένας από τους οποίους δίνει έμφαση σε διαφορετικές πτυχές των χαρακτηριστικών τους:

- ‘οποιοδήποτε τροποποιημένο τρόφιμο ή συστατικό του το οποίο μπορεί να παρέχει κάποιο όφελος για την υγεία, πέραν των παραδοσιακών θρεπτικών συστατικών που περιέχει’ (Επιτροπή Διατροφής και Υγείας της Εθνικής Ακαδημίας Επιστημών, 1994)
- ‘τρόφιμα τα οποία χάρη στην παρουσία φυσιολογικών ενεργών συστατικών, παρέχουν όφελος για την υγεία πλέον της βασικής διατροφικής αξίας’ (Διεθνές Ινστιτούτο Επιστημών για τη Ζωή)
- ‘τρόφιμα τα οποία είναι στην ολότητά τους, ενισχυμένα, εμπλουτισμένα ή βελτιωμένα’ αλλά κυρίως ‘καταναλώνονται στα πλαίσια μιας ποικιλόμορφης δίαιτας σε αποτελεσματικά επίπεδα και σε κανονική βάση’ ώστε να μπορεί κανείς να θρέψει τα δυνητικά οφέλη τους για την υγεία (Αμερικανικός Διαιτητικός Σύνδεσμος)
- ‘τρόφιμα, σε φυσική (μη τεχνητή) μορφή, τα οποία επηρεάζουν ευεργετικά μία ή περισσότερες λειτουργίες στο σώμα - πέραν της επαρκούς διατροφικής πρόσληψης - κατά τέτοιο τρόπο ώστε να προκύπτει βελτίωση της κατάστασης υγείας και/ή μείωση της πιθανότητας για εμφάνιση ασθενειών (Ευρωπαϊκή Επιτροπή)

Από τους διάφορους ορισμούς μπορούμε να εξάγουμε τα εξής κοινά στοιχεία:

- σαφής αναφορά στα διακριτά οφέλη για την υγεία
- αναφορά σε κάποιου είδους διεργασία ή και επεξεργασία μέσω της οποίας επιτυγχάνεται είτε ο εμπλουτισμός της τροφής με ωφέλιμα στοιχεία είτε η εκκαθάρισή της από επιζήμια συστατικά
- βελτιστοποιημένη πρόσληψη των ωφέλιμων συστατικών
- βρίσκεται σε φυσική μορφή, όχι σε μορφή φαρμακευτικού σκευάσματος

Αναλόγως του τρόπου με τον οποίο ένα τρόφιμο καθίσταται ‘λειτουργικό’ διακρίνονται διάφορες περιπτώσεις (Guine et al., 2004; Natarajan et al., 2019). Έτσι, υπάρχουν τρόφιμα που χαρακτηρίζονται από υψηλή περιεκτικότητα σε λειτουργικά συστατικά είτε εκ φύσεως είτε παραγόμενα από φυσικές πηγές μέσω μιας φυσικής διαδικασίας. Υπάρχουν, από την άλλη μεριά, τα τρόφιμα τα οποία έχουν αποκτήσει λειτουργικότητα αφού έχουν υποστεί κάποια

επεξεργασία. Έτσι, μπορεί να έχουν βελτιωθεί ώστε να αυξηθεί η περιεκτικότητά τους σε κάποιο ωφέλιμο για την υγεία συστατικό. Μπορεί να έχουν ενισχυθεί με ένα συστατικό το οποίο έχει θετική επίδραση στην υγεία, ή να έχουν εμπλουτιστεί με ένα τέτοιο συστατικό, το οποίο συνήθως δεν βρίσκεται στα τρόφιμα. Τέλος, μπορεί να έχουν τροποποιηθεί ώστε να αντικατασταθεί ή να εξαλειφθεί κάποιο συστατικό το οποίο θεωρείται επιζήμιο για την υγεία.

Όσον αφορά στο όφελος στην υγεία, η λειτουργικότητα των τροφίμων σχετίζεται με τη συμβολή τους στη βελτίωση «παραγωγής υγείας» (π.χ. προβιοτικά/πρεβιοτικά), τη συνεισφορά τους στη μείωση του κινδύνου εμφάνισης κάποιου νοσήματος (π.χ. ευεργετική δράση των φυτοστερόλων στην πρόληψη καρδιαγγειακών παθήσεων) και τη βελτίωση που μπορεί να επιφέρουν στην πνευματική και σωματική ευεξία των ατόμων που έχουν μια τέτοια ανάγκη και στα πλαίσια, φυσικά, μιας ισορροπημένης διατροφής (Hardy, 2000; Milner, 1999).

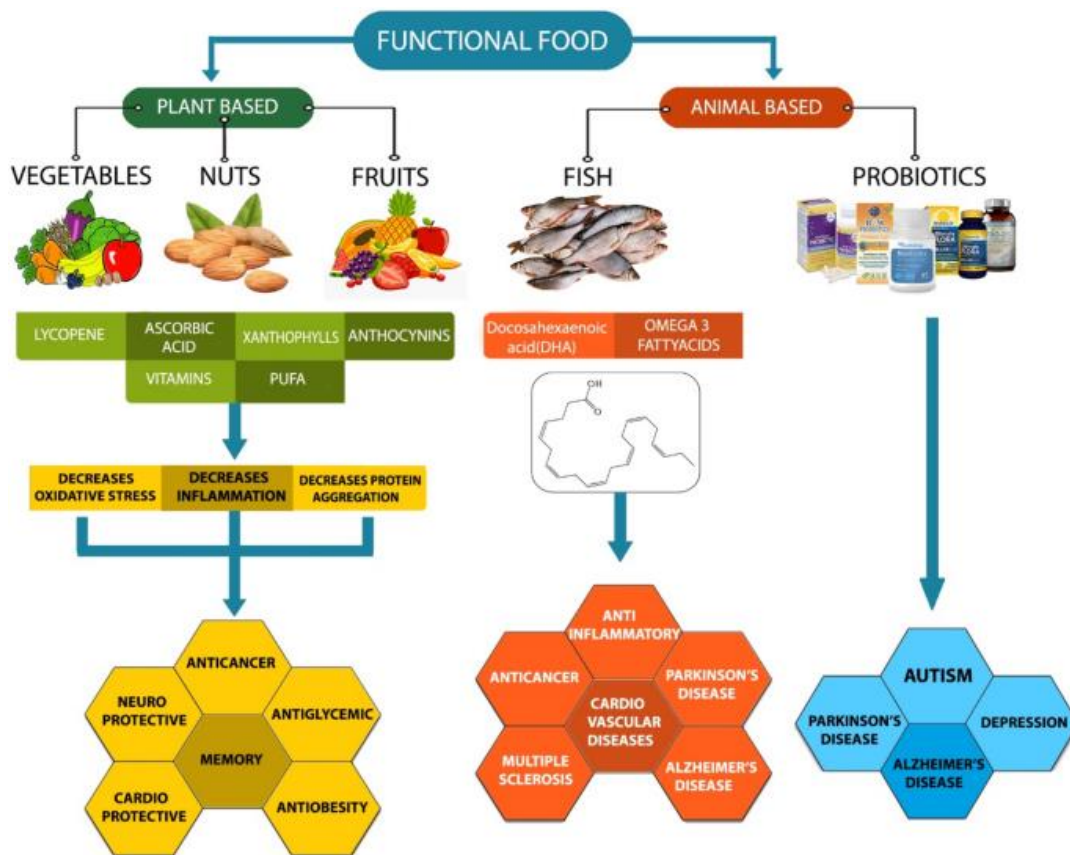
Υπάρχουν διάφοροι λόγοι για τους οποίους αποδεικνύεται ότι τα λειτουργικά τρόφιμα αποτελούν ένα από τα πιο ενεργά πεδία στις επιστήμες της διατροφής σήμερα (Hasler, 2002). Αυτοί είναι: α) η έμφαση στην έρευνα που αφορά στη διατροφή αλλά και στην ιατρική και κυρίως στη συσχέτισή τους, β) το γεγονός του ευνοϊκού κανονιστικού πλαισίου, γ) το φαινόμενο του συνειδητοποιημένου πλέον όσο αφορά στην υγεία του ανθρώπου, δ) της ραγδαίας ανάπτυξης στην αγορά των υγιεινών τροφών και των προϊόντων που προάγουν την καλή υγεία. Άλλωστε, με βάση το Department of Health and Human Services, οι διατροφικές συνήθειες του ανθρώπου σχετίζονται με τις δυσμενείς συνέπειες στην υγεία του ανθρώπου. Ο τρόπος που τρέφεται ένας άνθρωπος και κυρίως η κατανάλωση κορεσμένων λιπαρών, χοληστερόλης, νατρίου και επεξεργασμένης ζάχαρης, έχει συνδεθεί απόλυτα με τις αιτίες θανάτου, κυρίως στις ΗΠΑ και στις υπόλοιπες αναπτυγμένες χώρες.

Από ό,τι φαίνεται τα περισσότερα ευεργετικά συστατικά βρίσκονται σε τρόφιμα φυτικής προέλευσης, παρόλα αυτά υπάρχει μία πλειάδα συστατικών που απαντούν και σε τρόφιμα ζωικής ή μικροβιακής προέλευσης. Μία απεικόνιση των λειτουργικών τροφίμων παρουσιάζεται στο Σχήμα 1.

Τα λειτουργικά τρόφιμα λοιπόν διακρίνονται στα τρόφιμα φυτικής προέλευσης που περιλαμβάνουν λαχανικά, καρπούς και φρούτα και στα ζωικής προέλευσης που περιλαμβάνουν κατά κύριο λόγο ψάρια και προβιοτικά.

Αν και υπάρχουν κάποιες αποδείξεις για τη χρησιμότητα των λειτουργικών τροφίμων και τον ρόλο τους στην πρόληψη ασθενειών και την προαγωγή της υγείας, είναι αναγκαία η συνθήκη της ασφάλειας της κατανάλωσης τέτοιων τροφίμων και συστατικών. Για να διασφαλιστεί αυτή η συνθήκη θα πρέπει:

- να αναπτύσσονται και να δημοσιεύονται κατευθυντήριες οδηγίες στη βιομηχανία, με τα στοιχεία που απαιτούνται για την τεκμηρίωση της ασφάλειας των νέων διατροφικών συστατικών στα συμπληρώματα διατροφής.
- να αναπτύσσονται και να δημοσιεύονται κατευθυντήριες οδηγίες στη βιομηχανία, για τις πληροφορίες που απαιτούνται στις ετικέτες για τα συμπληρώματα διατροφής και τα λειτουργικά τρόφιμα
- να αναπτύσσεται ένα βελτιωμένο σύστημα καταγραφής και ανάλυσης αναφορών προβλημάτων υγείας που σχετίζονται με λειτουργικά τρόφιμα και συμπληρώματα διατροφής.



Σχήμα 1. Διάκριση λειτουργικών τροφίμων - Επίδραση στην υγεία.

2.2.1. Προβιοτικά

Όπως φαίνεται και στο Σχήμα 1 μία κατηγορία λειτουργικών τροφίμων ζωικής προέλευσης είναι τα προβιοτικά. Για τον τύπο αυτό των λειτουργικών τροφίμων υπάρχει σε ένα βαθμό και τεκμηρίωση της θετικής τους επίδρασης στην υγεία σε διάφορα συστήματα, πολύ περισσότερο δε στο γαστρεντερικό. Η λέξη είναι σύνθετη και προέρχεται από τη λατινική λέξη pro και τη λέξη βίος που σημαίνει «για τη ζωή». Κατά τον Οργανισμό Τροφίμων και Γεωργίας των Ηνωμένων Εθνών (FAO) ως προβιοτικά ορίζονται ζωντανοί, μη παθογόνοι, μικροοργανισμοί¹ (βακτήρια ή ζύμες) οι οποίοι όταν λαμβάνονται σε επαρκείς ποσότητες βελτιώνουν την ισορροπία της εντερικής μικροχλωρίδας, επιφέροντας το αντίστοιχο όφελος στην υγεία του ξενιστή (Sanders et al., 2018). Τα βακτήρια του γαλακτικού οξέος (LAB) θεωρούνται τα σημαντικότερα προβιοτικά, με ευεργετικά αποτελέσματα στον ανθρώπινο γαστρεντερικό σωλήνα.

Ο όρος προβιοτικό αρχικά αναφέρθηκε σε μ/ο που έχουν επιπτώσεις σε άλλους μ/ο (Lilly & Stilwell, 1965), κυρίως μέσω της διέγερσης της ανάπτυξης ενός μ/ο εξαιτίας ουσιών που εκκρίνονται από έναν άλλον μ/ο. Αργότερα, χρησιμοποιήθηκε για να περιγράψει εκχυλίσματα ιστών που διεγείρουν την ανάπτυξη μικροβίων. Ο όρος τελικά υιοθετήθηκε από τον Parker, με

¹ Χάρην συντομίας η λέξη μικροοργανισμός θα γράφεται με τη συντόμηση μ/ο.

βάση τον οποίο είναι οργανισμοί και ουσίες με ευεργετική επίδραση στον ξενιστή συμβάλλοντας στην εντερική ισορροπία του. Τελικά κατά τον Fuller, τα προβιοτικά είναι ζωντανά μικροβιακά συμπληρώματα που επηρεάζουν επωφελώς και βελτιώνουν την εντερική μικροχλωρίδα. Τονίστηκαν έτσι δύο σημαντικές αξιώσεις για τα προβιοτικά: η βιώσιμη φύση των προβιοτικών και η ικανότητά τους να βοηθήσουν στην ισορροπία του εντέρου. Πρόσφατα, δόθηκε ένας ακόμα ορισμός για τα προβιοτικά που χαρακτηρίστηκαν ως ζωντανοί μ/ο που αντέχουν στις γαστρικές, χολικές και παγκρεατικές εκκρίσεις, προσκολλώνται στα επιθηλιακά κύτταρα και δημιουργούν αποικίες στο έντερο του ανθρώπου (Del Piano et al., 2006).

Οι καλλιέργειες και τα προϊόντα γάλακτος που περιέχουν τέτοια συστατικά λόγω της ζύμωσης που έχει υποστεί, και συνεπώς σημαντικές ευεργετικές ιδιότητες έχουν μακρά ιστορική διαδρομή (Binda et al., 2014). Οι προβιοτικοί αυτοί οργανισμοί είναι απαραίτητο να διατηρούν τη ζωτικότητα τους κατά τη διάρκεια των τεχνολογικών διεργασιών που υφίσταται το τρόφιμο αλλά και κατά τη διάρκεια της διέλευσής του από το γαστρεντερικό σωλήνα. Επίσης, είναι απαραίτητο να μπορούν να ακινητοποιηθούν στο επιθήλιο του εντέρου, να έχουν ανταγωνιστική δράση έναντι παθογόνων μ/ο καθώς και να είναι ανθεκτικοί στα αντιβιοτικές ουσίες. Τα προβιοτικά διατηρούνται ζωντανά όταν βρίσκονται σε λυοφιλωμένη μορφή, καθώς και όταν εμβολιάζονται σε ζυμωμένα προϊόντα γάλακτος. Η μορφή αυτή είναι και αυτή που βρίσκει τη μεγαλύτερη αποδοχή από τους καταναλωτές.

Σήμερα τα προβιοτικά προϊόντα κερδίζουν διαρκώς έδαφος στην αγορά (Πίνακας 1), κυρίως στις αναπτυγμένες χώρες της Ευρώπης, στην Αμερική, την Αυστραλία και την Ιαπωνία. Στην Ευρώπη, τα γαλακτοκομικά προϊόντα καλύπτουν ένα μεγάλο μέρος στην αγορά των προβιοτικών, με τα γιαούρτια και τα ζυμωμένα προϊόντα γάλακτος να έχουν τη μεγαλύτερη κατανάλωση. Μερικά από τα προβιοτικά τρόφιμα μάλιστα, εμπλουτίζονται και με αν βιοενεργά συστατικά όπως φυτικές στανόλες και στερόλες, που μειώνουν τα επίπεδα της χοληστερόλης (Hilliam et al., 1998).

Πίνακας 1. Προβιοτικοί μ/ο που χρησιμοποιούνται στη διατροφή του ανθρώπου.

Είδη <i>Lactobacillus</i>	Είδη <i>Bifidobacterium</i>	Άλλα βακτήρια γαλακτικού οξέος	Άλλοι Μικροοργανισμοί
<i>L. plantarum</i> ^{(β), *}	<i>B. longum</i> ^{(α), *}	<i>Lactococcus lactis</i> ^(β)	<i>Bacillus clausii</i> ^{(α), *}
<i>L. acidophilus</i> ^{(α), *}	<i>B. catenulatum</i> ^(α)	<i>Enterococcus faecium</i> ^(α)	<i>Echerichia coli</i> Nissle 1917 ^(α)
<i>L. casei</i> ^{(α), (β), *}	<i>B. breve</i> ^(β)	<i>Streptococcus thermophilus</i> ^{(α), *}	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (<i>bulardi</i>) ^{(α), *}
<i>L. rhamnosus</i> ^{(α), (β), *}	<i>B. animalis</i> ^{(α), *}		
<i>L. gasseri</i> ^{(α), *}	<i>B. bifidum</i> ^(α)		
<i>L. reuteri</i> ^{(α), *}	<i>B. infantis</i> ^(α)		
<i>L. amylovorus</i> ^{(β), *}	<i>B. adoloscensis</i> ^(α)		
<i>L. helveticus</i> ^{(α), *}			
<i>L. johnsonii</i> ^{(β), *}			
<i>L. pentosus</i> ^{(β), *}			

(α) κυρίως σε φαρμακευτικά προϊόντα, (β) κυρίως ως πρόσθετα τροφίμων, *QPS (Qualified Presumption of Safety) μικροοργανισμοί

Μέχρι πρόσφατα, η επιστημονική έρευνα για τα οφέλη των προβιοτικών ήταν περιορισμένη, κυρίως λόγω της πολυπλοκότητας του οικοσυστήματος του εντέρου. Τα προϊόντα που περιέχουν προβιοτικά απέκτησαν μεγαλύτερο ενδιαφέρον τον 21^ο αιώνα λόγω της εκτεταμένης έρευνας που έχει προχωρήσει με την εφαρμογή μοριακών τεχνικών καθώς έχει γίνει σημαντική πρόοδος στον χαρακτηρισμό συγκεκριμένων προβιοτικών, στην κατανόηση των μηχανισμών δράσης τους και στις επιπτώσεις τους στην υγεία, με αποτέλεσμα τη στροφή της βιομηχανίας τροφίμων και των καταναλωτών προς την κατεύθυνση αυτή. Οι προβιοτικοί μ/ο που χρησιμοποιούνται στη διατροφή του ανθρώπου φαίνονται στον πίνακα που ακολουθεί (Markowiak & Slizewska, 2017; EFSA et al., 2020).

Η δράση των προβιοτικών βασίζεται στην αναπλήρωση των μ/ο που απουσιάζουν φυσικά από τη μικροχλωρίδα του εντέρου ενός ανθρώπου. Λαμβάνονται ως συμπλήρωμα διατροφής αλλά ενσωματώνονται και σε τρόφιμα όπως τα ροφήματα γάλακτος, τα επιδόρπια γιαουρτιού, το κεφίρ και το μίσο (ασιατικό καρύκευμα).

2.2.2. Πρεβιοτικά

Οι Ιάπωνες αναγνώρισαν και την αξία των ζυμώσιμων ολιγοσακχαριτών, αρχικά στη σίτιση χοιριδίων και αργότερα, στη δεκαετία του '80, με την ταυτοποίηση των ολιγοσακχαριτών του ανθρώπινου γάλακτος. Όμως, ο όρος πρεβιοτικό εμφανίζεται για πρώτη φορά στα μέσα της δεκαετίας του '90 και εξακολουθεί να μην υπάρχει ένας κοινά αποδεκτός ορισμός μέχρι σήμερα. Η λέξη πρεβιοτικό καθορίστηκε αρχικά από τους Gibson & Roberfroid το 1995, οι οποίοι αντικατέστησαν το πρόθεμα *pro* με το *pre* για να περιγράψουν τα μη αφομοιώσιμα συστατικά τροφίμων τα οποία είναι ωφέλιμα για τον ξενιστή διεγείροντας επιλεκτικά την ανάπτυξη ή/και τη δραστηριότητα ενός ή ενός περιορισμένου αριθμού βακτηρίων στο παχύ έντερο. Αργότερα ο όρος επαναδιατυπώθηκε από τον Gibson: Πρεβιοτικό είναι ένα επιλεκτικά ζυμώσιμο συστατικό που επιτρέπει συγκεκριμένες μεταβολές, τόσο στη σύνθεση όσο και/ή στη δραστηριότητα στη γαστρεντερική χλωρίδα που προσδίδει οφέλη στην υγεία του ξενιστή (Gibson et al., 2004).

Ο πιο πρόσφατος συμφωνήθηκε στη Συνάντηση του Διεθνούς Επιστημονικού Συνδέσμου Προβιοτικών και Πρεβιοτικών (ISAPP) του 2010 (Gibson et al., 2011): «Ένα διαιτητικό πρεβιοτικό είναι ένα επιλεκτικά ζυμώσιμο συστατικό που έχει ως αποτέλεσμα συγκεκριμένες αλλαγές στη σύνθεση ή/και τη δραστηριότητα του γαστρεντερικού μικροβιώματος, παρέχοντας έτσι οφέλη για την υγεία του ξενιστή».

Είναι ίσως σκόπιμο να τονιστεί και η διάκρισή τους από τα πρεβιοτικά, τα οποία είναι άπεπτα ινώδη συστατικά κάποιων τροφίμων, που έχουν ευεργετική δράση με έμμεσο τρόπο, καθώς συντελούν στην ανάπτυξη των προβιοτικών αλλά και άλλων ωφέλιμων για το έντερο βακτηρίων. Έτσι, μέσω του συνδυασμού προβιοτικών και πρεβιοτικών, επιτυγχάνεται η ομαλή λειτουργία του εντέρου, η αποτελεσματικότερη απορρόφηση ορισμένων θρεπτικών συστατικών όπως το μαγνήσιο και το ασβέστιο, η ενίσχυση του ανοσοποιητικού, η ανακούφιση από τα συμπτώματα δυσανεξίας στη λακτόζη και η μείωση της χοληστερόλης.

Επομένως, υπάρχει η ανάγκη καθορισμού σαφών κριτηρίων για την ταξινόμηση ενός συστατικού ως πρεβιοτικό. Αυτή η ταξινόμηση, απαιτεί επιστημονική απόδειξη ότι το

συστατικό αυτό: α) δεν υδρολύεται και δεν απορροφάται στο ανώτερο τμήμα του γαστρεντερικού σωλήνα, β) ζυμώνεται από την εντερική μικροχλωρίδα και γ) διεγείρει επιλεκτικά την ανάπτυξη ή/και τη δραστηριότητα των εντερικών βακτηρίων που συνδέονται με την υγεία και την ευημερία.

Ως πρεβιοτικά θεωρούνται τα συστατικά που φθάνουν στο παχύ έντερο χωρίς να έχουν υποστεί κάποια αλλαγή. Στα συστατικά αυτά ανήκουν άπεπτοι υδατάνθρακες (από μικρές αλκοόλες ζάχαρης και δισακχαρίτες μέχρι ολιγοσακχαρίτες και μεγάλα μόρια πολυσακχαριτών), ορισμένα πεπτιδία και πρωτεΐνες, όπως επίσης και κύρια λιπίδια. Τα πρεβιοτικά τα οποία έχουν αναπτυχθεί μέχρι σήμερα είναι κυρίως άπεπτοι ολιγοσακχαρίτες (NDOs), οι φρουκτο-ολιγοσακχαρίτες (FOS), γαλακτο-ολιγοσακχαρίτες (GOS), μετα-γαλακτο-ολιγοσακχαρίτες (TOS), ισομαλτο-ολιγοσακχαρίτες (IMO), ξυλο-ολιγοσακχαρίτες (XOS), γενετικοί ολιγοσακχαρίτες (GEO) και ολιγοσακχαρίτες σόγιας (SOS). Πρεβιοτικά υπάρχουν και φυσικά σε τροφές όπως τα πράσα, τα σπαράγγια, το κичώριο, τις αγκινάρες, το σκόρδο, τα κρεμμύδια, το σιτάρι, τη βρώμη και τη σόγια. Μία σύγκριση των προβιοτικών με τα πρεβιοτικά παρουσιάζεται στον Πίνακα 2.

Πίνακας 2. Σύγκριση πρεβιοτικών με τα προβιοτικά

Πρεβιοτικά	Προβιοτικά
<i>Ειδική κατηγορία διατητικών ινών που δρουν αυξάνοντας τον πληθυσμό των βακτηρίων του ετέρου.</i>	<i>Ζωντανοί μ/ο σε γαλακτοκομικά προϊόντα (και σε φάρμακα). Υπάρχουν εκατοντάδες τέτοιοι μ/ο, χωρίς να είναι απόλυτα διευκρινισμένο ποια από αυτά είναι απολύτως απαραίτητα για την καλύτερη υγεία.</i>
<i>Σκόνες πρεβιοτικών δεν επηρεάζονται από τη μεταβολή της θερμοκρασίας, την επίδραση οξέων ή την πάροδο του χρόνου.</i>	<i>Τα βακτήρια αυτά πρέπει να διατηρούνται ζωντανά. Μπορεί να θανατωθούν με αύξηση της θερμοκρασίας, την επίδραση των οξέων του στομάχου ή απλά με την πάροδο του χρόνου.</i>
<i>Προσφέρουν πολλά οφέλη στην υγεία του ανθρώπου. Η χρησιμότητα των περισσότερων έχει αποδειχθεί.</i>	<i>Δεν έχουν ακόμα διευκρινιστεί απόλυτα τα οφέλη στην υγεία του ανθρώπου. Υπάρχουν πολλές ενδείξεις που μελετώνται.</i>
<i>Βοηθούν στην θρέψη των "καλών" βακτηρίων που υπάρχουν στο έντερο.</i>	<i>Πρέπει να συμπληρώνουν τα πάνω από 1000 είδη βακτηρίων που υπάρχουν στο έντερο.</i>
<i>Μπορεί να είναι ωφέλιμα σε πολλές χρόνιες στομαχικές διαταραχές ή φλεγμονώδεις ασθένειες του εντέρου.</i>	<i>Πολλά είδη αποδείχτηκε ότι βοηθούν στην παιδική διάρροια, το ευερέθιστο έντερο και στα συνυπάρχοντα νοσήματα στο έντερο όπως η μόλυνση από <i>C. difficile</i>.</i>

2.3. Προϊόντα ζύμωσης

Η διαδικασία της ζύμωσης των τροφίμων είναι γνωστή από τα προϊστορικά χρόνια, πολύ πριν την ανάπτυξη της επιστήμης που ερμηνεύει τον μηχανισμό της ζύμωσης (Farnworth, 2005). Δεν είναι γνωστή όμως η τοποθέτηση της έναρξης συστηματικής χρήσης της σε βάθος χρόνου. Τα χαρακτηριστικά που μπορούσε να προσδώσει η διαδικασία της ζύμωσης στα τρόφιμα είναι αρκετά. Στο πέρασμα των χρόνων ο άνθρωπος οδηγήθηκε στη διαπίστωση ότι η ζύμωση, εκτός των άλλων, συντελεί και στη συντήρηση των τροφίμων για περισσότερο χρόνο, με αποτέλεσμα να επιλέγεται να εφαρμόζεται σαν πρακτική προς επίτευξη αυτού του στόχου.

Βέβαια, είναι σχεδόν βέβαιο ότι η ανακάλυψη της ζύμωσης έγινε από τυχαία παρατήρηση αφού αποτελεί την αναπόφευκτη τύχη της παραμονής κάποιων τροφίμων σε συνθήκες, οι οποίες δεν είναι κατάλληλες για τη διατήρηση της αρχικής τους υφής και ποιότητας. Και όχι μόνο αυτό. Το πρώτο τρόφιμο που οδήγησε σε προϊόντα ζύμωσης πιθανότατα ήταν το γάλα, το οποίο από τη φύση του αποτελεί μία πρώτη ύλη ιδιαίτερα ευαίσθητη που επηρεάζεται από τις συνθήκες σε πολύ σύντομο χρονικό διάστημα (Farnworth, 2005). Ο άνθρωπος μετά την εξημέρωση κάποιων ζώων και την έναρξη της χρήσης του γάλακτος των ζώων και στη δική του διατροφή, πιθανότατα δεν μπορούσε να καταναλώσει όλη την ποσότητα του παραγόμενου γάλακτος. Έτσι προσπάθησε να το αποθηκεύσει, συχνά σε χώρους που δεν μπορούσαν να υποστηρίξουν τη συντήρησή του και συνεπώς η προσπάθεια αυτή οδηγούσε σε αλλοιωμένο προϊόν, αντικείμενο που αποτέλεσε και το πρώτο αντικείμενο της παρατήρησής του.

Η παρατήρηση αυτή δεν άργησε να οδηγήσει και στη διαπίστωση ότι κάποιες φορές, το αλλοιωμένο προϊόν δεν αποτελούσε απαραίτητα ένα προϊόν προς απόρριψη, αλλά παρουσίαζε χαρακτηριστικά με ευχάριστη υφή, γεύση ή και άρωμα. Με πιο συστηματική παρατήρηση των συνθηκών που οδηγούσαν σε τέτοια ευχάριστης υφής προϊόντα, που δεν έβλαπταν βέβαια και την υγεία του, και με συνεχείς δοκιμές επέμβασης στις συνθήκες ώστε να πετύχει την «αλλοίωση» ώστε το προϊόν να έχει τις ευχάριστες αυτές υφές, κατάφερε να βοηθήσει τη διαδικασία της «αλλοίωσης» του προϊόντος με σκοπό την ανάπτυξη νέων προϊόντων που αργότερα αποτέλεσαν τα διάφορα είδη των γαλακτοκομικών προϊόντων (γιαούρτη, τυριά κ.ά.). Αξίζει να σημειωθεί ότι η ξήρανση, που ήταν ακόμα παλαιότερη μέθοδος συντήρησης, ήταν πιο εύκολη και δεν απαιτούσε τόσο ειδικές συνθήκες. Όμως, η ζύμωση φαίνεται πως παρέχοντας τα τόσο ιδιαίτερα χαρακτηριστικά στα παραγόμενα προϊόντα, άρχισε να διαδίδεται πολύ περισσότερο. Άλλωστε, ήταν και ιδιαίτερα χρήσιμη, καθώς παράτεινε σημαντικά τον χρόνο ζωής των γαλακτοκομικών προϊόντων τα οποία αποτελούσαν ένα σχετικά φθινό τρόφιμο αλλά κυρίως προσβάσιμο σε μεγάλη μερίδα ακόμα και φτωχού πληθυσμού, και για τα οποία δεν υπήρχε άλλος τρόπος να διατηρηθούν για μεγάλο χρονικό διάστημα.

Η παγκόσμια παραγωγή τυριού γνώρισε χαμηλά επίπεδα, όπως 14 εκατομμύρια τόνους το 1992/1993, λόγω της κρίσης στην πρώην ΕΣΣΔ. Το 1995-1996 ξεκίνησε μια ανοδική τάση και η παγκόσμια παραγωγή αυξήθηκε σε 15,4 εκατομμύρια τόνους το 1999. Όταν αναλύθηκε η τυροκομική παραγωγή για 26 χώρες που αντιπροσώπευαν το 80% της παγκόσμιας παραγωγής το 2001, η πλέον διαδεδομένη τάση είναι αξιοσημείωτη και ανοδική για τα νωπά τυριά, τα οποία αυξήθηκαν κατά 38% (από 2.660.000 τόνους το 1990 σε 3.662.000 τόνους το 1999). Το 1999, το 32% της συνολικής παραγωγής τυριού ήταν φρέσκο τυρί, σε σύγκριση με το 30% πριν από 10 χρόνια (Fox et al., 2004).

2.3.1. Τυριά αλοιφώδους υφής

Με βάση τον **Κώδικα Τροφίμων και Ποτών** (Άρθρο 83 παρ. 2.3), τα τυριά αλοιφώδους υφής (Σχήμα 2) ανήκουν στα τυριά από γάλα χωρίς ωρίμανση χαρακτηρίζονται τα φρέσκα (νωπά) τυριά που παρασκευάζονται με την επενέργεια αβλαβών οξυγαλακτικών καλλιεργειών βακτηρίων σε παστεριωμένο γάλα ή παστεριωμένο γάλα και παστεριωμένη κρέμα γάλακτος (αφρόγαλα) και των οποίων η υγρασία δεν υπερβαίνει το 75%. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν τα φρέσκα (νωπά) τυριά με αλοιφώδη υφή ή τυριά κρέμα. Τα φρέσκα τυριά με αλοιφώδη υφή επιτρέπεται να διατίθενται στην κατανάλωση στις ποιότητες που αναγράφονται στον Πίνακα 3 σύμφωνα με τον ΚΤΠ στο άρθρο 83 και παράγραφο 2.3 (ΚΤΠ, 2009).



Σχήμα 2. Τυρί αλοιφώδους υφής.

Στα τυριά αυτά επιτρέπεται η προσθήκη κάποιων πρόσθετων και βοηθητικά συστατικών για την τεχνολογία παρασκευής. Τα συστατικά διακρίνονται σε δύο κατηγορίες: α) στα απαραίτητα που αντιστοιχούν στις αβλαβείς οξυγαλακτικές καλλιέργειες και στο βρώσιμο χλωριούχο νάτριο, και β) στα προαιρετικά που αντιστοιχούν σε πυτιά ή άλλα ένζυμα που έχουν ανάλογη δράση, σε κάποια πρόσθετα όπως αναφέρονται στο παράρτημα I του άρθρου 33 και στο παράρτημα III του ίδιου άρθρου, ενώ δεν επιτρέπεται να χρησιμοποιούνται χρωστικές ουσίες.

Πίνακας 3. Ποιότητες τυριών αλοιφώδους υφής.

	Μέγιστη υγρασία (%)	Λίπος υπολογισμένο σε ξηρή ουσία τουλάχιστον (%)
Εξαιρετική ποιότητα	58	70
Πρώτη ποιότητα	62	60
Δεύτερη ποιότητα	75	60
Μερικώς αποβουτυρωμένα	75	50* ή 60**
* συμπυκνωμένο		
** σε τυρί ως έχει		

Οι συνθήκες αποθήκευσης μέχρι και τη διάθεσή τους στον καταναλωτή ορίζονται στην παράγραφο 1.5.β της ενότητας Α του άρθρου 83. Το φρέσκο τυρί είναι τυρί που δεν ωριμάζει, το οποίο μπορεί να καταναλωθεί αμέσως μετά την παρασκευή του και, εάν δεν υποστεί περαιτέρω επεξεργασία, δεν διατηρείται –και δεν πρέπει να διατηρείται– για μεγάλο χρονικό διάστημα.

Τα τυριά αλοιφώδους υφής είναι προϊόντα με λευκή κρεμώδη εμφάνιση, πλούσια, μαλακή και απαλή υφή, που δεν έχουν υποστεί διαδικασία ωρίμανσης. Η γεύση τους είναι ελαφρώς όξινη γεύση και έχουν άρωμα βουτύρου. Συνήθως παρασκευάζονται με την πήξη κρέμας γάλακτος ή μείγματος κρέμας και γάλακτος, μέσω της οξίνισής τους με καλλιέργεια εκκίνησης, και είναι έτοιμα προς κατανάλωση αμέσως μετά την ολοκλήρωση της διαδικασίας παραγωγής.

Ανάλογα με τη χώρα και την περιοχή που παρασκευάζονται, τα φρέσκα τυριά μπορεί να διαφέρουν στο όνομα ή στον τρόπο παρασκευής. Παρόλα αυτά, σε κάθε περίπτωση το σημαντικότερο στοιχείο είναι το γάλα (συνήθως παστεριωμένο), το οποίο μπορεί να είναι αγελαδινό, πρόβειο ή κατσικίσιο, και στο οποίο προστίθενται φυσικοί γαλακτοβάκιλλοι ή πυτιά, από το στομάχι νεαρών μοσχαριών. Και στις δύο περιπτώσεις διασφαλίζεται η πήξη του γάλακτος και ο διαχωρισμός του τυροπήγματος από το τυρόγαλα. Στη συνέχεια τοποθετείται σε τρυπητό καλούπι και στραγγίζεται, με αποτέλεσμα ένα σχετικά συμπαγές τυρί, με απαλή, ήπια, ελαφρώς όξινη και αλμυρή γεύση. Σε σύγκριση με άλλα τυριά, τα φρέσκα τυριά περιέχουν υψηλό ποσοστό νερού (Πίνακας 4), λόγω της υψηλής συγκέντρωσής τους σε πρωτεΐνες ορού, οι οποίες έχουν την ικανότητα να συγκρατούν μεγάλη ποσότητα νερού (Wendin et al., 2000).

Αρκετά συχνά τα τυριά αλοιφώδους υφής κατηγοριοποιούνται με βάση το λιπαρό περιεχόμενο στο αρχικό μίγμα και στην τελική σύνθεση. Έτσι, διακρίνονται σε υψηλής λιποπεριεκτικότητας, με περιεχόμενο σε λιπαρά συστατικά τουλάχιστον 9-11% και χαμηλής λιποπεριεκτικότητας με περιεχόμενο σε λιπαρά συστατικά περίπου 4,5-5% κατά βάρος στο αρχικό μείγμα (Πίνακας 5).

Πίνακας 4. Χημική σύσταση (%) τυριών αλοιφώδους υφής και τυριού Neufchatel (Phadungath, 2005).

Ποικιλία	Υγρασία	Λίπος	Πρωτεΐνη	Λακτόζη	Αλάτι	pH
Cream						
double	60	30	8-10	2-3	0.75	4.6
single	70	14	12	3.5	0.75	4.6
Neufchatel	74	20	12		0.75	4.6

Πίνακας 5. Απαιτούμενη υγρασία και λίπος επί ξηρού ως προς τις διάφορες ποιότητες των φρέσκων τυριών (ΚΤΠ, 2009).

Κατηγορία	Νερό (%)	Λίπος (%)	Πρωτεΐνη (%)	Λακτόζη (%)	Αλάτι (%)	pH
Υψηλής λιποπεριεκτικότητας	60	30	8-10	2-3	0,75	4,6
Χαμηλής λιποπεριεκτικότητας	70	14	12	3,5	0,75	4,6

Ένα άλλο στοιχείο διαφοροποίησής τους είναι με βάση τη διαφορετική σύσταση του τελικού προϊόντος όσον αφορά στη λιπαρή και ξηρή ύλη. Οι σχετικοί φορείς στις διάφορες χώρες ορίζουν διαφορετικά όρια προκειμένου να κατηγοριοποιήσουν τα τυριά αλοιφώδους υφής. Έτσι, στις Η.Π.Α. ο κανονισμός αναφέρει ότι ένα τέτοιο τυρί θα πρέπει να περιέχει τουλάχιστον 33% λίπος και όχι περισσότερο από 55% υγρασία. Στον Καναδά, το κατώτερο όριο λίπους είναι 30% ενώ στη Γαλλία τυριά όπως τα ‘τριπλής κρέμας’ πρέπει να περιέχουν τουλάχιστον 75% λίπος στο ξηρό περιεχόμενο Πίνακας 6.

Πίνακας 6. Αναλογία λίπους / ξηρής ουσίας στο μείγμα για τυριά αλοιφώδους υφής και τυρί Neufchatel (Kosikowski and Mistry, 1999).

Ποικιλία	Λίπος στο μείγμα (%)	Ξηρή ουσία στο μείγμα (%)	Λίπος στο τυρί (%)	Υγρασία στο τυρί (%)
Τυρί αλοιφώδους υφής	15	7,5	35,7	54
	13	7,7	35,5	54,3
	11*	7,8	33	54,5
	9	8	33	53
Τυρί Neufchatel	9	8	23,7	64,2
	7	8,2	21,6	64,8
	5*	8,4	20	63,8
	3	8,5	20	56,3
* οικονομική αναλογία				

2.3.2. Παρασκευή τυριών αλοιφώδους υφής

Το πρώτο πρότυπο που αφορούσε τυριά αλοιφώδους υφής εκδόθηκε το 1921 από την Ομοσπονδιακή Αρχή Τροφίμων και Φαρμάκων (Federal Food and Drug Act, FDA), ορίζοντας πως ως τέτοια χαρακτηρίζονται τα τυριά που δεν υφίστανται ωρίμανση και παράγονται μέσω της διαδικασίας Neufchatel από πλήρες γάλα εμπλουτισμένο με κρέμα γάλακτος, ενώ περιέχουν τουλάχιστον 65% λίπος γάλακτος, όταν αυτό μετριέται σε υλικό απαλλαγμένο από την υγρασία. Στις μέρες μας, ένα τέτοιο προϊόν θα θεωρούνταν τυρί Neufchatel με υψηλό ποσοστό σε λιπαρά (Phadungath, 2005). Η μέθοδος τυροπήγατος αναπτύχθηκε στις αρχές της δεκαετίας του 1920, ενώ αργότερα εφαρμόστηκαν οι μέθοδοι ψυχρής και θερμής συσκευασίας, που χρησιμοποιούνται μέχρι σήμερα (Fox et al., 2004).

Παραδοσιακά, το βήμα αποστράγγισης, ώστε να απομακρυνθεί ο ορός γάλακτος, γινόταν τοποθετώντας το τυρόπηγμα σε υφασμάτινους σάκους και αφήνοντας να αποστραγγιστεί ο ορός μέσω της βαρύτητας για 24 h, προκειμένου να επιτευχθεί ο επιθυμητός βαθμός υγρασίας στο τελικό προϊόν. Η εφεύρεση του φυγοκεντρικού διαχωρισμού αποτέλεσε μία από τις πιο σημαντικές εξελίξεις για τη συγκεκριμένη παραγωγική διαδικασία, επιτρέποντας τη συνεχή αποστράγγιση του ορού γάλακτος από το ζεστό τυρόπηγμα, διευκολύνοντας μ’ αυτόν τον

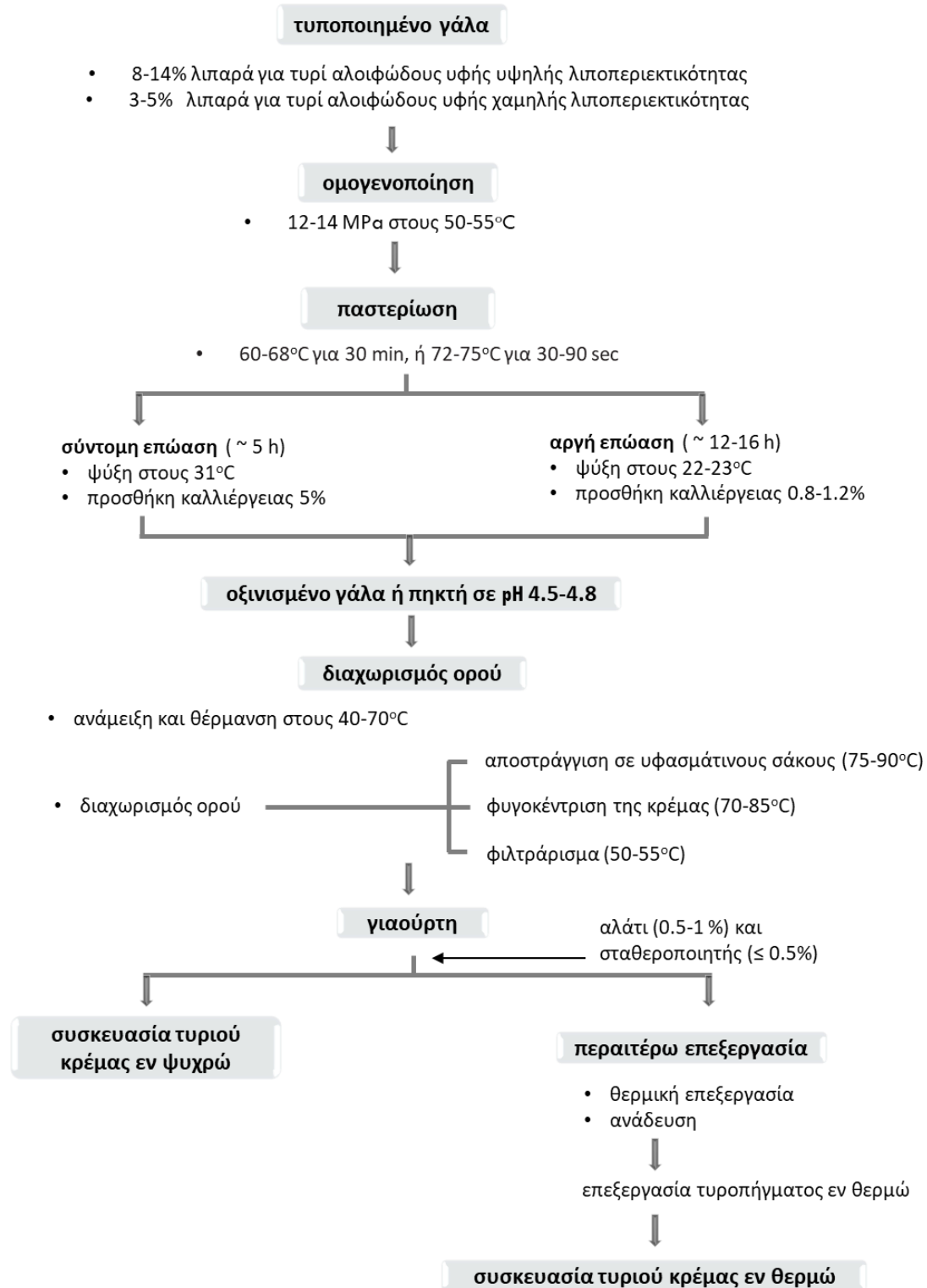
τρόπο τη διατήρηση της τυπικής σύνθεσης του προϊόντος για την άμεση και συνεχή συσκευασία όσο ακόμα αυτό είναι ζεστό (Σχήμα 3). Αυτή η συσκευή επιτρέπει δηλαδή τη συσκευασία του τυριού όσο είναι σε μια κατάσταση πολύ περισσότερο αποστειρωμένη και ασηπτική (σε σχέση με την προηγούμενη μέθοδο), καθιστώντας το διατηρήσιμο για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα μέχρι να καταναλωθεί (Phadungath, 2005).



Σχήμα 3. Στάδια παρασκευής τυριού αλοιφώδους υφής. Α) Γέλη οξινισμένου γάλακτος σε pH 4,7-4,8. Β) Προετοιμασία με ανάδευση και θέρμανση για το βήμα διαχωρισμού ορού γάλακτος. Γ) Διαχωρισμός ορού γάλακτος με φυγοκεντρικό διαχωριστή. Δ) Ανάμιξη με αλάτι, σταθεροποίηση και κοπή. Ε) Τυρί κρέμα σε συσκευασία.

Στη μέθοδο φυγοκεντρικού διαχωρισμού (Σχήμα 4) το μείγμα εκκίνησης σταθεροποιείται στα επίπεδα περιεκτικότητας 8-14% σε λίπος, για το διπλής κρέμας τυρί ή 3-5%, για το τυρί απλής κρέμας. Στη συνέχεια, το μείγμα ομογενοποιείται (12-14 MPa στους 50-55°C), παστεριώνεται (στους 66-68°C για 30 min ή στους 72-75 °C για 60-90 s) και ψύχεται στην επιθυμητή θερμοκρασία (20-30°C). Το μείγμα εμβολιάζεται με μια καλλιέργεια εκκίνησης τύπου D (δηλαδή, *Lactococcus*), με το επίπεδο της καλλιέργειας εκκίνησης και την θερμοκρασία να ποικίλουν, σε σχέση με την περίοδο επώασης. Δυο από τις πιο κοινές συνθήκες επώασης είναι

η μικρής διάρκειας, όπου χρησιμοποιείται 5% καλλιέργειας εκκίνησης, θερμοκρασία επώασης 31°C και χρόνος επώασης περίπου 5 h, και η μακράς διάρκειας, με 0,8-1,2% καλλιέργεια εκκίνησης, θερμοκρασία 22-23°C και χρόνος επώασης 12-16 h. Το μείγμα διατηρείται στην συγκεκριμένη θερμοκρασία έως ότου το pH να φτάσει στα επιθυμητά επίπεδα (4,5-4,8). (Phadungath, 2005).



Σχήμα 4. Διάγραμμα ροής παρασκευής τυριού κρέμας.

Το στάδιο οξίνισης επιτυγχάνεται μέσω της ζύμωσης της λακτόζης χρησιμοποιώντας *Lactococcus* για την εκκίνησή της. Το συσσωμάτωμα που προκύπτει αναδεύεται ελαφρώς και θερμαίνεται στους 50-70°C (για αποτελεσματικότερο μετέπειτα διαχωρισμό του ορού γάλακτος) σε μια δεξαμενή ωρίμανσης, αν πρόκειται για τη σειριακή μέθοδο, ή σε έναν εναλλάκτη θερμότητας αν πρόκειται για την συνεχή μέθοδο. Στη συνέχεια, ο διαχωρισμός του ορού από το τυρόπηγμα γίνεται με διάφορες μεθόδους. Ακολουθώντας την παραδοσιακή μέθοδο το ζεστό τυρόπηγμα (75-90°C) αφήνεται να στραγγίσει σε υφασμάτινους σάκους κατά τη διάρκεια της νύχτας. Εφαρμόζοντας τις σύγχρονες τεχνικές, ο διαχωρισμός με φυγοκέντριση γίνεται στους 70-85°C και η μέθοδος ισχυρού φιλτραρίσματος στους 50-55°C. Μετά το διαχωρισμό, το ζεστό τυρόπηγμα ψύχεται στους 10-20°C, στη συνέχεια αναμιγνύεται με αλάτι σε ποσοστό 0,5-1% και όχι περισσότερο από 0,5% σταθεροποιητή (συνήθως συνδυασμό κάποιων από κόμμι φασολιών, κόμμι γκουάρ, κόμμι ξανθάνης, αλγινικό νάτριο και καραγενάνη) συσκευάζεται αμέσως και διατηρείται στην ψύξη για 2-3 εβδομάδες. Για το προϊόν θερμής συσκευασίας, το τυρόπηγμα αναμιγνύεται με αλάτι και σταθεροποιητή και θερμαίνεται στους 70-85°C σε μια δεξαμενή (για παράδειγμα σε ξυσμένη δεξαμενή όπου εφαρμόζεται επιφανειακή θέρμανση), ώστε να προκύψει ένα καλό μίγμα έχοντας τροποποιήσει την υφή του προϊόντος. Το ζεστό τυρόπηγμα αντλείται στη διάταξη συσκευασίας και συσκευάζεται όσο ακόμα είναι ζεστό. Η διάρκεια ζωής του είναι περίπου 3 μήνες, σε θερμοκρασία συντήρησης 4-8°C (Phadungath, 2005).

2.3.3. Ποιότητες και ελαττώματα των τυριών αλοιφώδους υφής

Σύμφωνα με το USDA (1994), τα τυριά αλοιφώδους υφής και τα σχετικά προϊόντα πρέπει να έχουν ομοιόμορφο λευκό ή ανοιχτό κρεμ χρώμα, ελαφριά γαλακτώδη όξινη γεύση, απαλή βουτυρώδη γεύση και άρωμα, ενώ αντιθέτως πρέπει να απουσιάζουν έντονες γεύσεις (π.χ. πικρή) ή γεύσεις που σχετίζονται με θειούχα ή προζυμικά συστατικά. Η υφή τους πρέπει να είναι ομοιόμορφη και απαλή χωρίς σβώλους και ακαθαρσίες, να μην εμφανίζει ρωγμές ή ορό γάλακτος. Θα πρέπει να είναι δυνατή η επάλειψή τους σε θερμοκρασία δωματίου (20° C) ή και σε χαμηλότερη (7.2° C) αν χαρακτηρίζονται ως 'απαλά' (soft), ενώ πρέπει να είναι μέτριας σκληρότητας όταν βρίσκονται σε θερμοκρασία συντήρησης ($\leq 7.2^{\circ}$ C). Οι προδιαγραφές σύνθεσης φαίνονται στον Πίνακα 7.

Πίνακας 7. Χαρακτηριστικά τυριών κρέμας.

Προϊόν	Μέγιστη υγρασία (%)	Λίπος στο τελικό προϊόν (%)	pH	Μέγιστο αλάτι (%)
τυρί κρέμα	55	33 % (ελάχιστο)	4.4-4.9	1.4
τυρί κρέμα light	70	≥ 16.5 %, < 20 %	4.4-5.1	1.4
τυρί κρέμα χαμηλών λιπαρών	70	≥ 0.5 %, < 16.5 %	4.4-5.2	1.4
Τυρί Neufchatel	65	≥ 20 %, < 33 %	4.4-5.0	1.4

Ελαττώματα μπορεί να παρουσιαστούν αναλόγως του pH στο τελικό προϊόν. Αν αυτό είναι υψηλό ($> 4,7$), το τυρί θα στερεϊται γεύσης, ενώ η υφή του τυριού θα είναι πολύ μαλακή.

Αντιθέτως, χαμηλό pH (<4,6) συνεπάγεται κοκκώδη υφή και πολύ όξινη γεύση. Άλλα ελαττώματα που μπορεί να παρατηρηθούν στα τυριά αυτά είναι ο διαχωρισμός του ορού γάλακτος από το υπόλοιπο προϊόν κατά την αποθήκευση καθώς και κοκκώδη ή αμμώδη υφή, ιδίως στα τυριά χαμηλών λιπαρών (Phadungath, 2005).

2.3.4. Αξιολόγηση τυριών αλοιφώδους υφής

Η δυνατότητα επάλειψης είναι μια από τις πιο σημαντικές όσον αφορά στην υφή αυτών των τυριών. Το απαραίτητο πρώτο βήμα, προκειμένου να διαπιστωθεί η δυνατότητα επάλειψης, είναι η εφαρμογή συγκεκριμένης δύναμης, ώστε να ξεκινήσει η ροή. Έχει, λοιπόν, καταγραφεί ότι οι καταναλωτές αντιλαμβάνονται ως μέτρο της δυνατότητας επάλειψης διαφόρων τροφίμων, συμπεριλαμβανομένων των τυριών αλοιφώδους υφής, τη δύναμη που απαιτείται να εφαρμόσουν στο μαχαίρι, στην προσπάθειά τους να απλώσουν το τρόφιμο σε ένα παξιμάδι. Έτσι, όπως προκύπτει από την μη-δομημένη κλίμακα 15 σημείων, η δυνατότητα επάλειψης (η οποία θεωρείται ιδιότητα σχετική με την υφή του προϊόντος) χαρακτηρίζεται ως ‘χαμηλή’ αν αξιολογείται δύσκολο να απλωθεί ένα στρώμα 2 χιλιοστών σε παξιμάδι (υπονοώντας ισχυρή αντίσταση) ή ‘υψηλή’ αν αξιολογείται εύκολο να απλωθεί ένα στρώμα 2 χιλιοστών σε παξιμάδι (υπονοώντας μικρή αντίσταση).

2.3.5. Πρόσφατες μελέτες στα τυριά αλοιφώδους υφής

Τα τυριά αλοιφώδους υφής έχουν μελετηθεί εκτενώς για περισσότερο από οκτώ δεκαετίες, με τη μεγάλη τους πλειοψηφία, ωστόσο, να επικεντρώνεται στο τελικό προϊόν. Στις μελέτες αυτές συγκαταλέγεται αυτή που αφορά στην μικροδομή πειραματικών και εμπορικών τυριών, η μελέτη τυριών που αναπτύχθηκαν πρόσφατα, όπως αυτό που προκύπτει μέσω υπερδιήθησης, μελέτη μικροδομής ενός τυριού με βάση το τυρί *quesco blanco*, και τη μελέτη της υφής και των ρεολογικών ιδιοτήτων πειραματικών και εμπορικών τυριών. Στην πραγματικότητα, μεγάλος όγκος ερευνητικής δουλειάς έχει γίνει σε ερευνητικά κέντρα εταιριών τροφίμων, από την οποία όμως, μόνο ένα μικρό τμήμα έχει δημοσιευθεί, ενώ μεγάλο μέρος αυτών των ερευνών έχει εν τέλει κατοχυρωθεί ως πατέντα. Ωστόσο, η έρευνα γύρω από εκείνο το στάδιο της παραγωγής των τυριών αλοιφώδους υφής, που αφορά τη κρούστα στο οξιτισμένο γάλα, το οποίο είναι ένα πολύ κρίσιμο στάδιο ώστε να επιτευχθεί το επιθυμητό αποτέλεσμα, δηλαδή ένα προϊόν με κορυφαία επίπεδα ποιότητας σε υφή, ρεολογικές ιδιότητες και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, είναι αρκετά περιορισμένη.

Η Phadungath μελέτησε την εξέλιξη της δομής των τυριών αλοιφώδους υφής και την επίδραση διαφόρων παραγόντων της διαδικασίας στην υφή του τυριού και στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του. Στην έρευνά της συμπεραίνει ότι πέντε κύριες συνθήκες της κύριας διαδικασίας, συγκεκριμένα η περιεκτικότητα σε λίπος στο τυποποιημένο γάλα, η πίεση κατά την ομογενοποίηση, τα ποσοστά εμβολιασμού, η θερμοκρασία επώασης και το pH κατά την διάσπαση της κρούστας του γάλακτος είχαν σημαντική επίδραση στη συνοχή της κρούστας του οξιτισμένου γάλακτος, πριν αυτό μεταβληθεί σε τυρί αλοιφώδους υφής (Phadungath 2005). Τα δεδομένα που ελήφθησαν από μετρήσεις της υφής και της ρεολογίας του προϊόντος έδειξαν

ότι υψηλότερες τιμές σε όλα αυτά τα επιμέρους στοιχεία, δηλαδή περιεκτικότητα σε λίπος (12% αντί για 0%), ποσοστό εμβολιασμού (2% αντί για 1%), θερμοκρασία επώασης (26°C αντί για 20°C) και πίεσης κατά την ομογενοποίηση (250 bar αντί για 100 bar) πλην του pH (για το οποίο η τιμή έπρεπε να είναι μικρότερη (pH 4,7 αντί για pH 5,1) είχαν ως αποτέλεσμα όξινη κρούστα με πιο σταθερή υφή. Επίσης, τα δεδομένα από μετρήσεις των χαρακτηριστικών της υφής, μετρήσεις TPA και αξιολόγηση οργανοληπτικών χαρακτηριστικών έδειξαν ότι η πίεση κατά την ομογενοποίηση και η θερμοκρασία επώασης επηρεάζουν την σταθερότητα, όπως διαπιστώθηκε σε δείγματα τελικού προϊόντος.

2.3.6. Πήξη του γάλακτος

Η πήξη του γάλακτος ώστε να προκύψει το τυρόπηγμα μπορεί να πραγματοποιηθεί με τρεις τρόπους:

A) με προσθήκη του ενζύμου χυμοσίνη

Στην περίπτωση πήξης του γάλακτος ενζυμικά με χυμοσίνη (υπάρχει στην τυτιά), η διαδικασία γίνεται σε δύο στάδια (Κεχαγιάς & Τσάκαλη, 2017).

Το πρώτο στάδιο είναι ενζυμικό και αποτελεί την ειδική πρωτεόλυση, κατά την οποία η χυμοσίνη δρα εκλεκτικά πάνω σε ένα δεσμό της κ-καζεΐνης μέσα σε λίγα λεπτά. Ο πεπτιδικός μεταξύ φαινυλαλανίνης-μεθειονίνης στις θέσεις 105-106 διασπάται από τη χυμοσίνη. Η υδρόλυση οδηγεί σε αδιάλυτη παρά-κ-καζεΐνη που παραμένει στο τυρόπηγμα, και στο διαλυτό καζεΐνογλυκοπεπτίδιο το οποίο διαφεύγει στο τυρόγαλα.

Στη δεύτερο, μη ενζυμικό στάδιο γίνεται η πήξη του γάλακτος, δηλαδή η κροκίδωση των μικκυλίων της καζεΐνης παρουσία ιόντων ασβεστίου. Όταν το 85% περίπου της κ-καζεΐνης έχει υδρολυθεί, χάνεται ο προστατευτικός μηχανισμός που παρέχει η κ-καζεΐνη στις υπόλοιπες καζεΐνες και συσσωματώνονται τα μικκύλια με τη βοήθεια των ιόντων του ασβεστίου. Τα ιόντα αυτά σχηματίζουν γέφυρες συνδέοντας τα καζεϊνικά μόρια, και ταυτόχρονα οι υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις μεταξύ των καζεϊνών συμβάλλουν στο σχηματισμό πήγματος.

B) με προσθήκη καλλιέργειας

Κατά την οξίνιση του γάλακτος συμβαίνει η σταδιακή απομάκρυνση του ασβεστίου και του φωσφόρου από τα μικκύλια της καζεΐνης και μεταφορά τους στη διαλυτή φάση. Η διαδικασία αυτή σε συνδυασμό με την ελάττωση του ηλεκτρικού φορτίου των μικκυλίων, συνεπάγεται την αποσταθεροποίηση των καζεϊνών (Κεχαγιάς & Τσάκαλη, 2017). Αφού το pH του γάλακτος είναι μεγαλύτερο από το pH πήξης (π.χ. 5,3 στους 30°C), κυριαρχούν οι διαδικασίες αποσταθεροποίησης, δηλαδή δεν σχηματίζεται πήγμα. Σε τιμή pH μικρότερη από 5,3, οι δυνάμεις συσσωμάτωσης είναι μεγαλύτερες από τις δυνάμεις αποσταθεροποίησης (διαλυτοποίηση κολλοειδούς φωσφορικού ασβεστίου) και σχηματίζεται πήγμα (Fox et al., 2004).

Γ) με προσθήκη μείγματος χυμοσίνης και καλλιέργειας

Η οξίνιση με χρήση καλλιέργειας σε συνδυασμό με την προσθήκη χυμοσίνης (τυτιάς) περιλαμβάνει περισσότερα στάδια (Fox et al., 2004). Αρχικά γίνεται η προσαρμογή της μικροβιακής καλλιέργειας και οξίνιση στο επιθυμητό pH για προσθήκη τυτιάς. Στην πρώτη φάση πήξης λόγω της επίδρασης της τυτιάς γίνεται η διάσπαση της κ-καζεΐνης από το ένζυμο.

Ακολουθεί η δεύτερη φάση πήξης λόγω της επίδρασης της πυτιάς, όπου γίνεται η συσσωμάτωση αποσταθεροποιημένων καζεϊνικών μικυλλίων παρουσία ιόντων ασβεστίου και σχηματισμός πήγματος. Στη συνέχεια, το πήγμα μετατρέπεται λόγω δράσης της πυτιάς σε πήγμα οξίνισης από την καλλιέργεια. Φαίνεται να επικρατεί η διαδικασία οξίνισης, με σχηματισμό πήγματος λόγω του συνδυασμού της χρήσης καλλιέργειας και πυτιάς. Τέλος, λαμβάνει χώρα η συρρίκνωση των κροκίδων καζεΐνης προκαλώντας μικροσυναίρεση (μη ορατός διαχωρισμός ορού), ακολουθούμενη από μακροσυναίρεση (ορατός διαχωρισμού ορού).

2.3.7. Παράγοντες που επηρεάζουν την πήξη του γάλακτος

Η μετατροπή του γάλακτος σε τυρόπηγμα εξαρτάται από:

A) την τιμή του pH κατά την προσθήκη του ενζύμου

Η πυτιά (που περιέχει την χυμοσίνη) σπάνια προστίθεται ταυτόχρονα με την καλλιέργεια εκκίνησης. Συχνά η προσθήκη της γίνεται μετά από 60-90 min σε τιμή pH περίπου 6,3. Η στιγμή προσθήκης πυτιάς και η επίδραση στις δομικές ιδιότητες βρίσκεται εμπειρικά. Κατά τη διάρκεια της πήξης μόνο με πυτιά, ο χρόνος πήξης μειώνεται σημαντικά σε χαμηλότερες τιμές pH, καθώς το pH είναι καθοριστικό για την ενζυμική δραστηριότητα της χυμοσίνης ($pH_{\text{optimum}}=6,0$). Καθώς μειώνεται το pH, η κροκίδωση των μικκυλίων αρχίζει κατά τη μετατροπή της κ-καζεΐνης σε p-κ-καζεΐνη (70% σε pH 6,7 σε σύγκριση με 30% σε pH 5,6) και αυξάνεται ο ρυθμός συσσωμάτωσης και ο σχηματισμός του πήγματος. Αυτό οφείλεται κυρίως στην υψηλότερη δραστηριότητα ιόντων ασβεστίου σε χαμηλές τιμές pH. Ο ρυθμός συσσωμάτωσης διπλασιάζεται μειώνοντας το pH από 6,8 σε 6,3 (Fox et al., 2004).

B) τη συγκέντρωση της χυμοσίνης σε συνδυασμό με την καλλιέργεια

Η χυμοσίνη προκαλεί τη συσσωμάτωση των μικκυλίων της καζεΐνης (που δημιουργεί τυρόπηγμα), και σε συνδυασμό με το γεγονός ότι η πυτιά παράγει πικρά πεπτίδια με την πρωτεολυτική της δραστηριότητα, μπορεί να είναι υπεύθυνη για την πικρή γεύση του προϊόντος σε περίπτωση υψηλής συγκέντρωσης πυτιάς. Η συνήθης συγκέντρωση πυτιάς που χρησιμοποιείται -ανάλογα με τον τύπο και τη δραστηριότητά της- είναι 2-20 mL πρότυπης πυτιάς ανά 1000 L γάλακτος. Η δράση της πυτιάς ενισχύει τη συσσωμάτωση των μικκυλίων της καζεΐνης κατά την οξίνιση. Αν το προϊόν παράγεται μόνο με οξίνιση, η πήξη σταματάει σε pH 4,7-4,5, ενώ η πήξη με συνδυασμό καλλιέργειας-πυτιάς μπορεί να σταματήσει σε ελαφρώς υψηλότερο pH (4,9-4,8). Επομένως, υπερβολικά χαμηλό pH του προϊόντος μπορεί να αποφευχθεί με προσθήκη πυτιάς (Fox et al., 2004).

Γ) τη θερμική επεξεργασία

Σε θερμοκρασία μεγαλύτερη των 70°C, προκαλείται μετουσίωση των πρωτεϊνών ορού και συμπλοκοποίησή τους με τις καζεΐνες (σύμπλοκο β-γαλακτογλοβουλίνης, με την κ-καζεΐνη) λόγω υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων και δημιουργίας δισουλφιδικών δεσμών. Η μετουσίωση των πρωτεϊνών ορού συνεπάγεται την αύξηση της απόδοσης του προϊόντος. Σε πήγμα από μη θερμικά επεξεργασμένο γάλα που έχει σχηματιστεί με τη συνδυαστική δράση καλλιέργειας και πυτιάς, παρατηρείται έντονη συναίρεση. Αυτό συμβαίνει γιατί υπάρχει σημαντική ανακατανομή της δομής των συσσωματωμένων σωματιδίων στο αρχικό στάδιο της διαδικασίας πήξης. Τυρόπηγμα από θερμικά επεξεργασμένο γάλα που έχει σχηματιστεί με τη συνδυαστική

δράση καλλιέργειας και πυτιάς είναι πιο σταθερό σε σχέση με αυτό από μη θερμικά επεξεργασμένο γάλα, λόγω του ότι η καζεΐνη είναι ενωμένη με μετουσιωμένες πρωτεΐνες ορού (Fox et al., 2004).

2.4 Κεφίρ

Προέλευση – Ιστορικά στοιχεία

Το παραγόμενο ρόφημα κεφίρ (Σχήμα 5) είναι γνωστό με μια ποικιλία ονομάτων, συμπεριλαμβανομένων των kefir, kephir, kefer, kiaphur, keri και kirpi. Όσον αφορά τη ρίζα της λέξης καθ' αυτής, η επικρατέστερη άποψη την συσχετίζει με την τουρκική 'ker', που σημαίνει ζύμωση, ενώ συχνά αναφέρεται και η ρωσική προέλευση της λέξης (кефир). Το κεφίρ χρονολογείται πολλούς αιώνες πίσω, ενώ η προέλευσή του αποδίδεται στους βοσκούς των βουνών του Καυκάσου. Αυτοί ανακάλυψαν ότι το φρέσκο γάλα που μεταφερόταν σε δερμάτινους σάκους ζυμωνόταν περιστασιακά σε ένα αφρίζον ρόφημα (Frag et al., 2020).

Νομάδες πειραματίστηκαν για πρώτη φορά με τους κόκκους του κεφίρ, προσθέτοντάς τους σε σάκους από δέρμα κατσίκας και αφήνοντάς τους να ζυμωθούν σε ένα αραιωμένο ποτό που μοιάζει με γάλα, παρόμοιο με τη γιαούρτη, αλλά λιγότερο παχύρρευστο.



Σχήμα 5. Κεφίρ.

Είναι δύσκολο να ιχνηλατήσουμε το πώς οι νομάδες βρήκαν τους κόκκους κεφίρ. Σύμφωνα με τον μύθο, ο Μωάμεθ χάρισε στους Ορθόδοξους πληθυσμούς των βουνών του Καυκάσου τις αρχικές καλλιέργειες, από τις οποίες γεννήθηκε το κεφίρ. Ο Μωάμεθ τους καθοδήγησε στον τρόπο χρήσης των κόκκων και τους απαγόρευσε αυστηρά να παραδώσουν το μυστικό της παρασκευής του κεφίρ σε άλλους ανθρώπους, ή να δώσουν σε οποιονδήποτε κόκκους κεφίρ, γιατί θα έχαναν τη μαγική δύναμή τους. Το κεφίρ έγινε έτσι γνωστό ως «Σπόροι» ή «κεχρί του Προφήτη». Οι οικογένειες μετέδωσαν διαφορετικά στελέχη από γενιά σε γενιά και έγιναν σκληροί θεματοφύλακες των μεθόδων για την παραγωγή του.

Ενώ οι ακριβείς συνταγές διατηρούνταν ως επτασφράγιστα μυστικά, σε γενικές γραμμές οι κόκκοι κεφίρ αυτοί αναμιγνύονταν με αγελαδινό ή κατσικίσιο γάλα. Στη συνέχεια, το μείγμα μεταφέρονταν σε έναν ασκό από δέρμα ζώου, και αφηνόταν στον ήλιο για να πραγματοποιηθεί η ζύμωση. Το έθιμο ήθελε οποιονδήποτε μπαινόβγαινε στο σπίτι, είτε ήταν μέλος του σπιτιού είτε επισκέπτης, να προκαλεί ανάδευση του μείγματος με ένα ελαφρύ λάκτισμα στον σάκο.

Οι Καυκάσιοι ήταν ιδιαίτερα κτητικοί με το κεφίρ. Ήταν απρόθυμοι να μοιραστούν κόκκους κεφίρ ή συνταγές με ξένους, φοβούμενοι ότι το ρόφημα θα έχανε τις υποτιθέμενες μαγικές

ιδιότητες που είχε όσον αφορά στην ενίσχυση του εντέρου. Για σχεδόν 2000 χρόνια το κεφίρ παρέμενε ένας καλά φυλαγμένος γαστρονομικός θησαυρός. Έτσι, για το μεγαλύτερο μέρος της καταγεγραμμένης ιστορίας, το κεφίρ ήταν ελάχιστα γνωστό έξω από τα Καυκάσια Όρη. Αυτό που μόνο γνώριζε ο υπόλοιπος κόσμος για αυτό ήταν ότι ο Μάρκο Πόλο (όπως εξιστορούσε στο βιβλίο του «Τα ταξίδια του Μάρκο Πόλο του Βενετού»), είχε δοκιμάσει ένα παρόμοιο ρόφημα. Το ανέφερε σαν ένα ποτό γάλακτος φοράδας που παρασκευαζόταν από τις γυναίκες Τάρταρ (μια εθνότητα που κατοικεί τώρα στη Ρωσία, την Ουκρανία και το Ουζμπεκιστάν) και το οποίο είχε τις «ποιότητες και τη γεύση του λευκού κρασιού», ονομάζοντάς το ‘κεμούρ’.

Κοντά στον 19^ο αιώνα όμως, άρχισαν να διαμορφώνονται οι απόψεις ότι τα οφέλη από την κατανάλωση του κεφίρ δεν είναι μόνο δοξασίες περί των μαγικών ιδιοτήτων του, αλλά προκύπτουν από την ύπαρξη συγκεκριμένων συστατικών (όπως τα προβιοτικά βακτήρια, το ασβέστιο και η πρωτεΐνη σε υψηλή συγκέντρωση - κάθε μερίδα του περιέχει περίπου εννέα γραμμάρια).

Το ρόφημα κεφίρ είναι γνωστό ως το «ποτό της ευδαιμονίας», καθώς κάποιες μελέτες και θεωρίες το συσχετίζουν με το μεγάλο προσδόκιμο ζωής των ανθρώπων του Καυκάσου (Frag et al., 2020). Ο Δρ. Ιλια Μέτσνικοφ (Elie Metchnikoff), διατύπωσε τη θεωρία ότι τα βακτήρια γαλακτικού οξέος στο κεφίρ μπορεί να είναι υπεύθυνα για τη μεγάλη διάρκεια ζωής των Βούλγαρων. Χαρακτήρισε ευεργετικά τα βακτήρια που *κολυμπούν* στο γάλα που έχει υποστεί ζύμωση και συνέστησε στους ασθενείς του που έπασχαν από πεπτικές παθήσεις να καταναλώνουν κεφίρ. Η έρευνα του Metchnikoff τράβηξε το ενδιαφέρον της All Russian Physicians' Society, η οποία συνέστησε πως όλοι οι Ρώσοι έπρεπε να επωφεληθούν από την κατανάλωσή του. Ωστόσο, οι κάτοικοι των βουνών του Καυκάσου δεν ήταν έτοιμοι να παραδώσουν τους κόκκους του κεφίρ στον υπόλοιπο κόσμο.

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον για τη μελέτη του κεφίρ έδειξαν οι Ρώσοι, οι οποίοι και κατάφεραν τελικά να αποσπάσουν το πολύτιμο μυστικό². Σύμφωνα με ακόμα έναν θρύλο, όπως τον κατέγραψε ο Elinoar Shavit, δύο αδέρφια με το όνομα Blandon, που είχαν ένα τυροκομείο στη ρωσική πόλη Kislovodsk, ανέλαβαν το έργο της αναζήτησης κόκκων κεφίρ. Καθώς όμως οι φυλές που ζούσαν κοντά στα εργοστάσιά τους αρνήθηκαν να πουλήσουν κόκκους στους Blandon, εκείνοι στρατολόγησαν μια από τις υπαλλήλους τους, την Irina Sakharov, με την ελπίδα να καμφθούν οι αντιστάσεις του πρίγκιπα μίας από τις φυλές, με όπλο την απάραμιλλη ομορφιά της. Μη έχοντας επιτυχία στο σχέδιό της, εγκατέλειψε την προσπάθεια και αποχώρησε. Ο πρίγκιπας εν τέλει την απήγαγε με σκοπό να την παντρευτεί, αλλά η Irina, με τη βοήθεια των αδερφών Blandon, δραπέτευσε και κατέφυγε στη ρωσική αυλή του Τσάρου Νικολάου Β΄, όπου μπορούσε να υποβάλει μήνυση κατά του πρίγκιπα. Ως αποζημίωση για την κακοποίησή της, ο Τσάρος διέταξε ώστε ο πρίγκιπας να τιμωρηθεί καταβάλλοντας 10 λίβρες κόκκους κεφίρ.

Το 1908, οι Blandon πούλησαν το πρώτο εμπορικά παραγόμενο ρόφημα κεφίρ στη Ρωσία χρησιμοποιώντας τους κόκκους που κέρδισε η Irina Sakharov. Μέχρι το 1930, το κεφίρ παράγονταν πλέον ευρέως σε όλη τη Ρωσία. Το μυστικό του κεφίρ είχε πια αποκαλυφθεί.

Μέχρι σήμερα, το κεφίρ εξακολουθεί να είναι ένα από τα πιο δημοφιλή ροφήματα στη Ρωσία το οποίο έχει προέλθει από ζύμωση. Η κυβέρνηση έδειξε την εκτίμησή της στην Irina Sakharov

² Πηγή: διαδικτυακοί τόποι (3, 4)

το 1973, μέσω μίας επιστολής του Υπουργού Βιομηχανίας Τροφίμων, με την οποία την ευχαριστούσε για τις «ηρωικές» προσπάθειές της.

Αν και οι κύριοι μ/ο στο προϊόν κεφίρ είναι βακτήρια γαλακτικού οξέος, και ο κύριος μεταβολίτης της ζύμωσης είναι συνήθως γαλακτικό οξύ, το κεφίρ μπορεί να χαρακτηριστεί ως ένα ανθρακούχο ποτό γάλακτος που περιέχει μικρές ποσότητες αλκοόλης. Στις μέρες μας, αυτό το προϊόν που παράγει μόνο του ανθρακικά ιόντα και που έχει ως βάση το γάλα συνεχίζει να είναι δημοφιλές στη Ρωσία, τη νοτιοδυτική Ασία και την Ανατολική και Βόρεια Ευρώπη και πρόσφατα έχει κερδίσει μεγάλη δημοτικότητα στις Ηνωμένες Πολιτείες.

2.4.1. Χαρακτηριστικά του κεφίρ

Το κεφίρ ανήκει στην κατηγορία των λειτουργικών τροφίμων, που τα τελευταία χρόνια φαίνεται να βρίσκονται το επίκεντρο πολλών μελετών καθώς αρκετά από αυτά περιέχουν βιοδραστικά συστατικά. Η κατανάλωσή του αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους παράγοντες που συνδέονται με το μεγάλο προσδόκιμο ζωής των κατοίκων της περιοχής του Καυκάσου, καθώς έχουν αποδειχτεί τα τεράστια οφέλη που προσφέρουν στην υγεία των καταναλωτών αυτού του προϊόντος (Farag et al., 2020)

Το κεφίρ ως τελικό προϊόν είναι ένα ιξώδες, ανθρακούχο διαιτητικό ρόφημα. Το άρωμα καθώς επίσης και η μικροβιακή και η χημική σύστασή του επηρεάζεται από το μέγεθος της καλλιέργειας που προστίθεται στο γάλα, την ανάδευση και τον ρυθμό ανάδευσης κατά τη ζύμωση, τη θερμοκρασία και τη διάρκεια των σταδίων ψύξης και ωρίμανσης μετά τη ζύμωση (Koroleva 1988). Το φυσικό κεφίρ αφήνει μια αναζωογονητική γεύση μαγιάς και μια «αφρώδη» αίσθηση στο στόμα (Kemp 1984).

Οι σύγχρονες διαδικασίες παραγωγής κεφίρ έχουν ως αποτέλεσμα το τελικό προϊόν να περιέχει και ένα μικρό ποσοστό αιθανόλης της τάξης του 0,01–0,1% (Koroleva 1988), αν και έχει παραχθεί και κεφίρ με αιθανόλη έως και 0,25% στο εργαστήριο (Kuo & Lin 1999, Simona et al., 2002; Beshkova et al., 2002). Η ποσότητα αιθανόλης και διοξειδίου του άνθρακα που παράγονται κατά τη ζύμωση του κεφίρ εξαρτώνται από τις συνθήκες παραγωγής. Η ποσότητα του διοξειδίου του άνθρακα ποικίλλει αλλά είναι μικρή σε σχέση με άλλα ροφήματα που προκύπτουν από ζύμωση. Ωστόσο, η παραγωγή του διοξειδίου του άνθρακα (CO₂) δεν σταματάει ακόμα και μετά την παραγωγή του και αποτελεί μία διαδικασία που ακολουθεί το προϊόν και μετά τη συσκευασία. Βέβαια, το γεγονός αυτό μπορεί να δημιουργήσει σε κάποιες περιπτώσεις πρακτικά προβλήματα. Τα πρακτικά αυτά προβλήματα μπορεί να οφείλονται στο γεγονός ότι οι μ/ο, και ιδιαίτερα οι ζύμες, εξακολουθούν να λειτουργούν ακόμα και στο συσκευασμένο προϊόν. Έτσι, το δοχείο του προϊόντος πρέπει να αντέχει την αύξηση της πίεσης στο εσωτερικό του (π.χ. γυαλί), ή να έχει ικανοποιητική ελαστικότητα, ώστε να μπορέσει να χωρέσει το παραγόμενο αέριο (π.χ. πλαστικό με πάμα αλουμινίου) (Kwak et al., 1996).

Το κεφίρ έχει χαρακτηριστική γεύση, η οποία οφείλεται σε αρωματικές ουσίες που αποτελούν μέρος των προϊόντων της ζύμωσης. Ωστόσο, το κεφίρ που παράγεται από καθαρή καλλιέργεια δεν έχει έντονα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά παρά μόνο αν εμπλουτισθεί με γλυκαντικές ύλες. Αξίζει να σημειωθεί ότι 40 % των ατόμων που δοκίμασαν για πρώτη φορά το κεφίρ χαρακτήρισαν θετικά τη γεύση του ροφήματος. Για τον λόγο αυτόν, έχουν κατά καιρούς

προσθεθεί άλλα συστατικά για αρωματισμό του προϊόντος όπως άρωμα ροδάκινου, ή η γεύση άλλαξε με τροποποίηση της διαδικασίας ζύμωσης (π.χ. με προσθήκη *lactococci*, *lactobacilli* ή ζυμών) που βελτιώνει τη γεύση με σκοπό την μεγαλύτερη αποδοχή της από το καταναλωτικό κοινό, σε σύγκριση με το κεφίρ που παράγεται παραδοσιακά.

2.4.2. Κόκκοι του κεφίρ

Οι κόκκοι του κεφίρ έχουν μέγεθος από 0,2 έως 2 cm ή περισσότερο και χαρακτηρίζονται από ακανόνιστη μορφή και διπλωμένη ή ανομοιόμορφη επιφάνεια, που μοιάζει με μικροσκοπικά άνθη κουνουπιδιού (Σχήμα 6) λευκού ή λευκοκίτρινου χρώματος (όταν στεγνώνουν), με γλοιώδη αλλά σταθερή υφή. Μπορούν να διατηρηθούν ζωντανό με τη μεταφορά τους σε καθημερινή βάση σε φρέσκο γάλα, καθώς αναπτύσσονται σε περίπου 20 ώρες. Στο χρονικό αυτό διάστημα οι κόκκοι αυξάνουν τη μάζα τους κατά 25 % περίπου (Koroleva 1988; Kuo & Lin, 1999; Simova et al., 2002).



Σχήμα 6. Κόκκοι κεφίρ.

Οι κόκκοι φαίνεται να προκύπτουν από την αναδίπλωση δομών σε μορφή φύλλου με επακόλουθη αναδίπλωση σε σφαιρικές δομές. Όταν πλυθούν μέσα σε νερό και φυλάσσονται εν ψυχρώ σε αλατούχο διάλυμα, οι κόκκοι μπορούν να διατηρηθούν για τουλάχιστον ένα μήνα. Η μικροχλωρίδα των κόκκων κεφίρ είναι ενσωματωμένοι σε ένα ζελατινώδες, σπογγώδες υπόστρωμα που αποτελείται από πολυσακχαρίτες, πρωτεΐνες γάλακτος και προϊόντα από αυτόλυση του μικροβιακού πληθυσμού. Οι κόκκοι περιέχουν 85–90% νερό και η ξηρή ουσία αποτελείται από 57% υδατάνθρακες, 33% πρωτεΐνες, 4% λίπος και 6% τέφρα.

Ο κύριος πολυσακχαρίτης στους κόκκους κεφίρ ονομάζεται κεφιράνη και παράγεται από τον *Lactobacillus kefirianofaciens*. Η κεφιράνη είναι ένας διακλαδισμένος πολυσακχαρίτης που περιέχει ίσες ποσότητες γλυκόζης και γαλακτόζης. Παραλαμβάνεται από τους κόκκους του κεφίρ με τη βοήθεια θερμού νερού. Σε διάλυμα η κεφιράνη αυξάνει πολύ λίγο το ιξώδες (Koroleva 1988; Kuo & Lin 1999; Simova et al., 2002).

Οι κόκκοι του κεφίρ είναι πολύπλοκες κοινότητες μ/ο που προέκυψαν από τη φυσική σύνδεση των περίπου 30 είδη βακτηρίων και ζυμομυκήτων (Πίνακας 8). Βακτήρια οξικού οξέος, κυρίως *Acetobacter pastorianus*, έχουν απομονωθεί από ορισμένες αλλά όχι όλες τις ποικιλίες κόκκων κεφίρ. Αποτελώντας περίπου το 1% του συνόλου των ζωντανών βακτηρίων, το

Acetobacter μπορεί να παίζει σημαντικό ρόλο στη βελτίωση της γεύσης και της συνοχής του κεφίρ αυξάνοντας το ιξώδες του. Η μικροχλωρίδα του κεφίρ εξαρτάται από τη χώρα προέλευσης, την καλλιέργεια, την συντήρηση και τις συνθήκες αποθήκευσης, αλλά η αναλογία του αριθμού των ζυμών και των βακτηρίων του γαλακτικού οξέος είναι σχετικά σταθερή.

Πίνακας 8. Βακτήρια και ζύμες που βρέθηκαν σε κόκκους κεφίρ.

Lactobacilli ($10^8 - 5 \times 10^9 \text{ g}^{-1}$) ^b	Lactococcus and Leuconostoc ($10^8 - 10^9 \text{ g}^{-1}$)	Yeasts ($10^8 - 10^9 \text{ g}^{-1}$)
Homofermentative <i>Lb. acidophilus</i> <i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> <i>Lb. helveticus</i> <i>Lb. kefiranofaciens</i> <i>Lb. kefirgranum</i>	Homofermentative <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> <i>Sc. thermophilus</i>	Lactose fermenting <i>Kluyveromyces marxianus</i> (anamorph: <i>Candida kefir</i> , synonyms: <i>K. lactis</i> , <i>K. bulgaricus</i>) and subspecies <i>Brettanomyces anomalus</i> (synonym: <i>Dekkera anomala</i>) <i>Debaryomyces hansenii</i> (anamorph: <i>Can. famata</i>)
Facultative or obligately heterofermentative <i>Lb. kefir</i> <i>Lb. parakefir</i> <i>Lb. brevis</i> <i>Lb. plantarum</i> <i>Lb. casei</i> and subspecies	Heterofermentative, citrate fermenting <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> biovar. <i>diacetilactis</i> <i>Ln. lactis</i> <i>Ln. mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i> <i>Ln. mesenteroides</i> subsp. <i>cremoris</i> <i>Ln. mesenteroides</i> subsp. <i>dextranicum</i>	Non-fermenting lactose <i>Saccharomyces unisporus</i> <i>Sac. turicensis</i> <i>Sac. cerevisiae</i> <i>Sac. exiguus</i> (synonyms: <i>Can. holmii</i> , <i>Torula holmii</i>) <i>Torulasporea delbrueckii</i> (anamorph: <i>Can. colliculosa</i>) <i>Pichia fermentans</i> (anamorph: <i>Can. lambica</i>)

2.4.3. Διατηρησιμότητα του κεφίρ

Οι κόκκοι διατηρούνται ζωντανοί με την καθημερινή τους μεταφορά σε φρέσκο γάλα. Είναι απαραίτητο να αναπαραχθούν με αυτόν τον τρόπο για να διατηρήσουν τη βιωσιμότητά τους, δεδομένου ότι οι παλιοί και ξηροί κόκκοι κεφίρ έχουν μικρή ή ελάχιστη ικανότητα να αναπαραχθούν. Οι κόκκοι πρέπει να διατηρούνται βιώσιμοι στις καθημερινές μεταφορές και θα πρέπει να αντικαθίστανται μόνο αν η ικανότητά τους στη ζύμωση του γάλακτος μειώνεται σημαντικά. Οι καλύτερες συνθήκες για να διατηρηθούν οι κόκκοι ζωντανοί είναι η χαμηλή θερμοκρασία αποθήκευσης, συνθήκη που εξασφαλίζει τη διατηρησιμότητά τους για μεγαλύτερα χρονικά διαστήματα. Μάλιστα, οι ακραίες συνθήκες διατήρησης των κόκκων (αποθήκευση στους -80 ή -20°C για 120 ημέρες) φαίνεται ότι δεν επηρεάζουν την ικανότητά τους για ζύμωση, συγκρινόμενοι με «φρέσκους» κόκκους που δεν είχαν αποθηκευτεί. Όμως σε περίπτωση αποθήκευσης σε συνθήκες ήπιας κατάψυξης (-4°C) δεν μπορούν να διατηρήσουν τη βιωσιμότητά τους και μετά την απόψυξη δεν παράγουν κεφίρ. Ο μικροβιακός πληθυσμός που συνθέτει κόκκους κεφίρ φαίνεται να είναι σχετικά σταθερός με την πάροδο του χρόνου, αν και εποχιακά έχουν παρατηρηθεί αλλαγές στη χλωρίδα των κόκκων (Farnworth, 2005).

Η χημική σύσταση του κεφίρ εξαρτάται όπως ειπώθηκε παραπάνω από το ποσοστό των κόκκων κεφίρ, αλλά και από τη γεωγραφική τους προέλευση, τη θερμοκρασία και τις συνθήκες που συνδέονται με το χρόνο της ζύμωσης, και φυσικά από τον τύπο και τον όγκο του χρησιμοποιούμενου γάλακτος (Stepaniak & Fetliński, 2002; Κεχαγιάς & Τσάκαλη, 2017). Οι φυσικοχημικές ιδιότητες του κεφίρ περιλαμβάνουν όξινο pH κοντά στο 4,6 και συγκέντρωση αιθανόλης 0,5% -2%. Επίσης, το διοξείδιο του άνθρακα που παράγεται από τις ζύμες του αποδίδει την ιδιότητα του ανθρακούχου ροφήματος (Schulz-Collins & Senge, 2004). Ο

Πίνακας 9 περιγράφει τα όρια των συστατικών που περιέχονται στο κεφίρ σύμφωνα με τον Διεθνή Οργανισμό Τροφίμων και Γεωργίας (*fao.org*).

Πίνακας 9. Όρια των συστατικών του κεφίρ (*fao.org*).

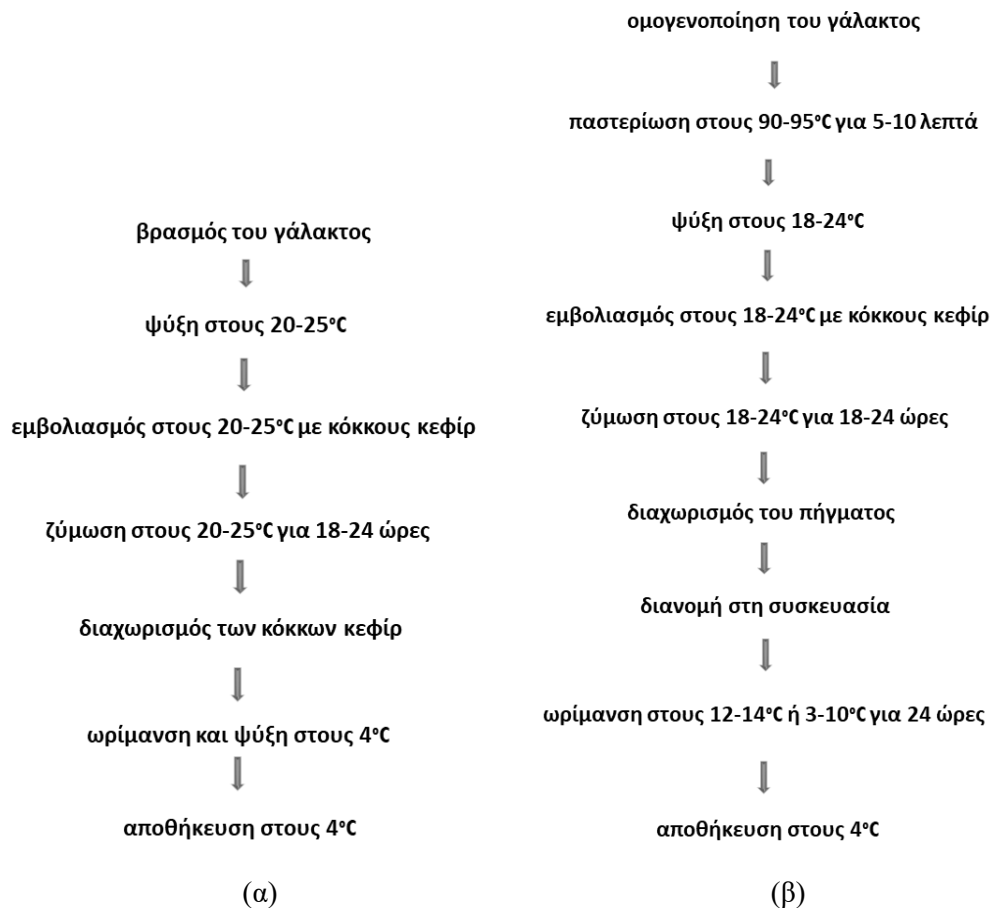
Συστατικά	Όρια
Πρωτεΐνη γάλακτος (% w/w)	>2,7
Λίπος γάλακτος (% w/w)	<10
Οξύτητα εκφραζόμενη σε %γαλακτικό οξύ	>0,7
Καλλιέργεια εκκίνησης (cfu/g)	>10 ⁷
Ζύμες (cfu/g)	>10 ⁴

2.4.4. Μέθοδοι παρασκευής του κεφίρ

Το κεφίρ παρασκευάζεται με ζύμωση των κόκκων κεφίρ. Αυτοί οι κόκκοι αποτελούνται από καζεΐνη και ζελατινώδεις αποικίες μ/ο που αναπτύσσονται μαζί συμβιωτικά. Εκτός από διάφορους ωφέλιμους μ/ο περιέχει και ζύμες. Αυτοί οι ωφέλιμοι μ/ο είναι που διαχωρίζουν το κεφίρ από όλα σχεδόν τα άλλα γαλακτοκομικά προϊόντα καλλιέργειας, τα οποία συνήθως χρησιμοποιούν μόνο ένα και σπάνια περισσότερα από τρία είδη στη διαδικασία καλλιέργειας. Αυτοί οι μ/ο παράγουν ποικίλες αλλαγές στο γάλα.

Παραδοσιακή μέθοδος παρασκευής του κεφίρ

Η παραδοσιακή μέθοδος παρασκευής (Σχήμα 7(α)) του κεφίρ μπορεί να γίνει με απευθείας προσθήκη των κόκκων κεφίρ στο γάλα. Το γάλα αρχικά βράζει και στη συνέχεια ψύχεται στους 20-25°C, και στη συνέχεια εμβολιάζεται με 2-10 % (συνήθως 5 %) κόκκους κεφίρ. Το μείγμα ζυμώνεται για περίπου 18-24 h στους 25°C, και στη συνέχεια οι κόκκοι διαχωρίζονται από το γάλα. Ακολουθεί ξήρανση των κόκκων σε θερμοκρασία δωματίου για να μπορούν να διατηρηθούν και να χρησιμοποιηθούν ξανά σε επόμενο εμβολιασμό. Το κεφίρ διατηρείται στους 4°C και είναι έτοιμο προς κατανάλωση.



Σχήμα 7. Παραδοσιακή (α) και βιομηχανική (β) μέθοδος παρασκευής.

Βιομηχανική μέθοδος παρασκευής κεφίρ

Το κεφίρ σε βιομηχανική κλίμακα (Σχήμα 7(β)) ακολουθεί λίγο διαφορετική διαδικασία, ενώ συχνά υπάρχουν διαφοροποιήσεις για να ληφθούν τροποποιημένα προϊόντα. Αρχικά γίνεται ομογενοποίηση του γάλακτος στο 8 % ξηρής ουσίας και θέρμανση στους 90-95°C για 5-10 min. Στη συνέχεια το γάλα ψύχεται στους 18-24°C και πραγματοποιείται ο εμβολιασμός με 2-8 % καλλιέργεια κόκκων κεφίρ (βακτηριακή καλλιέργεια) σε δεξαμενές. Η ζύμωση διαρκεί 18 έως 24 h ανάλογα με άλλες παραμέτρους. Το πηγμάτ διαχωρίζεται και διαμοιράζεται στα δοχεία συσκευασίας. Μετά την σύντομη ωρίμανση στους 12-14°C ή στους 3-10°C για 24 h και αποθηκεύεται στους 4°C.

2.4.5. Βιολογικά συστατικά του κεφίρ

Τα βασικότερα βιολογικά συστατικά του κεφίρ είναι οι εξωπολυσακχαρίτες και τα βιοδραστικά πεπτίδια. Οι εξωπολυσακχαρίτες ανήκουν στους υδατάνθρακες, που βρίσκονται στην κυτταρική επιφάνεια και παρέχουν προστατευτικές και προσαρμοστικές ιδιότητες στα βακτήρια γαλακτικού οξέος που τους παράγουν. Ο σημαντικότερος εξωπολυσακχαρίτης του κεφίρ, η κεφιράνη που βρίσκεται μέσα στους κόκκους και περιέχει στο μόριο της D-γλυκόζη και D-γαλακτόζη σε αναλογία 1:1. Εξαιτίας των ευεργετικών ιδιοτήτων που της έχουν

αποδοθεί, διάφορες ερευνητικές ομάδες έχουν ασχοληθεί με τη βελτιστοποίηση των συνθηκών παραγωγής κεφίρανης (Farnworth, 2005).

Πολλοί οργανισμοί διαθέτουν ένζυμα (π.χ. πρωτεϊνάσες και πεπτιδάσες) τα οποία είναι ικανά να υδρολύσουν τις πρωτεΐνες, ενισχύοντας έτσι την ανάπτυξη του οργανισμού με απελευθέρωση πεπτιδίων και αμινοξέων. Η δράση της πρωτεϊνάσης και της πεπτιδάσης στις πρωτεΐνες γάλακτος μπορεί θεωρητικά να οδηγήσει σε έναν πολύ μεγάλο αριθμό πιθανών πεπτιδίων. Έτσι και στους κόκκους κεφίρ φαίνεται να δρα η πρωτεϊνάση, πράγμα που αυξάνει την πιθανότητα να υπάρχουν βιοδραστικά πεπτίδια στο κεφίρ (Farnworth, 2005).

2.4.6. Οφέλη του κεφίρ

Οι χημικές μεταβολές των καλλιεργειών καθιστούν το γάλα πολύ πιο εύπεπτο, επιτρέποντας στον οργανισμό να απορροφήσει περισσότερα από τα θρεπτικά συστατικά. Η μετατροπή της λακτόζης σε γαλακτικό οξύ επιτρέπει στον ανθρώπινο οργανισμό, ακόμη και σε άτομα με δυσανεξία στη λακτόζη, να αφομοιώσουν το κεφίρ και να αποκομίσουν τα πλήρη οφέλη του. Το κεφίρ είναι ένα προϊόν πλούσιο σε ασβέστιο, αμινοξέα, και βιταμίνες του συμπλέγματος Β. Παίζει καθοριστικό ρόλο στην ανάπτυξη υγιούς πεπτικού συστήματος στα βρέφη, προστατεύει από τις αρνητικές επιπτώσεις της ακτινοβολίας και βοηθά στη βελτίωση του ανοσοποιητικού συστήματος (Stepaniak & Fetliński, 2002; Farnworth, 2005; Daliri & Lee, 2015).

Οι φιλικές καλλιέργειες του κεφίρ παράγουν επίσης ειδικές αντιβιοτικές ουσίες που μπορούν να ελέγξουν τους ανεπιθύμητους μ/ο και να λειτουργήσουν ως αντικαρκινικοί παράγοντες. Το κεφίρ βοηθά επίσης στην ενίσχυση της λειτουργίας του εντέρου και στον έλεγχο της *candida* - μια κατάσταση, όπου υπάρχει υπερβολική ανάπτυξη ζυμομυκήτων. Αναφορικά με την *Candida*, ο διάσημος Δανός βακτηριολόγος Δρ. Orla-Jenson, εξειδικευμένος στην έρευνα των γαλακτοκομικών προϊόντων αναφέρει ότι «το κεφίρ αφομοιώνει τα κύτταρα της ζύμης και έχει ευεργετική επίδραση στην εντερική χλωρίδα» (Stepaniak & Fetliński, 2002).

Ο νομπελίστας Elie Metchnikoff (1908) διαπίστωσε ότι το κεφίρ ενεργοποιεί τη ροή του σάλιου, πιθανότατα λόγω της περιεκτικότητάς του σε γαλακτικό οξύ και της μικρής ποσότητας ενανθράκωσης. Το κεφίρ διεγείρει την περίσταση και την έκκριση πεπτικών υγρών. Για αυτούς τους λόγους συνιστάται ως μετεγχειρητική τροφή αφού οι περισσότερες επεμβάσεις στην κοιλιακή χώρα αναγκάζουν τα έντερα να σταματήσουν να συστέλλονται και να σπρώχνουν την τροφή κατά μήκος.

Οι μοναδικές ιδιότητες του κεφίρ (Πίνακας 10) (Stepaniak & Fetliński, 2002) περιλαμβάνουν τη χρήση του ως θεραπεία για προβλήματα του πεπτικού συστήματος λόγω της πολύ χαμηλής τάσης του, που σημαίνει ότι το τυρόπηγμα διασπάται πολύ εύκολα σε εξαιρετικά μικρά σωματίδια. Το τυρόπηγμα του γιαουρτιού, από την άλλη πλευρά, συγκρατείται ή διασπάται σε σβώλους. Το μικρό μέγεθος του τυροπήγματος κεφίρ διευκολύνει την πέψη παρουσιάζοντας μια μεγάλη επιφάνεια για να λειτουργήσουν οι παράγοντες πέψης. Επιπλέον, το κεφίρ έχει ήπια καθαρτική δράση. Συνιστάται επίσης για αποκατάσταση της εντερικής χλωρίδας σε άτομα που αναρρώνουν από σοβαρή ασθένεια ή λαμβάνουν αντιβιοτικά.

Το κεφίρ υποβάλλεται σε προκαταρκτική πέψη λόγω της διαδικασίας ζύμωσης που καθίσταται ανεκτή σε εκείνα τα άτομα που δεν μπορούν να καταναλώσουν γαλακτοκομικά προϊόντα.

Πίνακας 10. Θρεπτικές και θεραπευτικές ιδιότητες του κεφίρ (Stepaniak & Fetliński, 2002).

Ιδιότητα	Δράση
Αναστολή παθογόνων και σπορογόνων μ/ο	Αναστολή του <i>Escherichia coli</i> -157 με τον αποικισμό της μικροχλωρίδας του κεφίρ στο γαστρεντερικό σωλήνα. Η χορήγηση του κεφίρ απέτρεψε τον αποικισμό της σαλμονέλας στο έντερο των κοτόπουλων. Αναστολή του <i>Listeria</i> από βακτηριοκίνες που παράγονται από βακτήρια γαλακτικού οξέος που απομονώνονται από κόκκους κεφίρ.
Διέγερση παραγωγών βακτηριοκίνης	Η παραγωγή νισίνης από τον <i>Lactococcus</i> διεγείρεται από τον <i>Kluyveromyces</i> , και οι δύο μ/ο έχουν απομονωθεί από το κεφίρ.
Παράταση της επιβίωσης των προβιοτικών βακτηρίων	Το <i>Kluyveromyces marxianus</i> παράτεινε την επιβίωση των bifidobacteria στο γάλα στους 4 °C.
Ανοσοδιέγερση	Η από του στόματος χορήγηση υδατοδιαλυτού κλάσματος από κόκκους κεφίρ διέγειρε την παραγωγή αντισωμάτων σε ποντίκια.
Αντικαρκινική δραστηριότητα	Μείωση του μεγέθους του όγκου, εξαφάνιση της νέκρωσης του όγκου σε ποντίκια.
Μείωση του στρες	Η κεφιράνη μπορεί να θεωρηθεί ως συστατικό κατά του στρες.
Μείωση της δυσανεξίας της λακτόζης	Ενίσχυση της εντερικής υδρόλυσης λακτόζης από κόκκους κεφίρ που προστίθενται στη διατροφή χοίρων.
Αφομοίωση χοληστερόλης	Οι κόκκοι κεφίρ που καλλιεργούνται σε γάλα απορροφούν το 40% με 84% της περιεκτικότητάς τους σε χοληστερόλη.

3. Σκοπός της εργασίας

Σκοπός της παρούσας μεταπτυχιακής διατριβής ήταν η μελέτη της επίδρασης της χημικής σύστασης και του χρόνου διατήρησης στις φυσικοχημικές, ρεολογικές και μικροβιολογικές ιδιότητες τυριών αλοφώδους υφής παρασκευασμένων με τη χρήση καλλιέργειας εκκίνησης κεφίρ. Για την επίτευξη του συγκεκριμένου σκοπού παρασκευάστηκαν δείγματα, στα οποία πραγματοποιήθηκε προσθήκη πρωτεϊνών γάλακτος σε ποσοστό 2% και κρέμας γάλακτος σε ποσοστό 10%. Επίσης, παρασκευάστηκε και δείγμα μάρτυρας χωρίς προσθήκη κρέμας και πρωτεϊνών γάλακτος. Ως καλλιέργεια εκκίνησης χρησιμοποιήθηκε εμπορική καλλιέργεια κεφίρ. Τα δείγματα εξετάστηκαν αμέσως μετά την παρασκευή τους και μετά την αποθήκευσή τους στους 4°C για 20 και 40 ημέρες. Όσον αφορά τα δείγματα που αποθηκεύτηκαν στους 4°C, συσκευάστηκαν τόσο σε κενό, όσο και σε περιβάλλον τροποποιημένης ατμόσφαιρας-MAP (30% CO₂ και 70% N₂). Επίσης, εξετάστηκε και ένα εμπορικό δείγμα τυριού αλοφώδους υφής (κατίκι δομοκού) ως προς τη φυσικοχημική του σύσταση, καθώς και για τη ρεολογική του συμπεριφορά. Οι φυσικοχημικές αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν περιλάμβαναν τον προσδιορισμό του pH, της υγρασίας, του λίπους και των πρωτεϊνών. Όσον αφορά τις ρεολογικές ιδιότητες των δειγμάτων, μελετήθηκαν εφαρμόζοντας δύο δοκιμές μικρής παραμόρφωσης (δυναμική δοκιμή και δοκιμή ερπυσμού) και προσδιορίζοντας το ιξώδες τους. Από τη δυναμική δοκιμή υπολογίστηκε ο συντελεστής ελαστικότητας και η $\tan \delta$, από τη δοκιμή ερπυσμού προσδιορίστηκαν η στιγμιαία ελαστικότητα, η καθυστερούμενη ελαστικότητα και το νευτώνειο ιξώδες, ενώ από τις καμπύλες ροής υπολογίστηκαν το φαινομενικό ιξώδες στα 40s⁻¹ και ο δείκτης ρεολογικής συμπεριφοράς. Οι μικροβιολογικές αναλύσεις περιλάμβαναν τον προσδιορισμό των οξυγαλακτικών βακτηρίων, των ζυμών και των κολοβακτηριοειδών.

4. Υλικά και μέθοδοι

4.1. Υλικά

Για την παρασκευή των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε παστεριωμένο, ομογενοποιημένο αγελαδινό γάλα λιποπεριεκτικότητας 3,5%, πρωτεΐνες γάλακτος (Milk Protein Concentrate 80, ADPI, USA), κρέμα γάλακτος λιποπεριεκτικότητας 35%, εμπορική καλλιέργεια μεσόφιλων ομοζυμωτικών γαλακτικών βακτηρίων (*Lactococcus lactis/Lactococcus cremoris*) (DI-PROX M 255, Bioprox, France) σε λυοφιλωμένη μορφή και συμβατική πυτιά σε υγρή μορφή (Κυανούς Σταυρός, Αριστομένης Φίκας & ΣΙΑ Α.Ε., Θεσσαλονίκη).

4.2. Κωδικοποίηση δειγμάτων

Συνολικά παρασκευάστηκαν 3 δείγματα τυριού αλοιφώδους υφής με τη χρήση εμπορικής καλλιέργειας εκκίνησης. Το ένα δείγμα παρασκευάστηκε με προσθήκη πρωτεϊνών γάλακτος (ΠΓ) σε ποσοστό 2%, το δεύτερο με προσθήκη κρέμας γάλακτος (ΚΓ) σε ποσοστό 10% και το τρίτο χωρίς προσθήκη πρωτεϊνών ή κρέμας γάλακτος (Μάρτυρας). Επίσης, εξετάστηκε και ένα εμπορικό δείγμα τυριού αλοιφώδους υφής (Κατίκι Δομοκού - ΚΔ), ως προς τη φυσικοχημική του σύσταση, καθώς και για τη ρεολογική του συμπεριφορά.

4.3. Παρασκευή δειγμάτων

Το γάλα χωρίστηκε σε 3 ίσα μέρη. Σε ένα από αυτά (ΠΓ) πραγματοποιήθηκε προσθήκη πρωτεϊνών γάλακτος σε ποσοστό 2% υπό συνεχή ανάδευση. Στο δεύτερο (ΚΓ) πραγματοποιήθηκε προσθήκη κρέμας γάλακτος σε ποσοστό 10%, ενώ στον δείγμα Μάρτυρα δεν πραγματοποιήθηκε καμία προσθήκη. Ακολούθησε θερμική επεξεργασία του γάλακτος στους 90°C για 5min και ψύξη μέχρι τους 25°C. Στη συνέχεια το γάλα μεταφέρθηκε σε αποστειρωμένους γυάλινους περιέκτες και προστέθηκε η εμπορική καλλιέργεια εκκίνησης, η οποία ήταν σε λυοφιλωμένη μορφή, υπό ασηπτικές συνθήκες και σε ποσότητα σύμφωνα με τις οδηγίες του παρασκευαστή. Μετά την προσθήκη της καλλιέργειας, ακολούθησε η προσθήκη της πυτιάς σε ποσοστό (0,01%) σε όλα τα δείγματα, τα οποία μεταφέρθηκαν σε κλίβανο θερμοκρασίας 25°C για να πραγματοποιηθεί η πήξη τους. Μετά την ολοκλήρωση της πήξης (25°C για περίπου 20 h) έγινε η διαίρεση του τυροπήγματος. Μετά τη διαίρεση του τυροπήγματος τα δείγματα παρέμειναν στους 18°C για περίπου 1 h και στη συνέχεια το τυρόπηγμα μεταφέρθηκε σε ειδικά καλούπια, στα οποία είχαν τοποθετηθεί υφασμάτινα πανιά. Στη συνέχεια τα δείγματα παρέμειναν στους 16°C για στράγγιση μέχρι την επόμενη μέρα, όπου και απομακρύνθηκαν από τα καλούπια και μεταφέρθηκαν σε πλαστικούς περιέκτες. Τα δείγματα που εξετάστηκαν αμέσως μετά την παρασκευή τους τοποθετήθηκαν σε ψύξη για τουλάχιστον 24 h μέχρι να αναλυθούν. Τα υπόλοιπα δείγματα συσκευάστηκαν τόσο υπό κενό όσο και σε περιβάλλον τροποποιημένης ατμόσφαιρας (30% CO₂ και 70% N₂). Τα

συσκευασμένα δείγματα στη συνέχεια τοποθετήθηκαν στους 4°C για 20 και 40 ημέρες μέχρι να αναλυθούν.

4.4. Φυσικοχημικές αναλύσεις

4.4.1. Προσδιορισμός pH

Για τη ρύθμιση του pH των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε το εργαστηριακό πεχάμετρο EDT Instruments GP353 ATC pH METER. Το όργανο ρυθμίστηκε με τη βοήθεια ρυθμιστικών διαλυμάτων (Buffer 4 και 7) και η θερμοκρασία του προσαρμόστηκε στη θερμοκρασία του δείγματος. Στη συνέχεια το ηλεκτρόδιο εμβαπτίστηκε στο γάλα και ακολούθησε η προσθήκη του διαλύματος γαλακτικού οξέος μέχρι η ένδειξη του οργάνου να σταθεροποιηθεί στην επιθυμητή τιμή.

4.4.2. Προσδιορισμός ξηρής ουσίας

Για τον προσδιορισμό της ξηρής ουσίας και κατ' επέκταση της υγρασίας, χρησιμοποιείται η σταθμική μέθοδος, κατά την οποία γίνεται ξήρανση του δείγματος στους 102±1°C μέχρι σταθερού βάρους. Πιο συγκεκριμένα, 20-30g άμμου τοποθετήθηκαν σε κάψες πορσελάνης μαζί με μία γυάλινη ράβδο και ξηράθηκαν σε κλίβανο στους 102±1°C. Μετά από περίπου 1 ώρα μεταφέρθηκαν σε ξηραντήρα για να αποκτήσουν θερμοκρασία περιβάλλοντος στη συνέχεια να ζυγιστούν (α1). Έπειτα προστέθηκαν στην κάψα με την άμμο περίπου 0,7g δείγματος, αναμίχθηκαν με ράβδο για αύξηση της επιφάνειας του δείγματος, ζυγίστηκαν (α2) και τοποθετήθηκαν στον κλίβανο για ξήρανση για 3 ώρες. Μετά την ξήρανση ακολουθεί ψύξη στον ξηραντήρα και ζύγιση (α3). Η διαδικασία αυτή επαναλαμβάνεται μέχρι όπου δύο διαδοχικές ζυγίσεις να ταυτίζονται. Όταν επιτευχθεί αυτό υπολογίζεται η ξηρή ουσία με βάση τον τύπο (Δημητρέλη, 2014):

$$EO (\%) = \frac{\alpha_3 - \alpha_1}{\alpha_2 - \alpha_1} \cdot 100 \quad (0.1)$$

Για το κάθε δείγμα πραγματοποιήθηκαν 3 επαναλήψεις.

4.4.3. Προσδιορισμός λίπους

Ο προσδιορισμός του λίπους των δειγμάτων έγινε με τη μέθοδο van Gulic. Αυτή στηρίζεται στο ότι όταν προστεθεί θειικό οξύ στο δείγμα, διασπώνται όλα τα συστατικά του εκτός από το λίπος, το οποίο ελευθερώνεται μετά την καταστροφή της μεμβράνης των λιποσφαιρίων και διαχωρίζεται από τα υπόλοιπα συστατικά με τη βοήθεια αμυλικής αλκοόλης και την επίδραση φυγοκέντρωσης. Αρχικά ζυγίστηκαν 3g από το κάθε δείγμα στον υποδοχέα του βουτυρόμετρου, ο οποίος έπειτα τοποθετήθηκε σε αυτό και προστέθηκε θειικό οξύ από το ανοιχτό στόμιο, μέχρι να καλυφθεί όλη η μάζα του τυριού (Δημητρέλη, 2014).

Στη συνέχεια, τα βουτυρόμετρα μεταφέρθηκαν σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 65°C για 20-30 min, μέχρι τη διάλυση όλου του δείγματος. Αφού διαλύθηκε όλη η μάζα του, προστέθηκε 1mL

αμυλικής αλκοόλης και θειικό οξύ μέχρι περίπου τα 4/5 της κλίμακας και πωματίστηκαν. Ακολούθησε φυγοκέντρηση στις 1000-1200 στροφές στους 65°C για 10 min. Μετά το πέρας της φυγοκέντρησης, η λιποπεριεκτικότητα (%) του δείγματος προέκυψε από τη διαφορά της ένδειξης στο κάτω μέρος του μνηίσκου της στοιβάδας λίπους με την ένδειξη της διαχωριστικής γραμμής της στοιβάδας του λίπους και των υπολοίπων συστατικών.

4.4.4. Προσδιορισμός πρωτεϊνών

Ο προσδιορισμός των πρωτεϊνών πραγματοποιήθηκε μέσω του προσδιορισμού του ολικού αζώτου του δείγματος, χρησιμοποιώντας τη μέθοδο Kjeldahl (AOAC, 1990).

Σύμφωνα με τη μέθοδο Kjeldahl, πραγματοποιείται θέρμανση του δείγματος με πυκνό θειικό οξύ παρουσία καταλύτη στους 400°C. Κατά τη θέρμανση γίνεται καύση των οργανικών ουσιών του δείγματος και το άζωτο μετατρέπεται σε θειικό αμμώνιο. Ακολουθεί απελευθέρωση της αμμωνίας με την προσθήκη καυστικού νατρίου, διαχωρισμός της με απόσταξη με υδρατμούς και παραλαβή της σε διάλυμα βορικού οξέος, ως βορικό αμμώνιο. Τέλος, η ποσότητα του βορικού αμμωνίου ογκομετρείται με πρότυπο διάλυμα υδροχλωρικού οξέος.

Σε σωλήνα Kjeldahl τοποθετήθηκαν δύο δισκία καταλύτη (1000 KJELTABS CX, Gerhardt GmbH & Co, Königswinter, Germany) (το κάθε δισκίο περιέχει 5 g θειικού καλίου-K₂SO₄ και 0,5 g θειικού χαλκού-CuSO₄·5H₂O) και περίπου 3 g δείγματος (ζυγισμένο με ακρίβεια 0,1 mg σε χαρτί ελευθέρου αζώτου). Στη συνέχεια προστέθηκαν 25 mL πυκνού θειικού οξέος (d=1,84 g/cm³ στους 20°C) και το περιεχόμενο της φιάλης αναμίχθηκε.

Ακολούθησε θέρμανση σε συσκευή καύσης (Gerhardt Turbotherm, Gerhardt GmbH & Co, Königswinter, Germany), η οποία διαθέτει και σύστημα εξουδετέρωσης των ατμών καύσης (Gerhardt Scrubber Unit Turbosog, Gerhardt GmbH & Co, Königswinter, Germany). Αρχικά η θέρμανση ήταν ήπια μέχρι να σταματήσει ο αφρισμός και το περιεχόμενο γίνει υγρό. Κατόπιν, η θέρμανση συνεχίστηκε έντονα, μέχρις ότου το περιεχόμενο γίνει διαυγές.

Η απόσταξη πραγματοποιήθηκε με τη χρήση συσκευής απόσταξης (Gerhardt Vapodest 50, Gerhardt GmbH & Co, Königswinter, Germany). Ο σωλήνας Kjeldahl τοποθετήθηκε στην υποδοχή της συσκευής και τέθηκε σε λειτουργία το πρόγραμμα που είχε κατάλληλα προσαρμοστεί στις απαιτήσεις του προσδιορισμού. Συγκεκριμένα, αρχικά προστίθετο ποσότητα νερού και στη συνέχεια ποσότητα διαλύματος NaOH συγκέντρωσης 30% (w/w). Ακολουθούσε απόσταξη και οι ατμοί που παράγονταν συλλέγονταν σε διάλυμα βορικού οξέος συγκέντρωσης 4% (w/v). Στο δοχείο συλλογής ατμών ήταν βυθισμένο ηλεκτρόδιο για τη μέτρηση της τιμής pH. Η τιτλοδότηση του δείγματος γινόταν με πρότυπο διάλυμα υδροχλωρικού οξέος κανονικότητας 0,1 N. Επίσης, πραγματοποιήθηκε και λευκός προσδιορισμός με τον ίδιο τρόπο ακριβώς χωρίς την προσθήκη δείγματος.

Το ολικό άζωτο του δείγματος υπολογίστηκε από τον τύπο :

$$\text{Ολικό άζωτο \%} = \frac{(\alpha - \beta) \times N \times 1,4}{B} \quad (4.2)$$

όπου α είναι τα mL υδροχλωρικού οξέος που καταναλώθηκαν κατά τον προσδιορισμό στο δείγμα, β τα mL υδροχλωρικού οξέος που καταναλώθηκαν κατά το λευκό προσδιορισμό, N

η κανονικότητα του υδροχλωρικού οξέος και Β το βάρος του δείγματος σε g. Ο προσδιορισμός του ολικού αζώτου πραγματοποιήθηκε 3 φορές. Ο προσδιορισμός της περιεκτικότητας του δείγματος σε πρωτεΐνες βρίσκεται όταν η περιεκτικότητα σε άζωτο πολλαπλασιαστεί με το συντελεστή 6,38 (Δημητρέλη, 2014).

4.5. Μελέτη ρεολογικών ιδιοτήτων

Οι ρεολογικές ιδιότητες των δειγμάτων μελετώνται μετρώντας τη δύναμη που ασκείται σε αυτά (εκφράζεται ανά μονάδα επιφανείας και ονομάζεται τάση) και τη παραμόρφωση που προκαλεί αυτή συναρτήσει του χρόνου. Οι δοκιμές τάσης – παραμόρφωσης μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε δυο τύπους, στις δοκιμές μικρής παραμόρφωσης και στις δοκιμές μεγάλης παραμόρφωσης. Η πρώτη κατηγορία αναφέρεται στην παραμόρφωση ενός δείγματος στα όρια της γραμμικής ελαστικότητας, όπου απαιτείται ένα πολύ μικρό ποσοστό παραμόρφωσης. Οι δοκιμές μεγάλης παραμόρφωσης αναφέρονται στην παραμόρφωση ενός δείγματος μέχρι το σημείο της μόνιμης αλλαγής της δομής του (Steffe, 1996).

Για τη μελέτη της ρεολογικής συμπεριφοράς των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε ο δυναμικός μηχανικός αναλυτής Bohlin C-VOR 150 (Malvern Instruments Ltd, Worcestershire, UK). Στα δείγματα εφαρμόστηκαν δύο δοκιμές μικρής παραμόρφωσης (δυναμική δοκιμή και δοκιμή ερπυσμού) και προσδιορίστηκε το ιξώδες τους (ανήκει στις δοκιμές μεγάλης παραμόρφωσης). Η θερμοκρασία μέτρησης κατά τη διάρκεια των πειραμάτων ήταν 4°C. Οι ρεολογικές μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν δυο φορές για κάθε δείγμα.

4.5.1. Δυναμική δοκιμή

Κατά τη δυναμική δοκιμή το δείγμα υποβάλλεται σε περιοδική τάση διάτμησης ή συμπίεσης μέσα στα όρια της γραμμικής ελαστικότητας του (μπορεί 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). 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. Οι ρεολογικές παράμετροι που συνήθως μετρούνται κατά τη δυναμική δοκιμή είναι ο συντελεστής ελαστικότητας (G'), ο συντελεστής ιξώδους (G'') και η εφαπτομένη δ ($\tan\delta$) που ορίζεται ως ο λόγος G'' προς G' (Steffe, 1996).

Κατά τη δυναμική δοκιμή χρησιμοποιήθηκαν οι συνθήκες σάρωσης συχνότητας ταλάντωσης με ελεγχόμενη παραμόρφωση. Η συχνότητα κυμαινόταν από 0,01-6Hz, 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 $5,0 \times 10^{-4}$. 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 $\tan\delta$ σε συχνότητα 0,1Hz.

4.5.2. Δοκιμή ερπυσμού

Η δοκιμή αυτή έχει ιδιαίτερη χρησιμότητα και σημασία γιατί βοηθά στη μελέτη της φύσης των δευτερευόντων δεσμών συνοχής ενός υλικού και συγχρόνως επιτρέπει τον υπολογισμό του νευτώνειου ιξώδους. Κατά την εφαρμογή της δοκιμής, στο δείγμα που βρίσκεται μεταξύ δύο πλακών εφαρμόζεται αιφνίδια καθορισμένη τάση (το μέγεθος της οποίας έχει προϋπολογισθεί ώστε να βρίσκεται εντός των ορίων της γραμμικής ελαστικότητας). Η τάση ασκείται για ορισμένο χρονικό διάστημα κατά το οποίο το δείγμα έρπει ανάλογα με τον τύπο του δηλαδή αν είναι πυκνό διάλυμα, πηκτή ή στερεό, και κατόπιν η τάση παύει να ασκείται και το δείγμα επανακάμπει δομικά στη προηγούμενη κατάσταση του είτε ολοκληρωτικά, αν πρόκειται για στερεό (ελαστικό), είτε εν μέρει, αν πρόκειται για πηκτή (ιξωδοελαστικό), είτε και καθόλου αν πρόκειται για πυκνό διάλυμα (ιξώδες) (Steffe, 1996).

Κατά τη δοκιμή ερπυσμού η διατμητική τάση ρυθμίστηκε στην τιμή 2 Pa, ο χρόνος εφαρμογής της ήταν 180s και ο χρόνος ανάκαμψης 100s. Οι τιμές της παραμόρφωσης των δειγμάτων καθ' όλη τη διάρκεια των μετρήσεων και για όλα τα δείγματα ήταν της τάξης των 10^{-3} . Η προετοιμασία των δειγμάτων έγινε όπως περιγράφεται στην δυναμική δοκιμή. Από την εφαρμογή της δοκιμής προσδιορίστηκαν το νευτώνειο ιξώδες η_0 , η στιγμιαία ελαστικότητα G_s και η καθυστερούμενη ελαστικότητα G_R .

4.5.3 Προσδιορισμός ιξώδους

Το ιξώδες αποτελεί μέτρο της εσωτερικής τριβής του ρευστού (McClements, 1999). 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.

Κατά τη διάρκεια της δοκιμής, οι παράμετροι που μελετήθηκαν ήταν το φαινομενικό ιξώδες (η_0) συναρτήσει της ταχύτητας διάτμησης (καμπύλες ροής δειγμάτων). 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. Οι μετρήσεις έγιναν σε εύρος ταχύτητας διάτμησης $0,5 - 60\text{s}^{-1}$ και το φαινομενικό ιξώδες παρουσιάζεται στα 40s^{-1} , καθώς σε αυτή την ταχύτητα προσομοιάζεται η παραμόρφωση που υφίστανται παρόμοιας υφής προϊόντα κατά την κατάποση στο στόμα μας.

4.6. Μικροβιολογικές Αναλύσεις

Οι ομάδες μικροοργανισμών οι οποίες προσδιορίστηκαν είναι τα οξυγαλακτικά βακτήρια, οι ζύμες και τα κολοβακτηριοειδή. Για τα οξυγαλακτικά βακτήρια χρησιμοποιήθηκε το υπόστρωμα Gelose MRSE, ενώ για τις ζύμες το υπόστρωμα Chloramphenicol glucose agar. Τέλος για τα κολοβακτηριοειδή χρησιμοποιήθηκε το υπόστρωμα Gelose VRBG agar.

Υλικά και Όργανα

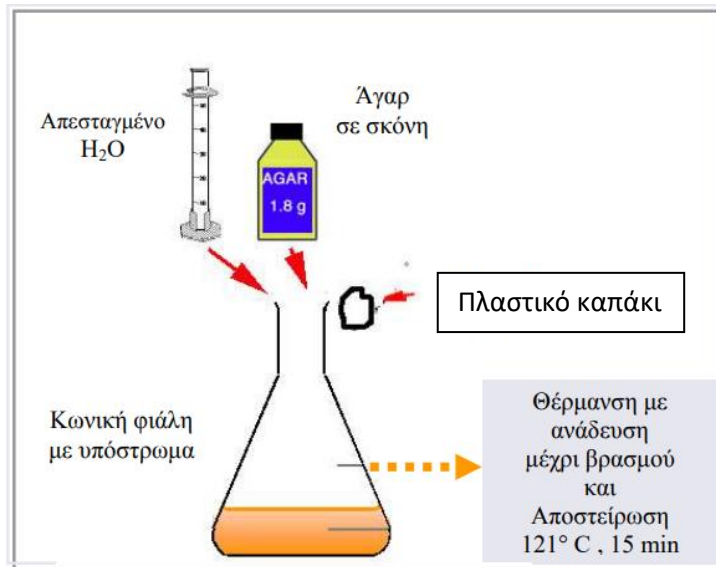
- Αραιωτικό-Buffered peptone water
- Gelose pour denombrement plate count agar
- Gelose VRBG agar
- Chloramphenicol glucose agar
- Gelose MRSE
- Κωνικές φιάλες με υποστρώματα
- Κενά τρυβλία Petri
- Σωλήνες τύπου universal με αραιωτικό υγρό
- Σιφόνια 1ml
- Επωαστικός κλίβανος
- Λύχνος Bunsen

Τεχνική

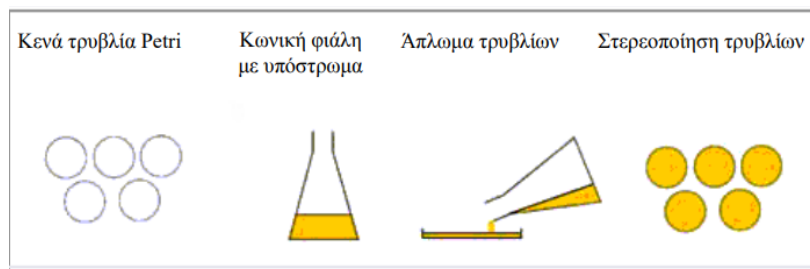
Προετοιμασία υποστρωμάτων (Σχήμα 8α, 8β)

Τα υποστρώματα παρασκευάζονται από την προσθήκη νερού στο αφυδατωμένο προϊόν που περιέχει όλα τα συστατικά. Τα υποστρώματα διατίθενται σε μορφή σκόνης. Η παρασκευή περιλαμβάνει :

- Ζύγιση του πλήρους αφυδατωμένου υλικού και διάλυση στην κατάλληλη ποσότητα νερού
- Θέρμανση με ανάδευση μέχρι βρασμού
- Ψύξη και ρύθμιση του επιθυμητού pH
- Μοίρασμα σε κωνικές φιάλες και κλείσιμο του στόμιου τους με πλαστικό καπάκι
- Αποστείρωση στους 121°C για 15min σε πίεση 1,1atm
- Μετά την παρασκευή τους ελέγχονται για τη στειρότητα τους με επώαση δείγματος στους 37°C για 24-48 h



Σχήμα 8α. Παρασκευή υποστρώματος



Σχήμα 8β. Προετοιμασία τρυβλίων με στερεό θρεπτικό υπόστρωμα

Στάδια

1. Δειγματοληψία

Για να είναι αξιόπιστα τα αποτελέσματα μιας μικροβιολογικής ανάλυσης προϊόντος θα πρέπει το δείγμα που εξετάζεται να πληροί κάποιους όρους, όπως να είναι αντιπροσωπευτικό, και ο χειρισμός του δείγματος να ελαχιστοποιεί τις μικροβιολογικές μεταβολές κατά τη διάρκεια της μεταφοράς, αποθήκευσης και κατεργασίας μέχρι την ανάλυση, ώστε να μην έχει μεταβληθεί το μικροβιολογικό του φορτίο από τη χρονική στιγμή της δειγματοληψίας.

2. Ομογενοποίηση του δείγματος

Η ομογενοποίηση του δείγματος γίνεται με ανάμειξη 10gr δείγματος με 90ml αραιωτικού υγρού. Η ομογενοποίηση γίνεται σε συσκευή stomacher όπου με παλινδρομικές κινήσεις (παρόμοιες του στομάχου) γίνεται η μεταφορά των μικροοργανισμών από το στερεό δείγμα στο αραιωτικό υγρό.

3. Παρασκευή διαδοχικών δεκαδικών αραιώσεων

Η καταμέτρηση των αποικιών σε τρυβλίο μπορεί να είναι ακριβής όταν ο αριθμός τους κυμαίνεται από 30 έως 300 ώστε να αναπτυχθούν ορατές μεμονωμένες αποικίες και να καταμετρηθούν με ακρίβεια. Επειδή ο αριθμός των βακτηρίων σε ένα δείγμα είναι εξαιρετικά μεγάλος πρέπει να γίνει αραιώση του δείγματος και στη συνέχεια να εμβολιασθεί για την

ανάπτυξη των αποικιών. Γι' αυτό γίνεται αρχικά η αραιώση του δείγματος με διαδοχικές δεκαδικές αραιώσεις. Οι διαδοχικές αραιώσεις γίνονται σε σωλήνες που περιέχουν 9ml αραιωτικού υγρού. Μεταφέρεται 1ml από κάθε προηγούμενη αραιώση σε 9ml αραιωτικού υγρού και προκύπτει η επόμενη αραιώση. Η μεταφορά του εκάστοτε αραιωμένου δείγματος στον επόμενο σωλήνα με αραιωτικό υγρό γίνεται με αποστειρωμένο σιφώνιο. Ακολουθεί ανακίνηση του σωλήνα σε μηχανικό αναδευτήρα για καλύτερη ανάμιξη. Η όλη διαδικασία γίνεται με ασηπτική τεχνική και χρήση νέου σιφωνίου για κάθε αραιώση.

4. Εμβολιασμός σε θρεπτικό υπόστρωμα

Από κάθε αραιώση γίνεται εμβολιασμός σε τρυβλία εις διπλούν. Πριν τον αντίστοιχο εμβολιασμό αναγράφεται η τελική αραιώση του δείγματος σε κάθε τρυβλίο (στο καπάκι του τρυβλίου).

5. Επώαση τρυβλίων σε επωαστικό κλίβανο

Στη συνέχεια τα τρυβλία Petri αναστρέφονται (το καπάκι προς τα κάτω), ώστε να αποφεύγεται η εναπόθεση των υδρατμών που δημιουργούνται, στην επιφάνεια του υποστρώματος του τρυβλίου. Επώάζονται σε επωαστικό κλίβανο σε θερμοκρασία και χρόνο ανάλογα με τις απαιτήσεις των μικροοργανισμών.

6. Καταμέτρηση αποικιών και υπολογισμός

Μετά την περίοδο επώασης γίνεται καταμέτρηση των αποικιών από τα τρυβλία που εμβολιάστηκαν.

Ο αριθμός των αποικιών εκφράζεται σε αριθμό μικροβιακών μονάδων (colony forming unit - cfu), και καταγράφεται cfu/g.

4.7. Στατιστικός έλεγχος

Στα στοιχεία του πειράματος εφαρμόστηκε η ανάλυση της διακύμανσης ενός παράγοντα (One-Way ANOVA) για τα νωπά δείγματα (είδος δείγματος) και τριών παραγόντων (Three-Way ANOVA) για να μελετηθούν οι ιδιότητες των αποθηκευμένων δειγμάτων (είδος δείγματος, χρόνος αποθήκευσης, είδος συσκευασίας). 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, 2016). Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων έγινε με τη χρήση του προγράμματος Minitab 18.

5. Αποτελέσματα και Συζήτηση

5.1 Απόδοση

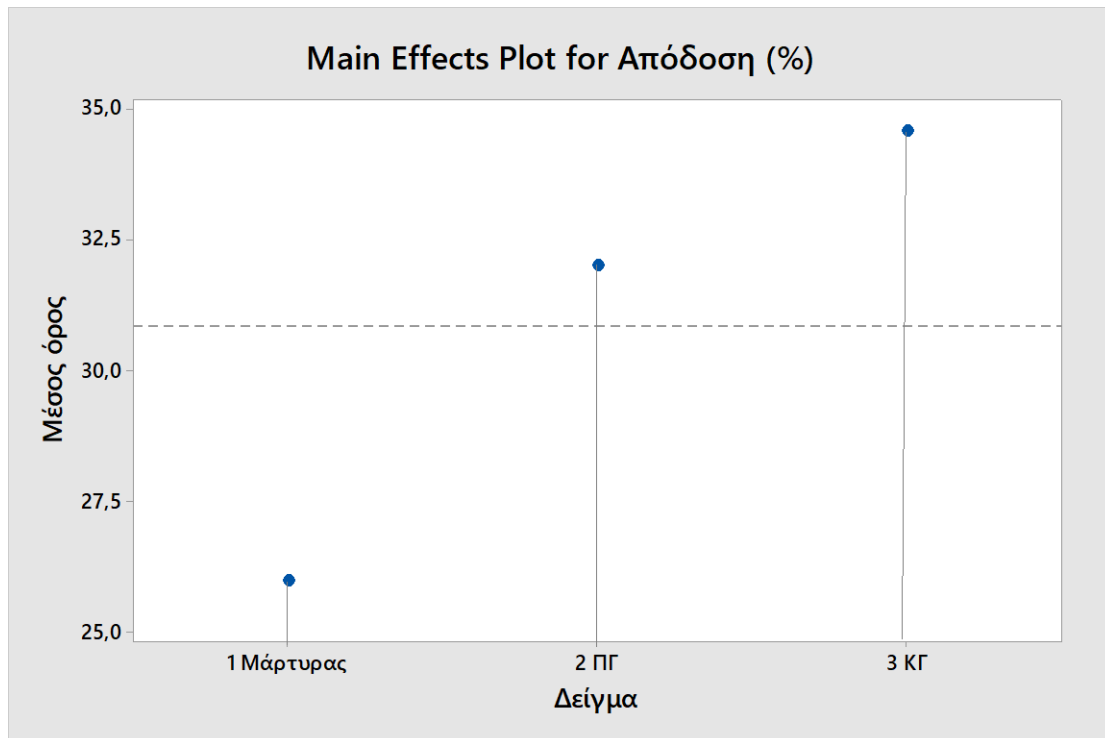
Στον Πίνακα 11 παρουσιάζεται η απόδοση των διαφορετικών δειγμάτων τυριού αλοιφώδους υφής. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της ANOVA, η απόδοση επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από το είδος του δείγματος ($p < 0,05$). Η κατάταξη των δειγμάτων κατά φθίνουσα σειρά σύμφωνα με τον έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων του Tukey είναι η εξής:

$$\text{ΠΓ} = \text{ΚΓ} > \text{Μ}$$

Πίνακας 11. Η απόδοση των δειγμάτων τυριού με διαφορετική καλλιέργεια εκκίνησης. Οι τιμές αποτελούν το μέσο όρο δύο επαναλήψεων.

ΔΕΙΓΜΑ	ΑΠΟΔΟΣΗ (%)
ΜΑΡΤΥΡΑΣ	25,95
ΠΓ	32,00
ΚΓ	34,60

Σύμφωνα με το Σχήμα 9, τα δείγματα που παρασκευάστηκαν με την προσθήκη πρωτεϊνών γάλακτος και κρέμας γάλακτος, εμφάνισαν μεγαλύτερη απόδοση σε τυρί σε σχέση με τον μάρτυρα. Αυτό πιθανόν να οφείλεται στην επιπλέον ποσότητα πρωτεϊνών και λίπους που προστέθηκε στο προς τυροκόμηση γάλα, αντίστοιχα. Όπως θα σχολιαστεί και στη συνέχεια τα δείγματα αυτά εμφάνισαν αυξημένη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες και λίπος, αντίστοιχα, η οποία είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της απόδοσης τους. Επιπλέον, όσον αφορά το δείγμα με την προσθήκη πρωτεϊνών γάλακτος, η αυξημένη περιεκτικότητα του σε υγρασία επίσης οδήγησε σε αύξηση της απόδοσης.



Σχήμα 9. Επίδραση του είδους του δείγματος στην απόδοση.

5.2 Φυσικοχημικές ιδιότητες

Στον Πίνακα 12 φαίνονται οι φυσικοχημικές ιδιότητες των δειγμάτων τυριού αλοιφώδους υφής.

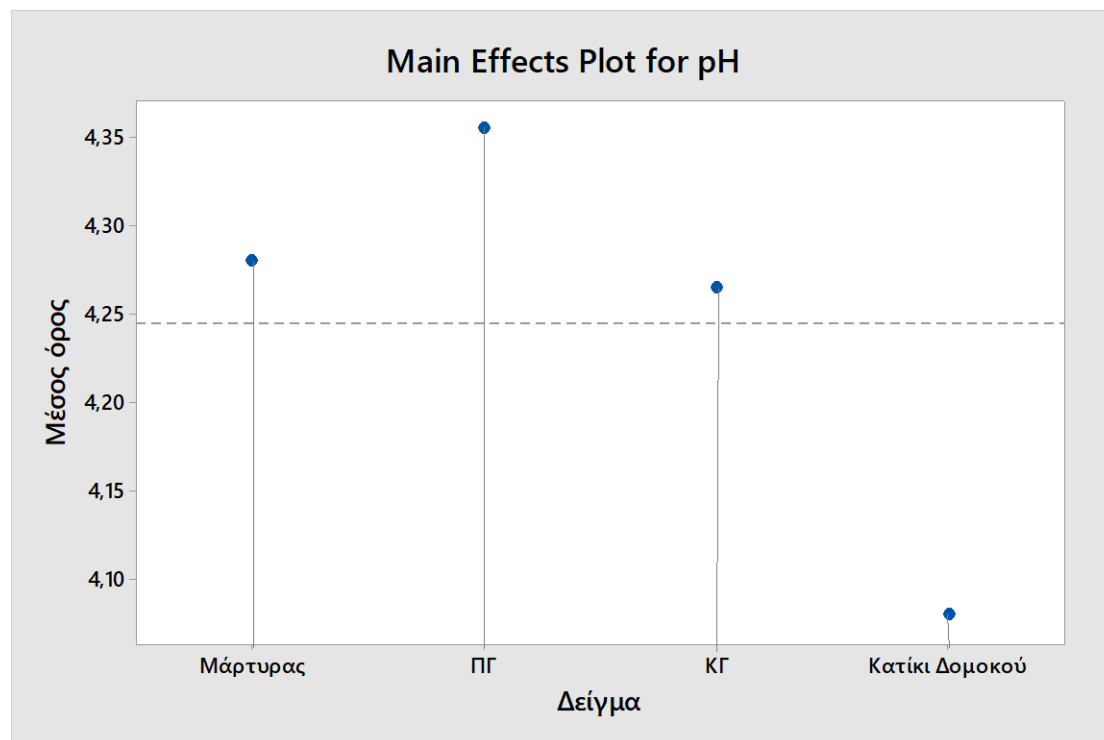
Πίνακας 12. Οι μέσοι όροι των τιμών των φυσικοχημικών ιδιοτήτων των δειγμάτων τυριού αλοιφώδους υφής.

ΔΕΙΓΜΑ	pH	ΥΓΡΑΣΙΑ(%)	ΛΙΠΟΣ(%)	ΠΡΩΤΕΙΝΗ (%)
ΜΑΡΤΥΡΑΣ	4,28	67,92	15,60	10,59
ΠΓ	4,36	70,73	13,55	13,27
ΚΓ	4,27	66,28	19,00	10,23
ΚΔ	4,08	71,28	13,00	11,72

Η ANOVA έδειξε ότι υπήρξε στατιστικά σημαντική επίδραση του είδους του δείγματος ($p < 0,05$) στην τελική τιμή pH. Όπως φαίνεται στο Σχήμα 10, το δείγμα με την προσθήκη πρωτεΐνης γάλακτος εμφάνισε τη μεγαλύτερη τιμή pH, ενώ το εμπορικό δείγμα τη μικρότερη. Η κατάταξη των δειγμάτων κατά φθίνουσα σειρά σύμφωνα με τον έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων του Tukey είναι η εξής:

$$\text{ΠΓ} > \text{Μ} = \text{ΚΓ} > \text{ΚΔ}$$

Η μεγαλύτερη τιμή pH του δείγματος με προσθήκη πρωτεϊνών γάλακτος μπορεί να αποδοθεί στη ρυθμιστική ικανότητα των πρωτεϊνών γάλακτος (Walstra et al., 2006), εξαιτίας της οποίας παρεμποδίζεται η μείωση της τιμής pH. Η μειωμένη τιμή pH του εμπορικού δείγματος πιθανόν να οφείλεται στις διαφορετικές συνθήκες παρασκευής του (π.χ. είδος καλλιέργειας εκκίνησης, ένταση θερμικής επεξεργασίας κτλ).

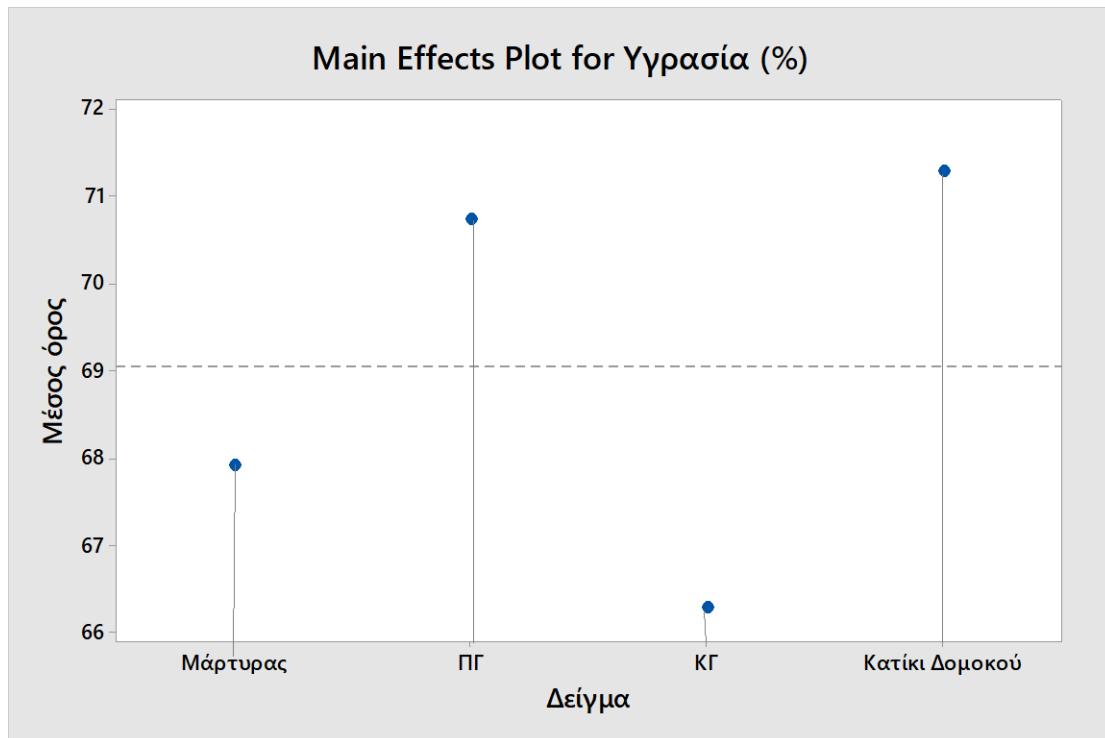


Σχήμα 10. Επίδραση του είδους του δείγματος στο pH των τυριών αλοιφώδους υφής.

Όσον αφορά την υγρασία, η ANOVA έδειξε ότι υπήρξε στατιστικά σημαντική επίδραση του είδους του δείγματος ($p < 0,05$) σε αυτήν (Σχήμα 11). Η κατάταξη των δειγμάτων κατά φθίνουσα σειρά σύμφωνα με τον έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων του Tukey είναι η εξής:

$$\mathbf{ΚΑ > ΠΓ > Μ > ΚΓ}$$

Τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε υγρασία εμφάνισε το εμπορικό δείγμα, ακολούθησε το δείγμα με προσθήκη πρωτεϊνών γάλακτος, μετά ο μάρτυρας και τελευταίο το δείγμα με προσθήκη κρέμας γάλακτος. Η αυξημένη περιεκτικότητα του δείγματος με προσθήκη πρωτεϊνών γάλακτος μπορεί να αποδοθεί στον υδρόφιλο χαρακτήρα των πρωτεϊνών ορού (Walstra et al., 2006). Με την επίδραση της θερμικής επεξεργασίας υδρόφιλες ομάδες που είναι στο εσωτερικό των μορίων τους εκτίθενται με αποτέλεσμα να μπορούν να συκρατήσουν περισσότερη υγρασία στο πήγμα που παράγεται. Η μειωμένη περιεκτικότητα σε υγρασία και κατ' επέκταση η αυξημένη ξηρή ουσία του δείγματος με προσθήκη κρέμας γάλακτος μπορεί να αποδοθεί στην αυξημένη ξηρή ουσία της κρέμας γάλακτος (40,5%) που προστέθηκε σε υψηλό ποσοστό (10%).



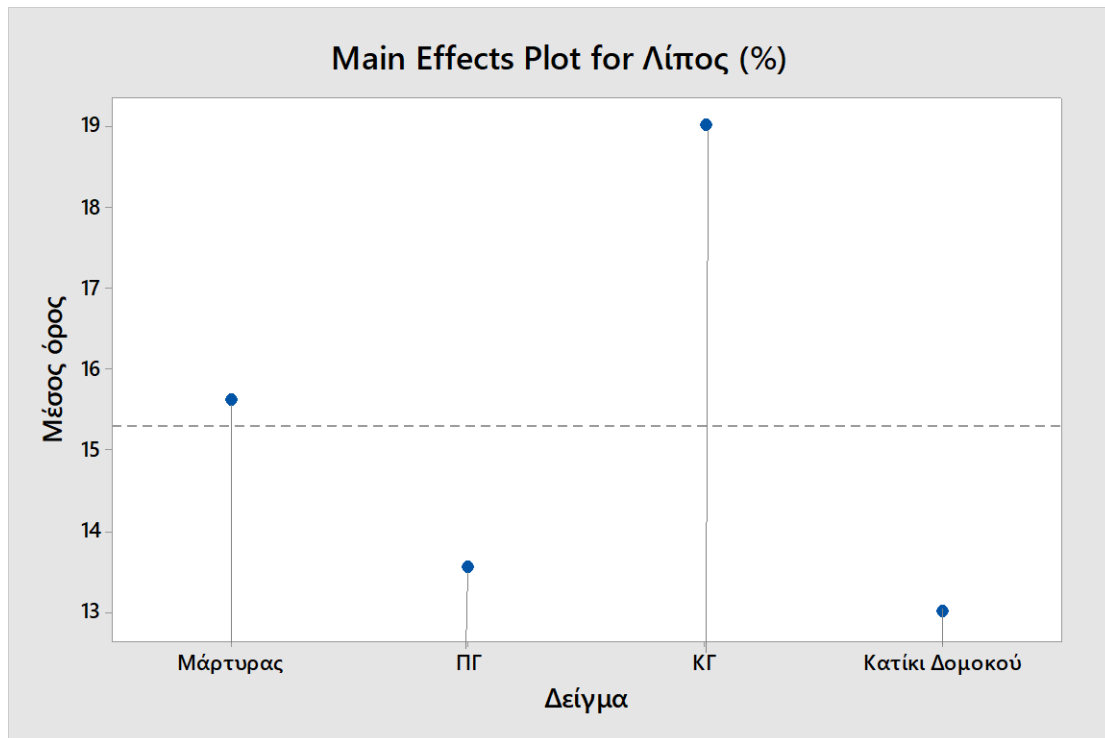
Σχήμα 11. Επίδραση του είδους του δείγματος στην υγρασία των τυριών αλοιφώδους υφής.

Με βάση τα αποτελέσματα της ANOVA για το λίπος, συμπεραίνεται ότι υπήρχε στατιστικά σημαντική επίδραση του είδους του δείγματος ($p < 0,05$) σε αυτό. Πιο συγκεκριμένα, στο Σχήμα 12 φαίνεται ότι οι τιμές του λίπους ήταν υψηλότερες όταν πραγματοποιήθηκε προσθήκη κρέμας γάλακτος. Η κατάταξη των δειγμάτων κατά φθίνουσα σειρά, καθώς και οι επικαλύψεις των μέσων όρων σύμφωνα με τον έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων του Tukey είναι οι εξής:

ΚΓ > Μ ΠΓ ΚΑ

—
—

Οι πρωτεΐνες της μεμβράνης των λιποσφαιρίων μπορούν να αλληλοεπιδράσουν με τις πρωτεΐνες που υπάρχουν στη συνεχή φάση του γάλακτος (Walstra et al., 2006) με αποτέλεσμα η επιπλέον ποσότητα του λίπους που προστίθεται στο προς τυροκόμηση γάλα να μπορεί να συγκρατηθεί όχι μόνο μηχανικά αλλά και με χημικό τρόπο (μετουσίωση πρωτεϊνών και αποσταθεροποίηση τους εξαιτίας της δράσης της καλλιέργειας εκκίνησης και της πυτιάς) στο πήγμα που λαμβάνεται μετά τη στράγγιση, αυξάνοντας με αυτόν τον τρόπο τη λιποπεριεκτικότητα των τελικών δειγμάτων. Τα υπόλοιπα δείγματα δε διαφοροποιήθηκαν σημαντικά εξαιτίας των αλληλοεπικαλύψεων των μέσων όρων που παρουσίασαν.

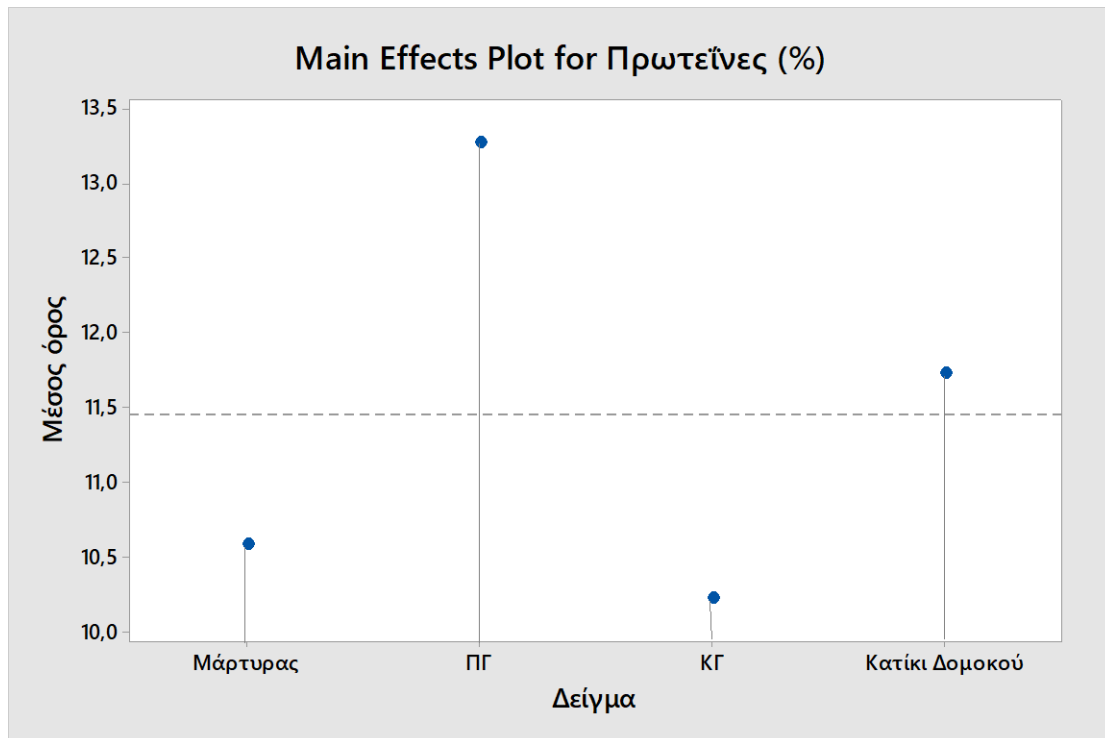


Σχήμα 12. Επίδραση του είδους του δείγματος στη λιποπεριεκτικότητα των τυριών αλοιφώδους υφής.

Η ANOVA έδειξε ότι υπήρξε στατιστικά σημαντική επίδραση του είδους του δείγματος ($p < 0,05$) στην περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες. Όπως φαίνεται στο Σχήμα 13, τα δείγματα με την προσθήκη πρωτεΐνης γάλακτος εμφάνισαν μεγαλύτερες τιμές, γεγονός που οφείλεται στην επιπλέον ποσότητα αυτών που προστέθηκε στο γάλα και οι οποίες τόσο εξαιτίας της θερμικής επεξεργασίας (συμπλοκοποίηση καζεϊνών και πρωτεϊνών ορού) (Walstra et al., 2006) όσο και της συμπλοκοποίησης τους από τη συνδυασμένη δράση τη καλλιέργειας εκκίνησης και της πυτιάς (Fox et al., 2004) παρέμειναν στο τυρόπηγμα. Τα υπόλοιπα δείγματα δεν εμφάνισαν κάποια αξιοσημείωτη διαφοροποίηση εξαιτίας των αλληλοεπικαλύψεων των μέσων όρων που παρουσίασαν σύμφωνα και με τα αποτελέσματα του Tukey. Συγκεκριμένα, η κατάταξη των δειγμάτων κατά φθίνουσα σειρά, καθώς και οι επικαλύψεις των μέσων όρων σύμφωνα με τον έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων του Tukey είναι οι εξής:

$$\text{ΠΓ} > \text{ΚΔ} \text{ Μ } \text{ΚΓ}$$

—————
 —————



Σχήμα 13. Επίδραση του είδους του δείγματος στην περιεκτικότητα των τυριών αλοιφώδους υφής σε πρωτεΐνες .

5.3 Ρεολογικές ιδιότητες

Στον Πίνακα 13 φαίνονται οι ρεολογικές ιδιότητες των δειγμάτων τυριού αλοιφώδους υφής.

Πίνακας 13. Οι μέσοι όροι των τιμών των ρεολογικών ιδιοτήτων των δειγμάτων τυριού αλοιφώδους υφής.

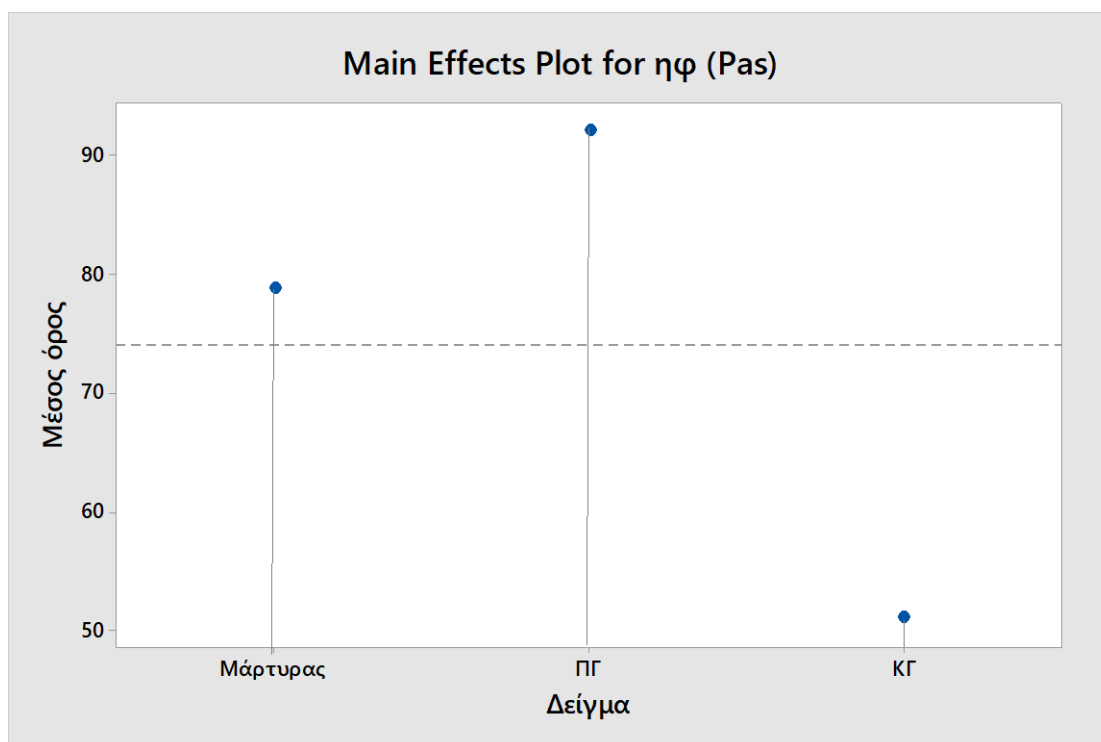
ΔΕΙΓΜΑ	η_0 (Pas)	G' (Pa)	$\tan\delta$	$\eta_0 \times 10^3$ (Pas)	G_g (Pa)	G_R (Pa)
ΜΑΡΤΥΡΑΣ	78,8	3585,0	0,345	54,4	3878	644,2
ΠΓ	92,0	4677,5	0,320	87,9	4291	713,4
ΚΓ	51,1	3375,0	0,393	50,4	3599	638,2

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της ANOVA, υπήρξε στατιστικά σημαντική επίδραση του είδους δείγματος ($p < 0,05$) σε όλες τις ρεολογικές ιδιότητες που μελετήθηκαν.

Όσον αφορά το φαινομενικό ιξώδες, το δείγμα με την προσθήκη πρωτεϊνών γάλακτος εμφάνισε τη μεγαλύτερη τιμή, ενώ το δείγμα με την προσθήκη κρέμας γάλακτος τη μικρότερη (Σχήμα 14). Η κατάταξη των δειγμάτων κατά φθίνουσα σειρά σύμφωνα με τον έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων του Tukey είναι η εξής:

$$\text{ΠΓ} > \text{Μ} > \text{ΚΓ}$$

Η αύξηση της συγκέντρωσης των πρωτεϊνών γάλακτος είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση τόσο του μεγέθους των σχηματιζόμενων συμπλόκων όσο και του αριθμού τους, εξαιτίας της συμπλοκοποίησης των πρωτεϊνών. Αυτό οδήγησε σε αύξηση της αντίστασης των μορίων κατά την εφαρμογή τάσης και επομένως σε αύξηση του φαινομενικού ιξώδους. Αντίθετα, η αύξηση της λιποπεριεκτικότητας με την προσθήκη κρέμας γάλακτος, είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση του ιξώδους, εξαιτίας της δράσης του λίπους ως υλικού πλήρωσης (δεν έγινε ομογενοποίηση της επιπλέον ποσότητας λίπους που προστέθηκε στο γάλα) μειώνοντας τη συνοχή του σχηματιζόμενου πλέγματος, το μέγεθος των σχηματιζόμενων συσσωματωμάτων και επομένως την αντίστασή τους κατά την εφαρμογή τάσης.

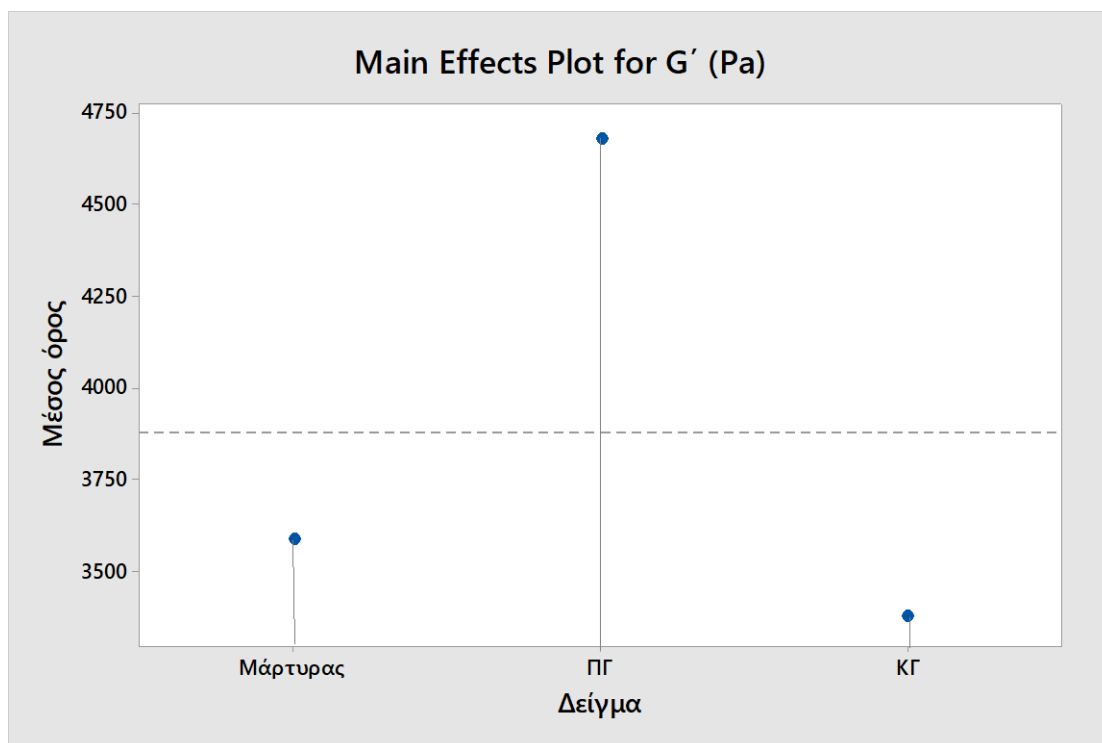


Σχήμα 14. Επίδραση του είδους του δείγματος στο φαινομενικό ιξώδες (η_{φ}) των τυριών αλοιφώδους υφής.

Σύμφωνα με το Σχήμα 15, η προσθήκη πρωτεϊνών γάλακτος οδήγησε σε αύξηση των τιμών του G' . Η κατάταξη των δειγμάτων κατά φθίνουσα σειρά σύμφωνα με τον έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων του Tukey είναι η εξής:

$$\text{ΠΓ} > \text{Μ} = \text{ΚΓ}$$

Όπως προαναφέρθηκε, η αύξηση της συγκέντρωσης των πρωτεϊνών γάλακτος είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση του μεγέθους και του αριθμού των σχηματιζόμενων συμπλόκων, με αποτέλεσμα την αύξηση της συνοχής του σχηματιζόμενου πλέγματος και επομένως και της ελαστικότητάς του.

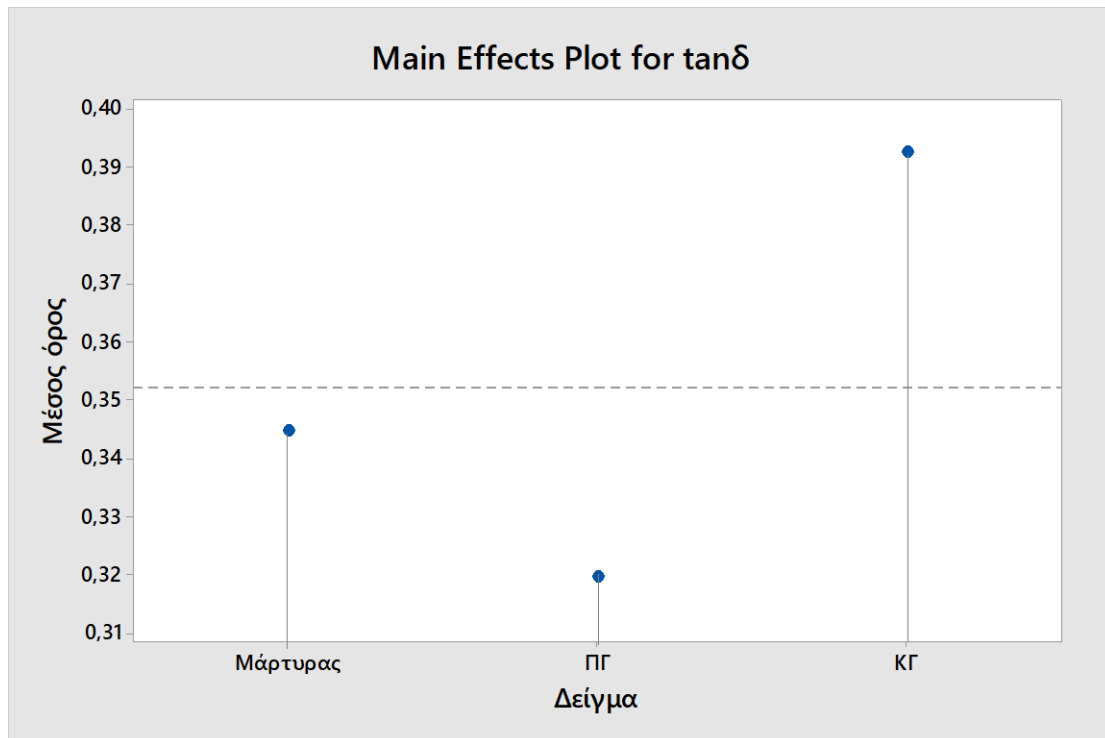


Σχήμα 15. Επίδραση του είδους του δείγματος στο συντελεστή ελαστικότητας (G') των τυριών αλοιφώδους υφής.

Όσον αφορά την $\tan\delta$ και σύμφωνα με το Σχήμα 16, η προσθήκη κρέμας γάλακτος οδήγησε σε αύξηση των τιμών της. Η κατάταξη των δειγμάτων κατά φθίνουσα σειρά σύμφωνα με τον έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων του Tukey είναι η εξής:

$$\mathbf{ΚΓ > Μ = ΠΓ}$$

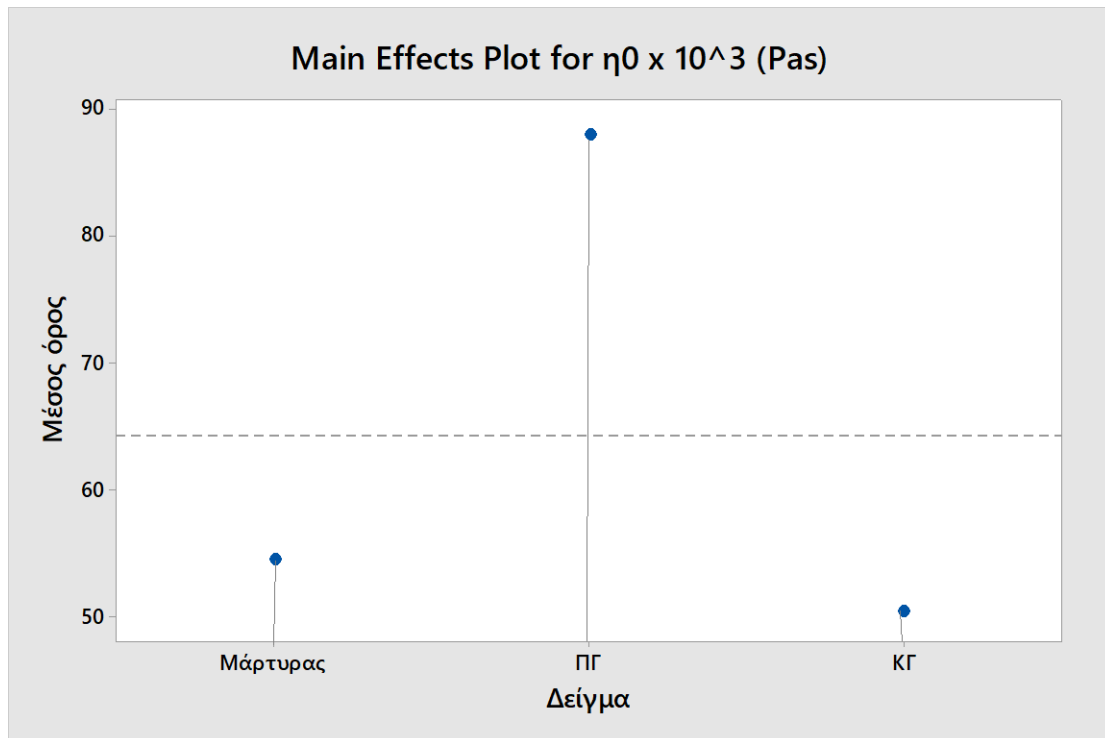
Η δράση του λίπους ως λιπαντικό είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση του ιξώδους χαρακτήρα των δειγμάτων και επομένως των τιμών της $\tan\delta$.



Σχήμα 16. Επίδραση του είδους του δείγματος στην $\tan\delta$ των τυριών αλοιφώδους υφής.

Όπως φαίνεται στο Σχήμα 17, το δείγμα με την προσθήκη πρωτεΐνης γάλακτος, εξαιτίας της αύξησης του μεγέθους και του αριθμού των σχηματιζόμενων συμπλόκων, όπως προαναφέρθηκε, εμφάνισε μεγαλύτερες τιμές νευτώνειου ιξώδους. Η κατάταξη των δειγμάτων κατά φθίνουσα σειρά σύμφωνα με τον έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων του Tukey είναι η εξής:

$$\text{ΠΓ} > \text{Μ} = \text{ΚΓ}$$



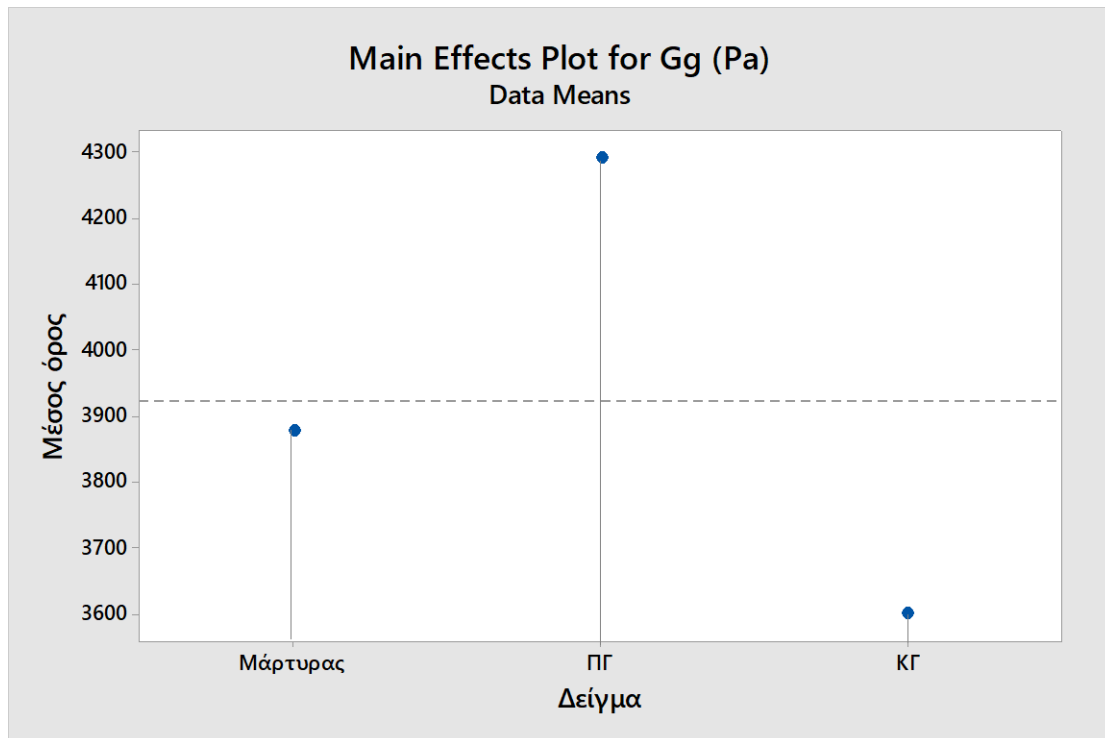
Σχήμα 17. Επίδραση του είδους του δείγματος στο νευτώνειο ιξώδες (η_0) των τυριών αλοιφώδους υφής.

Όπως φαίνεται στο Σχήμα 18, το δείγμα με την προσθήκη πρωτεΐνης γάλακτος εμφάνισε μεγαλύτερες τιμές στιγμιαίας ελαστικότητας (μέτρο των ισχυρών δευτερευόντων δεσμών του συστήματος). Η κατάταξη των δειγμάτων κατά φθίνουσα σειρά σύμφωνα με τον έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων του Tukey είναι η εξής:

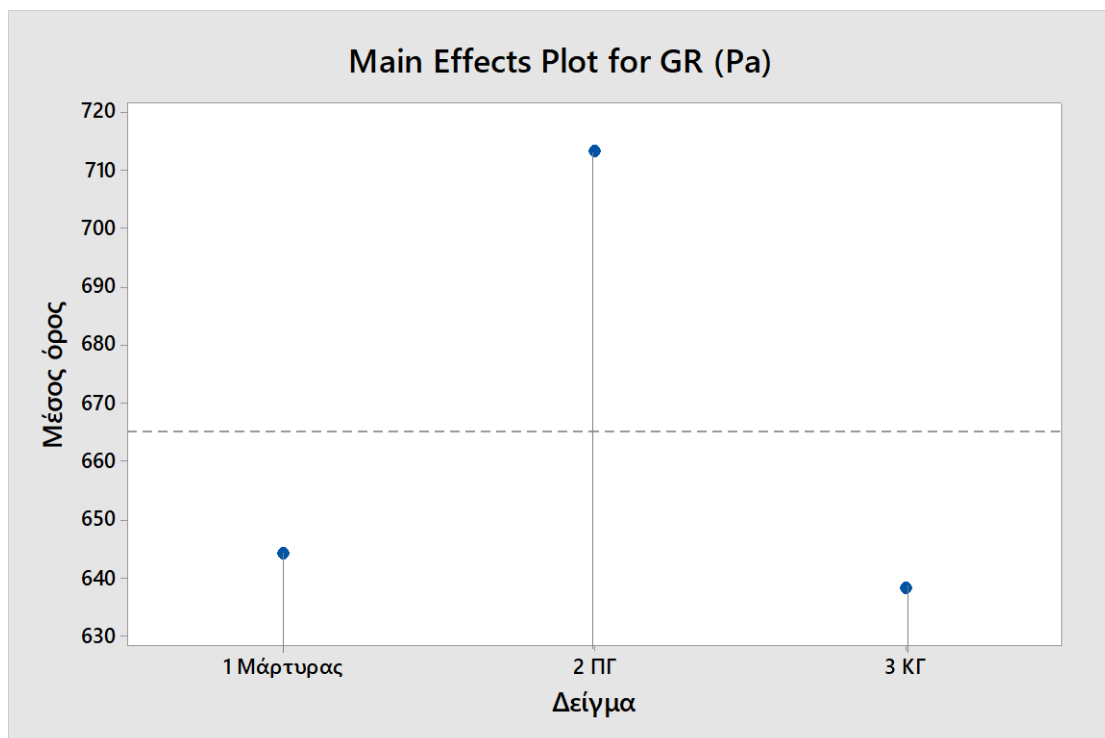
$$\text{ΠΓ} > \text{Μ} > \text{ΚΓ}$$

Η προσθήκη πρωτεϊνών γάλακτος αύξησε τους ισχυρούς δευτερεύοντες δεσμούς του συστήματος (δεσμοί υδρογόνου και ηλεκτροστατικοί δεσμοί), ενώ το λίπος οδήγησε σε μείωση τους. Ωστόσο, οι ασθενείς δευτερεύοντες δεσμοί του συστήματος (δεσμοί van der Waals, και κολλοειδής και υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις), οι οποίοι εκφράζονται από την καθυστερούμενη ελαστικότητα, επηρεάζονται μόνο από την παρουσία των πρωτεϊνών γάλακτος, οι οποίες προκαλούν την αύξησή τους (Σχήμα 19). Η κατάταξη των δειγμάτων κατά φθίνουσα σειρά, όσον αφορά την καθυστερούμενη ελαστικότητα, σύμφωνα με τον έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων του Tukey είναι η εξής:

$$\text{ΠΓ} > \text{Μ} = \text{ΚΓ}$$



Σχήμα 18. Επίδραση του είδους του δείγματος στη στιγμιαία ελαστικότητα (G_g) των τυριών αλοιφώδους υφής.



Σχήμα 19 Επίδραση του είδους του δείγματος στην καθυστερούμενη ελαστικότητα (G_R) των τυριών αλοιφώδους υφής.

5.4 Μικροβιολογικές αναλύσεις

Στον Πίνακα 14 φαίνονται οι μικροβιολογικές αναλύσεις των δειγμάτων τυριού αλοιφώδους υφής. Σύμφωνα με τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δειγμάτων, όσον αφορά τον πληθυσμό των οξυγαλακτικών βακτηρίων και των ζυμών. Επίσης, αξίζει να σημειωθεί ότι κολοβακτηριοειδή δε βρέθηκαν σε κανένα δείγμα.

Πίνακας 14. Οι μέσοι όροι των τιμών των μικροβιολογικών αναλύσεων των δειγμάτων τυριού αλοιφώδους υφής.

Δείγμα	Οξυγαλακτικά βακτήρια (cfu/ml)	Ζύμες (cfu/ml)
Μάρτυρας	$8,9 \times 10^7$	$2,6 \times 10^6$
ΠΓ	$9,1 \times 10^7$	$3,2 \times 10^6$
ΚΓ	$8,7 \times 10^7$	$3,8 \times 10^6$

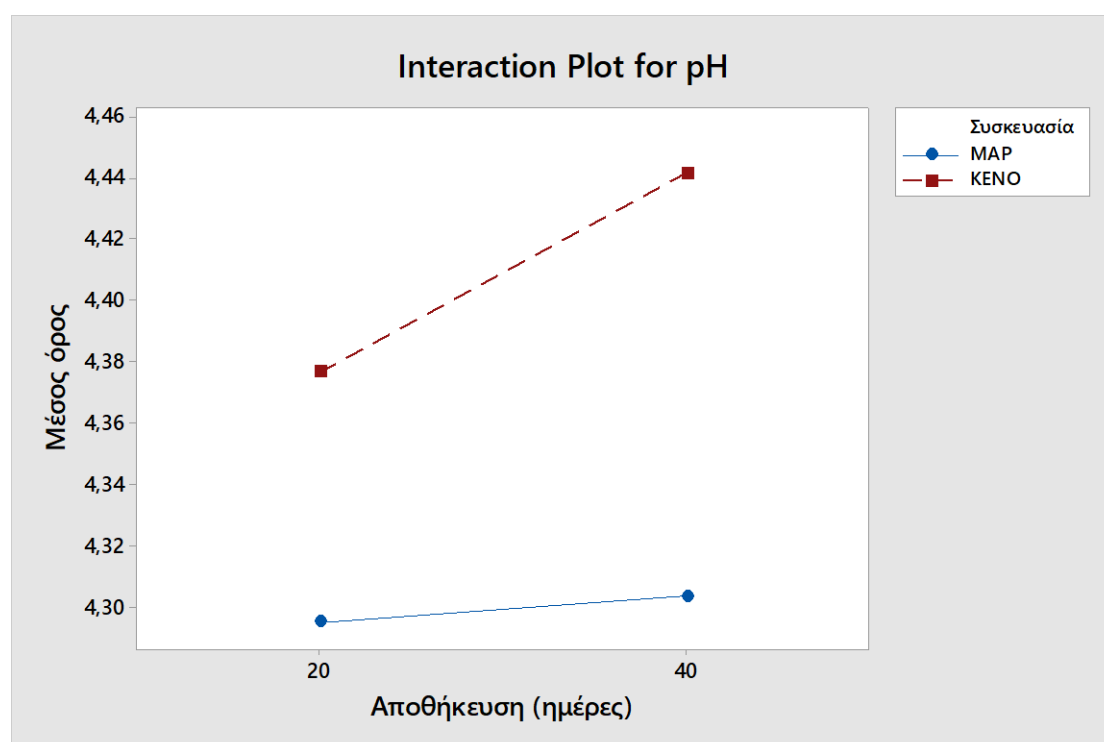
5.5 Επίδραση της συσκευασίας και του χρόνου αποθήκευσης

Στη συνέχεια μελετήθηκε η επίδραση της συσκευασίας και του χρόνου αποθήκευσης στις ιδιότητες των δειγμάτων. Η επίδραση του είδους του δείγματος στις ιδιότητες των δειγμάτων σχολιάστηκε στην προηγούμενη ενότητα.

Στον Πίνακα 15 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των φυσικοχημικών αναλύσεων των δειγμάτων κατά την διάρκεια αποθήκευσής τους και τα οποία συσκευάστηκαν τόσο σε υπό κενό, όσο και σε περιβάλλον τροποποιημένης ατμόσφαιρας. Σύμφωνα με τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων, η περιεκτικότητα των δειγμάτων σε υγρασία, λίπος και πρωτεΐνες δεν επηρεάστηκε ούτε από το είδος της συσκευασίας ($p > 0,05$) αλλά ούτε και από το χρόνο διατήρησης ($p > 0,05$). Μόνο η τιμή pH επηρεάστηκε από τους μελετώμενους παράγοντες (Σχήμα 20). Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε αύξηση της τιμής pH κατά την αποθήκευση των δειγμάτων σε συσκευασία υπό κενό, εξαιτίας της πρωτεολυτικής δράσης των ενζύμων των μικροοργανισμών. Αντίθετα, τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε MAP δεν παρουσίασαν μεταβολή του pH. Αυτό μπορεί να αποδοθεί στο γεγονός ότι η συσκευασία σε MAP παρεμποδίζει τη μεταβολική δραστηριότητα των μικροοργανισμών.

Πίνακας 15. Οι μέσοι όροι των τιμών των φυσικοχημικών αναλύσεων των δειγμάτων τυριού αλοιφώδους υφής κατά τη διάρκεια αποθήκευσής τους και η συσκευασία τους σε υπό κενό και σε περιβάλλον τροποποιημένης ατμόσφαιρας (MAP).

Δείγμα	ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ	ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ (ΗΜΕΡΕΣ)	pH	ΥΓΡΑΣΙΑ (%)	ΛΙΠΟΣ (%)	ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ (%)
ΜΑΡΤΥΡΑΣ	KENO	20	4,36	67,93	15,62	10,62
ΠΓ	KENO	20	4,42	70,78	13,57	13,28
ΚΓ	KENO	20	4,35	66,25	19,05	10,22
ΜΑΡΤΥΡΑΣ	MAP	20	4,26	67,90	15,63	10,57
ΠΓ	MAP	20	4,35	70,77	13,56	13,25
ΚΓ	MAP	20	4,28	66,30	19,02	10,24
ΜΑΡΤΥΡΑΣ	KENO	40	4,42	67,97	15,61	10,56
ΠΓ	KENO	40	4,49	70,78	13,55	13,26
ΚΓ	KENO	40	4,43	66,29	19,00	10,23
ΜΑΡΤΥΡΑΣ	MAP	40	4,27	67,92	15,62	10,60
ΠΓ	MAP	40	4,36	70,75	13,57	13,27
ΚΓ	MAP	40	4,28	66,26	19,02	10,25



Σχήμα 20. Επίδραση της συσκευασίας και του χρόνου αποθήκευσης στην τιμή pH των δειγμάτων. MAP: Περιβάλλον τροποποιημένης ατμόσφαιρας.

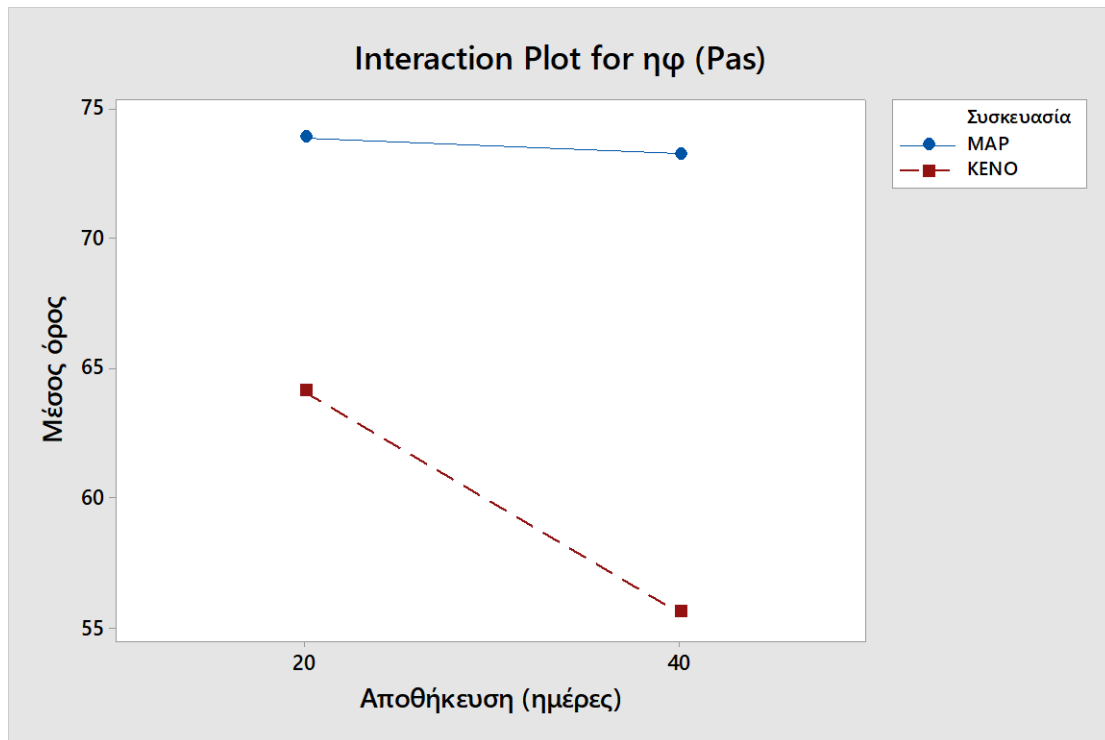
Στον Πίνακα 16 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των ρεολογικών μετρήσεων των δειγμάτων κατά τη διάρκεια αποθήκευσής τους. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της ANOVA, όλες οι ρεολογικές ιδιότητες των δειγμάτων, εκτός από την G_R , επηρεάστηκαν από το είδος της συσκευασίας ($p < 0,05$) και από το χρόνο διατήρησης ($p < 0,05$). Η G_R δεν επηρεάστηκε

στατιστικά σημαντικά από το είδος της συσκευασίας ($p>0,05$) και από το χρόνο διατήρησης ($p>0,05$).

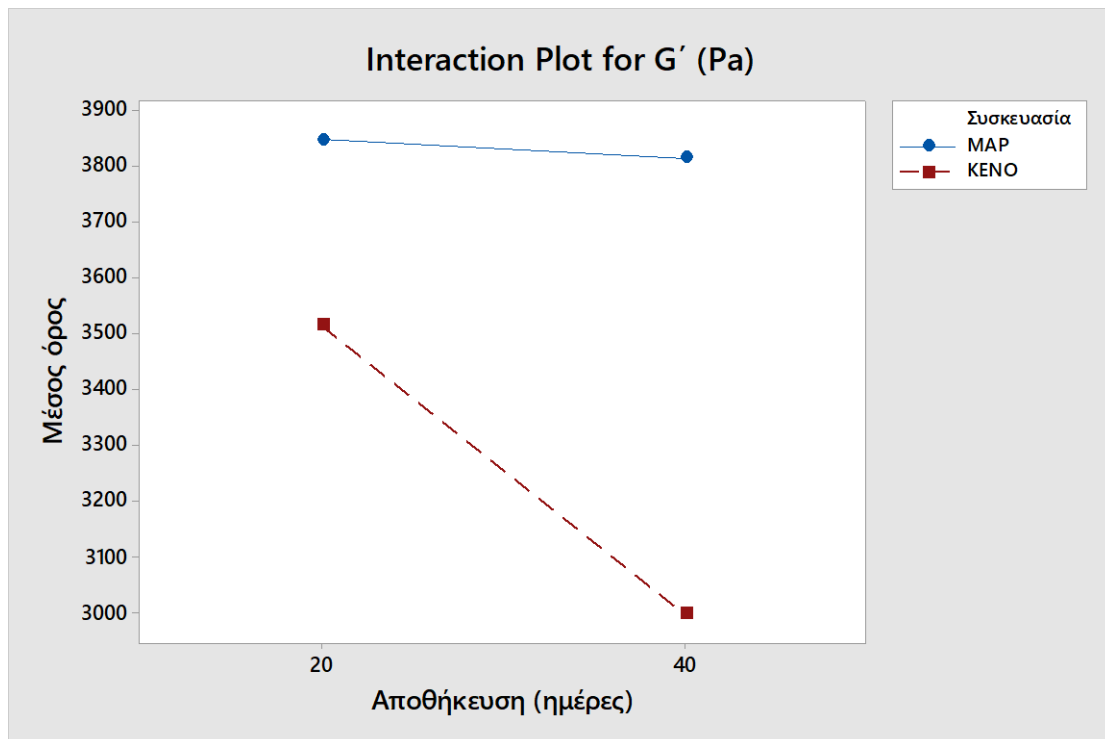
Πίνακας 16. Οι μέσοι όροι των τιμών των ρεολογικών μετρήσεων των δειγμάτων τυριού αλοιφώδους υφής κατά τη διάρκεια αποθήκευσής τους και η συσκευασία τους σε υπό κενό και σε περιβάλλον τροποποιημένης ατμόσφαιρας (MAP).

Δείγμα	ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ	ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ (ΗΜΕΡΕΣ)	$\eta\phi$ (Pa)	G' (Pa)	$\tan\delta$	$\eta^0 \times 10^3$ (Pa)	G_g (Pa)	G_R (Pa)
ΜΑΡΤΥΡΑΣ	KENO	20	68,8	3335	0,390	49,9	3428	646,2
ΠΓ	KENO	20	80,0	4128	0,350	81,5	4091	718,4
ΚΓ	KENO	20	43,5	3075	0,418	44,9	3150	636,2
ΜΑΡΤΥΡΑΣ	MAP	20	77,8	3635	0,354	52,9	3878	641,2
ΠΓ	MAP	20	92,3	4628	0,335	87,9	4291	716,4
ΚΓ	MAP	20	51,6	3275	0,385	49,4	3500	633,2
ΜΑΡΤΥΡΑΣ	KENO	40	59,3	2685	0,410	42,9	3078	639,2
ΠΓ	KENO	40	73,0	3878	0,380	33,0	3591	714,4
ΚΓ	KENO	40	34,5	2425	0,433	34,9	2700	633,2
ΜΑΡΤΥΡΑΣ	MAP	40	76,8	3485	0,353	54,9	3878	639,2
ΠΓ	MAP	40	91,3	4576	0,335	87,9	4261	708,4
ΚΓ	MAP	40	51,8	3375	0,398	48,8	3695	643,2

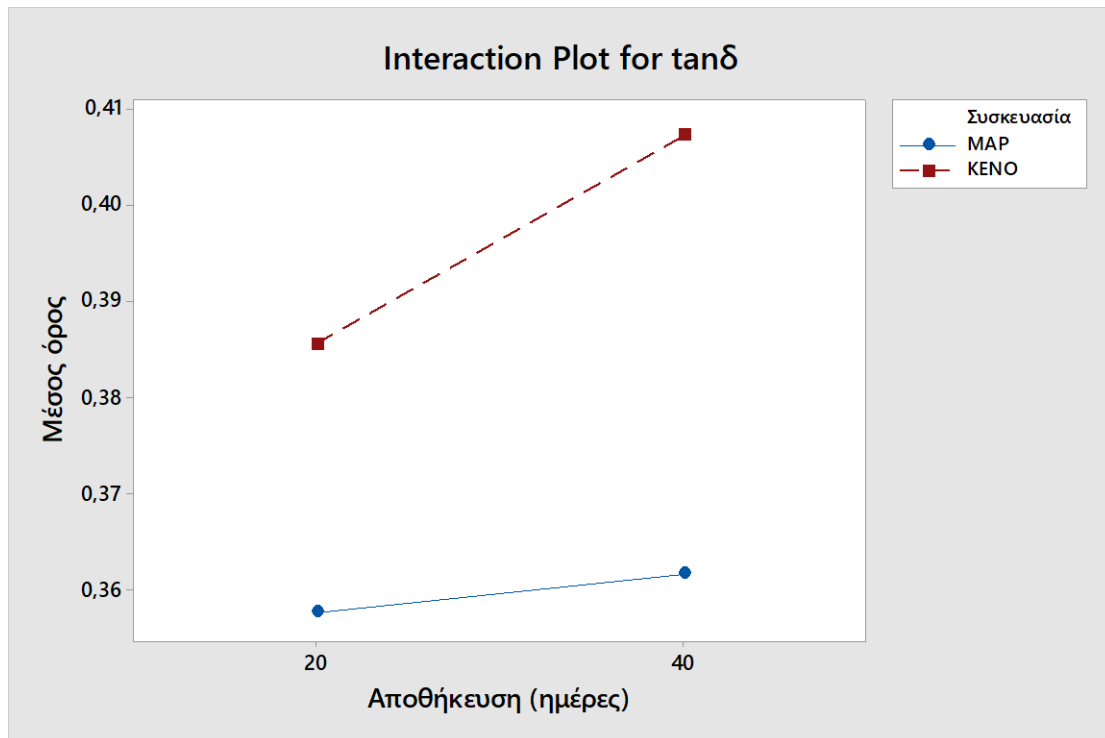
Όπως παρατηρείται από τα Σχήματα (21, 22, 23, 24, 25) μόνο η συσκευασία σε κενό είχε στατιστικά σημαντική επίδραση στις ρεολογικές ιδιότητες των δειγμάτων κατά την αποθήκευση τους. Η εφαρμογή της MAP και σύμφωνα με τον έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων του Tukey δεν επηρέασε τη ρεολογική συμπεριφορά των δειγμάτων κατά την αποθήκευσή τους. Η μείωση των ρεολογικών ιδιοτήτων (εκτός από την $\tan\delta$, η οποία αυξήθηκε δεδομένου ότι εκφράζει τον ιξώδη χαρακτήρα των δειγμάτων) οφείλεται στη μείωση της συνοχής του πρωτεϊνικού πλέγματος εξαιτίας της διάσπασης των πρωτεϊνών από τα πρωτεολυτικά ένζυμα. Εδώ αξίζει να σημειωθεί ότι η καθυστερούμενη ελαστικότητα δεν εμφάνισε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δειγμάτων, πιθανόν εξαιτίας των μικρότερων τιμών της σε σχέση με την στιγμιαία ελαστικότητα (φαίνεται ότι οι δεσμοί που κυριαρχούν στο σύστημα των τυριών είναι ισχυροί δευτερεύοντες).



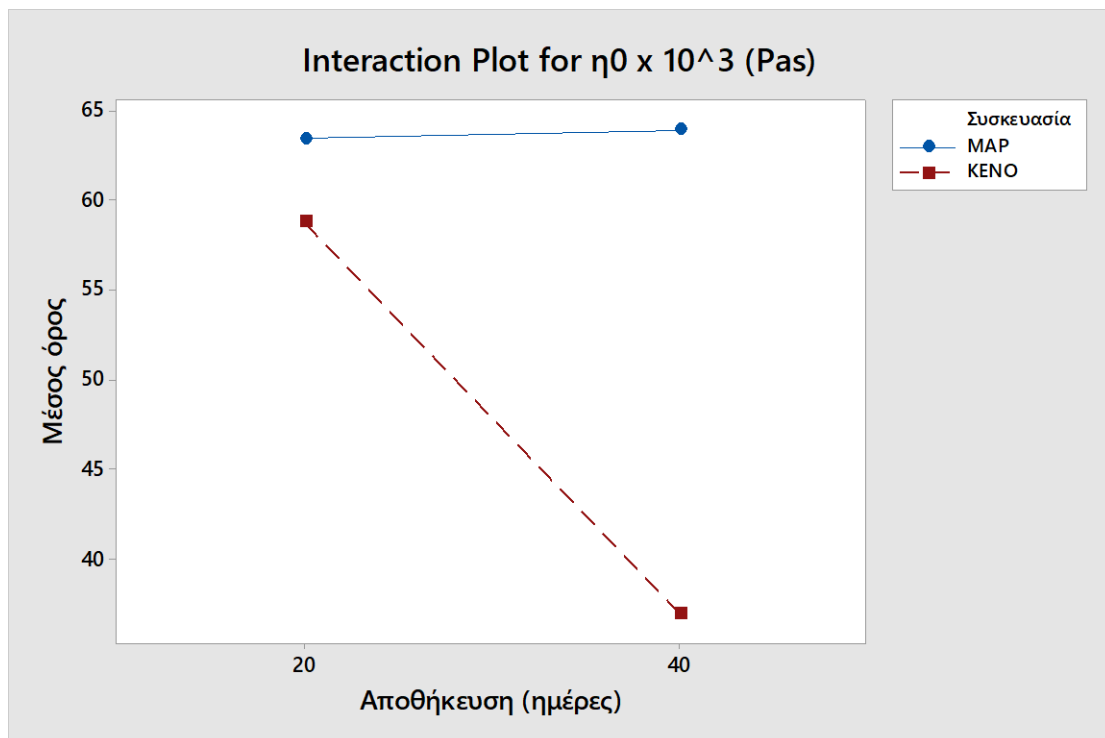
Σχήμα 21. Επίδραση της συσκευασίας και του χρόνου αποθήκευσης στην τιμή φαινομενικού ιξώδους ($\eta\phi$) των δειγμάτων. MAP: Περιβάλλον τροποποιημένης ατμόσφαιρας.



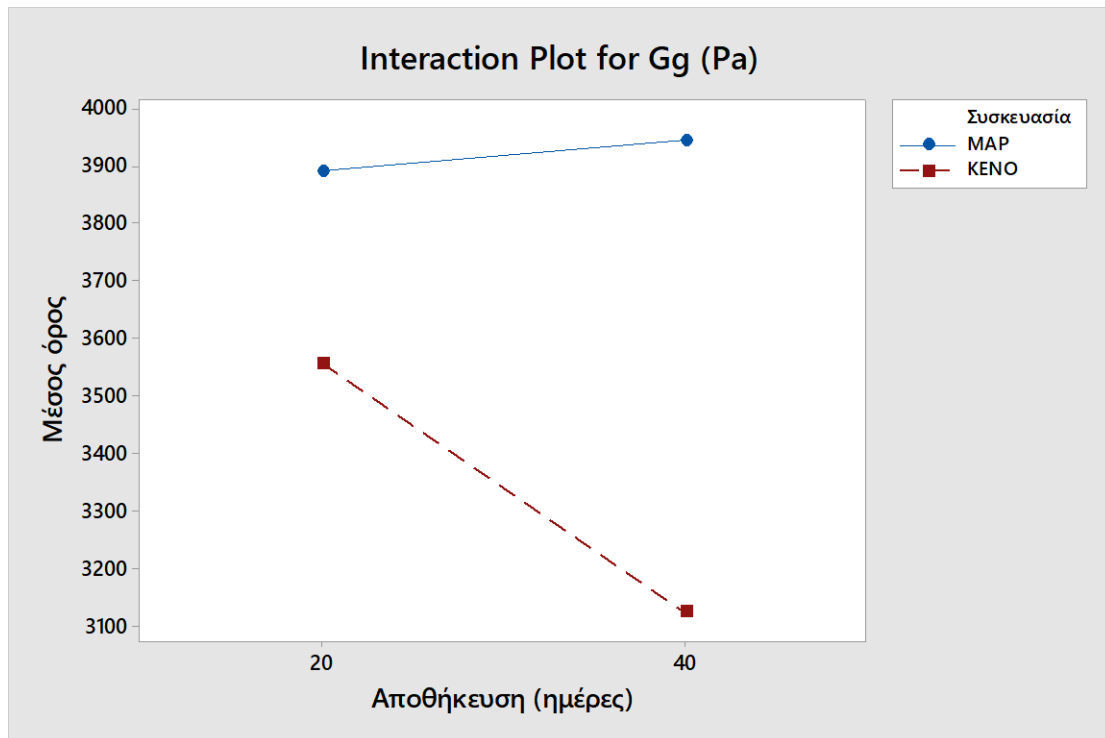
Σχήμα 22. Επίδραση της συσκευασίας και του χρόνου αποθήκευσης στην τιμή του συντελεστή ελαστικότητας (G') των δειγμάτων. MAP: Περιβάλλον τροποποιημένης ατμόσφαιρας.



Σχήμα 23. Επίδραση της συσκευασίας και του χρόνου αποθήκευσης στην $\tan\delta$ των δειγμάτων. MAP: Περιβάλλον τροποποιημένης ατμόσφαιρας.



Σχήμα 24. Επίδραση της συσκευασίας και του χρόνου αποθήκευσης στην τιμή του νευτώνειου ιξώδους (η_0) των δειγμάτων. MAP: Περιβάλλον τροποποιημένης ατμόσφαιρας.



Σχήμα 25. Επίδραση της συσκευασίας και του χρόνου αποθήκευσης στην τιμή της στιγμιαίας ελαστικότητας (G_g) των δειγμάτων. MAP: Περιβάλλον τροποποιημένης ατμόσφαιρας.

6.Συμπεράσματα

Τα δείγματα που παρασκευάστηκαν με την προσθήκη πρωτεϊνών γάλακτος και κρέμας γάλακτος εμφάνισαν μεγαλύτερη απόδοση σε σχέση με τον μάρτυρα.

Το δείγμα με την προσθήκη πρωτεϊνών γάλακτος εμφάνισε τη μεγαλύτερη τιμή pH, ενώ το εμπορικό δείγμα τη μικρότερη.

Τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε υγρασία εμφάνισε το εμπορικό δείγμα, ακολούθησε το δείγμα με προσθήκη πρωτεϊνών γάλακτος, μετά ο μάρτυρας και τελευταίο το δείγμα με προσθήκη κρέμας γάλακτος.

Η προσθήκη πρωτεϊνών γάλακτος είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της συγκέντρωσης των πρωτεϊνών, του φαινομενικού ιξώδους, του συντελεστή ελαστικότητας, του νευτώνειου ιξώδους, της στιγμιαίας ελαστικότητας και της καθυστερούμενης ελαστικότητας των δειγμάτων.

Η προσθήκη κρέμας γάλακτος είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της λιποπεριεκτικότητας των δειγμάτων και των τιμών της $\tan\delta$, ενώ οδήγησε σε μείωση του φαινομενικού ιξώδους και της στιγμιαίας ελαστικότητας.

Ο πληθυσμός των οξυγαλακτικών βακτηρίων και των ζυμών δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντική μεταβολή, ενώ κολοβακτηριοειδή δε βρέθηκαν σε κανένα δείγμα.

Η χρήση κενού κατά τη συσκευασία των δειγμάτων είχε ως αποτέλεσμα τη μεταβολή των ιδιοτήτων τους κατά την αποθήκευσή στην ψύξη για 40 ημέρες, σε αντίθεση με την εφαρμογή MAP, όπου δεν παρατηρήθηκαν μεταβολές. Συγκεκριμένα, τα δείγματα που συσκευάστηκαν υπό κενό παρουσίασαν αύξηση της τιμής pH και μείωση όλων των ρεολογικών ιδιοτήτων εκτός από την $\tan\delta$, η οποία αυξήθηκε, και την καθυστερούμενη ελαστικότητα που δεν επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά κατά την αποθήκευσή τους.

7.Προτάσεις για μελλοντική έρευνα

- Μελέτη της επίδρασης των θερμοκρασιών επώασης και στραγγίσματος στις ιδιότητες των τυριών αλοιφώδους υφής με τη χρήση καλλιέργειας εκκίνησης κεφίρ.
- Μελέτη της επίδρασης της έντασης της θερμικής επεξεργασίας στις ιδιότητες των τυριών αλοιφώδους υφής με τη χρήση καλλιέργειας εκκίνησης κεφίρ.
- Μελέτη των παραγόντων που επηρεάζουν τις οργανοληπτικές ιδιότητες των τυριών αλοιφώδους υφής με τη χρήση καλλιέργειας εκκίνησης κεφίρ.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

➤ ΞΕΝΗ

- AOAC, Official methods of analysis, 15th Ed. Washington DC: Association of Official Analytical Chemists (1990).
- Awaisheh S.S., Rababah T.M., Rahahleh R.J., Haddad M.A., Development of a novel white soft cheese using kefir starter cultures: Microbiological, physicochemical and sensory properties, *Milk science international*, Vol. 69 No. 4, pp.18-22, (2016).
- Daliri E.B.M., Lee H. B., New perspectives on probiotics in health and disease. *Food Science and Human Wellness*, 4, 56-65, (2015).
- Del Piano M, L Morelli, G P Strozzi, S Allesina, M Barba, F Deidda, P Lorenzini, M Ballaré, F Montino, M Orsello, M Sartori, E Garelo, S Carmagnola, M Pagliarulo, L Capurso, Probiotics: from research to consumer, *Dig Liver Dis.*, Vol. 38 Suppl 2:S248-55, (2006).
- Dimitrellou D, Tsaousi K, Kourkoutas Y, Panas P, Kanellaki M, Koutinas MM. Fermentation efficiency of thermally dried immobilized kefir on casein as starter culture. *Process Biochemistry*, 43:1323–1329, (2008).
- Farag M.A., Jomaa S.A., Abd El-Wahed A., & El-Seedi H.R. The many faces of kefir fermented dairy products: Quality characteristics, flavour chemistry, *Nutrients*, Vol. 12, pp. 1-23, (2020).
- Farnworth E.R., Kefir – a complex probiotic. *Food Science and Technology Bulletin: Functional Foods*, 2 (1) 1-17, (2005).
- Fox P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., & McSweeney, P. L. H., *Fundamentals of cheese science*. Gaithersburg, Maryland: Aspen Publishers, Inc., (2000).
- Fox P.F., McSweeney P.L.H., Cogan T.M. & Guinee T.P., *Cheese Chemistry Physics and Microbiology*. 3th edition. Volume 2 Magor Cheese groups. Amsterdam: Elsevier Academic Press, (2004).
- Frengova G.I., Simova E.D., Beshkova D.M., Simova Z.I., Exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria of kefir grains, Vol. 57(9-10), pp.805-10, (2002).
- Gibson, L., Lee, T., Koh, L. et al. Primary forests are irreplaceable for sustaining tropical biodiversity. *Nature* 478, 378–381, (2011).
- Glenn R Gibson, Hollie M Probert, Jan Van Loo, Robert A Rastall, Marcel B Roberfroid, Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics, Vol. 17(2), pp. 259-75, (2004).
- Guine, R., Lima, M. and Barroca, M., Role and Health benefits of different functional foods components, (2004).

- Hardy G, Nutraceuticals and functional foods: introduction and meaning. *Nutrition*. Vol. 16(7-8), pp. 688-9, (2000).
- Hasler C.M., Functional Foods: Benefits, Concerns and Challenges—A Position Paper from the American Council on Science and Health, American Society for Nutritional Sciences, pp.3773-81, (2002).
- Hilliam, M. Functional foods in Europe, *The World of Food Ingredients*, 45 -47, (1998).
- International Life Sciences Institute, Safety assessment and potential health benefits of food components based on selected scientific criteria., ILSI North America Technical Committee on Food Components for Health Promotion. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 39: 203–316, (1999).
- Kemp, N., Kefir, the champagne of cultured dairy products, *Cultured Dairy Products Journal*, Vol.19(3), pp. 29-30, (1984).
- Kivanc M, Yapici E., Kefir as a probiotic dairy beverage: determination lactic acid bacteria and yeast. *International Journal of Food Engineering*, 1(1):55-60, (2015).
- Koroleva, N.S. Special products (kefir, koumyss, etc.), *Proceedings XXI International Dairy Congress, Moscow Vol.2*, pp. 146-151, (1982).
- Kosikowski F., Mistry V., *Cheese and Fermented Milk Foods*, Vol 1, Origins and Principles, 739 pp. Vol 2, Procedures and Analysis, 3rd ed, (1999).
- Kuo, C-Y. and Lin, C-W., Taiwanese kefir grains: their growth, microbial and chemical composition of fermented milk, *Australian Journal of Dairy Technology*, Vol. 54, pp. 19-23, (1999).
- Kwak H.S., Park S.K., Kim D.S., Biostabilization of Kefir with a Nonlactose-Fermenting Yeast, *Journal of Dairy Science*, Vol.79, Issue 6, pp. 937-942, (1996).
- Lilly, D.M. and Stillwell, R.H., Probiotics: Growth-Promoting Factors Produced by Microorganisms. *Science*, 147, 747-748, (1965).
- Lozinsky V.I., Galaev I.Yu., Plieva F.M., Savina I.N., Jungvid H., Mattiasson B., Polymeric cryogels as promising materials of biotechnological interest. *Trends in Biotechnology*, 21 (10), 445–451, (2003).
- Lucey J.A., The relationship between rheological parameters and whey separation in milk gels. *Food Hydrocolloids*, 15, 603-608, (2001).
- McClements, D. J., *Food emulsions: Principles, practice and techniques*. Boca Raton, London, New York, Washington: CRC Press LLC, (1999).
- Milner JA. Functional foods and health promotion, *J Nutr.* Vol. 129(7 Suppl):1395S-7S, (1999).
- Phadungath, C. Cream cheese products: A review., *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, Vol. 27(1), pp. 191-199, (2005).

- Sanders M.E., Benson A., Lebeer S., Merenstein D.J. & Klaenhammer T.R., Shared mechanisms among probiotic taxa: implications for general probiotic claims, *Current Opinion in Biotechnology*, 49, 207–216, (2018).
- Schulz-Collins D., & Senge B., Acid-and acid/rennet curd cheeses. Part A: Quark, cream cheese and related varieties, In P.F. Fox, P.L.H. McSweeney, T.M. Cogan, T.P. Guinee (Eds), *Cheese Chemistry, Physics and Microbiology*, 3rd Edition, Volume 2 Major cheese groups (pp 301-328). Amsterdam: Academic Press., (2004).
- Simova E, Beshkova D., Angelov A., Hristozova Ts, Frengova G., Spasov Z., Lactic acid bacteria and yeasts in kefir grains and kefir made from them, *J Ind Microbiol Biotechnol* Vol. 28(1), pp. 1-6, (2002).
- Steffe J.F., *Rheological methods in food process engineering*. 2nd ed. East Lansing, USA: Freeman Press, (1996).
- Stepaniak L., & Fetliński A., Fermented milks - kefir. Amsterdam: Elsevier Ltd, In H. Roginski (Ed.) *Encyclopedia of dairy sciences*, pp.1049–1054, (2002).
- Walstra, P., Wouters, J. T. M., & Geurts, T. J., *Dairy Science and Technology*, (2nd ed). BocaRaton: Taylor&Francis, CRC Press, (2006).
- Wendin K., Langton M., Caous L., Hall G., Dynamic analyses of sensory and microstructural properties of cream cheese, *Food Chemistry*, Vol. 71, Is. 3, 15, pp. 363-378, (2000).

➤ ΕΛΛΗΝΙΚΗ

- ⊙ Δημητρέλλη , Γ., Σημειώσεις για το εργαστήριο Τεχνολογία και έλεγχος ποιότητας γάλακτος και γαλακτοκομικών προϊόντων, Θεσσαλονίκη: Διεθνές Πανεπιστήμιο Ελλάδος, (2014).
- ⊙ Κεχαγιάς Χ. & Τσάκαλη Ε., *Επιστήμη και Τεχνολογία Γάλακτος και Γαλακτοκομικών Προϊόντων*. Αθήνα: Εκδόσεις Νέων Τεχνολογιών, (2017).
- ⊙ Κώδικας Τροφίμων και Ποτών και Αντικειμένων Κοινής Χρήσης, Μέρος Α, Τρόφιμα και Ποτά, Τόμος 2. Υπουργείο Οικονομίας και Οικονομικών, Γενικό Χημείο του Κράτους, Αθήνα, (2009).
- ⊙ Πετρίδης, Δ. Ν., *Στατιστική με έμφαση στην επιστήμη τροφίμων*. 4η εκδ. Θεσσαλονίκη: Back Office, (2016).

➤ ΔΙΑΔΙΚΤΥΑΚΟΙ ΤΟΠΟΙ

1. <https://www.aade.gr/sites/default/files/2020-03/83-iss3.pdf>
2. <http://coproweb.free.fr/kefiranglais.htm>
3. <http://www.fao.org/faolex/en/>
4. <https://matadornetwork.com/read/history-kefir-caucasus/>
5. <https://www.nourishkefir.co.uk/what-is-nourish-kefir/where-do-kefir-grains-come-from/>