



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



ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΤΥΡΟΚΟΜΗΣΗΣ ΚΑΙ
ΤΟΥ ΧΡΟΝΟΥ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗΣ ΣΤΙΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΥΡΙΟΥ
ΑΛΟΙΦΩΔΟΥΣ ΥΦΗΣ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ
ΕΚΚΙΝΗΣΗΣ ΑΠΟ ΚΟΚΚΟΥΣ ΚΕΦΙΡ

ΜΑΡΙΑ ΤΖΑΒΕΛΑ

ΧΗΜΙΚΟΣ

ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ 2023

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΤΥΡΟΚΟΜΗΣΗΣ ΚΑΙ ΤΟΥ ΧΡΟΝΟΥ
ΔΙΑΤΗΡΗΣΗΣ ΣΤΙΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΥΡΙΟΥ ΑΛΟΙΦΩΔΟΥΣ ΥΦΗΣ ΜΕ ΧΡΗΣΗ
ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΕΚΚΙΝΗΣΗΣ ΑΠΟ ΚΟΚΚΟΥΣ ΚΕΦΙΡ

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

ΜΑΡΙΑ ΤΖΑΒΕΛΑ

ΧΗΜΙΚΟΣ

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

ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ 2023

Εισηγήτρια Επιβλέπουσα
καθηγήτρια: _____ Δημητρέλη Γεωργία

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: Μαρία Τζαβέλα

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

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

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΤΥΡΟΚΟΜΗΣΗΣ ΚΑΙ ΤΟΥ ΧΡΟΝΟΥ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗΣ ΣΤΙΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΥΡΙΟΥ ΑΛΟΙΦΩΔΟΥΣ ΥΦΗΣ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΕΚΚΙΝΗΣΗΣ ΑΠΟ ΚΟΚΚΟΥΣ ΚΕΦΙΡ

ΜΑΡΙΑ ΤΖΑΒΕΛΑ, Χημικός

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα διατριβή μελετήθηκε η επίδραση του είδους της καλλιέργειας εκκίνησης και της αναθέρμανσης (ως παράγοντες τυροκόμησης), καθώς επίσης και του χρόνου διατήρησης στις φυσικοχημικές, ρεολογικές και μικροβιολογικές ιδιότητες τυριών αλοιφώδους υφής παρασκευασμένων με τη χρήση καλλιέργειας εκκίνησης κεφίρ. Για την επίτευξη του συγκεκριμένου σκοπού παρασκευάστηκαν δείγματα τόσο με τη χρήση εμπορικής καλλιέργειας κεφίρ (σε ποσοστό προσθήκης σύμφωνα με τις οδηγίες του προμηθευτή) όσο και καλλιέργειας που προερχόταν από κόκκους κεφίρ (παραδοσιακή καλλιέργεια εκκίνησης του κεφίρ) σε δύο διαφορετικά ποσοστά (3% και 4,5%). Επίσης, προκειμένου να μελετηθεί η επίδραση της εφαρμογής αναθέρμανσης παρασκευάστηκε δείγμα με τη χρήση εμπορικής καλλιέργειας κεφίρ, στο οποίο εφαρμόστηκε η διεργασία της αναθέρμανσης. 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, η καθυστερούμενη ελαστικότητα και το νευτώνιο 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.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, τα δείγματα στα οποία χρησιμοποιήθηκε κεφίρ ως καλλιέργεια εκκίνησης, εμφάνισαν τις μεγαλύτερες τιμές pH, συντελεστή ελαστικότητας, στιγμιαίας ελαστικότητας και καθυστερούμενης ελαστικότητας, καθώς και τις μικρότερες της $\tan \delta$. Επίσης, η χρήση καλλιέργειας εκκίνησης κεφίρ είχε ως αποτέλεσμα την παραγωγή δειγμάτων τυριού αλοιφώδους υφής, τα οποία παρουσίασαν αυξημένο φαινομενικό ιξώδες, νευτώνιο ιξώδες και καθυστερούμενη ελαστικότητα. Ωστόσο, η χρησιμοποίηση διαφορετικού ποσοστού εμβολίου κεφίρ δεν επηρέασε τις ιδιότητες των δειγμάτων. Η εφαρμογή αναθέρμανσης προκάλεσε τη μείωση της απόδοσης και της περιεκτικότητας των δειγμάτων σε υγρασία, ενώ οδήγησε σε αύξηση της συγκέντρωσης των πρωτεϊνών και του λίπους και των ρεολογικών ιδιοτήτων (εκτός από την $\tan \delta$ η οποία μειώθηκε). Οι πληθυσμοί των οξυγαλακτικών βακτηρίων και των ζυμών δεν επηρεάστηκαν από τους μελετούμενους παράγοντες, ενώ κολοβακτηριοειδή δε βρέθηκαν στα δείγματα. Η χρησιμοποίηση κενού επηρέασε τις ιδιότητες των δειγμάτων (αύξηση του pH, μείωση όλων των ρεολογικών ιδιοτήτων εκτός από την $\tan \delta$ που οποία αυξήθηκε και την καθυστερούμενη ελαστικότητα που δεν επηρεάστηκε) κατά την αποθήκευση τους στην ψύξη για 40 ημέρες, σε αντίθεση με την εφαρμογή MAP.

ABSTRACT

The present thesis is on the study of the effect of the starting culture (as a ~~τυποποίησης~~ ~~cheesemaking~~ factor), as well as the ~~veconservation~~ ~~conservation~~ time on the physicochemical, rheological and microbiological properties of cream cheese, that is produced by using kefir as a starting culture. The samples were prepared using commercial kefir culture (according to producer's percentage guidelines), and kefir granules' culture (traditional kefir starting culture) at two different percentage values (3 and 4,5%). Moreover, the effect of reheating was studied in a sample prepared using commercial kefir culture in which a process of reheating was applied. The samples were analysed directly after their preparation and after storage at 4°C for 20 and 40 days. The samples ~~were~~ stored at 4°C ~~and were they are were~~ packed both in ~~a~~-vacuum and ~~in at a~~ modified atmosphere (30% CO₂ and 70% N₂). Analysis of the physicochemical properties included determination of the pH value, water, fat and protein content. Additionally, rheological studies were studied applying two tests of small deformation (dynamic and ~~.....~~ ~~creep~~) and the determination of their viscosity. The dynamic test determines the elasticity coefficient and $\tan\delta$, and the ~~.....creep....~~ test determines instant elasticity, delayed elasticity and ~~N~~ewton viscosity, while the apparent viscosity at 40s⁻¹ and the rheological index was determined by the fluidity curves. Microbiological analyses included the determination of lactic acid bacteria, yeasts and coliforms.

According to the results, the samples prepared using kefir as starting culture had higher pH value, elasticity coefficient, instant and delayed elasticity, and ~~deceerased~~ ~~decreased~~ $\tan\delta$. Using kefir as a starting culture resulted in the production of cream cheese samples which were characterized by increased apparent viscosity, Newton viscosity and delayed elasticity. Still, the difference in the amount of the kefir did not seem to affect the samples' properties. Reheating resulted in the decrease of yield and water content of the samples, while it ~~lead~~ ~~led~~ to an increase in the fat and protein content as well as in the rheological properties apart from $\tan\delta$ which ~~decrease~~ ~~ds~~. The population of lactic acid bacteria and yeasts were not affected by the studied parameters, while coliforms were not found in the samples. The use of vacuum was a factor that affected the samples causing an increase in the pH value, an increase in all rheological properties apart from the delayed elasticity which was left intact when the samples were stored at low temperature for 40 days, in contrasts to the application of MAP conditions.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

Δήλωση μη λογοκλοπής	i
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....	ii
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	iii
ABSTRACT.....	iv
ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ.....	v
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	1
2. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ	2
2.1. Ιστορική αναδρομή	2
2.2. Τα λειτουργικά τρόφιμα.....	2
2.2.1. Βιοδραστικά συστατικά στα λειτουργικά τρόφιμα.....	4
2.2.2. Προβιοτικά	5
2.2.3. Πρεβιοτικά.....	7
2.3. Η ιστορία των ζυμώμενων τροφίμων.....	8
2.4. Τυριά αλοιφώδους υφής	9
2.4.1. Τεχνολογία παρασκευής	11
2.4.2. Πήξη του γάλακτος.....	14
2.4.3. Παράγοντες που επηρεάζουν την πήξη του γάλακτος	15
2.5. Κεφίρ	16
2.5.1. Χαρακτηριστικά του κεφίρ.....	18
2.5.2. Μικροβιολογία κόκκων κεφίρ.....	20
2.5.3. Διατηρησιμότητα κόκκων κεφίρ	21
2.5.4. Σύσταση κεφίρ.....	22
2.5.5. Μέθοδοι παρασκευής κεφίρ.....	22
2.5.5.1. Παραδοσιακή μέθοδος παρασκευής του κεφίρ	23
2.5.5.2. Βιομηχανική μέθοδος παρασκευής του κεφίρ	23
2.5.6. Βιολογικά συστατικά του κεφίρ	24
2.5.6.1. Εξωπολυσακχαρίτες	24
2.5.6.2. Βιοδραστικά πεπτίδια	25
2.5.6.3. Οφέλη του κεφίρ στην υγεία	25

3. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ.....	27
4. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	28
4.1. Υλικά.....	28
4.2. Κωδικοποίηση δειγμάτων.....	28
4.3. Παρασκευή δειγμάτων.....	28
4.4. Φυσικοχημικές αναλύσεις.....	29
4.4.1. Προσδιορισμός pH.....	29
4.4.2. Προσδιορισμός ξηρής ουσίας.....	29
4.4.3. Προσδιορισμός λίπους.....	30
4.4.4. Προσδιορισμός πρωτεϊνών.....	30
4.5. Μελέτη ρεολογικών ιδιοτήτων.....	31
4.5.1. Δυναμική δοκιμή.....	32
4.5.2. Δοκιμή ερπυσμού.....	32
4.5.3. Προσδιορισμός ιξώδους.....	33
4.6. Μικροβιολογικές Αναλύσεις.....	33
4.7. Στατιστικός έλεγχος.....	36
5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	37
5.1. Μελέτη ιδιοτήτων δειγμάτων μετά την παρασκευή τους.....	37
5.1.1 Απόδοση.....	37
5.1.2 Φυσικοχημικές ιδιότητες.....	38
5.1.3 Ρεολογικές ιδιότητες.....	41
5.1.3 Μικροβιολογικές ιδιότητες.....	47
5.2. Επίδραση του χρόνου αποθήκευσης και της συσκευασίας στις ιδιότητες των δειγμάτων.....	47
6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	52
7. ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ.....	53
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	54

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η σύγχρονη τάση στη σημερινή ζωή και στον τρόπο ζωής οδηγεί τον καταναλωτή στο να στρέψει το ενδιαφέρον του στη διατήρηση καλής υγείας με σύμμαχο την καλή διατροφή. Μία κατηγορία τροφίμων που πληρούν αυτά τα κριτήρια είναι αυτά που περιέχουν προβιοτικά, με το κεφίρ να πρωταγωνιστεί ανάμεσά τους.

Το κεφίρ είναι ένα φυσικό προβιοτικό προϊόν, το οποίο προκύπτει από τον εμβολιασμό του γάλακτος με κόκκους κεφίρ. Στους κόκκους αυτούς βρίσκεται ένας μεγάλος αριθμός μικροοργανισμών¹ που είναι ενωμένοι σε ένα σύμπλεγμα πρωτεϊνών – πολυσακχαριτών, με κύριο πολυσακχαρίτη την κεφίρανη. Το κεφίρ προσδίδει πολλά οφέλη στην υγεία των καταναλωτών, τα οποία τα τελευταία χρόνια έχουν γίνει ευρέως γνωστά με αποτέλεσμα το κεφίρ και τα προϊόντα τύπου κεφίρ να αρχίσουν να γίνονται αρκετά δημοφιλή ως καταναλωτικά προϊόντα, και η ζήτησή τους αυξάνεται. Μάλιστα, τα προϊόντα αυτά μπορούν να απευθύνονται σε διάφορες ηλικιακές ομάδες ανάλογα με την μορφή τους και τα επιμέρους χαρακτηριστικά.

Έτσι έχουν γίνει πολλές ερευνητικές προσπάθειες, ώστε να βελτιωθεί το παραδοσιακό ρόφημα του κεφίρ, ή ακόμα και να δημιουργηθούν νέα προϊόντα προστιθέμενης αξίας με την ενσωμάτωση καλλιέργειας κεφίρ σε ήδη υπάρχοντα προϊόντα (Awaishah et al., 2016; Dimitrellou et al., 2008; Kivanc & Yarıci, 2015).

Τα τυριά αλοιφώδους υφής είναι λευκά, ελαφρώς όξινα και έχουν γεύση και άρωμα διακετυλίου, ενώ η επιφάνειά τους είναι λεία και χωρίς διαχωρισμό ορού. Η παρασκευή τους πραγματοποιείται χρησιμοποιώντας καλλιέργειες οξυγαλακτικών βακτηρίων (Phadungath, 2005). 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 αλοιφώδους υφής, που ως καλλιέργεια εκκίνησης θα χρησιμοποιούνταν καλλιέργεια από κόκκους κεφίρ (κεφίρ), για την εκμετάλλευση των ευεργετικών της ιδιοτήτων, καθώς και η μελέτη της επίδρασης του είδους της καλλιέργειας εκκίνησης και της αναθέρμανσης (ως παράγοντες τυροκόμησης), καθώς επίσης και του χρόνου διατήρησης στις φυσικοχημικές, ρεολογικές και μικροβιολογικές ιδιότητες των δειγμάτων.

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

2. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

2.1. Ιστορική αναδρομή

Το γεγονός ότι τα τρόφιμα μπορούν πολλές φορές να έχουν θεραπευτικά οφέλη δεν αποτελεί μία νέα θεωρία. Η αρχή: «Άφησε την τροφή να είναι το γιατρικό σου και το φάρμακο η τροφή σου» αποτέλεσε και το δόγμα του Ιπποκράτη, πατέρα της Ιατρικής, εδώ και 2500 χρόνια (Hasler, 2002). Ωστόσο, αυτή η φιλοσοφία της «τροφής ως γιατρικό» πέρασε στην αφάνεια κατά τον 19^ο αιώνα με την εμφάνιση της σύγχρονης φαρμακευτικής επιστήμης. Ωστόσο, κατά τη δεκαετία 1900-10, ο σημαντικός ρόλος της διατροφής στην πρόληψη ασθενειών και την προάσπιση της υγείας ήρθε ξανά στο προσκήνιο.

Στα πρώτα 50 χρόνια του 20^{ου} αιώνα, η επιστήμη εστιάζει στον εντοπισμό ουσιωδών συστατικών, κυρίως των βιταμινών και του ρόλου τους στην πρόληψη ασθενειών που σχετίζονται με την έλλειψή τους. Ωστόσο, αυτή η έμφαση στις ελλείψεις θρεπτικών συστατικών και στον υποσιτισμό άλλαξε δραματικά στη δεκαετία του 1970 όταν εμφανίστηκαν ασθένειες που συνδέονταν με την υπερβολική διατροφή και τον υπερσιτισμό που αποτέλεσε μείζονος σημασίας ανησυχία για τη δημόσια υγεία. Έτσι, ξεκίνησε ένα κύμα αλλαγών στις κατευθυντήριες οδηγίες που αφορούν τη δημόσια υγεία σε επίσημες εκθέσεις από όλους τους αρμόδιους φορείς. Όλες αυτές οι εκθέσεις στοχεύουν στη δημόσια πολιτική και εκπαίδευση δίνοντας έμφαση στη σημασία μιας ισορροπημένης δίαιτας χαμηλής περιεκτικότητας σε κορεσμένα λιπαρά, φρούτα, δημητριακά ολικής άλεσης και όσπρια για τη μείωση του κινδύνου εμφάνισης χρόνιων ασθενειών (καρδιακών παθήσεων, καρκίνου, οστεοπόρωσης, διαβήτη και εγκεφαλικών) (Hasler, 2002).

Οι επιστήμονες άρχισαν επίσης να εντοπίζουν δραστικά συστατικά σε τρόφιμα φυτικής και ζωικής προέλευσης, γνωστά ως φυτοχημικά ή ζωοχημικά αντίστοιχα, τα οποία πιθανόν να μπορούσαν να μειώσουν τον κίνδυνο εμφάνισης μιας πλειάδας χρόνιων ασθενειών. Αυτά τα γεγονότα σε συνδυασμό με έναν γηράσκοντα πληθυσμό που έχει επίγνωση της υγείας, των αλλαγών στη νομοθεσία των τροφίμων, των πολυάριθμων τεχνολογικών εξελίξεων και μια αγορά ώριμη για την εισαγωγή προϊόντων που προάγουν την υγεία, συγχωνεύτηκαν τη δεκαετία του 1990 για να δημιουργήσουν τη νέα τάση που γνωρίζουμε με τον όρο **λειτουργικά τρόφιμα** (Cassidy & Dalais, 2008).

2.2. Τα λειτουργικά τρόφιμα

Όλα τα τρόφιμα θα μπορούσαν σε ένα βαθμό να χαρακτηριστούν ως «λειτουργικά» μια και όλα έχουν κάποια βασικά χαρακτηριστικά όπως γεύση, άρωμα αλλά και διατροφική αξία. Τα λειτουργικά τρόφιμα αν και δεν έχουν έναν κοινώς αποδεκτό ορισμό, αντιστοιχούν στα τρόφιμα που έχουν σχεδιαστεί έτσι ώστε να παρέχουν συγκεκριμένο όφελος για την υγεία. Δηλαδή, περιλαμβάνουν μία ομάδα τροφίμων που, εκτός από τα θρεπτικά συστατικά

που περιέχουν, έχουν υποστεί διάφορες τροποποιήσεις με τρόπο ώστε να διαθέτουν και πρόσθετες ιδιότητες με όφελος στην υγεία, πολύ συχνά μειώνοντας και τον κίνδυνο εμφάνισης παθήσεων. Τα τρόφιμα αυτά που πληρούν συγκεκριμένα κριτήρια αναφέρονται και ως «τρόφιμα για συγκεκριμένη χρήση στην υγεία» (Foods for Specified Health Use, FOSHU) (International Life Sciences Institute, 1999).

Ο όρος **λειτουργικά τρόφιμα** (Milner, 1999; Hardy, 2000; Guine et al., 2004; Natarajan et al., 2019) πρωτοεμφανίστηκε στην Ιαπωνία τη δεκαετία του 1980. Εκτός από τον ορισμό που δόθηκε από την Ιαπωνική κυβέρνηση («τρόφιμα που αναμένονται να έχουν ορισμένα οφέλη υγείας και τους έχει χορηγηθεί άδεια να φέρουν ετικέτα υποστηρίζοντας ότι ένα άτομο που τα χρησιμοποιεί για μια συγκεκριμένη χρήση υγείας μπορεί να αναμένει την βελτίωση της υγείας του μέσω της κατανάλωσης αυτού του τροφίμου»). Μέχρι, τον Ιούλιο του 2022 είχαν χαρακτηριστεί 300 τρόφιμα ως FOSHU.

Από την άλλη στις ΗΠΑ στα λειτουργικά τρόφιμα δεν αποδίδεται μία τέτοια νομική υπόσταση (*status*). Οι ορισμοί που δόθηκαν από διάφορους οργανισμούς είναι αρκετοί και οι σημαντικότεροι από αυτούς είναι οι ακόλουθοι:

α) ο ορισμός του **Ινστιτούτου Επιστήμης της Ζωής της Βόρειας Αμερικής, (ILSI, International Life Science Institute of North America)**: Ένα τρόφιμο θεωρείται «λειτουργικό» όταν έχει τεκμηριωθεί σαφώς ότι, πέρα από τη διατροφική αξία, προσδίδει μία ή περισσότερες ιδιότητες ευεργετικές για την ανθρώπινη υγεία, είτε μέσω της βελτίωσης της κατάστασης της υγείας είτε μέσω της μείωσης των κινδύνων επί της υγείας.

β) ο ορισμός του **Συμβουλίου της Εθνικής Ακαδημίας Τροφίμων και Διατροφής (National Academy of Science Food and Nutrition Board)**: Κάθε τροποποιημένο τρόφιμο ή συστατικό τροφίμων που μπορεί να παρέχει όφελος για την υγεία πέρα από τα παραδοσιακά θρεπτικά συστατικά που περιέχει».

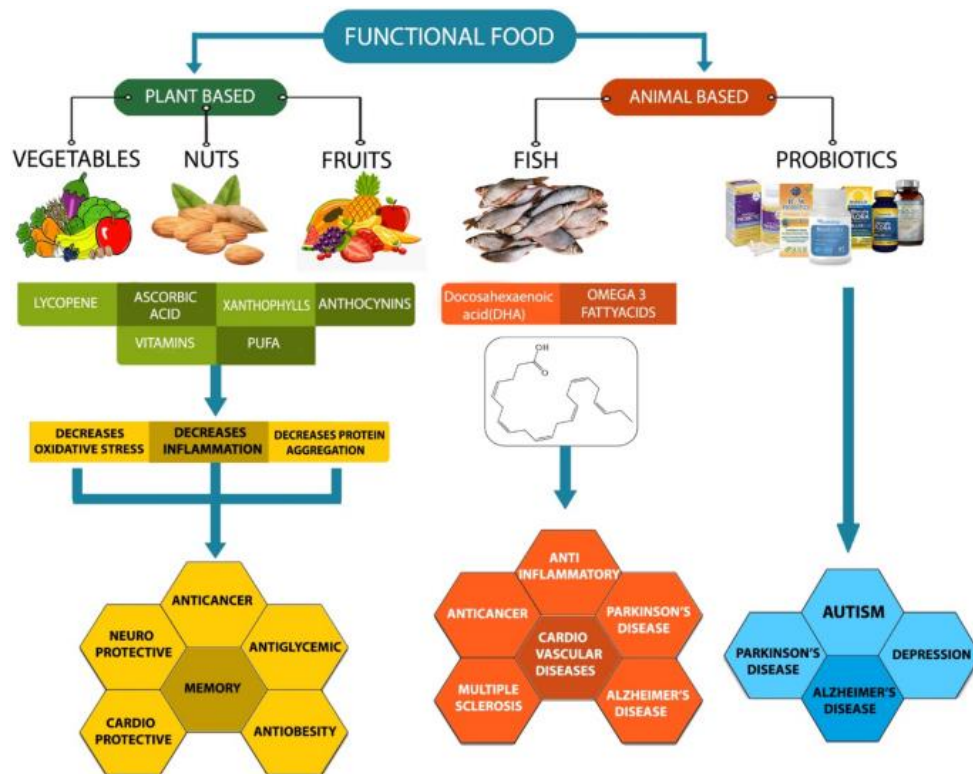
γ) ο ορισμός του **Διεθνούς Συμβουλίου Πληροφοριών Τροφίμων (IFIC, International Food Information Council)**: Λειτουργικά είναι τα τρόφιμα τα οποία παρέχουν ευεργετικά για την υγεία οφέλη, πέραν της βασικής διατροφικής τους αξίας.

δ) ο ορισμός της **Ευρωπαϊκής Επιτροπής**: Λειτουργικά είναι τα τρόφιμα που επηρεάζουν ευεργετικά μια ή περισσότερες στοχευμένες λειτουργίες στο σώμα - πέραν της επαρκούς διατροφικής πρόσληψης- κατά τέτοιο τρόπο ώστε να σχετίζονται με βελτίωση της κατάστασης υγείας και/ή με τη μείωση της πιθανότητας εμφάνισης ασθενειών. Δεν βρίσκονται σε μορφή διατροφικού συμπληρώματος.

Ένας εναλλακτικός όρος για τα λειτουργικά τρόφιμα προτάθηκε από το Ίδρυμα Καινοτομίας στην Ιατρική το 1989 ήταν nutraceuticals (Pandey et al., 2010; Nasri et al., 2014), αν και δεν είχε ιδιαίτερη αποδοχή από τους καταναλωτές. Ο όρος αυτός αναφέρεται σχεδόν σε οποιοδήποτε βιοδραστικό συστατικό που έχει όφελος για την υγεία του ανθρώπου. Στην πραγματικότητα, αυτά αποτελούν μία αναδυόμενη κατηγορία προϊόντων που ακροβατεί μεταξύ τροφίμου και φαρμάκου αφού στην πράξη είναι τρόφιμα ή συστατικά τροφίμων με θεραπευτικές δράσεις/οφέλη για την υγεία του ανθρώπου.

Στα λειτουργικά τρόφιμα (Σχήμα 1) υπάγονται:

- Τρόφιμα που περιέχουν βιολογικά ενεργά συστατικά σε μεγάλη ποσότητα, όπως είναι τα φρούτα και τα λαχανικά.
- Τρόφιμα που, ενώ περιέχουν ήδη κάποιο βιολογικά ενεργό συστατικό, εμπλουτίζονται με επιπλέον ποσότητα αυτού, όπως τα δημητριακά πρωινού, που εμπλουτίζονται με πολλές βιταμίνες.
- Τρόφιμα που δεν περιέχουν αρχικά κάποιο βιολογικά ενεργό συστατικό, αλλά εμπλουτίζονται με ένα ή περισσότερα τέτοια συστατικά, όπως οι μαργαρίνες (π.χ. δεν περιέχουν φυτοστερόλες αλλά μπορούν να εμπλουτιστούν με αυτές).
- Τέλος, τρόφιμα τα οποία περιέχουν κάποιο βιολογικά ενεργό συστατικό με αρνητική επίδραση στον οργανισμό και υφίστανται ειδική επεξεργασία απομάκρυνσής του, όπως οι μαλακές φυτικές μαργαρίνες που είναι χαμηλές σε κορεσμένα και ελεύθερες trans λιπαρών.



Σχήμα 1. Διάκριση λειτουργικών τροφίμων - Επίδραση στην υγεία.

2.2.1. Βιοδραστικά συστατικά στα λειτουργικά τρόφιμα

Τα **λειτουργικά τρόφιμα**, έχουν προσελκύσει μεγάλο ενδιαφέρον, δεδομένου ότι περιέχουν βιοδραστικά συστατικά, που προσφέρουν σημαντικά οφέλη στην υγεία και αντοχή απέναντι σε ασθένειες. Σήμερα, οι καταναλωτές είναι αρκετά ενημερωμένοι, για την ανάγκη να διατηρήσουν την υγεία τους μέσα από την προσθήκη των προβιοτικών στη διατροφή τους.

Το κεφίρ, που είναι και το αντικείμενο της παρούσας εργασίας, είναι ένα ζυμώμενο προϊόν γάλακτος, στο οποίο η παραδοσιακή καλλιέργεια εκκίνησής του είναι οι κόκκοι του κεφίρ. Είναι προϊόν πλούσιο σε προβιοτικούς μ/ο και λόγω της σημασίας των προβιοτικών στα λειτουργικά τρόφιμα, η κατανάλωσή του έχει αυξηθεί τα τελευταία χρόνια. Επίσης, το κεφίρ συμμετέχει ολοένα και περισσότερο στην ανάπτυξη διαφόρων ζυμώμενων προϊόντων, ως μέσο οξίνισης (Farnworth, 2005). Γενικά, τα γαλακτοκομικά ζυμώμενα προϊόντα είναι τα πιο διαδεδομένα προϊόντα αυτού του τύπου, με τη γιαούρτη να αποτελεί το πιο γνωστό προϊόν, ενώ το κεφίρ κερδίζει ολοένα και περισσότερο έδαφος.

2.2.2. Προβιοτικά

Στην κατηγορία των λειτουργικών τροφίμων ζωικής προέλευσης εντάσσονται τα ψάρια και τα προβιοτικά (Σχήμα 1), με τα δεύτερα να αποτελούν συστατικά που έχουν [πρσελκύσει/προσελκύσει](#) το ερευνητικό ενδιαφέρον τα τελευταία χρόνια.

Ο όρος **προβιοτικά** προέρχεται από την ελληνική λέξη που σημαίνει «για τη ζωή» και ορίζεται ως: οι ζωντανοί μ/ο που ασκούν ευεργετικές επιδράσεις στην υγεία του ανθρώπου/καταναλωτή, μέσω της βελτίωσης της χλωρίδας του εντέρου μετά την είσοδό τους σε αυτό (Salminen et al., 1998; Hill et al., 2014; Sanders et al., 2018). Τα οφέλη τους άρχισαν να λαμβάνονται σοβαρά υπόψη στην αρχή του 20^{ου} αιώνα όταν ο νομπελίστας μικροβιολόγος Metchnikoff υποστήριξε ότι τα βακτήρια του γαλακτικού οξέος συνέβαλαν στη μακροζωία των αγροτών στη Βουλγαρία.

Σύμφωνα με τον Metchnikoff (1907), ο σύνθετος μικροβιακός πληθυσμός στο παχύ έντερο είχε δυσμενή επίδραση στον ξενιστή μέσω αυτοτοξικότητας. Αυτό αργότερα επαναδιατυπώθηκε για να ενισχύσει την έννοια ενός **ζωντανού μικροβιακού συμπληρώματος διατροφής**, αντί για οποιαδήποτε άλλη ουσία και έγινε πιο στοχευμένη η διατύπωση για τους ανθρώπους (Fuller, 1989). Μέχρι τότε, τα προϊόντα ζύμωσης γάλακτος αποτελούσαν μία ομάδα τροφίμων ευρείας κατανάλωσης. Ορισμένα βακτήρια, είτε αυτόνομα είτε μέσω κάποιων μεταβολών που υφίστανται κατά τη ζύμωση, φαίνεται να έχουν θετική επίδραση στην υγεία και να παρέχουν αντοχή σε διάφορες ασθένειες. Το ενδιαφέρον για προβιοτικά είδη αυξήθηκε τελευταία καθώς γίνονται γνωστές περισσότερες πληροφορίες για τους μ/ο που χρησιμοποιούνται στη διαδικασία της ζύμωσης, και τη δυνατότητα προσθήκης ωφέλιμων βακτηρίων στα τρόφιμα.

Ο όρος προβιοτικό χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά το 1965, και τότε αναφερόταν σε οποιαδήποτε ουσία ή οργανισμό που συνεισφέρει στη μικροβιακή ισορροπία του εντέρου, κυρίως στα ζώα φάρμας. Βάσει κάποιου άλλου ορισμού, ως προβιοτικά μπορούν να χαρακτηριστούν τα ζωντανά μικροβιακής προέλευσης συμπληρώματα διατροφής που ευνοούν τον ξενιστή βελτιώνοντας τη μικροβιακή ισορροπία και χρησιμοποιούνται στα ζυμωμένα προϊόντα γάλακτος (Gorbach, 1996).

Πρόσφατα, έγινε επαναδιατύπωση του όρου προβιοτικά ως «*ζωντανοί οργανισμοί*», που μέσω πρόσληψής τους σε ορισμένη ποσότητα (πληθυσμό μ/ο) έχουν θετική επίδραση

στην υγεία του ανθρώπου. Αυτή η επαναδιατύπωση εστιάζει στην ανάγκη παρουσίας συγκεκριμένου πληθυσμού ζωντανών μ/ο και επιπλέον υποδεικνύει ότι τα οφέλη μπορεί να περιλαμβάνουν τόσο την εξισορρόπηση του μικροβιακού πληθυσμού όσο και άλλα οφέλη για την υγεία. Το κεφίρ περιέχει ζωντανή ενεργή καλλιέργεια της φυσιολογικής χλωρίδας που αποτελείται από ανθεκτικά στελέχη (strains) μ/ο που βοηθούν να αντιμετωπίζονται επιβλαβείς μ/ο, να αναδιαμορφώσουν τον πληθυσμό της χλωρίδας του γαστρεντερικού συστήματος και να βοηθούν στη διαδικασία της πέψης καθώς ξεκινούν την πέψη των πρωτεϊνών (FAO, 2002; Binda et al., 2014).

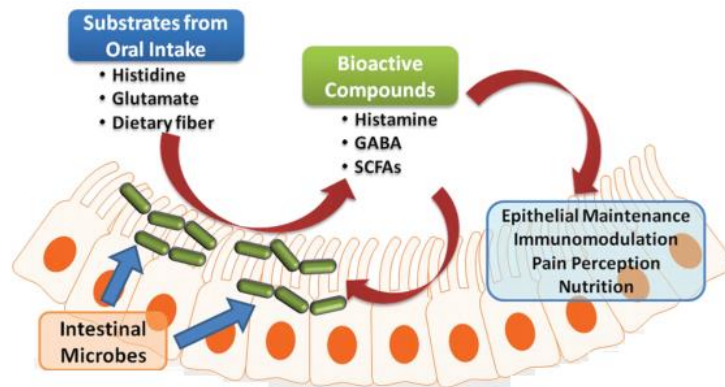
Οι μ/ο που ταξινομούνται στα προβιοτικά ανήκουν σε διαφορετικούς τύπους όπως βακτήρια, ζύμες και μούχλες (Amara & Shibl, 2015). Στα προβιοτικά τρόφιμα χρησιμοποιούνται κυρίως τα βακτήρια του γένους *Lactobacillus* και *Bifidobacterium* και άλλα άλλοι μ/ο όπως αυτοί παρουσιάζονται στον Πίνακα 1.

Πίνακας 1. Προβιοτικοί μ/ο που χρησιμοποιούνται στη διατροφή του ανθρώπου (Markowiak & Slizewska, 2017, EFSA 2020).

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 (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

Η δράση των προβιοτικών (Σχήμα 2) ουσιαστικά βασίζεται στην αναπλήρωση των μ/ο που απουσιάζουν φυσικά από τη μικροχλωρίδα του εντέρου ενός ανθρώπου. Λαμβάνονται ως συμπλήρωμα διατροφής αλλά και ενσωματώνονται σε τρόφιμα όπως τα ροφήματα γάλακτος, τα επιδόρπια γιαουρτιού, το κεφίρ και το μίσο (ασιατικό καρύκευμα).



Σχήμα 2. Μηχανισμός δράσης των προβιοτικών.

2.2.3. Πρεβιοτικά

Οι πρώτοι που αναγνώρισαν την αξία των ζυμώσιμων ολιγοσακχαριτών ήταν οι Ιάπωνες, αρχικά στη σίτιση χοιριδίων και αργότερα, στη δεκαετία του '80, με την ταυτοποίηση των ολιγοσακχαριτών του ανθρώπινου γάλακτος. Ωστόσο, ο όρος πρεβιοτικό φαίνεται να εμφανίζεται στα μέσα της δεκαετίας του '90 και παρά το γεγονός ότι έχουν προταθεί διάφοροι ορισμοί, δεν υπάρχει ακόμη συμφωνία για έναν ενιαίο ορισμό (Amara & Shibl, 2015). Ο πιο πρόσφατος συμφωνήθηκε στη Συνάντηση του Διεθνούς Επιστημονικού Συνδέσμου Προβιοτικών και Πρεβιοτικών (ISAPP) του 2010: «Ένα διαιτητικό πρεβιοτικό είναι ένα επιλεκτικά ζυμωμένο συστατικό που έχει ως αποτέλεσμα συγκεκριμένες αλλαγές στη σύνθεση ή/και τη δραστηριότητα του γαστρεντερικού μικροβιοτόπου, παρέχοντας έτσι οφέλη για την υγεία του ξενιστή».

Ως υποψήφια πρεβιοτικά θεωρούνται τα συστατικά που φθάνουν στο παχύ έντερο χωρίς να υφίστανται αλλαγές, π.χ. άπεπτοι υδατάνθρακες (από μικρές αλκοόλες ζάχαρης και δισακχαρίτες, μέχρι ολιγοσακχαρίτες και πολυσακχαρίτες) ορισμένα πεπτίδια και πρωτεΐνες, και κύρια λιπίδια. Τα πρεβιοτικά τα οποία έχουν αναπτυχθεί μέχρι σήμερα είναι κυρίως άπεπτοι ολιγοσακχαρίτες (NDOs), οι φρουκτο-ολιγοσακχαρίτες (FOS), γαλακτοολιγοσακχαρίτες (GOS), μετα-γαλακτο-ολιγοσακχαρίτες (TOS), ισομαλτο-ολιγοσακχαρίτες (IMO), ξυλο-ολιγοσακχαρίτες (XOS), γενετικοί ολιγοσακχαρίτες (GEO) και ολιγοσακχαρίτες σόγιας (SOS). Κάποια εμφανίζονται ως φυσικά συστατικά τροφίμων όπως στο ραδίκι, τα δημητριακά, την αγαύη και το γάλα. Άλλα εμπίπτουν στις φυτικές ίνες και έχουν χαρακτηριστεί ως θρεπτικά συστατικά αυτής της κατηγορίας. Έτσι, είναι ανθεκτικά συστατικά στην πέψη και σε κάποιες περιπτώσεις και τη ζύμωση (Romero et. al, 2021)

Υπάρχει ωστόσο ανάγκη για σαφή ταξινόμηση ενός συστατικού τροφίμων ως πρεβιοτικό. Κάποια βασικά χαρακτηριστικά των πρεβιοτικών είναι ότι:

- δεν υδρολύονται, ούτε απορροφώνται στο ανώτερο τμήμα του γαστρεντερικού σωλήνα
- θα πρέπει να ζυμώνονται από την εντερική χλωρίδα

- Θα πρέπει να διεγείρουν επιλεκτικά την ανάπτυξη ή/και τη δραστικότητα των εντερικών βακτηρίων.

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. Η ιστορία των ζυμώμενων τροφίμων

Η ζύμωση των τροφίμων αποτελεί μία διαδικασία γνωστή από τα προϊστορικά χρόνια, πολύ πριν την ανάπτυξη της επιστήμης που ερμηνεύει τον μηχανισμό της (Farnworth, 2005). Ωστόσο, η ακριβής τοποθέτηση της έναρξης χρήσης της διαδικασίας της ζύμωσης ως επεξεργασία τροφίμων δεν είναι γνωστή. Με το πέρασμα των χρόνων φαίνεται πως έγινε αποδεκτή και η διαπίστωση ότι τα ζυμώμενα προϊόντα τροφίμων είχαν πολύ μεγαλύτερο χρόνο ζωής σε σχέση με τα μη ζυμώμενα ισοδύναμά τους καθιστώντας τη ζύμωση μία πολύ συχνά χρησιμοποιούμενη τεχνική με σκοπό την παράταση του χρόνου ζωής των τροφίμων ώστε να μπορούν να καταναλωθούν αυτά τα τρόφιμα.

Το πιο πιθανό είναι ότι η ανακάλυψη της ζύμωσης έγινε από τυχαία παρατήρηση αφού η ζύμωση αποτελεί αναπόφευκτη συνέπεια της τύχης κάποιων τροφίμων αν αφεθούν σε συνθήκες που δεν είναι κατάλληλες για τη συντήρησή τους. Μάλιστα το πρώτο ζυμώμενο τρόφιμο ήταν πιθανότατα το γάλα, μια και αποτελεί μια ιδιαίτερα ευαλλοίωτη πρώτη ύλη. Ο άνθρωπος δεν μπορούσε πιθανόν να καταναλώσει όλη την ποσότητα του παραγόμενου

γάλακτος από τα εξημερωμένα ζώα, και στην προσπάθειά του να το αποθηκεύσει, συχνά σε χώρους που δεν μπορούσαν να υποστηρίξουν τη συντήρησή του παρατήρησε την αναπόφευκτη αλλοίωσή του (Farnworth, 2005). Ωστόσο, παρατήρησε ότι η αλλοίωση αυτή του γάλακτος άλλαζε τα χαρακτηριστικά του προϊόντος και σε κάποιες περιπτώσεις οδηγούσε σε προϊόντα με ευχάριστη υφή, γεύση ή και άρωμα. Έτσι, προοδευτικά χρησιμοποίησε τη διαδικασία αυτή, και με συνεχή παρατήρηση και δοκιμή προσπάθησε με διάφορους τρόπους να επέμβει ή και να βοηθήσει τη διαδικασία της «αλλοίωσης» του προϊόντος με απώτερο σκοπό την ανάπτυξη νέων προϊόντων που αργότερα αποτέλεσαν τα διάφορα είδη των γαλακτοκομικών προϊόντων (γιαούρτη, τυριά κ.ά.).

Η ζύμωση ήταν, όπως αποδεικνύεται ιστορικά, μία από τις παλαιότερες μεθόδους συντήρησης των τροφίμων, λαμβάνοντας βέβαια υπόψη ότι η ξήρανση που ήταν ακόμα παλαιότερη, ήταν πιο εύκολη και δεν απαιτούσε τόσο ειδικές συνθήκες. Μάλιστα η ζύμωση, παρέχοντας ιδιαίτερα χαρακτηριστικά στα παραγόμενα προϊόντα, άρχισε να γίνεται αρκετά δημοφιλής και να διαδίδεται. Ταυτόχρονα φυσικά, ήταν και χρήσιμη καθώς παράτεινε σημαντικά τον χρόνο ζωής των γαλακτοκομικών προϊόντων.

2.4. Τυριά αλοιφώδους υφής

Με βάση τον Κώδικα Τροφίμων και Ποτών 2016, (Άρθρο 83 παράγραφος 2.3), τα τυριά αλοιφώδους υφής (Σχήμα 3) ανήκουν στα τυριά από γάλα χωρίς ωρίμανση χαρακτηρίζονται 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 τυριά αυτά επιτρέπεται να διατίθενται στην κατανάλωση στις ποιότητες του Πίνακα 3.



Σχήμα 3. Τυρί αλοιφώδους υφής.

Τα τυριά αυτά επιτρέπεται να περιέχουν κάποια πρόσθετα και βοηθητικά στην τεχνολογίας παρασκευής. Αυτά διακρίνονται: 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 δρουν ανάλογα, 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 τουλάχιστο
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 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 αυτά είναι μαλακά, πλούσιας υφής, και αποτελούν [κρεμμώδη κρεμώδη](#) λευκά, ελαφρώς όξινης γεύσης προϊόντα με άρωμα διακετυλίου. Συνήθως παράγονται με την πήξη της κρέμας ή του μείγματος γάλακτος και της κρέμας σε όξινο περιβάλλον με καλλιέργεια εκκίνησης, και είναι έτοιμα για κατανάλωση αμέσως μετά την ολοκλήρωση της διαδικασίας παραγωγής τους.

Ο ακριβής ορισμός του φρέσκου τυριού, η ονομασία του και ο τρόπος παρασκευής του διαφέρουν ανάλογα με τη χώρα και την περιοχή (Phadungath, 2005). Όμως σε όλες τις περιπτώσεις 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 (οξυγαλακτικά βακτήρια). Και τα δύο διασφαλίζουν την πήξη του γάλακτος και τον διαχωρισμό του τυροπήγματος από το τυρόγαλα. Αφού τοποθετηθεί σε τρυπητό καλούπι και στραγγιστεί, το αποτέλεσμα είναι ένα σχετικά συμπαγές τυρί, με απαλή, ήπια, ελαφρώς όξινη και αλμυρή γεύση.

Σε σύγκριση με άλλα τυριά, τα φρέσκα τυριά έχουν υψηλά ποσοστά νερού, λόγω της υψηλής συγκέντρωσής τους σε πρωτεΐνες ορού, οι οποίες έχουν την ικανότητα να συγκρατούν μεγάλη ποσότητα νερού (Wendin et al., 2000).

Τα μαλακά τυριά μπορούν να διακριθούν σε ακόμα δύο κατηγορίες. Οι κατηγορίες αυτές είναι α) τα τυριά υψηλής λιποπεριεκτικότητας (double cream cheese), η οποία αναφέρεται στα τυριά που έχουν παρασκευαστεί από τυποποιημένο γάλα με λίπος τουλάχιστον 9-11% κατά βάρος και β) τα τυριά χαμηλής λιποπεριεκτικότητας (single cream

cheese), για τυριά που έχουν παρασκευαστεί από τυποποιημένο γάλα με λίπος 4,5-5% κατά βάρος (Ong et al., 2018). Μία ενδεικτική χημική σύσταση αυτών φαίνεται στον Πίνακα 4.

Πίνακας 4. Χημική σύσταση (επί τοις εκατό %) 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

Υπάρχουν επίσης και άλλα παρόμοια είδη τυριών που βασίζονται σε διαφορές στο λίπος αλλά και σε περιεχόμενο ξηρής ουσίας. Σύμφωνα με τον FDA, στις ΗΠΑ τα κρεμώδη τυριά πρέπει να έχουν τουλάχιστον 33 % λίπος και λιγότερο από 55 % υγρασία, ενώ τα πρότυπα για τον Καναδά είναι 30 % σε λιποπεριεκτικότητα, και για τη Γαλλία για τα τυριά που χαρακτηρίζονται ως triple cream cheese η λιποπεριεκτικότητα επί ξηρής μάζας πρέπει να είναι τουλάχιστον 75 % (Sanchez et al., 1996). Το τυρί Neufchatel, είναι παραπλήσιο με τα τυριά αλοιφώδους υφής αλλά με διαφορετικό περιεχόμενο λίπους στην αρχική σύσταση του προϊόντος σε σχέση με την τιμή στο τελικό προϊόν. Οι τιμές παρουσιάζονται με λεπτομερώς στους Πίνακες 4 και 5.

Πίνακας 5. Αναλογία λίπους / ξηρής ουσίας στο μείγμα για τυριά αλοιφώδους υφής και τυρί Neufchatel (**Kosikowski & 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

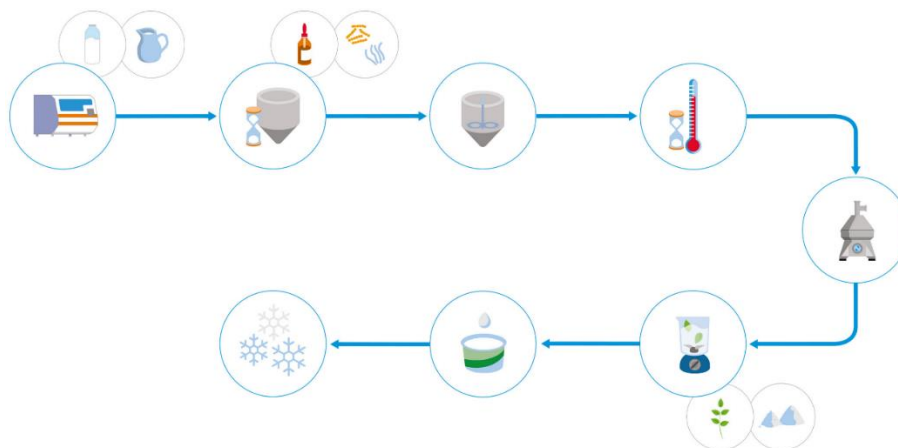
* οικονομική αναλογία

2.4.1. Τεχνολογία παρασκευής

Η πρώτη αναφορά σε πρότυπη διαδικασία παρασκευής των μαλακών τυριών έγινε στο FDA το 1921. Με βάση αυτήν την αναφορά το φρέσκο τυρί κρέμα (μη ωριμασμένο) παρασκευάζεται με τη διαδικασία Neufchatel από πλήρες γάλα εμπλουτισμένο με κρέμα. Στο άνυδρο μέρος του τυριού περιέχονται περίπου 65% λιπαρά συστατικά. Ένα τέτοιο προϊόν

θεωρείται σήμερα ως ένα τυρί Neufchatel με υψηλό ποσοστό λιπαρών (Lundstedt, 1954, Phadungath). Η μέθοδος αναπτύχθηκε στη δεκαετία του 1920, και στη συνέχεια αναπτύχθηκαν σύγχρονες μέθοδοι ψυχρής και θερμής συσκευασίας που εξακολουθούν να χρησιμοποιούνται μέχρι τις μέρες μας.

Εν συντομία, η παραγωγή μη ωριμασμένου τυριού γίνεται με προσθήκη καλλιέργειας εκκίνησης και μικρής ποσότητας πυτιάς (Σχήμα 4). Το γάλα οξινίζεται ήπια και σχηματίζεται πηκτή, καθώς η ελάττωση του pH (κοντά στο ισοηλεκτρικό σημείο της καζεΐνης) οδηγεί σε κροκίδωσή της και πήξη. Το προϊόν που προκύπτει μετά από ανάδευση και συμπίκνωση για να απομακρυνθεί ο ορός γάλακτος, είναι έτοιμο να συσκευαστεί (Fox et al., 2004).

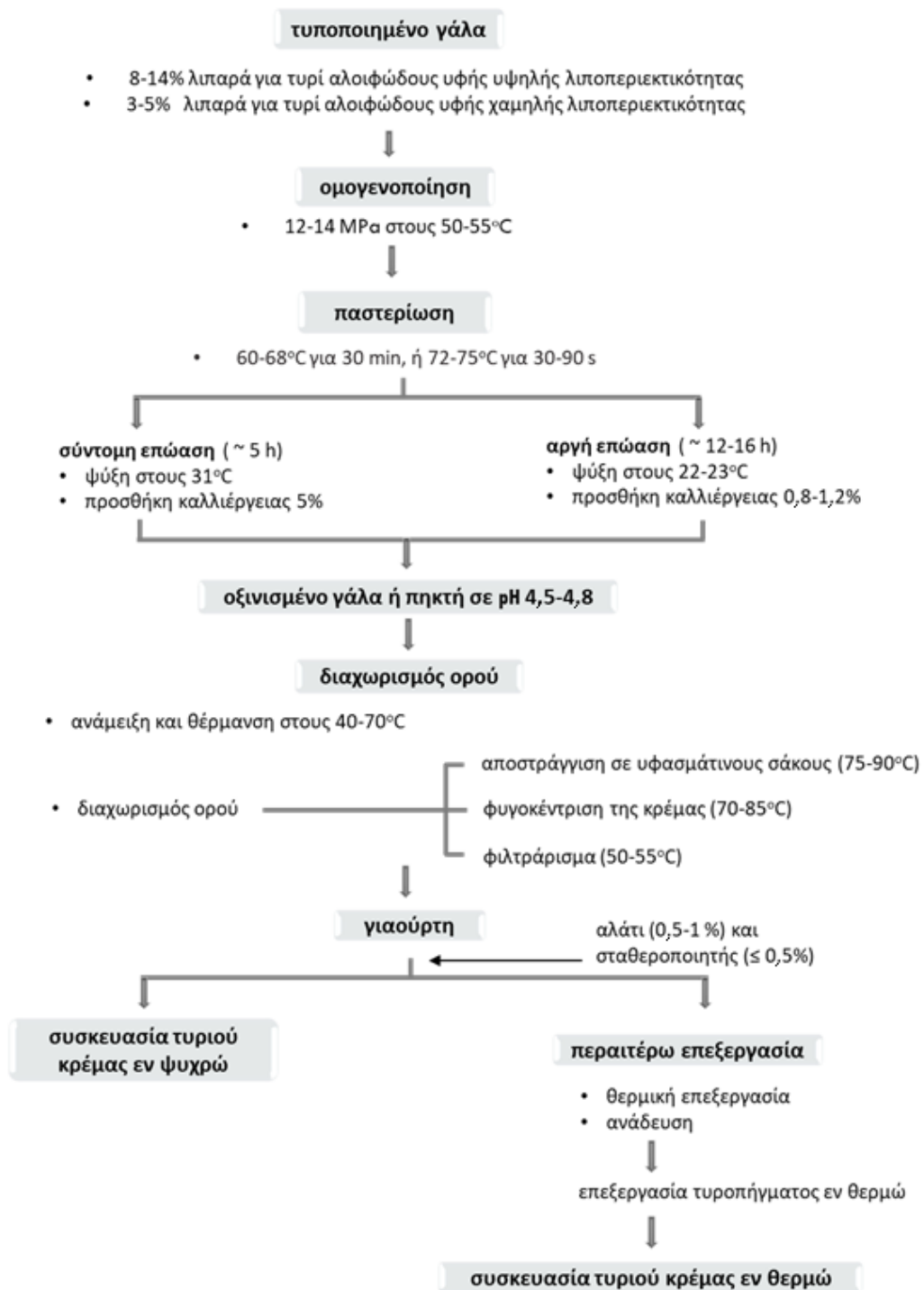


Σχήμα 4. Σχηματική απεικόνιση των σταδίων παρασκευής μαλακού τυριού.

Παραδοσιακά, η αποστράγγιση για την απομάκρυνση του ορού γινόταν σε υφασμάτινους σάκους για περίπου 24 h και ήταν αποτέλεσμα της επίδρασης της βαρύτητας, έως ότου η υγρασία να φτάσει στα επιθυμητά για το προϊόν επίπεδα. Η εφεύρεση του φυγοκεντρικού διαχωριστή, αποτέλεσε σταθμό στην εξέλιξη της μεθοδολογίας, επιτυγχάνοντας τη συνεχή συμπίκνωση του προϊόντος, με σκοπό τη διατήρηση σταθερής σύστασης και άμεση συνεχή συσκευασία του. Έτσι, είναι δυνατή και η επίτευξη ασηπτικών συνθηκών και παραγωγή προϊόντος με μεγαλύτερη διάρκεια ζωής.

Συγκεκριμένα, η διαδικασία (Σχήμα 5) που ακολουθείται (Phadungath, 2005) αρχίζει με τη ρύθμιση του ποσοστού λίπους στο γάλα που θα χρησιμοποιηθεί. Για τυρί αλοιφώδους υφής υψηλής λιποπεριεκτικότητας (double cream cheese), η ρύθμιση του λίπους γίνεται σε ποσοστό 8-14%, ενώ για χαμηλής λιποπεριεκτικότητας (single cream cheese) σε ποσοστό 3-5%. Στη συνέχεια το γάλα υφίσταται ομογενοποίηση (12-14MPa στους 50-55°C) και παστερίωση στους 66-68°C για 30 min ή στους 72-75°C για 30-90 s και ακολουθεί ψύξη στους 20-30°C.

Στο επόμενο στάδιο (Phadungath, 2005), στο μείγμα πραγματοποιείται ο εμβολιασμός με την καλλιέργεια εκκίνησης (βακτήρια του γένους *Lactococcus*), η ποσότητα της οποίας και η θερμοκρασία επώασης εξαρτώνται από τον χρόνο επώασης. Δύο είναι τα συνήθη πρωτόκολλα συνθηκών επώασης: α) επώαση σε σύντομο χρόνο, όπου χρησιμοποιείται ποσοστό προσθήκης καλλιέργειας 5% και θερμοκρασία επώασης 31°C για 5 h,



Σχήμα 5. Διάγραμμα ροής παρασκευής τυριού κρέμας.

και β) επώαση για μεγαλύτερο χρόνο, κατά τον οποίο προστίθεται καλλιέργεια σε ποσοστό 0,8-1,2% και η θερμοκρασία επώασης είναι 22-23°C για 12-16 h. Το μείγμα παραμένει σε σταθερή θερμοκρασία ώστε το pH να φτάσει στο 4,5-4,8. Το στάδιο της οξίνισης πραγματοποιείται κατά τη ζύμωση της λακτόζης από τα βακτήρια της καλλιέργειας εκκίνησης. Όταν αυτό επιτευχθεί, το πήγμα που προκύπτει αναμειγνύεται ήπια, και

θερμαίνεται στους 50-70°C για αποτελεσματικότερο διαχωρισμό του ορού. Ο ορός απομακρύνεται με την κατάλληλη μέθοδο.

Μετά τον διαχωρισμό του ορού το τυρόπηγμα ψύχεται στους 10-20°C και προστίθεται αλάτι σε ποσοστό 0,5-1% και σταθεροποιητής σε ποσοστό <0,5%. Οι σταθεροποιητές που χρησιμοποιούνται είναι συνήθως συνδυασμός κόμμεων χαρουπιού, ξανθάνης, αλγινικό νάτριο, καραγενάνη κ.ά. Στη συνέχεια, το τελικό προϊόν συσκευάζεται ως τυρί κρέμα υπό ψύξη με διάρκεια ζωής 2-3 εβδομάδες. Στην περίπτωση προϊόντος που προκύπτει με τη θερμή μέθοδο, το τυρόπηγμα αναμειγνύεται με αλάτι και σταθεροποιητή και θερμαίνεται στους 70-85°C σε δοχείο ανάμειξης, για να δυνατή η μορφοποίηση του προϊόντος. Το θερμό τυρόπηγμα διοχετεύεται σε συσκευή όπου συσκευάζεται εν θερμώ. Το προϊόν που παρασκευάζεται με τη θερμική μέθοδο έχει διάρκεια ζωής περίπου 3 μήνες σε θερμοκρασία 4-8°C (Phadungath, 2005).

2.4.2. Πήξη του γάλακτος

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

α) με προσθήκη του ενζύμου χυμοσίνη

Στην περίπτωση πήξης του γάλακτος ενζυμικά με χυμοσίνη (υπάρχει στην τυριά), 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 δεσμός που προσβάλλεται από τη χυμοσίνη είναι ο πεπτιδικός μεταξύ φαινυλαλανίνης-μεθειονίνης στις θέσεις 105-106. Από την υδρόλυση παράγεται μία αδιάλυτη παρα-κ-καζεΐνη που παραμένει στο τυρόπηγμα, και το διαλυτό καζεΐνογλυκοπεπτίδιο το οποίο διαφεύγει στο τυρόγαλα. Στη μη ενζυμική φάση 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 αρχίζει η συσσωμάτωση των μικκυλίων 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.

β) 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). Εφόσον το pH του γάλακτος είναι πάνω από το pH πήξης (π.χ. 5,3 στους 30°C), κυριαρχούν οι διαδικασίες αποσταθεροποίησης, δηλαδή δεν σχηματίζεται πήγμα. Σε τιμή pH<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 (πυτιάς) περιλαμβάνει τα παρακάτω στάδια (Fox et al., 2004):

- προσαρμογή της μικροβιακής καλλιέργειας και οξίνιση στο επιθυμητό pH για προσθήκη πυτιάς
- πρώτη φάση πήξης λόγω της επίδρασης της πυτιάς (διάσπαση της κ-καζεΐνης από το ένζυμο)
- δεύτερη φάση πήξης λόγω της επίδρασης της πυτιάς (συσσωμάτωση αποσταθεροποιημένων καζεϊνικών μικκυλίων παρουσία ιόντων ασβεστίου και σχηματισμός πήγματος)
- μετατροπή του πήγματος λόγω δράσης της πυτιάς σε πήγμα οξίνισης από την καλλιέργεια
- επικράτηση της διαδικασίας οξίνισης, σχηματισμός πήγματος λόγω του συνδυασμού της χρήσης καλλιέργειας και πυτιάς
- συρρίκνωση των κροκίδων καζεΐνης προκαλώντας μικροσυναίρεση (μη ορατός διαχωρισμός ορού), ακολουθούμενη από μακροσυναίρεση (ορατός διαχωρισμού ορού)

2.4.3. Παράγοντες που επηρεάζουν την πήξη του γάλακτος

Η μετατροπή του γάλακτος σε τυρόπηγμα εξαρτάται από:

α) την τιμή του pH κατά την προσθήκη του ενζύμου

Η πυτιά (που περιέχει την χυμοσίνη) σπάνια προστίθεται ταυτόχρονα με την καλλιέργεια εκκίνησης. Συνήθως η προσθήκη της γίνεται μετά από 60-90 min σε τιμή $pH \approx 6,3$. Η κατάλληλη 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 ($pH_{opt.} = 6,0$). Καθώς μειώνεται το pH, η κροκίδωση των μικκυλίων αρχίζει κατά τη μετατροπή της κ-καζεΐνης σε παρα-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).

β) τη συγκέντρωση της χυμοσίνης σε συνδυασμό με την καλλιέργεια

Η χυμοσίνη προκαλεί συσσωμάτωση των μικκυλίων της καζεΐνης (που δημιουργεί τυρόπηγμα), σε συνδυασμό με το γεγονός ότι η πυτιά παράγει πικρά πεπτιδικά 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, η υπερβολική οξίνιση 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 αλληλεπιδράσεις 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).

2.5. Κεφίρ

Το πρότυπο της διατροφής που βασίζεται σε προϊόντα της μεσογείου αποτελεί αυτό που θα χαρακτήριζε κανείς ως «θησαυρό» στο πιάτο μας, γιατί περιέχει διαφορετικά τρόφιμα από όλες τις ομάδες τροφίμων που είναι απαραίτητα καθημερινά για τον οργανισμό. Συνιστά έναν υγιεινό τρόπο διατροφής που βασίζεται στις διατροφικές συνήθειες των λαών γύρω από τη λεκάνη της θάλασσας της Μεσογείου: Ελλάδας, Ιταλίας, Ισπανίας και των χωρών στα παράλια της Μέσης Ανατολής.

Η μεσογειακή διατροφή (Κοτζιά & Βασιλάκου, 2013) είναι ένας τρόπος διατροφής που μπορεί να αποδώσει πολλά οφέλη που σχετίζονται αφενός με την ποικιλία τροφίμων που είναι πολύ μεγάλη και ταυτόχρονα χαρακτηρίζει έναν υγιεινό τρόπο ζωής. Αφετέρου, έχει αποδειχτεί ότι ο πληθυσμός που ακολουθεί το μοντέλο της μεσογειακής διατροφής εμφανίζει λιγότερες πιθανότητες να παρουσιάσει στεφανιαία νόσο, προστατεύεται από τον σακχαρώδη διαβήτη, την πιθανότητα εμφάνισης της σοβαρής νόσου της παχυσαρκίας που αποτελεί μάστιγα της εποχής, αλλά και από ορισμένες μορφές καρκίνου όπως του παχέος εντέρου. Για τον λόγο αυτόν, οι άνθρωποι σήμερα προσπαθούν να εντάξουν στη διατροφή τους όσο το δυνατόν περισσότερα προϊόντα ανήκουν στην κατηγορία αυτή, καθώς και η ενημέρωσή τους για τα οφέλη τέτοιων προϊόντων είναι μεγάλη.

Μία από τις ομάδες των τροφίμων που εντάσσονται στο μοντέλο της μεσογειακής διατροφής είναι τα γαλακτοκομικά προϊόντα. Στα προϊόντα αυτά ανήκουν πολλές κατηγορίες

τροφίμων. Φυσικά το αρχικό προϊόν είναι το γάλα το οποίο μπορεί με διάφορους τρόπους επεξεργασίας να μας παρέχει μία τεράστια ποικιλία γαλακτοκομικών προϊόντων. Στα προϊόντα αυτά ανήκει και το **κεφίρ** (Σχήμα 6), που αποτελεί ένα ρόφημα το οποίο τα τελευταία χρόνια κερδίζει έδαφος μεταξύ των γαλακτοκομικών προϊόντων καθώς εντάσσεται στα λεγόμενα λειτουργικά τρόφιμα.



Σχήμα 6. Κεφίρ και κόκκοι κεφίρ.

Η λέξη κεφίρ προέρχεται από τη σλαβική λέξη «keif» που σημαίνει «καλή ζωή» ή «είμαι καλά» λόγω της συνολικής αίσθησης υγείας και ευεξίας που προσδίδει σε όσους το καταναλώνουν (Rosa et al., 2017). Το ρόφημα κεφίρ είναι γαλακτοκομικό -συνήθως- προϊόν το οποίο έχει υποστεί ζύμωση και παράγεται από κόκκους κεφίρ με γάλα αγελάδας, κατσίκας, προβάτου, καμήλας ή βουβαλιού, ανάλογα με τον τόπο ή τη χώρα παρασκευής. Εναλλακτικά, μπορεί να χρησιμοποιηθεί γάλα καρύδας, σόγιας κ.ά. ανάλογα με την τοπική συνήθεια, διαθεσιμότητα και το κόστος της πρώτης ύλης που είναι οι κόκκοι του κεφίρ (Prado et al., 2015).

~~Το κεφίρ ανήκει στα λειτουργικά τρόφιμα και αποτελεί ένα ρόφημα, το οποίο έχει υποστεί ζύμωση του γάλακτος και λαμβάνεται με επώαση του γάλακτος, ύστερα από προσθήκη καλλιέργειας κόκκων κεφίρ.~~ Ο αρχικός τρόπος παρασκευής του αναφέρθηκε στην ιστορική αναδρομή της παρούσας εργασίας για πρώτη φορά εδώ και χιλιάδες χρόνια από νομαδικούς πολιτισμούς στα βουνά του Καυκάσου, σε δερμάτινους σάκους, δρύινα βαρέλια ή πήλινα δοχεία.

Το κεφίρ είναι γνωστό με μια ποικιλία ονομάτων, συμπεριλαμβανομένων kefir, kerkhir, kefer, kiaphur, kerī και kirri. Κάποιοι υποστηρίζουν ότι το όνομα κεφίρ προέρχεται από την τουρκική λέξη «ker», που σημαίνει ζύμωση, ενώ συχνά αναφέρεται και η ρωσική προέλευση της λέξης κεφίρ (кефир). Συχνά αναφέρεται και ως το «ποτό της ευδαιμονίας» και οι κόκκοι κεφίρ ως «κεχρί του Προφήτη».

Το κεφίρ φαίνεται να 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).

2.5.1. Χαρακτηριστικά του κεφίρ

Το τελικό προϊόν κεφίρ είναι ένα ιξώδες, ανθρακούχο διαιτητικό ρόφημα, με άρωμα και μικροβιακή αλλά και χημική σύσταση που μπορεί να επηρεαστεί από το μέγεθος της καλλιέργειας που προστίθεται στο γάλα, την ανάδευση κατά τη ζύμωση και τον ρυθμό, τη θερμοκρασία και τη διάρκεια των σταδίων ψύξης και ωρίμανσης μετά τη ζύμωση (Koroleva 1988b). Το φυσικό κεφίρ έχει 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 0,01–0,1% (Koroleva, 1982), αν και εργαστηριακά έχει παραχθεί και κεφίρ με αιθανόλη έως και 0,25% (Kuo & Lin 1999, Simona et al., 2002; Beshkova et al., 2002). Οι ποσότητες αιθανόλης και διοξειδίου του άνθρακα που παράγονται κατά τη ζύμωση του κεφίρ εξαρτώνται από τις συνθήκες παραγωγής. Η διακύμανση του περιεχομένου σε διοξείδιο του άνθρακα είναι μικρή σε σχέση με άλλα ροφήματα που προκύπτουν από ζύμωση. Ωστόσο, η παραγωγή του CO₂ δεν σταματάει ακόμα και μετά την παραγωγή του και αποτελεί μία διαδικασία που ακολουθεί το προϊόν και μετά τη συσκευασία, οδηγώντας κάποιες φορές σε πρακτικά προβλήματα. Αυτό συμβαίνει γιατί οι μ/ο, και ιδιαίτερα οι ζύμες, συνεχίζουν να λειτουργούν στο συσκευασμένο προϊόν. Έτσι, ο περιέκτης του προϊόντος πρέπει να είναι αρκετά ανθεκτικός για να μπορέσει να αντέξει 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 πώμα αλουμινίου). (Kwak et al., 1996).

Η χαρακτηριστική γεύση του κεφίρ οφείλεται σε αρωματικές ουσίες, οι οποίες παράγονται κατά τη διαδικασία της ζύμωσης. Ωστόσο, το κεφίρ που παράγεται από καθαρή καλλιέργεια δεν έχει έντονα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά παρά μόνο αν εμπλουτισθεί με γλυκαντικές ύλες, ενώ είναι αξιοσημείωτο ότι μόνο 40% των ανθρώπων έδωσαν θετική «ψήφο» στη γεύση του κεφίρ όταν το δοκίμασαν για πρώτη φορά (Glu et al., 2015). Κατά καιρούς έχουν προστεθεί άλλα συστατικά όπως άρωμα ροδάκινου, ή έγινε με τροποποίηση της διαδικασίας ζύμωσης (π.χ. με προσθήκη *lactococci*, *lactobacilli* ή ζυμών) που βελτιώνουν τη γεύση με σκοπό την μεγαλύτερη αποδοχή της από το καταναλωτικό κοινό, σε σύγκριση με το παραδοσιακά φτιαγμένο κεφίρ.

- Κόκκοι κεφίρ

Οι κόκκοι του κεφίρ μοιάζουν με μικρά άνθη κουνουπιδιού, με μήκος 1-3 cm (Σχήμα 7) έχουν σχήμα ακανόνιστου λοβού, χρώματος λευκού ή λευκοκίτρινου, με γλωώδη αλλά

σταθερή υφή. Μπορούν να διατηρηθούν ζωντανοί με τη μεταφορά τους σε καθημερινή βάση σε φρέσκο γάλα, καθώς αναπτύσσονται σε περίπου 20 h. Στο χρονικό αυτό διάστημα οι κόκκοι αυξάνουν τη μάζα τους κατά 25% περίπου (Farnworth 2005).

Οι κόκκοι προκύπτουν από αναδίπλωση δομών σε μορφή φύλλου με επιπλέον αναδίπλωση σε σφαιρικές δομές. Όταν εκπλυθούν με νερό, φυλάσσονται σε χαμηλή θερμοκρασία σε αλατούχο διάλυμα, όπου διατηρούνται για τουλάχιστον ένα μήνα. Η μικροχλωρίδα των κόκκων κεφίρ είναι ενσωματωμένη σε ένα ζελατινώδες, σπογγώδες υπόστρωμα που αποτελείται από πολυσακχαρίτες, πρωτεΐνες γάλακτος και προϊόντα από αυτόλυση του μικροβιακού πληθυσμού. Οι κόκκοι κεφίρ περιέχουν 85–90% νερό και η ξηρή ουσία αποτελείται από 57% υδατάνθρακες, 33% πρωτεΐνες, 4% λίπος και 6% τέφρα (Farnworth 2005).

Ο κύριος πολυσακχαρίτης στους κόκκους κεφίρ είναι η κεφιράνη που παράγεται από τον *Lactobacillus kefirifaciens*. Η κεφιράνη είναι ένας διακλαδισμένος πολυσακχαρίτης που περιέχει ίση ποσότητα D-γλυκόζης και D-γαλακτόζης. Παραλαμβάνεται από τους κόκκους του κεφίρ εν θερμώ. Σε διάλυμα η κεφιράνη αυξάνει πολύ λίγο το ιξώδες (Farnworth 2005).



Σχήμα 7. Κόκκοι κεφίρ (Farnworth 2005).

Οι κόκκοι του κεφίρ αποτελούν πολύπλοκες κοινότητες μ/ο που προκύπτουν από τη φυσική σύνδεση των περίπου 30 είδη βακτηρίων και ζυμομυκήτων. Βακτήρια οξικού οξέος, κυρίως *Acetobacter pasteurianus*, 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 οδηγώντας και σε αύξηση του ιξώδους του. Η μικροχλωρίδα του κεφίρ εξαρτάται από τη χώρα προέλευσης, την καλλιέργεια, τη συντήρηση και τις συνθήκες αποθήκευσης, αλλά η αναλογία του αριθμού των ζυμών και των βακτηρίων του γαλακτικού οξέος είναι σχετικά σταθερή (Farnworth 2005).

2.5.2. Μικροβιολογία κόκκων κεφίρ

Στο εσωτερικό των κόκκων βρίσκονται διάφοροι μ/ο που είναι υπεύθυνοι για τη ζύμωση του γάλακτος. Οι μ/ο που περικλείονται στους κόκκους του κεφίρ αποτελούν ένα μείγμα βακτηρίων και ζυμών που βρίσκονται σε μια κατάσταση κατά την οποία συμβιώνουν αρμονικά (Κεχαγιάς & Τσάκαλη, 2017).

Βακτήρια στους κόκκους του κεφίρ

Στο κεφίρ περιέχονται διάφοροι μ/ο. Τα κυριότερα είδη βακτηρίων στο κεφίρ είναι οι μεσόφιλοι στρεπτόκοκκοι, όπως είναι οι *Streptococcus lactis* και *Streptococcus cremoris*, οι οποίοι είναι ομοζυμωτικοί, αλλά και ετεροζυμωτικοί (*Leuconostoc mesenteroides* και *L. Dextranicum*) (Πίνακας 6). Οι ομοζυμωτικοί στρεπτόκοκκοι παράγουν γαλακτικό οξύ, ενώ οι ετεροζυμωτικοί στρεπτόκοκκοι εκτός από γαλακτικό οξύ παράγουν και CO₂ και κάποιες αρωματικές ουσίες οι οποίες συμβάλλουν στη γεύση και το άρωμα του κεφίρ (Prado et al., 2015).

Πίνακας 6. Βακτήρια που βρέθηκαν σε κόκκους κεφίρ.

<i>Lactobacilli</i>	<i>Lactococci</i>	<i>Streptococci</i>	<i>Enterococci</i>	<i>Leuconostocs</i>	<i>Acetic acid bacteria</i>	<i>Other bacteria</i>
<i>Lactobacillus kefir</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>Enterococcus durans</i>	<i>Leuconostoc</i> sp.	<i>Acetobacter</i> sp.	<i>Bacillus</i> sp.
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>			<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Acetobacter pasteurianus</i>	<i>Micrococcus</i> sp.
<i>Lactobacillus kefiranoformis</i>					<i>Acetobacter aceti</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>						<i>Escherichia coli</i>

Ωστόσο, εκτός από τους μεσόφιλους στρεπτόκοκκους έχουν εντοπισθεί στους κόκκους του κεφίρ μεσόφιλοι αλλά και θερμόφιλοι λακτοβάκιλλοι, όπως οι *Lactobacillus brevis* και *L. casei* (μεσόφιλοι, ετεροζυμωτικοί), καθώς επίσης και οι *L. bulgaricus* και *L. helveticus* (θερμόφιλοι ομοζυμωτικοί). Εκτός από τα βακτήρια γαλακτικού οξέος, στους κόκκους κεφίρ βρίσκονται και βακτήρια οξικού οξέος, που παράγουν οξικό οξύ όπως είναι το *Acetobacter aceti* (Κεχαγιάς & Τσάκαλη, 2017). Ο Πίνακας 6 παρουσιάζει μια λίστα με τα διάφορα βακτήρια που έχουν αναφερθεί σε κόκκους κεφίρ και κεφίρ από όλο τον κόσμο (Farnworth, 2005).

Ζύμες στους κόκκους του κεφίρ

Εκτός από τα βακτήρια, οι κόκκοι του κεφίρ περιέχουν και ζύμες που χαρακτηρίζονται από μεγάλη ποικιλομορφία. Τα κυριότερα είδη των ζυμών (Πίνακας 7) περιλαμβάνουν τους *Kluyveromyces marxianus*, *Saccharomyces cerevisiae* και *Candida kefir*. Οι ζύμες είναι υπεύθυνες για την παραγωγή μικρής ποσότητας αλκοόλης, διοξειδίου του άνθρακα και κάποιων αρωματικών ουσιών (Κεχαγιάς & Τσάκαλη, 2017). Παίζουν σημαντικό ρόλο στην παρασκευή ζυμούμενων ζυμούμενων γαλακτοκομικών προϊόντων, όπου μπορούν να παρέχουν διάφορες θρεπτικές ουσίες, όπως αμινοξέα και βιταμίνες και να μεταβάλλουν την τιμή του pH. Στον Πίνακα 7 παρουσιάζονται οι διάφορες ζύμες που διαβιούν στους κόκκους του κεφίρ (Farnworth, 2005). Οι ιδιότητες των ζυμών που απαντούν στους κόκκους κεφίρ ποικίλλουν. Υπάρχουν για παράδειγμα ζύμες που βρίσκονται σε κόκκους κεφίρ οι οποίες συμβάλλουν στη ζύμωση της λακτόζης και κάποιες άλλες όχι. Επίσης, έχει παρατηρηθεί ότι ορισμένοι τύποι ζυμών βρίσκονται στην επιφάνεια των κόκκων, ενώ υπάρχουν και ζύμες που απαντούν στο εσωτερικό τους. Συχνά η θέση τους στους κόκκους του κεφίρ είναι και καθοριστικές στη διαδικασία της ζύμωσης αφού παίζουν διαφορετικούς ρόλους (Farnworth, 2005).

Πίνακας 7. Ζύμες που βρέθηκαν στο κεφίρ και σε κόκκους κεφίρ (Farnworth, 2005).

<i>Kluyveromyces marxianus</i>	<i>Candida friedrichii</i>
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Candida pseudotropicalis</i>
<i>Saccharomyces unisporus</i>	<i>Candida tenuis</i>
<i>Saccharomyces exiguus</i>	<i>Candida maris</i>
<i>Saccharomyces turicensis</i>	<i>Candida lambica</i>
<i>Torulasporea delbrueckii</i>	<i>Candida inconspicua</i>
<i>Brettanomyces anomalus</i>	<i>Candida tannoteletrans</i>
<i>Saccharomyces dairensis</i>	<i>Candida valida</i>
<i>Issatchenkia occidentalis</i>	<i>Candida kefir</i>
	<i>Candida holmii</i>
	<i>Pichia fermentans</i>

2.5.3. Διατηρησιμότητα κόκκων κεφίρ

Οι κόκκοι κεφίρ διατηρούνται ζωντανοί με τη μεταφορά τους καθημερινά σε φρέσκο γάλα, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω. Οι κόκκοι πρέπει να αναπαραχθούν με αυτόν τον τρόπο για να διατηρήσουν τη βιωσιμότητά τους, δεδομένου ότι οι παλιοί και ξηροί κόκκοι

κεφίρ έχουν μικρή ή μηδαμινή ικανότητα να αναπαραχθούν. Οι κόκκοι κεφίρ πρέπει να διατηρούνται βιώσιμοι στις καθημερινές μεταφορές και θα πρέπει να αντικαθίστανται μόνο αν η ικανότητά τους στη ζύμωση του γάλακτος εξασθενεί. Οι καλύτερες συνθήκες για να διατηρηθεί η βιωσιμότητα των κόκκων είναι η χαμηλή θερμοκρασία αποθήκευσης, συνθήκη που εξασφαλίζει τη διατηρησιμότητά τους για μεγάλα 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 θερμοκρασία ήπιας ψύξης (-4°C) φαίνεται ότι τελικά δεν μπορούν να διατηρήσουν τη βιωσιμότητά τους μετά την απόψυξη και 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).

2.5.4. Σύσταση κεφίρ

Η χημική σύσταση του κεφίρ εξαρτάται όχι μόνο 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 συνήθεις φυσικοχημικές ιδιότητες του κεφίρ περιλαμβάνουν ένα όξινο pH περίπου στο 4,6 και συγκέντρωση αλκοόλης 0,5-2%. Επιπρόσθετα, το CO₂ που παράγεται από τις ζύμες του αποδίδει την ιδιότητα του ανθρακούχου ροφήματος (Schulz-Collins & Senge, 2004). Ο Πίνακας 8 αφορά τα όρια ως προς την σύσταση του κεφίρ σύμφωνα με τον Διεθνή Οργανισμό Τροφίμων και Γεωργίας (fao.org).

Πίνακας 8. 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)	>107
Ζύμες (cfu/g)	>104

2.5.5. Μέθοδοι παρασκευής κεφίρ

Το κεφίρ μπορεί να παραχθεί από πλήρες γάλα, χαμηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά ή αποκορυφωμένο γάλα. Η αρχική επεξεργασία του γάλακτος είναι η ίδια με εκείνη που

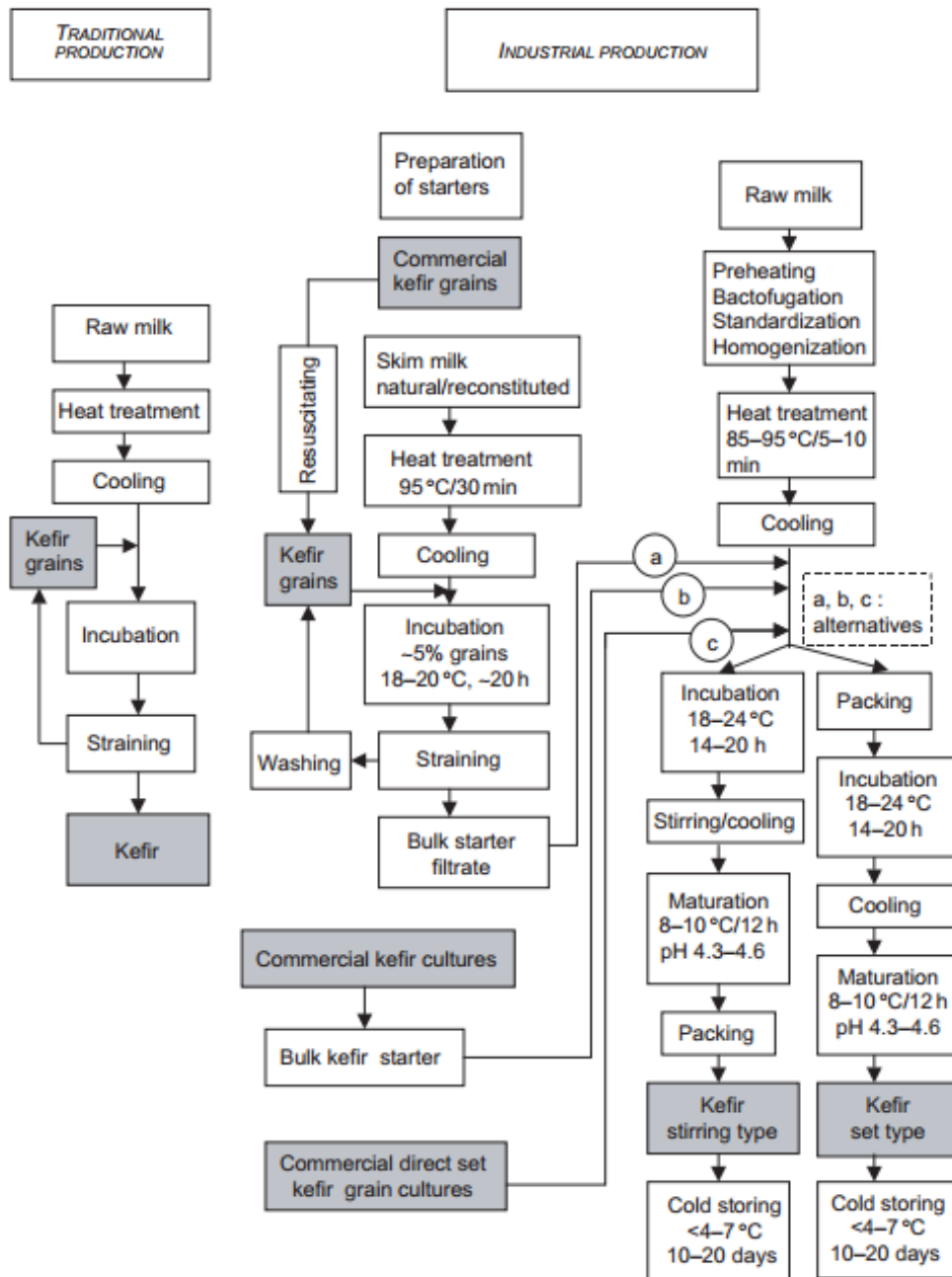
χρησιμοποιείται για την παραγωγή άλλων ειδών γάλακτος που έχουν υποστεί ζύμωση. Η θερμοκρασία και η διάρκεια της επώασης σε διάφορες χώρες ποικίλλουν σημαντικά. Στους 20-24°C, σχηματίζεται ένα πήγμα στο γάλα που επωάζεται με καλλιέργειες εκκίνησης κεφίρ (κόκκοι κεφίρ, υγρό κεφίρ ή λυοφιλιωμένες καλλιέργειες εμπορίου) μέσα σε 12-14 h. Η ψύξη μετά από ένα τέτοιο σύντομο χρονικό διάστημα επώασης δεν επιτρέπει στα οξυγαλακτικά βακτήρια και τις ζύμες να συνθέσουν επαρκείς συγκεντρώσεις μεταβολιτών υπεύθυνων για την γεύση, το άρωμα και τη συνεκτικότητα του προϊόντος. Έτσι, είτε ασκείται παρατεταμένη επώαση (16-20 h), ακολουθούμενη από ταχεία ψύξη, ή σύντομη επώαση (10-12 h) ακολουθούμενη από αργή ψύξη ή εφαρμογή ενός σταδίου ωρίμανσης (παραμονή στους 8-10°C για λίγες ώρες). Η ποσότητα και ο τύπος της καλλιέργειας εκκίνησης επηρεάζουν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του τελικού προϊόντος. Μπορεί επίσης να παραχθεί και κεφίρ με προσθήκη φρούτων. Η χαμηλότερη θερμοκρασία επώασης ευνοεί την ανάπτυξη ζυμών. Ορισμένη παραγωγή αιθανόλης και CO₂ συνεχίζεται και κατά την ωρίμανση και την αποθήκευση του προϊόντος (Steponiak & Fetliński, 2002).

2.5.5.1. Παραδοσιακή μέθοδος παρασκευής του κεφίρ

Το κεφίρ παρασκευάζεται παραδοσιακά με απευθείας προσθήκη κόκκων κεφίρ στο γάλα. Το γάλα ως αρχικό συστατικό θερμαίνεται και στη συνέχεια ψύχεται στους 20-25°C, και εμβολιάζεται με 2-10 % (συνηθέστερα 5 %) κόκκους κεφίρ. Μετά από ορισμένο χρόνο ζύμωσης (περίπου 18-24 ώρες στους 25°C, οι κόκκοι διαχωρίζονται από το γάλα. Το κεφίρ διατηρείται στους 4°C και είναι έτοιμο προς κατανάλωση.

2.5.5.2. Βιομηχανική μέθοδος παρασκευής του κεφίρ

Το κεφίρ σε βιομηχανική κλίμακα (Σχήμα 8) ακολουθεί λίγο τροποποιημένη διαδικασία και συχνά υπάρχουν διάφορες παραλλαγές. Στο πρώτο βήμα γίνεται ομογενοποίηση του γάλακτος στο 8 % ξηρής ουσίας και θερμαίνεται στους 90-95°C για 5-10 min. Στη συνέχεια ψύχεται στους 18-24°C και εμβολιάζεται με 2-8 % καλλιέργεια κόκκων κεφίρ (βακτηριακή καλλιέργεια) σε δεξαμενές. Η ζύμωση μπορεί να διαρκέσει 18 έως 24 ώρες ανάλογα με άλλες παραμέτρους. Το προκύπτον πήγμα διαχωρίζεται και διαμοιράζεται στα δοχεία συσκευασίας. Μετά τη σύντομη ωρίμανση στους 12-14°C ή στους 3-10°C για 24 ώρες και αποθηκεύεται στους 4°C.



Σχήμα 8. Διάγραμμα ροής βιομηχανικής παρασκευής κεφίρ

2.5.6. Βιολογικά συστατικά του κεφίρ

2.5.6.1. Εξωπολυσακχαρίτες

Οι εξωπολυσακχαρίτες είναι υδατάνθρακες, οι οποίοι βρίσκονται στην κυτταρική επιφάνεια και παρέχουν προστατευτικές και προσαρμοστικές ιδιότητες στα βακτήρια γαλακτικού οξέος που τους παράγουν. Ο κύριος εξωπολυσακχαρίτης του κεφίρ ονομάζεται

κεφίρανη και βρίσκεται μέσα στους κόκκους κεφίρ και στο κεφίρ. Εξαιτίας των ευεργετικών ιδιοτήτων που της έχουν αποδοθεί, διάφορες ερευνητικές ομάδες έχουν ασχοληθεί με τη βελτιστοποίηση των συνθηκών παραγωγής κεφίρανης (Farnworth, 2005).

2.5.6.2. Βιοδραστικά πεπτίδια

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).

2.5.6.3. Οφέλη του κεφίρ στην υγεία

Το κεφίρ είναι ένα τρόφιμο με μακρά ιστορία ωφέλιμων επιδράσεων στον ανθρώπινο οργανισμό. Αυτές ξεκινούν από τους λαούς της Ανατολικής Ευρώπης και της Ρωσίας που γενικά χαρακτηρίζονται από μακροζωία. Είναι ένα εύπεπτο τρόφιμο και συχνά το πρώτο τρόφιμο που δίνεται στα βρέφη για τον απογαλακτισμό τους.

Πίνακας 9. Θρεπτικές και θεραπευτικές ιδιότητες του κεφίρ (Stepaniak & Fetliński, 2002).

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 παραγώνων 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 κεφίρανη 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.

Το κεφίρ περιέχει υψηλότερα επίπεδα βιταμίνης Β1, Β2 και φολικού οξέος συγκρινόμενο με το γάλα. Συχνά έχουν αποδοθεί στο κεφίρ θεραπευτικές ιδιότητες και διάφοροι θρεπτικοί και θεραπευτικοί ισχυρισμοί, χωρίς να είναι ωστόσο πάντα τεκμηριωμένοι. Στον Πίνακα 9 παρουσιάζονται οι διάφορες θρεπτικές και θεραπευτικές ιδιότητες του κεφίρ (Steraniak & Fetliński, 2002). Τα προβιοτικά βακτήρια που συμμετέχουν στη ζύμωση του κεφίρ έχουν πολλές ευεργετικές ιδιότητες. Μεταξύ αυτών συγκαταλλέγονται η διέγερση του ανοσοποιητικού συστήματος και η θετική επίδραση στη δυσανεξία στη λακτόζη (Farnworth, 2005). Επιπλέον συμμετέχουν στη μείωση των επιπέδων χοληστερόλης στο αίμα (Daliri & Lee, 2015) αλλά και στην αναστολή ανάπτυξης όγκου.

3. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Σκοπός της παρούσας μεταπτυχιακής διατριβής ήταν η μελέτη της επίδρασης του είδους της καλλιέργειας εκκίνησης και της αναθέρμανσης (ως παράγοντες τυροκόμησης), καθώς επίσης και του χρόνου διατήρησης στις φυσικοχημικές, ρεολογικές και μικροβιολογικές ιδιότητες τυριών αλοιφώδους υφής παρασκευασμένων με τη χρήση καλλιέργειας εκκίνησης κεφίρ.

Για την επίτευξη του συγκεκριμένου σκοπού παρασκευάστηκαν δείγματα τόσο με τη χρήση εμπορικής καλλιέργειας κεφίρ (σε ποσοστό προσθήκης σύμφωνα με τις οδηγίες του προμηθευτή) όσο και καλλιέργειας που προερχόταν από κόκκους κεφίρ (παραδοσιακή καλλιέργεια εκκίνησης του κεφίρ) σε δύο διαφορετικά ποσοστά (3% και 4,5%). Επίσης, προκειμένου να μελετηθεί η επίδραση της εφαρμογής αναθέρμανσης παρασκευάστηκε δείγμα με τη χρήση εμπορικής καλλιέργειας κεφίρ, στο οποίο εφαρμόστηκε η διεργασία της αναθέρμανσης. 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, 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. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

4.1. Υλικά

Για την παρασκευή των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε παστεριωμένο, ομογενοποιημένο αγελαδινό γάλα λιποπεριεκτικότητας 3,5%, εμπορική καλλιέργεια μεσόφιλων ομοζυμωτικών γαλακτικών βακτηρίων (*Lactococcus lactis/Lactococcus cremoris*) (DI-PROX M 255, Bioprox, France) σε λυοφιλιωμένη μορφή, κεφίρ (οικιακής παραγωγής από κόκκους κεφίρ) και συμβατική τυτιά σε υγρή μορφή (Κυανούς Σταυρός, Αριστομένης Φίλιας Φύκας & ΣΙΑ Α.Ε., Θεσσαλονίκη).

4.2. Κωδικοποίηση δειγμάτων

Συνολικά παρασκευάστηκαν 4 δείγματα τυριού αλοιφώδους υφής. Δύο από αυτά παρασκευάστηκαν με τη χρήση καλλιέργειας εκκίνησης από κόκκους κεφίρ (ΚΚ) σε δύο διαφορετικά ποσοστά (3% και 4,5%), τα οποία αναφέρονται ως ΚΚ-3 και ΚΚ-4,5, αντίστοιχα και δύο με τη χρήση εμπορικής καλλιέργειας (ΕΚ). Στο ένα από τα δύο δείγματα που παρασκευάστηκαν με την εμπορική καλλιέργεια εφαρμόστηκε και η διεργασία της αναθέρμανσης (ΕΚ-Θ).

4.3. Παρασκευή δειγμάτων

Για την παρασκευή των δειγμάτων το γάλα υπέστη θερμική επεξεργασία στους 90°C για 5 min και μετά ακολούθησε ψύξη με νερό βρύσης μέχρι τους 25°C. Το γάλα μεταφέρθηκε σε αποστειρωμένους γυάλινους περιέκτες και προστέθηκε η καλλιέργεια κεφίρ σε 2 διαφορετικά ποσοστά (3% και 4,5%). Για την παραγωγή της καλλιέργειας κεφίρ, δραστηριοποιημένοι κόκκοι κεφίρ (εφαρμόστηκαν συνεχείς επώσεις σε γάλα στους 25°C μέχρι το pH να μειώνεται στην τιμή 4,4 περίπου σε 24h) εμβολιάστηκαν σε ποσότητα θερμικά επεξεργασμένου γάλακτος (90°C για 5min). Ο εμβολιασμός έγινε σε γυάλινους αποστειρωμένους περιέκτες που στην συνέχεια τοποθετήθηκαν σε κλίβανο για επώαση στους 25°C για περίπου 20-24 h μέχρι τελική τιμή pH 4,4. Ακολούθησε διαχωρισμός των κόκκων και του πηγμάτος (κεφίρ) με διήθηση, με την χρήση ηθμού από ανοξείδωτο χάλυβα και το διήθημα (εμβόλιο) συλλέχθηκε σε αποστειρωμένους γυάλινους περιέκτες.

Στην περίπτωση των δειγμάτων που παρασκευάστηκαν με την εμπορική καλλιέργεια εκκίνησης, ο εμβολιασμός του γάλακτος έγινε με την καλλιέργεια σε λυοφιλιωμένη μορφή υπό ασηπτικές συνθήκες και σε ποσότητα σύμφωνα με τις οδηγίες του παρασκευαστή.

Μετά την προσθήκη της καλλιέργειας (είτε υγρό κεφίρ είτε εμπορική), 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 3 από τα τέσσερα δείγματα (KK-3, KK-4,5, EK) παρέμειναν στους 18°C για περίπου 1 h και στη συνέχεια το τυροπήγμα μεταφέρθηκε σε ειδικά καλούπια, στα οποία είχαν τοποθετηθεί υφασμάτινα πανιά. Το ένα από τα δύο δείγματα που παρασκευάστηκαν με την εμπορική καλλιέργεια, μετά τη διαίρεση του τυροπήγματος υπέστη αναθέρμανση (EK-Θ), δηλαδή θέρμανση στους 40°C για 10 min υπό συνεχή ανάδευση και παραμονή για περίπου 1 h πριν μεταφερθεί στα ειδικά καλούπια.

Στη συνέχεια όλα 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 στην 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 δείγμα μέχρι η ένδειξη του οργάνου να σταθεροποιηθεί.

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 h 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 h. 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):

$$EO (\%) = \frac{a_3 - a_1}{a_2 - a_1} \cdot 100 \quad (4.1)$$

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 3 g 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 φυγοκέντρωση στις 1000-1200 στροφές στους 65°C για 10 min. Μετά το πέρας της φυγοκέντρωσης, η λιποπεριεκτικότητα (%) του δείγματος προέκυψε από τη διαφορά της ένδειξης στο κάτω μέρος του μηνίσκου 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- K_2SO_4 και 0,5 g θειικού χαλκού- $CuSO_4 \cdot 5H_2O$) και περίπου 3 g δείγματος (ζυγισμένο με

ακρίβεια 0,1 mg σε χαρτί ελευθέρου αζώτου). Στη συνέχεια προστέθηκαν 25 mL πυκνού θειικού οξέος ($d=1,84 \text{ g/cm}^3$ 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 Varodest 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 προστίθεται 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 B 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.

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 συχνοτήτων 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 $5,0 \cdot 10^{-4}$. 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, πηκτική ή στερεό, και κατόπιν η τάση παύει να ασκείται και το δείγμα επανακάμπτει δομικά στην προηγούμενη κατάσταση του είτε ολοκληρωτικά, αν πρόκειται για στερεό (ελαστικό), είτε εν μέρει, αν πρόκειται για πηκτική (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_g 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_ϕ) 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 μικροβιολογικές αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν περιλάμβαναν τον προσδιορισμό των οξυγαλακτικών βακτηρίων, των ζυμών και των κολοβακτηριοειδών. Τα υποστρώματα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν για τα οξυγαλακτικά βακτήρια το Gelose MRSE, για τις ζύμες το Chloramphenicol glucose agar και για τα κολοβακτηριοειδή το Gelose VRBG agar.

Υλικά και Όργανα

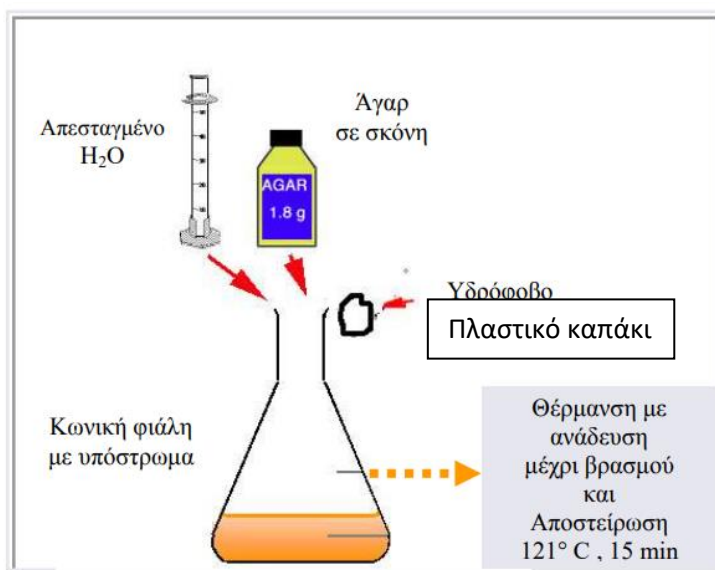
- ❖ Αραιωτικό-Buffered peptone water
- ❖ OMX-Gelose pour denombrement plate count agar
- ❖ EB-Gelose VRBG agar
- ❖ Z/M-Chloramphenicol glucose agar
- ❖ Οξυγαλακτικά-Gelose MRSE
- ❖ Κωνικές φιάλες με υποστρώματα
- ❖ Κενά τρυβλία Petri
- ❖ Σωλήνες τύπου universal με αραιωτικό υγρό
- ❖ Σιφώνια 1ml
- ❖ Επωαστικός κλίβανος
- ❖ Λύχνος Bunsen

Τεχνική

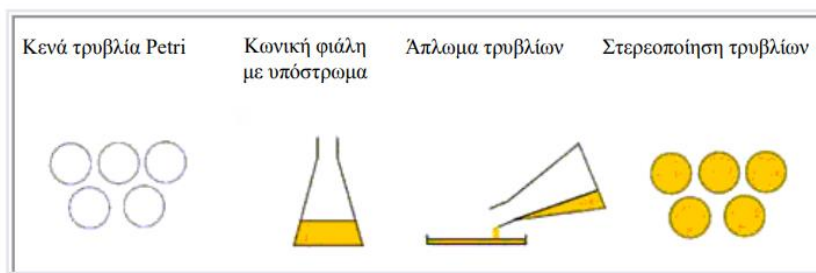
Προετοιμασία υποστρωμάτων

Τα υποστρώματα παρασκευάζονται από την προσθήκη νερού στο αφυδατωμένο προϊόν που περιέχει όλα τα συστατικά. Τα υποστρώματα διατίθενται σε μορφή σκόνης. Η παρασκευή όπως παρουσιάζεται στο σχήμα 9, περιλαμβάνει :

- ❖ Ζύγιση του πλήρους αφυδατωμένου υλικού και διάλυση στην κατάλληλη ποσότητα απιονισμένου 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 1,1 atm
- ❖ Μετά την παρασκευή τους ελέγχονται για τη στειρότητα τους με επώαση δείγματος στους 37°C για 24-48 h, όπως φαίνεται στο σχήμα 10.



Σχήμα 9. Παρασκευή υποστρώματος



Σχήμα 10. Προετοιμασία τρυβλίων με στερεό θρεπτικό υπόστρωμα

Στάδια Ανάλυσης

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 ανάμιξη 10g δείγματος με 90ml αραιωτικού υγρού. Η ομογενοποίηση γίνεται σε συσκευή stomacher όπου με παλινδρομικές κινήσεις (παρόμοιες του στομάχου) γίνεται η μεταφορά των μ/ο 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. Επωάζονται σε επωαστικό κλίβανο σε θερμοκρασία και χρόνο ανάλογα με τις απαιτήσεις των μ/ο.

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. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

5.1. Μελέτη ιδιοτήτων δειγμάτων μετά την παρασκευή τους

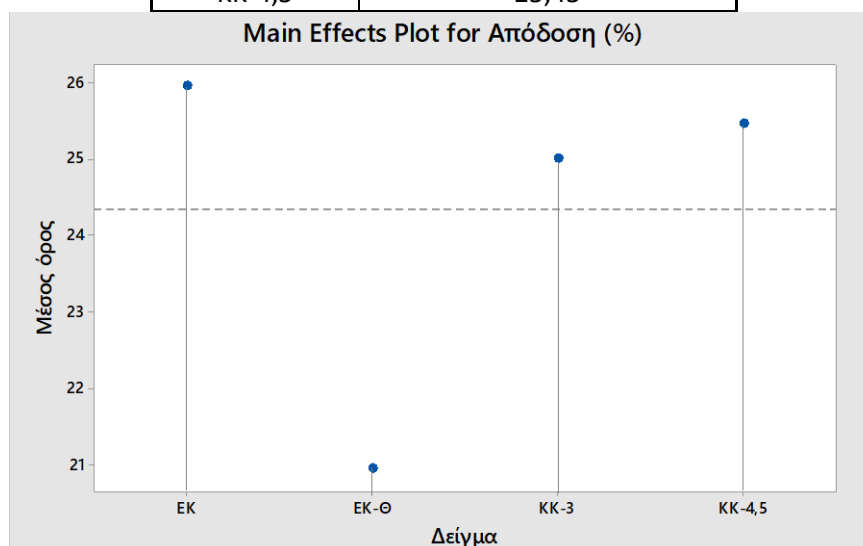
5.1.1 Απόδοση

Στον Πίνακα 10 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της απόδοσης των δειγμάτων τυριού αλοιφώδους υφής.

Σύμφωνα με τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων (ANOVA, έλεγχος πολλαπλών συγκρίσεων του Tukey) και όπως φαίνεται και στο Σχήμα 11, το δείγμα με την εφαρμογή αναθέρμανσης (ΕΚ-Θ) εμφάνισε τη μικρότερη απόδοση από όλα τα υπόλοιπα δείγματα ($p < 0,05$), τα οποία δε διαφοροποιήθηκαν μεταξύ τους. Η κατάταξη των δειγμάτων κατά φθίνουσα σειρά σύμφωνα με τον έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων του Tukey είναι η εξής: $EK = KK-4,5 = KK-3 > EK-\Theta$. Η μειωμένη απόδοση του δείγματος ΕΚ θα μπορούσε να αποδοθεί στη διεργασία της αναθέρμανσης, η οποία διευκολύνει την απομάκρυνση της υγρασίας από το τυρόπηγμα (Fox et al., 2004), με αποτέλεσμα το δείγμα αυτό να παρουσιάζει μειωμένη απόδοση και φυσικά μειωμένη περιεκτικότητα σε υγρασία, όπως θα σχολιαστεί και στη συνέχεια.

Πίνακας 10. Οι μέσοι όροι της απόδοσης των δειγμάτων τυριού αλοιφώδους υφής.

ΔΕΙΓΜΑ	ΑΠΟΔΟΣΗ (%)
ΕΚ	25,95
ΕΚ-Θ	20,55
ΚΚ-3	25,00
ΚΚ-4,5	25,45



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

5.1.2 Φυσικοχημικές ιδιότητες

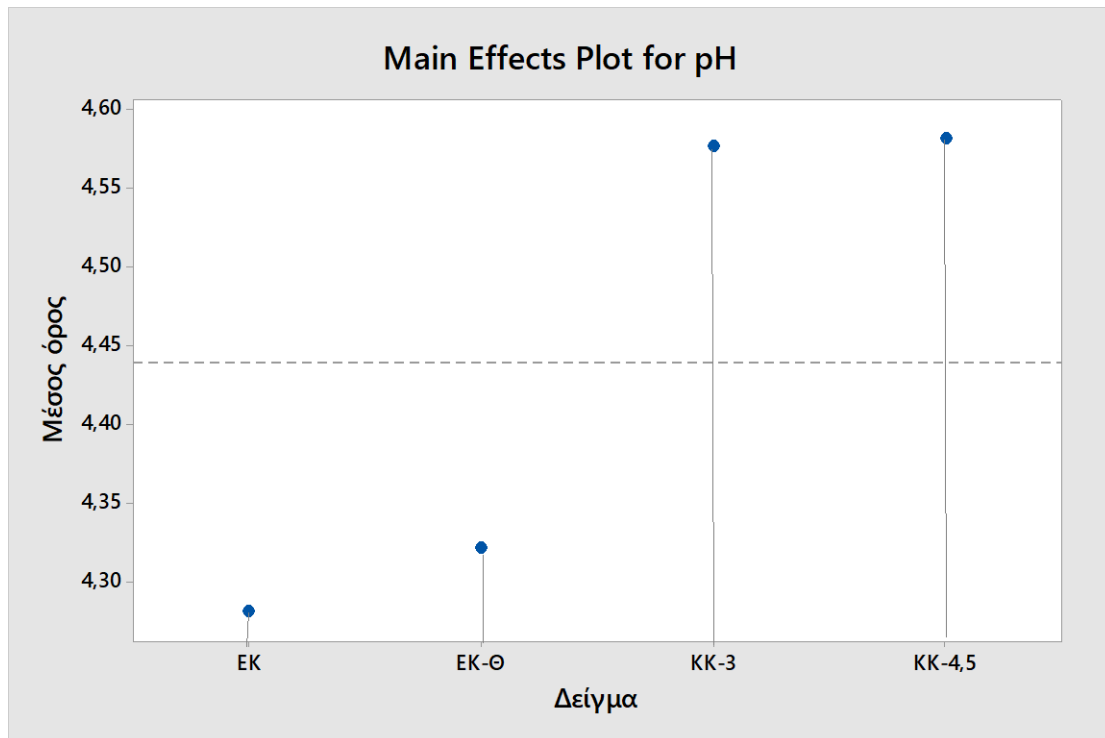
Στον Πίνακα 11 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των φυσικοχημικών αναλύσεων των δειγμάτων. Σύμφωνα με την ANOVA, όλες οι φυσικοχημικές ιδιότητες που μελετήθηκαν επηρεάστηκαν στατιστικά σημαντικά από το είδος του δείγματος ($p < 0,05$).

Πίνακας 11. Οι μέσοι όροι των τιμών των φυσικοχημικών ιδιοτήτων των δειγμάτων τυριού αλοιφώδους υφής.

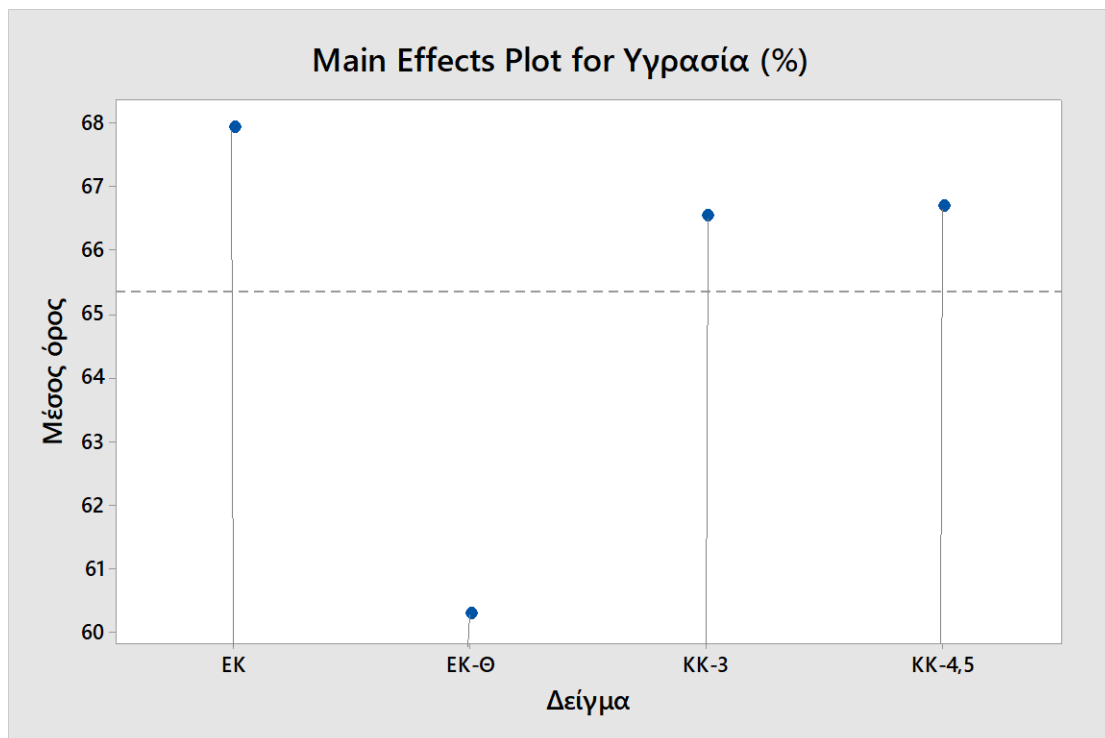
ΔΕΙΓΜΑ	pH	ΥΓΡΑΣΙΑ (%)	ΛΙΠΟΣ (%)	ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ (%)
EK	4,28	67,92	15,60	10,59
EK-Θ	4,32	60,29	17,00	15,21
KK-3	4,58	66,53	15,55	10,73
KK-4,5	4,58	66,70	15,40	11,01

Όσον αφορά το pH, όπως παρατηρείται στο Σχήμα 12, τα δείγματα στα οποία χρησιμοποιήθηκε κεφίρ ως καλλιέργεια εκκίνησης, εμφάνισαν τις μεγαλύτερες τιμές. Η κατάταξη των δειγμάτων κατά φθίνουσα σειρά σύμφωνα με τον έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων του Tukey είναι η εξής: $KK-4,5 = KK-3 > EK-Θ = EK$. Η διαφοροποίηση στην τελική τιμή pH των δειγμάτων μπορεί να αποδοθεί στη χρησιμοποίηση διαφορετικών καλλιεργειών εκκίνησης. Επίσης, αξίζει να σημειωθεί ότι διαφοροποίηση στην τελική τιμή pH μεταξύ των δειγμάτων που παρασκευάστηκαν με κεφίρ δεν παρατηρήθηκε, παρόλο το γεγονός ότι χρησιμοποιήθηκε διαφορετικό ποσοστό εμβολίου (3% και 4,5%).

Σύμφωνα με το Σχήμα 13, το δείγμα στο οποίο εφαρμόστηκε αναθέρμανση (EK-Θ) εμφάνισε τη μικρότερη περιεκτικότητα σε υγρασία, εξαιτίας της απομάκρυνσης μεγαλύτερης ποσότητας τυρογάλακτος από το τυρόπηγμα, όπως προαναφέρθηκε. Τα υπόλοιπα δείγματα δεν εμφάνισαν διαφοροποίηση των τιμών τους (η κατάταξη των δειγμάτων κατά φθίνουσα σειρά σύμφωνα με τον έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων του Tukey είναι: $EK = KK-4,5 = KK-3 > EK-Θ$).

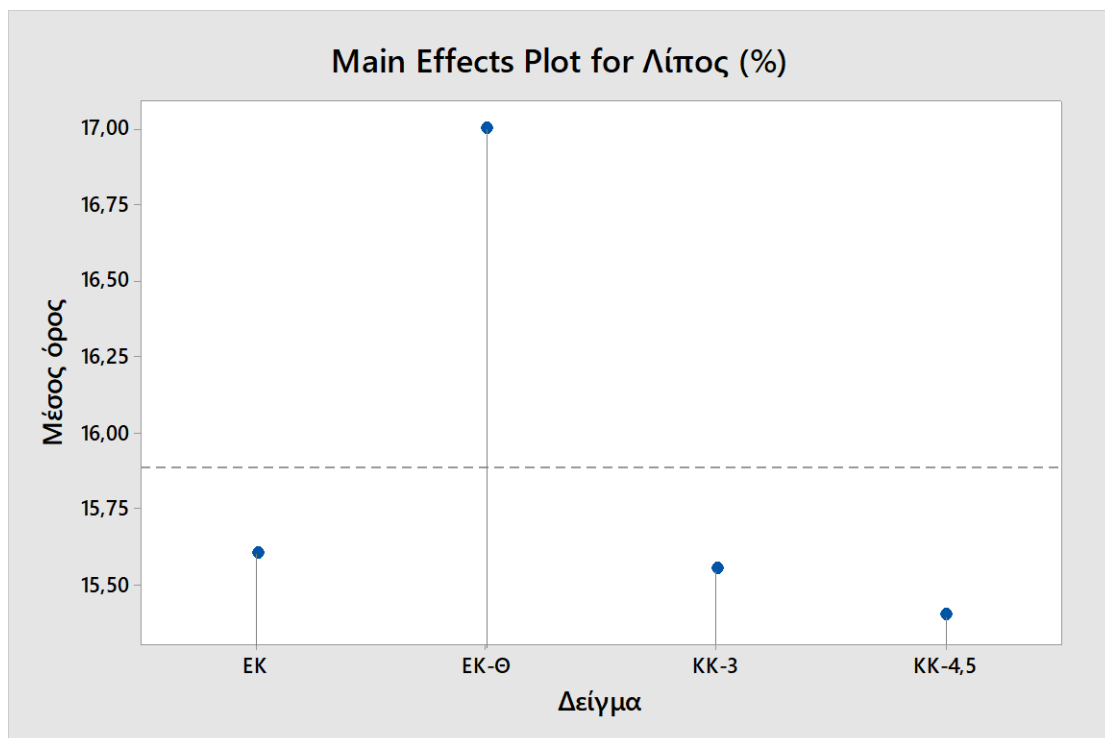


Σχήμα 12. Επίδραση του είδους του δείγματος στο pH των τυριών αλοιφώδους υφής.

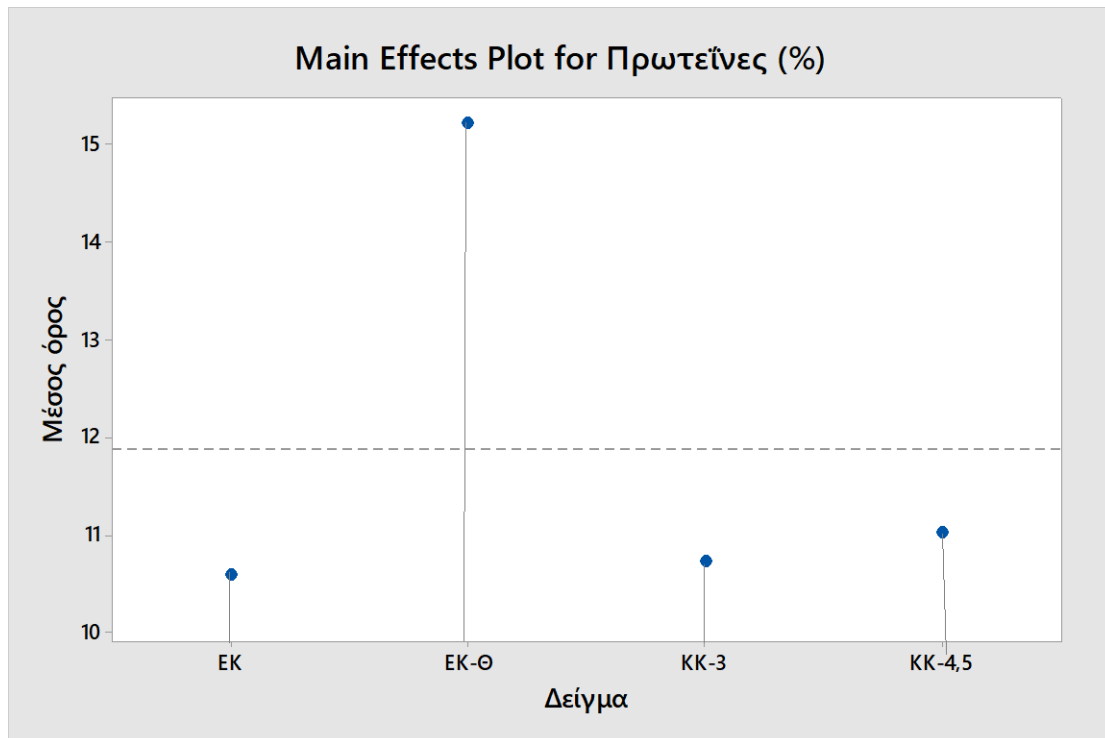


Σχήμα 13. Επίδραση του είδους του δείγματος στην υγρασία των τυριών αλοιφώδους υφής.

Σύμφωνα με τα Σχήματα 14 και 15, το δείγμα στο οποίο εφαρμόστηκε αναθέρμανση (ΕΚ-Θ) εμφάνισε τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε λίπος και πρωτεΐνες, αντίστοιχα, εξαιτίας της απομάκρυνσης μεγαλύτερης ποσότητας τυρογάλακτος από το τυρόπηγμα, όπως προαναφέρθηκε. Η μείωση της περιεκτικότητας της υγρασίας των δειγμάτων είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της συγκέντρωσης των συστατικών που αποτελούν μέρος της ξηρής ουσίας, όπως είναι το λίπος και οι πρωτεΐνες. Τα υπόλοιπα δείγματα δεν εμφάνισαν διαφοροποίηση των τιμών τους (η κατάταξη των δειγμάτων κατά φθίνουσα σειρά σύμφωνα με τον έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων του Tukey είναι: ΕΚ-Θ > ΕΚ = ΚΚ-3 = ΚΚ-4,5 και ΕΚ-Θ > ΚΚ-4,5 = ΚΚ-3 = ΕΚ, αντίστοιχα).



Σχήμα 14. Επίδραση του είδους του δείγματος στη λιποπεριεκτικότητα των τυριών αλοιφώδους υφής.



Σχήμα 15. Επίδραση του είδους του δείγματος στην περιεκτικότητα των τυριών αλοιφώδους υφής σε πρωτεΐνη.

5.1.3 Ρεολογικές ιδιότητες

Στον πίνακα 12 παρουσιάζονται οι μέσοι όροι των ρεολογικών ιδιοτήτων των δειγμάτων τυριού αλοιφώδους υφής. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της ANOVA, όλες οι ρεολογικές ιδιότητες των δειγμάτων, επηρεάστηκαν από το είδος του δείγματος ($p < 0,05$).

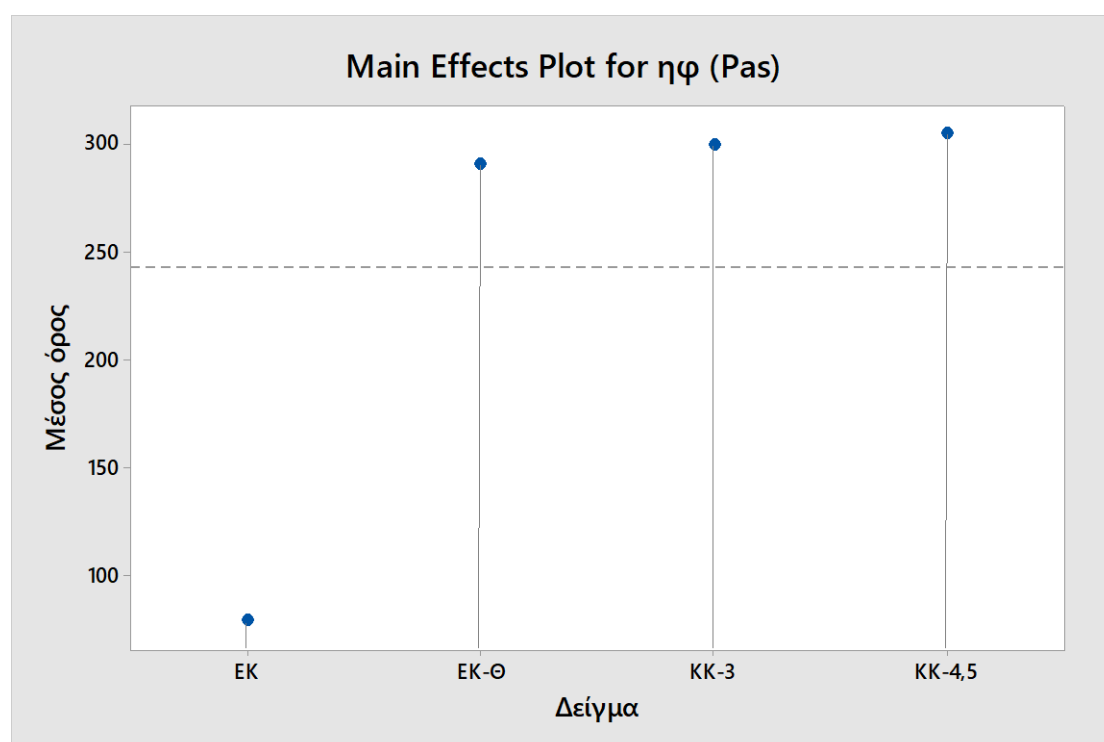
Πίνακας 12. Οι μέσοι όροι των ρεολογικών ιδιοτήτων των δειγμάτων τυριού αλοιφώδους υφής.

Δείγμα	$\eta\phi$ (Pas)	G' (Pa)	$\tan\delta$	$\eta_0 \times 10^3$ (Pas)	Gg(Pa)	GR(Pa)
EK	78,8	3585	0,345	54,4	3878	644,2
EK-Θ	290,0	5394	0,300	213,9	4691	913,4
KK-3	299,5	7923	0,192	223,5	7709	938,2
KK-4,5	304,5	7844	0,196	222,4	7570	934,5

Όπως παρατηρείται στο Σχήμα 16, το δείγμα που παρασκευάστηκε με τη χρήση εμπορικής καλλιέργειας και χωρίς την εφαρμογή αναθέρμανσης εμφάνισε τη μικρότερη τιμή φαινομενικού ιξώδους. Η κατάταξη των δειγμάτων κατά φθίνουσα σειρά σύμφωνα με τον έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων του Tukey είναι: $KK-4,5 = KK-3 = EK-\Theta > EK$. Η αυξημένη τιμή

φαινομενικού ιξώδους του δείγματος ΕΚ-Θ οφείλεται στην αυξημένη περιεκτικότητα του σε ξηρή ουσία, η οποία προκάλεσε την αύξηση του αριθμού των μορίων του συστήματος με αποτέλεσμα να αυξάνεται η αντίσταση που αυτά παρουσιάζουν κατά την εφαρμογή τάσης και επομένως και το ιξώδες.

Όσον αφορά τα δείγματα που παρασκευάστηκαν με τη χρησιμοποίηση καλλιέργειας εκκίνησης από κεφίρ, εμφάνισαν αυξημένο ιξώδες πιθανόν εξαιτίας της παραγωγής μεγαλύτερης ποσότητας κεφιράνης από τους μικροοργανισμούς που βρίσκονταν στο υγρό κεφίρ. Η θερμοκρασία που πραγματοποιήθηκε η πήξη των δειγμάτων (25°C) ήταν η βέλτιστη για καλλιέργειες που προέρχονται από κόκκους κεφίρ, όχι όμως και για τις εμπορικές καλλιέργειες που αποτελούνται από συγκεκριμένα στελέχη μικροοργανισμών και συνιστάται μεγαλύτερη θερμοκρασία επώασης (30°C). Η αυξημένη παραγωγή κεφιράνης οδήγησε σε αύξηση του αριθμού μορίων του συστήματος και επομένως σε αύξηση του φαινομενικού ιξώδους των δειγμάτων. Η τιμή pH που είχαν τα δείγματα δεν πρέπει να επηρέασε το ιξώδες τους, δεδομένου ότι το pH 4,6 που είχαν αντιστοιχεί στο ισοηλεκτρικό σημείο των καζεϊνών, όπου έχουν τη μικρότερη διαλυτότητα (τα μόρια δεν είναι ενυδατωμένα και επομένως δεν επηρεάζουν θετικά το ιξώδες).



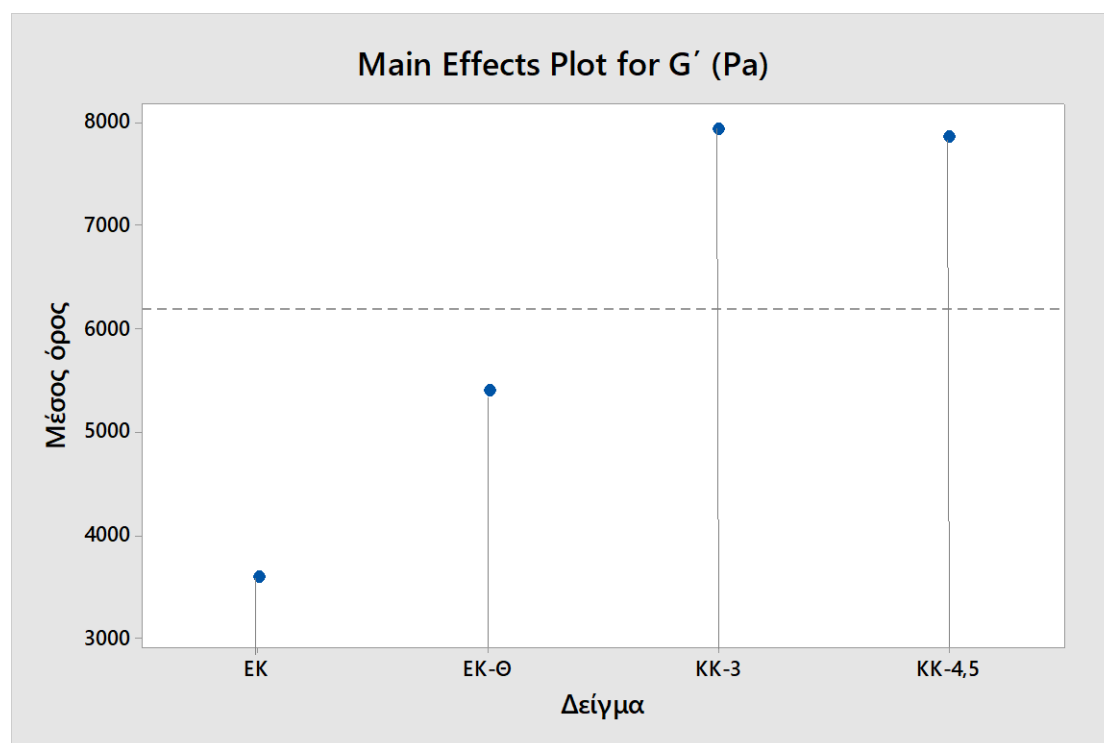
Σχήμα 16. Επίδραση του είδους του δείγματος στις τιμές του φαινομενικού ιξώδους (η_{ϕ}), των τυριών αλοιφώδους υφής.

Σύμφωνα με το Σχήμα 17, τα δείγματα που παρασκευάστηκαν με τη χρήση καλλιέργειας εκκίνησης από κεφίρ εμφάνισαν τις μεγαλύτερες τιμές του G' , ενώ το δείγμα εμπορικής καλλιέργειας χωρίς εφαρμογή αναθέρμανσης, τη μικρότερη. Η κατάταξη των δειγμάτων

κατά φθίνουσα σειρά σύμφωνα με τον έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων του Tukey είναι: KK-3 = KK-4,5 > EK-Θ > EK.

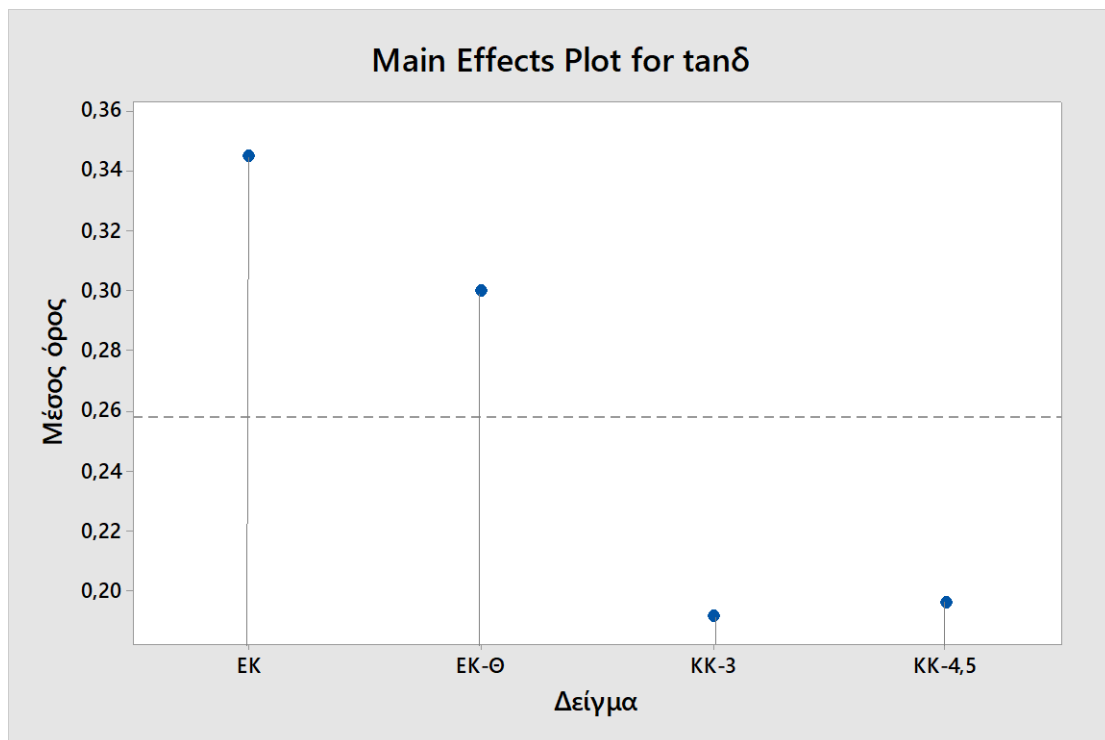
Τα δείγματα που παρασκευάστηκαν με υγρό κεφίρ, ανεξάρτητα από το ποσοστό εμβολιασμού του, εμφάνισαν αυξημένη ελαστικότητα εξαιτίας της αυξημένης παραγωγής κεφιράνης. Η κεφιράνη μπορεί να αλληλοεπιδράσει με τις πρωτεΐνες γάλακτος αυξάνοντας τον αριθμό και την ένταση των αλληλεπιδράσεων του συστήματος και επομένως και την ελαστικότητα των δειγμάτων.

Εδώ αξίζει να σημειωθεί πως αν και τα δείγματα που παρασκευάστηκαν με κεφίρ είχαν το ίδιο φαινομενικό ιξώδες με το δείγμα EK-Θ, διαφοροποιήθηκαν από αυτό στον G' . 'Με τη δυναμική δοκιμή, η οποία μελετά τον ιξωδοελαστικό χαρακτήρα των δειγμάτων χωρίς να καταστρέφει τη δομή του δείγματος, ήταν δυνατή η διαφοροποίηση της ελαστικότητας των δειγμάτων που παρασκευάστηκαν με διαφορετικό είδος καλλιέργειας. Η μειωμένη ελαστικότητα του δείγματος EK οφείλεται στην αυξημένη περιεκτικότητα του σε υγρασία (μείωση του αριθμού των αλληλοεπιδράσεων του συστήματος).



Σχήμα 17. Επίδραση του είδους του δείγματος στις τιμές του συντελεστή ελαστικότητας (G') των τυριών αλοιφώδους υφής.

Σύμφωνα με το Σχήμα 18, τα δείγματα που εμφάνισαν αυξημένη ελαστικότητα παρουσίασαν μειωμένες τιμές της $\tan\delta$, γεγονός αναμενόμενο, δεδομένου ότι η $\tan\delta$ εκφράζει τον ιξώδη χαρακτήρα των δειγμάτων. Η κατάταξη των δειγμάτων κατά φθίνουσα σειρά σύμφωνα με τον έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων του Tukey είναι: EK > EK-Θ > KK-4,5 = KK-3.



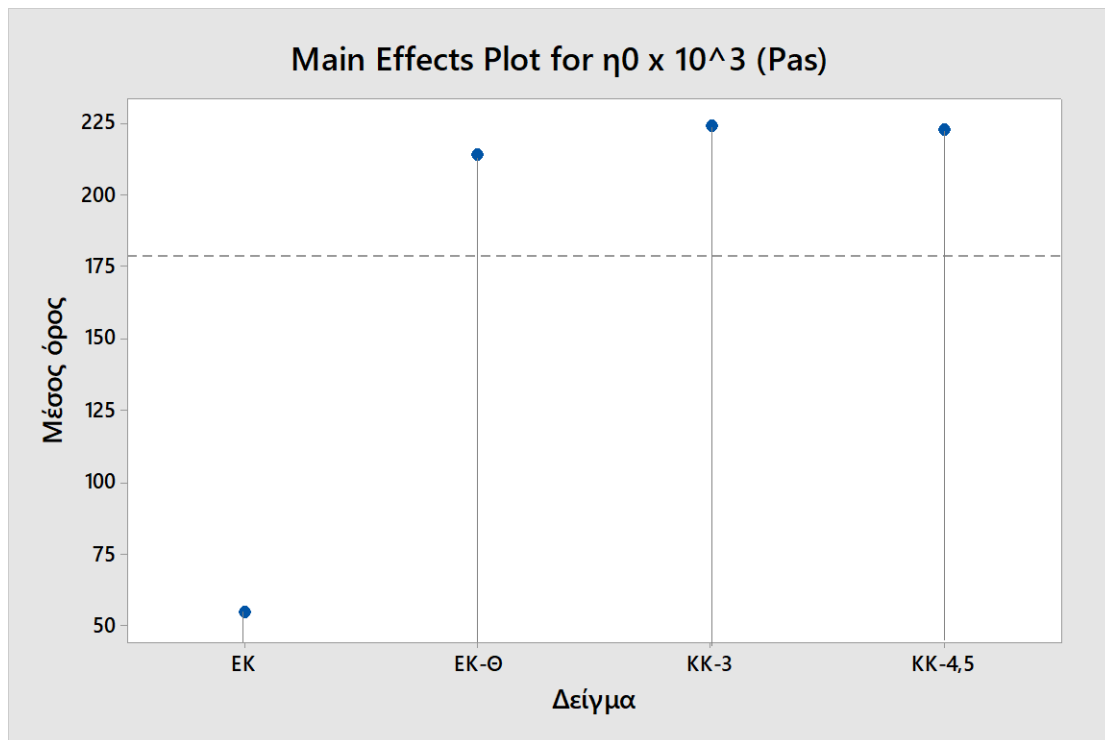
Σχήμα 18. Επίδραση του είδους του δείγματος στις τιμές της $\tan\delta$, των τυριών αλοιφώδους υφής.

Όπως φαίνεται στο Σχήμα 19, το δείγμα EK εμφάνισε τη μικρότερη τιμή νευτώνειου ιξώδους. Η κατάταξη των δειγμάτων κατά φθίνουσα σειρά σύμφωνα με τον έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων του Tukey είναι: $KK-3 = KK-4,5 = EK-\Theta > EK$. Τα αποτελέσματα από τη δοκιμή ερπυσμού, όσον αφορά το νευτώνειο ιξώδες είναι σε συμφωνία με αυτά από τον προσδιορισμό του φαινομενικού ιξώδους.

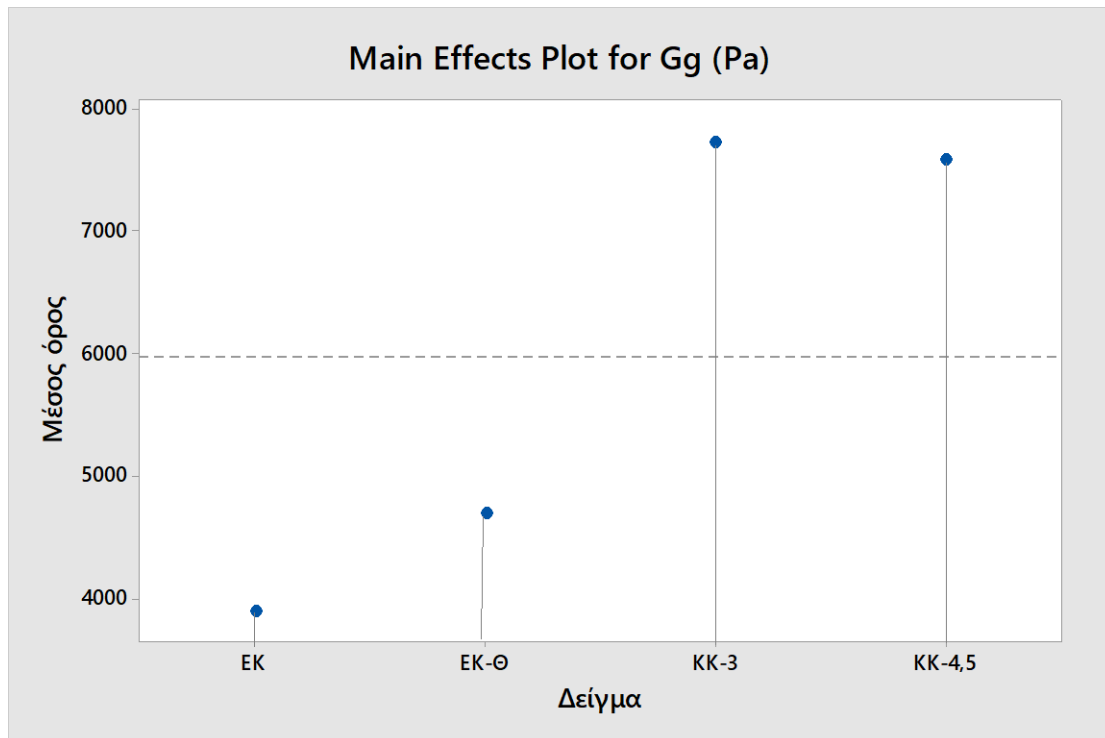
Σύμφωνα με το Σχήμα 20, τα δείγματα που παρασκευάστηκαν με τη χρήση καλλιέργειας εκκίνησης από κεφίρ εμφάνισαν τις μεγαλύτερες τιμές της στιγμιαίας ελαστικότητας, ενώ το δείγμα εμπορικής καλλιέργειας χωρίς εφαρμογή αναθέρμανσης, τη μικρότερη. Η κατάταξη των δειγμάτων κατά φθίνουσα σειρά σύμφωνα με τον έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων του Tukey είναι: $KK-3 = KK-4,5 > EK-\Theta > EK$. Όσον αφορά την καθυστερούμενη ελαστικότητα (Σχήμα 21) το δείγμα EK εμφάνισε τη μικρότερη τιμή. Η κατάταξη των δειγμάτων κατά φθίνουσα σειρά σύμφωνα με τον έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων του Tukey είναι: $KK-3 = KK-4,5 = EK-\Theta > EK$.

Η στιγμιαία ελαστικότητα εκφράζει τους ισχυρούς δευτερεύοντες δεσμούς του συστήματος (δεσμοί υδρογόνου και ηλεκτροστατικοί δεσμοί), ενώ η καθυστερούμενη ελαστικότητα εκφράζει τους ασθενείς δευτερεύοντες δεσμοί του συστήματος (δεσμοί van der Waals, και κολλοειδής και υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις). Όπως παρατηρείται και στον Πίνακα 12, οι τιμές της στιγμιαίας ελαστικότητας είναι κατά πολύ μεγαλύτερες από τις τιμές της καθυστερούμενης ελαστικότητας. Αυτό σημαίνει ότι οι δεσμοί που επικρατούν στο σύστημα

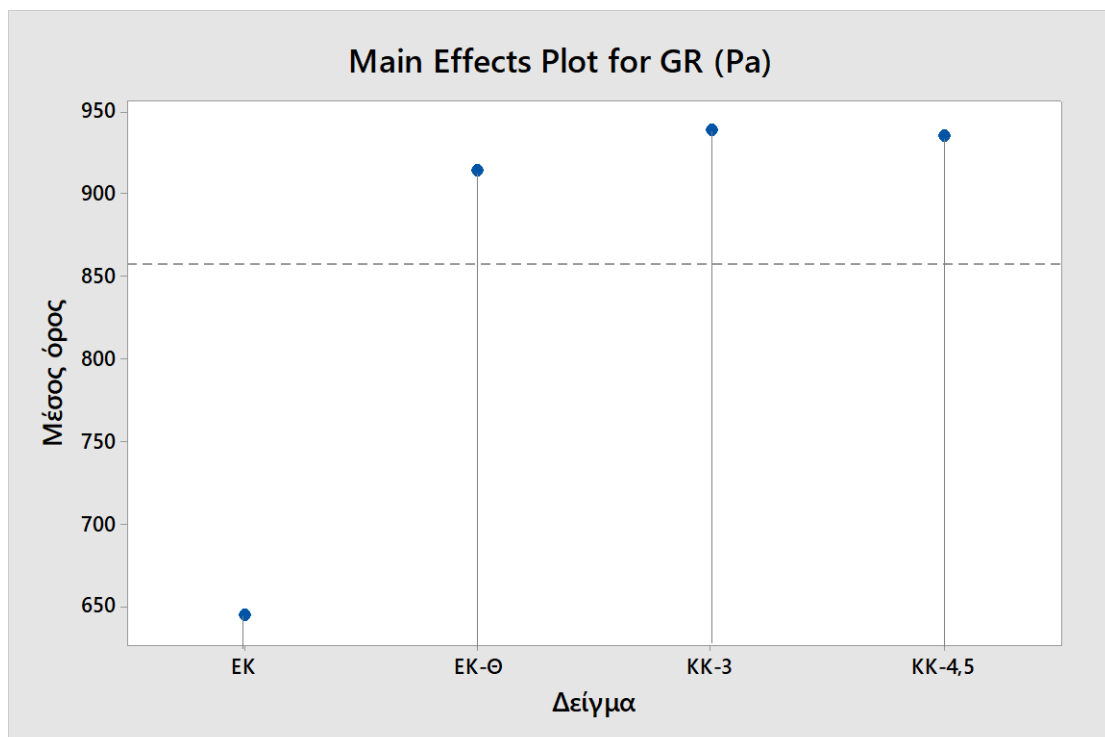
των τυριών αλοιφώδους υφής είναι οι ισχυροί δευτερεύοντες δεσμοί. Πιθανόν αυτός είναι και ο λόγος όπου μόνο στη στιγμιαία ελαστικότητα υπήρξε διαφοροποίηση μεταξύ των δειγμάτων που παρασκευάστηκαν με κεφίρ και εμπορική καλλιέργεια (όπως και στην περίπτωση του G'). Αντίθετα, στην περίπτωση της καθυστερούμενης ελαστικότητας, μόνο το δείγμα EK διαφοροποιήθηκε από τα υπόλοιπα, όπως και στην περίπτωση του φαινομενικού και νευτώνειου ιξώδους. Τα αποτελέσματα από τις ρεολογικές δοκιμές, όσον αφορά την επίδραση της χρησιμοποίησης διαφορετικής καλλιέργειας εκκίνησης και της εφαρμογής αναθέρμανσης είναι σε συμφωνία μεταξύ τους.



Σχήμα 19. Επίδραση του είδους του δείγματος στις τιμές του νευτώνειου ιξώδους (η_0) των τυριών αλοιφώδους υφής.



Σχήμα 20. Επίδραση του είδους του δείγματος στις τιμές της στιγμιαίας ελαστικότητας (G_g), των τυριών αλοιφώδους υφής.



Σχήμα 21. Επίδραση του είδους του δείγματος στις τιμές της καθυστερούμενης ελαστικότητας (G_R), των τυριών αλοιφώδους υφής.

5.1.3 Μικροβιολογικές ιδιότητες

Στον Πίνακα 13 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 13. Πληθυσμοί οξυγαλακτικών βακτηρίων και ζυμών.

Δείγμα	Οξυγαλακτικά βακτήρια (cfu/ml)	Ζύμες (cfu/ml)
EK	$8,9 \times 10^7$	$2,6 \times 10^6$
EK-Θ	$7,1 \times 10^7$	$3,1 \times 10^6$
KK-3	$1,3 \times 10^8$	$6,5 \times 10^6$
KK-4,5	$1,9 \times 10^8$	$6,8 \times 10^6$

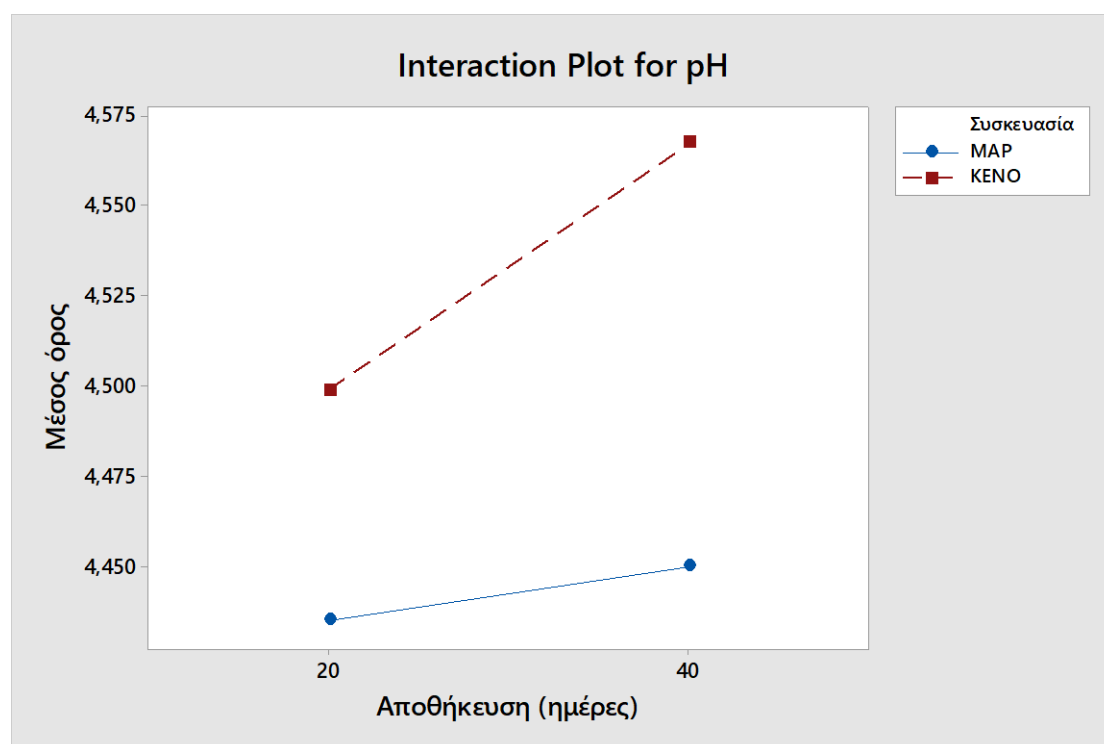
5.2. Επίδραση του χρόνου αποθήκευσης και της συσκευασίας στις ιδιότητες των δειγμάτων

Ακολουθεί η μελέτη της επίδρασης 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 14 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των φυσικοχημικών αναλύσεων των δειγμάτων κατά την διάρκεια αποθήκευσής τους και τα οποία συσκευάστηκαν υπό κενό και σε περιβάλλον τροποποιημένης ατμόσφαιρας. Σύμφωνα με την ANOVA, 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 22). Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε αύξηση της τιμής pH κατά την αποθήκευση των δειγμάτων σε συσκευασία υπό κενό, πιθανόν 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 14. Οι μέσοι όροι των τιμών των φυσικοχημικών ιδιοτήτων των δειγμάτων τυριού αλοιφώδους υφής κατά την αποθήκευσή τους και συσκευασία τους υπό κενό και σε περιβάλλον τροποποιημένης ατμόσφαιρας (MAP).

ΔΕΙΓΜΑ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ	ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ (ΗΜΕΡΕΣ)	pH	ΥΓΡΑΣΙΑ (%)	ΛΙΠΟΣ (%)	ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ (%)
EK	KENO	20	4,36	67,93	15,62	10,62
EK-Θ	KENO	20	4,37	60,27	17,05	15,22
ΚΚ-3	KENO	20	4,61	66,55	15,58	10,74
ΚΚ-4,5	KENO	20	4,66	66,67	15,42	11,07
EK	MAP	20	4,26	67,90	15,63	10,57
EK-Θ	MAP	20	4,33	60,30	17,00	15,24
ΚΚ-3	MAP	20	4,58	66,52	15,55	10,72
ΚΚ-4,5	MAP	20	4,58	66,72	15,41	11,02
EK	KENO	40	4,42	67,97	15,61	10,56
EK-Θ	KENO	40	4,44	60,26	17,02	15,25
ΚΚ-3	KENO	40	4,69	66,53	15,57	10,75
ΚΚ-4,5	KENO	40	4,74	66,69	15,44	11,03
EK	MAP	40	4,27	67,92	15,62	10,60
EK-Θ	MAP	40	4,32	60,28	17,05	15,22
ΚΚ-3	MAP	40	4,63	66,54	15,56	10,71
ΚΚ-4,5	MAP	40	4,59	66,68	15,42	11,06



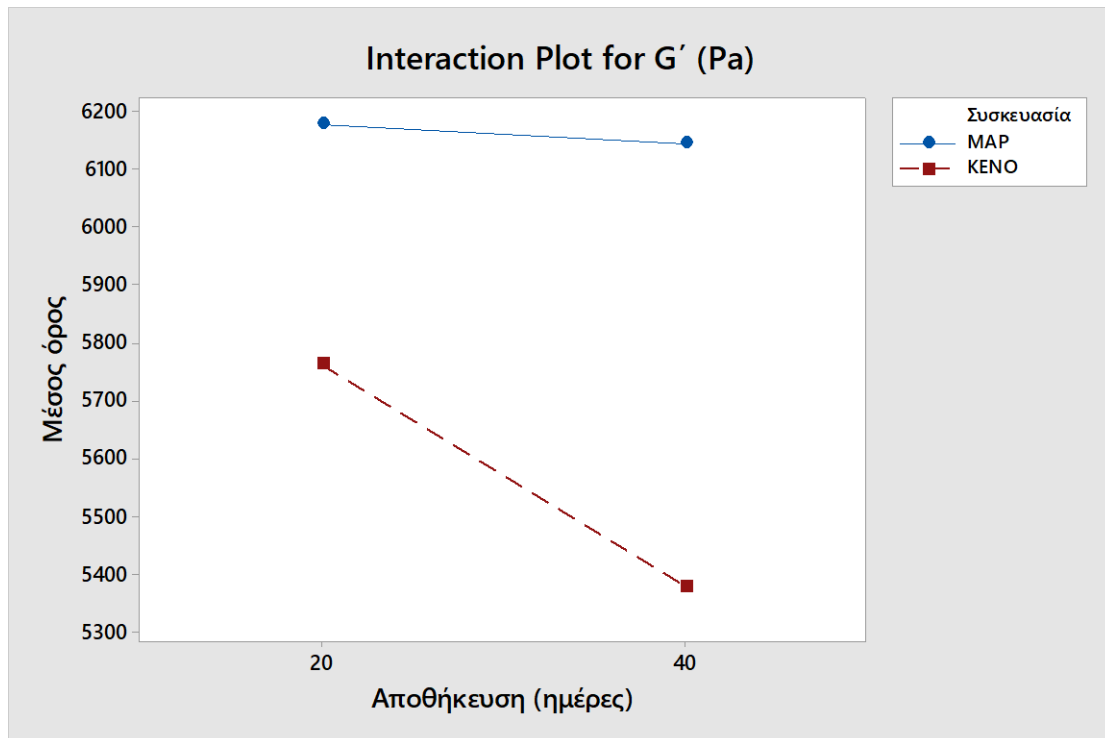
Σχήμα 22. Επίδραση της συσκευασίας και του χρόνου αποθήκευσης στο pH των δειγμάτων τυριού αλοιφώδους υφής. MAP: Περιβάλλον τροποποιημένης ατμόσφαιρας.

Στον πίνακα 15 παρουσιάζονται οι μέσοι όροι των ρεολογικών ιδιοτήτων των δειγμάτων τυριού αλοιφώδους υφής 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 ($p < 0,05$).

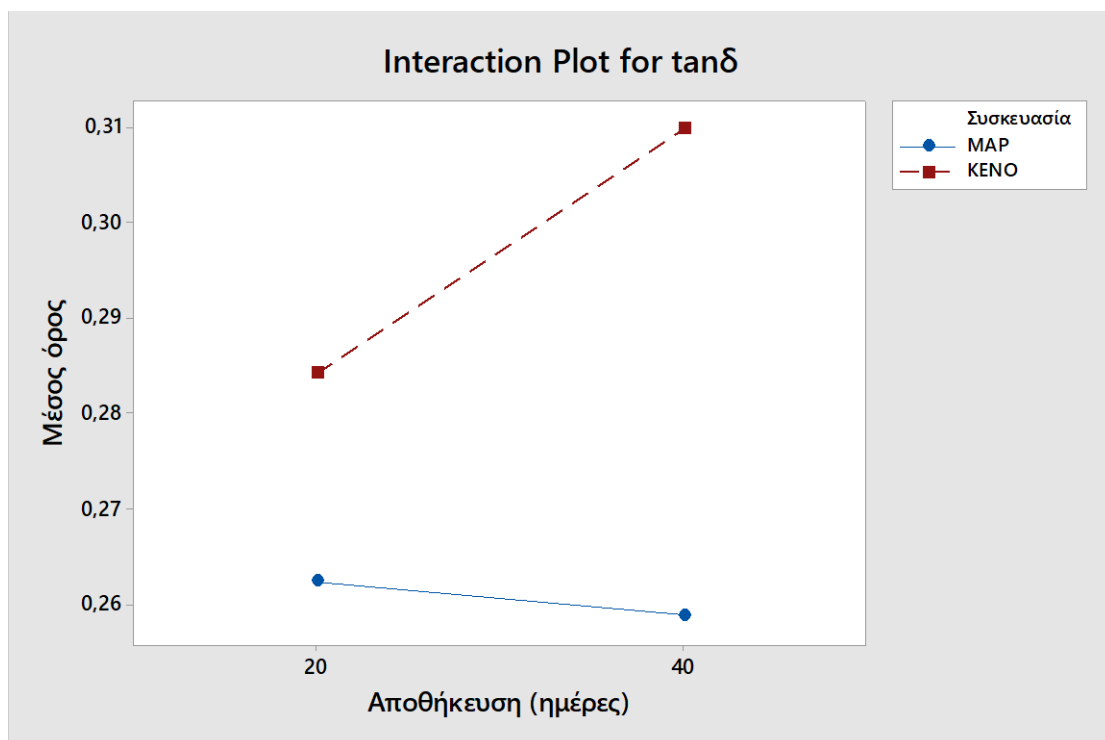
Πίνακας 15. Οι μέσοι όροι των ρεολογικών ιδιοτήτων των δειγμάτων τυριού αλοιφώδους υφής κατά την αποθήκευσή τους και συσκευασία τους υπό κενό και σε περιβάλλον τροποποιημένης ατμόσφαιρας (MAP).

ΔΕΙΓΜΑ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ	ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ (ΗΜΕΡΕΣ)	$\eta\phi$ (Pa·s)	G' (Pa)	$\tan\delta$	$\eta_0 \times 10^3$ (Pa·s)	Gg(Pa)	GR(Pa)
EK	KENO	20	68,8	3335	0,390	49,9	3428	651,2
EK-Θ	KENO	20	275,0	5044	0,320	183,9	4391	913,4
ΚΚ-3	KENO	20	274,5	7223	0,212	203,5	7410	935,7
ΚΚ-4,5	KENO	20	292,0	7444	0,216	187,4	7071	934,5
EK	MAP	20	77,8	3635	0,354	52,9	3878	644,2
EK-Θ	MAP	20	292,0	5354	0,309	212,9	4673	916,4
ΚΚ-3	MAP	20	295,5	7868	0,191	228,5	7745	938,2
ΚΚ-4,5	MAP	20	310,5	7849	0,196	215,4	7536	934,5
EK	KENO	40	59,3	2650	0,412	42,9	3078	638,2
EK-Θ	KENO	40	230,0	4794	0,400	148,8	3891	921,4
ΚΚ-3	KENO	40	229,5	6973	0,251	178,5	7060	931,7
ΚΚ-4,5	KENO	40	242,0	7094	0,236	152,4	6671	934,5
EK	MAP	40	76,8	3485	0,352	54,9	3878	634,2
EK-Θ	MAP	40	289,5	5404	0,298	213,4	4606	914,9
ΚΚ-3	MAP	40	296,5	7883	0,191	221,0	7680	928,2
ΚΚ-4,5	MAP	40	301,0	7804	0,195	214,9	7516	934,5

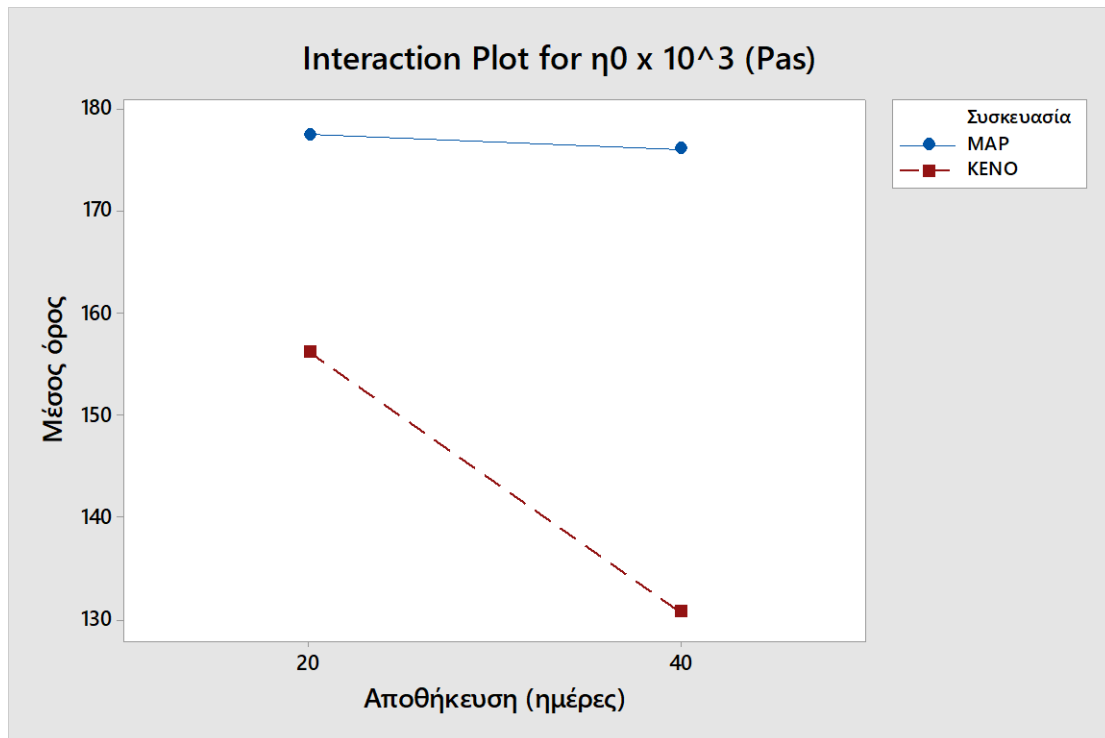
Όπως παρατηρείται από τα Σχήματα (23 έως 26) μόνο η συσκευασία σε κενό επηρέασε στατιστικά σημαντικά τις ρεολογικές ιδιότητες των δειγμάτων κατά την αποθήκευσή τους. Η εφαρμογή της MAP και σύμφωνα με τον έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων του Tukey δεν επηρέασε τη ρεολογική συμπεριφορά των δειγμάτων κατά την αποθήκευσή τους. Η μείωση των ρεολογικών ιδιοτήτων (εκτός από την $\tan\delta$, η οποία αυξήθηκε δεδομένου ότι εκφράζει τον ιξώδη χαρακτήρα των δειγμάτων) οφείλεται πιθανόν στη μείωση της συνοχής του πρωτεϊνικού πλέγματος εξαιτίας της διάσπασης των πρωτεϊνών από τα πρωτεολυτικά ένζυμα. Η καθυστερούμενη ελαστικότητα δεν εμφάνισε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δειγμάτων, πιθανόν εξαιτίας των μικρότερων τιμών της σε σχέση με την στιγμιαία ελαστικότητα.



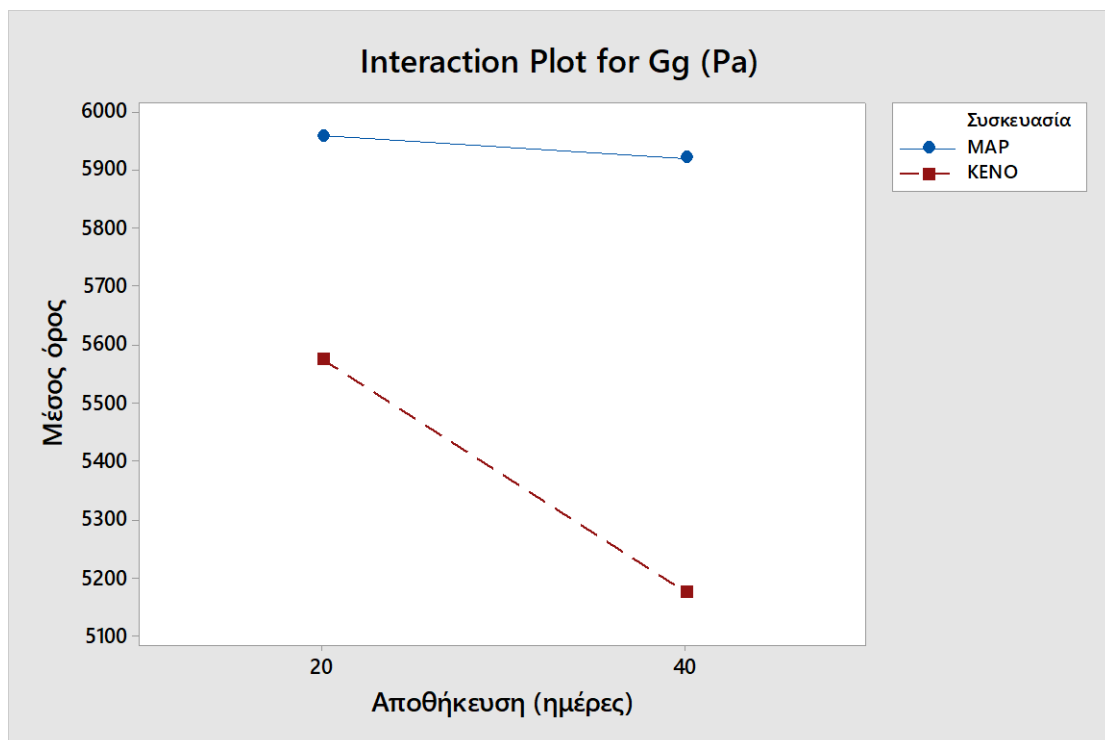
Σχήμα 23. Επίδραση της συσκευασίας και του χρόνου αποθήκευσης στην τιμή του συντελεστή ελαστικότητας (G') των δειγμάτων τυριού αλοιφώδους υφής. MAP: Περιβάλλον τροποποιημένης ατμόσφαιρας.



Σχήμα 24. Επίδραση της συσκευασίας και του χρόνου αποθήκευσης στην τιμή της $\tan\delta$ των δειγμάτων τυριού αλοιφώδους υφής. MAP: Περιβάλλον τροποποιημένης ατμόσφαιρας.



Σχήμα 25. Επίδραση της συσκευασίας και του χρόνου αποθήκευσης στην τιμή του νευτώνειου ιξώδους (η_0) των δειγμάτων τυριού αλοιφώδους υφής. MAP: Περιβάλλον τροποποιημένης ατμόσφαιρας.



Σχήμα 26. Επίδραση της συσκευασίας και του χρόνου αποθήκευσης στην τιμή της στιγμιαίας ελαστικότητας (G_g) των δειγμάτων τυριού αλοιφώδους υφής. MAP: Περιβάλλον τροποποιημένης ατμόσφαιρας.

6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα δείγματα στα οποία χρησιμοποιήθηκε κεφίρ ως καλλιέργεια εκκίνησης, εμφάνισαν τις μεγαλύτερες τιμές pH.

Η χρήση καλλιέργειας εκκίνησης κεφίρ είχε ως αποτέλεσμα την παραγωγή δειγμάτων τυριού αλοιφώδους υφής, τα οποία παρουσίασαν αυξημένο φαινομενικό ιξώδες, νευτώνειο ιξώδες και καθυστερούμενη ελαστικότητα.

Τα δείγματα που παρασκευάστηκαν με τη χρήση καλλιέργειας εκκίνησης από κεφίρ εμφάνισαν τις μεγαλύτερες τιμές του G' , της στιγμιαίας ελαστικότητας και της καθυστερούμενης ελαστικότητας, καθώς και τις μικρότερες της $tan\delta$.

Η χρησιμοποίηση διαφορετικού ποσοστού εμβολίου κεφίρ δεν επηρέασε τις ιδιότητες των δειγμάτων.

Η εφαρμογή αναθέρμανσης είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της απόδοσης και της περιεκτικότητας των δειγμάτων σε υγρασία, ενώ οδήγησε σε αύξηση της συγκέντρωσης των πρωτεϊνών και του λίπους και των ρεολογικών ιδιοτήτων (εκτός από την $tan\delta$, η οποία μειώθηκε).

Τα αποτελέσματα από τις ρεολογικές δοκιμές, όσον αφορά την επίδραση της χρησιμοποίησης διαφορετικής καλλιέργειας εκκίνησης και της εφαρμογής αναθέρμανσης είναι σε συμφωνία μεταξύ τους.

Οι πληθυσμοί των οξυγαλακτικών βακτηρίων και των ζυμών δε διαφοροποιήθηκαν μεταξύ των δειγμάτων, ενώ κολοβακτηριοειδή δε βρέθηκαν.

Η χρησιμοποίηση κενού επηρέασε τις ιδιότητες των δειγμάτων (αύξηση του pH, μείωση όλων των ρεολογικών ιδιοτήτων εκτός από την $tan\delta$ που οποία αυξήθηκε και την καθυστερούμενη ελαστικότητα που δεν επηρεάστηκε) κατά την αποθήκευση τους στην ψύξη για 40 ημέρες. Αντίθετα η εφαρμογή MAP δεν επηρέασε τις ιδιότητες των δειγμάτων.

7. ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ

- Μελέτη της επίδρασης της θερμοκρασίας επώασης σε συνδυασμό με τη χρήση καλλιέργειας εκκίνησης από κεφίρ και εμπορικής καλλιέργειας στις ιδιότητες των τυριών αλοιφώδους υφής με τη χρήση καλλιέργειας εκκίνησης κεφίρ.
- Μελέτη της επίδρασης της ποσότητας της πυτιάς 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

✓ ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΗ

- Amara A.A., Shibl A., *Role of Probiotics in health improvement, infection control and disease treatment and management*, 2015, Saudi Pharm J, Vol. 23(2), pp. 107-114
- AOAC (1990). *Official methods of analysis, 15th Ed.* Washington DC: Association of Official Analytical Chemists.
- 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 (2016) pp.18-22
- Binda S, Hill C, Johansen E, Obis D, Pot B, Sanders M-A, Tremblay A, Ouwehand AC, *Criteria to Qualify Microorganisms as "Probiotic" in Foods and Dietary Supplements*, Front Microbiol, 2020; Vol 11, p 1662
- Cassidy, A, Dalais, F.S. (2008). *Φυτοχημικές ενώσεις*. In: Gibney, M, Macdonald, I, Roche, H, (2008). *Διατροφή και μεταβολισμός*. Αθήνα: Παρισσιανός, pp. 384-397.
- 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. 2008; 43: pp. 1323–1329
- Daliri E.B.M., Lee H. B., *New perspectives on probiotics in health and disease.*, 2015 Food Science and Human Wellness, Vol. 4, pp. 56-65.
- 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*. (2020).– Nutrients, Vol. 12, pp. 1-23.
- Farnworth E.R., *Kefir – a complex probiotic*. (2005). Food Science and Technology Bulletin: Functional Foods 2 (1), pp. 1-17.
- Food and Agriculture Organization (FAO) *Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food*. FAO; London, ON, Canada: Report of a Joint FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. 30 April–1 May 2002
- Fox P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., & Mc Sweeney, P. L. H. *Fundamentals of cheese science*. (2000). Gaithersburg, Maryland: Aspen Publishers, Inc.
- Fox P.F., McSweeney P.L.H., Cogan T.M. & Guinee T.P. *Cheese Chemistry Physics and Microbiology*. (2004). 3th edition. Volume 2 Magor Cheese groups. Amsterdam: Elsevier Academic Press.
- Frengova G.I., Simova E.D., Beshkova D.M., Simova Z.I., *Exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria of kefir grains*. (2002). Vol. 57(9-10), pp. 805-10
- Fuller, R. *Probiotics in Man and Animals*. (1989). Journal of Applied Bacteriology, Vol. 66, pp. 365-378
- Gorbach S.L., Newton, S.I, *The discovery of Lactobacillus*. (1996). Vol. 31 (6) pp. 55
- Guine, R., Lima, M. and Barroca, M., *Role and Health benefits of different functional foods components*, 2004,

- ⊙ Gul O, Mortas M, Atalar I, Dervisoglu M, Kahyaoglu T, *Manufacture and characterization of kefir made from cow and buffalo milk, using kefir grain and starter culture*. (2015). *J. Dairy, Sci*, 98: pp. 1517-1525.
- ⊙ Hardy G *Nutraceuticals and functional foods: introduction and meaning*. (2000). *Nutrition*. Vol. 16(7-8), pp. 688-9
- ⊙ Hasler C.M., *Functional Foods: Benefits, Concerns and Challenges*. (2002). A Position Paper from the American Council on Science and Health, American Society for Nutritional Sciences, pp. 3773-81
- ⊙ Hill C., Guarner F., Reid G., Gibson G.L., Merenstein D.J., Pot B., Morelli L., Canani R.B., Flint H.J., Salminen S., Calder P.C. & Sanders M.A. *The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic*. (2014). *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* Vol. 11, pp. 506–514
- ⊙ International Life Sciences Institute, *Safety assessment and potential health benefits of food components based on selected scientific criteria*. (1999). ILSI North America Technical Committee on Food Components for Health Promotion. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 39: pp. 203–316
- ⊙ Kivanc M, Yapici E., *Kefir as a probiotic dairy beverage: determination lactic acid bacteria and yeast*. *International Journal of Food Engineering*. 2015; 1(1): pp. 55-60.
- ⊙ Kemp, N., *Kefir, the champagne of cultured dairy products*. (1984). *Cultured Dairy Products Journal*, Vol.19(3), pp. 29-30
- ⊙ Koroleva, N.S. *Special products (kefir, koumyss, etc.)*. (1982). *Proceedings XXI International Dairy Congress, Moscow* Vol.2, pp. 146-151
- ⊙ Kuo, C-Y. and Lin, C-W., *Taiwanese kefir grains: their growth, microbial and chemical composition of fermented milk*. (1999). *Australian Journal of Dairy Technology*, Vol. 54, pp. 19-23.
- ⊙ Kwak H.S., Park S.K., Kim D.S., *Biostabilization of Kefir with a Nonlactose-Fermenting Yeast*. (1996). *Journal of Dairy Science*, Vol.79, Issue 6, pp. 937-942
- ⊙ Markowiak P., Śliżewska K., *Effects of Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics on Human Health*. (2017) *Nutrients*, Vol. 9(9)
- ⊙ Milner JA. *Functional foods and health promotion*. (1999). *J Nutr.* Vol. 129(7 Suppl):1395S-7S.
- ⊙ Nasri H, Baradaran A., Shirzad H, Rafieian-Kopaei M., *New Concepts in Nutraceuticals as Alternative for Pharmaceuticals*. (2014). *Int J Prev Med.*, Vol 5(12), pp. 1487–1499
- ⊙ Natarajan, T.D., Ramasamy, J.R. & Palanisamy, K. *Nutraceutical potentials of synergic foods: a systematic review*. (2019). *J. Ethn. Food* Vol. 6, p 27
- ⊙ Ong L, Kentishac S.E., Gras S.L., *Small scale production of cream cheese: A comparison of batch centrifugation and cloth bag methods*. (2018). *International Dairy Journal*, Vol 81, pp. 42-52
- ⊙ Pandey M., Verma R.K., Saraf S.A., *Nutraceuticals: new era of medicine and health*, *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. (2010). Vol.3 Issue 1
- ⊙ Phadungath, C. *Cream cheese products: A review.*, 2005 *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, Vol. 27(1), pp. 191-199
- ⊙ Romero A.H., Del Toro-Barbosa M., Gradilla-Hernández M.S., Garcia-Amezquita L.E., and García-Cayueta T., *Probiotic Properties, Prebiotic Fermentability, and GABA-Producing Capacity of Microorganisms Isolated from Mexican Milk Kefir Grains: A*

- Clustering Evaluation for Functional Dairy Food Applications*. (2021). *Foods*, Vol. 10(10): p 2275.
- Salminen, S., Bouley, C., Boutron-Ruault, M. C., Cummings, J., Franck, A., Gibson, G. R., Isolauri, E., Moreau, M. C., Roberfroid, M. & Rowland, I. *Functional food science and gastrointestinal physiology and function*. (1998). *Br. J. Nutr.* Vol. 80: Suppl. pp.147–S171
 - Sanchez C., Beauregard J.L., Bride M., Buchheim W., Hardy J., *Rheological and microstructural characterization of double cream cheese*. (1996). *Molecular Nutrition*, Vol.40, 3, pp.108-116
 - Sanders M.E., Benson A., Lebeer S., Merenstein D.J. & Klaenhammer T.R., *Shared mechanisms among probiotic taxa: implications for general probiotic claims*. (2018). *Current Opinion in Biotechnology*, Vol 49, pp. 207–216
 - 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*. (2002). *J Ind Microbiol Biotechnol* Vol. 28(1), pp. 1-6
 - Stepaniak L., & Fetliński A., *Fermented milks - kefir*. Amsterdam: Elsevier Ltd, In H. Roginski (Ed.) *Encyclopedia of dairy sciences*. (2002). pp. 1049–1054.
 - Schulz-Collins D., & Senge B., *Acid-and acid/rennet curd cheeses. Part A: Quark, cream cheese and related varieties*. (2004). 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.
 - Wendin K., Langton M., Caous L., Hall G., *Dynamic analyses of sensory and microstructural properties of cream cheese*. (2000). *Food Chemistry*, Vol. 71, Is. 3, 15, pp. 363-378

✓ ΕΛΛΗΝΙΚΗ

- Γκιαούρης Ε, Σημειώσεις μαθήματος *Λειτουργικών τροφίμων, Προβιοτικά, Οφέλη για την υγεία και εφαρμογές αυτών για την ανάπτυξη πιο υγιεινών τροφίμων*. (2015) Παν. Αιγαίου, Σχολή περιβάλλοντος, Τμήμα Επιστ. Τροφίμων και Διατροφής
- Δημητρέλη Γ. *Τεχνολογία και έλεγχος ποιότητας γάλακτος και γαλακτοκομικών προϊόντων*. (2014). Σημειώσεις για το εργαστήριο. Θεσσαλονίκη.
- Κεχαγιάς Χ. & Τσάκαλη Ε., *Επιστήμη και Τεχνολογία Γάλακτος και Γαλακτοκομικών Προϊόντων*. (2017). Αθήνα: Εκδόσεις Νέων Τεχνολογιών.
- Κοτζιά, Δ. & Βασιλάκου, Τ. *Μεσογειακή Διατροφή*. (2013). (<https://www.researchgate.net/publication/315628310> Mesogeiake Diatrophe)
- Κουτελιδάκης Α., *Λειτουργικά τρόφιμα Ο ρόλος τους στην προαγωγή της υγείας*. (2015).
- Κώδικας Τροφίμων και Ποτών και Αντικειμένων Κοινής Χρήσης. (2009). Μέρος Α, Τρόφιμα και Ποτά, Τόμος 2. Υπουργείο Οικονομίας και Οικονομικών, Γενικό Χημείο του Κράτους, Αθήνα.

- ⦿ Πετρίδης Δ.Ν. *Στατιστική με έμφαση στην επιστήμη τροφίμων*. (2016). 4η εκδ.
Θεσσαλονίκη: Back Office

➤ ΔΙΑΔΙΚΤΥΑΚΟΙ ΤΟΠΟΙ

- ⦿ <http://www.fao.org/faolex/en/>
- ⦿ <https://www.mednutrition.gr/portal/efarmoges/leksiko-diatrofis/14803-leitourgika-trofima>
- ⦿ <https://wikihealth.gr/leitoyrgika-trofima-ti-einai-kai-pos-eynooyn-tin-ygeia/>
- ⦿ <https://www.onmed.gr/diatrofi/story/347915/ti-einai-ta-leitoyrgika-trofima-kai-poia-ta-ofeli-toys>
- ⦿ <https://www.aade.gr/sites/default/files/2020-03/83-iss3.pdf>