



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

ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Επίδραση της προσθήκης κεφειράνης στα ρεολογικά
χαρακτηριστικά του κεφίρ**



ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ

ΣΤΑΥΛΑΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ

ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ 2013

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

ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Επίδραση της προσθήκης κεφειράνης στα ρεολογικά
χαρακτηριστικά του κεφίρ**

ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ

ΣΤΑΥΛΑΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ

Εισηγητής: Δημητρέλη Γεωργία

ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ 2014

Περίληψη

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η επίδραση της προσθήκης κεφίρανης, πρωτεϊνών ορού (Π.Ο) και καζεϊνικών αλάτων (Κ.Α) στα ρεολογικά χαρακτηριστικά του κεφίρ. Για την παρασκευή των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε παστεριωμένο αγελαδινό γάλα λιποπεριεκτικότητας 3,5%. Η προσθήκη της κεφίρανης, των Π.Ο και των Κ.Α πραγματοποιήθηκε πριν την θερμική επεξεργασία του γάλακτος. Η μελέτη των ρεολογικών χαρακτηριστικών έγινε με την χρήση του δυναμικού μηχανικού αναλυτή Bohlin C-VOR 150, εφαρμόζοντας τη δυναμική δοκιμή, τη δοκιμή ερπυσμού και προσδιορίζοντας το τ_0 τους.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, παρατηρήθηκε αύξηση του χρόνου επώασης των δειγμάτων κεφίρ με την προσθήκη ΚΑ και μείωση του χρόνου επώασης με την προσθήκη ΠΟ. Η προσθήκη της κεφίρανης κυρίως σε αυξημένα ποσοστά, είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση του χρόνου επώασης.

Κατά την δυναμική δοκιμή μεγαλύτερες τιμές G' εμφάνισαν στους 4°C τα δείγματα με προσθήκη ΠΟ και 5% κεφίρανης, ακολουθούσε το δείγμα με προσθήκη ΚΑ, ενώ την μικρότερη τιμή του G' εμφάνισε ο μάρτυρας και το δείγμα με 0,5% κεφίρανη. Γενικά η αύξηση του ποσοστού προσθήκης κεφίρανης προκάλεσε την αύξηση του G' . Αύξηση των τιμών G' προκάλεσε η αύξηση της θερμοκρασίας μέτρησης στον μάρτυρα και στα δείγματα με προσθήκη ΚΑ, σε αντίθεση με αυτά που παρασκευάστηκαν με ΠΟ και υψηλά ποσοστά κεφίρανης (3% και 5%) όπου εμφάνισαν μείωση των τιμών του. Δείγματα με υψηλές τιμές G' παρουσίασαν μειωμένες τιμές της $\tan \delta$.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της δοκιμής ερπυσμού, μηδενικές τιμές της G_g παρατηρήθηκαν σε όλα τα δείγματα εκτός από αυτά που παρασκευάστηκαν με προσθήκη ΚΑ και ΠΟ, μόνο όμως στους 4°C . Όσον αφορά τις ιδιότητες η_0 και G_R παρατηρήθηκε η ίδια τάση μεταβολής όπως και στην δυναμική δοκιμή τόσο για την επίδραση των διαφόρων προσθέτων όσο και για την επίδραση της θερμοκρασίας, με μόνη διαφορά την συμπεριφορά των ΚΑ όπου εμφάνισαν τις μεγαλύτερες τιμές και για τις δύο ιδιότητες.

Κατά τον προσδιορισμό του τ_0 μεγαλύτερες τιμές εμφάνισαν τα δείγματα με προσθήκη ΚΑ και ΠΟ, σε αντίθεση με τον μάρτυρα και αυτό με το μικρότερο ποσοστό κεφίρανης όπου παρουσίασαν τις μικρότερες τιμές. Η αύξηση του ποσοστού προσθήκης κεφίρανης είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση των τιμών του. Τις μικρότερες τιμές του δείκτη ρεολογικής συμπεριφοράς εμφάνισε το δείγμα με προσθήκη ΚΑ, ενώ η αύξηση της θερμοκρασίας μέτρησης προκάλεσε την αύξηση των τιμών του. Η επιφάνεια υστέρησης εμφάνισε τις υψηλότερες τιμές στα δείγματα με προσθήκη ΚΑ. Ακολούθησαν τα δείγματα με προσθήκη ΠΟ και 5% κεφίρανης. Η μείωση της θερμοκρασίας μέτρησης, επίσης προκάλεσε την αύξηση των τιμών της επιφάνειας υστέρησης.

Περιεχόμενα	Σελίδα
1.Εισαγωγή	1
2.Βιβλιογραφική ανασκόπηση	3
2.1. Κεφίρ	3
2.2. Κόκκοι κεφίρ	3
2.3. Μικρογλωρίδα των κόκκων κεφίρ	4
2.4. Τεχνολογία παρασκευής κεφίρ	6
2.4.1. Παραδοσιακή μέθοδος	6
2.4.2. Μέθοδος που εφαρμόζεται στη βιομηχανία	7
2.4.2.1. Εκκινητές κεφίρ	7
2.4.2.2. Βιομηχανική παρασκευή κεφίρ	8
2.5. Ωφέλη στην υγεία και στην διατροφή	11
2.6. Κεφιράνη	12
2.7. Μελέτη της ρεολογικής συμπεριφοράς του κεφίρ	13
2.7.1. Δοκιμές μικρής παραμόρφωσης	13
2.7.1.1. Δυναμική δοκιμή (δοκιμή ταλάντωσης)	14
2.7.1.2. Δοκιμή ερπυσμού	17
2.7.2. Προσδιορισμός του ιξώδους	20
3. Σκοπός της εργασίας	23
4. Υλικά και μέθοδοι	24
4.1. Παρασκευή δειγμάτων	24
4.1.1. Παρασκευή δειγμάτων κεφίρ	24
4.1.2. Παρασκευή πηκτών γάλακτος με την χρήση γλουκόνου-δ-λακτόνης (GDL)	25
4.1.3. Κωδικοποίηση των δειγμάτων	26
4.2. Μελέτη της ρεολογικής συμπεριφοράς των δειγμάτων	26
4.3. Μέτρηση pH	27

4.4. Στατιστικός έλεγχος	28
5. Αποτελέσματα και συζήτηση	29
5.1. Χρόνος επώασης δειγμάτων κεφίρ	29
5.2. Μελέτη των ρεολογικών ιδιοτήτων των δειγμάτων κεφίρ	32
5.2.1. Δυναμική δοκιμή	32
5.2.2. Δοκιμή ερπυσμού	35
5.2.3. Προσδιορισμός ιξώδους	39
6. Συμπεράσματα	44
7. Βιβλιογραφία	45

1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το κεφίρ είναι ένα ζυμωμένο γαλακτοκομικό προϊόν το οποίο παράγεται με την χρήση μοναδικής φυσικής μικροχλωρίδας (κόκκοι κεφίρ). Οι κόκκοι κεφίρ αποτελούνται από βακτήρια γαλακτικού και οξικού οξέος, καθώς επίσης και ζύμες σε ένα μίγμα πρωτεϊνών-πολυσακχαριτών και οι οποίοι έχουν περιγραφεί σαν μια συμβιοτική κοινότητα που μεταδίδει μοναδικές ιδιότητες στο κεφίρ (Beshkova et al., 2002). Ο κύριος πολυσακχαρίτης, ο οποίος έχει απομονωθεί από κόκκους κεφίρ ή από κεφίρ είναι η κεφιράνη (Rimada & Abraham, 2006).

Προέλευση του κεφίρ είναι οι περιοχές γύρω από τον Καύκασο και διαφέρει από τα υπόλοιπα γαλακτοκομικά προϊόντα, επειδή δεν είναι αποτέλεσμα της μεταβολικής δραστηριότητας ενός είδους μικροοργανισμών. Το γάλα ζυμώνεται με μια ανάμεικτη μικροχλωρίδα που περιέχεται στους κόκκους κεφίρ και οι οποίοι ανακτώνται μετά τη ζύμωση (Garrote et al., 1997).

Συγκεκριμένα βακτήρια, είτε μόνα τους είτε μέσω των αλλαγών που επιφέρουν κατά την διάρκεια της ζύμωσης, έχουν βρεθεί να έχουν θετικές επιδράσεις στην υγεία, όπως και στην αντιμετώπιση ασθενειών. Το ενδιαφέρον σε τέτοια προβιοτικά είδη έχει αυξηθεί τα τελευταία χρόνια τόσο γιατί όλο και περισσότερα γίνονται γνωστά για τους μικροοργανισμούς που χρησιμοποιούνται στη διαδικασία της ζύμωσης, όσο και γιατί όλο και περισσότερο οι καταναλωτές θέλουν να βελτιώσουν την υγεία τους και να αντιμετωπίσουν διάφορες ασθένειες μέσω της διατροφής τους (Farnworth, 2005).

Τα ρεολογικά χαρακτηριστικά του κεφίρ, σε συνδυασμό με την ανάπτυξη των κύριων ομάδων μικροοργανισμών, καθορίζουν την ποιότητα του τελικού προϊόντος (Farnworth, 2005) και επομένως και την προτίμηση των καταναλωτών. Οι παράγοντες που επηρεάζουν τις ρεολογικές ιδιότητες του κεφίρ είναι η χημική σύσταση του γάλακτος, το ποσοστό προσθήκης και η σύσταση των κόκκων κεφίρ, οι συνθήκες επώασης (θερμοκρασία, χρόνος, ανακινήσεις κατά τη διάρκεια της επώασης) και αποθήκευσης (ρυθμός ψύξης, θερμοκρασία) (Farnworth, 2005). Επιπλέον, πολυσακχαρίτες, οι οποίοι παράγονται από οξυγαλακτικά βακτήρια κατά τη διάρκεια της ζύμωσης επίσης επηρεάζουν τη ρεολογική συμπεριφορά των τελικών προϊόντων (Rimada & Abraham, 2006).

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η επίδραση της προσθήκης κεφιράνης στις ρεολογικές ιδιότητες του κεφίρ. Τα δείγματα παρασκευάστηκαν χωρίς και με την προσθήκη κεφιράνης σε διαφορετικά ποσοστά (0,5%, 1,5%, 3% και 5%). Δείγματα κεφίρ παρασκευάστηκαν και με

προσθήκη συμπυκνωμάτων πρωτεϊνών ορού (ΠΟ) και καζεϊνικών αλάτων (ΚΑ) σε ποσοστό 1,5%. Η ρεολογική συμπεριφορά των δειγμάτων μελετήθηκε με τη χρήση του δυναμικού ρεομέτρου Bohlin εφαρμόζοντας τη δυναμική δοκιμή, τη δοκιμή ερπυσμού και προσδιορίζοντας το ιξώδες τους.

2. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

2.1. Κεφίρ

Το κεφίρ λαμβάνεται μετά τη ζύμωση του γάλακτος από τους μικροοργανισμούς που αποτελούν τη μικροχλωρίδα των κόκκων κεφίρ. Το κεφίρ παραγόταν για εκατοντάδες χρόνια στα σπίτια της περιοχής του Καυκάσου παραδοσιακά, μέσα σε δερμάτινα σακιά, δρυίνα βαρέλια ή πήλινα αγγεία. Πρόσθεταν φρέσκο γάλα αγελαδινό ή κατσικίσιο όταν αφαιρούταν μερικό από το ζυμωμένο. Μετά από παρατεταμένη χρήση των ίδιων περιεκτών, τα εσωτερικά τοιχώματα καλυπτόταν από αδιάλυτους στο νερό κόκκους κεφίρ. Το παραδοσιακά κατασκευασμένο κεφίρ είναι γνωστό από μια ποικιλία άλλων ονομάτων, όπως kefyg, kephir, kefer, kiaphur, keri και kirpi. Το όνομα κεφίρ προέρχεται από το Τούρκικο 'ker' που σημαίνει μεθυστικό ή ζυμωμένο. Επίσης είναι γνωστό σαν το "ποτό της ευδαιμονίας" και οι κόκκοι του κεφίρ σαν το "Κεχρί του Προφήτη", γιατί λέγεται ότι ο Προφήτης Μωάμεθ έδωσε τους κόκκους σε μια επιλεγμένη φυλή σαν σύμβολο της αιώνιας ζωής (Stepaniak & Fetlinski, 2002).

Το κεφίρ είναι ένα παχύρευστο ρόφημα, αφρίζον, ξινό με δριμεία γεύση (Ζερφυρίδης, 1996). Τα κύρια τελικά προϊόντα της ζύμωσης είναι το γαλακτικό οξύ, η ακεταλδεύδη, η ακετοΐνη, το διακετύλιο, η αιθανόλη και το διοξείδιο του άνθρακα (CO₂). Επιπλέον κατά την διάρκεια της ζύμωσης, η περιεκτικότητα σε βιταμίνες B₁, B₁₂, και K, σε ασβέστιο, σε διάφορα αμινοξέα και σε φολικό οξύ αυξάνονται στο κεφίρ. Το κεφίρ μπορεί να κατασκευαστεί από οποιοδήποτε είδος γάλακτος (αγελαδινό, κατσικίσιο, πρόβειο, καμήλας, βουβαλίσιο) και έχει τα ακόλουθα χαρακτηριστικά: pH περίπου 4,0, περιεκτικότητα σε αλκοόλη από 0,5% έως 2%, γεύση όξινη και αίσθηση αφρώδους. Η αίσθηση αφρώδους οφείλεται στο διοξείδιο του άνθρακα (CO₂) που παράγεται από την χλωρίδα των ζυμών και μπορεί να θεωρηθεί σαν η τυπική γεύση του κεφίρ. Η περιεκτικότητα το προϊόντος σε λίπους εξαρτάται από τον τύπο γάλακτος που χρησιμοποιείται (Irigoyen et al., 2005).

2.2. Κόκκοι κεφίρ

Οι κόκκοι κεφίρ εμφανίζονται σαν κομμάτια κοραλιού ή μικρές συμπαγείς μάζες κουνουπιδιού και έχουν μέγεθος από 3 έως 20mm σε διάμετρο και μοιάζουν με ζελατινώδη άσπρα ή κίτρινα σωματίδια (Otlés & Cagindi, 2003). Χαρακτηρίζονται από την ακανόνιστη μορφή, την διπλωμένη ή ανομοιόμορφη επιφάνεια και την ελαστική τους συνοχή. Οι κόκκοι

του κεφίρ είναι αποτέλεσμα ενός δυνατού και ειδικού συμβιοτικού σχηματισμού, έχουν μια ξεκάθαρη δομή και συμπεριφέρονται σαν βιολογικά ζωντανοί οργανισμοί, αναπτύσσουν διαδίδουν και μεταδίδουν τις ιδιότητες τους στους νέους κόκκους (Koroleva, 1988). Παραμένουν βιώσιμοι μεταφέροντας τους καθημερινά μέσα σε φρέσκο γάλα και επιτρέποντας τους να αναπτυχθούν για περίπου 20 ώρες, σε θερμοκρασία 20-25 °C, όπου σε αυτόν τον χρόνο αυξάνουν την μάζα τους κατά περίπου 25%. Οι γέρικοι και οι ξεροί κόκκοι έχουν μικρή ή καμία ικανότητα να αναπαραχθούν (Farnworth, 2005). Οι κόκκοι περιλαμβάνουν 85-90% νερό και η ξηρή μάζα αποτελείται από ~57% υδατάνθρακες, ~33% πρωτεΐνες, ~4% λίπος και ~6% τέφρα (Stepaniak & Fetlinski, 2002).

Παρά των μεγάλων προσπαθειών κανένας δεν κατάφερε την απόκτηση των κόκκων κεφίρ από την ανάμεικτη καλλιέργεια των μικροοργανισμών που υπάρχουν στην μικροχλωρίδα των αρχικών κόκκων. Στην πράξη νέα τμήματα κόκκων κεφίρ σχηματίζονται μέσω της διάσπασης των αρχικών κόκκων (Koroleva, 1988).

2.3 Μικροχλωρίδα των κόκκων κεφίρ

Οι κόκκοι του κεφίρ είναι πολύπλοκες κοινότητες μικροοργανισμών οι οποίες προέκυψαν από την φυσική ένωση περίπου 30 ειδών βακτηρίων και ζυμών (Stepaniak & Fetlinski, 2002). Αυτοί οι κόκκοι περιέχουν λακτοβάκιλλους, λακτόκοκκους, βακτήρια οξικού οξέος και ζύμες ενωμένα με καζεΐνη και διάφορα σάκχαρα. Όσον αφορά τις ζύμες τις διακρίνουμε σε δύο κατηγορίες, αυτές που ζυμώνουν την λακτόζη και αυτές που δεν ζυμώνουν την λακτόζη, και όσον αφορά τους λακτοβάκιλλους τους χωρίζουμε σε ομοζυμωτικούς και ετεροζυμωτικούς (Irigoyen et al., 2005). Αυτή η μικροχλωρίδα είναι αξιοσημείωτα σταθερή, διατηρώντας την δραστηριότητα της για χρόνια εφόσον διατηρείται και επωάζεται κάτω από τις κατάλληλες καλλιεργητικές και φυσιολογικές συνθήκες (Simona et al., 2002).

Τα είδη όμως και η σχέση μεταξύ τους διαφέρει από την επιφάνεια προς το κέντρο. Τα βαθύτερα στρώματα των κόκκων για παράδειγμα έχουν ζύμες που δεν ζυμώνουν τη λακτόζη ενώ οι ζύμες της επιφάνειας ζυμώνουν την λακτόζη. Τα επιφανειακά όπως και τα βαθύτερα στρώματα είναι εξίσου πλούσια σε μεσόφιλους λακτόκοκκους γαλακτικής ζύμωσης καθώς επίσης σε μεσόφιλους και θερμόφιλους, ομοζυμωτικούς και ετεροζυμωτικούς λακτοβάκιλλους γαλακτικού και οξικού οξέος (Zερφυρίδης, 1996). Συνήθως παρατηρούνται προσμίξεις στους κόκκους κεφίρ με κολοβακτηρίδια των ειδών *Geotrichum*, *Pediococcus*, *Micrococcus* και *Enterococcus* (Stepaniak & Fetlinski, 2002). Αυτά τα κολοβακτηριοειδή και άλλα παθογόνα δεν υπάρχουν στα ενδιάμεσα στρώματα των κόκκων, όμως είναι δυνατόν να

προσκολληθούν στην επιφάνεια (λόγω επιμολύνσεων) απ' όπου όμως μπορούν να απομακρυνθούν με επανειλημμένες εκπλύσεις με αποστειρωμένο νερό.

Πιο συγκεκριμένα η μικροχλωρίδα των κόκκων αποτελείται από τις εξής κατηγορίες μικροοργανισμών.

Λακτόκοκκοι: Είναι οι *Streptococcus lactis*, *S. cremoris* και πολλές φορές *S. durans*. Είναι ομοζυμωτικοί, μεσόφιλοι και παράγουν γαλακτικό οξύ με γρήγορο ρυθμό στα αρχικά στάδια (Ζερφυρίδης, 1996). Αναστέλλεται η δράση τους σε υψηλά επίπεδα οξύτητας (Koroleva, 1988). Στους λακτόκοκκους περιλαμβάνονται επίσης οι *Leuconostoc mesenteroides* και *L. dextranicum* οι οποίοι είναι ετεροζυμωτικοί, μεσόφιλοι που συμβάλουν στην γεύση και το άρωμα του κεφίρ (Ζερφυρίδης, 1996). Παρ' όλα αυτά εαν ή ανάπτυξη τους είναι υπερβολική παρατηρείται σχηματισμός αερίου. Τα στελέχη του *L. dextranicum* ενεργοποιούνται σε υψηλές θερμοκρασίες και με την παρουσία υψηλού αριθμού ζυμών (Koroleva, 1988).

Λακτοβάκιλλοι: Διάφορα είδη λακτοβάκιλλων υπάρχουν στους κόκκους κεφίρ. Ο αριθμός των μεσόφιλων λακτοβάκιλλων δεν υπερβαίνει τα 10^2 - 10^3 / ml (Koroleva, 1988). Κυρίαρχα είδη είναι ο *Lactobacillus brevis* ετεροζυμωτικός, ο *L. casei* προαιρετικά ετεροζυμωτικός, μεσόφιλος και οι *L. bulgaricus* και *L. helveticus* ομοζυμωτικοί θερμόφιλοι (Ζερφυρίδης, 1996). Οι ομοζυμωτικοί λακτοβάκιλλοι κυριαρχούν των ετεροζυμωτικών ειδών *Lactobacillus* (Stepaniak & Fetlinski, 2002).

Βακτήρια οξικού οξέος: Είναι τα *Acetobacter aceti* και *A. Rascens*, τα οποία παράγουν οξικό οξύ κατά την ζύμωση του γάλακτος και παίζουν ρόλο στην συμβίωση των μικροοργανισμών του κεφίρ (Ζερφυρίδης, 1996). Επίσης εμφανίζεται και ο *Acetobacter pasteurianus* που μπορεί να παίζει σημαντικό ρόλο στην βελτίωση της γεύσης και την συνοχή του κεφίρ αυξάνοντας το ιξώδες του (Stepaniak & Fetlinski, 2002).

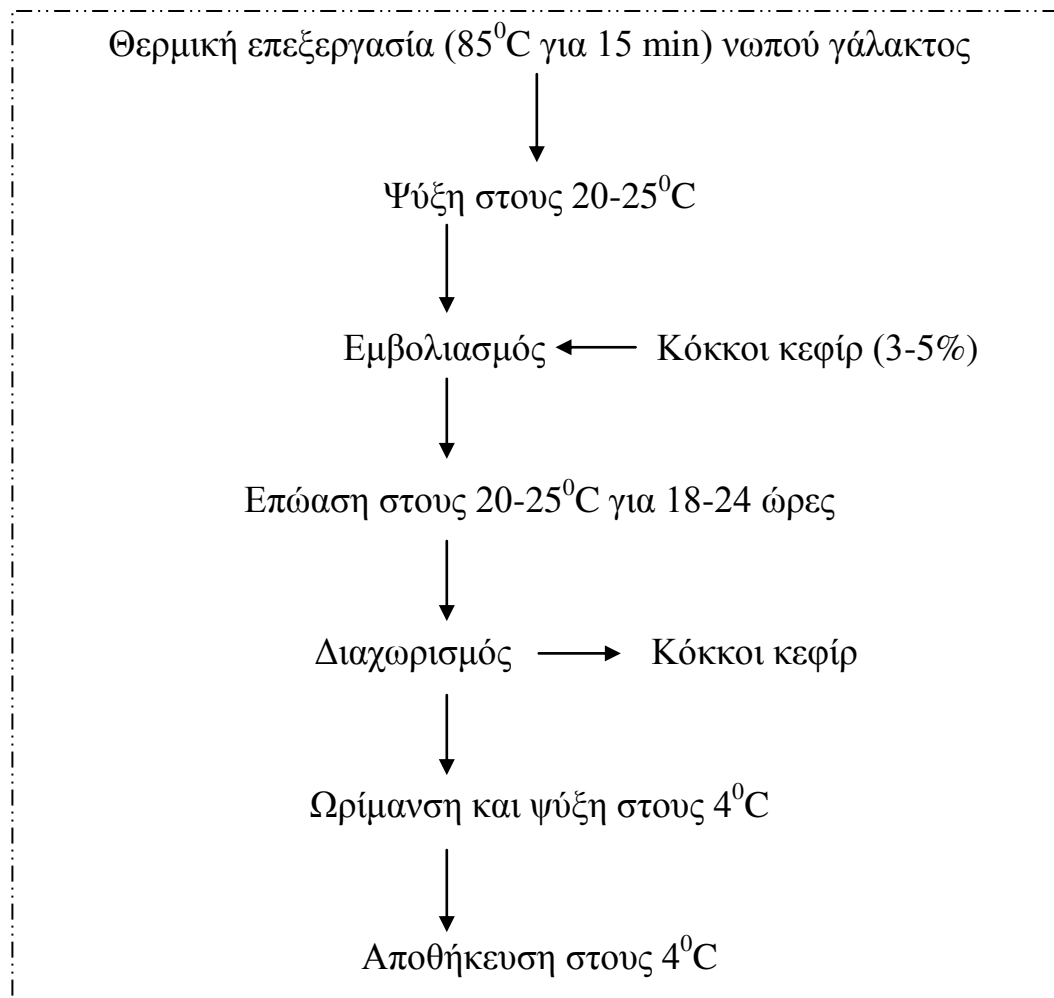
Ζύμες: Οι ζύμες που ταυτοποιήθηκαν ήταν οι *Kluyveromyces marxianus*, *Saccharomyces cerevisiae* και *Candida kefir*. Προάγουν την συμβίωση της μικροχλωρίδας, την παραγωγή CO₂ και συμβάλλουν πολύ στη χαρακτηριστική γεύση και οσμή του κεφίρ (Ζερφυρίδης, 1996). Επίσης εμφανίζεται και η ζύμη *Torulaspora delbrueckii*. Η υπερβολική τους ανάπτυξη μπορεί να προκαλέσει υψηλά επίπεδα σχηματισμού αερίων στο προϊόν και συνεπώς προβλήματα συσκευασίας (Koroleva, 1988).

2.4. Τεχνολογία παρασκευής κεφίρ

Υπάρχουν διάφορες μέθοδοι παραγωγής κεφίρ. Χρησιμοποιούνται τόσο οι παραδοσιακές όσο και βιομηχανικές μέθοδοι και επίσης συγχρόνως οι επιστήμονες τροφίμων μελετούν νέες τεχνικές για να παράγουν κεφίρ με τα ίδια χαρακτηριστικά με αυτά που βρέθηκαν στο παραδοσιακό κεφίρ. Το κεφίρ μπορεί να παραχθεί από οποιοδήποτε τύπο γάλακτος, αγελαδινό, κατσικίσιο, πρόβειο, καρύδας, ρυζιού και σόγιας. Υπάρχουν πολλές επιλογές για το γάλα παστεριωμένο, μη παστεριωμένο, πλήρες, χαμηλών λιπαρών, αποβουτυρωμένο και άπαχο (Ottles & Cagindi, 2003).

2.4.1. Παραδοσιακή μέθοδος

Η παραδοσιακή μέθοδος παραγωγής κεφίρ λαμβάνει χώρα με την απευθείας προσθήκη κόκκων κεφίρ στο γάλα (Σχήμα 2.1). Το χρησιμοποιούμενο γάλα είναι συνήθως αγελαδινό αλλά μπορεί να είναι και οποιοδήποτε άλλο είδος γάλακτος. Επίσης μπορεί να χρησιμοποιηθεί πλήρες ή και ημιαποβουτυρωμένο. Το νωπό γάλα υπόκειται σε θερμική επεξεργασία των 85°C για 15 λεπτά και στην συνέχεια ψύχεται στους 20-25°C. Ακολουθεί εμβολιασμός με κόκκους κεφίρ σε ποσοστό 3-5% και επώαση στους 20-25°C για 18-24 ώρες (Ζερφυρίδης, 1996; Ottles & Cagindi, 2003). Σε αυτό το χρονικό διάστημα πραγματοποιείται η ζύμωση του γάλακτος, όπου κατά την διάρκεια της οι ομοζυμωτικοί γαλακτικοί λακτόκοκκοι αναπτύσσονται ραγδαία και προκαλούν τη αρχική μείωση στην τιμή του pH. Η μείωση του pH ευνοεί την ανάπτυξη των λακτοβάκιλλων, αλλά προκαλεί την μείωση του αριθμού των λακτόκοκκων. Η παρουσία των ζυμών στο μείγμα, μαζί με την θερμοκρασία ζύμωσης, ενθαρρύνουν την ανάπτυξη των ετεροζυμωτικών λακτόκοκκων που παράγουν άρωμα. Καθώς προχωράει η ζύμωση, η ανάπτυξη των γαλακτικών βακτηρίων ευνοείται από την ανάπτυξη των ζυμών και των βακτηρίων του οξικού οξέος (Farnworth, 2005). Επειδή οι κόκκοι του κεφίρ δεν κατανέμονται ομοιόμορφα σ' όλη την μάζα του γάλακτος γίνεται ανακίνηση του γάλακτος, συνήθως μαζί με τον περιέκτη του, κατά την επώαση 2-3 φορές, πράγμα που βοηθά την ομοιόμορφη ανάπτυξη οξύτητας αλλά επιταχύνει και την ανάπτυξη της καλλιέργειας, η οποία έτσι βρίσκεται στο κεφίρ σε μεγαλύτερους αριθμούς μικροοργανισμών. Μετά από την ζύμωση, οι κόκκοι διαχωρίζονται από το γάλα με διήθηση και αποθηκεύονται σε γάλα μέχρι να χρησιμοποιηθούν σε επόμενο εμβολιασμό. Το κεφίρ αποθηκεύεται στους 4°C για ένα χρονικό διάστημα και μετά είναι έτοιμο για κατανάλωση (Ζερφυρίδης, 1996; Ottles & Cagindi, 2003).



Σχήμα 2.1: Παραδοσιακή μέθοδος παρασκευής κεφίρ (Ζερφυρίδης, 1996; Otles & Cagindi, 2003).

2.4.2. Μέθοδος που εφαρμόζεται στη βιομηχανία

Λόγω της μεγάλης ποσότητας κατά την βιομηχανική παραγωγή, οι κόκκοι του κεφίρ χρησιμοποιούνται για την παραγωγή της καλλιέργειας, η οποία συγκεντρώνεται σε δεξαμενή και χρησιμοποιείται σαν καλλιέργεια (πρώτο κεφίρ) σε ποσοστό μέχρι 3% στο γάλα για την μαζική παραγωγή του κεφίρ.

2.4.2.1. Εκκινητές κεφίρ

Ένας εκκινητής κεφίρ (πρώτο κεφίρ) για να θεωρείται κατάλληλα προετοιμασμένος πρέπει να έχει την σύσταση που φαίνεται στον Πίνακα 2.1.

Πίνακας 2.1: Σύσταση ενός κατάλληλα προετοιμασμένου εκκινητή κεφίρ (Koroleva, 1988).

Μικροοργανισμοί	Σύσταση ανά mL
Ομοζυμωτικοί μεσόφιλοι γαλακτικοί στρεπτόκοκκοι	10^8-10^9
Θερμόφιλοι λακτοβάκιλλοι	10^5
Ετεροζυμωτικοί γαλακτικοί στρεπτόκοκκοι	10^7-10^8
Ζύμες	10^5-10^6
Βακτήρια οξικού οξέος	10^5-10^6
Οξύτητα	$105-110^0\text{N}$

Οι κύριες απαιτήσεις για την προετοιμασία ενός εκκινητή με την παραπάνω μικροβιακή σύνθεση είναι ότι το γάλα πρέπει να είναι ανανεωμένο κάθε μέρα την ίδια ώρα, η αναλογία των κόκκων:γάλα πρέπει να διατηρείται στην κλίμακα 1:30 με 1:50 και 2-3 αναδεύσεις κατά την διάρκεια της διαδικασίας της καλλιέργειας είναι απαραίτητες.

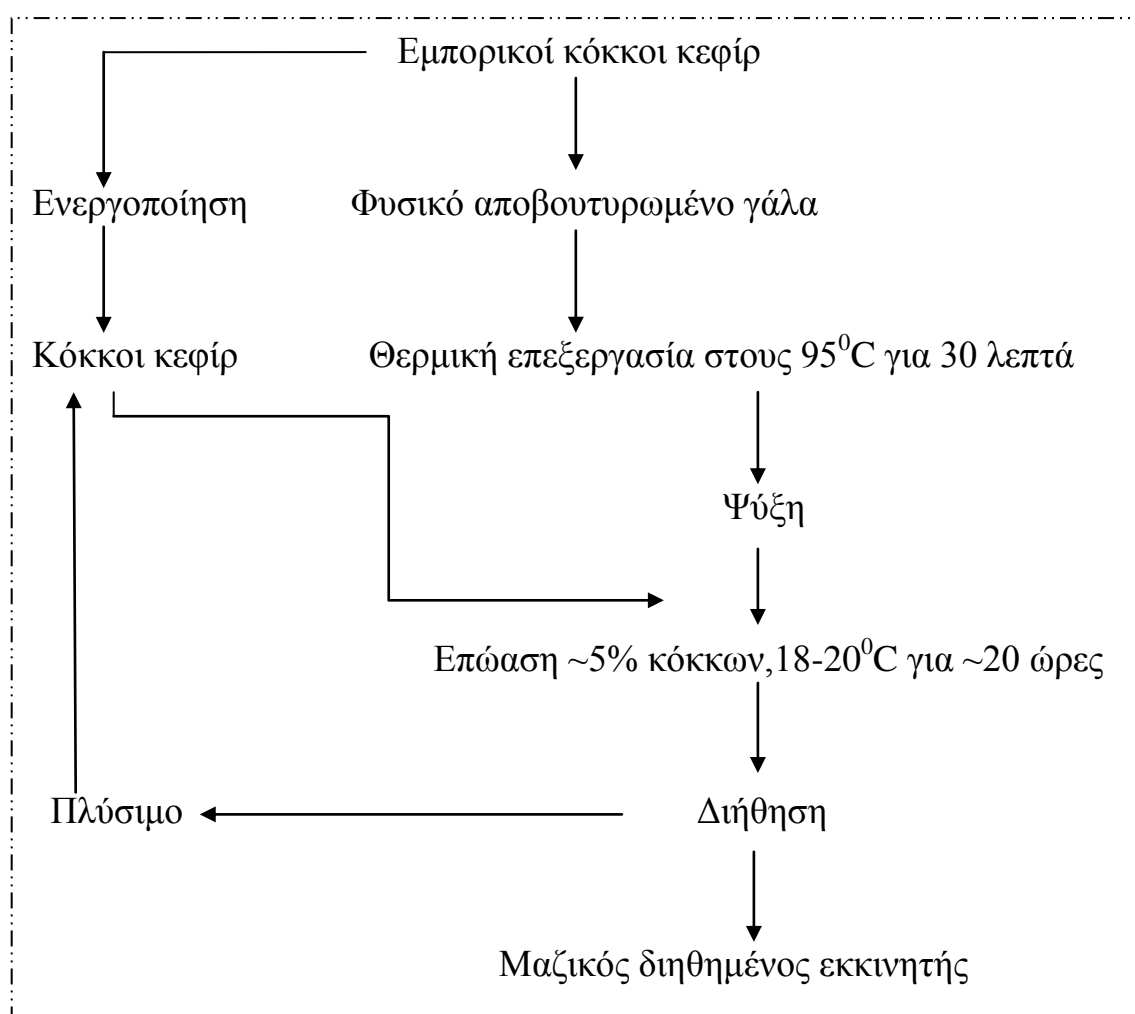
Ο εκκινητής κεφίρ που προετοιμάζεται με κόκκους κεφίρ έχει ιδιότητες που είναι πολύ σημαντικές για την παρασκευή, επειδή οι συνθήκες για μια συμβiotική ανάπτυξη της μικροχλωρίδας είναι οι βέλτιστες. Ο εκκινητής είτε επηρεάζεται από εποχιακές διακυμάνσεις στην ποιότητα του γάλακτος είτε από την παρουσία των φυσικά ανιχνευόμενων ποσοτήτων αντιβιοτικών ή άλλων παρεμποδιστών στο γάλα (Koroleva, 1988). Η παρασκευή ενός εκκινητή κεφίρ εμφανίζεται στο Σχήμα 2.2.

Το κεφίρ που παρασκευάζεται με εκκινητές από κόκκους κεφίρ έχει την τυπική γέυση και το άρωμα και, περαιτέρω, είναι δυνατή η παρασκευή κεφίρ ακόμα και σε βιομηχανική κλίμακα μόνο με την χρήση αυτών των εκκινητών (Koroleva, 1988).

2.4.2.2. Βιομηχανική παρασκευή κεφίρ

Το γάλα για την παρασκευή κεφίρ υπόκειται σε μικροβιολογικό, οργανοληπτικό και φυσικοχημικό έλεγχο. Επίσης είναι σημαντικό το περιεχόμενο των ολικών στερεών του γάλακτος να μην ξεπερνάει το 8%, για αυτόν τον λόγο το πρώτο βήμα πριν την εκκίνηση της

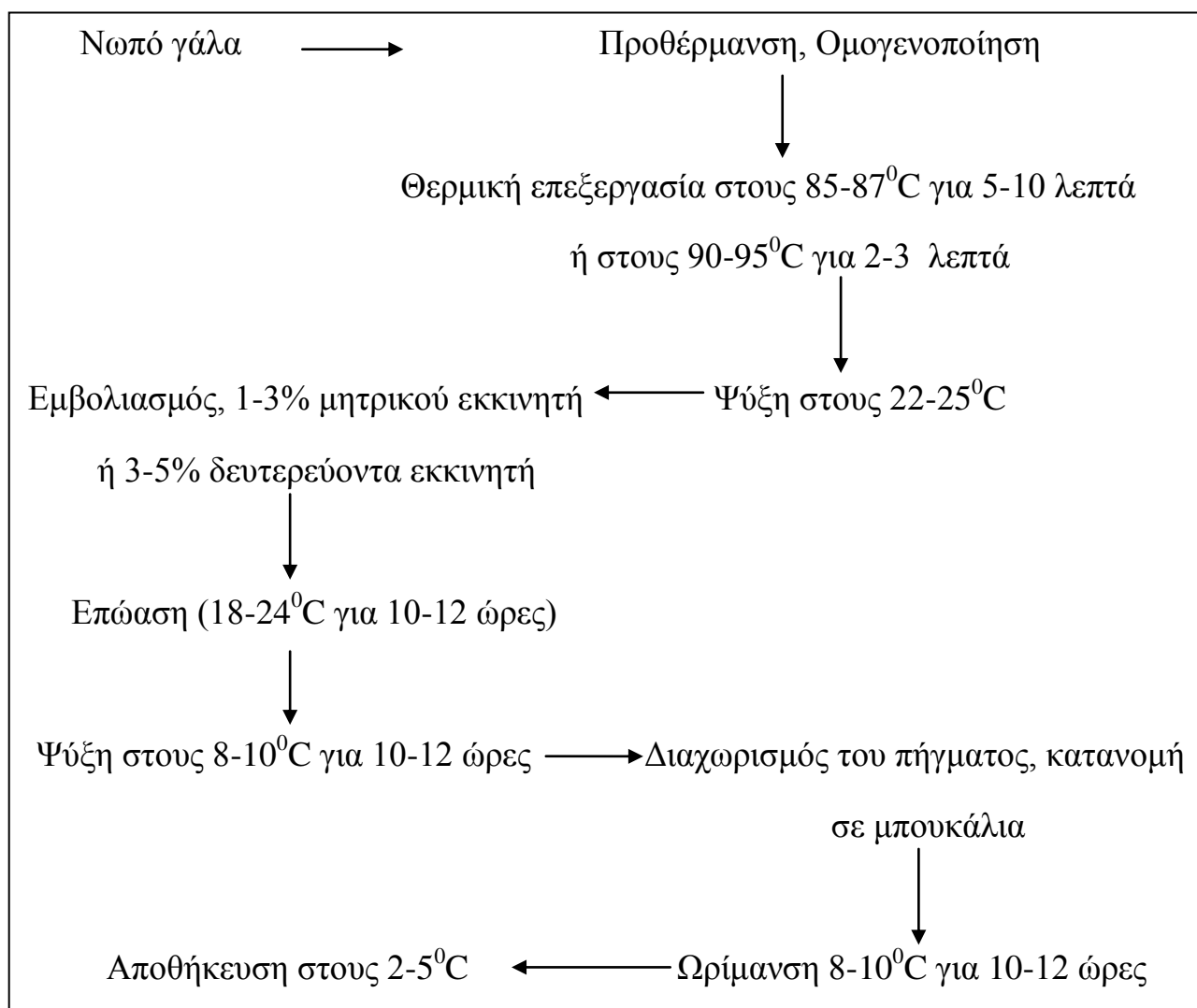
παραγωγής είναι η ομογενοποίηση του γάλακτος στα 12,5 με 17,5 MPa. Στην συνέχεια υφίσταται θερμική επεξεργασία στους 85-87⁰C για 5-10 λεπτά ή στους 90-95⁰C για 2-3 λεπτά και ψύχεται στους 22-25⁰C, για να εμβολιαστεί με 1-3% πρωταρχικού (μητρικού) εκκινητή ή 3-5% δευτερεύοντα εκκινητή. Ο πρωταρχικός εκκινητής λαμβάνεται μετά τον διαχωρισμό των κόκκων κεφίρ, όπως περιγράφηκε και στο Σχήμα 2.2, και ο δευτερεύων εκκινητής (δεύτερο κεφίρ) λαμβάνεται με την επώαση του γάλακτος εμβολιασμένο με τον πρωταρχικό εκκινητή.



Σχήμα 2.2. Προετοιμασία του εκκινητή κεφίρ (Stepaniak & Fetlinski, 2002)

Η ζύμωση διαρκεί 8-12 ώρες μέχρι η οξύτητα του πηγματος να φτάσει τους 90-100⁰N στους 18-24⁰C και στην συνέχεια αναδεύεται και ψύχεται σιγά σε 10-12 ώρες στους 8-10⁰C, άρα ο συνολικός χρόνος ζύμωσης είναι 20-24 ώρες. Σε πιθανές αυξημένες θερμοκρασίες (25-27⁰C) η επιθυμητή οξύτητα φτάνει στο επιθυμητό επίπεδο σε 6-8 ώρες, αλλά σε αυτές τις θερμοκρασίες οι ετεροζυμωτικοί γαλακτικοί λακτόκοκκοι και οι ζύμες δεν αναπτύσσονται και η γεύση του προϊόντος είναι άτυπη, το ίδιο εμφανίζεται και όταν γίνει η ψύξη του

πήγματος απευθείας στους 8-10⁰C. Το πήγμα διαχωρίζεται με ειδικές συσκευές διαχωρισμού και κατανέμεται σε μπουκάλια, αλλά δεν πρέπει να υπόκειται σε σκληρή μηχανική επεξεργασία κατά την διάρκεια του γεμίσματος και για αυτόν τον λόγο η απόσταση μεταξύ της δεξαμενής επεξεργασίας και του γεμιστικού μηχανήματος πρέπει να είναι η μικρότερη δυνατή και ακόμα πρέπει να επιλεγτούν κατάλληλες αντλίες για την μεταφορά του προϊόντος. Ακολουθεί η ωρίμανση του κεφίρ στους 8-10⁰C για 10-12 ώρες, επειδή κατά την βιομηχανική παρασκευή μας ενδιαφέρει η οικονομία χώρων, εξοπλισμού και χρόνου. Σε αυτόν τον χρόνο το προϊόν αποκτά επαρκή συνεκτικότητα καθώς και την ειδική γεύση και άρωμα. Τέλος το κεφίρ αποθηκεύεται και διατηρείται μέχρι να διατεθεί στους 2-5⁰C. Η βιομηχανική παρασκευή του κεφίρ φαίνεται στο Σχήμα 2.3.



Σχήμα 2.3: Βιομηχανική παρασκευή του κεφίρ (Stepaniak & Fetlinski, 2002.; Otlis & Cagindi, 2003).

Η συνοχή του τελικού προϊόντος επηρεάζεται από την περιεκτικότητα σε ολικά στερεά του γάλακτος, τις συνθήκες παστερίωσης που διευκολύνουν την μετουσίωση των πρωτεϊνών ορρού γάλακτος, την έγκλειση του ορρού γάλακτος στο πήγμα και την ομογενοποίηση. Τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του τελικού προϊόντος επηρεάζονται από την ποσότητα του εμβολίου και το είδος του εκκινητή (Koroleva, 1988).

Επειδή παρατηρείται μερική παραγωγή αιθανόλης και CO₂ κατά την διάρκεια της ωρίμανσης και της αποθήκευσης μπορεί να λάβει χώρα σκάσιμο των πλαστικών ή των χάρτινων περιεκτών, για αυτόν τον λόγο αναπτύχθηκαν συσκευασίες διαπερατές στο CO₂ (Ζερφυρίδης, 1996.; Koroleva, 1988.; Stepaniak & Fetlinski, 2002.; Otles & Cagindi, 2003).

2.5. Ωφέλη στην υγεία και στην διατροφή

Περισσότερο από εκατό χρόνια κατανάλωσης έδειξαν ότι το προϊόν παρουσιάζει πολλά θετικά στοιχεία απέναντι στην υγεία και στην διατροφή του ανθρώπου, τα οποία έγιναν γνωστά κυρίως από έρευνες που πραγματοποιήθηκαν στις Ανατολικές Ευρωπαϊκές χώρες και κυρίως την πρώην Σοβιετική Ένωση. Τα θετικά χαρακτηριστικά του κεφίρ στην υγεία και στην διατροφή αναγράφονται παρακάτω (Koroleva, 1988.; Stepaniak & Fetlinski, 2002.; Otles & Cagindi, 2003.; Farnworth, 2005).

- ❖ **Πεπτικό σύστημα:** Κατά την διάρκεια της ανάπτυξης της μικροχλωρίδας του κεφίρ σχηματίζεται CO₂ που συντελεί στην δημιουργία λεπτοτεμαχισμένου πηγματος με αποτέλεσμα να έρχεται αυτό σε καλύτερη επαφή με τα πεπτικά υγρά και να αφομοιώνεται καλύτερα. Επίσης το CO₂ σε συνδυασμό με τα άλατα ασβεστίου διευκολύνει επίσης την ούρηση. Για αυτόν τον λόγο η κατανάλωση του κεφίρ μπορεί να βοηθήσει στην ανακούφιση όλων των εντερικών διαταραχών, την προώθηση της κινητικότητας του εντέρου, την μείωση της αίσθησης του φουσκώματος και την δημιουργία ενός υγιέστερου πεπτικού συστήματος. Επίσης λόγω της παρουσίας των μικροοργανισμών η κατανάλωση του κεφίρ προάγει την έκκριση ενζύμων από το στομάχι και το πάγκρεας και έτσι διευκολύνει την πέψη και τις περισταλτικές κινήσεις του εντέρου και ως εκ τούτου την διέλευση των τροφών από το έντερο.
- ❖ **Δυσανεξία στην λακτόζη :** Δυσανεξία στην λακτόζη ονομάζουμε την ανικανότητα του ανθρώπινου οργανισμού να πέψει την λακτόζη (κύριο σάκχαρο του γάλακτος) εξαιτίας της ανεπαρκούς εντερικής δραστηριότητας της γαλακτοζιδάσης (λακτάσης). Όμως η αφθονία του κεφίρ σε ευεργετικές ζύμες και βακτήρια παρέχει την λακτάση στον οργανισμό, με αποτέλεσμα αυτή να καταναλώνει το μεγαλύτερο μέρος της

περίσσειας λακτόζης. Έτσι τα άτομα που είναι δυσανεκτικά στην λακτόζη δεν εμφανίζουν ή εμφανίζουν σε μικρότερο βαθμό φαινόμενα ναυτίας, κράμπες, φούσκωμα και διάρροια.

- ❖ Υψηλά επίπεδα βιταμίνης B1, B2 και φολικού οξέος, αλλά και δυνατότητα σχηματισμού βιταμινών της ομάδας B.
- ❖ Αντιμικροβιακές ιδιότητες: Υπάρχουν δεδομένα που δείχνουν ότι πολλοί λακτοβάκιλλοι είναι ικανοί να παράγουν ένα ευρύ φάσμα αντιμικροβιακών ουσιών, περιλαμβάνοντας οργανικά οξέα (γαλακτικό και οξικό οξύ), διοξείδιο του άνθρακα, υπεροξείδιο του υδρογόνου, αιθανόλη, διακετύλιο και πεπτίδια και μπορούν να ωφελήσουν όχι μόνο στην μείωση των τροφιμογενών παθογόνων μικροοργανισμών και των βακτηρίων που προκαλούν αλλοιώσεις κατά την διάρκεια της παραγωγής και της αποθήκευσης των τροφίμων. Επίσης λόγω των βακτηρίων του οξικού οξέος και των ζυμών στην μικροχλωρίδα, το κεφίρ έχει μια υψηλή αντιβιοτική δραστηριότητα έναντι εξωτερικών εντερικών μικροοργανισμών.
- ❖ Μείωση χοληστερόλης: Το κεφίρ παίζει σημαντικό ρόλο στον έλεγχο των υψηλών επιπέδων χοληστερόλης προστατεύοντας με αυτόν τον τρόπο τον άνθρωπο από καρδιαγγειακές βλάβες.
- ❖ Αντικαρκινικές ιδιότητες: Υπάρχουν αποδείξεις για την αντικαρκινική δραστηριότητα του κεφίρ. Ωστόσο αναφέρθηκε η ανάγκη για χρήση διαμεσολαβιτή-ξενιστή λόγω της μη ικανότητας για απευθείας εργαστηριακή επίδραση στα κύτταρα του καρκίνου.

2.6. Κεφιράνη

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

Έχει αναφερθεί ότι η κεφιράνη κατέχει αντιβακτηριακή και αντικαρκινική δραστηριότητα, βοηθάει στην ρύθμιση του ανοσοποιητικού συστήματος του εντέρου και επίσης προστατεύει τα επιθηλιακά κύτταρα από τον *Bacillus cereus* και από εξωτερικούς παράγοντες. Οι ιδιότητες της αυτές της προσδίδουν την ιδιότητα του λειτουργικού πρόσθετου. Επιπλέον η κεφιράνη μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν τροποποιητής υφής σε ζυμωμένα προϊόντα γάλακτος εφ' όσον έρευνες έχουν δείξει ότι ενισχύει τις ρεολογικές ιδιότητες των όξινων

πηκτών αποβουτυρωμένου γάλακτος με τη χρήση γλούκονο-δ-λακτόνης (GDL) (Rimada & Abraham,2006).

2.7. Μελέτη της ρεολογικής συμπεριφοράς του κεφίρ

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

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

Δεδομένου ότι το κεφίρ μετά την ολοκλήρωση της πήξης πολτοποιείται, το προϊόν θεωρείται ως ρευστό, οπότε για τη μελέτη της ρεολογικής συμπεριφοράς του είναι δυνατόν να προσδιοριστεί το ιξώδες του. Επίσης, για τη μελέτη των ρεολογικών ιδιοτήτων του κεφίρ μπορούν να εφαρμοστούν και δοκιμές μικρής παραμόρφωσης, οι οποίες θα δώσουν πληροφορίες για τους δεσμούς που κυριαρχούν στο πρωτεϊνικό πλέγμα του προϊόντος.

2.7.1 Δοκιμές μικρής παραμόρφωσης

Στις δοκιμές μικρής παραμόρφωσης το υλικό μπορεί να συμπιεσθεί στα όρια της γραμμικής του ελαστικότητας (Steffe, 1996), δηλαδή να θραυσθεί ένας αριθμός από τους πλέον ασθενείς δευτερεύοντες δεσμούς κατά τη διάρκεια της παραμόρφωσης του υλικού οι οποίοι όμως ξαναδημιουργούνται με την άρση εφαρμογής της τάσης. Για την εκτίμηση της ρεολογικής συμπεριφοράς του κεφίρ θα περιγραφούν δύο δοκιμές, οι οποίες περιγράφουν τον ιξωδοελαστικό χαρακτήρα των υλικών.

2.7.1.1. Δυναμική δοκιμή (δοκιμή ταλάντωσης)

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

$$\gamma = \gamma_o \sin(\omega t) \quad (2.1)$$

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

Οπότε, στη περίπτωση αυτή ο περιοδικός ρυθμός διάτμησης προκύπτει από τη σχέση (2.1) ως παράγωγος της παραμόρφωσης γ

$$\frac{d\gamma}{dt} = \dot{\gamma} = \frac{d(\gamma_o \sin(\omega t))}{dt} \quad (2.2)$$

η οποία μετατρέπεται σε

$$\dot{\gamma} = \gamma_o \omega \cos(\omega t) \quad (2.3)$$

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

$$\sigma = \sigma_o \sin(\omega t + \delta) \quad (2.4)$$

όπου σ_0 είναι το πλάτος της διατμητικής τάσης και δ είναι η καθυστέρηση φάσης ή μετατόπιση φάσης. Αν αμφότεροι οι όροι της εξίσωσης διαιρεθούν με γ_0 προκύπτει

$$\frac{\sigma}{\gamma_0} = \left[\frac{\sigma_0}{\gamma_0} \right] \sin(\omega t + \delta) \quad (2.5)$$

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

$$\sigma = G' \gamma + (G'' / \omega) \dot{\gamma} \quad (2.6)$$

όπου G' ονομάζεται συντελεστής ελαστικότητας διάτμησης (shear storage / elastic modulus) και G'' ονομάζεται συντελεστής απώλειας διάτμησης (shear loss / viscous modulus) ή συντελεστής ιξώδους και αμφότεροι είναι συναρτήσεις της συχνότητας και μπορούν να εκφραστούν ως λόγος πλάτους και μετατόπισης φάσης δηλαδή

$$G' = \left[\frac{\sigma_0}{\gamma_0} \right] \cos(\delta) \quad (2.7)$$

και

$$G'' = \left[\frac{\sigma_0}{\gamma_0} \right] \sin(\delta) \quad (2.8)$$

Το $G' \gamma_0$ μπορεί να ερμηνευθεί ως το μέρος της τάσης σε φάση με τη παραμόρφωση και το $G'' \gamma_0$ το μέρος της τάσης που είναι κατά 90° εκτός φάσης με τη παραμόρφωση. Άλλες παράμετροι περιλαμβάνουν:

το μιγαδικό συντελεστή (complex modulus, G^*),

$$G^* = \left[\frac{\sigma_0}{\gamma_0} \right] = \sqrt{(G')^2 + (G'')^2} \quad (2.9)$$

και το μιγαδικό ιξώδες η^* (complex viscosity)

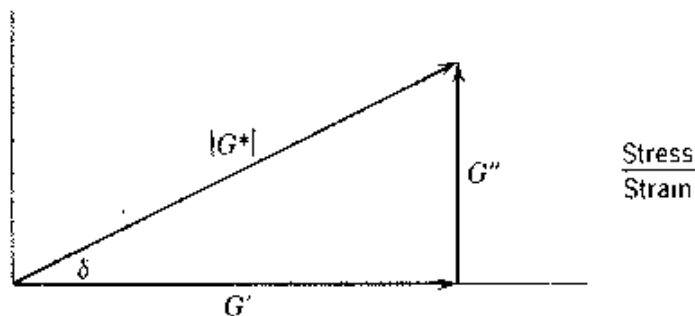
$$\eta^* = \frac{G^*}{\omega} = \sqrt{(\eta')^2 + (\eta'')^2} \quad (2.10)$$

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

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

$$\tan(\delta) = G''/G' \quad (2.11)$$

Η παράμετρος αυτή εκφράζει το λόγο της απώλειας ενέργειας ανά κύκλο ταλάντωσης προς την ενέργεια που αποθηκεύεται, ανά κύκλο ταλάντωσης (Σχήμα 2.4).

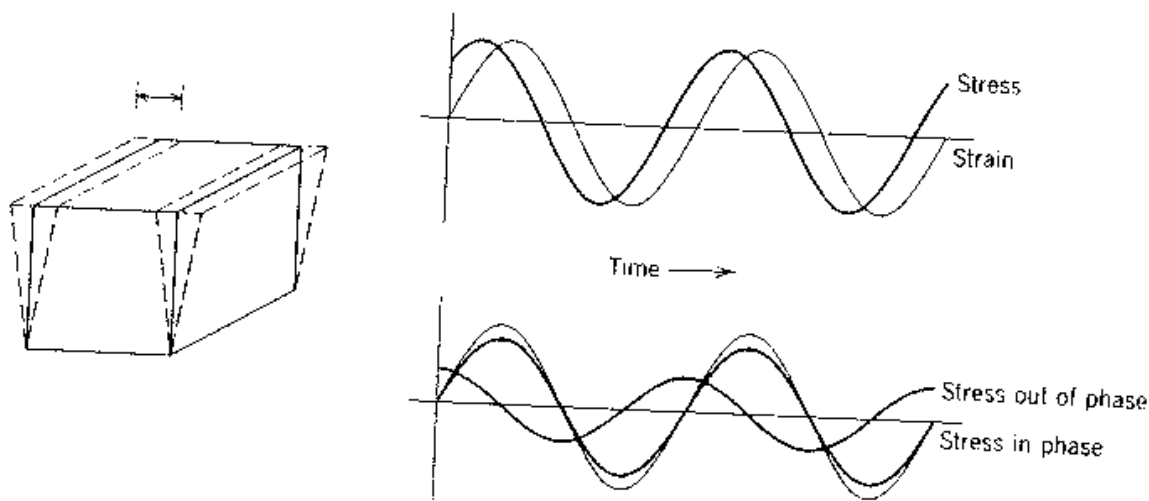


Σχήμα 2.4: Διανυσματική ανάλυση των συντελεστών απώλειας διάτμησης και ελαστικότητας διάτμησης σε ημιτονοειδή διάτμηση (Ferry, 1980).

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

Για καλύτερη κατανόηση της φυσικής σημασίας των παραμέτρων αυτών θα αναφερθεί η συμπεριφορά των ιδανικών στερεών υλικών (Hookean solids) και των ιδανικών υγρών υλικών (Newtonian liquids). Η ρεολογική συμπεριφορά των στερεών χαρακτηρίζεται από το

ότι η τάση με τη παραμόρφωση είναι σε φάση και η γωνία δ έχει τιμή μηδέν. Οπότε G'' και η' είναι μηδέν γιατί δεν υπάρχει καμιά απώλεια ενέργειας λόγω απουσίας του ιξώδους και το G' είναι σταθερό και ίσο με το συντελεστή διάτμησης G . Η ρεολογική συμπεριφορά των υγρών χαρακτηρίζεται από το ότι η τάση με τη παραμόρφωση είναι εκτός φάσης κατά 90° . Σε αυτή την περίπτωση το G' και το η'' είναι μηδέν γιατί το υλικό δεν έχει την ιδιότητα να αποθηκεύει ενέργεια. Οπότε, το η' είναι ίσο με το νευτώνειο ιξώδες (Σχήμα 2.5).



Σχήμα 2.5: Γεωμετρία και χρονικό προφίλ ενός απλού πειράματος διάτμησης με ημιτονοειδή διάτμηση (Ferry, 1980).

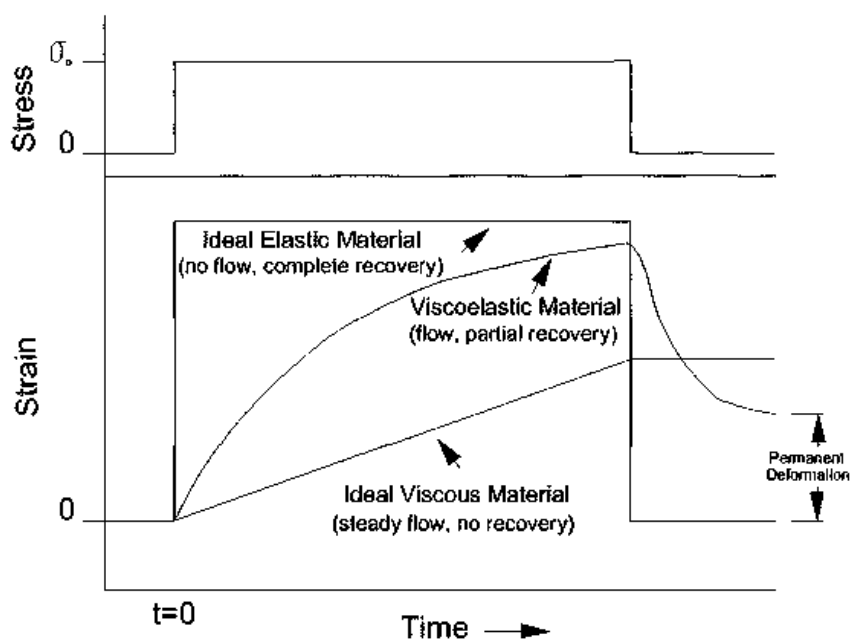
2.7.1.2 Δοκιμή ερπυσμού

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. Επιπλέον, υπό προϋποθέσεις μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον υπολογισμό του μέσου μοριακού βάρους των μεγαλομορίων του υπό μελέτη συστήματος.

Η δοκιμή ερπυσμού μπορεί να γίνει είτε υπό καθεστώς διάτμησης είτε υπό καθεστώς μονοαξονικής συμπίεσης ή εφελκυσμού.

Στη περίπτωση της διάτμησης, στο δείγμα που βρίσκεται μεταξύ δύο πλακών εφαρμόζεται αιφνίδια καθορισμένη τάση (το μέγεθος της οποίας έχει προϋπολογισθεί ώστε να βρίσκεται εντός των ορίων της γραμμικής ελαστικότητας). Η τάση ασκείται για ορισμένο χρονικό διάστημα κατά το οποίο το δείγμα έρπει ανάλογα με τον τύπο του δηλαδή αν είναι πυκνό διάλυμα, πηκτή ή στερεό, και κατόπιν η τάση παύει να ασκείται και το δείγμα επανακάμπτει δομικά στη προηγούμενη κατάσταση του είτε ολοκληρωτικά, αν πρόκειται για στερεό

(ελαστικό), είτε εν μέρει, αν πρόκειται για πηκτή (ιξωδοελαστικό), είτε και καθόλου αν πρόκειται για πυκνό διάλυμα (ιξώδες). (Σχήμα 2.6).



Σχήμα 2.6: Καμπύλες ερπυσμού και επανάκαμψης (Steffe, 1996).

Τα πειραματικά δεδομένα από τη δοκιμή ερπυσμού μπορούν περιγραφούν από την ακόλουθη συνάρτηση

$$J = f(t) = \gamma / \sigma_{\text{const}} \quad (2.12)$$

όπου J , είναι η υποχώρηση του δείγματος λόγω ερπυσμού (creep compliance) ,

γ , είναι η παραμόρφωση του δείγματος και

σ , είναι η εφαρμοζόμενη τάση διάτμησης για χρόνο t

Όταν το υλικό είναι τέλεια ελαστικό τότε

$J = 1/G$, δηλαδή είναι το αντίστροφο του συντελεστή ελαστικότητας

Για ένα ιξωδοελαστικό υλικό η γενική σχέση (Steffe, 1996) που περιγράφει τη δοκιμή του ερπυσμού είναι

$$J(t) = J_o + \sum_{r=1}^m [J_r [1 - \exp(\frac{-t}{\lambda_{ret}})]] + \frac{t}{\mu_o} \quad (2.13)$$

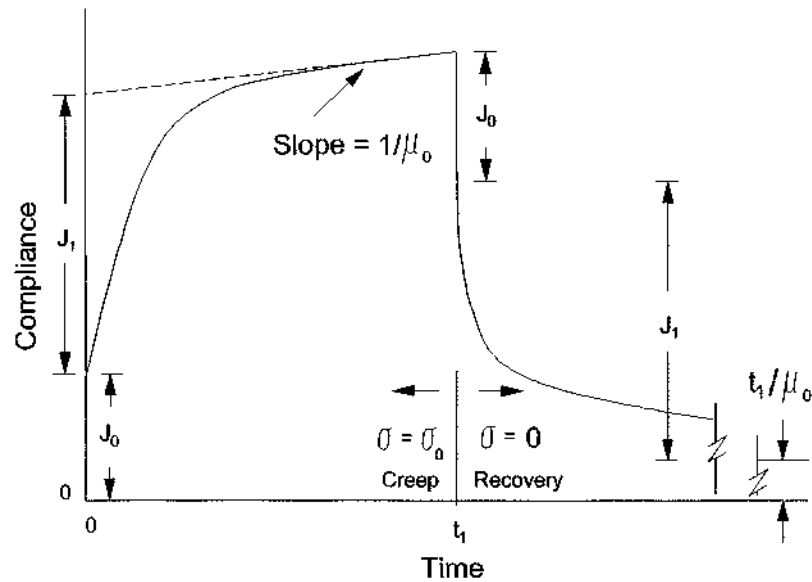
όπου J_o , είναι η στιγμιαία υποχώρηση (instantaneous compliance),

J_r , είναι η επιβραδυνόμενη υποχώρηση (retarded compliance),

λ_{ret} , είναι ο χρόνος επιβράδυνσης

μ_o , είναι το νευτώνειο ιξώδες

Η παραπάνω σχέση γραφικά παριστάνεται με το Σχήμα 2.7.

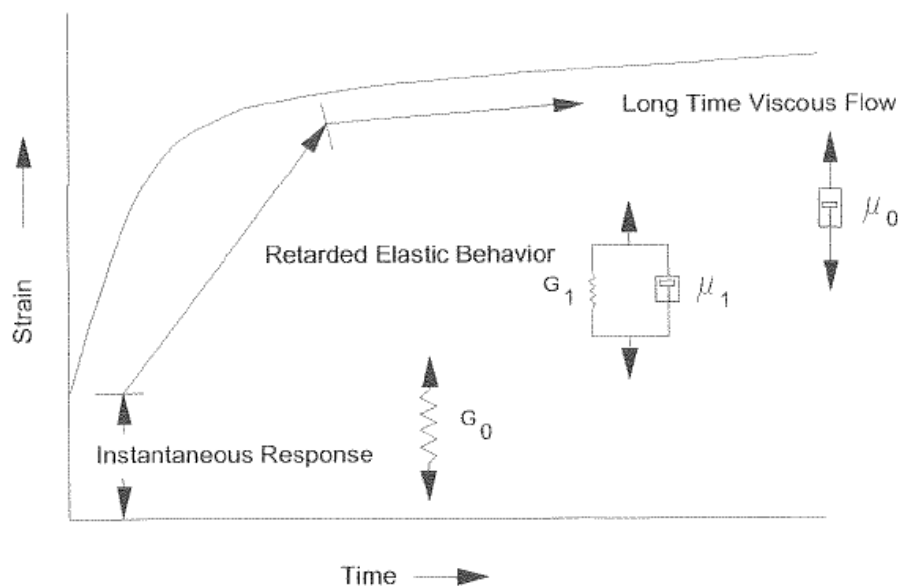


Σχήμα 2.7: Καμπύλη υποχώρησης και επανάκαμψης (Steffe, 1996)

Εναλλακτικά η σχέση αυτή μπορεί να παρουσιασθεί με τους συντελεστές ελαστικότητας αντί για τις υποχωρήσεις δηλαδή

$$\frac{\gamma}{\sigma_o} = f(t) = \frac{1}{G_o} + \sum_{r=1}^m \left[\frac{1}{G_r} [1 - \exp(\frac{-t}{\lambda_{ret}})] \right] + \frac{t}{\mu_o} \quad (2.14)$$

και παριστάνεται γραφικά με τη καμπύλη του Σχήματος 2.8.



Σχήμα 2.8: Τυπική καμπύλη ερπυσμού. (Steffe, 1996).

2.7.2. Προσδιορισμός του ιξώδους

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

Αν δύο παράλληλα επίπεδα στη μάζα ενός ρευστού κινούνται το ένα σχετικά με το άλλο, έχει βρεθεί ότι μια σταθερή δύναμη θα πρέπει να εξασκείται ώστε να διατηρείται μια σταθερή σχετική πίεση. Αν τα επίπεδα βρίσκονται σε απόσταση Z το ένα από το άλλο και αν η σχετική τους ταχύτητα είναι u , τότε η δύναμη F που απαιτείται για να διατηρήσει την κίνηση έχει βρεθεί πειραματικά να είναι ανάλογη της u και αντίστροφα ανάλογη της Z για πολλά ρευστά.

Ο συντελεστής αναλογίας ονομάζεται ιξώδες του ρευστού και συμβολίζεται ως η . Από τον ορισμό του ιξώδους έχουμε:

$$\frac{F}{A} = \eta \frac{u}{Z} \quad (2.15)$$

όπου F είναι η ασκούμενη δύναμη, A η επιφάνεια στην οποία ασκείται η δύναμη, Z η απόσταση μεταξύ των επιπέδων, u η ταχύτητα των επιπέδων σχετικά το ένα ως προς το άλλο και η το ιξώδες. Επίσης ο λόγος u/Z ονομάζεται ταχύτητα διάτμησης $\dot{\gamma}$ (Perry, 1999).

Νευτώνεια και μη Νευτώνεια ρευστά

Από το θεμελιώδη ορισμό του ιξώδους προκύπτει η διαφορική σχέση:

$$\frac{F}{A} = \eta \left(\frac{du}{dZ} \right) \quad (2.16)$$

η οποία μπορεί να γραφεί ως:

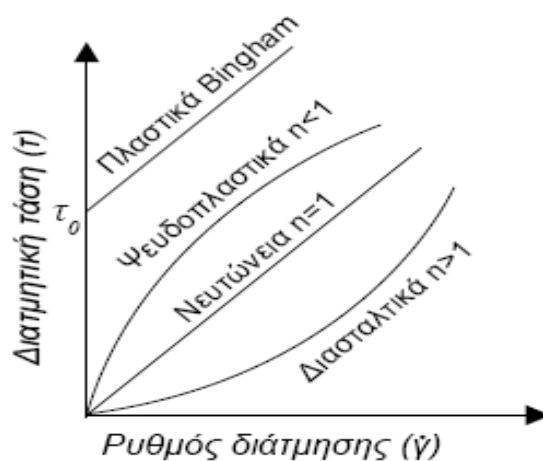
$$\tau = \eta \cdot \dot{\gamma} \quad (2.17)$$

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

$$\tau = \tau_0 + k \cdot \dot{\gamma}^n \quad (2.18)$$

που ονομάζεται γενική εξίσωση του εκθετικού νόμου (power law) και όπου το k είναι ο δείκτης συνεκτικότητας, n ο δείκτης ρεολογικής συμπεριφοράς και τ_0 η τάση διαρροής, η οποία απαιτείται σε ορισμένα υγρά για να αρχίσουν να ρέουν. Όταν ο εκθέτης έχει τιμή 1 και $\tau_0 = 0$ τότε το ρευστό ονομάζεται Νευτώνειο, γιατί υπακούει στο νόμο του Νεύτωνα. Σε διαφορετική περίπτωση το ρευστό ονομάζεται μη Νευτώνειο. Γραφικά οι αποκλίσεις από το νόμο του Νεύτωνα παρίστανται στη ακόλουθη γραφική παράσταση (Σχήμα 2.9). Τα ρευστά με $n < 1$ και $\tau_0 = 0$ ονομάζονται ψευδοπλαστικά και από το σχήμα της καμπύλης τους φαίνεται ότι το ιξώδες τους είναι υψηλό σε χαμηλές τιμές ρυθμού διάτμησης και όσο αυξάνει ο ρυθμός διάτμησης τόσο το ιξώδες ελαττώνεται. Αντίθετα όταν $n > 1$ και $\tau_0 = 0$ τότε το ρευστό ονομάζεται διασταλτικό, που σημαίνει ότι σε χαμηλές τιμές ρυθμού διάτμησης το ιξώδες είναι χαμηλό και όσο αυξάνει ο ρυθμός διάτμησης τόσο αυξάνει το ιξώδες. Τέλος, αν $n = 1$ και $\tau_0 > 0$ τα ρευστά ονομάζονται πλαστικά Bingham (Darby, 1996).

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



Σχήμα 2.9: Συμπεριφορά των ρευστών ανάλογα με την τιμή του δείκτη ρεολογικής συμπεριφοράς και της διατμητικής τάσης.

3. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η επίδραση της προσθήκης κεφιλάνης στις ρεολογικές ιδιότητες του κεφίρ. Τα δείγματα παρασκευάστηκαν χωρίς και με την προσθήκη κεφιλάνης σε διαφορετικά ποσοστά (0,5%, 1,5%, 3% και 5%). Δείγματα κεφίρ παρασκευάστηκαν και με προσθήκη ΠΟ και ΚΑ σε ποσοστό 1,5%. Η ρεολογική συμπεριφορά των δειγμάτων μελετήθηκε με τη χρήση του δυναμικού ρεομέτρου Bohlin εφαρμόζοντας τη δυναμική δοκιμή, τη δοκιμή ερπυσμού και προσδιορίζοντας το ιξώδες τους.

4. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

4.1. Παρασκευή δειγμάτων

4.1.1. Παρασκευή δειγμάτων κεφίρ

Για την παρασκευή των δειγμάτων κεφίρ χρησιμοποιήθηκε καλλιέργεια εκκίνησης οικιακής παραγωγής (κόκκοι κεφίρ), παστεριωμένο αγελαδινό γάλα λιποπεριεκτικότητας 3,5%, κεφιράνη (Εξαρχόπουλος, μη δημοσιευμένα δεδομένα) σε διαφορετικά ποσοστά προσθήκης (0,5%, 1,5%, 3% και 5%) ΚΑ (MIPRODAN 30; Arla Food Ingredients, Viby J., Denmark) και ΠΟ (Hellenic Protein S.A., Athens, Greece) σε ποσοστό προσθήκης 1,5%. Η μέθοδος, η οποία χρησιμοποιήθηκε για να παραληφθεί κεφιράνη με υψηλό βαθμό καθαρότητας (περίπου 99%), στηρίζεται στην κατακρήμνιση των πρωτεϊνών με τριχλωροοξικό οξύ και στην καταβύθιση του πολυσακχαρίτη με αιθανόλη (Εξαρχόπουλος, μη δημοσιευμένα δεδομένα). Η χημική σύσταση (% β/β) των ΚΑ ήταν: υγρασία ≤ 6 ; πρωτεΐνες 88-93.5; λίπος 1.5; τέφρα 4; λακτόζη 0.3. Οι ΠΟ είχαν την ακόλουθη χημική σύσταση: υγρασία ≤ 5 ; πρωτεΐνες 80; λίπος 3.5; τέφρα 3; λακτόζη 10.4. Η προσθήκη της κεφιράνης και των πρωτεϊνών έγινε πριν την θερμική επεξεργασία του γάλακτος. Η παρασκευή όλων των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε 2 φορές.

- **Προετοιμασία του γάλακτος:** Για να επιτευχθεί ο επιθυμητός βαθμός μετουσίωσης των πρωτεϊνών, έγινε θερμική επεξεργασία του γάλακτος στους 85⁰C για 15 λεπτά και μετά ακολούθησε ψύξη του σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.
- **Ενεργοποίηση των κόκκων:** Για την ενεργοποίηση των κόκκων το γάλα εμβολιάστηκε με κόκκους κεφίρ σε ποσοστό 3% και επώαστηκε στους 25⁰C μέχρι τιμής pH 4,4. Ακολούθησε διαχωρισμός των κόκκων με διήθηση με την βοήθεια ηθμού, στον οποίο κατακρατήθηκαν οι κόκκοι.
- **Διαλυτοποίηση της κεφιράνης:** Ποσότητα λυοφιλιωμένης κεφιράνης ζυγίστηκε σε αναλυτικό ζυγό. Η διαλυτοποίηση της έγινε με την προσθήκη της σε απεσταγμένο νερό μέσα σε δοκιμαστικό σωλήνα με αναλογία κεφιράνης:νερού 1:4 και τη θέρμανση της στους 85⁰C σε υδατόλουτρο, υπό συνεχή ανάδευση για περίπου 1 ώρα.

- **Παρασκευή δειγμάτων κεφίρ με προσθήκη κεφिरάνης:** Η ποσότητα της διαλυτοποιημένης κεφिरάνης μεταφέρθηκε ποσοτικά, με τη χρήση γάλακτος, σε αποστειρωμένους γυάλινους περιέκτες. Ακολούθησε η θερμική επεξεργασία του γάλακτος και η ψύξη του, ενώ στη συνέχεια ακολούθησε ο εμβολιάσμός με τους ενεργοποιημένους κόκκους σε ποσοστό 3%. Τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε κλίβανο για επώαση στους 25⁰C μέχρι τελική τιμή pH 4,4. Ακολούθησε διαχωρισμός των κόκκων του κεφίρ με διήθηση των πηγμάτων με την βοήθεια ηθμού. Το διήθημα, το οποίο αποτελεί το δείγμα του κεφίρ, συλλέχθηκε σε αποστειρωμένους γυάλινους περιέκτες, παρέμεινε για 24 ώρες στους 4-5⁰C και ακολούθησε η μέτρηση των ρεολογικών του χαρακτηριστικών.
- **Παρασκευή δειγμάτων κεφίρ χωρίς προσθήκη κεφिरάνης:** Το θερμικά επεξεργασμένο γάλα εμβολιάστηκε με τους ενεργοποιημένους κόκκους σε ποσοστό 3%. Στη συνέχεια, η παρασκευή των δειγμάτων έγινε όπως περιγράφεται στην παρασκευή δειγμάτων κεφίρ με προσθήκη κεφिरάνης.
- **Παρασκευή δειγμάτων κεφίρ με προσθήκη καζεϊνικών αλάτων και πρωτεΐνων ορού:** Σε ποσότητα γάλακτος διαλυτοποιούνται τα ΚΑ και οι ΠΟ με την βοήθεια μαγνητικού αναδευτήρα. Η διαλυτοποίηση τους πραγματοποιήθηκε σε θερμοκρασία 35⁰C. Η προσθήκη τους έγινε με αργό ρυθμό. Στην συνέχεια πραγματοποιήθηκε η θερμική επεξεργασία του γάλακτος και η ψύξη του. Η παρασκευή των δειγμάτων έγινε όπως περιγράφεται στην παρασκευή δειγμάτων κεφίρ με προσθήκη κεφिरάνης.

4.1.2. Παρασκευή πηκτών γάλακτος με την χρήση γλουκόνο-δ-λακτόνης (GDL)

Σε θερμικά επεξεργασμένο γάλα με ή χωρίς προσθήκη κεφिरάνης, ΚΑ και ΠΟ, όπως περιγράφεται στην παρασκευή δειγμάτων κεφίρ, προστέθηκε γλουκόνο-δ-λακτόνη, σε ποσοστό 2%. Τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε κλίβανο για επώαση στους 25⁰C μέχρι τελική τιμή pH. Πραγματοποιήθηκε καταγραφή του χρόνου επώασης τους και σύγκριση των τιμών του με τους αντίστοιχους των δειγμάτων που παρασκευάστηκαν χρησιμοποιώντας ως καλλιέργεια εκκίνησης κόκκους κεφίρ.

4.1.3. Κωδικοποίηση των δειγμάτων

Τα παραπάνω δείγματα ανάλογα με τον τρόπο παρασκευής τους αναφέρονται στο κείμενο ως εξής:

- ✓ **ΧΚ:** Δείγμα χωρίς προσθήκη κεφιράνης ή ΚΑ ή ΠΟ.
- ✓ **1,5%ΚΑ:** Δείγμα με προσθήκη ΚΑ σε ποσοστό 1,5%.
- ✓ **1,5%ΠΟ:** Δείγμα με προσθήκη ΠΟ σε ποσοστό 1,5%.
- ✓ **0,5%Κεφ:** Δείγμα με προσθήκη κεφιράνης σε ποσοστό 0,5%.
- ✓ **1,5%Κεφ:** Δείγμα με προσθήκη κεφιράνης σε ποσοστό 1,5%.
- ✓ **3%Κεφ:** Δείγμα με προσθήκη κεφιράνης σε ποσοστό 3%.
- ✓ **5%Κεφ:** Δείγμα με προσθήκη κεφιράνης σε ποσοστό 5%.

4.2. Μελέτη της ρεολογικής συμπεριφοράς των δειγμάτων

Για τη μελέτη της ρεολογικής συμπεριφοράς των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε ο δυναμικός μηχανικός αναλυτής Bohlin C-VOR 150 (Malvern Instruments Ltd, Worcestershire, UK). Στα δείγματα εφαρμόστηκαν η δυναμική δοκιμή, η δοκιμή ερπυσμού και προσδιορίστηκε το ιξώδες τους. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν στους 4°C και στους 25°C, ώστε να μελετηθεί η οποία ελαστικότητα των δειγμάτων κεφίρ εάν είναι ενθαλπικής ή εντροπικής φύσης. Οι ρεολογικές μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν εις διπλούν για κάθε δείγμα.

Δυναμική δοκιμή ή δοκιμή ταλάντωσης

Στη δοκιμή ταλάντωσης χρησιμοποιήθηκαν οι συνθήκες σάρωσης συχνοτήτων ταλάντωσης με ελεγχόμενη παραμόρφωση (frequency sweep-strain control). Η συχνότητα κυμαινόταν από 0,01-10Hz ενώ οι μετρήσεις έγιναν υπό καθεστώς ελεγχόμενης παραμόρφωσης ώστε να διασφαλίζεται ότι η δοκιμή θα πραγματοποιούνταν εντός της περιοχής της γραμμικής ελαστικότητας (καθορίστηκε με προκαταρκτικές δοκιμές). Η παραμόρφωση των δειγμάτων ήταν $1,304 \times 10^{-5}$. Από την εφαρμογή της δοκιμής προσδιορίστηκαν ο G' και η $\tan \delta$.

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 του. Στη συνέχεια δόθηκε εντολή για έναρξη της μέτρησης.

Δοκιμή ερπυσμού

Κατά τη δοκιμή ερπυσμού η διατμητική τάση ρυθμίστηκε στην τιμή 0,2 Pa, ο χρόνος εφαρμογής της ήταν 180s και ο χρόνος ανάκαμψης 100s. Σε περίπτωση όπου κατά την εφαρμογή της τάσης οι τιμές της υποχώρησης σταθεροποιούνταν για περίπου 20s ξεκινούσε αυτόματα η ανάκαμψη του δείγματος. Οι τιμές της παραμόρφωσης των δειγμάτων καθ' όλη τη διάρκεια των μετρήσεων και για όλα τα δείγματα ήταν της τάξης των 10^{-5} με 10^{-6} . Από την επεξεργασία των μετρήσεων προσδιορίστηκαν το νευτώνειο ιξώδες (η_0), η στιγμιαία ελαστικότητα (G_e) και η καθυστερούμενη ελαστικότητα (G_R).

Η προετοιμασία των δειγμάτων έγινε όπως περιγράφεται στην δυναμική δοκιμή.

Προσδιορισμός ιξώδους

Το ιξώδες των δειγμάτων προσδιορίστηκε σε διαφορετικές τιμές ταχύτητας διάτμησης (από 10 έως 100 s^{-1}), ενώ για να μελετηθεί και πιθανή επίδραση του χρόνου στη ρεολογική συμπεριφορά των δειγμάτων, η ταχύτητα διάτμησης ξεκίνησε από χαμηλές τιμές, αυξήθηκε και στη συνέχεια ξαναμειώθηκε. Σε ορισμένες περιπτώσεις η αύξηση και η μείωση της ταχύτητας διάτμησης πραγματοποιήθηκε τρεις φορές (τρεις κύκλοι), ενώ μεταξύ των κύκλων μεσολαβούσε χρονικό διάστημα 2 min όπου το δείγμα παρέμενε σε ηρεμία. Από τις καμπύλες ροής των δειγμάτων υπολογίστηκε ο n και η επιφάνεια υστέρησης (επιφάνεια μεταξύ της καμπύλης κατά την αύξηση και κατά την μείωση της ταχύτητας διάτμησης, ένας κύκλος).

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 σχηματιστεί 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.

4.3. Μέτρηση pH

Για τη μέτρηση του pH των δειγμάτων κεφίρ 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 κεφίρ μέχρι η ένδειξη του οργάνου να σταθεροποιηθεί σε μία τιμή pH.

4.4. Στατιστικός έλεγχος

Στα στοιχεία του πειράματος εφαρμόστηκε η ανάλυση της διακύμανσης δύο επιλέξιμων παραγόντων (Two-Way ANOVA): είδος δείγματος (7 επίπεδα: ΧΚ, 1,5%ΚΑ, 1,5%ΠΟ, 0,5%Κεφ, 1,5%Κεφ, 3%Κεφ, 5%Κεφ), θερμοκρασία (2 επίπεδα: 4⁰С, 25⁰С). Σε περίπτωση που τα αποτελέσματα της ANOVA εμφάνισαν στατιστική σημαντικότητα του μελετούμενου παράγοντα, εφαρμόστηκε ο έλεγχος των πολλαπλών συγκρίσεων του Tukey ώστε να εντοπιστούν αυτές οι διαφορές (Πετρίδης, 2000). Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων έγινε με τη χρήση του προγράμματος Minitab 16.

5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

5.1. Χρόνος επώασης δειγμάτων κεφίρ

Στόν Πίνακα 5.1 φαίνεται ο χρόνος επώασης των δειγμάτων κεφίρ που χρειάστηκε για την επίτευξη της επιθυμητής τιμής pH 4,4.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της ANOVA, ο χρόνος επώασης για την επίτευξη τιμής pH 4,4 διαφέρει στατιστικά σημαντικά ($p=0<0,05$) μεταξύ των διαφορετικών δειγμάτων. Σύμφωνα με το Σχήμα 5.1, η προσθήκη πρωτεϊνών ορού και κεφιλάνης είχε ως αποτέλεσμα την μείωση του χρόνου επώασης, ενώ η προσθήκη καζεϊνικών αλάτων προκάλεσε την αύξηση του χρόνου επώασης, σε σχέση με τον μάρτυρα. Η κατάταξη των δειγμάτων κατά φθίνουσα σειρά σύμφωνα με τον έλεγχο των πολλαπλών συγκρίσεων του Tukey είναι η εξής:

$1,5\%KA > XK_{\text{κεφ}} = 0,5\%K_{\text{κεφ}} = 1,5\%K_{\text{κεφ}} = 3\%K_{\text{κεφ}} > 1,5\% \text{ΠΟ} > 5\%K_{\text{κεφ}}$.

Η μείωση του χρόνου επώασης με την προσθήκη των ΠΟ οφείλεται στην παρουσία διαφόρων θρεπτικών συστατικών στις ΠΟ, τα οποία διεγείρουν την μεταβολική δραστηριότητα των μικροοργανισμών (Dimitreli et al., 2013). Η αύξηση του χρόνου επώασης με την προσθήκη ΚΑ οφείλεται στην ρυθμιστική ικανότητα των καζεϊνών, οι οποίες αυξάνουν την ρυθμιστική ικανότητα του συστήματος, με αποτέλεσμα να απαιτείται περισσότερος χρόνος για την μείωση του pH στην επιθυμητή τιμή (Salaün et al., 2005). Η μείωση του χρόνου επώασης με την προσθήκη κεφιλάνης μπορεί να οφείλεται σε πιθανή διέγερση των μικροοργανισμών παρουσίας της κεφιλάνης. Σύμφωνα με τους Doleyes et al. (2005), η χρησιμοποίηση καλλιεργείων με ικανότητα να παράγουν πολυσακχαρίτες σε δείγματα γιαούρτης είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση του χρόνου επώασης που απαιτήθηκε για τη μείωση του pH στην τιμή 4,5, σε σχέση με τα δείγματα όπου η καλλιέργεια εκκίνησης δεν παρήγαγε πολυσακχαρίτες.

Για να διερευνηθεί η πιθανότητα διέγερσης της μεταβολικής δραστηριότητας των μικροοργανισμών των κόκκων κεφίρ από την παρουσία της κεφιλάνης, χρησιμοποιήθηκε GDL για την παραγωγή όξινων πηκτών γάλακτος με την ίδια τελική τιμή pH. Στον Πίνακα 5.2 φαίνεται ο χρόνος επώασης των δειγμάτων. Σύμφωνα με την ANOVA, ο χρόνος επώασης των δειγμάτων επηρεάζεται στατιστικά σημαντικά από το είδος του δείγματος. (Σχήμα 5.2). Η κατάταξη των δειγμάτων κατά φθίνουσα σειρά σύμφωνα με τον έλεγχο των πολλαπλών συγκρίσεων του Tukey είναι η εξής:

1,5%ΚΑ 1,5%ΠΟ 1,5%Κεφ = 5%Κεφ = ΧΚ 3%Κεφ = 0,5%Κεφ

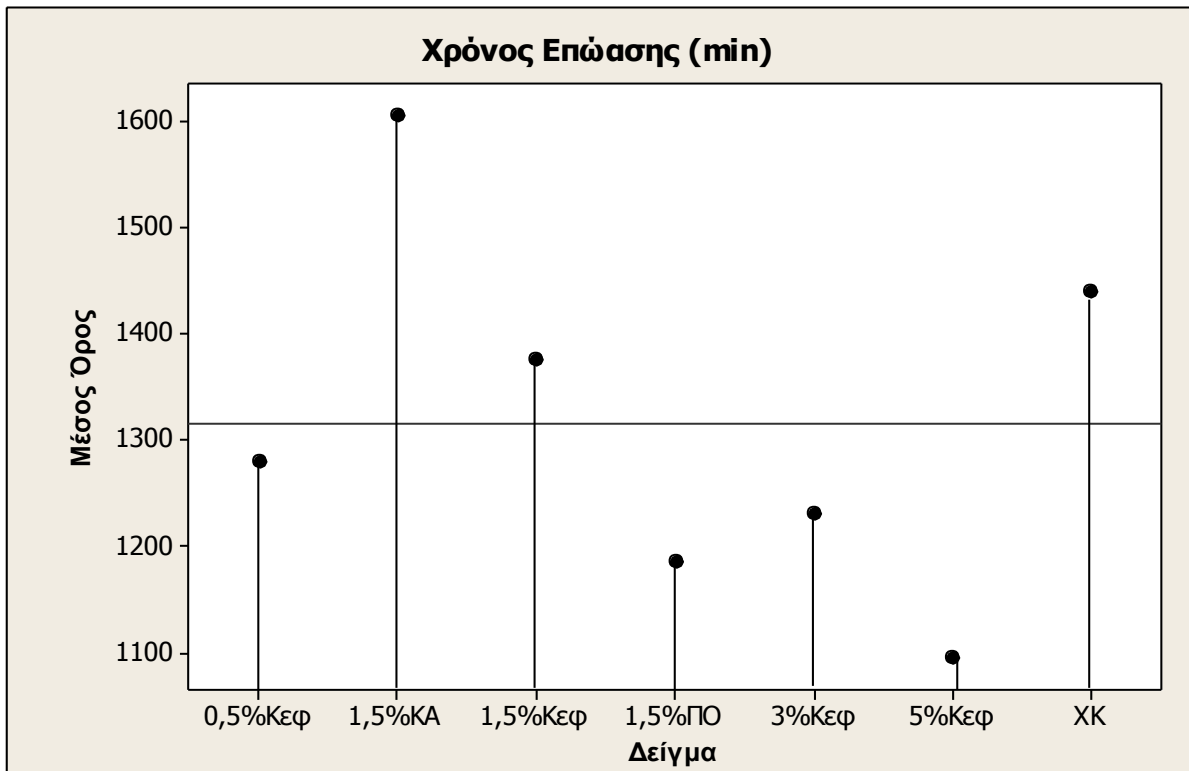
Η προσθήκη ΚΑ και ΠΟ αύξησε τον χρόνο επώασης των δειγμάτων, ενώ η προσθήκη κεφίρανης σε οποιοδήποτε ποσοστό και αν προστέθηκε δεν τον επηρέασε, σε σχέση με τον μάρτυρα. Αυτές οι διαφορές σε σχέση με τα δείγματα κεφίρ ωφείλονται στην απουσία των μικροοργανισμών, οι οποίοι διεγείρονται από την παρουσία των ΠΟ και της κεφίρανης με αποτέλεσμα να παρατηρείται γρηγορότερη πτώση του pH. Η εμφάνιση μεγαλύτερου χρόνου επώασης στα δείγματα που παρασκευάστηκαν με γλουκόνο-δ-λακτόνη με την προσθήκη ΚΑ σε σχέση με αυτά με ΠΟ, ωφείλεται στην μεγαλύτερη ρυθμιστική ικανότητα των ΚΑ έναντι των ΠΟ (Salaün et al., 2005).

Πίνακας 5.1: Χρόνος επώασης των δειγμάτων κεφίρ που απαιτείται για την επίτευξη της επιθυμητής τιμής pH 4,4.

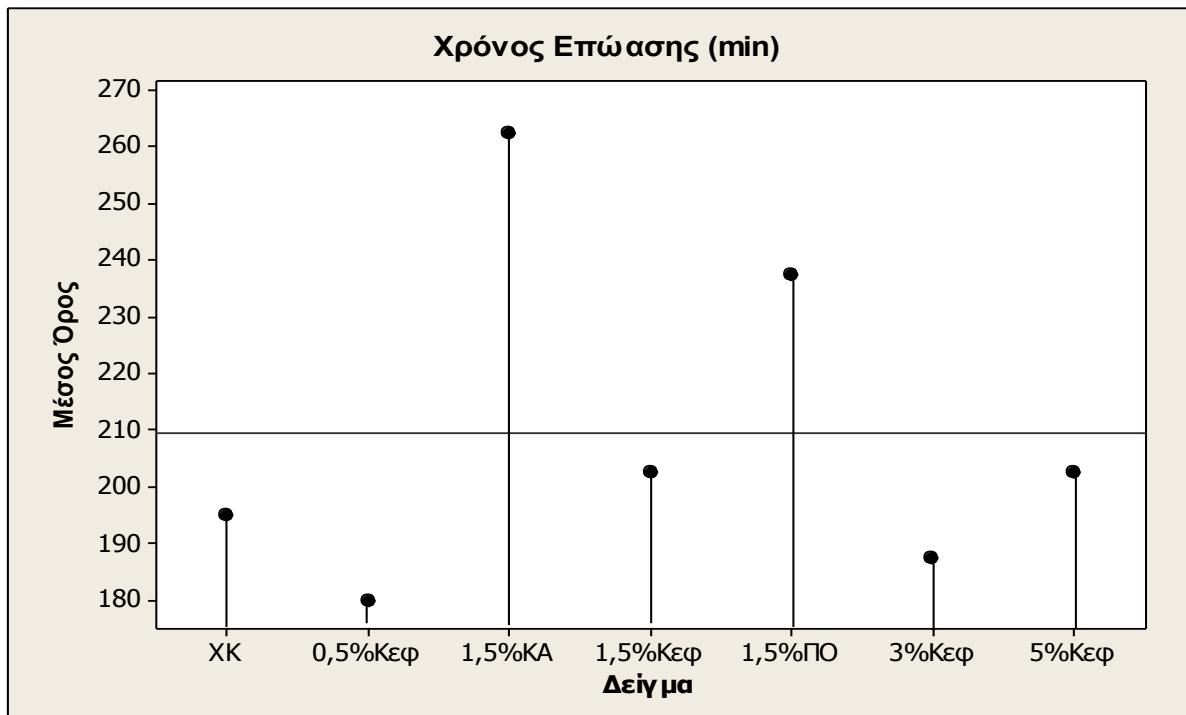
Δείγμα	Χρόνος Επώασης (min)
ΧΚ	1440
1,5%ΠΟ	1185
1,5%ΚΑ	1605
0,5%Κεφ	1280
1,5%Κεφ	1375
3%Κεφ	1230
5%Κεφ	1095

Πίνακας 5.2: Χρόνος επώασης, δειγμάτων όξινων πηκτών γάλακτος με τη χρήση γλουκόνο-δ-λακτόνης, που απαιτείται για την επίτευξη της επιθυμητής τιμής pH 4,4.

Δείγμα	Χρόνος Επώασης (min)
ΧΚ	195
1,5%ΠΟ	238
1,5%ΚΑ	263
0,5%Κεφ	180
1,5%Κεφ	203
3%Κεφ	188
5%Κεφ	203



Σχήμα 5.1: Επίδραση της προσθήκης πρωτεϊνών ορού, καζεϊνικών αλάτων και κεφιράνης στο χρόνο επώασης των δειγμάτων κεφίρ.



Σχήμα 5.2: Επίδραση της προσθήκης πρωτεϊνών ορού, καζεϊνικών αλάτων και κεφιράνης στο χρόνο επώασης όξινων πηκτών γάλακτος με τη χρήση γλουκόνο-δ-λακτόνης.

5.2. Μελέτη των ρεολογικών ιδιοτήτων των δειγμάτων κεφίρ

5.2.1. Δυναμική δοκιμή

Στον Πίνακα 5.3 αναγράφονται οι μέσοι όροι των τιμών του G' και της $\tan \delta$ για όλα τα δείγματα κεφίρ στις δύο διαφορετικές θερμοκρασίες μέτρησης.

Η εφαρμογή της ANOVA έδειξε ότι οι τιμές του G' και της $\tan \delta$ επηρεάζονται στατιστικά σημαντικά από το είδος του δείγματος ($p < 0,05$), από την θερμοκρασία ($p < 0,05$) αλλά και από την αλληλεπίδραση τους ($p < 0,05$). Η κατάταξη των δειγμάτων κατά φθίνουσα σειρά σύμφωνα με τον έλεγχο των πολλαπλών συγκρίσεων του Tukey είναι η εξής:

$5\%Κεφ_4=1,5\%ΠΟ_4 > 1,5\%ΚΑ_{25} > ΧΚ_{25} > 1,5\%ΚΑ_4 > 5\%Κεφ_{25} = 3\%Κεφ_4 = 1,5\%ΠΟ_{25} > 1,5\%Κεφ_{25} = 1,5\%Κεφ_4 >$
 $> 3\%Κεφ_{25} = 0,5\%Κεφ_4 = ΧΚ_4 = 0,5\%Κεφ_{25}$

Σύμφωνα με το Σχήμα 5.3, στους 4°C τα δείγματα στα οποία έγινε προσθήκη ΠΟ και 5% κεφιράνης παρουσίασαν τις μεγαλύτερες τιμές του G' , ακολούθησε το δείγμα με προσθήκη ΚΑ, ενώ την μικρότερη τιμή του G' εμφάνισε ο μάρτυρας (ΧΚ) και το δείγμα με προσθήκη κεφιράνης σε ποσοστό 0,5%. Επιπλέον, η αύξηση του ποσοστού προσθήκης κεφιράνης από 0,5% και πάνω είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση του G' .

Οι υψηλές τιμές του G' στο δείγμα που παρασκευάστηκε με την προσθήκη των ΠΟ μπορεί να αποδοθεί στη μετουσίωση των προστιθέμενων πρωτεϊνών ορού και την ενεργή συμμετοχή τους στο σχηματισμό του πλέγματος. Το πρωτεϊνικό πλέγμα σε αυτήν την περίπτωση παρουσιάζει αυξημένη συνεκτικότητα εξαιτίας της αύξησης της ποσότητας των μετουσιωμένων πρωτεϊνών ορού αλλά και της αύξησης του αριθμού των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των πρωτεϊνικών μορίων (Lucey et al., 1998). Παρόμοια αποτελέσματα αναφέρουν και οι Lucey et al. (1999) για την προσθήκη ΠΟ πριν τη θερμική επεξεργασία του γάλακτος, το οποίο πηζει με την επίδραση GDL. Εκτός από τις πρωτεΐνες ορού και οι καζεΐνες συμβάλουν στη ελαστικότητα του πρωτεϊνικού πλέγματος με την αύξηση του αριθμού και της έντασης των δεσμών των σχηματιζόμενων συσσωματωμάτων. Ωστόσο, η μεγαλύτερη τιμή του G' στο δείγμα με ΠΟ σε σχέση με το αντίστοιχο δείγμα με ΚΑ να οφείλεται στο ότι με τη μετουσίωση των πρωτεϊνών ορού και το ξεδίπλωμα των μορίων τους, έρχονται στην επιφάνεια δεσμοί οι οποίοι συμβάλουν σημαντικά στην αύξηση του ελαστικού χαρακτήρα των δειγμάτων.

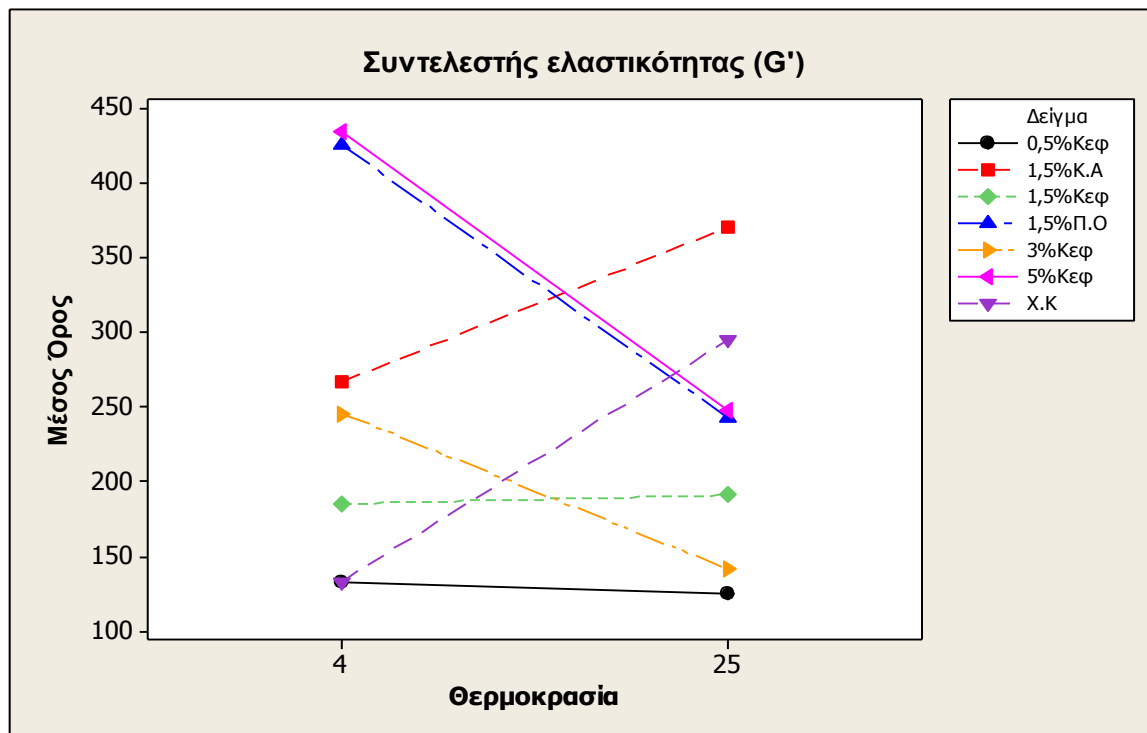
Η αύξηση του G' με τη αύξηση του ποσοστού προσθήκης κεφιράνης πιθανόν να οφείλεται σε αλληλεπιδράσεις μεταξύ του πολυσακχαρίτη και των πρωτεϊνών του γάλακτος (Amatayakul et al., 2006). Φυσικά η ελαστικότητα του δείγματος με 1,5% κεφιράνη είναι

μικρότερη από την αντίστοιχη των δειγμάτων με ΚΑ και ΠΟ. Γεγονός, το οποίο σημαίνει ότι η ένταση των δεσμών δεν είναι το ίδιο ισχυρή. Ωστόσο με την συνεχή αύξηση της προστιθέμενης ποσότητας του πολυσακχαρίτη η ελαστικότητα αυξάνεται εξαιτίας της αύξησης του αριθμού των αλληλεπιδράσεων μεταξύ του πολυσακχαρίτη και των πρωτεϊνών.

Πίνακας 5.3: Μέσοι όροι του G' και της $\tan \delta$ για τα δείγματα κεφίρ σε δύο διαφορετικές θερμοκρασίες.

Δείγμα	Θερμοκρασία ($^{\circ}\text{C}$)	Συντελεστής Ελαστικότητας (Pa)	$\tan \delta$
ΧΚ	4	131,6	1,007
ΧΚ	25	294,5	0,461
1,5%ΠΟ	4	424,9	0,324
1,5%ΠΟ	25	242,4	0,450
1,5%ΚΑ	4	266,8	0,267
1,5%ΚΑ	25	370,6	0,130
0,5%Κεφ	4	132,6	0,832
0,5%Κεφ	25	124,1	0,434
1,5%Κεφ	4	184,9	0,538
1,5%Κεφ	25	190,6	0,492
3%Κεφ	4	245,3	0,497
3%Κεφ	25	140,5	0,573
5%Κεφ	4	434,3	0,367
5%Κεφ	25	247,5	0,553

Η αύξηση της θερμοκρασίας μέτρησης είχε ως αποτέλεσμα μεταβολές στην ελαστικότητα των δειγμάτων. Συγκεκριμένα, ο μάρτυρας και το δείγμα με προσθήκη ΚΑ εμφάνισαν αύξηση των τιμών του G' σε σχέση με τους 4°C . Υπεύθυνες για αυτή τη συμπεριφορά είναι οι υδρόφοβες ομάδες των καζεϊνών, οι οποίες με την αύξηση της θερμοκρασίας αυξάνουν σε ένταση. Τα δείγματα που παρασκευάστηκαν με προσθήκη ΠΟ και υψηλά ποσοστά (5% και 3%) κεφίρανης εμφάνισαν μείωση των τιμών τους. Ο υδρόφιλος χαρακτήρας των πρωτεϊνών ορού, αλλά και οι αλληλεπιδράσεις της κεφίρανης με τις πρωτεΐνες (οι οποίες μειώνουν την ένταση των δεσμών μεταξύ των καζεϊνών που συμβάλουν στην αύξηση της ελαστικότητας) πιθανόν να είναι υπεύθυνοι για τη μείωση της ελαστικότητας του πλέγματος.



Σχήμα 5.3: Επίδραση της προσθήκης πρωτεϊνών ορού, καζεϊνικών αλάτων και κεφιράνης καθώς επίσης και της θερμοκρασίας στον συντελεστή ελαστικότητας (G') των δειγμάτων κεφίρ.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της ANOVA η τιμή της $\tan \delta$ επηρεάζεται στατιστικά σημαντικά και από τους δύο παράγοντες που μελετήθηκαν ($p < 0,05$) αλλά και από την αλληλεπίδραση τους ($p < 0,05$) (Παράρτημα), όπως φαίνεται στο Σχήμα 5.4. Η κατάταξη των δειγμάτων κατά φθίνουσα σειρά σύμφωνα με τον έλεγχο των πολλαπλών συγκρίσεων του Tukey είναι η εξής:

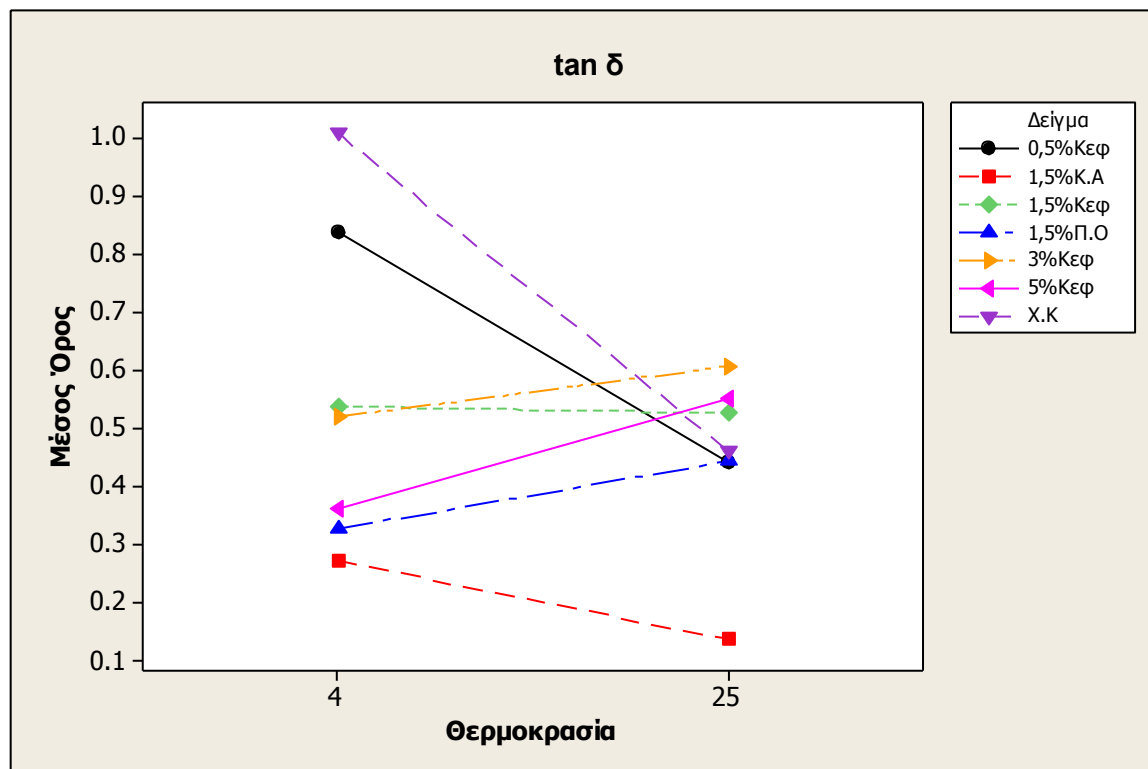
$$XK_4 > 0,5\%Κεφ_4 > 3\%Κεφ_{25} = 5\%Κεφ_{25} =$$

$$= 1,5\%Κεφ_4 \quad 1,5\%Κεφ_{25} \quad 3\%Κεφ_4 \quad XK_{25} \quad 1,5\%ΠΟ_{25} \quad 0,5\%Κεφ_{25} \quad 5\%Κεφ_4 \quad 1,5\%ΠΟ_4 \quad 1,5\%ΚΑ_4 \quad 1,5\%ΚΑ_{25}$$

Η $\tan \delta$ ορίζεται ως: $\tan(\delta) = G''/G'$. Όπου το G' ορίζει την ελαστική συμπεριφορά του δείγματος και το G'' ορίζει την ιξώδη συμπεριφορά του δείγματος. Έτσι η αύξηση της τιμής της σημαίνει την αύξηση της χαλάρωσης μεταξύ των δεσμών του πηγματος και επομένως την συμπεριφορά του πηγματος περισσότερο ως ιξώδες και λιγότερο ως ελαστικό υλικό, ενώ μία μείωση των τιμών της $\tan \delta$ σημαίνει το αντίθετο αποτέλεσμα.

Επειδή η $\tan \delta$ είναι άμεσα εξαρτώμενη από το G' , η αύξηση των τιμών του G' προκάλεσε την μείωση των τιμών της $\tan \delta$, και αντίστροφα. Ωστόσο όπως παρατηρείται στο Σχήμα 5.4,

το δείγμα με ΚΑ ενώ είχε μικρότερη τιμή του G' από το δείγμα με τις ΠΟ, έχει μικρότερη τιμή $\tan \delta$ από αυτήν του δείγματος με ΠΟ. Αυτό το φαινόμενο πιθανόν να οφείλεται στον αυξημένο υδροδυναμικό όγκο των σχηματιζόμενων συσσωματωμάτων των καζεϊνικών αλάτων, τα οποία συμβάλουν στη μείωση της ιξώδους συμπεριφοράς των δειγμάτων.



Σχήμα 5.4: Επίδραση της προσθήκης διάφορων πρωτεϊνών ορού, καζεϊνικών αλάτων και κεφίρανης καθώς επίσης και της θερμοκρασίας στην τιμή $\tan \delta$ των δειγμάτων κεφίρ.

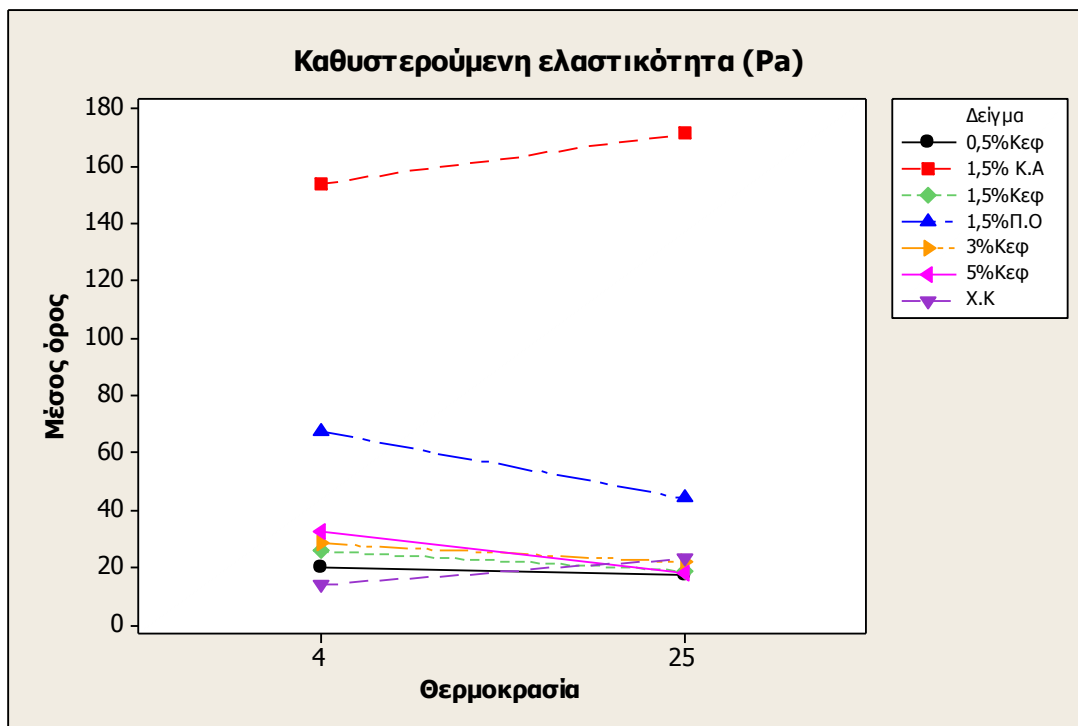
5.2.2. Δοκιμή ερπυσμού

Στον Πίνακα 5.4 φαίνονται τα αποτελέσματα από τη δοκιμή ερπυσμού. Όπως παρατηρείται η G_g ήταν μηδενική σχεδόν σε όλα τα δείγματα εκτός από αυτά στα οποία έγινε προσθήκη ΚΑ και ΠΟ, μόνο όμως στους 4°C γιατί στους 25°C και αυτά τα δείγματα δεν εμφάνισαν στιγμιαία ελαστικότητα. Αυτό σημαίνει ότι οι δεσμοί που κυριαρχούν στο πρωτεϊνικό πλέγμα είναι δευτερεύοντες ασθενείς όπως van de Waals, κolloειδείς και υδρόφοβοι. Στην περίπτωση που πραγματοποιείται προσθήκη ΚΑ και ΠΟ στα δείγματα, στο πλέγμα υπάρχουν και δευτερεύοντες ισχυροί δεσμοί όπως υδρογόνου και ηλεκτροστατικοί. Πιθανόν η παρουσία της κεφίρανης στα δείγματα κεφίρ (τόσο η προσθήκη της όσο και η παραγωγή

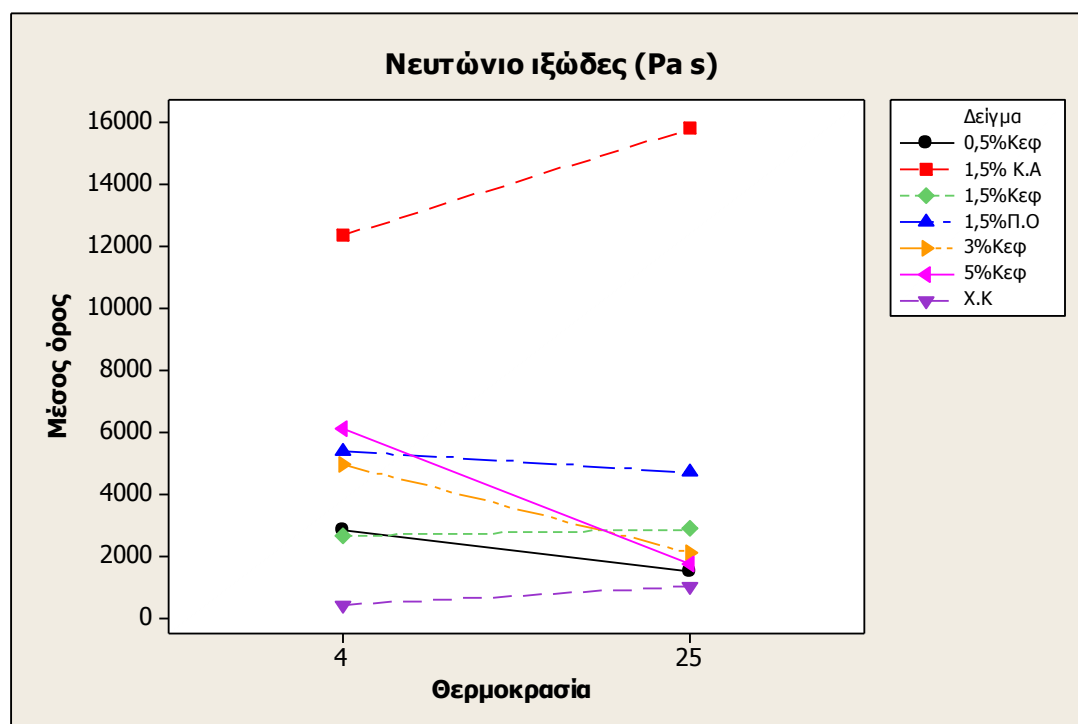
της από τους μικροοργανισμούς των κόκκων κεφίρ) να παρεμβάλλεται μεταξύ των πρωτεϊνικών μορίων και να παρεμποδίζει τη δημιουργία ισχυρών δευτερευόντων δεσμών. Η εφαρμογή της ANOVA έδειξε ότι τόσο η_0 όσο και η G_R επηρεάζεται στατιστικά σημαντικά και από τους δύο παράγοντες που μελετήθηκαν ($p < 0,05$) αλλά και από την αλληλεπίδραση τους ($p < 0,05$) (Σχήματα 5.5 και 5.6).

Πίνακας 5.4: Μέσοι όροι του G' και της $\tan \delta$ για τα δείγματα κεφίρ σε δύο διαφορετικές θερμοκρασίες.

Δείγμα	Θερμοκρασία (°C)	Στιγμιαία ελαστικότητα (Pa)	Καθυστερούμενη ελαστικότητα (Pa)	Νευτώνειο ιξώδες (Pa s)
ΧΚ	4	0,0	13,8	400
ΧΚ	25	0,0	23,0	997
1,5%ΠΟ	4	90,8	67,3	5370
1,5%ΠΟ	25	0,0	44,0	4689
1,5%ΚΑ	4	87,0	153,5	12325
1,5%ΚΑ	25	0,0	171,0	15785
0,5%Κεφ	4	0,0	20,0	2840
0,5%Κεφ	25	0,0	17,1	1470
1,5%Κεφ	4	0,0	25,6	2630
1,5%Κεφ	25	0,0	18,7	2845
3%Κεφ	4	0,0	28,2	4950
3%Κεφ	25	0,0	21,6	2070
5%Κεφ	4	0,0	32,5	6098
5%Κεφ	25	0,0	17,8	1743



Σχήμα 5.5: Επίδραση της προσθήκης πρωτεϊνών ορού, καζεϊνικών αλάτων και κεφιράνης καθώς επίσης και της θερμοκρασίας στην καθυστερούμενη ελαστικότητα των δειγμάτων κεφίρ.



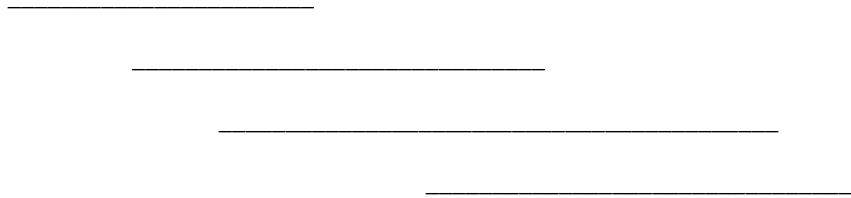
Σχήμα 5.6: Επίδραση της προσθήκης πρωτεϊνών ορού, καζεϊνικών αλάτων και κεφιράνης καθώς επίσης και της θερμοκρασίας στο νευτώνιο ιξώδες των δειγμάτων κεφίρ.

Η κατάταξη των δειγμάτων κατά φθίνουσα σειρά καθώς επίσης και οι επικαλύψεις των μέσων όρων είναι οι εξής:

Καθυστερούμενη ελαστικότητα

$$1,5\%KA_{25} > 1,5\%KA_4 > 1,5\% PO_4 > 1,5\% PO_{25} >$$

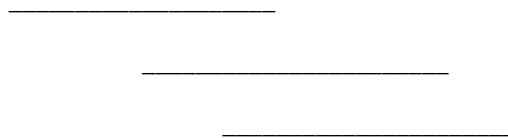
$$> 5\%K\epsilon\phi_4 = \underline{3\%K\epsilon\phi_4} \underline{1,5\%K\epsilon\phi_4} \underline{XK_{25}} \quad 3\%K\epsilon\phi_{25} \quad 0,5\%K\epsilon\phi_4 \quad 1,5\%K\epsilon\phi_{25} \quad 5\%K\epsilon\phi_{25} \quad 0,5\%K\epsilon\phi_{25} \quad XK_4$$



Νευτώνιο ιξώδες

$$1,5\%KA_{25} > 1,5\%KA_4 > \underline{5\%K\epsilon\phi_4} \underline{1,5\% PO_4} \quad 3\%K\epsilon\phi_4 \quad 1,5\% PO_{25} >$$

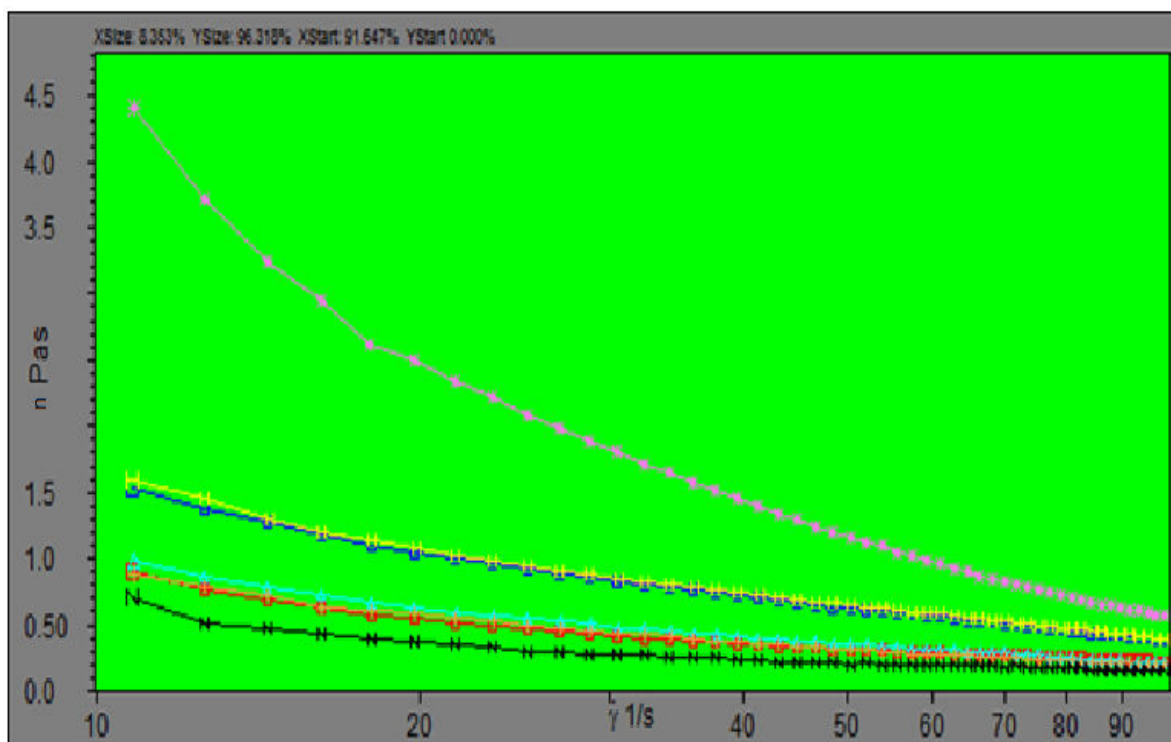
$$> \underline{1,5\%K\epsilon\phi_{25}} \underline{0,5\%K\epsilon\phi_4} \underline{1,5\%K\epsilon\phi_4} \underline{3\%K\epsilon\phi_{25}} \quad 5\%K\epsilon\phi_{25} \quad 0,5\%K\epsilon\phi_{25} \quad XK_{25} = XK_4$$



Η συμπεριφορά των δειγμάτων όσον αφορά τις ιδιότητες της δοκιμής ερπυσμού (καθυστερούμενη ελαστικότητα και νευτώνιο ιξώδες) είναι αντίστοιχη αυτής από τη δυναμική δοκιμή τόσο για την προσθήκη διαφόρων πρόσθετων αλλά και την επίδραση της θερμοκρασίας. Η μόνη διαφορά αφορά τη συμπεριφορά των ΚΑ όπου εμφανίζουν τις μεγαλύτερες τιμές στην καθυστερούμενη ελαστικότητα, γεγονός το οποίο πιθανόν να οφείλεται στις υδρόφοβες ομάδες που περιέχουν στο μόριο τους και τους προσδίδουν τον ελαστικό τους χαρακτήρα.

5.2.3. Προσδιορισμός ιξώδους

Στο Σχήμα 5.7 μεγαλύτερη τιμή ιξώδους εμφανίζουν τα δείγματα με προσθήκη ΚΑ και ΠΟ. Στην συνέχεια ακολουθούν κατά φθίνουσα σειρά τα δείγματα με 5% κεφίρανη, 3% κεφίρανη, 1,5% κεφίρανη, 0,5% κεφίρανη και τέλος ο μάρτυρας.



Σχήμα 5.7: Ιξωδομετρία των δειγμάτων κεφίρ στους 4⁰C.

X.K, 0,5% Κεφ, 1,5% Κεφ, 3% Κεφ, 5% Κεφ, 1,5% Κ.Α, 1,5% Π.Ο

Η μεγάλη τιμή ιξώδους που παρατηρείται με την προσθήκη των καζεϊνικών αλάτων μπορεί να αποδοθεί στον αυξημένο υδροδυναμικό όγκο που παρουσιάζουν τα καζεϊνικά μικκύλια και στην αυξημένη συνοχή του πρωτεϊνικού πλέγματος που σχηματίζουν όταν αποσταθεροποιούνται, λόγω αύξησης της συγκέντρωσής τους. Με την προσθήκη των ΠΟ στο γάλα που ακολουθείται από θερμική επεξεργασία μετουσιώνονται οι ΠΟ, οι οποίες στην συνέχεια μπορούν να ενωθούν με τα καζεϊνικά μικκύλια ή τις ΠΟ που υπάρχουν στο γάλα. Κατά την διάρκεια της μείωσης του pH, οι μετουσιωμένες ΠΟ (και αυτές που ενώθηκαν με τα καζεϊνικά μικκύλια και αυτές που ενώθηκαν με άλλες μετουσιωμένες ΠΟ) γίνονται επιρρεπείς στην συσσωμάτωση, καθώς το αρνητικό φορτίο των πρωτεϊνών μειώνεται (Lucey et al., 1999). Τέλος παρατηρήθηκε ότι όσο αυξανόταν το ποσοστό της κεφίρανης αυξανόταν και το ιξώδες του δείγματος, το οποίο είναι λογικό καθώς η κεφίρανη ως πολυσακχαρίτης, όσο αυξάνεται σε συγκέντρωση αυξάνεται και το ιξώδες του δείγματος.

Στόν Πίνακα 5.5 εμφανίζονται οι τιμές του δείκτη ρεολογικής συμπεριφοράς και της επιφάνειας υστέρησης σε διαφορετικές θερμοκρασίες.

Η εφαρμογή της ANOVA έδειξε ότι ο δείκτης ρεολογικής συμπεριφοράς (n) επηρεάζεται στατιστικά σημαντικά και από τους δύο παράγοντες που μελετήθηκαν ($p < 0,05$) αλλά και από την αλληλεπίδραση τους ($p < 0,05$). Η κατάταξη των δειγμάτων σύμφωνα με τον έλεγχο των πολλαπλών συγκρίσεων του Tukey είναι η εξής:

3%Κεφ₂₅ 5%Κεφ₂₅ 1,5%Κεφ₂₅ ΧΚ₂₅ 0,5%Κεφ₂₅ 5%Κεφ₄ 0,5%Κεφ₄ ΧΚ₄ 1,5%ΠΟ₄ 1,5%Κεφ₄ 1,5%ΚΑ₂₅=

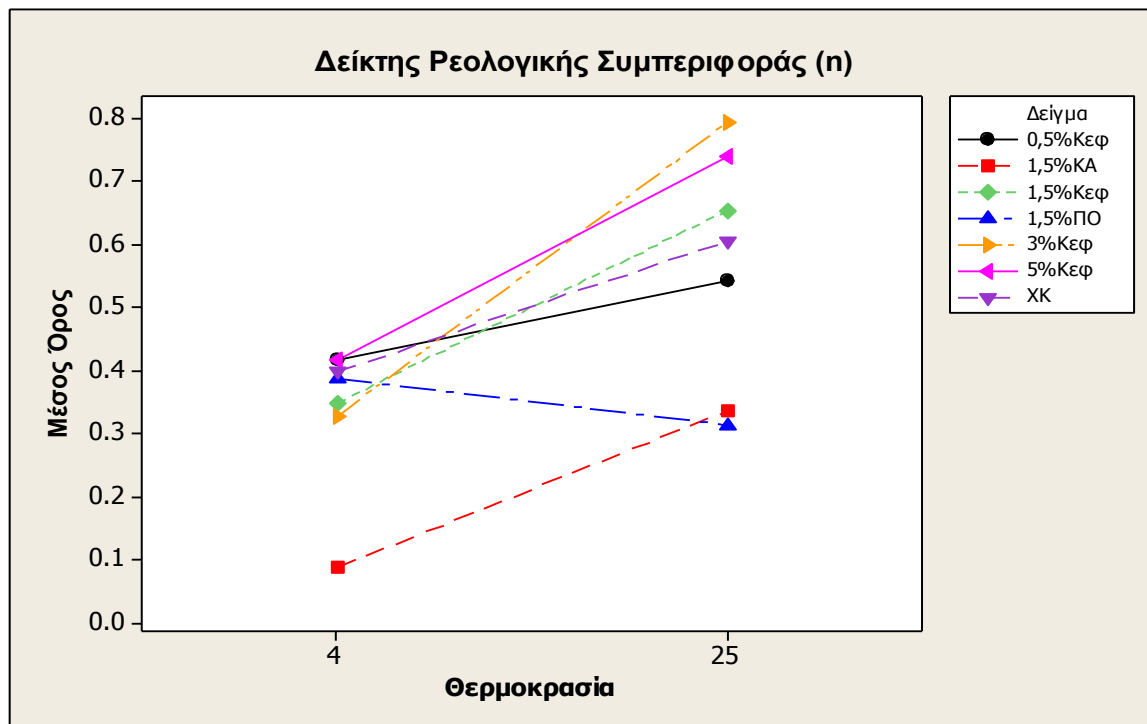
=3%Κεφ₄=1,5%ΠΟ₂₅>1,5%ΚΑ₄

Ο δείκτης ρεολογικής συμπεριφοράς αποτελεί μέτρο της νευτώνιας συμπεριφοράς των δειγμάτων. Σύμφωνα με το Σχήμα 5.8 υψηλότερο δείκτη ρεολογικής συμπεριφοράς παρουσίασαν τα δείγματα με προσθήκη των μεγαλύτερων ποσοστών κεφιράνης (3% και 5%), ενώ το δείγμα με προσθήκη ΚΑ παρουσίασε τις μικρότερες τιμές του n . Η αύξηση του δείκτη της ρεολογικής συμπεριφοράς με την προσθήκη κεφιράνης οφείλεται στο γεγονός ότι η κεφιράνη κατά την αλληλεπίδραση της με τις πρωτεΐνες μειώνει το μέγεθος των σχηματιζόμενων συμπλόκων με αποτέλεσμα να προσανατολίζονται εύκολα στην κατεύθυνση της ροής.

Επίσης παρατηρήθηκε μεγάλη αύξηση του δείκτη ρεολογικής συμπεριφοράς με την αύξηση της θερμοκρασίας. Αυτό πιθανόν να οφείλεται στη ρευστοποίηση μέρους του λίπους των δειγμάτων με την αύξηση της θερμοκρασίας. Όταν το λίπος των δειγμάτων είναι σε ρευστή μορφή αυτά εκδηλώνουν νευτόνια συμπεριφορά (Walstra *et al.*, 2006).

Πίνακας 5.4: Μέσοι όροι του δείκτη ρεολογικής συμπεριφοράς (η) και της επιφάνειας υστέρησης για τα δείγματα κεφίρ σε δύο διαφορετικές θερμοκρασίες.

Δείγμα	Θερμοκρασία (°C)	Δείκτης ρεολογικής συμπεριφοράς	Επιφάνεια Υστέρησης
ΧΚ	4	0,390	8,877
ΧΚ	25	0,596	1,706
1,5%ΠΟ	4	0,389	36,950
1,5%ΠΟ	25	0,318	4,362
1,5%ΚΑ	4	0,082	82,112
1,5%ΚΑ	25	0,336	2,467
0,5%Κεφ	4	0,412	13,534
0,5%Κεφ	25	0,547	2,197
1,5%Κεφ	4	0,354	14,242
1,5%Κεφ	25	0,638	1,587
3%Κεφ	4	0,314	16,597
3%Κεφ	25	0,789	0,619
5%Κεφ	4	0,392	29,662
5%Κεφ	25	0,736	2,078



Σχήμα 5.8: Επίδραση της προσθήκης διάφορων προσθέτων και της θερμοκρασίας στην τιμή του δείκτη ρεολογικής συμπεριφοράς των δειγμάτων κεφίρ.

Σύμφωνα με την ANOVA η επιφάνεια υστέρησης επηρεάζεται στατιστικά σημαντικά και από τους δύο παράγοντες που μελετήθηκαν ($p < 0,05$) αλλά και από την αλληλεπίδραση τους ($p < 0,05$). Η κατά ταξη των δειγμάτων σύμφωνα με τον έλεγχο των πολλαπλών συγκρίσεων του Tukey είναι η εξής:

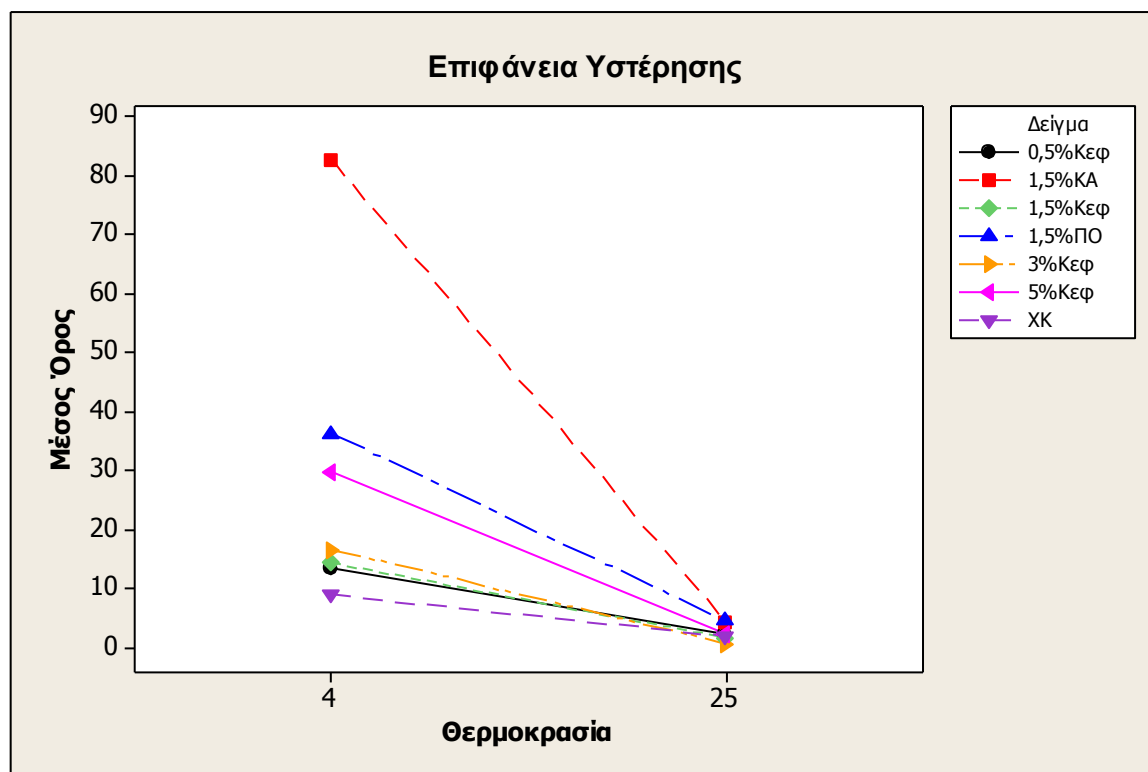
$$1,5\%ΚΑ_4 > 1,5\%ΠΟ_4 > 5\%Κεφ_4 >$$

$$> 3\%Κεφ_4 \quad 1,5\%Κεφ_4 \quad 0,5\%Κεφ_4 > ΧΚ_4 > 1,5\%ΠΟ_{25} =$$

$$= 1,5\%ΚΑ_{25} \quad 5\%Κεφ_{25} \quad 0,5\%Κεφ_{25} \quad ΧΚ_{25} \quad 1,5\%Κεφ_{25} \quad 3\%Κεφ_{25}$$

Η επιφάνεια υστέρησης σύμφωνα με το Σχήμα 5.9 έχει την μεγαλύτερη τιμή της στο δείγμα με την προσθήκη των ΚΑ και ακολουθούν αυτά των ΠΟ και της 5% κεφίρανης. Η αύξηση της επιφάνειας υστέρησης αποτελεί ένδειξη κατάρρευσης της δομής. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, οι δεσμοί που διασπώνται κατά την εφαρμογή της τάσης είναι κυρίως οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των καζεϊνών και σε μικρότερο βαθμό αλληλεπιδράσεις μεταξύ των καζεϊνών και των πρωτεϊνών ορού καθώς επίσης και της κεφίρανης με τις πρωτεΐνες του γάλακτος.

Έντονο ήταν το φαινόμενο της μείωσης της επιφάνειας υστέρησης με την αύξηση της θερμοκρασίας. Αυτό πιθανόν να μπορεί να αποδοθεί στις υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις μεταξύ των πρωτεϊνών, οι οποίες ισχυροποιούνται με την αύξηση της θερμοκρασίας και παρεμποδίζουν την καταστροφή της δομής.



Σχήμα 5.9: Επίδραση της προσθήκης διάφορων προσθέτων και της θερμοκρασίας στην τιμή της επιφάνειας υστέρησης των δειγμάτων κεφίρ.

6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, παρατηρήθηκε αύξηση του χρόνου επώασης των δειγμάτων κεφίρ με την προσθήκη ΚΑ και μείωση του χρόνου επώασης με την προσθήκη ΠΟ. Η προσθήκη της κεφिरάνης κυρίως σε αυξημένα ποσοστά, είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση του χρόνου επώασης.

Κατά την δυναμική δοκιμή μεγαλύτερες τιμές G' εμφάνισαν στους 4°C τα δείγματα με προσθήκη ΠΟ και 5% κεφिरάνης, ακολουθούσε το δείγμα με προσθήκη ΚΑ, ενώ την μικρότερη τιμή του G' εμφάνισε ο μάρτυρας και το δείγμα με 0,5% κεφिरάνη. Γενικά η αύξηση του ποσοστού προσθήκης κεφिरάνης προκάλεσε την αύξηση του G' . Αύξηση των τιμών G' προκάλεσε η αύξηση της θερμοκρασίας μέτρησης στον μάρτυρα και στα δείγματα με προσθήκη ΚΑ, σε αντίθεση με αυτά που παρασκευάστηκαν με ΠΟ και υψηλά ποσοστά κεφिरάνης (3% και 5%) όπου εμφάνισαν μείωση των τιμών του. Δείγματα με υψηλές τιμές G' παρουσίασαν μειωμένες τιμές της $\tan \delta$.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της δοκιμής ερπυσμού, μηδενικές τιμές της G_g παρατηρήθηκαν σε όλα τα δείγματα εκτός από αυτά που παρασκευάστηκαν με προσθήκη ΚΑ και ΠΟ, μόνο όμως στους 4°C . Όσον αφορά τις ιδιότητες η_0 και G_R παρατηρήθηκε η ίδια τάση μεταβολής όπως και στην δυναμική δοκιμή τόσο για την επίδραση των διαφόρων προσθέτων όσο και για την επίδραση της θερμοκρασίας, με μόνη διαφορά την συμπεριφορά των ΚΑ όπου εμφάνισαν τις μεγαλύτερες τιμές και για τις δύο ιδιότητες.

Κατά τον προσδιορισμό του ιξώδους μεγαλύτερες τιμές εμφάνισαν τα δείγματα με προσθήκη ΚΑ και ΠΟ, σε αντίθεση με τον μάρτυρα και αυτό με το μικρότερο ποσοστό κεφिरάνης όπου παρουσίασαν τις μικρότερες τιμές. Η αύξηση του ποσοστού προσθήκης κεφिरάνης είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση των τιμών του. Τις μικρότερες τιμές του δείκτη ρεολογικής συμπεριφοράς εμφάνισε το δείγμα με προσθήκη ΚΑ, ενώ η αύξηση της θερμοκρασίας μέτρησης προκάλεσε την αύξηση των τιμών του. Η επιφάνεια υστέρησης εμφάνισε τις υψηλότερες τιμές στα δείγματα με προσθήκη ΚΑ. Ακολούθησαν τα δείγματα με προσθήκη ΠΟ και 5% κεφिरάνης. Η μείωση της θερμοκρασίας μέτρησης επίσης προκάλεσε την αύξηση των τιμών της επιφάνειας υστέρησης.

7. Βιβλιογραφία

Ξένη

- Amatayakul, T., Halmos, A. L., Sherkat, F., & Shah N. P. (2006) Physical characteristics of yogurts made using exopolysaccharide-producing starter cultures and varying casein to whey protein ratios. *International Dairy Journal*, 16, 40-51.
- Beshkova D. M., Simova E. D., Simov Z. I., Frengova G. I. and Spasov Z. N. (2002). Pure cultures for making kefir. *Food Microbiology*, 19, 537-544.
- Darby R. (1996). *Chemical engineering fluid mechanics*. New York, Basel, Hong Kong: Marcel Dekker.
- Dimitreli G., Gregoriou E.-A., Kalantzidis G. and Antoniou K.D. (2013). Rheological properties of kefir as affected by heat treatment and whey protein addition. *Journal of Texture Studies*, 1-6.
- Doleyres Y., Schaub L. and Lacroix C. (2005). Comparison of the Functionality of Exopolysaccharides Produced In Situ or Added as Bioingredients on Yogurt Properties. *American Dairy Science Association*, 88, 4146-4156.
- Duboc P. and Mollet B. (2001). Applications of exopolysaccharides in the dairy industry. *International Dairy Journal*, 11, 759-768.
- Farnworth E. R. (2005). Kefir - a complex probiotic. *Food Science and Technology Bulletin*, 2, 1-17.
- Ferry, J. D. (1980) *Viscoelastic Properties of Polymers*, 3rd edition, J. Wiley & Sons, New York.
- García Fontán M. C., Martínez S. and Carballo J. (2006). Microbiological and chemical changes during the manufacture of Kefir made from cows' milk, using a commercial starter culture. *International Dairy Journal*, 16, 762-767.
- Garrote G. L., Abraham A. G. and De Antoni G. L. (1997). Preservation of Kefir Grains, a Comparative Study. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 30, 77-84.
- Irigoyen A., Arana I., Castiella M., Torre P. and Ibáñez F. C. (2005). Microbiological, physicochemical, and sensory characteristics of kefir during storage. *Food Chemistry*, 90, 613-620.
- Koroleva N. S. (1988). Technology of Kefir and Kumys. *Bulletin of the International Dairy Federation*, 227, 96-100.
- Koroleva N. S. (1988). Starters for fermented milks. *Bulletin of the International Dairy Federation*, 227, 35-40.
- Lucey J. A. and Singh H. (1998). Formation and physical properties of acid milk gels: a review. *Food Research International*, 30, 529-542.
- Lucey J. A., Tamerhana M., Singh H. and Munro P.A. (1998). Effect of interactions between denatured whey proteins and casein micelles on the rheological properties of acid skim milk gels. *Journal Dairy Research*, 65, 555–567.
- Lucey J. A., Munro P. A. and Singh H. (1999). Effect of heat treatment and whey protein addition on the rheological properties and structure of acid skim milk gels. *International Dairy Journal*, 9, 275–279.
- McClements D.J. (1999). *Food emulsions: Principles, practice and techniques*. CRC Press LLC, Boca Raton, London, New York, Washington.
- Otlés S. and Cagindi O. (2003). Kefir: A Probiotic Dairy-Composition, Nutritional and Therapeutic Aspects. *Pakistan Journal of Nutrition*, 2, 54-59.

- Perry H.R. (1999). *Perry's Chemical Engineers' Handbook*, (7th Edition): McGraw-Hill Book Company, Singapore.
- Ramchandran L. and Shah N. P. (2008). Effect of exopolysaccharides on the proteolytic and angiotensin-I converting enzyme-inhibitory activities and textural and rheological properties of low-fat yogurt during refrigerated storage.
- Rimada S. P. and Abraham G. A. (2006). Kefiran improves rheological properties of glycono- δ - lactone induced skim milk gels. *International Dairy Journal*, 16, 33-39.
- Ruas-Madiedo P., Hugenholtz J. and Zoon P. (2002). An overview of the functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria, 12, 163-171.
- Salaün F., Mietton B. and Gaucheron F. (2005). Buffering capacity of dairy products. *International Dairy Journal*, 15, 95-109.
- Simova E., Beshkova D., Angelov A., Hristozova Ts., Frengova G. and Spasov Z. (2002). Lactic acid bacteria and yeasts in kefir grains and kefir made from them. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 28, 1-6.
- Stepianiak L. and Fetliński A. (2002). Fermented milks/ Kefir. *Elsevier Science Ltd*, 1049-1054.
- Steffe, J. F.(1996). *Rheological methods in food process engineering*. 2nd edition. Freeman Press. USA.
- Walstra P., Wouters J.T.M. and Geurts T.J. (2006). *Dairy Science and Technology*, (2nd Edition), 225-272, Taylor & Francis, CRC Press, Boca Raton.

Ελληνική

- Εξαρχόπουλος, μη δημοσιευμένα δεδομένα. Απομόνωση και φυσικοχημικός χαρακτηρισμός του πολυσακχαρίτη κεφιράνη. Διδακτορική διατριβή.
- Πετρίδης Δ.(2000). Εφαρμοσμένη Στατιστική (με έμφαση στην επιστήμη των τροφίμων). 1η Έκδοση. Όμηρος Εκδοτική. Θεσσαλονίκη.
- Ζερφυρίδης Γ.Κ. (1996). Τεχνολογία προϊόντων γάλακτος. 1η Έκδοση. Εκδόσεις Δεδούση Γ.. Θεσσαλονίκη.