



**ΑΛΕΞΑΝΔΡΕΙΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ
ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ**

**ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ &
ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ**

ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Μελέτη ιξωδοελαστικών και ρεολογικών ιδιοτήτων κεφίρ με
προσθήκη πρωτεϊνών γάλακτος**

**ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ
ΠΑΠΑΙΩΑΝΝΟΥ ΒΑΣΙΛΙΚΗ**

ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ 2014

**Μελέτη ιξωδοελαστικών και ρεολογικών ιδιοτήτων κεφίρ με
προσθήκη πρωτεϊνών ορού γάλακτος**

Αλεξάνδρειο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα (ΑΤΕΙ) , Σχολή
ΣΤΡΕΤΟ-Δ, Τμήμα Τεχνολογίας Τροφίμων, 57400 ΤΘ 141,
Θεσσαλονίκη

Ονοματεπώνυμο

Παπαϊωάννου Βασιλική

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

Εισηγητής: Δημητρέλη Γεωργία

ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ 2015

Μελέτη ιξωδοελαστικών και ρεολογικών ιδιοτήτων κεφίρ με προσθήκη πρωτεϊνών ορού γάλακτος

Παπαϊωάννου Βασιλική

Αλεξάνδρειο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα (ΑΤΕΙ) , Σχολή ΣΤΡΕΤΟ-Δ, Τμήμα Τεχνολογίας Τροφίμων, 57400 ΤΘ 141, Θεσσαλονίκη

Περίληψη

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η επίδραση της προσθήκης συμπυκνωμάτων πρωτεϊνών ορού (ΣΠΟ) και καζεϊνικών αλάτων (ΚΑ) καθώς επίσης και του χρόνου διατήρησης στις ιξωδοελαστικές και ρεολογικές ιδιότητες του κεφίρ. Για την παρασκευή των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε παστεριωμένο αγελαδινό γάλα λιποπεριεκτικότητας 3,5%. Η προσθήκη των ΣΠΟ και των ΚΑ πραγματοποιήθηκε πριν την θερμική επεξεργασία του γάλακτος. Η μελέτη των ιξωδοελαστικών και των ρεολογικών ιδιοτήτων των δειγμάτων έγινε με τη χρήση του δυναμικού ρεόμετρου Bohlin εφαρμόζοντας τη δυναμική δοκιμή και τη δοκιμή ερπυσμού και προσδιορίζοντας το ιξώδες τους.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα η προσθήκη ΣΠΟ μείωσε το χρόνο επώασης των δειγμάτων κεφίρ, ενώ η προσθήκη ΚΑ προκάλεσε την αύξηση του. Η προσθήκη ΚΑ επηρέασε περισσότερο σε σχέση με την προσθήκη ΣΠΟ την οξύτητα καθώς επίσης τις ιξωδοελαστικές και ρεολογικές ιδιότητες των δειγμάτων κεφίρ. Το δείγμα με προσθήκη ΚΑ σε ποσοστό 3% παρουσίασε τη μεγαλύτερη οξύτητα, ελαστικότητα (υψηλές τιμές του G' , η_0 και J_R , μειωμένες τιμές της $\tan\delta$), και συνεκτικότητα (υψηλές τιμές του k) καθώς επίσης και έντονη ψευδοπλαστική συμπεριφορά (μειωμένες τιμές του n). Η προσθήκη των ΚΑ είχε ως αποτέλεσμα την παρουσία ισχυρών δευτερευόντων δεσμών στο πρωτεϊνικό πλέγμα (τιμές J_g). Ο μάρτυρας και τα δείγματα με προσθήκη ΣΠΟ δεν εμφάνισαν τιμές στιγμιαίας ελαστικότητας. Όσον αφορά το χρόνο διατήρησης, η αύξηση του είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της οξύτητας των δειγμάτων κεφίρ. Η ελαστικότητα και η συνεκτικότητα των δειγμάτων κεφίρ αυξήθηκε μέχρι τις 7 ημέρες αποθήκευσης τους. Η περεταίρω αύξηση του χρόνου διατήρησης (μέχρι και τις 28 ημέρες) είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση των ανωτέρω ιδιοτήτων. Τέλος οι τιμές του n εμφάνισαν αύξηση κατά την αποθήκευση των δειγμάτων.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
2. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ	2
2.1 Κεφίρ.....	2
2.2 Καλλιέργεια κεφίρ.....	2
2.2.1 Κόκκοι κεφίρ.....	2
2.2.2 Μικροχλωρίδα.....	3
2.3 Προετοιμασία κόκκων κεφίρ.....	5
2.4 Τεχνολογία παρασκευής κεφίρ.....	6
2.4.1 Παραδοσιακή διαδικασία.....	6
2.4.2 Διαδικασία που εφαρμόζεται στη βιομηχανία.....	7
2.5 Διαιτητική και θρεπτική αξία κεφίρ.....	9
2.6 Στοιχεία ρεολογίας ρευστών.....	10
2.6.1 Δοκιμές μικρής παραμόρφωσης.....	10
2.6.1.1 Δυναμική δοκιμή.....	10
2.6.1.2 Δοκιμή ερπυσμού.....	13
2.6.2 Προσδιορισμός ιξώδους.....	16
3. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	18
4. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	19
4.1 Παρασκευή δειγμάτων κεφίρ.....	19
4.2 Μελέτη της ρεολογικής συμπεριφοράς των δειγμάτων.....	21
4.3 Μέτρηση pH.....	22
4.4 Μέτρηση της οξύτητας.....	22
4.6 Στατιστική ανάλυση.....	23
5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ	24
5.1 Χρόνος επώασης των δειγμάτων κεφίρ.....	24

5.2 Οξύτητα και τιμή pH των δειγμάτων κεφίρ.....	25
5.3 Μελέτη ρεολογικών ιδιοτήτων των δειγμάτων κεφίρ.....	30
5.3.1 Δυναμική δοκιμή.....	30
5.3.2 Δοκιμή ερπυσμού.....	35
5.3.2 Προσδιορισμός ιζώδους.....	39
6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	44
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	45

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το κεφίρ είναι ένα όξινο γαλακτοκομικό προϊόν που παράγεται από την μεταβολική δραστηριότητα των μικροοργανισμών(γαλακτικά βακτήρια, οξικά βακτήρια και ζύμες) που βρίσκονται στους κόκκους κεφίρ, δηλαδή την καλλιέργεια εκκίνησης του προϊόντος (Koroleva, 1988). Θεωρείται ότι είναι ένα φυσικό προβιοτικό με υψηλή θρεπτική και βιολογική αξία. Το κεφίρ έχει χαρακτηριστική γεύση λόγω της παρουσίας αρκετών ενώσεων που παράγονται κατά τα διάρκεια της ζύμωσης (ακεταλδεΐδη, ακετοΐνη), ενώ και η παραγωγή διοξειδίου του άνθρακα και αιθανόλης σε μικρές ποσότητες από την μεταβολική δραστηριότητα των ζυμών συμβάλλουν στη τυπική γεύση του προϊόντος(Farnworth, 2005).

Η μελέτη του μικροβιακού πληθυσμού και της θρεπτικής-δietetικής αξίας του κεφίρ έχουν αποτελέσει αντικείμενο πολλών ερευνητών (Beshkova *et al.*, 2002). Ωστόσο, η μελέτη της ρεολογική του συμπεριφοράς είναι περιορισμένη(Dimitreli *et al*, 2013).

Οι ρεολογικές ιδιότητες του κεφίρ επηρεάζουν την ποιότητα του τελικού προϊόντος (Farnworth, 2005)και επομένως καθορίζουν την προτίμηση των καταναλωτών. Οι παράγοντες που επηρεάζουν τη ρεολογική συμπεριφορά του κεφίρ είναι η χημική σύσταση του γάλακτος, το ποσοστό προσθήκης και η σύσταση των κόκκων κεφίρ, καθώς επίσης οι συνθήκες επώασης (θερμοκρασία, χρόνος, ανακινήσεις κατά τη διάρκεια της επώασης) και αποθήκευσης (ρυθμός ψύξης, θερμοκρασία) (Farnworth, 2005).

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η επίδραση της προσθήκης συμπυκνωμάτων πρωτεϊνών ορού (ΣΠΟ) και καζεϊνικών αλάτων (ΚΑ), καθώς επίσης και του χρόνου διατήρησης στις ιξωδοελαστικές και ρεολογικές ιδιότητες του κεφίρ. Στα δείγματα εφαρμόστηκαν η δυναμική δοκιμή και η δοκιμή ερπυσμού και προσδιορίστηκε το ιξώδες τους.

2. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

2.1 Κεφίρ

Το κεφίρ είναι ένα ζυμούμενο γαλακτοκομικό προϊόν που προέρχεται από τις παρά-Καυκάσιες χώρες (Irigoyen et al., 2005). Είναι παχύρευστο ποτό, αφρίζον, ξινό με δριμεία γεύση. Από την περιγραφή αυτή μπορεί να συμπεράνει κανείς ότι έχει πολυσακχαρίτες, οι οποίοι προσδίδουν σε αυτό ιξώδες και ότι υπάρχουν μικροοργανισμοί που παράγουν διοξείδιο του άνθρακα (αίσθηση του αφρώδους). Η οξύτητα του οφείλεται τόσο στην παραγωγή γαλακτικού οξέος όσο και οξικού οξέος, αλλά και σε άλλα οξέα. Χαρακτηριστικό προϊόν μεταβολισμού της καλλιέργειας είναι επίσης και η παραγωγή αλκοόλης (Ζερφυρίδης, 2001).

Το κεφίρ θεωρείται ένα ιδιαίζον ζυμούμενο ποτό γάλακτος επειδή η καλλιέργεια η οποία χρησιμοποιείται για την παραγωγή του παρουσιάζει ξεχωριστή ιδιομορφία (Ζερφυρίδης, 2001).

2.2 Καλλιέργεια κεφίρ

Η καλλιέργεια, η οποία χρησιμοποιείται για την παρασκευή του κεφίρ προέρχεται από κόκκους κεφίρ ή από μητρικές καλλιέργειες οι οποίες προετοιμάζονται από τους κόκκους αυτούς (Libudzisz & Piatkiewicz, 1990).

2.2.1 Κόκκοι κεφίρ

Οι κόκκοι κεφίρ εμφανίζονται σαν κομμάτια κοραλλιού ή μικρές συμπαγείς μάζες κουνουπιδιού και έχουν μέγεθος από 3 έως 20nm σε διάμετρο και μοιάζουν με ζελατινώδη άσπρα ή κίτρινα σωματίδια (Otlés & Cagindi, 2003). Χαρακτηρίζονται από την ακανόνιστη μορφή, την διπλωμένη ή ανομοιόμορφη επιφάνεια και την ελαστική τους συνοχή. Οι κόκκοι περιέχουν οξυγαλακτικά βακτήρια (λακτοβάκιλλους, λακτόκοκκους), οξικά βακτήρια και ζύμες σχηματίζοντας συμπαγή μάζα μαζί με την καζεΐνη και ένα πλέγμα πολυσακχαριτών. Ο κύριος πολυσακχαρίτης που υπάρχει τόσο στους κόκκους κεφίρ όσο και στο ίδιο το κεφίρ είναι μια υδατοδιαλυτή ουσία γνωστή ως κεφιράνη (Arihana et al., 1990).

Οι κόκκοι του κεφίρ είναι αποτέλεσμα ενός δυνατού και ειδικού συμβιωτικού σχηματισμού, έχουν μια ξεκάθαρη δομή και συμπεριφέρονται σαν βιολογικά ζωντανοί οργανισμοί, ενώ 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 παλιοί και οι ξεροί κόκκοι έχουν μικρή ή καμία ικανότητα να αναπαραχθούν (Farnworth, 2005). Οι κόκκοι περιέχουν 85-90% νερό, ενώ η ξηρή ουσία αποτελείται από ~57% υδατάνθρακες, ~33% πρωτεΐνες, ~4% λίπος και ~6% τέφρα (Stephaniak & Fetlinski, 2002).

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

Παρά τις προσπάθειες κανένας δεν κατάφερε να παρασκευάσει κόκκους 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).

2.2.2 Μικροχλωρίδα

Η μικροχλωρίδα των κόκκων βρίσκεται σε μία δυναμική κατάσταση συμβίωσης και αποτελείται από βακτήρια και ζύμες. Αυτή η συμβιωτική κατάσταση κάνει την ταυτοποίηση και την μελέτη των υπαρχόντων μικροοργανισμών μέσα στους κόκκους κεφίρ δύσκολη. Η Koroleva (2001) υποστήριξε ότι τα βακτήρια και οι ζύμες του κεφίρ, όταν διαχωριστούν σαν καθαρές καλλιέργειες, είτε δεν αναπτύσσονται στο γάλα ή παρουσιάζουν μειωμένη βιοχημική δραστηριότητα.

Τα είδη των μικροβίων 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 θερμοφίλους, ομοζυμωτικούς και ετεροζυμωτικούς λακτοβάκιλλους γαλακτικού και οξικού οξέος (Ζερφυρίδης, 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 (Ζερφυρίδης, 2001).

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

Λακτοβάκιλλοι: Οι λακτοβάκιλλοι του κεφίρ έχουν ένα ευρύ φάσμα ειδών. Αυξάνουν το ιξώδες και επιπλέον τη σταθερότητα του (Irigoyen *et al.*, 2005). Κυρίαρχα είδη είναι ο *Lactobacillus brevis* ετεροζυμωτικός, ο *L. casei* προαιρετικά ετεροζυμωτικός, μεσόφιλος και οι *L. bulgaricus* και *L. helveticus* ομοζυμωτικοί θερμοφίλοι (Ζερφυρίδης, 1996). Οι ομοζυμωτικοί λακτοβάκιλλοι κυριαρχούν των ετεροζυμωτικών ειδών *Lactobacillus* (Stepaniak & Fetlinski, 2002).

Λακτόκοκκοι: Οι λακτόκοκκοι που υπάρχουν στο κεφίρ είναι κύρια οι *Lactococcus lactis*, *L. cremoris* και πολλές φορές *L. durans* οι οποίοι είναι ομοζυμωτικοί μεσόφιλοι και παράγουν γαλακτικό οξύ με γρήγορο ρυθμό στα αρχικά στάδια. Ακόμη υπάρχουν οι *Leuconostoc mesenteroides* και *L. Dextranicum* οι οποίοι είναι ετεροζυμωτικοί, μεσόφιλοι που συμβάλουν στην γεύση και το άρωμα του κεφίρ. (Ζερφυρίδης, 2001).

Οξίνα βακτήρια: Είναι τα *Acetobacteracei* και *A. Rascens*, τα οποία παράγουν οξικό οξύ κατά την ζύμωση του γάλακτος και παίζουν ρόλο στην συμβίωση των μικροοργανισμών του κεφίρ (Ζερφυρίδης, 2001). Αυξάνουν το ιξώδες και επιπλέον τη σταθερότητα του κεφίρ (Irigoyen *et al.*, 2005).

Ζύμες: Έχει αποδειχθεί ότι οι ζύμες παίζουν σημαντικό ρόλο στην Παρασκευή των ζυμούμενων γαλακτοκομικών προϊόντων, όπου μπορούν να παρέχουν θρεπτικά συστατικά όπως τα αμινοξέα και οι βιταμίνες, μεταβάλλουν το pH, παράγουν αιθανόλη και διοξείδιο του άνθρακα (Viljoen, 2001). Οι ζύμες στο κεφίρ έχουν

μελετηθεί λιγότερο από τα βακτήρια. Παρόλα αυτά είναι φανερό ότι οι ζύμες στους κόκκους κεφίρ παρέχουν ένα περιβάλλον για την ανάπτυξη των βακτηρίων του κεφίρ, καθώς παράγουν διάφορους μεταβολίτες, οι οποίοι επίσης συνεισφέρουν στο άρωμα-γεύση και στην αίσθηση που αφήνει στο στόμα το κεφίρ (Clementi *et al.*,1989; Kwak *et al.*,1996; Simova *et al.*,2002). Οι ζύμες που ταυτοποιήθηκαν ήταν οι *Kluyveromyces marxianus*, *Saccharomyces cerevisiae* και *Candida kefyr*(Ζερφυρίδης, 2001).

2.3 Προετοιμασία κόκκων κεφίρ

Η καλλιέργεια του κεφίρ είναι οι κόκκοι οι οποίοι αρχικά μπορεί να είναι αποξηραμένοι ή από κατάψυξη. Οι κόκκοι πρέπει να δραστηριοποιηθούν με επανειλημμένες επώσεις με γάλα σε 18-20°C. Αν και οι κόκκοι είναι η άμεση καλλιέργεια, εντούτοις λόγω ελλείψεως επαρκούς ποσότητας κόκκων ή μέσω διαχωρισμού τους από το ζυμωθέν προϊόν, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως καλλιέργεια και το πρώτο κεφίρ που προέρχεται κατευθείαν από τους κόκκους (Ζερφυρίδης, 2001).

Το υγρό κεφίρ δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί περαιτέρω σαν καλλιέργεια διότι αλλάζουν οι συσχετίσεις στη μικροχλωρίδα και το προϊόν που προκύπτει χάνει βαθμιαία τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του (Ζερφυρίδης, 2001).

Είναι προφανές ότι η καλλιέργεια του κεφίρ υπό μορφή κόκκων πρέπει να διαχωρίζεται από το υγρό κεφίρ, οι μεν κόκκοι να επαναχρησιμοποιηθούν ως καλλιέργεια και το δε υγρό κεφίρ να καταναλωθεί. Οι κόκκοι διαχωρίζονται με ηθμούς (στραγγιστήρια) από ανοξείδωτο χάλυβα. Οι ηθμοί από ύφασμα δεν ενδείκνυται ούτε και σε οικιακή παραγωγή, διότι το υγρό κεφίρ είναι πυκνόρρευστο και δεν διέρχεται από αυτούς, καθώς επίσης και επειδή υπάρχει κίνδυνος επιμόλυνσης (Ζερφυρίδης, 2001).

Μετά τον διαχωρισμό τους οι κόκκοι είναι έτοιμοι να επαναχρησιμοποιηθούν είτε αφού εκλυθούν με νερό είτε χωρίς έκλυση. Στη δεύτερη περίπτωση η επαναχρησιμοποίησή τους σε φρέσκο γάλα δίνει πιο γρήγορη ανάπτυξη οξύτητας απ ότι στην πρώτη περίπτωση. Η έκλυση γίνεται μόνο εφόσον οι κόκκοι μολύνθηκαν από κολοβακτηριοειδή και στην περίπτωση αυτή το νερό πρέπει να είναι αποστειρωμένο (Ζερφυρίδης, 2001).

Η χρησιμοποίηση των κόκκων θεωρητικά είναι απεριόριστη και εφόσον δεν χρησιμοποιούνται συνεχώς θα πρέπει να φυλάγονται στο ψυγείο μέσα σε νερό ή γάλα,

αλλά θα πρέπει να αναβιώνονται ανά 8ημερο, ώστε να είναι έτοιμοι πάντα για χρησιμοποίηση (Ζερφυρίδης, 2001).

2.4 Τεχνολογία παρασκευής κεφίρ

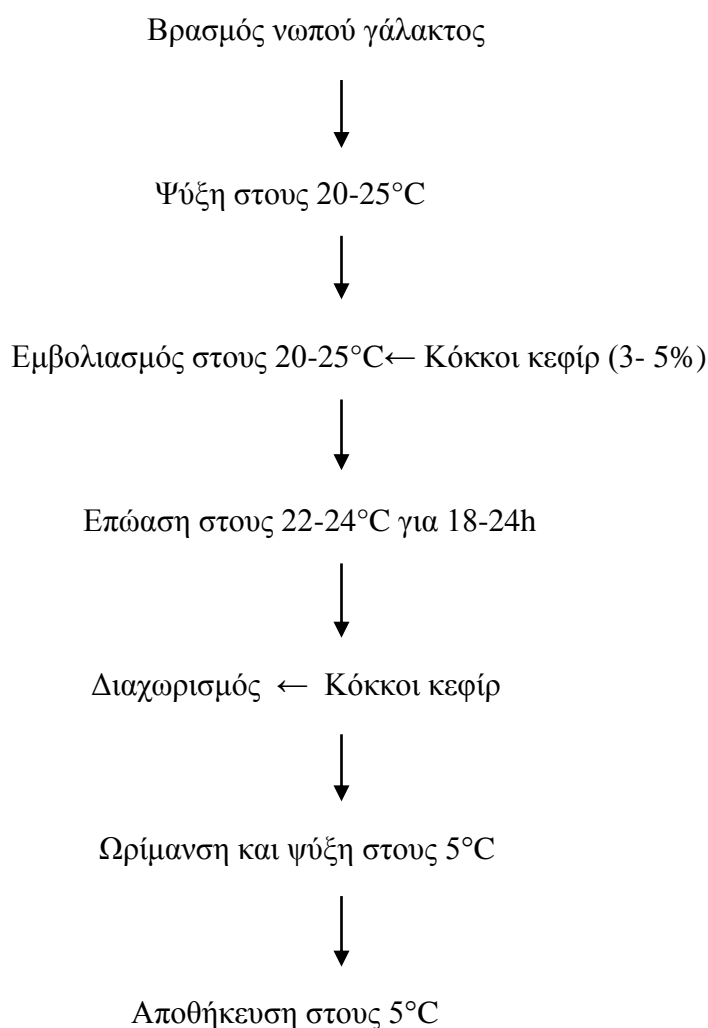
Υπάρχουν διάφορες μέθοδοι παραγωγής κεφίρ. Χρησιμοποιούνται τόσο οι παραδοσιακές όσο και βιομηχανικές μέθοδοι και επίσης συγχρόνως οι επιστήμονες τροφίμων μελετούν νέες τεχνικές για να παράγουν κεφίρ με τα ίδια χαρακτηριστικά με αυτά που βρέθηκαν στο παραδοσιακό κεφίρ. Το κεφίρ μπορεί να παραχθεί από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

2.4.1 Παραδοσιακή διαδικασία

Η παραδοσιακή διαδικασία 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. Χρησιμοποιείται πλήρες ή ημιαποβουτυρωμένο γάλα. Η θέρμανση του γίνεται όπως και για την παραγωγή γιαούρτης αλλά επαρκεί και ηπιότερη θέρμανση στους 85°C για 15 min. Ακολουθεί ψύξη στους 25°C, εμβολιασμός με κόκκους κεφίρ 3% έως και 5% και επώαση στους 20-25°C για 18-24 ώρες μέχρι να γίνει η οξύτητα 90°D(0.09% γαλακτικό οξύ) (Ζερφυρίδης, 2001). 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 κεφίρ δεν κατανέμονται ομοιόμορφα σε όλη τη 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. Ακολουθεί μια δεύτερη επώαση στους 10-12°C για 24 ώρες και στη συνέχεια απομακρύνονται οι

κόκκοι ενώ το υγρό κεφίρ τοποθετείται στους 5°C μέχρι να καταναλωθεί (Karagozlu & Kavas, 2000; Ζερφυρίδης, 2001).

Ο παραπάνω τρόπος παραγωγής του κεφίρ είναι ο πλέον συνηθισμένος υπάρχουν όμως διάφορες παραλλαγές του ανάλογα πάντοτε με τις εκάστοτε συνθήκες και παραδοσιακές τεχνικές (Karagozlu & Kavas, 2000; Ζερφυρίδης, 2001).

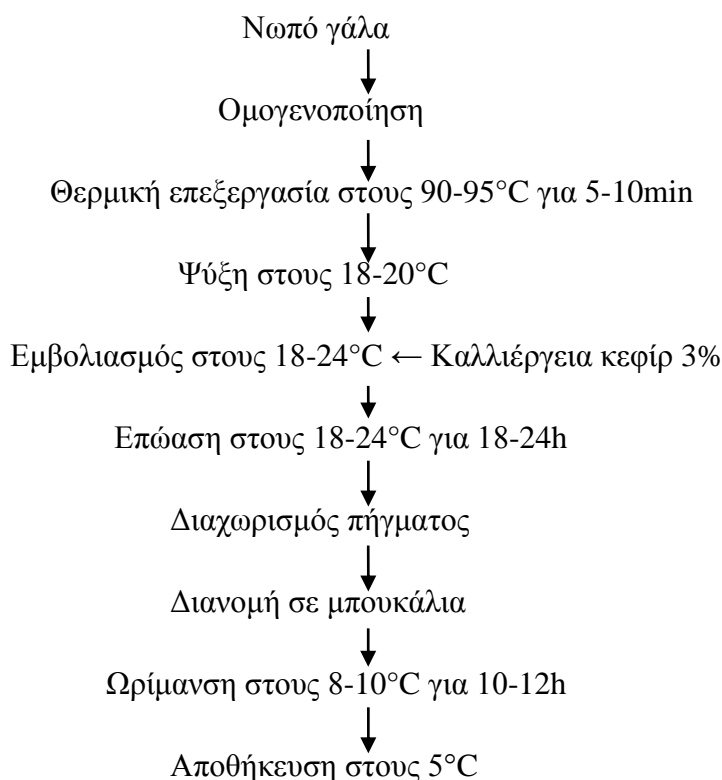


Σχήμα 2.1 Παραδοσιακή τεχνική παρασκευής κεφίρ (Otlés & Cagindi, 2003).

2.4.2 Διαδικασία που εφαρμόζεται στη βιομηχανία

Κατά την βιομηχανική παραγωγή (Σχήμα 2.2) το γάλα υφίσταται επιπλέον και ομογενοποίηση όπως στη γιαούρτη βιομηχανικού τύπου και η λιποπεριεκτικότητα μπορεί να ρυθμιστεί στα επιθυμητά επίπεδα. 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.



Σχήμα 2.2 Διαδικασία που ακολουθείται στη βιομηχανία (Ottles & Cagindi, 2003).

Επειδή εδώ ενδιαφέρει η οικονομία χώρων, εξοπλισμού και χρόνου, η ωρίμανση διαρκεί 10-12 ώρες στους 8-10°C κατά την οποία το προϊόν αποκτά επαρκή συνεκτικότητα, ώστε να αντλείται για συσκευασία χωρίς σοβαρά μειονεκτήματα για το ιξώδες. Τέλος το κεφίρ συσκευάζεται σε περιέκτες για την κατανάλωση και αποθηκεύεται στους 5°C μέχρι να διατεθεί (Ottles & Cagindi, 2003; Ζερφυρίδης, 2001).

Το κεφίρ της βιομηχανικής παραγωγής συνήθως έχει χαμηλά επίπεδα αλκοόλης (0,1%), δηλαδή όχι τόσο δυνατό, καθώς και διοξειδίου του άνθρακα (0,6g/l), δηλαδή μη επαρκώς αφρίζον (Ottles & Cagindi, 2003; Ζερφυρίδης, 2001). Επειδή όμως τα δυο αυτά συστατικά συμβάλλουν ουσιαστικά στα τυπικά χαρακτηριστικά του κεφίρ, θα πρέπει να επιδιώκεται η εξασφάλισή τους με τις κατάλληλες καλλιέργειες και συνθήκες παραγωγής (Ottles & Cagindi, 2003; Ζερφυρίδης, 2001).

2.5 Διαιτητική και θρεπτική αξία του κεφίρ

Το κεφίρ είναι ένα φυσικό προβιοτικό. Τα προβιοτικά είναι τρόφιμα που περιέχουν ζωντανά βακτήρια τα οποία είναι ωφέλιμα για την υγεία (Salminen et al., 1998). Το κεφίρ περιέχει ζωντανές δραστικές καλλιέργειες της φυσιολογικής χλωρίδας του έντερου, οι οποίες μπορούν να αποικίσουν στο έντερο του ανθρώπου με αποτέλεσμα να βοηθούν στην αναγέννηση της χλωρίδας του εντέρου, ιδιαίτερα ύστερα από χορήγηση αντιβιοτικών (Ottles & Cagindi, 2003).

Σε έρευνες που πραγματοποιήθηκαν στις Ανατολικές Ευρωπαϊκές χώρες και κυρίως στην πρώην Σοβιετική Ένωση έδειξαν ότι το προϊόν παρουσιάζει πολλά θετικά στοιχεία στην υγεία και στην διατροφή του ανθρώπου. Συγκεκριμένα, έχει υψηλά επίπεδα βιταμίνης B1, B2 και φολικού οξέος, αλλά και δυνατότητα σχηματισμού βιταμινών της ομάδας B. Είναι κατάλληλο για άτομα που εμφανίζουν δυσανεξία στην λακτόζη γιατί παρέχει την λακτάση στον οργανισμό. Έχει αντιμικροβιακές ιδιότητες, οι οποίες οφείλονται κυρίως στην παρουσία των λακτοβακίλλων. Υπάρχουν δεδομένα που δείχνουν ότι πολλοί λακτοβάκιλλοι είναι ικανοί να παράγουν ένα ευρύ φάσμα αντιμικροβιακών ουσιών, περιλαμβάνοντας οργανικά οξέα (γαλακτικό και οξικό οξύ), διοξειδίο του άνθρακα, υπεροξειδίο του υδρογόνου, αιθανόλη, διακετύλιο και πεπτίδια και μπορούν να ωφελήσουν 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. 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. Το κεφίρ παίζει σημαντικό ρόλο στον έλεγχο των υψηλών επιπέδων χοληστερόλης προστατεύοντας με αυτόν τον τρόπο τον άνθρωπο από καρδιαγγειακές βλάβες. Τέλος σύμφωνα με πειράματα σε πειραματόζωα, το κεφίρ έχει αντικαρκινική δράση (Koroleva, 1988.; Stepaniak & Fetlinski, 2002.; Ottles & Cagindi, 2003.; Farnworth, 2005).

2.6 Στοιχεία ρεολογίας ρευστών

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

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), πηκτή 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 (Dogan, 2011).

2.6.1.Δοκιμες 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.

2.6.1.1 Δυναμική δοκιμή

Κατά αυτή τη δοκιμή το δείγμα υποβάλλεται σε περιοδική τάση διάτμησης ή συμπίεσης μέσα στα όρια της γραμμικής ελαστικότητας του (μικρό ποσοστό παραμόρφωσης) (Ferry, 1980). Το δείγμα βρίσκεται μεταξύ δύο παράλληλων πλακών

εκ των οποίων η κάτω παραμένει ακίνητη ενώ η επάνω κινείται παλινδρομικά και στη περίπτωση της διάτμησης κινείται σε οριζόντια διεύθυνση πάντα σε επαφή με το δείγμα. Αν υποθεθεί ότι εφαρμόζεται απλή ημιτονοειδής διάτμηση τότε η παραμόρφωση γ σε συνάρτηση με το χρόνο t δίνεται από τη σχέση:

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

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 (1) ως παράγωγος της παραμόρφωσης:

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

η οποία μετατρέπεται σε:

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

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

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

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

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

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

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

και

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

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

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

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

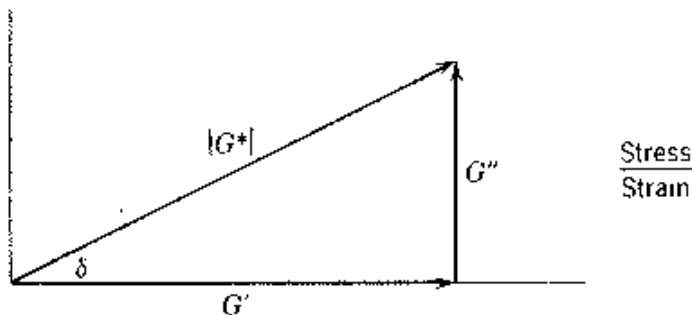
$$\eta^* = \frac{G^*}{\omega} = \sqrt{(\eta')^2 + (\eta'')^2} \quad (9)$$

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

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

$$\tan(\delta) = G''/G' \quad (10).$$

Η παράμετρος αυτή εκφράζει το λόγο της απώλειας ενέργειας ανά κύκλο ταλάντωσης προς την ενέργεια που αποθηκεύεται, ανά κύκλο ταλάντωσης (Σχήμα 2.3).

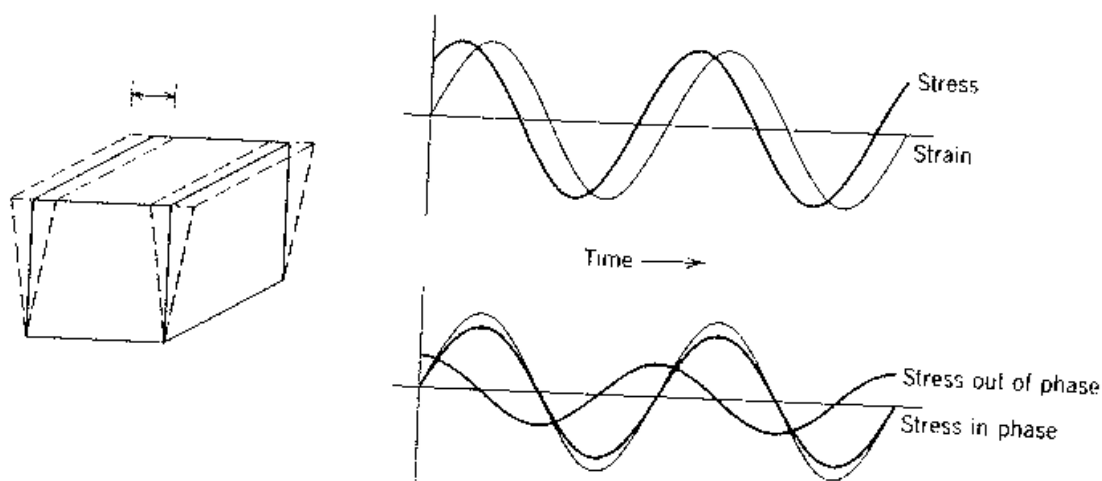


Σχήμα 2.3 Διανυσματική ανάλυση των συντελεστών απώλειας διάτμησης και ελαστικότητας διάτμησης σε ημιτονοειδή διάτμηση (Ferry, 1980).

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

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

ενέργειας λόγω απουσίας του ιξώδους και το G' είναι σταθερό και ίσο με το συντελεστή διάτμησης G . Η ρεολογική συμπεριφορά των υγρών χαρακτηρίζεται από το ότι η τάση με τη παραμόρφωση είναι εκτός φάσης κατά 90° . Σε αυτή την περίπτωση το G' και το η'' είναι μηδέν γιατί το υλικό δεν έχει την ιδιότητα να αποθηκεύει ενέργεια. Οπότε, το η' είναι ίσο με το νευτώνειο ιξώδες (Σχήμα 2.4).



Σχήμα 2.4 Γεωμετρία και χρονικό προφίλ ενός απλού πειράματος διάτμησης με ημιτονοειδή διάτμηση (Ferry, 1980).

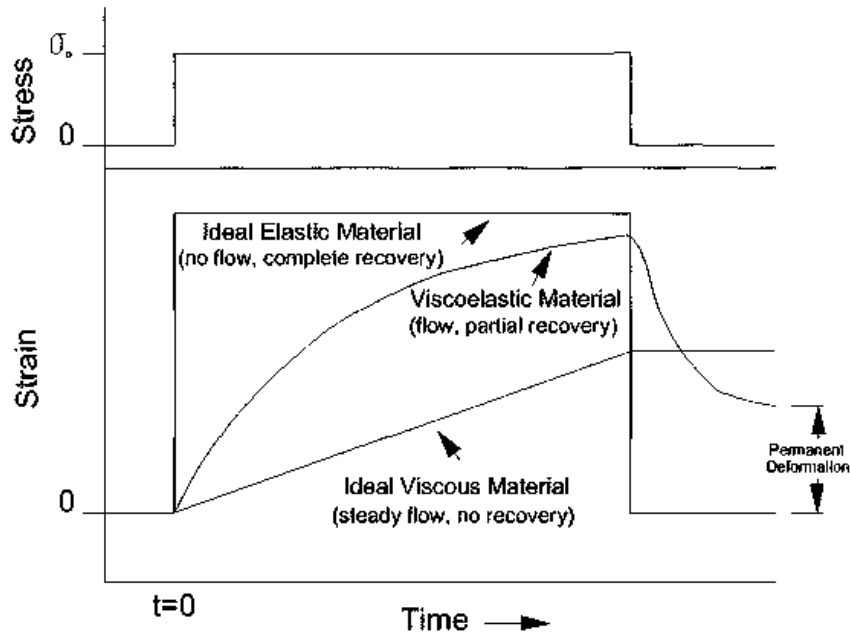
2.6.1.2 Δοκιμή ερπυσμού

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 2.5).



Σχήμα 2.5 : Καμπύλες ερπυσμού και επανάκαμψης (Steffe, 1996).

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

$$J = f(t) = \gamma / \sigma_{const} \quad (11)$$

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 .

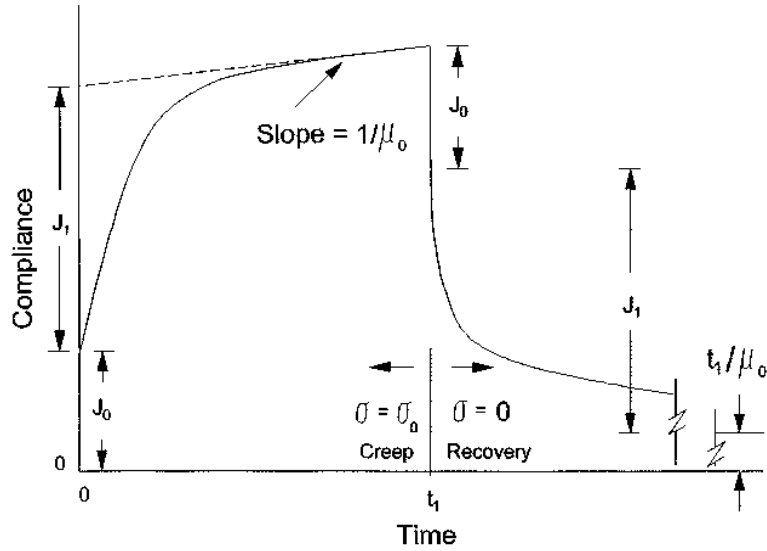
Όταν το υλικό είναι τέλεια ελαστικό τότε $J = 1/G$, δηλαδή είναι το αντίστροφο του συντελεστή ελαστικότητας.

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

$$J(t) = J_o + \sum_{r=1}^m [J_r [(1 - \exp(\frac{-t}{\lambda_{ret}}))] + \frac{t}{\mu_o} \quad (12)$$

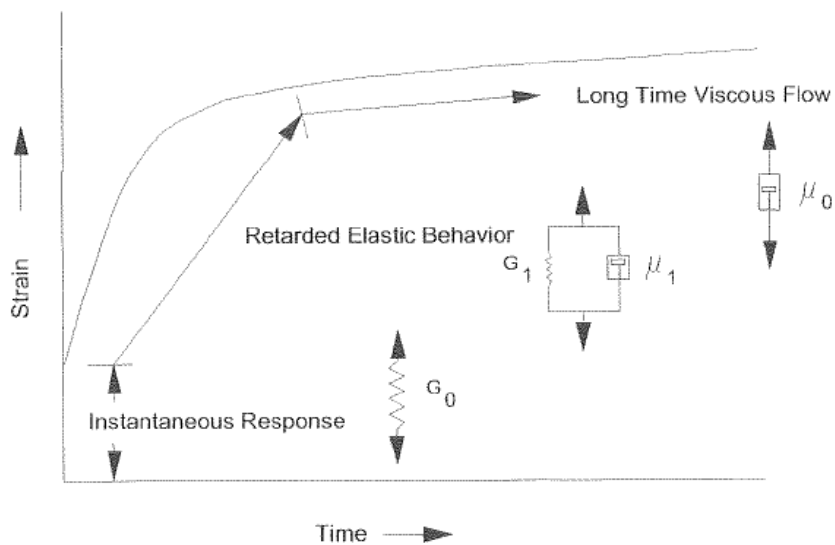
όπου J_0 είναι η στιγμιαία υποχώρηση (instantaneous compliance), J_r είναι η επιβραδυνόμενη υποχώρηση (retarded compliance), λ_{ret} είναι ο χρόνος επιβράδυνσης, μ_0 είναι το νευτώνειο ιξώδες.

Η παραπάνω σχέση γραφικά παριστάνεται με το Σχήμα 2.6.



Σχήμα 2.6 Καμπύλη υποχώρησης και επανάκαμψης (Steffe, 1996)

Εναλλακτικά η σχέση αυτή μπορεί να παρουσιασθεί με τους συντελεστές ελαστικότητας ($G=1/J$) αντί για τις υποχωρήσεις και παριστάνεται γραφικά με τη καμπύλη του Σχήματος 2.7.



Σχήμα 2.7 Τυπική καμπύλη ερπυσμού (Steffe, 1996).

2.6.2 Προσδιορισμός ιξώδους

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

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

$$\frac{F}{A} = \eta \frac{u}{Z} \quad (13)$$

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

Νευτώνια και μη-Νευτώνια ρευστά: Από τον θεμελιώδη ορισμό του ιξώδους προκύπτει η διαφορική σχέση:

$$\frac{F}{A} = \eta \frac{du}{dz} \quad (14)$$

η οποία μπορεί να γραφεί ως:

$$\tau = \eta * \dot{\gamma} \quad (15)$$

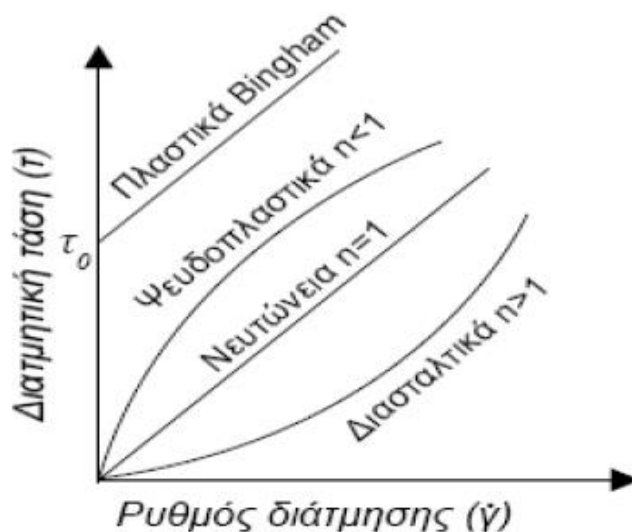
όπου τ είναι η διατμητική τάση του ρευστού. Η εξίσωση αυτή αρχικά προτάθηκε από τον Νεύτωνα και ισχύει για ρευστά όπως το νερό. Όμως για πολλά ρευστά που χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία τροφίμων, οι μετρήσεις του ιξώδους δείχνουν απόκλιση από αυτή την απλή σχέση και γι αυτό το λόγο προτάθηκε μια πιο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

$$\tau = \tau_0 + k * \dot{\gamma}^n \quad (16)$$

που ονομάζεται γενική εξίσωση του εκθετικού νόμου (power law) και όπου το k είναι ο συντελεστής συνεκτικότητας, n ο δείκτης ρεολογικής συμπεριφοράς και τ_0 η τάση

διαρροής, η οποία απαιτείται σε ορισμένα υγρά για να αρχίσουν να ρέουν. Όταν ο εκθέτης έχει τιμή 1 και $\tau_0 = 0$ τότε το ρευστό ονομάζεται Νευτώνειο, γιατί υπακούει στο νόμο του Νεύτωνα. Σε διαφορετική περίπτωση το ρευστό ονομάζεται μη-Νευτώνειο. Γραφικά οι αποκλίσεις από το νόμο του Νεύτωνα παρίστανται στην ακόλουθη γραφική παράσταση (Σχήμα 2.8). Τα ρευστά με $n < 1$ και $\tau_0 = 0$ ονομάζονται ψευδοπλαστικά και από το σχήμα της καμπύλης τους φαίνεται ότι το ιξώδες τους είναι υψηλό σε χαμηλές τιμές του ρυθμού διάτμησης και όσο αυξάνει ο ρυθμός διάτμησης τόσο το ιξώδες ελαττώνεται. Αντίθετα αν $n > 1$ και $\tau_0 = 0$ τότε το ρευστό ονομάζεται διασταλτικό, που σημαίνει ότι σε χαμηλές τιμές του ρυθμού διάτμησης το ιξώδες είναι χαμηλό και όσο αυξάνει ο ρυθμός διάτμησης τόσο αυξάνει και το ιξώδες. Τέλος, αν $n = 1$ και $\tau_0 > 0$ τα ρευστά ονομάζονται Bingham (Darby, 1996).

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



Σχήμα 2.8 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 ΣΠΟ και ΚΑ, καθώς επίσης και του χρόνου διατήρησης στις ιξωδοελαστικές και ρεολογικές ιδιότητες του κεφίρ. Στα δείγματα εφαρμόστηκαν η δυναμική δοκιμή και η δοκιμή ερπυσμού και προσδιορίστηκε το ιξώδες τους. Η προσθήκη των ΣΠΟ και ΚΑ έγινε σε δύο διαφορετικά ποσοστά (1,5% και 3%), ενώ τα δείγματα εξετάστηκαν αμέσως μετά την παρασκευή τους (0 ημέρες) καθώς επίσης στις 7,14,21 και 28 ημέρες αποθήκευσης τους.

4. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

4.1 Παρασκευή δειγμάτων κεφίρ

Για την παρασκευή των δειγμάτων κεφίρ χρησιμοποιήθηκε καλλιέργεια εκκίνησης οικιακής παραγωγής (κόκκοι κεφίρ), παστεριωμένο αγελαδινό γάλα λιποπεριεκτικότητας 3,5%, ΣΠΟ (Hellenic Protein S.A., Athens, Greece) και ΚΑ (MIPRODAN 30; Arla Food Ingredients, Viby J., Denmark) σε ποσοστά προσθήκης 1,5 και 3%.

Η χημική σύσταση των ΣΠΟ ήταν η ακόλουθη:

- Υγρασία $\leq 5,0\%$
- Πρωτεΐνες $80,0\%$
- Λίπος $3,5\%$
- Τέφρα $3,0\%$
- Λακτόζη $10,0\%$

Η χημική σύσταση των ΚΑ ήταν:

- Υγρασία $\leq 6,0$
- Πρωτεΐνες $88-93,5\%$
- Λίπος $1,5\%$
- Τέφρα $4,0\%$
- Λακτόζη $0,3\%$

Η προσθήκη των ΣΠΟ και των ΚΑ έγινε πριν την θερμική επεξεργασία του γάλακτος.

Η παρασκευή όλων των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε δυο φορές.

Τα στάδια παρασκευής των δειγμάτων ήταν τα ακόλουθα:

- ❖ Προετοιμασία του γάλακτος: Για να επιτευχθεί ο επιθυμητός βαθμός μετουσίωσης των πρωτεϊνών, έγινε θερμική επεξεργασία του γάλακτος στους 85°C για 15 min και μετά ακολούθησε ψύξη του σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, δηλαδή στους 25°C .
- ❖ Δραστηριοποίηση των κόκκων: Για την ενεργοποίηση των κόκκων το γάλα εμβολιάστηκε με κόκκους κεφίρ σε ποσοστό 3% και επώαστηκε στους

25°C μέχρι τιμής pH 4,4. Ακολούθησε διαχωρισμός των κόκκων με διήθηση με την βοήθεια ηθμού από ανοξείδωτο χάλυβα στον οποία κατακρατήθηκαν οι κόκκοι. Η ενεργοποίηση των κόκκων συνεχίστηκε έως ότου η τιμή του pH να φτάσει στο επιθυμητό όριο δηλαδή 4,4 σε χρόνο περίπου 20h.

- ❖ Παρασκευή δειγμάτων χωρίς προσθήκη ΣΠΟ και ΚΑ: Το θερμικά επεξεργασμένο γάλα εμβολιάστηκε με τους κόκκους κεφίρ, οι οποίοι είχαν δραστηριοποιηθεί το προηγούμενο διάστημα, σε ποσοστό 3%. Ο εμβολιασμός των δειγμάτων έγινε σε αποστειρωμένους γυάλινους περιέκτες. Τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε κλίβανο στους 25°C για επώαση έως ότου το pH να φτάσει στην επιθυμητή τιμή 4,4. Στη συνέχεια έγινε διαχωρισμός των κόκκων κεφίρ με διήθηση των πηγμάτων με την χρήση ηθμού από ανοξείδωτο χάλυβα. Το διήθημα συλλέχτηκε με αποστειρωμένους γυάλινους περιέκτες και τοποθετήθηκε στους 4°C για τουλάχιστον 24h μέχρι να ξεκινήσουν οι αναλύσεις των δειγμάτων (0 ημέρες αποθήκευσης). Σε αυτήν τη θερμοκρασία παρέμειναν συνολικά για χρονικό διάστημα 28 ημερών, όπου και εξετάζονταν κάθε 7 ημέρες. Συγκεκριμένα, ο χρόνος διατήρησης μελετήθηκε στις 0,7,14,21 και 28 ημέρες.
- ❖ Παρασκευή δειγμάτων με προσθήκη ΣΠΟ: Αρχικά έγινε η διαλυτοποίηση των ΣΠΟ σε ποσότητα γάλακτος με την χρήση μαγνητικού αναδευτήρα σε θερμοκρασία 35°C. Η προσθήκη τους έγινε με αργό ρυθμό για την αποφυγή δημιουργίας πηγμάτων. Στην συνέχεια πραγματοποιήθηκε η θερμική επεξεργασία του γάλακτος και η ψύξη του. Η παρασκευή των δειγμάτων έγινε όπως περιγράφεται στην παρασκευή δειγμάτων κεφίρ χωρίς την προσθήκη ΣΠΟ και ΚΑ.
- ❖ Παρασκευή δειγμάτων με προσθήκη ΚΑ: Για την παρασκευή των δειγμάτων με προσθήκη ΚΑ πραγματοποιήθηκε η ίδια διαδικασία με την Παρασκευή δειγμάτων με προσθήκη ΣΠΟ.

Κωδικοποίηση των δειγμάτων: Τα δείγματα ανάλογα με το ποσοστό προσθήκης ΣΠΟ και ΚΑ αλλά και το χρόνο συντήρησης τους αναφέρονται στο κείμενο ως εξής:

- Μ: Δείγμα κεφίρ χωρίς την προσθήκη ΣΠΟ και ΚΑ, τα δείγματα αναφέρονται ως Μ0, Μ7, Μ14 κ.α. ανάλογα με τον χρόνο συντήρησης (0 ημέρες, 7 ημέρες, 14 ημέρες κ.α.).

- 3KA: Δείγμα με προσθήκη 3% KA, αναφέρονται ως 3KA0, 3KA7, 3KA14 κ.α. ανάλογα με τον χρόνο συντήρησης (0 ημέρες, 7 ημέρες, 14 ημέρες κ.α.).
- 1,5KA: Δείγμα με προσθήκη 1,5% KA, αναφέρονται ως 1,5KA0, 1,5KA7, 1,5KA14 κ.α. ανάλογα με τον χρόνο συντήρησης (0 ημέρες, 7 ημέρες, 14 ημέρες κ.α.).
- 3ΠΟ: Δείγμα με προσθήκη 3% ΣΠΟ, αναφέρονται ως 3ΠΟ0, 3ΠΟ7, 3ΠΟ14 κ.α. ανάλογα με τον χρόνο συντήρησης (0 ημέρες, 7 ημέρες, 14 ημέρες κ.α.).
- 1,5ΠΟ: Δείγμα με προσθήκη 1,5% ΣΠΟ, αναφέρονται ως 1,5ΠΟ0, 1,5ΠΟ7, 1,5ΠΟ14 κ.α. ανάλογα με τον χρόνο συντήρησης (0 ημέρες, 7 ημέρες, 14 ημέρες κ.α.).

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 και η δοκιμή ερπυσμού και προσδιορίστηκε το ιξώδες τους. Η θερμοκρασία μέτρησης κατά τη διάρκεια των πειραμάτων ήταν 25°C. Οι ρεολογικές μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν δυο φορές για κάθε δείγμα.

Δυναμική δοκιμή ή δοκιμή ταλάντωσης

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

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. Οι τιμές της παραμόρφωσης των δειγμάτων καθ' όλη τη διάρκεια των μετρήσεων και για όλα τα δείγματα ήταν της τάξης των 10^{-4} με 10^{-5} . 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 .

Προσδιορισμός ιξώδους

Το ιξώδες των δειγμάτων προσδιορίστηκε σε διαφορετικές τιμές ταχύτητας διάτμησης (από 10 έως 100 s^{-1}). Ποσότητα δείγματος τοποθετήθηκε στο δειγματοφορέα του οργάνου. Το σύστημα μέτρησης που χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό του ιξώδους ήταν αυτό του κώνου – πλάκας. Ο κώνος, ο οποίος σχημάτιζε γωνία 4° μετακινήθηκε προς το δείγμα, έτσι ώστε να δημιουργηθεί διάκενος χώρος μεταξύ του κώνου και της πλάκας 150 μm . Η περίσσεια του δείγματος αφαιρέθηκε με τη βοήθεια σπάτουλας και στη συνέχεια δόθηκε εντολή για έναρξη της μέτρησης. Από τις καμπύλες ροής των δειγμάτων υπολογίστηκε ο δείκτης συνεκτικότητας k και ο δείκτης ρεολογικής συμπεριφοράς n .

4.3 Μέτρηση pH

Το pH των δειγμάτων κεφίρ προσδιορίστηκε με την βοήθεια του εργαστηριακού πεχάμετρου EDT Instruments GP353 ATC pHMETER. Το πεχάμετρο ελέγχεται και ρυθμίζεται με την χρήση ρυθμιστικών διαλυμάτων (Buffer 4 και 7). Η θερμοκρασία του πεχάμετρου προσαρμόζεται στην θερμοκρασία του δείγματος και το ηλεκτρόδιο εμβαπτίζεται στο δείγμα του κεφίρ. Στην συνέχεια σημειώνεται η ένδειξη του πεχάμετρου και σαν τιμή του pH λαμβάνεται ο μέσος όρος δυο μετρήσεων.

4.4 Μέτρηση της οξύτητας

Η μέτρηση της οξύτητας έγινε με ογκομέτρηση χρησιμοποιώντας διάλυμα καυστικού νατρίου (NaOH) N/4. Σε κωνική φιάλη τοποθετήθηκαν με την βοήθεια σιφωνίου 10ml δείγματος κεφίρ και 10ml αποσταγμένου νερού H_2O . Προστέθηκαν 2 σταγόνες δείκτη φαινολοφθαλείνη και έγινε ογκομέτρηση με το διάλυμα NaOH N/4 (το οποίο βρίσκονταν σε προχοΐδα) υπό συνεχή ανάδευση μέχρι να εμφανιστεί ελαφρώς ροζ χρώμα οπότε και σημειώθηκε η ένδειξη της κατανάλωσης του NaOH. Αρχικά η

οξύτητα υπολογίστηκε σε βαθμούς °SH και στη συνέχεια έγινε η αντιστοιχία σε % γαλακτικό οξύ (Δημητρέλη, 2009).

4.5 Στατιστική ανάλυση

Στα στοιχεία του πειράματος εφαρμόστηκε η ανάλυση διακύμανσης δυο επιλέξιμων παραγόντων (Two-Way ANOVA): είδος δείγματος (προσθήκη ή όχι ΣΠΟ ή ΚΑ σε δύο διαφορετικά ποσοστά 1,5% ή 3%) (5 επίπεδα Μ, 3ΚΑ, 1,5ΚΑ, 3ΣΠΟ, 1,5ΣΠΟ) και χρόνος διατήρησης των δειγμάτων (5 επίπεδα 0ημέρες, 7ημέρες, 14ημέρες, 21ημέρες, 28ημέρες). Σε περίπτωση που τα αποτελέσματα της ANOVA εμφάνισαν στατιστική σημαντικότητα του μελετώμενου 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 των δειγμάτων κεφίρ

Στον Πίνακα 5.1 παρουσιάζεται ο χρόνος επώασης των δειγμάτων κεφίρ, ώστε να φτάσουν την επιθυμητή τιμή pH 4,4. Τα αποτελέσματα της ANOVA έδειξαν πως ο χρόνος επώασης επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά ($p < 0,05$) από το είδος του δείγματος. Σύμφωνα με το Σχήμα 5.1, η προσθήκη ΣΠΟ είχε σαν αποτέλεσμα την μείωση του χρόνου επώασης ενώ η προσθήκη ΚΑ προκάλεσε την αύξηση του σε σχέση με τον μαρτύρα. Σύμφωνα με τον έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων του Tukey η κατάταξη των δειγμάτων με φθίνουσα σειρά έχει ως εξής:

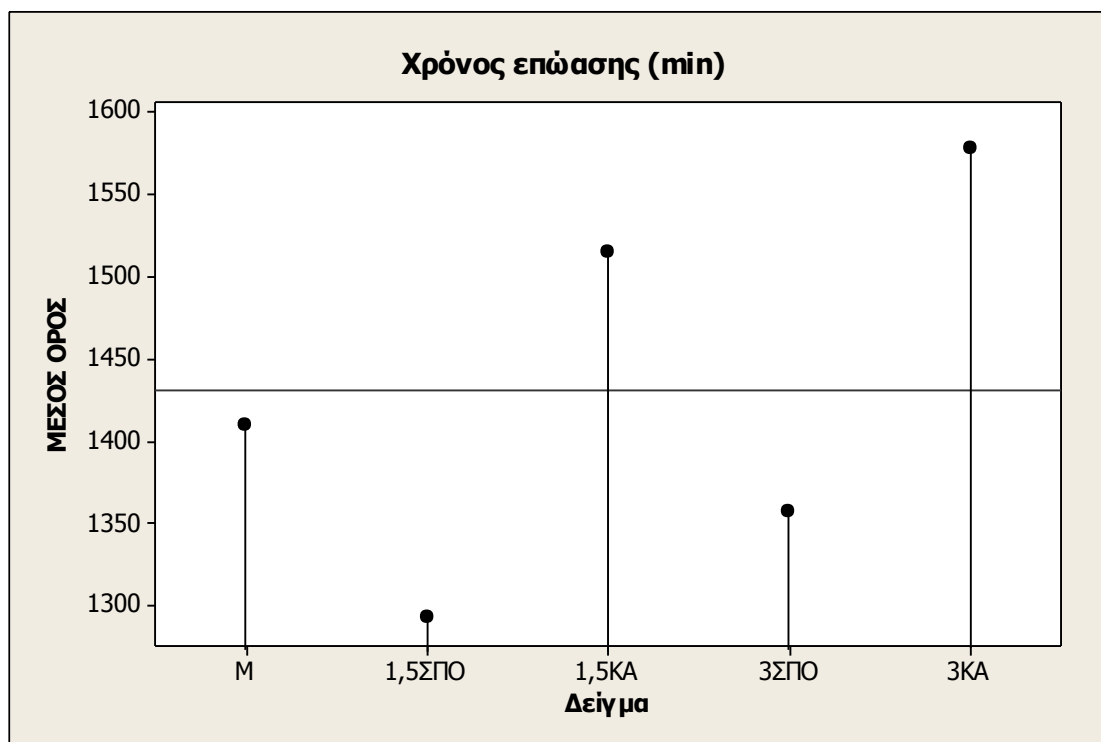
$$3\%ΚΑ > 1,5\%ΚΑ > Μ > 3\%ΣΠΟ > 1,5\%ΣΠΟ$$

Πίνακας 5.1 Χρόνος επώασης των δειγμάτων κεφίρ που απαιτείται ώστε το pH να φτάσει την επιθυμητή τιμή 4,4.

ΔΕΙΓΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ ΕΠΩΑΣΗΣ(min)
Μ	1410
1,5ΣΠΟ	1293
1,5ΚΑ	1515
3ΣΠΟ	1358
3ΚΑ	1578

Η μείωση του χρόνου επώασης με την προσθήκη ΣΠΟ οφείλεται στην παρουσία διαφόρων θρεπτικών συστατικών στις ΣΠΟ, τα οποία διεγείρουν την μεταβολική δραστηριότητα των μικροοργανισμών (Dimitreli et al., 2013). Η αύξηση του χρόνου επώασης με την προσθήκη ΚΑ οφείλεται στην παρουσία 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). Μάλιστα η αύξηση του ποσοστού προσθήκης ΚΑ αύξησε ακόμη περισσότερο το χρόνο επώασης.

Το δείγμα 3% ΣΠΟ θα αναμενόταν να εμφανίσει μικρότερο χρόνο επώασης σε σχέση με το δείγμα 1,5%, δεδομένου ότι οι ΣΠΟ επιταχύνουν την επώαση. Ωστόσο, επειδή και οι πρωτεΐνες ορού εμφανίζουν ρυθμιστική ικανότητα (μειωμένη όμως σε σχέση με τις καζεΐνες) (Salaün et al., 2005), η προσθήκη τους σε υψηλά ποσοστά αυξάνει το χρόνο επώασης των δειγμάτων (σε σχέση πάντα με την προσθήκη μικρών ποσοστών).



Σχήμα 5.1 Επίδραση της προσθήκης ΣΠΟ και ΚΑ στον χρόνο επώασης των δειγμάτων κεφίρ.

5.2 Οξύτητα και τιμή pH των δειγμάτων κεφίρ

Στον Πίνακα 5.2 αναγράφονται οι μέσοι όροι των τιμών της οξύτητας και οι μέσοι όροι των τιμών του pH όλων των δειγμάτων κεφίρ σε σχέση με τον χρόνο διατήρησης.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της ANOVA, η οξύτητα επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά τόσο από το είδος του δείγματος ($p < 0,05$) όσο και από το χρόνο διατήρησης ($p < 0,05$).

Στο Σχήμα 5.2 φαίνεται πως η προσθήκη ΣΠΟ και ΚΑ, αλλά και η αντίστοιχη αύξηση των ποσοστών προσθήκης τους, προκάλεσε αύξηση της οξύτητας σε σχέση με τον μάρτυρα. Η αύξηση της οξύτητας των ΣΠΟ ήταν μικρότερη σε σχέση με την αύξηση των τιμών της οξύτητας που προέρχονταν από την προσθήκη των ΚΑ. Η κατάταξη των δειγμάτων κατά φθίνουσα σειρά σύμφωνα με τον έλεγχο των πολλαπλών συγκρίσεων του Tukey είναι η εξής:

3% ΚΑ > 1,5% ΚΑ = 3% ΣΠΟ > 1,5% ΣΠΟ > Μ

Η αυξημένη ρυθμιστική ικανότητα των καζεϊνών είχε ως αποτέλεσμα την παραγωγή μεγαλύτερης ποσότητας γαλακτικού οξέος από τους μικροοργανισμούς, ώστε να μειωθεί το pH των δειγμάτων στην επιθυμητή τιμή. Οι πρωτεΐνες ορού, οι οποίες εμφανίζουν μειωμένη ρυθμιστική ικανότητα σε σχέση με τις καζεΐνες, οδήγησαν σε αυξημένες τιμές οξύτητας σε σχέση με το μάρτυρα, μικρότερες όμως από τις αντίστοιχες των δειγμάτων με προσθήκη ΚΑ.

Στο Σχήμα 5.2 φαίνεται επίσης πως ο χρόνος διατήρησης προκάλεσε αύξηση της οξύτητας σε όλα τα δείγματα. Τα αποτελέσματα του ελέγχου Tukey έδειξαν την έξιης κατάταξη:

28ημερες > 21ημερες 14ημερες 7ημερες > 0ημερες

Η αύξηση της οξύτητας με την αύξηση του χρόνου διατήρησης των δειγμάτων κεφίρ οφείλεται σε μεταβολική δραστηριότητα των μικροοργανισμών. Ακόμη και σε θερμοκρασίες συντήρησης οι μικροοργανισμοί που υπάρχουν στο προϊόν διασπούν τη λακτόζη προς παραγωγή οξέων (Leite et al., 2013), αυξάνοντας με αυτόν τον τρόπο τη οξύτητα των δειγμάτων κεφίρ κατά τη διάρκεια της συντήρησης τους.

Τα αποτελέσματα της ANOVA έδειξαν πως η μέτρηση του pH δεν επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά σύμφωνα από το είδος του δείγματος ($p=0,325$). Το γεγονός ότι δεν υπήρξε διαφοροποίηση των τιμών pH μεταξύ των δειγμάτων κεφίρ ακόμη και εάν εμφάνισαν διαφορετικές τιμές οξύτητας, οφείλεται στη ρυθμιστική ικανότητα των πρωτεϊνών γάλακτος.

Αντίθετα, η τιμή του pH επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από το χρόνο διατήρησης των δειγμάτων ($p<0,05$). Σύμφωνα με το Σχήμα 5.3 οι τιμές του pH

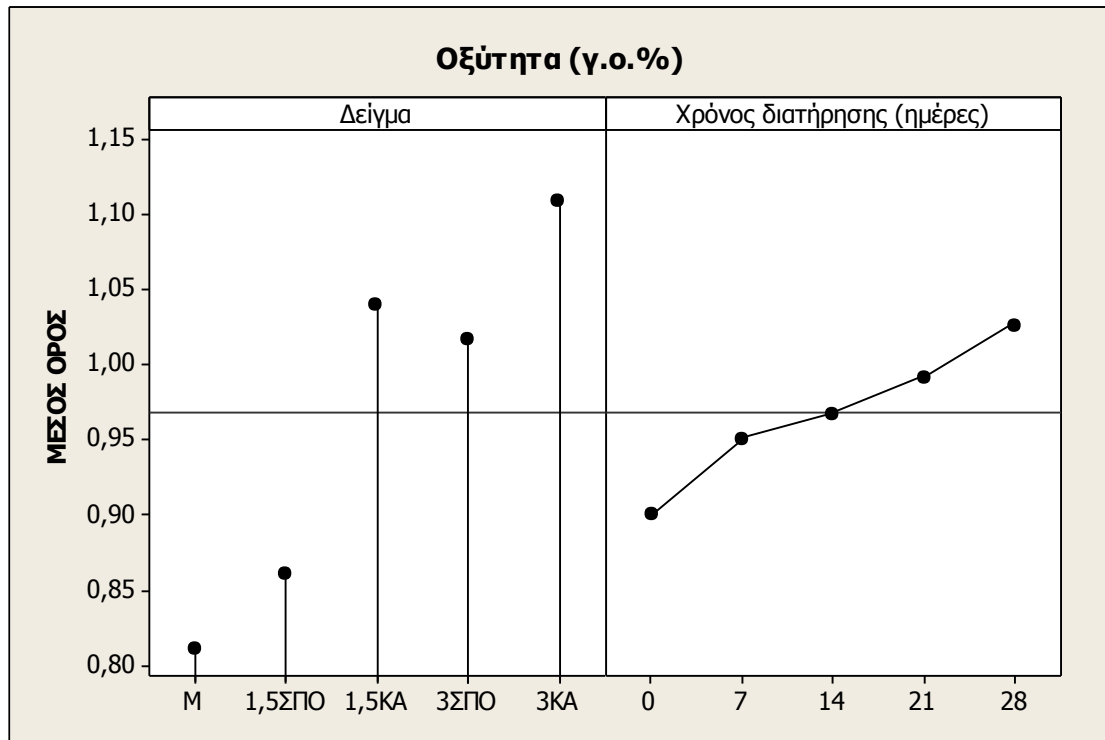
αρχικά παρουσίασαν μείωση στις 7 ημέρες, στη συνέχεια αυξήθηκαν στις 14 ημέρες και εμφάνισαν μία συνεχή μείωση των τιμών τους στις 21 και 28 ημέρες. Σύμφωνα με τον έλεγχο Tukey η κατάταξη είναι η εξής:

14ημέρες > 21ημέρες > 28ημέρες > 0ημέρες > 7ημέρες

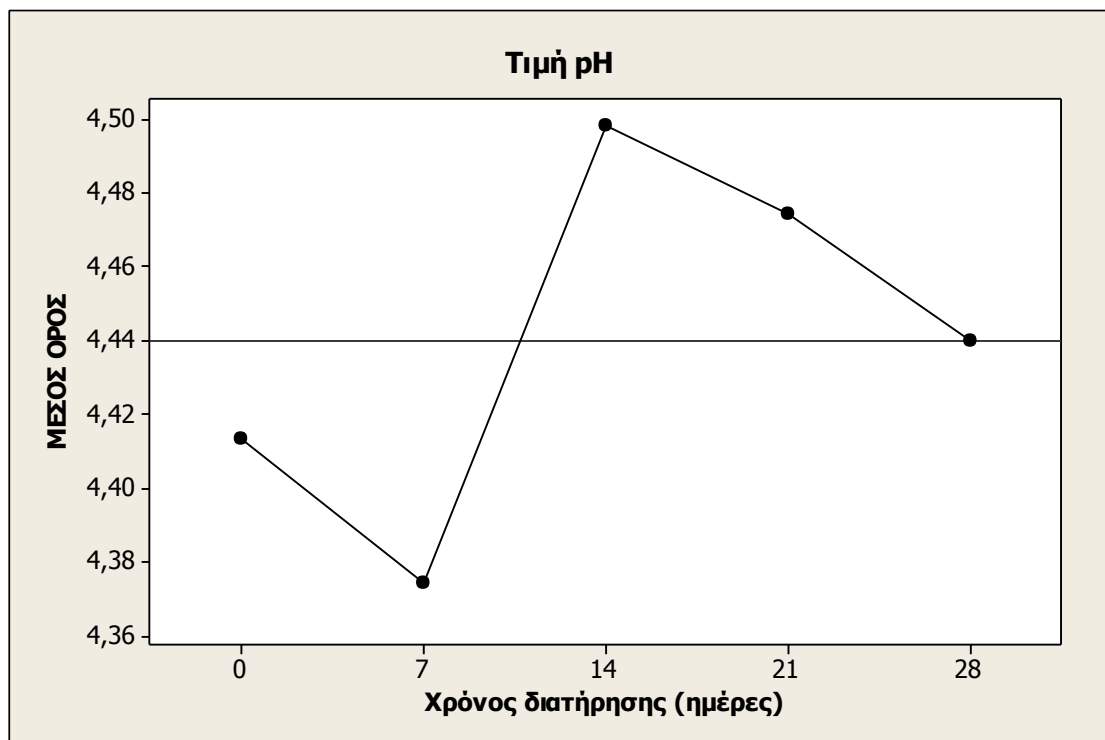
Η μείωση των τιμών pH με την αύξηση του χρόνου διατήρησης οφείλεται στη μεταβολική δραστηριότητα των μικροοργανισμών όπως προαναφέρθηκε. Ωστόσο, κατά την αποθήκευση των δειγμάτων λαμβάνει χώρα διάσπαση των πρωτεϊνών από την παρουσία διαφόρων ενζύμων, πιθανώς προερχόμενα από τους μικροοργανισμούς της καλλιέργειας εκκίνησης (κόκκοι κεφίρ). Τα προϊόντα διάσπασης είναι διάφορες αλκαλικές ενώσεις (Κεχαγιάς, 2011) οι οποίες προκαλούν μία αύξηση των τιμών του pH στις 14 ημέρες αποθήκευσης. Η συνεχής όμως παραγωγή γαλακτικού οξέος από τους μικροοργανισμούς, η οποία πιθανόν να γίνεται με μεγαλύτερο ρυθμό από ότι η διάσπαση των πρωτεϊνών, είναι υπεύθυνη για τη μετέπειτα μείωση των τιμών του pH.

Πίνακας 5.2 Μέσοι όροι των τιμών της οξύτητας των δειγμάτων κεφίρ σε σχέση με τον χρόνο διατήρησης.

ΔΕΙΓΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗΣ (ΗΜΕΡΕΣ)	ΟΞΥΤΗΤΑ (γ.ο.%)	pH
M	0	0,742	4,425
M	7	0,790	4,40
M	14	0,800	4,48
M	21	0,857	4,44
M	28	0,868	4,42
1,5ΣΠΟ	0	0,821	4,41
1,5ΣΠΟ	7	0,831	4,37
1,5ΣΠΟ	14	0,835	4,50
1,5ΣΠΟ	21	0,876	4,49
1,5ΣΠΟ	28	0,943	4,45
1,5ΚΑ	0	0,938	4,41
1,5ΚΑ	7	1,015	4,36
1,5ΚΑ	14	1,059	4,50
1,5ΚΑ	21	1,062	4,48
1,5ΚΑ	28	1,130	4,44
3ΣΠΟ	0	0,969	4,41
3ΣΠΟ	7	1,011	4,38
3ΣΠΟ	14	1,020	4,5
3ΣΠΟ	21	1,038	4,48
3ΣΠΟ	28	1,047	4,44
3ΚΑ	0	1,038	4,41
3ΚΑ	7	1,106	4,36
3ΚΑ	14	1,126	4,51
3ΚΑ	21	1,130	4,48
3ΚΑ	28	1,147	4,45



Σχήμα 5.2 Επίδραση του είδους του δείγματος κεφίρ και του χρόνου διατήρησης στην οξύτητα.



Σχήμα 5.3 Επίδραση του χρόνου διατήρησης στην τιμή pH των δειγμάτων κεφίρ.

5.3 Μελέτη ρεολογικών ιδιοτήτων των δειγμάτων κεφίρ

5.3.1 Δυναμική δοκιμή

Στον Πίνακα 5.4 παρουσιάζονται οι μέσοι όροι των τιμών του G' και της $\tan\delta$ των δειγμάτων κεφίρ σε σχέση με τον χρόνο διατήρησης.

Η εφαρμογή της ANOVA έδειξε πως ο G' επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από το είδος του δείγματος ($p < 0,05$) καθώς επίσης και από το χρόνο διατήρησης ($p < 0,05$). Σύμφωνα με τον έλεγχο του Tukey η κατάταξη των δειγμάτων για τις τιμές G' όσον αφορά το είδος δείγματος είναι η εξής:

$$3\%KA > 1,5\%KA = 3\%ΣΠΟ > 1,5\%ΣΠΟ = M$$

Η κατάταξη των τιμών του G' όσον αφορά τον χρόνο διατήρησης είναι η εξής:

$$7 \text{ ημέρες} > 0 \text{ ημέρες} = 14 \text{ ημέρες} > 21 \text{ ημέρες} > 28 \text{ ημέρες}$$

Σύμφωνα με το Σχήμα 5.4, η προσθήκη KA και ΣΠΟ είχαν ως αποτέλεσμα την αύξηση των τιμών του G' . Συγκεκριμένα, την υψηλότερη τιμή του G' παρουσίασε το δείγμα 3%KA και τη μικρότερη ο μάρτυρας και το δείγμα 1,5%ΣΠΟ. Η συνεκτικότητα των δειγμάτων επηρεάζεται περισσότερο από τις καζεΐνες εξαιτίας της παρουσίας τους στο γάλα υπό τη μορφή συμπλόκων (καζεϊνικών μικκυλίων). Τα σύμπλοκα αυτά εμφανίζουν αυξημένο υδροδυναμικό όγκο με αποτέλεσμα κατά τη μείωση του pH να έρχονται σε επαφή μεταξύ τους δημιουργώντας ισχυρές αλληλεπιδράσεις. Οι πρωτεΐνες ορού όταν βρίσκονται σε αυξημένη συγκέντρωση μέσω των συμπλόκων τους με τις καζεΐνες επίσης αυξάνουν την ελαστικότητα του πρωτεϊνικού πλέγματος. Η θερμική επεξεργασία του γάλακτος έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία συμπλόκου μεταξύ της κ-καζεΐνης και της β-γαλακτογλοβουλίνης.

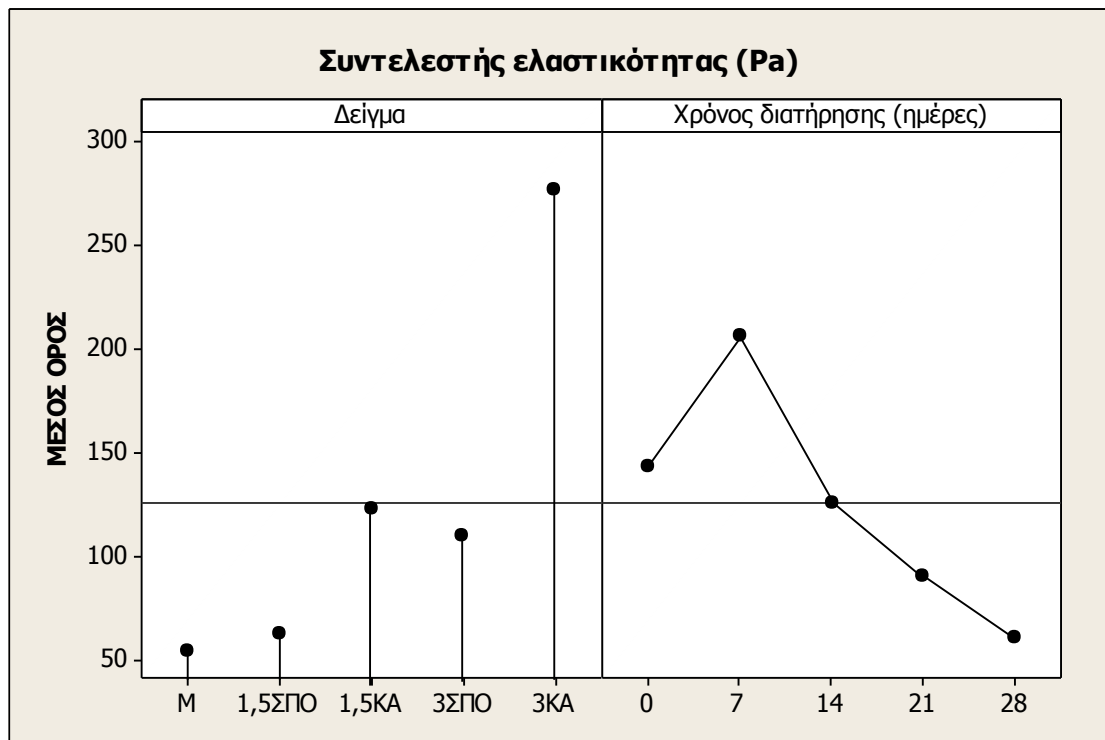
Όσον αφορά το χρόνο διατήρησης, ο συντελεστής ελαστικότητας G' παρουσίασε αύξηση των τιμών του από τις 0 μέχρι τις 7 ημέρες διατήρησης, ενώ στη συνέχεια εμφάνισε μία συνεχή μείωση (Σχήμα 5.4). Η αύξηση της ελαστικότητας των δειγμάτων κατά τις πρώτες 7 ημέρες αποθήκευσης μπορεί να αποδοθεί σε ενυδάτωση των πρωτεϊνών εξαιτίας περεταίρω μείωση του pH (Sodini et al., 2004), όπως φαίνεται και από τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας. Η μείωση του pH κάτω από το ισοηλεκτρικό σημείο των πρωτεϊνών αυξάνει τον αριθμό των θετικά φορτισμένων ομάδων με αποτέλεσμα να αυξάνονται οι απώσεις μεταξύ των μορίων

και φυσικά να αυξάνεται η ενυδάτωσή τους. Η αύξηση της ελαστικότητας του πρωτεϊνικού πλέγματος μπορεί επίσης να αποδοθεί σε παραγωγή του πολυσακχαρίτη κεφιράνη (Sodini et al., 2004). Οι λακτοβάκιλλοι, οι οποίοι είναι υπεύθυνοι για την παραγωγή της, είναι οξεάντοχοι μικροοργανισμοί, οπότε μπορούν ακόμη και σε χαμηλές τιμές pH να συνθέτουν τον πολυσακχαρίτη.

Η μείωση των τιμών του G' μετά το πέρας των 7 ημερών και καθ' όλη τη διάρκεια της συντήρησης των δειγμάτων μπορεί να αποδοθεί αφενός μεν σε διάσπαση των πρωτεϊνών από τη δράση των ενζύμων (αυτό διαπιστώνεται και από την αύξηση των τιμών του pH στις 14 ημέρες) και αφετέρου στη διάσπαση του πολυσακχαρίτη κεφιράνη από τους μικροοργανισμούς του κεφίρ.

Πίνακας 5.4 Μέσοι όροι του συντελεστή ελαστικότητας και της $\tan\delta$ για τα δείγματα κεφίρ σε σχέση με τον χρόνο διατήρησής τους.

ΔΕΙΓΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗΣ (ΗΜΕΡΕΣ)	ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΗΣ ΕΛΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ (Pa)	$\tan\delta$
M	0	41,2	0,786
M	7	70,8	0,754
M	14	66,7	0,826
M	21	63,3	0,985
M	28	31,9	1,111
1,5ΣΠΟ	0	67,1	1,135
1,5ΣΠΟ	7	79,0	0,974
1,5ΣΠΟ	14	72,3	1,155
1,5ΣΠΟ	21	60,6	1,265
1,5ΣΠΟ	28	34,7	1,309
1,5ΚΑ	0	152,1	0,603
1,5ΚΑ	7	188,8	0,576
1,5ΚΑ	14	107,0	0,676
1,5ΚΑ	21	85,8	0,793
1,5ΚΑ	28	78,7	0,913
3ΣΠΟ	0	137,1	0,704
3ΣΠΟ	7	153,4	0,684
3ΣΠΟ	14	126,3	0,729
3ΣΠΟ	21	71,8	0,948
3ΣΠΟ	28	60,8	1,156
3ΚΑ	0	319,9	0,551
3ΚΑ	7	538,2	0,512
3ΚΑ	14	257,9	0,529
3ΚΑ	21	172,1	0,653
3ΚΑ	28	96,3	0,733



Σχήμα 5.4 Επίδραση του είδους του δείγματος κεφίρ και του χρόνου διατήρησης στον συντελεστή ελαστικότητας.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της ANOVA η $\tan\delta$ επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά και από τους δύο παράγοντες που μελετήθηκαν ($p < 0,05$). Οι τιμές της $\tan\delta$ σε σχέση με το είδους του δείγματος κατατάχτηκαν ως εξής:

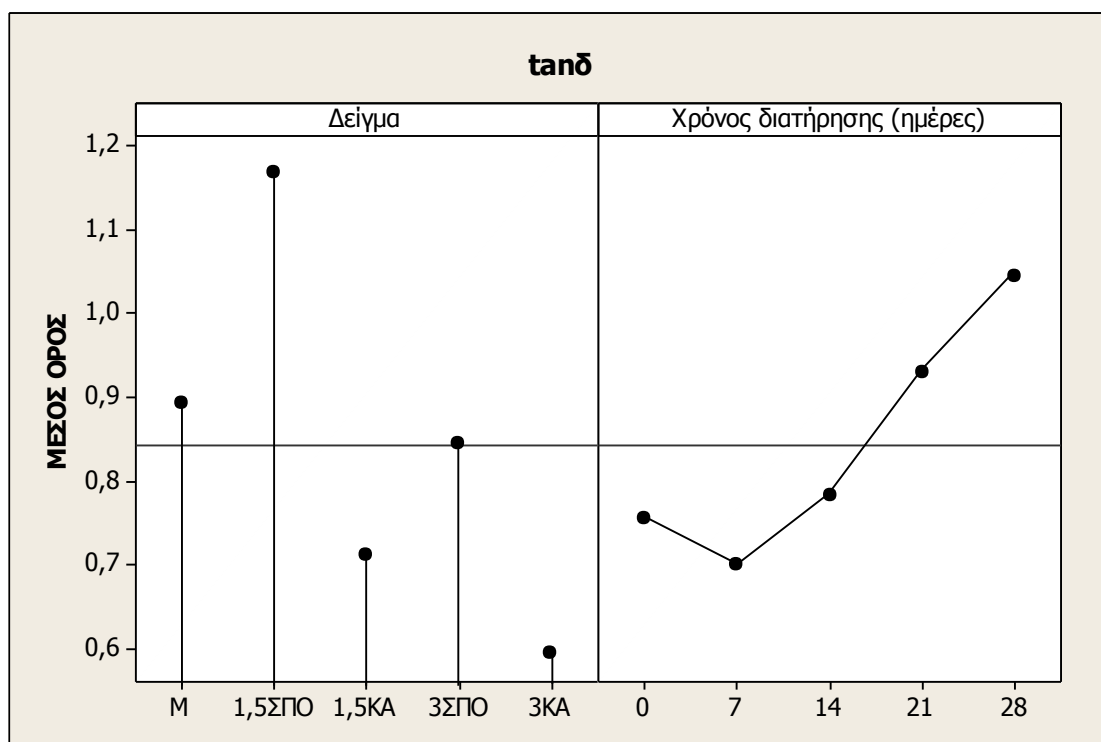
$$1,5\%ΣΠΟ > M = 3\%ΣΠΟ > 1,5\%KA > 3\%KA$$

Η κατάταξη των τιμών της $\tan\delta$ σχετικά με το χρόνο διατήρησης είναι η εξής:

$$28 \text{ ημέρες} > 21 \text{ ημέρες} > 14 \text{ ημέρες} \quad \underline{\underline{0 \text{ ημέρες}}} \quad 7 \text{ ημέρες}$$

Στο Σχήμα 5.5 φαίνεται πως επηρεάζεται η $\tan\delta$ τόσο από το είδος του δείγματος όσο και από το χρόνο διατήρησης. 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. Συγκεκριμένα, στις 7 ημέρες παρουσίασε μείωση των τιμών της εξαιτίας της παραγωγής του πολυσακχαρίτη κεφιράνης, η οποία δημιουργεί αλληλεπιδράσεις με τις πρωτεΐνες, αυξάνοντας την ελαστικότητα του πλέγματος. Ωστόσο η μετέπειτα διάσπαση των πρωτεϊνών ή και του πολυσακχαρίτη οδήγησε σε αποδυνάμωση του πρωτεϊνικού πλέγματος και αύξηση του ιξώδους χαρακτήρα του. Τα δείγματα με την προσθήκη ΚΑ εμφάνισαν τις μικρότερες τιμές εξαιτίας των ισχυρών αλληλεπιδράσεων που δημιουργούν και οι οποίες είναι ανάλογες του ποσοστού προσθήκης τους. Η αυξημένη τιμή $\tan\delta$ που εμφάνισε το δείγμα 1,5%ΣΠΟ παρόλο το γεγονός ότι είχε συντελεστή ελαστικότητας που δεν διέφερε από το μάρτυρα μπορεί να αποδοθεί στην αυξημένη ικανότητα συγκράτησης νερού που εμφανίζουν οι μετουσιωμένες πρωτεΐνες ορού, η οποία πιθανώς αυξάνει τον ιξώδη χαρακτήρα των δειγμάτων. Ωστόσο η αύξηση του ποσοστού προσθήκης ΣΠΟ οδήγησε σε σημαντική μείωση των τιμών της. Η αύξηση του ποσοστού προσθήκης πρωτεϊνών ορού αυξάνει τις αλληλεπιδράσεις με τις καζεΐνες, γεγονός το οποίο οδηγεί σε αύξηση της ελαστικότητας του πλέγματος.



Σχήμα 5.5 Επίδραση του είδους του δείγματος κεφίρ και του χρόνου διατήρησης στην τιμή $\tan\delta$.

5.3.2 Δοκιμή ερπυσμού

Στον Πίνακα 5.5 φαίνονται τα αποτελέσματα από τη δοκιμή ερπυσμού.

Σύμφωνα με την ANOVA το η_0 επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά τόσο από το είδος του δείγματος όσο και από το χρόνο διατήρησης ($p < 0,05$). Η κατάταξη σύμφωνα με τον έλεγχο Tukey για το είδος του δείγματος είναι η εξής:

$$3\%KA > 1,5\%KA > 3\%ΣΠΟ > 1,5\%ΣΠΟ = M$$

Όσον αφορά το χρόνο διατήρησης ο έλεγχος του Tukey έδωσε την εξής κατάταξη:

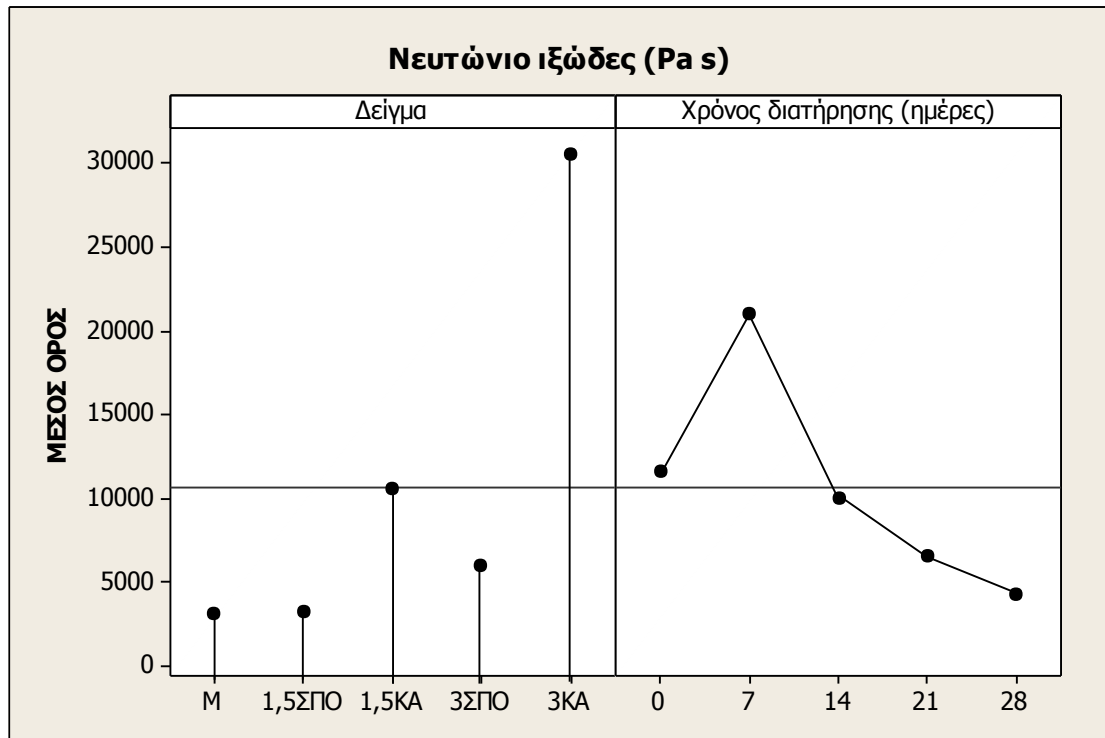
$$7 \text{ ημέρες} > 0 \text{ ημέρες} = 14 \text{ ημέρες} > 21 \text{ ημέρες} > 28 \text{ ημέρες}$$

Στο Σχήμα 5.6 παρουσιάζεται η επίδραση του η_0 από τους δύο παράγοντες. Παρατηρείται ότι τα δείγματα με προσθήκη ΚΑ εμφάνισαν τις μεγαλύτερες τιμές του η_0 και ακολούθησαν τα δείγματα με προσθήκη ΣΠΟ. Και στις δύο περιπτώσεις η αύξηση του ποσοστού προσθήκης είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση του η_0 . Το δείγμα με 1,5%ΣΠΟ δε διαφοροποιήθηκε από το μάρτυρα. Η παρουσία των καζεϊνών στο πλέγμα του κεφίρ αυξάνει τον υδροδυναμικό όγκο των συμπλεγμάτων με αποτέλεσμα να αυξάνεται η τιμή του η_0 . Η παρουσία των πρωτεϊνών ορού επηρεάζει σε μικρότερο βαθμό το η_0 και μόνο όταν προστεθούν σε υψηλό ποσοστό.

Κατά τη διατήρηση των δειγμάτων κεφίρ το η_0 επηρεάστηκε ακριβώς με τον ίδιο τρόπο με τον G' για τους λόγους που προαναφέρθηκαν.

Πίνακας 5.5 Μέσοι όροι του νευτώνειου ιξώδους της στιγμιαίας ελαστικότητας και της καθυστερούμενης ελαστικότητας των δειγμάτων κεφίρ σε σχέση με το χρόνο διατήρησής τους.

ΔΕΙΓΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗΣ (ΗΜΕΡΕΣ)	ΝΕΥΤΩΝΕΙΟ ΙΞΩΔΕΣ (Pa × s)	ΣΤΙΓΜΙΑΙΑ ΕΛΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ (Pa)	ΚΑΘΥΣΤΕΡΟΥΜΕΝΗ ΕΛΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ (Pa)
M	0	3079	0,0	9,7
M	7	4477	0,0	14,5
M	14	2812	0,0	12,3
M	21	2670	0,0	10,3
M	28	2536	0,0	8,6
1,5ΣΠΟ	0	3270	0,0	7,3
1,5ΣΠΟ	7	3801	0,0	11,9
1,5ΣΠΟ	14	3650	0,0	10,7
1,5ΣΠΟ	21	3220	0,0	8,3
1,5ΣΠΟ	28	2459	0,0	8,2
1,5ΚΑ	0	13665	71	92,8
1,5ΚΑ	7	15785	83,8	112,9
1,5ΚΑ	14	11475	60,5	73,1
1,5ΚΑ	21	8496	46,3	67,0
1,5ΚΑ	28	5275	34,0	37,0
3ΣΠΟ	0	3693	0,0	12,2
3ΣΠΟ	7	8312	0,0	32,7
3ΣΠΟ	14	7360	0,0	31,2
3ΣΠΟ	21	6961	0,0	29,3
3ΣΠΟ	28	4600	0,0	28,0
3ΚΑ	0	34020	131,7	149,8
3ΚΑ	7	72975	156,3	348,5
3ΚΑ	14	26785	75,1	181,1
3ΚΑ	21	11261	66,1	86,1
3ΚΑ	28	8471	47,9	44,2



Σχήμα 5.6 Επίδραση του είδους του δείγματος κεφίρ και του χρόνου διατήρησης στο νευτώνιο ιξώδες.

Η J_g επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά και από τους δυο παράγοντες δηλαδή το είδος των δειγμάτων και τον χρόνο διατήρησης τους ($p < 0,05$). Ο έλεγχος του Tukey έδειξε πως η κατάταξη για το είδος δείγματος είναι:

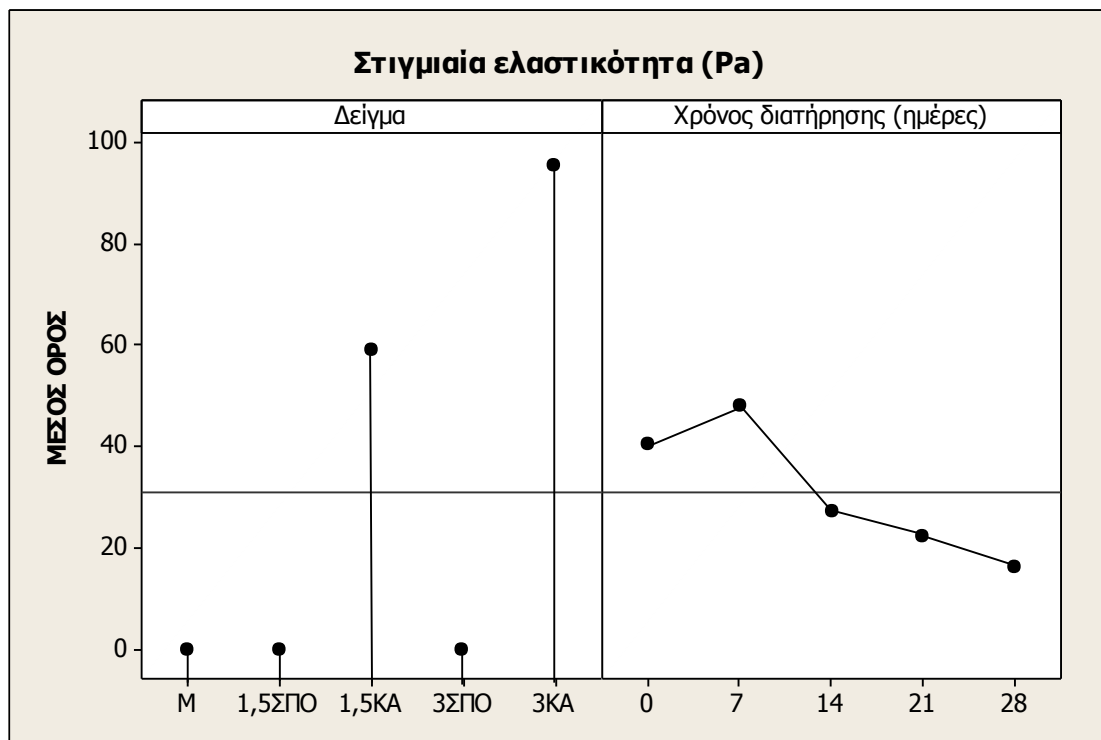
$$3\%ΚΑ > 1,5\%ΚΑ > 3\%ΣΠΟ = 1,5\%ΣΠΟ = M$$

Ο χρόνος διατήρησης εμφάνισε τα εξής αποτελέσματα κατά τον έλεγχο:

$$7 \text{ ημέρες} > 0 \text{ ημέρες} > 14 \text{ ημέρες} > 21 \text{ ημέρες} > 28 \text{ ημέρες}$$

Παρατηρήθηκε πως η J_g , η οποία εκφράζει τους ισχυρούς δεσμούς του πρωτεϊνικού πλέγματος οι οποίοι είτε δεν καταστρέφονται με την εφαρμογή της τάσης είτε εάν καταστραφούν δημιουργούνται στιγμιαία, ήταν μηδενική σχεδόν σε όλα τα δείγματα εκτός από αυτά στα οποία έγινε προσθήκη ΚΑ (Σχήμα 5.7). Αυτό σημαίνει ότι οι δεσμοί που κυριαρχούν στο πρωτεϊνικό πλέγμα του κεφίρ είναι δευτερεύοντες ασθενείς όπως van der Waals, κολλοειδείς και υδρόφοβοι. Στην περίπτωση που πραγματοποιείται προσθήκη ΚΑ στα δείγματα, στο πλέγμα υπάρχουν και δευτερεύοντες ισχυροί δεσμοί όπως ηλεκτροστατικοί. Η προσθήκη των ΚΑ επομένως ενισχύει τη στιγμιαία ελαστικότητα του πλέγματος.

Η αύξηση του χρόνου διατήρησης προκάλεσε τη μείωση των τιμών της J_g (Σχήμα 5.7) εξαιτίας της διάσπασης του πρωτεϊνικού πλέγματος ή και της κεφιράνης.



Σχήμα 5.7 Επίδραση του είδους του δείγματος κεφίρ και του χρόνου διατήρησης στην στιγμιαία ελαστικότητα.

Η στατιστική ανάλυση της ANOVA σχετικά με την J_R έδειξε πως υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά και ως προς το είδος των δειγμάτων αλλά και ως προς τον χρόνο διατήρησης τους ($p < 0,05$). Ο έλεγχος του Tukey που διενεργήθηκε για την J_R και το είδος των δειγμάτων παρουσίασε την κατάταξη:

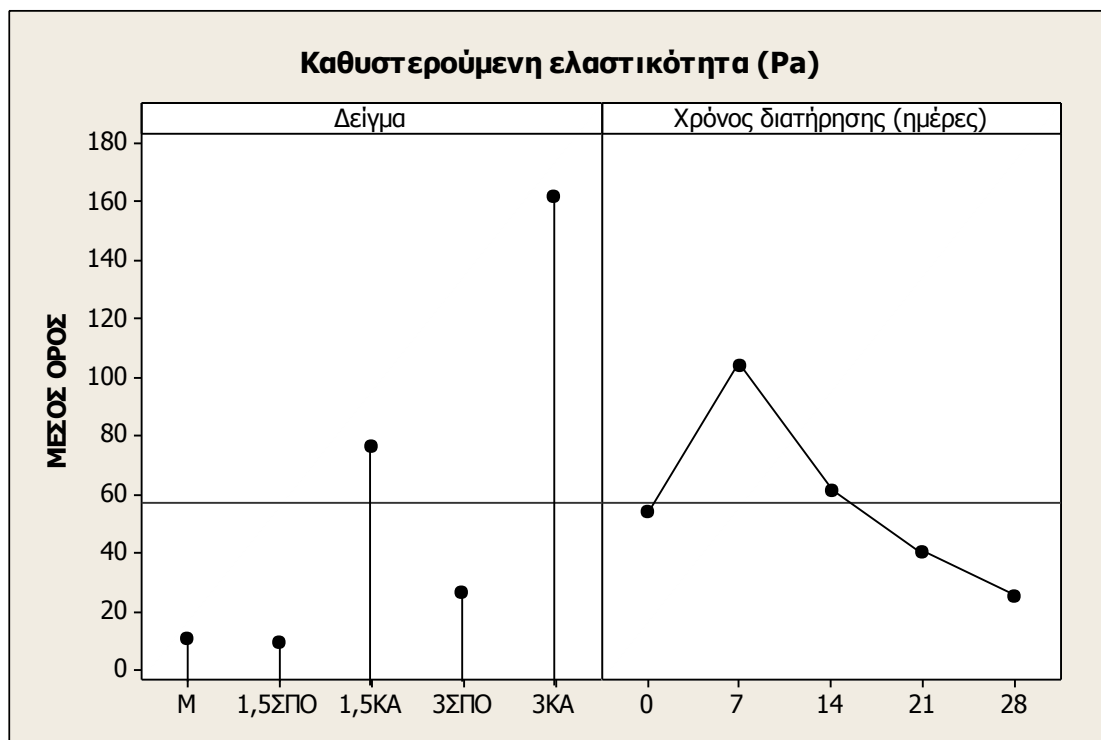
$$3\%KA > 1,5\%KA > 3\%ΣΠΟ > M = 1,5\%ΣΠΟ$$

Σχετικά με το χρόνο διατήρησης τα αποτελέσματα είναι:

$$7 \text{ ημέρες} > 14 \text{ ημέρες} = 0 \text{ ημέρες} > 21 \text{ ημέρες} > 28 \text{ ημέρες}$$

Η επίδραση του είδους των δειγμάτων και του χρόνου διατήρησης τους στην J_R , η οποία εκφράζει τους μάλλον ασθενείς δεσμούς του πλέγματος οι οποίοι καταστρέφονται με την εφαρμογή της τάσης και δημιουργούνται σιγά-σιγά μετά την άρση εφαρμογής της (δευτερεύοντες ασθενείς όπως van der Waals, κolloειδείς και

υδρόφοβοι), δίνεται στον Σχήμα 5.8. Η προσθήκη ΚΑ (αλλά και η αύξηση του ποσοστού προσθήκης τους) αυξάνει τον αριθμό των δευτερευόντων δεσμών του πλέγματος. Μικρότερη αύξηση προκαλεί η προσθήκη ΣΠΟ σε ποσοστό 3%. Τέλος όσον αφορά το χρόνο αποθήκευσης, ισχύουν όσα προαναφέρθηκαν για τον G' και την J_g .



Σχήμα 5.8 Επίδραση τους είδους του δείγματος κεφίρ και του χρόνου διατήρησης στην καθυστερούμενη ελαστικότητα.

5.3.3 Προσδιορισμός ιξώδους

Ο Πίνακας 5.6 δίνει τους μέσους όρους των τιμών για το k και για το n σε σχέση με το είδος των δειγμάτων κεφίρ και το χρόνο διατήρησης τους.

Η εφαρμογή της ANOVA έδειξε πως ο k επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από το είδος του δείγματος αλλά και τον χρόνο διατήρησης ($p < 0,05$). Ο έλεγχος του Tukey έδωσε την κατάταξη σε σχέση με το είδος του δείγματος ως:

$$3\%ΚΑ > 1,5\%ΚΑ > 3\%ΣΠΟ > 1,5\%ΣΠΟ = M$$

Ενώ όσον αφορά τον χρόνο διατήρησης:

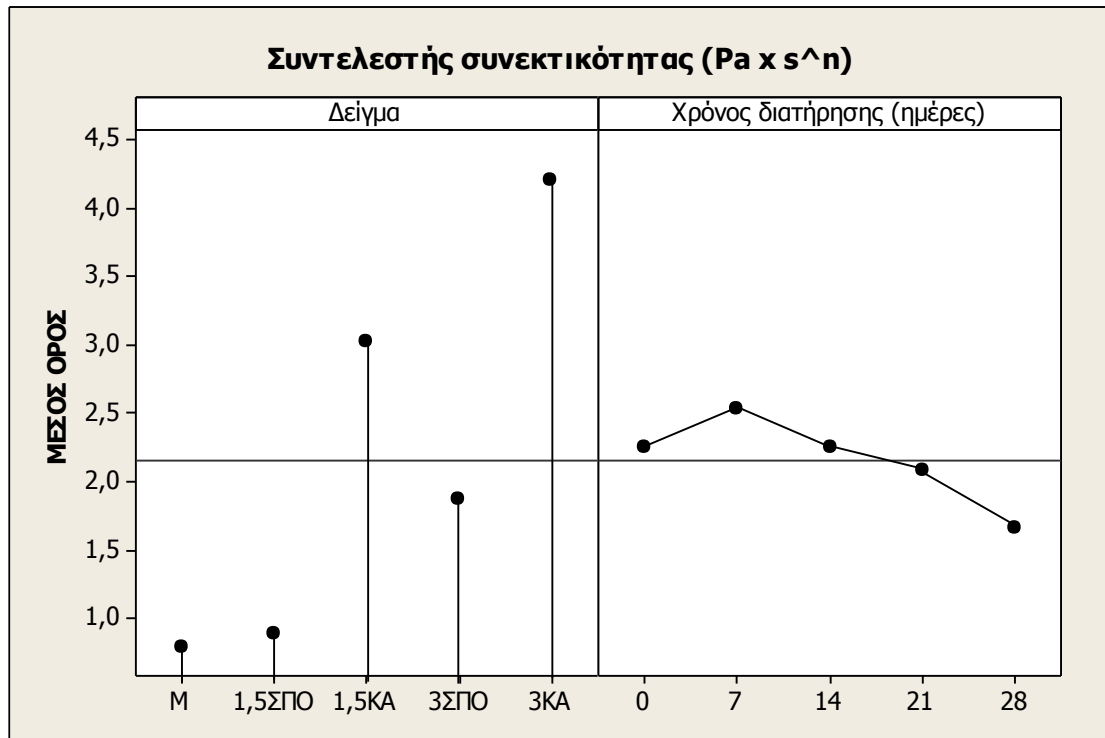
7 ημέρες > 14 ημέρες = 0 ημέρες = 21 ημέρες > 28 ημέρες

Σύμφωνα με το Σχήμα 5.9 τις υψηλότερες τιμές του k παρουσίασαν τα δείγματα με προσθήκη ΚΑ. Στην συνέχεια ακολούθησε το δείγμα με προσθήκη ΣΠΟ σε ποσοστό 3% και την χαμηλότερη τιμή εμφάνισαν ο μάρτυρας και το δείγμα 1,5%ΣΠΟ. Ο αυξημένος υδροδυναμικός όγκος των καζεϊνών αυξάνει την αντίσταση των μορίων τους κατά την εφαρμογή της διατμητικής τάσης. Το ίδιο συμβαίνει αλλά με μικρότερη ένταση με την προσθήκη ΣΠΟ σε υψηλά ποσοστά.

Όσον αφορά το χρόνο συντήρησης, η αποδυνάμωση του πρωτεϊνικού πλέγματος είναι υπεύθυνη για τη μειωμένη αντίσταση των μορίων στη ροή και της μειωμένες τιμές του k . Μείωση των τιμών του k κατά την αποθήκευση δειγμάτων κεφίρ αναφέρουν και οι Irigoyen et al. (2005).

Πινάκας 5.6 Μεσοί οροί του συντελεστή συνεκτικότητας και του δείκτη ρεολογικής συμπεριφοράς των δειγμάτων κεφίρ σε σχέση με το χρόνο διατήρησής τους.

ΔΕΙΓΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗΣ (ΗΜΕΡΕΣ)	ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΗΣ ΣΥΝΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ (Pa × sⁿ)	ΔΕΙΚΤΗΣ ΡΕΟΛΟΓΙΚΗΣ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑΣ
M	0	0,863	0,491
M	7	0,978	0,483
M	14	0,7745	0,545
M	21	0,662	0,562
M	28	0,672	0,571
1,5ΣΠΟ	0	0,979	0,507
1,5ΣΠΟ	7	1,101	0,503
1,5ΣΠΟ	14	0,979	0,527
1,5ΣΠΟ	21	0,737	0,534
1,5ΣΠΟ	28	0,662	0,552
1,5ΚΑ	0	3,391	0,362
1,5ΚΑ	7	3,560	0,361
1,5ΚΑ	14	2,970	0,366
1,5ΚΑ	21	2,827	0,376
1,5ΚΑ	28	2,350	0,381
3ΣΠΟ	0	2,030	0,390
3ΣΠΟ	7	2,163	0,391
3ΣΠΟ	14	1,945	0,408
3ΣΠΟ	21	1,666	0,426
3ΣΠΟ	28	1,581	0,454
3ΚΑ	0	3,982	0,377
3ΚΑ	7	4,858	0,376
3ΚΑ	14	4,581	0,367
3ΚΑ	21	4,511	0,376
3ΚΑ	28	3,074	0,388



Σχήμα 5.9 Επίδραση του είδους του δείγματος κεφίρ και του χρόνου διατήρησης τους στο συντελεστή συνεκτικότητας.

Τα αποτελέσματα της ANOVA έδειξαν ότι ο n επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά και για τους δυο παράγοντες ($p < 0,05$). Η κατάταξη που προέκυψε από τον έλεγχο του Tukey για το είδος των δειγμάτων είναι:

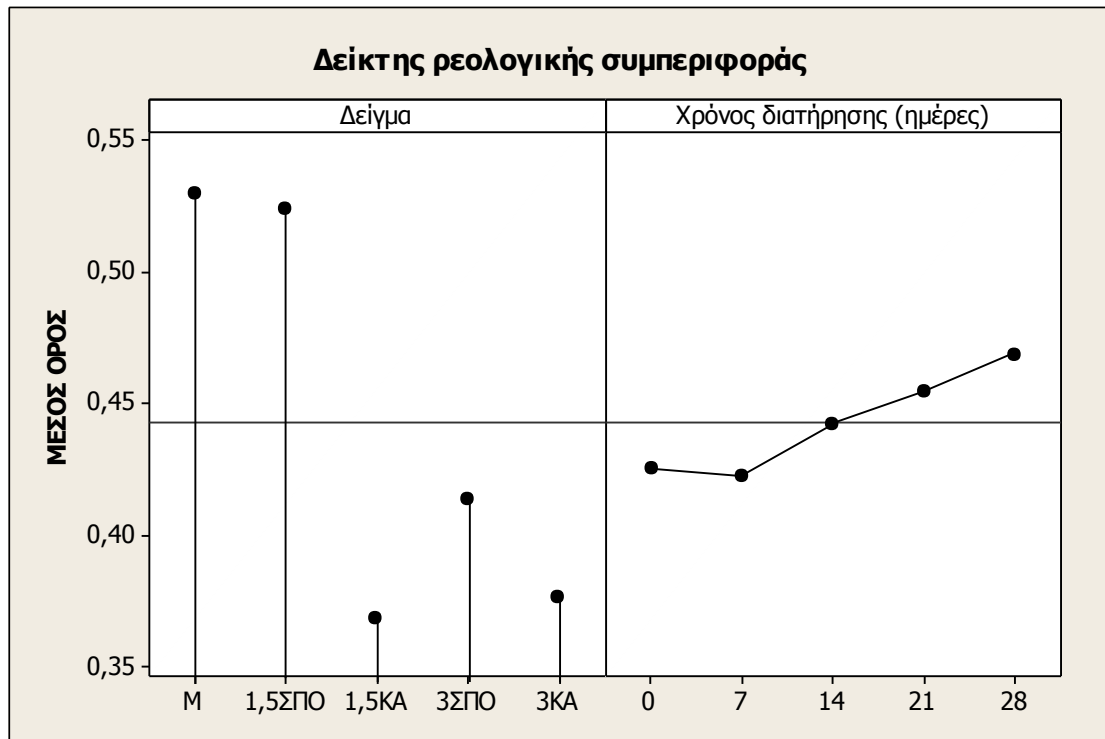
$$M = 1,5\%ΣΠΟ > 3\%ΣΠΟ > 3ΚΑ = 1,5\%ΚΑ$$

Ενώ όσον αφορά τον χρόνο διατήρησης:

$$28 \text{ ημέρες} > 21 \text{ ημέρες} > 14 \text{ ημέρες} > 0 \text{ ημέρες} = 7 \text{ ημέρες}$$

Ο n αποτελεί μέτρο της νευτώνειας συμπεριφοράς των δειγμάτων. Σύμφωνα με το Σχήμα 5.10 ο μάρτυρας και το δείγμα 1,5%ΣΠΟ έδειξαν τις υψηλότερες τιμές, ενώ ακολούθησε το δείγμα 3%ΣΠΟ. Αντίθετα στα δείγματα με προσθήκη ΚΑ παρουσιάστηκαν οι χαμηλότερες τιμές του n . Η αύξηση του υδροδυναμικού όγκου των μορίων, όπως συμβαίνει στην περίπτωση της προσθήκης ΚΑ, οδηγεί σε αύξηση της ψευδοπλαστικής συμπεριφοράς των δειγμάτων κεφίρ (αυξημένη επίδραση του ιξώδους από την ταχύτητα διάτμησης). Ο μικρότερος υδροδυναμικός όγκος διευκολύνει περισσότερο τον προσανατολισμού των μορίων στην κατεύθυνση της ροής.

Ο n εμφάνισε αύξηση των τιμών του κατά τη διάρκεια συντήρησης των δειγμάτων κεφίρ (Σχήμα 5.10), εξαιτίας της μείωσης του μεγέθους των συμπλόκων από τη διάσπαση του πρωτεϊνικού πλέγματος.



Σχήμα 5.10 Επίδραση του είδους του δείγματος κεφίρ και του χρόνου διατήρησης στην τιμή του δείκτη ρεολογικής συμπεριφοράς.

6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η προσθήκη ΣΠΟ είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση του χρόνου επώασης των δειγμάτων κεφίρ, ενώ η προσθήκη ΚΑ προκάλεσε την αύξηση του.

Η προσθήκη ΚΑ επηρέασε περισσότερο σε σχέση με την προσθήκη ΣΠΟ την οξύτητα καθώς επίσης τις ιξωδοελαστικές και ρεολογικές ιδιότητες των δειγμάτων κεφίρ.

Το δείγμα με προσθήκη ΚΑ σε ποσοστό 3% παρουσίασε τη μεγαλύτερη οξύτητα, ελαστικότητα (υψηλές τιμές του G' , η_0 και J_R , μειωμένες τιμές της $\tan\delta$,) και συνεκτικότητα (υψηλές τιμές του k) καθώς επίσης και έντονη ψευδοπλαστική συμπεριφορά (μειωμένες τιμές του n).

Η προσθήκη των ΚΑ είχε ως αποτέλεσμα την παρουσία ισχυρών δευτερευόντων δεσμών στο πρωτεϊνικό πλέγμα (τιμές J_g).

Ο μάρτυρας και τα δείγματα με προσθήκη ΣΠΟ δεν εμφάνισαν τιμές στιγμιαίας ελαστικότητας.

Η αύξηση του χρόνου διατήρησης είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της οξύτητας και των τιμών του n στα δείγματα κεφίρ.

Η αύξηση του χρόνου διατήρησης μέχρι και τις 7 ημέρες προκάλεσε την αύξηση της ελαστικότητας και της συνεκτικότητας των δειγμάτων. Ωστόσο, η περεταίρω αύξηση του (μέχρι και τις 28 ημέρες) είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση των ανωτέρω ιδιοτήτων.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ξένη

- ❖ Arihana, K., Toba, T., & Adachi, S. (1990). Immunofluorescence microscopic studies on distribution of *L. kefiranofaciens* and *L. kefir* in kefir grains. *International Journal Food Microbiology*, **11**, 127-34
- ❖ Beshkova, D. M., Simona, E. D., Simon, Z. I., Frengova, G. I., & Spasov, Z. I. (2002) Pure cultures for making kefir. *Food Microbiology*, **19**, 537-544
- ❖ Clementi, F., Gobbetti, M., & Rossi, J. (1989). Carbon dioxide synthesis by immobilized yeast cells in kefir production. *Milchwissenschaft*, **44**, 70-74
- ❖ Darby, R. (1996). *Chemical engineering fluid mechanics*. New York, Basel, Hong Kong: Marcel Dekker
- ❖ Dimitreli G., Gregoriou E.-A., Kalantzidis G. & Antoniou K.D. (2013). Rheological properties of kefir as affected by heat treatment and whey protein addition. *Journal of Texture Studies*, 1-6.
- ❖ Dogan M. (2011). Rheological behavior and physicochemical properties of kefir with honey. *Journal of Consumer Protection and Food Safety*, **6(3)**, 327-332
- ❖ Farnworth, E. R. (2005). Kefir-a complex prebiotic. *Food Science and Technology Bulletin : Functional Foods*, **2**, 1-17
- ❖ Ferry, J. D. (1980) *Viscoelastic Properties of Polymers*, 3rd edn, J. Wiley & Sons, New York
- ❖ Irigoyen, A., Arama, I., Castiella, M., Torre, P., & Ibanez, F.C. (2005). Microbiological, physicochemical, and sensory characteristics of kefir during storage. *Food Chemistry*, **90**, 613-620
- ❖ Karagozlu, C., & Kavas, G. (2000). Alkollu fermente sut icecekleri: Kefir ve kimizin ozellikleri ve insane beslenmesindeki onemi. *Gida*, **6**, 86-93
- ❖ Koroleva, N. S. (1988). Technology of kefir and koumis. *Bulletin of the International Dairy Federation*, **227**, 96-100
- ❖ Kwak, H. S., Park, S. K., & Kim, D. S. (1996). Biostabilization of kefir with a nonlactose – fermenting yeast. *Journal of Dairy Science*. **79**, 937-942
- ❖ Leite, A. M. O., Leite, D. C. A., Del Aguila, E. M., Alvares, T. S., Peixoto, R. S., Miguel, A. L., Silva, J. T., & Paschoalin, V. M. (2013). Microbiological

- and chemical characteristics of Brazilian kefir during fermentation and storage processes. *American Dairy Science Association*, **96**, 4149-4159
- ❖ Libudzisz, Z., & Piatkiewicz, A. (1990). Kefir production in Poland. *Dairy Industries International*, **55**, 31-33
 - ❖ McClements. D. J. (1999) *Food Emulsions: Principles, practice and techniques*. Boca Raton, London, New York, Washington: CRC Press LLC
 - ❖ Otles, S., & Cadingi, O. (2003). Kefir: A probiotic dairy – composition, nutritional and therapeutic aspects. *Pakistan Journal of Nutrition*, **2**, 54-59
 - ❖ Perry, H. R. (1999). *Perry's Chemical Engineers' Handbook, 7th Edition*. Singapore: McGraw – Hill Book Company
 - ❖ Salminen, S., Bouley, C., & Boutron Ruault, M. C. (1998). Functional food science and gastrointestinal physiology and function. *British Journal of Nutrition*, **80**, 147-71
 - ❖ Simona, E., Beshkova, D., Angelov, A., Hristozova, T. S., Frengova, & G., Spazov, Z. (2002). Lactic acid bacteria and yeasts in kefir grains and kefir made from them. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, **28**, 1-6
 - ❖ Sodini, I., Remeuf, F., Haddad, S., & Corrieu, G. (2004). The relative effect of milk base, starter, and process on yogurt texture: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **44**, 113-137
 - ❖ Steffe, J. F.(1996). *Rheological methods in food process engineering*. 2nd edition. Freeman Press. USA.
 - ❖ Stepaniak L. & Fetliński A. (2002). Fermented milks/ Kefir. *Elsevier Science Ltd*, 1049-1054
 - ❖ Viljoen, B. C. (2001). The interaction between yeasts and bacteria in dairy environments. *International Journal Food Microbiology*, **69**, 37-44

Ελληνική

- ❖ Δημητρέλη Γ. (2009). Τεχνολογία και έλεγχος ποιότητας γάλακτος και γαλακτοκομικών προϊόντων. Εργαστηριακές σημειώσεις. Θεσσαλονίκη.
- ❖ Ζερφυρίδης Γ.Κ. (1996). Τεχνολογία προϊόντων γάλακτος. 1η Έκδοση. Εκδόσεις Δεδούση Γ. Θεσσαλονίκη.
- ❖ Κεχαγιάς Χ. (2011). Γάλα: Επιστήμη και έλεγχος για την διασφάλιση της ποιότητας. Εκδόσεις Ίων, Αθήνα.
- ❖ Πετρίδης Δ.(2000). Εφαρμοσμένη Στατιστική (με έμφαση στην επιστήμη των τροφίμων). 1η Έκδοση. Όμηρος Εκδοτική. Θεσσαλονίκη.