



**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**Επίδραση της λιποπεριεκτικότητας του γάλακτος  
και της προσθήκης καζεϊνικών αλάτων στα  
ρεολογικά χαρακτηριστικά του κεφίρ**

**ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ**

**ΚΕΣΣΑΝΟΠΟΥΛΟΣ ΑΘΑΝΑΣΙΟΣ**

**ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ 2011**

Επίδραση της λιποπεριεκτικότητας του γάλακτος και της προσθήκης καζεϊνικών  
αλάτων στα ρεολογικά χαρακτηριστικά του κεφίρ

Κεσσανόπουλος Αθανάσιος

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

Ημερομηνία

Εισηγητής

Αντωνίου Κλειώ

Δημητρέλη Γεωργία

Η επόμενη σελίδα αφορά ευχαριστίες σε Μέλη του Εκπαιδευτικού Προσωπικού, άλλους Σπουδαστές ή κάποιους φορείς που συνέβαλαν στην ολοκλήρωση της πτυχιακής διατριβής.

- Την κα Μαρία Μπαξεβάνου, βοηθό του εργαστηρίου Τεχνολογίας και Έλεγχος ποιότητας Γάλακτος και Γαλακτοκομικών προϊόντων
- Τον Στέλιο Εξαρχόπουλο για την βοήθεια του κατά την διεξαγωγή της πτυχιακής μου εργασίας
- Τους συμφοιτητές μου Γρηγορίου Ελεάνα και Καλαιτζίδα Γιώργο
- Τον κο Κλέωνα Τσακμακίδη (Group Hellenic Protein) για τη διάθεση των καζεϊνικών αλάτων

## Επίδραση της λιποπεριεκτικότητας του γάλακτος και της προσθήκης καζεϊνικών αλάτων στα ρεολογικά χαρακτηριστικά του κεφίρ

Κεσσανόπουλος Αθανάσιος  
ΤΕΙ Θεσσαλονίκης, Σχολή Τεχνολογίας Τροφίμων & Διατροφής, Τμήμα  
Τεχνολογίας Τροφίμων, 57400 Θεσσαλονίκη Τ.Θ. 141

### Περίληψη

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η επίδραση της λιποπεριεκτικότητας του γάλακτος και της προσθήκης καζεϊνικών αλάτων στο χρόνο επώασης που απαιτείται για την επίτευξη της επιθυμητής τιμής pH 4,4 και στη ρεολογική συμπεριφορά του κεφίρ. Για την παρασκευή των δειγμάτων κεφίρ χρησιμοποιήθηκαν κόκκοι κεφίρ οικιακής παραγωγής, παστεριωμένο αγελαδινό γάλα λιποπεριεκτικότητας 0%, 1,5% και 3,5% και καζεϊνικά άλατα σε διαφορετικά ποσοστά προσθήκης (0, 1, 2 και 3%). Οι ρεολογικές μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση ενός πνευματικού σωληνωτού ρεομέτρου.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα η προσθήκη καζεϊνικών αλάτων σε δείγματα κεφίρ έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση του χρόνου επώασης που απαιτείται για την επίτευξη τιμής pH 4,4 καθώς και την αύξηση της περιεκτικότητάς τους σε γαλακτικό οξύ. Ο χρόνος επώασης για την επίτευξη τιμής pH 4,4 δεν επηρεάζεται από τη λιποπεριεκτικότητα του γάλακτος. Το φαινομενικό ιξώδες των δειγμάτων κεφίρ αυξάνεται με την αύξηση του ποσοστού προσθήκης καζεϊνικών αλάτων καθώς και με την αύξηση της λιποπεριεκτικότητας του γάλακτος. Ο δείκτης ρεολογικής συμπεριφοράς των δειγμάτων κεφίρ μειώνεται με την αύξηση του ποσοστού προσθήκης καζεϊνικών αλάτων καθώς και με την αύξηση της λιποπεριεκτικότητας του γάλακτος.

## Περιεχόμενα

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	1
2. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ .....	2
2.1 Κεφίρ .....	2
2.2 Κόκκοι Κεφίρ .....	2
2.3 Μικροχλωρίδα .....	5
2.4 Παρασκευή κεφίρ .....	7
2.4.1 Παραδοσιακή τεχνική.....	8
2.4.2 Τεχνική που εφαρμόζεται στην βιομηχανία .....	10
2.5 Διαιτητική και θρεπτική αξία κεφίρ .....	11
2.6 Στοιχεία ρεολογίας ρευστών .....	12
3. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ .....	15
4. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ .....	16
4.1 Παρασκευή δειγμάτων κεφίρ .....	16
4.1.1 Δραστηριοποίηση των κόκκων.....	16
4.1.2 Προετοιμασία γάλακτος .....	17
4.1.3 Παρασκευή δειγμάτων κεφίρ χωρίς προσθήκη καζεϊνικών αλάτων .....	17
4.1.4 Παρασκευή δειγμάτων κεφίρ με προσθήκη καζεϊνικών αλάτων .....	17
4.1.5 Κωδικοποίηση δειγμάτων .....	18
4.2 Προσδιορισμός ιξώδους .....	19
4.2.1 Περιγραφή ιξωδομέτρου .....	19
4.2.2 Πειραματικές μετρήσεις .....	21
4.2.3 Επεξεργασία μετρήσεων.....	22
4.2.4 Φαινόμενα άκρων .....	23
4.2.5 Διόρθωση κινητικής ενέργειας .....	24
4.3 Μέτρηση pH .....	25
4.4 Προσδιορισμός οξύτητας .....	25
4.5 Στατιστική ανάλυση .....	26
5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	27
5.1. Χρόνος επώασης για επίτευξη τιμής pH 4,4 .....	27
5.2. Μελέτη της ρεολογικής συμπεριφοράς των δειγμάτων κεφίρ .....	30
6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	38
7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	39
8. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ .....	44

## 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το κεφίρ είναι ένα ζυμούμενο γαλακτοκομικό προϊόν που προέρχεται από τις παρα-Καυκάσιες χώρες. Η λέξη κεφίρ λέγεται ότι προέρχεται από την Τούρκικη λέξη “Keyif” η οποία σημαίνει “καλό αίσθημα” (good feeling) (Chaitow & Trenev, 2002). Η καλλιέργεια που χρησιμοποιείται για την παραγωγή του κεφίρ είναι σε μορφή κόκκων που περιέχουν λακτοβακίλλους, λακτοκόκκους και ζύμες σε ένα πλέγμα πρωτεϊνών-πολυσακχαριτών (Garrote et al., 1998). Οι αναφορές σχετικά με τις ευεργετικές ιδιότητες του κεφίρ και τη θρεπτική του αξία οδήγησαν σε αύξηση της κατανάλωσης και παραγωγής του. Το κεφίρ θεωρείται ως η γιαούρτη του 21<sup>ου</sup> αιώνα (Irigoyen et al., 2005; Witthuhn et al., 2004, Otles & Cagindi, 2003, Beshkova et al., 2002, Garrote et al., 1998).

Η μελέτη της τεχνολογίας παρασκευής του κεφίρ, του μικροβιακού πληθυσμού του, των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του και της θρεπτικής-διαιτητικής του αξίας έχουν αποτελέσει αντικείμενο πολλών ερευνητών (Beshkova et al., 2002). Ωστόσο, η μελέτη της ρεολογικής του συμπεριφοράς είναι περιορισμένη (Irogen et al., 2005; Garrote et al., 1998 ).

Στην παρούσα εργασία μελετάται η επίδραση της λιποπεριεκτικότητας του γάλακτος και της προσθήκης καζεϊνικών αλάτων στο χρόνο επώασης και στη ρεολογική συμπεριφορά του κεφίρ.

## **2. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ**

### **2.1 Κεφίρ**

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

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

### **2.2 Κόκκοι Κεφίρ**

Η καλλιέργεια η οποία χρησιμοποιείται για την παρασκευή του κεφίρ προέρχεται από κόκκους κεφίρ ή από μητρικές καλλιέργειες οι οποίες προετοιμάζονται από κόκκους (Libudzisz & Piatkiewicz, 1990). Οι κόκκοι κεφίρ μοιάζουν με μικρό κουνουπίδι μήκους 1-3 cm (Σχήμα 1), ακανόνιστου σχήματος, έχουν κίτρινο-λευκό χρώμα, και παρουσιάζουν μια γλοιώδης αλλά σταθερή υφή (La Riviere et al., 1967 Kosikowski & Mistry 1997).

Οι κόκκοι περιέχουν οξυγαλακτικά βακτήρια (λακτοβάκιλλους, λακτόκοκκους, λευκονοστόκια), οξικά βακτήρια και ζύμες σχηματίζοντας συμπαγή μάζα μαζί με τις καζεΐνες και ένα πλέγμα πολυσακχαριτών. Ο κύριος πολυσακχαρίτης του κεφίρ είναι μία υδατοδιαλυτή ουσία γνωστή ως κεφιράνη (Arihara et al., 1990).

Το σύνολο των μικροοργανισμών που βρίσκονται στους κόκκους αποτελεί μία συνεργιστική συμβίωση. Η ολική διοργάνωση των μικροοργανισμών των κόκκων δεν είναι πλήρως διευκρινισμένη. Το πλέγμα των κόκκων αποτελείται από ένα

σύμπλεγμα με 13% πρωτεΐνη (επί ξηρής ουσίας), 24% πολυσακχαρίτες, καθώς επίσης κυτταρικά θραύσματα και άγνωστα συστατικά (Halle et al., 1994).

Οι κόκκοι κεφίρ πιθανολογείται ότι δημιουργήθηκαν με τον εξής τρόπο: 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 πολυσακχαρίτες (Libudzisz & Piatkiewicz, 1990).

Οι κόκκοι κεφίρ παράγονται μόνο από άλλους κόκκους κατά την επώαση τους σε γάλα και τους οποίους σπάνε σε μικρότερους για να μεγαλώσουν. Μέχρι σήμερα δεν κατέστη δυνατόν να δημιουργηθούν κόκκοι από τα είδη των μικροοργανισμών οι οποίοι υπάρχουν μέσα σε αυτούς (Ζερφυρίδης, 2001). Οι κόκκοι πολλαπλασιάζονται με τη μεταφορά τους καθημερινά σε φρέσκο γάλα και την επώασή τους για 20h σε θερμοκρασία 20-25°C. Κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου, οι κόκκοι θα έχουν αύξηση του βάρους τους περίπου κατά 25% (Halle et al., 1994). Οι κόκκοι, οι οποίοι υποβάλλονται στην παραπάνω διαδικασία παραμένουν δραστηριοποιημένοι, δεδομένου ότι παλιοί και αποξηραμένοι κόκκοι κεφίρ έχουν μικρή ή δεν έχουν την ικανότητα να αναπαράγουν (La Riviere et al.1967). Προκειμένου να συντηρηθούν οι κόκκοι αποξηραίνονται ή τοποθετούνται στην κατάψυξη ή στην ψύξη μέσα σε γάλα. Ανεξάρτητα από τον τρόπο διατήρησης των κόκκων πριν χρησιμοποιηθούν πρέπει να δραστηριοποιηθούν με επανειλημμένες επώσεις με γάλα.

Οι κόκκοι θα αναπαραχθούν στο γάλα μετά από καθημερινές αλλαγές του γάλακτος και θα μπορούν να αποθηκευτούν για περίοδο τριών μηνών, είτε σε θερμοκρασία δωματίου ή στους 4C με αποτέλεσμα να έχουμε μικροβιολογικά χαρακτηριστικά διαφορετικά από αυτά των φρέσκων κόκκων (Pintado et al. 1996). Για την παραγωγή κεφίρ σε βιομηχανική κλίμακα, οι κόκκοι θα πρέπει να διατηρηθούν δραστηριοποιημένοι μέσα από την καθημερινή μεταφορά τους σε γάλα και θα πρέπει να αντικατασταθούν μόνο εάν η ικανότητά τους ζύμωσης μειωθεί. (Koroleva 1982).

Αποθήκευση σε χαμηλή θερμοκρασία φαίνεται να είναι ο καλύτερος τρόπος για να διατηρήσουν οι κόκκοι την ικανότητα ζύμωσης για μεγάλα χρονικά

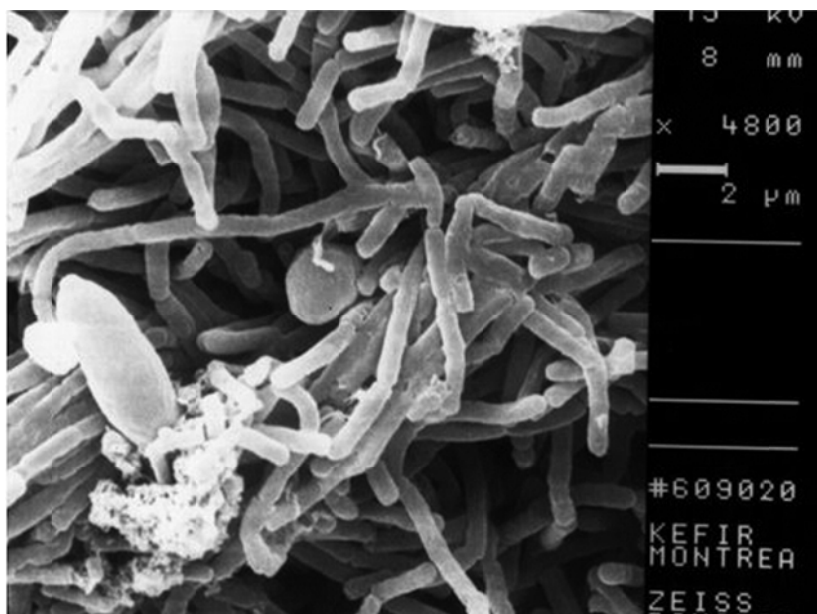


διαστήματα. Οι Garrote et al. (1997) έδειξαν ότι η αποθήκευση των κόκκων σε θερμοκρασίες  $-80$  ή  $-20^{\circ}\text{C}$  για 120 ημέρες, δεν είχαν αλλάξει τις ιδιότητες ζύμωσης σε σύγκριση με τους κόκκους που δεν είχαν αποθηκευθεί, ωστόσο, οι κόκκοι αποθηκεύονται σε θερμοκρασία  $-4^{\circ}\text{C}$ .



**Σχήμα1: Κόκκοι κεφίρ (Otlés & Cagindi, 2003)**

Αρχικά οι κόκκοι παρατηρήθηκαν στο οπτικό μικροσκόπιο, ωστόσο στη συνέχεια η δομή και η σύνθεση της μικροχλωρίδας τους μελετάται με τη χρήση ηλεκτρονικών μικροσκοπίων (Ottogalli et al. 1973; Bottazzi & Bianchi 1980; Molska et al. 1980; Marshall et al. 1984; Duitschaever et al. 1988b; Toba et al. 1990; Neve 1992; Bottazzi et al. 1994; Rea et al. 1996). Στο Σχήμα 2 φαίνεται μια μικρογραφία των κόκκων από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο.



**Σχήμα 2: Ηλεκτρονική απεικόνιση των κόκκοι κεφίρ (Moscow Dairy Institute)**

### **2.3 Μικρογλωρίδα**

Η μικρογλωρίδα των κόκκων, όπως προαναφέρθηκε, 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 (1991) 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 των κόκκων. Τα βαθύτερα στρώματα των κόκκων για παράδειγμα έχουν ζύμες που δεν ζυμώνουν την λακτόζη ενώ οι ζύμες της επιφάνειας ζυμώνουν την λακτόζη. Τα επιφανειακά όπως και τα βαθύτερα στρώματα είναι εξίσου πλούσια σε μεσόφιλους λακτοκόκκους, καθώς επίσης σε μεσόφιλους και θερμοφίλους ομοζυμωτικούς και ετεροζυμωτικούς λακτοβακίλλους γαλακτικού και οξικού οξέος. Γενικά, τα γαλακτικά βακτήρια είναι περισσότερα ( $10^8$  - $10^9$ ) από τις ζύμες ( $10^5$  - $10^6$ ) και τα οξικά βακτήρια ( $10^5$  - $10^6$ ) στους κόκκους κεφίρ, παρόλο αυτά οι συνθήκες ζύμωσης μπορούν να επηρεάσουν αυτή τη σχέση (Koroleva, 1982; Garrote et al., 1998). Τα κολοβακτηριοειδή και άλλα παθογόνα δεν υπάρχουν στα ενδιάμεσα στρώματα των κόκκων, είναι όμως δυνατόν να προσκολληθούν στην επιφάνεια από όπου όμως μπορούν να απομακρυνθούν με επανειλημμένες εκπλύσεις με

αποστειρωμένο νερό (Ζερφυρίδης, 2001). Πιο συγκεκριμένα η μικροχλωρίδα των κόκκων αποτελείται από τους παρακάτω μικροοργανισμούς:

### Λακτοβάκιλλοι

Οι λακτοβάκιλλοι του κεφίρ έχουν ευρύ φάσμα ειδών. Αυξάνουν το ιξώδες και επιπλέον την σταθερότητα του κεφίρ (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 θερμοφιλοι (Ζερφυρίδης, 2001).

### 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. Επίσης υπάρχουν οι *Leuconostoc mesenteroides* και *L. dextranicum* οι οποίοι είναι ετεροζυμωτικοί μεσόφιλοι που συμβάλλουν στην γεύση και το άρωμα του κεφίρ (Ζερφυρίδης, 2001).

### Οξικά βακτήρια

Είναι κύρια 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, 2001). Αυξάνουν το ιξώδες και επιπλέον την 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 CO<sub>2</sub> (Viljoen, 2001). Οι ζύμες στο κεφίρ έχουν μελετηθεί λιγότερο από τα βακτήρια του κεφίρ, παρόλα αυτά είναι φανερό ότι οι ζύμες στους κόκκους κεφίρ παρέχουν ένα περιβάλλον για την ανάπτυξη των βακτηρίων του κεφίρ, παράγοντας μεταβολίτες που 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). Ζύμες

που έχουν ταυτοποιηθεί είναι *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces marxianus* και *Candida kefir* (Ζερφυρίδης, 2001).

## 2.4 Παρασκευή κεφίρ

Μολονότι το κεφίρ παρασκευάζεται παραδοσιακά από γάλα αγελάδας, επίσης έχει χρησιμοποιηθεί για την παρασκευή γάλα προβάτων, αιγών και βουβαλιών. Κεφίρ το οποίο παράγεται από γάλα σόγιας έχει επίσης αναφερθεί (Ismail et al. 1983; Mann 1985; Zourari & Anifantakis 1988; Halle' et al. 1994; Kuo και Lin 1999). Το μέγεθος του αρχικού εμβολίου κόκκων κεφίρ επηρεάζει το pH, το ιξώδες και τα μικροβιολογικά χαρακτηριστικά του τελικού προϊόντος (Koroleva και Bavina 1970; Garrote et al. 1998). Η Koroleva (1991) ανέφερε ότι η αναλογία των κόκκων προς το γάλα είχε άριστα αποτελέσματα όταν κυμαινόταν μεταξύ 1:30 - 1:50. Σε ορισμένες διαδικασίες παραγωγής, οι κόκκοι περνάνε διαμέσου ενός χοντρού κοσκίνου και χρησιμοποιούνται ως μητρική καλλιέργεια και διασπείρεται σε φρέσκο γάλα. Κατά τον εμβολιασμό του γάλακτος ξεκινάει η ζύμωση του και στο πρώτο εικοσιτετράωρο παρατηρείται μεγάλη παραγωγή γαλακτικού οξέος από τους ομοζυμωτικούς στρεπτόκοκκους, προκαλώντας αρχικά μια πτώση του pH. Η παρουσία των ζυμών στο μείγμα, μαζί με τη θερμοκρασία ζύμωσης (21-23°C), βοηθάει την ανάπτυξη του αρώματος που παράγουν οι ετεροζυμωτικοί στρεπτόκοκκοι.

Στο κεφίρ η αύξηση του γαλακτικού οξέος από τα βακτήρια είναι σε πλεονεκτική θέση έναντι της ανάπτυξης των ζυμών και του οξικού οξέος (Koroleva 1982). Στην Ταϊβάν ερευνητές έχουν δείξει ότι τα βακτήρια του γαλακτικού οξέος από κόκκους κεφίρ αναπτύσσονται πιο αργά στο γάλα σόγιας σε σύγκριση με το αγελαδινό γάλα (Liu και Lin 2000). Αυτό μπορεί να οφείλεται, εν μέρει, στην πιο αργή δημιουργία ευνοϊκών συνθηκών τους στην αρχή της ζύμωσης, όταν το γάλα σόγιας είναι το υπόστρωμα και όχι το αγελαδινό.

Προσθήκη υδατανθράκων (π.χ. 1% γλυκόζη) στο γάλα σόγιας έχει σαν αποτέλεσμα την αύξηση του αριθμού των ζυμών, την αύξηση της παραγωγής γαλακτικού οξέος και της παραγωγής αιθανόλης, σε σύγκριση με το κεφίρ που παράγεται από γάλα σόγιας μόνο (Liu και Lin 2000). Οι κόκκοι που χρησιμοποιήθηκαν σε αυτή τη μελέτη διαπιστώθηκε ότι έχουν  $\alpha$ -galactosidase που βοήθησε στον να εξηγηθεί πώς οι κόκκοι κεφίρ ήταν σε θέση να χρησιμοποιήσουν την γαλακτόζη, η οποία απαντάται ως βασικός υδατάνθρακας στο γάλα σόγιας.

Οι κόκκοι έχουν δείξει ότι διαθέτουν ένα δυναμικό και πολύπλοκο σύστημα χλωρίδας που δεν ευνοεί την εμπορική παραγωγή ενός ενιαίου, σταθερού προϊόν, για αυτό το λόγο έχει γίνει προσπάθεια από διάφορους ερευνητές να παράγουν κεφίρ από ένα μείγμα των καθαρών καλλιέργειών (Petersson et al. 1985). Ο Duitschaever et al. (1987, 1988A), συνδύασαν καλλιέργεια γιαούρτης με τρία άλλα γαλακτικά βακτήρια και *Saccharomyces cerevisiae* (ζύμη, η οποία δεν ζυμώνει την λακτόζη) για την παραγωγή κεφίρ υπό διάφορες συνθήκες. Οι Rossi και Gobetti (1991) παρήγαγαν πολλές καλλιέργειες χρησιμοποιώντας τέσσερα βακτήρια και δύο ζύμες που είχαν απομονωθεί από κόκκους για την κατασκευή κεφίρ στο πλαίσιο μιας συνεχούς διαδικασίας. Πιο πρόσφατα, οι Beshkova et al. (2002) έφτιαξαν καλλιέργειες που αποτελούνταν από δύο βακτήρια (*Lactobacillus helveticus* και *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*,) και μία ζύμη (*S. cerevisiae*) σε συνδυασμό με τα δύο στελέχη του γιαουρτιού (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, και *Streptococcus thermophilus*). Η ζύμη προστέθηκε σε καλλιέργεια με σακχαρόζη, είτε κατά την έναρξη, είτε μετά τη ζύμωση του γαλακτικού οξέος. Το τελικό προϊόν που παρασκευάστηκε, βρέθηκε να έχει υψηλό αριθμό δραστηριοποιημένων κόκκων και γαλακτοβάκιλλων, ενώ οι χημικές και οργανοληπτικές ιδιότητες του ήταν παρόμοιες με αυτές του παραδοσιακού κεφίρ. Σε κεφίρ που παράγεται στις Ηνωμένες Πολιτείες, χρησιμοποιείται ένα μείγμα μικροοργανισμών παρά κόκκων. Αυτό μείγμα καλλιέργειας που χρησιμοποιήθηκε περιέχει *Streptococcus lactis*, *L. plantarum*, *Streptococcus cremoris*, *L. casei*, *Streptococcus diacetylactis*, *Leuconostoc cremoris* και *Saccharomyces florentinus* (Hertzler και Clancy 2003).

Καλλιέργειες εκκίνησης που περιέχουν λυοφιλοποιημένα γαλακτικά βακτήρια και ζύμες από κόκκους κεφίρ είναι πλέον διαθέσιμα στο εμπόριο, στο οποίο συμπληρώνονται με πρόσθετους μικροοργανισμούς, ώστε να αποδοθούν τα επιθυμητά χαρακτηριστικά στο τελικό προϊόν. Είναι προφανές ότι το τελικό προϊόν, που παράγεται από κόκκους κεφίρ, θα έχει μεγαλύτερο αριθμό μικροοργανισμών σε σχέση με αυτό που παράγεται από ένα μείγμα καθαρών καλλιέργειών.

#### **2.4.1 Παραδοσιακή τεχνική**

Κατά την παραδοσιακή μέθοδο παρασκευής του κεφίρ (Σχήμα 3), το χρησιμοποιούμενο γάλα είναι συνήθως αγελαδινό αλλά μπορεί να είναι και οποιοδήποτε άλλο είδος γάλακτος. Χρησιμοποιείται πλήρες ή και

ημιαποβουτυρωμένο. Η θέρμανσή του γίνεται όπως και για την παραγωγή γιαούρτης αλλά επαρκεί και ηπιότερη θέρμανση στους 85°C για 15min. Ακολουθεί ψύξη στους 25°C, εμβολιασμός με κόκκους κεφίρ 3% μέχρι και 5% και επώαση στους 22-24°C μέχρι να γίνει η οξύτητα 90°D (0.09% γαλακτικό οξύ) σε 18-20 ώρες περίπου. Επειδή οι κόκκοι του 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 μία δεύτερη επώαση στους 10-12°C για 24 ώρες και στη συνέχεια απομακρύνονται οι κόκκοι ενώ το υγρό κεφίρ φέρεται στους 5°C μέχρι να καταναλωθεί. 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).

Βρασμός νωπού γάλακτος



Ψύξη 20 - 25 °C



Εμβολιασμός 20-25 °C ← Κόκκοι κεφίρ



Επώαση 22-24 °C, 18-20 h



Διαχωρισμός → Κόκκοι κεφίρ



Ωρίμανση και ψύξη 5 °C

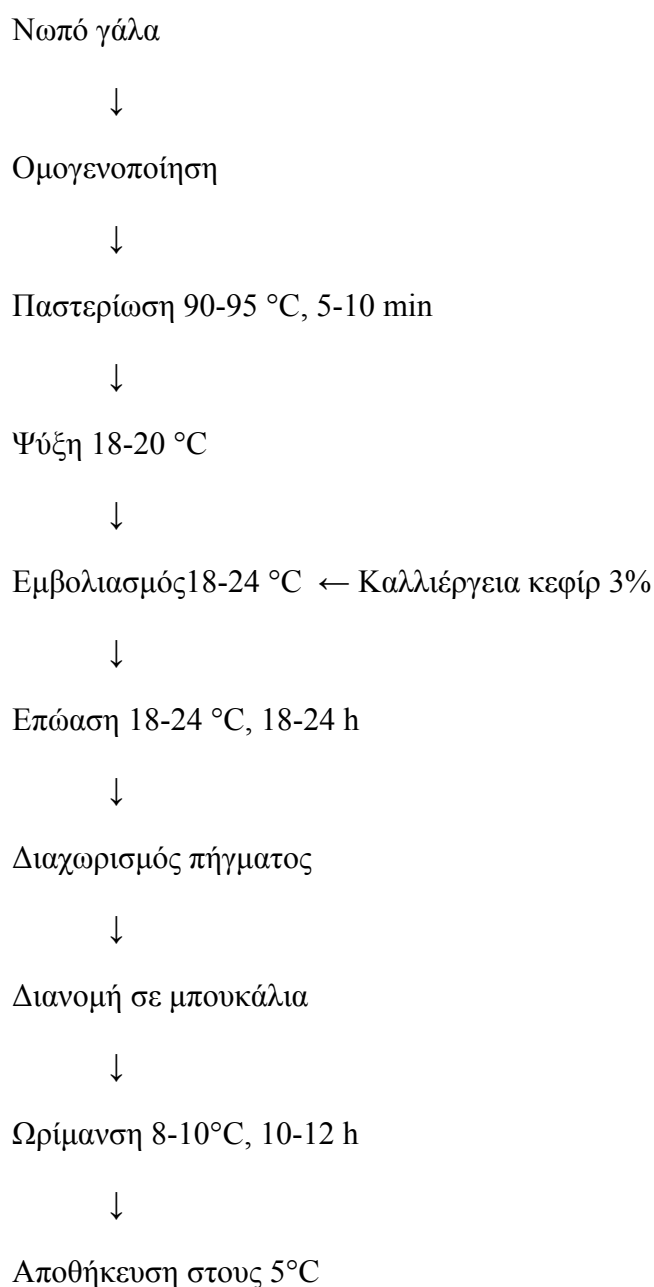


Αποθήκευση 5 °C

**Σχήμα 3. Παραδοσιακή τεχνική παρασκευής κεφίρ (Otlés & Cagindi, 2003)**

#### 2.4.2 Τεχνική που εφαρμόζεται στην βιομηχανία

Κατά τη βιομηχανική παραγωγή (Σχήμα 4) το γάλα υφίσταται επιπλέον και ομογενοποίηση όπως και στη γιαούρτη βιομηχανικού τύπου, η δε λιποπεριεκτικότητα μπορεί να ρυθμισθεί στα επιθυμητά επίπεδα. Λόγω της μεγάλης ποσότητας κατά τη βιομηχανική παραγωγή, οι κόκκοι του κεφίρ χρησιμοποιούνται για την παραγωγή της καλλιέργειας, η οποία συγκεντρώνεται σε δεξαμενή και χρησιμοποιείται σαν καλλιέργεια σε ποσοστό μέχρι 3% στο γάλα για τη μαζική παραγωγή του κεφίρ.



Σχήμα4. Βιομηχανική διαδικασία παρασκευής κεφίρ (Otlés & 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 φέρεται στους 5°C μέχρι να διατεθεί.

Το κεφίρ της βιομηχανικής παραγωγής συνήθως έχει χαμηλά επίπεδα αλκοόλης (0.1%), δηλαδή όχι και τόσο δυνατό, καθώς και διοξειδίου του άνθρακα (0.6g/l), δηλαδή μη επαρκώς αφρίζον.

Επειδή όμως και τα δύο αυτά συστατικά συμβάλλουν ουσιαστικά στα τυπικά χαρακτηριστικά του κεφίρ, θα πρέπει να επιδιώκεται η εξασφάλισή τους με τις κατάλληλες καλλιέργειες και συνθήκες παραγωγής (Otlés & Cagindi, 2003; Ζερφυρίδης, 2001).

## **2.5 Διαιτητική και θρεπτική αξία 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 εντέρου, οι οποίες μπορούν να αποικίσουν στο έντερο του ανθρώπου με αποτέλεσμα να βοηθούν στην αναγέννηση της χλωρίδας του εντέρου, ιδιαίτερα ύστερα από χορήγηση αντιβιοτικών (Otlés & Cagindi, 2003). Το κεφίρ είναι γάλα το οποίο έχει υποστεί γαλακτική και αλκοολική ζύμωση από μια μεγάλη ποικιλία μικροοργανισμών.

Έτσι υπερτερεί ίσως έναντι της γιαούρτης, η οποία έχει μόνο γαλακτική ζύμωση, καθώς παρουσιάζει μεγαλύτερο φάσμα ουσιών μεταβολισμού και εντονότερο βαθμό πρωτεολύσεως και λιπολύσεως. Κατά συνέπεια ότι ελέχθη για τη διαιτητική αξία της γιαούρτης ισχύει ακόμη περισσότερο και για το κεφίρ, με ορισμένες πάντοτε διαφορές κυρίως ως προς τη χρησιμοποίηση των βιταμινών του γάλακτος από τη μικροχλωρίδα και τη σύγχρονη παραγωγή άλλων ή και των ιδίων από αυτή (Davidov & Sokoloncky, 1968; Samsonov & Budagovskaya, 1982).

Με τη θρεπτική αξία του κεφίρ ασχολήθηκαν κυρίως Ρώσοι επιστήμονες, οι οποίοι αποδίδουν σε αυτό πολλές ευεργετικές ιδιότητες, όπως τη μακροζωία των ανθρώπων που ζούνε στον Καύκασο, αλλά υπάρχουν και πολλοί άλλοι επιστήμονες



οι οποίοι θεωρούν υπερβολές αυτές τις δοξασίες (Ζερφυρίδης, 2001).

Οι παρακάτω όμως αντιλήψεις για τη θρεπτική αξία του κεφίρ έχουν λογική βάση. Το κεφίρ υπερέχει έναντι των άλλων όξινων προϊόντων γάλακτος ως προς την αντιβιοτική του δράση κατά μικροοργανισμών που εισέρχονται στον πεπτικό σωλήνα με τις τροφές και το νερό, λόγω της παρουσίας των βακτηρίων παραγωγής οξικού οξέος και των ζυμών που περιέχει. Επίσης εμφανίζει έντονη υδρόλυση πρωτεϊνών κι επομένως υψηλή συγκέντρωση αμινοξέων και πεπτιδίων στο έντερο. Επιπλέον έχει αυξημένη ποσότητα βιταμινών Β (Ζερφυρίδης, 2001).

Χαρακτηριστικό γνώρισμα του κεφίρ είναι η παρουσία διοξειδίου του άνθρακα ( $\text{CO}_2$ ), που συντελεί στη δημιουργία λεπτοτεμαχισμένου πηγματος, με αποτέλεσμα να έρχεται αυτό σε καλύτερη επαφή με τα πεπτικά υγρά και να απορροφάται καλύτερα.

Η παρουσία διοξειδίου του άνθρακα σε συνδυασμό με τα άλατα ασβεστίου διευκολύνει επίσης την ούρηση (Davidov & Sokolovsky, 1968; Samsonov & Budagovskaya, 1982). Το κεφίρ, λόγω της ιδιάζουσας γεύσης και των μικροοργανισμών του, προάγει την έκκριση ενζύμων από το στομάχι και το πάγκρεας κι έτσι διευκολύνει την πέψη και τις περισταλτικές κινήσεις του εντέρου και ως εκ τούτου την διέλευση των τροφών από το έντερο. Στις πρώην σοβιετικές δημοκρατίες το κεφίρ χρησιμοποιείται στα νοσοκομεία στο διαιτολόγιο ασθενών και για ευρύ φάσμα ασθενειών (Zacconi et al., 1995)

## **2.6 Στοιχεία ρεολογίας ρευστών**

Ρεολογία ονομάζεται η επιστήμη της ροής και της παραμόρφωσης των υλικών. Ασχολείται με τη σχέση μεταξύ των δυνάμεων που ασκούνται σε ένα υλικό και τον τρόπο με τον οποίο το υλικό αντιδρά στην επίδραση της δύναμης (Darby, 1984).

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  $\eta$ . Από τον ορισμό του ιξώδους έχουμε:

$$\frac{F}{A} = \eta \frac{u}{Z} \quad (1)$$

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  $\eta$  το ιξώδες. Επίσης ο λόγος  $\frac{u}{Z}$  ονομάζεται ρυθμός διάτμησης  $\dot{\gamma}$  (Perry, 1999).

#### Νευτώνεια και μη Νευτώνεια ρευστά

Από το θεμελιώδη ορισμό του ιξώδους προκύπτει η διαφορική σχέση:

$$\frac{F}{A} = \eta \left( \frac{du}{dZ} \right) \quad (2)$$

η οποία μπορεί να γραφεί ως:

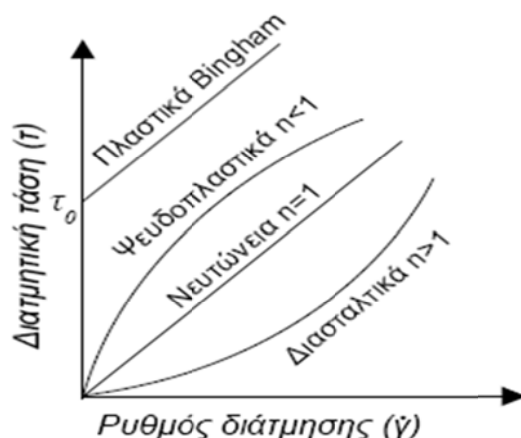
$$\tau = \eta \dot{\gamma} \quad (3)$$

όπου  $\tau$  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:

$$\tau = \tau_0 k \dot{\gamma}^n \quad (4)$$

που ονομάζεται γενική εξίσωση του εκθετικού νόμου (power law) και όπου το  $k$  είναι ο δείκτης συνεκτικότητας,  $n$  ο δείκτης ρεολογικής συμπεριφοράς και  $\tau_0$  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 4). 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  $\eta_a$ .



**Σχήμα 5.** Συμπεριφορά των ρευστών ανάλογα με την τιμή του δείκτη ρεολογικής συμπεριφοράς και της διατμητικής τάσης

### **3. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ**

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη της επίδρασης της λιποπεριεκτικότητας του γάλακτος και της προσθήκης καζεϊνικών αλάτων στο χρόνο επώασης που απαιτείται για την επίτευξη της επιθυμητής τιμής pH 4,4 και στη ρεολογική συμπεριφορά του κεφίρ.

## 4. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

### 4.1 Παρασκευή δειγμάτων κεφίρ

Για την παρασκευή των δειγμάτων κεφίρ χρησιμοποιήθηκαν κόκκοι κεφίρ οικιακής παραγωγής, παστεριωμένο αγελαδινό γάλα λιποπεριεκτικότητας 0%, 1,5% και 3,5% και καζεϊνικά άλατα (EPI INGREDIENTS, France) σε διαφορετικά ποσοστά προσθήκης (0, 1, 2 και 3%). Η σύσταση του γάλακτος διαφορετικής λιποπεριεκτικότητας και των καζεϊνικών αλάτων φαίνονται στους Πίνακες 1 και 2, αντίστοιχα.

**Πίνακας 1 :** Σύσταση γάλακτος βάση λιποπεριεκτικότητας

Διαθρεπτικά Χαρακτηριστικά / 100 g			
Λιποπεριεκτικότητα	Άπαχο (0%)	Ελαφρύ (1,5%)	Πλήρες (3,5%)
Λιπαρά	0 g	1,5 g	3,5g
Πρωτεΐνες	3,4 g	3,2 g	3,2g
Υδατάνθρακες	4,75 g	4,7 g	4,7g
Ασβέστιο	130 mg	130mg	130mg

**Πίνακας 2.** Σύσταση καζεϊνικών αλάτων.

Σύσταση	Περιεκτικότητα %
Υγρασία	≤ 6
Πρωτεΐνες	≥88
Λίπος	≤1,5
Λακτόζη	≤0,15
Ιχνοστοιχεία	≤3,9

#### 4.1.1 Δραστηριοποίηση των κόκκων

Οι κόκκοι κεφίρ οικιακής παραγωγής συντηρήθηκαν στους 4-5C μέσα σε παστεριωμένο γάλα, το οποίο ανανεωνόταν ανά τακτά χρονικά διαστήματα. Για την δραστηριοποίηση των κόκκων παστεριωμένο αγελαδινό γάλα λιποπεριεκτικότητας 3,5% εμβολιάστηκε με κόκκους σε ποσοστό 3% και ακολούθησε επώαση στους 25<sup>0</sup>C μέχρι τελική τιμή pH 4,4. Στη συνέχεια οι κόκκοι διαχωρίστηκαν με διήθηση του

πήγματος με τη βοήθεια ηθμού από ανοξείδωτο χάλυβα. Η δραστηριοποίηση των κόκκων συνεχίστηκε έως ότου ο χρόνος που απαιτείται για την επίτευξη της επιθυμητής τιμής pH 4,4 να είναι περίπου 26 h.

#### **4.1.2 Προετοιμασία γάλακτος**

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

#### **4.1.3 Παρασκευή δειγμάτων κεφίρ χωρίς προσθήκη καζεϊνικών αλάτων**

Το θερμικά επεξεργασμένο γάλα εμβολιάστηκε με τους δραστηριοποιημένους κόκκους σε ποσοστό 3%. Ο εμβολιασμός των δειγμάτων έγινε σε αποστειρωμένους γυάλινους περιέκτες. Τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε κλίβανο για επώαση στους 25°C μέχρι τελική τιμή pH 4,4. Ακολούθησε διαχωρισμός των κόκκων του κεφίρ με διήθηση των πηγμάτων με την βοήθεια ηθμού από ανοξείδωτο χάλυβα. Το διήθημα, το οποίο αποτελεί το δείγμα του κεφίρ, συλλέχθηκε σε αποστειρωμένους γυάλινους περιέκτες, παρέμεινε για 24 ώρες στους 4-5°C και ακολούθησε προσδιορισμός του ιξώδους.

#### **4.1.4 Παρασκευή δειγμάτων κεφίρ με προσθήκη καζεϊνικών αλάτων**

Η προσθήκη των καζεϊνικών αλάτων (σε ποσοστό 1, 2 και 3%) και η διαλυτοποίησή τους στο γάλα πραγματοποιήθηκε πριν τη θερμική επεξεργασία του γάλακτος. Συγκεκριμένα, σε αποστειρωμένη ογκομετρική φιάλη τοποθετείται μικρή ποσότητα γάλακτος θερμοκρασίας 20°C και προστίθεται μικρή ποσότητα καζεϊνικών αλάτων με σύγχρονη ανάδευση (μαγνητικός αναδευτήρας). Μετά την διάλυση αυτής της ποσότητας των καζεϊνικών αλάτων η ογκομετρική φιάλη τοποθετείται σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 20°C υπό συνεχή ανάδευση για πέντε λεπτά. Στην συνέχεια προστίθεται επιπλέον ποσότητα γάλακτος και καζεϊνικών αλάτων υπό συνεχή ανάδευση μέχρι διαλυτοποίησης. Η διαδικασία αυτή επαναλαμβάνεται μέχρι να διαλυτοποιηθεί η απαιτούμενη ποσότητα των καζεϊνικών αλάτων. Στη συνέχεια, η παρασκευή των δειγμάτων έγινε όπως περιγράφεται στην παρασκευή των δειγμάτων κεφίρ χωρίς την προσθήκη καζεϊνικών αλάτων..

#### 4.1.5 Κωδικοποίηση δειγμάτων

Τα παραπάνω δείγματα κεφίρ ανάλογα με τη λιποπεριεκτικότητα του γάλακτος και τη συγκέντρωση των καζεϊνικών αλάτων αναφέρονται στο κείμενο ως εξής:

- **K-A-0:** Δείγμα κεφίρ από γάλα λιποπεριεκτικότητας 0% (άπαχο γάλα) χωρίς προσθήκη καζεϊνικών αλάτων
- **K-A-1:** Δείγμα κεφίρ από γάλα λιποπεριεκτικότητας 0% (άπαχο γάλα) με προσθήκη καζεϊνικών αλάτων σε ποσοστό 1%
- **K-A-2:** Δείγμα κεφίρ από γάλα λιποπεριεκτικότητας 0% (άπαχο γάλα) με προσθήκη καζεϊνικών αλάτων σε ποσοστό 2%
- **K-A-3:** Δείγμα κεφίρ από γάλα λιποπεριεκτικότητας 0% (άπαχο γάλα) με προσθήκη καζεϊνικών αλάτων σε ποσοστό 3%
- **K-E-0:** Δείγμα κεφίρ από γάλα λιποπεριεκτικότητας 1% (ελαφρύ γάλα) χωρίς προσθήκη καζεϊνικών αλάτων
- **K-E-1:** Δείγμα κεφίρ από γάλα λιποπεριεκτικότητας 1% (ελαφρύ γάλα) χωρίς προσθήκη καζεϊνικών αλάτων
- **K-E-2:** Δείγμα κεφίρ από γάλα λιποπεριεκτικότητας 1% (ελαφρύ γάλα) με προσθήκη καζεϊνικών αλάτων σε ποσοστό 2%
- **K-E-3:** Δείγμα κεφίρ από γάλα λιποπεριεκτικότητας 1% (ελαφρύ γάλα) με προσθήκη καζεϊνικών αλάτων σε ποσοστό 3%
- **K-Π-0:** Δείγμα κεφίρ από γάλα λιποπεριεκτικότητας 3,5% (πλήρες γάλα) χωρίς προσθήκη καζεϊνικών αλάτων
- **K-Π-1:** Δείγμα κεφίρ από γάλα λιποπεριεκτικότητας 3,5% (πλήρες γάλα) με προσθήκη καζεϊνικών αλάτων σε ποσοστό 1%
- **K-Π-2:** Δείγμα κεφίρ από γάλα λιποπεριεκτικότητας 3,5% (πλήρες γάλα) με προσθήκη καζεϊνικών αλάτων σε ποσοστό 2%
- **K-Π-3:** Δείγμα κεφίρ από γάλα λιποπεριεκτικότητας 3,5% (πλήρες γάλα) με προσθήκη καζεϊνικών αλάτων σε ποσοστό 3%

Η παρασκευή όλων των δειγμάτων κεφίρ πραγματοποιήθηκε δύο φορές.

## 4.2 Προσδιορισμός ιξώδους

Για τη μελέτη της ρεολογικής συμπεριφοράς των δειγμάτων κεφίρ και τον προσδιορισμό του ιξώδους τους χρησιμοποιήθηκε το ιξωδόμετρο TR-1.

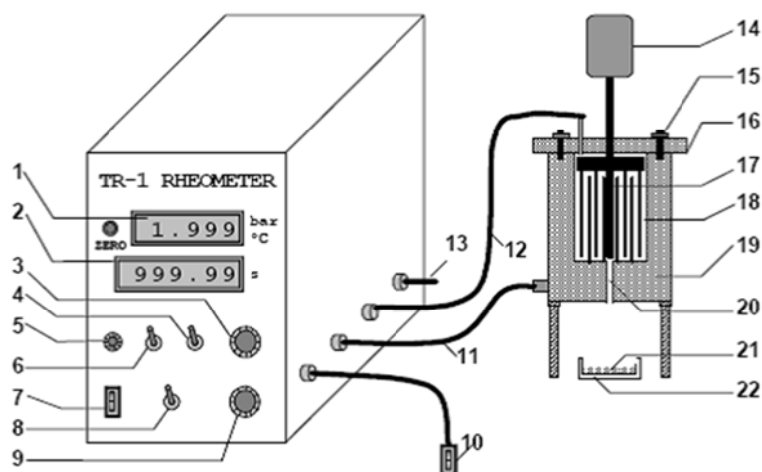
### 4.2.1 Περιγραφή ιξωδομέτρου

Η συσκευή αυτή (Σχήμα 6) επινοήθηκε και κατασκευάστηκε στο Τμήμα Τεχνολογίας Τροφίμων του Α.Τ.Ε.Ι. Θεσσαλονίκης. Πρόκειται για ένα ρέομετρο πνευματικού σωλήνα πολλαπλών σκοπών που αποτελείται από ένα θάλαμο, ο οποίος τροφοδοτείται με πεπιεσμένο αέρα μέσω μιας βαλβίδας εισαγωγής. Η βαλβίδα εισαγωγής ελέγχεται από μια μονάδα ελέγχου της πίεσης έτσι ώστε η πίεση στο θάλαμο του αέρα να ρυθμίζεται με ακρίβεια στην προκαθορισμένη τιμή που μπορεί να κυμαίνεται από  $0.010$  έως  $4.000 \pm 0.001$  bar. Επιπλέον, υπάρχει μια εκτονωτική βάννα για να μπορεί η πίεση στο θάλαμο του αέρα να ρυθμιστεί είτε προς τα πάνω είτε προς τα κάτω. Η αρχή λειτουργίας του οργάνου φαίνεται στο Σχήμα 6. Ο συμπιεσμένος αέρας από το συμπιεστή περνά μέσω ενός φίλτρου, ενός χειροκίνητου ρυθμιστή και της βαλβίδας εισαγωγής V1 στο θάλαμο αέρα. Η βαλβίδα εισαγωγής V1 και η βαλβίδα εξόδου V2 ελέγχονται μέσω μιας μονάδας μέτρησης και ελέγχου, έτσι ώστε η πίεση στο θάλαμο να σταθεροποιείται στην επιθυμητή τιμή. Η πίεση εφαρμόζεται στον περιέκτη του δείγματος όταν ανοίγει η βαλβίδα V3. Σε διαφορετική περίπτωση ο περιέκτης του δείγματος επικοινωνεί με την ατμόσφαιρα μέσω της V3. Η βαλβίδα V3 ελέγχεται με τη βοήθεια ενός διακόπτη ο οποίος έχει τρεις θέσεις: ανοιχτή (on), κλειστή (off) ή συγχρονισμένη με το χρονοδιακόπτη (sync). Ανοίγοντας αυτή τη βαλβίδα, εφαρμόζεται στο ρευστό ελεγχόμενη πίεση αέρα που το αναγκάζει να ρέει μέσα από ένα σωλήνα στερεωμένο στη βάση του δοχείου με το δείγμα (Xu & Raphaelides, 1998).

Ο περιέκτης του δείγματος είναι κατασκευασμένος από ανοξείδωτο χάλυβα, έχει χωρητικότητα 30 mL, ύψος 8,6 cm και εσωτερική διάμετρο 4,9 cm. Το δοχείο είναι εφοδιασμένο με έναν αναδευτήρα ο οποίος περιστρέφεται με σταθερή προκαθορισμένη ταχύτητα ρυθμιζόμενη από τη μονάδα ελέγχου του κινητήρα. Ο αναδευτήρας αποτελείται από τέσσερις ράβδους τοποθετημένες στη σειρά. Τέσσερις επιπλέον ράβδοι είναι στερεωμένες στον πυθμένα του περιέκτη σε θέσεις που δεν περιορίζουν την κίνηση των ράβδων του αναδευτήρα.



Η θέρμανση του θαλάμου του ιξωδομέτρου γίνεται με τη βοήθεια ηλεκτρικών αντιστάσεων.



**Σχήμα 6. Σχηματική απεικόνιση του σωληνωτού ρεομέτρου TR-1 (Dimitreli & Thomareis, 2004).**

Οι αριθμοί δηλώνουν: (1) Οθόνη πίεσης/θερμοκρασίας, (2) Οθόνη χρόνου, (3) Ρύθμιση Θερμοκρασίας, (4) Διακόπτης επιλογής πίεσης/θερμοκρασίας, (5) Ρύθμιση θερμοκρασίας, (6) Επιλογή τιμής πίεσης X1/X2, (7) Διακόπτης λειτουργίας, (8) Έλεγχος βαλβίδας, ανοιχτή/κλειστή/συγχρονισμένη με το χρονομέτρο, (9) Ρύθμιση πίεσης, (10) Διακόπτης χρονομέτρου, (11) Καλώδιο ελέγχου θερμοκρασίας, (12) Έξοδος πεπιεσμένου αέρα (Βαλβίδα V3), (13) Είσοδος πεπιεσμένου αέρα (βαλβίδα εισόδου V1), (14) Κινητήρας, (15) Μπουλόνια κλεισίματος καπακιού, (16) Καπάκι, (17) Αναδευτήρας, (18) Δείγμα, (19) Περιέκτης δείγματος, (20) Τριχοειδής σωλήνας, (21) Εκρεώμενο υγρό, (22) Συλλέκτης δείγματος.

Τα τεχνικά χαρακτηριστικά της συσκευής είναι:

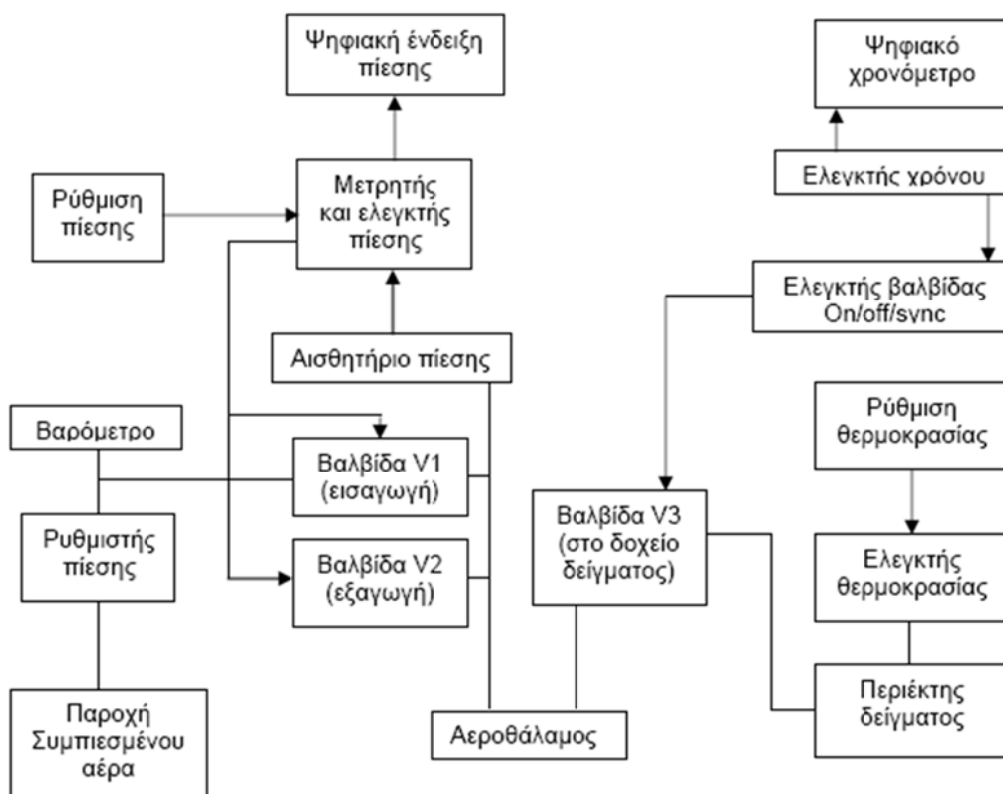
Πίεση:  $0-0,09 \text{ MPa}$  ( $0-0,9 \text{ bar}$ )

Χρόνος:  $0-999,99 \text{ sec}$ .

Θερμοκρασία: Θερμοκρασία περιβάλλοντος έως  $100 \text{ }^\circ\text{C}$

Συμπιεσμένος αέρας:  $0,03-0,5 \text{ MPa}$  ( $0,3-5,0 \text{ bar}$ )

Παροχή ρεύματος:  $AC 220V$



**Σχήμα 7. Σχηματική απόδοση της αρχής λειτουργίας του σωληνωτού ρεομέτρου TR1 (Xu & Raphaelides, 1998).**

#### 4.2.2 Πειραματικές μετρήσεις

Στο δοχείο του ιξωδομέτρου προστέθηκαν 30 g δείγματος, τοποθετήθηκε το καπάκι του και τέθηκε σε περιστροφή ο αναδευτήρας στις 50 rpm. Η θερμοκρασία της ηλεκτρικής αντίστασης ρυθμίστηκε στους 20 °C. Μετά την επίτευξη της επιθυμητής θερμοκρασίας το δείγμα παρέμενε για επιπλέον 5 λεπτά πριν την έναρξη των μετρήσεων, ώστε όλη η μάζα του υλικού να αποκτήσει την ίδια θερμοκρασία.

Επειδή τα δείγματα κεφίρ ήταν πολύ λεπτόρρευστα, για τον προσδιορισμό του ιξώδους τους χρησιμοποιήθηκε βελόνα με διάμετρο 0,0653388 cm και μήκος 4.5 cm, η οποία προσαρμόστηκε κατάλληλα στο σωλήνα που βρίσκεται στον πυθμένα του δοχείου του ιξωδομέτρου.

Όταν δείγμα ρέει μέσα σε σωλήνα, μετρείται ο όγκος ή το βάρος του καθώς και ο χρόνος ροής του, οπότε είναι δυνατός ο υπολογισμός του ρυθμού ροής. Το ιξώδες του υγρού υπολογίζεται μέσω της εφαρμοζόμενης πίεσης και του ρυθμού ροής. Έτσι, με μια σειρά μετρήσεων με τη χρήση διαφορετικών πιέσεων είναι δυνατό

να κατασκευαστεί μια καμπύλη ροής. Για την κατασκευή της καμπύλης ροής λαμβάνονταν μετρήσεις σε διαφορετικές πιέσεις για κάθε δείγμα. Η μεγαλύτερη πίεση που εφαρμόστηκε ήταν 1,0 bar και η μικρότερη 0,3 bar. Η διαφορά μεταξύ δύο διαδοχικών πιέσεων ήταν πάντα 0,05 bar, ενώ το εύρος των πιέσεων κάθε φορά εξαρτώνταν από το πόσο λεπτόρευστο ή παχύρευστο ήταν το δείγμα.

Σε κάθε πίεση γινόταν η μέτρηση της ποσότητας του δείγματος που εξερχόταν από τον περιέκτη και του χρόνου που χρειαζόταν για να γίνει αυτό. Η συσκευή έδειχνε αυτόματα τον χρόνο μέτρησης και η ζύγιση της ποσότητας του υλικού γινόταν με τη βοήθεια ψηφιακού ζυγού με ακρίβεια 1 mg. Από αυτά τα δεδομένα είναι δυνατό να υπολογιστεί ο ρυθμός διάτμησης του υλικού για κάθε περίπτωση και να σχεδιαστούν οι γραφικές παραστάσεις ιξώδους-ρυθμού διάτμησης για κάθε μεταχείριση.

#### 4.2.3 Επεξεργασία μετρήσεων

Για ροή σε οριζόντιο σωλήνα κυκλικής διατομής, το ιξώδες  $\eta$ , ενός Νευτώνειου ρευστού υπολογίζεται από το νόμο των Hagen-Poiseuille:

$$\eta = \pi D^4 \frac{\Delta P}{128QL} \quad (5)$$

όπου  $D$  είναι η διάμετρος του σωλήνα,  $L$  είναι το μήκος του,  $\Delta P$  είναι η πτώση πίεσης και  $Q$  είναι η ογκομετρική παροχή.

Για μη-Νευτώνεια ρευστά το φαινομενικό ιξώδες  $\eta_a$ , υπολογίζεται από τη διατμητική τάση στα τοιχώματα  $\tau_w$ , και την αντίστοιχη ταχύτητα διάτμησης μετά τη μη-Νευτώνεια διόρθωση  $\dot{\gamma}_{corr.}$ , η οποία υπολογίζεται από τη φαινομενική μη διορθωμένη ταχύτητα διάτμησης  $\dot{\gamma}_{uncorr.}$ , με τις ακόλουθες εξισώσεις:

$$\dot{\gamma}_{uncorr.} = \frac{32Q}{\pi D^3} \quad (6)$$

$$\dot{\gamma}_{corr} = \frac{\dot{\gamma}_{uncorr} \cdot (3n+1)}{4n} \quad (7)$$

$$\tau_w = \frac{\Delta P \cdot D}{4L} \quad (8)$$

$$\eta = \frac{\tau_w}{\dot{\gamma}_{corr}} \quad (9)$$

#### 4.2.4 Φαινόμενα άκρων

Στη ροή μέσω τριχοειδούς σωλήνα, η συγκλίνουσα ροή στην είσοδο καθώς και η αποκλίνουσα ροή στην έξοδο προκαλούν πτώσεις πίεσης γνωστές ως φαινόμενα άκρων. Αυτό δείχνει πως η ροή του ρευστού σε ένα τριχοειδή σωλήνα μπορεί να διαιρεθεί σε τρεις περιοχές: την περιοχή εισόδου, την περιοχή πλήρως ανεπτυγμένης ροής και την περιοχή εξόδου. Η περιοχή εισόδου περιέχει το τμήμα του τριχοειδούς σωλήνα όπου αρχίζει να σχηματίζεται ένα οριακό δακτυλιοειδές στρώμα. Η παρουσία αυτού του στρώματος έχει ως αποτέλεσμα την εμφάνιση και των αξονικών και των ακτινικών συνιστωσών της ταχύτητας στο σημείο αυτό. Η μεταβολή της κατατομής της ταχύτητας προκαλεί απώλειες ενέργειας, και αυτό έχει ως αποτέλεσμα την μεταβολή της πίεσης με μεγαλύτερα βήματα στην περιοχή εισόδου. Η επιμηκυμένη ροή συμβάλλει επίσης στην πτώση πίεσης στην περιοχή εισόδου.

Όταν το ρευστό εξέρχεται από τον περιέκτη μέσα στον τριχοειδή σωλήνα, κατά μήκος του άξονά του, όπου ο ρυθμός διάτμησης ισούται με μηδέν, η ροή γίνεται επιμηκυμένη και το ιξώδες μπορεί να πάρει πολύ υψηλές τιμές, δίνοντας έτσι μεγαλύτερες πτώσεις πίεσης από το αναμενόμενο. Το πάχος του οριακού δακτυλιοειδούς στρώματος είναι θετική συνάρτηση της απόστασής του από την είσοδο του τριχοειδούς σωλήνα, έτσι ώστε όταν η απόσταση αυτή ισούται με την ακτίνα του σωλήνα, μια πλήρως ανεπτυγμένη ροή σχηματίζεται και σε αυτό το σημείο αρχίζει η περιοχή μέτρησης του ιξώδους. Η περιοχή εξόδου δημιουργείται από την απότομη αλλαγή των συνθηκών στα άκρα του τριχοειδούς σωλήνα. Προβλήματα που έχουν σχέση με την έκταση και την επίδραση της περιοχής εξόδου,

μπορεί να δημιουργηθούν στην ερμηνεία των πειραματικών μετρήσεων.

Γενικότερα, οι εσωτερικές απώλειες λόγω τριβών, που συμβαίνουν εξαιτίας της απότομης συστολής και διαστολής του σωλήνα, είναι συνάρτηση του λόγου της επιφάνειας του περιέκτη προς την επιφάνεια του τριχοειδούς σωλήνα, της κινητικής ενέργειας της ροής του ρευστού, τη γεωμετρία των άκρων του τριχοειδούς σωλήνα και της ίδιας της φύσης του ρευστού.

Τα φαινόμενα άκρων συνήθως εκφράζονται με τη μορφή ισοδύναμου μήκους ( $\zeta D$ ) που προστίθεται στο μήκος του σωλήνα και η πραγματική διατμητική τάση  $\tau_{eff}$  υπολογίζεται από την παρακάτω σχέση:

$$\tau_{eff} = \frac{\Delta P \cdot D}{4(L + \zeta D)} \quad (10)$$

Η τιμή του  $\zeta$  για ένα συγκεκριμένο ρυθμό διάτμησης υπολογίζεται από την ευθεία του

γραφήματος  $\Delta P - \frac{L}{D}$ , με την τεχνική της προέκτασης, όταν δώσουμε τιμή  $\Delta P = 0$ . Η τεχνική αυτή είναι γνωστή ως διόρθωση του Bagley (1957). Η χρήση τριχοειδών σωλήνων με μεγάλο λόγο  $L/D$  συνιστάται έτσι ώστε τα φαινόμενα άκρων να γίνουν αμελητέα (Lapasin & Pricl, 1995).

#### 4.2.5 Διόρθωση κινητικής ενέργειας

Όταν ένα ρευστό εκτονώνεται μέσω ενός τριχοειδούς σωλήνα στον αέρα με μεγάλη ταχύτητα, έχει ένα σημαντικό ποσό κινητικής ενέργειας. Αυτή η κινητική ενέργεια μπορεί να αντιπροσωπεύει ένα μεγάλο ποσοστό της συνολικά εφαρμοζόμενης πίεσης και θα πρέπει να γίνεται διόρθωση της με τη χρήση της παρακάτω σχέσης:

$$\Delta P = \Delta P_{obs} - \frac{\rho u^2}{\alpha} = \Delta P_{obs} - \frac{16\rho Q^2}{\alpha \pi^2 D^4} \quad (11)$$

όπου  $\Delta P$  είναι η διορθωμένη πίεση,  $\Delta P_{obs}$  η μετρούμενη πίεση,  $\alpha$  ο συντελεστής διόρθωσης της κινητικής ενέργειας και  $\rho$  η πυκνότητα του ρευστού.

Ο συντελεστής  $\alpha$  είναι συνάρτηση της κατατομής των ταχυτήτων του ρευστού

που ρέει διαμέσου του τριχοειδούς σωλήνα. Για Νευτώνεια ρευστά η τιμή του  $\alpha$  ισούται με άπειρο, ενώ για μη Νευτώνεια η τιμή του μπορεί να υπολογιστεί από τη σχέση (van Wazer et al., 1963):

$$\alpha = \frac{(4n+2)(5n+3)}{3(3n+1)^2} \quad (12)$$

Για την επεξεργασία των μετρήσεων, που έγιναν με τη χρήση του ιξωδομέτρου TR-1, χρησιμοποιήθηκε ένα πρόγραμμα υπολογιστή σε γλώσσα GW-Basic, το οποίο λαμβάνει υπόψη τις παραπάνω διορθώσεις για να υπολογίσει το ιξώδες του ρευστού σε συνάρτηση με το ρυθμό διάτμησης.

Το ιξώδες σε κάθε δείγμα κεφίρ προσδιορίστηκε δύο φορές.

### 4.3 Μέτρηση pH

Το pH των δειγμάτων κεφίρ προσδιορίστηκε με το εργαστηριακό πεχάμετρο EDT Instruments GP353 ATC pH METER. Το πεχάμετρο ελέγχεται και ρυθμίζεται με τη βοήθεια των ρυθμιστικών διαλυμάτων (Buffer 4 και 7). Η θερμοκρασία του πεχαμέτρου προσαρμόζεται στη θερμοκρασία του δείγματος. Το ηλεκτρόδιο του πεχαμέτρου εμβαπτίζεται στο δείγμα του κεφίρ και σημειώνεται η ένδειξη του οργάνου. Για τη μέτρηση του pH λαμβάνεται ο μέσος όρος δύο μετρήσεων.

### 4.4 Προσδιορισμός οξύτητας

Για τον προσδιορισμό της οξύτητας σε ένα ποτήρι ζέσεως ή μία κωνική φιάλη ζυγίστηκαν 10g δείγματος κεφίρ, ακολούθησε προσθήκη 10ml αποσταγμένου νερού, ανάμειξη και τιτλοδότηση του δείγματος με N/10 καυστικού νατρίου μέχρι εμφάνισης ρόδινου χρώματος (Αντωνίου, 2002).

Η οξύτητα του δείγματος εκφρασμένη σε γαλακτικό οξύ (Γ.Ο.) % υπολογίστηκε σύμφωνα με τον τύπο:

$$\text{Γ.Ο.(\%)} = \frac{V * 0,009 * 100}{\beta} \quad (13)$$

Όπου:

$V$  = τα ml N/10 καυστικού νατρίου που καταναλώθηκαν για την εξουδετέρωση της οξύτητας του δείγματος

$\beta$  = η ποσότητα του δείγματος που χρησιμοποιήθηκε για την τιτλοδότηση σε g.

#### **4.5 Στατιστική ανάλυση**

Στα στοιχεία του πειράματος εφαρμόστηκε η ανάλυση της διακύμανσης δύο επιλέξιμων παραγόντων (Two-Way ANOVA): λιποπεριεκτικότητα γάλακτος (3 επίπεδα; 0%, 1,5% 3,5%) και ποσοστό προσθήκης καζεϊνικών αλάτων (4 επίπεδα; 0%, 1%, 3% και 5%). Οι μεταβλητές που μελετήθηκαν ήταν ο χρόνος επώασης για την επίτευξη τη επιθυμητής τιμής pH 4,4, η οξύτητα των δειγμάτων εκφρασμένη σε γαλακτικό οξύ % και ο δείκτης ρεολογικής συμπεριφοράς. Σε περίπτωση που τα αποτελέσματα της ANOVA εμφάνισαν στατιστική σημαντικότητα του μελετούμενου παράγοντα, εφαρμόστηκε ο έλεγχος των πολλαπλών συγκρίσεων του Tukey ώστε να εντοπιστούν αυτές οι διαφορές (Πετρίδης, 2000). Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων έγινε με τη χρήση του προγράμματος Minitab 14.

## 5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

### 5.1. Χρόνος επώασης για επίτευξη τιμής pH 4,4

Τα δείγματα κεφίρ επώαστηκαν μέχρι τελική τιμή pH 4,4. Ο χρόνος επώασης για την επίτευξη της τιμής pH 4,4, καθώς επίσης και η οξύτητα των δειγμάτων εκφρασμένη σε γαλακτικό οξύ % φαίνονται στον Πίνακα 2. Οι τιμές των μετρήσεων αποτελούν τους μέσους όρους δύο επαναλήψεων.

**Πίνακας 3.** Χρόνος επώασης για την επίτευξη τιμής pH 4,42 και περιεκτικότητα σε γαλακτικό οξύ (%) των δειγμάτων κεφίρ

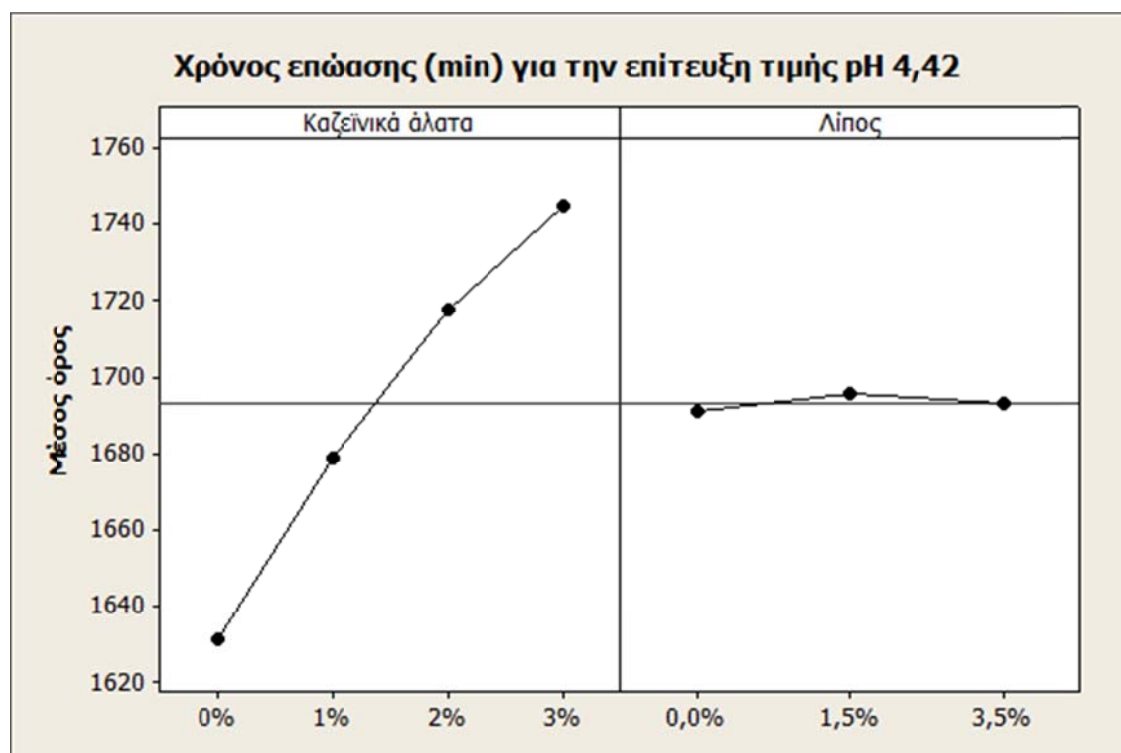
Δείγματα κεφίρ*	Χρόνος (min)	Γαλακτικό οξύ (%)
<b>K-A-0</b>	1631	0,752
<b>K-A-1</b>	1675	0,804
<b>K-A-2</b>	1718	0,864
<b>K-A-3</b>	1743	0,950
<b>K-E-0</b>	1640	0,773
<b>K-E-1</b>	1680	0,807
<b>K-E-2</b>	1715	0,869
<b>K-E-3</b>	1748	0,947
<b>K-II-0</b>	1625	0,757
<b>K-II-1</b>	1683	0,806
<b>K-II-2</b>	1720	0,860
<b>K-II-3</b>	1745	0,936

\* Η κωδικοποίηση των δειγμάτων αναφέρεται στην Ενότητα 4.

Η εφαρμογή της ANOVA έδειξε ότι ο χρόνος επώασης για την επίτευξη τιμής pH 4,4 επηρεάζεται στατιστικά σημαντικά από την προσθήκη καζεϊνικών αλάτων ( $p < 0,05$ ), ενώ δεν επηρεάζεται από τη λιποπεριεκτικότητα των δειγμάτων κεφίρ ( $p > 0,05$ ) (Παράρτημα).



Σύμφωνα με το Σχήμα 8 η προσθήκη καζεϊνικών αλάτων έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση του χρόνου επώασης για την επίτευξη τιμής pH 4,4, η οποία μάλιστα είναι ανάλογη της ποσότητας των καζεϊνικών αλάτων. Η κατάταξη των δειγμάτων σύμφωνα με τον έλεγχο των πολλαπλών συγκρίσεων του Tukey είναι η εξής: Προσθήκη καζεϊνικών αλάτων 0% < Προσθήκη καζεϊνικών αλάτων σε ποσοστό 1% < Προσθήκη καζεϊνικών αλάτων σε ποσοστό 2% < Προσθήκη καζεϊνικών αλάτων σε ποσοστό 3%.

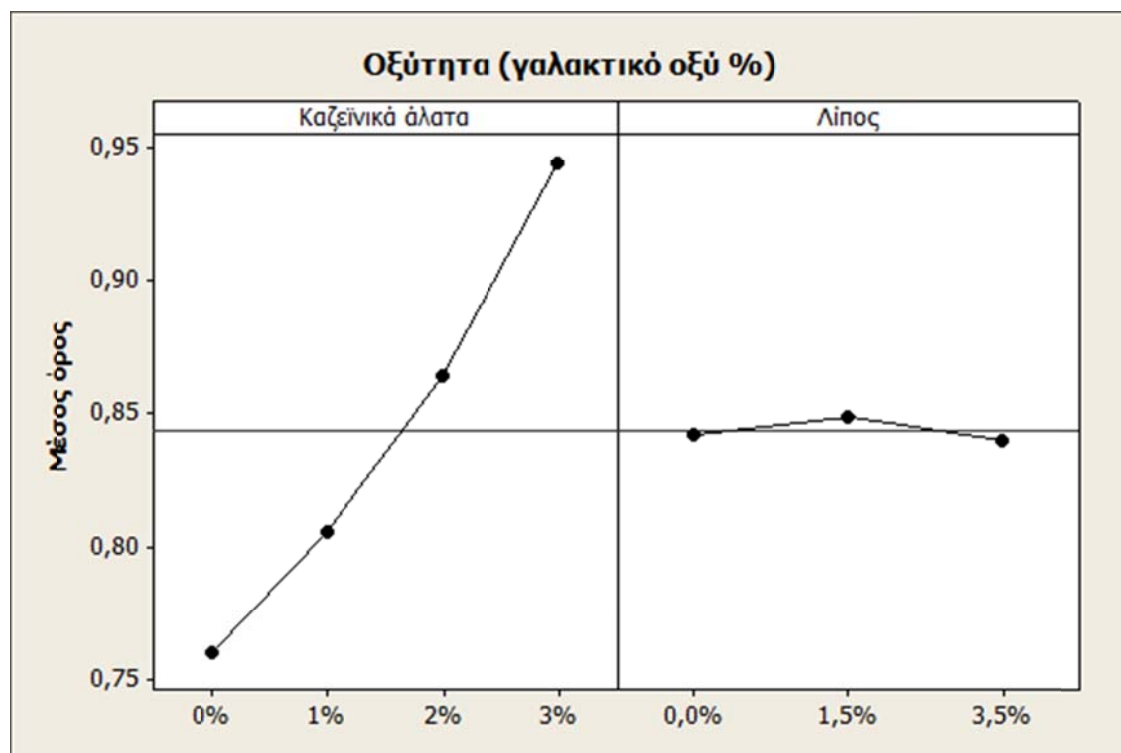


**Σχήμα 8.** Επίδραση της προσθήκης καζεϊνικών αλάτων και της λιποπεριεκτικότητας του γάλακτος στο χρόνο επώασης των δειγμάτων κεφίρ για επίτευξη τιμής pH 4,42.

Η περιεκτικότητα των δειγμάτων σε γαλακτικό οξύ, αν και τα δείγματα κεφίρ είχαν την ίδια τελική τιμή pH, επηρεάζεται στατιστικά σημαντικά από την προσθήκη καζεϊνικών αλάτων ( $p < 0,05$ ) (Παράρτημα).

Σύμφωνα με το Σχήμα 9 η προσθήκη καζεϊνικών αλάτων έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της οξύτητας των δειγμάτων κεφίρ. Μάλιστα η αύξηση της ποσότητας του γαλακτικού οξέος είναι ανάλογη του ποσοστού προσθήκης καζεϊνικών αλάτων. Η κατάταξη των δειγμάτων σύμφωνα με τον έλεγχο των πολλαπλών συγκρίσεων του Tukey είναι η εξής: Προσθήκη καζεϊνικών αλάτων 0% < Προσθήκη καζεϊνικών

αλάτων σε ποσοστό 1% < Προσθήκη καζεϊνικών αλάτων σε ποσοστό 2% < Προσθήκη καζεϊνικών αλάτων σε ποσοστό 3%.



**Σχήμα 9.** Επίδραση της προσθήκης καζεϊνικών αλάτων και της λιποπεριεκτικότητας του γάλακτος στην οξύτητα των δειγμάτων κεφίρ εκφρασμένη σε γαλακτικό οξύ %.

Η αύξηση του χρόνου επώασης που απαιτείται για την επίτευξη της τιμής pH 4,4 με την προσθήκη καζεϊνικών αλάτων στα δείγματα κεφίρ, καθώς και η αύξηση της οξύτητας των δειγμάτων κεφίρ που παρασκευάστηκαν με την προσθήκη καζεϊνικών αλάτων μπορεί να αποδοθεί στην αυξημένη ρυθμιστική ικανότητα του γάλακτος από το οποίο παρασκευάστηκαν. Από τα συστατικά του γάλακτος οι καζεΐνες παρουσιάζουν τη μεγαλύτερη ρυθμιστική ικανότητα με αποτέλεσμα η προσθήκη τους στο γάλα να προκαλεί επιμήκυνση του χρόνου επώασης καθώς και αύξηση της ποσότητας του γαλακτικού οξέος για την επίτευξη της τελικής τιμής pH 4,4. Σύμφωνα με τους Amatayakul et al. (2006) δείγματα γιαούρτης που παρασκευάστηκαν από γάλα με αναλογία καζεϊνικών / πρωτεΐνες ορού 1/1 εμφάνισαν ταχύτερο ρυθμό πτώσης της τιμής pH σε σχέση με δείγματα που παρασκευάστηκαν από γάλα με αναλογία καζεϊνικών / πρωτεΐνες ορού 4/1.

Επιπλέον η αύξηση του χρόνου επώασης που απαιτείται για την επίτευξη της τιμής pH 4,4 με την προσθήκη καζεϊνικών αλάτων στα δείγματα κεφίρ θα μπορούσε να

αποδοθεί στη διαφοροποίηση του πρωτεϊνικού πλέγματος των δειγμάτων με την προσθήκη των καζεϊνικών αλάτων. Κατά την κατακρήμιση των μικκυλίων της καζεΐνης, η παρουσία των καζεϊνικών αλάτων έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία συμπλεγμάτων (clusters) καζεΐνης μεγαλύτερου μεγέθους από ότι δημιουργούνται χωρίς την επιπλέον προσθήκη των καζεϊνικών αλάτων. Τα συμπλέγματα αυτά δυσχεραίνουν τη μεταφορά της λακτόζης από τα σημεία πλούσια σε λακτόζη σε σημεία όπου η λακτόζη έχει καταναλωθεί από τη δράση των ενζύμων. Το αποτέλεσμα είναι να επιμηκύνεται ο χρόνος της πτώσης του pH στην τιμή 4,4 λόγω της αργής υδρόλυσης της λακτόζης (Walstra et al., 1998).

## 5.2. Μελέτη της ρεολογικής συμπεριφοράς των δειγμάτων κεφίρ

Οι τιμές του ιξώδους και του ρυθμού διάτμησης, που προέκυψαν από την επεξεργασία των μετρήσεων του ιξωδομέτρου, μπορούν να παρασταθούν γραφικά. Η σχέση μεταξύ του ιξώδους και του ρυθμού διάτμησης είναι της μορφής:

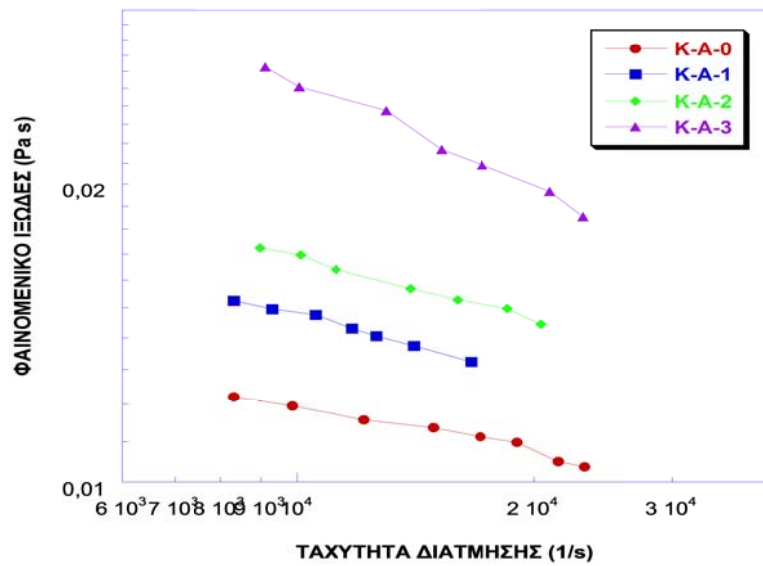
$$\eta_a = \frac{\tau}{\dot{\gamma}} = k \dot{\gamma}^{n-1} \quad (14)$$

Ο δείκτης ρεολογικής συμπεριφοράς (n, flow behavior index), ο οποίος αποτελεί μέτρο της νευτόνιας συμπεριφοράς ενός ρευστού, μπορεί να υπολογιστεί από τις καμπύλες ροής των δειγμάτων (γραφική παράσταση ιξώδους συναρτήσει της ταχύτητας διάτμησης). Οι καμπύλες ροής που προκύπτουν, είναι δυνατόν να παρασταθούν με ευθείες αν λογαριθμήσουμε τους άξονες X και Y, οπότε:

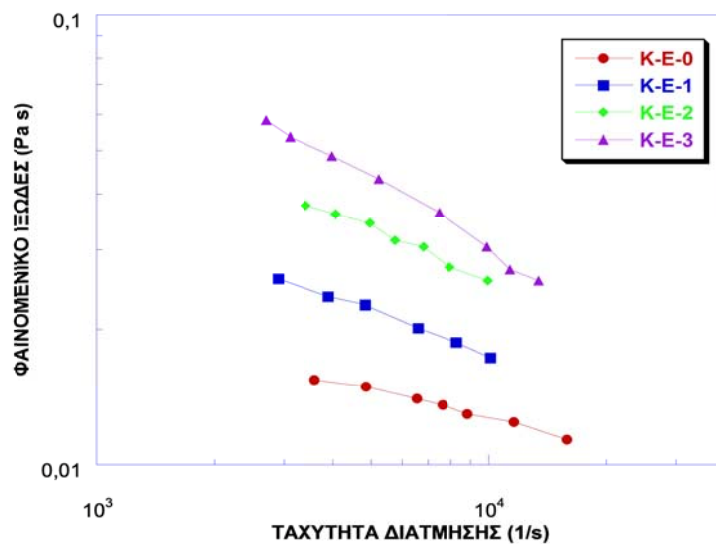
$$\log \eta_a = \log k + (n-1) \log \dot{\gamma} \quad (15)$$

όπου log k είναι η τεταγμένη επί την αρχή των αξόνων και n-1 η κλίση της ευθείας η οποία είναι αρνητική για n<1.

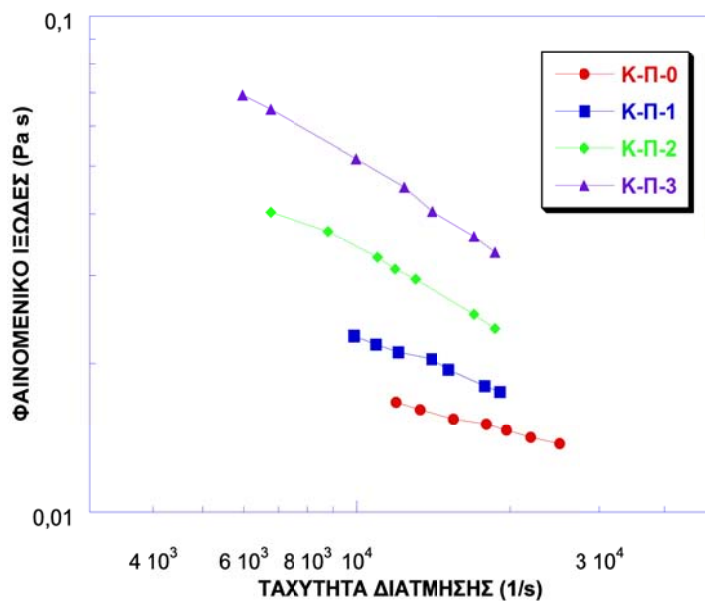
Στα Σχήματα 10-16 φαίνονται οι καμπύλες ροής των δειγμάτων, από τις οποίες προέκυψαν οι τιμές του δείκτη ρεολογικής συμπεριφοράς (Πίνακας 3).



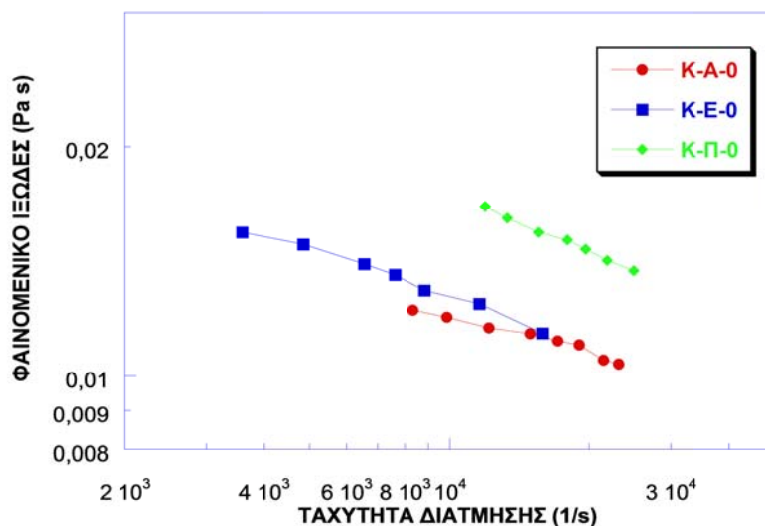
**Σχήμα 10.** Μεταβολή του ιξώδους συναρτήσει της ταχύτητας διάτμησης στα δείγματα κεφίρ που παρασκευάστηκαν με γάλα λιποπερικτικότητα 0% χωρίς και με προσθήκη καζεϊνικών αλάτων.



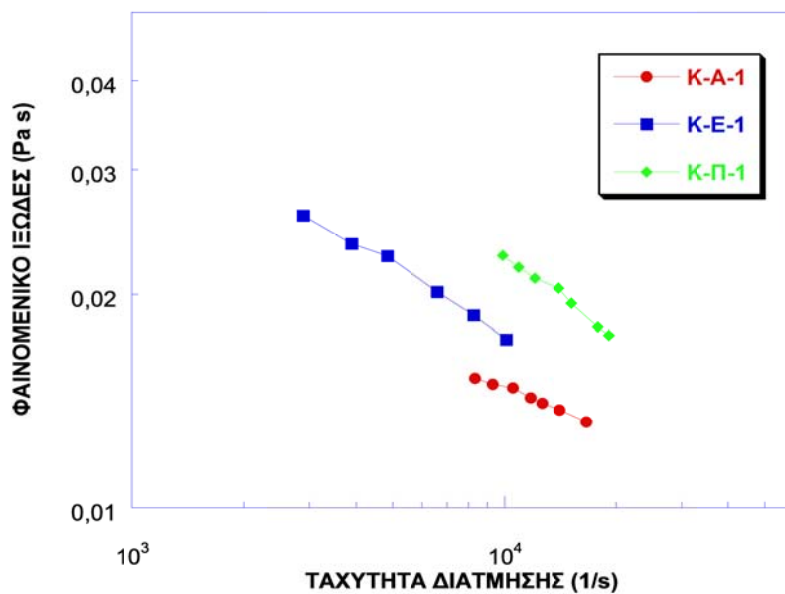
**Σχήμα 11.** Μεταβολή του ιξώδους συναρτήσει της ταχύτητας διάτμησης στα δείγματα κεφίρ που παρασκευάστηκαν με γάλα λιποπερικτικότητα 1,5% χωρίς και με προσθήκη καζεϊνικών αλάτων.



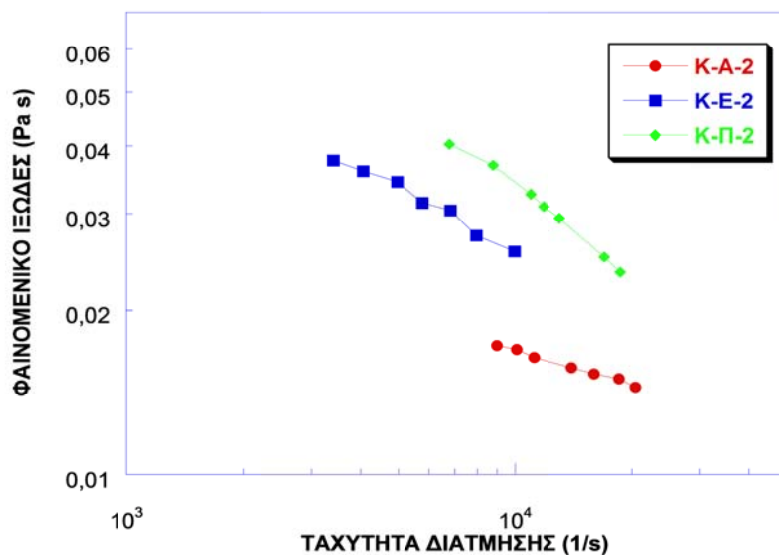
**Σχήμα 12.** Μεταβολή του ιξώδους συναρτήσει της ταχύτητας διάτμησης στα δείγματα κεφίρ που παρασκευάστηκαν με γάλα λιποπεριεκτικότητας 3,5% χωρίς και με προσθήκη καζεϊνικών αλάτων.



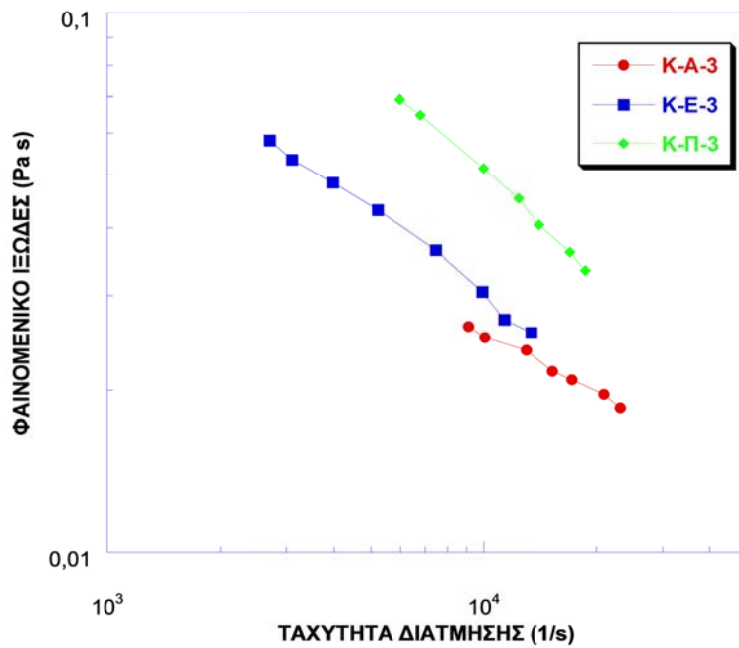
**Σχήμα 13.** Μεταβολή του ιξώδους συναρτήσει της ταχύτητας διάτμησης στα δείγματα κεφίρ που παρασκευάστηκαν με γάλα λιποπεριεκτικότητας 0, 1,5 και 3,5% χωρίς προσθήκη καζεϊνικών αλάτων.



**Σχήμα 14.** Μεταβολή του ιξώδους συναρτήσει της ταχύτητας διάτμησης στα δείγματα κεφίρ που παρασκευάστηκαν με γάλα λιποπεριεκτικότητας 0, 1,5 και 3,5% με προσθήκη καζεϊνικών αλάτων σε ποσοστό 1%.



**Σχήμα 15** Μεταβολή του ιξώδους συναρτήσει της ταχύτητας διάτμησης στα δείγματα κεφίρ που παρασκευάστηκαν με γάλα λιποπεριεκτικότητας 0, 1,5 και 3,5% με προσθήκη καζεϊνικών αλάτων σε ποσοστό 2%.



**Σχήμα 16.** Μεταβολή του ιξώδους συναρτήσει της ταχύτητας διάτμησης στα δείγματα κεφίρ που παρασκευάστηκαν με γάλα λιποπεριεκτικότητας 0, 1,5 και 3,5% με προσθήκη καζεϊνικών αλάτων σε ποσοστό 3%.

**Πίνακας 4. Τιμές του δείκτη ρεολογικής συμπεριφοράς (n) των δειγμάτων κεφίρ.**

<b>Δείγματα κεφίρ*</b>	<b>Δείκτης ρεολογικής συμπεριφοράς (n)</b>
<b>K-A-0</b>	0,856
<b>K-A-1</b>	0,797
<b>K-A-2</b>	0,765
<b>K-A-3</b>	0,640
<b>K-E-0</b>	0,789
<b>K-E-1</b>	0,689
<b>K-E-2</b>	0,630
<b>K-E-3</b>	0,502
<b>K-Π-0</b>	0,746
<b>K-Π-1</b>	0,626
<b>K-Π-2</b>	0,498
<b>K-Π-3</b>	0,451

Η προσθήκη των καζεϊνικών αλάτων (Σχήματα 10-13) αλλά και η αύξηση της λιποπεριεκτικότητας του γάλακτος (Σχήματα 14-16) έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση του φαινομενικού ιξώδους των δειγμάτων αλλά και της ψευδοπλαστικής συμπεριφοράς τους.

Η μεταβολή της ψευδοπλαστικής συμπεριφοράς των δειγμάτων κεφίρ φαίνεται και από τις τιμές του δείκτη ρεολογικής συμπεριφοράς. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της ANOVA ο δείκτης ρεολογικής συμπεριφοράς επηρεάζεται στατιστικά σημαντικά τόσο από την προσθήκη καζεϊνικών αλάτων ( $p < 0,05$ ) όσο και από την λιποπεριεκτικότητα του γάλακτος ( $p < 0,05$ ) (Παράρτημα).

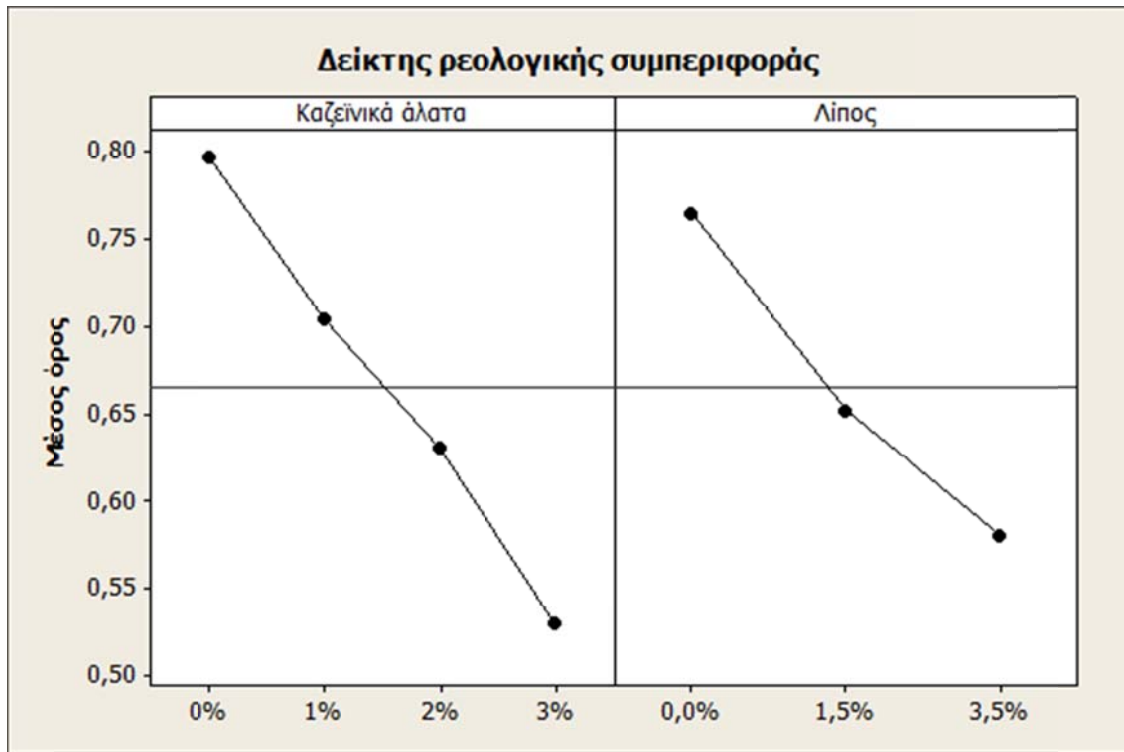
Σύμφωνα με το Σχήμα 17 η προσθήκη καζεϊνικών αλάτων έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση του δείκτη ρεολογικής συμπεριφοράς, η οποία είναι ανάλογη του ποσοστού προσθήκης καζεϊνικών αλάτων. Η κατάταξη των δειγμάτων σύμφωνα



με τον έλεγχο των πολλαπλών συγκρίσεων του Tukey είναι η εξής: Προσθήκη καζεϊνικών σε ποσοστό 3% < Προσθήκη καζεϊνικών αλάτων σε ποσοστό 2% < Προσθήκη καζεϊνικών αλάτων σε ποσοστό 1% < Προσθήκη καζεϊνικών αλάτων 0%.

Όσον αφορά τη λιποπεριεκτικότητα του γάλακτος, αύξηση της τιμής της έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση του δείκτη ρεολογικής συμπεριφοράς. Η μείωση είναι ανάλογη του ποσοστού προσθήκης καζεϊνικών αλάτων (Σχήμα 16). Η κατάταξη των δειγμάτων σύμφωνα με τον έλεγχο των πολλαπλών συγκρίσεων του Tukey είναι η εξής: Γάλα λιποπεριεκτικότητας 3,5% < Γάλα λιποπεριεκτικότητας 3,5% 1,5% < Γάλα λιποπεριεκτικότητας 0%.

Η αύξηση της συνεκτικότητας της δομής των δειγμάτων στα οποία προστέθηκαν καζεϊνικά άλατα είναι ανάλογη της ποσότητας των προστιθέμενων καζεϊνικών. Κατά τον Walstra (1997) υφίσταται εκθετική σχέση μεταξύ της ποσότητας της προστιθέμενης καζεϊνης και της συνεκτικότητας που εμφανίζουν τα συστήματα καζεϊνης. Η προσθήκη καζεϊνης στο σύστημα του γάλακτος αυξάνει τη δυνατότητα δημιουργίας είτε περισσότερων είτε μεγαλύτερων συμπλεγμάτων με αποτέλεσμα την αύξηση της συνεκτικότητας του πρωτεϊνικού πλέγματος. Σύμφωνα με τους Amatayakul et al. (2006) δείγματα γιαούρτης που παρασκευάστηκαν από γάλα με αναλογία καζεϊνικών / πρωτεΐνες ορού 4/1 παρουσίασαν μεγαλύτερες τιμές σκληρότητας σε σχέση με δείγματα που παρασκευάστηκαν από γάλα με αναλογία καζεϊνικών / πρωτεΐνες ορού 1/1.



**Σχήμα 17.** Επίδραση της προσθήκης καζεϊνικών αλάτων και της λιποπεριεκτικότητας του γάλακτος στο δείκτη ρεολογικής συμπεριφοράς των δειγμάτων κεφίρ.

Όσον αφορά την επίδραση της λιποπεριεκτικότητας, το λίπος στο γάλα βρίσκεται υπό τη μορφή λιποσφαιρίων, τα οποία με την ομογενοποίηση του αυξάνονται σε αριθμό, ενώ ταυτόχρονα αυξάνεται και η επιφάνεια τους. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση του υδροδυναμικού όγκου του λίπους, την αύξηση της αντίστασης των λιποσφαιρίων στην δύναμη που τα παραμορφώνει και επομένως την αύξηση του φαινομενικού ιξώδους του δείγματος αλλά και της ψευδοπλαστικής του συμπεριφοράς. Στο μη ομογενοποιημένο γάλα το λίπος μπορεί να θεωρηθεί ως αδρανές υλικό πλήρωσης με ελάχιστες επιδράσεις στις ιδιότητες της πηκτής, ενώ στην περίπτωση του ομογενοποιημένου γάλακτος οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των συστατικών της μεμβράνης των λιποσφαιρίων (φωσφολιπίδια, πρωτεΐνες) και των πρωτεϊνών έχουν ως αποτέλεσμα την ενίσχυση του πηγματος (Michalski, 2002; Sodini, 2004).

## 6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

- Η προσθήκη καζεϊνικών αλάτων σε δείγματα κεφίρ έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση του χρόνου επώασης που απαιτείται για την επίτευξη τιμής pH 4,4 καθώς και την αύξηση της περιεκτικότητάς τους σε γαλακτικό οξύ.
- Ο χρόνος επώασης για την επίτευξη τιμής pH 4,4 δεν επηρεάζεται από τη λιποπεριεκτικότητα του γάλακτος.
- Το φαινομενικό ιξώδες των δειγμάτων κεφίρ αυξάνεται με την αύξηση του ποσοστού προσθήκης καζεϊνικών αλάτων καθώς και με την αύξηση της λιποπεριεκτικότητας του γάλακτος.
- Ο δείκτης ρεολογικής συμπεριφοράς των δειγμάτων κεφίρ μειώνεται με την αύξηση του ποσοστού προσθήκης καζεϊνικών αλάτων καθώς και με την αύξηση της λιποπεριεκτικότητας του γάλακτος.

## 7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

### Ξένη βιβλιογραφία

- 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 (2006) 40-51.
- Arihana, K., Toba, T., and Adachi, S. (1990). Immunofluorescence microscopic studies on distribution of *L. kefirifaciens* and *L. kefir* in kefir grains. *International Journal Food Microbiology*, **11**, 127-34.
- Bagley, E. B. (1957). End corrections in the capillary flow of polyethylene. *Journal of Applied Physics*, **28**, 624-627.
- Beshkova, D. M., Simona, E. D., Simon, Z. I., Frengova, G. I., and Spasov, Z. I. (2002). Pure cultures for making kefir. *Food Microbiology*, **19**, 537-544.
- 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.
- Bottazzi, V. and Bianchi, F. (1980). A note on scanning electron microscopy of micro-organisms associated with the kefir granule. *Journal of Applied Bacteriology* 48,265-268.
- Chaitow, L., and Trenev, N. (2002). Probiotics. Natasha Trenev Website. [www.Natren.com](http://www.Natren.com).
- Clementi, F., Gobbetti, M., and Rossi, J. (1989). Carbon dioxide synthesis by immobilized yeast cells in kefir production. *Milchwissenschaft*, **44**, 70-74.
- Darby, R. (1984). Emulsion rheology. In K. J. Lissant (Ed.), *Emulsion and emulsion rheology, Part III*. New York, Basel: Marcel Dekker.
- Darby, R. (1996). *Chemical engineering fluid mechanics*. New York, Basel, Hong Kong: Marcel Dekker.
- Davidov, R. B., and Sokolovsky, V. P. (1968). *Milk and milk products in human nutrition*. Moscow: Medicina
- Dimitreli, G., and Thomareis, A. S. (2004). Effect of temperature and chemical composition on processed cheese apparent viscosity. *Journal of Food Engineering*, **64**, 265-271.

- Dmitrovskaya, G.P. et al. 1986. USSR Patent SU 1227 146 A (quoted in Mann 1989).
- Duitschaever, C.L., Kemp, N. and Emmons, D. (1987). Pure culture formulation and procedure for the production of kefir
- Duitschaever, C.L., Toop, D.H. and Buteau, C. (1991). Consumer acceptance of sweetened and flavoured kefir. *Milchwissenschaft* **46**, 227-229.
- Farnworth, E. R. (2005). Kefir—a complex probiotic. *Food Science and Technology Bulletin: Functional Foods*, **2**, 1-17.
- Garrote, G., Abraham, A., and De Antoni, G. (1998). Characteristics of kefir prepared with different grain: milk ratios. *Journal of Dairy Research*, **65**, 149-154.
- Halle C., Leroil, F., Dousset X., and Pidoux, M. (1994). Les kefirs: des associations bacteries lactiques-levures. In De H. Roissart, and F. M. Luquet (Eds), *Bacteries lactiques: Aspects fondamentaux et technologiques*, Vol. 2 (pp. 169-182). Uriage, France, Loriga.
- Halle, C., Leroi, F., Dousset, X. and Pidoux, M. 1994. Les kefirs. Des associations bacteries lactique-levures, In: de Roissart, H. and Luquet, F.M., editors. *Bacteries lactiques: aspects fondamentaux et technologiques Vol 2*, 169-182. Uriage, France
- Hertzler, S.R. and Clancy, S.M. (2003). Kefir improves lactose digestion and tolerance in adults with lactose maldigestion. *Journal of the American Dietetic Association* **103**, 582-587
- Irigoyen, A., Arama, I., Castiella, M., Torre, P., and Ibanez, F.C. (2005). Microbiological, physicochemical, and sensory characteristics of kefir during storage. *Food Chemistry*, **90**, 613-620.
- Ismail, A.A., El-Nockrashy, S.A. and Khorshid, M.A. (1983). A beverage from separated buffalo milk fermented with kefir grains. *International Journal of Dairy Technology* **36**, 117-118.
- Kabore, P.(1992). Method for preparing kefir-type stabilized fermented beverages. French Patent Application FR 2 665 826 A1 (FR2665826A1).
- Karagozlu, C., and Kavas, G. (2000). Alkollu fermente sut icecekleri: Kefir ve kimizin ozellikleri ve insane beslenmesindeki onemi. *Gida*, **6**, 86-93.
- Koroleva, N. S. (1991). Products prepared with lactic acid bacteria and yeasts. In R. K. Robinson (Ed.), *Therapeutic properties of fermented milks* (pp. 159-179). London : Elsevier Applied Sciences Publishers.

- Koroleva, N.S. and Bavina, N.A. (1970). Influences des conditions de cultures des grains de kefir sur la microflore et les caracteristiques biochimiques du levain de kefir. Proceedings XVIII Congress International de Laiterie, Sydney Vol 1F, 424.
- Koroleva. N. S. (1982). Special products (kefir, koumis, etc.). International Dairy Congress Moscow, **2**, 146-152.
- Kosikowski, F.V. and Mistry, V.V. (1997). Cheese and fermented milk foods. F.V. Kosikowski LLC, Wesport, Connecticut, USA.
- Kuo, C-Y. and Lin, C-W. (1999). Taiwanese kefir grains: their growth, microbial and chemical composition of fermented milk. Australian Journal of Dairy Technology **54**, 19-23.
- Kwak, H. S., Park, S. K., and Kim, D. S. (1996). Biostabilization of kefir with a nonlactose-fermenting yeast. Journal of Dairy Science, **79**, 937-942.
- La Riviere, J.W.M., Kooiman, P. and Schmidt, K. (1967). Kefiran, a novel polysaccharide produced in the kefir grain by *Lactobacillus brevis*. Archiv fur Mikrobiologie **59**, 269-278.
- Lapasin, R., and Prich, S. (1995). Rheology of industrial polysaccharide, Theory and applications. Glasgow: Blackie Academic & Professional.
- Libudzisz, Z. and Piatkiewicz, A. (1990). Kefir production in Poland. Dairy Industry International **55**, 31-33.
- Lin, C-W., Chen, H-L. and Liu, J-R. (1999). Identification and characterisation of lactic acid bacteria and yeasts isolated from kefir grains in Taiwan. Australian Journal of Dairy Technology **54**, 14-18
- Liu, J-R. and Lin, C-W. 2000. Production of kefir from soymilk with or without added glucose, lactose or sucrose. Journal of Food Science **65**, 716-719.
- Mann, E.J. (1985). Kefir and koumiss. Dairy Industry International **50**, 11-12.
- Marshall, V., Cole, W.M. and Brooker, B.E. (1984) Observations on the structure of kefir grains and the distribution of the microflora. Journal of Applied Bacteriology **57**, 491-497.
- McClements, D. J. (1999). Food emulsions: Principles, practice and techniques. Boca Raton, London, New York, Washington: CRC Press LLC.
- Molska, I., Kocon, J. and Zmarlicki, S. (1980). Electron microscopic studies on structure and microflora of kefir grains. Acta Alimentaria Polonica **6**, 145-154.

- Molska, I., Nowosielska, R. and Frelik, I. (2003). Changes in microbiological quality of kefir and yoghurt on the Warsaw market in the years 1995-200. *Roczniki Paanstwowego Zaktadu Higieny* **54**, 145-152 (in Polish, abstract only).
- Otles, S., and Cadingi, O. (2003). Kefir: A probiotic dairy-composition, nutritional and therapeutic aspects. *Pakistan Journal of Nutrition*, **2**, 54-59.
- Ottogalli, G., Galli, A., Resmini, P. and Volonterio, G. (1973) Composizione microbiologia, chimica ed ultrastruttura dei ganuli di kefir. *Annali di Microbiologia* **23**,109-121
- Perry, H. R. (1999). *Perry's Chemical Engineers' Handbook*, 7th Edition. Singapore: McGraw-Hill Book Company.
- Petersson, H.E., Christiansson, A. and Ekelund, K.(1985). Making kefir without grains. *Scandinavian Journal of Dairy Technology and Know How* **2**, 58-60
- Pintado, M.E., Lopes Da Silva, J.A., Fernandes, P.B., Malcata, F.X. and Hogg, T.A. (1996). Microbiological and rheological studies on Portuguese kefir grains. *International Journal of Food Science and Technology* **31**, 15-26.
- Rea, M.C., Lennartsson, T., Dillon, P., Drinan, F.D., Reville, W.J., Heapes, M. and Cogan, T.M. (1996). Irish kefir-like grains: their structure, microbial composition and fermentation kinetics. *Journal of Applied Bacteriology* **81**,83-94.
- Rosi, J. and Gobbetti, M. 1991. Impiego di un multistarter per la produzione in continuo di kefir. *Annals of Microbiology* **41**, 223-226
- Samsonov, M., and Budagovskaya, V. (1982). The Role of Fermented Dairy Drinks as Dietary Products. *XXI International Dairy Congress Moscow*, **2**, 140-5.
- Serova, E. V. (1997). Trade and market policy in Russia's agriculture: 1992-1996. Available at <http://www.iet.ru/personal/agro/berlin.htm>.
- Simona, E., Beshkova, D., Angelov, A., Hristozova, T. S., Frengova, and G., Spasov, Z. (2002). Lactic acid bacteria and yeasts in kefir grains and kefir made from them. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, **28**, 1-6.
- Tamime, A.Y., Muir, D.D. and Wszolek, M. (1999). Kefir, koumiss and kishk. *Dairy Industries International* **64**, 32-33.
- Toba, T., Arihara, K. and Adachi, S. (1990). Distribution of microorganisms with particular reference to encapsulated bacteria in kefir grains. *International Journal of Food Microbiology* **10**, 219-224.
- Tokumar, S. 1987. United States Patent US 4702923. USDA. 2004. Nutrient Data Laboratory. Available at [http://www.codexalimentarius.net/web/standard\\_list.jsp](http://www.codexalimentarius.net/web/standard_list.jsp)

- van Wazer, J. R., Lyons, J. W., Kim, K. I., and Colwell, R. E. (1963). Viscosity and flow measurements: A laboratory handbook of rheology. New York: Interscience.
- Viljoen, B. C. (2001). The interaction between yeasts and bacteria in dairy environments. *International Journal Food Microbiology*, **69**, 37-44.
- Walstra, P., & Jenness, R. (1984). Dairy chemistry and physics (pp 194-196). New York : Wiley.
- Walstra, P., Geurts, T.J. Noomen, A., Jellema, A., Van Boekel, M.A.J.S (1999) Dairy Technology. USAQ Marcel Dekker p. 579-585.
- Witthuhn, R. C., Schoeman, T., and Britz, T. J. (2004). Isolation and characterization of the microbial population of different South African Kefir grains. *International Journal of Dairy Technology*, **57**, 33-37.
- Xu, R. (2002). Particle characterization, Light scattering methods. Kluwer Academic Publishers, New York, Boston, Dordrecht, Moscow.
- Xu, Z., and Raphaelides, S. N. (1998). Flow behavior of concentrated starch dispersions using a tube rheometer of novel design, *Journal of Texture Studies*, **29**, 1-13.
- Zimovetz, V.N. and Boyko, R.L. (2000). Ukraine. Available at <http://www.minagro.kiev.ua/english/Analitic/Milk/index-e.html>
- Zourari, A. and Anifantakis, E.M. (1988). Le kir. Caractes physico-chimiques, microbiologiques et nutritionnels. *Technologie de production. Une revue. Le Lait* **68**, 373-392.

#### Ελληνική βιβλιογραφία

- Ζερφυρίδης Γ. Κ. (2001). Τεχνολογία Προϊόντων Γάλακτος. Θεσσαλονίκη: Εκδόσεις Γιαχούδη-Γιαχούλη
- Πετρίδης Δ. (2000). Εφαρμοσμένη στατιστική. Θεσσαλονίκη: Εκδόσεις Όμηρος.
- H-D. Belitz, W. Grosch, P.Schieberle Χημεία τροφίμων 3η Έκδοση τι άλλο να βάλω για την βιβλιογραφία της χημεάς τροφίμων.



## 8. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

### General Linear Model: time (min) versus Καζεϊνικά άλατα; Λίπος

Factor	Type	Levels	Values
Καζεϊνικά άλατα	fixed	4	0,00; 0,01; 0,02; 0,03
Λίπος	fixed	3	0,000; 0,015; 0,035

Analysis of Variance for time (min), using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Καζεϊνικά άλατα	3	43541,7	43541,7	14513,9	224,33	0,000
Λίπος	2	77,1	77,1	38,5	0,60	0,562
Error	18	1164,6	1164,6	64,7		
Total	23	44783,3				

S = 8,04357 R-Sq = 97,40% R-Sq(adj) = 96,68%

Unusual Observations for time (min)

Obs	time (min)	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
4	1650,00	1633,96	4,02	16,04	2,30 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Tukey 95,0% Simultaneous Confidence Intervals

Response Variable time (min)

All Pairwise Comparisons among Levels of Καζεϊνικά άλατα

Καζεϊνικά άλατα = 0,00 subtracted from:

Καζεϊνικά άλατα	Lower	Center	Upper	
0,01	34,36	47,50	60,64	(---*---)
0,02	72,70	85,83	98,97	(---*---)
0,03	100,20	113,33	126,47	(---*---)

-----+-----+-----+-----+  
35                    70                    105                    140

Καζεϊνικά άλατα = 0,01 subtracted from:

Καζεϊνικά άλατα	Lower	Center	Upper	
0,02	25,20	38,33	51,47	(---*---)
0,03	52,70	65,83	78,97	(---*---)

-----+-----+-----+-----+  
35                    70                    105                    140

Καζεϊνικά άλατα = 0,02 subtracted from:

Καζεϊνικά άλατα	Lower	Center	Upper	
0,03	14,36	27,50	40,64	(---*---)

-----+-----+-----+-----+  
35                    70                    105                    140

Tukey Simultaneous Tests

Response Variable time (min)

All Pairwise Comparisons among Levels of Καζεϊνικά άλατα

Καζεϊνικά άλατα = 0,00 subtracted from:

Καζεϊνικά άλατα	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
0,01	47,50	4,644	10,23	0,0000
0,02	85,83	4,644	18,48	0,0000
0,03	113,33	4,644	24,40	0,0000

Καζεϊνικά άλατα = 0,01 subtracted from:

Καζεϊνικά άλατα	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
0,02	38,33	4,644	8,254	0,0000
0,03	65,83	4,644	14,176	0,0000

Καζεϊνικά άλατα = 0,02 subtracted from:

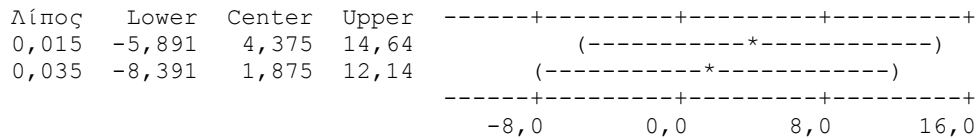
Καζεϊνικά άλατα	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
0,03	27,50	4,644	5,922	0,0001

Tukey 95,0% Simultaneous Confidence Intervals

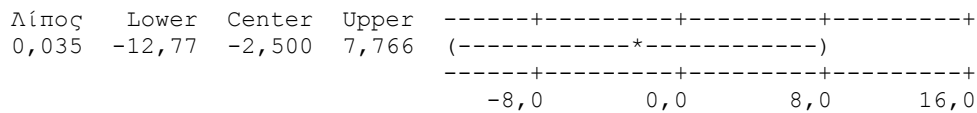
Response Variable time (min)

All Pairwise Comparisons among Levels of Λίπος

Λίπος = 0,000 subtracted from:



Λίπος = 0,015 subtracted from:



Tukey Simultaneous Tests

Response Variable time (min)

All Pairwise Comparisons among Levels of Λίπος

Λίπος = 0,000 subtracted from:

Λίπος	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
0,015	4,375	4,022	1,0878	0,5335
0,035	1,875	4,022	0,4662	0,8878

Λίπος = 0,015 subtracted from:

Λίπος	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
0,035	-2,500	4,022	-0,6216	0,8103

**General Linear Model: lactic acid versus Καζεΐνικά άλατα;  
Λίπος**

Factor	Type	Levels	Values
Καζεΐνικά άλατα	fixed	4	0,00; 0,01; 0,02; 0,03
Λίπος	fixed	3	0,000; 0,015; 0,035

Analysis of Variance for lactic acid, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Καζεΐνικά άλατα	3	0,113328	0,113328	0,037776	473,21	0,000
Λίπος	2	0,000343	0,000343	0,000171	2,15	0,146
Error	18	0,001437	0,001437	0,000080		
Total	23	0,115108				

S = 0,00893469 R-Sq = 98,75% R-Sq(adj) = 98,40%

Tukey 95,0% Simultaneous Confidence Intervals

Response Variable lactic acid

All Pairwise Comparisons among Levels of Καζεΐνικά άλατα

Καζεΐνικά άλατα = 0,00 subtracted from:

Καζεΐνικά άλατα	Lower	Center	Upper	
0,01	0,03058	0,04517	0,05976	(--*--)
0,02	0,08924	0,10383	0,11842	(--*--)
0,03	0,16908	0,18367	0,19826	(--*--)

0,050      0,100      0,150      0,200

Καζεΐνικά άλατα = 0,01 subtracted from:

Καζεΐνικά άλατα	Lower	Center	Upper	
0,02	0,04408	0,05867	0,07326	(--*--)
0,03	0,12391	0,13850	0,15309	(--*--)

0,050      0,100      0,150      0,200

Καζεΐνικά άλατα = 0,02 subtracted from:

Καζεΐνικά άλατα	Lower	Center	Upper	
0,03	0,06524	0,07983	0,09442	(--*--)

0,050      0,100      0,150      0,200

Tukey Simultaneous Tests

Response Variable lactic acid

All Pairwise Comparisons among Levels of Καζεΐνικά άλατα

Καζεΐνικά άλατα = 0,00 subtracted from:

Καζεΐνικά άλατα	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
0,01	0,04517	0,005158	8,756	0,0000
0,02	0,10383	0,005158	20,129	0,0000
0,03	0,18367	0,005158	35,605	0,0000

Καζεϊνικά άλατα = 0,01 subtracted from:

Καζεϊνικά άλατα	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
0,02	0,05867	0,005158	11,37	0,0000
0,03	0,13850	0,005158	26,85	0,0000

Καζεϊνικά άλατα = 0,02 subtracted from:

Καζεϊνικά άλατα	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
0,03	0,07983	0,005158	15,48	0,0000

Tukey 95,0% Simultaneous Confidence Intervals

Response Variable lactic acid

All Pairwise Comparisons among Levels of Λίπος

Λίπος = 0,000 subtracted from:

Λίπος	Lower	Center	Upper	
0,015	-0,00503	0,006375	0,017779	-----+-----+-----+-----
0,035	-0,01403	-0,002625	0,008779	(-----*-----)
				(-----*-----)
				-----+-----+-----+-----
				-0,012      0,000      0,012

Λίπος = 0,015 subtracted from:

Λίπος	Lower	Center	Upper	
0,035	-0,02040	-0,009000	0,002404	-----+-----+-----+-----
				(-----*-----)
				-----+-----+-----+-----
				-0,012      0,000      0,012

Tukey Simultaneous Tests

Response Variable lactic acid

All Pairwise Comparisons among Levels of Λίπος

Λίπος = 0,000 subtracted from:

Λίπος	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
0,015	0,006375	0,004467	1,4270	0,3486
0,035	-0,002625	0,004467	-0,5876	0,8284

Λίπος = 0,015 subtracted from:

Λίπος	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
0,035	-0,009000	0,004467	-2,015	0,1373

### General Linear Model: n versus Καζεϊνικά άλατα; Λίπος

Factor	Type	Levels	Values
Καζεϊνικά άλατα	fixed	4	0,00; 0,01; 0,02; 0,03
Λίπος	fixed	3	0,000; 0,015; 0,035

Analysis of Variance for n, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
--------	----	--------	--------	--------	---	---

Καζεϊνικά άλατα	3	0,228675	0,228675	0,076225	88,95	0,000
Λίπος	2	0,137504	0,137504	0,068752	80,23	0,000
Error	18	0,015425	0,015425	0,000857		
Total	23	0,381604				

S = 0,0292733 R-Sq = 95,96% R-Sq(adj) = 94,84%

Unusual Observations for n

Obs	n	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
2	0,842000	0,895250	0,014637	-0,053250	-2,10 R
17	0,494000	0,545250	0,014637	-0,051250	-2,02 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Tukey 95,0% Simultaneous Confidence Intervals

Response Variable n

All Pairwise Comparisons among Levels of Καζεϊνικά άλατα

Καζεϊνικά άλατα = 0,00 subtracted from:

Καζεϊνικά άλατα	Lower	Center	Upper				
0,01	-0,1406	-0,0928	-0,0450	(----*----)			
0,02	-0,2138	-0,1660	-0,1182	(----*----)			
0,03	-0,3140	-0,2662	-0,2184	(----*----)			
				-0,30	-0,20	-0,10	-0,00

Καζεϊνικά άλατα = 0,01 subtracted from:

Καζεϊνικά άλατα	Lower	Center	Upper				
0,02	-0,1210	-0,0732	-0,0254	(----*----)			
0,03	-0,2211	-0,1733	-0,1255	(----*----)			
				-0,30	-0,20	-0,10	-0,00

Καζεϊνικά άλατα = 0,02 subtracted from:

Καζεϊνικά άλατα	Lower	Center	Upper				
0,03	-0,1480	-0,1002	-0,05236	(----*----)			
				-0,30	-0,20	-0,10	-0,00

Tukey Simultaneous Tests

Response Variable n

All Pairwise Comparisons among Levels of Καζεϊνικά άλατα

Καζεϊνικά άλατα = 0,00 subtracted from:

Καζεϊνικά άλατα	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
0,01	-0,0928	0,01690	-5,49	0,0002
0,02	-0,1660	0,01690	-9,82	0,0000
0,03	-0,2662	0,01690	-15,75	0,0000

Καζεϊνικά άλατα = 0,01 subtracted from:

Καζεϊνικά άλατα	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
0,02	-0,0732	0,01690	-4,33	0,0021
0,03	-0,1733	0,01690	-10,26	0,0000

Καζεϊνικά άλατα = 0,02 subtracted from:

Καζεϊνικά άλατα	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
0,03	-0,1002	0,01690	-5,927	0,0001

Tukey 95,0% Simultaneous Confidence Intervals

Response Variable n

All Pairwise Comparisons among Levels of Λίπος

Λίπος = 0,000 subtracted from:

Λίπος	Lower	Center	Upper	
0,015	-0,1491	-0,1118	-0,0744	(-----*-----)
0,035	-0,2214	-0,1840	-0,1466	(-----*-----)
				-----+-----+-----+-----
				-0,180      -0,120      -0,060

Λίπος = 0,015 subtracted from:

Λίπος	Lower	Center	Upper	
0,035	-0,1096	-0,07225	-0,03489	(-----*-----)
				-----+-----+-----+-----
				-0,180      -0,120      -0,060

Tukey Simultaneous Tests

Response Variable n

All Pairwise Comparisons among Levels of Λίπος

Λίπος = 0,000 subtracted from:

Λίπος	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
0,015	-0,1118	0,01464	-7,63	0,0000
0,035	-0,1840	0,01464	-12,57	0,0000

Λίπος = 0,015 subtracted from:

Λίπος	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
0,035	-0,07225	0,01464	-4,936	0,0003