



Ε. Μ. ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ

ΤΟΜΕΑΣ IV : ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗ
ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΩΝ
Εργαστήριο Χημείας & Τεχνολογίας Τροφίμων



**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΜΕ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗ ΠΙΕΣΗ ΚΑΙ
ΤΗΣ ΕΝΖΥΜΙΚΗΣ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ
ΜΙΓΜΑΤΩΝ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗΣ ΠΑΓΩΤΟΥ ΣΤΙΣ ΠΟΙΟΤΙΚΕΣ
ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ ΤΟΥ**

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Αργέντου Ευαγγελίας

ΥΠΕΥΘΥΝΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: Ταούκης Πέτρος

ΑΘΗΝΑ 2015

Ευχαριστίες

Η παρούσα διπλωματική εργασία ειπονήθηκε στο Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων της Σχολής Χημικών Μηχανικών του ΕΜΠ. Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή κ. Πέτρο Ταούκη για την ευκαιρία που μου προσέφερε να ασχοληθώ με τον τομέα χημείας και τεχνολογίας τροφίμων καθώς και για την υποστήριξή του και την υπομονή του κατά τη διάρκεια εκπόνησης της παρούσας διπλωματικής εργασίας.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τη διδάκτορα Μαρία Τσεβδού για τις αμέτρητες ώρες πειραμάτων, την εμπιστοσύνη της σε μένα, τη βοήθεια της και την υπομονή της, που αποτέλεσαν βασικό παράγοντα για την περάτωση της παρούσας εργασίας.

Ευχαριστώ ακόμα τους Καθηγητές, τους Υποψήφιους Διδάκτορες και τους συμφοιτητές μου στο εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων του ΕΜΠ, για τη συνεργασία μας και το φιλικό κλίμα καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της διπλωματικής μου εργασίας.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τους ανθρώπους που ήταν δίπλα μου όλα αυτά τα χρόνια της διαδρομής μου στο ΕΜΠ. Τους φίλους μου εντός και εκτός σχολής που μοιράστηκαν μαζί μου πολλές από τις στιγμές των 5 αυτών χρόνων και την οικογένειά μου, τους γονείς μου και την αδερφή μου για τη συμπαράσταση και υπομονή που έδειξαν κατά τη διάρκεια εκπόνησης της διπλωματικής μου εργασίας, αλλά και καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μου.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα γαλακτοκομικά προϊόντα αποτελούν ένα μεγάλο κομμάτι της βιομηχανίας τροφίμων και της καθημερινής διατροφής. Η ανάγκη για βελτίωση των ποιοτικών χαρακτηριστικών των προϊόντων αυτών αλλά και η απαίτηση των καταναλωτών για προϊόντα απαλλαγμένα από πρόσθετες ουσίες (π.χ. σταθεροποιητές) έχει οδηγήσει στην ένταξη διάφορων εναλλακτικών τεχνολογιών στην παραγωγική τους διαδικασία. Στις τεχνολογίες αυτές περιλαμβάνονται η ενζυμική επεξεργασία (π.χ. με τρανσγλουταμινάση, TGase) ή/και η επεξεργασία με υπερυψηλή πίεση (ΥΠ).

Η εφαρμογή τόσο της υπερυψηλής πίεσης όσο και της ενζυμικής επεξεργασίας μιγμάτων παγωτού μπορεί να οδηγήσει στη βελτίωση των ποιοτικών χαρακτηριστικών του τελικού προϊόντος συμπεριλαμβανομένων των ρεολογικών του ιδιοτήτων οι οποίες σχετίζονται με τη δομή και τη σταθερότητα του προϊόντος για περιόδους μακράς αποθήκευσης. Αντικείμενο της παρούσας εργασίας ήταν η μελέτη της επίδρασης της ενζυμικής επεξεργασίας ή/και της επεξεργασίας με ΥΠ μίγματος παγωτού στα ποιοτικά χαρακτηριστικά του παγωτού.

Μίγμα παγωτού (7,2% λιπαρά) ομογενοποιήθηκε σε εργαστηριακό ομογενοποιητή δύο σταδίων (170/30 bar) και κατόπιν υπέστη θερμική παστερίωση (83°C, 8 min) ή επεξεργάστηκε με εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης (600 MPa, 55°C, 10 min). Μισή ποσότητα από τα επεξεργασμένα μίγματα εμβολιάστηκε με TGase, σε ένα εύρος ενζυμικών συγκεντρώσεων 1,0-4,0 Units/g πρωτεΐνης, και αφέθηκε για επώαση στους 42°C για 3 h, ενώ η υπόλοιπη ποσότητα χρησιμοποιήθηκε ως μίγμα αναφοράς, η οποία όμως ακολούθησε τη θερμική επεξεργασία των ενζυμικά επεξεργασμένων μιγμάτων. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι στα μίγματα στα οποία εφαρμόστηκαν οι μελετώμενες εναλλακτικές τεχνολογίες δεν προστέθηκε κατά την παρασκευή τους σταθεροποιητικό μέσο (κόμμα γκούαρ). Το ενζυμικά επεξεργασμένο μίγμα θερμάνθηκε στους 80°C για 1 min προκειμένου να απενεργοποιηθεί το ένζυμο. Τα μίγματα ψύχθηκαν ταχέως με χρήση παγόλουτρου στους 4°C και αφέθηκαν για ωρίμανση για 16 h στη θερμοκρασία αυτή. Ακολούθησε απόδρασή τους σε εργαστηριακό αναμίκτη και ασυνεχής κατάψυξή τους με χρήση επιτραπέζιας οικιακής παγωτομηχανής με εσωτερικό αποδάρτη. Τα δείγματα τοποθετήθηκαν για σιλήρυνση στους -40°C για 1 h και κατόπιν αποθηκεύτηκαν στους -25°C μέχρι να μελετηθούν. Οι ποιοτικές παράμετροι που μελετήθηκαν ήταν οι ρεολογικές ιδιότητες των μιγμάτων παγωτού και των τελικών κατεψυγμένων προϊόντων, τα χαρακτηριστικά τήξης, η συναίρεση, το χρώμα, η αντικειμενική σκληρότητα, η θερμική αγωγιμότητα και τα ποσοστά ενσωμάτωσης αέρα και αποσταθεροποίησης των λιπαρών των τελικών προϊόντων. Παράλληλα, μελετήθηκε μακροσκοπικά και η πιθανότητα διαχωρισμού φάσεων των παραγόμενων μιγμάτων, λόγω της χρήσης γαλακτομαννάνης ως σταθεροποιητικό μέσο.

Η ενζυμική επεξεργασία και η επεξεργασία με ΥΠ οδήγησαν σε μείωση του ρυθμού τήξης και αύξηση του χρόνου πτώσης της 1^{ης} σταγόνας των τελικών κατεψυγμένων προϊόντων παγωτού. Το χρώμα μειώθηκε ελαφρώς για τα δείγματα που είχαν επεξεργαστεί με TGase ή/και ΥΠ Αναφορικά με τις ρεολογικές ιδιότητες των μιγμάτων παγωτού, αυτές βρέθηκε να βελτιώνονται στην περίπτωση όπου τα μίγματα είχαν υποστεί επεξεργασία με TGase ή/και ΥΠ. Οι ρεολογικές ιδιότητες (μέτρο αποθήκευσης, μέτρο απώλειας, εφαπτομένη απώλειας, σύνθετο ιξώδες) καθώς και η θερμική αγωγιμότητα των δειγμάτων φάνηκε να μεταβάλλονται σημαντικά για τα επεξεργασμένα με TGase ή/και ΥΠ δείγματα σε σχέση με τα δείγματα

που παρασκευάστηκαν συμβατικά, καθώς επίσης βρέθηκε να επηρεάζονται σημαντικά και από την ενζυμική συγκέντρωση της χρησιμοποιούμενης TGase. Η ενζυμική επεξεργασία με TGase των μιγμάτων παγωτού μετά τη συμβατική τους επεξεργασία (θερμική επεξεργασία και ομογενοποίηση) οδήγησε σε αύξηση του σύνθετου ιζώδους, αύξηση της θερμικής αγωγιμότητας σε σχέση αντίστοιχα προϊόντα από μη ενζυμικά επεξεργασμένα μίγματα. Παρόμοιες μεταβολές των παραπάνω παραμέτρων προέκυψαν και για τα προϊόντα από επεξεργασμένα με ΥΠ και TGase μίγματα, με τις αντίστοιχες μεταβολές στις τιμές των μελετώμενων παραμέτρων να εμφανίζονται ακόμα πιο έντονες. Αναφορικά με την αποσταθεροποίηση των λιπαρών στα δείγματα παγωτού μετά την κατάψυξη, τα δείγματα που παρασκευάστηκαν από ενζυμικά επεξεργασμένα μίγματα, κυρίως στο εύρος ενζυμικών συγκεντρώσεων 1,0-3,0 Units/g πρωτεΐνης, εμφάνισαν υψηλότερα ποσοστά αποσταθεροποίησης συγκριτικά με τα συμβατικά παρασκευασμένα προϊόντα. Παρόμοια συμπεριφορά εμφάνισαν και τα δείγματα από επεξεργασμένα με ΥΠ μίγματα, ενώ η συνδυαστική εφαρμογή των παραπάνω τεχνολογιών φάνηκε να έχει συνεργιστική δράση. Συγκεκριμένα, ο ρυθμός τήξης βρέθηκε ίσος με $1,37-1,52 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ έναντι $2,05 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$, η θερμική αγωγιμότητα βρέθηκε ίση με $0,682-0,750 \text{ W/mK}$ έναντι $0,355 \text{ W/mK}$, η αντικειμενική σκληρότητα βρέθηκε ίση με $9663-5249 \text{ g}$ έναντι 12184 g , το σύνθετο ιζώδες βρέθηκε ίσο με $61325-72475 \text{ Pa}\cdot\text{s}$ έναντι $39075 \text{ Pa}\cdot\text{s}$, και η αποσταθεροποίηση των λιπαρών βρέθηκε ίση με $27,2-54,6\%$ έναντι 2% για τα προϊόντα από επεξεργασμένα με ΥΠ και στη συνέχεια με TGase μίγματα (για συγκεντρώσεις ενζύμου 1,0-3,0 Units/g πρωτεΐνης) και τα προϊόντα από συμβατικά επεξεργασμένα μίγματα, αντίστοιχα.

Συμπερασματικά, οι παραπάνω τεχνολογίες μπορούν να βρουν εφαρμογή για την παραγωγή βελτιωμένων προϊόντων παγωτού, προκειμένου να αντικατασταθεί η χρήση σταθεροποιητικών μέσων. Παράλληλα, η χρήση των παραπάνω τεχνολογιών μπορεί να μειώσει την εμφάνιση φαινομένων ανακρυστάλλωσης και κατά συνέπεια να αυξήσει τη σταθερότητα του παγωτού κατά την αποθήκευσή του. Με βάση τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, προτείνεται η αντικατάσταση της θερμικής επεξεργασίας και συμβατικής ομογενοποίησης των μιγμάτων από επεξεργασία με ΥΠ, αλλά και η εφαρμογή μίας ενζυμικής επεξεργασίας των μιγμάτων, χρησιμοποιώντας ενζυμικές συγκεντρώσεις στο εύρος 1,0-3,0 Units/g πρωτεΐνης, είτε κατόπιν της συμβατικής μεθόδου θερμικής επεξεργασίας και ομογενοποίησης είτε σε συνδυασμό με επεξεργασία με ΥΠ.

ABSTRACT

Dairy products comprise a large part of the food industry and daily nutrition. The need for improvement of quality characteristics of these products, as well as consumers' demand for products free of additives (e.g. stabilizers) has led to the inclusion and implementation of several alternative technologies in their production process. These alternative technologies include the enzymic treatment (e.g. with transglutaminase, TGase) or/and treatment with high pressure processing (HPP).

The application of both HP processing and enzymic treatment of ice cream mixes may lead to improvement of the quality attributes of the final product, including its rheological properties which are related to the structure and stability of the ice cream during long time storage periods. The objective of the present diploma thesis was to evaluate the effect of enzymic treatment or/and HP processing of ice cream mixes on the quality characteristics of ice cream.

Ice cream mix (7.2% fat content) was homogenized in two stage lab-scale homogenizer (170/30 bar) and then thermally treated (83°C, 8 min) or was treated with high pressure (600 MPa, 55°C, 10 min). Half of the amount was inoculated with TGase, in a concentration range of 1.0-4.0 Units/g protein, and incubated at 42°C for 3 h, while the rest half amount was used as control mix, which was however followed the thermal treatment of TGase-treated mix. It should be noted that in the mix to which alternative technologies were applied, stabilizer (guar gum) was not added during its preparation. The TGase-treated mix were heated to 80°C for 1 min in order to inactivate the enzyme. Ice cream mix was cooled down to 4°C in an ice-bath and then was aged at the aforementioned temperature for 16 h. The aged mix was frozen using a batch freezer at a set draw temperature of $-5.0 \pm 0.3^\circ\text{C}$, packaged into 200 g plastic containers, hardened at -40°C for 1 h and stored in a deep freezer under controlled freezing conditions at -25°C until testing. The quality attributes studied were the rheological properties of ice cream mixes and ice cream products, and the melting characteristics, syneresis, colour, instrumental hardness, thermal conductivity, overrun and fat destabilization of ice cream products. Moreover, the macroscopic phase separation of mixes, due to the use of galactomannans (i.e. guar gum) as a stabilizer, was studied.

The enzymic pre-treatment or HP treatment of ice cream mixes led to reduction of melting rate and increase in first dripping time of ice creams. The colour was slightly reduced in samples prepared from TGase or/and HP-treated mixes, while significant changes were also observed concerning their syneresis. The rheological properties of mixes were improved in the case of TGase and HP-treated mixes. Moreover, the rheological parameters of ice cream products (i.e. storage modulus, loss modulus, $\tan\delta$, complex viscosity) and the thermal conductivity were significantly altered in the case of samples from TGase and HP-treated mixes compared to the ones of samples from conventionally treated mixes, and also found to be significantly affected by the enzyme concentration of TGase. Thus, the enzymic treatment of ice cream mixes post to their conventional treatment (thermal pasteurization and homogenization) led to increase in the complex viscosity and thermal conductivity of the corresponding samples as compared to the samples from TGase-untreated mixes. Similar results were obtained for

samples from HP-treated or HP-TGase-treated mixes, with the changes in the parameters of the latter samples being more pronounced. With regard to fat destabilization of ice cream after their freezing procedure, samples from TGase-treated mixes, particularly in the range of enzymic concentration of 1.0-3.0 Units/g protein, exhibited higher percentages of destabilization compared to the one of samples from conventionally treated mixes. Similar behaviour was observed for HP-treated mixes, whereas the combined application of these technologies appeared to have a synergistic effect on their quality parameters. Particularly, melting rate was found to be equal to $1.37-1.52 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ compared to $2.05 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$, thermal conductivity was found to be equal to $0.682-0.750 \text{ W/mK}$ compared to 0.355 W/mK , instrumental hardness was found equal to $9663-5249 \text{ g}$ compared to 12184 g , complex viscosity was found equal to $61325-72475 \text{ Pa}\cdot\text{s}$ compared to $39075 \text{ Pa}\cdot\text{s}$, and fat destabilization was found equal to $27.2-54.6\%$ compared to 2% for frozen products prepared from HP- and subsequently TGase-treated mixes (in enzyme concentrations of 1.0-3.0 Units/g protein) compared to the ones of conventionally treated mixes.

In conclusion, the above technologies are capable to be applied in ice cream production in order to replace the use of stabilizers. Additionally, the use of these technologies can reduce the appearance of recrystallization phenomena, and consequently to increase the stability of ice cream products during their shelf life. According to the results of the present study, the replacement of homogenization and thermal treatment of ice cream mixes by treatment with HP, and also the application of an enzymic pre-treatment step (using enzyme concentrations of 1.0-3.0Units/g protein) either subsequent to conventional thermal treatment and homogenization, or in combination with HP treatment of ice cream mixes are proposed.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

1. <u>ΠΑΓΩΤΟ</u>	1
1.1. Εισαγωγή.....	1
1.2. Ιστορική Αναδρομή.....	2
1.3. Σύσταση του Παγωτού.....	3
1.3.1. Πρωτεΐνες.....	6
1.3.2. Λιπαρά.....	7
1.3.3. Υδατάνθρακες.....	8
1.3.4. Ανόργανα συστατικά.....	10
1.3.5. Βιταμίνες.....	11
1.3.6. Γαλακτωματοποιητές.....	11
1.3.7. Σταθεροποιητές.....	12
1.3.8. Γεύσεις-Αρωματικές ουσίες.....	13
1.3.9. Χρωστικές ουσίες.....	14
1.3.10. Άλλα συστατικά.....	14
1.4. Διατροφική και Θερμιδική Αξία του Παγωτού.....	14
1.5. Διαδικασία Παρασκευής του Παγωτού.....	16
1.5.1. Πρώτες ύλες.....	16
1.5.2. Στάδια παρασκευής παγωτού.....	18
1.5.3. Προετοιμασία του μίγματος.....	18
1.5.4. Παστερίωση.....	19
1.5.5. Ομογενοποίηση.....	22
1.5.6. Ωρίμανση.....	23
1.5.7. Ενσωμάτωση αέρα-Κατάψυξη μίγματος.....	24
1.5.8. Συσκευασία.....	33
1.5.9. Σκλήρυνση.....	33
1.5.10. Αποθήκευση.....	38
1.6. Μικροβιολογικό περιεχόμενο.....	39
2. <u>Η ΣΥΜΒΟΛΗ ΤΗΣ ΜΙΚΡΟΔΟΜΗΣ ΤΟΥ ΜΙΓΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΠΑΓΩΤΟΥ ΣΤΟ ΤΕΛΙΚΟ ΠΡΟΪΟΝ</u>	41
2.1. Γενικά.....	41
2.2. Φάση ορού.....	41
2.3. Λιπαρή φάση.....	54
2.4. Επίδραση περιεχόμενου αέρα.....	57
2.5. Επίδραση γαλακτωματοποιητών.....	59
2.6. Επίδραση παγοκρυστάλλων.....	63
2.7. Στροφή προς εναλλακτικές τεχνολογίες.....	64
3. <u>ΕΝΖΥΜΙΚΗ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΜΕ ΤΟ ΕΝΖΥΜΟ ΤΡΑΝΣΓΛΟΥΤΑΜΙΝΑΣΗ</u>	67
3.1. Γενικά.....	67
3.2. Τρανσγλουταμινάση (Transglutaminase, TGase).....	67
3.2.1. Η τρανσγλουταμινάση στη φύση.....	68
3.2.2. Παραγωγή τρανσγλουταμινάσης για βιομηχανική χρήση.....	69
3.2.3. Χαρακτηριστικά και δομή της mTGase.....	72
3.2.4. Ενζυμικές ιδιότητες της mTGase.....	75

5.4.2.Ανάλυσης Κύριων Συνιστωσών (Principal Component Analysis, PCA).....	121
6. <u>ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ & ΣΥΖΗΤΗΣΗ</u>	123
6.1. Ρεολογικές Ιδιότητες.....	123
6.1.1. Ρεολογικές Ιδιότητες των Μιγμάτων Παγωτού.....	123
6.1.2. Ρεολογική Συμπεριφορά των Προϊόντων Παγωτού.....	125
6.2. Χαρακτηριστικά Τήξης των Παραγόμενων Παγωτών.....	132
6.3. Θερμική Αγωγιμότητα των Παραγόμενων Παγωτών.....	134
6.4. Ανάλυση Υφής των Παραγόμενων Παγωτών.....	136
6.5. Προσδιορισμός του Ποσοστού Ενσωμάτωσης Αέρα.....	136
6.6. Μέτρηση του Χρώματος.....	138
6.7. Εκτίμηση του Δείκτη Αποσταθεροποίησης Λιπαρών.....	140
6.8. Εκτίμηση του Βαθμού Διαχωρισμού των Παραγόμενων Μιγμάτων Παγωτού Λόγω της Επίδρασης του Χρησιμοποιούμενου Σταθεροποιητή.....	140
6.9. Εκτίμηση του Βαθμού Συναίρεσης των Παραγόμενων Παγωτών.....	141
6.10. Σχολιασμός της Επίδρασης της Εφαρμοζόμενης Επεξεργασίας του Μίγματος Παγωτού στα Ποιοτικά Χαρακτηριστικά του Τελικού προϊόντος.....	143
7. <u>ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ</u>	149
8. <u>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</u>	151
9. <u>ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΩΝ ΑΝΑΛΥΣΕΩΝ</u>	175

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1.

ΠΑΓΩΤΟ

1.1 Εισαγωγή

Το παγωτό αποτελεί ένα από τα πιο αναγνωρίσιμα επιδόρπια παγκοσμίως. Ο όρος παγωτό στην ευρύτερη του έννοια περιλαμβάνει μία μεγάλη ποικιλία παγωμένων επιδορπίων. Τα πιο γνωστά από αυτά είναι:

- **Παγωτό γάλακτος:** παγωμένο μίγμα με ενσωματωμένο αέρα γαλακτοκομικών συστατικών, σακχάρων και αρωματικών.
- **Παγωτό μη γαλακτοκομικών προϊόντων:** παρασκευασμένο με πρωτεΐνες γάλακτος και φυτικά λιπαρά.
- **Gelato:** παγωτό ιταλικής προέλευσης βασισμένο σε ένα είδος γλυκιάς κρέμας (custard) που περιέχει κρόκους αυγού.
- **Παγωτό γιαούρτι:** περιέχει μικροοργανισμούς γιαουρτιού ή απλά γεύση γιαούρτι.
- **Πάγος γάλακτος (milk ice):** παρόμοια σύσταση με το παγωτό από γαλακτοκομικά προϊόντα χωρίς την ενσωμάτωση αέρα.
- **Σορμπέ (sorbet):** σιρόπι ζάχαρης βασισμένο σε φρούτα με ενσωμάτωση αέρα.
- **Σερμπέτ (sherbet):** παρόμοια σύσταση με το σορμπέ αλλά περιέχει γάλα ή κρέμα γάλακτος.
- **Παγωτό γρανίτα (water ice):** παγωμένο νερό με σιρόπι ζάχαρης ή γλυκαντικές ουσίες με προσθήκη γεύσης και χρωστικών ουσιών.
- **Παγωτό γρανίτα φρούτου (fruit ice):** παρόμοια σύσταση με το παγωτό γρανίτα, αλλά με πραγματικό χυμό φρούτων.

Το κοινό χαρακτηριστικό των παραπάνω επιδορπίων, τα οποία χάριν ευκολίας ονομάζονται όλα παγωτά, είναι ότι καταναλώνονται σε παγωμένη μορφή σε αντίθεση με τα περισσότερα κατεψυγμένα τρόφιμα. Τα παραπάνω είδη είναι τα πιο γνωστά στην παγκόσμια αγορά, ωστόσο σε πολλές χώρες συναντώνται διάφορες παραλλαγές τους ανάλογα με τη ζήτηση του καταναλωτικού κοινού (Clarke 2004, Marshall et al. 1996).

Η παρούσα εργασία θα ασχοληθεί με το πρώτο από τα παραπάνω είδη παγωτών, το παγωτό από γαλακτοκομικά προϊόντα, που είναι και το πιο ευρέως διαδεδομένο στην παγκόσμια αγορά.

1.2 Ιστορική Αναδρομή

Το παγωτό, παρότι γνώρισε μεγάλη εξέλιξη κυρίως στις Ηνωμένες Πολιτείες, έχει τις ρίζες του στον Ευρωπαϊκό χώρο. Βιβλιογραφικές μαρτυρίες τοποθετούν την πρώτη εμφάνιση γρανιτών στα Μεσαιωνικά χρόνια, ενώ είναι γνωστό ότι στη Ρωμαϊκή αυτοκρατορία, τον 1^ο αιώνα μ.Χ, χρησιμοποιούνταν πάγος και χιόνι για τη ψύξη κρασιού, χυμών και πιθανώς διαφόρων επιδορπίων. Τα πρώτα παγωμένα γαλακτοκομικά προϊόντα προέρχονται από την Αρχαία Κίνα του 12^{ου} μ.Χ αιώνα. Ο Μάρκο Πόλο επιστρέφοντας από την Ανατολή έφερε μαζί του τις πρώτες συνταγές για γρανίτες. Έτσι, η τέχνη του παγωτού διαδόθηκε στην Ευρώπη και κυρίως στη Γαλλία, τη Γερμανία και την Αγγλία. Μέσα στα επόμενα χρόνια ξεκίνησαν πειράματα για την παρασκευή παγωτού και σε άλλες χώρες, όπως η Ισπανία, η Ιταλία και η Πορτογαλία. Το πρώτο μαγαζί που παρασκεύαζε γρανίτες λειτούργησε το 1660 στο Παρίσι από έναν Ιταλό που ονομαζόταν Κοτέλι. Παρακάτω παρατίθεται μία από τις πρώτες συνταγές που βρέθηκαν για την παρασκευή παγωτού (βλ. *Εικόνα 1.1*).

Neige de fleurs d'orange (Χιόνι από άνθη πορτοκαλιάς)

Πρέπει να πάρετε γλυκιά κρέμα, και να προσθέσετε δύο γεμάτες κουταλιές ζάχαρης σε σκόνη, στη συνέχεια τεμαχίστε τα άνθη πορτοκαλιάς και προσθέστε τα στην κρέμα... τοποθετείστε το μίγμα σε ένα σκεύος και το σκεύος σε ένα δοχείο ψύξης κρασιού, έχοντας ήδη τοποθετήσει πάγο και αλάτι μέσα στο δοχείο... Πρέπει να προστεθεί πάγος και αλάτι μέχρι να καλυφθεί το σκεύος και εν συνεχεία τοποθετείστε το σκεύος στο πιο παγωμένο μέρος που μπορείτε να βρείτε. Χρειάζεται ανάδευση ανά τακτά χρονικά διαστήματα... Θα χρειαστούν περίπου δύο ώρες.

Nouveau confiture —1682

Εικόνα 1.1. Συνταγή παρασκευής παγωτού (Πηγή: *On Food and Cooking [Harold McGee]*)

Η εξέλιξη του παγωτού οφείλεται κατά ένα μεγάλο μέρος στην παρασκευή κρυσταλλικής ζάχαρης που, αν και έκανε την εμφάνιση της στην Περσία το 1^ο αιώνα μ.Χ, έγινε οικονομικά προσιτή για όλες τις τάξεις το 19^ο μ.Χ αιώνα. Μέχρι τότε, η κύρια γλυκαντική ουσία που χρησιμοποιούταν ήταν το μέλι.

Οι Άγγλοι αποικιοκράτες ήταν εκείνοι που εισήγαγαν το παγωτό στις Ηνωμένες Πολιτείες. Η πρώτη γραπτή απόδειξη ύπαρξης του επιδορπίου αυτού στην Αμερική ήταν το 1744. Λέγεται ότι ο George Washington είχε ξοδέψει για παγωτό περίπου 200\$ κατά τη διάρκεια ενός καλοκαιριού το 1790. Ο απλός λαός όμως δεν μπορούσε ακόμα να απολαύσει αυτό το γλύκισμα και έπρεπε να περιμένει την εξέλιξη της τεχνολογίας στην παραγωγή πάγου, την κατασκευή παγόσπιτων καθώς και την εφεύρεση των παγωτομηχανών (1843).

Η πρώτη βιομηχανία παγωτού ιδρύθηκε στις Η.Π.Α και συγκεκριμένα στη Βαλτιμόρη από τον Jacob Fussell. Δύο σημαντικές συνεισφορές στην ανάπτυξη της βιομηχανίας αυτής

ήταν η τελειοποίηση της μηχανικής κατάψυξης (1878) και η εφεύρεση των καταψυκτών παγωτού άμεσης διόγκωσης (1913). Η ανάπτυξη του συμπυκνωμένου γάλακτος και της σκόνης γάλακτος, η εμφάνιση του παστεριωτή και του ομογενοποιητή, οι βελτιωμένοι καταψύκτες καθώς και η ανάπτυξη επιπλέον εξοπλισμού έδωσε κάποια μικρή ώθηση στη βιομηχανία.

Στα επόμενα χρόνια, η βιομηχανία παρασκευής παγωτού γνώρισε μεγάλη άνθιση εξαιτίας της βιομηχανικής επανάστασης, δημιουργώντας ακόμα και σχολές κατάρτισης για την εκμάθηση των τεχνικών παρασκευής του παγωτού. Μέχρι τότε το παγωτό παρασκευάζονταν σχεδόν εξ'ολοκλήρου εμπειρικά. Επιπλέον ταυτόχρονα, δημιουργήθηκαν μεγάλες εταιρίες που εξειδικεύονταν στην παραγωγή και την πώληση του παγωτού, όπως η Breyers Ice Cream Company.

Σήμερα, η εξέλιξη της τεχνολογίας και η ανάπτυξη της αυτοματοποιημένης παραγωγής έχουν οδηγήσει στην προσφορά πολλών διαφορετικών ειδών παγωτού. Οι σύγχρονες βιομηχανίες προσφέρουν μεγάλη ποικιλία παγωτών διαφόρων γεύσεων, ποσοστού περιεχόμενων λιπαρών, συσκευασιών καθώς και τιμών (Marshall et al. 1996, Marshall et al. 2003).

1.3 Σύσταση του Παγωτού

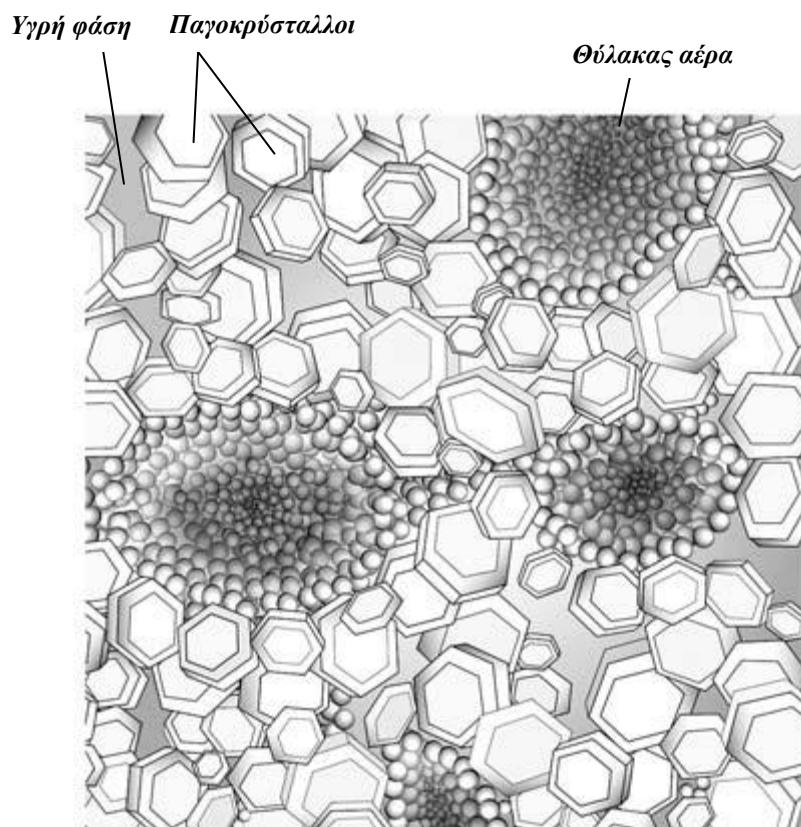
Το παγωτό είναι ένα παγωμένο μίγμα που αποτελείται από νερό, λιπαρά γάλακτος, μη λιπαρά στερεά (NFMS¹), γλυκαντικές ουσίες, σταθεροποιητές, γαλακτωματοποιητές, βελτιωτικά γεύσης και εγγεισμένο αέρα. Μπορούν επίσης, να προστεθούν και άλλες ουσίες όπως αυγά και χρωστικές ύλες. Το μίγμα αυτό που ονομάζεται μίγμα παγωτού παστεριώνεται και ομογενοποιείται πριν από την κατάψυξη του. Στη συνέχεια πραγματοποιείται η παρασκευή του παγωτού με ανάδευση για ενσωμάτωση αέρα και ταυτόχρονη απομάκρυνση θερμότητας, ώστε το παγωτό να αποκτήσει την επιθυμητή υφή. Το ποσοστό και η προέλευση των συστατικών που θα χρησιμοποιηθούν για την παρασκευή του παγωτού μπορούν να ποικίλουν, επιδρώντας έτσι στην ποιότητα τόσο του μίγματος όσο και του τελικού προϊόντος.

Η φυσική δομή του παγωτού περιλαμβάνει ένα περίπλοκο φυσικοχημικό σύστημα που αποτελείται από τρεις φάσεις, υγρή, στερεά και αέρια (βλ. *Εικόνα 1.2*). Θύλακες αέρα και παγοκρύσταλλοι βρίσκονται διασκορπισμένοι σε μία υγρή φάση, η οποία περιέχει επίσης συσσωματωμένα λιποσφαιρίδια, πρωτεΐνες γάλακτος, αδιάλυτα και διαλυμένα άλατα, κρυστάλλους λακτόζης, σταθεροποιητές και σάκχαρα. Τα λιπαρά είναι συνήθως προσκολλημένα στις αεροφυσαλίδες, οι οποίες έχουν τριπλή δράση: μειώνουν τη θρεπτική αξία, μαλακώνουν το προϊόν και αποτρέπουν την έντονη παγωμένη αίσθηση κατά την κατανάλωσή του.

Όσον αφορά στον επίσημο ορισμό του παγωτού εντοπίζονται διαφορές από χώρα σε χώρα. Χαρακτηριστικά αναφέρεται ότι στις Ηνωμένες Πολιτείες, σύμφωνα με την ισχύουσα νομοθεσία το παγωτό περιέχει τουλάχιστον 10% λιπαρά γάλακτος. Στην Ευρώπη υπάρχουν

¹NFS: Nonfat milk solids, μη λιπαρά στερεά γάλακτος

μεγάλες διακυμάνσεις, με το ποσοστό των περιεχόμενων λιπαρών του γάλακτος να κυμαίνεται από 5% στο Ηνωμένο Βασίλειο έως 10% στη Γερμανία. Ωστόσο γίνονται προσπάθειες για τη δημιουργία κοινών νομοθετικών πλαισίων.



Εικόνα 1.2. Σχηματική απεικόνιση της μικροδομής παγωτού

Σύμφωνα με την ισχύουσα νομοθεσία στις Ηνωμένες Πολιτείες, «παγωτό ονομάζεται το τρόφιμο που παρασκευάζεται με κατάψυξη και ταυτόχρονη ανάμιξη, και αποτελείται από ένα παστεριωμένο μίγμα, το οποίο περιέχει τουλάχιστον 10% λιπαρά γάλακτος, 20% ολικά στερεά γάλακτος (TMS²), ασφαλή γλυκαντικά μέσα, καθορισμένους σταθεροποιητές και πιθανόν άλλα γαλακτοκομικά συστατικά».

Στην Ελλάδα, ο ορισμός για το παγωτό που δίνεται από τον Κώδικα Τροφίμων και Ποτών καθορίζει ότι, «Παγωτό είναι το προϊόν το οποίο παράγεται με κατάψυξη και στη συνέχεια αποθηκεύεται, διακινείται, μεταφέρεται, διανέμεται και καταναλώνεται ως κατεψυγμένο προϊόν και για την παρασκευή του οποίου μπορεί να χρησιμοποιηθεί οποιοδήποτε βρώσιμο συστατικό που επιτρέπεται από την ισχύουσα νομοθεσία». Πρέπει να σημειωθεί ότι, σύμφωνα με την ισχύουσα ελληνική νομοθεσία δεν επιτρέπεται η προσθήκη λιπαρών ή πρωτεϊνών διαφορετικής προέλευσης από αυτής του γάλακτος με ορισμένες εξαιρέσεις όπως, τα λιπαρά και οι πρωτεΐνες που προέρχονται από προσθήκη αυγών, αρωματικών ουσιών, επιτρεπόμενων προσθέτων καθώς

²TMS: Total milk solids, ολικά στερεά γάλακτος

και από τη χρήση ζελατίνης. Επομένως, στην ελληνική αγορά δεν υφίσταται παγωτό παρασκευασμένο με λιπαρά φυτικής προέλευσης και, τέτοιου είδους προϊόντα υπάγονται στην ευρύτερη κατηγορία των παγωμένων επιδορπίων. Το ποσοστό των περιεχόμενων λιπαρών στο παγωτό σύμφωνα με τον ελληνικό Κώδικα Τροφίμων και Ποτών πρέπει να είναι τουλάχιστον 2,5%.

Η επιλογή των πρώτων υλών καθώς και η αναλογία τους γίνεται με βάση διάφορες παραμέτρους όπως, η ισχύουσα νομοθεσία της εκάστοτε χώρας, οι προτιμήσεις του καταναλωτή, το κόστος των πρώτων υλών, το είδος του διαθέσιμου τεχνολογικού εξοπλισμού και τα επιθυμητά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του τελικού προϊόντος. Στις επόμενες παραγράφους αναλύονται εκτενέστερα τα βασικά συστατικά ενός παγωτού. Παρακάτω παρατίθεται ένας πίνακας (Πίνακας 1.1) με τη σύσταση διαφόρων ειδών παγωτού (Marshall et al. 1996, Marshall et al. 2003, ΚΤΠ Άρθρο 137 ,ΦΕΚ Β 1390/ 27.04.2012).

Πίνακας 1.1. Σύσταση (% κ.β.) εμπορικών παγωμένων επιδορπίων

Προϊόν	Λιπαρά Γάλακτος	Μη λιπαρά στερεά (NFMS)	Γλυκαντικές ουσίες	Σταθεροποιητές και Γαλακτωματοποιητές	Ολικά Στερεά
Παγωτό χωρίς λιπαρά	<0,5	12-14	18-22	1,0	28-32
Παγωτό με λίγα λιπαρά	2-5	12-14	18-21	0,8	28-32
Παγωτό διαίτης	5-7	11-12	18-20	0,5	30-35
Παγωτό με μειωμένα λιπαρά	7-9	10-12	18-19	0,4	32-36
Οικονομικό παγωτό	10	10-11	15-17	0,4	35-36
Κανονικό παγωτό	10-12	9-10	14-17	0,2-0,4	36-38
Παγωτό καλής ποιότητας (premium)	12-14	8-10	13-16	0,2-0,4	38-40
Παγωτό άριστης ποιότητας (superpremium)	14-18	5-8	14-17	0-0,2	40-42
Παγωτό Γιαούρτι	3-6	9-13	15-17	0,5	30-36
Παγωτό Γιαούρτι χωρίς λιπαρά	<0,5	9-14	15-17	0,6	28-32
Σερμπέτ	1-2	1-3	22-28	0,4-0,5	28-34

Πηγή: *Ice Cream Seventh Edition, [Goff & Hartel 2013]*

1.3.1 Πρωτεΐνες

Το αγελαδινό γάλα περιέχει περίπου 87% νερό ενώ το υπόλοιπο 13% αποτελείται από λιπαρά, πρωτεΐνες, λακτόζη και σε μικρές ποσότητες ανόργανα άλατα κυρίως ασβεστίου και φωσφόρου. Το σύνολο των συστατικών του παγωτού εξαιρουμένων των λιπαρών και του νερού ονομάζονται στερεά γάλακτος άνευ λιπαρών (non-fat milk solids, NFMS1). Στο παγωτό τα ποσοστά τους είναι υψηλά, με το 34-36% να αποτελούν πρωτεΐνες γάλακτος. Οι πρωτεΐνες γάλακτος περιέχουν όλα τα σημαντικά αμινοξέα και αποτελούν πολύ καλές πηγές τρυπτοφάνης και λυσίνης. Μάλιστα είναι γνωστό πως η αφομοίωση των πρωτεϊνών του γάλακτος είναι 5-6% πιο ολοκληρωμένη σε σχέση με άλλες πρωτεΐνες.

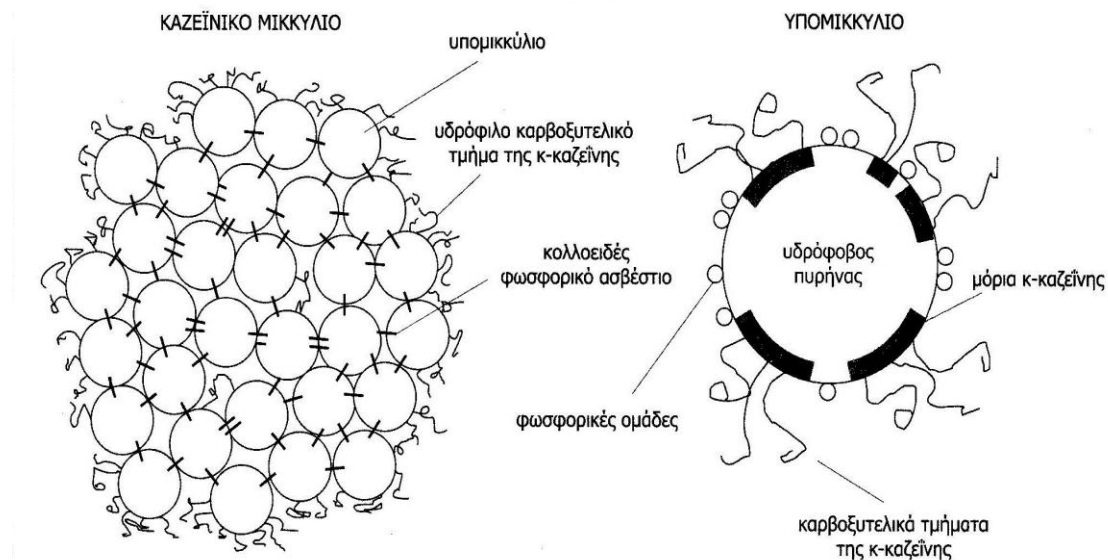
Οι πρωτεΐνες του γάλακτος συναντώνται σε δύο μορφές, τις καζεΐνες (σε ποσοστό περίπου 80%) και τις πρωτεΐνες ορού γάλακτος (σε ποσοστό περίπου 20%). Η διάκριση μεταξύ των δύο γίνεται βάσει της διαλυτότητάς τους σε όξινο περιβάλλον (μείωση pH στο 4,6 στους 20°C) δεδομένου ότι οι καζεΐνες είναι αδιάλυτες ενώ οι πρωτεΐνες ορού γάλακτος παραμένουν διαλυμένες.

Οι καζεΐνες (CN) είναι φωσφορπρωτεΐνες. Υπάρχουν τέσσερα βασικά κλάσματα καζεΐνης: οι α s1-, α s2-, β - και κ - καζεΐνες ενώ επίσης έχουν παρατηρηθεί και οι γ - και λ -καζεΐνες που είναι προϊόντα διάσπασης των β - και α s1-καζεϊνών, αντίστοιχα. Το μεγαλύτερο ποσοστό των καζεϊνών βρίσκεται στο γάλα με τη μορφή συμπλόκων ή μικκυλίων (καζεϊνικά μικύλια), δηλαδή ως μια κolloειδή μάζα (συσσωμάτωμα) σωματιδίων τυπικού μεγέθους 150nm. Οι καζεΐνες είναι σχετικά μικρές πρωτεΐνες οι οποίες είναι πολύ επιφανοδραστικές λόγω της δομής τους. Κάθε μικύλιο αποτελείται από περίπου 25000 μονομερή μόρια καζεϊνών που συγκρατούνται μεταξύ τους με δεσμούς φωσφόρου-ασβεστίου και με υδροφοβικές αλληλεπιδράσεις. Έχουν προταθεί διάφορα μοντέλα για τη δομή των καζεϊνικών μικκυλίων, ένα όμως είναι το επικρατέστερο. Σύμφωνα με αυτό, κάθε μικύλιο αποτελείται από υπομονάδες, τα υπομικύλια, τα οποία αποτελούνται από περίπου 30 μονομερή και ενώνονται μεταξύ τους με γέφυρες φωσφορικού ασβεστίου. Λόγω υδροφοβικών αλληλεπιδράσεων, τα υπομικύλια εμφανίζουν έναν εσωτερικό υδρόφοβο και έναν εξωτερικό υδρόφιλο φλοιό (βλ. *Εικόνα 1.3*). Το σύστημα του μικκυλίου είναι αρκετά ανθεκτικό στη θερμική μετουσίωση, ωστόσο μπορεί να αποσταθεροποιηθεί με τη χρήση πυτιάς ιδιαίτερα σε υψηλές θερμοκρασίες ή με οξίνιση.

Όσον αφορά στις οροπρωτεΐνες, συναντώνται επίσης τέσσερις πρωτεΐνες: η β -λακτογλοβουλίνη, η α -λακταλβουμίνη, η αλβουμίνη και η ανοσογλοβουλίνη. Πρόκειται για σφαιρικές πρωτεΐνες που είναι επίσης επιφανοδραστικές, ενώ είναι πιο ευαίσθητες στη θερμική επεξεργασία απ' ό,τι οι καζεΐνες. Οι οροπρωτεΐνες μετουσιώνονται συνήθως σε θερμοκρασία μεγαλύτερη των 78°C προσδίδοντας ένα χαρακτηριστικό άρωμα βανίλιας στο μίγμα. Το συγκεκριμένο είδος πρωτεϊνών έχει μεγαλύτερη χρηστικότητα στη μετουσιωμένη του μορφή καθώς συμβάλλει στη σταθεροποίηση των παγοκρυστάλλων στο παγωτό. Στο γάλα περιέχονται επίσης και άλλες πρωτεϊνικής φύσεως ουσίες, τα ένζυμα.

Το πρωτεϊνικό περιεχόμενο καθορίζεται από το ποσοστό αζώτου στο τρόφιμο. Στο παγωτό το πρωτεϊνικό περιεχόμενο κυμαίνεται συνήθως από 2,3 έως 3,5 g πρωτεΐνης ανά μερίδα παγωτού (~70g), ενώ είναι άρρηκτα συνδεδεμένο με το περιεχόμενο σε λιπαρά (*Πίνακας 1.2*). Η αντικατάσταση ενός ποσοστού των μη λιπαρών στερεών γάλακτος (NFMS) από στερεά ορού γάλακτος (whey solids) οδηγεί στη μείωση του πρωτεϊνικού περιεχομένου

του τελικού προϊόντος, με τον ορό του γάλακτος να περιέχει περίπου 12% πρωτεΐνη σε αντίθεση με τα μη λιπαρά στερεά γάλακτος (NFMS) των οποίων το πρωτεϊνικό περιεχόμενο φτάνει το 35% (Clarke 2004, Marshall et al. 2003, Belitz et al. 2006).

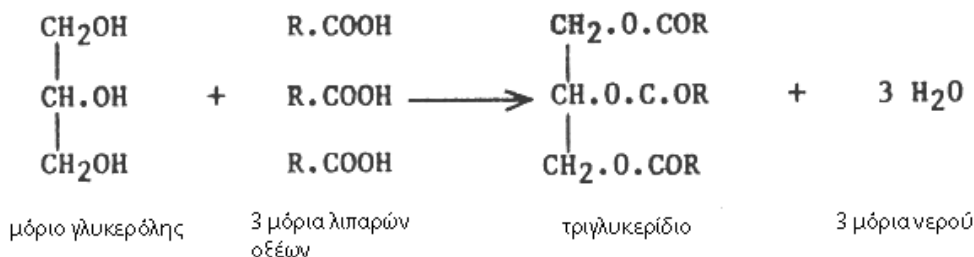


Εικόνα 1.3. Δομή του καζεϊνικού μικκυλίου (Πηγή:Walstra & Jenness(1984), Walstra(2006))

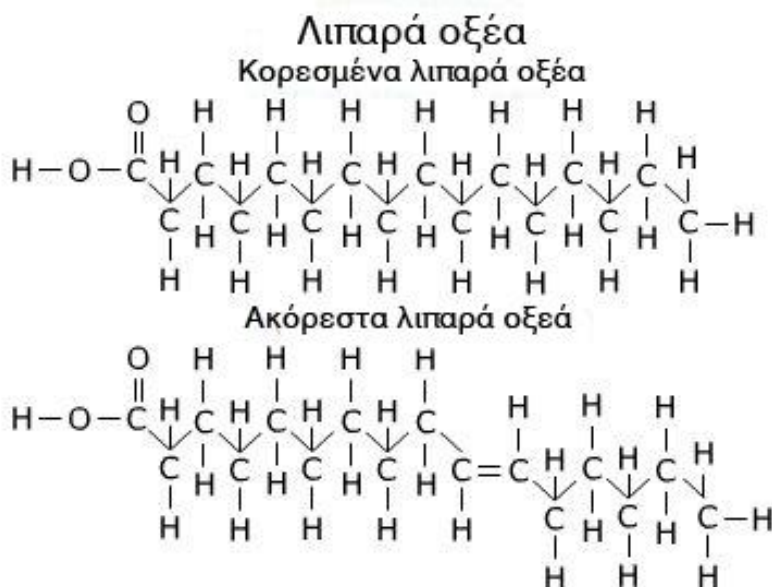
1.3.2 Λιπαρά

Τα λιπαρά του γάλακτος αποτελούνται κυρίως από τριακυλογλυκερόλες (τριγλυκερίδια) (βλ. *Εικόνα 1.4*). Τα γλυκερίδια είναι ενώσεις στις οποίες ένα, δύο ή τρία μόρια λιπαρού οξέος είναι ενωμένα μέσω εστερικών δεσμών σε ένα μόριο γλυκερόλης. Έτσι, τα μόνο-, δι- και τριγλυκερίδια περιέχουν ένα, δύο ή τρία μόρια λιπαρού οξέος, αντίστοιχα. Τα λιπαρά του γάλακτος είναι υψηλής πολυπλοκότητας αφού περιέχουν περίπου 400 μόρια λιπαρών οξέων. Παρόλο που τα λιπαρά του γάλακτος έχουν χαμηλή περιεκτικότητα σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, περιέχουν περίπου 27% μονοακόρεστα λιπαρά οξέα (Jensen et al. 1991) (βλ. *Εικόνα 1.5*). Στο παγωτό, τα περιεχόμενα λιπαρά προσδιορίζονται συνήθως με εκχύλιση και ζύγιση του διαλυτού κλάσματος σε αιθέρα. Τα λιπαρά του γάλακτος προσδίδουν θρεπτικές και λειτουργικές ιδιότητες σε ένα τρόφιμο και έτσι έχουν συγκεντρώσει το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας, αφού παρέχουν ενέργεια και περιέχουν σημαντικά λιπαρά οξέα (χορεσμένα και ακόρεστα), λιποδιαλυτές βιταμίνες και στερόλες συμπεριλαμβανομένης και της χοληστερόλης. Στο παγωτό, η συνεισφορά των λιπαρών, και ιδιαίτερα εκείνη του βουτυρικού οξέος, είναι καθοριστική για τη μοναδική γεύση του προϊόντος. Επιπρόσθετα, τα λιπαρά συμβάλλουν στη μείωση του ρυθμού τήξης του παγωτού, στη σταθεροποίηση του αφρού, προσδίδουν κρεμμώδη υφή στο προϊόν, λιπαίνουν τη στοματική κοιλότητα και συμβάλλουν στη δομή των παγωμένων επιδορπίων γενικότερα. Η πηγή προέλευσης των λιπαρών είναι καθοριστικής σημασίας καθώς τα υψηλής ποιότητας λιπαρά προσδίδουν καλύτερη γεύση, σε αντίθεση με τα χαμηλότερης ποιότητας λιπαρά, στα οποία συχνά περιέχονται οξειδωμένα λιπίδια που προσδίδουν δυσάρεστη γεύση στο τελικό προϊόν. Τα λιπαρά μπορεί να είναι είτε ζωικής προέλευσης και κυρίως λιπαρά γάλακτος, είτε φυτικής προέλευσης. Πρέπει να σημειωθεί ότι τα παγωτά που

περιέχουν λιπαρά μόνο φυτικής προέλευσης συχνά υπάγονται σε διαφορετική νομοθεσία (Clarke 2004, Goff & Hartel 2013, Marshall et al. 2003, Advanced dairy chemistry Fox et al.).



Εικόνα 1.4. Σύνθεση τριγλυκεριδίου από γλυκερόλη και τρία λιπαρά οξέα



Εικόνα 1.5. Κορεσμένα και ακόρεστα λιπαρά οξέα

1.3.3 Υδατάνθρακες

Στη κατηγορία αυτή συμπεριλαμβάνονται πολυσακχαρίτες όπως άμυλο, σάκχαρα (μονοσακχαρίτες και δισακχαρίτες) καθώς και πολλές γλυκαντικές ουσίες. Οι υδατάνθρακες είναι πηγή θερμότητας και ενέργειας για το ανθρώπινο σώμα και διασπώνται στο πεπτικό σύστημα σε απλά σάκχαρα, υπό τη δράση συγκεκριμένων ενζύμων, έχοντας ως κύριο προϊόν τη γλυκόζη. Οι μονοσακχαρίτες είναι το πιο απλό είδος σακχάρων και υπακούουν στη στοιχειακή σχέση $(\text{CH}_2\text{O})_n$. Η πιο σημαντική ομάδα μονοσακχαριτών είναι οι εξόζες (όπου $n=6$). Υπάρχουν διάφορα γνωστά ισομερή της συγκεκριμένης σχέσης, μερικά από τα οποία είναι η δεξτρόζη, η φρουκτόζη, η γαλακτόζη και η μαννόζη. Το μόριο που αποτελείται από δύο μονοσακχαρίτες ονομάζεται δισακχαρίτης. Ο πιο γνωστός

δισακχαρίτης είναι η σακχαρόζη ή αλλιώς ζάχαρη. Πολυσακχαρίτες λέγονται τα μόρια που περιλαμβάνουν περισσότερους από δέκα μονοσακχαρίτες. Αξίζει να σημειωθεί ότι, οι περισσότεροι σταθεροποιητές που αναφέρονται παρακάτω αποτελούνται από πολυσακχαρίτες.

Τα σάκχαρα στο παγωτό έχουν δύο βασικές χρησιμότητες (ιδιότητες): α) προσθέτουν γλυκιά γεύση στο παγωτό, και β) ελέγχουν το ποσοστό των παγοκρυστάλλων επομένως και την κρεμμώδη υφή του παγωτού (όσο μεγαλύτερο το ποσοστό παγοκρυστάλλων, τόσο μεγαλύτερη η σκληρότητα του παγωτού). Η προσθήκη σακχάρων ελατώνει το σημείο πήξεως μειώνοντας ταυτόχρονα και το ποσοστό των παγοκρυστάλλων που δημιουργούνται. Τα σάκχαρα επηρεάζουν επίσης και το ιξώδες του μίγματος κάτι το οποίο μπορεί να έχει είτε θετικές είτε αρνητικές επιδράσεις στο τελικό προϊόν. Το υψηλό ιξώδες προσδίδει κρεμμώδη υφή στο παγωτό ωστόσο πολύ μεγάλα ποσοστά ζάχαρης καθιστούν πιο δύσκολο το ομοιόμορφο σερβίρισμά του.

Οι γλυκαντικές ύλες που χρησιμοποιούνται στην παραγωγή του παγωτού περιλαμβάνουν απλά σάκχαρα (π.χ. φρουκτόζη, δεξτρόζη), δισακχαρίτες (π.χ. σακχαρόζη, μαλτόζη, τρεχαλόζη), ολιγοσακχαρίτες-δεξτρίνες (π.χ. αμυλοσιρόπια, μαλτοδεξτρίνες, ολιγοφρουκτόζη), πολυαλκιοόλες (μαλιπιτόλη, σορβιτόλη, μαννιτόλη, ξυλιτόλη), εναλλακτικά γλυκαντικά (π.χ. ασπαρτάμη) και φυσικές γλυκαντικές ύλες με προβιοτική δράση (π.χ. μέλι, συμπυκνώματα χυμών φρούτων κ.α.). Κατά κύριο λόγο όμως χρησιμοποιείται η γνωστή σε όλους ζάχαρη.

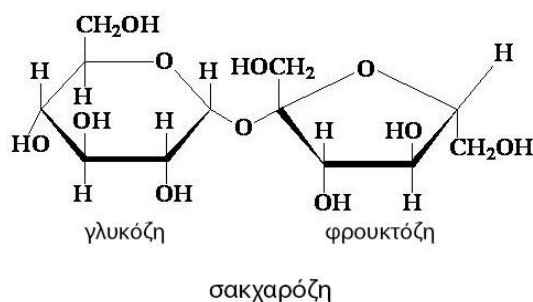
Στη συνέχεια θα γίνει εκτενέστερη αναφορά στη λακτόζη (το σάκχαρο του γάλακτος), τη ζάχαρη και τα αμυλοσιρόπια.

Η λακτόζη ($C_{12}H_{22}O_{11}$), που αποτελεί το κύριο σάκχαρο του γάλακτος, είναι ένας δισακχαρίτης ο οποίος αποτελεί το 1/3 των ολικών στερεών στο γάλα και περίπου το 20% των υδατανθράκων στο παγωτό. Η λακτόζη οφείλει τη μοναδικότητά της στο γεγονός ότι βρίσκεται μόνο στο γάλα, σε αντίθεση με τα υπόλοιπα σάκχαρα. Η γλυκύτητα της λακτόζης είναι σημαντικά χαμηλότερη από εκείνη της γλυκόζης ή της ζάχαρης. Εμφανίζει επίσης μικρή διαλυτότητα στην υδατική φάση του ορού, το οποίο έχει ως αποτέλεσμα να κρυσταλλώνεται εκτός παγωτού ως μονοϋδρίτης. Από μεταβολικής άποψης, η λακτόζη μπορεί να απορροφηθεί από τα τοιχώματα του εντέρου μόνο όταν διασπαστεί σε μονοσακχαρίτες με τη βοήθεια του ενζύμου λακτάση. Ωστόσο μία μεγάλη μερίδα πληθυσμού έχει έλλειψη αυτού του ενζύμου δημιουργώντας έτσι δυσκολία στη διάσπαση της λακτόζης. Αυτό μπορεί να προκαλέσει διάφορες φυσικές δυσλειτουργίες στον οργανισμό οι οποίες αποτελούν το γνωστό πρόβλημα της δυσανεξίας στη λακτόζη. Παρόλα αυτά υπάρχουν προϊόντα γάλακτος που παράγονται με ειδική κατεργασία για άτομα με αυτό το πρόβλημα (Clarke 2004, Marshall et al.1996).

Η ζάχαρη (σακχαρόζη) είναι ένας δισακχαρίτης που αποτελείται από ένα μόριο D-γλυκόζης (δεξτρόζη) και ένα μόριο φρουκτόζης (βλ. *Εικόνα 1.6*). Η λευκή κρυσταλλική ζάχαρη παρασιευάζεται από ζαχαρότευτλα ή ζαχαροκάλαμα. Υπάρχουν στο εμπόριο και άλλες μορφές ζάχαρης όπως η καστανή ζάχαρη που αποτελεί μία λιγότερο κατεργασμένη μορφή της λευκής ζάχαρης. Η σακχαρόζη υδrolύεται είτε μέσω θέρμανσης παρουσία οξέος είτε με τη χρήση του ενζύμου ινβεράση. Η αντίδραση αυτή σημειώνεται ως ανάστροφη και το παραγόμενο ισομοριακό μίγμα γλυκόζης και φρουκτόζης ονομάζεται

ανάστροφο ζάχαρο και μερικές φορές χρησιμοποιείται στην παρασκευή παγωτού (Clarke 2004, Belitz 2006).

Τα αμυλοσιρόπια (σιρόπια γλυκόζης) αποτελούν ένα μίγμα D-γλυκόζης (δεξτρόζης), μαλτόζης και ανώτερων ολιγομερών της γλυκόζης. Παράγονται μέσω μερικής υδρόλυσης του αμύλου σε όξινο περιβάλλον ή με τη χρήση ενζύμων. Η ακριβής σύστασή τους εξαρτάται από τις συνθήκες της υδρόλυσης. Τα αμυλοσιρόπια χαρακτηρίζονται από το βαθμό υδρόλυσης του αμύλου (ο οποίος εκφράζεται από το ισοδύναμο δεξτρόζης, DE³) δηλαδή από το περιεχόμενό τους σε γλυκόζη (μονομερές). Όσο μεγαλύτερος είναι ο βαθμός υδρόλυσης, τόσο μικρότερο το μέσο μοριακό βάρος. Η γλυκόζη έχει DE ίσο με 100 και το άμυλο ίσο με 0. Τα αμυλοσιρόπια του εμπορίου διαθέτουν DE που κυμαίνεται από 35 έως 65. Ωστόσο, είναι πιθανό διαφορετικά μίγματα αμυλοσιροπιών να διαθέτουν τον ίδιο βαθμό υδρόλυσης. Επίσης, πρέπει να σημειωθεί ότι η γλυκύτητα του μίγματος αυξάνεται όσο μειώνεται ο βαθμός υδρόλυσης, με τα περισσότερα αμυλοσιρόπια είναι λιγότερο γλυκά από τη ζάχαρη. Τα αμυλοσιρόπια διατίθενται σε υγρή μορφή με περιεκτικότητα σε νερό περίπου 20%. Χρησιμοποιούνται συχνά για την παρασκευή παγωτού λόγω του χαμηλού κόστους τους (Clarke 2004).



Εικόνα 1.6. Μόριο σακχαρόζης

1.3.4 Ανόργανα συστατικά

Για τη σωστή ανάπτυξη, το ανθρώπινο σώμα χρειάζεται και ορισμένα ανόργανα συστατικά. Εκείνα που είναι απαραίτητα σε μεγάλες ποσότητες είναι το ασβέστιο, ο φώσφορος, το νάτριο, το κάλιο, το μαγνήσιο και το θείο, ενώ αυτά που απαιτούνται σε μικρότερες ποσότητες (ιχνοστοιχεία) είναι ο χαλκός, το κοβάλτιο, το ιώδιο, το μαγγάνιο, το σελήνιο, το φθόριο, το μολυβδένιο και ο ψευδάργυρος. Τα ανόργανα συστατικά πρέπει να ακολουθούν συγκεκριμένες αναλογίες στη διατροφή. Το ασβέστιο και ο φώσφορος θεωρούνται τα πιο σημαντικά καθώς ξεχωρίζουν για τη λειτουργικότητά τους στα γαλακτοκομικά προϊόντα και συμβάλλουν στη σωστή διαμόρφωση των δοντιών και των οστών. Τα προϊόντα γάλακτος, συμπεριλαμβανομένου και του παγωτού, αποτελούν άριστη πηγή ασβεστίου. Στο παγωτό οι ποσότητες ασβεστίου και φωσφόρου αποκομίζονται από τα

³ : Dextrose equivalent- ισοδύναμο δεξτρόζης (γλυκόζης), μονάδα μέτρησης του βαθμού υδρόλυσης στα αμυλοσιρόπια

μη λιπαρά στερεά (NFMS). Σύμφωνα με την Εθνική Ακαδημία Επιστημών οι συνιστώμενες ημερήσιες ποσότητες ασβεστίου και φωσφόρου για ενηλίκους είναι 1200 mg και 800 mg αντίστοιχα. Για τα παιδιά η ημερήσια συνιστώμενη ποσότητα ασβεστίου είναι 1300 mg και για ηλικίες 11-24 ετών η ημερήσια ποσότητα φωσφόρου είναι 1200 mg. Υπολογίζεται ότι 70g παγωτού περιέχουν περίπου 96,5 mg ασβεστίου και 45-105 mg φωσφόρου τα οποία αποτελούν αντίστοιχα το 8-12% και 10% της συνιστώμενης ημερήσιας ποσότητας. Είναι επίσης σημαντικό να σημειωθεί ότι στο γάλα αρχικά περιέχονται και ιχνοστοιχεία χαλκού και σιδήρου τα οποία συχνά αφαιρούνται από τις βιομηχανίες για την αποφυγή τυχόν αλλοιώσεων, αφού δρουν ως καταλύτες της αυτοοξειδωσης των λιπιδίων που περιέχονται στο γάλα, προσδίδοντας δυσάρεστη γεύση στο προϊόν (Walstra 2006, Goff & Hartel 2013).

1.3.5 Βιταμίνες

Όπως και το γάλα, το παγωτό είναι πλούσιο σε βιταμίνες, η συγκέντρωση των οποίων εξαρτάται από το περιεχόμενο ποσοστό των στερεών του γάλακτος. Οι λιποδιαλυτές βιταμίνες Α, D, Ε και Κ δεν περιέχονται στα διαιτητικά προϊόντα με λίγα λιπαρά. Ωστόσο οι βιομηχανίες υποχρεούνται να προσθέτουν βιταμίνη Α σε αυτά τα προϊόντα. Οι υδατοδιαλυτές βιταμίνες κατέχουν ποσοστό ανάλογο με τη ποσότητα των μη λιπαρών στερεών (NFMS) στο παγωτό. Υψηλή συγκέντρωση αυτών των βιταμινών βρίσκεται σε προϊόντα χαμηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά. Επίσης το παγωτό είναι καλή πηγή ριβοφλαμίνης, θειαμίνης και πυριδοξίνης.

1.3.6 Γαλακτωματοποιητές

Στο παγωτό, εκτός από τις πρωτεΐνες, περιέχονται και άλλες επιφανοδραστικές ουσίες που ονομάζονται γαλακτωματοποιητές. Μερικές από αυτές είναι τα μονο-διγλυκερίδια και λειθίνη (από το αυγό).

Μονο-διγλυκερίδια

Η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη γαλακτωματοποιητική ουσία στην παρασκευή του παγωτού είναι τα μονο-διγλυκερίδια (E471⁴), τα οποία είναι μίγμα μονογλυκεριδίων και διγλυκεριδίων, δηλαδή εστέρες της γλυκερόλης με ένα ή δύο μόρια λιπαρού οξέος. Είναι επιφανοδραστικά εξαιτίας της δομής τους, όπου η μία άκρη τους είναι υδρόφιλη (άκρη γλυκερόλης) και η άλλη υδρόφοβη (λιπαρή άκρη). Τα μονο-διγλυκερίδια παρασκευάζονται με την υδρόλυση φυτικών ελαίων όπως το σογιέλαιο και το φοινιέλαιο. Υπάρχουν επίσης μονο-διγλυκερίδια από ζωικά έλαια αλλά δεν χρησιμοποιούνται συχνά. Το ποσοστό των μονογλυκεριδίων στο μίγμα του παγωτού είναι συνήθως 40-60%, ενώ το υπόλοιπο αποτελείται από διγλυκερίδια και μικρή ποσότητα τριγλυκεριδίων. Για την παραγωγή του παγωτού χρησιμοποιούνται συνήθως κορεσμένα μονο-διγλυκερίδια σε ποσοστό περίπου

⁴E471: Αριθμός προσθέτου στη λίστα της Ευρωπαϊκής Αρχής Ασφάλειας Τροφίμων

0,3% του μίγματος. Υλικά με ⁵υψηλή περιεκτικότητα σε μονογλυκερίδια (>90%) είναι διαθέσιμα, έχουν όμως ορισμένα μειονεκτήματα καθώς μπορούν να δημιουργήσουν ισχυρά ιξώδη συστήματα και γέλες σε υδατικά διαλύματα. Παρόλα αυτά, αυτές οι ιδιότητες μπορεί να φανούν χρήσιμες σε ορισμένες εφαρμογές, όπως για παράδειγμα στην παρασκευή παγωτού χαμηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά. Εστέρες σορβιτάνης λιπαρών οξέων όπως η μονοελαϊκή πολυοξυαιθυλενοσορβιτάνη (polysorbate 80) έχουν παρόμοια δομή με εκείνη των μονογλυκεριδίων με τη διαφορά ότι το λιπαρό οξύ είναι συνδεδεμένο με ένα μόριο σορβιτόλης και όχι γλυκερόλης. Το Polysorbate 80 μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως γαλακτωματοποιητής στα παγωτά συνήθως σε συγκεντρώσεις 0,02-0,04%.

Κρόκος Αυγού

Ο κρόκος αυγού, που περιέχει συστατικά με γαλακτωματοποιητικές ιδιότητες όπως η λειθίνη, χρησιμοποιείται συχνά σε σπιτικά ή με φυσικές πρώτες ύλες παγωτά. Η κατά βάρος σύσταση του κρόκου είναι 50% νερό, 16% πρωτεΐνη, 9% λειθίνη, 23% λοιπά λιπαρά, 0,3% υδατάνθρακες και 1,7% ανόργανα συστατικά. Η λειθίνη αποτελείται από φωσφολιπίδια και φωσφατίδια. Ο κρόκος αυγού χρησιμοποιείται για την παραγωγή παγωτού είτε ως φρέσκος παστεριωμένος κρόκος είτε ως κατεψυγμένος παστεριωμένος κρόκος με ζάχαρη η οποία προστίθεται για προστασία από την ψύξη, ή και σε αφυδατωμένη μορφή (κρόκος αυγού σε σιόνη). Στερεά κρόκου αυγού χρησιμοποιούνται σε ποσοστά 0,5-3%. Υψηλότερες συγκεντρώσεις μπορούν να βρεθούν σε υψηλής ποιότητας προϊόντα (super-premium products).

1.3.7 Σταθεροποιητές

Οι σταθεροποιητές είναι μία ομάδα υδατοδιαλυτών πολυμερών που χρησιμοποιούνται σε παγωμένα επιδόρπια και σε διάφορα άλλα τρόφιμα σε μικρές ποσότητες (0,2%). Οι περισσότερες ουσίες αυτής της ομάδας είναι πολυσακχαρίτες φυτικής προέλευσης, π.χ. αλγινικά άλατα και καραγεννάνη (από φύκια), κόμμι γκουάρ και κόμμι χαρουπιών (από σπόρους δέντρων), πηκτίνη (από φρούτα), καρβοξυλομεθυλοκυτταρίνη (από βαμβάκι). Μοναδικές εξαιρέσεις είναι η ξανθάνη, ένας βακτηριακός πολυσακχαρίτης, και η ζελατίνη, ένα πολυπεπτιδίο ζωικής προέλευσης. Από θρεπτικής άποψης, αποτελούν πηγή διαλυτών ινών και παρόλο που έχουν φυσική προέλευση, σύμφωνα με τον ευρωπαϊκό νόμο θεωρούνται πρόσθετα στα τρόφιμα (ουσίες E⁴). Συνήθως είναι ευθεία ή διακλαδωμένα πολυμερή που περιέχουν υδροξύ- ομάδες οι οποίες μπορούν να σχηματίσουν δεσμούς υδρογόνου με τα μόρια του νερού. Είναι μεγάλα μόρια με συνήθη μοριακά βάρη 10⁵-10⁶. Λόγω του μεγέθους τους δε διαλύονται στο νερό τόσο εύκολα και για την πλήρη ενυδάτωσή τους απαιτούνται συνήθως υψηλές θερμοκρασίες ή ανάδευση. Όταν διαλυθούν δημιουργούν ιξώδη διαλύματα. Ορισμένοι σταθεροποιητές μάλιστα έχουν την ιδιότητα να σχηματίζουν γέλη (gels) στα διαλύματα όταν θερμανθούν ή/και ψυχθούν. Οι σταθεροποιητές προσφέρουν πολλές λειτουργικές ιδιότητες στο παγωτό κατά τη διάρκεια της παρασκευής, της αποθήκευσης αλλά και της κατανάλωσης. Μερικές από αυτές είναι μη-ειδικές ιδιότητες,

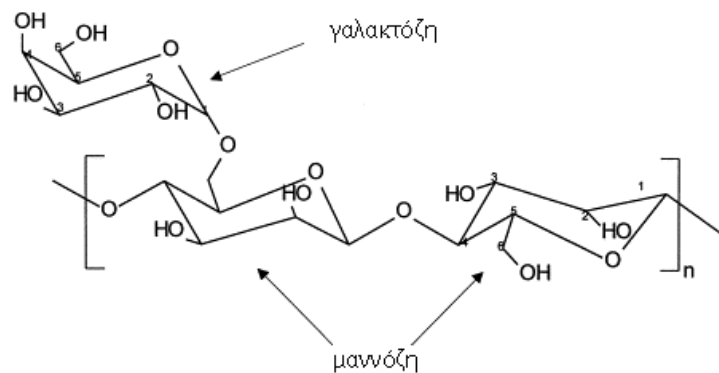
⁵Ουσίες E: Ουσίες που χρησιμοποιούνται ως πρόσθετα τροφίμων κατά την E.E.

δηλαδή επιτυγχάνονται με την αύξηση του ιξώδους της μήτρας, ανεξάρτητα από τον τύπο του χρησιμοποιούμενου σταθεροποιητή.

Υπάρχουν επίσης σταθεροποιητές που καθυστερούν την αύξηση του μεγέθους των παγοκυρυστάλλων κατά την αποθήκευση, ενώ έχει παρατηρηθεί και η συνεργιστική δράση όταν χρησιμοποιούνται περισσότεροι του ενός σταθεροποιητές.

Κόμμα Γκουάρ

Το κόμμα γκουάρ (E412 αριθμός προσθέτου στη λίστα της Ευρωπαϊκού Αρχής Ασφάλειας Τροφίμων) παράγεται από την επεξεργασία σπόρων του θάμνου γκουάρ (*Cyamopsis tetragonolobus*) που ευδοκίμει στην Ινδία και το Πακιστάν. Είναι ένας φυσικός πολυσακχαρίτης με πολύπλοκη δομή, ο οποίος αποτελείται κυρίως από γαλακτόζη και μαννόζη (βλ. *Εικόνα 1.7*). Η γαλακτόζη που περιέχει το καθιστά διαλυτό και σε κρύο νερό. Αν και δεν μπορούν να σχηματιστούν μόνιμες διασυνδέσεις λόγω της δομής του που δεν επιτρέπει τη δημιουργία ισχυρών δεσμών υδρογόνου, δημιουργούνται όμως υπερσμπλέγματα. Έτσι, το κόμμα γκουάρ σχηματίζει ιξώδη διαλύματα ακόμα και όταν προστεθεί σε μικρές συγκεντρώσεις. Επιπλέον, είναι αρκετά οικονομικό (Marshall et al. 1996).



Εικόνα 1.7. Δομή του κόμματος γκουάρ

3.8 Γεύσεις - Αρωματικές ουσίες

Μία βασική προϋπόθεση των παγωτών είναι ότι πρέπει να έχουν ωραία γεύση η οποία να ελκύει το καταναλωτικό κοινό. Για το σκοπό αυτό οι βιομηχανίες παγωτού χρησιμοποιούν συστατικά που προσδίδουν άρωμα και γεύση. Ορισμένα από αυτά είναι υδατοδιαλυτά ενώ άλλα λιποδιαλυτά. Αυτό επιδρά στην αντίληψη της γεύσης του προϊόντος κατά την κατανάλωση: οι υδατοδιαλυτές αρωματικές ουσίες απελευθερώνονται γρήγορα κατά την κατανάλωση, ενώ οι λιποδιαλυτές απελευθερώνονται πιο αργά. Οι αρωματικές ουσίες μπορεί να είναι φυσικές, π.χ. από ένα φυτό ή συνθετικές. Οι τελευταίες μπορεί να έχουν παρόμοια σύσταση με τις φυσικές αλλά να παράγονται με τεχνητά μέσα ή μπορεί να είναι εξ' ολοκλήρου χημικές δηλαδή να μην υπάρχουν στη φύση και να κατασκευάζονται στο εργαστήριο. Οι τρεις πιο σημαντικές γεύσεις που χρησιμοποιούνται στα παγωτά είναι η βανίλια, η σοκολάτα και η φράουλα (Marshall et al. 2003, Belitz 2006).

1.3.9 Χρωστικές ουσίες

Το χρώμα ενός παγωτού έχει σημαντική επιρροή στην αντίληψη του καταναλωτή για την ποιότητα και τη γεύση του. Χρωστικές ουσίες προστίθενται στα παγωτά για διαφόρους λόγους, όπως:

- Προσδίδουν χρώμα σε προϊόντα που θα ήταν άχρωμα.
- Τονίζουν το ήδη υπάρχον χρώμα.
- Διασφαλίζουν χρωματική ενότητα μεταξύ διαφορετικών παρτίδων.

Φυσικές χρωστικές ουσίες που παράγονται από φυτά χρησιμοποιούνται εδώ και χρόνια στα τρόφιμα. Συνθετικές χρωστικές βασισμένες σε πετροχημικά προϊόντα αναπτύχθηκαν μέσα στον 20^ο αιώνα. Τα φυσικά χρώματα έχουν καλή διαλυτότητα και προσδίδουν υγιή εικόνα στο τρόφιμο, ωστόσο είναι αραιά ακριβά επειδή είναι ιδιαίτερα ευπαθή στη θερμότητα και το φως καθώς και επειδή απαιτούνται σε μεγάλες συγκεντρώσεις. Τα τεχνητά χρώματα είναι απορριπτέα από μια μεγάλη μερίδα καταναλωτών. Τόσο οι φυσικές όσο και οι χημικές χρωστικές θεωρούνται πρόσθετα τροφίμων (ουσίες E). Μερικές από τις πιο γνωστές χρωστικές είναι οι ανθοκυάνες (E163⁶) οι οποίες προσδίδουν ένα κοκκινωπό χρώμα και βρίσκονται στα σταφύλια, στα κόκκινα λάχανα και σε ιβίσκους. Επίσης πολύ συχνά χρησιμοποιείται και η σκόνη κακάο ως χρωστική ουσία στο παγωτό. Κατά την προσθήκη χρωστικών ουσιών πρέπει να λαμβάνονται υπόψη οι εξής παράμετροι:

- Η επίδραση των επιμέρους συστατικών του μίγματος παγωτού όπως τα στερεά του γάλακτος που τείνουν να μειώσουν την ένταση του χρώματος.
- Η θερμική επεξεργασία του μίγματος παγωτού καθώς η θέρμανση επηρεάζει την ένταση των χρωστικών υλών και τη χροιά του μίγματος.
- Η οξύτητα του μίγματος, η οποία μπορεί να επηρεάσει χρωστικές ευαίσθητες στις μεταβολές του pH.
- Το ποσοστό ενσωμάτωσης αέρα (overrun), το οποίο τείνει να μειώσει τη χρωματική ένταση του παγωτού (Marshall et al. 2003, Belitz 2006).

1.3.10 Άλλα συστατικά

Κατά την παρασκευή του παγωτού μπορούν να χρησιμοποιηθούν διάφορα ακόμα συστατικά που προσδίδουν γευστική και θρεπτική αξία στο προϊόν. Μερικά από αυτά είναι: η σοκολάτα, οι ξηροί καρποί, τα φρούτα, το αλκοόλ και τα αρτοποιήματα (Marshall et al. 2003).

1.4 Διατροφική και Θερμιδική Αξία του Παγωτού

Η ενεργειακή αξία του παγωτού εξαρτάται από τη διατροφική αξία των συστατικών του. Το παγωτό περιέχει περίπου τα ίδια συστατικά με τα υπόλοιπα προϊόντα γάλακτος, αλλά σε διαφορετικές ποσότητες. Στο παγωτό περιέχονται τέσσερις φορές περισσότερα λιπαρά,

⁶E163: Αριθμός προσθέτου στη λίστα της Ευρωπαϊκού Αρχής Ασφάλειας Τροφίμων

τέσσερις φορές περισσότεροι υδατάνθρακες και 12-16% περισσότερες πρωτεΐνες απ' ότι στο γάλα. Επιπλέον μπορεί να περιέχονται και άλλα συστατικά όπως φρούτα και ξηροί καρποί που εμπλουτίζουν τη θρεπτική του αξία. Όμως όπως και το γάλα, δεν αποτελεί καλή πηγή ιχνοστοιχείων.

Το παγωτό αποτελεί μία εξαιρετική πηγή ενέργειας και το γεγονός ότι τα συστατικά που το αποτελούν είναι σχεδόν πλήρως αφομοιώσιμα από τον ανθρώπινο οργανισμό, το καθιστούν μοναδικά επιθυμητό. Η ελεγχόμενη κατανάλωση του μπορεί να συμβάλει θετικά στη διατροφή των ανθρώπων.

Η μεγάλη ποικιλία στη σύσταση των διαφόρων ειδών παγωτού καθιστά πρακτικά αδύνατη τη δημιουργία διατροφικών δεδομένων που καλύπτουν όλα τα προϊόντα παγωτού. Ωστόσο, μπορεί να υπολογιστεί η θερμιδική αξία του εκάστοτε προϊόντος γνωρίζοντας τη σύσταση του. Η συνολική θερμιδική αξία του παγωτού εξαρτάται κυρίως από:

- Τα ποσοστά των υδατανθράκων συμπεριλαμβανομένης και της λακτόζης, των γλυκαντικών ουσιών, των διογκωτικών ουσιών και της ζάχαρης που μπορεί να προέρχεται από πρόσθετα τρόφιμα όπως φρούτα.
- Το ποσοστό της πρωτεΐνης που προέρχεται από το γάλα είτε από υποκατάστατά του, από ξηρούς καρπούς, από αυγά καθώς και από τους σταθεροποιητές.
- Το ποσοστό των λιπαρών από οποιαδήποτε πηγή (ιρέμα, γαλακτωματοποιητές, αυγά κ.α.).

Πίνακας 1.2. Θερμιδικό περιεχόμενο ανά μερίδα (70 g) διαφόρων εμπορικών ειδών παγωτού
(¹Δείγματα χωρίς ζάχαρη, ²Γεύση Βανίλια)

Είδος παγωτού	Θερμίδες (kcal)	Λιπαρά (g)	Πρωτεΐνες (g)	Υδατάνθρακες (g)	Ζάχαρη (g)	Ασβέστιο (%H.K)
Χωρίς λιπαρά	90	0	3,5	20	15	10
Με λίγα λιπαρά	100	2,2	3,0	18	15	9
Διαιτήης	110	3,3	3,0	17	15	9
Με μειωμένα λιπαρά	125	3,3	2,8	19	12	11
Με μειωμένα λιπαρά ¹	100	4,0	3,0	13	3	8
Κανονικό παγωτό	135	7,4	2,2	15	13	8
Καλής ποιότητας	165	9,8	2,4	18	15	8
Παγωτό γιαούρτι ²	110	2,0	3,0	18	14	9

Πηγή: *Ice Cream, 6th Edition, Marshall et al. 2003*

Όταν το θερμιδικό περιεχόμενο των λιπαρών ουσιών, των πρωτεϊνών και των υδατανθράκων μετρήθηκε σε θερμιδοόμετρο τότε τα ενεργειακά αποτελέσματα ήταν 9,45

Kcal/g λιπαρών, 5,65 Kcal/g πρωτεΐνης, 4,10 Kcal/g υδατανθράκων. Δεν αφομοιώνονται όμως όλα τα διατροφικά συστατικά από το ανθρώπινο σώμα αλλά ένα ποσοστό τους. Έχει παρατηρηθεί ότι περίπου 5% από τα λιπαρά, 8% από τις πρωτεΐνες και 2% από τους υδατάνθρακες δεν απορροφούνται από τον οργανισμό. Έτσι το τελικό ποσό ενέργειας ανά γραμμάριο που αποδίδεται από τα λιπαρά, τις πρωτεΐνες και τους υδατάνθρακες είναι κατά αντιστοιχία: 8,79 Kcal/g λιπαρών, 4,27 Kcal/g πρωτεΐνης, 3,87 Kcal/g υδατανθράκων. Για λόγους ευκολίας οι παραπάνω αριθμοί έχουν στρογγυλοποιηθεί σε 9, 4, 4 αντίστοιχα δημιουργώντας το λεγόμενο 4-4-9 κανόνα για τον υπολογισμό του θερμιδικού περιεχομένου. Επομένως, είναι εύκολο να υπολογιστεί το θερμιδικό περιεχόμενο μίας μερίδας παγωτού γνωρίζοντας την ακριβή σύστασή του (Goff & Hartel 2013, Clarke 2004). Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 1.2) παρουσιάζεται η σύσταση και το θερμιδικό περιεχόμενο διαφόρων ειδών παγωτού.

1.5 Διαδικασία Παρασκευής του Παγωτού

1.5.1 Πρώτες ύλες

Παρακάτω αναφέρονται επιγραμματικά οι πρώτες ύλες που μπορεί να χρησιμοποιηθούν για την παρασκευή παγωτού. Αναλυτικά η επίδραση καθενός από τα συστατικά αυτά στα ποιοτικά χαρακτηριστικά του παγωτού θα αναφερθεί εκτενώς στο επόμενο κεφάλαιο

Πηγές λιπαρών

- Κρέμα γάλακτος
- Πλήρες γάλα
- Βούτυρο
- Λιπαρά φυτικής προέλευσης

Πηγές μη λιπαρών στερεών (NFMS) (που μπορεί να συμβάλλουν και στα λιπαρά)

- Πλήρες γάλα
- Άπαχο γάλα
- Συμπυκνωμένο άπαχο γάλα
- Γάλα εβαπορέ
- Σκόνη γάλακτος (πλήρη ή αποβουτυρωμένη)
- Σκόνη βουτυρογάλακτος
- Σκόνη ορού γάλακτος
- Πρωτεϊνικά συμπυκνώματα ορού γάλακτος
- Σκόνη καζεϊνικών αλάτων

Τα παραπάνω συστατικά βελτιώνουν σημαντικά τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του παγωτού και μπορούν να χρησιμοποιηθούν και ως πηγές στερεών. Η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη πηγή στερεών είναι το αποβουτυρωμένο γάλα σε σκόνη το οποίο έχει υψηλό ποσοστό συμμετοχής στα ολικά στερεά, υψηλή περιεκτικότητα σε καζεΐνες και δεν αφήνει την αίσθηση ταγγής μετάγευσης όπως το πλήρες γάλα σε σκόνη. Συχνά λόγω χαμηλότερου κόστους χρησιμοποιείται ως υποκατάστατο η σκόνη ορού γάλακτος η οποία

όμως εμφανίζει το μειονέκτημα της αύξησης της συγκέντρωσης της λακτόζης στο μίγμα σχηματίζοντας κρυστάλλους που προσδίδουν αμμώδη υφή στο παγωτό. Επίσης, οι πρωτεΐνες ορού γάλακτος είναι λιγότερο θερμο-ανθεκτικές από τις καζεΐνες και μπορεί να χάσουν εύκολα τη δραστηριότητά τους κατά τη διάρκεια της παραγωγικής διαδικασίας.

Σταθεροποιητές

- Κόμμι γκουάρ
- Ξανθάνη
- Αλγινικά άλατα
- Καρβοξυλομεθυλοκυτταρίνη
- Καραγεννάνη

Γαλακτωματοποιητές

- Μόνο-διγλυκερίδια λιπαρών οξέων
- Μονοελαϊκή πολυοξαιθυλενοσορβιτάνη
- Τριστεατική πολυοξαιθυλενοσορβιτάνη
- Λειθίνη

Γλυκαντικές ουσίες

- Ζάχαρη
- Αμυλοσιρόπια (σιρόπι φρουκτόζης, σιρόπι γλυκόζης)
- Δεξτρόζη
- Μαλτοδεξτρίνες
- Σακχαρίνη
- Ασπαρτάμη
- Σουκραλόζη
- Μέλι

Εκτός από τη ζάχαρη, οι υπόλοιπες γλυκαντικές ουσίες χρησιμοποιούνται ως εναλλακτικές πηγές γλυκιάς γεύσης, κυρίως για διατροφικούς λόγους αλλά και εξαιτίας της αυξανόμενης ζήτησης του καταναλωτικού κοινού για πιο υγιεινά, διαιτητικά προϊόντα. Οι ουσίες αυτές αποτελούν υποκατάστατα της ζάχαρης με διαφορετική ισοδύναμη γλυκύτητα και έτσι οι ποσότητες στις οποίες χρησιμοποιούνται διαφέρουν κατά πολύ από εκείνες της ζάχαρης.

Αρωματικές ουσίες

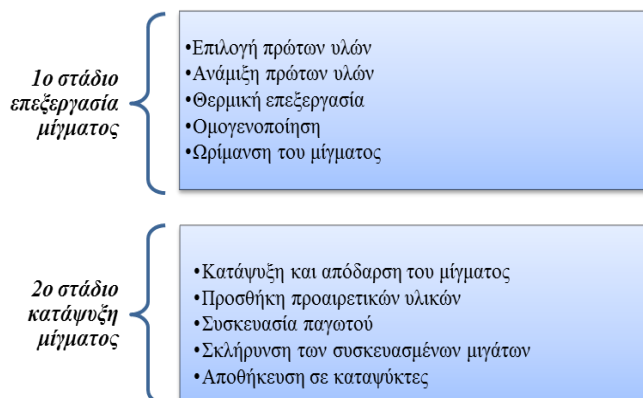
- Βανιλίνη
- Αρώματα φρούτων π.χ. φράουλας
- Άρωμα σοκολάτας
- Φυσικό εκχύλισμα βανίλιας

Χρωστικές ουσίες

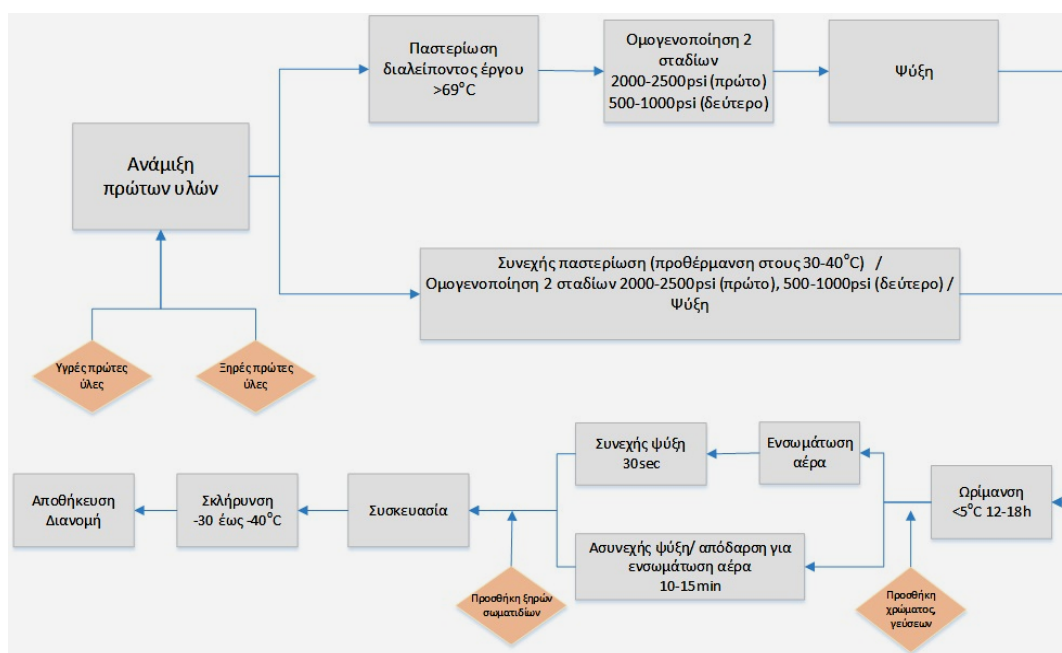
- Διαφόρων ειδών χυμοί
- Διαφόρων ειδών τεχνητά ή φυσικά χρώματα
- Κακάο (Belitz 2006, Walstra 2006)

1.5.2 Στάδια παρασκευής παγωτού

Η διαδικασία παρασκευής του παγωτού χωρίζεται σε δύο βασικά στάδια. Το πρώτο στάδιο περιλαμβάνει την προετοιμασία και επεξεργασία του μίγματος και το δεύτερο την κατάψυξη του μίγματος (βλ. *Εικόνα 1.8*, *Εικόνα 1.9*)



Εικόνα 1.8. Στάδια παρασκευής του παγωτού

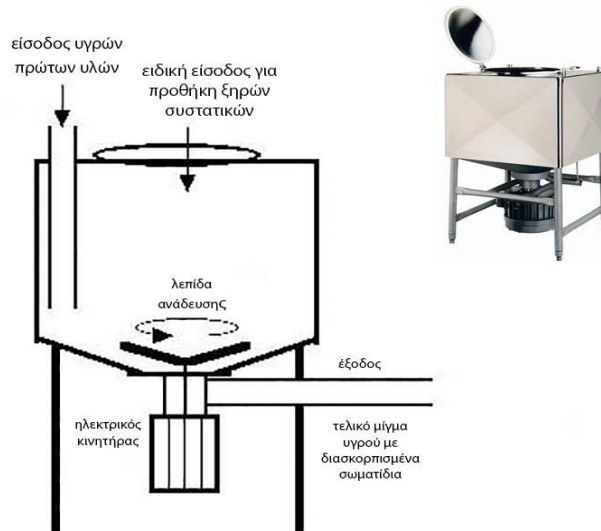


Εικόνα 1.9. Τυπικό διάγραμμα ροής της παραγωγικής διαδικασίας του παγωτού

1.5.3 Προετοιμασία του μίγματος

Αρχικά γίνεται η προετοιμασία του μίγματος, η οποία περιλαμβάνει τη μεταφορά των πρώτων υλών από τους χώρους αποθήκευσης στο χώρο επεξεργασίας τους, τη ζύγιση και την ανάμιξή τους. Οι ξηρές ουσίες προστίθενται κατά την ανάμιξη των υγρών πρώτων υλών με συνεχή ανάδευση και προτού η θερμοκρασία του μίγματος φτάσει τους 50°C. Για να γίνει πιο εύκολη η ανάμιξη των πρώτων υλών, ειδικότερα σε διεργασίες διαλείποντος έργου αλλά και για εξοικονόμηση χρόνου, συχνά κρίνεται απαραίτητη μία προηγούμενη

ενυδάτωση των ξηρών υλών έτσι ώστε να αναμιχθούν πλήρως στο υγρό κλάσμα χωρίς το σχηματισμό θρόμβων. Σε περίπτωση που χρειάζεται η προσθήκη παγωμένων ουσιών, όπως βούτυρο και κρέμα γάλακτος, πρέπει να γίνεται σταδιακά και σε μικρές ποσότητες. Επιπλέον, η προσθήκη σταθεροποιητών μπορεί να γίνει με την ανάμιξή τους με διάφορα αμυλοσιρόπια έτσι ώστε να επιτευχθεί η καλύτερη διασπορά τους στο μίγμα (Goff et al. 2013, Clarke 2004). Ακόλουθα παρουσιάζεται ένας τυπικός εξοπλισμός ανάδευσης υψηλής ταχύτητας στερεών και υγρών συστατικών (βλ. *Εικόνα 1.10*).



Εικόνα 1.10. Αναδευτήρας υψηλής ταχύτητας στερεών και υγρών συστατικών

1.5.4 Παστερίωση

Η παστερίωση, όπως και στην παραγωγή γάλακτος, είναι μία απαραίτητη θερμική επεξεργασία του μίγματος που πραγματοποιείται για την καταστροφή όλων των παθογόνων μικροοργανισμών, διαφυλάσσοντας την υγεία των καταναλωτών. Με την παστερίωση καταστρέφονται επίσης και τα περισσότερα υδρολυτικά ένζυμα, τα οποία θα μπορούσαν να αλλοιώσουν τη γεύση και την υφή του προϊόντος. Η παστερίωση δεν προσθέτει μεγάλα έξοδα στη διαδικασία παραγωγής αφού η θέρμανση του μίγματος καθίσταται απαραίτητη για τη διάλυση των στερεών ουσιών. Επιπλέον, με την άνοδο της θερμοκρασίας διαλύονται όλες οι στερεές ουσίες του μίγματος καθώς και τα λιπαρά, μειώνοντας έτσι το ιξώδες του μίγματος και βελτιώνοντας την ομοιομορφία του προϊόντος. Σημαντικό είναι επίσης ότι σε θερμοκρασίες κοντινές της παστερίωσης επιτυγχάνεται καλύτερη ομογενοποίηση. Τέλος η παστερίωση συνεισφέρει και στη βελτίωση της υφής και της γεύσης του παγωτού, ενώ παρατείνει και την ποιοτική του διατήρηση.

Σήμερα, η βιομηχανία τροφίμων ακολουθεί συγκεκριμένους κανονισμούς όσον αφορά στη διαδικασία της παστερίωσης, δίνοντας περισσότερη προσοχή στο:

- Εάν κάποια γαλακτοκομικά προϊόντα μπορεί να χρησιμοποιηθούν χωρίς να έχουν επαναπαστεριωθεί.
- Εάν τα ποσοστά βακτηρίων στα συστατικά του μίγματος υπερβαίνουν τα όρια, ακόμα και αν το μίγμα έχει παστεριωθεί.

- Χρόνο και τη θερμοκρασία παστερίωσης.
- Εάν οι πληθυσμοί των κολοβακτηριδίων υπερβαίνουν τις επιτρεπόμενες τιμές.
- Εάν υπάρχουν προϊόντα που πρέπει να παραμείνουν παγωμένα στο χώρο όπου γίνεται η παστερίωση.

Μία επιτυχημένη παστερίωση αποτελείται από τρία στάδια:

- Γρήγορη θέρμανση σε μία ικανοποιητικά υψηλή θερμοκρασία.
- Σταθεροποίηση της θερμοκρασίας και παραμονή του προϊόντος σε αυτή για ένα επαρκές χρονικό διάστημα.
- Άμεση ψύξη συνήθως σε θερμοκρασία $< 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Marshall et al. 1996).

Δύο είναι τα βασικά είδη της παστερίωσης:

- **Παστερίωση διαλείποντος έργου (batch) ή χαμηλής θερμοκρασίας -μεγάλης διάρκειας (LTLT⁷):** προστίθεται θερμότητα στο μίγμα μέσω θερμού νερού που κυκλοφορεί ανάμεσα στα διπλά τοιχώματα της δεξαμενής παστερίωσης, ενώ ταυτόχρονα προστίθενται τυχόν απαραίτητα συστατικά στο μίγμα. Όταν ολοκληρωθεί η προσθήκη όλων των συστατικών και η θερμοκρασία φτάσει τους 69°C ξεκινάει η διαδικασία της παστερίωσης που διαρκεί 30 λεπτά. Η μέθοδος αυτή αυξάνει την ενυδάτωση των πρωτεϊνών και των σταθεροποιητών του μίγματος, το οποίο μπορεί να βελτιώσει την υφή του μίγματος, να αυξήσει την αντοχή του στα θερμικά σοκ και να μειώσει το χρόνο της ωρίμανσης.
- **Παστερίωση συνεχούς έργου ή υψηλής θερμοκρασίας - μικρής διάρκειας (HTST⁸):** υπάρχουν διάφοροι συνδυασμοί θερμοκρασίας και χρόνου που μπορούν να πραγματοποιηθούν όπως αυτοί παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 1.3). Οι συνηθέστεροι παστεριωτήρες συνεχούς έργου (βλ. *Εικόνα 1.11*) είναι πλακιοειδείς εναλλάκτες θερμότητας που αποτελούνται από παράλληλες μεταλλικές πλάκες με αυλακώσεις. Η μεταφορά θερμότητας γίνεται μέσω των πλακών και από το θερμότερο υγρό στο ψυχρότερο τα οποία κινούνται κατά αντίθετες κατευθύνσεις. Αυτού του τύπου η παστερίωση εξασφαλίζει μεγαλύτερη εξοικονόμηση ενέργειας (Marshall et al. 2003).



Εικόνα 1.11. Παστεριωτήρας συνεχούς έργου

⁷LTLT: Low temperature long time batch pasteurization

⁸HTST: High temperature short time batch pasteurization

Πίνακας 1.3. Είδη παστερίωσης παγωτού (Χρόνοι & Θερμοκρασίες)

Μέθοδος	Χρόνος	Θερμοκρασία (°C)
Σε παρτίδες	30min	69
Υψηλή θερμοκρασία-μικρή διάρκεια (HTST)	25s	80
Υψηλότερης θερμοκρασίας-μικρότερης διάρκειας (HHST ⁹)	1-3s	90
Υπερψηλής θερμοκρασίας (UHT ¹⁰)	>2s	138

Πηγή: *Ice Cream, 6th Edition, Marshall et al. 2003*

Παρακάτω παρουσιάζονται επιγραμματικά μερικές από τις φυσικές και χημικές αλλαγές που προκαλούνται από την παστερίωση ή θερμική επεξεργασία ενός μίγματος παγωτού:

- Αέρια που περιέχονται στο μίγμα, όπως το CO₂ και το O₂, διαφεύγουν (εάν το σύστημα δεν είναι κλειστό). Η απώλεια του O₂ είναι σημαντική καθώς επηρεάζει το ρυθμό της οξείδωσης και το ρυθμό ανάπτυξης ορισμένων βακτηρίων.
- Ισομερισμός της λακτόζης
- Οι φωσφορικοί εστέρες της καζεΐνης υδρολύονται και τα φωσφολιπίδια διαιρούνται. Έτσι, η ποσότητα του ανόργανου φωσφόρου αυξάνεται.
- Το pH του γάλακτος μειώνεται και η τιτλοδοτούμενη οξύτητα αυξάνεται (titratable acidity).
- Οι περισσότερες πρωτεΐνες ορού μετουσιώνονται και ένα μέρος τους (κυρίως η β-γαλακτογλοβουλίνη) ενώνεται με την κ-καζεΐνη και με ορισμένες πρωτεΐνες στις μεμβράνες των λιποσφαιριδίων.
- Αντιδράσεις Maillard μεταξύ πρωτεϊνών και λακτόζης, οι οποίες μπορεί να προκαλέσουν αλλαγή στη γεύση.
- Απενεργοποίηση ενζύμων
- Τα μικύλια των καζεϊνών δημιουργούν συσσωματώματα τα οποία μπορεί να οδηγήσουν στη δημιουργία πήγματος.
- Αλλαγές στη μεμβράνη των λιποσφαιριδίων
- Η τάση για αυτοοξείδωση μειώνεται εξαιτίας της δημιουργίας σουλφιδικών ομάδων (-SH).
- Υποβάθμιση ορισμένων βιταμινών (Walstra 2006, Marshall et al. 2003).

⁹ HHST: Higher heat short term continuous pasteurization

¹⁰ UHT: Ultra high temperature

1.5.5 Ομογενοποίηση

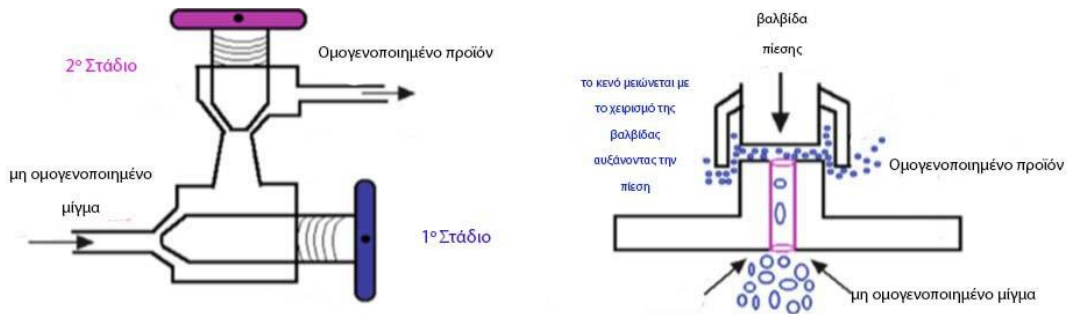
Η ομογενοποίηση στο παγωτό και γενικότερα στο γάλα και τα προϊόντα του έχει ως στόχο τη δημιουργία ενός σταθερού και ομοιόμορφου αιωρήματος λιπαρών μειώνοντας το μέγεθος των λιποσφαιριών (κάτω από τα 2 μm). Όταν ένα μίγμα είναι σωστά ομογενοποιημένο τότε τα λιπαρά δεν θα σχηματίσουν ένα ξεχωριστό στρώμα στην επιφάνεια του μίγματος και το τελικό προϊόν δεν θα έχει δυσάρεστα λιπαρή αίσθηση. Η ομογενοποίηση θεωρείται απαραίτητη για κάθε μίγμα που περιέχει λίπη ή έλαια, και το οποίο δεν θεωρείται σταθερό γαλακτώμα.

Οι ομογενοποιητές είναι στην ουσία αντλίες που λειτουργούν με έμβολα και αναγκάζουν μία συγκεκριμένη ποσότητα υγρού να περάσει μέσα από μία πολύ μικρή οπή κάτω από της κατάλληλες συνθήκες πίεσης και θερμοκρασίας. Αυτό γίνεται με τη χρήση μίας ή δύο βαλβίδων θετικής εκτόπισης (ομογενοποιητές ενός ή δύο σταδίων) οι οποίες προκαλούν μεγάλη πίεση (βλ. *Εικόνα 1.12*). Έτσι, μπορούν να χρησιμοποιηθούν είτε σε συστήματα παστερίωσης διαλείποντος έργου είτε σε συνεχή. Κατά την ομογενοποίηση, τα λιποσφαίρια του μίγματος, που βρίσκονται σε υγρή κατάσταση, κινούνται με μεγάλη ταχύτητα (12000 cm/s) στο εσωτερικό της βαλβίδας και συγκρούονται με τα τοιχώματα. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να αλλοιώνεται η μορφή και το σχήμα τους. Κατά την έξοδό του από τη βαλβίδα, το μίγμα υφίσταται απότομα έντονη πίεση, το οποίο έχει ως αποτέλεσμα τη στιγμιαία πτώση της τάσης ατμών του μίγματος και το σχηματισμό θυλάκων αέρα. Αυτό το ασταθές περιβάλλον πίεσης και παραμορφώσεων προκαλεί τη διάσπαση των λιποσφαιριών σε μικρότερα (βλ. *Εικόνα 1.13*). Καθώς μειώνεται το μέγεθος των λιποσφαιριών και αυξάνεται η ποσότητα τους, η ποσότητα των διαθέσιμων φωσφολιπιδίων (που μέχρι τότε βρίσκονταν στην επιφάνεια των λιποσφαιριών) για απορρόφηση δεν επαρκεί να καλύψει τη νέα ποσότητα των λιποσφαιριών. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να απορροφούνται από τα λιπαρά οι γαλακτωματοποιητές που έχουν προστεθεί στο μίγμα. Όταν η διάμετρος των σφαιριδίων φτάσει στο μισό της αρχικής της τιμής, τότε η ποσότητα τους έχει οκταπλασιαστεί, ενώ η διαθέσιμη ολική επιφάνεια έχει διπλασιαστεί αυξάνοντας έτσι και το ποσοστό των απορροφούμενων στερεών. Λόγω της καλύτερης διασποράς των λιπαρών και των πρωτεϊνών μέσα στο μίγμα, η υφή ενός ομογενοποιημένου προϊόντος είναι εμφανώς βελτιωμένη. Ανεπαρκής ομογενοποίηση μπορεί να έχει αντίθετα αποτελέσματα οδηγώντας στη βουτύρωση των λιπαρών. Ανεπαρκής ομογενοποίηση συμβαίνει συνήθως εξαιτίας της φθοράς κάποιων από τις βαλβίδες, της χαμηλής θερμοκρασίας του μίγματος ή της παρουσίας αέρα μέσα στο μίγμα.

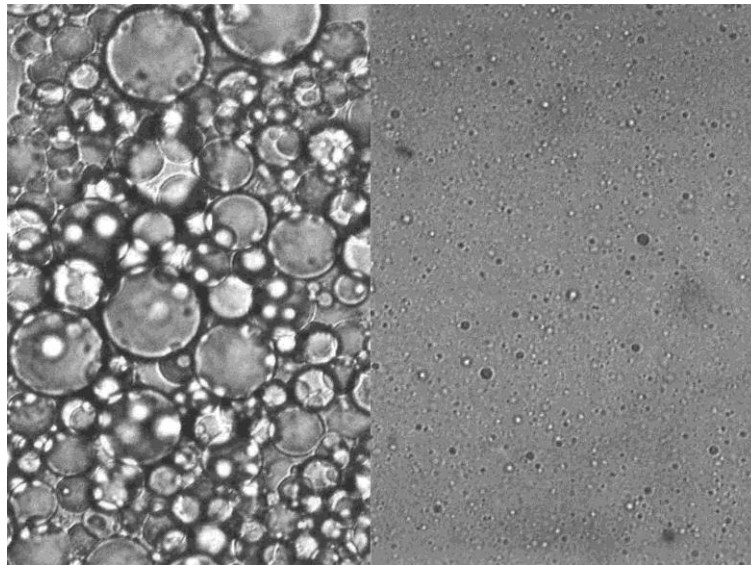
Η αποδοτικότητα της διεργασίας αυξάνεται με την άνοδο της θερμοκρασίας στους 80°C. Αν η ομογενοποίηση προηγείται της παστερίωσης τότε η χαμηλότερη θερμοκρασία ομογενοποίησης είναι 60°C. Σε αυτή τη θερμοκρασία η λιπάση του γάλακτος απενεργοποιείται, εξασφαλίζοντας ότι κατά τη διάρκεια της ομογενοποίησης δεν θα υπάρχει ο κίνδυνος λιπόλυσης των λιποσφαιριών αλλά μόνο μείωση του μεγέθους τους.

Η θέση της ομογενοποίησης στη γραμμή παραγωγής εξαρτάται από πολλούς παράγοντες. Συνήθως, όταν η παστερίωση είναι διαλείποντος έργου τότε η ομογενοποίηση γίνεται αμέσως μετά την παστερίωση. Στην περίπτωση που ο ομογενοποιητής αποτελεί μέρος ενός συνεχούς συστήματος, τότε η ομογενοποίηση βρίσκεται μεταξύ αναθέρμανσης και παστερίωσης.

Υπάρχουν διάφορες πιθανές πιέσεις λειτουργίας του ομογενοποιητή. Η επιλογή της πίεσης εξαρτάται από το σχεδιασμό της βαλβίδας εκτόπισης και από την ποσότητα των λιπαρών στο μίγμα. Συνήθεις πιέσεις για ένα μίγμα παγωτού με 10% λιπαρά και για ομογενοποίηση δύο σταδίων είναι 13,8 MPa (136 atm) και 3,45 MPa (34 atm) κατά το πρώτο και δεύτερο στάδιο, αντίστοιχα. Ομογενοποίηση σε πολύ υψηλότερες πιέσεις >200 MPa δημιουργεί πιο μικρά λιποσφαιρίδια αυξάνοντας την ολική διαθέσιμη επιφάνεια. Θα γίνει εκτενέστερη αναφορά στη συγκεκριμένη διεργασία υψηλής πίεσης σε ειδικό κεφάλαιο παρακάτω. Τέλος, θα πρέπει να σημειωθεί ότι όταν προστίθενται άλλα υλικά όπως το κακάο, οι συνήθεις πιέσεις λειτουργίας μεταβάλλονται (Goff et al. 2013, Clarke 2004).



Εικόνα 1.12. Σχηματική απεικόνιση ομογενοποιητή δύο σταδίων



Εικόνα 1.13. Μίγμα παγωτού από οπτικό μικροσκόπιο πριν από την ομογενοποίηση (αριστερά) και μετά την ομογενοποίηση (δεξιά).

1.5.6 Ωρίμανση

Η παστερίωση και η ομογενοποίηση μεταβάλλουν τη φυσική μορφή των αιωρούμενων στερεών στο μίγμα του παγωτού, και ιδιαίτερα των λιπαρών. Ως ωρίμανση ονομάζεται η

διεργασία ψύξης κάτω από τη θερμοκρασία των 4°C που ακολουθείται μετά τις δύο παραπάνω διεργασίες και έχει ως στόχο την κρυστάλλωση των λιπαρών. Ωστόσο, το μίγμα δεν μπορεί να καταψυχθεί ακόμη σε πολύ χαμηλές θερμοκρασίες για αυτό το λόγο συνήθως εφαρμόζεται ωρίμανση του μίγματος για 4-24 h.

Η ωρίμανση πρέπει να έχει αρκετή διάρκεια έτσι ώστε να μπορέσουν να πραγματοποιηθούν οι παρακάτω σημαντικές διεργασίες μέσα στο μίγμα:

- Πρώτον, να απορροφηθούν οι γαλακτωματοποιητικές ουσίες στην επιφάνεια των λιποσφαιριδίων εκτοπίζοντας ορισμένες από τις πρωτεΐνες του γάλακτος. Καθώς το μίγμα παγώνει τα μονο-διγλυκερίδια αρχίζουν να κρυσταλλώνονται, γίνονται πιο υδρόφοβα και έτσι ενώνονται πιο σταθερά με τα λιποσφαίρια.
- Δεύτερον, να κρυσταλλωθεί το λίπος που υπάρχει μέσα στα λιποσφαίρια. Η κρυστάλλωση γίνεται με σχετικά αργό ρυθμό καθώς είναι απαραίτητη η δημιουργία πυρήνων κρυστάλλωσης μέσα σε κάθε λιποσφαίριο. Τα μονο-διγλυκερίδια και τριγλυκερίδια με υψηλό σημείο ζέσεως μπορούν να λειτουργήσουν ως πυρήνες κρυστάλλωσης επιταχύνοντας έτσι την κρυστάλλωση των λιπαρών.

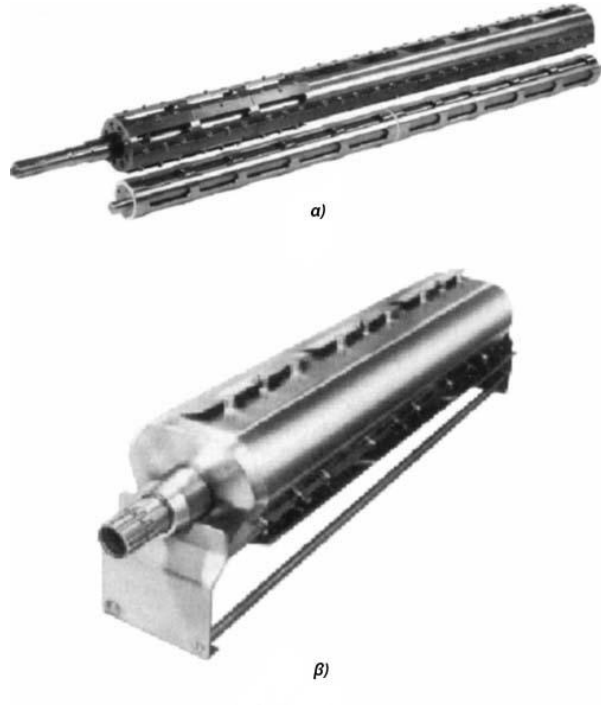
Χωρίς τη διαδικασία της ωρίμανσης καθίσταται αρκετά δύσκολη η πραγματοποίηση του επόμενου σταδίου, που είναι η ενσωμάτωση αέρα με ψύξη. Ο χρόνος ωρίμανσης εξαρτάται από τη φύση του μίγματος και τη χρήση του τελικού προϊόντος. Συνήθως η ωρίμανση γίνεται για διάστημα μίας νύκτας, δηλαδή περίπου για 8-12 h, μέσα στις δεξαμενές ωρίμανσης. Πρέπει να σημειωθεί ότι, κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης κάποιοι σταθεροποιητές, που απαιτούν χρόνο για την πλήρη ενυδάτωσή τους, ενυδατώνονται και αυξάνονται σε όγκο, αυξάνοντας έτσι και το ιζώδες του μίγματος (Goff et al. 2013, Clarke 2004).

1.5.7 Ενσωμάτωση αέρα-Κατάψυξη μίγματος

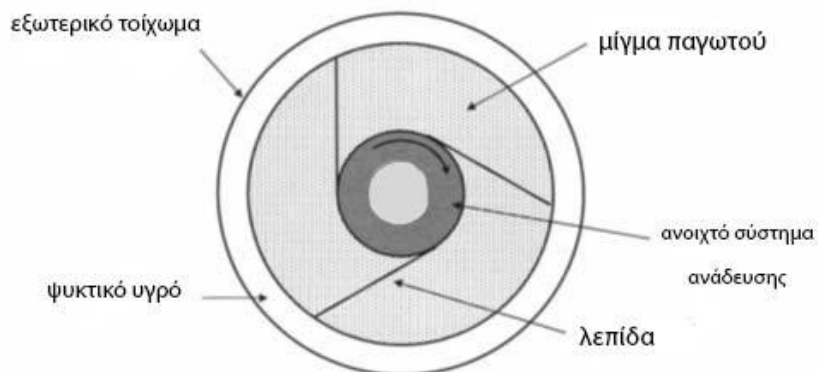
Με τα προηγούμενα στάδια της παραγωγικής διαδικασίας, διαμορφώνεται κυρίως ένα μέρος της μικροδομής του παγωτού, τα λιπαρά. Το επόμενο στάδιο, δηλαδή η ενσωμάτωση αέρα με ταυτόχρονη ψύξη του μίγματος, αποτελεί τον πυρήνα της διαδικασίας παρασκευής του παγωτού. Ένα εργοστασιακό μηχάνημα παρασκευής παγωτού μετατρέπει το μίγμα σε παγωτό ψύχοντάς το με ταυτόχρονη ενσωμάτωση αέρα (απόδραση) και ανάδευση. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία των τριών διαφορετικών φάσεων που συναντώνται στο παγωτό. Οι οικιακές παγωτομηχανές είναι βασισμένες στην ίδια λογική. Η παραπάνω διεργασία ονομάζεται επίσης και δυναμική κατάψυξη λόγω της ανάδευσης, σε αντίθεση με τη στατική κατάψυξη που ακολουθεί, όπου το μερικώς κατεψυγμένο προϊόν προωθείται για σκλήρυνση, χωρίς όμως ανάδευση.

Οι σύγχρονες παγωτομηχανές ανήκουν σε μία κατηγορία εξοπλισμών που ονομάζονται εναλλάκτες θερμότητας με πτερύγια απόξεσης επιφάνειας (scraped surface heat exchangers) και χρησιμοποιούν ως ψυκτικό υγρό αμμωνία ή Freon που ρέει στο εξωτερικό τοίχωμα της δεξαμενής. Η ανάδευση και η ενσωμάτωση αέρα γίνονται με χρήση μηχανικών μέσων με ενσωματωμένες λεπίδες απόξεσης, που χρησιμεύουν στην ανάκτηση του παγωμένου στρώματος μίγματος από τα τοιχώματα της δεξαμενής. Υπάρχουν δύο ειδών

μηχανικά συστήματα ανάδευσης, τα κλειστά και τα ανοιχτά (βλ. *Εικόνες 1.14-1.15*). Όπως θα αναφερθεί, παρακάτω και τα δύο συστήματα έχουν πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα. Το ποιό θα χρησιμοποιηθεί τελικά στην παρασκευή του παγωτού εξαρτάται από πολλούς παράγοντες όπως τη χρήση του τελικού προϊόντος και την επιθυμητή υφή.



Εικόνα 1.14. α) ανοιχτό μέσο ανάδευσης και β) κλειστό μέσο ανάδευσης



Εικόνα 1.15. Παγωτομηχανή με ανοιχτό σύστημα ανάδευσης

Κατά τη διάρκεια της δυναμικής κατάψυξης, το υγρό μίγμα παγωτού μετατρέπεται σε ένα σύνθετο, πολυφασικό προϊόν που περιέχει διασκορπισμένους παγοκρυστάλλους, θύλακες αέρα, μερικώς ενωμένα λιπαρά και κολλοειδείς πρωτεΐνες μέσα σε ένα ιξώδες διάλυμα σακχάρων, πρωτεϊνών, λιπαρών, σταθεροποιητών και αλάτων. Οι πιο σημαντικές αλλαγές στο μίγμα κατά τη διάρκεια αυτής της διεργασίας είναι ο σχηματισμός παγοκρυστάλλων, η ενσωμάτωση θυλάκων αέρα και η αποσταθεροποίηση των

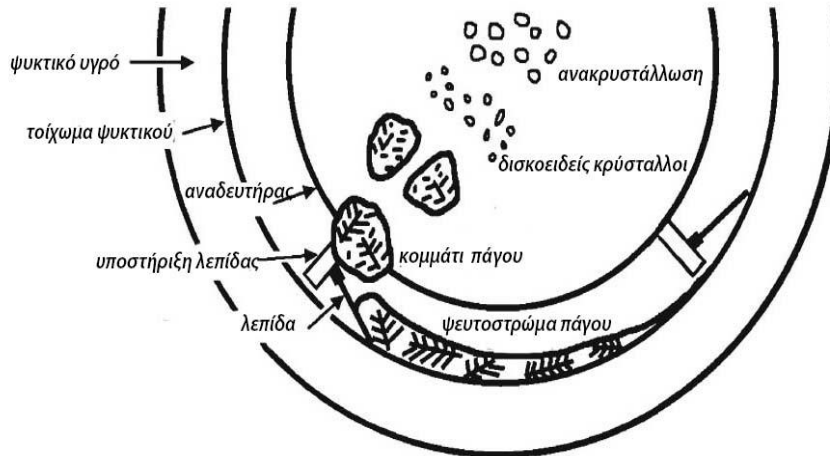
γαλακτωμάτων των λιπαρών. Η δυναμική κατάψυξη μπορεί να γίνει σε καταψύκτες είτε συνεχούς λειτουργίας, είτε διαλείποντος έργου. Οι παραπάνω μεταβολές συμβαίνουν ανεξάρτητα από το είδος του χρησιμοποιούμενου καταψύκτη, ωστόσο έχουν παρατηρηθεί διαφορές στο τελικό μίγμα οι οποίες εξαρτώνται τόσο από το είδος της διεργασίας όσο και από τα συστατικά του αρχικού μίγματος (Clarke 2004, Marshall et al 2003). Παρακάτω παρουσιάζονται αναλυτικά τα τέσσερα βασικά δομικά στοιχεία που σχηματίζονται κατά τη δυναμική κατάψυξη και καθορίζουν την τελική μορφή του παγωτού.

Σχηματισμός παγοκρυστάλλων

Η δυναμική κατάψυξη είναι το μόνο στάδιο στη διαδικασία παρασκευής του παγωτού στο οποίο δημιουργούνται παγοκρυστάλλοι. Όταν το μίγμα παγωτού εισέρχεται στη δεξαμενή κατάψυξης βρίσκεται σε θερμοκρασία 0-4°C, δηλαδή πάνω από το σημείο πήξης του, ενώ το ψυκτικό υγρό έχει θερμοκρασία περίπου -30°C. Η μεγάλη αυτή διαφορά θερμοκρασίας (ΔT) που υπάρχει ανάμεσα στο ψυκτικό υγρό και το μίγμα παγωτού λειτουργεί ως δυναμικό για τη μεταφορά θερμότητας από το μίγμα στο ψυκτικό μέχρι η θερμοκρασία του μίγματος να φτάσει κάτω από το σημείο πήξης του (υπόψυξη). Η μεταφορά θερμότητας γίνεται αρχικά με αρκετά μεγάλο ρυθμό λόγω του μεγάλου δυναμικού που υπάρχει, όμως κατά τη διάρκεια της διεργασίας ο ρυθμός μειώνεται σημαντικά. Στη συνέχεια, ξεκινάει ο σχηματισμός των πρώιμων κρυστάλλων, ένα στάδιο που χαρακτηρίζεται ως πυρήνωση και το οποίο πραγματοποιείται στα τοιχώματα της δεξαμενής. Αυτό συμβαίνει για δύο λόγους: α) υπάρχει πολύ μεγάλη διαφορά θερμοκρασίας ανάμεσα στα μεταλλικά τοιχώματα και το μίγμα, και β) είναι πιο εύκολος ο σχηματισμός κρυστάλλων πάνω σε μία επιφάνεια. Το παγωμένο στρώμα που σχηματίζεται πάνω στα τοιχώματα όμως, δε θεωρείται πλήρως κρυσταλλοποιημένο (ψευδοστρώμα-slush) καθώς αποτελείται από μη ολοκληρωμένους κρυστάλλους που ονομάζονται δενδρίτες και συμπυκνωμένο διάλυμα μίγματος (σάκχαρα, άλατα, λιπαρά κ.α.). Επειδή όμως το παγωμένο αυτό στρώμα δεν αποτελεί τόσο καλό αγωγό για τη μεταφορά θερμότητας, χρησιμοποιούνται λεπίδες απόξεσης για την απομάκρυνσή του από τα τοιχώματα. Οι λεπίδες αυτές αναμιγνύουν το ψευδοστρώμα με το υψηλότερης θερμοκρασίας μίγμα, το οποίο έχει ως αποτέλεσμα την τήξη των κρυστάλλων του ψευδοστρώματος. Όταν η θερμοκρασία του κυρίως μίγματος μειωθεί αρκετά, τότε ορισμένοι δενδρίτες του παγωμένου στρώματος θα συνεχίσουν να υπάρχουν μέσα στο μίγμα. Οι κρυστάλλοι αυτοί, μεγαλώνουν σε μέγεθος, ωριμάζουν και μετατρέπονται σε πλήρως διαμορφωμένους δισκοειδείς παγοκρυστάλλους (βλ. *Εικόνα 1.16*). Καθώς οι λεπίδες απομακρύνουν το παγωμένο μίγμα, μερικά θραύσματα δενδριτών παραμένουν πάνω στα τοιχώματα και λειτουργούν ως πυρήνες για τη δημιουργία νέων κρυστάλλων και συνεπώς νέου παγωμένου στρώματος. Έτσι, με το συνεχή κύκλο απόξεσης και δημιουργίας ψευδοστρώματος αυξάνεται το ποσοστό των παγοκρυστάλλων μέσα στο μίγμα. Ωστόσο, στο τελικό προϊόν θα υπάρχει και ένα μικρό ποσοστό δενδριτών που θα έχουν διατηρηθεί και δεν θα έχουν μετασχηματιστεί σε ολοκληρωμένους κρυστάλλους.

Κατά τη διάρκεια της κατάψυξης, το περιεχόμενο νερό του μίγματος μετατρέπεται σταδιακά σε πάγο. Όσο περισσότερο νερό μετατρέπεται σε πάγο, τόσο αυξάνεται το ιξώδες του εναπομείναντος μίγματος αφού μειώνεται η ποσότητα του περιεχόμενου νερού. Συνεπώς, το σημείο πήξης του μίγματος που απομένει, μειώνεται συνεχώς. Σε ένα καθαρό

ρευστό κατά τη διάρκεια της κρυστάλλωσης η θερμοκρασία παραμένει σταθερή. Ωστόσο, στη συγκεκριμένη περίπτωση που το σημείο πήξης μειώνεται συνεχώς, η θερμοκρασία παρουσιάζει συνεχή μείωση αλλά με αρκετά χαμηλό ρυθμό. Ο χαμηλός ρυθμός αυτός οφείλεται στη δυσκολία του φυκτικού υγρού να μειώσει περαιτέρω τη θερμοκρασία του μίγματος.



Εικόνα 1.16. Σχηματισμός και ωρίμανση των παγοκρυστάλλων

Κατά τη διάρκεια της διεργασίας αποβάλλεται στο μίγμα θερμότητα, η οποία αποτελεί άθροισμα της λανθάνουσας θερμότητας πήξης και της θερμότητας τριβής που παράγεται κατά την κίνηση του αναδευτήρα. Για τους παραπάνω λόγους θεωρείται ότι το νερό που περιέχεται σε ένα μίγμα παγωτού δεν μπορεί ποτέ να μετασχηματιστεί πλήρως σε πάγο ακόμη και στις χαμηλότερες θερμοκρασίες. Επομένως, το τελικό προϊόν περιέχει ένα σημαντικό ποσοστό νερού το οποίο βρίσκεται σε υγρή μορφή.

Παρόλα αυτά, ο σχηματισμός πολλών κρυστάλλων μέσα στο μίγμα δεν είναι αρκετός για να εγγυηθεί την παρασκευή καλής ποιότητας παγωτού. Το μέγεθος των σχηματισμένων παγοκρυστάλλων καθώς και η διασπορά τους μέσα στο τελικό μίγμα έχουν καθοριστικό ρόλο στην υφή και την ποιότητα του τελικού προϊόντος. Οι συνθήκες λειτουργίας της διεργασίας πρέπει να είναι σχεδιασμένες έτσι ώστε να προωθούν τη δημιουργία μικρών παγοκρυστάλλων (Cook & Hartel 2010, Drewett & Hartel 2007, Goff et al 2013, Hartel 1996, Marshall et al. 2003).

Παρακάτω θα γίνει εκτενέστερη αναφορά στην επίδραση των παγοκρυστάλλων στα ποιοτικά χαρακτηριστικά του παγωτού καθώς και στις απαραίτητες συνθήκες δυναμικής κατάψυξης.

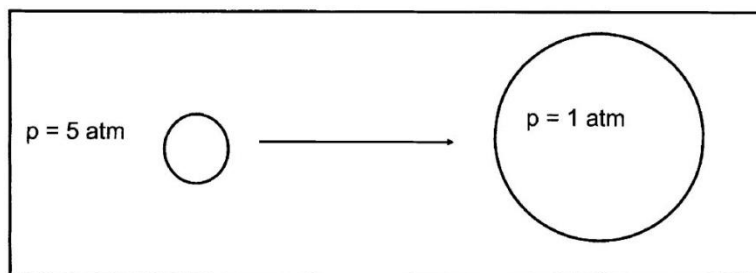
Ενσωμάτωση αέρα

Στις περισσότερες διεργασίες δυναμικής κατάψυξης σχεδόν ταυτόχρονα με το σχηματισμό των παγοκρυστάλλων ενσωματώνεται και ένα ποσοστό αέρα στο μίγμα το οποίο μετασχηματίζεται τελικά σε φυσαλίδες αέρα. Παρόλο που παρατηρούνται διαφορές

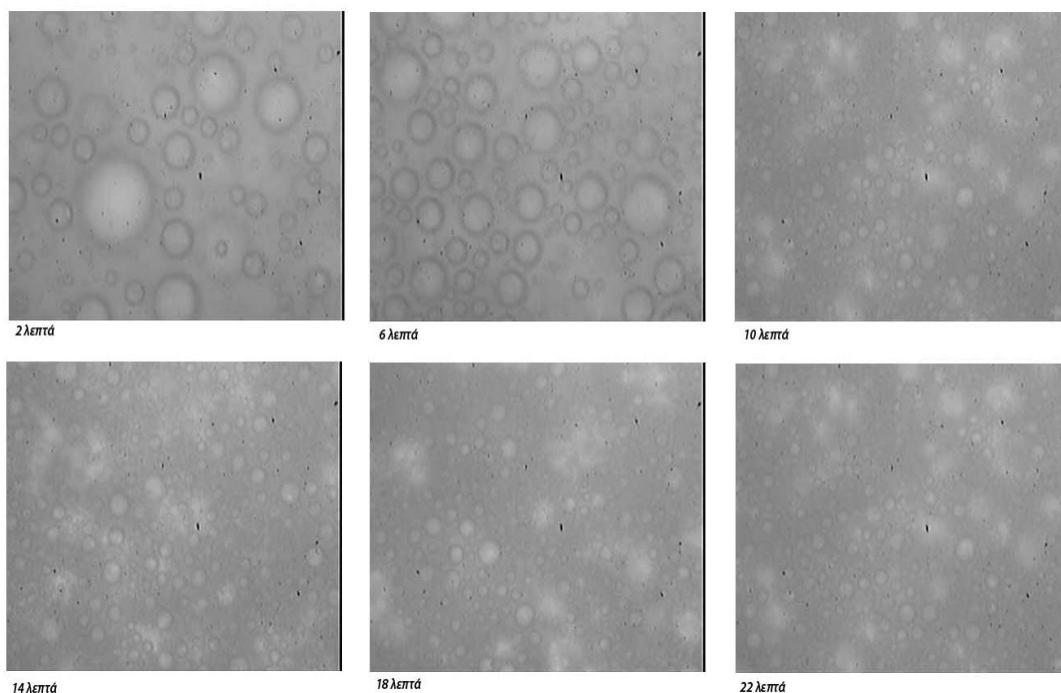
μεταξύ των δύο τρόπων κατάψυξης (συνεχούς ή διαλείποντος έργου), η ενσωμάτωση αέρα ακολουθεί περίπου τις ίδιες αρχές ανεξάρτητα από το είδος του καταψύκτη που χρησιμοποιείται. Αρχικά, ο αέρας ενσωματώνεται στο υγρό μίγμα με τη μορφή μεγάλων θυλάκων, το μέγεθος των οποίων εξαρτάται από τον τύπο του καταψύκτη και την τεχνική ενσωμάτωσης αέρα. Οι θύλακες αυτοί είναι ασταθείς και έτσι κατά τη διάρκεια της διεργασίας διασπώνται σε μικρότερες φυσαλίδες αέρα εξαιτίας των διατμητικών τάσεων που υπάρχουν μέσα στο μίγμα. Για την αποτελεσματική μείωση μεγέθους των φυσαλίδων αέρα, πρέπει οι διατμητικές τάσεις που επικρατούν να υπερνικήσουν την δύναμη Laplace που τείνει να αυξήσει το μέγεθος των φυσαλίδων. Στη συνέχεια, οι φυσαλίδες διασπείρονται στο κυρίως μίγμα μέσω του μηχανισμού απόξεσης. Μελέτες έχουν δείξει ότι, η ταυτόχρονη ψύξη του μίγματος κατά την ενσωμάτωση αέρα είναι απαραίτητη για το σωστό σχηματισμό των φυσαλίδων. Ανάδευση του μίγματος σε θερμοκρασίες ανώτερες του σημείου κατάψυξης μπορεί να οδηγήσει σε περιορισμένη διόγκωση και μεγάλους θύλακες αέρα. Η μείωση του μεγέθους των αρχικών θυλάκων καθώς και η σταθερότητα των φυσαλίδων είναι αλληλένδετες με την αύξηση του ιξώδους του μίγματος και επομένως με τη θερμοκρασία.

Στις συνεχείς διεργασίες, ο αέρας εισάγεται υπό πίεση με τη μορφή μικρών φυσαλίδων, ενώ στις διεργασίες διαλείποντος έργου ο αέρας εισχωρεί στο μίγμα μέσω της διαδικασίας ανάμιξης. Σε πολλές περιπτώσεις χρησιμοποιείται μία διεργασία προ-αέρωσης υπό έντονες συνθήκες διάτμησης όπου μπορεί να ενσωματωθεί ένα ποσοστό αέρα πριν από την κατάψυξη.

Το μέγεθος των διασκορπισμένων φυσαλίδων αέρα μπορεί να διαφέρει ανάλογα με το είδος του χρησιμοποιούμενου καταψύκτη. Στους καταψύκτες διαλείποντος έργου, οι οποίοι λειτουργούν σε ατμοσφαιρική πίεση, οι φυσαλίδες του μίγματος έχουν την ίδια πίεση με το περιβάλλον οπότε το μέγεθος τους παραμένει σταθερό κατά την έξοδο του μίγματος από τη διεργασία. Στους καταψύκτες συνεχούς έργου ωστόσο, παρατηρείται διαστολή των φυσαλίδων αέρα κατά την έξοδο. Ο βασικός λόγος για αυτήν την αύξηση όγκου είναι η πτώση πίεσης ($dP = 4 \text{ atm}$) που παρατηρείται στην έξοδο του καταψύκτη, αφού οι συνεχείς καταψύκτες λειτουργούν σε πιέσεις μεγαλύτερες της ατμοσφαιρικής (βλ. *Εικόνα 1.17*). Το μέγεθος και η διασπορά των φυσαλίδων έχει σημαντική επίδραση στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του παγωτού. Παρακάτω θα γίνει αναφορά στην επίδραση και στον έλεγχο του ενσωματωμένου αέρα στο τελικό προϊόν, ο οποίος μετριέται από την ολική διόγκωση του μίγματος παγωτού (overrun) (Goff et al. 2013, Chang & Hartel 2002a, 2002b, Goff 2002, Clarke 2004). Παρακάτω παρουσιάζεται η μεταβολή των φυσαλίδων αέρα κατά τη διαδικασία της δυναμικής κατάψυξης (βλ. *Εικόνα 1.18*).



Εικόνα 1.17. Σχηματική απεικόνιση διαστολής των φυσαλίδων αέρα



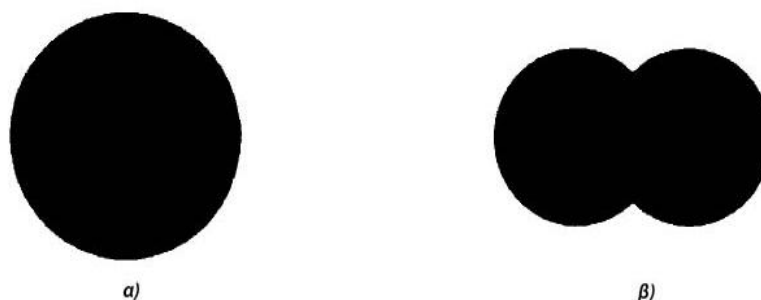
Εικόνα 1.18. Αλλαγές στις φουσαλίδες αέρα κατά τη διάρκεια της διεργασίας της δυναμικής κατάψυξης, όπως μετρήθηκαν από οπτικό μικροσκόπιο (50 μm) στα 2, 6, 10, 14, 18 και 22 λεπτά αντίστοιχα.

Αποσταθεροποίηση λιπαρών – Σχηματισμός δικτύων

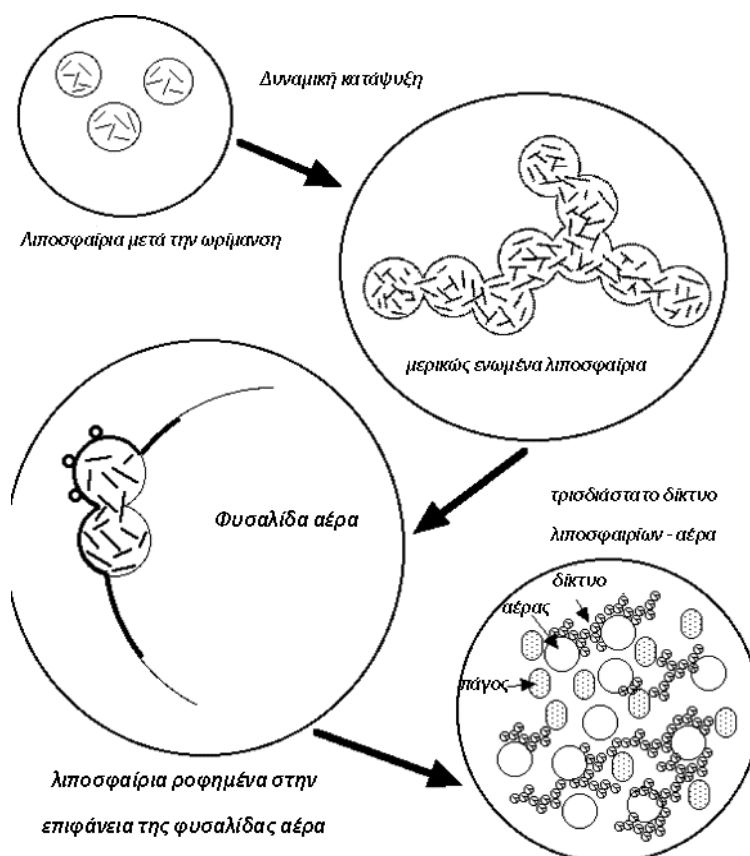
Το μίγμα του παγωτού, στην τελική του μορφή, περιέχει πληθώρα διασκορπισμένων λιποσφαιρίων στην επιφάνεια των οποίων βρίσκονται οι πρωτεΐνες γάλακτος και οι γαλακτωματοποιητικές ουσίες. Κατά τη διάρκεια όμως της απόδρασης με ψύξη, ορισμένα σωματίδια λιπαρών συνενώνονται, σχηματίζοντας δίκτυα λιπαρών στο τελικό προϊόν.

Στην πραγματικότητα, η διαδικασία δημιουργίας αυτών των δικτύων ξεκινάει από τις φάσεις της ομογενοποίησης και της ωρίμανσης. Συγκεκριμένα, κατά την ομογενοποίηση διασκορπίζονται τα σωματίδια των λιπαρών και σταθεροποιούνται μέσα στο μίγμα με τη βοήθεια των πρωτεϊνών. Τα λιπαρά στο μίγμα αποτελούνται κυρίως από τριγλυκερίδια και η δομή των οποίων οδηγεί στη μερική στερεοποίηση των λιποσφαιρίων σε χαμηλές θερμοκρασίες. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι τα τριγλυκερίδια με υψηλό σημείο τήξης κρυσταλλοποιούνται, ενώ εκείνα με χαμηλά σημεία τήξης παραμένουν σε ρευστή μορφή στο μίγμα του παγωτού. Το μεγαλύτερο ποσοστό της κρυσταλλοποίησης λαμβάνει χώρα κατά το στάδιο της ωρίμανσης. Στη συνέχεια κατά στάδιο της ωρίμανσης, οι πρωτεΐνες στην επιφάνεια των λιποσφαιρίων αντικαθίστανται από τους γαλακτωματοποιητές. Αυτή η αντικατάσταση έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της διεπιφανειακής τάσης των λιποσφαιρίων, δημιουργώντας έτσι ένα ασταθές γαλάκτωμα σε συνθήκες έντονων διατμητικών τάσεων. Έτσι, κατά τη διάρκεια της δυναμικής κατάψυξης οι διατμητικές τάσεις που ασκούνται οδηγούν στην αποσταθεροποίηση των γαλακτωμάτων και στο σχηματισμό συστάδων λιποσφαιρίων. Υπάρχουν δύο πιθανές δομές ενωμένων λιποσφαιρίων, οι οποίες εξαρτώνται από τη μορφή των λιπαρών. Όταν τα λιποσφαίρια είναι μερικώς κρυσταλλοποιημένα τότε

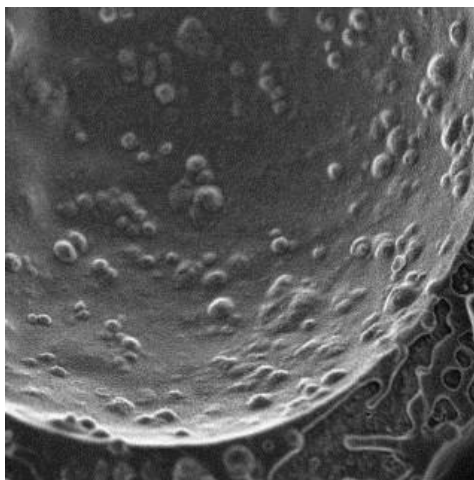
γίνεται μερική συνένωση των λιποσφαιριών, ενώ όταν δεν είναι κρυσταλλοποιημένα υπάρχει πλήρης συνένωση σε ένα μεγαλύτερο σφαιρικό σωματίδιο (βλ. *Εικόνα 1.19*). Οι συστάδες λιποσφαιριών που δημιουργούνται απορροφούνται μερικώς στην επιφάνεια των φυσαλίδων αέρα που υπάρχουν δημιουργώντας ένα δίκτυο λιποσφαιριών και φυσαλίδων αέρα (βλ. *Εικόνες 1.20 - 1.21*). Το δίκτυο αυτό προσφέρει παραπάνω σταθερότητα στο τελικό προϊόν καθώς και αντοχή στη μαζική κατάρρευση των φυσαλίδων αέρα κατά την τήξη του παγωτού.



Εικόνα 1.19. α) πλήρης συνένωση υγρών λιποσφαιριδίων, β) μερική συνένωση λιποσφαιριδίων



Εικόνα 1.20. Απεικόνιση του σχηματισμού του δικτύου λιποσφαιρίων-φυσαλίδων αέρα στο παγωτό



Εικόνα 1.21. Απεικόνιση φυσαλίδας αέρα με ροφημένα λιποσφαίρια στην επιφάνεια με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης χαμηλής θερμοκρασίας LT-SEM

Το ποσοστό αποσταθεροποίησης των λιπαρών εξαρτάται από το είδος και την ποσότητα των χρησιμοποιούμενων γαλακτωματοποιητών. Για παράδειγμα, γαλακτωματοποιητικές ουσίες με μεγάλο βαθμό ακορεστότητας σε περιεχόμενα λιπαρά οξέα οδηγούν σε μεγαλύτερα ποσοστά αποσταθεροποίησης. Επιπλέον, διαφορές στην αποσταθεροποίηση παρατηρούνται και ανάμεσα στους τύπους καταψύκτη. Συγκεκριμένα, στους συνεχείς καταψύκτες παρατηρείται μεγαλύτερη αποσταθεροποίηση εξαιτίας της μεγάλης διαχωριστικής δύναμης του μηχανισμού απόξεσης. Περαιτέρω μελέτες έχουν δείξει ότι, η αποσταθεροποίηση των λιπαρών επηρεάζεται επίσης από το είδος των πρωτεϊνών που υπάρχουν στο μίγμα, το είδος των χρησιμοποιούμενων λιπαρών και από τις χρησιμοποιούμενες πιέσεις κατά την ομογενοποίηση (Goff et al. 1999, Goff et al. 2003, Clarke 2004, Goff 2002, Eisner et al. 2005).

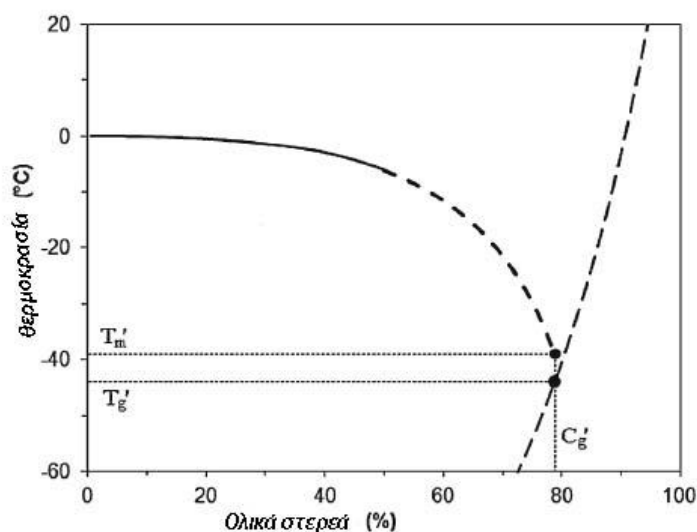
Φάση ορού (μήτρα)

Στο παγωτό, εκτός από τις τρεις παραπάνω φάσεις, υπάρχει και η φάση του ορού ή αλλιώς η μήτρα, η οποία ενώνει σε ένα δίκτυο τις διαφορετικές φάσεις και συγκρατεί ολόκληρη τη δομή του παγωτού. Ουσιαστικά, πρόκειται για τη ρευστή φάση του παγωτού που αποτελείται από νερό και διαλυμένα συστατικά όπως γλυκαντικές ουσίες, άλατα, σταθεροποιητές και ορισμένες πρωτεΐνες. Οι ιδιότητες της φάσης αυτής εξαρτώνται από τη σύσταση του μίγματος και από τη θερμοκρασία.

Κατά τη διάρκεια της δυναμικής κατάψυξης, η ρευστή φάση γίνεται όλο και πιο συμπυκνωμένη με την πτώση της θερμοκρασίας. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη συνεχή ταπείνωση του σημείου τήξης/κατάψυξης του υγρού μίγματος. Η πτώση αυτή είναι αλληλένδετη με τη συγκέντρωση των διαλυμένων ουσιών στο διάλυμα (Νόμος του Raoult) και το ποσοστό του παγωμένου νερού. Εφόσον ισχύει η ισορροπία των φάσεων, η σχέση μεταξύ της θερμοκρασίας και του ποσοστού των σχηματισμένων παγοκρυστάλλων δίνεται

από την καμπύλη τήξης του διαγράμματος φάσεων. Η καμπύλη αυτή είναι καθοριστικής σημασίας για τον έλεγχο του ποσοστού των σχηματισμένων παγοκρυστάλλων και επομένως και της σκληρότητας του παγωτού.

Η συνεχής αύξηση της συγκέντρωσης της υγρής φάσης, καθώς όλο και περισσότερο νερό παγώνει, συνεπάγεται και αύξηση του ιξώδους. Εάν η συγκέντρωση αυξηθεί τόσο ώστε το ποσοστό του νερού στη μήτρα να είναι 18-20% της αρχικής ποσότητας του νερού, τότε το σημείο κατάψυξης θα έφτανε σε μία θερμοκρασία όπου δε θα μπορούσε να σχηματιστεί παραπάνω πάχος λόγω των περιορισμών στην κινητικότητα των μορίων. Το σημείο αυτό, ονομάζεται θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης (glass transition temperature, T_g) κάτω από την οποία το μίγμα αποκτά υαλώδη δομή. Μία θερμοκρασία εξίσου καθοριστική στην παρασκευή παγωτού είναι η μηχανική θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης (mechanical glass transition temperature, T_m), η οποία είναι πρακτικής σημασίας καθώς θεωρείται η κρίσιμη θερμοκρασία αποθήκευσης (βλ. *Εικόνα 1.22*). Στη θερμοκρασία αυτή, η κινητικότητα των μορίων έχει αυξηθεί ικανοποιητικά και επιτρέπεται η ροή σωματιδίων. Σε θερμοκρασίες χαμηλότερες της T_m , το τελικό προϊόν παραμένει σταθερό επ' αόριστον, ενώ σε υψηλότερες θερμοκρασίες η διάρκεια ζωής του μειώνεται εξαιτίας της διάχυσης των σωματιδίων και της ανάπτυξης των παγοκρυστάλλων.



Εικόνα 1.22. Διάγραμμα φάσης για μίγμα παγωτού

T_g : θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης, T_m : μηχανική θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης

Ο ρόλος των σακχάρων και των πρωτεϊνών στο μίγμα του παγωτού είναι καθοριστικός κατά τη δυναμική κατάψυξη. Στην υγρή φάση οι πρωτεΐνες και τα σάκχαρα παραμένουν διαχωρισμένα επηρεάζοντας το καθένα ξεχωριστά τη δομή του μίγματος. Μελέτες έχουν δείξει την αρνητική επίδραση της κρυστάλλωσης της λακτόζης στην υφή του παγωτού (αμμώδη υφή), αλλά και τη σημασία της ενυδάτωσης των πρωτεϊνών γάλακτος στη ρεολογική συμπεριφορά του μίγματος. Ωστόσο, ένα παράδοξο που παρατηρήθηκε είναι ότι η δομή των καζεϊνικών μικυλίων δεν επηρεάζεται κατά τη δυναμική κατάψυξη (Goff & Hartel 2013, Goff 2002, Goff 1994).

1.5.8 Συσκευασία

Μετά τη διαδικασία της δυναμικής κατάψυξης ακολουθεί η συσκευασία του προϊόντος. Όταν το παγωτό παραλαμβάνεται από τον καταψύκτη πρέπει να τοποθετεί στους κατάλληλους περιέκτες ώστε να αποκτήσει το ανάλογο σχήμα, μέγεθος και εμφάνιση. Η σωστή συσκευασία συμβάλλει στον αποδοτικότερο λειτουργικό χειρισμό του προϊόντος, στην αποδοτικότερη σκλήρυνση, στην προστασία του καθώς και στην ικανοποίηση του καταναλωτή. Η επιλογή συσκευασίας εξαρτάται από πολλούς παράγοντες μεταξύ άλλων και ο οικονομικός. Έτσι, για την προστασία των καταναλωτών η Παγκόσμια Ομοσπονδία Γαλακτοκομικών εξέδωσε τον Τεχνολογικό Οδηγό Συσκευασίας για το Γάλα και τα Γαλακτοκομικά προϊόντα (IDF 1995), ο οποίος περιλαμβάνει όλους του παράγοντες όπως την αποδοτικότητα της παραγωγής, τις πρώτες ύλες του προϊόντος και τη δημόσια υγεία. Επιπλέον, καθίσταται απαραίτητη η παρουσία ετικέτας πάνω στη συσκευασία όπου θα αναγράφονται τα συστατικά του τελικού προϊόντος με φθίνουσα σειρά συγκέντρωσης.

Σήμερα, η χρήση πλαστικών στις συσκευασίες τροφίμων δημιουργεί ανησυχίες για την ασφάλεια του καταναλωτή λόγω της παρουσίας πολυμερών ή άλλων τοξικών ουσιών οι οποίες μπορεί να μεταφερθούν στο τρόφιμο. Στην ισχύουσα νομοθεσία περιέχεται μία λίστα με τις επιτρεπόμενες ουσίες και τις συγκεντρώσεις τους στις συσκευασίες τροφίμων καθώς και ειδικούς κανονισμούς που πρέπει να ακολουθούνται κατά την παραγωγή συσκευασιών τροφίμων. Ωστόσο, όσον αφορά στο παγωτό, η μεταφορά ουσιών από τη συσκευασία στο τελικό προϊόν είναι μηδαμινή εξαιτίας των χαμηλών θερμοκρασιών αποθήκευσης και της ραγδαίας μείωσης της μοριακής διάχυσης (Goff & Hartel 2013).

1.5.9 Σκλήρυνση

Όταν το παγωτό τοποθετείται στους περιέκτες είναι σε ημιστερεή κατάσταση και έχει την επιθυμητή σκληρότητα για να διατηρήσει το σχήμα του. Το επόμενο βήμα στη διαδικασία παρασκευής παγωτού είναι μία ακόμα διεργασία κατάψυξης που ονομάζεται στατική κατάψυξη ή αλλιώς σκλήρυνση.

Η σκλήρυνση είναι μια διεργασία παρόμοια με τη δυναμική κατάψυξη αλλά με δύο βασικές διαφορές, τη χρήση πολύ χαμηλών θερμοκρασιών (-30°C) και την έλλειψη ανάδευσης. Η αποθήκευση του παγωτού χωρίς σκλήρυνση θα πρέπει να αποφεύγεται, καθώς μπορεί να οδηγήσει σε παραμόρφωση του προϊόντος, μείωση του περιεχόμενου αέρα και αλλοίωση του χρώματος. Μικροί χρόνοι σκλήρυνσης είναι επιθυμητοί, καθώς παρατεταμένη σκλήρυνση οδηγεί στην αύξηση του μεγέθους των παγοκρυστάλλων και των φυσαλίδων αέρα, μειώνοντας με αυτόν τον τρόπο την κρεμμώδη υφή του τελικού προϊόντος.

Η σκλήρυνση θεωρείται επιτυχημένη όταν η θερμοκρασία στο κέντρο της συσκευασίας φτάσει τουλάχιστον τους -18°C . Η διεργασία αυτή εξαρτάται από το μέγεθος του προϊόντος και μπορεί να διαρκέσει από 30 min για μικρές συσκευασίες έως 24 h για μεγαλύτερες. Με τη γρήγορη στατική κατάψυξη στόχος είναι η μείωση της θερμοκρασίας με μεγάλο ρυθμό στο κέντρο της συσκευασίας, το οποίο μπορεί να επιτευχθεί σε σήραγγες σκλήρυνσης.

Αλλαγές στη μορφολογία των παγοκρυστάλλων κατά την σιλήρυνση

Μετά τη δυναμική κατάψυξη, μόνο το 33-67% του νερού στο μίγμα βρίσκεται σε μορφή παγοκρυστάλλων, ποσοστό που εξαρτάται από τη σύσταση του μίγματος και τη θερμοκρασία εξόδου από τον καταψύκτη. Κατά τη διεργασία της σιλήρυνσης, όπου η θερμοκρασία του παγωτού μειώνεται κατά πολύ, το παραπάνω ποσοστό αυξάνεται στο 75-80%. Πρέπει να σημειωθεί ότι η δημιουργία πυρήνων κρυστάλλωσης (πυρήνωση) και επομένως ο σχηματισμός νέων παγοκρυστάλλων συμβαίνει μόνο στο στάδιο της δυναμικής κατάψυξης. Ως εκ τούτου, αυτή η αύξηση στο ποσοστό του κρυσταλλωμένου νερού προέρχεται από την αύξηση του μεγέθους των ήδη περιεχόμενων παγοκρυστάλλων. Κατά συνέπεια, όσο περισσότεροι κρύσταλλοι σχηματιστούν κατά τη δυναμική κατάψυξη τόσο μικρότερη θα είναι η μετέπειτα αύξηση στο μέγεθος τους. Μία συνήθης αύξηση όγκου ανέρχεται σε ποσοστό 30-40% (από περίπου 30 μm σε 45-50 μm).

Ωστόσο, η παραπάνω αύξηση στο μέγεθος των παγοκρυστάλλων δεν οφείλεται μόνο στην αύξηση του κρυσταλλωμένου νερού στο παγωτό. Κατά το χρονικό διάστημα που απαιτείται για την πτώση της θερμοκρασίας του μίγματος από τους -5°C στους -18°C , ορισμένοι από τους παγοκρυστάλλους που έχουν σχηματιστεί τήκονται εξαιτίας των υψηλών θερμοκρασιών. Όπως είναι λογικό, οι μικρότεροι κρύσταλλοι επηρεάζονται πιο εύκολα από τις υψηλές θερμοκρασίες, ενώ αντίθετα οι μεγαλύτεροι μεγαλώνουν σε μέγεθος. Το παραπάνω φαινόμενο ονομάζεται ανακρυστάλλωση και περιγράφει την αύξηση του μεγέθους των παγοκρυστάλλων σε θερμοκρασίες κοντά στο σημείο τήξης. Ο ρυθμός με τον οποίο ψύχεται ένα παγωτό εξαρτάται από τη θερμική αγωγιμότητα του μίγματος. Κατά τη μετάπτωση φάσης του νερού με την ψύξη, παράγεται θερμότητα η οποία μειώνει το ρυθμό ψύξης. Ειδικότερα στο κέντρο του μίγματος, η μείωση είναι πιο έντονη, καθώς ψύξη γίνεται από το περιβάλλον προς τα μέσα, με συνέπεια το κέντρο του παγωτού να ψύχεται πιο αργά από την περιφερειακή επιφάνειά του. Μελέτες έδειξαν ότι, η θερμοκρασία στο κέντρο της συσκευασίας κατά τη σιλήρυνση αρχίζει να μειώνεται ύστερα από 6 λεπτά, το οποίο σημαίνει ότι σε αυτό το χρονικό διάστημα ευνοούνται οι μηχανισμοί ανακρυστάλλωσης (Hartel 1998). Μάλιστα, παρατηρείται ότι στο τελικό προϊόν οι κρύσταλλοι της επιφάνειας έχουν περίπου 10 μm μικρότερη διάμετρο από τους κρυστάλλους στο κέντρο του παγωτού. Είναι προφανές ότι οι μικρότεροι χρόνοι σιλήρυνσης με μεγάλους ρυθμούς ψύξης υπερτερούν.

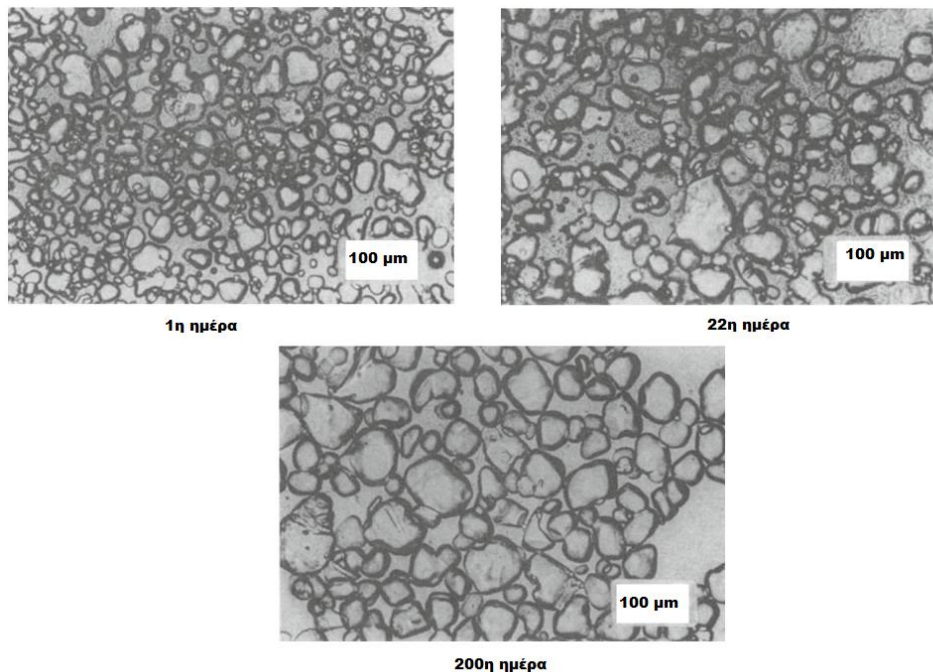
Ανακρυστάλλωση

Ως ανακρυστάλλωση ή ωρίμανση, περιγράφεται οποιαδήποτε μεταβολή στο μέγεθος ή το σχήμα των αρχικών κρυστάλλων του μίγματος (βλ. *Εικόνα 1.23*). Υπάρχουν διάφορα φαινόμενα ανακρυστάλλωσης τα οποία προκαλούν αλλαγές στο μέγεθος των παγοκρυστάλλων και επέρχονται συνήθως στη διάρκεια της σιλήρυνσης και της αποθήκευσης του προϊόντος. Ως θερμοδυναμικά δυναμικά για τα φαινόμενα αυτά λειτουργούν, η ανάγκη για ισορροπία φάσεων στερεού- υγρού στο μίγμα (αν δεν έχει επιτευχθεί ήδη κατά τη δυναμική κατάψυξη) και η διαφορά των σημείων τήξεως μεταξύ των μικρών και μεγάλων παγοκρυστάλλων. Το σύστημα των παγοκρυστάλλων στο παγωτό έχει την τάση να μεταπίπτει σε μία χαμηλότερη ενεργειακά κατάσταση όπου η ελεύθερη

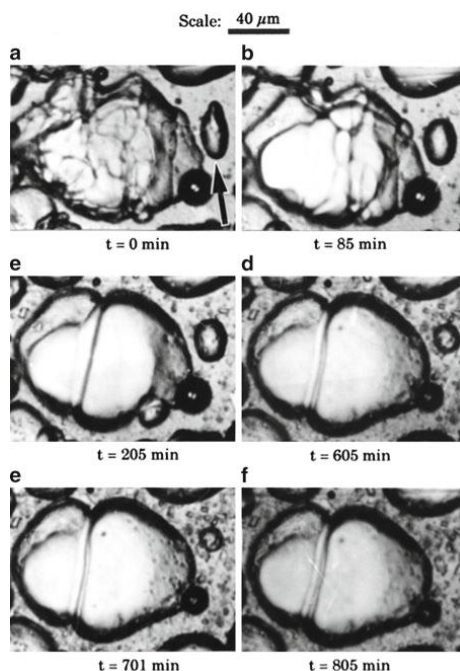
ενέργεια ελαχιστοποιείται μέσω της τήξης των μικρότερων κρυστάλλων. Έτσι τελικά μειώνεται ο αριθμός των κρυστάλλων και αυξάνεται ο ειδικός όγκος τους.

Τυπικά, η ανακρυστάλλωση ευνοείται σε υψηλές θερμοκρασίες σιλήρυνσης και αποθήκευσης, κοντά στο σημείο τήξεως του μίγματος. Η ανακρυστάλλωση επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες, όπως τη σύσταση του παγωτού, τις συνθήκες επεξεργασίας, καθώς και τις θερμοκρασίες σιλήρυνσης και αποθήκευσης. Η σπουδαιότητα της μελέτης και του ελέγχου αυτού του φαινομένου οφείλεται στο γεγονός ότι η παρουσία μεγάλων παγοκρυστάλλων υποβαθμίζει την υφή και το χρόνο ζωής του παγωτού.

Γενικά, έχουν προταθεί διάφοροι μηχανισμοί που περιγράφουν την ανακρυστάλλωση. Οι μηχανισμοί οι οποίοι βασίζονται σε μεταβολές με σταθερό το συνολικό όγκο της κρυσταλλικής φάσης διακρίνονται σε στατικούς, όταν η θερμοκρασία παραμένει σταθερή, και δυναμικούς, όταν το δυναμικό της θερμοκρασίας μεταβάλλεται. Αυτές οι διακυμάνσεις θερμοκρασίας, τα λεγόμενα θερμικά σοκ, έχουν ιδιαίτερη επίδραση στο ρυθμό ανακρυστάλλωσης, καθώς παρατηρείται ένας μηχανισμός ανακρυστάλλωσης που ονομάζεται τήξη-επανακρυστάλλωση. Στις περιπτώσεις όπου η θερμοκρασία παραμένει σταθερή οι σημαντικότεροι μηχανισμοί ανακρυστάλλωσης είναι η ωρίμανση κατά Ostwald (βλ. *Εικόνα 1.24*), η ισομαζική άμβλυση-στρογγυλοποίηση (isomass rounding) και η πρόσφυση. Όπως έχει μελετηθεί, ο ρυθμός ανακρυστάλλωσης μπορεί να μειώνεται με την προσθήκη συγκεκριμένων σταθεροποιητών (Flores 1999, Bolliger et al. 2000, Soukoulis et al. 2008), τον έλεγχο των γλυκαντικών ουσιών (Trgo & Koxholt 1998, Hartel 1998) καθώς και με προσθήκη συγκεκριμένων ουσιών, όπως αντιψυκτικές πρωτεΐνες (Yu et al. 2010), πολυαιθυλενική γλυκόλη και μονοεαστατική προπυλενογλυκόλη (Trgo & Koxholt 1998, Barfod et al. 2005, Hartel Richard 2001, Hartel 2002, Hartel 1998, Ben-Yoseph E-Hartel 1998, Flores 1999, Goff & Hartel 2013, Trgo & Koxholt 1998).



Εικόνα 1.23. Φωτογραφική απεικόνιση του φαινομένου ανακρυστάλλωσης σε παγωτό αποθηκευμένο στους -15°C . Μέγεθος κρυστάλλων: (1^η ημέρα) $35,8\mu\text{m}$, (22^η ημέρα) $52,9\mu\text{m}$, (200^η ημέρα) $64,6\mu\text{m}$



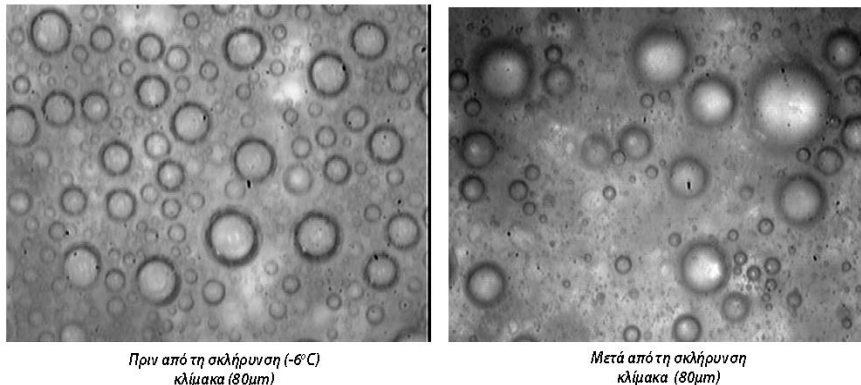
Εικόνα 1.24. Απεικόνιση ανακρυστάλλωσης με το μηχανισμό της ωρίμανσης κατά Ostwald από μικροσκόπιο

Αλλαγές στη μορφολογία των φυσαλίδων αέρα κατά τη σκλήρυνση

Υπό συγκεκριμένες συνθήκες, συνήθως στα στάδια της σκλήρυνσης και της αποθήκευσης, το παγωτό υπόκειται σε μια σταδιακή αποσταθεροποίηση της αφρώδους δομής του, που εκδηλώνεται με αποκόλληση του προϊόντος από τα τοιχώματα και συρρίκνωσή του εντός του περιέκτη. Γενικά, υδατικά κολλοειδή συστήματα, όπως οι αφροί, χαρακτηρίζονται από θερμοδυναμική αστάθεια, με αποτέλεσμα να καταρρέουν με την πάροδο του χρόνου. Στο παγωτό συγκεκριμένα, κατά τη σκλήρυνση οι φυσαλίδες αέρα που έχουν δημιουργηθεί στη δυναμική κατάψυξη και είναι σταθεροποιημένες με τη βοήθεια των λιπαρών και των παγοκρυστάλλων, αλλάζουν και αυξάνονται σε μέγεθος όπως ακριβώς και οι παγοκρυστάλλοι. Τα συστήματα αυτού του τύπου υπόκεινται σε τρία είδη αποσταθεροποίησης: α) δυσαναλογοποίηση (Ostwald ωρίμανση), β) συνένωση coalescence και γ) αποστράγγιση (βλ. *Εικόνα 1.25*). Στην περίπτωση του παγωτού, οι δύο πρώτοι μηχανισμοί περιγράφουν την αποσταθεροποίηση των φυσαλίδων αέρα κατά τα στάδια της σκλήρυνσης και αποθήκευσης, ενώ ο τελευταίος μηχανισμός επηρεάζει τη συμπεριφορά του προϊόντος αμέσως μετά την έξοδο από τον καταψύκτη (δεδομένου ότι βρίσκεται σε ημίρρευστη κατάσταση) και κατά την τήξη του. Επομένως, όπως και παραπάνω, προτιμάται γρήγορη σκλήρυνση του παγωτού για την αποφυγή αποσταθεροποίησης του αφρού.

Η δυσαναλογοποίηση ή ωρίμανση κατά Ostwald βασίζεται στη θερμοδυναμική διαφορά στη σταθερότητα δύο φυσαλίδων αέρα με διαφορετικό μέγεθος. Κάθε φυσαλίδα αέρα χαρακτηρίζεται από την πίεση Laplace η οποία εξαρτάται από την καμπυλότητα της επιφάνειάς της. Ως εκ τούτου, παρατηρείται ένα δυναμικό, το δυναμικό Laplace που αποτελεί τη διαφορά πιέσεων δυο γειτονικών φυσαλίδων αέρα εξαιτίας της διαφοράς μεγέθους τους. Το δυναμικό Laplace (ΔP) είναι ανάλογο της επιφανειακής τάσης (σ) και των ακτίνων των φυσαλίδων αέρα. Αυτή η διαφορά στις πιέσεις προκαλεί τη μεταβολή της

συγκέντρωσης της φάσης ορού στην περιοχή που περιβάλλει τις φυσαλίδες, έχοντας ως αποτέλεσμα τη διάχυση αέρα από τη μικρότερη φυσαλίδα προς τη μεγαλύτερη (φαινόμενο Marangoni). Κατά συνέπεια, οι μικρότερες σε μέγεθος φυσαλίδες αέρα συρρικνώνονται έως ότου τελικά εξαφανιστούν, ενώ παράλληλα οι μεγάλης διαμέτρου φυσαλίδες υφίστανται ταυτόχρονη αύξηση μεγέθους. Πρέπει να σημειωθεί όμως ότι, η παρουσία πρωτεϊνών και γαλακτωματοποιητών οδηγεί σε σταδιακή ελάττωση της επιφανειακής τάσης και κατά συνέπεια σε παρεμπόδιση της μεταβολής μεγέθους της ακτίνας των φυσαλίδων αέρα, όταν το ποσοστό του επιφανειοενεργού υλικού στην επιφάνεια των φυσαλίδων αέρα αυξάνεται σημαντικά. Συνεπώς, η χρήση γαλακτωματοποιητών μπορεί να εμποδίσει την αποσταθεροποίηση των φυσαλίδων αέρα (Chang & Hartel, 2002a) στο παγωτό. Το ιξώδες της φάσης ορού κατέχει επίσης καθοριστικό ρόλο στο φαινόμενο της ωρίμανσης κατά Ostwald καθώς η αύξηση του ιξώδους μειώνει το ρυθμό διάχυσης του αέρα μεταξύ των κοντινών φυσαλίδων και κατ' επέκταση αυξάνει τη σταθερότητά τους. Παρόμοια επίδραση έχει και η ύπαρξη στερεών σωματιδίων στην επιφάνεια των φυσαλίδων αέρα αφού παρεμποδίζει την ελεύθερη διάχυση αέρα μεταξύ των φυσαλίδων. Τέλος, το τρισδιάστατο δίκτυο λιπαρών που περιβάλλει τις φυσαλίδες αποτελεί τον πλέον καθοριστικό παράγοντα ελέγχου της θερμοδυναμικής σταθερότητας της αφρώδους δομής του παγωτού.



Εικόνα 1.25. Απεικόνιση φυσαλίδων αέρα πριν και μετά τη σκλήρυνση από οπτικό μικροσκόπιο

Η συνένωση φυσαλίδων αέρα που βρίσκονται σε πολύ μικρή απόσταση μεταξύ τους εκδηλώνεται με εξαφάνιση δύο φυσαλίδων αέρα μικρού μεγέθους και σχηματισμό μίας νέας μεγαλύτερης διαμέτρου. Έτσι, ένα κολλοειδές σύστημα που υπόκειται σε συνένωση αποκτά σταδιακά τραχύτητα στην υφή. Ο πιο πιθανός μηχανισμός, που περιγράφει ικανοποιητικά τη συνένωση των φυσαλίδων αέρα, βασίζεται και πάλι στο δυναμικό της πίεσης Laplace. Οι διαφορές στις πιέσεις Laplace μεταξύ δύο κοντινών φυσαλίδων αέρα προκαλεί σχηματισμό συνδέσεων/γεφυρωμάτων (από το υλικό της φάσης ορού και της διεπιφάνειας των φυσαλίδων αέρα), με αποτέλεσμα τελικά τη συνένωση των φυσαλίδων σε μία, η οποία μπορεί περαιτέρω να αυξηθεί σε μέγεθος. Η παρουσία στερεών σωματιδίων τα οποία αλληλεπιδρούν με τις φυσαλίδες αέρα επηρεάζει σημαντικά τη σταθερότητα των τελευταίων. Για παράδειγμα, όταν η επιφάνεια δύο γειτονικών φυσαλίδων αέρα καλύπτεται από υδρόφοβα σωματίδια, τότε οι απωστικές ηλεκτροστατικές δυνάμεις που αναπτύσσονται οδηγούν στη διάρρηξη των μεμβρανών τους και στη δημιουργία ενός μεγαλύτερου θύλακα αέρα. Επιπλέον, η επίδραση των σωματιδίων στην ιξωδοελαστική συμπεριφορά της

μεμβράνης που περιβάλλει την επιφάνεια των φυσαλίδων αέρα συνδέεται άμεσα με τη σταθερότητά τους κατά τα στάδια της αποθήκευσης. Οι Pelan et al. (1997) πρότειναν τη σύμφυση ως τον κύριο μηχανισμό αποσταθεροποίησης των φυσαλίδων αέρα στο παγωτό, σύμφωνα με παρατηρήσεις της μεταβολής της μικροδομής του παγωτού με χρήση ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σάρωσης.

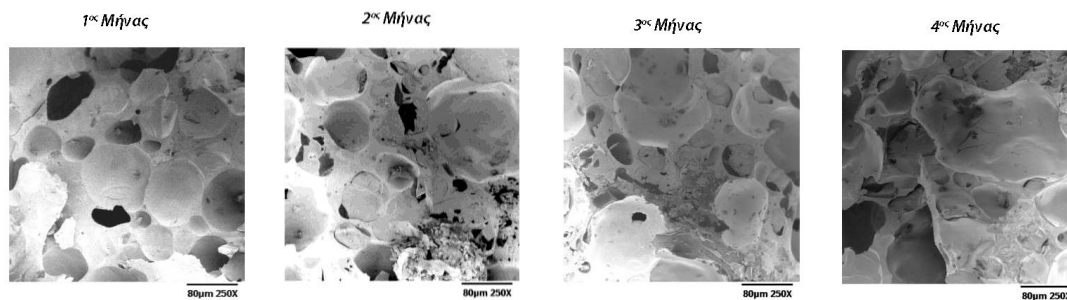
Η αποστράγγιση αποτελεί τον τρίτο μηχανισμό αύξησης του μεγέθους των φυσαλίδων αέρα. Η αποσταθεροποίηση των φυσαλίδων λόγω αποστράγγισης προϋποθέτει τη ροή ενός περιβάλλοντος ρευστού ορού που αναγκάζει, λόγω διαφοράς πυκνοτήτων, τις φυσαλίδες αέρα να ανέλθουν προς την επιφάνεια του συστήματος. Ο χρόνος αποστράγγισης εξαρτάται από την επιφανειακή τάση των φυσαλίδων αέρα, το ιξώδες του ρευστού περιβλήματος, και το ύψος του αφρώδους συστήματος. Η αύξηση του ιξώδους του ρευστού περιβλήματος των φυσαλίδων αέρα αυξάνει τη σταθερότητά τους, όπως επίσης και η διασπορά στερεών σωματιδίων στη φάση ορού. Η παρουσία βιοπολυμερών στην περιβάλλουσα φάση ορού αυξάνει αποτελεσματικά τη σταθερότητα των φυσαλίδων αέρα, αφού περιορίζει την κινητικότητα του αέρα και αυξάνει το χρόνο αποστράγγισης. Η παρατήρηση αυτή είναι σημαντική για τη διατήρηση της κολλοειδούς δομής του παγωτού στο χρόνο που μεσολαβεί από το τέλος της κατάψυξης έως και την έναρξη της σκλήρυνσης. Οι Chang & Hartel (2002b) παρατήρησαν ότι οι φυσαλίδες αέρα στο μη σκληρυμένο παγωτό ήταν εξαιρετικά ασταθείς εξαιτίας του αυξημένου δυναμικού διάχυσης αέρα. Η προσθήκη επιφανειοενεργών ουσιών όπως οι γαλακτωματοποιητές μπορεί επιπλέον να αποτελεί έναν παράγοντα σταθεροποίησης των φυσαλίδων αέρα, κυρίως λόγω της ευνοούμενης αποσταθεροποίησης των λιποσφαιριδίων. Πρόσφατες έρευνες (Linder 2009, Crilly et al. 2008) μάλιστα έχουν επικεντρωθεί στη χρήση πρωτεϊνών από νηματοειδείς μύκητες, οι οποίες μπορούν να εμποδίσουν αλλαγές στο μέγεθος των φυσαλίδων κατά τη σκλήρυνση και την αποθήκευση του παγωτού.

Οι κυριότεροι παράγοντες που επηρεάζουν τη συρρίκνωση του παγωτού σύμφωνα με τους Dubey & White 1997 είναι: α) το υλικό συσκευασίας και η διαπερατότητά του σε αέρα, β) το ποσοστό ενσωμάτωσης αέρα, γ) η κατανομή μεγέθους των φυσαλίδων αέρα, δ) οι διακυμάνσεις της θερμοκρασίας κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης, ε) οι συνθήκες κατάψυξης, στ) η τεχνική κατάψυξης (συνεχής ή ασυνεχής), ζ) η ομογενοποίηση, η) η θερμοκρασία παστερίωσης, θ) η προσθήκη επιφανειοενεργών συστατικών, ι) η ωρίμανση του μίγματος, και ια) η προσθήκη αμυλοσιροπίων (Goff & Hartel 2013, Chang & Hartel 2002a,b,c, Dubey & White 1997, Pelan et al. 1997, Linder 2009, Crilly et al. 2008, Soukoulis PhD thesis 2008)

1.5.10 Αποθήκευση

Μετά τη σκλήρυνση το παγωτό αποθηκεύεται σε σταθερή θερμοκρασία. Ανάλογα με τη διάρκεια της αποθήκευσης καθορίζεται και η θερμοκρασία στην οποία θα αποθηκευτεί. Συνήθεις θερμοκρασίες για προϊόντα μακράς αποθήκευσης κυμαίνονται από -20°C έως -25°C και για προϊόντα με μικρό χρόνο αποθήκευσης κυμαίνονται από -12°C έως -18°C . Οι συνθήκες αποθήκευσης αποτελούν βασικό παράγοντα για την ποιότητα του παγωτού, καθώς μπορεί να σημειωθούν σημαντικές αλλαγές στην υφή και τη γεύση του προϊόντος. Κατά την αποθήκευση μπορούν να συμβούν πολλές αλλαγές στη δομή του παγωτού εξαιτίας

μεταβολών της θερμοκρασίας και λόγω φαινομένων που συμβαίνουν μέσα στο παγωτό με την πάροδο του χρόνου, όπως οι αλλαγές στο μέγεθος των φυσαλίδων και των παγοκρυστάλλων που αναφέρθηκαν παραπάνω (βλ. *Εικόνα 1.26*). Επιπλέον οι συνθήκες αποθήκευσης είναι άμεσα συνδεδεμένες με τη διάρκεια ζωής του παγωτού (shelf life) καθώς και με την καταλληλότητα του για κατανάλωση. Σε μη ιδανικές συνθήκες αποθήκευσης, δηλαδή σε συνθήκες με μεγάλες μεταβολές στη θερμοκρασία παρατηρείται μείωση της διατηρησιμότητας του παγωτού. Επομένως ο έλεγχος των συνθηκών αποθήκευσης είναι σημαντικός για τη διατήρηση της καλής ποιότητας του τελικού προϊόντος (Goff & Hartel 2013).



Εικόνα 1.26. Αλλαγές στη δομή του παγωτού κατά τη διάρκεια αποθήκευσης στους -15°C για 4 μήνες όπως αυτές παρατηρήθηκαν με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM, 250x – 80 μm)

1.6 Μικροβιολογικό περιεχόμενο

Υπάρχουν πολλοί κανονισμοί στη νομοθεσία κάθε χώρας για το επιτρεπόμενο μικροβιολογικό περιεχόμενο στο παγωτό, οι οποίοι όμως συνεχώς αλλάζουν και βελτιώνονται. Στην Ευρώπη ακολουθείται πιστά ο κώδικας του 2006 της Ευρωπαϊκής Ένωσης παγωτού (Euroglace Code). Συνήθως μικροβιολογικοί έλεγχοι για την ασφάλεια του παγωτού γίνονται μετά την ωρίμανση. Καλλιέργειες αποικιών χρησιμοποιούνται για τον εντοπισμό μικροοργανισμών όπως *Salmonella*, *Listeria* και κολοβακτηρίδια. Εφόσον το μίγμα έχει παστεριωθεί σωστά και κατά τη διάρκεια της διαδικασίας παρασκευής έχουν παρθεί τα κατάλληλα μέτρα υγιεινής και ασφάλειας, τότε δεν θα πρέπει να υπάρχει πρόβλημα με το μικροβιολογικό περιεχόμενο. Αυτό συνεπάγεται πως δεν θα υπάρχει πρόβλημα στο τελικό προϊόν αφού η ανάπτυξη μικροοργανισμών παρεμποδίζεται υπό συνθήκες κατάψυξης. Ωστόσο, έχουν παρατηρηθεί περιπτώσεις προϊόντων, κυρίως σε αναπτυσσόμενες χώρες, όπου έχουν επιβιώσει ή αναπτυχθεί ψυχρόφιλοι παθογόνοι μικροοργανισμοί ακόμα και σε χαμηλές θερμοκρασίες, θέτοντας σε κίνδυνο την υγεία του καταναλωτή. Το παγωτό λόγω της σύστασής του (σάκχαρα, πρωτεΐνες και νερό) και της υψηλής τιμής pH αποτελεί ιδανικό υπόστρωμα για την ανάπτυξη μικροοργανισμών. Η εμφάνιση παθογόνων μικροοργανισμών μπορεί να προκύψει εξαιτίας πολλών παραγόντων, όπως η μη σωστή παστερίωση του μίγματος, ανθυγιεινές συνθήκες κατά την παραγωγική διαδικασία, προσθήκη μη μικροβιολογικά ελεγμένων ουσιών όπως ξηρούς καρπούς κατά το στάδιο της κατάψυξης, επιμόλυνση από τη συσκευασία λόγω ακαταλληλότητας του υλικού, ανεπαρκή καθαρισμό του εξοπλισμού και μεταβολές στη θερμοκρασία αποθήκευσης. Πρέπει να σημειωθεί ότι η χρήση των κανόνων που προκύπτουν από την Ανάλυση Κινδύνων και Κρίσιμων Σημείων Ελέγχου (HACCP) αποτελεί τον καλύτερο τρόπο για να εξασφαλιστεί το μικρότερο δυνατό ρίσκο ανάπτυξης παθογόνων μικροοργανισμών στο

παγωτό (Clarke 2004, Goff & Hartel 2013, Warke et al. 2000, Nagat et al. 2006, Kambamanoli-Dimou 2003, Arslan et al. 2014).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2.

Η ΣΥΜΒΟΛΗ ΤΗΣ ΜΙΚΡΟΔΟΜΗΣ ΤΟΥ ΜΙΓΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΠΑΓΩΤΟΥ ΣΤΟ ΤΕΛΙΚΟ ΠΡΟΪΟΝ

2.1 Γενικά

Όπως αναφέρθηκε, το παγωτό είναι ένα παγωμένο αφρώδες μίγμα το οποίο απαρτίζεται από πολλά συστατικά. Τα συστατικά αυτά συνθέτουν διάφορες δομές του παγωτού που επηρεάζουν την αντίληψη του καταναλωτή για την ποιότητα του τελικού προϊόντος. Σημαντικά χαρακτηριστικά, όπως η εμφάνιση, η υφή, η αντίληψη του πάγου καθώς και η σταθερότητα του προϊόντος, καθορίζονται από αυτές τις μικροδομές. Παρακάτω θα αναφερθεί περιληπτικά η επίδραση των συστατικών, και των μικροδομών που σχηματίζουν, στα ποιοτικά και φυσικά χαρακτηριστικά του παγωτού.

2.2 Φάση ορού

Πρόκειται για τη συνεχή φάση που συγκρατεί όλες τις υπόλοιπες φάσεις του παγωτού και συμβάλλει στη σταθερότητά του. Η φάση ορού αποτελείται από μη κρυσταλλωμένο νερό, στο οποίο βρίσκονται διαλυμένα συστατικά όπως σάκχαρα, σταθεροποιητές και κάποιες πρωτεΐνες. Κάθε ένα από αυτά τα συστατικά επηρεάζει την ποιότητα του παγωτού.

Νερό

Το ποσοστό του νερού που βρίσκεται σε υγρή φάση επηρεάζει πολύ το ιξώδες της φάσης ορού. Όσο υψηλότερο το ποσοστό των παγοκρυστάλλων, τόσο υψηλότερο και το ιξώδες της συνεχούς φάσης, κάτι το οποίο συνεπάγεται μικρότερους ρυθμούς τήξης. Ωστόσο, έχει παρατηρηθεί πως υψηλές τιμές ιξώδους στη συνεχή φάση οδηγούν σε ένα τελικό προϊόν με αυξημένη σκληρότητα (Muse & Hartel 2004, Goff & Hartel 2013).

Γλυκαντικές ύλες

Όπως αναφέρθηκε, μία από τις κυριότερες δράσεις των γλυκαντικών ουσιών στο παγωτό είναι η αύξηση της έντασης της γλυκύτητας και συνεπώς της αποδοχής του προϊόντος από το καταναλωτικό κοινό. Ωστόσο, η προσθήκη γλυκαντικών ουσιών έχει ως αποτέλεσμα και τη βελτίωση λειτουργικών ιδιοτήτων του μίγματος καθώς και αύξηση της σταθερότητας του

τελικού προϊόντος. Οι γλυκαντικές ύλες ανάλογα με το μοριακό τους βάρος μπορούν να επηρεάσουν διάφορα χαρακτηριστικά του παγωτού:

1. **Την ολική γευστική αποδοχή του προϊόντος:** Οι γλυκαντικές ύλες λειτουργούν ως μέσα ενίσχυσης του αρώματος στα συστήματα που περιέχουν βανιλίνη, ενώ έχει παρατηρηθεί και η συσχέτισή τους με την απελευθέρωση του αρώματος καραμέλας και κρέμας. Επιπλέον, η αύξηση των ολικών στερεών των γλυκαντικών υλών σχετίζεται και με σημαντική ενίσχυση του αρώματος σοκολάτας. Γενικότερα έχει παρατηρηθεί ότι το άρωμα βανίλιας ενισχύεται σε δείγματα παγωτού που περιέχουν αμυλοσιρόπια (Wittinger & Smith 1986). Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η βανιλίνη εγκλωβίζεται στη σύνθετη δομή των αμυλοσιροπιών, με αποτέλεσμα τη βραδύτερη απελευθέρωση του αρώματος. Η αποδοχή ενός παγωτού από τους καταναλωτές όμως, δεν επηρεάζεται μόνο από την ένταση της γλυκύτητας αλλά και από τη σύσταση των γλυκαντικών υλών και τη σύνδεσή τους με τις αρωματικές ύλες. Έχει παρατηρηθεί ότι (Soukoulis & Tzia 2010), συγκεκριμένες γλυκαντικές ουσίες που ενισχύουν την κρεμμώδη γεύση και το άρωμα βανίλιας οδηγούν σε καλύτερη αντίληψη (mapping) της γλυκιάς γεύσης (Stamparoni et al.1996, Wittinger & Smith 1986, Guinard et al., 1996, Soukoulis et al. 2010, Soukoulis & Tzia 2010, Whelan et al. 2006).
2. **Τις θερμοφυσικές ιδιότητες του μίγματος:** Η προσθήκη γλυκαντικών υλών επηρεάζει τη θερμοκρασία του σημείου πήξεως, το ποσοστό του μη κρυσταλλωμένου νερού και τη μετάπτωση στην υαλώδη κατάσταση. Η επίδραση των γλυκαντικών υλών σε αυτές τις ιδιότητες αποτελεί έναν από τους βασικότερους μηχανισμούς ελέγχου και αναστολής των φαινομένων ανακρυστάλλωσης στο παγωτό. Αναλυτικότερα, η μοριακή δομή των γλυκαντικών υλών, και κυρίως το μέγεθος των μορίων τους, επηρεάζουν το μικρο-ιξώδες της φάσης ορού και εμμέσως την κινητικότητα των μορίων του νερού. Μάλιστα, όπως έχει παρατηρηθεί (Hagiwara & Hartel, 1996) ορισμένες γλυκαντικές ουσίες αυξάνουν τη θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης (T_g) και μειώνουν τα φαινόμενα ανακρυστάλλωσης, καθώς αυξάνεται η θερμοδυναμική σταθερότητα του παγωτού. Ωστόσο, έχουν παρατηρηθεί πειραματικά ορισμένες περιπτώσεις όπου δεν υπήρξε σημαντική μείωση του ρυθμού ανακρυστάλλωσης, όπως στην περίπτωση της τρεχαλόζης (Whelan et al. 2006). Οι γλυκαντικές ουσίες έχουν επίσης την ικανότητα να επιδρούν στο βαθμό ταπείνωσης του σημείου πήξεως (βλ. Πίνακα 2.1), ο οποίος συνδέεται άμεσα με τη διαθεσιμότητα του μη κρυσταλλωμένου νερού, γεγονός που επηρεάζει το ρυθμό των φυσικών δράσεων που υποβαθμίζουν την ποιότητα του παγωτού κατά τη διάρκεια της αποθήκευσής του, όπως του φαινομένου της ανακρυστάλλωσης (Hagiwara & Hartel, 1996, Livney & Hartel, 1997, Hagiwara et al., 2006, Koxholt 1999, Soukoulis et al. 2010, Hartel 1998, Peter Hull 2010, Whelan et al. 2006, 2008).
3. **Τη θερμοδυναμική σταθερότητα του παγωτού κατά τη διάρκεια αποθήκευσής του:** Πέρα από τα φαινόμενα ανακρυστάλλωσης, η διάρκεια ζωής ενός παγωτού κατά την αποθήκευση, εξαρτάται από την αλληλεπίδραση μεταξύ των γλυκαντικών υλών και των σταθεροποιητών του μίγματος. Αυτό μπορεί να εξηγηθεί από το γεγονός ότι, ο βαθμός της δέσμευσης νερού από τους σταθεροποιητές επηρεάζεται από την παρουσία ορισμένων γλυκαντικών ουσιών, καθώς και τα δύο αυτά συστατικά απαιτούν νερό για την ενυδάτωσή τους. Έτσι, δημιουργείται μία ανταγωνιστική δράση μεταξύ υδροκolloειδών και γλυκαντικών ουσιών. Η ποιότητα του παγωτού όμως, επηρεάζεται επίσης και από τα θερμικά σοκ κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης. Όπως παρατηρήθηκε (Muse & Hartel

2004), η χρήση μαλτοδεξτρινών και αμυλοσιροπίων χαμηλού ισοδύναμου δεξτρόζης (DE), οδήγησε σε αύξηση της σταθερότητας του παγωτού και στη διατήρηση της ποιότητάς του κατά την αποθήκευση (Wittinger & Smith, 1986; Muse & Hartel 2004, Goff & Hartel 2013).

Πίνακας 2.1. Ιδιότητες γλυκαντικών ουσιών σε παγωμένα επιδόρπια

Γλυκαντική ουσία	Μέσο μοριακό βάρος	Πτώση σημείου τήξης (FPD)	Ισοδύναμη γλυκύτητα
Ζάχαρη	342	1,0	1,0
Σιρόπι γλυκόζης 42 DE	429	0,8	0,5
Σιρόπι γλυκόζης 35 DE	514	0,7	0,4
Σιρόπι γλυκόζης 63 DE	286	1,2	0,7
Μαλτοδεξτρίνη 18 DE	1000	0,34	0,21
Μαλτοδεξτρίνη 10 DE	1800	0,19	0,11
Σιρόπι Μαλτόζης - 70% μαλτόζη	380	0,9	0,5
Σιρόπι Μαλτόζης - 50% μαλτόζη	448	0,8	0,5
Δεξτρόζη	180	1,9	0,8
Φρουκτόζη	180	1,9	1,7
HFGS (42% φρουκτόζη)	190	1,8	1,0
Τρεχαλόζη	342	1,0	0,5
Γλυκερόλη	92	3,7	0,8
Σορβιτόλη	182	1,9	0,5
Μαλιτόλη	344	1,0	0,9
Αιθανόλη	46	7,4	-

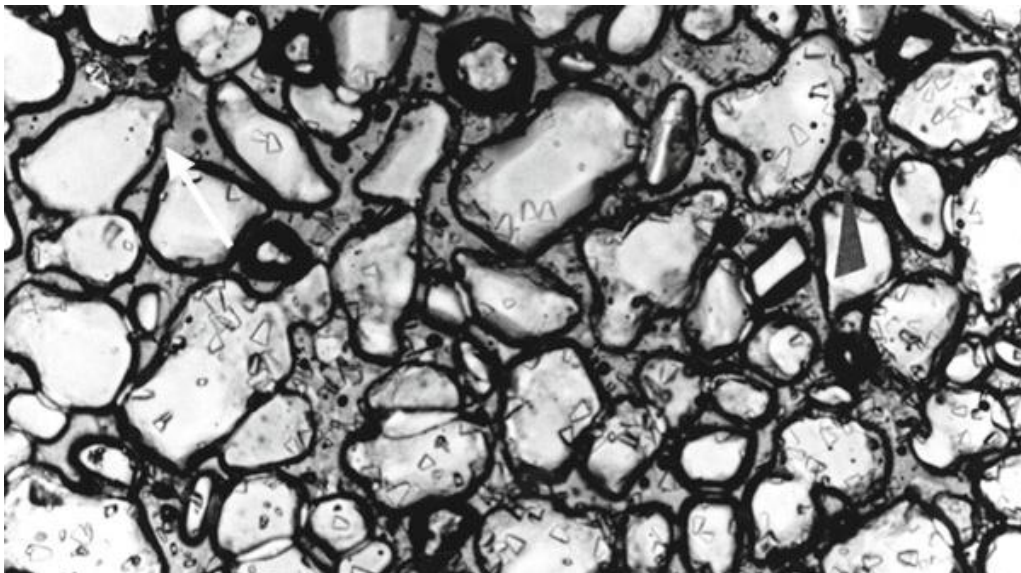
Πηγή: Hull Peter, *Glucose Syrups Technology and Applications*, Wiley-Blackwell, 2010, pp 189

4. **Την ικανότητα ενσωμάτωσης αέρα (overrun):** Κατά τη διάρκεια της διεργασίας ψύξης με απόδραση, οι παράγοντες που επηρεάζουν την ενσωμάτωση αέρα είναι το ιξώδες του μίγματος και η τάση αποσταθεροποίησης των λιποσφαιριδίων. Η επίδραση των διαφόρων γλυκαντικών ουσιών στην ικανότητα ενσωμάτωσης αέρα εξαρτάται από τη δομή και το μοριακό βάρος της κάθε ουσίας. Μακρομοριακές γλυκαντικές ουσίες και απλά σάκχαρα μπορεί να επιφέρουν θετικά αποτελέσματα στην ικανότητα ενσωμάτωσης αέρα, λόγω της αύξησης του ιξώδους των μιγμάτων και της αυξημένης τάσης αποσταθεροποίησης των λιποσφαιριδίων. Ωστόσο, υπερβολικά ιξώδη μίγματα

- οδηγούν σε μείωση της ικανότητας ενσωμάτωσης αέρα καθώς δεν ευνοούν τη δημιουργία αφρωδών διαλυμάτων. Μάλιστα, η χρήση γλυκαντικών υλών με χαμηλό DE, π.χ. μαλτοδεξτρίνες (βλ. *Πίνακα 2.1*), δεν συμβάλλει σημαντικά στην αποσταθεροποίηση των λιπαρών και την ικανότητα ενσωμάτωσης αέρα. Ακόμα, η παρουσία γλυκαντικών υλών μικρού μοριακού βάρους, όπως οι πολυόλες, αυξάνει το ποσοστό ενσωματωμένου αέρα και μειώνει το μέγεθος των φυσαλίδων αέρα (Soukoulis et al. 2010b). Τέλος, η χρήση αμυλοσιροπιών μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση της σταθερότητας των φυσαλίδων αέρα και συνεπώς σε μεγαλύτερη σταθερότητα των προϊόντων παγωτού έναντι της συρρίκνωσης (Soukoulis et al. 2010b, Muse & Hartel 2004, Dubey & White 1997, Whelan et al. 2006, Da Silva & Da Silva Lannes C. S. 2011, Adapa et al. 2000a).
5. **Το ρυθμό τήξης:** Η χρήση διαφόρων γλυκαντικών ουσιών μπορεί να επηρεάσει το ρυθμό τήξης του παγωτού. Όπως έχει παρατηρηθεί, ο ρυθμός τήξης σχετίζεται με διάφορους παράγοντες μεταξύ των οποίων, η ικανότητα ενσωμάτωσης αέρα, το ιξώδες του ορού και η αποσταθεροποίηση των λιπαρών. Οι γλυκαντικές ουσίες που αυξάνουν το ιξώδες του ορού και την αποσταθεροποίηση των λιπαρών, όπως μαλτοδεξτρίνες με χαμηλό DE, οδηγούν σε μείωση του ρυθμού τήξης (Muse & Hartel 2004, Goff & Hartel 2013, El Nagar et al. 2002).
 6. **Τις ρεολογικές ιδιότητες του μίγματος:** Οι γλυκαντικές ουσίες επιδρούν άμεσα στη ρεολογική συμπεριφορά των μιγμάτων παγωτού αφού επηρεάζουν το ιξώδες της φάσης ορού. Η επίδραση των διαφόρων γλυκαντικών ουσιών εξαρτάται κυρίως από το μοριακό τους βάρος, το βαθμό πολυμερισμού και διακλάδωσης και, το ισοδύναμο δεξτρόζης. Όπως έχει παρατηρηθεί, η προσθήκη γλυκαντικών υλών, όπως οι μαλτοδεξτρίνες και τα αμυλοσιρόπια, επιφέρει σημαντική αύξηση του ιξώδους της φάσης ορού και ισχυρή απόκλιση από τη νευτωνική συμπεριφορά (Muse & Hartel 2004). Αυτό οφείλεται στο σχηματισμό πλεγμάτων εξαιτίας της συμπύκνωσης της υδατικής φάσης και της αλληλεπίδρασης των διαφόρων τμημάτων των γλυκαντικών ουσιών. Επιπλέον, έχει αναφερθεί ότι ορισμένες γλυκαντικές ουσίες μπορούν να αλληλεπιδράσουν με τις πρωτεΐνες οδηγώντας στο σχηματισμό πηγμάτων τα οποία μπορεί να επηρεάσουν τη ρεολογική συμπεριφορά του μίγματος (Schorch et al. 1999b, Akhtar et al. 2006). Η σακχαρόζη σε υδατικά διαλύματα πολυσακχαρίτη και πρωτεϊνών, ανάλογα με την περιεκτικότητά της στο μίγμα, μπορεί να επηρεάσει τη σταθερότητα των μιγμάτων κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης εξαιτίας της ήδη υπάρχουσας θερμοδυναμικής ασυμβατότητας των βιοπολυμερών (πρωτεΐνες – πολυσακχαρίτες) και του πιθανού σχηματισμού γελών (Akhtar et al. 2006, Muse & Hartel 2004, Schorch et al. 1999a,b, Schorch et al. 2002, Schaller-Povolny & Smith 2002).
 7. **Τα χαρακτηριστικά υφής:** Η σκληρότητα των κατεψυγμένων προϊόντων εξαρτάται κυρίως από το ποσοστό του κρυσταλλωμένου νερού και κατ'επέκταση από το ιξώδες της φάσης ορού και το είδος των γλυκαντικών ουσιών. Γενικότερα, η χρήση απλών σακχάρων, δισακχαριτών και πολυολών συνεπάγεται προϊόντα με χαμηλή σκληρότητα. Ωστόσο, η προσθήκη μεγάλης ποσότητας στερεών γλυκαντικών υλών μπορεί να οδηγήσει σε σημαντική αύξηση της συνεκτικότητας και της κομμωδούς υφής. Η χρήση μακρομοριακών γλυκαντικών ουσιών και αμυλοσιροπιών με χαμηλό DE οδηγεί σε αύξηση της σκληρότητας και της κομμωδούς υφής, εξαιτίας της ανύψωσης της θερμοκρασίας του σημείου πήξης και της ικανότητας των συστατικών αυτών να

σχηματίζουν πλέγματα, εγκλωβίζοντας έτσι σημαντικά ποσά μη κρυσταλλωμένου νερού (Wittinger & Smith 1986). Τα σχετιζόμενα με την υφή οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του τελικού προϊόντος, εξαρτώνται από ένα σύνολο διαφόρων παραγόντων. Επομένως, καθίσταται αδύνατη η επιλογή ενός είδους γλυκαντικών ουσιών, το οποίο να είναι απόλυτα κατάλληλο για χρήση σε κατεψυγμένα επιδόρπια (Whelan et al. 2008b, Wittinger & Smith 1986, Clarke 2004, Muse & Hartel 2004, Guinard et al. 1997, Adapa et al. 2000).

Τέλος, η κρυστάλλωση της λακτόζης κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης μπορεί οδηγήσει σε ανάπτυξη αμμώδους υφής. Σε χαμηλές θερμοκρασίες αποθήκευσης, η διαλυμένη στο μη κρυσταλλωμένο νερό λακτόζη βρίσκεται σε υπερκορεσμένη μορφή αλλά αρκετά μακριά από το σημείο υαλώδους μετάπτωσης, και έτσι καθίσταται δυνατή η κρυστάλλωση της. Παρακάτω παρουσιάζεται μια εικόνα κρυστάλλων λακτόζης σε παγωτό (βλ. *Εικόνα 2.1*). Υπάρχουν πολλοί τρόποι για τον έλεγχο του φαινομένου αυτού και την αποφυγή της αμμώδους υφής. Οι πιο γνωστοί είναι η μείωση της περιεχόμενης λακτόζης στο γάλα καθώς και η χρήση σταθεροποιητών. Ωστόσο, έχει παρατηρηθεί πως η χρήση υδρολυμένης λακτόζης μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση της γλυκαντικής ισχύος, αλλά και σε ταπείνωση του σημείου πήξης των μιγμάτων παγωτού. Έρευνες έδειξαν (Martinez & Speckman 1989), ότι η ενζυμική υδρόλυση της λακτόζης με β-γαλακτοζιδάση σε ποσοστό έως και 59% οδήγησε σε ενίσχυση της γλυκύτητας του παγωτού, χωρίς να επιφέρει αρνητικές επιδράσεις στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και την αντοχή του σε θερμικό σοκ. Η υποκατάσταση του γάλακτος σε ποσοστό 75% από γάλα υδρολυμένης λακτόζης οδήγησε σε αύξηση του ιξώδους και της ικανότητας απόδρασης των μιγμάτων και βελτίωση των χαρακτηριστικών τήξης και της ποιότητας των κατεψυγμένων προϊόντων (El-Neshawy et al. 1988). (Livney et al. 1995, Goff & Hartel 2013, Soukoulis, Martinez & Speckman 1989, El-Neshawy et al. 1988).



Εικόνα 2.1. Απεικόνιση κρυστάλλων λακτόζης σε παγωτό αποθηκευμένο στους -10°C

Σταθεροποιητές

Η χρήση σταθεροποιητών (υδροκολλοειδή) στο παγωτό είναι καθοριστικής σημασίας για τα ποιοτικά χαρακτηριστικά και τη διατηρησιμότητά του. Οι σταθεροποιητές είναι μεγάλα μακρομόρια, κυρίως πολυσακχαρίτες, τα οποία παρουσία νερού έχουν την ιδιότητα να ενυδατώνονται και να διογκώνονται δημιουργώντας διακλαδώσεις στο διάλυμα.

Παρακάτω αναφέρονται επιγραμματικά οι βασικότερες λειτουργίες των σταθεροποιητών στο παγωτό:

- Βελτίωση της υφής του προϊόντος.
- Αύξηση της ομοιομορφίας του προϊόντος.
- Αύξηση του ιξώδους του μίγματος παγωτού.
- Σταθεροποίηση του μίγματος παγωτού έναντι της συναίρεσης.
- Αύξηση της ευχέρειας ενσωμάτωσης των αρωματικών και χρωστικών υλών.
- Σταθεροποίηση της αφρώδους δομής.
- Επίτευξη μίας συμπαγούς δομής κατά την έξοδο του προϊόντος από τον καταψύκτη καθώς και κατά τη συσκευασία στους περιέκτες.
- Μείωση του ρυθμού διάχυσης του μη κρυσταλλωμένου νερού από και προς τη διεπιφάνεια των σχηματισμένων παγοκρυστάλλων.
- Παρεμπόδιση του σχηματισμού κρυστάλλων λακτόζης στην υδατική φάση ως αποτέλεσμα διακυμάνσεων θερμοκρασίας κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης.
- Ελάττωση του ρυθμού διάχυσης υγρασίας από και προς το υλικό συσκευασίας.
- Παρεμπόδιση της συρρίκνωσης του προϊόντος ως αποτέλεσμα των διακυμάνσεων θερμοκρασίας.
- Αύξηση της αντοχής έναντι της τήξης και του θερμικού σοκ.

Η χρήση σταθεροποιητών έχει άμεση επίδραση στις ρεολογικές ιδιότητες του μίγματος. Τα υδροκολλοειδή λόγω της ικανότητάς τους να δεσμεύουν μεγάλα ποσοστά υγρασίας κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης και να σχηματίζουν πολυσακχαριτικά πλέγματα ή πήγματα, αυξάνουν σημαντικά το ιξώδες των μιγμάτων και ενισχύουν την ψευδοπλαστική και θιξοτροπική συμπεριφορά τους. Η λειτουργικότητα των υδροκολλοειδών στο μίγμα του παγωτού επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες, με βασικότερους το είδος και την ποσότητά τους. Έρευνες έχουν δείξει ότι η απόκλιση από την νευτωνική συμπεριφορά είναι μεγαλύτερη στην περίπτωση χρήσης των κόμμεων γκουάρ και χαρουπιού. Η χρήση της κ-καρραγενάνης ως δευτερογενές σταθεροποιητικό μέσο στα μίγματα παγωτού, λόγω της αλληλεπίδρασής της με τα καζεϊνικά μικύλια, αυξάνει σημαντικά τα ιξώδη των μιγμάτων, ενώ παράλληλα σταθεροποιεί τα γαλακτώματα παγωτού λόγω της μείωσης της θερμοδυναμικής ασυμβατότητας των κύριων υδροκολλοειδών με τις πρωτεΐνες. Γενικότερα, υλικά με υψηλό περιεχόμενο σε πολυσακχαριτικής φύσης συστατικά, π.χ. σαλέπι, μελάσα κ.ά., μπορούν να επηρεάσουν σε μεγάλο βαθμό τη ρεολογική συμπεριφορά των μιγμάτων παγωτού. Όπως έχει παρατηρηθεί μάλιστα, η προσθήκη σαλεπιού (το οποίο χρησιμοποιείται ευρύτατα στην παραγωγή ενός παραδοσιακού τύπου παγωτού στην Τουρκία γνωστό ως Kahramanmaras) μπορεί να αυξήσει σημαντικά το ιξώδες και να ενισχύσει την ψευδοπλαστική συμπεριφορά των μιγμάτων παγωτού (Bahramparvar & Tehrani 2011). (Bourriot et al. 1999a,b, Goff & Hartel 2013, Bahramparvar & Tehrani 2011, Kaya & Tekin 2001, Dogan & Kayacier 2007).

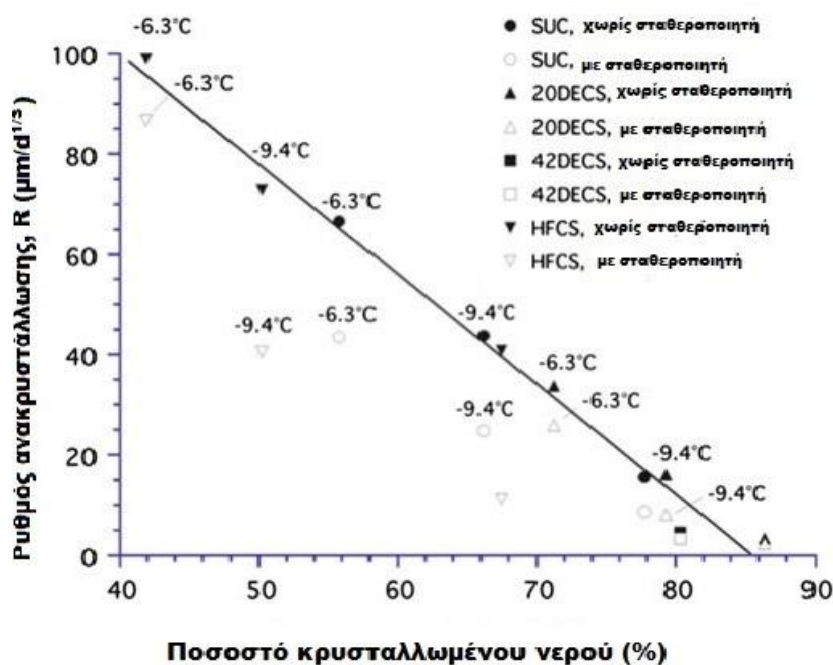
Οι σταθεροποιητές επηρεάζουν επίσης και την ικανότητα ενσωμάτωσης αέρα στο μίγμα. Η προσθήκη σταθεροποιητών στο μίγμα μειώνει το μέγεθος των θυλάκων αέρα στο παγωτό που σχηματίζονται κατά τη διάρκεια της απόδρασης, εξαιτίας της αλλαγής των ρεολογικών ιδιοτήτων του μίγματος. Με την προσθήκη σταθεροποιητή, η πυκνότητα του μίγματος αυξάνεται και το αρχικό μέγεθος των θυλάκων αέρα μειώνεται εξαιτίας της αυξημένης διατμητικής τάσης που ασκείται κατά τη διάρκεια της απόδρασης. Γενικά, τα σταθεροποιημένα μίγματα παγωτού παρουσιάζουν καλύτερη ικανότητα απόδρασης σε σχέση με εκείνα χωρίς σταθεροποιητή. Ωστόσο, μίγματα με υπερβολικά υψηλά ιξώδη στα οποία εμφανίζονται και φαινόμενα σχηματισμού πήγματος, μπορεί να εμφανίζουν μειωμένη ικανότητα ενσωμάτωσης αέρα. Επιπλέον, η προσθήκη υδροκολλοειδών συνεισφέρει στη σταθερότητα των θυλάκων αέρα και στην ανάσχεση φαινομένων, όπως η δυσαναλογοποίηση (ωρίμανση Ostwald), η συνένωση και η αποστράγγιση, αφού αυξάνεται κατά πολύ το ιξώδες του μίγματος. Τέλος, έχει παρατηρηθεί πως τα υδροκολλοειδή μπορεί να μειώσουν αισθητά το φαινόμενο της συρρίνωσης που προκύπτει κατά την αποθήκευση του παγωτού και για το οποίο θα γίνει εκτενέστερη αναφορά παρακάτω (Dubey & White 1997). (Clarke 2004, Akalin et al. 2008, Goff & Hartel 2013, Bahramparvar & Tehrani 2011, Chang & Hartel 2002 a,b, Dubey & White 1997).

Μία ακόμη λειτουργία των υδροκολλοειδών, είναι η ικανότητα τους να αυξάνουν σημαντικά την αντοχή των κατεψυγμένων επιδορπίων γάλακτος έναντι της τήξης. Εξαιτίας της ικανότητάς τους να συγκρατούν το νερό και να αυξάνουν το μικροϊξώδες του μίγματος, τα υδροκολλοειδή επιδρούν σημαντικά στο ρυθμό τήξης. Έχει παρατηρηθεί πως η αλληλεπίδραση των υδροκολλοειδών με τις πρωτεΐνες και τα υπόλοιπα βιοπολυμερή, η ικανότητά τους να σχηματίζουν πλέγματα και πήγματα, αλλά και η επίδραση τους στις θερμοφυσικές ιδιότητες όπως η θερμική αγωγιμότητα, σχετίζονται με τη βελτίωση των χαρακτηριστικών τήξης του παγωτού. Σε γενικές γραμμές, η προσθήκη 0,2-0,3% υδροκολλοειδούς είναι επαρκής για τον έλεγχο των χαρακτηριστικών τήξης (Wittinger & Smith 1986, Goff & Hartel 2013, Bahramparvar & Tehrani 2011).

Η βασικότερη λειτουργία των σταθεροποιητών στο παγωτό, είναι η συνεισφορά τους στη θερμοδυναμική σταθερότητα του τελικού προϊόντος. Τα υδροκολλοειδή, παρόλο που δεν επιδρούν στο αρχικό μέγεθος των παγοκρυστάλλων, αποτελούν τα πρωτογενή συστατικά ελέγχου των φαινομένων ανακρυστάλλωσης, αυξάνοντας έτσι τη θερμοδυναμική σταθερότητα του προϊόντος κατά την αποθήκευση. Γενικότερα, η κρυστοπροστατευτική δράση των υδροκολλοειδών μπορεί να περιγραφεί από τρεις πιθανούς μηχανισμούς ελέγχου: α) την αύξηση του ιξώδους της φάσης ορού και τον περιορισμό της μοριακής κινητικότητας του μη κρυσταλλωμένου νερού, β) τη δημιουργία κρυσθελών-κρυσπηγμάτων (cryo-gel formations) και γ) το διαχωρισμό φάσεων εξαιτίας της ασυμβατότητας πρωτεϊνών και υδροκολλοειδών. Σύμφωνα με τον πρώτο μηχανισμό, η αύξηση του ιξώδους της φάσης ορού με την προσθήκη σταθεροποιητών συνδέεται με τον έλεγχο της αύξησης του μεγέθους των παγοκρυστάλλων στο παγωτό. Για την εμφάνιση φαινομένων ανακρυστάλλωσης, είναι απαραίτητη η μετακίνηση μορίων νερού από μία περιοχή μικρότερης θερμοδυναμικής σταθερότητας σε μία περιοχή μεγαλύτερης σταθερότητας, σύμφωνα με την εξίσωση Gibbs-Thomson:

$$\Delta T = T_{\infty} - T_r = \frac{2\sigma T_{\infty}}{\rho(\Delta H_f)r}$$

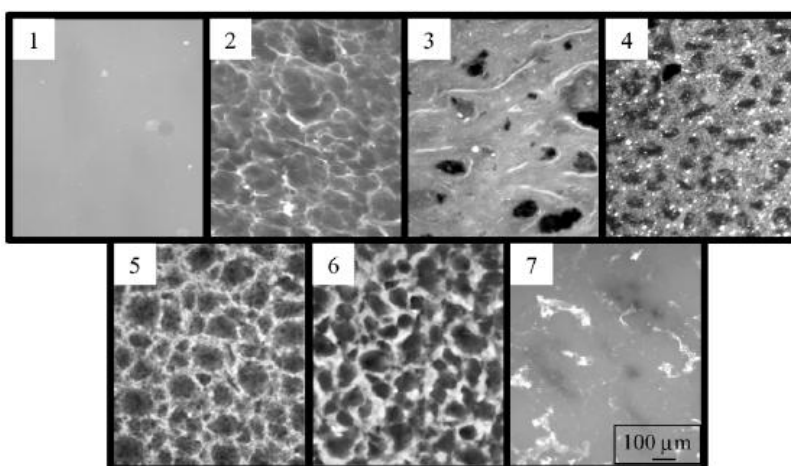
Πράγματι, πρόσφατες έρευνες έχουν δείξει πως ο ρυθμός διάχυσης του νερού στη φάση ορού του μίγματος καθώς και η μοριακή κινητικότητα του μη κρυσταλλωμένου νερού σχετίζονται με τη μείωση του ρυθμού των φαινομένων ανακρυστάλλωσης. Η παραπάνω παρατήρηση συνάδει και με την εξάρτηση των φαινομένων ανακρυστάλλωσης από τη θερμοκρασία, όπου σε θερμοκρασίες κάτω από τη θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης (T_g), παρεμποδίζεται η μοριακή κινητικότητα του νερού και αναστέλλεται οποιαδήποτε αλλαγή στο μέγεθος των παγοκρυστάλλων. Στην *Εικόνα 2.2* φαίνεται η σχέση του κρυσταλλωμένου νερού με το ρυθμό ανακρυστάλλωσης, καθώς και η συμβολή των σταθεροποιητών στη μείωση του ρυθμού ανακρυστάλλωσης.



Εικόνα 2.2. Επίδραση της ποσότητας κρυσταλλωμένου νερού στο ρυθμό ανακρυστάλλωσης σταθεροποιημένων και μη σταθεροποιημένων παγωτών. Όπου δεν υπάρχουν δεδομένα θερμοκρασίας εννοείται η θερμοκρασία αποθήκευσης -15.2°C . Τα γλυκαντικά είναι: σακχαρόζη (SUC), αμυλοσιρόπι με 20 ισοδύναμο δεξτρόζης (20DECS), αμυλοσιρόπι με 42 ισοδύναμο δεξτρόζης (42DECS), και αμυλοσιρόπι με υψηλή περιεκτικότητα σε φρουκτόζη (HFCS).

Ο δεύτερος πιθανός μηχανισμός δράσης των υδροκολλοειδών, συνδέει την κρυσταλλοπροστατευτική δράση τους με τη δημιουργία γελών-κρυσταλλωμάτων ως αποτέλεσμα των θερμικών σοκ κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης. Οι παραπάνω δομές περιορίζουν τη διάχυση του νερού και συγκρατούν μέρος του ελεύθερου νερού ως νερό ενυδάτωσης για το σταθεροποιητή. Ωστόσο, ορισμένα υδροκολλοειδή που εμφανίζουν την ικανότητα σχηματισμού ισχυρών πηγμάτων τόσο σε υδατικά διαλύματα όσο και σε διαλύματα παρουσία πρωτεΐνης, δεν διαθέτουν κάποια ισχυρή κρυσταλλοπροστατευτική ικανότητα. Τα παραπάνω αποτελέσματα, οδηγούν στο συμπέρασμα πως τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του

σχηματιζόμενου πήγματος είναι καίριας σημασίας για την κρυσπρόστασία στο παγωτό. Έχει παρατηρηθεί μάλιστα, πως η δημιουργία ενός εύκαμπτου πήγματος και όχι ενός σκληρού και εύθρυπτου, ασκεί μεγαλύτερη αντίσταση στη διάδοση των παγοκρυστάλλων στο παγωτό. Τα ιξωδοελαστικά χαρακτηριστικά του σχηματιζόμενου πήγματος έχουν καθοριστικό ρόλο για την κρυσπρόστατευτική δράση ενός σταθεροποιητή. Στην *Εικόνα 2.3* παρουσιάζεται η ικανότητα σχηματισμού πήγματος παρουσία πρωτεΐνης για διάφορα υδροκολλοειδή. Ειδικότερα, η κ-καρραγενάνη, το κόμμι χαρουπιού και η CMC εμφάνισαν ικανότητα σχηματισμού πηγμάτων, τα οποία βελτίωσαν την κρυσπρόστατευτική τους δράση, λόγω ελάττωσης των ορίων της δυνητικής ανάπτυξης των παγοκρυστάλλων.



Εικόνα 2.3. Μελέτη της ικανότητας διάφορων υδροκολλοειδών να σχηματίζουν κρυσπήγματα σε υδατικά συστήματα σακχαρόζης - πρωτεΐνης που υποβάλλονται σε διαδοχικούς κύκλους τήξης – κατάψυξης. 1=control, 2 = κόμμι χαρουπιού, 3 = ξανθάνη, 4 = CMC, 5 = ζελατίνη, 6 = κ-καρραγενάνη, 7 = αλγινικό νάτριο

Τέλος, ο τρίτος μηχανισμός συνδέεται με την ασυμβατότητα των υδροκολλοειδών με τις πρωτεΐνες γάλακτος και κυρίως τις καζεΐνες, η οποία έχει ως αποτέλεσμα την ασυνεχή κατανομή τους στη φάση ορού και τη δημιουργία τοπικών υδατικών φάσεων πλούσιων σε πρωτεΐνες ή πολυσακχαρίτες αντίστοιχα. Η ύπαρξη αυτών των διαφορετικών φάσεων, ελαττώνει το δυναμικό διάχυσης υγρασίας προς τη διεπιφάνεια των παγοκρυστάλλων. Η καρραγενάνη είναι ο μόνος σταθεροποιητής που μπορεί να μειώσει μακροσκοπικά την εμφάνιση δύο φάσεων και για αυτό το λόγο χρησιμοποιείται ευρέως στην παρασκευή του παγωτού. Σύμφωνα με πειραματικά δεδομένα, η μοναδική δράση της καρραγενάνης οφείλεται πιθανά στην ηλεκτροστατική αλληλεπίδραση μεταξύ της καρραγενάνης και της καζεΐνης που οδηγεί στο σχηματισμό μιας σύνθετης δομής αλλά και στο σχηματισμό πήγματος το οποίο μπορεί να παγιδεύσει τα μικύλια κρατώντας τα αιωρημένα στο διάλυμα (Dalgleish & Morris 1988, Schorsch et al. 2000). Ωστόσο, πρέπει να αναφερθεί ότι η προσθήκη καρραγενάνης δεν αναστέλλει το μικροσκοπικό διαχωρισμό φάσεων, αλλά αυξάνει το βαθμό γαλακτωματοποίησης της πρωτεϊνικής φάσης το οποίο συνδέεται με τη μακροσκοπική (οπτική) μείωση διαχωρισμού φάσεων. Ανάλογα με το είδος του σταθεροποιητή, η θερμοδυναμική σταθερότητα του παγωτού επηρεάζεται με διαφορετικούς τρόπους. Έτσι, σταθεροποιητές όπως το αλγινικό νάτριο, το κόμμι γκουάρ και η ξανθάνη

δρουν ελέγχοντας τα φαινόμενα ανακρυστάλλωσης μέσω αύξησης του μικρο-ιζώδους και αύξησης της συγκέντρωσης της πλούσιας σε πολυσακχαρίτη υδατικής φάσης, ενώ το κόμμι χαρουπιού, η ζελατίνη και η ιακαραγενάνη σχηματίζουν κρυσπήγματα (Bahramparvar & Tehrani 2011, Goff & Hartel 2013, Regand & Goff 2002, Regand & Goff 2003, Herrera et al., 2007, Bolliger et al. 2000, Hagiwara et al. 2006, Patmore et al. 2002, Martin et al. 1999, Bourriot et al. 1999a,b., Schorsch et al. 1998, Dalgleish & Morris 1988, Schorsch et al. 2000).

Παράλληλα με τις υπόλοιπες λειτουργίες, οι σταθεροποιητές επιδρούν και στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του παγωτού. Με τη χρήση υδροκολλοειδών έχει παρατηρηθεί βελτίωση της οργανοληπτικά εκτιμώμενης υφής του παγωτού, παρόλο που τα πειραματικά δεδομένα είναι ακόμα ανεπαρκή. Είναι γνωστή η επίδραση του ιζώδους της φάσης ορού στην υφή του προϊόντος, το οποίο επηρεάζει μάλιστα και την ολική αποδοχή του παγωτού από το καταναλωτικό κοινό (Bahramparvar et al. 2010). Η συγκέντρωση του σταθεροποιητή στο μίγμα του παγωτού, συνδέεται άμεσα με την αύξηση του ιζώδους και επομένως με τη βελτίωση της υφής του τελικού προϊόντος. Η προσθήκη σταθεροποιητών στη σωστή συγκέντρωση στο μίγμα παγωτού, βελτιώνει την κρεμμώδη υφή και μειώνει την τραχύτητα και την υδαρότητα του τελικού προϊόντος. Επίσης, οι σταθεροποιητές συμβάλλουν στη μείωση της οργανοληπτικής αντίληψης των παγοκρυστάλλων κατά τη μάσηση και του παγωμένου αισθήματος, αφού δρουν ως αναστολείς των φαινομένων ανακρυστάλλωσης (Moore et al 1981). Επιπρόσθετα, πρόσφατες έρευνες αναφέρουν πως η χρήση υδροκολλοειδών στο παγωτό διευκολύνει την ενσωμάτωση των αρωματικών και χρωστικών υλών.

Γενικά, οι σταθεροποιητές πρέπει να είναι ουδέτερα συστατικά από πλευράς αρώματος, ωστόσο, επηρεάζουν σημαντικά τον τρόπο και το ρυθμό με τον οποίο απελευθερώνεται το άρωμα στο τελικό προϊόν. Η προσθήκη υδροκολλοειδών σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες μίας κρίσιμης συγκέντρωσης (συνήθως 0,2%, αλλά διαφορετική για κάθε σταθεροποιητή), που συνεπάγεται τη δημιουργία πολυσακχαρικών πλεγμάτων, μπορεί να προκαλέσει ταπείνωση της έντασης και αύξηση του χρόνου αποδέσμευσης του αρώματος στο παγωτό. Η επίδραση των υδροκολλοειδών στο άρωμα συνδέεται άμεσα με το πόσο συμβατός είναι ο συγκεκριμένος σταθεροποιητής με το σύστημα π.χ. υψηλή οξύτητα, αλλά και με τις αλληλεπιδράσεις ιδιοτήτων αρώματος – υφής κατά τη διάρκεια της μάσησης. Αποτελέσματα ερευνών έχουν δείξει ότι, τα συστήματα παγωτού που χαρακτηρίζονται από ικανοποιητικά χαρακτηριστικά υφής (κρεμμώδη υφή, περιορισμένη τραχύτητα και υδαρότητα), χαρακτηρίζονται και από καλύτερα εκτιμώμενο άρωμα βανίλιας. Έτσι, μπορεί κανείς να συμπεράνει ότι υπάρχει άμεση σχέση μεταξύ της υφής και του αρώματος του παγωτού. Ωστόσο, η υπερβολική χρήση σταθεροποιητών σε μεγάλες ποσότητες, μπορεί να επιφέρει ανεπιθύμητα αποτελέσματα στην υφή του παγωτού. Μερικά παραδείγματα είναι: ανεπιθύμητα χαρακτηριστικά τήξης, αυξημένη αίσθηση κομμώδους υφής, υπερβολική υδαρότητα κατά τη διάρκεια της τήξης και παρουσία ενός διαφανές υγρού με συσσωματώματα πρωτεϊνών, και ο μακροσκοπικός διαχωρισμός φάσεων κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης εξαιτίας της ασυμβατότητας πρωτεϊνών και υδροκολλοειδών (Soukoulis et al. 2008, Cook 2006, Bahramparvar & Tehrani 2011, Bahramparvar et al. 2010, Goff & Hartel 2013, Goff & Sahagian 1996, Clarke 2004, Regand & Goff 2003, Akhtar et al. 2005, Muse & Hartel 2004, Moore et al 1981).

Πρωτεΐνες

Ο ρόλος των πρωτεϊνών στην φάση του ορού αν και έχει αναγνωριστεί, δεν έχει μελετηθεί όσο η συνεισφορά τους στην αποσταθεροποίηση των λιπαρών καθώς και στη σταθεροποίηση του αφρού. Οι πρωτεΐνες γάλακτος στο παγωτό είναι δύο ειδών: πρωτεΐνες ορού γάλακτος και καζεΐνες. Όπως είναι γνωστό, οι πρωτεΐνες αποτελούν εξαιρετικές επιφανοδραστικές ενώσεις, με αποτέλεσμα να δρουν στις διεπιφάνειες λιπαρών – φάσης ορού, λιπαρών – αέρα και αέρα – φάσης ορού. Παράλληλα όμως, παρουσιάζουν μία σημαντική και χρήσιμη θερμοδυναμική ασυμβατότητα με ένα μεγάλο αριθμό σταθεροποιητών που χρησιμοποιούνται στο παγωτό. Η δραστηριότητα των πρωτεϊνών στο παγωτό κινείται κατά βάση σε τρεις άξονες: επίδραση στην αποσταθεροποίηση των λιποσφαιριδίων, επίδραση στην τάση διαχωρισμού φάσεων (phase separation) λόγω θερμοδυναμικής ασυμβατότητας με τα υδροκολλοειδή, και επίδραση στην ικανότητα σχηματισμού και σταθεροποίησης των φουσαλίδων αέρα. Επίσης, οι πρωτεΐνες γάλακτος ειδικότερα, αλληλεπιδρούν με την υδατική φάση και η ενυδάτωσή τους προσδίδει πολλές λειτουργικές ιδιότητες στο παγωτό, συμπεριλαμβανομένων των ρεολογικών. Συγκεκριμένα, κατά την ψύξη, η συγκέντρωση των πρωτεϊνών στη φάση ορού αυξάνεται, αυξάνοντας παράλληλα το μικρο-ιξώδες του ορού και επιδρώντας με αυτό τον τρόπο στις ρεολογικές ιδιότητες του παγωτού.

Η αύξηση του ιξώδους έχει άμεση επίδραση στα φαινόμενα ανακρυστάλλωσης, στη σταθερότητα των παγοκρυστάλλων και στην κινητικότητα των μορίων στο παγωτό. Είναι ήδη γνωστό, πως η ασυμβατότητα πρωτεϊνών και υδροκολλοειδών συμβάλλει στην αναστολή των φαινομένων ανακρυστάλλωσης που παρουσιάζονται στο παγωτό κατά την αποθήκευση. Ωστόσο, έρευνες έχουν δείξει πως η δομή των μικκυλίων καζεΐνης δεν επηρεάζεται κατά τη διαδικασία παρασκευής του παγωτού, καθώς, όπως έχει παρατηρηθεί, παραμένουν ανέπαφα στο τελικό προϊόν παρουσιάζοντας ίδια δομή με εκείνη στο αρχικό μίγμα. Τέλος, οι πρωτεΐνες επιδρούν και στις θερμοφυσικές ιδιότητες του παγωτού, ενώ η επίδρασή τους καθορίζεται κατά κύριο λόγο από την περιεκτικότητά τους σε λακτόζη και ανόργανα άλατα. Για το λόγο αυτό η υποκατάσταση της σκόνης γάλακτος από προϊόντα ορού γάλακτος τα οποία χαρακτηρίζονται από υψηλή συγκέντρωση σε λακτόζη και ανόργανα άλατα δεν υπερβαίνει το 25% (Goff & Hartel 2013, Flores & Goff 1999, Jonkman et al. 1999, Soukoulis Phd, Regand & Goff 2002, Regand & Goff 2003, Goff, 1997a).

Η πλειοψηφία των μελετών που έχουν διεξαχθεί για την επίδραση των πρωτεϊνών στο παγωτό, αφορούν στη συνεισφορά τους στην αποσταθεροποίηση των λιπαρών του μίγματος. Όπως έχει παρατηρηθεί, η παρουσία των πρωτεϊνών στο μίγμα παγωτού διευκολύνει τη μείωση της επιφανειακής τάσης και κατά συνέπεια ένας σημαντικός αριθμός πρωτεϊνικών μορίων τείνει να προσροφάται στην επιφάνεια των λιποσφαιριδίων. Έτσι, λόγω της υψηλής πρωτεϊνικής συγκέντρωσης των μιγμάτων, κατά την ομογενοποίηση δημιουργούνται πολύ σταθερά γαλακτώματα έναντι συσσωματώσεων. Ωστόσο, η τάση αυτή των μιγμάτων παγωτού για μερική συσσωμάτωση είναι απαραίτητη για το σχηματισμό της μικροδομής του παγωτού και τη σταθεροποίησή της κατά τα στάδια της κατάψυξης και της αποθήκευσης. Πρέπει ωστόσο να σημειωθεί, ότι το είδος και η δομή των πρωτεϊνών στο μίγμα του παγωτού παίζουν σημαντικό ρόλο στην αποσταθεροποίηση ή συσσωμάτωση των λιποσφαιριδίων. Σε ορισμένες έρευνες μάλιστα, διαπιστώθηκε ότι ο λόγος καζεϊνών προς πρωτεΐνες ορού γάλακτος είναι σημαντικός παράγοντας για τη σωστή αποσταθεροποίηση

των λιπαρών κατά τη διάρκεια της κατάψυξης (Goff et al. 1989). Οι καζεΐνες έχουν πολύ μικρότερο μέγεθος από τις πρωτεΐνες ορού γάλακτος, οπότε προσροφούνται πιο εύκολα στην επιφάνεια των λιποσφαιριδίων. Μάλιστα, η αυξημένη συγκέντρωση καζεϊνών στο μίγμα παγωτού μπορεί να οδηγήσει σε μικρότερου μεγέθους φυσαλίδες αέρα, καλύτερες τιμές overrun και σε πιο ομοιόμορφη κατανομή τους στο παγωτό, καθώς και σε μεγαλύτερο ποσοστό επικάλυψης λιποσφαιριδίων στην επιφάνεια των φυσαλίδων αέρα και σε αύξηση της ποσότητας των προσροφημένων πρωτεϊνών στην επιφάνεια των λιποσφαιριδίων. Αντίθετα, έχει παρατηρηθεί πως οι πρωτεΐνες ορού γάλακτος ελαττώνουν σε υπερβολικά μεγάλο βαθμό την επιφανειακή τάση των λιπαρών πριν την απόδραση, με αποτέλεσμα την αύξηση της αστάθειας των γαλακτωμάτων παγωτού καθώς και του αφρού, η οποία οφείλεται στην κατάρρευση των φυσαλίδων αέρα. Ωστόσο, η αύξηση του ποσοστού των καζεϊνών στο συνολικό πρωτεϊνικό περιεχόμενο, δεν συνεπάγεται πάντοτε αύξηση των προσροφημένων πρωτεϊνών κυρίως σε υψηλές συνολικές πρωτεϊνικές συγκεντρώσεις.

Παράλληλα, σε άλλες έρευνες έχει παρατηρηθεί ότι σε γαλακτώματα υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά και παρουσία μονογλυκεριδίων, οι καζεΐνες εμφάνισαν επιλεκτική προσρόφηση στην επιφάνεια των λιποσφαιριδίων, ειδικότερα κατά τη διάρκεια της ομογενοποίησης, με τη συσσωμάτωση των λιποσφαιριδίων να ελαττώνεται. Επίσης, όπως έχει παρατηρηθεί η θερμική προεπεξεργασία του μίγματος παγωτού, μπορεί να αποφέρει θετικές επιδράσεις στην επιφανειακή προσρόφηση πρωτεϊνών στα λιποσφαιρίδια, στο ιξώδες του μίγματος καθώς και στη δομή του αφρού και των λιποσφαιριδίων. Αυτό συμβαίνει διότι, με τη θερμική επεξεργασία επιφέρεται μετουσίωση των πρωτεϊνών ορού γάλακτος, οι οποίες στη συνέχεια αλληλεπιδρούν με τις καζεΐνες προς σχηματισμό συσσωματωμάτων, μειώνοντας έτσι και την ανάγκη για χρήση σταθεροποιητών (Relkin et al 2006). Πιο συγκεκριμένα, έχει παρατηρηθεί ότι η χρήση συμπυκνωμάτων μετουσιωμένων πρωτεϊνών ορού (denaturated WPC) στο παγωτό οδηγεί σε βελτίωση της τιμής του overrun και μείωση του ρυθμού τήξης, εξαιτίας της καλύτερης προσρόφησης των πρωτεϊνών στη διεπιφάνεια των φυσαλίδων αέρα. Η προσθήκη υπερσυμπυκνωμάτων και συμπυκνωμάτων πρωτεϊνών γάλακτος (MPC) στα προϊόντα παγωτού μπορεί να αυξήσει σημαντικά το ιξώδες του μίγματος και την ικανότητα απόδρασης των μιγμάτων, χωρίς σημαντικές μεταβολές στη θερμοκρασία του σημείου πήξεως, καθώς και να συμβάλλει στην ομοιόμορφη κατανομή μεγέθους των παγοκρυστάλλων (Sourdet et al. 2003). Γενικότερα, η αύξηση του πρωτεϊνικού περιεχόμενου των μιγμάτων παγωτού κατά 90%, με την προσθήκη MPC ή WPC, επιφέρει σημαντική ενίσχυση του ιξώδους των μιγμάτων, ανύψωση της θερμοκρασίας του σημείου πήξης, βελτίωση των τιμών του overrun και μείωση του μέσου μεγέθους των αρχικών παγοκρυστάλλων. Οι πρωτεΐνες στα προϊόντα γάλακτος, λοιπόν, δρουν ως φυσικές σταθεροποιητικές ουσίες. Επομένως, είναι εύλογο το συμπέρασμα ότι η αύξηση της περιεκτικότητας των μιγμάτων παγωτού σε πρωτεΐνη μπορεί να υποκαταστήσει σε μεγάλο βαθμό ή εξολοκλήρου την προσθήκη υδροκολλοειδών ή γαλακτωματοποιητών.

Επιπλέον αξίζει να σημειωθεί ότι, η ποσότητα των πρωτεϊνών μπορεί να επιφέρει σημαντικές μεταβολές και στην κρυστάλλωση των τριγλυκεριδίων, παράγοντα που επίσης επηρεάζει το ποσοστό της αποσταθεροποίησης καθώς και την τιμή του overrun, δηλαδή του περιεχόμενου αέρα, στα προϊόντα παγωτού (Zhang & Goff 2004). Τέλος, η χρήση υπερσυμπυκνωμάτων πρωτεϊνών φυτικής προέλευσης (π.χ. σόγια) που έχει εφαρμοστεί στην παραγωγή κατεψυγμένων επιδόρπιων γάλακτος, οδηγεί σε προϊόντα που χαρακτηρίζονται από ενισχυμένο overrun και αποδεικτά χαρακτηριστικά υψής και αρώματος. Η

υποκατάσταση προϊόντων αυγού από υπερσυμπύκνωμα πρωτεΐνης σόγιας βελτιώνει επίσης τα λειτουργικά χαρακτηριστικά των δειγμάτων παγωτού χωρίς να επιδρά αρνητικά στα οργανοληπτικά τους χαρακτηριστικά. (Goff 1997b, Walstra et al. 2006, Goff et al. 1989, Goff & Hartel 2013, Gelin et al. 1996, Britten & Giroux 1991, Relkin & Sourdlet 2005, Relkin et al. 2006, Sourdlet et al. 2003, Zhang & Goff 2004, Damodaran 2005, Koxholt et al. 1999, Adapa et al. 2000b, Aykan et al. 2008, Akalin et al. 2007, Alvarez et al. 2005, Patel et al. 2006, Herald et al. 2008, Lee & White 1991, Innocente et al. 2002, Innocente et al. 1999)

Η προσθήκη των πρωτεϊνών στο παγωτό έχει επίπτωση και στην οργανοληπτική ποιότητα των δειγμάτων παγωτού. Οι πρωτεΐνες στο παγωτό συνδέονται με αρωματικές ουσίες και κυρίως με τη βανιλίνη, με αποτέλεσμα να επηρεάζεται ο τρόπος και ο ρυθμός απελευθέρωσης του αρώματος. Αποτελέσματα παλαιότερων ερευνών έδειξαν ότι, η αύξηση του ποσοστού πρωτεϊνών ορού γάλακτος στο μίγμα παγωτού επιφέρει μείωση της έντασης του αρώματος βανιλίνης (Hansen & Heinis 1991). Ωστόσο, νεότερες έρευνες διαπίστωσαν ότι τα πρωτεϊνικά συστατικά συνεισφέρουν θετικά στην αποδέσμευση και αποτίμηση του αρώματος στο παγωτό και δεν παρεμποδίζουν την απελευθέρωσή του (Stampanoni-Koeflerli et al. 1996). Μάλιστα οι πρωτεΐνες δεν επηρεάζουν μόνο την ένταση του αρώματος βανιλίνης αλλά και άλλων αρωματικών παραγόντων. Συγκεκριμένα, έχει παρατηρηθεί αύξηση του ρυθμού απελευθέρωσης της βενζαλδεΐδης, της φαινυλακεταλδεΐδης και των πυραζινών κατά την προσθήκη των πρωτεϊνικής προέλευσης υποκατάστατων σε δείγματα παγωτού σοκολάτας. Γενικά, η επίδραση των πρωτεϊνών στην αποδέσμευση του αρώματος εξαρτάται από το είδος της πρωτεΐνης αλλά και από τη χημική σύνθεση της αρωματικής ουσίας. Επίσης, η προσθήκη συμπυκνωμάτων ορού γάλακτος (WPC) ως μέσα ενίσχυσης των μη λιπαρών στερεών (NFMS) ή υποκατάστασης των λιπαρών επηρεάζει την αποδέσμευση των αρωματικών ουσιών. Τέλος, η προσθήκη συμπυκνωμάτων ορού γάλακτος και πρωτεΐνης γάλακτος συμβάλλει και στην βελτίωση των χαρακτηριστικών υψής των κατεψυγμένων επιδόρπιων γάλακτος, βελτιώνοντας την κρεμμώδη υφή και περιορίζοντας την τραχύτητα, την σκληρότητα, την υδαρότητα και την αίσθηση παγοκρυστάλλων. Οι επιδράσεις αυτές φαίνεται να σχετίζονται με την ικανότητα των συγκεκριμένων συστατικών να επηρεάζουν τα ρεολογικά και θερμοφυσικά χαρακτηριστικά των μιγμάτων παγωτού (Alvarez et al. 2005, Patel et al. 2006, Hansen & Heinis 1991, Akalin et al. 2007, Stampanoni-Koeflerli et al., 1996, McNeil & Schmidt 1993, Welty et al. 2001).

Αντιψυκτικές πρωτεΐνες

Ένα σχετικά καινούριο συστατικό που μπορεί να βρεθεί σε ορισμένα παγωμένα επιδόρπια, είναι οι λεγόμενες αντιψυκτικές πρωτεΐνες (ISP, ice-structuring proteins). Είναι φυσικές πρωτεΐνες ζωικής ή φυτικής προέλευσης που βρίσκονται κυρίως σε ψάρια, έντομα ή φυτά προσαρμοσμένα σε κρύες κλιματολογικές συνθήκες. Οι πρωτεΐνες αυτές έχουν την ιδιότητα να επιβάθονται στην επιφάνεια των παγοκρυστάλλων παρεμποδίζοντας έτσι τη μετακίνηση μορίων νερού μεταξύ παγοκρυστάλλων. Η προσθήκη αυτών των πρωτεϊνών σε μίγματα παγωτού αναστέλλει σε μεγάλο βαθμό την εμφάνιση φαινομένων ανακρυστάλλωσης. Συγκεκριμένα, αποτελέσματα ερευνών έχουν δείξει τη μείωση φαινομένων ανακρυστάλλωσης έως και 46% οδηγώντας έτσι στην παραγωγή ενός εμφανώς πιο κρεμμώδους παγωτού. Επίσης, η χρήση αντιψυκτικών πρωτεϊνών επηρεάζει και το

ρυθμό τήξης του παγωτού εξαιτίας της αλλαγής στη μορφολογία των παγοκρυστάλλων που οδηγεί στη δημιουργία κρυσταλλικών δικτύων. Ωστόσο, προς το παρόν μόνο ένα εμπορικό προϊόν που κυκλοφορεί στην Αμερικανική αγορά περιέχει αντιψυκτικές πρωτεΐνες στο μίγμα παγωτού. Παράλληλα, γίνονται πειράματα για την παρασκευή συνθετικών αντιψυκτικών πεπτιδίων που λειτουργούν ακριβώς όπως οι συγκεκριμένες πρωτεΐνες και έχουν ως στόχο την θωράκιση των παγωμένων επιδορπίων γάλακτος έναντι των φαινομένων ανακρυστάλλωσης (Yu et al. 2010, Hassas-Roudsari & Goff 2012, Regand & Goff 2006, Wang & Damodaran S 2009, Goff & Hartel 2013).

2.3 Λιπαρή φάση

Τα λιπαρά, ανεξάρτητα από την προέλευσή τους (φυτικής ή ζωικής προέλευσης), έχουν καθοριστική συμβολή στην ποιότητα του παγωτού, αφού σχετίζονται με την αποτελεσματικότητα της ωρίμανσης και τη σταθερότητα των δομικών χαρακτηριστικών του παγωτού (φυσαλίδες αέρα). Οι κολλοειδείς ιδιότητες των λιπαρών υλών είναι καθοριστικής σημασίας για το τελικό προϊόν και ειδικότερα, το μέγεθος των λιποσφαιριδίων και η σύσταση της μεμβράνης που τα περιβάλλει. Η λειτουργικότητα των λιπαρών στο παγωτό βασίζεται σε δύο κυρίως ιδιότητες τους: α) στην ικανότητα κρυστάλλωσης των λιποσφαιριδίων, και β) στην ικανότητα δημιουργίας τριδιάστατων δικτύων συσσωματωμένων λιποσφαιριδίων, διαδικασία που ονομάζεται αποσταθεροποίηση των λιπαρών και προσφέρει δομική σταθερότητα στο τελικό προϊόν. Η παρουσία των λιπαρών υλών στο παγωτό επιδρά στις ρεολογικές ιδιότητες του μίγματος, στο ρυθμό τήξης του τελικού προϊόντος, καθώς και στην υφή και τα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά.

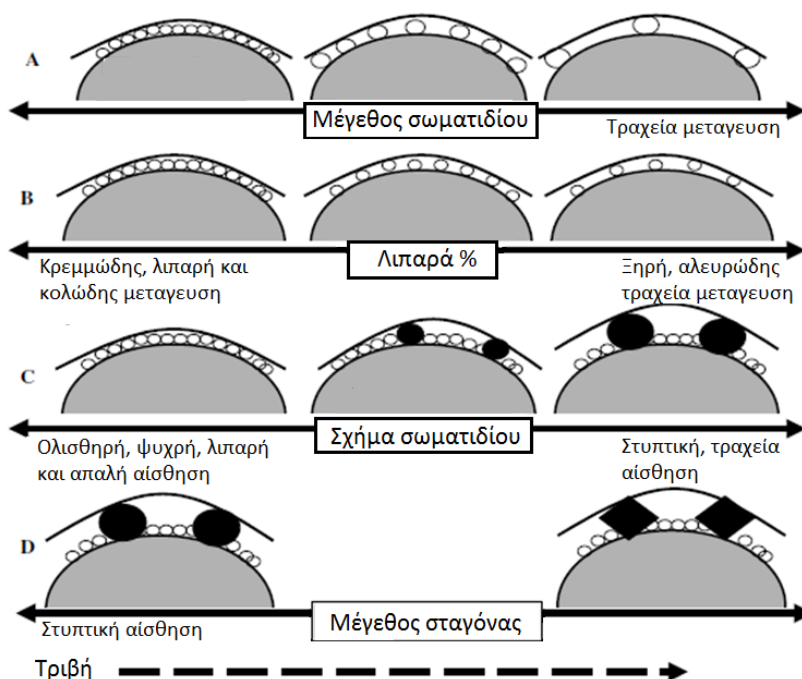
Βασική επίδραση στις ρεολογικές ιδιότητες των μιγμάτων παγωτού έχει το ποσοστό κρυσταλλωμένων λιπαρών καθώς και η προέλευσή τους. Τα μίγματα παγωτού πρέπει να έχουν ένα λόγο κρυσταλλωμένων προς μη κρυσταλλωμένων τριγλυκεριδίων περίπου ίσο με 60:40, έτσι ώστε να υπάρχει αριετή ποσότητα αποσταθεροποιήσιμων λιποσφαιριδίων κατά τη διάρκεια της κατάψυξης. Κατά συνέπεια, είναι επιθυμητή η χρήση λιπαρών υλών με κρυσταλλώσιμα τριγλυκερίδια στις θερμοκρασίες ωρίμανσης (2-4°C), τα οποία επιδρούν θετικά στην επίτευξη ικανοποιητικής ενσωμάτωσης αέρα. Λιπαρά φυτικής προέλευσης μπορεί να οδηγήσουν σε μεγαλύτερα ποσοστά στερεού λίπους (SFC) στο παγωτό, επιδρώντας τόσο στα δομικά χαρακτηριστικά των λιποσφαιριδίων (μερική συσσωμάτωση και αύξηση μεγέθους, ποσοστό περιεχόμενου αέρα) όσο και στη σταθερότητά τους έναντι της θερμικής καταπόνησης (θερμικό σοκ). Αναφορικά, έχει παρατηρηθεί ότι, η χρήση καρυδέλαιου οδηγεί σε υψηλότερα ποσοστά κρυσταλλωμένου λίπους (65-70%) σε σχέση με τα λιπαρά γάλακτος (50-60%) (Lucas et al. 2004, Mariette & Lucas 2005). Πρόσφατες μελέτες διαπίστωσαν ότι η προσθήκη των πλούσιων σε κορεσμένα τριγλυκερίδια λιπαρών επηρέασε σημαντικά τα φαινόμενα κρυστάλλωσής τους, χωρίς όμως να μεταβάλλει σημαντικά τη μέση διάμετρο των λιποσφαιριδίων. Παρατηρήθηκε μάλιστα ότι, η αύξηση του ολικού ποσοστού κορεσμένων τριγλυκεριδίων οδηγεί σε αύξηση της θιξοτροπικής συμπεριφοράς των μιγμάτων (Granger et al. 2003). Επίσης, η χρήση στεαρινικών κλασμάτων λιπαρών γάλακτος στο παγωτό επιφέρει αύξηση του ποσοστού των κρυσταλλωμένων λιπαρών, αλλαγές στη θερμοκρασία έναρξης και τερματισμού της τήξης και μεταβολή στη συγκέντρωση των πρωτεϊνών στην επιφάνεια των λιποσφαιριδίων και κατ' επέκταση της ικανότητας απόδρασης των μιγμάτων παγωτού (Bazmi et al. 2007) . Η

προσθήκη λιπαρών ουσιών που χαρακτηρίζονται από χαμηλούς βαθμούς κρυστάλλωσης, οδηγούν σε μίγματα παγωτού με χαμηλότερο ιξώδες (Bazmi et al. 2008). Τέλος, αξίζει να αναφερθεί ότι, διάφορα είδη φυτικών λιπαρών υλών (π.χ εξευγενισμένο φοινικέλαιο, ηλιέλαιο) παρουσία κορεσμένων και ακόρεστων γαλακτωματοποιητών, επιδρούν καθοριστικά στο μέσο μέγεθος των λιποσφαιριδίων, αλλά και στο ποσοστό προσρόφησης των πρωτεϊνών κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης (Granger et al. 2003). (Marshall et al. 2003, Goff & Hartel 2013, Goff 1997a, Goff 2002, Herrera et al. 1999, Lucas et al. 2004, Mariette & Lucas 2005, Bazmi et al. 2008, Granger et al. 2003, Bazmi et al. 2007, Abd-El-Rahman et al. 1997a)

Εκτός από τις επιδράσεις των λιπαρών υλών στα κολλοειδή φαινόμενα, υπάρχει ένας σημαντικός αριθμός ερευνών στις οποίες έχει εξεταστεί η επίδραση των λιπαρών πηγών στα ποιοτικά χαρακτηριστικά του παγωτού. Όπως έχει παρατηρηθεί, η αύξηση του ποσοστού των λιπαρών υλών στο μίγμα του παγωτού συνοδεύεται με μείωση του ρυθμού τήξης. Οι αργότεροι ρυθμοί τήξης παρατηρούνται εξαιτίας της αυξημένης αντίστασης της ροής της φάσης ορού κατά τη διαδικασία της τήξης, οι οποίοι οφείλονται στην αύξηση του ποσοστού των λιπαρών στο μίγμα παγωτού. Η αύξηση στο συνολικό ποσοστό λιπαρών υλών του μίγματος, συνεπάγεται και αύξηση στο ποσοστό των αποσταθεροποιημένων λιπαρών τα οποία είναι υπεύθυνα για την αντίσταση της ροής και τους μικρότερους ρυθμούς τήξης. Επίσης, πρέπει να σημειωθεί ότι, οι λιπαρές ύλες στο παγωτό προσδίδουν δομή στην ελαστική σύνδεση μεταξύ των θυλάκων αέρα, προσφέροντας έτσι περαιτέρω αντίσταση στην τήξη αλλά και στα φαινόμενα ανακρυστάλλωσης. Ωστόσο, η αύξηση του ποσοστού των λιπαρών, αν και συμβάλλει στην ευχερέστερη διόγκωση και τη σταθερότητα των φυσαλίδων αέρα, δεν συνεπάγεται κατ' ανάγκη την αναλογική αυξητική μεταβολή του overrun. Όπως διαπιστώθηκε, δείγματα με 12% λιπαρά είχαν σημαντικά καλύτερη ικανότητα απόδρασης σε σχέση με δείγματα με 8% λιπαρά αλλά όχι και από τα αντίστοιχα με 6% λιπαρά (Adapa et al. 2000a).

Παράλληλα, έρευνες έχουν δείξει πως η προσθήκη λιπαρών υλών στο παγωτό επιδρά και στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του τελικού προϊόντος. Έτσι, η αύξηση του ποσοστού των λιπαρών υλών στο παγωτό συνοδεύεται από μείωση της σκληρότητας, της τραχύτητας και της ευθρυπτότητας, από μείωση του παγωμένου αισθήματος και από αύξηση της κρεμμώδους υφής (Abd-El-Rahman et al. 1997b, Stampanoni-Koeflerli et al. 1996, Guinard et al. 1996, Guinard et al. 1997). Η επίδραση αυτή αποδίδεται τόσο στην αύξηση των ολικών στερεών των δειγμάτων (και συνεπώς στη μείωση του κρυσταλλωμένου νερού), όσο και στην επίδραση των λιπαρών στα δομικά χαρακτηριστικά του παγωτού (αποσταθεροποιημένα λιποσφαιρίδια, φυσαλίδες αέρα, παγοκρύσταλλοι). Επιπλέον, οι λιπαρές ύλες προσδίδουν την αίσθηση της λίπανσης στη στοματική κοιλότητα και την ελάττωση της τριβής κατά τη διάρκεια της διαδικασίας μάσησης, δημιουργώντας ένα λεπτό υμένιο από αποσταθεροποιημένα λιποσφαιρίδια στην επιφάνεια της γλώσσας. Παράγοντες όπως το μέγεθος των λιποσφαιριδίων, το ποσοστό αποσταθεροποίησης των λιποσφαιριδίων και η ποσότητα των ολικών λιπαρών υλών καθορίζουν την αποτελεσματικότητα της λίπανσης της στοματικής κοιλότητας (βλ. *Εικόνα 2.4*) (de Wijk et al. 2006, Dresselhuys et al. 2008, Vingerhoeds et al. 2009). Σε μελέτες που έγιναν διαπιστώθηκε ότι το κρεμμώδες, το κομμώδες, το άρωμα σοκολάτας και βανίλιας, καθώς και τα χαρακτηριστικά τήξης και το ιξώδες των δειγμάτων παγωτού βελτιώθηκαν αυξάνοντας τα ολικά στερεά λιπαρών του μίγματος (Prindiville et al. 1999). Ωστόσο, υπό ορισμένες συνθήκες η υπερβολική

αποσταθεροποίηση των λιποσφαιριδίων μπορεί να επιφέρει αρνητικές επιδράσεις στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του παγωτού, αφού οδηγεί στην βουτύρωση των λιπαρών υλών (Wilmsoser & Windhab 2001). Σε αυτή την περίπτωση τα λιποσφαιρίδια ενώνονται και σχηματίζεται μία μεγάλη στερεή μάζα με παρόμοια δομή των σωματιδίων του βουτύρου. Η δημιουργία αυτής της μάζας οδηγεί σε ένα ξηρό και δύσκαμπτο προϊόν με αυξημένη βουτυρώδη υφή. Επιπρόσθετα, ο μηχανισμός που συνδέεται με την αποσταθεροποίηση των λιποσφαιριδίων κατά τη διάρκεια της μύησης εξηγεί επίσης και τις επιδράσεις των λιπαρών στην αποδέσμευση και την εκτίμηση της έντασης των αρωματικών παραγόντων, με αύξηση της περιεκτικότητας των λιπαρών να συνοδεύεται από καλύτερη αποτίμηση του αρώματος και καλύτερα ελεγχόμενο ρυθμό αποδέσμευσης των αρωματικών παραγόντων. Παράλληλα, η μείωση της αίσθησης παγωμένου, που προκαλείται από τη μείωση της θερμικής αγωγιμότητας κατά τη διαδικασία της μύησης του παγωτού, συμβάλλει στην καλύτερη αντίληψη του αρώματος (περιορισμός των φαινομένων νάρκωσης των υποδοχέων της γλώσσας – tongue receptors numbing) (Nazaruddin et al. 2008, Dresselhuis et al. 2008). Τέλος, αξίζει να αναφερθεί ότι, ακόμα και το είδος των λιπαρών υλών μπορεί να έχει σημαντικές επιδράσεις στα ποιοτικά χαρακτηριστικά των δειγμάτων παγωτού (Hartel et al. 2003, Bolliger et al. 2000, Koxholt et al. 2001 Koxholt 2000, Goff 2002, Ranjan & Baer 2005, Abd-El-Rahman et al. 1997b, Stampanoni-Koeflerli et al. 1996, Guinard et al. 1996, Guinard et al. 1997, de Wijk et al. 2006, Dresselhuis et al. 2008, Vingerhoeds et al. 2009, Prindiville et al. 1999, Roland et al. 1999, Specter & Setser 1994, Bom Frost et al. 2005, Miettinen et al. 2002, Liou & Grün 2007, Nazaruddin et al. 2008, Wildmoser and Windhab 2001, Adapa et al. 2000a).



Εικόνα 2.4. Σχηματική απεικόνιση της επίδρασης του (α) μεγέθους των λιποσφαιριδίων, (β) του ποσοστού λιπαρών, (γ) του μεγέθους σωματιδίων, και (δ) του σχήματος των σωματιδίων στην αντιλαμβανόμενη τριβή κατά τη διάρκεια της διαδικασίας μύησης επιδορπίων γάλακτος (de Wijk et al. 2005)

2.4 Επίδραση περιεχόμενου αέρα

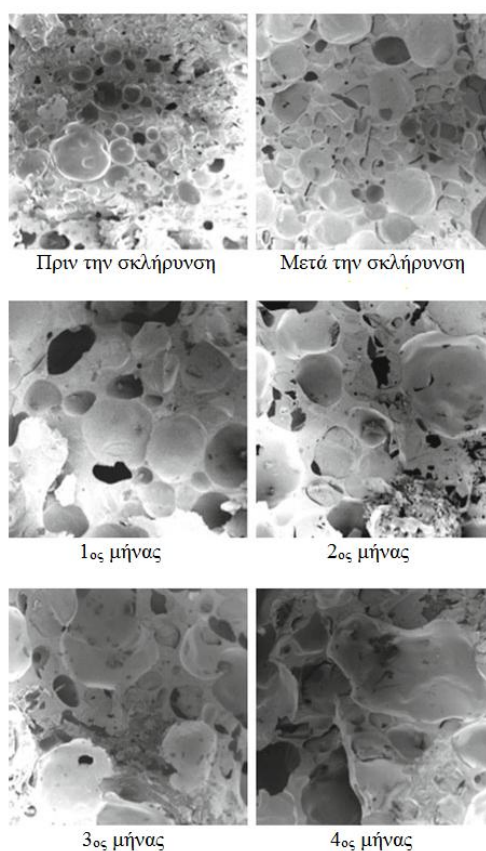
Όπως είναι ήδη γνωστό, ο περιεχόμενος αέρας στο παγωτό βρίσκεται στη μορφή διασκορπισμένων θυλάκων αέρα, οι οποίοι ενσωματώνονται στο μίγμα παγωτού κατά τη διάρκεια της ψύξης με απόδραση. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα οι θύλακες αέρα να σταθεροποιούνται μέσα στην ημίρρευστη φάση ορού, συνεισφέροντας έτσι στη δομική σταθερότητα του τελικού προϊόντος. Το μέγεθος των περιεχόμενων θυλάκων αέρα κυμαίνεται συνήθως από 20-50 μm , με τα εμπορικά προϊόντα παγωτών να εμφανίζουν μέσο μέγεθος θυλάκων αέρα μεταξύ 19,9-38,2 μm . Ο έλεγχος του συνολικού ποσοστού περιεχόμενου αέρα, του μέγεθος των θυλάκων αέρα καθώς και της σταθεροποίησής τους απασχολεί πολύ τη βιομηχανία παγωτού αφού αποτελούν παράγοντες καθοριστικής σημασίας για την ποιότητα του τελικού προϊόντος (Goff & Hartel 2013).

Είναι ξεκάθαρο ότι, το ποσοστό περιεχόμενου αέρα (overrun) επηρεάζει άμεσα το ρυθμό τήξης του παγωτού. Ο ακίνητος, σταθεροποιημένος αέρας στο παγωτό λειτουργεί ως ένα είδος μόνωσης, αφού, λόγω της μικρής θερμικής αγωγιμότητας που διαθέτει, αυξάνει την ανθεκτικότητα του παγωτού στις μεταβολές θερμοκρασίας. Παράλληλα, οι θύλακες αέρα μειώνουν την ικανότητα της θερμότητας να εισχωρήσει στο παγωτό (θερμική διαχυτότητα), καθυστερώντας έτσι τη διαδικασία τήξης. Επομένως, υψηλά ποσοστά περιεχόμενου αέρα (overrun) θα έπρεπε να οδηγούν σε χαμηλούς ρυθμούς τήξης του παγωτού, όπως βρέθηκε σε σχετική έρευνα των Sofjan και Hartel (2004). Ωστόσο, οι υψηλές τιμές overrun σημαίνει περισσότεροι θύλακες αέρα ανά μονάδα μάζας του παγωτού. Έτσι, εάν οι θύλακες αυτοί δεν είναι σωστά σταθεροποιημένοι, κατά τη διάρκεια της τήξης των παγοκρυστάλλων, θα καταρρεύσουν πιο γρήγορα και το παγωτό δεν θα μπορεί να διατηρήσει την αρχική του μορφή. Επίσης, επίδραση στο ρυθμό τήξης του παγωτού μπορεί να έχει και το μέγεθος των περιεχόμενων θυλάκων αέρα. Παγωτά με μεγαλύτερους θύλακες αέρα μπορεί να παρουσιάσουν μεγαλύτερους ρυθμούς τήξης, εξαιτίας του μεγαλύτερου ελασματοειδούς κενού που υπάρχει ανάμεσα στις φυσαλίδες. (Goff & Hartel 2013, Turan et al. 1999, Chang & Hartel 2002a, Xinyi et al 2010, Sofjan & Hartel 2004).

Το ποσοστό αέρα, επηρεάζει επίσης βασικά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του παγωτού, με κυριότερη την υφή. Σε πολλές έρευνες έχει παρατηρηθεί ότι, τα υψηλά ποσοστά περιεχόμενου αέρα μειώνουν την σκληρότητα του παγωτού, προσφέροντας παραπάνω αντίσταση στην παραμόρφωση του τελικού προϊόντος. Μάλιστα όπως βρέθηκε από τους Wilbey et al. (1998) η σκληρότητα μειώνεται εκθετικά με την αύξηση των τιμών του overrun. Επίσης, η παρουσία πολλών θυλάκων αέρα στη φάση ορού του παγωτού διευκολύνει τη διείσδυση κάνοντας το προϊόν πιο εύπλαστο κατά τη διαδικασία σερβιρίσματος (scoopable) (Goff et al. 1995, Wilbey et al. 1998, Muse and Hartel 2004).

Αλλαγές στην υφή και την ποιότητα του παγωτού επιφέρονται επίσης και κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης, εξαιτίας των αλλαγών που υφίστανται σε μέγεθος και σχήμα οι θύλακες αέρα. Το παγωτό, αμέσως μετά την παρασκευή του, θεωρείται αφρώδες γαλάκτωμα καθώς οι θύλακες αέρα είναι ομοιόμορφα και διακριτά κατανομημένοι στη ημίρρευστη φάση ορού. Κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης όμως, το μέγεθος και το σχήμα των θυλάκων αέρα μεταβάλλεται ως συνάρτηση της θερμοκρασίας, του χρόνου και της τιμής overrun. Έρευνες έχουν δείξει πως το μέγεθος των θυλάκων αέρα στο παγωτό αυξάνεται με γρηγορότερους ρυθμούς σε υψηλές θερμοκρασίες αποθήκευσης (-5 με -6°C), σε αντίθεση με χαμηλότερες θερμοκρασίες αποθήκευσης (-15 με -20°C) όπου η αύξηση του μεγέθους

των θυλάκων αέρα μειώνεται αισθητά. Το τελικό μέγεθος των θυλάκων αέρα στο παγωτό μπορεί να επηρεαστεί επίσης και από την τιμή του overrun. Παγωτά με χαμηλότερες τιμές overrun παρουσιάζουν μεγαλύτερους ρυθμούς αύξησης στο μέγεθος των θυλάκων αέρα. Οι παραπάνω αλλαγές στο μέγεθος και στο σχήμα των θυλάκων αέρα οδηγούν στη σταδιακή σύμπτυξη τους κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης του παγωτού, με αποτέλεσμα τη δημιουργία μιας σπογγώδους δομής με πληθώρα εσωτερικών καναλιών μεταξύ φυσαλίδων (βλ. *Εικόνα 2.5*). Η δομή αυτή οδηγεί σε παγωτά με αυξημένη ευθρυπτότητα και ετοιμόρροπη δομή ιδιαίτερα κατά το σερβίρισμα. Επίσης, τα κανάλια αυτά μπορεί να οδηγήσουν στην αύξηση του φαινομένου της συρρίκνωσης, φαινόμενο για το οποίο γίνεται εκτενέστερη αναφορά ακόλουθα (Sofjan & Hartel 2004, Pinzer et al. 2012, Chang & Hartel 2002b).



Εικόνα 2.5. Αλλαγές στη δομή του παγωτού όπως μετρήθηκαν με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης, κατά την αποθήκευση σε διάστημα 4 μηνών στους -15°C .
(Πηγή: Chang & Hartel 2002b)

Συρρίκνωση

Ένα πρόβλημα που παρουσιάζεται κατά την αποθήκευση του παγωτού, είναι το φαινόμενο της συρρίκνωσης. Το ελάττωμα αυτό επηρεάζει την ποιότητα του παγωτού και χαρακτηρίζεται από μείωση στον όγκο του παγωτού και απομάκρυνση του προϊόντος από τα τοιχώματα της συσκευασίας (βλ. *Εικόνα 2.6*). Αν και οι ακριβείς μηχανισμοί αυτού του φαινομένου δεν έχουν γίνει ακόμα εντελώς κατανοητοί, όπως έχει παρατηρηθεί, το ποιοτικό

αυτό ελάττωμα παρουσιάζεται ύστερα από τη μεταφορά του παγωτού μεταξύ περιοχών με αισθητή διαφορά πίεσης (π.χ. σε περιοχές με μεγάλο υψόμετρο ή μεταφορά με αεροπλάνο). Οι μεγάλες μεταβολές στην εξωτερική πίεση προκαλούν συνεχείς διαστολές και συστολές των θυλάκων αέρα αποδυναμώνοντας έτσι την εξωτερική μεμβράνη (έλασμα) που τους περιβάλλει. Η αποδυνάμωση της μεμβράνης οδηγεί στη σύμπτυξη των θυλάκων αέρα και στη συνέχεια στη δημιουργία καναλιών αέρα, που είναι υπεύθυνα για την κατάρρευση της δομής του παγωτού. Το φαινόμενο αυτό επηρεάζεται από μεγάλες μεταβολές πίεσης αλλά και από μεταβολές της θερμοκρασίας. Σύμφωνα με το νόμο των ιδανικών αερίων, ο όγκος μιας φυσαλίδας αέρα επηρεάζεται από την εξωτερική πίεση και θερμοκρασία. Έτσι, εάν η εξωτερική θερμοκρασία μειωθεί υπό σταθερή πίεση τότε θα επέλθει συστολή του όγκου της φυσαλίδας. Το ίδιο συμβαίνει και στην περίπτωση αύξησης της εξωτερικής πίεσης υπό σταθερή θερμοκρασία (Goff & Hartel 2013, Turan et al. 1999, Dubey & White 1997).



Εικόνα 2.6. Συρρίκνωση παγωτού

Μερικοί βασικοί παράγοντες που συμβάλλουν στην επιδείνωση του ελαττώματος αυτού είναι απότομες αυξομειώσεις πίεσης, υψηλές τιμές overrun, θυλάκες αέρα μικρού μεγέθους, απότομες αυξομειώσεις της θερμοκρασίας, σκληρές συνθήκες ψύξης, μικρό πρωτεϊνικό περιεχόμενο και μικρή ποσότητα ολικών στερεών. Από την άλλη, παράγοντες που μειώνουν την εμφάνιση του φαινομένου είναι η χρήση αμυλοσιροπιών, η υψηλή θερμοκρασία παστερίωσης (87,8°C για 20 min), η ωρίμανση του μίγματος παγωτού, η χρήση πρωτεϊνών ορού γάλακτος καθώς και η χρήση υδροκολλοειδών και γαλακτοματοποιητών (Dubey & White 1997).

2.5 Επίδραση γαλακτοματοποιητών

Οι γαλακτοματοποιητές αποτελούν ένα από τα βασικότερα συστατικά που χρησιμοποιούνται κατά την παρασκευή του παγωτού. Η χρήση των γαλακτοματοποιητών στα συστήματα παγωτού επιφέρει πολλές θετικές επιδράσεις στα ποιοτικά χαρακτηριστικά των τελικών προϊόντων. Οι δύο βασικότερες λειτουργίες των γαλακτοματοποιητών στο παγωτό είναι η αύξηση της κολλοειδούς σταθερότητας των λιποσφαιριδίων, σχηματίζοντας μια ηλεκτροστατικά φορτισμένη διεπιφάνεια μεταξύ της επιφάνειάς τους και της φάσης ορού, και η μείωση της επιφανειακής τάσης των λιποσφαιριδίων (Lal et al. 2006). Η

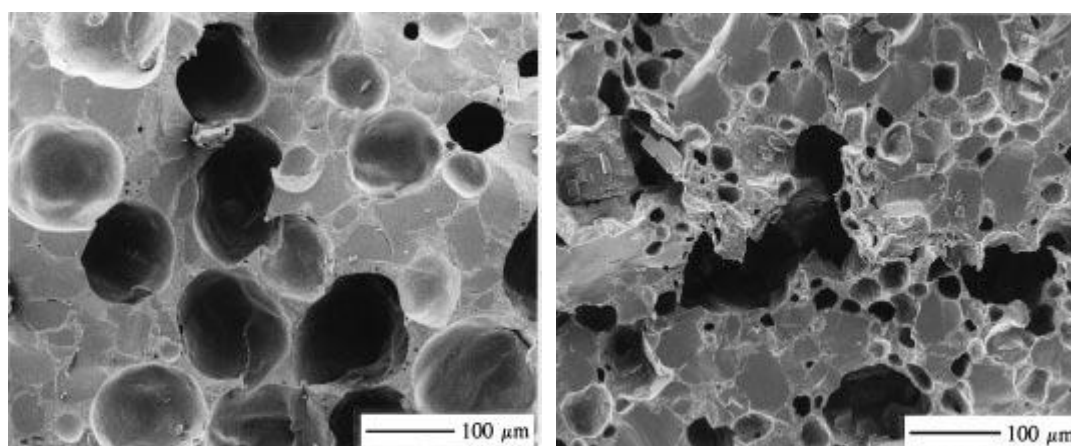
επίδραση των γαλακτωματοποιητών στην επιφάνεια των λιποσφαιριδίων συνδέεται άμεσα με το φαινόμενο της αποσταθεροποίησης των λιπαρών, και κατά συνέπεια με τα χαρακτηριστικά υψής και αρώματος. Τα μόρια των γαλακτωματοποιητών είναι αριετά μικρότερα σε μέγεθος από τα πρωτεϊνικά μόρια (καζεΐνες και πρωτεΐνες ορού γάλακτος) και έτσι καθίσταται θερμοδυναμικά πιο ευνοούμενη η προσρόφησή τους στην επιφάνεια των λιποσφαιριδίων έναντι εκείνης των πρωτεϊνών (βλ. *Εικόνα 2.7*). Η ανταγωνιστική αυτή δράση οδηγεί σε απομάκρυνση των πρωτεϊνών από την μεμβράνη των λιποσφαιριδίων και σε δραματική αλλαγή της σύστασής της, μειώνοντας έτσι την επιφανειακή τάση των λιποσφαιριδίων και αυξάνοντας την ορθοκίνητικη τους αστάθεια κατά την απόδραση (Goff 1997a,b, Gelin et al. 1996, Pelan et al. 1997). Η αποτελεσματικότητα των γαλακτωματοποιητών εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη φύση τους καθώς και από το είδος των πρωτεϊνικών και λιπαρών υλών. Συγκεκριμένα, τα πολυσορβικά (Polysorbate 80) είναι πιο αποτελεσματικά στη μείωση της επιφανειακής τάσης από τα μονο-διγλυκερίδια των λιπαρών οξέων και τα ακόρεστα μονο-διγλυκερίδια είναι αποτελεσματικότερα από τα κορεσμένα. Μάλιστα, σε σχετικές έρευνες διαπιστώθηκε ότι τα πολυσορβικά είναι οι πιο αποτελεσματικοί γαλακτωματοποιητές για τα συστήματα παγωτού (Granger et al. 2005, 2003, Pelan et al. 1997).



Εικόνα 2.7. Απεικόνιση διεπιφανιών λιπαρών/φάσης ορού, αέρα/λιπαρών/φάσης ορού.

Η έκταση της αποσταθεροποίησης των λιπαρών εξαρτάται επίσης και από τη θερμοκρασία, αφού μεταβάλλεται ο λόγος στερεού προς υγρό λιπαρό κλάσμα και αυξάνεται το μακροϊζώδες, ευνοώντας έτσι την ορθοκίνητική μερική συσσωμάτωση των λιπαρών (orthokinetic coalescence). Η παρουσία των γαλακτωματοποιητών επηρεάζει τη θερμοδυναμική σταθερότητα των φυσαλίδων αέρα κατά τα στάδια της κατάψυξης και της αποθήκευσης. Σε μελέτες που έγιναν παρατηρήθηκε πως παγωτά που παρασκευάστηκαν χωρίς προσθήκη γαλακτωματοποιητών περιείχαν μεγάλο μεγέθους θύλακες αέρα (>100μm), εκ των οποίων ένα μεγάλο ποσοστό βρισκόταν σε συσσωματώματα (βλ. *Εικόνα 2.8*). Αντίθετα, δείγματα παγωτών που περιείχαν γαλακτωματοποιητή παρουσίασαν μικρότερες φυσαλίδες αέρα και μεγάλο ποσοστό εκχυλιζόμενου λίπους (βλ. *Εικόνα 2.8*) (Pelan et al. 1997). Η παρουσία φυσαλίδων αέρα μεγάλου μεγέθους είναι ένδειξη μη σωστής σταθεροποίησης του περιεχόμενου αέρα, το οποίο σχετίζεται άμεσα με την έλλειψη επαρκούς ποσότητας λιποσφαιριδίων στην επιφάνεια των φυσαλίδων. Μάλιστα, η ποσότητα των προσροφημένων λιποσφαιριδίων στην επιφάνεια των φυσαλίδων είναι ανάλογη της

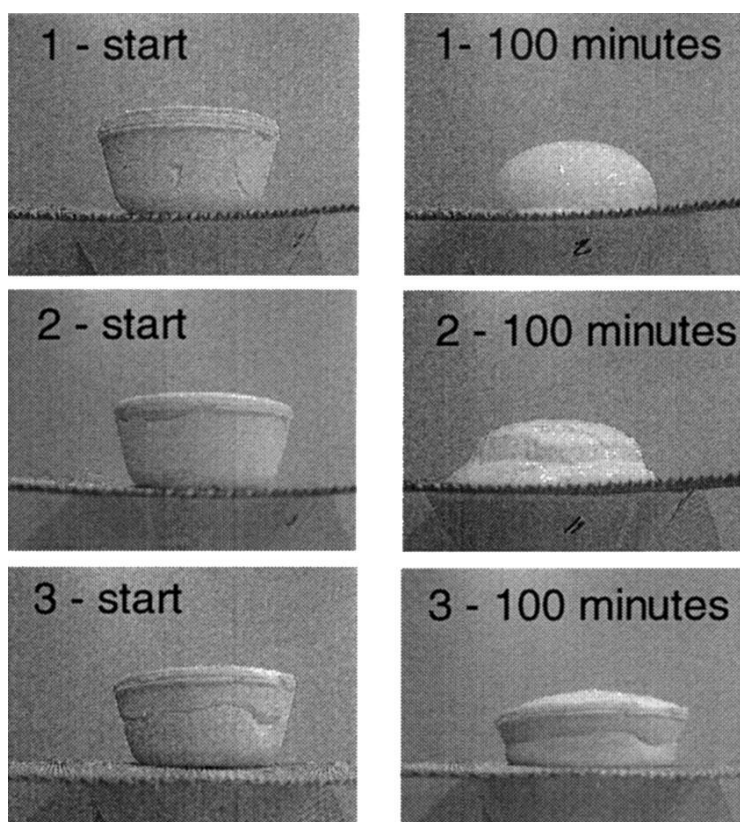
ποσότητας αλλά και του είδους του γαλακτωματοποιητή μέσα στο παγωτό. Σε γενικές γραμμές, η επίδραση των γαλακτωματοποιητών στο ποσοστό αποσταθεροποίησης πρέπει να είναι ισορροπημένη: υψηλό ποσοστό αποσταθεροποίησης λιπαρών και εκχυλιζόμενου λίπους (extractable fat) επιφέρει έντονη συσσωμάτωση των λιποσφαιριδίων τα οποία συγκεντρώνονται στη διεπιφάνεια αέρα-ορού και προκαλούν την αποσταθεροποίησή τους. Τέλος, όπως διαπιστώθηκε, ο συνδυασμός λιπαρής ύλης – γαλακτωματοποιητή επιδρά άμεσα στα δομικά χαρακτηριστικά του παγωτού, κυρίως λόγω της σύνδεσης των υδρόφοβων τμημάτων των μορίων τους. Δείγματα που παρασκευάστηκαν με λιπαρά πλούσια σε ακόρεστα τριγλυκερίδια να επιτυγχάνουν καλύτερη ενσωμάτωση αέρα και μεγαλύτερο ποσοστό αποσταθεροποίησης. Επιπλέον, ενώ κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης η παρουσία των γαλακτωματοποιητών είναι ο δεύτερος σημαντικότερος παράγοντας (μετά το είδος των λιπαρών) ελέγχου των κολλοειδών φαινομένων, κατά τη διάρκεια της κατάψυξης πρωτεύουσας σημασίας είναι η αλληλεπίδραση των γαλακτωματοποιητών με τα λιπαρά. Η δράση των γαλακτωματοποιητών φαίνεται πως είναι ένα αρκετά σύνθετο φαινόμενο και επηρεάζεται από τη συμμετοχή όλων των παραγόντων που συνυπάρχουν στις διεπιφάνειες αέρα – φάσης ορού και λιπαρών – αέρα – φάσης ορού (βλ. *Εικόνα 2.8*).



Εικόνα 2.8. Μικροδομή παγωτού χωρίς γαλακτωματοποιητή με τη χρήση ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σάρωσης (2% εκχυλιζόμενο λίπος-αριστερά και 95% εκχυλιζόμενο λίπος-δεξιά), όπου οι μαύρες περιοχές είναι θύλακες αέρα.

Η παρουσία των γαλακτωματοποιητών στα συστήματα παγωτού βελτιώνει αρκετά τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του τελικού προϊόντος. Μερικές από τις σημαντικότερες επιδράσεις της χρήσης γαλακτωματοποιητών είναι η αύξηση της ξηρότητας στο τελικό προϊόν, η βελτίωση των χαρακτηριστικών τήξης, η αύξηση της σταθερότητας και της ικανότητας μορφοποίησης του παγωτού αμέσως μετά την κατάψυξη, η αύξηση των τιμών overrun, η μείωση του χρόνου απόδρασης, η μείωση των φαινομένων ανακρυστάλλωσης και η βελτίωση της κρεμμώδους υφής. Σχεδόν στο σύνολο των μελετών που έχουν διεξαχθεί για τη διερεύνηση της επίδρασης των γαλακτωματοποιητών στα συστήματα παγωτού, έχει αναφερθεί η μείωση του ρυθμού τήξης, η ενίσχυση της ικανότητας διατήρησης του σχήματος κατά την τήξη (βλ. *Εικόνα 2.9*) καθώς και η αύξηση της ανθεκτικότητάς τους στα θερμικά σοκ. Παράλληλα, η προσθήκη γαλακτωματοποιητή στο παγωτό προκαλεί μικρή μείωση της τραχιάς υφής και του μεγέθους των παγοκρυστάλλων καθώς και αύξηση της

κρεμμώδους και κομμώδους υφής (Pelan et al. 1997, Gelin et al. 1996a,b, Baer et al. 1997, Granger et al. 2005).



Εικόνα 2.9. Πείραμα ρυθμού τήξης. Δείγμα 1: χωρίς γαλακτωματοποιητή. Δείγμα 2: με 0,15% μονο-διγλυκερίδια και 0,02% πολυσορβικό 80. Δείγμα 3: με 0,15% μονο-διγλυκερίδια και 0,06% πολυσορβικό 80.

Η έμμεση επίδραση των γαλακτωματοποιητών στην ανάπτυξη των παγοκρυστάλλων συνδέεται με τις αλληλεπιδράσεις των δομικών συστατικών. Αξίζει επίσης να αναφερθεί πως σε σχετική μελέτη σε συστήματα παγωτού με μειωμένα λιπαρά (Baer et al. 1997) παρατηρήθηκε ότι, η προσθήκη γαλακτωματοποιητών ακόμα και χωρίς την επίδραση στην αποσταθεροποίηση λιπαρών συμβάλλει στη βελτίωση των ποιοτικών τους χαρακτηριστικών (κρεμμώδης υφή, μείωση του μεγέθους των παγοκρυστάλλων και της ανάπτυξης τραχιάς υφής). Επιπλέον, όπως διαπιστώθηκε, η χρήση ακόρεστων μονο-διγλυκεριδίων οδηγεί σε μεγαλύτερο ποσοστό αποσταθεροποίησης των λιπαρών όπως επίσης και σε αύξηση του χρόνου στάλαξης των δειγμάτων. Η λειτουργικότητα των κορεσμένων και ακόρεστων μονο-διγλυκεριδίων είναι ουσιαδώς διαφορετική, κυρίως λόγω των διαφοροποιήσεων που επιφέρουν στα φαινόμενα κρυστάλλωσης των λιπαρών (Granger et al. 2005). Ωστόσο, η υπερβολική γαλακτωματοποίηση του μίγματος μπορεί να έχει αρνητικές επιδράσεις στα χαρακτηριστικά του τελικού προϊόντος, αφού μπορεί να επηρεάσει τον τρόπο τήξης, να προαλέσει τη συρρίκνωση του προϊόντος ή ακόμα και να οδηγήσει στη βουτύρωση των λιπαρών (churning) που προσδίδει ανεπιθύμητη λιπαρή υφή κατά την κατανάλωση. Τέλος, ορισμένοι γαλακτωματοποιητές, όπως η λειθίνη και τα πολυσορβικά, μπορεί να έχουν

αρνητικές επιδράσεις στη γεύση του παγωτού, ειδικότερα με την πάροδο του χρόνου αποθήκευσης (Zhang & Goff 2005, Granger et al. 2005, Goff 1997a,b, Gelin et al. 1994, Pelan et al. 1997, Goff & Jordan 1989, Bolliger et al. 2000b, Lal et al. 2006, Baer et al. 1997, Sofjan & Hartel, 2004, Velasco & Goff 2012).

2.6 Επίδραση παγοκρυστάλλων

Η δημιουργία της σωστής ποσότητας κρυσταλλωμένου νερού στο παγωτό δεν είναι αριετή για την εξασφάλιση της ποιότητάς του. Το μέσο μέγεθος, το σχήμα καθώς και η κατανομή/διασπορά των παγοκρυστάλλων επιδρούν σημαντικά στα ποιοτικά χαρακτηριστικά του τελικού προϊόντος. Το μέγεθος των παγοκρυστάλλων στο παγωτό κυμαίνεται από μερικά μm έως $100\mu\text{m}$, με το μέσο μέγεθος μετά την σκλήρυνση να κυμαίνεται μεταξύ $35\text{-}45\mu\text{m}$. Αν και οι παράγοντες που επηρεάζουν την ποιότητα του παγωτού είναι πολλοί, μελέτες έχουν δείξει ότι, για να είναι το προϊόν οργανοληπτικά αποδεκτό από το καταναλωτικό κοινό πρέπει το μέγεθος των παγοκρυστάλλων να μην ξεπερνά τα $50\mu\text{m}$, διαφορετικά το παγωτό χαρακτηρίζεται ως τραχύ και οι παγοκρυστάλλοι γίνονται οργανοληπτικά αισθητοί από τον καταναλωτή (coarse and icy feeling) (Goff et al. 2013).

Το μέγεθος και το σχήμα των παγοκρυστάλλων επηρεάζει ποιοτικά χαρακτηριστικά του παγωτού, όπως την υφή και το ρυθμό τήξης. Γενικότερα, η παρουσία μικρότερων παγοκρυστάλλων συνεπάγεται παγωτό καλύτερης ποιότητας. Όπως έχει παρατηρηθεί, η παρουσία παγοκρυστάλλων μεγάλου μεγέθους στο παγωτό αυξάνει το ρυθμό τήξης πιθανότατα επειδή η διαδρομή του παγωτού κατά την τήξη είναι λιγότερο δεδαλωδής (Muse & Hartel 2004). Η κατανομή λίγων και μεγάλων κρυστάλλων στο παγωτό δεν είναι το ίδιο ομοιόμορφη όπως θα ήταν εάν υπήρχαν πολλοί και μικροί κρυστάλλοι, το οποίο σημαίνει ότι κατά την τήξη, η ροή της φάσης ορού θα γίνεται ευκολότερα καθώς θα υπάρχουν λιγότερα εμπόδια, οδηγώντας έτσι σε γρήγορους ρυθμούς τήξης. Σε αποτελέσματα άλλων ερευνών ωστόσο (Warren et Hartel 2014, Koxholt et al. 2001), δεν εντοπίστηκε η ίδια σχέση μεταξύ μεγέθους παγοκρυστάλλων και ρυθμού τήξης. Επομένως, ο ρυθμός τήξης του παγωτού εξαρτάται από ποικίλους παράγοντες όπως το μέγεθος των παγοκρυστάλλων και την ποσότητα των διασκορπισμένων κρυστάλλων, οι οποίοι αλληλεπιδρούν μεταξύ τους. Επίσης, και το συνολικό ποσοστό κρυσταλλωμένου νερού στο παγωτό επιδρά στο ρυθμό τήξης, καθώς συνδέεται άμεσα με το μέγεθος των παγοκρυστάλλων (Muse & Hartel 2004, Goff et al. 2013, Sutton et al. 1996, Koxholt et al. 2001).

Η ποσότητα του κρυσταλλωμένου νερού επηρεάζει και την υφή του τελικού προϊόντος. Παγωτά με υψηλά ποσοστά κρυσταλλωμένου νερού παρουσίασαν υψηλές τιμές σκληρότητας. Επίδραση στη σκληρότητα έχει και το μέγεθος των παγοκρυστάλλων, με αύξηση του μεγέθους των παγοκρυστάλλων να συνεπάγεται εκθετική αύξηση της σκληρότητας του παγωτού. Παγωτά με μικρότερους κρυστάλλους διαθέτουν κρεμμώδη υφή και μεγαλύτερη ευπλαστότητα κατά το σερβίρισμα (scoopability). Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι με την αύξηση του όγκου των παγοκρυστάλλων, διευκολύνεται η δημιουργία

ενός σκληρού κρυσταλλικού πλέγματος που είναι δύσκολο να διαπεραστεί (Sakurai et al. 1996, Muse & Hartel 2004, Goff et al. 2013, Goff et al. 1995, Wildmoser et al. 2004, Wilbey et al. 1998).

Τέλος, το μέγεθος των παγοκρυστάλλων επιδρά και στο χρόνο ζωής του παγωτού καθώς σχετίζεται άμεσα με το φαινόμενο της ανακρυστάλλωσης. Μικρότερο αρχικό μέγεθος κρυστάλλων σημαίνει ότι θα χρειαστεί περισσότερος χρόνος για να αυξηθεί ο όγκος του κρυστάλλου πάνω από το οργανοληπτικά αντιληπτό κατώφλι, αυξάνοντας έτσι το χρόνο ζωής του παγωτού. Το αρχικό μέγεθος των παγοκρυστάλλων εξαρτάται από διάφορους παράγοντες, όπως το χρόνο παραμονής κατά τη διαδικασία της απόδρασης και τη θερμοκρασία εξόδου από τους εξοπλισμούς κατάψυξης (Goff et al. 2013).

2.7 Στροφή προς εναλλακτικές τεχνολογίες

Όπως φαίνεται από τις παραπάνω παραγράφους, η τελική δομή του παγωτού επηρεάζεται από ένα σύνολο παραγόντων οι οποίοι μάλιστα αλληλοεπιδρούν και μεταξύ τους. Τα σημαντικότερα όμως δομικά συστατικά που είναι υπεύθυνα για τη διαμόρφωση του μεγαλύτερου μέρους της δομής του παγωτού είναι τα υδροκολλοειδή, οι πρωτεΐνες, τα λιπαρά και οι γαλακτωματοποιητές. Ωστόσο, από αυτά τα συστατικά, οι γαλακτωματοποιητές και τα υδροκολλοειδή ανήκουν στις μη φυσικές πρόσθετες ουσίες και ειδικότερα στις «ουσίες Ε». Η ολοένα αυξανόμενη κοινωνική τάση για υγιεινή διατροφή οδηγεί στην ανάγκη δημιουργίας προϊόντων απαλλαγμένων από πρόσθετα και συντηρητικά. Επομένως, η βιομηχανία του παγωτού στρέφεται ολοένα στη χρήση εναλλακτικών τεχνολογιών κατά την παραγωγή για την υποκατάσταση αυτών των προσθέτων.

Συγκρίνοντας τις λειτουργικές ιδιότητες των σταθεροποιητικών ουσιών και των πρωτεϊνών στο παγωτό, εντοπίζονται πολλές ομοιότητες. Οι πρωτεΐνες διαθέτουν πολλές λειτουργικές ιδιότητες οι οποίες ακόμα δεν έχουν μπορέσει να αξιοποιηθούν στο έπακρο. Πρόσφατες μελέτες έχουν υποδείξει πως παγωτό άριστης ποιότητας μπορεί να παρασκευαστεί και χωρίς τη χρήση σταθεροποιητικών μέσων, παρά μόνο με την εκμετάλλευση των λειτουργικών ιδιοτήτων των πρωτεϊνών. Ειδικότερα, η δυνατότητα σχηματισμού συσσωματωμάτων μεταξύ των πρωτεϊνών γάλακτος και κυρίως των καζεϊνών, η αύξηση του ιξώδους του μίγματος και η συνεισφορά στην αποσταθεροποίηση των λιποσφαιριδίων και στη σταθεροποίηση των θυλάκων αέρα μπορούν να αποβούν πολύ χρήσιμες κατά την παρασκευή του παγωτού. Μάλιστα, οι λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνών μπορούν να εκμεταλλευτούν και στην παραγωγή προϊόντων παγωτού με μειωμένα λιπαρά. Παράλληλα, η ικανότητα αποσταθεροποίησης των λιποσφαιριδίων λειτουργεί επίσης συνεισφέροντας στη διατήρηση της δομής του παγωτού και ειδικότερα στη σταθερότητα των φυσαλίδων αέρα. Συμπερασματικά, η ανάγκη για την πλήρη εκμετάλλευση των λειτουργικών ιδιοτήτων των πρωτεϊνών και των λιπαρών οδηγεί στη χρήση τεχνολογιών που μπορούν να επιδράσουν στις πρωτεΐνες και τα λιπαρά. Δύο από τις σημαντικότερες εναλλακτικές τεχνολογίες που ανήκουν σε αυτήν την κατηγορία είναι η ενζυμική επεξεργασία του μίγματος και η επεξεργασία του με υπερυψηλή πίεση. Οι δύο τεχνολογίες επηρεάζουν τις πρωτεΐνες του μίγματος με διαφορετικό τρόπο η καθεμία. Η

χρήση της ενζυμικής επεξεργασίας επιδρά στη συνεκτικότητα των πρωτεϊνών αυξάνοντας την παρουσία πρωτεϊνικών γεφυρών στο παγωτό, οι οποίες σταθεροποιούν τα λιποσφαιρίδια, μειώνοντας έτσι την ανάγκη για χρήση σταθεροποιητών. Από την άλλη μεριά, η υπερύψηλη πίεση επιδρά στο μέγεθος των πρωτεϊνών και ειδικότερα των πρωτεϊνών ορού γάλακτος, επιτρέποντας έτσι την καλύτερη προσρόφησή τους στην επιφάνεια των λιποσφαιριδίων και την ομοιόμορφη κατανομή τους μέσα στο μίγμα. Καλύτερη διασπορά των πρωτεϊνών συνεπάγεται περισσότερες πρωτεϊνικές γέφυρες. Τέλος, η υπερύψηλη πίεση μειώνει και το μέγεθος λιποσφαιριδίων επιτρέποντας έτσι την καλύτερη διασπορά τους στο μίγμα παγωτού. Ειτενής αναφορά για τον τρόπο λειτουργίας των δύο τεχνολογιών θα γίνει στα επόμενα κεφάλαια.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3.

ΕΝΖΥΜΙΚΗ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΜΕ ΤΟ ΕΝΖΥΜΟ ΤΡΑΝΣΓΛΟΥΤΑΜΙΝΑΣΗ

3.1 Γενικά

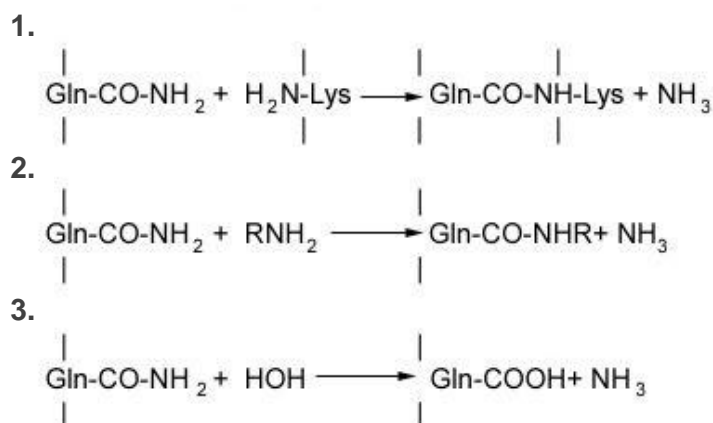
Σύμφωνα με την ελληνική ονομασία, ως ένζυμα χαρακτηρίζονται ειδικές πρωτεΐνες ή πρωτεϊνικής φύσεως πολύπλοκες οργανικές ενώσεις, που διαθέτουν ισχυρή καταλυτική δραστηριότητα. Τα ένζυμα συντίθενται από βιολογικά κύτταρα σε όλους τους οργανισμούς και δρουν ως καταλύτες στις σχετικές με το μεταβολισμό χημικές αντιδράσεις, από όπου προέρχεται και η συνώνυμη ονομασία, βιοκαταλύτες. Τα ένζυμα έχουν ένα σημαντικό ρόλο στη βιομηχανία τροφίμων τόσο σε παραδοσιακά όσο και σε νέα προϊόντα. Ενζυμικά καταλυόμενες αντιδράσεις λαμβάνουν χώρα σε πολλά τρόφιμα, υποβαθμίζοντας ή βελτιώνοντας την ποιότητα των τροφίμων. Μερικά παραδείγματα της δράσης των ενζύμων είναι η ωρίμανση των φρούτων, το σίτεμα του κρέατος, οι διαδικασίες της ωρίμανσης και της παρασκευής του τυριού, η παραγωγή του γαουρτιού καθώς και η παραγωγή αλκοολούχων ποτών με την τεχνολογία της ζύμωσης. Οι καταλυτικές ιδιότητες των ενζύμων έχουν μεγάλο ενδιαφέρον για το μηχανικό τροφίμων στη βιομηχανική επεξεργασία των τροφίμων, δεδομένου ότι τα ένζυμα είναι διαθέσιμα σε μεγάλους αριθμούς (Belitz et al. 2004).

3.2 Τρανσγλουταμινάση (Transglutaminase, TGase)

Ένα μεγάλο κομμάτι της βιομηχανίας τροφίμων έχει στραφεί προς τη δημιουργία προϊόντων με βελτιωμένα χαρακτηριστικά από ένα περιορισμένο εύρος συστατικών. Οι πρωτεΐνες αποτελούν τους βασικούς δομικούς λίθους για τον τεχνολόγο τροφίμων στη δημιουργία τρισδιάστατων δικτύων (γέλες) και δομών με επιθυμητές μηχανικές ιδιότητες. Στη βιομηχανία, οι πρωτεΐνες τροφίμων χρησιμοποιούνται συχνά ως λειτουργικά συστατικά για τη βελτίωση των χαρακτηριστικών υφής και της σταθερότητας των προϊόντων. Τα βασικότερα είδη των δεσμών που συγκρατούν τα μόρια των πρωτεϊνών είναι τέσσερα, με σειρά αυξανόμενης ισχύος: υδροφοβικές δυνάμεις, δεσμοί υδρογόνου, ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις και ομοιοπολικοί δεσμοί. Οι ομοιοπολικοί δεσμοί μεταξύ των πρωτεϊνικών μορίων είναι οι ισχυρότεροι και έτσι καθίστανται επιθυμητοί για τη δημιουργία μίας σταθερής δομής. Η δημιουργία πρωτεϊνικών δικτύων μπορεί να επιτευχθεί με φυσικές μεθόδους, με χημική επεξεργασία ή με ενζυμική επεξεργασία. Η ενζυμική επεξεργασία πλεονεκτεί έναντι των άλλων δύο και έχει λάβει αριετή προσοχή τα τελευταία χρόνια εξαιτίας της υψηλής εξειδίκευσης των ενζυμικών αντιδράσεων και του χαμηλού ποσοστού ρίσκου σχηματισμού τοξικών παραπροϊόντων. Προς το παρόν, το μόνο εμπορικά διαθέσιμο

ένζυμο για την ομοιοπολική διασύνδεση των πρωτεϊνικών μορίων είναι η τρανσγλουταμινάση, επιτρέποντας στους τεχνολόγους τροφίμων τη δημιουργία πρωτεϊνικών δικτύων ακόμα και σε διαλύματα με χαμηλό πρωτεϊνικό περιεχόμενο (Eric Dickinson 1997, Ozrenk 2006).

Το ένζυμο τρανσγλουταμινάση εντοπίστηκε πρώτη φορά από τον Heinrich Waelsch πριν από περίπου 50 χρόνια, ενώ ο όρος τρανσγλουταμινάση (TGase, EC 2.3.2.13¹¹) ή επίσημα η πρωτεϊνική γ-γλουταμινική τρανσφεράση προτάθηκε πρώτη φορά από τον Clarke και τους συνεργάτες του (1957) για να περιγράψει το ένζυμο που καταλύει την τρανσαμιδική δράση (transamidase activity) στο συκώτι των ινδικών χοιριδίων. Η τρανσγλουταμινάση που ανήκει στις τρανσφεράσες καταλύει την αντίδραση μεταφοράς ακυλίου μεταξύ της γ-καρβοξυαμιδικής ομάδας της πεπτιδικά δεσμευμένης γλουταμίνης (δότης ακυλίου) και πρωτοταγών αμινών (δέκτης ακυλίου) συμπεριλαμβανομένης και της πεπτιδικά δεσμευμένης λυσίνης. Αποτέλεσμα αυτής της διασύνδεσης μεταξύ δεσμευμένης γλουταμίνης και υποστρωμάτων λυσίνης των πρωτεϊνών είναι ο σχηματισμός πεπτιδικού δεσμού, η δημιουργία ενδο- και διαμοριακών δεσμών και η δημιουργία βιοπολυμερών υψηλού μοριακού βάρους. Εκτός από την αντίδραση της διασύνδεσης των πρωτεϊνών (πεπτιδικός δεσμός), η τρανσγλουταμινάση καταλύει και άλλες δύο αντιδράσεις, την απαμίνωση και την ενσωμάτωση αμινών (βλ. *Εικόνα 3.1*). Σε περίπτωση απουσίας αμινικού υποστρώματος η TGase καταλύει την αντίδραση της απαμίνωσης χρησιμοποιώντας μόρια νερού ως δέκτες ακυλίων (Ozrenk 2006, Clarke et al. 1957, Motoki & Seguro 1998).



Εικόνα 3.1. Αντιδράσεις καταλυτικής δράσης της TGase: 1) Διασύνδεση μεταξύ των ομάδων γλουταμίνης-λυσίνης (ισοπεπτιδικός δεσμός), 2) Μεταφορά ακυλομάδας/ ενσωμάτωση αμινών, 3) Απαμίνωση

3.2.1 Η τρανσγλουταμινάση στη φύση

Η τρανσγλουταμινάση είναι ένα ένζυμο που βρίσκεται σε κύτταρα ζώων (Yasueda et al. 1994), φυτών (Falcone et al. 1993) καθώς και σε ορισμένους μικροοργανισμούς (Ando et al.

¹¹ Enzyme Commission number (EC number), Αριθμός Επιτροπής Ενζύμου: είναι μια αριθμητική κατηγοριοποίηση των ενζύμων που βασίζεται στις αντιδράσεις που καταλύουν.

1989, Yu et al. 2008). Επομένως, η προέλευσή της μπορεί να είναι ζωική, φυτική ή μικροβιακή. Η τρανσγλουταμινάση συμμετέχει σε πολλά βιολογικά φαινόμενα, όπως στην πήξη του αίματος, στην επούλωση των πληγών και στην επιδερμική κερατινοποίηση. Ένα τυπικό παράδειγμα τρανσγλουταμινάσης, που αποτελεί ένα από τα πλέον μελετημένα ένζυμα και συμβάλλει στη λήξη της αιμορραγίας κατά την επούλωση πληγών, είναι ο παράγοντας XIII της αλληλουχίας αντιδράσεων της αιμόστασης (Yokoyama et al. 2004). Το πρώτο ωστόσο ένζυμο τρανσγλουταμινάσης που ταυτοποιήθηκε ήταν ζωικής προέλευσης, και συγκεκριμένα η τρανσγλουταμινάση που βρίσκεται στο ήπαρ των ινδικών χοιριδίων (Guinea pig liver TGase, GTGase), η οποία συμμετέχει κυρίως στη μεταβολική διαδικασία. Στη συνέχεια αναγνωρίστηκαν διαφορετικοί τύποι ενζύμου σε πολλά είδη θηλαστικών. Ανάμεσα στους διαφορετικούς τύπους ενζύμου παρουσιάζεται μια ομολογία στην αλληλουχία των αμινοξέων και στην περιοχή του ενεργού τους κέντρου, όπου εντοπίζεται μια καταλυτική τριάδα κυστεΐνης-ιστιδίνης-ασπαρτικού οξέος (Cys-His-Asp) ή κυστεΐνης-ιστιδίνης-ασπαραγίνης (Cys-His-Asn), η οποία εξαρτάται από την παρουσία Ca^{2+} για την ενεργοποίησή του (Beninati & Piacentini 2004).

Οι πρώτες αναφορές τρανσγλουταμινάσης φυτικής προέλευσης έγιναν σε δενδρύλλια πιπιζελιών (*Pisum sativum* - Ickson & Apelbaum 1987) και στις κορυφές των βλαστών του κονδυλώδη ηλιανθού (*Helianthus tuberosus* - Serafini-Fracassini et al. 1988).

Η μικροβιακής προέλευσης τρανσγλουταμινάση (mTGase¹²) παράγεται σε μικροοργανισμούς. Η πρώτη mTGase εντοπίστηκε στο μικροοργανισμό *Streptovorticillium mobaraense* (ή *Streptomyces mobaraensis*) στα τέλη της δεκαετίας του 1980. Ανάμεσα στους μικροοργανισμούς που έχουν μελετηθεί, τα στελέχη του γένους *Streptovorticillium* και *Streptomyces* είναι τα μόνα που έχουν την ικανότητα να παράγουν την τρανσγλουταμινάση εξωκυτταρικά και συνεπώς, να την απελευθερώνουν στο θρεπτικό υλικό της ζύμωσης (Ando et al. 1989).

3.2.2 Παραγωγή τρανσγλουταμινάσης για βιομηχανική χρήση

Από τις αρχές του 1980 παρουσιάστηκε η δυνατότητα βελτίωσης των λειτουργικών δυνατοτήτων των τροφίμων με τη χρήση τρανσγλουταμινάσης ζωικής προέλευσης η οποία, έως τα τέλη της δεκαετίας του '80, ήταν και η μόνη εμπορικά διαθέσιμη. Γενικότερα, υπάρχουν τρεις πρακτικές βιομηχανικής παραγωγής τρανσγλουταμινάσης. Η πρώτη αφορούσε για πολλά χρόνια στην απομόνωση του ενζύμου από ζωικούς ιστούς ή υγρά, όπως το συκώτι ινδικών χοιριδίων (Guinea pig transglutaminase, GTGase). Ωστόσο, το υψηλό κόστος απομόνωσης και καθαρισμού της GTGase αποτέλεσαν τροχοπέδη για την ευρεία βιομηχανική της χρήση (Jaros et al. 2006, Zhu et al. 1995). Επίσης, η ενεργοποίηση της καταλυτικής δράσης της GTGase απαιτεί την ύπαρξη ιόντων ασβεστίου, το οποίο σε ορισμένα τρόφιμα, όπως εκείνα που περιέχουν καζεΐνες ή γλοβουλίνες σόγιας, οδηγεί σε καθίζηση των πρωτεϊνών (Seguro et al. 1996).

Παράλληλα, τρανσγλουταμινάση εξάγεται και από εδώδιμα ζώα, όπως βοοειδή και ψάρια. Στην Ευρώπη ειδικότερα, ένας τύπος τρανσγλουταμινάσης, ο παράγοντας XIII

¹² mTGase: microbial Transglutaminase

απομονώνεται από το αίμα βοοειδών και χοίρων κατά τη σφαγή (Wilson 1992). Αυτός ο τύπος ενζύμου χρησιμοποιήθηκε όμως σπάνια στη βιομηχανία τροφίμων, αφού ο κόκκινος χρωματισμός που προσδίδει είναι επιζήμιος για την εμφάνιση του τελικού προϊόντος καθώς και επειδή είναι απαραίτητη η ύπαρξη της θρομβίνης, μιας ειδικής πρωτεΐνης για την ενεργοποίησή του (Yokoyama et al 2004, Motoki & Seguro 1998).

Εξαιτίας των παραπάνω μειονεκτημάτων της ζωικής TGase, έγιναν προσπάθειες παραγωγής τρανσγλουταμινάσης μέσω μικροβιακής ζύμωσης και γενετικής μηχανικής (Yokoyama et al. 1998, Motoki & Seguro 1989). Έτσι, η πρακτική της γενετικής μηχανικής προσανατολίστηκε προς την παραγωγή ενζύμου με τη χρήση μικροοργανισμών ξενιστών, όπως η *Escherichia coli*, βάκιλλοι και ζυμωμύκητες (Ikura et al. 1998, Yokoyama et al. 2000). Έγιναν αρκετές προσπάθειες που στόχευαν στην έκφραση του ενζύμου σε άλλους οργανισμούς, αλλά καμία δεν οδήγησε στη μαζική παραγωγή του ενζύμου κυρίως λόγω έλλειψης αποδοχής της κοινής γνώμης για τα συγκεκριμένα πρόσθετα (Yokoyama et al 2004, Jaros et al 2006). Επιπρόσθετα, οι προσπάθειες για κλωνοποίηση του ενζύμου δεν έχουν καταφέρει ακόμα να οδηγήσουν σε σημαντικές βελτιώσεις όσον αφορά στην απόδοση της ενζυμικής παραγωγής (Zhu & Tramper 2008).

Τέλος, η τρίτη πρακτική ήταν η αναζήτηση μικροοργανισμών που παράγουν TGase. Υστερα από τη μελέτη περίπου 5000 στελεχών, το 1989 εντοπίστηκε από τον Ando και την ομάδα του σε συνεργασία με την εταιρία Amano Enzyme Co. (Ιαπωνία), το στέλεχος *Streptovorticillium* S-8112 το οποίο έχει την ικανότητα να παράγει την τρανσγλουταμινάση (mTGase) εξωκυτταρικά και συνεπώς να την απελευθερώνει στο θρεπτικό υλικό της ζύμωσης (Ando et al. 1989, Jaros et al. 2006). Έτσι, το ένζυμο μπορεί να ανακτηθεί εύκολα μέσω του διαχωρισμού του θρεπτικού υλικού από τη στερεή μάζα της ζύμωσης χωρίς να είναι απαραίτητη η διάρρηξη των κυτταρικών τοιχωμάτων (Jaros et al. 2006, Yokoyama et al. 2004). Επίσης, η δράση της mTGase, σε αντίθεση με την τρανσγλουταμινάση ζωικής προέλευσης, είναι ανεξάρτητη από την παρουσία ιόντων ασβεστίου (Ca^{2+}) και εμφανίζει μικρότερη εξειδίκευση υποστρώματος.

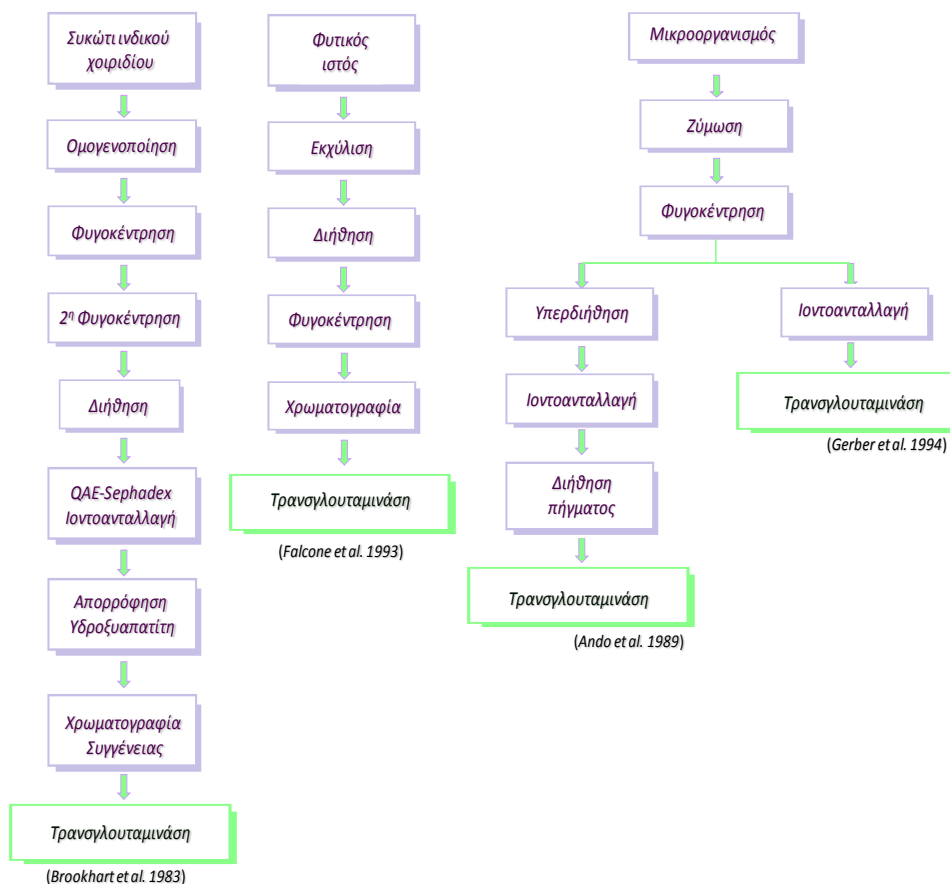
Κατά τη διαδικασία της ζύμωσης για την παραγωγή της μικροβιακής τρανσγλουταμινάσης μπορούν να χρησιμοποιηθούν όλες οι κοινές πηγές άνθρακα (γλυκόζη, άμυλο κ.ά.) και αζώτου (NH_4NO_3 , NH_4Cl , ουρία, πεπτόνη, καζεΐνη κ.ά.) και απαραίτητα ανόργανα συστατικά και ιχνοστοιχεία (φώσφορος, μαγνήσιο, κάλιο, σίδηρος και βιταμίνες). Η ζύμωση είναι αναερόβια, η θερμοκρασία για την ανάπτυξη του μικροοργανισμού και την παραγωγή του ενζύμου είναι μεταξύ 25 και 35°C, και η μέγιστη δραστηριότητα του ενζύμου παρατηρείται συνήθως μετά από 2-4 ημέρες (Zhu et al. 1995). Τις τελευταίες δεκαετίες, έχουν διεξαχθεί αρκετές μελέτες προς την αναζήτηση νέων στελεχών καθώς και προς τη βελτιστοποίηση των μεθόδων παραγωγής του ενζύμου (βλ. Πίνακα 3.1). Οι τρανσγλουταμινάσες μικροβιακής προέλευσης είναι αυτές που χρησιμοποιούνται πλέον για την τροποποίηση των ιδιοτήτων των τροφίμων λόγω του χαμηλού κόστους και της υψηλής απόδοσης της απομόνωσης και του καθαρισμού τους, καθώς επίσης και της ανεξάρτητης από την παρουσία ιόντων ασβεστίου καταλυτικής τους δράσης.

Πίνακας 3.1. Σημαντικές εξελίξεις στην παραγωγή της TGase

Έτος	Στάδια ανάπτυξης παραγωγής της mTGase	Απόδοση (UNITS/mL)
1989	Πρώτη αναφορά για την παραγωγή μικροβιακής TGase	~2,00
1994	Μοριακή κλωνοποίηση του γένους της μικροβιακής TGase από τον <i>Streptovorticillium</i> και της έκφρασής του στον <i>Streptomyces lividans</i>	-
1994	Χημική σύνθεση του γένους της μικροβιακής TGase από τον <i>Streptovorticillium</i> και της έκφρασής του στην <i>Escherichia coli</i>	-
1996	Βελτιστοποίηση με στοιχειομετρική ανάλυση του μέσου για την παραγωγή μικροβιακής TGase από τον <i>Streptovorticillium mobaraense</i>	~1,00
1997	Υψηλού επιπέδου έκφραση του χημικώς συντιθεμένου γένους της μικροβιακής TGase από <i>Streptovorticillium</i> στην <i>Escherichia coli</i>	-
1997	Βελτιστοποίηση της παραγωγής της μικροβιακής TGase μέσω πειραματικών σχεδιασμών	-
1998	Εφαρμογή ασυνεχούς ζύμωσης προκειμένου να ξεπεραστεί ο περιορισμός του αζώτου κατά την παραγωγή της μικροβιακής TGase από τον <i>Streptovorticillium mobaraense</i>	~1,80
2000	Παραγωγή και χαρακτηρισμός μιας νέας μικροβιακής TGase από τον <i>Actinomadura</i> sp. T-2	-
2000	Παραγωγή μικροβιακής TGase στην <i>Escherichia coli</i> , in vitro αναδιπλωση και χαρακτηρισμός της αναδιπλούμενης μορφής της	-
2001	Θερμοκρασιακή μετατόπιση της ασυνεχούς ζύμωσης της μικροβιακής TGase	3,37
2002	Μοντελοποίηση της επίδρασης της θερμοκρασίας της ασυνεχούς ζύμωσης της μικροβιακής TGase με τον <i>Streptovorticillium mobaraense</i>	2,94
2002	Έλεγχος του pH κατά την ασυνεχή ζύμωση μικροβιακής TGase με τον <i>Streptovorticillium mobaraense</i>	3,40
2003	Παραγωγή γηγενούς τύπου μικροβιακής TGase από τον <i>Streptovorticillium mobaraense</i> στο <i>Corynebacterium glutamicum</i>	-
2004	Υψηλού επιπέδου έκφραση της TGase από <i>Streptovorticillium mobaraense</i> στο <i>Corynebacterium glutamicum</i> χρησιμοποιώντας χημιαρικό προ-πεδίο από την TGase από τον <i>Streptomyces cinnamoneus</i>	-
2004	Κλωνοποίηση και έκφραση του είδους της TGase από τον <i>Streptovorticillium ladakanum</i> στον <i>Streptomyces lividans</i>	1,46
2004	Παραγωγή TGase από τον <i>Streptovorticillium ladakanum</i> NNRL-3191 που αναπτύχθηκε σε μέσο που παράχθηκε από υδρολύματα καλαμών ζαχαρόχορτου (sorghum straw)	0,35
2004	Παραγωγή TGase από τον <i>Streptovorticillium ladakanum</i> NNRL-3191 χρησιμοποιώντας γλυκόλη ως πηγή άνθρακα	0,73
2005	Εμπλουτισμός της παραγωγής μικροβιακής TGase από τον <i>Streptovorticillium mobaraense</i> – Εφαρμογή διπλού σταδίου ελέγχου της ταχύτητας ανάδευσης	3,32
2006	Βελτιστοποίηση της σύστασης του μέσου ανάπτυξης στην παραγωγή TGase από τον <i>Bacillus circulans</i> BL32 χρησιμοποιώντας στατιστικές πειραματικές μεθόδους	0,31
2006	Κλωνοποίηση του γένους της μικροβιακής TGase από τον <i>Streptomyces platensis</i> και της έκφρασής του στον <i>Streptomyces lividans</i>	-
2006	Κλωνοποίηση του γένους της μικροβιακής TGase από τον <i>Streptomyces fradiae</i>	3,20
2007	Μελέτες βελτιστοποίησης της παραγωγής μικροβιακής TGase από νέα απομονωμένα στελέχη του <i>Streptomyces</i> sp.	1,40
2007	Καθαρισμός και απομόνωση της TGase από τον πρόσφατα απομονωμένο <i>Streptomyces hygrosopicus</i>	-
2009	Παραγωγή και απομόνωση TGase από <i>Streptomyces</i> sp.	0,05-0,20
2011	Παραγωγή και απομόνωση ανασυνδυασμένης TGase από <i>Escherichia coli</i>	22 (ανά mg)

Πηγή: Zhu & Tramper 2008, Kieliszek & Misiewicz 2014

Παρακάτω παρουσιάζονται σχηματικά οι μέθοδοι απομόνωσης των διαφόρων ειδών τρανσγλουταμινάσης: ζωικής, φυτικής και μικροβιακής προέλευσης (βλ. *Εικόνα 3.2*).



Εικόνα 3.2. Διαγράμματα απομόνωσης τρανσγλουταμινάσης από διάφορες πηγές προέλευσης. (Πηγή: Zhu et al. 1995)

3.2.3 Χαρακτηριστικά και δομή της mTGase

Το μοριακό βάρος της τρανσγλουταμινάσης, όπως αυτό προσδιορίστηκε μέσω ηλεκτροφόρησης σε πηκτή πολυακρυλαμιδίου (SDS-PAGE¹³) και με χρωματογραφία διείσδυσης πηκτής, είναι περίπου 38 kDa (37.842), και το ισοηλεκτρικό σημείο της έχει υπολογιστεί στην τιμή 9 (Ando et al. 1989). Όσον αφορά στη δευτεροταγή δομή του ενζύμου, όπως αυτή προσδιορίστηκε κατά Edman¹⁴ αλλά και με φασματοσκοπία μάζας, αποτελείται από 331 αμινοξέα. Στο άκρο της πεπτιδικής αλυσίδας του ενζύμου υπάρχει ένα πεπτίδιο σηματοδότης, το οποίο αποτελείται από 18 αμινοξέα, και το ένζυμο φέρει μία μόνο κυστεΐνη, πιθανά στο ενεργό κέντρο του (Kanaji et al. 1993). Από τα παραπάνω στοιχεία, συμπεραίνεται ότι η τρανσγλουταμινάση είναι μια μονομερής απλή πρωτεΐνη και όχι λιποπρωτεΐνη ή γλυκοπρωτεΐνη (Motoki & Seguro 1998).

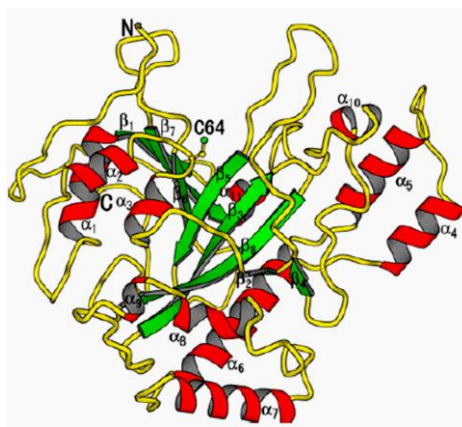
¹³ SDS-PAGE: Sodium Dodecyl Sulfate- Polyacrylamide gel electrophoresis

¹⁴ Η αποικοδόμηση κατά Edman προσδιορίζει την αλληλουχία των αμινοξέων σε ένα πεπτίδιο, κατά την οποία ένα αμινο-άκρο επισημαίνεται και αποκόπτεται από ένα πεπτίδιο χωρίς να καταστρέφονται οι πεπτιδικοί δεσμοί μεταξύ των υπόλοιπων αμινοξέων.



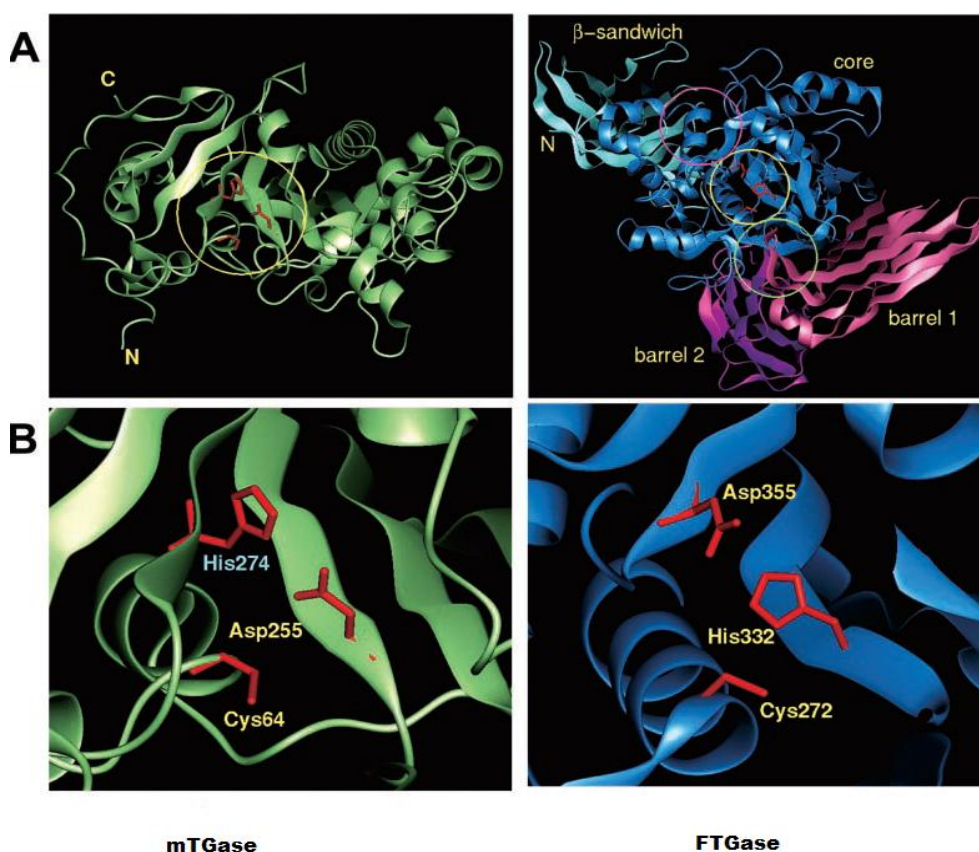
Εικόνα 3.3. Δευτεροταγής δομή της μικροβιακής τρανσγλουταμινάσης
 (Το μπλε σύμβολο αντιπροσωπεύει την κυστεΐνη του ενεργού κέντρου, τα γράμματα α και β αντιπροσωπεύουν τις α-έλικες και τα β-πτυχωτά φύλλα αντίστοιχα)

Η κρυσταλλική δομή της μικροβιακής TGase έχει προσδιοριστεί σε ανάλυση 2,4 Å (Kashiwagi et al. 2002). Σχηματίζει μια ενιαία, συμπαγή μονάδα (domain) με συνολικές διαστάσεις 59 x 65 x 41 Å, και αναδιπλώνεται σε σχήμα σαν πέταλο με μια βαθιά σχισμή στην άκρη του μορίου. Το καταλυτικό κατάλοιπο, Cys⁶⁴, βρίσκεται στο κάτω μέρος της σχισμής. Η μικροβιακή TGase παρουσιάζει α+β πρωτεϊνική δομή, με 11 α-έλικες και 8 β-πτυχωτές επιφάνειες, με ένα από τα β-πτυχωτά φύλλα να περιβάλλεται από α-έλικες οι οποίες είναι συγκροτημένες σε τρεις περιοχές. Το κεντρικό β-πτυχωτό φύλλο δημιουργεί μια δομή από επτά αντιπαράλληλους κλώνους, παρόλο που μεταξύ των β₅ και β₆ επιφανειών υπάρχει μόνο ένας δεσμός υδρογόνου μεταξύ των κύριων αλυσίδων τους (Trp²⁵⁸ και Thr²⁷³). Το πρώτο σύμπλεγμα των α-ελίκων βρίσκεται στην αριστερή πλευρά της μπροστινής όψης του μορίου και αποτελείται από τις α₁, α₂ και α₃ έλικες, και το κατάλοιπο της Cys⁶⁴ βρίσκεται στο βρόχο μεταξύ των α₂ και α₃ ελίκων. Το δεύτερο σύμπλεγμα, που περιλαμβάνει τις α₄, α₅ και α₆ έλικες, και το τρίτο σύμπλεγμα, που περιλαμβάνει τις α₇, α₈, α₉ και α₁₀ έλικες, βρίσκονται στην δεξιά και την κάτω προβολή του μορίου, αντίστοιχα (βλ. Εικόνα 3.4) (Yokoyama et al. 2004).



Εικόνα 3.4. Κρυσταλλική δομή mTGase, το σημείο C64 αντιπροσωπεύει την κυστεΐνη το ενεργό κέντρο

Σε σχέση με την τρανσγλουταμινάση ζωικής προέλευσης, η μικροβιακή τρανσγλουταμινάση εμφανίζει σημαντικές διαφορές αλλά και ομοιότητες. Σε αντίθεση με την ζωικής προέλευσης πρωτεΐνη, η μικροβιακή τρανσγλουταμινάση έχει την ιδιότητα να δρα απουσία ιόντων ασβεστίου, ενώ παράλληλα παρουσιάζει και ανόμοια ομολογία στην αλληλουχία των αμινοξέων, με εξαίρεση την περιοχή γύρω από το κατάλοιπο κυστεΐνης και συνεπώς την πρωτεϊνική διαμόρφωση του ενεργού κέντρου, που παίζει κυρίαρχο ρόλο στην καταλυτική δράση του ενζύμου (Kanaji et al. 1993). Οι τρανσγλουταμινάσες ζωικής προέλευσης έχουν όλες παρόμοια κρυσταλλική δομή, διαφορετική από εκείνη της μικροβιακής τρανσγλουταμινάσης. Σε αντίθεση με τη mTGase, οι τρανσγλουταμινάσες ζωικής προέλευσης παρουσιάζουν 4 διακριτές μονάδες (domains) που ονομάζονται “β-sandwich”, “core”, “barrel 1” και “barrel 2” με το ενεργό κέντρο της TGase να βρίσκεται στον τομέα “core” (Yee et al. 1994). Παρακάτω παρουσιάζονται οι κρυσταλλικές δομές της μικροβιακής τρανσγλουταμινάσης (mTGase) σε σύγκριση με μία τρανσγλουταμινάση ζωικής προέλευσης από το συκώτι λιθρινιού (red sea bream liver, FTGase), όπου φαίνονται οι ομοιότητες και οι διαφορές μεταξύ των δύο δομών (βλ. *Εικόνα 3.5*).



Εικόνα 3.5. Σύγκριση κρυσταλλικών δομών mTGase και FTGase με τη χρήση του λογισμικού QUANTA (Molecular Simulation Inc.)

Η βασικότερη διαφορά στις δομές mTGase και FTGase είναι πως στο ενεργό κέντρο της FTGase η καταλυτική τριάδα αποτελείται από τα Cys²⁷², His³³², Asp³⁵⁵ ενώ στην mTGase δεν παρατηρείται αντίστοιχη δομή καταλυτικής τριάδας Cys-His-Asp (Asn). Επίσης, οι θέσεις των καταλοίπων His³³² και Asp³⁵⁵ της FTGase στη δομή της mTGase έχουν καταλυφθεί από τα Asp²⁵⁵, His²⁷⁴ αντίστοιχα. Τα βασικότερα πλεονέκτημα της

μικροβιακής τρανσγλουταμινάσης έναντι της αντίστοιχης ζωικής ή φυτικής προέλευσης πρωτεΐνης, που την καθιστούν και πολύτιμη για εμπορικούς σκοπούς, περιλαμβάνουν τον υψηλό καταλυτικό της ρυθμό, το μικρότερο μέγεθος, την ευρεία επιλεκτικότητα του υποστρώματος καθώς και τη μικρότερη δράση απαμίνωσης (Kashiwagi et al. 2002).

3.2.4 Ενζυμικές ιδιότητες της mTGase

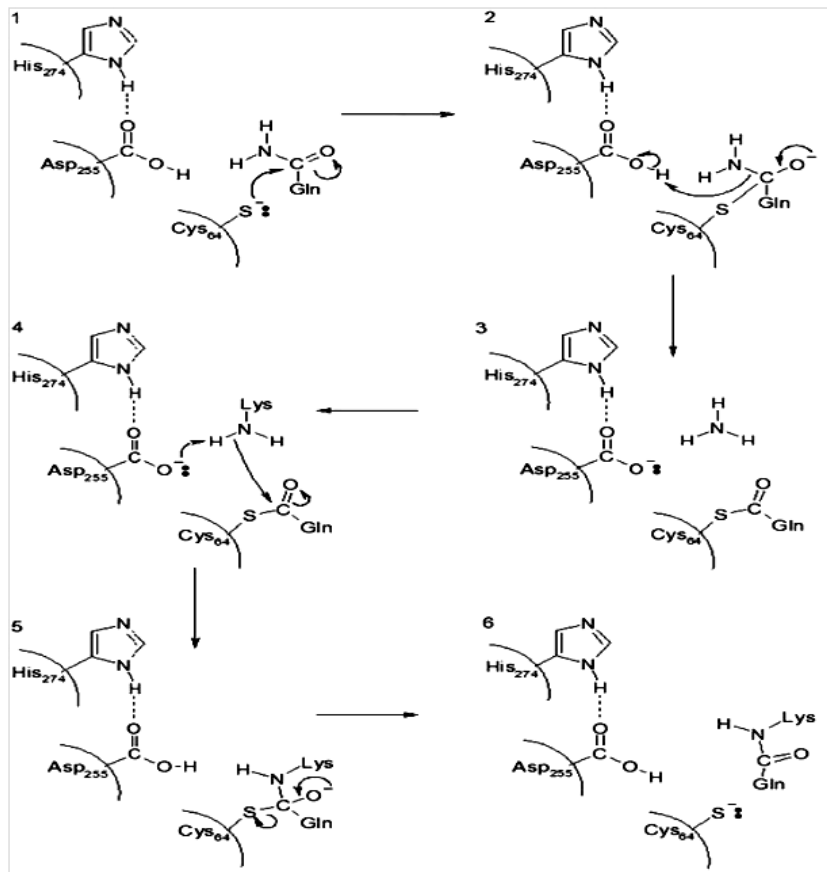
Η βέλτιστη τιμή pH για τη δράση της μικροβιακής TGase κυμαίνεται από 5 έως 8. Παρόλα αυτά, ακόμη και σε τιμές pH 4 ή 9, το ένζυμο εμφανίζει κάποια δράση. Η βέλτιστη θερμοκρασία για τη δράση του ενζύμου είναι περίπου 55°C (Ando et al. 1989). Στη συγκεκριμένη θερμοκρασία, το ένζυμο διατηρεί τη δράση του για 10 min, ενώ σε θερμοκρασία πάνω από 70°C χάνει τη δραστηριότητά του σε μόλις λίγα λεπτά. Το ένζυμο εμφανίζει δράση και σε χαμηλότερες θερμοκρασίες της τάξης των 10°C, ενώ διατηρεί και κάποια από τη δράση του σε θερμοκρασίες κοντά σε αυτή της κατάψυξης (Yokoyama et al. 2004). Παράλληλα, σε αντίθεση με την τρανσγλουταμινάση ζωικής προέλευσης, η μικροβιακή TGase είναι αρκετά ανθεκτική σε συνθήκες υπερυψηλής πίεσης, καθώς το ενεργό της κέντρο παραμένει ανέπαφο (Jaros et al. 2006, Lee and Park 2002). Σε σύγκριση με την ζωική τρανσγλουταμινάση, η mTGase παρουσιάζει μικρότερη ειλεκτικότητα υποστρώματος κάτι που της προσφέρει το πλεονέκτημα να δρα στις περισσότερες πρωτεΐνες των τροφίμων, όπως οι γλοβουλίνες των όσπριων, η γλουτένη του σιταριού, η αλβουμίνη του αυγού, η μυοσίνη, οι καζεΐνες του γάλακτος, η α-γαλακτοαλβουμίνη, η β-γαλακτογλοβουλίνη και άλλες αλβουμίνες (Nielsen 1995, Zhu et al. 1995). Η δράση της μικροβιακής TGase χαρακτηρίζεται από τη μη εξάρτησή της στην παρουσία ιόντων ασβεστίου, ιδιότητα πολύ χρήσιμη στη ρύθμιση των λειτουργικών ιδιοτήτων των πρωτεϊνών των τροφίμων, επειδή πολλές από αυτές, συμπεριλαμβανομένων των καζεϊνών του γάλακτος, εμφανίζουν ευαισθησία και καθιζάνουν παρουσία κατιόντων ασβεστίου. Η παρουσία του κατάλοιπου κυστεΐνης είναι πολύ σημαντική για την καταλυτική δράση της mTGase καθώς πιθανά αποτελεί μέρος του ενεργού κέντρου του ενζύμου. Βαρέα μέταλλα όπως Cu^{2+} , Zn^{2+} και Pb^{2+} φάνηκε να αναστέλλουν την καταλυτική δράση του ενζύμου καθώς αντιδρούν με τα ελεύθερο θείο στο κατάλοιπο κυστεΐνης (Yokoyama et al. 2004).

Ένας μηχανισμός για την καταλυτική δράση της mTGase και του σχηματισμού πεπτιδικού δεσμού προτάθηκε από τους Kashiwagi et al. (2002), οι οποίοι βασίστηκαν στις δομικές διαφορές στα ενεργά κέντρα μεταξύ μικροβιακής και ζωικής τρανσγλουταμινάσης (βλ. *Εικόνα 3.6*).

3.2.5 Θετικές επιδράσεις της mTGase

- Η μικροβιακή TGase έχει την ικανότητα να ενσωματώνει αμινοξέα ή πεπτίδια σε πρωτεΐνες με ομοιοπολικούς δεσμούς. Το αποτέλεσμα αυτών των δεσμών είναι οι δια- και ενδομοριακές διασυνδέσεις των πρωτεϊνών οι οποίες αυξάνουν και τη θερμική σταθερότητα των πρωτεϊνών (Zhu et al. 1995, Ozrenk 2006).
- Η διασύνδεση των πρωτεϊνών μπορεί να βελτιώσει τη θρεπτική αξία των τροφίμων, καθώς τα αμινοξέα ή πεπτίδια που ενσωματώνονται συμπεριφέρονται ως ενδογενή αμινοξέα. Για παράδειγμα, οι καζεΐνες του γάλακτος και οι πρωτεΐνες σόγιας, στις

οποίες η μεθειονίνη και η λυσίνη είναι περιοριστικοί παράγοντες, μπορούν να βελτιωθούν με μία τέτοια αντίδραση (Motoki & Seguro 1998). Παράλληλα, με τη διασύνδεση διαφορετικών πρωτεϊνών μπορούν να ληφθούν απαραίτητα, συμπληρωματικά αμινοξέα που δεν υπήρχαν πριν στο τρόφιμο (Zhu et al. 1995).



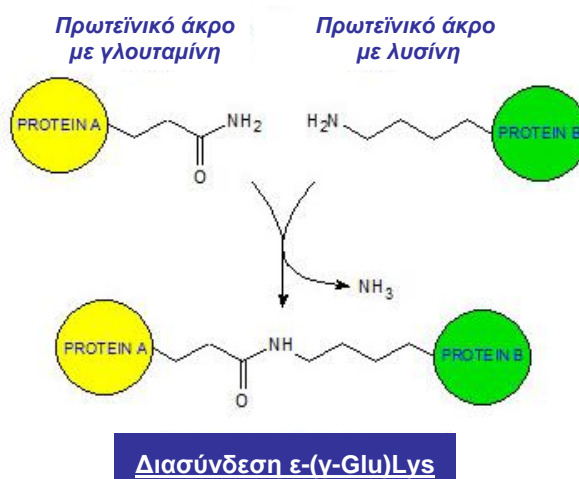
Εικόνα 3.6. Προτεινόμενος μηχανισμός καταλυτικής δράσης της mTGase (Kashimagi et al. 2002)

- Η τρανσγλουταμινάση μπορεί να μειώσει την εμφάνιση αλλεργικών αντιδράσεων σε σύγκριση με την απλή προσθήκη πρωτεϊνών σε ένα τρόφιμο. Όπως είναι γνωστό, η εισαγωγή νέων, πρόσθετων πρωτεϊνών σε ένα τρόφιμο δύναται να εμπεριέχει κινδύνους εμφάνισης αλλεργικών αντιδράσεων στις συγκεκριμένες πρωτεΐνες. Η TGase μειώνει αυτούς του κινδύνους, αφού αποτελεί το ιδανικό υπόστρωμα για τη δέσμευση των νέων πρωτεϊνών (Zhu et al. 1995).
- Η τροποποίηση των πρωτεϊνών από την τρανσγλουταμινάση μπορεί να συμβάλλει στην ενθυλάκωση των λιπιδίων δημιουργώντας μεμβράνες (film) ανθεκτικές στο νερό και τη θερμότητα.
- Η χρήση της TGase μπορεί να βελτιώσει τις λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνών και κατά συνέπεια την υφή και την ελαστικότητα του τροφίμου
- Η διασύνδεση με TGase αυξάνει το ιξώδες των δειγμάτων καθώς και την ικανότητα συγκράτησης νερού (Shleikin et al. 2011, Zhu et al. 1995)
- Η TGase μπορεί να εξαλείψει την ανάγκη της θερμικής επεξεργασίας των τροφίμων για τη δημιουργίων γελών (gels) (Ozrenk 2006).

- Με τη χρήση της TGase μπορούν να ζελατινοποιηθούν πρωτεΐνες που δεν μπορούσαν με τη χρήση θερμότητας.
- Αυξάνεται η θερμική σταθερότητα των παραγόμενων γελών.
- Και τέλος, η σκληρότητα των γελών αυξάνεται όταν συνδυαστεί η χρήση θερμότητας και TGase (Motoki & Seguro 1998).

3.3 Χρήση της mTGase στη βιομηχανία τροφίμων

Οι πρωτεΐνες αποτελούν σημαντικά κλάσματα των προϊόντων τροφίμων και παίζουν ξεχωριστό ρόλο στη διαμόρφωση της υψής τους. Η αξιοποίηση επομένως της τρανσγλουταμινάσης στη διασύνδεση των πρωτεϊνών, μέσω της δημιουργίας ε-(γ-Glu)Lys διασυνδέσεων (βλ. *Εικόνα 3.7*), και κατ' επέκταση στη μεταβολή της λειτουργικότητάς τους, μπορεί να αποτελέσει σημαντικό τμήμα της διαδικασίας επεξεργασίας πολλών τροφίμων. Στη συνέχεια θα αναφερθούν οι εφαρμογές της μικροβιακής τρανσγλουταμινάσης και τα αποτελέσματά της ανά κατηγορία τροφίμου.



Εικόνα 3.7. Δημιουργία ε-(γ-Glu)Lys διασυνδέσεων μεταξύ δύο πρωτεϊνών με τη χρήση της TGase

Θαλασσινά Προϊόντα

Η δράση της τρανσγλουταμινάσης είναι γνωστή εδώ και χρόνια στα θαλασσινά προϊόντα. Μάλιστα, όπως έχει παρατηρηθεί, η ενδογενής τρανσγλουταμινάση που υπάρχει στα ψάρια προκαλεί ένα φαινόμενο που λέγεται *suwari* και πρόκειται για τη σκλήρυνση των πρωτεϊνών στην επιδερμίδα των ψαριών (Seki et al. 1990). Η χρήση τρανσγλουταμινάσης στη βιομηχανία τροφίμων ξεκίνησε με την εφαρμογή της στην παραγωγή του *surimi* (πολτός ψαριών) στην Ιαπωνία και πλέον χρησιμοποιείται ευρέως στη βιομηχανία παραγωγής τέτοιων προϊόντων (Lee et al. 1997). Η ενζυμική επεξεργασία του πολτού με

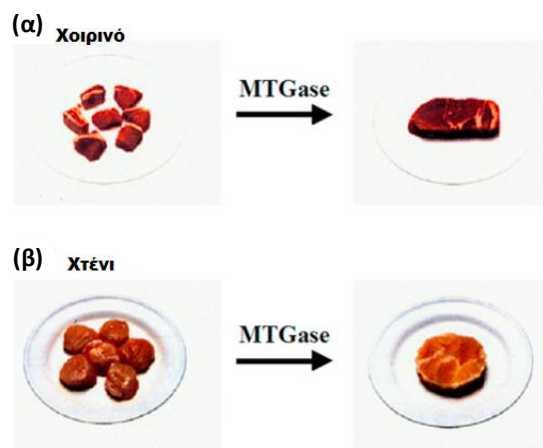
τρανσγλουταμινάση οδηγεί σε αύξηση των διασυνδέσεων μεταξύ των πρωτεϊνών και μείωση των μονομερών της μυοσίνης¹⁵, όπως αυτές παρατηρήθηκαν μέσω ηλεκτροφόρησης πρωτεϊνών σε πηκτή πολυακριλαμιδίου. Αποτέλεσμα αυτού είναι η αύξηση της ελαστικότητας και της σκληρότητας στο surimi, παράμετροι οι οποίες επηρεάζονται σημαντικά από τη χρησιμοποιούμενη συγκέντρωση του ενζύμου (Jiang et al. 2000, Téllez-Luis et al. 2002). Μία ακόμα εφαρμογή που έχει αναφερθεί είναι η δημιουργία απομίμησης πτερυγίου καρχαρία, το οποίο θεωρείται υγιεινό τρόφιμο στη Νοτιοανατολική Ασία (Zhu et al. 1995). Άλλες εφαρμογές της τρανσγλουταμινάσης σε θαλασσινά προϊόντα σχετίζονται με την αποφυγή δυσμενών αλλαγών στην υφή αποστειρωμένων και κατεψυγμένων προϊόντων, όπως οι γαρίδες, τα οποία πρέπει να διατηρήσουν την υφή τους. Η τρανσγλουταμινάση μπορεί επίσης να βρει εφαρμογή κατά την επεξεργασία και παραγωγή αυγοτάραχου μπακαλιάρου, όπου μετά από παραμονή του σε ενζυμικό διάλυμα παρατηρείται σημαντικά σφιχτή υφή και αύξηση της μασητικότητας του τελικού προϊόντος (Kuraishi et al. 2001).

Προϊόντα Κρέατος

Η τρανσγλουταμινάση μπορεί να αντιδράσει και με τις πρωτεΐνες του κρέατος. Η χρήση της τρανσγλουταμινάσης μπορεί να οδηγήσει στην παρασκευή νέων, ανασυσταμένων προϊόντα κρέατος από μικρότερα κομμάτια. Οι Kuraishi et al. (1998) δημιούργησαν ένα σύστημα με τη χρήση mTGase για την ένωση πρωτεϊνών του κρέατος το οποίο λειτουργεί σαν ένα είδος κόλλας που συγκρατεί μαζί διαφορετικά κομμάτια κρέατος. Οι σύνδεσμοι που δημιουργούνται μέσω της τρανσγλουταμινάσης ενδυναμώνουν τη δομή του πρωτεϊνικού πλέγματος σε έτοιμα προϊόντα κρέατος, όπως είναι τα χοιρινά ή από κιστόπουλο λουιάνικα (Motoki & Seguro 1998). Επιπρόσθετα, παρατηρείται βελτίωση και στην υφή των προϊόντων, καθώς η ελαστικότητα και η σκληρότητά τους βελτιώνονται σημαντικά. Η σκληρότητα αυξάνεται ανάλογα με την αύξηση της ποσότητας του ενζύμου, όπως και η ελαστικότητα και η ευθρυπτότητα των προϊόντων (Pietrasik & Li-Chan 2002, Jarmoluk & Pietrasik 2003). Τα λουιάνικα που επεξεργάζονται με τρανσγλουταμινάση είναι ανθεκτικά στη θερμική επεξεργασία σε υψηλές θερμοκρασίες και στην κατάψυξη, διότι οι διασυνδέσεις ε-(γ-Glu)Lys είναι πολύ σταθερές (Ahmed et al. 2007, 2009a, 2009b).

Μία ακόμη εφαρμογή της TGase είναι στα επονομαζόμενα «υγιεινά» προϊόντα. Κατά την παραγωγή προπαρασκευασμένων τροφίμων, ειδικά προϊόντων κρέατος, προστίθενται άλατα και φωσφορικές ενώσεις με σκοπό τη βελτίωση της υφής. Η ζήτηση όμως των καταναλωτών για υγιεινά τρόφιμα οδήγησε στην παραγωγή τροφίμων με μειωμένα πρόσθετα συστατικά, τα οποία όμως μειονεκτούν ως προς την υφή τους. Χρησιμοποιώντας την ενζυμική επεξεργασία επιτυγχάνεται βελτιωμένη υφή στα προϊόντα αυτά, διατήρηση της σκληρότητας και της ελαστικότητάς τους σε επιθυμητά επίπεδα, και αύξηση της συνεκτικότητας και της ικανότητας δέσμευσης νερού, σε σύγκριση με αντίστοιχα προϊόντα κρέατος με αυξημένο περιεχόμενο σε άλατα και φωσφορικές ενώσεις (Kuraishi et al. 2001, Askin & Kilic 2009).

¹⁵ Μυοσίνη: μία από τις δύο σημαντικότερες πρωτεΐνες στους μύες του κρέατος, αποικοδομεί το ATP και είναι υπεύθυνη για τη δημιουργία των χονδροειδών ινών των μύων.



Εικόνα 3.8:α) ανασυσταμένη μπριζόλα από κομμάτια χοιρινού β) νέο είδος θαλασσινού από χτένι

Προϊόντα Σίτου, Αρτοπαρασκευάσματα και Ζυμαρικά

Η τρανσγλουταμινάση επηρεάζει τις ιδιότητες των τροφίμων που περιέχουν γλουτένη, μέσω του σχηματισμού μεγαλομοριακών πολυμερών και τη δημιουργία ϵ -(γ -Glu)Lys διασυνδέσεων, ενισχύοντας έτσι τη δομή, το ιξώδες, την ικανότητα συγκράτησης νερού και την ελαστικότητα των προϊόντων που περιέχουν γλουτένη. Οι παραπάνω παρατηρήσεις έχουν γίνει σε προϊόντα σίτου, βρώμης, σίκαλης, σιμιγδαλιού και ρυζάλευρου (Collar & Bollaín 2004, Kim et al. 2008, Huang et al. 2010). Αναφορικά με τα παραγόμενα προϊόντα, παρατηρείται βελτίωση στις ιξωδοελαστικές ιδιότητες του ζυμαριού αλλά και σε ιδιότητες επεξεργασμένων τροφίμων, όπως ο όγκος, η σκληρότητα και η ευθρυπτότητα των παραγόμενων αρτοσκευασμάτων (Hozova et al. 2003, Collar & Bollaín 2004, Kim et al. 2008), καθώς και η σκληρότητα, η ικανότητα συγκράτησης νερού και η σταθερότητα σε μετέπειτα θερμική επεξεργασία προϊόντων ζυμαρικών, με την τελευταία να παίζει καθοριστικό ρόλο στις ιδιότητες των ζυμαρικών μετά από βρασμό, αυξάνοντας έτσι τη σταθερότητά τους και βελτιώνοντας τις οργανοληπτικές τους ιδιότητες σε προϊόντα γρήγορων γευμάτων, όπως π.χ. σούπες ζυμαρικών (Aalami & Leelavathi 2008, Bellido & Hatcher 2011). Ένα ακόμη χαρακτηριστικό παράδειγμα της χρήσης της τρανσγλουταμινάσης σε προϊόντα ζυμαριού είναι και η βελτίωση των ιδιοτήτων προϊόντων λειτουργικών τροφίμων τα οποία δεν περιέχουν γλουτένη. Η προσθήκη της τρανσγλουταμινάσης φαίνεται να αυξάνει τον όγκο του παραγόμενου ψωμιού και να βελτιώνει τις ιδιότητες υψής της ψίχας (Marco & Rosell 2008, Pongjaruvat et al. 2014). Επίσης, η χρήση τρανσγλουταμινάσης συνεισφέρει στη βελτίωση των ιδιοτήτων των προϊόντων ζαχαροπλαστικής, όπως στην αύξηση του όγκου και του περιεχόμενου αέρα στις ζύμες καθώς και στην αύξηση του χρόνου ζωής στο κρουασάν (Gerrard et al. 2000, Hozova et al. 2003).

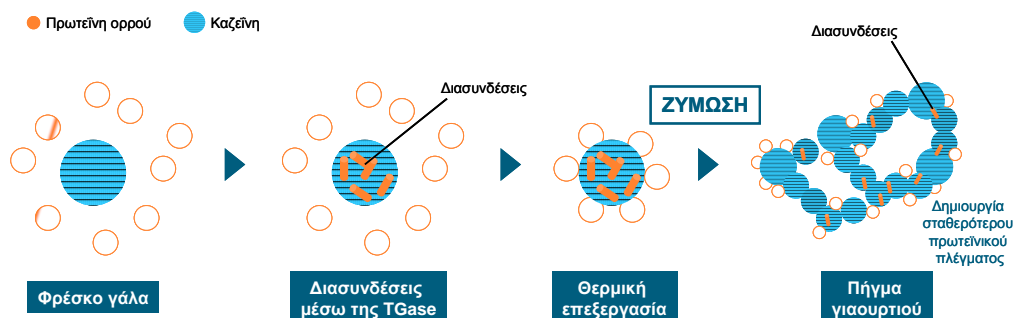
Γαλακτοκομικά Προϊόντα

Ανάμεσα στις πρωτεΐνες του γάλακτος, οι καζεΐνες δύναται να διασυνδεθούν εύκολα από την τρανσγλουταμινάση λόγω της ευέλικτης και μικρής δευτεροταγούς δομής τους και στην

απουσία δισουλφιδικών δεσμών στις α_{s1} - και β - καζεΐνες που επιτρέπουν στις δραστικές ομάδες των πρωτεϊνών να βρίσκονται εκτεθειμένες στο ένζυμο, ενώ οι πρωτεΐνες ορού δεν διασυνδέονται το ίδιο αποτελεσματικά λόγω της συμπαγούς σφαιρικής δομής τους (de Jong & Koppelman 2002, Lorenzen 2002, Sharma et al. 2002, O'Connell & de Kruif 2003). Αν και η κ-καζεΐνη φαίνεται να είναι πιο ευαίσθητη σε διασύνδεση σε κρύο γάλα, ακολουθούμενη από την β -καζεΐνη (Sharma et al. 2001), η θερμική προ-επεξεργασία του γάλακτος φαίνεται να ενισχύει τη δράση της τρανσγλουταμινάσης στη διασύνδεση των πρωτεϊνών (Kulozik et al. 2003, Rodriguez-Nogales 2006a, Rodriguez-Nogales 2006b). Σημαντικό επίσης ρόλο στα λειτουργικές ιδιότητες των ενζυμικά επεξεργασμένων πρωτεϊνών διαδραματίζει και η συγκέντρωση της χρησιμοποιούμενης τρανσγλουταμινάσης (Kuraishi et al. 2001, Özer et al. 2007, Domagała et al. 2013).

Γιαούρτι

Η χρήση της τρανσγλουταμινάσης στα ζυμωμένα γαλακτοκομικά προϊόντα, όπως το γιαούρτι, έχει ως αποτέλεσμα την τροποποίηση της διαλυτότητας και της ικανότητας ενυδάτωσης των πρωτεϊνών, την μεταβολή της σταθερότητας, του ιξώδους, της ικανότητας συγκράτησης νερού, της ικανότητας ζύμωσης, των γαλακτοματοποιητικών, ρεολογικών και μηχανικών ιδιοτήτων, και της μικροδομής του πηγμάτος, τόσο κατόπιν της παραγωγής του όσο και κατά τη διάρκεια αποθήκευσής του (βλ. *Εικόνα 3.7*) (Lorenzen et al. 2002, Ozrenk 2006, Jaros et al. 2006, Farnsworth et al. 2006, Bönisch et al. 2007a, Guyot & Kulozik 2010, Şanlı et al. 2011). Επιπρόσθετα, η επεξεργασία του γάλακτος με την τρανσγλουταμινάση μπορεί να επηρεάσει την θρεπτική αξία και τα ποιοτικά χαρακτηριστικά προϊόντων με χαμηλή λιποπεριεκτικότητα ή προϊόντων στα οποία δεν έχει γίνει εμπλουτισμός με στερεά (εκτός λιπαρών υλών), και να μειώσει τη διαθεσιμότητα αμινοξέων, όπως π.χ. της λυσίνης, και των λιπιδίων ή λιποδιαλυτών ουσιών, τα οποία ευθύνονται για χημικές αντιδράσεις υποβάθμισης της ποιότητας των προϊόντων αυτών (Lauber, Henle & Klostermeyer 2000, Lorenzen et al. 2002, Özrenk 2006, Bönisch et al. 2007, Myllärinen et al. 2007, Özer et al. 2007, Jaros et al. 2010, Jacob et al. 2011). Αναφορικά στον τρόπο εφαρμογής της, η επεξεργασία του γάλακτος με την τρανσγλουταμινάση μπορεί να πραγματοποιηθεί προηγούμενα ή ταυτόχρονα με τη ζύμωσή του. Στην πρώτη περίπτωση, η τρανσγλουταμινάση θα πρέπει να απενεργοποιηθεί, συνήθως μέσω ενός επόμενου σταδίου θερμικής επεξεργασίας (Kuraishi et al. 2001), ή μέσω χημικής παρεμπόδισης, π.χ. με N-Ethylmaleimide (NEM) (Jacob et al. 2011).



Εικόνα 3.7. Σχηματική Απεικόνιση της Μεταβολής των Πρωτεϊνών και της Σταθερότητας του Ζυμωμένου Προϊόντος Μέσω της Προ-Επεξεργασίας του Γάλακτος με TGase

Ένα άλλο πεδίο εφαρμογής της ενζυμικής επεξεργασίας με TGase σε συστήματα γάλακτος αφορά στην ενζυμική τροποποίηση σκόνης γάλακτος με σκοπό τον εμπλουτισμό γάλακτος που θα χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή γιαουρτιού. Οι Guyot & Kulozik (2010) πραγματοποίησαν ενζυμική επεξεργασία σε σκόνη γάλακτος (σε ενζυμικές συγκεντρώσεις 0,5-10 Units/g πρωτεΐνης), η οποία μετέπειτα χρησιμοποιήθηκε για τον εμπλουτισμό γάλακτος, και σύγκριναν τα αποτελέσματά τους με δείγματα στα οποία είχε πραγματοποιηθεί ταυτόχρονος εμβολιασμός της TGase και της καλλιέργειας εκκίνησης. Η μελέτη αυτή κατέληξε στο συμπέρασμα ότι αύξηση τόσο του επιπέδου προσθήκης της σκόνης γάλακτος όσο και της ενζυμικής συγκέντρωσης της TGase οδηγεί σε αύξηση του ιξώδους και μείωση της παρατηρούμενης συναίρεσης των παραγόμενων όξινων πηγμάτων, ενώ προκειμένου να παραχθεί πήγμα με παρόμοια χαρακτηριστικά με αυτά των δειγμάτων των οποίων το γάλα είχε εμβολιαστεί ταυτόχρονα με TGase και καλλιέργεια εκκίνησης, ήταν απαραίτητη η προσθήκη 1% σκόνη γάλακτος η οποία είχε επεξεργαστεί ενζυμικά με συγκέντρωση TGase μεγαλύτερη ή ίση με 3 Units/g πρωτεΐνης.

Η τεχνολογία της ενζυμικής επεξεργασίας του γάλακτος με TGase έχει συνδυαστεί και με τεχνολογίες για τις οποίες υπάρχουν δεδομένα ότι τροποποιούν τις πρωτεΐνες του γάλακτος, όπως η επεξεργασία με ΥΠ. Οι Anema et al. (2005) μελέτησαν την επίδραση τόσο της μεμονωμένης εφαρμογής των ΥΠ (400 MPa, 40°C, 0-120 min) όσο και της ταυτόχρονης εφαρμογής στα χαρακτηριστικά των παραγόμενων πηγμάτων μετά από χημική οξίνιση. Η ενζυμική επεξεργασία πραγματοποιήθηκε με χρήση TGase σε συγκέντρωση 3 Units/g πρωτεΐνης στους 40°C για χρόνους επεξεργασίας 0, 60 και 120 min, και η απενεργοποίηση του ενζύμου πραγματοποιήθηκε στους 80°C για 2 min. Το γάλα που χρησιμοποιήθηκε ήταν εμπορικής προέλευσης φρέσκο αποβουτυρωμένο γάλα, το οποίο για την περίπτωση των δειγμάτων αναφοράς, επεξεργάστηκε θερμικά στους 90°C για 15 min. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η συνδυασμένη εφαρμογή της ΥΠ και της TGase οδήγησε στο σχηματισμό όξινων πηγμάτων με τους χαμηλότερους χρόνους πήξης, τις υψηλότερες τιμές pH στην οποία εμφανίζεται σχηματισμός πήγματος και τις υψηλότερες τιμές της ρεολογικής παραμέτρου G'.

Τυρί

Η επεξεργασία με τρανσγλουταμινάση έχει βρει εφαρμογές και κατά τη διαδικασία της τυροκόμησης. Η εφαρμογή της ενζυμικής επεξεργασίας δύναται να πραγματοποιηθεί με τρεις τρόπους: α) επεξεργασία του γάλακτος με τρανσγλουταμινάση ακολουθούμενη από μία θερμική επεξεργασία για την παστερίωση του γάλακτος και την απενεργοποίηση του ενζύμου και στη συνέχεια προσθήκη της πυτιάς, β) προσθήκη της πυτιάς στο γάλα και στη συνέχεια ενζυμική επεξεργασία με τρανσγλουταμινάση, και γ) ταυτόχρονη προσθήκη της τρανσγλουταμινάσης και της πυτιάς στο γάλα (Kieliszek & Misiewicz 2014). Επικρατέστερη μέθοδος φαίνεται να είναι η τελευταία αφού η προ-επεξεργασία του γάλακτος με τρανσγλουταμινάση φαίνεται να εμποδίζει την πήξη του γάλακτος (Cozzolino et al. 2003, Mahmood & Sebo 2009). Το γάλα που επεξεργάζεται με τρανσγλουταμινάση εμφανίζει αυξημένη απόδοση κατά την τυροκόμηση, και στα παραγόμενα τυριά παρατηρούνται βελτιωμένα χαρακτηριστικά υφής, καλύτερη δέσμευση του ορού, παρόμοια οργανοληπτικά χαρακτηριστικά με αυτά των συμβατικά παρασκευασμένων προϊόντων και καλύτερη σταθερότητα κατά την αποθήκευση (Bönisch et al. 2008, Özer et al. 2012, Mazuknaite et al. 2013, Özer et al. 2013, Sayadi et al. 2013, Aaltonen et al. 2014).

Παγωτό

Αναφορικά με τα παγωμένα επιδόρπια γάλακτος, συμπεριλαμβανομένων και των παγωτών, η ενζυμική επεξεργασία με τρανσγλουταμινάση δεν έχει μελετηθεί σε μεγάλο βαθμό, με μόλις 3 σχετικές επιστημονικές μελέτες να εμφανίζονται στη διεθνή βιβλιογραφία. Συγκεκριμένα, ο Metwally (2007) μελέτησε την επίδραση της ενζυμικής επεξεργασίας μειγμάτων παγωτού με διαφορετικό περιεχόμενο σε λιπαρά (5 και 10% κ.β.) και σε σταθεροποιητή (0,2 και 0,7% κ.β.) στα ρεολογικά χαρακτηριστικά των μειγμάτων, και στα φυσικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των παραγόμενων κατεψυγμένων προϊόντων. Η ενζυμική επεξεργασία των μειγμάτων παγωτού πραγματοποιήθηκε με χρήση TGase σε συγκέντρωση 0,6 g ενζυμικού παρασκευάσματος/ L μείγματος και επώαση στους 45°C για 2,5 h, ενώ ακολούθησε απενεργοποίηση του ενζύμου στους 80°C για 1 min. Τα αποτελέσματα της έρευνας αυτής έδειξαν ότι η ενζυμική επεξεργασία των μειγμάτων παγωτού οδηγεί σε αύξηση του ιξώδους και του συντελεστή συνεκτικότητας των μειγμάτων παγωτού, και παράλληλα σε αύξηση της ικανότητας ενσωμάτωσης αέρα, αύξηση της αποσταθεροποίησης των λιπαρών και αύξηση της αντίστασης στην τήξη των παραγόμενων κατεψυγμένων προϊόντων. Παράλληλα, τα μελετώμενα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (άρωμα, κρεμμώδης υφή, τραχύτητα, ικανότητα τήξης) των τελικών κατεψυγμένων προϊόντων βελτιώθηκαν για τα προϊόντα από ενζυμικά επεξεργασμένα μείγματα σε σχέση με τα αντίστοιχα χαρακτηριστικά των προϊόντων από μείγματα που δεν είχαν υποστεί επεξεργασία με TGase. Έτσι, η έρευνα αυτή κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η ενζυμική επεξεργασία των μειγμάτων παγωτού μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή παγωτού με μειωμένο περιεχόμενο τόσο σε λιπαρά όσο και σε σταθεροποιητικά μέσα, βελτιώνοντας παράλληλα τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του.

Επιπλέον, οι Rossa et al. (2012) μελέτησαν την επίδραση της ενζυμικής επεξεργασίας αποβουτυρωμένου γάλακτος που θα χρησιμοποιούταν για την παρασκευή μειγμάτων παγωτού, με διαφορετικό περιεχόμενο σε λιπαρά (4, 6 και 8% κ.β.) και αναλογία σταθεροποιητή στο μείγμα 0,5% κ.β., στα ποιοτικά χαρακτηριστικά των τελικών κατεψυγμένων προϊόντων (ποσοστό ενσωμάτωσης αέρα, αποσταθεροποίηση λιπαρών, ρυθμός τήξης, ρεολογικά χαρακτηριστικά τηγμένου παγωτού και, αντικειμενική σκληρότητα). Η ενζυμική επεξεργασία του γάλακτος πραγματοποιήθηκε με χρήση TGase συγκέντρωσης 4 Units/ g πρωτεΐνης και επώαση στους 40°C για 90 min (Rossa et al. 2011), ενώ ακολούθησε απενεργοποίηση του ενζύμου στους 80°C για 2 min. Τα αποτελέσματά τους έδειξαν ότι η ενζυμική επεξεργασία του γάλακτος οδήγησε σε αύξηση της ικανότητας ενσωμάτωσης αέρα, αύξηση της αποσταθεροποίησης των λιπαρών, και μείωση του ρυθμού τήξης και της αντικειμενικής σκληρότητας των παραγόμενων κατεψυγμένων προϊόντων, σε σχέση με τα αντίστοιχα χαρακτηριστικά των προϊόντων από μείγματα που παρασκευάστηκαν από με επεξεργασμένο με TGase γάλα. Αναφορικά με τα ρεολογικά χαρακτηριστικά του τηγμένου παγωτού, η ενζυμική επεξεργασία του γάλακτος οδήγησε σε αύξηση του δείκτη ρεολογικής συμπεριφοράς και των ψευδοπλαστικών ιδιοτήτων του. Παράλληλα, παρατήρησαν ότι τα προϊόντα με 4 και 6% κ.β. περιεχόμενο σε λιπαρά, που παρασκευάστηκαν από μείγματα με ενζυμικά επεξεργασμένο γάλα, εμφάνισαν παρόμοια χαρακτηριστικά με τα προϊόντα με 8% κ.β. περιεχόμενο σε λιπαρά, που παρασκευάστηκαν από μείγματα με μη ενζυμικά επεξεργασμένο γάλα, αποδεικνύοντας ότι η επεξεργασία του γάλακτος με TGase μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη μερική υποκατάσταση των λιπαρών του παγωτού.

Από τα παραπάνω καθίσταται σαφές ότι, η μέθοδος της ενζυμικής τροποποίησης των πρωτεϊνών μέσω της TGase, αποτελεί ακόμα ένα σημαντικό πεδίο έρευνας, αφού ακόμα δεν έχει μελετηθεί η πλήρης αντικατάσταση των σταθεροποιητικών μέσω από την εν λόγω τεχνολογία, δεν υπάρχουν διαθέσιμα δεδομένα για τα ρεολογικά χαρακτηριστικά που εμφανίζουν τα τελικά κατεψυγμένα προϊόντα, δεν έχουν μελετηθεί ιδιότητες που σχετίζονται με τη διαμόρφωση της δομής των τελικών προϊόντων (π.χ. θερμικές και θερμοφυσικές ιδιότητες), ενώ παράλληλα δεν έχει εξερευνηθεί και η δυνατότητα συνδυαστικής εφαρμογής της επεξεργασίας με TGase με άλλες επεξεργασίες που δύναται να χρησιμοποιηθούν για την υποκατάσταση των λιπαρών, ή/και που είναι γνωστό ότι επιδρούν στα συστήματα πρωτεϊνών-λιπαρών, όπως είναι η τεχνολογία της ΥΠ.

3.4 Νομοθεσία για τη χρήση της τρανσγλουταμινάσης σε προϊόντα τροφίμων

Η παραγωγή μικροβιακής τρανσγλουταμινάσης για εμπορικούς σκοπούς πραγματοποιήθηκε στις αρχές της δεκαετίας του 1990, πιστοποιήθηκε στον Παγκόσμιο Οργανισμό Διπλωμάτων Ευρεσιτεχνίας (Αρ. US4278765) και εντάχθηκε στην παγκόσμια αγορά υπό την επωνυμία «ACTIVA» από την Ajinomoto Co. Incorporation (Τόκυο, Ιαπωνία).

Κατόπιν αιτημάτων της εν λόγω εταιρείας για τη νόμιμη χρήση και διάθεση των διαφορετικών παρασκευασμάτων που παρήγαγε, το 1998 τα εμπορικά παρασκευάσματα αυτά εντάχθηκαν από τον FDA στα «Γενικώς αναγνωρισμένα ως ασφαλή» (Generally Recognized As Safe, GRAS) συστατικά, με τη γνωστοποίηση GN000095 και την προϋπόθεση ότι στην ετικέτα του προϊόντος θα πρέπει να αναφέρεται ο όρος «ένζυμο», ώστε να υποδηλώνεται η παρουσία του ενζυμικού παρασκευάσματος στο τρόφιμο. Στη συνέχεια το Υπουργείο Γεωργίας των Ηνωμένων Πολιτειών (U.S. Department of Agriculture – Food Safety and Inspection Service, USDA-FSIS) όρισε ότι σε προϊόντα κρέατος και πουλερικών, το ενζυμικό παρασκεύασμα θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί σε μέγιστη συγκέντρωση 65 ppm, με εξαίρεση το στήθος κοτόπουλου για το οποίο τα όρια τέθηκαν στα 100 ppm. Αναφορικά με τα προϊόντα θαλασσινών, το Υπουργείο Εμπορίου των Ηνωμένων Πολιτειών όρισε ότι τα εν λόγω παρασκευάσματα επιτρέπεται να χρησιμοποιούνται σε επεξεργασμένα θαλασσινά, με την προϋπόθεση ότι στην ετικέτα του προϊόντος θα πρέπει να αναφέρεται ο όρος «ένζυμο», ώστε να υποδηλώνεται η παρουσία του ενζυμικού παρασκευάσματος στο τρόφιμο.

Σε παρόμοιο κλίμα αποδοχής, το 2004, ο Οργανισμός Υγείας του Καναδά εξέδωσε απόφαση με την οποία επιτράπηκε η χρήση των ενζυμικών παρασκευασμάτων τρανσγλουταμινάσης της ίδιας εταιρείας στις ακόλουθες κατηγορίες τροφίμων:

- ✓ Έτοιμα προϊόντα ψαριού
- ✓ Προϊόντα απομίμησης κρέατος
- ✓ Προϊόντα τυριού και κρέμας τυριού
- ✓ Γιαούρτι
- ✓ Παγωμένα γαλακτοκομικά επιδόρπια

Αναφορικά με τη χρήση των εν λόγω παρασκευασμάτων στις χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης, μόνο στη Γερμανία και τη Γαλλία έχει επιτραπεί η χρήση τους, θεωρώντας ότι πρόκειται για μέθοδο επεξεργασίας (processing aid) και όχι για συστατικό του τροφίμου. Έτσι, από νομοθετικής σκοπιάς, δεν είναι απαραίτητη η επισήμανση του ενζυμικού παρασκευάσματος στην ετικέτα των προϊόντων, δεδομένου ότι δεν έχει κάποια τεχνολογική επίδραση στο τελικό προϊόν, αφού απενεργοποιείται κατά την παραγωγική διαδικασία (συνήθως μέσω κάποιας θερμικής επεξεργασίας). Για τις υπόλοιπες χώρες της Ε.Ε. αναμένεται ο αναθεωρημένος κανονισμός 1332/2008/EC, ο οποίος θα περιλαμβάνει λίστα με τα ένζυμα, συμπεριλαμβανομένης και της τρανσγλουταμινάσης, που μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε τρόφιμα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4.

Η ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ

4.1 Γενικά

Στην εποχή μας, υπάρχει ένα ολοένα και αυξανόμενο ενδιαφέρον από το καταναλωτικό κοινό για τρόφιμα υψηλής ποιότητας με φυσικό άρωμα και γεύση, φρέσκια εμφάνιση, απαλλαγμένα από πρόσθετα και συντηρητικά, τα οποία να έχουν υποστεί ελάχιστη επεξεργασία και ταυτόχρονα να είναι ασφαλή προς κατανάλωση για μεγάλο χρονικό διάστημα. Για την αντιμετώπιση των απαιτήσεων των καταναλωτών, η βιομηχανία τροφίμων στράφηκε προς την αναζήτηση εναλλακτικών, μη θερμικών μεθόδων επεξεργασίας (Rastogi 2013). Προς το παρόν, τρόφιμα όπως χυμοί και γαλακτοκομικά προϊόντα επεξεργάζονται θερμικά για την εξουδετέρωση του μικροβιακού φορτίου, κάτι το οποίο, μειώνει την ποιότητα του τελικού προϊόντος καθώς πολλά θρεπτικά συστατικά είναι ευαίσθητα στη θερμότητα (Chawla et al. 2011). Μια σχετικά νεώτερη μέθοδος επεξεργασίας που έχει συνδυάζει την ασφάλεια και την ποιότητα, και η οποία έχει κερδίσει πολλούς οπαδούς τα τελευταία χρόνια, είναι η τεχνολογία της Υπερυψηλής Πίεσης (ΥΠ).

Η τεχνολογία της υπερυψηλής πίεσης είναι μία μέθοδος επεξεργασίας τροφίμων, κατά την οποία εφαρμόζονται πίεσης από 100-1000 MPa σε υγρά, στερεά, συσκευασμένα και μη συσκευασμένα τρόφιμα. Παρ' ότι είναι γνωστή ήδη από το 1899 η ικανότητα της υπερυψηλής πίεσης να σκοτώνει παθογόνους μικροοργανισμούς και να συμβάλλει στη συντήρηση των τροφίμων, η μη διαθεσιμότητα κατάλληλου εξοπλισμού εμπόδιζε την εφαρμογή της στη βιομηχανία. Ωστόσο, οι εξελίξεις στην τεχνολογία αυτή στα τέλη του 1980, στις βιομηχανίες χημικών, κεραμικών και μεταλλουργίας όπου χρησιμοποιούταν για πολλά χρόνια, επέτρεψαν την εισαγωγή της τεχνολογίας αυτής στη βιομηχανία τροφίμων (Cheftel 1992, Trujillo et al. 2002). Συγκεκριμένα, ο Hite το (1899) ερευνήσε πρώτος την εφαρμογή υψηλών πιέσεων ως ένα τρόπο τη διατήρηση του γάλακτος, και αργότερα επέκτεινε τη μελέτη του στη διατήρηση φρούτων και λαχανικών (Hite et. 1914). Παρόλα αυτά, εξαιτίας του υψηλού κόστους του εξοπλισμού, χρειάστηκε να περάσουν πάνω από ογδόντα χρόνια για την εφαρμογή αυτής της τεχνολογίας στη βιομηχανία τροφίμων. Η ικανότητα της υψηλής πίεσης να αδρανοποιεί παθογόνους μικροοργανισμούς καθώς και να απενεργοποιεί τη δραστηριότητα ορισμένων ενζύμων, ενθάρρυνε Ιαπωνικές και Αμερικάνικες εταιρίες τροφίμων να εισάγουν στην αγορά τρόφιμα επεξεργασμένα με υπερυψηλή πίεση (Mermelstein 1997). Τα πρώτα επεξεργασμένα με υπερυψηλή πίεση τρόφιμα, εισήχθησαν στην Ιαπωνική αγορά το 1990 από την εταιρία Meidi-ya και επρόκειτο για μια σειρά από μαρμελάδες, ζελέ και σάλτσες, συσκευασμένα και επεξεργασμένα χωρίς την εφαρμογή

θερμότητας (Thakur and Nelson 1998). Αν και οι τεχνολογία γνώρισε άνθιση στην Ιαπωνία, στη συνέχεια και άλλες χώρες όπως οι ΗΠΑ άρχισαν να χρησιμοποιούν την υπερυψηλή πίεση στη βιομηχανία τροφίμων. Στις ΗΠΑ το πρώτο εμπορικά διαθέσιμο τρόφιμο επεξεργασμένο με την τεχνολογία αυτή ήταν guacamole dip από μια εταιρία στο Texas, ενώ πλέον κυκλοφορούν τρόφιμα όπως στρείδια, χυμοί και έτοιμα γεύματα. Όμως, τέτοια τρόφιμα υπάρχουν πλέον διαθέσιμα και στην ευρωπαϊκή αγορά, όπως στην Ισπανία όπου άρχισαν να παράγονται κομμένα αλλαντικά επεξεργασμένα με υπερυψηλή πίεση και στη Γαλλία όπου κυκλοφορούν διάφοροι χυμοί φρούτων (Hugas et al. 2002).

Ωστόσο, οι λόγοι χρήσης της υπερυψηλής πίεσης δεν περιορίζονται μόνο στην αντικατάσταση της θερμικής επεξεργασίας για την εξασφάλισης της ασφάλειας και διατήρησης των τροφίμων, καθώς η υπερυψηλή πίεση μπορεί να επιφέρει αλλαγές στη δομή και την υφή των προϊόντων και να επηρεάσει τη λειτουργικότητα ορισμένων συστατικών. Η επεξεργασία με υπερυψηλή πίεση μπορεί να παράγει παστεριωμένα τρόφιμα, χωρίς την υποβολή θερμότητας, τα οποία να έχουν φρέσκια και φυσική γεύση, αφού, δεν επηρεάζει τα μικρά σωματίδια όπως εκείνα τα σωματίδια υπεύθυνα για τη γεύση και το άρωμα και τα θρεπτικά συστατικά (Hayashi 1990). Παράλληλα, προσφέρει μια μοναδική ευκαιρία για την παραγωγή προϊόντων με βελτιωμένη υφή και ταυτόχρονα απαλλαγμένων από πρόσθετα και συντηρητικά (Balasubramaniam & Farkas 2008). Στις μέρες μας, η τεχνολογία της ΥΠ θεωρείται πολλά υποσχόμενη για την παραγωγή ενός ευρέος φάσματος προϊόντων και την παραγωγή μιας νέας γενιάς τροφίμων.

4.2 Αρχές λειτουργίας της Υπερυψηλής Πίεσης

Η υδροστατική πίεση δημιουργείται με την αύξηση της ελεύθερης ενέργειας. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί με φυσική συμπίεση κατά τη διάρκεια επεξεργασίας με πίεση σε ένα κλειστό σύστημα με μείωση του μηχανικού όγκου. Συνήθως η ΥΠ συνοδεύεται από μια μέτρια αύξηση της θερμοκρασίας, που ονομάζεται αδιαβατική θέρμανση, και η οποία εξαρτάται από τη σύσταση του προς επεξεργασία τροφίμου (Balasubramaniam et al. 2004, Hogan et al. 2005).

Υπάρχουν τρεις βασικές λειτουργικές αρχές που διέπουν την επεξεργασία με ΥΠ, η αρχή του Le Chatelier, η ισοστατική αρχή και η αρχή της μικροσκοπικής διάταξης:

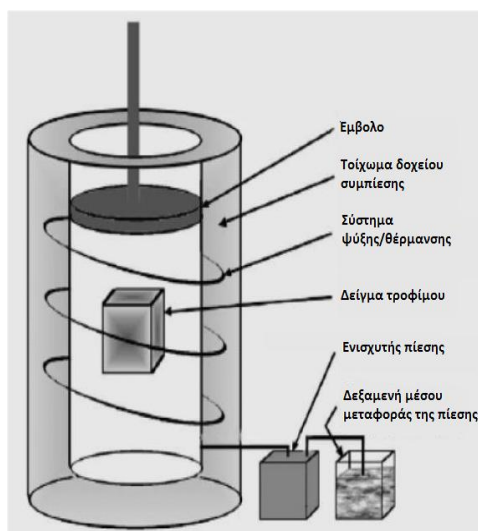
- ✓ Με βάση την πρώτη αρχή, υπό πίεση, τα βιομόρια υπακούουν την αρχή του Le Chatelier, δηλαδή, κάθε φορά που εφαρμόζεται μία τάση σε ένα σύστημα σε ισορροπία, το σύστημα θα αντιδράσει έτσι ώστε να αντισταθμίσει την εφαρμοσμένη πίεση. Αντιδράσεις που οδηγούν σε μείωση του όγκου του συστήματος θα προωθηθούν υπό υψηλή πίεση, όπως οι αντιδράσεις που οδηγούν σε αδρανοποίηση των παθογόνων μικροοργανισμών ή των ενζύμων (Cheftel 1995, Farkas & Hoover 2000).
- ✓ Με βάση την **ισοστατική αρχή**, όταν τα τρόφιμα συμπιέζονται με ομοιόμορφη πίεση από κάθε κατεύθυνση, θα επανέλθουν στην αρχική τους κατάσταση και σχήμα όταν η πίεση θα απελευθερωθεί. Τα προϊόντα συμπιέζονται ανεξαρτήτως από το μέγεθος και τη γεωμετρία τους, αφού η μεταφορά της πίεσης στον πυρήνα του τροφίμου δεν είναι

εξαρτώμενη από τη μάζα και το χρόνο (Olsson 1995, Cheftel 1995, Farkas & Hoover 2000).

- ✓ Με βάση τη *αρχή της μικροσκοπικής διάταξης*, σε σταθερή θερμοκρασία, μία αύξηση της πίεσης αυξάνει το βαθμό διάταξης των βιομορίων ενός δεδομένου συστατικού. Επομένως, η πίεση και η θερμοκρασία ασκούν ανταγωνιστικές δυνάμεις στη μοριακή δομή και τις χημικές αντιδράσεις (Balny & Masson 1993).

4.3 Εξοπλισμός και μηχανισμός λειτουργίας της Υπερυψηλής Πίεσης

Ένα τυπικό σύστημα ΥΠ αποτελείται από ένα δοχείο συμπίεσης, ένα σύστημα δημιουργίας και ενίσχυσης της πίεσης, σύστημα καταγραφής πίεσης και θερμοκρασίας καθώς και από διάφορα υποστηρικτικά περιφερειακά εξαρτήματα, π.χ. σύστημα ψύξης/θέρμανσης (βλ. *Εικόνα 3.1*).



Εικόνα 3.1. Σχηματική απεικόνιση συστήματος υπερυψηλής πίεσης

Σε μία τυπική διεργασία ΥΠ, το τρόφιμο αρχικά συσκευάζεται σε ένα εύκαμπτο περιέκτη και στη συνέχεια τοποθετείται στο δοχείο υψηλής πίεσης, στο οποίο περιέχεται ένα υδραυλικό ρευστό, για την έμμεση διαβίβαση της πίεσης (Rastogi 2013). Ο αέρας απομακρύνεται από το δοχείο μέσω μιας αυτόματης βαλβίδας εξαέρωσης με τη βοήθεια μιας χαμηλής πίεσης γρήγορης-πλήρωσης-και-αποστράγγισης αντλίας, και στη συνέχεια δημιουργείται υπερυψηλή πίεση με άμεση ή έμμεση συμπίεση ή με θέρμανση του μέσου μεταφοράς της πίεσης (Mertens 1995). Το ρευστό που λειτουργεί ως μέσο μεταφοράς της πίεσης είναι συνήθως ένα υγρό χαμηλής συμπιεστότητας, όπως το νερό ή η γλυκερόλη το οποίο συμπιέζεται και η πίεση που ασκείται διαβιβάζεται στη συνέχεια στο συσκευασμένο τρόφιμο. Η πίεση εφαρμόζεται ισοστατικά και ομοιόμορφα σε όλες τις πλευρές του τροφίμου, ανεξαρτήτως από το μέγεθος και τη γεωμετρία του, και για το λόγο αυτό το προϊόν δεν συνθλίβεται κατά τη διάρκεια της διεργασίας και διατηρεί το σχήμα του. Η διεργασία μπορεί να γίνει σε θερμοκρασίες περιβάλλοντος ή και πιο χαμηλές κάτι το οποίο είναι χρήσιμο για τρόφιμα ευπαθή στη θερμότητα καθότι διατηρούνται τα οργανοληπτικά

τους χαρακτηριστικά (Rastogi 2013). Με βάση τις παραπάνω αρχές, το φαινόμενο της μεταφοράς φάσης και οι χημικές αλλαγές συνοδεύονται από μείωση του όγκου, που ενοείται από την πίεση και αντίστροφα. Το υλικό συσκευασίας του τροφίμου πρέπει να μπορεί να αντέξει ένα ποσοστό αυξομείωσης όγκου περίπου 15%.

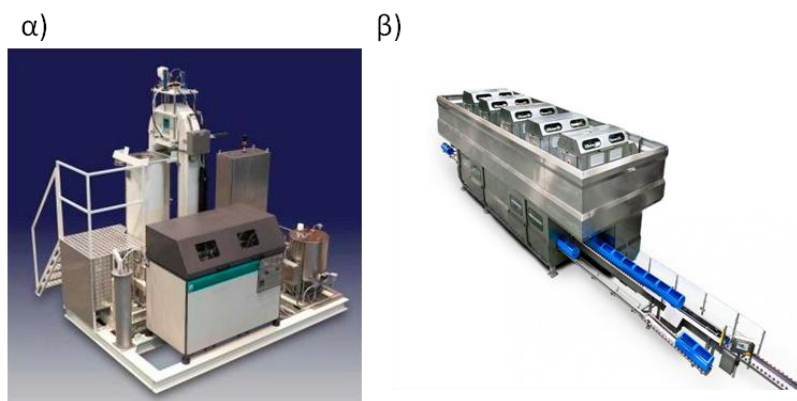
Η διεργασία της ΥΠ μπορεί να διακριθεί σε τρία βασικά συστήματα : συστήματα διαλείποντος έργου, ημισυνεχούς και συνεχούς έργου. Το σύστημα διαλείποντος έργου απαιτεί την τοποθέτηση των συσκευασμένων τροφίμων στο δοχείο πίεσης, μετά την οποία το δοχείο σφραγίζεται και νερό ή υδραυλικό ρευστό αντλείται μέσα στο δοχείο για να εκτοπίσει τον αέρα. Μετά την πλήρωση του δοχείου, η ανακουφιστική βαλβίδα παραμένει κλειστή επιτρέποντας έτσι να δημιουργηθεί πίεση μέσα στο δοχείο. Η πίεση ασκείται στο προϊόν για ένα συγκεκριμένο συνδυασμό χρόνου-πίεσης, κατόπιν, η ανακουφιστική βαλβίδα ανοίγει για να επιτρέψει η ανακουφιστική βαλβίδα ανοίγει για να επιτρέψει στο ρευστό που χρησιμοποιείται ως μέσο συμπίεσης να διασταλεί και να επιστρέψει στην ατμοσφαιρική πίεση (αποσυμπίεση). Στη συνέχεια το δοχείο ανοίγεται, απομακρύνεται το συσκευασμένο τρόφιμο που είναι πλέον έτοιμο για αποστολή. Τα πλεονεκτήματα αυτού του συστήματος περιλαμβάνουν: πρόληψη κινδύνου μόλυνσης καθώς τα τρόφιμα τοποθετούνται συσκευασμένα μέσα στο δοχείο, εξάλειψη της ανάγκης για καθαρισμό μεταξύ κύκλων παραγωγής, και τη χρήση σχετικά απλού εξοπλισμού, σε σύγκριση με τα ημισυνεχή συστήματα (Chawla et al. 2011). Ωστόσο, παρόλο που το σύστημα διαλείποντος έργου είναι αρκετά εύχρηστο, στη βιομηχανία χρησιμοποιούνται τα συστήματα ημισυνεχούς λειτουργίας που απαρτίζονται από συστοιχίες θαλάμων διαλείποντος έργου, οι οποίοι λειτουργούν εναλλάξ με τις γραμμές φόρτωσης και εκφόρτωσης τους να είναι πλήρως αυτοματοποιημένες (Ohlsson et al. 2002). Τέλος, στα συνεχή συστήματα, το υγρό συμπιέζεται συνεχώς μέσω ενός διακόπτη ροής (Anon 2001).

Η διεργασία της ΥΠ χαρακτηρίζεται από τρεις παραμέτρους: τη θερμοκρασία (T), την πίεση (P) και το χρόνο έκθεσης (t), συγκριτικά με τις θερμικές διεργασίες που βασίζονται σε δύο μόνο παραμέτρους (T , t). Η τρι-παραμετρική επεξεργασία με ΥΠ προσφέρει ευρεία ποικιλία για το σχεδιασμό της διεργασίας και τη βελτίωση της διατηρησιμότητας του τροφίμου. Σε μια ποιοτική προσέγγιση, η αποδοτικότητα της διεργασίας μπορεί να εκτιμηθεί με όρους θνησιμότητας, όσον αφορά στους μικροβιολογικούς παράγοντες αλλοίωσης, και δομικών αλλαγών της μήτρας του τροφίμου (Naik et al. 2013).

Όλα τα συμπιεστά συστατικά αλλάζουν θερμοκρασία κατά τη διάρκεια της φυσικής συμπίεσης και αυτό είναι ένα αναπόφευκτο θερμοδυναμικό αποτέλεσμα (Ting et al. 2002). Η αύξηση της πίεσης κατά το χρόνο επίτευξης της επιθυμητής πίεσης από την αρχική τιμή P_1 στην P_2 , αυξάνει τη θερμοκρασία από την τιμή T_1 στην T_2 (βλ. *Εικόνα 3.2*). Το μέγεθος της αύξησης της θερμοκρασίας εξαρτάται σε ένα βαθμό από την αρχική τιμή της θερμοκρασίας, τη συμπιεστότητα του υλικού και την ειδική θερμοχωρητικότητά του, και την επιθυμητή τελική πίεση. Η μέγιστη θερμοκρασία του προϊόντος κατά τη διαδικασία της συμπίεσης είναι ανεξάρτητη από το ρυθμό συμπίεσης για όσο χρονικό διάστημα η μεταφορά θερμότητας προς το περιβάλλον είναι αμελητέα. Είναι ενδιαφέρον να σημειωθεί ότι, ενώ ο ρυθμός αύξησης της θερμοκρασίας ουσιών που μοιάζουν με το νερό συμπίπτει με την αλλαγή της πίεσης, οι λιπαρές ουσίες παρουσιάζουν συχνά μια χρονική καθυστέρηση 30-60 s προτού αποκτήσουν τη μέγιστη θερμοκρασία (T_2). Αυτό πιθανόν να οφείλεται στη διαφορά των αντίστοιχων μοριακών δομών τους (Rasanayagam et al. 2003). Κατά το χρόνο της διεργασίας (P_2 με P_3), η θερμοκρασία του προϊόντος μειώνεται (από T_2 σε T_3), λόγω

κύκλους συμπίεσης ανά ώρα σε πιέσεις έως και 600 MPa. Αυτό αποτελεί πρόκληση για τους κατασκευαστές εξοπλισμού αφού ο εξοπλισμός θα υποβάλλεται σε έντονες μηχανικές καταπονήσεις εξαιτίας των υψηλών πιέσεων και των συνεχών κύκλων συμπίεσης-εκτόνωσης. Παράλληλα, ο εξοπλισμός πρέπει να είναι εύκολος στη σφράγιση και στον καθαρισμό του επομένως τα υλικά κατασκευής του παίζουν έναν ακόμα πολύ σημαντικό ρόλο για την ποιότητα της διεργασίας (Ohlsson et al. 2002).

Ο σχεδιασμός του πρώτου εξοπλισμού ΥΠ για τη βιομηχανία τροφίμων βασίστηκε στις ίδιες παραμέτρους με αυτές των υπολοίπων βιομηχανιών, όπως των χημικών, των κεραμικών και των μεταλλουργικών βιομηχανιών. Ο εξοπλισμός σχεδιάστηκε με ένα κάθετο δοχείο με ένα μόνο κλείσιμο και έτσι η διαδικασία φόρτωσης/εκφόρτωσης γινόταν πραγματικά πολύ αργά (βλ. *Εικόνα 3.3α*). Η τοποθέτηση του δοχείου συμπίεσης σε οριζόντια θέση άλλαξε το σενάριο της ΥΠ στη βιομηχανία τροφίμων (βλ. *Εικόνα 3.3β*). Ο πρώτος εξοπλισμός οριζόντιας διάταξης κατασκευάστηκε από την GEC ALSTOM ACB για την ισπανική βιομηχανία κρέατος Espruña το 1998 και πλέον το 97,5% των εξοπλισμών που έχουν εγκατασταθεί τα τελευταία δύο χρόνια είναι οριζόντιας διάταξης (Jung et al. 2011).



Εικόνα 3.3. α) Εξοπλισμός ΥΠ κάθετης διάταξης, β) Εξοπλισμός ΥΠ οριζόντιας διάταξης

Η επεξεργασία με ΥΠ σε εξοπλισμούς οριζόντιας διάταξης εμφανίζει αρκετά πλεονεκτήματα σε σχέση με εξοπλισμούς κάθετης διάταξης. Η διαδικασία φόρτωσης/εκφόρτωσης είναι πιο εύκολη από ότι σε άλλους σχεδιασμούς. Με ένα μηχάνημα οριζόντιας διάταξης δεν απαιτείται η χρήση γερανών και έτσι εξοικονομούνται χρόνος, ενέργεια και χρήματα. Η εγκατάσταση του εξοπλισμού είναι πιο εύκολη λόγω του μεγέθους (μικρό ύψος σε σχέση με τις κάθετες μονάδες) και συνεπώς ο σχεδιασμός αυτός δεν απαιτεί την κατασκευή του εξοπλισμού σε πολλά επίπεδα. Η ανιχνευσιμότητα, ένας σημαντικός παράγοντας στη βιομηχανία τροφίμων, πραγματοποιείται καλύτερα στις οριζόντιες διατάξεις, μειώνοντας τον κίνδυνο να μπερδευτούν τα ανεπεξεργαστα με τα επεξεργασμένα προϊόντα, αφού η διαδικασία φόρτωσης λαμβάνει χώρα στο ένα άκρο του εξοπλισμού ενώ το άλλο άκρο προετοιμάζεται για την εκφόρτωση του επεξεργασμένου προϊόντος (Mújica-Paz et al. 2011).

Αν και τα μηχανήματα οριζόντιας διατάξεις έλυσαν πολλές προκλήσεις της βιομηχανίας τροφίμων, ωστόσο νέες προκλήσεις εμφανίστηκαν τα τελευταία χρόνια. Σε αυτές συμπεριλαμβάνεται η προσθήκη επιπλέον ενισχυτών της πίεσης προκειμένου να μειωθεί ο

χρόνος επίτευξης της επιθυμητής πίεσης που θα έχει ως αποτελέσματα συντομότερους κύκλους και άρα μεγαλύτερη παραγωγικότητα (ο χρόνος επίτευξης της πίεσης έως τα 600 MPa ανερχόταν το 2000 τα 5 min, ενώ ο αντίστοιχος χρόνος το 2010 είχε μειωθεί σε 2,5 min (Jung et al. 2011)).

4.5 Οικονομικά στοιχεία

Το μεγαλύτερο εμπόδιο για τη διάδοση των συστημάτων της ΥΠ είναι η αρχική επένδυση κεφαλαίου που περιορίζει επί του παρόντος την εφαρμογή της ΥΠ σε προϊόντα υψηλής αξίας. Όπως με κάθε νεοεισαχθείσα τεχνολογία, η βιομηχανική επιτευξιμότητα της τεχνολογίας της ΥΠ εξαρτάται από την αποδοτικότητα της εκάστοτε επιχείρησης. Ωστόσο, η μεγάλη ποικιλία των επεξεργασμένων με ΥΠ προϊόντων στην αγορά τροφίμων απεικονίζει τη ραγδαία αύξηση της χρήσης της τεχνολογίας αυτής.

Συλλογή δεδομένων από κατασκευαστές εξοπλισμού ΥΠ όπως οι Avure Technologies, Hiperbaric και Uhde, που είναι αυτή τη στιγμή οι κύριοι προμηθευτές βιομηχανικού τύπου εξοπλισμών ΥΠ, εκτιμά ότι αρχικό κόστος επένδυσης αυτών κυμαίνεται από τις €370.000 έως τα €1,85 εκατομμύρια, ανάλογα με τη δυναμικότητα του εξοπλισμού και το βαθμό αυτοματοποίησής του (Balasubramaniam et al. 2011). Τα τελευταία χρόνια το επιπλέον κόστος της επεξεργασίας με ΥΠ κυμαίνεται στα 0,045-0,22 €/kg προϊόντος, συμπεριλαμβανομένου του κόστους λειτουργίας και της απόσβεσης του κεφαλαίου, το οποίο δεν προκύπτει να είναι αρκετά υψηλότερο από αυτό της θερμικής επεξεργασίας (Sàiz et al. 2008). Γενικά, το κόστος εγκατάστασης μιας μονάδας ΥΠ επηρεάζεται από παράγοντες όπως τον όγκο των θαλάμων, τη μέγιστη επιθυμητή πίεση, το χρόνο και τη θερμοκρασία επεξεργασίας (Ohlsson et al. 2002). Και καθώς αυξάνεται η ζήτηση για εξοπλισμό ΥΠ, καινοτόμες αλλαγές του εξοπλισμού αναμένεται αν μειώσουν ακόμα περισσότερο τόσο το κόστος κεφαλαίου όσο και το κόστος λειτουργίας του.

4.6 Συσκευασίες κατάλληλες για χρήση σε συνθήκες ΥΠ

Η αποτελεσματικότητα της επεξεργασίας με ΥΠ επηρεάζεται επίσης σε μεγάλο βαθμό από τις φυσικές και μηχανικές ιδιότητες του υλικού συσκευασίας. Η τεχνολογία των συσκευασιών που προορίζονται για επεξεργασία με ΥΠ περιλαμβάνει ποικίλες εκτιμήσεις, που βασίζονται στο εάν ένα προϊόν πρόκειται να επεξεργαστεί συσκευασμένο ή θα συσκευαστεί μετά την επεξεργασία. Τα υγρά τρόφιμα απαιτούν συνεχείς ή ημι-συνεχείς διεργασίες και στη συνέχεια συσκευάζονται ασηπτικά σε διάφορες συσκευασίες. Από την άλλη πλευρά, για διεργασίες όπου το προϊόν επεξεργάζεται συσκευασμένο προτιμούνται εύκαμπτες συσκευασίες (Naik et al. 2013). Το υλικό συσκευασίας πρέπει να είναι σε θέση να αντέχει τις πιέσεις λειτουργίας, να έχει καλές ιδιότητες σφράγισης και να είναι ικανό να προλαμβάνει την υποβάθμιση της ποιότητας του τροφίμου κατά την εφαρμογή της πίεσης. Τουλάχιστον μία επιφάνεια της συσκευασίας θα πρέπει να είναι αρκετά εύκαμπτη, ώστε να μεταδίδεται η εφαρμοζόμενη πίεση. Κατά συνέπεια, δεν είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθούν άκαμπτα μέταλλα, γυάλινες συσκευασίες ή άκαμπτα πλαστικά δοχεία (Rastogi et al. 2007).

Τα πιο συνηθισμένα υλικά συσκευασίας είναι το πολυπροπυλένιο (PP), τα πολυεστερικά σωληνάκια, οι σακούλες πολυαιθυλενίου (PE), και σακούλες από πολυστρωματικά φιλμ (αποτελούμενα συνήθως από συνδυασμό πολυπροπυλενίου, αλουμινίου, πολυαιθυλενίου ή νάυλον). Τα πλαστικά υλικά συσκευασίας θεωρούνται τα καταλληλότερα υλικά να υποβληθούν σε επεξεργασία με ΥΠ, λόγω της αντιστρεπτής τους αντίδρασης στη συμπίεση, της ευκαμψότητας και της ανθεκτικότητάς τους (Caner et al. 2004).

Εκτός από το υλικό της συσκευασίας, δύο ακόμα παράμετροι συμβάλλουν σημαντικά στην αποδοτικότητα της επεξεργασίας με ΥΠ. Αφενός η ύπαρξη κενού στο εσωτερικό της συσκευασίας ώστε να εξασφαλίζεται η ακεραιότητα της συσκευασίας και επίσης να αυξάνεται ο ωφέλιμος όγκος του δοχείου συμπίεσης, και αφετέρου η δυνατότητα της συσκευασίας να αυξάνει τον όγκο της σε ποσοστό της τάξης του 15%, με επακόλουθη επαναφορά της στο αρχικό της μέγεθος και παραμένοντας αναλλοίωτες οι φυσικές της ιδιότητες και η ακεραιότητα των τοιχωμάτων και του σημείου σφράγισης της (Nachamansion 1995, Lambert 2000).

4.7 Νομοθεσία που διέπει την τεχνολογία της Υπερουψηλής Πίεσης

Για την κυκλοφορία των επεξεργασμένων με ΥΠ προϊόντων στην αγορά υπάρχουν επί του παρόντος δύο ρυθμιστικές τάσεις εντός και εκτός Ευρωπαϊκής Ένωσης αντίστοιχα. Στις χώρες εκτός της Ευρωπαϊκής Ένωσης, δεν υπάρχει ειδική νομοθεσία που να εφαρμόζεται για τα επεξεργασμένα με ΥΠ τρόφιμα. Στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής, για παράδειγμα, εφαρμόζεται η παραδοσιακή υγειονομική νομοθεσία, και επεξεργασμένα με ΥΠ τρόφιμα, όπως το αβοκάντο και τα στρείδια, έχουν ήδη εισαχθεί στην αγορά χωρίς να ακολουθείται κάποιος ειδικός κανονισμός για τα προϊόντα αυτά.

Στην Ευρώπη, ωστόσο, οι εκάστοτε εθνικοί κανονισμοί για τα νέα προϊόντα έχουν αντικατασταθεί, κατά την εφαρμογή της αρχής της προφύλαξης, από έναν κοινοτικό κανονισμό για νέα τρόφιμα και συστατικά (κανονισμός 258/97/ΕΕ) ο οποίος έχει τεθεί σε ισχύ από το 1997. Η νομοθεσία αυτή καθορίζει την αξιολόγηση και το σύστημα χορήγησης αδειών που είναι υποχρεωτικά για νέα τρόφιμα και νέες διαδικασίες. Για την εισαγωγή νέων τροφίμων στην αγορά, οι εταιρείες τροφίμων πρέπει να πάρουν έγκριση ότι τα προϊόντα αυτά είναι σε συμφωνία με τη νομοθεσία των τροφίμων. Τα θέματα της ασφάλειας των τροφίμων αυτών, η εφικτή επέκταση της διάρκειας ζωής τους και η νομοθετική κατάσταση θα πρέπει να επιθεωρούνται. Τα επεξεργασμένα με ΥΠ τρόφιμα χαρακτηρίζονται ως νέα τρόφιμα και επιπίπτουν στον κανονισμό των «καινοτόμων τροφίμων» αφού πληρούν δύο προϋποθέσεις: α) το ιστορικό κατανάλωσής τους από ανθρώπους ήταν μέχρι τις 15 Μαΐου του 1997 αμελητέο και, β) η παραγωγή τους περιλαμβάνει μία νέα μέθοδο επεξεργασίας που δεν είχε χρησιμοποιηθεί πριν από αυτήν την ημερομηνία και η οποία επιφέρει σημαντικές αλλαγές στη δομή των τροφίμων ή των συστατικών τους επηρεάζοντας έτσι τη θρεπτική τους αξία (Norton & Sun 2008, Heinz & Buckow 2010, Naik et al. 2013).

Τον Ιούλιο του 2001, μετά την τελευταία συνεδρίαση της Επιτροπής της Ευρωπαϊκής Ένωσης που είναι υπεύθυνη για τα νέα τρόφιμα, ελήφθησαν αρκετές αποφάσεις προκειμένου, να απλουστευθούν οι ισχύοντες κανονισμοί. Συγκεκριμένα, αν είναι δυνατόν να αποδειχθεί ότι το νέο προϊόν (π.χ. το επεξεργασμένο με ΥΠ προϊόν) είναι ουσιαστικά ισοδύναμο με ένα

προϊόν που διατίθεται ήδη στην αγορά, τότε το προϊόν αυτό μπορεί να αντιμετωπιστεί σε επίπεδο εθνικής νομοθεσίας και δεν χρειάζεται να συμμορφώνεται με τον κανονισμό των «νέων τροφίμων» (Hugas et al. 2002).

Ένα ακόμα σημείο στο οποίο υφίσταται καθορισμένη νομοθεσία περιλαμβάνει την κατασκευή των εξοπλισμών της ΥΠ. Από το 2002, όλα τα κράτη-μέλη της Ευρωπαϊκής Ένωσης υποχρεούνται να ακολουθούν τις κατευθύνσεις της οδηγίας PED (Pressure Equipment Directive 23/97/EE) στην κατασκευή εξοπλισμών ΥΠ. Ο παρών κανονισμός είναι μια επέκταση του προτύπου ασφάλειας «CE» το οποίο ήδη εφαρμόζεται εντός της Ευρωπαϊκής Ένωσης και αναγνωρίζεται πλέον διεθνώς. Καθώς τα δοχεία συμπίεσης χρησιμοποιούν δυνητικά επικίνδυνα ενέργεια, ο κανονισμός PED επιδιώκει να καθορίσει το σωστό σχεδιασμό, τις ορθές παρασκευαστικές πρακτικές και τη λεπτομερή αξιολόγηση της ασφάλειας, για την ομαλή λειτουργία και συντήρηση των δοχείων συμπίεσης και των βοηθητικών μερών του εξοπλισμού της ΥΠ (Norton & Sun 2008).

4.8 Η Υπερυψηλή Πίεση στα τρόφιμα

Τρόφιμα τα οποία μπορούν να επεξεργαστούν με ΥΠ μπορεί να είναι τόσο υγρά όσο και στερεά. Γενικά, τα τρόφιμα που θα χρησιμοποιηθούν θα πρέπει να μπορούν να αντέξουν μια αυξομείωση στον όγκο τους σε ποσοστό 15%. Ωστόσο, τρόφιμα που έχουν μεγάλο ποσοστό περιεχόμενου αέρα όπως οι φράουλες ή τα marshmallows δεν μπορούν να επεξεργαστούν με αυτή την τεχνολογία καθώς θα συνθλιβούν κάτω από τις συνθήκες υπερυψηλής πίεσης. Επίσης, τρόφιμα με υψηλή οξύτητα (χαμηλό pH) είναι ιδανικοί υποψήφιοι για επεξεργασία με ΥΠ. Η επεξεργασία με υπερυψηλή πίεση προϊόντων χαμηλής οξύτητας, όπως τα λαχανικά, το γάλα, ή σούπες αν και δεν μπορεί να καταστρέψει τα σπόρια, μπορεί όμως, να χρησιμοποιηθεί για να παρατείνει την διάρκεια ζωής των προϊόντων αυτών και να εξαλείψει τον κίνδυνο εμφάνισης διαφόρων παθογόνων μικροοργανισμών.

Αν το προς επεξεργασία τρόφιμο δεν περιέχει αριετή υγρασία, τότε η ΥΠ δεν μπορεί να είναι αποτελεσματική για τη μείωση του μικροβιακού φορτίου. Η επεξεργασία με υπερυψηλή πίεση μπορεί να εφαρμοστεί σε μια ποικιλία τροφίμων, συμπεριλαμβανομένων χυμών και ποτών, φρούτων, λαχανικών, προϊόντων με βάση το κρέας (μαγειρεμένο και ξηρό ζαμπόν, κλπ), θαλασσινών και προμαγειρεμένων γευμάτων με βάση το κρέας και τα λαχανικά (Norton & Sun 2008). Η τεχνολογία ΥΠ αποτελεί ένα χρήσιμο εργαλείο για τη βιομηχανία τροφίμων που συνδυάζει την ελάχιστη επεξεργασία του τροφίμου, την αύξηση της διάρκεια ζωής του, την διασφάλιση της ασφάλειάς του με την ταυτόχρονη διατήρηση της θρεπτικής αξίας, της γεύσης και του αρώματός του. Με ένα διαρκώς αυξανόμενο αριθμό εμπορικών εφαρμογών υψηλής πίεσης να εισάγονται στην αγορά, η γκάμα των προϊόντων αυξάνεται και εξαπλώνεται παγκοσμίως (Hogan et al. 2005). Τα εμπορικά διαθέσιμα προϊόντα τροφίμων που υποβάλλονται σε επεξεργασία από την υψηλή πίεση παρουσιάζονται στον Πίνακα 4.1 (Rastogi 2013).

Πίνακας 4.1. Εμπορικά διαθέσιμα προϊόντα επεξεργασμένα με ΥΠ στην παγκόσμια αγορά

Προϊόν	Όνομα Εταιρείας
<i>Προϊόντα φρούτων και λαχανικών</i>	
Χυμός πορτοκάλι	Ultifruit, Γαλλία
Χυμός μανταρίνι	Wakayama Food Industries, Ιαπωνία
Χυμοί φρούτων	Pampryl, Γαλλία
Χυμοί φρούτων και λαχανικών	Odwalla, Η.Π.Α
Χυμός μήλου	Frubaca, Πορτογαλλία
Μαρμελάδες, ζελέ, σάλτσες φρούτων, γιαούρτι	Meida-Ya, Ιαπωνία
Μαρμελάδες	Solofruita, Ιταλία
Γκουακαμόλε, ντιπ, έτοιμα γέυματα, χυμοί φρούτων	Avomex, Η.Π.Α
<i>Προϊόντα ζωικής προέλευσης</i>	
Κρέας βοείου	Fuji Ciku Mutterham, Ιαπωνία
Χούμους	Hannah International, Η.Π.Α
Ζαμπόν	Hormel Foods, Η.Π.Α
Προϊόντα πουλερικών	Purdue Farms, Η.Π.Α
Στρείδια	Motivatit Seafoods, Goose Point Oysters, Joey Oysters, Η.Π.Α
Ζαμπόν σε φέτες, τάπας	Espruña, Ισπανία

Πηγή: Hogan et al. 2005

4.8.1 Επίδραση της ΥΠ στη διατροφική αξία των τροφίμων

Σε γενικές γραμμές, η διεργασία της ΥΠ επηρεάζει μόνο τους ασθενείς, μη ομοιοπολικούς δεσμούς (δεσμοί υδρογόνου, ιοντικοί, υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις). Μάλιστα, συστατικά με μικρό μοριακό βάρος τα οποία είναι συνήθως υπεύθυνα για τα διατροφικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του τροφίμου, δεν επηρεάζονται. Ενώ, τα συστατικά υψηλού μοριακού βάρους των οποίων η τεταρτοταγής δομή είναι υπεύθυνη για τα λειτουργικά χαρακτηριστικά του τροφίμου, είναι αρκετά ευαίσθητα στην άσκηση υπερυψηλής πίεσης (Carlez et al. 1994). Η επεξεργασία με ΥΠ σε συνδυασμό με ήπια θέρμανση δεν επηρεάζει σε σημαντικό βαθμό το περιεχόμενο σε βιταμίνες των φρούτων και των λαχανικών. Η σταθερότητα των βιταμινών επηρεάζεται σημαντικά από χημικές αντιδράσεις που πιθανόν να επιταχύνονται με αύξηση της πίεσης και της θερμοκρασίας κατά τις διεργασίες της ΥΠ. Ως αποτέλεσμα, η επεξεργασία με ΥΠ σε συνδυασμό με υψηλές θερμοκρασίες θα μπορούσε να οδηγήσει σε υποβάθμιση των περιεχομένου σε βιταμίνες των τροφίμων. Δεδομένου ότι ο μηχανισμός των χημικών αντιδράσεων που πραγματοποιούνται στα τρόφιμα σε ατμοσφαιρική πίεση δεν είναι δυνατόν να προεκταθεί άμεσα και για συνθήκες υπερυψηλής πίεσης, ειδικά όταν συνδυάζεται με υψηλές θερμοκρασίες, είναι πιθανόν η επεξεργασία με ΥΠ σε συνδυασμό υψηλές θερμοκρασίες να προκαλεί κάποιες αναμενόμενες ή μη και επιθυμητές ή μη χημικές αντιδράσεις, οι οποίες δύνανται να

επηρεάζουν άμεσα ή έμμεσα την ασφάλεια και ποιότητα των τροφίμων (Oey et al. 2008). Στα βιολογικά συστήματα, οι αλλαγές που προκαλούνται από την ΥΠ περιλαμβάνουν τη μετουσίωση των πρωτεϊνών, την ζελατινοποίηση, υδρόφοβες αντιδράσεις, την αλλαγή φάσης στα λιπίδια (και συνεπώς στις κυτταρικές μεμβράνες) και την αύξηση του ιονισμού των διασπώμενων μορίων λόγω «ηλεκτρο-συστολής»¹⁶ (Heremans 1995).

Ένας μεγάλος αριθμός ερευνητών έχει μελετήσει την επίδραση της επεξεργασίας με ΥΠ στη σταθερότητα του ασκορβικού οξέος σε ελεγχόμενα συστήματα μοντέλα και σε πραγματικά τρόφιμα και παρατήρησαν ότι, η παρουσία οξυγόνου αλλά και η μείωση της αρχικής συγκέντρωσής του παίζουν σημαντικό ρόλο στην υποβάθμιση του ασκορβικού οξέος κατά την επεξεργασία των τροφίμων με ΥΠ (Taoukis et al. 1998, Oey et al. 2006a). Επιπρόσθετα, παρατηρήθηκε ότι τα πραγματικά τρόφιμα εμφάνισαν υψηλότερες τιμές απώλειας της βιταμίνης, πιθανόν λόγω της ύπαρξης ενδογενών οξειδωτικών ουσιών μέσα σε αυτά όπως ιόντα μετάλλων και ένζυμα (Taoukis et al. 1998, Oey et al. 2008).

Όσον αφορά στις βιταμίνες Α, Ε και αυτές του συμπλέγματος Β (Β1:θειαμίνη, Β2:ριβοφλαβίνη, Β3:νιασίνη, Β5:παντοθενικό οξύ και Β6:πυριδοξίνη), μελέτες έχουν δείξει ότι επεξεργασία με ΥΠ σε συνθήκες της τάξης των 200-600 MPa και 20-40°C για χρόνους επεξεργασίας που κυμαίνονταν από μερικά δευτερόλεπτα έως και 30 min τόσο συστημάτων μοντέλων (Butz, Bogner, Dieterich & Tauscher 2007) όσο και πραγματικών τροφίμων (Gabrovská et al. 2005), δεν ήταν ικανή να επηρεάσει τη σταθερότητα των βιταμινών αυτών. Επιπλέον, φαίνεται ότι όσον αφορά στη βιταμίνη Α, το περιεχόμενό της σε πραγματικά τρόφιμα αυξήθηκε μετά από επεξεργασία με ΥΠ (σε ποσοστό 38-45%), κάτι το οποίο θα μπορούσε να εξηγηθεί λόγω της ενισχυμένης εκχύλισής της υπό συνθήκες ΥΠ (De Ancos et al. 2002, Sánchez-Moreno et al. 2005).

Τέλος, έρευνες που αφορούσαν στην επεξεργασία με ΥΠ ανθρώπινου γάλακτος έδειξαν ότι, η επεξεργασία του σε πιέσεις της τάξης των 300 MPa σε συνδυασμό με θερμοκρασίες της τάξης των 50°C, μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη συντήρηση του ανθρώπινου γάλακτος, αφού διατηρούνται οι θρεπτικές και ανοσολογικές του ιδιότητες (Viazis et al. 2007, Permanyer et al. 2010, Moltó-Puigmartí et al. 2011, Delgado et al. 2013). Επιπλέον, μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί σε θερμοκρασίες περιβάλλοντος και πιέσεις της τάξης των 400-600 MPa έδειξαν ότι, η επεξεργασία με ΥΠ σε σχέση με τη συμβατική παστερίωση στους 62,5°C για 30 min, επιτρέπει την καλύτερη διατήρηση των επιπέδων της βιταμίνης C και των ποσοστών σε λιπαρά οξέα και τοκοφερόλες στο μητρικό γάλα (Moltó-Puigmartí et al. 2011).

4.8.2 Επίδραση της ΥΠ σε γαλακτοκομικά προϊόντα

Η έρευνα για την εφαρμογή της ΥΠ ξεκίνησε όπως αναφέρθηκε στο γάλα από τον Hite (1989) και είχε σημαντική επίδραση στη μείωση του μικροβιακού φορτίου του γάλακτος καθώς και στην αύξηση του χρόνου διατηρησιμότητάς του. Παράλληλα, η ΥΠ πέρα από τους μικροοργανισμούς επηρεάζει επίσης τα συστατικά και τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του

¹⁶ Η «ηλεκτρο-συστολή (*electrostriction*)» είναι το φαινόμενο της αλλαγής των διαστάσεων και του σχήματος ενός κρυσταλλικού υλικού, ως αποτέλεσμα του επαναπροσανατολισμού των πολικών του μορίων όταν τοποθετηθεί μέσα σε κάποιο ηλεκτρικό πεδίο

γάλακτος. Η σημαντικότερη επίδραση της ΥΠ είναι η επίδρασή της στις λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνών καθώς επηρεάζουν σημαντικά τη δομή και την εμφάνιση του τελικού προϊόντος. Δεδομένου ότι η ΥΠ επηρεάζει τα συστατικά του γάλακτος, είναι επόμενο ότι θα επηρεάζει τα συστατικά και τις ιδιότητες των διαφόρων γαλακτοκομικών προϊόντων. Αιολουθεί παρουσίαση των σημαντικότερων βιβλιογραφικών πληροφοριών που αφορούν στην επίδραση της ΥΠ στο γάλα και στα γαλακτοκομικά προϊόντα.

4.8.2.1 Επίδραση της ΥΠ στο μικροβιακό φορτίο

Η καταστροφή των παθογόνων μικροοργανισμών είναι ο κύριος στόχος της επεξεργασίας τροφίμων. Προς το παρόν, τα περισσότερα τρόφιμα υπόκεινται σε θερμική επεξεργασία για τη μείωση του μικροβιακού τους φορτίου. Ωστόσο, η εφαρμογή της τεχνολογίας της ΥΠ στα τρόφιμα είναι εξίσου ικανή να αδρανοποιήσει τους παθογόνους μικροοργανισμούς που μπορεί να περιέχονται στα τρόφιμα, στοχεύοντας στην παράταση της διάρκειας ζωής τους. Η βιωσιμότητα των μικροοργανισμών μπορεί να ελαττωθεί από δύο παράγοντες: είτε από δομικές αλλαγές στην κυτταρική τους μεμβράνη, οι οποίες σχετίζονται με τα φαινόμενα μεταφοράς θρεπτικών ουσιών προς τα κύτταρα και αποβολής των αποβλήτων των κυττάρων, είτε μέσω απενεργοποίησης των ενζυμικών συστημάτων που ελέγχουν τις μεταβολικές τους δραστηριότητες (Naik et al. 2013, Knorr & Heinz 2001).

Η επεξεργασία με ΥΠ εμφανίζεται αποτελεσματική στην απενεργοποίηση των περισσότερων βλαστικών παθογόνων και αλλοιογόνων μικροοργανισμών σε πιέσεις πάνω από τα 200 MPa και σε θερμοκρασίες ψύξης ή μικρότερες από τους 45°C, με το ρυθμό απενεργοποίησης να επηρεάζεται έντονα από τη μέγιστη πίεση (Farkas & Hoover 2001, Patterson 2005, Lau & Turek 2007). Σε πολλές έρευνες έχει αναφερθεί η χρήση πιέσεων κοντά στα 400 MPa για την παστερίωση του τροφίμου και την αύξηση της διάρκειας ζωής του (Rastogi 2013). Βιομηχανικά, προτιμούνται ακόμα υψηλότερες πιέσεις προκειμένου να επιταχυνθεί η διαδικασία αδρανοποίησης των μικροοργανισμών, με την τρέχουσα πρακτική να συνιστά ως πίεση λειτουργίας τα 600 MPa, εκτός από προϊόντα όπου θα πρέπει να αποφεύγεται η μετουσίωση των πρωτεϊνών. Πρέπει να σημειωθεί ότι, η αύξηση της πίεσης λειτουργίας στα 700 MPa ή υψηλότερα επιταχύνει σημαντικά τις περισσότερες αντιδράσεις θανάτωσης των μικροοργανισμών.

Ο βαθμός απενεργοποίησης ή η αντίσταση των μικροοργανισμών στην πίεση επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες συμπεριλαμβανομένων των συνθηκών επεξεργασίας (πίεση, χρόνος έκθεσης, θερμοκρασία, αριθμός κύκλων συμπίεσης), των συστατικών του τροφίμου και τις ιδιότητές του (μπορεί να περιέχει ουσίες που προστατεύουν τους μικροοργανισμούς από την πίεση), και τη φυσιολογική κατάσταση του μικροοργανισμού (Smelt 1998). Τα κύτταρα στην εκθετική φάση ανάπτυξής τους εμφανίζονται αρκετά πιο ευαίσθητα στην πίεση απ' ό,τι στη φάση στασιμότητάς τους. Επιπλέον, οι gram-θετικοί μικροοργανισμοί είναι πιο ανθεκτικοί στην πίεση σε σχέση με τους gram-αρνητικούς μικροοργανισμούς όπως είναι και οι ζύμες. (Naik et al. 2013). Δεδομένου ότι η επεξεργασία με ΥΠ ασκεί ποικίλες επιπτώσεις στους μικροοργανισμούς, που επηρεάζουν όχι μόνο την δομική οργάνωση των κυττάρων, αλλά και τις μεταβολικές διαδικασίες, καθίσταται αρκετά δύσκολο να εντοπιστούν οι ακριβείς επιδράσεις της πίεσης στην κυτταρική ανάπτυξη και βιωσιμότητα (Bartlett 2002). Αναφορικά με την επίδραση της ΥΠ στις μεμβράνες των

λιπιδίων των κυττάρων, είναι γνωστό ότι οι δομές αυτές είναι ιδιαίτερα ευαίσθητες στην πίεση. Με την εφαρμογή πίεσης, το στρώμα των λιποσφαιριδίων συστέλλεται και η μεμβράνη χάνει την ακεραιότητά της και έτσι το κύτταρο δεν μπορεί να ελέγξει τη μεταφορά νερού και άλλων μορίων μέσω των μεμβρανών με αποτέλεσμα να καταρρέει (Naik et al. 2013).

Όσον αφορά στην καταστροφή των ενδοσπορίων η ΥΠ σε συνδυασμό με ήπια θέρμανση μπορεί να βοηθήσει αφού προκαλείται η βλάστηση των σπορίων και κατόπιν χάνουν την ανθεκτικότητά τους στην πίεση (είναι ικανά να επιβιώνουν σε πιέσεις της τάξης των 1000 MPa) και θανατώνονται (Knorr 1995). Η ενδεχόμενη βλάστηση και ανάπτυξή τους, και η διάδοση του οργανισμού μπορεί να οδηγήσουν σε τοξικότητα ή αλλοίωση των τροφίμων κατά την αποθήκευσή τους (Rastogi 2013).

Γάλα

Ένας μεγάλος αριθμός ερευνών έχει εστιάσει το ενδιαφέρον τους στην απενεργοποίηση μικροοργανισμών που είτε αποτελούν ενδογενή χλωρίδα του γάλακτος είτε προστέθηκαν σε αυτό και, έχουν δείξει ότι η περιοδική εφαρμογή ΥΠ είναι πολύ αποτελεσματική στη θανάτωση παθογόνων μικροοργανισμών που εμφανίζονται στο γάλα, όπως οι *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, κ.ά. (Vachon et al. 2002).

Έχουν αναφερθεί πολλοί παράγοντες που φαίνεται να επιδρούν προστατευτικά ή συνεργιστικά στην απενεργοποίηση των μικροοργανισμών στο γάλα (Rastogi et al. 2013). Στους παράγοντες που επιδρούν προστατευτικά στην απενεργοποίηση μικροοργανισμών, όπως π.χ. η *Escherichia coli*, περιλαμβάνονται τα πρωτεϊνικά κλάσματα, η καζεΐνη και η λακτόζη (Narisawa et al 2008, Rastogi et al. 2013), ενώ στους συνεργιστικούς παράγοντες περιλαμβάνονται η χρήση ήπιων θερμοκρασιών και η χρήση αντιμικροβιακών ουσιών (Morgan et al. 2000, Masschalck et al. 2001, Black et al. 2005, 2008). Τα λιπαρά του γάλακτος πιθανόν να ασκούν προστατευτική δράση έναντι της μικροβιακής θανάτωσης στην περίπτωση που ξεπερνούν το 5% (Ramaswamy et al. 2009). Προστατευτική επίσης δράση φαίνεται να έχουν και τα δισθενή κατιόντα του ασβεστίου και του μαγνησίου λόγω της σταθεροποιητικής τους δράσης στις κυτταρικές μεμβράνες (Huppertz et al. 2005).

Στον ακόλουθο πίνακα (Πίνακας 3.2) παρουσιάζονται μερικές από τις εφαρμογές της ΥΠ στην απενεργοποίηση μικροοργανισμών στο γάλα.

4.8.2.2 Επίδραση της ΥΠ στις πρωτεΐνες

Τα βιοπολυμερή μέσα στα οποία ανήκουν και οι πρωτεΐνες, εμφανίζουν αντιστρεπτές η μη αντιστρεπτές αλλαγές της φυσικής τους δομής υπό συνθήκες υπερυψηλής πίεσης (βλ. *Εικόνα 4.3*) ανάλογες με αυτές που εμφανίζονται σε υψηλές θερμοκρασίες (Schoner et al. 2005, Chura-Chambi et al 2008).

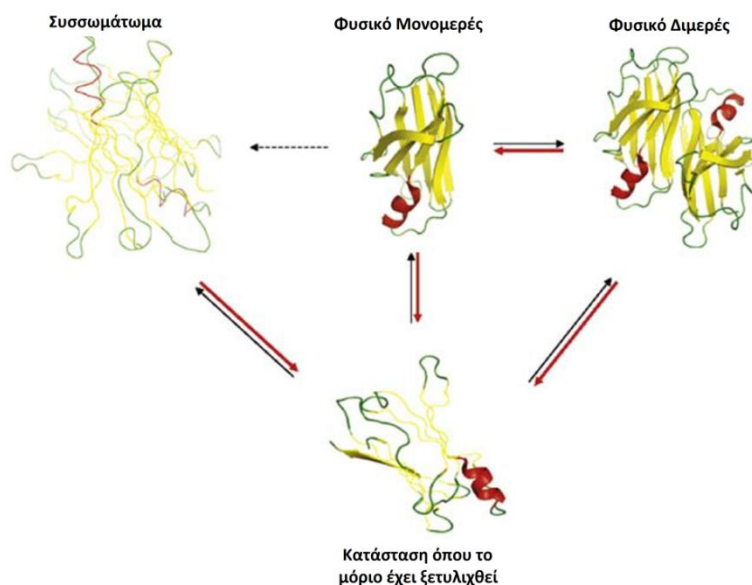
Η μετουσίωση των πρωτεϊνών μπορεί να προκληθεί είτε με θέρμανση, είτε με χρήση χημικών ουσιών ή με εφαρμογή υψηλής πίεσης. Η μετουσίωση των πρωτεϊνών που προκαλείται λόγω θέρμανσης ή/και χρήση χημικών ουσιών συνήθως έχει ως αποτέλεσμα το

πλήρες ξεδίπλωμα του πρωτεϊνικού μορίου λόγω της διάσπασης των ομοιοπολικών δεσμών ή/και της συσσωμάτωσης των μορίων. Αντίθετα, η εφαρμογή της ΥΠ μπορεί να αφήσει ανέπαφα κάποια τμήματα του μορίου, υποδεικνύοντας ότι ο μηχανισμός της μετουσίωσης στην περίπτωση αυτή είναι αρκετά διαφορετικός. Σε υδατικά διαλύματα, η πίεση επιδρά κυρίως στην τριτοταγή και τεταρτοταγή δομή των πρωτεϊνών. Οι ομοιοπολικοί δεσμοί σπάνια επηρεάζονται από την ΥΠ και ακόμη και η α -έλικα ή τα β -πτυχωτά φύλλα εμφανίζονται σχεδόν ανεπηρέαστα (Seefeldt et al. 2004, Qoronfleh et al. 2007).

Πίνακας 3.2 Κυριότερες Εφαρμογές της ΥΠ για την Απενεργοποίηση Μικροοργανισμών στο Γάλα

Συνθήκες	Κύρια Αποτελέσματα	Βιβλιογραφική Αναφορά
350 MPa	25 ημέρες στους 0°C <u>Διατηρησιμότητα:</u> 18 ημέρες στους 5°C 12 ημέρες στους 10°C	Mussa & Ramaswamy 1997
400 MPa/15 min ή 500 MPa/3 min	Αύξηση διατηρησιμότητας του θερμικά παστεριωμένου γάλακτος κατά 10 ημέρες	Rademacher & Kessler 1997
37°C για 240 min ή 50°C για 10 min	Παρεμπόδιση της ανάπτυξης της <i>Listeria monocytogenes</i> σε επεξεργασμένο με ΥΠ γάλα & διατήρηση για 70 ημέρες στους 25°C	Koseki et al. 2008
400 MPa / 25°C για 30 min	Αύξηση της διάρκειας ζωής του γάλακτος κατά 3 φορές σχ σχέση με το θερμικά πασθεριωμένο γάλα Εμφάνιση <7 logCFU/mL ψυχρότροφων μικροοργανισμών μετά από 45 ημέρες στους 7°C	Garcia-Risko et al. 1998

Αρκετοί ερευνητές έχουν προτείνει ένα μηχανισμό κατά τον οποίο, σε αντίθεση με τη θερμοκρασία η οποία αποσταθεροποιεί το πρωτεϊνικό μόριο μέσω απώλειας μεγάλου αριθμού απαραίτητων μορίων νερού που οδηγεί σε δομικές αναδιατάξεις, εφαρμογή ΥΠ μπορεί να παρεμποδίσει αυτή τη διαδικασία μέσω της επίδρασής της στην ενυδάτωση τόσο των πολικών όσο και των μη πολικών ομάδων των πρωτεϊνών (Mozhaev et al. 1996, Foguel et al. 2003, Meersman & Dobson 2006). Έτσι, η σταθερότητα μιας πρωτεΐνης επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από τη διαμορφωτική της ευελιξία ώστε να αντισταθμιστούν οι απώλειες των μη πολικών δεσμών που προκαλούνται από την αναδιάταξη των μορίων του νερού (Fernández García et al. 2004, Jungbauer & Kaar 2007, Colligne & Clarke 2007).



Εικόνα 4.3. Επίδραση της Υπερυψηλής Πίεσης στις πρωτεΐνες

(Τα κόκκινα βέλη υποδεικνύουν τη μετατόπιση της αντίδρασης κατά την αύξηση της πίεσης. Τα μαύρα βέλη υποδεικνύουν την πιθανότητα συσσωμάτωσης λόγω της εφαρμοζόμενης πίεσης, η οποία όμως παρατηρείται σπάνια).

Ένας μεγάλος αριθμός ερευνών έχει επικεντρωθεί στην αξιολόγηση της επίδρασης της εφαρμογής της ΥΠ στη μετουσίωση των πρωτεϊνών μέσω (Lullien-Pellerin & Balny 2002). Η μετουσίωση των πρωτεϊνών λόγω εφαρμογής ΥΠ εξαρτάται από τις συνθήκες επεξεργασίας (χρόνος συμπίεσης-θερμοκρασία), την εφαρμοζόμενη πίεση, το pH, την ιοντική ισχύ καθώς και το είδος της πρωτεΐνης. Οι επιδράσεις της ΥΠ στις πρωτεΐνες σχετίζονται με τη διάσπαση των μη ομοιοπολικών δεσμών ανάμεσα στα μόρια των πρωτεϊνών και την επακόλουθη αναδιαμόρφωση των ενδο- και δια-μοριακών δεσμών στο εσωτερικό και μεταξύ των μορίων. Διαφορετικοί τύποι αλληλεπιδράσεων είναι αυτοί που καθορίζουν τη δευτεροταγή, τριτοταγή και τεταρτοταγή δομή των πρωτεϊνικών μορίων (Meesens, van Camp & Huyghebaert 1997, Michel & Autio 2001). Η τεταρτοταγής δομή δημιουργείται κυρίως από υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις, οι οποίες είναι ιδιαίτερα ευαίσθητες στην πίεση, με αποτέλεσμα να παρατηρούνται σημαντικές αλλαγές στην τεταρτοταγή δομή των πρωτεϊνών ύστερα από εφαρμογή πιέσεων της τάξης των 200 MPa. Αντίθετα, αλλαγή στην δευτεροταγή δομή των πρωτεϊνών μπορεί να εμφανιστεί ύστερα από εφαρμογή πολύ υψηλότερων πιέσεων, π.χ. σε πιέσεις της τάξης των 700 MPa, με αποτέλεσμα και την μη αντιστρεπτή μετουσίωση της εν λόγω πρωτεΐνης (Balny & Masson 1993). Η δραστηκή συμπεριφορά των πρωτεϊνών καθορίζεται από τον ελεύθερο όγκο που προκύπτει από τη διαμόρφωση των μορίων τους. Παρόλο που η θέρμανση προκαλεί αύξηση των μοριακών ταλαντώσεων και επομένως του ελεύθερου όγκου, η επίδραση της ΥΠ σχετίζεται με μείωση του όγκου. Στις πρωτεΐνες, η συμπιεστότητα επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από τις αλλαγές των χωροταξικών θέσεων των επικρατειών (domain) των δευτεροταγών και τριτοταγών δομών (Knorr et al. 2006).

Η εφαρμογή της ΥΠ έχει αποδειχθεί ότι αποσταθεροποιεί τα καζεϊνικά μικύλια στο ανασυσταμένο αποβουτυρωμένο γάλα και το μέγεθός τους μειώνεται από τα 200 στα 120 nm, με τα φαινόμενα αυτά να είναι πιο έντονα σε συνθήκες επεξεργασίας 150-400 MPa και

20°C. Η επεξεργασία με ΥΠ αυξάνει τη μεταφορά των καζεϊνών από την κολλοειδή στη διαλυτή φάση του γάλακτος. Υπό συνθήκες ΥΠ, η διάσπαση των καζεϊνών ακολουθεί τη σειρά κ -καζεΐνες > β -καζεΐνες > α_{s1} -καζεΐνες > α_{s2} -καζεΐνες (Naik et al. 2013). Αυτή τη σειρά αντιστοιχεί στην περιεκτικότητα των καζεϊνών σε φωσφορικά άλατα σερίνης, υποδεικνύοντας ότι η πιο στενά συνδεδεμένες καζεΐνες διασπώνται σε μικρότερο βαθμό (Needs et al. 2000a). Οι Garcia et al. (2000) έδειξαν ότι η επεξεργασία με ΥΠ στους 25°C μείωσε σημαντικά το μέγεθος των καζεϊνικών μικκυλίων, ενώ επεξεργασία σε υψηλότερες θερμοκρασίες σταδιακά αύξησε το μέγεθος των μικκυλίων.

Οι Anema, Lowe και Stockmann (2005) έδειξαν ότι παρατηρείται μια μικρή μείωση στο μέγεθος των καζεϊνικών μικκυλίων στα 100 MPa, η οποία γίνεται εντονότερη με αύξηση της θερμοκρασίας ή του χρόνου συμπίεσης. Σε πιέσεις μεγαλύτερες των 400 MPa, τα καζεϊνικά μικκύλια διασπώνται. Η επίδραση αυτή είναι ταχύτερη όσο αυξάνεται η θερμοκρασία παρόλο που το τελικό μέγεθος των καζεϊνικών μικκυλίων ήταν παρόμοιο σε όλα τα δείγματα ανεξάρτητα από την πίεση ή τη θερμοκρασία επεξεργασίας. Στα 200 MPa και τους 10°C, το μέγεθος των καζεϊνικών μικκυλίων μειώθηκε ελαφρώς κατά τη θέρμανση, ενώ σε υψηλότερες θερμοκρασίες αυξήθηκε λόγω συσσωμάτωσης των μικκυλίων. Οι Huppertz et al. (2004a) έδειξαν ότι το μέγεθος των καζεϊνικών μικκυλίων αυξήθηκαν κατά 30% κατά την επεξεργασία του γάλακτος με ΥΠ στα 250 MPa και μειώθηκε κατά 50%, όταν εφαρμόστηκαν πιέσεις των 400 ή 600 MPa.

Οι Huppertz et al. (2004b) απέδειξαν επίσης ότι η επεξεργασία του γάλακτος με ΥΠ στα 100-600 MPa έχει ως αποτέλεσμα σημαντική διαλυτοποίηση των α_{s1} - και β -καζεϊνών, η οποία πιθανόν να οφείλεται στην αποδέσμευσή του κολλοειδές φωσφορικού ασβεστίου και τη διάσπαση των υδροφοβών αλληλεπιδράσεων. Με επεξεργασία του γάλακτος στους 5°C η αποσύνδεση του καζεΐνης ήταν σε μεγάλο βαθμό μη αναστρέψιμη, όμως στους 20°C, παρατηρήθηκε σημαντική επανασύνδεση της καζεΐνης. Η ενυδάτωση των καζεϊνικών μικκυλίων αυξήθηκε υπό συνθήκες ΥΠ (100-600 MPa) λόγω των αλληλεπιδράσεων μεταξύ καζεϊνών και πρωτεϊνών ορού που προκαλούνται. Η επεξεργασία με ΥΠ αύξησε τα επίπεδα των α_{s1} - και β -καζεϊνών στη διαλυτή φάση του γάλακτος και δημιούργησε καζεϊνικά μικκύλια με ιδιότητες διαφορετικές από εκείνες του νωπού γάλακτος. Οι ίδιοι ερευνητές έδειξαν ότι το μέγεθος των καζεϊνικών μικκυλίων δεν επηρεάζεται από εφαρμογή πιέσεων μικρότερων των 200 MPa, όμως εφαρμογή πιέσεων της τάξης των 250 MPa οδήγησαν σε αύξηση του μεγέθους των μικκυλίων κατά 25%, ενώ εφαρμογή πιέσεων της τάξης των 300 MPa και άνω, μείωσαν μη αναστρέψιμα το μέγεθός τους κατά 50% σε σχέση με αυτό των καζεϊνικών μικκυλίων του νωπού γάλακτος (Huppertz et al. 2004c). Αναφορικά με τις πρωτεΐνες του ορού, μετουσίωση της α -γαλακτοαλβουμίνης δεν παρατηρήθηκε σε πιέσεις μικρότερες ή ίσες των 400 MPa, ενώ η β -γαλακτογλοβουλίνη μετουσιώθηκε σε πιέσεις μεγαλύτερες των 100 MPa. Ανάμεσα στις πρωτεΐνες του ορού γάλακτος, η αλβουμίνη ορού και η β -γαλακτογλοβουλίνη εμφανίζονται αρκετά πιο ευαίσθητες σε σχέση με την α -γαλακτοαλβουμίνη σε συνθήκες ΥΠ. Σε γενικές γραμμές, η ΥΠ επιδρά στην υδροφοβικότητα των πρωτεϊνών του ορού και προκαλεί αύξηση του αριθμού των θέσεων πρόσδεσης των πρωτεϊνών, με αποτέλεσμα την τροποποίηση τη δομής τους και αρά τη βελτίωση των λειτουργικών τους ιδιοτήτων (Liu et al. 2005, Lee et al. 2006). Οι Hinrichs και Rademacher (2005) παρατήρησαν ότι η μετουσίωση της β -γαλακτογλοβουλίνης ακολουθεί κινητική δευτέρης τάξης ενώ για την α -γαλακτοαλβουμίνη η τάξης της

αντίδρασης ήταν 2,5. Ο όγκος ενεργοποίησης[†] για τη μετουσίωση της β-γαλακτογλοβουλίνης φαίνεται να μειώνεται καθώς αυξάνεται η θερμοκρασία της επεξεργασίας με ΥΠ, και η ενέργεια ενεργοποίησης αυξάνεται σε πιέσεις έως και 200 MPa και μετέπειτα μειώνεται.

Οι Walker et al. (2004) χρησιμοποίησαν την τεχνολογία της ΥΠ (510 MPa για 10 min στους 8° ή τους 24°C) προκειμένου να προκαλέσουν ζετύλιγμα της β-γαλακτογλοβουλίνης και να χαρακτηρίσουν την πρωτεϊνική της δομή και τις επιφανειοενεργές της ιδιότητες. Η δευτεροταγής δομή της πρωτεΐνης που επεξεργάστηκε στους 8°C δεν άλλαξε, στις πρωτεΐνες που επεξεργάστηκαν στους 24°C η δομή της α-έλικας καταστράφηκε, ενώ η τεταρτοταγής δομή των πρωτεϊνών άλλαξε ανεξάρτητα από τη θερμοκρασία επεξεργασίας. Οι μεταβολές αυτές στην τεταρτοταγή δομή της β-γαλακτογλοβουλίνης φαίνεται να είναι στο μεγαλύτερο μέρος τους μη αντιστρεπτές και οι πρωτεΐνες είναι διαλυτές, ενώ σχηματίζονται και λίγα συσσωματώματα (Iametti et al. 1997). Σε προηγούμενη μελέτη, οι Subirade et al. (1998) είχαν δείξει ότι η ευαισθησία της β-γαλακτογλοβουλίνης στην αύξηση της θερμοκρασίας ή τη μεταβολή του pH είναι διαφορετική, υποδηλώνοντας ότι οι δύο αυτές μορφές σταθεροποιούνται από διαφορετικές ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις.

4.8.2.3 Επίδραση της ΥΠ στα ένζυμα

Οι αλλαγές που μπορεί να προκληθούν λόγω εφαρμογής ΥΠ στο ρυθμό των ενζυμικά καταλυόμενων αντιδράσεων μπορούν να ταξινομηθούν στις ακόλουθες κατηγορίες: (1) απευθείας αλλαγές στη δομή των ενζύμων, (2) αλλαγές στο μηχανισμό των ενζυμικά καταλυόμενων αντιδράσεων και, (3) αλλαγές στο υπόστρωμα ή τις φυσικές του ιδιότητες, όπως π.χ. το pH, την πυκνότητά του, το ιζώδες του, τη φάση στην οποία βρίσκεται κ.λπ. (Eisenmenger & Reyes-De-Corcuera 2009).

Η συνολική επίδραση της πίεσης στην καταλυτική δράση ενός ενζύμου εξαρτάται από το σημείο αλλά και το μέγεθος της αλλαγής του όγκου του συστήματος που σχετίζονται με τα στάδια της πρόσδεσης και τα βασικά χημικά στάδια. Έχει αναφερθεί ότι οι ενζυμικές αντιδράσεις μπορεί να ενισχύονται ή να επιβραδύνονται αντιστρεπτά από την πίεση λόγω αλλαγών στην εξειδίκευση του υποστρώματος ή λόγω μεταβολής των μοριακών δομών που συμμετέχουν στο στάδιο στο οποίο καθορίζεται ο ρυθμός της αντίδρασης (Mozhaev et al. 1996, Masson et al. 2004, Buckow, Heinz & Knorr 2005). Η πίεση θα μπορούσε επίσης να επηρεάζει ένα στάδιο στο οποίο προσδιορίζεται ο ρυθμός της ενζυμικής αντίδρασης, αλλάζοντας το υπόστρωμα, με ζετύλιγμα ή με ζελατινοποίηση π.χ. των πολυμερών. Επιπρόσθετα, υπάρχουν ενδείξεις ότι η εφαρμογή πίεσης μπορεί να αλλάξει την εξειδίκευση της ενζυμικής δράσης και να προκαλέσει αλλαγές στη σύσταση των προϊόντων. Αυτά τα φαινόμενα εξηγούν την εξάρτηση της πίεσης στο ρυθμό των ενζυμικών αντιδράσεων, όπως απεικονίζεται γραφικά συνήθως με κοίλα, μέγιστα ή ακόμα και διαχωρισμούς (Kunugi et al., Masson & Balny 2005).

[†] Με βάση τη θεωρία της μεταβατικής κατάστασης, ο *όγκος ενεργοποίησης* ορίζεται ως η διαφορά μεταξύ του όγκου που καταλαμβάνει ένα μόριο σε κατάσταση ενεργοποίησης και του όγκου που καταλαμβάνει το μόριο αυτό σε μη ενεργοποιημένη κατάσταση.

Υπό συνθήκες υψηλών πιέσεων, εκτός της απενεργοποίησης, σε πολλά ένζυμα εμφανίζονται και φαινόμενα ενεργοποίησής τους (Eisenmenger & Reyes-De-Corcuera 2009). Σύμφωνα με τους Mozhaev et al. (1996), μία πιθανή εξήγηση για τη σταθεροποίηση των ενζύμων με εφαρμογή πίεσης μπορεί να στηρίζεται σε αντίθετες επιδράσεις της πίεσης και στη δυνατότητα των λειτουργικών ομάδων των πρωτεϊνών να αλληλεπιδρούν με το νερό. Σε περιβάλλοντα υψηλών πιέσεων ευνοείται η προαγωγή των φορτισμένων σωματιδίων μέσα σε υδατικά διαλύματα, λόγω του ότι η ηλεκτροσυστολή του νερού γύρω από τα φορτία μειώνει το μοριακό όγκο του νερού. Αυτό σημαίνει ότι, μια αύξηση στην πίεση θα αποδυναμώνει τις ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις και τις δυνάμεις Coulomb. Η ενυδάτωση των φορτισμένων ομάδων από τα μόρια του νερού ενισχύεται από την πίεση και αποδυναμώνεται σε υψηλές θερμοκρασίες (Mozhaev et al. 1996).

Τα ενδογενή ένζυμα του γάλακτος έχουν χαμηλή ευαισθησία στην ΥΠ. Η αλκαλική φωσφατάση (alkaline phosphatase, ALP) εμφανίστηκε αρκετά ανθεκτική στην πίεση καθώς απενεργοποιήθηκε σε ποσοστό 100% μετά από επεξεργασία στα 800 MPa για 8 min (Rademacher & Hinrichs 2006). Η επεξεργασία με ΥΠ σε υψηλότερες των 20°C θερμοκρασίες αύξησε το βαθμό απενεργοποίησης της αλκαλικής φωσφατάσης (Ludikhuyze et al. 2000). Συγκριτικά με την αλκαλική φωσφατάση, άλλα δύο ενδογενή ένζυμα του γάλακτος η λακτοπεροξειδάση (lactoperoxidase, LPO) και η γ-γλουταμυλο-τρανσφεράσης εμφανίζονται πιο σταθερή μετά από επεξεργασία με ΥΠ στα 400 MPa και τους 25°C για 60 min (López-Fandiño et al. 1996). Επεξεργασίες μικρών χρόνων σε πιέσεις της τάξης των 300-400 MPa και στους 3°C ενισχύουν τη δραστηριότητα τόσο της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης όσο και της γ-γλουταμυλο-τρανσφεράσης στο γάλα. Η δραστηριότητα της πρώτης φαίνεται να παραμένει ανέπαφη κατόπιν επεξεργασίας έως τα 400 MPa για χρόνους έως και 100 min, ενώ η δραστηριότητα της δεύτερης αρχίζει να μειώνεται μετά από 90 min σε πίεση 300 MPa ή μετά από 30 min σε πίεση 350 MPa (Pandey & Ramaswamy 2004). Οι Ludikhuyze et al. (2000) παρατήρησαν μικρή αύξηση στη δραστηριότητα του λακτοπεροξειδάσης ενζύμου σε ορισμένες συνθήκες πίεσης και θερμοκρασίας. Η οξειδάση της ξανθίνης (xanthine oxidase) είναι ανθεκτική σε πιέσεις της τάξης των 400 MPa όμως σε υψηλότερες πιέσεις, το ένζυμο απενεργοποιείται (Olsen et al. 2004). Τέλος, η δραστηριότητα της πλασμίνη μειώνεται σε πιέσεις της τάξεως των 300 MPa. Εκτός των ενδογενών ενζύμων του γάλακτος, το γάλα περιέχει επίσης ένζυμα τα οποία προέρχονται από διαφορετικά βακτήρια. Όταν πρόκειται να τεθούν τα όρια διατηρησιμότητας του γάλακτος, η παραγωγή πρωτεασών και λιπασών κυρίως από ψυχρότροφους μικροοργανισμούς θα πρέπει να λαμβάνεται σημαντικά υπόψη (Bilbao-Sáinz et al. 2009). Ο *Bacillus subtilis* είναι ένα ψυχρότροφο βακτήριο, το οποίο εάν βρίσκεται στο νωπό γάλα, αναπτύσσεται και παράγει πρωτεολυτικά ένζυμα τα οποία με τη σειρά τους προκαλούν πικρή γεύση καθώς και πήξη του γάλακτος, μειώνοντας έτσι σημαντικά τη διάρκεια ζωής του (Sørhaug & Stepaniak 1997).

4.8.2.4 Επίδραση της ΥΠ στα λιπαρά

Σε μελέτη που έγινε από τους Gervilla et al. 2001 στα περιεχόμενα ελεύθερα λιπαρά (FFA, free fatty acids) παρατηρήθηκε πως η επεξεργασία του γάλακτος με ΥΠ (100-500 MPa, 4°C/25°C/50°C) δεν επέφερε αύξηση στο ποσοστό των περιεχόμενων λιπαρών και μάλιστα η επεξεργασία με ΥΠ στους 50°C οδήγησε σε μικρότερο ποσοστό περιεχόμενων

λιπαρών συγκριτικά με το φρέσκο γάλα. Ωστόσο, με τη χρήση ΥΠ παρατηρήθηκαν αλλαγές στο μέγεθος και την κατανομή των λιποσφαιριδίων. Η χρήση ΥΠ σε θερμοκρασίες 25°C και 50°C παρουσίασε μια τάση ως προς την αύξηση της ποσότητας των μικρότερων λιποσφαιριδίων (1-2 μm), χωρίς όμως να έχει προκληθεί διάρρηξη στη μεμβράνη των λιποσφαιριδίων αφού δεν παρατηρήθηκαν σημάδια λιπόλυσης. Αυτές οι μεταβολές στην κατανομή και το μέγεθος των λιποσφαιριδίων μπορεί να οφείλονται σε φαινόμενα συσσωμάτωσης και διάσπασης και τα οποία παρέχουν κάποια πλεονεκτήματα καθώς η επεξεργασία του γάλακτος με ΥΠ σε υψηλές θερμοκρασίες (25°C και 50°C) αυξάνει τη σταθερότητα του γάλακτος ενώ η χρήση της ΥΠ σε χαμηλές θερμοκρασίες (4°C) αυξάνει το ποσοστό αποβουτύρωσης (Gervilla et al., 2001).

4.8.2.5 Επίδραση της ΥΠ στη λακτόζη του γάλακτος

Η λακτόζη του γάλακτος και των γαλακτοκομικών προϊόντων μπορεί να ισομεριστεί σε λακτουλόζη με τη χρήση θέρμανσης και στη συνέχεια να αποικοδομηθεί προς σχηματισμό οξέων και άλλων σακχάρων. Με την άσκηση πιέσεων της τάξεως 100-400 MPa για 10-60 min στους 25°C δεν παρατηρήθηκαν αλλαγές στην ένωση αυτή, γεγονός που υποδηλώνει ότι η επεξεργασία του γάλακτος με ΥΠ δεν επιφέρει καμία αντίδραση Maillard ή αντίδραση ισομερισμού λακτόζης στο γάλα (Lopez Fandino et al. 1996).

4.8.2.6 Επίδραση της ΥΠ στο χρώμα

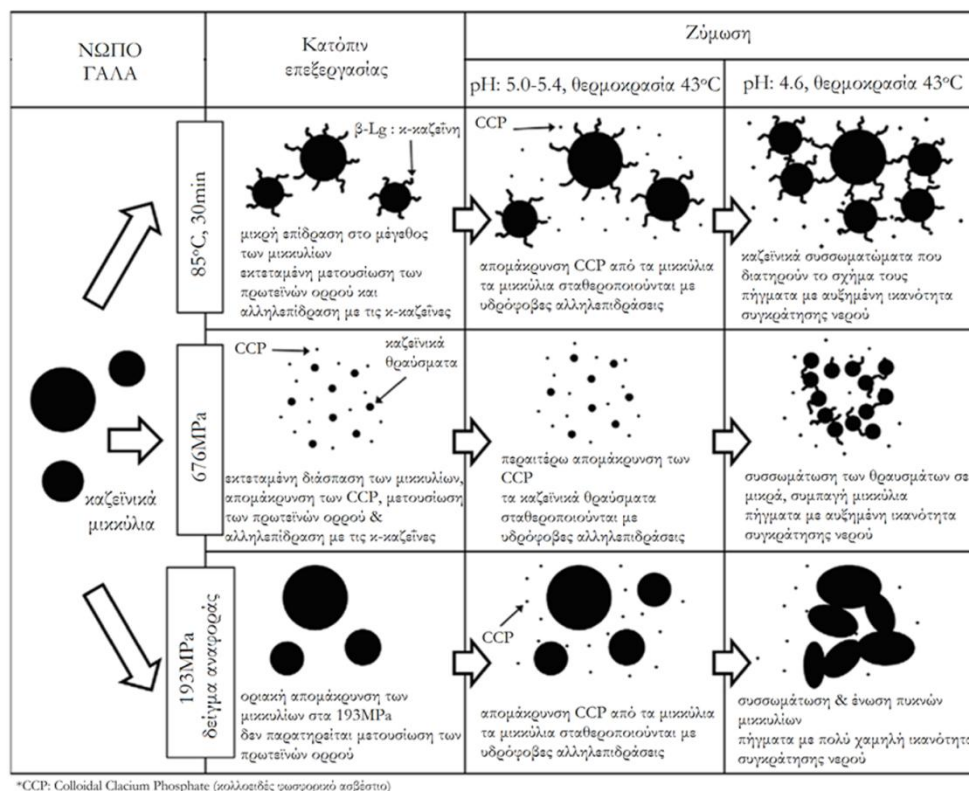
Η διάρρηξη του μικκυλίων που προκαλείται από την επεξεργασία με ΥΠ επιφέρει μεταβολές και στο χρώμα του γάλακτος. Μια μείωση στην τιμή του L^* (φωτεινότητα) και μια αύξηση στην τιμή πράσινου ($-a^*$) και κίτρινου ($+b^*$) χρώματος παρατηρήθηκαν κατά την επεξεργασία πρόβειου γάλακτος με ΥΠ (Gervilla et al., 2001). Η μείωση της τιμής του L^* θα μπορούσε να οφείλεται κυρίως στην αποσυσσωμάτωση των μικκυλίων της καζεΐνης εξαιτίας της πίεσης σε μικρά θραύσματα, τα οποία αυξάνουν την διαύγεια του γάλακτος (Johnston, 1995). Αυτές οι μεταβολές ήταν οπτικά αμελητέες σε πρόβειο γάλα με υψηλό ποσοστό λιπαρών, το οποίο είναι σημαντικό για την αποφυγή απόρριψής του από τους καταναλωτές. Παρόμοια αποτελέσματα βρέθηκαν από τους Mussa & Ramaswamy (1997) στο αγελαδινό γάλα, δείχνοντας τη χαμηλή ευαισθησία του χρώματος του γάλακτος στην πίεση. Ωστόσο, σε αποβουτυρωμένο γάλα επεξεργασμένο με ΥΠ στα 600 MPa για 15 λεπτά παρατηρήθηκαν σημαντικές αλλαγές στις τιμές των L^* , b^* και a^* , οι οποίες μπορούσαν να παρατηρηθούν ακόμα και οπτικά (Needs et al. 2000).

4.8.2.7 Επίδραση της ΥΠ στις ιδιότητες και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των τελικών προϊόντων

Γιαούρτι

Αναμφισβήτητα είναι κοινά αποδεκτό στη διεθνή επιστημονική κοινότητα ότι η επίδραση της ΥΠ στις πρωτεΐνες του γάλακτος και στη μετέπειτα συσσωμάτωσή τους κατά τη

διαδικασία της ζύμωσης είναι σαφώς εξίσου και συχνά πιο αποτελεσματική σε σχέση με τη συμβατική θερμική επεξεργασία (βλ. *Εικόνα 4.4*) (Harte et al. 2003).



Εικόνα 4.4. Επίδραση της Επεξεργασίας του Γάλακτος και της Ζύμωσης στα Καζεϊνικά Μικκύλια και τη Δομή του Σχηματιζόμενου Πήγματος

Στην περίπτωση του γιαουρτιού, η τεχνολογία της ΥΠ μπορεί να εφαρμοστεί τόσο για την επεξεργασία του προς ζύμωση γάλακτος όσο και στο τελικό προϊόν. Επιπρόσθετα, υπάρχουν αρκετές βιβλιογραφικές μελέτες που αφορούν στην επεξεργασία με ΥΠ πρωτεϊνικών συμπυκνωμάτων τα οποία προστίθενται στο προς ζύμωση γάλα ή αντικαθιστούν μέρος αυτού. Στην περίπτωση της απευθείας εφαρμογής της ΥΠ στο τελικό προϊόν, πιέσεις της τάξης των 200-300 MPa δεν φάνηκε να επηρεάζουν την βιωσιμότητα των θερμοφίλων γαλακτοβακίλλων ή την υφή του προϊόντος, αλλά εμπόδισαν την ανάπτυξη επιπλέον οξύτητας στο προϊόν, πιθανότατα λόγω τραυματισμού των κυττάρων και επομένως βραδύτερης ανάπτυξής τους (Tanaka & Hatanaka 1992). Στην περίπτωση όπου το προϊόν παράγεται από γάλα επεξεργασμένο με ΥΠ, παρατηρείται αύξηση των τιμών της αντικειμενικής τους σκληρότητας με επακόλουθη αύξηση της ικανότητας συγκράτησης νερού (Trujillo et al. 2002).

Η τεχνολογία της ΥΠ είναι δυνατόν αν συνδυαστεί με προηγούμενη ή συνεπακόλουθη θερμική επεξεργασία του προς ζύμωση γάλακτος. Έρευνες σε αυτή τη βάση έχουν δείξει ότι, τα παραγόμενα προϊόντα εμφανίζουν υψηλότερα ιξώδη, πιο συμπαγή πήγματα και αρά με υψηλότερες τιμές αντικειμενικής σκληρότητας, και μικρότερη συναίρεση σε σχέση με τα δείγματα που δεν επεξεργάστηκαν με ΥΠ (Harte et al. 2003, Penna et al. 2006, 2007). Ταυτόχρονα φαίνεται ότι η επεξεργασία με ΥΠ του γάλακτος επιφέρει καλύτερα

αποτελέσματα στα ζυμωμένα πήγματα όταν έπεται μιας θερμικής επεξεργασίας του γάλακτος (Harte et al. 2003). Αξίζει να σημειωθεί πάντως ότι είναι δύσκολο να ειπωθεί με σιγουριά για το εάν υψηλότερες πιέσεις ή υψηλότεροι χρόνοι εφαρμογής της πίεσης επιδρούν με καθορισμένη τάση (θετική ή αρνητική επίδραση) στα ποιοτικά χαρακτηριστικά του γιαουρτιού και μέχρι στιγμής υπάρχουν αρκετές αντιρουόμενες αναφορές στη βιβλιογραφία (Loveday et al. 2013).

Μία ακόμα εφαρμογή της ΥΠ στην τεχνολογία του γιαουρτιού αποτελεί η χρήση της με σκοπό την ομογενοποίηση του προς ζύμωση γάλακτος. Στην περίπτωση αυτή εφαρμόζονται χαμηλές πιέσεις (50-300 MPa) σε συνδυασμό με ήπια θέρμανση (20-40°C). Τα προϊόντα που παράγονται από ομογενοποιημένο με ΥΠ γάλα, συνήθως γιαούρτια ανακατεμένου τύπου, εμφανίζουν αρκετά χαμηλότερες τιμές συναίρεσης σε σχέση με τα δείγματα που παράγονται από γάλα ομογενοποιημένο με το συμβατικό τρόπο (Hernandez & Harte 2008, Serra et al. 2008). Παράλληλα, το ρυθμός ζύμωσης φαίνεται να μην επηρεάζεται από την εφαρμογή της πίεσης και ο αριθμός των θερμοφίλων βακτηρίων παραμένει σχεδόν αμετάβλητος (Serra et al. 2007, 2009). Πρόσφατες έρευνες έχουν δείξει ότι η ομογενοποίηση με ΥΠ θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί σαν μέθοδος αντικατάστασης των λιπαρών σε γιαούρτια ανακατεμένου τύπου με χαμηλά λιπαρά (Ciron et al. 2011, 2012).

Ανασυσταμένο γάλα

Η επεξεργασία ανασυσταμένου γάλακτος με ΥΠ σε πιέσεις έως 500 MPa μείωσε τη θολότητα των δειγμάτων εξαιτίας της διάσπασης των μικκυλίων καζεΐνης (Orlien et al. 2010). Η επεξεργασία με ΥΠ ανασυσταθέντος αποβουτυρωμένου γάλακτος (200-600 MP, 5-30min) είχε ως αποτέλεσμα το σχηματισμό αδύναμου πήγματος λόγω του σχηματισμού αναδιαρθρωμένων κολλοειδών σωματιδίων τα οποία δεν ήταν σταθερά κατά την οξίνιση εξαιτίας της αδυναμίας της ανασυσταμένης κ-καζεΐνης να τα σταθεροποιήσει (Anema 2010). Η χρήση ΥΠ (200 MPa, 40 ° C), που εφαρμόστηκε σε συμπύκνωμα πρωτεΐνης γάλακτος πριν από την ξήρανση με ψεκασμό οδήγησε σε βελτιωμένη διαλυτότητα (85%) της αποξηραμένης σκόνης, η οποία δεν άλλαξε ακόμη και μετά από 6 εβδομάδες αποθήκευσης σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Η βελτιωμένη διαλυτότητα αποδόθηκε στην τροποποιημένη σύνθεση της επιφάνειας που προέκυψε από την αυξημένη συγκέντρωση της μη μικκυλιακής καζεΐνης στο γάλα λόγω ΥΠ (Udabage et al. 2012).

Τυρί

Η τεχνολογία της ΥΠ έχει σαν αποτέλεσμα τη διάσπαση των καζεϊνικών μικκυλίων, τη μετουσίωση των πρωτεϊνών του ορού, τη μικρή αύξηση της τιμής του pH του γάλακτος και την απόδοσή του σε τυρί, δίνοντας τη δυνατότητα να αποτελεί μια σημαντική επεξεργασία κατά την τυροκόμηση του γάλακτος (O'Reilly et al. 2001, San-Martin et al. 2006).

Όσον αφορά στο χρόνο που απαιτείται για την πήξη του γάλακτος με χρήση πυτιάς έχει παρατηρηθεί ότι, επεξεργασία με ΥΠ του γάλακτος σε ήπιες συνθήκες (μικρότερες των 150 MPa) δεν επηρεάζουν τη διαδικασία αυτή, ενώ αντίθετα επεξεργασία σε πιο έντονες συνθήκες επεξεργασίας (200-600 MPa) μειώνει σημαντικά το χρόνο πήξης λόγω αύξησης

των συσσωματωμάτων της β-γαλακτογλοβουλίνης με τις καζεΐνες (Needs et al. 2000a, Huppertz et al. 2005, 2008). Στις συνθήκες αυτές, και κυρίως κοντά στα 600 MPa, παρατηρείται παράλληλα μείωση της τιμής του pH, του αρχικού μικροβιακού φορτίου της γηγενούς μικροχλωρίδας καθώς επίσης και του πρωτεϊνικού περιεχομένου και του περιεχομένου σε λιπαρά (Voigt et al. 2010).

Η επεξεργασία με ΥΠ επιδρά και στις βιοχημικές διαδικασίες που λαμβάνουν χώρα κατά τη φάση της ωρίμανσης των τυριών, όπως η γλυκόλυση, η λιπόλυση και η πρωτεόλυση, με αποτέλεσμα τη μείωση του χρόνου ωρίμανσής τους και τη βελτίωση των ποιοτικών τους χαρακτηριστικών (Rastogi 2013).

Από μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε επεξεργασμένο με ΥΠ (200 ή 500 MPa/ 20°C για 15 λεπτά) πρόβειου τυριού άλμης παρατηρήθηκε ότι, η εφαρμογή χαμηλών πιέσεων (200 MPa) δεν επέφερε μεταβολή στο μικροβιακό πληθυσμό των αερόβιων μεσόφιλων βακτηρίων, των θερόφιλων γαλακτοβακίλλων και λακτοκόκκων και των λοιπών γαλακτικών βακτηρίων σε αντίθεση με τη επεξεργασία σε υψηλές πιέσεις (500 MPa) η οποία επέφερε σημαντική μείωση των παραπάνω πληθυσμών. Αναφορικά με τα κολοβακτηρίδια, παρατηρήθηκε ταχύτερη μη ανίχνευσή τους στην περίπτωση των επεξεργασμένων με ΥΠ τυριών (Moschoroulou et al. 2010). Σε περιπτώσεις όπου η τεχνολογία της ΥΠ εφαρμόζεται στο γάλα που χρησιμοποιείται για την τυροκόμηση, η εφαρμογή υψηλών πιέσεων (500 MPa) έχει σαν αποτέλεσμα αυξημένη πρωτεόλυση και υψηλά επίπεδα ελευθέρων λιπαρών οξέων, ενώ τα παραγόμενα τυριά εμφανίζονται πιο λευκά, λιγότερα σκληρά και με μικρότερο κομμιώδες και, με πιο συμπαγή και ομοιόμορφη δομή σε σχέση με δείγματα από θερμικά επεξεργασμένο γάλα (Koca et al. 2011, Voigt et al. 2011, 2012).

Παγωτό

Η εφαρμογή της ΥΠ κατά την παραγωγική διαδικασία του παγωτού βρίσκεται σε αρκετά πρώιμο στάδιο έρευνας, αφού είναι διαθέσιμα ελάχιστα βιβλιογραφικά δεδομένα σχετικά με την επίδραση της ΥΠ στα ποιοτικά χαρακτηριστικά των προϊόντων παγωτού. Οι Lim et al. (2008a,b) μελέτησαν την επίδραση της επεξεργασίας με ΥΠ σε συμπύκνωμα πρωτεϊνών ορού, το οποίο παράχθηκε εσωτερικά (in-house) από ορρό τυριού και χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή μιγμάτων παγωτού. Τα πρωτεϊνικά συμπυκνώματα επεξεργάστηκαν σε πίεση 300 MPa για 15 min με αρχική θερμοκρασία των δειγμάτων στους 25°C, και τη θερμοκρασία στο δοχείο της ΥΠ κατά την συμπίεση να μην υπερβαίνει τους 40°C. Τα μελετώμενα μίγματα παγωτά αφορούσαν σε δείγματα με ενσωμάτωση in-house πρωτεϊνικού συμπυκνώματος, σε δείγματα με ενσωμάτωση πρωτεϊνικού συμπυκνώματος εμπορικής προέλευσης και σε δείγματα με ενσωμάτωση επεξεργασμένου με ΥΠ in-house πρωτεϊνικού συμπυκνώματος, ενώ σε όλα τα μείγματα παγωτού προστίθεται μείγμα γαλακτωματοποιητή/κόμμεος χαρουπιού σε ποσοστό 0,7% κ.β. Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης έδειξαν ότι η επεξεργασία των πρωτεϊνικών συμπυκνωμάτων οδήγησε σε βελτίωση των ρεολογικών χαρακτηριστικών των μιγμάτων παγωτού (αύξηση του συντελεστή συνεκτικότητας και μείωση του δείκτη ρεολογικής συμπεριφοράς), αύξηση της σταθερότητας του παραγόμενου αφρού και αύξηση της αντικειμενικής σκληρότητας του κατεψυγμένου παγωτού, συγκριτικά με τις αντίστοιχες ιδιότητες τόσο των δειγμάτων με επεξεργασμένα με ΥΠ in-house πρωτεϊνικά συμπυκνώματα όσο και των δειγμάτων με

εμπορικής προέλευσης πρωτεϊνικά συμπυκνώματα. Τα αποτελέσματα της οργανοληπτικής αξιολόγησης των δειγμάτων κατέδειξε ότι, οι δοκιμαστές δεν παρατήρησαν διαφορές μεταξύ των δειγμάτων παγωτού με επεξεργασμένα με ΥΠ in-house πρωτεϊνικά συμπυκνώματα και αυτών με εμπορικής προέλευσης πρωτεϊνικά συμπυκνώματα. Με βάση, λοιπόν, τα παραπάνω κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η επεξεργασία με ΥΠ φρέσκων συμπυκνωμάτων πρωτεϊνών ορού θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή συστατικών του γάλακτος με βελτιωμένες αφριστικές ιδιότητες.

Αργότερα, οι Huppertz et al. (2011) μελέτησαν την επίδραση της επεξεργασίας με ΥΠ μίγμάτων παγωτού, σε ένα εύρος εφαρμοζόμενων πιέσεων (200, 300, 400 και 500 MPa) και χρόνου επεξεργασίας (0, 5, 10, 15 και 20 min) σε θερμοκρασία 20°C, στα ρεολογικά χαρακτηριστικά των μειγμάτων. Τα μίγματα παγωτού δεν περιείχαν σταθεροποιητή, και είχαν προηγούμενα υποστεί θερμική επεξεργασία (70°C για 15 min) και ομογενοποίηση (180/30 bar). Τα αποτελέσματά τους έδειξαν ότι η επεξεργασία των μίγμάτων παγωτού με ΥΠ οδηγεί σε αύξηση του συντελεστή συνεκτικότητας και μείωση του δείκτη ρεολογικής συμπεριφοράς των μειγμάτων παγωτού, με αύξηση τόσο της εφαρμοζόμενης πίεσης όσο και του χρόνου επεξεργασίας με ΥΠ. Επιπλέον, πραγματοποίησαν μία παράλληλη μελέτη, με στόχο τη διερεύνηση της επίδρασης της επεξεργασίας με ΥΠ μειγμάτων, με διαφορετική σύσταση λιπαρών (2, 6 και 10% κ.β.), σακχαρόζης (10, 14 και 18% κ.β.) και στερεών υλών άνευ λίπους (9, 12 και 15% κ.β.), στα ρεολογικά χαρακτηριστικά των μίγμάτων και την αντίσταση στην τήξη των παραγόμενων κατεψυγμένων προϊόντων. Τα μίγματα επεξεργάστηκαν σε συνθήκες θερμοκρασίας/πίεσης της τάξης των 400 MPa/20°C για 5 min. Τα αποτελέσματά τους έδειξαν ότι οι επιδράσεις των λιπαρών, των στερεών υλών άνευ λίπους και του περιεχομένου σε σακχαρόζη στα επεξεργασμένα με ΥΠ μίγματα ήταν συνεργιστικές. Έτσι, οι παραπάνω παράγοντες δεν επηρέασαν μόνο άμεσα τις αλλαγές που προκαλούνται λόγω εφαρμογής της ΥΠ, αλλά ταυτόχρονα επηρέασαν και τη συμπεριφορά των υπόλοιπων συστατικών, με τρόπο που ενισχύει τις ρεολογικές ιδιότητες των μίγμάτων παγωτού.

Σχετικά πρόσφατα, οι Biasutti et al. (2013) εφάρμοσαν υψηλές πιέσεις ομογενοποίησης (970/30 bar) σε μίγματα παγωτού, προκειμένου να μελετήσουν τον τρόπο με τον οποίο η ομογενοποίηση υψηλών πιέσεων επιδρά στα ποιοτικά χαρακτηριστικά του παγωτού. Η μελέτη περιλάμβανε μίγματα μη ομογενοποιημένα, μίγματα επεξεργασμένα με συνθήκες συμβατικής ομογενοποίησης (150/30 bar) και μίγματα επεξεργασμένα με υψηλές πιέσεις (970/30 bar). Στα μίγματα είχε προηγούμενα εφαρμοστεί θερμική επεξεργασία (82°C για 8 min), περιείχαν σταθεροποιητή σε ποσοστό 0,25% κ.β., ενώ μελετήθηκε μίγματα με περιεχόμενο σε λιπαρά 5 και 8% κ.β. Αναφορικά με την ικανότητα ενσωμάτωσης αέρα των μίγμάτων, τα μίγματα από συμβατική ομογενοποίηση εμφάνισαν τα υψηλότερα ποσοστά ακολουθούμενα από τα μη ομογενοποιημένα μίγματα και τα μίγματα από ομογενοποίηση υψηλών πιέσεων. Η μεγαλύτερη τιμή ιξώδους παρατηρήθηκε για τα μίγματα από ομογενοποίηση υψηλών πιέσεων, μίγματα τα οποία οδήγησαν και στα προϊόντα παγωτού με την υψηλότερη τιμή αντικειμενικής σκληρότητας. Η αντίσταση στην τήξη των παραγόμενων προϊόντων παγωτού βελτιώθηκε από την εφαρμογή υψηλών πιέσεων ομογενοποίησης, με τα αντίστοιχα δείγματα να εμφανίζουν τους μεγαλύτερους χρόνους τήξης. Οι παρατηρήσεις αυτές ήταν κοινές τόσο για τα μίγματα με 5% όσο και για αυτά με 8% περιεχόμενο σε λιπαρά.

Τα παραπάνω στοιχεία καταδεικνύουν ότι η εφαρμογή της ΥΠ κατά την παραγωγική διαδικασία του παγωτού μπορεί να αποτελέσει ένα ενδιαφέρον πεδίο έρευνας, προκειμένου να εξαχθούν συμπεράσματα για τους μηχανισμούς που περιγράφουν τις αλλαγές που προκαλούνται στα μίγματα και τα προϊόντα παγωτού λόγω της εφαρμογής της ΥΠ. Επιπρόσθετα, κρίνεται σκόπιμο να μελετηθούν τα ρεολογικά χαρακτηριστικά που εμφανίζουν τα τελικά κατεψυγμένα προϊόντα που παράγονται από επεξεργασμένα με ΥΠ μίγματα, αλλά και άλλες ιδιότητες που σχετίζονται με τη διαμόρφωση της δομής των τελικών προϊόντων (π.χ. θερμικές και θερμοφυσικές ιδιότητες) καθώς και η μικροδομή των προϊόντων αυτών. Επιπλέον, θα είχε επιστημονικό, αλλά πιθανά και βιομηχανικό ενδιαφέρον, η μελέτη της αντικατάστασης, στο σύνολό τους, των συμβατικών επεξεργασιών των μιγμάτων παγωτού και της πλήρους αντικατάστασης των σταθεροποιητικών μέσων από την επεξεργασία των μιγμάτων μόνο με ΥΠ, ή και από συνδυασμό της με άλλες τεχνολογίες (π.χ. ενζυμική τροποποίηση των πρωτεϊνών).

4.9 Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα της ΥΠ

Τα **βασικότερα πλεονεκτήματα** της επεξεργασίας με ΥΠ μπορούν να συνοψισθούν στα ακόλουθα:

- Είναι κατάλληλη για προϊόντα με υψηλό περιεχόμενο σε νερό και μπορεί να τροποποιηθεί κατάλληλα τόσο για διεργασίες διαλείπουσας όσο και για ημι-συνεχούς λειτουργίας.
- Είναι ιδιαίτερα χρήσιμη, αφού μπορεί να χρησιμοποιηθεί για ακατέργαστα προϊόντα, χωρίς να μεταβάλλει σημαντικά τη γεύση, την υφή ή την εμφάνισή τους.
- Συνέβαλε στην ανάπτυξη συσκευασιών τροφίμων που μπορούν να αντέχουν μία μεταβολή όγκου έως 15%, η οποία ακολουθείται από επαναφορά στην αρχική τους κατάσταση χωρίς να χάνεται η ακεραιότητα της σφράγισης ή τα τοιχώματα της συσκευασίας.
- Μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε συσκευασμένα τρόφιμα
- Είναι αποτελεσματική σε θερμοκρασίες περιβάλλοντος ή και σε χαμηλότερες.
- Απενεργοποιεί παθογόνους και αλλιογόνους μικροοργανισμούς και ένζυμα, αναπτύσσει ή απενεργοποιεί βακτηριακά σπόρια, επεκτείνει τη διατηρησιμότητα των τροφίμων, μειώνει την πιθανότητα για τροφιμογενών ασθενειών, προάγει την ωρίμανση των τυριών και ελαχιστοποιεί την αμαύρωση των τροφίμων.
- Δεν καταστρέφει το τρόφιμο, αφού εφαρμόζεται ομοιόμορφα από όλες τις πλευρές του.
- Είναι αποτελεσματική σε μύκητες, βακτήρια και ιούς.
- Μειώνει το χρόνο επεξεργασίας και τις φυσικές και χημικές μεταβολές, διατηρεί τη φρεσκάδα, το άρωμα, την υφή, την εμφάνιση και το χρώμα, ελαχιστοποιεί την απώλεια σε βιταμίνη C, μειώνει την καταστροφή των παγοκρυστάλλων και, μειώνει τις μεταβολές των λειτουργικών ιδιοτήτων, συγκριτικά με την παραδοσιακή θερμική επεξεργασία.

- Μπορεί να μειώσει την ανάγκη για προσθήκη χημικών.
- Είναι καθαρή, περιβαλλοντικά φιλική τεχνολογία (Kadam et al. 2012, Rastogi 2013, Naik et al. 2013).

Αν και τα πλεονεκτήματα της επεξεργασίας με ΥΠ είναι πολλά, ταυτόχρονα η εν λόγω επεξεργασία παρουσιάζει και **αρκετά μειονεκτήματα** στην εφαρμογή της, όπως ότι:

- Εμφανίζει ακόμη ιδιαίτερα υψηλό κόστος εγκατάστασης για βιομηχανική χρήση.
- Ο μηχανολογικός εξοπλισμός απαιτεί πολύπλοκη και εξαιρετικά υψηλή ακρίβεια στην κατασκευή, τη χρήση και τη συντήρησή του.
- Παρουσιάζει σημαντικές οικονομικές απώλειες, δεδομένου ότι θα πρέπει να υπάρχει εφαρμογή ενός ολοκληρωμένου συστήματος διασφάλισης ποιότητας, ώστε εξασφαλίζεται η μείωση ή και εξάλειψη των μικροοργανισμών κατά την επεξεργασία.
- Το προς επεξεργασία τρόφιμο πρέπει να περιέχει υψηλά ποσοστά υγρασίας.
- Τρόφιμα που εμπεριέχουν υψηλά ποσοστά αέρα δεν μπορούν να επεξεργαστούν με ΥΠ καθώς είναι ευαίσθητα στην εφαρμογή πίεσης.
- Ορισμένα ένζυμα είναι ανθεκτικά ακόμα σε συνθήκες ΥΠ (Kadam et al. 2012, Naik et al 2013, Chawla et al 2011).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ

ΥΛΙΚΑ & ΜΕΘΟΔΟΙ

Το παγωτό είναι ένα γλύκισμα με πολλά συστατικά, το καθένα από τα οποία επηρεάζει τη δομή του τελικού προϊόντος. Για την επίτευξη των επιθυμητών οργανοληπτικών χαρακτηριστικών χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία παγωτού πρόσθετες ουσίες οι οποίες τείνουν να είναι ανεπιθύμητες από το καταναλωτικό κοινό. Επομένως, είναι επιτακτική η ανάγκη έρευνας εναλλακτικών μεθόδων παραγωγής παγωτού απαλλαγμένο από πρόσθετες ουσίες και με βελτιωμένα ποιοτικά χαρακτηριστικά. Από τα βασικότερα συστατικά του παγωτού είναι οι πρωτεΐνες οι οποίες, προσδίδουν πολλές λειτουργικές ιδιότητες και επηρεάζουν τα χαρακτηριστικά του τελικού προϊόντος. Η τροποποίηση της διασύνδεσης των πρωτεϊνών στο μίγμα του παγωτού μπορεί να αποτελέσει μια λύση για την παραγωγή τέτοιων προϊόντων. Οι δύο βασικότερες τεχνολογίες τροποποίησης των πρωτεϊνών και κατά συνέπεια και των πρωτεϊνικών δικτύων είναι η ενζυμική επεξεργασία με την τρανσγλουταμινάση και η επεξεργασία με υπερυψηλή πίεση.

Για τη μελέτη της επίδρασης των μελετώμενων εναλλακτικών τεχνολογιών στα ποιοτικά χαρακτηριστικά κατεψυγμένων προϊόντων παγωτού, οι τεχνολογίες αυτές μελετήθηκαν τόσο με μεμονωμένη εφαρμογή τους στα μίγματα, όσο και συνδυαστικά, με την ενζυμική επεξεργασία να έπεται της επεξεργασίας των μιγμάτων με ΥΠ.

Οι μελετώμενες εναλλακτικές τεχνολογίες εφαρμόστηκαν με σκοπό να αξιολογηθούν α) η βελτίωση των ποιοτικών παραμέτρων των τελικών κατεψυγμένων προϊόντων μέσω της ενζυμικής επεξεργασίας των μιγμάτων τους με TGase (σε ένα εύρος ενζυμικών συγκεντρώσεων) και με ΥΠ, β) η αντικατάσταση των τεχνολογιών της συμβατικής ομογενοποίησης και της θερμικής επεξεργασίας των μιγμάτων από την επεξεργασία με ΥΠ, και γ) η αντικατάσταση των σταθεροποιητικών μέσων από την ενζυμική επεξεργασία με TGase ή/και την επεξεργασία με ΥΠ των μιγμάτων παγωτού.

Στον Πίνακα 5.1 παρουσιάζονται όλες οι μεθοδολογίες που ακολουθήθηκαν για την παρασκευή των μελετώμενων μιγμάτων παγωτού.

Πίνακας 5.1. Επεξεργασίες και Ενζυμικές Συγκεντρώσεις της TGase

<i>Προ-επεξεργασία Μιγμάτων Παγωτού</i>	<i>Παρουσία Σταθεροποιητικού Μέσου</i>	<i>Συγκέντρωση της TGase</i>
	+	0,0 Units/g πρωτεΐνης
	-	1,0 Units/g πρωτεΐνης
<i>Ομογενοποίηση / Θερμική Επεξεργασία</i>	-	2,0 Units/g πρωτεΐνης
	-	3,0 Units/g πρωτεΐνης
	-	4,0 Units/g πρωτεΐνης
	-	0,0 Units/g πρωτεΐνης
<i>Επεξεργασία με ΥΠ</i>	-	1,0 Units/g πρωτεΐνης
	-	2,0 Units/g πρωτεΐνης
	-	3,0 Units/g πρωτεΐνης
	-	4,0 Units/g πρωτεΐνης
	-	0,0 Units/g πρωτεΐνης

5.1 Υλικά

Οι πρώτες ύλες γάλακτος και συστατικών που χρησιμοποιήθηκαν για την προετοιμασία των προϊόντων γιαουρτιού και του παγωτού είναι οι ακόλουθες:

Γάλα & προϊόντα γάλακτος

- Σκόνη πλήρους γάλακτος με 26% περιεχόμενο σε λιπαρά (Inco, BelgoMilk, Αντζουλάτος Α.Ε., Greece)
- Κρέμα γάλακτος με 15% περιεχόμενο σε λιπαρά (Friesland Campina Hellas S.A.)

Ένζυμα

- Ενζυμικό παρασκεύασμα τρανσγλουταμινάσης TGase, με ονομαστική δραστηριότητα 100 Units/ g παρασκευάσματος (Activa YG, Ajinomoto, Germany)

Σάκχαρα

- Εμπορική σακχαρόζη (Ελληνική Βιομηχανία Ζάχαρης, Greece)
- Εμπορικό σιρόπι γλυκόζης (Αφοί Χαϊτογλου Α.Ε., Greece)

Γαλακτωματοποιητές

- Μονο- και δι-γλυκερίδια λιπαρών οξέων, περιεκτικότητας 60% σε μονοεστέρες, (Rikemal P-150S, Rikevita, Malaysia)

Σταθεροποιητές

- Κόμμι γκουάρ (Grindsted, Danisco, Denmark)

5.2 Μέθοδοι Επεξεργασίας & Παραγωγής των Προϊόντων Παγωτού

5.2.1 Προετοιμασία των Μιγμάτων Παγωτού

Για την παρασκευή των μιγμάτων παγωτού που θα υποβάλλονταν στις διάφορες επεξεργασίες, οι ξηρές πρώτες ύλες διαλύθηκαν στις υγρές πρώτες ύλες με συνεχή μαγνητική ανάδευση περίπου στους 60°C. Τα μίγματα παγωτού είχαν τελική περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες και λιπαρά της τάξης του 2,5% και 7,2%, αντίστοιχα.

Η συνταγή των μιγμάτων παγωτού είχε την ακόλουθη σύσταση:

- ✓ 50% νερό,
- ✓ 8,1% σκόνη πλήρους γάλακτος,
- ✓ 25,4% κρέμα γάλακτος χαμηλών λιπαρών,
- ✓ 16% γλυκαντικές ύλες, εκ των οποίων 10% σακχαρόζη και 6% σιρόπι γλυκόζης,
- ✓ 0,3% γαλακτωματοποιητής και,
- ✓ 0,2% σταθεροποιητής.

5.2.2 Επεξεργασία με Υπερψηλή Πίεση

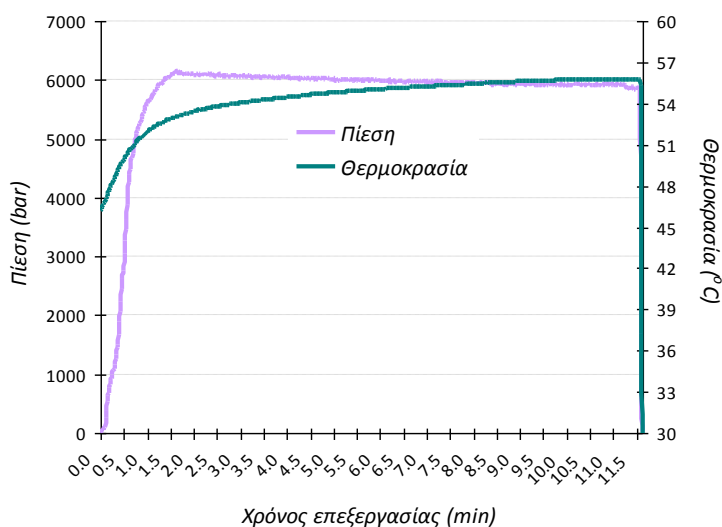
Η επεξεργασία με ΥΠ πραγματοποιήθηκε σε εργαστηριακής κλίμακας μονάδα ΥΠ με μέγιστη πίεση λειτουργίας ίση με 1000 MPa (Food Pressure Unit FPU 1.01, Resato International BV, The Netherlands). Η μονάδα αυτή αποτελείται από έναν ενισχυτή πίεσης, ένα δοχείο ΥΠ χωρητικότητας 1,5 L και μία συστοιχία δοχείων ΥΠ χωρητικότητας 42 mL το καθένα (βλ. *Εικόνα 5.1*). Όλα τα δοχεία ΥΠ περιβάλλονται από μανδύα κυκλοφορούντος νερού, ο οποίος συνδέεται με σύστημα ελέγχου και καταγραφής της θερμοκρασίας. Το μέσο μεταφοράς της πίεσης είναι πολυγλυκόλη τάξης ιξώδους κατά ISO ίση με 15 (polyglycol ISO VG15, κινηματικού ιξώδους 13,5-16,5 cSt).

Κατά την επεξεργασία των μιγμάτων παγωτού με ΥΠ, δείγματα βάρους 750 g, συσκευάζονταν σε σακουλάκια από πολυστρωματικό υλικό (PE, φύλλο αλουμινίου, PP) και σφραγίζονταν σε μηχανήμα συσκευασίας υπό κενό. Για την αποφυγή διαρροής του δείγματος ή επαφής του με το μέσο μεταφοράς της πίεσης, τα σακουλάκια συσκευάζονταν σε δεύτερη συσκευασία, και κατόπιν τοποθετούνταν στο δοχείο ΥΠ όγκου 1,5 L. Στη συνέχεια, ρυθμιζόταν η πίεση στην επιθυμητή τιμή και το δοχείο ΥΠ απομονωνόταν μετά από 30 s από την επίτευξη της επιθυμητής πίεσης (μέση πίεση επεξεργασίας: 599±6 MPa), χρόνος ο οποίος καθορίστηκε και ως χρόνος μηδέν της επεξεργασίας. Το δοχείο εκτονωνόταν μετά από προκαθορισμένο χρόνο (10 min χρόνος συμπίεσης) ανοίγοντας τη βαλβίδα εκτόνωσης του δοχείου. Τα συμπιεσμένα δείγματα μεταφέρονταν υπό ψύξη στο εργαστήριο και επεξεργάζονταν στη συνέχεια κατάλληλα.



Εικόνα 5.1. Εργαστηριακή Μονάδα Υπερψηλής Πίεσης
(Από αριστερά: κεντρική μονάδα ΥΠ, δοχείο ΥΠ όγκου 1,5L και, συστοιχία 6 δοχείων ΥΠ όγκου 42mL το καθένα)

Κατά την επεξεργασία με ΥΠ, δεδομένου ότι λαμβάνει χώρα αύξηση της θερμοκρασίας λόγω αδιαβατικής θέρμανσης (περίπου 3°C ανά 100 MPa), η θερμοκρασία του μέσου θέρμανσης του δοχείου ρυθμιζόταν σε χαμηλότερη τιμή από την επιθυμητή θερμοκρασία της επεξεργασίας (μέση θερμοκρασία επεξεργασίας: $55\pm 1^{\circ}\text{C}$). Τόσο η εξέλιξη της θερμοκρασίας όσο και αυτή της πίεσης καταγράφονταν κατά τη διάρκεια του κύκλου συμπίεσης (βλ. Εικόνα 5.2).



Εικόνα 5.2. Διάγραμμα Εξέλιξης της Πίεσης και της Θερμοκρασίας κατά τη Διάρκεια Ενός Κύκλου Συμπίεσης 10 min σε Συνθήκες Επεξεργασίας 600MPa και 55°C

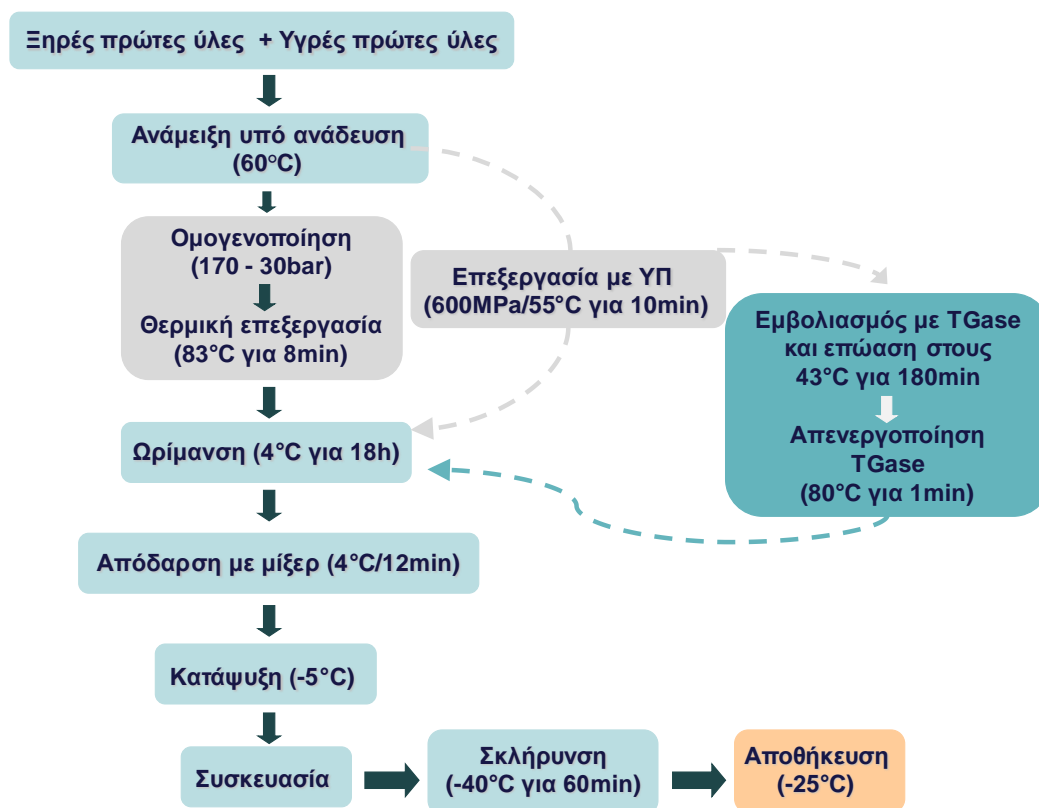
5.2.3 Ενζυμική Επεξεργασία με Τρανsgλουταμινάση

Τα θερμικά επεξεργασμένα και επεξεργασμένα με ΥΠ μίγματα παγωτού θερμαίνονταν στους 42°C και εμβολιάζονταν με το ενζυμικό παρασκεύασμα της TGase. Η επώαση των εμβολιασμένων με TGase δειγμάτων λάμβανε χώρα σε αποστειρωμένα δοχεία των 2 L μέσα

σε υδατόλουτρο ελεγχόμενης θερμοκρασίας ($43,0 \pm 0,2^\circ\text{C}$, Memmert, Germany) για 3 h. Μετά το πέρας του χρόνου ενζυμικής επεξεργασίας, τα επεξεργασμένα πλέον με TGase δείγματα θερμαίνονταν ταχέως με τη βοήθεια μικροκυμάτων στους 80°C όπου και παρέμεναν για 1 min προκειμένου να απενεργοποιηθεί το ένζυμο, και κατόπιν ψύχονταν στη θερμοκρασία ωρίμανσης. Τα μίγματα παγωτού, τα οποία δεν εμβολιάζονταν με το ένζυμο (δείγματα αναφοράς ως προς την ενζυμική επεξεργασία), ακολουθούσαν και αυτά την παραπάνω διαδικασία επώασης-θέρμανσης-ψύξης.

5.2.4 Προετοιμασία των Προϊόντων Παγωτού

Για τα δείγματα που υπέστησαν συμβατική θερμική επεξεργασία και ομογενοποίηση, η ομογενοποίηση πραγματοποιήθηκε σε εργαστηριακής κλίμακας ομογενοποιητή δύο σταδίων στα 170/30bar (APV1000 Gaulin, Abvertslund, Denmark) και, η θερμική επεξεργασία πραγματοποιήθηκε ασυνεχώς σε υδατόλουτρο (Memmert, Germany) στους 83°C για 8 min.



Εικόνα 5.3. Διάγραμμα Ροής της Παραγωγικής Διαδικασίας του Παγωτού σε Εργαστηριακή Κλίμακα

Κατόπιν της ενζυμικής επεξεργασίας, τα μίγματα παγωτού ψύχθηκαν και αποθηκεύτηκαν σε κλιβανο σταθερής θερμοκρασίας (Sanyo MIR153, Sanyo Electric Co., Japan) 4°C για 16 h προκειμένου να ωριμάσουν (ageing process). Μετά το τέλος της ωρίμανσης, τα μίγματα ψύχθηκαν ασυνεχώς σε οικιακή παγωτομηχανή με εσωτερικό αποδάρτη (Krups, GVS141, Germany). Λόγω της περιορισμένης ικανότητας της παγωτομηχανής να αυξήσει το ποσοστό ενσωμάτωσης αέρα (τυπικά κυμαίνεται από 10 έως 20%), το μίγμα παγωτού

υπέστη απόδραση με χρήση οικιακού μίξερ (Chef KM400, Kenwood, UK) σε υψηλό ρυθμό απόδρασης (ταχύτητα 5) για 12 min. Τα αποδαρμένα μίγματα παγωτού καταψύχθηκαν στην παγωτομηχανή για χρονικό διάστημα έως ότου η θερμοκρασία εξόδου κατέλθει στους $-5,0 \pm 0,4^{\circ}\text{C}$, κατόπιν συσκευάστηκαν σε πλαστικούς περιέκτες των 200 g, αφέθηκαν για σκλήρυνση στους -40°C (hardening process) για 1 h και τελικά αποθηκεύτηκαν υπό κατάψυξη στους $-26 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ (βλ. *Εικόνα 5.3*).

5.3 Αναλύσεις & Μετρήσεις

5.3.1 Προσδιορισμός των Ρεολογικών Χαρακτηριστικών

5.3.1.1 Ρεολογικά Χαρακτηριστικά των Μιγμάτων Παγωτού

Η ρεολογική συμπεριφορά των μιγμάτων παγωτού προσδιορίστηκε με χρήση περιστροφικού ροόμετρου (RHEOTEC RC1, Meßtechnik GmbH, Germany) εφοδιασμένου με μανδύα ψύξης (LAUDA RE312, Lauda GmbH, Germany). Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν στους 4°C εφαρμόζοντας ένα πρόγραμμα μεταβολής του ρυθμού διάτμησης στο εύρος $10\text{-}200\text{ s}^{-1}$ και αντίστροφα. Τα δεδομένα διατμητικής τάσης – ρυθμού διάτμησης προσαρμόστηκαν στο μοντέλο Ostwald - de Waale σύμφωνα με την Εξ. 5.1.

Με βάση το μοντέλο Ostwald - de Waale προσδιορίστηκε το ιξώδες για τιμή ρυθμού διάτμησης ίση με 50 s^{-1} , το οποίο αποτελεί μια ένδειξη του ιξώδους του μίγματος κατά τη διάρκεια της διαδικασίας μάσησης (Akhtar et al. 2006).

Η θιξοτροπική συμπεριφορά των μιγμάτων παγωτού προσδιορίστηκε με βάση τη σχέση:

$$\% \text{ θιξοτροπία} = \frac{\text{ιξώδες}_{50\text{s}^{-1}\uparrow} - \text{ιξώδες}_{50\text{s}^{-1}\downarrow}}{\text{ιξώδες}_{50\text{s}^{-1}\uparrow}} \cdot 100 \quad (\text{Εξίσωση 5.1})$$

όπου, τα σύμβολα $\uparrow\downarrow$ υποδηλώνουν τα στάδια αυξανόμενου και μειούμενου ρυθμού διάτμησης, αντίστοιχα.

5.3.1.2 Ρεολογικά Χαρακτηριστικά των Προϊόντων Παγωτού

Οι ιξωδοελαστικές ιδιότητες των προϊόντων παγωτού προσδιορίστηκαν μέσω δοκιμών σάρωσης θερμοκρασίας σε δυναμικές συνθήκες ταλάντωσης (Oscillation Thermo-Rheometry, OTR) σε περιστροφικό ιξωδόμετρο με γεωμετρία πλακών (Anton Paar Physica Modular Compact Rheometer MCR 301, Austria, βλ. *Εικόνα 5.4*) σύμφωνα με τη μεθοδολογία που έχει περιγραφεί από τους Wildmoser et al. (2004).



Εικόνα 5.4. Περιστροφικό Ιξωδόμετρο Γεωμετρίας Πλακών

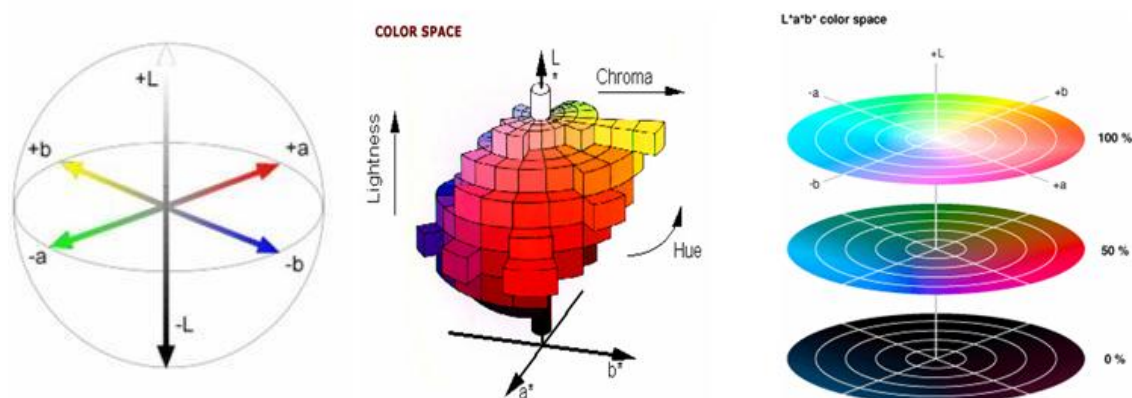
Με τη βοήθεια κυλινδρικού εργαλείου κοπής, δείγματα παγωτού διαμέτρου 25 mm και πάχους 2,5 mm απομονώθηκαν από την επιφάνεια των αποθηκευμένων στα κύπελλα δειγμάτων και αφέθηκαν να ισορροπήσουν σε θερμοκρασία -20°C για μία νύχτα (περίπου 12 h). Κατόπιν, τα δείγματα υποβλήθηκαν σε δοκιμή γραμμικής θερμοκρασιακής σάρωσης από τους -20 ως τους 0°C με ρυθμό αύξησης της θερμοκρασίας ίσο με $0,1^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Κατά τη διάρκεια της σάρωσης αυτής πραγματοποιήθηκε δοκιμή ταλάντωσης με γωνιακή ταχύτητα 10 rad/s και σταθερή παραμόρφωση ίση με $0,05\%$ και, καταγράφονταν οι τιμές των ιξωδοελαστικών ιδιοτήτων συναρτήσει της θερμοκρασίας. Για κάθε διαφορετικά επεξεργασμένο προϊόν πραγματοποιήθηκαν τουλάχιστον τρεις δοκιμές OTR. Οι ιξωδοελαστικές ιδιότητες που μελετήθηκαν είναι α) το μέτρο αποθήκευσης (G' , Pa), β) το μέτρο απώλειας (G'' , Pa), γ) η εφαπτόμενη απώλειας ($\tan\delta$) και, δ) το σύνθετο ιξώδες (η^* , Pa·s).

5.3.2 Χρώμα

Η μέτρηση του χρώματος πραγματοποιήθηκε με χρήση χρωματόμετρου Minolta CR200 (Minolta Co., Chuo-Ku, Japan) στη χρωματική κλίμακα CIELab, η οποία εκφράζει τη μαθηματική προσέγγιση της μη γραμμικής απόκρισης του ματιού. Τα δείγματα ύστερα από ανάδευση τοποθετούνταν σε γυάλινα τρυβλία και μετρούνταν. Το χρωματόμετρο πριν από κάθε μέτρηση βαθμονομούνταν με λευκή πλάκα αναφοράς του οργάνου. Όλες οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν τρεις φορές. Το ολικό χρώμα των δειγμάτων υπολογίστηκε μέσω της σχέσης:

$$E = \sqrt{a^2 + b^2 + L^2} \quad (\text{Εξίσωση 5.2})$$

όπου, η παράμετρος L εκφράζει την φωτεινότητα του χρώματος, θετική τιμή για την παράμετρο a υποδεικνύει κόκκινο χρώμα (redness) ενώ αρνητική τιμή πράσινο χρώμα (greenness) και, θετική τιμή για την παράμετρο b υποδεικνύει κίτρινο χρώμα (yellowness), ενώ αρνητική τιμή μπλε χρώμα (blueness) (βλ. *Εικόνα 5.5*).



Εικόνα 5.5. Σχηματική Απεικόνιση της Χρωματικής Κλίμακας CIELab

5.3.3 Σταθερότητα Αποψυγμένων Προϊόντων Παγωτού

Η συναίρεση των αποψυγμένων προϊόντων παγωτού προσδιορίστηκε μέσω της ποσότητας του αποβαλλόμενου ορού, η οποία εκφραζόταν από τα g ορού που αποβάλλονταν από 10 g δείγματος μετά από φυγοκέντρηση στις 10000 r.p.m. και τους 20°C για 20 min. Μετά την απομάκρυνση της άνω στοιβάδας των λιπαρών, η ποσότητα ορού που συλλεγόταν ως υπερκείμενο υγρό μετά τη φυγοκέντρηση ζυγίζόταν και η σταθερότητα του προϊόντος εκφραζόταν σε % κ.β. του αρχικού δείγματος.

5.3.4 Χαρακτηριστικά Τήξης του Παγωτού

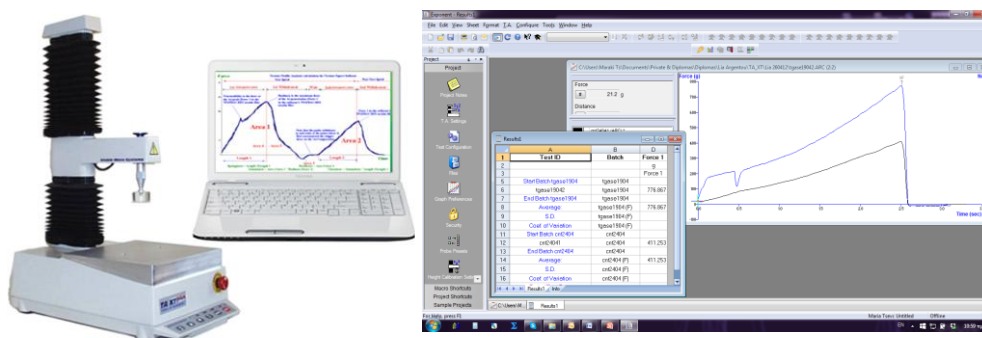
Τα χαρακτηριστικά τήξης του παγωτού προσδιορίστηκαν σύμφωνα με τη μεθοδολογία που έχει περιγραφεί από τους Marshall et al. (2003). Ποσότητα δείγματος (100 g) τοποθετήθηκε σε διάτρητο μεταλλικό πλαίσιο (διατομή οπών 1mm × 1mm) το οποίο ήταν τοποθετημένο σε γυάλινο χωνί. Το δείγμα αφέθηκε να τακεί σε θερμοκρασία περιβάλλοντος σε κλίβανο ελεγχόμενης θερμοκρασίας (22±0,5°C) και το τήγμα συλλέχθηκε σε ποτήρι ζέσεως τοποθετημένο σε ηλεκτρονικό ζυγό (Kern 440, Kern & Sohn GmbH, Germany). Τα χαρακτηριστικά τήξης που προσδιορίστηκαν αφορούσαν: α) στον απαιτούμενο χρόνο για την πτώση της 1^{ης} σταγόνας τήγματος (min) και, β) στο ρυθμό τήξης του δείγματος (g·g⁻¹·min⁻¹) ο οποίος προσδιορίστηκε από την κλίση του γραμμικού τμήματος της σιγμοειδούς καμπύλης που κατασκευάστηκε από τη συνεχή καταγραφή της μάζας του τήγματος για χρονικό διάστημα 60 min.

5.3.5 Προσδιορισμός της Θερμικής Αγωγιμότητας του Παγωτού

Η θερμική αγωγιμότητα των προϊόντων παγωτού μετρήθηκε άμεσα με συσκευή μέτρησης της θερμικής αγωγιμότητας KD2 Pro Thermal Properties Analyzer, η οποία ήταν εφοδιασμένη με μονή βελόνα μήκους 6 cm (TPA, Decagon Devices Inc, USA). Για κάθε διαφορετικά επεξεργασμένο προϊόν πραγματοποιήθηκαν τουλάχιστον τρεις μετρήσεις θερμικής αγωγιμότητας.

5.3.6 Ανάλυση Υφής

Η ανάλυση υφής των δειγμάτων πραγματοποιούνταν με χρήση αναλυτή υφής TA-XT Plus με μετατροπέα δύναμης 30 kg (Stable Micro Systems Ltd., UK, βλ. *Εικόνα 5.6*).



Εικόνα 5.6. Εξοπλισμός, Λογισμικό και Τοπικό Διάγραμμα Ανάλυσης Υφής Προϊόντων Παγωτού

Για τον προσδιορισμό της αντικειμενικής σκληρότητας των προϊόντων παγωτού, πραγματοποιήθηκε δοκιμή μονής διείσδυσης. Το βάθος διείσδυσης ορίστηκε στα 10 mm και η ταχύτητα διείσδυσης στα $2,0 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν στη θερμοκρασία των -25°C και, η αντικειμενική σκληρότητα προσδιορίστηκε μέσω της μέγιστης δύναμης κατά τη διείσδυση με τη βοήθεια του λογισμικού Texture Exponent 32 Application (Stable Micro Systems Ltd, UK). Για κάθε διαφορετικά επεξεργασμένο προϊόν πραγματοποιήθηκαν τουλάχιστον τρεις μετρήσεις αντικειμενικής σκληρότητας.

5.3.7 Προσδιορισμός του Ποσοστού Ενσωμάτωσης Αέρα στο Παγωτό

Το ποσοστό ενσωμάτωσης αέρα προσδιορίστηκε με βάση τη μεθοδολογία που περιγράφεται από τους Marshall et al. (2003). Ένας γνωστός όγκος μίγματος παγωτού και ο ίδιος όγκος αποαεραμένου και παγωμένου προϊόντος παγωτού ζυγίστηκαν και το ποσοστό ενσωμάτωσης αέρα προσδιορίστηκε από την Εξ. 5.3:

$$\begin{aligned} \% \text{ ενσωμάτωση αερα} &= \\ &= \frac{g \text{ μειγματος παγωτου} - g \text{ κατεψυγμενου παγωτου}}{g \text{ μειγματος παγωτου}} \cdot 100 \end{aligned} \quad (\text{Εξίσωση 5.3})$$

5.3.8 Εκτίμηση του Δείκτη Αποσταθεροποίησης των Λιπαρών κατά τις Διεργασίες της Ωρίμανσης-Κατάψυξης-Σκλήρυνσης

Προκειμένου να εκτιμηθεί η αποσταθεροποίηση των λιπαρών των παραγόμενων προϊόντων παγωτού, χρησιμοποιήθηκε φασματοφωτομετρική μέθοδος προσδιορισμού της θολότητας αραιωμένων δειγμάτων μιγμάτων και προϊόντων παγωτού (Goff & Jordan 1989). Δείγμα (1 g) από τα μελετώμενα μίγματα παγωτού (πριν και μετά την ωρίμανση) και προϊόντων παγωτού αραιώθηκαν 1:500 με απιονισμένο νερό και μετρήθηκε η απορρόφησή τους σε φασματοφωτόμετρο (Unicam Helios Alpha, Thermo, USA) στα 540 nm, με απιονισμένο νερό ως τυφλό δείγμα. Ο δείκτης αποσταθεροποίησης των λιπαρών προσδιορίστηκε μέσω της Εξ. 5.4:

$$\begin{aligned} \text{Δείκτης αποσταθεροποίησης λιπαρων (\%)} &= \\ &= \frac{\text{απορρόφηση μειγματος παγωτου} - \text{απορρόφηση παγωτου}}{\text{απορρόφηση μειγματος παγωτου}} \cdot 100 \end{aligned} \quad (\text{Εξίσωση 5.4})$$

5.3.9 Εκτίμηση του Βαθμού Διαχωρισμού των Παραγόμενων Μιγμάτων Παγωτού λόγω της Επίδρασης του Χρησιμοποιούμενου Σταθεροποιητή

Προκειμένου να εκτιμηθεί η επίδραση των μελετώμενων εναλλακτικών τεχνολογιών επεξεργασίας των μιγμάτων παγωτού στο βαθμό διαχωρισμού τους κατά την ωρίμανση, παρασκευάστηκαν μίγματα παγωτού ομογενοποιημένα και θερμικά επεξεργασμένα ή επεξεργασμένα με ΥΠ, χωρίς ή με επακόλουθη επεξεργασία με TGase. Η παρασκευή των μιγμάτων αφορούσε τόσο σε μίγματα με σταθεροποιητή όσο και σε μίγματα που δεν περιείχαν σταθεροποιητή στη συνταγή τους. Δείγματα 10 mL όλων των παραπάνω μιγμάτων μεταφέρθηκαν σε βαθμονομημένους κυλίνδρους και αφέθηκαν για ωρίμανση στους 4°C για 16 h. Κατόπιν, τα δείγματα αξιολογήθηκαν με βάση την εμφάνιση διαχωρισμού τους λόγω της επίδρασης της χρησιμοποιούμενης γαλακτομανάνης (σταθεροποιητής: κόμμι γκουάρ).

5.4 Στατιστική Επεξεργασία Αποτελεσμάτων

Οι μετρούμενες ποιοτικές παράμετροι των παραγόμενων μιγμάτων και προϊόντων παγωτού προσδιορίστηκαν κατόπιν τριπλής επανάληψης και από δύο ανεξάρτητα πειράματα και οι στατιστικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν μέσω του λογισμικού Statistica 7 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA).

5.4.1 Κλασσικές Τεχνικές Στατιστικής Επεξεργασίας

Προκειμένου να μελετηθεί η σημαντικότητα της επίδρασης των σχεδιαστικών παραμέτρων στα επιμέρους ποιοτικά χαρακτηριστικά των παραγόμενων προϊόντων, τα

πειραματικά δεδομένα υποβλήθηκαν σε γραμμική παραμετρική ανάλυση διακύμανσης (Factorial ANOVA), με παράλληλη σύγκριση των μέσων όρων μέσω της δοκιμής Duncan (Duncan's means post hoc comparison test) προκειμένου να διαπιστωθούν οι στατιστικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων ανά είδος σχεδιαστικής παραμέτρου και για τα επιμέρους πειράματα που διεξήχθησαν. Όλες οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας ως στάθμη σημαντικότητας την τιμή $\alpha = 0,95$ ($p\text{-value} = 0,05$).

Ειδικότερα, οι σχεδιαστικές παράμετροι που επιλέχθηκαν για τα μελετώμενα προϊόντα ήταν οι ακόλουθες:

Σχεδιαστική Παράμετρος: Επεξεργασία του Γάλακτος

1 = Θερμική Επεξεργασία, 2 = Επεξεργασία με ΥΠ

Σχεδιαστική Παράμετρος: Συγκέντρωση TGase

1 = 0,0 Units/ g πρωτεΐνης, 2 = 1,0 Units/ g πρωτεΐνης, 3 = 2,0 Units/ g πρωτεΐνης, 4 = 3,0 Units/ g πρωτεΐνης, 5 = 4,0 Units/ g πρωτεΐνης

5.4.2 Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (Principal Component Analysis, PCA)

Προκειμένου να διερευνηθεί η επίδραση των εναλλακτικών τεχνολογιών επεξεργασίας των μιγμάτων παγωτού στα ποιοτικά χαρακτηριστικά των τελικών κατεψυγμένων προϊόντων, τα πειραματικά δεδομένα από τη μελέτη των ποιοτικών χαρακτηριστικών υποβλήθηκαν σε Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (ΑΚΣ). Τα πειραματικά δεδομένα υποβλήθηκαν σε κανονικοποίηση βάσει του κριτηρίου $1/SD$.

Ο μέγιστος αριθμός κύριων συνιστωσών που απαιτείται για την επαρκή επεξήγηση της ολικής διακύμανσης καθορίστηκε βάσει του διαγράμματος ιδιοτιμών, ενώ οι συσχετίσεις των ποιοτικών παραμέτρων με τους εκάστοτε κύριους άξονες καθορίστηκε με βάση την τιμή $|\alpha| > 0,7$, όπου α είναι η επεξηγούμενη ολική διακύμανση ανά κύριο άξονα για την εκάστοτε ποιοτική παράμετρο.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

6.1 Ρεολογικές Ιδιότητες

6.1.1 Ρεολογικές ιδιότητες των μιγμάτων παγωτού

Στο Διάγραμμα 6.1 απεικονίζεται τα διαγράμματα ρεολογικής συμπεριφοράς των ωριμασμένων μιγμάτων παγωτού ως συνάρτηση του είδους επεξεργασίας (θερμική ή με ΥΠ) και της συγκέντρωσης της TGase κατά την ενζυμική επεξεργασία τους. Στον Πίνακα 6.1 παρουσιάζονται οι τιμές των ρεολογικών ιδιοτήτων των διαφορετικών μιγμάτων παγωτού, όπως αυτές προσδιορίστηκαν από τις καμπύλες ρεολογικής συμπεριφοράς μετά την προσαρμογή του μοντέλου Ostwald-de Waale ($R^2 > 0,99$).

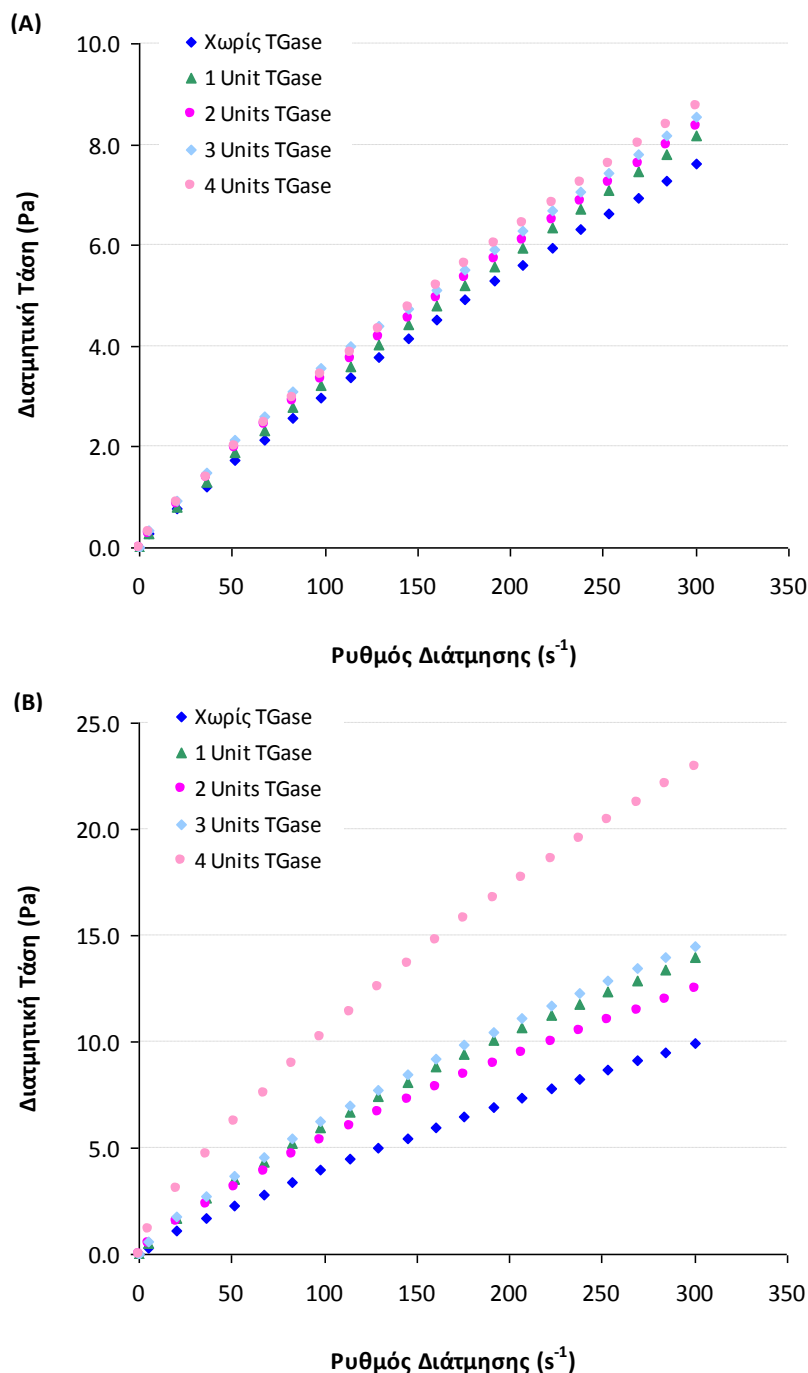
Πίνακας 6.1. Ρεολογικές Παράμετροι Δειγμάτων Παγωτού Επεξεργασμένων με Διαφορετικές Τεχνολογίες

Δραστηριότητα Ενζύμου (Units/g πρωτεΐνης)	Συντελεστής Συνεκτικότητας, K (Pa·s ⁿ)	Δείκτης Ρεολογικής Συμπεριφοράς, η	Φαινόμενο Ιξώδες στα 50s ⁻¹ (Pa·s)	Θιξοτροπία (%)
Δείγματα Παγωτού από Θερμικά Επεξεργασμένα Μίγματα				
0,0	0,063±0,002a	0,841±0,004f	0,041±0,001ab	3,72±1,81ab
1,0	0,066±0,001ab	0,842±0,003f	0,037±0,001a	4,09±1,86ab
2,0	0,075±0,001c	0,825±0,003e	0,038±0,000a	6,58±1,86c
3,0	0,090±0,002d	0,798±0,005d	0,042±0,001ab	10,9±1,89c
4,0	0,072±0,001bc	0,843±0,003f	0,039±0,001ab	2,60±0,05a
Δείγματα Παγωτού από Επεξεργασμένα με ΥΠ Μίγματα				
0,0	0,088±0,002d	0,829±0,003e	0,045±0,001b	12,3±4,57c
1,0	0,174±0,005f	0,770±0,005c	0,068±0,004d	17,6±3,06d
2,0	0,164±0,005e	0,760±0,005b	0,062±0,001c	19,5±0,22d
3,0	0,183±0,006g	0,768±0,006c	0,071±0,008d	21,5±2,52e
4,0	0,357±0,009h	0,731±0,005a	0,121±0,006e	18,9±0,11de

Οι τιμές είναι οι μέσοι όροι ± τυπική απόκλιση τεσσάρων διαφορετικών πειραμάτων.

Τα διαφορετικά γράμματα μεταξύ των γραμμών των όμοιων παραμέτρων δείχνουν στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0,05$) μεταξύ των εξεταζόμενων δειγμάτων με βάση τη δοκιμή σύγκρισης μέσων όρων του Duncan (Duncan's mean values post hoc comparison test).

Όπως φαίνεται από το σύνολο των διαγραμμάτων, όλα τα μίγματα εμφάνισαν ψευδοπλαστική συμπεριφορά ($n < 1$).



Διάγραμμα 6.1. Επίδραση της Ενζυμικής Επεξεργασίας στη ρεολογική συμπεριφορά των α) θερμικά επεξεργασμένων μιγμάτων β) επεξεργασμένων με ΥΠ μιγμάτων

Από τις τιμές του συντελεστή συνεκτικότητας (K) συμπεραίνεται ότι, τόσο η επεξεργασία με ΥΠ όσο και η ενζυμική επεξεργασία των μιγμάτων παγωτού είχαν σημαντική επίδραση ($p < 0,001$) σε αυτές. Σημαντική ($p < 0,001$) βρέθηκε επίσης και η επίδραση της συγκέντρωσης της TGase κατά την ενζυμική επεξεργασία στις τιμές του συντελεστή συνεκτικότητας.

Συγκεκριμένα, η εφαρμογή της ενζυμικής επεξεργασίας οδήγησε σε αύξηση του συντελεστή συνεκτικότητας των παραγόμενων μιγμάτων παγωτού σε σχέση με τα μίγματα που υποβλήθηκαν σε συμβατική ομογενοποίηση και θερμική επεξεργασία, της τάξης του 5%, 19%, 43% και 14% για τις μελετώμενες συγκεντρώσεις ενζύμου αντίστοιχα. Οι τιμές του συντελεστή συνεκτικότητας των παραγόμενων μιγμάτων παγωτού αυξήθηκε με αύξηση της χρησιμοποιούμενης συγκέντρωσης ενζύμου, στο εύρος 1,0-3,0 Units/g πρωτεΐνης, ενώ μεταβλήθηκε σε συγκέντρωση ίση με 4,0 Units/g πρωτεΐνης.

Αναφορικά με την επίδραση του είδους της επεξεργασίας των μιγμάτων παγωτού διαπιστώθηκε ότι, η εφαρμογή της ΥΠ δύναται να επιφέρει σημαντική αύξηση της τιμής του συντελεστή συνεκτικότητας σε σχέση με τη θερμική επεξεργασία των μιγμάτων. Είναι ενδιαφέρον να τονιστεί ότι, η επεξεργασία των μιγμάτων με ΥΠ απουσία σταθεροποιητών οδήγησε σε δείγματα με παρόμοια συνεκτικότητα με εκείνα των οποίων τα μίγματα είχαν υποβληθεί σε συνδυασμό θερμικής και ενζυμικής (3,0 Units/g πρωτεΐνης) επεξεργασίας. Επιπλέον πρέπει να τονιστεί ότι, ο συνδυασμός της ΥΠ με την ενζυμική επεξεργασία οδήγησε σε περαιτέρω αύξηση της τιμής του συντελεστή συνεκτικότητας, επιτυγχάνοντας ως και 450% αύξηση σε σχέση με τα συμβατικά παραγόμενα μίγματα (προσθήκη σταθεροποιητή-συμβατική ομογενοποίηση-θερμική επεξεργασία).

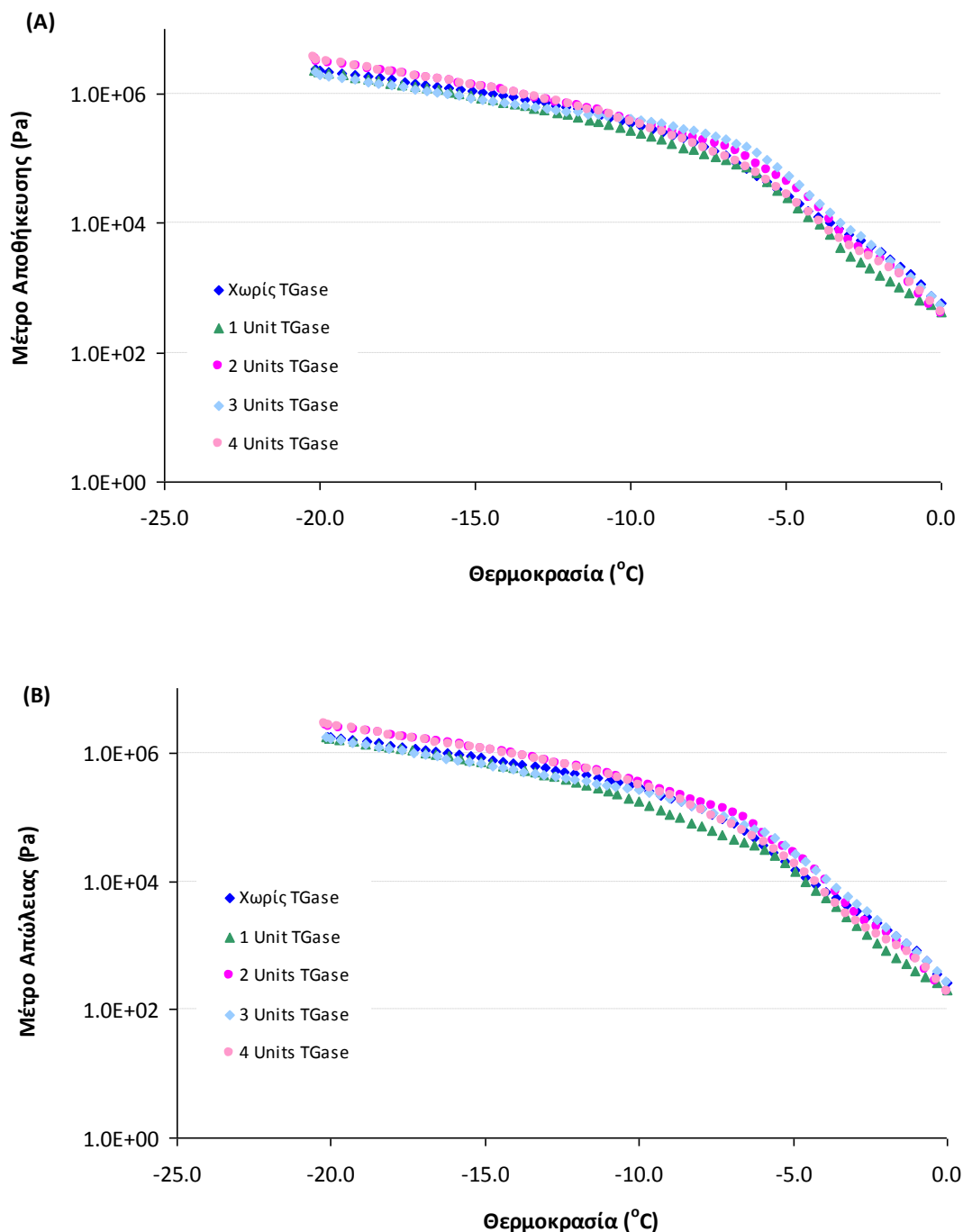
Ο δείκτης ρεολογικής συμπεριφοράς (n) των μιγμάτων παγωτού επηρεάστηκε σημαντικά τόσο από την εφαρμογή της επεξεργασίας με ΥΠ ($p < 0,001$) όσο και από τη συγκέντρωση της TGase κατά την ενζυμική επεξεργασία τους ($p < 0,001$), ιδιαίτερα στο εύρος συγκεντρώσεων 2,0-3,0 Units/g πρωτεΐνης για τα θερμικά επεξεργασμένα μίγματα και 2,0-4,0 Units/g πρωτεΐνης για τα επεξεργασμένα με ΥΠ μίγματα. Ανάλογα ήταν και τα αποτελέσματα αναφορικά με την θιξοτροπική συμπεριφορά των μιγμάτων παγωτού. Συμπερασματικά, η εναλλακτική επεξεργασία των μιγμάτων παγωτού με ΥΠ, η ενζυμική τροποποίηση των πρωτεϊνών τους ή ο συνδυασμός των παραπάνω διαδικασιών επέφερε βελτίωση των ρεολογικών παραμέτρων των εξεταζόμενων μιγμάτων στις περισσότερες περιπτώσεις, υποδηλώνοντας ότι η αλλαγή της λειτουργικότητας των πρωτεϊνών καθώς επίσης και των δομικών χαρακτηριστικών του πρωτεϊνικού δικτύου μέσω των εναλλακτικών αυτών τεχνολογιών μπορεί να οδηγήσει στη δημιουργία σταθερών μιγμάτων και να αντικαταστήσει την ανάγκη για χρήση πρόσθετων ουσιών, όπως π.χ. οι σταθεροποιητές, στην παραγωγική διαδικασία των προϊόντων παγωτού.

6.1.2 Ρεολογική συμπεριφορά των προϊόντων παγωτού

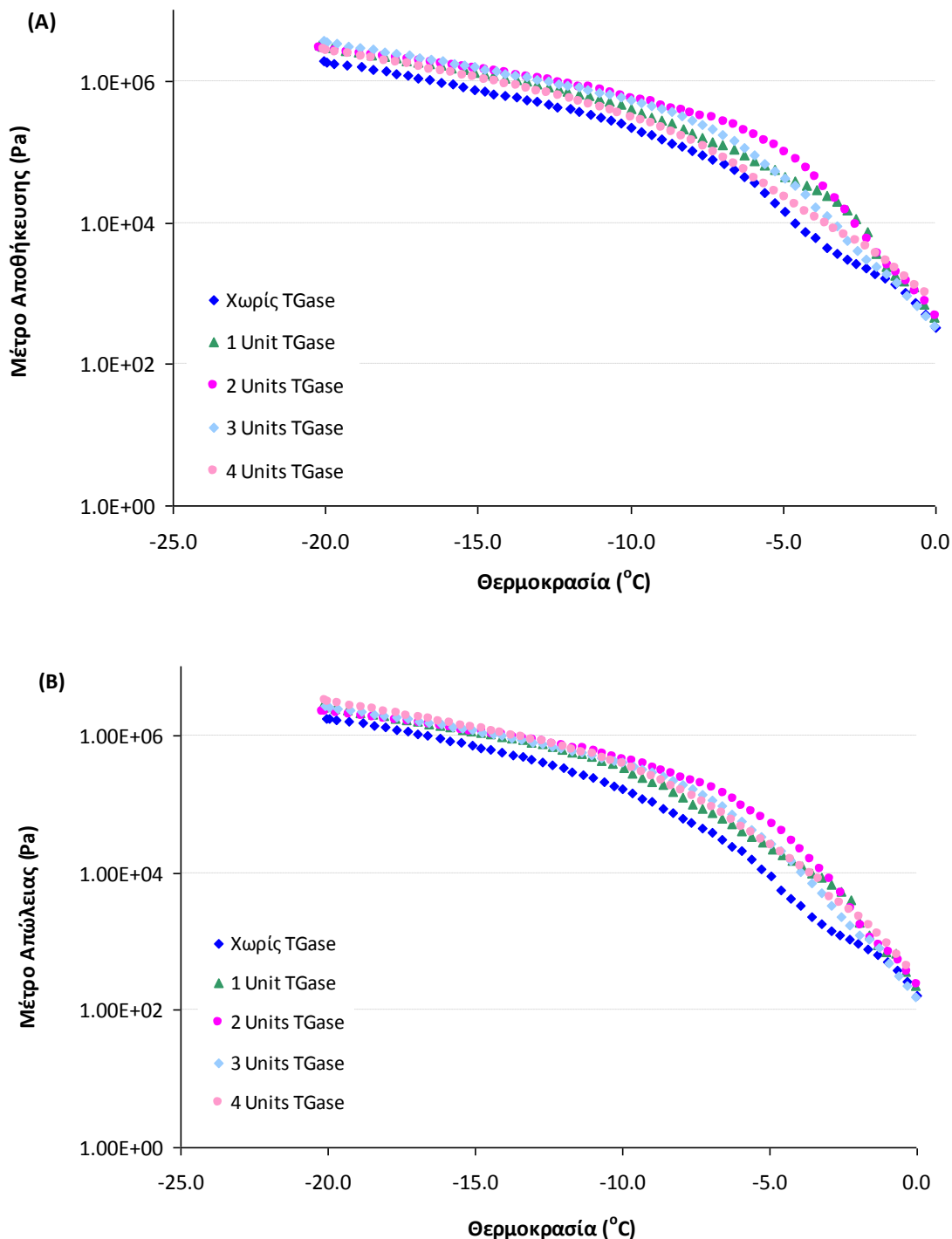
Στα *Διαγράμματα 6.2-6.3, 6.4-6.5 και 6.6-6.7* παρουσιάζεται η μεταβολή των μέτρων αποθήκευσης (G') και απώλειας (G''), της εφαπτόμενης απώλειας ($\tan\delta$) και του σύνθετου ιξώδους (η^*), αντίστοιχα, ως συνάρτηση της θερμοκρασίας κατά τη διάρκεια των δοκιμών γραμμικής θερμοκρασιακής σάρωσης των μελετώμενων δειγμάτων παγωτού, από θερμικά επεξεργασμένα και επεξεργασμένα με ΥΠ μίγματα.

Από τα *Διαγράμματα 6.2 και 6.3* που αναφέρονται στα μέτρα αποθήκευσης και απώλειας των εξεταζόμενων δειγμάτων παγωτού αντίστοιχα, φαίνεται ότι στην περίπτωση των δειγμάτων από θερμικά επεξεργασμένα μίγματα, τα δείγματα από ενζυμικά επεξεργασμένα μίγματα εμφάνισαν παρόμοιες τιμές των παραμέτρων G' και G'' με τα δείγματα από

ενζυμικά ανεπεξέργαστα μίγματα, ενώ στην περίπτωση των επεξεργασμένων με ΥΠ μιγμάτων, παρατηρήθηκε ένας σαφής διαχωρισμός μεταξύ των τιμών των παραμέτρων G' και G'' , με τα δείγματα από ενζυμικά επεξεργασμένα μίγματα να εμφανίζουν υψηλότερες τιμές τόσο για την παράμετρο G' όσο και για την παράμετρο G'' από ότι τα δείγματα από ενζυμικά ανεπεξέργαστα μίγματα.



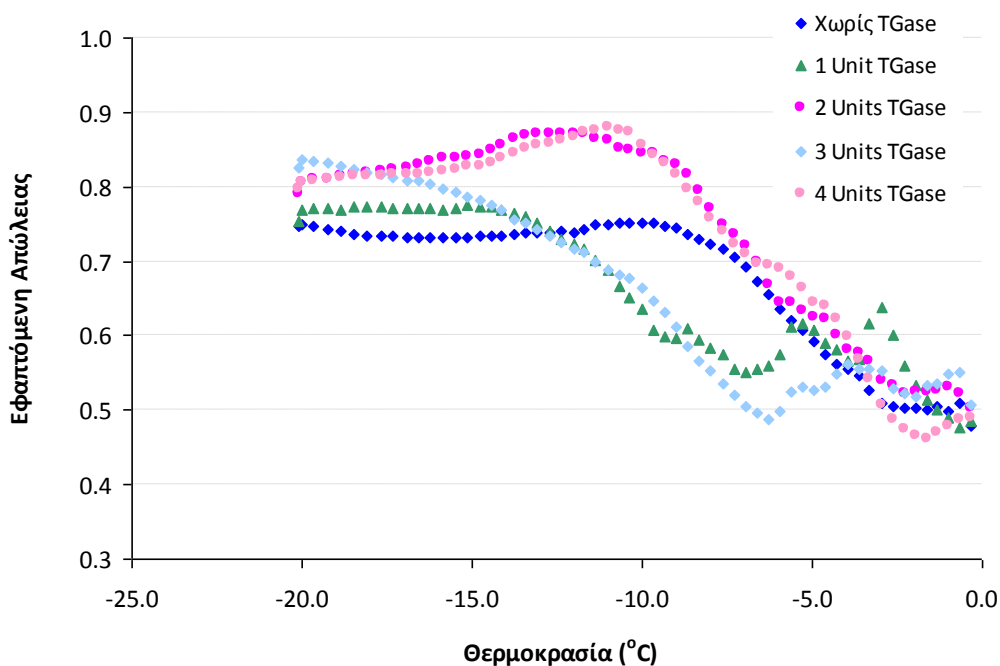
Διάγραμμα 6.2. Επίδρασης της Ενζυμικής Επεξεργασίας στις παραμέτρους των μέτρων αποθήκευσης, G' A) και απώλειας, G'' B) Δειγμάτων Παγωτού από θερμικά επεξεργασμένα μίγματα



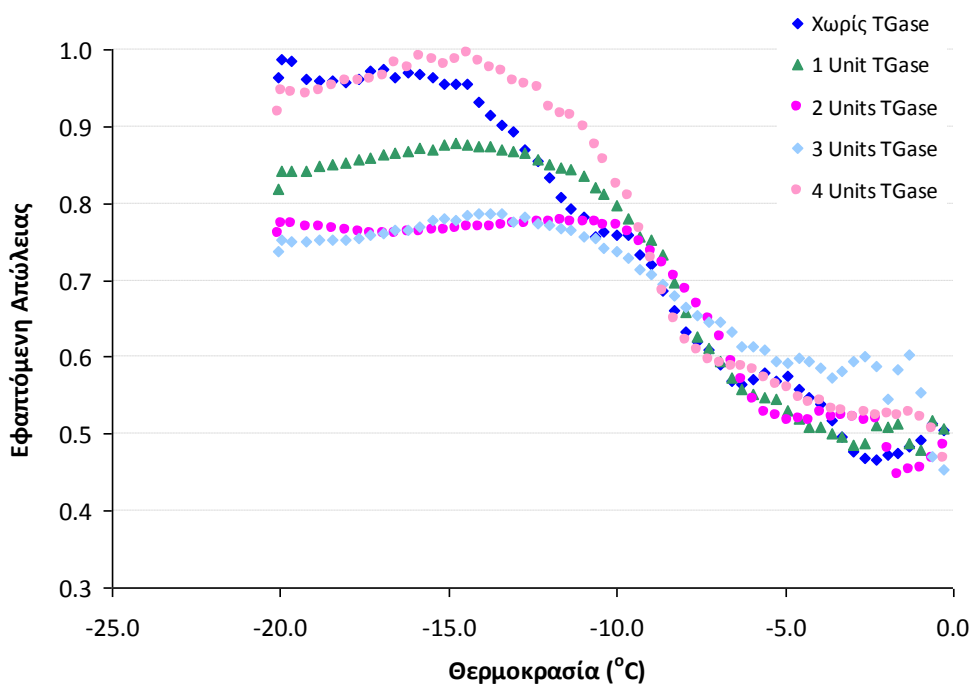
Διάγραμμα 6.3. Επίδρασης της Ενζυμικής Επεξεργασίας στις παραμέτρους των μέτρων αποθήκευσης, G' A) και απόλειπας, G'' B) Δειγμάτων Παγωτού από επεξεργασμένα με ΥΠ μίγματα

Τόσο στην περίπτωση των δειγμάτων από θερμικά επεξεργασμένα μίγματα (βλ. Διάγραμμα 6.4), όσο και στην περίπτωση των δειγμάτων από επεξεργασμένα με ΥΠ μίγματα (βλ. Διάγραμμα 6.5), στο θερμοκρασιακό εύρος που πραγματοποιήθηκε η θερμοκρασιακή σάρωση, δεν παρατηρήθηκε κάποια καθορισμένη τάση των τιμών της εφαπτομένης απόλειπας. Η μόνη κοινή παρατήρηση που μπορεί να γίνει είναι ότι, η ενζυμική επεξεργασία

των μιγμάτων παγωτού με συγκέντρωση ενζύμου 4,0 Units/g πρωτεΐνης, επέφερε αύξηση των τιμών της εφαπτόμενης απώλειας των μελετώμενων δειγμάτων, ανεξάρτητα από την προεπεξεργασία τους (θερμική ή με ΥΠ), σε όλο το μελετώμενο θερμοκρασιακό εύρος.

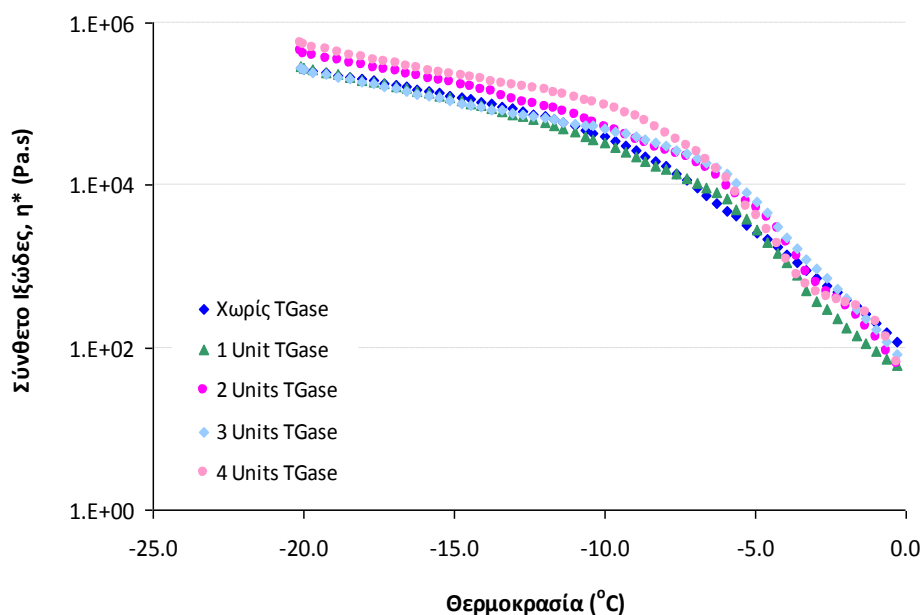


Διάγραμμα 6.4. Επίδρασης της Ενζυμικής Επεξεργασίας στην παράμετρο της εφαπτόμενης απώλειας ($\tan\delta$) Δειγμάτων Παγωτού από θερμικά επεξεργασμένα μίγματα

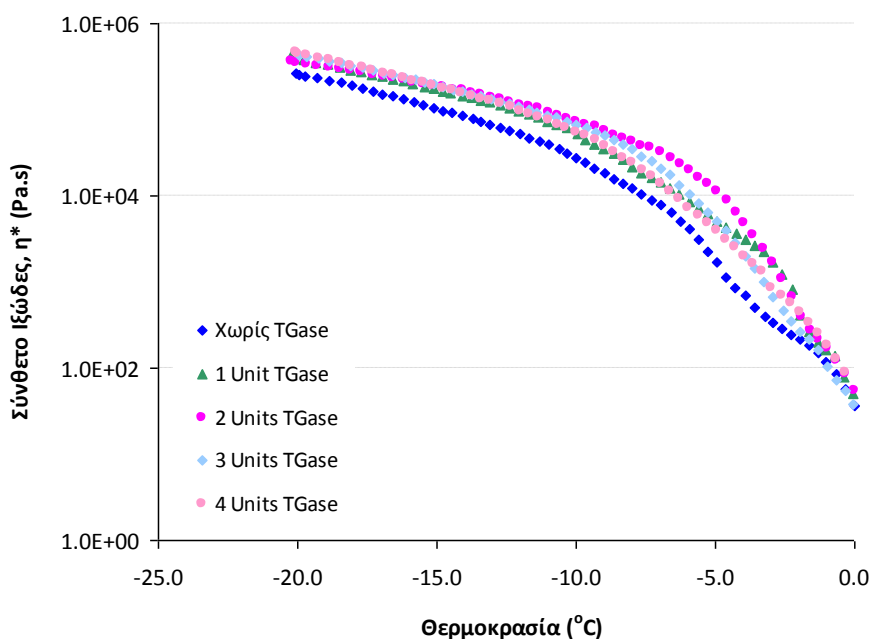


Διάγραμμα 6.5. Επίδρασης της Ενζυμικής Επεξεργασίας στην παράμετρο της εφαπτόμενης απώλειας ($\tan\delta$) Δειγμάτων Παγωτού από επεξεργασμένα με ΥΠ μίγματα

Οι τιμές του σύνθετου ιξώδους (η^*) των εξεταζόμενων δειγμάτων φάνηκαν να αυξάνονται στην περίπτωση των θερμικά και ακολούθως ενζυμικά επεξεργασμένων μιγμάτων συγκριτικά με τα δείγματα από θερμικά επεξεργασμένα μίγματα μόνο (βλ. Διάγραμμα 6.6), ιδίως στο εύρος συγκεντρώσεων 2,0-4,0 Units/g πρωτεΐνης, ενώ στην περίπτωση των επεξεργασμένων με ΥΠ μιγμάτων, οι τιμές του σύνθετου ιξώδους αυξήθηκαν τόσο λόγω της εφαρμογής της ενζυμικής επεξεργασίας όσο και με αύξηση της συγκέντρωσης του χρησιμοποιούμενου ενζύμου (βλ. Διάγραμμα 6.7), σε όλο το εύρος συγκεντρώσεων του χρησιμοποιούμενου ενζύμου.



Διάγραμμα 6.6. Επίδραση της Ενζυμικής Επεξεργασίας στο Σύνθετο ιξώδες (η^*) Παγωτού από θερμικά επεξεργασμένα μίγματα

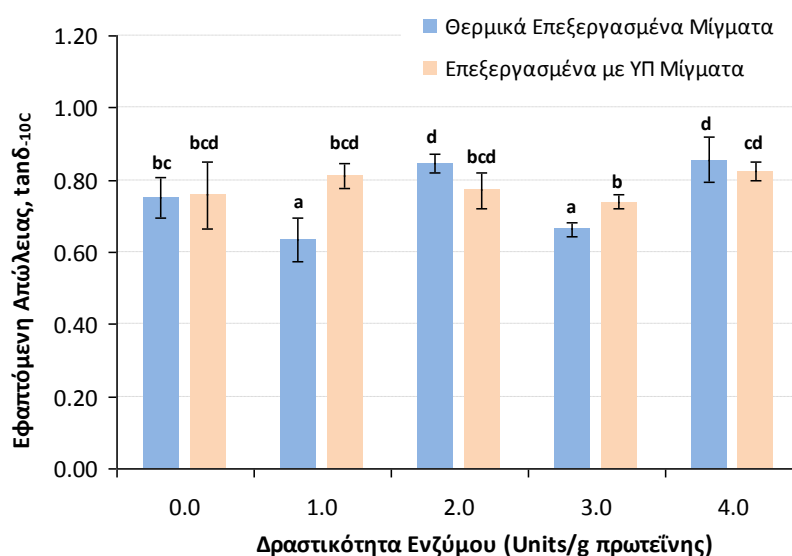


Διάγραμμα 6.7. Επίδραση της Ενζυμικής Επεξεργασίας στο Σύνθετο ιξώδες Δειγμάτων Παγωτού από επεξεργασμένα με ΥΠ μίγματα

Δεδομένου ότι για την οργανοληπτική αξιολόγηση των προϊόντων παγωτού, τα δείγματα προτείνεται να αφήνονται προηγούμενα για θερμοκρασιακή εξισορρόπηση στους -15° με -13°C (Goff & Hartel 2013), ώστε να εξασφαλίζεται ότι η θερμοκρασία των δειγμάτων θα κυμαίνεται μεταξύ -12° και -8°C , επιλέχθηκε να αξιολογηθεί η ρεολογική συμπεριφορά των παραγόμενων παγωμένων προϊόντων μέσω του προσδιορισμού των τιμών της εφαιπτόμενης απώλειας (βλ. Διάγραμμα 6.8) και του σύνθετου ιξώδους (βλ. Διάγραμμα 6.9), σε αυτό το θερμοκρασιακό εύρος και συγκεκριμένα στη θερμοκρασία των -10°C .

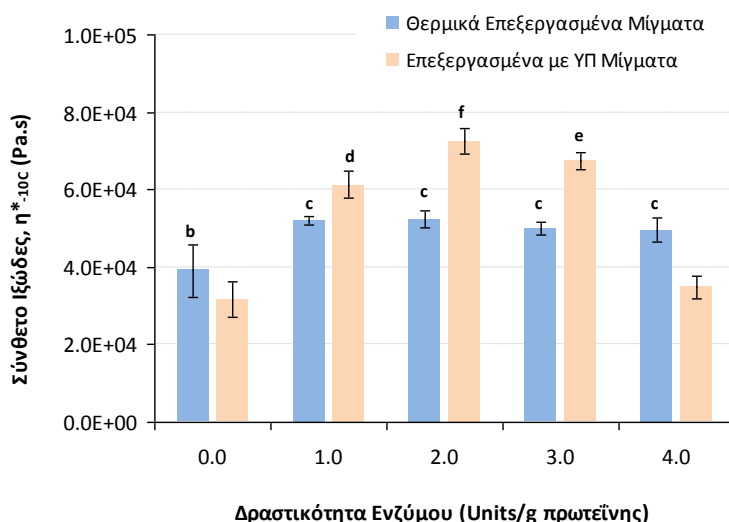
Κατά τον προσδιορισμό της ρεολογικής συμπεριφοράς των ρευστών υλικών, η εφαιπτόμενη απώλεια, ως ο λόγος του μέτρου απώλειας προς το μέτρο αποθήκευσης, αποτελεί ένα μέγεθος που χαρακτηρίζει την ιξωδοελαστικότητα των μελετώμενων συστημάτων. Αυτό σημαίνει ότι όσο ο λόγος τείνει προς τη μονάδα, τα συστήματα παρουσιάζουν ιξωδοελαστική συμπεριφορά, ενώ όσο απομακρύνεται σε τιμές χαμηλότερες ή υψηλότερες της μονάδας, τα συστήματα παρουσιάζουν πιο ελαστική ή πιο ιξώδη συμπεριφορά, αντίστοιχα (Mezger 2006).

Αναφορικά με τα αποτελέσματα της ανάλυσης της ιξωδοελαστικής συμπεριφοράς των παραγόμενων προϊόντων φάνηκε ότι, τόσο η προ-επεξεργασία των μιγμάτων παγωτού όσο και η συγκέντρωση της TGase επέφεραν σημαντική μεταβολή ($p < 0,05$ και $p < 0,001$ αντίστοιχα) στην ιξωδοελαστική συμπεριφορά των τελικών προϊόντων (βλ. Διάγραμμα 6.8). Στην περίπτωση όπου χρησιμοποιείται συγκέντρωση ενζύμου ίση με 1,0 ή 3,0 Units/g πρωτεΐνης, η τιμή της εφαιπτόμενης απώλειας μειώθηκε συγκρινόμενη με τις αντίστοιχες τιμές των υπόλοιπων δειγμάτων (μέση τιμή: 0,708 για συγκέντρωση ενζύμου 1,0 ή 3,0 Units/g πρωτεΐνης έναντι 0,814 για τις υπόλοιπες συγκεντρώσεις ενζύμου και τα ενζυμικά ανεπεξέργαστα δείγματα). Η μείωση της τιμής της εφαιπτόμενης απώλειας συνεπάγεται πιο ελαστική συμπεριφορά των δειγμάτων αυτών σε σύγκριση προς τα υπόλοιπα, και συνεπώς προϊόντα με συνεκτική και σταθερή δομή.



Διάγραμμα 6.8. Επίδρασης της Ενζυμικής Επεξεργασίας και της Επεξεργασίας με ΥΠ στην ιξωδοελαστική συμπεριφορά δειγμάτων παγωτού στους -10°C

Τα διαφορετικά γράμματα μεταξύ των ράβδων δείχνουν στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0,05$) μεταξύ των εξεταζόμενων δειγμάτων με βάση τη δοκιμή σύγκρισης μέσων όρων του Duncan (Duncan's mean values post hoc comparison test).



Διάγραμμα 6.9. Επίδρασης της Ενζυμικής Επεξεργασίας και της Επεξεργασίας με ΥΠ στο Σύνθετο ιξώδες δειγμάτων παγωτού στους -10°C

Τα διαφορετικά γράμματα μεταξύ των ράβδων δείχνουν στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0,05$) μεταξύ των εξεταζόμενων δειγμάτων με βάση τη δοκιμή σύγκρισης μέσω των όρων του Duncan (Duncan's mean values post hoc comparison test).

Αναφορικά με την επίδραση της επεξεργασίας με ΥΠ των μιγμάτων παγωτού, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η ιξωδοελαστική συμπεριφορά των εξεταζόμενων δειγμάτων επηρεάστηκε σημαντικά ($p < 0,05$) από την εφαρμογή της επεξεργασίας, ανεξαρτήτως εάν η ΥΠ εφαρμόστηκε μεμονωμένα ή συνδυασμένη με επακόλουθη ενζυμική επεξεργασία (μέση τιμή: 0,750 και 0,787 για τα δείγματα από για θερμικά επεξεργασμένα ή επεξεργασμένα με ΥΠ μίγματα αντίστοιχα). Όταν η επεξεργασία με ΥΠ των μιγμάτων συνδυάστηκε με επακόλουθη ενζυμική επεξεργασία σε συγκέντρωση ενζύμου ίση με 2,0-3,0 Units/g πρωτεΐνης, τα δείγματα εμφάνισαν παρόμοιες μέσες τιμές της εφαπτόμενης απώλειας, γεγονός που υποδηλώνει ότι πιθανόν οι συγκεκριμένες συγκεντρώσεις ενζύμου να είναι πιο αποτελεσματικές για τη συνεργιστική δράση των δύο τεχνολογιών, με αποτέλεσμα τη δημιουργία τελικών προϊόντων σταθερής δομής, σε σχέση με τα προϊόντα από μίγματα επεξεργασμένα με χαμηλότερες ή υψηλότερες από αυτές συγκεντρώσεις, ή ακόμα και οι ίδιες συγκεντρώσεις εφαρμοζόμενες όμως σε θερμικά επεξεργασμένα μίγματα παγωτού.

Τόσο η εφαρμογή εναλλακτικών τεχνολογιών επεξεργασίας του μίγματος παγωτού όσο και η συγκέντρωση του χρησιμοποιούμενου ενζύμου κατά την εφαρμογή της ενζυμικής επεξεργασίας επηρέασαν σημαντικά ($p < 0,001$) τις τιμές του σύνθετου ιξώδους των παραγόμενων δειγμάτων. Η εφαρμογή της ΥΠ στα μίγματα παγωτού επέφερε αύξηση των τιμών του σύνθετου ιξώδους σε σχέση με τις τιμές για τα δείγματα από θερμικά επεξεργασμένα μίγματα (μέση τιμή: 48.731 και 53.795 Pa·s για τα προϊόντα από μίγματα θερμικά επεξεργασμένα και επεξεργασμένα με ΥΠ αντίστοιχα). Συνολικά, η ενζυμική επεξεργασία των μιγμάτων παγωτού επέφερε και αυτή αύξηση της τιμής του σύνθετου ιξώδους των δειγμάτων σε θερμοκρασία -10°C (μέση τιμή: 3.409/56.490/62.667/58.357 και 542.391 Pa·s για συγκέντρωση ενζύμου 0,0/1,0/2,0/3,0 και 4,0 Units/g πρωτεΐνης αντίστοιχα). Αξίζει να σημειωθεί ότι, όταν η επεξεργασία με ΥΠ εφαρμόστηκε μεμονωμένα στα μίγματα παγωτού, η τιμή του σύνθετου ιξώδους των προϊόντων στη θερμοκρασία των

10°C φάνηκε να μειώνεται συγκριτικά με την αντίστοιχη τιμή των προϊόντων από θερμικά επεξεργασμένα μίγματα.

6.2 Χαρακτηριστικά Τήξης των Παραγόμενων Παγωτών

Αναφορικά με τα χαρακτηριστικά τήξης των παραγόμενων προϊόντων, όπως φάνηκε από τα αποτελέσματα, τόσο η ενζυμική επεξεργασία των μιγμάτων παγωτού όσο και η προ-επεξεργασία τους με ΥΠ οδήγησαν σε βελτίωση των χαρακτηριστικών τήξης των παραγόμενων παγωμένων προϊόντων (βλ. Πίνακα 6.2.).

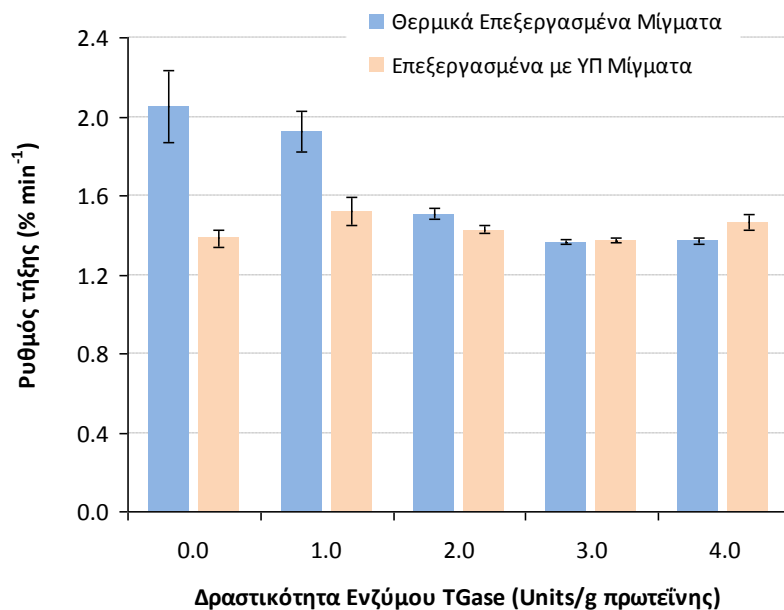
Παρατηρήθηκε ότι, η επεξεργασία με ΥΠ των μιγμάτων παγωτού επέφερε σημαντική μείωση του ρυθμού τήξης και αύξηση του χρόνου πτώσης της 1^{ης} σταγόνας, τόσο για τα δείγματα χωρίς περαιτέρω ενζυμική επεξεργασία όσο και για τα δείγματα που είχαν επεξεργαστεί ενζυμικά με χαμηλή συγκέντρωση TGase (1,0 Unit/g πρωτεΐνης). Αξίζει να σημειωθεί ότι, τα δείγματα που είχαν επεξεργαστεί μόνο με ΥΠ χωρίς περαιτέρω ενζυμική επεξεργασία, εμφάνισαν σημαντικά βελτιωμένα χαρακτηριστικά τήξης σε σχέση με τα δείγματα αναφοράς, παρόλο που δεν περιείχαν πρόσθετο σταθεροποιητή (βλ. Διαγράμματα 6.10-6.11).

Πίνακας 6.2. Χαρακτηριστικά τήξης Δειγμάτων Παγωτού από Διαφορετικά επεξεργασμένα μίγματα

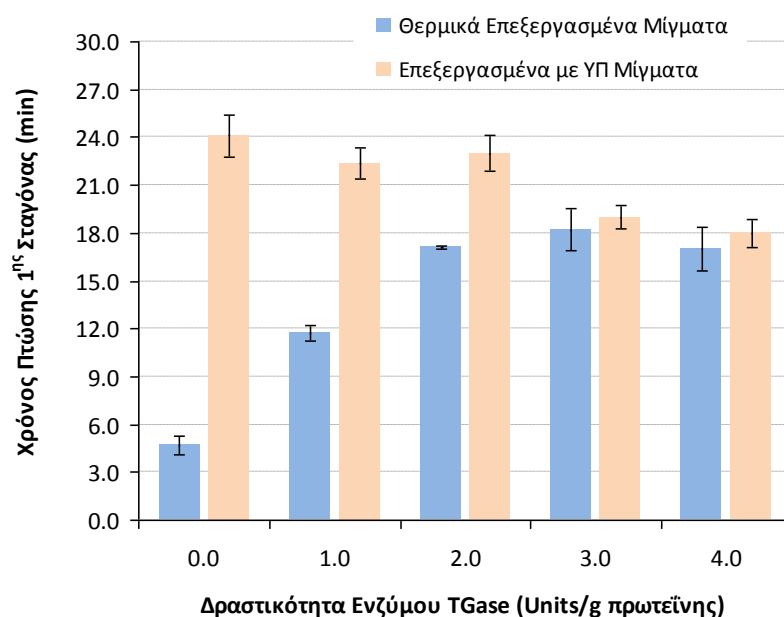
Δραστητικότητα Ενζύμου (Units/g πρωτεΐνης)	Χρόνος Πτώσης 1 ^{ης} Σταγόνας (min)	Ρυθμός Τήξης (%·min ⁻¹)
Δείγματα Παγωτού από Θερμικά Επεξεργασμένα Μείγματα		
0,0	4,7±0,6a	2,05±0,18ε
1,0	11,7±0,5b	1,92±0,03δ
2,0	17,1±0,1c	1,51±0,01βγ
3,0	18,2±1,3cd	1,37±0,01α
4,0	17,0±1,4c	1,37±0,06α
Δείγματα Παγωτού από Επεξεργασμένα με ΥΠ Μείγματα		
0,0	24,1±1,3f	1,38±0,04α
1,0	22,4±1,0e	1,52±0,07γ
2,0	23,0±1,1ef	1,43±0,02αβ
3,0	19,0±0,7d	1,37±0,01α
4,0	18,0±0,9cd	1,46±0,04βγ

Οι τιμές είναι οι μέσοι όροι ± τυπική απόκλιση τεσσάρων διαφορετικών πειραμάτων.

Τα διαφορετικά γράμματα μεταξύ των γραμμών των όμοιων παραμέτρων δείχνουν στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0,05$) μεταξύ των εξεταζόμενων δειγμάτων με βάση τη δοκιμή σύγκρισης μέσων όρων του Duncan (Duncan's mean values post hoc comparison test).



Διάγραμμα 6.10. Διάγραμμα Ρυθμού Τήξης του παγωτού για τις διαφορετικές επεξεργασίες του χρησιμοποιούμενου μίγματος και για διαφορετικά επίπεδα χρησιμοποιούμενου ενζύμου.



Διάγραμμα 6.11. Χρόνος Πτώσης της 1^{ης} Σταγόνας του παγωτού σε συνάρτηση των διαφόρων επεξεργασιών και των επιπέδων του χρησιμοποιούμενου ενζύμου.

Όσον αφορά στην επεξεργασία με TGase, από τα αποτελέσματα φάνηκε ότι αύξηση της συγκέντρωσης του χρησιμοποιούμενου ενζύμου οδήγησε σε βελτίωση των χαρακτηριστικών τήξης των παραγόμενων προϊόντων, ιδιαίτερα για συγκεντρώσεις ενζύμου μεταξύ 2,0 και 4,0 Units/g πρωτεΐνης (βλ. Διαγράμματα 6.10-6.11). Ωστόσο, αν και σε συγκέντρωση ενζύμου 1,0 Unit/g πρωτεΐνης δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές μεταβολές στα χαρακτηριστικά τήξης των προϊόντων σε σχέση με τα δείγματα αναφοράς, η επίδραση της ενζυμικής προεπεξεργασίας κρίνεται σημαντική αφού θα μπορούσε να αντικαταστήσει την προσθήκη του

σταθεροποιητικού μέσου (κόμμι γιουάρ). Επιπλέον, παρατηρήθηκε ότι συγκεντρώσεις ενζύμου μεγαλύτερες των 4,0 Units/g πρωτεΐνης, δεν βελτιώνουν περαιτέρω τα χαρακτηριστικά τήξης του μελετώμενου συστήματος.

Συγκεκριμένα, η ενζυμική επεξεργασία των θερμικά κατεργασμένων μιγμάτων παγωτού επέφερε αύξηση του χρόνου πτώσης της 1^{75} σταγόνας και μείωση του ρυθμού τήξης τους. Ο χρόνος πτώσης της πρώτης σταγόνας αυξήθηκε αναλογικά με τη συγκέντρωση της TGase στο εύρος δραστηριότητας μεταξύ 1,0-3,0 Units/g πρωτεΐνης. Ωστόσο, αν και σε δραστηριότητα ενζύμου ίση με 1,0 Unit/g πρωτεΐνης δεν παρατηρήθηκε σημαντική μεταβολή στο ρυθμό τήξης του προϊόντος σε σχέση με τα δείγματα αναφοράς, ο χρόνος πτώσης της 1^{75} σταγόνας μειώθηκε σημαντικά ($p < 0,05$), και ταυτόχρονα η επίδραση της ενζυμικής επεξεργασίας κρίθηκε σημαντική, αφού δύναται να αντικαταστήσει την προσθήκη του σταθεροποιητικού μέσου (κόμμι γιουάρ). Ο χρόνος πτώσης της πρώτης σταγόνας μεγιστοποιήθηκε σε συγκέντρωση ενζύμου ίση με 3,0 Units/g πρωτεΐνης, ενώ περαιτέρω αύξηση της συγκέντρωσης του ενζύμου δεν επέφερε αξιόλογη μεταβολή της τιμής του.

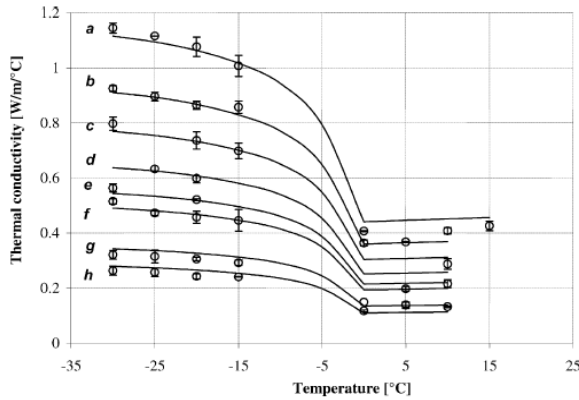
Η επεξεργασία των μιγμάτων παγωτού με ΥΠ οδήγησε και αυτή σε μείωση του ρυθμού τήξης των μελετώμενων παγωμένων προϊόντων και αύξηση του χρόνου πτώσης της 1^{75} σταγόνας, με τον τελευταίο να διπλασιάζεται σχεδόν (μέση τιμή χρόνου: 21,4 min), σε σχέση με τον αντίστοιχο χρόνο για τα δείγματα από θερμικά επεξεργασμένα μίγματα (μέση τιμή χρόνου: 13,7 min). Παρόμοια αποτελέσματα έχουν προκύψει και κατά την ομογενοποίηση μίγματος παγωτού με υψηλές πιέσεις σε συνθήκες 97/3 MPa (Innocente et al. 2009, Biasutti et al. 2013). Παρόλα αυτά, όμως, ο συνδυασμός μίας επακόλουθης ενζυμικής επεξεργασίας των μιγμάτων με TGase σε χαμηλές συγκεντρώσεις (1,0-2,0 Units/g πρωτεΐνης) δε φάνηκε να μεταβάλλει σημαντικά τα χαρακτηριστικά τήξης των παραγόμενων προϊόντων σε σχέση με τα αντίστοιχα χαρακτηριστικά των προϊόντων από μίγματα μόνο επεξεργασμένα με ΥΠ, αφού τα δύο αυτά χαρακτηριστικά βρέθηκαν να έχουν παρόμοιες ή ελαφρώς χαμηλότερες τιμές με τις αντίστοιχες για τα προϊόντα από μίγματα επεξεργασμένα μόνο με ΥΠ.

6.3 Θερμική Αγωγιμότητα των Παραγόμενων Παγωτών

Αναφορικά με αποτελέσματα των τιμών της θερμικής αγωγιμότητας παρατηρήθηκε ότι, τόσο η επεξεργασία με ΥΠ (μέση τιμή συντελεστή: 0,701 W/m·K) όσο και η ενζυμική επεξεργασία σε δραστηριότητες ενζύμου 3,0-4,0 Units/g πρωτεΐνης (μέση τιμή συντελεστή: 0,657 W/m·K) του μίγματος του παγωτού, μεμονωμένες ή σε σειρά εφαρμοζόμενες, οδήγησαν σε σημαντική αύξηση των τιμών της στα τελικά προϊόντα (μέση τιμή συντελεστή: 0,355 W/m·K για τα προϊόντα από συμβατικά επεξεργασμένα μίγματα και προσθήκη σταθεροποιητή). Επιπλέον, κυρίως στις περιπτώσεις όπου χρησιμοποιήθηκαν θερμικά επεξεργασμένα μίγματα, παρατηρήθηκε ότι αύξηση της δραστηριότητας του χρησιμοποιούμενου ενζύμου οδήγησε σε αύξηση των τιμών της θερμικής αγωγιμότητας (βλ. *Διάγραμμα 6.12*).

Η αύξηση της τιμής της θερμικής αγωγιμότητας σχετίζεται με τη μείωση του πορώδους του μελετούμενου συστήματος (Cogné et al. 2003, βλ. *Εικόνα 6.1*). Με βάση λοιπόν τα αποτελέσματα για τη θερμική αγωγιμότητα των παραγόμενων παγωμένων προϊόντων (όπως

αυτή μετρήθηκε στους -25°C), το πορώδες των μελετώμενων προϊόντων φαίνεται να προσεγγίζει το ποσοστό 60% για τα προϊόντα αναφοράς (δείγματα από ομογενοποιημένα και θερμικά επεξεργασμένα μίγματα), το ποσοστό 33% για τα προϊόντα από θερμικά και ακολούθως ενζυμικά (3,0-4,0 Units/g πρωτεΐνης) επεξεργασμένα, και το ποσοστό 23% για τα προϊόντα από επεξεργασμένα μόνο με ΥΠ μίγματα.

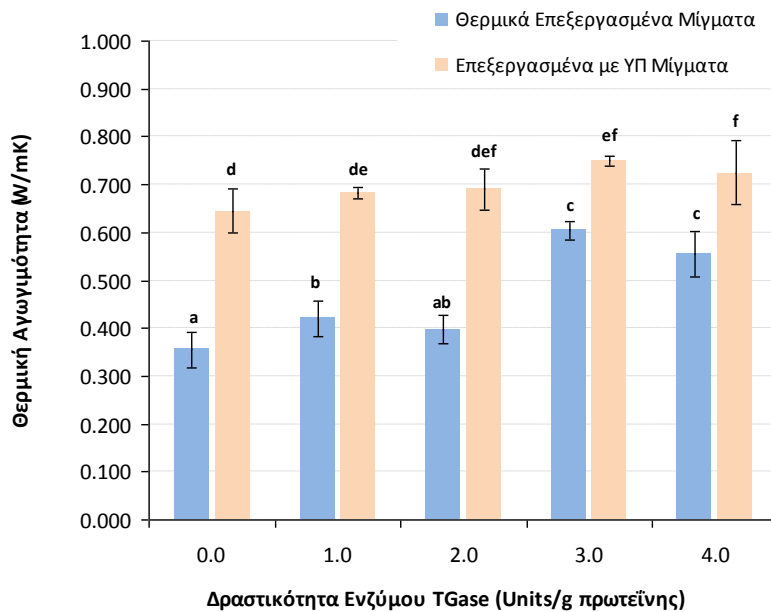


Εικόνα 6.1.

Διάγραμμα συσχέτισης της Θερμικής Αγωγιμότητας παγωτού με το πορώδες του μελετώμενου συστήματος με βάση τους

Cogné et al. 2003

Fig. 10. Thermal conductivity of overrun ice cream. Porosity and temperature influence. Porosity: a = 0%, b = 13%, c = 23%, d = 33%, e = 41%, f = 46%, g = 60%, and h = 67%.



Διάγραμμα 6.12. Επίδρασης της Ενζυμικής Επεξεργασίας και της Επεξεργασίας με ΥΠ στη Θερμική Αγωγιμότητα δειγμάτων παγωτού

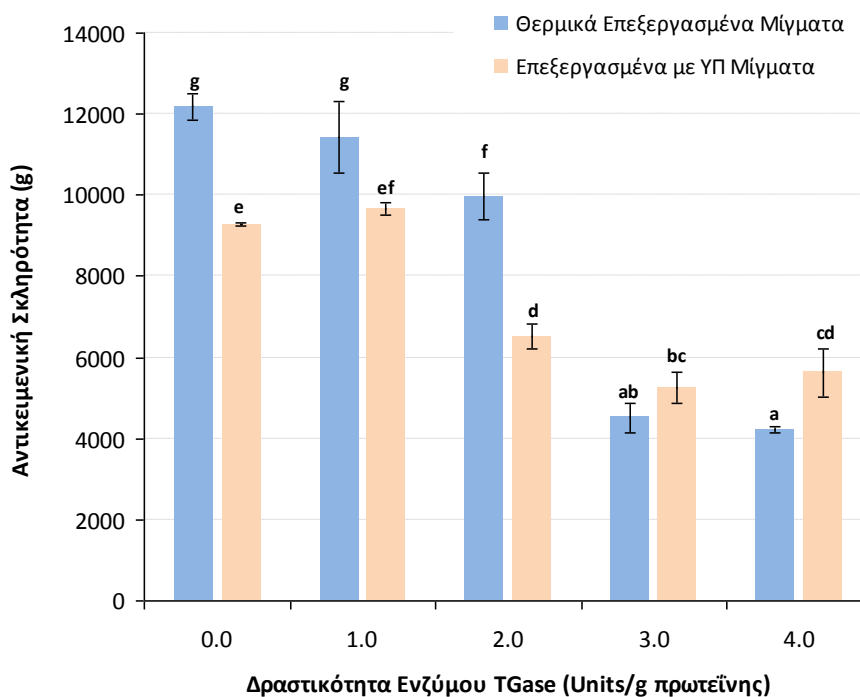
(Τα διαφορετικά γράμματα μεταξύ των ράβδων δείχνουν στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0,05$) μεταξύ των εξεταζόμενων δειγμάτων με βάση τη δοκιμή σύγκρισης μέσων όρων του Duncan (Duncan's mean values post hoc comparison test).

Συνεπώς, τόσο η επεξεργασία με ΥΠ όσο και η επεξεργασία με TGase σε δραστικότητες ενζύμου της τάξης του 3,0-4,0 Units/g πρωτεΐνης, εφαρμοζόμενη είτε μεμονωμένα είτε ακόμα περισσότερο ακολούθως της επεξεργασίας με ΥΠ, είναι δυνατόν να συμβάλλουν στη μείωση του πορώδους του μελετώμενου συστήματος λόγω του σχηματισμού πυκνότερου πρωτεϊνικού δικτύου.

6.4 Ανάλυση Υφής των Παραγόμενων Παγωτών

Από την ανάλυση υφής των παραγόμενων κατεψυγμένων προϊόντων φάνηκε ότι, τόσο η ενζυμική επεξεργασία όσο και η επεξεργασία με ΥΠ του μίγματος παγωτού επηρέασε σημαντικά ($p < 0,001$) την υφή των τελικών προϊόντων (βλ. Διάγραμμα 6.13).

Και οι δύο επεξεργασίες επέφεραν μείωση των τιμών της αντικειμενικής σκληρότητας των αντίστοιχων προϊόντων συγκριτικά με τις τιμές για τα δείγματα των οποίων τα μίγματα υποβλήθηκαν μόνο σε θερμική επεξεργασία (μέση τιμή σκληρότητας: 8.470 και 5.527 g για τα προϊόντα από μίγματα θερμικά επεξεργασμένα και επεξεργασμένα με ΥΠ αντίστοιχα). Η συγκέντρωση του ενζύμου φάνηκε να επηρεάζει σημαντικά ($p < 0,001$) τις τιμές της αντικειμενικής σκληρότητας σε όλο το εύρος συγκεντρώσεων του ενζύμου, ανεξάρτητα του είδους επεξεργασίας. Επιπρόσθετα παρατηρήθηκε ότι, η εφαρμογή των μελετώμενων εναλλακτικών επεξεργασιών στα μίγματα του παγωτού είχαν συνεργιστική δράση στη μείωση της παραμέτρου της αντικειμενικής σκληρότητας στην περιοχή ενζυμικών συγκεντρώσεων 1,0-3,0 Units/g πρωτεΐνης.



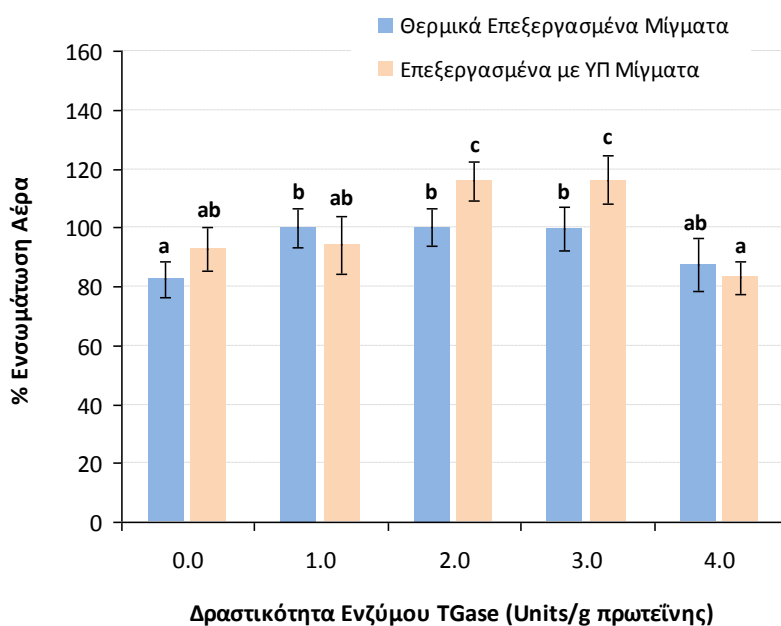
Διάγραμμα 6.13. Επίδρασης της Ενζυμικής Επεξεργασίας και της Επεξεργασίας με ΥΠ στην Αντικειμενική Σκληρότητα δειγμάτων παγωτού

(Γα διαφορετικά γράμματα μεταξύ των ράβδων δείχνουν στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0,05$) μεταξύ των εξεταζόμενων δειγμάτων με βάση τη δοκιμή σύγκρισης μέσω των όρων του Duncan (Duncan's mean values post hoc comparison test).

6.5 Προσδιορισμός του Ποσοστού Ενσωμάτωσης Αέρα

Η ενζυμική επεξεργασία των μιγμάτων παγωτού επέφερε αύξηση της ικανότητά τους στην ενσωμάτωση αέρα σε σχέση με τα μίγματα αναφοράς (θερμικά επεξεργασμένα). Η αύξηση αυτή βρέθηκε ανάλογη της συγκέντρωσης του χρησιμοποιούμενου ενζύμου μέχρι την

περιοχή των 3,0 Units/g πρωτεΐνης (μέση τιμή ποσοστού: 87,1/99,6/107,4 και 108,2% για συγκέντρωση ενζύμου 0,0/1,0/2,0 και 3,0 Units/g πρωτεΐνης αντίστοιχα), ενώ σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις φάνηκε να μειώνεται, παραμένοντας ωστόσο στα επίπεδα ενσωμάτωσης αέρα που επιτυγχάνονται με χρήση σταθεροποιητών (μέση τιμή ποσοστού: 87,1 και 86,4% για συγκέντρωση ενζύμου 0,0 και 4,0 Units/g πρωτεΐνης αντίστοιχα, βλ. *Διάγραμμα 6.14*). Με βάση τα διαθέσιμα βιβλιογραφικά δεδομένα (Færgemand et al. 1999a) για την επίδραση της ενζυμικής επεξεργασίας στις πρωτεΐνες του γάλακτος, η TGase πολυμερίζει τις καζεΐνες μέσω ομοιοπολικών και ενδομοριακών δεσμών καθιστώντας τις ικανές να σταθεροποιούν τα γαλακτώματα και τους αφρούς. Έτσι, ο σχηματισμός καζεϊνικών πολυμερών με τη συμμετοχή φυσαλίδων αέρα σχετίζεται με την αύξηση του όγκου και τη σταθεροποίηση των φυσαλίδων αέρα στα μελετώμενα δείγματα.



Διάγραμμα 6.14. Επίδρασης της Ενζυμικής Επεξεργασίας και της Επεξεργασίας με ΥΠ στην Ικανότητα Ενσωμάτωσης Αέρα μιγμάτων παγωτού

(Τα διαφορετικά γράμματα μεταξύ των ράβδων δείχνουν στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0,05$) μεταξύ των εξεταζόμενων δειγμάτων με βάση τη δοκιμή σύγκρισης μέσων όρων του Duncan (Duncan's mean values post hoc comparison test).

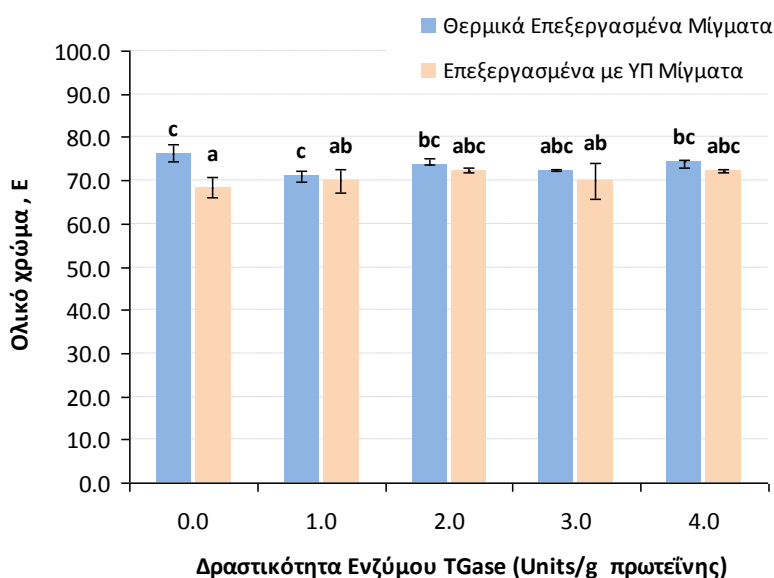
Παρόμοια αποτελέσματα λήφθηκαν και για τις περιπτώσεις των μιγμάτων που υποβλήθηκαν σε επεξεργασία με ΥΠ. Η εφαρμογή της ΥΠ επέφερε αύξηση του ποσοστού ενσωμάτωσης αέρα των μιγμάτων σε σχέση με τα θερμικά επεξεργασμένα μίγματα (βλ. *Διάγραμμα 6.14*). Η επακόλουθη ενζυμική επεξεργασία των μιγμάτων επέφερε ακόμη μεγαλύτερη αύξηση του ποσοστού ενσωμάτωσης αέρα, ανάλογη της συγκέντρωσης του χρησιμοποιούμενου ενζύμου μέχρι την περιοχή των 3,0 Units/g πρωτεΐνης, υποδηλώνοντας τη συνεργιστική επίδραση των δύο αυτών τεχνολογιών στην παρούσα παράμετρο.

Το ποσοστό ενσωμάτωσης του αέρα σχετίζεται ακόμη και με την αντικειμενική σκληρότητα των δειγμάτων. Έτσι, αύξηση του ποσοστού ενσωμάτωσης αέρα οδηγεί σε πιο μαλακά τελικά προϊόντα και επομένως σε χαμηλότερες τιμές αντικειμενικής σκληρότητας

(Wilbey et al. 1998). Από τη σύγκριση των αποτελεσμάτων της αντικειμενικής σκληρότητας και του ποσοστού ενσωμάτωσης αέρα των μελετώμενων προϊόντων προκύπτει ότι, οι δύο εναλλακτικές τεχνολογίες που εφαρμόστηκαν στα μίγματα του παγωτού, εφαρμοζόμενες μεμονωμένα ή και σε σειρά, επιβεβαιώνουν την παραπάνω υπόθεση, με τα καλύτερα αποτελέσματα να παρατηρούνται για τα δείγματα των οποίων τα μίγματα επεξεργάστηκαν ενζυμικά σε συγκέντρωση ενζύμου ίση με 3,0 Units/g πρωτεΐνης, ανεξαρτήτως οποιασδήποτε άλλης επεξεργασίας.

6.6 Μέτρηση του χρώματος

Καθώς όπως έχει αναφερθεί σε σχετική βιβλιογραφία (Gervilla et al. 2001) η ΥΠ μεταβάλλει το ελαφρώς το χρώμα των επεξεργαζόμενων δειγμάτων κυρίως ως προς τη φωτεινότητα (L) και ως προς το κίτρινο (+b), κρίθηκε σκόπιμη η διαγραμματική παρουσία των παραμέτρων E (ολικό χρώμα), L (φωτεινότητα) και b (κίτρινο) των μελετώμενων δειγμάτων. Παρακάτω παρουσιάζεται η μεταβολή των τριών αυτών παραμέτρων συγκριτικά με τη χρήση των δύο τεχνολογιών (βλ. *Διαγράμματα 6.15-6.17*).

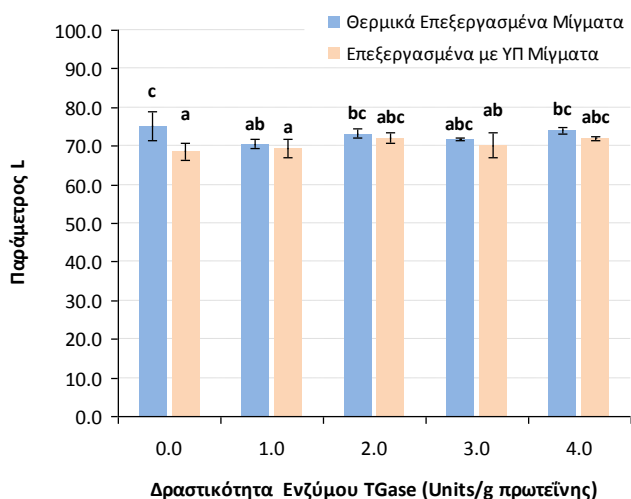


Διάγραμμα 6.15. Ολική μεταβολή του χρώματος E, για τα προϊόντα παγωτού σε συνάρτηση των διαφόρων επεξεργασιών και των επιπέδων του χρησιμοποιούμενου ενζύμου.

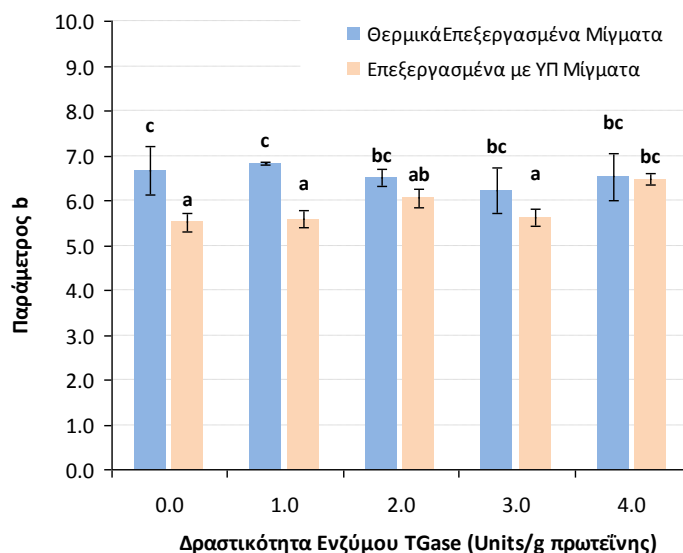
(Τα διαφορετικά γράμματα μεταξύ των ράβδων δείχνουν στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0,05$) μεταξύ των εξεταζόμενων δειγμάτων με βάση τη δοκιμή σύγκρισης μέσων όρων του Duncan (Duncan's mean values post hoc comparison test).

Όπως παρατηρείται από το *Διάγραμμα 6.15*, το ολικό χρώμα E μειώθηκε ελαφρώς για τα δείγματα που παρασκευάστηκαν από μίγματα επεξεργασμένα με TGase ή/και ΥΠ. Επίσης, μικρή μείωση παρατηρήθηκε στις τιμές της παραμέτρου L (φωτεινότητα) (βλ. *Διάγραμμα 6.16*) για τα δείγματα που παρασκευάστηκαν από μίγματα επεξεργασμένα με TGase ή/και ΥΠ σε σχέση τα συμβατικά παρασκευασμένα δείγματα. Η μείωση αυτή μπορεί να οφείλεται κυρίως στην αποσυσσωμάτωση των μικκυλίων της καζεΐνης εξαιτίας της πίεσης σε μικρά θραύσματα, τα οποία αυξάνουν την διαύγεια του γάλακτος (Johnston 1995).

Παρόμοια συμπεριφορά παρατηρήθηκε και για την παράμετρο b (βλ. Διάγραμμα 6.17), στην οποία παρατηρήθηκε μια ελαφρά μείωση, το οποίο έρχεται σε αντίθεση με τα αποτελέσματα μιας σχετική μελέτης των Gervilla et al. (2001), όπου η τιμή του b παρουσίασε αύξηση. Όπως παρατηρήθηκε ύστερα από στατική ανάλυση διακύμανσης (ANOVA), σημαντική επίδραση στη μεταβολή και των τριών παραμέτρων E ($p < 0,001$), L ($p < 0,05$) και b ($p < 0,001$) είχε το είδος της επεξεργασίας και όχι η μεταβολή της ενζυμικής συγκέντρωσης. Ωστόσο, οι μεταβολές αυτές στις τιμές των παραμέτρων δεν ήταν οπτικά εμφανείς για κανένα από τα μελετώμενα δείγματα, υποδηλώνοντας έτσι τη χαμηλή ευαισθησία του χρώματος στις μελετώμενες τεχνολογίες.



Διάγραμμα 6.16. Μεταβολή της παραμέτρου L του χρώματος, για τα προϊόντα παγωτού σε συνάρτηση των διαφόρων επεξεργασιών και των επιπέδων του χρησιμοποιούμενου ενζύμου.

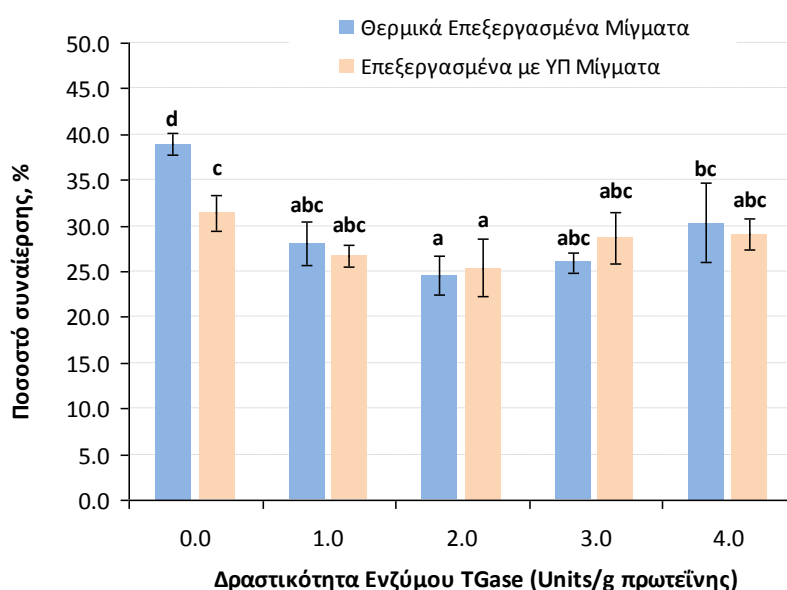


Διάγραμμα 6.17. Μεταβολή της παραμέτρου b του χρώματος, για τα προϊόντα παγωτού σε συνάρτηση των διαφόρων επεξεργασιών και των επιπέδων του χρησιμοποιούμενου ενζύμου.

(Τα διαφορετικά γράμματα μεταξύ των ράβδων δείχνουν στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0,05$) μεταξύ των εξεταζόμενων δειγμάτων με βάση τη δοκιμή σύγκρισης μέσων όρων του Duncan (Duncan's mean values post hoc comparison test).

6.7 Εκτίμηση του Βαθμού Συναίρεσης των Παραγομένων Παγωτών

Αναφορικά με το ποσοστό συναίρεσης στα δείγματα παγωτού παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < 0,05$) μεταξύ των διαφορετικών δειγμάτων. Στο *Διάγραμμα 6.18* παρουσιάζεται η επίδραση των δύο τεχνολογιών στο ποσοστό συναίρεσης. Τόσο η ενζυμική επεξεργασία τόσο και η επεξεργασία με ΥΠ των μιγμάτων παγωτού οδήγησαν με δείγματα παγωτού με χαμηλότερα ποσοστά συναίρεσης από το δείγμα αναφοράς, το οποίο περιείχε σταθεροποιητικό μέσω (κόμμι γκουάρ). Ωστόσο, αν και η ενζυμική επεξεργασία οδήγησε σε σημαντική μείωση των ποσοστών συναίρεσης ($p < 0,001$), η αύξηση της συγκέντρωσης της TGase δεν επέφερε αναλογικές μεταβολές στις τιμές της συναίρεσης των παγωτών. Συγκεκριμένα, η προσθήκη ενζύμου δραστηριότητας μεγαλύτερης των 3,0 Units/g πρωτεΐνης, φάνηκε να αυξάνει ελαφρά το ποσοστό συναίρεσης σε σχέση με δείγματα που περιείχαν χαμηλότερη δραστηριότητα ενζύμου.



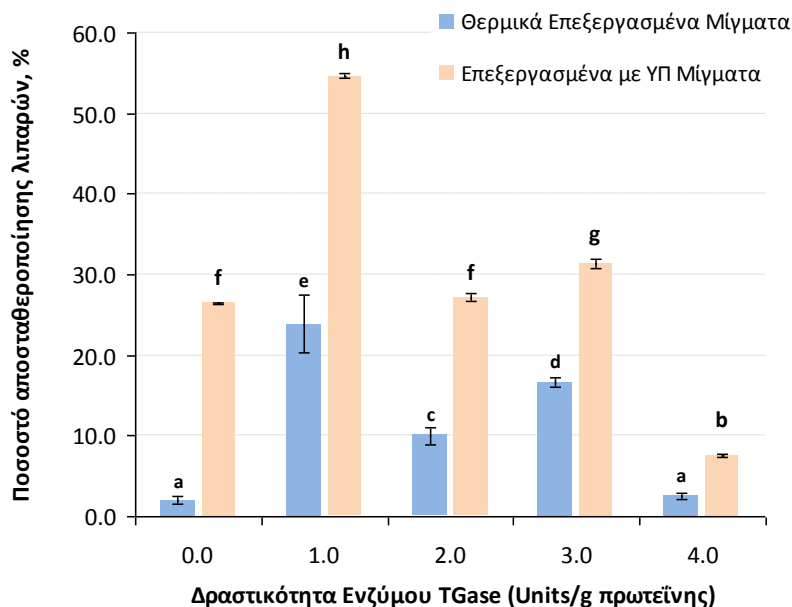
Διάγραμμα 6.18. Μεταβολή του ποσοστού συναίρεσης, για τα προϊόντα παγωτού σε συνάρτηση των διαφόρων επεξεργασιών και των επιπέδων του χρησιμοποιούμενου ενζύμου.

(Τα διαφορετικά γράμματα μεταξύ των ράβδων δείχνουν στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0,05$) μεταξύ των εξεταζόμενων δειγμάτων με βάση τη δοκιμή σύγκρισης μέσων όρων του Duncan (Duncan's mean values post hoc comparison test).

6.8 Εκτίμηση του Δείκτη Αποσταθεροποίησης των Λιπαρών

Όσον αφορά στο ποσοστό των αποσταθεροποιημένων λιπαρών στα δείγματα παγωτού παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές. Από το *Διάγραμμα 6.19* φαίνεται η επίδραση των δύο τεχνολογιών στην αποσταθεροποίηση των λιπαρών. Η επεξεργασία με ΥΠ φαίνεται να οδηγεί σε σημαντική αύξηση ($p < 0,001$) του ποσοστού αποσταθεροποίησης των λιπαρών σε σχέση με το δείγμα αναφοράς, το οποίο μάλιστα περιείχε στη συνταγή του και σταθεροποιητικό μέσο. Παράλληλα, και η ενζυμική επεξεργασία επιφέρει σημαντική αύξηση ($p < 0,001$) του ποσοστού αποσταθεροποίησης των λιπαρών, αλλά σε μικρότερο βαθμό από την ΥΠ. Συγκριτικά με προηγούμενα βιβλιογραφικά δεδομένα (Metwally 2007),

οι μετρούμενες τιμές αποσταθεροποίησης των λιπαρών προέκυψαν αρκετά υψηλότερες για τα δείγματα της παρούσας μελέτης. Συγκεκριμένα, σε παγωτά χαμηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά (5%) και τα οποία περιείχαν περίπου τριπλάσια ποσότητα σταθεροποιητικού μέσου (0,7%) από τα δείγματα παγωτού της παρούσας εργασίας, έχουν παρατηρηθεί τιμές αποσταθεροποίησης λιπαρών της τάξεως του 2,5%. Αξίζει να σημειωθεί ότι και για τις δύο μεθόδους επεξεργασίας, τα μεγαλύτερα ποσοστά αποσταθεροποίησης λιπαρών παρατηρήθηκαν για συγκέντρωση ενζύμου 1,0 Unit/g πρωτεΐνης.



Διάγραμμα 6.19. Μεταβολή του ποσοστού αποσταθεροποίησης των λιπαρών, για τα προϊόντα παγωτού σε συνάρτηση των διαφόρων επεξεργασιών και των επιπέδων του χρησιμοποιούμενου ενζύμου.

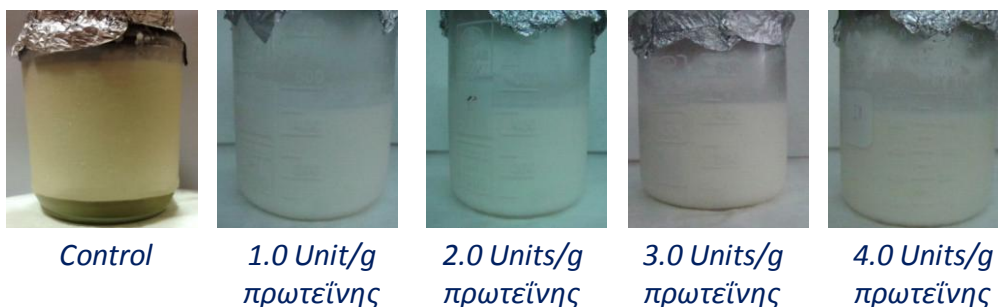
(Τα διαφορετικά γράμματα μεταξύ των ράβδων δείχνουν στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0,05$) μεταξύ των εξεταζόμενων δειγμάτων με βάση τη δοκιμή σύγκρισης μέσων όρων του Duncan (Duncan's mean values post hoc comparison test).

6.9 Μακροσκοπική Παρατήρηση του Βαθμού Διαχωρισμού των Παραγόμενων Μιγμάτων Παγωτού λόγω της Επίδρασης του Χρησιμοποιούμενου Σταθεροποιητή

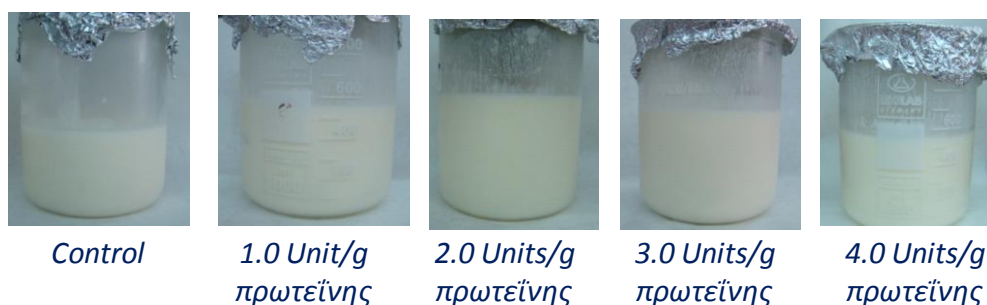
Όπως έχει παρατηρηθεί σε πληθώρα ερευνών, η παρουσία υδροκολλοειδών στα μίγματα παγωτού προκαλεί διαχωρισμό των μιγμάτων σε δύο υδατικές φάσεις, μια πλούσια σε πρωτεΐνες και μια πλούσια σε πολυσακχαρίτες (Bourriot et al. 1999a, 1999b, Patmore et al. 2003). Αυτό το φαινόμενο συνδέεται με την ασυμβατότητα των υδροκολλοειδών με τις πρωτεΐνες γάλακτος και κυρίως τις καζεΐνες. Στη βιομηχανία, για την αποφυγή του μακροσκοπικού διαχωρισμού φάσεων χρησιμοποιείται ευρέως κατά την παρασκευή των μιγμάτων παγωτού μίγμα σταθεροποιητικών μέσων, που περιλαμβάνουν και την καρραγεννάνη, σταθεροποιητής που μπορεί να μειώσει (μακροσκοπικά, όχι μικροσκοπικά) την εμφάνιση αυτού του φαινομένου.

Στην παρούσα μελέτη, διαπιστώθηκε ότι οι τεχνολογίες της ΥΠ και της ενζυμικής επεξεργασίας μπορούν να συμβάλλουν στη μείωση της εμφάνισης αυτού του φαινομένου. Όπως παρατηρήθηκε σε μίγματα που παρασκευάστηκαν με την προσθήκη σταθεροποιητή (κόμμα γιουάρ) και επεξεργάστηκαν είτε ενζυμικά ή/και με υπερυψηλή πίεση, τα μίγματα δεν εμφάνισαν διαχωρισμό σε δύο φάσεις, συγκριτικά με τα μίγματα που παρασκευάστηκαν κατόπιν συμβατικής ομογενοποίησης και θερμικής επεξεργασίας (βλ. *Εικόνα 6.2*).

Θερμικά Επεξεργασμένα Μίγματα



Επεξεργασμένα με ΥΠ Μίγματα



Εικόνα 6.2. Μίγματα Παγωτού κατόπιν της διαδικασίας της Ωρίμανσης στους 4°C για 16 h

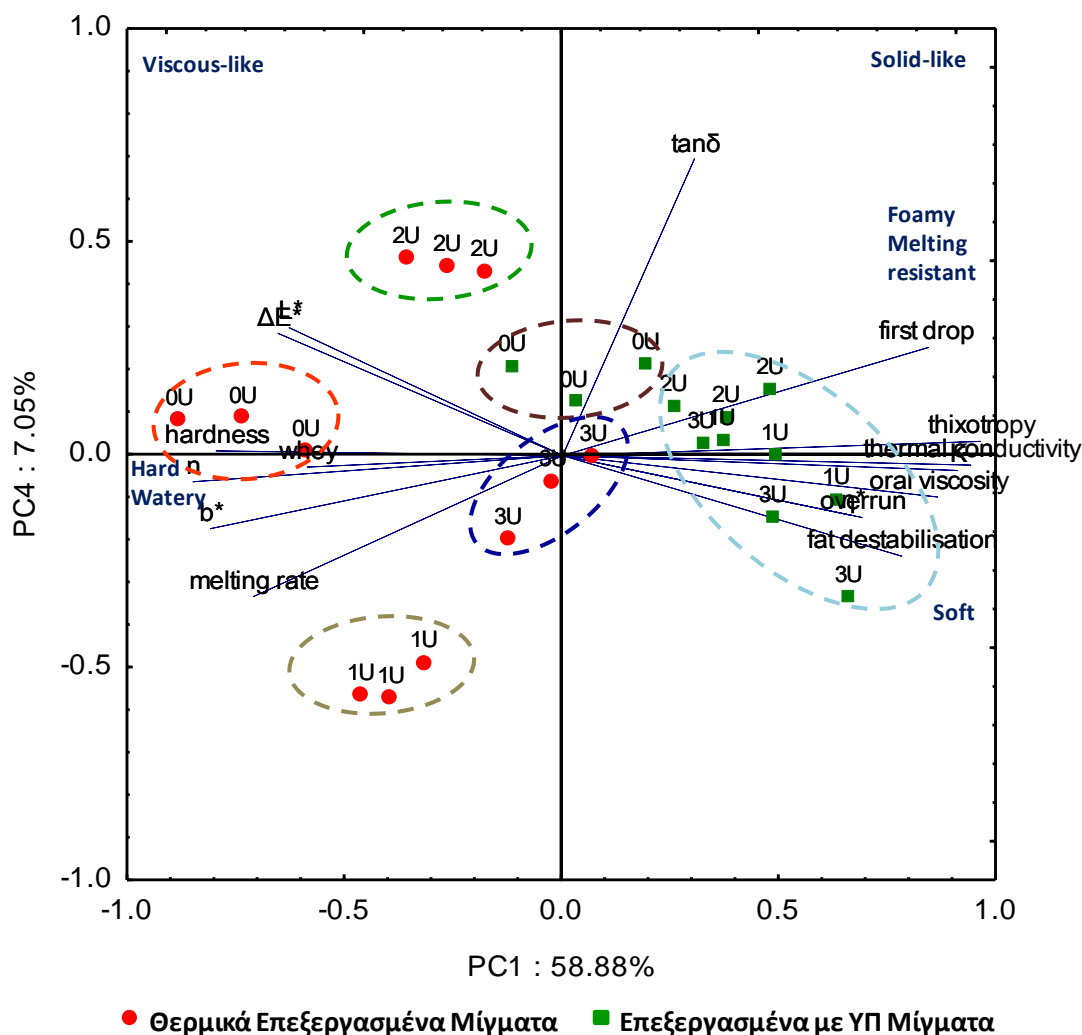
Ποσοτικά ο διαχωρισμός φάσεων προσδιορίστηκε μέσω μέτρησης του ύψους των δύο φάσεων σε βαθμονομημένο δοκιμαστικό σωλήνα και βρέθηκε ότι τα μίγματα παγωτού που είχαν υποστεί συμβατική ομογενοποίηση και θερμική επεξεργασία εμφάνισαν μία φάση ορού της τάξης του $17 \pm 0,5\%$ επί του συνολικού τους όγκου. Αντίθετα, στα μίγματα που είχαν υποστεί είτε ενζυμική επεξεργασία με TGase είτε επεξεργασία με ΥΠ ή συνδυασμό τους, δεν παρατηρήθηκε μετρήσιμος μικροσκοπικός διαχωρισμός φάσεων ($< 1\%$ επί του συνολικού όγκου). Παρόλα αυτά, θα πρέπει να τονισθεί ότι, δεν είναι γνωστό εάν η χρήση των παραπάνω τεχνολογιών αναστέλλει και μικροσκοπικά την εμφάνιση αυτού του φαινομένου. Μια πιθανή εξήγηση της μη εμφάνισης του διαχωρισμού φάσεων είναι ότι η χρήση των τεχνολογιών αυτών επιδρά στις πρωτεΐνες, με αποτέλεσμα την αύξηση του βαθμού γαλακτωματοποίησης της πρωτεϊνικής φάσης, ο οποίος συνδέεται άμεσα με το μικροσκοπικό διαχωρισμό φάσεων.

6.10 Σχολιασμός της Επίδρασης της Εφαρμοζόμενης Επεξεργασίας του Μίγματος Παγωτού στα Ποιοτικά Χαρακτηριστικά του Τελικού Προϊόντος

Προκειμένου να μελετηθεί περαιτέρω η επίδραση των εναλλακτικών τεχνολογιών επεξεργασίας των μιγμάτων παγωτού στα ποιοτικά χαρακτηριστικά των τελικών κατεψυγμένων προϊόντων, τα δεδομένα που προέκυψαν από τον προσδιορισμό της φυσικομηχανικής συμπεριφοράς (ρεολογική συμπεριφορά, χαρακτηριστικά τήξης και υφής, θερμική αγωγιμότητα, ποσοστό ενσωμάτωσης αέρα, χρώμα, συναίρεση και αποσταθεροποίηση των λιπαρών) των δειγμάτων παγωτού υποβλήθηκαν σε ανάλυση κυρίων συνιστωσών (Principal Components Analysis – PCA), με τις τέσσερις κύριες συνιστώσες αντιπροσωπεύουν κατά προσέγγιση το 78,6% της ολικής διακύμανσης (βλ. Διάγραμμα 6.20). Σύμφωνα με το Διάγραμμα 6.20, και προκειμένου να παρουσιαστεί μία καθολική εικόνα της επίδρασης των μελετώμενων τεχνολογιών σε όλες τις παραμέτρους, κρίθηκε σκόπιμο να παρουσιαστεί το διάγραμμα των κύριων συνιστωσών 1 και 4 (58,8% και 7,05% αντίστοιχα για τους άξονες PC1 και PC4), αφού η παράμετρος της εφαπτόμενης απώλειας δε φάνηκε να συσχετίζεται ισχυρά είτε με τη συνιστώσα 2, είτε με τη συνιστώσα 3 (οι PC2 και PC3 αντιπροσωπεύουν το 12,7% και 0,00% της ολικής διακύμανσης, αντίστοιχα). Αξίζει επίσης να αναφερθεί ότι, τα δεδομένα που αφορούσαν στις υψηλότερες συγκεντρώσεις ενζυμικής δραστηριότητας (4,0 Units/g πρωτεΐνης) δεν συμπεριλήφθηκαν στην ανάλυση, αφού η χρήση της συγκεκριμένης συγκέντρωσης δεν επέφερε καμία περαιτέρω αξιολογική μεταβολή των φυσικών και ρεολογικών χαρακτηριστικών των τελικών δειγμάτων παγωτού.

Σύμφωνα με το PCA biplot, η πρώτη κύρια συνιστώσα (PC1) συσχετίστηκε θετικά με τον παράγοντα θιξοτροπικής συμπεριφοράς (*thixotropy*), το συντελεστή συνεκτικότητας (*K*), το ιξώδες στην τιμή ρυθμού διάτμησης 50s^{-1} (Kokini shear rate – *orally perceived viscosity*), το συντελεστή θερμικής αγωγιμότητας (*thermal conductivity*), το χρόνο πτώσης της 1^{ης} σταγόνας (*first dripping time*), καθώς και με το ποσοστό ενσωμάτωσης αέρα (*overrun*) και το ποσοστό αποσταθεροποίησης των λιπαρών (*fat destabilization*). Επιπλέον, η πρώτη κύρια συνιστώσα συσχετίστηκε αρνητικά με το δείκτη ρεολογικής συμπεριφοράς (*n*), το ποσοστό της συναίρεσης, το ρυθμό τήξης (*melting rate*), το ολικό χρώμα (*E*) και τις παραμέτρους *L* και *b*, και την αντικειμενική σκληρότητα (*hardness*). Αναφορικά με την τρίτη συνιστώσα (PC3), η εφαπτόμενη απώλεια (*tand*) συσχετίστηκε θετικά με τον άξονα PC3· ωστόσο πρέπει να τονιστεί ότι στην περίπτωση αυτή η συσχέτιση ήταν λιγότερο ισχυρή σε σχέση με την πρώτη κύρια συνιστώσα, γεγονός που αντικατοπτρίζεται και στο χαμηλό ποσοστό της εξηγούμενης διακύμανσης (7,05%).

Όπως φαίνεται και από το Διάγραμμα 6.20, τόσο η ενζυμική επεξεργασία των μιγμάτων παγωτού όσο και η επεξεργασία τους με ΥΠ παρουσιάζουν σημαντική επίδραση στις μελετώμενες παραμέτρους, και συσχετίστηκαν με την πρώτη κύρια συνιστώσα (PC1) της ΑΚΣ. Επιπλέον, οι δύο μελετώμενες εναλλακτικές τεχνολογίες φαίνεται να παρουσιάζουν και συνέργια, με τα δείγματα από επεξεργασμένα με ΥΠ και ακολούθως ενζυμικά επεξεργασμένα μίγματα να διαφοροποιούνται αραιετώ ως προς τα αντίστοιχα από θερμικά και ακολούθως ενζυμικά επεξεργασμένα μίγματα, αλλά και τα δείγματα από επεξεργασμένα μόνο με ΥΠ μίγματα.



Διάγραμμα 6.20. Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (ΑΚΣ) για τη μελέτη της επίδρασης της επεξεργασίας του μίγματος παγωτού στα ποιοτικά χαρακτηριστικά του τελικού προϊόντος

(Οι κωδικοί 0U, 1U, 2U και 3U αναφέρονται σε δείγματα μη ενζυμικά ή ενζυμικά επεξεργασμένα με συγκέντρωση ένζυμου 1, 2 και 3 Units/g πρωτεΐνης αντίστοιχα).

Με βάση τη χαρτογράφηση της ανάλυσης κυρίων συνιστωσών, το είδος της εφαρμοζόμενης επεξεργασίας των μιγμάτων παγωτού (θερμική ή με ΥΠ), επηρεάζει καθοριστικά το ποιοτικό προφίλ των παραγόμενων προϊόντων παγωτού, με την ΥΠ να ευνοεί την παραγωγή προϊόντων με έντονη θιξοτροπική και ψευδοπλαστική συμπεριφορά, ικανοποιητική ενσωμάτωση αέρα, χαμηλή αντικειμενική σκληρότητα και υψηλή τιμή ποσοστού αποσταθεροποίησης των λιπαρών. Τα σχηματιζόμενα δίκτυα των καζεϊνικών κλασμάτων φαίνεται να είναι υπεύθυνα για την αύξηση του ιξώδους των επεξεργασμένων με ΥΠ μιγμάτων παγωτού και τη μείωση του ρυθμού τήξης των αντίστοιχων παγωμένων προϊόντων (Biasutti et al. 2013), σαν αποτέλεσμα της συσσωμάτωσης των καζεϊνικών μορίων μέσω υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων κατά την αποσυμπίεση, λόγω της αποδέσμευσης του κολλοειδούς φωσφορικού ασβεστίου (Huppertz et al. 2011). Έτσι, η εφαρμογή της ΥΠ φαίνεται να επιδρά θετικά στις φυσικές αντικειμενικές παραμέτρους που συσχετίζονται με την οργανοληπτική αποτίμηση της υψής του παγωτού κατά τον τεμαχισμό με το κουτάλι (scooping) καθώς και του τήγματος παγωτού κατά τη διαδικασία μάσησης (orosensory

exposure). Βάσει του *Διαγράμματος 6.20* διαπιστώνεται ότι, η επεξεργασία των μιγμάτων παγωτού με ΥΠ ευνοεί την παραγωγή δειγμάτων παγωτού χαμηλής σκληρότητας χωρίς να υστερούν ως προς τα βασικά τους κολλοειδή χαρακτηριστικά (υψηλές τιμές σύνθετου ιξώδους και ενσωμάτωσης αέρα). Επιπλέον, η εφαρμογή της ΥΠ επέφερε σημαντική αύξηση του συντελεστή συνεκτικότητας και ενίσχυση της θιξοτροπικής και ψευδοπλαστικής συμπεριφοράς των μιγμάτων παγωτού. Έχει διαπιστωθεί ότι υψηλές τιμές συντελεστή συνεκτικότητας σχετίζονται με προϊόντα κρεμμώδους υφής, καλά χαρακτηριστικά αποσταθεροποίησης λίπους (σχηματισμού λιπαρού φιλμ στο επιθήλιο της γλώσσας), περιορισμένη τραχύτητα και υδαρότητα (Soukoulis et al. 2008, 2010). Επιπλέον, οι Varela et al. (2014) διαπίστωσαν ότι σταθεροποιημένα δείγματα παγωτού με υψηλές τιμές συντελεστή συνεκτικότητας και ενισχυμένη ψευδοπλαστικότητα χαρακτηρίζονταν από μεγαλύτερο χρόνο διέγερσης βασικών αισθητηριακών ιδιοτήτων υφής, όπως π.χ. κρεμμώδη και κομμώδη υφή.

Η τελευταία παρατήρηση είναι ιδιαίτερα σημαντική αν ληφθεί υπόψη ότι τα δείγματα που υποβλήθηκαν σε επεξεργασία με ΥΠ δεν περιείχαν σταθεροποιητές, υποδηλώνοντας ότι πιθανόν η επίδραση της ΥΠ στα φυσικά χαρακτηριστικά των δειγμάτων παγωτού, αν και διαφέρει σημαντικά ως προς το μηχανισμό δράσης, είναι αντίστοιχη με εκείνη της δράσης των σταθεροποιητών. Ο σταθεροποιητής που μελετήθηκε (κόμμα γκουάρ) δρα κατά κύριο λόγο μέσω της αύξησης του μακροϊξώδους της φάσης ορού οδηγώντας σε μείωση της μοριακής κινητικότητας του νερού και του ρυθμού διάχυσης προς την διεπιφάνεια νερού-πάγου, ενώ στην περίπτωση της ΥΠ φαίνεται να σχετίζεται με αλλαγή των κολλοειδών ιδιοτήτων των πρωτεϊνών. Σύμφωνα με τους Lim et al. (2008), η εφαρμογή της ΥΠ σε μίγματα παγωτού επιφέρει σημαντική μετουσίωση των πρωτεϊνών ορού, εκθέτοντας τις υδρόφοβες ομάδες τους και διευκολύνοντας την επαφή τους με υδρόφοβα μόρια νερού (hydrophobic hydration water) της συμπυκνωμένης φάσης ορού, οδηγώντας σε παρόμοιες στερεοχημικές παρεμποδίσεις των μορίων του μη κατεψυγμένου νερού με εκείνες που επιφέρει η παρουσία μορίων σταθεροποιητή. Επιπρόσθετα, η ενίσχυση του πρωτεϊνικού δικτύου των μιγμάτων παγωτού έχει αναφερθεί ότι οδηγεί στο σχηματισμό ενός ομοιόμορφου και σταθερού γαλακτώματος και βοηθά στη μείωση του σχηματισμού μεγάλων παγοκρυστάλλων κατά τη διάρκεια του χρόνου αποθήκευσης των παγωμένων προϊόντων (El-Nagar et al. 2002). Έτσι, δεδομένου ότι η επεξεργασία με ΥΠ των πρωτεϊνικών συστημάτων έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία συμπαγών πρωτεϊνικών δικτύων (Farnsworth et al. 2006, Huppertz et al. 2004), είναι αναμενόμενο να οδηγεί και σε αύξηση της ικανότητας συγκράτησης νερού των συστημάτων αυτών και πιθανόν σε μείωση της κρυστάλλωσης του πάγου, γεγονός που είναι σε συμφωνία με τη μείωση των παρατηρούμενων τιμών της αντικειμενικής σκληρότητας των παραγόμενων τελικών προϊόντων. Παρόλα αυτά, πρέπει να σημειωθεί ότι τα χαρακτηριστικά τήξης των δειγμάτων παγωτού δεν παρουσίασαν σημαντική απόκριση στο είδος της επεξεργασίας (θερμικής ή με ΥΠ) των μιγμάτων παγωτού.

Αναφορικά με την επίδραση του ενζύμου, η ενζυμική επεξεργασία επιφέρει δομικές μεταβολές του πρωτεϊνικού περιεχομένου του μελετούμενου συστήματος, ως αποτέλεσμα της δημιουργίας ενδο- και διαμοριακών διασυνδέσεων μεταξύ των πρωτεϊνικών μορίων. Αποτέλεσμα αυτού είναι η δημιουργία ενός σταθερού πρωτεϊνικού δικτύου μέσω της δημιουργίας πρωτεϊνικών συσσωματωμάτων μεταξύ των πρωτεϊνών ορού και των καζεϊνών. Η βελτίωση αυτή πιθανόν να σχετίζεται με την αύξηση της ανταγωνιστικής δράσης των

πρωτεϊνών έναντι των γαλακτωματοποιητών σε συστήματα παγωτού και επομένως, την καλύτερη λειτουργία των γαλακτωματοποιητών κατά την αποσταθεροποίηση των λιπαρών (μείωση της επιφανειακής τάσης λιπαρών/νερού και μετατόπιση των πρωτεϊνών από την επιφάνεια των λιποσφαιριδίων) (Metwally 2007). Τα πειραματικά αποτελέσματα, άλλωστε, επιβεβαιώνουν την αύξηση της αποσταθεροποίησης των λιπαρών σε μίγματα παγωτού που είχαν υποστεί ενζυμική επεξεργασία, η οποία βρέθηκε να ενισχύεται σημαντικά στην περίπτωση του 1,0 Unit/g πρωτεΐνης.

Όπως παρατηρείται από το *Διάγραμμα 6.20*, η επεξεργασία των μιγμάτων παγωτού με TGase οδήγησε σε σημαντική μείωση της αντικειμενικής σκληρότητας, αύξηση της ψευδοπλαστικής συμπεριφοράς και ελάττωση του ρυθμού τήξης των δειγμάτων παγωτού. Ωστόσο αξίζει να σημειωθεί ότι, ενώ και στα δύο είδη επεξεργασίας των μιγμάτων παγωτού (θερμική και με ΥΠ), η εφαρμογή της TGase επιφέρει σημαντική βελτίωση των ποιοτικών χαρακτηριστικών των τελικών προϊόντων, μόνο τα θερμικά επεξεργασμένα μίγματα παρουσίασαν σημαντική εξάρτηση από τη συγκέντρωση του ενζύμου. Αντίθετα στην περίπτωση της ΥΠ και για το μελετώμενο εύρος συγκεντρώσεων (1,0-3,0 Units/g πρωτεΐνης), τα δείγματα παγωτού παρουσίασαν παρόμοια ποιοτικά χαρακτηριστικά μεταξύ τους, υποδηλώνοντας την ύπαρξη έντονης συνεργιστικής δράσης μεταξύ της TGase και της ΥΠ. Η παρατήρηση αυτή είναι ιδιαίτερα σημαντική αφού η χρήση της TGase φαίνεται πως επιφέρει σημαντική σταθεροποιητική και δυναμικά κρυσταλλοπροστατευτική δράση απουσία σταθεροποιητή (κόμμα γκουάρ). Κατά συνέπεια, τα δείγματα που υποβλήθηκαν σε επεξεργασία με ΥΠ και ακολούθως με TGase χαρακτηρίστηκαν από αφρώδη και συνεκτική δομή, υψηλή σταθερότητα έναντι του θερμικού σοκ, και γενικά ιξωδοελαστική συμπεριφορά στους -10°C .

Σύμφωνα με τους Rossa et al. (2012), η επεξεργασία των μιγμάτων παγωτού με TGase συμβάλλει στη βελτίωση των κυρίων δομικών χαρακτηριστικών των καταψυγμένων προϊόντων (δίκτυο αποσταθεροποιημένου λίπους, φυσαλίδες αέρα) παρέχοντας συνεκτική δομή, ικανοποιητικό ποσοστό ενσωμάτωσης του αέρα και βελτιωμένα χαρακτηριστικά τήξης (χαμηλός ρυθμός τήξης, υψηλή διατήρηση της συνολικής δομής). Οι συγκεκριμένες παρατηρήσεις αποδόθηκαν, κατά κύριο λόγο, στη σταθεροποίηση των φυσαλίδων αέρα λόγω του πολυμερισμού των καζεϊνών μέσω ομοιοπολικών και διαμοριακών δεσμών. Επιπρόσθετα, η μείωση της αντικειμενικής σκληρότητας των δειγμάτων παγωτού από επεξεργασμένα με TGase μίγματα - η οποία αποτελεί σημαντική ένδειξη της ύπαρξης παγοκρυστάλλων μικρού μεγέθους - μπορεί κατά κύριο λόγο να αποδοθεί στην ενίσχυση της στερεοχημικής παρεμπόδισης της μοριακής κινητικότητας του νερού, και συνεπώς στην μείωση του ρυθμού ανακρυστάλλωσης. Η δημιουργία ενός σταθερού πρωτεϊνικού δικτύου μέσω της δημιουργία πρωτεϊνικών συσσωματωμάτων σχετίζεται με την παρουσία ενός σταθερού αφρού με αυξημένη ικανότητα ενσωμάτωσης αέρα, με τις φυσαλίδες αέρα να συμπεριφέρονται ως μία συμπιεστή διασκορπισμένη φάση η οποία αντιτάσσει μικρότερη αντίσταση σε δυνάμεις συμπίεσης όταν υπάρχει παγιδευμένο μεγάλο ποσοστό αέρα (Muse & Hartel 2004, Biasutti et al. 2013). Η παρατήρηση αυτή φαίνεται να επιβεβαιώνεται τόσο από τις τιμές του ποσοστού ενσωμάτωσης αέρα όσο και από αυτές της αντικειμενικής σκληρότητας των εξεταζόμενων δειγμάτων, παράμετροι οι οποίες, όπως ήταν αναμενόμενο, βρέθηκε να συσχετίζονται κατά αντίθετο τρόπο με τη συνιστώσα 1 της ΑΚΣ. Τέλος, διαπιστώθηκε ότι, ακόμη και τα παγωμένα προϊόντα από μίγματα επεξεργασμένα με ΥΠ απουσία επακόλουθης επεξεργασίας με TGase παρουσιάζουν ικανοποιητικά ποιοτικά

χαρακτηριστικά, τα οποία είναι σχεδόν αντίστοιχα με εκείνα των παγωμένων δειγμάτων από μίγματα που υποβλήθηκαν σε θερμική επεξεργασία παρουσία TGase (3,0 Units/g πρωτεΐνης).

Παράλληλα, αναφορικά με την επίδραση της επεξεργασίας με ΥΠ και της ενζυμικής επεξεργασίας των μιγμάτων παγωτού στις τιμές της θερμικής αγωγιμότητας των τελικών παγωμένων προϊόντων, αυτή φαίνεται να σχετίζεται τόσο με την αύξηση του ξώδους του μελετώμενου συστήματος, όπως προκύπτει και από τη συσχέτισή τους με τη συνιστώσα 1 της ΑΚΣ, όσο και με την παρατηρούμενη αύξηση στην αποσταθεροποίηση των λιπαρών, με αποτέλεσμα την αύξηση του πορώδους των παραγόμενων δειγμάτων (Cogné et al. 2003), και επομένως την αύξηση στη θερμική τους αγωγιμότητα. Παρόλα αυτά, κρίνεται σκόπιμη η περαιτέρω διερεύνηση και άλλων θερμοφυσικών ιδιοτήτων των μελετώμενων μιγμάτων, προκειμένου να διαπιστωθεί ο ακριβής μηχανισμός των παραπάνω επιδράσεων.

Τέλος, σχετικά με την μεταβολή του χρώματος, παρατηρήθηκε μια ομαδοποίηση των μιγμάτων επεξεργασμένων με ΥΠ και μια ομαδοποίηση των ενζυμικά επεξεργασμένων μιγμάτων, με τη συγκέντρωση του ενζύμου να μην επηρεάζει σημαντικά τη διακύμανση των δειγμάτων. Συγκεκριμένα για τις τιμές της παραμέτρου *b* (κίτρινο φάσμα), παρατηρήθηκε μεγάλη διαφοροποίηση μεταξύ των μιγμάτων επεξεργασμένων με ΥΠ και των μιγμάτων που είχαν επεξεργαστεί ενζυμικά, ενώ σημαντική ήταν και η διαφοροποίηση των δειγμάτων που παρατηρήθηκε για τις τιμές των παραμέτρων *E* (ολικό χρώμα) και *L* (φωτεινότητα). Αξίζει επίσης να σημειωθεί ότι η ομαδοποίηση των δειγμάτων παγωτού αναφορικά με την παράμετρο *b* ήταν οι αντίθετες από τις αναμενόμενες με τα ενζυμικά επεξεργασμένα μίγματα να διαθέτουν υψηλότερες τιμές *b* (αύξηση του κίτρινου χρώματος).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ & ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ

Στην παρούσα διπλωματική εργασία εφαρμόστηκαν εναλλακτικές τεχνολογίες επεξεργασίας μιγμάτων παγωτού (ενζυμική επεξεργασία και επεξεργασία με ΥΠ) με σκοπό τη βελτίωση των ποιοτικών χαρακτηριστικών του παγωτού. Με βάση τις υπάρχουσες διεθνείς βιβλιογραφικές αναφορές, η παρούσα διπλωματική εργασία αποτελεί μία από τις πρώτες μελέτες εφαρμογής εναλλακτικών τεχνολογιών επεξεργασίας μιγμάτων στην παραγωγή προϊόντων παγωτού και την πρώτη μελέτη συνδυαστικής εφαρμογής των παραπάνω τεχνολογιών σε παγωμένα γαλακτοκομικά προϊόντα.

Κατά την παραγωγική διαδικασία γαλακτοκομικών προϊόντων όπως το παγωτό, το είδος, η αναλογία και το ολικό περιεχόμενο των πρωτεϊνών των μιγμάτων παγωτού αποτελούν έναν από τους καθοριστικούς παράγοντες για την επίτευξη της επιθυμητής υψής του τελικού προϊόντος. Ειδικότερα σε προϊόντα στα οποία, για διατροφικούς κυρίως λόγους, ελαχιστοποιείται το περιεχόμενο τους σε λιπαρά, η αύξηση της περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη αλλά και η χρήση σταθεροποιητικών μέσων, αποτελούν κυρίαρχες μεθόδους για την παραγωγή προϊόντων με βελτιωμένα ποιοτικά χαρακτηριστικά. Η τροποποίηση των δομικών δικτύων των πρωτεϊνών, είτε ενζυμικά είτε με φυσικές μεθόδους, θα μπορούσαν να συνεισφέρουν εξίσου ή και να ενισχύσουν τα χαρακτηριστικά των τελικών προϊόντων παγωτού, υποκαθιστώντας την ανάγκη για χρήση υψηλής περιεκτικότητας πρωτεϊνικών μιγμάτων ή και σταθεροποιητικών ουσιών, αλλά και η παραγωγή παγωτού με χαμηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά.

Από τα αποτελέσματα της εφαρμογής των τεχνολογιών της ΥΠ και της ενζυμικής επεξεργασίας μιγμάτων παγωτού φάνηκε ότι, οι παραπάνω τεχνολογίες επιδρούν σημαντικά σε αριετές ποιοτικές παραμέτρους των παραγόμενων παγωμένων προϊόντων, ενώ πιθανόν να έχουν και συνεργιστική δράση πέραν της μεμονωμένης εφαρμογής τους. Για τα δείγματα των οποίων τα μίγματα είχαν υποστεί επεξεργασία με TGase ή/και ΥΠ παρατηρήθηκε βελτίωση των ρεολογικών χαρακτηριστικών τους και των ρεολογικών χαρακτηριστικών των αντίστοιχων προϊόντων παγωτού. Ο προσδιορισμός των ρεολογικών παραμέτρων των δειγμάτων παγωτού σε θερμοκρασίες κοντά στη θερμοκρασία σερβιρίσματός του, έδειξε ότι το σύνθετο ιξώδες αυξήθηκε σημαντικά για τα δείγματα από επεξεργασμένα με TGase μίγματα. Η αύξηση αυτή του ιξώδους βρέθηκε ανεξάρτητη της συγκέντρωσης του χρησιμοποιούμενου ενζύμου για τα συμβατικά επεξεργασμένα μίγματα, ενώ ήταν αναλογική με την αύξηση του χρησιμοποιούμενου ενζύμου σε συγκεντρώσεις 1,0-3,0 Units/g πρωτεΐνης για τα επεξεργασμένα με ΥΠ μίγματα, υποδηλώνοντας την πιθανή συνεργιστική δράση των παραπάνω επεξεργασιών στην παράμετρο αυτή. Η εφαρμογή των μελετώμενων εναλλακτικών επεξεργασιών των μιγμάτων παγωτού οδήγησε σε βελτίωση και των χαρακτηριστικών τήξης (μείωση του ρυθμού τήξης και αύξηση του χρόνου πτώσης της 1^{ης}

σταγόνας) των αντίστοιχων δειγμάτων παγωτού, αύξηση της θερμικής αγωγιμότητάς τους και μείωση της αντικειμενικής τους σκληρότητας. Με βάση τα διαθέσιμα βιβλιογραφικά δεδομένα αλλά και τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας, οι μεταβολές αυτές φαίνεται να σχετίζονται με τη δημιουργία ενός σταθερού πρωτεϊνικού δικτύου μέσω της δημιουργίας συσσωματωμάτων μεταξύ των πρωτεϊνικών μορίων και την αυξημένη αποσταθεροποίηση των λιπαρών κατά τα στάδια της κατάψυξης και της ωρίμανσης των μιγμάτων παγωτού, και συνεπώς με την παρουσία ενός σταθερού αφρού με αυξημένη ικανότητα ενσωμάτωσης αέρα και μειωμένη αντίσταση σε δυνάμεις συμπίεσης. Οι εν λόγω, λοιπόν, τεχνολογίες θα μπορούσαν να βρουν εφαρμογή στην παραγωγή βελτιωμένων προϊόντων παγωτού, όμως δεδομένου της περιορισμένης γνώσης για την εφαρμογή τους σε συστήματα παγωτού, κρίνεται απαραίτητο να πραγματοποιηθούν επιπρόσθετες πειραματικές μελέτες, ώστε να επιβεβαιωθούν οι παρατηρούμενες μεταβολές.

Προτάσεις για μελλοντική έρευνα

Λαμβάνοντας υπόψη τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης αλλά και τις ελλείψεις της διεθνούς βιβλιογραφίας, η συνέχιση της ερευνητικής δραστηριότητας θα μπορούσε να συνοψισθεί στα ακόλουθα σημεία:

- Προτείνεται η συνέχιση της έρευνας για τα προϊόντα αυτά, προκειμένου να διερευνηθούν σε βάθος οι μηχανισμοί που περιγράφουν τις μεταβολές των λειτουργικών ιδιοτήτων των συστατικών του παγωτού λόγω της εφαρμογής των παραπάνω επεξεργασιών στα μίγματά τους. Σε αυτό το πλαίσιο, προτείνεται η μελέτη της επίδρασης της ΥΠ και της επεξεργασία με TGase και σε άλλες ποιοτικές παραμέτρους του παγωτού, όπως οι θερμοφυσικές ιδιότητες των μιγμάτων παγωτού και η μικροδομή τους, από τις οποίες θα εξαχθούν σημαντικά συμπεράσματα για τη συνεισφορά των παραπάνω τεχνολογιών στη διαμόρφωση της δομής του παγωτού, αλλά και την πιθανή αντικατάσταση συστατικών των χρησιμοποιούμενων μιγμάτων, όπως οι σταθεροποιητές, ή και των ήδη εφαρμοζόμενων επεξεργασιών κατά την παραγωγική διαδικασία, με στόχο την παραγωγή προϊόντων παγωτού χωρίς πρόσθετες ουσίες και παρατεταμένη διάρκεια ζωής.
- Επίσης, κρίνεται σκόπιμη η διεξαγωγή μιας μελέτης σχετικά με την επίδραση των τεχνολογιών αυτών σε δείγματα παγωτού από ενισχυμένα με διάφορα συστατικά μίγματα (διάφορες γεύσεις, αρωματικά μέσα, παρουσία ξηρών καρπών και φρούτων) καθώς και για την επίδρασή τους στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του παγωτού με ή χωρίς την προσθήκη των παραπάνω συστατικών.
- Τέλος, είναι απαραίτητη η μελέτη της διατηρησιμότητας των προϊόντων παγωτού από μίγματα επεξεργασμένα με TGase, ΥΠ ή/και συνδυασμό τους, προκειμένου να προσδιορισθεί η σταθερότητα των προϊόντων αυτών τόσο σε σταθερές θερμοκρασιακές συνθήκες κατάψυξης, όσο και σε μεταβαλλόμενα θερμοκρασιακά προφίλ κατάψυξης που θα προσομοιάζουν τις πραγματικές συνθήκες αποθήκευσης του παγωτού. Σε αυτή τη μελέτη κρίνεται σκόπιμος επίσης και ο προσδιορισμός του ρυθμού των φαινομένων ανακρυστάλλωσης, τα οποία αποτελούν βασικό παράγοντα για την υποβάθμιση της ποιότητας κατά την αποθήκευση του παγωτού.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 1^ο Κεφαλαίου

- Advanced Dairy chemistry**, Volume 2: Lipids, Fox and McSweeney
- Barfod N. M., Da Lio M., Christensen F. H.** (2005). Process for the production of a frozen food product. International Patent WO/2005/060763
- Belitz, H. -D., Grosch, W., Schieberle, P.** (2006). Χημεία Τροφίμων 3η Έκδοση. Θεσσαλονίκη : Εκδόσεις Τζιόλα
- Ben-Yoseph E., Hartel R.W.** (1998). Computer simulation of ice recrystallization in ice cream during storage. *Journal of Food Engineering*, 38, 309–331.
- Bolliger S., Wildmoser H., Goff H.D., Tharp B.W.** (2000). Relationships between ice cream mix viscoelasticity and ice crystal growth in ice cream. *International Dairy Journal*, 10, 791-797.
- Chang Y., Hartel R.W.** (2002a). Development of air cells in a batch ice cream freezer. *Journal of Food Engineering*, 55, 71-78.
- Chang Y., Hartel R.W.** (2002b). Measurement of air cell distributions in dairy foams *International Dairy Journal*, 12, 463-472.
- Chang Y., Hartel R.W.** (2002c). Stability of air cells in ice cream during hardening and storage. *Journal of Food Engineering*, 55, 59-70.
- Clarke, C.** (2004). The Science of Ice Cream. Cambridge : The Royal Society of Chemistry.
- Cook K. L. K., Hartel R. W.** (2011). Effect of freezing temperature and warming rate on dendrite break-up when freezing ice cream mix. *International Dairy Journal*, 21, 447-453.
- Crilly J.F., Russell A.B., Cox A.R., Cebula D.J.** (2008). Designing multiscale structures of desired properties of ice cream. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 47, 6362-6367.
- Drewett E.M., Hartel R.W.** (2007). Ice crystallization in a scraped surface freezer. *Journal of Food Engineering*, 78, 1060-1066.
- Dubey U.K., White C.H.** (1997). Ice cream shrinkage. *Journal of Dairy Science*, 80, 3439-3444.
- Eisner M., Wildmoser H., Windhab E.J.** (2005). Air cell microstructuring in a high viscous ice cream matrix. *Colloids & Surfaces A*, 263, 390-399.
- Flores A.A., Goff H.D.** (1999). Ice crystal size distributions in dynamically frozen model solutions and ice cream as affected by stabilizers. *Journal of Dairy Science*, 82, 1399-1407.
- Goff H.D.** (2002). Formation and stabilisation of structure in ice-cream and related products. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 7, 432-437.
- Goff H.D., Verespej E., Smith A.K.** (1992). A study of fat and air structures in ice cream. *International Dairy Journal*, 9, 817-829.
- Goff H.D., Hartel R.W.** (2013). Ice cream. Seventh Edition, New York : Springer.
- Goff H.D.** (1994). Measuring and interpreting the glass transition in frozen foods and model systems. *Food Research International*, 27, 187-189.
- Hartel R.W.** (1998). Mechanisms and kinetics of recrystallization in ice cream. *In: The properties of water in foods: ISOPOW 6*, Reid DS (Ed) Blackie, London, 287–319.
- Hartel R.W.** (2001). Crystallization in foods. *Food Engineering Series*, 14, Springer.

- Hartel R.W. (2002).** Handbook of industrial crystallization. 2nd Edition, Butterworth & Heinemann, 287-304.
- Hartel R.W. (1996).** Ice crystallization during the manufacture of ice cream. *Trends in Food Science & Technology*, 7, 315-321.
- Kambamanoli-Dimou A. (2003).** Ice cream – Microbiology. *In: Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition* (2nd Edition), 3237-3242.
- Linder M.B. (2009).** Hydrophobins: proteins that self-assemble at interfaces. *Current Opinion in Colloids Interface Science*, 14, 356-363.
- Marshall R.T., Arbuckle W.S. (1996).** Ice Cream. Fifth Edition. New York : Chapman & Hall.
- Marshall R.T., Goff H. D., Douglas H., Hartel, R.W. (2003).** Ice Cream. Sixth Edition. New York : Kluwer Academic/ Plenum Publishers.
- Nagat El-Sharef, Khalifa S.G, Yahya S.A, Saed O.G, Amal R. (2005).** Bacteriological quality of ice cream in Tripoli-Libya. *Food Control*, 17, 637-641.
- Warke R., Kamat A., Kamat M., Thomas P. (2000).** Incidence of pathogenic psychrotrophs in ice creams sold in some retail outlets in Mumbai, India. *Food Control*, 11, 77-83.
- Arslan S., Eyi A., Rümeyisa Küçüksarı R. (2014).** Toxigenic genes, spoilage potential and antimicrobial resistance of *Bacillus cereus* group strains from ice cream. *Anaerobe*, 25, 42-46.
- Soukoulis C., Chandrinou I., Tzia C. (2008).** Study of the functionality of selected hydrocolloids and their blends with k -carrageenan on storage quality of vanilla ice cream. *LWT-Food Science & Technology*, 41, 1816-1827.
- Trgo C., Koxholt M., Kessler H.G. (1998).** Effect of freezing point and texture regulating parameters on the initial ice crystal growth in ice cream. *Journal of Dairy Science*, 82, 460- 465.
- Walstra P., Wouters J.T.M., Geurts T.J. (2006).** Dairy Science & Technology, 2nd Edition. New York.
- Yu S.O., Brown A., Middleton A.J., Tomczak M.M., Walker V.K., Davies P.L. (2010).** Ice restructuring inhibition activities in antifreeze proteins with distinct differences in thermal hysteresis. *Cryobiology*, 61, 327–334.
- Κώδικας Τροφίμων & Ποτών (2012).** Άρθρο 137, ΦΕΚ Β 1390/ 27.04.2012

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 2^ο Κεφαλαίου

- Abd-El-Rahman A.M., Madkor S.A., Ibrahim F.S., & Kilara A., (1997a).** Physical characteristics of frozen desserts made with cream, anhydrous milk fat, or milk fat fractions. *Journal of Dairy Science*, 80, 1926-1935
- Abd-El-Rahman A.M., Shalabi S.I., Hollender R., & Kilara A. (1997b).** Effect of milk fat fractions on the sensory evaluation of frozen desserts. *Journal of Dairy Science*, 80, 1936-1940.
- Adapa S., Dingeldein H., Schmidt K.A., Herald T.J. (2000a).** Rheological Properties of Ice Cream Mixes and Frozen Ice Creams Containing Fat and Fat Replacers. *Journal of Dairy Science*, 83, 2224-2229.

- Adapa S., Schmidt K.A., Jeon I.J., Herald T.J., Flores R. A.** (2000b). Mechanisms of ice crystallization and recrystallization in ice cream. *Food Reviews International*, 16, 259-271.
- Akalin A., Karagozlu C., & Unal G.** (2007). Rheological properties of reduced fat and low fat ice cream containing whey protein isolate and inulin. *European Food Research and Technology*, 227, 889-895.
- Akalin A.S., Karagozlu C., Ünal G.** (2008). Rheological properties of reduced-fat and low-fat ice cream containing whey protein isolate and inulin. *European Food Technology*, 227, 889–895.
- Akhtar M., Murray B.S., Dickinson E.** (2006). Perception of creaminess of model oil-in-water dairy emulsions: Influence of the shear-thinning nature of a viscosity-controlling hydrocolloid. *Food Hydrocolloids*, 20, 839–847.
- Alvarez V.B., Wholters C.L., Vodovotz Y., Ji T.** (2005). Physical properties of ice cream containing milk protein concentrates. *Journal of Dairy Science*, 88, 862–871.
- Aykan V., Sezgin E., Guzel-Seydim Z.B.** (2008). Use of fat replacers in the production of reduced calorie vanilla ice cream. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 110, 516-520.
- Baer R. J., Wolkow M.D., Kasperson K.M.** (1997). Effect of emulsifiers on the body and texture of low fat ice cream. *Journal of Dairy Science*, 80, 3123-3132.
- BahramParvar M., Razavi S.M.A., Haddad Khodaparast M.H.,** (2010). Rheological characterization and sensory evaluation of typical soft ice cream made with selected food hydrocolloids. *Food Science and Technology International*, 16(1), 79–88.
- Bahramparvar M., Tehrani M.M.** (2011). Application and function of stabilizers in ice cream. *Food Reviews International*, 27, 389-407.
- Bazmi A., Duquenoy A., & Relkin P.** (2007). Aeration of low fat dairy emulsions: Effects of saturated – unsaturated triglycerides. *International Dairy Journal*, 17, 1021 - 1027.
- Bazmi A., Launay B., Cuvelier G., & Relkin P.** (2008). Impact of the crystalline milkfat on rheological properties of ice cream mix emulsions during aging time at 4C. *Journal of Texture Studies*, 39, 309-325.
- Bolliger S., Goff H.D., Tharp B.W.** (2000b). Correlation between colloidal properties of ice cream mix and ice cream. *International Dairy Journal*, 10, 303-309.
- Bolliger S., Wildmoser H., Goff H.D., Tharp B.W.** (2000a). Relationships between ice cream mix viscoelasticity and ice crystal growth in ice cream. *International Dairy Journal*, 10, 791–797.
- Bom Frøst M., Heymann H., Bredie W.L.P., Dijksterhuis G.B., & Martens M.** (2005). Sensory measurement of dynamic flavour intensity in ice cream with different fat levels and flavourings. *Food Quality and Preference*, 16, 305-314.
- Bourriot S., Garnier C., Doublier J.L** (1999a). Phase separation, rheology and structure of micellar casein-galactomannan mixtures. *International Dairy Journal*, 9, 353–357.
- Bourriot S., Garnier C., Doublier J.L** (1999b). Micellar-casein- k -carrageenan mixtures Phase separation and ultrastructure. *Carbohydrate Polymers*, 40, 145–157.
- Britten M., Giroux H. J.** (1991). Emulsifying properties of whey protein and casein composite blends. *Journal of Dairy Science*, 74, 3318-3325.
- Chang Y., Hartel R.W.** (2002a). Development of air cells in a batch ice cream freezer, *Journal of Food Engineering*, 55(1):71–78

- Chang Y., Hartel R.W.** (2002b). Stability of air cells in ice cream during hardening and storage. *Journal of Food Engineering*, 55, 59-70.
- Cook D.J., Hollowood T.A., Linforth R.T.S., Taylor A.J.** (2005). Correlating instrumental measurements of texture and flavor release with human perception. *International Journal of Food Science & Technology*, 40, 631–641.
- Dalgleish D.G., Morris E.R.** (1988). Interactions between carrageenans and casein micelles: electrophoretic and hydrodynamic properties of the particles. *Food Hydrocolloids*, 2, 311–320.
- Damodaran S.** (2005). Protein stabilization of emulsions and foams. *Journal of Food Science*, 70, R54-R66.
- De Wijk R.A., Rasing F., & Wilkinson C.L.,** (2003). Sensory flavor-texture interactions for custards. *Journal of Texture Studies*, 34, 131-146.
- Dogan, M., Kayacier, A.** (2007). The effect of ageing at low temperature on the rheological properties of kahramanmaras-type ice cream mix. *International Journal of Food Properties*, 10, 19–24.
- Dresselhuis D.M., de Hoog E.H.A., Cohen Stuart M.A., Vingerhoeds M.H., & van Aken G.A.** (2008). The occurrence of in-mouth coalescence of emulsion droplets in relation to perception of fat. *Food hydrocolloids*, 22, 1170-1183.
- Dubey U.K., White C.H.** (1997). Ice cream shrinkage. *Journal of Dairy Science*, 80, 3439–3444.
- El-Nagar G., Clowes G., Tudorica C. M., Kuri V., & Brennan C.S.** (2002). Rheological quality and stability of yog-ice cream with added inulin. *International Journal of Dairy Technology*, 55, 89-93.
- El-Neshawy A.A., Abdel Baky A.A., Rabie A.M., Metwally S.A.** (1988). Organoleptic and physical properties of ice cream made from hydrolyzed lactose reconstituted milk. *Food Chemistry*, 27, 83-89.
- Flores A.A., Goff H. D.** (1999). Ice crystal size distributions in dynamically frozen model solutions and ice cream as affected by stabilizers. *Journal of Dairy Science*, 82, 1399–1407.
- Gelin J.L., Poyen L., Courthadon J.L., Le Meste M., Lorient D.** (1994). Structural changes in oil-in-water emulsions during the manufacture of ice cream. *Food Hydrocolloids*, 8, 299-308.
- Gelin J.L., Poyen L., Rizzotti R., Courthadon J.-L., Lorient D.** (1996). Interactions between food components in ice cream. Part 1: unfrozen emulsions. *Food Hydrocolloids*, 10, 385–393.
- Goff H.D., Jordan W.K.** (1989). Action of emulsifiers in promoting fat destabilization during the manufacture of ice cream. *Journal of Dairy Science*, 72, 18-29.
- Goff H.D.** (1997b). Instability and partial coalescence in whippable dairy emulsions. *Journal of Dairy Science*, 80, 2620-2630.
- Goff H.D.** (2002). Formation and stabilization of structure in ice cream and related products. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 7, 432-437.
- Goff H.D.,** (1997a). Colloidal aspects of ice cream – A review. *International Dairy Journal*, 7, 363-373.
- Goff H.D., Freslon B., Sahagian M. E., Hauber T.D., Stone A.P., Stanley D.W.,** (1995), Structural development in ice cream-dynamic rheological measurements. *J Texture Stud* 26:517–536

- Goff H.D., Freslon B., Sahagian M.E., Hauber T.D., Stone A.P., Stanley D.W.** (1995). Structural development in ice cream-dynamic rheological measurements. *Journal of Texture Studies*, 26, 517–536.
- Goff H.D., Hartel R.W.** (2013). *Ice cream Seventh Edition*, New York: Springer.
- Goff H.D., Kinsella J.E., & Jordan W.K.** (1989). Influence of various milk protein isolates on ice cream emulsion stability. *Journal of Dairy Science*, 72, 385-397.
- Goff, H.D., Sahagian, M.E.** (1996). Freezing of dairy products. In: *Freezing Effects on Food Quality*. Jeremiah, L.E. (Ed.), Marcel Dekker: New York, 299–335.
- Granger C., Bary P., Combe N., Veschambre P., & Cansell M.** (2003). Influence of the fat characteristics on the physicochemical behavior of oil-in-water emulsions based on milk proteins-glycerol esters mixtures. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 32, 353-363.
- Granger C., Leger A., Bary P., Langendorff V., Cansell M.** (2005). Influence of formulation on the structural networks in ice cream. *International Dairy Journal*, 15, 255-262.
- Guinard J.X, Zoumas-Morse C., Mori L., Uatoni B., Panyam D., & Kilara A.** (1997). Sugar and fat effects on sensory properties of ice cream. *Journal of Food Science*, 62(5), 1087-1094.
- Guinard J.X., Zoumas-Morse C., Mori L., Panyam D., Kilara A.** (1996). Effect of sugar and fat on the acceptability of vanilla ice cream. *Journal of Dairy Science*, 79, 1922-1927.
- Hagiwara T., Hartel R.W.** (1996). Effect of sweetener, stabilizer and storage temperature on ice crystallization in ice cream. *Journal of Dairy Science*, 79, 735-744.
- Hagiwara T., Hartel R. W., Matsukawa S.** (2006). Relationship between recrystallization rate of ice crystals in sugar solutions and water mobility in freeze-concentrated matrix. *Food Biophysics*, 1, 74-82.
- Hansen, A.P. & Heinis, J.J.** (1991). Decrease of vanillin flavor perception in the presence of casein and whey proteins. *Journal of Dairy Science*, 74, 2936-2940.
- Hartel R.W.** (1998). Mechanisms and kinetics of recrystallization in ice cream, In: *Reid DS The properties of water in foods: ISOPOW 6*. Blackie, London, 287-319.
- Hartel R.W., Muse M., & Sofjan R.** (2003). Effects of structural attributes on hardness and melting rate of ice cream. In: *Proceedings of the 2nd IDF ice cream symposium*, Thessaloniki, Greece
- Hassas-Roudsari M, Goff H.D.** (2012). Ice structuring proteins from plants: mechanism of action and food application. *Food Research International*, 46, 425–436.
- Herald T.J., Aramouni F.D., & Abu-Ghoush M.H.** (2008). Comparison study of egg yolks and egg alternatives in french vanilla ice cream. *Journal of Texture Studies*, 39, 284-295.
- Herrera M.L., M’Cann, J.I., Ferrero C., Hagiwara T., Zaritzky N.E., Hartel R.W.** (2007). Thermal, mechanical, and molecular relaxation properties of frozen sucrose and fructose solutions containing hydrocolloids. *Food Biophysics*, 2, 20–28.
- Hull P.** (2010). *Glucose Syrups Technology and Applications*, Wiley-Blackwell, 185-201.
- Innocente N., Comparin D., & Corradini C.** (2002). Proteose-peptone whey fraction as emulsifier in ice cream preparation. *International Dairy Journal*, 12, 69-74
- Innocente, N., Corradini, C., Blecker, C., & Paquot, M.** (1999). Emulsifying properties of the total fraction and the hydrophobic fraction of bovine milk proteose-peptones. *International Dairy Journal*, 8, 981–985.

- Jonkman M.J., Walstra P., van Boekel M.A.J.S., Cebula D.J.** (1999). Behavior of casein micelles under conditions comparable to those in ice cream. *International Dairy Journal*, 9, 201–205.
- Kaya S., Tekin A.R.** (2001). The effect of salep content on the rheological characteristics of a typical ice cream mix. *Journal of Food Engineering*, 47, 59–62.
- Koxholt M.M.R., Eisenmann B., & Hinrichs J.** (2001). Effect of fat globules sizes on the meltdown of ice cream. *Journal of Dairy Science*, 84, 31-37.
- Koxholt, M., Eisenmann, B., & Hinrichs, J.** (2000). Effect of process parameters on the structure of ice-cream. Possible methods of optimizing freezer technology. *European Dairy Magazine(January)*, 27–30.
- Lal S.N.D., O'Connor J.C., Eyres L.** (2006). Application of emulsifiers/stabilizers in dairy products of high rheology. *Advances in Colloid & Intersurface Science*, 123-126, 433-437
- Lee, F.Y., & White, C.H.** (1991). Effect of ultrafiltration retentates and whey protein concentrates on ice-cream quality during storage. *Journal of Dairy Science*, 74, 1170–1173.
- Liou B.K., & Grun I.U.** (2007). Effect of fat level on the perception of five flavor chemicals in ice cream with or without fat mimetics by using a descriptive test. *Journal of Food Science*, 72, S595-S604.
- Livney T., Hartel R.W.** (1997). Ice recrystallization in ice cream: sweetener-stabilizer interactions. *Journal of Dairy Science*, 80, 447-456.
- Livney Y., Donhowe D., Hartel R.** (1995). Influence of temperature on crystallization of lactose in ice cream. *International Journal of Food Science & Technology*, 30, 311–320.
- Lucas T., Le Ray D., Barey P., & Mariette F.** (2004). NMR assessment of ice cream: Effect of formulation on liquid and solid fat. *International Dairy Journal*, 15, 1225-1233.
- Mariette F.,& Lucas T.** (2005). NMR Signal analysis to attribute the components to the solid/liquid phases present in mixes and ice creams. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1317-1327.
- Marshall R.T., Goff H.D., & Hartel R.W.** (2003). Ice cream. 3rd ed. New York: Aspen Publishers.
- Martin D.R., Ablett S., Darke A., Sutton R.L., Sahagian M.** (1999). Diffusion of aqueous sugar solutions as affected by locust bean gum studied by NMR. *Journal of Food Science*, 64, 46–49.
- Martinez S.B., Speckman R.A.** (1988). β -galactosidase treatment of frozen dairy product mixes containing whey. *Journal of Dairy Science*, 71, 893-900.
- McNeil & V.L., Schmidt K.A.** (1993). Vanillin interaction with milk protein isolates in sweetened drinks. *Journal of Food Science*, 58, 1142-1147.
- Miettinen S.M., Piironen V., Tuorila H., & Hyvonen L.** (2002). Electronic and human nose in the detection of aroma differences between strawberry ice cream of varying fat content. *Journal of Food Science*, 67, 425-430.
- Moore L.J., Shoemaker C.F.,** (1981). Sensory textural properties of stabilized ice cream. *Journal of Food Science*, 46, 399–402.
- Muse M.R., Hartel R.W.** (2004). Ice Cream Structural Elements that Affect Melting Rate and Hardness. *Journal of Dairy Science*, 87, 1-10.

- Nazaruddin R., Syaliza A.S., & Wan Rosnani A.I.** (2008). The effect of vegetable fat on the physicochemical characteristics of dates ice cream. *International Journal of Dairy Technology*, *63*, 265-269.
- Patel M.R., Baer R.J., Acharya M.R.** (2006). Increasing the protein content of ice cream. *Journal of Dairy Science*, *89*, 1400-1406.
- Patmore J.V., Goff H.D., Fernandes S.** (2003). Cryo-gelation of galactomannans in ice cream model systems. *Food Hydrocolloids*, *17*, 161–169.
- Pelan B.M.C., Watts K.M., Campbell I.J., Lips A.** (1997). The Stability of Aerated Milk Protein Emulsions in the Presence of Small Molecule Surfactants. *Journal of Dairy Science*, *80*, 2631-2638.
- Pinzer B.R., Medebach A., Limbach H.J., Dubois C., Stampanoni M., Schneebeli M.** (2012). 3D-characterization of three-phase systems using X-ray tomography: tracking the microstructural evolution in ice cream. *Soft Matter* *8*, 4584–4594.
- Prindiville E.A., Marshall R.T., & Heymann H.** (1999). Effect of milk fat on the sensory properties of chocolate ice cream. *Journal of Dairy Science*, *82*, 1425-1432.
- Ranjan S. & Baer R.J.** (2005). Effects of milk fat and homogenization on the texture of ice cream. *Milchwissenschaft*, *60*, 189-192.
- Regand A., Goff H.D.** (2002). Effect of biopolymers on structure and ice crystallization in dynamically-frozen ice cream model systems. *Journal of Dairy Science*, *85*, 2722–2732.
- Regand A., Goff H.D.** (2003). Structure and ice recrystallization in frozen stabilized ice cream model systems. *Food Hydrocolloids*, *17*, 95–102.
- Regand A., Goff H.D.** (2006). Ice recrystallization inhibition of ice structuring proteins from winter wheat grass in model solutions and ice cream. *Journal of Dairy Science*, *89*, 49–57.
- Relkin P., Sourdets S.** (2005). Factors affecting fat droplet aggregation in whipped frozen protein-stabilized emulsions. *Food Hydrocolloids*, *19*, 503–511.
- Relkin P., Sourdets S., Smith A.K., Goff H.D., Cuveliera G.** (2006). Effects of whey protein aggregation on fat globule microstructure in whipped-frozen emulsions, *Food Hydrocolloids*, *20*, 1050-1056.
- Roland, A. M., Phillips L. G., and Boor K. J.** (1999). Effects of fat replacers on the on the sensory properties, melting, color, and hardness of ice cream. *Journal of Dairy Science*, *82*, 32-38.
- Sakurai K., Kokubo S., Hakamata K., Tomita M., Yoshida S.** (1996). Effect of production conditions on ice cream melting resistance and hardness. *Milchwissenschaft*, *51*, 451-454.
- Schaller-Povolny L.A. Smith D.E.** (2002). Interaction of milk proteins with inulin. *Milchwissenschaft*, *57*, 494-497.
- Schorsch C., Clark A.H., Jones M.G., Norton I.T.** (1999a). Behaviour of milk protein/polysaccharide systems in high sucrose. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, *12*, 317–329.
- Schorsch C., Jones M. G., Norton I.T.** (1999b). Thermodynamic incompatibility and microstructure of milk protein/locust bean gum/sucrose systems. *Food Hydrocolloids*, *13*, 89-99.
- Schorsch C., Jones M., Norton I.T.** (2000). Phase behaviour of pure micellar casein/ κ -carrageenan systems in milk salt ultrafiltrate. *Food Hydrocolloids*, *14*, 347–358.

- Schorsch C., Jones M.G., Norton I.T.** (2002). Micellar Casein Gelation at High Sucrose Content. *Journal of Dairy Science*, 85, 3155–3163.
- Sofjan R.P., Hartel R.W.** (2004). Effects of overrun on structural and physical properties of ice cream. *International Dairy Journal*, 14, 255-262.
- Soukoulis C., Chandrinos I., Tzia C.** (2008). Study of the functionality of selected hydrocolloids and their blends with κ -carrageenan on storage quality of vanilla ice cream. *Food Science & Technology*, 41, 1816–1827.
- Soukoulis C., Rontogianni E., Tzia C.** (2010a). Contribution of thermal, rheological and physical measurements to the determination of sensorially perceived quality of ice cream containing bulk sweeteners. *Journal of Food Engineering*, 100, 634-641.
- Soukoulis C., Tzia C.** (2010b). Response surface mapping of the sensory characteristics and acceptability of chocolate ice cream containing alternate sweetening agents. *Journal of Sensory Studies*, 25, 50-75.
- Sourdet S., Relkin P., Cesar B.** (2003). Effects of milk protein type and pre-heating on physical stability of whipped and frozen emulsions. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 31, 55-64.
- Specter S.E., & Setzer C.S.** (1994). Sensory and physical properties of a reduced calorie frozen dessert system made with milk fat and sucrose substitutes. *Journal of Dairy Science*, 77, 708-717.
- Stampanoni Koeflerli C.R., Piccinali P., Sigrist S.** (1996). The influence of fat, sugar and non-fat milk solids on selected taste, flavor and texture parameters of a vanilla ice cream. *Food Quality & Preference*, 7, 69-79.
- Sutton R.L., Lips A., Piccirillo G., Szttehlo A.** (1996). Kinetics of ice recrystallization in aqueous fructose solutions. *Journal of Food Science*, 61, 741–745.
- Trgo C., Koxholt M., Kessler H.G.** (1999). Effect of Freezing Point and Texture Regulating Parameters on the Initial Ice Crystal Growth in Ice Cream. *Journal of Dairy Science*, 82, 460-465.
- Turan S., Kirkland M., Trusty P.A., Campbell I.** (1999). Interaction of fat and air in ice cream. *Dairy Industries International*, 64, 27–31.
- Velasco C.M., Goff H.D.**, (2012). Fat structures as affected by unsaturated or saturated monoglyceride and their effect on ice cream structure, texture and stability. *International Dairy Journal*, 24(1), 33-39.
- Vingerhoeds M.H., Silletti E., de Groot J., Scipper R.G., and van Aken G.** 2009. Relating the effect of saliva-induced emulsion flocculation on rheological properties and retention on the tongue surface with sensory perception. *Food Hydrocolloids*, 23, 773-785.
- Walstra P., Wouters J.T.M., & Geurts T.M.** (2006). *Dairy Science and Technology*, 2nd ed., CRC Taylor & Francis Inc., New York.
- Wang S.Y., Damodaran S.** (2009). Ice-structuring peptides derived from bovine collagen. *Journal of Agricultural Food & Chemistry*, 57, 5501–5509.
- Welty W.M., Marshall R.T., Grun I.U., Eilersieck M.R.** (2001). Effects of milk fat, cocoa butter or selected fat replacers on flavor volatiles of chocolate ice cream. *Journal of Dairy Science*, 84, 21-30.
- Whelan A.P., Regand A., Vega C., Kerry J.P., Goff H.D.** (2006). Effect of trehalose on the glass transition and ice crystal growth in ice cream. *International Journal of Food Science & Technology*, 43, 510-516.

- Whelan A.P., Vega C., Kerry J.P., Goff D.H.** (2008). Physicochemical and sensory optimization of a low glycemic index ice cream formulation. *International Journal of Food Science & Technology*, *43*, 1520-1527.
- Wilbey R.A., Cooke T., Dimos G.** (1998). Effects of solute concentration, overrun and storage on the hardness of ice cream. In: *Ice cream: proceedings of the international symposium held in Athens, Greece, 18–19 Sept 1997*, International Dairy Federation, Buchheim W. (ed), Brussels, Belgium, 186–187.
- Wildmoser H., & Windhab E. J.** (2001). Impact of flow geometry and processing parameters in ultra low temperature ice-cream extrusion (ultice) on ice-cream microstructure. *European Dairy Magazine*, *5*, 26–31.
- Wildmoser H., Scheiwiler J., Windhab E.J.** (2004). Impact of disperse microstructure on rheology and quality aspects of ice cream. *LWT-Food Science & Technology*, *37*, 881–891.
- Wittinger S.A., Smith D.E.** (1986). Effect of sweeteners and stabilizers on selected sensory attributes and shelf life of ice cream. *Journal of Food Science*, *51*, 1463-1470.
- Xinyi E., Pei Z.J., Schmidt K.A.** (2010). Ice cream: foam formation and stabilization-a review. *Food Reviews International*, *26*, 122–137.
- Yu S.O., Brown A., Middleton A.J., Tomczak M.M., Walker V.K., Davies P.L.** (2010). Ice restructuring inhibition activities in antifreeze proteins with distinct differences in thermal hysteresis. *Cryobiology*, *61*, 327–334.
- Zhang Z., & Goff H.D.** (2004). Protein distribution at air interfaces in dairy foams and ice cream as affected by casein dissociation and emulsifiers. *International Dairy Journal*, *14*, 647-657.
- Zhang Z., Goff H.D.** (2005). On fat destabilization and composition of the air interface in ice cream containing saturated and unsaturated monoglyceride. *International Dairy Journal*, *15*, 495-500.
- Warren M., Hartel R.** (2014). Structural, Compositional, and Sensorial Properties of United States Commercial Ice Cream Products. *Journal of Food Science*, *79*(10).

BΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 3^ο Κεφαλαίου

- Aalami M., Leelavathi K.** (2008). Effect of microbial transglutaminase on spaghetti quality. *Journal of Food Science*, *73*, 306-312.
- Aaltonen T., Huuonen I., Myllarinen P.** (2014). Controlled transglutaminase treatment in Edam cheese-making. *International Dairy Journal*, *38*, 179-182.
- Ahhmed A.M., Kawahara S., Ohta K., Nakade K., Soeda T., Muguruma M.** (2007). Differentiation in improvements of gel strength in chicken and beef sausages induced by transglutaminase. *Meat Science*, *76*, 455-462.
- Ahhmed A.M., Nasu T., Huy D.Q., Tomisaka Y., Kawahara S., Muguruma M.** (2009a). Effect of microbial transglutaminase on the natural actomyosin cross-linking in chicken and beef. *Meat Science*, *82*, 170-178.
- Ahhmed A.M., Nasu T., Muguruma M.** (2000b). Impact of transglutaminase on the textural, physicochemical, and structural properties of chicken skeletal, smooth, and cardiac muscles. *Meat Science*, *83*, 759-767.

- Ando H., Adachi M., Umeda K., Matsuura A., Nonaka M., Uchio R., Tanaka H., Motoki M.** (1989). Purification and characteristics of a novel transglutaminase derived from microorganisms. *Agricultural & Biological Chemistry*, 53, 2613-2617.
- Anema S.G., Lauber S., Lee S.K., Henle T., Klostermeyer H.** (2005). Rheological properties of acid gels prepared from pressure and transglutaminase-treated skim milk. *Food Hydrocolloids*, 19, 879-887.
- Askin O.O., Kilic B.** (2009). Effect of microbial transglutaminase, sodium caseinate and non-fat dry milk on quality of salt-free, low fat turkey döner kebab. *LWT - Food Science & Technology*, 42, 1590-1596.
- Belitz H.D., Grosch W., Schieberle P.** (2004). *Food Chemistry*, 3rd Ed., Heidelberg, Springer.
- Bellido G.G., Hatcher D.W.** (2011). Effects of a cross-linking enzyme on the protein composition, mechanical properties, and microstructure of Chinese-style noodles. *Food Chemistry*, 125, 813-822.
- Beninati S., Piacentini M.** (2004). The transglutaminase family: an overview: mini review article. *Amino Acids*, 26, 367-372.
- Bönisch M.P., Huss M., Lauber S., Kulozik U.** (2007a). Yogurt gel formation by means of enzymatic protein cross-linking during microbial fermentation. *Food Hydrocolloids*, 21, 585-595.
- Bönisch M., Huss M., Weitzl K., Kulozik U.** (2007b). Transglutaminase cross-linking of milk proteins and impact on yoghurt gel properties. *International Dairy Journal*, 17, 1360-1371.
- Bönisch M.P., Heidebach T.C., Kulozik U.** (2008). Influence of transglutaminase protein cross-linking on the rennet coagulation of casein. *Food Hydrocolloids*, 22, 288-297.
- Clarke D.D., Neidle A., Sarkar N.K., Waelsch H.** (1957). Metabolic activity of protein amide groups. *Archives of Biochemistry & Biophysics*, 71, 277-279.
- Collar C., Bollaín C.** (2004). Impact of microbial transglutaminase on the viscoelastic profile of formulated bread doughs. *European Food Research & Technology*, 218, 139-146.
- Cozzolino A., Di Pierro P., Mariniello L., Sorrentino A., Masi P., Porta R.** (2003). Incorporation of whey proteins cheese curd by using Transglutaminase. *Biotechnology & Applied Biochemistry*, 38, 289-295.
- de Jong G.A.H., Koppelman S.J.** (2002). Transglutaminase catalyzed reactions: Impact on food applications. *Journal of Food Science*, 67, 2798-2806.
- Dickinson E., Bergenstahl B.** (1997). *Proteins, Lipids and Polysaccharides*. The Royal Society of Chemistry, Cambridge.
- Domagała J., Wszolek M., Tamime A.Y., Kupiec-Teahan B.** (2013). The effect of transglutaminase concentration on the texture, syneresis and microstructure of set-type goat's milk yoghurt during the storage period. *Small Ruminant Research*, 112, 154-161.
- Falcone P., Serafin-Fracassini D., Del-Duca S.** (1993). Comparative studies of transglutaminase activity and substrates in different organs of *Helianthus tuberosus*. *Journal of Plant Physiology*, 142, 263-273.
- Farnsworth J.P., Li J., Hendricks G.M., Guo M.R.** (2006). Effects of transglutaminase treatment on functional properties and probiotic culture survivability of goat milk yogurt. *Small Ruminant Research*, 65, 113-121.

- Gerrard J.A., Newberry M.P., Ross M., Wilson A.J., Fayle S.E., Kavale S.** (2000). Pastry Lift and Croissant Volume as Affected by Microbial Transglutaminase. *Journal of Food Science*, 65, 312-314.
- Guyot C., Kulozik U.** (2010). Effect of transglutaminase-treated milk powders on the properties of skim milk yoghurt. *International Dairy Journal*, 21, 628-635.
- Hozova B., Kukurova I., Dodok L.** (2003). Application of transglutaminase and fermizyme for sensory quality improvement of pastry. *Nahrung/Food*, 47, 171-175.
- Huang W., Li L., Wang F., Wan J., Tilley M., Ren C., Wuc S.** (2010). Effects of transglutaminase on the rheological and Mixolab thermomechanical characteristics of oat dough. *Food Chemistry*, 121, 934-939.
- Ikura K., Sasaki R., Motoki M.** (1992). Use of transglutaminase in quality-improvement and processing of food proteins. *Comments on Agricultural and Food Chemistry*, 2, 389-407.
- Jacob M., Noebel S., Jaros D., Rohm H.** (2011). Physical properties of acid milk gels: Acidification rate significantly interacts with cross-linking and heat treatment of milk. *Food Hydrocolloids*, 25, 928-934.
- Jarmoluk A., Pietrasik Z.** (2003). Response surface methodology study on the effects of blood plasma, microbial transglutaminase and kappa-carrageenan on pork batter gel properties. *Journal of Food Engineering*, 60, 327-334.
- Jaros D., Partschfeld C., Henle T., Rohm H.** (2006). Transglutaminase in dairy products: Chemistry, Physics, Applications. *Journal of Texture Studies*, 37, 113-155.
- Jaros D., Jacob M., Otto C., Rohm H.** (2010). Excessive cross-linking of caseins by microbial transglutaminase and its impact on physical properties of acidified milk gels. *International Dairy Journal*, 20, 321-327.
- Jiang S.T., Hsieh J.F., Ho M.L., Chung Y.C.** (2000). Microbial transglutaminase affects gel properties of golden threadfin-bream and pollack surimi. *Journal of Food Science*, 65, 694-699.
- Kanaji T., Ozaki H., Takao T., Kawajiri H., Ide H., Motoki M., Shimonishi Y.** (1993). Primary structure of microbial transglutaminase from *Streptovorticillium* sp. Strain S-8112. *Journal of Biological Chemistry*, 268, 11565-11572.
- Kashiwagi T., Yokoyama K., Ishikawa K., Ono, K., Ejima D., Matsui H., Suzuki E.** (2002). Crystal structure of microbial transglutaminase from *Streptovorticillium mobaraense*. *Journal of Biological Chemistry*, 277, 44252-44260.
- Kieliszek M., Misiewicz A.** (2014). Microbial transglutaminase and its application in the food industry. A review. *Folia Microbiology*, 59, 241-250.
- Kim Y.S., Huang W., Dub G., Pan Z., Chung O.** (2008). Effects of trehalose, transglutaminase, and gum on rheological, fermentation, and baking properties of frozen dough. *Food Research International*, 41, 903-908.
- Kulozik U., Tolkach A., Bulca S., Hinrichs J.** (2003). The role of the processing and matrix design in development and control of microstructure in dairy food production-a survey. *International Dairy Journal*, 13, 621-630.
- Kuraishi C., Sakamoto J., Soeda T.** (1998). Application of transglutaminase for meat processing. *Fleischwirtschaft International*, 3, 37-39.
- Kuraishi C., Yamazaki K., Susa Y.** (2001). Transglutaminase: Its utilization in the food industry. *International Journal of Food Reviews*, 12, 221-246.

- Lauber S., Henle T., Klostermeyer H.** (2000). Relationship between the crosslinking of caseins by transglutaminase and the gel strength of yoghurt. *European Journal of Food Research & Technology*, 210, 305-309.
- Lee H.G., Lanier T.C., Hamann D.D.** (1997). Covalent Cross-Linking Effects of Thermorheological Profiles of Fish Protein Gels. *Journal of Food Science*, 62, 25-28.
- Lee E.Y., Park J.** (2002). Pressure Inactivation Kinetics of Microbial Transglutaminase from *Streptovorticillium mobaraense*. *Journal of Food Science*, 67, 1103-1107.
- Lorenzen P.C.** (2002) Enzymatic crosslinking of dairy proteins. In: *New Processing Technologies for the Future*. Proceedings of the Emerging Technologies Conference, Auckland, New Zealand, International Dairy Federation, 30-36.
- Mahmood W.A., Sebo N.H.** (2009). Effect of microbial transglutaminase treatment on soft cheese properties. *Mesopotamia Journal of Agriculture*, 37, 1-9.
- Marco C., Rosell C.M.** (2008). Effect of different protein isolates and transglutaminase on rice flour properties. *Journal of Food Engineering*, 84, 132-139.
- Mazuknaite I., Guyot C., Leskauskaitė D., Kulozik U.** (2013). Influence of transglutaminase on the physical and chemical properties of acid milk gel and cottage type cheese. *Food, Agriculture & Environment*, 11, 119-124.
- Metwally A.M.M.E.** (2007). Effect of enzymatic cross-linking of milk proteins on properties of ice cream with different composition. *International Journal of Food Science & Technology*, 42, 939-947.
- Motoki M., Okiyama A., Nonaka M., Tanaka H., Uchio R., Matsura A., Ando H., Umeda K.** (1989). Novel transglutaminase manufacture for preparation of protein gelling compounds, Japanese Patent 127, 471.
- Motoki M., Seguro K.** (1998). Transglutaminase and its use for food processing. *Journal of Trends, Food Science & Technology*, 9, 204-210.
- Myllärinen P., Buchert J., Autio K.** (2007). Effect of transglutaminase on rheological properties and microstructure of chemically acidified sodium caseinate gels. *International Dairy Journal*, 17, 800-807.
- Nielsen P.M.** (1995). Reaction and potential industrial applications of transglutaminase. Review of literature and patents. *Food Biotechnology*, 9, 119-156.
- O'Connell J.E., Kruif C.G.** (2003). β -casein micelles: cross-linking with transglutaminase. *Colloids and Surfaces A: Physicochemistry Engineering Aspects*, 216, 75-81.
- Özer B., Kirmaci H.A., Oztekin S., Hayaloglu, A.** (2007). Incorporation of microbial transglutaminase into non-fat yogurt production. *International Dairy Journal*, 17, 199-207.
- Özer B., Guyot C., Kulozik U.** (2012). Simultaneous use of transglutaminase and rennet in milk coagulation: effect of initial milk pH and renneting temperature. *International Dairy Journal*, 24, 1-7.
- Özer B.** (2013). Cheese/ Microflora of White-Brined Cheeses. In: *Encyclopedia of Food Microbiology*, (2nd ed.), Batt, C. ve Tortorello, M.L. (eds.), Elsevier Publ.
- Özrenk E.** (2006). The use of transglutaminase in dairy products: A review. *International Journal of Dairy Technology*, 59, 1-7.
- Pietrasik Z., Li-Chan E.C.Y.** (2002). Binding and textural properties of beef gels as affected by protein, k-carrageenan and microbial transglutaminase addition. *Food Research International*, 35, 91-98.

- Pongjaruvat W., Methacanon P., Seetapan N., Fuongfuchat A., Gamonpilas C.** (2014). Influence of pregelatinised tapioca starch and transglutaminase on dough rheology and quality of gluten-free jasmine rice breads. *Food Hydrocolloids*, 36, 143-150.
- Rodriguez-Nogales J.M.** (2006a). Effect of preheat treatment on the transglutaminase-catalyzed cross-linking of goat milk proteins. *Process Biochemistry*, 41, 430-437.
- Rodriguez-Nogales J.M.** (2006b). Enhancement of transglutaminase-induced protein cross-linking by preheat treatment of cow's milk: A statistical approach. *International Dairy Journal*, 16, 26-32.
- Rossa P.N., de Sá E.M.F., Burin V.M., Bordignon-Luiz M.T.** (2011). Optimization of microbial transglutaminase activity in ice cream using response surface methodology. *Food Science & Technology*, 44, 29-34.
- Rossa P.N., Burin V.M., Bordignon-Luiz M.T.** (2012). Effect of microbial transglutaminase on functional and rheological properties of ice cream with different fat contents. *LWT – Food Science & Technology*, 48, 224-230.
- Şanlı T., Sezgin E., Deveci O., Şenel E., Benli M.** (2011). Effect of using transglutaminase on physical, chemical and sensory properties of set-type yoghurt. *Food Hydrocolloids*, 25, 1477-1481.
- Sayadi, A., Madadlou, A., Khosrowshahi, A.** (2013). Enzymatic cross-linking of whey proteins in low fat Iranian white cheeses. *Dairy Journal*, 9, 88-92.
- Schleikin A.G., Danilov N.P.** (2011). Evolutionary-Biological Peculiarities of Transglutaminase. Structure, Physiological Functions, Application. *Journal of Evolutionary Biochemistry & Physiology*, 47, 3-14.
- Seguro K., Nio N., Motoki M.** (1996). Some characteristics of a microbial protein cross-linking enzyme: Transglutaminase. *ACS Symposium Series*, 650, 271-280.
- Seki N., Uno H., Lee N.H., Kimura I., Toyoda K., Fujita T., Arai K.** (1990). Transglutaminase activity in Alaska pollack muscle and surimi, and its reaction with myosin b. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 56, 125-132.
- Serafini-Fracassini D., Del Duca S., D'Orazi D.** (1988). First evidence for polyamine conjugation mediated by an enzyme activity in plants. *Plant Physiology*, 87, 757-761.
- Sharma R., Lorenzen P.C., Qvist K.B.** (2001). Influence of transglutaminase treatment of skim milk on the formation of ϵ -(γ -glutamyl) lysine and the susceptibility of individual proteins towards cross-linking. *International Dairy Journal*, 11, 785-793.
- Sharma R., Zakora M., Qvist K.B.** (2002). Susceptibility of an industrial α -lactalbumin concentrate to cross-linking by microbial Transglutaminase. *International Dairy Journal*, 12, 1005-1012.
- Téllez-Luis S.J., Uresti R.M., Ramírez J.A., Vázquez M.** (2002). Low-salt restructured fish products using microbial Transglutaminase. *Journal of the Science of Food & Agriculture*, 82, 953-959.
- Wilson E.O.** (1992). *The Diversity of Life*, Harvard University Press, Cambridge, MA.
- Yasueda H, Kumazawa Y, Motoki M.** (1994). Purification and characterization of a tissue-type transglutaminase from red sea bream. *Bioscience, Biotechnology, & Biochemistry*, 58, 2041-2045.
- Yee V.C., Pedersen L.C., Trong I.L., Bishop P.D., Stenkamp R.E., Teller D.C.** (1994). Three-dimensional structure of a transglutaminase: human blood coagulation factor XIII. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, 91, 7296-7300.

- Yokoyama K., Kikuchi Y., Yasueda H.** (1998). Overproduction of DnaJ in *Escherichia coli* improves in vivo solubility of the recombinant fish-derived Transglutaminase. *Bioscience, Biotechnology, & Biochemistry*, 62, 1205-1210.
- Yokoyama K., Nakamura N., Seguro K., Kubota K.** (2000). Overproduction of microbial transglutaminase in *Escherichia coli*, in vitro refolding, and characterization of the refolded form. *Bioscience, Biotechnology, & Biochemistry*, 64, 1263–1270.
- Yokoyama K., Nio N., Kikuchi Y.** (2004). Properties and applications of microbial transglutaminase. *Applied Microbiology & Biotechnology*, 64, 447-454.
- Yu Y.J., Wu S.C., Chan H.H., Chen Y.C., Chen Z.Y., Yang M.T.** (2008). Overproduction of soluble recombinant transglutaminase from *Streptomyces netropsis* in *Escherichia coli*. *Applied Microbiology & Biotechnology*, 81, 523–532.
- Zhu Y., Rinzema A., Tramper J., Bol J.** (1995). Microbial transglutaminase – a review of its production and application in food processing. *Applied Microbiology & Biotechnology*, 44, 277-282.
- Zhu Y., Tramper J.** (2008). Novel applications for microbial transglutaminase beyond food processing. *Trends in Biotechnology*, 26, 559-565.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 4^ο Κεφαλαίου

- Anema S.G.**, (2010) Instability of pressure treated reconstituted skim milk to acidification. *Food Biophys*, 5, 321-329
- Anema S.G., Lowe E.K., & Stockmann R.** (2005). Particle size changes and casein solubilisation in high-pressure-treated skim milk. *Food Hydrocolloids*, 19, 257-267.
- Anon**, (2001). Technical elements of new and emerging non-thermal food technologies. Fao.org/Ag/ags/Agsi/Nonthermal/nonthermal_1
- Balasubramaniam V.M. Farkas D., Turek E.J.** (2011). Preserving Foods through High Pressure Processing. *Food Technology*, 11, 32-38.
- Balasubramaniam V.M., Ting E.Y., Stewart C.M., Robbins J.A.** (2004). Recommended laboratory practices for conducting high-pressure microbial inactivation experiments. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 5, 299-306.
- Balasubramaniam VM., Farkas D.** (2008). High pressure food processing. *Food Science and Technology International*, 14, 413-418.
- Balny C., Masson P.** (1993). Effects of high pressure on proteins. *Food Reviews International*, 9, 611-628.
- Bartlett DH.**, (2002). Pressure effects on in vivo microbial processes. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1595, 367-381.
- Biasutti M., Venir E., Marino M., Maifreni M., Innocente N.** (2013). Effects of high pressure homogenisation of ice cream mix on the physical and structural properties of ice cream. *International Dairy Journal*, 32, 40-45.
- Bilbao-Sáinz C., Younce F.L., Rasco B., & Clark S.** (2009). Protease stability in bovine milk under combined thermal-high hydrostatic pressure treatment. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 10, 314-320.
- Black P.E., Kelly L.A., Fitzgerald F.G.**, (2005) The combined effect of high pressure and nisin on inactivation of microorganisms in milk. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 6, 286-292

- Black P.E., Linton M., McCall R.D., Curran W., Fitzgerald G.F., Kelly A.L., Patterson M.F.,** (2008) The combined effects of high pressure and nisin on germination and inactivation of *Bacillus* spores in milk. *Journal of Applied Microbiology*, 105, 78-87
- Buchheim W, Frede E.,** (1996) Use of high-pressure treatment to influence the crystallization of emulsified fats. *DMZ Lebensm ind Milchwirtsch*, 117, 228–237
- Buchheim W., Abou El-Nour A.M.,** (1992) induction of milkfat crystallization in the emulsified state by high hydrostatic pressure, *Fat Science Technology*, 94, 369-373
- Buckow R., Heinz V., & Knorr D.** (2005). Two fractional model for evaluating the activity of glucoamylase from *Aspergillus niger* under combined pressure and temperature conditions. *Food & Bioproducts Processing*, 83, 220-228.
- Butz P., Bognar A., Dieterich S., Tauscher B.,** (2007) Effect of high pressure processing at elevated temperatures on thiamin and riboflavin in pork and model systems. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 55, 1289-1294
- Buzrul S., Alpas H., Largeteau A., Bozoglu F., Demazeau G.** (2008). Compression heating of selected pressure transmitting fluids and liquid foods during high hydrostatic pressure treatment. *Journal of Food Engineering*, 85, 466-472.
- Caner C., Hernandez R.J., Harte B.R.** (2004). High-pressure Processing Effects on the Mechanical, Barrier and Mass Transfer Properties of Food Packaging Flexible Structures: A Critical Review. *Packaging Technology & Science*, 17, 23-29.
- Carlez A. Rosec J., Richard N., Cheftel J.,** (1994) Bacterial growth during chilled storage of pressure treated minced meat. *Lebensmittel-Wissenschaft und –Technologie*, 27, 48-54
- Chauhan J. M., Lim S.-Y., Powers J. R., Ross C. F., Clark S.,** (2010) Short communication: Low-fat ice cream flavor not modified by high hydrostatic pressure treatment of whey protein concentrate, *J. Dairy Sci.*, 93, 1452–1458
- Chawla R., Patil G.R., Singh A.K.** (2011). High hydrostatic pressure technology in dairy processing: a review. *Journal of Food Science & Technology*, 48, 260-268.
- Cheftel J.C.** (1992). Effects of high hydrostatic pressure on food constituents: An overview. *High pressure and Technology, John Libbey Eurotext*, 195-209.
- Cheftel J.C.** (1995). High-pressure, microbial inactivation and food preservation review. *Food Science & Technology International*, 1, 75-90.
- Chura-Chambi R.M., Genova L.A., Affonso R., Morganti L.,** (2008) Refolding of endostatin from inclusion bodies using high hydrostatic pressure. *Analytical Biochemistry*, 379, 32-39.
- Collinge J., Clarke A.R.,** (2007) A general model of prion strains and their pathogenicity. *Science*, 318, 930-936
- De Ancos B., Sgroppo S., Plaza L., Cano M. P.,** (2002) Possible nutritional and health-related value promotion in orange juice preserved by high-pressure treatment. *Journal of the Science and Food and Agriculture*, 82, 790-796.
- Delgado F.J., Contador R., Álvarez-Barrientos A., Cava R., Delgado-Adámez J., Ramírez, R.,** (2013) Effect of high pressure thermal processing on some essential nutrients and immunological components present in breast milk. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 19, 50-56.
- Denys S., Van Loey A.M., Hendrickx M.E.** (2000). A modelling approach for evaluating process uniformity during batch high hydrostatic pressure processing:

- Combination of a numerical heat transfer model and enzyme inactivation kinetics. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 1, 5-19.
- Eberhard P., Strahm W., Eyer H.**, (1999) High pressure treatment of whipped cream. *Agrarforschung*, 6,352–354.
- Eisenmenger M.J., Reyes-De-Corcuera J.I.**, (2009) High pressure enhancement of enzymes: A review. *Enzyme & Microbial Technology*, 45, 331-347
- Farkas D.F., Hoover D.G.** (2000). High Pressure Processing. *Journal of Food Science*, 65, 47-64.
- Fernández García A., Heindl P., Voigt H., Büttner M., Wienhold D., Butz P., Stärke J., Tauscher B., Pfaff E.**, (2004) Reduced proteinase K resistance and infectivity of prions after pressure treatment at 60°C. *Journal of General Virology*, 85, 261-264
- Ferragut V., Martinez V.M., Trujillo A.J., Guamis B.**, (2000) Properties of yoghurts made from whole ewe's milk treated by high hydrostatic pressure, *Milchwissenschaft*, 55, 267-269
- Foguel D., Suarez M.C., Ferrão-Gonzales A.D., Porto T.C., Palmieri L., Einsiedler C.M., Andrade L.R, Lashuel H.A., Lansbury P.T., Kelly J.W., Silva, J.L.**, (2003) Dissociation of amyloid fibrils of alpha-synuclein and transthyretin by pressure reveals their reversible nature and the formation of water-excluded cavities. *Proceedings of National Academy of Science of USA*, 100, 9831-9836
- Gabrovska D., Paulickova I., Maskova E., Fiedlerova V., Kocurova K., Pruchova J.**, (2005) Changes in selected vitamins, microorganism counts and sensory quality during storage of pressurized sprouted seed of alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Czech Journal of Food Sciences*, 23, 246-250
- Garcia M.R., Olano A., Ramos M., & Lopez Fandino R.** (2000). Micellar changes induced by high pressure. Influence in the proteolytic activity and organoleptic properties of milk. *Journal of Dairy Science*, 83(10), 2184 –2198.
- Gervilla R., Ferragut V., Guamis B.** (2001). High hydrostatic pressure effects on colour and milk-fat globule of ewe's milk. *Journal of Food Science*, 66(6), 343-346.
- Harte F., Luedecke L., Swanson B., & Barbosa-Cánovas G.V.** (2003). Low-fat set yogurt made from milk subjected to combinations of high hydrostatic pressure and thermal processing. *Journal of Dairy Science*, 86, 1074-1082.
- Hayashi R.** (1990). High Pressure processed Food, Sanei, Kyoto.
- Heinz V., & Knorr D.** (2002). Effects of high pressure on spores. *In Ultra high pressure treatments of foods*, Hendrickx M.E., Knorr D. (eds). Kluwer/Plenum, New York, 77-113.
- Heinz V., Buckow R.**, (2010) Food preservation by high pressure. *Journal of Consumer Protection & Food Safety*, 5, 73-81
- Heremans K.**, (1995) High-pressure effect on biomolecules. Ledward, D.A., Johnston, D.E., Earnshaw, R.G., & Hasting, A.P.M. (Eds.), Nottingham, University Press, Loughborough, UK
- Hinrichs J., & Rademacher B.** (2005). Kinetics of combined thermal and pressure-induced whey protein denaturation in bovine skim milk. *International Dairy Journal*, 15, 315-323.
- Hite B.H., Giddings N.J., Weakley C.E.**, (1914) The effect of pressure on certain microorganisms encountered in the preservation of fruits and vegetables, *Bull. West Virg. Uni. Agric. Exp. Station*, 146:1-67

- Hogan E., Kelly A.L., Sun D.W.** (2005). High pressure processing of foods: an overview. *In: Emerging Technologies for Food Processing*, Sun D.W. (Ed.), Academic Press, 3-31.
- Hugas M., Garriga M., Monfort J.M.** (2002). New mild technologies in meat processing: high pressure as a model technology. *Meat Science*, 62, 359-371.
- Huppertz T., Fox P. F., & Kelly A. L.** (2004a). High pressure treatment of bovine milk: Effects on casein micelles and whey proteins. *Journal of Dairy Research*, 71, 97-106.
- Huppertz T., Fox P. F., & Kelly A. L.** (2004b). Properties of casein micelles in high-pressure treated bovine milk. *Food Chemistry*, 87, 103-110.
- Huppertz T., Fox P. F., Kelly A. L.,** (2004c) Dissociation of caseins in high pressure-treated bovine milk. *International Dairy Journal*, 14, 675-680
- Huppertz T., Hinz K., Zobrist M. R., Uniacke T., Kelly A. L., Fox P. F.,** (2005) Effects of high pressure treatment on the rennet coagulation and cheese-making properties of heated milk. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 6, 279-285
- Huppertz T., Smiddy M. A., Goff H. D., Kelly A. L.** (2011). Effects of high pressure treatment of mix on ice cream manufacture, *International Dairy Journal* 21: 718-726.
- Iametti S., Transdico F., Bonomi G., Vecchio G., Pittia P., Rovere P., & Dall'Aglio G.** (1997). Molecular modifications of b-lactoglobulin upon exposure to high pressure. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 23-29.
- Johnston D. E., Murphy R. J., Birks A. W.** (1994). Stirred-style yoghurt-type product prepared from pressure treated skim-milk, *High Press Res* 12, 215–219.
- Johnston D.E.** (1995). High pressure effects on milk and meat. *High Pressure Processing of Foods*, 99-121. Longhborough, Nottingham: University Press.
- Jung C., Tonello C., Lamballerie M.** (2011). High hydrostatic pressure food processing, *In: Alternatives to Conventional Food Processing*, Proctor A. (Ed.), RSC Publishing, Cambridge, UK, 254-306.
- Jungbauer A, Kaar W.,** (2007) Current status of technical protein refolding. *Journal of Biotechnology*, 128, 587-96.
- Kadam P.S., Jadhav B.A., Salve R.V., Machewad G.M.,** (2012). Review on the High Pressure Technology (HPT) for Food Preservation. *Journal of Food processing & Technology*, 3, 135-139
- Keenan R.D., Wix L., & Young D.** (1998). Method for the preparation of a foodstuff. *Patent WO 98/18350*.
- Knorr D.,** (1995) Hydrostatic pressure treatment of food: microbiology. *In New methods of food preservation*, Gould G.W. (ed.), 159-175. Blackie Academic and Professional, London
- Knorr D., Heinz V., Buckow R.,** (2006). High pressure application for food biopolymers. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1764, 619-631.
- Koca N., Balasubramaniam V.M., Harper W.J.** (2011). High pressure effects on the microstructure, texture, and color of white brined cheese. *J Food Sci*, 76, E399–E404.
- Kunugi S., Tanaka N.,** (2002) Cold denaturation of proteins under high pressure. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1595:329-344
- Lambert Y., Demazeau G., Largeteau A., Bouvier J.M, Laborde Croubit S., Cabannes M.,** (2000) Packaging for high-pressure treatments in the food industry. *Packaging Technology & Science*, 13, 63-71.

- Lau M.H., Turek E.J.**, (2007) Determination of quality difference in low-acid foods sterilized by high pressure versus retorting. In *High pressure processing of foods*, C.J. Doona & F.E. Feeherry (Eds.), 195-217. Blackwell Publishing and IFT Press
- Lee W., Clark S., Swanson B.G.**, (2006) Functional properties of high hydrostatic pressure-treated whey protein. *Journal of Food Processing and Preservation*, 30, 488-501.
- Lee W.J., & Lucey J.A.** (2006). Impact of gelation conditions and structural breakdown on the physical and sensory properties of stirred yogurts. *Journal of Dairy Science*, 89, 2374-2385.
- Lim S.Y., Swanson B.G., Clark S.**, (2008b) High hydrostatic pressure modifications of whey protein concentrate for improved functional properties. *Journal of Dairy Science*, 91, 1299-1307
- Lim S.Y., Swanson B.G., Ross C.F., Clark S.**, (2008a) High hydrostatic pressure modification of whey protein concentrates for improved body and texture of low-fat ice cream. *Journal of Dairy Science*, 91:1308-1316
- Liu X., Powers, J.R. Swanson, B.G., Hill H.H., & Clark S.** (2005). Modification of whey protein concentrate hydrophobicity by high hydrostatic pressure. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 6, 310-317.
- Lopez Fandino R., Carrascosa A.V., & Olano, A.** (1996). The effects of high pressure on whey protein denaturation and cheese-making properties of raw milk. *Journal of Dairy Science*, 79(6), 929 –1126.
- Ludikhuyze L., Claeys W., & Hendrickx M.E.** (2000). Combined pressure–temperature inactivation of alkaline phosphatase in bovine milk: A kinetic study. *Journal of Food Science*, 65, 155-160.
- Lullien-Pellerin V., Balny C.**, (2002) High-pressure as a tool to study some proteins' properties: conformational modification, activity and oligomeric dissociation. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 3, 209-221.
- Masschalck B., van Houdt R., Michiels C.W.**, (2001) High pressure increases bactericidal activity and spectrum of lactoferrin, lactoferricin and nisin. *International Journal of Food Microbiology*, 64, 325-332
- Masson P., & Balny C.** (2005). Linear and non-linear pressure dependence of enzyme catalytic parameters. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1724, 440-450.
- Masson P., Bec N., Frement M.T., Nachon F., Balny C., Lockridge O., & Schopfer L.M.** (2004). Rate-determining step of butyrylcholinesterase-catalyzed hydrolysis of benzoylcholine and benzoylthiocholine. *European Journal of Biochemistry*, 271, 1980-1990.
- Meersman F., Dobson C.M.**, (2006) Probing the pressure temperature stability of amyloid fibrils provides new insights into their molecular properties. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1764:452-460.
- Mermelstein N.H.** (1997). High-pressure processing reaches the US market. *Food Technology*, 51, 95-96.
- Mertens B.** (1995). Hydrostatic pressure treatment of food: equipment and processing. *New methods of food preservation*, 135-158.
- Messens W., Van Camp J., Huyghebaert A.**, (1997) The use of high pressure to modify functionality of food proteins. *Trends in Food Science & Technology*, 8, 107-112
- Michel M., Autio K.**, (2001) Effect of high pressure on protein and polysaccharide based structure. In *Ultra high pressure treatment of foods*, Hendrix M.E.G., & Knorr D. (Eds), 189-241. New York.

- Moltó-Puigmartí C., Permanyer M., Castellote A.I., López-Sabater M.C.,** (2011) Effects of pasteurisation and high-pressure processing on vitamin C, tocopherols and fatty acids in mature human milk. *Food Chemistry*, 124, 697-702.
- Morgan S.M., Ross R.P., Beresford T., Hill C.,** (2000) Combination of high hydrostatic pressure and lactacin 3147 causes increased killing of *Staphylococcus* and *Listeria*. *Journal of Applied Microbiology*, 88, 414-420
- Moschopoulou E., Anisa T., Katsaros G., Taoukis P., Moatsou G.** (2010). Application of high pressure treatment on ovine brined cheese: effect on composition and microflora throughout ripening. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 11, 543–550.
- Mozhaev V., Heremans K., Frank J., Masson P., & Balny C.** (1996). High pressure effects on protein structure and function. *Proteins, Structure, Function and Genetics*, 24, 81-91.
- Mújica-Paz H., Valdez-Fragoso A., Tonello C.S., Welti-Chanes J., Torres J.A.** (2011). High-Pressure Processing Technologies for the Pasteurization and Sterilization of Foods. *Food & Bioprocess Technology*, 4, 969-985.
- Mussa D.M., & Ramaswamy H.** (1997). Ultra high pressure pasteurization of milk: kinetics of microbial destruction and changes in physico-chemical characteristics. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 30(6), 551 –557.
- Nachamansion J.** (1995). Packaging solutions for high quality foods processed by high hydrostatic pressure. *Proceedings of Europack*, 7, 390-401.
- Naik L., Sharma R., Rajput Y.S., Manju G.** (2013). Application of High Pressure Processing Technology for Dairy Food Preservation - Future Perspective: A Review. *Journal of Animal Production Advances*, 3, 232-241.
- Narisawa N., Furukawa S., Kawarai T., Ohishi K., Kanda S., Kimijima K., Negishi S., Ogihara H., Yamasaki M.,** (2008) Effect of skimmed milk and its fractions on the inactivation of *Escherichia coli* K12 by high hydrostatic pressure treatment. *International Journal of Food Microbiology*, 124, 103-107.
- Needs E.C., Capellas M., Bland A.P., Manoj P., MacDougal D., Paul G.** (2000b). Comparison of heat and pressure treatments of skimmed milk, fortified with whey concentrate, for set yogurt preparation: effects on milk proteins and gel structure. *Journal of Dairy Research*, 67, 329–348.
- Needs E.C., Stenning R.A., Gill A.L., Ferragut V., Rich G.T.,** (2000a) High-pressure treatment of milk: effects on casein micelle structure and on enzymic coagulation. *Journal of Dairy Research*, 67, 31-42.
- Norton T., Sun D.W.,** (2008) Recent advances in the use of high pressure as an effective processing technique in the food industry. *Food & Bioprocess Technology*, 1, 2-34.
- O'Reilly C.E., O'Connor P.M., Kelly A.L., Beresford T.P., Murphy P.M.** (2000). Use of high hydrostatic pressure for inactivation of microbial contaminants in cheese. *Applied Environmental Microbiology* 66, 4890–4896,
- Oey I., Lille M., Van Loey A., Hendrickx M.,** (2008) Effect of high pressure processing on colour, texture and flavour of fruit and vegetable-based food products: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 19, 320-328.
- Oey I., Verlinde P., Hendrickx M., van Loey A.,** (2006) Temperature and pressure stability of L-ascorbic acid and/or [6s] 5-methyltetrahydrofolic acid: a kinetic study. *European Food Research & Technology*, 223, 71-77

- Ohlsson T.** (2002). Minimal processing of foods with thermal methods *In: Minimal Processing Technologies in the Food Industry*, Woodhead Publishing Limited, Boca Raton, FL
- Ohlsson T.,** (2002) Minimal processing of foods with thermal methods, *Minimal Processing Technologies in the Food Industry*, Woodhead Publishing Limited, Boca Raton, FL
- Olsen K., Kristensen D., Rasmussen J.T., Skibsted L.H.** (2004) Comparison of the effect of high pressure and heat on the activity of bovine xanthine oxidase. *Milchwissenschaft* 59, 411–413.
- Olsson S.** (1995). Production equipment for commercial use. *In High Pressure Processing of Foods*, Nottingham University Press, Nottingham, 167-180.
- Orlien V., Boserup L., Olsen K.,** (2010) Casein micelle dissociation in skim milk during high pressure treatment: effects of pressure, pH, and temperature, *Journal of Dairy Science*, 93, 12–18
- Pandey P.K., & Ramaswamy H.S.** (2004). Effect of high-pressure treatment of milk on lipase and gamma-glutamyl transferase activity. *Journal of Food Biochemistry*, 28, 449-462.
- Patterson M.F.A.,** (2005) Review: Microbiology of pressure-treated foods. *Journal of Applied Microbiology*, 98, 1400-1409
- Penna A.L.B., Gurram S., & Barbosa-Cánovas G.V.** (2007). High hydrostatic pressure processing on microstructure of probiotic low-fat yogurt. *Food Research International*, 40, 510-519.
- Penna A.L.B., Subbarao G., & Barbosa-Cánovas G.V.** (2006). Effect of High hydrostatic pressure processing on rheological and textural properties of probiotic low-fat yogurt fermented by different starter cultures. *Journal of Food Process Engineering*, 29, 447-461.
- Permany M., Castellote C., Ramírez-Santana C., Audí C., Pérez-Cano F.J., Castell M., López-Sabater M.C., Franch, A.,** (2010) Maintenance of breast milk Immunoglobulin A after high-pressure processing. *Journal of Dairy Science*, 93, 877-883.
- Qoronfleh W., Hesterberg L.K., Seefeldt M.B.,** (2007) Confronting high-throughput protein refolding using high pressure and solution screens. *Protein Expression & Purification*, 55, 209-224
- Rademacher B., & Hinrichs J.** (2006). Effects of high pressure treatment on indigenous enzymes in bovine milk: Reaction kinetics, inactivation and potential application. *International Dairy Journal*, 16, 655-661.
- Ramaswamy H.S., Jin H., Zhu S.,** (2009) Effects of fat, casein and lactose on high-pressure destruction of *Escherichia coli* K12 (ATCC-29055) in milk. *Food & Bioproducts Process*, 87, 1-6.
- Rasanayagam V., Balasubramaniam V.M., Ting E., Sizer C.E., Bush C., Anderson C.** (2003). Compression heating of selected fatty food materials during high pressure processing. *Journal of Food Science*, 68, 225-259.
- Rastogi N.K.** (2013). High pressure processing of dairy products. *In: Recent Developments in High Pressure Processing of Foods*, R.W. Hartel (Ed.), Springer Briefs in Food, Health & Nutrition, New York, 51-66.
- Rastogi N.K., Raghavarao K.S.M.S., Balasubramaniam V.M., Niranjan K., Knorr D.** (2007). Opportunities and Challenges in High Pressure Processing of Foods. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 47, 69-112.

- Sàiz A.H., Mingo S.T., Balda F.P., Samson C.T. (2008). Advances in design for successful commercial high pressure food processing. *Food Australia*, 60, 154-156.
- Sánchez-Moreno C., Plaza L., Elez-Martínez P., De Ancos B., Martín-Belloso O., Cano, M.P., (2005) Impact of high-pressure and pulsed electric fields on bioactive compounds and antioxidant activity of orange juice and comparison with traditional thermal processing. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53,4403-4409
- San-Martin M.F.G., Welti-Chanes J., Barbosa-Canovas G.V. (2006). Cheese manufacture assisted by high pressure. *Food Rev Int*, 22, 275–289
- Schoner B.E., Bramlett K.S., Guo H., Burris T.P., (2005). Reconstitution of functional nuclear receptor proteins using high pressure refolding. *Molecular Genetics & Metabolism*, 85, 318–322.
- Seefeldt M.B., Ouyang J., Froland W.A., Carpenter J.F., Randolph T.W., (2004). High-pressure refolding of bikunin: Efficacy and thermodynamics. *Protein Science*, 13, 2639-2650
- Serra M., Trujillo A.J., Guamis B., & Ferragut V. (2009). Flavour profiles and survival of starter cultures of yoghurt produced from high-pressure homogenized milk. *International Dairy Journal*, 19, 100-106.
- Serra M., Trujillo A.J., Pereda J., Gumais B., & Ferragut V. (2008). Quantification of lipolysis and lipid oxidation during cold storage of yoghurts produced from milk treated by ultra-high pressure homogenization. *Journal of Food Engineering*, 89, 99-104.
- Serra X., Grebol N., Guardia M.D., Guerrero L., Gou P., Masoliver P., Gassiot M., Sarraga C., Monfort J.M., Arnau J. (2007). High pressure applied to frozen ham at different process stages. 2. Effect on the sensory attributes and on the color characteristics of dry-cured ham. *Meat Science*, 75, 21–28.
- Smelt J.M., (1998). Recent advances in the microbiology of high pressure processing. *Trends in Food Science & Technology*, 9, 152-158
- Sørhaug T., & Stepaniak L. (1997). Psychrotrophs and their enzymes in milk and dairy products: quality aspects. *Trends in Food Science & Technology*, 8, 35-41.
- Subirade M., Loupil F., Allain A.F., & Paquin P. (1998). Effect of dynamic high pressure on the secondary structure of β -lactoglobulin and on its conformational properties as determined by Fourier transform infrared spectroscopy. *International Dairy Journal*, 8, 135-140.
- Tanaka T., Hatanaka K. (1992). Application of hydrostatic pressure to yoghurt to prevent its after acidification. *Journal of The Japanese Society for Food Science & Technology*, 39, 173-177.
- Taoukis P.S., Panagiotidis P., Stoforos N.G., Butz P., Fister H., Tauscher B., (1998). Kinetics of vitamin C degradation under high pressure-moderate temperature processing in model systems and fruit juices. In *High pressure food science, bioscience and chemistry*, N.S. Isaacs (Ed.), 310-316. Cambridge, The Royal Society of Chemistry.
- Thakur B.R., Nelson P.E. (1998). High pressure processing and preservation of food. *Food Reviews International*, 14, 427–447.
- Ting E., Balasubramaniam V.M., Raghubeer E. (2002). Determining thermal effects in high-pressure processing. *Food Technology*, 56, 31-32, 34, 56.
- Trujillo A.J., Capellas M., Saldo J., Gervilla R., Guamis B. (2002). Applications of high-hydrostatic pressure on milk and dairy products: review. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 3, 295-307.

- Tsevdou M. et al**, (2013) Monitoring the effect of high pressure and transglutaminase treatment of milk on the evolution of flavor compounds during lactic acid fermentation using PTR-ToF-MS, *Food Chem*, 138, 2159-2167
- Udabage P., Puvanenthiran A., Jin A.Y., Versteeg C., Augustin M. A.**, (2012). Modified water solubility of milk protein concentrate powders through the application of static high pressure treatment. *Journal of Dairy Research*, 79, 76–83.
- Vachon J.F., Kheadr E.E., Giasson J., Paquin P, Fliss I.**, (2002) Inactivation of food-borne pathogens in milk using dynamic high pressure. *Journal of Food Protection*, 65, 345-352
- Viazis S., Farkas B., Allen J.C.** (2007). Effects of high-pressure processing on immunoglobulin A and lysozyme activity in human milk. *Journal of Human Lactation*, 23(3), 253-261.
- Voigt D.D., Chevalier F., Donaghy J.A., Patterson M.F., Qian M.C., Kelly A.L.** (2012). Effect of high pressure treatment of milk for cheese manufacture on proteolysis, lipolysis, texture and functionality of Cheddar cheese during ripening. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 13, 23–30.
- Voigt D.D., Donaghy J.A., Patterson M.F., Stephan S., Kelly A.L.** (2010). Manufacture of Cheddar cheese from high pressure treated whole milk. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 11, 574–579.
- Voigt D.D., Patterson M.F., Linton M., Kelly A.L.** (2011) Effect of high pressure treatment of milk prior to manufacture on ripening of Camembert cheese. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 12, 1–5.
- Walker M.K., Farkas D.F., Anderso, S.R., & Goddik L.M.** (2004). Effects of high-pressure processing at low temperature on the molecular structure and surface properties of beta-lactoglobulin. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 52, 8230-8235.
- Walker M.K., Farkas D.F., Loveridge V., Goddik L.M.**, (2006) Fruit yogurt processed with high pressure, *International Journal of Food Science and Technology*, 41, 464-467.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 5^ο Κεφαλαίου

- Akhtar M., Murray B.S., & Dickinson, E.** (2006). Perception of creaminess of model oil-in-water dairy emulsions: influence of the shear-thinning nature of a viscosity-controlling hydrocolloid. *Food Hydrocolloids*, 20, 839-847.
- Goff H.D., Jordan W.K.** (1989). Action of emulsifiers in promoting fat destabilization during the manufacture of ice cream. *Journal of Dairy Science*, 72, 18-29.
- Marshall R.T., Goff H.D., & Hartel R.W.** (2003). Ice cream. New York: Aspen Publishers.
- Wildmoser H., Scheiwiller J., & Windhab E.J.** (2004). Impact of disperse microstructure on rheology and quality aspects of ice cream. *LWT - Food Science & Technology*, 37, 881-891.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 6^ο Κεφαλαίου

- Biasutti M., Venir E., Marino M., Maifreni M., Innocente N.** (2013). Effects of high pressure homogenisation of ice cream mix on the physical and structural properties of ice cream. *International Dairy Journal*, 32, 40-45.
- Cogné C., Andrieu J., Laurent P., Besson A., Nocquet J.** (2003). Experimental data and modelling of thermal properties of ice creams. *Journal of Food Engineering*, 58, 331-341.
- El-Nagar G., Clowes G., Tudorică C.M., Kuri V., Brennan C.S.** (2002). Rheological quality and stability of yog-ice cream with added inulin. *International Journal of Dairy Technology*, 55, 89-93.
- Faergemand M., Murray B.S., Dickinson E., Qvist Q.B.** (1999a). Cross-linking of adsorbed casein films with transglutaminase. *International Dairy Journal*, 9, 343-346.
- Farnsworth J.P., Li J., Hendricks G.M., Guo M.R.** (2006). Effects of transglutaminase treatment on functional properties and probiotic culture survivability of goat milk yogurt. *Small Ruminant Research*, 65, 113-121.
- Gervilla R., Ferragut V., Guamis B.** (2001). High hydrostatic pressure effects on colour and milk-fat globule of ewe's milk. *Journal of Food Science*, 66(6), 343-346.
- Huppertz T., Fox P.F., Kelly A.L.** (2004). High pressure treatment of bovine milk: Effects on casein micelles and whey proteins. *Journal of Dairy Research*, 71, 97-106.
- Huppertz T., Smiddy M.A., Goff H.D., Kelly A.L.** (2011). Effects of high pressure treatment of mix on ice cream manufacture, *International Dairy Journal* 21: 718-726.
- Innocente, N., Biasutti, M., Venir, E., Spaziani, M., Marchesini, G.** (2009). Effect of high-pressure homogenization on droplet size distribution and rheological properties of ice cream mixes. *Journal of Dairy Science*, 92, 1864-1875.
- Johnston D.E.** (1995). High pressure effects on milk and meat. *High Pressure Processing of Foods*, 99-121. Longborough, Nottingham: University Press.
- Lim S.Y., Swanson B.G., Ross C.F., Clark, S.** (2008). High hydrostatic pressure modification of whey protein concentrates for improved body and texture of low-fat ice cream. *Journal of Dairy Science*, 91, 1308-1316.
- Metwally A.M.M.E.** (2007). Effect of enzymatic cross-linking of milk proteins on properties of ice cream with different composition. *International Journal of Food Science & Technology*, 42, 939-947.
- Mezger T.G.** (2006). The rheology handbook: for users of rotational and oscillatory rheometers. Hannover, Vincentz Network.
- Muse M.R., Hartel R.W.** (2004). Ice cream structural elements that affect melting rate and hardness. *Journal of Dairy Science*, 87, 1-10.
- Rossa P.N., Burin V.M., Bordignon-Luiz M.T.** (2012). Effect of microbial transglutaminase on functional and rheological properties of ice cream with different fat contents. *LWT - Food Science & Technology*, 48, 224-230.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

ΠΙΝΑΚΕΣ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΩΝ ΑΝΑΛΥΣΕΩΝ

OVERRUN	SS	DEGREES OF FREEDOM	MS	F	P-VALUE
Intercept	284263,6	1	284263,6	5415,209	0,000000
Processing	370,7	1	370,7	7,062	0,015121
TGase level	2673,7	4	668,4	12,733	0,000026
Processing*TGase level	672,9	4	168,2	3,205	0,034661
	1049,9	20	52,5		

FIRST DROP	SS	DEGREES OF FREEDOM	MS	F	P-VALUE
Intercept	9229,548	1	9229,548	10448,54	0,000000
Processing	443,905	1	443,905	502,53	1,22E-15
TGase level	97,942	4	24,486	27,72	6,58E-08
Processing*TGase level	356,318	4	89,080	100,84	5,83E-13
	17,667	20	0,883		

MELTING RATE	SS	DEGREES OF FREEDOM	MS	F	P-VALUE
Intercept	71,51808	1	71,51808	29552,93	0,000000
Processing	0,35861	1	0,35861	148,19	1,05E-10
TGase level	0,75712	4	0,18928	78,21	6,38E-12
Processing*TGase level	0,69179	4	0,17295	71,47	1,48E-11
	0,04840	20	0,00242		

CONSISTENCY COEFFICIENT	SS	DEGREES OF FREEDOM	MS	F	P-VALUE
Intercept	0,532800	1	0,532800	32754,11	0,00000
Processing	0,108240	1	0,108240	6654,11	0,00000
TGase level	0,063457	4	0,015864	975,25	0,00000
Processing*TGase level	0,059286	4	0,014821	911,16	0,00000
	0,000325	20	0,000016		

FLOW BEHAVIOUR	SS	DEGREES OF FREEDOM	MS	F	P-VALUE
Intercept	19,24002	1	19,24002	1110001	0,000000
Processing	0,02529	1	0,02529	1459	0,000000
TGase level	0,01038	4	0,00260	150	0,000000
Processing*TGase level	0,00865	4	0,00216	125	0,000000
	0,00035	20	0,00002		

VISCOSITY	SS	DEGREES OF FREEDOM	MS	F	P-VALUE
Intercept	95541,63	1	95541,63	9245,965	0,000000
Processing	8704,03	1	8704,03	842,326	0,000000
TGase level	5212,87	4	1303,22	126,118	6,91E-14
Processing*TGase level	5443,80	4	1360,95	131,705	4,55E-14
	206,67	20	10,33		

THIXOTROPY	SS	DEGREES OF FREEDOM	MS	F	P-VALUE
	4183,811	1	4183,811	1014,371	0,000000
Intercept	1234,695	1	1234,695	299,354	1,68E-13
Processing	255,940	4	63,985	15,513	6,34E-06
TGase level	69,908	4	17,477	4,237	0,012062
Processing*TGase level	82,491	20	4,125		

HARDNESS	SS	DEGREES OF FREEDOM	MS	F	P-VALUE
Intercept	1,469538E+09	1	1,469538E+09	8415,123	0,000000
Processing	6,497703E+07	1	6,497703E+07	372,083	2,15E-14
TGase level	1,413303E+08	4	3,533258E+07	202,328	6,66E-16
Processing*TGase level	1,387766E+08	4	3,469415E+07	198,672	8,88E-16
	3,492612E+06	20	1,746306E+05		

THERMAL CONDUCTIVITY	SS	DEGREES OF FREEDOM	MS	F	P-VALUE
Intercept	10,21859	1	10,21859	8284,889	0,000000
Processing	0,41658	1	0,41658	337,746	5,40E-14
TGase level	0,11632	4	0,02908	23,577	2,49E-07
Processing*TGase level	0,03069	4	0,00767	6,220	0,002021
	0,02467	20	0,00123		

COMPLEX VISCOSITY @ -10C	SS	DEGREES OF FREEDOM	MS	F	P-VALUE
Intercept	7,883660E+10	1	7,883660E+10	8563,829	0,000000
Processing	1,922686E+08	1	1,922686E+08	20,886	0,000186
TGase level	3,042375E+09	4	7,605938E+08	82,621	3,82E-12
Processing*TGase level	1,443670E+09	4	3,609175E+08	39,206	3,38E-09
	1,841153E+08	20	9,205765E+06		

TAND @ -10C	SS	DEGREES OF FREEDOM	MS	F	P-VALUE
Intercept	17,67886	1	17,67886	8148,461	0,000000
Processing	0,01169	1	0,01169	5,388	0,030950
TGase level	0,08766	4	0,02192	10,101	0,000122
Processing*TGase level	0,04648	4	0,01162	5,356	0,004247
	0,04339	20	0,00217		

FAT DESTABILIZATION	SS	DEGREES OF FREEDOM	MS	F	P-VALUE
Intercept	12250,19	1	12250,19	8076,120	0,00
Processing	2542,21	1	2542,21	1675,987	0,00
TGase level	3883,02	4	970,76	639,985	0,00
Processing*TGase level	574,57	4	143,64	94,699	1,06E-12
	30,34	20	1,52		

WHEY	SS	DEGREES OF FREEDOM	MS	F	P-VALUE
Intercept	25055,72	1	25055,72	4341,543	0,000000
Processing	13,21	1	13,21	2,290	0,145887
TGase level	360,39	4	90,10	15,612	0,000006
Processing*TGase level	89,92	4	22,48	3,895	0,016940
	115,42	20	5,77		

E (TOTAL COLOUR)	SS	DEGREES OF FREEDOM	MS	F	P-VALUE
Intercept	156547,6	1	156547,6	27807,30	0,000000
Processing	84,3	1	84,3	14,98	0,000954
TGase level	13,2	4	3,3	0,59	0,675096
Processing*TGase level	47,5	4	11,9	2,11	0,117371
	112,6	20	5,6		

L (BRIGHTNESS)	SS	DEGREES OF FREEDOM	MS	F	P-VALUE
Intercept	154123,2	1	154123,2	38635,51	0,000000
Processing	47,6	1	47,6	11,93	0,002508
TGase level	38,3	4	9,6	2,40	0,084001
Processing*TGase level	30,5	4	7,6	1,91	0,147541
	79,8	20	4,0		

b (YELLOW)	SS	DEGREES OF FREEDOM	MS	F	P-VALUE
Intercept	1153,132	1	1153,132	11328,89	0,000000
Processing	3,689	1	3,689	36,25	0,000007
TGase level	1,096	4	0,274	2,69	0,060536
Processing*TGase level	1,431	4	0,358	3,52	0,024976
	2,036	20	0,102		

