ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ
ΤΟΜΕΑΣ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΩΝ

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΜΕ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗ ΠΙΕΣΗ ΣΤΑ ΠΟΙΟΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΩΝ ΠΟΣΙΜΩΝ ΕΠΙΔΟΡΠΙΩΝ ΓΙΑΟΥΡΤΙΟΥ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ *ΕΡΓΑΣΙΑ*

ΟΥΛΗ – ΡΟΥΣΗ ΜΑΡΙΑ, Δ.

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΤΑΟΥΚΗΣ ΠΕΤΡΟΣ

ΑΘΗΝΑ, ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ 2015

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου υπό την επίβλεψη του Καθηγητή Ταούκη Πέτρου.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τον Καθηγητή κ. Ταούκη Πέτρο για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε με την ανάθεση του συγκεκριμένου θέματος, την καθοδήγηση και την βοήθεια που μου προσέφερε, την υπομονή του και την άριστη συνεργασία μαζί του κατά τη διάρκεια εκπόνησης της παρούσας διπλωματικής εργασίας.

Ευχαριστώ ακόμα τους Καθηγητές και το επιστημονικό προσωπικό του εργαστηρίου Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων του ΕΜΠ, για τη συνεργασία μας και το φιλικό και ευχάριστο κλίμα καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της διπλωματικής μου εργασίας.

Ένα πολύ μεγάλο ευχαριστώ στη φίλη και συνάδελφο Τσεβδού Μαρία, Διδάκτορα της Σχολής Χημικών Μηχανικών, για τις γνώσεις της, την εμπιστοσύνη, την υποστήριξη και την πολύτιμη βοήθεια που μου προσέφερε, αλλά και για την υπομονή που έδειξε πολλές φορές κατά τη διάρκεια της εκπόνησης της διπλωματικής μου εργασίας.

Δε θα μπορούσα να μην ευχαριστήσω τους γονείς μου, Δημήτριο και Γεωργία, για την αγάπη, την εμπιστοσύνη, την κατανόηση και την υποστήριξη που μου προσέφεραν τόσο κατά τη διάρκεια εκπόνησης της παρούσας διπλωματικής εργασίας, όσο και καθ΄ όλη τη διάρκεια των προπτυχιακών σπουδών μου στη Σχολή Χημικών Μηχανικών του ΕΜΠ.

Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στους συνοδοιπόρους μου σε αυτό το μεγάλο ταξίδι και καλύτερους μου φίλους, τους αδελφούς μου Τάσο και Κωνσταντίνο. Η συντροφιά τους, η αγάπη τους και η συναισθηματική και πρακτική υποστήριξη που μου προσέφεραν όλα αυτά τα χρόνια σπουδών, στα εύκολα και στα δύσκολα, ήταν καταλυτικής σημασίας για την ολοκλήρωση αυτού του ταξιδιού.

Μαρία Δ. Ουλή – Ρούση,

Αθήνα, Σεπτέμβριος 2015

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το γιαούρτι είναι από τα πιο δημοφιλή γαλακτοκομικά προϊόντα παγκοσμίως και απαντάται σε διάφορες μορφές, όπως γιαούρτι τύπου σετ, γιαούρτι ανακατεμένου τύπου και πόσιμο γιαούρτι. Ένας από τους κυριότερους παράγοντες που καθορίζουν την εμπορική επιτυχία του προϊόντος είναι η υφή του. Η υφή του γιαουρτιού εξαρτάται από την καλλιέργεια εκκίνησης, την ποιότητα και τη σύσταση του γάλακτος που χρησιμοποιείται, και τις μεθόδους επεξεργασίας που ακολουθούνται κατά τη βιομηχανική παραγωγή του.

Μέχρι τώρα, η συνήθης πρακτική για τη βελτίωση της υφής του γιαουρτιού είναι η πρόσθεση στο γάλα στερεών υλών (λιπαρών και συνηθέστερα πρωτεΐνης γάλακτος) ή/και σταθεροποιητών. Παρόλα αυτά, ένα προϊόν με πρόσθετα δεν προσελκύει το σημερινό καταναλωτή. Η χρήση πρόσθετων συστατικών, εκτός του ότι μπορεί να αυξάνει το κόστος παραγωγής του γιαουρτιού, καθιστώντας την μέθοδο αυτή ανεπιθύμητη για πολλές γαλακτοβιομηχανίες, ταυτόχρονα έρχεται σε αντίθεση με την ανάγκη των καταναλωτών για όσο το δυνατόν πιο «φρέσκα προϊόντα». Έτσι οι βιομηχανίες ωθούνται στην αναζήτηση εναλλακτικών τεχνολογιών και μεθόδων επεξεργασίας. Η επεξεργασία του ζυμωμένου γάλακτος, όπως είναι το γιαούρτι και τα επιδόρπιά του, με υπερυψηλή πίεση (ΥΠ) έχει προταθεί ως μία εναλλακτική μέθοδος για τη βελτίωση των προβλημάτων υφής των προϊόντων αυτών. Επιπρόσθετα, τις τελευταίες δεκαετίες αυξάνεται η ζήτηση και για προϊόντα που προάγουν την υγεία, όπως τα λειτουργικά τρόφιμα. Προκειμένου οι σύγχρονες γαλακτοβιομηχανίες να ικανοποιήσουν την επιθυμία του καταναλωτικού κοινού για τέτοια προϊόντα, έχουν εισαχθεί στην αγορά, μεταξύ άλλων, και γιαούρτια που περιέχουν υπερβιοτικούς οργανισμούς (probiotics).

Με αφορμή τα παραπάνω, αλλά και προηγούμενες βιβλιογραφικές μελέτες, κρίθηκε σκόπιμη η μελέτη της επίδρασης της επεξεργασίας με ΥΠ σαν τελικό στάδιο παραγωγής πόσιμων επιδόρπιων γιαουρτιού με υπερβιοτικούς μικροοργανισμούς (*Bifidobacteium animalis* subsp. *lactis* BB12 και *Lactobacillus acidophilus* LA5). Η επεξεργασία των παραγόμενων ζυμωμένων προϊόντων με ΥΠ πραγματοποιήθηκε σε συνθήκες πίεσης 100-400 MPa και θερμοκρασία περιβάλλοντος στο τελικό στάδιο της παραγωγικής διαδικασίας των λειτουργικών επιδόρπιων γιαουρτιού. Η επεξεργασία των μελετώμενων δειγμάτων περιλάμβανε την παραγωγή: α) προϊόντων επεξεργασμένων μόνο με συμβατική ομογενοποίηση (κοινή βιομηχανική πρακτική-Control), β) προϊόντων επεξεργασμένων με ΥΠ μετά την επεξεργασία του με τη συμβατική ομογενοποίηση (Homo-HP), και γ)

προϊόντων επεξεργασμένων μόνο με ΥΠ (HP). Τα επεξεργασμένα προϊόντα μελετήθηκαν τόσο ως προς τη βιωσιμότητα της περιεχόμενης υπερβιοτικής καλλιέργειας, προκειμένου να διαπιστωθεί η διατήρηση της λειτουργικότητάς τους, όσο και ως προς ποικίλα ποιοτικά χαρακτηριστικά (φυσικοχημικές παράμετροι, ρεολογία), και περιλάμβαναν προϊόντα φυσικής γεύσης και προϊόντα με γεύση κεράσι.

Από τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης φάνηκε ότι, η απώλεια στη βιωσιμότητα των εξεταζόμενων υπερβιοτικών μικροοργανισμών ήταν μικρότερη από 0,5$\log_{10}$CFU/g. Συγκεκριμένα, κατά την αποθήκευση των παραγόμενων προϊόντων για 28 ημέρες, η απώλεια της βιωσιμότητας των μικροοργανισμών της υπερβιοτικής καλλιέργειας κυμάνθηκε μεταξύ 0,1-0,5$\log_{10}$CFU/g, ενώ της καλλιέργειας εκκίνησης μεταξύ 0,1-0,9$\log_{10}$CFU/g. Αξίζει να σημειωθεί ότι, για τα επεξεργασμένα με ΥΠ προϊόντα, η βιωσιμότητα των υπερβιοτικών μικροοργανισμών ενισχύθηκε σε σχέση με τα ανεπεξέργαστα προϊόντα. Το γεγονός αυτό σχετίστηκε με τη μειωμένη οξύτητα των επεξεργασμένων με ΥΠ έναντι των μη επεξεργασμένων προϊόντων, και επομένως τη διατήρηση ενός ευνοϊκότερου περιβάλλοντος για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Αναφορικά με τη χρήση ενισχυτικού γεύσης στα μελετώμενα προϊόντα, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι στα προϊόντα με γεύση κεράσι, τόσο οι υπερβιοτικοί μικροοργανισμοί όσο και οι μικροοργανισμοί της καλλιέργειας εκκίνησης εμφάνισαν καλύτερη βιωσιμότητα, πιθανόν ως αποτέλεσμα της αύξησης του ποσοστού υδατανθράκων στα προϊόντα με γεύση κεράσι και άρα τη διάθεση υψηλότερου θρεπτικού περιεχόμενου για την ανάπτυξή τους.

Αναφορικά με την οξύτητα των παραγόμενων δειγμάτων, τα επεξεργασμένα με ΥΠ προϊόντα εμφάνισαν υψηλότερες τιμές pH από τα συμβατικά προϊόντα, τόσο στην περίπτωση της μεμονωμένης εφαρμογής της ΥΠ όσο και της εφαρμογή της μετά τη συμβατική ομογενοποίηση. Η χρήση ενισχυτικού γεύσης φάνηκε να επηρεάζει την εξέλιξη του pH κατά την αποθήκευση, γεγονός που σχετίζεται τόσο με τη συμβολή του προστιθέμενου σιροπιού στην οξύτητα του προϊόντος (τιμή pH σιροπιού 3,2-3,4), όσο και με την αύξηση στη διαθεσιμότητα θρεπτικών συστατικών για τις περιεχόμενες καλλιέργειες, και άρα την αυξημένη μεταβολική δραστηριότητα και την παραγωγή γαλακτικού οξέος.

Η παράμετρος του χρώματος των μελετώμενων δειγμάτων επηρεάστηκε μόνο από την εφαρμογή της ΥΠ και μόνο στην περίπτωση των προϊόντων με ενισχυτικό γεύσης, όπου παρατηρήθηκε μείωση του ολικού χρώματος των δειγμάτων. Βιβλιογραφικά, αυτό

φαίνεται να σχετίζεται με την υποβάθμιση των ανθοκυανών του σιροπιού που παρατηρείται υπό συνθήκες ΥΠ αλλά και κατά την αποθήκευση.

Επιπλέον τα επεξεργασμένα μόνο με ΥΠ προϊόντα εμφάνισαν βελτιωμένες ρεολογικές ιδιότητες και αυξημένη ικανότητα συγκράτησης νερού (μειωμένα φαινόμενα συναίρεσης) συγκρινόμενα με τα συμβατικά επεξεργασμένα προϊόντα (μόνο ομογενοποίηση) και τα προϊόντα στα οποία εφαρμόστηκε η ΥΠ μετά τη συμβατική ομογενοποίηση. Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε αύξηση του συντελεστή συνεκτικότητας (5,57-11,0 $Pa \cdot s^n$ έναντι 1,80 $Pa \cdot s^n$), μείωση του δείκτη ρεολογικής συμπεριφοράς (0,30-0,19 έναντι 0,44), αύξηση του φαινόμενου ιξώδους (13,6-24,0 Pa·s έναντι 8,28 Pa·s) και αύξηση της % ικανότητας συγκράτησης νερού (25,0-27,8% έναντι 24,8%) των εναλλακτικά επεξεργασμένων (σε όλο το εύρος των μελετώμενων πιέσεων) έναντι των συμβατικά επεξεργασμένων προϊόντων φυσικής γεύσης.

Στην περίπτωση των προϊόντων με γεύση κεράσι, οι αντίστοιχες μεταβολές ήταν παρόμοιες, με τιμές 3,89-7,33 $Pa \cdot s^n$ έναντι 2,14 $Pa \cdot s^n$ για το συντελεστή συνεκτικότητας, 0,35-0,31 έναντι 0,41 για το δείκτη ρεολογικής συμπεριφοράς, 15,8-26,1 Pa·s έναντι 8,41 Pa·s για το φαινόμενο ιξώδες, και 29,7-32,0% έναντι 29,9% για την ικανότητα συγκράτησης νερού, για τα εναλλακτικά επεξεργασμένα (σε όλο το εύρος των μελετώμενων πιέσεων) και τα συμβατικά επεξεργασμένα προϊόντα αντίστοιχα.

Από τα αποτελέσματα της παρούσας διπλωματικής εργασίας συμπεραίνεται ότι η επεξεργασία με ΥΠ ζυμωμένων λειτουργικών γαλακτοκομικών προϊόντων δύναται να βελτιώσει τις ποιοτικές παραμέτρους τους, χωρίς να απαιτείται η χρήση πρόσθετων ουσιών για την ενίσχυση της δομής τους (π.χ. πρωτεϊνικά παρασκευάσματα, σταθεροποιητικές), και διατηρώντας τους υπερβιοτικούς μικροοργανισμούς μέσα και πάνω από τα νομοθετημένα όρια κατά την αποθήκευσή τους.

ABSTRACT

Yoghurt is one of the most popular dairy products worldwide and it can be found in various types, such as set, stirred, strained or drinking. One of the major factors determining the commercial success of yoghurt is its texture, which is related to the starter culture used, the quality and the composition of milk, as well as the processing methods used during its production. The most common practice in order to improve yoghurt texture is the fortification of milk with protein-based ingredients and/or stabilizers. However, foods with added substrates do not seem to attract modern consumers. Solid fortification may increase the cost of production of yogurt and contradicts the desire of consumers for "free additive" foods. Thus, dairy industries have shown interest for the research of alternative technologies and processing methods. HP processing of fermented milk products, such as yoghurt and yoghurt-like products has been proposed as an alternative method for improving texture defects for those products. Additionally, the last decades, a great interest and demand in health-promoting functional food products has arisen. In order to meet this consumers' demand, dairy industries have introduced to the market, among other, various dairy products which comprise probiotic microorganisms.

Based on the above information as well as on the available literature knowledge, the objective of the present diploma thesis was to study the effect of HP treatment in the final step of fermented dairy products preparation, and in particular, of a functional drinkable yoghurt product comprising probiotic bacteria (*Bifidobacteium animalis* subsp. *lactis* BB12 and *Lactobacillus acidophilus* LA5). HP treatment was applied in a pressure range of 100-400 MPa and ambient temperature at the final stage of samples production, where three different treatments were included; a) samples conventionally homogenized (Control), b) samples treated with HP after conventional homogenization (Homo-HP), and c) samples treated only with HP (HP). Samples were tested with regards to the viability of probiotic culture to evaluate the maintenance of their functionality, and regarding various quality indices (e.g. physicochemical characteristics, rheological properties), while they included plain and cherry flavoured products.

The results of the present study indicated that the viability loss of the tested microorganisms (yoghurt starter culture, *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB12 and *Lactobacillus acidophilus* LA5) was lower than 0.5$\log_{10}$CFU/g, and it was ranged between 0.1-0.5$\log_{10}$CFU/g and 0.1-0.9$\log_{10}$CFU/g for the starter culture bacteria and probiotic bacteria, respectively, at the end of the shelf life of the products (28days). A greater

viability of probiotic microorganisms was observed in HP-treated samples than that in the untreated ones, which may be due to lower acidity of HP-treated samples compared to the untreated ones and thus, with the maintenance of a favourable environment for the growth of these bacteria, indicating a potential for extending shelf life of the HP-treated products. Regarding cherry flavoured samples, both probiotic and starter culture exhibited greater viability, probably as a result of the increase in carbohydrates content and thus, the availability of high nutrient content for microbial growth.

With regard to acidity, HP treated samples exhibited higher pH values than the conventionally treated samples, both in the case where HP was individually applied and in the case where HP was applied post to conventional homogenization. The use of cherry flavour also affected the evolution of pH during storage; this is associated with both the contribution of added syrup acidity (syrup pH value ca. 3.2-3.4) to the product total acidity, and with the increase in the availability of nutrients for microbial growth, and thus in an increased metabolic activity and lactic acid production by starter culture microorganisms. Total colour of the prepared samples was significantly affected only by the application of HP and only in the case of cherry flavoured products, where a decrease in the values was observed. According to available references, this decrease is related to the degradation of anthocyanins of syrup induced under HP treatment, as well as during storage.

Furthermore, HP treated samples showed improved rheological properties and increased water holding capacity (reduced syneresis) compared to conventional treated products (homogenization) and to conventionally prepared products that were post-processed with HP. In particular, it was observed an increase in consistency coefficient (5.57-11.0 $Pa \cdot s^n$ compared to 1.80 $Pa \cdot s^n$), a decrease in flow behaviour index (0.30-0.19 compared to 0.44), and an increase in viscosity at 50s-1 (13.6-24.0 Pa·s compared to 8.28 Pa·s) and water holding capacity (25.0-27.8% compared to 24.8%) of the alternative treated products (in the whole range of tested pressures) of plain flavour as compared to the conventionally treated ones. Similar results were observed in the case of cherry flavoured products, revealing values of 3.89-7.33 $Pa \cdot s^n$ and 2.14 $Pa \cdot s^n$ of the consistency coefficient, 0.35-0.31 and 0.41 of the flow behaviour index, 15.8-26.1 Pa·s and 8.41 Pa·s of the apparent viscosity and, 29.7-32.0% and 29.9% of the water holding capacity, for the alternative treated products (in the whole range of tested pressures) and the conventionally treated ones, respectively.

In conclusion, HP treatment of functional fermented dairy products may lead to improvement of their quality indices, without the need of solid fortification (e.g. protein

concentrates, stabilizers), while maintaining their functionality, i.e. counts of probiotic bacteria, within and above the required statutory levels during storage.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ..... **i**

ABSTRACT ..... **v**

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ..... **ix**

1 ΓΑΛΑ & ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ..... **- 1 -**

1.1 Το γάλα ..... - 1 -

1.2 Σύσταση του γάλακτος ..... - 1 -

1.3 Τα Γαλακτοκομικά προϊόντα ..... - 11 -

1.4 Βασικά γαλακτοκομικά προϊόντα ..... - 12 -

1.4.1 Γάλα ..... - 12 -

1.4.2 Ζυμωμένα γάλατα ..... - 13 -

1.4.3 Άλλα γαλακτοκομικά προϊόντα ..... - 16 -

1.5 Παραγωγική διαδικασία γιαουρτιού ..... - 18 -

1.5.1 Επιλογή της πρώτης ύλης ..... - 19 -

1.5.2 Τυποποίηση του γάλακτος ..... - 19 -

1.5.3 Πρόσθετες ουσίες στο γάλα ..... - 20 -

1.5.4 Η ομογενοποίηση ..... - 20 -

1.5.5 Η θερμική επεξεργασία ..... - 20 -

1.5.6 Επιλογή και προετοιμασία της καλλιέργειας εκκίνησης ..... - 22 -

1.5.7 Η ζύμωση ..... - 24 -

1.5.8 Η ψύξη ..... - 25 -

1.5.9 Η ανάδευση ..... - 26 -

1.6 Στάδια βιομηχανικής παραγωγής γιαουρτιού ..... - 26 -

1.6.1 Παραγωγή γιαουρτιού ..... - 26 -

1.7 Θρεπτική αξία του γιαουρτιού ..... - 28 -

2 ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΑ ΤΡΟΦΙΜΑ ..... - 31 -

2.1 Ορισμός λειτουργικών τροφίμων ..... - 31 -

2.2 Κατηγορίες λειτουργικών προϊόντων ..... - 31 -

2.3 Κατηγορίες λειτουργικών συστατικών και θετικές επιδράσεις ..... - 32 -

2.4 Ασφάλεια των λειτουργικών τροφίμων ..... - 34 -

2.5 Λειτουργικά τρόφιμα με προβιοτικούς υδατάνθρακες (prebiotics) ..... - 34 -

2.5.1 Ορισμός προβιοτικών υδατανθράκων και προϋποθέσεις ..... - 34 -

2.5.2 Θετικές επιδράσεις των προβιοτικών υδατανθράκων ..... - 35 -

2.6 Λειτουργικά τρόφιμα με υπερβιοτικούς μικροοργανισμούς(probiotics) ..... - 36 -

2.6.1 Ορισμός υπερβιοτικών μικροοργανισμών ..... - 36 -

2.6.2 Υπερβιοτικοί μικροοργανισμοί στα τρόφιμα ..... - 36 -

2.6.3 Κριτήρια επιλογής και ασφάλεια των υπερβιοτικών μικροοργανισμών ..... - 40 -

2.6.4 Μηχανισμοί δράσης των υπερβιοτικών μικροοργανισμών και θετικές επιδράσεις στην υγεία ..... - 41 -

2.7 Κριτήρια σχεδιασμού λειτουργικού τροφίμου με υπερβιοτικούς μικροοργανισμούς ..... - 41 -

2.8 Η σήμανση των λειτουργικών τροφίμων με υπερβιοτικούς μικροοργανισμούς ..... - 44 -

2.9 Συμβιοτικά (synbiotics) ..... - 45 -

2.9.1 Ορισμός ..... - 45 -

2.9.2 Μηχανισμός δράσης ..... - 45 -

3 Η ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ..... - 47 -

3.1 Εισαγωγή ..... - 47 -

3.2 Αρχές λειτουργίας που διέπουν την Υπερυψηλή Πίεση ..... - 48 -

3.3 Εξοπλισμός της Υπερυψηλής Πίεσης. ..... - 49 -

3.3.1 Βιομηχανικός εξοπλισμός της ΥΠ ..... - 50 -

3.4 Μηχανισμός της Υπερυψηλής Πίεσης ..... - 51 -

3.5 Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα της Υπερυψηλής Πίεσης .....- 53 -
3.6 Επίδραση της Υπερυψηλής Πίεσης.....- 54 -
3.6.1 Μικροοργανισμοί.....- 54 -
3.6.2 Πρωτεΐνες.....- 56 -
3.6.3 Ένζυμα .....- 58 -
3.6.4 Θρεπτικά συστατικά των τροφίμων.....- 58 -
3.7 Οικονομικά στοιχεία της τεχνολογίας της ΥΠ.....- 59 -
3.8 Συσκευασίες κατάλληλες για χρήση σε συνθήκες ΥΠ .....- 60 -
3.9 Νομοθεσία που διέπει την ΥΠ .....- 61 -
3.10 Εφαρμογή της τεχνολογίας της ΥΠ σε γαλακτοκομικά προϊόντα .....- 62 -
3.10.1 Επίδραση της ΥΠ στους μικροοργανισμούς του γάλακτος.....- 63 -
3.10.2 Επίδραση της ΥΠ στα ένζυμα του γάλακτος.....- 64 -
3.10.3 Επίδραση της ΥΠ στις πρωτεΐνες του γάλακτος .....- 65 -
3.10.4 Επίδραση της ΥΠ στις ιδιότητες και τα χαρακτηριστικά του γιαουρτιού.....- 66 -
4 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ .....- 71 -
4.1 Εισαγωγή.....- 71 -
4.2 Πρώτες ύλες .....- 71 -
4.3 Προετοιμασία των εμβολίων των χρησιμοποιούμενων μικροοργανισμών .....- 72 -
4.3.1 Προετοιμασία της καλλιέργειας εκκίνησης.....- 72 -
4.3.2 Προετοιμασία του εμβολίου των υπερβιοτικών μικροοργανισμών.....- 72 -
4.4 Θερμική επεξεργασία.....- 72 -
4.5 Ζύμωση γάλακτος .....- 72 -
4.6 Ανάδευση/Ομογενοποίηση του πήγματος.....- 73 -
4.7 Επεξεργασία με Ομογενοποίηση .....- 74 -
4.8 Επεξεργασία με Υπερυψηλή Πίεση .....- 74 -

4.9 Αποθήκευση ..... - 75 -

4.10 Μελετώμενες παράμετροι ..... - 76 -

4.11 Μικροβιολογικός έλεγχος ..... - 76 -

4.11.1 Παρασκευή θρεπτικών υποστρωμάτων ..... - 76 -

4.11.2 Τεχνική διαδοχικών αραιώσεων ..... - 77 -

4.11.3 Ανάπτυξη αποικιών στα θρεπτικά υποστρώματα ..... - 77 -

4.11.4 Καταμέτρηση των αποικιών των μελετώμενων μικροοργανισμών ..... - 79 -

4.11.5 Υπολογισμός μικροβιακού φορτίου ..... - 79 -

4.12 Μέτρηση οξύτητας ..... - 80 -

4.13 Ικανότητα συγκράτησης νερού ..... - 80 -

4.14 Χρώμα ..... - 80 -

4.15 Ρεολογικές ιδιότητες ..... - 81 -

4.16 Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων ..... - 82 -

5 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ ..... - 83 -

5.1 Βιωσιμότητα καλλιέργειας εκκίνησης ..... - 83 -

5.1.1 Βιωσιμότητα των μικροοργανισμών της καλλιέργειας εκκίνησης σε διαφορετικά επεξεργασμένα πόσιμα επιδόρπια γιαουρτιού φυσικής γεύσης ..... - 83 -

5.1.2 Βιωσιμότητα των μικροοργανισμών της καλλιέργειας εκκίνησης σε διαφορετικά επεξεργασμένα πόσιμα επιδόρπια γιαουρτιού με γεύση κεράσι ..... - 84 -

5.2 Βιωσιμότητα υπερβιοτικών μικροοργανισμών ..... - 85 -

5.2.1 Βιωσιμότητα του υπερβιοτικού στελέχους *Bifidobacterium lactis* BB12 σε πόσιμα επιδόρπια γιαουρτιού φυσικής γεύσης ..... - 85 -

5.2.2 Βιωσιμότητα του υπερβιοτικού στελέχους *Bifidobacterium lactis* BB12 σε πόσιμα επιδόρπια γιαουρτιού με γεύση κεράσι ..... - 87 -

5.2.3 Βιωσιμότητα του υπερβιοτικού στελέχους *Lactobacillus acidophilus LA5* σε πόσιμα επιδόρπια γιαουρτιού φυσικής γεύσης ..... - 88 -

5.2.4 Βιωσιμότητα του υπερβιοτικού στελέχους *Lactobacillus acidophilus LA5* σε πόσιμα επιδόρπια γιαουρτιού με γεύση κεράσι ..... - 89 -

5.3 Ικανότητα συγκράτησης νερού πόσιμων επιδόρπιων γιαουρτιού ..... - 91 -

5.3.1 Ικανότητα συγκράτησης νερού πόσιμων επιδόρπιων γιαουρτιού φυσικής γεύσης.... ..... - 91 -

5.3.2 Ικανότητα συγκράτησης νερού πόσιμων επιδόρπιων γιαουρτιού με γεύση κεράσι... ..... - 92 -

5.4 Οξύτητα διαφορετικά επεξεργασμένων πόσιμων επιδόρπιων γιαουρτιού ..... - 93 -

5.4.1 Οξύτητα διαφορετικά επεξεργασμένων πόσιμων επιδόρπιων γιαουρτιού φυσικής γεύσης ..... - 93 -

5.4.2 Οξύτητα διαφορετικά επεξεργασμένων πόσιμων επιδόρπιων γιαουρτιού με γεύση κεράσι ..... - 93 -

5.5 Παράμετρος ολικού χρώματος διαφορετικά επεξεργασμένων πόσιμων επιδόρπιων γιαουρτιού ..... - 96 -

5.6 Ρεολογικές ιδιότητες των πόσιμων επιδόρπιων γιαουρτιού ..... - 96 -

5.6.1 Ρεολογικές ιδιότητες των πόσιμων επιδόρπιων γιαουρτιού φυσικής γεύσης..... - 97 -

5.6.2 Ρεολογικές ιδιότητες των πόσιμων επιδόρπιων γιαουρτιού με γεύση κεράσι.. - 100 -

6 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ..... - 105 -

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ ..... - 109 -

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ..... - 123 -

1 ΓΑΛΑ & ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ

1.1 Το γάλα

Σύμφωνα με τον Ελληνικό Κώδικα Τροφίμων και Ποτών (2009), με τον όρο «νωπό γάλα» νοείται «*το γάλα που εκκρίνεται από τους μαστικούς αδένες μιας ή περισσοτέρων αγελάδων, προβατινών, αιγών ή βουβαλίδων, το οποίο δεν έχει θερμανθεί πέραν των 40°C, ούτε έχει υποβληθεί σε επεξεργασία με ισοδύναμο αποτέλεσμα*».

Με τον όρο «γάλα» νοείται «*αποκλειστικά και μόνο το γάλα το οποίο προέρχεται από αγελάδα, είναι νωπό, είναι πλήρες, δεν έχει υποστεί αφυδάτωση ή συμπύκνωση και δεν περιέχει άλλες ύλες που έχουν προστεθεί από έξω*».

Σε περίπτωση που το γάλα που διατίθεται προς κατανάλωση παρουσιάζει διαφορές ως προς την προέλευση ή τα χαρακτηριστικά του σε σχέση με τον παραπάνω ορισμό, οι διαφορές αυτές απαιτείται να αναγράφονται με σαφήνεια πάνω στα μέσα συσκευασίας. Συγκεκριμένα:

- Εάν το γάλα δεν είναι αγελαδινό καθορίζεται πάντα το είδος του ζώου από το οποίο προέρχεται, με την αναγραφή του όρου «κατσίκας», «προβάτου», «βουβάλου» ή «ανάμικτο προβάτου – κατσίκας».
- Εάν το γάλα δεν είναι νωπό, καθορίζεται η επεξεργασία που έχει υποστεί με την αναγραφή του όρου «παστεριωμένο», «αποστειρωμένο» ή «κατάψυξης».
- Εάν το γάλα δεν είναι πλήρες (ελάχιστη περιεκτικότητα λίπους 3,5%), καθορίζεται η περιεκτικότητά του σε λιπαρά με την αναγραφή του όρου «αποβουτυρωμένο» (ανώτατη περιεκτικότητα λίπους 0,5%), «ημιαποβουτυρωμένο» (περιεκτικότητα λίπους 1,5-1,8%) ή «μερικά αποβουτυρωμένο, Λίπος…%» (η περιεκτικότητα λίπους εκφράζεται επί τοις εκατό κατά βάρος στη συσκευασία).

1.2 Σύσταση του γάλακτος

Η σύσταση του γάλακτος παρουσιάζει διαφορές ανάμεσα στα διάφορα είδη θηλαστικών ζώων λόγω των διαφορετικών διατροφικών αναγκών των νεογνών του κάθε είδους, και μεταβάλλεται και κατά τη διάρκεια της γαλουχίας. Για παράδειγμα, οι συγκεντρώσεις του

λίπους, των πρωτεϊνών και της λακτόζης κυμαίνονται μεταξύ 1-50%, 1-20% και 0-10% αντίστοιχα για τα διάφορα είδη θηλαστικών και οι συγκεντρώσεις αυτών των συστατικών μεταβάλλονται καθώς το νεογνό μεγαλώνει (Smit 2003).

Εκτός από τις διαφορές στη σύσταση του γάλακτος μεταξύ των διαφόρων ειδών ζώων, διαφορές παρατηρούνται και ανάμεσα στο ίδιο είδος. Οι διαφορές αυτές στη σύσταση εξαρτώνται από την ατομικότητα του ζώου, το γένος του, τα στάδια και τα διαστήματα μεταξύ των αρμεγμάτων, την κάθε θηλή του, το στάδιο της γαλουχίας, την εποχή, τη διατροφική του κατάσταση, την ηλικία του, την υγεία του (μαστίτιδες κ.ά.), τη φάση του κύκλου, τη φάση της κύησης, τη θερμοκρασία περιβάλλοντος και την άσκηση (Clark et al. 2007, Chandan, Ramesh & Arun Kilara 2010)

Οι παραπάνω παράγοντες επηρεάζουν τη συγκέντρωση των συστατικών του γάλακτος, και σε πολλές περιπτώσεις μάλιστα, παρατηρείται και αλλαγή στη χημεία τους, όπως όταν π.χ. σε συνθήκες δίαιτας του ζώου, μεταβάλλεται το προφίλ των λιπαρών οξέων (Fox & McSweeney 1998).

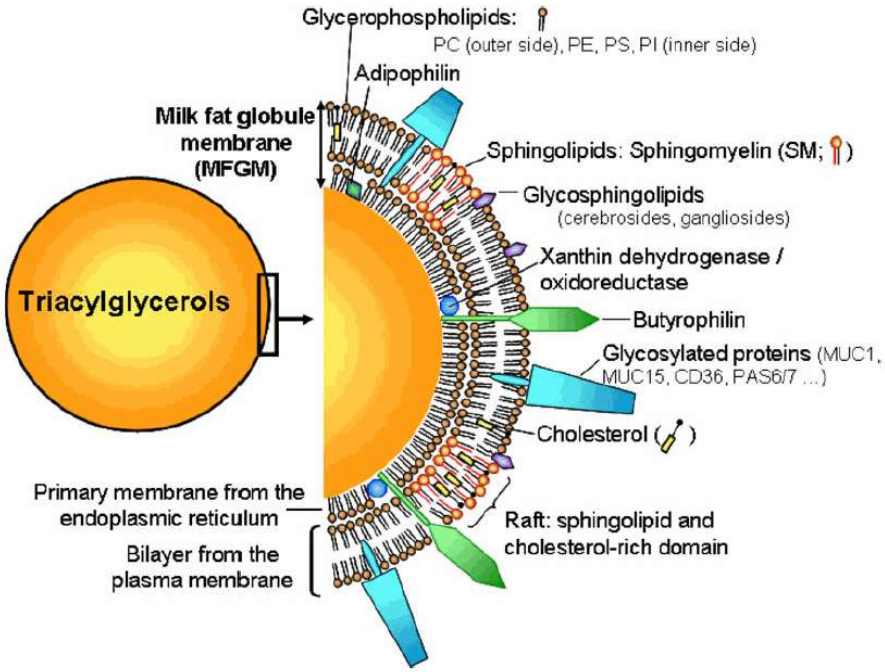
Τα κύρια συστατικά του γάλακτος περιλαμβάνουν το νερό, λιπαρά, λακτόζη (σάκχαρα γάλακτος), πρωτεΐνες (καζεΐνες και πρωτεΐνες ορού) και ανόργανα άλατα. Στο γάλα περιέχονται επίσης μικρότερες ποσότητες από ένζυμα, βιταμίνες, φωσφολιπίδια, αέρια, πρωτεΐνες πλάσματος και χρωστικές (Bylund 1995, Robinson 2005). Στον **Πίνακα 1** παρουσιάζονται οι επί τοις εκατό κατά βάρος (% κ.β.) περιεκτικότητες των κύριων συστατικών του αγελαδινού γάλακτος (Bylund 1995).

Πίνακας 1. Μέση περιεκτικότητα (% κ.β.) των συστατικών του γάλακτος

Κύριο Συστατικό	Εύρος Τιμών	Μέση Τιμή
Νερό	85,5-89,5	87,5
Ολικά Στερεά	10,5-14,5	13,0
Λιπαρά	2,5-6,0	3,9
Πρωτεΐνες	2,9-5,0	3,4
Λακτόζη	3,6-5,5	4,8
Ανόργανα Συστατικά	0,6-0,9	0,8

- Το ***νερό*** συνιστά το κύριο συστατικό του γάλακτος και η περιεκτικότητα του, για την περίπτωση του αγελαδινού γάλακτος, κυμαίνεται μεταξύ 85,5-89,5%. Στο νερό περιέχονται, διαλυμένα ή σε μορφή αιωρήματος, όλα τα υπόλοιπα συστατικά του γάλακτος (ολικά στερεά). Επιπλέον, σε μικρές ποσότητες, το νερό βρίσκεται χημικά συνδεδεμένο με τη λακτόζη, τις πρωτεΐνες και τα ανόργανα συστατικά του γάλακτος (Chandan, Ramesh & Arun Kilara 2010).

- Τα ***λιπαρά*** του γάλακτος απαντώνται ως ένα γαλάκτωμα σφαιριδίων διασπαρμένων στον ορό του, με τη διάμετρό τους να κυμαίνεται μεταξύ 0,1-20 μm. Κάθε σφαιρίδιο καλύπτεται από μία μεμβράνη πάχους 8-10 nm (milk fat globule membrane-MFGM). Οι κύριες λειτουργίες των λιπαρών είναι η παροχή της απαραίτητης ενέργειας, καθώς και των απαραίτητων λιπαρών οξέων (κυρίως του λινολεικού οξέος) και των λιποδιαλυτών βιταμινών A, D, E και K. Στην **Εικόνα 1** απεικονίζεται η σύσταση ενός λιποσφαιριδίου.



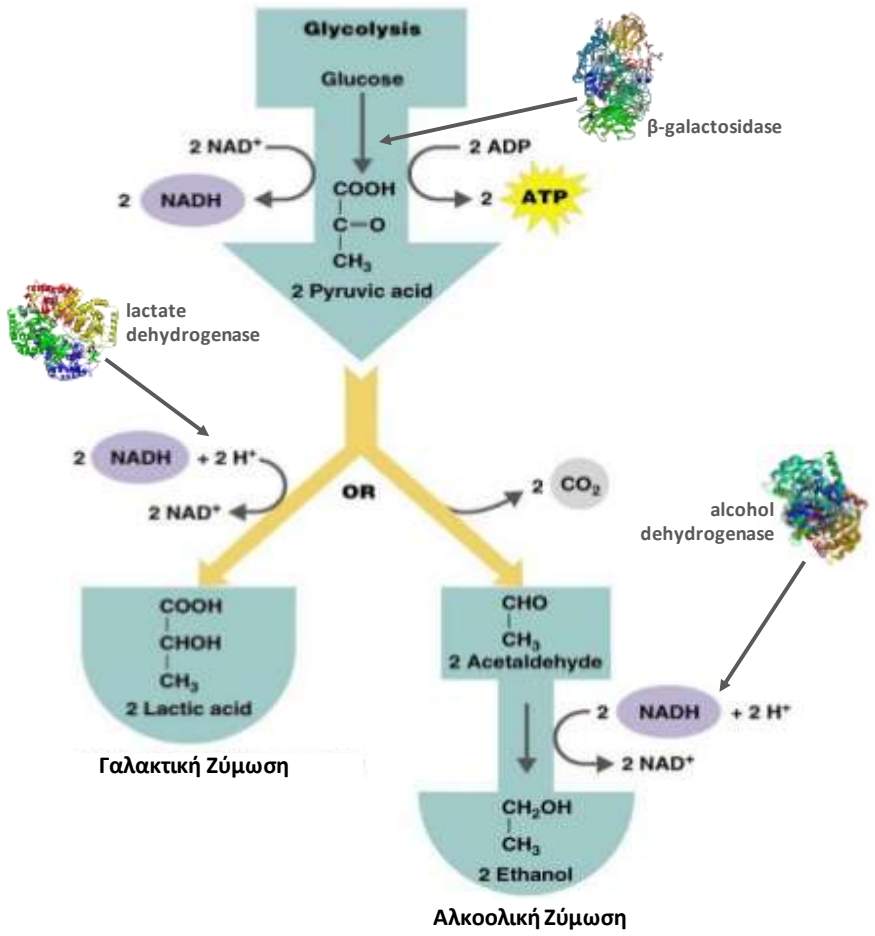
Εικόνα 1. Σύσταση λιπαρών του γάλακτος

Περίπου το 98% των λιπαρών του γάλακτος συνίσταται από τριγλυκερίδια, ενώσεις οι οποίες σχηματίζονται από ένα μόριο γλυκερόλης και τρία μόρια λιπαρών οξέων όχι

απαραίτητα όμοιων μεταξύ τους. Από τα λιπαρά οξέα του γάλακτος, το 65% είναι κορεσμένα, το 32% μονοακόρεστα και το 3% πολυακόρεστα. Όσον αφορά στο μοριακό βάρος τους, το 7% αποτελείται από μικρού μήκους λιπαρά οξέα (C_4-C_8), το 15-20% από μεσαίου μήκους λιπαρά οξέα (C_{10}-C_{14}) και το 73-78% από μεγάλου μήκους λιπαρά οξέα (>C_{16}). Το υπόλοιπο 2% των λιπαρών του γάλακτος συνίσταται από δι- και μονογλυκερίδια, στερόλες, καροτενοειδή, βιταμίνες και φωσφολιπίδια. Χαρακτηριστικό των λιπαρών του γάλακτος είναι η παρουσία σχετικά μεγάλων ποσοτήτων βουτυρικού οξέος και καπρονικού οξέος, λιπαρά οξέα που είναι μεγάλης σημασίας για το άρωμα του γάλακτος (Otter 2003, Frederick 1999, Chandan, Ramesh & Arun Kilara 2010, Robinson 2005).

Η μεμβράνη των λιπαρών συνίσταται από φωσφολιπίδια, λιποπρωτεΐνες, κερεβροζίδια, πρωτεΐνες, νουκλεϊνικά οξέα, ένζυμα και δεσμευμένο νερό το οποίο σταθεροποιεί τα σφαιρίδια και εμποδίζει τη συσσωμάτωσή τους κατά την επεξεργασία και το χειρισμό του γάλακτος. Επιπλέον, στη μεμβράνη των λιπαρών απαντώνται και ιχνοστοιχεία (ανόργανα συστατικά), με το σίδηρο (30-60%) και το χαλκό (5-25%) να απαντώνται στις μεγαλύτερες ποσότητες, και σε μικρότερες ποσότητες να απαντώνται το κοβάλτιο, το ασβέστιο, το νάτριο, το κάλιο, το μαγγάνιο, το μαγνήσιο, το μολυβδαίνιο και ο ψευδάργυρος.

- Η ***λακτόζη*** είναι ο κύριος υδατάνθρακας στο γάλα, και μάλιστα σε ολόκληρη τη φύση απαντάται μόνο σε αυτό. Είναι ένας δισακχαρίτης με μοριακό τύπο $C_{12}H_{22}O_{11}$ και αποτελείται από ένα μόριο D-γλυκόζης και ένα μόριο D-γαλακτόζης, ενωμένα με β-1,4 γλυκοζιδικό δεσμό. Η σημασία της λακτόζης στο γάλα είναι μεγάλη καθώς αποτελεί πηγή ενέργειας (παρέχει το 30% της θερμιδικής αξίας του γάλακτος), και ταυτόχρονα συμβάλει σημαντικά στις φυσικοχημικές ιδιότητες του γάλακτος (είναι υπεύθυνη για το 50% της οσμωτικής πίεσης του γάλακτος). Επίσης, η λακτόζη είναι σημαντική στη βιομηχανία των ζυμωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων, καθώς παίζει το ρόλο υποστρώματος στη ζύμωση του γάλακτος από τα γαλακτικά βακτήρια. Τα βακτήρια αυτά περιέχουν το ένζυμο της λακτάσης, που μετατρέπει τη λακτόζη σε γλυκόζη και γαλακτόζη. Στη συνέχεια, άλλα ένζυμα των μικροοργανισμών αυτών μετατρέπουν τη γλυκόζη και τη γαλακτόζη σε γαλακτικό οξύ, όπως φαίνεται στην **Εικόνα 2** (Corredig 2009, Bylund 1995).



Εικόνα 2. Μετατροπή της λακτόζης του γάλακτος σε γαλακτικό οξύ

- Τα ***<u>ένζυμα</u>*** του γάλακτος χωρίζονται σε δύο κατηγορίες: τα ενδογενή και τα εξωγενή. Τα ενδογενή ένζυμα προέρχονται από το μαστό του ζώου και συνιστούν φυσικά συστατικά του γάλακτος. Τα εξωγενή ένζυμα, είναι ένζυμα βακτηριακής προέλευσης, το είδος και η ποσότητα των οποίων εξαρτάται από τη φύση και το μέγεθος του βακτηριακού πληθυσμού. Κάποια από τα ένζυμα του γάλακτος χρησιμοποιούνται στον έλεγχο της ποιότητας του καθώς και στην ανάλυση συγκεκριμένων συστατικών του γάλακτος. Τα σημαντικότερα από αυτά τα ένζυμα είναι η υπεροξειδάση, η καταλάση, η φωσφατάση και η λιπάση.

Η <u>*υπεροξειδάση*</u> καταλύει αντιδράσεις οξείδωσης (H_2O_2 + 2·HA → 2·H_2O + 2·A) μεταφέροντας οξυγόνο από το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) σε οξειδώσιμες ενώσεις (HA), όπως π.χ. οι αρωματικές αμίνες, οι φαινόλες και η βιταμίνη C. Η υπεροξειδάση έχει αντιμικροβιακή δράση στο γάλα, αφού αποτέλεσμα κάποιων εκ των αντιδράσεων

οξείδωσης στις οποίες συμμετέχει είναι η παραγωγή αντιβακτηριακών ενώσεων. Τα βακτήρια στα οποία η υποξειδάση έχει αντιμικροβιακή δράση είναι αυτά που παράγουν H_2O_2. Σε αυτά τα βακτήρια ανήκουν τα περισσότερα γαλακτικά βακτήρια. Επιπλέον, χαρακτηριστικό της υποξειδάσης είναι η απενεργοποίησή της μετά από παραμονή λίγων δευτερολέπτων στους 80°C. Σε αυτό το χαρακτηριστικό στηρίζεται το τεστ υποξειδάσης του Storch, με το οποίο ελέγχεται εάν το γάλα έχει παστεριωθεί σε θερμοκρασία άνω των 80°C.

Η *καταλάση* διασπά το υποξείδιο του υδρογόνου σε νερό και μοριακό οξυγόνο. Στο παρελθόν χρησιμοποιούνταν ως δείκτης για την υγεία του μαστού του ζώου μέσω του προσδιορισμού του εκλυόμενου μοριακού οξυγόνου. Ο συσχετισμός αυτός στηριζόταν στη γνώση ότι οι νοσούντες μαστοί παρήγαγαν γάλα με υψηλή περιεκτικότητα καταλάσης, ενώ στους υγιείς η ποσότητα της καταλάσης ήταν αμελητέα. Ο συσχετισμός όμως αυτός πλέον θεωρείται ασθενής. Πλέον, η καταλάση βρίσκει εφαρμογή στην απομάκρυνση του H_2O_2 σε ορισμένες χώρες όπου προστίθεται (10 με 15 mM) ως συντηρητικό στο νωπό γάλα.

Η *φωσφατάση* διασπά εστέρες του φωσφορικού οξέος σε φωσφορικό οξύ και τις αντίστοιχες αλκοόλες. Χαρακτηριστικό της φωσφατάσης είναι η απενεργοποίησή της μετά από παραμονή 15-20 s στους 72°C. Σε αυτό το χαρακτηριστικό στηρίζεται το τεστ φωσφατάσης του Scharer, με το οποίο μπορεί να επιβεβαιωθεί εάν έχει επιτευχθεί η επιθυμητή θερμοκρασία κατά την παστερίωση του γάλακτος.

Η *λιπάση* διασπά τα τριγλυκερίδια του λίπους του γάλακτος σε γλυκερόλη και ελεύθερα λιπαρά οξέα. Η παρουσία των ελεύθερων λιπαρών οξέων στο γάλα έχει ως αποτέλεσμα την εμφάνιση σαπωνοειδούς, ταγγής γεύσης. Το μεγαλύτερο ποσοστό της λιπάσης απενεργοποιείται κατά την κοινή παστερίωση του γάλακτος, ενώ για την πλήρη απενεργοποίησή της απαιτούνται υψηλότερες θερμοκρασίες (Walstra 2005, MacGibbon & Taylor 2006, Bylund 1995).

- Οι ***βιταμίνες*** που περιέχονται στο γάλα συμβάλουν σημαντικά στη διατροφική του αξία. Στο γάλα περιέχονται όλες σχεδόν οι βιταμίνες σε διαφορετικές ποσότητες, με μεγαλύτερες αυτές της λιποδιαλυτής βιταμίνης Α (ρετινόλη) και των υδατοδιαλυτών βιταμινών του συμπλέγματος Β. Η βιταμίνη Α και τα καροτενοειδή είναι υπεύθυνα για το κίτρινο χρώμα των γαλακτοκομικών προϊόντων με υψηλά ποσοστά λίπους, ενώ η βιταμίνη Β2 ευθύνεται για το πρασινωπό χρώμα του ορού. Κατά την επεξεργασία του γάλακτος, οι

λιποδιαλυτές βιταμίνες (A, D, E, K) παραμένουν στην κρέμα, ενώ οι υδατοδιαλυτές βιταμίνες (B1, B2, B3, B5, B6, B12, C) παραμένουν στο αποβουτυρωμένο γάλα ή στον ορό του (Fox & Kelly 2006, Belitz, Grosch & Schieberle 2004).

- Τα ***ανόργανα συστατικά*** του γάλακτος βρίσκονται είτε στον ορό του είτε στα καζεϊνικά συστατικά του, και απαντώνται ως φωσφορικά, κιτρικά, χλωριούχα, θειικά, ανθρακικά άλατα και όξινα ανθρακικά άλατα του νατρίου, καλίου, ασβεστίου και μαγνησίου. Σε μεγαλύτερες ποσότητες (mg) απαντώνται το κάλιο, το ασβέστιο, το νάτριο και το μαγνήσιο, ενώ ακολουθούν σε μικρότερες ποσότητες (μg) ο ψευδάργυρος, το αργίλιο, ο σίδηρος και ο χαλκός (Fox &Kelly 2006, Belitz, Grosch & Schieberle 2004)

- Οι ***πρωτεΐνες*** του γάλακτος αποτελούν το 2,9-5,0% των συστατικών του. Ο ρόλος των πρωτεϊνών είναι η παροχή των απαραίτητων αμινοξέων που απαιτούνται για την ανάπτυξη του μυϊκού ιστού του νεογνού και άλλων ιστών που δομούνται από πρωτεΐνες. Οι πρωτεΐνες του γάλακτος χωρίζονται σε δύο κύριες κατηγορίες, τις πρωτεΐνες ορού και τις καζεΐνες, με την αναλογία τους στο αγελαδινό γάλα να είναι 20:80 (πρωτεΐνες ορού:καζεΐνες).

Οι ***πρωτεΐνες ορού***, ή αλλιώς μη καζεϊνικό άζωτο, είναι οι πρωτεΐνες που παραμένουν στο διάλυμα κατόπιν ενζυμικής ή όξινης επεξεργασίας (pH 4.6, 30°C) του γάλακτος, και μετά από την καθίζηση των καζεϊνών. Στις πρωτεΐνες ορού περιλαμβάνονται κυρίως η α-γαλακτοαλβουμίνη (20%) και η β-γαλακτογλοβουλίνη (50%), και σε μικρότερες ποσότητες η αλβουμίνη ορού, οι ανοσοσφαιρίνες και άλλες πρωτεΐνες όπως, η λακτοφερρίνη και η πεπτόνη πρωτεόζης (Fox et al. 2015, Tamime 2008).

- **α-γαλακτοαλβουμίνη**

Το μόριο της α-γαλακτοαλβουμίνης αποτελείται από 123 αμινοξέα και το μοριακό της βάρος υπολογίζεται σε 14,2 kDa. Επιπλέον, το μόριο της πρωτεΐνης αυτής περιλαμβάνει τέσσερεις δισουλφιδικούς δεσμούς, ενώ δεν περιέχει καμία φωσφορική ομάδα. Η βιολογική λειτουργία της α-γαλακτοαλβουμίνης έγκειται στη δράση της ως συνένζυμο κατά τη σύνθεση της λακτόζης.

- **β-γαλακτογλοβουλίνη**

Το μόριο της β-γαλακτογλοβουλίνης αποτελείται από 162 αμινοξέα και το μοριακό της βάρος υπολογίζεται σε 18,3 kDa. Υπάρχουν 10 γνωστές γενετικές παραλλαγές της β-γαλακτογλοβουλίνης. Οι πιο άφθονες από αυτές είναι οι παραλλαγές A και B, οι οποίες διαφέρουν ως προς δύο αμινοξέα, Asp64Gly and Val118Ala, αντίστοιχα. Το μόριο της β-γαλακτογλοβουλίνης περιλαμβάνει δύο δισουλφιδικές και μία θειούχα ομάδα, ενώ δεν περιέχει καμία φωσφορική ομάδα. Η β-γαλακτογλοβουλίνη δρα ως φορέας της βιταμίνης A και μερικών λιπαρών οξέων.

- **αλβουμίνη ορού**

Η αλβουμίνη ορού έχει μοριακό βάρος 69 kDa και απαντάται εκτός από το γάλα και στον ορό του αίματος. Το μόριο της αλβουμίνης περιλαμβάνει 17 δισουλφιδικούς δεσμούς, μία σουλφιδική ομάδα, ενώ δεν περιέχει καμία φωσφορική ομάδα. Μία από τις λειτουργίες της αλβουμίνης είναι η δέσμευση και μεταφορά υδρόφοβων μορίων.

- **ανοσοσφαιρίνες**

Οι ανοσοσφαιρίνες συνιστούν αντισώματα και προσφέρουν ανοσολογική προστασία. Υπάρχουν τέσσερεις τάξεις ανοσοσφαιρινών στο γάλα: IgG1, IgG2, IgA και IgM. Όλα τα μόρια έχουν παρόμοια βασική δομή και αποτελούνται από δύο μικρές αλυσίδες με μοριακά βάρη 20 και 25 kDa, και από δύο μεγαλύτερες αλυσίδες με μοριακά βάρη 50 και 70 kDa (Swaisgood 1982).

- **λακτοφερρίνη**

Η λακτοφερρίνη αποτελείται από μία αλυσίδα 680 αμινοξέων και έχει μοριακό βάρος 80 kDa. Το μόριο της πρωτεΐνης περιέχει ενδομοριακούς δισουλφιδικούς δεσμούς, ενώ δεν περιλαμβάνει ελεύθερες θειικές ομάδες. Η λακτοφερρίνη παρουσιάζει αντιβακτηριακή δράση, η οποία οφείλεται στη δέσμευση των ιόντων σιδήρου Fe_{3+} από τον ορό του γάλακτος (Strom et al. 2000, 2002).

- **πεπτόνες πρωτεόζης**

Το κλάσμα των πεπτονών πρωτεόζης στο γάλα είναι ένα σύνθετο μίγμα από πεπτίδια, τα περισσότερα από τα οποία παράγονται από τη δράση της πλασμίνης του γάλακτος, ενώ άλλα συνιστούν ενδογενή συστατικά του γάλακτος. Στον ορό του γάλακτος συναντάται η πεπτόνη πρωτεόζης 3, η οποία αποτελείται από 135 αμινοξέα, έχει μοριακό βάρος 28 kDa και εμφανίζει πέντε θέσεις φωσφορυλίωσης και τρεις θέσεις γλυκοζυλίωσης (Fox et al. 2015, Boland 2014).

Οι ***καζεΐνες*** ανήκουν στις φωσφοροπρωτεΐνες και είναι η ποσοτικά σπουδαιότερες πρωτεΐνες του γάλακτος. Αποτελούν το 80% περίπου των πρωτεϊνών του, με την περιεκτικότητά τους στο αγελαδινό γάλα να κυμαίνεται από 2,2 έως 3,2% κ.β. Οι καζεΐνες στο γάλα βρίσκονται υπό μορφή κολλοειδούς καζεϊνικού ασβεστίου ενωμένου με φωσφορικούς εστέρες και με προσροφημένα αδιάλυτα φωσφορικά άλατα του ασβεστίου. Δεν είναι μία σαφής χημική ένωση, αλλά ένα μίγμα διάφορων τύπων μορίων. Η συνολική καζεΐνη αποτελείται κατά 50% από α_s-καζεΐνη, 30% β-καζεΐνη, 15% κ-καζεΐνη και 5% γ-καζεΐνη. Κατά την οξίνιση του γάλακτος με δράση μικροοργανισμών, το pH του γάλακτος μειώνεται λόγω της παραγωγής γαλακτικού οξέος, και η καζεΐνη καθιζάνει και σχηματίζει ένα πήγμα όταν το pH φτάσει στο ισοηλεκτρικό σημείο των καζεϊνών (pH~4,6) (Fox et al. 2015, Tamime 2008). Στην **Εικόνα 3** απεικονίζεται η δομή του καζεϊνικού μικυλλίου.

- **α_{s1} καζεΐνη**

Η α_{s1} καζεΐνη, με κύρια παραλλαγή τη B, περιέχει 199 αμινοξέα και 8 φωσφορικές ομάδες. Το μοριακό της βάρος βάσει των αριθμών αμινοξέων της είναι 23 kDa, ενώ μετά τη φωαφορυλίωση των 8 θέσεων σερίνης αυξάνεται στα 23,6 kDa. Βάση της πρωτογενούς αλληλουχίας το pI της υπολογίζεται 4,9, ενώ μετά τη φωσφορυλίωση διαμορφώνεται στο 4,4. Είναι μέτριας υδροφοβικότητας, με 25 αμινοξέα θετικά φορτισμένα και 40 αρνητικά φορτισμένα. Εκτός της B παραλλαγής υπάρχουν και οι γετικές παραλλαγές A, C, D, E, F, G, H. Σε pH 6,6 και ιοντική ισχύ >0,003 διαμορφώνει ολιγομερή και η συσσωμάτωση αυξάνεται με αύξηση της ιοντικής ισχύος. Η α_{s1} καζεΐνη χαρακτηρίζεται ως πρωτεΐνη ευαίσθητη στα ιόντα ασβεστίου (calcium-sensitive).

- **α_{s2} καζεΐνη**

Η α_{s2} καζεΐνη, με κύρια παραλλαγή τη B, περιέχει 207 αμινοξέα, 11 φωσφορικές ομάδες και έναν δισουλφιδικό δεσμό στο μόριό της. Το μοριακό της βάρος βάσει των αριθμών αμινοξέων της είναι 24,3 kDa, ενώ μετά τη φωαφορυλίωση των 11 θέσεων σερίνης αυξάνεται στα 25,2 kDa. Βάση της πρωτογενούς αλληλουχίας το pI της υπολογίζεται 8,3, ενώ μετά τη φωσφορυλίωση διαμορφώνεται στο 4,9. Εκτός της B παραλλαγής υπάρχουν και οι γετικές παραλλαγές B, C, D. Η α_{s2} καζεΐνη είναι η πιο υδρόφιλη από τις καζεΐνες, με 33 θετικά και 39 αρνητικά φορτισμένα αμινοξέα. Τέλος, έχει τις περισσότερες φωσφορικές ομάδες από τις υπόλοιπες καζεΐνες και είναι η περισσότερο ευαίσθητη στο ασβέστιο.

- **β-καζεΐνη**

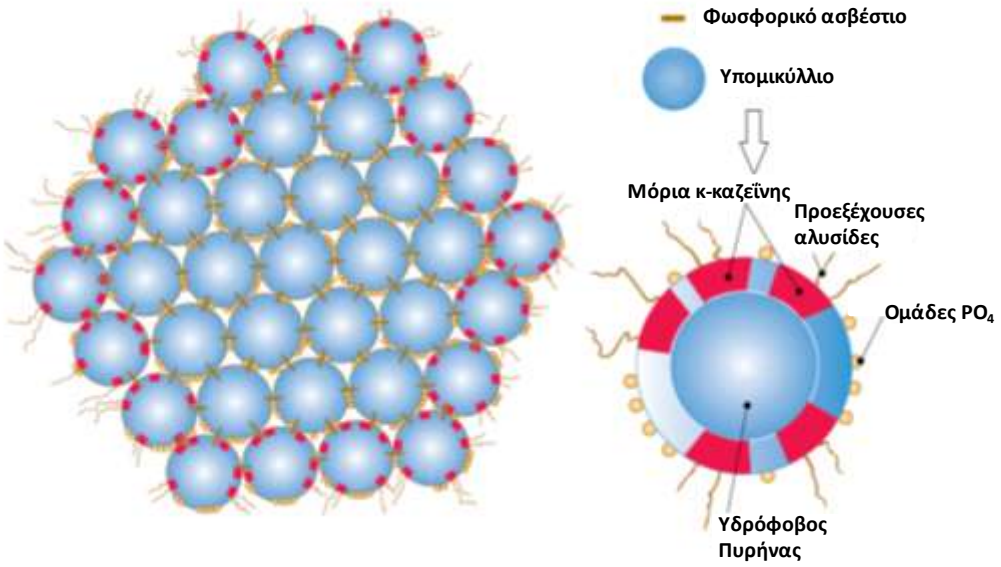
Η β-καζεΐνη με κύρια παραλλαγή την A^2, περιέχει 209 αμινοξέα και 5 φωσφορικές ομάδες. Το μοριακό της βάρος βάσει των αριθμών αμινοξέων της είναι 23,6 kDa, ενώ μετά τη φωαφορυλίωση των 5 θέσεων σερίνης αυξάνεται στα 24 kDa. Βάση της πρωτογενούς αλληλουχίας το pI της υπολογίζεται 5,1, ενώ μετά τη φωσφορυλίωση διαμορφώνεται στο 4,7. Το μόριο της β-καζεΐνης εμφανίζει αμφιπαθικό χαρακτήρα (έχει υδρόφοβα και υδρόφιλα μέρη). Εκτός της A^2 παραλλαγής υπάρχουν και οι γενετικές παραλλαγές A^1, A^3, B. C, D, E, F, G, H^1, H^2, I. Το μόριο της β- καζεΐνης μπορεί να συνδεθεί μέχρι με 7 ιόντα ασβεστίου. Η ένωση με ιόντα ασβεστίου αυξάνεται με αύξηση της θερμοκρασίας και μειώνεται με αύξηση της ιοντικής ισχύος ή μείωση του pH.

- **γ-καζεΐνη**

Είναι προϊόν αποικοδόμησης της β-καζεΐνης. Το μεγαλύτερο μέρος της αντιστοιχεί στα αμινοξέα 29 έως 209 της β-καζεΐνης, που είναι και το πιο υδρόφοβο κομμάτι. Είναι διαλυτή στην αιθανόλη (900 $mg \cdot L^{-1}$ σε 50% αιθανόλης). Η διάσπαση προκαλείται από το ένζυμο πλασμίνη, που υπάρχει στο γάλα. Η ποσότητα των γ-καζεϊνών ποικίλλει ανάλογα με το χρόνο και τη θερμοκρασία αποθήκευσης του γάλακτος.

- **κ– καζεΐνη**

Η κ– καζεΐνη είναι η μικρότερη από τις καζεΐνες, περιέχει ένα δισουλφιδικό δεσμό, έχει μικρό βαθμό φωσφορυλίωσης και ευαισθησίας στο ασβέστιο και είναι η μόνη που απαντάται σε γλυκοζυλιωμένη μορφή. Αποτελείται από 169 αμινοξέα και το μοριακό της βάρος βάσει των αριθμών αμινοξέων της είναι 19 kDa. Βάση της πρωτογενούς αλληλουχίας το pI της υπολογίζεται 5,9, ενώ μετά τη φωσφορυλίωση διαμορφώνεται στο 4,7. Το 60% των μορίων της κ- καζεΐνης είναι γλυκοζυλιωμένα περιέχοντας έως 6 γλυκάνες (γαλακτοζαμίνη, γαλακτόζη και ένα ή δύο N-ακέτυλο νευραμινικά οξέα). Οι παραλλαγές στις οποίες απαντάται η κ-καζεΐνη είναι οι A, B, C, E, F^1, F^2,G^1, G^2, H, I, J. Τα μόρια της κ-καζεΐνης συνδέονται ισχυρά σχηματίζοντας μικύλλια των 30 μορίων και σταθεροποιούν τις ευαίσθητες στα ιόντα ασβεστίου καζεΐνες (Fox et al. 2015, Boland 2014).



Εικόνα 3. Δομή των καζεϊνικών μικυλλίων

1.3 Τα Γαλακτοκομικά προϊόντα

Σύμφωνα με τον Ελληνικό Κώδικα Τροφίμων και Ποτών (2009), ως «γαλακτοκομικά προϊόντα νοούνται τα προϊόντα που παράγονται αποκλειστικά από γάλα στο οποίο είναι δυνατόν να προστίθενται οι απαραίτητες ουσίες για την κατασκευή τους, εφόσον οι ουσίες αυτές δεν χρησιμοποιούνται για να αντικαταστήσουν εν όλω ή εν μέρει, κάποιο συστατικό του γάλακτος και τα προϊόντα που αποτελούνται από γάλα, δηλαδή τα προϊόντα των οποίων κανένα συστατικό δεν υποκαθιστά ή δεν αποσκοπεί να υποκαταστήσει κάποιο συστατικό του γάλακτος και των οποίων το γάλα ή ένα γαλακτοκομικό προϊόν αποτελεί ουσιαστικό συστατικό, είτε λόγω ποσότητας, είτε λόγω των χαρακτηριστικών που προσδίδει στο προϊόν».

Τα γαλακτοκομικά προϊόντα μπορούν να ταξινομηθούν σε τρεις κατηγορίες:

1) Βασικά προϊόντα (γάλα, ζυμωμένα γάλατα, τυρί, παγωτό, κ.ά.).
2) Προϊόντα προστιθέμενης αξίας, στα οποία η σύνθεση του γάλακτος έχει μεταβληθεί, όπως π.χ. προϊόντα με χαμηλή περιεκτικότητα σε λακτόζη ή χωρίς λακτόζη, υποαλλεργικοί τύποι βρεφικών γαλάτων με υδρολυομένες πρωτεΐνες, γαλακτοκομικά προϊόντα εμπλουτισμένα με ασβέστιο, βιταμίνες, κ.ά. Τα προϊόντα στοχεύουν σε συγκεκριμένες καταναλωτικές ομάδες και δεν έχει καταστεί ακόμα

σαφές το αν μπορούν να συμπεριληφθούν κατηγορία των λειτουργικών τροφίμων ή όχι.

3) Λειτουργικά γαλακτοκομικά προϊόντα με αποδεδειγμένο όφελος στην υγεία του ανθρώπινου οργανισμού. Τα προϊόντα αυτά βασίζονται σε γάλα που είναι εμπλουτισμένο με κάποιο λειτουργικό συστατικό ή σε συστατικά που προέρχονται από αυτό. Τα πιο συνηθισμένα λειτουργικά προϊόντα είναι αυτά με υπερβιοτικά βακτήρια (probiotics), συχνά εμπλουτισμένα με προβιοτικούς υδατάνθρακες (prebiotics), προϊόντα με διαιτητικές ίνες, μέταλλα, πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, φυτικά αντιοξειδωτικά, βιοενεργά πεπτίδια και λιπίδια κ.ά. (Saxelin et al. 2003, Kruger &. Mann 2003).

1.4 Βασικά γαλακτοκομικά προϊόντα

1.4.1 Γάλα

Σύμφωνα με τον Ελληνικό Κώδικα Τροφίμων και Ποτών (2009), το γάλα διακρίνεται σε τρεις κατηγορίες ανάλογα με τη θερμική επεξεργασία που έχει υποστεί :

- **<u>Παστεριωμένο γάλα</u>**, το οποίο θα πρέπει:

1. Να έχει εκτεθεί σε υψηλή θερμοκρασία για μικρό χρονικό διάστημα (τουλάχιστον 71,1°C για 15 s ή ισοδύναμος συνδυασμός) ή σε διαδικασία παστερίωσης που χρησιμοποιεί διαφορετικούς συνδυασμούς χρόνου και θερμοκρασίας για την επίτευξη ισοδύναμου αποτελέσματος.
2. Να παρουσιάζει αρνητική αντίδραση στη δοκιμασία φωσφατάσης και θετική αντίδραση στη διαδικασία υπεροξειδάσης. Ωστόσο επιτρέπεται η παραγωγή παστεριωμένου γάλακτος με αρνητική αντίδραση στη δοκιμασία υπεροξειδάσης υπό την προϋπόθεση ότι η ετικέτα του γάλακτος φέρει ένδειξη «υψηλής παστερίωσης».
3. Να ψύχεται το συντομότερο δυνατό αμέσως μετά την παστερίωση, σε θερμοκρασία που δεν υπερβαίνει τους 6°C.

- **<u>Γάλα UHT</u>**, το οποίο θα πρέπει:

1. Να έχει παραχθεί με συνεχή θέρμανση του νωπού γάλακτος που συνεπάγεται τη βραχυχρόνια εφαρμογή υψηλής θερμοκρασίας (τουλάχιστον +135°C επί ένα τουλάχιστον s) με σκοπό την καταστροφή όλων των υπολειπόμενων μικροοργανισμών

και των σπορίων τους, και τη συσκευασία, υπό ασηπτικές συνθήκες, σε αδιαφανή δοχεία ή σε δοχεία που καθίστανται αδιαφανή από δεύτερη συσκευασία, κατά τέτοιο τρόπο ώστε να μειώνονται στο ελάχιστο οι χημικές, φυσικές και οργανοληπτικές μεταβολές.

2. Να είναι δυνατό να διατηρηθεί, ούτως ώστε να μην ανιχνεύεται δειγματοληπτικά καμία αλλοίωση στο γάλα UHT που έχει διατηρηθεί επί δεκαπενθήμερο σε κλειστή συσκευασία και σε θερμοκρασία 30°C. Εφόσον χρειάζεται, μπορεί να προβλέπεται και η διατήρησή του επί επταήμερο σε κλειστή συσκευασία και σε θερμοκρασία + 55°C.

Στην περίπτωση που η λεγόμενη «πολύ υψηλής θερμοκρασίας» μέθοδος επεξεργασίας του γάλακτος χρησιμοποιείται με απευθείας επαφή του γάλακτος με υδρατμούς, οι υδρατμοί αυτοί πρέπει να προέρχονται από πόσιμο νερό και δεν πρέπει να μεταφέρουν ξένες ουσίες στο γάλα, ούτε να επιδρούν δυσμενώς σε αυτό. Επίσης, η εφαρμογή της μεθόδου δεν πρέπει να μεταβάλλει την περιεκτικότητα του υφισταμένου την επεξεργασία γάλακτος σε νερό.

- **<u>Αποστειρωμένο γάλα</u>**, το οποίο θα πρέπει:

1. Να έχει θερμανθεί και αποστειρωθεί σε ερμητικά κλειστές συσκευασίες ή δοχεία, των οποίων το σύστημα κλεισίματος πρέπει να παραμένει άθικτο.
2. Να είναι δυνατόν να διατηρηθεί, σε περίπτωση δειγματοληπτικού ελέγχου, χωρίς να παρουσιάσει καμία αισθητή αλλοίωση, επί δεκαπενθημέρου, σε κλειστή συσκευασία και θερμοκρασία 30°C. Επιπλέον, αν αυτό είναι αναγκαίο, μπορεί να προβλέπεται και η διατήρησή του επί επταημέρου σε κλειστή συσκευασία και σε θερμοκρασία 55°C.

1.4.2 Ζυμωμένα γάλατα

Σε όλο τον κόσμο υπάρχουν περίπου 400 διαφορετικά ζυμωμένα γαλακτοκομικά προϊόντα, όπως το γιαούρτι, το κεφίρ, το ζυμωμένο βουτυρόγαλο, το ymer, το filmjölk (Σκανδιναβικό ξινόγαλα), η ζυμωμένη κρέμα και το koumiss.

Η ονομασία των προϊόντων αυτών οφείλεται στο γεγονός ότι το γάλα που χρησιμοποιείται για την παρασκευή τους εμβολιάζεται με μία καλλιέργεια εκκίνησης (γαλακτικά βακτήρια που ανήκουν στα γένη *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus, Leuconostoc* και *Pediococcus*), η οποία μετατρέπει μέρος της λακτόζης σε γαλακτικό οξύ. Ορισμένα ζυμωμένα γαλακτοκομικά προϊόντα μπορούν αν παραχθούν και με το

συνδυασμό καλλιέργειας εκκίνησης και μαγιάς (koumiss, kefir, skyr) ή σπανιότερα με το συνδυασμό καλλιέργειας εκκίνησης και ζυμών.

Κατά τη μετατροπή της λακτόζης σε γαλακτικό οξύ, παράγονται ενώσεις όπως το διοξείδιο του άνθρακα, το οξικό οξύ, το διακετύλιο, η ακεταλδεΰδη, η αιθανάλη και το διμεθυλοσουλφίδιο που δίνουν στα προϊόντα χαρακτηριστική γεύση και άρωμα (White & Charles & Kilara & Hui 2008, Belitz, Grosch & Schieberle 2004).

1.4.2.1 Το γιαούρτι

Σύμφωνα με τον Ελληνικό Κώδικα Τροφίμων και Ποτών (2009), ως «*γιαούρτι (πλήρες ή, κατά περίπτωση, ημιαποβουτυρωμένο) ... (όνομα ζώου) χαρακτηρίζεται το προϊόν, το οποίο προκύπτει μετά από πήξη αποκλειστικά και μόνο νωπού γάλακτος της αντίστοιχης προς την ονομασία φύσης και προέλευσης, με την επίδραση καλλιέργειας ζύμης που προκαλεί ειδική για αυτό ζύμωση*». Το γιαούρτι πρέπει να περιέχει λίπος και στερεό υπόλειμμα άνευ λίπους (ΣΥΑΛ) σε ποσοστό ανώτερο κατά 10% τουλάχιστον από τα όρια που καθορίζονται στο άρθρο 80 (παράγραφος 3) των αντίστοιχων ειδών γάλακτος, από τα οποία παρασκευάστηκε αυτό. Εκτός από τα είδη γάλακτος που περιλαμβάνονται στο άρθρο 80 (παράγραφος 3), επιτρέπεται η παρασκευή πλήρους γιαουρτιού από μίγμα ίσων μερών νωπού γάλακτος αγελάδας και βουβάλου ή προβάτου».

Γενικά, ως «γιαούρτι» ορίζεται το προϊόν που παράγεται από γάλα, με ή χωρίς την προσθήκη φυσικών συστατικών του γάλακτος (κρέμα γάλακτος, πρωτεΐνες γάλακτος κ.α.) και το πήγμα του οφείλεται στη δράση των μικροοργανισμών *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* και *Lactobacillus delbrueckii* subsp. b*ulgaricus*, οι οποίοι θα πρέπει να είναι «ζωντανοί και άφθονοι» τη στιγμή της κατανάλωσης (Wouters 2012).

Τόσο ιστορικά όσο και εμπορικά, το γιαούρτι είναι το πιο δημοφιλές ζυμωμένο προϊόν γάλακτος. Απαντάται ήδη σε πολλές διαφορετικές μορφές και η δημιουργία νέων προϊόντων γιαουρτιού είναι συνεχής με γνώμονα τις νέες καταναλωτικές ανάγκες. Το μεγάλο πλήθος των προϊόντων γιαουρτιού που απαντώνται παγκοσμίως οδήγησε στην κατηγοριοποίησή τους με βάση τα φυσικά χαρακτηριστικά τους και περιλαμβάνει τέσσερις κατηγορίες όπως αυτές παρουσιάζονται στον **Πίνακα 2** (Tamime & Robinson 2007, Bylund 1995).

Τα προϊόντα της κάθε κατηγορίας που εμφανίζονται παραπάνω ταξινομούνται επιπλέον σε νέες ομάδες με βάση:

- Τα νομικά πρότυπα που ταξινομούν ένα προϊόν βάσει της χημικής του σύστασης ή του περιεχομένου σε λίπος (πλήρες, ημι-αποβουτυρωμένο ή αποβουτυρωμένο).
- Το άρωμα/γεύση-flavour (φυσικό, φρούτων, αρωματισμένο).
- Τις διεργασίες μετά τη ζύμωση (προσθήκη βιταμινών ή θερμική επεξεργασία) (Tamime & Robinson 2007).

Πίνακας 2. Ταξινόμηση προϊόντων γιαουρτιού με βάση τα φυσικά χαρακτηριστικά τους

Φυσική κατάσταση	Προϊόντα Γιαουρτιού
Υγρό/Παχύρευστο	Ανακατεμένου/ρευστού τύπου
Ημιστερεό	Τύπου σετ/ Συμπυκνωμένο/Στραγγιστό
Στερεό	Παγωμένο
Σκόνη	Ξηρό

Γενικότερα, οι μορφές στις οποίες απαντάται το γιαούρτι είναι οι εξής:

- ***Τύπου σετ***, η δράση των μικροοργανισμών και η ψύξη του προϊόντος γίνεται μέσα στη συσκευασία του.
- ***Ανακατεμένου τύπου***, η επώαση και η ψύξη γίνεται πριν τη συσκευασία.
- ***Πόσιμο/ρευστό***, όμοιο με το στραγγιστό αλλά το πήγμα σε αυτήν την περίπτωση «σπάζεται» ώστε να γίνει υγρής φύσης και μετά συσκευάζεται.
- ***Παγωμένο***, επωάζεται σε σιλό και έπειτα καταψύχεται όπως το παγωτό.
- ***Συμπυκνωμένο***, η επώαση γίνεται σε σιλό, συμπυκνώνεται και ψύχεται πριν συσκευαστεί. Συχνά αυτός ο τύπος χαρακτηρίζεται και ως στραγγιστό, labneh ή labaneh (Bylund 1995).

1.4.3 Άλλα γαλακτοκομικά προϊόντα

1.4.3.1 Σκόνη γάλακτος

Ως σκόνη γάλακτος ορίζεται το στερεό προϊόν του οποίου η κατά βάρος περιεκτικότητα σε νερό δεν υπερβαίνει το 5% στο τελικό προϊόν, και το οποίο λαμβάνεται με την αφαίρεση του νερού από γάλα, από ολικά ή μερικά αποβουτυρωμένο γάλα, από κρέμα γάλακτος ή από μίγμα των προϊόντων αυτών (Ελληνικός Κώδικας Τροφίμων και Ποτών 2009).

Η σκόνη γάλακτος χρησιμοποιείται είτε για ανασύσταση του γάλακτος ή ως ενδιάμεσο προϊόν για περαιτέρω επεξεργασία σε βρεφικά προϊόντα γάλακτος, σε προϊόντα σοκολάτας γάλακτος κ.ά. Η ποιότητα της σκόνης γάλακτος καθορίζεται από την ανθεκτικότητα, την ικανότητα επαναδιάλυσης (σε κρύο και ζεστό διάλυμα), τη γεύση, τα μικροβιολογικά χαρακτηριστικά και τη διατήρηση των θρεπτικών της συστατικών (πρωτεΐνες, βιταμίνες) (Belitz, Grosch & Schieberle 2004).

1.4.3.2 Κρέμα γάλακτος

Η κρέμα γάλακτος προκύπτει μετά από φυγοκέντρηση του παστεριωμένου γάλακτος και περιέχει το σύνολο σχεδόν των λιπαρών συστατικών και των λιποδιαλυτών βιταμινών του. Σύμφωνα με τον Ελληνικό Κώδικα Τροφίμων και Ποτών (2009) για να χαρακτηρισθεί ένα γαλακτοκομικό προϊόν ως κρέμα θα πρέπει η περιεκτικότητά του σε λιπαρά να είναι τουλάχιστον 10%. Για να διατεθεί μία κρέμα στην ελληνική αγορά, θα πρέπει να αναγράφεται ευκρινώς στη συσκευασία της η περιεκτικότητά της σε λίπος με μία από τις φράσεις: περιέχει λίπος τουλάχιστον 10%, περιέχει λίπος τουλάχιστον 25%, ή περιέχει λίπος τουλάχιστον 40%. Επιπλέον, επιτρέπεται η αναγραφή της οποιαδήποτε ενδιάμεσης περιεκτικότητας σε λίπος (10-40%) (Walstra et al 2005).

1.4.3.3 Παγωτό

Σύμφωνα με το Euroglaces (Ευρωπαϊκή Ένωση Παγωτού), το παγωτό ανήκει στην κατηγορία των εδώδιμων πάγων (edible ices) και θα πρέπει να είναι κατασκευασμένο από μίγμα ασφαλών συστατικών, να έχει συμπαγή ή κρεμμώδη υφή, να λαμβάνεται από την κατάψυξη και να αποθηκεύεται, μεταφέρεται, πωλείται και καταναλώνεται σε παγωμένη μορφή. Όσον αφορά στη σύστασή του, χαρακτηρίζεται ως γαλάκτωμα το οποίο αποτελείται από νερό και/ή γάλα, λιπαρά, πρωτεΐνες και γλυκαντικές ύλες.

Σημειώνεται μάλιστα πως η ύπαρξη πρωτεϊνών (γάλακτος ή μη) είναι προαιρετική, ενώ η ύπαρξη λιπαρών (γάλακτος ή μη) είναι υποχρεωτική. Τα πιο γνωστά παγωτά παγκοσμίως 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 (Clarke 2004, Marshall & Arbuckle 1996, Marshall & Goff 2012).

1.4.3.4 Τυρί

Σύμφωνα με τον Ελληνικό Κώδικα Τροφίμων και Ποτών (2009), τα τυριά είναι τα προϊόντα ωρίμανσης του πήγματος (στάλπης) που είναι απαλλαγμένο από το τυρόγαλα στον επιθυμητό κάθε φορά βαθμό και τα οποία παρασκευάστηκαν, με την επενέργεια πυτιάς ή άλλων ενζύμων που δρουν ανάλογα σε γάλα (νωπό ή παστεριωμένο, αγελάδας, προβάτου, κατσίκας, βουβάλου και μίγματα αυτών) ή σε μερικώς αποβουτυρωμένο γάλα ή σε μίγμα αυτών ή/και σε μείγματα αυτών με κρέμα γάλακτος.

Η παρασκευή του τυριού περιλαμβάνει τρεις κυρίως φάσεις: την πήξη του γάλακτος με σχηματισμό του τυροπήγματος, τη στράγγιση του τυροπήγματος και την ωρίμανση του τυριού. Για την κατηγοριοποίηση των διαφόρων ειδών τυριών (περισσότερα από 400) έχουν χρησιμοποιηθεί διάφορα κριτήρια, όπως για παράδειγμα η πηγή προέλευσης του

γάλακτος, η αναλογία περιεχόμενης υγρασίας και λίπους, ο τρόπος σχηματισμού του πήγματος(χρήση οξέων, εκχύλισμα πυτιάς ή συνδυασμός των δύο) και οι περιεχόμενοι μικροοργανισμοί (Fox et al 2004, Belitz, Grosch & Schieberle 2004).

1.4.3.5 Βούτυρο

Βούτυρο ονομάζεται το προϊόν που λαμβάνεται με κτύπημα του γάλακτος ή της κρέμας γάλακτος ή μίγματος των δύο, πριν ή μετά την οξίνισή τους, με βιολογικό όμως και μόνο τρόπο (Ελληνικός Κώδικας Τροφίμων & Ποτών 2009).

Το βούτυρο ταξινομείται σε δύο βασικές κατηγορίες, το βούτυρο α) γλυκιάς κρέμας και β) ξινής κρέμας ή κρέμας με καλλιέργεια. Το βούτυρο περιέχει 80% λιπαρά και 16-18% υγρασία, χαρακτηριστικά που εξαρτώνται από την περιεκτικότητά σου σε αλάτι, και το χρώμα του ποικίλλει ανάλογα με το περιεχόμενό του σε καροτενοειδή, τα οποία καταλαμβάνουν το 11-50% της περιεχόμενης στο γάλα βιταμίνης Α (Bylund 1995).

1.5 Παραγωγική διαδικασία γιαουρτιού

Η πρώτη ύλη παραγωγής του γιαουρτιού είναι συνήθως το αγελαδινό γάλα, χωρίς βέβαια να αποκλείεται η παραγωγή του από γάλα άλλων θηλαστικών, όπως του προβάτου, της κατσίκας, της καμήλας και του βούβαλου. Προκειμένου να παραχθεί γιαούρτι υψηλής ποιότητας με συγκεκριμένα επιθυμητά χαρακτηριστικά όσον αφορά στη γεύση, το άρωμα, το ιξώδες, τη συνεκτικότητα, την εμφάνιση, τη μειωμένη συναίρεση και τη μεγάλη διάρκεια ζωής του, είναι απαραίτητο να ελέγχονται προσεκτικά η επιλογή και τα στάδια επεξεργασίας της πρώτης ύλης, η επιλογή και οι συνθήκες επώασης των μικροοργανισμών καθώς και τα στάδια μηχανικής επεξεργασίας του γιαουρτιού (Bylund 1995, White & Charles & Kilara & Hui 2008, Wouters 2012, Griffiths 2010). Αναλυτικά, στους παράγοντες αυτούς περιλαμβάνονται:

- Η επιλογή της πρώτης ύλης
- Η τυποποίηση του γάλακτος
- Η επιλογή και προσθήκη πρόσθετων ουσιών στο γάλα
- Η ομογενοποίηση
- Η θερμική επεξεργασία
- Η επιλογή και προετοιμασία της καλλιέργειας εκκίνησης
- Η ζύμωση

- Η ψύξη
- Η ανάδευση
- Ο βιομηχανικός σχεδιασμός

1.5.1 Επιλογή της πρώτης ύλης

Το γάλα που χρησιμοποιείται για την παραγωγή γιαουρτιού πρέπει να έχει χαμηλό περιεχόμενο σε βακτήρια και σε ουσίες που μπορεί να εμποδίσουν την ανάπτυξη της καλλιέργειας εκκίνησης. Επίσης δε θα πρέπει να περιέχονται αντιβιοτικά, βακτηριοφάγοι ή παράγοντες αποστείρωσης. Άλλα ξένα σωματίδια, όπως σκόνη, επιθηλιακά κύτταρα, φύλλα και τρίχες που μπορεί το γάλα να περιέχει, απομακρύνονται με φιλτράρισμα (Otter 2003, Tamime & Robinson 2007).

1.5.2 Τυποποίηση του γάλακτος

Το λίπος και το περιεχόμενο σε στερεά του γάλακτος τυποποιούνται με βάση τις αρχές του κώδικα FAO/WHO. Το γιαούρτι μπορεί να περιέχει λίπος από 0 έως 15%. Η συνήθης περιεκτικότητα σε λίπος είναι από 0,5 έως 3,5%. Η ελάχιστη περιεκτικότητα του γιαουρτιού σε ξηρή ύλη είναι 8,2%.

Η τυποποίηση του γάλακτος περιλαμβάνει τυποποίηση των λιπαρών του και τυποποίηση των στερεών άνευ λίπους. Στόχος της τυποποίησης της στερεής ύλης είναι η αύξησή της, η οποία ενισχύει τη σταθερότητα του πήγματος και μειώνει την ένταση του φαινομένου της συναίρεσης. Στόχος της τυποποίησης των λιπαρών είναι κυρίως η ικανοποίηση των καταναλωτικών αναγκών, μιας και η περιεκτικότητα σε λιπαρά δεν διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ποιότητα του πήγματος

Η τυποποίηση των λιπαρών του γάλακτος πραγματοποιείται φυγοκεντρικά απομακρύνοντας το σύνολο των λιπαρών του γάλακτος ή μέρος τους. Η επιθυμητή περιεκτικότητα σε λιπαρά επιτυγχάνεται και με την ανάμιξη κρέμας γάλακτος και αποβουτυρωμένου γάλακτος σε αναλογίες τέτοιες ώστε να προκύψει η επιθυμητή περιεκτικότητα λιπαρών στο τελικό μίγμα (White, Charles & Kilara 2008, Tamime & Robinson 2007, Griffiths 2010).

Η τυποποίηση ξηρής ύλης πραγματοποιείται συνήθως με:

- Εξάτμιση (10 έως 20% του όγκου του γάλακτος εξατμίζεται),

- προσθήκη αποβουτυρωμένης σκόνης γάλακτος, συνήθως έως 3%,
- προσθήκη συμπυκνώματος γάλακτος, και
- προσθήκη κατακρατούμενων συστατικών από την υπερδιήθηση αποβουτυρωμένου γάλακτος

1.5.3 Πρόσθετες ουσίες στο γάλα

Σύμφωνα με τον Ελληνικό Κώδικα Τροφίμων και Ποτών (2009), το γιαούρτι που διατίθεται προς κατανάλωση, απαγορεύεται να περιέχει πρόσθετες ουσίες (ζάχαρη, χρωστικές, συντηρητικές ουσίες κ.ά.). Σε περίπτωση χρήσης πρόσθετων ουσιών στο γιαούρτι, επιβάλλεται ο χαρακτηρισμός του ως «επιδόρπιο με βάση το γάλα» (Ελληνικός Κώδικας Τροφίμων και Ποτών, 2009).

Οι πρόσθετες ουσίες στο γάλα μπορεί να είναι ζάχαρη ή γλυκαντικές ουσίες, σταθεροποιητικές ουσίες, συντηρητικές ουσίες, φρέσκα φρούτα, αρωματικές ουσίες (φυσικές ή συνθετικές), ή και χρωστικές ουσίες (Tamime & Robinson 2007).

1.5.4 Η ομογενοποίηση

Η ομογενοποίηση του γάλακτος έχει ως αποτέλεσμα την ομοιόμορφη κατανομή τόσο των λιπαρών όσο και των ξηρών συστατικών του, και τη μείωση της μέσης διαμέτρου των λιποσφαιριδίων (<2μm) του. Η μείωση στη διάμετρο των λιποσφαιριδίων είναι απαραίτητη για την αποφυγή της συσσωμάτωσής τους και του διαχωρισμού των λιπαρών κατά τη διάρκεια της ζύμωσης. Επιπλέον, παρατηρούνται θετικές επιδράσεις στο ιξώδες και την υφή του παραγόμενου γιαουρτιού λόγω της προσκόλλησης των καζεϊνών και των πρωτεϊνών ορού στα λιπισφαιρίδια. Οι προτεινόμενες συνθήκες ομογενοποίησης του γάλακτος είναι επεξεργασία στα 20-25 Mbar και στους 65-70°C, ώστε να εξασφαλιστούν οι βέλτιστες φυσικές ιδιότητες του προϊόντος (Wouters 2012, Bylund 1995, Tamime 2008).

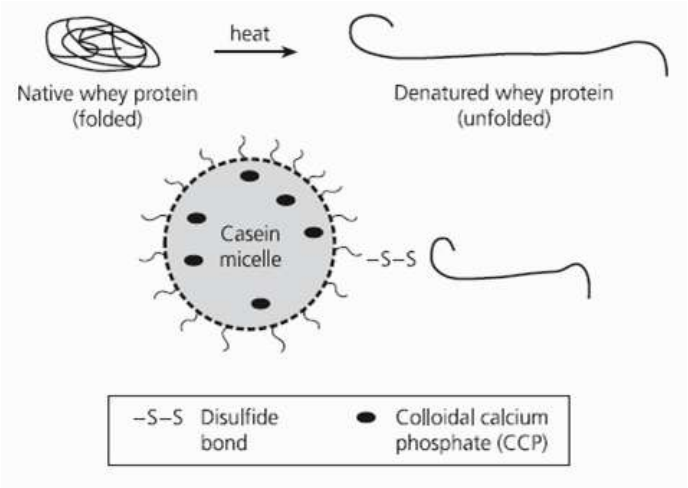
1.5.5 Η θερμική επεξεργασία

Η θερμική επεξεργασία του γάλακτος έχει σαν αποτέλεσμα τη θανάτωση των παθογόνων και άλλων ανεπιθύμητων μικροοργανισμών και την απενεργοποίηση των περιεχόμενων σε αυτό ενζύμων. Με τα παραπάνω εξασφαλίζονται ευνοϊκές συνθήκες για την καλλιέργεια

εκκίνησης (απουσία ανταγωνιστών και αναστολέων), το γιαούρτι καθίσταται μικροβιολογικά ασφαλές και επεκτείνεται η διάρκεια ζωής του.

Επιπλέον, η θερμική επεξεργασία του γάλακτος συντελεί στην απαέρωση του μίγματος και στην απελευθέρωση αζωτούχων ενώσεων από το «σπάσιμο» που υφίστανται σε μικρό βαθμό οι πρωτεΐνες ορού. Και οι δύο αυτοί παράγοντες είναι διεγερτικοί για την ανάπτυξη της καλλιέργειας εκκίνησης (μικροαερόφιλοι μικροοργανισμοί).

Τέλος, η θερμική επεξεργασία του γάλακτος οδηγεί σε αλλαγή των φυσικοχημικών ιδιοτήτων(π.χ. αύξηση υδροφιλικής ικανότητας) των καζεϊνών και σε μετουσίωση των πρωτεϊνών ορού (**Εικόνα 4**) συμβάλλοντας στη βελτίωση της υφής (γιαούρτι τύπου σετ) ή του ιξώδους (γιαούρτι ανακατεμένου τύπου) του γιαουρτιού (Shah 2003, Chandan & O ' Rell 2006, Tamime 2008).



Εικόνα 4. Σχηματική απεικόνιση της αλληλεπίδρασης των πρωτεϊνών ορού και των καζεϊνών λόγω της επίδρασης της θερμικής επεξεργασίας του γάλακτος

Οι συνθήκες χρόνου και θερμοκρασίας που εφαρμόζονται τόσο στο γάλα όσο και στα ζυμωμένα προϊόντα γάλακτος παρουσιάζονται στον **Πίνακα 3** (Tamime & Robinson 2007).

Το γάλα που χρησιμοποιείται στην παραγωγική διαδικασία του γιαουρτιού επεξεργάζεται θερμικά συνήθως σε θερμοκρασίες μεταξύ 90–95°C για χρόνους μεταξύ 5-10 min. Υπό αυτές τις συνθήκες εξασφαλίζεται σταθερότητα στο πήγμα του γιαουρτιού και μειώνεται η πιθανότητα εμφάνισης συναίρεσης.

Πίνακας 3. Συνθήκες χρόνου και θερμοκρασίας για τη θερμική επεξεργασία του γάλακτος

Χρόνος	Θερμοκρασία (°C)	Διαδικασία	Σχόλια
Λίγα δευτερόλεπτα	≤ 65	θέρμισμα	Βασικός σκοπός είναι η καταστροφή των ψυχότροπων βακτηρίων
30 min **15 s**	65 72	παστερίωση	Καταστροφή σχεδόν όλων των παθογόνων μικροοργανισμών του γάλακτος, απενεργοποίηση μερικών ενζύμων
4-20 s **30 min** **5 min**	85 85 90-95	υψηλή παστερίωση	Καταστροφή των βλαστικών κυττάρων όχι των βακτηριακών σπορίων, καταστροφή κάποιων ενζύμων, μετουσίωση των πρωτεϊνών ορρού
4-20 min **2-20 s**	110-120 135-150	αποστείρωση UHT	Καταστροφή όλων των μικροοργανισμών και των σπορίων τους, χημικές αλλαγές στο γάλα, αλλαγές χρώματος και γεύσης, κάποιες UHT επεξεργασίες δεν απενεργοποιούν όλα τα ένζυμα

1.5.6 Επιλογή και προετοιμασία της καλλιέργειας εκκίνησης

Για την παρασκευή των καλλιεργειών εκκίνησης εφαρμόζονται προηγμένες τεχνικές με σκοπό την επίτευξη του ιδιαίτερου αρώματος και του κατάλληλου ιξώδους του γιαουρτιού. Παραδείγματα ιδιοτήτων που μπορούν να επιτευχθούν είναι το υψηλό ιξώδες σε συνδυασμό με χαμηλό περιεχόμενο σε ακεταλδεΰδη και σχετικά υψηλή τελική τιμή pH, καθώς και χαμηλό ιξώδες σε συνδυασμό με μέσο περιεχόμενο σε ακεταλδεΰδη, κυρίως για πόσιμα προϊόντα γιαουρτιού.

Η μεταχείριση της καλλιέργειας εκκίνησης που προορίζεται για την παραγωγή γιαουρτιού απαιτεί μεγάλη ακρίβεια και άριστες συνθήκες υγιεινής. Ο κίνδυνος μόλυνσης από ζύμες, μύκητες και βακτηριοφάγους πρέπει να εξαλείφεται. Οι «μητρικές» καλλιέργειες πρέπει να παρασκευάζονται σε ξεχωριστό δωμάτιο με φιλτραρισμένο αέρα και πίεση λίγο υψηλότερη από την ατμοσφαιρική. Το σύστημα καθαρισμού του εξοπλισμού πρέπει να

είναι προσεκτικά σχεδιασμένο για να εμποδίζει κατάλοιπα απορρυπαντικών και αποστειρωτικών ουσιών να έρχονται σε επαφή με τις καλλιέργειες. Οποιεσδήποτε μεταφορές των καλλιεργειών κατά τα στάδια παραγωγής του γιαουρτιού πρέπει να γίνονται υπό ασηπτικές συνθήκες (Bylund 1995).

Οι δημοφιλέστερες καλλιέργειες εκκίνησης έχουν τη μορφή: α) υπερσυμπυκνωμένων αιωρημάτων, όπου για την παρασκευή τους χρησιμοποιείται αποστειρωμένο γάλα παρασκευασμένο από ανασυσταμένη αποβουτυρωμένη σκόνη γάλακτος και λυοφιλιωμένη ή κατεψυγμένη καλλιέργεια, β) λυοφιλιωμένων ή κατεψυγμένων καλλιεργειών που προστίθενται απευθείας στο μίγμα του γάλακτος. Για λόγους ευκολίας, η δεύτερη μορφή χρησιμοποιείται ολοένα και περισσότερο (Tamime & Robinson 2007).

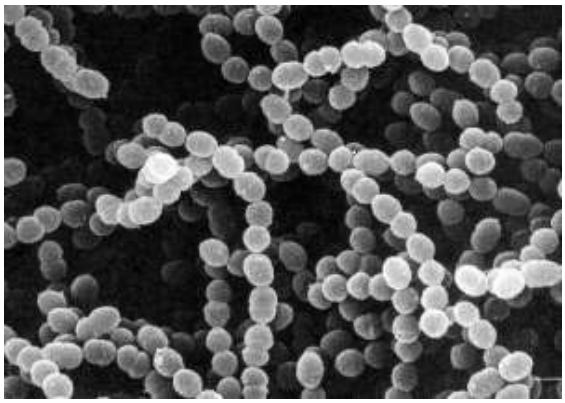
Η πιο δημοφιλής καλλιέργεια εκκίνησης για την παραγωγή γιαουρτιού περιλαμβάνει τα οξυγαλακτικά βακτήρια *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus (***Εικόνα 5α**) και *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (**Εικόνα 5β**).

Ο *Streptococcus thermophilus* ανήκει στα ομοζυμωτικά και θετικά κατά Gram βακτήρια. Πρόκειται για αερόβιο μικροοργανισμό και τα κύτταρά του είναι σφαιρικά και απαντώνται σε ζεύγη ή μακριές αλυσίδες. Ζυμώνει τα απλά σάκχαρα και επιπλέον τους δισακχαρίτες σακχαρόζη και λακτόζη. Το είδος αυτό έχει αυξημένες απαιτήσεις σε τροφικούς παράγοντες του υποστρώματος, και για την ανάπτυξή του είναι απαραίτητες 6 βιταμίνες του συμπλέγματος Β και πολλά αμινοξέα. Η άριστη θερμοκρασία ανάπτυξής του είναι 37°C, η ελάχιστη 19-21°C και η μέγιστη 52°C. Η θερμοαντοχή του είναι σχετικά υψηλή, αφού μπορεί να επιζεί μετά από θέρμανση στους 60°C για 30 min. Η βέλτιστη τιμή pH για την ανάπτυξή του είναι 6,5, παρεμποδίζεται σε τιμές pH 4,2-4,4 και δεν εμφανίζει ανάπτυξη σε τιμή pH υψηλότερη του 8,8-9,2 (Courtin & Rul 2004, Jay 2005, Μπαλατσούρας 2006).

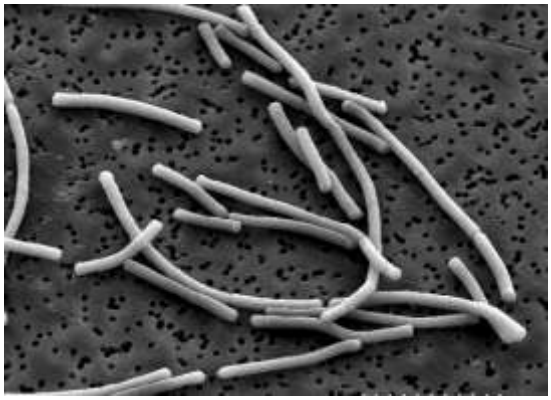
Ο *Lactobacillus bulgaricus* αποτελείται από κύτταρα με σχήμα λεπτών και μακρών ραβδίων. Η χρώση των κυττάρων κατά Gram ποικίλλει και μπορεί να γίνει και αρνητική. Αναφορικά με τη μεταβολική του δραστηριότητα, μπορεί να κατηγοριοποιηθεί είτε ως ετεροζυμωτικός είτε ως ομοζυμωτικός και έχει σύνθετες απαιτήσεις σε θρεπτικά υλικά Το συγκεκριμένο είδος είναι συνήθως μικροαερόφιλο, με την ανάπτυξή του να ενισχύεται σε αναερόβιο περιβάλλον. Αναπτύσσεται άριστα σε εύρος θερμοκρασιών 40-45°C, αλλά η ανάπτυξή του είναι ικανοποιητική και στους 48-52°C. Η βέλτιστη τιμή pH για την ανάπτυξή του βρίσκεται στο εύρος 5,5-6,2 (Μπαλατσούρας 2006, Robinson 2005, Courtin & Rul 2004).

Η αναλογία των μικροοργανισμών στην καλλιέργεια εκκίνησης εξαρτάται από το επιθυμητό τελικό ιξώδες και τα επιθυμητά οργανοληπτικά (γεύση, άρωμα) χαρακτηριστικά του τελικού προϊόντος. Η συνηθέστερη αναλογία τους είναι 1:1. Οι πτητικές ενώσεις που παράγονται από τα βακτήρια *Streptococcus thermophilus* και *Lactobacillus bulgaricus* περιλαμβάνουν μικρές ποσότητες οξικού οξέος, διακετύλιο, και το σημαντικότερο, ακεταλδεΰδη (Wouters 2012, Tamime & Robinson 2007).

Ο *Streptococcus thermophilus* αναπτύσσεται ταχύτερα από τον *Lactobacillus bulgaricus* και σε αυτόν αποδίδεται η παραγωγή γαλακτικού οξέος που παρατηρείται κατά τα πρώτα στάδια της οξυγαλακτικής ζύμωσης. Ωστόσο, η ολοένα αυξανόμενη οξύτητα του γάλακτος παρέχει ευνοϊκό περιβάλλον ανάπτυξης στον *Lactobacillus bulgaricus* ώστε στην 4^{η} ώρα της ζύμωσης, η απελευθέρωση γαλακτικού οξέος να είναι μεγαλύτερη. Επιπλέον, αναφορικά με τη συνεργιστική δράση των δύο αυτών μικροοργανισμών, αξίζει να σημειωθεί πως η παραγωγή φολικού και φορμικού οξέος αλλά και διοξειδίου του άνθρακα από τη μεταβολική δραστηριότητα του *S. thermophilus*, διεγείρει την ανάπτυξη του *L. bulgaricus* (Robinson 2005).



(α)



(β)

Εικόνα 5. Απεικόνιση των μικροοργανισμών: α) Streptococcus thermophilus και β) Lactobacillus bulgaricus

1.5.7 Η ζύμωση

Ο εμβολιασμός του γάλακτος με την καλλιέργεια εκκίνησης και η ζύμωση πραγματοποιούνται σε θερμοκρασία 40-45°C. Η επιλογή της βέλτιστης θερμοκρασίας επώασης εξαρτάται από: α) το είδος και την αναλογία των περιεχόμενων στο μίγμα της καλλιέργειας εκκίνησης μικροοργανισμών, β) τη συγκέντρωση σε μικροοργανισμούς της

καλλιέργειας εκκίνησης και γ) τα επιθυμητά χαρακτηριστικά του γιαουρτιού (γεύση, άρωμα, υφή).

Η συνήθης θερμοκρασία επώασης για καλλιέργεια εκκίνησης *Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus* και *S. thermophilus*. με αναλογία 1:1, είναι 42-43°C. Αξίζει να σημειωθεί πως με τη χρήση ελαφρώς χαμηλότερων θερμοκρασιών (π.χ. 40°C), ο χρόνος επώασης θα είναι μεγαλύτερος αλλά θα σχηματιστεί ισχυρότερο και με μεγαλύτερο ιξώδες πήγμα που θα έχει μικρότερες πιθανότητες συναίρεσης και λιγότερα κοκκώδη ελαττώματα κατά την ανάδευση. Στην περίπτωση όμως των χαμηλότερων θερμοκρασιών επώασης, ενδέχεται να παρατηρηθεί μείωση των παραγόμενων από τους μικροοργανισμούς αρωματικών συστατικών. Υψηλότερες θερμοκρασίες επώασης οδηγούν σε προϊόντα με μεγαλύτερες πιθανότητες εμφάνισης συναίρεσης.

Κατά την επώαση η λακτόζη του γάλακτος μετατρέπεται σε γαλακτικό οξύ σαν αποτέλεσμα της μεταβολικής δραστηριότητας των μικροοργανισμών, οι οποίοι φυσικά πολλαπλασιάζονται. Το pH μειώνεται σταδιακά λόγω της παραγωγής του γαλακτικού οξέος και σε pH 5.3 αρχίζει να σχηματίζεται πήγμα λόγω της καταβύθισης των καζεϊνών και του συμπλέγματος των μετουσιωμένων πρωτεϊνών ορού-καζεϊνών. Η επώαση σταματά με ψύξη όταν επιτευχθεί το επιθυμητό pH (Tamime 2008, Chandan & Ramesh & Kilara 2010, White &Charles & Kilara 2008, Tamime & Robinson 2007).

1.5.8 Η ψύξη

Ο στόχος της ψύξης είναι να περιορίσει την ανάπτυξη και την ενζυμική δράση των μικροοργανισμών της καλλιέργειας εκκίνησης το συντομότερο δυνατό ώστε να διατηρηθεί το επιθυμητό pH και η επιθυμητή υφή του προϊόντος. Ο ρυθμός ψύξης πρέπει να είναι σταθερός αλλά όχι πολύ μεγάλος, καθώς αυτό μπορεί να επιφέρει ανεπιθύμητες αλλαγές στο πήγμα που θα έχουν ως αποτέλεσμα την εμφάνιση συναίρεσης λόγω ταχείας συστολής των πρωτεϊνικών πλεγμάτων. Η μέθοδος ψύξης εξαρτάται από τον τύπο του παραγόμενου γιαουρτιού.

1. Στην περίπτωση του σετ γιαουρτιού, η ψύξη πραγματοποιείται με μεταφορά ψυχρού αέρα στο θάλαμο της ζύμωσης έως ότου τα κύπελλα να φτάσουν σε θερμοκρασία 15-20°C. Ακολουθεί η αποθήκευσή τους στους 5°C.
2. Στην περίπτωση του γιαουρτιού ανακατεμένου τύπου, η ψύξη πραγματοποιείται με κυκλοφορία ψυχρού νερού (2°C) στο μανδύα του επωαστήρα ή με άντληση του γιαουρτιού σε σωληνοειδείς ψυκτήρες έως ότου το γιαούρτι να φτάσει σε

θερμοκρασία 20°C (Tamime 2008, Chandan & O'Rell 2006, Tamime & Robinson 2007).

1.5.9 Η ανάδευση

Η ανάδευση χρησιμοποιείται στην παραγωγή ανακατεμένου τύπου γιαουρτιού και συνήθως πραγματοποιείται παράλληλα με την ψύξη. Ο σκοπός της είναι η παραλαβή ενός ομοιογενούς πήγματος γιαουρτιού. Συνήθως χρησιμοποιούνται μεγαλύτεροι ρυθμοί ανάδευσης αρχικά και μειώνονται όταν η θερμοκρασία του γιαουρτιού μειωθεί στους 30°C. Η ανάδευση σε γιαούρτια με pH μεγαλύτερο του 4.7 έχει ως αποτέλεσμα την εμφάνιση κοκκώδους υφής και ως εκ τούτου συστήνεται να χρησιμοποιείται σε γιαούρτια με pH μικρότερο του 4.65 (Chandan & O'Rell 2006).

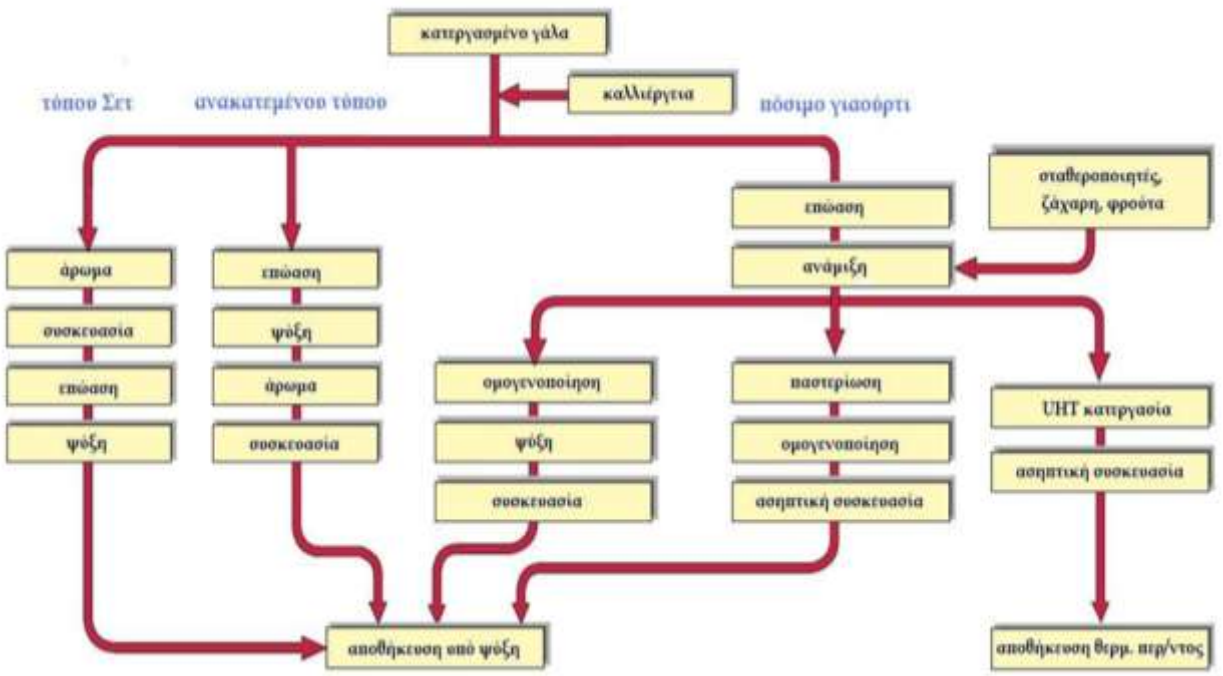
1.6 Στάδια βιομηχανικής παραγωγής γιαουρτιού

Η επιλογή του κατάλληλου εξοπλισμού και η βελτιστοποίηση της μονάδας παραγωγής είναι καθοριστικής σημασίας για την παραγωγή προϊόντων γιαουρτιού υψηλής ποιότητας. Οι μέθοδοι επεξεργασίας που χρησιμοποιούνται κατά την παραγωγική διαδικασία του γιαουρτιού περιλαμβάνουν βασικές επεξεργασίες που είναι κοινές για τους περισσότερους τύπους γιαουρτιού, και επιμέρους επεξεργασίες οι οποίες σχετίζονται με τον εκάστοτε τύπο γιαουρτιού (σετ, ανακατεμένο, πόσιμο, στραγγιστό) (**Εικόνα 6**).

1.6.1 Παραγωγή γιαουρτιού

Προκειμένου να μειωθούν τα κόστη εγκατάστασης, η παραγωγή του τύπου σετ και ανακατεμένου τύπου γιαουρτιού γίνεται στην ίδια μονάδα. Σημειώνεται πως όλες οι επεξεργασίες της πρώτης ύλης γάλακτος, όπως επίσης και οι συνθήκες επώασης (2,5-3 h επώασης στους 42-43°C) είναι ίδιες και για τους δύο τύπους γιαουρτιού (Bylund 1995).

Η γραμμή παραγωγής του γιαουρτιού τύπου σετ ελέγχεται συνεχώς από το σημείο εκείνο όπου το γάλα παραλαμβάνεται και επεξεργάζεται μέχρι τη συσκευασία του προϊόντος. Κατά τη γραμμή παραγωγής του γιαουρτιού ανακατεμένου τύπου, η επεξεργασία του γάλακτος είναι συνεχής μέχρι το σημείο που το γάλα αποθηκεύεται σε σιλό, ώστε να γίνει η επώαση με την προσθήκη της καλλιέργειας εκκίνησης.



Εικόνα 6. Διαγράμματα ροής της παραγωγικής διαδικασίας διαφόρων τύπων γιαουρτιού

Οι διαφορές στις μεθόδους παραγωγής μεταξύ γιαουρτιού τύπου σετ και ανακατεμένου γιαουρτιού περιλαμβάνουν τα ακόλουθα:

- Στο γιαούρτι τύπου σετ, η ζύμωση του γάλακτος πραγματοποιείται μέσα στη συσκευασία, ενώ στο ανακατεμένου τύπου γιαούρτι η ζύμωση του γάλακτος πραγματοποιείται μέσα σε επωαστήρα.
- Στο γιαούρτι τύπου σετ η προσθήκη των φρούτων πραγματοποιείται στον πυθμένα του κυπέλλου πριν την προσθήκη του εμβολιασμένου γάλακτος, ενώ στο γιαούρτι ανακατεμένου τύπου πραγματοποιείται κατά τη διαδρομή του μίγματος γιαουρτιού από τα ρυθμιστικά σιλό προς τα γεμιστικά μηχανήματα.
- Στο γιαούρτι ανακατεμένου τύπου πραγματοποιείται διάρρηξη του πήγματος μετά το τέλος της ζύμωσης, ενώ στο γιαούρτι τύπου σετ όχι (Chandan & O'Rell 2006, Tamime & Robinson 2007).

Όσον αφορά στην παραγωγή πόσιμου γιαουρτιού, η διαδικασία παραγωγής του είναι παρόμοια με αυτή του ανακατεμένου τύπου. Οι διαφορές στις μεθόδους παραγωγής τους περιλαμβάνουν τα ακόλουθα:

- Στο πόσιμο γιαούρτι μετά την επώαση πραγματοποιούνται έντονες αναδεύσεις σε μεγάλες ταχύτητες ώστε να διαρρηχθεί το πήγμα, ενώ στο γιαούρτι ανακατεμένου τύπου είναι ηπιότερες.
- Σε αντίθεση με το γιαούρτι ανακατεμένου τύπου, το πόσιμο γιαούρτι υφίσταται ομογενοποίηση χωρίς την επιβολή πίεσης αμέσως μετά την ανάδευση του.

Και στις δύο περιπτώσεις, οι σταθεροποιητές και τα αρώματα προστίθενται όσο το μείγμα βρίσκεται στα σιλό.

1.7 Θρεπτική αξία του γιαουρτιού

Το γιαούρτι αποτελεί πολύ καλή πηγή ασβεστίου, μαγνησίου, φωσφόρου, ριβοφλαβίνης (βιταμίνη Β2), ιωδίου και άλλων θρεπτικών συστατικών. Η περιεκτικότητά του σε θρεπτικά συστατικά και η αυξημένη απορρόφηση αυτών από τον ανθρώπινο οργανισμό καθιστούν το γιαούρτι ως προϊόν με μεγάλη θρεπτική αξία και πολλές θετικές επιδράσεις στην ανθρώπινη υγεία. Τα οφέλη του γιαουρτιού στην ανθρώπινη διατροφή μπορούν να χωριστούν σε δύο κατηγορίες: α)τα θρεπτικά και β) τα φυσιολογικά οφέλη.

Τα θρεπτικά οφέλη του γιαουρτιού σχετίζονται με την παροχή πολύτιμων για τον άνθρωπο θρεπτικών συστατικών, ενώ τα φυσιολογικά οφέλη σχετίζονται με την προληπτική και θεραπευτική του δράση.

Τα οφέλη του γιαουρτιού μπορούν να συνοψισθούν στα ακόλουθα:

- Η περιεχόμενη στο γιαούρτι λακτόζη ενεργοποιεί το γαστρεντερικό σύστημα και συμβάλλει στην απορρόφηση του φωσφόρου και του ασβεστίου.
- Το περιεχόμενο γαλακτικό οξύ, μειώνει την τιμή pH του στομάχου και αναστέλλει τη δράση παθογόνων μικροοργανισμών που μπορεί να είναι παρόντες. Το γεγονός αυτό είναι υψηλής σημασίας για άτομα που υποφέρουν από εξασθενημένη έκκριση γαστρικού υγρού, π.χ. ηλικιωμένα άτομα ή μωρά.
- Η μικρότερη περιεκτικότητα σε λακτόζη σε σχέση με το γάλα (το 20-30% έχει μετατραπεί σε γαλακτικό οξύ από τα οξυγαλακτικά βακτήρια) καθιστά το γιαούρτι αφομοιώσιμο και από άτομα με δυσανεξία στη λακτόζη.
- Συμβάλει στην ανάπτυξη των παιδιών λόγω της αυξημένης βιοδιαθεσιμότητας ανόργανων συστατικών και συγκεκριμένα σιδήρου.

- Το γιαούρτι είναι εξαιρετική πηγή βιταμίνης Β2 και περιέχει σημαντικές ποσότητες βιταμίνης Α, βιταμίνης Β1, Β6, Β12 και παντοθειϊκού οξέος. Κάποια οξυγαλακτικά βακτήρια, μάλιστα, έχουν την ικανότητα να συνθέτουν φολικό οξύ (βιταμίνη Β9).
- Ενισχύει την ανοσοποιητική λειτουργία του εντέρου. Η μείωση του pH λόγω γαλακτικού οξέος και οι βακτηριοκίνες (αντιβακτηριακές ουσίες) που παράγονται από τους μικροοργανισμούς της καλλιέργεια εκκίνησης εμφανίζουν βακτηριοκτόνο ή βακτηριοστατική δράση έναντι παθογόνων μικροοργανισμών (*Salmonella*, *Shigella*, *E. coli*, *Pseudomonas*). Επίσης, παρατηρείται αύξηση των μονάδων των bifidobacteria της φυσιολογικής μικροβιακής χλωρίδας του εντέρου.
- Ενισχύει γενικότερα το ανοσοποιητικό σύστημα, καθώς το έντερο είναι το μεγαλύτερο ανθρώπινο «ανοσοποιητικό» όργανο (Chandan & O'Rell 2006, Tamime & Robinson 2007, Holm 2003).

2 ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΑ ΤΡΟΦΙΜΑ

2.1 Ορισμός λειτουργικών τροφίμων

Σύμφωνα με το Διεθνές Ινστιτούτο Επιστημών Ζωής «*ένα τρόφιμο θεωρείται λειτουργικό όταν έχει αποδειχθεί πως, πέραν της θρεπτικής του αξίας, επιδρά θετικά σε μία ή περισσότερες λειτουργίες του οργανισμού, με τέτοιο τρόπο ώστε να βελτιώνει την υγεία και/ή να μειώνει τον κίνδυνο εμφάνισης διάφορων ασθενειών. Ένα λειτουργικό τρόφιμο πρέπει να παραμένει τρόφιμο και να εμφανίζει τις θετικές του επιδράσεις στα πλαίσια ποσοτήτων μίας ισορροπημένης διατροφής : δεν είναι χάπι ούτε κάψουλα*».

Στα πλαίσια αυτού του ορισμού, πρακτικά, λειτουργικό τρόφιμο μπορεί να είναι :

- Μία φυσική τροφή όπου ένα συστατικό της έχει ενισχυθεί με φυσικό τρόπο.
- Μία τροφή στην οποία έχει προστεθεί κάποιο ωφέλιμο συστατικό (π.χ. προσθήκη υπερβιοτικων μικροοργανισμών).
- Μία τροφή από την οποία έχει αφαιρεθεί κάποιο συστατικό που έχει αρνητική επίδραση στην υγεία (π.χ. η μείωση κορεσμένων λιπαρών οξέων).
- Μία τροφή στην οποία ένα ή περισσότερα συστατικά έχουν τροποποιηθεί χημικά προκειμένου να επιφέρει βελτίωση στην υγεία (π.χ. παιδικές τροφές με υδρολυμένες πρωτεΐνες, ώστε να μειωθούν οι πιθανότητες εμφάνισης αλλεργιών)
- Μία τροφή όπου η βιοδιαθεσιμότητα ενός ή περισσότερων συστατικών έχει αυξηθεί ώστε να εμφανίζεται μεγαλύτερη απορρόφηση κάποιου ωφέλιμου συστατικού.
- Μία τροφή στην οποία ικανοποιείται ο οποιοσδήποτε συνδυασμός των παραπάνω (ILSL 2002).

2.2 Κατηγορίες λειτουργικών προϊόντων

Η πιο παλιά μορφή των λειτουργικών τροφίμων είναι εκείνη των εμπλουτισμένων με βιταμίνες ή/και μέταλλα, όπως βιταμίνη C, βιταμίνη E, φολικό οξύ, ψευδάργυρο, σίδηρο και ασβέστιο. Στη συνέχεια, δόθηκε έμφαση στην παραγωγή τροφίμων εμπλουτισμένων με διάφορα μικροθρεπτικά συστατικά, όπως τα ω-3 λιπαρά οξέα, οι φυτοστερόλες και οι διαλυτές φυτικές ίνες για την προώθηση της καλής υγείας και την πρόληψη ασθενειών, όπως είναι ο καρκίνος. Πλέον, οι εταιρείες τροφίμων στοχεύουν στην ανάπτυξη προϊόντων

διατροφής που προσφέρουν πολλαπλά οφέλη για την υγεία σε ένα ενιαίο τρόφιμο (Siró et al. 2008).

Τα λειτουργικά τρόφιμα θα μπορούσαν να χωριστούν σε τρεις κατηγορίες, συμπεριλαμβανομένων αυτών που: α) «κάνουν καλό στη ζωή μας» (π.χ. βελτιώνουν την τακτική λειτουργία του στομάχου και του παχέος εντέρου), β) μειώνουν τον κίνδυνο εμφάνισης ενός προβλήματος υγείας (π.χ. υψηλή χοληστερόλη, υψηλή αρτηριακή πίεση), γ) «κάνουν τη ζωή μας πιο εύκολη» (π.χ. προϊόντα χωρίς λακτόζη ή χωρίς γλουτένη) (Mäkinen-Aakula 2006).

2.3 Κατηγορίες λειτουργικών συστατικών και θετικές επιδράσεις

Ο όρος «*λειτουργικά συστατικά*» έχει σκοπό να αποδώσει το ρόλο μιας κατηγορίας ουσιών που δεν είναι άλλος από την προάσπιση της υγείας του οργανισμού και τη θετική τους επίδραση στην καλή λειτουργία των συστημάτων που τον απαρτίζουν (Kruger & Mann 2003).

Η θετική επίδραση των λειτουργικών συστατικών παρουσιάζεται σε διάφορους τομείς της υγείας του οργανισμού. Επιγραμματικά αναφέρονται οι κάτωθι:

- διαχείριση σωστού βάρους - πρόληψη κατά της παχυσαρκίας.
- ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος
- υγεία των οστών, πρόληψη κατά της οστεοπόρωσης
- υγεία των δοντιών, πρόληψη κατά της τερηδόνας
- υγεία του πεπτικού συστήματος, προφύλαξη από εντερικές διαταραχές
- υγεία του καρδιαγγειακού συστήματος, προφύλαξη από καρδιακές ασθένειες, μειώνοντας τα επίπεδα χοληστερόλης και πίεσης του αίματος
- πρόληψη κατά του καρκίνου
- φυσική, διανοητική και ψυχολογική κατάσταση (Korhonen 2002).

Μία μέθοδος κατηγοριοποίησης των λειτουργικών συστατικών είναι με βάση τη χημική τους φύση. Η προσέγγιση αυτή έχει ως αποτέλεσμα την ταξινόμηση των λειτουργικών συστατικών σε ομάδες μορίων και στοιχειακές ομάδες όπως φαίνεται παρακάτω:

- Βιοενεργές πολυφαινόλες και καροτενοειδή
- Βιοενεργά λιπίδια
- Βιοενεργοί υδατάνδρακες
- Βιοενεργά πεπτίδια
- Μικροοργανισμοί

- Ανόργανα συστατικά (Wildman 2006, Aluko 2012).

Οι κατηγορίες λειτουργικών συστατικών και οι πιθανές θετικές επιδράσεις τους στην υγεία του ανθρώπου παρουσιάζονται στον **Πίνακα 4** (Berner & O'Donnel 1998, Aluko 2012).

Πίνακας 4. Λειτουργικά συστατικά και επιδράσεις τους στην υγεία του ανθρώπου

ΠΡΟΣΘΕΤΑ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ	ΠΙΘΑΝΕΣ ΘΕΤΙΚΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ
ΦΥΤΟΧΗΜΙΚΑ Φλαβονοειδή Φυτοοιστρογόνα Φυτικές ανθοκυάνες Λυκοπένιο	Μείωση κινδύνου καρδιαγγειακών ασθενειών, μείωση κινδύνου ανάπτυξης καρκίνου, αντιοξειδωτική δράση, μείωση αρτηριακής πίεσης
ΒΙΟΕΝΕΡΓΑ ΛΙΠΙΔΙΑ ω-3 Λιπαρά οξέα Συζυγές λινολεϊκό οξύ	Μείωση κινδύνου καρδιαγγειακών ασθενειών, μείωση κινδύνου εμφάνισης αρθρίτιδας και καρκίνου
ΦΥΤΙΚΕΣ ΣΤΕΡΟΛΕΣ Σιτοστερόλες Stanol esters	Μείωση χοληστερόλης
ΒΙΟΕΝΕΡΓΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ Λακτοφερρίνη Βιοενεργά πεπτίδια	Μείωση αρτηριακής πίεσης, ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος, ενίσχυση της βιοδιαθεσιμότητας ανόργανων υλών
ΥΠΕΡΒΙΟΤΙΚΟΙ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ (PROBIOTICS) Γαλακτικά βακτήρια Bifidobacteria	Βελτίωση πεπτικού συστήματος, ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος, μείωση εμφάνισης αλλεργιών/δυσανεξίας σε τροφές, μείωση κινδύνου ανάπτυξης καρκίνου του παχέος εντέρου
ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΟΙ ΥΔΑΤΑΝΘΡΑΚΕΣ (PREBIOTICS) Ολιγοσακχαρίτες Φρουκτοολισακχαρίτες Γαλακτοολιγοσακχαρίτες Ινουλίνη Αλκοολοσάκχαρα	Βελτίωση πεπτικού συστήματος, ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος, μείωση εμφάνισης αλλεργιών/δυσανεξίας σε τροφές, μείωση κινδύνου ανάπτυξης καρκίνου του παχέος εντέρου, μείωση κινδύνου εμφάνισης σακχαρώδους διαβήτη, παχυσαρκίας και τερηδόνας
ΜΕΤΑΛΛΑ Ασβέστιο	Μείωση του κινδύνου εμφάνισης οστεοπόρωσης, μείωση της αρτηριακής πίεσης
ΒΙΤΑΜΙΝΕΣ Φολλικό οξύ Τοκοφερόλες Βιταμίνη D	Οστεοπόρωση, Καρδιαγγειακές ασθένειες
ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΕΣ ΙΝΕΣ Ινουλίνη Φυτικά κόμμεα	Μείωση τη δυσκοιλιότητας, μείωση του κινδύνου εμφάνισης καρκίνου του παχέος εντέρου, μείωση επιπέδων χοληστερόλης

2.4 Ασφάλεια των λειτουργικών τροφίμων

Ανεξαρτήτως του νομοθετικού πλαισίου που ισχύει σε κάθε χώρα σχετικά με την ασφάλεια των λειτουργικών συστατικών, η ασφάλεια, από επιστημονικής άποψης, εκτιμάται με βάση τις εξής θεμελιώδεις αρχές:

- Εφόσον τα λειτουργικά συστατικά είναι βιολογικά ενεργές ουσίες δύνανται να προκαλέσουν, ανάλογα με τα διάφορα επίπεδα πρόσληψης, επιδράσεις θεραπευτικές μέχρι και τοξικές. Είναι επομένως απαραίτητη η μελέτη της φαρμακολογικής δράσης και των πιθανοτήτων εμφάνισης τοξικότητας.
- Λειτουργικά συστατικά αποτελούν ποικίλες ενώσεις και μπορεί τα συστατικά αυτά να είναι απλά, σύνθετα εκχυλίσματα βοτάνων ή ουσίες που προέρχονται από νέες πηγές ή διαδικασίες. Η ανάλυση των συστατικών καθεμιάς από τις παραπάνω ομάδες αποτελεί το καθοριστικό παράγοντα για τον καθορισμό της ασφάλειας των συστατικών αυτών.
- Είναι απαραίτητο να καθοριστεί ένα μέγιστο όριο πρόσληψης κάθε λειτουργικού συστατικού.
- Τέλος, όπως και στην περίπτωση των φαρμάκων, θα πρέπει να ελέγχεται η περίπτωση αντενδεικνυόμενων αλληλεπιδράσεων μεταξύ λειτουργικού συστατικού και τροφίμου (Kruger & Mann 2003).

2.5 Λειτουργικά τρόφιμα με προβιοτικούς υδατάνθρακες (prebiotics)

2.5.1 Ορισμός προβιοτικών υδατανθράκων και προϋποθέσεις

Ως προβιοτικά ορίζονται τα συστατικά που δεν αποικοδομούνται πλήρως κατά την πέψη και βελτιώνουν την υγεία του ξενιστή επιφέροντας συγκεκριμένες αλλαγές στην ανάπτυξη ή/και στη δράση ενός ή περισσότερων μικροοργανισμών της μικροχλωρίδας του γαστρεντερικού του συστήματος (Roberfroid 2007).

Για τον χαρακτηρισμό ενός συστατικού ως προβιοτικό θα πρέπει να πληρούνται οι παρακάτω προϋποθέσεις:

- Να μη ζυμώνεται από βακτήρια της στοματικής κοιλότητας.
- Να μην αποικοδομείται (ή να αποικοδομείται μερικώς) κατά την πέψη στο ανώτερο γαστρεντερικό σύστημα.
- Να μην απορροφάται στο λεπτό έντερο
- Να ζυμώνεται από την εντερική μικροχλωρίδα του παχέος εντέρου

- Να διεγείρει επιλεκτικά την ανάπτυξη και/ή τη μεταβολική δραστηριότητα των ωφέλιμων για τον ξενιστή μικροοργανισμών την εντερικής του μικροχλωρίδας. (Gibson & Roberfroid 2008, Ghoddusi 2010, Lee & Salminen 2009).

Τα περισσότερα προβιοτικά ανήκουν στην κατηγορία των μη αποικοδομήσιμων ολιγο-σακχαριτών - NDOs. Στην κατηγορία αυτή περιλαμβάνονται οι φρουκτο-ολιγοσακχαρίτες-FOS, οι ινουλίνες, οι γαλακτο-ολιγοσκχαρίτες-GOS, οι λακτουλόζες, οι τρανσγαλακτό-ολιγοσακχαρίτες-TOS, οι ισομαλτο-ολιγοσακχαρίτες-IMO, ξυλο-ολιγοσακχαρίτες-XOS και οι ολιγοσακχαρίτες σόγιας-SOS (Roberfroid 2007).

Κάποια από αυτά τα προβιοτικά προέρχονται από φυτικές πηγές, τα περισσότερα όμως συντίθεται βιομηχανικά με τη χρήση ενζυμικών ή χημικών μεθόδων (Lee & Salminen 2009).

2.5.2 Θετικές επιδράσεις των προβιοτικών υδατανθράκων

Στις θετικές επιδράσεις των προβιοτικών στην υγεία περιλαμβάνονται:

- Η αύξηση της βιοδιαθεσιμότητας ανόργανων συστατικών όπως το ασβέστιο, το μαγνήσιο και ο σίδηρος.
- Η μείωση της πιθανότητας εμφάνισης καρκίνου του παχέος εντέρου
- Η μείωση της χοληστερίνης
- Η πρόληψη λοιμώξεων του γαστρεντερικού σωλήνα
- Η αύξηση του πληθυσμού των μικροοργανισμών του γένους bifidobacteria (Abrams et al. 2005, Tamime 2008, Aluko 2012).

Η αύξηση του πληθυσμού των bifidobacteria, που συνιστούν μικροοργανισμό της φυσικής μικροχλωρίδας του γαστρεντερικού συστήματος, έχει ως αποτέλεσμα:

- Την αυξημένη παραγωγή θρεπτικών συστατικών (βιταμίνες του συμπλέγματος Β).
- Την αυξημένη παραγωγή ενζύμων που συμμετέχουν στη διεργασία της πέψης.
- Τη μείωση της τροφικής δυσανεξίας με τη χρήση κατάλοιπων θρεπτικών συστατικών από το ανώτερο γαστρεντερικό σύστημα.
- Τη βελτίωση της απορρόφησής θρεπτικών συστατικών.
- Τη μείωση τοξινών (αμμωνία, αμίνες), εφόσον αυτές χρησιμοποιούνται ως τροφή από τους μικροοργανισμούς.

- Τη μείωση τον παθογόνων μικροοργανισμών του γαστρεντερικού (π.χ. *Clostridium*, *Escherichia coli*) λόγω ανταγωνισμού, καθώς φαίνεται πως μόνο τα bifidobacteria έχουν την ικανότητα ζύμωσης των προβιοτικών υδατανθράκων λόγω του ενζύμου β-φρουκτοζιδάση (Tamime 2008, Aluko 2012).

Η αναφορά των θετικών επιδράσεων εστιάστηκε στο γένος bifidobacteria , καθώς είναι ο πληθυσμός που διεγείρεται περισσότερο από τη χρήση προβιοτικών. Παρόλα αυτά, κάποια προβιοτικά έχει δειχθεί πως ενισχύουν και τον πολλαπλασιασμό του γένους *lactobacilli*.

Αξίζει να σημειωθεί πως οι θετικές επιδράσεις των προβιοτικών δεν περιορίζονται μονάχα στη ρύθμιση του πληθυσμού της μικροχλωρίδας του στομάχου, αλλά επεμβαίνουν και στη μεταβολική δραστηριότητα των μικροοργανισμών αυτών. Ως αποτέλεσμα αυτού, παράγονται θρεπτικές ουσίες (π.χ. μικρού μήκους αλυσίδες λιπαρών οξέων, βιταμίνες) που προάγουν όχι μόνο την υγεία του γαστρεντερικού συστήματος, αλλά και άλλων συστημάτων. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί ο έλεγχος της ηπατικής εγκεφαλοπάθειας και η αύξηση της απορρόφησης ανόργανων συστατικών (Lee & Salminen 2009).

2.6 Λειτουργικά τρόφιμα με υπερβιοτικούς μικροοργανισμούς(probiotics)

2.6.1 Ορισμός υπερβιοτικών μικροοργανισμών

Σύμφωνα με τον FAO/WHO (2001), οι υπερβιοτικοί μικροοργανισμοί είναι «*ζωντανοί μικροοργανισμοί, οι οποίοι όταν χορηγούνται σε επαρκείς ποσότητες, προσφέρουν οφέλη στην υγεία του ξενιστή*».

2.6.2 Υπερβιοτικοί μικροοργανισμοί στα τρόφιμα

Οι κυριότεροι εκπρόσωποι των υπερβιοτικών μικροοργανισμών ανήκουν στα βακτήρια του γαλακτικού οξέος και συγκεκριμένα προέρχονται από τα γένη Lactobacilli και Bifidobacteria. Συχνά όμως σε υπερβιοτικές καλλιέργειες συναντώνται και μικροοργανισμοί των γενών *Leuconostoc*, *Pediococcus* και *Enterococcus*. Στον **Πίνακα 5** (Andreoletti et al. 2008, Barlow et al. 2007) παρατίθενται κάποιοι από τους πιο συχνά

χρησιμοποιούμενους στα τρόφιμα υπερβιοτικούς μικροοργανισμούς που έχουν πιστοποίηση ασφαλείας από την ευρωπαϊκή ένωση (qualified presumption of safety - QPS).

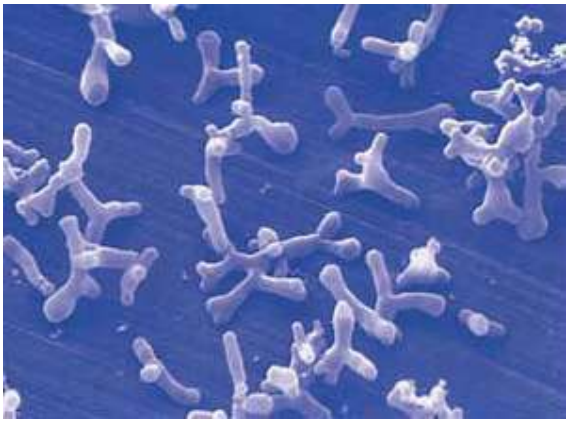
Πίνακας 5. Μικροοργανισμοί που χρησιμοποιούνται συνηθέστερα ως υπερβιοτικά στελέχη στα τρόφιμα

CORYNEBACTERIUM LACTOBACILLUS	***BIFIDOBACTERIUM***	***ΑΛΛΟΙ***
glutamicum *acidophilus* *amylolyticus* *amylovorus* *alimentarius* *aviaries* *brevis* *buchneri* *casei* - περιέχει *L. zeae* *coryneformis* *crispatus* *curvatus* *delbrueckii* *farciminis* *fermentum* *gallinarum* *gasseri* *helveticus* *hilgardii* *johnsonii* *kefiranofaciens* *kefiri* *mucosae* *panis* *paracasei* *paraplantarum* *pentosus* *plantarum* *pontis* *reuteri* *rhamnosus* *sakei* *salivarius* *sanfranciscensis*	*adolescentis* *animalis* *bifidum* *breve* *longum*	***Lactococcus*** *lactis* ***Leuconostoc*** *citreum* *lactis* *mesenteroides* ***Pediococcus*** *acidilactici* *dextrinicus* *pentosaceus* ***Propionibacterium*** ***Streptococcus*** *freudenreichii* *thermophilus* ***Saccharomyces*** *bayanus* *cerevisiae* *cerevisiae* subsp. *boulardii* ***Bacillus*** *amyloliquefaciens* *atrophaeus* *clausii* *coagulans* *fusiformis* *lentus* *licheniformis* *megaterium* *mojavensis* *pumilus* *subtilis* *vallismortis*

2.6.2.1 Το γένος των Bifidobacteria

Το γένος των Bifidobacteria αποτελείται από 29 αναγνωρισμένα είδη και 2 υποείδη και οι μικροοργανισμοί αυτού του είδους απαντώνται στο γαστρεντερικό σύστημα και τη στοματική κοιλότητα πολλών θηλαστικών συμπεριλαμβανομένου του ανθρώπου, στα τρόφιμα, στο έντερο εντόμων και στα λύματα. Μορφολογικά, χαρακτηρίζονται από μικρά, λεπτά ραβδία με ποικίλη εμφάνιση, η οποία απαντάται από μονά κύτταρα ή κύτταρα σε διακλαδισμένη, σχήματος V ή Y μορφή (**Εικόνα 7**). Η μορφολογία τους επηρεάζεται από τη σύσταση του υποστρώματος. Πρόκειται για θετικά κατά Gram κύτταρα, ανίκανα να κινηθούν, ανήκουν στους υποχρεωτικά αναερόβιους μικροοργανισμούς, αν και κάποια είδη και στελέχη αντέχουν παρουσία οξυγόνου σε συνθήκες παρουσίας διοξειδίου του άνθρακα. Η γλυκόζη ζυμώνεται προς οξικό και γαλακτικό οξύ L(+) σε αναλογία 3:2. Είναι πιθανό να σχηματιστούν μικροποσότητες μυρμηκικού και ηλεκτρικού οξέος αλλά και αιθανόλης. Σε καμία περίπτωση όμως δε σχηματίζεται διοξείδιο του άνθρακα, βουτυρικό και προπιονικό οξύ. Έχουν αυξημένες και πολύπλοκες απαιτήσεις σε θρεπτικούς παράγοντες και κυρίως ζυμώνουν τα σάκχαρα με κύριο προϊόν το γαλακτικό οξύ.

Αναφορικά με τη θερμοκρασία ανάπτυξής τους, η βέλτιστη θερμοκρασία ανήκει στο εύρος 37-41°C, ενώ το εύρος θερμοκρασιών στο οποίο μπορούν να αναπτυχθούν κυμαίνεται από 25-28°C (ελάχιστο) έως 43-45°C (μέγιστο). Η βέλτιστη τιμή pH για την ανάπτυξή τους βρίσκεται στο εύρος 6,5-7,0, ενώ δεν εμφανίζουν ανάπτυξη σε τιμή pH χαμηλότερη του 4,5 και υψηλότερη του 8,5 (Robinson 2005, Lee & Salminen 2009, Μπαλατσούρας 2006).



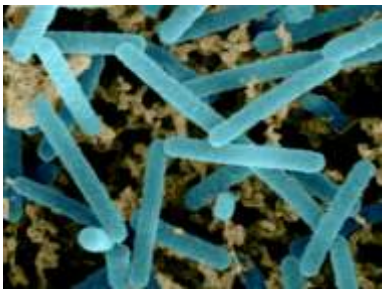
Εικόνα 7. Bifidobacteria

2.6.2.2 Γένος *Lactobacillus*

Το γένος των *Lactobacilli* αποτελείται από 120 αναγνωρισμένα είδη και 20 υποείδη και οι μικροοργανισμοί αυτού του γένους απαντώνται στα φυτά και στο γαστρεντερικό σύστημα πολλών θηλαστικών συμπεριλαμβανομένου του ανθρώπου. Κατά κανόνα δεν εμφανίζουν κίνηση, με εξαίρεση κάποια είδη που φέρουν περίτριχες βλεφαρίδες. Μορφολογικά, πρόκειται για ραβδία, τα οποία συνήθως εμφανίζονται σε ζεύγη ή αλυσίδες μικρού μήκους και είναι θετικά κατά Gram. Ο μεταβολισμός τους είναι καθαρά ζυμωτικός και άλλα είδη είναι ομοζυμωτικά, άλλα προαιρετικά ή υποχρεωτικά ετεροζυμωτικά. Οι μικροοργανισμοί αυτού του γένους είναι μικροαερόφιλοι και αναπτύσσονται καλύτερα σε ατμόσφαιρα με 5-10% διοξείδιο του άνθρακα. Επιπλέον, είναι αρνητικοί ως προς την καταλάση και έχουν αυξημένες απαιτήσεις σε θρεπτικά συστατικά (αμινοξέα, βιταμίνες, πεπτίδια, κ.ά.). Οι βέλτιστες θερμοκρασίες ανάπτυξης κυμαίνονται μεταξύ 30-40°C, αν και κάποια από τα είδη του γένους είναι ικανά να αναπτύσσονται σε θερμοκρασίες χαμηλότερες των 15°C και υψηλότερες των 55°C. Η βέλτιστη τιμή pH για την ανάπτυξή τους βρίσκεται μεταξύ 5,5-6,2 (Robinson 2005, Lee & Salminen 2009, Μπαλατσούρας 2006)

2.6.2.2.1 Lactobacillus acidophilus

Τα κύτταρα του είδους αυτού είναι ραβδία διαστάσεων 0,6-0,9 x 1,5-6 μm και απαντώνται σε ζεύγη ή σε αλυσίδες μικρού μήκους (**Εικόνα 8**). Είναι είδος ομοζυμωτικό και σχηματίζει DL-γαλακτικό οξύ. Συμμετέχει στην αυτόματη οξίνιση του γάλακτος και δίνει οξύτητα 0,3-1,9% σε γαλακτικό οξύ. Αναπτύσσεται από τους 15°C μέχρι και τους 48°C, με τη βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης να κυμαίνεται μεταξύ 35-38°C. Η βέλτιστη τιμή pH για την ανάπτυξη του είδους αυτού είναι 5,5-6,0. Απομονώθηκε αρχικά από παιδικά κόπρανα. Γενικά, είναι παράσιτο του ανθρώπινου οργανισμού και απαντάται στη στοματική κοιλότητα, τον πεπτικό σωλήνα και τα γεννητικά όργανα (Μπαλατσούρας 2006).



Εικόνα 8. Lactobacillus acidophilus

2.6.3 Κριτήρια επιλογής και ασφάλεια των υπερβιοτικών μικροοργανισμών

Προκειμένου ένας μικροοργανισμός να χαρακτηριστεί ως υπερβιοτικός, θα πρέπει να πληροί τις ακόλουθες προϋποθέσεις:

- Να είναι ανθρώπινης προέλευσης
- Να εμφανίζει ανθεκτικότητα σε οξέα
- Να έχει την ικανότητα προσκόλλησης και διείσδυσης στον εντερικό σωλήνα
- Να είναι ανταγωνιστικός έναντι των παθογόνων βακτηρίων
- Να παράγει αντιμικροβιακές ουσίες
- Να προκαλεί μεταβολή της ανοσολογικής απόκρισης
- Να υπάρχουν αποδεικτικά στοιχεία για τις πιθανές ευεργετικές του επιδράσεις (και δεδομένα δόσης-αντίδρασης)
- Να έχει ιστορικό ασφαλούς χρήσης στον άνθρωπο (Aluko 2012).

Αξίζει να σημειωθεί πως ορισμένα υπερβιοτικά βακτήρια, ανάμεσά τους και κάποια γαλακτικά βακτήρια, εμφανίζουν ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά, η οποία πιθανόν να σχετίζεται με χρωμοσωμικά γονίδια ή γονίδια των πλασμιδίων (Salminen et al. 1998).

Τα βακτήρια που περιέχουν διαβιβάσιμα γονίδια (γονίδια σε πλασμίδια) ανθεκτικά σε αντιβιοτικά, δεν θα πρέπει να χρησιμοποιούνται στα τρόφιμα. Σε κάποιους μικροοργανισμούς των γενών *lactobacilli* και bifidobacteria, ειδικότερα στους απομονωμένους από το έντερο μικροοργανισμούς, συναντώνται τέτοιους είδους γονίδια. Ως εκ τούτου είναι απαραίτητη η έρευνα γύρω από την πιθανότητα μεταφοράς της γενετικής πληροφορίας σε άλλους μικροοργανισμούς του γαστρεντερικού συστήματος ή/και σε μικροοργανισμούς προερχόμενους από τα τρόφιμα (FAO/WHO 2001). Γενικότερα όμως, όσον αφορά στην ασφάλεια των υπερβιοτικών μικροοργανισμών, σύμφωνα με τα μέχρι τώρα δεδομένα, δεν επιβεβαιώνεται κάποιος κίνδυνος για την υγεία του ανθρώπου. Προς επίρρωση αυτού αναφέρεται το παράδειγμα χρήσης των μικροοργανισμών *lactobacilli* για αιώνες (Naidu et al. 1999, Saxelin et al. 1996). Επιπρόσθετα, να σημειωθεί πως δεν έχουν βρεθεί παθογενείς ή ιογενείς ιδιότητες στα γένη *lactobacilli*, bifidobacteria και *lactococci* (Aguirre & Collins 1993).

Συμπερασματικά, για να επιβεβαιωθεί η ασφάλεια που παρέχει ένα υπερβιοτικό στέλεχος πρέπει να εξετασθούν τα εξής χαρακτηριστικά: α) Χαρακτηρισμός του γένους, είδους, στελέχους και της προέλευσης του μικροοργανισμού, β) Μελέτη των ενδογενών ιδιοτήτων κάθε ενός στελέχους χωριστά και εκτίμηση πιθανών παραγόντων τοξικότητας, γ) Μελέτη της φαρμακο-κινητικής του δράσης, δ) Μελέτη της επίδρασης του υπερβιοτικού στον ξενιστή (Saarela et al. 2000).

2.6.4 Μηχανισμοί δράσης των υπερβιοτικών μικροοργανισμών και θετικές επιδράσεις στην υγεία

Στις θετικές επιδράσεις της κατανάλωσης τροφίμων με υπερβιοτικούς μικροοργανισμούς ανήκουν η ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος, η ρύθμιση της φυσιολογικής μικροχλωρίδας του γαστρεντερικού συστήματος, ο έλεγχος της κολίτιδας (από ροταϊούς και το *Clostridium difficile*), η εκρίζωση του *Helicobacter pylori*, η θεραπεία της διάρροιας και της διάρροιας εξαιτίας αντιβιοτικών. Ακόμα, οι υπερβιοτικοί μικροοργανισμοί μειώνουν την χοληστερόλη του ορού αίματος, βελτιώνουν την πέψη της λακτόζης (δυσανεξία) και συμβάλλουν στην αντιμετώπιση των λοιμώξεων του ουροποιητικού συστήματος (De Vrese & Schrezenmeir 2002).

Οι μηχανισμοί δράσης των υπερβιοτικών μικροοργανισμών περιλαμβάνουν:

- Τη διέγερση του ανοσοποιητικού συστήματος, κυρίως μέσω της αύξησης των φαγοκυττάρων και της ρύθμισης της εντερικής κινητικότητας
- Τον περιορισμό των παθογόνων μικροοργανισμών, λόγω της ανταγωνιστικής σχέσης μεταξύ τους για τα περιορισμένα θρεπτικά συστατικά ή με απευθείας προσβολή.
- Την ανταγωνιστική σχέση ως προς την πρόσφυση στα κύτταρα του βλεννογόνου
- Την αναστολή της εισβολής παθογόνων μικροοργανισμών στο επιθήλιο λόγω ανταγωνιστικών επιδράσεων
- Την παραγωγή αντιμικροβιακών ενώσεων όπως βακτηριοσίνες, οργανικά οξέα και υπεροξείδιο του υδρογόνου
- Την απελευθέρωση μεταβολιτών προστατευτικών για το έντερο όπως η αργινίνη, η γλουταμίνη, οι μικρού μήκους αλυσίδες λιπαρών οξέων και το λινολεικό οξύ
- Τον μεταβολισμό τοξικών μεταβολιτών
- Την παραγωγή βλέννας
- Τη μείωση του pH στον αυλό λόγω διέγερσης των οξυγαλακτικών βακτηρίων (Aluko 2012).

2.7 Κριτήρια σχεδιασμού λειτουργικού τροφίμου με υπερβιοτικούς μικροοργανισμούς

Οι υπερβιοτικοί μικροοργανισμοί χρησιμοποιούνται εδώ και εκατοντάδες χρόνια σε ζυμωμένα γαλακτοκομικά προϊόντα, όπως είναι το γιαούρτι και το τυρί. Τα λειτουργικά

γαλακτοκομικά προϊόντα αποτελούν τα περισσότερο διαδεδομένα λειτουργικά τρόφιμα με υπερβιοτικούς μικροοργανισμούς και οι τεχνολογίες ενσωμάτωσης των υπερβιοτικών μικροοργανισμών σε αυτά είναι ήδη γνωστές. Επιπλέον, οι υπερβιοτικοί μικροοργανισμοί απαντώνται συχνά σε παιδικές τροφές, χυμούς, γλυκό γάλα, και ποτά βασισμένα στον ορό γάλακτος (Svensson 1999) .

Τα αποτελέσματα κλινικών δοκιμών που επιβεβαιώνουν τις θετικές επιδράσεις των μικροοργανισμών αυτών στον ανθρώπινο οργανισμό ολοένα και αυξάνουν. Έτσι οι υπερβιοτικοί μικροοργανισμοί είναι η ταχύτερα αναπτυσσόμενη κατηγορία των λειτουργικών προϊόντων και οι βιομηχανίες τροφίμων αναζητούν τρόπους ενσωμάτωσης των υπερβιοτικών μικροοργανισμών σε μεγαλύτερο εύρος τροφίμων και ποτών. Η ενσωμάτωση ζωντανών μικροοργανισμών και η διατήρησή τους στη ζωή κατά τη διάρκεια ζωής του προϊόντος είναι η μεγαλύτερη πρόκληση (Sloan 2004). Τα βασικά σημεία μελέτης κατά την ενσωμάτωση υπερβιοτικών μικροοργανισμών στα τρόφιμα, είναι:

- Η επιλογή συμβατού συνδυασμού στελέχους/τροφίμου
- Η χρήση τεχνικών/συνθηκών κατά την παραγωγική διαδικασία του τροφίμου που είναι συμβατές με την επιβίωση του υπερβιοτικού μικροοργανισμού
- Σε περίπτωση που απαιτείται ζύμωση, η μήτρα του τροφίμου να μπορεί να υποστηρίξει τον υπερβιοτικό μικροοργανισμού
- Η επιλογή του τροφίμου, η συσκευασία και οι περιβαλλοντικές συνθήκες να εξασφαλίζουν την επιβίωση του υπερβιοτικού μικροοργανισμού κατά τη διάρκεια ζωής του
- Να επιβεβαιωθεί πως ο υπερβιοτικός μικροοργανισμός δεν επηρεάζει αρνητικά την γεύση και την υφή του προϊόντος (παραγωγή CO_2, acetatate και lactate)

Η διατήρηση της βιωσιμότητας του υπερβιοτικού μικροοργανισμού αποτελεί πολύ σημαντικό κομμάτι του σχεδιασμού, ώστε το προϊόν να συμμορφώνεται με τους κανονισμούς μέχρι το τέλος της ζωής του. Η βιωσιμότητα και η λειτουργικότητα των υπερβιοτικών μικροοργανισμών εξαρτάται από πολλούς παράγοντες όπως:

- **το είδος του πρωτεϊνικού περιεχομένου του γάλακτος:** ο εμπλουτισμός του γάλακτος με πρωτεΐνες μπορεί να επηρεάσει τη βιωσιμότητα των υπερβιοτικών μικροοργανισμών, και συγκεκριμένα φαίνεται ότι, σε προϊόντα γιαουρτιού των οποίων το γάλα είχε εμπλουτιστεί με καζεϊνικά υδρολύματα, στελέχη των *Lactobacillus acidophilus* και *Lactobacillus rhamnosus* διατήρησαν υψηλότερες τιμές μικροβιακού

φορτίου σε σχέση με προϊόντα που το γάλα τους είχε εμπλουτιστεί με συμπυκνώματα πρωτεϊνών ορρού (Sodini et al. 2002).

- **θερμική επεξεργασία του γάλακτος:** όπως και για άλλα ποιοτικά χαρακτηριστικά του γιαουρτιού, η θερμική επεξεργασία που θα υποστεί το γάλα επηρεάζει και την ανάπτυξη των υπερβιοτικών μικροοργανισμών. Έχει παρατηρηθεί ότι υψηλές θερμοκρασίες (~95°C) επεξεργασίας του γάλακτος ενισχύουν την ανάπτυξη των υπερβιοτικών μικροοργανισμών, γεγονός που σχετίζεται με την απελευθέρωση περισσότερων πεπτιδίων και ελεύθερων αμινοξέων που δρουν ως θρεπτικά υποστρώματα για τη μικροβιακή ανάπτυξη (Mortazavian et al. 2006).
- **αλληλεπίδραση με την καλλιέργεια εκκίνησης:** κατά την παραγωγική διαδικασία λειτουργικών προϊόντων γιαουρτιού έχει παρατηρηθεί ότι, η χρήση μονοστελεχιακής καλλιέργειας εκκίνησης (μόνο με το στέλεχος *Streptococcus thermophilus*) φαίνεται να ενισχύει τη βιωσιμότητα των υπερβιοτικών μικροοργανισμών, ιδίως στις περιπτώσεις που χρησιμοποιούνται υπερβιοτικά στελέχη του γένους *Lactobacillus* σε σχέση με τις συμβατικές καλλιέργειες εκκίνησης, λόγω ανταγωνιστικότητας μεταξύ των χρησιμοποιούμενων στελεχών και του στελέχους *Lactobacilus bulgaricus* (Sodini et al. 2002).
- **είδος των κυττάρων της καλλιέργειας εκκίνησης & της υπερβιοτικής καλλιέργειας:** η χρήση των μικροοργανισμών τόσο της καλλιέργειας εκκίνησης όσο και της υπερβιοτικής καλλιέργειας μπορεί να γίνει είτε με ακέραια κύτταρα, ή με διαρρηγμένα κύτταρα ή και με κύτταρα που έχουν υποστεί μικροεγκλεισμό σε κάποιο συστατικό, όπως π.χ. το άμυλο, προκειμένου να αυξηθεί η βιωσιμότητα της υπερβιοτικής καλλιέργειας. Η διάρρηξη των κυττάρων αφορά σε κύτταρα της καλλιέργειας εκκίνησης, προκειμένου να ελευθερωθεί η ενδοκυτταρική β-γαλακτοζιδάση, η οποία με τη σειρά της θα υδρολύσει μέρος της λακτόζη του γάλακτος σε γλυκόζη και γαλακτόζη, ουσίες που αποτελούν θρεπτικά συστατικά για τους περιεχόμενους υπερβιοτικούς μικροοργανισμούς (Shah et al. 1997). Ο μικροεκλεισμός των κυττάρων αφορά σε κύτταρα της υπερβιοτικής καλλιέργειας που αποσκοπεί στην απομόνωση των κυττάρων από περιβάλλοντα μη φιλικά για την επιβίωση και ανάπτυξή τους, και κατά συνέπεια σε μικρότερες πιθανότητες τραυματισμού των κυττάρων και άρα σε αύξηση της βιωσιμότητάς τους (Adhikari et al. 2000, Kailasapathy 2006).
- **αλληλεπίδραση μεταξύ των στελεχών της υπερβιοτικής καλλιέργειας:** κατά τη χρήση μεικτών καλλιεργειών είναι συνήθης η ανταγωνιστικότητα μεταξύ των

μεμονωμένων στελεχών. Έρευνες έχουν καταδείξει ότι η βιωσιμότητα των στελεχών του είδους *Lactobacillus acidophilus* επηρεάζεται περισσότερο από την παρουσία άλλων ειδών σε σχέση με τη βιωσιμότητα των ειδών *Lactobacillus casei* ή τα Bifidobacteria (Vinderola et al. 2002).

- **θερμοκρασία της ζύμωσης:** όπως και στην περίπτωση της ανάπτυξης της καλλιέργειας εκκίνησης, έτσι και κατά την προσθήκη υπερβιοτικών στελεχών, η θερμοκρασία στην οποία λαμβάνει χώρα η ζύμωση αποτελεί καθοριστικό παράγοντα για την επακόλουθη βιωσιμότητά τους κατά την περίοδο της αποθήκευσης του τελικού προϊόντος. Η βιωσιμότητα των υπερβιοτικών μικροοργανισμών φαίνεται να ενισχύεται, όταν η ζύμωση έχει πραγματοποιηθεί σε χαμηλότερες θερμοκρασίες (37°C) της συνήθους θερμοκρασίας ζύμωσης (42°C). Επιπλέον, οι προτεινόμενες αυτές θερμοκρασίες φαίνεται να επιταχύνουν το ρυθμό παραγωγής των εξωκυτταρικών πολυσακχαριτών, οι οποίοι, όπως έχει προαναφερθεί, συμβάλλουν στη σταθεροποίηση των πρωτεϊνικών πλεγμάτων (Güler-Akın & Akın 2007, Prasanna et al. 2012).
- **προσθήκη προβιοτικών συστατικών:** κατά την παραγωγική διαδικασία λειτουργικών προϊόντων γιαουρτιού με υπερβιοτικούς μικροοργανισμούς προτείνεται και η προσθήκη προβιοτικών συστατικών, όπως φρουκτο-ολιγοσακχαρίτες, ινουλίνη ή κυστεΐνη, τα οποία αποδεδειγμένα συμβάλλουν στην καλύτερη βιωσιμότητα των υπερβιοτικών μικροοργανισμών καθώς αποτελούν πλούσια θρεπτικά υποστρώματα για την ανάπτυξή τους ή και οξειδωτικούς παράγοντες. Επιπρόσθετα, κάποια από αυτά τα συστατικά δύναται να χρησιμοποιηθούν για την αντικατάσταση μέρους των λιπαρών του προϊόντος, χωρίς να μεταβάλλονται ή και ενισχύοντας τα ρεολογικά χαρακτηριστικά του παραγόμενου προϊόντος (Akalın et al. 2004, Guven et al. 2005, Güler-Akın & Akın 2007).

2.8 Η σήμανση των λειτουργικών τροφίμων με υπερβιοτικούς μικροοργανισμούς

Η συμμετοχή ενός υπερβιοτικού μικροοργανισμού στο τρόφιμο πρέπει να δηλώνεται. Πέραν αυτού, απαιτούνται περεταίρω πληροφορίες προκειμένου οι καταναλωτές να καταλάβουν τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του προϊόντος. Οι πληροφορίες αυτές πρέπει να περιέχουν: α) το γένος και την ταυτοποίηση των ειδών, με την ονοματολογία σύμφωνα με τις τρέχουσες επιστημονικά αναγνωρισμένες ονομασίες, β) τον ελάχιστο αριθμό κάθε

στελέχους στο τέλος της ζωής του προϊόντος, γ) την περιγραφή των αποδεδειγμένων θετικών επιδράσεων στην υγεία, δ) τις κατάλληλες συνθήκες φύλαξης και χρήσης και ε) τα στοιχεία επικοινωνίας της εταιρείας (FAO/WHO 2002).

2.9 Συμβιοτικά (synbiotics)

2.9.1 Ορισμός

Ως συμβιοτικά ορίζονται τα «*μίγματα των υπερβιοτικών μικροοργανισμών και των προβιοτικών υδατανθράκων, τα οποία επιδρούν θετικά στον ξενιστή βελτιώνοντας την επιβίωση και την ενσωμάτωση των ζωντανών μικροβιακών συμπληρωμάτων διατροφής στον γαστρεντερικό σωλήνα του*» (Andersson et al. 2001).

2.9.2 Μηχανισμός δράσης

Τα συμβιοτικά επιδρούν θετικά στην υγεία του ξενιστή: α) βελτιώνοντας την επιβίωση και την ενσωμάτωση των υπερβιοτικών μικροοργανισμών στον εντερικό σωλήνα, β) διεγείροντας επιλεκτικά την ανάπτυξη ή/και το μεταβολισμό των ωφέλιμων μικροοργανισμών (συμπεριλαμβανομένων και των υπερβιοτικών μικροοργανισμών) και γ) βελτιώνοντας τη μικροχλωρίδα του γαστρεντερικού συστήματος.

Οι υπερβιοτικοί μικροοργανισμοί ζυμώνουν τους προβιοτικούς υδατάνθρακες και παράγουν μικρού μήκους αλυσίδας λιπαρά οξέα (Short Chain Fatty Acids, SCFAs), κυρίως άλατα προπιονικού, οξικού και βουτυρικού οξέος (acetates, propionate και butyrates). Οι ενώσεις αυτές αυξάνουν την κυκλοφορία του αίματος στο έντερο και δρουν ως «καύσιμα» για τα κύτταρα του εντέρου. Τα SCFAs χρησιμοποιούνται για τη σύνθεση της γλυκόζης, λιπιδίων και ταυτόχρονα συνιστούν πηγή ενέργειας για τον ξενιστή. Επιπλέον, η παρουσία τους οδηγεί στη μείωση του pH του εντέρου, που έχει ως αποτέλεσμα την παρεμπόδιση της ανάπτυξης των παθογόνων μικροοργανισμών και την ενίσχυση της ανάπτυξης των ωφέλιμων. Η αύξηση του πληθυσμού των ωφέλιμων μικροοργανισμών (συμπεριλαμβανομένων και των υπερβιοτικών μικροοργανισμών) οδηγεί στις θετικές επιδράσεις στην υγεία του ξενιστή, που αναφέρθηκαν παραπάνω. Τέλος, να σημειωθεί πως η μείωση του pH διευκολύνει την απορρόφηση ανόργανων συστατικών και κυρίως του ασβεστίου και του μαγνησίου (Aluko 2012).

3 Η ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ

3.1 Εισαγωγή

Η τεχνολογία της Υπερυψηλής Πίεσης (ΥΠ) είναι μια σύγχρονη και πολλά υποσχόμενη μέθοδος όσον αφορά στην τεχνολογία των τροφίμων. Αυτό σχετίζεται με το πλεονέκτημα της δημιουργίας και διατήρησης τροφίμων υψηλής ποιότητας. Αυτό, μάλιστα, γίνεται σε συνδυασμό με τη διατήρηση φυσικού αρώματος και γεύσης, φρέσκιας εμφάνισης, μη χρήσης συντηρητικών και πρόσθετων, ενώ η επεξεργασία που έχουν υποστεί τα τρόφιμα τα καθιστά κατάλληλα προς κατανάλωση για εκτενή χρονικά διαστήματα. Στη σημερινή εποχή αυτό είναι αδιαμφισβήτητα το ζητούμενο, καθώς μέχρι πρότινος τα προϊόντα υπόκειντο σε θερμικές μεθόδους επεξεργασίας εμφανίζοντας μειωμένη ποιότητα (πολλά θρεπτικά συστατικά είναι ευαίσθητα στην αύξηση της θερμοκρασίας) (Chawla et al. 2011). Η εμφάνιση μειωμένης ποιότητας μπορεί να οδηγήσει σε πληθώρα συνεπειών τόσο οικονομικής σημασίας, που έχουν χαμηλότερο αντίκτυπο, όσο όμως και εμφάνισης κινδύνου για τους καταναλωτές, που είναι υψηλότερης σημασίας (Rastogi 2013). Έτσι, λοιπόν, η επιλογή φυσικών μεθόδων επεξεργασίας, όπως η ΥΠ, αποτελούν το δρόμο προς την ικανοποίηση των απαιτήσεων του καταναλωτικού κοινού.

Η τεχνολογία της ΥΠ συνίσταται στην εφαρμογή πίεσης από 100-1000 MPa σε τρόφιμα υγρής ή στερεής μορφής για προκαθορισμένα χρονικά διαστήματα οδηγώντας στην αδρανοποίηση (inactivation) των μικροοργανισμών. Σημαντικό είναι να σημειωθεί ότι, κατά την επεξεργασία με ΥΠ, τα τρόφιμα δεν υπόκεινται σε θερμική επεξεργασία και επομένως τα προϊόντα θεωρούνται φυσικά.

Κάνοντας μια ιστορική αναδρομή, η ΥΠ συναντάται στην δουλειά του Bert Hite το 1899, η οποία περιλάμβανε αδρανοποίηση μικροβίων. Συγκεκριμένα, ο Hite μελέτησε τη διατήρηση του γάλακτος χρησιμοποιώντας ΥΠ και παρατήρησε ότι το γάλα μπορεί να διατηρηθεί ως και 4 μέρες παραπάνω αν του εφαρμοστεί πίεση της τάξης των 600 MPa για 1 h σε θερμοκρασία δωματίου (Hite 1899). Στη συνέχεια, επέκτεινε την ερευνητική του δραστηριότητα στη διατήρηση φρούτων και λαχανικών (Hite et al. 1914). Αργότερα άλλοι ερευνητές ακολούθησαν, εφαρμόζοντας τη μέθοδο για επεξεργασία τροφίμων (Timson & Short 1965). Ωστόσο, παρά το γεγονός ότι η μέθοδος ήταν γνωστή ήδη από το 1899 και είχε εφαρμοσθεί σε ερευνητικό επίπεδο σε αρκετές περιπτώσεις, η έλλειψη κατάλληλου εξοπλισμού ως τις αρχές του 20ου αιώνα και αργότερα το υψηλό κόστος του εξοπλισμού

δεν βοήθησε στην ευρεία εφαρμογή της μεθόδου στη βιομηχανία. Περίπου έναν αιώνα μετά, το 1990, κυκλοφόρησαν για πρώτη φορά τρόφιμα επεξεργασμένα με ΥΠ στην Ιαπωνική αγορά. Άλλες χώρες ακολούθησαν έκτοτε, όπως οι ΗΠΑ, η Γαλλία και η Ισπανία (Mermelstein 1997, Hugas et al. 2002, Thankur & Nelson 988). Παραδείγματα προϊόντων που διατέθηκαν στις παραπάνω χώρες είναι μαρμελάδες, σάλτσες, στρείδια, χυμοί, έτοιμα, αλλαντικά και άλλα.

3.2 Αρχές λειτουργίας που διέπουν την Υπερυψηλή Πίεση

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 (αδιαβατική θέρμανση) η οποία εξαρτάται από τη σύσταση του προς επεξεργασία τροφίμου (Balasubramaniam et al. 2004, Hogan et al. 2005).

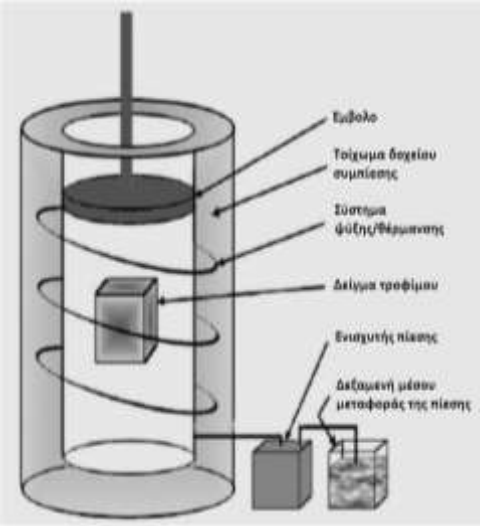
Οι αρχές που διέπουν την ΥΠ είναι 3, όπως αναλύεται παρακάτω.

- Η αρχή του Le Chatelier: «*Οποιοδήποτε φαινόμενο σε ισορροπία (χημική αντίδραση, αλλαγή φάσης, μεταβολή στη μοριακή διαμόρφωση) το οποίο συνοδεύεται από μείωση του όγκου, μπορεί να ενισχυθεί με πίεση*». Η αρχή του Le Chatelier συνιστά ότι κάθε φορά που εφαρμόζεται μια τάση σε ένα σύστημα, το οποίο βρίσκεται σε ισορροπία, το σύστημα αντιδρά ώστε να αντισταθμίσει την πίεση. Τέτοιες αντιδράσεις είναι εκείνες που οδηγούν σε αδρανοποίηση των μικροοργανισμών ή των ενζύμων (Farkas & Hoover 2000).
- Ισοστατική Αρχή (Isostatic Principle): Σύμφωνα με την αρχή αυτή, η μετάδοση της πίεσης είναι ομοιόμορφη, στιγμιαία και ανεξάρτητη του μεγέθους και της γεωμετρίας του τροφίμου. Έτσι λοιπόν τα προϊόντα συμπιέζονται ανεξάρτητα από το μέγεθος και τη γεωμετρία τους, καθώς η μεταφορά της πίεσης στον πυρήνα του τροφίμου δεν εξαρτάται από τη μάζα και το χρόνο (Cheftel 1995, Farkas & Hoover 2000).
- Αρχή της Μικροσκοπικής Διάταξης (Microscopic Ordering Principle): Σύμφωνα με την αρχή αυτή, σε σταθερή θερμοκρασία, μια αύξηση στην πίεση αυξάνει το βαθμό της τάξης των βιομορίων ενός συστατικού. Άρα η πίεση και η θερμοκρασία είναι ανταγωνιστικές δυνάμεις στη μοριακή δομή και τις χημικές αντιδράσεις (Balny & Masson 1993).

3.3 Εξοπλισμός της Υπερυψηλής Πίεσης.

Ένα παράδειγμα συστήματος ΥΠ απεικονίζεται στην **Εικόνα 9** και αποτελείται από τα παρακάτω:

- Δοχείο πίεσης: Στο δοχείο αυτό τα προς επεξεργασία τρόφιμα υπόκεινται σε συμπίεση. Συνήθως τα δοχεία αυτά κατασκευάζονται από κράματα ατσαλιού.
- Σύστημα που δημιουργεί την πίεση.
- Σύστημα ελέγχου θερμοκρασίας.
- Σύστημα διαχείρισης υλικών.



Εικόνα 9. Απεικόνιση Συστήματος ΥΠ

Η διεργασία που ακολουθείται στην ΥΠ αποτελείται από τρία κύρια συστήματα:

- **Συστήματα διαλείποντος έργου**: Τα συστήματα αυτά αποτελούνται από το δοχείο πίεσης, το περιφερειακό περίβλημα και το υδραυλικό μέρος. Το δοχείο πίεσης είναι πρακτικά το σημείο όπου πραγματοποιείται η συμπίεση του προϊόντος. Για το λόγο αυτό στο δοχείο πίεσης ασκούνται έντονες αξονικές δυνάμεις. Για την προστασία του δοχείου από τις δυνάμεις αυτές τοποθετείται το περιφερειακό περίβλημα που είναι συνήθως χαλύβδινο.

  Όσον αφορά στη διαδικασία, το προϊόν τοποθετείται στο δοχείο πίεσης, το οποίο κλείνεται και εκτοπίζεται πλήρως ο αέρας μέσω της άντλησης υδραυλικού ρευστού. Έπειτα η βαλβίδα εκτόνωσης παραμένει κλειστή ώστε να δημιουργηθεί πίεση, η οποία ασκείται στο προϊόν για συγκεκριμένο χρονικό διάστημα σε συγκεκριμένη

πίεση. Με το πέρας του προκαθορισμένου χρόνου, η βαλβίδα εκτόνωσης ανοίγεται ώστε να μπορέσει να διασταλεί το μέσο συμπίεσης (υδραυλικό ρευστό) και να επέλθει αποσυμπίεση. Πλέον το συσκευασμένο τρόφιμο αφαιρείται από το δοχείο και είναι έτοιμο για αποστολή (Chawla et al. 2011).

- **Συστήματα ημι-συνεχούς έργου**: Τα συστήματα αυτά αποτελούνται από συστοιχίες θαλάμων διαλείποντος έργου που λειτουργούν εναλλάξ. Αυτό προσφέρει το πλεονέκτημα ότι οι γραμμές φόρτωσης και εκφόρτωσης αυτοματοποιούνται κι έτσι η διαδικασία δε διακόπτεται σε κανένα στάδιο. Για το λόγο αυτό τα συστήματα ημι-συνεχούς έργου είναι ευρέως διαδεδομένα στις βιομηχανικές εφαρμογές (Ohlsson et al. 2002).
- **Συστήματα συνεχούς έργου**: Τα συστήματα αυτά διαφέρουν από τα προηγούμενα στο ότι το υδραυλικό ρευστό συμπιέζεται συνεχώς μέσω ενός διακόπτη ροής (Anon 2001).

3.3.1 Βιομηχανικός εξοπλισμός της ΥΠ

Προκειμένου ο βιομηχανικός εξοπλισμός να θεωρηθεί κατάλληλος θα πρέπει να πληροί συγκεκριμένες προϋποθέσεις (Jung et al. 2011):

- Ασφάλεια.
- Αξιοπιστία.
- Παραγωγικότητα.
- Ευκολία εγκατάστασης.
- Ευκολία λειτουργίας.
- Ευκολία συντήρησης και καθαρισμού.

Επιπλέον, ο εξοπλισμός θα πρέπει να είναι σε θέση να διαχειριστεί υψηλές πιέσεις σε συνεχόμενους κύκλους συμπίεσης και αυτό είναι μια σημαντική παράμετρος που πρέπει να ληφθεί υπόψη κατά τη σχεδίαση του εξοπλισμού.

Οι πρώτοι εξοπλισμοί ΥΠ συναντήθηκαν στις βιομηχανίες των χημικών, κεραμικών και μεταλλουργικών. Έτσι ο πρώτος εξοπλισμός ΥΠ για τη βιομηχανία τροφίμων βασίστηκε στις ίδιες αρχές σχεδίασης των προαναφερθέντων βιομηχανιών. Στη βιομηχανία τροφίμων συναντώνται δύο είδη εξοπλισμού, κάθετης και οριζόντιας διάταξης.

Ο εξοπλισμός κάθετης διάταξης (**Εικόνα 10**) ήταν ο πρώτος που χρησιμοποιήθηκε και επί της ουσίας αποτελούνταν από ένα κάθετο δοχείο με ένα κλείσιμο. Αυτό επιβράδυνε

σημαντικά τη διαδικασία φόρτωσης και εκφόρτωσης και ως εκ τούτου οι σχεδιαστές οδηγήθηκαν στο σχεδιασμό του εξοπλισμού οριζόντιας διάταξης.

Εικόνα 10. Βιομηχανικός εξοπλισμός ΥΠ κάθετης (αριστερά) και οριζόντιας (δεξιά) διάταξης (Avure Technologies, Hiperbaric)

Ο εξοπλισμός οριζόντιας διάταξης (**Εικόνα 10**) προσφέρουν τα παρακάτω πλεονεκτήματα (Mujica-Paz et al. 2011):

- Η φόρτωση και η εκφόρτωση πραγματοποιούνται σε διαφορετικά σημεία.
- Εξοικονόμηση χρόνου δεδομένου ότι δεν απαιτείται χρήση γερανών.
- Η εγκατάσταση του εξοπλισμού είναι απλούστερη λόγω μικρότερου ύψους της μονάδας.

Βεβαίως πρέπει να σημειωθεί ότι ακόμη και σήμερα οι εξοπλισμοί οριζόντιας διάταξης βελτιώνονται καθώς η βιομηχανία έχει αυξημένες απαιτήσεις.

3.4 Μηχανισμός της Υπερυψηλής Πίεσης

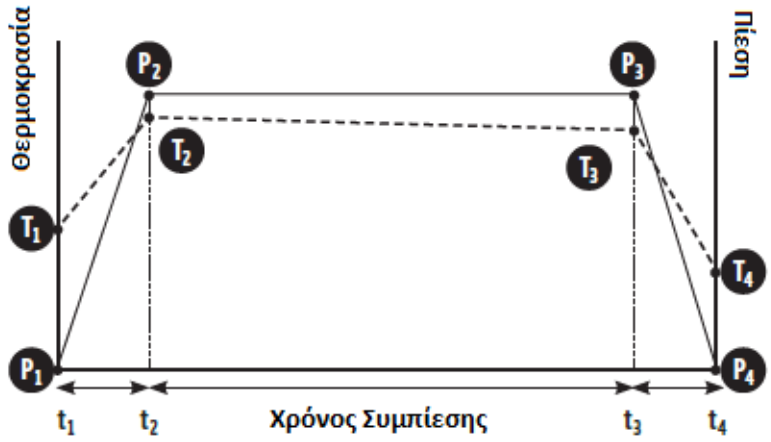
Η διαδικασία που ακολουθείται κατά την μέθοδο της ΥΠ περιλαμβάνει αρχικά συσκευασία του τροφίμου σε έναν εύκαμπτο περιέκτη και έπειτα τοποθέτηση στο δοχείο υψηλής πίεσης. Στο δοχείο αυτό περιέχεται ένα υδραυλικό ρευστό. Στη συνέχεια ο αέρας αποβάλλεται από το δοχείο μέσω μιας βαλβίδας εξαέρωσης με τη βοήθεια μιας αντλίας και δημιουργείται ΥΠ με άμεση ή έμμεση συμπίεση ή με θέρμανση του μέσου μεταφοράς της πίεσης (Mertens 1995). Το μέσο διαβίβασης της πίεσης είναι ένα ρευστό χαμηλής

συμπιεστότητας, όπως τα ευγενή αέρια και το νερό. Η πίεση εφαρμόζεται ισοστατικά και ομοιόμορφα, όπως έχει εξηγηθεί παραπάνω, σε όλες τις πλευρές του τροφίμου κι έτσι το τρόφιμο δεν συνθλίβεται αλλά διατηρεί το σχήμα κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας. Σχετικά με τη θερμοκρασία, στην οποία πραγματοποιείται η παραπάνω διεργασία, μπορεί είτε να γίνει σε θερμοκρασία περιβάλλοντος είτε και σε χαμηλότερες θερμοκρασίες. Αυτό, μάλιστα, είναι σημαντικό πλεονέκτημα για τα ευπαθή στη θερμότητα τρόφιμα (Rastogi 2013). Όπως προκύπτει, το φαινόμενο της μεταφοράς φάσης και οι χημικές αλλαγές συνοδεύονται από μείωση του όγκου. Για το λόγο αυτό το υλικό συσκευασίας θα πρέπει να είναι ανθεκτικό σε αυξομειώσεις του όγκου.

Η διεργασία χαρακτηρίζεται από τρείς παραμέτρους:

- Τη θερμοκρασία (T).
- Την πίεση (P).
- Το χρόνο έκθεσης (t).

Λόγω του γεγονότος ότι η διεργασία της ΥΠ εξαρτάται από τρείς παραμέτρους, όταν μάλιστα οι θερμικές διεργασίες εξαρτώνται από δύο παραμέτρους (T, t), προσφέρεται το πλεονέκτημα της μεγάλης ποικιλίας σχεδιασμού για τη βελτίωση της διατηρησιμότητας του τροφίμου. Η Εικόνα 11 δείχνει μια σχηματική αναπαράσταση Πίεσης-Θερμοκρασίας σαν συνάρτηση του χρόνου.



Εικόνα 11. Εξέλιξη πίεσης και θερμοκρασίας συναρτήσει του χρόνου επεξεργασίας

Λόγω της συμπίεσης τα συστατικά του προϊόντος αλλάζουν θερμοκρασία κατά τη διάρκεια του φαινομένου (Ting et al. 2002). Όπως φαίνεται στην **Εικόνα 11**, η αύξηση της

πίεσης από την αρχική κατάσταση P_1 στην P_2, αυξάνει τη θερμοκρασία από την τιμή T_1 στην T_2. Η συνολική αύξηση της θερμοκρασίας που υπεισέρχεται σχετίζεται με την αρχική τιμή της θερμοκρασίας, τη συμπιεστότητα του υλικού και την ειδική θερμοχωρητικότητά του, και τέλος με την επιθυμητή τελική πίεση. Κατά το χρόνο της διεργασίας P_2 σε P_3, η θερμοκρασία του προϊόντος μειώνεται από T_2 σε T_3, λόγω απώλειας θερμότητας μέσω του δοχείου. Αμέσως μετά την αποσυμπίεση P_3 σε P_4, η θερμοκρασία του προϊόντος επιστρέφει σε μια τιμή ελαφρώς μικρότερη από την αρχική του θερμοκρασία (T_4) (Rastogi et al. 2007, Balasubramaniam et al. 2011).

Το νερό, ως μέσο συμπίεσης, εμφανίζει τη μικρότερη αδιαβατική αύξηση θερμοκρασίας, ενώ τα λιπαρά και τα έλαια έχουν την υψηλότερη. Για παράδειγμα, σε τιμές πιέσεων που απαντώνται συνήθως σε διεργασίες ΥΠ, υπό αδιαβατικές συνθήκες κοντά στη θερμοκρασία περιβάλλοντος, το νερό αλλάζει θερμοκρασία περίπου 3°C για κάθε μεταβολή της πίεσης κατά 100 MPa. Επιπρόσθετα, η αδιαβατική αύξηση θερμοκρασίας του νερού αυξάνεται με τη θερμοκρασία και, δεδομένου ότι τα περισσότερα τρόφιμα αποτελούνται κατά κύριο λόγο από νερό, παρατηρούνται αλλαγές στην αδιαβατική θερμοκρασία των τροφίμων κατά τη διεργασία (Buzrul et al. 2008, Rasanayagam et al. 2003).

3.5 Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα της Υπερυψηλής Πίεσης

Όπως έχει ήδη γίνει σαφές από τα παραπάνω, η τεχνολογία της ΥΠ έχει ορισμένα πλεονεκτήματα συγκριτικά με άλλες μεθόδους επεξεργασίας τροφίμων. Συνοπτικά, τα πλεονεκτήματα αυτά είναι:

- Γρηγορότερη ολοκλήρωση της επεξεργασίας.
- Μη θερμική διεργασία και ως εκ τούτου επιτυγχάνεται υψηλότερη ποιότητα τελικού προϊόντος.
- Φρέσκια εμφάνιση (χρώμα και υφή), διατήρηση της γεύσης.
- Λόγω του ότι το προϊόν δεν εκτίθεται σε αλλαγή θερμοκρασίας οι λειτουργικές αλλαγές είναι ελάχιστες.
- Τα προϊόντα τοποθετούνται συσκευασμένα στο δοχείο πίεσης κι έτσι ο κίνδυνος μόλυνσης μειώνεται σημαντικά.
- Δεν απαιτείται καθαρισμός του δοχείου αφού το προϊόν τοποθετείται συσκευασμένο.

- Ικανότητα στιγμιαίας διαβίβασης της πίεσης ανεξαρτήτως μεγέθους και γεωμετρίας του προϊόντος.
- Αδρανοποίηση των μικροβίων.

Πάρα τα πάρα πολλά οφέλη που έχει η μέθοδος, θα πρέπει να σημειωθεί ότι η τεχνολογία της ΥΠ συγκεντρώνει και ορισμένα μειονεκτήματα:

- Υψηλό κόστος αγοράς για βιομηχανικές εγκαταστάσεις.
- Υψηλό κόστος λειτουργίας, αφού πρέπει να ακολουθείται από ένα ολοκληρωμένο σύστημα διασφάλισης ποιότητας για την εξάλειψη των μικροοργανισμών κα τα τη διεργασία.
- Τα μέρη από τα οποία αποτελείται ένα σύστημα ΥΠ απαιτούν υψηλής ακρίβειας κατασκευή, χρήση και συντήρηση (Kadam et al. 2012).

3.6 Επίδραση της Υπερυψηλής Πίεσης

3.6.1 Μικροοργανισμοί

Η τεχνολογία της ΥΠ χρησιμοποιείται στα τρόφιμα με απώτερο σκοπό την αύξηση της διατηρησιμότητας των προϊόντων και την καταστροφή των παθογόνων μικροοργανισμών. Η βιωσιμότητα των μικροοργανισμών επηρεάζεται από τους παρακάτω παράγοντες (Knorr & Heinz 2001):

- Δομικές αλλαγές της κυτταρικής μεμβράνης, οι οποίες σχετίζονται με τα φαινόμενα μεταφοράς θρεπτικών ουσιών προς τα κύτταρα και αποβολής των αποβλήτων των κυττάρων.
- Απενεργοποίηση των ενζυμικών συστημάτων που ελέγχουν τις μεταβολικές δραστηριότητες.

Η τεχνολογία της ΥΠ δρα θετικά στην απενεργοποίηση των περισσότερων μικροοργανισμών όταν εφαρμόζονται πιέσεις μεγαλύτερες από τα 200 MPa και θερμοκρασίες ψύξης ή μικρότερες των 45°C (Farkas & Hoover 2001, Patterson 2005, Lau & Turek 2007). Βέβαια πρέπει να σημειωθεί ότι, σε επίπεδο βιομηχανίας, επιλέγονται αρκετά υψηλότερες πιέσεις (600 MPa), γιατί έτσι επιτυγχάνεται επιτάχυνση της διαδικασίας αδρανοποίησης των μικροοργανισμών.

Ο βαθμός απενεργοποίησης των μικροοργανισμών επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες όπως η επιλεγμένη πίεση, ο χρόνος έκθεσης, η θερμοκρασία, ο αριθμός κύκλων συμπίεσης,

τα συστατικά του προϊόντος και η φυσιολογική κατάσταση των μικροοργανισμών (Smelt 1998). Ανάλογα, επομένως, από τις συνθήκες πίεσης-θερμοκρασίας που θα επιλεχθούν σε μια διεργασία ΥΠ, μπορεί να επιτευχθεί είτε θανάτωση είτε τραυματισμός των μικροβιακών κυττάρων. Έτσι για να κριθεί επαρκής μια διεργασία ΥΠ θα πρέπει να ελεγχθεί η βιωσιμότητα πιθανών ζωντανών αλλά τραυματισμένων μικροοργανισμών. Επιπλέον, θα πρέπει να χρησιμοποιείται ένα μη επιλεκτικό υπόστρωμα για την αναγνώριση όλων των ζωντανών μικροοργανισμών που έχουν επιβιώσει στο τρόφιμο κατά την αποθήκευσή του (Balasubramaniam, Farkas & Turek 2011).

Οι επιδράσεις της ΥΠ στους μικροοργανισμούς είναι ποικίλες και για το λόγο αυτό είναι δύσκολο να εντοπιστούν οι ακριβείς επιπτώσεις της πίεσης στην κυτταρική ανάπτυξη αι βιωσιμότητα (Bartlett 2002). Όσον αφορά στις μεμβράνες των λιπιδίων των κυττάρων, λόγω της ιδιότητας τους να συμπιέζονται εύκολα, επηρεάζεται η ρευστότητα τους. Όταν αυξάνεται η πίεση, οι επιφάνειες των λιποσφαιριδίων χάνουν τη ρευστότητά τους και γίνονται γρήγορα αδιαπέραστες στο νερό και άλλα μόρια, καθώς επίσης εξασθενούν οι αλληλεπιδράσεις πρωτεϊνών-λιπιδίων, που συντελούν στη βέλτιστη λειτουργία της κυτταρικής μεμβράνης (Winter & Jeworrek 2009). Τέλος, η ΥΠ επηρεάζει τη σύνθεση των μεμβρανών των λιπιδίων μέσω της αύξησης της περιεκτικότητάς τους σε ακόρεστα λιπαρά οξέα (Valentine & Valentine 2004).

Ακόμη, λόγω της πίεσης, διασπώνται ασθενείς ομοιοπολικοί χημικοί δεσμοί, οι οποίοι είναι κρίσιμοι για τις δομικές και λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνών. Οι αλλαγές αυτές μπορούν να επηρεάσουν τις συνδέσεις των πολυμερών και τη σταθερότητά τους, καθώς και τις καταλυτικές περιοχές τους (Balny et al. 2002, Northrop 2002).

Αντίστοιχα, η ΥΠ επιδρά και στα ριβοσώματα. Μάλιστα, φαίνεται πως η διάσπαση των υπομονάδων των ριβοσωμάτων είναι ένας από τους σημαντικότερους παράγοντες της καταστροφής των κυττάρων από την ΥΠ. Αυτό συμβαίνει καθώς τα βακτηριακά κύτταρα δεν επιβιώνουν όταν ο αριθμός των λειτουργικών τους ριβοσωμάτων μειώνεται κάτω από ένα συγκεκριμένο επίπεδο. Η επεξεργασία με ΥΠ μπορεί να προκαλέσει επίσης αλλαγές στο DNA. Με αύξηση της πίεσης, τα μόρια του DNA σταθεροποιούνται κι έτσι η μετάβαση από διπλή σε μονή έλικα, η οποία είναι απαραίτητη για τις κυτταρικές διαδικασίες, μπορεί να γίνει πιο δύσκολη λόγω αύξησης της θερμοκρασίας μετάβασης (Macgregor 2002).

Τέλος, τα βακτηριακά σπόρια δεν συνιστούν κίνδυνο για τη βιομηχανία τροφίμων. Ωστόσο, η ενδεχόμενη βλάστηση και ανάπτυξή τους, και η διάδοση του οργανισμού μπορεί να οδηγήσουν σε τοξικότητα ή αλλοίωση των τροφίμων κατά την αποθήκευσή τους. Τα βακτηριακά σπόρια είναι μεν πιο ανθεκτικά από τους βλαστικούς μικροοργανισμούς σε

πιέσεις της τάξης των 1000 MPa, αλλά έχει αποδειχθεί ότι η συμπίεση σε συνδυασμό με ήπια θέρμανση προκαλούν τη βλάστηση των σπορίων και κατόπιν τα σπόρια χάνουν την ανθεκτικότητά τους στην πίεση ή/και τη θέρμανση, και καταστρέφονται (Knorr 1995).

3.6.2 Πρωτεΐνες

Υπό συνθήκες υπερυψηλής πίεσης, οι πρωτεΐνες εμφανίζουν αντιστρεπτές η μη αντιστρεπτές αλλαγές στη φυσικής τους δομή, ανάλογες με αυτές που εμφανίζονται σε υψηλές θερμοκρασίες ή με τη χρήση χημικών (Schoner et al. 2005, Chura-Chambi et al. 2008).

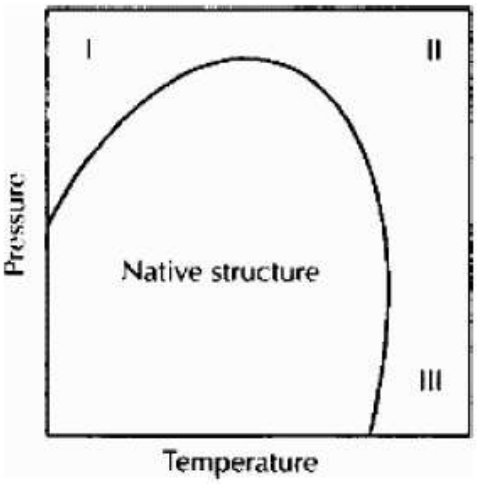
Η μετουσίωση των πρωτεϊνών που προκαλείται λόγω θέρμανσης ή/και χρήση χημικών ουσιών συνήθως έχει ως αποτέλεσμα το πλήρες ξεδίπλωμα του πρωτεϊνικού μορίου λόγω της διάσπασης των ομοιοπολικών δεσμών ή/και της συσσωμάτωσης των μορίων. Η ΥΠ πίεση όμως, σε υδατικά διαλύματα, επιδρά κυρίως στην τριτοταγή και τεταρτοταγή δομή των πρωτεϊνών, όπου οι ομοιοπολικοί δεσμοί σπάνια επηρεάζονται και η α-έλικα ή τα β-πτυχωτά φύλλα εμφανίζονται σχεδόν ανεπηρέαστα (Seefeldt et al. 2004, Qoronfleh et al. 2007).

Με τη χρήση της θερμοκρασίας, το πρωτεϊνικό μόριο αποσταθεροποιείται και υπόκειται σε δομικές αναδιατάξεις εξαιτίας της απώλειας μεγάλου αριθμού μορίων νερού. Η 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).

Η μετουσίωση των πρωτεϊνών από την εφαρμογή της ΥΠ, εξαρτάται από τον τύπο της πρωτεΐνης, από τις συνθήκες της διεργασίας (χρόνος συμπίεσης, θερμοκρασία), το pH, την ιοντική ισχύ και το μέγεθος της εφαρμοζόμενης πίεσης, . Οι αλλαγές αυτές είναι γενικά αντιστρεπτές σε ένα εύρος πιέσεων 100-300 MPa και μη αντιστρεπτές σε πιέσεις μεγαλύτερες των 300 MPa. Σε υψηλότερες πιέσεις ,οι ολιγομερείς πρωτεΐνες έχουν την τάση να διασπώνται σε υπομονάδες και γίνονται ευάλωτες σε πρωτεόλυση. Αντίθετα, οι μονομερείς πρωτεΐνες δεν παρουσιάζουν καμία αλλαγή στην πρωτεόλυση με αύξηση της πίεσης (Thakur & Nelson 1998).

Η επίδραση της ΥΠ στις πρωτεΐνες σχετίζεται με τη διάσπαση των μη – ομοιοπολικών δεσμών στο εσωτερικό των πρωτεϊνικών μορίων και τον επακόλουθο σχηματισμό ενδο- και δια-μοριακών δεσμών στο εσωτερικό των πρωτεϊνικών μορίων και μεταξύ των μορίων. Διαφορετικοί τύποι αλληλεπιδράσεων είναι αυτοί που καθορίζουν τη

δευτεροταγή, τριτοταγή και τεταρτοταγή δομή των πρωτεϊνικών μορίων. Η τεταρτοταγής δομή διαμορφώνεται κυρίως μέσω υδροφοβικών αλληλεπιδράσεων, οι οποίες είναι ευαίσθητες στην πίεση. Οι αλλαγές στην τεταρτοταγή δομή παρατηρούνται σε πιέσεις μεγαλύτερες των 200 MPa. Αξίζει βέβαια να σημειωθεί πως η μετουσίωση είναι μία σύνθετη διεργασία, η οποία περιλαμβάνει πολλές ενδιάμεσες μορφές από τις οποίες προκύπτουν ποικίλα προϊόντα μετουσίωσης. Τέλος, οι αλλαγές στη δευτεροταγή δομή και οι μη αντιστρεπτές μετουσιώσεις των πρωτεϊνών λαμβάνουν χώρα σε πιέσεις μεγαλύτερες των 700MPa. Για συμπίεση σε πιέσεις έως 100 MPa απαιτούνται υψηλότερες θερμοκρασίες για τη μετουσίωση των πρωτεϊνών, ενώ με περαιτέρω αύξηση της πίεσης οι θερμοκρασίες μετουσίωσης αυξάνονται. Πρακτικά, σε αυξημένες πιέσεις οι πρωτεΐνες μετουσιώνονται σε θερμοκρασίες δωματίου (Balny & Masson, 1993, Messens et al. 1997). Στην **Εικόνα 12** παρουσιάζεται αυτή η εξάρτηση της μετουσίωσης των πρωτεϊνών από τη θερμοκρασία και το χρόνο (Messens et al. 1997).



Εικόνα 12. Εξάρτηση της μετουσίωσης των πρωτεϊνών από τη θερμοκρασία και το χρόνο.

Η δραστική 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 τη μείωση του όγκου. Στις πρωτεΐνες, η συμπιεστότητα επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από τις αλλαγές των χωροταξικών θέσεων των επικρατειών των δευτεροταγών και τριτοταγών δομών (Knorr et al. 2006).

3.6.3 Ένζυμα

Σύμφωνα με μελέτες, η απενεργοποίηση των ενζύμων δεν σχετίζεται με τη θερμική επεξεργασία ή την εφαρμογή ΥΠ (Aertsen et al. 2009).

Οι αλλαγές που μπορεί να προκληθούν λόγω εφαρμογής ΥΠ στο ρυθμό των ενζυμικά καταλυόμενων αντιδράσεων μπορούν να ταξινομηθούν στις ακόλουθες κατηγορίες (Eisenmenger & Reyes-De-Corcuera 2009):

- Απευθείας αλλαγές στη δομή των ενζύμων.
- Αλλαγές στο μηχανισμό των ενζυμικά καταλυόμενων αντιδράσεων.
- Αλλαγές στο υπόστρωμα ή τις φυσικές του ιδιότητες, όπως π.χ. το pH, την πυκνότητά του, το ιξώδες του, τη φάση στην οποία βρίσκεται κ.λπ.

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.

Από την άλλη πλευρά, έχει παρατηρηθεί ότι σε συνθήκες υψηλής πίεσης μπορεί να επέλθουν φαινόμενα ενεργοποίησής των ενζύμων (Eisenmenger & Reyes-De-Corcuera 2009).

3.6.4 Θρεπτικά συστατικά 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 και ως εκ τούτου να επηρεαστεί η ασφάλεια και η ποιότητά του (Oey et al. 2008).

Έρευνες έχουν γίνει σχετικά με την επίδραση της επεξεργασίας με ΥΠ στη σταθερότητα του ασκορβικού οξέος σε ελεγχόμενα συστήματα μοντέλα και σε πραγματικά τρόφιμα. Η παρουσία οξυγόνου αλλά και η μείωση της αρχικής συγκέντρωσής του, σε ελεγχόμενα συστήματα μοντέλα, παρατηρήθηκε πως διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην υποβάθμιση του ασκορβικού οξέος κατά την επεξεργασία των τροφίμων με ΥΠ (Taoukis et al. 1998, Oey et al. 2006). Επιπρόσθετα, όσον αφορά στα πραγματικά τρόφιμα, παρατηρήθηκαν υψηλότερες τιμές απώλειας της βιταμίνης C, 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 A, E και αυτές του συμπλέγματος B (B1- θειαμίνη, B2- ριβοφλαβίνη, B3- νιασίνη, B5- παντοθενικό οξύ και B6- πυριδοξίνη), μελέτες έχουν δείξει ότι επεξεργασία με ΥΠ σε συνθήκες της τάξης των 200-600 MPa και 20-40°C για χρόνους επεξεργασίες που κυμαίνονταν από μερικά δευτερόλεπτα έως και 30 min τόσο συστημάτων μοντέλων (Butz et al. 2007) όσο και πραγματικών τροφίμων (Gabrovska et al. 2005), δεν ήταν ικανή να επηρεάσει τη σταθερότητα των βιταμινών αυτών. Επιπλέον, φαίνεται ότι όσον αφορά στη βιταμίνη A, 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, όσον αφορά στην επίδραση της ΥΠ στην αντιοξειδωτική ικανότητα ορισμένων τροφίμων, έχει παρατηρηθεί ότι σε πιέσεις 500-800 MPa και θερμοκρασία περιβάλλοντος ή πίεση 400 MPa και θερμοκρασία 40°C, η αντιοξειδωτική ικανότητα χυμού πορτοκαλιού ή πολτού τομάτας εκφρασμένη ως δείκτης TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) ή ως συνολική δράση έναντι ελευθέρων ριζών με τη μέθοδο DPPH, (Fernández-Garcia et al. 2001, Sánchez-Moreno et al. 2005) δεν επηρεάζεται.

3.7 Οικονομικά στοιχεία της τεχνολογίας της ΥΠ

Στη σημερινή εποχή ένας μεγάλος αριθμός προϊόντων επεξεργασμένων με ΥΠ διατίθεται στις παγκόσμιες αγορές, κάτι που αποδεικνύει την αξιοπιστία της μεθόδου. Άλλωστε τα σημαντικά πλεονεκτήματα της μεθόδου σχετιζόμενα με την παραγωγή προϊόντων υψηλής ποιότητας έχουν επιφέρει την αποδοχή τέτοιων τροφίμων από το αγοραστικό κοινό.

Παρόλα αυτά και μολονότι η τεχνολογία της ΥΠ έχει προοπτικές εξέλιξης, για την ώρα δεν έχει εφαρμοστεί ευρέως λόγω του μεγάλου κόστους επένδυσης που απαιτείται. Αυτό είναι

ο κυριότερος λόγος για τον οποίο η εφαρμογή της μεθόδου έχει περιοριστεί σε προϊόντα υψηλής αξίας. Το θετικό στοιχείο, όμως, είναι ότι η αναγνωρισμένα υψηλή ποιότητα των επεξεργασμένων με ΥΠ προϊόντων έχει οδηγήσει τους καταναλωτές να είναι πρόθυμοι να καταβάλουν ελαφρώς υψηλότερο αντίτιμο για την αγορά ενός τέτοιου προϊόντος (Corkindale 2006).

Το κόστος μιας μονάδας ΥΠ εξαρτάται από μια πληθώρα παραγόντων. Ενδεικτικά κάποιοι από αυτούς είναι:

- Επιθυμητή πίεση λειτουργίας.
- Χρόνος επεξεργασίας.
- Γεωμετρία τροφίμου.
- Εμπειρία του εργατικού δυναμικού στη λειτουργία της μονάδας.
- Ενεργειακό κόστος.
- Όγκος δοχείου πίεσης (30 ως 600 L στις βιομηχανικές εφαρμογές).

Τέτοιες μονάδες, τόσο κάθετης όσο και οριζόντιας διάταξης, παράγονται από διάφορες εταιρείες, με τους κυριότερους προμηθευτές να είναι οι Avure Technologies, Hiperbaric και Uhde. Τα τυπικά κόστη εξοπλισμού κυμαίνονται στο εύρος €370.000 ως €1,85 εκατομμύρια, ανάλογα με τη δυναμικότητα και την αυτοματοποίηση της μονάδας (Balasubramaniam, Farkas & Turek 2011). Πρόσφατα εκτιμάται ότι το επιπλέον κόστος για επεξεργασία με ΥΠ ανέρχεται σε €0,045-0,22/kg τροφίμου, συμπεριλαμβανομένου του κόστους λειτουργίας και της απόσβεσης του κεφαλαίου, το οποίο δε φαίνεται να είναι σημαντικά υψηλότερο από το κόστος της θερμικής επεξεργασίας (Saiz et al. 2008).

3.8 Συσκευασίες κατάλληλες για χρήση σε συνθήκες ΥΠ

Οι φυσικές και μηχανικές ιδιότητες του υλικού συσκευασίας επηρεάζουν σημαντικά την αποτελεσματικότητα της επεξεργασίας με ΥΠ. Η επιλογή της κατάλληλης συσκευασίας εξαρτάται από το 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. Για διεργασίες όπου το προϊόν επεξεργάζεται συσκευασμένο προτιμώνται εύκαμπτες συσκευασίες (Naik et al. 2013). Σχετικά με τις ιδιότητες του υλικού συσκευασίας, αυτό θα 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 και ως εκ τούτου 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 σωληνάρια, οι σακούλες πολυαιθυλενίου (PE), και οι 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 ευκαμπτότητας και της ανθεκτικότητάς τους (Caner et al. 2004).

Δύο ακόμα παράμετροι που συμβάλλουν σημαντικά στην αποδοτικότητα της επεξεργασίας με ΥΠ, εκτός από το υλικό της συσκευασίας, είναι 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 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 σφράγισής της (Nachamansion 1995, Lambert 2000).

3.9 Νομοθεσία που διέπει την ΥΠ

Σχετικά με τη νομοθεσία που διέπει την διάθεση προϊόντων στον κόσμο, διακρίνονται δύο κύριες μεγάλες ζώνες, οι χώρες εντός και οι χώρες εκτός της Ευρωπαϊκής Ένωσης. Στις χώρες που βρίσκονται εκτός Ευρωπαϊκής Ένωσης δεν υπάρχει ειδική νομοθεσία για τα επεξεργασμένα με ΥΠ προϊόντα κι έτσι ελέγχονται με την νομοθεσία που διέπει όλα τα υπόλοιπα προϊόντα.

Αντιθέτως, στην Ευρωπαϊκή Ένωση έχει ορισθεί ένας κοινοτικός κανονισμός (κανονισμός 258/97/ΕΕ) για τα νέα τρόφιμα και συστατικά από το 1997. Ο κανονισμός αυτός 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 επεξεργασμένα με ΥΠ τρόφιμα εντάσσονται στα «καινοτόμα τρόφιμα». Τα τρόφιμα θα πρέπει να πληρούν δύο προϋποθέσεις προκειμένου να εντάσσονται στην κατηγορία (Norton & Sun 2008, Heinz & Buckow 2010, Naik et al. 2013):

- Το ιστορικό κατανάλωσής τους από ανθρώπους ήταν μέχρι τις 15 Μαΐου του 1997 αμελητέο.
- 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.

Στην τελευταία συνεδρίαση της Επιτροπής της Ευρωπαϊκής Ένωσης (Ιούλιος 2001) που είναι υπεύθυνη για τα νέα τρόφιμα επαναπροσδιορίστηκε η σχετική οδηγία και πλέον προβλέπει ότι αν είναι δυνατόν να αποδειχθεί πως το νέο 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).

Επιπλέον, συγκεκριμένη νομοθεσία είναι σε ισχύ όσον αφορά στην 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/ΕΕ) στην κατασκευή εξοπλισμών ΥΠ. Καθώς τα δοχεία συμπίεσης χρησιμοποιούν δυνητικά επικίνδυνη 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).

3.10 Εφαρμογή της τεχνολογίας της ΥΠ σε γαλακτοκομικά προϊόντα

Η εφαρμογή της ΥΠ έχει σημαντική επίδραση στα συστατικά του γάλακτος και κυρίως στις πρωτεΐνες του. Παρακάτω θα αναφερθούν οι επιδράσεις της ΥΠ στα συστατικά και στα ποιοτικά χαρακτηριστικά του γάλακτος και εν συνεχεία στις ιδιότητες των παραγόμενων γιαουρτιών μετά από επεξεργασία με ΥΠ του χρησιμοποιούμενου γάλακτος ή του τελικού προϊόντος γιαουρτιού.

3.10.1 Επίδραση της ΥΠ στους μικροοργανισμούς του γάλακτος

Η έρευνα για την εφαρμογή της ΥΠ στο γάλα ξεκίνησε από τον Hite (1899) και από τα αποτελέσματα της παρατηρήθηκε σημαντική επίδραση της ΥΠ στη μείωση του μικροβιακού φορτίου του γάλακτος καθώς και στην αύξηση του χρόνου διατηρησιμότητάς του.

Έκτοτε, 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*, *Salmonela enteritidis*, κ.ά. (Vachon et al. 2002).

Η επεξεργασία νωπού γάλακτος σε πιέσεις 400-600 MPa, έχει ως αποτέλεσμα την παραλαβή γάλακτος με μικροβιολογική ποιότητα συγκρίσιμη με εκείνη του παστεριωμένου (72°C, 15 s) (Kolakowski et al. 1997, Mussa & Ramaswamy 1997, Buffa et al. 2001). Για παράδειγμα, για να επιτευχθεί μια διάρκεια ζωής 10 ημερών σε θερμοκρασία αποθήκευσης 10°C, είναι απαραίτητη μια επεξεργασία με πίεση στα 400 MPa για 15 λεπτά ή 600 MPa για 3 λεπτά στους 20°C (Rademacher & Kessler 1997).

Επιπλέον, έχει μελετηθεί η συνδυασμένη επίδραση της ΥΥΠ με ήπιες θερμοκρασίες (30-50°C) ή/και με βακτηριοσίνες (π.χ. νισίνη) για την αναστολή των τροφιμογενών βακτηρίων και των σπορίων, αποδεικνύοντας ότι μερικοί από αυτούς τους συνδυασμούς ενισχύουν σημαντικά την αποτελεσματικότητα της επεξεργασίας με ΥΥΠ, και μερικές φορές παρουσιάζουν ακόμα και φαινόμενα συνεργιστικής αδρανοποίησης μεταξύ επεξεργασίας με ΥΥΠ και φυσικών αντιμικροβιακών ουσιών (Garcıa Graells et al. 1999, Alpas & Bozoglu, 2000, Morgan et al. 2000, Masschalck et al. 2001, Black et al. 2005, 2008).

Τέλος, έχουν αναφερθεί και παράγοντες που φαίνεται να επιδρούν προστατευτικά στην απενεργοποίηση των μικροοργανισμών στο γάλα (Rastogi et al. 2013). Στους παράγοντες αυτούς περιλαμβάνονται τα πρωτεϊνικά κλάσματα, η καζεΐνη και η λακτόζη (Narisawa et al 2008, Rastogi et al. 2013). 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).

3.10.2 Επίδραση της ΥΠ στα ένζυμα του γάλακτος

Η εφαρμογή της ΥΠ επιδρά στα ενδογενή ένζυμα του γάλακτος. Αναφορικά με την πλασμίνη του γάλακτος, η δραστικότητά της διατηρείται μετά από επεξεργασία στα 400 MPa και στους 25°C για 30 min (García-Risco et al. 2003), αλλά έχει παρατηρηθεί συνεργιστική δράση της πίεσης και της θερμοκρασίας σε πιέσεις 450-600 MPa και θερμοκρασίες επεξεργασίας της τάξης των 20-55°C με θετικά αποτελέσματα στην απενεργοποίηση του ενζύμου (Moatsou et al. 2008a, 2008b).

Όσον αφορά στην αλκαλική φωσφατάση (alkaline phosphatise, ALP), το ένζυμο αυτό εμφανίζεται ανθεκτικό στην ΥΠ καθώς για την πλήρη απενεργοποίησή του απαιτούνται πιέσεις 800 MPa για 8 min στους 20°C (Rademacher & Hinrichs 2006). Ο βαθμός απενεργοποίησης όμως της αλκαλικής φωσφατάσης αυξάνεται σε θερμοκρασίες υψηλότερες των 20°C υποδηλώνοντας τη συνεργιστική δράση της πίεσης και της θερμοκρασίας (Ludikhuyze et al. 2000).

Η λακτοπεροξειδάση (lactoperoxidase, LPO) εμφανίζεται περισσότερο ανθεκτική σε σχέση με την αλκαλική φωσφατάση και μηδενική απενεργοποίησή της παρατηρήθηκε μετά από επεξεργασία νωπού αγελαδινού γάλακτος στα 400 MPa και στους 25°C για 60 min (López-Fandiño et al. 1996). Επίσης, αξίζει να σημειωθεί πως στην περίπτωση της λακτοπεροξειδάσης έχει παρατηρηθεί ανταγωνιστική επίδραση της πίεσης και της θερμοκρασίας στην απενεργοποίηση της, που είχε ως αποτέλεσμα μικρή αύξηση στη δραστικότητα του ενζύμου (Ludikhuyze et al. 2001).

Η ενδογενής λιπάση του γάλακτος εμφανίζεται επίσης ανθεκτική σε πιέσεις έως τα 400 MPa στους 20-25°C με τη δραστικότητά της να παραμένει αμετάβλητη για χρόνους έως και 100 min. Σε επεξεργασίες μικρών χρόνων και σε πιέσεις της τάξης των 300-400 MPa και στους 3°C η δραστικότητα της λιπάσης ενισχύθηκε (Pandey & Ramaswamy 2004).

Τέλος, πέραν των ενδογενών ενζύμων του γάλακτος, το γάλα περιέχει ένζυμα τα οποία προέρχονται από τα περιεχόμενα σε αυτό 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). Για παράδειγμα, η ύπαρξη και ανάπτυξη του ψυχρότροφου βακτηρίου *Bacillus subtilis* στο νωπό γάλα, έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή πρωτεολυτικών ενζύμων τα οποία προκαλούν πικρή γεύση και πήξη του γάλακτος, μειώνοντας σημαντικά τη διάρκεια ζωής του (Sørhaug & Stepaniak 1997).

3.10.3 Επίδραση της ΥΠ στις πρωτεΐνες του γάλακτος

Η εφαρμογή της ΥΠ αποσταθεροποιεί τα καζεϊνικά μικκύλια στο ανασυσταμένο αποβουτυρωμένο γάλα και το μέγεθός τους μειώνεται από τα 200 στα 120 nm, εντονότερα 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). Η σειρά αυτή αντιστοιχεί στην περιεκτικότητα των καζεϊνών σε φωσφορικά άλατα σερίνης, υποδεικνύοντας ότι η πιο στενά συνδεδεμένες καζεΐνες διασπώνται σε μικρότερο βαθμό (Needs et al. 2000a). Με επεξεργασία ΥΠ στους 25°C μειώνεται σημαντικά το μέγεθος των καζεϊνικών μικκυλίων, ενώ με επεξεργασία σε υψηλότερες θερμοκρασίες αυξάνεται το μέγεθος των μικκυλίων (Garcia et al. 2000).

Στα 100 MPa έχει παρατηρηθεί συνεργιστική δράση της πίεσης με την αύξηση της θερμοκρασίας ή του χρόνου συμπίεσης όσον αφορά στη μείωση του μέγεθος των καζεϊνικών μικκυλίων. 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. Τέλος, σε πιέσεις μεγαλύτερες των 400 MPa τα καζεϊνικά μικκύλια διασπώνται, με την επίδραση αυτή να είναι ταχύτερη όσο αυξάνεται η θερμοκρασία (Anema et al. 2005). Οι Huppertz, Fox και Kelly (2004a) έδειξαν ότι το μέγεθος των καζεϊνικών μικκυλίων αυξήθηκε κατά 30% κατά την επεξεργασία του γάλατος με ΥΠ στα 250 MPa και μειώθηκε κατά 50%, όταν εφαρμόστηκαν πιέσεις των 400 ή 600 MPa.

Σύμφωνα με τους Huppertz, Fox και Kelly (2004b) 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 υδρόφοβων 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 ορρού που προκαλούνται. Η επεξεργασία με ΥΠ αύξησε τα επίπεδα των αs1- και β-καζεϊνών στη διαλυτή φάση του γάλακτος και δημιούργησε καζεϊνικά μικκύλια με ιδιότητες διαφορετικές από εκείνες του νωπού γάλακτος. Επιπλέον, παρατηρήθηκε πως το μέγεθος των καζεϊνικών μικκυλίων δεν επηρεάζεται από εφαρμογή πιέσεων μικρότερων των 200 MPa, όμως εφαρμογή πιέσεων της τάξης των 250 MPa

οδήγησε σε αύξηση του μεγέθους των μικκυλίων κατά 25%, ενώ η εφαρμογή πιέσεων της τάξης των 300 MPa και άνω, μείωσε μη αναστρέψιμα το μέγεθός τους κατά 50% σε σχέση με αυτό των καζεϊνικών μικκυλίων του νωπού γάλακτος (Huppertz, Fox & Kelly 2004c).

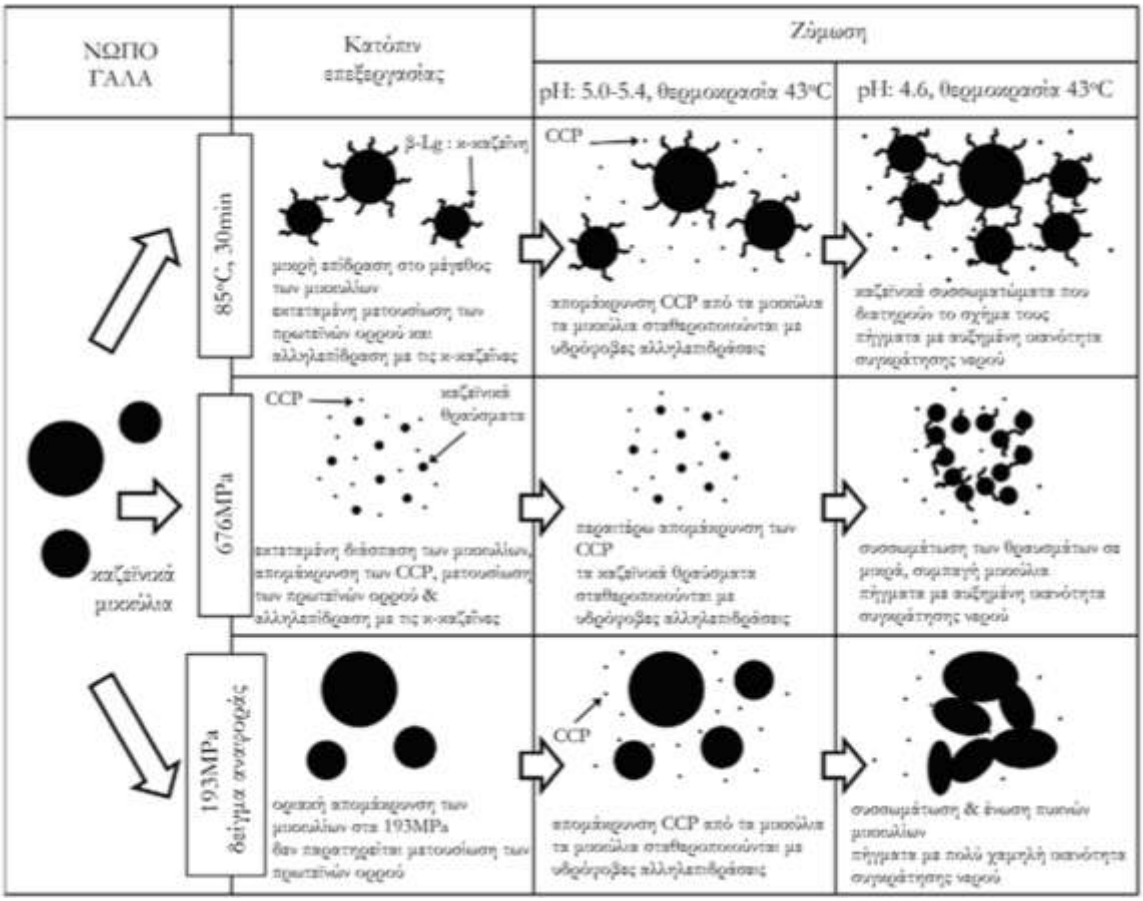
Αναφορικά με τις πρωτεΐνες του ορρού, μετουσίωση της α-γαλακτοαλβουμίνης δεν παρατηρήθηκε σε πιέσεις μικρότερες ή ίσες των 400 MPa, ενώ η β-γαλακτογλοβουλίνη μετουσιώθηκε σε πιέσεις μεγαλύτερες των 100 MPa (Huppertz et al. 2004b). Επιπλέον, η αλβουμίνη ορρού και η β-γαλακτογλοβουλίνη εμφανίζονται αρκετά πιο ευαίσθητες σε σχέση με την α-γαλακτοαλβουμίνη σε συνθήκες ΥΠ. Η ΥΠ επιδρά στην υδροφοβικότητα των πρωτεϊνών του ορού και προκαλεί αύξηση του αριθμού των θέσεων πρόσδεσης τους, με αποτέλεσμα την τροποποίηση τη δομής τους και τη βελτίωση των λειτουργικών τους ιδιοτήτων (Liu et al. 2005, Lee et al. 2006).

3.10.4 Επίδραση της ΥΠ στις ιδιότητες και τα χαρακτηριστικά του γιαουρτιού

Στην περίπτωση του γιαουρτιού, η τεχνολογία της ΥΠ μπορεί να εφαρμοστεί τόσο για την επεξεργασία του προς ζύμωση γάλακτος όσο και στο τελικό προϊόν.

Η επίδραση της ΥΠ κυρίως στις πρωτεΐνες του γάλακτος και στη μετέπειτα συσσωμάτωσή τους κατά τη διαδικασία της ζύμωσης, έχουν καταστήσει την επεξεργασία του γάλακτος με ΥΠ εξίσου και συχνά πιο αποτελεσματική σε σχέση με τη συμβατική θερμική επεξεργασία. Στην **Εικόνα 13** παρουσιάζεται σχηματικά η επίδραση της επεξεργασίας του γάλακτος και της ζύμωσης στα καζεϊνικά μικκύλια και τη δομή του σχηματιζόμενου πήγματος.

Από τις πρώτες εργασίες στην οποία μελετήθηκε η επίδραση της επεξεργασίας του γάλακτος με ΥΠ, στα ποιοτικά χαρακτηριστικά των παραγόμενων όξινων πηγμάτων ήταν αυτή των Needs et al. (2000b). Στην εργασία αυτή συγκρίθηκαν η επίδραση της ΥΠ (600 MPa/25°C/5 min), και η συμβατική θερμική επεξεργασία (85°C/ 20 min) του γάλακτος στα ποιοτικά χαρακτηριστικά των παραγόμενων όξινων πηγμάτων. Τα αποτελέσματά έδειξαν ότι η εφαρμογή της ΥΠ στο γάλα οδηγεί σε αύξηση του ρυθμού οξίνισης και μείωση του χρόνου ζύμωσης του γάλακτος σε σχέση με το θερμικά επεξεργασμένο γάλα. Ακόμα, η εφαρμογή της ΥΠ στο γάλα οδήγησε σε βελτιωμένα ρεολογικά χαρακτηριστικά των σχηματιζόμενων πηγμάτων, όπου παρατηρήθηκαν περισσότερο σφικτά πρωτεϊνικά δίκτυα μέσω ηλεκτρονικής μικροσκοπίας μετάδοσης (Transmission Electron Microscopy, TEM).



Εικόνα 13. Επίδραση της επεξεργασίας του γάλακτος και της ζύμωσης στα καζεϊνικά μικύλλια και τη δομή του σχηματιζόμενου πήγματος

Οι Harte et al. (2003) εφάρμοσαν ΥΠ στο γάλα, σε εύρος πιέσεων 300-676 MPa και θερμοκρασία 20°C για 10 min, μεμονομένα ή σε συνδυασμό με προηγούμενη ή συνεπακόλουθη θερμική επεξεργασία του προς ζύμωση γάλακτος. Τα αποτελέσματα τους έδειξαν ότι η επεξεργασία με ΥΠ του γάλακτος είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της φωτεινότητας των επεξεργασμένων με ΥΠ δειγμάτων γάλακτος, ενώ τα παραγόμενα όξινα πήγματα δεν εμφάνισαν διαφορές μεταξύ τους. Ακόμα, όταν η ΥΠ εφαρμόστηκε μεμονωμένα αλλά και στην περίπτωση όπου εφαρμόστηκε θερμική επεξεργασία του γάλακτος πριν την εφαρμογή της ΥΠ, το ιξώδες των δειγμάτων γάλακτος αυξήθηκε σε σχέση με αυτό των δειγμάτων από θερμικά επεξεργασμένο γάλα. Όσον αφορά στη συναίρεση των παραγόμενων πηγμάτων, τα καλύτερα αποτελέσματα προέκυψαν για τα δείγματα από θερμικά επεξεργασμένο και κατόπιν επεξεργασμένο με ΥΠ γάλα, στο εύρος πιέσεων των 400-500 MPa.

Με μία παρόμοια σειρά μελετών ασχολήθηκαν και οι Penna et al. (2006, 2007), όπου εφάρμοσαν επεξεργασία με ΥΠ στα 676 MPa και θερμοκρασία 20°C για 5 min, μεμονωμένα ή σε συνδυασμό με θερμική επεξεργασία (85°C/ 30 min), σε φρέσκο γάλα, προκειμένου να μελετήσουν τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των παραγόμενων όξινων πηγμάτων, με χρήση διαφορετικών ποσοστών εμβολιασμού και είδους καλλιέργειας εκκίνησης με υπερβιοτικούς μικροοργανισμούς (*Streptococcus thermophilus, Lactobacillus delbrueckii* ssp*. bulgaricus, Lactobacillus acidophilus* και *Bifidobacterium longum*). Τα αποτελέσματά τους έδειξαν ότι η εφαρμογή θερμικής επεξεργασίας του γάλακτος μετά την επεξεργασία του με ΥΠ και ποσοστό εμβολιασμού της καλλιέργειας 0,1% οδηγεί σε όξινα πήγματα με βελτιωμένα ρεολογικά χαρακτηριστικά και παραμέτρους υφής εμφανίζοντας ιδιαίτερα κρεμώδη και συνεκτική υφή.

Η επεξεργασία του προς ζύμωση γάλακτος με ΥΠ έχει χρησιμοποιηθεί και με σκοπό την **ομογενοποίηση** του. Οι Hernandez και Harte (2008) μελέτησαν την επίδραση της εφαρμογής της ομογενοποίησης πιέσεων 100-350 MPa, συνδυασμένη ή όχι με θερμική επεξεργασία (90°C/ 5 min), στα χαρακτηριστικά του γάλακτος και χημικά οξινισμένων (glucono-δ-lactone, GDL) πηγμάτων. Τα αποτελέσματά έδειξαν ότι, η αύξηση της εφαρμοζόμενης πίεσης επέφερε μείωση της φωτεινότητας των δειγμάτων γάλακτος, φαινόμενο το οποίο αναστρεφόταν όταν ακολουθούσε θερμική επεξεργασία του γάλακτος. Παρόλα αυτά, η αύξηση της εφαρμοζόμενης πίεσης δεν επηρέασε το χρόνο πήξης των δειγμάτων γάλακτος. Τα δείγματα φρέσκου γάλακτος εμφάνισαν παρόμοιους χρόνους πήξης με τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με υψηλές πιέσεις, ενώ τα δείγματα θερμικά επεξεργασμένου γάλακτος εμφάνισαν παρόμοιους χρόνους πήξης με αυτά που επεξεργάστηκαν με συνδυασμό υψηλών πιέσεων και θερμικής επεξεργασίας. Αναφορικά με τα χαρακτηριστικά των όξινων πηγμάτων, παρατηρήθηκε αύξηση του μέτρου αποθήκευσης (G΄) των δειγμάτων από γάλα επεξεργασμένο με συνδυασμό υψηλών πιέσεων και θερμικής επεξεργασίας, με την τιμή του G΄ να αυξάνεται αυξανομένης της πίεσης. Η ικανότητα συγκράτησης νερού των παραγόμενων όξινων πηγμάτων από γάλα επεξεργασμένο με συνδυασμό υψηλών πιέσεων και θερμικής επεξεργασίας αυξήθηκε ελαφρά σε σχέση με τα δείγματα από φρέσκο γάλα, και μόνο στην περίπτωση όπου χρησιμοποιήθηκε πίεση της τάξης των 350 MPa.

Οι Serra et al. (2007, 2008, 2009) χρησιμοποίησαν πιέσεις 100-300 MPa με σκοπό την **ομογενοποίηση** του γάλακτος σε συνδυασμό με θερμοκρασίες 30-40°C. Τα τελικά όξινα πήγματα που προέκυψαν συγκρίθηκαν με όξινα πήγματα από γάλα θερμικά επεξεργασμένο (90°C/ 90 s) με προσθήκη 3% κ.β. σκόνης αποβουτυρωμένου γάλακτος. Τα αποτελέσματά έδειξαν ότι τα πήγματα από γάλα επεξεργασμένο με πίεση 300 MPa

εμφάνισαν τις υψηλότερες τιμές ιξώδους και σφικτότητας, και τις χαμηλότερες τιμές συναίρεσης και οξύτητας σε σχέση με όλα τα μελετώμενα δείγματα. Επιπλέον, εμφάνισαν παρόμοιο βαθμό λιπόλυσης και προφίλ οργανικών οξέων σε σχέση με τα δείγματα αναφοράς.

Όσον αφορά στην εφαρμογή της ΥΠ στο **τελικό ζυμωμένο προϊόν**, οι Tanaka και Hatanaka (1992) εφάρμοσαν ένα εύρος πιέσεων της τάξης των 100-400, 700 και 1000 MPa σε ζυμωμένα προϊόντα. Τα αποτελέσματά τους έδειξαν ότι η επεξεργασία με πίεση μικρότερη των 200 MPa για 10 min σε θερμοκρασία δωματίου δεν επηρέασε τη μετα-οξίνηση του γιαουρτιού, τη βιωσιμότητα των γαλακτικών βακτηρίων ή την υφή του προϊόντος. Η επεξεργασία με πιέσεις 200-300 MPa δεν επηρέασε τη βιωσιμότητα των γαλακτικών βακτηρίων ή την υφή του προϊόντος, αλλά μείωση την μετα-οξίνιση του γιαουρτιού, πιθανότατα λόγω τραυματισμού των κυττάρων και επομένως βραδύτερης ανάπτυξής τους. Τέλος, σε πιέσεις μεγαλύτερες των 300 MPa για 10 min, η μετα-οξίνιση των δειγμάτων ήταν ελάχιστη και η βιωσιμότητα των βακτηρίων μειωνόταν αυξανομένης της πίεσης. Γενικά, η υφή των δειγμάτων γιαουρτιού δεν επηρεάστηκε από το μέγεθος της πίεσης όταν η επεξεργασία με ΥΠ λάμβανε χώρα σε θερμοκρασία μικρότερη των 20 °C.

Μία ακόμα μελέτη της εφαρμογής της ΥΠ στο **τελικό ζυμωμένο προϊόν** έχει πραγματοποιηθεί από τους de Ancos et al. (2000). Οι ερευνητές αυτοί μελέτησαν την επίδραση της επεξεργασίας γιαουρτιού με ΥΠ στα ποιοτικά χαρακτηριστικά των τελικών προϊόντων χρησιμοποιώντας πιέσεις της τάξης των 100-400 MPa για 15 min σε θερμοκρασία 20°C. Τα αποτελέσματά τους επιβεβαίωσαν την μελέτη των Tanaka και Hatanaka αναφορικά με τη βιωσιμότητα των μικροοργανισμών της καλλιέργειας εκκίνησης και το γεγονός ότι τα επεξεργασμένα με ΥΠ προϊόντα παρουσιάζουν μειωμένη μετα-οξίνιση. Σχετικά με τη συναίρεση των επεξεργασμένων με ΥΠ γιαουρτιών, αυτή βρέθηκε μειωμένη σημαντικά συγκριτικά με αυτή των δειγμάτων που δεν επεξεργάστηκαν με ΥΠ. Η μείωση της συναίρεσης ήταν ανάλογη της ανάλογη της αύξησης της εφαρμοζόμενης πίεσης. Η οργανοληπτική αξιολόγηση των παραγόμενων προϊόντων έδειξε ότι, τα επεξεργασμένα με ΥΠ προϊόντα σε πιέσεις 200-300 MPa εμφάνισαν τις υψηλότερες βαθμολογίες, είχαν παρόμοια εμφάνιση με τα μη επεξεργασμένα με ΥΠ προϊόντα, ενώ τα προϊόντα ου επεξεργάστηκαν στα 400 MPa εμφάνισαν συναίρεση και χαρακτηρίστηκαν από μειωμένη γεύση.

Οι Patrignani et al. (2009) μελέτησαν την επίδραση της ομογενοποίησης του γάλακτος με ΥΠ (60 MPa/5°C) κατόπιν θερμικής επεξεργασίας του (90°C, 20 min) στα ποιοτικά χαρακτηριστικά των παραγόμενων γιαουρτιών και στη βιωσιμότητα των περιεχόμενων σε

αυτά μικροοργανισμών. Η ζύμωση του γάλακτος ακολούθησε το στάδιο της επεξεργασίας με ΥΠ. Η καλλιέργεια εκκίνησης περιείχε του μικροοργανισμούς *Streptococcus thermophilus* και *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, ενώ στο μισό μίγμα του προς ζύ,ωση γάλακτος προστέθηκαν και οι **υπερβιοτικοί μικροοργανισμοί** *Lb. acidophilus* και *Lb. paracasei*. Τα αποτελέσματά τους έδειξαν πως η χρήση της ΥΠ αύξησε τη βιωσιμότητα του Streptococcus thermophilus, ενώ η βιωσιμότητα των υπόλοιπων τριών στελεχών παρέμεινε ίδια με αυτή στα όξινα πήγματα που προέρχονταν από θερμικά επεξεργασμένο γάλα. Επιπλέον, τα δείγματα που είχαν επεξεργαστεί με ΥΠ εμφάνισαν μεγαλύτερη συνεκτικότητα σε σχέση με τα θερμικά επεξεργασμένα. Η συνεκτικότητα ήταν ακόμα μεγαλύτερη στα επεξεργασμένα με ΥΠ δείγματα που περιείχαν υπερβιοτικούς μικροοργανισμούς. Όσον αφορά στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, τα θερμικά επεξεργασμένα πήγματα έλαβαν καλύτερη βαθμολογία γεύσης έναντι των επεξεργασμένων με ΥΠ.

Οι Tsevdou και Taoukis (2011) μελέτησαν την επίδραση της επεξεργασίας με ΥΠ στη βιωσιμότητα **υπερβιοτικών μικροοργανισμών** του γένους *Bifidobacterium*. Το επεξεργαζόμενο δείγμα που περιείχε τον υπερβιοτικό μικροοργανισμό ήταν σύστημα μοντέλο με pH 4,8. Η επεξεργασία των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε σε διάφορους συνδυασμούς πιέσεων (100-400 MPa) και θερμοκρασίας (20-35°C). Τα αποτελέσματά τους έδειξαν πως σε πιέσεις 100 MPa και χαμηλών θερμοκρασιών (20-25°C) δεν παρατηρήθηκε μείωση της βιωσιμότητας των μικροοργανισμών. Επιπλέον, παρατηρήθηκε συνεργιστική δράση της πίεσης και της θερμοκρασίας με τη βιωσιμότητα των μικροοργανισμών να μειώνεται αυξανομένης είτε της πίεσης είτε της θερμοκρασίας. Τέλος, η βιωσιμότητα των *Bifidobacterium* spp. επηρεάστηκε σημαντικά από τη θερμοκρασία σε χαμηλές πιέσεις, ενώ σε πιέσεις άνω των 400 MPa η επίδραση της θερμοκρασίας ήταν μικρότερη.

Κρίνοντας από τις παραπάνω μελέτες, είναι σαφές πως η εφαρμογή της ΥΠ, είτε ως μέθοδος επεξεργασίας του γάλακτος είτε ως μέθοδος επεξεργασίας των ήδη ζυμωμένων πηγμάτων, έχει ως αποτέλεσμα τη βελτίωση των ποιοτικών και οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του τελικού προϊόντος και την ενδεχόμενη επιμήκυνση της διατηρησιμότητάς του. Επιπλέον, ενώ έχουν γίνει έρευνες για την εφαρμογή της ΥΠ σε ήδη ζυμωμένα γαλακτοκομικά προϊόντα, δεν υπάρχουν ερευνητικά δεδομένα για τη δυνατότητα εφαρμογής της ΥΠ σε λειτουργικά προϊόντα με υπερβιοτικούς μικροοργανισμούς.

4 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

4.1 Εισαγωγή

Αντικείμενο της παρούσας εργασίας αποτέλεσε η μελέτη της επίδρασης της επεξεργασίας με ΥΠ σαν τελικό στάδιο παραγωγής πόσιμων επιδόρπιων γιαουρτιού με υπερβιοτικούς μικροοργανισμούς (*Bifidobacteium animalis* subsp. *lactis* BB12 και *Lactobacillus acidophilus* LA5). Η επεξεργασία των παραγόμενων ζυμωμένων προϊόντων με ΥΠ πραγματοποιήθηκε σε συνθήκες πίεσης 100-400 MPa και θερμοκρασία περιβάλλοντος στο τελικό στάδιο της παραγωγικής διαδικασίας των λειτουργικών επιδόρπιων γιαουρτιού. Η επεξεργασία των μελετώμενων δειγμάτων περιλάμβανε την παραγωγή: α) προϊόντων επεξεργασμένων μόνο με συμβατική ομογενοποίηση (κοινή βιομηχανική πρακτική-Control), β) προϊόντων επεξεργασμένων με ΥΠ μετά την επεξεργασία του με τη συμβατική ομογενοποίηση (Homo-HP), και γ) προϊόντων επεξεργασμένων μόνο με ΥΠ (HP). Τα επεξεργασμένα προϊόντα μελετήθηκαν τόσο ως προς τη βιωσιμότητα της περιεχόμενης υπερβιοτικής καλλιέργειας, προκειμένου να διαπιστωθεί η διατήρηση της λειτουργικότητάς τους, όσο και ως προς ποικίλα ποιοτικά χαρακτηριστικά (π.χ. φυσικοχημικές παράμετροι, ρεολογία), και περιλάμβαναν προϊόντα φυσικής γεύσης και προϊόντα με γεύση κεράσι. Όσον αφορά στην παραγωγή της κάθε σειράς δειγμάτων πραγματοποιήθηκαν δύο επαναλήψεις.

4.2 Πρώτες ύλες

Για την παραγωγή των πόσιμων επιδορπίων γιαουρτιού χρησιμοποιήθηκε εμπορικό φρέσκο παστεριωμένο γάλα περιεκτικότητας 3,5% σε λιπαρά και 3,2% σε πρωτεΐνες.

Για τη ζύμωση των προϊόντων χρησιμοποιήθηκε εμπορική καλλιέργεια εκκίνησης, η οποία περιέχει τους θερμόφιλους μικροοργανισμούς *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* και *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (YC- X11, Chr. Hansen, Hellas). Οι υπερβιοτικοί μικροοργανισμοί που χρησιμοποιήθηκαν συνιστούν καθαρές εμπορικές καλλιέργειες των στελεχών *Lactobacillus acidophilus* LA-5 και *Bifidobacterium* animalis subsp. *lactis* BB12 (Chr. Hansen, Hellas).

Για την παραγωγή πόσιμων επιδόρπιων γιαουρτιού με γεύση χρησιμοποιήθηκε εμπορικό σιρόπι κερασιού (Olympic Foods A.E.). Τα βασικά συστατικά του σιροπιού ήταν νερό,

ζάχαρη, σιρόπι γλυκόζης, χυμός κερασιού, πηκτίνη, κιτρικό οξύ, αρώματα, ξανθάνη, σορβικό κάλιο, καρμίνιο και αννάτο.

4.3 Προετοιμασία των εμβολίων των χρησιμοποιούμενων μικροοργανισμών

4.3.1 Προετοιμασία της καλλιέργειας εκκίνησης

Σε αποστειρωμένο γυάλινο δοχείο ζυγίστηκαν 450 g υπερπαστεριωμένου γάλακτος 0% σε λιπαρά (γάλα UHT, ΦΑΓΕ Α.Ε.) και προστέθηκε το περιεχόμενο του φακέλου της εμπορικής καλλιέργειας εκκίνησης (1:5 w/w). Ακολούθησε μαγνητική ανάδευση έως ότου παρατηρήθηκε πλήρης διάλυση της λυοφιλιωμένης καλλιέργειας.

4.3.2 Προετοιμασία του εμβολίου των υπερβιοτικών μικροοργανισμών

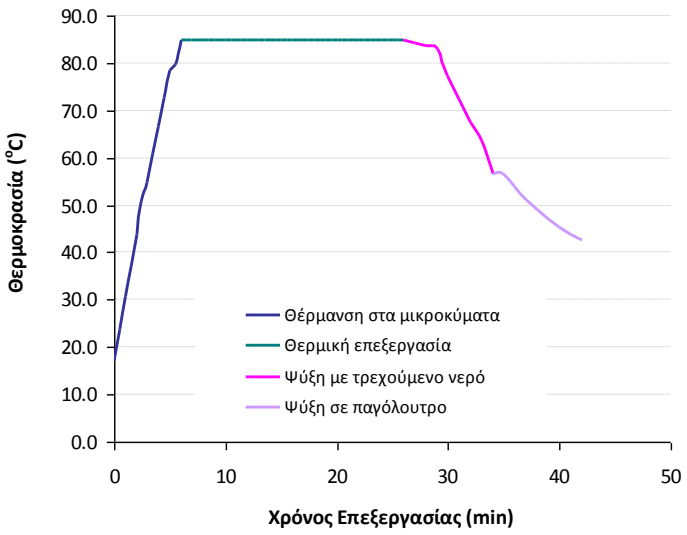
Σε αποστειρωμένους σωλήνες (eppendorf tubes) ζυγίστηκαν οι επιθυμητές ποσότητες των έτοιμων προς χρήση εμπορικών λυοφιλιωμένων καλλιεργειών *Lactobacillus acidophilus* LA-5 και *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB12 (Chr. Hansen, Hellas).

4.4 Θερμική επεξεργασία

Η θερμική επεξεργασία του γάλακτος πραγματοποιήθηκε σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 85˚C για 20min. Τα δείγματα γάλακτος ζυγίστηκαν και τοποθετήθηκαν σε αποστειρωμένα γυάλινα δοχεία χωρητικότητας 2000 mL. Προκειμένου τα δείγματα να αποκτήσουν την επιθυμητή θερμοκρασία (85°C) προθερμάνθηκαν σε φούρνο μικροκυμάτων. Μετά την ολοκλήρωση της θερμικής επεξεργασίας τα δείγματα ψύχθηκαν έως τους ~43,0°C με χρήση τρεχούμενου νερού και ακολούθως παγόλουτρου υπό ασηπτικές συνθήκες (**Εικόνα 14**).

4.5 Ζύμωση γάλακτος

Τα θερμικά επεξεργασμένα δείγματα γάλακτος τοποθετήθηκαν υπό ασηπτικές συνθήκες σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 43,0±0,5°C. Κατόπιν, τα δείγματα εμβολιάστηκαν με την εμπορική καλλιέργεια εκκίνησης και τις εμπορικές υπερβιοτικές καλλιέργειες και ακολούθησε επώαση έως ότου η τιμή του pH του δείγματος έφτασε την τιμή 4,8.



Εικόνα 14. Διάγραμμα θέρμανσης-ψύξης

4.6 Ανάδευση/Ομογενοποίηση του πήγματος

Μετά το τέλος της επώασης, τα δοχεία με το γιαούρτι απομακρύνθηκαν απο το υδατόλουτρο και με χειροκίνητη ανάδευση διαρρήχθηκε το πήγμα τους. Αμέσως μετά την ανάδευση του πήγματος, το γιαούρτι χωρίστηκε σε τρεις ποσότητες, καθέμια από τις οποίες επεξεργάστηκε διαφορετικά. Συγκεκριμένα:

- <u>Δείγματα αναφοράς (Control)</u>

  Τα δείγματα επεξεργάστηκαν με ομογενοποίηση. Κατόπιν σφραγίστηκαν σε μηχάνημα συσκευασίας υπό κενό σε αποστειρωμένα σακουλάκια των 180 g από πολυστρωματικό υλικό (PE, φύλλο αλουμινίου, PP) και αποθηκεύτηκαν σε θάλαμο σταθερής θερμοκρασίας.

- <u>Δείγματα επεξεργασμένα με ΥΠ (HP)</u>

  Τα δείγματα συσκευάστηκαν κατευθείαν σε σακουλάκια των 180g από πολυστρωματικό υλικό και επεξεργάστηκαν με ΥΠ.

- <u>Δείγματα επεξεργασμένα με Ομογενοποίηση και ΥΠ (Homo-HP)</u>

  Τα δείγματα ομογενοποιήθηκαν, συσκευάστηκαν σε σακουλάκια των 180 g από πολυστρωματικό υλικό και εν συνεχεία επεξεργάστηκαν με ΥΠ.

4.7 Επεξεργασία με Ομογενοποίηση

Η επεξεργασία με ομογενοποίηση του δείγματος γιαουρτιού πραγματοποιήθηκε σε ένα στάδιο με εφαρμοζόμενη πίεση 10 bar σε ομογενοποιητή δύο σταδίων (APV1000, Denmark).

4.8 Επεξεργασία με Υπερυψηλή Πίεση

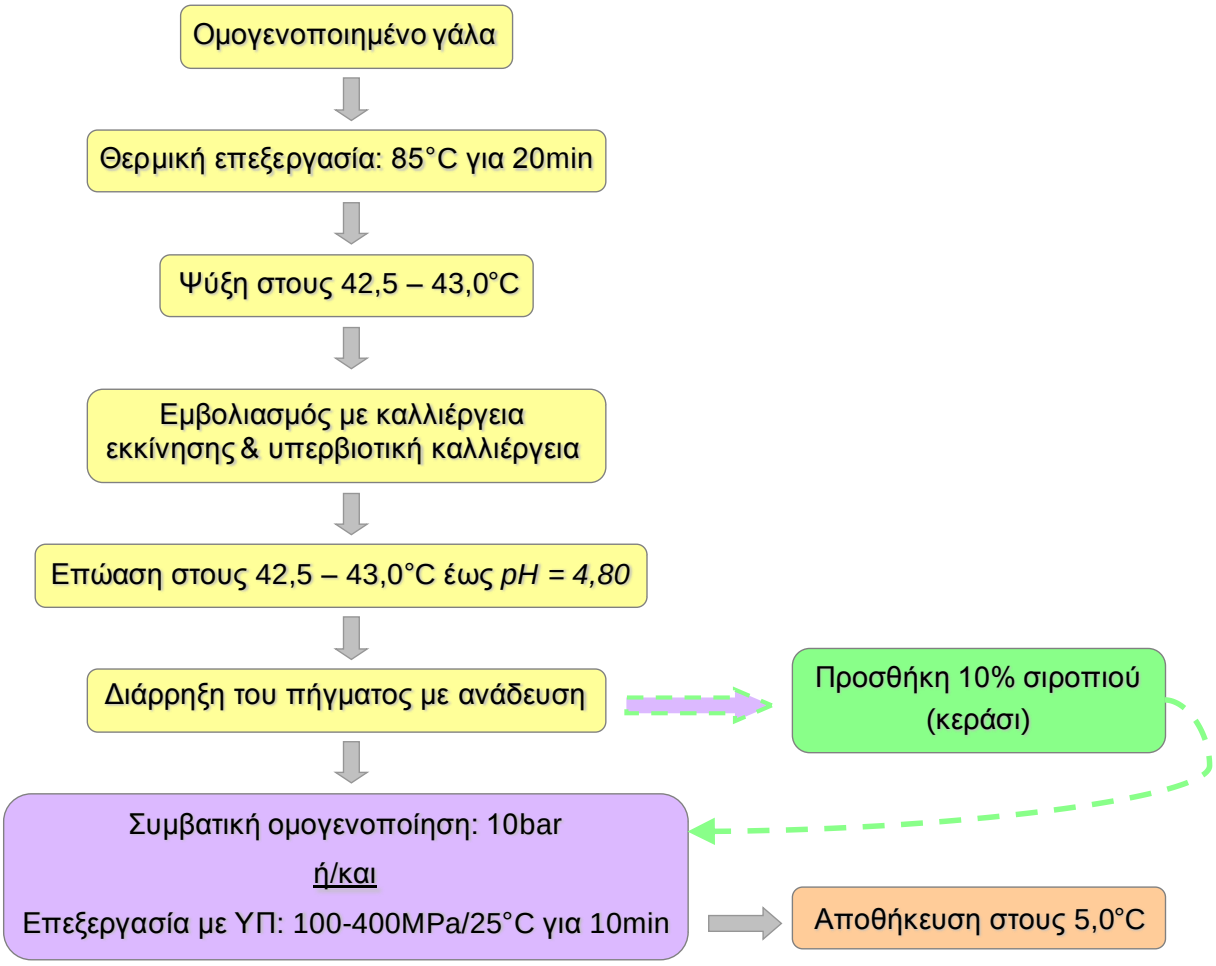
Για την επεξεργασία του δείγματος γιαουρτιού με ΥΠ χρησιμοποιήθηκε πιλοτική μονάδα ΥΠ (**Εικόνα 15**), Food Pressure Unit FPU 1.01, Resato International BV, Roden, Netherlands) η οποία περιλαμβάνει θάλαμο υπερυψηλής πίεσης όγκου 1,5L. Η μονάδα αποτελείται από ένα σύστημα δημιουργίας υδραυλικής πίεσης (100-1000MPa) και ο θάλαμος περιβάλλεται από θερμό-ψυκτικό σύστημα με ανακυκλοφορία (10-100°C) ώστε να επιτυγχάνεται η επιθυμητή θερμοκρασία. Ως μέσο μεταφοράς της πίεσης χρησιμοποιείται πολυγλυκόλη (polyglycol ISO viscosity class VC 15) και για το λόγο αυτό τα δείγματα συσκευάστηκαν κατάλληλα. Έτσι, δείγματα γιαουρτιού, ποσότητας 180 g, συσκευάστηκαν σε σακουλάκια από πολυστρωματικό υλικό (PE, φύλλο αλουμινίου, PP) και σφραγίστηκαν σε μηχάνημα συσκευασίας υπό κενό. Για την αποφυγή διαρροής του δείγματος ή επαφής του με την πολυγλυκόλη, τα σακουλάκια τοποθετήθηκαν σε δεύτερη συσκευασία. Κατόπιν τα δείγματα επεξεργάστηκαν σε πιέσεις 100-400 MPa και θερμοκρασία 25°C για 10 min. Τόσο η πίεση όσο και η θερμοκρασία επεξεργασίας των δειγμάτων γιαουρτιού καταγραφόταν καθ' όλη τη διάρκεια της συμπίεσης μέσω κατάλληλου λογισμικού.

Εικόνα 15. Γενική άποψη της πιλοτικής μονάδας της ΥΠ & λεπτομερής άποψη της μονάδας επεξεργασίας τροφίμων όγκου 1,5 L

4.9 Αποθήκευση

Τα δείγματα αποθηκεύτηκαν σε θάλαμο σταθερής θερμοκρασίας 4,9±0,3°C αμέσως μετά την παραγωγή τους. Προκειμένου να συγκριθούν τα αποτελέσματα των εφαρμοσμένων επεξεργασιών στα προϊόντα, οι μετρήσεις των ποιοτικών χαρακτηριστικών τους πραγματοποιήθηκαν την πρώτη μέρα μετά της παραγωγή τους (D+1), την 15η (D+15) και την 28η (D+28).

Σχηματικά, η πειραματική διαδικασία παραγωγής όλων των δειγμάτων πόσιμων επιδόρπιων γιαουρτιού παρουσιάζεται παρακάτω (**Εικόνα 16**).



Εικόνα 16. Πειραματική διαδικασία παραγωγής πόσιμων επιδόρπιων γιαουρτιού

4.10 Μελετώμενες παράμετροι

Οι ποιοτικές παράμετροι που μελετήθηκαν ήταν η βιωσιμότητα των μικροοργανισμών, η μετρούμενη και τιτλοδοτούμενη οξύτητα, η δυνατότητα συγκράτησης νερού, το χρώμα και ο προσδιορισμός των ρεολογικών ιδιοτήτων των παραγόμενων πηγμάτων. Οι μετρήσεις των ποιοτικών παραμέτρων πραγματοποιήθηκαν σε διπλά δείγματα.

4.11 Μικροβιολογικός έλεγχος

Ο μικροβιολογικός έλεγχος πραγματοποιήθηκε σε καμπίνα μικροβιολογικής ασφάλειας MN-120, NÜVE. Η καμπίνα διαθέτει τζάμι στο μπροστινό της μέρος προκειμένου να εμποδίζεται η επαφή του πειραματιστή με τα μελετώμενα προϊόντα. Στο άνοιγμα στο οποίο εργάζεται ο πειραματιστής υπάρχουν εσοχές για την εισαγωγή αέρα ως προς κατευθύνεται προς το πάνω μέρος και διέρχεται μέσω φίλτρων ώστε να ελαχιστοποιείται η επιμόλυνση των μελετώμενων δειγμάτων από μικροοργανισμούς του περιβάλλοντος. Στο εσωτερικό της καμπίνας υπήρχε φλόγα και τα χέρια του πειραματιστή απολυμαίνονταν με αιθανόλη πριν την εργασία του για μεγαλύτερη ασφάλεια.

4.11.1 Παρασκευή θρεπτικών υποστρωμάτων

Τα ζωντανά κύτταρα των περιεχόμενων καλλιεργειών μετρήθηκαν με τη μέθοδο ανάπτυξης σε επιλεκτικά θρεπτικά υποστρώματα υπό αερόβιες ή αναερόβιες συνθήκες. Συγκεκριμένα, το στέλεχος *Str. thermophilus* προσδιορίστηκε στο επιλεκτικό υπόστρωμα M17 Agar (Merck, 1.15108) (55 g/1000 mL απιονισμένου νερού), το στέλεχος *L. bulgaricus* σε MRS Agar (Merck, 1.10660) (68,2 g/1000 mL απιονισμένου νερού) με τροποποιημένη τιμή pH στο 4,58 με τη βοήθεια διαλύματος HCl 1M, το στέλεχος L. *acidophilus* στο επιλεκτικό υπόστρωμα MRS Agar (Merck, 1.10660) (68,2 g/1000 mL απιονισμένου νερού) και το στέλεχος *B. lactis* σε υπόστρωμα MRS – NNLP/L-cysteine-HCL (5% κ.ό. διαλύματος NNLP[1] και 3% w/v διαλύματος L-cysteine-HCL[2]).

Μετά την προετοιμασία των επιλεκτικών υποστρωμάτων στις κωνικές φιάλες, ακολούθησε αποστείρωση αυτών σε αυτόκλειστο (Sanyo MLS-2420U) στους 121°C για 15 min και έπειτα διατήρηση αυτών, μέχρι τη χρήση τους, σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 50-60°C, ώστε να αποφευχθεί η στερεοποίηση των υποστρωμάτων.

[1] Το διάλυμα NNLP αποτελείται από τα ακόλουθα συστατικά: 200mg paromomycin sulfate, 100mg neomycin sulfate, 15mg nalidixic acid και 3g lithium chloride ανά λίτρο διαλύματος (Tharmaraj and Shah, 2004).
[2] Το διάλυμα L-cysteine-HCL αποτελείται από: 0,075g L-cysteine HCl (Serva, 17769)/ 5mL απιονισμένου νερού

4.11.2 Τεχνική διαδοχικών αραιώσεων

Με μεγάλη προσοχή τοποθετήθηκαν 10 g από κάθε δείγμα γιαουρτιού σε ασηπτικούς σάκους, στους οποίους προστέθηκαν 90 g αποστειρωμένου ορού Ringer (1.15525, Merck, Germany) και το περιεχόμενο των σάκων ομογενοποιήθηκε για 60 s σε ομογενοποιητή σάκων (BagMixer ® interscience, France). Έτσι, προέκυψε η μηδενική αραίωση των δειγμάτων γιαουρτιού. Από τα δείγματα μηδενικής αραίωσης λήφθηκε ποσότητα 1mL διαλύματος με χρήση αυτόματης πιπέτας και αποστειρωμένου ρύγχους και τοποθετήθηκε σε αποστειρωμένο δοκιμαστικό σωλήνα που περιείχε 9 mL ορού Ringer. Ο δοκιμαστικός σωλήνας αναδεύτηκε καλά ώστε το καινούργιο διάλυμα να είναι ομοιογενές. Το διάλυμα αυτό χαρακτηρίστηκε ως 10^{-1} αραίωση. Στη συνέχεια, με χρήση καινούργιου ρύγχους λήφθηκε ποσότητα 1 mL από αυτό το διάλυμα και τοποθετήθηκε σε επόμενο δοκιμαστικό σωλήνα που περιείχε ίδια ποσότητα ορού Ringer και αναδεύτηκε καλά. Το διάλυμα αυτό χαρακτηρίστηκε ως 10^{-2} αραίωση. Η ίδια διαδικασία επαναλήφθηκε έως την αραίωση 10^{-7}.

4.11.3 Ανάπτυξη αποικιών στα θρεπτικά υποστρώματα

Str. thermophilus (αερόβια ανάπτυξη)

Το M17 Agar αφού ψύχθηκε ελαφρώς στρώθηκε σε αποστειρωμένα τρυβλία Petri, τα οποία ανακινήθηκαν ώστε το θρεπτικό υλικό να καλύψει ομοιόμορφα τον πυθμένα του τρυβλίου. Αφού ψύχθηκε και στερεοποιήθηκε η ποσότητα αυτή μέσα στο τρυβλίο προστέθηκε σε αυτά, με χρήση αυτόματης πιπέτας και αποστειρωμένου ρύγχους, 0,1 mL από την επιθυμητή αραίωση κάθε δείγματος. Με χρήση αποστειρωμένου κρικοφόρου στυλεό, κατανεμήθηκε ομοιόμορφα κάθε αραίωση στην επιφάνεια του στερεού θρεπτικού υλικού. Στη συνέχεια τα τρυβλία σκεπάστηκαν με τα καπάκια τους, γυρίστηκαν ανάποδα και τοποθετήθηκαν σε αποστειρωμένες σακούλες. Κατόπιν οι σακούλες αυτές τοποθετήθηκαν σε κλίβανο θερμοκρασίας 37°C και επωάστηκαν για 24 h. Η δειγματοληψία πραγματοποιήθηκε εις διπλούν για κάθε αραίωση για καλύτερη και ακριβέστερη μελέτη αποτελεσμάτων.

L. bulgaricus (αναερόβια ανάπτυξη)

Το επιλεκτικό θρεπτικό υπόστρωμα για το συγκεκριμένο μικροοργανισμό ήταν MRS Agar με τροποποιημένη τιμή pH. Αφού παρασκευάστηκε η απαραίτητη ποσότητα διαλύματος του υποστρώματος, πριν εισαχθεί η κωνική φιάλη στο αυτόκλειστο αποστείρωσης, προστέθηκε στο διάλυμα με αυτόματη πιπέτα ποσότητα από διάλυμα HCl 1 M, έως ότου η

τιμή του pH φτάσει το 4,58. Στη συνέχεια η κωνική φιάλη αποστειρώθηκε. Το υπόστρωμα, αφού ψύχθηκε ελαφρώς, στρώθηκε στα τρυβλία που περιείχαν 1 mL από την επιθυμητή αραίωση των δειγμάτων, σε ποσότητα τέτοια ώστε να καλύπτεται η επιφάνεια του πυθμένα του τρυβλίου και παράλληλα η στρώση να είναι αρκετά λεπτή. Στη συνέχεια τα τρυβλία ανακινήθηκαν ελαφρώς, ώστε να εξασφαλίζεται ομοιόμορφη κατανομή του διαλύματος, και αφέθηκαν να κρυώσουν και να στερεοποιηθεί το θρεπτικό υλικό. Ακολούθησε δεύτερη στρώση θρεπτικού υλικού σε ίδια ποσότητα ώστε να καλυφθεί η επιφάνεια του τρυβλίου, διαδικασία με την οποία εξασφαλίστηκαν οι αναερόβιες συνθήκες ανάπτυξης των βακτηρίων. Όταν στερεοποιήθηκε και η δεύτερη στρώση του θρεπτικού υλικού, τα τρυβλία κλείστηκαν με τα καπάκια τους, γυρίστηκαν ανάποδα και τοποθετήθηκαν σε κατάλληλα δοχεία αναερόβιου περιβάλλοντος (anaerobic jars, Merck, 1.16387, Germany) στις οποίες προστέθηκε και καταλύτης (Anaerocult A, Merck, 1.13829, Germany) ώστε να επιταχυνθεί η ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Τα δοχεία που περιείχαν τα υποστρώματα του *L. bulgaricus* τοποθετήθηκαν σε κλίβανο θερμοκρασίας 45°C και αφέθηκαν για επώαση για 72 h.

L. acidophilus (αναερόβια ανάπτυξη)

Το επιλεκτικό θρεπτικό υπόστρωμα για το συγκεκριμένο μικροοργανισμό ήταν MRS Agar. Αφού παρασκευάστηκε η απαραίτητη ποσότητα διαλύματος του υποστρώματος και αποστειρώθηκε ακολουθήθηκε η ίδια διαδικασία που πραγματοποιήθηκε και για την αναερόβια ανάπτυξη του *L. bulgaricus*, με χρήση βέβαια της επιθυμητής αραίωσης του δείγματος. Τα τρυβλία για τον *L. acidophilus* επωάστηκαν στους 37°C για 72 h.

B. lactis (αναερόβια ανάπτυξη)

Το επιλεκτικό θρεπτικό υπόστρωμα για το συγκεκριμένο μικροοργανισμό ήταν MRS – NNLP/L-cysteine-HCL (5% w/v διαλύματος NNLP και 3% w/v διαλύματος L-cysteine-HCL). Αφού παρασκευάστηκε η απαραίτητη ποσότητα διαλύματος MRS Agar και αποστειρώθηκε, ψύχθηκε ελαφρώς και προστέθηκαν σε αυτό οι κατάλληλες ποσότητες διαλύματος NNLP και διαλύματος L-cysteine HCl με χρήση μικροφίλτρων. Η διαδικασία που ακολουθήθηκε για την ανάπτυξη του *B. lactis* είναι η ίδια με αυτήν που πραγματοποιήθηκε για την αναερόβια ανάπτυξη του *L. bulgaricus*, με χρήση βέβαια της

επιθυμητής αραίωσης του δείγματος. Τα τρυβλία για τον *B. lactis* επωάστηκαν στους 37°C για 72 h.

4.11.4 Καταμέτρηση των αποικιών των μελετώμενων μικροοργανισμών

Μετά το πέρας των απαιτούμενων για κάθε μικροοργανισμό ημερών επώασης, τα τρυβλία απομακρύνθηκαν από τους κλιβάνους επώασης και πραγματοποιήθηκε σε αυτά καταμέτρηση των αποικιών. Όσο πιο μικρή ήταν η αραίωση του δείγματος, τόσο πιο πυκνές και δυσδιάκριτες εμφανίζονταν οι σχηματιζόμενες αποικίες. Η μέτρηση των αποικιών πραγματοποιήθηκε στην αραίωση εκείνη όπου υπήρχαν 50-200 αποικίες ανά τρυβλίο για λόγους μεγαλύτερης ακρίβειας. Οι μετρήσεις των αποικιών έγιναν με τη χρήση συσκευής μέτρησης αποικιών Astor 20 Colony Counter (**Εικόνα 17**, Astori, Italy).

Εικόνα 17. Colony Counter Astor 20

4.11.5 Υπολογισμός μικροβιακού φορτίου

Ο αριθμός των αποικιών που μετρώνται σε ένα τρυβλίο πολλαπλασιαζόμενος με τον αντίστροφο της αραίωσης στην οποία μετρήθηκε δίνει τις ικανές αποικίες να σχηματίσουν βιολογικές μονάδες ανά γραμμάριο ή mL δείγματος (CFU/g ή mL δείγματος). Συνήθως όταν πρόκειται για την επεξεργασία αποτελεσμάτων προτιμάται ο δεκαδικός λογάριθμος του πληθυσμού των μελετώμενων μικροοργανισμών:

Μικροβιακό Φορτίο (CFU/g) =

$$=\log_{10}(\text{Μετρούμενες αποικίες/Αραίωση δείγματος})$$

4.12 Μέτρηση οξύτητας

Η μέτρηση της οξύτητας των δειγμάτων έγινε με μέτρηση της τιμής του pH και μέσω τιτλοδότησης με διάλυμα NaOH 0,1 N.

Μετρούμενη οξύτητα

Κατόπιν ρύθμισης της συσκευής μέτρησης του pH με τα κατάλληλα ρυθμιστικά διαλύματα, τα δείγματα γιαουρτιού ανακινήθηκαν ώστε να εξασφαλιστεί ομοιογένεια, μετρήθηκαν και η εκάστοτε τιμή pH σημειώθηκε.

Τιτλοδοτούμενη οξύτητα

Σε κωνικές φιάλες ζυγίστηκαν 20 g από κάθε δείγμα, προστέθηκαν 20 g απαερωμένου απιονισμένου νερού, μερικές σταγόνες δείκτη φαινολοφθαλεΐνης και έπειτα ανακινήθηκαν καλά. Τα διαλύματα των δειγμάτων τιτλοδοτήθηκαν με διάλυμα NaOH 0,1 N και καταγράφηκε η εκάστοτε κατανάλωση διαλύματος NaOH σε mL. Η οξύτητα εκφράζεται σε % γαλακτικό οξύ μέσω της σχέσης (IDF 1991):

$$\%\gamma\alpha\lambda\alpha\kappa\tau\iota\kappa\acute{o}\ o\xi\acute{\upsilon} = \frac{mL\ NaOH \cdot 0{,}09 \cdot 0{,}1}{20} \cdot 100$$

4.13 Ικανότητα συγκράτησης νερού

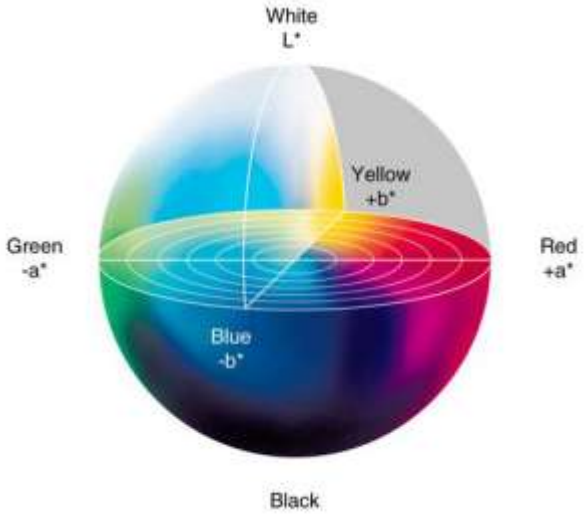
Η ικανότητα συγκράτησης νερού μελετήθηκε ως προς την ποσότητα αποβαλλόμενου ορού από 10 g προϊόντος έπειτα από φυγοκέντρησή τους (Hermle Z 380, Hermle Labortechnic GmbH, Wehingen, Germany) σε συνθήκες 20°C και 10.000 rpm για 20 min (Harte et al. 2003).

4.14 Χρώμα

Η μέτρηση του χρώματος των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε με χρωματόμετρο Minolta CR200 (Minolta Co., Chuo-Ku, Osaka, Japan) στη χρωματική κλίμακα CIELab. Τα δείγματα ύστερα από ανάδευση τοποθετήθηκαν σε γυάλινα τρυβλία όπου και μετρήθηκαν. Το χρωματόμετρο πριν από κάθε μέτρηση βαθμονομήθηκε χρησιμοποιώντας τη λευκή πλάκα αναφοράς του οργάνου. Το ολικό χρώμα των δειγμάτων υπολογίστηκε μέσω της σχέσης:

$$E = \sqrt{a^2 + b^2 + L^2}$$

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) (**Εικόνα 18**).



Εικόνα 18. Σχηματική απεικόνιση της χρωματικής κλίμακας CIELab

4.15 Ρεολογικές ιδιότητες

Οι ρεολογικές ιδιότητες των δειγμάτων προσδιορίστηκαν με περιστροφικό ιξωδόμετρο (RC1 Rheometer, Rheotec Meßtechnic GmbH, Raderburg, Germany) σε σταθερή θερμοκρασία 10°C με τη χρήση συνδεδεμένου λουτρού (RE312, Lauda GmbH, Germany). Ποσότητα ίση με 75 mL δείγματος τοποθετήθηκε στο κυλινδρικό εξάρτημα του οργάνου (MS-CC48 DIN/FTK). Οι μετρήσεις παραγματοποιήθηκαν για δύο περιοχές ρυθμών διάτμησης, αρχικά για μεταβαλλόμενο ρυθμό διάτμησης από 5 έως 200 s^{-1} και κατόπιν για σταθερό ρυθμό διάτμησης 200 s^{-1}. Προκειμένου να αναλυθεί η ρεολογική συμπεριφορά των δειγμάτων, τα δεδομένα προσαρμόστηκαν στο μοντέλο Ostwald-de Waele:

$$\sigma = \mathrm{K} \cdot \gamma^n$$

όπου, σ είναι η διατμητική τάση (Pa), K είναι ο συντελεστής συνεκτικότητας ($Pa \cdot s^{-n}$), γ είναι ο ρυθμός διάτμησης (s^{-1}) και, n είναι ο δείκτης ρεολογικής συμπεριφοράς.

Το φαινόμενο ιξώδες των δειγμάτων υπολογίστηκε για τιμή ρυθμού διάτμησης ίση με 50 s^{-1}, που αντιπροσωπεύει και τη διαδικασία αντίληψης της υφής στο στόμα για τρόφιμα χαμηλού ιξώδους (Stanley and Taylor 1993).

4.16 Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων

Ο προσδιορισμός των κύριων επιδράσεων των μελετώμενων παραγόντων (επεξεργασία των δειγμάτων, επίπεδο εφαρμοζόμενης πίεσης, χρόνος αποθήκευσης δειγμάτων) και οι αλληλεπιδράσεις τους στα πειραματικά δεδομένα έγινε μέσω ανάλυσης διακύμανσης (Factorial ANalysis Of VAriance). Η δοκιμή σύγκρισης μέσων όρων του Duncan (Duncan's means post hoc comparison test) χρησιμοποιήθηκε προκειμένου να διαχωριστούν οι μέσοι όροι των δεδομένων όταν παρατηρούνταν σημαντική διαφορά ($p<0,05$). Όλες οι στατιστικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν μέσω του λογισμικού Statistica 7 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA).

5 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Όλα τα δείγματα επιδορπίων γιαουρτιού αναλύθηκαν ως προς τη βιωσιμότητα που εμφάνισαν οι μικροοργανισμοί που περιέχονταν τόσο στην καλλιέργεια εκκίνησης (*Str. thermophilus, L. bulgaricus*) όσο και στην υπερβιοτική καλλιέργεια (*Bifidobacterium lactis* BB12, *Lactobacillus acidophilus* LA5).

Σύμφωνα με την ισχύουσα νομοθεσία, ο αριθμός των ζωντανών κυττάρων πρέπει να βρίσκεται μέσα στα αποδεκτά όρια, τα οποία είναι ≥7,0 $\log_{10}$CFU/g για το συνολικό αριθμό των μικροοργανισμών της καλλιέργειας εκκίνησης και ≥6,0 $\log_{10}$CFU/g για τον εκάστοτε από τους μικροοργανισμούς των υπερβιοτικών καλλιεργειών στο τέλος της διάρκειας ζωής του προϊόντος (Codex Alimentarius 2011).

5.1 Βιωσιμότητα καλλιέργειας εκκίνησης

5.1.1 Βιωσιμότητα των μικροοργανισμών της καλλιέργειας εκκίνησης σε διαφορετικά επεξεργασμένα πόσιμα επιδόρπια γιαουρτιού φυσικής γεύσης

Ο ζωντανός πληθυσμός των μικροοργανισμών της καλλιέργειας εκκίνησης (συνολικός αριθμός *Str. thermophilus* και *L. bulgaricus*) μετά από κάθε επεξεργασία και κατά την αποθήκευση των προϊόντων φυσικής γεύσης παρουσιάζεται στον **Πίνακα 6**.

Στα προϊόντα που υποβλήθηκαν μόνο σε επεξεργασία με ΥΠ (HP), στο εύρος πιέσεων 100-300 MPa, παρατηρήθηκε μείωση των μικροοργανισμών της καλλιέργειας εκκίνησης κατά 3,0-6,5% συγκριτικά με τα προϊόντα αναφοράς (control), ενώ στα προϊόντα που υποβλήθηκαν σε επεξεργασία με ΥΠ, στο παραπάνω εύρος πιέσεων, μετά την ομογενοποίησή τους (Homo-HP) η αντίστοιχη μείωση ήταν της τάξης του 2,5-6,0%.

Έπειτα από αποθήκευση των προϊόντων για 28 ημέρες στους 5°C, ο πληθυσμός της καλλιέργειας εκκίνησης μειώθηκε επιπλέον κατά 1,5-6,0%. Παρόλα αυτά ο πληθυσμός παρέμεινε πάνω από το επίπεδο των 7,0 $\log_{10}$CFU/g που ορίζεται από τη νομοθεσία.

Η μείωση του πληθυσμού της καλλιέργειας εκκίνησης φάνηκε να επηρεάζεται από την αύξηση της εφαρμοζόμενης πίεσης και μάλιστα, όταν τα προϊόντα επεξεργάστηκαν σε πιέσεις των 400 MPa, ανεξαρτήτως εάν η ΥΠ εφαρμόστηκε μεμονωμένα ή κατόπιν της συμβατικής ομογενοποίησης, παρατηρήθηκε ακόμη μεγαλύτερη πτώση του μικροβιακού

πληθυσμού σε επίπεδα χαμηλότερα των αποδεκτών ορίων (απεικόνιση ως "N.D." στους αντίστοιχους πίνακες).

Πίνακας 6. Βιωσιμότητα των μικροοργανισμών της καλλιέργειας εκκίνησης (ως συνολικός αριθμός των Str. thermophilus και L. bulgaricus) σε διαφορετικά επεξεργασμένα πόσιμα επιδόρπια γιαουρτιού φυσικής γεύσης κατά την αποθήκευση στους 5°C

CONTROL*				
D+1	$8,94 \pm 0,18^{h}$			
D+15	$8,77 \pm 0,09^{gh}$			
D+28	$8,72 \pm 0,03^{fgh}$			
HP	**100 MPa**	**200 MPa**	**300 MPa**	**400 MPa**
D+1	$8,66 \pm 0,13^{efg}$	$8,67 \pm 0,05^{efg}$	$8,35 \pm 0,17^{bc}$	N.D.
D+15	$8,52 \pm 0,05^{cdef}$	$8,21 \pm 0,31^{ab}$	$8,49 \pm 0,11^{cdef}$	N.D.
D+28	$8,47 \pm 0,06^{cde}$	$8,17 \pm 0,10^{ab}$	$8,45 \pm 0,10^{cde}$	N.D.
HOMO-HP	**100 MPa**	**200 MPa**	**300 MPa**	**400 MPa**
D+1	$8,72 \pm 0,23^{fgh}$	$8,61 \pm 0,07^{defg}$	$8,58 \pm 0,03^{cdefg}$	N.D.
D+15	$8,54 \pm 0,01^{cdefg}$	$8,11 \pm 0,14^{a}$	$8,56 \pm 0,01^{cdefg}$	N.D.
D+28	$8,42 \pm 0,02^{cd}$	$8,13 \pm 0,08^{a}$	$8,53 \pm 0,06^{cdef}$	N.D.

*Τα δείγματα "Control" έχουν υποστεί μόνο ομογενοποίηση στα 10 bar μετά το σπάσιμο του πήγματος.
Το γράμμα D αναφέρεται στην ημέρα της παραγωγής των προϊόντων. Οι τιμές είναι μέσοι όροι ± τυπική απόκλιση δύο μετρήσεων και δύο ανεξάρτητων πειραμάτων (n=4).
Η σήμανση "N.D." υποδηλώνει μικροβιακό πληθυσμό κάτω από το αποδεκτό όριο των 7,0 $\log_{10}$CFU/g του συνολικού πληθυσμού της καλλιέργειας εκκίνησης στο τέλος της διάρκειας ζωής των προϊόντων.
Τα διαφορετικά γράμματα μεταξύ των εξεταζόμενων δειγμάτων δείχνουν στατιστικά σημαντική διαφορά (*$p<0,05$*) μεταξύ των δειγμάτων με βάση τη δοκιμή σύγκρισης μέσων όρων του Duncan (Duncan's mean values post hoc comparison test).

5.1.2 Βιωσιμότητα των μικροοργανισμών της καλλιέργειας εκκίνησης σε διαφορετικά επεξεργασμένα πόσιμα επιδόρπια γιαουρτιού με γεύση κεράσι

Ο ζωντανός πληθυσμός των μικροοργανισμών της καλλιέργειας εκκίνησης (συνολικός αριθμός *Str. thermophilus* και *L. bulgaricus*) μετά από κάθε επεξεργασία και κατά την αποθήκευση των προϊόντων με γεύση κεράσι παρουσιάζεται στον **Πίνακα 7**.

Η βιωσιμότητα των μικροοργανισμών της καλλιέργειας εκκίνησης σε διαφορετικά επεξεργασμένα πόσιμα επιδόρπια γιαουρτιού με γεύση κεράσι ήταν παρόμοια με τη

βιωσιμότητα των μικροοργανισμών της καλλιέργειας εκκίνησης στα προϊόντα φυσικής γεύσης.

Πίνακας 7. Βιωσιμότητα των μικροοργανισμών της καλλιέργειας εκκίνησης (ως συνολικός αριθμός των Str. thermophilus και L. bulgaricus) σε διαφορετικά επεξεργασμένα πόσιμα επιδόρπια γιαουρτιού με γεύση κεράσι κατά την αποθήκευση στους 5°C

CONTROL*				
D+1	8,81 ± 0,02^{de}			
D+15	8,42 ± 0,04^{abc}			
D+28	8,34 ± 0,09^{ab}			
HP	**100 MPa**	**200 MPa**	**300 MPa**	**400 MPa**
D+1	8,89 ± 0,00^{e}	8,62 ± 0,01^{bcde}	8,45 ± 0,05^{abc}	N.D.
D+15	8,79 ± 0,07^{de}	8,20 ± 0,08^{a}	8,32 ± 0,09^{ab}	N.D.
D+28	8,51 ± 0,03^{abcd}	8,34 ± 0,10^{ab}	8,45 ± 0,07^{abc}	N.D.
HOMO-HP	**100 MPa**	**200 MPa**	**300 MPa**	**400 MPa**
D+1	8,71 ± 0,13^{cde}	8,71 ± 0,05^{cde}	8,59 ± 0,06^{bcde}	N.D.
D+15	8,64 ± 0,04b^{cde}	8,45 ± 0,00^{abc}	8,37 ± 0,04^{ab}	N.D.
D+28	8,54 ± 0,08^{bcd}	8,32 ± 0,01^{ab}	8,19 ± 0,03^{a}	N.D.

*Τα δείγματα "Control" έχουν υποστεί μόνο ομογενοποίηση στα 10 bar μετά το σπάσιμο του πήγματος.
Το γράμμα D αναφέρεται στην ημέρα της παραγωγής των προϊόντων. Οι τιμές είναι μέσοι όροι ± τυπική απόκλιση δύο μετρήσεων και δύο ανεξάρτητων πειραμάτων (n=4).
Η σήμανση "N.D." υποδηλώνει μικροβιακό πληθυσμό κάτω από το αποδεκτό όριο των 7,0 $\log_{10}$CFU/g του συνολικού πληθυσμού της καλλιέργειας εκκίνησης στο τέλος της διάρκειας ζωής των προϊόντων.
Τα διαφορετικά γράμματα μεταξύ των εξεταζόμενων δειγμάτων δείχνουν στατιστικά σημαντική διαφορά ($p<0,05$) μεταξύ των δειγμάτων με βάση τη δοκιμή σύγκρισης μέσων όρων του Duncan (Duncan's mean values post hoc comparison test).

5.2 Βιωσιμότητα υπερβιοτικών μικροοργανισμών

5.2.1 Βιωσιμότητα του υπερβιοτικού στελέχους *Bifidobacterium lactis* BB12 σε πόσιμα επιδόρπια γιαουρτιού φυσικής γεύσης

Ο ζωντανός πληθυσμός του υπερβιοτικού στελέχους *Bifidobacterium lactis* BB12 μετά από κάθε επεξεργασία και κατά την αποθήκευση των προϊόντων φυσικής γεύσης παρουσιάζεται στον **Πίνακα 8**.

Για το εύρος πιέσεων 100-300 MPa, παρατηρήθηκε ότι στα προϊόντα που υποβλήθηκαν μόνο σε επεξεργασία με ΥΠ (HP) υπήρξε μείωση του πληθυσμού του υπερβιοτικού στελέχους *Bifidobacterium lactis* BB12 κατά 1,3-17,8% συγκρινόμενα με τα control προϊόντα, ενώ στα προϊόντα που υποβλήθηκαν σε επεξεργασία με ΥΠ μετά την ομογενοποίησή τους (Homo-HP) η μείωση αυτή ήταν της τάξης του 1,46-13,9%. Παρόλα αυτά ο πληθυσμός παρέμεινε πάνω από το επίπεδο των 6,0 $\log_{10}$CFU/g που ορίζεται από τη νομοθεσία.

Πίνακας 8. Βιωσιμότητα των μικροοργανισμών του υπερβιοτικού στελέχους Bifidobacterium lactis BB12 σε διαφορετικά επεξεργασμένα πόσιμα επιδόρπια γιαουρτιού φυσικής γεύσης κατά την αποθήκευση στους 5°C

CONTROL*				
D+1	8,21 ± 0,08^{jk}			
D+15	8,30 ± 0,24^{jk}			
D+28	8,28 ± 0,13^{jk}			
HP	**100 MPa**	**200 MPa**	**300 MPa**	**400 MPa**
D+1	8,10 ± 0,06^{hijk}	7,87 ± 0,04^{fghi}	6,75 ± 0,32^{c}	N.D.
D+15	8,07 ± 0,09^{ghijk}	7,81 ± 0,09^{fg}	6,34 ± 0,10^{a}	N.D.
D+28	8,05 ± 0,12^{ghijk}	7,83 ± 0,10^{fgh}	6,12 ± 0,14^{b}	N.D.
HOMO-HP	**100 MPa**	**200 MPa**	**300 MPa**	**400 MPa**
D+1	8,09 ± 0,12^{hijk}	8,01 ± 0,06^{fghij}	7,07 ± 0,17^{d}	N.D.
D+15	8,14 ± 0,01^{ijk}	7,76 ± 0,28^{f}	6,74 ± 0,12^{c}	N.D.
D+28	8,11 ± 0,07^{ijk}	7,35 ± 0,14^{e}	6,52 ± 0,08^{c}	N.D.

*Τα δείγματα "Control" έχουν υποστεί μόνο ομογενοποίηση στα 10 bar μετά το σπάσιμο του πήγματος.
Το γράμμα D αναφέρεται στην ημέρα της παραγωγής των προϊόντων. Οι τιμές είναι μέσοι όροι ± τυπική απόκλιση δύο μετρήσεων και δύο ανεξάρτητων πειραμάτων (n=4).
Η σήμανση "N.D." υποδηλώνει μικροβιακό πληθυσμό κάτω από το αποδεκτό όριο των 6,0 $\log_{10}$CFU/g του πληθυσμού των υπερβιοτικών μικροοργανισμών στο τέλος της διάρκειας ζωής των προϊόντων.
Τα διαφορετικά γράμματα μεταξύ των εξεταζόμενων δειγμάτων δείχνουν στατιστικά σημαντική διαφορά (*p<0,05*) μεταξύ των δειγμάτων με βάση τη δοκιμή σύγκρισης μέσων όρων του Duncan (Duncan's mean values post hoc comparison test).

Παρόλο που τα προϊόντα που υποβλήθηκαν σε επεξεργασία μόνο με ΥΠ (HP) εμφάνισαν μεγαλύτερη μείωση του υπερβιοτικού στελέχους *Bifidobacterium lactis* BB12 μετά την επεξεργασία σε σχέση με τα προϊόντα που υποβλήθηκαν πρώτα σε ομογενοποίηση και μετά σε επεξεργασία με ΥΠ (HomoHP), κατά την αποθήκευσή τους εμφάνισαν, σχεδόν σε

όλες τις περιπτώσεις, μικρότερη μείωση, με ποσοστά μείωσης 0,5-1,4% για τα HP και 0,2-8,0% για τα Homo-HP προϊόντα.

Τέλος, σε πιέσεις 400 MPa, ο πληθυσμός του υπερβιοτικού στελέχους *Bifidobacterium lactis* BB12 μειώθηκε κάτω από τα αποδεκτά όρια με βάση τη νομοθεσία, σε όλα τα προϊόντα, ανεξαρτήτως επεξεργασίας.

5.2.2 Βιωσιμότητα του υπερβιοτικού στελέχους *Bifidobacterium lactis* BB12 σε πόσιμα επιδόρπια γιαουρτιού με γεύση κεράσι

Ο ζωντανός πληθυσμός του υπερβιοτικού στελέχους *Bifidobacterium lactis* BB12 μετά από κάθε επεξεργασία και κατά την αποθήκευση των προϊόντων με γεύση κεράσι παρουσιάζεται στον **Πίνακα 9**.

Πίνακας 9. Βιωσιμότητα των μικροοργανισμών του υπερβιοτικού στελέχους Bifidobacterium lactis BB12 σε διαφορετικά επεξεργασμένα πόσιμα επιδόρπια γιαουρτιού με γεύση κεράσι κατά την αποθήκευση στους 5°C

CONTROL*				
D+1	8,35 ± 0,00^{e}			
D+15	8,22 ± 0,04^{e}			
D+28	8,14 ± 0,10^{de}			
HP	**100 MPa**	**200 MPa**	**300 MPa**	**400 MPa**
D+1	8,19 ± 0,02^{e}	7,85 ± 0,03^{bcd}	6,49 ± 0,12^{a}	N.D.
D+15	8,11 ± 0,01^{de}	7,67 ± 0,01^{b}	6,54 ± 0,07^{a}	N.D.
D+28	8,13 ± 0,14^{de}	7,74 ± 0,08^{b}	6,52 ± 0,18^{a}	N.D.
HOMO-HP	**100 MPa**	**200 MPa**	**300 MPa**	**400 MPa**
D+1	8,18 ± 0,06^{e}	7,81 ± 0,02^{bc}	6,55 ± 0,19^{a}	N.D.
D+15	8,22 ± 0,04^{e}	7,82 ± 0,04^{bc}	6,42 ± 0,23^{a}	N.D.
D+28	8,09 ± 0,11^{cde}	7,57 ± 0,05^{b}	6,39 ± 0,06^{a}	N.D.

*Τα δείγματα "Control" έχουν υποστεί μόνο ομογενοποίηση στα 10 bar μετά το σπάσιμο του πήγματος.
Το γράμμα D αναφέρεται στην ημέρα της παραγωγής των προϊόντων. Οι τιμές είναι μέσοι όροι ± τυπική απόκλιση δύο μετρήσεων και δύο ανεξάρτητων πειραμάτων (n=4).
Η σήμανση "N.D." υποδηλώνει μικροβιακό πληθυσμό κάτω από το αποδεκτό όριο των 6,0 $\log_{10}$CFU/g του πληθυσμού των υπερβιοτικών μικροοργανισμών στο τέλος της διάρκειας ζωής των προϊόντων.
Τα διαφορετικά γράμματα μεταξύ των εξεταζόμενων δειγμάτων δείχνουν στατιστικά σημαντική διαφορά (*p<0,05*) μεταξύ των δειγμάτων με βάση τη δοκιμή σύγκρισης μέσων όρων του Duncan (Duncan's mean values post hoc comparison test).

Η βιωσιμότητα του υπερβιοτικού στελέχους *Bifidobacterium lactis* BB12 σε διαφορετικά επεξεργασμένα πόσιμα επιδόρπια γιαουρτιού με γεύση κεράσι ήταν παρόμοια με τη βιωσιμότητα του στελέχους αυτού στα προϊόντα φυσικής γεύσης.

Μια ενδιαφέρουσα διαφορά που παρατηρήθηκε, είναι πως τα προϊόντα με γεύση κεράσι εμφάνισαν μικρότερη μείωση του υπερβιοτικού πληθυσμού, ανεξαρτήτως των επεξεργασιών που εφαρμόστηκαν, τόσο αμέσως μετά την εφαρμογή της ΥΠ όσο και κατά τη διάρκεια της αποθήκευσής τους, σε σχέση με την αντίστοιχη μείωση για τα προϊόντα φυσικής γεύσης. Η ύπαρξη του σιροπιού αύξησε τη βιωσιμότητα των υπερβιοτικών μικροοργανισμών, πιθανόν λόγω της αύξησης των πολυσακχαριτών στα προϊόντα με σιρόπι, και συνεπώς της ύπαρξης μεγαλύτερης ποσότητας θρεπτικών σακχάρων για την ανάπτυξη και επιβίωσή τους. Έτσι, εκτός της χρήσης προβιοτικών ουσιών σε προϊόντα που περιέχουν υπερβιοτικά στελέχη, φαίνεται ότι και η χρήση συστατικών που ενισχύουν τη γεύση και το άρωμα των γαλακτοκομικών προϊόντων, δύναται να βελτιώσουν τη βιωσιμότητα των περιεχόμενων μικροβιακών στελεχών (Senaka Ranadheera et al. 2012).

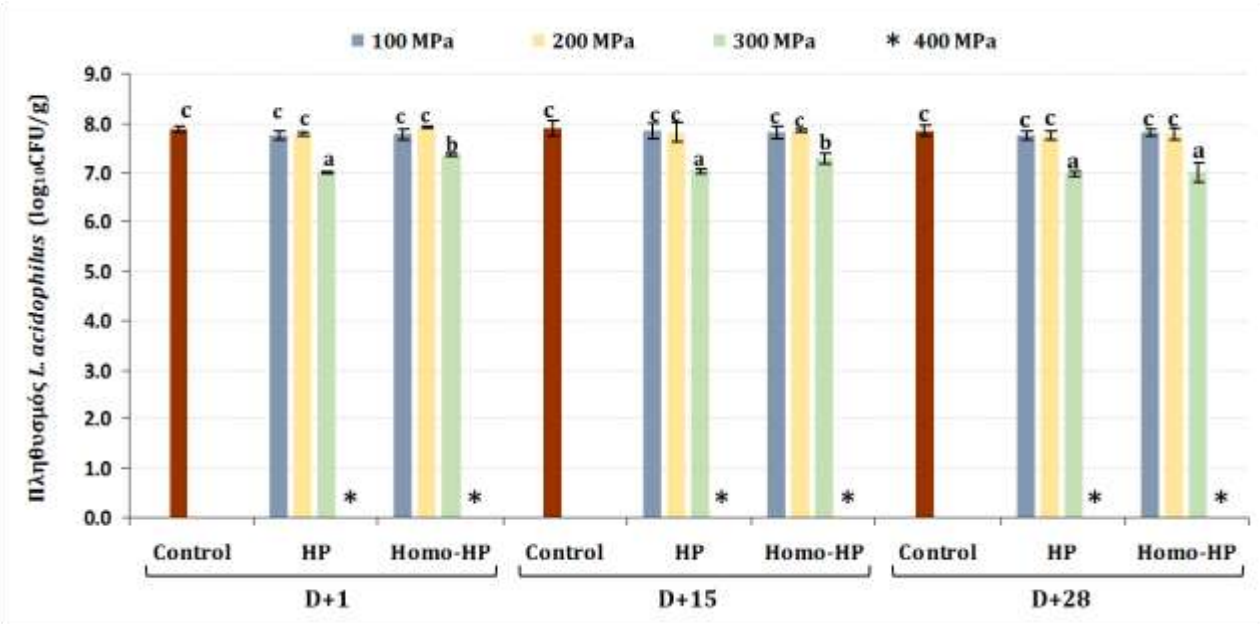
5.2.3 Βιωσιμότητα του υπερβιοτικού στελέχους *Lactobacillus acidophilus LA5* σε πόσιμα επιδόρπια γιαουρτιού φυσικής γεύσης

Ο ζωντανός πληθυσμός του υπερβιοτικού στελέχους Lactobacillus acidophilus LA5 μετά από κάθε επεξεργασία και κατά την αποθήκευση των προϊόντων φυσικής γεύσης παρουσιάζεται στην Εικόνα 19.

Για το εύρος πιέσεων 100-300 MPa, παρατηρήθηκε ότι στα προϊόντα που υποβλήθηκαν μόνο σε επεξεργασία με ΥΠ (HP) υπήρξε μείωση του πληθυσμού του υπερβιοτικού στελέχους *Lactobacillus acidophilus LA5* κατά 1,82-14,0% συγκρινόμενα με τα control προϊόντα, ενώ στα προϊόντα που υποβλήθηκαν σε επεξεργασία με ΥΠ μετά την ομογενοποίησή τους (Homo-HP) η μείωση αυτή ήταν της τάξης του 2,86-10,0%. Παρόλα αυτά ο πληθυσμός παρέμεινε πάνω από το επίπεδο των 6,0 log10cfu/g που ορίζεται από τη νομοθεσία.

Επιπλέον, όπως και στην περίπτωση του Bifidobacterium lactis BB12, τα προϊόντα που υποβλήθηκαν σε επεξεργασία μόνο με ΥΠ (HP) εμφάνισαν μεγαλύτερη μείωση του υπερβιοτικού στελέχους *Lactobacillus acidophilus LA5* μετά την επεξεργασία, όμως κατά την αποθήκευσή τους, σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις, παρουσίασαν μικρότερη μείωση, με ποσοστά αυτής να κυμαίνονται μεταξύ 0,5-1,4% για τα HP προϊόντα και 0,2-8,0%, για τα Homo-HP προϊόντα. Τέλος και σε αυτήν την περίπτωση, σε πιέσεις 400 MPa, ο πληθυσμός

του υπερβιοτικού στελέχους *Lactobacillus acidophilus LA5* μειώθηκε κάτω από τα αποδεκτά όρια με βάση τη νομοθεσία, σε όλα τα προϊόντα, ανεξαρτήτως επεξεργασίας.



Εικόνα 19. Βιωσιμότητα του μικροοργανισμού Lactobacillus acidophilus LA5 κατά την αποθήκευση στους 5°C σε διαφορετικά επεξεργασμένα λειτουργικά επιδόρπια γιαουρτιού φυσικής γεύσης

Το γράμμα D αναφέρεται στην ημέρα της παραγωγής των προϊόντων και η σήμανση "*" υποδηλώνει μικροβιακό πληθυσμό κάτω από το αποδεκτό όριο των 6,0 log10CFU/g των υπερβιοτικών μικροοργανισμών στο τέλος της διάρκειας ζωής των προϊόντων.
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).

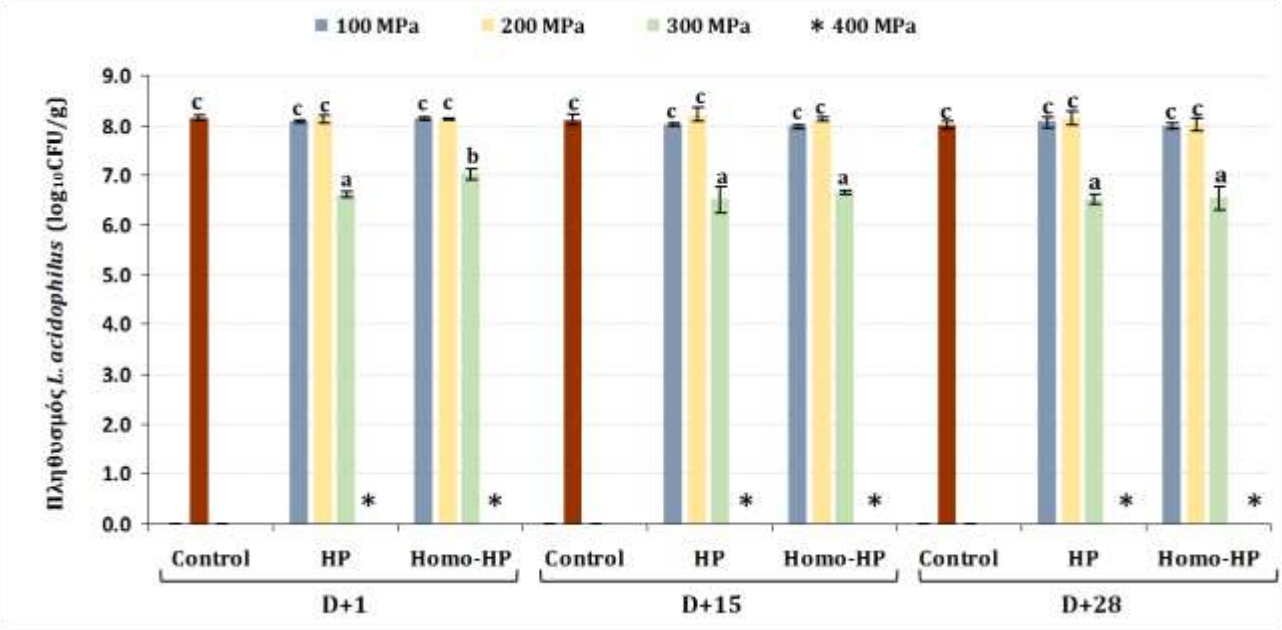
5.2.4 Βιωσιμότητα του υπερβιοτικού στελέχους *Lactobacillus acidophilus LA5* σε πόσιμα επιδόρπια γιαουρτιού με γεύση κεράσι

Ο ζωντανός πληθυσμός του υπερβιοτικού στελέχους *Lactobacillus acidophilus LA5* μετά από κάθε επεξεργασία και κατά την αποθήκευση των προϊόντων με γεύση κεράσι παρουσιάζεται στην **Εικόνα 20**.

Η βιωσιμότητα του υπερβιοτικού στελέχους *Lactobacillus acidophilus* LA5 σε διαφορετικά επεξεργασμένα πόσιμα επιδόρπια γιαουρτιού με γεύση κεράσι ήταν παρόμοια με τη βιωσιμότητα του στελέχους αυτού στα προϊόντα φυσικής γεύσης.

Μια ενδιαφέρουσα διαφορά που παρατηρήθηκε, είναι πως τα προϊόντα με γεύση κεράσι εμφάνισαν μικρότερη μείωση του υπερβιοτικού πληθυσμού, ανεξαρτήτως των επεξεργασιών που εφαρμόστηκαν, τόσο αμέσως μετά την εφαρμογή της ΥΠ όσο και κατά τη διάρκεια της αποθήκευσής τους, σε σχέση με την αντίστοιχη μείωση για τα προϊόντα φυσικής γεύσης. Αυτό πιθανώς να οφείλεται σε αύξηση των θρεπτικών για το στέλεχος συστατικών λόγο της προσθήκης του σιροπιού, όπως αναφέρθηκε και στην περίπτωση του στελέχους BB12.

Τέλος, αξίζει να σημειωθεί πως τα αποτελέσματα για τη βιωσιμότητα των υπερβιοτικών στελεχών στα προϊόντα γιαουρτιού έδειξαν ότι το στέλεχος του Bifidobacterium lactis BB12 εμφανίστηκε πιο ευαίσθητο στην επεξεργασία με ΥΠ από ότι αυτό του Lactobacillus acidophilus LA5.



Εικόνα 20. Βιωσιμότητα του μικροοργανισμού Lactobacillus acidophilus LA5 κατά την αποθήκευση στους 5°C σε διαφορετικά επεξεργασμένα λειτουργικά επιδόρπια γιαουρτιού με γεύση κεράσι

Το γράμμα D αναφέρεται στην ημέρα της παραγωγής των προϊόντων και η σήμανση "*" υποδηλώνει μικροβιακό πληθυσμό κάτω από το αποδεκτό όριο των 6,0 log10CFU/g των υπερβιοτικών μικροοργανισμών στο τέλος της διάρκειας ζωής των προϊόντων.
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).

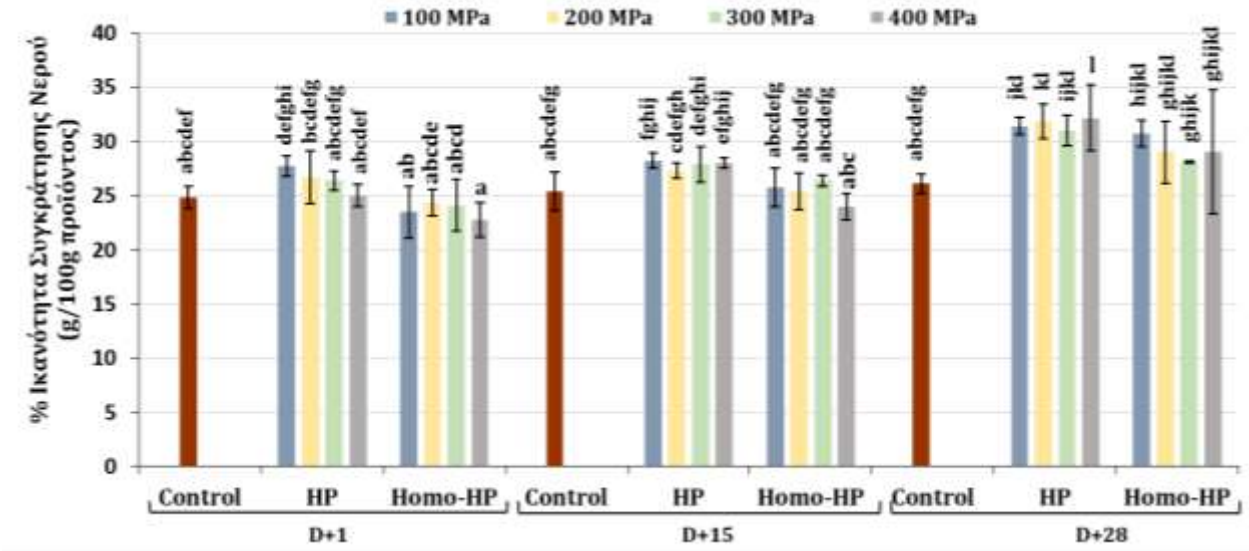
5.3 Ικανότητα συγκράτησης νερού πόσιμων επιδόρπιων γιαουρτιού

5.3.1 Ικανότητα συγκράτησης νερού πόσιμων επιδόρπιων γιαουρτιού φυσικής γεύσης

Οι επιδράσεις των εφαρμοζόμενων επεξεργασιών του τελικού προϊόντος καθώς και του χρόνου αποθήκευσης στη ικανότητα συγκράτησης νερού εμφανίζονται στην **Εικόνα 21**.

Η επεξεργασία με ΥΠ φάνηκε πως έχει σημαντική επίδραση στην ικανότητα συγκράτησης νερού των παραγόμενων προϊόντων (*p<0,001*). Η επίδραση αυτή ήταν μεγαλύτερη στα προϊόντα που υποβλήθηκαν σε επεξεργασία μόνο με ΥΠ (HP). Το μέγεθος της εφαρμοζόμενης πίεσης (100-400 MPa) δε φάνηκε να επηρεάζει τις τιμές της ικανότητας συγκράτησης νερού των δειγμάτων.

Ο χρόνος αποθήκευσης βρέθηκε επίσης να έχει σημαντική επίδραση στην ικανότητα συγκράτησης νερού των παραγόμενων προϊόντων (*p<0,001*), λόγω της επιβραδυνόμενης μεν, αλλά ταυτόχρονα συνεχιζόμενης βιοχημικής δραστηριότητας των περιεχόμενων στο δείγμα μικροοργανισμών υπό συνθήκες ψύξης.



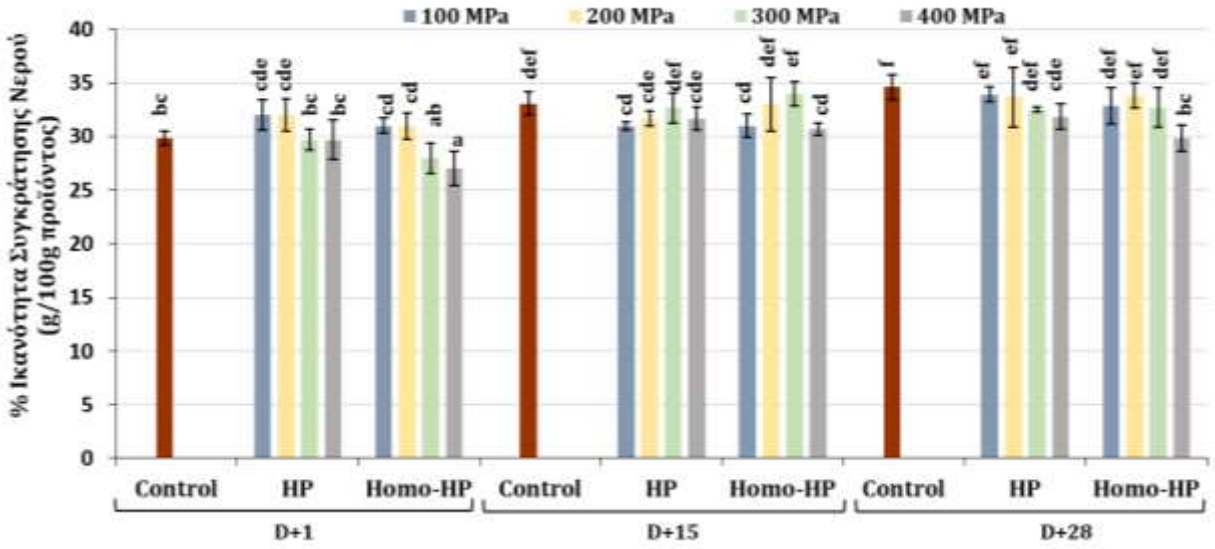
Εικόνα 21. Ποσοστιαία ικανότητα συγκράτησης νερού σε διαφορετικά επεξεργασμένα λειτουργικά επιδόρπια γιαουρτιού φυσικής γεύσης κατά την αποθήκευση στους 5°C

Το γράμμα D αναφέρεται στην ημέρα της παραγωγής των προϊόντων.
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).

5.3.2 Ικανότητα συγκράτησης νερού πόσιμων επιδόρπιων γιαουρτιού με γεύση κεράσι

Η ικανότητα συγκράτησης νερού των διαφορετικά επεξεργασμένων πόσιμων επιδόρπιων γιαουρτιού με γεύση κεράσι εμφανίζεται στην **Εικόνα 22**.

Η επίδραση τόσο της επεξεργασίας όσο και του χρόνου αποθήκευσης των δειγμάτων, στην ικανότητα συγκράτησης νερού των παραγόμενων επιδόρπιων με γεύση κεράσι ήταν παρόμοια με αυτή για τα προϊόντα φυσικής γεύσης. Μια διαφορά που παρατηρήθηκε, είναι πως τα προϊόντα με γεύση κεράσι εμφάνισαν υψηλότερες τιμές ικανότητας συγκράτησης νερού σε σχέση με τα προϊόντα φυσικής γεύσης, η οποία φαίνεται να σχετίζεται με την αύξηση των ολικών στερεών λόγω της προσθήκης του σιροπιού. Τα αποτελέσματα της έρευνας αυτής έρχονται σε αντίθεση με μελέτες που υποστηρίζουν ότι η προσθήκη χυμών φρούτων και φρουτοπαρασκευασμάτων τείνουν να μειώνουν την ικανότητα συγκράτησης νερού σε όξινα πήγματα (Senaka Ranadheera et al. 2012), υποδηλώνοντας ότι το είδος των προστιθέμενων παρασκευασμάτων (χυμός φρούτων, κομμάτια φρούτων, σιρόπι φρούτων κ.ά.) παίζει σημαντικό ρόλο στα χαρακτηριστικά του τελικού προϊόντος.



Εικόνα 22. Ποσοστιαία ικανότητα συγκράτησης νερού σε διαφορετικά επεξεργασμένα λειτουργικά επιδόρπια γιαουρτιού με γεύση κεράσι κατά την αποθήκευση στους 5°C

Το γράμμα D αναφέρεται στην ημέρα της παραγωγής των προϊόντων. 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).

5.4 Οξύτητα διαφορετικά επεξεργασμένων πόσιμων επιδόρπιων γιαουρτιού

5.4.1 Οξύτητα διαφορετικά επεξεργασμένων πόσιμων επιδόρπιων γιαουρτιού φυσικής γεύσης

Στον **Πίνακα 10** απεικονίζονται οι επιδράσεις των εφαρμοζόμενων επεξεργασιών του τελικού προϊόντος καθώς και του χρόνου αποθήκευσης στην οξύτητα των διαφορετικά επεξεργασμένων πόσιμων επιδόρπιων γιαουρτιού φυσικής γεύσης.

Η επεξεργασία με ΥΠ, αλλά και το επίπεδο της εφαρμοζόμενης πίεσης, φάνηκε να επηρεάζει τη μετρούμενη οξύτητα (pH) των επιδόρπιων γιαουρτιού φυσικής γεύσης. Με την αύξηση της πίεσης, παρατηρείται αύξηση στις τιμές pH των προϊόντων, υποδηλώνοντας ότι η επεξεργασία των προϊόντων με ΥΠ επιβραδύνει την μετα-οξίνισή τους, γεγονός που σχετίζεται με τη μειωμένη μεταβολική δραστηριότητα των περιεχόμενων μικροοργανισμών (Tanaka & Hatanaka 1992). Αντίθετα, ο χρόνος αποθήκευσης των δειγμάτων φάνηκε να μην επηρεάζει σημαντικά την τιμή του pH τους.

5.4.2 Οξύτητα διαφορετικά επεξεργασμένων πόσιμων επιδόρπιων γιαουρτιού με γεύση κεράσι

Στον **Πίνακα 11** απεικονίζονται οι επιδράσεις των εφαρμοζόμενων επεξεργασιών του τελικού προϊόντος καθώς και του χρόνου αποθήκευσης στην οξύτητα των διαφορετικά επεξεργασμένων πόσιμων επιδόρπιων γιαουρτιού με γεύση κεράσι.

Η επεξεργασία με ΥΠ ($p<0,01$), το επίπεδο της πίεσης ($p<0,01$) και ο χρόνος αποθήκευσης ($p<0,001$) των προϊόντων πόσιμων επιδόρπιων γιαουρτιού με γεύση κεράσι φάνηκε να επηρεάζει την τιτλοδοτούμενη οξύτητα.

Τα αποτελέσματα για τη μετρούμενη οξύτητα (pH) στα επιδόρπια γιαουρτιού με γεύση κεράσι ήταν παρόμοια με αυτά με φυσική γεύση, με τη διαφορά όμως πως η επίδραση του χρόνου αποθήκευσης ήταν σημαντική ($p<0,001$). Το γεγονός αυτό πιθανώς να σχετίζεται τόσο με τη συμβολή στην οξύτητα του προστιθέμενου σιροπιού (τιμή pH σιροπιού 3,2-3,4) αλλά και με τη διαθεσιμότητα θρεπτικών συστατικών για τις περιεχόμενες καλλιέργειες συστατικών λόγω της προσθήκης του. Παρόλο που η μείωση στις τιμές της οξύτητας είναι γνωστό ότι συνοδεύεται από μειωμένη ικανότητα συγκράτησης νερού των όξινων πηγμάτων και εμφάνιση φαινομένων συναίρεσης (Tamime & Robinson 2007), στα

μελετώμενα επιδόρπια γιαουρτιού αυτό φάνηκε να μη συμβαίνει ανεξαρτήτως της προσθήκης σιροπιού ή του χρόνου αποθήκευσης των δειγμάτων.

Πίνακας 10. Οξύτητα πόσιμων επιδόρπιων γιαουρτιού φυσικής γεύσης κατά την αποθήκευση στους 5°C

pH				
CONTROL*				
D+1	4.55 ± 0.09^{defg}			
D+15	4.33 ± 0.06^{ab}			
D+28	4.26 ± 0.03^{a}			
HP	**100 MPa**	**200 MPa**	**300 MPa**	**400 MPa**
D+1	4.38 ± 0.10^{abc}	4.66 ± 0.02^{efg}	4.51 ± 0.07^{cdef}	4.48 ± 0.05^{cde}
D+15	4.30 ± 0.11^{ab}	4.67 ± 0.01^{g}	4.54 ± 0.11^{defg}	4.50 ± 0.04^{cdef}
D+28	4.24 ± 0.04^{a}	$4.53 \pm 0.12d^{efg}$	4.47 ± 0.07^{cde}	4.49 ± 0.01^{cdef}
HOMO-HP	**100 MPa**	**200 MPa**	**300 MPa**	**400 MPa**
D+1	4.42 ± 0.12^{bcd}	4.67 ± 0.02^{g}	4.51 ± 0.08^{cdef}	4.50 ± 0.04^{cdef}
D+15	4.30 ± 0.13^{ab}	4.63 ± 0.01^{fg}	4.54 ± 0.09^{defg}	4.51 ± 0.11^{cdef}
D+28	4.26 ± 0.03^{a}	4.58 ± 0.05^{efg}	4.50 ± 0.11^{cdef}	4.49 ± 0.08^{cdef}
% ΓΑΛΑΚΤΙΚΟ ΟΞΥ				
CONTROL*				
D+1	$0.89 \pm 0.10^{\alpha\beta}$			
D+15	$1.07 \pm 0.14b^{\gamma\delta\varepsilon}$			
D+28	$1.11 \pm 0.07^{\gamma\delta\varepsilon}$			
HP	**100 MPa**	**200 MPa**	**300 MPa**	**400 MPa**
D+1	$0.88 \pm 0.15^{\alpha\beta}$	$0.86 \pm 0.02^{\alpha}$	$0.99 \pm 0.05^{\alpha\beta\gamma\delta\varepsilon}$	$0.99 \pm 0.03^{\alpha\beta\gamma\delta\varepsilon}$
D+15	$1.00 \pm 0.17^{\alpha\beta\gamma\delta\varepsilon}$	$0.87 \pm 0.01^{\alpha}$	$1.15 \pm 0.09^{\delta\varepsilon}$	$0.95 \pm 0.08^{\alpha\beta\gamma}$
D+28	$1.02 \pm 0.05^{\alpha\beta\gamma\delta\varepsilon}$	$0.90 \pm 0.04^{\alpha\beta}$	$1.18 \pm 0.03^{\varepsilon}$	$1.02 \pm 0.08^{\alpha\beta\gamma\delta\varepsilon}$
HOMO-HP	**100 MPa**	**200 MPa**	**300 MPa**	**400 MPa**
D+1	$0.85 \pm 0.17^{\alpha}$	$0.86 \pm 0.02^{\alpha}$	$0.99 \pm 0.05^{\alpha\beta\gamma\delta\varepsilon}$	$0.96 \pm 0.02^{\alpha\beta\gamma\delta}$
D+15	$1.00 \pm 0.18^{\alpha\beta\gamma\delta\varepsilon}$	$0.92 \pm 0.04^{\alpha\beta\gamma}$	$1.16 \pm 0.14^{\varepsilon}$	$0.94 \pm 0.09^{\alpha\beta\gamma}$
D+28	$1.03 \pm 0.01^{\alpha\beta\gamma\delta\varepsilon}$	$0.96 \pm 0.07^{\alpha\beta\gamma\delta}$	$1.17 \pm 0.06^{\varepsilon}$	$0.96 \pm 0.05^{\alpha\beta\gamma\delta}$

*Τα δείγματα "Control" έχουν υποστεί μόνο ομογενοποίηση στα 10 bar μετά το σπάσιμο του πήγματος. Το γράμμα D αναφέρεται στην ημέρα της παραγωγής των προϊόντων. Οι τιμές είναι μέσοι όροι ± τυπική απόκλιση δύο μετρήσεων και δύο ανεξάρτητων πειραμάτων (n=4).
Τα διαφορετικά γράμματα μεταξύ των εξεταζόμενων δειγμάτων στις όμοιες παραμέτρους δείχνουν στατιστικά σημαντική διαφορά ($p<0,05$) με βάση τη δοκιμή σύγκρισης μέσων όρων του Duncan (Duncan's mean values post hoc comparison test).

Πίνακας 11. Οξύτητα πόσιμων επιδόρπιων γιαουρτιού με γεύση κεράσι κατά την αποθήκευση στους 5°C

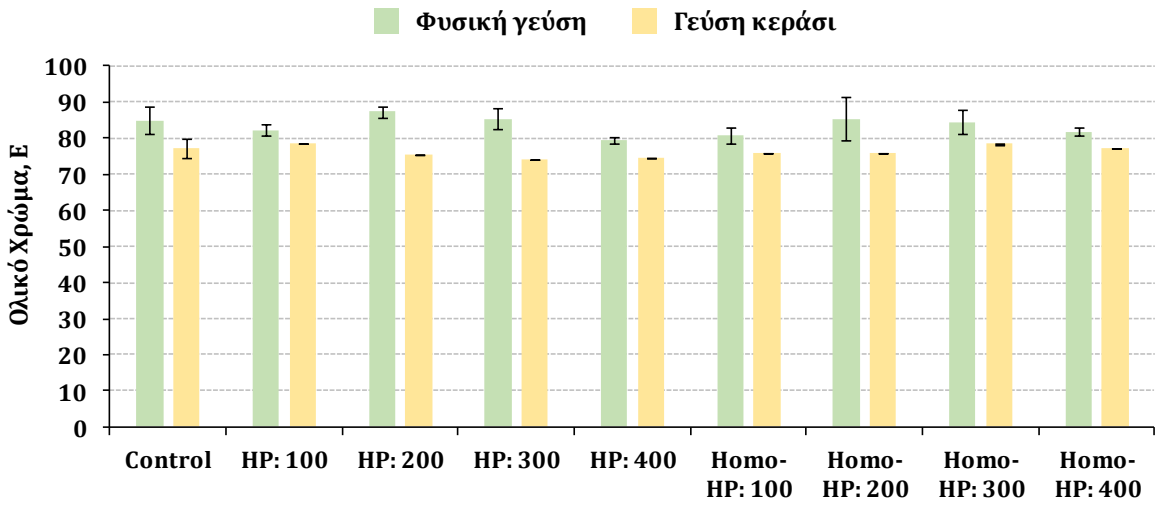
pH				
CONTROL*				
D+1	4.32 ± 0.04^{bcde}			
D+15	4.23 ± 0.13^{abcd}			
D+28	4.18 ± 0.05^{ab}			
HP	**100 MPa**	**200 MPa**	**300 MPa**	**400 MPa**
D+1	4.29 ± 0.05^{abcde}	4.35 ± 0.15^{de}	4.30 ± 0.02^{abcde}	4.36 ± 0.01^{de}
D+15	4.23 ± 0.05^{abcd}	4.32 ± 0.01^{bcde}	4.29 ± 0.00^{abcde}	4.36 ± 0.00^{de}
D+28	4.21 ± 0.01^{abc}	4.30 ± 0.07^{abcde}	4.27 ± 0.10^{abcde}	4.32 ± 0.06^{bcde}
HOMO-HP	**100 MPa**	**200 MPa**	**300 MPa**	**400 MPa**
D+1	4.33 ± 0.07^{cde}	4.35 ± 0.13^{de}	4.30 ± 0.05^{abcde}	4.39 ± 0.01^{e}
D+15	4.22 ± 0.07^{abcd}	4.33 ± 0.01^{cde}	4.31 ± 0.03^{abcde}	4.38 ± 0.01^{e}
D+28	4.17 ± 0.11^{a}	4.27 ± 0.03^{abcde}	4.28 ± 0.09^{abcde}	4.35 ± 0.06^{de}
% ΓΑΛΑΚΤΙΚΟ ΟΞΥ				
CONTROL*				
D+1	0.86 ± 0.06^{αβγδε}			
D+15	0.90 ± 0.05^{αβγδε}			
D+28	0.93 ± 0.07^{γδε}			
HP	**100 MPa**	**200 MPa**	**300 MPa**	**400 MPa**
D+1	0.84 ± 0.02^{αβγδ}	0.88 ± 0.04^{αβγδε}	0.89 ± 0.03^{αβγδε}	0.80 ± 0.06^{α}
D+15	0.93 ± 0.06^{γδε}	0.92 ± 0.11^{βγδε}	0.93 ± 0.03^{γδε}	0.85 ± 0.06^{αβγδε}
D+28	0.95 ± 0.01^{δε}	0.95 ± 0.03$δ^{ε}$	0.96 ± 0.05^{ε}	0.91 ± 0.03^{αβγδε}
HOMO-HP	**100 MPa**	**200 MPa**	**300 MPa**	**400 MPa**
D+1	0.81 ± 0.06^{αβ}	0.88 ± 0.03^{αβγδε}	0.88 ± 0.03^{αβγδε}	0.82 ± 0.09^{αβγ}
D+15	0.94 ± 0.05^{δε}	0.92 ± 0.11^{βγδε}	0.91 ± 0.01^{αβγδε}	0.85 ± 0.07^{αβγδε}
D+28	0.96 ± 0.05^{ε}	0.94 ± 0.07^{δε}	0.93 ± 0.04^{γδε}	0.89 ± 0.03^{αβγδε}

*Τα δείγματα "Control" έχουν υποστεί μόνο ομογενοποίηση στα 10 bar μετά το σπάσιμο του πήγματος. Το γράμμα D αναφέρεται στην ημέρα της παραγωγής των προϊόντων. Οι τιμές είναι μέσοι όροι ± τυπική απόκλιση δύο μετρήσεων και δύο ανεξάρτητων πειραμάτων (n=4). Τα διαφορετικά γράμματα μεταξύ των εξεταζόμενων δειγμάτων στις όμοιες παραμέτρους δείχνουν στατιστικά σημαντική διαφορά (*p<0,05*) με βάση τη δοκιμή σύγκρισης μέσων όρων του Duncan (Duncan's mean values post hoc comparison test).

5.5 Παράμετρος ολικού χρώματος διαφορετικά επεξεργασμένων πόσιμων επιδόρπιων γιαουρτιού

Στην **Εικόνα 23** απεικονίζονται οι επιδράσεις των εφαρμοζόμενων επεξεργασιών του τελικού προϊόντος στο χρώμα των διαφορετικά επεξεργασμένων πόσιμων επιδόρπιων γιαουρτιού με φυσική γεύση και με γεύση κεράσι.

Το χρώμα των επιδόρπιων με φυσική γεύση δε φάνηκε να επηρεάζεται από την εφαρμοζόμενη πίεση, το επίπεδό της ή το χρόνο αποθήκευσης των δειγμάτων. Αντίθετα, το χρώμα των επιδόρπιων με γεύση κεράσι επηρεάστηκε σημαντικά τόσο από την εφαρμοζόμενη πίεση και το επίπεδό της ($p<0,001$) όσο και από το χρόνο αποθήκευσης ($p<0,05$) των δειγμάτων. Η μεταβολή αυτή του χρώματος για τα δείγματα στα οποία είχε προστεθεί σιρόπι κερασιού φαίνεται να συμφωνεί με μελέτες που αφορούν στην υποβάθμιση των ανθοκυανών συναρτήσει της εφαρμοζόμενης πίεσης αλλά και κατά την αποθήκευση (Oey et al. 2008, Barba et al. 2013), με αποτελέσματα τη μεταβολή του χρώματος, και συγκεκριμένα τη μείωση του ολικού χρώματος σε συμπιεσμένα δείγματα και κατά την αποθήκευσή τους.



Εικόνα 23. Ολικό χρώμα διαφορετικά επεξεργασμένων πόσιμων επιδόρπιων γιαουρτιού φυσικής γεύσης και με γεύση κεράσι κατόπιν της επεξεργασίας τους (D+1)

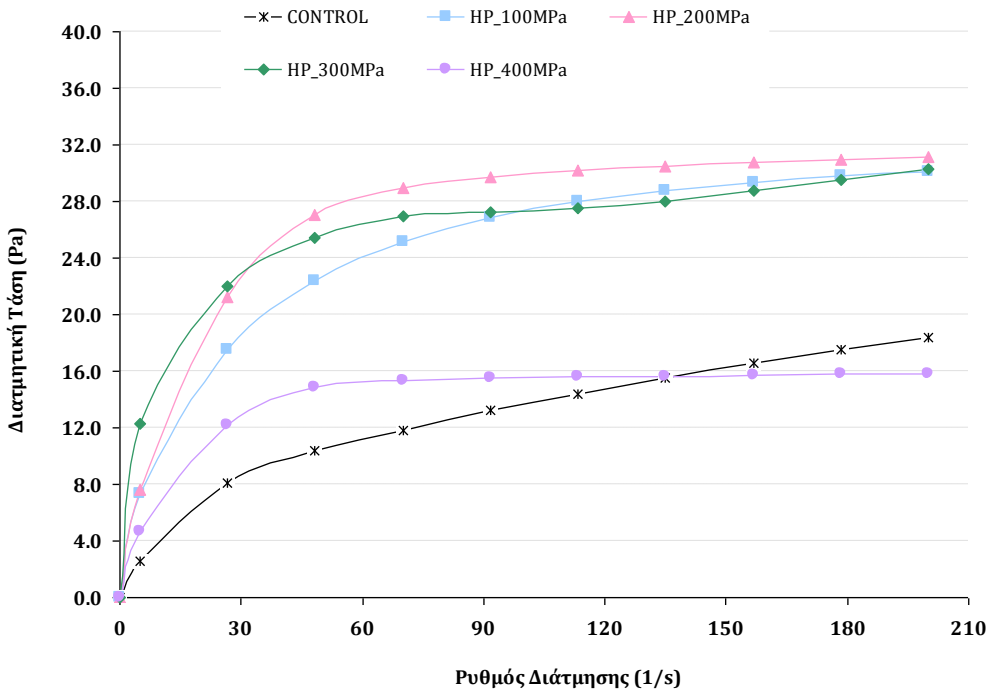
5.6 Ρεολογικές ιδιότητες των πόσιμων επιδόρπιων γιαουρτιού

Σύμφωνα με το μοντέλο Ostwald-de Waale, η ρεολογική συμπεριφορά των μη νευτωνικών ρευστών χαρακτηρίζεται μέσω του συντελεστή συνεκτικότητας (K) και του δείκτη

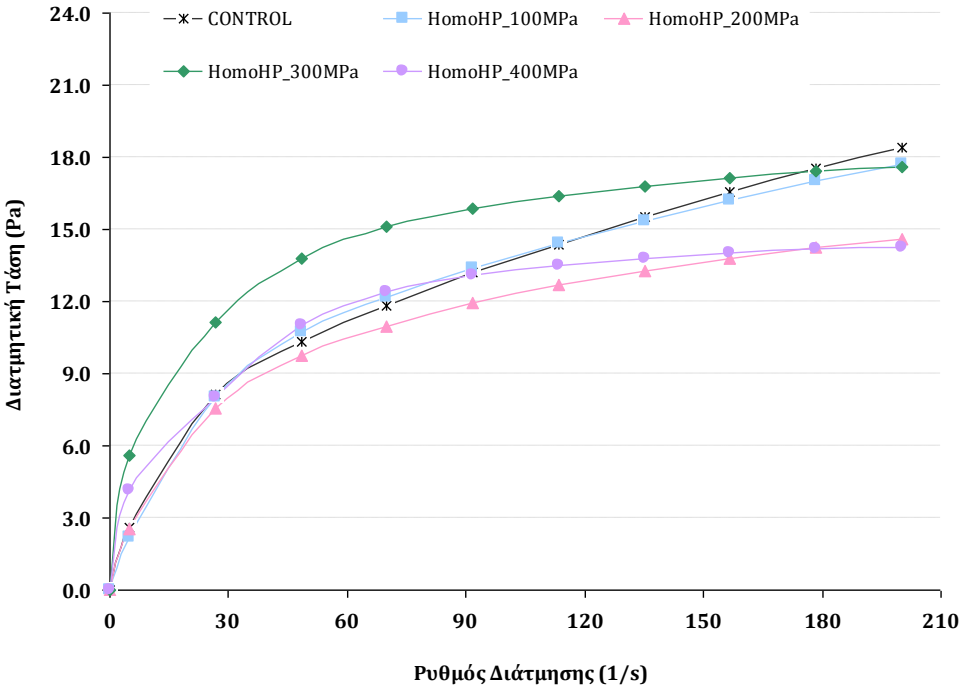
ρεολογικής συμπεριφοράς (*n*). Με αύξηση της τιμής του *K*, τα ρευστά εμφανίζουν πιο ιξώδη ροή, ενώ τιμή του *n* κάτω της μονάδας υποδηλώνει ψευδοπλαστική συμπεριφορά. Στην παρούσα μελέτη, μέσω της εφαρμογής της ΥΠ, επιδιώχθηκε αύξηση της συνεκτικότητας των προϊόντων, με σκοπό το σχηματισμό ιξώδους πήγματος χωρίς φαινόμενα αποβολής ορού. Παρά τις μεταβολές που παρατηρήθηκαν στις τιμές των παραμέτρων για τα διαφορετικά επεξεργασμένα προϊόντα, κανένα από αυτά δεν παρουσίασε απόκλιση από την πόσιμη μορφή.

5.6.1 Ρεολογικές ιδιότητες των πόσιμων επιδόρπιων γιαουρτιού φυσικής γεύσης

Στην **Εικόνα 24** και την **Εικόνα 25** παρουσιάζονται οι ρεολογικές καμπύλες, όπως αυτές προσδιορίστηκαν από τις ρεολογικές καμπύλες μετά την προσαρμογή του μοντέλου Ostwald-de Waale (R^2=*0,80-0,99*), των παραγόμενων επιδόρπιων γιαουρτιού για τα προϊόντα με φυσική γεύση, κατόπιν της επεξεργασίας τους (D+1) με ΥΠ και της επεξεργασίας με ΥΠ μετά τη συμβατική τους ομογενοποίηση, αντίστοιχα. Στον **Πίνακα 12** παρουσιάζονται οι ρεολογικές παράμετροι διαφορετικά επεξεργασμένων πόσιμων επιδόρπιων γιαουρτιού φυσικής γεύσης την πρώτη και μετά από 15 μέρες αποθήκευσης στους 5°C.



Εικόνα 24. Επίδραση της επεξεργασίας με ΥΠ πόσιμου επιδόρπιου γιαουρτιού φυσικής γεύσης στη ρεολογική του συμπεριφορά



Εικόνα 25. Επίδραση της επεξεργασίας με Ομογενοποίηση & ΥΠ πόσιμου επιδόρπιου γιαουρτιού φυσικής γεύσης στη ρεολογική του συμπεριφορά

Η επεξεργασία των προϊόντων με ΥΠ και το επίπεδο της εφαρμοζόμενης πίεσης (κυρίως στο εύρος πιέσεων 100-300 MPa) επηρέασαν τη ρεολογία των παραγόμενων προϊόντων. Καλύτερα αποτελέσματα παρατηρούνται στα προϊόντα που υποβλήθηκαν μόνο σε επεξεργασία με ΥΠ (HP), συγκρινόμενα με αυτά των προϊόντων που υποβλήθηκαν σε επεξεργασία με ΥΠ μετά την ομογενοποίησή τους (Homo-HP). Τα Homo-HP προϊόντα εμφάνισαν παρόμοιες ρεολογικές καμπύλες με αυτές των δειγμάτων αναφοράς (control).

Η επεξεργασία με ΥΠ, το μέγεθος της εφαρμοζόμενης πίεσης και ο χρόνος αποθήκευσης των προϊόντων είχαν σημαντική επίδραση ($p<0,001$) στις τιμές του συντελεστή συνεκτικότητας (K). Σε πιέσεις 100-300 MPa, ο συντελεστής συνεκτικότητας ήταν μεγαλύτερος στα προϊόντα που είχαν επεξεργαστεί με ΥΠ (HP και Homo-HP), συγκριτικά με τα προϊόντα αναφοράς (control). Σε πιέσεις 400 MPa, οι τιμές του συντελεστή συνεκτικότητας των προϊόντων ήταν χαμηλότερες από τις αντίστοιχες τιμές για τα προϊόντα που επεξεργάστηκαν σε πιο χαμηλές πιέσεις (100-300 MPa), αλλά και πάλι βρέθηκαν υψηλότερες από τις αντίστοιχες τιμές του για τα δείγματα αναφοράς (control).

Πίνακας 12. Ρεολογικές παράμετροι πόσιμων επιδόρπιων γιαουρτιού φυσικής γεύσης την 1η και 15η ημέρα αποθήκευσης στους 5°C

	D+1			
	Συντελεστής Συνεκτικοτητας, K **(Pa·s^n)**	***Δείκτης Ρεολογικής Συμπεριφορας, n***	***Φαινομενο Ιξωδες, η*** **(Pa·s)**	***R^2***
Control *	1,80 ± 0,17^{a}	0,44 ± 0,02$^{\iota\kappa}$	8,28 ± 0,28^{a}	*0,98*
HP	***Συντελεστής Συνεκτικοτητας, K*** **(Pa·s^n)**	***Δείκτης Ρεολογικής Συμπεριφορας, n***	***Φαινομενο Ιξωδες, η*** **(Pa·s)**	***R^2***
100 MPa	6,56 ± 1,02^{e}	0,30 ± 0,03$^{\zeta\eta}$	21,7 ± 8,52^{bc}	*0,95*
200 MPa	8,86 ± 1,00^{f}	0,25 ± 0,01$^{\delta\varepsilon}$	23,9 ± 5,12^{c}	*0,85*
300 MPa	11,0 ± 1,20^{g}	0,19 ± 0,02$^{\beta\gamma}$	24,0 ± 6,69^{c}	*0,93*
400 MPa	5,57 ± 1,26^{de}	0,21 ± 0,05$^{\beta\gamma\delta}$	13,6 ± 7,61^{a}	*0,80*
Homo-HP	***Συντελεστής Συνεκτικοτητας, K*** **(Pa·s^n)**	***Δείκτης Ρεολογικής Συμπεριφορας, n***	***Φαινομενο Ιξωδες, η*** **(Pa·s)**	***R^2***
100 MPa	1,96 ± 0,28^{a}	0,42 ± 0,03$^{\iota\kappa}$	10,4 ± 3,77^{a}	*0,98*
200 MPa	2,25 ± 0,33^{a}	0,37 ± 0,03$^{\theta}$	9,63 ± 3,57^{a}	*0,97*
300 MPa	6,22 ± 0,35^{e}	0,20 ± 0,01$^{\beta\gamma}$	13,7 ± 2,02^{a}	*0,98*
400 MPa	3,82 ± 0,47^{bc}	0,26 ± 0,03$^{\varepsilon\zeta}$	10,7 ± 3,39^{a}	*0,95*
	D+15			
	Συντελεστής Συνεκτικοτητας, K **(Pa·s^n)**	***Δείκτης Ρεολογικής Συμπεριφορας, n***	***Φαινομενο Ιξωδες, η*** **(Pa·s)**	***R^2***
Control *	2,16 ± 0,28^{a}	0,40 ± 0,03$^{\theta\iota}$	12,4 ± 0,72^{a}	*0,96*
HP	***Συντελεστής Συνεκτικοτητας, K*** **(Pa·s^n)**	***Δείκτης Ρεολογικής Συμπεριφορας, n***	***Φαινομενο Ιξωδες, η*** **(Pa·s)**	***R^2***
100 MPa	9,85 ± 1,62^{f}	0,23 ± 0,03$^{\gamma\delta\varepsilon}$	24,6 ± 10,2^{c}	*0,89*
200 MPa	9,65 ± 1,01^{f}	0,22 ± 0,02$^{\beta\gamma\delta\varepsilon}$	23,2 ± 6,23^{bc}	*0,95*
300 MPa	11,9 ± 1,07^{g}	0,18 ± 0,02$^{\alpha\beta}$	24,4 ± 5,65^{c}	*0,94*
400 MPa	4,37 ± 0,37^{cd}	0,18 ± 0,02$^{\alpha\beta}$	8,85 ± 1,98^{a}	*0,94*
Homo-HP	***Συντελεστής Συνεκτικοτητας, K*** **(Pa·s^n)**	***Δείκτης Ρεολογικής Συμπεριφορας, n***	***Φαινομενο Ιξωδες, η*** **(Pa·s)**	***R^2***
100 MPa	1,70 ± 0,16^{a}	0,46 ± 0,02$^{\lambda}$	10,3 ± 2,42^{a}	*0,99*
200 MPa	3,04 ± 0,47^{ab}	0,32 ± 0,03$^{\eta}$	10,7 ± 4,16^{a}	*0,95*
300 MPa	8,69 ± 0,48^{f}	0,15 ± 0,01$^{\alpha}$	15,8 ± 2,28^{ab}	*0,96*
400 MPa	4,70 ± 0,47^{cd}	0,21 ± 0,02$^{\beta\gamma}$	10,9 ± 2,77^{a}	*0,95*

*Τα δείγματα "Control" έχουν υποστεί μόνο ομογενοποίηση στα 10 bar μετά το σπάσιμο του πήγματος.
Το γράμμα D αναφέρεται στην ημέρα της παραγωγής των προϊόντων. Οι τιμές είναι μέσοι όροι ± τυπική απόκλιση δύο μετρήσεων και δύο ανεξάρτητων πειραμάτων (n=4).
Τα διαφορετικά γράμματα μεταξύ των γραμμών των όμοιων στηλών 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).

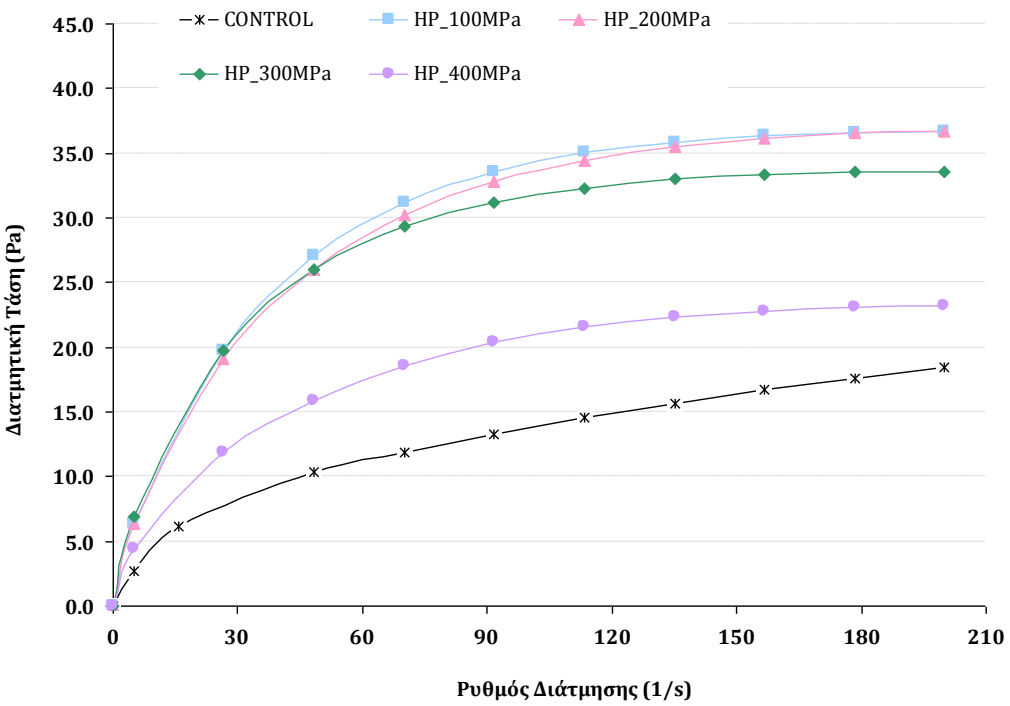
Επιπλέον, στα επεξεργασμένα με πίεση 400 MPa προϊόντα, η τιμή του συντελεστή συνεκτικότητας μειώθηκε κατά την αποθήκευση των προϊόντων, πιθανόν ως αποτέλεσμα τραυματισμού των κυττάρων τόσο της καλλιέργειας εκκίνησης όσο της υπερβιοτικής καλλιέργειας λόγω εφαρμογής της πίεσης, και επομένως, σε μειωμένη βιοχημική δραστηριότητα η οποία, σε αντίθετη περίπτωση, θα οδηγούσε σε αύξηση της συνοχής του πήγματος με το χρόνο.

Η επεξεργασία με ΥΠ, το μέγεθος της εφαρμοζόμενης πίεσης και ο χρόνος αποθήκευσης των προϊόντων είχαν σημαντική επίδραση ($p<0,001$) στις τιμές του δείκτη ρεολογικής συμπεριφοράς (n) των παραγόμενων προϊόντων φυσικής γεύσης. Σε πιέσεις 100-300 MPa, οι τιμές του δείκτη ρεολογικής συμπεριφοράς μειώθηκαν στα προϊόντα που είχαν επεξεργαστεί με ΥΠ (HP και Homo-HP), συγκριτικά με τα προϊόντα αναφοράς (control). Σε πιέσεις 400 MPa, οι τιμές του δείκτη ρεολογικής συμπεριφοράς των προϊόντων αυτών ήταν υψηλότερες αλλά και πάλι χαμηλότερες, συγκριτικά με τα προϊόντα που επεξεργάστηκαν σε πιο χαμηλές πιέσεις αλλά και τα προϊόντα αναφοράς (control) αντίστοιχα.

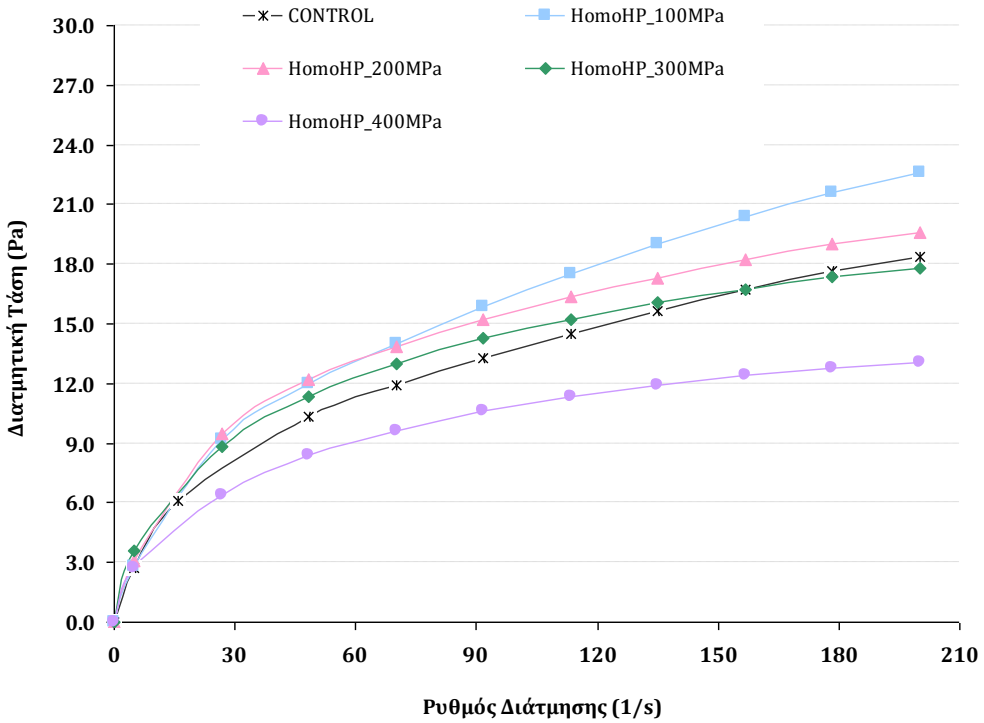
Στα επεξεργασμένα με ΥΠ προϊόντα (HP, Homo-HP), οι τιμές του φαινόμενου ιξώδους στα 50s-1 παρουσίασαν αύξηση σε όλο το εύρος των πιέσεων συγκριτικά με το ιξώδες των προϊόντων αναφοράς (control). Συγκεκριμένα, οι τιμές του φαινόμενου ιξώδους στα HP προϊόντα αυξήθηκαν κατά περίπου 162, 188, 190 και 68% σε πιέσεις 100, 200, 300 και 400 MPa, ενώ στα Homo-HP προϊόντα κατά περίπου 26, 16, 65 και 29% σε πιέσεις 100, 200, 300 και 400 MPa. Τέλος, ο χρόνος αποθήκευσης δε φάνηκε να επηρεάζει σημαντικά τις τιμές του φαινόμενου ιξώδους.

5.6.2 Ρεολογικές ιδιότητες των πόσιμων επιδόρπιων γιαουρτιού με γεύση κεράσι

Στην **Εικόνα 26** και στην **Εικόνα 27** παρουσιάζονται οι ρεολογικές καμπύλες, όπως αυτές προσδιορίστηκαν από τις ρεολογικές καμπύλες μετά την προσαρμογή του μοντέλου Ostwald-de Waale (R2=0,80-0,99), των παραγόμενων επιδόρπιων γιαουρτιού για τα προϊόντα με γεύση κεράσι. Στον **Πίνακα 13** παρουσιάζονται οι ρεολογικές παράμετροι διαφορετικά επεξεργασμένων πόσιμων επιδόρπιων γιαουρτιού με γεύση κεράσι την πρώτη και μετά από 15 μέρες αποθήκευσης στους 5°C.



Εικόνα 26. Επίδραση της επεξεργασίας με ΥΠ πόσιμου επιδόρπιου γιαουρτιού με γεύση κεράσι στη ρεολογική του συμπεριφορά (Μετρήσεις την επόμενη ημέρα από την παραγωγή τους, D+1)



Εικόνα 27. Επίδραση της επεξεργασίας με Ομογενοποίηση & ΥΠ πόσιμου επιδόρπιου γιαουρτιού με γεύση κεράσι στη ρεολογική του συμπεριφορά (Μετρήσεις την επόμενη ημέρα από την παραγωγή τους, D+1)

Πίνακας 13. Ρεολογικές παράμετροι πόσιμων επιδόρπιων γιαουρτιού με γεύση κεράσι την 1η και 15η ημέρα αποθήκευσης στους 5°C

	D+1			
	***Συντελεστής Συνεκτικοτητας, K* (Pa·s^n)**	***Δεικτης Ρεολογικης Συμπεριφορας, n***	***Φαινομενο Ιξωδες, η* (Pa·s)**	***R^2***
Control *	2,14 ± 0,30^{a}	0,41 ± 0,03$^{\alpha\beta\gamma}$	8,41 ± 0,51^{a}	*0,98*
HP	***Συντελεστής Συνεκτικοτητας, K* (Pa·s^n)**	***Δεικτης Ρεολογικης Συμπεριφορας, n***	***Φαινομενο Ιξωδες, η* (Pa·s)**	***R^2***
100 MPa	6,19 ± 0,39^{d}	0,35 ± 0,02$^{\alpha\beta\gamma}$	24,8 ± 4,93^{d}	*0,92*
200 MPa	7,06 ± 0,45^{ef}	0,33 ± 0,03$^{\alpha\beta}$	26,1 ± 3,75^{d}	*0,94*
300 MPa	7,33 ± 0,57^{ef}	0,31 ± 0,01$^{\alpha}$	24,4 ± 4,01^{d}	*0,91*
400 MPa	3,89 ± 0,68^{c}	0,35 ± 0,03$^{\alpha\beta\gamma}$	15,8 ± 6,38^{c}	*0,89*
Homo-HP	***Συντελεστής Συνεκτικοτητας, K* (Pa·s^n)**	***Δεικτης Ρεολογικης Συμπεριφορας, n***	***Φαινομενο Ιξωδες, η* (Pa·s)**	***R^2***
100 MPa	1,84 ± 0,15^{a}	0,48 ± 0,03$^{\gamma}$	11,9 ± 2,49^{abc}	*0,99*
200 MPa	2,52 ± 0,31^{ab}	0,39 ± 0,03$^{\alpha\beta\gamma}$	11,9 ± 3,69^{abc}	*0,98*
300 MPa	2,65 ± 0,27^{ab}	0,37 ± 0,02$^{\alpha\beta\gamma}$	11,2 ± 2,86^{abc}	*0,99*
400 MPa	1,98 ± 0,21^{a}	0,36 ± 0,02$^{\alpha\beta\gamma}$	8,30 ± 2,19^{a}	*0,98*
	D+15			
	***Συντελεστής Συνεκτικοτητας, K* (Pa·s^n)**	***Δεικτης Ρεολογικης Συμπεριφορας, n***	***Φαινομενο Ιξωδες, η* (Pa·s)**	***R^2***
Control *	2,97 ± 0,47^{b}	0,35 ± 0,03$^{\alpha\beta\gamma}$	14,5 ± 1,51^{abc}	*0,96*
HP	***Συντελεστής Συνεκτικοτητας, K* (Pa·s^n)**	***Δεικτης Ρεολογικης Συμπεριφορας, n***	***Φαινομενο Ιξωδες, η* (Pa·s)**	***R^2***
100 MPa	6,60 ± 0,22^{de}	0,33 ± 0,01$^{\alpha\beta}$	23,9 ± 2,75^{d}	*0,96*
200 MPa	7,47 ± 0,58^{f}	0,33 ± 0,02$^{\alpha\beta}$	26,9 ± 5,88^{d}	*0,94*
300 MPa	7,56 ± 0,70^{f}	0,28 ± 0,03$^{\alpha}$	23,3 ± 6,82^{d}	*0,93*
400 MPa	3,92 ± 0,66^{c}	0,35 ± 0,02$^{\alpha\beta\gamma}$	15,4 ± 5,28^{bc}	*0,97*
Homo-HP	***Συντελεστής Συνεκτικοτητας, K* (Pa·s^n)**	***Δεικτης Ρεολογικης Συμπεριφορας, n***	***Φαινομενο Ιξωδες, η* (Pa·s)**	***R^2***
100 MPa	2,26 ± 0,22^{ab}	0,45 ± 0,02$^{\beta\gamma}$	13,1 ± 3,18^{abc}	*0,99*
200 MPa	2,62 ± 0,29^{ab}	0,39 ± 0,03$^{\alpha\beta\gamma}$	12,4 ± 3,46^{abc}	*0,98*
300 MPa	4,08 ± 0,49^{c}	0,37 ± 0,02$^{\alpha\beta\gamma}$	14,6 ± 4,41^{abc}	*0,97*
400 MPa	2,31 ± 0,29^{ab}	0,34 ± 0,03$^{\alpha\beta}$	8,99 ± 2,86^{abc}	*0,97*

*Τα δείγματα "Control" έχουν υποστεί μόνο ομογενοποίηση στα 10 bar μετά το σπάσιμο του πήγματος.
Το γράμμα D αναφέρεται στην ημέρα της παραγωγής των προϊόντων. Οι τιμές είναι μέσοι όροι ± τυπική απόκλιση δύο μετρήσεων και δύο ανεξάρτητων πειραμάτων (n=4).
Τα διαφορετικά γράμματα μεταξύ των γραμμών των όμοιων στηλών 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).

Η επεξεργασία των προϊόντων με ΥΠ και το επίπεδο της εφαρμοζόμενης πίεσης, κυρίως στο εύρος πιέσεων 100-300 MPa, επηρεάζουν τη ρεολογία των παραγόμενων προϊόντων. Καλύτερα αποτελέσματα παρατηρούνται, όπως και στην περίπτωση των προϊόντων με φυσική γεύση, στα προϊόντα που υποβλήθηκαν μόνο σε επεξεργασία με ΥΠ (HP), συγκρινόμενα με αυτά των προϊόντων που υποβλήθηκαν σε επεξεργασία με ΥΠ μετά την ομογενοποίησή τους (Homo-HP). Τα Homo-HP προϊόντα εμφάνισαν παρόμοιες ρεολογικές καμπύλες με αυτές των προϊόντων αναφοράς (control). Μία διαφορά μεταξύ των προϊόντων με φυσική γεύση και των προϊόντων με γεύση κεράσι είναι ότι τα δεύτερα παρουσίασαν τιμές διατμητικής τάσης ελαφρώς υψηλότερες από αυτές των προϊόντων με φυσική γεύση. Το γεγονός αυτό, πιθανότατα οφείλεται στην αύξηση των ολικών στερεών, λόγω προσθήκης σιροπιού.

Η επεξεργασία με ΥΠ, το μέγεθος της εφαρμοζόμενης πίεσης και ο χρόνος αποθήκευσης των προϊόντων είχαν σημαντική επίδραση ($p<0,001$) στις τιμές του συντελεστή συνεκτικότητας (K). Σε πιέσεις 100-300 MPa, ο συντελεστή συνεκτικότητας ήταν αυξημένος στα προϊόντα που είχαν επεξεργαστεί με ΥΠ (HP και Homo-HP), συγκριτικά με τα προϊόντα αναφοράς (control). Σε πιέσεις 400 MPa, οι τιμές του συντελεστή συνεκτικότητας όλων των προϊόντων ήταν χαμηλότερες από τις αντίστοιχες τιμές για όλα τα προϊόντα που επεξεργάστηκαν σε πιο χαμηλές πιέσεις (100-300 MPa), αλλά υψηλότερες από τις αντίστοιχες τιμές του για τα δείγματα αναφοράς (control). Επιπλέον, στα επεξεργασμένα με πίεση 400 MPa προϊόντα, σε αντίθεση με τα προϊόντα φυσικής γεύσης, , η τιμή του συντελεστή συνεκτικότητας παρέμεινε σταθερή κατά την αποθήκευση των προϊόντων. Το γεγονός αυτό, πιθανώς να οφείλεται σε αυξημένη βιοχημική δραστηριότητα στο προϊόν (συγκριτικά με τα προϊόντα φυσικής γεύσης), λόγω της ύπαρξης του σιροπιού.

Η επεξεργασία με ΥΠ και το μέγεθος της εφαρμοζόμενης πίεσης είχαν σημαντική επίδραση ($p<0,001$) στις τιμές του δείκτη ρεολογικής συμπεριφοράς (n) των παραγόμενων προϊόντων φυσικής γεύσης. Ο χρόνος αποθήκευσης των προϊόντων δεν φάνηκε να έχει σημαντική επίδραση στην τιμή του δείκτη ρεολογικής συμπεριφοράς. Όπως και στην περίπτωση των προϊόντων με φυσική γεύση, σε πιέσεις 100-300 MPa, οι τιμές του δείκτη ρεολογικής συμπεριφοράς μειώθηκαν στα προϊόντα που είχαν επεξεργαστεί με ΥΠ (HP και Homo-HP), συγκριτικά με τα προϊόντα αναφοράς (control). Σε πιέσεις 400 MPa, οι τιμές του δείκτη ρεολογικής συμπεριφοράς όλων των προϊόντων ήταν υψηλότερες συγκριτικά με τα προϊόντα που επεξεργάστηκαν σε πιο χαμηλές πιέσεις, και χαμηλότερες συγκριτικά με τα προϊόντα αναφοράς (control).

Στα επεξεργασμένα με ΥΠ προϊόντα (HP, Homo-HP), οι τιμές του φαινόμενου ιξώδους στα $50s^{-1}$ παρουσίασαν αύξηση σε όλο το εύρος των πιέσεων συγκριτικά με το ιξώδες των προϊόντων αναφοράς (control). Συγκεκριμένα, οι τιμές του φαινόμενου ιξώδους στα HP προϊόντα αυξήθηκαν κατά περίπου 195, 210, 190 και 88% σε πιέσεις 100, 200, 300 και 400 MPa, ενώ στα Homo-HP προϊόντα κατά 41 και 33% σε πιέσεις 100-200 και 300 MPa. Όταν εφαρμόστηκαν πιέσεις της τάξης των 400 MPa κατόπιν της συμβατικής ομογενοποίησης, η τιμή του ιξώδους μειώθηκε κατά περίπου 1% σε σχέση με την αντίστοιχη τιμή των δειγμάτων αναφοράς. Παρόμοια με την περίπτωση των επιδόρπιων γιαουρτιού με φυσική γεύση, ο χρόνος αποθήκευσης δε φάνηκε να επηρεάζει σημαντικά τις τιμές του ιξώδους.

6 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Κατά την παραγωγική διαδικασία των γαλακτοκομικών προϊόντων, η σύσταση του γάλακτος καθώς και οι επεξεργασίες που ακολουθούνται κατά τη βιομηχανική παραγωγής τους αποτελούν καθοριστικούς παράγοντες για την επίτευξη της επιθυμητής υφής του τελικού προϊόντος. Ειδικότερα σε προϊόντα στα οποία, για διατροφικούς κυρίως λόγους, ελαχιστοποιείται το περιεχόμενό τους σε λιπαρά, η προσθήκη πρωτεϊνικών παρασκευασμάτων αλλά και σταθεροποιητικών μέσων, αποτελούν κυρίαρχες μεθόδους για την παραγωγή προϊόντων με βελτιωμένα ποιοτικά χαρακτηριστικά. Εναλλακτικά, η βελτίωση της υφής των προϊόντων αυτών δύναται να επιτευχθεί μέσω της τροποποίησης των πρωτεϊνικών δικτύων του γάλακτος αλλά και των προϊόντων του. Μία τέτοια μέθοδο αποτελεί και η επεξεργασία του γάλακτος ή και των προϊόντων του με υπερυψηλή πίεση (ΥΠ). Με βάση διαθέσιμες βιβλιογραφικές μελέτες, προτείνεται η εφαρμογή της επεξεργασίας με ΥΠ σε ζυμωμένα γαλακτοκομικά προϊόντα, προκειμένου να ενισχυθεί η δομή τους και να μειωθεί ο παρατηρούμενος ορός, λόγω της μειωμένης ικανότητας συγκράτησης νερού των πηγμάτων, στην επιφάνειά τους. Με δεδομένη την αυξανόμενη ζήτηση προϊόντων με λειτουργικές ιδιότητες, κρίθηκε σκόπιμη η μελέτη της επίδρασης της επεξεργασίας με ΥΠ σαν τελικό στάδιο παραγωγής πόσιμων επιδόρπιων γιαουρτιού που περιέχουν υπερβιοτικούς μικροοργανισμούς (*Bifidobacteium animalis* subsp. *lactis* BB12 και *Lactobacillus acidophilus* LA5). Τα παραγόμενα πήγματα μελετήθηκαν τόσο ως προς τη βιωσιμότητα της περιεχόμενης υπερβιοτικής καλλιέργειας, προκειμένου να διαπιστωθεί η διατήρηση της λειτουργικότητάς τους, όσο και ως προς ποικίλα ποιοτικά χαρακτηριστικά (π.χ. φυσικοχημικές παράμετροι, ρεολογία).

Αρχικά, με βάση τα αποτελέσματα που αφορούσαν στη βιωσιμότητα των στελεχών της υπερβιοτικής καλλιέργειας, βρέθηκε ότι το στέλεχος BB12 εμφανίζεται περισσότερο ευαίσθητο κατά την εφαρμογή της ΥΠ σε σχέση με το LA5. Η παρατήρηση αυτή έρχεται σε συμφωνία με παλαιότερη διπλωματική μελέτη, κατά την οποία τα bifidobacteria εμφάνιζαν χαμηλότερα ποσοστά βιωσιμότητας σε συστήματα μοντέλου σε σχέση με τους γαλακτοβάκιλλους (βλ. διπλωματική εργασία Κονδύλη Α. 2010). Επιπρόσθετα, αξίζει να σημειωθεί ότι το στέλεχος του γαλακτοβάκιλλου που χρησιμοποιήθηκε στην προηγούμενη διπλωματική μελέτη ήταν διαφορετικό από αυτό που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα, γεγονός που υποδεικνύει ότι πιθανόν διαφορετικοί γαλακτοβάκιλλοι, ανάμεσα σε στελέχη

που παρουσιάζουν λειτουργικές ιδιότητες, παρουσιάζουν παρόμοια συμπεριφορά υπό συνθήκες ΥΠ.

Από τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας βρέθηκε επίσης ότι, η βιωσιμότητα των υπερβιοτικών μικροοργανισμών ενισχύεται στα δείγματα που έχουν υποστεί επεξεργασία μόνο με ΥΠ, γεγονός που φαίνεται να σχετίζεται με τη μειωμένη μεταβολική δραστηριότητα των μικροοργανισμών της καλλιέργειας εκκίνησης, και συνεπώς τη μειωμένη μετα-οξίνιση (post-acidification) των προϊόντων αυτών. Επιπλέον, η βιωσιμότητα και των δύο μελετώμενων υπερβιοτικών μικροοργανισμών βρέθηκε υψηλότερη στα προϊόντα που πραγματοποιήθηκε προσθήκη σιροπιού για την ενίσχυση της γεύσης, λόγω της αύξησης του περιεχομένου σε σάκχαρα, και άρα του θρεπτικού υποστρώματος για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών αυτών.

Αναφορικά με τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των παραγόμενων προϊόντων, τα δείγματα που είχαν επεξεργαστεί με ΥΠ, εμφάνισαν υψηλότερες τιμές pH σε σχέση με τα δείγματα αναφοράς, γεγονός που έρχεται σε συμφωνία με την προηγούμενη παρατήρηση, ότι η επεξεργασία των προϊόντων με ΥΠ επιβραδύνει την ανάπτυξη και τη μεταβολική δραστηριότητα των περιεχόμενων μικροοργανισμών, και άρα και την παραγωγή γαλακτικού οξέος, ως αποτέλεσμα ενός πιθανού τραυματισμού των κυττάρων κατά την συμπίεση. Επιπλέον, τα επεξεργασμένα με ΥΠ δείγματα εμφάνισαν υψηλότερα ποσοστά ικανότητας συγκράτησης νερού, που σχετίζεται την ενίσχυση του σχηματισμού συσσωματωμάτων μεταξύ των πρωτεϊνών ορού και των καζεϊνικών μικυλλίων, και επομένως με τη διαμόρφωση πυκνότερων πρωτεϊνικών δικτύων. Τέλος, όσον αφορά στην παράμετρο του χρώματος, παρατηρήθηκε μείωση του ολικού χρώματος μόνο για τα προϊόντα με γεύση κεράσι, η οποία σχετίζεται με την υποβάθμιση των ανθοκυανών, τόσο υπό συνθήκες πίεσης όσο και κατά την αποθήκευση.

Η εφαρμογή της ΥΠ σαν τελικό στάδιο παραγωγής των επιδόρπιων γιαουρτιού επέφερε σημαντική βελτίωση και των ρεολογικών χαρακτηριστικών των προϊόντων. Ο συντελεστής συνεκτικότητας αλλά και το φαινόμενο ιξώδες εμφάνισαν σημαντική ($p<0,001$) εξάρτηση τόσο από την εφαρμογή της ΥΠ αλλά και το επίπεδο της εφαρμοζόμενης πίεσης, όσο και από το χρόνο αποθήκευσης. Αντίθετα, η προσθήκη σιροπιού για την ενίσχυση της γεύσης δε φάνηκε να διαφοροποιεί τα αποτελέσματα. Έτσι, οι ρεολογικές παράμετροι του συντελεστή συνεκτικότητας και του φαινόμενου ιξώδους των επεξεργασμένων με ΥΠ δειγμάτων αυξήθηκαν σημαντικά σε σχέση τόσο με τα δείγματα αναφοράς όσο και με τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με ΥΠ κατόπιν της συμβατικής τους επεξεργασίας, με τα τελευταία να μην εμφανίζουν σημαντικές διαφορές

μεταξύ τους. Η βελτίωση των ρεολογικών παραμέτρων ενισχύθηκε με αύξηση της εφαρμοζόμενης πίεσης στο εύρος 100-300 MPa. Παρόλα αυτά για τα επεξεργασμένα με ΥΠ δείγματα σε πιέσεις της τάξης των 400 MPa, οι ρεολογικές παράμετροι δεν παρουσίασαν αυξητική τάση σε σχέση με τα δείγματα των 300 MPa, βρέθηκαν όμως ενισχυμένες σε σχέση με τις τιμές των δειγμάτων αναφοράς, ανεξαρτήτως οποιασδήποτε άλλης επεξεργασίας των πηγμάτων (μεμονωμένη εφαρμογή της ΥΠ ή εφαρμογή της ΥΠ μετά τη συμβατική ομογενοποίηση).

Συμπερασματικά, η επεξεργασία με ΥΠ μπορεί να αποτρέψει φαινόμενα συναίρεσης και να ενισχύσει τα ρεολογικά χαρακτηριστικά ζυμωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων με λειτουργικές ιδιότητες, διατηρώντας ταυτόχρονα τους πληθυσμούς των περιεχομένων υπερβιοτικών στελεχών πάνω από τα καθορισμένα νομοθετικά όρια, ελαχιστοποιώντας ή/και εξαλείφοντας την ανάγκη για προσθήκη ουσιών (π.χ. πρωτεϊνικά παρασκευάσματα, σταθεροποιητές) προκειμένου να ενισχυθεί η δομή τους, και ικανοποιώντας την επιθυμία του καταναλωτικού κοινού για «φρέσκα» τρόφιμα.

Τέλος, με βάση τα αποτελέσματα της παρούσας διπλωματικής εργασίας, αλλά και τις ελλείψεις που υπάρχουν στη διεθνή βιβλιογραφία προτείνονται:

- ✓ Η πραγματοποίηση ενός καθολικού οργανοληπτικού ελέγχου των δειγμάτων που παρασκευάστηκαν στην παρούσα εργασία, προκειμένου να εκτιμηθεί η αποδεκτότητα των εναλλακτικά επεξεργασμένων αυτών προϊόντων από το καταναλωτικό κοινό.
- ✓ Η παραγωγή παρόμοιων προϊόντων, στα οποία όμως θα περιέχονται και προβιοτικοί υδατάνθρακες, προκειμένου να αξιολογηθεί η συμβολή τους στη βιωσιμότητα των υπερβιοτικών μικροοργανισμών.
- ✓ Η αξιολόγηση της βιομηχανικής υλοποίησης της ΥΠ σε τέτοια προϊόντα, προκειμένου να προσδιορισθούν η οικονομικότητα της μεθόδου σε σχέση με τα οφέλη που προκύπτουν από την εφαρμογή της ως προς τα χαρακτηριστικά του προϊόντος αλλά και τις επιθυμίες του καταναλωτικού κοινού.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 1ΟΥ

Belitz, H. D., Grosch, W., & Schieberle, P. (2009). Food Chemistry, Springer, Berlin.

Boland, M., Singh, H., & Thompson, A. (Eds.). (2014). Milk proteins: from expression to food. Academic Press.

Bylund, G. (1995). Dairy Processing Handbook. Tetrapak Processing Systems, AB, Sweden.

Caballero, B., Trugo, L., & Finglas, P. (2003). Encyclopedia of food sciences and nutrition: Volumes 1-10 (No. Ed. 2). Elsevier Science BV.

Chandan, R. C., & Kilara, A. (Eds.). (2010). Dairy ingredients for food processing. John Wiley & Sons.

Chandan, R. C., & O'Rell, K. R. (2006). Principles of yogurt processing. Manufacturing yogurt and fermented milks, 195.

Clark, S., Cross, N. A., Dobbs, J. C., & Hurst, W. J. (2007). Handbook of food products manufacturing (Vol. 1). Y. H. Hui (Ed.). John Wiley & Sons.

Clarke, C. (2012). The science of ice cream. Royal Society of chemistry.

Corredig, M. (Ed.). (2009). Dairy-derived ingredients: food and nutraceutical uses. Elsevier.

Courtin, P., & Rul, F. (2004). Interactions between microorganisms in a simple ecosystem: yogurt bacteria as a study model. Le Lait, 84, 125-134.

FAO/WHO (2011). Codex Alimentarius: Milk and Milk Products, 2nd Edition, Rome.

Fox, P. F., & Kelly, A. L. (2006). Chemistry and biochemistry of milk constituents. Food Biochemistry and Food Processing, 425-452.

Fox, P. F., Uniacke-Lowe, T., McSweeney, P. L. H., & O'Mahony, J. A. (2015). Milk proteins. In Dairy chemistry and biochemistry (pp. 145-239). Springer International Publishing.

Fox, P. F., & McSweeney, P. L. (1998). Dairy chemistry and biochemistry. Springer Science & Business Media.

Fox, P. F., McSweeney, P. L., Cogan, T. M., & Guinee, T. P. (Eds.). (2004).Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology: General Aspects (Vol. 1). Academic Press.

Griffiths, M. W. (Ed.). (2010). Improving the Safety and Quality of Milk: Improving quality in milk products (Vol. 2). Elsevier.

Holm, F. (2003). Gut health and diet: The benefits of probiotic and prebiotics on human health. The World of Ingredients, 2, 52-55.

Jay, J.M. (2005). Modern Food Microbiology (7th Edition). Aspen Publishers, Inc., USA.

Kruger, C. L., & Mann, S. W. (2003). Safety evaluation of functional ingredients. Food and chemical toxicology, 41(6), 793-805.

MacGibbon, A. K. H., & Taylor, M. W. (2006). Composition and structure of bovine milk lipids. In Advanced Dairy Chemistry Volume 2 Lipids (pp. 1-42). Springer US.

Marshall, R. T., & Arbuckle, W. S. (1996). Ice Cream5th ed. Chapman & Hall, New York.

Marshall, R. T., Goff, H. D., & Hartel, R. W. (2012). Ice cream. Springer.

Otter, D. (2003). Milk: Physical and chemical properties. Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition, 2nd ed. Academic Press, New York, 3957-3963.

Frederick J. F. (1999). Wiley encyclopedia of food science and technology. John Wiley & Sons.

Robinson, R. K. (Ed.). (2005). Dairy microbiology handbook: the microbiology of milk and milk products. John Wiley & Sons.

Saxelin, M., Korpela, R., Mäyrä-Mäkinen, A., Mattila-Sandholm, T., & Saarela, M. (2003). Introduction: classifying functional dairy products. Functional dairy products, 1-16.

Shah N. 2003. Yogurt: The product and manufacture. B Caballero, L Truco, PM Finglas (Eds), Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition, Vol. 10, 2nd ed. Academic Press, New York, pp. 6252–6259.

Smit, G. (Ed.). (2003). Dairy processing: Improving quality. Elsevier.

Tamime, A. Y., & Robinson, R. K. (2007). Tamime and Robinson's yoghurt: science and technology. Elsevier.

Tamime, A. Y. (Ed.). (2008). Fermented milks. John Wiley & Sons.

Tamime, A. Y. (Ed.). (2008). Structure of dairy products. John Wiley & Sons.

Walstra, P., Walstra, P., Wouters, J. T., & Geurts, T. J. (2005). Dairy science and technology. CRC press.

White, C. H., Kilara, A., & Hui, Y. H. (2008). Manufacturing yogurt and fermented milks. R. C. Chandan (Ed.). John Wiley & Sons.

Wouters, J. T. (2012). Encyclopedia of Dairy Sciences.

Ελληνικός Κώδικας Τροφίμων & Ποτών, Έκδοση 2009, με αναθεωρημένες διατάξεις έως το 2014. Γενικό Χημείο του Κράτους, Αθήνα.

Μπαλατσούρας, Γ. (2006). Μικροβιολογία Τροφίμων. Εκδόσεις ΕΜΒΡΥΟ, Αθήνα

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 2ΟΥ

Abrams, S. A., Griffin, I. J., Hawthorne, K. M., Liang, L., Gunn, S. K., Darlington, G., & Ellis, K. J. (2005). A combination of prebiotic short-and long-chain inulin-type fructans enhances calcium absorption and bone mineralization in young adolescents. The American journal of clinical nutrition, 82(2), 471-476.

Adhikari, K., Mustapha, A., Grün, I.U., & Fernando, L. (2000). Viability of microencapsulated Bifidobacteria in set yogurt during refrigerated storage. Journal of Dairy Science, 83, 1946-1951.

Aguirre, M., & Collins, M. D. (1993). Lactic acid bacteria and human clinical infection. Journal of Applied Bacteriology, 75(2), 95-107.

Akalın, A. S., Fenderya, S., & Akbulut, N. (2004). Viability and activity of bifidobacteria in yoghurt containing fructooligosaccharide during refrigerated storage. International journal of food science & technology, 39(6), 613-621.

Aluko, R. E. (2012). Functional foods and nutraceuticals. New York: Springer.

Andersson, H., Asp, N. G., Bruce, Å., Roos, S., Wadström, T., & Wold, A. E. (2001). Health effects of probiotics and prebiotics A literature review on human studies. Food & Nutrition Research, 45, 58-75.

Andreoletti O, Bukda H, Buncic S et al. (2008) Scientific opinion of the panel on biological hazards on a request from EFSA on the maintenance of the list of QPS microorganisms intentionally added to food or feed. EFSA J 923:1–48.

Barlow, S., Chesson, A., Collins, J. D., Dybing, E., Flynn, A., & Fruijtier-Pölloth, C. (2007). Introduction of a Qualified Presumption of Safety (QPS) approach for assessment of selected microorganisms referred to EFSA. EFSA J, 587, 1-16.

Berner, L. A., & O'Donnell, J. A. (1998). Functional foods and health claims legislation: applications to dairy foods. International Dairy Journal, 8(5), 355-362.

De Vrese, M., & Schrezenmeir, J. (2002). Probiotics and non-intestinal infectious conditions. British Journal of Nutrition, 88(S1), s59-s66.

FAO/WHO (2001). Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria, Córdoba, Argentina 2001.

FAO/WHO (2002). Report of a Joint FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food, London Ontario, Canada.

Ghoddusi, H. B. (2010). Handbook of Prebiotics. International Journal of Dairy Technology, 63(1), 146-147.

Gibson, G. R., & Roberfroid, M. (Eds.). (2008). Handbook of prebiotics. CRC Press.

Güler-Akın, M.B., & Akın, M.S. (2007). Effects of cysteine and different incubation temperatures on the microflora, chemical composition and sensory characteristics of bio-yogurt from goat's milk. Food Chemistry, 100, 788-793.

Guven, M., Yasar, K., Karaca, O.B., & Hayaloglu, A.A. (2005). The effect of inulin as a fat replacer on the quality of set-type low-fat yogurt manufacture. International Journal of Dairy Technology, 58, 180-184.

ILSL (2002). Concepts of Functional Foods. ILSI Europe Concise Monograph Series, ILSL Press, USA.

Kailasapathy, K. (2006). Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurt. LWT- Food Science & Technology, 39, 1221-1227.

Korhonen, H. (2002). Technology options for new nutritional concepts.International Journal of Dairy Technology, 55(2), 79-88.

Kruger, C. L., & Mann, S. W. (2003). Safety evaluation of functional ingredients. Food and chemical toxicology, 41(6), 793-805.

Lee, Y. K., & Salminen, S. (2009). Handbook of probiotics and prebiotics. John Wiley & Sons.

Mäkinen-Aakula, M. (2006). Trends in functional foods dairy market. In Proceedings of the third functional food net meeting.

Mortazavian, A.M., Ehsani, M.R., Mousavi, S.M., Reinheimer, J.A., Emandjomeh, Z., Sohrabvandi, S., & Rezaei, K. (2006). Preliminary investigation of the combined effect of heat treatment and incubation temperature on the viability of the probiotic microorganisms in freshly made yogurt. International Journal of Dairy Technology, 59, 8-11.

Naidu, A. S., Bidlack, W. R., & Clemens, R. A. (1999). Probiotic spectra of lactic acid bacteria (LAB). Critical reviews in food science and nutrition, 39(1), 13-126.

Pharmaceutiques, U. D. L. (1995). Dietary modulation of the human colonie microbiota: introducing the concept of prebiotics. Journal of nutrition, 125, 1401-1412.

Prasanna, P.H.P., Grandison, A.S., & Charalampopoulos, D. (2012). Effect of dairy-based protein sources and temperature on growth, acidification and exopolysaccharide production of Bifidobacterium strains in skim milk. Food Research International, 47, 6-12.

Roberfroid, M. (2007). Prebiotics: the concept revisited. The Journal of nutrition, 137(3), 830S-837S.

Robinson, R. K. (Ed.). (2005). Dairy microbiology handbook: the microbiology of milk and milk products. John Wiley & Sons.

Saarela, M., Mogensen, G., Fondén, R., Mättö, J., & Mattila-Sandholm, T. (2000). Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties.Journal of biotechnology, 84(3), 197-215.

Salminen, S., von Wright, A., Morelli, L., Marteau, P., Brassart, D., de Vos, W. M., ... & Mattila-Sandholm, T. (1998). Demonstration of safety of probiotics—a review. International journal of food microbiology, 44(1), 93-106.

Saxelin, M., Rautelin, H., Salminen, S., & Mäkelä, P. H. (1996). SAFETY OF COMMERCIAL PRODUCTS WITH VIABLE LACTOBACILLUS STRAINS.Infectious Diseases in Clinical Practice, 5(5), 331-335.

Shah, N.P., & Lankaputhra, W.E.V. (1997). Improving viability of Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium spp. in yogurt. International Dairy Journal, 7, 349-356.

Siro, I., Kapolna, E., Kapolna, B., & Lugasi, A. (2008). Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance—A review. Appetite, 51(3), 456-467.

Sloan, A. E. (2004). The top 10 functional food trends 2004. Food Technology, 58(4), 28-51.

Sodini, I., Lucas, A., Oliveira, M. N., Remeuf, F., & Corrieu, G. (2002). Effect of milk base and starter culture on acidification, texture, and probiotic cell counts in fermented milk processing. Journal of Dairy Science, 85(10), 2479-2488.

Svensson, U. (1999), "Industrial perspectives", In: (Ed.), "Probiotics: A Critical Review", Editor: Tannock, G.W., Publisher: Horizon Scientific Press, Wymondham, p. 57–64

Tamime, A. Y. (Ed.). (2008). Probiotic dairy products. John Wiley & Sons.

Vinderola, C.G., Mocchiutti, P., & Reinheimer, J.A. (2002). Interactions among lactic acid bacteria and probiotic bacteria used for fermented dairy products. Journal of Dairy Science, 85, 721-729.

Wildman, R. E., Wildman, R., & Wallace, T. C. (Eds.). (2006). Handbook of nutraceuticals and functional foods. CRC press.

Μπαλατσούρας, Γ. (2006). Μικροβιολογία Τροφίμων. Εκδόσεις ΕΜΒΡΥΟ, Αθήνα

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 3ΟΥ

Alpas, H., & Bozoglu, F. (2000). The combined effect of high hydrostatic pressure, heat and bacteriocins on inactivation of foodborne pathogens in milk and orange juice. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 16, 387 –392.

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.

Balny, C., &Masson, P. (1993). Effects of high pressure on proteins. Food Reviews International, 9, 611-628.

Balny, C. (2002). High pressure and protein oligomeric dissociation.International Journal of High Pressure Research, 22(3-4), 737-741.

Black, E. P., Kelly, A. L., & Fitzgerald, G. F. (2005). The combined effect of high pressure and nisin on inactivation of microorganisms in milk. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 6(3), 286-292.

Black, E. P., 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(1), 78-87.

Buffa, M., Guamis, B., Royo, C., & Trujillo, A.J. (2001). Microbial changes throughout ripening of goat cheese made from raw, pasteurised and high-pressure-treated milk. Food Microbiology, 18(1), 45 –51.

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

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. P., Richard, N., & Cheftel, J. C. (1994). Bacterial growth during chilled storage of pressure-treated minced meat. LWT-Food Science and Technology, 27(1), 48-54.

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 of Food and Agriculture, 82(8), 790-796.

de Ancos, B., Cano, M. P., & Gómez, R. (2000). Characteristics of stirred low-fat yoghurt as affected by high pressure. International dairy journal, 10(1), 105-111.

García, A. F., Butz, P., Bognàr, A., & Tauscher, B. (2001). Antioxidative capacity, nutrient content and sensory quality of orange juice and an orange-lemon-carrot juice product after high pressure treatment and storage in different packaging. European Food Research and Technology, 213(4-5), 290-296.

Foguel, D., Suarez, M. C., Ferrão-Gonzales, A. D., Porto, T. C., Palmieri, L., Einsiedler, C. M., ... & Silva, J. L. (2003). Dissociation of amyloid fibrils of α-synuclein and transthyretin by pressure reveals their reversible nature and the formation of water-excluded cavities. Proceedings of the National Academy of Sciences, 100(17), 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

Garcı´a-Risco, M. R., Cortes, E., Carrascosa, A. V., & Lo´pez-Fandinˇo, R. (2003). Plasmin activity in pressurized milk. Journal of Dairy Science, 86, 728–734.

Garcıa Graells, C., Masschalck, B., & Michiels, C.W. (1999). Inactivation of Escherichia coli in milk by high-hydrostatic-pressure treatment in combination with antimicrobial peptides. Journal of Food Protection, 62(11), 1248–1254.

Garcıa 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.

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.

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

Hernandez, A., & Harte, F.M. (2008). Manufacture of acid gels from skim milk using high-pressure homogenization. Journal of Dairy Science, 9, 61-67.

Hite, B.H. (1899). The effect of pressure in the preservation of milk. West Virginia Agricultural Experimental Station Bulletin, 58, 15 – 35.

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., 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.

Knorr, D., Heinz, V., & Buckow, R. (2006). High pressure application for food biopolymers. Biochimica et Biophysica Acta, 1764, 619-631.

Kolakowski, P., Reps, A., Dajnowiec, F., Szczepek, J., & Porowski, S. (1997). Effect of high pressures on the microflora of raw cow's milk. In J.C. Oliveira, F.A.R. Oliveira,

Proceedings of Process Optimisation and Minimal Processing of Foods (pp. 46 –50). Leuven, Belgium: Leuven University Press.

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.

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.

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 phosphatise in bovine milk: A kinetic study. Journal of Food Science, 65, 155-160.

Ludikhuyze, L.R., Claeys, W.L., & Hendrickx, M.E. (2001). Effect of temperature and/or pressure on lactoperoxidase activity in bovine milk and acid whey. Journal of Dairy Research, 68, 625-637.

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(3), 325-332.

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.

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.

Moatsou, G., Bakopanos, C., Katharios, D., Katsaros, G., Kandarakis, I., Taoukis, P., & Politis, I. (2008a). Effect of high-pressure treatment at various temperatures on indigenous proteolytic enzymes and whey protein denaturation in bovine milk. Journal of Dairy Research, 75, 262-269.

Moatsou, G., Katsaros, G., Bakopanos, C., Kandarakis, I., Taoukis, P., & Politis, I. (2008b). Effect of high-pressure treatment at various temperatures on activity of indigenous proteolytic enzymes and denaturation of whey proteins in ovine milk. International Dairy Journal, 18, 1119-1125.

Morgan, S.M., Ross, R.P., Beresford, T.P., & Hill, C. (2000). Combination of hydrostatic pressure and lacticin 3147 causes increased killing of Staphylococcus and Listeria. Journal of Applied Microbiology, 88(3), 414 –420

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.

Mussa, D.M., & Ramaswamy, H. (1997). Ultra high pressure pasteurisation 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., 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.

Needs, E.C., Capellas, M., Bland, A.P., Manoj, P., MacDougal, D., & Paul, G. (2000b). Comparison of heat and pressure treatments of skim milk, fortified with whey protein concentrate, for set yogurt preparation: effects on milk proteins and gel structure. Journal of Dairy Research, 67, 329-348.

Northrop, D.B. (2002). Effects of high pressure on enzymatic activity – review. Biochimica et Biophysica Acta, 1595, 71-79.

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

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.

Patrignani, F., Burns, P., Serrazanetti, D., Vinderola, G., Reinheimer, J., Lanciotti, R., & Guerzoni, M. E. (2009). Suitability of high pressure-homogenized milk for the production of probiotic fermented milk containing Lactobacillus paracasei and Lactobacillus acidophilus. Journal of dairy research, 76(01), 74-82.

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.

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., & Kessler, H.G. (1997). High pressure inactivation of microorganisms and enzymes in milk and milk products. In K. Heremans, High Pressure Bio-Science and Biotechnology (pp. 291 –293). Leuven, Belgium: Leuven University Press.

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.

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.

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.

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, M., Trujillo, A.J., Quevedo, J.M., Guamis, B., & Ferragut, V. (2007). Acid coagulation properties and suitability for yogurt production of cows' milk treated by high-pressure homogenisation. International Dairy Journal, 17, 782-790.

Sørhaug T., & Stepaniak L. (1997). Psychrotrophs and their enzymes in milk and dairy products: quality aspects. Trends in Food Science & Technology, 8, 35-41.

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., & P. E. Nelson (1998). High-pressure processing and preservation of food." Food Reviews International, 14, 427-447.

Timson, W. J., & A. J. Short (1965). Resistance of microorganisms to hydrostatic pressure." Biotechnology and Bioengineering, 7, 139-159.

Tsevdou, M. S., & P. S. Taoukis (2011). Effect of non-thermal processing by High Hydrostatic Pressure on the survival of probiotic microorganisms: Study on Bifidobacteria spp. Anaerobe, 17, 456-458.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 4ΟΥ

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.

International Dairy Federation, IDF (1991). Yogurt: Determination of titratable acidity. International IDF Standard, ISO.

Stanley, N.I., & Taylor, L.J. (1993). Rheological basis of oral characteristics of fluid and semi-solid foods: a review. Acta Psychologica, 84, 79-92.

Tarmaraj, N., & Shah, N.P. (2004). Selective Enumeration of Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus, Streptococcus thermophilus, Lactobacillus acidophilus, Bifidobacteria, Lactobacillus casei, Lactobacillus rhamnosus and Propionibacteria. Journal of Dairy Science, 86, 2288-2296.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 5ΟΥ

Barba, F.J., Esteve, M.J., & Frigola, A. (2013). Physicochemical and nutritional characteristics of blueberry juice after high pressure processing. Food Research International, 50, 545-549.

FAO/WHO (2011). Codex Alimentarius: Milk and Milk Products, 2nd Edition, Rome.

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.

Senaka Ranadheera, C., Evans, C.A., Adams, M.C., & Baines, S.K. (2012). Probiotic viability and physico-chemical and sensory properties of plain and stirred fruit yogurts made from goat's milk. Food Chemistry, 135, 1411-1418.

Tamime, A.Y., & Robinson, R.K. (2007). Yoghurt: Science & Technology. Third Edition, CRC Press, UK.

Tanaka, T., & Hatanaka, K. (1992). Application of hydrostatic pressure to yoghurt to prevent its after-acidification. Journal of Japanese Society of Food Science and Technology, 39, 173-177.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

1. **Πίνακες κύριων αλληλεπιδράσεων της ανάλυσης διακύμανσης για τα δεδομένα από τα προϊόντα φυσικής γεύσης**

2. **Πίνακες κύριων αλληλεπιδράσεων της ανάλυσης διακύμανσης για τα δεδομένα από τα προϊόντα με γεύση κεράσι**

Πίνακες κύριων αλληλεπιδράσεων της ανάλυσης διακύμανσης για τα δεδομένα από τα προϊόντα φυσικής γεύσης

Καλλιέργεια εκκίνησης	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	5024.029	1	5024.0288	261214.6690	0.000000
Treatment	9.0709	2	4.5354	235.8120	**0.000000**
Pressure	15.4133	3	5.1378	267.1282	**0.000000**
Storage	0.4418	1	0.4418	22.9705	**0.000016**
Treatment*Pressure	7.7851	6	1.2975	67.4619	**0.000000**
Treatment*Storage	0.0259	2	0.0130	0.6733	0.514768
Pressure*Storage	0.3493	3	0.1164	6.0537	**0.001397**
Treatment*Pressure*Storage	0.1841	6	0.0307	1.5953	0.169055
Error	0.9232	48	0.0192		

***Bifidobacterium lactis* BB12**	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	3993.498	1	3993.4985	154015.6883	0.000000
Treatment	23.5767	2	11.7884	454.6367	**0.000000**
Pressure	34.47625	3	11.4921	443.2107	**0.000000**
Storage	0.5832	1	0.5832	22.4920	**0.000019**
Treatment*Pressure	17.5457	6	2.9243	112.7797	**0.000000**
Treatment*Storage	0.6669	2	0.3335	12.8600	**0.000034**
Pressure*Storage	0.6383	3	0.2128	8.2057	**0.000164**
Treatment*Pressure*Storage	0.3781	6	0.0630	2.4303	**0.039305**
Error	1.2446	48	0.0259		

***Lactobacillus acidophilus* LA5**	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	3844.768	1	3844.7681	391491.0191	0.000000
Treatment	12.16493	2	6.0825	619.3428	**0.000000**
Pressure	34.88925	3	11.6298	1184.1918	**0.000000**
Storage	0.0578	1	0.0578	5.8854	**0.019074**
Treatment*Pressure	17.57888	6	2.9298	298.3263	**0.000000**
Treatment*Storage	0.073675	2	0.0368	3.7510	**0.030648**
Pressure*Storage	0.2995	3	0.0998	10.1655	**0.000027**
Treatment*Pressure*Storage	0.163925	6	0.0273	2.7819	**0.021059**
Error	0.4714	48	0.0098		

Ικανότητα συγκράτησης νερού	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	46284.03	1	46284.0313	25553.6404	0.000000
Treatment	32.5675	2	16.2838	8.9903	**0.000483**
Pressure	9.66375	3	3.2213	1.7785	0.163851
Storage	124.0313	1	124.0313	68.4783	**0.000000**
Treatment*Pressure	23.4825	6	3.9138	2.1608	0.063346
Treatment*Storage	37.5825	2	18.7913	10.3747	**0.000180**
Pressure*Storage	2.26375	3	0.7546	0.4166	0.741863
Treatment*Pressure*Storage	35.6675	6	5.9446	3.2820	**0.008714**
Error	86.94	48	1.8113		

pH	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	1486.488	1	1486.4878	123988.7888	0.000000
Treatment	0.106158	2	0.0531	4.4274	**0.017195**
Pressure	0.151515	3	0.0505	4.2127	**0.010059**
Storage	0.030012	1	0.0300	2.5034	0.120171
Treatment*Pressure	0.305431	6	0.0509	4.2460	**0.001657**
Treatment*Storage	0.012058	2	0.0060	0.5029	0.607927
Pressure*Storage	0.016849	3	0.0056	0.4685	0.705665
Treatment*Pressure*Storage	0.017997	6	0.0030	0.2502	0.956877
Error	0.575467	48	0.0120		

Οξύτητα (% γαλακτικό οξύ)	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	249.2028	1	249.2028	4307.6375	0.000000
Treatment	0.019825	2	0.0099	0.1713	0.843045
Pressure	0.519738	3	0.1732	2.9947	**0.039856**
Storage	0.094612	1	0.0946	1.6354	0.207101
Treatment*Pressure	0.266942	6	0.0445	0.7690	0.597967
Treatment*Storage	0.018475	2	0.0092	0.1597	0.852871
Pressure*Storage	0.019537	3	0.0065	0.1126	0.952336
Treatment*Pressure*Storage	0.010092	6	0.0017	0.0291	0.999884
Error	2.776867	48	0.0579		

Χρώμα	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	506269.5	1	506269.5313	52938.6056	0.000000
Treatment	56.2975	2	28.1488	2.9434	0.062260
Pressure	68.52375	3	22.8413	2.3884	0.080431
Storage	0.45125	1	0.4513	0.0472	0.828956
Treatment*Pressure	104.6925	6	17.4488	1.8245	0.114136
Treatment*Storage	32.1925	2	16.0963	1.6831	0.196572
Pressure*Storage	57.58375	3	19.1946	2.0071	0.125483
Treatment*Pressure*Storage	35.3375	6	5.8896	0.6159	0.716497
Error	459.04	48	9.5633		

Συντελεστής συνεκτικότητας, K	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	1681.42	1	1681.4201	3463.2751	0.000000
Treatment	527.6253	2	263.8127	543.3834	**0.000000**
Pressure	116.3039	3	38.7680	79.8516	**0.000000**
Storage	10.35125	1	10.3513	21.3208	**0.000029**
Treatment*Pressure	125.8404	6	20.9734	43.1996	**0.000000**
Treatment*Storage	1.4299	2	0.7150	1.4726	0.239502
Pressure*Storage	4.23385	3	1.4113	2.9069	**0.044098**
Treatment*Pressure*Storage	16.6604	6	2.7767	5.7193	**0.000151**
Error	23.304	48	0.4855		

Δείκτης ρεολογικής συμπεριφοράς, n	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	7.050012	1	7.0500	10708.8797	0.000000
Treatment	0.487225	2	0.2436	370.0443	**0.000000**
Pressure	0.143038	3	0.0477	72.4241	**0.000000**
Storage	0.021013	1	0.0210	31.9177	**0.000001**
Treatment*Pressure	0.130375	6	0.0217	33.0063	**0.000000**
Treatment*Storage	0.000475	2	0.0002	0.3608	0.699021
Pressure*Storage	0.000838	3	0.0003	0.4241	0.736621
Treatment*Pressure*Storage	0.011125	6	0.0019	2.8165	**0.019809**
Error	0.0316	48	0.0007		

Φαινόμενο ιξώδες, *η*	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	14373.6	1	14373.6013	748.1062	0.000000
Treatment	1492.123	2	746.0615	38.8304	**0.000000**
Pressure	305.9707	3	101.9902	5.3083	**0.003057**
Storage	38.72	1	38.7200	2.0153	0.162186
Treatment*Pressure	475.1867	6	79.1978	4.1220	**0.002043**
Treatment*Storage	68.86967	2	34.4348	1.7922	0.177555
Pressure*Storage	17.3079	3	5.7693	0.3003	0.825022
Treatment*Pressure*Storage	32.78992	6	5.4650	0.2844	0.941537
Error	922.2392	48	19.2133		

Πίνακες κύριων αλληλεπιδράσεων της ανάλυσης διακύμανσης για τα δεδομένα από τα προϊόντα με γεύση κεράσι

Καλλιέργεια εκκίνησης	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	4951.452	1	4951.4518	1507418.7163	0.000000
Treatment	3.753186	2	1.8766	571.3095	**0.000000**
Pressure	18.22623	3	6.0754	1849.5966	**0.000000**
Storage	1.175556	1	1.1756	357.8858	**0.000000**
Treatment*Pressure	9.298792	6	1.5498	471.8203	**0.000000**
Treatment*Storage	0.204686	2	0.1023	31.1573	**0.000000**
Pressure*Storage	0.070167	3	0.0234	7.1205	**0.000473**
Treatment*Pressure*Storage	0.123558	6	0.0206	6.2693	**0.000065**
Error	0.157667	48	0.0033		

***Bifidobacterium lactis* BB12**	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	3912.586	1	3912.5858	511449.1242	0.000000
Treatment	30.03228	2	15.0161	1962.8938	**0.000000**
Pressure	43.7671	3	14.5890	1907.0632	**0.000000**
Storage	0.15125	1	0.1513	19.7712	**0.000052**
Treatment*Pressure	21.90283	6	3.6505	477.1857	**0.000000**
Treatment*Storage	0.027925	2	0.0140	1.8252	0.172201
Pressure*Storage	0.01845	3	0.0061	0.8039	0.497868
Treatment*Pressure*Storage	0.073575	6	0.0123	1.6029	0.166888
Error	0.3672	48	0.0077		

***Lactobacillus acidophilus* LA5**	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	4050.45	1	4050.4500	507363.2584	0.000000
Treatment	14.54583	2	7.2729	911.0120	**0.000000**
Pressure	30.11414	3	10.0380	1257.3753	**0.000000**
Storage	0.775012	1	0.7750	97.0788	**0.000000**
Treatment*Pressure	15.27028	6	2.5450	318.7949	**0.000000**
Treatment*Storage	0.293475	2	0.1467	18.3805	**0.000001**
Pressure*Storage	0.979137	3	0.3264	40.8826	**0.000000**
Treatment*Pressure*Storage	0.590425	6	0.0984	12.3262	**0.000000**
Error	0.3832	48	0.0080		

Ικανότητα συγκράτησης νερού	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	69975.41	1	69975.4050	48608.0961	0.000000
Treatment	8.1225	2	4.0613	2.8211	0.069442
Pressure	19.425	3	6.4750	4.4978	**0.007345**
Storage	99.405	1	99.4050	69.0512	**0.000000**
Treatment*Pressure	16.5975	6	2.7663	1.9216	0.096418
Treatment*Storage	18.5025	2	9.2513	6.4263	**0.003366**
Pressure*Storage	29.045	3	9.6817	6.7253	**0.000703**
Treatment*Pressure*Storage	16.1575	6	2.6929	1.8706	0.105364
Error	69.1	48	1.4396		

pH	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	1334.12	1	1334.1195	403768.8310	0.000000
Treatment	0.033775	2	0.0169	5.1110	**0.009721**
Pressure	0.049738	3	0.0166	5.0177	**0.004174**
Storage	0.043513	1	0.0435	13.1690	**0.000689**
Treatment*Pressure	0.025525	6	0.0043	1.2875	0.280910
Treatment*Storage	0.015175	2	0.0076	2.2963	0.111579
Pressure*Storage	0.009138	3	0.0030	0.9218	0.437455
Treatment*Pressure*Storage	0.006725	6	0.0011	0.3392	0.912673
Error	0.1586	48	0.0033		

Οξύτητα (% γαλακτικό οξύ)	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	222.1832	1	222.1832	17852.0147	0.000000
Treatment	0.0016	2	0.0008	0.0643	0.937824
Pressure	0.1084	3	0.0361	2.9032	**0.044282**
Storage	0.1922	1	0.1922	15.4429	**0.000272**
Treatment*Pressure	0.0584	6	0.0097	0.7821	0.588164
Treatment*Storage	0.0052	2	0.0026	0.2089	0.812206
Pressure*Storage	0.0298	3	0.0099	0.7981	0.501011
Treatment*Pressure*Storage	0.0212	6	0.0035	0.2839	0.941796
Error	0.5974	48	0.0124		

Χρώμα	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	426888	1	426888.0000	258981.5976	0.000000
Treatment	31.08	2	15.5400	9.4277	**0.000352**
Pressure	36.37	3	12.1233	7.3549	**0.000375**
Storage	8	1	8.0000	4.8534	**0.032425**
Treatment*Pressure	44.93	6	7.4883	4.5430	**0.001007**
Treatment*Storage	0.97	2	0.4850	0.2942	0.746434
Pressure*Storage	12.53	3	4.1767	2.5339	0.067912
Treatment*Pressure*Storage	24.76	6	4.1267	2.5035	**0.034516**
Error	79.12	48	1.6483		

Συντελεστής συνεκτικότητας, K	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	1028.765	1	1028.7648	5626.5337	0.000000
Treatment	220.0833	2	110.0417	601.8412	**0.000000**
Pressure	25.5979	3	8.5326	46.6668	**0.000000**
Storage	5.5778	1	5.5778	30.5062	**0.000001**
Treatment*Pressure	28.7363	6	4.7894	26.1942	**0.000000**
Treatment*Storage	0.9424	2	0.4712	2.5771	0.086475
Pressure*Storage	0.5059	3	0.1686	0.9223	0.437225
Treatment*Pressure*Storage	1.2026	6	0.2004	1.0962	0.378377
Error	8.7764	48	0.1828		

Δείκτης ρεολογικής συμπεριφοράς, n	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	10.46531	1	10.4653	2367.2714	0.000000
Treatment	0.135525	2	0.0678	15.3280	**0.000007**
Pressure	0.024138	3	0.0080	1.8200	0.156108
Storage	0.056113	1	0.0561	12.6927	**0.000841**
Treatment*Pressure	0.107075	6	0.0178	4.0368	**0.002362**
Treatment*Storage	0.020575	2	0.0103	2.3270	0.108497
Pressure*Storage	0.043138	3	0.0144	3.2526	**0.029651**
Treatment*Pressure*Storage	0.069025	6	0.0115	2.6023	**0.028967**
Error	0.2122	48	0.0044		

Φαινόμενο ιξώδες, *η*	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	16619.38	1	16619.3796	1310.5733	0.000000
Treatment	1961.931	2	980.9655	77.3571	**0.000000**
Pressure	264.8125	3	88.2708	6.9609	**0.000555**
Storage	101.8878	1	101.8878	8.0347	**0.006695**
Treatment*Pressure	217.3266	6	36.2211	2.8563	**0.018458**
Treatment*Storage	134.1723	2	67.0862	5.2903	**0.008389**
Pressure*Storage	1.382537	3	0.4608	0.0363	0.990608
Treatment*Pressure*Storage	9.905075	6	1.6508	0.1302	0.991895
Error	608.688	48	12.6810		