

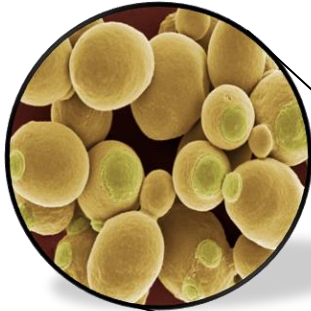


ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ

ΤΟΜΕΑΣ IV: ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΩΝ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ



**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΣΤΗ ΜΑΓΙΑ ΑΡΤΟΠΟΙΑΣ
(*Saccharomyces cerevisiae*) ΚΑΙ ΣΤΗ ΔΙΕΡΓΑΣΙΑ ΤΗΣ ΑΥΤΟΛΥΣΗΣ
ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΛΑΒΗ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ**

ΑΘΑΝΑΣΙΟΣ Γ. ΛΗΜΝΑΙΟΣ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Επιβλέπων:

ΠΕΤΡΟΣ ΤΑΟΥΚΗΣ

Καθηγητής Ε.Μ.Π.

ΑΘΗΝΑ 2018

*Στον παππού μου
Γιάννη.*

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το εκχύλισμα μαγιάς είναι ένα από τα σημαντικότερα προϊόντα τα οποία παραλαμβάνονται από το είδος ζύμης *Saccharomyces cerevisiae*, τη γνωστή μαγιά αρτοποιίας. Το εκχύλισμα μαγιάς τυγχάνει ευρείας χρήσης στη βιομηχανία τροφίμων, ως βασικός παράγων ενίσχυσης γεύσης. Το εκχύλισμα μαγιάς προστίθεται σε διάφορα τρόφιμα, κυρίως σάλτσες και σούπες, και προσδίδει σε αυτά «νοστιμιά», ενισχύοντας τη γεύση umami.

Η βασική μέθοδος παραγωγής του εκχυλίσματος μαγιάς είναι η διεργασία της αυτόλυσης. Κατά την αυτόλυση, το αιώρημα μαγιάς τοποθετείται σε περιβάλλον σταθερής θερμοκρασίας, περί τους 52 °C, οπότε, υπό την επίδραση των ενδοκυτταρικών πρωτεολυτικών ενζύμων που ενεργοποιούνται υπό τις συνθήκες αυτές, επέρχεται η λύση του κυττάρου και η απελευθέρωση διαφόρων ενδοκυτταρικών συστατικών, κυρίως πρωτεϊνών, υδατανθράκων και νουκλεϊκών οξέων. Οι ουσίες αυτές, με κύρια το γλουταμινικό οξύ, είναι αυτές που προσδίδουν στο εκχύλισμα μαγιάς τις αρωματικές ιδιότητες του ενισχυτικού γεύσης.

Με τη διεργασία της αυτόλυσης παράγονται εκχυλίσματα μαγιάς, τα οποία έχουν ικανοποιητικά χαρακτηριστικά για χρήση στη βιομηχανία τροφίμων. Σε αντίθεση με τα εκχυλίσματα μαγιάς τα οποία παράγονται με πλασμόλυση και υδρόλυση, αυτά που παράγονται με αυτόλυση έχουν χαμηλή περιεκτικότητα σε νάτριο, η παραγωγή τους δεν απαιτεί εξειδικευμένο εξοπλισμό, ενώ δεν χρησιμοποιούνται διαλύτες, οι οποίοι πρέπει κατόπιν ν' απομακρυνθούν. Ωστόσο, ένα αρνητικό χαρακτηριστικό της διεργασίας της αυτόλυσης αποτελεί η βραδύτητά της, καθώς απαιτούνται πολλές ώρες προκειμένου να ολοκληρωθεί.

Η υπερυψηλή πίεση αποτελεί μια καινοτόμο τεχνολογία μη θερμικής επεξεργασίας τροφίμων, η οποία, μεταξύ άλλων, έχει βρεθεί ότι συμβάλλει στην αύξηση της ενεργότητας των πρωτεολυτικών ενζύμων. Επιπλέον, έχει διαπιστωθεί ότι η επεξεργασία της μαγιάς με υπερυψηλή πίεση οδηγεί στη διάρρηξη του κυτταρικού τοιχώματος, με αποτέλεσμα τη διαπερατοποίηση των κυττάρων και την ευκολότερη εκχύλιση των ενδοκυτταρικών ουσιών από τα κύτταρα της μαγιάς. Δεδομένου, λοιπόν, ότι οι πρωτεάσες διαδραματίζουν κυρίαρχο ρόλο στη διεργασία της αυτόλυσης και ότι η διαπερατότητα του κυτταρικού τοιχώματος καθορίζει την εκχύλιση των ενδοκυτταρικών ουσιών που παράγονται κατά την αυτόλυση προς το εξωκυτταρικό περιβάλλον, στην παρούσα μελέτη διερευνήθηκε η χρησιμοποίηση της υπερυψηλής πίεσης ως μια εναλλακτική μέθοδος επεξεργασίας της μαγιάς, προκειμένου να επιτευχθεί η βελτίωση και επιτάχυνση της διεργασίας της αυτόλυσης για την παραλαβή εκχυλίσματος μαγιάς.

Στην παρούσα διπλωματική εργασία χρησιμοποιήθηκε η διεργασία της υπερυψηλής πίεσης προκειμένου να μελετηθεί η επίδραση που έχει στη διεργασία της αυτόλυσης της μαγιάς αρτοποιίας και στα χαρακτηριστικά του εκχυλίσματος μαγιάς που παραλαμβάνεται από την διεργασία αυτήν. Αρχικά, μελετήθηκε η επίδραση της υπερυψηλής πίεσης στην ολική ενεργότητα των πρωτεολυτικών ενζύμων, τα οποία υπάρχουν στα κύτταρα της μαγιάς και διαδραματίζουν μείζονα ρόλο στη διεργασία της αυτόλυσης. Το εύρος των πιέσεων που χρησιμοποιήθηκαν σε αυτό το στάδιο ήταν από

200 MPa έως 750 MPa, οι χρόνοι επεξεργασίας ήταν από 0 min έως 120 min και η θερμοκρασία επεξεργασίας ήταν αυτή του περιβάλλοντος. Από τη μελέτη αυτή παρατηρήθηκε ότι στο χαμηλό εύρος των υπερυψηλών πιέσεων, μέχρι τα 400 MPa, τα πρωτεολυτικά ένζυμα της μαγιάς ενεργοποιούνται, με την ολική τους ενεργότητα να ανέρχεται σε έως και 2,7 φορές αυτής των ανεπεξεργαστων ενζύμων, ύστερα από 60 min πίεσης. Σε μέσο εύρος υπερυψηλών πιέσεων, από 400 MPa έως 550 MPa, παρατηρήθηκε μια αρχική ενεργοποίηση των πρωτεολυτικών ενζύμων, για μικρούς χρόνους πίεσης, έως περίπου τα 10 min. Όμως, για μεγαλύτερους χρόνους επεξεργασίας παρατηρήθηκε μια βαθμιαία μείωση της πρωτεολυτικής ενεργότητας. Τέλος, σε υψηλότερες πιέσεις, μέχρι τα 750 MPa, παρατηρήθηκε μείωση της ενεργότητας των πρωτεολυτικών ενζύμων, η οποία ήταν περισσότερο ραγδαία, όσο αυξανόταν το επίπεδο της πίεσης.

Στην συνέχεια μελετήθηκε η επίδραση της υπερυψηλής πίεσης στη διάρρηξη των κυττάρων της μαγιάς, η οποία συμβάλλει επίσης στη διεργασία της αυτόλυσης, και υπολογίστηκε ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης (Z). Σε αυτό το στάδιο της μελέτης χρησιμοποιήθηκαν οι ίδιες συνθήκες πίεσης, χρόνου και θερμοκρασίας επεξεργασίας, όπως και στη μελέτη της ενεργότητας των πρωτεολυτικών ενζύμων. Σε χαμηλό εύρος υπερυψηλών πιέσεων, έως τα 200 MPa, δεν παρατηρήθηκε σημαντική διάρρηξη των κυττάρων της μαγιάς, υπό την επίδραση της πίεσης. Όμως, για υψηλότερα επίπεδα πιέσεων παρατηρήθηκε μεγαλύτερη κυτταρική διάρρηξη, η οποία, αυξανομένης της πίεσης, έλαβε μέγιστες τιμές οι οποίες ήταν ολόένα και υψηλότερες, ενώ ταυτόχρονα επιτυγχάνονταν ταχύτερα, με συντομότερη επεξεργασία. Η μεταβολή του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης συναρτήσκει του χρόνου επεξεργασίας με υπερυψηλή πίεση μοντελοποιήθηκε μαθηματικά, χρησιμοποιώντας το σιγμοειδές μοντέλο $Z = \frac{Z_e}{1 + e^{-k \cdot (t_p - \tau)}}$, όπου Z ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης, Z_e ο μέγιστος δείκτης κυτταρικής διάρρηξης που επιτυγχάνεται σε ακραίες συνθήκες επεξεργασίας (750 MPa, 30 min) και k και τ παράμετροι του μαθηματικού μοντέλου.

Σε δεύτερη φάση, μελετήθηκε η επίδραση της υπερυψηλής πίεσης στα χαρακτηριστικά του εκχυλίσματος μαγιάς, το οποίο παρήχθη με τη διεργασία της αυτόλυσης επεξεργασμένης ή μη μαγιάς. Τα χαρακτηριστικά του εκχυλίσματος μαγιάς που μελετήθηκαν ήταν η συγκέντρωση πρωτεϊνών, τόσο των ολικών πρωτεϊνών, όσο και των αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων (μονο-, δι- και τριπεπίδια), η συγκέντρωση ολικών υδατανθράκων, το στερεό υπόλειμμα, τα ολικά διαλυμένα στερεά και το χρώμα. Οι συνθήκες επεξεργασίας οι οποίες επελέγησαν και μελετήθηκαν ήταν τα 200 MPa για 0 – 60 min, τα 400 MPa για 0 – 40 min και τα 600 MPa για 0 – 30 min. Όλες οι επεξεργασίες με υπερυψηλή πίεση πραγματοποιήθηκαν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Η επιλογή των συνθηκών αυτών έγινε ύστερα από τη μελέτη της επίδρασης της υπερυψηλής πίεσης στην ενεργότητα των συνολικών πρωτεολυτικών ενζύμων της μαγιάς και στον δείκτη κυτταρικής διάρρηξης (Z). Η επιλογή αυτή έγινε βάσει των αποτελεσμάτων τα οποία προέκυψαν, επιλέγοντας συνθήκες με ποικίλους συνδυασμούς ενεργότητας πρωτεολυτικών ενζύμων και δείκτη κυτταρικής διάρρηξης.

Από την παρούσα έρευνα προέκυψε ότι η επεξεργασία της μαγιάς αρτοποιίας με υπερυψηλή πίεση στα 200 MPa είχε ευεργετικά αποτελέσματα στη συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών, αμινοξέων και υδατανθράκων του εκχυλίσματος μαγιάς, επιτυγχάνοντας υψηλότερη τελική συγκέντρωση, σε συντομότερο χρόνο αυτόλυσης. Από την άλλη, σχεδόν

αμετάβλητα παρέμειναν τόσο το στερεό υπόλειμμα, όσο και η περιεκτικότητα σε ολικά διαλυτά στερεά του εκχυλίσματος μαγιάς επεξεργασμένης στα 200 MPa, σε σύγκριση με αυτό της ανεπεξέργαστης μαγιάς. Επίσης, παρατηρήθηκε σημαντική μεταβολή στο χρώμα του εκχυλίσματος μαγιάς, το οποίο γινόταν ολοένα και πιο σκούρο, με την αύξηση του χρόνου επεξεργασίας της μαγιάς με υπερυψηλή πίεση.

Η επεξεργασία της μαγιάς στα 400 MPa επέφερε ακόμα καλύτερα αποτελέσματα, όσον αφορά στη συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών, αμινοξέων και υδατανθράκων του εκχυλίσματος μαγιάς. Οι τελικές συγκεντρώσεις που επετεύχθησαν ήταν ακόμα υψηλότερες από αυτές στα 200 MPa, ενώ αυτό συνέβη σε ακόμα συντομότερο χρόνο αυτόλυσης. Επιπλέον, παρατηρήθηκε αύξηση του στερεού υπολείμματος του εκχυλίσματος μαγιάς, ενώ τα ολικά διαλυτά στερεά μετεβλήθησαν μεν ελάχιστα, ωστόσο η τελική τους συγκέντρωση επετεύχθη σε πολύ συντομότερο χρονικό διάστημα, κατά την διάρκεια της αυτόλυσης. Το διάστημα αυτό γινόταν όλο και μικρότερο, με την αύξηση του χρόνου επεξεργασίας με υπερυψηλή πίεση. Επίσης, παρατηρήθηκε ακόμα μεγαλύτερη μεταβολή του χρώματος του εκχυλίσματος μαγιάς, το οποίο σκούραινε περισσότερο, όσο αυξανόταν ο χρόνος επεξεργασίας της μαγιάς με υπερυψηλή πίεση.

Τέλος, η επεξεργασία της μαγιάς με υπερυψηλή πίεση στα 600 MPa είχε διαφορετική επίδραση σε κάθε χαρακτηριστικό του εκχυλίσματος μαγιάς. Όσον αφορά στη συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών, αυτή μετρήθηκε αυξημένη στα εκχυλίσματα μαγιάς για χρόνους επεξεργασίας έως 2,5 min και μειωμένη για μεγαλύτερους χρόνους επεξεργασίας, συγκριτικά με το εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς. Η συγκέντρωση αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων παρατηρήθηκε αυξημένη μόνο με στιγμιαία επεξεργασία της μαγιάς με υπερυψηλή πίεση, ενώ για μεγαλύτερους χρόνους επεξεργασίας, αυτή μειωνόταν. Αναφορικά με το στερεό υπόλειμμα, αυτό ήταν μεγαλύτερο στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης στιγμιαία, ίσο με αυτό της ανεπεξέργαστης μαγιάς στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης για 2,5 min και μικρότερο στα εκχυλίσματα μαγιάς επεξεργασμένης με υπερυψηλή πίεση για μεγαλύτερο χρόνο, συγκριτικά με το εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς. Η συγκέντρωση ολικών διαλυτών στερεών μετρήθηκε ολοένα και μικρότερη, όσο αυξανόταν ο χρόνος επεξεργασίας. Επίσης, το χρώμα μετρήθηκε πιο σκούρο στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης στιγμιαία, ενώ τα εκχυλίσματα μαγιάς επεξεργασμένης για μεγαλύτερα χρονικά διαστήματα ήταν περισσότερο ανοιχτόχρωμα από αυτό της ανεπεξέργαστης μαγιάς. Μόνον η συγκέντρωση ολικών υδατανθράκων παρατηρήθηκε αρκετά πιο αυξημένη στα εκχυλίσματα επεξεργασμένης μαγιάς, αναλογικά με τον χρόνο επεξεργασίας.

Η μεταβολή όλων των χαρακτηριστικών του εκχυλίσματος μαγιάς, πλην της συγκέντρωσης ολικών υδατανθράκων, συναρτήσε του χρόνου κατά τη διάρκεια της αυτόλυσης μοντελοποιήθηκαν μαθηματικά, με τη σχέση $X = X_0 - (X_e - X_0) \cdot \left(1 - e^{-\frac{t}{\tau}}\right)$, όπου X το εκάστοτε μετρούμενο μέγεθος, X_0 η αρχική τιμή του μετρούμενου μεγέθους, κατά την έναρξη της αυτόλυσης, X_e η τελική τιμή του μετρούμενου μεγέθους, μετά το πέρας της αυτόλυσης και τ παράμετρος της εξίσωσης. Επιπλέον, για την καλύτερη απεικόνιση και σύγκριση της μεταβολής των ανωτέρω χαρακτηριστικών του εκχυλίσματος μαγιάς με την πίεση και τον χρόνο επεξεργασίας, υπολογίσθηκαν δύο εμπειρικές παράμετροι, σε κάθε συνθήκη επεξεργασίας. Η μία παράμετρος συμβολίσθηκε ως t_{90} και εξέφρασε τον ισοδύναμο χρόνο για την επίτευξη τιμής του εκάστοτε

μετρούμενου μεγέθους ίσης με το 90 % της τελικής τιμής του μεγέθους για το εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς. Η παράμετρος t_{90} υπολογίστηκε, σύμφωνα με την εξίσωση $t_{90} = -\tau \cdot \ln\left(\frac{X_e - 0,9 \cdot X_{e(UT)}}{X_e - X_0}\right)$, όπου $X_{e(UT)}$ η τελική τιμή του μετρούμενου μεγέθους για το εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς, μετά το πέρας της αυτόλυσης. Η άλλη παράμετρος συμβολίστηκε ως y και εξέφρασε το ποσοστό της τιμής του μετρούμενου μεγέθους η οποία επιτυγχάνεται κατά τον χρόνο t_{90} του εκχυλίσματος ανεπεξέργαστης μαγιάς, προς το 90 % της τελικής τιμής του μεγέθους για το εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς. Η

παράμετρος y υπολογίστηκε, σύμφωνα με τη σχέση $y = \frac{X_0 + (X_e - X_0) \cdot \left(1 - e^{-\frac{t_{90(UT)}}{\tau}}\right)}{0,9 \cdot X_{e(UT)}} \cdot 100 \%$, όπου $t_{90(UT)}$ ο ισοδύναμος χρόνος t_{90} για το εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς.

Η γενικότερη επίδραση της υπερυψηλής πίεσης στη διεργασία της αυτόλυσης ποσοτικοποιήθηκε μέσω του ορισμού δύο μεγεθών: της διάρκειας της αυτόλυσης (t_{aut}) και της απόδοσης της αυτόλυσης (y_{aut}). Η διάρκεια και η απόδοση της αυτόλυσης ορίστηκαν μέσω του βραδύτερου σταδίου της διεργασίας, το οποίο ήταν η απελευθέρωση αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων, όπως παρατηρήθηκε. Εξάλλου, το στάδιο αυτό αποτελεί το πλέον σημαντικό στάδιο της αυτόλυσης, καθώς τα αμινοξέα, κυρίως το γλουταμινικό οξύ, είναι αυτά που προσδίδουν στο εκχύλισμα μαγιάς τις ζητούμενες αρωματικές ιδιότητες. Παρατηρήθηκε ότι η επεξεργασία της μαγιάς με υπερυψηλή πίεση στα 200 MPa και στα 400 MPa μείωσε τη διάρκεια της αυτόλυσης, η οποία παρατηρήθηκε ότι γινόταν ολοένα και μικρότερη με την αύξηση της πίεσης και του χρόνου επεξεργασίας. Η διάρκεια της αυτόλυσης μειώθηκε από 19,6 h στην περίπτωση της ανεπεξέργαστης μαγιάς σε 9,94 h και 5,90 h στην περίπτωση επεξεργασίας της μαγιάς στα 200 MPa για 60 min και στα 400 MPa για 40 min, αντίστοιχα. Παράλληλα, στις ίδιες συνθήκες επεξεργασίας, η απόδοση της αυτόλυσης αυξήθηκε κατά 18 % και 33 %, αντίστοιχα. Ωστόσο, στην περίπτωση επεξεργασίας της μαγιάς στα 600 MPa παρατηρήθηκε αύξηση της διάρκειας της αυτόλυσης και μείωση της απόδοσης. Οι μεταβολές αυτές είναι σε ευθεία συνάρτηση με την αντίστοιχη ενεργοποίηση των πρωτεολυτικών ενζύμων στα 200 MPa και στα 400 MPa και την απενεργοποίηση στα 600 MPa.

Συμπερασματικά, με την παρούσα μελέτη παρατηρήθηκε ότι η επεξεργασία της μαγιάς αρτοποιίας με υπερυψηλή πίεση επιδρά θετικά στη διεργασία της αυτόλυσης, για την παραγωγή εκχυλίσματος μαγιάς, στο χαμηλό εύρος υπερυψηλών πιέσεων. Με επεξεργασία της μαγιάς έως τα 400 MPa παρατηρείται αύξηση της ενεργότητας των πρωτεολυτικών ενζύμων και διαπερατοποίηση των κυττάρων της μαγιάς. Το γεγονός αυτό οδηγεί στην επιτάχυνση της διεργασίας της αυτόλυσης και στην παραγωγή εκχυλίσματος μαγιάς με βελτιωμένα χαρακτηριστικά, όπως αυξημένη συγκέντρωση πρωτεϊνών, αμινοξέων και υδατανθράκων. Στα 600 MPa παρατηρήθηκαν τα αντίθετα φαινόμενα.

Ως συνέχεια της παρούσας έρευνα και βάσει των αποτελεσμάτων αυτής, κρίνεται ενδιαφέρουσα η σύγκριση της επεξεργασίας της μαγιάς με υπερυψηλή πίεση και με άλλες μεθόδους μη θερμικής επεξεργασίας, όπως τα παλμικά ηλεκτρικά πεδία (PEF). Επίσης θα μπορούσε να μελετηθεί η επίδραση της υπερυψηλής πίεσης στη μαγιά ζυθοποιίας και να συγκριθεί με τη μαγιά αρτοποιίας, αλλά και να διερευνηθεί η αξιοποίηση του ιζήματος των κυττάρων μαγιάς για την παραλαβή άλλων ουσιών, όπως β-γλυκάνες.

EFFECTS OF HIGH PRESSURE PROCESSING ON *Saccharomyces cerevisiae* AND ON THE AUTOLYSIS PROCESS FOR THE PRODUCTION OF YEAST EXTRACT

The yeast extract is one of the most important products obtained by the yeast species *Saccharomyces cerevisiae*, the well-known baker's yeast. Yeast extract is widely used in the food industry as a basic flavor enhancer. Yeast extract is added to a variety of foods, such as sauces and soups, and makes them "tasty", boosting the umami flavor.

The basic method of producing the yeast extract is the process of autolysis. During autolysis, the yeast suspension is placed in a constant temperature environment, around 52 °C, whereby, under the influence of the intracellular proteolytic enzymes activated under these conditions, cell lysis occurs and intracellular components, mainly proteins, carbohydrates and nucleic acids, are released. These substances, mainly glutamic acid, are those that give the yeast extract the aromatic properties of a flavor enhancer.

The autolysis process produces yeast extracts which have satisfactory characteristics for use in the food industry. In contrast to yeast extracts produced by plasmolysis and hydrolysis, those produced by autolysis have a low sodium content, their production does not require specialized equipment, and solvents, which must be removed afterwards, are not used. However, a negative feature of the autolysis process is its slowness, as it takes several hours to complete.

High Pressure Processing is an innovative non-thermal food processing technology, which, among other things, has been found to contribute to increasing the activity of proteolytic enzymes. In addition, it has been found that treating the yeast with high pressure results in the breakdown of the cell wall and in cell permeabilization and easier extraction of intracellular substances from yeast cells. Given that proteases play a major role in the process of autolysis and that cell wall permeability determines the extraction of intracellular substances produced during autolysis into the extracellular environment, this study investigated the use of High Pressure Processing as an alternative method of yeast treatment, in order to improve and accelerate the process of autolysis and the extraction of yeast extract.

In this diploma thesis, the High Pressure Processing was used to study the effect it has on the process of autolysis of baker's yeast and on the characteristics of the yeast extract obtained from this process. Initially, the effect of high pressure on the total activity of proteolytic enzymes present in yeast cells was studied, which play a major role in the autolysis process. The range of pressures used in this stage was from 200 MPa to 750 MPa, the processing times were from 0 min to 120 min and the processing temperature was that of the environment. From this study it was observed that in the low range of high pressures, up to 400 MPa, yeast proteolytic enzymes were activated, with their total activity being up to 2,7 times that of the untreated enzymes, after 60 min of pressure. At an average high pressure range, from 400 MPa to 550 MPa, an initial activation of proteolytic enzymes was observed, for short pressure times, up to about 10 min. However, for longer processing times, a gradual decrease in proteolytic activity was observed. Finally, at higher pressures,

up to 750 MPa, a decrease in proteolytic enzyme activity was observed, which was more rapid as the pressure level increased.

Afterwards, the effect of high pressure on yeast cell disruption, which also contributes to the autolysis process, was studied, and the cell rupture index (Z) was calculated. At this stage of the study, the same conditions of pressure, time and temperature of treatment were used, as in the study of the activity of proteolytic enzymes. In a low range of high pressures, up to 200 MPa, no significant rupture of the yeast cells was observed under the influence of pressure. However, for higher levels of pressures, a larger cellular rupture was observed, which, increasing the pressure, received maximum values which were higher and at the same time achieved faster, with shorter processing. The change in the cell rupture index as a function of the high pressure treatment time was mathematically modeled using the sigmoid model $Z = \frac{Z_e}{1 + e^{-k \cdot (t_p - \tau)}}$, where Z is the cell disruption index, Z_e is the maximum cell disruption index achieved in extreme processing conditions (750 MPa, 30 min) and k and τ are parameters of the mathematical model.

In a second phase, the effect of high pressure processing on the characteristics of the yeast extract, which was produced by autolysis of treated or non-treated yeast, was studied. The characteristics of the yeast extract studied were the protein concentration of both total proteins and amino acids and oligopeptides (mono-, di- and tripeptides), total carbohydrate concentration, solid residue, total dissolved solids and color. The processing conditions selected and studied were 200 MPa for 0 – 60 min, 400 MPa for 0 – 40 min and 600 MPa for 0 – 30 min. All high pressure treatments were carried out at ambient temperature. The selection of these conditions was made after the study of the effect of high pressure on the activity of the yeast proteolytic enzymes and on the cell rupture index (Z). This choice was made on the basis of the results obtained, selecting conditions with varying combinations of total proteolytic enzyme activity and cell disruption index.

The present study has shown that the processing baker's yeast with high pressure at 200 MPa has had beneficial effects on the total protein, amino acid and carbohydrate concentration of the yeast extract, achieving a higher final concentration in a shorter autolysis time. On the other hand, both the solid residue and the total soluble solids content of the yeast extract from yeast treated at 200 MPa remained almost unchanged compared to that of the untreated yeast. Also, a significant change in the color of the yeast extract was observed, which was becoming darker with an increase in the processing time of the yeast with high pressure.

Processing baker's yeast at 400 MPa produced even better results with regard to the total protein, amino acid and carbohydrate concentration of the yeast extract. The final concentrations achieved were even higher than those at 200 MPa, and this occurred in an even shorter autolysis time. In addition, an increase in the yeast extract solid residue was observed, while the total soluble solids were slightly changed but their final concentration was reached in a much shorter autolysis time. This time was getting smaller, with an increase in high pressure processing time. Also, an even greater change in the color of the yeast extract was observed, which was more obscuring as the time of the yeast treatment was increased.

Finally, processing baker's yeast with high pressure at 600 MPa had a different effect on each characteristic of the yeast extract. In terms of total protein concentration, it

was increased in yeast extracts for treatment times up to 2,5 min and reduced for longer processing times, compared to untreated yeast extract. The concentration of amino acids and oligopeptides was increased only by the instant processing of the yeast with high pressure at 600 MPa, while for longer processing times it was reduced. With respect to the solid residue, this was greater in the yeast extract from instantly processed yeast, equal to that of the untreated yeast in the yeast extract from yeast treated for 2,5 min and less than the yeast extract of untreated yeast in the extracts of yeast treated with high pressure for a longer time. The concentration of total soluble solids was measured less and less as the processing time increased. Also, the color was measured darker in the yeast extract from instantly processed yeast, while the yeast extracts from yeast treated for longer periods were more light colored than that of the unprocessed yeast. Only the total carbohydrate concentration was observed much more elevated in the yeast extract from treated yeast, in proportion to the treatment time.

The change in all yeast extract characteristics, excluding the total carbohydrate concentration, versus time during autolysis, was mathematically modeled using the equation $X = X_0 - (X_e - X_0) \cdot \left(1 - e^{-\frac{t}{\tau}}\right)$, where X is the measured characteristic, X_0 is the initial value of the measured characteristic, at the beginning of the autolysis, X_e is the final value of the measured characteristic, after the autolysis has ended and τ is a parameter of the equation. In addition, to better illustrate and compare the change in the above characteristics of the yeast extract with the pressure and processing time, two empirical parameters were calculated in each treatment condition. One parameter was denoted as t_{90} and expressed the equivalent time to achieve a value of the measured characteristic equal to 90 % of the final value of the same characteristic for the yeast extract from untreated yeast. The parameter t_{90} was calculated, according to the equation $t_{90} = -\tau \cdot \ln\left(\frac{X_e - 0,9 \cdot X_{e(UT)}}{X_e - X_0}\right)$, where $X_{e(UT)}$ is the final value of the measured characteristic for the yeast extract from untreated yeast, after the autolysis has ended. The other parameter was denoted as y and expressed the percentage of the value of the measured characteristic obtained at time t_{90} of the yeast extract from treated yeast, to 90 % of the final value of the characteristic for the yeast extract from untreated yeast. The parameter

y was calculated, according to the equation $y = \frac{X_0 + (X_e - X_0) \cdot \left(1 - e^{-\frac{t_{90(UT)}}{\tau}}\right)}{0,9 \cdot X_{e(UT)}} \cdot 100 \%$, where $t_{90(UT)}$ is the equivalent time t_{90} for the yeast extract from untreated yeast.

The overall effect of High Pressure Processing on the autolysis process was quantified by the definition of two sizes: the autolysis duration (t_{aut}) and the autolysis yield (y_{aut}). The duration and yield of autolysis were defined through the slower process step, which was the release of amino acids and oligopeptides, as observed. In addition, this stage is the most important stage of autolysis, as amino acids, especially glutamic acid, are those that give the yeast extract the desired aromatic properties. It was observed that processing the yeast with high pressure at 200 MPa and at 400 MPa reduced the duration of autolysis, which was observed to become less and less with the increase in both pressure and processing time. The duration of autolysis was reduced from 19,6 h in the case of untreated yeast to 9,94 h and 5,90 h in case of yeast treated at 200 MPa for 60 min and 400 MPa for 40 min, respectively. At the same treatment conditions, autolysis yield

increased by 18 % and 33 %, respectively, compared to the yield of the autolysis of untreated yeast. However, in the case of yeast treatment at 600 MPa, an increase in the duration of autolysis and a decrease in yield was observed. These changes were in direct line with the corresponding activation of proteolytic enzymes at 200 MPa and 400 MPa and deactivation at 600 MPa.

In conclusion, the present study has shown that High Pressure Processing of baker's yeast has a positive effect on the autolysis process, for the production of yeast extract, in the low range of high pressures. By processing the yeast to 400 MPa, an increase in the activity of the proteolytic enzymes and permeation of the yeast cells was observed. This led to the acceleration of the autolysis process and to the production of yeast extract with improved characteristics, such as increased concentration of proteins, amino acids and carbohydrates. At 600 MPa the opposite phenomena were observed.

As a follow-up to this research and on the basis of its results, it would be interesting to compare the processing of yeast with high pressure and other non-thermal processing methods, such as pulsed electric fields (PEF). It would also be possible to study the effect high pressure on brewer's yeast and compare it with baker's yeast, as well as to investigate the utilization of yeast cell pellet to pick up other substances, such as β -glucans.

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Το παρόν πόνημα αποτελεί τη διπλωματική εργασία του προπτυχιακού φοιτητή της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσοβίου Πολυτεχνείου Αθανασίου Λημναίου. Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων του Εθνικού Μετσοβίου Πολυτεχνείου, υπό την επίβλεψη του Καθηγητή του Εθνικού Μετσοβίου Πολυτεχνείου Πέτρου Ταούκη.

Ολοκληρώνοντας την παρούσα διπλωματική εργασία, με την οποία κλείνει ο πενταετής κύκλος των προπτυχιακών σπουδών μου στη Σχολή Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσοβίου Πολυτεχνείου, θα ήθελα να ευχαριστήσω πρώτον απ' όλους τον Καθηγητή Πέτρο Ταούκη. Τον ευχαριστώ από καρδιάς για την εμπιστοσύνη που έδειξε από την πρώτη στιγμή στο πρόσωπό μου, όταν μου ανέθεσε την εκπόνηση της παρούσας διπλωματικής εργασίας, για την καθοδήγηση και για όλες τις πολύτιμες γνώσεις που μου προσέφερε κατά τη διάρκεια των σπουδών μου. Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους Υποψήφιους Διδάκτορες Γεώργιο Δημόπουλο και Βαρβάρα Ανδρέου, για τη σπουδαία βοήθεια και υποστήριξη που μου προσέφεραν και την άψογη συνεργασία που είχαμε στο Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων. Επίσης, θερμές ευχαριστίες θα ήθελα να απευθύνω σε όλα τα μέλη του Εργαστηρίου Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων, για το υπέροχο κλίμα συνεργασίας που δημιούργησαν, το οποίο συνετέλεσε στην ομαλή ολοκλήρωση της διπλωματικής μου εργασίας.

Ακόμα, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους φίλους μου, για όλες τις ωραίες στιγμές που μου χάρισαν στα πέντε χρόνια των σπουδών μου στο Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, καθιστώντας τα φοιτητικά μου χρόνια μian από τις ομορφότερες περιόδους της έως τώρα ζωής μου. Τέλος, οφείλω ένα τεράστιο ευχαριστώ στην οικογένειά μου, για την πολύτιμη στήριξη και συμπαράσταση που μου προσέφερε καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μου.

Αθανάσιος Λημναίος,
Φεβρουάριος 2018.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: Η ΜΑΓΙΑ (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	1
1.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	2
1.2. ΤΑΞΙΝΟΜΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΓΙΑ ΤΙΣ ΖΥΜΕΣ	2
1.3. ΙΣΤΟΡΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΓΙΑ ΤΙΣ ΖΥΜΕΣ.....	4
1.4. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΤΩΝ ΖΥΜΩΝ.....	5
1.5. ΑΡΧΙΤΕΚΤΟΝΙΚΗ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΟΥ ΤΗΣ ΜΑΓΙΑΣ.....	5
1.5.1. ΤΟ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΠΕΡΙΒΛΗΜΑ.....	6
1.5.1.1. Η ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΜΕΜΒΡΑΝΗ.....	6
1.5.1.2. ΤΟ ΠΕΡΙΠΛΑΣΜΑ	7
1.5.1.3. ΤΟ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΤΟΙΧΩΜΑ.....	8
1.5.2. ΤΟ ΚΥΤΤΑΡΟΠΛΑΣΜΑ ΚΑΙ Ο ΚΥΤΤΑΡΟΣΚΕΛΕΤΟΣ	9
1.5.3. Ο ΠΥΡΗΝΑΣ.....	10
1.5.4. ΤΟ ΕΚΚΡΙΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΚΑΙ ΤΑ ΚΕΝΟΤΟΠΙΑ.....	11
1.5.5. ΤΑ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑ	13
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΚΥΤΤΑΡΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΑΠΟ ΖΥΜΕΣ ΚΑΙ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΜΑΓΙΑΣ.....	15
2.1. ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΠΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΙ ΑΠΟ ΤΗ ΜΑΓΙΑ.....	16
2.2. ΑΡΩΜΑΤΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΚΑΙ ΕΝΙΣΧΥΤΙΚΑ ΓΕΥΣΗΣ ΑΠΟ ΤΗ ΜΑΓΙΑ ΑΡΤΟ-ΠΟΙΑΣ	17
2.2.1. ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΑ ΜΑΓΙΑΣ	17
2.2.1.1. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΟ ΓΕΥΣΤΙΚΟ ΚΑΙ ΑΡΩΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΦΙΛ ΤΩΝ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΩΝ ΜΑΓΙΑΣ	18
2.2.1.2. ΒΑΣΙΚΑ ΣΤΑΔΙΑ ΣΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ	19
2.2.1.3. Η ΔΙΕΡΓΑΣΙΑ ΤΗΣ ΑΥΤΟΛΥΣΗΣ	20
2.2.1.4. Η ΔΙΕΡΓΑΣΙΑ ΤΗΣ ΠΛΑΣΜΟΛΥΣΗΣ.....	24
2.2.1.5. Η ΔΙΕΡΓΑΣΙΑ ΤΗΣ ΥΔΡΟΛΥΣΗΣ.....	25
2.2.2. ΕΝΙΣΧΥΤΙΚΑ ΓΕΥΣΗΣ.....	26
2.2.3. ΜΕΘΟΔΟΙ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΗΣ ΜΑΓΙΑΣ ΓΙΑ ΤΗ ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΤΗΣ ΔΙΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΗΣ ΑΥΤΟΛΥΣΗΣ ΚΑΙ ΤΗΝ ΠΑΡΑΛΑΒΗ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ.....	27
2.2.3.1. ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΟΥ ΕΧΟΥΝ ΗΔΗ ΜΕΛΕΤΗΘΕΙ.....	27
2.2.3.2. Η ΜΕΘΟΔΟΣ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ	29
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: Η ΥΠΕΡΥΨΗΛΗ ΠΙΕΣΗ	31
3.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	32

3.2. ΜΗ ΘΕΡΜΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ.....	33
3.2.1. ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΜΗ ΘΕΡΜΙΚΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ.....	34
3.3. Η ΥΠΕΡΥΨΗΛΗ ΠΙΕΣΗ.....	35
3.3.1. ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ.....	35
3.3.2. ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΜΕ ΥΠΕΡΥΨΗ- ΛΗ ΠΙΕΣΗ.....	36
3.3.2.1. ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΔΙΕΡΓΑΣΙΑΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ.....	36
3.3.2.2. ΕΞΩΤΕΡΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΤΗΣ ΔΙΕΡΓΑΣΙΑΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ	39
3.3.2.3. ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΗ ΜΟΝΤΕΛΟΠΟΙΗΣΗ ΤΗΣ ΔΙΕΡΓΑΣΙΑΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ.....	39
3.3.3. ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΜΕ ΥΠΕΡΥ- ΨΗΛΗ ΠΙΕΣΗ.....	41
3.3.3.1. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΣΤΟΥΣ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙ- ΣΜΟΥΣ.....	41
3.3.3.2. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΣΤΑ ΕΝΖΥΜΑ.....	43
3.3.3.3. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΣΤΑ ΑΜΥΛΑ ΚΑΙ ΣΤΙΣ ΠΡΩ- ΤΕΪΝΕΣ.....	44
3.3.3.4. ΔΙΑΠΕΡΑΤΟΠΟΙΗΣΗ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΜΕ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗ ΠΙΕΣΗ.....	45
3.3.3.5. ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΣΤΗΝ ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΟΥΣΙΩΝ ΑΠΟ ΤΡΟΦΙΜΑ.....	46
3.3.3.6. ΑΛΛΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ.....	48
3.3.4. ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΤΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΜΕ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗ ΠΙΕΣΗ ΕΝΑ- ΝΤΙ ΑΛΛΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ ΘΕΡΜΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΗ ΘΕΡΜΙΚΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ.....	49
3.3.5. ΕΝΕΡΓΕΙΑΚΗ ΑΠΟΔΟΣΗ ΚΑΙ ΕΞΟΙΚΟΝΟΜΗΣΗ ΝΕΡΟΥ.....	49
3.3.6. ΝΟΜΙΚΗ ΕΓΚΡΙΣΗ.....	50
3.3.7. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΣΤΗ ΔΙΕΡΓΑΣΙΑ ΤΗΣ ΑΥΤΟΛΥΣΗΣ ΜΑΓΙΑΣ ΑΡΤΟΠΟΙΑΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΛΑΒΗ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ.....	51
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	53
4.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	54
4.2. ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΑΙΩΡΗΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ 10 % w/w	54
4.3. ΔΙΑΛΥΜΑ ΠΡΩΤΕΟΛΥΤΙΚΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ.....	55
4.4. ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗ ΠΙΕΣΗ.....	55
4.4.1. ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΗΣ ΜΟΝΑΔΑΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ.....	55
4.4.2. ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΤΟΥ ΔΙΑΛΥΜΑΤΟΣ ΠΡΩΤΕΟΛΥΤΙΚΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ ΚΑΙ ΤΟΥ ΑΙΩΡΗΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ 10 % w/w ΜΕ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗ ΠΙΕΣΗ.....	56
4.5. ΜΕΤΡΗΣΗ ΑΓΩΓΙΜΟΤΗΤΑΣ – ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΔΕΙΚΤΗ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΔΙΑΡΡΗ- ΞΗΣ (Z).....	59

4.6. ΜΕΤΡΗΣΗ ΤΗΣ ΟΛΙΚΗΣ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΟ-ΛΥΤΙΚΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ ΣΤΟ ΕΣΩΤΕΡΙΚΟ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΜΑΓΙΑΣ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΤΗΣ ΑΖΟΚΑΖΕΪΝΗΣ.....	60
4.6.1. ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΟΣ ΑΖΟΚΑΖΕΪΝΗΣ 1 % <i>W/v</i>	60
4.6.2. ΜΕΤΡΗΣΗ ΤΗΣ ΟΛΙΚΗΣ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΟΛΥΤΙΚΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ	61
4.7. ΑΥΤΟΛΥΣΗ ΤΗΣ ΜΑΓΙΑΣ	62
4.8. ΠΑΡΑΛΑΒΗ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ.....	62
4.9. ΜΕΤΡΗΣΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΣΤΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ ΑΡΤΟΠΟΙΑΣ	63
4.9.1. ΜΕΤΡΗΣΗ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΣΤΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΜΑΓΙΑΣ ΑΡΤΟΠΟΙΑΣ	63
4.9.1.1. ΜΕΘΟΔΟΣ LOWRY	64
4.9.1.2. ΜΕΘΟΔΟΣ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΑΜΙΝΙΚΩΝ ΑΖΩΤΩΝ (<i>FREE AMINO NITROGEN, FAN</i>)	66
4.9.2. ΜΕΤΡΗΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ΥΔΑΤΑΝΘΡΑΚΩΝ ΣΤΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΜΑΓΙΑΣ ΑΡΤΟΠΟΙΑΣ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΦΑΙΝΟΛΗΣ & ΘΕΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ.....	68
4.9.3. ΜΕΤΡΗΣΗ ΣΤΕΡΕΟΥ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΟΣ ΣΤΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΜΑΓΙΑΣ ΑΡΤΟΠΟΙΑΣ.....	69
4.9.4. ΜΕΤΡΗΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ΔΙΑΛΥΤΩΝ ΣΤΕΡΕΩΝ (°Bx) ΣΤΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΜΑΓΙΑΣ ΑΡΤΟΠΟΙΑΣ	70
4.9.5. ΜΕΤΡΗΣΗ ΧΡΩΜΑΤΟΣ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ ΑΡΤΟΠΟΙΑΣ	70
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ	73
5.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	74
5.2. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΣΤΗΝ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΣΥΝΟΛΙΚΩΝ ΠΡΩΤΕΟΛΥΤΙΚΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΜΑΓΙΑΣ ΑΡΤΟΠΟΙΑΣ	74
5.3. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΣΤΟΝ ΔΕΙΚΤΗ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΔΙΑΡΡΗΞΗΣ (<i>Z</i>) ΜΑΓΙΑΣ ΑΡΤΟΠΟΙΑΣ	78
5.4. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΣΤΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ ΑΡΤΟΠΟΙΑΣ	81
5.4.1. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΣΤΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΜΑΓΙΑΣ ΑΡΤΟΠΟΙΑΣ	81
5.4.1.1. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΣΤΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΜΑΓΙΑΣ ΑΡΤΟΠΟΙΑΣ	81
5.4.1.2. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΑΜΙΝΟΞΕΩΝ ΚΑΙ ΟΛΙΓΟΠΕΠΤΙΔΙΩΝ ΣΤΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΜΑΓΙΑΣ ΑΡΤΟΠΟΙΑΣ	90
5.4.2. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ΥΔΑΤΑΝΘΡΑΚΩΝ ΣΤΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΜΑΓΙΑΣ ΑΡΤΟΠΟΙΑΣ.....	99

5.4.3. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΟ ΣΤΕΡΕΟ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑ ΤΟΥ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ ΑΡΤΟΠΟΙΑΣ	104
5.4.4. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ΔΙΑΛΥΤΩΝ ΣΤΕΡΕΩΝ ΣΤΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΜΑΓΙΑΣ ΑΡΤΟΠΟΙΑΣ	111
5.4.5. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΟ ΧΡΩΜΑ ΤΟΥ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ ΑΡΤΟΠΟΙΑΣ.....	118
5.5. ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΚΑΙ ΑΠΟΔΟΣΗ ΤΗΣ ΑΥΤΟΛΥΣΗΣ	125
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	131
6.1. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΣΤΗΝ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΟΛΥΤΙΚΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ ΚΑΙ ΑΝΤΙΚΤΥΠΟΣ ΣΤΗ ΔΙΕΡΓΑΣΙΑ ΤΗΣ ΑΥΤΟΛΥΣΗΣ.....	132
6.2. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΣΤΟΝ ΔΕΙΚΤΗ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΔΙΑΡΡΗΣΗΣ ΚΑΙ ΑΝΤΙΚΤΥΠΟΣ ΣΤΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ	134
6.3. ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ.....	134
<u>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</u>.....	135



ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

Η ΜΑΓΙΑ (*Saccharomyces cerevisiae*)

1. Η ΜΑΓΙΑ (*Saccharomyces cerevisiae*)

1.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι ζύμες είναι ευκαριωτικοί, μονοκύτταροι μικροοργανισμοί, ταξινομημένοι ως μέλη του βασιλείου των μυκήτων. Η πρώτη ζύμη χρονολογείται πριν από εκατοντάδες εκατομμύρια χρόνια και έως σήμερα έχουν ταυτοποιηθεί 1500 είδη ζυμών (Lin & Li, 2014) (Kurtzman & Fell, *Yeast Systematics and Phylogeny - Implications of Molecular Identification Methods for Studies in Ecology*, 2006) (Hoffman, Wood, & Fantes, 2015). Εκτιμάται ότι οι ζύμες αποτελούν το 1 % του συνόλου των ειδών μυκήτων που έχουν περιγραφεί (Kurtzman & Piškur, *Taxonomy and phylogenetic diversity among the yeasts*, 2006).

1.2. ΤΑΞΙΝΟΜΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΓΙΑ ΤΙΣ ΖΥΜΕΣ

Μετά την πρώτη περιγραφή από τον Leeuwenhoek της μαγιάς στη μύρα το 1680, ελάχιστες επιπλέον πληροφορίες αναφορικά με τις ζύμες εμφανίστηκαν έως τη δεκαετία του 1830, λόγω της έλλειψης καλής ποιότητας μικροσκοπίων, των ελάχιστων επίμονων φυσιδιών και της έλλειψης ενός οργανωμένου συστήματος ονομασίας και ταξινόμησης των μορφών ζωής. Η τελευταία ανάγκη καλύφθηκε, εν τέλει, στα μέσα του 18^{ου} αιώνα από τον Κάρολο Λινναίο (*Carl von Linné, 1707-1778*), τον Σουηδό βοτανολόγο ο οποίος δημιούργησε το πρώτο αναγνωρισμένο σύστημα ονομασίας και ταξινόμησης φυτών και ζώων. Παρόλο που ο Λινναίος δεν ήταν εξοικειωμένος με τον μικροβιακό κόσμο, τοποθέτησε τους τότε περιγεγραμμένους μύκητες, στους οποίους περιλαμβάνονταν τα μανιτάρια, στην 24^η τάξη των κρυπτογάμων. Οι υπομικροσκοπικές μορφές ζωής, περιλαμβανομένων των ζυμών, έτυχαν επιπόλειας προσοχής, κυρίως επειδή πολλοί επιστήμονες της εποχής εκείνης ενστερνίζονταν τη θεωρία της αβιογενέσεως.

Η ταξινόμια των ζυμών ξεκίνησε το 1837, με την εκχώρηση από τον Meyer του ονόματος *Σακχαρομύκης* (*Saccharomyces*), από τις λέξεις «σάκχαρις» (*ζάχαρη*) και «μύκης» (*μύκητας*) στη μαγιά. Μισόν αιώνα αργότερα, η πρώτη ιδέα της ονομασίας ειδών ως ζύμες αναδύθηκε επί τη βάση των πρωτοποριακών μελετών του Emil Christian Hansen στα Εργαστήρια του Carlsberg, αναφορικά με τις τεχνικές καθαρής καλλιέργειας. Ο Hansen διεχώρισε και ταξινόμησε διαφορετικές καλλιέργειες ζυμών, τις οποίες ο ίδιος απομόνωσε σε καθαρή μορφή, βάσει της κυτταρικής και ασκοσποριακής μορφολογίας, της αφομοίωσης των σακχάρων και τα χαρακτηριστικά της ζύμωσης, καθώς και την αντοχή των ζυμών σε διάφορες θερμοκρασίες. Ως αποτέλεσμα αυτής της ανακάλυψης νέων στελεχών, ο κατάλογος των τάξεων μεγάλωσε και υπήρξε άμεση ανάγκη επέκτασης του αριθμού των φαινοτυπικών χαρακτηριστικών που μελετούνταν, για περισσότερο ακριβή διαχωρισμό.

Το παρόν ταξινομικό σύστημα για τις ζύμες, το οποίο χρησιμοποιείται σχεδόν απ' όλους τους μυκητολόγους και δημιουργήθηκε μέσα από τις συνεργιστικές προσπάθειες μιας πλειάδας ταξινομιστών απ' όλον τον κόσμο, δημοσιεύθηκε από τον Kreger-van Rij το 1984. Η πρώτη έκδοση του έργου «Οι Ζύμες: Μια Ταξινομική Μελέτη» από τους Lodder και

Kreger-van Rij (1952) αριθμούσε 26 γένη και 164 είδη, τα οποία στα επόμενα 18 χρόνια αυξήθηκαν σε 39 γένη και 349 είδη, όπως περιγράφησαν στη δεύτερη έκδοση από τον Lodder (1970). Από τότε, αρκετά καινούργια είδη έχουν ανακαλυφθεί και πρόσφατες εξελίξεις στην ταξινόμια έχουν καταστήσει αναγκαία τη χρήση νέων κριτηρίων για την περιγραφή της τάξεως των ζυμών, για την ίδρυση ενός βελτιωμένου συστήματος ταξινόμησης (Reed & Nagodawithana, 1991).

Οι ζύμες είναι μονοκύτταροι οργανισμοί, οι οποίοι εξελίχθηκαν από πολυκύτταρους προγόνους (Yong, 2012), καθώς κάποια είδη έχουν την ικανότητα ν' αναπτύσσουν πολυκυτταρικά χαρακτηριστικά, σχηματίζοντας ίνες συνδεδεμένων εκβλαστούμενων κυττάρων, γνωστές ως ψευδοϋφές (Rosa & Péter, 2006). Τα μεγέθη των ζυμών ποικίλουν πολύ, αναλόγως του είδους και του περιβάλλοντος. Συνήθως, έχουν διάμετρο 3 – 4 μm, παρόλο που κάποιες ζύμες μπορούν ν' αναπτυχθούν σε μέγεθος μέχρι τα 40 μm (Walker, Skelton, & Smith, 2002). Οι περισσότερες ζύμες αναπαράγονται αγενώς με μίτωση και πολλές ζύμες το πράττουν αυτό με τη διαδικασία της ασύμμετρης διαίρεσης, γνωστή ως εκβλάστηση.



EIKONA E.1.1

Κύτταρα μαγιάς (Saccharomyces cerevisiae) υπό ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM). (Saccharomyces cerevisiae, 2018)

Οι περισσότερες ζύμες αναπαράγονται αγενώς με μίτωση και πολλές ζύμες το πράττουν αυτό με τη διαδικασία της ασύμμετρης διαίρεσης, γνωστή ως εκβλάστηση.

Οι ζύμες, με τη μονοκυτταρική συνήθεια ανάπτυξής τους, μπορούν ν' αντιπαραβληθούν με τις μούχλες, οι οποίες σχηματίζουν υφές. Τα μυκητιακά είδη τα οποία λαμβάνουν και τις δύο μορφές (ανάλογα με τη θερμοκρασία ή άλλους παράγοντες) καλούνται διμορφικοί μύκητες.

Με ζύμωση, το είδος ζύμης *Saccharomyces cerevisiae* μετατρέπει τους υδατάνθρακες σε διοξείδιο του άνθρακα και αιθανόλη. Για χιλιάδες χρόνια, το διοξείδιο του άνθρακα χρησιμοποιείται στην αρτοποιία και η αιθανόλη στην παρασκευή αλκοολούχων ποτών (Legras, Merdinoglu, Cornuet, & Karst, 2007). Είναι, ακόμα, ένας σημαντικός οργανισμός-πρότυπο στη σύγχρονη έρευνα στην Κυτταρική Βιολογία, ενώ είναι ένας από τους εκτενέστερα μελετημένους ευκαρυωτικούς μικροοργανισμούς. Οι ερευνητές έχουν χρησιμοποιήσει αυτό το είδος ζύμης για τη συλλογή πληροφοριών αναφορικά με τη βιολογία του ευκαρυωτικού κυττάρου και, τελικά, τη βιολογία του ανθρώπου (Ostergaard, Olsson, & Nielsen, 2000). Άλλα είδη ζυμών, όπως η *Candida albicans*, είναι δυνητικά παθογόνοι και μπορούν να προκαλέσουν λοιμώξεις στους ανθρώπους.

Οι ζύμες δεν συνιστούν μια μόνη ταξινόμική ή φυλλογενετική ομάδα. Ο όρος «ζύμη», συχνά, ταυτίζεται με τον *Saccharomyces cerevisiae*, αλλά η φυλλογενετική ποικιλία των ζυμών φαίνεται από την τοποθέτησή τους σε δύο διαφορετικά φύλα: τους *Ασκομύκητες* και τους *Βασιδιομύκητες*. Οι εκβλαστούμενες ζύμες («αληθείς ζύμες») ταξινομούνται στην τάξη των *Σακχαρομυκεταλών (Saccharomycetales)*, η οποία ανήκει στο φύλο των *Ασκομυκήτων*. (Kurtzman, Molecular taxonomy of the yeasts, 1994)

1.3. ΙΣΤΟΡΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΓΙΑ ΤΙΣ ΖΥΜΕΣ



ΕΙΚΟΝΑ Ε.1.2

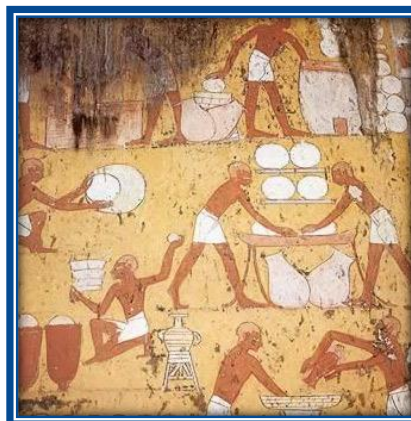
Αιγυπτιακό ξύλινο μοντέλο παρασκευής μπύρας στην Αρχαία Αίγυπτο.

*Rosicrucian Egyptian Museum, San Jose, California
(Hill, 2010)*

Οι ζύμες είναι, πιθανώς, ένας από τους αρχαιότερους οργανισμούς του πλανήτη, τους οποίους εκμεταλλεύθηκε ο άνθρωπος ήδη από τα αρχαία χρόνια. Αρχαιολόγοι οι οποίοι διεξήγαν ανασκαφές στην Αίγυπτο ανακάλυψαν αρχαίες μύλοπετρες και θαλάμους έψησης για ζυμωμένο ψωμί, καθώς και τοιχογραφίες αρτοποιείων και ζυθοποιείων 4000 ετών (Phillips & Noever, 2006). Το 1680, ο Δανός φυσιοδίφης Anton van Leeuwenhoek παρατήρησε πρώτος μικροσκοπικά ζύμες, αλλά εκείνη την εποχή δεν τις θεώρησε ζώντες οργανισμούς, αλλά σφαιροειδείς δομές (Huxley, 1894). Οι ερευνητές αμφέβαλλαν κατά πόσον οι ζύμες ήταν

άλγη ή μύκητες (Ainsworth, 1976), αλλά το 1837 ο Theodor Schwann τις αναγνώρισε ως μύκητες (Barnett, A history of research on yeasts 8: taxonomy, 2004).

Το 1857, ο Γάλλος μικροβιολόγος Louis Pasteur απέδειξε στο άρθρο «Mémoire sur la fermentation alcoolique» ότι η αλκοολική ζύμωση διεξαγόταν από ζώσες ζύμες και όχι από έναν χημικό καταλύτη. Ο Pasteur έδειξε ότι διαβιβάζοντας οξυγόνο σε μια καλλιέργεια ζυμών, η κυτταρική ανάπτυξη μπορούσε ν' αυξηθεί, αλλά η ζύμωση παρεμποδιζόταν – μια παρατήρηση η οποία εκλήθη αργότερα ως «Επίδραση Pasteur» (Phillips & Noever, 2006), (Barnett, Beginnings of microbiology and biochemistry: the contribution of yeast research, 2003). Έως τα τέλη του 18^{ου} αιώνα, δύο στελέχη ζυμών, τα οποία εχρησιμοποιούντο στη ζυθοποιία, είχαν ταυτοποιηθεί: ο *Saccharomyces cerevisiae* (μαγιά για ζύμωση κορυφής) και ο *Saccharomyces carlsbergensis* (μαγιά για ζύμωση



ΕΙΚΟΝΑ Ε.1.3

Αναπαράσταση αρτοποιιών στην Αρχαία Αίγυπτο.

*Τοιχογραφία σε αρχαίο αιγυπτιακό τάφο.
(Howard, 2011)*

πυθμένα). Ο *Saccharomyces cerevisiae* επωλείτο εμπορικά από τους Δανούς για παρασκευή ψωμιού ήδη από το 1780, ενώ, περί το 1800, οι Γερμανοί ξεκίνησαν να παράγουν *Saccharomyces cerevisiae* σε μορφή κρέμας. Το 1825 αναπτύχθηκε μια μέθοδος για την αφαίρεση του υγρού, ούτως ώστε η μαγιά να μπορεί να παρασκευάζεται σε στερεά κομμάτια (Klieger, 2004). Η βιομηχανική παραγωγή φρέσκιας μαγιάς σε στερεά κομμάτια ενισχύθηκε με την εισαγωγή της φιλτρόπρεσας, το 1867. Το 1872 ο Baron Max de Springer ανέπτυξε μια κατασκευαστική διεργασία για τη δημιουργία



ΕΙΚΟΝΑ Ε.1.4

Κομμάτι συμπιεσμένης φρέσκιας μαγιάς.

μαγιάς σε κόκκους, μια τεχνική η οποία χρησιμοποιήθηκε μέχρι τον Α΄ Παγκόσμιο Πόλεμο. Στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής, χρησιμοποιούνταν σχεδόν αποκλειστικά οι φυσικώς απαντώμενοι ζυμομύκητες, μέχρι την είσοδο στην αγορά της εμπορικής μαγιάς, στην Διεθνή Έκθεση της Εκατονταετηρίδας (*Centennial International Exhibition*), το 1876, στη Φιλαδέλφεια των Ηνωμένων Πολιτειών της Αμερικής. Εκεί, ο Charles L. Fleischmann εξέθεσε το προϊόν και μια διεργασία για τη χρήση του, καθώς και τη διάθεση του προκύπτοντος ψημένου ψωμιού (Snodgrass, 2004).

1.4. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΤΩΝ ΖΥΜΩΝ

Οι ζύμες είναι χημειοργανότροφες, καθώς χρησιμοποιούν οργανικές ενώσεις ως πηγή ενέργειας και δεν απαιτούν ηλιακό φως για την ανάπτυξή τους. Ο άνθρακας αποκτάται, κυρίως, από σάκχαρα εξοζών, όπως η γλυκόζη και η φρουκτόζη, ή δισακχαρίτες, όπως η σακχαρόζη και η μαλτόζη. Κάποια είδη μπορούν να μεταβολίζουν σάκχαρα πεντοζών, όπως η ριβόζη, αλκοόλες και οργανικά οξέα (Barnett, The entry of D-ribose into some yeasts of the genus Pichia, 1975). Οι ζύμες είτε απαιτούν οξυγόνο, για αερόβια κυτταρική αναπνοή (*υποχρεωτικά αερόβιες ζύμες*), είτε είναι αναερόβιες, αλλά έχουν, επίσης, αερόβιες μεθόδους παραγωγής ενέργειας (*προαιρετικά αναερόβιες ζύμες*). Αντιθέτως με τα βακτήρια, κανένα γνωστό είδος ζύμης δεν αναπτύσσεται υποχρεωτικά αναερόβια. Οι περισσότερες ζύμες αναπτύσσονται βέλτιστα σε ουδέτερο ή ελαφρώς όξινο περιβάλλον pH.

Οι ζύμες ποικίλουν αναφορικά με το θερμοκρασιακό εύρος στο οποίο αναπτύσσονται βέλτιστα. Για παράδειγμα, το *Leucosporidium frigidum* αναπτύσσεται από τους $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$ έως τους $20\text{ }^{\circ}\text{C}$, ο *Saccharomyces telluris* από τους $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ έως τους $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ και η *Candida slooffii* από τους $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ έως τους $45\text{ }^{\circ}\text{C}$. Τα κύτταρα μπορούν ν' αντέξουν την ψύξη, υπό ορισμένες συνθήκες, με τη βιωσιμότητά τους να μειώνεται με την πάροδο του χρόνου.

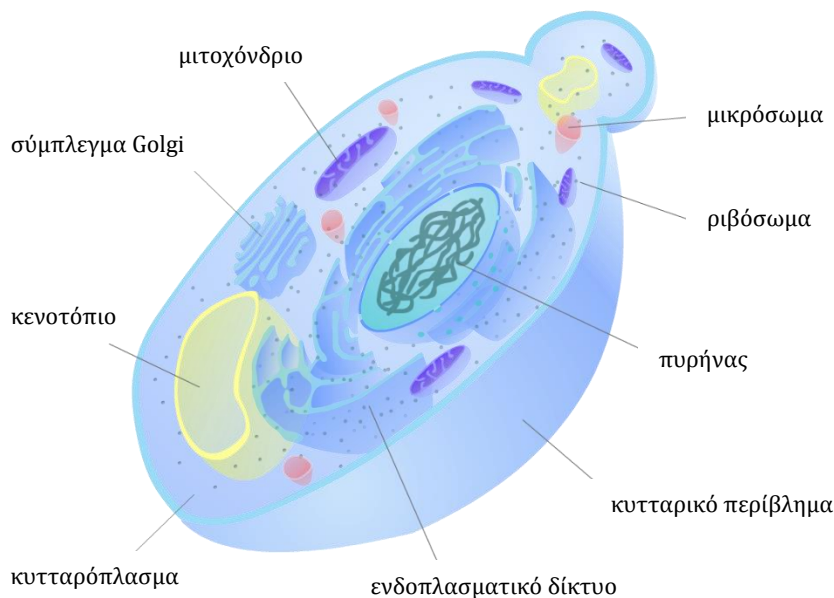
Εν γένει, οι ζύμες αναπτύσσονται εργασηριακά επί στερεού μέσου ανάπτυξης ή σε υγρό ζωμό. Συνήθη μέσα τα οποία χρησιμοποιούνται για την καλλιέργεια ζυμών περιλαμβάνουν διάφορα είδη άγαρ (Arthur & Watson, 1976).

1.5. ΑΡΧΙΤΕΚΤΟΝΙΚΗ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΟΥ ΤΗΣ ΜΑΓΙΑΣ

Η υποκυτταρική διαμερισματοποίηση της ζύμης προσομοιάζει αυτή των ευκαρυωτικών κυττάρων, καθώς διαθέτει πυρήνα, μιτοχόνδρια, σύμπλεγμα Golgi, κυστίδια εκκρίσεως, ενδοπλασματικό δίκτυο, κενοτόπια και μικροστοιχεία. Αξίζει να σημειωθεί ότι αρκετά οργανίδια περιέχονται σε ένα εκτενές ενδομεμβρανικό σύστημα και δεν είναι εντελώς ανεξάρτητα το ένα από το άλλο. Το κυτταρόπλασμα περιέχει ριβοσώματα και, περιστασιακά, πλασμίδια, ενώ η δομική οργάνωση του ενδοκυτταρικού περιβάλλοντος συγκρατείται από έναν κυτταροσκελετό. Το κυτταρικό περιεχόμενο καλύπτεται από ένα περίβλημα, το οποίο αποτελείται από την κυτταρική μεμβράνη, το περίπλασμα και το κυτταρικό τοίχωμα. Ένα επιπλέον καψίδιο και ένα ινώδες υμένιο

μπορεί να υπάρχει σε κάποιες ζύμες. Στην εικόνα E.1.5 παρουσιάζεται σχηματικά ολόκληρη η δομή ενός εξιδανικευμένου κυττάρου μαγιάς.

Επειδή τα κύτταρα της μαγιάς έχουν πολλές δομικές και λειτουργικές ιδιότητες των ανώτερων ευκαρυωτικών κυττάρων, η μαγιά έχει θεωρηθεί ως πρότυπος οργανισμός για την επιστήμη των ευκαρυωτικών κυττάρων. Φυσικά, η παρουσία κυτταρικού τοιχώματος είναι το εξέχον χαρακτηριστικό που διαχωρίζει το κύτταρο της μαγιάς από ένα ζωικό κύτταρο (Walker G. M., 1998), (Alberts, και συν., 2011).



ΕΙΚΟΝΑ E.1.5

Σχηματική αναπαράσταση της δομής ενός εξιδανικευμένου κυττάρου μαγιάς.
(www.biocourseware.com, 2012)

1.5.1. ΤΟ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΠΕΡΙΒΛΗΜΑ

Το κυτταρικό περίβλημα της μαγιάς θεωρείται ως η δομή η οποία περιβάλλει και εσωκλείει το κυτταρόπλασμα της μαγιάς. Αυτό συνίσταται, από το εσωτερικό προς το εξωτερικό, από την κυτταρική (πλασματική) μεμβράνη, τον περιπλασματικό χώρο και το κυτταρικό τοίχωμα. Στον *Saccharomyces cerevisiae*, το κυτταρικό περίβλημα καταλαμβάνει, περίπου, το 15 % του συνολικού όγκου του κυττάρου και ενέχει μείζονα ρόλο, καθώς ελέγχει τις ιδιότητες ώσμωσης και διαπερατότητας του κυττάρου. Οι δομικές και λειτουργικές ιδιότητες αυτών των συστατικών θα περιγραφούν παρακάτω, δίδοντας έμφαση στην πρακτική τους σημασία.

1.5.1.1. Η ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΜΕΜΒΡΑΝΗ

Η μαγιά δεν θα υπήρχε ως μονοκυτταρική οντότητα δίχως κυτταρική μεμβράνη. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι αυτή η δομή αντιπροσωπεύει το κύριο φράγμα στη διέλευση υδρόφιλων μορίων και, συνεπώς, την ελεύθερη ανάμιξη των κυτταροπλασματικών συστατικών με το υδατικό περιβάλλον των κυττάρων. Η κυτταρική μεμβράνη του *Saccharomyces cerevisiae* έχει πάχος, περίπου, ίσο με 7,5 μm, με

περιστασιακές προεκβολές στο κυτταρόπλασμα. Όπως άλλες βιολογικές μεμβράνες, μπορεί να περιγραφεί ως μια διπλοστιβάδα λιπιδίων, στην οποία υπάρχουν διάσπαρτες σφαιρικές πρωτεΐνες, σχηματίζοντας ένα ρευστό μωσαϊκό. Τα λιπαρά συστατικά αποτελούνται, κυρίως, από φωσφολιπίδια και στερόλες. Είναι πιθανόν ότι τα φωσφολιπίδια παρέχουν ρευστότητα και οι στερόλες ακαμψία στην κυτταρική μεμβράνη. Στις πρωτεΐνες της κυτταρικής μεμβράνης περιλαμβάνονται αυτές που σχετίζονται με τη μεταφορά διαλυτών ουσιών (*τριφωσφορική αδενοσινάση, πρωτεϊνικοί μεταφορείς, κανάλια*), τη βιοσύνθεση του κυτταρικού τοιχώματος (*συνθάσες γλυκάνης και χιτίνης*), τη διαμεμβρανική μεταγωγή σημάτων (*αδενυλική κυκλάση, πρωτεΐνες G*) και την αγκύρωση του κυτταροσκελετού.

Η κυτταρική μεμβράνη δεν θα πρέπει να θεωρηθεί ως μια στατική μονάδα, अपαράλλαχτη στον χρόνο. Και αυτό γιατί η κυτταρική μεμβράνη μεταβάλλεται τόσο δομικά, όσο και λειτουργικά, αναλόγως των συνθηκών ανάπτυξης. Για παράδειγμα, η σύνθεση των λιπιδίων, ιδιαιτέρως των ακόρεστων λιπαρών οξέων, μπορεί να μεταβληθεί σε αρκετά μεγάλο βαθμό με την αλλαγή του ρυθμού ανάπτυξης, της θερμοκρασίας και της διαθεσιμότητας οξυγόνου. Τέτοιες μεταβολές στη σύνθεση των λιπιδίων της κυτταρικής μεμβράνης μεταβάλλουν, με τη σειρά τους, τις λειτουργικές ιδιότητές της, ιδιαιτέρως εκείνες που αφορούν στη μεταφορά αμινοξέων και σακχάρων.

Οι κύριες λειτουργίες της κυτταρικής μεμβράνης έγκεινται στη ρύθμιση του τι εισέρχεται και τι εξέρχεται από το κύτταρο. Αυτές οι ιδιότητες εκλεκτικής διαπερατότητας σχετίζονται με εξειδικευμένες πρωτεΐνες, ο ρόλος των οποίων σχετίζεται με τη θρέψη της μαγιάς, δηλαδή με την πρόσληψη σακχάρων, αζώτου, ιόντων κ.τ.λ.. Μια άλλη κύρια λειτουργία της κυτταρικής μεμβράνης της μαγιάς είναι η μεταγωγή σημάτων από εξωτερικά ερεθίσματα, για τη διεξαγωγή – μέσω δευτερευόντων αγγελιαφόρων – ενός αριθμού εσωτερικών βιοχημικών αντιδράσεων. Μια άλλη μεταφορική λειτουργία της κυτταρικής μεμβράνης της μαγιάς σχετίζεται με την εξωκύτωση και την ενδοκύτωση. Κατά την εξωκύτωση, εκκριτικά κυστίδια, τα οποία προέρχονται από το ενδοπλασματικό δίκτυο και το σύμπλεγμα Golgi, συγχωνεύονται με την κυτταρική μεμβράνη, για τη μεταφορά πρωτεϊνών διά μέσου του κυτταρικού περιβλήματος. Όσον αφορά στην ενδοκύτωση, πρόκειται για ένα σύστημα εντοπισμού και ενσωμάτωσης συγκεκριμένων μορίων, με τη βοήθεια εξειδικευμένων μεμβρανικών δομών, γνωστών ως ενδοσώματα.

Η κυτταρική μεμβράνη είναι ιδιαιτέρως σημαντική στη φυσιολογία των βιομηχανικών στελεχών. Για παράδειγμα, η ικανότητα της μαγιάς ζυθοποιίας να παράγει και να διαχειρίζεται την αιθανόλη συνδέεται άμεσα με τη φύση των ακόρεστων λιπαρών οξέων και των στερολών της κυτταρικής μεμβράνης.

1.5.1.2. ΤΟ ΠΕΡΙΠΛΑΣΜΑ

Συνεχίζοντας την από το εσωτερικό προς το εξωτερικό περιγραφή του κυτταρικού περιβλήματος, η επόμενη «δομή» η οποία απαντάται ως συστατικό στοιχείο του κυτταρικού περιβλήματος είναι το περίπλασμα. Αυτό είναι μια λεπτή (35 – 45 Å) κυτταρική περιοχή, η οποία ευρίσκεται εξωτερικά της κυτταρικής μεμβράνης και εσωτερικά του κυτταρικού τοιχώματος.

Το περίπλασμα αποτελείται, κυρίως, από εκκρινόμενες πρωτεΐνες (π.χ. μαννοπρωτεΐνες), οι οποίες είναι αδύνατον να διαπεράσουν το κυτταρικό τοίχωμα. Σε αυτές περιλαμβάνονται τα γλυκοπρωτεϊνικά ένζυμα ινβερτάση και όξινη φωσφατάση, τα οποία καταλύουν την υδρόλυση υποστρωμάτων τα οποία δεν διαπερνούν την κυτταρική μεμβράνη. Άλλα ένζυμα τα οποία εντοπίζονται στο περίπλασμα είναι η μαλιβιάση και η τρεχαλάση.

Η βιοτεχνολογική σημασία του περιπλάσματος της μαγιάς έγκειται στο γεγονός ότι η ινβερτάση είναι ένα ένζυμο εμπορικώς παρασκευαζόμενο από μαγιά αρτοποιίας, με τη διεργασία της αυτόλυσης ή της υδρόλυσης. Η ινβερτάση της μαγιάς τυγχάνει εφαρμογών στη βιομηχανία ζαχαροπλαστικής, για την υδρόλυση της κρυσταλλικής σακχαρόζης προς φρουκτόζη και γλυκόζη, για την παρασκευή μαλακών σοκολατών και γλυκών.

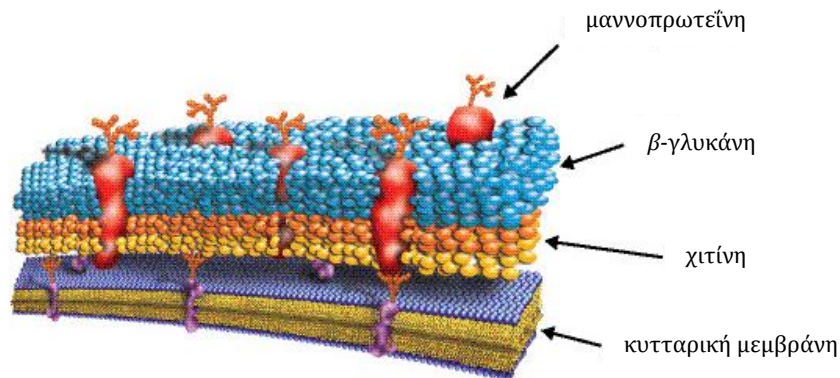
1.5.1.3. ΤΟ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΤΟΙΧΩΜΑ

Το κυτταρικό τοίχωμα της μαγιάς αποτελεί μian αρκετά παχιά (100 – 200 nm) δομή, αποτελώντας, περίπου, το 15 – 25 % του συνολικού στερεού υπολείμματος του κυττάρου της μαγιάς, ενώ είναι ένα πλήρως διακριτό στοιχείο όλων των ζυμών. Τα κύρια δομικά συστατικά του κυτταρικού τοιχώματος είναι πολυσακχαρίτες, οι οποίοι αποτελούν το 80 – 90 % του τοιχώματος. Αυτοί είναι, κυρίως, γλυκάνες και μαννάνες και, σε μικρότερο ποσοστό, χιτίνη. Η μαγιά αντλεί την αντοχή της από τις γλυκάνες του κυτταρικού τοιχώματος, οι οποίες είναι μερικώς διατεταγμένες σε ένα δίκτυο μικροϊνών. Υφίστανται τόσο β -1,6-γλυκάνες, όσο και β -1,3-γλυκάνες, οι οποίες διαφέρουν στη διαλυτότητά τους σε οξέα και βάσεις. Οι μαννάνες υπάρχουν ως ένας α -1,6-συνδεδεμένος πυρήνας, με α -1,2 και α -1,3 πλευρικές αλυσίδες. Η χιτίνη, ένα πολυμερές *N*-ακετυλογλυκοζαμίνης, υπάρχει σε μικρότερες ποσότητες στον *Saccharomyces cerevisiae*, κυρίως στις εκβλαστήσεις (*bud scars*). Άλλα συστατικά του κυτταρικού τοιχώματος είναι πρωτεΐνες, λιπίδια και ανόργανα φωσφορικά άλατα.

Αναφορικά με τη φυσιολογική λειτουργία του κυτταρικού τοιχώματος της μαγιάς, θα πρέπει να τονισθεί εξαρχής ότι το τοίχωμα δεν είναι απλώς ένας αδρανής εξωσκελετός, το οποίου ο μόνος ρόλος είναι η προστασία του πρωτοπλάστη. Αντιθέτως, το κυτταρικό τοίχωμα της μαγιάς θα πρέπει ν' αναγνωρισθεί ως ένα ζωντανό οργανίδιο, του οποίου οι λειτουργίες μεταβάλλονται κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης και του μεταβολισμού της μαγιάς. Εν ολίγοις, το κυτταρικό τοίχωμα είναι ένα πολυλειτουργικό οργανίδιο, το οποίο συμβάλλει στην προστασία του κυττάρου, στη διατήρηση του σχήματος, στις κυτταρικές αλληλεπιδράσεις, στην πρόσληψη και απόρριψη ουσιών και σε εξειδικευμένες ενζυμικές δράσεις. Το κυτταρικό τοίχωμα παρέχει, επίσης, κροκιδωτικές, πλωτικές και συγκολλητικές ιδιότητες στη μαγιά, ιδιότητες οι οποίες έχουν πρακτική εφαρμογή στις βιομηχανίες ζύμωσης, καθώς και στην ιατρική. Όλες οι φυσιολογικές λειτουργίες του

Η ΜΑΓΙΑ (*Saccharomyces cerevisiae*)

κυτταρικού τοιχώματος παρατίθενται περιληπτικά στον πίνακα Π.1.1 (Walker G. M., 1998), (Vuković & Mrša, 1995).



ΕΙΚΟΝΑ Ε.1.6

Σχηματική αναπαράσταση του κυτταρικού τοιχώματος της μαγιάς (*Saccharomyces cerevisiae*). (Lysing Enzymes, 2018)

ΠΙΝΑΚΑΣ Π.1.1

Φυσιολογικές λειτουργίες του κυτταρικού τοιχώματος της μαγιάς.

ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ	ΣΧΟΛΙΑ
φυσική προστασία	Ταυτόχρονα με την προστασία του πρωτοπλάστη, το κυτταρικό τοίχωμα διατηρεί το σχήμα των κυττάρων της μαγιάς.
ωσμωτική σταθερότητα	Η αφαίρεση του κυτταρικού τοιχώματος οδηγεί στη λύση του πρωτοπλάστη, απουσία ωσμωτικών σταθεροποιητών.
έλεγχος διαπερατότητας	Διαλυμένες ουσίες μεγαλύτερες των 600 Da δεν διαπερνούν το κυτταρικό τοίχωμα. Το τοίχωμα, επίσης, ελέγχει την εισροή νερού στο κύτταρο.
ενζυμική υποστήριξη	Ένζυμα μαλακώματος του τοιχώματος (π.χ. γλυκανάσες) και υδρολάσες (π.χ. ινβερτάση) είναι ακινητοποιημένα στη μήτρα του κυτταρικού τοιχώματος.
δέσμευση κατιόντων	Αρκετά κατιόντα είναι γνωστό ότι απομονώνονται αποτελεσματικά από το κυτταρικό τοίχωμα, συμπεριλαμβανομένων των βαρέων μετάλλων.
διακυτταρική αναγνώριση	Περιοχές αναγνώρισης ζευγαρωτικών φερομονών και θανατηφόρων τοξινών υπάρχουν στο κυτταρικό τοίχωμα.
διακυτταρική προσκόλληση	Η κροκκίδωση και η συσσωμάτωση κυττάρων μαγιάς είναι φαινόμενα τα οποία σχετίζονται με το κυτταρικό τοίχωμα.

Πηγή: (Walker G. M., 1998)

1.5.2. ΤΟ ΚΥΤΤΑΡΟΠΛΑΣΜΑ ΚΑΙ Ο ΚΥΤΤΑΡΟΣΚΕΛΕΤΟΣ

Το κυτταρόπλασμα της μαγιάς είναι ένα υδατικό, όξινο, κολλοειδές ρευστό, το οποίο περιέχει χαμηλού και μέσου μοριακού βάρους συστατικά, διαλυμένες πρωτεΐνες, γλυκογόνο και άλλα διαλυτά μακρομόρια. Επίσης, διεσπαρμένα στο κυτταροδιάλυμα είναι μεμβρανικά μικροσώματα και μακρομοριακά συσσωματώματα, όπως ριβοσώματα, πρωτεασώματα και λιπίδια. Το κυτταροσκελετικό δίκτυο, το οποίο παρέχει δομική οργάνωση στο κυτταρόπλασμα της μαγιάς, αποτελείται από μικροσωληνίσκους και μικροϊνίδια. Τα κυτταροπλασμικά (μη οργανιδιακά) ένζυμα της μαγιάς περιλαμβάνουν

γλυκολυτικά ένζυμα, το ενζυμικό σύμπλεγμα σύνθεσης λιπαρών οξέων και ένζυμα πρωτεϊνικής βιοσυνθέσεως.

Τα ελεύθερα διεσπαρμένα ριβοσώματα της μαγιάς, εν αντιθέσει προς τα ριβοσώματα του ενδοπλασματικού δικτύου ή τα μιτοχονδριακά ριβοσώματα, αποτελούνται από μεγάλες 60S και μικρές 40S ριβονουκλεοπρωτεϊνικές υπομονάδες, όπως και σε άλλα ευκαρυωτικά κύτταρα. Υπάρχουν ως ανεξάρτητα ριβοσώματα και ως συσσωματώματα με mRNA, τα οποία καλούνται πολυσώματα.

Τα λιπαρά σωματίδια (ή σφαιροσώματα) δρουν ως δοχεία αποθήκευσης, τα οποία υπηρετούν ως κυστίδια λιπιδίων για τη βιοσύνθεση της κυτταρικής μεμβράνης της μαγιάς. Περιέχουν, κυρίως, στερολικούς εστέρες, αλλά όχι τριγλυκερίδια, και μικρές ποσότητες φωσφολιπιδίων, πρωτεϊνών και ακόρεστων ελευθέρων λιπαρών οξέων. Η περιεκτικότητα των τελευταίων είναι γνωστό ότι αυξάνεται στη μαγιά αρτοποιίας, κατά το τέλος της εκθετικής φάσης σε μια καλλιέργεια διαλείποντος έργου.

Τα μικροσώματα στα κύτταρα της μαγιάς περιλαμβάνουν τα υπεροξυσώματα και τα γλυκοξυσώματα, τα οποία είναι ανεξάρτητα μεμβρανικά οργανίδια, διαφορετικά από τα κυστίδια του εκδοπλασματικού δικτύου. Τα υπεροξυσώματα επιτελούν μια ποικιλία μεταβολικών λειτουργιών στα ευκαρυωτικά κύτταρα. Στη μαγιά, τα υπεροξυσώματα είναι πανταχού παρόντα οργανίδια, τα οποία περιέχουν καταλάση και αρκετές οξειδάσες, οι οποίες σχετίζονται με την οξειδωτική χρήση συγκεκριμένων πηγών άνθρακα και αζώτου. Τα γλυκοξυσώματα της μαγιάς περιέχουν καταλάση και ένζυμα του γλυκοξυλικού κύκλου και του μεταβολισμού των αμινών.

Τα πρωτεασώματα είναι μεγάλα συμπλέγματα πολλαπλών υπομονάδων πρωτεάσης, τα οποία ευρίσκονται στο κυτταρόπλασμα και το πυρηνόπλασμα των κυττάρων μαγιάς, δίχως φαινομενική σχέση με ενδοκυτταρικές δομές. Η λειτουργία τους σχετίζεται με τη ρύθμιση του επιπέδου των πρωτεϊνών και είναι ουσιώδους σημασίας για τη βιωσιμότητα των κυττάρων.

Ο κυτταροσκελετός των κυττάρων μαγιάς αποτελείται από μικροσωληνίσκους και μικροϊνίδια. Αυτά είναι δυναμικές δομές, οι οποίες επιτελούν μηχανικό έργο στο κύτταρο, συνδέοντας και αποσυνδέοντας ανεξάρτητες πρωτεϊνικές υπομονάδες. Οι μικροσωληνίσκοι και τα μικροϊνίδια της μαγιάς εμπλέκονται σε διαφόρους τομείς της φυσιολογίας της μαγιάς, συμπεριλαμβανομένων της μίτωσης, της μείωσης και της κίνησης των οργανιδίων (Walker G. M., 1998), (Feldmann, 2011).

1.5.3. Ο ΠΥΡΗΝΑΣ

Ο πυρήνας στα κύτταρα της μαγιάς είναι ένα ωοειδές οργανίδιο, με διάμετρο, περίπου, 1,5 μm, το οποίο ευρίσκεται στο κέντρο του κυττάρου ή εκκεντρικά αυτού. Το πυρηνόπλασμα διαχωρίζεται από το κυτταρόπλασμα με μια διπλή μεμβράνη, η οποία διαθέτει πόρους, διαμέτρου 50 – 100 nm. Στον *Saccharomyces cerevisiae*, η πυρηνική μεμβράνη είναι, συχνά, συναφής και έχει παρόμοια χημική σύνθεση με το ενδοπλασματικό δίκτυο. Αντίθετα με τα περισσότερα ευκαρυωτικά κύτταρα, η πυρηνική μεμβράνη της μαγιάς δεν διασπάται κατά τη μίτωση. Στο εσωτερικό του πυρήνα υπάρχει μια πυκνή περιοχή σε σχήμα μηνίσκου, η οποία αντιστοιχεί στον πυρηνίσκο, ο οποίος εξαφανίζεται κατά τη μίτωση και επανεμφανίζεται στη μεσόφαση.

Το πυρηνόπλασμα περιέχει DNA, RNA, βασικές πρωτεΐνες (πρωταμίνες και ιστόνες) και άλλες πρωτεΐνες, γνωστές ως μη ιστόνες. Το συμπυκνωμένο βασικό νουκλεοπρωτεϊνικό υλικό, το οποίο αποτελείται από συμπλέγματα ιστονών και διπλής έλικας DNA, είναι η χρωματίνη, η οποία οργανώνεται σε δομές οι οποίες ονομάζονται χρωμοσώματα. Κατά τη φάση S του κυτταρικού κύκλου, δηλαδή τη φάση σύνθεσης του DNA, κάθε χρωμόσωμα διπλασιάζεται, ενώ κατά τη φάση M του κυτταρικού κύκλου, δηλαδή τη μίτωση, τα διπλασιασμένα χρωμοσώματα διαχωρίζονται στα θυγατρικά κύτταρα.

Το γονιδίωμα των κυττάρων της μαγιάς αποτελείται, περίπου, από 10 – 15 εκατομμύρια βάσεις και κωδικοποιεί 5000 – 10000 γονίδια. Ο *Saccharomyces cerevisiae* διαθέτει 16 απλοειδή χρωμοσώματα, ενώ οι περισσότερες ζύμες έχουν λιγότερα και μεγαλύτερα χρωμοσώματα. Κάθε χρωμόσωμα στη μαγιά ποικίλει σε μέγεθος, αποτελούμενο από 0,2 έως 6 εκατομμύρια βάσεις. Η δομική οργάνωση των χρωμοσωμάτων παίζει καίριο ρόλο στη ρύθμιση της γονιδιακής λειτουργίας των κυττάρων της μαγιάς (Walker G. M., 1998), (Fantes & Beggs, 2000).

1.5.4. ΤΟ ΕΚΚΡΙΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΚΑΙ ΤΑ ΚΕΝΟΤΟΠΙΑ

Διάφορα διαμερίσματα τα οποία περικλείονται από μεμβράνη στο κυτταρόπλασμα της μαγιάς παίζουν ρόλους-κλειδιά στη μεταφορά πρωτεϊνών τόσο προς το εσωτερικό, όσο και προς το εξωτερικό του κυττάρου. Η μεταφορά πρωτεϊνών μεταξύ των μεμβρανικών διαμερισμάτων είναι μια συνήθης διαδικασία σε όλα τα ευκαρυωτικά κύτταρα, ενώ η μαγιά έχει αποτελέσει έναν πρότυπο οργανισμό για την στοιχειώδη κατανόηση αυτών των διεργασιών.

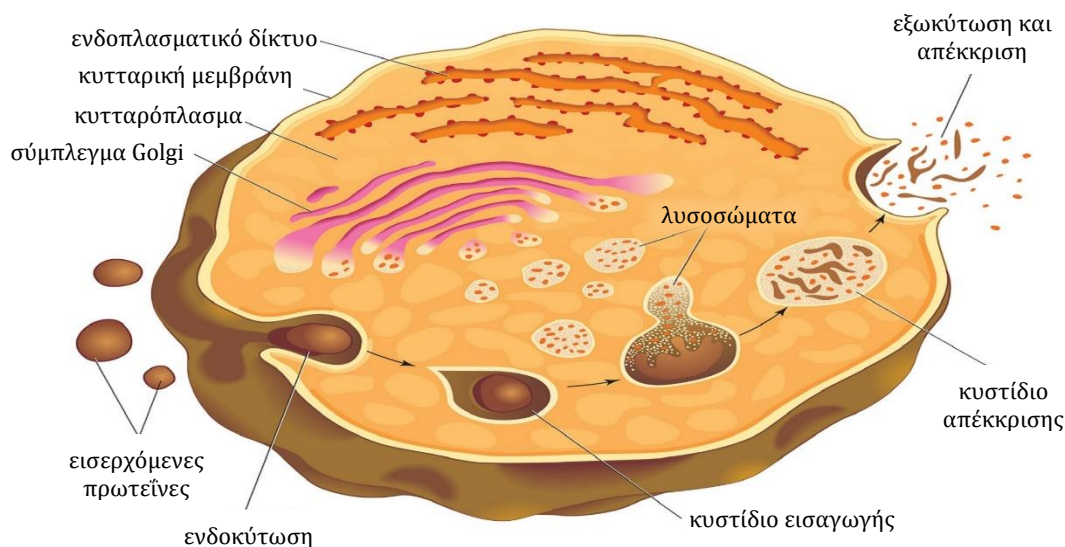
Η εξαγωγή πρωτεϊνών δι' απεκκρίσεως από τα κύτταρα της μαγιάς περιλαμβάνει διαμεμβρανική και ενδομεμβρανική μεταφορά (μέσω κυστιδίων), στην οποία συμμετέχουν το ενδοπλασματικό δίκτυο, το σύμπλεγμα Golgi και η κυτταρική μεμβράνη. Οι πρωτεΐνες οι οποίες προορίζονται για τα κενοτόπια, αντί για το εξωκυτταρικό περιβάλλον, μεταφέρονται, επίσης, από εκκριτικά οργανίδια. Τα στοιχεία του κυτταροσκελετού συμμετέχουν, επίσης, και η ακτίνη του κυτταροσκελετού καθορίζει την κατεύθυνση της εκκριτικής διεργασίας. Η εισαγωγή πρωτεϊνών στα κύτταρα της μαγιάς, με ενδοκύτωση, διεξάγεται με παρόμοιο τρόπο, από μεμβρανικά κυστίδια, τα οποία μεταφέρουν το φορτίο τους στα κενοτόπια, για πρωτεολυτική επεξεργασία. Η ενδοκύτωση περιεγράφη στην ενότητα 1.5.1.

Τα ακόλουθα αναπαριστούν εν συντομία τα κυριότερα στάδια της πρωτεϊνικής έκκρισης στα κύτταρα της μαγιάς:

- α) Οι πρωτεΐνες οι οποίες προορίζονται για απέκκριση συντίθενται, πρώτα, στα πολυσώματα του ενδοπλασματικού δικτύου.
- β) Αυτές οι πρωτεΐνες απελευθερώνονται, έπειτα, στον αγωγό του ενδοπλασματικού δικτύου.
- γ) Στο ενδοπλασματικό δίκτυο, λαμβάνει χώρα η πρωτεολυτική κατάτμηση ενός πεπτιδίου, μαζί με γλυκοζυλίωση.

- δ) Οι πρωτεΐνες κατευθύνονται, στη συνέχεια, από το ενδοπλασματικό δίκτυο προς το σύμπλεγμα Golgi, μέσω κυστιδίων τα οποία συγχωνεύονται στο σύμπλεγμα *cis*-Golgi, το οποίο είναι διευθετημένο σε παράλληλες σειρές ή στοίβες.
- ε) Στο σύμπλεγμα Golgi λαμβάνει χώρα περαιτέρω τροποποίηση των υδατανθρακικών πλευρικών αλυσίδων των πρωτεϊνών.
- ς) Στη συνέχεια, κυστίδια μεταφέρουν τις πρωτεΐνες προς την κυτταρική μεμβράνη, συγχωνεύονται με αυτή και μεταφέρουν τις πρωτεΐνες στο περίπλασμα.

Μια αναπαράσταση της διαδικασίας της ενδοκύτωσης και της εξωκύτωσης στα κύτταρα της μαγιάς παρουσιάζεται στην εικόνα Ε.1.7.



ΕΙΚΟΝΑ Ε.1.7

Αναπαράσταση των διεργασιών ενδοκύτωσης και εξωκύτωσης στα κύτταρα της μαγιάς.

Τα κενοτόπια είναι οργανίδια-κλειδιά στην ενδοκυτταρική μεταφορά των πρωτεϊνών στη μαγιά. Τα κενοτόπια της μαγιάς δεν είναι εντελώς διακριτά και ανεξάρτητα οργανίδια, όπως τα μιτοχόνδρια, αλλά αποτελούν ενσωματωμένο στοιχείο ενός ενδομεμβρανικού συστήματος, το οποίο περιλαμβάνει το ενδοπλασματικό δίκτυο, το σύμπλεγμα Golgi και τα κυστίδια. Τα κενοτόπια στα κύτταρα της μαγιάς είναι, επίσης, δυναμικές δομές, οι οποίες μπορούν να υφίστανται στα κύτταρα ως ένα μεγάλο διαμέρισμα, ή ως πολλά μικρότερα διαμερίσματα.

Τα κενοτόπια οριοθετούνται από μια απλή μεμβράνη, η οποία ονομάζεται τονοπλάστης. Αυτή η μεμβράνη έχει διαφορετική περιεκτικότητα σε φωσφολιπίδια, ακόρεστα λιπαρά οξέα και στερόλες, συγκρινόμενη με την κυτταρική μεμβράνη, ενώ είναι περισσότερο ελαστική από αυτή. Γι' αυτό, ο τονοπλάστης παραμένει άθικτος, όταν οι πρωτοπλάστες της μαγιάς λύνονται, υπό υπερωσμωτικές συνθήκες. Ωστόσο, ο τονοπλάστης διαλύεται υπό συγκεκριμένες συνθήκες, οι οποίες οδηγούν στην αυτόλυση του κυττάρου. Για παράδειγμα, η παρατεταμένη έλλειψη θρεπτικών συστατικών, η υψηλή θερμοκρασία, το όξινο *pH* και η υψηλή συγκέντρωση K^+ επιφέρει την απελευθέρωση των ενζύμων των κενοτοπίων και την πέψη των μακρομοριακών αποθεμάτων της μαγιάς. Αυτή ακριβώς η αυτολυτική διεργασία επιδιώκεται από τους κατασκευαστές εκχυλισμάτων μαγιάς, για χρήση στη βιομηχανία τροφίμων (Walker G. M., 1998).

Το κενοτόπιο είναι ένα όξινο διαμέρισμα, παρόμοιο με το λυσόσωμα, το οποίο είναι, κυρίως, υπεύθυνο για τη μη εξειδικευμένη ενδοκυτταρική πρωτεόλυση στη μαγιά. Αυτές οι διεργασίες καταλύονται από τη δράση ενδοκενοτοπικών ενδοπεπτιδασών, αμινοπεπτιδασών και καρβοξυπεπτιδασών. Τα πρωτεολυτικά αυτά ένζυμα ενεργοποιούνται κατά την αυτόλυση της μαγιάς, όταν τα κύτταρα βρεθούν σε κατάλληλο περιβάλλον, αποδομώντας τις πρωτεΐνες του κυτταρικού τοιχώματος και οδηγώντας, τελικά, στη λύση του κυττάρου. Αυτή η διεργασία της αυτόλυσης, όπως αναφέρεται στο επόμενο κεφάλαιο, αξιοποιείται για την παραγωγή του εκχυλίσματος μαγιάς. Τα κενοτόπια έχουν πολυλειτουργικές αρμοδιότητες στα κύτταρα της μαγιάς (Walker G. M., 1998), (Běhalová & Beran, 1979).

Άλλα πρωτεολυτικά διαμερίσματα στα κύτταρα της μαγιάς περιλαμβάνουν το εκδοπλασματικό δίκτυο, του σύμπλεγμα Golgi και τα μιτοχόνδρια. Εξειδικευμένη και ταχεία αποδόμηση πρωτεϊνών στη μαγιά λαμβάνει χώρα στα πρωτεασώματα του κυτταροπλάσματος, τα οποία είναι υπεύθυνα για την πέψη πρωτεϊνών οι οποίες μπορεί να είναι θανατηφόρες για το κύτταρο.

Εκτός από τη συμμετοχή τους στις αποικοδομητικές (λυσosomalικές) διεργασίες, τα κενοτόπια εμπλέκονται σε αρκετές άλλες φυσιολογικές λειτουργίες της μαγιάς. Για παράδειγμα, τα κενοτόπια είναι οι κύριες αποθήκες βασικών αμινοξέων, πολυφωσφορικών και μεταλλικών κατιόντων των κυττάρων της μαγιάς. Επίσης, εμπλέκονται στην ωσμωρύθμιση και στην ομοιοστατική ρύθμιση της συγκέντρωσης ιόντων και του pH στο κυτταρόπλασμα (Walker G. M., 1998).

1.5.5. ΤΑ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑ

Τα κύτταρα της μαγιάς περιλαμβάνουν μιτοχόνδρια, τα οποία είναι δομικά παρόμοια με τα οργανίδια τα οποία απαντώνται στους ανώτερους ευκαρυωτικούς οργανισμούς. Αυτά αποτελούνται από:

- α) μια εξωτερική μεμβράνη, η οποία περιλαμβάνει ένζυμα τα οποία συμβάλλουν στον μεταβολισμό των λιπιδίων,
- β) μια μήτρα, η οποία περιλαμβάνει ένζυμα οξείδωσης των λιπαρών οξέων και του κύκλου του κιτρικού οξέος, μαζί με ένα σύστημα πρωτεϊνοσύνθεσης, το οποίο περιλαμβάνει ριβοσώματα και μιτοχονδριακό DNA,
- γ) μια εσωτερική μεμβράνη, η οποία περιλαμβάνει κυτοχρώματα της αναπνευστικής αλυσίδας, *NADH*, ηλεκτρικές αφυδρογονάσες και H^+ -τριφωσφορικές αδενοσινάσες ($H^+ - ATPases$).

Τα μιτοχόνδρια της μαγιάς είναι δυναμικά οργανίδια, των οποίων το μέγεθος, το σχήμα και ο αριθμός μεταβάλλεται, αναλόγως του στελέχους της μαγιάς, της φάσης του κυτταρικού κύκλου και των συνθηκών ανάπτυξης. Αρκετές μελέτες τρισδιάστατης μοντελοποίησης έχουν δείξει ότι, γενικά, τα κύτταρα της μαγιάς περιέχουν ένα ή πολύ λίγα μεγάλα, περιστασιακά διακλαδούμενα, μιτοχόνδρια.

Υπό αερόβιες συνθήκες, τα μιτοχόνδρια της μαγιάς συμμετέχουν στη σύνθεση της τριφωσφορικής αδενοσίνης (*adenosine triphosphate, ATP*), κατά τη διάρκεια της κυτταρικής αναπνοής. Υπό αναερόβιες συνθήκες, τα μιτοχόνδρια είναι αναγωγικά, υπό την αναπνευστική έννοια, λόγω της απουσίας του οξυγόνου ως τελικού δέκτη

ηλεκτρονίων. Ωστόσο, τα μιτοχόνδρια των κυττάρων της μαγιάς εκτελούν άλλες λειτουργίες υπό αναερόβιες συνθήκες, κυρίως όσον αφορά στη μαγιά ζυθοποιίας, στις οποίες περιλαμβάνονται:

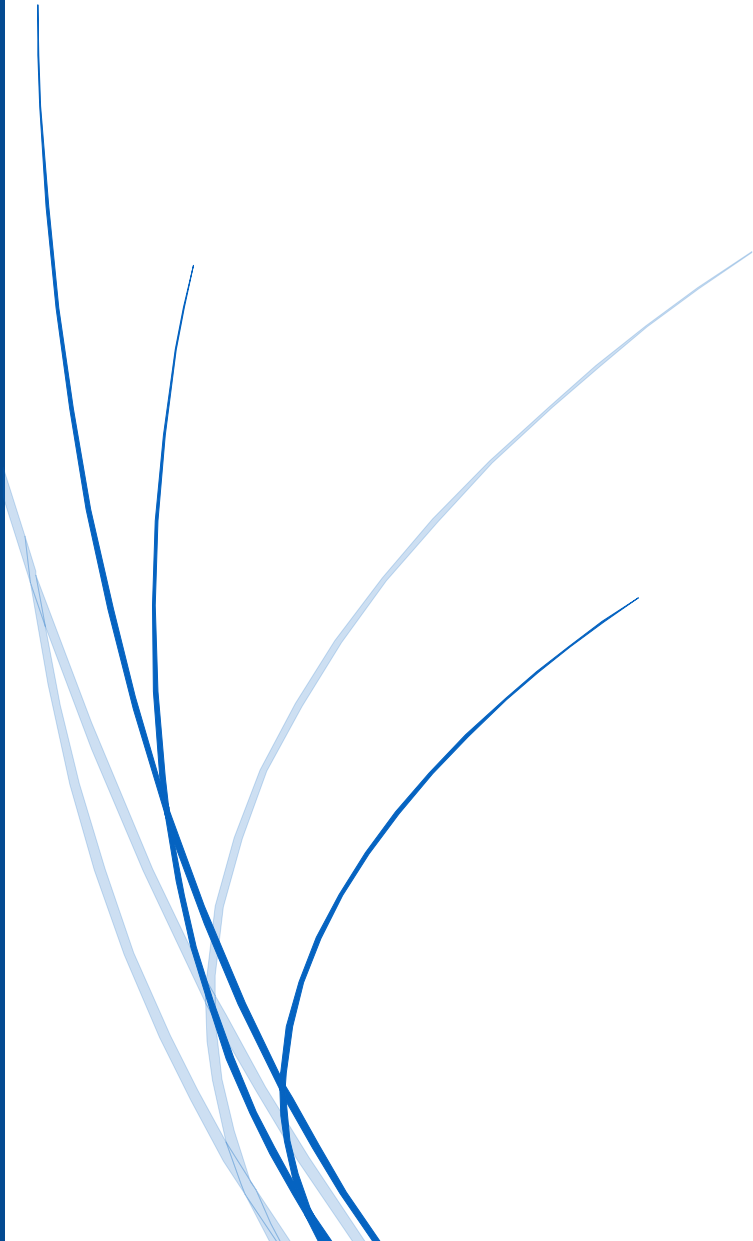
- α) η σύνθεση και ο αποκορεσμός λιπαρών οξέων και μεμβρανικών λιπιδίων,
- β) η συμμετοχή των μιτοχονδριακών κυτοχρωμάτων στην εργοστερολική βιοσύνθεση,
- γ) η γενική φυσιολογική προσαρμογή σε τάσεις οι οποίες προκαλούνται από αιθανόλη, τοξικές ρίζες οξυγόνου και υψηλή συγκέντρωση σακχάρων,
- δ) η τροποποίηση των χαρακτηριστικών της κυτταρικής επιφανείας η οποία εμπλέκεται στην κροκίδωση και στη διχοτόμηση του κυττάρου,
- ε) η δράση ενζύμων για τη σύνθεση αμινοξέων, ορισμένων δικαροξυλικών οξέων, βάσεων πυριμιδινών και πουρινών, πορφυρίνης και πτεριδινών,
- ς) η κινητοποίηση του γυκογόνου,
- ζ) η παραγωγή γευστικών και αρωματικών ενώσεων.

Παρόλο που τα μιτοχόνδρια υποτίθεται ότι είναι ενεργειακά μη λειτουργικά υπό αναερόβιες συνθήκες, οι οποίες επικρατούν κατά τη ζύμωση του ζύθου, πρέπει να υφίσταται μια ελάχιστη μιτοχονδριακή ανάπτυξη, για την παροχή των κρίσιμων μεταβολικών μέσων και των κυτταρικών συστατικών (Alberts, και συν., 2011), (Walker G. M., 1998).



ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΚΥΤΤΑΡΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΑΠΟ ΖΥΜΕΣ
ΚΑΙ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΜΑΓΙΑΣ



2. ΚΥΤΤΑΡΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΑΠΟ ΖΥΜΕΣ ΚΑΙ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΜΑΓΙΑΣ

2.1. ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΠΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΙ ΑΠΟ ΤΗ ΜΑΓΙΑ

Παρόλο που η μαγιά θεωρείται ως ο αρχαιότερος μικροβιακός σύντροφος της ανθρωπότητας, ο ρόλος που διαδραμάτισε στη διαμόρφωση της ζωής των αρχαίων πολιτισμών δεν είχε αναγνωρισθεί, έως την εφεύρεση του μικροσκοπίου από τον Leeuwenhoek, πριν από 340 χρόνια. Σήμερα, πολλοί πιστεύουν ότι σύνθετα αφεψήματα, όπως η μπίρα, παράγονταν στην Αρχαία Αίγυπτο από το 6000 π.Χ.. Έως το 3000 π.Χ., η αρτοποιία και η ζυθοποιία ήταν τέχνες στενά συνδεδεμένες. Παρομοίως, ασσυριακά και αιγυπτιακά ιστορικά τεκμήρια, τα οποία χρονολογούνται στο μακρινό 3500 π.Χ., αναφέρουν τα σταφύλια και το κρασί. Παρόλο που αυτοί οι πολιτισμοί δεν γνώριζαν τις χημικές μεταβολές οι οποίες διεξάγονται από τη μαγιά, είχαν επαρκή εμπειρική γνώση, ώστε να τροποποιούν τα τρόφιμά τους, προκειμένου να τα καταστήσουν περισσότερο εύγευστα, θρεπτικά και, σε μερικές περιπτώσεις, μεθυστικά. Η γνώση την οποίαν απέκτησαν μέσω δοκιμής και σφάλματος μεταλαμπαδεύθηκε, ανά τους αιώνες, στις νεότερες γενεές.

Τα αρχικά βήματα προς την ζυθοποιία ήταν παρόμοια με αυτά προς την αρτοποιία. Η βύνη κριθαριού αρχικά συνθλιβόταν και το κονιοποιημένο άλευρο διαβρεχόταν, οπότε η προκύπτουσα ζύμη πλαθόταν επίπεδη και ψηνόταν πάνω σε μια θερμαινόμενη επιφάνεια. Αποκτώνοντας μεγαλύτερη εμπειρία στην αρτοποιία, οι αρτοποιοί άρχισαν να συνειδητοποιούν ότι το τελικό ψημένο προϊόν ήταν περισσότερο εύγευστο, όσον αφορά στη σταθερότητα, την ευπεπτότητα και την υφή, αν το ζυμάρι αφηνόταν αδιατάραχο για κάποιο χρονικό διάστημα, πριν ψηθεί. Η επόμενη σημαντική εξέλιξη στην αρτοποιία ήταν η αναγνώριση της σημασίας της μαγιάς μπίρας ως διογκωτικός παράγων. Αυτή η νέα εξέλιξη οδήγησε στην εξέλιξη της ζυθοποιίας, χρησιμοποιώντας την μαγιά που περίσσευε από την ζυθοποιία.

Περί τα τέλη του 18^{ου} αιώνα, με την άνθιση της ζυθοποιίας, η διαθέσιμη μαγιά η οποία παραγόταν ήταν πολύ περισσότερη από αυτή που μπορούσαν να χρησιμοποιήσουν οι αρτοποιοί. Τότε, οι ζυθοποιοί άρχισαν να αντιμετωπίζουν το πρόβλημα της διαχείρισης της περισσευόμενης μαγιάς, η οποία αντιστοιχούσε σε σημαντικό ποσοστό του φορτίου των αποβλήτων τους. Ως μέσον διάθεσης, η χρησιμοποιημένη μαγιά ψεκαζόταν συχνά σε γεωργικές εκτάσεις, ως λίπασμα.

Προς το τέλος του 19^{ου} αιώνα, αρκετές μελέτες υποστήριζαν την αξία της μαγιάς ως διατροφικό συμπλήρωμα, τόσο για τα ζώα, όσο και για τους ανθρώπους, κυρίως λόγω του υψηλού πρωτεϊνικού περιεχομένου της. Πιο πρόσφατες έρευνες έχουν καταδείξει τη σημασία της μαγιάς ζυθοποιίας ως μια άριστη πηγή βιταμινών Β. Πολλοί σημαντικοί ζυθοποιοί, οι οποίοι είδαν μια ευκαιρία, ακολουθώντας αυτά τα ευρήματα, άρχισαν μια εκτενή έρευνα για την παραγωγή προϊόντων υψηλότερης εμπορικής αξίας, για τη μεγιστοποίηση των συνολικών κερδών τους.

Πρωτοποριακές προσπάθειες στην Αγγλία και τη Γερμανία οδήγησαν στην ανάπτυξη μιας ποικιλίας θρεπτικών και αρωματικών παραγόντων, προερχόμενων από τη μαγιά ζυθοποιίας, προκειμένου να ικανοποιήσουν τις ανάγκες της βιομηχανίας τροφίμων. Συνεχείς έρευνες σε αυτόν τον τομέα κατά τη διάρκεια των τελευταίων δεκαετιών οδήγησαν στην εμπορευματοποίηση αρκετών προϊόντων, προερχόμενων τόσο από τη μαγιά αρτοποιίας, όσο και από τη μαγιά ζυθοποιίας (Reed & Nagodawithana, 1991).

Στις μέρες μας, παρόλο που τα περισσότερα βιομηχανικά προϊόντα μικροβιακής προελεύσεως είναι εξωκυτταρικά, ένας μεγάλος αριθμός ενδοκυτταρικών ουσιών παρορυσιάζει μεγάλο ενδιαφέρον. Καθώς η μαγιά είναι διαθέσιμη σε μεγάλες ποσότητες, θα μπορούσε να γίνει μια σημαντική πηγή τέτοιων ουσιών, ενώ, επιπλέον, τα συστήματα εκφράσεως της μαγιάς γίνονται ολοένα και πιο σημαντικά. Ωστόσο, τα κύτταρα της μαγιάς είναι πολύ σκληρά και είναι δύσκολο να διαρρηχθούν. Οι φυσικές μέθοδοι διαρρήξεως, όπως η χρήση ενός ομογενοποιητή Manton-Gaulin, μπορούν να επιφέρουν μια καλή διάρρηξη των κυττάρων, ωστόσο απαιτούν έντονες συνθήκες και, επιπροσθέτως, καθιστούν τη διεργασία κατάντη αρκετά δύσκολη (Breddam & Beenfeldt, 1991).

Τα κυριότερα προϊόντα τα οποία παράγονται από τη μαγιά με εμπορική σημασία είναι τα παρακάτω:

- α) αρωματικά προϊόντα και ενισχυτικά γεύσης, όπως εκχυλίσματα μαγιάς (*yeast extracts*) και αυτολύματα μαγιάς (*autolysates*),
- β) προϊόντα υψηλής διατροφικής αξίας, όπως πρωτεΐνες, βιταμίνες Β, φυτικές ίνες και ιχνοστοιχεία,
- γ) χρωστικές ουσίες,
- δ) ένζυμα, όπως ινβεργτάση, λακτάση, μελιβιάση κ.ά.,
- ε) προϊόντα με φαρμακευτική και κοσμετολογική αξία, όπως β-γλυκάκες (Reed & Nagodawithana, 1991).

Καθώς η παρούσα διπλωματική εργασία αφορά στην επίδραση της επεξεργασίας με υπερυψηλή πίεση μαγιάς αρτοποιίας και στη διεργασία της αυτόλυσης για την παραγωγή εκχυλίσματος μαγιάς, η εκτενής αναφορά θα περιορισθεί στα αρωματικά προϊόντα και τα ενισχυτικά γεύσης που παράγονται από τη μαγιά, με έμφαση στο εκχύλισμα μαγιάς.

2.2. ΑΡΩΜΑΤΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΚΑΙ ΕΝΙΣΧΥΤΙΚΑ ΓΕΥΣΗΣ ΑΠΟ ΤΗ ΜΑΓΙΑ ΑΡΤΟΠΟΙΙΑΣ

2.2.1. ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΑ ΜΑΓΙΑΣ

Τα εκχυλίσματα μαγιάς είναι εμπορικά διαθέσιμα υπό μορφή σκόνης ή πάστας και έχουν χρησιμοποιηθεί εκτενώς στη βιομηχανία τροφίμων ως αρωματικοί παράγοντες. Είναι ένα συμπύκνωμα ενός διαλυτού κλάσματος μαγιάς, το οποίο, εν γένει, παρασκευάζεται με τη διεργασία της αυτόλυσης. Η αυτόλυση είναι ουσιαστικά μια διαδικασία αποικοδόμησης, η οποία διεξάγεται με την ενεργοποίηση των ιδίων των αποικοδομητικών ενζύμων της μαγιάς, για τη διάλυση των συστατικών του κυττάρου, τα οποία ευρίσκονται στο εσωτερικό του. Τα εκχυλίσματα μαγιάς μπορούν, επίσης, να

παρασκευασθούν με υδρόλυση, χρησιμοποιώντας εξωτερικούς παράγοντες ή ένζυμα ικανά να απελευθερώσουν το κυτταρικό περιεχόμενο σε μια ιδιαίτερα αποδομημένη μορφή. Τα εκχυλίσματα μαγιάς έχουν τύχει ευρείας αποδοχής στη βιομηχανία τροφίμων κατά τις τελευταίες δεκαετίες, ως ένας φυσικός αρωματικός παράγων. Είναι, επίσης, οικονομικά αποδοτικά, σε σύγκριση με άλλους αρωματικούς παράγοντες (οι οποίοι συχνά δεν είναι φυσικοί), επί τη βάση της ισοδύναμης αρωματικής έντασης. Χρησιμοποιούνται εκτενώς στη βιομηχανία ζύμωσης και, καθώς είναι μια σύνθετη θρεπτική πηγή, ως θρεπτικό υλικό μικροβιακών καλλιεργειών σε τρυβλία. Η παραγωγή εκχυλισμάτων μαγιάς παγκοσμίως ανέρχεται, περίπου, στους 35.000 τόνους.

2.2.1.1. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΟ ΓΕΥΣΤΙΚΟ ΚΑΙ ΑΡΩΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΦΙΛ ΤΩΝ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΩΝ ΜΑΓΙΑΣ

Γενικά, καθώς η πλεονάζουσα μαγιά στη βιομηχανία ζύθου είναι σχετικά φθηνή, χρησιμοποιείται εκτενώς στην παραγωγή εκχυλισμάτων, για την ικανοποίηση των αναγκών των βιομηχανιών τροφίμων και ζυμώσεων. Εκχυλίσματα που παράγονται από πρωτογενή μαγιά, όπως ο *Saccharomyces cerevisiae* (μαγιά αρτοποιίας), ο *Candida utilis* ή ο *Kluyveromyces marxianus*, έχουν κάπως διαφορετικά γευστικά προφίλ από αυτά που παράγονται από μαγιά ζυθοποιίας. Ωστόσο, έχουν μοναδικά αρωματικά χαρακτηριστικά και είναι ευρέως διαδεδομένα στη βιομηχανία τροφίμων, ως ενισχυτικά γεύσης.

Παρόλο που η μαγιά ζυθοποιίας είναι διαθέσιμη σε μεγάλες ποσότητες και σε σχετικά χαμηλή τιμή, είναι πιθανόν να περιέχει ανεπιθύμητα αρωματικά χαρακτηριστικά, όπως ρητίνες λυκίσκου και στερεά μύρας, τα οποία μεταφέρονται από τη ζύμωση του ζύθου. Οι ρητίνες λυκίσκου, οι οποίες είναι συχνά πικρές, είναι κυρίως χουμουλόνες και ισοχουμουλόνες, οι οποίες ευρίσκονται ως στερεά μύρας ή ως συστατικά ισχυρά προσροφημένα στην επιφάνεια των κυτταρικών τοιχωμάτων. Περαιτέρω επεξεργασία αυτής της κρέμας μαγιάς απαιτεί ένα στάδιο αποπίκρασης, το οποίο, όμως, είναι αρκετά δαπανηρό. Μια μερική αποπίκραση είναι λιγότερο δαπανηρή και καθιστά το τελικό προϊόν λιγότερο πικρό, παρέχοντας συχνά ένα ωφέλιμο αποτέλεσμα στο γενικό γευστικό προφίλ. Στον αντίποδα, η πρωτογενής μαγιά έχει υψηλότερο κόστος, συγκριτικά με τη μαγιά ζυθοποιίας, και τα προϊόντα τιμολογούνται επίσης ακριβότερα, λόγω του μεγαλύτερου κόστους των πρώτων υλών. Ωστόσο, τέτοια εκχυλίσματα μαγιάς χαρακτηρίζονται από μοναδικές αρωματικές ιδιότητες (Reed & Nagodawithana, 1991).

Διαφορετικά εκχυλίσματα μαγιάς, τα οποία είναι εμπορικώς διαθέσιμα για χρήση σε τρόφιμα, διαφέρουν το ένα με το άλλο, ανάλογα με τα γευστικά τους προφίλ. Υπάρχουν αρκετοί παράγοντες οι οποίοι επηρεάζουν αυτές τις ποιοτικές διαφορές και περιλαμβάνουν το είδος και την κατάσταση της μαγιάς, την παρουσία ξένων υλών, τις συνθήκες οι οποίες χρησιμοποιούνται κατά την εκχύλιση και την επεξεργασία των διαλυμάτων μαγιάς, καθώς και το επίπεδο της βακτηριακής μόλυνσης κατά τη διάρκεια της διεργασίας (Reed & Nagodawithana, 1991), (Barrette, Champagne, & Goulet, 1999).

Η αυτόλυση, η οποία είναι ουσιαστικά μια διεργασία κατά την οποίαν η μαγιά αποδομεί τον εαυτό της, απαιτεί την επέμβαση αρκετών ενδογενών λυτικών ενζύμων. Αυτά τα ένζυμα εντοπίζονται στο εσωτερικό του κυττάρου. Οι συνθήκες οι οποίες προκαλούν τον θάνατο του κυττάρου, προκαλούν επίσης την απενεργοποίηση των

ενδογενών αποικοδομητικών ενζύμων, καθιστώντας, έτσι, το κύτταρο λιγότερο ευαίσθητο σε περαιτέρω αυτολυτική δραστηριότητα. Έτσι, μια υψηλή βιωσιμότητα στη μαγιά είναι προαπαιτούμενο για μέγιστη αυταποικοδόμηση κατά τη διάρκεια της αυτόλυσης.

Το άρωμα του τελικού προϊόντος επηρεάζεται, επίσης, από ξένη ύλη, η οποία ευρίσκεται στον πολτό της μαγιάς. Αυτό αποτελεί ένα σύνηθες φαινόμενο, όταν χρησιμοποιείται μαγιά από την ζυθοποιία ή την οινοπνευματοποιία. Γενικά, η καλά πλυμένη μαγιά αρτοποιίας παράγει ένα εκχύλισμα το οποίο είναι περισσότερο ήπιο από αυτό που παράγεται από μη επαρκώς πλυμένη μαγιά, καλλιεργημένη σε μελάσα. Παρομοίως, το επίπεδο των πικρών συστατικών τα οποία εισάγονται από τη χρησιμοποιημένη μαγιά ζυθοποιίας στη διεργασία της αυτόλυσης, μπορεί να έχουν μεγάλη επίδραση στην ποιότητα του τελικού προϊόντος.

2.2.1.2. ΒΑΣΙΚΑ ΣΤΑΔΙΑ ΣΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ

Τα βασικά λειτουργικά στάδια, τα οποία χρησιμοποιούνται επί του παρόντος από τους περισσότερους παρασκευαστές εκχυλισμάτων μαγιάς, περιλαμβάνουν τον καθαρισμό της μαγιάς, αν αυτή είναι παραπροϊόν μιας άλλης βιομηχανίας, την αυτόλυση, τον διαχωρισμό των στερεών από το υλικό της πέψης, τον καθαρισμό, τη συμπύκνωση και την ξήρανση.

Η πρωτογενής μαγιά απαιτεί κατάλληλο πλύσιμο, για την απομάκρυνση του μητρικού υγρού, ειδικά αν έχει καλλιεργηθεί σε μελάσα. Η μαγιά ζυθοποιίας, η οποία χρησιμοποιείται εκτενώς στη βιομηχανία, πρέπει να είναι αρκετά βιώσιμη κατά τη στιγμή της διεργασίας και πρέπει να περιέχει ένα ελάχιστο επίπεδο μικροβιακών επιμολυντών, ρητινών λυκίσκου, νεκρών κυττάρων και άλλων διαλυτών ή αιωρούμενων σωματιδίων. Τα νεκρά κύτταρα και άλλα αδιάλυτα σωματίδια διαχωρίζονται, περνώντας την κρέμα διά μέσου ενός δονούμενου πλέγματος 150 – 200 μm. Μια ποικιλία πικρών συστατικών, τα προστίθενται ως λυκίσκος κατά τα πρώτα στάδια της διεργασίας παραγωγής ζύθου, μπορούν να ανιχνευθούν στην κρέμα της χρησιμοποιημένης μαγιάς, είτε στο διαλυτό μέρος ως στερεά μύρας, είτε ως σωματίδια προσροφημένα στο κυτταρικό τοίχωμα της μαγιάς. Τα τελευταία, αν δεν αφαιρεθούν κατά την αρχική διαδικασία καθαρισμού, μπορούν να απελευθερωθούν στο μέσον εκχύλισης κατά την αυτόλυση, προσδίδοντας πικρή γεύση στο τελικό προϊόν.

Ωστόσο, αυτές οι ρητίνες λυκίσκου που βρίσκονται στην επιφάνεια των κυττάρων μαγιάς μπορούν να διαλυτοποιηθούν με αλκαλική έκπλυση. Λόγω της διακύμανσης στην ποιότητα της μαγιάς ζυθοποιίας, ανάλογα με τις διαφορετικές τοποθεσίες των ζυθοποιείων, ως αποτέλεσμα των μικρών αποκλίσεων κατά την διαδικασία παραγωγής του ζύθου, απαιτείται, σε κάποιο βαθμό, η ανάμειξη διαφορετικής ποιότητας ζυμών, για τη διατήρηση της σταθερότητας των τελικών προϊόντων. Υπάρχουν τρεις διακριτές πρακτικές για την παρασκευή εκχυλισμάτων μαγιάς: η αυτόλυση, η πλασμόλυση και η υδρόλυση (Reed & Nagodawithana, 1991).

2.2.1.3. Η ΔΙΕΡΓΑΣΙΑ ΤΗΣ ΑΥΤΟΛΥΣΗΣ

Όλα τα μακρομόρια τα οποία είναι παρόντα στα ζωντανά κύτταρα μαγιάς συγκρατούνται στο εσωτερικό του κυττάρου από την ημιπερατή κυτταρική μεμβράνη. Το κυτταρικό τοίχωμα παρέχει την απαραίτητη μηχανική υποστήριξη, για τη διατήρηση του μεγέθους και του σχήματος του κυττάρου. Η αυτόλυση είναι μια διεργασία με την οποία τα συστατικά του κυτταρικού τοιχώματος διαλυτοποιούνται, με την ενεργοποίηση των αποικοδομητικών ενζύμων τα οποία, εκ φύσεως, είναι παρόντα εντός του κυττάρου. Αυτό επιτυγχάνεται με την εφαρμογή προσεκτικά ελεγχόμενων συνθηκών, όπως η θερμοκρασία, το pH , ο χρόνος και η προσθήκη συγκεκριμένων ενισχυτικών παραγόντων. Τέτοιες συνθήκες επιφέρουν τον θάνατο στον πληθυσμό της μαγιάς, χωρίς να απενεργοποιούν τα αποικοδομητικά ένζυμα, τα οποία παραμένουν διαμερισματοποιημένα στο ζωντανό κύτταρο. Υπό αυτές τις συνθήκες, σημαντικά ενζυμικά συστήματα, τα οποία είναι υπεύθυνα για τη διεξαγωγή του μεταβολισμού, δεν ελέγχονται πλέον από τους ευαίσθητους μηχανισμούς ελέγχου, οι οποίοι υπάρχουν σε ένα υγιές ζωντανό κύτταρο. Ο θάνατος προκαλεί διαταραχή στο εσωτερικό του κυττάρου, επιτρέποντας στα ελεύθερα αποικοδομητικά ένζυμα να επιτεθούν αδιακρίτως στα εξειδικευμένα υποστρώματα αυτών. Αυτή η επίθεση προκαλεί την κατάτμηση των αντιστοιχών μακρομορίων, όπως οι πρωτεΐνες και τα νουκλεϊκά οξέα, στις βασικές δομικές μονάδες τους, οι οποίες είναι διαλυτές. Η διαταραχή εντός του κυττάρου οδηγεί σε ένα κυτταρικό τοίχωμα το οποίο παρουσιάζει διαρροή, καθώς και σε απώλεια της ακεραιότητας της κυτταρικής μεμβράνης, επιτρέποντας στα διαλυτά συστατικά να διαρρέουν προς το εξωτερικό περιβάλλον του κυττάρου.

Το τελικό αρωματικό προφίλ και ο βαθμός απόδοσης της εκχύλισης σε μια καλώς ελεγχόμενη διεργασία εξαρτώνται, εν πολλοίς, από τη θερμοκρασία, το pH , τη διάρκεια της αυτόλυσης, τη βιωσιμότητα και τη συγκέντρωση της μαγιάς, καθώς και από το είδος των ενισχυτικών διαλυτοποιήσεως που χρησιμοποιούνται στη διεργασία. Ορισμένες συνθήκες, οι οποίες μπορεί να ευνοούν υψηλότερους βαθμούς απόδοσης της εκχύλισης, μπορεί να μην ευνοούν απαραίτητα την παραγωγή εκχυλισμάτων με το επιθυμητό άρωμα. Γι' αυτό, είναι απαραίτητη μια ερευνητική μελέτη, για την αριστοποίηση των συνθηκών, ούτως ώστε το προϊόν να έχει το επιθυμητό αρωματικό προφίλ.

Ενισχυτικά διαλυτοποιήσεως τα οποία χρησιμοποιούνται κατά τη διάρκεια της αυτόλυσης είναι, συνήθως, ένζυμα, όπως πρωτεάσες, γλυκανάσες, νουκλεάσες ή φωσφοδιεστεράσες. Ο οξικός αιθυλεστέρας χρησιμοποιείται συχνά για την ενίσχυση της αυτόλυσης, καθώς και για την διατήρηση των επιμολύνσεων στο ελάχιστο δυνατό επίπεδο. Πρωτεάσες, όπως η παπαΐνη, είναι γνωστό ότι αυξάνουν τον βαθμό απόδοσης της εκχύλισης, μόνον σε μακρές διαδικασίες αυτόλυσης. Η επίδρασή των πρωτεασών είναι ελάχιστη, όταν η διεργασία αυτόλυσης είναι βραχύτερη των 20 ωρών.

Η διαδικασία της αυτόλυσης είναι καλά προσαρμοσμένη, για την παραγωγή εκχυλισμάτων μαγιάς χαμηλής περιεκτικότητας σε νάτριο, τα οποία τυγχάνουν ευρείας αποδοχής στη βιομηχανία τροφίμων. Παρόλο που αυτά τα εκχυλίσματα έχουν ήπια γεύση, έχουν την ικανότητα βελτίωσης του αρωματικού τους προφίλ, συνδυαζόμενα με άλλα συστατικά.

Η αυτόλυση ζώντων κυττάρων μαγιάς λαμβάνει χώρα με έναν ικανοποιητικό ρυθμό, όταν το αιώρημα μαγιάς, συγκέντρωσης περίπου 15 % W/W , διατηρείται στους 45 – 50 °C για 24 – 36 h, σε $pH = 5,5$. Η λύση αυτών των ζωντανών, ολόκληρων κυττάρων οφείλεται, κυρίως, στη δράση της $\beta(1-3)$ γλυκανάσης και των πρωτεολυτικών ενζύμων τα οποία είναι παρόντα στα κύτταρα. Τα ένζυμα $\beta(1-6)$ γλυκανάση και μαννάση συμμετέχουν στην περαιτέρω διαλυτοποίηση της μήτρας του κυτταρικού τοιχώματος (Reed & Nagodawithana, 1991).

Το πρωτεολυτικό σύστημα της μαγιάς *Saccharomyces cerevisiae* είναι αρκετά περίπλοκο, αποτελούμενο από καρβοξυπεπτιδάσες, αμινοπεπτιδάσες και πρωτεάσες, καθώς και από αρκετούς εξειδικευμένους παρεμποδιστές (Běhalová & Beran, 1979). Περισσότερα από 40 πρωτεολυτικά ένζυμα έχουν ταυτοποιηθεί έως σήμερα στον *Saccharomyces cerevisiae* κατά την αυτολυτική διεργασία. Τέσσερα από τα σημαντικότερα πρωτεολυτικά ένζυμα, τα οποία έχουν πρωτεύοντα ρόλο κατά τη λύση, είναι η πρωτεάση A, η πρωτεάση B, η καρβοξυπεπτιδάση Y και η καρβοξυπεπτιδάση S (Reed & Nagodawithana, 1991). Η όξινη πρωτεάση A διασπά την καζεΐνη και τη μετουσιωμένη αιμοσφαιρίνη βέλτιστα σε $pH = 2 - 3$. Η πρωτεάση B έχει βέλτιστο pH για τη διάσπαση της καζεΐνης ίσο με 9. Και οι δύο αυτές πρωτεάσες είναι ενδοπεπτιδάσες. Το τρίτο απομονωμένο ένζυμο είναι μια φυσική πρωτεάση C, ή καρβοξυπεπτιδάση Y, με βέλτιστο $pH = 5 - 6$. Καθεμιά από τις τρεις πρωτεάσες έχει τον ιδιαίτερο ενδοκυτταρικό παρεμποδιστή της (Běhalová & Beran, 1979). Και τα τέσσερα αυτά διαλυτά πρωτεολυτικά ένζυμα εντοπίζονται στα κενοτόπια των κυττάρων, ενώ οι παρεμποδιστές αυτών στο κυτταρόπλασμα, στο εξωτερικό των κενοτοπίων. Μια τέτοια διαμερισματοποίηση διαχωρίζει τα βιολογικώς συμβατά συστατικά, επιτρέποντας τον έλεγχο και την ολοκλήρωση των ενδοκυτταρικών δραστηριοτήτων, για την εύρυθμη λειτουργία του ζώντος κυττάρου.

Υπό τις συνθήκες της αυτόλυσης, τα κύτταρα της μαγιάς αρχίζουν να πεθαίνουν, αφού όλα τα κυτταρικά αποθέματα έχουν εξαντληθεί. Αυτή η κατάσταση μπορεί να επιφέρει μια διαταραχή εντός του κυττάρου μαγιάς, επιτρέποντας, έτσι, την έναυση της διεργασίας της αυτόλυσης. Τότε, συμβαίνει μια βαθμιαία κατάρρευση των φραγμάτων στην υψηλά διαμερισματοποιημένη κυτταρική μήτρα, με την απελευθέρωση των πρωτεολυτικών ενζύμων από τα κενοτόπια στην αποδομούμενη κυτταρική μήτρα. Αυτά τα ένζυμα είναι, αρχικά, κατεσταλμένα, λόγω του σχηματισμού συμπλόκων, αντιδρώντας με τους αντίστοιχους παρεμποδιστές οι οποίοι είναι παρόντες στη γειτονιά τους. Αυτή η καταστολή απεδείχθη όταν οι πρωτεάσες A και B απομονώθηκαν με αυτόλυση σε $pH = 7$. Ωστόσο, η επώαση των εκχυλισμάτων μαγιάς σε $pH = 5$ προκάλεσε επανενεργοποίηση αυτών των πρωτεασών, με την πρωτεολυτική απενεργοποίηση των στενά συνδεδεμένων παρεμποδιστών (Reed & Nagodawithana, 1991).

Ο μηχανισμός της ενεργοποίησης είναι η αποκαλούμενη «αυτοκαταλυτική περιοριστική πρωτεόλυση» (*autocatalytic limited proteolysis*). Σε συνήθεις θερμοκρασίες, αυτή η διεργασία μπορεί να διαρκέσει αρκετές ημέρες. Ακόμα και σε τεχνική εφαρμογή, όταν οι συνθήκες είναι βέλτιστες (θερμοκρασία 45 – 50 °C, 3 – 5 % NaCl, $pH = 5,5$, οργανικοί διαλύτες), η διεργασία της αυτόλυσης θα διαρκέσει κατ' ελάχιστον μίαν ημέρα (Běhalová & Beran, 1979).

Η προσθήκη πρωτεάσης A σε φρέσκο, ακατέργαστο εκχύλισμα μαγιάς έχει δειχθεί ότι επιταχύνει την απενεργοποίηση του παρεμποδιστή της πρωτεάσης B, ενώ

επιτυγχάνεται μέγιστη δραστικότητα της πρωτεάσης B και της καρβοξυπεπτιδάσης Y. Έτσι, η ύπαρξή τους αντικατοπτρίζεται από έναν πρωτεολυτικώς διασπώμενο παρεμποδιστή των πρωτεασών, ο οποίος έχει μικρή επίδραση σε βάθος χρόνου στα πρωτεολυτικά ένζυμα, υπό τις συνθήκες διεξαγωγής της αυτόλυσης ($pH = 5,5$, θερμοκρασία $45 - 55 \text{ }^\circ\text{C}$) (Reed & Nagodawithana, 1991). Οι πρωτεάσες των κενотоπίων, όπως η η πρωτεάση A, η πρωτεάση B, η καρβοξυπεπτιδάση Y και η καρβοξυπεπτιδάση S, καθώς και οι αμινοπεπτιδάσες, εμπλέκονται στην εξαιρετικά μη εξειδικευμένη αποικοδόμηση πρωτεϊνών και πεπτιδίων. Καμία άλλη λειτουργία δεν έχει αποδοθεί στα πρωτεολυτικά ένζυμα των κενотоπίων μέχρι σήμερα. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, αυτά τα ένζυμα παρέχουν, πιθανότατα, στα ζωντανά κύτταρα την ικανότητα να διατηρούν μια δεξαμενή αμινοξέων στα κενотоπία, αποδομώντας τις άχρηστες κυτταρικές πρωτεΐνες, για τη σύνθεση νέων, χρήσιμων πρωτεϊνών. Υπό τις συνθήκες της αυτόλυσης, αυτά τα ένζυμα προκαλούν πρωτεόλυση, επιτιθέμενα αδιακρίτως στις πρωτεΐνες οι οποίες είναι παρούσες στη μήτρα του κυτταροπλάσματος. Παρομοίως, οι νουκλεάσες οι οποίες είναι παρούσες στο κύτταρο, ξεκινούν να δρουν στο RNA και στο DNA, αποδομώντας τα σε πολυνουκλεοτίδια, μονονουκλεοτίδια και νουκλεοσίδια. Αυτά τα διαλυτά συστατικά χαμηλού μοριακού βάρους θα απελευθερωθούν, τελικά, στο κυτταρικό περιβάλλον (Reed & Nagodawithana, 1991). Η απελευθέρωση των πρωτεασών από τα κενотоπία μπορεί να επιταχυνθεί με διάρρηξη των κυττάρων (Běhalová & Beran, 1979).

Τα ενζυμικά συστήματα τα οποία προκαλούν τη λύση των κυττάρων της μαγιάς είναι γνωστά, αλλά είναι υπερβολικά ακριβά για βιομηχανικούς σκοπούς, ενώ οι μέθοδοι οι οποίες βασίζονται στην αυτόλυση απαιτούν πλέον της μιας εβδομάδος και γι' αυτό κρίνονται ασύμφωρες. Ωστόσο, η αυτόλυση μπορεί να επιταχυνθεί με ξήρανση της μαγιάς, με επεξεργασία με διάφορους διαλύτες ή με τασιενεργές ουσίες, όπως Triton X-100, σε συνδυασμό με ψύξη και απόψυξη. Είναι γνωστό ότι τέτοιοι παράγοντες, όπως επίσης και αντιβιοτικά και αντιδραστήρια θειόλης, μπορούν να διαπερατοποιήσουν τα κύτταρα της μαγιάς διά μέσου της διεργασίας της πλασμόλυση, δημιουργώντας κύτταρα με ουσιαστικά αμετάβλητη μορφολογία, αλλά με ελεύθερη δίοδο μορίων χαμηλού μοριακού βάρους. Δεν είναι ξεκάθαρο ποιο είναι το οριακό μοριακό βάρος που «αποκόπτεται» από τέτοια διαπερατοποιημένα, νεκρά κύτταρα, αλλά εν γένει πιστεύεται ότι τα ένζυμα παραμένουν εντός του κυττάρου. Αυτός είναι και ο λόγος για τον οποίον αυτές οι μέθοδοι χρησιμοποιούνται, συνήθως, για τη μελέτη της ενζυμικής δράσεως *in situ* (Breddam & Beenfeldt, 1991).

Το κυτταρικό τοίχωμα, το οποίο είναι γενικά άκαμπτο, προσδίδει το χαρακτηριστικό σχήμα στα κύτταρα της μαγιάς. Αποτελείται από ένα εσωτερικό στρώμα αλκαλικά αδιάλυτης β -γλυκάνης, ένα μεσαίο στρώμα αλκαλικά διαλυτής β -γλυκάνης και ένα εξωτερικό στρώμα γλυκοπρωτεϊνών, στις οποίες οι υδατάνθρακες είναι φωσφορυλιωμένες μαννάνες. Το κυτταρικό τοίχωμα περιέχει, επίσης, περίπου 1 % χιτίνη, ένα ευθύγραμμο πολυμερές N-ακετυλογλυκοσαμίνης, το οποίο υφίσταται μόνον στις εκβλαστήσεις. Τόσο το αλκαλικά διαλυτό, όσο και το αλκαλικά αδιάλυτο στρώμα γλυκάνης αντιπροσωπεύουν ένα μίγμα πολυσακχαριτών, με το κυριότερο συστατικό (85 %) να αποτελείται, κυρίως, από β -(1-3) συνδεδεμένες γλυκάνες και με το δευτερεύον συντατικό (15 %) να αποτελείται από υψηλής διακλάδωσης β -(1-6)-γλυκάνες με διασυνδέσεις β -(1-3)-γλυκανών.

Οι γλυκανάσες έχουν απομονωθεί από τη μαγιά και αυτά τα ένζυμα είναι γνωστό ότι υδρολύουν τις β -(1-3) και β -(1-6) συνδέσεις των γλυκανικών στρωμάτων. Είναι αποδεδειγμένο ότι οι γλυκανάσες συμμετέχουν στη διαδικασία εκβλαστήσεως. Ωστόσο, υπό τις συνθήκες της αυτόλυσης, οι β -(1-3)-γλυκανάσες, με την υποστήριξη των πρωτεασών, είναι ικανές να διαρρήξουν το κυτταρικό τοίχωμα, διευκολύνοντας, έτσι, την απελευθέρωση των υδρολυμένων συστατικών από το εσωτερικό του κυττάρου. Η διεργασία αυτή μπορεί να ενισχυθεί, υποβάλλοντας τη μαγιά σε προσβολή από εξωτερικές πρωτεάσες, όπως συμβαίνει με την παπαΐνη, ακολουθούμενη από επεξεργασία με λυτικές γλυκανάσες. Αυτά τα ένζυμα είναι, πλέον, διαθέσιμα σε εμπορική κλίμακα, για τη βελτίωση των βαθμών απόδοσης της εκχύλισης.

ΠΙΝΑΚΑΣ Π.2.1

Ιδιότητες των κυρίων πρωτεασών της μαγιάς.

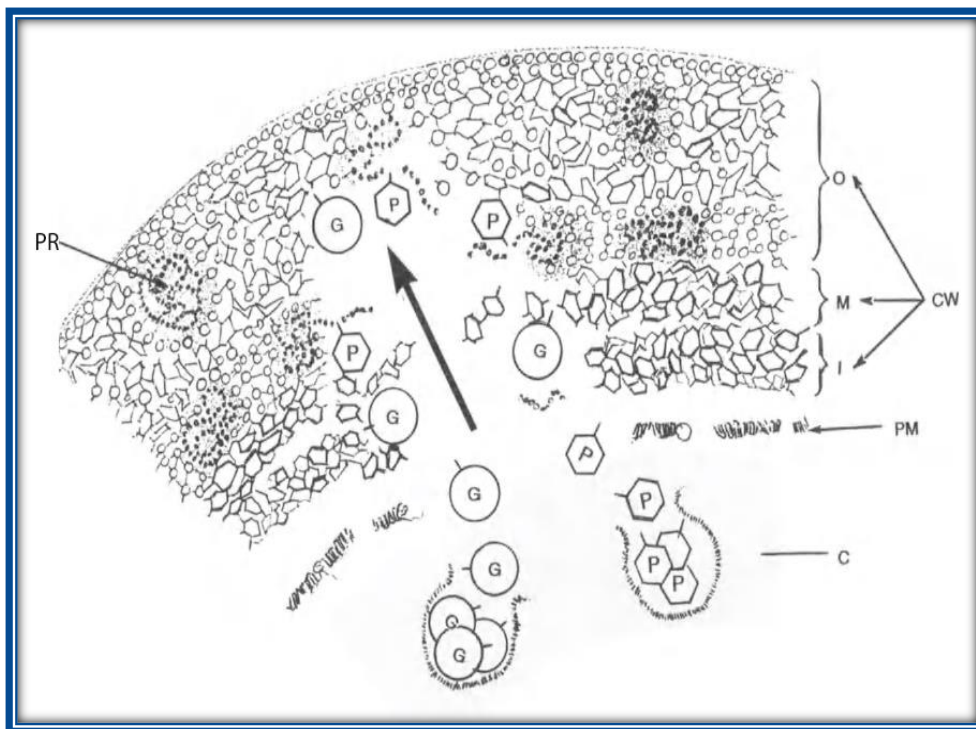
πρωτεάση ιδιότητα	πρωτεάση A	πρωτεάση B	καρβοξυ- πεπτιδάση Y	καρβοξυ- πεπτιδάση S
είδος	όξινη ενδοπεπτιδάση	ενδοπεπτιδάση σερίνης	ενδοπεπτιδάση σερίνης	μεταλλο- εξωπεπτιδάση (Zn^{2+})
βέλτιστο pH	2 – 6	6 – 7	4 – 7	7
βέλτιστη θερμοκρασία*	33 – 40 °C	45 – 55 °C	45 – 55 °C	60 °C
θέση στο κύτταρο	κενοτόπιο	κενοτόπιο	κενοτόπιο	κενοτόπιο
διαλυτότητα	διαλυτή	διαλυτή	διαλυτή	διαλυτή
μοριακό βάρος	60.000	32.000 – 44.000	61.000	μη προσδιορισμένο
ισοηλεκτρικό σημείο	3,8	5,8	3,6	μη προσδιορισμένο
παρεμποδιστές	πρωτεΐνη I_3^A , πεπσατίνη, κ.λπ.	πρωτεΐνη I_2^{13} , χυμοστατίνη, κ.λπ.	πρωτεΐνη I^e , Hg^{2+}	EDTA
ρόλος στο κύτταρο	αποικοδόμηση πρωτεϊνών	αποικοδόμηση πρωτεϊνών	αποικοδόμηση πρωτεϊνών	αποικοδόμηση πρωτεϊνών

Πηγή: Βάσει δεδομένων από τους Achstetter και Wolf, 1985. * Maddox και Hough, 1969.
(Reed & Nagodawithana, 1991)

Οι πρωτεάσες της μαγιάς, οι οποίες περιγράφησαν παραπάνω, έχουν ευρεία εξειδίκευση έναντι των υποστρωμάτων τους. Είναι γνωστό ότι παρουσιάζουν διαφορετικά βέλτιστα θερμοκρασίας και pH. Γι' αυτό, οι συνθήκες της διεργασίας της αυτόλυσης τις οποίες χρησιμοποιούν οι περισσότεροι παρασκευαστές εκχυλισμάτων μαγιάς δεν είναι βέλτιστες για όλα τα πρωτεολυτικά ένζυμα. Παρομοίως, η απόκλιση στο αρωματικό προφίλ των εκχυλισμάτων τα οποία παράγονται με αυτόλυση υπό διαφορετικές συνθήκες θερμοκρασίας και pH είναι αντιληπτές. Έτσι, υπονοείται ότι ο έλεγχος των συνθηκών της αυτόλυσης είναι ζωτικής σημασίας για τη διατήρηση της σταθερότητας του προϊόντος.

Οι μεταλλαγμένες ζύμες, οι οποίες μετέβαλαν τη δομή του κυτταρικού τοιχώματός τους και είναι εξαιρετικά ευαίσθητες στα αυτολυτικά ένζυμα, δύνανται να είναι

σημαντικές για έναν παρασκευαστή εκχυλίσματος μαγιάς. Ωστόσο, τέτοιοι μεταλλαγμένοι μικροοργανισμοί είναι, εν γένει, ασταθείς, αναπτύσσονται αργά και τείνουν να λύνονται κατά την ανάπτυξή τους. Επίσης, έχουν παρεκκλίνουσα μορφολογία, η οποία φαίνεται να σχετίζεται με ατέλειες στη δομή του κυτταρικού τοιχώματος. Ωστόσο, με τη χρήση τεχνικών rRNA είναι δυνατή η κατασκευή ζυμών ικανών να αυτολύονται ταχέως, με την απελευθέρωση των επιθυμητών κυτταρικών συστατικών που έχουν αξία στη βιομηχανία τροφίμων (Reed & Nagodawithana, 1991).



ΕΙΚΟΝΑ Ε.2.1

Σχηματική αναπαράσταση ενός κυττάρου σε λύση.

C: κυτταρόπλασμα, CW: κυτταρικό τοίχωμα, I: εσωτερικό αλκαλικά αδιάλυτο στρώμα γλυκάνης, M: μέσο αλκαλικά διαλυτό στρώμα γλυκάνης, O: εξωτερικό γλυκοπρωτεϊνικό στρώμα, P: πρωτεάση, G: γλυκανάση, PM: κυτταρική (πλασματική) μεμβράνη, PR: πρωτεΐνη.
(Reed & Nagodawithana, 1991)

2.2.1.4. Η ΔΙΕΡΓΑΣΙΑ ΤΗΣ ΠΛΑΣΜΟΛΥΣΗΣ

Η πλασμόλυση είναι ένα φαινόμενο συχνά χρησιμοποιούμενο από τους κατασκευαστές εκχυλίσμάτων μαγιάς για την επιτάχυνση της διεργασίας αποικοδόμησης του κυττάρου. Αυτή η διαδικασία είναι εξαιρετικά αποδοτική από οικονομικής σκοπιάς και ο περισσότερο χρησιμοποιούμενος παράγων για την επίτευξη αυτού του αποτελέσματος είναι το κοινό αλάτι. Οργανικοί διαλύτες, όπως ο οξικός αιθυλεστέρας και η ισοπροπανόλη, μπορούν, επίσης, να διευκολύνουν αυτή τη διεργασία. Η μαγιά, παρουσία υψηλής συγκέντρωσης αλατιού σε ένα μέσον, αρχίζει να χάνει το υδατικό της περιεχόμενο, σε μια προσπάθεια να ισορροπήσει την ωσμωτική της πίεση με αυτή του περιβάλλοντος μέσου. Υπό ακραίες συνθήκες, όπως στην περίπτωση της πλασμόλυσης, το κυτταρικό περιεχόμενο εντός της κυτταρικής μεμβράνης απομακρύνεται από το κυτταρικό τοίχωμα και τείνει να καταλάβει μόνον ένα μέρος του κυτταρικού όγκου. Παρατεταμένη

πλασμόλυση οδηγεί στον θάνατο του κυττάρου, σηματοδοτώντας την έναρξη της διεργασίας της πέψης αυτού. Το αλάτι προστίθεται, συχνά, για την επίτευξη καλύτερου αποτελέσματος.

Παρόλο που το κοινό αλάτι έχει χρησιμοποιηθεί ως ένας παράγων της διεργασίας για την ενίσχυση της πλασμόλυσης, η ωφέλιμη επίδρασή του ως βακτηριοκτόνο ή ως ενισχυτικό γεύσης δεν μπορεί να υποτιμηθεί. Η βακτηριοκτόνος επίδρασή του καθιστά τη διεργασία λιγότερο ευπαθή σε μικροβιακές επιμολύνσεις. Εξαιτίας αυτής της μοναδικής ιδιότητας του κοινού αλατιού, καθίσταται εφικτή η παραγωγή εκχυλισμάτων μαγιάς με πλασμόλυση, τα οποία έχουν σημαντικά χαμηλότερο μικροβιακό φορτίο. Ωστόσο, λόγω της υψηλής περιεκτικότητας σε αλάτι, αυτά τα προϊόντα έχουν περιορισμένη χρήση στη βιομηχανία τροφίμων. Τα εκχυλίσματα χαμηλού νατρίου τυγχάνουν μεγαλύτερης ζήτησης και τέτοια εκχυλίσματα παράγονται με αυτόλυση και όχι με πλασμόλυση (Reed & Nagodawithana, 1991).

2.2.1.5. Η ΔΙΕΡΓΑΣΙΑ ΤΗΣ ΥΔΡΟΛΥΣΗΣ

Για την παραγωγή εκχυλισμάτων μαγιάς με την διεργασία την υδρόλυσης, απαιτείται η χρήση ισχυρών οξέων, όπως υδροχλωρικό οξύ. Τα οξέα αυτά αποδομούν τα μακρομόρια εντός του κυττάρου, όπως οι πρωτεΐνες, οι υδατάνθρακες και τα νουκλεϊκά οξέα, στις αντίστοιχες δομικές τους μονάδες, οι οποίες είναι περισσότερο διαλυτές. Η υδρόλυση θεωρείται ως η πιο αποτελεσματική διαδικασία για την διαλυτοποίηση της μαγιάς. Ωστόσο, είναι η λιγότερο πρακτική μέθοδος για τη διεργασία της εκχύλισης σε εμπορική βάση.

Αντίθετα με τη διεργασία της αυτόλυσης, η μέθοδος της υδρόλυσης δεν απαιτεί τη χρήση μαγιάς με υψηλή βιωσιμότητα. Προκειμένου να επιτευχθεί μέγιστη αποδοτικότητα, μια συνήθης υδρόλυση ξεκινά με ξηρή μαγιά, δημιουργώντας ένα ιλύδες διάλυμα με συγκέντρωση 65 – 85 % σε στερεά. Στην συνέχεια, το διάλυμα αυτό επεξεργάζεται με πυκνό υδροχλωρικό οξύ. Η βέλτιστη υδρόλυση μπορεί να επιτευχθεί στους 100 °C, με την χρήση εξατμιστήρα υμενίου αποξέσεως, εξοπλισμένου με έναν συμπυκνωτήρα αναρροής. Ο βαθμός υδρόλυσης ελέγχεται από τον χρόνο υδρόλυσης. Σε εμπορικές εφαρμογές, το 50 – 60 % του συνολικού αζώτου μετρατρέπεται σε αμινικό άζωτο, σε αναλογία 6 : 1, υπό τις συνθήκες που περιγράφησαν παραπάνω. Τα ισχυρά όξινα υλικά εξουδετερώνονται, κατόπιν, με υδροξείδιο του νατρίου σε $pH = 5 - 6$, διηθούνται και συμπυκνώνονται σε σιρόπι ή πάστα ή ξηραίνονται σε σκόνη με, περίπου, 5 % περιεχόμενη υγρασία.

Παρόλο που η διαδικασία της υδρόλυσης είναι ευρέως γνωστή για τους υψηλότερους βαθμούς απόδοσης, έχει συγκεκριμένα μειονεκτήματα, τα οποία την καθιστούν εξαιρετικά μη ελκυστική σε συγκεκριμένους παρασκευαστές εκχυλισμάτων μαγιάς. Ένα σημαντικό μειονέκτημα είναι το γεγονός ότι ο εξοπλισμός αυτής της διεργασίας πρέπει να είναι κατασκευασμένος από αδρανή υλικά, ή οι επιφάνειες αυτού να είναι επιστρωμένες με γυαλί, λόγω της διαβρωτικής φύσεως του υδροχλωρικού οξέος. Αυτή η τροποποίηση καθιστά, προφανώς, τη διεργασία εξαιρετικά δαπανηρή. Επιπροσθέτως, τα δοχεία πίεσεως για την υδρόλυση πρέπει να είναι κατασκευασμένα έτσι, ώστε να αντέχουν τις απαιτούμενες υψηλές πιέσεις της διεργασίας και να πληρούν τα απαιτούμενα πρότυπα ασφαλείας.

Η εκτενής χρήση πυκνών οξέων μπορεί να καταστήσει τη διεργασία περισσότερο επιβλαβή και κάθε ατύχημα στη μονάδα θα μπορούσε να είναι επικίνδυνο και, συχνά, κοστοβόρο. Η υψηλή περιεκτικότητα σε άλατα στο τελικό προϊόν, ως αποτέλεσμα της εξουδετέρωσης των χρησιμοποιούμενων οξέων, καθιστά αυτή τη διεργασία ακόμα λιγότερο εκλυστική. Επιπλέον, η όξινη υδρόλυση επιφέρει την καταστροφή συγκεκριμένων αμινοξέων και βιταμινών, μειώνοντας, κατ' αυτόν τον τρόπο, τη θρεπτική αξία των τελικών εκχυλισμάτων μαγιάς. Υφίσταται, ακόμα, η πιθανότητα δημιουργίας χλωριωμένων ενώσεων (π.χ. 3-χλωροπροπανοδιόλη), οι οποίες θα μπορούσαν να αποδειχθούν επιβλαβείς για την ανθρώπινη υγεία. Εν κατακλείδι, τα μειονεκτήματα της όξινης υδρόλυσης φαίνεται να υπερβαίνουν κατά πολύ τα πλεονεκτήματα της διεργασίας, καθιστώντας την, έτσι, μη εκλυστική για εμπορική παρασκευή εκχυλισμάτων μαγιάς (Reed & Nagodawithana, 1991).

2.2.2. ΕΝΙΣΧΥΤΙΚΑ ΓΕΥΣΗΣ

Παρόλο που συγκεκριμένα προϊόντα τροφίμων, όπως τα μανιτάρια και οι αποξηραμένες παλαμίδες (*dried bonito*), έχουν, συχνά, χρησιμοποιηθεί στη διατροφή των αρχαίων πολιτισμών, κυρίως στην Ανατολή, η σημασία αυτών δεν είχε αναγνωρισθεί πλήρως, μέχρι την ανακάλυψη των ιδιοτήτων ενίσχυσης γεύσης που αυτά προσφέρουν, στην Ιαπωνία, κατά τα πρώτα χρόνια του 20^{ου} αιώνα. Το γλουταμινικό νάτριο (*monosodium glutamate*, *MSG*) απομονώθηκε από τον Ikeda, το 1912, από θαλάσσια φύκη. Το 1913, ο Kodama ταυτοποίησε το ιστιδινικό άλας του ινοσινικού οξέος ως το ενεργό αρωματικό συστατικό της αποξηραμένης παλαμίδας. Περίπου 50 χρόνια αργότερα, ο Nakajima και άλλοι (1961) και ο Shimazono (1964) ανέφεραν ότι η 5' μονοφωσφορική γουανοσίνη (5' *guanosine monophosphate*, 5'-*GMP*) ήταν το κύριο αρωματικό συστατικό του ιαπωνικού μανιταριού (*shiitake*). Αυτά τα ενισχυτικά γεύσης, τα οποία είναι σήμερα εμπορικά διαθέσιμα είτε ως ακατέργαστα εκχυλίσματα, είτε σε μορφή υψηλής καθαρότητας, είναι ιδιαιτέρως αποτελεσματικά στη βελτίωση της γεύσης και του αρώματος κρεάτων, σαλτσών και σουπών.

Η παλιά ιαπωνική λέξη «umami» χρησιμοποιείται σήμερα στη βιβλιογραφία για να περιγράψει τη γεύση που προσφέρει στα τρόφιμα το γλουταμινικό οξύ (*glutamic acid*), το οποίο υπάρχει στα λαχανικά, το 5'-ινοσινικό δινάτριο (*disodium 5'-inosinate*), το οποίο υπάρχει στο ψάρι και το κρέας, και το 5'-γουανιλικό δινάτριο (*disodium 5'-guanylate*), το οποίο υπάρχει σε μανιτάρια, όπως το ιαπωνικό *shiitake*. Αυτές οι μοναδικές ενώσεις είναι γνωστές για τη διέγερση των αντιστοιχών γευστικών καλύκων της γλώσσας, προκειμένου να αξιοποιηθεί το πλήρες δυναμικό του χαρακτήρα της νοστιμιάς στα τρόφιμα, για μέγιστη απόλαυση. Πρόσφατες μελέτες στην Ιαπωνία έχουν δείξει ότι το γλουταμινικό νάτριο, το οποίο δρα ως σημαντικό συστατικό, υπεύθυνο για τη γεύση umami, έχει τους δικούς του ειδικούς υποδοχείς στα οσφρητικά και γευστικά κύτταρα των υδροβίων ζώων, διαφορετικούς από τους αισθητήριους υποδοχείς για την αντίληψη των τεσσάρων βασικών γεύσεων, του γλυκού, του ξινού, του αλμυρού και του πικρού.

Προσφάτως, εκτενής έρευνα από φυσιολόγους των αισθήσεων έχει υποστηρίξει έντονα ότι η ιδιότητα ενίσχυσης γεύσης της 5' μονοφωσφορικής γουανοσίνης (5'-*GMP*) είναι αρκετές φορές υψηλότερη αυτής της 5' μονοφωσφορικής ινοσίνης (5'-*IMP*). Ένας

καταγεγραμμένος συνεργισμός έχει, επίσης, ταυτοποιηθεί μεταξύ του γλουταμινικού οξέος και των νουκλεοτιδίων ενίσχυσης γεύσης. Τα νουκλεοτίδια τα οποία έχουν αποδειχθεί ότι ενισχύουν τη γεύση του γλουταμινικού οξέος, όπως περιγράφεται παραπάνω, είναι εκείνα τα οποία έχουν μια βάση πουρίνης με μίαν υδροξυλομάδα στη θέση 6' και μια ριβόζη εστεροποιημένη με φωσφορικό οξύ στη θέση 5'. Τοσο η 5'-GMP, όσο και η 5'-IMP πληρούν αυτά τα ειδικά κριτήρια. Αυτές οι μοναδικές ιδιότητες τοσο της 5'-GMP, όσο και της 5'-IMP προσφέρουν στον παρασκευαστή τροφίμων τα μέσα για τη μείωση ή την εξάλειψη της χρήσης γλουταμινικού νατρίου, καθιστώντας, έτσι, τη διεργασία οικονομικά αποδοτική, χωρίς τη διαταραχή των γευστικών χαρακτηριστικών του τελικού προϊόντος. Επιπλέον, η χρήση σχετικά χαμηλών επιπέδων νουκλεοτιδίων ενίσχυσης γεύσης στη συνταγή ενισχύει την αντιλαμβανόμενη γεύση του χλωριούχου νατρίου (αλατιού). Έτσι, προσφέρεται στον παρασκευαστή τροφίμων η δυνατότητα μείωσης των επιπέδων αλατιού στη συνταγή, χωρίς σημαντική απώλεια της αλμυρής γεύσης.

Το umami είναι μια γεύση η οποία αναγνωρίστηκε μόλις στις αρχές του αιώνα. Τώρα αρχίζει να αναδύεται ως η πέμπτη γεύση, εντελώς ξεχωριστή από τις άλλες τέσσερις βασικές γεύσεις που χαρακτηρίζουν όλα τα τρόφιμα. Στοιχεία για την υποστήριξη αυτών των ευρημάτων προέρχονται, επίσης, από τις διατροφικές συμπεριφορές και τη βασική έρευνα γύρω από τους γευστικούς αισθητήρες.

Αναγνωρίζοντας το εμπορικό δυναμικό αυτών των ενισχυτικών γεύσης, η βιομηχανία τροφίμων ξεκίνησε να επικεντρώνει την προσοχή της στην ανάπτυξη οικονομικά αποδοτικών μεθόδων, για την παραγωγή τέτοιων προϊόντων σε εμπορική κλίμακα. Η μαγιά εκτιμήθηκε, αρχικά, ως πιθανή πηγή RNA, λόγω της υψηλής περιεκτικότητας που έχει σε αυτό (2,5 – 15 %). Η μαγιά θεωρείται, επίσης, ως ένας οργανισμός «γενικώς αναγνωριζόμενος ως ασφαλής» (*Generally Recognized As Safe, GRAS*), ενώ μπορεί να καλλιεργηθεί με οικονομικά αποδοτικό τρόπο, για την παραγωγή μεγάλων ποσοτήτων βιομάζας με υψηλή περιεκτικότητα σε νουκλεϊκά οξέα. Περαιτέρω εκτιμήσεις οι οποίες διαξήχθησαν με άλλους μικροοργανισμούς, κατέστησαν σαφές ότι η μαγιά είναι η βέλτιστη επιλογή οργανισμού για την εκχύλιση RNA, από το οποίο παράγονται τα 5' νουκλεοτίδια. Επί του παρόντος, υπάρχουν μικροοργανισμοί, όπως τα μεταλλαγμένα είδη του γένους *Brevibacterium* (π.χ. *Brevibacterium ammoniagenes*), οι οποίοι μπορούν να εκκρίνουν μεγάλες ποσότητες RNA στο μέσον επεξεργασίας, το οποίο μπορεί να επεξεργασθεί περαιτέρω για την παραλαβή 5' νουκλεοτιδίων (Reed & Nagodawithana, 1991).

2.2.3. ΜΕΘΟΔΟΙ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΗΣ ΜΑΓΙΑΣ ΓΙΑ ΤΗ ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΤΗΣ ΔΙΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΗΣ ΑΥΤΟΛΥΣΗΣ ΚΑΙ ΤΗΝ ΠΑΡΑΛΑΒΗ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ

2.2.3.1. ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΟΥ ΕΧΟΥΝ ΗΔΗ ΜΕΛΕΤΗΘΕΙ

Από τα παραπάνω καθίσταται φανερό ότι βέλτιστη και πλεον βιομηχανικά χρησιμοποιούμενη διεργασία για την παραλαβή εκχυλίσματος μαγιάς από κύτταρα ζύμης

αποτελεί η διεργασία της αυτόλυσης των κυττάρων της μαγιάς, καθώς οι άλλες δύο μέθοδοι παρουσιάζουν συγκεκριμένα μειονεκτήματα. Αφενός η διεργασία της πλασμόλυσης οδηγεί σε προϊόντα με υψηλή περιεκτικότητα σε αλάτι, γεγονός ανεπιθύμητο από τη βιομηχανία τροφίμων, αφερέτου η διεργασία της υδρόλυσης απαιτεί ειδικό και ιδιαίτερος ακριβό εξοπλισμό, λόγω της χρήσης πυκνών οξέων, ενώ η όξινη υδρόλυση οδηγεί στην καταστροφή συγκεκριμένων θρεπτικών συστατικών (αμινοξέα και βιταμίνες). Για όλους αυτούς τους λόγους, η διεργασία της αυτόλυσης καθίσταται η πλέον ελκυστική, και από βιομηχανικής πλευράς, για την παραλαβή εκχυλίσματος μαγιάς, ως ενισχυτικό γεύσης (Reed & Nagodawithana, 1991).

Διάφορες μέθοδοι επεξεργασίας της μαγιάς εντοπίζονται στη βιβλιογραφία, αναφορικά με τη βελτίωση της διεργασίας της αυτόλυσης, για την παραλαβή εκχυλίσματος μαγιάς. Οι κυριότερες από αυτές είναι η ενζυμική επεξεργασία, η ομογενοποίηση υψηλής πίεσης και η διαπερατοποίηση των κυττάρων με διαλύτες.

Η ενζυμική επεξεργασία των κυττάρων μαγιάς με πρωτεάσες, όπως η παπαΐνη, και λυτικά ένζυμα έγεται στην προσθήκη αυτών των ενζύμων, σε μικρές συγκεντρώσεις, στο αιώρημα μαγιάς και στην υποβολή αυτού σε συνθήκες παρόμοιες με τη διεργασία της αυτόλυσης. Η επεξεργασία των κυττάρων της μαγιάς με πρωτεολυτικά ένζυμα, ενδοπεπτιδάσες ή εξωπεπτιδάσες, οδηγεί σε σημαντική αύξηση του στερεού υπολείμματος και της συγκέντρωσης πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς, η οποία ανέρχεται σε 50 %, περίπου, συγκριτικά με το εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς, μετά το πέρας της επεξεργασίας (Chae, Joo, & In, 2001). Η ενζυμική επεξεργασία των κυττάρων της μαγιάς με παπαΐνη παρουσιάζει βέλτιστα αποτελέσματα με την προσθήκη αυτής σε συγκέντρωση 2,5 % στο αιώρημα μαγιάς. Η επεξεργασία αυτή οδηγεί σε αύξηση του στερεού υπολείμματος κατά 72 % και της συγκέντρωσης πρωτεϊνών κατά 103 % στο εκχύλισμα μαγιάς, συγκριτικά με το εκχύλισμα μαγιάς που προκύπτει με αυτόλυση ανεπεξέργαστων κυττάρων. Η συγκέντρωση ολικών υδατανθράκων δεν μεταβάλλεται με την προσθήκη παπαΐνης (Milić, Rakin, & Šiler-Marinković, 2007). Η προσθήκη λυτικών ενζύμων, όπως η λυτικάση, στο αιώρημα μαγιάς, τα οποία υδρολύουν το κυτταρικό τοίχωμα και επιτρέπουν τη διαπερατοποίηση των κυττάρων, οδηγεί σε σημαντική αύξηση του στερεού υπολείμματος και της συγκέντρωσης πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς, συγκριτικά με το εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς. Η αύξηση αυτή είναι ανάλογη της συγκέντρωσης λυτικάσης στο αιώρημα μαγιάς και ανέρχεται σε 97 % αναφορικά με το στερεό υπόλειμμα και σε 100 % αναφορικά με τη συγκέντρωση πρωτεϊνών, σε σύγκριση με το εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς το οποίο προκύπτει με αυτόλυση των κυττάρων (Milić, Rakin, & Šiler-Marinković, 2007), (Knorr, Shetty, Hood, & Kinsella, 1979).

Κατά την ομογενοποίηση υψηλής πίεσης των κυττάρων της μαγιάς, το αιώρημα μαγιάς επεξεργάζεται με τη χρήση ομογενοποιητή στα 600 – 1000 bar. Σε σύγκριση με το εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς, η ομογενοποίηση υψηλής πίεσης των κυττάρων της μαγιάς στα 600 bar πριν τη διεργασία της αυτόλυσης έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση του στερεού υπολείμματος του εκχυλίσματος μαγιάς κατά 81 %, καθώς και την αύξηση του ολικού αζώτου, το οποίο αποτελεί δείκτη συγκέντρωσης πρωτεϊνών, κατά 86 %. Από την άλλη, η ομογενοποίηση υψηλής πίεσης των κυττάρων της μαγιάς στα 1000 bar πριν τη διεργασία της αυτόλυσης οδηγεί σε ελαφρώς καλύτερα αποτελέσματα, αναφορικά με το στερεό υπόλειμμα του εκχυλίσματος μαγιάς και την περιεκτικότητα αυτού σε ολικό άζωτο. Επιπλέον, ισχυρή είναι η εξάρτηση της συγκέντρωσης των ολικών υδατανθράκων

του εκχυλίσματος μαγιάς από την πίεση επεξεργασίας. Η συγκέντρωση των ολικών υδατανθράκων στο εκχύλισμα μαγιάς η οποία έχει υποστεί ομογενοποίηση υψηλής πίεσης, πριν τη διεργασία της αυτόλυσης, υπερδιπλασιάζεται με επεξεργασία στα 600 bar, ενώ υπερτριπλασιάζεται με επεξεργασία στα 1000 bar, συγκριτικά με το εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς. Ωστόσο, συγκρίνοντας τα αποτελέσματα με εκείνα που προκύπτουν από την ενζυμική επεξεργασία του αιωρήματος μαγιάς με παπαΐνη, προκύπτει ότι αυτά δεν είναι ικανοποιητικά, καθώς το στερεό υπόλειμμα και η συγκέντρωση ολικού αζώτου στο εκχύλισμα μαγιάς ομογενοποιημένης με υψηλή πίεση είναι χαμηλότερα ή παρόμοια με αυτά στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης με παπαΐνη. Επιπλέον, θα πρέπει να τονισθεί ότι η χρήση ενός σταδίου ομογενοποίησης της μαγιάς, πριν τη διεργασία της αυτόλυσης, δεν είναι οικονομικά βιώσιμη, καθώς η ομογενοποίηση είναι μια διεργασία με υψηλή κατανάλωση ενέργειας και σχετικά χαμηλούς ρυθμούς ροής (Verduyn, Suksomcheep, & Suphantharika, 1999).

Τέλος, έχει μελετηθεί η επεξεργασία των κυττάρων μαγιάς με διάφορους οργανικούς διαλύτες και τασιενεργές ουσίες, οι οποίες προστίθενται στο αιώρημα μαγιάς κατά την αυτόλυση. Αυτή η επεξεργασία έχει οδηγήσει, σε κάποιες περιπτώσεις, σε σημαντική επιτάχυνση της αυτόλυσης. Αποτελεσματικοί φαίνονται οι πολικοί και ελάχιστα διαλυτοί στο νερό διαλύτες, όπως οι αιθέρες, χλωριωμένοι υδρογονάνθρακες, αλκοόλες και κετόνες μέσου μοριακού βάρους. Η δράση τους έγγειται στη διάλυση των λιπιδίων της κυτταρικής μεμβράνης, με αποτέλεσμα τη διαπερατοποίησή της (Breddam & Beenfeldt, 1991).

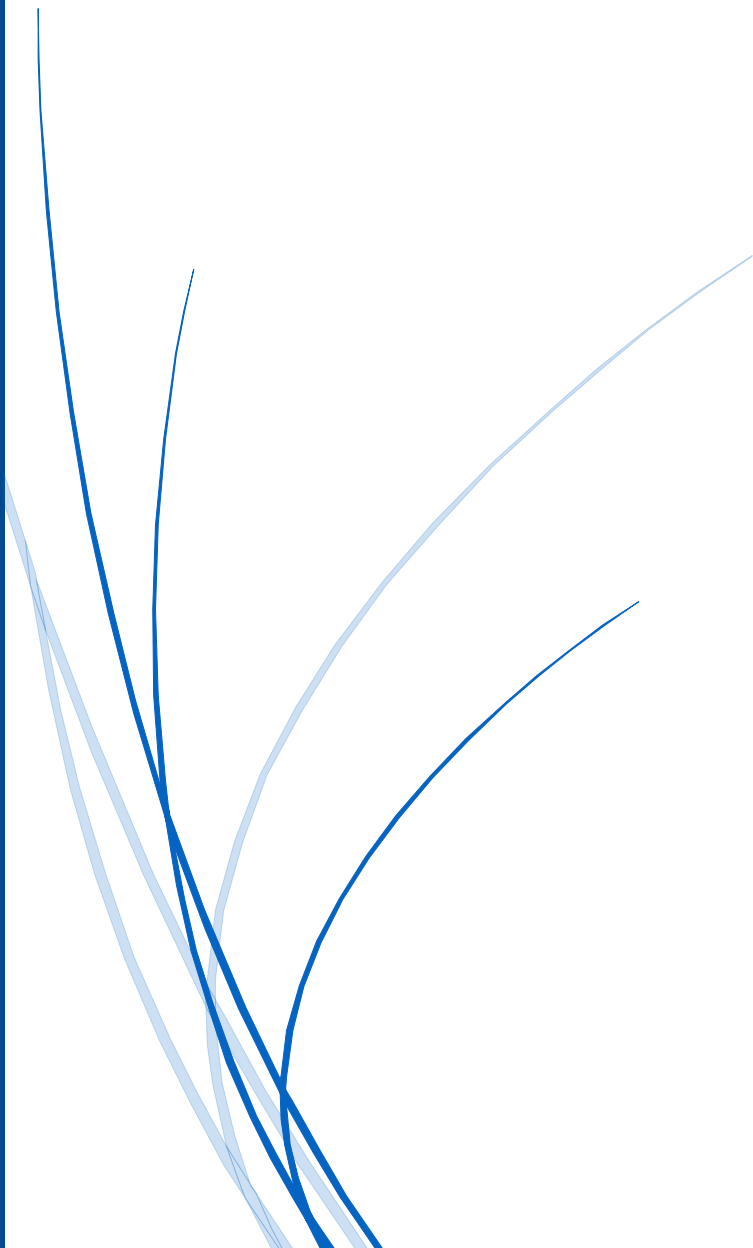
2.2.3.2. Η ΜΕΘΟΔΟΣ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ

Η υπερυψηλή πίεση, όπως θα αναφερθεί εκτενώς στο επόμενο κεφάλαιο, αποτελεί μια μέθοδο μη θερμικής επεξεργασίας η οποία, μεταξύ άλλων, έχει βρεθεί ότι συμβάλλει στην αύξηση της ενεργότητας πολλών ενζύμων, μεταξύ αυτών και πολλών υδρολασών, όπως οι πρωτεάσες (Eisenmenger & Reyes-De-Corcuera, 2009). Επιπλέον, έχει διαπιστωθεί ότι η επεξεργασία της μαγιάς με υπερυψηλή πίεση οδηγεί στη διάρρηξη του κυτταρικού τοιχώματος, με αποτέλεσμα τη διαπερατοποίηση των κυττάρων και την ευκολότερη εκχύλιση ενδοκυτταρικών ουσιών από τα κύτταρα της μαγιάς (Shimanda, et al., 1993), (Marx, Moody, & Bermúdez-Aguirre, 2011). Δεδομένου, λοιπόν, ότι οι πρωτεάσες διαδραματίζουν κυρίαρχο ρόλο στη διεργασία της αυτόλυσης και ότι η διαπερατότητα του κυτταρικού τοιχώματος καθορίζει την εκχύλιση των ενδοκυτταρικών ουσιών οι οποίες παράγονται κατά την αυτόλυση προς το εξωκυτταρικό περιβάλλον, στην παρούσα μελέτη θα διερευνηθεί η χρησιμοποίηση της υπερυψηλής πίεσης ως μια εναλλακτική μέθοδος επεξεργασίας της μαγιάς, προκειμένου για τη βελτίωση και επιτάχυνση της διεργασίας της αυτόλυσης και την παραλαβή εκχυλίσματος μαγιάς.



ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

Η ΥΠΕΡΥΨΗΛΗ ΠΙΕΣΗ



3. Η ΥΠΕΡΥΨΗΛΗ ΠΙΕΣΗ

3.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Σε έναν ταχέως αναπτυσσόμενο πληθυσμιακά κόσμο, ο οποίος αντιμετωπίζει αλλαγές με έναν ιστορικά πρωτοφανή ρυθμό, η έρευνα και οι καινοτομίες στον τομέα της μηχανικής των διεργασιών τροφίμων και της συσκευασίας τροφίμων μπορούν να συνεισφέρουν σημαντικά στη διασφάλιση επαρκούς ποσότητας τροφίμων υψηλής ποιότητας. Οι καταναλωτές απαιτούν ασφαλή προϊόντα τροφίμων, υψηλής διατροφικής αξίας, με βιολειτουργικές ιδιότητες, ανώτερα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, ευκολία στη χρήση και μακρά διάρκεια ζωής, επαρκή για διανομή και αποθήκευση στο σπίτι για μια λογική χρονική περίοδο, πριν την κατανάλωση. Ακόμα, ζητούν προϊόντα που να μοιάζουν φρέσκα, να είναι ελάχιστα επεξεργασμένα και με «καθαρή ετικέτα» (*clean label*), να παράγονται κατά τρόπο βιώσιμο, φιλικό προς το περιβάλλον και ενεργειακά αποδοτικό. Αυτές οι απαιτήσεις θέτουν ασυνήθεις προκλήσεις για τη διαρκή βελτίωση των συμβατικών διεργασιών, καθώς και για την ανάπτυξη καινοφανών προϊόντων και διεργασιών. Οι συμβατικές μέθοδοι θερμικής επεξεργασίας εφαρμόζονται για την παραγωγή ασφαλών προϊόντων, με αυξημένη διάρκεια ζωής, σε σύγκριση με τα ανεπεξέργαστα προϊόντα. Παρόλο που οι μέθοδοι θερμικής επεξεργασίας έχουν μελετηθεί εκτενώς και η αριστοποίηση έχει εφαρμοσθεί στις περισσότερες των περιπτώσεων, οι μέθοδοι αυτές ενέχουν μίαν υποβάθμιση της ποιότητας των επεξεργαζόμενων προϊόντων. Η θερμική επεξεργασία μπορεί να προκαλέσει μετουσίωση των πρωτεϊνών, μεταβολή της διαλυτότητας των υδατανθράκων, μη ενζυμικό μαύρισμα μέσω αντιδράσεων Maillard και άλλα. Επιπροσθέτως, από τη θερμική επεξεργασία επηρεάζονται αρνητικά τα θερμοευαίσθητα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των τροφίμων, όπως η γεύση και το άρωμα. Αυτά μπορούν να αποφευχθούν με τις *μεθόδους ελάχιστης επεξεργασίας*, οι οποίες προφυλάσσουν το τρόφιμο, αλλά διατηρούν σε μεγαλύτερο βαθμό τη θρεπτική αξία και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά αυτού, μειώνοντας την εξάρτηση από τη θερμότητα ως κύρια μέθοδο επεξεργασίας. Έτσι, ερευνώνται μη θερμικές μέθοδοι επεξεργασίας, οι οποίες στοχεύουν στην ελαχιστοποίηση της υποβάθμισης της ποιότητας των τελικών προϊόντων που προκαλείται από τη θερμική επεξεργασία. Παραδοσιακά, τα ζυμωμένα τρόφιμα φέρουν πολλά από αυτά τα χαρακτηριστικά. Η ακτινοβόληση έχει υιοθετηθεί σε κάποιες χώρες ως μια ελάχιστη μέθοδος συντήρησης των τροφίμων. Η κατάψυξη και οι ελεγχόμενες ή τροποποιημένες ατμόσφαιρες υιοθετούνται ευρέως για την καταστολή της μικροβιακής ανάπτυξης. Έχει υπάρξει, επίσης, αυξημένο ενδιαφέρον για την ανάπτυξη άλλων συνδυασμών υπαρχουσών και καινοτόμων μεθόδων, για την επίτευξη ήπιας συντήρησης. Παραδείγματα καινοτόμων τεχνολογιών ελάχιστης επεξεργασίας παρουσιάζονται στον πίνακα Π.3.1 (Katsaros & Taoukis, 2015), (Fellows, 2000).

ΠΙΝΑΚΑΣ Π.3.1

*Παραδείγματα καινοτόμων διεργασιών
οι οποίες βρίσκουν εφαρμογή για ελάχιστη επεξεργασία τροφίμων.*

ηλεκτρική θέρμανση (θέρμανση με ραδιοσυχνότητες, μικροκύματα, ωμική θέρμανση)	
υπερυψηλή πίεση	μικροδιήθηση
παλμικά ηλεκτρικά πεδία	ακτίνες X
υψηλής εντάσεως φως	κρυογενικό θερμικό σοκ
υπέρηχοι	ακινητοποιημένα ένζυμα
συσκευασία σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα	ενεργός συσκευασία
ακτίνες γάμμα	όζον
laser και maser	νιτρώδες οξείδιο

Πηγή: (Fellows, 2000)

3.2. ΜΗ ΘΕΡΜΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Ο όρος «μη θερμική επεξεργασία» συχνά χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό τεχνολογιών οι οποίες είναι αποτελεσματικές σε θερμοκρασίες περιβάλλοντος ή χαμηλότερες ή όταν ο κύριος παράγων που επιφέρει την απενεργοποίηση των μικροοργανισμών δεν είναι η θερμότητα. Μια αύξηση στην καταναλωτική ζήτηση περισσότερο φρέσκων προϊόντων, με ταυτόχρονη παροχή υψηλού βαθμού ασφαλείας, έχει οδηγήσει σε αυξανόμενο ενδιαφέρον αναφορικά με τις τεχνικές μη θερμικής συντήρησης, λόγω της δυνατότητας αυτών να απενεργοποιούν μικροοργανισμούς και ένζυμα στα τρόφιμα. Η κύρια εφαρμογή των μεθόδων μη θερμικής επεξεργασίας θεωρείται η αντικατάσταση της θερμικής παστερίωσης, αλλά ερευνώνται και οι εφαρμογές αυτών σε άλλα στάδια της παραγωγής τροφίμων, στοχεύοντας σε αυξημένες αποδόσεις, σε μετασχηματισμούς στην υφή των επεξεργαζόμενων πρώτων υλών ή του τελικού προϊόντος, καθώς και στη βιοτεχνολογία υψηλής πίεσης. Η κατανόηση του αντικτύπου και των δυνατοτήτων τέτοιων τεχνολογιών στα συστήματα των τροφίμων σε κυτταρικό επίπεδο επιτρέπει τον σχεδιασμό ειδικά προσαρμοσμένων τροφίμων (*tailor-made foods*) και την καθιέρωση σχέσεων μεταξύ διεργασίας, δομής και λειτουργίας.

Βάσει αυτών των γνώσεων είναι δυνατός ο σχεδιασμός νέων διεργασιών, καθώς και η ενσωμάτωση καινοφανών τεχνολογιών σε παραδοσιακές διεργασίες (Katsaros & Taoukis, 2015). Η αρχή που υποκινεί τη χρήση συνδυασμένων τεχνικών είναι γνωστή ως «τεχνική εμποδίων» και περιλαμβάνει τη χρήση συνδυασμών θερμοκρασίας, ενεργότητας νερού, συντηρητικών, τροποποιημένων ατμοσφαιρών, οξύτητας και οξειδοαναγωγικού δυναμικού για την παρεμπόδιση της μικροβιακής ανάπτυξης. Σε κάθε μέθοδο ελάχιστης επεξεργασίας, η διεργασία καταστρέφει μικροοργανισμούς και, σε μερικές περιπτώσεις, ένζυμα, ενώ δεν υπάρχουν ουσιαστικές αυξήσεις της θερμοκρασίας του προϊόντος. Γι' αυτόν τον λόγο, παρατηρούνται μικρές απώλειες σε χρωστικές, αρωματικές ενώσεις ή βιταμίνες, ενώ, εν αντιθέσει προς τις μεθόδους θερμικής επεξεργασίας, η θρεπτική αξία και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των τροφίμων δεν υποβαθμίζονται σε σημαντικό βαθμό. Έτσι, τα προκύπτοντα προϊόντα έχουν ανώτερη ποιότητα και καταναλωτική έλξη

σε αγορές όπου η διατήρηση των φυσικών οργανοληπτικών χαρακτηριστικών δύναται να επιφέρει υψηλότερες τιμές (Fellows, 2000).

Συνεπώς, η χρήση τέτοιων διεργασιών για τη διατήρηση ή ακόμα και τη βελτίωση της ποιότητας των προϊόντων, μέσω διεργασιών, για την εκπλήρωση των καταναλωτικών προτιμήσεων και την αποδοχή των προϊόντων από τους καταναλωτές, καθώς και τις ανάγκες της βιομηχανίας, είναι μια σημαντική ιδέα για τη βιομηχανία τροφίμων. Ωστόσο, βελτιωμένα μαθηματικά εργαλεία πρέπει να επιστρατευθούν, για τη συστηματική εκτίμηση και τον αριστοποιημένο σχεδιασμό των διεργασιών, καθώς και για τον έλεγχο της διάρκειας ζωής των προϊόντων τροφίμων που παράγονται με τις νέες τεχνολογίες.

Η υπερυψηλή πίεση ή υψηλή υδροστατική πίεση (*high hydrostatic pressure, HP*), τα παλμικά ηλεκτρικά πεδία (*pulsed electric fields, PEF*), οι υπέρηχοι (*ultrasonication, US*), η ακτινοβολία (*irradiation, IR*), το υπεριώδες φως (*ultraviolet light, UV*), η υψηλής πυκνότητας φάση διοξειδίου του άνθρακα (*high dense phase carbon dioxide, DPCD*), ο οζονισμός (*ozonation, OZ*) και το κρύο πλάσμα (*cold plasma, CP*) είναι οι κύριες τεχνολογίες μη θερμικής επεξεργασίας τροφίμων που ερευνώνται επί του παρόντος (Katsaros & Taoukis, 2015).

Τα παλμικά ηλεκτρικά πεδία και η υπερυψηλή πίεση έχουν μελετηθεί τα τελευταία χρόνια και ευρίσκονται τώρα στο αρχικό στάδιο της εμπορικής εκμετάλλευσης. Οι υπέρηχοι χρησιμοποιούνται επί πολλά έτη για την ομογενοποίηση τροφίμων και για τον καθαρισμό των μονάδων παραγωγής, ενώ τώρα συνδυάζονται με τη θερμική επεξεργασία υπό πίεση, για τη μείωση του ποσού θερμότητας που απαιτείται για τη θανάτωση μικροοργανισμών ή την απενεργοποίηση ενζύμων. Η επεξεργασία με χρήση παλμικού φωτός ευρίσκεται σε πιο πρόωμη ανάπτυξη, η οποία μπορεί να έχει καλές προοπτικές για την επιφανειακή επεξεργασία τροφίμων και υλικών συσκευασίας, ή για την επεξεργασία του νερού.

Σε όλες τις νέες εξελίξεις των μεθόδων ελάχιστης επεξεργασίας, δεν είναι μόνον η ανώτερη ποιότητα του τροφίμου σημαντική. Η διεργασία πρέπει να είναι ικανή να εφαρμοσθεί σε βιομηχανικό περιβάλλον και όχι μόνον σε ένα εργαστήριο με εξειδικευμένο προσωπικό. Θα πρέπει, ακόμα, να διασφαλίζει οικονομικό όφελος στον κατασκευαστή και να είναι ικανοποιητικά ευέλικτη για την εφαρμογή σε ευρύ φάσμα προϊόντων, έχοντας συχνά βραχείες παραγωγές και σύντομους κύκλους ζωής των προϊόντων (Fellows, 2000).

3.2.1. ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΜΗ ΘΕΡΜΙΚΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Οι μη θερμικές μέθοδοι επεξεργασίας τροφίμων μπορούν να χωρισθούν σε τρεις κύριες κατηγορίες:

- α) Οι τεχνολογίες που υφίστανται για μακρό χρονικό διάστημα, αλλά δεν έχουν εφαρμοσθεί ακόμα σε βιομηχανικό επίπεδο, ωστόσο αποτελούν αντικείμενο σημαντικού αριθμού μελετών, περιγράφοντας μια λύση για την ανάπτυξη, τον σχεδιασμό και την επεξεργασία προϊόντων τροφίμων. Σε αυτήν την κατηγορία ανήκουν οι υπέρηχοι.
- β) Οι πιο πρόσφατες τεχνολογίες, οι οποίες επίσης δεν έχουν εφαρμοσθεί σε βιομηχανικό επίπεδο, είτε λόγω έλλειψης επαρκούς γνώσης επί των επιδράσεων της εφαρμογής

αυτών σε προϊόντα τροφίμων ή συστατικά αυτών, είτε λόγω έλλειψης βιομηχανικής κλίμακας εξοπλισμού για την εφαρμογή τους. Σε αυτήν την κατηγορία ανήκουν οι τεχνολογίες του κρύου πλάσματος και της υψηλής πυκνότητας φάσης διοξειδίου του άνθρακα.

- γ) Οι τεχνολογίες οι οποίες έχουν ήδη εφαρμοσθεί σε βιομηχανίες τροφίμων κατά τα τελευταία χρόνια ή θα μπορούσαν να έχουν εφαρμοσθεί, ωστόσο υπάρχει διστακτικότητα από τις βιομηχανίες στην ενσωμάτωση αυτών των τεχνολογιών στην παραγωγική τους διαδικασία. Σε αυτήν την κατηγορία ανήκουν οι τεχνολογίες της υπερυψηλής πίεσης, του οζονισμού, των παλμικών ηλεκτρικών πεδίων, του υπεριώδους φωτός και της ακτινοβολήσης (Katsaros & Taoukis, 2015).

3.3. Η ΥΠΕΡΥΨΗΛΗ ΠΙΕΣΗ

Η τεχνολογία της υπερυψηλής πίεσης είναι μεταξύ των πιο σημαντικών μη θερμικών τεχνολογιών και πιθανώς η πιο πολλά υποσχόμενη, αν αναλογισθεί κανείς τα αποτελέσματα που παρατίθενται στην παγκόσμια βιβλιογραφία και το αυξανόμενο ενδιαφέρον περί της εφαρμογής αυτής στη βιομηχανία τροφίμων (Katsaros & Taoukis, 2015).

3.3.1. ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ

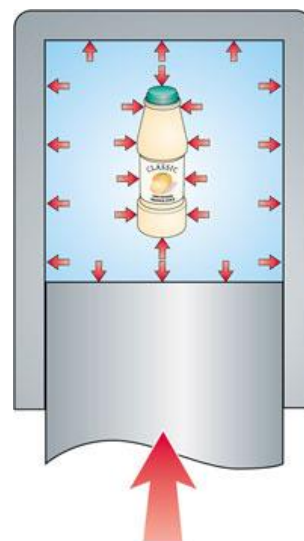
Η πρώτη καταγεγραμμένη χρήση υψηλών πιέσεων ως μέθοδος διεργασιών τροφίμων εντοπίζεται το έτος 1899 στο West Virginia University των Ηνωμένων Πολιτειών της Αμερικής, όπου διεξήχθησαν πειράματα, χρησιμοποιώντας υπερυψηλή πίεση για τη διατήρηση γάλακτος, χυμών φρούτων, κρέατος και μιας ποικιλίας φρούτων. Υποστηρίχθηκε, τότε, ότι οι μικροοργανισμοί σε αυτά τα προϊόντα μπορούσαν να καταστραφούν με πιέσεις των 658 MPa (6500 atm) για 10 min. Κατά τα πρώτα χρόνια του 20^{ου} αιώνα, μέσω ερευνών κατεδείχθη ότι η πρωτεϊνική δομή στο ασπράδι του αυγού μπορούσε να τροποποιηθεί με υψηλές πιέσεις. Ωστόσο, αυτοί οι πρώτοι ερευνητές ανακάλυψαν ότι το δυναμικό της υπερυψηλής πίεσης ήταν περιορισμένο, επειδή τα ένζυμα έμεναν πρακτικώς ανέπαφα, ιδιαιτέρως στο γάλα. Επίσης, περιορίζονταν τόσο από τις δυσκολίες κατασκευής μονάδων υπερυψηλής πίεσης, όσο και από την ανεπάρκεια υλικών συσκευασίας που θα περιείχαν τα τρόφιμα κατά τη διάρκεια της διεργασίας. Έτσι οι έρευνες διεκόπησαν.

Οι εξελίξεις στον σχεδιασμό διεργασιών, μαζί με τη ραγδαία ανάπτυξη στα υλικά συσκευασίας κατά τη διάρκεια της δεκαετίας του 1970, έδωσαν τη δυνατότητα στις έρευνες στον τομέα των διεργασιών υπερυψηλής πίεσης να επανεκκινήσουν στα τέλη της δεκαετίας του 1980, οι οποίες επικεντρώθηκαν κυρίως στην Ιαπωνία. Εντός του 1990, τα πρώτα εμπορικά προϊόντα που παρήχθησαν με διεργασίες υπερυψηλής πίεσης κυκλοφόρησαν στην ιαπωνική αγορά. Μια εταιρεία εισήγαγε μια ποικιλία επεξεργασμένων με υπερυψηλή πίεση μαρμελάδων, περιλαμβανομένων του μήλου, του ακτινιδίου, της φράουλας και του σμέουρου (*raspberry*), εντός εύκαμπτων σφραγισμένων πλαστικών συσκευασιών. Επίσης, δύο άλλες εταιρείες άρχισαν την παραγωγή επεξεργασμένων με υπερυψηλή πίεση χύμα χυμών πορτοκαλιού και γκρέιπφρουτ. Οι

μαρμελάδες είχαν χρόνο ζωής δύο μηνών υπό ψύξη, η οποία ήταν απαραίτητη για την αποφυγή της ενζυμικής δραστηριότητας. Άλλα προϊόντα που παρήχθησαν με τη διεργασία της υπερυψηλής πίεσης περιλαμβάνουν ζελέ φρούτων, σάλτσες, γιαούρτια φρούτων και σάλτσες για σαλάτες (*dressings*). Τα προϊόντα αυτά πωλούνται επί του παρόντος σε υψηλότερη τιμή σε σχέση με τα συμβατικά προϊόντα, αλλά η υψηλή ποιότητα αυτών, ιδιαιτέρως το άρωμα και η υφή των φρούτων, έχει έως τώρα εξασφαλίσει ικανοποιητική ζήτηση για εμπορική βιωσιμότητα (Fellows, 2000).

3.3.2. ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΜΕ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗ ΠΙΕΣΗ

Για την επεξεργασία με υπερυψηλή πίεση, το συσκευασμένο τρόφιμο τοποθετείται σε έναν φορέα και αυτομάτως φορτώνεται στο δοχείο πίεσεως και αυτό πωματίζεται. Το μέσον διαβίβασης της πίεσης, συνήθως νερό, αντλείται στο δοχείο από τη μια ή και τις δύο πλευρές. Αφού η πίεση στο εσωτερικό του δοχείου φθάσει στο επιθυμητό επίπεδο, διακόπτεται η άντληση και, σε ιδανικές συνθήκες, δεν απαιτείται περεταίρω εισαγωγή ενέργειας για τη διατήρηση της πίεσης κατά τον χρόνο παραμονής του τροφίμου στο δοχείο (Katsaros & Taoukis, 2015). Όταν εφαρμόζονται υπερυψηλές πιέσεις, έως 1000 MPa (10.000 bar) σε συσκευασίες τροφίμων που είναι βυθισμένες σε ένα υγρό, η πίεση μεταφέρεται ταχέως και ομοιόμορφα σε όλο το τρόφιμο, είναι, δηλαδή, ισοστατική (Fellows, 2000). Σε αντίθεση με τη θερμική κατεργασία, στην οποία υφίσταται βαθμίδωση της θερμοκρασίας, όλα τα μόρια στο δοχείο υψηλής πίεσης υπόκεινται στο ίδιο ύψος πίεσης, την ίδια ακριβώς στιγμή, λόγω της αρχής της ισοστατικότητας στη διαβίβαση της πίεσης (Katsaros & Taoukis, 2015).



ΕΙΚΟΝΑ Ε.3.1
Αρχή της ισοστατικότητας εντός του δοχείου πίεσεως. (www.globalspec.com, 2018)

3.3.2.1. ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΔΙΕΡΓΑΣΙΑΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ

Η κατασκευή ενός μηχανήματος υπερυψηλής υδροστατικής πίεσης είναι μια εξειδικευμένη και ακριβή διαδικασία (το 1996 μια μονάδα υπερυψηλής πίεσης για φρουτοχυμό κόστιζε δώδεκα φορές όσο μια ίδιας δυναμικότητας σύστημα εναλλαγής θερμότητας με πλάκες). Ωστόσο, οι εταιρείες οι οποίες κατασκευάζουν εξοπλισμό για τη συμπίεση μετάλλων και εξαρτήματα της μηχανικής των κεραμικών, καθώς και κρυστάλλους χαλαζία για τη βιομηχανία ηλεκτρονικών, έχουν την απαιτούμενη κατάρτιση. Αυτή υιοθετείται για χρήση στη βιομηχανία τροφίμων και πρέσες διαλείποντος έργου είναι διαθέσιμες, έχοντας δοχεία πίεσεως με χωρητικότητα έως 9400 L, τα οποία μπορούν να λειτουργήσουν σε πιέσεις από 200 MPa έως 500 MPa, με σύντομους κύκλους λειτουργίας των 2 – 3 min.

Τα κύρια εξαρτήματα ενός συστήματος υπερυψηλής υδροστατικής πίεσης είναι:

- α) ένα δοχείο πίεσεως με πώμα
- β) ένα σύστημα ανάπτυξης πίεσης
- γ) μια συσκευή ελέγχου της θερμοκρασίας
- δ) ένα σύστημα χειρισμού των υλικών

Τα περισσότερα δοχεία πίεσεως κατασκευάζονται από μονοκόμματα (*monoblocs*) κράμματα χάλυβα υψηλής αντοχής, τα οποία δύνανται να αντέξουν πιέσεις των 400 – 600 MPa. Για υψηλότερες πιέσεις, χρησιμοποιούνται προεντεταμένα πολυστρωματικά δοχεία. Τα δοχεία πίεσεως σφραγίζονται με ένα χαλύβδινο πώμα το οποίο φέρει σπείρωμα και μπορεί να αφαιρεθεί πιο εύκολα, ή ένα πλαίσιο σφραγίσεως, το οποίο τοποθετείται πάνω από το δοχείο. Κατά τη λειτουργία, αφού έχει αφαιρεθεί όλος ο αέρας, ένα μέσον μετάδοσης της πίεσης (νερό ή έλαιο) αντλείται από ένα δοχείο προς το δοχείο πίεσεως, χρησιμοποιώντας έναν ενισχυτή πίεσης, έως ότου επιτευχθεί η επιθυμητή πίεση. Αυτή η μέθοδος αναφέρεται ως «έμμεση συμπίεση» και απαιτεί σφραγίσματα στατικής πίεσης. Μια άλλη μέθοδος, αναφερόμενη ως «άμεση συμπίεση», κάνει χρήση ενός εμβόλου, για τη συμπίεση του δοχείου πίεσεως, αλλά αυτή απαιτεί σφραγίσματα δυναμικής πίεσης μεταξύ του εμβόλου και της εσωτερικής επιφάνειας του δοχείου πίεσεως, τα οποία υπόκεινται σε φθορά και δεν τυγχάνουν εμπορικής εφαρμογής.

Ο έλεγχος της θερμοκρασίας στις εμπορικές λειτουργίες μπορεί να επιτευχθεί με την άντληση θερμαντικού ή ψυκτικού μέσου, μέσω ενός μανδύα ο οποίος περιβάλλει το δοχείο πίεσεως. Αυτό είναι ικανοποιητικό στις περισσότερες εφαρμογές, όπου απαιτείται μια σταθερή θερμοκρασία, αλλά αν είναι απαραίτητο να μεταβάλλεται τακτικά η θερμοκρασία, η μεγάλη θερμική αδράνεια του δοχείου πίεσεως και η σχετικά μικρή επιφάνεια εναλλαγής θερμότητας καθιστά αυτό το είδος θερμοκρασιακού ελέγχου πολύ αργό, προκειμένου να ανταποκριθεί στις μεταβολές. Σε τέτοιες περιπτώσεις, προσαρμόζεται ένας εσωτερικός εναλλάκτης θερμότητας.



ΕΙΚΟΝΑ Ε.3.2

Βιομηχανικό σύστημα υπερυψηλής πίεσης.

(www.openpr.com, 2018)

Υπάρχουν δύο μέθοδοι επεξεργασίας των τροφίμων στα δοχεία υπερυψηλής πίεσεως: η επεξεργασία σε περιέκτες και η επεξεργασία χύμα. Επειδή τα τρόφιμα συρρικνώνονται στις πολύ υψηλές πιέσεις οι οποίες χρησιμοποιούνται στη διεργασία αυτή (π.χ. το νερό συρρικνώνεται κατά 15 %, περίπου, στα 600 MPa), αναπτύσσονται σημαντικές τάσεις και επέρχεται παραμόρφωση των συσκευασιών και του σφραγίσματος, όταν η επεξεργασία γίνεται σε περιέκτες. Είναι πιθανό ότι τα συμβατικά σακούλια από πλαστικό και αλουμινόχαρτο θα αποδειχθούν κατάλληλα και η έρευνα είναι συνεχής για τον άριστο σχεδιασμό της συσκευασίας, της ακεραιότητας του σφραγίσματος και άλλων κατάλληλων υλικών συσκευασίας. Ο χειρισμός των υλικών συσκευασίας για την επεξεργασία σε περιέκτες επιτυγχάνεται χρησιμοποιώντας αυτοματοποιημένο εξοπλισμό. Η χειρισμός του προϊόντος χύμα είναι απλούστερος, απαιτώντας μόνον αντλίες, αγωγούς και βαλβίδες. Μια σύγκριση των πλεονεκτημάτων και των περιορισμών της διεργασίας σε περιέκτες και χύμα παρουσιάζεται στον παρακάτω πίνακα.

ΠΙΝΑΚΑΣ Π.3.2

Πλεονεκτήματα και περιορισμοί της διεργασίας υπερυψηλής πίεσης σε περιέκτες και χύμα.

ΔΙΕΡΓΑΣΙΑ ΣΕ ΠΕΡΙΕΚΤΕΣ	ΔΙΕΡΓΑΣΙΑ ΧΥΜΑ
ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ	
<ul style="list-style-type: none"> • Εφαρμόζεται σε όλα τα στερεά και υγρά τρόφιμα. • Ελάχιστος κίνδυνος επιμόλυνσης μετά την επεξεργασία. • Δεν απαιτείται καμία σημαντική ανάπτυξη της επεξεργασίας με υπερυψηλή πίεση. • Εύκολος καθαρισμός. • Απλός χειρισμός των υλικών. 	<ul style="list-style-type: none"> • Μεγαλύτερη ελαστικότητα στην επιλογή περιέκτη. • Μέγιστη αποδοτικότητα (> 90 %) στην εκμετάλλευση του όγκου του δοχείου πίεσεως. • Ελάχιστος νεκρός χρόνος (δεν απαιτείται άνοιγμα και κλείσιμο του δοχείου πίεσεως, ταχύτερη φόρτωση και εκφόρτωση).
ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ	
<ul style="list-style-type: none"> • Πολύπλοκος χειρισμός των υλικών. • Μικρή ελαστικότητα στην επιλογή του περιέκτη. • Μεγαλύτερος νεκρός χρόνος στη χρήση του δοχείου πίεσεως. 	<ul style="list-style-type: none"> • Απαιτείται ασηπτική πλήρωση των δοχείων – πιθανή επιμόλυνση μετά την επεξεργασία. • Όλα τα εξαρτήματα πίεσης σε επαφή με τα τρόφιμα θα πρέπει να έχουν ασηπτικό σχεδιασμό και να είναι κατάλληλα για επί τόπου καθαρισμό (<i>cleaning-in-place</i>) και επί τόπου αποστείρωση (<i>sterilising-in-place</i>). • Κατάλληλη μόνον για αντλήσιμα τρόφιμα.

Η ημισυνεχής επεξεργασία φρουτοχυμών με παροχή $4000 - 6000 \frac{L}{h}$ χρησιμοποιώντας πιέσεις 400 – 600 MPa για 1 – 5 min σε θερμοκρασία περιβάλλοντος χρησιμοποιείται από μια εταιρεία στην Ιαπωνία, ενώ άλλη μια χρησιμοποιεί παρόμοια διεργασία, λειτουργώντας στα 120 – 400 MPa, με συνακόλουθη βραχεία θερμική επεξεργασία, πριν συσκευασθεί ο χυμός. Η διεργασία είναι ενεργειακά αποδοτική, παρόλο που επί του παρόντος το κεφαλαιακό κόστος του εξοπλισμού παραμένει υψηλό. Είναι πιθανό ότι τέτοια υγρά τρόφιμα θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ακόμα και ως μέσον

μετάδοσης της πίεσης, με απευθείας άντλησή τους με αντλίες υπερυψηλής πίεσης. Τέτοια συστήματα θα μπορούσαν να μειώσουν το κεφαλαιακό κόστος του δοχείου πίεσεως και να απλοποιήσουν τον χειρισμό των υλικών. Αν τα υγρά αποσυμπιέζονταν ταχέως διά μέσου ενός στομίου, η υψηλή ταχύτητα και η τυρβώδης ροή θα αύξαναν τις διατμητικές τάσεις στους μικροοργανισμούς και, έτσι, θα αύξαναν τον βαθμό καταστροφής αυτών. Η ανάπτυξη στην επεξεργασία με υπερυψηλή υδροστατική πίεση, όπως αναφέρει ο Knorr, περιλαμβάνει τον συνδυασμό με συμπύκνωση με κατάψυξη, ψύξη με πίεση και αποφλοιώση με υπερυψηλή πίεση. Τα πρώτα αποτελέσματα αναφέρουν ότι τα αποφλοιωμένα με πίεση φρούτα ξηραίνονται ταχύτερα από αυτά που έχουν αποφλοιωθεί με θερμό νερό (Katsaros & Taoukis, 2015).

3.3.2.2. ΕΞΩΤΕΡΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΤΗΣ ΔΙΕΡΓΑΣΙΑΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ

Στην επεξεργασία με υπερυψηλή πίεση, οι συνθήκες της διεργασίας είναι μια συνάρτηση των ακόλουθων εξωτερικών παραμέτρων:

- α) της εφαρμοζόμενης πίεσης (σε MPa),
- β) της θερμοκρασίας, όταν χρησιμοποιείται τεχνολογία εμποδίων (*hurdle technology*), με συνδυασμό υπερυψηλής πίεσης και θερμικής επεξεργασίας (σε °C),
- γ) ο χρόνος επίτευξης της επιθυμητής πίεσης (*build-up time*) (σε min),
- δ) ο χρόνος απελευθέρωσης της πίεσης (σε min),
- ε) ο αριθμός των παλμών και του χρονικού διαστήματος μεταξύ των παλμών, όταν χρησιμοποιούνται παλμικές πιέσεις.

Η αδιαβατική θέρμανση θα πρέπει να λαμβάνεται υπ' όψιν όταν εφαρμόζονται υψηλές πιέσεις (Katsaros & Taoukis, 2015).

3.3.2.3. ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΗ ΜΟΝΤΕΛΟΠΟΙΗΣΗ ΤΗΣ ΔΙΕΡΓΑΣΙΑΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ

Η συστηματική μελέτη των τεχνικών παραμέτρων, η οποία θα επιτρέψει τη χρήση των επιστημονικών επιτευγμάτων σε μια ελεγχόμενη και αποτελεσματική βιομηχανική διεργασία, βασίζεται στην κινητική προσέγγιση των καταστρεπτικών αντιδράσεων αρκετών παραγόντων, οι οποίες οδηγούν στην καταστροφή ή την υποβάθμιση των ποιοτικών και λειτουργικών ιδιοτήτων του τροφίμου, κατά την επεξεργασία με υπερυψηλή πίεση. Αυτή η προσέγγιση αναλύεται από τους Stoforos and Taoukis (2001) κατ' αναλογία προς τη συμβατική θερμική επεξεργασία και συγκροτεί τη βάση για τον σχεδιασμό, την επεξεργασία και τη μαθηματική μοντελοποίηση της διεργασίας, η οποία θα προσφέρει τη δυνατότητα για μια ασφαλή και αποτελεσματική βιομηχανική χρήση. Ο βαθμός υποβάθμισης ενός δείκτη ευαίσθητου στη διεργασία της υπερυψηλής πίεσης είναι συνάρτηση της αντοχής του σε διάφορες συνθήκες πίεσης και θερμοκρασίας, εξαρτώμενος, επίσης, και από τη διάρκεια της επεξεργασίας. Υποθέτοντας ότι η υποβάθμιση περιγράφεται από μια αντίδραση α' τάξεως:

$$-\frac{dc}{dt} = k \cdot c \quad [3.1]$$

όπου: c : η συγκέντρωση ή η ενεργότητα ή ο πληθυσμός του ευαίσθητου στην πίεση δείκτη $\left(\left[\frac{\text{αριθμός μικροοργανισμών}}{\text{mL}}\right] \text{ ή } \left[\frac{\text{g}}{\text{L}}\right] \text{ κ.τ.λ.}\right)$,
 t : ο χρόνος επεξεργασίας [min]
 k : η σταθερά του ρυθμού της αντίδρασης υπό σταθερές συνθήκες διεργασίας [min^{-1}]. Είναι:

$$k = f(T, p, \dots) \quad [3.2]$$

... όπου: T : η θερμοκρασία κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας με υπερυψηλή πίεση [K]

p : η εφαρμοζόμενη πίεση [MPa]

Ολοκληρώνοντας την εξίσωση [3.1], προκύπτει η ακόλουθη σχέση:

$$\ln(c) - \ln(c_0) = \int_{t_a}^{t_b} (-k \cdot dt) \quad [3.3]$$

... όπου: c_0 : η αρχική συγκέντρωση ή η αρχική ενεργότητα ή ο αρχικός πληθυσμός του ευαίσθητου στην πίεση δείκτη $\left(\left[\frac{\text{αριθμός μικροοργανισμών}}{\text{mL}}\right] \text{ ή } \left[\frac{\text{g}}{\text{L}}\right] \text{ κ.τ.λ.}\right)$,

t_a, t_b : ο χρόνος έναρξης και τερματισμού της κατεργασίας, αντίστοιχα [min]

Αν η επίδραση της πίεσης και της θερμοκρασίας στον ρυθμό της αντίδρασης είναι γνωστή, τότε το ολοκλήρωμα της εξίσωσης [3.3] μπορεί να υπολογισθεί, χρησιμοποιώντας τις κατάλληλες εκφράσεις των εξισώσεων Arrhenius (εξίσωση [3.4]) και Eyring (εξίσωση [3.5]):

$$k = k_{T_{ref}} \cdot \exp\left[-\frac{E_a}{R} \cdot \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_{ref}}\right)\right] \quad [3.4]$$

$$k = k_{p_{ref}} \cdot \exp\left(-\frac{V_a}{R} \cdot \frac{p - p_{ref}}{T}\right) \quad [3.5]$$

... όπου: T_{ref} : μια θερμοκρασία αναφοράς [K]

p_{ref} : μια πίεση αναφοράς [Pa]

E_a : η ενέργεια ενεργοποίησης $\left[\frac{\text{J}}{\text{mol}}\right]$

V_a : ο όγκος ενεργοποίησης $\left[\frac{\text{mL}}{\text{mol}}\right]$

R : η παγκόσμια σταθερά των αερίων $\left(R = 8,314 \frac{\text{J}}{\text{mol} \cdot \text{K}}\right)$

Χρησιμοποιώντας τις εξισώσεις [3.4] και [3.5] στην εξίσωση [3.3], υποθέτοντας ότι η ενέργεια και ο όγκος ενεργοποίησης εξαρτώνται από την πίεση και τη θερμοκρασία, αντιστοίχως, η εξίσωση [3.3] λαμβάνει την τελική της μορφή, ως ακολούθως:

$$\ln\left(\frac{c}{c_0}\right) = \int_0^t \left(-k_{ref} \cdot \exp\left(-\frac{E_a(p)}{R} \cdot \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_{ref}}\right) - \frac{V_a(T)}{R} \cdot \frac{p - p_{ref}}{T}\right)\right) dt \quad [3.6]$$

Αυτή η εξίσωση στοιχειοθετεί τη βάση για τη μαθηματική μοντελοποίηση της επεξεργασίας με υπερυψηλή πίεση (π.χ. για τον προσδιορισμό του ισοδύναμου χρόνου επεξεργασίας), κατά παρόμοιο τρόπο με τις συμβατικές μεθόδους θερμικής επεξεργασίας. Η ποσοτικοποίηση της επίδρασης των συνθηκών επεξεργασίας και της επακόλουθης αποθήκευσης των προϊόντων επιτρέπει την αριστοποίηση του όλου σχεδιασμού του προϊόντος. Προϊόντα τα οποία έχουν κατασκευασθεί υπό «άριστες» συνθήκες πρέπει να έχουν ελεγχθεί για την αποδοχή τους από αντιπροσωπευτικές καταναλωτικές ομάδες και με την αρμόζουσα οργανοληπτική μεθοδολογία (Katsaros & Taoukis, 2015).

3.3.3. ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΜΕ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗ ΠΙΕΣΗ

Η τεχνολογία υπερυψηλής πίεσης εφαρμόζεται, κυρίως, ως διεργασία παστερίωσης, για την επέκταση του χρόνου ζωής και τον έλεγχο του κινδύνου ασφαλείας σε ένα ευρύ φάσμα προϊόντων τροφίμων, χωρίς τη χρήση υψηλών θερμοκρασιών, οι οποίες είναι δυνητικά επιζήμιες για τα ευαίσθητα ποιοτικά χαρακτηριστικά τους. Η επεξεργασία με υπερυψηλή πίεση σε θερμοκρασία περιβάλλοντος είναι ικανή να απενεργοποιήσει ανεπιθύμητους μικροοργανισμούς και ένζυμα. Σε πολλές περιπτώσεις, απαιτείται ο συνδυασμός επεξεργασίας με υπερυψηλή πίεση με ελαφρώς υψηλότερες θερμοκρασίες, για την επίτευξη της απενεργοποίησης μικροοργανισμών και ενζύμων που ανθίστανται περισσότερο στην πίεση ή/και στη θερμοκρασία. Η διεργασία της υπερυψηλής πίεσης έχει μελετηθεί εκτενώς για επιλεγμένα προσυσκευασμένα τρόφιμα και η εφαρμογή της διασφαλίζει την ασφάλεια, την επέκταση του χρόνου ζωής και τη διατήρηση των θρεπτικών συστατικών των τροφίμων. Η παστερίωση με υπερυψηλή πίεση είναι φιλική προς το περιβάλλον και δύναται να διατηρήσει τα χαρακτηριστικά φρεσκάδας των τροφίμων καλύτερα από τις συνήθεις θερμικές επεξεργασίες.

3.3.3.1. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΣΤΟΥΣ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥΣ

Η επεξεργασία με υπερυψηλή πίεση, εν γένει, είναι αποτελεσματική στην απενεργοποίηση των περισσότερων βλαστικών παθογόνων και αλλοιογόνων μικροοργανισμών, σε πιέσεις μεγαλύτερες από 200 MPa, υπό ψύξη ή σε θερμοκρασίες μικρότερες των 45 °C, ωστόσο ο ρυθμός απενεργοποίησης επηρεάζεται ισχυρά από τη μέγιστη πίεση και τη διάρκεια της επεξεργασίας (Katsaros & Taoukis, 2015). Εν γένει, τα βακτήρια στην εκθετική φάση ανάπτυξής τους είναι περισσότερο ευαίσθητα στην πίεση απ' ό,τι στη στατική, τη λανθάνουσα φάση ή τη φάση θανάτου. Ήπιες υπερυψηλές πιέσεις (300 – 600 MPa) θανατώνουν ή απενεργοποιούν τα βλαστικά μικροβιακά κύτταρα. Τυπικά, μια πίεση των 350 MPa εφαρμοζόμενη για 30 min ή των 400 MPa εφαρμοζόμενη για 5 min θα προκαλέσει υποδεκαπλασιασμό των βακτηρίων, ζυμών και μouxλών στα λαχανικά. Η επεξεργασία με παλμική πίεση έχει βρεθεί να είναι περισσότερο αποτελεσματική από αυτή με στατική πίεση, για την παστερίωση χυμού ανανά. Υψηλότερες πιέσεις απαιτούνται για τη βλάστηση βακτηριακών σπορίων, με την επακόλουθη απενεργοποίηση των βλαστικών κυττάρων. Ωστόσο, όταν η υπερυψηλή πίεση συνδυάζεται με ήπια θέρμανση (π.χ. στους 60 °C), τα σπόρια καταστρέφονται σε πίεση 400 MPa σε διαφορετικό βαθμό, ανάλογα με το στέλεχος (Fellows, 2000). Η αποστείρωση, ήτοι η απενεργοποίηση σπορίων, όπως το *Clostridium botulinum* και τα *Bacillus spp.*, μπορεί να επιτευχθεί μέσω συνδυασμού αυξημένης θερμοκρασίας και πίεσης. Ο βαθμός της απενεργοποίησης εξαρτάται από το είδος του μικροοργανισμού, τη σύνθεση του τροφίμου, το pH, και την ενεργότητα του νερού (a_w). Τα θετικά κατά Gramm βακτήρια είναι τα πιο ανθεκτικά, ενώ μπορούν να παρατηρηθούν σημαντικές αποκλίσεις στην αντοχή στην πίεση ανάμεσα σε στελέχη του ίδιου είδους (Katsaros & Taoukis, 2015).

Η βλάστηση των σποριών υπό την επίδραση της υπερυψηλής πίεσης εξαρτάται από τη θερμοκρασία. Κοντά στους 0 °C, τα σπόρια ανθίστανται στη βλάστηση, ακόμα και σε πιέσεις των 1000 MPa, ενώ σε ήπιες θερμοκρασίες η υποβοηθούμενη με πίεση βλάστηση μπορεί να επιτευχθεί στα 100 MPa. Τα βλαστημένα σπόρια μπορούν να καταστραφούν με πίεση στα 600 MPa και σε θερμοκρασίες 50 – 70 °C. Ωστόσο, αυτά τα αποτελέσματα δεν είναι επαναλήψιμα και ένας συνδυασμός υπερυψηλής πίεσης και ήπιας θέρμανσης μπορεί να έχει είτε συνεργιστική, είτε ανταγωνιστική δράση στην ανάπτυξη των μικροοργανισμών, την ενζυμική ενεργότητα και τη χημική αντιδραστικότητα. Για παράδειγμα, η υπερυψηλή υδροστατική πίεση μπορεί είτε να καταστήσει τους μικροοργανισμούς περισσότερο ευάλωτους στη θερμότητα, είτε να αποτρέψει την καταστροφή ζυμών σε υψηλότερες θερμοκρασίες, ανάλογα με το είδος του μικροοργανισμού που μελετάται (Fellows, 2000).

Οι ζύμες απενεργοποιούνται με βραχεία έκθεση σε πίεση 300 – 400 MPa στους 25 °C, αλλά τα ασκοσπόρια των ζυμομυκήτων απαιτούν υψηλότερες πιέσεις για να απενεργοποιηθούν. Τα σπόρια των βακτηρίων απαιτούν σημαντικά υψηλότερες πιέσεις, θερμοκρασίες και χρόνους πίεσης, απ' ό,τι τα φυτικά κύτταρα. Τα σπόρια του *Bacillus amyloliquefaciens* έχουν χρησιμοποιηθεί ως δείκτης για την αντίσταση στην υπερυψηλή πίεση και τη θέρμανση. Ωστόσο, απαιτείται περισσότερη έρευνα για τον χαρακτηρισμό και τη μαθηματική μοντελοποίηση της αντοχής των παθογόνων και αλλοιογόνων μικροοργανισμών στην πίεση και στη θέρμανση από κοινού, ως συνάρτηση της δομής του τροφίμου, του pH και της ενεργότητας του νερού (a_w). Ο βαθμός και οι μηχανισμοί της βακτηριακής θανάτωσης κατά την παστερίωση και αποστείρωση με υπερυψηλή πίεση χρήζουν περεταίρω έρευνας (Katsaros & Taoukis, 2015). Παραδείγματα της επίδρασης της υπερυψηλής πίεσης σε μικροοργανισμούς παρατίθενται στον παρακάτω πίνακα (Fellows, 2000).

ΠΙΝΑΚΑΣ Π.3.3

Παραδείγματα επίδρασης της υπερυψηλής πίεσης σε μικροοργανισμούς τροφίμων.

ΜΙΚΡΟ-ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΣ	ΥΠΟ-ΣΤΡΩΜΑ	ΠΙΕΣΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ [MPa]	ΧΡΟΝΟΣ ΠΙΕΣΗΣ [min]	ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ [°C]	ΔΕΚΑΔΙΚΗ ΜΕΙΩΣΗ
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	χυμός μανταρινιού	300	5	25	5
<i>Listeria innocua</i>	βόειος κιμάς	360	5	25	1
<i>Campylobacter jejuni</i>	απόβλητα χοιροστασίου	300	10	25	6
<i>Salmonella senftenberg</i>	παιδική τροφή	340	10	23	<2
<i>Salmonella enteritidis</i>	ζωμός	345	10	35	8,22
<i>Escherichia coli O157:H7</i>	κρέας πουλερικών	600	15	20	3
	ζωμός	345	10	35	8,14

Η ΥΠΕΡΥΨΗΛΗ ΠΙΕΣΗ

<i>Staphylococcus aureus</i>	κρέας πουλερικών	600	15	20	3
	ζωμός	345	10	35	4
<i>Listeria monocytogenes</i>	κρέας πουλερικών	375	15	20	2
	ζωμός	345	10	35	5
<i>Hepatitis A</i>	οστρακοειδή	400	1	10	>3
<i>Norovirus</i>			5		4

Πηγή: (Fellows, 2000), (Rendueles, et al., 2010), (Shigehisa, Ohmori, Saito, Taji, & Hayashi, 1991), (Metrick, Hoover, & Farkas, 1989), (Alpas, Kalchayanand, Bozoglu, & Ray, 2000), (Patterson, Quinn, Simpson, & Gilmour, 1995), (Calci, Meade, Tezloff, & Kingsley, 2005), (Kingsley, Holliman, Calci, Chen, & Flick, 2007)

Η έρευνα είναι συνεχής, προκειμένου να κατανοηθούν οι πολύπλοκοι παράγοντες οι οποίοι προκαλούν αυτά τα αποτελέσματα, αλλά είναι γνωστό ότι οι υψηλές πιέσεις προκαλούν κατάρρευση των ενδοκυτταρικών κενотоπίων και καταστροφή των κυτταρικών τοιχωμάτων και των κυτταρικών μεμβρανών. Ο Knorr περιγράφει πιθανές υποθέσεις για τη διαταραχή των μεταβολικών διεργασιών οι οποίες προκαλούνται από την επίδραση της υπερυψηλής πίεσης στα κυτταρικά ένζυμα (Fellows, 2000).

3.3.3.2. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΣΤΑ ΕΝΖΥΜΑ

Η υπερυψηλή πίεση μπορεί, επίσης, να μεταβάλει την πρωτεϊνική δομή και συνεπώς, την ενζυμική ενεργότητα. Ο μηχανισμός υπερυψηλής πίεσης για τη μετουσίωση των ενζύμων διέπεται από την αρχή του Le Chatelier, η οποία προβλέπει ότι η εφαρμογή πίεσης ωθεί την ισορροπία προς την κατάσταση η οποία καταλαμβάνει τον ελάχιστο όγκο. Έτσι, κάθε αντίδραση που συνοδεύεται από μείωση του όγκου επιταχύνεται από αυξημένες πιέσεις. Η επίδραση της υπερυψηλής πίεσης στα ένζυμα δύναται να αποδοθεί στο γεγονός ότι η υπερυψηλή πίεση επηρεάζει τους δεσμούς υδρογόνου και μεταβάλλει την τρισδιάστατη διαμόρφωση των μορίων. Η επίδραση της υπερυψηλής πίεσης στην απενεργοποίηση των ενζύμων έχει καταδειχθεί ότι εξαρτάται ισχυρά από το είδος του ενζύμου, το *pH*, τη φύση του μέσου στο οποίο είναι διασκορπισμένα τα ένζυμα, τη θερμοκρασία και τον χρόνο επεξεργασίας. Η επίδραση της πίεσης στην ενεργότητα ενζύμων σημαντικών για την ποιότητα των τροφίμων, όπως οι φαινολάσες, οι πηκτινάσες και οι υπεροξειδάσες, έχουν μελετηθεί και αναφέρονται σε αρκετές δημοσιεύσεις (Alexandrakis, et al., 2014), (Katsaros, Giannoglou, & Taoukis, 2009), (Katsaros, Katapodis, & Taoukis, 2009), (Katsaros & Taoukis, 2015).

Καθώς η επεξεργασία των φρούτων έχει αποτελέσει, έως τώρα, την κύρια εφαρμογή της τεχνολογίας υπερυψηλής πίεσης, πολλές μελέτες της ενζυμικής απενεργοποίησης αφορούν στα ένζυμα τα οποία επηρεάζουν την ποιότητα των προϊόντων από φρούτα. Για παράδειγμα, η πολυφαινολοξειδάση έχει καταδειχθεί ότι ανθίσταται σε πιέσεις έως και 1200 MPa για 10 min, πριν απενεργοποιηθεί, ενώ είναι περισσότερο ευαίσθητη σε υψηλότερες τιμές *pH*. Η πηκτινεστεράση, στην οποίαν οφείλεται η αποσταθεροποίηση του νέφους που λαμβάνει χώρα στους χυμούς, η ζελατινοποίηση των συμπυκνωμάτων χυμών και η απώλεια σταθερότητας των

προϊόντων τομάτας, είναι λιγότερο ανθεκτική από την πολυφαινολοξειδάση. Η ενεργότητά της μειώνεται πάνω από τα 300 MPa και απενεργοποιείται πλήρως πάνω από τα 700 MPa (Fellows, 2000).

Η ευαισθησία στην πίεση των ενζύμων τα οποία σχετίζονται με την ποιότητα των τροφίμων ποικίλει· ορισμένα μπορεί να απενεργοποιούνται σε θερμοκρασία δωματίου από πιέσεις λίγων εκατοντάδων MPa, ενώ άλλα μπορούν να αντέξουν πιέσεις άνω των 1000 MPa, όπως η υπεροξειδάση στα μπιζέλια και η πηκτινομεθυλεστεράση στη φράουλα, οι οποίες μπορούν να αντέξουν τα 1200 MPa. Ακόμα, η ενεργότητα άλλων ενζύμων αυξάνεται με την υπερυψηλή πίεση. Η ενεργοποίηση ή απενεργοποίηση με την πίεση εξαρτάται, επίσης, από το *pH*, τη σύνθεση του υποστρώματος και τη θερμοκρασία. Η κατάσταση περιπλέκεται ακόμα περισσότερο από την επίδραση της υπερυψηλής πίεσης στις κυτταρικές μεμβράνες, οι οποίες, όταν διαρρηχθούν, μπορούν να επιτρέψουν αντιδράσεις μεταξύ των απελευθερούμενων ενδοκυτταρικών ενζύμων με τα υποστρώματά τους (Fellows, 2000). Αυτό το θέμα έχει εγερθεί από αρκετούς ερευνητές, οι οποίοι διεπίστωσαν ότι η μετουσίωση λόγω πίεσης και λόγω θέρμανσης αντιπροσωπεύει διεργασίες υποκείμενες σε διακριτούς μηχανισμούς (Katsaros & Taoukis, 2015).

Σε πολλές περιπτώσεις τροφίμων η ενζυμική ενεργότητα είναι ανεπιθύμητη, καθώς αποτελεί παράγοντα αλλοίωσης των τροφίμων. Ωστόσο, υπάρχουν περιπτώσεις στις οποίες η αυξημένη ενζυμική ενεργότητα είναι ζητούμενο. Η υπερυψηλή πίεση έχει βρεθεί ότι συμβάλλει στην αύξηση της ενεργότητας πολλών ενζύμων, μεταξύ αυτών και πολλών υδρολασών, όπως οι πρωτεάσες (Eisenmenger & Reyes-De-Corcuera, 2009). Για παράδειγμα, στην περίπτωση πήξης του τυριού, η υψηλή ενεργότητα των διαφόρων ενζύμων στην αρχική καλλιέργεια προκαλεί επιτάχυνση της πήξης και της ωρίμανσης του τυριού. Η επίδραση της υπερυψηλής πίεσης στην αρχική καλλιέργεια για την πήξη λευκού τυριού σε άλμη, τύπου φέτας, έχει μελετηθεί και έχει βρεθεί ότι η υπερυψηλή πίεση δρα ευεργετικά στα ένζυμα της αρχικής καλλιέργειας. Έχει βρεθεί ότι η πρωτεολυτική ενεργότητα σε αυτές τις καλλιέργειες αυξάνεται υπό την επίδραση υπερυψηλής πίεσης, προκαλώντας την επιτάχυνση της πήξης και της ωρίμανσης του τυριού (Giannoglou, et al., 2016).

3.3.3.3. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΣΤΑ ΑΜΥΛΑ ΚΑΙ ΣΤΙΣ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ

Η επεξεργασία με υπερυψηλή υδροστατική πίεση προκαλεί πολύπλοκες μεταβολές στη δομή και τη δραστηριότητα των βιοπολυμερών, όπως τα άμυλα και οι πρωτεΐνες. Στις πρωτεΐνες, η πίεση προκαλεί ξεδίπλωμα της μοριακής δομής και έπειτα συσσωμάτωση είτε με διαφορετικές πρωτεΐνες σε ένα τρόφιμο, είτε σε διαφορετική μορφή, οδηγώντας σε αλλαγές στην υφή του τροφίμου. Ο σχηματισμός πηκτής παρατηρείται σε μερικές πρωτεΐνες, όπως η αλβουμίνη σόγιας, κρέατος, ψαριού και αβγού. Συγκρινόμενες με τις πηκτές από θερμική επεξεργασία, οι πηκτές που παράγονται με την πίεση διατηρούν το φυσικό τους χρώμα και άρωμα, ενώ περιγράφονται ως λείες, γυαλιστερές, απαλές και με μεγαλύτερη ελαστικότητα (Fellows, 2000).

Η ζελατινοποίηση των αμύλων υπό πίεση διαφέρει σημαντικά από αυτήν που προκαλείται με θέρμανση, ενώ προσφέρουν μοναδικές λειτουργικές ιδιότητες, όπως ο σχηματισμός ασθενών πηκτών, οι οποίες θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως υποκατάστατο του λίπους σε διαιτητικά τρόφιμα. Οι πηκτές από πρωτεΐνες που έχουν υποστεί πίεση ανοίγουν τον δρόμο για τη δημιουργία υφών νέας γενιάς, καθώς διατηρούν το αρχικό τους άρωμα και χρώμα, συνοδευόμενο από μια γυαλιστερή εμφάνιση. Τέτοιες πηκτές μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην παραγωγή γαλακτοκομικών προϊόντων, για τη βελτίωση της υφής του γιαουρτιού ή για την αύξηση της απόδοσης των τυριών (Katsaros & Taoukis, 2015).

3.3.3.4. ΔΙΑΠΕΡΑΤΟΠΟΙΗΣΗ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΜΕ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗ ΠΙΕΣΗ

Οι βιομεμβράνες έχουν προσδιορισθεί ως η κύρια περιοχή στην οποία επιδρά η πίεση. Οι βιολογικές μεμβράνες έχουν μια κοινή βασική δομή, γνωστή ως «μοντέλο του ρευστού μωσαϊκού», το οποίο προτάθηκε από τους Singer και Nicolson το 1972. Η μεμβράνη αποτελείται από μια διπλή στιβάδα φωσφολιπιδίων με ενσωματωμένες λειτουργικές πρωτεΐνες, οι οποίες, μεταξύ άλλων, έχουν σημαντικό ρόλο στη μεταφορά ιόντων και άλλων ουσιών διά μέσου της μεμβράνης. Έχει παρατηρηθεί ότι η διπλή στιβάδα των λιπιδίων υφίσταται μεταβάσεις φάσεως υπό πίεση. Η φυσιολογική φάση αντιστοιχεί σε μια ρευστοκρυσταλλική φάση, στην οποία διαταράσσεται η διαμόρφωση των υδατανθρακικών αλυσίδων της διπλής στιβάδας των λιπιδίων, οι οποίες «λιώνουν». Η φάση γέλης αντιστοιχεί σε σχετικά διατεταγμένες και περισσότερο εκτεταμένες υδατανθρακικές αλυσίδες. Η μείωση της ρευστότητας των βιομεμβρανών, ως αποτέλεσμα της μετάβασης φάσεως, μπορεί να οδηγήσει στη διάρρηξη της μεμβράνης και στη μετουσίωση των συνδεδεμένων στη μεμβράνη πρωτεϊνών, προκαλώντας λειτουργικές διαταραχές σε αυτές τις πρωτεΐνες (San Martin, Barbosa-Cánovas, & Swanson, 2002).

Η διαπερατοποίηση των κυτταρικών μεμβρανών είναι μια λειτουργία-κλειδί των καινοτόμων τεχνολογιών, όπως η υπερυψηλή πίεση. Για την ποσοτικοποίηση της διαπερατοποίησης έχει αναπτυχθεί μια μέτρηση της κυτταρικής διάλυσης, βασισμένη στις σχετικές μεταβολές της ειδικής αγωγιμότητας του δείγματος. Η κινητική της διαπερατοποίησης των μεμβρανών σε ζωικά και φυτικά κύτταρα, καθώς και σε κύτταρα μαγιάς, έχουν εκτιμηθεί λεπτομερώς, ακολουθώντας την ανάπτυξη και την κατάρρευση του διαμεμβρανικού δυναμικού και με προσδιορισμό των χαρακτηριστικών διαπερατοποίησης κατά την διάρκεια και μετά την εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης.

Οι συνέπειες της διαπερατοποίησης των κυτταρικών μεμβρανών περιλαμβάνουν την επίδραση στις διεργασίες που σχετίζονται με τη μεταφορά θερμότητας και μάζας στα επεξεργασμένα συστήματα τροφίμων, επηρεάζοντας τη βιωσιμότητα, τη βιοσυνθετική δράση, όπως η αντίδραση στην εφαρμογή τάσης, καθώς και μεταβάλλοντας τις φυσικοχημικές ιδιότητες αυτών, όπως η υφή.

Βάσει δεδομένων από διαπερατοποίηση καλλιεργημένων βλαστικών κυττάρων με υπερυψηλή πίεση, έχει παρατηρηθεί ότι μέχρι τα 100 MPa διατηρείται η βιωσιμότητα των κυττάρων, ενώ μέχρι τα 150 – 175 MPa λαμβάνει χώρα μια αντιστρεπτή διαπερατοποίηση του τονοπλάστη. Πέρα από αυτές τις πιέσεις, έχει ταυτοποιηθεί η αναντιστρεπτή διαπερατοποίηση του τονοπλάστη και η διαπερατοποίηση της κυτταρικής

μεμβάνης, μέσω απελευθέρωσης των ενδοκυτταρικών υγρών, γεγονός το οποίο υποδεικνύει την αποδιαμερισματοποίηση των κυττάρων (Knorr, Heinz, Angerbach, & Lee, 2002).

Μερικά παραδείγματα των μεταβολών των βιομεμβρανών οι οποίες σχετίζονται με την υπερυψηλή πίεση είναι οι εξής:

- α) Διαλυτοποίηση και διαρροή ενδοκυτταρικών ουσιών από το κυτταρόπλασμα ζυμών, όπως αμινοξέα, σε πιέσεις μεγαλύτερες των 300 MPa, με μέγιστο τα 600 MPa, ισοδύναμο με θερμική επεξεργασία στους 100 °C για 5 min.
- β) Διαρροή μεταλλικών ιόντων K^+ , Ca^{2+} και Na^+ στα 300 MPa και Mn^{2+} και Zn^{2+} στα 400 MPa.
- γ) Διείσδυση εξωκυτταρικών ουσιών στο εσωτερικό κυττάρων και ιστών, για παράδειγμα διείσδυση $NaCl$ σε ιστό ραπανακίου σε διάλυμα $NaCl$ 0,5 %, στα 400 MPa για 10 min (San Martin, Barbosa-Cánovas, & Swanson, 2002).

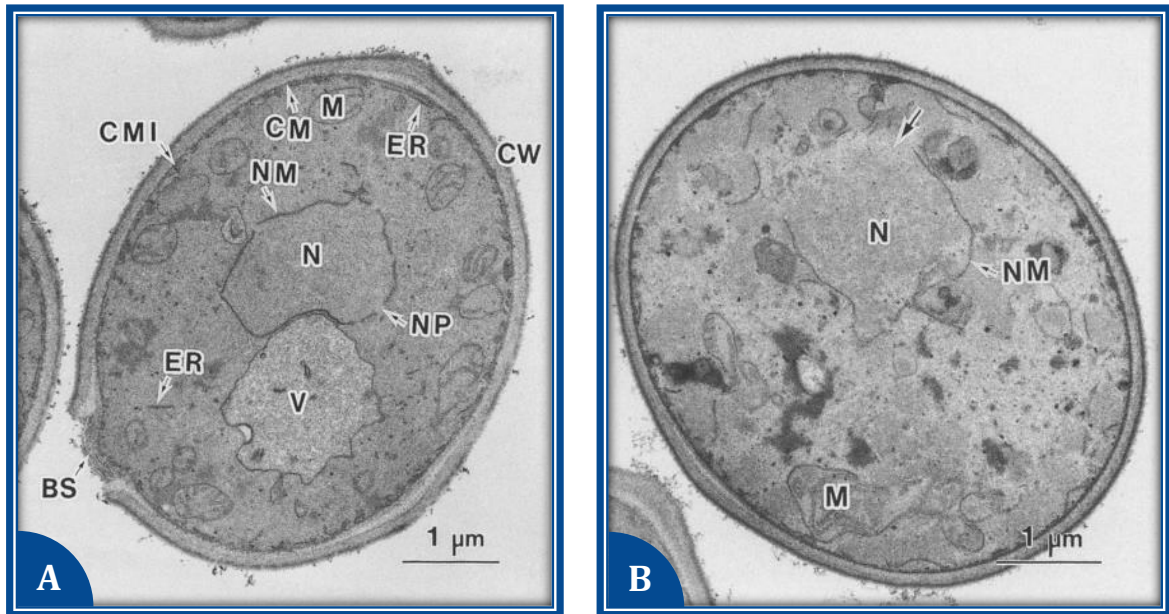
Όσον αφορά στη ζύμη *Saccharomyces cerevisiae* (μαγιά αρτοποιίας), έχει βρεθεί ότι η εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης προκαλεί δομικές μεταβολές στα κύτταρα, προκαλώντας την απενεργοποίησή τους. Η εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης σε κύτταρα ζύμης *Saccharomyces cerevisiae* προκαλεί, σε χαμηλά επίπεδα πιέσεων, έως τα 400 MPa, διάρρηξη των ενδοκυτταρικών οργανιδίων, όπως τα κενοτόπια, με αποτέλεσμα την απελευθέρωση των πρωτεολυτικών ενζύμων τα οποία ευρίσκονται στο εσωτερικό τους. Σε υψηλότερα επίπεδα πιέσεων, προκαλείται διάρρηξη του κυτταρικού τοιχώματος, με αποτέλεσμα τη διαπερατοποίηση αυτού και τη διαρροή διαφόρων ενδοκυτταρικών ουσιών, όπως μεταλλικά ιόντα, σάκχαρα, αμινοξέα και ολιγοπεπτίδια, στο εξωκυτταρικό περιβάλλον (Shimanda, et al., 1993), (Marx, Moody, & Bermúdez-Aguirre, 2011).

Μερικές προτεινόμενες εφαρμογές στη μεταβολή της διαπερατότητας των μεμβρανών σε ιστούς φρούτων αφορούν στην ενίσχυση των φαινομένων μεταφοράς κατά την ωσμωτική αφυδάτωση ή στη ρευστοποιημένη κλίνη, όταν συνδυάζεται με ψύξη (San Martin, Barbosa-Cánovas, & Swanson, 2002).

3.3.3.5. ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΣΤΗΝ ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΟΥΣΙΩΝ ΑΠΟ ΤΡΟΦΙΜΑ

Απότοκο της διαπερατοποίησης των κυττάρων και, εν γένει, των φυτικών ιστών υπό την επίδραση υπερυψηλής πίεσης είναι η εκχύλιση διαφόρων ουσιών από τους φυτικούς ιστούς, οι οποίες παρουσιάζουν έντονο βιομηχανικό ενδιαφέρον. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αυτής της εφαρμογής αποτελεί η χρήση υπερυψηλής πίεσης για την αύξηση του βαθμού απόδοσης κατά την εκχύλιση παρθένου ελαιολάδου από ελιές. Έχει δειχθεί ότι η επεξεργασία της ελιάς με υπερυψηλή πίεση ενισχύει σημαντικά την εκχύλιση ελαιολάδου από τους καρπούς, αυξάνοντας τον βαθμό απόδοσης κατά 2,44 % έπειτα από επεξεργασία της ελιάς στα 600 MPa για 5 min σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (Andreou, et al., 2017).

Άλλο παράδειγμα εφαρμογής της υπερυψηλής πίεσης για την εκχύλιση ουσιών από φυτικούς ιστούς αποτελεί η εκχύλιση καφεΐνης από φύλλα πράσινου τσαγιού. Έχει βρεθεί ότι η επεξεργασία του τσαγιού με υπερυψηλή πίεση αυξάνει σημαντικά τον βαθμό απόδοσης της εκχύλισης, από 0,27 % στην περίπτωση του ανεπεξέργαστου τσαγιού, σε



ΕΙΚΟΝΑ E.3.3

Εικόνες μικροσκοπίας ηλεκτρονιακής διελεύσεως (TEM) κυττάρων Saccharomyces cerevisiae. Η εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης προκαλεί καταστροφή των ενδοκυτταρικών οργανιδίων.

A: Ανεπεξέργαστο κύτταρο

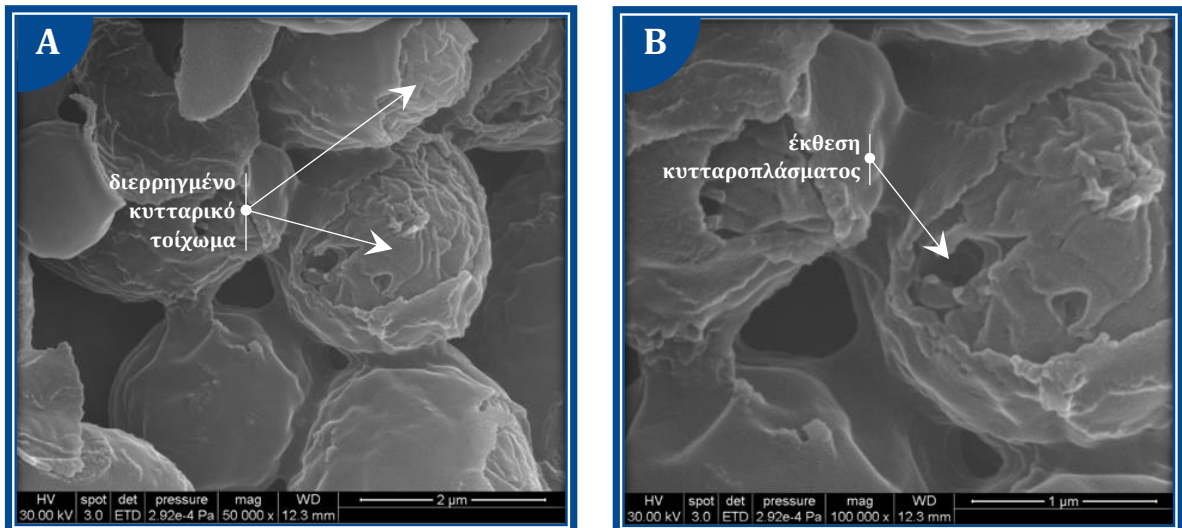
B: Κύτταρο επεξεργασμένο με υπερυψηλή πίεση στα 400 MPa για 10 min.

CM: κυτταρική μεμβράνη, CMI: αναδίπλωση κυτταρικής μεμβράνης, CW: κυτταρικό τοίχωμα,

ER: ενδοπλασματικό δίκτυο, M: μιτοχόνδριο, N: πυρήνας, NM: πυρηνική μεμβράνη,

NP: πόρος πυρηνικής μεμβράνης, V: κενοτόπιο.

(Shimanda, et al., 1993)



ΕΙΚΟΝΑ E.3.4

Εικόνες μικροσκοπίας ηλεκτρονιακής διελεύσεως (TEM) κυττάρων Saccharomyces cerevisiae, επεξεργασμένων με υπερυψηλή πίεση στα 600 MPa για 7 min, στους 21 °C.

A: Μεγέθυνση 50 K. Διάρρηξη κυτταρικού τοιχώματος.

B: Μεγέθυνση 100 K. Διαρροή κυτταροπλάσματος.

(Marx, Moody, & Bermúdez-Aguirre, 2011)

4 % στην περίπτωση τσαγιού επεξεργασμένου με υπερυψηλή πίεση στα 600 MPa για 5 min, χρησιμοποιώντας την ίδια μέθοδο εκχύλισης με οργανικό διαλύτη και στις δύο περιπτώσεις. Επίσης, η επεξεργασία του τσαγιού με υπερυψηλή πίεση μειώνει σημαντικά τον χρόνο που απαιτείται για να πραγματοποιηθεί η εκχύλιση, από 20 h στην περίπτωση του ανεπεξέργαστου τσαγιού σε μόλις 1 min στην περίπτωση τσαγιού επεξεργασμένου με υπερυψηλή πίεση στα 500 MPa για 1 min, σε θερμοκρασία δωματίου (Jun, 2009).

3.3.3.6. ΑΛΛΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ

Μέχρι στιγμής, είναι γνωστό ότι οι υπερυψηλές πιέσεις επηρεάζουν μόνον τους μη ομοιοπολικούς χημικούς δεσμούς (π.χ. ιοντικούς δεσμούς, δεσμούς υδρογόνου και υδροφοβικούς δεσμούς), αφήνοντας ανέπαφους τους ομοιοπολικούς δεσμούς. Αυτό επιτρέπει την καταστροφή της μικροβιακής δραστηριότητας, χωρίς σημαντική επίδραση στα μόρια του τροφίμου, τα οποία ευθύνονται για την υφή ή το άρωμά του. Καθώς αυτή η διεργασία μπορεί να διεξαχθεί σε θερμοκρασίες περιβάλλοντος ή ακόμα και υπό ψύξη, υφίσταται μικρή ζημιά λόγω θερμότητας στα θρεπτικά συστατικά ή στα φυσικά αρώματα και τις χρωστικές, οδηγώντας σε προϊόντα υψηλής ποιότητας. Επιπλέον, η διεργασία δεν απαιτεί τη χρήση χημικών συντηρητικών για την επίτευξη ενός ικανοποιητικού χρόνου ζωής των επεξεργασμένων προϊόντων (Fellows, 2000).

Εκτός από την εφαρμογή της υπερυψηλής πίεσης ως μια τεχνική μη θερμικής παστερίωσης, υπάρχουν και άλλες πιθανές εφαρμογές. Η διεργασία της υπερυψηλής πίεσης, κυμαινόμενη από 200 MPa έως 350 MPa, μπορεί να μετουσιώνει πρωτεΐνες από τον προσαγωγό μυ μαλακίων, όπως τα στρείδια και τα μύδια. Ο επεξεργασμένος μύς, ο οποίος ευθύνεται για το κλείσιμο του οστράκου, δεν δύναται να συσταλεί και το στρείδι ανοίγει. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την έκθεση του μαλακίου και την εύκολη εξαγωγή του από το όστρακο, οδηγώντας σε σημαντική αύξηση της απόδοσης. Άλλη μια πιθανή εφαρμογή της υπερυψηλής πίεσης εντοπίζεται στην επιτάχυνση της ωρίμανσης των τυριών, η οποία επιτυγχάνεται με αύξηση της ενεργότητας της αμινοπεπτιδάσης που είναι υπεύθυνη για την διεργασία της ωρίμανσης (Giannoglou, et al., 2016), (Katsaros & Taoukis, 2015).

Μια άλλη πιθανή εφαρμογή της επεξεργασίας με υπερυψηλή πίεση εντοπίζεται στην τρυφεροποίηση του κρέατος. Η επεξεργασία στα 103 MPa και στους 40 – 60 °C για 2,5 min βελτιώνει τη διατροφική ποιότητα του κρέατος και μειώνει τις απώλειες του μαγειρέματος. Ο βαθμός τρυφεροποίησης εξαρτάται από τρεις παράγοντες: πίεση, θερμοκρασία και χρόνος πίεσης.

Άλλες εφαρμογές της υπερυψηλής πίεσης περιλαμβάνουν τη σκλήρυνση της σοκολάτας, όπου η υπερυψηλή πίεση μετατρέπει το βούτυρο κακάο σε σταθερή κρυσταλλική μορφή, τη συντήρηση του μελιού και άλλων ιξωδών ρευστών, ιχθυερών και γαλακτοκομικών προϊόντων, όπως το μη παστεριωμένο γάλα και το ωριμασμένο με μούχλα τυρί (Fellows, 2000).

3.3.4. ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΤΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΜΕ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗ ΠΙΕΣΗ ΕΝΑΝΤΙ ΑΛΛΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ ΘΕΡΜΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΗ ΘΕΡΜΙΚΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ

Η ομοιόμορφη εφαρμογή της υπερυψηλής πίεσης σε όλα τα μέρη ενός τροφίμου, ανεξαρτήτως μεγέθους ή σχήματος, είναι ένα σημαντικό πλεονέκτημα έναντι άλλων μεθόδων επεξεργασίας, επειδή το τρόφιμο επεξεργάζεται εξίσου σε όλη την έκτασή του. Αυτό υπερβαίνει προβλήματα έλλειψης ομοιομορφίας στην επεξεργασία, τα οποία εντοπίζονται, για παράδειγμα, στη θέρμανση δι' αγωγής ή διά συναγωγής, στα μικροκύματα και στη διηλεκτρική θέρμανση ή τη θέρμανση με ακτινοβολία (Fellows, 2000).

Η επεξεργασία με πίεση μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την κατεργασία τόσο υγρών, όσο και στερεών τροφίμων, υψηλής περιεκτικότητας σε υγρασία. Η υπερυψηλή πίεση έχει μικρή επίδραση στις χημικές ενώσεις και στην ποιότητα των τροφίμων. Η επεξεργασία με πίεση μπορεί, επίσης, να χρησιμοποιηθεί για τη μεταβολή των λειτουργικών και οργανοληπτικών χαρακτηριστικών ποικίλων συστατικών των τροφίμων, ειδικά τις πρωτεΐνες, επιτρέποντας σε αυτές να υποστούν ωφέλιμη μεταβολή. Η υπερυψηλή πίεση έχει μικρή επίδραση σε χαμηλού μοριακού βάρους ενώσεις, όπως οι ενώσεις που δίδουν άρωμα, οι βιταμίνες και οι χρωστικές, σε σύγκριση με τις θερμικές μεθόδους επεξεργασίας (Katsaros & Taoukis, 2015).

Η επεξεργασία με υπερυψηλή πίεση δεν έχει καθόλου διαστήματα θέρμανσης ή ψύξης και οι κύκλοι συμπίεσης-εκτόνωσης είναι ταχείς, μειώνοντας, έτσι, τον χρόνο της διεργασίας, συγκριτικά με τις μεθόδους θερμικής επεξεργασίας. Είναι πιθανό ότι η επεξεργασία με υπερυψηλή πίεση θα καταστεί ικανή να χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με άλλες μορφές επεξεργασίας, επεκτείνοντας, έτσι, τις λειτουργίες μονάδων οι οποίες είναι διαθέσιμες σε επεξεργαστές τροφίμων, οδηγώντας στην ανάπτυξη νέων προϊόντων και διεργασιών (Fellows, 2000).

3.3.5. ΕΝΕΡΓΕΙΑΚΗ ΑΠΟΔΟΣΗ ΚΑΙ ΕΞΟΙΚΟΝΟΜΗΣΗ ΝΕΡΟΥ

Η παστερίωση με υπερυψηλή πίεση, εκτός από τη διατήρηση των χαρακτηριστικών φρεσκάδας των τροφίμων καλύτερα από τις συνήθως χρησιμοποιούμενες θερμικές μεθόδους επεξεργασίας, είναι και φιλική προς το περιβάλλον. Μια διεργασία υπερυψηλής πίεσης απαιτεί ενέργεια για την αύξηση της πίεσης, ενώ μέρος της καταναλισκόμενης ενέργειας μετατρέπεται σε θερμότητα για την αύξηση της θερμοκρασίας, λόγω της συμπίεσης. Θεωρητικά, το έργο συμπίεσης και η ενέργεια που απαιτούνται για την αύξηση της θερμοκρασίας, λόγω της συμπίεσης, είναι, περίπου, $52 \frac{\text{KJ}}{\text{Kg}}$ και $70 \frac{\text{KJ}}{\text{Kg}}$ αντίστοιχα, για τη συμπίεση καθαρού νερού μέχρι τα 600 MPa. Επιπροσθέτως, θα πρέπει να σημειωθεί ότι η παστερίωση με υπερυψηλή πίεση δεν απαιτεί διεργασία ψύξεως και η αποσυμπίεση μειώνει τη θερμοκρασία του προϊόντος. Η θεωρητική ολική ενέργεια σε μια διεργασία υπερυψηλής πίεσης στα 600 MPa για το καθαρό νερό είναι, περίπου, $122 \frac{\text{KJ}}{\text{Kg}}$. Κατά την διάρκεια της διεργασίας της υπερυψηλής πίεσης, ως μέσον

μετάδοσης της πίεσης χρησιμοποιείται, συνήθως, νερό. Αυτό το νερό ανακυκλώνεται, καθώς δεν έρχεται σε επαφή με το τρόφιμο (επεξεργασία με υπερυψηλή πίεση σε συσκευασμένα προϊόντα), επιτρέποντας την ελαχιστοποίηση στην κατανάλωση νερού. Παρόλο που ο εξοπλισμός της υπερυψηλής πίεσης θεωρείται, γενικά, περισσότερο ακριβός από τα συμβατικά συστήματα επεξεργασίας και συσκευασίας, μια εξοικονόμηση σημαντικού ενεργειακού κόστους μπορεί να συσσωρευθεί με την πάροδο του χρόνου, χρησιμοποιώντας την υπερυψηλή πίεση έναντι των υψηλών θερμοκρασιών (Katsaros & Taoukis, 2015).

3.3.6. ΝΟΜΙΚΗ ΕΓΚΡΙΣΗ

Στην Ευρώπη, η υπερυψηλή πίεση ταξινομείται στις καινοτόμες τεχνολογίες, καθώς δεν εχρησιμοποιείτο σε σημαντικό βαθμό στην ευρωπαϊκή βιομηχανία τροφίμων πριν τη 15^η Μαΐου 1997. Τρόφιμα επεξεργασμένα με υπερυψηλή πίεση μπορούν να αναγνωρίζονται ως καινοτόμα τρόφιμα και, συνεπώς, να υπόκεινται στον Κανονισμό Καινοτόμων Τροφίμων (*Novel Food Regulation, NFR*), όταν λαμβάνει χώρα σημαντική μεταβολή σε αυτά τα τρόφιμα. Το έτος 2000, τα επεξεργασμένα με υπερυψηλή πίεση παρασκευάσματα με βάση τα φρούτα εγκρίθηκαν υπό τον Κανονισμό Καινοτόμων Τροφίμων από την Ευρωπαϊκή Επιτροπή. Επί του παρόντος, πολλά διαφορετικά προϊόντα τροφίμων επεξεργασμένα με υπερυψηλή πίεση είναι διαθέσιμα στην αγορά της Ευρωπαϊκής Ένωσης, παρόλο που δεν έχουν ακόμα εγκριθεί υπό τον Κανονισμό Καινοτόμων Τροφίμων. Οι αρμόδιες αρχές των κρατών-μελών της Ευρωπαϊκής Ένωσης συμφώνησαν, τον Ιούλιο του 2001, ότι οι εθνικές αρχές θα πρέπει να αποφασίσουν για το νομικό καθεστώς των επεξεργασμένων με υπερυψηλή πίεση προϊόντων τροφίμων. Η Ευρωπαϊκή Επιτροπή κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η υπερυψηλή πίεση δεν συγκαταλέγεται, πλέον, στις καινοτόμες διεργασίες. Ωστόσο, κάποια κράτη-μέλη της Ευρωπαϊκής Ένωσης εξέφρασαν την ανησυχία ότι τα επεξεργασμένα με υπερυψηλή πίεση τρόφιμα θα πρέπει να εκτιμηθούν περαιτέρω για την ασφάλειά τους και υποστήριξαν ότι τα δεδομένα τα οποία απαιτούνται για μια εκτίμηση θα πρέπει να καθορισθούν κατά περίπτωση. Η προσέγγιση αναφορικά με τα επεξεργασμένα με υπερυψηλή πίεση τρόφιμα στην Ευρωπαϊκή Ένωση διαφέρει σημαντικά ανάμεσα στα κράτη-μέλη και αυτό έχει αντίκτυπο στην εφαρμογή της υπερυψηλής πίεσης. Επίσης, υφίσταται το περιθώριο για διαφορετικές ερμηνείες του Κανονισμού Καινοτόμων Τροφίμων, καθώς οι ορολογίες «σημαντικός βαθμός» και «σημαντική αλλαγή» του κανονισμού φαίνεται να είναι ασαφείς και αόριστοι. Το 2008, η Ευρωπαϊκή Επιτροπή δημοσίευσε μια Πρόταση για έναν Νέο Κανονισμό Καινοτόμων Τροφίμων. Ωστόσο, σύμφωνα με την πλειονότητα των ειδημόνων, η Πρόταση δεν μετέβαλε το καθεστώς εφαρμογής της υπερυψηλής πίεσης στην Ευρωπαϊκή Ένωση.

Όσον αφορά στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής, το Υπουργείο Γεωργίας των Ηνωμένων Πολιτειών της Αμερικής (*United States Department of Agriculture, USDA*) έχει εγκρίνει την υπερυψηλή πίεση ως μια παρεμβατική μέθοδο για προσυσκευασμένα, έτοιμα προς κατανάλωση προϊόντα κρέατος, ενώ η Διεύθυνση Τροφίμων και Φαρμάκων των Ηνωμένων Πολιτειών της Αμερικής (*United States Food and Drug Administration*) έχει αποδεχθεί την εμπορική χρήση διεργασιών θερμικής αποστείρωσης υποβοηθούμενης με

πίεση (*Pressure-Assisted Thermal Sterilization, PATS*) για εφαρμογή στην παραγωγή τροφίμων με χαμηλή οξύτητα (*Low-Acid Foods, LAFs*) (Φεβρουάριος 2009) (Katsaros & Taoukis, 2015).

3.3.7. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΣΤΗ ΔΙΕΡΓΑΣΙΑ ΤΗΣ ΑΥΤΟΛΥΣΗΣ ΜΑΓΙΑΣ ΑΡΤΟΠΟΙΙΑΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΛΑΒΗ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ

Εν κατακλείδι, αξίζει να σημειωθεί ότι στη βιβλιογραφία δεν υπάρχουν αναφορές σχετικά με την εφαρμογή της υπερυψηλής πίεσης σε μαγιά και τη μελέτη της επίδρασης αυτής στη διεργασία της αυτόλυσης για την παραλαβή εκχυλίσματος μαγιάς. Ωστόσο, όπως προκύπτει από τα προηγούμενα, υπάρχουν πολυάριθμες ενδείξεις ότι η υπερυψηλή πίεση θα μπορούσε να έχει ευεργετικά αποτελέσματα στη διεργασία της αυτόλυσης. Καθώς, όπως προαναφέρθη, έχει δειχθεί ότι η εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης ενισχύει την ενεργότητα διαφόρων πρωτεολυτικών ενζύμων (Eisenmenger & Reyes-De-Corcuera, 2009), (Giannoglou, et al., 2016) και δεδομένου ότι τα πρωτεολυτικά ένζυμα διαδραματίζουν κυρίαρχο ρόλο στη διεργασία της αυτόλυσης των κυττάρων της μαγιάς (Běhalová & Beran, 1979), (Reed & Nagodawithana, 1991), αναμένεται ότι η εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης στα κύτταρα μαγιάς αρτοποιίας θα έχει σημαντική επίδραση στην παραλαβή εκχυλίσματος μαγιάς από αυτά, μέσω της διεργασίας της αυτόλυσης.

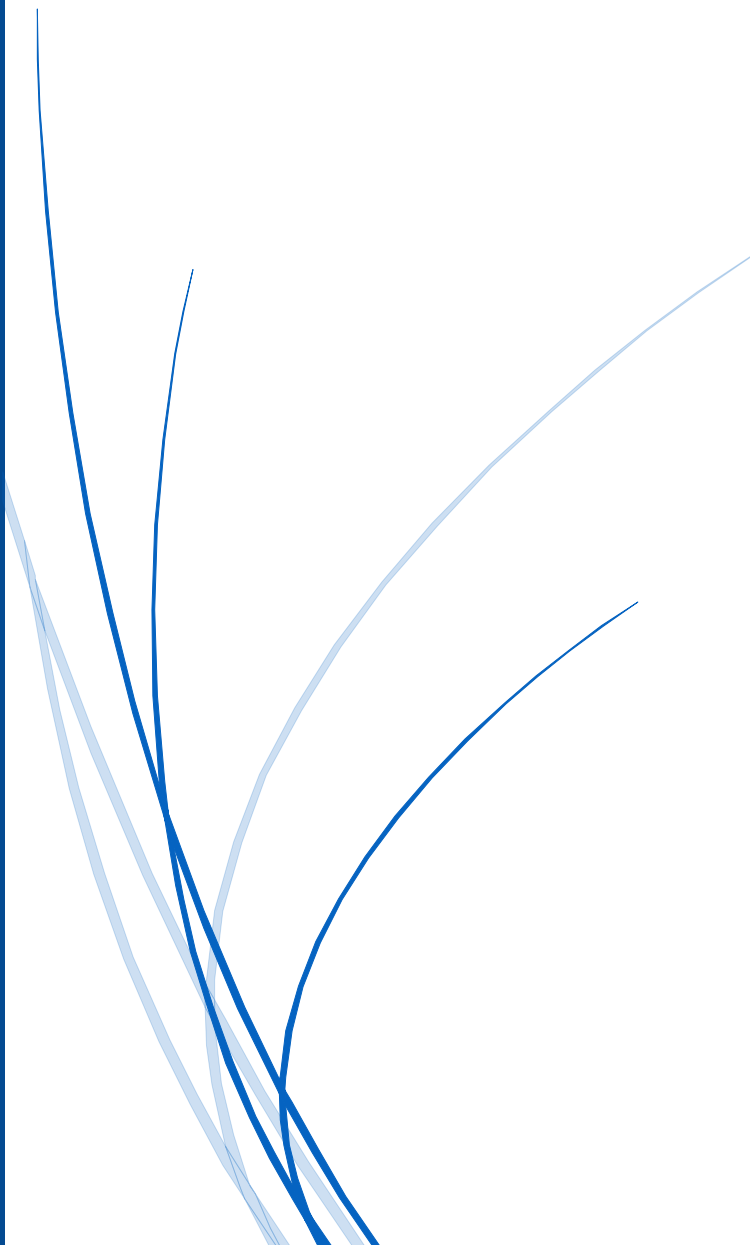
Επιπλέον, η παραλαβή ενός εκχυλίσματος μαγιάς με ανώτερα χαρακτηριστικά και, ταυτόχρονα, η μείωση του απαιτούμενου χρόνου της διεργασίας της αυτόλυσης, άρα και της δαπανώμενης ενέργειας, εξαρτάται από τον βαθμό απόδοσης της εκχύλισης εκείνων των ενδοκυτταρικών ουσιών, οι οποίες προσδίδουν στο εκχύλισμα μαγιάς τα αρωματικά χαρακτηριστικά του ενισχυτικού γεύσης. Οι εκχυλιζόμενες αυτές ουσίες είναι διάφορα αμινοξέα, κυρίως το γλουταμινικό οξύ (Reed & Nagodawithana, 1991). Έτσι, η διαπιστωμένη διαπερατοποίηση των κυττάρων της μαγιάς (*Saccharomyces cerevisiae*) υπό την επίδραση της υπερυψηλής πίεσης (Shimanda, et al., 1993), (Marx, Moody, & Bermúdez-Aguirre, 2011), σε συνδυασμό με δεδομένα τα οποία καταδεικνύουν ότι η διεργασία υπερυψηλής πίεσης αυξάνει τον βαθμό απόδοσης της εκχύλισης διαφόρων ουσιών από φυτικούς ιστούς (Jun, 2009), (Andreou, et al., 2017), αναμένεται να επιδράσει έτι περαιτέρω θετικά στη διεργασία της αυτόλυσης, αυξάνοντας την απόδοση σε εκχύλισμα μαγιάς και μειώνοντας, ταυτόχρονα, τον απαιτούμενο χρόνο ολοκλήρωσης της αυτόλυσης των κυττάρων της μαγιάς.

Όλα τα παραπάνω συνέτειναν στην ενασχόληση αναφορικά με την επίδραση της επεξεργασίας της μαγιάς αρτοποιίας με υπερυψηλή πίεση στη διεργασία της αυτόλυσης και στα χαρακτηριστικά του εκχυλίσματος μαγιάς το οποίο παραλαμβάνεται από τη διεργασία αυτήν. Οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν και τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης παρατίθενται στα επόμενα κεφάλαια.



ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ



4. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

4.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Στην παρούσα διπλωματική εργασία μελετήθηκε η επίδραση της υπερυψηλής πίεσης στην παραλαβή κυτταρικών προϊόντων από μαγιά αρτοποιίας. Πιο συγκεκριμένα, μελετήθηκε η επίδραση της υπερυψηλής πίεσης στην ενεργότητα των πρωτεολυτικών ενζύμων που περιέχονται στα κύτταρα της μαγιάς. Επιπλέον, μελετήθηκε το αποτέλεσμα της εφαρμογής υπερυψηλής πίεσης στη διεργασία της αυτόλυσης των κυττάρων της μαγιάς και στα χαρακτηριστικά του εκχυλίσματος μαγιάς που παραλαμβάνεται από τη διεργασία αυτή. Τα χαρακτηριστικά του εκχυλίσματος μαγιάς που μελετήθηκαν, τόσο πριν όσο και κατόπιν εφαρμογής της υψηλής πίεσης στα κύτταρα της μαγιάς, ήταν η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες, αμινοξέα και υδατάνθρακες, το στερεό υπόλειμμα, τα ολικά διαλυτά στερεά ($^{\circ}\text{Bx}$) και το χρώμα, εκπεφρασμένο στην κλίμακα CIE-Lab. Τα χαρακτηριστικά αυτά αποτελούν τα κυριότερα στοιχεία του εκχυλίσματος μαγιάς, τα οποία εξετάζονται στην πλειονότητα των βιβλιογραφικών πηγών. Το εύρος πίεσης που εφαρμόστηκε στην παρούσα μελέτη εκτείνεται από τα 200 MPa έως τα 750 MPa, για διάφορα χρονικά διαστήματα (0 – 120 min), ενώ η θερμοκρασία εφαρμογής της πίεσης ήταν αυτή του περιβάλλοντος (25 °C).

Όλες οι πειραματικές διαδικασίες πραγματοποιήθηκαν στο Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσοβίου Πολυτεχνείου, με εξαίρεση αυτή της επεξεργασίας με υπερυψηλή πίεση (ενότητα 4.4) η οποία πραγματοποιήθηκε στη μονάδα υπερυψηλής πίεσης η οποία είναι εγκατεστημένη στο Ινστιτούτο Τεχνολογίας Αγροτικών Προϊόντων του Ελληνικού Γεωργικού Οργανισμού «ΔΗΜΗΤΡΑ» (πρώην Εθνικό Ίδρυμα Αγροτικής Έρευνας, ΕΘ.Ι.Αγ.Ε.) στη Λυκόβρυση Αττικής, μονάδα η οποία ανήκει από κοινού στο Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων του Ε.Μ.Π. και στο Ινστιτούτο Τεχνολογίας Αγροτικών Προϊόντων.

4.2. ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΑΙΩΡΗΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ 10 % W/W



ΕΙΚΟΝΑ Ε.4.1
Παρασκευή
αιωρήματος μαγιάς
10 % W/W .

Για τη διεξαγωγή της όλης μελέτης γύρω από τα κύτταρα της μαγιάς παρασκευάστηκε αιώρημα μαγιάς 10 % W/W , με τη διαδικασία που περιγράφεται παρακάτω, η οποία πραγματοποιήθηκε σε στείρες συνθήκες, εντός θαλάμου στρωτής ροής. Η μαγιά αρτοποιίας που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα εργασία ήταν αυτή της βιομηχανίας ΓΙΩΤΗΣ (ΓΙΩΤΗΣ Α. Ε., Περιστέρι, Αττική, Ελλάδα).

Σε αποστειρωμένο απιονισμένο νερό, θερμοκρασίας 40 °C, εντός αποστειρωμένης κωνικής φιάλης, προσετέθη, υπό συνεχή ανάδευση, ξηρή μαγιά, σε σταθμική αναλογία $\frac{\text{ξηρή μαγιά}}{\text{απιονισμένο νερό}} = \frac{1}{9}$, οπότε προέκυψε αιώρημα μαγιάς 10 % W/W . Το αιώρημα αφέθηκε να αναδευθεί έντονα για 40 min χωρίς να πωματισθεί η κωνική φιάλη, προκειμένου τα κύτταρα να ενυδατωθούν πλήρως.

4.3. ΔΙΑΛΥΜΑ ΠΡΩΤΕΟΛΥΤΙΚΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ

Για τη μελέτη της συνολικής πρωτεολυτικής ενεργότητας που περιέχεται στα κύτταρα μαγιάς, το αιώρημα μαγιάς 10 % W/W υπέστη επεξεργασία σε ομογενοποιητή υψηλής πίεσης SPX APV 1000 (SPX Corporation, Charlotte, North Carolina, United States of America) στα 800 bar. Το αιώρημα μαγιάς διήλθε 4 φορές από τον ομογενοποιητή, προκειμένου να επιτευχθεί πλήρης διάρρηξη των κυττάρων και απελευθέρωση των πρωτεολυτικών ενζύμων. Η θερμοκρασία του αιωρήματος καθ' όλη τη διάρκεια της διεργασίας δεν ξεπέρασε τους 30°C. Κατόπιν, το αιώρημα φυγοκεντρήθηκε για 10 min με φυγόκεντρο επιτάχυνση ίση με $6500 \cdot g$, όπου g η επιτάχυνση της βαρύτητας, με τη βοήθεια μιας φυγοκέντρου Thermo Scientific™ Heareus™ Megafuge™ 16R (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, United States of America). Έτσι, παρελήφθη το υπερκείμενο υγρό, στο οποίο ήταν, μεταξύ άλλων, διαλυμένα τα πρωτεολυτικά ένζυμα της μαγιάς. Το εναπομείναν ίζημα απερρίφθη.



ΕΙΚΟΝΑ Ε.4.2
Ομογενοποιητής υψηλής πίεσης SPX APV 1000. (SPX APV Lab Series Homogenisers, 2012)

4.4. ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗ ΠΙΕΣΗ

4.4.1. ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΗΣ ΜΟΝΑΔΑΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ

Για τη διεξαγωγή των κινητικών πειραμάτων με υπερυψηλή πίεση χρησιμοποιήθηκε η μονάδα Resato Food Pressure Unit FPU 1.01 (Resato International B.V., Assen, Netherlands), η οποία αποτελεί συνιδιοκτησία της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσοβίου Πολυτεχνείου και του Ινστιτούτου Τεχνολογίας Αγροτικών Προϊόντων του Ελληνικού Γεωργικού Οργανισμού «ΔΗΜΗΤΡΑ» (πρώην Εθνικό Ίδρυμα Αγροτικής Έρευνας, Εθ.Ι.Αγ.Ε.). Ο εξοπλισμός της μονάδας υπερυψηλής πίεσης περιλαμβάνει ένα σύστημα υπερυψηλής πίεσης συνδεδεμένη με δύο θαλάμους δοχείων πίεσης.

Ο πρώτος θάλαμος περιλαμβάνει μια συστοιχία 6 κυλινδρικών δοχείων πίεσεως όγκου 42 mL, τα οποία φέρουν πνευματικές βαλβίδες στις συνδέσεις με το σύστημα υπερυψηλής πίεσης και μπορούν να λειτουργήσουν ανεξάρτητα. Η συστοιχία αυτή χρησιμοποιείται για τη διεξαγωγή κινητικών πειραμάτων σε συνθήκες υπερυψηλής πίεσης σε μικρές ποσότητες δειγμάτων. Ο δεύτερος θάλαμος περιλαμβάνει ένα κυλινδρικό δοχείο πίεσεως όγκου 1,5 L, το οποίο φέρει πνευματική βαλβίδα στη σύνδεσή του με το σύστημα υπερυψηλής πίεσης. Το δοχείο αυτό χρησιμοποιείται για την επεξεργασία μεγαλύτερων ποσοτήτων προϊόντων.

Όλα τα δοχεία πίεσεως φέρουν μανδύα νερού θέρμανσης και θερμομονωτικό περίβλημα από πολυτετραφθοροαιθυλένιο (Teflon), ενώ σφραγίζονται με πώματα τα

οποία φέρουν σπείρωμα και θερμοστοιχείο. Το σύστημα υπερυψηλής πίεσης μπορεί να δημιουργήσει πίεση έως και 1000 MPa, ενώ μπορεί να λειτουργήσει σε θερμοκρασίες από $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ έως $100\text{ }^{\circ}\text{C}$. Το μέσον μεταφοράς της πίεσης του συστήματος είναι πολυαιθυλενογλυκόλη (*polyglycol, ISO viscosity class VG 15*).

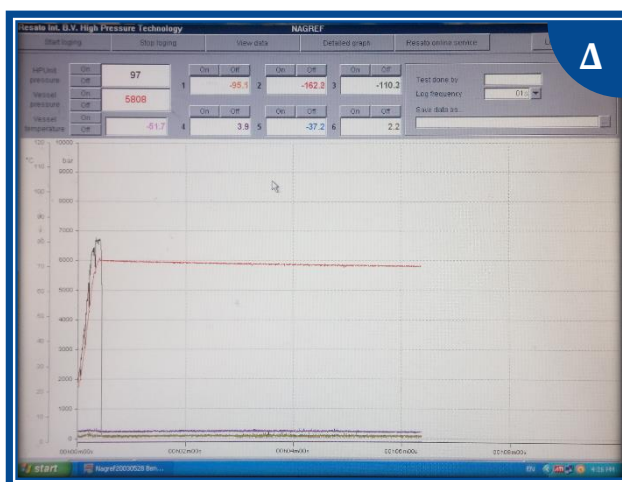
Ο έλεγχος της πίεσης του συστήματος πραγματοποιείται από πίνακα ελέγχου, ενσωματωμένο στο σύστημα πίεσης, ενώ η πίεση στην όλη μονάδα καταγράφεται σε ηλεκτρονικό υπολογιστή, μέσω κατάλληλου λογισμικού το οποίο συνοδεύει τη μονάδα υπερυψηλής πίεσης. Ο ρυθμός αύξησης της πίεσης είναι, περίπου, $15 \frac{\text{MPa}}{\text{s}}$, ενώ ο χρόνος εκτόνωσης δεν υπερβαίνει τα 3 s.

Ο έλεγχος της θερμοκρασίας γίνεται μέσω ανεξάρτητου κυκλώματος θερμού νερού, το οποίο θερμαίνεται σε υδατόλουτρο. Το νερό κυκλοφορεί στο εσωτερικό των μανδυνών που περιβάλλουν τα δοχεία πίεσεως, με τη βοήθεια φυγοκέντρου αντλίας. Το πώμα κάθε δοχείου πίεσεως φέρει, όπως προαναφέρθη, θερμοστοιχείο, το οποίο συνδέεται σε ηλεκτρονικό υπολογιστή. Η καταγραφή της θερμοκρασίας γίνεται μέσω του λογισμικού που συνοδεύει την μονάδα υπερυψηλής πίεσης.

4.4.2. ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΤΟΥ ΔΙΑΛΥΜΑΤΟΣ ΠΡΩΤΕΟΛΥΤΙΚΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ ΚΑΙ ΤΟΥ ΑΙΩΡΗΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ 10 % W/W ΜΕ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗ ΠΙΕΣΗ

Για τη μελέτη της επίδρασης της υπερυψηλής πίεσης τόσο στην ενεργότητα των πρωτεολυτικών ενζύμων, όσο και στη διεργασία της αυτόλυσης των κυττάρων της μαγιάς και στα χαρακτηριστικά του εκχυλίσματος μαγιάς που παραλαμβάνεται από τη διεργασία αυτή, το ως άνω παρεσκευασθέν διάλυμα πρωτεολυτικών ενζύμων ή το αιώρημα μαγιάς 10 % W/W , αντίστοιχα, συσκευάστηκε σε ειδική για υπερυψηλή πίεση, διαφανή συσκευασία διστρωματικού υλικού πολυαιθυλενίου-πολυπροπυλενίου, με την πλευρά του πολυπροπυλενίου σε επαφή με το δείγμα. Ο περιέκτης με το διάλυμα πρωτεολυτικών ενζύμων ή το αιώρημα μαγιάς θερμοκολλήθηκε και κατόπιν εισήχθη στο δοχείο πίεσεως της συσκευής υπερυψηλής πίεσης. Η συσκευασία είχε αποστειρωθεί, με τη χρήση υπεριώδους φωτός, πριν την εισαγωγή του δείγματος σε αυτήν. Έπειτα, το δοχείο πίεσεως σφραγίστηκε και εφαρμόστηκε στο επεξεργαζόμενο δείγμα η επιθυμητή πίεση, για το επιθυμητό χρονικό διάστημα, σε θερμοκρασία περιβάλλοντος ($25\text{ }^{\circ}\text{C}$). Οι πιέσεις και οι αντίστοιχοι χρόνοι πίεσης που χρησιμοποιήθηκαν για τη μελέτη της επίδρασης της υπερυψηλής πίεσης τόσο στην ενεργότητα των πρωτεολυτικών ενζύμων, όσο και στη διεργασία της αυτόλυσης των κυττάρων της μαγιάς και στα χαρακτηριστικά του εκχυλίσματος μαγιάς που παραλαμβάνεται από τη διεργασία αυτή παρουσιάζονται στον πίνακα Π.4.1.

Μετά το πέρας του επιθυμητού χρόνου πίεσης, για κάθε συνθήκη πίεσης, το δοχείο πίεσεως εκτονώθηκε, η συσκευασία που περιείχε το δείγμα (διάλυμα πρωτεολυτικών ενζύμων ή αιώρημα μαγιάς 10 % W/W) αφαιρέθηκε και το δείγμα οδηγήθηκε για περαιτέρω επεξεργασία ή για διεξαγωγή μετρήσεων επ' αυτού. Σημειώνεται ότι ως επεξεργασία για χρόνο πίεσης 0 min νοείται η αύξηση της υδροστατικής πίεσης εντός του δοχείου πίεσεως μέχρι την επιθυμητή τιμή και η ακαριαία εκτόνωση του δοχείου πίεσεως.



ΕΙΚΟΝΑ Ε.4.3

Η μονάδα υπερυψηλής πίεσης η οποία χρησιμοποιήθηκε για τα πειράματα.

- A: Η μονάδα υπερυψηλής πίεσης. Αριστερά διακρίνεται το σύστημα υπερυψηλής πίεσης, στο κέντρο ο θάλαμος με το μεγάλο δοχείο πίεσεως και δεξιά ο θάλαμος με την συστοιχία των μικρών δοχείων πίεσεως.*
- B: Ο θάλαμος με το μεγάλο δοχείο πίεσεως (1,5 L).*
- Γ: Η συστοιχία των 6 μικρών δοχείων πίεσεως (42 mL).*
- Δ: Το λογισμικό που συνοδεύει την μονάδα υπερυψηλής πίεσης και καταγράφει πίεση και θερμοκρασία.*

Το κατάλληλο εύρος πιέσεων και χρόνου επεξεργασίας για τη μελέτη αυτή επιλέχθηκε βάσει προκαταρκτικών πειραμάτων.

ΠΙΝΑΚΑΣ Π.4.1

Πιέσεις και αντίστοιχοι χρόνοι πίεσης για τη μελέτη της επίδρασης της υπερυψηλής πίεσης στην ενεργότητα των πρωτεολυτικών ενζύμων και στη διεργασία της αυτόλυσης της μαγιάς και στα χαρακτηριστικά του εκχυλίσματος μαγιάς που παραλαμβάνεται από τη διεργασία αυτήν.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΣΤΗΝ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΟΛΥΤΙΚΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ	
ΠΙΕΣΗ [MPa]	ΧΡΟΝΟΣ ΠΙΕΣΗΣ [min]
200	0, 20, 40, 60, 90, 120
400	0, 20, 40, 60, 90, 120
500	0, 5, 10, 15, 20, 40, 60, 90, 120
550	0, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 60, 90, 120
600	0, 2.5, 5, 7.5, 10, 20, 30, 40
650	0, 1, 2.5, 5, 7.5, 10, 15, 20
750	0, 0.25, 0.5, 0.75, 1
ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΣΤΗ ΔΙΕΡΓΑΣΙΑ ΤΗΣ ΑΥΤΟΛΥΣΗΣ ΤΗΣ ΜΑΓΙΑΣ ΚΑΙ ΣΤΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ	
ΠΙΕΣΗ [MPa]	ΧΡΟΝΟΣ ΠΙΕΣΗΣ [min]
200	0, 10, 20, 40, 60
400	0, 10, 16, 26, 40
600	0, 2.5, 7, 15, 30

Για την επιλογή των συνθηκών πίεσης αναφορικά με τη μελέτη της επίδρασης αυτής στη διεργασία της αυτόλυσης και στα χαρακτηριστικά του εκχυλίσματος μαγιάς που παραλαμβάνεται από τη διεργασία αυτή, πιέστηκαν, αρχικά, δείγματα αιωρήματος μαγιάς 10 % W/W στις ίδιες συνθήκες (πίεσης και χρόνου) με το διάλυμα πρωτεολυτικών ενζύμων. Στα πιεσμένα δείγματα μετρήθηκε η ειδική ηλεκτρική αγωγιμότητα αυτών (σ) και υπολογίσθηκε ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης (Z), σύμφωνα με τη διαδικασία που αναφέρεται παρακάτω, στην ενότητα 4.5. Κατόπιν, από τα αποτελέσματα που προέκυψαν, έγινε η επιλογή των συνθηκών που αναφέρονται στον Πίνακα Π.4.1, φροντίζοντας να επιλεγούν συνθήκες που αντιστοιχούσαν σε διάφορες τιμές ενεργότητας πρωτεολυτικών ενζύμων και δείκτη κυτταρικής διάρρηξης.

Όσον αφορά στη μελέτη της επίδρασης της υπερυψηλής πίεσης τόσο στην ενεργότητα των πρωτεολυτικών ενζύμων, όσο και στον δείκτη κυτταρικής διάρρηξης (Z), συσκευάστηκαν και πιέστηκαν 3 mL διαλύματος πρωτεολυτικών ενζύμων και αιωρήματος μαγιάς, αντίστοιχα, οπότε χρησιμοποιήθηκαν τα μικρά δοχεία πίεσεως (42 mL). Αναφορικά με τη μελέτη της επίδρασης της υπερυψηλής πίεσης στην αυτόλυση της μαγιάς και στα χαρακτηριστικά του εκχυλίσματος μαγιάς που παραλαμβάνεται από τη διεργασία αυτή, συσκευάστηκαν και πιέστηκαν 160 mL αιωρήματος μαγιάς ανά συνθήκη πίεσης και χρόνου, οπότε χρησιμοποιήθηκε το μεγάλο δοχείο πίεσεως (1,5 L).

4.5. ΜΕΤΡΗΣΗ ΑΓΩΓΙΜΟΤΗΤΑΣ – ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΔΕΙΚΤΗ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΔΙΑΡΡΗΣΗΣ (Z)



ΕΙΚΟΝΑ Ε.4.4
Το αγωγιμόμετρο
HANNA HI8733 Multi-
range EC Meter.

Όπως αναφέρεται στη βιβλιογραφία, η εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης σε κύτταρα μαγιάς (*Saccharomyces cerevisiae*) έχει ως αποτέλεσμα τη μερική διάρρηξη του κυτταρικού τοιχώματος και, επομένως, καθιστά τα κύτταρα της μαγιάς περισσότερο διαπερατά. Έτσι, η συμπίεση και η επακόλουθη εκτόνωση των κυττάρων μαγιάς έχει ως αποτέλεσμα τη διαρροή συστατικών από το κυτταρόπλασμα στο περιβάλλον των κυττάρων (Marx, Moody, & Bermúdez-Aguirre, 2011), (Shimanda, et al., 1993), (Knorr, Heinz, Angerbach, & Lee, 2002), (San Martín, Barbosa-Cánovas, & Swanson, 2002).

Ένας δείκτης για τον υπολογισμό του βαθμού στον οποίον τα κύτταρα της μαγιάς έχουν διαρραγεί, μετά την επιβολή υπερυψηλής πίεσης, είναι ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης (Z). Ο βαθμός της κυτταρικής διάρρηξης συσχετίζεται με την απελευθέρωση συστατικών από το κυτταρόπλασμα στο περιβάλλον διάλυμα των κυττάρων μαγιάς, τα οποία φέρουν φορτίο. Επομένως, ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης (Z) μπορεί να συσχετισθεί με τη συγκέντρωση των φορτισμένων σωματιδίων στο διάλυμα που περιβάλλει τα κύτταρα της μαγιάς. Όμως, η απελευθέρωση φορτισμένων σωματιδίων στο περιβάλλον διάλυμα της μαγιάς – πρακτικά στο ίδιο το αιώρημα μαγιάς – οδηγεί στην αύξηση της ειδικής ηλεκτρικής αγωγιμότητας (σ) αυτού. Έτσι, ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης (Z) μπορεί να συνδεθεί με την αύξηση της ειδικής ηλεκτρικής αγωγιμότητας (σ) του αιωρήματος μαγιάς, η οποία οφείλεται στην απελευθέρωση αγωγίμων συστατικών από το εσωτερικό του κυττάρου, λόγω εφαρμογής της πίεσης, και είναι ένα άμεσα μετρούμενο μέγεθος.

Ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης (Z) υπολογίσθηκε, σύμφωνα με τη σχέση:

$$Z = \frac{\sigma - \sigma_{UT}}{\sigma_{max} - \sigma_{UT}} \quad [4.1]$$

... όπου: Z : ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης του δείγματος [–]

σ : η ειδική ηλεκτρική αγωγιμότητα του δείγματος $\left[\frac{\mu S}{cm}\right]$

σ_{UT} : η ειδική ηλεκτρική αγωγιμότητα του ανεπεξέργαστου δείγματος $\left[\frac{\mu S}{cm}\right]$

σ_{max} : η μέγιστη ειδική ηλεκτρική αγωγιμότητα που παρατηρήθηκε, στο δείγμα που επεξεργάστηκε στις πιο ακραίες συνθήκες (750 MPa, 30 min)¹ $\left[\frac{\mu S}{cm}\right]$

Σύμφωνα με την παραπάνω σχέση, ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης (Z) λαμβάνει τιμές από 0, οπότε δεν υφίσταται καθόλου διάρρηξη των κυττάρων μαγιάς, δηλαδή μηδενική μεταβολή της ειδικής ηλεκτρικής αγωγιμότητας του αιωρήματος μαγιάς ως προς το ανεπεξέργαστο ($\sigma = \sigma_{UT}$), έως 1, οπότε υφίσταται μέγιστη διάρρηξη των κυττάρων μαγιάς, δηλαδή η ειδική ηλεκτρική αγωγιμότητα λαμβάνει μέγιστη τιμή ($\sigma = \sigma_{max}$).

¹ Παρατηρήθηκε ότι περαιτέρω αύξηση της έντασης των συνθηκών επεξεργασίας (πίεσης και χρόνου) δεν οδήγησε σε αύξηση της ειδικής ηλεκτρικής αγωγιμότητας στο αιώρημα μαγιάς.

Για τη μέτρηση της ειδικής ηλεκτρικής αγωγιμότητας (σ) στο αιώρημα μαγιάς, ανεπεξέργαστο ή επεξεργασμένο με υπερυψηλή πίεση, μεταφέρονταν, με τη βοήθεια σιφωνίου μετρήσεως, 3 mL δείγματος εντός υάλινων δοκιμαστικών σωλήνων (100 x 12 mm). Κατόπιν, βυθιζόταν εντός του περιεχομένου δείγματος το ηλεκτρόδιο του αγωγιμομέτρου HANNA HI8733 Multi-range EC Meter (*HANNA Instruments, Woonsocket, Rhode Island, United States of America*) και καταγραφόταν η ειδική ηλεκτρική αγωγιμότητα (σ) που έδειχνε η οθόνη του οργάνου.

4.6. ΜΕΤΡΗΣΗ ΤΗΣ ΟΛΙΚΗΣ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΟΛΥΤΙΚΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ ΣΤΟ ΕΣΩΤΕΡΙΚΟ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΜΑΓΙΑΣ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΤΗΣ ΑΖΟΚΑΖΕΪΝΗΣ

4.6.1. ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΟΣ ΑΖΟΚΑΖΕΪΝΗΣ 1 % W/v



ΕΙΚΟΝΑ Ε.4.5

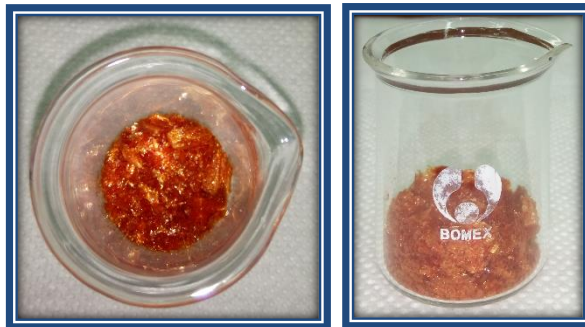
**Φυγόκεντρος Thermo Scientific™
Heraeus™ Megafuge™ 16 R.**
(Thermo Scientific™ Heraeus™
Megafuge™ 16 Centrifuge Series, n.d.)

Σε ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικού οξέος 0,1 M με $pH = 6,00$ προσετέθη διμεθυλοσουλφοξείδιο (*dimethyl sulfoxide, DMSO*) σε περιεκτικότητα 10 % v/v . Κατόπιν, στο ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικού οξέος με διμεθυλοσουλφοξείδιο 10 % v/v προσετέθη αζοκαζεΐνη (*asocasein protease substrate, Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, United States of America*) σε περιεκτικότητα 1 % W/v . Το μίγμα μεταφέρθηκε σε θερμαντική εστία και, υπό συνεχή ανάδευση, αφέθηκε να θερμανθεί έως τους 80 °C, προκειμένου να διαλυθεί πλήρως η αζοκαζεΐνη. Αφού το διάλυμα έλαβε τη θερμοκρασία των 80 °C, αποσύρθηκε από την εστία και αφέθηκε, υπό συνεχή ανάδευση, να ψυχθεί, έως τη θερμοκρασία του περιβάλλοντος. Αφού το διάλυμα ψύχθηκε, φυγοκεντρήθηκε για 10 min με φυγόκεντρο επιτάχυνση ίση με $12.000 \cdot g$, όπου g η επιτάχυνση της βαρύτητας, με τη βοήθεια μιας φυγοκέντρου Thermo Scientific™ Heraeus™ Megafuge™ 16R (*Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, United States of America*). Μετά το πέρας της φυγοκέντρωσης παρελήφθη το υπερκείμενο διάλυμα, ενώ το στερεό ίζημα απερρίφθη.

Το ως άνω παρεσκευασθέν υπόστρωμα αζοκαζεΐνης διατηρήθηκε στους 0 °C για έως 4 ημέρες.

4.6.2. ΜΕΤΡΗΣΗ ΤΗΣ ΟΛΙΚΗΣ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΟΛΥΤΙΚΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ

Για τη μέτρηση της ενεργότητας των πρωτεολυτικών ενζύμων στο διάλυμα που παρασκευάστηκε σύμφωνα με τη διαδικασία που αναφέρεται στην ενότητα 4.3 και υπέστη επεξεργασία με υπερυψηλή πίεση, όπως αναφέρεται στην ενότητα 4.4, προσετέθησαν σε πλαστικό κωνικό σωληνάριο Falcon®, 400 μL υποστρώματος αζοκαζεΐνης 1 % W/v και 100 μL δείγματος (διάλυμα πρωτεολυτικών ενζύμων). Για κάθε δείγμα πραγματοποιήθηκαν τουλάχιστον 3 επαναλήψεις. Τα σωληνάρια πωματίστηκαν και ανακινήθηκαν καλά, με τη βοήθεια συσκευής Vortex. Κατόπιν, τα σωληνάρια τοποθετήθηκαν σε υδατόλουτρο σταθερής θερμοκρασίας 40 °C, όπου το μίγμα επώασθη για 60 min.

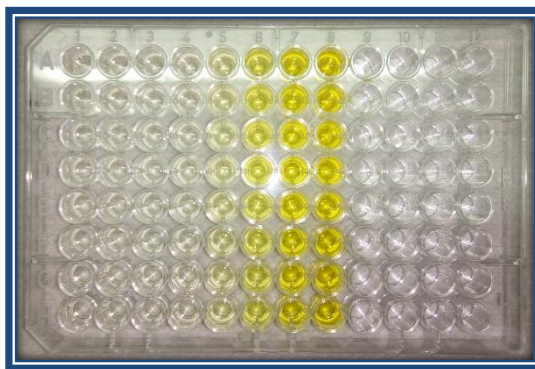


ΕΙΚΟΝΑ Ε.4.6

Αζοκαζεΐνη σε ποτήρι ζέσεως.

Μετά το πέρας των 60 min, τα σωληνάρια αφαιρέθηκαν από το υδατόλουτρο και αμέσως προσετέθη σε αυτά, με τη βοήθεια πιπέτας μεταβλητού όγκου, 500 μL υδατικού διαλύματος τριχλωροξικού οξέος (*trichloroacetic acid, TCA*) 5 % W/v , οπότε διεκόπη η ενζυμική δράση και η εναπομένουσα πρωτεΐνη μετουσιώθηκε και καταβυθίστηκε. Εν συνεχεία, τα σωληνάρια πωματίστηκαν εκ νέου και τοποθετήθηκαν σε θάλαμο ο οποίος λειτουργούσε στους 0 °C για 30 min.

Παράλληλα, παρασκευάστηκε τυφλό δείγμα, προσθέτοντας σε πλαστικό κωνικό σωληνάριο Falcon®, με τη βοήθεια πιπέτας μεταβλητού όγκου, 500 μL υδατικού διαλύματος τριχλωροξικού οξέος 5 % W/v , 100 μL δείγματος (διάλυμα πρωτεολυτικών ενζύμων) και 400 μL υποστρώματος αζοκαζεΐνης 1 % W/v , με αυτή τη σειρά. Το τυφλό δείγμα τοποθετήθηκε σε θάλαμο ο οποίος λειτουργούσε στους 0 °C για 30 min, χωρίς προηγουμένως να έχει επωασθεί σε υδατόλουτρο, στους 40 °C. Μετά το πέρας των 30 min, τα σωληνάρια με τα δείγματα αφαιρέθηκαν από τον θάλαμο και φυγοκεντρήθηκαν για 10 min με φυγόκεντρο επιτάχυνση ίση με $12.000 \cdot g$, όπου g η επιτάχυνση της βαρύτητας, με τη βοήθεια μιας φυγοκέντρου Thermo Scientific™ Heareus™ Megafuge™ 16R (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, United States of America). Μετά το πέρας της φυγοκέντρησης παρελήφθη το υπερκείμενο διάλυμα, ενώ το στερεό ίζημα απερρίφθη. Κατόπιν, με τη βοήθεια πιπέτας μεταβλητού όγκου, μεταφέρθηκαν από 200 μL από κάθε δείγμα σε 3 φρέατα (*wells*) μιας πλάκας μικροτιτλοδότησης 96 φρεάτων (96-well microplate). Έπειτα, η πλάκα



ΕΙΚΟΝΑ Ε.4.7

Δείγματα πρωτεολυτικών ενζύμων-αζοκαζεΐνης σε πλάκα μικροτιτλοδότησης προς φωτομέτρηση.

Το εντονότερο κίτρινο χρώμα από τα αριστερά προς τα δεξιά υποδηλώνει μεγαλύτερη ενεργότητα πρωτεολυτικών ενζύμων.

μικροτιτλοδότησης τοποθετήθηκε στο φασματοφωτόμετρο *BMG LABTECH SPECTROstar Nano* και μετρήθηκε η απορρόφηση κάθε δείγματος σε μήκος κύματος 340 nm, με διορθωμένο το μήκος της διαδρομής της ακτίνας στο δείγμα (*path length correction*) στο 1 cm, μέσω των ρυθμίσεων του λογισμικού που συνοδεύει το όργανο.

Μια μονάδα ενεργότητας (Unit) των πρωτεολυτικών ενζύμων ορίσθηκε ως η ποσότητα των ενζύμων που προκαλεί αύξηση της απορρόφησης κατά 1,00 έπειτα από επώαση για 60 min στους 40 °C. Επομένως, οι μονάδες καθαρής απορρόφησης που κατεγράφη, δηλαδή η μετρούμενη απορρόφηση στο δείγμα μείον την απορρόφηση του τυφλού δείγματος, ισούνταν με μονάδες ενεργότητας (Units) των πρωτεολυτικών ενζύμων. (Běhalová & Beran, 1979), (Sarath, Zeece, & Penheiter, 2001), (Charney & Tomarelli, 1947), (Iversen & Jørgensen, 1995), (Meussdoerffer, Tortora, & Holzer, 1980), (García-Carreño, Dimes, & Haard, 1993).

4.7. ΑΥΤΟΛΥΣΗ ΤΗΣ ΜΑΓΙΑΣ

Σε αποστειρωμένη κωνική φιάλη των 250 mL με εσφυρισμένο χείλος και πώμα μεταφέρθηκαν, σε στείρες συνθήκες εντός θαλάμου στρωτής ροής, με τη βοήθεια αποστειρωμένου ογκομετρικού κυλίνδρου, 160 mL αιωρήματος μαγιάς 10 % W/W , ανεπεξέργαστο ή επεξεργασμένο με υπερυψηλή πίεση. Κατόπιν, παρελήφθησαν από την κωνική φιάλη, με τη βοήθεια αποστειρωμένου σιφωνίου μετρήσεως, 15 mL δείγματος (χρόνος αυτόλυσης: 0 h), τα οποία μεταφέρθηκαν εντός πλαστικών κωνικών σωληναρίων Falcon® για περεταίρω επεξεργασία. Έπειτα, η κωνική φιάλη πωματίσθηκε και τοποθετήθηκε για αυτόλυση εντός υδατόλουτρου, το οποίο λειτουργούσε στους 52 °C, υπό συνεχή ανάδευση. Οι φιάλες με το αιώρημα μαγιάς παρέμειναν υπό συνεχή ανάδευση (180 rpm) εντός του υδατόλουτρου για 72 h, χρονικό διάστημα κατά το οποίο έλαβε χώρα η αυτόλυση της μαγιάς. Ανά τακτά χρονικά διαστήματα λαμβάνονταν, με τη βοήθεια αποστειρωμένου σιφωνίου μετρήσεως, 15 mL δείγματος, τα οποία μεταφέρονταν εντός πλαστικών κωνικών σωληναρίων Falcon® για περεταίρω επεξεργασία. Οι χρονικές στιγμές κατά τις οποίες ελήφθησαν δείγματα κατά τη διάρκεια της αυτόλυσης αντιστοιχούν σε 1 h, 2 h, 4 h, 6 h, 8 h, 16 h, 18 h, 20 h, 22 h, 24 h, 48 h και 72 h.

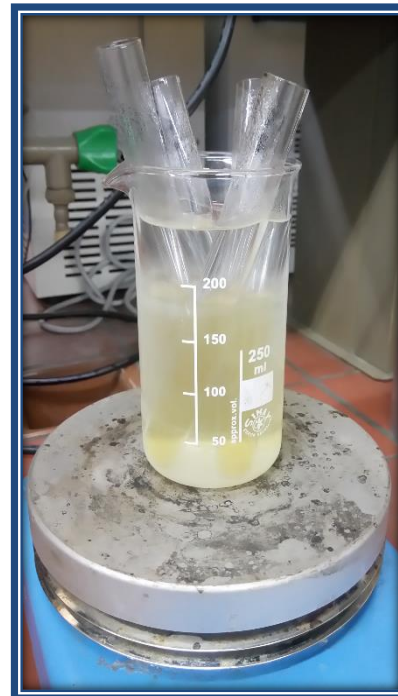
4.8. ΠΑΡΑΛΑΒΗ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ

Τα δείγματα τα οποία παρελήφθησαν κατά τη διάρκεια της αυτόλυσης της μαγιάς και τοποθετήθηκαν εντός πλαστικών κωνικών σωληναρίων Falcon® φυγοκεντρήθηκαν, για 10 min με φυγόκεντρο επιτάχυνση ίση με $6500 \cdot g$, όπου g η επιτάχυνση της βαρύτητας, με τη βοήθεια μιας φυγοκέντρου Thermo Scientific™ Heareus™ Megafuge™ 16R (*Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, United States of America*). Έτσι, παρελήφθησαν τα υπερκείμενα υγρά, τα οποία αποτελούσαν το εκχύλισμα μαγιάς στα διάφορα στάδια της αυτόλυσης.

Από το υπερκείμενο εκχύλισμα μαγιάς που παρελήφθη από κάθε στάδιο της αυτόλυσης αφαιρέθηκε, με τη βοήθεια πιπέτας μεταβλητού όγκου, 1 mL εκχυλίσματος, το οποίο τοποθετήθηκε εντός πλαστικού σωληναρίου Eppendorf® και μεταφέρθηκε αμέσως στην κατάψυξη ($-23\text{ }^{\circ}\text{C}$), όπου παρέμεινε μέχρι τη διεξαγωγή των μετρήσεων. Αυτή η ποσότητα προοριζόταν για τη μέτρηση της ενεργότητας των πρωτεολυτικών ενζύμων που περιέχονται στο υπερκείμενο εκχύλισμα μαγιάς.

Το υπόλοιπο εκχύλισμα μαγιάς από κάθε στάδιο της αυτόλυσης μεταφέρθηκε εντός υάλινου σωληναρίου και εμβαπτίσθηκε για 5 min σε νερό που βράζει. Με αυτόν τον τρόπο απενεργοποιήθηκαν τα ένζυμα που περιέχονταν στο εκχύλισμα μαγιάς και η αυτόλυση διεκόπη (Verduyn, Suksumcheep, & Suphantharika, 1999), (Milić, Rakin, & Šiler-Marinković, 2007). Κατόπιν, το εκχύλισμα μαγιάς μεταφέρθηκε εντός πλαστικού κωνικού σωληναρίου Falcon® και τοποθετήθηκε στην κατάψυξη ($-23\text{ }^{\circ}\text{C}$) έως ότου έλθει η ώρα της διεξαγωγής μετρήσεων επ' αυτού.

Το εναπομείναν ίζημα, το οποίο αποτελεί τα καταβυθιζόμενα κύτταρα μαγιάς, αναδιαλύθηκε με ποσότητα απιονισμένου νερού ίση με αυτή του υπερκειμένου εκχυλίσματος μαγιάς που παρελήφθη. Έπειτα, το αναδιαλυμένο ίζημα κυττάρων μεταφέρθηκε εντός πλαστικού κωνικού σωληναρίου Falcon® και τοποθετήθηκε και αυτό στην κατάψυξη, μέχρι την ώρα των μετρήσεων.



ΕΙΚΟΝΑ Ε.4.8

Απενεργοποίηση ενζύμων στο υπερκείμενο εκχύλισμα μαγιάς.

4.9. ΜΕΤΡΗΣΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΣΤΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ ΑΡΤΟΠΟΙΑΣ

4.9.1. ΜΕΤΡΗΣΗ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΣΤΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΜΑΓΙΑΣ ΑΡΤΟΠΟΙΑΣ

Οι πρωτεΐνες που περιέχονταν στα δείγματα εκχυλίσματος μαγιάς μετρήθηκαν με δύο μεθόδους. Η πρώτη μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε ήταν η μέθοδος Lowry, με την οποία μετρείται η συγκέντρωση των συνολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς (Lowry, Rosenbrough, Farr, & Randall, 1951). Η δεύτερη μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε ήταν η μέθοδος μετρήσεως των ελευθέρων αμινικών αζώτων (*Free Amino Nitrogen, FAN*), με την οποία μετρείται η συγκέντρωση των ελεύθερων αμινοξέων και των ολιγοπεπτιδίων (μονο-, δι- και τριπεπτιδίων) στο δείγμα (Lekkas, Stewart, Hill, Taidi, & Hodgson, 2005).

4.9.1.1. ΜΕΘΟΔΟΣ LOWRY

Αρχικά, παρασκευάστηκε το διάλυμα Lowry. Για την παρασκευή του διαλύματος Lowry, παρασκευάστηκαν πρώτα τρία διαλύματα:

❖ Διάλυμα Α: ρυθμιστικό διάλυμα

Εντός υάλινης ογκομετρικής φιάλης των 250 mL μεταφέρθηκαν 1 g $NaOH$ και 5 g Na_2CO_3 . Η ογκομετρική φιάλη πληρώθηκε με απιονισμένο νερό, μέχρι τη χαραγή, και ανακινήθηκε, έως ότου διαλυθούν τα περιεχόμενα στερεά.

❖ Διάλυμα Β: υδατικό διάλυμα τρυγικού καλιονατρίου συγκέντρωσης $20 \frac{mg}{mL}$

Εντός υάλινης ογκομετρικής φιάλης των 50 mL μεταφέρθηκε 1 g τρυγικού καλιονατρίου (*potassium-sodium tartrate*). Η ογκομετρική φιάλη πληρώθηκε με απιονισμένο νερό, μέχρι τη χαραγή, και ανακινήθηκε, έως ότου διαλυθεί το περιεχόμενο άλας.

❖ Διάλυμα Γ: υδατικό διάλυμα θεικού χαλκού συγκέντρωσης $10 \frac{mg}{mL}$

Εντός υάλινης ογκομετρικής φιάλης των 50 mL μεταφέρθηκαν 0,5 g $CuSO_4$. Η ογκομετρική φιάλη πληρώθηκε με απιονισμένο νερό, μέχρι τη χαραγή, και ανακινήθηκε, έως ότου διαλυθεί το περιεχόμενο άλας.



ΕΙΚΟΝΑ Ε.4.9

Δοκιμαστικοί σωλήνες με δείγματα μετά την ολοκλήρωση της πειραματικής διαδικασίας της μεθόδου Lowry.

Ο δεξιός δοκιμαστικός σωλήνας περιέχει πρωτεϊνικό διάλυμα, ενώ ο αριστερός όχι.

καραμελέ φιαλιδίου.²

Κατόπιν, σε υάλινη ογκομετρική φιάλη των 100 mL παρασκευάστηκε το διάλυμα Lowry, προσθέτοντας, με τη βοήθεια πιπέτας μεταβλητού όγκου, 1 mL διαλύματος Β και 1 mL διαλύματος Γ και πληρώνοντας την ογκομετρική φιάλη με διάλυμα Α, μέχρι τη χαραγή. Το διάλυμα Lowry ανακινήθηκε καλά, πριν τη χρήση.

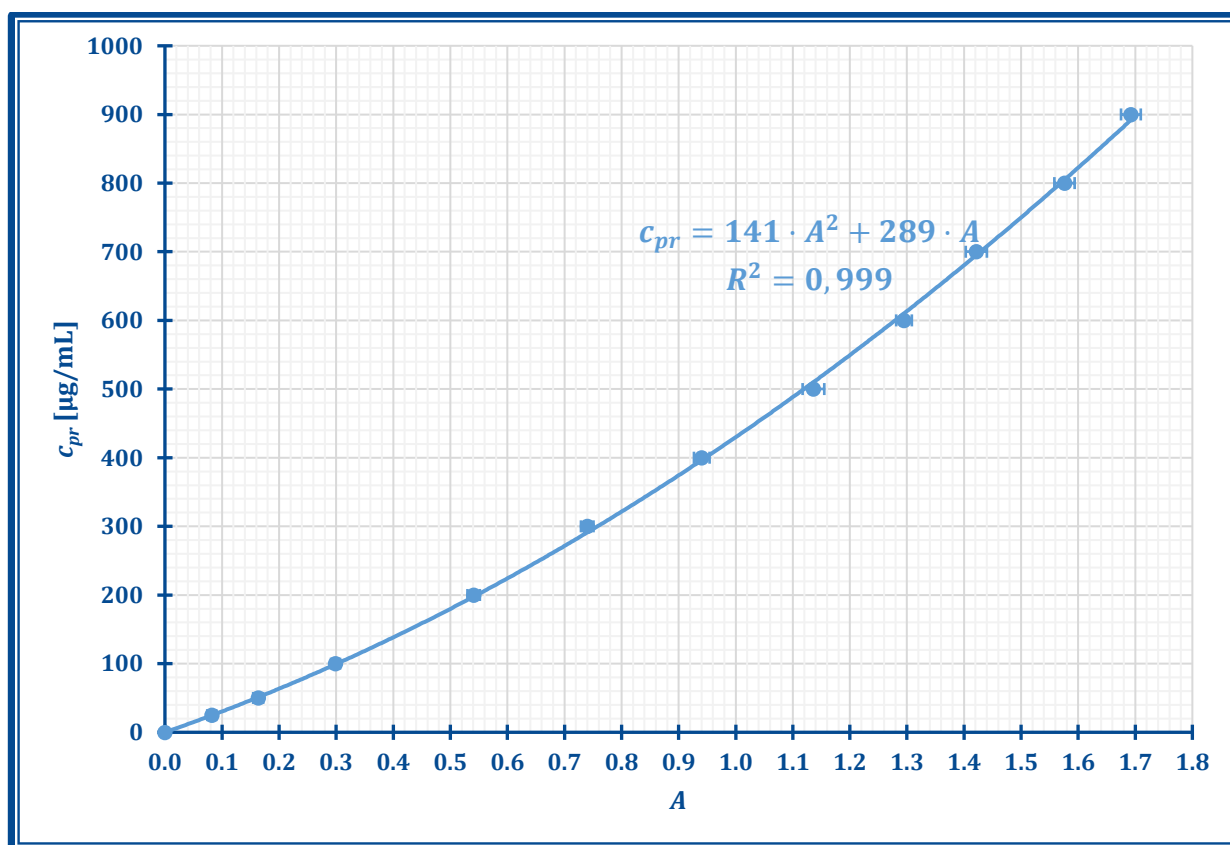
Για τη μέτρηση της συγκέντρωσης των πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς με τη μέθοδο Lowry, αυτό αρχικά αραιώθηκε με απιονισμένο νερό, με συντελεστή αραιώσης 1 : 100. Σε υάλινο δοκιμαστικό σωλήνα (100 x 12 mm) προσετέθησαν, με τη βοήθεια πιπέτας μεταβλητού όγκου, 200 μ L δείγματος και 1 mL διαλύματος Lowry. Το μίγμα ανακινήθηκε καλά, με τη χρήση συσκευής Vortex. Για κάθε δείγμα πραγματοποιήθηκαν τουλάχιστον 2 επαναλήψεις. Παράλληλα, παρασκευάστηκε τυφλό δείγμα, αντικαθιστώντας τον όγκο του δείγματος (εκχύλισμα μαγιάς) με απιονισμένο νερό. Τα σωληνάκια με το μίγμα αραιωμένου δείγματος και διαλύματος Lowry τοποθετήθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου για 15 min στο σκοτάδι. Κατά τη διάρκεια αυτών των 15 min παρασκευάστηκε διάλυμα Folin 1 N, αναμειγνύοντας ίσες ποσότητες διαλύματος Folin 2 N και απιονισμένου νερού, εντός υάλινου

² Το διάλυμα Folin είναι φωτοευαίσθητο και γι' αυτό θα πρέπει να φυλάσσεται στο σκοτάδι. Η αραιώση θα πρέπει να γίνεται λίγο πριν χρησιμοποιηθεί.

Μετά την πάροδο των 15 min τα υάλινα σωληνάκια αφαιρέθηκαν από το σκοτάδι και ενώ ανακινούνται στη συσκευή Vortex προσετέθησαν σε καθένα από αυτά, με τη βοήθεια πιπέτας μεταβλητού όγκου, 100 μL διαλύματος Folin 1 N. Κατόπιν, τα σωληνάκια τοποθετήθηκαν εκ νέου στο σκοτάδι, σε θερμοκρασία δωματίου, όπου παρέμειναν για τουλάχιστον 30 min.

Αφού παρήλθαν τουλάχιστον 30 min, τα δείγματα αφαιρέθηκαν από το σκοτάδι και μετρήθηκε η απορρόφηση αυτών σε μήκος κύματος 750 nm, με τη βοήθεια φασματοφωτομέτρου UNICAM Helios α (Hellamco A.E., Χαλάνδρι, Αθήνα, Ελλάδα) και κυψελίδας χαλαζία. Το φασματοφωτόμετρο «μηδενίστηκε» με τη χρήση του τυφλού δείγματος.

Για τη χάραξη της καμπύλης αναφοράς για την πειραματική διαδικασία μέτρησης πρωτεϊνών με τη μέθοδο Lowry, αντικαταστάθηκε, στην ως άνω περιγραφείσα πειραματική διαδικασία, ο όγκος του δείγματος (εκχύλισμα μαγιάς) με ίσο όγκο προτύπων υδατικών διαλυμάτων αλβουμίνης βοείου ορού (Bovine Serum Albumin, BSA), συγκεντρώσεων $25 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} - 1000 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ (Lowry, Rosenbrough, Farr, & Randall, 1951), (Waterborg, 2002), (Campbell, 1983). Η καμπύλη αναφοράς της μεθόδου Lowry παρατίθεται στο παρακάτω διάγραμμα, μαζί με την προκύπτουσα εξίσωση αναφοράς.



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ Δ.4.1

Καμπύλη και εξίσωση αναφοράς της πειραματικής διαδικασίας μέτρησης ολικών πρωτεϊνών με την μέθοδο Lowry.

4.9.1.2. ΜΕΘΟΔΟΣ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΑΜΙΝΙΚΩΝ ΑΖΩΤΩΝ (*FREE AMINO NITROGEN, FAN*)

Αρχικά παρασκευάστηκε το χρωστικό αντιδραστήριο νινυδρίνης. Σε υάλινη καραμελέ ογκομετρική φιάλη των 100 mL προσετέθησαν 4 g μονόξινου φωσφορικού νατρίου (Na_2HPO_4), 6 g δισόξινου φωσφορικού καλίου (KH_2PO_4), 0,5 g νινυδρίνης και 0,3 g φρουκτόζης. Η ογκομετρική φιάλη πληρώθηκε με απιονισμένο νερό, μέχρι τη χαραγή, πωματίστηκε και ανακινήθηκε καλά, έως ότου διαλυθούν πλήρως τα περιεχόμενα στερεά.

Έπειτα παρασκευάστηκε το διάλυμα αραίωσης. Σε υάλινη ογκομετρική φιάλη των 250 mL προσετέθησαν 0,5 g ιωδικού καλίου (KIO_3), 100 mL αιθανόλης 96 % v/v και 150 mL απιονισμένου νερού. Η ογκομετρική φιάλη πωματίστηκε και ανακινήθηκε καλά, έως ότου διαλυθεί πλήρως το περιεχόμενο άλας.

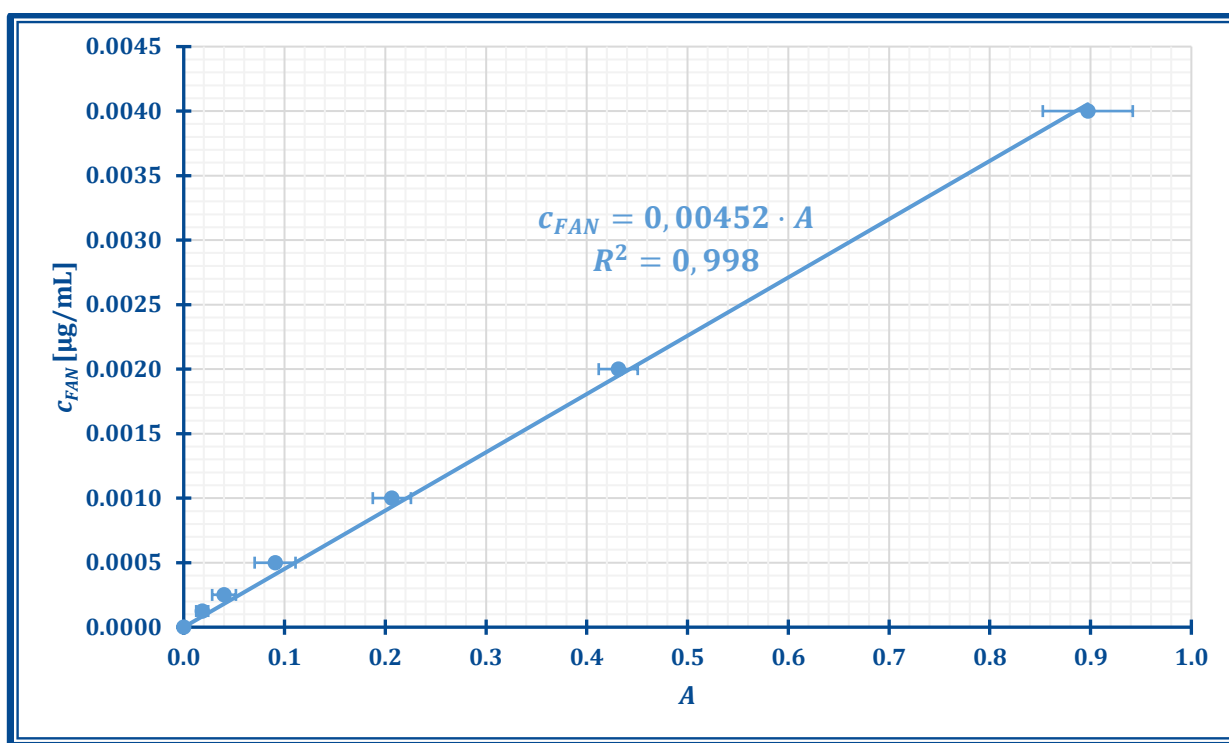
Για τη μέτρηση της συγκέντρωσης των πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς με τη μέθοδο ελευθέρων αμινικών αζώτων (*Free Amino Nitrogen, FAN*), αυτό αρχικά αραιώθηκε με απιονισμένο νερό, με συντελεστή αραίωσης 1 : 1000. Σε υάλινο δοκιμαστικό σωλήνα (100 x 12 mm) προσετέθησαν, με τη βοήθεια πιπέτας μεταβλητού όγκου, 500 μ L αραιωμένου δείγματος και 250 μ L αντιδραστήριου νινυδρίνης. Για κάθε δείγμα πραγματοποιήθηκαν τουλάχιστον 2 επαναλήψεις. Παράλληλα, παρασκευάστηκε τυφλό δείγμα, αντικαθιστώντας τον όγκο του δείγματος (εκχύλισμα μαγιάς) με απιονισμένο νερό.

Οι δοκιμαστικοί σωλήνες με τα δείγματα εμβαπτίσθηκαν σε υδατόλουτρο, το οποίο λειτουργούσε στους 95 °C, για 20 min, οπότε τα δείγματα έλαβαν ένα βαθύ ερυθροϊώδες χρώμα. Μετά την πάροδο των 20 min, οι δοκιμαστικοί σωλήνες αφαιρέθηκαν από το υδατόλουτρο των 95 °C και εμβαπτίσθηκαν σε υδατόλουτρο, το οποίο ευρίσκόταν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, προκειμένου τα δείγματα να ψυχθούν και να διακοπεί η αντίδραση.

Μόλις τα δείγματα ψύχθηκαν (απαιτήθηκαν μερικά λεπτά), προσετέθησαν σε κάθε δοκιμαστικό σωλήνα, με τη βοήθεια πιπέτας μεταβλητού όγκου, 1,25 mL διαλύματος αραίωσης και οι δοκιμαστικοί σωλήνες ανακινήθηκαν καλά, με τη βοήθεια συσκευής Vortex, οπότε τα δείγματα έλαβαν ιώδες χρώμα.

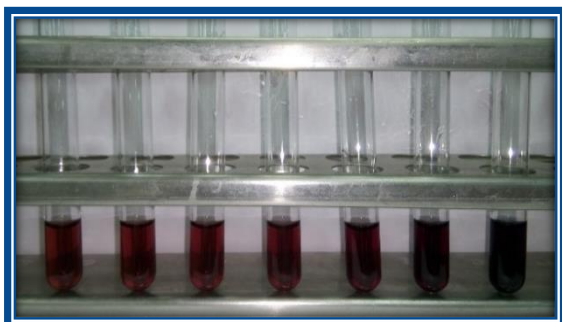
Τέλος, μετρήθηκε η απορρόφηση κάθε δείγματος σε μήκος κύματος 575 nm, με τη βοήθεια φασματοφωτομέτρου UNICAM Helios α (*Hellamco A.E., Χαλάνδρι, Αθήνα, Ελλάδα*) και κυψελίδας χαλαζία. Το φασματοφωτόμετρο «μηδενίσθηκε» με τη χρήση του τυφλού δείγματος.

Για τη χάραξη της καμπύλης αναφοράς για την πειραματική διαδικασία μέτρησης αμινοξέων και μικρών πεπτιδίων με τη μέθοδο ελευθέρων αμινικών αζώτων (*FAN*), αντικαταστάθηκε, στην πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε παραπάνω, ο όγκος του δείγματος (εκχύλισμα μαγιάς) με ίσο όγκο προτύπων διαλυμάτων γλυκίνης, συγκεντρώσεων $0,125 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} - 4 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ (Spedding, Harrison, Ganske, & Dell, 2016), (Yemm & Cocking, 1955). Η καμπύλη αναφοράς της μεθόδου ελευθέρων αμινικών αζώτων (*FAN*) παρατίθεται στο παρακάτω διάγραμμα, μαζί με την προκύπτουσα εξίσωση αναφοράς.

**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ Δ.4.2**

Καμπύλη και εξίσωση αναφοράς της πειραματικής διαδικασίας μέτρησης αμινοξέων και μικρών πεπτιδίων με την μέθοδο ελεύθερων αμινικών αζώτων (FAN).

Ως πρότυπος ένωση για την χάραξη της καμπύλης αναφοράς της μεθόδου των ελευθέρων αμινικών αζώτων (FAN) χρησιμοποιήθηκε η γλυκίνη, καθώς είναι γνωστό ότι το μόριο της γλυκίνης διαθέτει ένα ελεύθερο αμινικό άζωτο. Επομένως, καθώς η σχετική μοριακή μάζα της γλυκίνης είναι $M_{r(Gly)} = 75,067 \frac{\text{g}}{\text{mol}}$ και η σχετική ατομική μάζα του αζώτου είναι $A_{r(N)} = 14,007 \frac{\text{g}}{\text{mol}}$, έπεται ότι $1 \frac{\text{mg}}{\text{mL}}$ γλυκίνης αντιστοιχεί σε $0,18659 \frac{\text{mg}}{\text{mL}}$ FAN (PubChem - Open Chemistry Database, 2018), (Meija, et al., 2016), (Spedding, Harrison, Ganske, & Dell, 2016). Επομένως, η συγκέντρωση γλυκίνης στα πρότυπα διαλύματα εκφράσθηκε ως συγκέντρωση FAN και βάσει αυτής χαράχθηκε η καμπύλη αναφοράς συναρτήσεως της απορρόφησης.

**ΕΙΚΟΝΑ Ε.4.11**

Δοκιμαστικοί σωλήνες με δείγματα μετά την εμφύσηση στο υδατόλουτρο.

Από αριστερά προς δεξιά το εντονότερο ερυθροϊώδες χρώμα υποδηλώνει μεγαλύτερη συγκέντρωση ελεύθερων αμινοαζώτων.

**ΕΙΚΟΝΑ Ε.4.11**

Δοκιμαστικοί σωλήνες με δείγματα μετά την προσθήκη του διαλύματος αραιώσεως.

Από αριστερά προς δεξιά το εντονότερο ιώδες χρώμα υποδηλώνει μεγαλύτερη συγκέντρωση ελεύθερων αμινοαζώτων.

4.9.2. ΜΕΤΡΗΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ΥΔΑΤΑΝΘΡΑΚΩΝ ΣΤΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΜΑΓΙΑΣ ΑΡΤΟΠΟΙΑΣ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΦΑΙΝΟΛΗΣ & ΘΕΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ

Για τη μέτρηση της συγκέντρωσης των ολικών υδατανθράκων στο εκχύλισμα μαγιάς με τη μέθοδο φαινόλης & θεικού οξέος, το εκχύλισμα μαγιάς αρχικά αραιώθηκε με απιονισμένο νερό, με συντελεστή αραιώσης 1 : 50. Σε απαγωγό στρώθηκε ένα φύλλο διηθητικού χαρτιού και τοποθετήθηκε επάνω σε αυτό μια πλάκα μικροτιτλοδότησης 96 φρεάτων. Σε καθένα από τα φρέατα της πλάκας μικροτιτλοδότησης προσετέθησαν, με τη βοήθεια πιπέτας μεταβλητού όγκου, 50 μL αραιωμένου δείγματος (εκχύλισμα μαγιάς. Για κάθε δείγμα πραγματοποιήθηκαν τουλάχιστον 4 επαναλήψεις. Παράλληλα, παρασκευάστηκε τυφλό δείγμα, αντικαθιστώντας τον όγκο του δείγματος (εκχύλισμα μαγιάς) με απιονισμένο νερό.

Σε κάθε φρέαρ που περιείχε εκχύλισμα μαγιάς (ή απιονισμένο νερό στην περίπτωση των τυφλών δειγμάτων) προσετέθησαν, με τη βοήθεια πιπέτας μεταβλητού όγκου, 150 μL διαλύματος πυκνού θεικού οξέος συγκέντρωσης >95 %, εγχέοντας το οξύ ταχέως, ούτως ώστε να επιτευχθεί καλή ανάμειξη. Έπειτα, σε καθένα από τα παραπάνω φρέατα προσετέθησαν, με τη βοήθεια πιπέτας μεταβλητού όγκου, 30 μL υδατικού διαλύματος φαινόλης 5 % W/v . Με τη βοήθεια του ρύγχους της πιπέτας αναμειχθηκε καλά το περιεχόμενο κάθε φρέατος.

Στη συνέχεια, η πλάκα μικροτιτλοδότησης αφέθηκε να επιπλέει για 10 min σε υδατόλουτρο σταθερής θερμοκρασίας 90 °C. Μετά την πάροδο των 10 min, η πλάκα μικροτιτλοδότησης αφαιρέθηκε από το υδατόλουτρο, τοποθετήθηκε σε απαγωγό, καλύφθηκε και αφέθηκε να ψυχθεί για 1 h σε θερμοκρασία δωματίου.

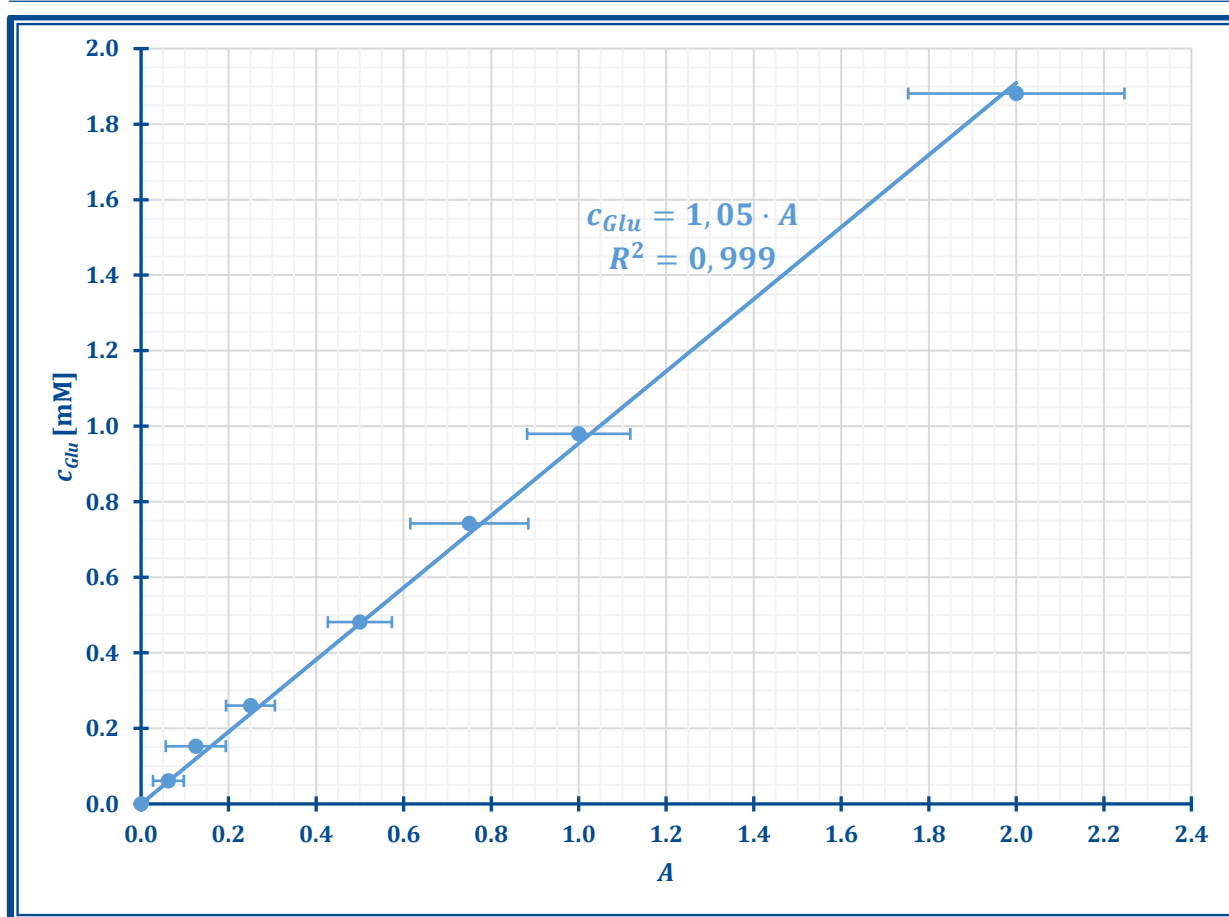
Μετά την πάροδο της 1 h, η πλάκα μικροτιτλοδότησης τοποθετήθηκε στο φασματοφωτόμετρο BMG Labtech SPECTROstar Nano (BMG Labtech, Ortenberg, Germany) και μετρήθηκε η απορρόφηση σε κάθε φρέαρ, σε μήκος κύματος 490 nm (Masuko, et al., 2005).

Για τη χάραξη της καμπύλης αναφοράς για την πειραματική διαδικασία μέτρησης ολικών υδατανθράκων με τη μέθοδο φαινόλης & θεικού οξέος, αντικαταστάθηκε στην ως άνω περιγραφείσα πειραματική διαδικασία ο όγκος του δείγματος (εκχύλισμα μαγιάς) με ίσο όγκο προτύπων διαλυμάτων γλυκόζης, συγκεντρώσεων 0,0625 mM – 1 mM.



ΕΙΚΟΝΑ Ε.4.12

**Φασματοφωτόμετρο BMG Labtech
SPECTROstar Nano.**



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ Δ.4.3

Καμπύλη και εξίσωση αναφοράς της πειραματικής διαδικασίας μέτρησης ολικών υδατανθράκων με τη μέθοδο φαινόλης & θειικού οξέος.

4.9.3. ΜΕΤΡΗΣΗ ΣΤΕΡΕΟΥ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΟΣ ΣΤΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΜΑΓΙΑΣ ΑΡΤΟΠΟΙΙΑΣ

Αρχικά, τοποθετήθηκαν τα υάλινα πυρίμαχα φιαλίδια ζυγίσεως εντός των οποίων επρόκειτο να πραγματοποιηθεί η μέτρηση του στερεού υπολείμματος εντός πυριατηρίου, το οποίο λειτουργούσε στους 104 °C, για 24 h, προκειμένου να ξηραθούν πλήρως. Μετά την παρέλευση των 24 h, τα φιαλίδια αφαιρέθηκαν από το πυριατήριο και τοποθετήθηκαν απευθείας εντός υάλινου ξηραντήρα, προκειμένου να ψυχθούν και να λάβουν τη θερμοκρασία του περιβάλλοντος.

Κάθε ξηρό φιαλίδιο τοποθετήθηκε στον αναλυτικό ζυγό και κατεγράφη το βάρος του κενού φιαλιδίου (m_{bottle}). Έπειτα, προσετέθησαν εντός του φιαλιδίου, με τη βοήθεια πιπέτας μεταβλητού όγκου, 2 mL εκχυλίσματος μαγιάς και κατεγράφη το μικτό βάρος φιαλιδίου και υγρού δείγματος ($m_{gross(wet)}$). Στη συνέχεια, τοποθετήθηκαν τα φιαλίδια ζυγίσεως, τα οποία περιείχαν το εκχύλισμα μαγιάς από τα διάφορα στάδια της αυτόλυσης, στο πυριατήριο και παρέμειναν εκεί για 24 h, προκειμένου να εξατμισθεί πλήρως το νερό που περιείχαν τα δείγματα.

Μετά την παρέλευση των 24 h, τα φιαλίδια με τα ξηρά, πλέον, δείγματα αφαιρέθηκαν από το πυριατήριο και τοποθετήθηκαν απευθείας εντός υάλινου ξηραντήρα, προκειμένου να ψυχθούν και να λάβουν τη θερμοκρασία του περιβάλλοντος. Κατόπιν

τοποθετήθηκαν στον αναλυτικό ζυγό και κατεγράφη το μικτό βάρος φιαλιδίου και ξηρού δείγματος ($m_{gross(dry)}$).

Το στερεό υπόλειμμα του δείγματος ως ποσοστό του βάρους του υγρού δείγματος ($\% m_{dry}$) υπολογίστηκε σύμφωνα με τη σχέση:

$$\% m_{dry} = \frac{m_{gross(dry)} - m_{bottle}}{m_{gross(wet)} - m_{bottle}} \cdot 100 \% \quad [4.2]$$

4.9.4. ΜΕΤΡΗΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ΔΙΑΛΥΤΩΝ ΣΤΕΡΕΩΝ (°Bx) ΣΤΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΜΑΓΙΑΣ ΑΡΤΟΠΟΙΑΣ



ΕΙΚΟΝΑ Ε.4.13

Το διαθλασίμετρο ABBE.

Με τη βοήθεια υάλινης πιπέτας Pasteur μεταφέρθηκε μικρή ποσότητα εκχυλίσματος μαγιάς στο κάτω πρίσμα του διαθλασιμέτρου ABBE, τόση ώστε να καλυφθεί πλήρως η επιφάνεια του πρίσματος. Έπειτα, τοποθετήθηκε επάνω στο κάτω πρίσμα το άνω πρίσμα και μεταφέρθηκε κοντά στα πρίσματα ο ειδικός λαμπτήρας του οργάνου.

Χρησιμοποιώντας τη διόπτρα και τον κοχλία του οργάνου ρυθμίστηκε αυτό κατάλληλα, σύμφωνα με τις οδηγίες χρήσεως, και κατεγράφη η ένδειξη που εμφανίστηκε στην οθόνη αυτού.

4.9.5. ΜΕΤΡΗΣΗ ΧΡΩΜΑΤΟΣ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ ΑΡΤΟΠΟΙΑΣ

Για τη μέτρηση του χρώματος στο εκχύλισμα μαγιάς, κατά τα διάφορα στάδια της αυτόλυσης, μεταφέρθηκαν, με τη βοήθεια πιπέτας μεταβλητού όγκου, 4 mL δείγματος εντός υάλινου διαφανούς τρυβλίου Petri. Κατόπιν, το τρυβλίο καλύφθηκε με το διαφανές κάλυμμά του και τοποθετήθηκε επάνω από αυτό, σε κατακόρυφη θέση, το χρωματομέτρο Minolta CR-200 (Minolta Co., Ltd., Chuo-Ku, Osaka, Japan), με διάμετρο επιφανείας μέτρησης ίση με 8 mm. Έπειτα, πιέστηκε το ειδικό κομβίο του χρωματομέτρου, οπότε αυτό έλαβε τη μέτρηση, η οποία τυπώθηκε στο ειδικό καταγραφικό σύστημα που συνόδευε το όργανο. Για τη βαθμονόμηση του χρωματομέτρου χρησιμοποιήθηκε πρότυπη λευκή πλάκα της εταιρείας Minolta, η οποία συνόδευε το όργανο, σύμφωνα με τις συνθήκες CIE (Commission International de L'Éclairage).

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων του χρωματομέτρου εκφράστηκαν στην κλίμακα CIELAB, ως τιμές τριών συνιστωσών χρώματος, L , a και b . Η μέθοδος CIELAB εκφράζει τη μαθηματική απόκριση της μη γραμμικής προσέγγισης του ματιού. Η συνιστώσα L εκφράζει τη φωτεινότητα (lightness) του χρώματος και λαμβάνει τιμές από 0 (απόλυτο μαύρο) έως 100 (απόλυτο λευκό). Οι συνιστώσες a και b εκφράζουν τη χρωματικότητα (chromacity) και είναι οι ορθογώνιες συντεταγμένες του χρώματος επί του επιπέδου της διατομής του χρώματος το οποίο είναι κάθετο στον άξονα της φωτεινότητας. Η συνιστώσα a εκφράζει την ερυθρά και τη συμπληρωματική της πράσινη

απόχρωση του χρώματος. Θετικές τιμές της συνιστώσας a εκφράζουν την ένταση της ερυθράς απόχρωσης (*redness*), ενώ αρνητικές τιμές της συνιστώσας a εκφράζουν την ένταση της πράσινης απόχρωσης (*greenness*) του χρώματος. Η συνιστώσα b εκφράζει την κίτρινη και τη συμπληρωματική της κυανή απόχρωση του χρώματος. Θετικές τιμές της συνιστώσας b εκφράζουν την ένταση της κίτρινης απόχρωσης (*yellowness*), ενώ αρνητικές τιμές της συνιστώσας b εκφράζουν την ένταση της κυανής απόχρωσης (*blueness*) του χρώματος. Οι τρεις συνιστώσες της κλίμακας CIELAB (L , a , b) και η απόχρωση που εκφράζει καθεμιά παρουσιάζονται παραστατικά στην εικόνα Ε.4.15. Με βάση τις συνιστώσες L , a και b της κλίμακας CIELAB υπολογίσθηκε η ολική μεταβολή (ΔE) του χρώματος του εκχυλίσματος μαγιάς, κατά τη διάρκεια της αυτόλυσης, σύμφωνα με τη σχέση:

$$\Delta E = \sqrt{(L - L_0)^2 + (a - a_0)^2 + (b - b_0)^2} \quad [4.3]$$

... όπου: ΔE : η συνολική μεταβολή του χρώματος του εκχυλίσματος μαγιάς κατά τη διάρκεια της αυτόλυσης

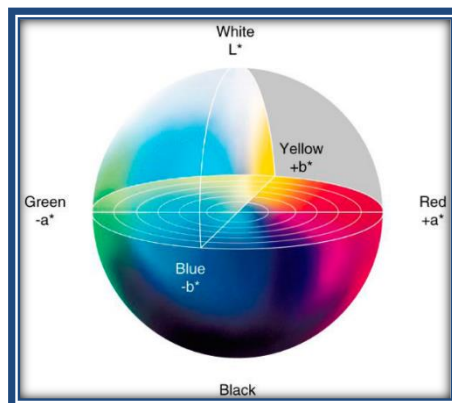
L, a, b : οι συνιστώσες της κλίμακας CIELAB του χρώματος του εκχυλίσματος μαγιάς σε κάθε χρονική στιγμή της αυτόλυσης

L_0, a_0, b_0 : οι συνιστώσες της κλίμακας CIELAB του χρώματος του εκχυλίσματος ανεπεξέργαστης μαγιάς κατά την έναρξη της αυτόλυσης (χρόνος αυτόλυσης: 0 h) (Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων Ε.Μ.Π., 2016), (Broadbent, 2017).



ΕΙΚΟΝΑ Ε.4.15

Το χρωματόμετρο Minolta CR-200.



ΕΙΚΟΝΑ Ε.4.15

Οι τρεις συνιστώσες της κλίμακας CIELAB (L, a, b). (Williams, 2002)



ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ

5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ

5.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Στο παρόν κεφάλαιο παρατίθενται και σχολιάζονται τα αποτελέσματα της επίδρασης της υπερυψηλής πίεσης που παρατηρήθηκαν στην παραλαβή κυτταρικών προϊόντων από μαγιά αρτοποιίας. Αρχικά, αναφέρονται τα αποτελέσματα της επίδρασης της υπερυψηλής πίεσης στα δομικά και λειτουργικά χαρακτηριστικά των κυττάρων της μαγιάς. Πρώτιστα, αναφέρονται τα αποτελέσματα σχετικά με την επίδραση της υπερυψηλής πίεσης στην ενεργότητα των πρωτεολυτικών ενζύμων που περιέχονται στα κύτταρα της μαγιάς. Έπειτα, παρατίθενται τα αποτελέσματα που παρατηρήθηκαν αναφορικά με τη διάρρηξη που προκαλεί η υπερυψηλή πίεση στα κύτταρα της μαγιάς και την επακόλουθη απελευθέρωση ενδοκυτταρικών ουσιών στο εξωκυτταρικό περιβάλλον της μαγιάς, ενώ υπολογίσθηκε ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης (Z). Οι συνθήκες πίεσης και χρόνου εφαρμογής αυτής που χρησιμοποιήθηκαν κατ' αυτό το στάδιο της μελέτης κυμάνθηκαν από 200 MPa έως 750 MPa και από 0 min έως 120 min, αντίστοιχα, όπως αναφέρονται αναλυτικά στον πίνακα Π.4.1, ενώ η θερμοκρασία εφαρμογής της πίεσης ήταν αυτή του περιβάλλοντος (25 °C).

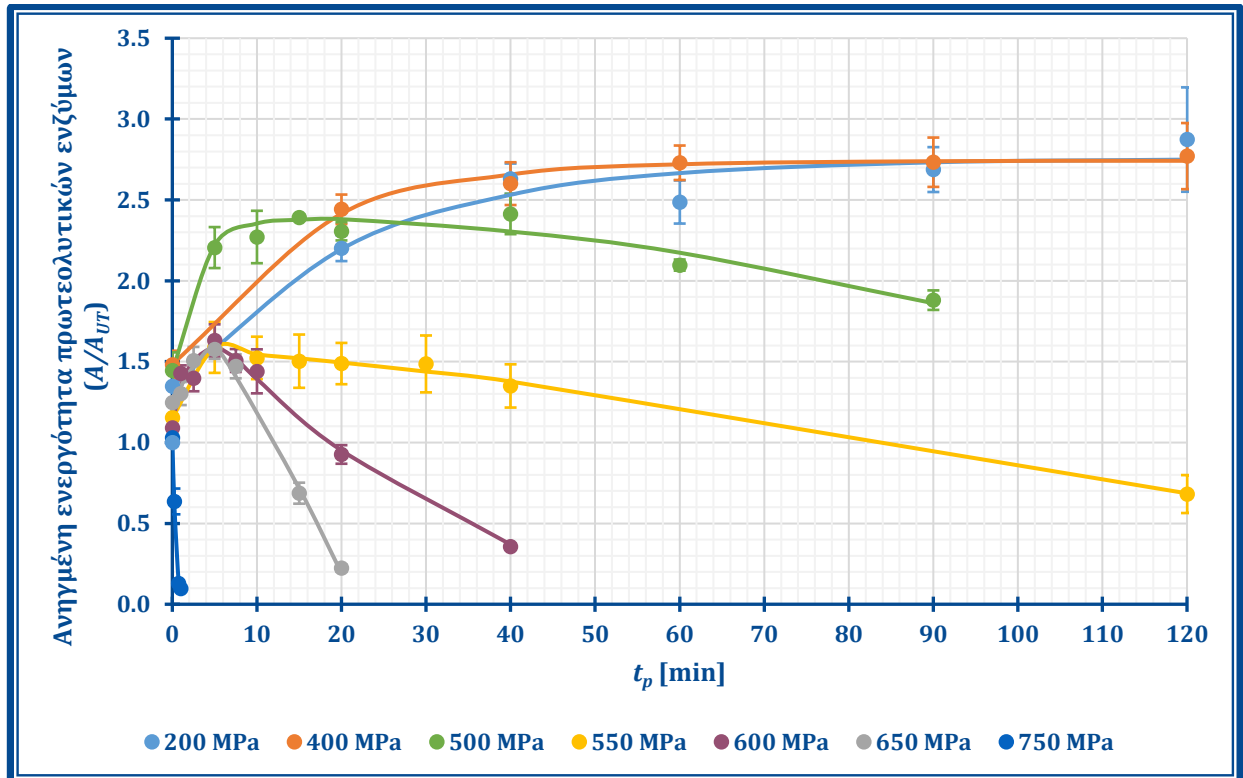
Εν συνεχεία, παρατίθενται τα αποτελέσματα αναφορικά με την επίδραση της υπερυψηλής πίεσης στη διεργασία της αυτόλυσης των κυττάρων της μαγιάς και στα χαρακτηριστικά του εκχυλίσματος μαγιάς που παραλαμβάνεται από τη διεργασία αυτή. Τα χαρακτηριστικά του εκχυλίσματος μαγιάς που μελετήθηκαν, τόσο πριν όσο και κατόπιν εφαρμογής της υπερυψηλής πίεσης στα κύτταρα της μαγιάς, ήταν η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες και υδατάνθρακες, τα περιεχόμενα ολικά διαλυτά στερεά ($^{\circ}\text{Bx}$), το στερεό υπόλειμμα και το χρώμα. Οι συνθήκες πίεσης και χρόνου εφαρμογής αυτής που χρησιμοποιήθηκαν κατ' αυτό το στάδιο της μελέτης κυμάνθηκαν από 200 MPa έως 600 MPa και από 0 min έως 60 min, αντίστοιχα, όπως αναφέρονται αναλυτικά στον πίνακα Π.4.1, ενώ η θερμοκρασία εφαρμογής της πίεσης ήταν και σε αυτή την περίπτωση αυτή του περιβάλλοντος (25 °C).

5.2. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΣΤΗΝ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΣΥΝΟΛΙΚΩΝ ΠΡΩΤΕΟΛΥΤΙΚΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΜΑΓΙΑΣ ΑΡΤΟΠΟΙΙΑΣ

Στο ξεκίνημα της μελέτης αναφορικά με την επίδραση της υπερυψηλής πίεσης στη μαγιά αρτοποιίας και στη διεργασία αυτόλυσης της μαγιάς για την παραγωγή εκχυλίσματος μαγιάς, το ενδιαφέρον επικεντρώθηκε στη μελέτη της επίδρασης της υπερυψηλής πίεσης στην ενεργότητα των συνολικών πρωτεολυτικών ενζύμων των κυττάρων μαγιάς αρτοποιίας. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, τα πρωτεολυτικά ένζυμα έχουν πρωτεύοντα ρόλο στη διεργασία της αυτόλυσης της μαγιάς. Επίσης, όπως αναφέρθηκε και στο κεφάλαιο 3, η εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης, πάνω από ένα όριο, έχει

ως αποτέλεσμα την απενεργοποίηση πολλών ενζύμων που περιέχονται στους ιστούς διαφόρων τροφίμων.

Έτσι, λοιπόν, αφού παρασκευάστηκε ένα διάλυμα που περιείχε τα ίδια τα ένζυμα των κυττάρων της μαγιάς, με τη διαδικασία που περιγράφεται στην ενότητα 4.3, εφαρμόστηκε σε αυτό υπερυψηλή πίεση, σε διάφορα επίπεδα (200 – 750 MPa) και για ποικίλους χρόνους πίεσης (0 – 120 min). Κατόπιν, μετρήθηκε η ενεργότητα των συνολικών πρωτεολυτικών ενζύμων τόσο πριν όσο και μετά την εφαρμογή της υπερυψηλής πίεσης, σύμφωνα με όσα περιγράφονται στην ενότητα 4.6. Τα αποτελέσματα αυτών των μετρήσεων παρουσιάζονται στο διάγραμμα που ακολουθεί.



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ Δ.5.1

Ανηγμένη ενεργότητα συνολικών πρωτεολυτικών ενζύμων ($\frac{A}{A_{UT}}$) μαγιάς αρτοποιίας συναρτήσει του χρόνου πίεσης (t_p), για διάφορες τιμές υπερυψηλής πίεσης.

Στο παραπάνω διάγραμμα παρουσιάζεται η μεταβολή της ανηγμένης ενεργότητας των συνολικών πρωτεολυτικών ενζύμων μαγιάς αρτοποιίας συναρτήσει του χρόνου πίεσης, για διάφορα επίπεδα πίεσης (200 – 750 MPa). Ως ανηγμένη ενεργότητα των συνολικών πρωτεολυτικών ενζύμων ($\frac{A}{A_{UT}}$) νοήθηκε το πηλίκο της μετρούμενης ενεργότητας των πρωτεολυτικών ενζύμων (A) διά την ενεργότητα των μη επεξεργασμένων με υπερυψηλή πίεση πρωτεολυτικών ενζύμων (A_{UT}). Αυτό έγινε, διότι δεν ενδιαφέρει η απόλυτη τιμή της ενεργότητας των πρωτεολυτικών ενζύμων, η οποία άλλωστε ορίζεται συμβατικά, αλλά η μεταβολή αυτής ως προς την ενεργότητα των ανεπεξέργαστων ενζύμων.

Από το διάγραμμα Δ.5.1 παρατηρείται ότι η εφαρμογή πίεσης ύψους 200 MPa στα πρωτεολυτικά ένζυμα μαγιάς αρτοποιίας έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της ενεργότητας αυτών. Η ενεργότητα των πρωτεολυτικών ενζύμων λαμβάνει μέγιστη τιμή

ύστερα από 90 min πίεσης. Η μέγιστη αυτή τιμή της ενεργότητας είναι ίση, περίπου, με 2,7 φορές την ενεργότητα των ανεπεξέργαστων πρωτεολυτικών ενζύμων.

Η εφαρμογή πίεσης ύψους 400 MPa έχει παρόμοιο αποτέλεσμα στην ενεργότητα των πρωτεολυτικών ενζύμων με τα 200 MPa. Η διαφορά ότι η αύξηση της ενεργότητας συναρτήσει του χρόνου πίεσης είναι ταχύτερη. Τα πρωτεολυτικά ένζυμα εμφανίζουν μέγιστη ενεργότητα ύστερα από 60 min πίεσης. Η μέγιστη αυτή τιμή της ενεργότητας είναι όμοια με αυτή στα 200 MPa.

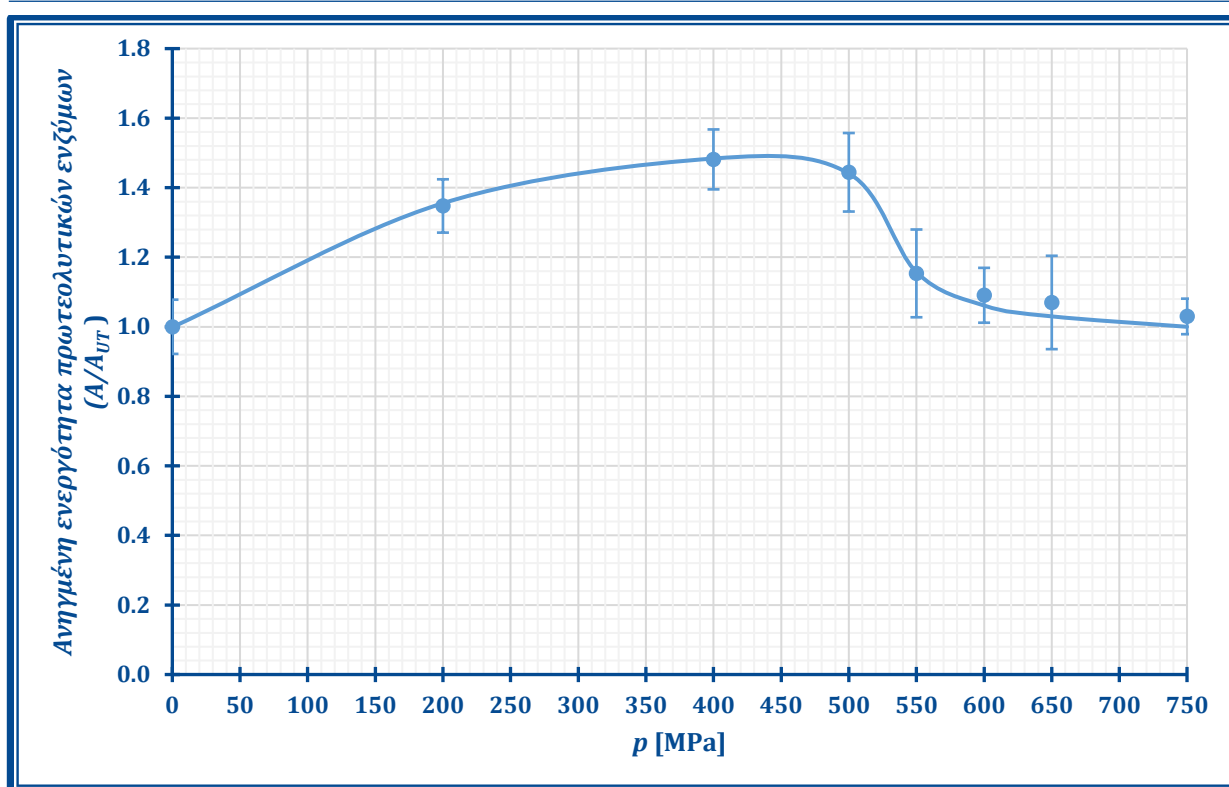
Η εφαρμογή πίεσης μεγαλύτερης των 400 MPa έχει διαφορετικά αποτελέσματα στην ενεργότητα των πρωτεολυτικών ενζύμων. Στα 500 MPa τα πρωτεολυτικά ένζυμα εμφανίζουν αρχικά, για μικρούς χρόνους πίεσης, έως 15 min, αύξηση της ενεργότητάς τους. Στα 15 min πίεσης η ενεργότητα των πρωτεολυτικών ενζύμων λαμβάνει μέγιστη τιμή, ίση, περίπου, με 2,4 φορές την ενεργότητα των ανεπεξέργαστων πρωτεολυτικών ενζύμων. Όμως, για μεγαλύτερους χρόνους πίεσης, άνω των 15 min, η ενεργότητα των πρωτεολυτικών ενζύμων εμφανίζει πτωτική τάση. Ωστόσο, η ενεργότητα των επεξεργασμένων πρωτεολυτικών ενζύμων στα 500 MPa παραμένει πάντα μεγαλύτερη από αυτήν των ανεπεξέργαστων και ύστερα από 90 min πίεσης ισούται με 1,9 φορές την ενεργότητα των ανεπεξέργαστων πρωτεολυτικών ενζύμων.

Παρόμοια συμπεριφορά με αυτή στα 500 MPa εμφανίζουν τα πρωτεολυτικά ένζυμα επεξεργασμένα στα 550 MPa, 600 MPa και 650 MPa. Για μικρούς χρόνους πίεσης, έως 5 min, παρατηρείται αύξηση της ενεργότητας των πρωτεολυτικών ενζύμων. Η αύξηση, όμως, αυτή είναι μικρότερη, συγκριτικά με αυτή σε μικρότερες πιέσεις, και λαμβάνει μέγιστη τιμή, ίση, περίπου, με 1,6 φορές την ενεργότητα των ανεπεξέργαστων πρωτεολυτικών ενζύμων, ύστερα από 5 min πίεσης, και στις τρεις περιπτώσεις. Για χρόνους πίεσης μεγαλύτερους των 5 min, η ενεργότητα των πρωτεολυτικών ενζύμων παρουσιάζει πτώση, η οποία είναι πιο ραγδαία, όσο μεγαλύτερη είναι η πίεση. Μάλιστα, η ενεργότητα των επεξεργασμένων πρωτεολυτικών ενζύμων γίνεται ίση με αυτήν των ανεπεξέργαστων πρωτεολυτικών ενζύμων ($\frac{A}{A_{UT}} = 1 \Leftrightarrow A = A_{UT}$) ύστερα από 84 min στα 550 MPa, ύστερα από 19 min στα 600 MPa και ύστερα από 12 min στα 650 MPa. Επίσης, η ενεργότητα των επεξεργασμένων πρωτεολυτικών ενζύμων γίνεται η μισή της ενεργότητας των ανεπεξέργαστων πρωτεολυτικών ενζύμων ύστερα από 36 min στα 600 MPa και ύστερα από 17 min στα 650 MPa.

Τέλος, στα 750 MPa η ενεργότητα των πρωτεολυτικών ενζύμων μειώνεται ακαριαία, καθώς ύστερα από μόλις 1 min πίεσης η ενεργότητα ισούται με το $\frac{1}{10}$ αυτής των ανεπεξέργαστων πρωτεολυτικών ενζύμων.

Επιπροσθέτως, αξίζει να αναφερθεί η επίδραση που έχει στην ενεργότητα των πρωτεολυτικών η στιγμιαία εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης, χωρίς την παρέλευση του χρόνου. Στο παρακάτω διάγραμμα παρουσιάζεται η μεταβολή της ενεργότητας των πρωτεολυτικών ενζύμων ως συνάρτηση της στιγμιαίας εφαρμογής υπερυψηλής πίεσης

$$\left(\frac{A}{A_{UT}} \Big|_{t_p=0} = f(p) \right).$$



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ Δ.5.2

Ανηγμένη ενεργότητα $(\frac{A}{A_{UT}})$ συνολικών πρωτεολυτικών ενζύμων μαγιάς αρτοποιίας συναρτήσει της στιγμιαίας ($t_p = 0$) εφαρμογής υπερυψηλής πίεσης (p).

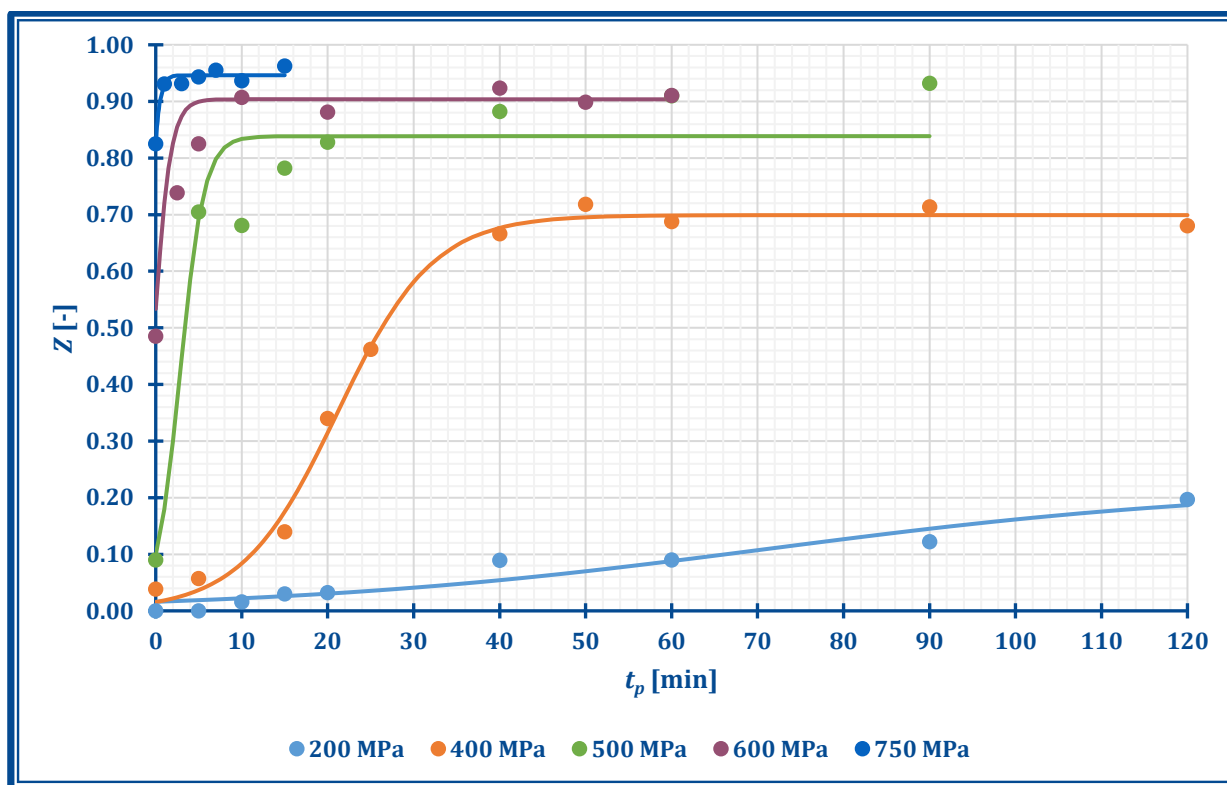
Από το διάγραμμα Δ.5.2 παρατηρείται ότι η στιγμιαία ($t_p = 0$ min) εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης έχει ως αποτέλεσμα την ολοένα και μεγαλύτερη αύξηση της ενεργότητας των πρωτεολυτικών ενζύμων, έως τα 450 MPa, οπότε η ενεργότητα λαμβάνει μέγιστη τιμή, ίση με 1,5 φορές αυτής των ανεπεξέργαστων πρωτεολυτικών ενζύμων. Για υψηλότερες τιμές πίεσης, άνω των 450 MPa παρατηρείται ότι η στιγμιαία εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης έχει ως αποτέλεσμα την ολοένα και μικρότερη αύξηση της ενεργότητας των πρωτεολυτικών ενζύμων, με την περαιτέρω αύξηση της πίεσης, ενώ η στιγμιαία εφαρμογή πίεσης ίσης με 750 MPa φαίνεται να προκαλεί ανεπαίσθητη, σχεδόν μηδενική μεταβολή της αρχικής ενεργότητας των πρωτεολυτικών ενζύμων ($\frac{A}{A_{UT}} = 1 \Leftrightarrow A = A_{UT}$).

Από τις παραπάνω παρατηρήσεις συνάγεται το συμπέρασμα ότι τα συνολικά πρωτεολυτικά ένζυμα που περιέχονται στα κύτταρα της μαγιάς αρτοποιίας εμφανίζουν αυξημένη ενεργότητα ύστερα από επεξεργασία με υπερυψηλή πίεση, μέχρι τα 450 MPa, η οποία αυξάνεται περαιτέρω με την αύξηση του χρόνου πίεσης. Για μεγαλύτερες τιμές υπερυψηλής πίεσης, άνω των 450 MPa, τα συνολικά πρωτεολυτικά ένζυμα εμφανίζουν μια αρχική αύξηση της ενεργότητάς τους, για μικρούς χρόνους πίεσης, ενώ κατόπιν η ενεργότητα μειώνεται ξανά, καταλήγοντας σε απενεργοποίηση, για μεγάλους χρόνους πίεσης, η οποία, αυξανόμενης της πίεσης, συμβαίνει ταχύτερα. Καθώς στην βιβλιογραφία αναφέρεται ότι η ενεργότητα των πρωτεολυτικών ενζύμων παίζει σημαντικό ρόλο στη διεργασία αυτόλυσης της μαγιάς (Běhalová & Beran, 1979), (Breddam & Beenfeldt, 1991), (Milić, Rakin, & Šiler-Marinković, 2007), (Bickerstaff & Zhoy, 1993), (Reed &

Nagodawithana, 1991), αυτή η μεταβολή στην ενεργότητα των πρωτεολυτικών ενζύμων αναμένεται να επιφέρει αντίστοιχα αποτελέσματα στη διεργασία της αυτόλυσης, επιταχύνοντας ή επιβραδύνοντας αυτή και επηρεάζοντας τα χαρακτηριστικά του εκχυλίσματος μαγιάς που παράγεται από τη διεργασία αυτήν. Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης παρουσιάζονται παρακάτω.

5.3. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΣΤΟΝ ΔΕΙΚΤΗ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΔΙΑΡΡΗΞΗΣ (Z) ΜΑΓΙΑΣ ΑΡΤΟΠΟΙΑΣ

Πριν η μελέτη προχωρήσει στην επίδραση της υπερυψηλής πίεσης στη διεργασία της αυτόλυσης της μαγιάς αρτοποιίας και στα χαρακτηριστικά του εκχυλίσματος μαγιάς το οποίο παράγεται από τη διεργασία αυτή, το ενδιαφέρον επικεντρώθηκε στην επίδραση της υπερυψηλής πίεσης στον δείκτη κυτταρικής διάρρηξης (Z) της μαγιάς αρτοποιίας. Ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης (Z) υπολογίσθηκε, σε κάθε συνθήκη πίεσης (200 – 750 MPa) και χρόνου πίεσης (0 – 120 min), βάσει της μετρούμενης μεταβολής της ειδικής ηλεκτρικής αγωγιμότητας (σ) του επεξεργασμένου με υπερυψηλή πίεση αιωρήματος μαγιάς 10 % W/W , σύμφωνα με όσα αναφέρονται στην ενότητα 4.5. Τα αποτελέσματα αυτών των μετρήσεων συνοψίζονται στο διάγραμμα που ακολουθεί.



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ Δ.5.3

Δείκτης κυτταρικής διάρρηξης (Z) συναρτήσει του χρόνου επεξεργασίας (t_p), για διάφορες τιμές υπερυψηλής πίεσης.

Από το διάγραμμα Δ.5.3 παρατηρείται ότι η εφαρμογή πίεσης 200 MPa επιφέρει μικρή, σχεδόν ανεπαίσθητη, διάρρηξη των κυττάρων μαγιάς, καθώς ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης (Z) ανέρχεται στο 20 % του μέγιστου ($Z = 0,20$), ύστερα από 120 min πίεσης.

Ωστόσο, δεν παρατηρείται κάποια σταθεροποίηση του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης (Z), καθώς αυτός αυξάνεται διαρκώς, μέχρι τα 120 min. Όμως, η περαιτέρω μελέτη της συμπεριφοράς του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης (Z), πέραν των 120 min, κρίθηκε άσκοπη, λόγω των πολύ μεγάλων χρόνων πίεσης που απαιτούνται για την αύξηση του βαθμού διάρρηξης των κυττάρων της μαγιάς.

Η εφαρμογή πίεσης ύψους 400 MPa επιφέρει μια σιγμοειδή μεταβολή του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης (Z) με τον χρόνο πίεσης. Έως τα πρώτα 5 min πίεσης, η μεταβολή του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης (Z) είναι μικρή, μεταξύ 5 min και 40 min πίεσης, η μεταβολή είναι ραγδαία, ενώ μετά από τα 40 min πίεσης η μεταβολή είναι ελάχιστη, έως τα 120 min πίεσης που μετρήθηκαν. Η μέγιστη κυτταρική διάρρηξη στα 400 MPa φαίνεται να επέρχεται ύστερα από 50 min πίεσης και αντιστοιχεί σε δείκτη κυτταρικής διάρρηξης (Z) ίσο με το 70 % του μέγιστου ($Z = 0,70$).

Η εφαρμογή μεγαλύτερης πίεσης, ίσης με 500 MPa, 600 MPa και 750 MPa έχει ως αποτέλεσμα την ταχύτερη, σχεδόν ακαριαία, αύξηση του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης (Z). Ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης σταθεροποιείται στα 500 MPa ύστερα από 10 min πίεσης, οπότε ισούται με το 84 % του μέγιστου ($Z = 0,84$), στα 600 MPa ύστερα από 4 min πίεσης, οπότε ισούται με το 90 % του μέγιστου ($Z = 0,90$), ενώ στα 750 MPa ύστερα από μόλις 2 min πίεσης, οπότε ισούται με το 95 % του μέγιστου ($Z = 0,95$).

Από τα παραπάνω, παρατηρείται ότι όσο αυξάνεται η πίεση, τόσο αυξάνεται ο βαθμός διάρρηξης των κυττάρων της μαγιάς, οπότε λαμβάνεται μεγαλύτερος δείκτης κυτταρικής διάρρηξης (Z), ενώ παράλληλα η αύξηση αυτή λαμβάνει χώρα ταχύτερα, με την αύξηση της πίεσης. Η παραπάνω συμπεριφορά του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης (Z) συναρτήσεως του χρόνου πίεσης ($Z = f(t_p)$) μοντελοποιήθηκε μαθηματικά, με τη χρήση του πακέτου λογισμικού SigmaPlot 11.0 (Systat Software, Inc., San Jose, California, United States of America) για κάθε πίεση, χρησιμοποιώντας το σιγμοειδές μοντέλο:

$$Z = \frac{Z_e}{1 + e^{-k \cdot (t_p - \tau)}} \quad [5.1]$$

... όπου: Z : ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης του δείγματος [-]

t_p : ο χρόνος πίεσης του δείγματος [min]

Z_e : ο μέγιστος δείκτης κυτταρικής διάρρηξης του δείγματος ο οποίος επιτυγχάνεται στην εκάστοτε πίεση (πλατό) [-]

k : παράμετρος η οποία εκφράζει την κλίση του γραμμικού τμήματος ανόδου της σιγμοειδούς καμπύλης $\left[\frac{1}{\text{min}}\right]$

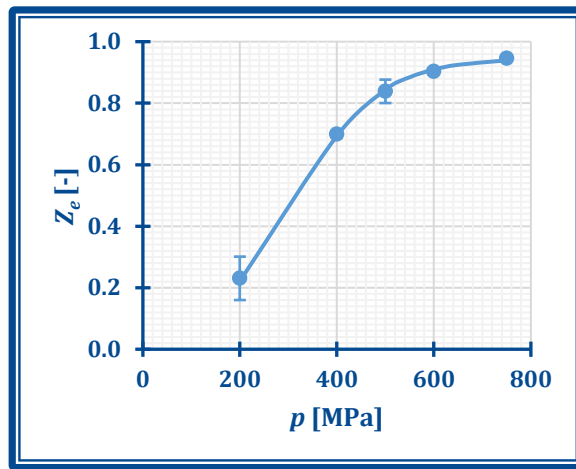
τ : παράμετρος η οποία εκφράζει τον χρόνο που απαιτείται ώστε ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης (Z) να λάβει τιμή ίση με το ήμισυ της μέγιστης ($Z = 0,5 \cdot Z_e$) [min]

Οι παράμετροι των συναρτήσεων $Z = f(t_p)$ οι οποίες προέκυψαν ύστερα από αυτή τη μοντελοποίηση (Z_e, k, τ), καθώς και ο βαθμός προσαρμογής των καμπυλών που προέκυψαν από τη μαθηματική μοντελοποίηση στα πειραματικά δεδομένα (R^2) παρουσιάζονται στον πίνακα Π.5.1. Από τα δεδομένα του πίνακα Π.5.1 κατασκευάστηκαν τα διαγράμματα της μεταβολής καθεμιάς από τις παραμέτρους των συναρτήσεων $Z = f(t_p)$ συναρτήσεως της πίεσης (p), τα οποία παρατίθενται παρακάτω.

ΠΙΝΑΚΑΣ Π.5.1

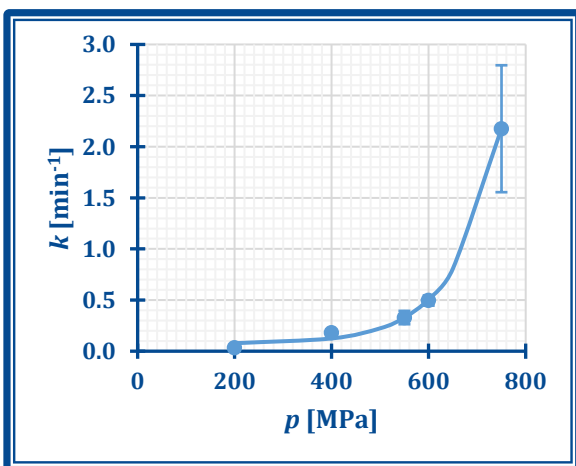
Παράμετροι των συναρτήσεων $Z = f(t_p)$ (Z_e, k, τ) και βαθμός προσαρμογής (R^2) των καμπυλών που προέκυψαν από τη μαθηματική μοντελοποίηση στα πειραματικά σημεία, για τις διάφορες τιμές πίεσης.

p [MPa]	Z_e [-]	k [$\frac{1}{\text{min}}$]	τ [min]	R^2
200	$0,2306 \pm 0,0706$	$0,0331 \pm 0,0114$	$75,06 \pm 24,77$	0,9282
400	$0,6991 \pm 0,0116$	$0,1795 \pm 0,0202$	$21,12 \pm 0,57$	0,9943
500	$0,8386 \pm 0,0381$	$0,3291 \pm 0,0653$	$2,822 \pm 0,917$	0,9184
600	$0,9037 \pm 0,0080$	$0,4956 \pm 0,0496$	$-0,3363 \pm 0,1763$	0,9898
750	$0,9462 \pm 0,0058$	$2,1758 \pm 0,9208$	$-0,8841 \pm 0,3782$	0,9484



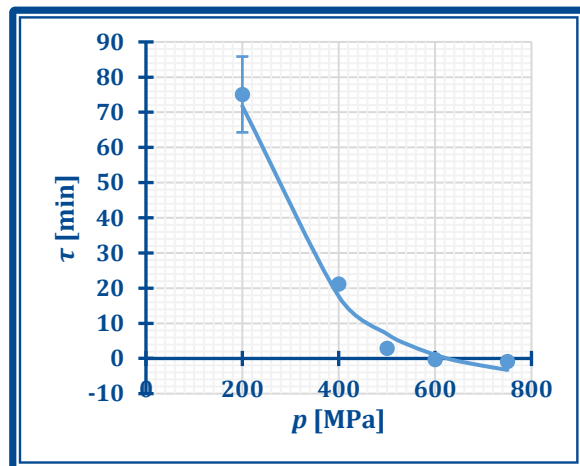
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ Δ.5.4

Μεταβολή του μέγιστου δείκτη κυτταρικής διάρρηξης (Z_e) συναρτήσει της πίεσης (p).



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ Δ.5.5

Μεταβολή της παραμέτρου k συναρτήσει της πίεσης (p).



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ Δ.5.6

Μεταβολή της παραμέτρου τ συναρτήσει της πίεσης (p).

Από τα παραπάνω διαγράμματα παρατηρείται ότι, αυξανόμενη της πίεσης, η παράμετρος τ μειώνεται, ενώ η παράμετρος k αυξάνεται. Η μείωση της παραμέτρου τ με την αύξηση της πίεσης σημαίνει ότι απαιτείται λιγότερος χρόνος πίεσης για την επίτευξη του ίδιου βαθμού κυτταρικής διάρρηξης. Οι αρνητικές τιμές της παραμέτρου τ εκφράζουν το γεγονός ότι ήδη από τη στιγμιαία εφαρμογή της πίεσης έχει επιτευχθεί δείκτη διάρρηξης ίσος με το ήμισυ του μέγιστου δείκτη διάρρηξης που επιτυγχάνεται με την εφαρμογή του εκάστοτε ύψους υπερυψηλής πίεσης, για μεγάλο χρόνο πίεσης. Επίσης, η αύξηση της παραμέτρου k με την αύξηση της πίεσης εκφράζει το γεγονός ότι αυξανόμενη της πίεσης επιτυγχάνεται ταχύτερα ο μέγιστος βαθμός κυτταρικής διάρρηξης (υψηλότερος ρυθμός μεταβολής του Z). Τέλος, η αύξηση του μέγιστου δείκτη διάρρηξης (Z_e) που παρατηρείται με την αύξηση της πίεσης από το διάγραμμα Δ.5.6 είναι αναμενόμενη, καθώς η αύξηση της έντασης της διεργασίας επεξεργασίας με υπερυψηλή πίεση συνεπάγεται μεγαλύτερη καταστροφή της κυτταρικής δομής, όπως επιβεβαιώνεται και από τη βιβλιογραφία (Shimanda, et al., 1993), (Marx, Moody, & Bermúdez-Aguirre, 2011).

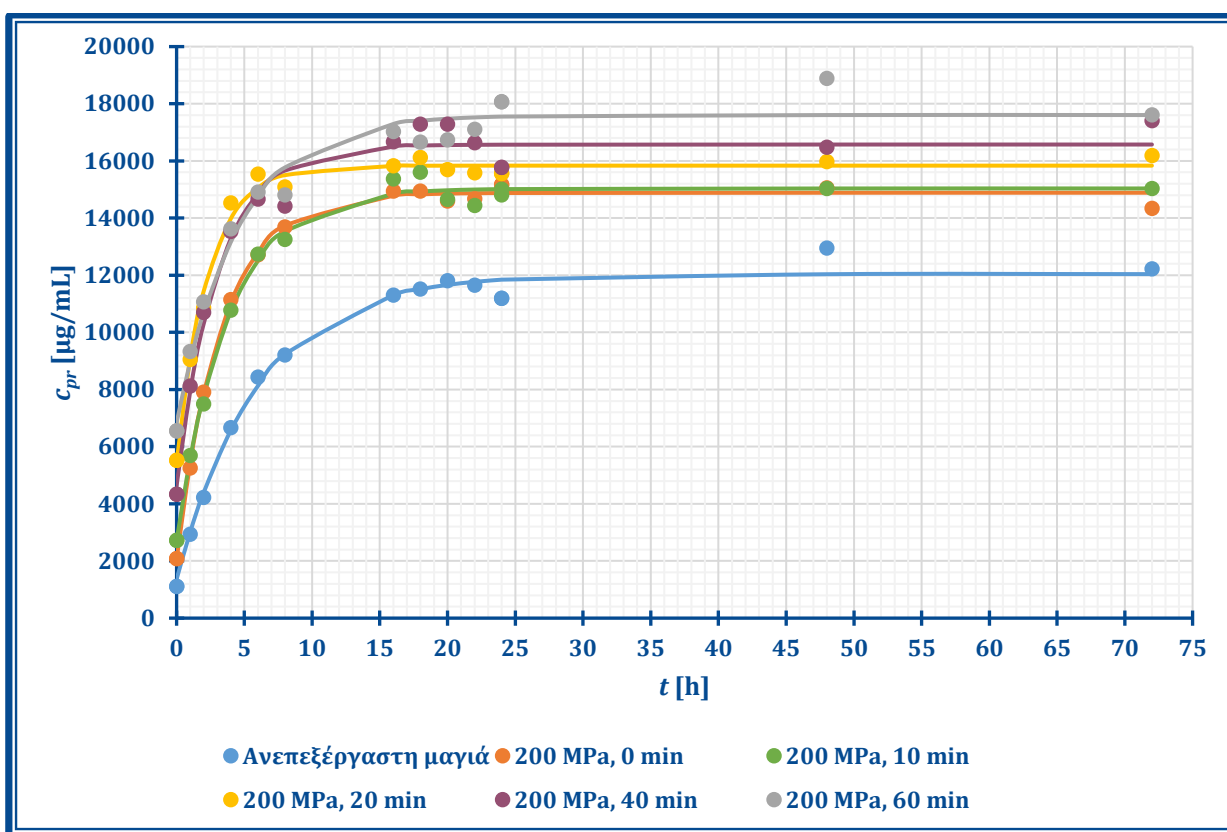
5.4. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΣΤΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ ΑΡΤΟΠΟΙΑΣ

5.4.1. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΣΤΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΜΑΓΙΑΣ ΑΡΤΟΠΟΙΑΣ

Προχωρώντας στην ανάλυση της επίδρασης που επιφέρει η εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης στο αιώρημα μαγιάς αρτοποιίας στη διεργασία της αυτόλυσης και στα χαρακτηριστικά του εκχύλισματος μαγιάς που παράγεται από τη διεργασία αυτή, μελετήθηκε, αρχικά, η μεταβολή της συγκέντρωσης πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς, κατά τη διάρκεια της αυτόλυσης. Όσον αφορά στις πρωτεΐνες του εκχύλισματος μαγιάς, χρησιμοποιήθηκαν δύο διαφορετικές μέθοδοι, για τον προσδιορισμό δύο διαφορετικών δεικτών· η μέθοδος Lowry, με την οποία προσδιορίζεται η συγκέντρωση των συνολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς, και η μέθοδος των ελευθέρων αμινικών αζώτων (*Free Amino-Nitrogen, FAN*), με την οποία προσδιορίζεται η συγκέντρωση των αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων (μονο-, δι- και τριπεπτιδίων) στο εκχύλισμα μαγιάς, με τις διαδικασίες που περιγράφονται στις ενότητες 4.9.1.1 και 4.9.1.2, αντίστοιχα.

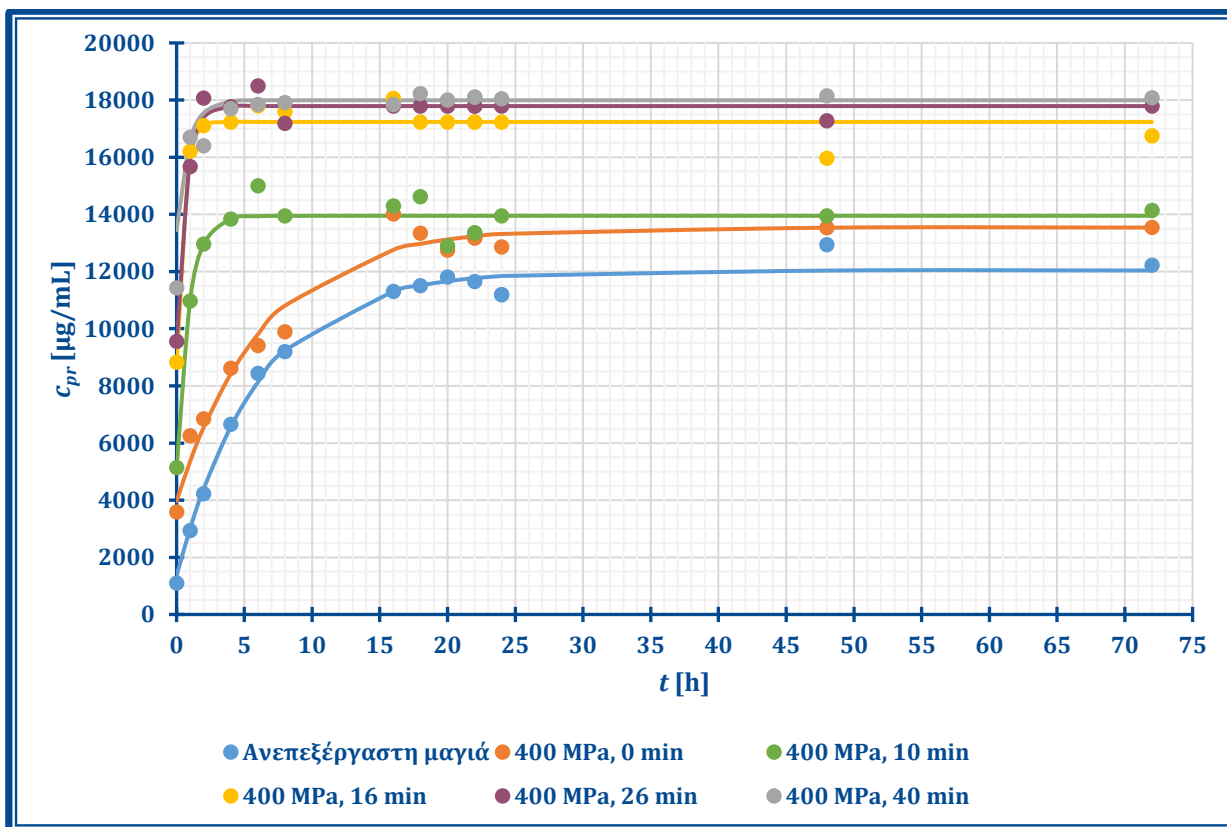
5.4.1.1. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΣΤΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΜΑΓΙΑΣ ΑΡΤΟΠΟΙΑΣ

Σε πρώτη φάση μελετήθηκε η συγκέντρωση των ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς αρτοποιίας, με τη μέθοδο Lowry. Από την εκτέλεση της πειραματικής διαδικασίας η οποία περιγράφεται στην ενότητα 4.9.1.1, προέκυψαν, για το εκχύλισμα μαγιάς αρτοποιίας 10 % W/W που επεξεργάσθηκε με υπερυψηλή πίεση στα 200 MPa, στα 400 MPa και στα 600 MPa, τα αποτελέσματα τα οποία παρατίθενται στα διαγράμματα που ακολουθούν.



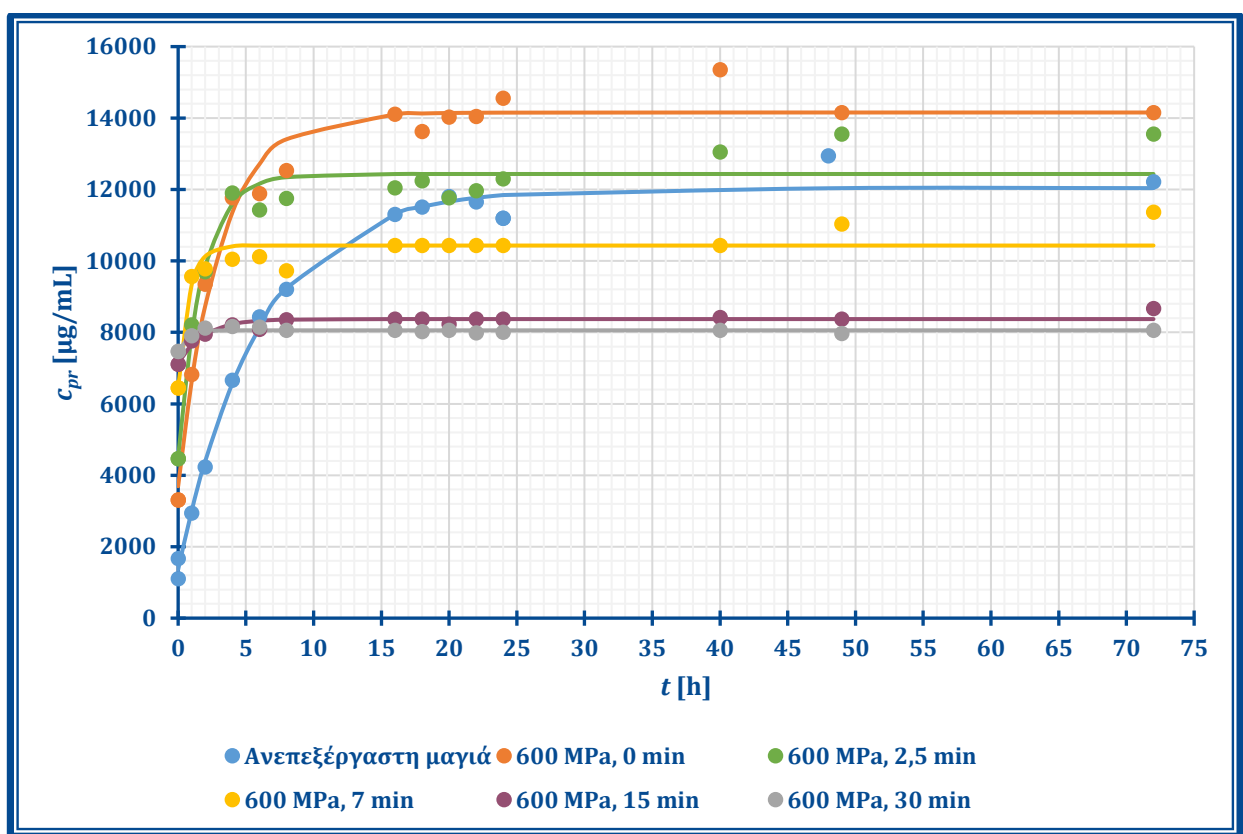
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ Δ.5.7

Διάγραμμα της συγκέντρωσης ολικών πρωτεϊνών (c_{pr}) συναρτήσει του χρόνου αυτόλυσης (t) στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης με υπερυψηλή πίεση στα 200 MPa για 0 – 60 min.



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ Δ.5.8

Διάγραμμα της συγκέντρωσης ολικών πρωτεϊνών (c_{pr}) συναρτήσει του χρόνου αυτόλυσης (t) στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης με υπερυψηλή πίεση στα 400 MPa για 0 – 40 min.



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ Δ.5.9

Διάγραμμα της συγκέντρωσης ολικών πρωτεϊνών (c_{pr}) συναρτήσει του χρόνου αυτόλυσης (t) στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης με υπερυψηλή πίεση στα 600 MPa για 0 – 30 min.

Η παραπάνω συμπεριφορά της συγκέντρωσης ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς συναρτήσει του χρόνου αυτόλυσης ($c_{pr} = f(t)$) μοντελοποιήθηκε μαθηματικά, με τη χρήση του πακέτου λογισμικού SigmaPlot 11.0 (Systat Software, Inc., San Jose, California, United States of America) για κάθε συνθήκη πίεσης και χρόνου πίεσης, χρησιμοποιώντας το παρακάτω μαθηματικό μοντέλο:

$$c_{pr} = c_{pr(e)} - (c_{pr(e)} - c_{pr(0)}) \cdot \left(1 - e^{-\frac{t}{\tau_{pr}}}\right) \quad [5.2]$$

... όπου: c_{pr} : η συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς, σε κάθε χρονική

στιγμή της αυτόλυσης $\left[\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}\right]$

t : ο χρόνος αυτόλυσης [h]

$c_{pr(e)}$: η μέγιστη συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς, η οποία επιτυγχάνεται στην εκάστοτε συνθήκη πίεσης και χρόνου πίεσης (πλατό) $\left[\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}\right]$

$c_{pr(0)}$: η αρχική συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς ($t = 0$ h), έπειτα από την εκάστοτε επεξεργασία με υπερυψηλή πίεση $\left[\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}\right]$

τ_{pr} : παράμετρος της συνάρτησης $c_{pr} = f(t)$ η οποία σχετίζεται με την κλίση του γραμμικού τμήματος ανόδου της καμπύλης προσαρμογής [h]

Οι παράμετροι των συναρτήσεων $c_{pr} = f(t)$ της μεταβολής της συγκέντρωσης ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς συναρτήσει του χρόνου αυτόλυσης οι οποίες προέκυψαν ύστερα από αυτή τη μοντελοποίηση ($c_{pr(0)}, c_{pr(e)}, \tau_{pr}$), καθώς και ο βαθμός προσαρμογής των καμπυλών που προέκυψαν από τη μαθηματική μοντελοποίηση στα πειραματικά δεδομένα (R^2) παρουσιάζονται στον πίνακα που ακολουθεί.

ΠΙΝΑΚΑΣ Π.5.2

Παράμετροι των συναρτήσεων $c_{pr} = f(t)$ της μεταβολής της συγκέντρωσης ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς ($c_{pr(0)}, c_{pr(e)}, \tau_{pr}$) και βαθμός προσαρμογής (R^2) των καμπυλών που προέκυψαν από τη μαθηματική μοντελοποίηση στα πειραματικά σημεία, για τις διάφορες συνθήκες πίεσης και χρόνου πίεσης.

ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΑΝΕΠΕΞΕΡΓΑΣΤΗΣ ΜΑΓΙΑΣ				
	$c_{pr(0)} \left[\times 10^3 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \right]$	$c_{pr(e)} \left[\times 10^3 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \right]$	$\tau_{pr} \text{ [h]}$	R^2
	$1,36 \pm 0,278$	$12,0 \pm 0,429$	$5,98 \pm 0,522$	0,991
ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΜΑΓΙΑΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΜΕΝΗΣ ΣΤΑ 200 MPa				
$t_p \text{ [min]}$	$c_{pr(0)} \left[\times 10^3 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \right]$	$c_{pr(e)} \left[\times 10^3 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \right]$	$\tau_{pr} \text{ [h]}$	R^2
0	$2,05 \pm 0,155$	$14,9 \pm 0,231$	$3,32 \pm 0,119$	0,998
10	$2,71 \pm 0,257$	$15,0 \pm 0,395$	$3,80 \pm 0,254$	0,995
20	$5,45 \pm 0,253$	$15,8 \pm 0,376$	$2,32 \pm 0,171$	0,992
40	$4,64 \pm 0,595$	$16,6 \pm 0,858$	$3,11 \pm 0,370$	0,975
60	$6,84 \pm 0,434$	$17,6 \pm 0,655$	$4,52 \pm 0,576$	0,978
ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΜΑΓΙΑΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΜΕΝΗΣ ΣΤΑ 400 MPa				
$t_p \text{ [min]}$	$c_{pr(0)} \left[\times 10^3 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \right]$	$c_{pr(e)} \left[\times 10^3 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \right]$	$\tau_{pr} \text{ [h]}$	R^2
0	$3,97 \pm 0,405$	$13,5 \pm 0,642$	$6,39 \pm 1,06$	0,975
10	$5,14 \pm 0,504$	$13,9 \pm 0,763$	$0,914 \pm 0,212$	0,972
16	$8,83 \pm 0,498$	$17,2 \pm 0,761$	$0,476 \pm 0,166$	0,973
26	$9,54 \pm 0,458$	$17,8 \pm 0,738$	$0,661 \pm 0,168$	0,982
40	$13,5 \pm 0,158$	$18,0 \pm 0,229$	$0,860 \pm 0,0778$	0,987
ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΜΑΓΙΑΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΜΕΝΗΣ ΣΤΑ 600 MPa				
$t_p \text{ [min]}$	$c_{pr(0)} \left[\times 10^3 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \right]$	$c_{pr(e)} \left[\times 10^3 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \right]$	$\tau_{pr} \text{ [h]}$	R^2
0	$3,69 \pm 0,629$	$14,2 \pm 0,920$	$3,03 \pm 0,453$	0,971
2,5	$4,52 \pm 0,439$	$12,4 \pm 0,763$	$1,79 \pm 0,304$	0,960
7	$6,46 \pm 0,422$	$10,4 \pm 0,650$	$0,777 \pm 0,328$	0,957
15	$7,13 \pm 0,133$	$8,37 \pm 0,209$	$1,86 \pm 0,838$	0,922
30	$7,47 \pm 0,0579$	$8,06 \pm 0,0881$	$0,626 \pm 0,276$	0,919

Προκειμένου να συγκριθούν τα αποτελέσματα της επίδρασης της υπερυψηλής πίεσης στη συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς, υπολογίσθηκαν, για κάθε συνθήκη πίεσης και χρόνου πίεσης, δύο παράμετροι, χρησιμοποιώντας τα δεδομένα

του πίνακα Π.5.2. Η πρώτη παράμετρος, η οποία συμβολίσθηκε ως $t_{90(pr)}$, ορίσθηκε ως ο ισοδύναμος χρόνος που απαιτείται σε κάθε συνθήκη πίεσης και χρόνου πίεσης προκειμένου η συγκέντρωση των ολικών πρωτεϊνών του εκάστοτε εκχυλίσματος μαγιάς να φθάσει το 90 % αυτής του εκχυλίσματος ανεπεξέργαστης μαγιάς. Η παράμετρος $t_{90(pr)}$ υπολογίσθηκε, σύμφωνα με τη σχέση:

$$t_{90(pr)} = -\tau_{pr} \cdot \ln \left(\frac{c_{pr(e)} - 0,9 \cdot c_{pr(e,UT)}}{c_{pr(e)} - c_{pr(0)}} \right) \quad [5.3]$$

... όπου: $t_{90(pr)}$: ο ισοδύναμος χρόνος t_{90} για την περίπτωση των ολικών πρωτεϊνών του εκχυλίσματος μαγιάς [h]

$c_{pr(e)}$: η μέγιστη συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς, η οποία επιτυγχάνεται στην εκάστοτε συνθήκη πίεσης και χρόνου πίεσης (πλατό) $\left[\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \right]$

$c_{pr(e,UT)}$: η μέγιστη συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς (πλατό) $\left[\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \right]$

$c_{pr(0)}$: η αρχική συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών ($t = 0$ h) στο εκχύλισμα μαγιάς, έπειτα από την εκάστοτε επεξεργασία με υπερυψηλή πίεση $\left[\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \right]$

τ_{pr} : παράμετρος της συνάρτησης $c_{pr} = f(t)$ η οποία σχετίζεται με την κλίση του γραμμικού τμήματος ανόδου της καμπύλης προσαρμογής [h]

Η δεύτερη παράμετρος, η οποία συμβολίσθηκε ως y_{pr} , ορίσθηκε ως το ποσοστό της συγκέντρωσης ολικών πρωτεϊνών που έχει επιτευχθεί στο εκάστοτε εκχύλισμα μαγιάς κατά τον ισοδύναμο χρόνο $t_{90(pr)}$ της ανεπεξέργαστης μαγιάς, ως προς το 90 % της μέγιστης συγκέντρωσης ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς. Η παράμετρος y_{pr} υπολογίσθηκε, σύμφωνα με τη σχέση:

$$y_{pr} = \frac{c_{pr}(t_{90(UT)})}{0,9 \cdot c_{pr(e,UT)}} \cdot 100 \% = \frac{c_{pr(0)} + (c_{pr(e)} - c_{pr(0)}) \cdot \left(1 - e^{-\frac{t_{90(pr,UT)}}{\tau_{pr}}} \right)}{0,9 \cdot c_{pr(e,UT)}} \cdot 100 \% \quad [5.4]$$

... όπου: y_{pr} : η παράμετρος y για την περίπτωση των ολικών πρωτεϊνών του εκχυλίσματος μαγιάς [-]

$c_{pr(0)}$: η αρχική συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών ($t = 0$ h) στο εκχύλισμα μαγιάς, έπειτα από την εκάστοτε επεξεργασία με υπερυψηλή πίεση $\left[\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \right]$

$c_{pr(e)}$: η μέγιστη συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών η οποία επιτυγχάνεται στην εκάστοτε συνθήκη πίεσης και χρόνου πίεσης (πλατό) $\left[\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \right]$

$c_{pr(e,UT)}$: η μέγιστη συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς (πλατό) $\left[\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \right]$

$t_{90(pr,UT)}$: ο ισοδύναμος χρόνος t_{90} για την περίπτωση των ολικών πρωτεϊνών του εκχυλίσματος ανεπεξέργαστης μαγιάς [h]

τ_{pr} : παράμετρος της συνάρτησης $c_{pr} = f(t)$ η οποία σχετίζεται με την κλίση του γραμμικού τμήματος ανόδου της καμπύλης προσαρμογής [h]

Οι παράμετροι $t_{90(pr)}$ και y_{pr} για κάθε συνθήκη επεξεργασίας παρατίθεται στον πίνακα που ακολουθεί, μαζί με τις αντίστοιχες τιμές του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης (Z) και της ανηγμένης ενεργότητας συνολικών πρωτεολυτικών ενζύμων ($\frac{A}{A_{UT}}$).

ΠΙΝΑΚΑΣ Π.5.3

Παράμετροι $t_{90(pr)}$ και y_{pr} αναφορικά με τη συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς, δείκτης κυτταρικής διάρρηξης (Z) και ανηγμένη ενεργότητα συνολικών πρωτεολυτικών ενζύμων ($\frac{A}{A_{UT}}$), για τις διάφορες συνθήκες πίεσης και χρόνου πίεσης.

p [MPa]	t_p [min]	Z [-]	$\frac{A}{A_{UT}}$ [-]	$t_{90(pr)}$ [h]	y_{pr} [%]
ανεπεξεργαστη μαγιά	–	0,000	1,00	13,1	100
200	0	0,01774	1,35	3,83	135
	10	0,02398	1,87	4,09	135
	20	0,03208	2,20	1,70	146
	40	0,05502	2,53	2,28	151
	60	0,08714	2,67	2,10	157
400	0	0,01543	1,48	8,07	114
	10	0,08366	2,10	0,950	129
	16	0,1994	2,32	0,129	159
	26	0,4936	2,52	0,113	164
	40	0,6763	2,66	-0,391	166
600	0	0,4894	1,12	3,48	129
	2,5	0,7257	1,50	2,86	115
	7	0,8805	1,54	δεν ορίζεται	96,3
	15	0,9032	1,16	δεν ορίζεται	77,3
	30	0,9037	0,61	δεν ορίζεται	74,4

Από τα διαγράμματα Δ.5.7, Δ.5.8 και Δ.5.9 και τον πίνακα Π.5.2 παρατηρείται ότι η εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης ύψους 200 MPa και 400 MPa στο αιώρημα μαγιάς 10 % W/W επιφέρει σημαντική, θετική μεταβολή στη διεργασία της αυτόλυσης, αναφορικά με τη συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς, ενώ η εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης ύψους 600 MPa στο αιώρημα μαγιάς έχει ανάμεικτα αποτελέσματα. Σε σύγκριση με το εκχύλισμα μαγιάς το οποίο παράγεται από ανεπεξεργαστη μαγιά, τα εκχυλίσματα τα οποία παράγονται από αιώρημα μαγιάς επεξεργασμένης στα 200 MPa και στα 400 MPa έχουν υψηλότερη τελική συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών, ενώ αυτή επιτυγχάνεται ταχύτερα, έπειτα από μικρότερο χρόνο αυτόλυσης. Αντίθετα, στην περίπτωση επεξεργασίας του αιωρήματος μαγιάς στα 600 MPa παρατηρείται μια αύξηση στην τελική συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς εν σχέσει προς το εκχύλισμα ανεπεξεργαστης μαγιάς, για μικρούς χρόνους επεξεργασίας (0 – 2,5 min), ενώ η τελική συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα επεξεργασμένης μαγιάς είναι

μικρότερη από αυτή του εκχυλίσματος ανεπεξέργαστης μαγιάς, για μεγαλύτερους χρόνους επεξεργασίας (7 – 30 min).

Η συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών λαμβάνει μέγιστη τιμή στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς έπειτα από 24 h αυτόλυσης, η οποία ισούται, περίπου, με $12000 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$. Στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης στα 200 MPa, η συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών λαμβάνει μέγιστη τιμή ύστερα από 16 h αυτόλυσης, η οποία ισούται στην περίπτωση στιγμιαίας επεξεργασίας ($t_p = 0 \text{ min}$) με, περίπου, $14900 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$, στην περίπτωση επεξεργασίας για 10 min με, περίπου, $15000 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$, στην περίπτωση επεξεργασίας για 20 min με, περίπου, $15800 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$, στην περίπτωση επεξεργασίας για 40 min με, περίπου, $16600 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ και στην περίπτωση επεξεργασίας για 60 min με, περίπου, $17600 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$. Η μεταβολή που επιφέρει η επεξεργασία της μαγιάς με υπερυψηλή πίεση στα 200 MPa γίνεται περισσότερο κατανοητή από τα δεδομένα του πίνακα Π.5.3. Από τον πίνακα αυτόν παρατηρείται ότι η επεξεργασία της μαγιάς με υπερυψηλή πίεση στα 200 MPa μειώνει σημαντικά τον ισοδύναμο χρόνο που απαιτείται για την επίτευξη της ίδιας συγκέντρωσης ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς, ίσης με το 90 % αυτής στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς ($t_{90(pr)}$). Στην περίπτωση επεξεργασίας στα 200 MPa, ο ισοδύναμος αυτός χρόνος ελαχιστοποιείται με επεξεργασία για 20 min, οπότε ισούται με 1,70 h, μειωμένος κατά 87,0 % σε σχέση με τον χρόνο που απαιτείται για την επίτευξη της ίδιας συγκέντρωσης ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα της ανεπεξέργαστης μαγιάς. Όσον αφορά στην παράμετρο y_{pr} , αυτή είναι μεγαλύτερη από 100 % στην περίπτωση των εκχυλισμάτων μαγιάς επεξεργασμένης με υπερυψηλή πίεση στα 200 MPa. Αυτό σημαίνει ότι για την ίδια διάρκεια αυτόλυσης, ίση με τον ισοδύναμο χρόνο $t_{90(pr)}$ του εκχυλίσματος ανεπεξέργαστης μαγιάς, επιτυγχάνεται υψηλότερη συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα επεξεργασμένης μαγιάς από αυτή στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς. Στον ίδιο χρόνο αυτόλυσης, η μέγιστη συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης στα 200 MPa επιτυγχάνεται έπειτα από 60 min επεξεργασίας, οπότε είναι 1,57 φορές υψηλότερη από αυτή στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς ($y_{pr} = 157 \%$).

Στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης στα 400 MPa, η συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών λαμβάνει μέγιστη τιμή στην περίπτωση στιγμιαίας επεξεργασίας ($t_p = 0 \text{ min}$), ύστερα από 24 h αυτόλυσης, η οποία ισούται με, περίπου, $13500 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$, στην περίπτωση επεξεργασίας για 10 min ύστερα από 4 h αυτόλυσης, η οποία ισούται με, περίπου, $13900 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$, στην περίπτωση επεξεργασίας για 16 min ύστερα από 2 h αυτόλυσης, η οποία ισούται με, περίπου, $17200 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$, στην περίπτωση επεξεργασίας για 26 min και 40 min ύστερα από 4 h αυτόλυσης, η οποία ισούται με, περίπου, $17800 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ και $18000 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$, αντίστοιχα. Η μεταβολή που επιφέρει η επεξεργασία της μαγιάς με υπερυψηλή πίεση στα 400 MPa γίνεται περισσότερο αντιληπτή από τα δεδομένα του πίνακα Π.5.3. Από τον πίνακα αυτόν παρατηρείται ότι και η επεξεργασία της μαγιάς με υπερυψηλή πίεση στα 400 MPa μειώνει, επίσης, σημαντικά τον ισοδύναμο χρόνο που απαιτείται για την επίτευξη της ίδιας συγκέντρωσης ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς, ίσης με το 90 % αυτής στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς ($t_{90(pr)}$). Μάλιστα, αυτή η παρατηρούμενη μείωση είναι πολύ πιο έντονη σε σχέση με την επεξεργασία της μαγιάς στα 200 MPa. Στην

περίπτωση επεξεργασίας στα 400 MPa, ο χρόνος αυτός μειώνεται ολοένα και περισσότερο, όσο αυξάνεται ο χρόνος επεξεργασίας. Μάλιστα, ο χρόνος αυτός γίνεται αρνητικός στην περίπτωση επεξεργασίας για 40 min, γεγονός που σημαίνει ότι πριν την έναρξη της διεργασίας της αυτόλυσης έχει ήδη επιτευχθεί στο «εκχύλισμα μαγιάς» συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών μεγαλύτερη από το 90 % αυτής στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς ($c_{BSA(0)} > 0,9 \cdot c_{BSA(e,UT)}$), λόγω της εφαρμογής της υπερυψηλής πίεσης. Όσον αφορά στην παράμετρο y_{pr} , αυτή είναι μεγαλύτερη από 100 % και στην περίπτωση των εκχυλισμάτων μαγιάς επεξεργασμένης με υπερυψηλή πίεση στα 400 MPa. Αυτό σημαίνει ότι για την ίδια διάρκεια αυτόλυσης, ίση με τον ισοδύναμο χρόνο $t_{90(pr)}$ του εκχυλίσματος ανεπεξέργαστης μαγιάς, επιτυγχάνεται υψηλότερη συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα επεξεργασμένης μαγιάς από αυτή στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς. Στον ίδιο χρόνο αυτόλυσης, η μέγιστη συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης στα 400 MPa επιτυγχάνεται έπειτα από 40 min επεξεργασίας, οπότε είναι 1,66 φορές υψηλότερη από αυτή στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς ($y_{pr} = 166 \%$).

Στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης στα 600 MPa, η συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών λαμβάνει μέγιστη τιμή στην περίπτωση στιγμιαίας επεξεργασίας ($t_p = 0 \text{ min}$), ύστερα από 16 h αυτόλυσης, η οποία ισούται με, περίπου, $14200 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$, στην περίπτωση επεξεργασίας για 2,5 min ύστερα από 8 h αυτόλυσης, η οποία ισούται με, περίπου, $12400 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$, στην περίπτωση επεξεργασίας για 7 min και 15 min ύστερα από 4 h αυτόλυσης, η οποία ισούται με, περίπου, $10400 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ και $8370 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$, αντίστοιχα, και στην περίπτωση επεξεργασίας για 30 min ύστερα από 2 h αυτόλυσης, η οποία ισούται με, περίπου, $8060 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$. Η μεταβολή που επιφέρει η επεξεργασία της μαγιάς με υπερυψηλή πίεση στα 600 MPa γίνεται έτι περαιτέρω αντιληπτή από τα δεδομένα του πίνακα Π.5.3. Από τον πίνακα αυτόν φαίνεται ότι η επεξεργασία της μαγιάς με υπερυψηλή πίεση στα 600 MPa έχει μικτά αποτελέσματα, όσον αφορά στον ισοδύναμο χρόνο που απαιτείται για την επίτευξη της ίδιας συγκέντρωσης ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς, ίσης με το 90 % αυτής στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς ($t_{90(pr)}$). Στην περίπτωση επεξεργασίας στα 600 MPa, ο χρόνος αυτός είναι σημαντικά μειωμένος σε σχέση με αυτόν του εκχυλίσματος ανεπεξέργαστης μαγιάς για μικρούς χρόνους επεξεργασίας (0 – 2,5 min), καθώς ισούται με 3,48 h στην περίπτωση στιγμιαίας επεξεργασίας και με 2,86 h στην περίπτωση επεξεργασίας για 2,5 min στα 600 MPa, έναντι 13,1 h στην περίπτωση του εκχυλίσματος ανεπεξέργαστης μαγιάς, ενώ δεν ορίζεται για μεγαλύτερους χρόνους επεξεργασίας. Αυτή η αδυναμία ορισμού αντανακλά το γεγονός ότι στην περίπτωση των εκχυλισμάτων μαγιάς επεξεργασμένης στα 600 MPa για μεγαλύτερους χρόνους επεξεργασίας δεν επιτυγχάνεται ποτέ, μέχρι το πέρας της αυτόλυσης, τελική συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών ίση με το 90 % αυτής του εκχυλίσματος ανεπεξέργαστης μαγιάς ($c_{Gly(e)} < 0,9 \cdot c_{Gly(e,UT)}$). Όσον αφορά στην παράμετρο y_{pr} , αυτή είναι μεγαλύτερη από 100 % στην περίπτωση των εκχυλισμάτων μαγιάς επεξεργασμένης με υπερυψηλή πίεση στα 600 MPa για μικρούς χρόνους επεξεργασίας (0 – 2,5 min), ενώ είναι μικρότερη από 100 % για μεγαλύτερους χρόνους επεξεργασίας (7 – 30 min). Αυτό σημαίνει ότι για την ίδια διάρκεια αυτόλυσης, ίση με τον ισοδύναμο χρόνο $t_{90(pr)}$ του εκχυλίσματος

ανεπεξέργαστης μαγιάς, επιτυγχάνεται υψηλότερη συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα επεξεργασμένης μαγιάς στα 600 MPa για έως 2,5 min από αυτή στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς, ενώ για μεγαλύτερους χρόνους επεξεργασίας η τελική συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα επεξεργασμένης μαγιάς είναι μικρότερη από αυτή του εκχυλίσματος ανεπεξέργαστης μαγιάς. Στον ίδιο χρόνο αυτόλυσης, η μέγιστη συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης στα 600 MPa επιτυγχάνεται έπειτα από στιγμιαία επεξεργασία ($t_p = 0 \text{ min}$), οπότε είναι 1,29 φορές υψηλότερη από αυτή στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς ($y_{pr} = 129 \%$), ενώ για μεγαλύτερους χρόνους επεξεργασίας η τελική συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών μειώνεται συνεχώς, καθώς μειώνεται η παράμετρος y_{pr} .

Από τα παραπάνω συμπεραίνεται ότι η επεξεργασία του αιωρήματος μαγιάς 10 % W/W με υπερυψηλή πίεση ύψους 200 MPa και 400 MPa επιταχύνει την αυτόλυση, καθώς μειώνει τον απαιτούμενο χρόνο αυτόλυσης που απαιτείται για την επίτευξη της ίδιας συγκέντρωσης ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς. Παράλληλα, η επεξεργασία με υπερυψηλή πίεση ύψους 200 MPa και 400 MPa αυξάνει και τον βαθμό απόδοσης της αυτόλυσης, όσον αφορά στη συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς, η οποία είναι υψηλότερη στο εκχύλισμα επεξεργασμένης μαγιάς, σε σχέση με το εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς. Από την άλλη, η επεξεργασία με υπερυψηλή πίεση ύψους 600 MPa αρχικά επιταχύνει την αυτόλυση, για μικρούς χρόνους πίεσης (0 – 2,5 min), ενώ η περαιτέρω επεξεργασία με υπερυψηλή πίεση επιβραδύνει ή παρεμποδίζει την αυτόλυση, καθώς μειώνεται ο βαθμός απόδοσης της διεργασίας της αυτόλυσης, αφού για τον ίδιο χρόνο αυτόλυσης επιτυγχάνεται μικρότερη συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα επεξεργασμένης μαγιάς, σε σχέση με το εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς. Συμπερασματικά, λοιπόν, βέλτιστη απόδοση σε ολικές πρωτεΐνες φαίνεται να έχει η επεξεργασία του αιωρήματος μαγιάς στα 400 MPa, έναντι των άλλων δύο πιέσεων, καθώς με πολύ σύντομη επεξεργασία επιτυγχάνεται σημαντική μείωση, έως και εκμηδενισμός, του ισοδύναμου χρόνου t_{90} , με παράλληλη αύξηση της συνολικής απόδοσης της αυτόλυσης σε ολικές πρωτεΐνες, κατά 14 – 66 %.

Συγκρίνοντας τα παραπάνω αποτελέσματα με τον δείκτη κυτταρικής διάρρηξης (Z) και την ανηγμένη συνολική ενεργότητα των πρωτεολυτικών ενζύμων της μαγιάς ($\frac{A}{A_{UT}}$), όπως παρουσιάζονται συνοπτικά στον πίνακα Π.5.3, παρατηρείται ότι στην περίπτωση επεξεργασίας της μαγιάς με υπερυψηλή πίεση στα 200 MPa, οπότε δεν λαμβάνει χώρα σημαντική κυτταρική διάρρηξη ($Z \cong 0$), η αυξημένη ενεργότητα των πρωτεολυτικών ενζύμων επιταχύνει σημαντικά τη διεργασία της αυτόλυσης. Στην περίπτωση αυτήν, ο χρόνος που απαιτείται για την επίτευξη της ίδιας συγκέντρωσης ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς, ίσης με το 90 % αυτής στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς ($t_{90(pr)}$) μειώνεται κατά 68,8 – 87,0 %, από 13,1 h στην περίπτωση του εκχυλίσματος ανεπεξέργαστης μαγιάς σε 1,70 – 4,09 h στην περίπτωση του εκχυλίσματος επεξεργασμένης μαγιάς στα 200 MPa, για τους διάφορους χρόνους πίεσης. Επίσης, παρατηρείται ότι για τον ίδιο δείκτη κυτταρικής διάρρηξης, ίσο, περίπου, με 0,5, ο οποίος επιτυγχάνεται με επεξεργασία του αιωρήματος μαγιάς είτε στα 400 MPa για 26 min, είτε στα 600 MPa στιγμιαία ($t_p = 0 \text{ min}$), η μεγαλύτερη ανηγμένη ενεργότητα πρωτεολυτικών ενζύμων επιφέρει σημαντική μείωση του ισοδύναμου χρόνου για την

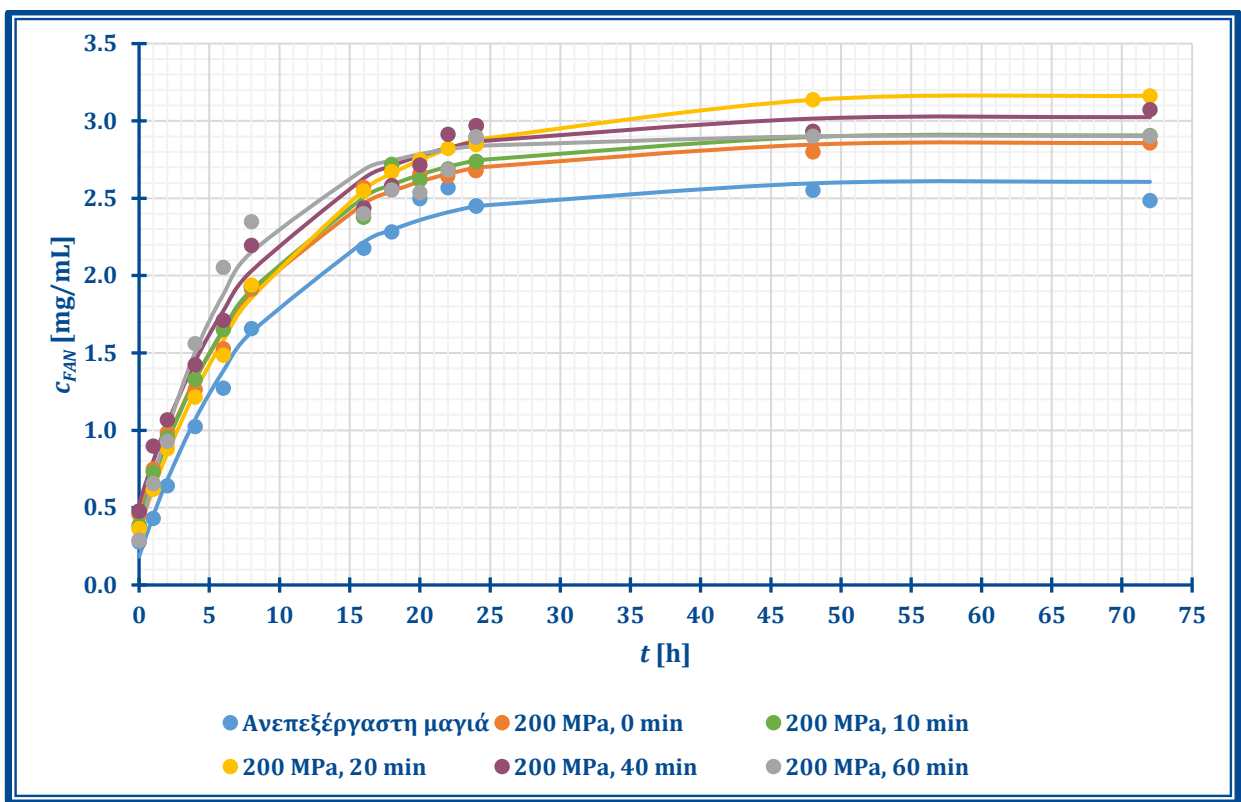
επίτευξη της ίδιας συγκέντρωσης ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα επεξεργασμένης μαγιάς, ίσης με το 90 % αυτής στο εκχύλισμα ανεπεξεργαστης μαγιάς ($t_{90(pr)}$), αλλά και σημαντική αύξηση της απόδοσης της διεργασίας της αυτόλυσης σε ολικές πρωτεΐνες, όπως αυτή αποτυπώνεται από την παράμετρο y_{pr} . Στην περίπτωση επεξεργασίας του αιωρήματος μαγιάς στα 400 MPa για 26 min, με $Z \cong 0,5$ και $\frac{A}{A_{UT}} = 2,52$ ο ισοδύναμος χρόνος $t_{90(pr)}$ ισούται με 0,113 h και η παράμετρος y_{pr} ισούται με 164 %, ενώ στην περίπτωση στιγμιαίας επεξεργασίας ($t_p = 0$ min) του αιωρήματος μαγιάς στα 600 MPa, με ίδια τιμή Z και $\frac{A}{A_{UT}} = 1,12$ ο ισοδύναμος χρόνος $t_{90(pr)}$ ισούται με 3,48 h και η παράμετρος y_{pr} ισούται με 129 %. Ωστόσο, παρατηρείται ότι για την ίδια ενεργότητα πρωτεολυτικών ενζύμων, ίση, περίπου, με 1,50, η οποία επιτυγχάνεται με επεξεργασία του αιωρήματος μαγιάς είτε στα 400 MPa στιγμιαία ($t_p = 0$ min), είτε στα 600 MPa για 2,5 min, ο υψηλότερος δείκτης κυτταρικής διάρρηξης επιφέρει, μεν, σημαντική μείωση του ισοδύναμου χρόνου για την επίτευξη της ίδιας συγκέντρωσης ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα επεξεργασμένης μαγιάς, ίσης με το 90 % αυτής στο εκχύλισμα ανεπεξεργαστης μαγιάς ($t_{90(pr)}$), όχι όμως και αύξηση της απόδοσης της διεργασίας της αυτόλυσης σε ολικές πρωτεΐνες, όπως αυτή αποτυπώνεται από την παράμετρο y_{pr} . Στην περίπτωση στιγμιαίας επεξεργασίας ($t_p = 0$ min) του αιωρήματος μαγιάς στα 400 MPa, με $Z \cong 0$ και $\frac{A}{A_{UT}} = 1,48$ ο ισοδύναμος χρόνος $t_{90(pr)}$ ισούται με 8,07 h και η παράμετρος y_{pr} ισούται με 114 %, ενώ στην περίπτωση επεξεργασίας του αιωρήματος μαγιάς στα 600 MPa για 2,5 min, με $Z \cong 0,7$ και ίδια τιμή ενεργότητας πρωτεολυτικών ενζύμων, ο ισοδύναμος χρόνος $t_{90(pr)}$ ισούται με 2,86 h και η παράμετρος y_{pr} ισούται με 115 %.

Εν κατακλείδι, λοιπόν, συνάγεται το συμπέρασμα ότι στην επιτάχυνση της αυτόλυσης, όπως αυτή αποτυπώνεται από τον ισοδύναμο χρόνο $t_{90(pr)}$ για την περίπτωση των ολικών πρωτεϊνών του εκχυλίσματος μαγιάς, συμβάλλουν εξίσου η αύξηση τόσο του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης (Z), όσο και της ανηγμένης ενεργότητας των συνολικών πρωτεολυτικών ενζύμων της μαγιάς. Από την άλλη, στην αύξηση της απόδοσης της αυτόλυσης σε ολικές πρωτεΐνες, κυρίαρχο ρόλο φαίνεται να παίζει η αύξηση της ενεργότητας των πρωτεολυτικών ενζύμων της μαγιάς και όχι η κυτταρική διάρρηξη.

5.4.1.2. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΑΜΙΝΟΞΕΩΝ ΚΑΙ ΟΛΙΓΟΠΕΠΤΙΔΙΩΝ ΣΤΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΜΑΓΙΑΣ ΑΡΤΟΠΟΙΙΑΣ

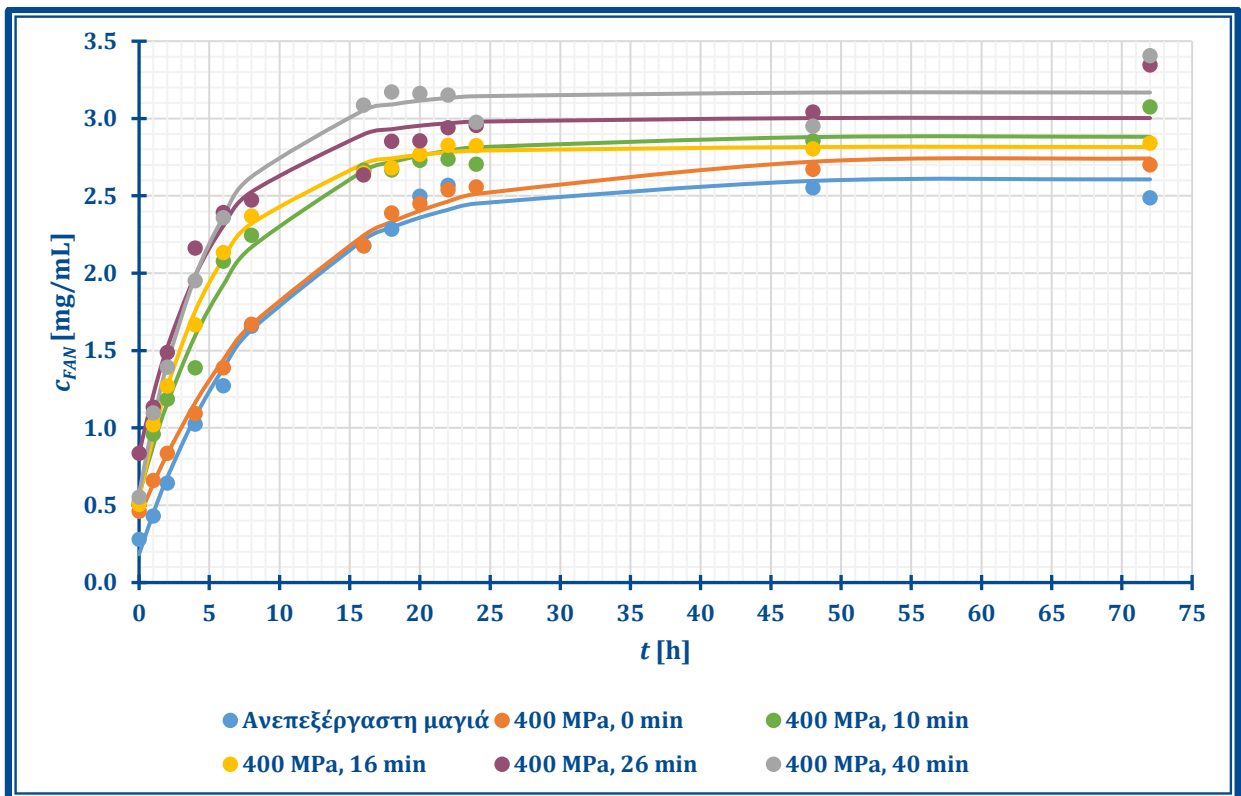
Σε δεύτερη φάση μελετήθηκε η συγκέντρωση των αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων (μονο-, δι- και τριπεπτιδίων) στο εκχύλισμα μαγιάς αρτοποιίας, εκπεφρασμένων ως ελεύθερα αμινικά άζωτα (FAN). Από την εκτέλεση της πειραματικής διαδικασίας η οποία περιγράφεται στην ενότητα 4.9.1.2, προέκυψαν, για το εκχύλισμα από αιώρημα μαγιάς 10 % W/W που επεξεργάσθηκε με υπερυψηλή πίεση στα 200 MPa, στα 400 MPa και στα 600 MPa, τα αποτελέσματα τα οποία παρουσιάζονται στα κάτωθι διαγράμματα.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ



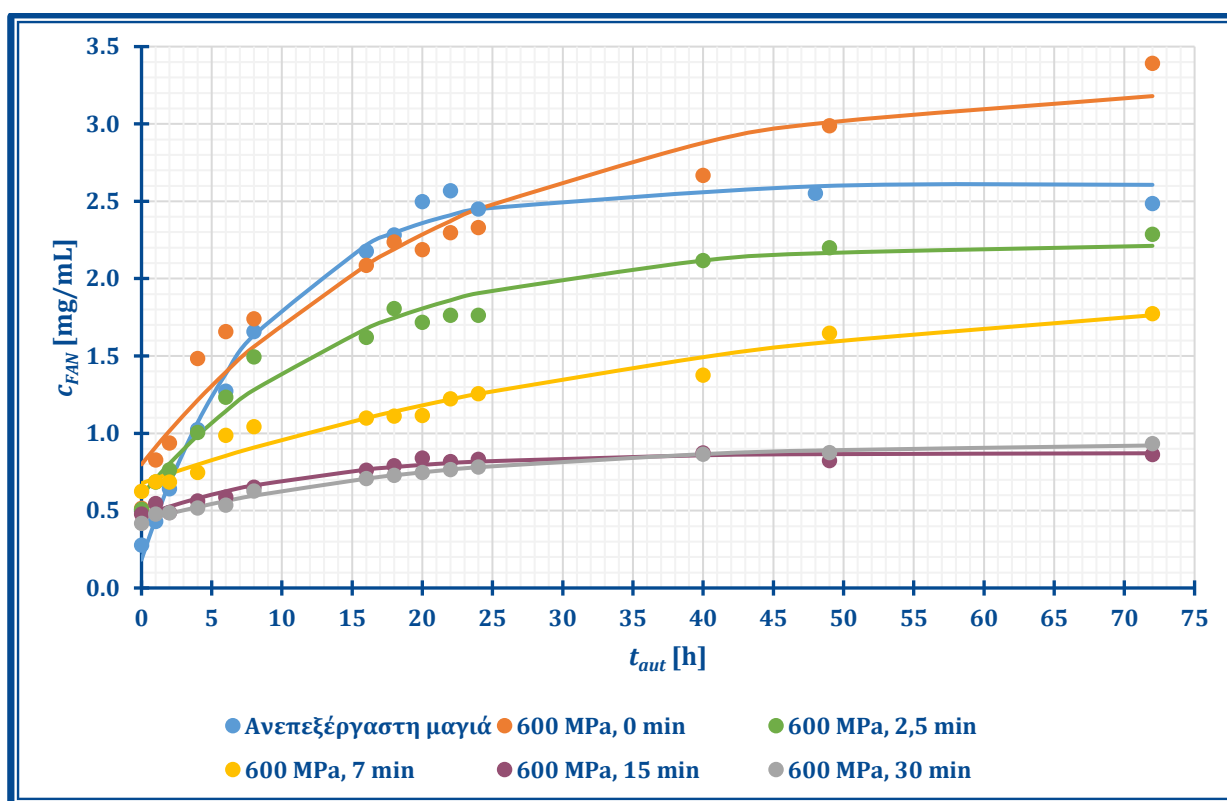
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ Δ.5.10

Διάγραμμα της συγκέντρωσης ελεύθερων αμινικών αζώτων (c_{FAN}) συναρτήσει του χρόνου αυτόλυσης (t) στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης με υπερυψηλή πίεση στα 200 MPa για 0 – 60 min.



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ Δ.5.11

Διάγραμμα της συγκέντρωσης ελεύθερων αμινικών αζώτων (c_{FAN}) συναρτήσει του χρόνου αυτόλυσης (t) στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης με υπερυψηλή πίεση στα 400 MPa για 0 – 40 min.



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ Δ.5.12

Διάγραμμα της συγκέντρωσης ελεύθερων αμινικών αζώτων (c_{FAN}) συναρτήσεως του χρόνου αυτόλυσης (t) στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης με υπερυψηλή πίεση στα 600 MPa για 0 – 30 min.

Η παραπάνω συμπεριφορά της συγκέντρωσης ελεύθερων αμινικών αζώτων (FAN), η οποία αποτελεί δείκτη της συγκέντρωσης αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων (μονο-, δι- και τριπεπτίδια), στο εκχύλισμα μαγιάς συναρτήσεως του χρόνου αυτόλυσης ($c_{FAN} = f(t)$) μοντελοποιήθηκε μαθηματικά, με τη χρήση του πακέτου λογισμικού SigmaPlot 11.0 (Systat Software, Inc., San Jose, California, United States of America) για κάθε συνθήκη πίεσης και χρόνου πίεσης, χρησιμοποιώντας το παρακάτω μαθηματικό μοντέλο:

$$c_{FAN} = c_{FAN(e)} - (c_{FAN(e)} - c_{FAN(0)}) \cdot \left(1 - e^{-\frac{t}{\tau_{FAN}}}\right) \quad [5.5]$$

... όπου: c_{FAN} : η συγκέντρωση των ελεύθερων αμινικών αζώτων (FAN) στο εκχύλισμα μαγιάς, σε κάθε χρονική στιγμή της αυτόλυσης $\left[\frac{\text{mg}}{\text{mL}}\right]$

t : ο χρόνος αυτόλυσης [h]

$c_{FAN(e)}$: η μέγιστη συγκέντρωση ελεύθερων αμινικών αζώτων (FAN) στο εκχύλισμα μαγιάς, η οποία επιτυγχάνεται στην εκάστοτε συνθήκη πίεσης και χρόνου πίεσης (πλατό) $\left[\frac{\text{mg}}{\text{mL}}\right]$

$c_{FAN(0)}$: η αρχική συγκέντρωση ελεύθερων αμινικών αζώτων (FAN) στο εκχύλισμα μαγιάς ($t = 0$ h), έπειτα από την εκάστοτε επεξεργασία με υπερυψηλή πίεση $\left[\frac{\text{mg}}{\text{mL}}\right]$

τ_{FAN} : παράμετρος η οποία σχετίζεται με την κλίση του γραμμικού τμήματος ανόδου της καμπύλης προσαρμογής [h]

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ

Οι παράμετροι των συναρτήσεων $c_{FAN} = f(t)$ της μεταβολής της συγκέντρωσης ελεύθερων αμινικών αζώτων (FAN) στο εκχύλισμα μαγιάς, οι οποίες προέκυψαν ύστερα από αυτή τη μοντελοποίηση ($c_{FAN(0)}, c_{FAN(e)}, \tau_{FAN}$), καθώς και ο βαθμός προσαρμογής των καμπυλών που προέκυψαν από τη μαθηματική μοντελοποίηση στα πειραματικά δεδομένα (R^2) παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα.

ΠΙΝΑΚΑΣ Π.5.4

Παράμετροι των συναρτήσεων $c_{FAN} = f(t)$ της μεταβολής της συγκέντρωσης ελεύθερων αμινικών αζώτων (FAN) στο εκχύλισμα μαγιάς ($c_{FAN(0)}, c_{FAN(e)}, \tau_{FAN}$) και βαθμός προσαρμογής (R^2) των καμπυλών που προέκυψαν από τη μαθηματική μοντελοποίηση στα πειραματικά σημεία, για τις διάφορες συνθήκες πίεσης και χρόνου πίεσης.

ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΑΝΕΠΕΞΕΡΓΑΣΤΗΣ ΜΑΓΙΑΣ				
	$c_{FAN(0)} \left[\frac{\text{mg}}{\text{mL}} \right]$	$c_{FAN(e)} \left[\frac{\text{mg}}{\text{mL}} \right]$	$\tau_{FAN} \text{ [h]}$	R^2
	$0,183 \pm 0,0700$	$2,61 \pm 0,152$	$8,77 \pm 0,846$	0,990
ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΜΑΓΙΑΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΜΕΝΗΣ ΣΤΑ 200 MPa				
$t_p \text{ [min]}$	$c_{FAN(0)} \left[\frac{\text{mg}}{\text{mL}} \right]$	$c_{FAN(e)} \left[\frac{\text{mg}}{\text{mL}} \right]$	$\tau_{FAN} \text{ [h]}$	R^2
0	$0,456 \pm 0,034$	$2,86 \pm 0,080$	$8,85 \pm 0,548$	0,997
10	$0,415 \pm 0,035$	$2,91 \pm 0,080$	$8,77 \pm 0,539$	0,997
20	$0,364 \pm 0,028$	$3,17 \pm 0,091$	$10,5 \pm 0,665$	0,998
40	$0,527 \pm 0,063$	$3,03 \pm 0,141$	$8,70 \pm 0,907$	0,989
60	$0,307 \pm 0,116$	$2,90 \pm 0,252$	$6,45 \pm 0,999$	0,971
ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΜΑΓΙΑΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΜΕΝΗΣ ΣΤΑ 400 MPa				
$t_p \text{ [min]}$	$c_{FAN(0)} \left[\frac{\text{mg}}{\text{mL}} \right]$	$c_{FAN(e)} \left[\frac{\text{mg}}{\text{mL}} \right]$	$\tau_{FAN} \text{ [h]}$	R^2
0	$0,423 \pm 0,038$	$2,74 \pm 0,060$	$10,4 \pm 0,543$	0,996
10	$0,566 \pm 0,0886$	$2,88 \pm 0,130$	$6,80 \pm 0,777$	0,984
16	$0,548 \pm 0,0449$	$2,82 \pm 0,0651$	$5,26 \pm 0,283$	0,996
26	$0,835 \pm 0,127$	$3,00 \pm 0,184$	$5,29 \pm 0,840$	0,966
40	$0,574 \pm 0,105$	$3,17 \pm 0,152$	$5,13 \pm 0,607$	0,985
ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΜΑΓΙΑΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΜΕΝΗΣ ΣΤΑ 600 MPa				
$t_p \text{ [min]}$	$c_{FAN(0)} \left[\frac{\text{mg}}{\text{mL}} \right]$	$c_{FAN(e)} \left[\frac{\text{mg}}{\text{mL}} \right]$	$\tau_{FAN} \text{ [h]}$	R^2
0	$0,799 \pm 0,113$	$3,27 \pm 0,239$	$21,7 \pm 4,82$	0,956
2,5	$0,598 \pm 0,0629$	$2,22 \pm 0,107$	$14,7 \pm 2,08$	0,973
7	$0,677 \pm 0,0413$	$2,00 \pm 0,197$	$41,7 \pm 11,8$	0,958
15	$0,463 \pm 0,0201$	$0,872 \pm 0,0318$	$11,9 \pm 1,98$	0,963
30	$0,434 \pm 0,0154$	$0,936 \pm 0,0290$	$20,4 \pm 4,08$	0,990

Προκειμένου να συγκριθούν τα αποτελέσματα της επίδρασης της υπερυψηλής πίεσης στην συγκέντρωση ελεύθερων αμινικών αζώτων (FAN) στο εκχύλισμα μαγιάς, υπολογίσθηκαν, για κάθε συνθήκη πίεσης και χρόνου πίεσης, οι παράμετροι t_{90} και γ ,

όπως και στην περίπτωση των ολικών πρωτεϊνών, χρησιμοποιώντας τα δεδομένα του Πίνακα Π.5.4. Οι παράμετροι $t_{90(FAN)}$ και y_{FAN} υπολογίσθηκαν, για την περίπτωση των ελεύθερων αμινικών αζώτων (FAN) του εκχυλίσματος μαγιάς, σύμφωνα με τις σχέσεις:

$$t_{90(FAN)} = -\tau_{FAN} \cdot \ln \left(\frac{c_{FAN(e)} - 0,9 \cdot c_{FAN(e,UT)}}{c_{FAN(e)} - c_{FAN(0)}} \right) \quad [5.6]$$

$$y_{FAN} = \frac{c_{FAN}(t_{90(UT)})}{0,9 \cdot c_{FAN(e,UT)}} \cdot 100 \% = \frac{c_{FAN(0)} + (c_{FAN(e)} - c_{FAN(0)}) \cdot \left(1 - e^{-\frac{t_{90(FAN,UT)}}{\tau_{FAN}}}\right)}{0,9 \cdot c_{FAN(e,UT)}} \cdot 100 \% \quad [5.7]$$

... όπου: $t_{90(FAN)}$: ο ισοδύναμος χρόνος t_{90} για την περίπτωση των ελεύθερων αμινικών αζώτων (FAN) του εκχυλίσματος μαγιάς [h]

y_{FAN} : η παράμετρος y για την περίπτωση των ελεύθερων αμινικών αζώτων (FAN) του εκχυλίσματος μαγιάς [-]

$c_{FAN(0)}$: η αρχική συγκέντρωση ελεύθερων αμινικών αζώτων (FAN) ($t = 0$ h) στο εκχύλισμα μαγιάς, έπειτα από την εκάστοτε επεξεργασία με υπερυψηλή πίεση $\left[\frac{\text{mg}}{\text{mL}}\right]$

$c_{FAN(e)}$: η μέγιστη συγκέντρωση ελεύθερων αμινικών αζώτων (FAN) στο εκχύλισμα μαγιάς, η οποία επιτυγχάνεται στην εκάστοτε συνθήκη πίεσης και χρόνου πίεσης (πλατό) $\left[\frac{\text{mg}}{\text{mL}}\right]$

$c_{FAN(e,UT)}$: η μέγιστη συγκέντρωση ελεύθερων αμινικών αζώτων (FAN) στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς (πλατό) $\left[\frac{\text{mg}}{\text{mL}}\right]$

τ_{FAN} : παράμετρος της συνάρτησης $c_{FAN} = f(t)$ η οποία σχετίζεται με την κλίση του γραμμικού τμήματος ανόδου της καμπύλης προσαρμογής [h]

$t_{90(FAN,UT)}$: ο ισοδύναμος χρόνος t_{90} για την περίπτωση των ελεύθερων αμινικών αζώτων (FAN) του εκχυλίσματος ανεπεξέργαστης μαγιάς [h]

Οι παράμετροι $t_{90(FAN)}$ και y_{FAN} για κάθε συνθήκη επεξεργασίας παρουσιάζονται στον πίνακα που ακολουθεί, μαζί με τις αντίστοιχες τιμές του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης (Z) και της ανηγμένης ολικής ενεργότητας πρωτεολυτικών ενζύμων $\left(\frac{A}{A_{UT}}\right)$.

ΠΙΝΑΚΑΣ Π.5.5

Παράμετροι $t_{90(FAN)}$ και y_{FAN} αναφορικά με τη συγκέντρωση ελεύθερων αμινικών αζώτων (FAN) στο εκχύλισμα μαγιάς, δείκτης κυτταρικής διάρρηξης (Z) και ανηγμένη ενεργότητα συνολικών πρωτεολυτικών ενζύμων $\left(\frac{A}{A_{UT}}\right)$, για τις διάφορες συνθήκες πίεσης και χρόνου πίεσης.

p [MPa]	t_p [min]	Z [-]	$\frac{A}{A_{UT}}$ [-]	$t_{90(FAN)}$ [h]	y_{FAN} [%]
ανεπεξέργαστη μαγιά	—	0,000	1,00	19,6	100
200	0	0,01774	1,35	13,7	111
	10	0,02398	1,87	13,1	112
	20	0,03208	2,20	12,9	116
	40	0,05502	2,53	11,3	117
	60	0,08714	2,67	9,94	118

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ

p [MPa]	t_p [min]	Z [-]	$\frac{A}{A_{UT}}$ [-]	$t_{90(FAN)}$ [h]	γ_{FAN} [%]
400	0	0,01543	1,48	18,4	102
	10	0,08366	2,10	9,96	117
	16	0,1994	2,32	8,29	118
	26	0,4936	2,52	6,32	126
	40	0,6763	2,66	5,90	133
600	0	0,4894	1,12	21,4	96,5
	2,5	0,7257	1,50	δεν ορίζεται	76,5
	7	0,8805	1,54	δεν ορίζεται	49,9
	15	0,9032	1,16	δεν ορίζεται	33,8
	30	0,9037	0,61	δεν ορίζεται	31,7

Από τα διαγράμματα Δ.5.10, Δ.5.11 και Δ.5.12 και τον πίνακα Π.5.4 παρατηρείται ότι η εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης ύψους 200 MPa και 400 MPa στο αιώρημα μαγιάς 10 % W/W επιφέρει, γενικά, θετική επίδραση στην διεργασία της αυτόλυσης, ενώ η εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης ύψους 600 MPa στο αιώρημα μαγιάς 10 % W/W επιφέρει αρνητική επίδραση στην διεργασία της αυτόλυσης, όσον αφορά στη συγκέντρωση ελεύθερων αμινικών αζώτων (FAN). Συγκριτικά με το εκχύλισμα μαγιάς που παράγεται από ανεπεξέργαστη μαγιά, αυτά που παράγονται με την εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης 200 MPa και 400 MPa στο αιώρημα μαγιάς, στιγμιαία ή για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, εμφανίζουν, τελικά, μεγαλύτερη συγκέντρωση ελεύθερων αμινικών αζώτων (FAN), ενώ ταυτόχρονα αυτή αποκτάται ταχύτερα, έπειτα από μικρότερο χρόνο αυτόλυσης. Απεναντίας, όσον αφορά στα εκχυλίσματα μαγιάς που παράγονται με εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης 600 MPa, στιγμιαία ή για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, αυτά εμφανίζουν, μετά το πέρας της αυτόλυσης, μικρότερη συγκέντρωση ελεύθερων αμινικών αζώτων (FAN), σε σχέση με το εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς.

Η συγκέντρωση ελεύθερων αμινικών αζώτων (FAN) λαμβάνει μέγιστη τιμή στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς έπειτα από 48 h αυτόλυσης, η οποία ισούται με $2,61 \frac{mg}{mL}$. Στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης με υπερυψηλή πίεση στα 200 MPa μαγιάς, η συγκέντρωση ελεύθερων αμινικών αζώτων (FAN) λαμβάνει μέγιστη τιμή έπειτα από 48 h αυτόλυσης, η οποία ισούται με $2,86 \frac{mg}{mL}$ στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης στα 200 MPa στιγμιαία ($t_p = 0$), με $2,91 \frac{mg}{mL}$ στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης στα 200 MPa για 10 min, με $3,17 \frac{mg}{mL}$ στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης στα 200 MPa για 20 min, με $3,03 \frac{mg}{mL}$ στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης στα 200 MPa για 40 min και με $2,90 \frac{mg}{mL}$ στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης στα 200 MPa για 60 min. Από τα παραπάνω παρατηρείται ότι η εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης ίσης με 200 MPa αυξάνει την τελική συγκέντρωση ελεύθερων αμινικών αζώτων (FAN) στο εκχύλισμα μαγιάς, η οποία γίνεται μέγιστη με επεξεργασία για 20 min στα 200 MPa, αυξημένη κατά 21,5 % συγκριτικά με το εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς. Η μεταβολή που επιφέρει η επεξεργασία της μαγιάς με υπερυψηλή πίεση στα 200 MPa γίνεται ακόμα περισσότερο

αντιληπτή από τα δεδομένα του πίνακα Π.5.5. Από τον πίνακα αυτόν παρατηρείται ότι η επεξεργασία της μαγιάς με υπερυψηλή πίεση στα 200 MPa μειώνει σημαντικά τον ισοδύναμο χρόνο για την επίτευξη της ίδιας συγκέντρωσης ελεύθερων αμινικών αζώτων (FAN) στο εκχύλισμα επεξεργασμένης μαγιάς, ίσης με το 90 % αυτής στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς ($t_{90(FAN)}$). Στην περίπτωση επεξεργασίας στα 200 MPa, ο χρόνος αυτός ελαχιστοποιείται με επεξεργασία για 60 min, οπότε ισούται με 9,94 h, μειωμένος κατά 49,3 % σε σχέση με τον χρόνο που απαιτείται για την επίτευξη της ίδιας συγκέντρωσης ελεύθερων αμινικών αζώτων (FAN) στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς. Όσον αφορά στην παράμετρο y_{FAN} , αυτή είναι μεγαλύτερη από 100 % στην περίπτωση των εκχυλισμάτων μαγιάς επεξεργασμένης με υπερυψηλή πίεση στα 200 MPa. Αυτό σημαίνει ότι για την ίδια διάρκεια autóluyσης, ίση με τον ισοδύναμο χρόνο $t_{90(FAN)}$ του εκχυλίσματος ανεπεξέργαστης μαγιάς, επιτυγχάνεται υψηλότερη συγκέντρωση ελεύθερων αμινικών αζώτων (FAN) στο εκχύλισμα επεξεργασμένης μαγιάς από αυτή στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς. Γι' αυτόν τον ισοδύναμο χρόνο, η μέγιστη συγκέντρωση ελεύθερων αμινικών αζώτων (FAN) στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης στα 200 MPa επιτυγχάνεται έπειτα από επεξεργασία για 60 min, οπότε είναι 1,18 φορές υψηλότερη από αυτήν στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς ($y_{FAN} = 118 \%$).

Στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης στα 400 MPa, η συγκέντρωση ελεύθερων αμινικών αζώτων (FAN) λαμβάνει μέγιστη τιμή στην περίπτωση στιγμιαίας επεξεργασίας ($t_p = 0 \text{ min}$) έπειτα από 48 h autóluyσης, η οποία ισούται με $2,74 \frac{\text{mg}}{\text{mL}}$, ενώ στην περίπτωση επεξεργασίας για 10 min, 16 min, 26 min και 40 min λαμβάνει μέγιστη τιμή ύστερα από 24 h autóluyσης, η οποία ισούται με $2,88 \frac{\text{mg}}{\text{mL}}$, $2,82 \frac{\text{mg}}{\text{mL}}$, $3,00 \frac{\text{mg}}{\text{mL}}$ και $3,17 \frac{\text{mg}}{\text{mL}}$, αντίστοιχα. Από τα παραπάνω παρατηρείται ότι η εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης ίσης με 400 MPa αυξάνει την τελική συγκέντρωση ελεύθερων αμινικών αζώτων (FAN) στο εκχύλισμα μαγιάς, η οποία γίνεται μέγιστη με επεξεργασία για 40 min στα 400 MPa, αυξημένη κατά 21,5 % συγκριτικά με το εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς. Η μεταβολή που επιφέρει η επεξεργασία της μαγιάς με υπερυψηλή πίεση στα 400 MPa στην συγκέντρωση ελεύθερων αμινικών αζώτων (FAN) γίνεται περισσότερο αντιληπτή από τα δεδομένα του πίνακα Π.5.5. Από τον πίνακα αυτόν παρατηρείται ότι και η επεξεργασία της μαγιάς με υπερυψηλή πίεση στα 400 MPa μειώνει, επίσης, σημαντικά τον ισοδύναμο χρόνο που απαιτείται για την επίτευξη της ίδιας συγκέντρωσης ελεύθερων αμινικών αζώτων (FAN) στο εκχύλισμα επεξεργασμένης μαγιάς, ίσης με το 90 % αυτής στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς ($t_{90(FAN)}$). Μάλιστα, η μείωση αυτή που επιφέρει η επεξεργασία στα 400 MPa είναι μεγαλύτερη από αυτήν που επέρχεται με επεξεργασία στα 200 MPa, ενώ αυτή συμβαίνει έπειτα από μικρότερο χρονικό διάστημα επεξεργασίας. Στην περίπτωση επεξεργασίας στα 400 MPa, ο χρόνος αυτός ελαχιστοποιείται με επεξεργασία για 40 min, οπότε ισούται με 5,90 h, μειωμένος κατά 69,9 % σε σχέση με τον χρόνο που απαιτείται για την επίτευξη της ίδιας συγκέντρωσης ελεύθερων αμινικών αζώτων (FAN) στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς. Όσον αφορά στην παράμετρο y_{FAN} , αυτή είναι μεγαλύτερη από 100 % και στην περίπτωση των εκχυλισμάτων μαγιάς επεξεργασμένης με υπερυψηλή πίεση στα 400 MPa, όπως και στην περίπτωση της επεξεργασίας στα 200 MPa. Αυτό σημαίνει ότι για την ίδια διάρκεια autóluyσης, ίση με τον ισοδύναμο χρόνο $t_{90(FAN)}$ του εκχυλίσματος ανεπεξέργαστης μαγιάς, επιτυγχάνεται υψηλότερη συγκέντρωση ελεύθερων αμινικών αζώτων (FAN) στο εκχύλισμα επεξεργασμένης μαγιάς από αυτή στο εκχύλισμα

ανεπεξέργαστης μαγιάς. Γι' αυτόν τον ισοδύναμο χρόνο, η μέγιστη συγκέντρωση ελεύθερων αμινικών αζώτων (FAN) στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης στα 400 MPa επιτυγχάνεται έπειτα από επεξεργασία για 40 min, οπότε είναι 1,33 φορές υψηλότερη από αυτή στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς ($y_{FAN} = 133\%$).

Όσον αφορά στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης στα 600 MPa, η μέγιστη συγκέντρωση ελεύθερων αμινικών αζώτων (FAN) επιτυγχάνεται έπειτα από 48 h αυτόλυσης και ισούται στην περίπτωση στιγμιαίας επεξεργασίας ($t_p = 0$ min) με $3,27 \frac{\text{mg}}{\text{mL}}$, στην περίπτωση επεξεργασίας για 2,5 min με $2,22 \frac{\text{mg}}{\text{mL}}$, στην περίπτωση επεξεργασίας για 7 min με $2,00 \frac{\text{mg}}{\text{mL}}$, στην περίπτωση επεξεργασίας για 15 min με $0,872 \frac{\text{mg}}{\text{mL}}$ και στην περίπτωση επεξεργασίας για 30 min με $0,936 \frac{\text{mg}}{\text{mL}}$. Από τα παραπάνω παρατηρείται ότι μόνον η στιγμιαία εφαρμογή ($t_p = 0$ min) υπερυψηλής πίεσης ίσης με 600 MPa αυξάνει κατά 25,3 %, περίπου, την τελική συγκέντρωση ελεύθερων αμινικών αζώτων (FAN) στο εκχύλισμα μαγιάς, συγκριτικά με το εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς, ενώ η εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης ίσης με 600 MPa για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα μειώνει την τελική συγκέντρωση ελεύθερων αμινικών αζώτων (FAN) στο εκχύλισμα μαγιάς. Η μεταβολή που επιφέρει η επεξεργασία της μαγιάς με υπερυψηλή πίεση στα 600 MPa στη συγκέντρωση ελεύθερων αμινικών αζώτων (FAN) στο εκχύλισμα μαγιάς γίνεται έτι περαιτέρω αντιληπτή από τα δεδομένα του πίνακα Π.5.5. Από τον πίνακα αυτόν φαίνεται ότι η επεξεργασία της μαγιάς με υπερυψηλή πίεση στα 600 MPa έχει αρνητικά αποτελέσματα όσον αφορά στον ισοδύναμο χρόνο που απαιτείται για την επίτευξη της ίδιας συγκέντρωσης ελεύθερων αμινικών αζώτων (FAN) στο εκχύλισμα μαγιάς, ίσης με το 90 % αυτής στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς ($t_{90(FAN)}$). Στην περίπτωση επεξεργασίας στα 600 MPa, ο χρόνος αυτός είναι μεγαλύτερος σε σχέση με αυτόν του εκχυλίσματος ανεπεξέργαστης μαγιάς στην περίπτωση στιγμιαίας επεξεργασίας ($t_p = 0$ min), καθώς ισούται με 21,4 h έναντι 19,6 h στην περίπτωση του εκχυλίσματος ανεπεξέργαστης μαγιάς, ενώ δεν ορίζεται για μεγαλύτερους χρόνους πίεσης. Αυτή η αδυναμία ορισμού αντανακλά το γεγονός ότι στην περίπτωση των εκχυλισμάτων μαγιάς επεξεργασμένης στα 600 MPa για μεγαλύτερους χρόνους πίεσης δεν επιτυγχάνεται ποτέ, μέχρι το πέρας της αυτόλυσης, τελική συγκέντρωση ελεύθερων αμινικών αζώτων (FAN) ίση με το 90 % αυτής του εκχυλίσματος ανεπεξέργαστης μαγιάς ($c_{FAN(e)} < 0,9 \cdot c_{FAN(e,UT)}$). Όσον αφορά στην παράμετρο y_{FAN} , αυτή είναι μικρότερη από 100 %. Αυτό σημαίνει ότι για την ίδια διάρκεια αυτόλυσης, ίση με τον ισοδύναμο χρόνο $t_{90(FAN)}$ του εκχυλίσματος ανεπεξέργαστης μαγιάς, επιτυγχάνεται μικρότερη τελική συγκέντρωση ελεύθερων αμινικών αζώτων (FAN) στο εκχύλισμα επεξεργασμένης μαγιάς στα 600 MPa από αυτή στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς. Μάλιστα, παρατηρείται ότι όσο αυξάνεται ο χρόνος πίεσης, τόσο μειώνεται αυτό το ποσοστό, δηλαδή για μεγαλύτερη διάρκεια επεξεργασίας επιτυγχάνεται ολοένα και μικρότερη απόδοση σε ελεύθερα αμινικά άζωτα (FAN) στο εκχύλισμα που προκύπτει από την αυτόλυση της μαγιάς, καθώς μειώνεται η παράμετρος y_{FAN} .

Από τα παραπάνω συμπεραίνεται ότι η επεξεργασία του αιωρήματος μαγιάς 10 % W/W με υπερυψηλή πίεση ύψους 200 MPa και 400 MPa επιταχύνει την αυτόλυση, καθώς μειώνει τον ισοδύναμο χρόνο αυτόλυσης που απαιτείται για την επίτευξη της ίδιας συγκέντρωσης αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων στο εκχύλισμα μαγιάς, όπως αυτή

εκφράζεται από την συγκέντρωση ελεύθερων αμινικών αζώτων (FAN). Παράλληλα, η επεξεργασία με υπερυψηλή πίεση ύψους 200 MPa και 400 MPa αυξάνει και τον βαθμό απόδοσης της αυτόλυσης, όσον αφορά στη συγκέντρωση αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων στο εκχύλισμα μαγιάς, η οποία είναι υψηλότερη στο επεξεργασμένο εκχύλισμα μαγιάς, σε σχέση με το εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς. Αντιθέτως, η εξεργασία με υπερυψηλή πίεση ύψους 600 MPa επιβραδύνει ή παρεμποδίζει την αυτόλυση, καθώς είτε απαιτείται μεγαλύτερος χρόνος αυτόλυσης για την επίτευξη της ίδιας συγκέντρωσης αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων στο εκχύλισμα μαγιάς, είτε μειώνεται ο βαθμός απόδοσης της διεργασίας της αυτόλυσης, καθώς για τον ίδιο χρόνο αυτόλυσης επιτυγχάνεται μικρότερη συγκέντρωση αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων στο εκχύλισμα επεξεργασμένης μαγιάς, σε σχέση με το εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς.

Τα παραπάνω αποτελέσματα μπορούν, επίσης, να συσχετισθούν με τον δείκτη κυτταρικής διάρρηξης (Z) και την ανηγμένη συνολική ενεργότητα των πρωτεολυτικών ενζύμων ($\frac{A}{AUT}$), όπως παρουσιάζονται συνοπτικά στον πίνακα Π.5.5. Από τον πίνακα αυτόν παρατηρείται ότι στην περίπτωση επεξεργασίας της μαγιάς με υπερυψηλή πίεση στα 200 MPa, οπότε δεν λαμβάνει χώρα σημαντική κυτταρική διάρρηξη ($Z \cong 0$), η αυξημένη ενεργότητα των πρωτεολυτικών ενζύμων επιταχύνει σημαντικά την διεργασία της αυτόλυσης. Στην περίπτωση αυτήν, ο ισοδύναμος χρόνος που απαιτείται για την επίτευξη της ίδιας συγκέντρωσης αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων, όπως αυτή εκφράζεται από την συγκέντρωση ελεύθερων αμινικών αζώτων (FAN), στο εκχύλισμα μαγιάς, ίσης με το 90 % αυτής στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς ($t_{90(FAN)}$) μειώνεται κατά 30,1 – 49,3 %, από 19,6 h στην περίπτωση του εκχυλίσματος ανεπεξέργαστης μαγιάς σε 9,94 – 13,7 h στην περίπτωση του εκχυλίσματος επεξεργασμένης μαγιάς στα 200 MPa, για τους διάφορους χρόνους πίεσης. Επίσης, παρατηρείται ότι για τον ίδιο δείκτη κυτταρικής διάρρηξης, ίσο, περίπου, με 0,5, ο οποίος επιτυγχάνεται με επεξεργασία του αιωρήματος μαγιάς είτε στα 400 MPa για 26 min, είτε στα 600 MPa στιγμιαία ($t_p = 0$ min), η μεγαλύτερη ανηγμένη ενεργότητα πρωτεολυτικών ενζύμων επιφέρει σημαντική μείωση του ισοδύναμου χρόνου για την επίτευξη της ίδιας συγκέντρωσης αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων στο εκχύλισμα επεξεργασμένης μαγιάς, ίσης με το 90 % αυτής στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς ($t_{90(FAN)}$), αλλά και σημαντική αύξηση της απόδοσης της διεργασίας της αυτόλυσης σε αμινοξέα και ολιγοπεπτίδια, όπως αυτή αποτυπώνεται από την παράμετρο y_{FAN} . Στην περίπτωση επεξεργασίας του αιωρήματος μαγιάς στα 400 MPa για 26 min, με $Z \cong 0,5$ και $\frac{A}{AUT} = 2,52$ ο ισοδύναμος χρόνος $t_{90(FAN)}$ ισούται με 9,96 h και η παράμετρος y_{FAN} ισούται με 117 %, ενώ στην περίπτωση στιγμιαίας επεξεργασίας ($t_p = 0$ min) του αιωρήματος μαγιάς στα 600 MPa, με ίδια τιμή Z και $\frac{A}{AUT} = 1,12$ ο ισοδύναμος χρόνος $t_{90(FAN)}$ ισούται με 21,4 h και η παράμετρος y_{FAN} ισούται με 96,5 %. Ωστόσο, παρατηρείται ότι για την ίδιαν ενεργότητα πρωτεολυτικών ενζύμων, ίση, περίπου, με 1,50, η οποία επιτυγχάνεται με επεξεργασία του αιωρήματος μαγιάς είτε στα 400 MPa στιγμιαία ($t_p = 0$ min), είτε στα 600 MPa για 2,5 min, ο υψηλότερος δείκτης κυτταρικής διάρρηξης δεν επιφέρει αύξηση, αλλά μείωση της απόδοσης της διεργασίας της αυτόλυσης σε αμινοξέα και ολιγοπεπτίδια, όπως αυτή αποτυπώνεται από την παράμετρο y_{FAN} . Στην περίπτωση στιγμιαίας επεξεργασίας ($t_p = 0$ min) του αιωρήματος

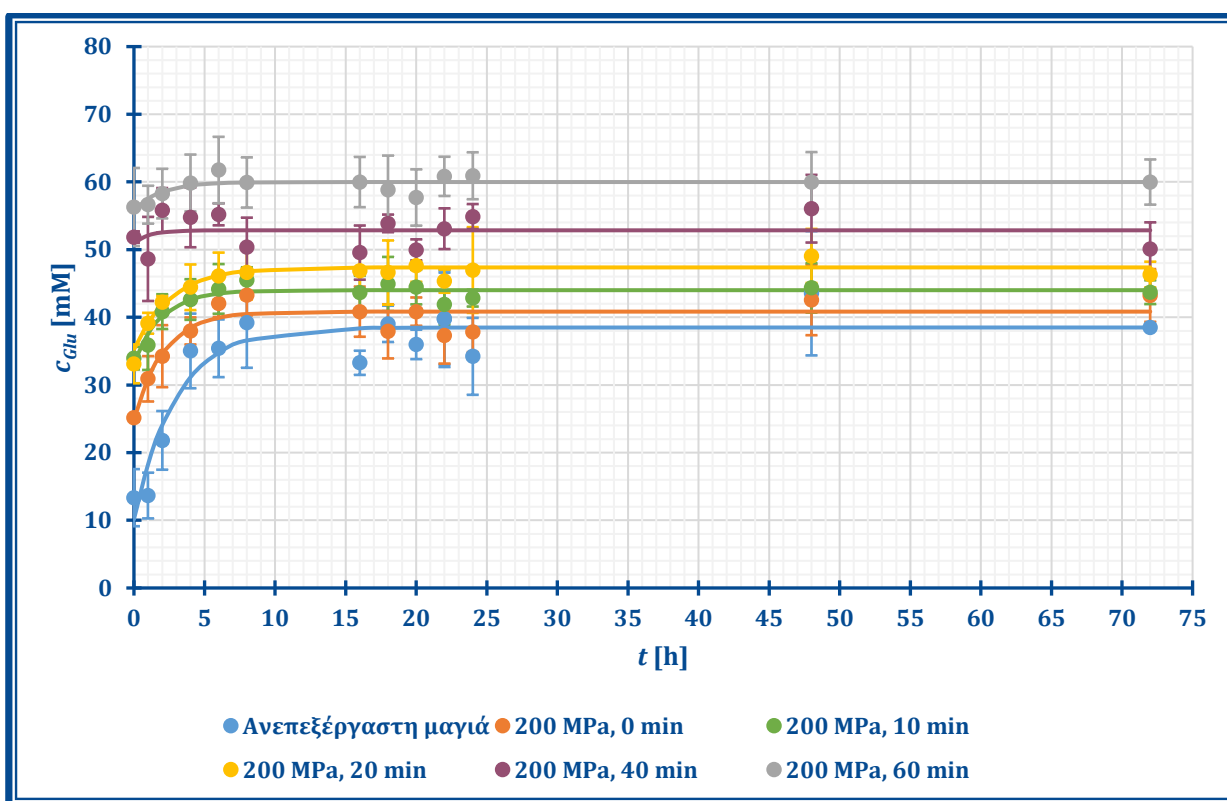
μαγιάς στα 400 MPa, με $Z \cong 0$ και $\frac{A}{A_{UT}} \cong 1,50$ η παράμετρος y_{FAN} ισούται με 102 %, ενώ στην περίπτωση επεξεργασίας του αιωρήματος μαγιάς στα 600 MPa για 2,5 min, με $Z \cong 0,7$ και παρόμοια τιμή ενεργότητας πρωτεολυτικών ενζύμων, η παράμετρος y_{FAN} ισούται με 76,5 %. Παράλληλα, στην περίπτωση στιγμιαίας επεξεργασίας ($t_p = 0$ min) του αιωρήματος μαγιάς στα 400 MPa ο ισοδύναμος χρόνος $t_{90(FAN)}$ ισούται με 18,4 h, παρόμοιος με αυτόν του εκχυλίσματος ανεπεξέργαστης μαγιάς (19,6 h), ενώ στην περίπτωση επεξεργασίας του αιωρήματος μαγιάς στα 600 MPa για 2,5 min ο ίδιος χρόνος δεν ορίζεται. Έτσι, λοιπόν, συνάγεται το συμπέρασμα ότι η διάρρηξη που η υπερυψηλή πίεση προκαλεί στα κύτταρα της μαγιάς δεν αρκεί από μόνη της για την επιτάχυνση της διεργασίας της αυτόλυσης, όσον αφορά στην εκχύλιση αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων, αλλά κυρίαρχο ρόλο παίζει η ενεργότητα των πρωτεολυτικών ενζύμων, η οποία επηρεάζεται έντονα από την πίεση.

Επίσης, αξίζει να αναφερθεί ότι το γεγονός ότι η ολική ενεργότητα των πρωτεολυτικών ενζύμων μετρήθηκε σε διάφορες συνθήκες πίεση μεγαλύτερη αυτής των ανεπεξέργαστων ενζύμων ($\frac{A}{A_{UT}} > 1$) δεν αντικατοπτρίζει πάντα αντίστοιχη επιτάχυνση της αυτόλυσης. Για παράδειγμα, στην περίπτωση της επεξεργασίας στα 600 MPa, παρόλο που τα ένζυμα μετρήθηκαν να ενεργοποιούνται για μικρούς χρόνους πίεσης, έως τα 19 min, η απόδοση της αυτόλυσης, όπως αυτή αντικατοπτρίζεται από την παράμετρο y_{FAN} μειώνεται ακόμα και για μικρούς χρόνους επεξεργασίας. Αυτό ίσως σημαίνει ότι, παρόλο που η ενεργότητα των ενζύμων αυξάνεται υπό τη σύντομη επίδραση της πίεσης, όπως αυτή μετρήθηκε με τη μέθοδο της αζοκαζείνης ως υπόστρωμα, η πίεση μπορεί να επηρεάζει τη σχέση των πρωτεολυτικών ενζύμων με το ενδοκυτταρικό τους υπόστρωμα, δηλαδή τις πρωτεΐνες του κυτταρικού τοιχώματος και του κυτταροπλάσματος, παρεμποδίζοντας με αυτόν τον τρόπο την εξέλιξη της αυτόλυσης.

Εν κατακλείδι, λοιπόν, συνάγεται το συμπέρασμα ότι τόσο στην επιτάχυνση της αυτόλυσης, όπως αυτή αποτυπώνεται από τον ισοδύναμο χρόνο $t_{90(FAN)}$, όσο και στην αύξηση της απόδοσης της διεργασίας της αυτόλυσης, όπως αυτή εκφράζεται από την παράμετρο y_{FAN} , για την περίπτωση των αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων του εκχυλίσματος μαγιάς, συμβάλλει, κυρίως, η αύξηση της ανηγμένης ολικής ενεργότητας των πρωτεολυτικών ενζύμων της μαγιάς και λιγότερο ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης.

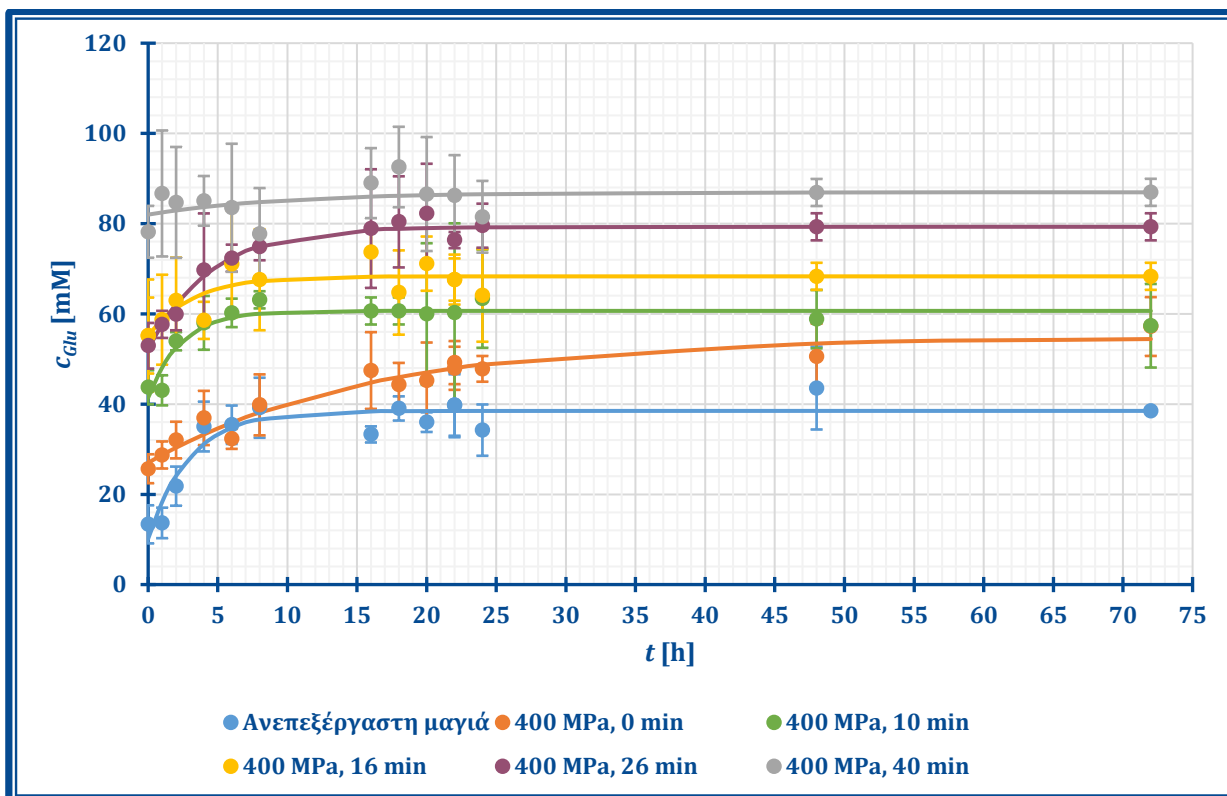
5.4.2. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ΥΔΑΤΑΝΘΡΑΚΩΝ ΣΤΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΜΑΓΙΑΣ ΑΡΤΟΠΟΙΙΑΣ

Στη συνέχεια της μελέτης της επίδρασης που επιφέρει η εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης στο αιώρημα μαγιάς αρτοποιίας στη διεργασία της αυτόλυσης και στα χαρακτηριστικά του εκχυλίσματος μαγιάς που παράγεται από τη διεργασία αυτήν, ερευνήθηκε η μεταβολή της συγκέντρωσης των ολικών υδατανθράκων στο εκχύλισμα μαγιάς, κατά τη διάρκεια της αυτόλυσης. Η συγκέντρωση των ολικών υδατανθράκων μετρήθηκε με τη μέθοδο της φαινόλης και του θεικού οξέος, σύμφωνα με την πειραματική διαδικασία που αναφέρεται στην ενότητα 4.9.2. Από την εκτέλεση αυτής της πειραματικής διαδικασίας προέκυψαν τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στα παρακάτω διαγράμματα.



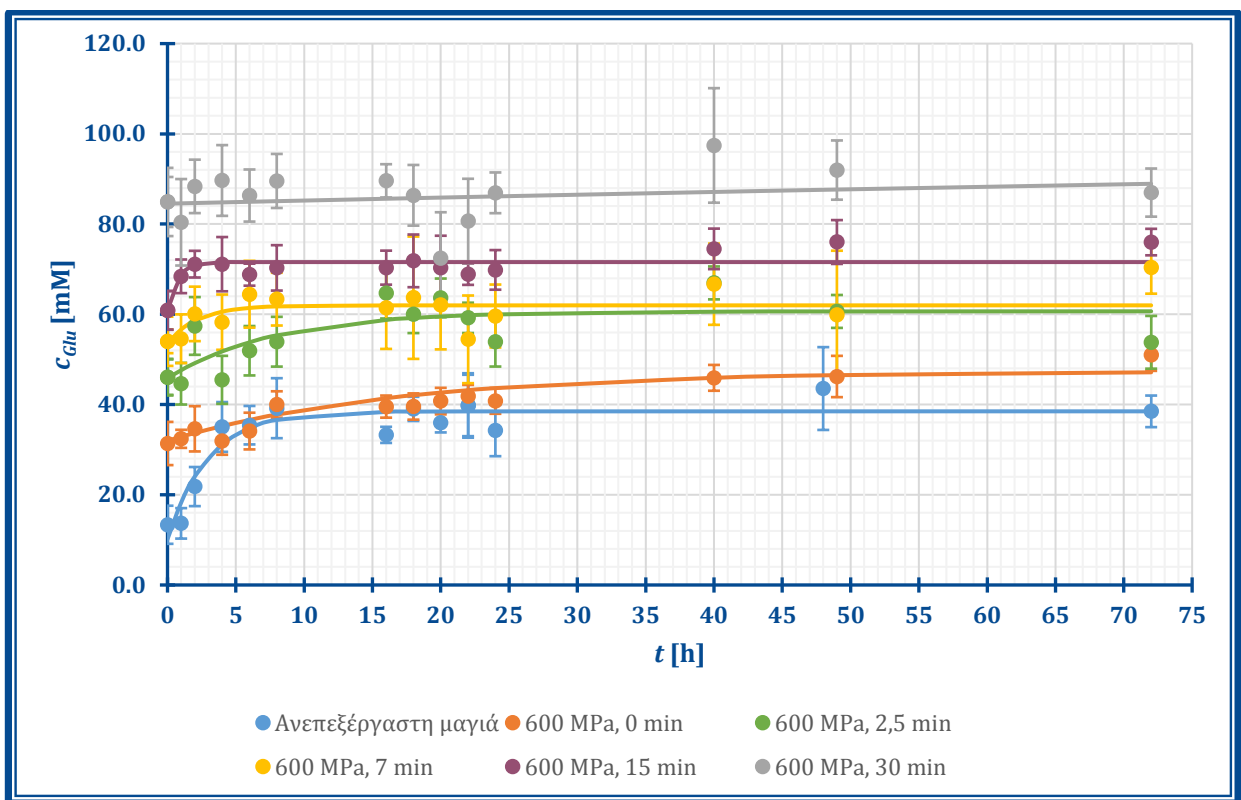
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ Δ.5.13

Διάγραμμα της συγκέντρωσης ολικών υδατανθράκων, εκφρασμένων ως γλυκόζη (c_{Glu}), συναρτήσει του χρόνου αυτόλυσης (t) στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης με υπερυψηλή πίεση στα 200 MPa για 0 – 60 min.



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ Δ.5.14

Διάγραμμα της συγκέντρωσης ολικών υδατανθράκων, εκφρασμένων ως γλυκόζη (c_{Glu}), συναρτήσει του χρόνου αυτόλυσης (t) στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης με υπερυψηλή πίεση στα 400 MPa για 0 – 40 min.



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ Δ.5.15

Διάγραμμα της συγκέντρωσης ολικών υδατανθράκων, εκφρασμένων ως γλυκόζη (c_{Glu}), συναρτήσει του χρόνου αυτόλυσης (t) στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης με υπερυψηλή πίεση στα 600 MPa για 0 – 30 min.

Από το διάγραμμα Δ.5.13 παρατηρείται ότι η εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης ύψους 200 MPa στο αιώρημα μαγιάς 10 % W/W επηρεάζει θετικά τη διεργασία της αυτόλυσης, όσον αφορά στη συγκέντρωση ολικών υδατανθράκων. Συγκριτικά με το εκχύλισμα μαγιάς που παράγεται από ανεπεξέργαστη μαγιά, αυτά που παράγονται με την εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης 200 MPa, στιγμιαία ή για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, εμφανίζουν, τελικά, μεγαλύτερη συγκέντρωση ολικών υδατανθράκων.

Από τα δεδομένα του διαγράμματος Δ.5.13 προκύπτει ότι η συγκέντρωση ολικών υδατανθράκων λαμβάνει μέγιστη τιμή στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης ή επεξεργασμένης με υπερυψηλή πίεση στα 200 MPa μαγιάς έπειτα από 8 h αυτόλυσης, η οποία αντιστοιχεί, περίπου, σε 38 mM γλυκόζης στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς, σε 41 mM γλυκόζης στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης στα 200 MPa στιγμιαία ($t_p = 0$), σε 44 mM γλυκόζης στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης στα 200 MPa για 10 min, σε 48 mM γλυκόζης στα εκχυλίσμα μαγιάς επεξεργασμένης στα 200 MPa για 20 min, σε 53 mM γλυκόζης στα εκχυλίσμα μαγιάς επεξεργασμένης στα 200 MPa για 40 min και σε 60 mM γλυκόζης στα εκχυλίσμα μαγιάς επεξεργασμένης στα 200 MPa για 60 min. Από τα παραπάνω παρατηρείται ότι η εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης ίσης με 200 MPa αυξάνει την τελική συγκέντρωση ολικών υδατανθράκων στο εκχύλισμα μαγιάς, η οποία γίνεται ολοένα και μεγαλύτερη, όσο αυξάνεται ο χρόνος επεξεργασίας.

Από το διάγραμμα Δ.5.14 παρατηρείται ότι η εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης ύψους 400 MPa στο αιώρημα μαγιάς 10 % W/W επιφέρει, επίσης, μεγαλύτερη επίδραση στη διεργασία της αυτόλυσης, όσον αφορά στη συγκέντρωση ολικών υδατανθράκων, έναντι αυτής στα 200 MPa. Συγκρινόμενα με το εκχύλισμα μαγιάς που παρήχθη από

ανεπεξέργαστη μαγιά, αυτά που παρήχθησαν με την εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης 400 MPa, στιγμιαία ή για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, εμφάνισαν, ήδη από την αρχή, αλλά κυρίως μετά το πέρας της αυτόλυσης, μεγαλύτερη συγκέντρωση ολικών υδατανθράκων.

Από τα δεδομένα του διαγράμματος Δ.5.14 προκύπτει ότι η συγκέντρωση ολικών υδατανθράκων λαμβάνει μέγιστη τιμή στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης με υπερυψηλή πίεση στα 400 MPa στιγμιαία ($t_p = 0 \text{ min}$) έπειτα από 48 h, η οποία αντιστοιχεί σε 54 mM γλυκόζης. Επίσης, η συγκέντρωση ολικών υδατανθράκων λαμβάνει μέγιστη τιμή στα εκχυλίσματα μαγιάς επεξεργασμένης στα 400 MPa για 10 min και 16 min έπειτα από 8 h αυτόλυσης, η οποία αντιστοιχεί, περίπου, σε 60 mM και 68 mM γλυκόζης, αντίστοιχα. Τέλος, στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης με υπερυψηλή πίεση στα 400 MPa για 26 min και 40 min η συγκέντρωση ολικών υδατανθράκων λαμβάνει μέγιστη τιμή έπειτα από 16 h αυτόλυσης, η οποία αντιστοιχεί, περίπου, σε 80 mM και 86 mM γλυκόζης, αντίστοιχα. Από τα παραπάνω παρατηρείται ότι η εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης ίσης με 400 MPa αυξάνει σημαντικά την τελική συγκέντρωση ολικών στο εκχύλισμα μαγιάς, η οποία γίνεται ολοένα και μεγαλύτερη με την αύξηση του χρόνου πίεσης.

Από το διάγραμμα Δ.5.15 παρατηρείται ότι η εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης ύψους 600 MPa στο αιώρημα μαγιάς 10 % W/W επιφέρει, παρόμοια, αλλά πιο έντονη επίδραση στη διεργασία της αυτόλυσης, όσον αφορά στη συγκέντρωση ολικών υδατανθράκων, όπως και στα 400 MPa. Σε σύγκριση με το εκχύλισμα μαγιάς που παράγεται από ανεπεξέργαστη μαγιά, αυτά που παράγονται με την εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης 600 MPa, στιγμιαία ή για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, εμφανίζουν, ήδη από την αρχή, αλλά κυρίως μετά το πέρας της αυτόλυσης, μεγαλύτερη συγκέντρωση ολικών υδατανθράκων.

Από τα δεδομένα του διαγράμματος Δ.5.15 προκύπτει ότι η μέγιστη συγκέντρωση ολικών υδατανθράκων που επιτυγχάνεται στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης με υπερυψηλή πίεση στα 600 MPa στιγμιαία ($t_p = 0 \text{ min}$) αντιστοιχεί, περίπου, σε 48 mM γλυκόζης και επιτυγχάνεται έπειτα από 40 h αυτόλυσης, για 2,5 min αντιστοιχεί, περίπου, σε 60 mM γλυκόζης και επιτυγχάνεται έπειτα από 18 h αυτόλυσης, για 7 min σε 62 mM γλυκόζης και επιτυγχάνεται ύστερα από 8 h αυτόλυσης, για 15 min σε 72 mM γλυκόζης και επιτυγχάνεται ύστερα από 4 h αυτόλυσης, ενώ στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης με υπερυψηλή πίεση στα 600 MPa για 30 min η συγκέντρωση ολικών υδατανθράκων παραμένει σχεδόν σταθερή καθ' όλη τη διάρκεια της αυτόλυσης, αντιστοιχώντας, περίπου, σε 88 mM γλυκόζης. Από τα παραπάνω παρατηρείται ότι η εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης ίσης με 600 MPa αυξάνει διαρκώς την τελική συγκέντρωση ολικών υδατανθράκων στο εκχύλισμα μαγιάς, συγκριτικά με το εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς, όσο αυξάνεται ο χρόνος πίεσης, ενώ είναι περισσότερο αποτελεσματική από τα 200 MPa και τα 400 MPa, καθώς εν τέλει επιτυγχάνεται μεγαλύτερη συγκέντρωση ολικών υδατανθράκων στο εκχύλισμα μαγιάς με επεξεργασία για λιγότερο χρόνο πίεσης και με συντομότερη αυτόλυση.

Οι αρχικές συγκεντρώσεις ολικών υδατανθράκων στα «εκχυλίσματα μαγιάς» που παραλαμβάνονται μετά την επεξεργασία με υπερυψηλή πίεση, πριν την έναρξη της αυτόλυσης, καθώς και οι τελικές συγκεντρώσεις ολικών υδατανθράκων στα εκχυλίσματα

μαγιάς που παραλαμβάνονται μετά το πέρας της αυτόλυσης της μαγιάς, ανεπεξέργαστης ή επεξεργασμένης με υπερυψηλή πίεση, παρατίθενται συνοπτικά στον πίνακα που ακολουθεί.

ΠΙΝΑΚΑΣ Π.5.6

Αρχικές και τελικές συγκεντρώσεις ολικών υδατανθράκων στο εκχύλισμα μαγιάς, εκφρασμένων ως γλυκόζη ($c_{Glu(0)}$, $c_{Glu(e)}$), για τις διάφορες συνθήκες πίεσης και χρόνου πίεσης.

ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΑΝΕΠΕΞΕΡΓΑΣΤΗΣ ΜΑΓΙΑΣ		
	$c_{Glu(0)}$ [mM]	$c_{Glu(e)}$ [mM]
	10,162	38,491
ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΜΑΓΙΑΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΜΕΝΗΣ ΣΤΑ 200 MPa		
t_p [min]	$c_{Glu(0)}$ [mM]	$c_{Glu(e)}$ [mM]
0	24,900	40,840
10	33,309	44,004
20	35,248	47,370
40	51,045	52,853
60	55,817	59,986
ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΜΑΓΙΑΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΜΕΝΗΣ ΣΤΑ 400 MPa		
t_p [min]	$c_{Glu(0)}$ [mM]	$c_{Glu(e)}$ [mM]
0	27,000	54,417
10	41,432	60,661
16	55,178	68,319
26	52,151	79,294
40	81,993	86,935
ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΜΑΓΙΑΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΜΕΝΗΣ ΣΤΑ 600 MPa		
t_p [min]	$c_{Glu(0)}$ [mM]	$c_{Glu(e)}$ [mM]
0	31,971	47,138
2,5	45,825	60,661
7	53,609	61,978
15	60,860	71,571
30	84,524	88,930

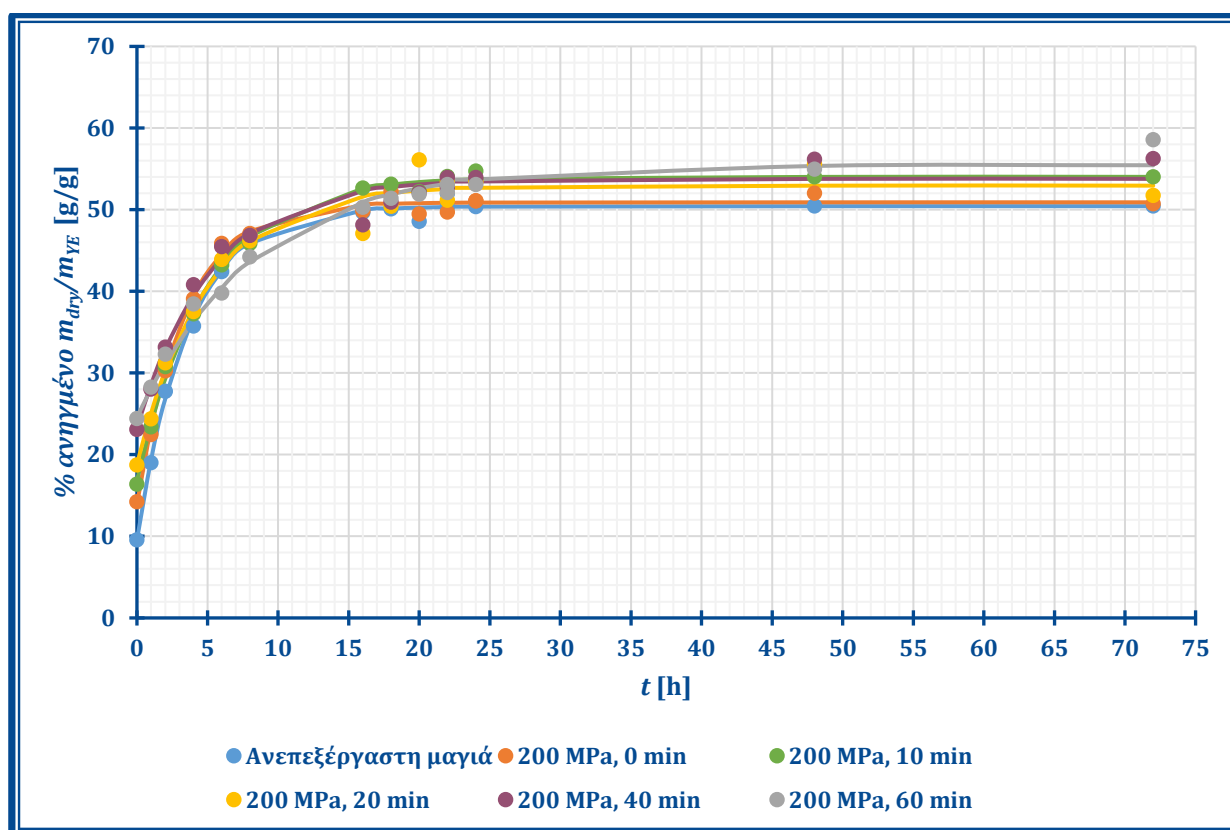
Από τα παραπάνω παρατηρείται ότι, σε αντίθεση με τη συγκέντρωση πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς, η οποία φάνηκε να εξαρτάται από την ενεργότητα των πρωτεολυτικών ενζύμων στα κύτταρα της μαγιάς, όπως εδείχθη παραπάνω, στην περίπτωση των υδατανθράκων η ενεργότητα των πρωτεολυτικών ενζύμων δεν φαίνεται να επηρεάζει τη συγκέντρωση των υδατανθράκων στο εκχύλισμα μαγιάς. Κάτι τέτοιο, εξάλλου, αναμενόταν, καθώς τα πρωτεολυτικά ένζυμα αφορούν στην υδρόλυση των πρωτεϊνών.

Ο παράγων που φαίνεται να παίζει κυρίαρχο ρόλο όσον αφορά στη συγκέντρωση ολικών υδατανθράκων στο εκχύλισμα μαγιάς δεν είναι η αυτόλυση της μαγιάς, αλλά η ένταση της προκατεργασίας της μαγιάς, δηλαδή το ύψος και η διάρκεια της πίεσης. Και

αυτό ήταν, κατά κάποιον τρόπο αναμενόμενο, καθώς η αύξηση των ολικών υδατανθράκων στο εκχύλισμα μαγιάς οφείλεται στη διασπορά στο διαλυτό μέρος του αιωρήματος μαγιάς υδατανθράκων που αποκολλούνται από το κυτταρικό τοίχωμα της μαγιάς, κατά τη διάρρηξη που αυτό υφίσταται υπό την επίδραση της υπερυψηλής πίεσης, όπως επιβεβαιώνεται και από τη βιβλιογραφία (Shimanda, et al., 1993), (Marx, Moody, & Bermúdez-Aguirre, 2011).

5.4.3. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΟ ΣΤΕΡΕΟ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑ ΤΟΥ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ ΑΡΤΟΠΟΙΑΣ

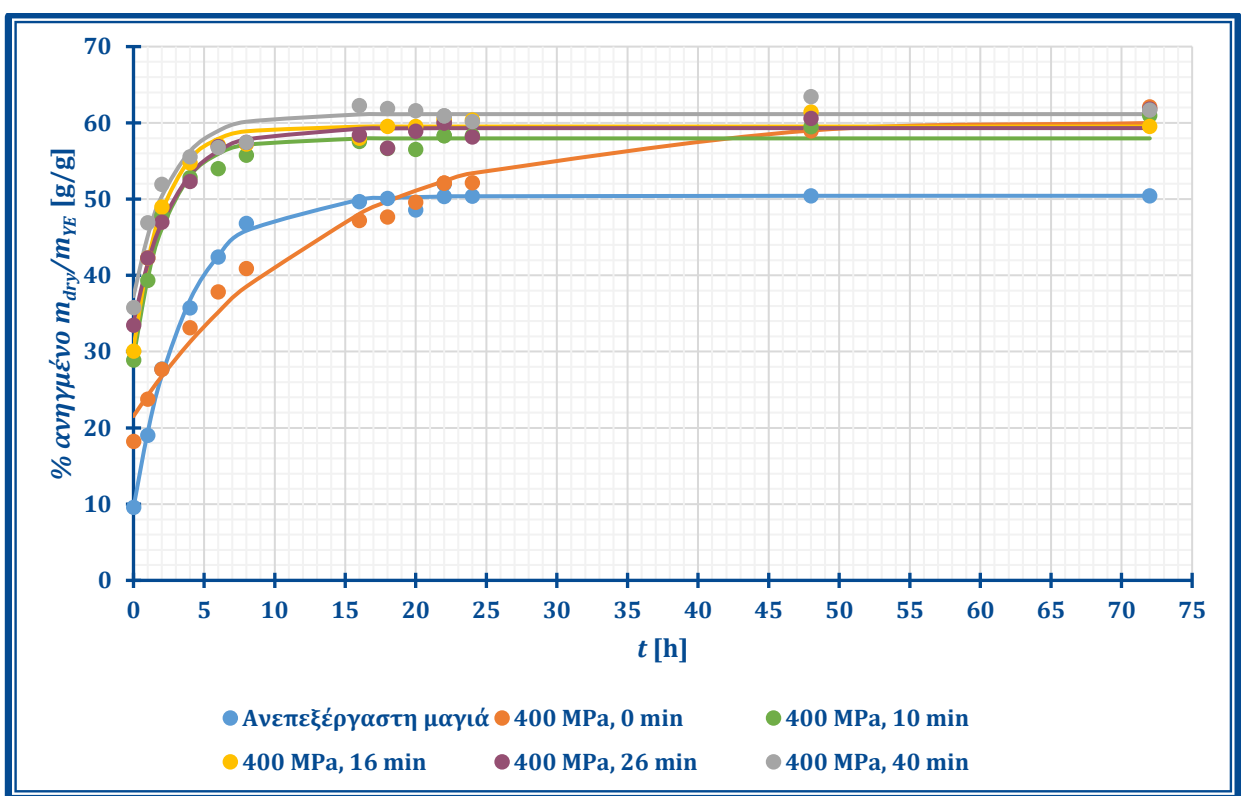
Σε μια περαιτέρω προσπάθεια για τη μελέτη της επίδρασης της υπερυψηλής πίεσης στη διεργασία της αυτόλυσης της μαγιάς αρτοποιίας και στα χαρακτηριστικά του εκχυλίσματος μαγιάς που παράγεται από τη διεργασία αυτήν, ερευνήθηκε η μεταβολή που επιφέρει η επεξεργασία με υπερυψηλή πίεση στο στερεό υπόλειμμα του εκχυλίσματος μαγιάς αρτοποιίας, από το οποίο καθορίζεται και ο βαθμός απόδοσης της διεργασίας της αυτόλυσης. Το στερεό υπόλειμμα μετρήθηκε με την πειραματική διαδικασία που περιγράφεται στην ενότητα 4.9.3 και τα αποτελέσματα αυτής της διαδικασίας παρατίθενται στα ακόλουθα διαγράμματα.



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ Δ.5.16

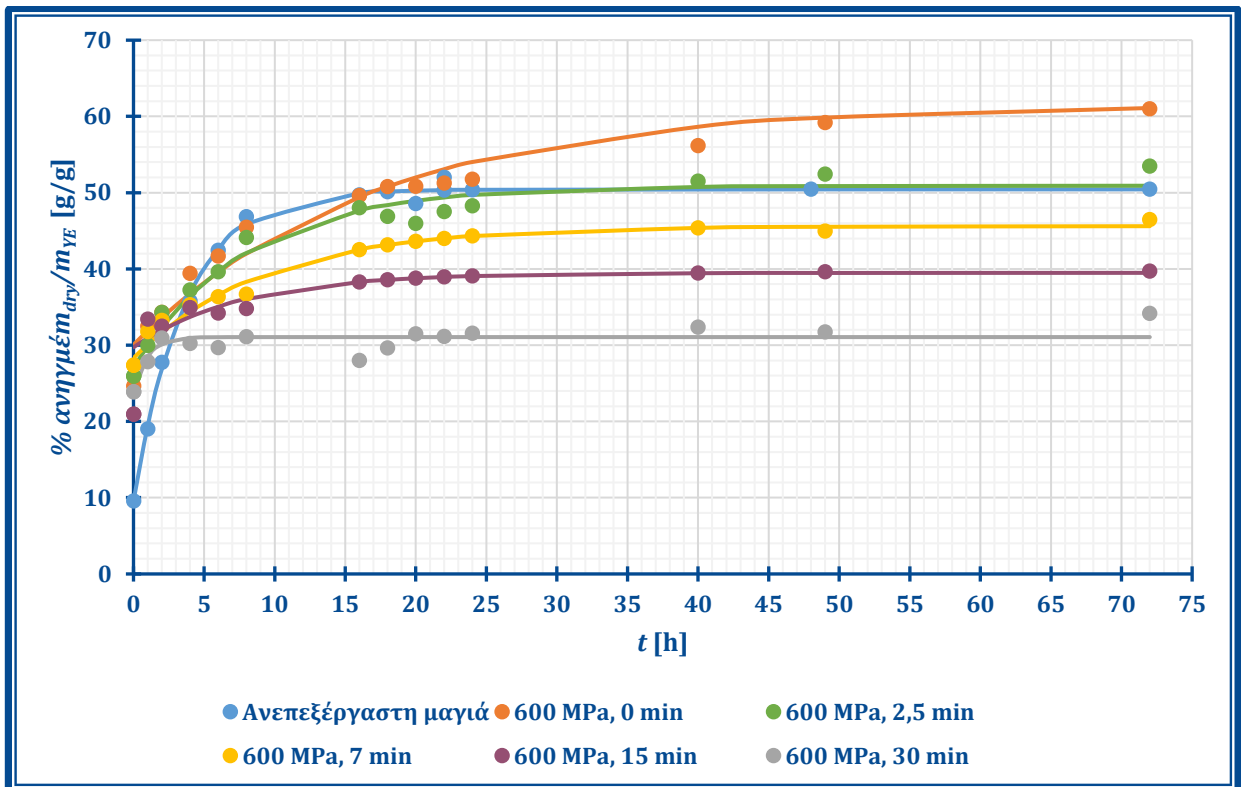
Διάγραμμα του επί τοις εκατό στερεού υπολείμματος, ανηγμένο στη μάζα της ξηρής μαγιάς, συναρτήσεως του χρόνου αυτόλυσης (t) στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης με υπερυψηλή πίεση στα 200 MPa για 0 – 60 min.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ Δ.5.17

Διάγραμμα του επί τοις εκατό στερεού υπολείμματος, ανηγμένο στη μάζα της ξηρής μαγιάς, συναρτήσεως του χρόνου αντόλυσης (t) στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης με υπερυψηλή πίεση στα 400 MPa για 0 – 40 min.



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ Δ.5.18

Διάγραμμα του επί τοις εκατό στερεού υπολείμματος, ανηγμένο στη μάζα της ξηρής μαγιάς, συναρτήσεως του χρόνου αντόλυσης (t) στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης με υπερυψηλή πίεση στα 600 MPa για 0 – 30 min.

Η παραπάνω συμπεριφορά του ανηγμένου στερεού υπολείμματος στο εκχύλισμα μαγιάς συναρτήσει του χρόνου αυτόλυσης $\left(\frac{m_{dry}}{m_{YE}} = f(t)\right)$ μοντελοποιήθηκε μαθηματικά, με τη χρήση του πακέτου λογισμικού SigmaPlot 11.0 (Systat Software, Inc., San Jose, California, United States of America) για κάθε συνθήκη πίεσης και χρόνου πίεσης, χρησιμοποιώντας το παρακάτω μαθηματικό μοντέλο:

$$\frac{m_{dry}}{m_{YE}} = \frac{m_{dry}}{m_{YE}} \Big|_0 - \left(\frac{m_{dry}}{m_{YE}} \Big|_e - \frac{m_{dry}}{m_{YE}} \Big|_0 \right) \cdot \left(1 - e^{-\frac{t}{\tau_{dw}}} \right) \quad [5.8]$$

... όπου: $\frac{m_{dry}}{m_{YE}}$: το ανηγμένο στη μάζα της ξηρής μαγιάς στερεό υπόλειμμα στο εκχύλισμα μαγιάς, σε κάθε χρονική στιγμή της αυτόλυσης [–]

t : ο χρόνος αυτόλυσης [h]

$\frac{m_{dry}}{m_{YE}} \Big|_e$: το μέγιστο ανηγμένο στερεό υπόλειμμα στο εκχύλισμα μαγιάς, το οποίο επιτυγχάνεται στην εκάστοτε συνθήκη πίεσης και χρόνου πίεσης (πλατό) [–]

$\frac{m_{dry}}{m_{YE}} \Big|_0$: το αρχικό ανηγμένο στερεό υπόλειμμα στο εκχύλισμα μαγιάς ($t = 0$ h), έπειτα από την εκάστοτε επεξεργασία με υπερυψηλή πίεση [–]

τ_{dw} : παράμετρος της συνάρτησης $\frac{m_{dry}}{m_{YE}} = f(t)$ η οποία σχετίζεται με την κλίση του γραμμικού τμήματος ανόδου της καμπύλης προσαρμογής [h]

Οι παράμετροι των συναρτήσεων $\frac{m_{dry}}{m_{YE}} = f(t)$ της μεταβολής του στερεού υπολείμματος στο εκχύλισμα μαγιάς, οι οποίες προέκυψαν ύστερα από αυτή τη μοντελοποίηση $\left(\frac{m_{dry}}{m_{YE}} \Big|_0, \frac{m_{dry}}{m_{YE}} \Big|_e, \tau_{dw}\right)$, καθώς και ο βαθμός προσαρμογής των καμπυλών που προέκυψαν από τη μαθηματική μοντελοποίηση στα πειραματικά δεδομένα (R^2) παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα.

ΠΙΝΑΚΑΣ Π.5.7

Παράμετροι των συναρτήσεων $\frac{m_{dry}}{m_{YE}} = f(t)$ της μεταβολής του στερεού υπολείμματος στο εκχύλισμα μαγιάς $\left(\frac{m_{dry}}{m_{YE}} \Big|_0, \frac{m_{dry}}{m_{YE}} \Big|_e, \tau_{dw}\right)$ και βαθμός προσαρμογής (R^2) των καμπυλών που προέκυψαν από τη μαθηματική μοντελοποίηση στα πειραματικά σημεία, για τις διάφορες συνθήκες πίεσης και χρόνου πίεσης.

ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΑΝΕΠΕΞΕΡΓΑΣΤΗΣ ΜΑΓΙΑΣ				
	$\frac{m_{dry}}{m_{YE}} \Big _0 \left[\% \frac{w}{w} \right]$	$\frac{m_{dry}}{m_{YE}} \Big _e \left[\% \frac{w}{w} \right]$	τ_{dw} [h]	R^2
	9,5657 ± 1,8456	50,432 ± 2,5615	3,6523 ± 0,3001	0,9925
ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΜΑΓΙΑΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΜΕΝΗΣ ΣΤΑ 200 MPa				
t_p [min]	$\frac{m_{dry}}{m_{YE}} \Big _0 \left[\% \frac{w}{w} \right]$	$\frac{m_{dry}}{m_{YE}} \Big _e \left[\% \frac{w}{w} \right]$	τ_{dw} [h]	R^2
0	13,927 ± 0,6046	50,906 ± 1,2700	3,4188 ± 0,1660	0,9962
10	16,832 ± 0,7085	54,022 ± 0,7371	4,9140 ± 0,2705	0,9967
20	18,829 ± 1,3776	52,948 ± 2,0566	4,9529 ± 0,6820	0,9789
40	23,316 ± 1,1220	53,779 ± 2,3747	5,2826 ± 0,6251	0,9803
60	24,575 ± 0,8037	55,454 ± 1,2683	8,3542 ± 0,8096	0,9884

ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΜΑΓΙΑΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΜΕΝΗΣ ΣΤΑ 400 MPa				
t_p [min]	$\frac{m_{dry}}{m_{YE}} \Big _0 \left[\% \frac{w}{w} \right]$	$\frac{m_{dry}}{m_{YE}} \Big _e \left[\% \frac{w}{w} \right]$	τ_{dw} [h]	R^2
0	21,538 ± 1,204	60,194 ± 2,913	13,812 ± 1,583	0,982
10	29,272 ± 1,389	57,964 ± 1,999	2,268 ± 0,258	0,977
16	30,537 ± 1,246	59,515 ± 1,816	2,086 ± 0,223	0,987
26	33,917 ± 1,205	59,311 ± 2,455	2,819 ± 0,317	0,977
40	37,270 ± 1,499	61,147 ± 2,158	2,520 ± 0,373	0,961
ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΜΑΓΙΑΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΜΕΝΗΣ ΣΤΑ 600 MPa				
t_p [min]	$\frac{m_{dry}}{m_{YE}} \Big _0 \left[\% \frac{w}{w} \right]$	$\frac{m_{dry}}{m_{YE}} \Big _e \left[\% \frac{w}{w} \right]$	τ_{dw} [h]	R^2
0	30,058	61,532	16,750 ± 3,844	0,956
2,5	27,088	50,916	16,750 ± 1,219	0,973
7	28,313	45,613	9,276 ± 1,876	0,958
15	23,848	31,062	1,439 ± 0,507	0,963
30	29,725	39,487	7,645 ± 1,056	0,990

Από το διάγραμμα Δ.5.16 και τον πίνακα Π.5.7 παρατηρείται ότι η εφαρμογή πίεσης 200 MPa δεν επιφέρει σημαντική μεταβολή στο τελικό στερεό υπόλειμμα του εκχυλίσματος μαγιάς το οποίο καταγράφεται μετά το πέρας της αυτόλυσης, αλλά επιταχύνει και τη μεταβολή του, έως την τελική τιμή. Το τελικό στερεό υπόλειμμα, μετά το πέρας της αυτόλυσης, είναι παρόμοιο σε όλα τα εκχυλίσματα μαγιάς που παρήχθησαν από μαγιά επεξεργασμένη στα 200 MPa, για όλους τους χρόνους πίεσης (0 – 60 min), η τιμή του οποίου προσεγγίζει αυτή του εκχυλίσματος που παρήχθη από ανεπεξέργαστη μαγιά. Αυτό το στερεό υπόλειμμα κυμαίνεται από 50 % έως 55 %, ανηγμένο στο βάρος της ξηρής μαγιάς, με το στερεό υπόλειμμα στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς να προσεγγίζει τη χαμηλότερη τιμή, μετά το πέρας της αυτόλυσης. Η διαφορά μεταξύ αυτών των συνθηκών έγκειται στον χρόνο επίτευξης του μέγιστου στερεού υπολείμματος, ο οποίος γίνεται ολοένα και πιο μικρός, όσο αυξάνεται ο χρόνος πίεσης.

Από το διάγραμμα Δ.5.17 και τον πίνακα Π.5.7 παρατηρείται ότι η εφαρμογή πίεσης 400 MPa επιφέρει σημαντική μεταβολή στο τελικό στερεό υπόλειμμα του εκχυλίσματος μαγιάς το οποίο καταγράφεται μετά το πέρας της αυτόλυσης, ενώ επιταχύνει και τη μεταβολή του, έως την τελική τιμή. Το τελικό στερεό υπόλειμμα, μετά το πέρας της αυτόλυσης, είναι, μεν, παρόμοιο σε όλα τα εκχυλίσματα μαγιάς που παρήχθησαν από μαγιά επεξεργασμένη στα 400 MPa, για όλους τους χρόνους πίεσης (0 – 40 min), αλλά η τιμή αυτή είναι σημαντικά μεγαλύτερη από αυτή του εκχυλίσματος που παρήχθη από ανεπεξέργαστη μαγιά. Αυτό το στερεό υπόλειμμα του εκχυλίσματος επεξεργασμένης μαγιάς κυμαίνεται από 57 % έως 61 %, ανηγμένο στο βάρος της ξηρής μαγιάς, ενώ το στερεό υπόλειμμα του εκχυλίσματος ανεπεξέργαστης μαγιάς ανέρχεται στο 50,462 % του βάρους της ξηρής μαγιάς, μετά το πέρας της αυτόλυσης. Επίσης, παρατηρείται ότι υφίσταται σημαντική διαφορά μεταξύ των εκχυλισμάτων επεξεργασμένης μαγιάς και του εκχυλίσματος ανεπεξέργαστης μαγιάς.

Από το διάγραμμα Δ.5.18 και τον πίνακα Π.5.7 παρατηρείται ότι η εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης ύψους 600 MPa στο αιώρημα μαγιάς 10 % W/W επιφέρει ανάμεικτα αποτελέσματα στη διεργασία της αυτόλυσης, όσον αφορά στο στερεό υπόλειμμα του εκχυλίσματος μαγιάς. Σε σύγκριση με το εκχύλισμα μαγιάς που παράγεται από ανεπεξέργαστη μαγιά, αυτό που παράγεται με τη στιγμιαία εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης 600 MPa ($t_p = 0$ min) παρουσιάζει υψηλότερη τιμή στερεού υπολείμματος, η οποία ανέρχεται στο 60,194 % του βάρους της ξηρής μαγιάς, αυξημένο κατά 19,357 % σε σχέση με το εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς, η οποία σταθεροποιείται έπειτα από 40 h αυτόλυσης. Επίσης, το στερεό υπόλειμμα του εκχυλίσματος μαγιάς επεξεργασμένης στα 600 MPa για 2,5 min είναι, μετά το πέρας της αυτόλυσης, ίσο με αυτό του εκχυλίσματος ανεπεξέργαστης μαγιάς, τιμή η οποία σταθεροποιείται έπειτα από 24 h αυτόλυσης. Επιπροσθέτως, το μέγιστο στερεό υπόλειμμα που επιτυγχάνεται στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης με υπερυψηλή πίεση στα 600 MPa για 7 min ανέρχεται 45,613 % του βάρους της ξηρής μαγιάς, το οποίο επιτυγχάνεται έπειτα από 40 h αυτόλυσης, για 15 min ανέρχεται στο 31,062 % του βάρους της ξηρής μαγιάς, το οποίο επιτυγχάνεται έπειτα από 24 h αυτόλυσης, και για 30 min ανέρχεται στο 39,487 % του βάρους της ξηρής μαγιάς, το οποίο επιτυγχάνεται έπειτα από μόλις 4 h αυτόλυσης. Από τα παραπάνω παρατηρείται ότι μόνον η στιγμιαία εφαρμογή ($t_p = 0$ min) υπερυψηλής πίεσης ίσης με 600 MPa έχει καλύτερη συμπεριφορά όσον αφορά στο στερεό υπόλειμμα του εκχυλίσματος μαγιάς, συγκριτικά με το εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς, ενώ η εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης ίσης με 600 MPa για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα μειώνει το τελικό στερεό υπόλειμμα του εκχυλίσματος μαγιάς.

Προκειμένου να συγκριθούν τα αποτελέσματα της επίδρασης της υπερυψηλής πίεσης στο στερεό υπόλειμμα του εκχυλίσματος μαγιάς, υπολογίσθηκαν, για κάθε συνθήκη πίεσης και χρόνου πίεσης, οι παράμετροι t_{90} και y , όπως στην περίπτωση των πρωτεϊνών. Οι παράμετροι $t_{90(dw)}$ και y_{dw} υπολογίσθηκαν, σύμφωνα με τις σχέσεις:

$$t_{90(dw)} = -\tau_{dw} \cdot \ln \left(\frac{\frac{m_{dry}}{m_{YE}}|_e - 0,9 \cdot \frac{m_{dry}}{m_{YE}}|_{e,UT}}{\frac{m_{dry}}{m_{YE}}|_e - \frac{m_{dry}}{m_{YE}}|_0}} \right) \quad [5.9]$$

$$y_{dw} = \frac{\frac{m_{dry}}{m_{YE}}(t_{90(dw,UT)})}{0,9 \cdot \frac{m_{dry}}{m_{YE}}|_{e,UT}} \cdot 100 \% = \frac{\frac{m_{dry}}{m_{YE}}|_0 + \left(\frac{m_{dry}}{m_{YE}}|_e - \frac{m_{dry}}{m_{YE}}|_0 \right) \cdot \left(1 - e^{-\frac{t_{90(dw,UT)}}{\tau_{dw}}} \right)}{0,9 \cdot \frac{m_{dry}}{m_{YE}}|_{e,UT}} \cdot 100 \% \quad [5.10]$$

... όπου: $t_{90(dw)}$: ο ισοδύναμος χρόνος t_{90} για την περίπτωση του στερεού υπολείμματος του εκχυλίσματος μαγιάς [h]

y_{dw} : η παράμετρος y για την περίπτωση του στερεού υπολείμματος του εκχυλίσματος μαγιάς [-]

$\frac{m_{dry}}{m_{YE}}|_0$: το αρχικό επί τοις εκατό στερεό υπόλειμμα ($t = 0$ h) του εκχυλίσματος μαγιάς, ανηγμένο στη μάζα της ξηρής μαγιάς, έπειτα από την εκάστοτε επεξεργασία με υπερυψηλή πίεση $\left[\% \frac{w}{w} \right]$

$\left. \frac{m_{dry}}{m_{YE}} \right|_e$: το μέγιστο επί τοις εκατό στερεό υπόλειμμα του εκχυλίσματος μαγιάς, ανηγμένο στη μάζα της ξηρής μαγιάς, το οποίο επιτυγχάνεται στην εκάστοτε συνθήκη πίεσης και χρόνου πίεσης (πλατό) $\left[\% \frac{w}{w} \right]$

$\left. \frac{m_{dry}}{m_{YE}} \right|_{e,UT}$: το μέγιστο επί τοις εκατό στερεό υπόλειμμα του εκχυλίσματος ανεπεξέργαστης μαγιάς, ανηγμένο στη μάζα της ξηρής μαγιάς (πλατό) $\left[\% \frac{w}{w} \right]$

τ_{dw} : παράμετρος της συνάρτησης $\frac{m_{dry}}{m_{YE}} = f(t)$ η οποία σχετίζεται με την κλίση του γραμμικού τμήματος ανόδου της καμπύλης προσαρμογής [h]

$t_{90(dw,UT)}$: ο ισοδύναμος χρόνος t_{90} για την περίπτωση του στερεού υπολείμματος του εκχυλίσματος ανεπεξέργαστης μαγιάς [h]

Οι παράμετροι $t_{90(dw)}$ και y_{dw} για κάθε συνθήκη επεξεργασίας παρατίθεται στον πίνακα που ακολουθεί.

ΠΙΝΑΚΑΣ Π.5.8

Παράμετροι $t_{90(dw)}$ και y_{dw} για τις διάφορες συνθήκες πίεσης και χρόνου πίεσης, αναφορικά με το στερεό υπόλειμμα του εκχυλίσματος μαγιάς.

p [MPa]	t_p [min]	$t_{90(dw)}$ [h]	y_{dw} [%]
ανεπεξέργαστη μαγιά	—	7,6416	100,00
200	0	9,3655	94,918
	10	7,1766	101,72
	20	7,4647	100,58
	40	6,8119	102,69
	60	6,5044	103,44
400	0	13,256	83,642
	10	1,8706	125,53
	16	1,4985	129,49
	26	1,6945	126,95
	40	1,0474	132,18
600	0	11,184	91,623
	2,5	24,477	78,909
	7	40,314	83,770
	15	δεν ορίζεται	68,356
	30	δεν ορίζεται	79,081

Από τα δεδομένα του παραπάνω πίνακα γίνεται φανερό ότι η επεξεργασία της μαγιάς με υπερυψηλή πίεση στα 200 MPa και στα 400 MPa μειώνει αισθητά τον ισοδύναμο χρόνο που απαιτείται για την επίτευξη του ίδιου στερεού υπολείμματος του εκχυλίσματος μαγιάς, ίσου με το 90 % αυτού στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς ($t_{90(dw)}$). Στα 200 MPa, αυτός ο χρόνος ελαχιστοποιείται με επεξεργασία για 60 min, οπότε ισούται με 6,5044 h και είναι μειωμένος κατά 14,882 % σε σχέση με τον χρόνο που

απαιτείται για την επίτευξη του ιδίου στερεού υπολείμματος στο εκχύλισμα της ανεπεξέργαστης μαγιάς. Στα 400 MPa, αυτός ο χρόνος ελαχιστοποιείται με επεξεργασία της μαγιάς για 40 min, οπότε ισούται με 1,0474 h και είναι μειωμένος κατά 86,293 % σε σχέση με τον χρόνο που απαιτείται για την επίτευξη του ιδίου στερεού υπολείμματος στο εκχύλισμα της ανεπεξέργαστης μαγιάς. Στα 600 MPa, ο χρόνος $t_{90(dw)}$ ύστερα από επεξεργασία για 0 min, 2,5 min και 7 min είναι μεγαλύτερος από αυτόν της ανεπεξέργαστης μαγιάς (11,184 h, 24,477 h και 40,314 h, αντίστοιχα, έναντι 7,6416 h για το εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς, ενώ δεν ορίζεται για μεγαλύτερους χρόνους πίεσης, καθώς το μέγιστο στερεό υπόλειμμα του εκάστοτε εκχυλίσματος μαγιάς δεν υπερβαίνει ποτέ το 90 % αυτού στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς ($c_{TSS(e)} < 0,9 \cdot c_{TSS(e,UT)}$).

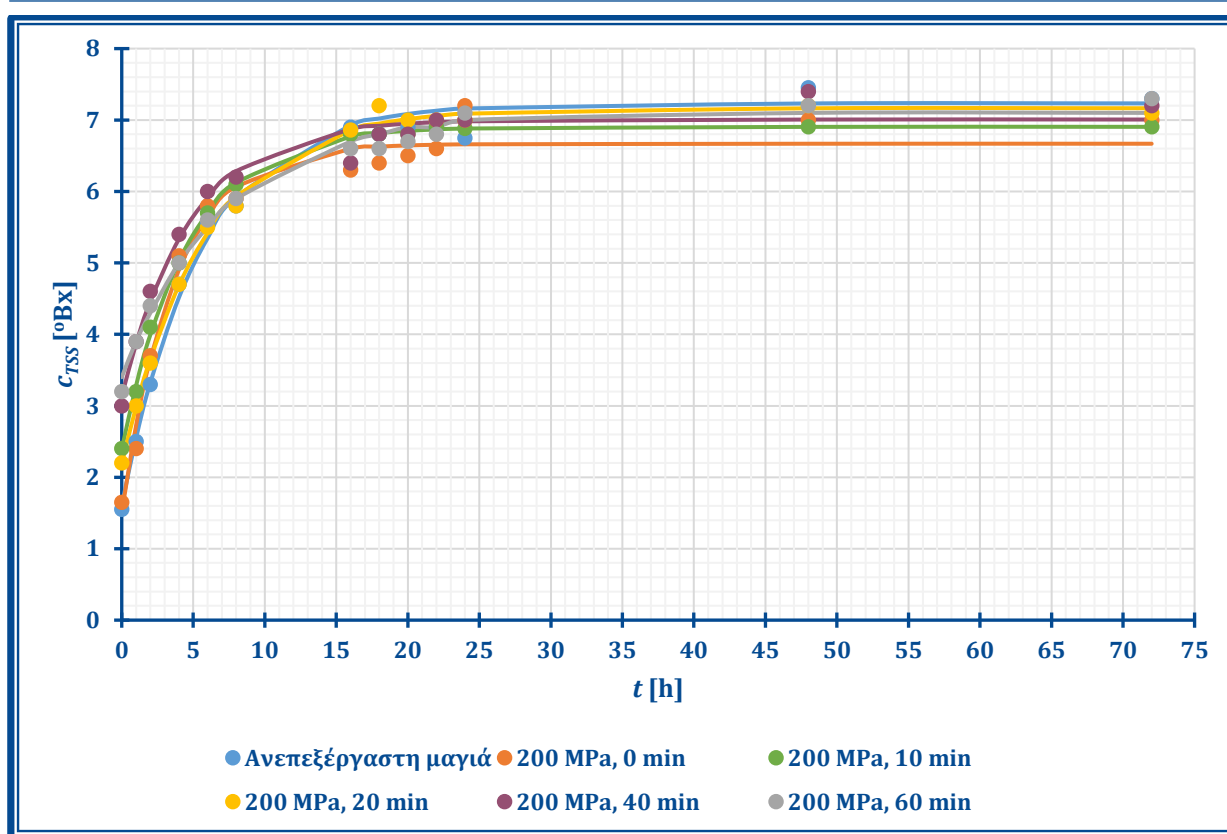
Όσον αφορά στην παράμετρο y_{dw} , όπως παρατηρείται από τον πίνακα Π.5.8, αυτή είναι, γενικά, μεγαλύτερη από 100 % στην περίπτωση των εκχυλισμάτων μαγιάς επεξεργασμένης με υπερυψηλή πίεση στα 200 MPa και στα 400 MPa, με εξαίρεση της στιγμιαία επεξεργασία και στις δύο πιέσεις. Αυτό σημαίνει ότι για την ίδια διάρκεια αυτόλυσης, ίση με τον ισοδύναμο χρόνο $t_{90(dw)}$ του εκχυλίσματος ανεπεξέργαστης μαγιάς, επιτυγχάνεται υψηλότερο στερεό υπόλειμμα από αυτό στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς. Στον ίδιο χρόνο αυτόλυσης, το μέγιστο στερεό υπόλειμμα του εκχυλίσματος μαγιάς επιτυγχάνεται έπειτα από επεξεργασία του αιωρήματος μαγιάς για 60 min στα 200 MPa, οπότε είναι 1,0344 φορές υψηλότερη από αυτήν στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς ($y_{dw} = 103,44 \%$), και έπειτα από 40 min επεξεργασίας του αιωρήματος μαγιάς στα 400 MPa, οπότε είναι 1,3218 φορές υψηλότερο από αυτό στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς ($y_{dw} = 132,18 \%$). Στην περίπτωση επεξεργασίας του αιωρήματος μαγιάς στα 600 MPa, η σταθερά y_{dw} είναι, για κάθε χρόνο επεξεργασίας, μικρότερη από 100 %. Αυτό σημαίνει ότι για την ίδια διάρκεια αυτόλυσης, ίση με τον ισοδύναμο χρόνο $t_{90(dw)}$ του εκχυλίσματος ανεπεξέργαστης μαγιάς, επιτυγχάνεται χαμηλότερο στερεό υπόλειμμα από αυτό στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς. Μάλιστα, παρατηρείται ότι όσο αυξάνεται ο χρόνος επεξεργασίας, τόσο μειώνεται αυτό το ποσοστό, δηλαδή για μεγαλύτερη διάρκεια επεξεργασίας επιτυγχάνεται ολοένα και μικρότερη απόδοση σε στερεό υπόλειμμα στο εκχύλισμα που προκύπτει από την αυτόλυση της μαγιάς.

Από τα παραπάνω συμπεραίνεται ότι η επεξεργασία του αιωρήματος μαγιάς 10 % W/W με υπερυψηλή πίεση ύψους 200 MPa και 400 MPa επιταχύνει την αυτόλυση, καθώς μειώνει τον απαιτούμενο χρόνο αυτόλυσης που απαιτείται για την επίτευξη του ιδίου στερεού υπολείμματος στο εκχύλισμα μαγιάς. Παράλληλα, η επεξεργασία με υπερυψηλή πίεση ύψους 200 MPa και 400 MPa αυξάνει και τον βαθμό απόδοσης της αυτόλυσης, όσον αφορά στο στερεό υπόλειμμα του εκχυλίσματος μαγιάς, το οποίο είναι υψηλότερο στο επεξεργασμένο εκχύλισμα μαγιάς, σε σχέση με το εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς. Αντιθέτως, η εξεργασία με υπερυψηλή πίεση ύψους 600 MPa επιβραδύνει ή παρεμποδίζει την αυτόλυση, καθώς είτε απαιτείται μεγαλύτερος χρόνος αυτόλυσης για την επίτευξη του ιδίου στερεού υπολείμματος του εκχυλίσματος μαγιάς, είτε μειώνεται ο βαθμός απόδοσης της διεργασίας της αυτόλυσης, καθώς για τον ίδιο χρόνο αυτόλυσης επιτυγχάνεται μικρότερο στερεό υπόλειμμα εκχυλίσματος επεξεργασμένης μαγιάς, σε σχέση με το εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς.

Τα παραπάνω βρίσκονται σε απόλυτη συνάρτηση με όσα παρατηρήθηκαν κατά τις μετρήσεις τόσο της συγκέντρωσης πρωτεϊνών, είτε ολικών, είτε αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων, και ολικών υδατανθράκων. Αυτό είναι φυσικό, καθώς το μεγαλύτερο ποσοστό του στερεού υπολείμματος του εκχυλίσματος μαγιάς αποτελείται από το σύνολο των πρωτεϊνών και υδατανθράκων που εκχυλίζονται κατά τη διάρκεια της αυτόλυσης. Καθώς η εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης έχει ως απότοκο την απελευθέρωση στο υπερκείμενο υγρό πρωτεϊνών και υδατανθράκων, προερχόμενων τόσο από τη διαρροή συστατικών του κυτταροπλάσματος στον εξωκυτταρικό χώρο, όσο και συστατικών του κυτταρικού τοιχώματος που θραύεται υπό την επίδραση της υπερυψηλής πίεσης, όπως επισημαίνεται στην βιβλιογραφία (Shimanda, et al., 1993), (Marx, Moody, & Bermúdez-Aguirre, 2011), η αύξηση του αρχικού στερεού υπολείμματος του «εκχυλίσματος μαγιάς» πριν την έναρξη της αυτόλυσης είναι αναμενόμενη. Ωστόσο, παρατηρείται ότι κατά την εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης ύψους 600 MPa η συμπεριφορά του στερεού υπολείμματος προσομοιάζει σε αυτή της συγκέντρωσης των πρωτεϊνών, παρά της συγκέντρωσης των υδατανθράκων. Με την αύξηση του χρόνου επεξεργασίας στα 600 MPa, το τελικό στερεό υπόλειμμα του εκχυλίσματος μαγιάς, μετά το πέρας της αυτόλυσης, είναι ολοένα και μικρότερο, όπως ακριβώς συμβαίνει και με τη συγκέντρωση των πρωτεϊνών. Αντιθέτως, όπως προαναφέρθη, η συγκέντρωση των ολικών υδατανθράκων παρουσιάζει αυξητική τάση με την αύξηση του χρόνου πίεσης στα 600 MPa, καθώς αυτή εξαρτάται ευθέως μόνον από την ένταση της επεξεργασίας. Το γεγονός ότι η αύξηση της συγκέντρωσης των ολικών υδατανθράκων στο εκχύλισμα μαγιάς με την αύξηση του χρόνου επεξεργασίας στα 600 MPa δεν οδηγεί σε αύξηση του στερεού υπολείμματος, καθώς αυτό μειώνεται, όπως οι πρωτεΐνες, οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η συγκέντρωση των πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς είναι πολύ μεγαλύτερη αναλογικά με αυτή των υδατανθράκων, καθώς η μεταβολή της πρώτης έχει κυρίαρχο ρόλο στη μεταβολή του στερεού υπολείμματος του εκχυλίσματος μαγιάς.

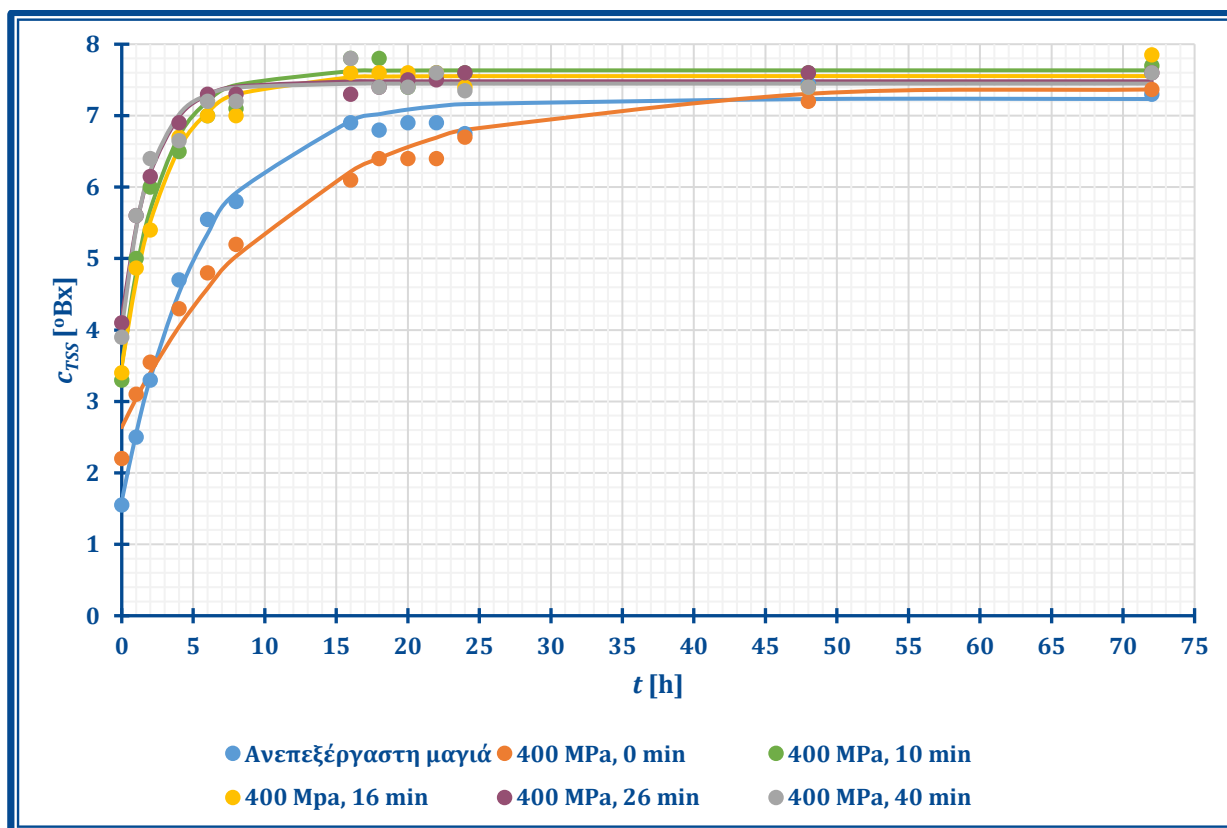
5.4.4. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ΔΙΑΛΥΤΩΝ ΣΤΕΡΕΩΝ ΣΤΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΜΑΓΙΑΣ ΑΡΤΟΠΟΙΑΣ

Στη συνέχεια μελετήθηκε η επίδραση της υπερυψηλής πίεσης στη συγκέντρωση των ολικών διαλυτών στερεών στο εκχύλισμα μαγιάς, κατά τη διάρκεια της αυτόλυσης. Η συγκέντρωση των ολικών διαλυτών στερεών στο εκχύλισμα μαγιάς μετρήθηκε κατά τη διάρκεια της αυτόλυσης του αιωρήματος μαγιάς 10 % W/W , είτε ανεπεξέργαστο, είτε επεξεργασμένο με υπερυψηλή πίεση, σε διάφορες συνθήκες (200 – 600 MPa, 0 – 60 min), σύμφωνα με τη διαδικασία που αναφέρεται στο κεφάλαιο 4.9.4 και εκφράσθηκε σε °Bx. Τα αποτελέσματα αυτών των μετρήσεων παρουσιάζονται για κάθε τιμή υπερυψηλής πίεσης στα διαγράμματα που ακολουθούν.



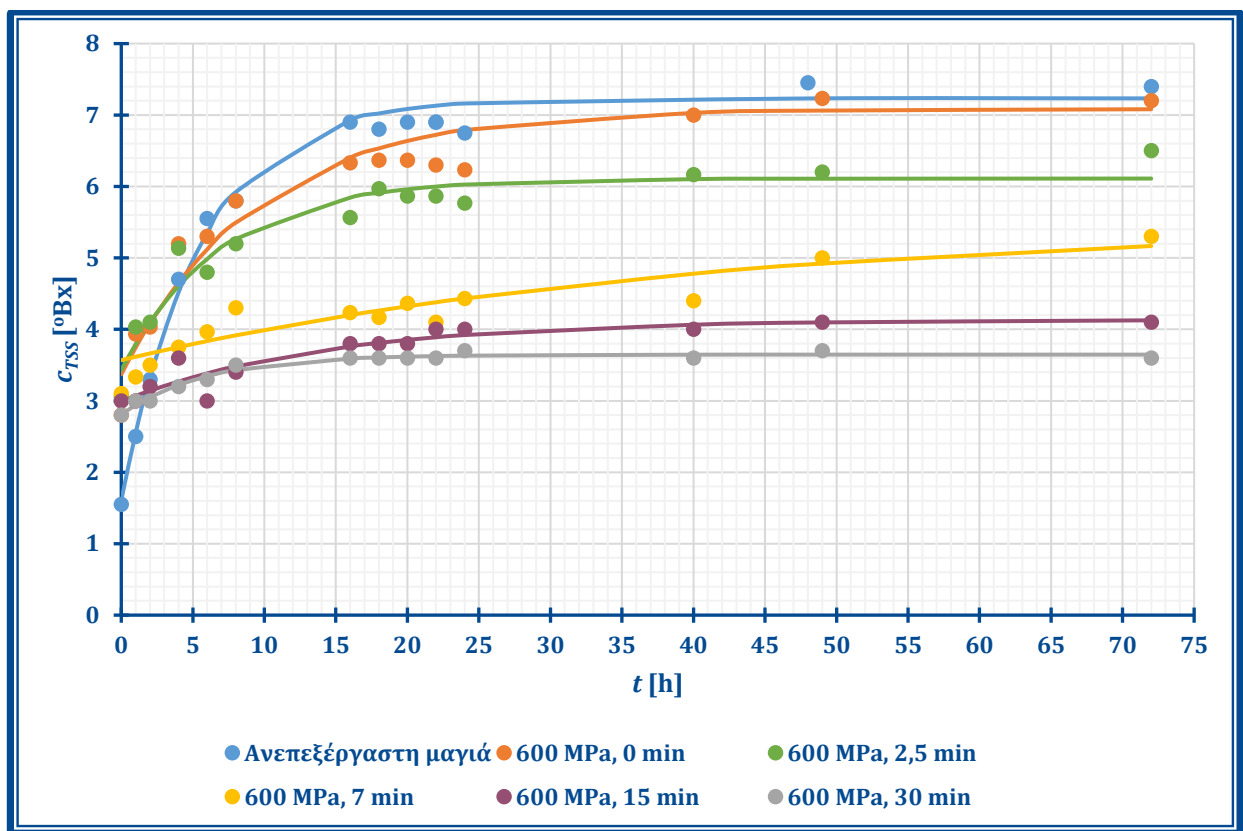
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ Δ.5.19

Διάγραμμα της συγκέντρωσης ολικών διαλυτών στερεών (c_{TSS}) συναρτήσει του χρόνου αυτόλυσης (t) στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης με υπερυψηλή πίεση στα 200 MPa για 0 – 60 min.



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ Δ.5.20

Διάγραμμα της συγκέντρωσης ολικών διαλυτών στερεών (c_{TSS}) συναρτήσει του χρόνου αυτόλυσης (t) στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης με υπερυψηλή πίεση στα 400 MPa για 0 – 40 min.



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ Δ.5.21

Διάγραμμα της συγκέντρωσης ολικών διαλυτών στερεών (c_{TSS}) συναρτήσεως του χρόνου αυτόλυσης (t) στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης με υπερυψηλή πίεση στα 600 MPa για 0 – 30 min.

Η παραπάνω συμπεριφορά της συγκέντρωσης ολικών διαλυτών στερεών στο εκχύλισμα μαγιάς συναρτήσεως του χρόνου αυτόλυσης ($c_{TSS} = f(t)$) μοντελοποιήθηκε μαθηματικά, με τη χρήση του πακέτου λογισμικού SigmaPlot 11.0 (Systat Software, Inc., San Jose, California, United States of America) για κάθε συνθήκη πίεσης και χρόνου πίεσης, χρησιμοποιώντας το παρακάτω μαθηματικό μοντέλο:

$$c_{TSS} = c_{TSS(e)} - (c_{TSS(e)} - c_{TSS(0)}) \cdot \left(1 - e^{-\frac{t}{\tau_{TSS}}}\right) \quad [5.11]$$

... όπου: c_{TSS} : η συγκέντρωση ολικών διαλυτών στερεών στο εκχύλισμα μαγιάς, σε κάθε χρονική στιγμή της αυτόλυσης [$^{\circ}\text{Bx}$]

t : ο χρόνος αυτόλυσης [h]

$c_{TSS(e)}$: η μέγιστη συγκέντρωση ολικών διαλυτών στερεών στο εκχύλισμα μαγιάς, η οποία επιτυγχάνεται στην εκάστοτε συνθήκη πίεσης και χρόνου πίεσης (πλατό) [$^{\circ}\text{Bx}$]

$c_{TSS(0)}$: η αρχική συγκέντρωση ολικών διαλυτών στερεών στο εκχύλισμα μαγιάς ($t = 0$ h), έπειτα από την εκάστοτε επεξεργασία με υπερυψηλή πίεση [$^{\circ}\text{Bx}$]

τ_{TSS} : παράμετρος η οποία σχετίζεται με την κλίση του γραμμικού τμήματος ανόδου της καμπύλης προσαρμογής [h]

Οι παράμετροι των συναρτήσεων $c_{TSS} = f(t)$ οι οποίες προέκυψαν ύστερα από αυτή τη μοντελοποίηση ($c_{TSS(0)}, c_{TSS(e)}, \tau_{TSS}$), καθώς και ο βαθμός προσαρμογής των

καμπυλών που προέκυψαν από τη μαθηματική μοντελοποίηση στα πειραματικά δεδομένα (R^2) παρουσιάζονται στον πίνακα που ακολουθεί.

ΠΙΝΑΚΑΣ Π.5.9

Παράμετροι των συναρτήσεων $c_{TSS} = f(t)$ ($c_{TSS(0)}$, $c_{TSS(e)}$, τ_{TSS}) και βαθμός προσαρμογής (R^2) των καμπυλών που προέκυψαν από τη μαθηματική μοντελοποίηση στα πειραματικά σημεία, για τις διάφορες συνθήκες πίεσης και χρόνου πίεσης.

ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΑΝΕΠΕΞΕΡΓΑΣΤΗΣ ΜΑΓΙΑ				
	$c_{TSS(0)}$ [°Bx]	$c_{TSS(e)}$ [°Bx]	τ_{TSS} [h]	R^2
	1,6 ± 0,15	7,2 ± 0,22	5,5 ± 0,46	0,98
ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΜΑΓΙΑΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΜΕΝΗΣ ΣΤΑ 200 MPa				
t_p [min]	$c_{TSS(0)}$ [°Bx]	$c_{TSS(e)}$ [°Bx]	τ_{TSS} [h]	R^2
0	1,5 ± 0,22	6,7 ± 0,32	3,7 ± 0,40	0,98
10	2,4 ± 0,045	6,9 ± 0,067	4,6 ± 0,13	0,99
20	2,2 ± 0,086	7,2 ± 0,13	5,7 ± 0,28	0,99
40	3,1 ± 0,18	7,0 ± 0,27	4,8 ± 0,60	0,98
60	3,4 ± 0,11	7,1 ± 0,16	7,2 ± 0,66	0,99
ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΜΑΓΙΑΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΜΕΝΗΣ ΣΤΑ 400 MPa				
t_p [min]	$c_{TSS(0)}$ [°Bx]	$c_{TSS(e)}$ [°Bx]	τ_{TSS} [h]	R^2
0	2,6 ± 0,13	7,4 ± 0,20	11 ± 1,6	0,98
10	3,5 ± 0,21	7,6 ± 0,30	2,7 ± 0,35	0,97
16	3,5 ± 0,16	7,6 ± 0,23	2,9 ± 0,27	0,99
26	4,2 ± 0,11	7,5 ± 0,16	2,1 ± 0,17	0,99
40	4,0 ± 0,20	7,4 ± 0,29	1,9 ± 0,27	0,97
ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΜΑΓΙΑΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΜΕΝΗΣ ΣΤΑ 600 MPa				
t_p [min]	$c_{TSS(0)}$ [°Bx]	$c_{TSS(e)}$ [°Bx]	τ_{TSS} [h]	R^2
0	3,4 ± 0,25	7,1 ± 0,36	9,4 ± 3,1	0,92
2,5	3,4 ± ,021	6,1 ± 0,30	6,9 ± 1,6	0,93
7	3,6 ± 0,15	5,4 ± 0,45	40 ± 23	0,90
15	3,0 ± 0,10	4,1 ± 0,17	14 ± 4,6	0,90
30	2,8 ± 0,038	3,6 ± 0,055	5,9 ± 0,74	0,90

Από το διάγραμμα Δ.5.19 και τον πίνακα Π.5.9 παρατηρείται ότι η εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης ύψους 200 MPa στο αιώρημα μαγιάς 10 % W/W δεν επιφέρει, σχεδόν, καμία μεταβολή στην απελευθέρωση διαλυτών στερεών συστατικών κατά τη διάρκεια της αυτόλυσης της μαγιάς. Σε όλες τις συνθήκες πίεσης στα 200 MPa η απελευθέρωση διαλυτών στερεών στο εκχύλισμα της μαγιάς ακολουθεί την πορεία του εκχυλίσματος ανεπεξέργαστης μαγιάς. Σε κάθε περίπτωση, επιτυγχάνεται μέγιστη συγκέντρωση διαλυτών στερεών στο εκχύλισμα μαγιάς έπειτα από 24 h αυτόλυσης, ίση, περίπου, με 7,0 °Bx.

Από το διάγραμμα Δ.5.20 και τον πίνακα Π.5.9 παρατηρείται ότι η εφαρμογή πίεσης 400 MPa δεν επιφέρει σημαντική μεταβολή στην τελική συγκέντρωση των

απελευθερούμενων ολικών διαλυτών στερεών κατά τη διάρκεια της αυτόλυσης, αλλά επιταχύνει αυτή την απελευθέρωση. Η τελική συγκέντρωση ολικών διαλυτών στερεών, μετά το πέρας της αυτόλυσης, είναι παρόμοια σε όλα τα εκχυλίσματα μαγιάς επεξεργασμένης στα 400 MPa, για όλους τους χρόνους πίεσης (0 – 60 min), η τιμή της οποίας προσεγγίζει αυτή του εκχυλίσματος ανεπεξεργαστης μαγιάς. Η συγκέντρωση αυτή κυμαίνεται από 7,2 °Bx έως 7,6 °Bx, με τη συγκέντρωση ολικών διαλυτών στερεών στο εκχύλισμα ανεπεξεργαστης μαγιάς να προσεγγίζει τη χαμηλότερη τιμή, μετά το πέρας της αυτόλυσης. Η διαφορά μεταξύ αυτών των συνθηκών έγκειται στον χρόνο επίτευξης της μέγιστης συγκέντρωσης ολικών διαλυτών στερεών, ο οποίος γίνεται ολοένα και πιο μικρός, όσο αυξάνεται ο χρόνος πίεσης.

Από το διάγραμμα Δ.5.21 και τον πίνακα Π.5.9 παρατηρείται ότι η εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης ύψους 600 MPa στο αιώρημα μαγιάς 10 % W/W επιφέρει, αρνητική επίδραση στη διεργασία της αυτόλυσης, όσον αφορά στη συγκέντρωση ολικών διαλυτών στερεών. Σε σύγκριση με το εκχύλισμα μαγιάς που παράγεται από ανεπεξεργαστη μαγιά, αυτά που παράγονται με την εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης 600 MPa, στιγμιαία ή για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, εμφανίζουν, μετά το πέρας της αυτόλυσης, μικρότερη συγκέντρωση ολικών διαλυτών στερεών.

Από τα δεδομένα του διαγράμματος Δ.5.21 και του πίνακα Π.5.9 προκύπτει ότι η μέγιστη συγκέντρωση ολικών διαλυτών στερεών που επιτυγχάνεται στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης με υπερυψηλή πίεση στα 600 MPa στιγμιαία ($t_p = 0$ min) αντιστοιχεί, περίπου, σε 7,0 °Bx, για 2,5 min σε 6,1 °Bx, για 7 min σε 5,0 °Bx, για 15 min σε 4,2 °Bx και για 30 min σε 3,6 °Bx. Από τα παραπάνω παρατηρείται ότι η εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης ίσης με 600 MPa, στιγμιαία ή για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, μειώνει την τελική συγκέντρωση ολικών διαλυτών στερεών στο εκχύλισμα μαγιάς, σε σύγκριση με το εκχύλισμα ανεπεξεργαστης μαγιάς.

Προκειμένου να συγκριθούν τα αποτελέσματα της επίδρασης της υπερυψηλής πίεσης στη συγκέντρωση ολικών διαλυτών στερεών στο εκχύλισμα μαγιάς, υπολογίσθηκαν, για κάθε συνθήκη πίεσης και χρόνου πίεσης, οι παράμετροι t_{90} και y , όπως παραπάνω. Οι παράμετροι $t_{90(TSS)}$ και y_{TSS} υπολογίσθηκαν, σύμφωνα με τις σχέσεις:

$$t_{90(TSS)} = -\tau_{TSS} \cdot \ln \left(\frac{c_{TSS(e)} - 0,9 \cdot c_{TSS(e,UT)}}{c_{TSS(e)} - c_{TSS(0)}} \right) \quad [5.12]$$

$$y_{TSS} = \frac{c_{gly}(t_{90(TSS,UT)})}{0,9 \cdot c_{gly(e,UT)}} \cdot 100 \% = \frac{c_{gly(0)} + (c_{gly(e)} - c_{gly(0)}) \cdot \left(1 - e^{-\frac{t_{90(TSS,UT)}}{\tau_{TSS}}} \right)}{0,9 \cdot c_{gly(e,UT)}} \cdot 100 \% \quad [5.13]$$

... όπου: $t_{90(TSS)}$: ο ισοδύναμος χρόνος t_{90} για την περίπτωση των ολικών διαλυτών στερεών του εκχυλίσματος μαγιάς [h]

y_{TSS} : η παράμετρος y για την περίπτωση των ολικών διαλυτών στερεών του εκχυλίσματος μαγιάς [-]

$c_{TSS(0)}$: η αρχική συγκέντρωση ολικών διαλυτών στερεών ($t = 0$ h) στο εκχύλισμα μαγιάς, έπειτα από την εκάστοτε επεξεργασία με υπερυψηλή πίεση [°Bx]

$c_{TSS(e)}$: η μέγιστη συγκέντρωση ολικών διαλυτών στερεών στο εκχύλισμα μαγιάς, η οποία επιτυγχάνεται στην εκάστοτε συνθήκη πίεσης και χρόνου πίεσης (πλατό) [°Bx]

$c_{TSS(e,UT)}$: η μέγιστη συγκέντρωση ολικών διαλυτών στερεών στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς (πλατό) [$^{\circ}\text{Bx}$]

$t_{90(TSS,UT)}$: ο ισοδύναμος χρόνος t_{90} του εκχυλίσματος ανεπεξέργαστης μαγιάς [h]

τ_{TSS} : παράμετρος της συνάρτησης $c_{TSS} = f(t)$ η οποία σχετίζεται με την κλίση του γραμμικού τμήματος ανόδου της καμπύλης προσαρμογής [h]

Οι παράμετροι $t_{90(TSS)}$ και y_{TSS} για κάθε συνθήκη επεξεργασίας παρατίθεται στον πίνακα που ακολουθεί.

ΠΙΝΑΚΑΣ Π.5.10

Παράμετροι $t_{90(TSS)}$ και y_{TSS} για τις διάφορες συνθήκες πίεσης και χρόνου πίεσης, αναφορικά με τη συγκέντρωση ολικών διαλυτών στερεών στο εκχύλισμα μαγιάς.

p [MPa]	t_p [min]	$t_{90(TSS)}$ [h]	y_{TSS} [%]
ανεπεξέργαστη μαγιά	–	11	100
200	0	13	99
	10	11	100
	20	12	99
	40	9,8	100
	60	13	98
	400	0	19
10		3,5	120
16		3,9	110
26		2,6	110
40		2,5	110
600	0	18	92
	2,5	δεν ορίζεται	86
	7	δεν ορίζεται	62
	15	δεν ορίζεται	56
	30	δεν ορίζεται	54

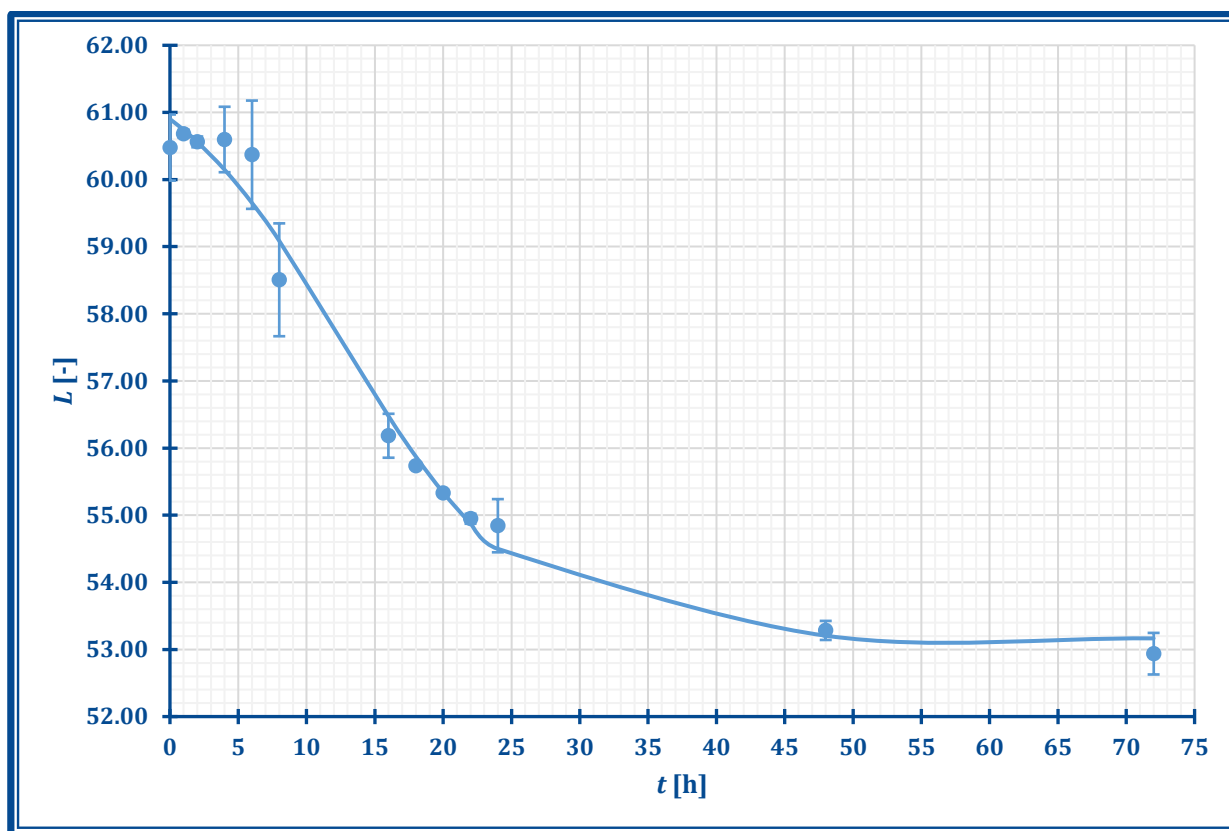
Από τα δεδομένα του παραπάνω πίνακα παρατηρούμε ότι η επεξεργασία της μαγιάς με υπερυψηλή πίεση στα 200 MPa δεν μεταβάλλει σχεδόν καθόλου τον ισοδύναμο χρόνο που απαιτείται για την επίτευξη της ίδιας συγκέντρωσης ολικών διαλυτών στερεών στο εκχύλισμα μαγιάς, ίσης με το 90 % αυτής στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς ($t_{90(TSS)}$). Στα 400 MPa, αυτός ο χρόνος μεταβάλλεται σημαντικά με την αύξηση του χρόνου επεξεργασίας και ελαχιστοποιείται με επεξεργασία της μαγιάς για 40 min, οπότε ισούται με 2,5 h και είναι μειωμένος κατά 77 % σε σχέση με τον χρόνο που απαιτείται για την επίτευξη της ίδιας συγκέντρωσης ολικών διαλυτών στερεών στο εκχύλισμα της ανεπεξέργαστης μαγιάς. Στα 600 MPa, ο ισοδύναμος χρόνος $t_{90(TSS)}$ ύστερα από στιγμιαία επεξεργασία ($t = 0$ min) είναι μεγαλύτερος από αυτόν της ανεπεξέργαστης μαγιάς (18 h έναντι 11 h), ενώ δεν ορίζεται για μεγαλύτερους χρόνους πίεσης, καθώς η μέγιστη συγκέντρωση ολικών διαλυτών στερεών στο εκάστοτε εκχύλισμα μαγιάς δεν υπερβαίνει ποτέ το 90 % αυτής στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς ($c_{TSS(e)} < 0,9 \cdot c_{TSS(e,UT)}$).

Όσον αφορά στην παράμετρο y_{TSS} , όπως παρατηρείται από τον Πίνακα Π.5.10, αυτή είναι σχεδόν ίση με 100 % σε κάθε συνθήκη επεξεργασίας στα 200 MPa. Αυτό σημαίνει ότι για την ίδια διάρκεια αυτόλυσης, ίση με τον ισοδύναμο χρόνο $t_{90(TSS)}$ του εκχύλισματος ανεπεξέργαστης μαγιάς, επιτυγχάνεται σχεδόν ίδια συγκέντρωση ολικών διαλυτών στερεών στο εκχύλισμα επεξεργασμένης μαγιάς με αυτή στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς. Στην περίπτωση επεξεργασίας της μαγιάς στα 400 MPa, η παράμετρος y_{TSS} παρατηρείται ότι, με εξέρεση την περίπτωση στιγμιαίας επεξεργασίας, είναι γενικά μεγαλύτερη από 100 %. Αυτό σημαίνει ότι για την ίδια διάρκεια αυτόλυσης, ίση με τον ισοδύναμο χρόνο $t_{90(TSS)}$ του εκχύλισματος ανεπεξέργαστης μαγιάς, επιτυγχάνεται υψηλότερη συγκέντρωση ολικών διαλυτών στερεών στο εκχύλισμα επεξεργασμένης μαγιάς από αυτή στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς. Στον ίδιο χρόνο αυτόλυσης, η μέγιστη συγκέντρωση ολικών διαλυτών στερεών στο εκχύλισμα επεξεργασμένης μαγιάς επιτυγχάνεται έπειτα από 10 min επεξεργασίας του αιωρήματος μαγιάς στα 400 MPa, οπότε είναι 1,2 φορές υψηλότερη από αυτή στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς ($y_{TSS} = 120\%$). Στην περίπτωση επεξεργασίας του αιωρήματος μαγιάς στα 600 MPa, η παράμετρος y_{TSS} είναι, για κάθε χρόνο επεξεργασίας, μικρότερη από 100 %. Αυτό σημαίνει ότι για την ίδια διάρκεια αυτόλυσης, ίση με τον ισοδύναμο χρόνο $t_{90(TSS)}$ του εκχύλισματος ανεπεξέργαστης μαγιάς, επιτυγχάνεται χαμηλότερη συγκέντρωση ολικών διαλυτών στερεών από αυτή στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς. Μάλιστα, παρατηρείται ότι όσο αυξάνεται ο χρόνος επεξεργασίας, τόσο μειώνεται αυτό το ποσοστό, δηλαδή για μεγαλύτερη διάρκεια επεξεργασίας επιτυγχάνεται ολοένα και μικρότερη απόδοση σε ολικά διαλυτά στερεά στο εκχύλισμα που προκύπτει από την αυτόλυση της μαγιάς.

Από τα παραπάνω συμπεραίνεται ότι η επεξεργασία του αιωρήματος μαγιάς 10 % W/W με υπερυψηλή πίεση ύψους 200 MPa δεν επιφέρει κάποια επίδραση στην απελευθέρωση ολικών διαλυτών στερεών στο εκχύλισμα μαγιάς, κατά τη διάρκεια της αυτόλυσης. Αντιθέτως, η επεξεργασία του αιωρήματος μαγιάς 10 % W/W με υπερυψηλή πίεση ύψους 400 MPa επιταχύνει την αυτόλυση, καθώς μειώνει τον απαιτούμενο χρόνο αυτόλυσης που απαιτείται για την επίτευξη της ίδιας συγκέντρωσης ολικών διαλυτών στερεών στο εκχύλισμα μαγιάς. Παράλληλα, η επεξεργασία με υπερυψηλή πίεση ύψους 400 MPa αυξάνει και τον βαθμό απόδοσης της αυτόλυσης, όσον αφορά στη συγκέντρωση ολικών διαλυτών στερεών στο εκχύλισμα μαγιάς, η οποία είναι υψηλότερη στο επεξεργασμένο εκχύλισμα μαγιάς, σε σχέση με το εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς. Αντιθέτως, η επεξεργασία με υπερυψηλή πίεση ύψους 600 MPa επιβραδύνει ή παρεμποδίζει την αυτόλυση, καθώς είτε απαιτείται μεγαλύτερος χρόνος αυτόλυσης για την επίτευξη της ίδιας συγκέντρωσης ολικών διαλυτών στερεών στο εκχύλισμα μαγιάς, είτε μειώνεται ο βαθμός απόδοσης της διεργασίας της αυτόλυσης, καθώς για τον ίδιο χρόνο αυτόλυσης επιτυγχάνεται μικρότερη συγκέντρωση ολικών διαλυτών στερεών στο εκχύλισμα επεξεργασμένης μαγιάς, σε σχέση με το εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς.

5.4.5. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΟ ΧΡΩΜΑ ΤΟΥ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ ΑΡΤΟΠΟΙΑΣ

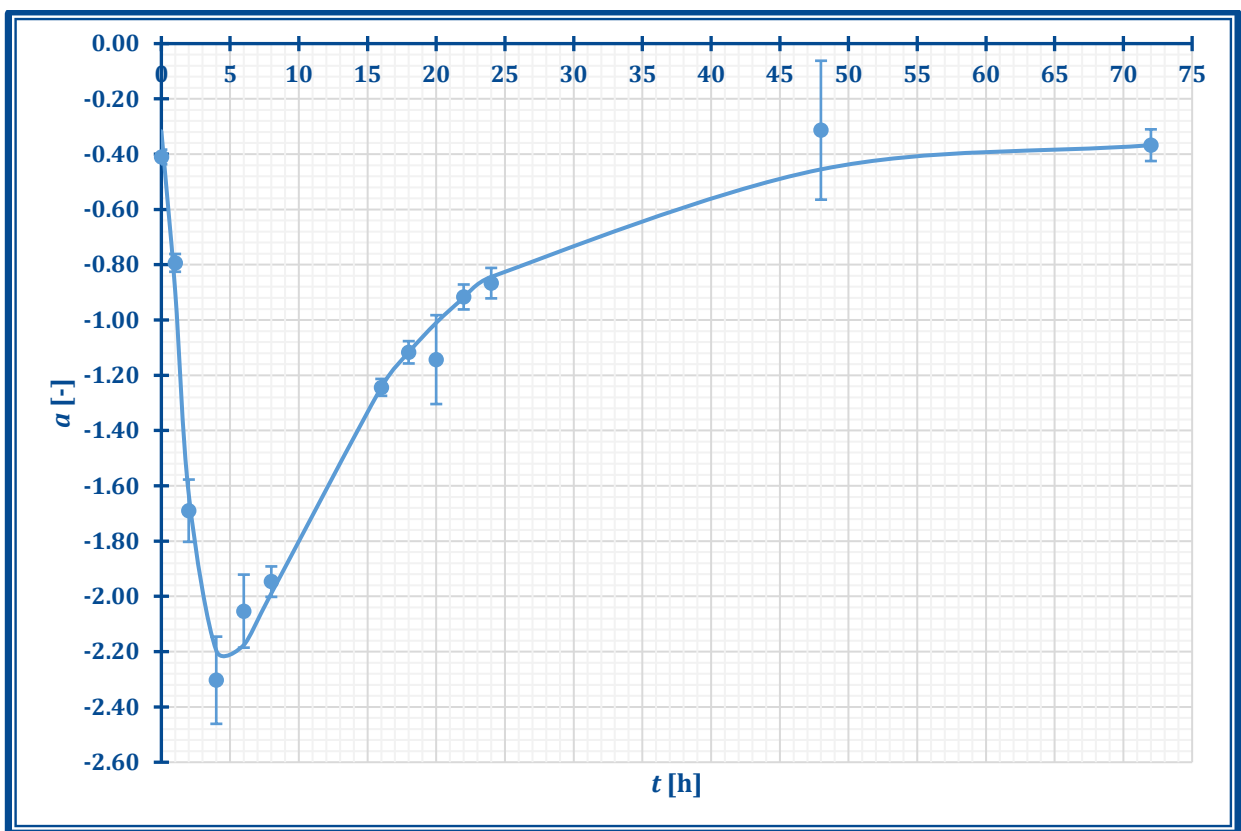
Τέλος, μελετήθηκε η επίδραση της υπερυψηλής πίεσης στο χρώμα του εκχυλίσματος μαγιάς, κατά τη διάρκεια της αυτόλυσης. Το χρώμα του εκχυλίσματος μαγιάς μετρήθηκε κατά τη διάρκεια της αυτόλυσης του αιωρήματος μαγιάς 10 % W/W , είτε ανεπεξέργαστο, είτε επεξεργασμένο με υπερυψηλή πίεση, σε διάφορες συνθήκες (200 – 600 MPa, 0 – 60 min), σύμφωνα με τη διαδικασία που αναφέρεται στο κεφάλαιο 4.9.5 και εκφράσθηκε στην κλίμακα CIELAB. Τα αποτελέσματα αυτών των μετρήσεων παρουσιάζονται για κάθε τιμή υπερυψηλής πίεσης στα διαγράμματα που ακολουθούν.



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ Δ.5.22

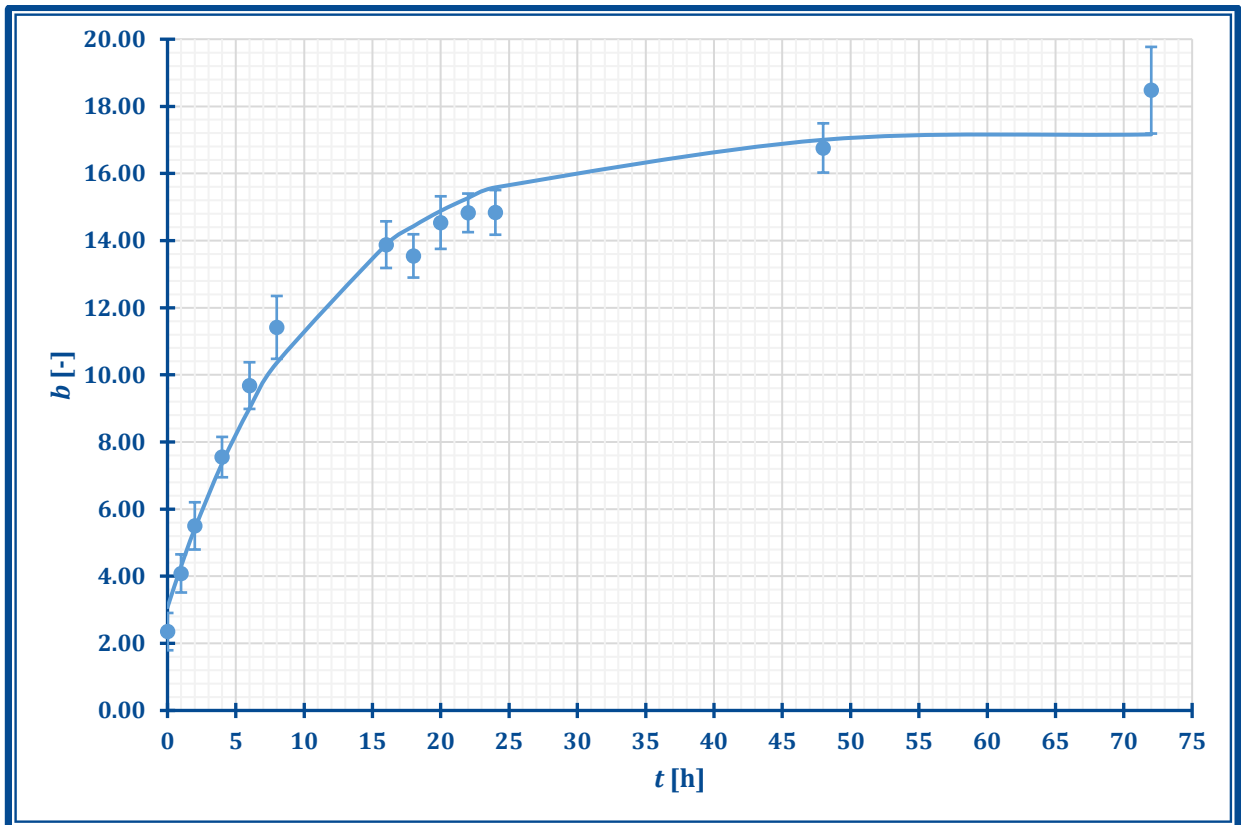
Διάγραμμα της μεταβολής της παραμέτρου L του χρώματος συναρτήσει του χρόνου αυτόλυσης (t) στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ



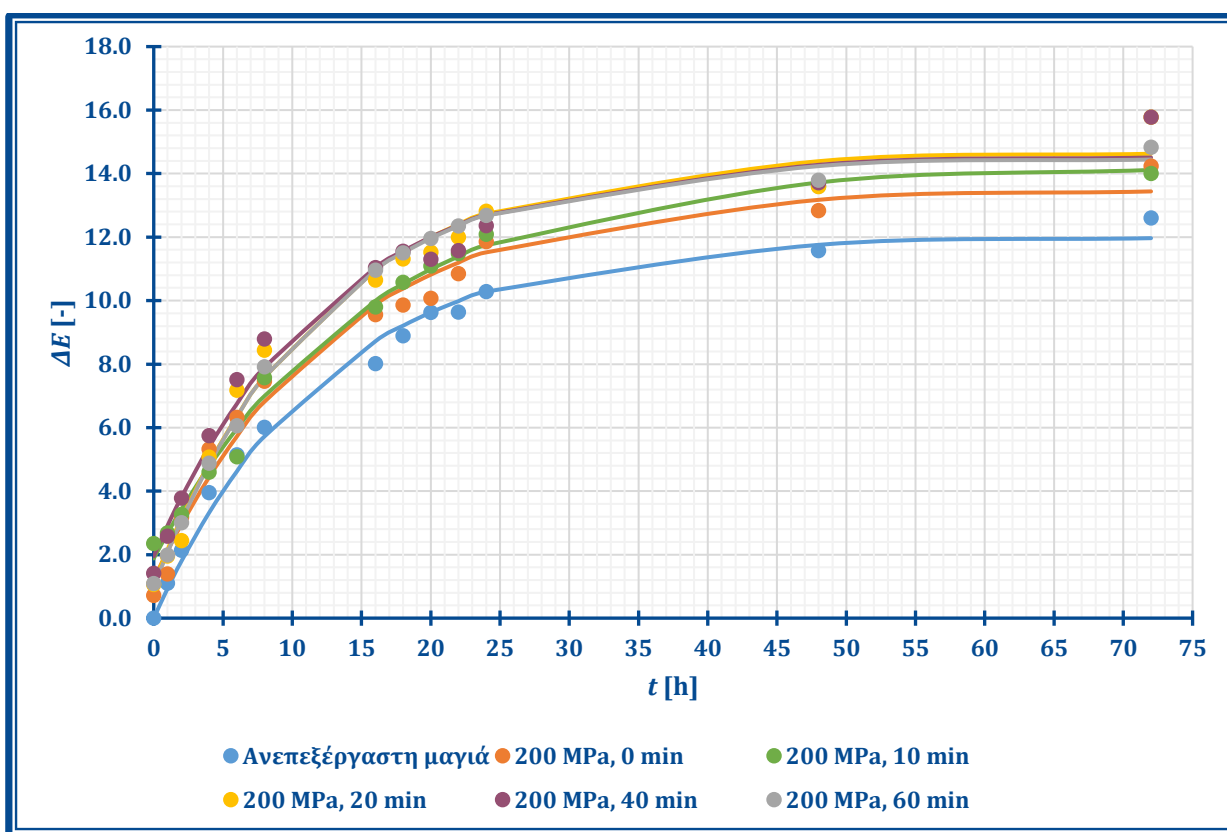
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ Δ.5.23

Διάγραμμα της μεταβολής της παραμέτρου a του χρώματος συναρτήσει του χρόνου autóluyσης (t) στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς.



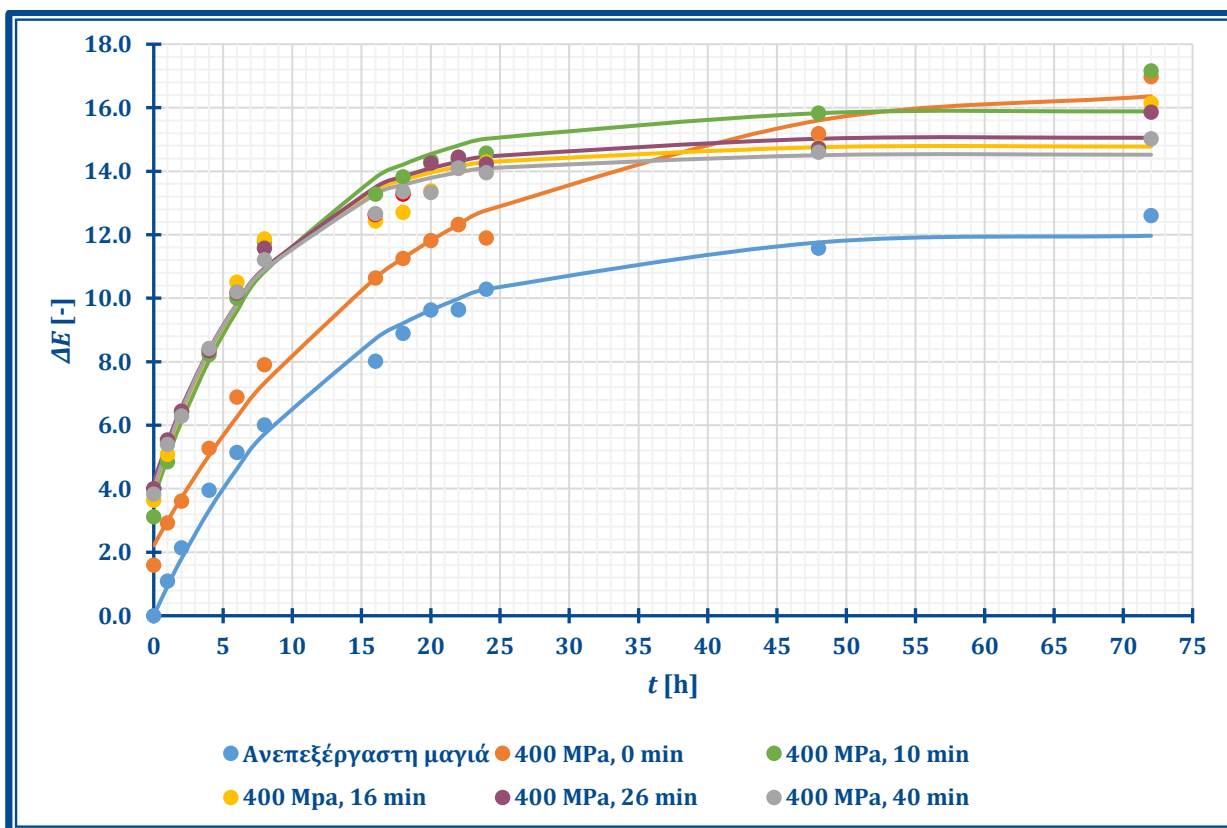
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ Δ.5.24

Διάγραμμα της μεταβολής της παραμέτρου b του χρώματος συναρτήσει του χρόνου autóluyσης (t) στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς.



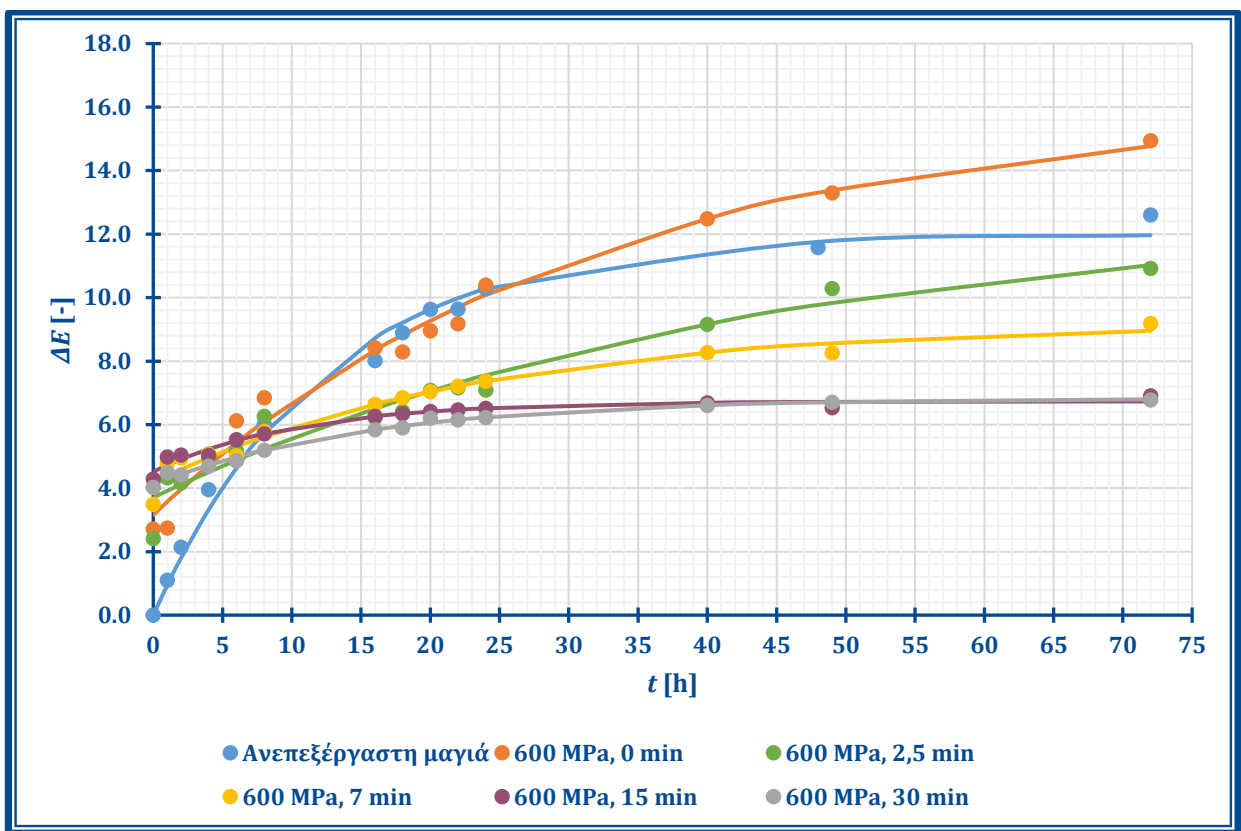
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ Δ.5.25

Διάγραμμα της ολικής μεταβολής του χρώματος (ΔE) συναρτήσει του χρόνου αυτόλυσης (t) στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης με υπερυψηλή πίεση στα 200 MPa για 0 – 60 min.



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ Δ.5.26

Διάγραμμα της ολικής μεταβολής του χρώματος (ΔE) συναρτήσει του χρόνου αυτόλυσης (t) στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης με υπερυψηλή πίεση στα 400 MPa για 0 – 40 min.



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ Δ.5.27

Διάγραμμα της ολικής μεταβολής του χρώματος (ΔE) συναρτήσει του χρόνου αυτόλυσης (t) στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης με υπερυψηλή πίεση στα 600 MPa για 0 – 30 min.

Αρχικά, στα διαγράμματα Δ.5.22, Δ.5.23 και Δ.5.24 παρουσιάζεται η μεταβολή των παραμέτρων L , a και b του χρώματος του εκχυλίσματος ανεπεξέργαστης μαγιάς κατά τη διάρκεια της αυτόλυσης, σύμφωνα με την κλίμακα CIELAB. Από το διάγραμμα Δ.5.22 παρατηρείται ότι η παράμετρος L του χρώματος του εκχυλίσματος ανεπεξέργαστης μαγιάς μειώνεται με την πάροδο του χρόνου. Αυτό σημαίνει ότι το χρώμα του εκχυλίσματος ανεπεξέργαστης μαγιάς λαμβάνει πιο σκούρα απόχρωση κατά τη διάρκεια της αυτόλυσης. Επίσης, από το διάγραμμα Δ.5.23 παρατηρείται ότι η παράμετρος a του χρώματος του εκχυλίσματος ανεπεξέργαστης μαγιάς είναι ελαφρώς αρνητική και μειώνεται και κατά τις πρώτες ώρες της αυτόλυσης, έως τις 4 h, ενώ κατόπιν αυξάνεται, τείνοντας προς το 0 προς το τέλος της αυτόλυσης. Τούτο σημαίνει ότι το εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς έχει μια ελαφρά πράσινη απόχρωση, η οποία αρχικά, έως τις 4 h αυτόλυσης, γίνεται εντονότερη, ενώ έπειτα η πράσινη απόχρωση μειώνεται και το εκχύλισμα μαγιάς αρχίζει να κοκκινίζει. Τέλος, από το διάγραμμα Δ.5.24 παρατηρείται ότι η παράμετρος b του χρώματος του εκχυλίσματος ανεπεξέργαστης μαγιάς είναι θετική και αυξάνεται κατά τη διάρκεια της αυτόλυσης. Αυτό σημαίνει ότι το εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς έχει κίτρινη απόχρωση η οποία γίνεται ολοένα και εντονότερη, όσο διαρκεί η αυτόλυση.

Τα παραπάνω στοιχεία επιβεβαιώνουν την οπτική παρατήρηση της μεταβολής του χρώματος του εκχυλίσματος ανεπεξέργαστης μαγιάς, κατά τη διάρκεια της αυτόλυσης. Αρχικά, πριν την έναρξη της αυτόλυσης, το υπερκείμενο «εκχύλισμα» ανεπεξέργαστης μαγιάς είχε χρώμα υποκίτρινο, το οποίο, κατά τη διάρκεια της αυτόλυσης, μετατρέπεται σε περισσότερο θερμό κίτρινο προς ανοιχτό καφετί. Δηλαδή, το χρώμα του εκχυλίσματος

ανεπεξέργαστης μαγιάς κιτρινίζει (αύξηση παραμέτρου b), κοκκινίζει (αύξηση παραμέτρου a) και σκούραινει (μείωση παραμέτρου L) ταυτόχρονα, κατά τη διάρκεια της αυτόλυσης.

Η συμπεριφορά των παραμέτρων L , a και b του χρώματος του εκχυλίσματος επεξεργασμένης μαγιάς, σύμφωνα με την κλίμακα CIELAB, ήταν ανάλογη με αυτή του εκχυλίσματος ανεπεξέργαστης μαγιάς, με τις όποιες διαφορές να εκφράζονται από την ολική μεταβολή του χρώματος (ΔE). Έτσι, για όλες τις συνθήκες επεξεργασίας της μαγιάς, η μεταβολή του χρώματος του εκχυλίσματος μαγιάς παρουσιάζεται μόνο με την παράμετρο ΔE , στα διαγράμματα Δ.5.25, Δ.5.26 και Δ.5.27. Η ολική αυτή μεταβολή του χρώματος του εκχυλίσματος μαγιάς συναρτήσε του χρόνου αυτόλυσης ($\Delta E = f(t)$) μοντελοποιήθηκε μαθηματικά, με τη χρήση του πακέτου λογισμικού SigmaPlot 11.0 (Systat Software, Inc., San Jose, California, United States of America) για κάθε συνθήκη πίεσης και χρόνου πίεσης, χρησιμοποιώντας το παρακάτω μαθηματικό μοντέλο:

$$\Delta E = \Delta E_e - (\Delta E_e - \Delta E_0) \cdot \left(1 - e^{-\frac{t}{\tau_{\Delta E}}}\right) \quad [5.14]$$

... όπου: ΔE : η ολική μεταβολή του χρώματος του εκχυλίσματος μαγιάς, σε κάθε χρονική στιγμή της αυτόλυσης, συγκριτικά με το αρχικό χρώμα του εκχυλίσματος ανεπεξέργαστης μαγιάς [–]

t : ο χρόνος από την έναρξη της αυτόλυσης [h]

ΔE_e : η μέγιστη ολική μεταβολή του χρώματος του εκχυλίσματος μαγιάς, συγκριτικά με το αρχικό χρώμα του εκχυλίσματος ανεπεξέργαστης μαγιάς, η οποία επιτυγχάνεται στην εκάστοτε συνθήκη πίεσης και χρόνου πίεσης (πλατό) [–]

ΔE_0 : η αρχική ολική μεταβολή του χρώματος του εκχυλίσματος μαγιάς ($t = 0$ h), συγκριτικά με το αρχικό χρώμα του εκχυλίσματος ανεπεξέργαστης μαγιάς, έπειτα από την εκάστοτε επεξεργασία με υπερυψηλή πίεση [–]

$\tau_{\Delta E}$: παράμετρος της συνάρτησης $\Delta E = f(t)$ η οποία σχετίζεται με την κλίση του γραμμικού τμήματος ανόδου της καμπύλης προσαρμογής [h]

Οι παράμετροι των συναρτήσεων $\Delta E = f(t)$ της ολικής μεταβολής του χρώματος του εκχυλίσματος μαγιάς, συναρτήσε του χρόνου αυτόλυσης, οι οποίες προέκυψαν ύστερα από αυτή τη μοντελοποίηση ($\Delta E_0, \Delta E_e, \tau_{\Delta E}$), καθώς και ο βαθμός προσαρμογής των καμπυλών που προέκυψαν από τη μαθηματική μοντελοποίηση στα πειραματικά δεδομένα (R^2) παρουσιάζονται στον πίνακα που ακολουθεί.

ΠΙΝΑΚΑΣ Π.5.11

Παράμετροι των συναρτήσεων $\Delta E = f(t)$ της ολικής διαφοράς του χρώματος του εκχυλίσματος μαγιάς ($\Delta E_0, \Delta E_e, \tau_{\Delta E}$) και βαθμός προσαρμογής (R^2) των καμπυλών που προέκυψαν από τη μαθηματική μοντελοποίηση στα πειραματικά σημεία, για τις διάφορες συνθήκες πίεσης και χρόνου πίεσης.

ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΑΝΕΠΕΞΕΡΓΑΣΤΗΣ ΜΑΓΙΑΣ				
	ΔE_0 [–]	ΔE_e [–]	$\tau_{\Delta E}$ [h]	R^2
	$0,000 \pm 0,000$	$12,00 \pm 0,3551$	$12,35 \pm 0,9602$	0,9886

ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΜΑΓΙΑΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΜΕΝΗΣ ΣΤΑ 200 MPa				
t_p [min]	ΔE_0 [-]	ΔE_e [-]	$\tau_{\Delta E}$ [h]	R^2
0	1,217 ± 0,4125	13,49 ± 0,7036	13,12 ± 1,602	0,9811
10	1,879 ± 0,2990	14,21 ± 0,5008	14,93 ± 1,203	0,9913
20	1,101 ± 0,4313	14,66 ± 0,7190	12,30 ± 1,392	0,9838
40	1,948 ± 0,5137	14,55 ± 0,8603	12,52 ± 1,989	0,9777
60	0,9855 ± 0,2396	14,48 ± 0,4064	11,90 ± 0,8503	0,9971
ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΜΑΓΙΑΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΜΕΝΗΣ ΣΤΑ 400 MPa				
t_p [min]	ΔE_0 [-]	ΔE_e [-]	$\tau_{\Delta E}$ [h]	R^2
0	2,212 ± 0,4054	16,64 ± 0,7624	18,25 ± 2,664	0,9898
10	3,699 ± 0,4309	15,89 ± 0,4698	9,083 ± 1,056	0,9829
16	3,947 ± 0,5878	14,78 ± 0,8927	7,7519 ± 1,4422	0,9670
26	4,220 ± 0,3415	15,05 ± 0,5055	8,258 ± 0,8319	0,9872
40	4,000 ± 0,2515	14,52 ± 0,3672	7,496 ± 0,5563	0,9930
ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΜΑΓΙΑΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΜΕΝΗΣ ΣΤΑ 600 MPa				
t_p [min]	ΔE_0 [-]	ΔE_e [-]	$\tau_{\Delta E}$ [h]	R^2
0	3,159 ± 0,2987	16,05 ± 0,9137	31,15 ± 4,561	0,9824
2,5	3,705 ± 0,3346	12,72 ± 1,637	43,10 ± 15,05	0,9408
7	4,181 ± 0,3016	9,196 ± 0,6561	23,75 ± 11,00	0,9593
15	4,519 ± 0,1891	6,734 ± 0,3146	10,417 ± 3,819	0,9532
30	4,119 ± 0,0765	6,827 ± 0,1591	15,90 ± 2,073	0,9882

Από τα δεδομένα του διαγράμματος Δ.5.25 και του πίνακα Π.5.11 προκύπτει ότι η ολική μεταβολή του χρώματος του εκχυλίσματος ανεπεξέργαστης μαγιάς λαμβάνει μέγιστη τιμή έπειτα από 48 h αυτόλυσης και ισούται με 12,00 στην κλίμακα CIELAB. Στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης στα 200 MPa, η ολική μεταβολή του χρώματος λαμβάνει μέγιστη τιμή έπειτα από 48 h αυτόλυσης και ισούται στην κλίμακα CIELAB με 13,49 για στιγμιαία επεξεργασία ($t_p = 0$), με 14,21 για επεξεργασία για 10 min, με 14,66 για επεξεργασία για 20 min, με 14,55 για επεξεργασία για 40 min και με 14,48 για επεξεργασία για 60 min, σε σύγκριση με το αρχικό χρώμα του εκχυλίσματος ανεπεξέργαστης μαγιάς. Από τα παραπάνω παρατηρείται ότι η εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης ίσης με 200 MPa αυξάνει την ολική μεταβολή του χρώματος του εκχυλίσματος μαγιάς, η οποία τείνει περίπου στην τιμή 14,5, όσο αυξάνεται ο χρόνος επεξεργασίας.

Από το διάγραμμα Δ.5.26 και τον πίνακα Π.5.11 παρατηρείται ότι η εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης ύψους 400 MPa στο αιώρημα μαγιάς 10 % W/W επιφέρει, επίσης, μεγαλύτερη επίδραση στη διεργασία της αυτόλυσης, όσον αφορά στην ολική μεταβολή του χρώματος του εκχυλίσματος μαγιάς, έναντι αυτής στα 200 MPa. Συγκρινόμενα με το εκχύλισμα μαγιάς που παρήχθη από ανεπεξέργαστη μαγιάς, αυτά που παρήχθησαν με την εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης 400 MPa, στιγμιαία ή για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, εμφάνισαν, ήδη από την αρχή, αλλά κυρίως μετά το πέρας της αυτόλυσης, μεγαλύτερη μεταβολή χρώματος.

Από τα δεδομένα του διαγράμματος Δ.5.26 και του πίνακα Π.5.11 προκύπτει ότι η ολική μεταβολή του χρώματος, συγκριτικά με το αρχικό χρώμα του εκχυλίσματος ανεπεξέργαστης μαγιάς, λαμβάνει μέγιστη τιμή στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης με υπερυψηλή πίεση στα 400 MPa στιγμιαία ($t_p = 0 \text{ min}$) και για 10 min έπειτα από 48 h, η οποία ισούται, στην κλίμακα CIELAB, με 16,64 και 15,89, αντίστοιχα, συγκριτικά με το αρχικό χρώμα του εκχυλίσματος ανεπεξέργαστης μαγιάς. Επίσης, η ολική μεταβολή του χρώματος του εκχυλίσματος μαγιάς επεξεργασμένης στα 400 MPa για 16 min, 26 min και 40 min λαμβάνει μέγιστη τιμή έπειτα από 24 h αυτόλυσης και ισούται, στην κλίμακα CIELAB, με 14,78, 15,05 και 14,52, αντίστοιχα. Από τα παραπάνω παρατηρείται ότι η εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης ίσης με 400 MPa μεταβάλλει σημαντικά το χρώμα του εκχυλίσματος μαγιάς, μεταβολή η οποία γίνεται μέγιστη με στιγμιαία επεξεργασία, οπότε ισούται με 16,64 στην κλίμακα CIELAB και είναι 37,17 % μεγαλύτερη από την ολική μεταβολή του χρώματος του εκχυλίσματος ανεπεξέργαστης μαγιάς, μετά το πέρας της αυτόλυσης.

Από το διάγραμμα Δ.5.27 και τον πίνακα Π.5.11 παρατηρείται ότι η εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης ύψους 600 MPa στο αιώρημα μαγιάς 10 % W/W επιφέρει μάλλον αντίθετα αποτελέσματα, όσον αφορά στην ολική μεταβολή του χρώματος του εκχυλίσματος μαγιάς. Σε σύγκριση με το εκχύλισμα μαγιάς που παράγεται από ανεπεξέργαστη μαγιά, μόνον αυτό που παράγεται με στιγμιαία εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης 600 MPa εμφανίζει μεγαλύτερη ολική μεταβολή χρώματος, ενώ τα εκχυλίσματα μαγιάς επεξεργασμένης για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα εμφανίζουν τελικά μικρότερη ολική μεταβολή χρώματος, συγκριτικά με το εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς.

Από τα δεδομένα του διαγράμματος Δ.5.27 και του πίνακα Π.5.11 προκύπτει ότι η μέγιστη ολική μεταβολή του χρώματος που επιτυγχάνεται στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης με υπερυψηλή πίεση στα 600 MPa στιγμιαία ($t_p = 0 \text{ min}$) ισούται με 16,05 στην κλίμακα CIELAB και επιτυγχάνεται έπειτα από 72 h αυτόλυσης, ενώ αυτή στα εκχυλίσματα μαγιάς επεξεργασμένης για 2,5 min και 7 min ισούται με 12,72 και 9,196, αντίστοιχα, και επιτυγχάνεται έπειτα από 72 h αυτόλυσης, και για 15 min και 30 min ισούται με 6,734 και 6,827, αντίστοιχα, και επιτυγχάνεται ύστερα από 48 h αυτόλυσης. Από τα παραπάνω παρατηρείται ότι η εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης ίσης με 600 MPa επιφέρει, τελικά, ολική μεταβολή του χρώματος του εκχυλίσματος μαγιάς μεγαλύτερη από αυτήν του εκχυλίσματος ανεπεξέργαστης μαγιάς μόνον με στιγμιαία επεξεργασία, ενώ όσο αυξάνεται η επεξεργασία της μαγιάς στα 600 MPa, τόσο μειώνεται η μεταβολή του χρώματος του εκχυλίσματος μαγιάς.

Τα παραπάνω αποτελέσματα αναφορικά με τη μεταβολή του χρώματος του εκχυλίσματος μαγιάς ευρίσκονται σε απόλυτη συνάρτηση με τα αποτελέσματα σχετικά με τα άλλα χαρακτηριστικά του εκχυλίσματος μαγιάς, κυρίως των πρωτεϊνών και των υδατανθράκων. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η μεταβολή του χρώματος του εκχυλίσματος μαγιάς κατά τη διάρκεια της αυτόλυσης οφείλεται, κυρίως, σε αντιδράσεις Maillard, οι οποίες λαμβάνουν χώρα, λόγω της παρουσίας υψηλών συγκεντρώσεων πρωτεϊνών και υδατανθράκων (Izzo & Ho, 1992). Οι αντιδράσεις Maillard είναι αντιδράσεις μεταξύ αμινοξέων και αναγωγικών σακχάρων, οι οποίες παράγουν σκουρόχρωμες ενώσεις, με αποτέλεσμα ανάλογη μεταβολή του χρώματος του εκχυλίσματος μαγιάς (Maillard, 1912). Επομένως, στην περίπτωση των εκχυλισμάτων

μαγιάς επεξεργασμένης στα 200 MPa και στα 400 MPa ήταν αναμενόμενο να επέλθει μεγαλύτερη μεταβολή του χρώματος του εκχυλίσματος μαγιάς προς το καφετί, καθώς, όπως εδείχθη παραπάνω, σε αυτά τα εκχυλίσματα η συγκέντρωση τόσο των πρωτεϊνών, όσο και των υδατανθράκων είναι σημαντικά υψηλότερη. Αντιθέτως, στην περίπτωση των εκχυλισμάτων μαγιάς επεξεργασμένης στα 600 MPa, στα οποία γενικά η συγκέντρωση πρωτεϊνών υπολογίστηκε ότι ήταν μικρότερη σε σχέση με αυτή στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς, ήταν, επίσης, αναμενόμενη αντίστοιχη μείωση της ολικής μεταβολής του χρώματος του εκχυλίσματος μαγιάς.

5.5. ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΚΑΙ ΑΠΟΔΟΣΗ ΤΗΣ ΑΥΤΟΛΥΣΗΣ

Ως διάρκεια της αυτόλυσης (t_{aut}) ορίζεται ο χρόνος που απαιτείται προκειμένου η συγκέντρωση του χαρακτηριστικού του εκχυλίσματος μαγιάς το οποίο καθορίζει τη διεργασία της αυτόλυσης να λάβει τιμή ίση με το 90 % της μέγιστης τιμής του χαρακτηριστικού αυτού στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς. Το χαρακτηριστικό εκείνο το οποίο καθορίζει την αυτόλυση είναι το χαρακτηριστικό του οποίου η μεταβολή αποτελεί το βραδύτερο στάδιο της διεργασίας. Το βραδύτερο στάδιο δύναται να καθορισθεί από τους ισοδύναμους χρόνους t_{90} του εκάστοτε χαρακτηριστικού του εκχυλίσματος μαγιάς, οπότε η διάρκεια της αυτόλυσης (t_{aut}) θα ισούται με τους αντίστοιχους ισοδύναμους χρόνους t_{90} του βραδύτερου σταδίου. Από όλα τα παραπάνω αποτελέσματα προκύπτει ότι βραδύτερο στάδιο είναι αυτό της απελευθέρωσης αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων, καθώς αυτό το χαρακτηριστικό παρουσιάζει τους μεγαλύτερους ισοδύναμους χρόνους t_{90} απ' όλα τα χαρακτηριστικά του εκχυλίσματος μαγιάς, σε όλες τις συνθήκες επεξεργασίας. Συνεπώς, η διάρκεια της αυτόλυσης ισούται με τους αντίστοιχους ισοδύναμους χρόνους $t_{90(FAN)}$, για κάθε συνθήκη επεξεργασίας.

Ως απόδοση της αυτόλυσης (y_{aut}) ορίζεται ως το ποσοστό της συγκέντρωσης του χαρακτηριστικού του εκχυλίσματος μαγιάς το οποίο καθορίζει τη διεργασία της αυτόλυσης που έχει επιτευχθεί στο εκάστοτε εκχύλισμα μαγιάς, κατά τον χρόνο αυτόλυσης t_{aut} της ανεπεξέργαστης μαγιάς, ως προς το 90 % της μέγιστης συγκέντρωσης ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς. Το χαρακτηριστικό του εκχυλίσματος μαγιάς το οποίο καθορίζει τη διεργασία της αυτόλυσης, όπως εξηγήθηκε παραπάνω, είναι η απελευθέρωση αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων, χαρακτηριστικό το οποίο εξάλλου είναι και αυτό που προσδίδει στο εκχύλισμα μαγιάς τις ιδιότητες ενισχυτικού γεύσης, όπως εξηγήθηκε στο κεφάλαιο 2. Συνεπώς, η απόδοση της αυτόλυσης ταυτίζεται με την παράμετρο y_{FAN} για τη συγκέντρωση αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων στο εκχύλισμα μαγιάς.

Η διάρκεια και η απόδοση της αυτόλυσης για κάθε συνθήκη επεξεργασίας παρατίθενται στον κάτωθι πίνακα.

ΠΙΝΑΚΑΣ Π.5.12

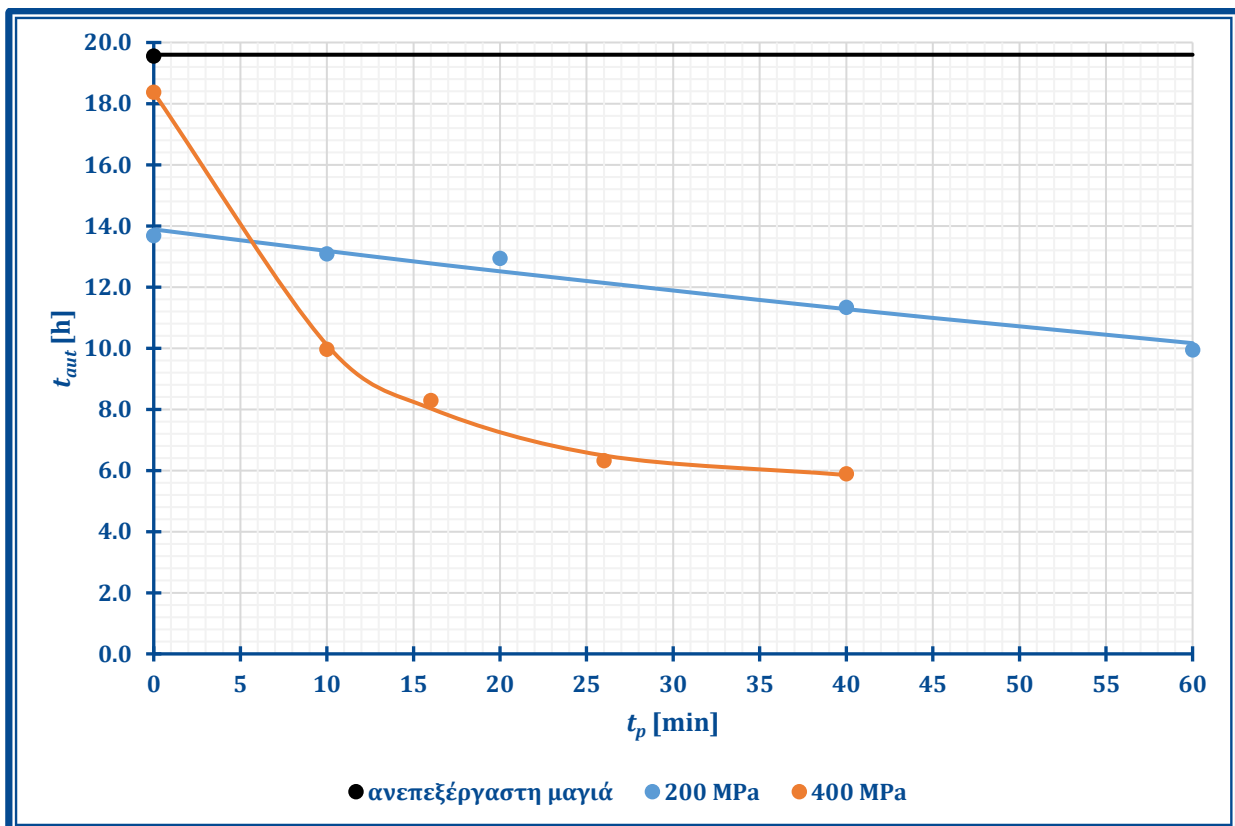
Διάρκεια της αυτόλυσης (t_{aut}) και απόδοση της αυτόλυσης (y_{aut}) για τις διάφορες συνθήκες πίεσης και χρόνου πίεσης.

p [MPa]	t_p [min]	t_{aut} [h]	y_{aut} [%]
ανεπεξέργαστη μαγιά	—	19,6	100

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

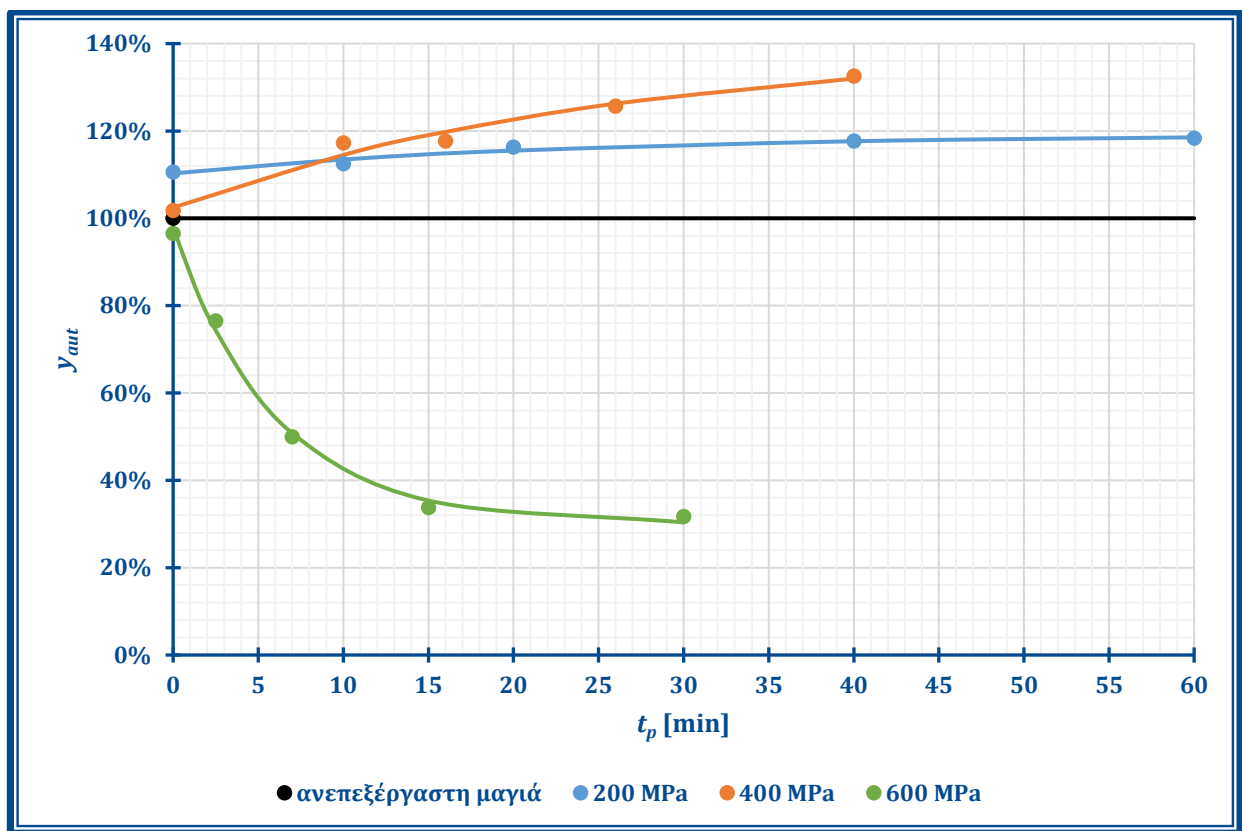
200	0	13,7	111
	10	13,1	112
	20	12,9	116
	40	11,3	118
	60	9,94	118
400	0	18,4	102
	10	9,96	117
	16	8,29	118
	26	6,32	126
	40	5,90	133
600	0	21,4	96,5
	2,5	δεν ορίζεται	76,5
	7	δεν ορίζεται	49,9
	15	δεν ορίζεται	33,8
	30	δεν ορίζεται	31,7

Για την καλύτερη απεικόνιση της μεταβολής της διάρκειας (t_{aut}) και της απόδοσης (y_{aut}) της αυτόλυσης συναρτήσει του χρόνου επεξεργασίας (t_p) καταστρώνονται τα αντίστοιχα διαγράμματα, βάσει των δεδομένων του πίνακα Π.5.12.



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ Δ.5.28

Διάγραμμα της διάρκειας της αυτόλυσης (t_{aut}) συναρτήσει του χρόνου επεξεργασίας (t_p) με υπερυψηλή πίεση, για κάθε συνθήκη πίεσης.



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ Δ.5.29

Διάγραμμα της απόδοσης της αυτόλυσης (y_{aut}) συναρτήσει του χρόνου επεξεργασίας (t_p) με υπερυψηλή πίεση, για κάθε συνθήκη πίεσης.

Από το διάγραμμα Δ.5.28 παρατηρείται ότι η διάρκεια της αυτόλυσης παρουσιάζει πτωτική τάση συναρτήσει του χρόνου επεξεργασίας στα 200 MPa και στα 400 MPa. Όμως η μείωση της διάρκειας της αυτόλυσης συναρτήσει του χρόνου επεξεργασίας στα 400 MPa είναι περισσότερο ραγδαία, συγκριτικά με τα 200 MPa. Στην περίπτωση της επεξεργασίας της μαγιάς στα 600 MPa, η διάρκεια της αυτόλυσης δεν ορίζεται για τους διάφορους χρόνους επεξεργασίας, όπως εξηγήθηκε παραπάνω, γι' αυτό και δεν υπάρχει αντίστοιχη καμπύλη στο διάγραμμα Δ.5.28. Η παραπάνω μεταβολή της διάρκειας της αυτόλυσης συναρτήσει του χρόνου επεξεργασίας $t_{aut} = f(t_p)$ μοντελοποιήθηκε μαθηματικά, με τη χρήση του πακέτου λογισμικού SigmaPlot 11.0 (Systat Software, Inc., San Jose, California, United States of America) για κάθε συνθήκη πίεσης, χρησιμοποιώντας το παρακάτω μαθηματικό μοντέλο:

$$t_{aut} = t_{aut(\infty)} + (t_{aut(0)} - t_{aut(\infty)}) \cdot e^{-\frac{t_p}{\tau_t}} \quad [5.15]$$

... όπου: t_{aut} : η διάρκεια της αυτόλυσης [h]

$t_{aut(\infty)}$: η διάρκεια της αυτόλυσης για άπειρο χρόνο επεξεργασίας [h]

$t_{aut(0)}$: η διάρκεια της αυτόλυσης έπειτα από στιγμιαία επεξεργασία της μαγιάς ($t_p = 0$ min) [h]

t_p : ο χρόνος επεξεργασίας [min]

τ_t : παράμετρος που σχετίζεται με την κλίση της καμπύλης $t_{aut} = f(t_p)$ [min]

Οι παράμετροι των συναρτήσεων $t_{aut} = f(t_p)$ οι οποίες προέκυψαν ύστερα από την παραπάνω μαθηματική μοντελοποίηση ($t_{aut(0)}, t_{aut(\infty)}, \tau_t$), καθώς και ο βαθμός

προσαρμογής των καμπυλών που προέκυψαν από τη μαθηματική μοντελοποίηση στα πειραματικά δεδομένα (R^2) παρουσιάζονται στον πίνακα που ακολουθεί.

ΠΙΝΑΚΑΣ Π.5.13

Παράμετροι των συναρτήσεων $t_{aut} = f(t_p)$ ($t_{aut(0)}$, $t_{aut(\infty)}$, τ_t) και βαθμός προσαρμογής (R^2) των καμπυλών που προέκυψαν από τη μαθηματική μοντελοποίηση στα πειραματικά σημεία, για τις διάφορες συνθήκες πίεσης.

p [MPa]	$t_{aut(0)}$ [h]	$t_{aut(\infty)}$ [h]	τ_t [min]	R^2
200	$13,9 \pm 0,227$	$0,00 \pm 0,227$	$192 \pm 22,2$	0,970
400	$18,4 \pm 0,402$	$5,66 \pm 0,227$	$9,52 \pm 0,635$	0,999

Από το διάγραμμα Δ.5.29 παρατηρείται ότι η απόδοση της αυτόλυσης παρουσιάζει για την περίπτωση επεξεργασίας της μαγιάς στα 200 MPa και στα 400 MPa ανοδική τάση συναρτήσεως του χρόνου επεξεργασίας, ενώ για την περίπτωση επεξεργασίας της μαγιάς στα 600 MPa πτωτική τάση. Αυτή η συμπεριφορά της απόδοσης της αυτόλυσης είναι άμεση συνέπεια της ενεργοποίησης των πρωτεολυτικών ενζύμων της μαγιάς στα 200 MPa και στα 400 MPa και, αντιστοίχως, της σταδιακής απενεργοποίησης αυτών στα 600 MPa. Η παραπάνω μεταβολή της απόδοσης της αυτόλυσης συναρτήσεως του χρόνου επεξεργασίας $y_{aut} = f(t_p)$ μοντελοποιήθηκε μαθηματικά, με τη χρήση του πακέτου λογισμικού SigmaPlot 11.0 (Systat Software, Inc., San Jose, California, United States of America) για κάθε συνθήκη πίεσης, χρησιμοποιώντας τα παρακάτω μαθηματικά μοντέλα:

$$p = 200 - 400 \text{ MPa} \quad y_{aut} = y_{aut(0)} + (y_{aut(\infty)} - y_{aut(0)}) \cdot \left(1 - e^{-\frac{t_p}{\tau_y}}\right) \quad [5.16]$$

$$p = 600 \text{ MPa} \quad y_{aut} = y_{aut(\infty)} + (y_{aut(0)} - y_{aut(\infty)}) \cdot e^{-\frac{t_p}{\tau_y}} \quad [5.17]$$

... όπου: y_{aut} : η απόδοση της αυτόλυσης [%]

$y_{aut(\infty)}$: η απόδοση της αυτόλυσης για άπειρο χρόνο επεξεργασίας [%]

$y_{aut(0)}$: η απόδοση της αυτόλυσης έπειτα από στιγμιαία επεξεργασία της μαγιάς ($t_p = 0 \text{ min}$) [%]

t_p : ο χρόνος επεξεργασίας [min]

τ_y : παράμετρος που σχετίζεται με την κλίση της καμπύλης $y_{aut} = f(t_p)$ [min]

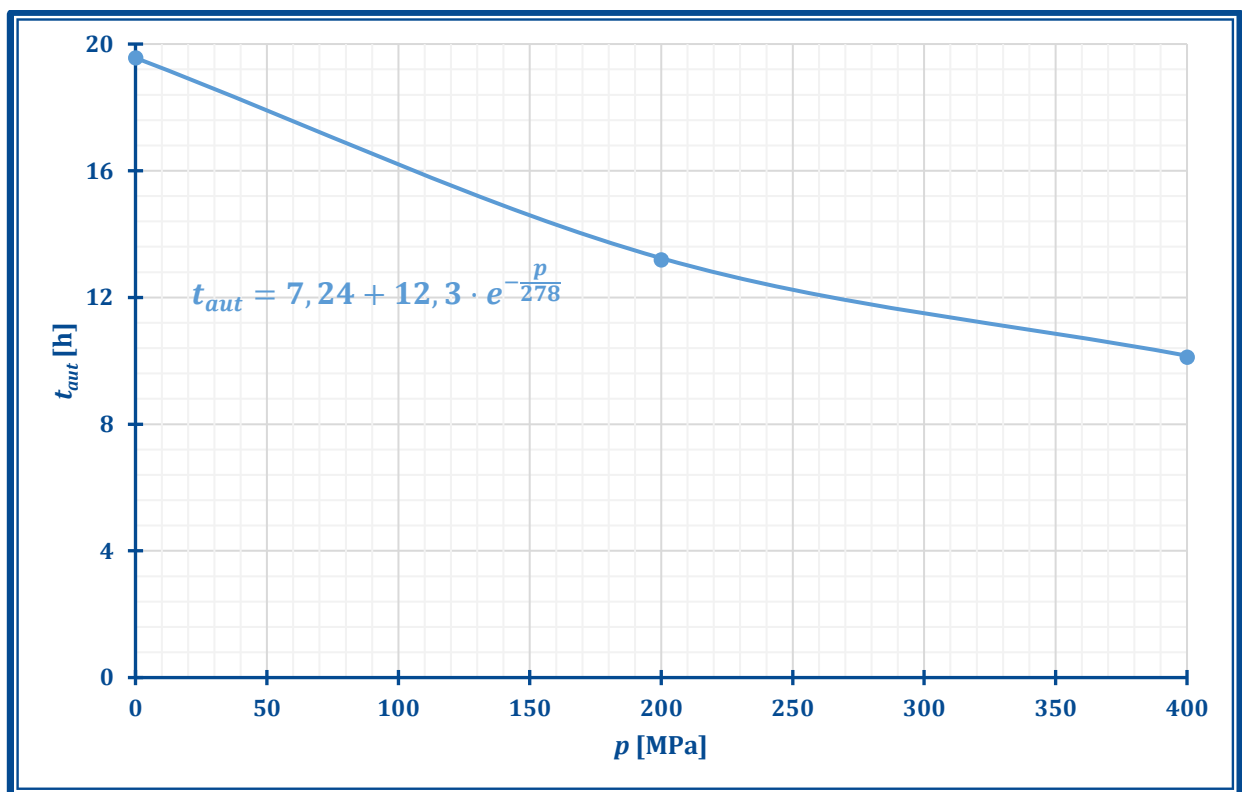
Οι παράμετροι των συναρτήσεων $y_{aut} = f(t_p)$ οι οποίες προέκυψαν ύστερα από την παραπάνω μαθηματική μοντελοποίηση ($y_{aut(0)}$, $y_{aut(\infty)}$, τ_y), καθώς και ο βαθμός προσαρμογής των καμπυλών που προέκυψαν από τη μαθηματική μοντελοποίηση στα πειραματικά δεδομένα (R^2) παρουσιάζονται στον πίνακα που ακολουθεί.

ΠΙΝΑΚΑΣ Π.5.14

Παράμετροι των συναρτήσεων $y_{aut} = f(t_p)$ ($y_{aut(0)}, y_{aut(\infty)}, \tau_y$) και βαθμός προσαρμογής (R^2) των καμπυλών που προέκυψαν από τη μαθηματική μοντελοποίηση στα πειραματικά σημεία, για τις διάφορες συνθήκες πίεσης.

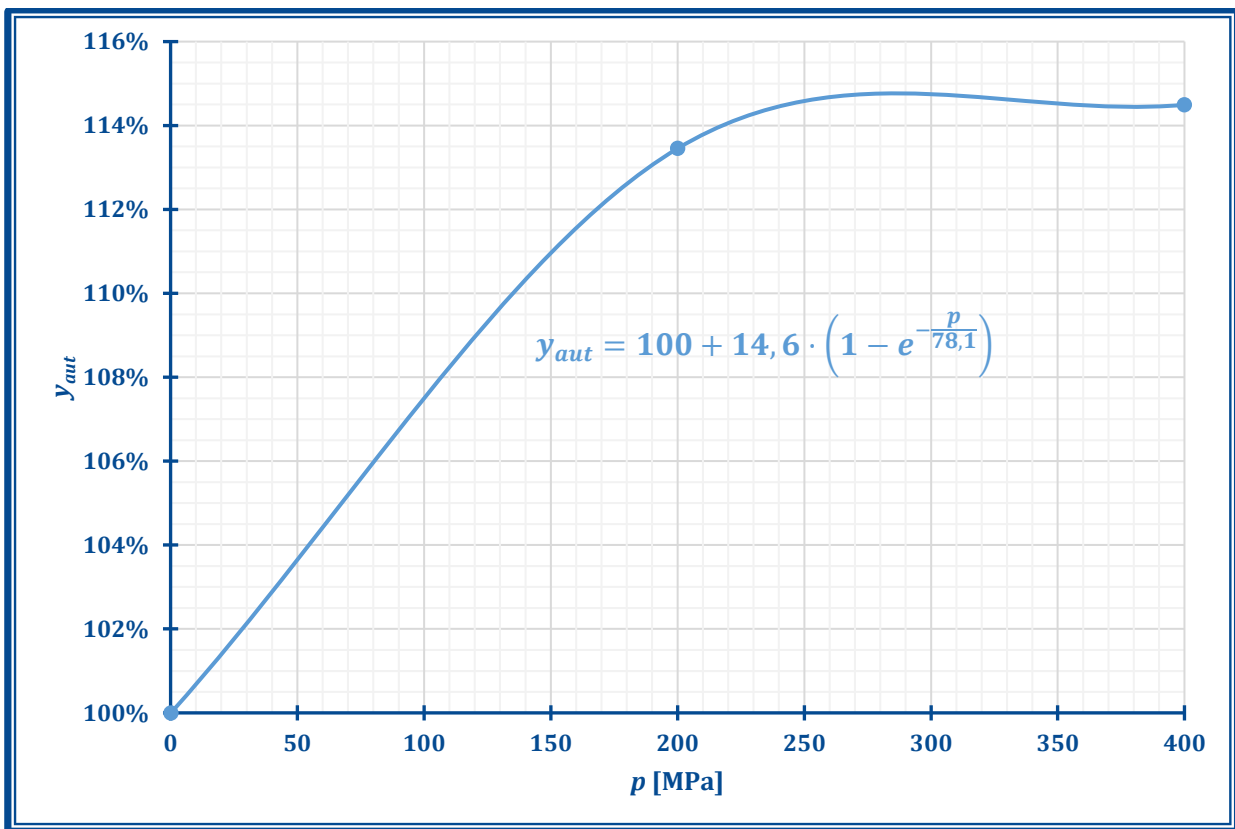
p [MPa]	$y_{aut(0)}$ [%]	$y_{aut(\infty)}$ [%]	τ_y [min]	R^2
200	$110 \pm 0,910$	$119 \pm 1,79$	$22,6 \pm 10,3$	0,962
400	$102 \pm 2,51$	$140 \pm 9,56$	$25,9 \pm 12,9$	0,975
600	$97,5 \pm 3,52$	$29,9 \pm 2,15$	$5,95 \pm 0,655$	0,997

Ένας φυσιολογικός χρόνος επεξεργασίας της μαγιάς με υπερυψηλή πίεση θα ήταν τα 10 min. Γι' αυτόν τον χρόνο επεξεργασίας υπολογίσθηκαν, βάσει των εξισώσεων 5.15 και 5.16, οι αντίστοιχες διάρκειες και αποδόσεις της αυτόλυσης, για τις περιπτώσεις επεξεργασίας στα 200 MPa και στα 400 MPa. Επίσης, ήταν γνωστή η διάρκεια και η απόδοση της αυτόλυσης για την περίπτωση της ανεπεξέργαστης μαγιάς ($p = 1 \text{ atm} \cong 0,1 \text{ MPa}$), η οποία, προφανώς, δεν παρουσιάζει εξάρτηση από κάποιον χρόνο επεξεργασίας, αφού δεν υφίσταται επεξεργασία. Αυτές οι τιμές τοποθετήθηκαν σε διάγραμμα συναρτήσεως της πίεσης επεξεργασίας και μοντελοποιήθηκαν μαθηματικά, με τη χρήση του πακέτου λογισμικού SigmaPlot 11.0 (*Systat Software, Inc., San Jose, California, United States of America*). Η μεταβολές της διάρκειας και της απόδοσης της αυτόλυσης για χρόνο επεξεργασίας $t_p = 10 \text{ min}$ συναρτήσεως της πίεσης παρουσιάζονται στα διαγράμματα που ακολουθούν.



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ Δ.5.30

Διάγραμμα της διάρκειας της αυτόλυσης (t_{aut}) συναρτήσεως της πίεσης (p), για χρόνο επεξεργασίας $t_p = 10 \text{ min}$.

**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ Δ.5.31**

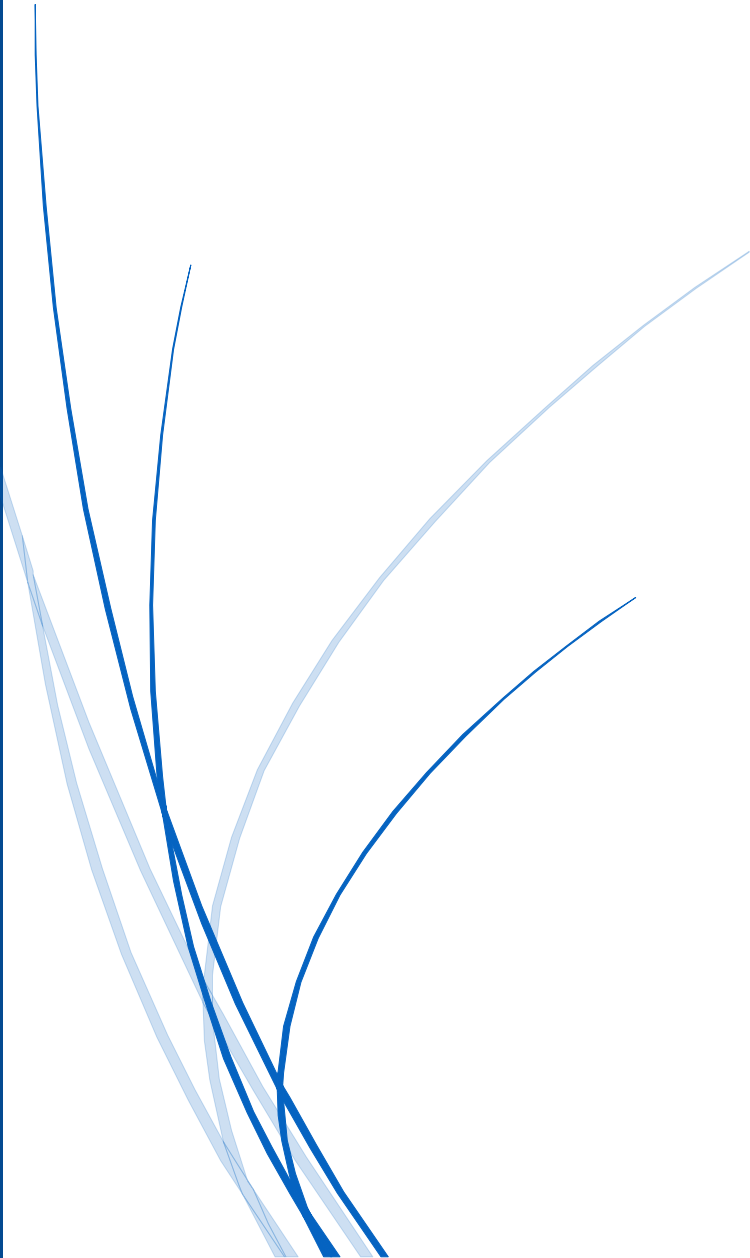
Διάγραμμα της απόδοσης της αυτόλυσης (y_{aut}) συναρτήσει της πίεσης (p), για χρόνο επεξεργασίας $t_p = 10$ min.

Από τα παραπάνω διαγράμματα παρατηρείται ότι για το εύρος πίεσης έως τα 400 MPa, οπότε υφίσταται ενεργοποίηση των πρωτεολυτικών ενζύμων, η διάρκεια της αυτόλυσης μειώνεται και η απόδοση της αυτόλυσης αυξάνεται, αυξανομένης της πίεσης επεξεργασίας, για δεδομένο χρόνο επεξεργασίας ($t_p = 10$ min).



ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ



6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

6.1. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΣΤΗΝ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΟΛΥΤΙΚΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ ΚΑΙ ΑΝΤΙΚΤΥΠΟΣ ΣΤΗ ΔΙΕΡΓΑΣΙΑ ΤΗΣ ΑΥΤΟΛΥΣΗΣ

Συμπερασματικά, όπως προκύπτει από τα αποτελέσματα του προηγούμενου κεφαλαίου, η τεχνολογία μη θερμικής επεξεργασίας με υπερυψηλή πίεση της μαγιάς αρτοποιίας επηρεάζει σημαντικά τη διεργασία της αυτόλυσης και τα χαρακτηριστικά του εκχυλίσματος μαγιάς που παράγεται από τη διεργασία αυτήν. Η πρώτη και κύρια επίδραση της υπερυψηλής πίεσης στη μαγιά εντοπίζεται στην ενεργότητα των πρωτεολυτικών ενζύμων, τα οποία διαδραματίζουν μείζονα ρόλο στη διεργασία της αυτόλυσης. Στο χαμηλό εύρος των υπερυψηλών πιέσεων, μέχρι τα 400 MPa, τα συνολικά πρωτεολυτικά ένζυμα της μαγιάς ενεργοποιούνται, με την ολική τους ενεργότητα να ανέρχεται σε έως και 2,7 φορές αυτή των ανεπεξέργαστων ενζύμων, ύστερα από 60 min πίεσης. Σε μέσο εύρος υπερυψηλών πιέσεων, από 400 MPa έως 550 MPa, παρατηρήθηκε μια αρχική ενεργοποίηση των πρωτεολυτικών ενζύμων, για μικρούς χρόνους πίεσης, έως περίπου τα 10 min επεξεργασίας. Όμως, για μεγαλύτερους χρόνους επεξεργασίας παρατηρήθηκε μια βαθμιαία μείωση της πρωτεολυτικής ενεργότητας. Τέλος, σε υψηλότερες πιέσεις, μέχρι τα 750 MPa, παρατηρήθηκε μείωση της ενεργότητας των πρωτεολυτικών ενζύμων, η οποία ήταν περισσότερο ραγδαία, όσο αυξανόταν το επίπεδο της πίεσης. Καθώς, λοιπόν, τα πρωτεολυτικά ένζυμα υπάρχουν στα ζωντανά κύτταρα, εντός των κενотоπιών, και απελευθερώνονται υπό τις συνθήκες της αυτόλυσης, επιφέροντας τη λύση των κυττάρων, η ενεργοποίηση ή απενεργοποίηση αυτών αναμενόταν να επηρεάσει αναλόγως τη διεργασία της αυτόλυσης. Η εκτίμηση αυτή επιβεβαιώθηκε εκ των αποτελεσμάτων.

Μετρώντας τα χαρακτηριστικά των εκχυλισμάτων μαγιάς τα οποία παρήχθησαν από την αυτόλυση αιωρημάτων μαγιάς, τα οποία είχαν επεξεργασθεί με υπερυψηλή πίεση στα 200 MPa, στα 400 MPa και στα 600 MPa, και συγκρίνοντάς τα με τα αντίστοιχα χαρακτηριστικά του εκχυλίσματος ανεπεξέργαστης μαγιάς, προέκυψαν τα παρακάτω αποτελέσματα:

- α) Η επεξεργασία της μαγιάς αρτοποιίας με υπερυψηλή πίεση στα 200 MPa είχε ευεργετικά αποτελέσματα στη συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών, αμινοξέων και υδατανθράκων του εκχυλίσματος μαγιάς, επιτυγχάνοντας υψηλότερη τελική συγκέντρωση, σε συντομότερο χρόνο αυτόλυσης. Από την άλλη, σχεδόν αμετάβλητα παρέμειναν τόσο το στερεό υπόλειμμα, όσο και η περιεκτικότητα σε ολικά διαλυτά στερεά του εκχυλίσματος μαγιάς επεξεργασμένης στα 200 MPa, σε σύγκριση με αυτό της ανεπεξέργαστης μαγιάς.
- β) Η επεξεργασία της μαγιάς στα 400 MPa επέφερε ακόμα καλύτερα αποτελέσματα, όσον αφορά στη συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών, αμινοξέων και υδατανθράκων του εκχυλίσματος μαγιάς. Οι τελικές συγκεντρώσεις που επετεύχθησαν ήταν ακόμα υψηλότερες από αυτές στα 200 MPa, ενώ αυτό συνέβη σε ακόμα συντομότερο χρόνο

αυτόλυσης. Επιπλέον, παρατηρήθηκε αύξηση του στερεού υπολείμματος του εκχυλίσματος μαγιάς, ενώ τα ολικά διαλυτά στερεά αυξήθηκαν, μεν, ελάχιστα, ωστόσο η τελική τους συγκέντρωση επετεύχθη σε πολύ συντομότερο χρονικό διάστημα, κατά τη διάρκεια της αυτόλυσης. Το διάστημα αυτό γινόταν όλο και μικρότερο, με την αύξηση του χρόνου επεξεργασίας με υπερυψηλή πίεση στα 400 MPa.

- γ) Η επεξεργασία της μαγιάς με υπερυψηλή πίεση στα 600 MPa είχε διαφορετική επίδραση σε κάθε χαρακτηριστικό του εκχυλίσματος μαγιάς. Όσον αφορά στη συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών, αυτή μετρήθηκε αυξημένη στα εκχυλίσματα μαγιάς επεξεργασμένης για έως 2,5 min και μειωμένη για μεγαλύτερους χρόνους επεξεργασίας, συγκριτικά με το εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς. Η συγκέντρωση αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων παρατηρήθηκε αυξημένη μόνο με τη στιγμιαία επεξεργασία της μαγιάς με υπερυψηλή πίεση, ενώ για μεγαλύτερους χρόνους επεξεργασίας, αυτή μειωνόταν. Αναφορικά με το στερεό υπόλειμμα, αυτό ήταν μεγαλύτερο στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης στιγμιαία, ίσο με αυτό της ανεπεξέργαστης μαγιάς στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης για 2,5 min και μικρότερο στα εκχυλίσματα μαγιάς επεξεργασμένης για μεγαλύτερο χρόνο, συγκριτικά με το εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς. Η συγκέντρωση των ολικών διαλυτών στερεών μετρήθηκε ολοένα και μικρότερη, όσο αυξανόταν ο χρόνος επεξεργασίας.

Βασικό κριτήριο για να αποφανθεί κανείς σχετικά με την επιτάχυνση ή επιβράδυνση της διεργασίας της αυτόλυσης αποτελεί η απόδοση της πρωτεόλυσης, της κύριας διεργασίας η οποία λαμβάνει χώρα κατά την αυτόλυση των κυττάρων της μαγιάς. Η μεταβολή της απόδοσης της πρωτεόλυσης ποσοτικοποιείται από τη μεταβολή της τελικής συγκέντρωσης των πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς, τόσο των ολικών όσο και των αμινοξέων και των ολιγοπεπτιδίων. Από τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας προέκυψε ότι, γενικά, η επεξεργασία της μαγιάς με υπερυψηλή πίεση στα 200 MPa και στα 400 MPa αύξησε την τελική συγκέντρωση των πρωτεϊνών στο εκχύλισμα επεξεργασμένης μαγιάς, συγκριτικά με αυτό της ανεπεξέργαστης μαγιάς. Άρα, η απόδοση της αυτόλυσης βελτιώθηκε. Επιπλέον, παρατηρήθηκε ότι η επεξεργασία της μαγιάς στις παραπάνω συνθήκες μείωσε τη διάρκεια της αυτόλυσης, όπως αυτή ορίσθηκε επί τη βάση του βραδύτερου σταδίου της διεργασίας της αυτόλυσης. Η διάρκεια της αυτόλυσης μειώθηκε από 19,6 h στην περίπτωση της ανεπεξέργαστης μαγιάς σε 9,94 h στην περίπτωση της μαγιάς επεξεργασμένης στα 200 MPa για 60 min και σε 5,90 h στην περίπτωση της μαγιάς επεξεργασμένης στα 400 MPa για 40 min. Το γεγονός αυτό αποδεικνύει ότι όχι μόνον αυξήθηκε η απόδοση της αυτόλυσης, αλλά αυξήθηκε και ο ρυθμός της, καθώς αυτή επιταχύνθηκε. Τα παραπάνω βρίσκονται σε ευθεία συνάρτηση με την αύξηση της ενεργότητας των πρωτεολυτικών ενζύμων, η οποία μετρήθηκε υπό αυτές τις συνθήκες επεξεργασίας με υπερυψηλή πίεση. Επίσης, η αυξημένη τελική συγκέντρωση πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης στα 600 MPa για μικρούς χρόνους επεξεργασίας, έως 2,5 min, και η μείωση αυτής η οποία παρατηρήθηκε για μεγαλύτερους χρόνους επεξεργασίας αντικατοπτρίζουν ακριβώς της εικόνα της αύξησης της ενεργότητας των πρωτεολυτικών ενζύμων για μικρούς χρόνους επεξεργασίας στα 600 MPa και την αντίστοιχη μείωση αυτής για μεγαλύτερους χρόνους, όπως παρατηρήθηκε.

6.2. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΣΤΟΝ ΔΕΙΚΤΗ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΔΙΑΡΡΗΞΗΣ ΚΑΙ ΑΝΤΙΚΤΥΠΟΣ ΣΤΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ

Η αύξηση της κυτταρικής διάρρηξης η οποία παρατηρήθηκε με την αύξηση της υπερυψηλής πίεσης, κατά την επεξεργασία του αιωρήματος μαγιάς, διεφάνη ότι επηρεάζει και αυτή τη διεργασία της αυτόλυσης, σε μικρότερο, όμως, βαθμό. Πράγματι, η επίδραση της κυτταρικής διάρρηξης η οποία λαμβάνει χώρα υπό την επίδραση της υπερυψηλής πίεσης, εξαρτώμενη τόσο από την ένταση όσο και τη διάρκεια αυτής, οδήγησε σε αύξηση της αρχικής συγκέντρωσης πρωτεϊνών στο υπερκείμενο «εκχύλισμα μαγιάς», πριν την έναρξη της αυτόλυσης. Το γεγονός αυτό επιβεβαιώνει τις βιβλιογραφικές ενδείξεις σχετικά με τη θραύση του κυτταρικού τοιχώματος της μαγιάς και τη συνακόλουθη εκχύλιση των ενδοκυτταρικών συστατικών στο εξωκυτταρικό περιβάλλον, υπό την επίδραση της υπερυψηλής πίεσης. Ωστόσο, όπως παρατηρήθηκε από τα αποτελέσματα της συγκέντρωσης πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης στα 600 MPa, η παρατηρούμενη αύξηση της διαπερατότητας των κυττάρων της μαγιάς δεν ήταν ικανή ν' αντισταθμίσει τη μείωση της απόδοσης της αυτόλυσης, λόγω της απενεργοποίησης των πρωτεολυτικών ενζύμων, οδηγώντας, τελικά, σε μικρότερες τελικές συγκεντρώσεις πρωτεϊνών.

Ωστόσο, σημαντική απεδείχθη η αύξηση της κυτταρικής διάρρηξης στην εκχύλιση υδατανθράκων στο εκχύλισμα μαγιάς. Η ολοένα και αυξανόμενη ένταση και διάρκεια των συνθηκών επεξεργασίας της μαγιάς με υπερυψηλή πίεση οδήγησε σε σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης των υδατανθράκων στο εκχύλισμα της μαγιάς. Το αποτέλεσμα αυτό συνάδει με τις βιβλιογραφικές πηγές, οι οποίες αναφέρουν τη διαπερατοποίηση της κυτταρικής μεμβράνης και του κυτταρικού τοιχώματος, υπό την επίδραση της υπερυψηλής πίεσης. Το αποτέλεσμα είναι ότι αυτή διαπερατοποίηση δρα επικουρικά της κυτταρικής λύσης, η οποία λαμβάνει χώρα κατά τη διάρκεια της αυτόλυσης, οδηγώντας σε υψηλότερες αποδόσεις στην εκχύλιση των ενδοκυτταρικών συστατικών, όπως οι υδατάνθρακες.

6.3. ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ

Ως συνέχεια της παρούσας έρευνας γύρω από τις δυνατότητες βελτίωσης της διεργασίας της αυτόλυσης, κρίνεται ενδιαφέρον να γίνει σύγκριση της μεθόδου επεξεργασίας της μαγιάς αρτοποιίας με υπερυψηλή πίεση και με άλλες μεθόδους μη θερμικής επεξεργασίας, όπως τα παλμικά ηλεκτρικά πεδία (*PEF*). Επίσης, θα μπορούσε να μελετηθεί η επίδραση της υπερυψηλής πίεσης στην αυτόλυση και στα χαρακτηριστικά του εκχυλίσματος μαγιάς ζυθοποιίας και σύγκριση με αυτά από μαγιά αρτοποιίας. Ακόμα, θα μπορούσε να πραγματοποιηθεί οργανοληπτικός έλεγχος του εκχυλίσματος μαγιάς επεξεργασμένης με υπερυψηλή πίεση και να συγκριθεί με αυτό από ανεπεξέργαστη μαγιά, αλλά και διερεύνηση της των αρωματικών συστατικών του εκχυλίσματος μαγιάς, επεξεργασμένης ή μη. Τέλος, θα μπορούσε να διερευνηθεί η αξιοποίηση του ιζήματος των κυττάρων της μαγιάς για την παραλαβή άλλων ουσιών, όπως β-γλυκάνες.



ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Ainsworth, G. C. (1976). *Introduction to the History of Mycology*. Cambridge, United Kingdom: Cambridge University Press.
- Alberts, B., Bray, D., Hopkin, K., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter, P. (2011). *Βασικές Αρχές Κυτταρικής Βιολογίας* (2η εκδ.). Εκδόσεις Π. Χ. Πασχαλίδης.
- Alexandrakis, Z., Katsaros, G., Stavros, P., Katapodis, P., Nounesis, G., & Taoykis, P. (2014). Comparative structural changes and inactivation kinetics of pectin methylesterases from different orange cultivars processed by high pressure. *Food Bioprocess Technology*, 7, 853-867.
- Alpas, H., Kalchayanand, N., Bozoglu, F., & Ray, B. (2000). Interactions of high hydrostatic pressure, pressurization temperature and pH on death and injury of pressure-resistant and pressure-sensitive strains of foodborne pathogens. *International Journal of Food Microbiology*, 60(1), 33-42.
- Andreou, V., Dimopoulos, G., Alexandrakis, Z., Katsaros, G., Oikonomou, D., Toepfl, S., Heinz, V., Taoukis, P. (2017). Shelf-life evaluation of virgin olive oil extracted from olives subjected to nonthermal pretreatments for yield increase. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 40, 52-57.
- Arthur, H., & Watson, K. (1976). Thermal adaptation in yeast: growth temperatures, membrane lipid, and cytochrome composition of psychrophilic, mesophilic, and thermophilic yeasts. *Journal of Bacteriology*, 128(1), 56-68.
- Barnett, J. A. (1975). The entry of D-ribose into some yeasts of the genus *Pichia*. *Journal of General Microbiology*, 90(1), 1-12.
- Barnett, J. A. (2003). Beginnings of microbiology and biochemistry: the contribution of yeast research. *Microbiology*, 149(3), 557-567.
- Barnett, J. A. (2004). A history of research on yeasts 8: taxonomy. *Yeast*, 21(14), 1141-1193.
- Barrette, J., Champagne, C. P., & Goulet, J. (1999). Development of Bacterial Contamination during Production of Yeast Extracts. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(7), 3261-3263.
- Běhalová, B., & Beran, K. (1979). Activation of Proteolytic Enzymes during Autolysis of Disintegrated Baker's Yeast. *Folia Microbiologica*, 24, 455-461.
- Bickerstaff, G. F., & Zhoy, H. (1993). Protease Activity and Autodigestion (Autolysis) Assays Using Coomassie Blue Dye Binding. *Analytical Biochemistry*, 210, 155-158.
- Breddam, K., & Beenfeldt, T. (1991). Acceleration of yeast autolysis by chemical methods for production of intracellular enzymes. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 35, 323-329.
- Broadbent, A. D. (2017). Colorimetry, Methods. In J. C. Lindon, G. E. Tranter, & D. W. Koppenaal, *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry* (pp. 321-327). Elsevier.
- Calci, K. R., Meade, G. K., Tezloff, R., & Kingsley, D. H. (2005). High-Pressure Inactivation of Hepatitis A Virus within Oysters. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(1), 339-343.
- Campbell, H. D. (1983). The Lowry Protein Assay: Linearization of Standard Curve by Double Reciprocal Plot. *Analytical Letters*, 16(B19), 1495-1507.

- Chae, H. J., Joo, H., & In, M.-J. (2001). Utilization of brewer's yeast cells for the production of food-grade yeast extract. Part 1: Effects of different enzymatic treatments on solid and protein recovery and flavor characteristics. *Bioresource Technology*, *76*, 253-258.
- Charney, J., & Tomarelli, R. M. (1947). A colorimetric method for the determination of the proteolytic activity of duodenal juice. *Journal of Biological Chemistry*, *171*, 501-505.
- Cohn, W. E., & Volkin, E. (1953). On the structure of ribonucleic acids. *Journal of Biological Chemistry*, *203*, 319-332.
- Eisenmenger, M. J., & Reyes-De-Corcuera, J. I. (2009). High pressure enhancement of enzymes: A review. *Enzyme and Microbial Technology*, *45*, 331-347.
- Fantes, P., & Beggs, J. (2000). *The Yeast Nucleus*. Oxford University Press.
- Feldmann, H. (2011). Cell Structures and Functions. In H. Feldmann, *Yeast - Molecular and Cell Biology* (pp. 19-21). Wiley-Blackwell.
- Fellows, P. J. (2000). *Food processing technology: Principles and practice* (2nd ed.). Woodhead Publishing Limited and CRC Press.
- García-Carreño, F. L., Dimes, L. E., & Haard, N. F. (1993). Substrate-Gel Electrophoresis for Composition and Molecular Weight of Proteinases of Proteinaceous Proteinase Inhibitors. *Analytical Biochemistry*, *214*, 65-69.
- Giannoglou, M., Karra, Z., Platakou, E., Katsaros, G., Moatsou, G., & Taoukis, P. (2016). Effect of high pressure treatment applied on starter culture or on semi-ripened cheese in the quality and ripening of cheese in brine. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, *28*, 312-320.
- Hill, J. (2010). *Beer in Ancient Egypt*. Retrieved January 29, 2018, from Ancient Egypt Online: <http://www.ancientegyptonline.co.uk/beer.html>
- Hoffman, C. S., Wood, V., & Fantes, P. A. (2015, October). An Ancient Yeast for Young Geneticists: A Primer on the *Schizosaccharomyces pombe* Model System. *Genetics*, *201*(2), 403-423.
- Howard, J. (2011). *Bread in Ancient Egypt*. Retrieved January 29, 2018, from Tour Egypt: <http://www.touregypt.net/featurestories/bread.htm>
- Huxley, T. H. (1894). *Discourses: Biological and Geological* (Vol. VIII). London: Macmillan and Co.
- Iversen, S. L., & Jørgensen, M. H. (1995, August). Azocasein assay for alkaline protease in complex fermentation broth. *Biotechnology Techniques*, *9*(8), 573-576.
- Izzo, H. V., & Ho, C.-T. (1992). Ammonia Affects Maillard Chemistry of an Extruded Autolyzed Yeast Extract: Pyrazine Aroma Generation and Brown Color Formation. *Journal of Food Science*, *57*(3), 657-674.
- Jun, X. (2009). Caffeine extraction from green tea leaves assisted by high pressure processing. *Journal of Food Engineering*, *94*, 105-109.
- Katsaros, G. I., & Taoukis, P. S. (2015). New/Innovative Technologies. In T. Varzakas, & C. Tzia, *Food Engineering Handbook* (Vol. II (Food Process Engineering), pp. 595-602). CRC Press, Taylor & Francis Group.
- Katsaros, G. I., Giannoglou, M. N., & Taoukis, P. S. (2009). Kinetic study of the combined effect of high hydrostatic pressure and temperature on the activity of *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus* aminopeptidases. *Journal of Food Science*, *74*(5), 219-225.

- Katsaros, G. I., Katapodis, P., & Taoukis, P. S. (2009). High hydrostatic pressure inactivation kinetics of the plant proteases ficin and papain. *Journal of Food Engineering*(91), 42-48.
- Kingsley, D. H., Holliman, D. R., Calci, K. R., Chen, H., & Flick, G. J. (2007). Inactivation of a Norovirus by High-Pressure Processing. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(2), 581-585.
- Klieger, P. C. (2004). *The Fleischmann Yeast Family*. Arcadia Publishing.
- Knorr, D., Heinz, V., Angerbach, A., & Lee, D.-U. (2002). Membrane Permeabilization and Inactivation Mechanisms of Biological Systems by Emerging Technologies. In J. Welti-Chanes, G. V. Barbosa-Cánovas, & J. M. Aguilera, *Engineering and Food for the 21st Century* (pp. 699-713). CRC Press.
- Knorr, D., Shetty, K. J., Hood, L. F., & Kinsella, J. E. (1979). An enzymatic method for yeast autolysis. *Journal of Food Science*, 44, 1362-1365.
- Kurtzman, C. P. (1994, December). Molecular taxonomy of the yeasts. *Yeast*, 10(13), 1727-1740.
- Kurtzman, C. P., & Fell, J. W. (2006). Yeast Systematics and Phylogeny - Implications of Molecular Identification Methods for Studies in Ecology. In G. Péter, & C. Rosa, *The Yeast Handbook: Biodiversity and Ecophysiology of Yeasts* (pp. 11-30). Springer.
- Kurtzman, C. P., & Piškur, J. (2006). Taxonomy and phylogenetic diversity among the yeasts. In P. Sunnerhager, & J. Piškur, *Comparative GENomics (using fungi as models)* (pp. 29-46). Springer.
- Legras, J. L., Merdinoglu, D., Cornuet, J. M., & Karst, F. (2007). Bread, beer, wine: *Saccharomyces cerevisiae* diversity reflects human history. *Molecular Ecology*, 16(10), 2091-2102.
- Lekkas, C., Stewart, G. G., Hill, A., Taidi, B., & Hodgson, J. (2005). The Importance of Free Amino Nitrogen in Wort and Beer. *Master Brewers Association of the Americas Technical Quarterly*, 42(2), 113-116.
- Lin, Z., & Li, W.-H. (2014). Comparative Genomics and Evolutionary Genetics of Yeast Carbon Metabolism. In J. Piskur, & C. Compagno, *Molecular Mechanisms in Yeast Carbon Metabolism* (pp. 97-120). Springer.
- Lowry, O. H., Rosenbrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951, November). Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193(1), 265-275.
- Lysing Enzymes*. (2018). Retrieved January 29, 2018, from Sigma-Aldrich: <https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigma-aldrich/life-science/metabolomics/enzyme-explorer/yeast-cell-wall.jpg>
- Maillard, L. C. (1912). Action des acides amines sur les sucres; formation de melanoidines par voie méthodique. *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, 154, 66.
- Marx, G., Moody, A., & Bermúdez-Aguirre, D. (2011). A comparative study on the structure of *Saccharomyces cerevisiae* under non thermal technologies: High hydrostatic pressure, pulsed electric fields and thermo-sonication. *International Journal of Food Microbiology*, 151, 327-337.
- Masuko, T., Minami, A., Iwasaki, N., Majima, T., Nishimura, S.-I., & Lee, Y. C. (2005). Carbohydrate analysis by a phenol-sulfuric acid method in microplate format. *Analytical Biochemistry*, 339, 69-72.

- Meija, J., Coplen, T. B., Berglund, M., Brand, W. A., Bièvre, P. D., Gröning, M., Holden, N. E., Irrgeher, J., Loss, R. D., Walczyk, T., Prohaska, T. (2016). Atomic weights of the elements 2013 (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, 88(3), 265-291.
- Metrick, C., Hoover, D. G., & Farkas, D. (1989). Effects of high hydrostatic pressure on heat-sensitive strains of salmonella. *Journal of Food Science*, 54, 1547-1564.
- Meusdoerffer, F., Tortora, P., & Holzer, H. (1980, December 25). Purification and Properties of Proteinase A from Yeast. *Journal of Biological Chemistry*, 255(24), 12087-12093.
- Milić, T. V., Rakin, M., & Šiler-Marinković, S. (2007). Utilization of baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) for the production of yeast extract: effects of different enzymatic treatments on solid, protein and carbohydrate recovery. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 72(5), 451-457.
- Ohlsson, T. (2002). Minimal processing of food with non-thermal methods. In T. Ohlsson, & N. Bengtsson, *Minimal processing technologies in the food industry* (pp. 41-47). Cambridge, England: Woodhead Publishing Limited.
- Ostergaard, S., Olsson, L., & Nielsen, J. (2000, March). Metabolic Engineering of *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 64(1), 34-50.
- Patterson, M. F., Quinn, M., Simpson, R., & Gilmour, A. (1995). Sensitivity of vegetative pathogens to high hydrostatic pressure treatment in phosphate-buffer saline and foods. *Journal of Food Protection*, 58, 524-529.
- Phillips, T., & Noever, D. (2006, November 3). *Planets in a Bottle: more about yeasts*. Retrieved January 23, 2018, from Nasa Science Website: http://science.nasa.gov/science-news/science-at-nasa/msad16mar99_1b/
- PubChem - Open Chemistry Database*. (2018). Retrieved February 5, 2018, from National Center for Biotechnology Information: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/glycine>
- Reed, G., & Nagodawithana, T. W. (1991). *Yeast Technology* (2nd ed.). New York, New York, United States of America: Van Nostrand Reinhold.
- Rendueles, E., Omer, M. K., Alvseike, O., Alonso-Calleja, C., Capita, R., & Perito, M. (2010). Microbiological food safety assessment of high hydrostatic pressure processing: A review. *LWT - Food Science and Technology*, 44, 1-10.
- Rosa, C. A., & Péter, G. (2006). *The Yeast Handbook: Biodiversity and Ecophysiology of Yeasts*. Berlin, Germany: Springer.
- Saccharomyces cerevisiae*. (2018, January 21). Retrieved January 29, 2018, from Wikipedia: https://en.wikipedia.org/wiki/Saccharomyces_cerevisiae#/media/File:Saccharomyces_cerevisiae_SEM.jpg
- San Martin, M. F., Barbosa-Cánovas, G. V., & Swanson, B. (2002). Food Processing by High Hydrostatic Pressure. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 42(6), 627-645.
- Sarath, G., Zeece, M. G., & Penheiter, A. R. (2001). Protease assay methods. In R. Beynon, & J. S. Bond, *Proteolytic Enzymes* (2nd ed., pp. 45-76). New York, New York, United States of America: Oxford University Press.
- Shigehisa, T., Ohmori, T., Saito, A., Taji, S., & Hayashi, R. (1991). Effects of high hydrostatic pressure on characteristics of pork slurries and inactivation of microorganisms

- associated with meat and meat products. *International Journal of Food Microbiology*, 12(2-3), 207-215.
- Shimanda, S., Andon, M., Naito, N., Yamada, N., Osumi, M., & Hayashi, R. (1993). Effects of hydrostatic pressure on the ultrastructure and leakage of internal substances in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 40, 123-131.
- Shuler, M. L., & Kargi, F. (2005). *Μηχανική Βιοδιεργασιών (Βασικής Έννοιες)*. Αθήνα: Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Εθνικού Μετσοβίου Πολυτεχνείου.
- Snodgrass, M. E. (2004). *Encyclopedia of Kitchen History*. New York, New York: Fitzroy Dearborn.
- Spedding, G., Harrison, N. R., Ganske, F., & Dell, E. J. (2016). A new way to test the free amino nitrogen content in alcoholic beverages with the SPECTROStar® Nano. In B. Labtech, *Application Notes Binder* (4th ed., pp. 27-28).
- SPX APV Lab Series Homogenisers. (2012, June). Retrieved January 15, 2018, from http://www.spxflow.com/en/assets/pdf/APV_Lab_Series_3003_06_06_2012_GB.pdf
- Thermo Scientific™ Heraeus™ Megafuge™ 16 Centrifuge Series. (n.d.). Retrieved January 15, 2018, from Thermo Fisher Scientific: <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/LED/product-images/F63193~p.eps-650.jpg>
- Verduyn, C., Suksomcheep, A., & Supphantharika, M. (1999). Effect of high pressure homogenization and papain on the preparation of autolysed yeast extract. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 15, 57-63.
- Vuković, R., & Mrša, V. (1995). Structure of the *Saccharomyces cerevisiae* Cell Wall. *Croatica Chemica Acta*, 68(3), 597-605.
- Walker, G. M. (1998). Yeast Cytology. In G. M. Walker, *Yeast Physiology and Biotechnology* (pp. 11-50). John Wiley and Sons.
- Walker, K., Skelton, H., & Smith, K. (2002). Cutaneous lesions showing giant yeast forms of *Blastomyces dermatitidis*. *Journal of Cutaneous Pathology*, 29(10), 616-618.
- Waterborg, J. H. (2002). The Lowry Method for Protein Quantification. In J. M. Walker, *The Protein Protocols Handbook* (2nd ed., pp. 7-9). Totowa, New Jersey, United States of America: Humana Press.
- Williams, A. (2002, February). *Graybalance: A key element in color reproduction*. Retrieved January 28, 2018, from The International Journal: http://www.newsandtecharchives.com/issues/2002/02-02/ifra/02-02_greybalance.htm
- www.biocourseware.com. (2012). Retrieved January 28, 2018, from http://www.biocourseware.com/iphone/cell/index_pad.htm
- www.globalspec.com. (2018). Retrieved January 25, 2018, from https://www.globalspec.com/learnmore/manufacturing_fabrication_services/material_fabrication_services/high_pressure_processing_services
- www.openpr.com. (2018). Retrieved January 15, 2018, from https://www.openpr.com/images/articles/Q/5/Q50375158_g.jpg
- Yemm, E. W., & Cocking, E. C. (1955, March). The Determination of Amino-acids with Ninhydrin. *Analyst*, 80, 209-214.

Yong, E. (2012, January 16). Yeast suggests speedy start for multicellular life. *Nature, Nature News*.

Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων Ε.Μ.Π. (2016). *Σχεδιασμός Βιομηχανιών Τροφίμων - Επεξεργασία και Συντήρηση Τροφίμων (εργαστηριακές ασκήσεις 9ου εξαμήνου)*. Αθήνα: Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο.