



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ

Τομέας Σύνθεσης και Ανάπτυξης Βιομηχανικών Διαδικασιών

Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων

ΜΕΛΕΤΗ ΜΗ ΘΕΡΜΙΚΩΝ ΔΙΕΡΓΑΣΙΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΤΗΣ ΠΑΡΑΛΑΒΗΣ ΚΑΙ ΤΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ



ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΜΙΛΤΙΑΔΗΣ ΤΣΑΝΤΕΣ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΤΑΟΥΚΗΣ ΠΕΤΡΟΣ

Αθήνα, Ιούνιος 2019

Πρόλογος

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου. Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή κύριο Πέτρο Ταούκη για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε με την ανάθεση του συγκεκριμένου θέματος καθώς και για την πολύτιμη βοήθεια του και την καθοδήγησή του καθ' όλη την διάρκεια της συνεργασίας μας.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλο το επιστημονικό προσωπικό του Εργαστηρίου Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων, για την άψογη συνεργασία μας, το φιλικό περιβάλλον και την στήριξή τους κατά την εκπόνηση της διπλωματικής μου εργασίας.

Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω τους υποψήφιους διδάκτορες Γεώργιο Δημόπουλο, Αθανάσιο Λημναίο και Βαρβάρα Ανδρέου για τις χρήσιμες υποδείξεις τους, και το αληθινό ενδιαφέρον που έδειξαν κατά την διάρκεια της εκπόνησης της διπλωματικής μου εργασίας.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους γονείς μου Δήμο και Ντίνα αλλά και τον αδερφό μου Σταύρο για την υποστήριξη τους σε όλη τη διάρκεια των σπουδών μου.

Μιλτιάδης Τσαντές

ΜΕΛΕΤΗ ΜΗ ΘΕΡΜΙΚΩΝ ΔΙΕΡΓΑΣΙΩΝ ΓΙΑ ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΤΗΣ ΠΑΡΑΛΑΒΗΣ ΚΑΙ ΤΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ

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 βιομηχανία τροφίμων έχει στρέψει το ενδιαφέρον της στη αναζήτηση νέων μεθόδων που θα επιταχύνουν την διαδικασία αυτή.

Μέθοδοι μηχανικής καταπόνησης όπως η Ομογενοποίηση Υψηλής Πίεσης (ΟΥΠ) έχουν χρησιμοποιηθεί για την παραλαβή ενζύμων από κύτταρα. Το γεγονός αυτό υποδεικνύει ότι η επεξεργασία αυτή θα άφηνε άθικτα τα ένζυμα. Παράλληλα λόγω της διατάραξης της δομής του κυττάρου θα επέτρεπε στα πρωτεολυτικά ένζυμα να έρθουν σε επαφή με τα υποστρώματα ευνοώντας την διαλυτοποίηση κυτταρικού περιεχομένου.

Μια άλλη μέθοδος που έχει χρησιμοποιηθεί για την παραλαβή ενδοκυτταρικών συστατικών και προσφέρεται για την ενίσχυση της αυτόλυσης είναι η τεχνολογία των Παλμικών Ηλεκτρικών Πεδίων (ΠΗΠ). Η τεχνολογία αυτή ενισχύει τη μεταφοράς μάζας μεταξύ εσωτερικού του κυττάρου και περιβάλλοντος λόγω της αύξησης της διαπερατότητας των κυττάρων που προκαλεί.

Στην παρούσα διπλωματική εργασία μελετήθηκε η επίδραση των δύο αυτών τεχνολογιών στην αυτόλυση και στα χαρακτηριστικά του εκχυλίσματος μαγιάς. Επίσης διερευνήθηκαν οι

βέλτιστες συνθήκες θερμοκρασίας και pH υπό τις οποίες μπορεί να πραγματοποιηθεί η αυτόλυση.

Για τη διερεύνηση των βέλτιστων συνθηκών περιβάλλοντος για την διενέργεια της αυτόλυσης εφαρμόστηκαν θερμοκρασίες 42oC, 52 oC και 62oC ενώ τα pH ήταν 4, 5,5, 7 και 8. Για την αξιολόγηση των συνθηκών μετρήθηκε η συγκέντρωση πρωτεϊνών και αμινοξέων. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως οι βέλτιστες συνθήκες περιβάλλοντος για την πραγματοποίηση της αυτόλυσης είναι η θερμοκρασία των 52°C και το pH 5,5.

Όσον αφορά στην Ομογενοποίηση Υψηλής Πίεσης (ΟΥΠ) αρχικά εφαρμόστηκαν πιέσεις από 200 bar έως 800 bar ενώ το δείγμα πέρασε από τον ομογενοποιητή 1 έως 6 φορές. Στη συνέχεια προσδιορίστηκε ο συντελεστής κυτταρικής διάρρηξης για τα επεξεργασμένα αιωρήματα. Ύστερα από αυτόλυση στους 52°C, τα αυτολύματα φυγοκεντρήθηκαν και τα εκχυλίσματα που προέκυψαν εξετάστηκαν ως προς την συγκέντρωση πρωτεϊνών, αμινοξέων και υδατανθράκων. Επίσης προσδιορίστηκε σε αυτά το στερεό υπόλειμμα, η συγκέντρωση διαλυτών στερεών ενώ στη συνέχεια εξετάστηκαν η θολότητα και το χρώμα. Η αυτόλυση περιγράφηκε μαθηματικά με κλασματικό εκθετικό μοντέλο πρώτης τάξης με τρεις παραμέτρους, μέσω του οποίου ποσοτικοποιήθηκε η επίδραση της ΟΥΠ στη διεργασία. Τα αποτελέσματα έδειξαν επιτάχυνση της αυτόλυσης σε σχέση με την απελευθέρωση αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων κατά 78% και για τις συνολικές πρωτεΐνες 66%. Ενώ η απόδοση της αυτόλυσης επί τη βάσει της συγκέντρωσης ολικών διαλυτών στερεών τους εκχυλίσματος μαγιάς αυξήθηκε κατά 94%.

Οι ίδιες αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν για την αξιολόγηση της επίδρασης των Παλμικών Ηλεκτρικών Πεδίων στην αυτόλυση. Σε αυτήν την περίπτωση εφαρμόστηκαν 3 διαφορετικές συνθήκες επεξεργασίας σε αιώρημα μαγιάς 10% w w . Η ένταση που εφαρμόστηκε ήταν από 7,5 kV/cm έως 18 kV/cm και ο αριθμός παλμών από 1 έως 20. Τα αποτελέσματα έδειξαν επιτάχυνση της αυτόλυσης σε σχέση με την απελευθέρωση αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων κατά 25% και για τις συνολικές πρωτεΐνες 38%. Ενώ η απόδοση της αυτόλυσης επί τη βάσει της συγκέντρωσης ολικών διαλυτών στερεών τους εκχυλίσματος μαγιάς αυξήθηκε κατά 16%.

STUDY OF NON-THERMAL PROCESSES ON THE IMPROVEMENT OF YEAST EXTRACT PRODUCTION AND ATTRIBUTES

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 savory, 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. Food industry has turned its interest in seeking new methods that will speed up this process.

Mechanical disruption methods such as High Pressure Homogenization (HPH) have been used to deliver enzymes from cells. This indicates that this technology would leave the enzymes intact. At the same time due to disruption of the cell structure it would allow proteolytic enzymes to come into contact with the substrates by favoring the dissolution of cellular content.

Another method that has been used to deliver intracellular components and is offered to enhance autolysis is Pulsed Electric Fields (PEF) technology. This technology favors mass transfer between the cell's interior and the environment due to increased cell permeability.

In this diploma thesis, the effect of these two processes on the autolysis and the characteristics of yeast extract was studied. The optimal temperature and pH conditions at which autolysis can be performed were also investigated.

To investigate the optimal conditions for autolysis, temperatures of 42 °C, 52 °C and 62 °C and pH 4, 5, 5, 7 and 8 were applied. For the evaluation of these conditions the concentration of proteins and amino acids was measured. Results indicated 52°C and pH 5,5 as the optimum conditions for autolysis.

In order to evaluate the effect of HPH processing, different pressures ranging from 200 bar to 800 bar and number of passes from the homogenizer were applied on yeast suspension 10% w/w. Cell disintegration index for the treated suspensions was then determined. Autolysis was carried out at 52°C, the autolysates were centrifuged and extract received were tested on protein, amino acids and carbohydrates concentration. Also, solid residue and concentration of soluble solids, turbidity and color were measured. Autolysis was described mathematically with a first-order fractional exponential model with three parameters, which quantified the effect of HPH on the process. Results demonstrated acceleration of autolysis in terms of amino acids and oligopeptides release by 78% and for total proteins by 66%. The autolysis yield based on the concentration of total soluble solids of the extract of the substance increased by 94%.

In the case of PEF three different treatment conditions were applied to 10% w/w yeast suspension. The electric field strength applied ranged from 7.7 kV / cm to 18.38 kV / cm and the number of pulses from 1 to 20. Results demonstrated acceleration of autolysis in terms of amino acids and oligopeptides release by 25% and for total proteins by 38%. The autolysis yield based on the concentration of total soluble solids of the extract of the substance increased by 16%.

Περιεχόμενα

1 ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΜΑΓΙΑΣ	1
1.1 ΧΡΗΣΗ ΖΥΜΩΝ ΣΤΗ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ.....	1
1.2 ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΔΟΜΗ ΤΗΣ ΜΑΓΙΑΣ.....	1
1.2.1 ΤΟ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΠΕΡΙΒΛΗΜΑ.....	2
1.2.2 ΤΟ ΚΥΤΤΑΡΟΠΛΑΣΜΑ ΚΑΙ Ο ΚΥΤΤΑΡΟΣΚΕΛΕΤΟΣ.....	4
1.2.3. Ο ΠΥΡΗΝΑΣ.....	5
1.2.4 ΤΟ ΕΚΚΡΙΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΚΑΙ ΤΑ ΚΕΝΟΤΟΠΙΑ	6
1.2.5. ΤΑ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑ.....	8
1.3 ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΜΑΓΙΑΣ	9
1.3.1 ΤΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΜΑΓΙΑΣ ΩΣ ΕΝΙΣΧΥΤΙΚΟ ΓΕΥΣΗΣ	9
1.3.2 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΤΥΠΟΥ ΤΗΣ ΜΑΓΙΑΣ ΣΤΟ ΤΕΛΙΚΟ ΠΡΟΙΟΝ.....	10
1.3.3 ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ ΜΕ ΑΥΤΟΛΥΣΗ.....	11
1.3.4 ΑΛΛΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ.....	15
1.4 ΜΕΘΟΔΟΙ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΗΣ ΜΑΓΙΑΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΤΗΣ ΔΙΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΗΣ ΑΥΤΟΛΥΣΗΣ ΚΑΙ ΤΗΝ ΠΑΡΑΛΑΒΗ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ	16
2. ΜΗ ΘΕΡΜΙΚΕΣ ΔΙΕΡΓΑΣΙΕΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ.....	19
2.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΙΣ ΜΗ ΘΕΡΜΙΚΕΣ ΔΙΕΡΓΑΣΙΕΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ	19
2.2.1 ΑΡΧΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ.....	21
2.2.2 ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ ΜΟΝΑΔΑΣ ΠΑΛΜΙΚΩΝ ΗΛΕΚΤΡΙΚΩΝ ΠΕΔΙΩΝ	21
2.2.3 ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ.....	23
2.2.4 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΠΑΛΜΙΚΩΝ ΗΛΕΚΤΡΙΚΩΝ ΠΕΔΙΩΝ ΣΤΗΝ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΜΕΜΒΡΑΝΗ.....	27
2.2.5 ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΤΗΣ ΕΚΧΥΛΙΣΗΣ ΕΝΔΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΥΛΙΚΟΥ.....	28
2.3 ΟΜΟΓΕΝΟΠΟΙΗΣΗ ΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ	30
2.3.1 ΑΡΧΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ.....	30
2.3.2 ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ.....	30
2.3.3 ΜΕΤΑΒΟΛΗ ΤΗΣ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ.....	33
2.3.4 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΟΜΟΓΕΝΟΠΟΙΗΣΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΣΕ ΕΝΖΥΜΑ	34
2.3.5 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΟΜΟΓΕΝΟΠΟΙΗΣΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΣΕ ΚΥΤΤΑΡΑ ΜΑΓΙΑΣ.....	34
ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	36
3.1 ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ.....	36

3.2 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ	36
3.2.1 ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΒΕΛΤΙΣΤΩΝ ΣΥΝΘΗΚΩΝ pH ΚΑΙ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΣ ΓΙΑ ΤΗ ΔΙΕΝΕΡΓΕΙΑ ΤΗΣ ΑΥΤΟΛΥΣΗΣ	36
3.2.2 ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΑΙΩΡΗΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ 10 % ww ΣΕ ΜΟΝΑΔΑ ΠΑΛΜΙΚΩΝ ΗΛΕΚΤΡΙΚΩΝ ΠΕΔΙΩ.....	37
3.2.3 ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΑΙΩΡΗΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ 10 %ww ΣΕ ΜΟΝΑΔΑ ΟΜΟΓΕΝΟΠΟΙΗΣΗΣ ΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ	39
3.3 ΜΕΤΡΗΣΗ ΑΓΩΓΙΜΟΤΗΤΑΣ – ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΔΕΙΚΤΗ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΔΙΑΡΡΗΞΗΣ (Z).....	40
3.4 ΑΥΤΟΛΥΣΗ ΤΗΣ ΜΑΓΙΑΣ	41
3.5 ΠΑΡΑΛΑΒΗ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ.....	41
3.6 ΜΕΤΡΗΣΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΣΥΝΘΗΚΩΝ ΑΥΤΟΛΥΣΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΠΡΟΚΑΤΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΗΣ ΜΑΓΙΑΣ ΣΤΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ	42
3.6.1 ΜΕΤΡΗΣΗ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ	42
3.6.2 ΜΕΤΡΗΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ΥΔΑΤΑΝΘΡΑΚΩΝ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΦΑΙΝΟΛΗΣ & ΘΕΪΚΟΥ ΟΞΕΟΣ.....	46
3.6.3 ΜΕΤΡΗΣΗ ΣΤΕΡΕΟΥ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΟΣ.....	47
3.6.4 ΜΕΤΡΗΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ΔΙΑΛΥΤΩΝ ΣΤΕΡΕΩΝ (°Bx).....	48
3.6.5 ΜΕΤΡΗΣΗ ΧΡΩΜΑΤΟΣ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ	49
3.6.6 ΜΕΤΡΗΣΗ ΘΟΛΟΤΗΤΑΣ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ.....	50
3.6.7 ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΗ ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΑΥΤΟΛΥΣΗΣ.....	50
4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ.....	53
4.1 ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΒΕΛΤΙΣΤΩΝ ΣΥΝΘΗΚΩΝ pH ΚΑΙ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΗΣ ΑΥΤΟΛΥΣΗΣ	53
4.1.1 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗΝ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ.....	53
4.2 ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΟΜΟΓΕΝΟΠΟΙΗΣΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΣΤΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΜΑΓΙΑΣ ΑΡΤΟΠΟΙΑΣ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΠΑΡΑΛΑΒΗ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ.....	67
4.2.1 ΜΕΤΑΒΟΛΗ ΤΟΥ ΔΕΙΚΤΗ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΔΙΑΡΡΗΞΗΣ ΜΕ ΤΙΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ.....	67
4.2.2 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗΝ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ.....	68
4.2.3 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗΝ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ΥΔΑΤΑΝΘΡΑΚΩΝ	73
4.2.4 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΟ ΣΤΕΡΕΟ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑ.....	74
4.2.5 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗΝ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ΔΙΑΛΥΤΩΝ ΣΤΕΡΕΩΝ	76
4.2.6 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗΝ ΘΟΛΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ	78
4.2.7 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΟ ΧΡΩΜΑ ΤΟΥ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ	79
4.3 ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΠΑΛΜΙΚΩΝ ΗΛΕΚΤΡΙΚΩΝ ΠΕΔΙΩΝ ΣΤΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΜΑΓΙΑΣ ΑΡΤΟΠΟΙΑΣ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΠΑΡΑΛΑΒΗ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ	81

4.3.1 ΜΕΤΑΒΟΛΗ ΤΟΥ ΔΕΙΚΤΗ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΔΙΑΡΡΗΞΗΣ ΜΕ ΤΙΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ.....	82
4.3.2 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗΝ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ.....	82
4.3.3 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗΝ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ΥΔΑΤΑΝΘΡΑΚΩΝ	88
4.3.4 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΟ ΣΤΕΡΕΟ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑ.....	90
4.3.5 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗΝ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ΔΙΑΛΥΤΩΝ ΣΤΕΡΕΩΝ	93
4.3.5 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗΝ ΘΟΛΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ	95
4.3.7 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΟ ΧΡΩΜΑ ΤΟΥ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ	96
5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	101
5.1 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΣΥΝΘΗΚΩΝ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΣ ΚΑΙ Ph ΣΤΗ ΔΙΕΡΓΑΣΙΑ ΤΗΣ ΑΥΤΟΛΥΣΗΣ ΚΑΙ ΣΤΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ	101
5.2 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΟΜΟΓΕΝΟΠΟΙΗΣΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΕΙΣΗΣ ΣΤΗ ΔΙΕΡΓΑΣΙΑ ΤΗΣ ΑΥΤΟΛΥΣΗΣ ΚΑΙ ΣΤΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ	101
5.3 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΠΑΛΜΙΚΩΝ ΗΛΕΚΤΡΙΚΩΝ ΠΕΔΙΩΝ ΣΤΗ ΔΙΕΡΓΑΣΙΑ ΤΗΣ ΑΥΤΟΛΥΣΗΣ ΚΑΙ ΣΤΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ	102
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	103

1 ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΜΑΓΙΑΣ

1.1 ΧΡΗΣΗ ΖΥΜΩΝ ΣΤΗ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Οι ζύμες διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ανθρώπινη δραστηριότητα από την εποχή ακόμα των πρώτων μεγάλων πολιτισμών. Αρχικά χρησιμοποιήθηκαν στην παραγωγή αλκοολούχων ποτών και αρτοποιημάτων. Στα τέλη του 19^{ου} αιώνα άρχισε να αναδεικνύεται η διατροφική αξία της μαγιάς ως πηγή πρωτεϊνών και αργότερα ως πηγή βιταμινών του συμπλέγματος Β. Η χρησιμοποιημένη μαγιά ζυθοποιίας αξιοποιήθηκε λοιπόν ως ζωοτροφή. Οι βιομηχανικές εφαρμογές της όμως δεν άργησαν να επεκταθούν στην παραγωγή φυσικών αρωμάτων και βιοδραστικών συστατικών (Reed & Nagodawithana, 2012).

Τα προϊόντα μαγιάς συνεχίζουν να χρησιμοποιούνται ποικιλοτρόπως για την διαμόρφωση του αρώματος και της γεύσης των τροφίμων ως πρόσθετα συστατικά ή για τη ζύμωση συστατικών των τροφίμων, αποδίδοντας έτσι μια ευρεία γκάμα προϊόντων με επιθυμητά χαρακτηριστικά. Οι ζύμες αποτελούν πηγές χρωστικών, βιταμινών, αντιοξειδωτικών και χρησιμοποιούνται ως συμπληρώματα διατροφής χάρις τις θρεπτικές ιδιότητες τους.

Πολλά είδη και στελέχη ζυμών έχουν αξιοποιηθεί στις προαναφερθείσες εφαρμογές. Μεταξύ αυτών, στελέχη που ανήκουν στο γένος *Saccharomyces*, αλλά και σε άλλα γένη όπως το γένος *Candida*, το γένος *Debaryomyces*, το γένος *Geotrichum*, το γένος *Hansenula*, το γένος *Kloeckera*, το γένος *Kluyveromyces*, το γένος *Pichia*, το γένος *Schizosaccharomyces*, το γένος *Sporobolomyces*, το γένος *Yarrowia* και το γένος *Zygosaccharomyces* (Querol & Fleet, 2006).

1.2 ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΔΟΜΗ ΤΗΣ ΜΑΓΙΑΣ

Η υποκυτταρική διαμερισματοποίηση της μαγιάς 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.

Επειδή τα κύτταρα 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, 1998; Alberts et al., 2011).

1.2.1 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.

1.2.1.1 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, απaráλλαχτη 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 μ'ε 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 ιδιαίτερος 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.

1.2.1.2. 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), ο οποίες είναι αδύνατον να διαπεράσουν το κυτταρικό τοίχωμα. Σε αυτές περιλαμβάνονται τα γλυκοπρωτεϊνικά ένζυμα ινβεργτάση 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 ινβεργτάση είναι ένα ένζυμο εμπορικώς παρασκευασμένο από μαγιά αρτοποιίας, με την διεργασία της αυτόλυσης ή της υδρόλυσης. Η ινβεργτάση της μαγιάς τυγχάνει εφαρμογών στην βιομηχανία ζαχαροπλαστικής, για την υδρόλυση της κρυσταλλικής σακχαρόζης προς φρουκτόζη και γλυκόζη, για την παρασκευή μαλακών σοκολατών και γλυκών.

1.2.1.3. ΤΟ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΤΟΙΧΩΜΑ

Το κυτταρικό τοίχωμα της μαγιάς αποτελεί μίαν 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 στην 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 Ν-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 την φυσιολογική λειτουργία του κυτταρικού τοιχώματος της μαγιάς, θα πρέπει να τονισθεί εξ αρχής 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 την διάρκεια της ανάπτυξης και του μεταβολισμού της μαγιάς. Εν ολίγοις, το κυτταρικό τοίχωμα είναι ένα πολυλειτουργικό οργανίδιο, το οποίο συμβάλλει στην προστασία του κυττάρου, στην 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 στην μαγιά, ιδιότητες οι οποίες έχουν πρακτική εφαρμογή στις βιομηχανίες ζύμωσης, καθώς και στην ιατρική. (Walker, 1998; Vuković & Mrša, 1995).

1.2.2 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 κυτταροπλασματικά (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 την 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 στην 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. Στην 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 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 την ρύθμιση του επιπέδου των πρωτεϊνών και είναι ουσιώδους σημασίας για την βιωσιμότητα των κυττάρων.

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

1.2.3. Ο ΠΥΡΗΝΑΣ

Ο πυρήνας στα κύτταρα της μαγιάς είναι ένα ωσειδές οργανίδιο, με διάμετρο, περίπου, 1,5 μm, το οποίο ευρίσκεται στο κέντρο του κυττάρου ή εκκεντρικά. 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 την μίτωση. Στο εσωτερικό του πυρήνα υπάρχει μια πυκνή περιοχή σε σχήμα μηνίσκου, η οποία αντιστοιχεί στον πυρηνίσκο, ο οποίος εξαφανίζεται κατά την μίτωση και επανεμφανίζεται στην 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 την

φάση S του κυτταρικού κύκλου, δηλαδή την φάση σύνθεσης του DNA, κάθε χρωμόσωμα διπλασιάζεται, ενώ κατά την φάση M του κυτταρικού κύκλου, δηλαδή την 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 στην μαγιά ποικίλει σε μέγεθος, αποτελούμενο από 0,2 έως 6 εκατομμύρια βάσεις. Η δομική οργάνωση των χρωμοσωμάτων παίζει καίριο ρόλο στην ρύθμιση της γονιδιακής λειτουργίας των κυττάρων της μαγιάς (Walker, 1998; Fantes & Beggs, 2000).

1.2.4 ΤΟ ΕΚΚΡΙΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΚΑΙ ΤΑ ΚΕΝΟΤΟΠΙΑ

Διάφορα διαμερίσματα τα οποία περικλείονται από μεμβράνη στο κυτταρόπλασμα της μαγιάς παίζουν ρόλους-κλειδιά στην 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 οποίαν 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 0.

Τα ακόλουθα περιγράφουν 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 πρωτεολυτική κατάτμηση ενός πεπτιδίου, μαζί με γλυκοζυλίωση.

δ) Οι πρωτεΐνες κατευθύνονται, στην 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) Στην συνέχεια, κυστίδια μεταφέρουν τις πρωτεΐνες προς την κυτταρική μεμβράνη, συγχωνεύονται με αυτήν και μεταφέρουν τις πρωτεΐνες στο περίπλασμα.

Τα κενοτόπια είναι οργανίδια-κλειδιά στην ενδοκυτταρική μεταφορά των πρωτεϊνών στην 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 μίαν 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 αυτήν. 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 στην βιομηχανία τροφίμων (Walker, 1998).

Το κενοτόπιο είναι ένα όξινο διαμέρισμα, παρόμοιο με το λυσόσωμα, το οποίο είναι, κυρίως, υπεύθυνο για την μη εξειδικευμένη ενδοκυτταρική πρωτεόλυση στην μαγιά. Αυτές οι διεργασίες καταλύονται από την 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, στην 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, 1998; Bēhalonά & Beran, 1979).

Άλλα πρωτεολυτικά διαμερίσματα στα κύτταρα της μαγιάς περιλαμβάνουν το εκδοπλασματικό δίκτυο, του σύμπλεγμα Golgi και τα μιτοχόνδρια. Εξειδικευμένη και ταχεία αποδόμηση πρωτεϊνών στην 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 την συμμετοχή τους στις αποικοδομητικές (λυσοσωματικές) διεργασίες, τα κενοτόπια εμπλέκονται σε αρκετές άλλες λειτουργίες φυσιολογικές 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, 1998).

1.2.5. 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) μίαν εξωτερική μεμβράνη, η οποία περιλαμβάνει ένζυμα τα οποία συμβάλλουν στον μεταβολισμό των λιπιδίων,

β) μια μήτρα, η οποία περιλαμβάνει ένζυμα οξειδωσης των λιπαρών οξέων και του κύκλου του κιτρικού οξέος, μαζί με ένα σύστημα πρωτεϊνοσύνθεσης, το οποίο περιλαμβάνει ριβοσώματα και μιτοχονδριακό DNA,

γ) μίαν 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 στην σύνθεση της τριφωσφορικής αδενοσίνης (*adenosine triphosphate, ATP*), κατά την 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 στην 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 στην διχοτόμηση του κυττάρου,

ε) η δράση ενζύμων για την 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 την ζύμωση του ζύθου, πρέπει να υφίσταται μια ελάχιστη μιτοχονδριακή ανάπτυξη, για την παροχή των κρίσιμων μεταβολικών μέσων και των κυτταρικών συστατικών (Walker, 1998).

1.3 ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΜΑΓΙΑΣ

1.3.1 ΤΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΜΑΓΙΑΣ ΩΣ ΕΝΙΣΧΥΤΙΚΟ ΓΕΥΣΗΣ

Υγρά ή αποξηραμένα προϊόντα μαγιάς μπορούν να υποστούν περαιτέρω επεξεργασία για την παραγωγή αυτολυμάτων και εκχυλισμάτων, ενζύμων και άλλων βιοχημικών προϊόντων. Τα εκχυλίσματα μαγιάς χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία τροφίμων ως ενισχυτικά γεύσης. Πρόκειται για το διαλυτό μέρος του κυτταρικού περιεχομένου διαφόρων ζυμών. Η φυσική τους προέλευση και η μακρόχρονη παρουσία τους σε διατροφικά προϊόντα τα καθιστούν συχνά πιο αποδεκτά από παρόμοιου γευστικού προφίλ πρόσθετα όπως υδρολυμένη φυτική πρωτεΐνη (HVP) και γλουταμινικό νάτριο (MSG). Η εφαρμογή τους εντοπίζεται σε συνταγές όπως σάλτσες, σούπες, ξηρά μείγματα για σάλτσες, έτοιμα γεύματα σνακ και ζωοτροφές για κατοικίδια ζώα. (Lee, 2015). Για την παραγωγή των εκχυλισμάτων μαγιάς εφαρμόζονται τρεις βασικές μέθοδοι η πλάσμολυση, η υδρόλυση και η συνηθέστερη όλων αυτόλυση.

Τα αρωματικά και γευστικά συστατικά του εκχυλίσματος μαγιάς εντοπίζονται φυσικά σε διάφορα τρόφιμα που καταναλώνονται εδώ και χιλιάδες χρόνια από τους πληθυσμούς τις Ανατολής. Χαρακτηριστικά παραδείγματα αποτελούν οι αποξηραμένες παλαμίδες και τα μανιτάρια. Παρ' ολ' αυτά η αξία τους ως ενισχυτικά γεύσης δεν είχε γίνει αντιληπτή μέχρι τις αρχές του 20ού αιώνα που απομονώθηκαν και μελετήθηκαν από Ιάπωνες ερευνητές. Το 1912 ο Ikeda παρέλαβε γλουταμινικό νάτριο από θαλάσσια φύκη. Ο Kodama το 1913 απέδωσε την ιδιαίτερη γεύση της αποξηραμένης παλαμίδας στο ιστιδινικό άλας του ινοσινικού οξέος. Καθοριστική ήταν επίσης η συμβολή των Nakajima et al και Shimazono που τα έτη 1961 και 1964 αντίστοιχα ταυτοποίησαν την 5' μονοφωσφορική γουανοσίνη ως το σημαντικότερο αρωματικό συστατικό στο μανιτάρι shitake. Οι ενώσεις αυτές στις μέρες μας διατίθενται είτε ως συστατικά εκχυλισμάτων, είτε απομονωμένα ως καθαρές ουσίες και χρησιμοποιούνται για να ενισχύσουν το άρωμα κρεάτων, ξηρών μιγμάτων σάλτσας και σούπας.

Το γευστικό αποτέλεσμα umami έχει συνδεθεί με ενώσεις όπως το 5'-ινοσινικό δινάτριο, το 5'-γουανιλικό δινάτριο και το γλουταμινικό οξύ. Οι ενώσεις αυτές εντοπίζονται στο κρέας και στα ιχθυηρά, σε μανιτάρια όπως το shiitake καθώς και στα λαχανικά. Αυτά τα συστατικά διεγείρουν συγκεκριμένους γλωσσικούς κάλυκες και δίνουν μια αίσθηση γευστικής πληρότητας που γίνεται αντιληπτή σε όλα τα μέρη της γλώσσας.

Έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί σε ανώτερους υδρόβιους οργανισμούς ενισχύουν την άποψη πως το «umami» είναι μια γεύση ξεχωριστή από το γλυκό το πικρό το ξινό και το αλμυρό. Πιο συγκεκριμένα οι μελέτες δείχνουν ότι το γλουταμινικό νάτριο δεσμεύεται από ειδικούς γευστικούς υποδοχείς στα οσφρητικά και γευστικά κύτταρα που δεν σχετίζονται με κάποια άλλη γεύση.

Μελέτες που έχουν διεξαχθεί από φυσιολόγους καταλήγουν με βεβαιότητα στο συμπέρασμα πως η 5'-GMP μονοφωσφορική γουανοσίνη (5'-GMP) έχει πολύ υψηλότερη αρωματική ένταση από την 5' μονοφωσφορική ινοσίνη (5'-IMP). Έχει επίσης καταγραφεί συνεργιστική δράση του γλουταμινικού οξέος με συγκεκριμένα νουκλεοτίδια. Στα νουκλεοτίδια αυτά η θέση 6' καταλαμβάνεται από βάση πουρίνης που έχει μία υδροξυλομάδα και η θέση 5' από μια ριβόζη εστεροποιημένη με φωσφορικό οξύ. Σε αυτήν την κατηγορία συγκαταλέγονται η 5'-GMP και η 5'-IMP. Τα νουκλεοτίδια αυτά μπορούν κατά μέρος να αντικαταστήσουν το ακριβότερο γλουταμινικό νάτριο χωρίς να μεταβάλουν την γεύση του τελικού διατροφικού προϊόντος. Η χρήση νουκλεοτιδίων ως ενισχυτικών γεύσης κάνει πιο αισθητή τη γεύση του χλωριούχου νατρίου ευνοώντας έτσι την παρασκευή προϊόντων χαμηλής περιεκτικότητας σε αλάτι.

Χάρη στα οφέλη τους ως ενισχυτικά γεύσης, συγκέντρωσαν το ενδιαφέρον της βιομηχανίας τροφίμων. Έμφαση δόθηκε στο σχεδιασμό οικονομικά βιώσιμων μεθόδων παραγωγής τέτοιων ενώσεων. Ως καλύτερη πηγή RNA επιλέγει η μαγιά. Βασικό κριτήριο για τη επιλογή της είναι η μεγάλη περιεκτικότητα σε RNA (2,5-15%). Χαρακτηρίζεται γενικά ασφαλής για τον άνθρωπο (Generally Recognized As Safe, GRAS) σύμφωνα με τον αμερικάνικο Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA) και μπορεί να καλλιεργηθεί σε μεγάλους πληθυσμούς με οικονομικά βιώσιμο τρόπο (Reed & Nagodawithana, 2012).

1.3.2 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΤΥΠΟΥ ΤΗΣ ΜΑΓΙΑΣ ΣΤΟ ΤΕΛΙΚΟ ΠΡΟΙΟΝ

Τόσο το στέλεχος της μαγιάς όσο και η προέλευση της έχουν καθοριστική επίδραση στο γευστικό προφίλ του εκχυλίσματος μαγιάς. Για την παραγωγή του αξιοποιείται πλεονάζουσα μαγιά προερχόμενη από τη βιομηχανία ζύθου αλλά και πρωτογενής όπως ο *Kluyveromyces marxianus*, ο *Candida utilis* και ο *Saccharomyces cerevisiae* ή αλλιώς μαγιά αρτοποιίας.

Η μαγιά ζυθοποιίας αποτελεί τον πιο φτηνό τύπο μαγιάς και είναι διαθέσιμη σε μεγάλες ποσότητες όμως η χρήση της για την παραγωγή εκχυλίσματος έχει ορισμένα μειονεκτήματα. Διατίθεται ως κρέμα που περιέχει εκτός από μαγιά ρητίνες λυκίσκου και άλλα στερεά προερχόμενα από την διαδικασία παραγωγής ζύθου. Τέτοιες ουσίες είναι

κατά κύριο λόγο χουμουλόνες και ισοχουμουλόνες και εντοπίζονται προσροφημένες στην επιφάνεια του κυτταρικού τοιχώματος ή ως διαλυμένα στερεά. Αν αυτές δεν απομακρυνθούν κατά τον καθαρισμό προσδίδουν στο εκχύλισμα μαγιάς πικρή γεύση. Ο καθαρισμός για την απομάκρυνση αυτών των συστατικών έχει σημαντικές απώλειες και είναι συνήθως κοστοβόρος. Αντ' αυτού προτιμάται μερικός καθαρισμός ο οποίος μειώνει την αίσθηση της πικρής γεύσης σε επίπεδα που να μην υποβαθμίζει το γευστικό προφίλ του εκχυλίσματος.

Ορισμένες βιομηχανίες τροφίμων δεν αντιτίθενται στην παρουσία κάποιας πικρίας στα εκχυλίσματα που πρόκειται να χρησιμοποιήσουν στα προϊόντα τους. Η παρουσία ενώσεων με πικρή γεύση τους επιτρέπει να προκαλέσουν επιθυμητές γευστικές αντιδράσεις καθοριστικές για τη βελτίωση της ποιότητας του προϊόντος. Η ένταση της πικρής γεύσης μπορεί να ελεγχθεί από τον βαθμό αρχικού καθαρισμού της διαθέσιμης ζύμης ζυθοποιίας. Εφόσον παρ'όλα αυτά απαιτείται περεταίρω αποπύκνωση πραγματοποιείται αλκαλική πλύση η οποία όμως μειώνει την τελική απόδοση του εκχυλίσματος.

Εκτός από τις προσμίξεις άλλο ένα πρόβλημα είναι η διακύμανση των χαρακτηριστικών της διαθέσιμης μαγιάς όταν προέρχεται από διαφορετικές ζυθοποιίες. Πραγματοποιείται λοιπόν ανάμιξη μαγιάς ζυθοποιίας διαφορετικών προελεύσεων ώστε να διασφαλισθεί η σταθερότητα των παραγόμενων προϊόντων.

Για να είναι η μαγιά ζυθοποιίας κατάλληλη για την παραγωγή εκχυλίσματος μαγιάς πρέπει να ληφθούν υπ' όψη κάποιες προϋποθέσεις. Είναι επιθυμητή: η υψηλή βιωσιμότητα της μαγιάς στην αρχική κρέμα, ένα ανώτατο όριο μικροβιακών επιμολυντών, ρητινών λυκίσκου, νεκρών κυττάρων και άλλων διαλυτών ή αιωρούμενων σωματιδίων. Τα νεκρά κύτταρα και άλλα σωματίδια απομακρύνονται με τη χρήση ενός δονούμενου πλέγματος με διάμετρο οπής 150-200 μm.

Πρωτογενής μαγιά από στελέχη όπως ο *S. cerevisiae* (μαγιά αρτοποιίας) και ο *K. marxianus* χρησιμοποιούνται επίσης για την παραγωγή εκχυλισμάτων μαγιάς. Τα εκχυλίσματα αυτά έχουν ξεχωριστά γευστικά προφίλ και χρησιμοποιούνται κατά κόρον στην βιομηχανία τροφίμων. Η πρωτογενής μαγιά αναπτύσσεται σε μελάσα και άλλα θρεπτικά υλικά και γι' αυτό είναι απαραίτητη η πλύση της. Όσο καλύτερο είναι το πλύσιμο της μαγιάς αρτοποιίας τόσο πιο ήπια η γεύση του εκχυλίσματος. Αυτό το φαινόμενο παρατηρείται επίσης στην παραγωγή εκχυλισμάτων του *K. marxianus* που καλλιεργείται σε διήθημα ορού γάλακτος. Για το λόγο αυτό, ορισμένες μελάσες αξιοποιούνται κατά την παραγωγή των εκχυλισμάτων του *K. marxianus* ώστε να επιτευχθεί το επιθυμητό γευστικό αποτέλεσμα (Reed & Nagodawithana, 2012).

1.3.3 ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ ΜΕ ΑΥΤΟΛΥΣΗ

Τα αυτολύματα μαγιάς και τα εκχυλίσματα παράγονται μέσω της διαδικασίας της αυτολύσης σε συνθήκες που να επιτρέπουν τη μέγιστη δυνατή διαλυτοποίηση του κυτταρικού περιεχομένου. Υπάρχουν πολλές διαφορετικές μέθοδοι και διπλώματα ευρεσιτεχνίας για την παρασκευή εκχυλίσματος μαγιάς. Γενικά, η αυτολύση ζυμομυκήτων

λαμβάνει χώρα όταν τα κύτταρα επωάζονται σε θερμοκρασία μεταξύ 40 και 55 ° C, που σκοτώνει τα κύτταρα αλλά δεν αδρανοποιεί τα ενδοκυττάρικα υδρολυτικά ένζυμα. Ο θάνατος των κυττάρων επιφέρει αταξία στο εσωτερικό του κυττάρου με αποτέλεσμα τα ένζυμα να υδρολύουν αδιακρίτως τα συστατικά του κυττάρου. Τα ενδοκυτταρικά πρωτεολυτικά ένζυμα αποικοδομούν πρωτεΐνες σε πεπτίδια και αμινοξέα, και οι νουκλεάσες διασπούν τα νουκλεϊνικά οξέα για να παράγουν νουκλεοτιδίων και νουκλεοσίδίων. Οι πιο σημαντικές ενώσεις που προκύπτουν είναι η 5'-GMP (μονοφωσφορική γουανοσίνη) και 5'-IMP (μονοφωσφορική ινοσίνη) που παράγονται με μεθόδους αυτόλυσης και ζύμωσης. Αυτά τα ριβονουκλεοτίδια επιδρούν συνεργιστικά με το γλουταμινικό άλας, που είναι παρόν στα εκχυλίσματα μαγιάς, στη γεύση δίνοντας την γεύση umami . Η ιδιαίτερα οργανωμένη κυτταρική μεμβράνη αρχίζει να εκφυλίζεται και να χάνει την ακεραιότητά της, απελευθερώνοντας έτσι τα διαλυτά συστατικά στο υδατικό περιβάλλον. Μετά την αφαίρεση του αδιάλυτου κλάσματος, το διαυγές εκχύλισμα συμπυκνώνεται σε μια πάστα (≈70% στερεά) ή ξηραίνεται με ψεκασμό σε μορφή σκόνης (95% στερεά).

Η αυτόλυση μπορεί να επιταχυνθεί με την προσθήκη πρωτεασών ή γλυκανασών. Τα περισσότερα από τα εκχυλίσματα χαμηλού νατρίου παράγονται από τη διαδικασία της αυτόλυσης. Η υψηλή περιεκτικότητα γλουταμινικού (≈6%) και άλλων αμινοξέων και νουκλεοτιδίων καθιστά τα εκχυλίσματα μαγιάς ένα χρήσιμο ενισχυτικό γεύσης. Τα εκχυλίσματα μαγιάς χαμηλής περιεκτικότητας νατρίου πλεονεκτούν σε αυτήν την αναπτυσσόμενη αγορά λόγω της χρήσης τους ως φθηνά υποκατάστατα εκχυλισμάτων κρέατος σε αλμυρές συνταγές (Lee, 2015). Επίσης αποκτούν ολοένα μεγαλύτερη σημασία ως συστατικά βρεφικών τροφών και σκευασμάτων ανάρρωσης.

Οι παράγοντες που επιδρούν σημαντικά στο τελικό γευστικό προφίλ και την απόδοση της εκχύλισης είναι το pH, η θερμοκρασία, ο χρόνος επώασης, η συγκέντρωση της μαγιάς, το ποσοστό νεκρών κυττάρων και τα διαλυτοποιητικά μέσα που χρησιμοποιούνται.

Τα διαλυτοποιητικά μέσα αξιοποιούνται κυρίως για να αυξήσουν τη απόδοση της αυτόλυσης και διακρίνονται σε ενζυμικά και χημικά. Το συνηθέστερο χημικό μέσο αποτελεί ο οξικός αιθυλεστέρας που επιπρόσθετα συνεισφέρει στην αποφυγή επιμολύνσεων κατά την αυτόλυση. Μεταξύ των ενζυμικών διαλυτοποιητικών μέσων συγκαταλέγονται γλυκανάσες, νουκλεάσες, πρωτεάσες και φωσφοδιεστεράσες. Πρωτεάσες όπως π.χ. η παπαΐνη χρησιμοποιούνται για την αύξηση του βαθμού απόδοσης στις Ηνωμένες Πολιτείες, στην Αυστραλία και στο Ηνωμένο Βασίλειο που προτιμούνται οι μεγάλοι χρόνοι επώασης. Στην Γαλλία και την Ιαπωνία όπου η αυτόλυση διαρκεί λιγότερο από 20 ώρες οι πρωτεάσες δεν βελτιώνουν σημαντικά την απόδοση.

Η αυτόλυση πραγματοποιείται όταν αιώρημα μαγιάς υψηλής βιωσιμότητας περιεκτικότητας 15% w/w επωάζεται μεταξύ 45 °C και 50°C και σε pH=5,5 για 24-36 ώρες. Σε αυτές τις συνθήκες οι β(1-3)γλυκανάσες και τα ενδογενή πρωτεολυτικά ένζυμα διασπούν τμήματα του κυττάρου. Στην λύση του κυτταρικού τοιχώματος συνεισφέρουν επίσης η β(1-6) γλυκανάση και η μαννάση.

Τα ενδογενή λυτικά ένζυμα που έχουν ταυτοποιηθεί στο κύτταρο του *S. cerevisiae* αριθμούν περί τα 40. Τα πιο σημαντικά κατά την αυτόλυση είναι οι πρωτεϊνάσες ysc A και B, η

καρβοξυπεπτιδάση ysc S και καρβοξυπεπτιδάση ysc Y. Σε ένα ζωντανό κύτταρο τα ένζυμα αυτά βρίσκονται στα κενοτόπια αποκομμένα από το υπόλοιπο κυτταρικό υλικό χάρις στους παρεμποδιστές τους που εντοπίζονται στον περιβάλλοντα χώρο. Έτσι τα πρωτεολυτικά ένζυμα δεν υποσκάπτουν τις κυτταρικές λειτουργίες που είναι απαραίτητες για την επιβίωση του κυττάρου (Hecht et al., 2014) .

Στις συνθήκες που αναφέρθηκαν τα κύτταρα πεθαίνουν αδυνατώντας να ανταπεξέλθουν στις νέες ενεργειακές απαιτήσεις. Αυτό πυροδοτεί γενική αποδιοργάνωση των λειτουργιών και της διαμερισματοποίησης εντός το κυττάρου. Ως αποτέλεσμα τα πρωτεολυτικά ένζυμα εξέρχονται από τα κενοτόπια και έρχονται σε επαφή με τα υποστρώματα τους. Σε pH=7 τα ένζυμα σχηματίζουν σύμπλοκα με τους παρεμποδιστές τους που βρίσκονται στην γύρω περιοχή και αδρανοποιούνται. Όταν όμως τα κύτταρα επωάζονται σε pH=5, οι παρεμποδιστές τους υδρολύονται και τα ίδια επανενεργοποιούνται.

Η παρουσία πρόσθετης πρωτεΐνάσης ysc A σε εκχύλισμα μαγιάς στο οποίο δεν έχουν αδρανοποιηθεί τα ένζυμα, είχε ως αποτέλεσμα την επιτάχυνση της πρωτεόλυσης του παρεμποδιστή της πρωτεΐνάσης ysc B. Επίσης μεγιστοποιήθηκε η ενεργότητα της πρωτεΐνάσης ysc B αλλά και της καρβοξυπεπτιδάσης ysc Y.

Η μόνη λειτουργία που μπορούν να επιτελέσουν τα πρωτεολυτικά ένζυμα των κενοτοπίων που αναφέρθηκαν είναι η ελάχιστης εξειδίκευσης λύση πρωτεϊνών. Όσο το κύτταρο είναι ζωντανό αυτό ενδεχομένως να εξυπηρετεί στη δημιουργία αποθέματος αμινοξέων στα κενοτόπια από την διάσπαση των άχρηστων πρωτεϊνών. Στα πλαίσια της αυτόλυσης οι ιδιότητες τους αξιοποιούνται για την διαλυτοποίηση ανεξαιρέτως κάθε πρωτεΐνης που βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα. Σε αυτές τις συνθήκες παρόμοια είναι και η δράση των νουκλεασών του κυττάρου που διασπούν το DNA και RNA σε πολυνουκλεοτίδια, μονονουκλεοτίδια και νουκλεοσίδια. Τα προϊόντα της αυτόλυσης παραλαμβάνονται τελικά στο μέσο εκχύλισης.

Πίνακας 1.1:Χαρακτηριστικά πρωτεασών της μαγιάς (Reed & Nagodawithana, 2012).

Χαρακτηριστικό\Όνομα	Πρωτεΐνάση ysc A	Πρωτεΐνάση ysc B	Καρβοξυπεπτιδάση ysc Y	Καρβοξυπεπτιδάση ysc S
Είδος	Όξινη ενδοπεπτιδάση	Ενδοπεπτιδάση σερίνης	Ενδοπεπτιδάση σερίνης	Μεταλλοεξωπεπτιδάση (Zn2+)
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

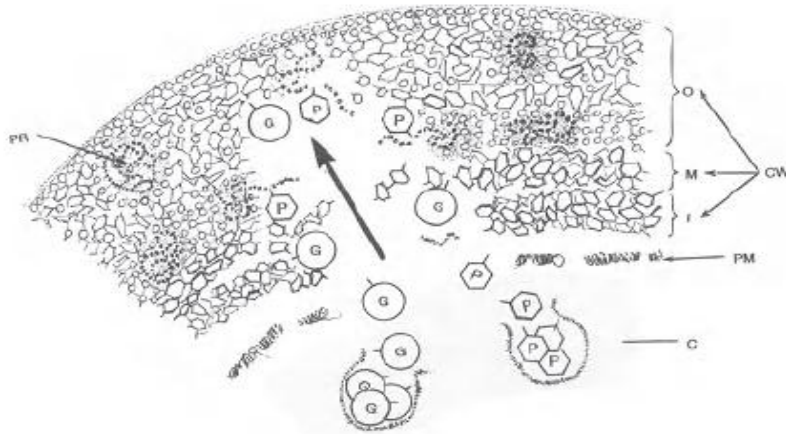
Παρεμποδιστές	πρωτεΐνη I3A, πεψατίνη, κ.λπ.	πρωτεΐνη I213, χυμοστατίνη, κ.λπ.	πρωτεΐνη Ie, Hg ²⁺	EDTA
Ρόλος στο κύτταρο	Αποικοδόμηση πρωτεϊνών	Αποικοδόμηση πρωτεϊνών	Αποικοδόμηση πρωτεϊνών	Αποικοδόμηση πρωτεϊνών

Για την παραλαβή του κυτταρικού περιεχομένου της μαγιάς στο μέσο εκχύλισης είναι απαραίτητη η διάρρηξη του κυτταρικού τοιχώματος. Το κυτταρικό τοίχωμα απαρτίζεται από ένα στρώμα πρωτεϊνών που περιβάλλει το κύτταρο, ένα ενδιάμεσο στρώμα από αλκαλικά αδιάλυτες β-γλυκάνες και ένα σε επαφή με το κυτταρόπλασμα από αλκαλικά διαλυτές β-γλυκάνες. Ως προς τη σύσταση του τα στρώματα β-γλυκανών αποτελούνται κατά 85% από β(1-3)γλυκάνες και κατά 15% από β(1-6)γλυκάνες.

Οι β(1-3) και β(1-6) δεσμοί στα στρώματα β-γλυκανών μπορούν να υδρολύνονται από τις γλυκανάσες που είναι παρούσες στα κύτταρα μαγιάς. Ο βιολογικός τους ρόλος συνίσταται στην συμμετοχή τους στην εκβλάστηση. Αντ'αυτού κατά την διάρκεια της αυτόλυσης αξιοποιούνται για την διάρρηξη του κυτταρικού τοιχώματος προάγοντας έτσι την μεταφορά διαλυτοποιημένου κυτταρικού περιεχομένου στο περιβάλλον μέσο.

Όπως φαίνεται στον πίνακα 1.1 οι πρωτεϊνάσες που συμμετέχουν στην αυτόλυση έχουν διαφορετικά βέλτιστα pH και θερμοκρασίας. Οι συνθήκες στις οποίες πραγματοποιείται δεν μπορούν να είναι βέλτιστες για όλα τα πρωτεολυτικά ένζυμα. Συνεπώς η θερμοκρασία και το pH έχουν σημαντική επίδραση στο γευστικό προφίλ του τελικού προϊόντος και γι' αυτό πρέπει να επιλέγονται με προσοχή.

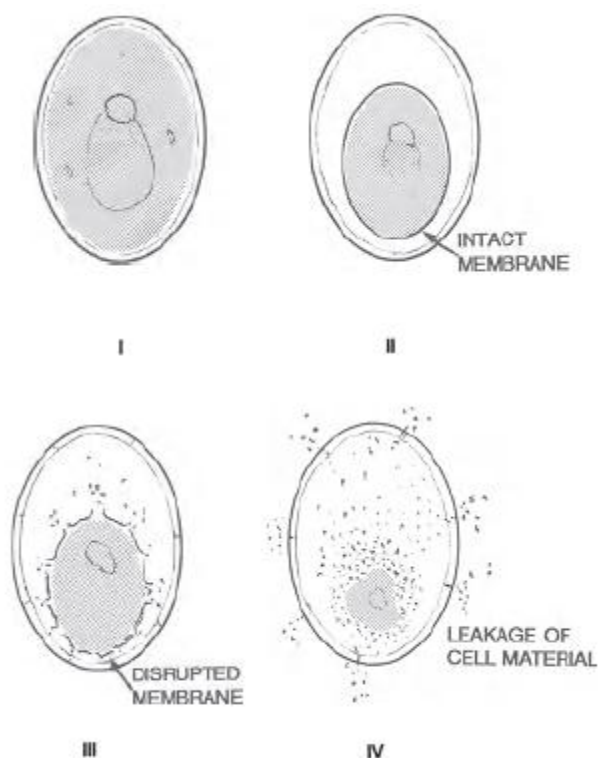
Η χρήση γενετικά τροποποιημένων ζυμών, ευαίσθητων στη δράση των ενδογενών λυτικών ενζύμων εστιάζει το ενδιαφέρον των κατασκευαστών εκχυλίσματος μαγιάς. Ακόμη, διαφορές που παρουσιάζουν στη μορφή τους καταδεικνύουν ατέλειες στο κυτταρικό τοίχωμα. Ωστόσο, με την χρήση τεχνικών rRNA θα είναι δυνατή η κατασκευή ζυμών ικανών να αυτολύονται ταχέως, με την απελευθέρωση των επιθυμητών κυτταρικών συστατικών που χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία τροφίμων (Reed & Nagodawithana, 2012).



Εικόνα 1.1: Σχηματική απεικόνιση ενός λυόμενου κυττάρου. 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, Yeast Technology, 1991)

1.3.4 ΑΛΛΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ

Οι άλλες μέθοδοι παραγωγής εκχυλίσματος μαγιάς, όπως η πλασμολύση και η υδρόλυση, χρησιμοποιούνται επίσης συχνά. Η διαδικασία πλασμολύσης χρησιμοποιεί χημικά μέσα όπως αλάτι για την ανάπτυξη ωσμωτικής πίεσης ή οξικός αιθυλεστέρας για την μεταβολή της διαπερατότητας του κυττάρου έτσι ώστε να ευνοείται η εκχύλιση του ενδοκυτταρικού περιεχομένου. Αυτά τα προϊόντα έχουν περιορισμένη χρήση στη βιομηχανία τροφίμων λόγω της υψηλής περιεκτικότητας νατρίου στο τελικό προϊόν. Τα υδρολύματα παρασκευάζονται με κατεργασία ενός πολτού αδρανούς ξηρής μαγιάς (65-80%) με διαλύματα υδροχλωρικού οξέος διαφορετικών συγκεντρώσεων, ακολουθούμενη από βρασμό, ψύξη, εξουδετέρωση με υδροξείδιο του νατρίου, διήθηση και συμπύκνωση σε πάστα ή ξήρανση με ψεκασμό για παραλαβή σκόνης. Η υδρόλυση είναι η πιο αποτελεσματική μέθοδος όσον αφορά την απόδοση, αλλά η υψηλή περιεκτικότητα σε αλάτι και η καταστροφή ορισμένων αμινοξέων και βιταμινών την καθιστά λιγότερο ελκυστική στους περισσότερους κατασκευαστές εκχυλίσματος μαγιάς. Επίσης, υδρολύματα σόγιας και άλλων πρωτεϊνών είναι φθηνότερες εναλλακτικές απέναντι στα υδρολύματα μαγιάς. Τέλος έχει βρεθεί ότι κατεργασία πρωτεϊνικών υλικών με πυκνό υδροχλωρικό οξύ οδηγεί στο σχηματισμό τοξικών ουσιών όπως είναι οι χλωροπροπανόλες (Lee, 2015)



Εικόνα 1.2: Πλασμολυόμενο κύτταρο μαγιάς (Reed & Nagodawithana, *Yeast Technology*, 2012)

1.4 ΜΕΘΟΔΟΙ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΗΣ ΜΑΓΙΑΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΤΗΣ ΔΙΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΗΣ ΑΥΤΟΛΥΣΗΣ ΚΑΙ ΤΗΝ ΠΑΡΑΛΑΒΗ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ

Από τα παραπάνω καθίσταται φανερό ότι βέλτιστη και πλέον 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 την βιομηχανία τροφίμων, αφετέρου 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 στην βιβλιογραφία, αναφορικά με την βελτίωση της διεργασίας της αυτόλυσης για την παραλαβή εκχύλισματος μαγιάς. Οι κυριότερες από αυτές είναι η ενζυμική επεξεργασία, η ομογενοποίηση υψηλής πίεσης και η αύξηση της διαπερατότητας των κυττάρων με διαλύτες.

Η ενζυμική επεξεργασία των κυττάρων μαγιάς με πρωτεάσες, όπως η παπαΐνη, και λυτικά ένζυμα έγκειται στην προσθήκη αυτών των ενζύμων, σε μικρές συγκεντρώσεις, στο αιώρημα μαγιάς και στην υποβολή αυτού σε συνθήκες παρόμοιες με την 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 (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 οδήγησε 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 μεταβλήθηκε 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 την 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 την 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 την 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 την διεργασία της αυτόλυσης έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση του στερεού υπολείμματος του εκχυλίσματος μαγιάς, κατά 81 %, καθώς και σε αύξηση του ολικού αζώτου, το οποίο αποτελεί δείκτη συγκέντρωσης πρωτεϊνών, κατά 86 %, ενώ η ομογενοποίηση υψηλής πίεσης των κυττάρων της μαγιάς στα 1000 bar πριν την 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 ολικών υδατανθράκων στο εκχύλισμα μαγιάς η οποία έχει υποστεί ομογενοποίηση υψηλής πίεσης, πριν την διεργασία της αυτόλυσης, υπερδιπλασιάζεται με επεξεργασία στα 600 bar, ενώ υπερτριπλασιάζεται με επεξεργασία στα 1000 bar, συγκριτικά με το εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς (Verduyn, Suksomcheep, & Supphantharika, 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, έχει οδηγήσει, σε κάποιες περιπτώσεις, σε σημαντική επιτάχυνση της αυτόλυσης. Αποτελεσματικοί φαίνονται οι πολικοί και ελάχιστα διαλυτοί στο νερό διαλύτες, όπως ο αιθέρες, χλωριωμένοι υδρογονάνθρακες, αλκοόλες και κετόνες μέσου μοριακού βάρους. Η δράση τους έγκειται στην διάλυση των λιπιδίων της κυτταρικής μεμβράνης, με αποτέλεσμα την διαπερατοποίηση της (Breddam & Beenfeldt, 1991).

Στις έως τώρα μελέτες δεν έχει εξεταστεί η επίδραση της ομογενοποίησης υψηλής πίεσης (ΟΥΠ) στην αυτόλυση, για ένα εύρος συνθηκών που να επιτρέπει να γίνει κατανοητή η επίδραση κάθε παραμέτρου επεξεργασίας. Επίσης δεν έχει γίνει προσπάθεια η επίδραση της ΟΥΠ στην αυτόλυση να περιγραφεί με κάποιο μαθηματικό μοντέλο που να επιτρέπει την σύγκριση της με άλλες μεθόδους ενίσχυσης της αυτόλυσης όπως η επεξεργασία της μαγιά με παλμικά ηλεκτρικά πεδία.

2. ΜΗ ΘΕΡΜΙΚΕΣ ΔΙΕΡΓΑΣΙΕΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

2.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΙΣ ΜΗ ΘΕΡΜΙΚΕΣ ΔΙΕΡΓΑΣΙΕΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Πολλοί καταναλωτές απολαμβάνουν την μεστή, φυσική γεύση του μη παστεριωμένου / ακατέργαστου χυμού μήλου ή μηλίτη. Ωστόσο, λόγω των σχετικών εξάρσεων τροφικών δηλητηριάσεων, οι μη παστεριωμένοι χυμοί φρούτων έχουν σχεδόν εκλείψει από την αγορά.

Το 1998, ο αμερικάνικος Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA) ενέκρινε έναν κανονισμό που ανάγκασε τους μεταποιητές φρέσκων χυμών είτε να παστεριώνουν τα προϊόντα τους για την απενεργοποίηση 5 λογαρίθμων παθογόνων μικροοργανισμών ή να αναγράφουν στην ετικέτα `ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ: το προϊόν αυτό δεν έχει παστεριωθεί και μπορεί να περιέχει παθογόνα βακτήρια που μπορούν να προκαλέσουν σοβαρές ασθένειες σε παιδιά, ηλικιωμένους και άτομα με εξασθενημένο ανοσοποιητικό σύστημα ».Το 2001, ο FDA ενέκρινε την απόφαση για την εφαρμογή συστημάτων Ανάλυσης Επικινδυνότητας στα Κρίσιμα Σημεία Ελέγχου (HAACP) για την ασφάλεια και υγιεινή στην παραγωγή χυμών, με ισχύ από τον Φεβρουάριο του 2002. Η παραγωγή και η κατανάλωση χυμών μήλου στις Ηνωμένες Πολιτείες παρουσίαζε μείωση τα τελευταία χρόνια, γεγονός που άσκησε τεράστια πίεση στη βιομηχανία χυμών φρούτων για την τόνωση της κατανάλωσης, εξασφαλίζοντας παράλληλα την ασφάλεια και διατηρώντας τη φρεσκάδα και τα θρεπτικά συστατικά. Προκειμένου να διατηρήσουν τη γεύση των απαστερίωτων προϊόντων τους και παράλληλα να συμβαδίζουν με τον κανονισμό ορισμένες εταιρείες παραγωγής χυμών μήλου και μηλίτη υιοθέτησαν αυστηρά συστήματα HACCP. Μερικοί παραγωγοί αποδέχτηκαν την ύπαρξη ετικέτας προειδοποίησης σε κάποια από τα προϊόντα τους. Άλλοι συνδύασαν την «ελαφρά» ή την «υπέρ-ελαφρά» παστερίωση με συστήματα HACCP σε μια προσπάθεια να ελαχιστοποιήσουν τις επιπτώσεις στο γευστικό αποτέλεσμα. Ωστόσο, οι περισσότερες εταιρείες προτίμησαν την παστερίωση για να εξασφαλίσουν την ασφάλεια των προϊόντων τους (Doona, Kustin & Feeherly, 2010).

Η ποιοτική υποβάθμιση που προκαλούσε η παστερίωση εξακολουθούσε να ανησυχεί τους παραγωγούς οι οποίοι αναγκάστηκαν να στραφούν στην αναζήτηση εναλλακτικών μεθόδων παστερίωσης όπως οι μη θερμικές διεργασίες. Οι μη θερμικές διεργασίες επεξεργασίας τροφίμων είναι αντικείμενο συνεχούς έρευνας για την εκτίμηση της αξίας τους κυρίως ως εναλλακτικές ή συμπληρωματικές διαδικασίες στις παραδοσιακές μεθόδους παστερίωσης των τροφίμων. Παραδοσιακά, τα περισσότερα συσκευασμένα τρόφιμα υφίστανται θερμική επεξεργασία σε θερμοκρασία από 60 ° έως 100 ° C για μερικά δευτερόλεπτα έως λεπτά.

Κατά το διάστημα αυτό, μεγάλο ενεργειακό φορτίο μεταφέρεται στο τρόφιμο. Αυτή η ενέργεια μπορεί να προκαλέσει ανεπιθύμητες αντιδράσεις, οδηγώντας σε ανεπιθύμητες αλλοιώσεις ή σχηματισμό παραπροϊόντων. Για παράδειγμα, το θερμικά επεξεργασμένο γάλα μπορεί να έχει διαφορετική γεύση συνοδευόμενη από απώλεια βιταμινών, βασικών θρεπτικών ουσιών και γευστικών ουσιών. Το γεγονός ότι όχι μόνο η διάρκεια ζωής, αλλά και η ποιότητα των τροφίμων είναι σημαντική για τους καταναλωτές καθιστά αναγκαία την παστερίωση των τροφίμων χρησιμοποιώντας μη θερμικές μεθόδους. Οι μη θερμικές διεργασίες τροφίμων αναπτύσσονται κυρίως για την εξάλειψη ή τουλάχιστον την ελαχιστοποίηση της ποιοτικής υποβάθμισης των τροφίμων που προκαλείται από τη θερμική επεξεργασία.

Κατά τη διάρκεια της μη θερμικής επεξεργασίας, η θερμοκρασία του τροφίμου δεν ανέρχεται στα επίπεδα που χρησιμοποιούνται στη θερμική επεξεργασία. Αποφεύγεται έτσι η ποιοτική υποβάθμιση που προκαλούν οι υψηλές θερμοκρασίες. Οι βιταμίνες, τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά και η γεύση αναμένεται να υποστούν από ελάχιστες έως καθόλου μεταβολές κατά τη διάρκεια της μη θερμικής επεξεργασίας. Επίσης, οι μη θερμικές διεργασίες χρησιμοποιούν λιγότερη ενέργεια από τις θερμικές διεργασίες. Τα τρόφιμα μπορούν να υποστούν επεξεργασία μη θερμικά με τη χρήση υπερυψηλής πίεσης ή υψηλής υδροστατική πίεσης, ταλαντευόμενων μαγνητικών πεδίων, παλμικών ηλεκτρικών πεδίων υψηλής έντασης, έντονου παλμικού φωτός, ακτινοβολήσης, χημικών μέσων, και βιοχημικών μέσων. Αν και αυτές οι διεργασίες έχουν χρησιμοποιηθεί για μεγάλο χρονικό διάστημα για την παστερίωση τροφίμων, έχουν αποκτήσει αναγνώριση ως μη θερμικές διεργασίες επεξεργασίας τροφίμων μόνο στο πρόσφατο παρελθόν.

Κάθε μία από τις μη θερμικές διεργασίες βρίσκει εφαρμογή σε συγκεκριμένα είδη τροφίμων. Παραδείγματος χάριν, τα ταλαντευόμενα μαγνητικά πεδία, η υπερυψηλή πίεση, οι αντιμικροβιακοί παράγοντες και το παλμικό φως είναι χρήσιμα στην επεξεργασία τόσο υγρών όσο και στερεών τροφίμων, ενώ αντίθετα τα παλμικά ηλεκτρικά πεδία είθισται να χρησιμοποιούνται για υγρά τρόφιμα και η ακτινοβολήση είναι χρήσιμη μόνο για στερεά τρόφιμα. Οι παλμοί φωτός είναι πιο χρήσιμοι για παστερίωση επιφανειών αλλά και προσυσκευασμένων τροφίμων. Για την παστερίωση τροφίμων που έχουν ήδη συσκευαστεί μπορούν να χρησιμοποιηθούν επίσης οι τεχνολογίες ακτινοβολήσης και τα ταλαντευόμενα μαγνητικά πεδία μειώνοντας τον κίνδυνο μόλυνσης κατά τη συσκευασία. Επομένως, οι μη θερμικές τεχνολογίες παρουσιάζουν εξειδίκευση ως προς τα τρόφιμα στα οποία εφαρμόζονται. Κάθε μη θερμική διεργασία έχει τα πλεονεκτήματα και τους περιορισμούς της. Σε πολλές περιπτώσεις για παράδειγμα, για την αδρανοποίηση των σπορίων είναι απαραίτητος ο συνδυασμός μεθόδων.

Η ποιοτική υποβάθμιση, αν και μειωμένη, εξακολουθεί να υφίσταται και στις μη θερμικές διεργασίες επεξεργασίας τροφίμων. Είναι επομένως απαραίτητο να αξιολογούνται οι αλλαγές στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, στις συγκεντρώσεις και στη δομή των λιπιδίων, των πρωτεϊνών, των υδατανθράκων και άλλων συστατικών των τροφίμων. Είναι επίσης σημαντικό να συγκρίνεται η ποιότητα και η διάρκεια ζωής των τροφίμων που υποβάλλονται σε επεξεργασία με διαφορετικές μη θερμικές διεργασίες για να διαπιστωθεί για ποια τρόφιμα είναι κατάλληλη κάθε μέθοδος (Barbosa-Canovas, Pothakamury & Ραλου,1997). Ορισμένες από αυτές τις εναλλακτικές διεργασίες παρότι έχουν μελετηθεί

εκτενώς για τουλάχιστον τρεις δεκαετίες, δεν εφαρμόζονται προς το παρόν σε εμπορική κλίμακα λόγω τεχνικών προβλημάτων ή, πιο συχνά, ζητημάτων οικονομικής αποδοτικότητας. Η υψηλή αντοχή των ενζύμων και των βακτηριακών σπορίων σε αυτές τις διεργασίες είναι ένα μείζον πρόβλημα. Απαιτούνται προσπάθειες για την βελτίωση αυτών των τεχνολογιών ή και την ανάπτυξη νέων (Doona, Kustin & Feehely, 2010).

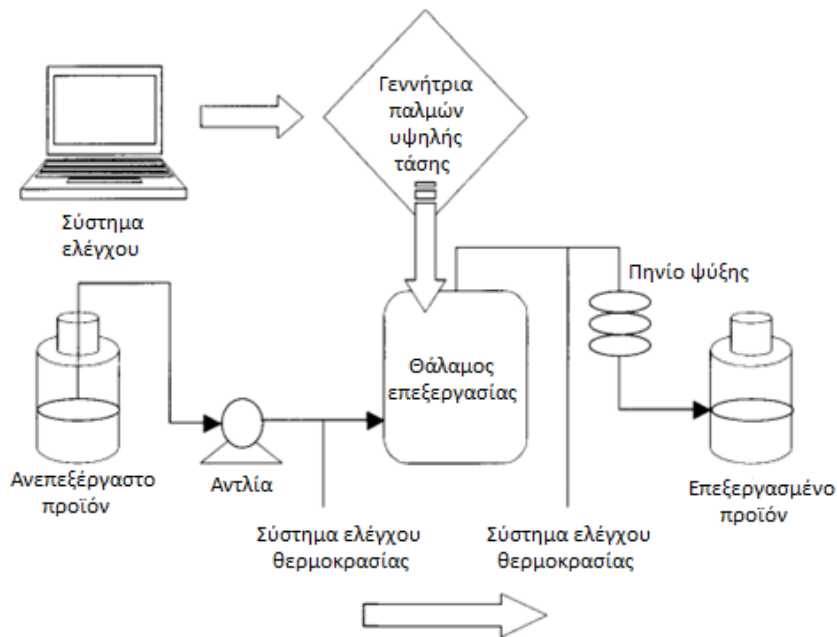
2.2 ΠΑΛΜΙΚΑ ΗΛΕΚΤΡΙΚΑ ΠΕΔΙΑ

2.2.1 ΑΡΧΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ

Η επεξεργασία με παλμικά ηλεκτρικά πεδία (ΠΗΠ) συνίσταται στην εφαρμογή σύντομων παλμών μερικών μs υψηλής τάσης της τάξης των kV/cm σε τρόφιμα που τοποθετούνται μεταξύ δύο ηλεκτροδίων. Η εφαρμογή των ΠΗΠ περιορίζεται σε τρόφιμα που αντέχουν σε υψηλά ηλεκτρικά πεδία, έχουν χαμηλή ηλεκτρική αγωγιμότητα και δεν περιέχουν ούτε σχηματίζουν φυσαλίδες. Το μέγεθος των σωματιδίων του τροφίμου μπορεί επίσης να είναι ένας περιορισμός (Cullen, Tiwari & Valdramidis, 2012).

2.2.2 ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ ΜΟΝΑΔΑΣ ΠΑΛΜΙΚΩΝ ΗΛΕΚΤΡΙΚΩΝ ΠΕΔΙΩΝ

Γενικά, τα συστήματα ΠΗΠ αποτελούνται από θαλάμους επεξεργασίας, μια γεννήτρια παλμών ένα σύστημα διακίνησης ρευστών και συστήματα ελέγχου (Εικόνα 2.1). Ο θάλαμος επεξεργασίας αποτελεί το σημείο όπου το τρόφιμο έρχεται σε επαφή με το ηλεκτρικό πεδίο. Αποτελείται από μεταλλικά ηλεκτρόδια ανθεκτικά στη διάβρωση. Τα ηλεκτρόδια συγκρατούνται στη θέση τους από μονωτικό υλικό, σχηματίζοντας έτσι ένα περίβλημα που περιέχει το τρόφιμο. Επομένως, ο σωστός σχεδιασμός του θαλάμου επεξεργασίας είναι απαραίτητος για την αποτελεσματική λειτουργία της τεχνολογίας ΠΗΠ .



Εικόνα 2.1: Βασικός σχεδιασμός ενός συστήματος Παλμικών Ηλεκτρικών Πεδίων (ΠΗΠ) (Raso & Heinz, 2010).

Ο προσεκτικός σχεδιασμός του θαλάμου επεξεργασίας έχει μεγάλη σημασία για την σωστή εφαρμογή του ηλεκτρικού πεδίου, αλλά και για την αποφυγή απρόβλεπτων φαινομένων κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας, όπως συσσώρευση θερμότητας, διαταραχές ηλεκτρικού πεδίου, εναπόθεση σωματιδίων, σχηματισμός φυσαλίδων αερίου και εμφάνιση ηλεκτρικού τόξου. Όσον αφορά τη διαμόρφωση του, ο θάλαμος επεξεργασίας μπορεί να είναι παράλληλων πλακών, ομοαξονικών κυλίνδρων ή συγγραμμικών ηλεκτροδίων (Εικ. 2.2). Στους θαλάμους παράλληλων πλακών, τα ηλεκτρόδια διαχωρίζονται γενικά από ένα κενό που είναι σημαντικά μικρότερο από την επιφάνειά τους. Οι θάλαμοι επεξεργασίας με παράλληλα ηλεκτρόδια-πλάκες παρέχουν ομοιόμορφη κατανομή ηλεκτρικού πεδίου κατά μήκος των αξόνων του διακένου και των επιφανειών των ηλεκτροδίων, αλλά δημιουργούν προβλήματα λόγω της ενίσχυσης του πεδίου στα άκρα των ηλεκτροδίων. Από την άλλη πλευρά, οι ομοαξονικοί κύλινδροι και τα συγγραμμικά ηλεκτρόδια χρησιμοποιούνται ευρέως λόγω της απλότητας της δομής τους. Το ηλεκτρικό ρεύμα ρέει κάθετα προς τη ροή τροφίμων σε ομοαξονικούς θαλάμους επεξεργασίας ΠΗΠ και παράλληλα με τη ροή τροφίμων σε θαλάμους συγγραμμικών ηλεκτροδίων. Η διαμόρφωση του θαλάμου συγγραμμικών ηλεκτροδίων παρουσιάζει πλεονεκτήματα ως προς την διαμόρφωση της ροής του ρευστού, καθώς το σχήμα του είναι αυτό μιας κυλινδρικής κοιλότητας. Το χαρακτηριστικό αυτό είναι ιδιαίτερα επιθυμητό για την επεξεργασία τροφίμων και βολικό για τον καθαρισμό του.

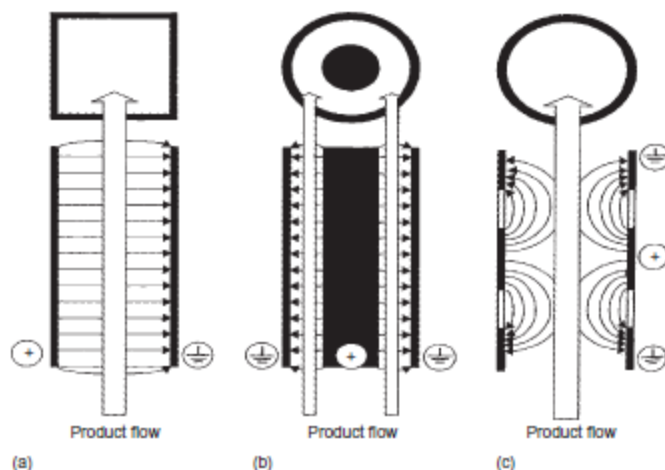
Ο θάλαμος επεξεργασίας μπορεί να είναι είτε συνεχούς είτε διαλείποντος έργου. Οι τελευταίοι προσφέρονται κυρίως για εργαστηριακή χρήση, προκειμένου να αξιολογηθεί η επίδραση οποιασδήποτε σχετικής παραμέτρου που είναι κρίσιμη για την αποτελεσματικότητα της διαδικασίας. Για εφαρμογές μεγάλης κλίμακας, οι θάλαμοι συνεχούς έργου είναι συνηθέστεροι.

Τα ηλεκτρόδια του θαλάμου, καθώς και τα μονωτικά στοιχεία, πρέπει να είναι κατασκευασμένα από χημικά αδρανή υλικά, για την αποφυγή επιμόλυνσης των τροφίμων. Επιπλέον, τα υλικά κατασκευής του θαλάμου επεξεργασίας πρέπει να είναι κατάλληλα για πλύσιμο και αποστείρωση.

Όσον αφορά τα συστήματα ΠΗΠ συνεχούς λειτουργίας, δύο διαφορετικά συστήματα διακίνησης ρευστών μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην επεξεργασία υγρών τροφίμων. Στην πρώτη περίπτωση η κυκλοφορία του ρευστού γίνεται με επαναλαμβανόμενα περάσματα έως ότου επιτευχθεί ο επιθυμητός χρόνος επεξεργασίας. Στην δεύτερη περίπτωση το ρευστό κυκλοφορεί και ανακυκλώνεται αδιάκοπα μέχρι να ολοκληρωθεί η κατεργασία.

Η γεννήτρια παλμών υψηλής τάσης παρέχει ηλεκτρικούς παλμούς της επιθυμητής τάσης, του επιθυμητού σχήματος και διάρκειας χρησιμοποιώντας ένα περισσότερο ή λιγότερο πολύπλοκο δίκτυο σχηματισμού παλμών (PFN). Αναλυτικότερα, το PFN είναι ένα ηλεκτρικό κύκλωμα που αποτελείται από πολλά εξαρτήματα: ένα ή περισσότερα τροφοδοτικά συνεχούς ρεύματος, αντιστάσεις φόρτισης, συστοιχία πυκνωτών που σχηματίζεται από δύο ή περισσότερες μονάδες συνδεδεμένες παράλληλα, έναν ή περισσότερους διακόπτες, επαγωγείς και αντιστάσεις (Zhang et al., 1995).

Τα συστήματα ελέγχου θερμοκρασίας και παλμών είναι ο κύριος εξοπλισμός που χρησιμοποιείται για την εποπτεία της λειτουργίας μια μονάδας ΠΗΠ. Η θερμοκρασία παρακολουθείται με θερμοστοιχεία, ενώ οι παλμοί με ανιχνευτές υψηλής τάσης, μετρητές ρεύματος και παλμογράφους (Cullen, Tiwari & Valdramidis, 2012).



Εικόνα 2.2: Διαμορφώσεις θαλάμων επεξεργασίας ΠΗΠ για συνεχή λειτουργία: (α) παράλληλων πλακών, (β) ομοαξονικών κυλίνδρων (γ) συγγραμμικών ηλεκτροδίων. (Cullen, Tiwari & Valdramidis, 2012).

2.2.3 ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ

Οι παράμετροι επεξεργασίας όπως η ένταση του ηλεκτρικού πεδίου, ο χρόνος επεξεργασίας, το σχήμα των παλμών, η συχνότητα των παλμών, η ειδική ενέργεια έχει

αναφερθεί ότι καθορίζουν την αποτελεσματικότητα της τεχνολογίας ΠΗΠ για την επεξεργασία υγρών τροφίμων.

2.2.3.1 ΕΝΤΑΣΗ ΗΛΕΚΤΡΙΚΟΥ ΠΕΔΙΟΥ

Η ένταση του ηλεκτρικού πεδίου είναι ένας από τους κύριους παράγοντες που επηρεάζουν την μικροβιακή απενεργοποίηση. Η μικροβιακή απενεργοποίηση αυξάνεται με αύξηση της έντασης του ηλεκτρικού πεδίου, όταν η διαμεμβρανική διαφορά δυναμικού είναι μεγαλύτερη της κρίσιμης. Αυτό συμβαδίζει με τη θεωρία της ηλεκτροδιάτρησης, σύμφωνα με την οποία η επαγόμενη διαφορά δυναμικού κατά μήκος της κυτταρικής μεμβράνης είναι ανάλογη προς την ένταση του εφαρμοζόμενου ηλεκτρικού πεδίου. Η κρίσιμη ένταση E_c (η ένταση του ηλεκτρικού πεδίου κάτω από την οποία δεν πραγματοποιείται μικροβιακή απενεργοποίηση) αυξάνεται συναρτήσει της κρίσιμης διαμεμβρανικής διαφοράς δυναμικού του κυττάρου. Τα δύο αυτά αλληλεξαρτώμενα μεγέθη παίρνουν υψηλές τιμές σε μεγάλα κύτταρα .

Το εύρος παλμού (ή η διάρκεια) επηρεάζει επίσης την E_c . Για εύρη παλμών μεγαλύτερα από $50 \mu s$, βρέθηκε ότι η E_c ήταν $4,9 kV \cdot cm^{-1}$ αλλά για εύρη παλμών μικρότερα από $2 \mu s$, η E_c ήταν $40 kV \cdot cm^{-1}$ (Rahman & Ahmed, 2012).

2.2.3.2 ΕΙΔΙΚΗ ΕΝΕΡΓΕΙΑ

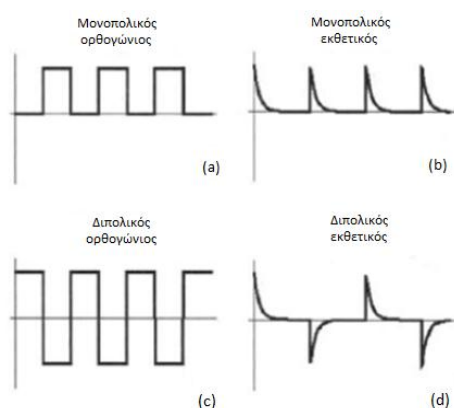
Η ειδική ενέργεια περιγράφει την ένταση των συνθηκών με παλμούς υψηλής έντασης και εκφράζεται ως ενέργεια σε kJ ανά kg του υπό επεξεργασία μέσου (kJ / kg). Λόγω του μικρού μεγέθους των μικροοργανισμών και της σύνθεσης των μεμβρανών τους απαιτείται υψηλότερη κατανάλωση ενέργειας για την επίτευξη μικροβιακής απενεργοποίησης, σε σύγκριση με αυτήν που απαιτείται για την ηλεκτροδιάτρηση φυτικών κυττάρων. Για την απενεργοποίηση βλαστικών μικροοργανισμών, απαιτείται ισχύς ηλεκτρικού πεδίου περίπου 15 έως $20 kV / cm$ και ειδική ενέργεια από 40 έως $1000 kJ / kg$. Αντίθετα, για την ηλεκτροδιάτρηση φυτικών κυττάρων απαιτούνται χαμηλότερες τιμές έντασης ηλεκτρικού πεδίου ($0,7$ έως $3 kV / cm$) και ειδικής ενέργειας (1 έως $20 kJ / kg$) (Bhattacharya, 2015).

2.2.3.3 ΣΧΗΜΑ ΠΑΛΜΟΥ

Οι παλμοί που χρησιμοποιούνται στην τεχνολογία ΠΗΠ είναι εκθετικοί, ορθογώνιοι, ταλαντευόμενοι, διπολικοί, ή στιγμιαίας εναλλαγής φορτίου. Οι ταλαντευόμενοι παλμοί είναι οι λιγότερο αποτελεσματικοί για μικροβιακή αδρανσοποίηση και οι ορθογώνιοι αποδοτικότεροι και πιο θανατηφόροι από του εκθετικούς. Οι διπολικοί παλμοί είναι πιο θανατηφόροι από τους μονοπολικούς παλμούς, επειδή τα ΠΗΠ προκαλούν την κίνηση

φορτισμένων μορίων στις κυτταρικές μεμβράνες και η αντιστροφή της πολικότητας του ηλεκτρικού πεδίου προκαλεί αντίστοιχη αλλαγή στην κατεύθυνση της κίνησης τους. Μία διαφορά μεταξύ διπολικών και μονοπολικών παλμών αναφέρθηκε σε μελέτες αδρανοποίησης του *Bacillus spp.* και του *E. Coli*. Με τους διπολικούς παλμούς, οι αντιστροφή της κατεύθυνσης κίνησης των φορτισμένων μορίων προκαλεί πίεση στην κυτταρική μεμβράνη η οποία συμβάλει στη κατάλυση της ενοικαιότητας της. Οι διπολικοί παλμοί συμβάλουν ακόμα στην ελαχιστοποίηση της κατανάλωσης ενέργειας, της εναπόθεσης στερεών στην επιφάνεια των ηλεκτροδίων και της ηλεκτρόλυσης των τροφίμων.

Οι Zhang et al (1997) μελέτησαν την επίδραση του ορθογώνιων, των εκθετικών και των παλμών στιγμιαίας εναλλαγής φορτίου στη διάρκεια ζωής του χυμού πορτοκαλιού. Οι ορθογώνιοι παλμοί ήταν οι πιο αποτελεσματικοί, αποδίδοντας προϊόντα με μεγαλύτερη διάρκεια ζωής από εκείνα που επεξεργάστηκαν με εκθετικούς παλμούς και παλμούς εναλλαγής φορτίου. Σε συμφωνία με αυτή τη μελέτη, ο Love (1998) απέδειξε ποσοτικά πως οι ορθογώνιοι παλμοί είναι οι αποτελεσματικότεροι όσο αφορά στη μικροβιακή απενεργοποίηση (Rahman & Ahmed, 2012).



Εικόνα 2.3: Γραφική απεικόνιση σχήματος παλμών που χρησιμοποιούνται στην τεχνολογία ΠΗΠ, όπου: (a) Μονοπολικός ορθογώνιος παλμός (b) Μονοπολικός εκθετικός παλμός (c) Διπολικός ορθογώνιος παλμός (d) Διπολικός εκθετικός παλμός (Raso & Heinz, 2010).

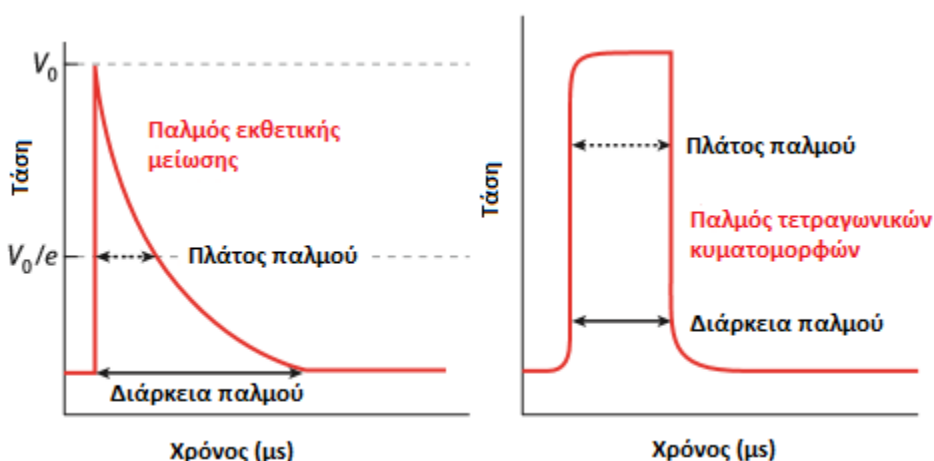
2.2.3.4 ΧΡΟΝΟΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ

Ο χρόνος επεξεργασίας ορίζεται ως το γινόμενο του αριθμού των παλμών και της διάρκειας ενός μόνο παλμού (εύρος παλμού). Μια αύξηση σε οποιαδήποτε από αυτές τις δύο μεταβλητές βελτιώνει τη μικροβιακή απενεργοποίηση. Όπως σημειώθηκε παραπάνω, το εύρος των παλμών επηρεάζει τη μικροβιακή απενεργοποίηση μεταβάλλοντας την E_c . Μεγαλύτερα εύρη παλμών μειώνουν την E_c , με αποτέλεσμα να επιτυγχάνεται μεγαλύτερη αδρανοποίηση. Ωστόσο, η αύξηση του εύρους των παλμών μπορεί επίσης να οδηγήσει σε ανεπιθύμητη αύξηση της θερμοκρασίας στα τρόφιμα. Συνεπώς πρέπει να αναζητηθούν

βέλτιστες συνθήκες επεξεργασίας για την επίτευξη του μεγαλύτερου δυνατού ρυθμού απενεργοποίησης με την ελάχιστη δυνατή άνοδο της. Η απενεργοποίηση των μικροοργανισμών αυξάνει με το χρόνο επεξεργασίας. Ωστόσο σε ορισμένες περιπτώσεις, για μεγάλα εύρη παλμού ο ρυθμός απενεργοποίησης φτάνει τον κορεσμό. Αυτό συμβαίνει στην περίπτωση της απενεργοποίησης του *Saccharomyces cerevisiae* με ΠΗΠ, η οποία φθάνει σε κορεσμό με 10 παλμούς ενός ηλεκτρικού πεδίου ισχύος $25 \text{ kV} \cdot \text{cm}^{-1}$.

Ο κρίσιμος χρόνος επεξεργασίας, πέρα από τον οποία αρχίζει η μικροβιακή απενεργοποίηση, εξαρτάται επίσης από την ένταση του ηλεκτρικού πεδίου που εφαρμόζεται. Για τιμές της πάνω από την E_c , ο κρίσιμος χρόνος επεξεργασίας μειώνεται όσο αυξάνεται η ένταση. Οι Barbosa -Canovas et al (1999) ανέφεραν ότι για ένταση 1,5 φορές υψηλότερη από την τιμή E_c , ο κρίσιμος χρόνος επεξεργασίας παρέμεινε σταθερός (Rahman & Ahmed, 2012).

Όσον αφορά τη σχέση σχήματος και εύρους, το εύρος του ορθογώνιου παλμού ταυτίζεται με τον χρόνο που μεσολαβεί μεταξύ δυο ανοιγμάτων του διακόπτη, ενώ το εύρος του εκθετικού αντιστοιχεί στον χρόνο που η τάση είναι μεγαλύτερη του 37% της μέγιστης τιμής του.



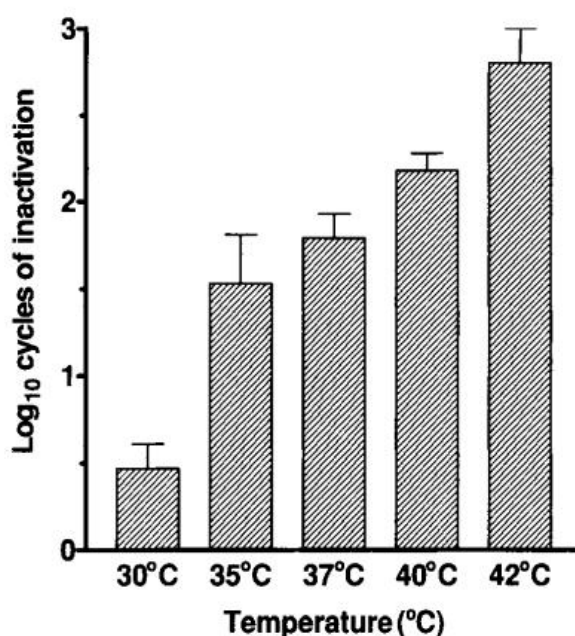
Εικόνα 2.4: Σχέση σχήματος και εύρους ηλεκτρικών παλμών (Puertolas, E. et al, 2012).

2.2.3.5 ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ ΠΑΛΜΩΝ

Έχουν διεξαχθεί μελέτες μικροβιακής απενεργοποίησης με PEF σε συχνότητες κυμαινόμενες από 1 έως 500 Hz. Εάν εφαρμόζεται ο ίδιος αριθμός παλμών, η μικροβιακή αδρανοποίηση είναι γενικά ανεξάρτητη από τον αριθμό των παλμών που εφαρμόζονται ανά δευτερόλεπτο. Με αύξηση της συχνότητας των παλμών μειώνεται βέβαια ο χρόνος επεξεργασίας. Ωστόσο, η αύξηση της συχνότητας μπορεί να αυξήσει την θερμοκρασία του τροφίμου σε επίπεδα πάνω από τα επιθυμητά για μη θερμική κατεργασία (Raso & Heinz, 2006).

2.2.3.6 ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ

Πειραματικά αποτελέσματα έχουν δείξει ότι η θερμοκρασία του τροφίμου κατά την διάρκεια της κατεργασίας με ΠΗΠ έχει επίδραση στην επιβίωση και την ανάκαμψη των μικροοργανισμών. Η επεξεργασία με ΠΗΠ σε μέτριες θερμοκρασίες (50 έως 60 ° C) ευνοεί λόγω συνεργειστικής δράσης την απενεργοποίηση των μικροοργανισμών. Για δεδομένη ένταση ηλεκτρικού πεδίου, η απενεργοποίηση παθογόνων μικροοργανισμών αυξάνει με την αύξηση της θερμοκρασίας επεξεργασίας (Εικόνα 2.5). Δεδομένου ότι η εφαρμογή ενός ηλεκτρικού πεδίου προκαλεί αύξηση της θερμοκρασίας του τροφίμου η κατάλληλη ψύξη του θαλάμου επεξεργασίας είναι απαραίτητη για τον έλεγχο της θερμοκρασίας επεξεργασίας. Οι υψηλές θερμοκρασίες επεξεργασίας επηρεάζουν την ρευστότητα και τη διαπερατότητα της κυτταρικής μεμβράνης, μειώνοντας την μηχανική αντοχή του κυττάρου (Rahman & Ahmed, 2012).



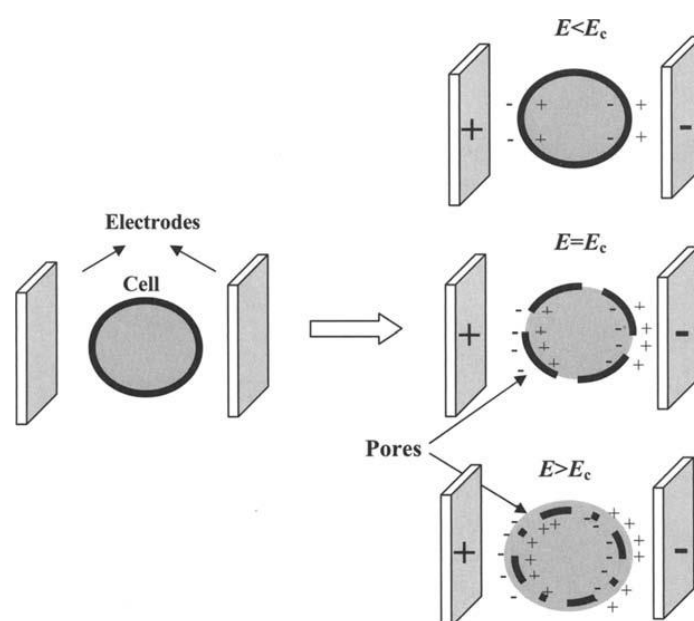
Εικόνα 2.5: Επίδραση της θερμοκρασίας επεξεργασίας στην απενεργοποίηση του *E. Coli* με ΠΗΠ (Raso & Heinz, 2010).

2.2.4 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΠΑΛΜΙΚΩΝ ΗΛΕΚΤΡΙΚΩΝ ΠΕΔΙΩΝ ΣΤΗΝ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΜΕΜΒΡΑΝΗ

Πολλές μελέτες έχουν επικεντρωθεί στην επίδραση του ηλεκτρικού πεδίου σε μικροοργανισμούς. Η έκθεση μικροοργανισμών σε παλλόμενο ηλεκτρικό πεδίο επηρεάζει άμεσα την ακεραιότητα του κυττάρου με ένα μηχανισμό γνωστό ως ηλεκτροδιάτρηση. Είναι γενικά αποδεκτό ότι η ηλεκτροδιάτρηση των κυττάρων προκαλείται από ηλεκτρομηχανική βλάβη της κυτταρικής μεμβράνης λόγω της συμπίεσης που ασκείται από τη συσσώρευση

ελεύθερων φορτίων εκατέρωθεν της μεμβράνης. Αυτή η αστάθεια οδηγεί σε αξιοσημείωτες μορφολογικές μεταβολές στο κυτταρικό περίβλημα και στο κυτταρόπλασμα που ευνοούν την διαρροή κυτταρικού περιεχομένου στο περιβάλλον μέσο, λόγω της δημιουργίας πόρων στην επιφάνεια του κυττάρου. Παρ' όλα αυτά, οι βλάβες που προκαλούνται από το ηλεκτρικό πεδίο δεν είναι πάντα θανατηφόρες για τα κύτταρα. Η έκταση της κυτταρικής διάρρηξης φαίνεται να εξαρτάται από: (α) τον τύπο του μικροοργανισμού, (β) το pH του τροφίμου και (γ) την ένταση των συνθηκών επεξεργασίας με ΠΗΠ αναφορικά με τον χρόνο επεξεργασίας και της έντασης του πεδίου .

Όταν η κατεργασία είναι ήπια οι πόροι ξανακλείνουν άμεσα με αναδιοργάνωση της πλασματικής μεμβράνης, ενώ όταν οι βλάβες είναι εκτενέστερες μπορεί να χρειαστούν πιο σύνθετες μεταβολικές αντιδράσεις όπως σύνθεση λιπιδίων ή σύνθεση πρωτεϊνών (Cullen, Tiwari & Valdramidis, 2012).



Εικόνα 2.6: Γραφική αναπαράσταση της ηλεκτροδιάτρησης (Raso & Heinz, 2010).

2.2.5 ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΤΗΣ ΕΚΧΥΛΙΣΗΣ ΕΝΔΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΥΛΙΚΟΥ

Οι διαθέσιμες μέθοδοι ανάκτησης των ενδοκυτταρικών ενώσεων που χρησιμοποιούνται σήμερα είναι η κατάψυξη-απόψυξη και η εκχύλιση με ισχυρούς οργανικούς διαλύτες. Η αποτελεσματικότητα αυτών των μεθόδων οφείλεται στην αύξηση της διαπερατότητας της μεμβράνης που επηρεάζει τη διαδικασία της εκχύλισης. Εφόσον η κύρια επίδραση των ΠΗΠ στα βιολογικά κύτταρα είναι η ηλεκτροδιάτρηση της κυτταρικής μεμβράνης, η τεχνολογία αυτή θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί αντί των συμβατικών μεθόδων επεξεργασίας.

Η ενίσχυση της διάχυσης διαλυτών ουσιών μέσω της μεμβράνης για την παραλαβή βιοδραστικών συστατικών όπως τα διάφορα μακρομόρια, ενισχυτικά γεύσης, χρωστικές και άλλοι κυτταρικοί μεταβολίτες συγκεντρώνει το ενδιαφέρον όχι μόνο της βιομηχανίας τροφίμων αλλά και αυτής των καλλυντικών ή και των βιοτεχνολογικών εφαρμογών. Η ενισχυμένη εκχύλιση των ενδοκυτταρικών χρωστικών με αντιοξειδωτικές ιδιότητες έπεται από προκατεργασία με ηλεκτρικό πεδίο υψηλής έντασης, αποδείχθηκε μια πολύ αποτελεσματική διαδικασία όσον αφορά την κατανάλωση ενέργειας και χρόνου.

Το κυριότερο πλεονέκτημα της εφαρμογής ΠΗΠ για την ενίσχυση της εκχύλισης ενδοκυτταρικού περιεχομένου είναι η βελτίωση της απόδοσης. Η περιεκτικότητα σε λειτουργικά συστατικά τροφίμων (π.χ. φλαβονοειδή, καροτενοειδή, φαινολικά οξέα) που επιτυγχάνεται με αυτήν τη μέθοδο είναι υψηλότερη, γεγονός που ανταποκρίνεται στις απαιτήσεις των καταναλωτών για υγιεινά τρόφιμα με υψηλότερη διατροφική αξία. Η θετική επίδραση της επεξεργασίας με ΠΗΠ χαμηλής έντασης (1 kV / cm) στην εκχυλισιμότητα της λευκαίνης (κύρια χρωστική τεύτλων) αποδείχθηκε από τους Fincan et al (2004). Σύμφωνα με τους ίδιους, το 90% της ολικής απελευθέρωσης ερυθράς χρωστικής επετεύχθη με κατανάλωση ενέργειας 7 kJ / kg.

Σημαντικό πλεονέκτημα των ΠΗΠ είναι πως καθιστούν εφικτή την επιλεκτική εκχύλιση συστατικών μέσα από πόρους περιορισμένου εύρους διαμέτρων. Καθίσταται έτσι εφικτή όχι μόνο η ανάπτυξη ενός προϊόντος υψηλής ποιότητας αλλά και η περαιτέρω δυνατότητα εκμετάλλευσης του υπολείμματος. Τα βιομηχανικά και γεωργικά υπολείμματα αποτελούν πολύτιμη πηγή φυσικών αντιοξειδωτικών, τα οποία συχνά σπαταλούνται ή διατίθενται ως βελτιωτικά εδάφους, ενώ μπορούν να επεξεργασθούν περαιτέρω για την ανάκτηση πολύτιμων ενδοκυτταρικών ενώσεων.

Η τεχνολογία ΠΗΠ μπορεί ακόμα να χρησιμοποιηθεί για να βελτιώσει την εκχύλιση ενδοκυτταρικών συστατικών από φύκη, μικροφύκη και άλλα υδρόβια είδη. Η επεξεργασία με ΠΗΠ μπορεί να αντικαταστήσει λιγότερο ήπιες μεθόδους όπως η εκχύλιση θερμού ύδατος, η οποία χρησιμοποιείται συνήθως για την παραλαβή βιοδραστικών ουσιών (π.χ. βιταμινών, χρωστικών, μετάλλων και ορμονών). Οι Koehler et al (2005) ανέφεραν αύξηση της περιεκτικότητας κατά 27% για τις πρωτεΐνες, κατά 809% στη χλωροφύλλη και κατά 525% για τα καροτενοειδή σε εκχυλίσματα φυτών (*Chlorella vulgaris*) που έχουν υποστεί επεξεργασία με ΠΗΠ (15 kV / cm) για ειδική ενέργεια 100 kJ / kg. Τα δεδομένα για τα μικροφύκη *Chlorella vulgaris* και *Spirulina platensis* δίνονται στον Πίνακα 2.1 (Vorobiev & Lebonka, 2008).

Πίνακας 2.1: Αύξηση της εκχυλισιμότητας ενδοκυτταρικών ενώσεων από τα μικροφύκη *Chlorella* (Chl.) και *Spirulina* (Spir.) μετά από επεξεργασία της επανενυδατωμένης βιομάζας με ΠΗΠ έντασης 15 kV / cm και ειδικής ενέργειας 100 kJ / kg, επακόλουθης άλεσης και εκχύλισης θερμού ύδατος (Vorobiev & Lebonka, 2008).

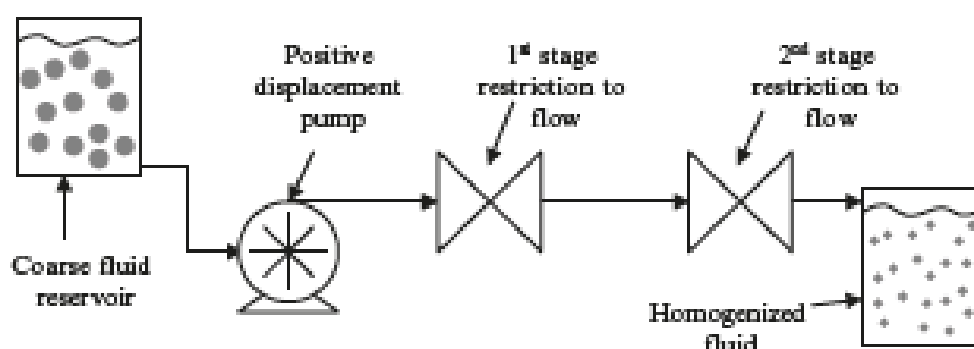
Συστατικό	Chl.	Chl. ΠΗΠ	Αύξηση απόδοσης (%)	Spir.	Spir. ΠΗΠ	Αύξηση απόδοσης (%)

Πρωτεΐνες (g/100 g)	5,48	6,98	+27	33,68	38,12	+13
Χλωροφύλλη (g/100 g)	0,011	0,1	+809	0,17	0,26	+52,9
Καροτενοειδή (g/100 g)	0,008	0,05	+525	0,044	0,11	+150
Πρωτεάσες (Units/100 g)	204,7	707,2	+245,5	864,2	812,5	-94

2.3 ΟΜΟΓΕΝΟΠΟΙΗΣΗ ΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ

2.3.1 ΑΡΧΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ

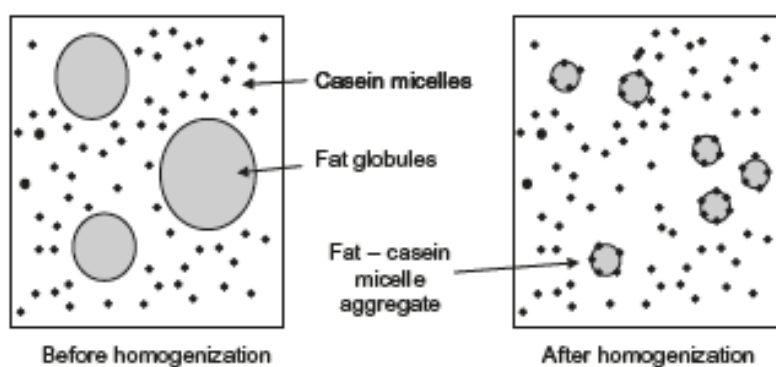
Η ομογενοποίηση παρουσιάστηκε για πρώτη φορά από τον Αύγουστο Gaulin στο Παρίσι το 1900 και από τότε χρησιμοποιήθηκε ευρέως στη βιομηχανία για την παρασκευή αιωρημάτων, τη σταθεροποίηση γαλακτωμάτων ή την παραγωγή προϊόντων με επιθυμητές ρεολογικές ιδιότητες. Ένας τυπικός ομογενοποιητής αποτελείται από μια αντλία θετικής εκτόπισης σε συνδυασμό με έναν ενισχυτή πίεσης, που αναγκάζει το υγρό να διέλθει μέσω της βαλβίδας ομογενοποίησης. Σε οποιοδήποτε τύπο βαλβίδας ομογενοποίησης, το ρευστό ρέει υπό πίεση μέσω ενός συγκλίνοντος τμήματος (έδρα) που προκαλεί την εκτόνωση του. Ως αποτέλεσμα, ένας συνδυασμός μηχανικών δυνάμεων ασκείται στα σταγονίδια και τα διασπά. Η πίεση λειτουργίας ελέγχεται με ρύθμιση της απόστασης μεταξύ της βαλβίδας και της έδρας (Jaiswal & Amit, 2017).



Εικόνα 2.7: Βασικό διάγραμμα ενός συστήματος ομογενοποίησης με βαλβίδα (Balasubramaniam et al, 1997).

2.3.2 ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ

Υπάρχουν διάφοροι τύποι εξοπλισμού Ομογενοποίησης Υψηλής Πίεσης (ΟΥΠ), από εργαστηριακής ως βιομηχανικής κλίμακα. Οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενοι για ερευνητικούς σκοπούς είναι οι εξής: Microfluidizer (Microfluidics International Corporation, USA), Nanojet (Haskel International Inc., USA), Emulsiflex (Avestin, Inc., Canada) και Stansted (Stansted Fluid Power Ltd., UK). Στον τελευταίο η βαλβίδα είναι κατασκευασμένη από κεραμικό υλικό ανθεκτικό σε υψηλές πιέσεις. Στη βαλβίδα Stansted το ρευστό ρέει με μεγάλη ταχύτητα διαμέσου του στενού διακένου μεταξύ του εμβόλου και της έδρας. Το μέγεθος του διακένου και η ταχύτητα που αποκτά το ρευστό λόγω της υψηλής πίεσης εξαρτώνται από τη δύναμη που δρα στο έμβολο της βαλβίδας, η οποία μπορεί να ρυθμιστεί ανάλογα με τις επιθυμητές συνθήκες ομογενοποίησης. Οι μέγιστες πιέσεις που επιτυγχάνονται από τη βαλβίδα Stansted (400 MPa) οφείλονται στο στενό διακένό μεταξύ εμβόλου και έδρας, το οποίο κυμαίνεται μεταξύ 2 μm και 5 μm έναντι 10-30 μm σε συμβατικούς ομογενοποιητές.



Εικόνα 2.8: Η επίδραση της ομογενοποίησης στο κλάσμα λιπών και καζεΐνης στο υγρό γάλα (Balasubramaniam et al, 1997).

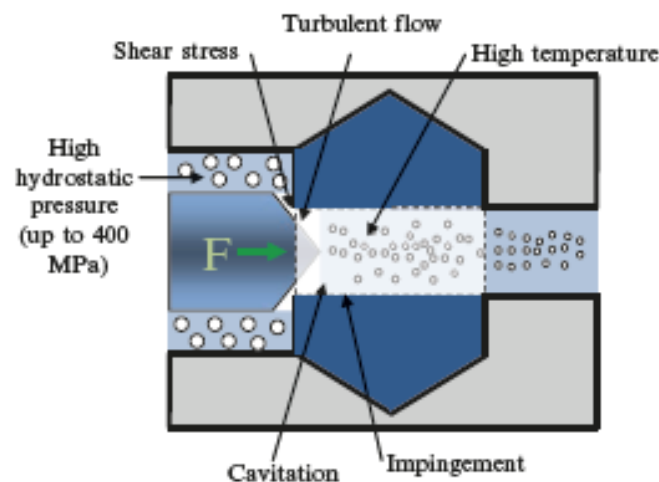
Ενώ η διάταξη αυτή φαντάζει απλή, τα ρευστοδυναμικά φαινόμενα που λαμβάνουν χώρα είναι αρκετά περίπλοκα. Έντονες ενεργειακές μεταβολές λαμβάνουν χώρα στη βαλβίδα ομογενοποίησης, προκαλώντας ισχυρή τυρβώδη ροή, σπηλαίωση και φαινόμενα διάτμησης. Η διαταραχή στην πραγματικότητα παράγεται στο στενό κενό της βαλβίδας όταν προκαλείται παραμόρφωση πέρα από ένα κρίσιμο επίπεδο από τις έντονες δυνάμεις διάτμησης και την επιμήκη ροή. Η σπηλαίωση είναι ο σχηματισμός κοιλοτήτων λόγω της τοπικής εξάτμισης του υγρού υπό συνθήκες πίεσης χαμηλότερες από την τάση ατμών του. Όταν οι κοιλοότητες βρίσκουν μια περιοχή υψηλής πίεσης, καταρρέουν βίαια, προκαλώντας ισχυρές δονήσεις που κατακερματίζουν τα σταγονίδια της διεσπαρμένης φάσης. Η τυρβώδης ροή εμφανίζεται όταν ένα ρευστό ρέει με μεγάλη ταχύτητα πάνω σε μια επιφάνεια. Λόγω της τραχύτητας της επιφάνειας και της υψηλής ταχύτητας του ρευστού, οι ροϊκές γραμμές δεν ακολουθούν πλέον το σχήμα της επιφάνειας, αλλά αποκλίνουν από αυτήν, με αποτέλεσμα το σχηματισμό στροβίλων που αλληλεπιδρούν μεταξύ τους προκαλώντας ακανόνιστη κίνηση των σωματιδίων του ρευστού. Αυτή η κίνηση του ρευστού οδηγεί στη διάσπαση της διεσπαρμένης φάσης σε μικρά σταγονίδια τα οποία μπορούν να συγκρουστούν μεταξύ τους, καταλήγοντας μερικές φορές σε συνένωση. Συνήθως, επιτυγχάνεται δυναμική ισορροπία μεταξύ θραύσης και συνένωσης.

Τα φαινόμενα που αναφέρθηκαν διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην λειτουργία όλων των τύπων ομογενοποιητών υψηλής πίεσης. Μεγαλύτερη ομοιότητα με την βαλβίδα

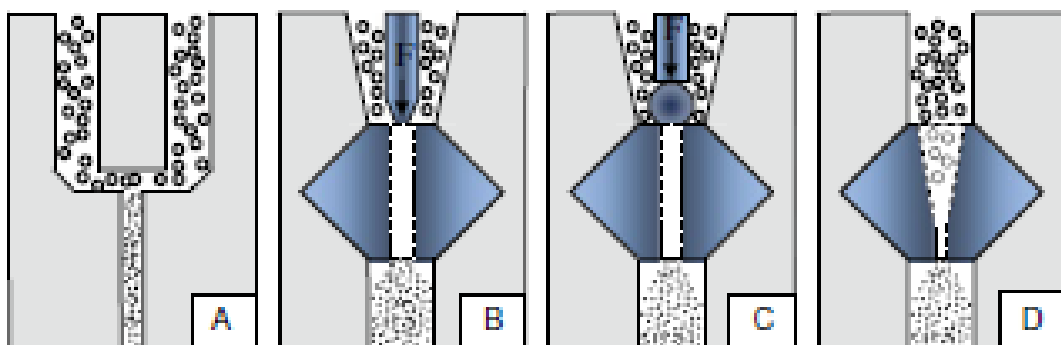
εμβόλου-έδρας παρουσιάζει η βαλβίδα σφαιρας- έδρας. Το μόνο διαφορετικό σε αυτήν τη διάταξη είναι το στέλεχος που αξιοποιείται για το πέρασμα του υγρού μέσα από το στενό διάκενο, που είναι μια κεραμική σφαίρα.

Κάποιοι ομογενοποιητές διαθέτουν ένα ή δύο ακροφύσια αντί για βαλβίδα. Οι ομογενοποιητές με ακροφύσια αναπτύχθηκαν αρχικά για εφαρμογές υδροκοπής. Στην διάταξη αυτή, μια αντλία υψηλής πίεσης συνδέεται με έναν εξασθεניתή για τη μείωση των διακυμάνσεων της πίεσης και η ομογενοποίηση επιτυγχάνονται στο στόμιο του ακροφυσίου, το λεγόμενο "κόσμημα" (jewel), που είναι κατασκευασμένο από ρουμπίνι, ζαφίρι ή διαμάντι (2.10.δ και 2.11.α). Το στόμιο του ακροφυσίου έχει διάμετρο μικρότερη των 0,35 mm και το είδος του πολύτιμου λίθου εξαρτάται από τη μέγιστη απαιτούμενη πίεση και διάρκεια ζωής του ακροφυσίου, με το διαμάντι να είναι η πιο ανθεκτική και ακριβή επιλογή. Στην διάταξη του ακροφυσίου, η πίεση ομοιογενοποίησης ρυθμίζεται από την αντλία ή από μια εκτροπή στη ροή.

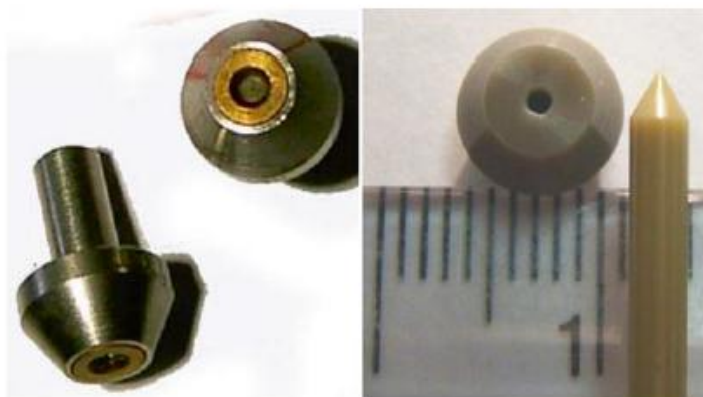
Στου ομογενοποιητές τύπου μικρορευστών η ροή διαιρείται σε δύο ή περισσότερα κανάλια που επανααναμιγνύονται σε ένα μόνο ρεύμα ροής. Λόγω της υψηλής πίεσης που αναπτύσσεται από την αντλία τα δύο ρεύματα διασταυρώνονται με μεγάλες αντίθετες ταχύτητες με αποτέλεσμα την εμφάνιση υψηλών διατμητικών τάσεων, τυρβώδους ροής και σπηλαιώσης κατά την ανάμιξη τους σε ένα κοινό ρεύμα (Balasubramaniam et al, 1997).



Εικόνα 2.9: Γραφική αναπαράσταση των φαινομένων που λαμβάνουν χώρα ταυτόχρονα κατά την ομογενοποίηση ενός ρευστού (Balasubramaniam et al, 1997).



Εικόνα 2.10: Κοινές βαλβίδες ομογενοποίησης υψηλής πίεσης: (α) microfluidics, β) κεραμικό έμβολο και έδρα γ) κεραμική σφαίρα και έδρα δ) ακροφύσιο από διαμάντι, ζαφείρι ή ρουμπίνι (Το σύμβολο F αναφέρεται στη δύναμη που ασκείται στο έμβολο ή τη σφαίρα).
(Balasubramaniam et al, 1997)



Εικόνα 2.11: α) Ακροφύσια διαμαντιού υψηλής πίεσης ομογενοποίησης και β) κεραμική βαλβίδα εμβόλου- έδρας (Balasubramaniam et al, 1997).

2.3.3 ΜΕΤΑΒΟΛΗ ΤΗΣ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ

Η τεχνολογία ομογενοποίησης υψηλής πίεσης (ΟΥΠ) μπορεί να θεωρηθεί ως εναλλακτική λύση σε θερμικές επεξεργασίες. Ωστόσο κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας, παρατηρείται γραμμική αύξηση της θερμοκρασίας με την αύξηση της πίεσης ομογενοποίησης για σταθερή θερμοκρασία εισόδου. Η αύξηση της θερμοκρασίας οφείλεται στην αδιαβατική θέρμανση που παράγεται από την ιζώδη τάση καθώς το υγρό διέρχεται με μεγάλη ταχύτητα από τη βαλβίδα ομογενοποίησης κατά τη διάρκεια της κατεργασίας. Έτσι, η κινητική ενέργεια μετατρέπεται σε θερμική από τα φαινόμενα που περιγράφηκαν παραπάνω, και η θερμοκρασία του ρευστού αυξάνεται. Οι Pereda et al (2007) ανέφεραν αύξηση κατά $19,5^{\circ}\text{C}$ ανά 100 MPa από 100 έως 300 MPa για θερμοκρασία εισόδου του ρευστού 40°C , χρησιμοποιώντας εξοπλισμό Stansted FPG11300. Αυτό το αποτέλεσμα συμφωνεί με αυτά που περιγράφονται από τους Thiebaud et al (2003), οι οποίοι ανέφεραν αύξηση κατά $18,5^{\circ}\text{C}$ στο ίδιο εύρος πίεσης για θερμοκρασία εισόδου 24°C . Οι Donsi et al (2009) ανέφεραν γραμμική αύξηση 18°C ανά 100 MPa , εφαρμόζοντας πίεση 250 MPa σε θερμοκρασία εισόδου 2°C , ενώ ο Serra (2008) περιγράφει αύξηση $19,5^{\circ}\text{C}$ ανά 100 MPa , εφαρμόζοντας πιέσεις $100, 200$ και 300 MPa για θερμοκρασία εισόδου 30°C . Όλες αυτές οι μελέτες πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας εξοπλισμό Stansted Fluid Power. Η προκύπτουσα αύξηση της θερμοκρασίας στη βαλβίδα υψηλής πίεσης μπορεί να φθάσει σε θερμοκρασίες υψηλότερες από 120°C . Ο χρόνος παραμονής σε υψηλή θερμοκρασία εκτιμήθηκε ότι είναι μικρότερος από 1 δευτερόλεπτο. Ως εκ τούτου, τα υγρά επεξεργασμένα με τεχνολογία ΗΡΗ υφίστανται συνδυασμένη επίδραση της πίεσης και της θερμοκρασίας σε χαμηλό χρόνο παραμονής, ελαχιστοποιώντας τη θερμική αλλοίωση του προϊόντος (Jaiswal & Amit, 2017).

2.3.4 ΕΠΔΡΑΣΗ ΟΜΟΓΕΝΟΠΟΙΗΣΗΣ ΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΣΕ ΕΝΖΥΜΑ

Μελέτες σχετικές με την ομογενοποίηση υψηλής πίεσης έδειξαν μπορεί να επηρεάσει την ενεργότητα και τη σταθερότητα των ενζύμων και άλλων μακρομορίων. Οι περισσότερες από τις μελέτες εφαρμογής ΟΥΠ σε ένζυμα πραγματοποιήθηκαν προκειμένου να αδρανοποιηθούν τα ανεπιθύμητα ένζυμα σε επεξεργασμένα τρόφιμα. Μερικές μελέτες έχουν επίσης αξιολογήσει την επίδραση της ΟΥΠ σε ένζυμα με αντιμικροβιακή λειτουργία, όπως λυσοζύμη, λακτοϋπεροξειδάση και λακτοφερρίνη. Τα αποτελέσματα έδειξαν αυξημένη αντιμικροβιακή δράση της λυσοζύμης και της γαλακτοϋπεροξειδάσης στα 75 MPa και στα 100 MPa.

Άλλες μελέτες έχουν αξιολογήσει την επίδραση της ΟΥΠ στα ενδογενή ένζυμα του γάλακτος, όπως η πλασμίνη, η λιπάση και η αλκαλική φωσφατάση. Όσον αφορά την πλασμίνη, δεν παρατηρήθηκε μείωση από κατεργασία σε πίεση μέχρι 200 MPa. Για τη λιπάση παρατηρήθηκε αύξηση κατά 140% στα 200 MPa για θερμοκρασία εισόδου 10 ° C και απενεργοποίηση στα 200 MPa σε θερμοκρασία εξόδου υψηλότερη από 71 ° C. Για την αλκαλική φωσφατάση, η ομογενοποίηση με θερμοκρασία εισόδου 24 ° C σε πιέσεις 100-170 MPa ενεργοποίησε το ένζυμο ενώ στα 300 MPa το αδρανοποίησε κατά 94%. Στα 200 MPa και για ευρός θερμοκρασιών εισόδου 15-50 ° C, δεν παρατηρήθηκε μείωση της ενζυμικής δραστηριότητας από 10 έως 15 ° C, η κατεργασία αδρανοποίησε το ένζυμο ενζύμων σε θερμοκρασίες μέχρι 45 ° C. Η αλκαλική φωσφατάση αδρανοποιήθηκε και για θερμοκρασίες εισόδου μεγαλύτερες των 45 ° C αλλά αυτό αποδίδεται στην υψηλή θερμοκρασία εξόδου (>75 ° C).

Επιπλέον, ορισμένοι συγγραφείς μελέτησαν την παραγωγή τυριού από το γάλα που κατεργάστηκε με ΟΥΠ στα 100 MPa και ανέφεραν αύξηση της ενεργότητας των πρωτεολυτικών και λιπολυτικών ενζύμων που υπάρχουν στο γάλα ή παράγονται από μικροοργανισμούς, μεταβολή του χρώμα και του άρωμα (Grumezescu, 2018).

2.3.5 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΟΜΟΓΕΝΟΠΟΙΗΣΗΣ ΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΣΕ ΚΥΤΤΑΡΑ ΜΑΓΙΑΣ

Η ομογενοποίηση υψηλής πίεσης (ΟΥΠ) χρησιμοποιείται κυρίως για διαδικασίες γαλακτωματοποίησης στη βιομηχανία γαλακτωκωμικών. Η πρώτη προσπάθεια να χρησιμοποιηθεί η ΟΥΠ για διάρρηξη μικροοργανισμών ξεκινούν τη δεκαετία του 1930, με μερικές πρωτοποριακές μελέτες του Engler (1979, 1985). Οι Brookman (1974) και Middelberg (1993) διερεύνησαν τη χρήση της ΟΥΠ για τη διάσπαση κυττάρων ζύμης. Κατά την ομογενοποίηση τα κύτταρα υποβάλλονται σε φαινόμενα σπηλαιώσης, και πρόσκρουσης με υψηλή ταχύτητα κατά τη διέλευση τους από τη βαλβίδα ομογενοποίησης και το στόμιο του ακροφυσίου. Επίσης οι διατμητικές τάσεις που αναπτύσσονται έχουν σημαντική επίδραση στη διάρρηξη των κυττάρων ιδιαίτερα για τις ζύμες. Η κυτταρική διάρρηξη σε ομογενοποιητή υψηλής πίεσης επιτυγχάνεται κανονικά με την αύξηση της πίεσης των κυτταρικών αιωρημάτων και στη συνέχεια της εκτόνωσης τους μέσα από την βαλβίδα ομογενοποίησης. Επομένως, ο σχεδιασμός της βαλβίδας έχει σημαντική επίδραση

στη διάρρηξη των κυττάρων, ωστόσο, οι Siddiqi, Titchener-Hooker και Shamlou (1997) έδειξαν ότι στην περίπτωση των κυττάρων μαγιάς αρτοποιίας σε έναν ομογενοποιητή υψηλής πίεσης, η κατανομή μεγέθους σωματιδίων και η απελευθέρωση των συνολικών πρωτεϊνών είναι ανεξάρτητα από την κλίμακα λειτουργίας και το σχεδιασμό της βαλβίδας. Οι Ekreni, Benyounis και Nkem-Ekreni (2015) χρησιμοποίησαν ομογενοποιητή GYB40-10S, ο οποίος φτάνει σε πίεση τα 1000 bar με βαλβίδες ομογενοποίησης δύο σταδίων και πέτυχαν υψηλή απόδοση παραγωγής ενέργειας χρησιμοποιώντας μαγιά ως βιομάζα. Τέλος Οι Shyngaryk et al. (2009) έδειξαν ότι η απελευθέρωση ιοντικών συστατικών, ενζύμων, πρωτεϊνών και άλλων βιοδραστικών ενώσεων αυξήθηκε δραματικά με αύξηση της εφαρμοζόμενης πίεσης και του αριθμού των διελεύσεων κατά την επεξεργασία με ΟΥΠ (Liu et al, 2016).

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.1 ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η μελέτη της επίδρασης της προκατεργασίας με μη θερμικές διεργασίες και των συνθηκών θερμοκρασίας-pH στην διαδικασία της αυτόλυσης της μαγιάς και στα χαρακτηριστικά του προκύπτοντος εκχυλίσματος μαγιάς. Στόχος είναι βελτίωση της αυτόλυσης ως προς την ταχύτητα και την απόδοση.

3.2 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ

3.2.1 ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΒΕΛΤΙΣΤΩΝ ΣΥΝΘΗΚΩΝ pH ΚΑΙ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΣ ΓΙΑ ΤΗ ΔΙΕΝΕΡΓΕΙΑ ΤΗΣ ΑΥΤΟΛΥΣΗΣ

3.2.1.1 ΑΝΑΣΥΣΤΑΣΗ ΤΗΣ ΜΑΓΙΑΣ

Για την διενέργεια των πειραμάτων χρησιμοποιήθηκε ξηρή μαγιά της βιομηχανίας ΓΙΩΤΗΣ (ΓΙΩΤΗΣ Α.Ε, Περιστερί, Αττική, Ελλάδα). Για τον μερικό καθαρισμό από προσμίξεις πραγματοποιήθηκε ανασύσταση της μαγιάς σε αποστειρωμένο απιονισμένο νερό υπό ανάδευση σε στείρες συνθήκες εντός θαλάμου στρωτής ροής. Για την παρασκευή αιωρήματος μαγιάς 10 % W/W , 100 g ξηρής μαγιάς προστέθηκαν σε 900 g νερού εντός κωνικής φιάλης 1 L. Το αιώρημα αφέθηκε να αναδευθεί για 30 min για να ενυδατωθεί πλήρως η μαγιά. Η ίδια διαδικασία πραγματοποιείται για την παρασκευή του αιωρήματος που προορίζεται για προκατεργασία με μη θερμικές διεργασίες πριν την αυτόλυση που περιγράφεται στις ενότητες 3.2.2 και 3.2.3.

Στη συνέχεια το αιώρημα ισομοιράστηκε εντός φιαλιδίων φυγοκέντρου των 60 ml και φυγοκεντρήθηκε για 10 min με φυγόκεντρο επιτάχυνση 6500 · g σε φυγόκεντρο ThermoScientificHeareusMegafuge 16R (ThermoFisherScientific, Waltham, Massachusetts, UnitedStatesofAmerica). Μετά τη φυγοκέντρηση το υπερκείμενο ρευστό ζυγίστηκε και απορρίφθηκε ενώ το ίζημα της μαγιάς αποθηκεύτηκε στα πωματισμένα φιαλίδια φυγοκέντρου. Τόσο η μετάγγιση του αιωρήματος όσο και η απόρριψη του υπερκείμενου ρευστού πραγματοποιήθηκαν σε στείρες συνθήκες εντός θαλάμου στρωτής ροής.

3.2.1.2 ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΩΝ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ

Για την μελέτη της επίδρασης του pH του μέσου εκχύλισης στην αυτόλυση παρασκευάζεται σειρά ρυθμιστικών διαλυμάτων. Για το σκοπό αυτό αρχικά παρασκευάζονται διαλύματα κιτρικού οξέος ($C_6H_8O_7$) 0,1 M και μονόξινου φωσφορικού νατρίου (Na_2HPO_4) 0,2M. Για το διάλυμα μονόξινου φωσφορικού νατρίου 0,2 M, ξηρή κόνις Na_2HPO_4 διαλύεται σε απιονισμένο νερό υπό ανάδευση με αναλογία μαζών $\frac{Na_2HPO_4}{H_2O} = \frac{1}{34,2}$. Ενώ για το διάλυμα κιτρικού οξέος 0,1 M, κόνις ένυδρου κιτρικού οξέος διαλύεται σε απιονισμένο νερό με αναλογία μαζών $\frac{C_6H_8O_7}{H_2O} = \frac{1}{47,6}$.

Στην συνέχεια τα δύο διαλύματα αναμιγνύονται σε κατάλληλες αναλογίες ώστε να προκύψουν 400 ml ρυθμιστικού διαλύματος pH 4, pH 5,5, pH 7, pH 8. Μετά την παρασκευή τους τα ρυθμιστικά διαλύματα αποστειρώνονται

3.2.1.3 ΑΝΑΣΥΣΤΑΣΗ ΤΗΣ ΜΑΓΙΑΣ ΣΕ ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΟ ΔΙΑΛΥΜΑ

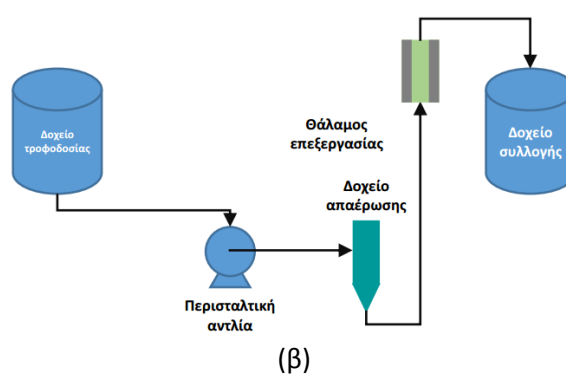
Για την παρασκευή αιωρήματος σταθερού pH χρησιμοποιείται η μαγιά που μένει σε κάθε φιαλίδιο φυγοκέντρου μετά τη διαδικασία που περιγράφηκε στην υποενότητα 3.2.1.1. Το ίζημα αναδιαλύεται σε ποσότητα αποστειρωμένου ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικού-κιτρικού ίση με την ποσότητα υπερκείμενου ρευστού που απορρίπτεται κατά το στάδιο του καθαρισμού. Τα φιαλίδια αναδεύονται επαρκώς και το αιώρημα μαγιάς 10 % W/W σταθερού pH που προκύπτει συλλέγεται σε δυο αποστειρωμένους περιέκτες με πώμα. Η διαδικασία πραγματοποιείται για όλα τα ρυθμιστικά διαλύματα που περιγράφονται στην ενότητα 3.2.1.2 σε στείρες συνθήκες για να προκύψουν αιωρήματα με σταθερό pH 4, pH 5,5 pH 7 και pH 8.

3.2.2 ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΑΙΩΡΗΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ 10 % W/W ΣΕ ΜΟΝΑΔΑ ΠΑΛΜΙΚΩΝ ΗΛΕΚΤΡΙΚΩΝ ΠΕΔΙΩ

Για την διεξαγωγή των πειραμάτων με την τεχνολογία των Παλμικών Ηλεκτρικών Πεδίων (ΠΗΠ) χρησιμοποιήθηκε ο εξοπλισμός ELCRACK-5KW (DIL, Quakenbruck, Γερμανία). Το σύστημα έχει τη δυνατότητα επεξεργασίας δειγμάτων τόσο σε θάλαμο συνεχούς έργου όσο και σε θάλαμο διαλείπνοτος έργου. Η γεννήτρια υψηλής τάσης του συστήματος παράγει ορθογώνιους, διπολικούς παλμούς με μέγιστη τάση εξόδου 24 kV και μέγιστη συχνότητα 400 Hz.



(α)



(β)

Εικόνα 3.1: (α) Μονάδα παλμικών ηλεκτρικών πεδίων Elcrack-5kW (DIL, Quakendruck, Germany). (β) Σχηματική απεικόνιση της πειραματικής διάταξης που χρησιμοποιήθηκε για την επεξεργασία αιωρημάτων μαγιάς με ΠΗΠ.

Το δείγμα που επεξεργάζεται είναι αιώρημα μαγιάς $10 \% W/W$ που η παρασκευή του περιγράφεται στην ενότητα 3.2.1.1. Κατά την επεξεργασία του το αιώρημα διέρχεται από κυψελίδα παράλληλων πλακών συνεχούς λειτουργίας. Για την επίτευξη συνεχούς λειτουργίας χρησιμοποιείται περισταλτική αντλία και σύστημα σωληνώσεων μικρής διαμέτρου. Το δείγμα παραλαμβάνεται μέσω του συστήματος διακίνησης ρευστών από κωνική φιάλη 1L όπου βρίσκεται ως ακατέργαστο δείγμα, και εναποτίθεται, μετά το πέρας της επεξεργασίας, σε πωματιζόμενο περιέκτη, όπου και αποθηκεύεται για περαιτέρω επεξεργασία. Η διάταξη περιλαμβάνει επίσης ένα μικρό δοχείο απαέρωσης για την εξάλειψη φυσαλίδων από το θάλαμο επεξεργασίας, οι οποίες μπορεί να προκαλέσουν σπινθήρα κατά την επεξεργασία. Οι παράμετροι επεξεργασίας που διατηρήθηκαν σταθερές για όλες τις επεξεργασίες ήταν το εύρος παλμού (15 μs), η απόσταση των ηλεκτροδίων (0.4 cm) και η ογκομετρική παροχή (120 mL/min). Για την επίτευξη διαφορετικών συνθηκών επεξεργασίας, οι παράμετροι που μεταβάλλονταν ήταν η συχνότητα των παλμών και η ένταση του ηλεκτρικού πεδίου.

Για την αποφυγή των επιμολύνσεων κατά την επεξεργασία προηγήθηκε κυκλοφορία αποστειρωμένου θερμού νερού και στη συνέχεια διαλύματος αιθανόλης 70 % στο σύστημα ΠΗΠ. Επίσης τόσο η κωνική φιάλη με το ακατέργαστο όσο και ο περιέκτης με το κατεργασμένο δείγμα βρίσκονταν καθ'όλη τη διάρκεια της επεξεργασίας εντός θαλάμου στρωτής ροής για την επίτευξη στείρων συνθηκών.

Για την μελέτη της επίδρασης των ΠΗΠ στο εκχύλισμα επιλέχθηκαν τρεις διαφορετικές συνθήκες τέτοιες ώστε να αποδώσουν έναν χαμηλό, ένα μέσο και ένα υψηλό δείκτη κυτταρικής διάρρηξης (Z). Η ειδική ενέργεια (W_{sp}) εκφράζει την ηλεκτρική ενέργεια που προσφέρεται στο δείγμα ανά μονάδα μάζας (kJ/kg). Οι συνθήκες που επιλέχθηκαν για την επεξεργασία με παλμικά ηλεκτρικά πεδία φαίνονται στον πίνακα 3.2.

Πίνακας 3.2 Ένταση ηλεκτρικού πεδίου και αριθμός παλμών τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με παλμικά ηλεκτρικά πεδία.

Κωδικός	E [kV/cm]	np [-]	W_{sp} [kJ/kg]
PEF 1	7,5	4	2,8
PEF 2	18,0	4	19,8
PEF 3	15,5	20	79,5

3.2.3 ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΑΙΩΡΗΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ 10 % w/w ΣΕ ΜΟΝΑΔΑ ΟΜΟΓΕΝΟΠΟΙΗΣΗΣ ΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ

Η επεξεργασία του αιωρήματος μαγιάς 10 % w/w , όπως παρασκευάζεται σύμφωνα με την ενότητα 3.2.1.1, πραγματοποιείται σε ομογενοποιητή υψηλής πίεσης SPXAPV 1000 (SPX Corporation, Charlotte, North Carolina, United States of America). Η μονάδα αποτελείται κυρίως από μια αντλία θετικής εκτόπισης και μια κεραμική βαλβίδα έδρας- εμβόλου. Στην έξοδο του ομογενοποιητή τοποθετείται σπειροειδές μεταλλικό τμήμα μέσα σε νερό με πάγο για την ψύξη του κατεργασμένου δείγματος. Επιπλέον για την ψύξη του δείγματος κατά την έξοδό του από τον ομογενοποιητή χρησιμοποιήθηκε σπειρωτός σωλήνας από ανοξείδωτο χάλυβα βυθισμένος σε παγόλουτρο. Το σύστημα των σωληνώσεων καθαρίζεται και σε αυτή τη διάταξη με την κυκλοφορία νερού και στη συνέχεια απολυμαίνεται με την κυκλοφορία αιθανόλης 70% μέσα απ' αυτό.



Εικόνα 3.2: Ομογενοποιητής υψηλής πίεσης SPX APV 1000 (SPX APV Lab Series Homogenisers, 2012)

Η ομογενοποίηση έλαβε χώρα σε ένα εύρος πιέσεων. Για κάθε πίεση που επιλέχθηκε πραγματοποιήθηκαν περισσότερα από ένα περάσματα του δείγματος από τον

ομογενοποιητή. Η πίεση που εφαρμόστηκε και ο αντίστοιχος αριθμός περασμάτων για την κάθε συνθήκη παρουσιάζεται στον παρακάτω πίνακα. Οι συνθήκες στις οποίες πραγματοποιήθηκε η επεξεργασία επιλέχθηκαν με βάση τη μέτρηση του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης (Ενότητα 4.2.1).

Πίνακας 3.3 Πίεση ομογενοποίησης και αριθμός(n_{pa}) περασμάτων για τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με ομογενοποίηση υψηλής πίεσης.

Κωδικός	P [bar]	n_{pa} [-]
control	0	0
200/1	200	1
200/3	200	3
500/1	500	1
800/1	800	1
500/3	500	3
800/3	800	3

3.3 ΜΕΤΡΗΣΗ ΑΓΩΓΙΜΟΤΗΤΑΣ – ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΔΕΙΚΤΗ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΔΙΑΡΡΗΞΗΣ (Z)

Ένας δείκτης για τον υπολογισμό του βαθμού στον οποίον τα κύτταρα της μαγιάς έχουν διαρραγεί, μετά την προκατεργασία, είναι ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης (Z). Ο βαθμός της κυτταρικής διάρρηξης συσχετίζεται με την απελευθέρωση στο περιβάλλον διάλυμα των κυττάρων μαγιάς συστατικών από το κυτταρόπλασμα, τα οποία φέρουν φορτίο. Επομένως, ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης (Z) μπορεί να συσχετισθεί με την 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 αγωγιμότητας (σ) του αιωρήματος μαγιάς, η οποία οφείλεται στην απελευθέρωση αγώγιμων συστατικών από το εσωτερικό του κυττάρου, λόγω εφαρμογής της πίεσης, και είναι ένα άμεσα μετρούμενο μέγεθος.

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

$$Z = \frac{\sigma - \sigma_{UT}}{\sigma_{max} - \sigma_{UT}}$$

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

σ : η ειδική ηλεκτρική αγωγιμότητα του δείγματος [$\mu\text{S}/\text{cm}$]

σ_{UT} : η ειδική ηλεκτρική αγωγιμότητα του ανεπεξεργαστου δείγματος [$\mu\text{S}/\text{cm}$]

σ_{max} : η μέγιστη ειδική ηλεκτρική αγωγιμότητα που παρατηρήθηκε [$\mu\text{S}/\text{cm}$]

Η μέτρηση της ειδικής αγωγιμότητας των αιωρημάτων πραγματοποιήθηκε με αγωγιμόμετρο HANNA HI8733 Multi-range EC Meter (United States of America).

Σύμφωνα με την παραπάνω σχέση, ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης (Z) λαμβάνει τιμές από 0, οπότε δεν πραγματοποιείται 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 σημειώνεται μέγιστη διάρρηξη των κυττάρων μαγιάς, δηλαδή η ειδική αγωγιμότητα λαμβάνει μέγιστη τιμή ($\sigma = \sigma_{max}$).

Για την μέτρηση της ειδικής αγωγιμότητας (σ) στο αιώρημα μαγιάς μεταφέρονται, με την βοήθεια σιφωνίου μετρήσεως, 3 mL δείγματος εντός δοκιμαστικών σωλήνων (100 x 12 mm). Κατόπιν, βυθίζεται εντός του περιεχομένου δείγματος το ηλεκτρόδιο του αγωγιμομέτρου HANNA HI8733 Multi-range EC Meter (HANNA Instruments, Woonsocket, Rhodelsland, United States of America) και καταγράφεται η ειδική αγωγιμότητα (σ) που εμφανίζεται στην οθόνη του οργάνου.

Ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης χρησιμοποιείται συχνά σε μελέτες διεργασιών που προκαλούν μεταβολές στη διαπερατότητα των κυττάρων και αποτελεί ένα μέτρο για τη μέτρηση της αποτελεσματικότητας αυτών. Στη συγκεκριμένη εργασία, ο δείκτης Z χρησιμοποιήθηκε για την επιλογή των συνθηκών επεξεργασίας τόσο για τα ΠΗΠ όσο και για την ΟΥΠ.

3.4 ΑΥΤΟΛΥΣΗ ΤΗΣ ΜΑΓΙΑΣ

Σε αποστειρωμένο περιέκτη των 250 mL με πώμα μεταφέρονται, σε στείρες συνθήκες εντός θαλάμου στρωτής ροής, με την βοήθεια αποστειρωμένου ογκομετρικού κυλίνδρου, 160 mL αιωρήματος μαγιάς 10 % W/W , ανεπεξέργαστο ή επεξεργασμένο με τις τεχνολογίες που αναφέρθηκαν στα κεφάλαια 3.4 και 3.5.1. Κατόπιν, παραλαμβάνονται από την κωνική φιάλη, με την βοήθεια αποστειρωμένου σιφωνίου μετρήσεως, 15 mL δείγματος (χρόνος αυτόλυσης: 0 h), τα οποία μεταφέρονται εντός πλαστικών κωνικών σωληναρίων Falcon® για περεταίρω επεξεργασία. Έπειτα, ο περιέκτης πωματίζεται και τοποθετείται εντός υδατόλουτρου, το οποίο λειτουργεί στους 52 °C, υπό συνεχή ανάδευση. Οι περιέκτες με το αιώρημα μαγιάς παραμένουν υπό συνεχή ανάδευση (180 rpm) εντός του υδατόλουτρου για 48 h, χρονικό διάστημα κατά το οποίο λαμβάνει χώρα η αυτόλυση της μαγιάς. Ανά τακτά χρονικά διαστήματα λαμβάνονται, με την βοήθεια αποστειρωμένου σιφωνίου μετρήσεως, 15 mL δείγματος, τα οποία μεταφέρονται εντός πλαστικών κωνικών σωληναρίων Falcon® για περεταίρω επεξεργασία. Για τα αιωρήματα σταθερού pH που περιγράφηκαν στην ενότητα 3.2.1.3 η ίδια διαδικασία πραγματοποιείται στους 42°C και 62 °C.

3.5 ΠΑΡΑΛΑΒΗ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ

Τα δείγματα τα οποία παραλαμβάνονται κατά την διάρκεια της αυτόλυσης της μαγιάς και τοποθετούνται εντός πλαστικών κωνικών σωληναρίων Falcon® φυγοκεντρώνται, για 10 min με φυγόκεντρο επιτάχυνση ίση με $6500 \cdot g$, όπου g η επιτάχυνση της βαρύτητας, με την βοήθεια μιας φυγοκέντρου Thermo Scientific Heareus Megafuge 16R (*ThermoFisher Scientific, Waltham, Massachusetts, United States of America*).

Κατόπιν, το υπερκείμενο ρευστό που αποτελεί το εκχύλισμα μαγιάς για διάφορους χρόνους αυτόλυσης, μεταφέρεται εντός πλαστικού κωνικού σωληναρίου Falcon® και τοποθετείται στην κατάψυξη ($-23 \text{ }^{\circ}\text{C}$) έως ότου έλθει η ώρα της διεξαγωγής μετρήσεων επ' αυτού.



Εικόνα 3.3: Εργαστηριακή φυγόκεντρος Thermo Scientific Heareus Megafuge 16R

3.6 ΜΕΤΡΗΣΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΣΥΝΘΗΚΩΝ ΑΥΤΟΛΥΣΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΠΡΟΚΑΤΕΡΓΑΣΪΑΣ ΤΗΣ ΜΑΓΙΑΣ ΣΤΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ

3.6.1 ΜΕΤΡΗΣΗ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ

Οι πρωτεΐνες που περιέχονταν στα δείγματα εκχυλίσματος μαγιάς μετρήθηκαν με δύο μεθόδους. Η πρώτη μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε ήταν η μέθοδος Lowry, με την οποίαν μετρείται η συγκέντρωση των συνολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς (Lowry, Rosenbrough, Farr, & Randall, 1951). Η δεύτερη μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε ήταν η μέθοδος μετρήσεως ελεύθερου αμινικού άζωτου (*Free Amino Nitrogen, FAN*), με την οποίαν

μετρείται η συγκέντρωση των ελεύθερων αμινοξέων και των ολιγοπεπτιδίων (μονο-, δι- και τριπεπτιδίων) στο δείγμα (Lekkas, Stewart, Hill, Taidi, & Hodgson, 2005).

3.6.1.1 ΜΕΤΡΗΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ LOWRY

Αρχικά, παρασκευάζεται το διάλυμα Lowry. Για την παρασκευή του διαλύματος Lowry, παρασκευάζονται πρώτα τρία διαλύματα:

- Διάλυμα Α: ρυθμιστικό διάλυμα

Εντός υάλινης ογκομετρικής φιάλης των 250 mL μεταφέρονται 1 g $NaOH$ και 5 g Na_2CO_3 . Η ογκομετρική φιάλη γεμίζεται με απιονισμένο νερό, μέχρι την χαραγή, και ανακινείται, έως ότου διαλυθούν τα περιεχόμενα στερεά.

- Διάλυμα Β: υδατικό διάλυμα τρυγικού καλιονατρίου συγκέντρωσης 20 mg/mL

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

- Διάλυμα Γ: υδατικό διάλυμα θεικού χαλκού συγκέντρωσης 10 mg/mL

Εντός υάλινης ογκομετρικής φιάλης των 50 mL μεταφέρονται 0,5 g $CuSO_4$. Η ογκομετρική φιάλη γεμίζεται με απιονισμένο νερό, μέχρι την χαραγή, και ανακινείται, έως ότου διαλυθεί το περιεχόμενο άλας.

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

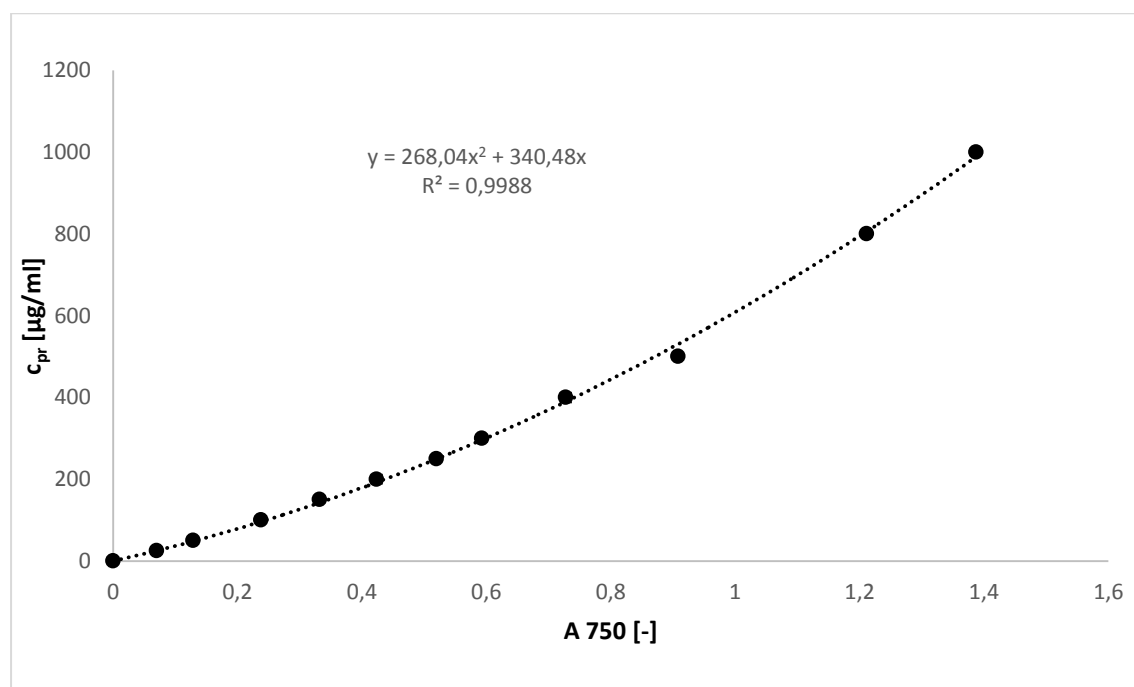
Για την μέτρηση της συγκέντρωσης των πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς με την μέθοδο Lowry, αυτό αρχικά αραιώνεται με απιονισμένο νερό, με συντελεστή αραιώσης 1:100. Σε υάλινο δοκιμαστικό σωλήνα (100 x 12 mm) προστίθενται, με την βοήθεια πιπέτας μεταβλητού όγκου, 200 μ L δείγματος και 1 mL διαλύματος Lowry. Το μίγμα ανακινείται καλά, με την χρήση συσκευής Vortex. Παράλληλα, παρασκευάζεται τυφλό δείγμα, αντικαθιστώντας τον όγκο του δείγματος (εκχύλισμα μαγιάς) με απιονισμένο νερό. Τα σωληνάκια με το μίγμα αραιωμένου δείγματος και διαλύματος Lowry τοποθετούνται σε θερμοκρασία δωματίου για 15 min στο σκοτάδι. Κατά την διάρκεια αυτών των 15 min παρασκευάζεται διάλυμα Folin1 N, αναμειγνύοντας ίσες ποσότητες διαλύματος Folin 2 N

και απιονισμένου νερού, εντός υάλινου καραμελέ φιαλιδίου καθώς το διάλυμα Folin είναι φωτοευαίσθητο και πρέπει να φυλάσσεται στο σκοτάδι.

Μετά την πάροδο των 15 min τα υάλινα σωληνάκια αφαιρούνται από το σκοτάδι και ενώ αναδεύονται στην συσκευή Vortex προστίθενται σε καθένα από αυτά, με την βοήθεια πιπέτας μεταβλητού όγκου, 100 μL διαλύματος Folin 1 N. Κατόπιν, τα σωληνάκια τοποθετούνται εκ νέου στο σκοτάδι, όπου παραμένουν για τουλάχιστον 30 min.

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

Για την χάραξη της καμπύλης αναφοράς για την πειραματική διαδικασία μέτρησης πρωτεϊνών με την μέθοδο Lowry, αντικαθίσταται, 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 $\mu\text{g}/\text{mL}$ –1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (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.



Διάγραμμα 3.1: Καμπύλη και εξίσωση αναφοράς για την μέτρηση της συνολικής συγκέντρωσης πρωτεϊνών με τη μέθοδο Lowry.

3.6.1.2 ΜΕΤΡΗΣΗ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΑΜΙΝΟΞΕΩΝ ΚΑΙ ΟΛΙΓΟΠΕΠΤΙΔΙΩΝ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΕΛΕΘΕΡΟΥ ΑΜΙΝΙΚΟΥ ΑΖΩΤΟΥ

Αρχικά παρασκευάζεται το χρωστικό αντιδραστήριο νινυδρίνης. Σε υάλινη καραμελέ ογκομετρική φιάλη των 100 mL προστίθενται 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 γεμίζεται με απιονισμένο νερό, μέχρι την χαραγή, πωματίζεται και ανακινείται καλά, έως ότου διαλυθούν πλήρως τα περιεχόμενα στερεά. Το αντιδραστήριο νινυδρίνης φυλάσσεται στο ψυγείο για έως 2 εβδομάδες.

Έπειτα παρασκευάζεται το διάλυμα αραιώσης. Σε υάλινη ογκομετρική φιάλη των 250 mL προστίθενται 0,5 g ιωδικού καλίου (KIO_3), 100 mL αιθανόλης 96 % v/v και 150 mL απιονισμένου νερού. Η ογκομετρική φιάλη πωματίζεται και ανακινείται καλά, έως ότου διαλυθεί πλήρως το περιεχόμενο άλας. Το διάλυμα έκλουσης διατηρείται επ' άπειρον.

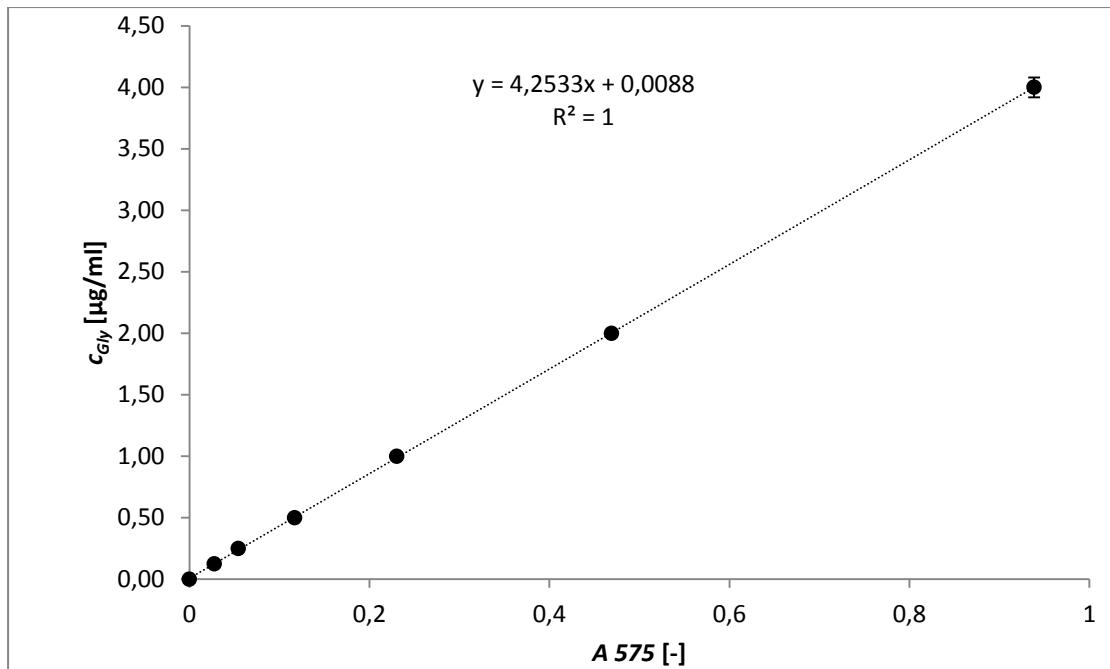
Για την μέτρηση της συγκέντρωσης των πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς με την μέθοδο ελευθέρων αμινικών αζώτων (*Free Amino Nitrogen, FAN*), αυτό αρχικά αραιώνεται με απιονισμένο νερό, με συντελεστή αραιώσης 1:1000. Σε υάλινο δοκιμαστικό σωλήνα (100 x 12 mm) προστίθενται, με την βοήθεια πιπέτας μεταβλητού όγκου, 500 μ L αραιωμένου δείγματος και 250 μ L αντιδραστηρίου νινυδρίνης. Παράλληλα, παρασκευάζεται τυφλό δείγμα, αντικαθιστώντας τον όγκο του δείγματος (εκχύλισμα μαγιάς) με απιονισμένο νερό.

Τα σωληνάκια με τα δείγματα εμβαπτίζονται σε υδατόλουτρο, το οποίο λειτουργεί στους 95 °C, για 20 min, οπότε τα δείγματα λαμβάνουν ένα βαθύ ερυθροϊώδες χρώμα. Μετά την πάροδο των 20 min, τα σωληνάκια αφαιρούνται από το υδατόλουτρο των 95 °C και εμβαπτίζονται σε υδατόλουτρο, το οποίο ευρίσκεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, προκειμένου τα δείγματα να ψυχθούν και να διακοπεί η αντίδραση.

Μόλις τα δείγματα ψυχθούν (απαιτούνται μερικά λεπτά), προστίθενται σε κάθε σωληνάκι, με την βοήθεια αυτόματης πιπέτας μεταβλητού όγκου, 1,25 mL διαλύματος αραιώσης και τα σωληνάκια ανακινούνται καλά, με την βοήθεια συσκευής Vortex, οπότε τα δείγματα λαμβάνουν ιώδες χρώμα.

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

Για την χάραξη της καμπύλης αναφοράς για την πειραματική διαδικασία μέτρησης αμινοξέων και μικρών πεπτιδίων με την μέθοδο ελευθέρων αμινικών αζώτων (*FAN*), αντικαθίσταται, στην πειραματική διαδικασία που περιγράφεται παραπάνω, ο όγκος του δείγματος (εκχύλισμα μαγιάς) με ίσο όγκο προτύπων διαλυμάτων γλυκίνης, συγκεντρώσεων 0,125 μ g/mL–4 μ g/mL. Η καμπύλη αναφοράς της μεθόδου ελευθέρων αμινικών αζώτων (*FAN*) παρατίθεται στο παρακάτω διάγραμμα, μαζί με την προκύπτουσα εξίσωση αναφοράς.



Διάγραμμα 3.2: Καμπύλη και εξίσωση αναφοράς για τη μέτρηση της συγκέντρωσης των αμινοξέων και των ολιγοπεπτιδίων με τη μέθοδο Ελεύθερου Αμινικού Αζώτου (FAN).

Στο σημείο αυτό αξίζει ν' αναφερθεί ότι ως πρότυπος ένωση για την χάραξη της καμπύλης αναφοράς της μεθόδου των ελευθέρων αμινικών αζώτων (FAN) χρησιμοποιείται η γλυκίνη, καθώς είναι γνωστό ότι το μόριο της γλυκίνης διαθέτει ένα ελεύθερο αμινικό άζωτο. Επομένως, καθώς η σχετική μοριακή μάζα της γλυκίνης είναι $Mr(Gly)=75,067$ g/mol και η σχετική ατομική μάζα του αζώτου είναι $Ar(N)=14,007$ g/mol, έπεται ότι 1 mg/mL γλυκίνης αντιστοιχεί σε 0,18659 mg/mL FAN (PubChem - Open Chemistry Database, 2018) (Meija, et al, 2016) (Spedding, Harrison, Ganske, & Dell, 2016).

3.6.2 ΜΕΤΡΗΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ΥΔΑΤΑΝΘΡΑΚΩΝ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΦΑΙΝΟΛΗΣ & ΘΕΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ

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

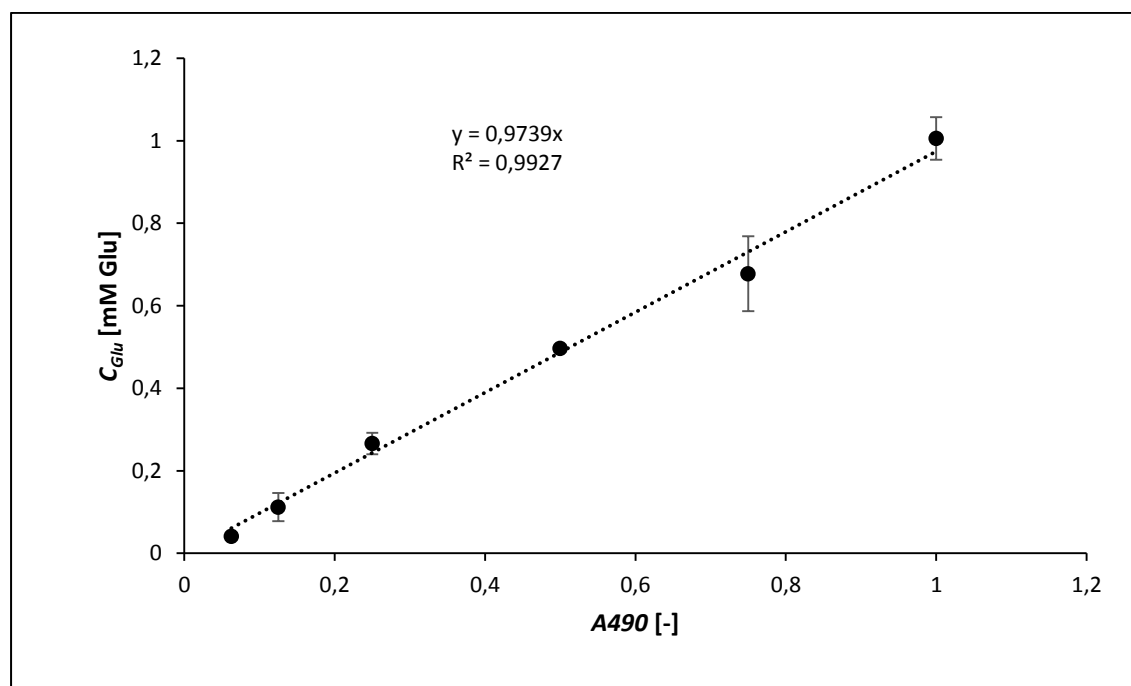
Σε κάθε φρέαρ που περιέχει εκχύλισμα μαγιάς (ή απιονισμένο νερό στην περίπτωση των τυφλών δειγμάτων) προστίθενται, με την βοήθεια πιπέτας μεταβλητού όγκου, 150 µL διαλύματος πυκνού θεικού οξέος συγκέντρωσης >95 %, εγχέοντας το οξύ ταχέως, ούτως

ώστε να επιτευχθεί καλή ανάμιξη. Έπειτα, σε καθένα από τα παραπάνω φρέατα προστίθενται, με την βοήθεια πιπέτας μεταβλητού όγκου, 30 μL υδατικού διαλύματος φαινόλης 5 % w/v. Με την βοήθεια του ρύγχους της πιπέτας αναμειγνύεται καλά το περιεχόμενο κάθε φρέατος.

Στην συνέχεια, η πλάκα μικροτιλοδότησης αφήνεται να επιπλέει για 10 min σε υδατόλουτρο σταθερής θερμοκρασίας 90 °C. Μετά την πάροδο των 10 min, η πλάκα μικροτιλοδότησης αφαιρείται από το υδατόλουτρο, τοποθετείται σε απαγωγό, καλύπτεται και αφήνεται να ψυχθεί για 1 h σε θερμοκρασία δωματίου.

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

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



Διάγραμμα 3.3: Καμπύλη και εξίσωση αναφοράς για την μέτρηση της συγκέντρωσης υδατανθράκων με τη μέθοδο Φαινόλης και Θειικού οξέος.

3.6.3 ΜΕΤΡΗΣΗ ΣΤΕΡΕΟΥ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΟΣ

Αρχικά, τοποθετούνται τα υάλινα πυρίμαχα φιαλίδια ζυγίσεως εντός των οποίων πρόκειται να γίνει η μέτρηση του στερεού υπολείμματος εντός πυριατηρίου, το οποίο λειτουργεί

στους 104 °C, για 24 h, προκειμένου να ξηραθούν πλήρως. Μετά την παρέλευση των 24 h, τα φιαλίδια αφαιρούνται από το πυριατήριο και τοποθετούνται απευθείας εντός υάλινου ξηραντήρα, προκειμένου να ψυχθούν και να λάβουν την θερμοκρασία του περιβάλλοντος.

Κάθε ξηρό φιαλίδιο τοποθετείται στον αναλυτικό ζυγό και καταγράφεται το βάρος του κενού φιαλιδίου (m_{bottle}). Έπειτα, προστίθενται εντός του φιαλιδίου, με την βοήθεια πιπέτας μεταβλητού όγκου, 2 mL εκχυλίσματος μαγιάς και καταγράφεται το μικτό βάρος φιαλιδίου και υγρού δείγματος ($m_{gross(wet)}$). Στην συνέχεια τοποθετούνται τα φιαλίδια ζυγίσεως, τα οποία περιέχουν το εκχύλισμα μαγιάς από τα διάφορα στάδια της αυτόλυσης, στο πυριατήριο και παραμένουν εκεί για 24 h, προκειμένου να εξατμισθεί πλήρως το νερό που περιέχουν τα δείγματα.

Μετά την παρέλευση των 24 h, τα φιαλίδια με τα ξηρά, πλέον, δείγματα αφαιρούνται από το πυριατήριο και τοποθετούνται απευθείας εντός υάλινου ξηραντήρα, προκειμένου να ψυχθούν και να λάβουν την θερμοκρασία του περιβάλλοντος. Κατόπιν τοποθετούνται στον αναλυτικό ζυγό και καταγράφεται το μικτό βάρος φιαλιδίου και ξηρού δείγματος ($m_{gross(dry)}$).

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

$$\%m_{dry} = \frac{m_{gross(dry)} - m_{bottle}}{m_{gross(wet)} - m_{bottle}} \quad (3.1)$$

Για την ευκολότερη ερμηνεία του στερεού υπολείμματος της αυτόλυσης, αυτό εκφράστηκε ως απόδοση στερεού υπολείμματος (Dry Weight Yield, DWY), η οποία εκφράζει το ποσοστό του αρχικού στερεού υπολείμματος ($\Sigma Y_{\text{αιωρήματος}}$) του κυτταρικού αιωρήματος το οποίο διαλυτοποιείται κατά την αυτόλυση ($\Sigma Y_{\text{εκχυλίσματος}}$) και υπολογίζεται ως:

$$DWY\% = 100 \cdot \frac{\Sigma Y_{\text{εκχυλίσματος}}}{\Sigma Y_{\text{αιωρήματος}}} \quad (3.2)$$

3.6.4 ΜΕΤΡΗΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ΔΙΑΛΥΤΩΝ ΣΤΕΡΕΩΝ (°Bx)

Με την βοήθεια υάλινης πιπέτας Pasteur μεταφέρεται μικρή ποσότητα εκχυλίσματος μαγιάς στο κάτω πρίσμα του διαθλασιμέτρου ABBE, τόση ώστε να καλυφθεί πλήρως η επιφάνεια του πρίσματος. Έπειτα, τοποθετείται επάνω στο κάτω πρίσμα το άνω πρίσμα και φέρεται κοντά στα πρίσματα ο ειδικός λαμπτήρας του οργάνου. Χρησιμοποιώντας την διόπτρα του οργάνου ρυθμίζεται αυτό κατάλληλα, σύμφωνα με τις οδηγίες χρήσεως, και καταγράφεται η ένδειξη που εμφανίζεται στην οθόνη αυτού.

3.6.5 ΜΕΤΡΗΣΗ ΧΡΩΜΑΤΟΣ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ

Το χρώμα του εκχυλίσματος μαγιάς κατά την αυτόλυση οφείλεται κυρίως σε αντιδράσεις μη ενζυμικής αμαύρωσης οι οποίες πραγματοποιούνται μεταξύ των αμινοξέων και των σακχάρων που απελευθερώνονται κατά τη διεργασία. Για την μέτρηση του χρώματος στο εκχύλισμα μαγιάς, κατά τα διάφορα στάδια της αυτόλυσης, μεταφέρονται, με την βοήθεια πιπέτας μεταβλητού όγκου, 4 mL δείγματος εντός υάλινου διαφανούς τρυβλίου Petri. Κατόπιν, το τρυβλίο καλύπτεται με το διαφανές κάλυμμά του και τοποθετείται 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, πιέζεται το ειδικό κομβίο του χρωματομέτρου, οπότε αυτό λαμβάνει την μέτρηση, η οποία τυπώνεται στο ειδικό καταγραφικό σύστημα που συνοδεύει το όργανο. Για την βαθμονόμηση του χρωματομέτρου χρησιμοποιήθηκε πρότυπη λευκή πλάκα της εταιρείας Minolta, η οποία συνόδευε το όργανο, σύμφωνα με τις συνθήκες CIE (Commission International de L' Eclairage).

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων του χρωματομέτρου εκφράστηκαν στην κλίμακα CIELAB, ως τιμές τριών συνιστωσών χρώματος, L , a και b . Η μέθοδος CIELAB εκφράζει την μαθηματική απόκριση της μη γραμμικής προσέγγισης του ματιού. Η συνιστώσα L εκφράζει την φωτεινότητα (*lightness*) του χρώματος και λαμβάνει τιμές από 0 (απόλυτο μαύρο) έως 100 (απόλυτο λευκό). Οι συνιστώσες a και b εκφράζουν την 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 την 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 την 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. Με βάση τις συνιστώσες L , a και b της κλίμακας CIELAB υπολογίζεται η ολική μεταβολή (ΔE) του χρώματος του εκχυλίσματος μαγιάς, κατά την διάρκεια της αυτόλυσης, σύμφωνα με την σχέση:

$$\Delta E = \sqrt{(L - L_0)^2 + (a - a_0)^2 + (b - b_0)^2} \quad (3.3)$$

... όπου: ΔE : η συνολική μεταβολή του χρώματος του εκχυλίσματος μαγιάς κατά την 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).

3.6.6 ΜΕΤΡΗΣΗ ΘΟΛΟΤΗΤΑΣ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ

Η μέτρηση της θολότητας πραγματοποιείται εμμέσως με μέτρηση της απορρόφησης στα 600 nm. Για την φωτομέτρηση, 2 ml εκχυλίσματος παραλαμβάνονται σε κυψελίδα και μετρούνται με τη συσκευή BMG Labtech SPECTROstar Nano (BMG Labtech, Ortenberg, Germany). Για όποια δείγματα κρίνεται απαραίτητο προηγείται αραιώση 1:2 ή 1:3. Η θολότητα του εκχυλίσματος μαγιάς οφείλεται σε μικρό μέρος σε κυτταρικά θραύσματα που προκύπτουν κατά την αυτόλυση ή σε θραύσματα που προκύπτουν κατά την μηχανική καταστροφή των κυττάρων. Είναι ένα μέγεθος το οποίο συσχετίζεται με την παρουσία αδιάλυτων στερεών στο εκχύλισμα και προτιμάται να παραμένει όσο το δυνατόν σε χαμηλότερες τιμές (Reed & Nagodawithana, Yeast Technology, 2012).

3.6.7 ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΗ ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΑΥΤΟΛΥΣΗΣ

Η αυτόλυση περιγράφηκε μαθηματικά ως προς τη μεταβολή όλων των μετρούμενων μεγεθών πλην της συγκέντρωσης υδατανθράκων της θολότητας από την εξίσωση 3.4:

$$X = X_e - (X_e - X_0)e^{-\frac{t}{\tau}} \quad (3.4)$$

...όπου:

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

X :η τιμή του μετρούμενου μεγέθους σε κάθε χρονική στιγμή της αυτόλυσης

X_e : η τελική τιμή του μετρούμενου μεγέθους

X_0 :η αρχική τιμή του μετρούμενου μεγέθους (t=0 h)

τ :ο χαρακτηριστικός χρόνος απελευθέρωσης που συσχετίζεται με την κλίση του γραμμικού τμήματος ανόδου της καμπύλης προσαρμογής

Για την μαθηματική περιγραφή της αυτόλυσης ως προς την απελευθέρωση συνολικών πρωτεϊνών η εξίσωση 3.4 λαμβάνει την μορφή:

$$c_{pr} = c_{pr(e)} - (c_{pr(e)} - c_{pr(0)}) \cdot e^{-\frac{t}{\tau_{pr}}} \quad (3.5)$$

... όπου:

c_{pr} : η συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών, εκφρασμένων ως αλβουμίνη βοείου ορού, στο εκχύλισμα μαγιάς, σε κάθε χρονική στιγμή της αυτόλυσης [μg/ml]

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

$c_{pr(e)}$: η τελική συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς (πλατό) [μg/mL]

$c_{pr(0)}$: η αρχική συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς ($t=0$ h) [μg/mL]

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

Για την μοντελοποίηση της απελευθέρωσης αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων η εξίσωση 3.4 λαμβάνει τη μορφή:

$$c_{Gly} = c_{Gly(e)} - (c_{Gly(e)} - c_{Gly(0)}) \cdot e^{-\frac{t}{\tau_{Gly}}} \quad (3.6)$$

... όπου:

c_{Gly} : η συγκέντρωση αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων, εκφρασμένων ως γλυκίνη, στο εκχύλισμα μαγιάς, σε κάθε χρονική στιγμή της αυτόλυσης [mg/mL]

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

$c_{Gly(e)}$: η τελική συγκέντρωση αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων, εκφρασμένων ως γλυκίνη, στο εκχύλισμα μαγιάς (πλατό) [mg/mL]

$c_{Gly(0)}$: η αρχική συγκέντρωση αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων, εκφρασμένων ως γλυκίνη, στο εκχύλισμα μαγιάς ($t=0$ h) [mg/mL]

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

Για την περίπτωση του στερεού υπόλειμματος η εξίσωση 3.4 παίρνει τη μορφή:

$$\frac{m_{dry}}{m_{YE}} = \frac{m_{dry}}{m_{YE(e)}} - \left(\frac{m_{dry}}{m_{YE(e)}} - \frac{m_{dry}}{m_{YE(0)}} \right) \cdot e^{-\frac{t}{\tau_{DWY}}} \quad (3.7)$$

... όπου:

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

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

$\frac{m_{dry}}{m_{YE(e)}}$: το μέγιστο ανηγμένο στερεό υπόλειμμα στο εκχύλισμα μαγιάς (πλατό) [%]

$\frac{m_{dry}}{m_{YE(0)}}$: το αρχικό ανηγμένο στερεό υπόλειμμα στο εκχύλισμα μαγιάς ($t=0$ h) [%]

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

Για την μαθηματική περιγραφή της αυτόλυσης ως προς την απελευθέρωση συνολικών διαλυτών στερεών η εξίσωση 3.4 λαμβάνει την μορφή:

$$c_{TSS} = c_{TSS(e)} - (c_{TSS(e)} - c_{TSS(0)}) \cdot e^{-\frac{t}{\tau_{TSS}}} \quad (3.8)$$

... όπου:

c_{TSS} : η συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών, εκφρασμένων ως αλβουμίνη βοείου ορού, στο εκχύλισμα μαγιάς, σε κάθε χρονική στιγμή της αυτόλυσης [μg/ml]

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

$c_{TSS(e)}$: η τελική συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς (πλατό) [μg/ml]

$c_{TSS(0)}$: η αρχική συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς ($t=0$ h) [μg/ml]

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

$$\Delta E = \Delta E_{(e)} - (\Delta E_{(e)} - \Delta E_{(0)}) \cdot e^{-\frac{t}{\tau_{\Delta E}}} \quad (3.9)$$

... 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 (πλατό) [-]

ΔE_0 : η αρχική ολική μεταβολή του χρώματος του εκχυλίσματος μαγιάς ($t = 0$ h), συγκριτικά με το αρχικό χρώμα του εκχυλίσματος ανεπεξέργαστης μαγιάς [-]

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

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ

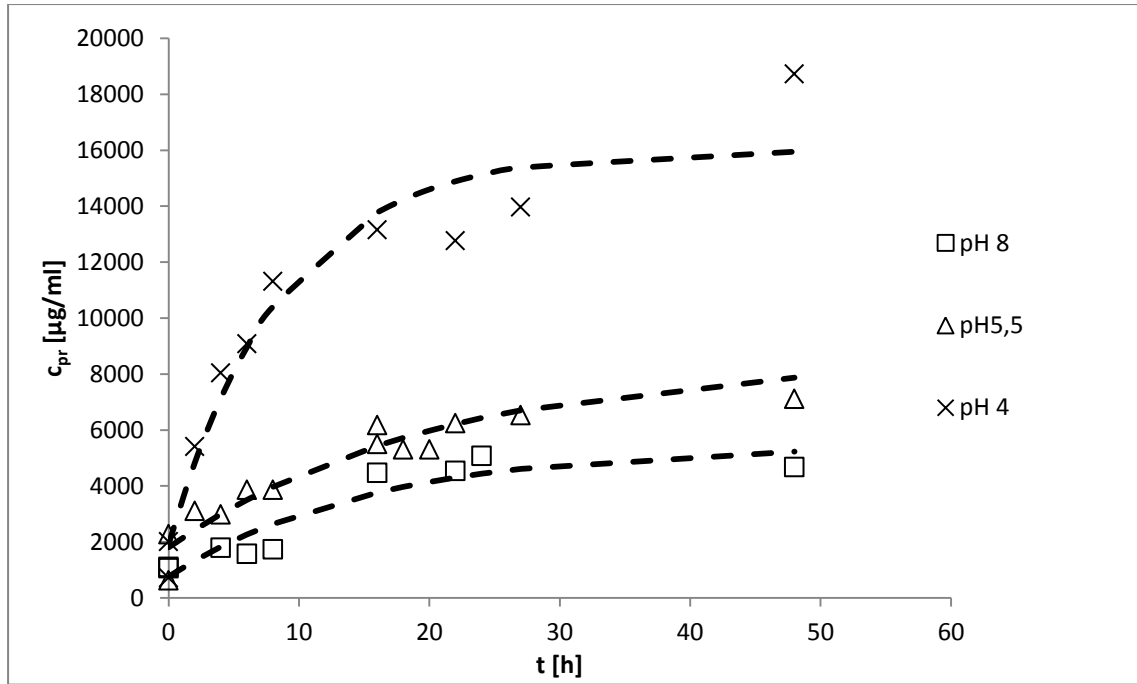
4.1 ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΒΕΛΤΙΣΤΩΝ ΣΥΝΘΗΚΩΝ pH ΚΑΙ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΗΣ ΑΥΤΟΛΥΣΗΣ

4.1.1 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗΝ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ

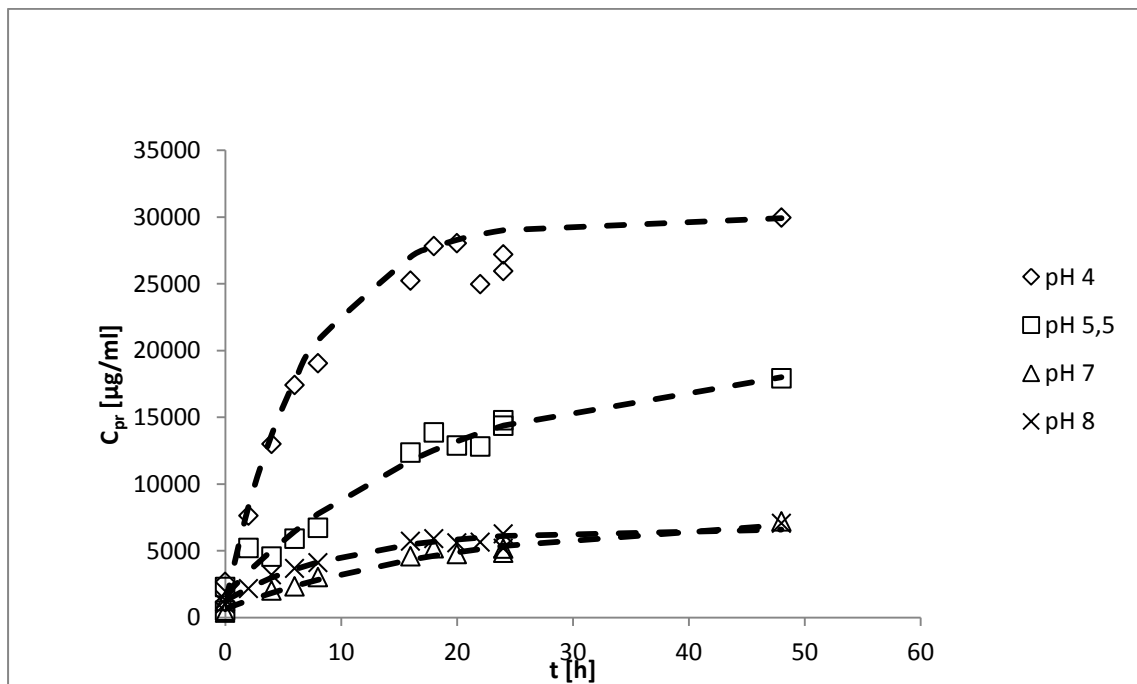
Προχωρώντας στην ανάλυση της επίδρασης των συνθηκών θερμοκρασίας και pH στην διεργασία της αυτόλυσης και στα χαρακτηριστικά του εκχυλίσματος μαγιάς που παράγεται από την διεργασία αυτήν, μελετήθηκε η μεταβολή της συγκέντρωσης πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς, κατά την διάρκεια της αυτόλυσης. Όσον αφορά στις πρωτεΐνες του εκχυλίσματος 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 ελεύθερου αμινικού αζώτου (*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 3.6.1.1 και 3.6.1.2, αντίστοιχα.

4.1.1.1 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΣΥΝΟΛΙΚΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ

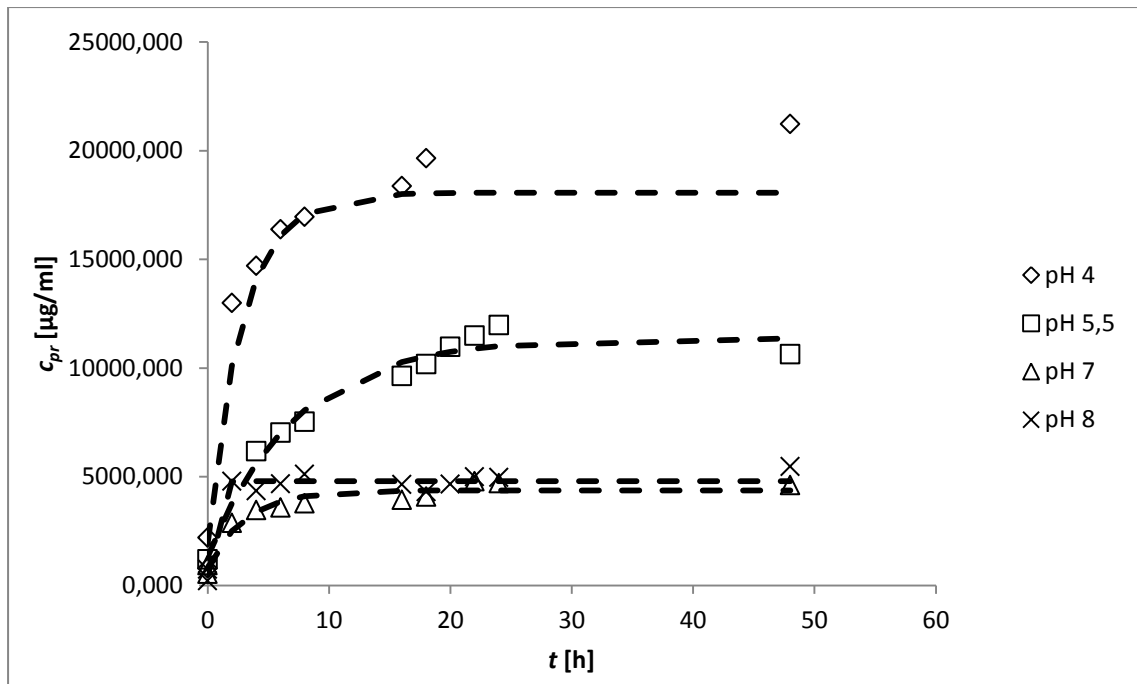
Σε πρώτη φάση μελετήθηκε η συγκέντρωση των ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς αρτοποιίας, με την μέθοδο Lowry. Από την εκτέλεση της πειραματικής διαδικασίας η οποία περιγράφεται στην ενότητα 3.6.1.1, προέκυψαν τα αποτελέσματα τα οποία παρατίθενται στα διαγράμματα που ακολουθούν.



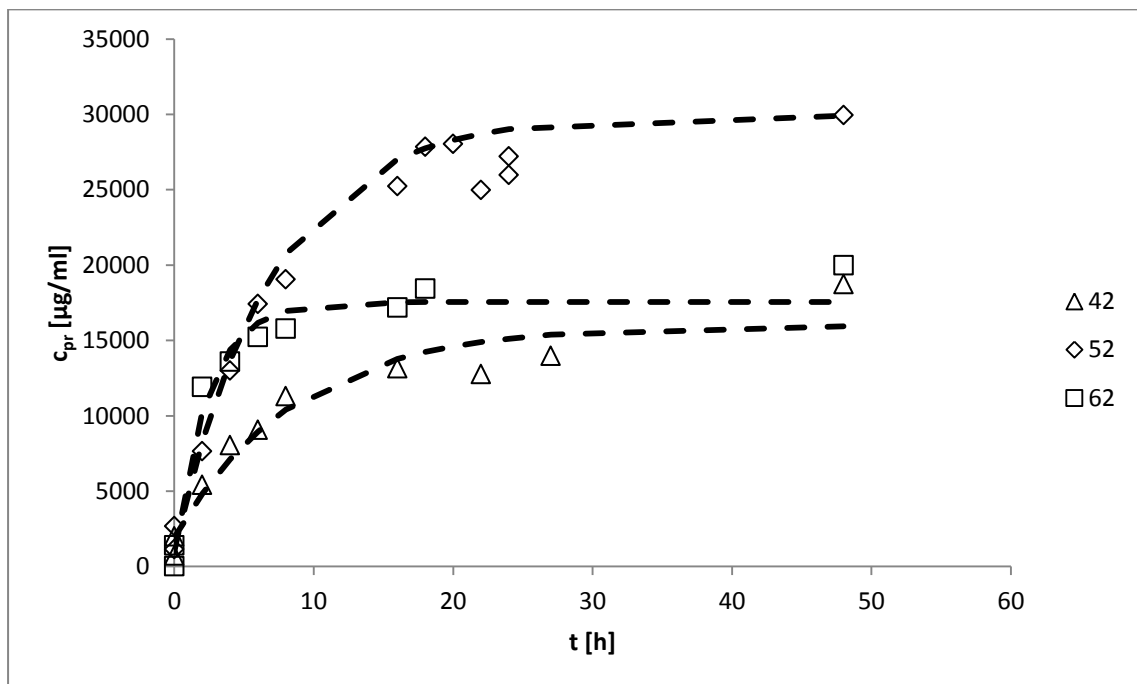
Διάγραμμα 4.1: Μεταβολή της συγκέντρωσης ολικών πρωτεϊνών c_{pr} σε εκχύλισμα μαγιάς συναρτήσει του χρόνου αυτόλυσης t στους 42 °C και σε pH 4, pH 5,5, pH 7 και pH 8.



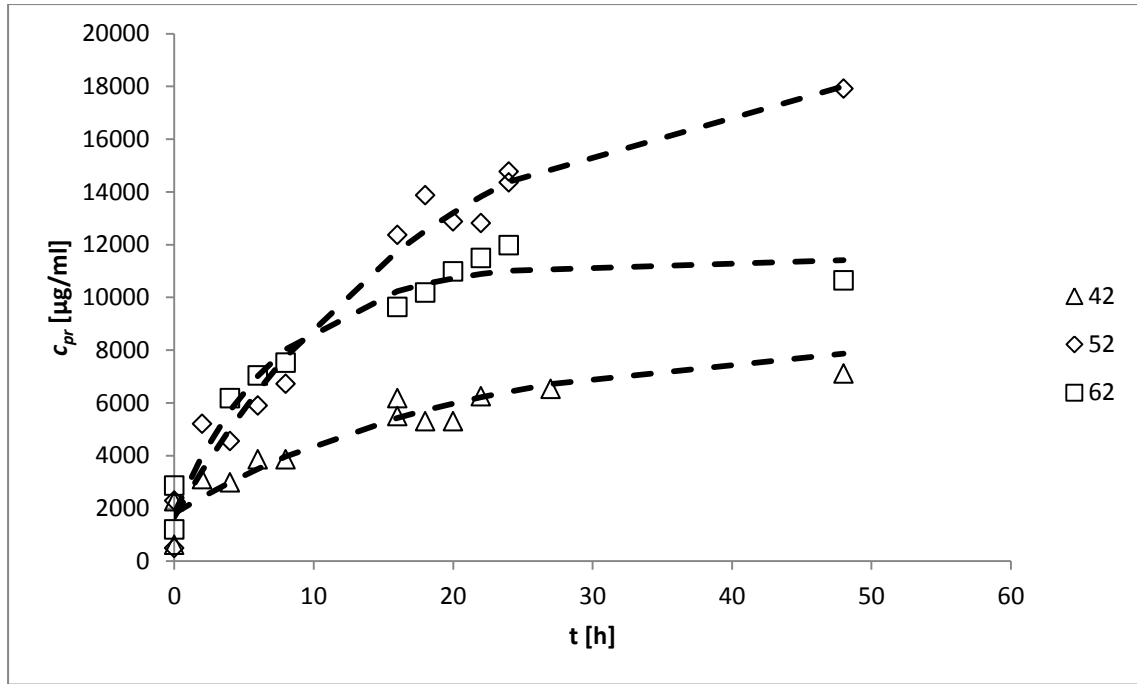
Διάγραμμα 4.2: Μεταβολή της συγκέντρωσης ολικών πρωτεϊνών c_{pr} σε εκχύλισμα μαγιάς συναρτήσει του χρόνου αυτόλυσης t στους 52 °C και σε pH 4, pH 5,5, pH 7 και pH 8.



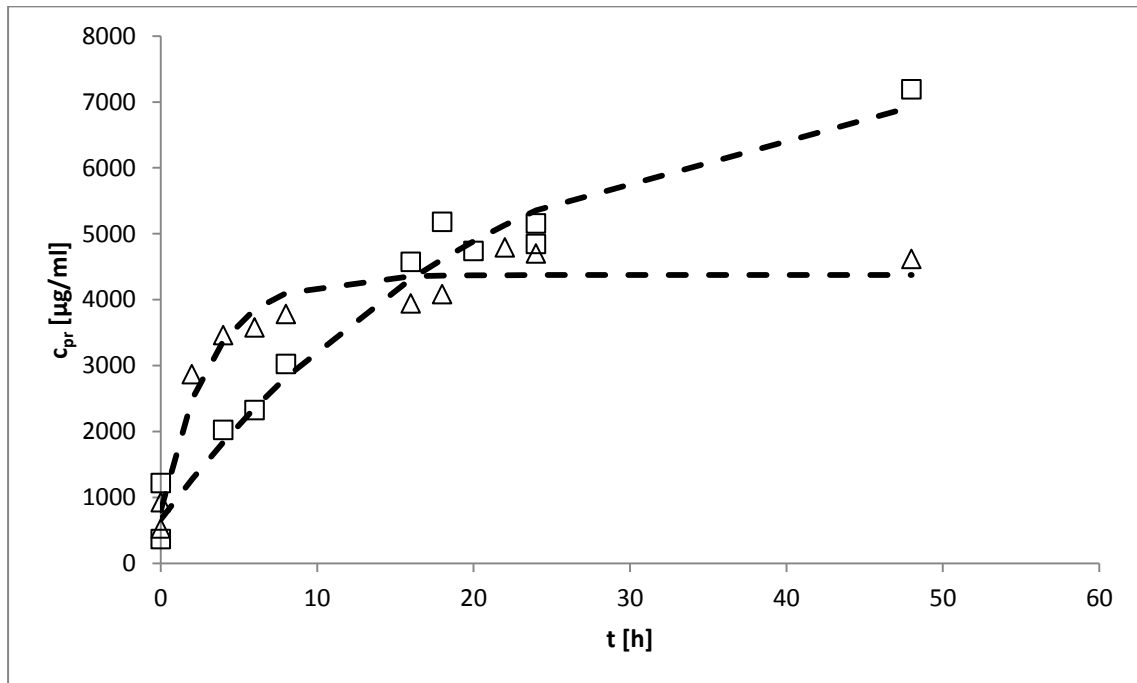
Διάγραμμα 4.3: Μεταβολή της συγκέντρωσης ολικών πρωτεϊνών c_{pr} σε εκχύλισμα μαγιάς συναρτήσει του χρόνου αυτόλυσης t στους 62°C και σε $\text{pH } 4$, $\text{pH } 5,5$, $\text{pH } 7$ και $\text{pH } 8$.



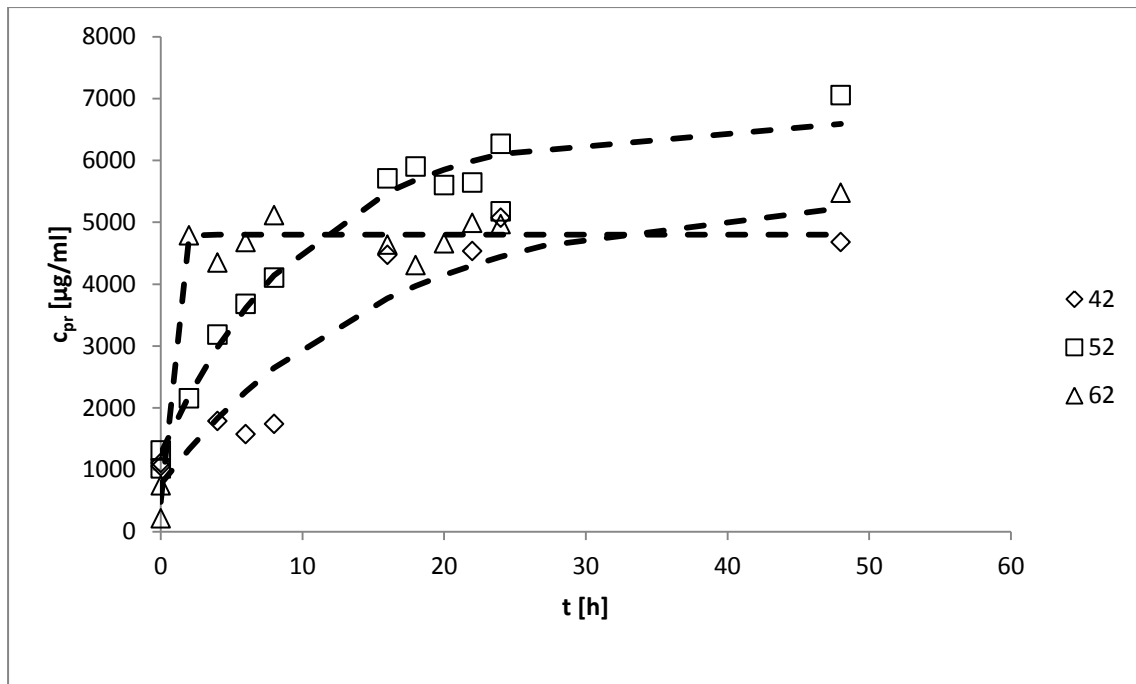
Διάγραμμα 4.4: Μεταβολή της συγκέντρωσης ολικών πρωτεϊνών c_{pr} σε εκχύλισμα μαγιάς συναρτήσει του χρόνου αυτόλυσης t σε $\text{pH } 4$ και σε θερμοκρασία 42°C , 52°C και 62°C .



Διάγραμμα 4.5: Μεταβολή της συγκέντρωσης ολικών πρωτεϊνών c_{pr} σε εκχύλισμα μαγιάς συναρτήσει του χρόνου αυτόλυσης t σε pH 5,5 και σε θερμοκρασία 42 °C, 52 °C και 62 °C.



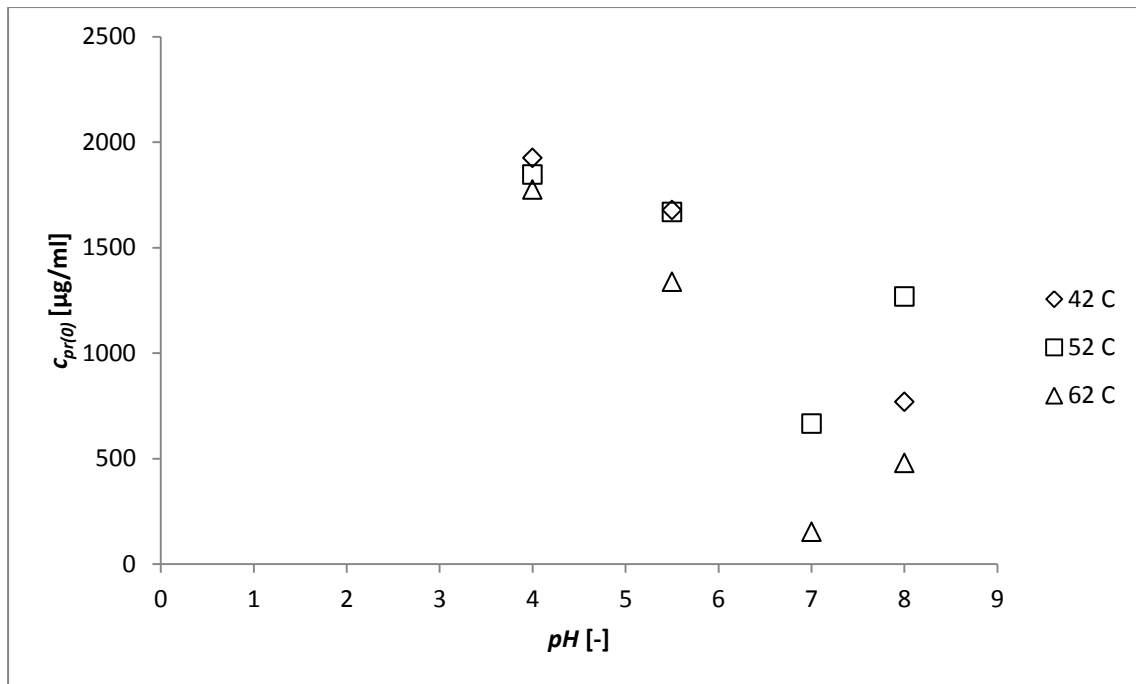
Διάγραμμα 4.6: Μεταβολή της συγκέντρωσης ολικών πρωτεϊνών c_{pr} σε εκχύλισμα μαγιάς συναρτήσει του χρόνου αυτόλυσης t σε pH 7 και σε θερμοκρασία 42 °C, 52 °C και 62 °C.



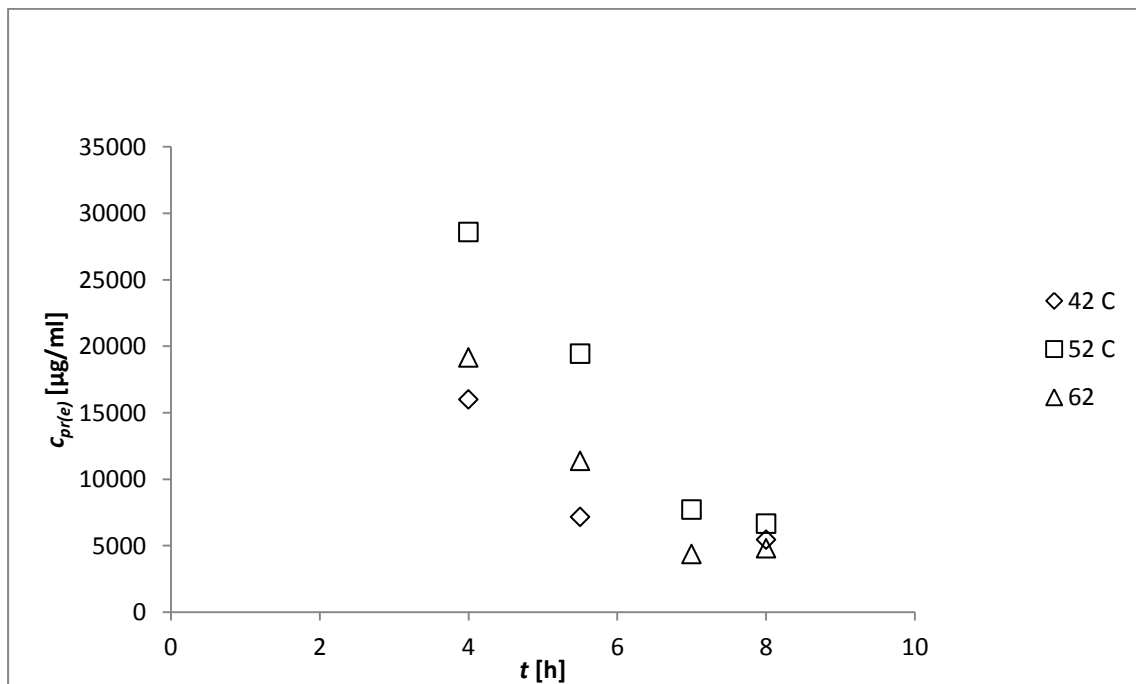
Διάγραμμα 4.7: Μεταβολή της συγκέντρωσης ολικών πρωτεϊνών c_{pr} σε εκχύλισμα μαγιάς συναρτήσει του χρόνου αυτόλυσης t σε pH 8 και σε θερμοκρασία 42 °C, 52 °C και 62 °C.

Η παραπάνω συμπεριφορά της συγκέντρωσης ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς συναρτήσει του χρόνου κατά την διάρκεια της αυτόλυσης ($c_{pr} = f(t)$) μοντελοποιήθηκε μαθηματικά, με την χρήση του πακέτου λογισμικού IBM SPSS Statistics 19 (IBM Corp., Armonk, New York, United States of America) για κάθε συνθήκη θερμοκρασίας και pH, με το μαθηματικό μοντέλο 3.5, όπως περιγράφεται στην ενότητα 3.6.7.

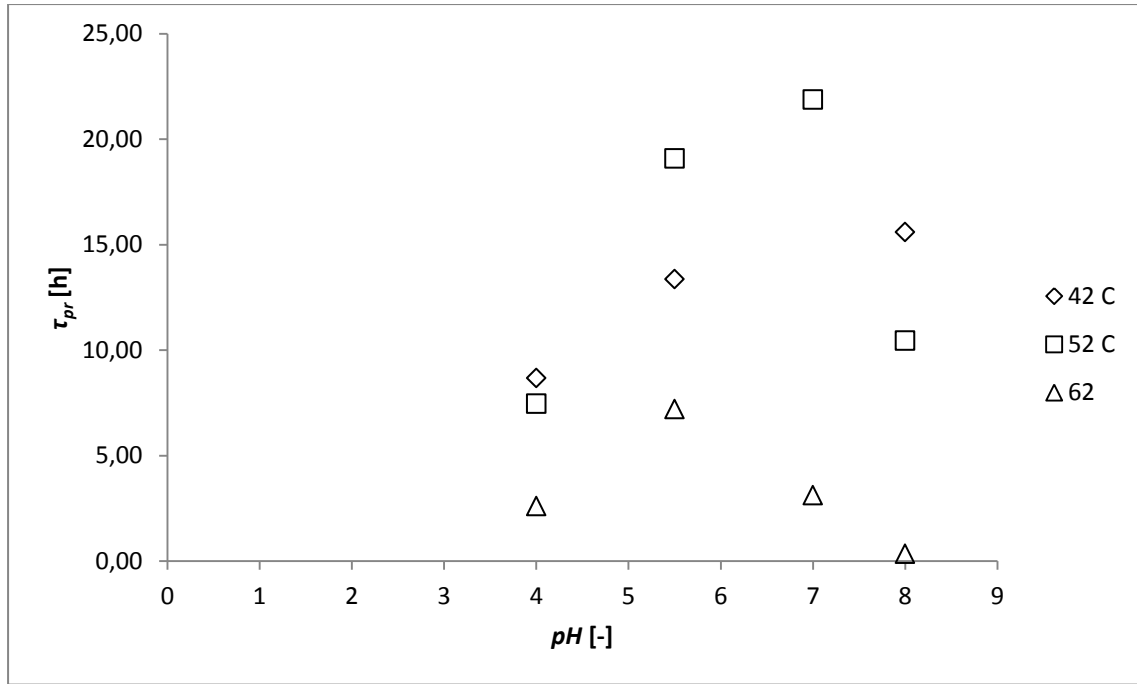
Οι παράμετροι των συναρτήσεων $c_{pr} = f(t)$ της μεταβολής της συγκέντρωσης ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς συναρτήσει του χρόνου από την έναρξη της αυτόλυσης οι οποίες προέκυψαν ύστερα από αυτήν την μοντελοποίηση ($c_{pr(0)}$, $c_{pr(e)}$, τ_{pr}), παρουσιάζονται στα διαγράμματα που ακολουθούν και στον πίνακα 4.1.



Διάγραμμα 4.8: Μεταβολή των παραμέτρου $c_{pr(0)}$ των συναρτήσεων $c_{pr} = f(t)$ συναρτήσει του pH αυτόλυσης για θερμοκρασίες αυτόλυσης 42 °C, 52 °C και 62 °C.



Διάγραμμα 4.9: Μεταβολή των παραμέτρου $c_{pr(e)}$ των συναρτήσεων $c_{pr} = f(t)$ συναρτήσει του pH αυτόλυσης για θερμοκρασίες αυτόλυσης 42 °C, 52 °C και 62 °C.



Διάγραμμα 4.10: Μεταβολή των παραμέτρου τ_{pr} των συναρτήσεων $c_{pr} = f(t)$ συναρτήσει του pH αυτόλυσης για θερμοκρασίες αυτόλυσης 42 °C, 52 °C και 62 °C.

Πίνακας 4.1: Παράμετροι των συναρτήσεων $c_{pr} = f(t)$ της μεταβολής συγκέντρωσης ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς ($c_{pr(0)}$, $c_{pr(e)}$, τ_{pr}) και βαθμός προσαρμογής (R^2) των καμπυλών που προέκυψαν από την μαθηματική μοντελοποίηση στα πειραματικά σημεία, για τις διάφορες συνθήκες θερμοκρασίας και pH.

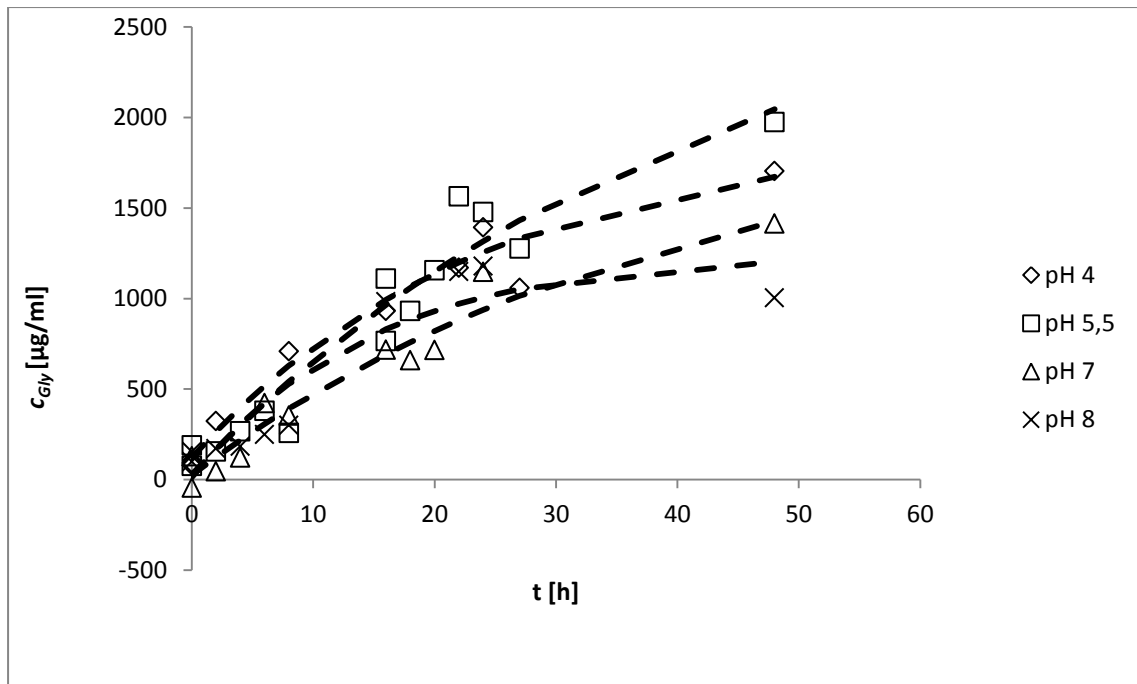
42 °C				
pH	$c_{Pr(0)}$ [x10 ³ μg/ml]	$c_{Pr(e)}$ [x10 ³ μg/ml]	τ_{Pr} [h]	R^2
4	1,925 ± 0,688	16,003 ± 0,805	8,7 ± 1,6	0,933
5,5	1,678 ± 0,335	7,153 ± 0,617	13,4 ± 3,8	0,921
8	0,769 ± 0,311	5,444 ± 0,642	15,6 ± 5,2	0,861
52 °C				
pH	$c_{Pr(0)}$ [x10 ³ μg/ml]	$c_{Pr(e)}$ [x10 ³ μg/ml]	τ_{Pr} [h]	R^2
4	1,846 ± 0,599	28,597 ± 0,552	7,5 ± 0,6	0,984
5,5	1,668 ± 0,433	19,448 ± 1.276	19,1 ± 2,9	0,965
7	0,044 ± 0,186	7,708 ± 0,911	21,9 ± 5,2	0,946
8	1,267 ± 0,181	6,646 ± 0,249	10,5 ± 1,5	0,959
62 °C				
pH	$c_{Pr(0)}$ [x10 ³ μg/ml]	$c_{Pr(e)}$ [x10 ³ μg/ml]	τ_{Pr} [h]	R^2
4	1,775 ± 1,049	19,163 ± 0,805	2,6 ± 0,5	0,953
5,5	1,338 ± 0,634	11,370 ± 0,422	7,2 ± 1,2	0,969
7	0,152 ± 0,225	4,376 ± 0,144	3,1 ± 0,6	0,908
8	0,479 ± 0,213	4,797 ± 0,100	0,3 ± 1,4	0,942

Όπως φαίνεται από τα διαγράμματα 4.1 έως 4.7 και τον πίνακα 4.1 σε θερμοκρασία 52 °C και pH 4 η τελική συγκέντρωση συνολικών πρωτεϊνών που επιτυγχάνεται είναι 28597 μg/ml και η τιμή της παραμέτρου τ_{pr} ίση με 7,5 h. Αμέσως μεγαλύτερη τιμή για την τελική συγκέντρωση πρωτεϊνών παρουσιάζεται σε συνθήκες θερμοκρασίας 52 °C και pH 5,5. Η τιμή αυτή είναι ίση με 19448 μg/ml. Η θερμοκρασία των 52 °C έχει θετική επίδραση στην αυτόλυση γιατί βρίσκεται μέσα στο βέλτιστο εύρος θερμοκρασιών για τα περισσότερα από τα πρωτεολυτικά ένζυμα που συμμετέχουν στην αυτόλυση.

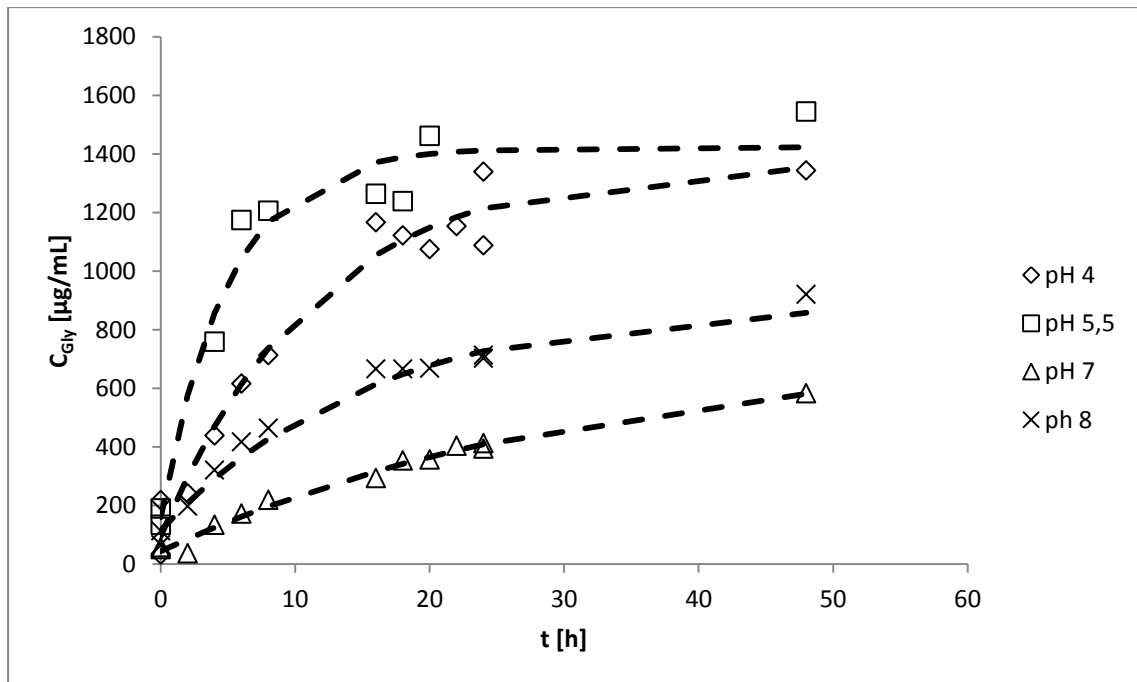
Για pH 7 οι συγκεντρώσεις συνολικών πρωτεϊνών που επιτυγχάνονται παρουσιάζονται μειωμένες για όλες τις θερμοκρασίες γεγονός που οφείλεται στο ότι η τιμή αυτή απομακρύνεται από το βέλτιστο εύρος pH για τις σημαντικές για την αυτόλυση πρωτεάσες. Το ίδιο ισχύει και για το pH 8, όμως σε αυτήν την περίπτωση η αρχική συγκέντρωση συνολικών πρωτεϊνών που επιτυγχάνεται είναι ελαφρώς μεγαλύτερη. Αυτό μπορεί να αποδοθεί στην αυξημένη διαλυτότητα των πρωτεϊνών της μαγιάς των οποίων η διαλυτότητα αυξάνεται για αλκαλικά pH μακριά από το ισοηλεκτρικό σημείο (pH~4) (Ganeva et al., 2002).

4.1.1.2 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗΝ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΑΜΙΝΟΞΕΩΝ ΚΑΙ ΟΛΙΓΟΠΕΠΤΙΔΙΩΝ

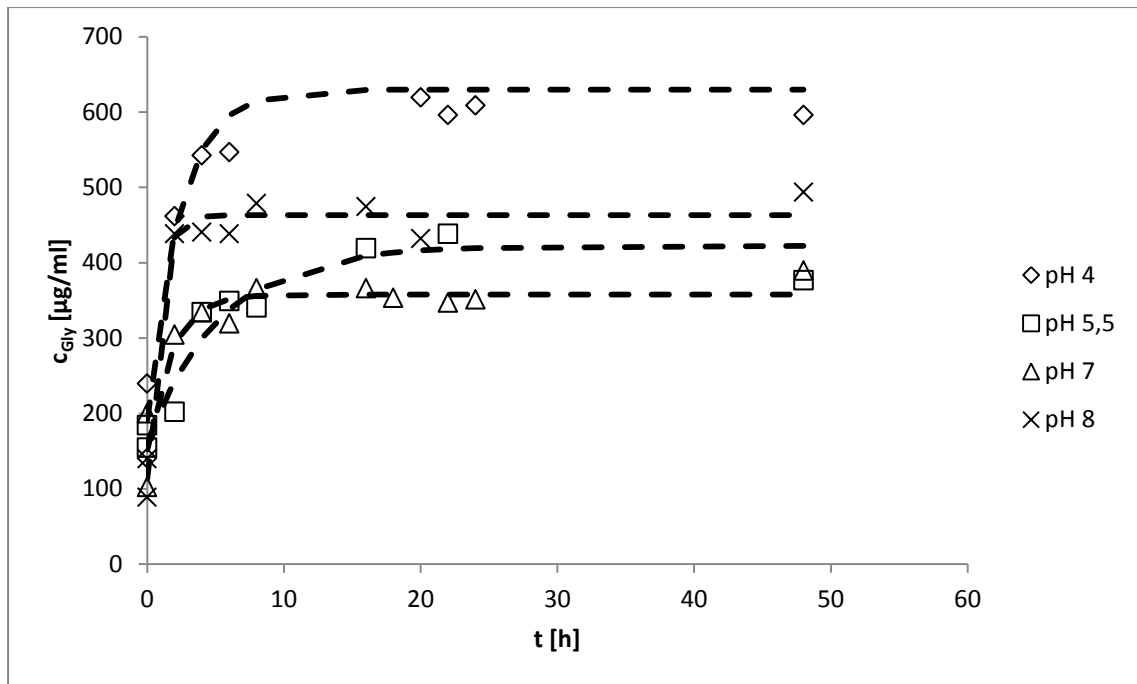
Σε δεύτερη φάση μελετήθηκε η συγκέντρωση των αμινοξέων και ολιγοπρωτεϊνών (μονο-, δι- και τριπεπτιδίων) στο εκχύλισμα μαγιάς αρτοποιίας, με την μέθοδο ελεύθερου αμινικού αζώτου. Από την εκτέλεση της πειραματικής διαδικασίας η οποία περιγράφεται στην ενότητα 3.6.1.2, προέκυψαν, για το εκχύλισμα μαγιάς, τα αποτελέσματα τα οποία παρουσιάζονται στα κάτωθι διαγράμματα.



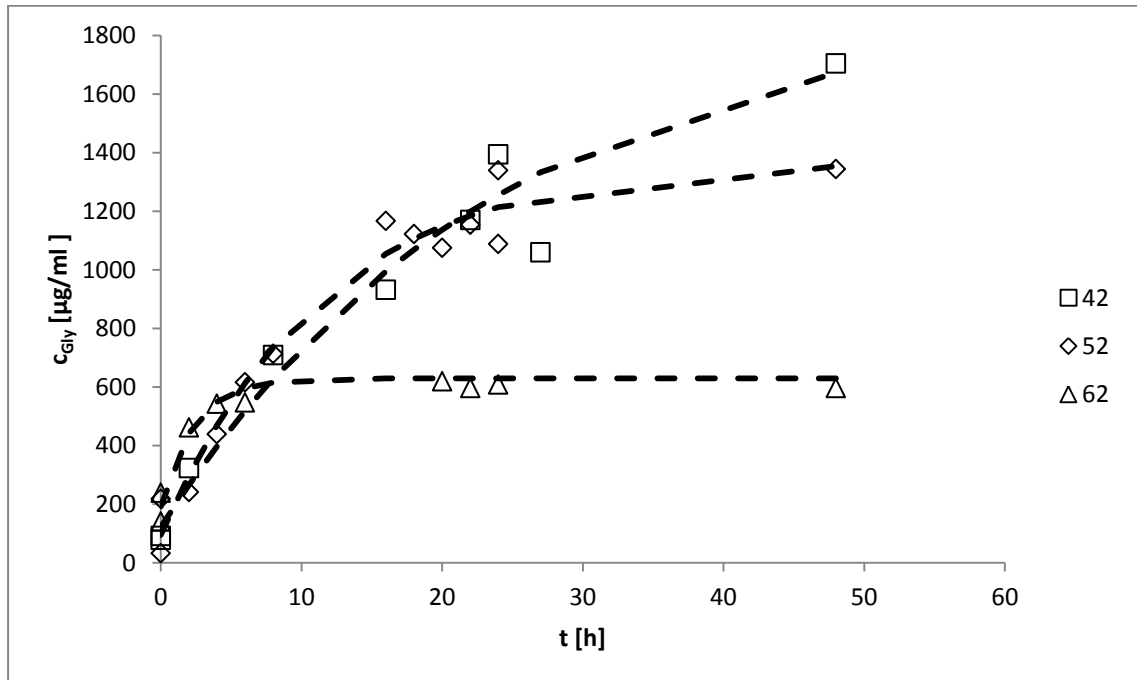
Διάγραμμα 4.11: Μεταβολή της συγκέντρωσης αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων (c_{Gly}) σε εκχύλιση μαγιάς συναρτήσει του χρόνου αυτόλυσης (t) στους 42 °C και σε pH 4, pH 5,5, pH 7 και pH 8.



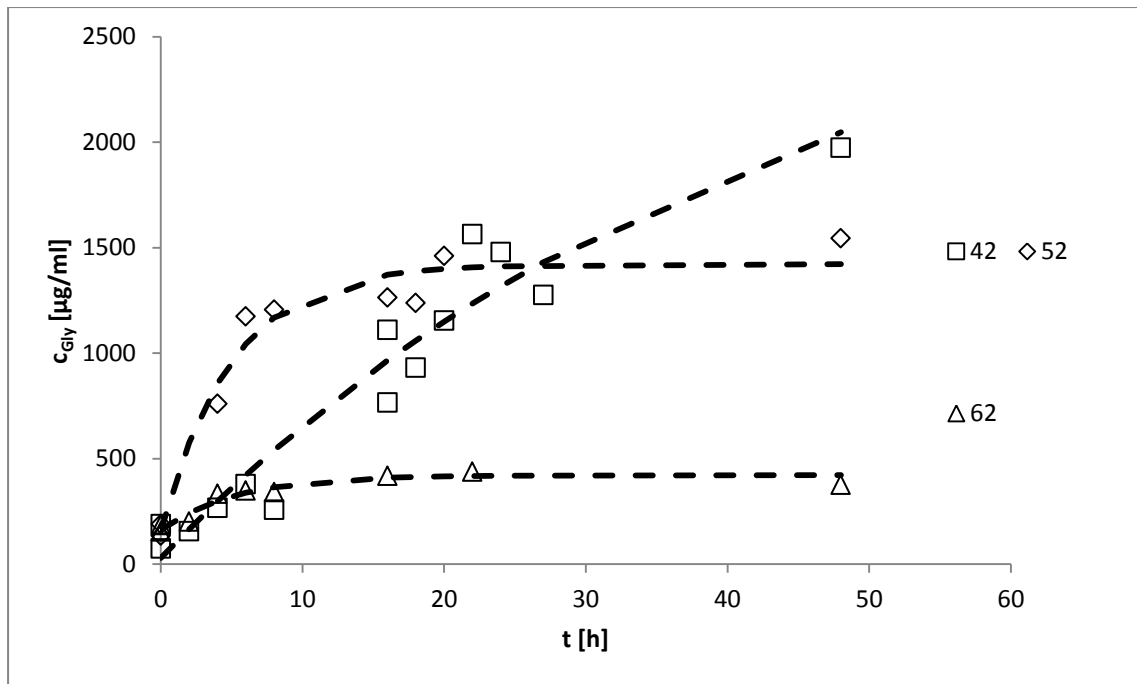
Διάγραμμα 4.12: Μεταβολή της συγκέντρωσης αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων (c_{Gly}) σε εκχύλιση μαγιάς συναρτήσει του χρόνου αυτόλυσης (t) στους 52 °C και σε pH 4, pH 5,5, pH 7 και pH 8.



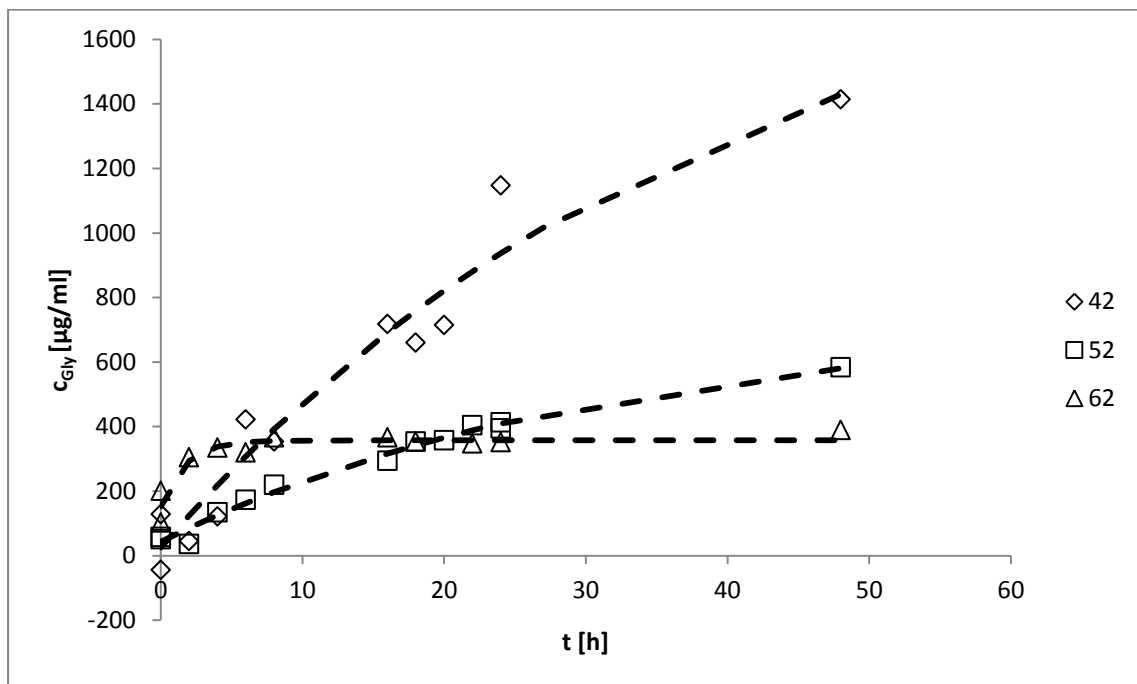
Διάγραμμα 4.13: Μεταβολή της συγκέντρωσης αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων (c_{Gly}) σε εκχύλισμα μαγιάς συναρτήσει του χρόνου αυτόλυσης (t) στους 62 °C και σε pH 4, pH 5,5, pH 7 και pH 8.



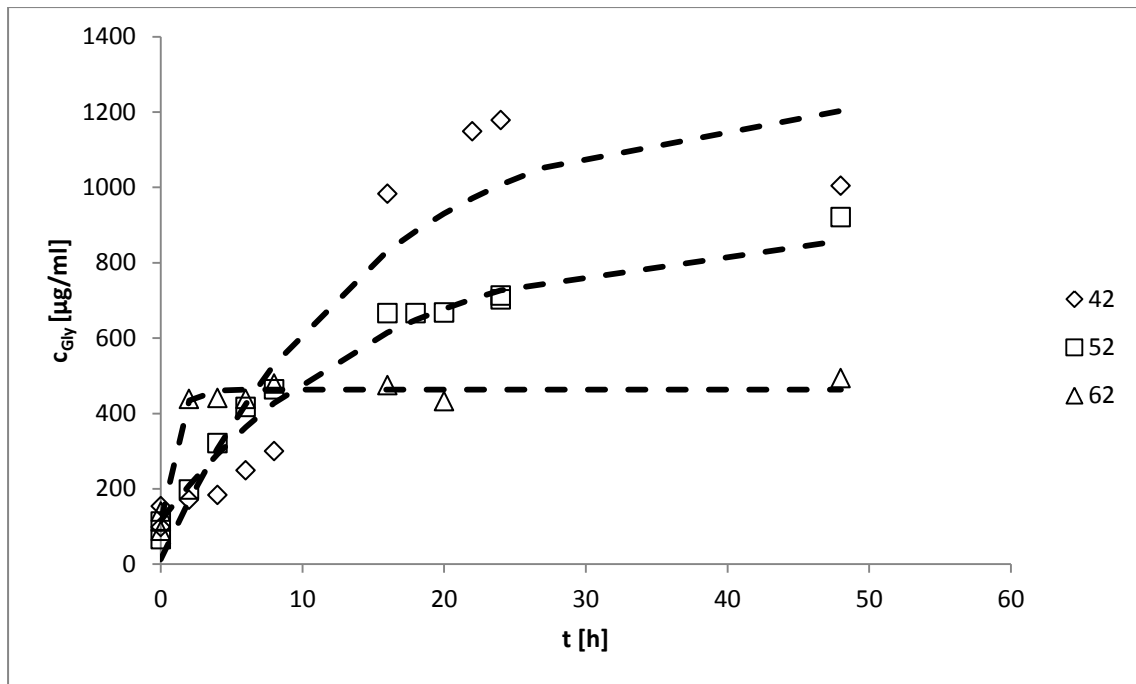
Διάγραμμα 4.14: Μεταβολή της συγκέντρωσης αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων (c_{Gly}) σε εκχύλισμα μαγιάς συναρτήσει του χρόνου αυτόλυσης (t) σε pH 4 και θερμοκρασία 42 °C, 52 °C και 62 °C.



Διάγραμμα 4.15: Μεταβολή της συγκέντρωσης αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων (c_{Gly}) σε εκχύλισμα μαγιάς συναρτήσεως του χρόνου αυτόλυσης (t) σε pH 5,5 και θερμοκρασία 42 °C, 52 °C και 62 °C.



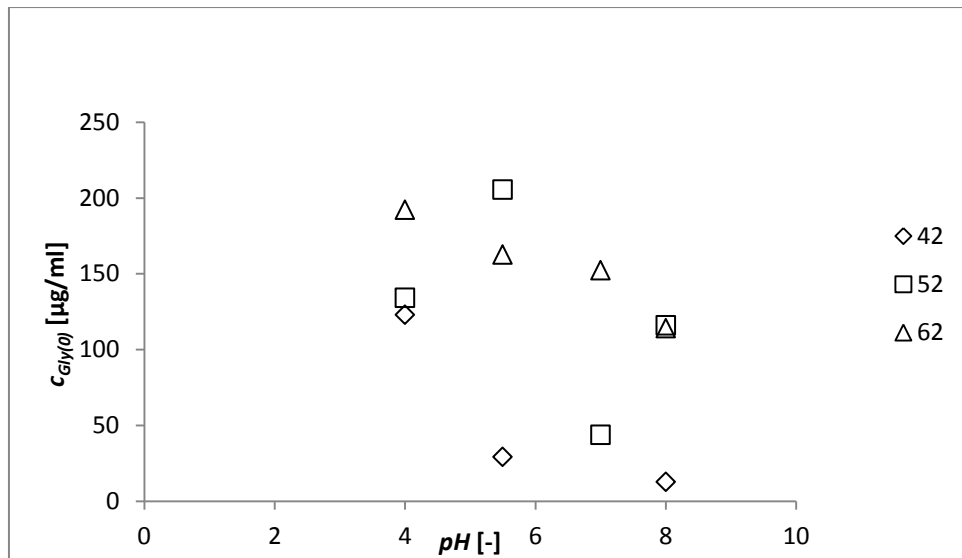
Διάγραμμα 4.16: Μεταβολή της συγκέντρωσης αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων (c_{Gly}) σε εκχύλισμα μαγιάς συναρτήσεως του χρόνου αυτόλυσης (t) σε pH 7 και θερμοκρασία 42 °C, 52 °C και 62 °C.



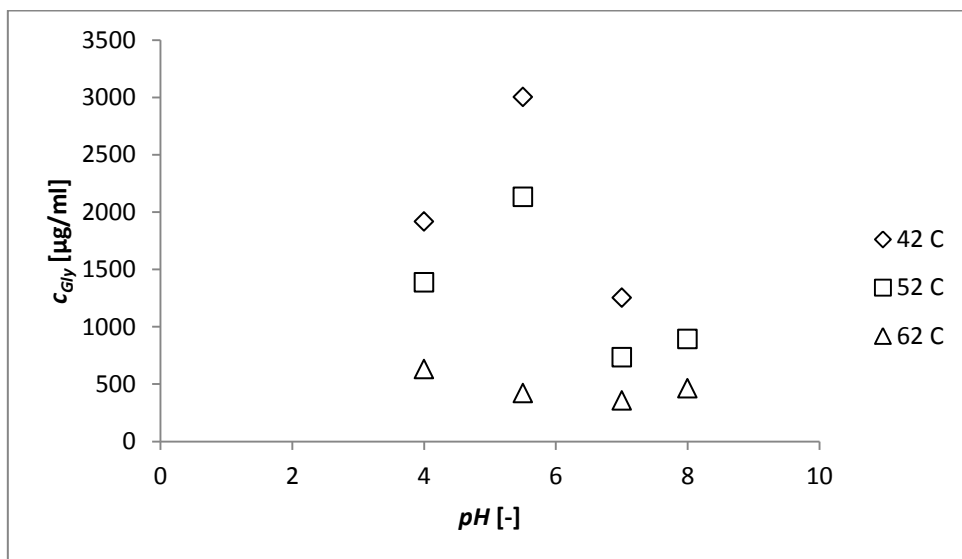
Διάγραμμα 4.17: Μεταβολή της συγκέντρωσης αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων (c_{Gly}) σε εκχύλισμα μαγιάς συναρτήσει του χρόνου αυτόλυσης (t) σε pH 8 και θερμοκρασία 42 °C, 52 °C και 62 °C.

Η παραπάνω συμπεριφορά της συγκέντρωσης αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων στο εκχύλισμα μαγιάς συναρτήσει του χρόνου κατά την διάρκεια της αυτόλυσης ($c_{Gly} = f(t)$) μοντελοποιήθηκε μαθηματικά, με την χρήση του πακέτου λογισμικού IBM SPSS Statistics 19 (IBMCorp., Armonk, New York, United States of America) για κάθε συνθήκη θερμοκρασίας και pH, με το μαθηματικό μοντέλο 3.6, όπως περιγράφεται στην ενότητα 3.6.7.

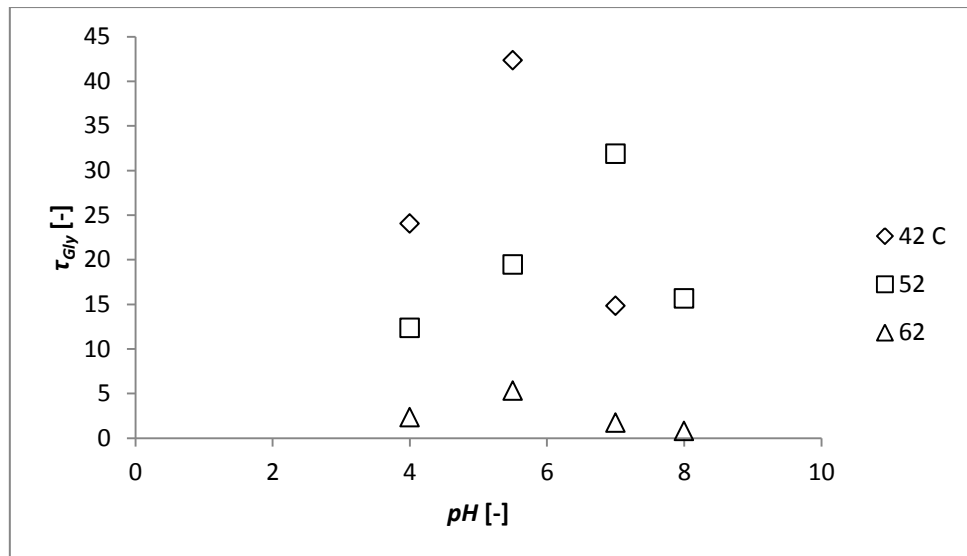
Οι παράμετροι των συναρτήσεων $c_{Gly} = f(t)$ της μεταβολής της συγκέντρωσης αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων στο εκχύλισμα μαγιάς συναρτήσει του χρόνου από την έναρξη της αυτόλυσης οι οποίες προέκυψαν ύστερα από αυτήν την μοντελοποίηση ($c_{Gly(0)}$, $c_{Gly(e)}$, τ_{Gly}), παρουσιάζονται στα διαγράμματα που ακολουθούν και στον πίνακα 4.2.



Διάγραμμα 4.18: Μεταβολή των παραμέτρου $c_{Gly(0)}$ των συναρτήσεων $c_{Gly} = f(t)$ συναρτήσει του pH αυτόλυσης για θερμοκρασίες αυτόλυσης 42 °C, 52 °C και 62 °C.



Διάγραμμα 4.19: Μεταβολή των παραμέτρου $c_{Gly(e)}$ των συναρτήσεων $c_{Gly} = f(t)$ συναρτήσει του pH αυτόλυσης για θερμοκρασίες αυτόλυσης 42 °C, 52 °C και 62 °C.



Διάγραμμα 4.20: Μεταβολή των παραμέτρου τ_{Gly} των συναρτήσεων $c_{Gly} = f(t)$ συναρτήσει του pH αυτόλυσης για θερμοκρασίες αυτόλυσης 42 °C, 52 °C και 62 °C.

Πίνακας 4.2: Παράμετροι των συναρτήσεων $c_{Gly} = f(t)$ της μεταβολής συγκέντρωσης αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων στο εκχύλισμα μαγιάς ($c_{Gly(0)}$, $c_{Gly(e)}$, τ_{Gly}) και βαθμός προσαρμογής (R^2) των καμπυλών που προέκυψαν από την μαθηματική μοντελοποίηση στα πειραματικά σημεία, για τις διάφορες συνθήκες θερμοκρασίας και pH.

42 °C				
pH	$c_{Gly(0)}$ [x10 ³ μg/ml]	$c_{Gly(e)}$ [x10 ³ μg/ml]	τ_{Gly} [h]	R^2
4	0,123 ± 0,051	1,917 ± 0,200	24,0 ± 5,3	0,963
5,5	0,029 ± 0,054	3,004 ± 0,645	42,3 ± 13,8	0,929
7	0,025 ± 0,081	2,011 ± 0,625	39,1 ± 19,9	0,941
8	0,013 ± 0,074	1,252 ± 0,156	14,8 ± 4,6	0,868
52 °C				
pH	$c_{Gly(0)}$ [x10 ³ μg/ml]	$c_{Gly(e)}$ [x10 ³ μg/ml]	τ_{Gly} [h]	R^2
4	0,134 ± 0,036	1,386 ± 0,055	12,3 ± 1,4	0,971
5,5	0,205 ± 0,061	2,132 ± 0,053	19,5 ± 0,8	0,949
7	0,044 ± 0,008	0,734 ± 0,050	31,9 ± 3,8	0,986
8	0,116 ± 0,023	0,894 ± 0,052	15,6 ± 2,4	0,957
62 °C				
pH	$c_{Gly(0)}$ [x10 ³ μg/ml]	$c_{Gly(e)}$ [x10 ³ μg/ml]	τ_{Gly} [h]	R^2
4	0,192 ± 0,024	0,630 ± 0,013	2,3 ± 0,4	0,928
5,5	0,163 ± 0,016	0,422 ± 0,018	5,3 ± 1,1	0,912
7	0,152 ± 0,015	0,358 ± 0,008	1,7 ± 0,5	0,891
8	0,114 ± 0,019	0,463 ± 0,012	0,8 ± 0,3	0,946

Όπως φαίνεται από τα διαγράμματα 4.11 έως 4.17 και τον πίνακα 4.2 η μέγιστη τελική συγκέντρωση αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων στο εκχύλισμα μαγιάς είναι θερμοκρασία 42 °C και pH 5,5. Ωστόσο η υψηλή τιμή της παραμέτρου τ_{Gly} σε αυτές τις συνθήκες μαρτυρά πως η autólυση πραγματοποιείται με αργό ρυθμό. Ταχύτερα φαίνεται να πραγματοποιείται η autólυση σε θερμοκρασία 52 °C και pH 5,5 όπου η παράμετρος τ_{Gly} λαμβάνει τιμή ίση με 19,5 h και η τελική συγκέντρωση αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων στο εκχύλισμα ίση με 2132 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Ο τελευταίος αυτό συνδυασμός συνθηκών φαίνεται να επιδρά θετικά στον ρυθμό της autólυσης και στη τελική συγκέντρωση τόσο των αμινοξών και ολιγοπεπτιδίων όσο και των συνολικών πρωτεϊνών όπως αναφέρθηκε στη ενότητα 4.1.1.1.

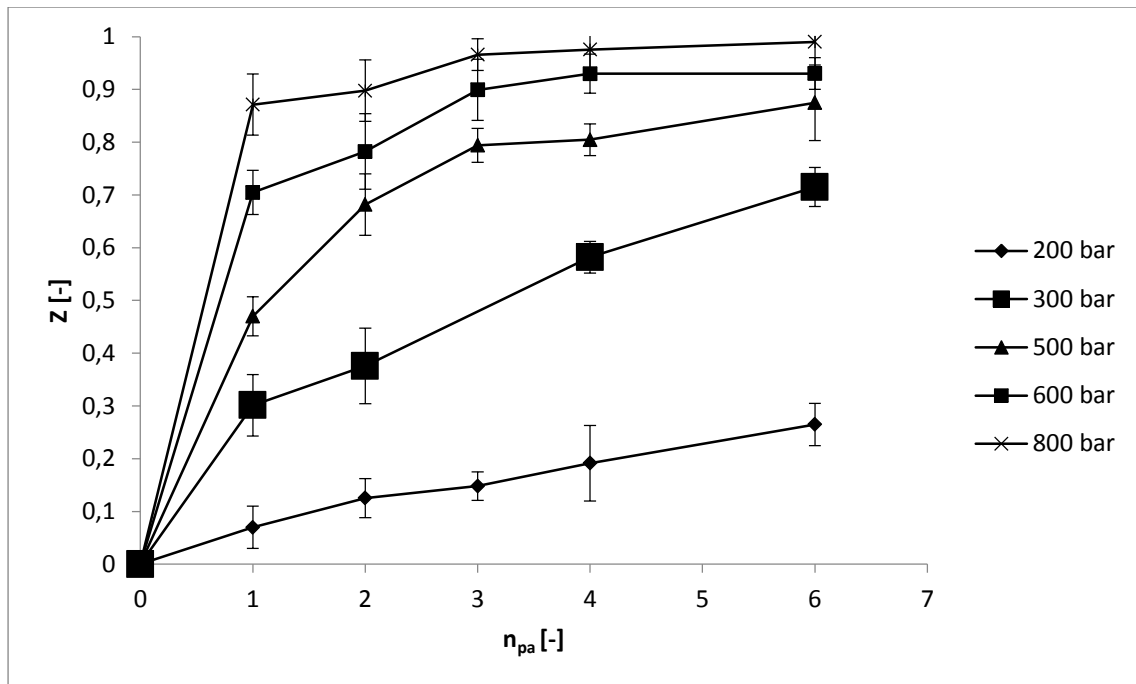
Τα θετικά αποτελέσματα που παρατηρούνται τόσο για τα αμινοξέα και ολιγοπεπτίδια όσο και για τις συνολικές πρωτεΐνες σε θερμοκρασία 52 °C και pH 5,5 οφείλονται στο γεγονός πως οι συνθήκες αυτές βρίσκονται στο βέλτιστο εύρος θερμοκρασιών και pH για τις περισσότερες πρωτεάσες που διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην διαδικασία της autólυσης. Η παρούσα εργασία επιβεβαιώνει επομένως την ευρεία αποδοχή των συνθηκών αυτών ως βέλτιστες για την παραγωγή εκχυλίσματος μαγιάς με autólυση (Reed & Nagodawithana, 2012; Behalova & Beran, 1979).

Σε δεύτερη φάση θα μπορούσε η συμπεριφορά κάθε παραμέτρου να περιγραφεί με δευτερογενή μοντέλα και να συντεθούν σε ένα συνολικό μοντέλο στο οποίο η εξάρτημένη μεταβλητή θα είναι η συγκέντρωση του μετρούμενου μεγέθους και ανεξάρτητες η θερμοκρασία, το pH και ο χρόνος autólυσης.

4.2 ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΟΜΟΓΕΝΟΠΟΙΗΣΗΣ ΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΣΤΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΜΑΓΙΑΣ ΑΡΤΟΠΟΙΑΣ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΠΑΡΑΛΑΒΗ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ

4.2.1 ΜΕΤΑΒΟΛΗ ΤΟΥ ΔΕΙΚΤΗ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΔΙΑΡΡΗΞΗΣ ΜΕ ΤΙΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ

Ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης συσχετίζεται με την ένταση των συνθηκών επεξεργασίας ΟΥΠ. Τόσο αύξηση της πίεσης επεξεργασίας όσο και αύξηση του αριθμού διελεύσεων ενισχύουν την κυτταρική διάρρηξη και οδηγούν σε αύξηση του δείκτη. Με αύξηση της πίεσης επεξεργασίας, ο δείκτης Z αυξάνεται ήδη από την πρώτη κιάλας διέλευση. Η μεταβολή του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης με τις συνθήκες επεξεργασίας με ΟΥΠ παρουσιάζεται στο διάγραμμα που ακολουθεί.



Διάγραμμα 4.21: Μεταβολή του δείκτη κυτταρικής (Z) διάρρηξης με τον αριθμό διελεύσεων (n_{pa}) και την πίεση επεξεργασίας με ΟΥΠ.

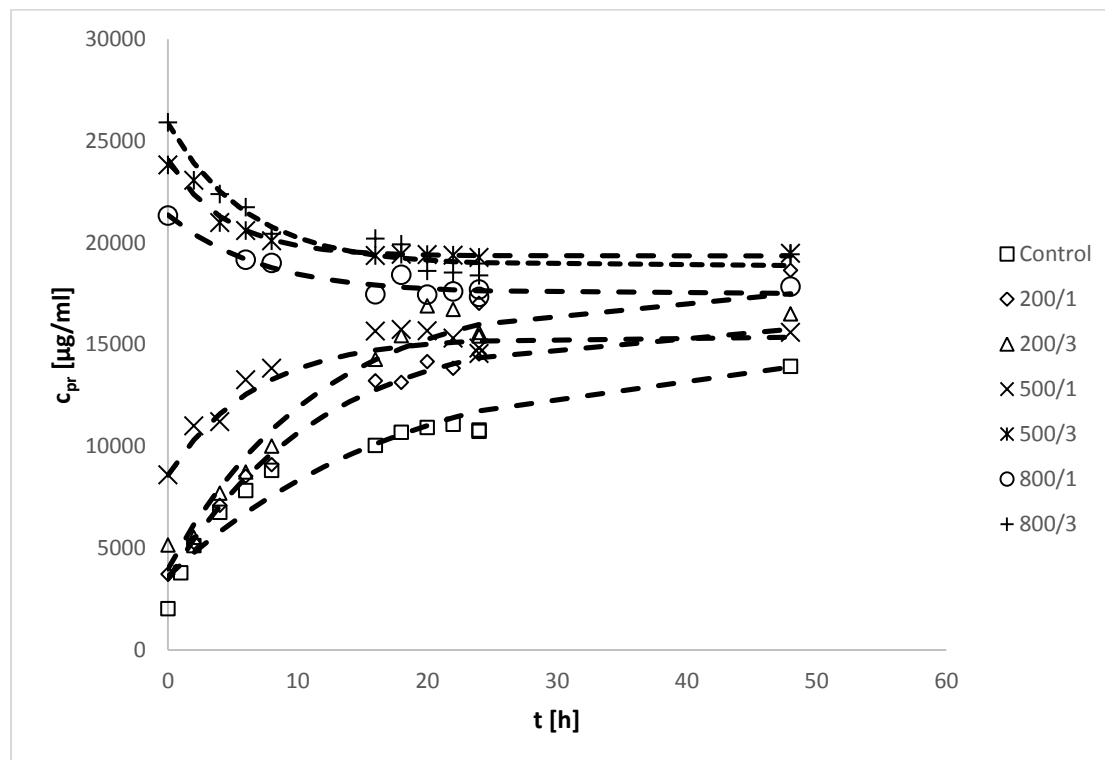
Από τα αποτελέσματα της μέτρησης του δείκτη κυτταρική διάρρηξης επιλέχθηκαν για την παρασκευή εκχυλισμάτων μαγιάς συγκεκριμένες συνθήκες επεξεργασίας με ΟΥΠ τέτοιες ώστε οι αντίστοιχες τιμές του Z να μπορούν να παραταχθούν κατά άξουσα σειρά. Οι επιλεγμένες συνθήκες παρουσιάζονται στον πίνακα 3.2 της ενότητας 3.2.3.

4.2.2 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗΝ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ

Προχωρώντας στην ανάλυση της επίδρασης που επιφέρει η εφαρμογή ΟΥΠ στο αιώρημα μαγιάς στην διεργασία της αυτόλυσης και στα χαρακτηριστικά του εκχυλίσματος μαγιάς που παράγεται από την διεργασία αυτήν, μελετήθηκε, αρχικά, η μεταβολή της συγκέντρωσης πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς, κατά την διάρκεια της αυτόλυσης. Όσον αφορά στις πρωτεΐνες του εκχυλίσματος 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 ελεύθερου αμινοξέως (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 3.6.1.1 και 3.6.1.2, αντίστοιχα.

4.2.2.1 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΣΥΝΟΛΙΚΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ

Σε πρώτη φάση μελετήθηκε η συγκέντρωση των ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς αρτοποιίας, με την μέθοδο Lowry. Από την εκτέλεση της πειραματικής διαδικασίας η οποία περιγράφεται στην ενότητα 3.6.1.1, προέκυψαν, για το εκχύλισμα μαγιάς 10 % W/W που επεξεργάστηκε με ομογενοποίηση υψηλής πίεσης, τα αποτελέσματα τα οποία παρατίθενται στο διάγραμμα που ακολουθεί.

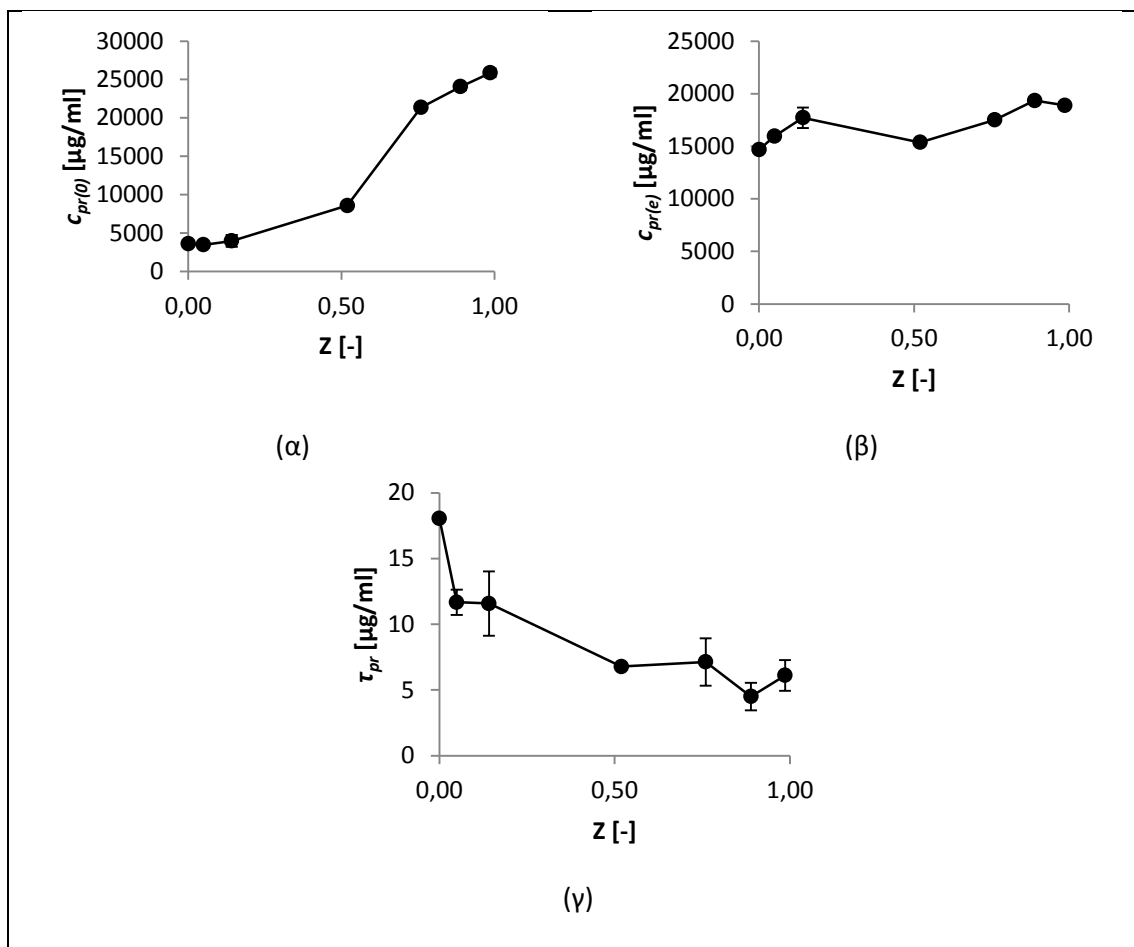


Διάγραμμα 4.22: Μεταβολή της συγκέντρωσης ολικών πρωτεϊνών (c_{pr}) συναρτήσει του χρόνου αυτόλυσης (t) στους 52 °C σε εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης με ΟΥΠ σε διαφορετικές συνθήκες (Control: Ανεπεξέργαστη Μαγιά, 200/1: 200 bar/1 πέρασμα, 200/3: 200 bar/ 3 περάσματα, 500/1: 500 bar/1 πέρασμα, 500/3: 500 bar/3 περάσματα, 800/1: 800 bar/1 πέρασμα, 800/3: 800 bar/3 περάσματα).

Η παραπάνω συμπεριφορά της συγκέντρωσης ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς συναρτήσει του χρόνου κατά την διάρκεια της αυτόλυσης ($c_{pr} = f(t)$) μοντελοποιήθηκε μαθηματικά, με την χρήση του πακέτου λογισμικού IBM SPSS Statistics 19 (IBM Corp., Armonk, New York, United States of America) για κάθε συνθήκη επεξεργασίας ΠΗΠ, με το μαθηματικό μοντέλο 3.5, όπως περιγράφεται στην ενότητα 3.6.7.

Οι παράμετροι των συναρτήσεων $c_{pr} = f(t)$ της μεταβολής της συγκέντρωσης ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς συναρτήσει του χρόνου από την έναρξη της αυτόλυσης οι οποίες προέκυψαν ύστερα από αυτήν την μοντελοποίηση ($c_{pr(0)}$, $c_{pr(e)}$, τ_{pr}),

παρουσιάζονται στα διαγράμματα που ακολουθούν σε αντιπαράβολή με τον δείκτη κυτταρικής διάρρηξης για κάθε συνθήκη που παρουσιάζεται στον πίνακα 3.2.



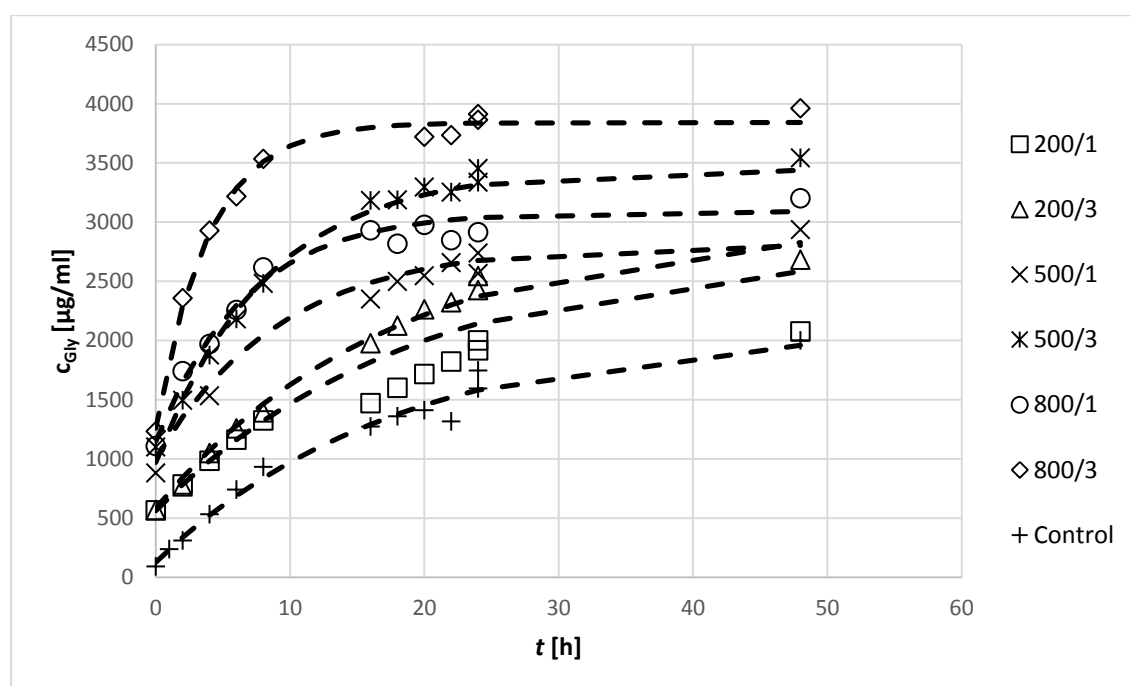
Διάγραμμα 4.23: Μεταβολή των παραμέτρων α) $c_{pr(0)}$, β) $c_{pr(e)}$ και γ) τ_{pr} των συναρτήσεων $c_{pr} = f(t)$ συναρτήσει του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης (Z) που επετεύχθη μέσω κατεργασίας με ΟΥΠ.

Από τα διαγράμματα 4.22, 4.23α, 4.23β και 4.23γ παρατηρείται ότι η κατεργασία του αιωρήματος μαγιάς 10 % W/W με ΟΥΠ έχει θετική επίδραση στην αυτόλυση. Γενικά παρατηρείται ότι η επεξεργασία με ΟΥΠ αυξάνει την αρχική και την τελική συγκέντρωση συνολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα. Η αύξηση αυτή στην περίπτωση της αρχικής συγκέντρωσης οφείλεται στην ακαριαία απελευθέρωση πρωτεϊνών κατά την επεξεργασία με ΟΥΠ. Η αύξηση που καταγράφεται στη τιμή της τελικής συγκέντρωσης αποδίδεται στον εντονότερο κατάκερματισμό του κυττάρου και την αυτόλυση. Η τελική συγκέντρωση συνολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα παρουσιάζει τη μεγαλύτερη τιμή, ίση με 22630 $\mu\text{g/ml}$, σε πίεση 500 bar με 3 περάσματα από τον ομογενοποιητή. Αυτή η συνθήκη επεξεργασίας αντιστοιχεί σε δείκτη κυτταρικής διάρρηξης $Z=0,89$. Σε αυτήν τη συνθήκη ο παράμετρος τ_{pr} παίρνει τιμή 62% μικρότερη από αυτήν της ανεπεξεργαστης μαγιάς (6,9 h) ενώ η μέγιστη της ελάττωση σημειώνεται για επεξεργασία στα 800 bar με 3 περάσματα όπου προκύπτει τιμή 66% μικρότερη (6,1 h).

Συμφώνα με τα παραπάνω η επεξεργασία με ΟΥΠ μπορεί να αυξήσει την ταχύτητα και την απόδοση της αυτόλυσης αναφορικά με τη συγκέντρωση συνολικών πρωτεϊνών.

4.2.2.2 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗΝ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΑΜΙΝΟΞΕΩΝ ΚΑΙ ΟΛΙΓΟΠΕΠΤΙΔΙΩΝ

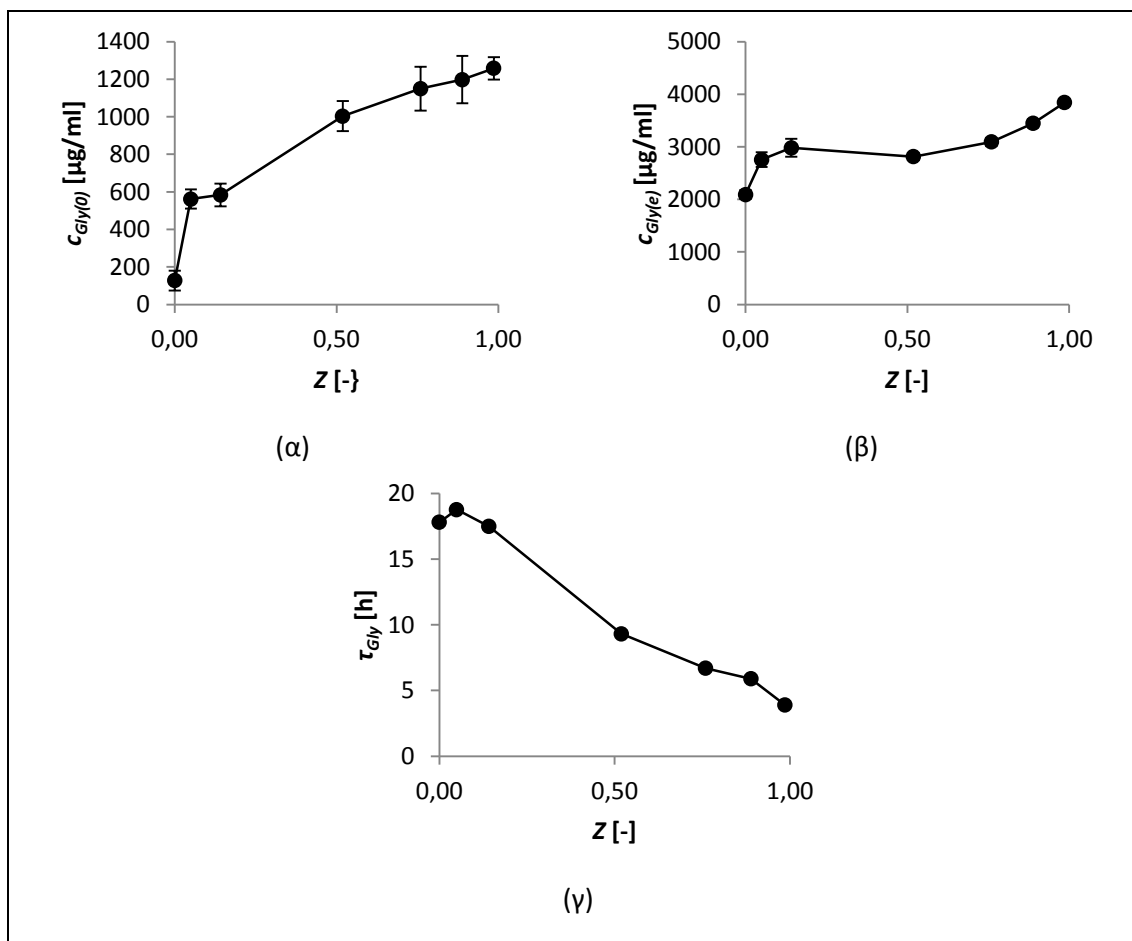
Σε δεύτερη φάση μελετήθηκε η συγκέντρωση των αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων (μονο-, δι- και τριπεπτιδίων) στο εκχύλισμα μαγιάς αρτοποιίας, με την μέθοδο ελεύθερου αμινικού αζώτου. Από την εκτέλεση της πειραματικής διαδικασίας η οποία περιγράφεται στην ενότητα 3.6.1.2, προέκυψαν, για το εκχύλισμα από αιώρημα μαγιάς 10 % W/W που επεξεργάστηκε με ομογενοποίηση υψηλής πίεσης, στις συνθήκες που παρουσιάζονται στον πίνακα 3.2, τα αποτελέσματα τα οποία παρουσιάζονται στα κάτωθι διαγράμματα.



Διάγραμμα 4.24: Μεταβολή της συγκέντρωσης αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων (c_{Gly}) συναρτήσει του χρόνου αυτόλυσης (t) στους 52 °C σε εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης με ΟΥΠ σε διαφορετικές συνθήκες (Control: Ανεπεξεργαστη Μαγιά, 200/1: 200 bar/1 πέρασμα, 200/3: 200 bar/ 3 περάσματα, 500/1: 500 bar/1 πέρασμα, 500/3: 500 bar/3 περάσματα, 800/1: 800 bar/1 πέρασμα, 800/3: 800 bar/3 περάσματα).

Η παραπάνω συμπεριφορά της συγκέντρωσης αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων στο εκχύλισμα μαγιάς συναρτήσει του χρόνου κατά την διάρκεια της Αυτόλυσης ($c_{Gly} = f(t)$) μοντελοποιήθηκε μαθηματικά, με την χρήση του πακέτου λογισμικού IBM SPSS Statistics 19 (IBM Corp., Armonk, New York, United States of America) για κάθε συνθήκη επεξεργασίας ΠΗΠ, με το μαθηματικό μοντέλο 3.6, όπως περιγράφεται στην ενότητα 3.6.7.

Οι παράμετροι των συναρτήσεων $c_{Gly} = f(t)$ της μεταβολής της συγκέντρωσης αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων στο εκχύλισμα μαγιάς συναρτήσει του χρόνου από την έναρξη της αυτόλυσης οι οποίες προέκυψαν ύστερα από αυτήν την μοντελοποίηση ($c_{Gly(0)}, c_{Gly(e)}, \tau_{Gly}$), παρουσιάζονται στα διαγράμματα που ακολουθούν σε αντιπαραβολή με τον δείκτη κυτταρικής διάρρηξης για κάθε συνθήκη που παρουσιάζεται στον πίνακα 3.2.



Διάγραμμα 4.25: Μεταβολή των παραμέτρων α) $c_{Gly(0)}$, β) $c_{Gly(e)}$ και γ) τ_{Gly} των συναρτήσεων $c_{Gly} = f(t)$ συναρτήσει του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης (Z) που επετεύχθη μέσω κατεργασίας με ΟΥΠ.

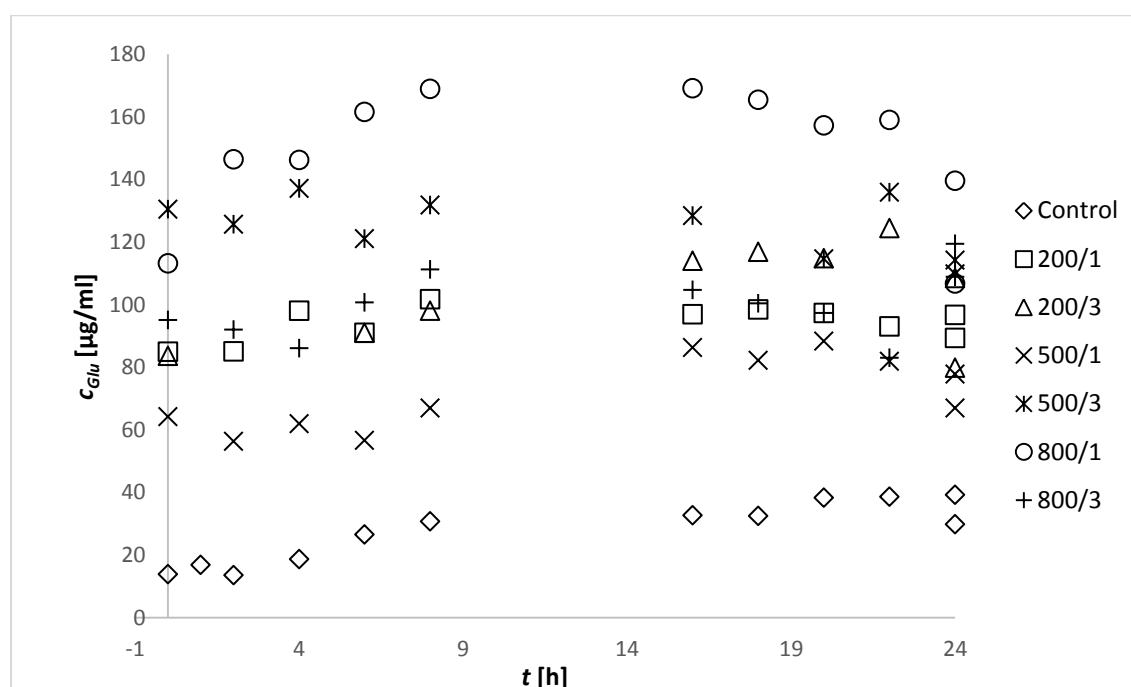
Από τα διαγράμματα 4.24, 4.25α, 4,25β και 4.25γ φαίνεται πως γενικά η ΟΥΠ βελτιώνει την αυτόλυση όσον αφορά στη συγκέντρωση αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων. Γενικά παρατηρείται ότι η επεξεργασία με ΟΥΠ αυξάνει την αρχική και την τελική συγκέντρωση αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων στο εκχύλισμα. Η αύξηση αυτή στη μεν περίπτωση της αρχικής συγκέντρωσης οφείλεται στην ακαριαία απελευθέρωση ενδοκυτταρικών αμινοξέων κατά την επεξεργασία με ΟΥΠ. Η αύξηση που καταγράφεται στη τιμή της τελικής συγκέντρωσης αποδίδεται στον εντονότερο κατακερματισμό του κυττάρου και την αυτόλυση. Αυτό το φαινόμενο ενισχύει την πρόσβαση των πρωτεολυτικών ενζύμων στα πλούσια σε πρωτεΐνες τμήματα του κυτταρικού τοιχώματος, αυξάνοντας έτσι την τελική συγκέντρωση αμινοξέων. Η τελική συγκέντρωση αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων γίνεται μέγιστη και ίση με 3842 μg/ml για πίεση 800 bar και 3 περάσματα. Στις ίδιες συνθήκες η

παράμετρος τ_{Gly} λαμβάνει ελάχιστη τιμή ίση με 3,9 h και ελαττωμένη κατά 78% σε σχέση με την τιμή που αντιστοιχεί στην ανεπεξεργαστη μαγιά.

Συμφώνα με τα παραπάνω η επεξεργασία με ΟΥΠ μπορεί να αυξήσει την ταχύτητα και την απόδοση της αυτόλυσης αναφορικά με τη συγκέντρωση αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων.

4.2.3 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗΝ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ΥΔΑΤΑΝΘΡΑΚΩΝ

Στην συνέχεια της μελέτης της επίδρασης που επιφέρει η επεξεργασία με ΟΥΠ στο αιώρημα μαγιάς αρτοποιίας, στην διεργασία της αυτόλυσης και στα χαρακτηριστικά του εκχυλίσματος μαγιάς που παράγεται από την διεργασία αυτήν. Ερευνήθηκε η μεταβολή της συγκέντρωσης των ολικών υδατανθράκων στο εκχύλισμα μαγιάς, κατά την διάρκεια της αυτόλυσης. Η συγκέντρωση των ολικών υδατανθράκων μετρήθηκε με την μέθοδο της φαινόλης και του θειικού οξέος, σύμφωνα με την πειραματική διαδικασία που αναφέρεται στην ενότητα 3.6.2. Από την εκτέλεση αυτής της πειραματικής διαδικασίας προέκυψαν τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στα παρακάτω διαγράμματα.

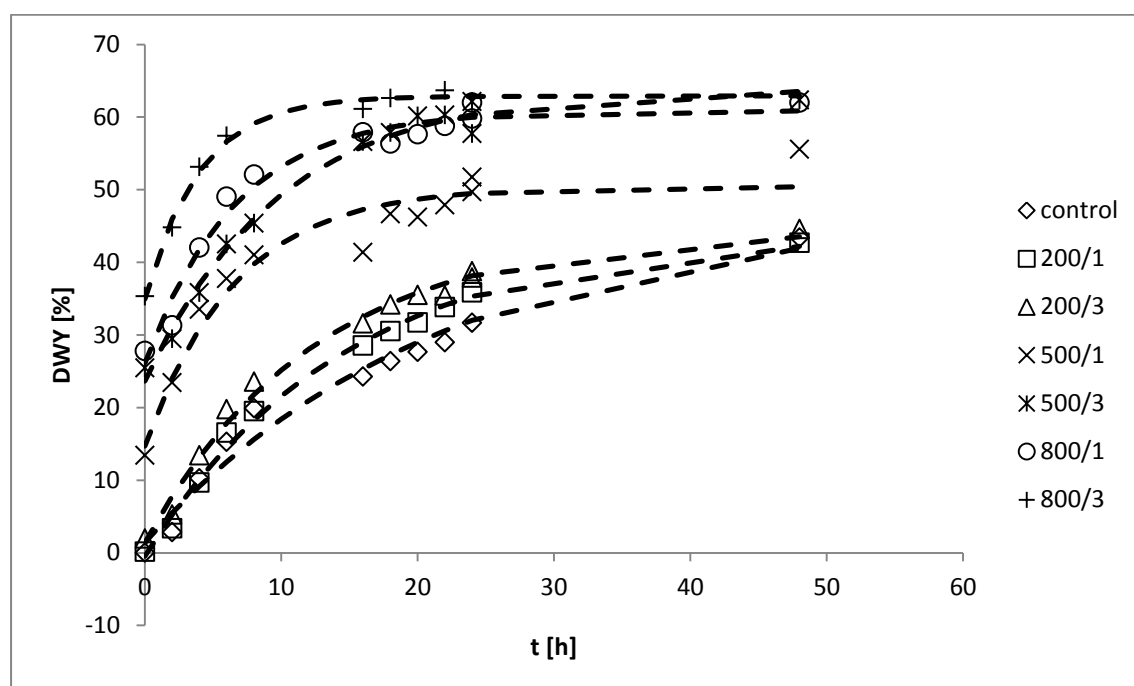


Διάγραμμα 4.26: Μεταβολή της συγκέντρωσης υδατανθράκων (c_{Glu}) συναρτήσει του χρόνου αυτόλυσης (t) στους 52 °C σε εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης με ΟΥΠ σε διαφορετικές συνθήκες (Control: Ανεπεξεργαστη Μαγιά, 200/1:200 bar/1 πέρασμα, 200/3: 200 bar/ 3 περάσματα, 500/1: 500 bar/1 πέρασμα, 500/3: 500 bar/3 περάσματα, 800/1: 800 bar/1 πέρασμα, 800/3: 800 bar/3 περάσματα).

Από το παραπάνω διάγραμμα φαίνεται πως η επεξεργασία του αιωρήματος μαγιάς 10 %^{W/W} με ΟΥΠ σε όλες τις περιπτώσεις βελτίωσε την αυτόλυση όσον αφορά την συγκέντρωση υδατανθράκων στο εκχύλισμα μαγιάς. Αυτό αποδίδεται στην απελευθέρωση πολυσακχαριτών του κυτταρικού τοιχώματος και σακχάρων από το εσωτερικό του κυττάρου λόγω της μηχανικής καταπόνησης των κυττάρων κατά την επεξεργασία με ΟΥΠ. Το γεγονός αυτό επιβεβαιώνεται καθώς αύξηση της έντασης των συνθηκών επεξεργασίας οδηγούν σε αύξηση της ολικής συγκέντρωσης υδατανθράκων.

4.2.4 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΟ ΣΤΕΡΕΟ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑ

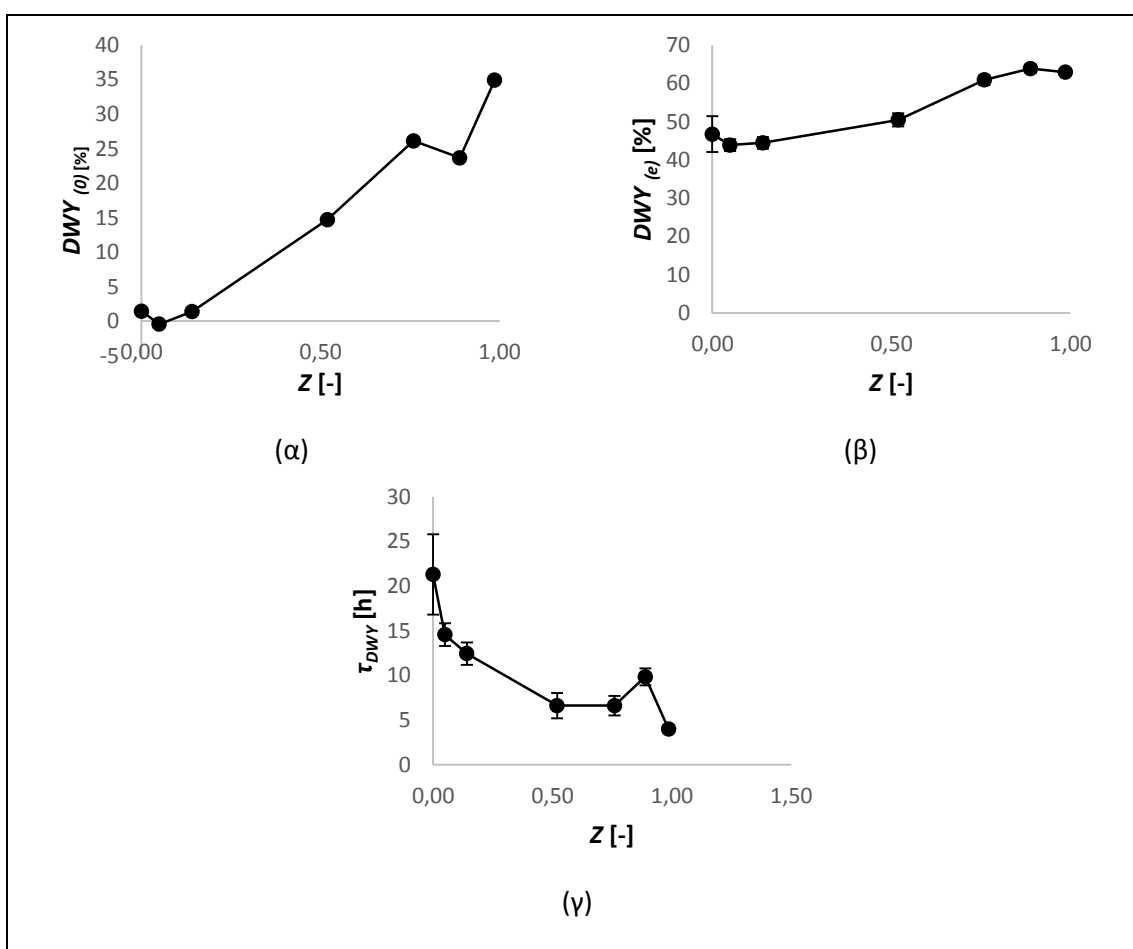
Σε μια περαιτέρω προσπάθεια για την μελέτη της επίδρασης της των ΟΥΠ στην διεργασία της αυτόλυσης της μαγιάς αρτοποιίας και στα χαρακτηριστικά του εκχυλίσματος μαγιάς που παράγεται από την διεργασία αυτήν, ερευνήθηκε η μεταβολή που επιφέρει η επεξεργασία με ΟΥΠ στο στερεό υπόλειμμα του εκχυλίσματος μαγιάς 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 3.6.4 και τα αποτελέσματα αυτής της διαδικασίας παρατίθενται στα ακόλουθα διαγράμματα.



Διάγραμμα 4.27: Μεταβολή το ποσοστού στερεού υπολείμματος εκχυλίσματος προς τη μάζα της ξηρής μαγιάς (DWY) συναρτήσει του χρόνου αυτόλυσης (t) στους 52 °C σε εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης με ΟΥΠ σε διαφορετικές συνθήκες (Control: Ανεπεξέργαστη Μαγιά, 200/1: 200 bar/1 πέρασμα, 200/3: 200 bar/ 3 περάσματα, 500/1: 500 bar/1 πέρασμα, 500/3: 500 bar/3 περάσματα, 800/1: 800 bar/1 πέρασμα, 800/3: 800 bar/3 περάσματα).

Η παραπάνω συμπεριφορά του ανηγμένου στερεού υπολείμματος στο εκχύλισμα μαγιάς συναρτήσει του χρόνου κατά την διάρκεια της αυτόλυσης ($\frac{m_{dry}}{m_{YE}} = f(t)$) μοντελοποιήθηκε μαθηματικά, με την χρήση του πακέτου λογισμικού IBM SPSS Statistics 19 (IBM Corp., Armonk, New York, United States of America) για κάθε συνθήκη επεξεργασίας ΠΗΠ, με το μαθηματικό μοντέλο 3.7, όπως περιγράφεται στην ενότητα 3.6.7.

Οι παράμετροι των συναρτήσεων $\frac{m_{dry}}{m_{YE}} = f(t)$ της μεταβολής του στερεού υπολείμματος στο εκχύλισμα μαγιάς συναρτήσει του χρόνου από την έναρξη της αυτόλυσης οι οποίες προέκυψαν ύστερα από αυτήν την μοντελοποίηση ($\frac{m_{dry}}{m_{YE(0)}}$, $\frac{m_{dry}}{m_{YE(e)}}$, τ_{DWY}), παρουσιάζονται στα διαγράμματα που ακολουθούν σε συνάρτηση με τον δείκτη κυτταρικής διάρρηξης για κάθε συνθήκη που παρουσιάζεται στον πίνακα 3.2.



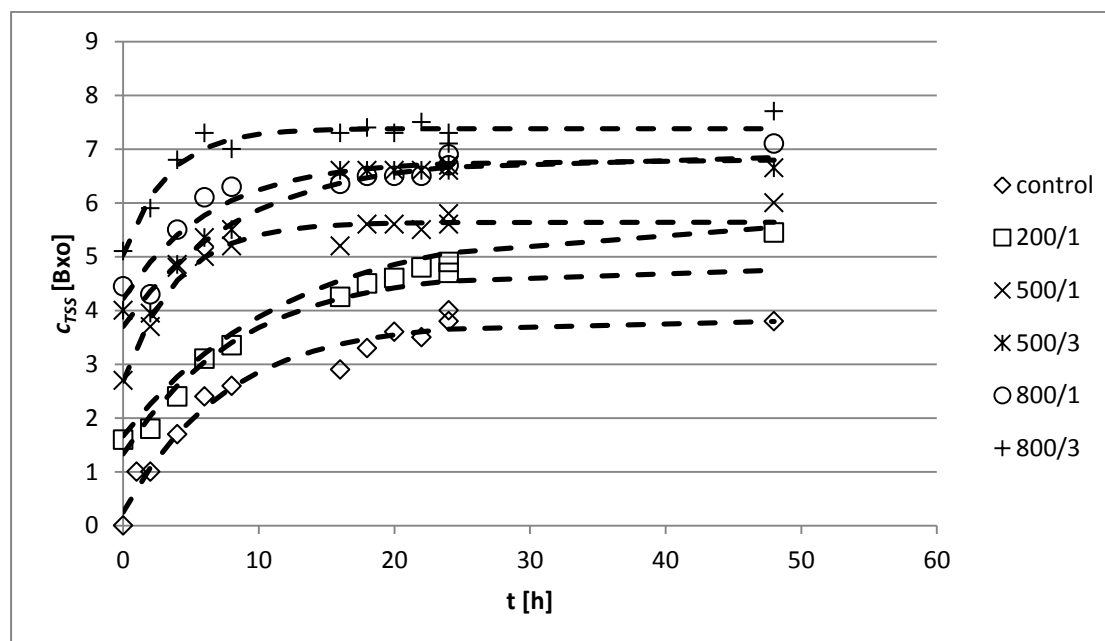
Διάγραμμα 4.28: Μεταβολή των παραμέτρων α) DWY_0 , β) DWY_e και γ) τ_{DWY} των συναρτήσεων $DWY = f(t)$ συναρτήσει του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης (Z) που επετεύχθη μέσω κατεργασίας με ΠΗΠ.

Από τα παραπάνω διαγράμματα φαίνεται πως γενικά η ΟΥΠ βελτιώνει την αυτόλυση όσον αφορά το στερεό υπόλειμμα του εκχυλίσματος. Η αύξηση αρχικού ποσοστού στερεού υπολείμματος επι τη μάζα της ξηρής μαγιάς οφείλεται στην απελευθέρωση κυτταρικού

υλικού κατά την επεξεργασία. Η θετική επίδραση της ΟΥΠ στην αύξηση του στερεού υπολείμματος κατά την αυτόλυση οφείλεται στην εντονότερη κατάτμηση του κυττάρου. Η μέγιστη τελική τιμή που λαμβάνει το ποσοστό στερεού υπολείμματος εκχυλίσματος προς το βάρος της ξηρής μαγιάς είναι ίση με 64% και αντιστοιχεί σε επεξεργασία ΟΥΠ με πίεση 500 bar και 3 περάσματα.

4.2.5 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗΝ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ΔΙΑΛΥΤΩΝ ΣΤΕΡΕΩΝ

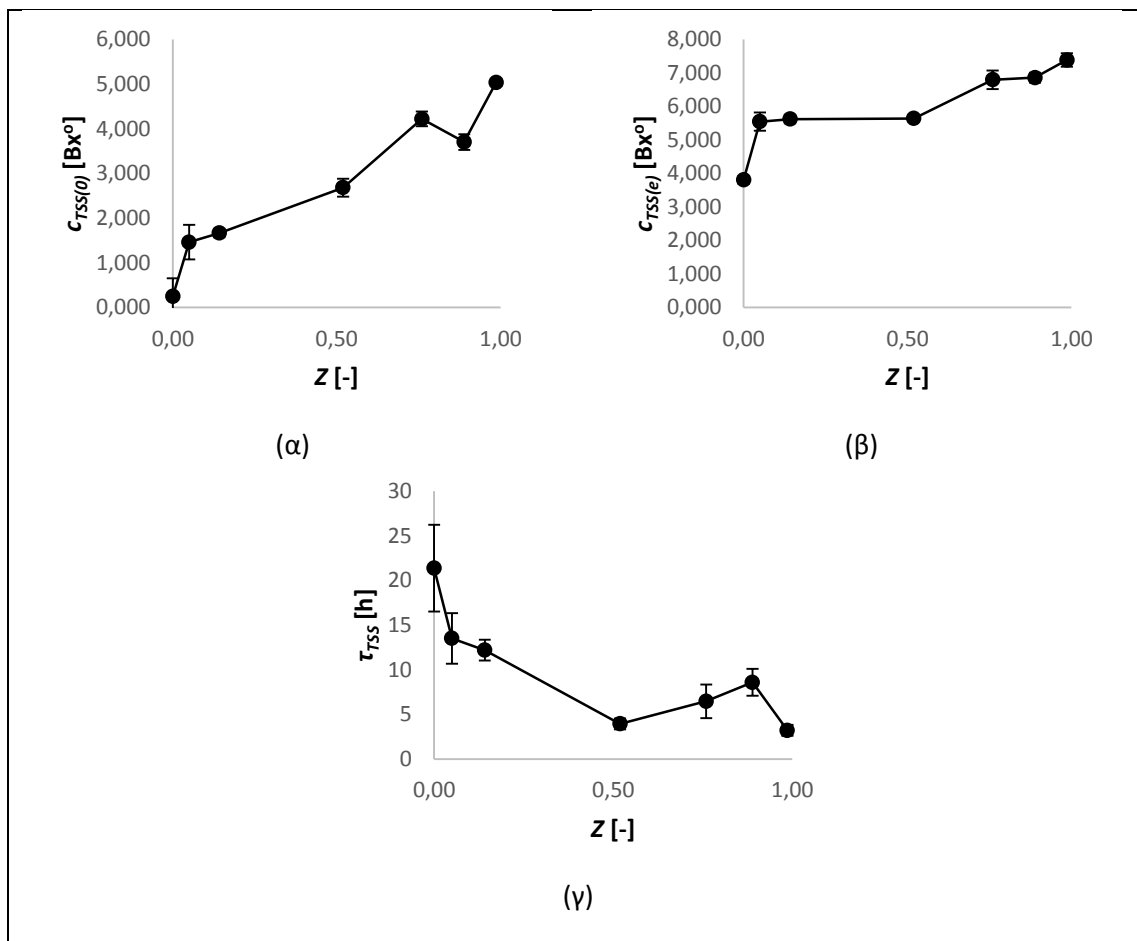
Στην συνέχεια μελετήθηκε η επίδραση των ΟΥΠ στην συγκέντρωση των ολικών διαλυτών στερεών στο εκχύλισμα μαγιάς, κατά την διάρκεια της αυτόλυσης. Η συγκέντρωση των ολικών διαλυτών στερεών στο εκχύλισμα μαγιάς μετρήθηκε κατά την διάρκεια της αυτόλυσης του αιωρήματος μαγιάς 10 % W/W , είτε ανεπεξεργαστου, είτε επεξεργασμένου με ΟΥΠ, σε διάφορες συνθήκες (200 bar/1 πέρασμα, 200 bar/ 3 περάσματα, 500 bar/1 πέρασμα, 500 bar/3 περάσματα, 800 bar/1 πέρασμα, 800 bar/3 περάσματα), σύμφωνα με την διαδικασία που αναφέρεται στο κεφάλαιο 3.6.5 και εκφράσθηκε σε °Bx. Τα αποτελέσματα αυτών των μετρήσεων παρουσιάζονται για κάθε συνθήκη επεξεργασίας ΠΗΠ στο διάγραμμα που ακολουθεί.



Διάγραμμα 4.29: Μεταβολή της συγκέντρωσης ολικών διαλυτών στερεών συναρτήσει του χρόνου αυτόλυσης στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης με ΟΥΠ σε διαφορετικές συνθήκες (Control: Ανεπεξεργαστη Μαγιά, 200/1:200 bar/1 πέρασμα, 200/3: 200 bar/ 3 περάσματα, 500/1: 500 bar/1 πέρασμα, 500/3: 500 bar/3 περάσματα, 800/1: 800 bar/1 πέρασμα, 800/3: 800 bar/3 περάσματα).

Η παραπάνω συμπεριφορά της συγκέντρωσης ολικών διαλυτών στερεών στο εκχύλισμα μαγιάς συναρτήσει του χρόνου κατά την διάρκεια της αυτόλυσης ($c_{TSS} = f(t)$) μοντελοποιήθηκε μαθηματικά, με την χρήση του πακέτου λογισμικού IBM SPSS Statistics 19 (IBM Corp., Armonk, New York, United States of America) για κάθε συνθήκη επεξεργασίας ΠΗΠ, με το μαθηματικό μοντέλο 3.8, όπως περιγράφεται στην ενότητα 3.6.7.

Οι παράμετροι των συναρτήσεων $c_{TSS} = f(t)$ της μεταβολής της συγκέντρωσης ολικών διαλυτών στερεών στο εκχύλισμα μαγιάς συναρτήσει του χρόνου από την έναρξη της αυτόλυσης οι οποίες προέκυψαν ύστερα από αυτήν την μοντελοποίηση ($c_{TSS(0)}$, $c_{TSS(e)}$, τ_{TSS}), παρουσιάζονται στα διαγράμματα που ακολουθούν σε αντιπαραβολή με τον δείκτη κυτταρικής διάρρηξης για κάθε συνθήκη που παρουσιάζεται στον πίνακα 3.2.

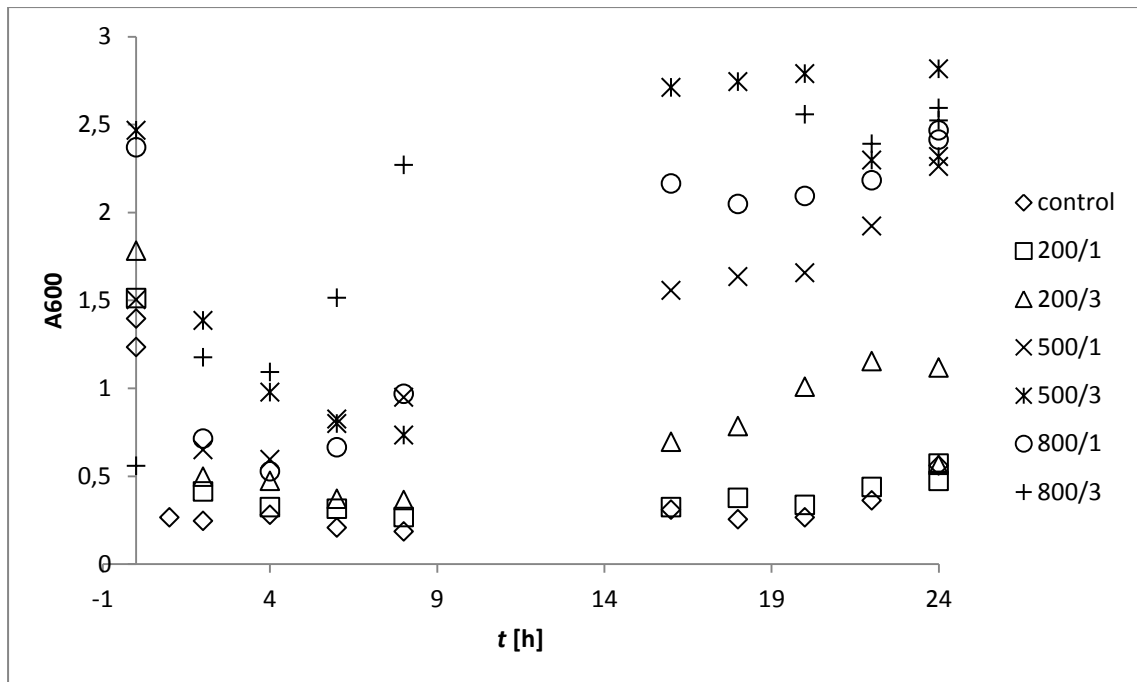


Διάγραμμα 4.30: Μεταβολή των παραμέτρων α) $c_{TSS(0)}$, β) $c_{TSS(e)}$ και γ) τ_{TSS} των συναρτήσεων $c_{TSS} = f(t)$ συναρτήσει του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης (Z) που επετεύχθη μέσω κατεργασίας με ΟΥΠ.

Τα διαγράμματα 4.29, 4.30α, 4.30β και 4.30γ δείχνουν πως η επεξεργασία με ΟΥΠ είχε θετική επίδραση στην αυτόλυση όσον αφορά στη συγκέντρωση ολικών διαλυτών στερεών στο εκχύλισμα μαγιάς. Όλες οι συνθήκες επεξεργασίας με ΟΥΠ είχαν ως αποτέλεσμα την αύξηση της αρχικής και της τελικής συγκέντρωσης στερεών κατά την αυτόλυση. Αυτό αποδίδεται για την περίπτωση της αρχικής συγκέντρωσης στην απελευθέρωση διαλυτών στερεών κατά την επεξεργασία και για την τελική συγκέντρωση στη εντονότερη κατάτμιση του κυττάρου της μαγιάς. Η μεγαλύτερη τιμή που επετεύχθη είναι 7,4 °Bx και ήταν αποτέλεσμα της επεξεργασίας σε πίεση 800 bar με 3 περάσματα. Για τις ίδιες συνθήκες επεξεργασίας παρατηρείται η μικρότερη τιμή της παραμέτρου τ_{TSS} που είναι ίση 3,2 h είναι 65 % μικρότερη σε σχέση με αυτήν της ανεπεξεργαστης μαγιάς.

4.2.6 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗΝ ΘΟΛΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ

Στην συνέχεια μελετήθηκε η επίδραση των ΟΥΠ στην συγκέντρωση θολότητα του εκχυλίσματος μαγιάς, κατά την διάρκεια της αυτόλυσης. Η θολότητα του εκχυλίσματος μαγιάς μετρήθηκε κατά την διάρκεια της αυτόλυσης του αιωρήματος μαγιάς 10 % W/W , είτε ανεπεξεργαστου, είτε επεξεργασμένου με ΟΥΠ, σε διάφορες συνθήκες (200 bar/1 πέρασμα, 200 bar/ 3 περάσματα, 500 bar/1 πέρασμα, 500 bar/3 περάσματα, 800 bar/1 πέρασμα, 800 bar/3 περάσματα), σύμφωνα με την διαδικασία που αναφέρεται στο κεφάλαιο 3.6.7. Τα αποτελέσματα αυτών των μετρήσεων παρουσιάζονται για κάθε συνθήκη επεξεργασίας ΠΗΠ στο διάγραμμα που ακολουθεί.



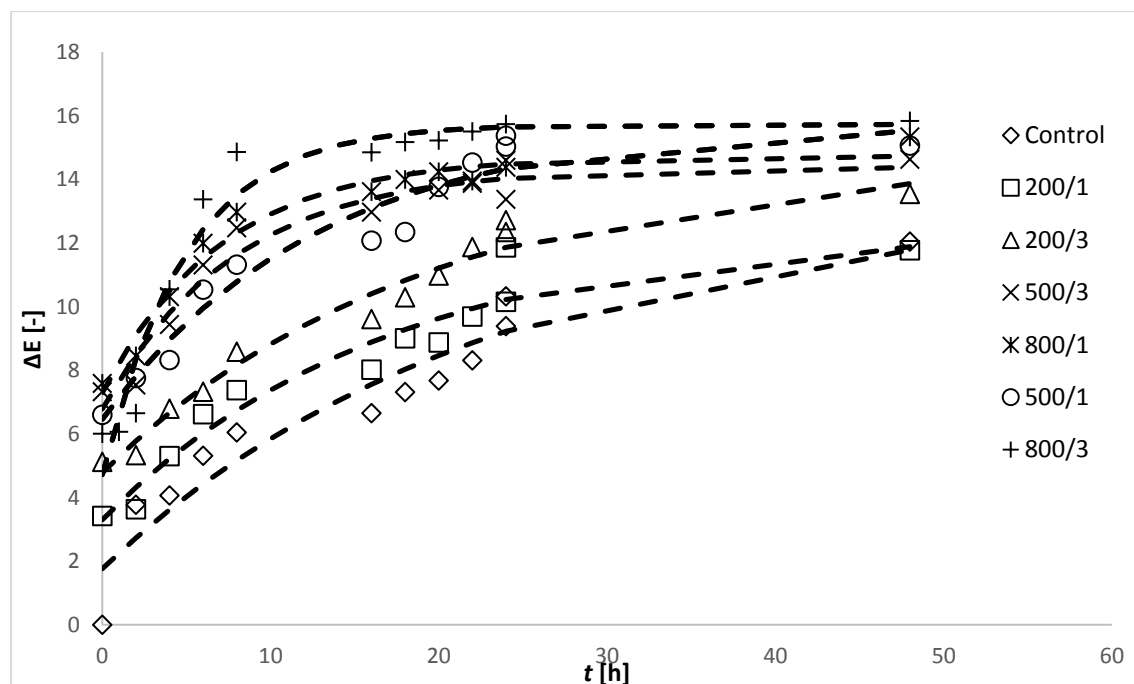
Διάγραμμα 4.31: Μεταβολή της θολότητας συναρτήσει του χρόνου αυτόλυσης στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης με ΟΥΠ σε διαφορετικές συνθήκες (Control: Ανεπεξεργαστη Μαγιά, 200/1:200 bar/1 πέρασμα, 200/3: 200 bar/ 3 περάσματα, 500/1: 500 bar/1 πέρασμα, 500/3: 500 bar/3 περάσματα, 800/1: 800 bar/1 πέρασμα, 800/3: 800 bar/3 περάσματα).

Η εμφάνιση της θολότητας του εκχυλίσματος εξαρτάται έντονα από τις συνθήκες επεξεργασίας και αυξάνεται όσο αυξάνεται η έντασή τους. Όπως φαίνεται στο παραπάνω διάγραμμα η μέγιστη μεταβολή της απορρόφησης στα 600 nm, σε σχέση με αυτήν που προκύπτει για την ανεπεξεργαστη μαγιά, για χρόνο αυτόλυσης 24h σημειώνεται για την επεξεργασία με 500 bar και 3 περάσματα. Η μεταβολή αυτή αντιστοιχεί σε αύξηση κατά 399%. Οι αυξημένη θολότητα σε έντονες συνθήκες επεξεργασίας οφείλεται στην εντονότερη κατάτμηση του κυττάρου και στην αυτόλυση η οποία αποδίδει περισσότερα κυτταρικά θραύσματα. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με τη μελέτη των Verduyn et al. (1999) οι οποίοι εφάρμοσαν μεθόδους για τη χημική διαύγαση του εκχυλίσματος. Στην παρούσα μελέτη ωστόσο κατέστη σαφές ότι με επιλογή κατάλληλων συνθηκών επεξεργασίας, το παραγόμενο εκχύλισμα μπορεί να διατηρήσει χαμηλές τιμές θολότητας και παράλληλα να παραχθεί με αυξημένους ρυθμούς και απόδοση.

4.2.7 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΟ ΧΡΩΜΑ ΤΟΥ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ

Τέλος, μελετήθηκε η επίδραση των ΟΥΠ στο χρώμα του εκχυλίσματος μαγιάς, κατά την διάρκεια της αυτόλυσης. Το χρώμα του εκχυλίσματος μαγιάς μετρήθηκε κατά την διάρκεια της αυτόλυσης του αιωρήματος μαγιάς 10% W/W , είτε ανεπεξεργαστου, είτε επεξεργασμένου με ΟΥΠ, σε διάφορες συνθήκες (200 bar/1 πέρασμα, 200 bar/ 3 περάσματα, 500 bar/1 πέρασμα, 500 bar/3 περάσματα, 800 bar/1 πέρασμα, 800 bar/3 περάσματα), σύμφωνα με την διαδικασία που αναφέρεται στο κεφάλαιο 3.6.6 και

εκφράσθηκε στην κλίμακα CIELAB. Τα αποτελέσματα αυτών των μετρήσεων παρουσιάζονται για κάθε συνθήκη επεξεργασίας ΟΥΠ παρουσιάζονται στα διαγράμματα που ακολουθούν.



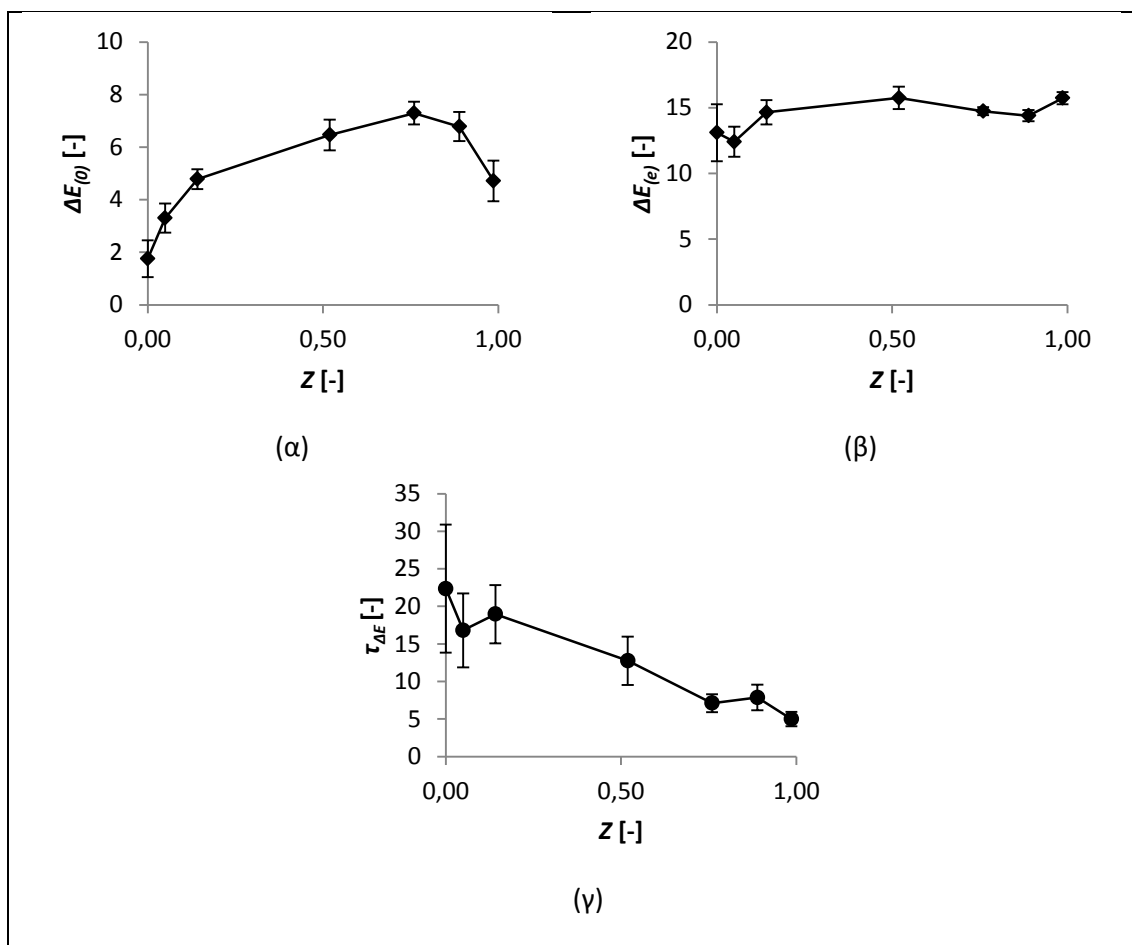
Διάγραμμα 4.32: Διάγραμμα της συνολικής μεταβολής του χρώματος (ΔE) συναρτήσει του χρόνου αυτόλυσης στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης με ΟΥΠ σε διαφορετικές συνθήκες (Control: Ανεπεξέργαστη Μαγιά, 200/1:200 bar/1 πέρασμα, 200/3: 200 bar/ 3 περάσματα, 500/1: 500 bar/1 πέρασμα, 500/3: 500 bar/3 περάσματα, 800/1: 800 bar/1 πέρασμα, 800/3: 800 bar/3 περάσματα).

Από το διάγραμμα 4.32 φαίνεται πως η ολική μεταβολή χρώματος λαμβάνει για όλα τα δείγματα μέγιστη τιμή στις 48 h αυτόλυσης. Παρατηρείται πως η επεξεργασία με 500 bar και 1 πέρασμα και η επεξεργασία με 800 bar και 3 περάσματα είχαν ως αποτέλεσμα υψηλότερες τιμές της συνολικής μεταβολής χρώματος ΔE σε σχέση με τις υπόλοιπες συνθήκες επεξεργασίας.

Η παραπάνω συμπεριφορά της συνολικής μεταβολής χρώματος στο εκχύλισμα μαγιάς συναρτήσει του χρόνου κατά την διάρκεια της Αυτόλυσης ($\Delta E = f(t)$) μοντελοποιήθηκε μαθηματικά, με την χρήση του πακέτου λογισμικού IBM SPSS Statistics 19 (IBM Corp., Armonk, New York, United States of America) για κάθε συνθήκη επεξεργασίας ΠΗΠ, με το μαθηματικό μοντέλο 3.9, όπως περιγράφεται στην ενότητα 3.6.7.

Οι παράμετροι των συναρτήσεων $c_{TSS} = f(t)$ της μεταβολής της συγκέντρωσης ολικών διαλυτών στερεών στο εκχύλισμα μαγιάς συναρτήσει του χρόνου από την έναρξη της

αυτόλυσης οι οποίες προέκυψαν ύστερα από αυτήν την μοντελοποίηση ($c_{TSS(0)}$, $c_{TSS(e)}$, τ_{TSS}), παρουσιάζονται στα διαγράμματα που ακολουθούν.



Διάγραμμα 4.33: Μεταβολή των παραμέτρων α) $\Delta E_{(0)}$, β) $\Delta E_{(e)}$ και γ) $\tau_{\Delta E}$ των συναρτήσεων $\Delta E = f(t)$ συναρτήσει του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης (Z) που επετεύχθη μέσω κατεργασίας με ΠΗΠ.

Από τα διαγράμματα 4.33α φαίνεται πως η αρχική ολική μεταβολή χρώματος αυξάνεται με την επεξεργασία ΟΥΠ. Η αύξηση αυτή οφείλεται στο μη ενζυμικό μαυρισμα που εντείνεται λόγω της απελευθέρωσης αμινοξέων και σακχάρων κατά την επεξεργασία. Από τα διαγράμματα 4.33β και 4.33γ φαίνεται πως η ολική μεταβολή του χρώματος αυξάνεται και μάλιστα φτάνει πιο σύντομα στη μέγιστη τιμή της. Τα προηγούμενα οφείλονται στην εντονότερη κατάτμηση του κυττάρου και την επακόλουθη απελευθέρωση μεγαλύτερων ποσοτήτων αμινοξέων και σακχάρων.

4.3 ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΠΑΛΜΙΚΩΝ ΗΛΕΚΤΡΙΚΩΝ ΠΕΔΙΩΝ ΣΤΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΜΑΓΙΑΣ ΑΡΤΟΠΟΙΑΣ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΠΑΡΑΛΑΒΗ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ

4.3.1 ΜΕΤΑΒΟΛΗ ΤΟΥ ΔΕΙΚΤΗ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΔΙΑΡΡΗΞΗΣ ΜΕ ΤΙΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ

Ο δείκτης κυτταρική διάρρηξης για τις συνθήκες επεξεργασίας με παλμικά ηλεκτρικά πεδία που εφαρμόστηκαν παρουσιάζεται στον παρακάτω πίνακα. Οι συγκεκριμένες συνθήκες επεξεργασίας επιλέχθηκαν ώστε να μελετηθεί η εξέλιξη της αυτόλυσης σε ένα εύρος δεικτών κυτταρικής διάρρηξης.

Πίνακας 4.3 : Ένταση ηλεκτρικού πεδίου και αριθμός παλμών και δείκτης κυτταρικής διάρρηξης για αιώρημα μαγιάς που επεξεργάστηκε με παλμικά ηλεκτρικά πεδία.

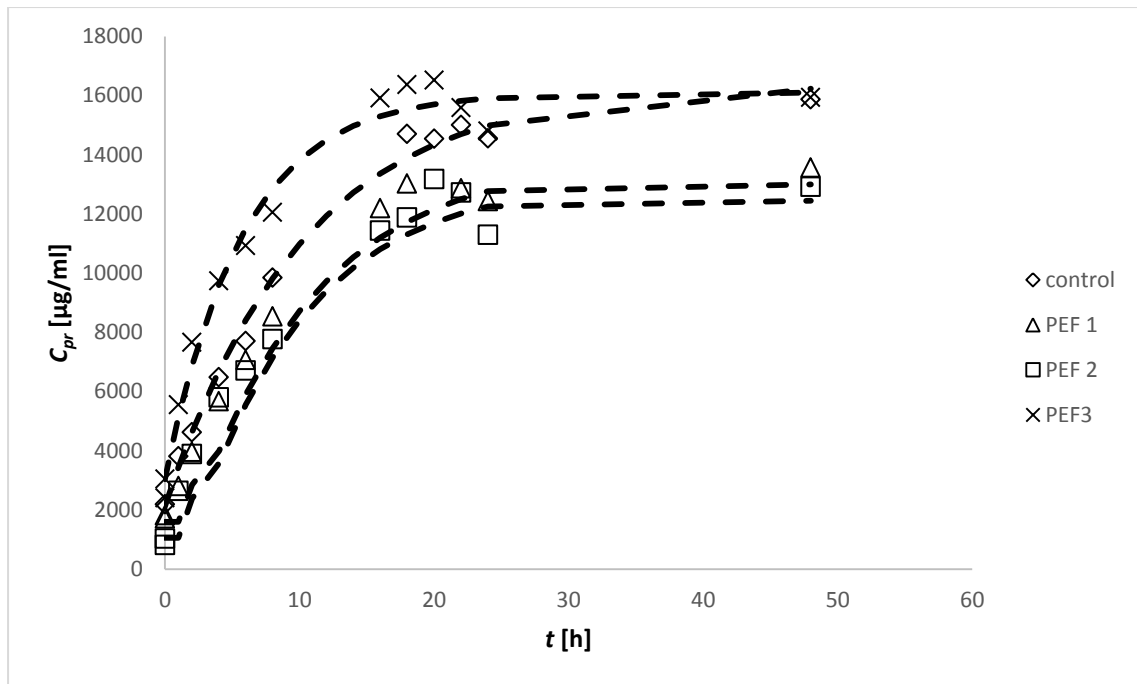
Κωδικός	E [kV/cm]	np [-]	Z [-]
PEF 1	7,5	4	0,10
PEF 2	18,0	4	0,48
PEF 3	15,5	20	0,86

4.3.2 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗΝ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ

Προχωρώντας στην ανάλυση της επίδρασης που επιφέρει η εφαρμογή ΠΗΠ στο αιώρημα μαγιάς στην διεργασία της αυτόλυσης και στα χαρακτηριστικά του εκχυλίσματος μαγιάς που παράγεται από την διεργασία αυτήν, μελετήθηκε αρχικά η μεταβολή της συγκέντρωσης πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς, κατά την διάρκεια της αυτόλυσης. Όσον αφορά στις πρωτεΐνες του εκχυλίσματος μαγιάς, χρησιμοποιήθηκαν δύο διαφορετικές μέθοδοι, για τον προσδιορισμό δύο διαφορετικών δεικτών: η μέθοδος Lowry, με την οποίαν προσδιορίζεται η συγκέντρωση των συνολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς, και η μέθοδος ελεύθερου αμινοξέως (Free Amino-Nitrogen, FAN), με την οποίαν προσδιορίζεται η συγκέντρωση των αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων (μονο-, δι- και τριπεπτιδίων) στο εκχύλισμα μαγιάς, με τις διαδικασίες που περιγράφονται στις ενότητες 3.6.1.1 και 3.6.1.2, αντίστοιχα.

4.3.2.1 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΣΥΝΟΛΙΚΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ

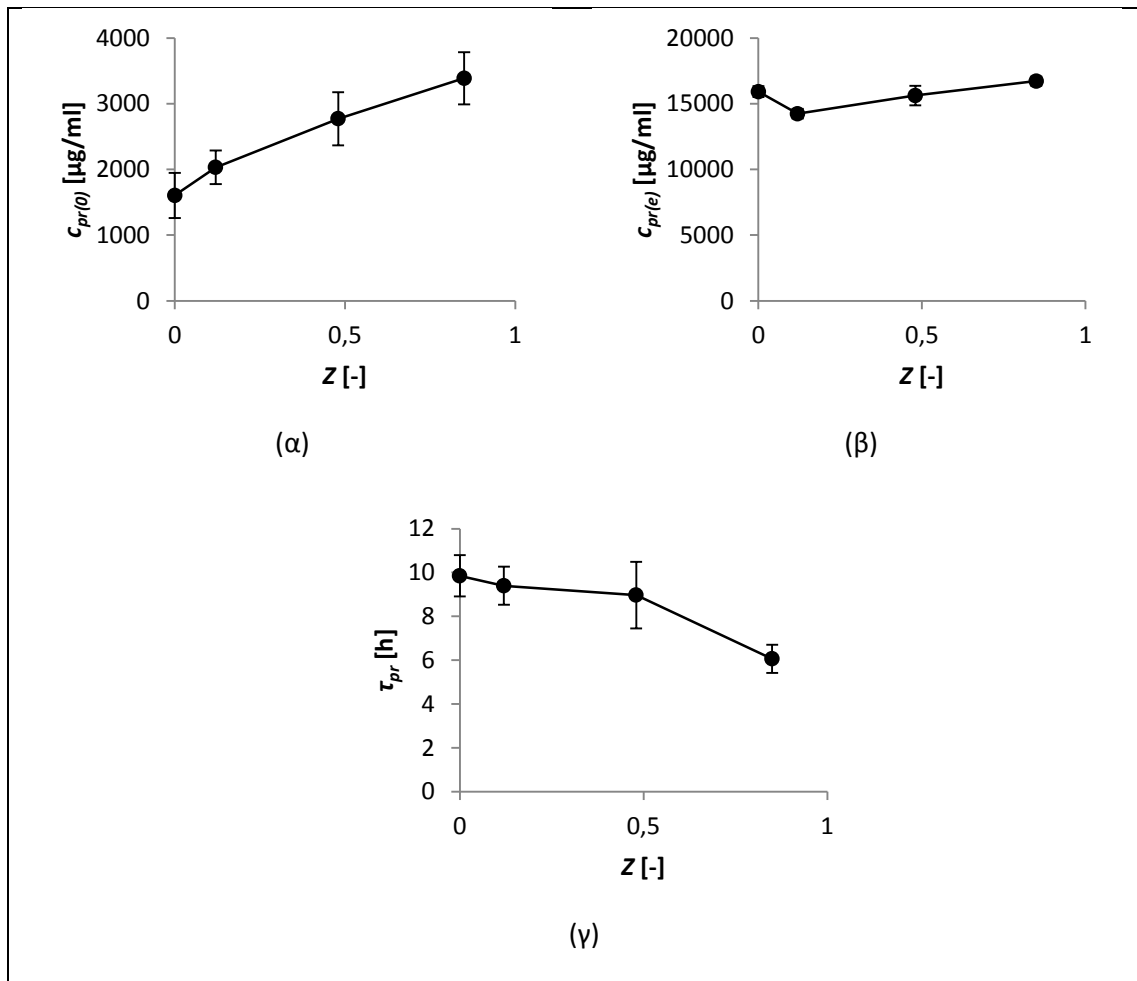
Σε πρώτη φάση μελετήθηκε η συγκέντρωση των ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς αρτοποιίας, με την μέθοδο Lowry. Από την εκτέλεση της πειραματικής διαδικασίας η οποία περιγράφεται στην ενότητα 3.6.1.1, προέκυψαν, για το εκχύλισμα μαγιάς 10 % W/W που επεξεργάστηκε με παλμικά ηλεκτρικά πεδία, τα αποτελέσματα τα οποία παρατίθενται στο διάγραμμα που ακολουθεί.



Διάγραμμα 4.34: Μεταβολή της συγκέντρωσης ολικών πρωτεϊνών (c_{pr}) συναρτήσει του χρόνου αυτόλυσης (t) στους 52 °C σε εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης με ΠΗΠ σε διαφορετικές συνθήκες (Control: Ανεπεξέργαστη Μαγιά, PEF1: 4 παλμοί/ 7,5 kV/cm, PEF 2: 4 παλμοί/ 18kV/cm, PEF 3: 20 Παλμοί/ 15,5 kV/cm).

Η παραπάνω συμπεριφορά της συγκέντρωσης ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς συναρτήσει του χρόνου κατά την διάρκεια της αυτόλυσης ($c_{pr} = f(t)$) μοντελοποιήθηκε μαθηματικά, με την χρήση του πακέτου λογισμικού IBM SPSS Statistics 19 (IBM Corp., Armonk, New York, United States of America) για κάθε συνθήκη επεξεργασίας ΠΗΠ, με το μαθηματικό μοντέλο 3.5, όπως περιγράφεται στην ενότητα 3.6.7.

Οι παράμετροι των συναρτήσεων $c_{pr}=f(t)$ της μεταβολής της συγκέντρωσης ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς συναρτήσει του χρόνου από την έναρξη της αυτόλυσης οι οποίες προέκυψαν ύστερα από αυτήν την μοντελοποίηση ($c_{pr(0)}, c_{pr(e)}, \tau_{pr}$), παρουσιάζονται στα διαγράμματα που ακολουθούν σε αντιπαραβολή με τον δείκτη κυτταρικής διάρρηξης για κάθε συνθήκη που παρουσιάζεται στον πίνακα 3.2.



Διάγραμμα 4.35: Μεταβολή των παραμέτρων α) $c_{pr(0)}$, β) $c_{pr(e)}$ και γ) τ_{pr} των συναρτήσεων $c_{pr} = f(t)$ συναρτήσεως του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης (Z) που επετεύχθη μέσω κατεργασίας με ΠΗΠ.

Από τα διαγράμματα 4.34, 4.35α, 4.35β και 4.54γ παρατηρείται ότι η κατεργασία του αιωρήματος μαγιάς 10 % W/W με 20 παλμούς σε ένταση ηλεκτρικού πεδίου 15,5 kV/cm επιφέρει θετική μεταβολή στην διεργασία της αυτόλυσης, αναφορικά με την συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς. Σε σύγκριση με το εκχύλισμα μαγιάς το οποίο παράγεται από ανεπεξεργαστη μαγιά, το εκχύλισμα που παράγεται από αιώρημα μαγιάς επεξεργασμένο με 20 παλμούς σε ένταση ηλεκτρικού πεδίου 15,5 kV/cm αποκτά μεγαλύτερη τελική συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών σε μικρότερο χρόνο αυτόλυσης. Στην περίπτωση επεξεργασίας του αιωρήματος μαγιάς με 4 παλμούς σε ένταση 7,5 kV/cm

παρατηρείται μείωση στην τελική συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς σε σχέση με το εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς.

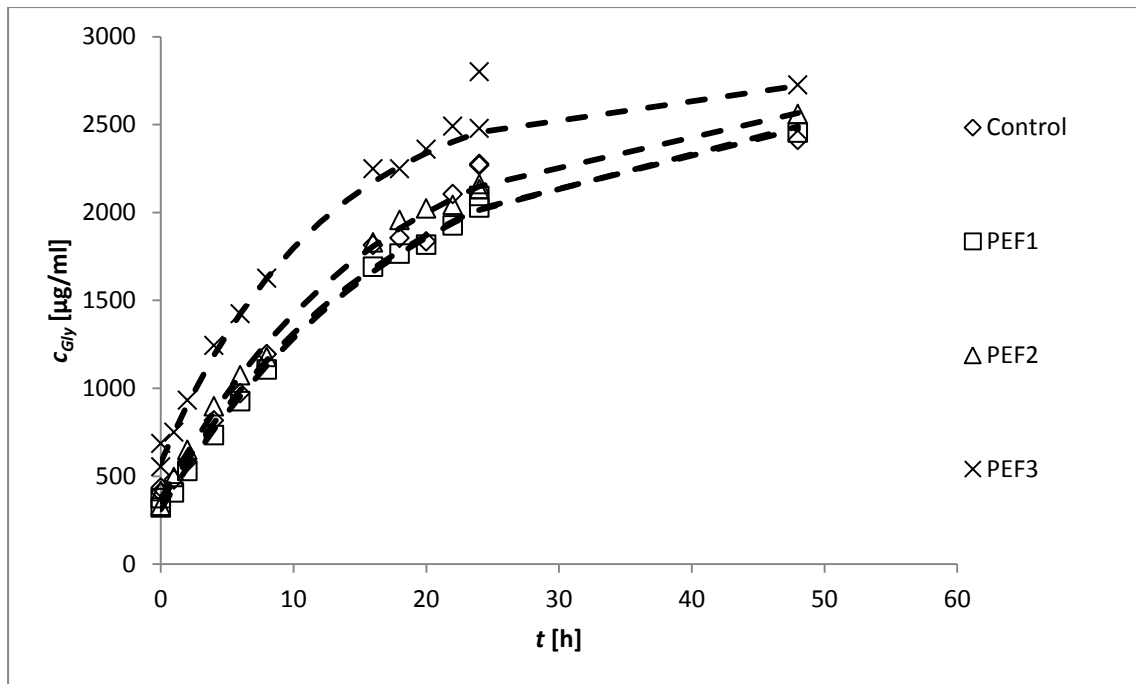
Η συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς λαμβάνει μέγιστη τιμή ίση με 15915 $\mu\text{g/ml}$. Στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης με 20 παλμούς σε ένταση ηλεκτρικού πεδίου 15,5 kV/cm η μέγιστη τιμή της συγκέντρωσης ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα είναι κοντά σε αυτήν της ακατέργαστης (16717 $\mu\text{g/ml}$). Στις υπόλοιπες συνθήκες επεξεργασίας με ΠΗΠ η τιμή της είναι 14240 $\mu\text{g/ml}$ για την περίπτωση της επεξεργασίας με 4 παλμούς σε ένταση 7,5 kV/cm και 15621 $\mu\text{g/ml}$ για την επεξεργασία με 4 παλμούς σε ένταση 18 kV/cm.

Από το διάγραμμα 4.35γ φαίνεται πως η αύξηση του συντελεστή κυτταρικής διάρρηξης οδηγεί σε μείωση της διάρκειας της αυτόλυσης αναφορικά με την συγκέντρωση συνολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς. Η μέγιστη επιτάχυνση που παρατηρείται είναι 38%.

Από τα παραπάνω σε συνδυασμό με τα δεδομένα του πίνακα 4.3 προκύπτει το συμπέρασμα πως η επεξεργασία αιωρήματος μαγιάς 10 % W/W με ΠΗΠ μπορεί να επιταχύνει την αυτόλυση, όσον αφορά τη συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα, χωρίς να επηρεάσει την τελική της τιμή, εφόσον ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης που επιτυγχάνεται είναι αρκετά υψηλός. Η θετική επίδραση της επεξεργασίας με ΠΗΠ στην απελευθέρωση πρωτεϊνών κατά την αυτόλυση οφείλεται στην αύξηση της κυτταρικής διαπερατότητας η οποία οδηγεί σε ευκολότερη απώλεια ενδοκυτταρικών πρωτεϊνών προς το εξωτερικό του κυττάρου.

4.3.2.2 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗΝ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΑΜΙΝΟΞΕΩΝ ΚΑΙ ΟΛΙΓΟΠΕΠΤΙΔΙΩΝ

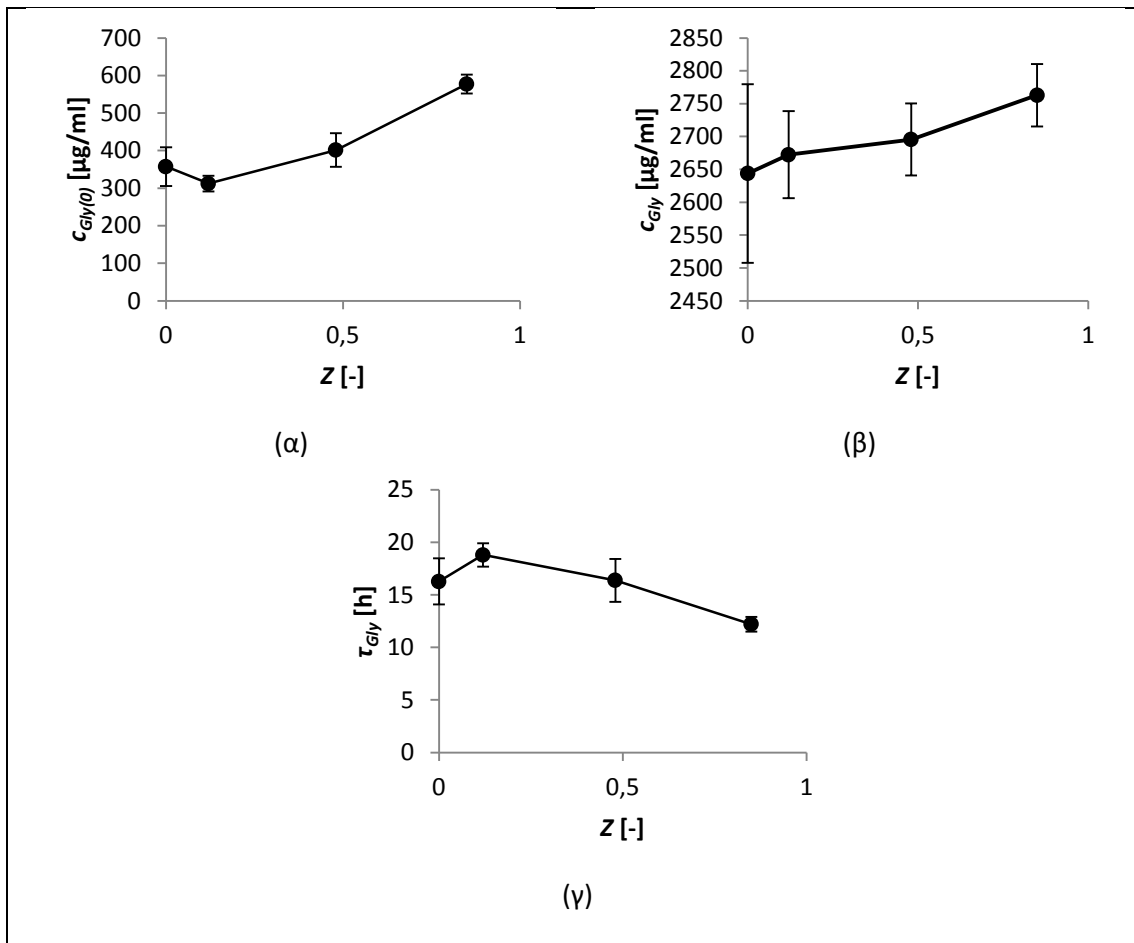
Σε δεύτερη φάση μελετήθηκε η συγκέντρωση των αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων (μονο-, δι- και τριπεπτιδίων) στο εκχύλισμα μαγιάς αρτοποιίας, με την μέθοδο ελεύθερου αμινικού αζώτου. Από την εκτέλεση της πειραματικής διαδικασίας η οποία περιγράφεται στην ενότητα 3.6.1.2, προέκυψαν, για το εκχύλισμα από αιώρημα μαγιάς 10 % W/W που επεξεργάσθηκε με παλμικά ηλεκτρικά πεδία, στις συνθήκες που παρουσιάζονται στον πίνακα 3.2, τα αποτελέσματα τα οποία παρουσιάζονται στα παρακάτω διαγράμματα.



Διάγραμμα 4.36: Μεταβολή της συγκέντρωσης αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων c_{Gly} συναρτήσει του χρόνου αυτόλυσης (t) στους $52\text{ }^{\circ}\text{C}$ σε εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης με ΠΗΠ σε διαφορετικές συνθήκες (Control: Ανεπεξέργαστη Μαγιά, PEF1: 4 παλμοί/ $7,5\text{ kV/cm}$, PEF 2: 4 παλμοί/ 18 kV/cm , PEF 3: 20 Παλμοί/ $15,5\text{ kV/cm}$).

Η παραπάνω συμπεριφορά της συγκέντρωσης ολικών πρωτεϊνών στο εκχύλισμα μαγιάς συναρτήσει του χρόνου κατά την διάρκεια της αυτόλυσης ($c_{Gly}=f(t)$) μοντελοποιήθηκε μαθηματικά, με την χρήση του πακέτου λογισμικού IBM SPSS Statistics 19 (IBM Corp., Armonk, NewYork, United States of America) για κάθε συνθήκη επεξεργασίας ΠΗΠ, με το μαθηματικό μοντέλο 3.6, όπως περιγράφεται στην ενότητα 3.6.7.

Οι παράμετροι των συναρτήσεων $c_{Gly}=f(t)$ της μεταβολής της συγκέντρωσης αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων στο εκχύλισμα μαγιάς συναρτήσει του χρόνου από την έναρξη της αυτόλυσης οι οποίες προέκυψαν ύστερα από αυτήν την μοντελοποίηση ($c_{Gly(0)}, c_{Gly(e)}, \tau_{Gly}$), παρουσιάζονται στα διαγράμματα που ακολουθούν σε αντιπαραβολή με τον δείκτη κυτταρικής διάρρηξης για κάθε συνθήκη που παρουσιάζεται στον πίνακα 3.2.



Διάγραμμα 4.37: Μεταβολή των παραμέτρων α) $c_{Gly(0)}$, β) $c_{Gly(e)}$ και γ) τ_{Gly} των συναρτήσεων $c_{Gly} = f(t)$ συναρτήσεως του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης (Z) που επετεύχθη μέσω κατεργασίας με ΠΗΠ.

Από τα διαγράμματα 4.36, 4.37α, 4.37β και 4.37γ παρατηρείται ότι η κατεργασία του αιωρήματος μαγιάς 10 % W/W με 20 παλμούς σε ένταση ηλεκτρικού πεδίου 15,5 kV/cm επιφέρει θετική μεταβολή στην διεργασία της αυτόλυσης, αναφορικά με την συγκέντρωση αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων στο εκχύλισμα μαγιάς, ενώ η επεξεργασία με 4 παλμούς σε ένταση 7,5 kV/cm και 4 παλμούς σε ένταση 18 kV/cm δεν φαίνεται να έχει θετική επίδραση. Σε σύγκριση με το εκχύλισμα μαγιάς το οποίο παράγεται από ανεπεξέργαστη μαγιά, το εκχύλισμα που παράγεται από αιώρημα μαγιάς επεξεργασμένο με 20 παλμούς σε ένταση ηλεκτρικού πεδίου 15,5 kV/cm αποκτά υψηλότερη τελική συγκέντρωση αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων και μάλιστα για μικρότερο χρόνο αυτόλυσης. Στην περίπτωση επεξεργασίας του αιωρήματος μαγιάς με 4 παλμούς σε ένταση 7,5 kV/cm και 4 παλμούς σε ένταση 18 kV/cm παρατηρείται μείωση στην τελική συγκέντρωση αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων στο εκχύλισμα μαγιάς σε σχέση με το εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς.

Η συγκέντρωση αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων λαμβάνει μέγιστη τιμή στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης ίση με 2643 $\mu\text{g/ml}$. Στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης με 20 παλμούς σε ένταση ηλεκτρικού πεδίου 15,5 kV/cm η μέγιστη τιμή της συγκέντρωσης αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων στο εκχύλισμα είναι ίση με 2763 $\mu\text{g/ml}$. Στην περίπτωση της επεξεργασίας

με 4 παλμούς σε ένταση 7,5 kV/cm η τιμή της είναι 2672 μg/ml. Στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης με 4 παλμούς σε ένταση 18 kV/cm η συγκέντρωση των αμινοξέων και των ολιγοπεπτιδίων λαμβάνει μέγιστη τιμή ίση με 2695 μg/ml.

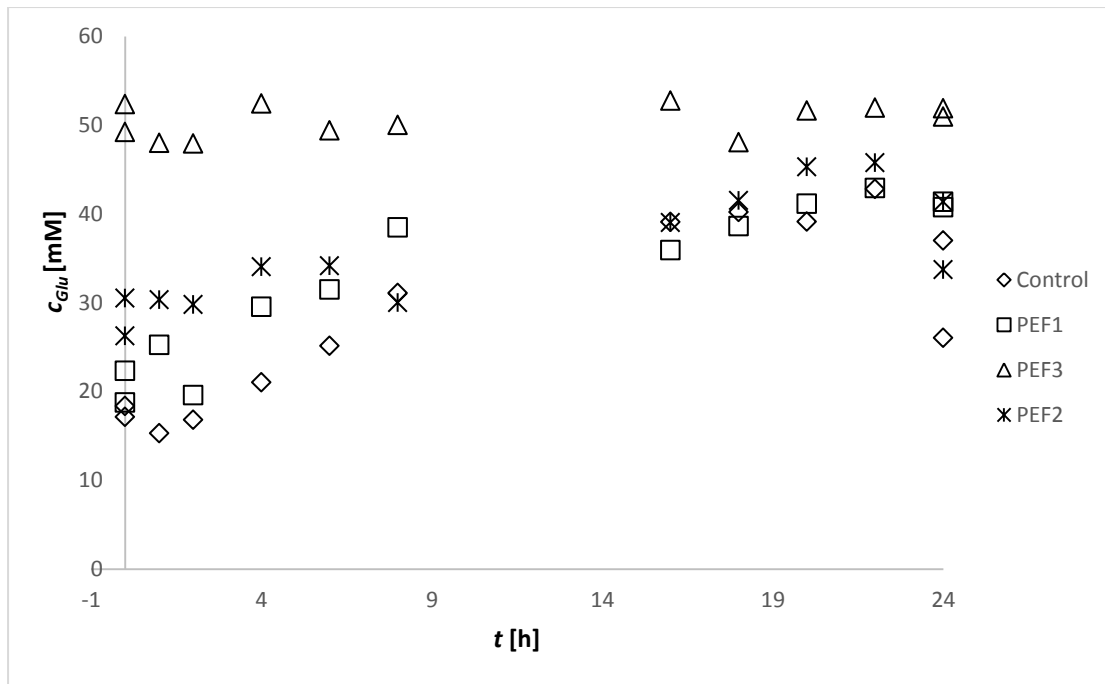
Από το διάγραμμα 4.37γ φαίνεται πως η αύξηση του συντελεστή κυτταρικής διάρρηξης οδηγεί σε μείωση της διάρκειας της αυτόλυσης αναφορικά με την συγκέντρωση αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων. Η μέγιστη επιτάχυνση που παρατηρείται είναι 25%.

Από τα παραπάνω σε συνδυασμό με τα δεδομένα του πίνακα 3.2 προκύπτει το συμπέρασμα πως η επεξεργασία αιωρήματος μαγιάς 10 % W/W με ΠΗΠ μπορεί να επιταχύνει την αυτόλυση, όσον αφορά τη συγκέντρωση αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων στο εκχύλισμα και να αυξήσει την τελική τιμή αυτής, εφόσον ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης που επιτυγχάνεται είναι αρκετά υψηλός.

Η θετική επίδραση της επεξεργασίας με ΠΗΠ στην απελευθέρωση αμινοξέων έχει πιθανώς δύο αίτια: κατά πρώτον, κατά την επεξεργασία πραγματοποιείται ηλεκτροδιάτρηση του κενοτοπίου στο οποίο βρίσκεται συγκεντρωμένη η πρωτεολυτική ενεργότητα του κυττάρου. Συνεπώς, με άρση της κυτταρικής διαμερισματοποίησης, τα πρωτεολυτικά ένζυμα απελευθερώνονται ταχύτερα. Κατά δεύτερον, η επεξεργασία με ΠΗΠ προκαλεί ηλεκτροδιάτρηση της κυτταρικής μεμβράνης, διευκολύνοντας έτσι την απελευθέρωση των προϊόντων υδρόλυσης κατά την αυτόλυση.

4.3.3 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗΝ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ΥΔΑΤΑΝΘΡΑΚΩΝ

Στην συνέχεια της μελέτης της επίδρασης που επιφέρει η επεξεργασία με ΠΗΠ στο αιώρημα μαγιάς αρτοποιίας, στην διεργασία της αυτόλυσης και στα χαρακτηριστικά του εκχυλίσματος μαγιάς που παράγεται από την διεργασία αυτήν. Ερευνήθηκε η μεταβολή της συγκέντρωσης των ολικών υδατανθράκων στο εκχύλισμα μαγιάς, κατά την διάρκεια της αυτόλυσης. Η συγκέντρωση των ολικών υδατανθράκων μετρήθηκε με την μέθοδο της φαινόλης και του θειικού οξέος, σύμφωνα με την πειραματική διαδικασία που αναφέρεται στην ενότητα 3.6.2. Από την εκτέλεση αυτής της πειραματικής διαδικασίας προέκυψαν τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στα παρακάτω διαγράμματα.



Διάγραμμα 4.38: Μεταβολή της συγκέντρωσης υδατανθράκων (c_{Glu}) συναρτήσει του χρόνου αυτόλυσης (t) στους $52\text{ }^{\circ}\text{C}$ σε εκχύλιμα μαγιάς επεξεργασμένης με ΠΗΠ σε διαφορετικές συνθήκες (Control: Ανεπεξεργαστη Μαγιά, PEF1: 4 παλμοί/ $7,5\text{ kV/cm}$, PEF 2: 4 παλμοί/ 18 kV/cm , PEF 3: 20 Παλμοί/ $15,5\text{ kV/cm}$).

Από το παραπάνω διάγραμμα φαίνεται πως η επεξεργασία του αιωρήματος μαγιάς $10\% \text{ W/W}$ με ΠΗΠ στις περισσότερες περιπτώσεις βελτίωσε την αυτόλυση όσον αφορά την συγκέντρωση υδατανθράκων στο εκχύλιμα μαγιάς. Τα εκχυλίσματα μαγιάς που υπέστησαν επεξεργασία με ΠΗΠ παρουσιάζουν μεγαλύτερες ή ίσες μέγιστες συγκεντρώσεις υδατανθράκων κατά τη διάρκεια της αυτόλυσης.

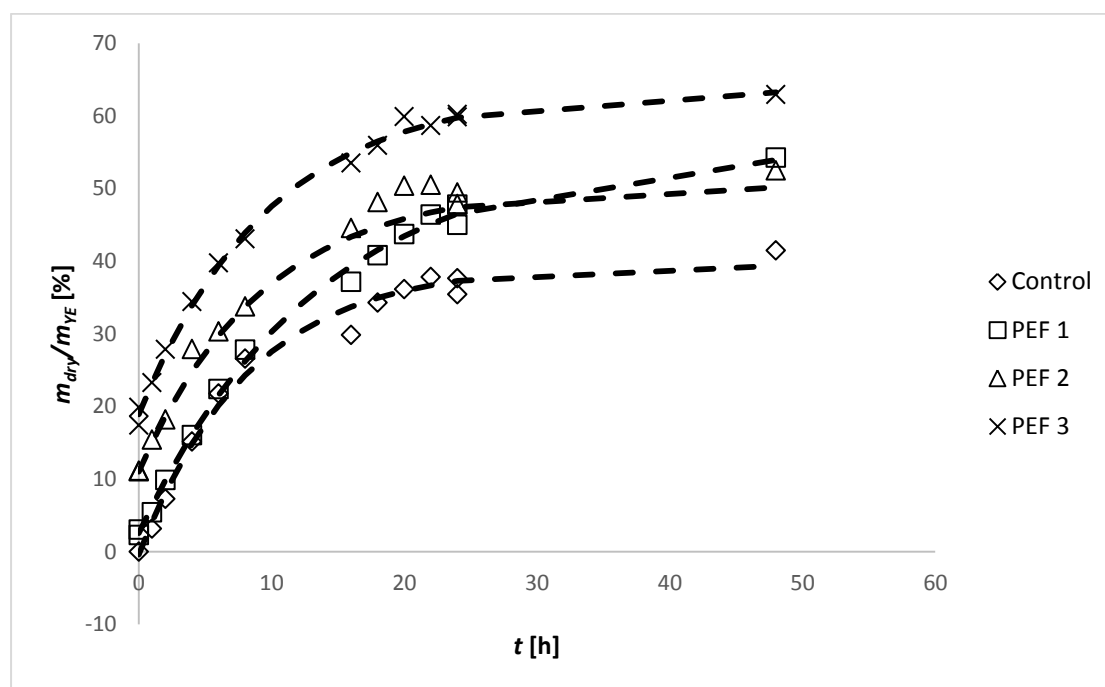
Το εκχύλιμα ανεπεξεργαστης μαγιάς εμφάνισε μέγιστη συγκέντρωση ίση με 43 mM γλυκόζης. Τα εκχυλίσματα μαγιάς που είχαν επεξεργαστεί με 4 παλμούς σε ένταση ηλεκτρικού πεδίου $7,5\text{ kV/cm}$ και 4 παλμούς σε ένταση 18 kV/cm παρουσίασαν μέγιστη συγκέντρωση υδατανθράκων που αναλογεί σε 43 mM και 46 mM γλυκόζης αντίστοιχα. Η κατεργασία του αιωρήματος μαγιάς $10\% \text{ W/W}$ με 20 παλμούς σε ένταση $15,5\text{ kV/cm}$ είχε ως αποτέλεσμα μέγιστη συγκέντρωση υδατανθράκων ίση με 53 mM γλυκόζης. Παρατηρείται επίσης ότι σε αυτή την έντονη συνθήκη επεξεργασίας, η απελευθέρωση υδατανθράκων δεν επηρεάζεται από το χρόνο της αυτόλυσης αλλά πραγματοποιείται ακαριαία αμέσως μετά την επεξεργασία. Αυτό σημαίνει ότι κατά τη διάρκεια της αυτόλυσης δεν παρατηρείται απώλεια υδατανθράκων από το πλούσιο σε πολυσακχαρίτες κυτταρικό τοίχωμα. Η ακαριαία αυτή αύξηση οφείλεται πιθανότατα σε απελευθέρωση ενδοκυτταρικών σακχάρων και γλυκογόνου.

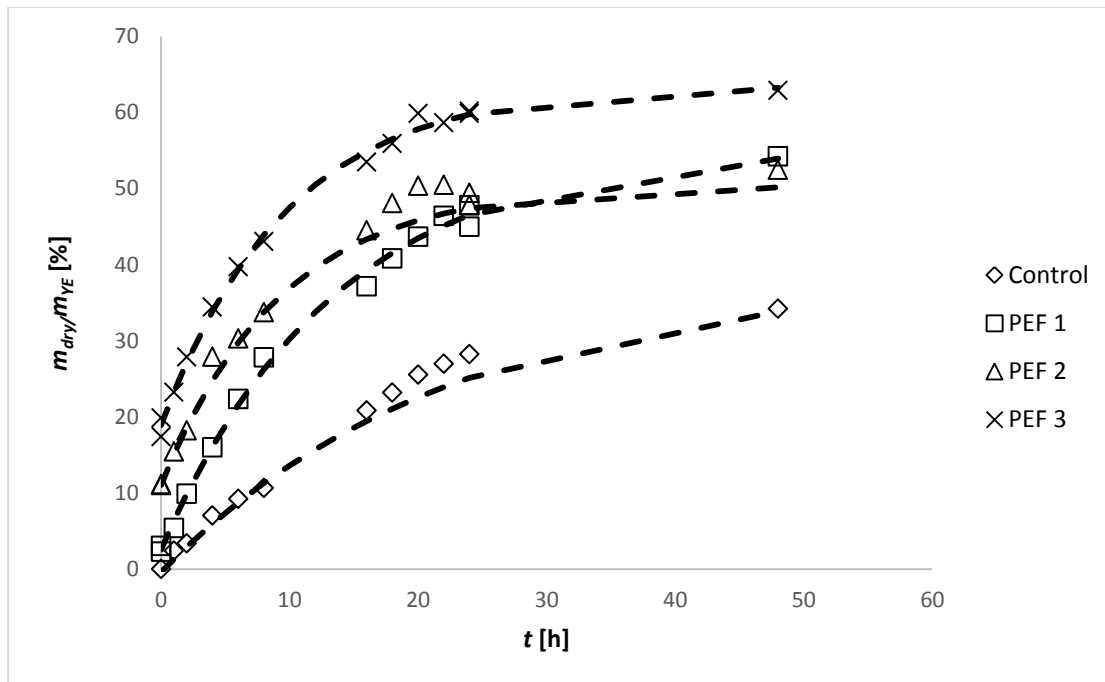
Τα παραπάνω σε συνδυασμό με τα δεδομένα του πίνακα 4.3 μαρτυρούν πως η επεξεργασία με ΠΗΠ που επιτυγχάνει δείκτη κυτταρικής διάρρηξη μεγαλύτερο η ίσο με $0,48$ αυξάνει την μέγιστη συγκέντρωση υδατανθράκων στο εκχύλιμα μαγιάς που

προκύπτει από την αυτόλυση. Επίσης προκύπτει το συμπέρασμα πως με πιο συνθήκες επεξεργασίας μπορεί να μειωθεί και η διάρκεια της αυτόλυσης.

4.3.4 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΟ ΣΤΕΡΕΟ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑ

Σε μια περαιτέρω προσπάθεια για την μελέτη της επίδρασης της των ΠΗΠ στην διεργασία της αυτόλυσης της μαγιάς αρτοποιίας και στα χαρακτηριστικά του εκχυλίσματος μαγιάς που παράγεται από την διεργασία αυτήν, ερευνήθηκε η μεταβολή που επιφέρει η επεξεργασία με ΠΗΠ 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 3.6.4 και τα αποτελέσματα αυτής της διαδικασίας παρατίθενται στα ακόλουθα διαγράμματα.

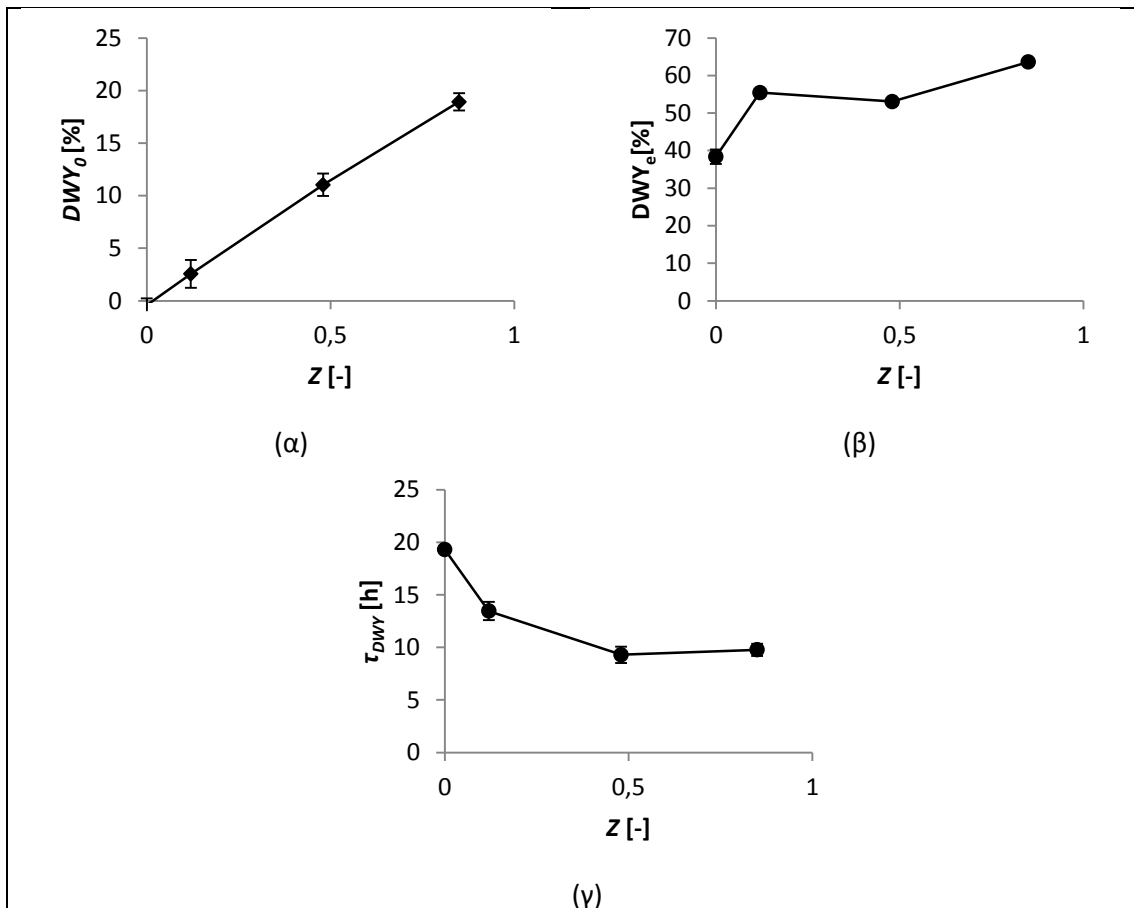




Διάγραμμα 4.38: Μεταβολή το ποσοστού στερεού υπολείμματος εκχύλισματος προς τη μάζα της ξηρής μαγιάς συναρτήσει του χρόνου αυτόλυσης (t) στους 52 °C σε εκχύλιση μαγιάς επεξεργασμένης με ΠΗΠ σε διαφορετικές συνθήκες (Control: Ανεπεξεργαστη Μαγιά, PEF1: 4 παλμοί/ 7,5 kV/cm, PEF 2: 4 παλμοί/ 18 kV/cm, PEF 3: 20 Παλμοί/ 15,5 kV/cm).

Η παραπάνω συμπεριφορά του ανηγμένου στερεού υπολείμματος στο εκχύλιση μαγιάς συναρτήσει του χρόνου κατά την διάρκεια της αυτόλυσης ($\frac{m_{dry}}{m_{\gamma E}}=f(t)$) μοντελοποιήθηκε μαθηματικά, με την χρήση του πακέτου λογισμικού IBM SPSS Statistics 19 (IBM Corp., Armonk, NewYork, United States of America)για κάθε συνθήκη επεξεργασίας ΠΗΠ, με το μαθηματικό μοντέλο 3.7, όπως περιγράφεται στην ενότητα 3.6.7.:

Οι παράμετροι των συναρτήσεων $\frac{m_{dry}}{m_{\gamma E}}=f(t)$ της μεταβολής του στερεού υπολείμματος στο εκχύλιση μαγιάς συναρτήσει του χρόνου από την έναρξη της αυτόλυσης οι οποίες προέκυψαν ύστερα από αυτήν την μοντελοποίηση ($\frac{m_{dry}}{m_{\gamma E(0)}}$, $\frac{m_{dry}}{m_{\gamma E(e)}}$, $\tau_{D_{WY}}$), παρουσιάζονται στα διαγράμματα που ακολουθούν σε συνάρτηση με τον δείκτη κυτταρικής διάρρηξης για κάθε συνθήκη που παρουσιάζεται στον πίνακα 3.2.



Διάγραμμα 4.40: Μεταβολή των παραμέτρων α) DWY_0 , β) DWY_e και γ) τ_{DWY} των συναρτήσεων $DWY = f(t)$ συναρτήσει του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης (Z) που επετεύχθη μέσω κατεργασίας με ΠΗΠ.

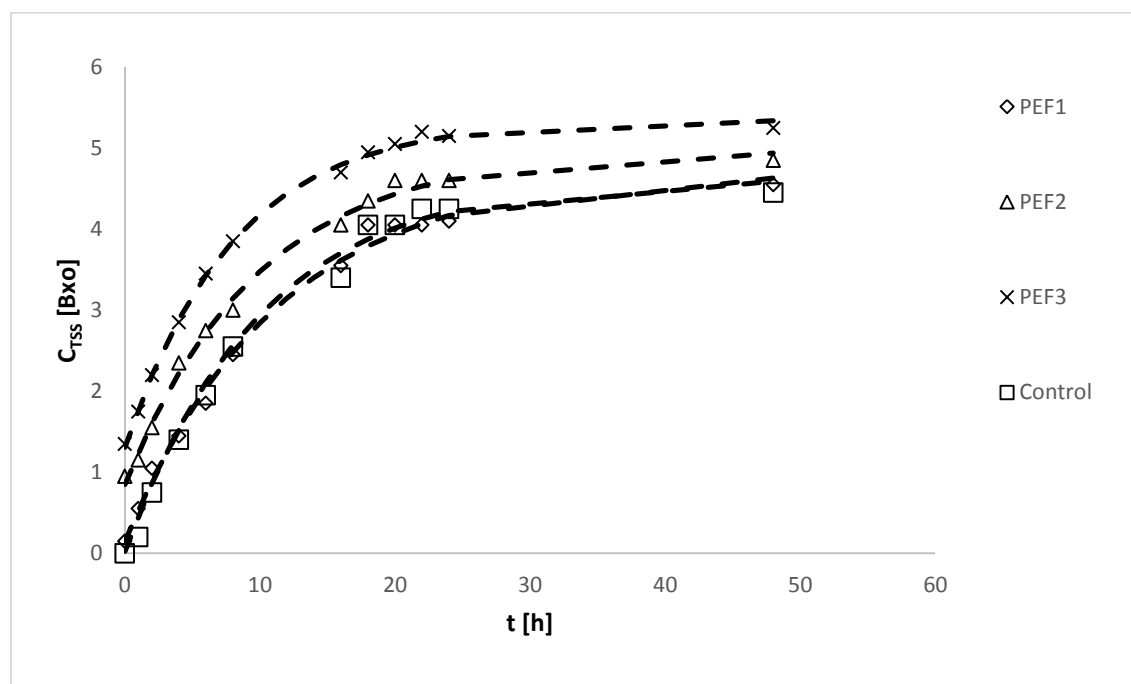
Από τα διαγράμματα 4.39 και 4.40β φαίνεται πως η επεξεργασία αιωρήματος μαγιάς $10 \% W/W$ με ΠΗΠ έχει γενικά θετική επίδραση στη αυτόλυση. Όλες οι συνθήκες επεξεργασίας με ΠΗΠ προκάλεσαν αύξηση του στερεού υπολείμματος στο εκχύλισμα μαγιάς σε σχέση με το εκχύλισμα ανεπεξεργαστης μαγιάς. Σε σύγκριση με το εκχύλισμα μαγιάς που παράγεται από ανεπεξεργαστη μαγιά, αυτό που παράγεται μετά από επεξεργασία με 20 παλμούς έντασης ηλεκτρικού πεδίου $15,5 \text{ kV/cm}$ παρουσιάζει υψηλότερη τελική τιμή στερεού υπολείμματος, η οποία ανέρχεται στο $63,59 \%$ του βάρους της ξηρής μαγιάς, αυξημένο κατά $25,21$ ποσοστιαίες μονάδες σε σχέση με το εκχύλισμα ανεπεξεργαστης μαγιάς. Στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης με 4 παλμούς έντασης $7,5 \text{ kV/cm}$ το μέγιστο στερεό υπόλειμμα ανέρχεται στο $55,44\%$ του βάρους της ξηρής μαγιάς

και στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης με 20 παλμούς έντασης 15,5 kV/cm το μέγιστο στερεό υπόλειμμα ανέρχεται στο 53,06% του βάρους της ξηρής μαγιάς.

Από τα παραπάνω προκύπτει ως συμπέρασμα πως η επεξεργασία του αιωρήματος μαγιάς 10 % W/W με ΠΗΠ αυξάνει το μέγιστο στερεό υπόλειμμα ανηγμένο στη μάζα της ξηρής μαγιάς. Η αύξηση αυτή φαίνεται να είναι μεγαλύτερη όσο μεγαλύτερος είναι και ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης που επιτυγχάνεται με την κατεργασία ο οποίος παρουσιάζεται για τις διάφορες συνθήκες επεξεργασίας με ΠΗΠ στον πίνακα 3.2.

4.3.5 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗΝ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ΔΙΑΛΥΤΩΝ ΣΤΕΡΕΩΝ

Στην συνέχεια μελετήθηκε η επίδραση των ΠΗΠ στην συγκέντρωση των ολικών διαλυτών στερεών στο εκχύλισμα μαγιάς, κατά την διάρκεια της αυτόλυσης. Η συγκέντρωση των ολικών διαλυτών στερεών στο εκχύλισμα μαγιάς μετρήθηκε κατά την διάρκεια της αυτόλυσης του αιωρήματος μαγιάς 10 % W/W , είτε ανεπεξεργαστου, είτε επεξεργασμένου με ΠΗΠ, σε διάφορες συνθήκες (4 παλμοί/ 7,5 kV/cm, 4 παλμοί/ 18 kV/cm, 20 Παλμοί/ 15,5 kV/cm), σύμφωνα με την διαδικασία που αναφέρεται στο κεφάλαιο 3.6.5 και εκφράσθηκε σε °Bx. Τα αποτελέσματα αυτών των μετρήσεων παρουσιάζονται για κάθε συνθήκη επεξεργασίας ΠΗΠ στο διάγραμμα που ακολουθεί.

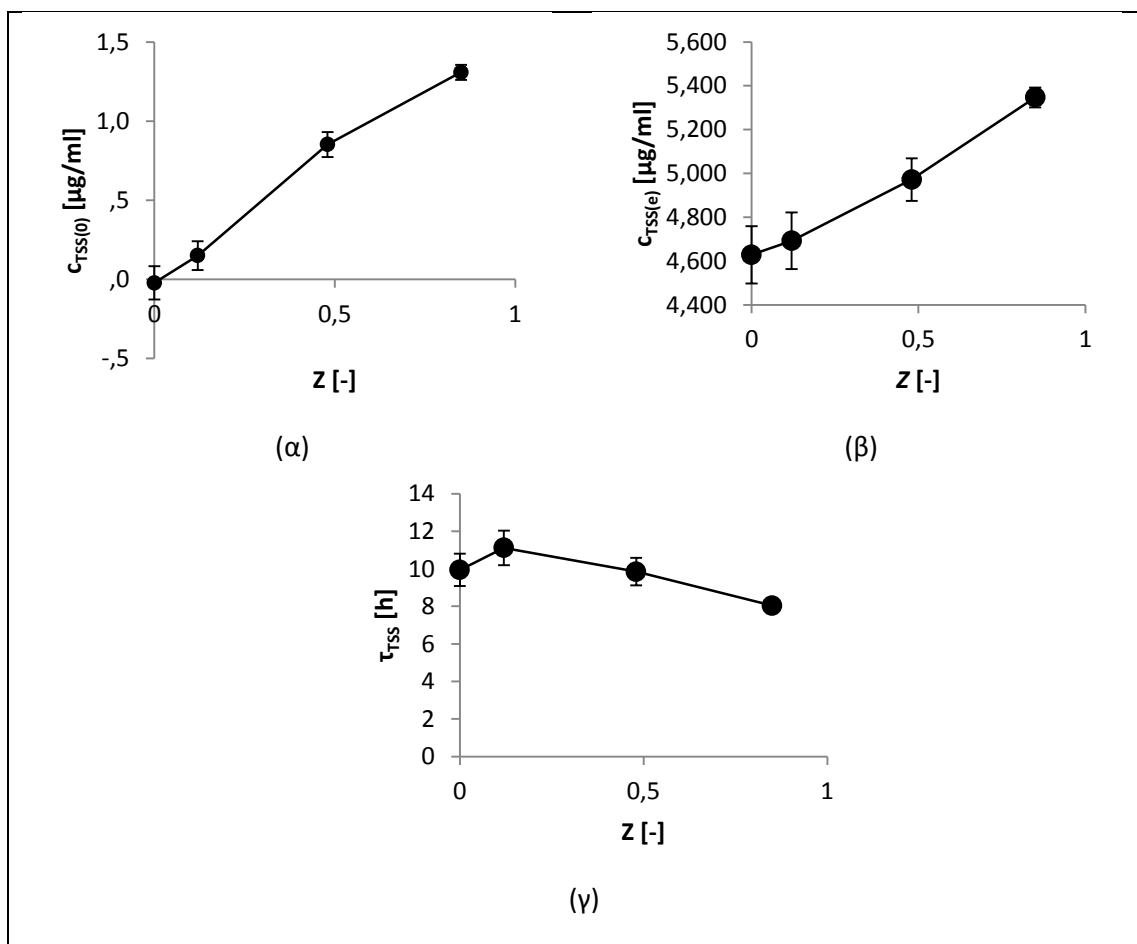


Διάγραμμα 4.41: Μεταβολή της συγκέντρωσης ολικών διαλυτών στερεών συναρτήσει του χρόνου αυτόλυσης στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης με ΠΗΠ σε διαφορετικές

συνθήκες (Control: Ανεπεξέργαστη Μαγιά, PEF1: 4 παλμοί/ 7,5 kV/cm, PEF 2: 4 παλμοί/ 18 kV/cm, PEF 3: 20 Παλμοί/ 15,5 kV/cm).

Η παραπάνω συμπεριφορά της συγκέντρωσης ολικών διαλυτών στερεών στο εκχύλισμα μαγιάς συναρτήσει του χρόνου κατά την διάρκεια της αυτόλυσης ($c_{TSS} = f(t)$) μοντελοποιήθηκε μαθηματικά, με την χρήση του πακέτου λογισμικού IBM SPSS Statistics 19 (IBM Corp., Armonk, NewYork, United States of America) για κάθε συνθήκη επεξεργασίας ΠΗΠ, με το μαθηματικό μοντέλο 3.8, όπως περιγράφεται στην ενότητα 3.6.7.

Οι παράμετροι των συναρτήσεων $c_{TSS} = f(t)$ της μεταβολής της συγκέντρωσης ολικών διαλυτών στερεών στο εκχύλισμα μαγιάς συναρτήσει του χρόνου από την έναρξη της αυτόλυσης οι οποίες προέκυψαν ύστερα από αυτήν την μοντελοποίηση ($c_{TSS(0)}$, $c_{TSS(e)}$, τ_{TSS}), παρουσιάζονται στα διαγράμματα που ακολουθούν σε αντιπαράβολή με τον δείκτη κυτταρικής διάρρηξης για κάθε συνθήκη που παρουσιάζεται στον πίνακα 3.2.

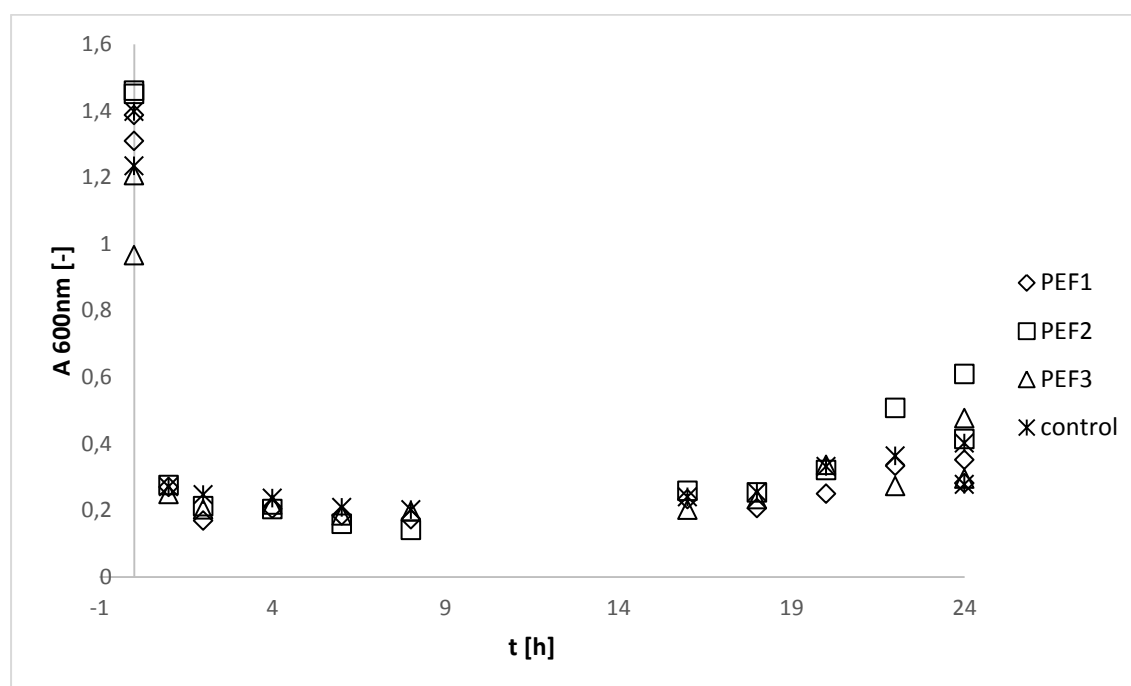


Διάγραμμα 4.42: Μεταβολή των παραμέτρων α) $c_{Gly(0)}$, β) $c_{Gly(e)}$ και γ) τ_{Gly} των συναρτήσεων $c_{Gly} = f(t)$ συναρτήσει του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης (Z) που επετεύχθη μέσω κατεργασίας με ΠΗΠ.

Τα διαγράμματα 4.41, 4.42α, 4.42β και 4.42γ δείχνουν πως η επεξεργασία με ΠΗΠ είχε θετική επίδραση στην αυτόλυση όσον αφορά στη συγκέντρωση ολικών διαλυτών στερεών στο εκχύλισμα μαγιάς. Όλες οι συνθήκες επεξεργασίας με ΠΗΠ είχαν ως αποτέλεσμα την αύξηση της μέγιστης συγκέντρωσης στερεών κατά την αυτόλυση. Η μεγαλύτερη τιμή τελικής συγκέντρωσης ολικών διαλυτών στερεών που σημειώθηκε για την επεξεργασία με 20 παλμούς στα 15,5 kV/cm και ήταν 5,4 Bx°. Συνεπώς η επεξεργασία με ΠΗΠ αυξάνει την απόδοση της αυτόλυσης αναφορικά με τη συγκέντρωση ολικών διαλυτών στερεών. Η αύξηση αυτή αποδίδεται στην αύξηση της διαπερατότητας του κυττάρου που ευνοεί την απελευθέρωση διαλυτών στερεών στο περιβάλλον μέσο.

4.3.5 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗΝ ΘΟΛΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ

Στην συνέχεια μελετήθηκε η επίδραση των ΠΗΠ στην θολότητα του εκχυλίσματος μαγιάς, κατά την διάρκεια της αυτόλυσης. Η θολότητα του εκχυλίσματος μαγιάς μετρήθηκε κατά την διάρκεια της αυτόλυσης του αιωρήματος μαγιάς 10 % W/W , είτε ανεπεξεργαστου, είτε επεξεργασμένου με ΠΗΠ, σε διάφορες συνθήκες (4 παλμοί/ 7,5 kV/cm, 4 παλμοί/ 18 kV/cm, 20 Παλμοί/ 15,5 kV/cm), σύμφωνα με την διαδικασία που αναφέρεται στο κεφάλαιο 3.6.7. Τα αποτελέσματα αυτών των μετρήσεων παρουσιάζονται για κάθε συνθήκη επεξεργασίας ΠΗΠ στο διάγραμμα που ακολουθεί.

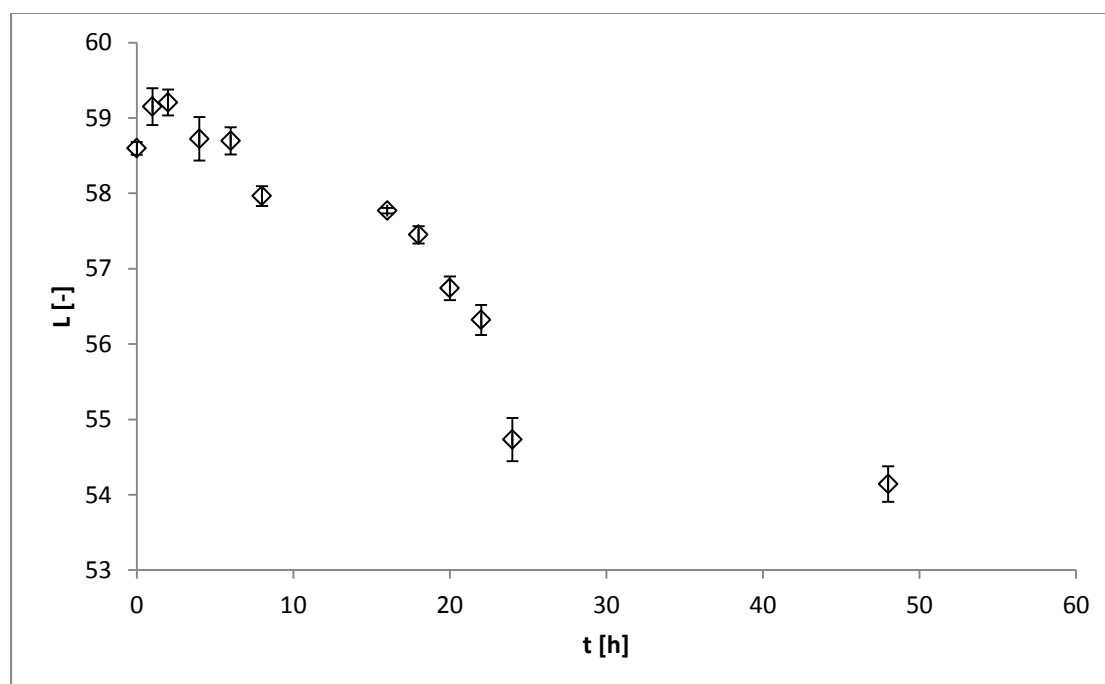


Διάγραμμα 4.43: Μεταβολή της θολότητας συναρτήσει του χρόνου αυτόλυσης στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης με ΠΗΠ σε διαφορετικές συνθήκες (Control: Ανεπεξεργαστη Μαγιά, PEF1: 4 παλμοί/ 7,5 kV/cm, PEF 2: 4 παλμοί/ 18 kV/cm, PEF 3: 20 Παλμοί/ 15,5 kV/cm).

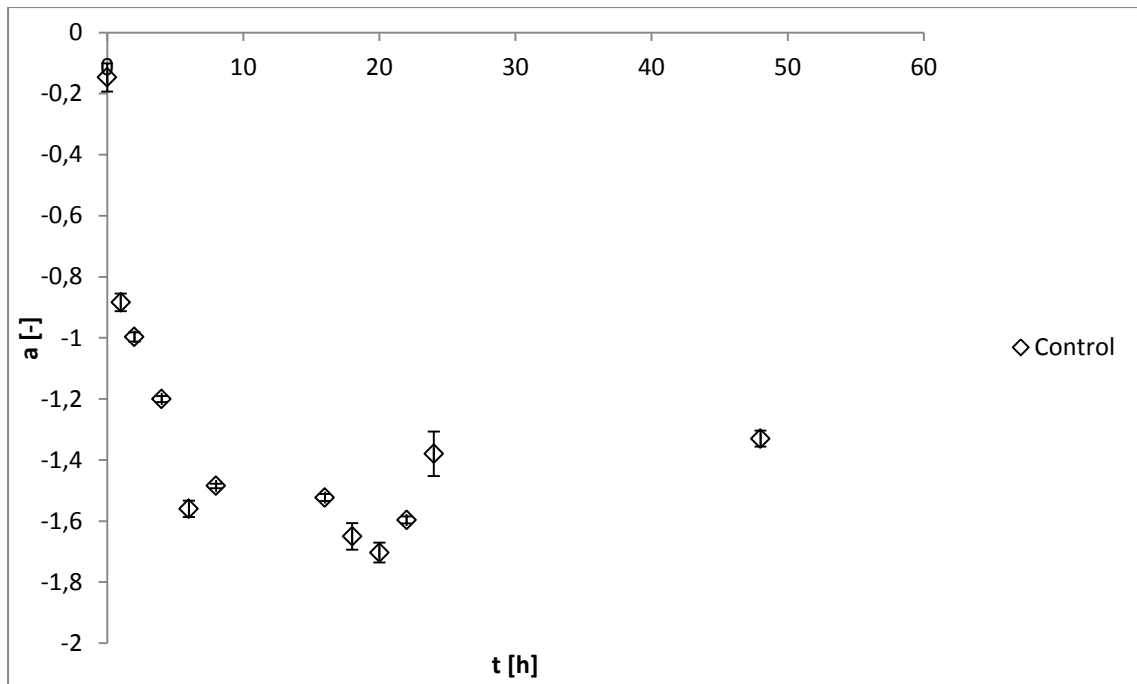
Όπως φαίνεται στο παραπάνω διάγραμμα η μέγιστη μεταβολή της απορρόφησης στα 600 nm, σε σχέση με αυτήν που προκύπτει για την ανεπεξέργαστη μαγιά, για χρόνο αυτόλυσης 24h σημειώνεται για την επεξεργασία με 4 παλμούς στα 18 kV/cm. Η ποσοστιαία τιμή της μεταβολής αυτή είναι 52%. Η ποσοστιαία τιμή της μικρότερη κατά 347 ποσοστιαίες μονάδες από την αντίστοιχη τιμή για την επεξεργασία με ΟΥΠ και παραπλήσιο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης ($Z=0,89$). Από αυτό προκύπτει πως το εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης με ΟΥΠ είναι θολότερο από αυτό που παράγεται έπειτα από παρόμοιας έντασης επεξεργασία της μαγιάς με ΠΗΠ.

4.3.7 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΟ ΧΡΩΜΑ ΤΟΥ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ

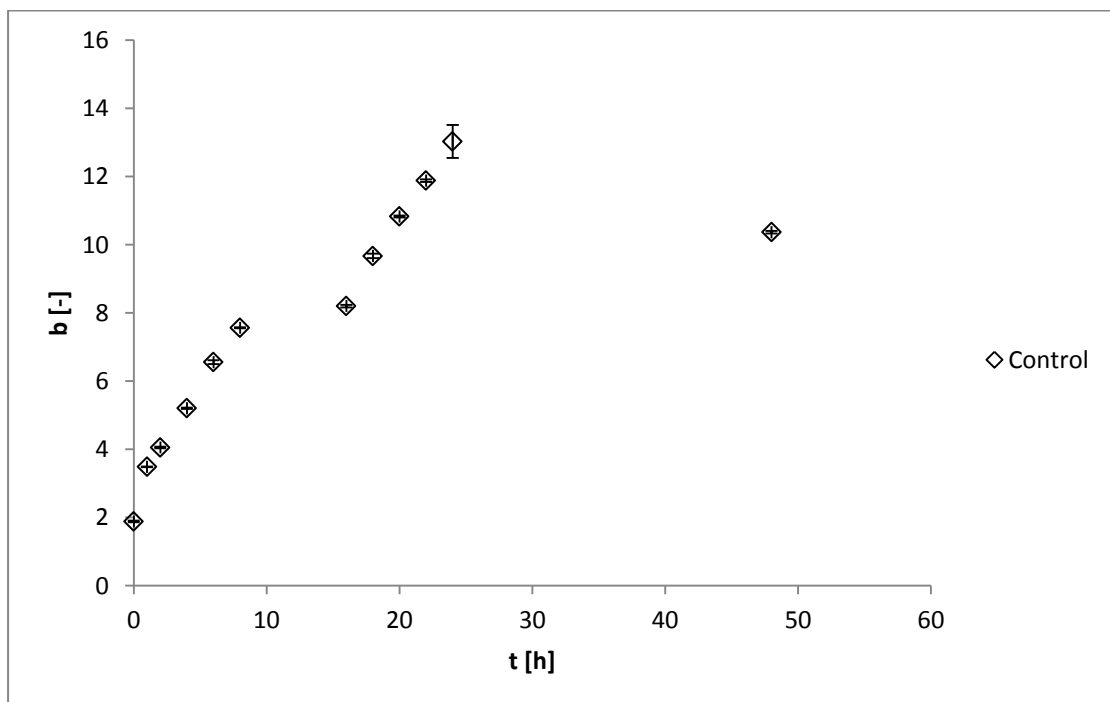
Τέλος, μελετήθηκε η επίδραση των ΠΗΠ στο χρώμα του εκχυλίσματος μαγιάς, κατά την διάρκεια της αυτόλυσης. Το χρώμα του εκχυλίσματος μαγιάς μετρήθηκε κατά την διάρκεια της αυτόλυσης του αιωρήματος μαγιάς $10\% W/W$, είτε ανεπεξέργαστου, είτε επεξεργασμένου με ΠΗΠ, σε διάφορες συνθήκες (4 παλμοί/ 7,5 kV/cm, 4 παλμοί/ 18 kV/cm, 20 Παλμοί/ 15,5 kV/cm), σύμφωνα με την διαδικασία που αναφέρεται στο κεφάλαιο 3.6.6 και εκφράσθηκε στην κλίμακα CIELAB. Τα αποτελέσματα αυτών των μετρήσεων παρουσιάζονται για κάθε συνθήκη επεξεργασίας ΠΗΠ παρουσιάζονται στα διαγράμματα που ακολουθούν.



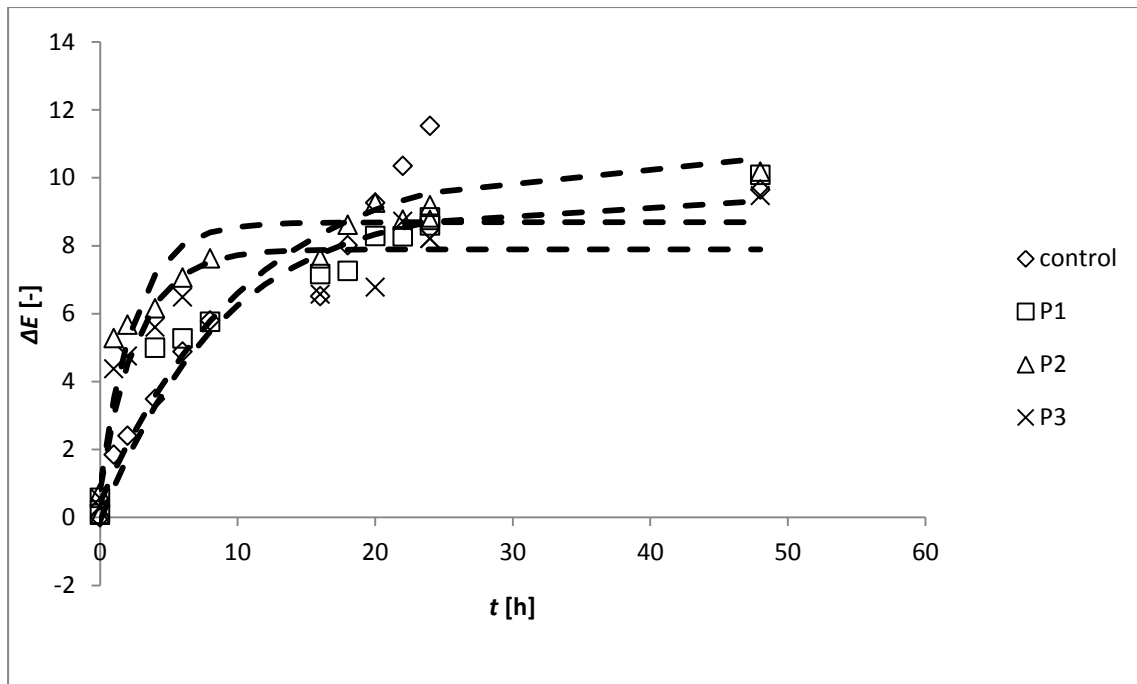
Διάγραμμα 4.44: Μεταβολή της παραμέτρου L του χρώματος συναρτήσει του χρόνου αυτόλυσης στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς .



Διάγραμμα 4.45: Μεταβολή της παραμέτρου του χρώματος συναρτήσει του χρόνου αυτόλυσης στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς.



Διάγραμμα 4.46: Μεταβολή της παραμέτρου b του χρώματος συναρτήσει του χρόνου αυτόλυσης στο εκχύλισμα ανεπεξέργαστης μαγιάς.



Διάγραμμα 4.47: Διάγραμμα της συνολικής μεταβολής του χρώματος (ΔE) συναρτήσει του χρόνου αυτόλυσης στο εκχύλισμα μαγιάς επεξεργασμένης με ΠΗΠ σε διαφορετικές συνθήκες (Control: Ανεπεξεργαστη Μαγιά, PEF1: 4 παλμοί/ 7,5 kV/cm, PEF 2: 4 παλμοί/ 18 kV/cm, PEF 3: 20 Παλμοί/ 15,5 kV/cm).

Αρχικά, στα διαγράμματα 4.44, 4.45 και 4.46 παρουσιάζεται η μεταβολή των παραμέτρων L , a και b του χρώματος του εκχυλίσματος ανεπεξεργαστης μαγιάς κατά την διάρκεια της αυτόλυσης, σύμφωνα με την κλίμακα CIELAB. Από το διάγραμμα 4.44 παρατηρείται ότι η παράμετρος L του χρώματος του εκχυλίσματος ανεπεξεργαστης μαγιάς μειώνεται με την πάροδο του χρόνου. Αυτό σημαίνει ότι το χρώμα του εκχυλίσματος ανεπεξεργαστης μαγιάς λαμβάνει πιο σκούρα απόχρωση κατά την διάρκεια της αυτόλυσης.

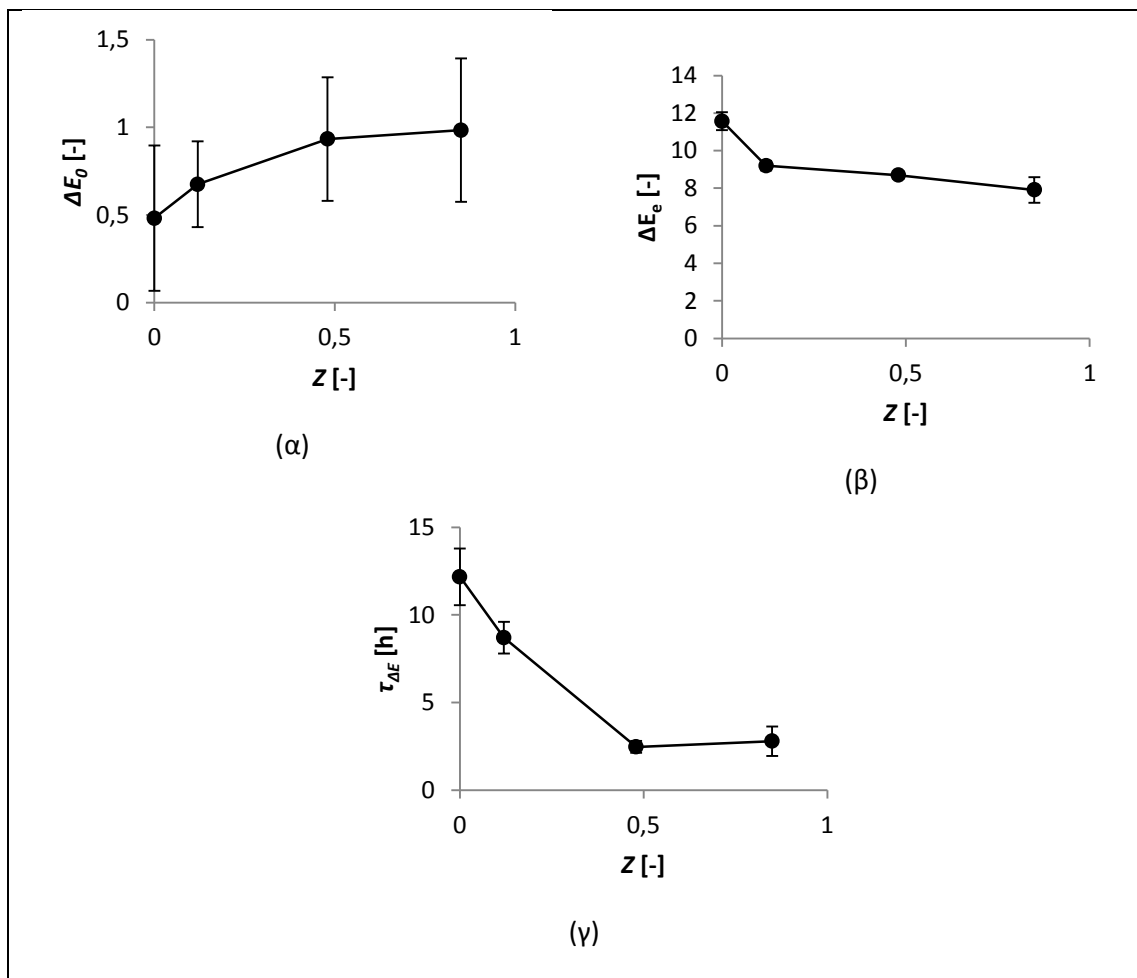
Επίσης, από το διάγραμμα 4.45 παρατηρείται ότι η παράμετρος a του χρώματος του εκχυλίσματος ανεπεξεργαστης μαγιάς είναι ελαφρώς αρνητική και έως τις 4 h αυτόλυσης, μειώνεται, ενώ κατόπιν αυξάνεται. Τούτο σημαίνει ότι το εκχύλισμα ανεπεξεργαστης μαγιάς έχει μια ελαφρά πράσινη απόχρωση, η οποία αρχικά, έως τις 18 h αυτόλυσης, γίνεται εντονότερη, ενώ έπειτα η πράσινη απόχρωση μειώνεται και το εκχύλισμα μαγιάς αρχίζει να κοκκινίζει.

Τέλος, από το διάγραμμα 4.46 παρατηρείται ότι η παράμετρος b του χρώματος του εκχυλίσματος ανεπεξεργαστης μαγιάς είναι θετική και αυξάνεται κατά την διάρκεια της αυτόλυσης μέχρι να σταθεροποιηθεί στις 24 h. Αυτό σημαίνει ότι το εκχύλισμα ανεπεξεργαστης μαγιάς έχει κίτρινη απόχρωση η οποία γίνεται ολοένα και εντονότερη μέχρι τις 24 h αυτόλυσης έπειτα από τις οποίες διατηρείται σταθερή.

Τα παραπάνω στοιχεία επιβεβαιώνουν την οπτική παρατήρηση της μεταβολής του χρώματος του εκχυλίσματος ανεπεξεργαστης μαγιάς, κατά την διάρκεια της αυτόλυσης. Αρχικά, πριν την έναρξη της αυτόλυσης, το υπερκείμενο «εκχύλισμα» ανεπεξεργαστης μαγιάς είχε χρώμα υποκίτρινο, το οποίο, κατά την διάρκεια της αυτόλυσης, μετατρέπεται

σε περισσότερο θερμό κίτρινο προς ανοιχτό καφετί. Δηλαδή, το χρώμα του εκχυλίσματος ανεπεξέργαστης μαγιάς κιτρίνιζε (αύξηση παραμέτρου b), κοκκίνιζε (αύξηση παραμέτρου a) και σκούραινε (μείωση παραμέτρου L) ταυτόχρονα, κατά την 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 αυτήν 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 , στο διάγραμμα 4.47. Η ολική αυτή μεταβολή του χρώματος του εκχυλίσματος μαγιάς συναρτήσε του χρόνου κατά την διάρκεια της αυτόλυσης ($\Delta E = f(t)$) μοντελοποιήθηκε μαθηματικά, με την χρήση του πακέτου λογισμικού IBM SPSS Statistics 19 (IBM Corp., Armonk, New York, United States of America) για κάθε συνθήκη επεξεργασίας ΠΗΠ, με το μαθηματικό μοντέλο 3.9, όπως περιγράφεται στην ενότητα 3.6.7.

Οι παράμετροι των συναρτήσεων $\Delta E = f(t)$ της ολικής μεταβολής του χρώματος του εκχυλίσματος μαγιάς, συναρτήσε του χρόνου από την έναρξη της αυτόλυσης, οι οποίες προέκυψαν ύστερα από αυτήν την μοντελοποίηση (ΔE_0 , ΔE_e , $\tau_{\Delta E}$) που προέκυψαν από την μαθηματική μοντελοποίηση στα πειραματικά δεδομένα παρουσιάζονται στα παρακάτω διαγράμματα.



Διάγραμμα 4.48: Μεταβολή των παραμέτρων α) $\Delta E_{(0)}$, β) $\Delta E_{(e)}$ και γ) $\tau_{\Delta E}$ των συναρτήσεων $\Delta E = f(t)$ συναρτήσει του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης (Z) που επετεύχθη μέσω κατεργασίας με ΠΗΠ.

Όπως φαίνεται στο διάγραμμα 4.48β η τελική τιμή της ολικής μεταβολής χρώματος είναι 11,57 για την ανεπεξέργαστη μαγιά, 9,20 για την επεξεργασία με 4 παλμούς σε 7,5 kV/cm, 8,70 για 4 παλμούς σε 18 kV/cm και 7,91 για 20 παλμούς 15,5 kV/cm. Παρατηρείται λοιπόν πως η τελική ολική μεταβολή του χρώματος μειώνεται με τον δείκτη κυτταρικής διάρρηξης που επιτυγχάνεται μέσω της κατεργασίας με ΠΗΠ.

Από τα διαγράμματα 4.48α φαίνεται πως η αρχική ολική μεταβολή χρώματος αυξάνεται με την επεξεργασία ΠΗΠ. Η αύξηση αυτή οφείλεται στο μη ενζυμικό μαύρισμα που εντείνεται λόγω της απελευθέρωσης αμινοξέων και σακχάρων αμέσως μετά την επεξεργασία. Στο ίδιο φαινόμενο μπορεί να αποδοθεί η επιτάχυνση της μεταβολής του χρώματος που παρατηρείται στο διάγραμμα 4.48γ, καθώς η επεξεργασία με ΠΗΠ προκαλεί αυξημένη απελευθέρωση υδατανθράκων και αμινοξέων, όπως παρουσιάστηκε πιο πάνω.

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

5.1 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΣΥΝΘΗΚΩΝ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΣ ΚΑΙ pH ΣΤΗ ΔΙΕΡΓΑΣΙΑ ΤΗΣ ΑΥΤΟΛΥΣΗΣ ΚΑΙ ΣΤΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ

Στο πρώτο μέρος της παρούσας μελέτης παρασκευάστηκαν αιωρήματα μαγιάς 10% w/w σταθερού pH 4, 5,5, 7 και 8 τα οποία επώαστηκαν σε θερμοκρασίες 42 °C, 52 °C και 62 °C για την Παρασκευή εκχυλισμάτων μαγιάς των οποίων προσδιορίστηκε η συγκέντρωση συνολικών πρωτεϊνών αλλά και αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων για χρόνος αυτόλυσης από 0 έως 48 ώρες. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων έδειξαν πως οι συνθήκες στις οποίες πραγματοποιείται η αυτόλυση μπορούν να μεταβάλουν τόσο την ταχύτητα όσο και την απόδοση της αναφορικά με τη συγκέντρωση των αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων αλλά και των πρωτεϊνών στο σύνολο τους. Από τα αποτελέσματα της μέτρησης των δύο αυτών συγκεντρώσεων προέκυψε πως οι βέλτιστες συνθήκες για την πραγματοποίηση της αυτόλυσης είναι θερμοκρασία 52 °C και pH 5,5. Σε αυτές τις συνθήκες η τελική συγκέντρωση των αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων που επιτυγχάνεται στο εκχύλισμα μαγιάς είναι 2132 µg/ml και η τιμή της παραμέτρου τ ίση με 19,5 h.

5.2 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΟΜΟΓΕΝΟΠΟΙΗΣΗΣ ΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΣΤΗ ΔΙΕΡΓΑΣΙΑ ΤΗΣ ΑΥΤΟΛΥΣΗΣ ΚΑΙ ΣΤΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ

Στον δεύτερο μέρος της μελέτης αξιολογήθηκε η επίδραση της ΟΥΠ στην παραλαβή εκχυλίσματος μαγιάς μέσω μέτρησης της συγκέντρωσης συνολικών πρωτεϊνών, αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων, υδατανθράκων, διαλυτών στερεών και τη μέτρηση του στερεού υπολείμματος, της μεταβολής του χρώματος και της θολότητας στο εκχύλισμα μαγιάς κατά τη διάρκεια της αυτόλυσης. Από τα όσα παρουσιάζονται στην ενότητα 4.2 προκύπτει πως η επεξεργασία της μαγιάς αρτοποιίας σε Ομογενοποιητή Υπερηψηλής Πίεσης βελτίωσε την απόδοση και την ταχύτητα της αυτόλυσης. 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 την 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 παρατηρείται ότι αύξηση της έντασης των συνθηκών επεξεργασίας (άρα και αύξηση του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης) οδήγησε σε μείωση του χαρακτηριστικού χρόνου απελευθέρωσης για αυτά τα συστατικά. Πιο

συγκεκριμένα η επεξεργασία με ΟΥΠ επέδρασε σημαντικά στην πορεία της αυτόλυσης, οδηγώντας σε επιτάχυνσή της κατά 78% ως προς τα αμινοξέα και ολιγοπεπτίδια και κατά 66% ως προς τις συνολικές πρωτεΐνες για επεξεργασία στα 800 bar με 3 περάσματα και δείκτη κυτταρικής διάρρηξης $Z=0,99$.

Σχετικά με την επίδραση της ΟΥΠ στη απόδοση αυτόλυσης σημαντικό κριτήριο είναι η μεταβολή της τελικής συγκέντρωσης ολικών διαλυτών στερεών στο εκχύλισμα μαγιάς. Το μέγεθος αυτό παρουσιάστηκε για αυξημένο έως και κατά 94 % σε σχέση με την περίπτωση της ανεπεξέργαστης μαγιάς. Η μεταβολή αυτή καταγράφεται για επεξεργασία ΟΥΠ στ 800 bar με 3 περάσματα και συντελεστή κυτταρικής διάρρηξης $Z=0,99$. Όπως φαίνεται από τα αποτελέσματα της μελέτης η αύξηση της τελικής συγκέντρωσης ολικών διαλυτών στερεών του εκχυλίσματος μαγιάς ακολούθησε την αύξηση του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης.

5.3 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΠΑΛΜΙΚΩΝ ΗΛΕΚΤΡΙΚΩΝ ΠΕΔΙΩΝ ΣΤΗ ΔΙΕΡΓΑΣΙΑ ΤΗΣ ΑΥΤΟΛΥΣΗΣ ΚΑΙ ΣΤΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΜΑΓΙΑΣ

Στον τρίτο και τελευταίο μέρος παρούσας διπλωματικής εργασίας αξιολογήθηκε η επίδραση των ΠΗΠ στην παραλαβή εκχυλίσματος μαγιάς μέσω μέτρησης της συγκέντρωσης συνολικών πρωτεϊνών, αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων, υδατανθράκων, διαλυτών στερεών και τη μέτρηση του στερεού υπολείμματος, της μεταβολής του χρώματος και της θολότητας στο εκχύλισμα μαγιάς κατά τη διάρκεια της αυτόλυσης. Η προκατεργασία της μαγιάς με Παλμικά Ηλεκτρικά Πεδία διαφαίνεται ότι μπορεί να βελτιώσει την απόδοση της αυτόλυσης και τα χαρακτηριστικά του εκχυλίσματος. Από τα αποτελέσματα της ενότητας 4.3 προκύπτει πως η αύξηση του δείκτη κυτταρικής διάρρηξη λόγω επεξεργασίας με ΠΗΠ οδηγεί σε μείωση της διάρκειας της αυτόλυσης όσον αφορά την απελευθέρωση αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων αλλά και πρωτεϊνών στο σύνολό τους. Η αυτόλυση επιταχύνθηκε κατά 25% και 38% αντίστοιχα για επεξεργασία στα με 20 παλμούς στα 15,5 kV/cm και συντελεστή κυτταρικής διάρρηξης $Z=0,89$.

Η απόδοση της αυτόλυσης ως προς τη συγκέντρωση ολικών διαλυτών στερεών παρουσίασε συνεχή αύξηση, σε σχέση με αυτήν για την ανεπεξέργαστη μαγιά, με την αύξηση της έντασης των συνθηκών επεξεργασίας με ΠΗΠ που ποσοτικοποιείται από τον δείκτη κυτταρικής διάρρηξης. Η μεταβολή της τελικής συγκέντρωσης ολικών διαλυτών στερεών έφτασε το 16% για επεξεργασία με 20 παλμούς στα 15,5 kV/cm και συντελεστή κυτταρικής διάρρηξης $Z=0,89$.

5.4 ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΩΝ ΠΑΛΜΙΚΩΝ ΗΛΕΚΤΡΙΚΩΝ ΠΕΔΙΩΝ ΚΑΙ ΤΗΣ ΟΜΟΓΕΝΟΠΟΙΗΣΗΣ ΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗ ΩΣ ΠΡΟΣ ΤΗΝ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥΣ ΣΤΗΝ ΑΥΤΟΛΥΣΗ

Από την περιγραφή της επίδρασης της εκάστοτε τεχνολογίας στην ταχύτητα και την απόδοση της αυτόλυσης καθίσταται σαφές πως η ΟΥΠ ήταν πιο αποτελεσματική από τα ΠΗΠ. Παρότι η θετική επίδραση των ΠΗΠ στην αυτόλυση βρέθηκε ηπιότερη αξίζει να σημειωθεί πως με αυτήν τη μέθοδο το εκχύλισμα παρουσίασε μειωμένη θολότητα, όπως αυτή ποσοτικοποιήθηκε με την απορρόφηση στα 600 nm. Οι τιμές που καταγράφηκαν για την επεξεργασία με ΠΗΠ κατά τη διάρκεια της αυτόλυσης ήταν παρόμοιες με αυτές για την ανεπεξέργαστη μαγιά. Αυτό καθιστά το προϊόν που προέκυψε περισσότερο ευέλικτο ως προς τη χρήση ως ενισχυτικό γεύσης.

Η αύξηση της θολότητας είναι μεγαλύτερη για την ΟΥΠ γεγονός που επιβεβαιώνεται από τη βιβλιογραφία και εγείρει ενδοιασμούς για την αξιοποίηση της στην ενίσχυση της αυτόλυσης. Στην παρούσα μελέτη ωστόσο κατέστη σαφές ότι με επιλογή κατάλληλων συνθηκών επεξεργασίας και χρόνων αυτόλυσης, το παραγόμενο εκχύλισμα μπορεί να διατηρήσει χαμηλές τιμές θολότητας και παράλληλα να παραχθεί με αυξημένους ρυθμούς και απόδοση.

5.5 ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ

Ως συνέχεια της παρούσας έρευνας γύρω από τις δυνατότητες βελτίωσης της διεργασίας της αυτόλυσης, κρίνεται ενδιαφέρον να γίνει σύγκριση των μεθόδων επεξεργασίας της μαγιάς αρτοποιίας που μελετήθηκαν και με άλλες μεθόδους μη θερμικής επεξεργασίας, όπως η επεξεργασία με υπέρηχους. Θα μπορούσε ακόμα να εξεταστεί η ενζύμική δράση στο κύτταρο έπειτα από επεξεργασία με ΟΥΠ και ΠΗΠ. Επίσης, θα μπορούσε να μελετηθεί η επίδραση των μεθόδων αυτών στην αυτόλυση και στα χαρακτηριστικά εκχυλίσματος μαγιάς από άλλα στελέχη, εκτός από τον *S. cerevisiae*. Ακόμα, θα μπορούσε να πραγματοποιηθεί οργανοληπτικός έλεγχος του εκχυλίσματος μαγιάς επεξεργασμένης με ΟΥΠ και ΠΗΠ και να συγκριθεί με αυτό από ανεπεξέργαστη μαγιά.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Běhalová, B., & Beran, K. (1979). Activation of Proteolytic Enzymes during Autolysis of Disintegrated Baker's Yeast. *Folia Microbiologica*, 24, 455-461.
- Breddam, K., & Beenfeldt, T. (1991). Acceleration of yeast autolysis by chemical methods for production of intracellular enzymes. *Appl. Microbiol. Biotechnol*, 35(1), 323-329.
- Barbosa-Canovas, G.V., Pothakamury, U.R, & Palou, E. (1997). Nonthermal Preservation of Foods. New York, United States of America: Marcel Dekker.
- Bhattacharya S. (2014). Conventional and Advanced Food Processing Technologies. Oxford, United Kingdom: Wiley-Blackwell.

- Balasubramaniam, V.M., Barbosa-Cánovas, G. V., & Lelieveld, H.L.M. (2016). High Pressure Processing of Foods: Principles, Technology and Applications. New York, United States of America: Springer.*
- Broadbent, A. D. (2017). Colorimetry, Methods. In J. C. Lindon, G. E. Tranter, & D. W. Koppenaal, *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry* (σσ. 321-327). *San Diego, United States of America: Elsevier*
- Cullen, P.J., Tiwari B.K, Valdramidis, V.P. (2012). Novel Thermal and Non Thermal technologies for fluid foods. *San Diego, United States of America: Elsevier.*
- Campbell, H. D. (1983). The Lowry Protein Assay: Linearization of Standard Curve by Double Reciprocal Plot. *Analytical Letters*, 16(B19), 1495-1507.
- 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.
- 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.
- Doona, C.J., Kustin, K., & Feehery, F.E. 2010. Case studies in novel food processing technologies: Innovations in processing, packaging and predictive modeling. United Kingdom, Cambridge: Woodhead Publishing Limited.
- Ganeva, V., Galutzov, B., & Teissié, J. (2003), High yield electroextraction of proteins from yeast by a flow process, *Analytical Biochemistry*, 315(1), 77–84.
- 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.
- Hecht, A.K., O' Donnell, A.F, Brodsky, J.L. (2014). The proteolytic landscape of the yeast vacuole, *Cellular Logistics*, 4(1), e28023.
- Iversen, S. L., & Jørgensen, M. H. (1995). Azocasein assay for alkaline protease in complex fermentation broth. *Biotechnology Techniques*, 9(8), 573-576.
- Jaiswal, A.K. (2017). Food processing technologies impact on product attributes. *London, United Kingdom: CRC Press.*
- Lee, B.H. (2015). *Fundamentals of Food Biotechnology*, Oxford, United Kingdom: Wiley-Blackwell.
- 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.

- Lowry, O. H., Rosenbrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193(1), 265-275.
- Meija, J., Coplen, T. B., Berglund, M., Brand, W. A., Bièvre, P. D., Gröning, M., & Prohaska, T. (2016). Atomic weights of the elements 2013 (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, 88(3), 265-291.
- 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.
- Meusdoerffer, F., Tortora, P., & Holzer, H. (1980). Purification and Properties of Proteinase A from Yeast. *Journal of Biological Chemistry*, 255(24), 12087-12093.
- PubChem - Open Chemistry Database. (2018). Ανάκτηση 19 Μαΐου, 2018, από National Center for Biotechnology Information: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/glycine>
- Puertolas E., Luengo E., Ivarez I.A., Raso J. (2012). Improving Mass Transfer to Soften Tissues by Pulsed Electric Fields: Fundamentals and Application. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.*, 3(1):263–282.
- Raso, J., & Heinz, V. (2010). Pulsed Electric Fields Technology for the Food Industry: Fundamentals and Applications (2^η έκδ.). *New York, United States of America: Springer*.
- Rahman, M.S., & Ahmed, J. (2012). Handbook of Food Process Design. *Oxford, United Kingdom: Wiley-Blackwell*.
- 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. Στο B. Labtech, *Application Notes Binder* (4η εκδ., σσ. 27-28
- SPX APV Lab Series Homogenisers. (2012, June). Ανάκτηση 17 Μαΐου, 2019, από http://www.spxflow.com/en/assets/pdf/APV_Lab_Series_3003_06_06_2012_GB.pdf
- Sarath, G., Zeece, M. G., & Penheiter, A. R. (2001). Protease assay methods. Στο R. Beynon, & J. S. Bond, *Proteolytic Enzymes* (2η εκδ., σσ. 45-76). *New York, United States of America: Oxford University Press*.
- Vorobiev, E., & Lebovka, N. (2008) Electrotechnologies for Extraction from Food Plants and Biomaterials. *New York, United States of America: Springer*.
- 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 & Biotechnology*, 15(1), 57-63.

- Waterborg, J. H. (2002). The Lowry Method for Protein Quantification. Στο J. M. Walker, *The Protein Protocols Handbook* (2η εκδ., σσ. 7-9). New Jersey, United States of America: Humana Press.
- Yemm, E. W., & Cocking, E. C. (1955). The Determination of Amino-acids with Ninhydrin. *Analyst*, 80, 209-214.
- Zhang, Q. H., Barbosa-Cánovas, G. V., & Swanson, B. G. (1995). Engineering aspects of pulsed electric field pasteurization. *Journal of Food Engineering*, 25(1), 261–281.
- Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων Ε.Μ.Π. (2016). *Σχεδιασμός Βιομηχανιών Τροφίμων - Επεξεργασία και Συντήρηση Τροφίμων (εργαστηριακές ασκήσεις 9ου εξαμήνου)*. Αθήνα: Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο.