



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ

ΤΟΜΕΑΣ IV: ΣΥΝΘΕΣΗ & ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΩΝ  
ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΩΝ

Εργαστήριο Χημείας & Τεχνολογίας Τροφίμων

## Αξιοποίηση τυρογάλακτος για την παραγωγή ζυμωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων με χρήση ενζύμου Τρανσγλουταμινάση και εφαρμογή Παλμικών Ηλεκτρικών Πεδίων



Διπλωματική Εργασία

Βιντζηλαίου Θάλεια

Επιβλέπων Καθηγητής : Πέτρος Ταούκης

Φεβρουάριος 2022



## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων της Σχολής Χημικών Μηχανικών του ΕΜΠ κατά το χρονικό διάστημα 04/2021-01/2022, υπό την επίβλεψη του Καθηγητή του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου κ. Πέτρου Ταούκη.

Έπειτα από την ολοκλήρωση της διπλωματικής, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα Καθηγητή κ. Πέτρο Ταούκη για την ευκαιρία που μου προσέφερε να ασχοληθώ με τον τομέα της χημείας και τεχνολογίας τροφίμων, για την καθοδήγησή του, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε να αναλάβω ένα από τα πολλά ενδιαφέροντα θέματα του, για τις σημαντικές γνώσεις που μου προσέφερε συνολικά κατά την διάρκεια των σπουδών μου καθώς και για την καθοριστική συμβολή του στο να εμβαθύνω στο επιστημονικό πεδίο των τροφίμων.

Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τη Δρ. Μαρία Τσεβδού, Επιστημονικό Συνεργάτη του Εργαστηρίου Χημείας & Τεχνολογίας Τροφίμων ΕΜΠ για την πολύτιμη καθοδήγηση, βοήθεια και στήριξή της καθώς και για τον σημαντικό χρόνο που αφιέρωσε για την περάτωση της διπλωματικής μου. Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον Υποψήφιο Διδάκτορα κ. Αθανάσιο Λημναίο καθώς και τον Δρ. Γεώργιο Δημόπουλο, Επιστημονικό Συνεργάτη του Εργαστηρίου Χημείας & Τεχνολογίας Τροφίμων ΕΜΠ, για την καθοριστική βοήθεια τους στη διεκπεραίωση των πειραμάτων μου.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους ανθρώπους που όλα αυτά τα χρόνια των σπουδών μου, ήταν και είναι δίπλα μου και με στηρίζουν σε κάθε βήμα μου. Ευχαριστώ θερμά τους φίλους μου, οι οποίοι μου χάρισαν τα πιο υπέροχα και χαρούμενα φοιτητικά χρόνια, γεμάτα πολύ γέλιο και όμορφες στιγμές. Φυσικά, όλο αυτό το υπέροχο ταξίδι των σπουδών μου δεν θα μπορούσε να πραγματοποιηθεί χωρίς την απόλυτη αγάπη και εμπιστοσύνη που μου προσέφερε η οικογένεια μου καθώς και την πίστη τους σε μένα και στις δυνατότητες μου.

Σας ευχαριστώ πολύ.

Θάλεια Βιντζηλαίου

Αθήνα, Φεβρουάριος 2022



## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στόχος της παρούσας διπλωματικής εργασίας ήταν η παραγωγή νέων καινοτόμων ζυμωμένων προϊόντων τύπου γιαουρτιού μέσω της αξιοποίησης του τυρογάλακτος, το οποίο αποτελεί παραπροϊόν της βιομηχανίας τυριού. Το τυρόγαλα υποκαθιστά το γάλα και χρησιμοποιείται ως κύρια πρώτη ύλη για τη δημιουργία των καινοτόμων προϊόντων, με στόχο να έχουν παρόμοια ή/και βελτιωμένα χαρακτηριστικά σε σχέση με τα γιαούρτια που παράγονται από συμβατικές πρώτες ύλες και τεχνολογίες. Για την επίτευξη αυτού του στόχου μελετήθηκε η ενζυμική προεπεξεργασία με χρήση του ενζύμου τρανσγλουταμινάση (Transglutaminase, TGase) καθώς και της τεχνολογίας των Παλμικών Ηλεκτρικών Πεδίων (ΠΗΠ), στην πρώτη ύλη του τυρογάλακτος.

Αρχικά έγινε ανάλυση των κυριότερων συστατικών του τυρογάλακτος, δηλαδή πραγματοποιήθηκε προσδιορισμός του γαλακτικού οξέος με φασμαφωτομετρική μέθοδο, του στερεού υπολείμματος και της τέφρας, καθώς και του λίπους. Αναφορικά με το λίπος, ο προσδιορισμός έγινε για τα μίγματα τυρογάλακτος-σκόνης γάλακτος, με περιεκτικότητες σε πρωτεΐνη 6% και 8% w/v, για τα οποία προέκυψε ότι περιέχουν 0,48% w/w και 0,45% w/w λίπος, αντίστοιχα. Επίσης, στο τυρόγαλα, το στερεό υπόλειμμα βρέθηκε ίσο με 6,47 % w/w, η τέφρα ίση με 0,69 % w/w και η συγκέντρωση του γαλακτικού οξέυ υπολογίστηκε ίση με 3,59 g/L.

Έπειτα ακολούθησε η παραγωγή των καινοτόμων ζυμωμένων προϊόντων, η οποία πραγματοποιήθηκε από δείγματα τυρογάλακτος με αρχική περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη 2,9% w/w, στα οποία προστέθηκε ποσότητα αποβουτυρωμένης σκόνης γάλακτος (περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη 35% w/w), ώστε τα τελικά μίγματα να έχουν περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη 6%, 8% και 10% w/v. Κατά τη διάρκεια της ζύμωσης καταγραφόταν το pH ανά τακτά χρονικά διαστήματα, προκειμένου να προσδιοριστούν οι κινητικές παράμετροι της ζύμωσης (λανθάνουσα φάση και μέγιστος ρυθμός μείωσης της τιμής του pH). Μετά την παραγωγή των προϊόντων, ακολούθησε η μέτρηση της τιτλοδοτούμενης οξύτητας, του pH, του αποβαλλόμενου ορού (συναίρεση), του χρώματος και πραγματοποιήθηκε ανάλυση υφής για τον προσδιορισμό της σφικτότητας, συνεκτικότητας, προσκολλησιμότητας, ελαστικότητας και κομμωδούς των παραγόμενων προϊόντων. Οι παραπάνω μετρήσεις διεξήχθησαν αντίστοιχα και στην περίπτωση των δειγμάτων που η πρώτη ύλη προεπεξεργάστηκε ενζυμικά με τρανσγλουταμινάση (συγκέντρωση ενζύμου 2,2 Units/g πρωτεΐνης) ή/και με παλμικά ηλεκτρικά πεδία (100, 500, 800, 1000 pulses – 1.2kV/cm – 50Hz – 15 μs).

Στα παραγόμενα καινοτόμα προϊόντα από θερμικά επεξεργασμένα μίγματα τυρογάλακτος παρατηρήθηκε αύξηση του χρόνου ζύμωσης στα 240 min για τα δείγματα με 10% w/v σε πρωτεΐνη έναντι 180 min για τα συμβατικά προϊόντα. Το πρωτεϊνικό περιεχόμενο επηρέασε τα χαρακτηριστικά των προϊόντων, δηλαδή με αύξηση της πρωτεΐνης, υπήρξε σημαντική μείωση της συναίρεσης (47,9 % έναντι 8,8% αποβαλλόμενος ορός για τα δείγματα με 6% w/v έναντι 10% w/v σε πρωτεΐνη) καθώς και σημαντική αύξηση της σφικτότητας (149,9g έναντι 33,2g για το 10% w/v και 6% w/v αντίστοιχα), της προσκολλησιμότητας (121,9 g·s έναντι 15,4 g·s για το 10% w/v και 6% w/v αντίστοιχα) και του κομμωδούς. Επίσης σημειώθηκε αύξηση της τιτλοδοτούμενης οξύτητας (1,25% γαλακτικό οξύ έναντι 0,97% γαλακτικό οξύ για το 10% w/v και 6% w/v αντίστοιχα). Αποτέλεσμα της ανάλυσης αυτής ήταν η επιλογή ως βέλτιστη πρωτεϊνική περιεκτικότητα για την περαιτέρω διεξαγωγή των πειραμάτων η 10% w/v.

Η ενζυμική επεξεργασία των μιγμάτων δεν φάνηκε να έχει σημαντική επίδραση στον χρόνο ζύμωσης και τις κινητικές παραμέτρους αυτής. Επιπλέον, η ενζυμική επεξεργασία των μιγμάτων οδήγησε σε αύξηση της τιτλοδοτούμενης οξύτητας (1,17% έναντι 1,08% γαλακτικό οξύ, στατιστικοί μέσοι όροι δειγμάτων από ενζυμικά και μη ενζυμικά επεξεργασμένα μίγματα, αντίστοιχα), μείωση της συναίρεσης (28,3% έναντι 33,3% αποβαλλόμενος ορός, στατιστικοί μέσοι όροι ενζυμικής και θερμικής αντίστοιχα) και σημαντική αύξηση της σφικτότητας (110,1 g έναντι 79,9 g, στατιστικοί μέσοι όροι από ενζυμικά και μη ενζυμικά επεξεργασμένα μίγματα, αντίστοιχα) και του κομμωδους, ενώ παράλληλα οδήγησε σε μείωση της προσκολλησιμότητας (45,5 g·s έναντι 59,8 g·s, στατιστικοί μέσοι όροι από ενζυμικά και μη ενζυμικά επεξεργασμένα μίγματα, αντίστοιχα) των παραγόμενων δειγμάτων σε σχέση με τα δείγματα από θερμικά επεξεργασμένα μίγματα. Επίσης παρατηρήθηκε μικρή μείωση στο ολικό χρώμα και μικρή αύξηση στη συνεκτικότητα. Επιπροσθέτως η ενζυμική επεξεργασία σε σύγκριση με τα συμβατικά προϊόντα προκαλεί αυξημένη τιτλοδοτούμενη οξύτητα (1,49% έναντι 0,79% γαλακτικό οξύ, δείγματα από ενζυμικά επεξεργασμένα μίγματα έναντι συμβατικών προϊόντων), αρκετά μειωμένη συναίρεση (7,2% έναντι 39,3% αποβαλλόμενου ορού), μικρότερο ολικό χρώμα (76,3 έναντι 83,1) και λίγο υψηλότερη συνεκτικότητα, ενώ δεν παρατηρούνται διαφορές στην ελαστικότητα. Αξιοσημείωτη είναι η διαφορά τους ως προς την σφικτότητα όπου τα παραγόμενα προϊόντα από ενζυμικά επεξεργασμένα μίγματα εμφανίζουν σχεδόν 2,5 φορές μεγαλύτερη τιμή (185,2 g έναντι 78,6 g) ενώ η προσκολλησιμότητα κυμαίνεται στα 100,0 g·s έναντι 59,2 g·s, σε σχέση με τα συμβατικά προϊόντα.

Η εφαρμογή των παλμικών ηλεκτρικών πεδίων των μιγμάτων οδήγησε σε επιβράδυνση της ζύμωσης κατά 2-3 ώρες για τα δείγματα μετά από επεξεργασία της πρώτης ύλης τους (αρχικό μίγμα) με 500 παλμούς. Η επεξεργασία με ΠΗΠ φάνηκε να επιδρά και στη λανθάνουσα φάση, αυξάνοντας της διάρκεια της (246 min για δείγμα επεξεργασμένο στους 500 παλμούς έναντι 186 min για θερμικώς επεξεργασμένο 10% w/v σε πρωτεΐνη), ενώ παράλληλα εμφανίζουν σημαντικά μειωμένο μέγιστο ρυθμό μείωσης του pH (-0,0096 pH/min για 500 παλμούς) σε σχέση με τα θερμικά επεξεργασμένα μίγματα (-0,014 pH/min για μίγμα με 10% w/v σε πρωτεΐνη). Η αύξηση των παλμών στα ΠΗΠ προκαλεί μείωση της σφικτότητας των παραγόμενων προϊόντων (54,1 g έναντι 39,2 g, για 100 και 1000 παλμούς αντίστοιχα), του κομμωδους και της προσκολλησιμότητας (19,3 g·s έναντι 9,3 g·s, για 100 και 1000 παλμούς αντίστοιχα) καθώς και αύξηση της συνεκτικότητας (0,55 έναντι 0,62, για 100 και 1000 παλμούς αντίστοιχα). Αποτέλεσμα της έρευνας ήταν η επιλογή ως βέλτιστης συνθήκης επεξεργασίας για τα παλμικά ηλεκτρικά πεδία τους 500 παλμούς καθώς τα αντίστοιχα τελικά προϊόντα εμφάνισαν υψηλότερο ολικό χρώμα (76,2), μεγαλύτερη σφικτότητα (56,4g), προσκολλησιμότητα (22,0 g·s) και κομμωδες (31,6 g), και παράλληλα κατά τον οπτικό έλεγχο στο εργαστήριο διαπιστώθηκε ότι τα δείγματα αυτά εμφάνισαν πιο συνεκτικό και σταθερό πήγμα. Επίσης διαπιστώθηκε ότι, τα δείγματα από μίγματα επεξεργασμένα με παλμικά ηλεκτρικά πεδία σε σύγκριση με τα αντίστοιχα δείγματα από θερμικά επεξεργασμένα μίγματα εμφάνισαν αυξημένη τιτλοδοτούμενη οξύτητα, μειωμένο ολικό χρώμα και σημαντική ελαττωμένη σφικτότητα, προσκολλησιμότητα και κομμωδες, ενώ μικρή αύξηση παρουσίασε η συνεκτικότητα. Τέλος, τα μίγματα που έχουν υποστεί επεξεργασία με παλμικά ηλεκτρικά πεδία, σε σύγκριση με τα συμβατικά προϊόντα εμφανίζουν μικρότερη σφικτότητα (56,4 g έναντι 78,6 g, παλμικά έναντι συμβατικά προϊόντα), και συναίρεση (11,2% έναντι 39,3% αποβαλλόμενος ορός), ενώ η προσκολλησιμότητα (22,0 g·s έναντι 59,2 g·s) γίνεται σχεδόν υποδιπλάσια.

Τέλος, διεξήχθησαν πειράματα με το συνδυασμό της ενζυμικής επεξεργασίας και των παλμικών ηλεκτρικών πεδίων σε συνθήκες 500 παλμών και περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη 10% w/v και παράχθηκαν τα αντίστοιχα καινοτόμα προϊόντα. Η εφαρμογή και των δύο μεθόδων επεξεργασίας (ΠΗΠ και μετά ενζυμική επεξεργασία) επιτάχυνε τη ζύμωση, με το χρόνο ζύμωσης να μειώνεται σε 270 min από 300 min που ήταν για τα δείγματα από πρώτη ύλη μόνο με ΠΗΠ. Ωστόσο, οι δύο μέθοδοι επεξεργασίας (ενζυμική και ΠΗΠ) εμφανίζουν σχετικά ίδιες τιμές τιτλοδοτούμενης οξύτητας, χρώματος, συνεκτικότητας και ελαστικότητας, ενώ διαφέρουν σε μικρό βαθμό ως προς την συναίρεση, με την ενζυμική επεξεργασία των μιγμάτων να οδηγεί σε χαμηλότερη τιμή (11,2% έναντι 7,2% αποβαλλόμενος ορός, παλμικά έναντι ενζυμική). Επιπρόσθετα, ο συνδυασμός των δύο μεθόδων επεξεργασίας των μιγμάτων οδήγησε σε μείωση της συναίρεσης των προϊόντων σε σχέση με τα συμβατικά προϊόντα (4,6% αποβαλλόμενος ορός). Τέλος, η σφικτότητα αυξήθηκε σε επίπεδα υψηλότερα των συμβατικών προϊόντων (116,9 g έναντι 78,6 g), ενώ η προσκολλησιμότητα κυμάνθηκε σχεδόν στις ίδιες τιμές (55,6 g·s έναντι 59,2 g·s).

Συμπερασματικά, μέσω της ενζυμικής επεξεργασίας και της αύξησης του πρωτεϊνικού περιεχομένου επιτεύχθηκε η δημιουργία καινοτόμων προϊόντων με σφιχτό και συνεκτικό πήγμα, με αυξημένη τιτλοδοτούμενη οξύτητα αλλά χωρίς φαινόμενα συναίρεσης, με την περιεκτικότητα 10% w/v σε πρωτεΐνη να θεωρείται η βέλτιστη. Τα τελικά προϊόντα, τα οποία προέκυψαν από το συνδυασμό των παλμικών ηλεκτρικών πεδίων (συνθήκη 500 παλμών) με την ενζυμική επεξεργασία, εμφάνισαν σημαντικά μειωμένη συναίρεση σε σχέση με κάθε μέθοδο επεξεργασίας ξεχωριστά. Τα παραγόμενα ζυμωμένα προϊόντα απέκτησαν πιο σφιχτό και σταθερό πήγμα από τα συμβατικά προϊόντα γιαουρτιού, χωρίς να εμφανίζουν σημαντικά μεγάλες διαφορές στα χαρακτηριστικά τους, όπως στην αντίστοιχη περίπτωση των δειγμάτων που προέκυψαν από ενζυμικά επεξεργασμένα μίγματα τυρογάλακτος. Ωστόσο, μεμονωμένα τα παλμικά ηλεκτρικά πεδία προκάλεσαν στα δείγματα σημαντική μείωση της σφικτότητας και αύξηση του χρόνου ζύμωσης. Συνεπώς, ο συνδυασμός των μεθόδων επεξεργασίας μπορεί να οδηγήσει σε καινοτόμα ζυμωμένα προϊόντα με βελτιωμένα χαρακτηριστικά, τα οποία προσεγγίζουν τα εμπορικά γιαούρτια.





# Valorization of Sweet Whey for the Production of Fermented Dairy Products through the application of Transglutaminase Pretreatment and Pulsed Electric Fields Processing

The aim of this thesis was the production of new innovative types of fermented dairy products through the utilization of sweet whey, which is the main by-product of the cheese industry. Sweet, or cheese, whey replaces milk and is used as the main raw material for the formulation of fermented dairy products of similar or/and improved characteristics compared to commercial set type yogurts. To achieve this goal, enzymatic pretreatment with Transglutaminase (TGase), applied subsequently to thermal or Pulse Electric Fields processing of the sweet whey mixtures was investigated.

Initially, the composition of cheese whey was investigated; lactic acid was determined spectrophotometrically, total solids, ash, and fat. Fat determination was specifically performed in mixtures of cheese whey-milk powder with protein content of 6% and 8% w/v and fat content was found equal to 0.48% w/w and 0.45% w/w, respectively. The total solids were estimated to 6.47% w/w, the ash was found equal to 0.69% w/w, and the lactic acid concentration equal to 3.59 g/L.

Innovative fermented dairy products were prepared using sweet whey with 2.9% w/w protein content and skimmed milk powder of ca. 35% w/w protein content, in order to achieve mixtures of 6%, 8% and 10% w/v protein content. During fermentation of the prepared mixtures, the pH was measured at predefined intervals and the fermentation kinetic parameters were estimated using a modified Gompertz equation. Fermented dairy samples were evaluated according to their quality characteristics in terms of titratable acidity, pH value, whey separation (syneresis), color and textural properties (namely firmness, cohesiveness, adhesiveness, elasticity, gumminess). The above measurements were also performed where the fermented dairy products were prepared with enzyme pretreated (enzyme concentration 2.2 Units / g protein) or/ and pulsed electric fields (100, 500, 800, 1000 pulses - 1.2kV / cm - 50Hz - 15  $\mu$ s) treated mixtures. Moreover, the pulsed electric fields processing was applied only to sweet whey mixtures with a protein content of 10% w/v.

Innovative products from thermally treated whey mixtures exhibited an increase in the fermentation time to 240 min for samples with 10% w/v protein content compared to 180 min for conventionally prepared products. The protein content affected the characteristics of the products; an increase in protein content led to a significant decrease in syneresis (47.9% vs. 8.8% whey separation for samples with 6% w/v versus 10% w/v protein content) as well as a significant increase in firmness (149.9g vs. 33.2g for 10% w/v and 6% w/v, respectively), adhesiveness (121.9 g·s versus 15.4 g·s for 10% w/v and 6% w/v, respectively) and gumminess. There was also observed an increase in titratable acidity (1.25% lactic acid versus 0.97% lactic acid for 10% w/v and 6% w/v, respectively). The level of 10% w/v protein content was considered as the optimal protein content for further investigation.

The enzyme pretreatment of the mixtures did not have a significant effect on the fermentation time and fermentation kinetic parameters. In addition, the enzyme pretreatment of the whey mixtures led to an increase in titratable acidity (1.2% vs. 1.1% lactic acid, statistical averages

of samples from enzyme and non-enzyme treated mixtures, respectively), a decrease of syneresis (28.3% vs. 33.3% whey separation, as statistical averages of enzyme and thermal, respectively) and a significant increase in firmness (110.1 g vs. 79.9 g, as statistical averages of enzyme and non-enzyme treated mixtures, respectively) and gumminess, while at the same time it led to a decrease of the adhesiveness (45.5 g·s vs. 59.8 g·s, as statistical averages of enzyme and non-enzyme treated mixtures, respectively) of the samples prepared as compared to the samples from thermally treated mixtures. There was also a slight decrease of total color and a small increase in cohesiveness. Moreover, the enzyme pretreatment as compared to the conventionally prepared products led to an increase in titratable acidity (1.49% vs. 0.79% lactic acid, for samples from enzyme treated mixtures versus conventionally prepared products), slightly reduced syneresis (7.2% versus 39.3% of whey separation), lower value of total color (76.3 vs. 83.1) and slightly higher cohesiveness, while no differences in elasticity were observed. Noteworthy was their difference in the firmness, for which the products prepared from enzyme treated mixtures showed almost 2.5 times higher value (185.2 g versus 78.6 g), while the corresponding values of adhesiveness ranged at 100,0 g·s versus 59.2 g·s, compared to conventionally prepared products.

The application of the pulsed electric fields (PEF) processing of the mixtures led to a deceleration of fermentation by 2-3 h for the samples prepared with mixtures treated with 500 pulses. PEF treatment also appeared to affect the latent phase of fermentation, increasing its duration (246 min for whey mixture treated at 500 pulses versus 186 min for thermally treated whey mixture), while showing a significantly reduced maximum pH reduction rate (-0.0096 pH / min for 500 pulses) compared to thermally treated mixtures (-0.014 pH / min for mixture with 10% w/v protein). Increasing the pulses in the PEF caused a decrease of the firmness of the products (54.1 g vs. 39.2 g for 100 and 1000 pulses, respectively), gumminess and adhesiveness (19.3 g·s vs. 9.3 g·s for 100 and 1000 pulses, respectively), as well as increased cohesiveness (0.55 vs. 0.62, for 100 and 1000 pulses, respectively). The result of this part of research was the selection as the optimal processing condition for the PEF that of 500 pulses, as the respective final products showed higher overall color (76.2), greater firmness (56.4 g), adhesiveness (22.0 g·s) and gumminess (31.6 g), and at the same time during the visual observation in the laboratory it was found that these samples showed a more cohesive and stable gel. It was also found that the samples prepared from mixtures treated with PEF compared to the corresponding samples from thermally treated mixtures showed increased titratable acidity, reduced color values and significantly reduced firmness, adhesiveness and gumminess, while a small increase in cohesiveness was also observed. Finally, mixtures treated with PEF, compared to conventionally prepared products, showed lower firmness (56.4 g vs. 78.6 g, pulsed vs. conventional products), and syneresis (11.2% vs. 39.3 % whey separation), while adhesiveness (22.0 g·s versus 59.2 g·s) was almost doubled.

Experiments were also carried out with the combination of enzyme pretreatment and pulsed electric fields processing of 500 pulses in a whey mixture of 10% w/v protein content, and the corresponding innovative products were prepared. The combined application of both processing methods (PEF and then enzymatic treatment) led to acceleration of fermentation, with the fermentation time reduced to 270 min from 300 min observed for samples prepared from mixtures treated only with PEF. However, the two processing methods (TGase and PEF) of the mixtures led to samples with similar values of titratable acidity, color, cohesiveness and elasticity, while they differed in terms of syneresis, with samples pretreated with the

combination of the proposed technologies exhibiting lower values of whey separation as compared to the corresponding values for samples prepared from PEF-treated mixtures (11.2% versus 7.2% whey separation for PEF versus TGase). Additionally, the combined application of the two processing methods led to an decrease of syneresis as compared the one obtained for conventionally prepared samples. Firmness of the samples was also increased in levels higher than those of conventionally prepared samples (116.9 g versus 78.6 g), while no significant differences were observed in the case of adhesiveness (55.6 g•s versus 59.2 g•s).

In conclusion, through the enzymatic treatment and the increase in the protein content, production of fermented dairy products with a firm and cohesive gel was achieved, slightly acidic but without syneresis phenomena. Protein content of 10% w/v was considered as the optimum for the production of these products. Pulse electric fields processing of the used sweet whey mixtures significantly reduce the products' firmness, while at the same time increased their fermentation time. However, the combined application of pulsed electric fields processing and enzymatic pretreatment led to the production of fermented products with very low amounts of separation whey as compared to the cases where each alternative methods was individually applied

# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	I
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	III
Valorization of Sweet Whey for the Production of Fermented Dairy Products through the application of Transglutaminase Pretreatment and Pulsed Electric Fields Processing.....	VII
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ.....	X
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	1
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 <sup>ο</sup> : ΤΟ ΤΥΡΟΓΑΛΛΟ.....	5
1.1 Εισαγωγή.....	5
1.2 Ιστορική Αναδρομή.....	5
1.3 Παραγωγική Διαδικασία Τυριού-Τυρογάλακτος.....	6
1.4 Συστατικά Τυρογάλακτος.....	9
1.4.1 Πρωτεΐνες.....	9
1.4.2 Λακτόζη.....	11
1.4.3 Λίπη.....	11
1.4.4 Βιταμίνες.....	11
1.5 Διατροφική Αξία Τυρογάλακτος.....	12
1.6 Περιβαλλοντικές Επιπτώσεις Απόρριψης Τυρογάλακτος.....	13
1.7 Αξιοποίηση Τυρογάλακτος.....	13
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 <sup>ο</sup> : ΓΙΑΟΥΡΤΙ.....	15
2.1 Εισαγωγή.....	15
2.2 Ιστορική Αναδρομή.....	15
2.3 Παραγωγική Διαδικασία Γιαουρτιού.....	16
2.4 Φυσικοχημικοί Μηχανισμοί κατά την Διάρκεια της Πήξης.....	19
2.5 Καλλιέργεια.....	19
2.6 Φυσικοχημικοί Μηχανισμοί κατά την Αποθήκευση του Γιαουρτιού.....	21
2.7 Σύσταση του γιαουρτιού.....	21
2.8 Φυσικοχημικά Χαρακτηριστικά Γιαουρτιού.....	23
2.8.1 Οξύτητα.....	23
2.8.2 Χρώμα.....	23
2.8.3 Γεύση – Άρωμα.....	23
2.9 Συναίρεση.....	24
2.10 Δομή – Υφή Γιαουρτιού.....	24
2.11 Διατροφική Αξία.....	25
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 <sup>ο</sup> : ΕΝΖΥΜΟ ΤΡΑΝΣΓΛΟΥΤΑΜΙΝΑΣΗ.....	27

3.1 Εισαγωγή.....	27
3.2 Ιστορική Αναδρομή.....	28
3.3 Ζωική - Φυτική Τρανσγλουταμινάση.....	28
3.4 Μικροβιακή Τρανσγλουταμινάση.....	28
3.4.1 Χαρακτηριστικά MTGase.....	29
3.4.2 Κρυσταλλική Δομή MTGase.....	29
3.4.3 Ενζυμική Δραστικότητα της MTGase.....	30
3.4.4 Μηχανισμοί δράσεων της MTGase στις λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνών.....	31
3.4.5 Εφαρμογή MTGase στο Γιαούρτι.....	33
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4<sup>ο</sup> : ΠΑΛΜΙΚΑ ΗΛΕΚΤΡΙΚΑ ΠΕΔΙΑ.....</b>	<b>37</b>
4.1 Εισαγωγή.....	37
4.2 Εξοπλισμός και Λειτουργία ΠΗΠ.....	37
4.3 Βιομηχανικός εξοπλισμός.....	39
4.4 Πλεονεκτήματα-Μειονεκτήματα χρήσης ΠΗΠ.....	40
4.5 Χρήση ΠΗΠ σε Γαλακτοκομικά προϊόντα.....	41
4.6 Επίδραση ΠΗΠ στους Μικροοργανισμούς του Γάλακτος.....	41
4.7 Επίδραση ΠΗΠ στα Ένζυμα.....	42
4.8 Επίδραση ΠΗΠ στις Πρωτεΐνες του Γάλακτος-Ορού Γάλακτος.....	43
4.9 Επίδραση ΠΗΠ στη Διατροφική Αξία του Γάλακτος.....	43
4.10 Επίδραση ΠΗΠ στις Ιδιότητες και στα Χαρακτηριστικά του Γιαουρτιού.....	44
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5<sup>ο</sup>: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ – ΥΛΙΚΑ – ΜΕΘΟΔΟΙ.....</b>	<b>45</b>
5.1 Υλικά και Μέθοδοι.....	45
5.1.1 Υλικά.....	45
5.1.2 Όργανα και Συσκευές.....	46
5.2 Μέθοδοι Παραγωγής και Επεξεργασίας δειγμάτων.....	47
5.2.1 Προετοιμασία Δειγμάτων Ορού – Σκόνης Γάλακτος.....	47
5.2.2 Ενζυμική Επεξεργασία με Τρανσγλουταμινάση.....	47
5.2.3 Επεξεργασία με Παλμικά Ηλεκτρικά Πεδία.....	47
5.2.4 Παραγωγή ζυμωμένων προϊόντων.....	48
5.3 Φυσικές και Χημικές Αναλύσεις των Δειγμάτων.....	49
5.3.1 Προσδιορισμός συστατικών τυρογάλακτος.....	49
5.3.1.1 Προσδιορισμός Γαλακτικού Οξέος.....	49
5.3.1.2 Προσδιορισμός Λίπους.....	49
5.3.1.3 Προσδιορισμός Στερεού Υπολείμματος και Τέφρας.....	50
5.3.2 Χρόνος Ζύμωσης.....	51
5.3.3 Προσδιορισμός Κινητικής Ζύμωσης.....	51

5.3.4 Φυσικές και Χημικές Αναλύσεις Παραγόμενων Πηγμάτων .....	51
5.3.4.1 Οξύτητα Παραγόμενων Πηγμάτων .....	51
5.3.4.2 Συναίρεση Παραγόμενων Πηγμάτων .....	51
5.3.4.3 Χρώμα .....	52
5.3.4.4 Ανάλυση Υφής.....	52
5.4 Σχεδιασμός Πειραμάτων.....	53
5.5 Ανάλυση Δεδομένων .....	54
5.5.1 Προσδιορισμός κινητικής ζύμωσης.....	54
5.5.2 Στατιστική Επεξεργασία Αποτελεσμάτων .....	55
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 <sup>ο</sup> : ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΚΑΙ ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ.....	57
6.1 Χημική Ανάλυση Τυρογάλακτος.....	57
6.1.1 Προσδιορισμός Γαλακτικού Οξέος.....	57
6.1.2 Προσδιορισμός Λίπους.....	58
6.1.3 Προσδιορισμός Στερεού Υπολείμματος και Τέφρας .....	58
6.2 Χρόνος Ζύμωσης - Κινητική Ζύμωσης - Μεταβολή pH – Επίδραση Επεξεργασίας Τυρογάλακτος στη Κινητική Ζύμωσης .....	59
6.2.1 Χρόνος Ζύμωσης .....	59
6.2.2 Μεταβολή pH κατά την ζύμωση – Καμπύλη Κινητικής Ζύμωσης.....	60
6.2.3 Κινητικές Παράμετροι της Ζύμωσης .....	62
6.3 Επίδραση Πρωτεϊνικού Περιεχομένου – Επεξεργασίας του Τυρογάλακτος στα Φυσικοχημικά Χαρακτηριστικά των Παραγόμενων Ζυμωμένων Προϊόντων .....	64
6.3.1 Τιτλοδοτούμενη Οξύτητα.....	64
6.3.2 pH τελικού προϊόντος.....	65
6.3.3 Συναίρεση.....	66
6.3.4 Χρώμα.....	68
6.3.5 Ιδιότητες Υφής.....	69
6.3.6 Συνολικά Συμπεράσματα - Επιλογή Βέλτιστου Δείγματος.....	73
6.4 Επίδραση διαφορετικών συνθηκών επεξεργασίας ΠΗΠ στα Φυσικοχημικά Χαρακτηριστικά των Παραγόμενων Ζυμωμένων Προϊόντων.....	74
6.4.1 Τιτλοδοτούμενη Οξύτητα.....	74
6.4.2 pH τελικού προϊόντος.....	75
6.4.3 Συναίρεση.....	76
6.4.4 Χρώμα.....	77
6.4.5 Ιδιότητες Υφής.....	78
6.4.6 Συνολικά Συμπεράσματα - Επιλογή Βέλτιστων Συνθηκών ΠΗΠ (PEF) .....	82
6.5 Σύγκριση Θερμικής Επεξεργασίας – Ενζυμικής Επεξεργασίας – Επεξεργασίας με ΠΗΠ με βάση την Επίδρασή τους στα Φυσικοχημικά Χαρακτηριστικά των παραγόμενων προϊόντων .....	83

6.5.1 Τιτλοδοτούμενη Οξύτητα.....	83
6.5.2 pH.....	84
6.5.3 Συναίρεση.....	85
6.5.4 Χρώμα.....	86
6.5.5 Ιδιότητες Υφής.....	87
6.5.6 Συνολικά Συμπεράσματα – Σύγκριση Μεθόδων .....	91
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7 <sup>ο</sup> : ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	93
7.1 Προτάσεις για μελλοντική έρευνα.....	96
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....	97

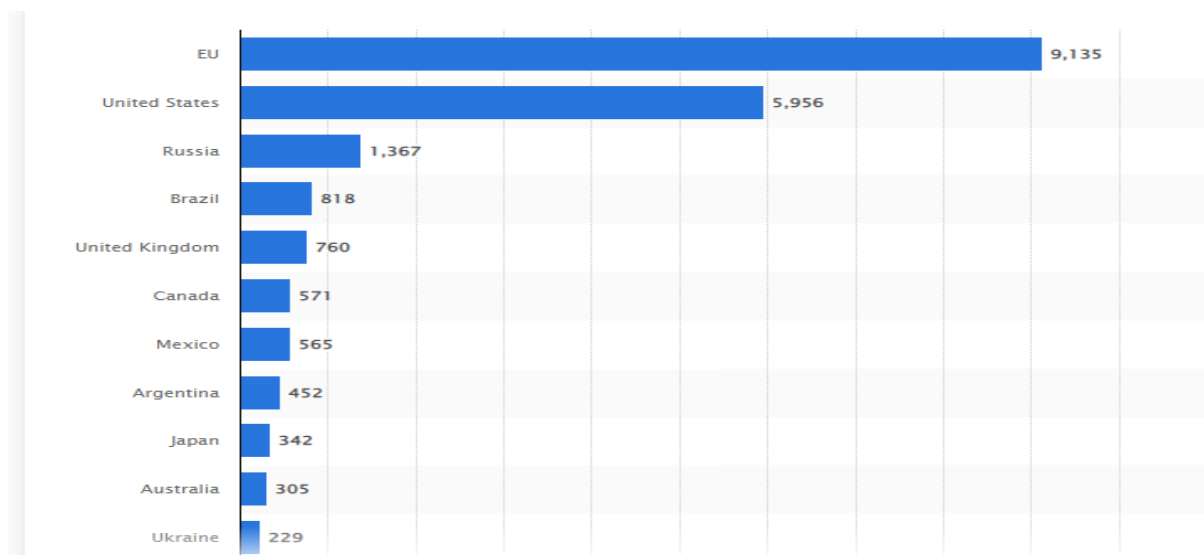




## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Πριν από χιλιάδες χρόνια ξεκίνησε η άμελξη των γαλακτοφόρων ζώων για την παραλαβή ενός πολύ σημαντικού και θρεπτικού τροφίμου, του γάλακτος. Έκτοτε ξεκίνησε σταδιακά από απλές φάρμες μέχρι τη δημιουργία μεγάλων βιομηχανιών η ανάπτυξη μιας τεράστιας κατηγορίας γαλακτοκομικών προϊόντων που αποτελείται από προϊόντα όπως βούτυρο, γιαούρτι, τυρί, κρέμα, παγωτό και άλλα ζυμωμένα προϊόντα. Η διατροφή του ανθρώπου βασίζεται από τα πρώτα κιόλας χρόνια της ζωής του στην κατανάλωση γάλακτος και το γεγονός αυτό οφείλεται στα ποικίλα οφέλη που προσφέρει το γάλα στον οργανισμό του παιδιού βοηθώντας στην υγιή ανάπτυξή του.

Το τυρί αποτελεί μία ιδιαίτερα διαδεδομένη κατηγορία γαλακτοκομικού προϊόντος με μια ποικιλία τυριών που διαφέρουν λόγω διαφορετικής περιεκτικότητας σε υγρασία και μεθόδου επεξεργασίας από την οποία παρασκευάστηκαν. Το 2021 η ετήσια παγκόσμια παραγωγή τυριού ανήλθε σε περίπου 21,86 εκατομμύρια τόνους, με την Ευρώπη να αποτελεί τον κορυφαίο παραγωγό τυριού με ετήσια παραγωγή 10,35 εκατομμύρια τόνους και η οποία αναμένεται να αυξηθεί μέχρι το 2030 (Shahbandeh, 2022, Statista). Όσον αφορά την κατανάλωση τυριού, η Ευρώπη και πάλι βρίσκεται στην υψηλότερη θέση με μεγάλη διαφορά σε σχέση με τον υπόλοιπο πλανήτη (**Εικόνα Ε.1**)( Shahbandeh, 2021, Statista).



**Εικόνα Ε.1:** Ετήσια κατανάλωση τυριού στην Ευρώπη (εκατ. kg)(Shahbandeh, 2021, Statista)

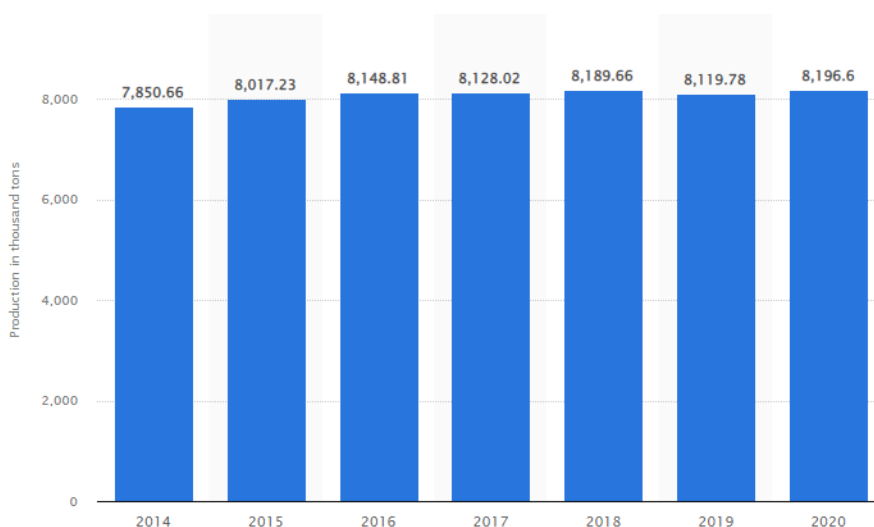
Η αύξηση της παραγωγής του τυριού με το πέρασ του χρόνου οδηγεί αναπόφευκτα και στην αύξηση της παραγωγής του τυρογάλακτος ή γλυκού ορού, το οποίο αποτελεί κύριο παραπροϊόν της τυροκόμησης. Η ποσότητα του τυρογάλακτος που αποβάλλεται σε σχέση με τα kg του τυριού που παρασκευάζονται παρουσιάζεται στον **Πίνακα Ε.1**. Ωστόσο, το τυρόγαλα λόγω της υψηλής συγκέντρωσης χημικά απαιτούμενου οξυγόνου (COD) και βιοχημικά απαιτούμενου οξυγόνου (BOD) αποτελεί εξαιρετικά ρυπογόνο παράγοντα για το περιβάλλον. Μάλιστα σε σύγκριση με το οργανικό φορτίο οικιακών λυμάτων, το οργανικό φορτίο του τυρογάλακτος αντιστοιχεί σε φορτίο ρύπανσης εκατό φορές μεγαλύτερο από το αντίστοιχο των κοινών οικιακών λυμάτων. Η αναλογία BOD/COD είναι συνήθως μεγαλύτερη από 5, γεγονός που το καθιστά ως ένα εύκολα βιοαποδομήσιμο υπόστρωμα μέσω αναερόβιας

ή αερόβιας χώνευσης. Συνεπώς, τα περιβαλλοντικά προβλήματα που προκαλεί η απόρριψη του τυρογάλακτος στο οικοσύστημα οδηγεί την βιομηχανία σε αναζήτηση νέων καινοτόμων μεθόδων αξιοποίησής του (Carvalho et. al. 2013).

**Πίνακας Ε.1 :** Παραγωγή τυρογάλακτος με βάση την απόδοση παραγωγής τυριού, ανά είδος γάλακτος (Carvalho et. al. 2013).

Είδος γάλακτος	Μέση πυκνότητα γάλακτος (g/cm <sup>3</sup> )	Απόδοση παραγωγής τυριού (kg τυρί/ 100 kg γάλακτος)	Όγκος παραγόμενου τυρογάλακτος (L/L) (0,85-0,90)
αγελαδινό	1,032	9,86	0,873
πρόβειο	1,036	14,8	0,822
αίγειο	1,034	9,84	0,872

Από το γάλα, εκτός από το τυρί, προκύπτει και το γιαούρτι το οποίο αποτελεί μία από τις ταχύτερα αναπτυσσόμενες κατηγορίες τροφίμων στην παγκόσμια αγορά λόγω του υψηλού πρωτεϊνικού περιεχομένου που διαθέτει καθώς και της ευκολίας της χρήσης και της κατανάλωσης του (τάση 'eat on the go') ( De Oliveira 2014). Το γιαούρτι περιέχει πολλά θρεπτικά συστατικά όπως πρωτεΐνες, μεταλλικά στοιχεία και βιταμίνες και παράλληλα μπορεί να εμπλουτιστεί με ακόμη περισσότερα, καθιστώντας το ένα τρόφιμο με υψηλή διατροφική αξία. Σύμφωνα με τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA), ένα γιαούρτι ή τρόφιμο που περιέχει το 10% της απαιτούμενης ημερήσιας πρόσληψης (RDI) ενός συγκεκριμένου θρεπτικού συστατικού (π.χ. ασβέστιο) θεωρείται καλή πηγή αυτού του θρεπτικού συστατικού, ενώ εάν περιέχει το 20% ή περισσότερο της RDI θεωρείται εξαιρετική πηγή (Freitas 2017). Το 2020 η παραγωγή του γιαουρτιού στην Ευρώπη ανήλθε στους 8,2 εκατομμύρια τόνους, με κύριο παραγωγό τη Γερμανία, με παραγωγή 1,82 εκατομμύρια τόνους. (**Εικόνα Ε.2**)



**Εικόνα Ε.2:** Ετήσια παραγωγή γιαουρτιού στην Ευρώπη την περίοδο 2014-2020 (Shahbandeh 2021, Statista)

Η ανάγκη αξιοποίησης του τυρογάλακτος σε συνδυασμό με την αυξανόμενη τάση κατανάλωσης του γιαουρτιού αποτελεί έναυσμα για έρευνα και περαιτέρω μελέτη της

δυνατότητας σύνδεσης των δύο αυτών προϊόντων και της δημιουργίας ενός νέου. Κάθε καινούργιο προϊόν ωστόσο πρέπει να ικανοποιεί τις προϋποθέσεις ασφάλειας, υψηλής ποιότητας και διατροφικής αξίας που επιζητάνε οι καταναλωτές και να συμμορφώνεται με την ισχύουσα νομοθεσία.

Η παρούσα διπλωματική είχε ως στόχο την αξιοποίηση του τυρογάλακτος, ενός παραπροϊόντος της γαλακτοβιομηχανίας, για την παραγωγή νέων καινοτόμων ζυμωμένων προϊόντων, τα οποία θα έχουν παρόμοια ή/και βελτιωμένα χαρακτηριστικά σε σχέση με τα συμβατικά γιαούρτια. Για την επίτευξη αυτού του στόχου έγινε χρήση του ενζύμου τρανσγλουταμινάση και της τεχνολογίας των Παλμικών Ηλεκτρικών Πεδίων. Πραγματοποιήθηκε παραγωγή ζυμωμένων προϊόντων παρόμοιων των γιαουρτιών τύπου σετ από τυρόγαλα με την προσθήκη αποβουτυρωμένης σκόνης γάλακτος και δημιουργήθηκε μια σειρά δειγμάτων διαφορετικής περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες. Ερευνήθηκε η επίδραση των διαφορετικών περιεκτικότητων των πρωτεϊνών, της ενζυμικής προεπεξεργασίας με τρανσγλουταμινάση και των συνθηκών εφαρμογής της τεχνολογίας των Παλμικών Ηλεκτρικών Πεδίων στις φυσικοχημικές ιδιότητες και στα ποιοτικά χαρακτηριστικά των παραγόμενων προϊόντων. Τα αποτελέσματα της παραπάνω μελέτης συγκρίθηκαν με τις ιδιότητες του συμβατικού γιαουρτιού από αγελαδινό γάλα.



# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1<sup>ο</sup>: ΤΟ ΤΥΡΟΓΑΛΑ

## 1.1 Εισαγωγή

Το τυρόγαλα, ή γλυκός ορός, αποτελεί ένα παραπροϊόν της γαλακτοβιομηχανίας που προκύπτει κατά την παραγωγική διαδικασία κίτρινων τυριών. Έχει υποκίτρινο χρώμα, είναι υγρό και προκύπτει από την καταβύθιση και απομάκρυνση των πρωτεϊνών του γάλακτος κατά την παραγωγική διαδικασία της τυροκόμησης. Το υποκίτρινο χρώμα είναι συνέπεια της παρουσίας ριφοβλαβίνης (βιταμίνης B2). Η πλειονότητα της λακτόζης από το γάλα παραμένει στον ορό και αποτελεί μεγάλο μέρος των στερεών αυτού, ενώ παράλληλα περιέχει και πρωτεΐνες, λιπαρά και διάφορες βιταμίνες (Prazeres et. al. 2012). Το τυρόγαλα, αν απορριφθεί ανεπεξέργαστο στο περιβάλλον, θεωρείται σημαντικός ρύπος καθώς έχει υψηλή συγκέντρωση χημικά απαιτούμενου οξυγόνου (COD, 73 - 86 kg/m<sup>3</sup>) και βιοχημικά απαιτούμενου οξυγόνου (BOD, 38 – 46 kg/m<sup>3</sup>) γεγονός που καθιστά αναγκαία την επεξεργασία του πριν την απόρριψη ή την εναλλακτική αξιοποίησή του (Chandan & Kilara 2011). Το τυρόγαλα έχει τιμή pH ίση με 5,9-6,6 και η σύστασή του προέρχεται κατά 80-90% από το αρχικό γάλα που χρησιμοποιήθηκε, ενώ περιέχει περίπου το 50% των συστατικών του γάλακτος (Bylund 2011).

Το τυρόγαλα μπορεί να προέλθει από διαφορετικά είδη τυριών κατά την διάρκεια της παραγωγικής διαδικασίας τους, όπως είναι για παράδειγμα το cheddar, το gouda και η mozzarella. Το τυρόγαλα που προκύπτει σε κάθε περίπτωση θα παρουσιάζει κάποιες διαφορές ως προς την περιεκτικότητά του σε διάφορα συστατικά λόγω διαφορετικών μεθόδων επεξεργασίας, χρήσης καλλιέργειας και τυτιάς (Gallardo-Escamilla et. al. 2005).

Η αξιοποίηση του τυρογάλακτος αποτελεί αντικείμενο έρευνας και μελέτης λόγω του περιβαλλοντικού και οικονομικού προβλήματος που δημιουργεί η απόρριψή του στο περιβάλλον. Οι περισσότερες έρευνες έχουν εμβαθύνει στην αξιοποίησή του είτε με τον διαχωρισμό των συστατικών του και την ανάκτησή τους, όπως για παράδειγμα των πρωτεϊνών και της λακτόζης, είτε στην εφαρμογή διεργασιών ζύμωσης για παραγωγή προϊόντων υψηλής προστιθέμενης αξίας, όπως οργανικά οξέα, μονοκυτταρικές πρωτεΐνες και έλαια, βιοπολυμερή (ένζυμα, πολυυδροξυαλκανοϊκά, εξωπολυσακχαρίτες) και βακτηριοσίνες. Το διήθημα τυρογάλακτος, το οποίο λαμβάνεται έπειτα από υπερδιήθηση, έχει χρησιμοποιηθεί ως μέσο ζύμωσης (Mollea et. al. 2013).

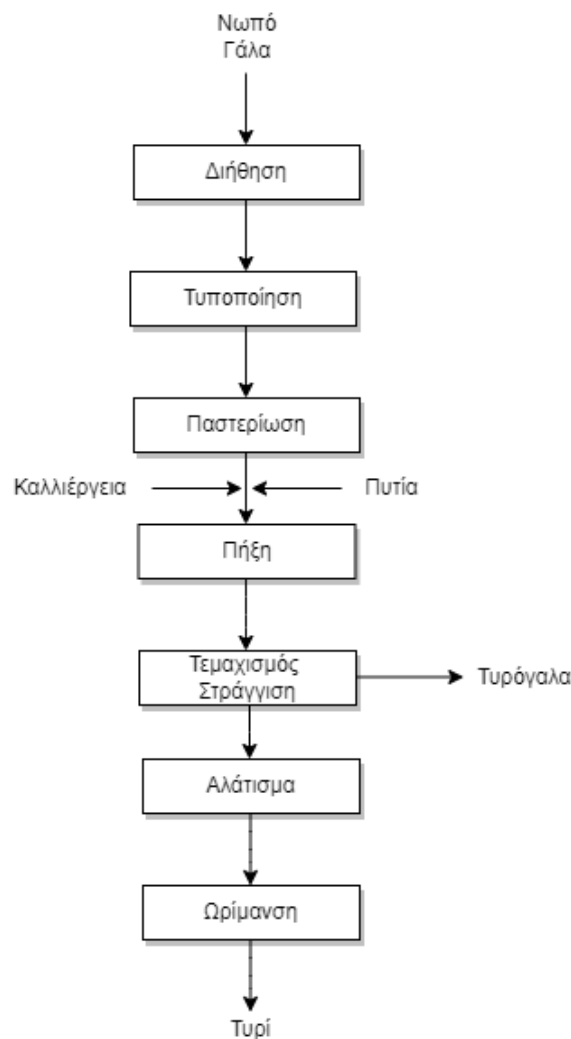
## 1.2 Ιστορική Αναδρομή

Η τυροκομία ξεκίνησε 8000 χρόνια πριν στην Εύφορη Ημισέληνο (Μέση Ανατολή) όταν παρατηρήθηκε ότι όξινο πήγμα γάλακτος διαχωρίζεται σε τυρόπηγμα και ορό γάλακτος. Τα πρώτα τυριά που άρχισαν να δημιουργούνται πιθανόν να σχηματίζονταν με τη χρήση ως καλλιέργειες εκκίνησης, μέρος ορού γάλακτος από την παρασκευή τυριού της προηγούμενης ημέρας. Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται ακόμα για την παρασκευή των τυριών όπως είναι το Parmigiano-Reggiano και το Grana Padano, ενώ για τη δημιουργία του τυριού ricotta γίνεται αναθέρμανση του ορού γάλακτος και ανάκτηση των στερεών. Γενικότερα για αιώνες ο ορός γάλακτος χρησιμοποιούταν για τη διατροφή των χοίρων ή άλλων ζώων, για λίπασμα ή απορριπτόταν στο περιβάλλον. Στις Ηνωμένες Πολιτείες συχνά απέρριπταν τον ορό στα ποτάμια έως ότου επιβλήθηκαν περιβαλλοντικοί κανονισμοί. Σε κάθε μεγάλη τυροκομική

μονάδα μπορούν να παραχθούν καθημερινά παραπάνω από 1 εκατομμύρια λίτρα ορού γάλακτος, αφού για ένα κιλό τυριού παράγονται 9 λίτρα ορού. Πλέον σήμερα όλη αυτή η ποσότητα του παραγόμενου ορού εξελίσσεται σε περιζήτητο προϊόν λόγω της λακτόζης, των πρωτεϊνών και των μετάλλων που περιέχει, καθώς και των ιδιοτήτων που προσφέρει στα τρόφιμα (Onwulata & Huth 2008).

### 1.3 Παραγωγική Διαδικασία Τυριού-Τυρογάλακτος

Η παραγωγή τυριού είναι μια διαδικασία που ξεκίνησε πριν πολλά χρόνια με τις πιο απλοποιημένες μεθόδους και εξελίχθηκε σε βιομηχανική κλίμακα. Λόγω της μεγάλης ποικιλίας τυριών, διαφοροποιούνται και οι παραγωγικές διαδικασίες που χρειάζονται για κάθε είδος. Τα βασικά στάδια παραγωγής είναι η παστερίωση του γάλακτος, η οξίνιση (καλλιέργεια), η πήξη (πυτιά), η αφυδάτωση (τεμαχισμός, στράγγιση), ο διαχωρισμός τυροπήγματος και τυρογάλακτος, η διαμόρφωση (καλούπωμα), η ωρίμανση και το αλάτισμα (Fox & McSweeney 2017). Το τυρόγαλα προκύπτει ως παραπροϊόν αυτής της παραγωγικής διαδικασίας (**Εικόνα 1.1**) που διαχωρίζεται κατά το στάδιο του τεμαχισμού και της στράγγισης του πήγματος.



**Εικόνα 1.1:** Διάγραμμα Ροής της Παραγωγικής Διαδικασίας του Τυριού

## Διήθηση

Αρχικά το νωπό γάλα φιλτράρεται έτσι ώστε να αφαιρεθούν ξένα υλικά, τα οποία ενσωματώθηκαν τυχαία κατά το άρμεγμα ή από τις δεξαμενές αποθήκευσης του γάλακτος στο εκάστοτε αγρόκτημα. Συνήθως χρησιμοποιείται ανοξείδωτο πλέγμα ή φίλτρα με σφήνα (Johnson 2016).

## Τυποποίηση Γάλακτος

Η τυποποίηση του γάλακτος σχετίζεται με την προσαρμογή της αναλογίας καζεΐνης προς λίπος στο γάλα, έτσι ώστε να επιτευχθεί το επιθυμητό ποσοστό λίπους σε ξηρή βάση ανάλογα με το τυρί που θα παρασκευαστεί. Στόχος αυτής της διαδικασίας είναι η δημιουργία ενός σταθερού τυριού που να ικανοποιεί τους κανονισμούς και τη νομοθεσία που έχει επιβληθεί για την κάθε κατηγορία τυριού (Farkye 2004). Η τυποποίηση πραγματοποιείται με αφαίρεση λίπους ως φυσική κρέμα (π.χ. Parmigiano Reggiano), με προσθήκη αποβουτυρωμένου γάλακτος, με προσθήκη κρέμας, με προσθήκη μικκυλιακής καζεΐνης (χρήση υπερδιήθησης) και με προσθήκη γάλακτος σε σκόνη ή εβαπορέ γάλα (Fox et. al. 2017). Για την παρασκευή τυριών τύπου Cheddar και Gouda η αναλογία καζεΐνης προς λίπος στο γάλα είναι συνήθως 0,7 και σε κάποιες περιπτώσεις 0,64. Η μέγιστη ιδανική ανάκτηση λίπους που μπορεί να επιτευχθεί στη τυροκομία είναι σε ποσοστό 93%, ωστόσο σε πρακτικό επίπεδο κυμαίνεται σε επίπεδα μικρότερα αυτού (Farkye 2004).

## Παστερίωση Γάλακτος

Παλιότερα αλλά και σε μεμονωμένες περιπτώσεις ακόμα και σήμερα, η παστερίωση δεν αποτελούσε βασική προϋπόθεση για την παραγωγή τυριών, δηλαδή αρκετά τυριά παρασκευάζονταν από νωπό γάλα. Η θερμική επεξεργασία εκτός από το σημαντικό ρόλο που διαδραματίζει στην αδρανοποίηση παθογόνων μικροοργανισμών, ενδέχεται να προκαλεί κάποιες φυσικοχημικές αλλοιώσεις στο γάλα που οδηγούν σε χαμηλότερη ποιότητα στο τελικό προϊόν. Ωστόσο πλέον για λόγους ασφαλείας και αποφυγής τροφικής δηλητηρίασης, η παστερίωση είναι υποχρεωτική. Συνήθως πραγματοποιείται στους 65°C για 15 s και όχι σε υψηλότερες θερμοκρασίες, διότι μπορεί να βλάψει τις ιδιότητες πήξης του γάλακτος προς σχηματισμό τυριού (Fox 1993).

## Καλλιέργεια – Μέθοδος Οξίνισης

Η οξίνιση του γάλακτος αποτελεί σημαντική διαδικασία για την παραγωγή του τυριού και πραγματοποιείται με την παραγωγή γαλακτικού οξέος λόγω ζύμωσης της λακτόζης από βακτήρια του γαλακτικού οξέος. Τα τελευταία 130 χρόνια χρησιμοποιούνται εμπορικές καλλιέργειες βακτηρίων γαλακτικού οξέος για την τυροκόμηση, ενώ πριν βασίζονταν στην αυτόχθονα μικροχλωρίδα του γάλακτος για την παραγωγή του γαλακτικού οξέος. Ωστόσο, η μικροχλωρίδα αυτή είναι μεταβλητή και άρα οι παράμετροι της οξίνισης δεν ήταν πάντα οι ίδιες, με αποτέλεσμα το τελικό προϊόν να διαφέρει κάθε φορά (Fox et. al. 2017). Για τυριά που παράγονται σε θερμοκρασίες μικρότερες από 40°C, οι αρχικές καλλιέργειες αποτελούνται από τα βακτήρια *Lactococcus lactis* spp. *lactis* ή/και *Lactococcus lactis* spp. *cremoris*, ενώ για υψηλότερες θερμοκρασίες χρησιμοποιούνται είτε μικτές καλλιέργειες από *Streptococcus salavarius* spp. *thermophilus* και *Lactobacillus* spp. (*Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus casei*), είτε μεμονωμένα μια καλλιέργεια *Lactobacillus*. Επιπλέον χρησιμοποιούνται σε κάποιες χώρες και μεσόφιλοι εκκινητές μικτού στελέχους (Fox 1993).

## **Πήξη τυριού**

Για την πήξη του τυριού χρησιμοποιείται η πυτιά η οποία παραδοσιακά προέρχεται από το στομάχι νεαρών ζώων. Το ένζυμο που υπάρχει στην πυτιά είναι κυρίως η χυμοσίνη (ή ρεννίνη) και ελάχιστα η πεψίνη. Στην περίπτωση ενήλικων ζώων, η περιεκτικότητα σε χυμοσίνη μικραίνει, ενώ αντίθετα της πεψίνης αυξάνει, γεγονός που επηρεάζει και την ποιότητα του τελικού προϊόντος (Fox & McSweeney 2017).

## **Διαχωρισμός Τυροπήγατος – Τυρογάλακτος**

Το τυρόγαλα (το υγρό μέρος) διαχωρίζεται από το τυρόπηγμα (το στερεό μέρος του τυριού) λόγω της καθίζησης της καζεΐνης του γάλακτος κατά την παραγωγική διαδικασία του τυριού λόγω της πήξης του γάλακτος. Προκειμένου να διαχωριστούν, το τυρί τεμαχίζεται σε κύβους και έπειτα στραγγίζεται. Συγκεκριμένα, οι διαδικασίες διαχωρισμού τυρογάλακτος – τυροπήγατος για διαφορετικά τυριά είναι οι εξής (Fox et. al. 2017):

- Αφήνεται το τυρόπηγμα να καθιζάνει στη δεξαμενή και παραλαμβάνεται ο υπερκείμενος ορός όπως στο Gouda, Emmental
- Μεταφορά τυροπήγατος σε διάτρητα καλούπια όπως στο Camembert
- Αφαιρείται το τυρόπηγμα από τη δεξαμενή με βαριά πανιά και τοποθετείται σε καλούπια όπως στο Parmigiano Reggiano
- Στραγγίζεται ο ορός από το τυρόπηγμα με χρήση διάτρητων σητών όπως στο Cheddar

## **Αλάτισμα**

Το αλάτισμα του τυριού πραγματοποιείται προς το τέλος της διαδικασίας και προστίθεται ώστε να μειώσει την υγρασία στο τυρόπηγμα (περίπου 2 kg νερού απομακρύνονται ανά kg αλατιού που απορροφάται), χρησιμοποιείται ως συντηρητικό και συμβάλει στην αλμυρή γεύση του τυριού. Επιπλέον προστατεύει το τυρί από την ανάπτυξη παθογόνων μικροοργανισμών και αυξάνει την διατηρησιμότητά του. Επίσης το αλάτι έχει σημαντική επίδραση στην σύνθεση του τυριού, στη μικροβιακή ανάπτυξη, στις ενζυμικές δραστηριότητες και στις βιοχημικές μεταβολές όπως η γλυκόλυση, η πρωτεόλυση, η λιπόλυση και η ενυδάτωση της παρακαζεΐνης, που συμβαίνουν κατά την ωρίμανση. Συνεπώς το επίπεδο αλατιού επηρεάζει σημαντικά τη γεύση και το άρωμα του τυριού, τις ιδιότητες ρεολογίας και υφής και γενικά την ποιότητα του τυριού (Fox et. al. 2017).

## **Ωρίμανση Τυριού**

Η ωρίμανση του τυριού οφείλεται σε βιοχημικές και μεταβολικές διεργασίες όπως είναι η γλυκόλυση, λιπόλυση και η πρωτεόλυση (Farkye 2004). Οι παράγοντες που τις προκαλούν είναι η πυτιά, τα ένζυμα του γάλακτος (πρωτεΐνάση, λιπάση), τα βακτήρια εκκίνησης και τα ένζυμά τους, δευτερογενείς μικροοργανισμοί και αντίστοιχα τα ένζυμά τους και τέλος τα μη εκκινητήρια βακτήρια του γαλακτικού οξέος. Τα περισσότερα τυριά ωριμάζουν από 3 εβδομάδες έως 2 χρόνια και αυτό εξαρτάται και από την υγρασία που περιέχει κάθε είδος τυριού (Fox et. al. 2017).



## 1.4 Συστατικά Τυρογάλακτος

Το τυρόγαλα περιέχει πλήθος θρεπτικών συστατικών που το καθιστούν ως ένα τρόφιμο υψηλής διατροφικής αξίας. Συγκεκριμένα περιέχει πρωτεΐνες, λακτόζη, μεταλλικά στοιχεία, και βιταμίνες, ενώ το βασικό συστατικό του είναι το νερό. Η περιεκτικότητα των συστατικών του εξαρτάται από την πρώτη ύλη που χρησιμοποιήθηκε για την παραγωγή του τυριού, το γάλα. Αναλυτικά στον **Πίνακα 1.1** παρουσιάζεται η μέση συγκέντρωση των κύριων συστατικών του τυρογάλακτος και στον **Πίνακα 1.2** τα μεταλλικά στοιχεία που περιλαμβάνονται στη τέφρα του.

**Πίνακας 1.1 :** Μέση συγκέντρωση κύριων συστατικών του τυρογάλακτος (Bylund 1995)

	Γλυκός Ορός - Τυρόγαλα
% Ολικά Στερεά	6,4
%Νερό	93,6
% Λίπος	0,05
% Πρωτεΐνες	0,55
% Μη Πρωτεϊνικό Άζωτο	0,18
% Λακτόζη	4,8
% Τέφρα	0,5

**Πίνακας 1.2 :** Συστατικά που περιλαμβάνονται στη τέφρα του τυρογάλακτος (Bylund 1995)

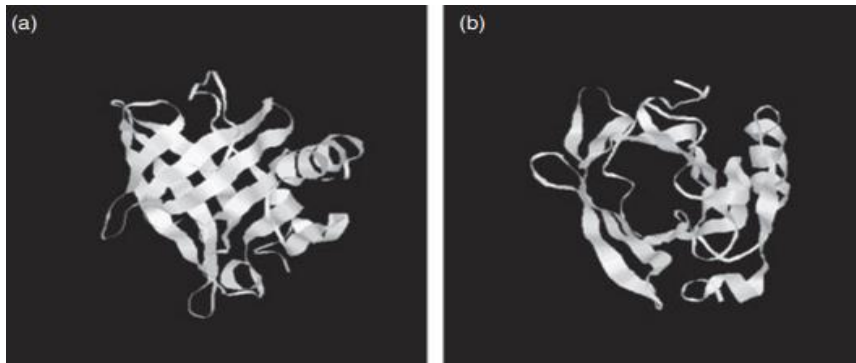
Μεταλλικά στοιχεία (Τέφρα)	Γλυκός Ορός - Τυρόγαλα
%Ασβέστιο	0,043
%Φωσφόρος	0,040
%Νάτριο	0,050
%Κάλιο	0,16
%Χλώριο	0,11
%Γαλακτικό Οξύ	0,05

### 1.4.1 Πρωτεΐνες

Η σύνθεση των πρωτεϊνών στο τυρόγαλα εξαρτάται από το είδος του γάλακτος που επεξεργάστηκε καθώς και από το είδος του τυριού που προέκυψε. Οι πρωτεΐνες που περιέχει είναι η β-λακτογλοβουλίνη/β-λακτοσφαιρίνη (περίπου 48%), η α-λακταλβουμίνη (περίπου 19%), η πρωτεόζη-πεπτόνη (περίπου 20%), η αλβουμίνη βόειου ορού (περίπου 6%) και η ανοσοσφαιρίνες (περίπου 8%) (Kilara & Vaghela 2018). Επιπλέον, η προσθήκη πυτιάς κατά την παραγωγή του τυριού αυξάνει την περιεκτικότητα του ορού σε γλυκομακροπεπίδια σε ποσοστό άνω του 20% (Chandan & Kilara 2011).

Η κυριότερη και πιο σημαντική πρωτεΐνη είναι η β-λακτογλοβουλίνη ή β-λακτοσφαιρίνη, η οποία έχει σφαιροειδές σχήμα και ανήκει στην κατηγορία των λιποκαλινών. Έχει μοριακό βάρος 18,2 kDa και αποτελείται από 162 κατάλοιπα αμινοξέων, συμπεριλαμβανομένου ενός υψηλού ποσοστού αμινοξέων διακλαδισμένης αλυσίδας. Σχηματίζει μορφή “κάλυκα” καθώς αποτελείται από 7 κύριους άξονες δομής β-πτυχωτού φύλλου (**Εικόνα 1.2**). Επίσης η κοιλότητα που δημιουργείται στην πρωτεΐνη μπορεί να αποτελέσει σημείο σύνδεσης ενώσεων χαμηλού μοριακού βάρους, λιπαρών οξέων και ρετινόλης καθώς και να δεσμεύσει υδρόφοβες

ομάδες, γεγονός που οδηγεί σε ατέλειες στη γεύση. Υπάρχει επιπλέον και ένα μικρό κόμματι α-έλικας στην δομή του κάλυκα. Σε ουδέτερη τιμή pH εμφανίζεται ως μη ομοιοπολικά συνδεδεμένο διμερές, αλλά σε περίπτωση όξινου pH διαχωρίζεται στα μονομερή του. Οι λειτουργικές ιδιότητες της β-λακτογλοβουλίνης καθορίζονται σε μεγάλο βαθμό από τις δύο εσωτερικούς δισουλφιδικούς δεσμούς και τη μία σουλφρυδρυλική ομάδα που εμπεριέχει στη δομή της (Boland 2011).



**Εικόνα 1.2:** Δομή της β-γαλακτογλοβουλίνης όπου (a) πτυχωτή δομή φύλλου, με άλφα έλικα στα δεξιά και (β) όψη μέσα από τον κάλυκα (Boland 2011).

Η α-λακταλβουμίνη αποτελεί επίσης ένα σημαντικό μέρος του συνόλου των πρωτεϊνών στον ορό και είναι μια πρωτεΐνη με μοριακό βάρος 14,2 kDa. Εμφανίζεται σε όλα τα είδη γάλακτος καθώς αποτελεί μέρος του ενζύμου συνθάσης λακτόζης, και για αυτό το λόγο η ποσότητα της λακτόζης που περιέχεται συσχετίζεται άμεσα με την ποσότητα της πρωτεΐνης. Η δομή της είναι αρκετά σταθερή λόγω των δισουλφιδικών δεσμών που περιέχει (Boland 2011).

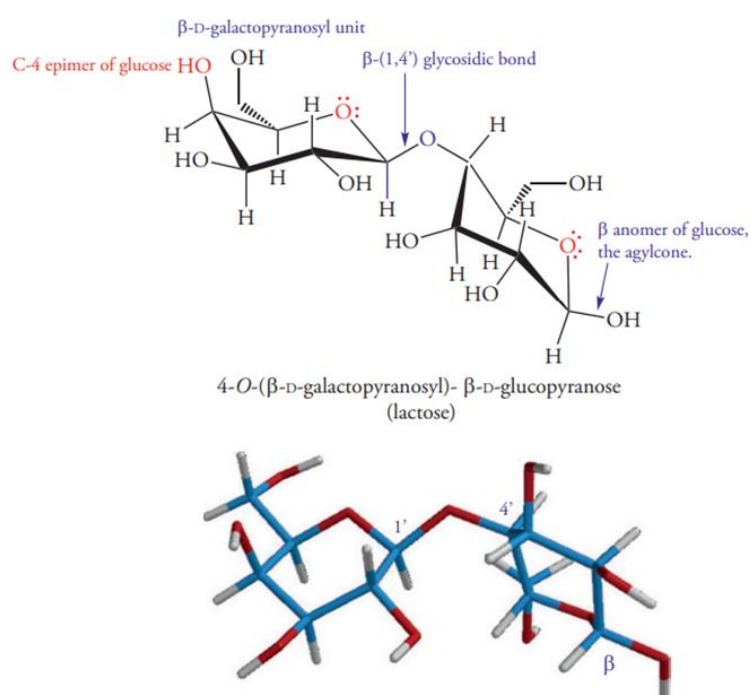
Οι ανοσοσφαιρίνες που περιέχονται στο τυρόγαλα είναι ένα μίγμα ανοσοσφαιρίνης αίματος και εκείνης που προέρχεται από τον μαστικό αδένα από το αγελαδινό γάλα. Γενικότερα όσο μεγαλύτερη είναι η ποσότητά της στο γάλα τόσο πιο υγιές θεωρείται το ζώο, καθώς εμπεριέχεται μεγαλύτερη ποσότητα πρωτογάλακτος. Η δομή της αποτελείται από δύο βαριές αλυσίδες και δύο ελαφριές, όπου κάθε ζευγάρι βαριάς με ελαφριά αλυσίδα συνδέονται σταυρωτά με δισουλφιδικούς δεσμούς. Επίσης πρόκειται για σφαιροειδείς πρωτεΐνες και θερμικά ασταθείς, για αυτό σε περίπτωση που χρειάζεται να είναι βιολογικά ενεργές απαιτούνται χαμηλές θερμοκρασίες κατά την επεξεργασία του ορού (Boland 2011).

Η αλβουμίνη βόειου ορού προκύπτει από τη διαρροή της πρωτεΐνης από τον ορό του αίματος στο γάλα λόγω των ισχυρών συνδέσεων στα κύτταρα του μαστικού αδένα. Θεωρείται ένδειξη της υγείας του ζώου, αλλά υπάρχει σε μικρές ποσότητες. Τέλος, έχει μεγάλο μοριακό βάρος με μεγάλο αριθμό δισουλφιδικών δεσμών και έχει την ιδιότητα να αντιδρά με τη β-λακτογλοβουλίνη.

Οι πρωτεΐνες πρωτεόζη-πεπτόνη θεωρούνται εκείνες που προκύπτουν στο διάλυμα μετά την θέρμανση του γάλακτος στους 95° C για 20 min και έπειτα με προσθήκη 12% τριχλωροξικό οξύ μέχρι τη τιμή pH 4,7. Διαχωρίζεται σε τέσσερα κύρια συστατικά και άλλα δευτερεύοντα (Kilara & Vaghela 2018).

## 1.4.2 Λακτόζη

Η λακτόζη είναι ένας δισακχαρίτης και αποτελείται από ένα μόριο D-γλυκόζης και ένα μόριο D-γαλακτόζης, τα οποία συνδέονται με  $\beta$ -1,4-γλυκοζιτικό δεσμό. Η συστηματική ονομασία της είναι  $\beta$ -D-γαλακτοπυρανόζυλο-(1 $\rightarrow$ 4)-D-γλυκόζη και έχει δύο ισομερή, την  $\alpha$ -λακτόζη και την  $\beta$ -λακτόζη, οι οποίες διαφέρουν ως προς τη στεreoχημική διαμόρφωση του υδροξυλίου στο C-1 άνθρακα της γλυκόζης (Εικόνα 1.3). Η λακτόζη είναι ένα βασικό συστατικό του γάλακτος, έχει πολλά φυσικοχημικά και λειτουργικά χαρακτηριστικά και για αυτό συχνά ανακτάται από το τυρόγαλα και χρησιμοποιείται ως πρόσθετο σε διάφορα τρόφιμα (Johnson & Conforti 2003). Για τον γενικό πληθυσμό, η λακτόζη είναι πηγή ενέργειας, ωστόσο υπάρχει σημαντικό ποσοστό ανθρώπων που από μικρή ηλικία εμφανίζουν δυσανεξία στη λακτόζη. Ωστόσο, έχει διαπιστωθεί και ότι σε μεγαλύτερες ηλικίες εμφανίζεται δυσκολία στην πέψη της λακτόζης (Alm 2002).



Εικόνα 1.3: Δομή της Λακτόζης (Ouellette & Rawn 2018)

## 1.4.3 Λίπη

Το τυρόγαλα περιέχει 2-8 g/L λιπιδίων, τα οποία αποτελούνται κατά 66% από μη πολικά λιπίδια και κατά 33% από πολικά λιπίδια. Τα πολικά λιπίδια είναι κυρίως φωσφολιπίδια με 34% φωσφατιδυλαιθανολαμίνη, 31% φωσφατιδυλοχολίνη, 15% σφιγγομυελίνες, 12% φωσφατιδυλινοσιτόλη και 8% φωσφατιδυλοσερίνη (Wang 2019). Πιο συγκεκριμένα έχει μελετηθεί ότι η σκόνη τυρογάλακτος περιέχει συνολικά δεσμευμένο με λιπίδια φωσφόρο από 109 έως 391 mg/kg, φωσφατιδυλαιθανολαμίνη 19 έως 232 mg/kg, και φωσφατιδυλοχολίνη από 11 έως 97 mg/kg σκόνης (Mavropoulou & Kosikowski 1973).

## 1.4.4 Βιταμίνες

Οι βιταμίνες που περιέχει το τυρόγαλα είναι το ασκορβικό οξύ, η ριβοφλαβίνη και η θειαμίνη. Συγκεκριμένα, η σκόνη τυρογάλακτος περιέχει επί ξηρού 22,2-39,6 mg/kg ριβοφλαβίνη, 9,0 -

10,9 mg/kg θειαμίνη και 22,2- 65,1 mg/kg ασκορβικό οξύ ( Mavropoulou & Kosikowski 1973).

## 1.5 Διατροφική Αξία Τυρογάλακτος

Το τυρόγαλα περιέχει συστατικά όπως είναι οι λειτουργικές πρωτεΐνες, τα πεπτίδια, τα λιπίδια και οι υδατάνθρακες. Οι ενώσεις αυτές καθιστούν το τυρόγαλα μια ιδιαίτερα πολύτιμη πρώτη ύλη για την παρασκευή προϊόντων υψηλής προστιθέμενης αξίας και υψηλής ποιότητας (Mendez 2020). Οι πρωτεΐνες ορού προσφέρουν αρκετά οφέλη στον οργανισμό και χρησιμοποιούνται ευρέως ως συμπλήρωμα διατροφής για μεγαλύτερη ευεξία, ωστόσο όμως έχουν και αξιοσημείωτη βιολογική δράση. Συγκεκριμένα, το τυρόγαλα περιέχει βιολογικά ενεργά πρωτεΐνες που μπορούν να δράσουν ως αντιβακτηριδιακοί και αντιικοί τροποποιητές. Γενικά ο ορός, όπως έχει αναφερθεί και παραπάνω, περιέχει συστατικά όπως ανοσοσφαιρίνες, λακτοφερρίνη και τα παράγωγα πεπτίδια του, λακτοφερρική, λακτοϋπεροξειδάση, γλυκομακροπεπτίδια και σφιγγολιπίδια, τα οποία προστατεύουν από τοξίνες, βακτήρια και ιούς. Επιπλέον υπάρχουν τριών ειδών πεπτίδια στον ορό γάλακτος, τα οποία ενισχύουν το ανοσοποιητικό σύστημα και προσφέρουν προστασία έναντι σε λοιμώξεις. Τα πεπτίδια είναι η α-λακταλβουμίνη, η β-λακτογλοβουλίνη και η λακτοφερρίνη, τα οποία αυξάνουν την παραγωγή της γλουταθειόνης. Επίσης, οι πρωτεΐνες ορού έχουν αντιυπερτασικά και ανοσορυθμιστικά οφέλη, και παράλληλα βοηθούν στην βελτίωση της φυσικής κατάστασης, στην διαχείριση του βάρους και στην υγεία του σκελετού (Solak & Akin 2012). Μερικά ακόμα οφέλη που θεωρείται ότι προσφέρουν οι πρωτεΐνες ορού είναι τα εξής (Sharma & Shah 2010):

- ✓ **Αντιοξειδωτική δράση:** Λόγω της παραγωγής γλουταθειόνης
- ✓ **Υγεία ήπατος και πνευμόνων:** Έχει την δυνατότητα να καταστείλει την αύξηση της ενεργότητας της αλανίνης και της ασπαρτικής αμινοτρανσφεράσης στο πλάσμα, την ενεργότητα της γαλακτικής αφυδρογονάσης και τη συγκέντρωση της χολερυθρίνης, καθώς και στη συγκέντρωση του υαλουρονικού οξέος.
- ✓ **Μυϊκή δύναμη (αθλητές):** Αποτελούν πηγή αμινοξέων διακλαδισμένης αλυσίδας (BCAA) τα οποία ενισχύουν την πρωτεϊνοσύνθεση και την ανάπτυξη των μυών.
- ✓ **Ανάπτυξη προβιοτικών βακτηρίων και υγεία του εντέρου:** Τα γλυκομακροπεπτίδια και το συμπύκνωμα πρωτεΐνης ορού βοηθούν στην ανάπτυξη προβιοτικών βακτηρίων.
- ✓ **Βελτίωση γνωστικής απόδοσης:** Η α-λακταλβουμίνη αυξάνει την δραστηριότητα της εγκεφαλικής τρυπτοφάνης και σεροτονίνης.
- ✓ **Αντιφλεγμονώδη δράση**
- ✓ **Υγεία στο δέρμα:** Κάποιες πρωτεΐνες που περιέχονται βοηθούν στην κυτταρική ανάπτυξη και συγκεκριμένα στην σύνθεση DNA και πρωτεΐνης. Βοηθούν έτσι στην επιδιόρθωση των ιστών και στην πρόληψη της ψωρίασης και των ελκών.
- ✓ **Έλεγχος Βάρους και Καταπολέμηση Παχυσαρκίας:** Τα γλυκομακροπεπτίδια αποτελούν ισχυρό διεγέρτη της χοληκυστοκίνης, η οποία είναι μια ορμόνη που καταστέλλει την όρεξη και έχει σημαντικό ρόλο στη γαστρεντερική λειτουργία.
- ✓ **Πρόληψη διαβήτη**

## 1.6 Περιβαλλοντικές Επιπτώσεις Απόρριψης Τυρογάλακτος

Το τυρί αποτελεί μια διαδεδομένη τροφή σε όλο τον κόσμο με πολύ μεγάλη παραγωγή όπως για παράδειγμα στην Ευρώπη και την Αμερική. Το γεγονός αυτό οδηγεί και σε μεγάλη ποσότητα παραγόμενου τυρογάλακτος, ως βασικό παραπροϊόν της τυροκόμησης. Μέρος αυτού αξιοποιείται με διάφορους τρόπους, όπως για τροφή ζώων ή ως πρόσθετο σε προϊόντα, ωστόσο μεγάλη ποσότητα αποβάλλεται στο περιβάλλον. Όπως προαναφέρθηκε το τυρόγαλα αποτελεί έναν σημαντικό ρυπογόνο παράγοντα καθώς έχει υψηλή βιοχημική απαίτηση σε οξυγόνο ( $BOD_5$ ) της τάξεως των 30000-50000 ppm σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων ή στο έδαφος. Έχει μελετηθεί ότι 1000 αμερικάνικα γαλόνια ανεπεξέργαστου ορού, τα οποία μπορούν να προκύψουν από μια μικρή τυροκομική μονάδα, στην περίπτωση που απορριφθούν στο δημοτικό σύστημα αποχέτευσης, ισοδυναμούν με φορτίο που θα προέκυπτε από 1800 ανθρώπους. Γενικότερα η διάθεση του ορού στο έδαφος και στο ύδατα θέτει σε κίνδυνο τη φυσική και χημική δομή του εδάφους, γεγονός που μπορεί να μειώσει την απόδοση των καλλιεργειών, καθώς και να μειώσει την υδρόβια ζωή εξαντλώντας το διαλυμένο οξυγόνο του νερού (Marwaha & Kennedy 1988).

## 1.7 Αξιοποίηση Τυρογάλακτος

### Υγρή Μορφή- Τροφή Ζώων

Οι επιπτώσεις της απόρριψης του τυρογάλακτος στο περιβάλλον οδήγησαν σε αυστηρότερους κανονισμούς από τα κράτη και τους περιβαλλοντικούς φορείς, γεγονός που ώθησε τις βιομηχανίες σε εναλλακτικούς τρόπους αξιοποίησής του. Μία βασική χρήση του είναι ως τροφή ζώων και συγκεκριμένα ως αντικατάσταση του νερού που καταναλώνουν, με ορό σε υγρή μορφή. Τα μεγαλύτερα ζώα είναι πιθανόν να μην καταναλώσουν τον ορό και να κινδυνεύσουν από αφυδάτωση, ωστόσο αν αρχίσουν από μικρή ηλικία μπορούν εύκολα να προσαρμοστούν. Γενικότερα η αξιοποίηση αυτή είναι ιδιαίτερα επικερδής για τους κτηνοτρόφους καθώς εξοικονομούνται χρήματα από το νερό, καθώς και για την βιομηχανία (Kosikowski 1979). Επίσης στην υγρή, μη επεξεργασμένη μορφή του, μπορεί να χρησιμοποιηθεί στα προϊόντα αρτοποιίας, σε είδη ποτών και προϊόντων μαγιάς (Bylund 1995).

### Σκόνη Ορού

Η συμπυκνωμένη μορφή και η σκόνη ορού μπορεί να αποβεί πιο χρήσιμη για τη βιομηχανία τροφίμων καθώς προστίθεται στο τρόφιμο αυξάνοντας την θρεπτική του αξία. Η μορφή του αυτή λόγω της ελαχιστοποίησης ή απουσίας του νερού αντίστοιχα, συντελεί στην πιο εύκολη χρήση του και στην αύξηση της διατηρησιμότητάς του. Ειδικότερα, η σκόνη τυρογάλακτος χρησιμοποιείται από εταιρείες τροφίμων με προϊόντα γαλακτοκομικά και αρτοποιίας, από ζαχαροπλαστεία, μονάδες επεξεργασίας κρεάτων και από εγκαταστάσεις ποτών και βρεφικών τροφών. Ιδιαίτερα χρήσιμη είναι και η σκόνη γάλακτος χωρίς λακτόζη, η οποία προκύπτει μετά από υπερδιήθηση ή διαδιήθηση και χρησιμοποιείται στα ζώα για αποφυγή εντερικών προβλημάτων (Kosikowski 1979).

### **Συμπύκνωμα Πρωτεΐνης Ορού**

Τα συμπυκνώματα πρωτεΐνης ορού (whey protein concentrates, WPC) παράγονται σε μεγάλο βαθμό από τις βιομηχανίες τροφίμων και προέρχονται από την επεξεργασία του ορού με ποικίλες διαδικασίες, ώστε να επιτευχθεί απομόνωση των πρωτεϊνών. Οι μέθοδοι επεξεργασίας που χρησιμοποιούνται είναι η υπερδιήθηση, η διήθηση γέλης, η χρήση συμπλόκου μεταφωσφορικού, συμπλόκου καρβοξυμεθυλοκυτταρίνης και διεργασίες ηλεκτροδιάλυσης/κρυστάλλωσης λακτόζης, έτσι ώστε να γίνει συμπύκνωση και κλασματοποίηση των πρωτεϊνών από τη λακτόζη, τα μέταλλα και άλλα συστατικά του ορού γάλακτος (Kosaric & Asher 2006). Στην Ελλάδα, τα συμπυκνώματα πρωτεΐνης ορού (WPC) χρησιμοποιούνται στην παραγωγή τυριών από ορό, στα επιδόρπια γιαουρτιού, επιδόρπια γάλακτος (επάλειψη), επιδόρπια κρέμας, στα σκευάσματα παγωτού, στη βιομηχανία κρέατος (λουκάνικα), ως υποκατάστατο του αποβουτυρωμένου γάλακτος και ως ζωοτροφή (Philippopoulos & Papadakis 2001). Επίσης γενικότερα χρησιμοποιούνται και σε μεγάλο βαθμό στα τρόφιμα όπως για παράδειγμα στις παιδικές και διαιτητικές τροφές, στα ποτά και στην αρτοποιία (Boland 2011).

### **Τυρί Από Ορό**

Στην Ελλάδα το τυρόγαλα χρησιμοποιείται για την παρασκευή τυριών όπως είναι η μυζήθρα, το ανθότυρο και το μανούρι. Η παραγωγή τους γίνεται χωρίς οξίνιση του ορού και με θέρμανση στους 88-92°C (Litopoulou-Tzanetaki 2007). Το μανούρι θεωρείται ένα υψηλής ποιότητας τυρί με τουλάχιστον 70% λιπαρά σε ξηρή μορφή, ενώ το ανθότυρο έχει περιεκτικότητα σε λιπαρά 19-25%. Η μυζήθρα θεωρείται πιο κοινό τυρί με περιεκτικότητα σε λιπαρά έως 19%. Για την παρασκευή αυτών των τυριών γίνεται και προσθήκη στον ορό είτε γάλακτος είτε κρέμας γάλακτος, ανάλογα με την επιθυμητή ποιότητα, και συνήθως αυτό συμβαίνει για το μανούρι και το ανθότυρο (Philippopoulos & Papadakis 2001).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2<sup>ο</sup> : ΓΙΑΟΥΡΤΙ

Στο προηγούμενο κεφάλαιο αναλύθηκε το τυρόγαλα, το οποίο αποτελεί την κύρια πρώτη ύλη που χρησιμοποιήθηκε για την παραγωγή των νέων καινοτόμων προϊόντων, το οποίο αποτελεί και τον βασικό σκοπό της παρούσας διπλωματικής. Στο παρόν κεφάλαιο, αναλύεται η παραγωγική διαδικασία και τα χαρακτηριστικά των παραδοσιακών γιαουρτιών, που έχουν ως βάση το γάλα, προκειμένου να γίνουν κατανοητά τα στάδια επεξεργασίας, οι φυσικοχημικές μεταβολές κατά την διάρκεια παραγωγής και αποθήκευσης, οι ιδιότητες, τα χαρακτηριστικά και η σύσταση του γιαουρτιού καθώς και η διατροφική του αξία. Οι πληροφορίες που λήφθηκαν, από αυτό το κεφάλαιο, χρησιμοποιήθηκαν ως οδηγός για την παραγωγή των ζυμωμένων προϊόντων από τυρόγαλα.

### 2.1 Εισαγωγή

Σύμφωνα με τα Διεθνή Πρότυπα Τροφίμων που δημοσιεύθηκαν από τον Codex Alimentarius και προέρχονται από τον Οργανισμό Τροφίμων και Γεωργίας/ Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (FAO/WHO), ως ζυμωμένο γάλα ορίζεται το γαλακτοκομικό προϊόν που λαμβάνεται με ζύμωση του γάλακτος, το οποίο μπορεί να έχει παραχθεί από προϊόντα που λαμβάνονται από γάλα με ή χωρίς τροποποίηση της σύνθεσης, με τη δράση κατάλληλων μικροοργανισμών και με αποτέλεσμα τη μείωση της τιμής του pH με ή χωρίς πήξη (ισοηλεκτρική κατακρήμνιση). Αυτοί οι αρχικοί μικροοργανισμοί πρέπει να είναι βιώσιμοι, ενεργοί και άφθονοι στο προϊόν μέχρι την ημερομηνία ανάλωσής του. Εάν το προϊόν υποστεί θερμική επεξεργασία μετά τη ζύμωση, δεν ισχύει η απαίτηση για βιώσιμους μικροοργανισμούς.

Το γιαούρτι είναι ένα γαλακτοκομικό προϊόν που έχει υποστεί ζύμωση, ενώ παράλληλα διατηρεί τα θρεπτικά συστατικά του γάλακτος. Παράγεται με γαλακτική ζύμωση του γάλακτος με τη δράση των μικροοργανισμών *Streptococcus thermophilus* και *Lactobacillus bulgaricus*. Παρασκευάζεται από πολλά είδη γάλακτος όπως είναι το αγελαδινό, το πρόβειο, το αίγαιο και το βουβαλίσιο. Θεωρείται ένα πολύ διαδεδομένο και αρεστό προϊόν από την πλειοψηφία των καταναλωτών λόγω της υψηλής διατροφικής του αξίας (Buttriss 2003).

### 2.2 Ιστορική Αναδρομή

Το 10000-5000 π.Χ. θεωρείται ότι ξεκίνησε η κατανάλωση γαλακτοκομικών προϊόντων διότι τότε οι άνθρωποι κατάφεραν να εξημερώσουν τα ζώα που θεωρούνται ως γαλακτοπαραγωγά όπως είναι οι αγελάδες, κατσίκες, πρόβατα, γιαικ, βουβάλια, καμήλες και άλογα (Fisberg & Machado 2015). Συγκεκριμένα επέλεξαν ζώα που είναι φυτοφάγα καθώς είναι λιγότερο επικίνδυνα και πιο εύκολα στη εξημέρωση. Το γάλα που προέκυπτε από κάθε ζώο ωστόσο έχει κάποιες διαφορές ως προς την περιεκτικότητά του σε διάφορα συστατικά (**Πίνακας 2.1**). Το πιο διαδεδομένο ζώο παγκόσμια ωστόσο ήταν η αγελάδα, ενώ στις Μεσογειακές χώρες ιδιαίτερα διαδεδομένα ήταν τα πρόβατα και οι κατσίκες (Bylund 1995). Το γάλα ωστόσο αλλοιωνόταν εύκολα και δυσχέραινε τη χρήση του. Επίσης πολλοί βοσκοί στη Μέση Ανατολή μετέφεραν το γάλα σε σάκους φτιαγμένους από έντερο και με αυτό τον τρόπο διαπιστώθηκε ότι η επαφή αυτή του γάλακτος με τα υγρά του εντέρου έκανε το γάλα να ξινίζει και άρα να

πήξει. Με αυτό τον τρόπο παρήγαν ένα προϊόν με μεγαλύτερη διατηρησιμότητα (Fisberg & Machado 2015).

**Πίνακας 2.1 :** Σύσταση γάλακτος διαφορετικών ζώων (Bylund 1995).

	Συνολική Πρωτεΐνη%	Καζεΐνες %	Πρωτεΐνες Ορού Γάλακτος %	Λίπος %	Υδατάνθρακες %	Τέφρα %
Ανθρώπου	1,2	0,5	0,7	3,8	7,0	0,2
Αλόγου	2,2	1,3	0,9	1,7	6,2	0,5
Αγελάδας	3,5	2,8	0,7	3,7	4,8	0,7
Βουβάλι	4,0	3,5	0,5	7,5	4,8	0,7
Κατσίκια	3,6	2,7	0,9	4,1	4,7	0,8
Πρόβατο	5,8	4,9	0,9	7,9	4,5	0,8

## 2.3 Παραγωγική Διαδικασία Γιαουρτιού

Η παραγωγική διαδικασία του γιαουρτιού διαφέρει σε κάποιο βαθμό ανάλογα με το είδος του γιαουρτιού που παράγεται δηλαδή για το σετ, αναμεμιγμένο, πόσιμο, παγωμένο (frozen), συμπυκνωμένο ή σε σκόνη. Η παραγωγή γενικά του γιαουρτιού ξεκινά αρχικά από την προετοιμασία του μίγματος και την εφαρμογή φυσικών επεξεργασιών όπως είναι η ομογενοποίηση, η θερμική επεξεργασία, η ψύξη και η απαέρωση (**Εικόνα 2.1**). Έπειτα ακολουθεί ο εμβολιασμός του δείγματος με την καλλιέργεια εκκίνησης και αρχίζει η διαδικασία της ζύμωσης. Μετά την ολοκλήρωση αυτής και τα διαφορετικά βήματα που ακολουθούν για κάθε τύπο γιαουρτιού είναι η ψύξη και η συσκευασία. Η βασική διαφορά του γιαουρτιού τύπου σετ με τα υπόλοιπα είναι ότι η ζύμωση πραγματοποιείται όταν το μίγμα έχει τοποθετηθεί στους περιέκτες. Είναι γεγονός ότι κάθε στάδιο της παραγωγικής διαδικασίας επηρεάζει τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του τελικού προϊόντος καθώς επιδρούν στην υφή, τη γεύση, το άρωμα και το χρώμα του (Corrieu & Béal 2016).

### Τυποποίηση γάλακτος

Αρχικά πραγματοποιείται τυποποίηση του γάλακτος όσον αφορά το λίπος και τις πρωτεΐνες. Η τυποποίηση του λίπους γίνεται με αφαίρεσή του με τη μέθοδο της φυγοκέντρησης καθώς και με την επανενσωμάτωση της κρέμας για την επίτευξη των επιθυμητών περιεκτικοτήτων σε λιπαρά (0,01%, 1-2%, >3,2%). Ακολουθεί η τυποποίηση των πρωτεϊνών μέσω της αύξησης της περιεκτικότητά της στο μίγμα με την προσθήκη σκόνης γάλακτος ή πρωτεΐνης γάλακτος, ή σκόνης ορού με στόχο από 3% έως 5-15% (Corrieu & Béal 2016).

### Φυσικές διεργασίες επεξεργασίας γάλακτος

Η θερμική επεξεργασία, ή αλλιώς παστερίωση, του γάλακτος είναι απαραίτητη και ιδιαίτερα σημαντική καθώς προκαλεί την θανάτωση όλων των παθογόνων μικροοργανισμών, μείωση μη παθογόνων και απενεργοποίηση εγγενών ενζύμων. Πραγματοποιείται σε υψηλές



θερμοκρασίες (90-95°C) για σύντομο χρονικό διάστημα. Επιπλέον επιτυγχάνεται μετουσίωση των πρωτεϊνών του ορού γάλακτος, με αποτέλεσμα τη βελτίωση της συνοχής και του ιξώδους του γιαουρτιού και συνεπώς εμποδίζεται το φαινόμενο της συναίρεσης (Chandan 2017).

Η ομογενοποίηση επιτυγχάνει την βελτίωση της υφής και τη μείωση της συναίρεσης στο γιαούρτι (Corrieu & Béal 2016). Η διαδικασία αυτή γίνεται διαμέσου της μηχανικής διάσπασης των λιποσφαιριδίων του γάλακτος σε μικρότερα μεγέθη και πραγματοποιείται σε πιέσεις 20-25 MPa (Chandan 2017).

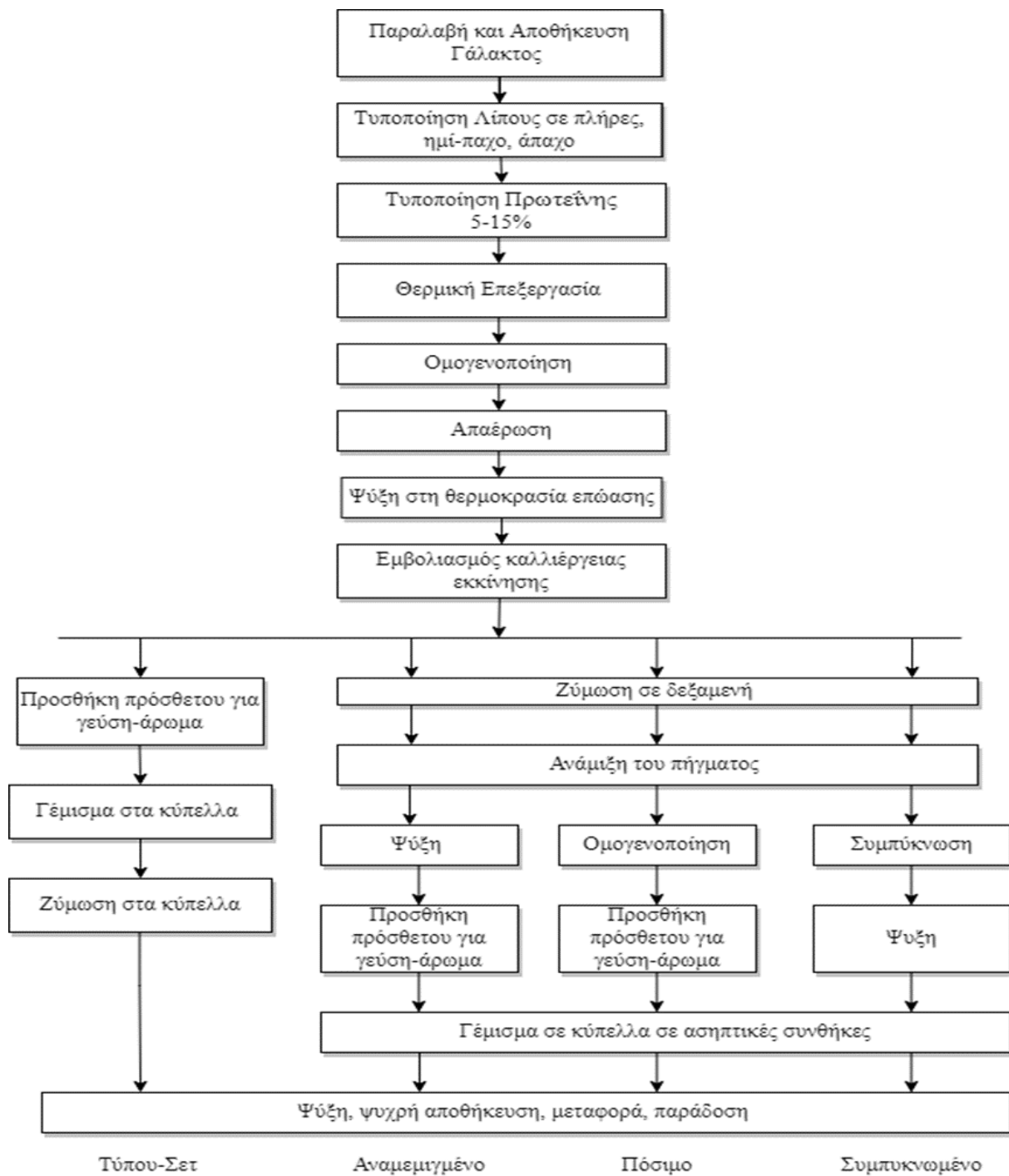
Τέλος, η απαέρωση υπό κενό γίνεται σε βιομηχανικό επίπεδο με στόχο τη μείωση της περιεκτικότητας του οξυγόνου και άρα τη μείωση του χρόνου ζύμωσης. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη βελτίωση της υφής και την αφαίρεση δυσάρεστων οσμών (Corrieu & Béal 2016).

### **Ζύμωση**

Για την έναρξη της διαδικασίας της ζύμωσης επιλέγεται το κατάλληλο μίγμα μικροοργανισμών και έπειτα η καλλιέργεια προστίθεται στο γάλα. Συνήθως η επώαση των γιαουρτιών διαρκεί 3-4 h, ενώ σε βιομηχανική κλίμακα λόγω των πολλών παραμέτρων που λαμβάνονται υπόψη μπορεί να διαρκέσει από 5 έως 8 h. Στην περίπτωση των προϊόντων τύπου σεντ, η επώαση πραγματοποιείται εντός των περιεκτών μέσα σε θαλάμους όπου κυκλοφορεί ζεστός αέρας, ενώ στο αναμεμιγμένο γιαούρτι η ζύμωση πραγματοποιείται μέσα σε μεγάλες δεξαμενές. Η διαδικασία της ζύμωσης τελειώνει όταν προσδιοριστεί το επιθυμητό τελικό pH. Συνήθως κυμαίνεται από 4,5 έως 4,8, ωστόσο πρέπει να ληφθεί υπόψη και μια σημαντική μετά-οξίνιση που πραγματοποιείται κατά την ψύξη και την αποθήκευση του γιαουρτιού (Corrieu & Béal 2016).

### **Ψύξη και Συσκευασία**

Επόμενο σημαντικό βήμα μετά τη ζύμωση αποτελεί η ψύξη, η οποία πρέπει να γίνει γρήγορα ώστε να σταματήσει η περαιτέρω οξίνιση. Στα γιαούρτια τύπου σεντ γίνεται για 1 ή 2 h στους 4-5°C, ενώ στο αναμεμιγμένο για λιγότερο από 1 ώρα σε 18-25°C σε μεγάλους εναλλάκτες θερμότητας. Σε αυτό το στάδιο μπορούν να προστεθούν και πρόσθετες ουσίες όπως γλυκαντικά και φρούτα, στο αναμεμιγμένο γιαούρτι. Τέλος γίνεται η συσκευασία των γιαουρτιών με την μέγιστη υγιεινή, σε ασηπτικό περιβάλλον, σε πλαστικούς περιέκτες (Corrieu & Béal 2016).



**Εικόνα 2.1:** Διάγραμμα ροής παραγωγικής διαδικασίας γιαουρτιών τύπου-σετ, αναμεμιγμένου, πόσιμου και συμπυκνωμένου (Corrieu & Béal 2016)

## 2.4 Φυσικοχημικοί Μηχανισμοί κατά την Διάρκεια της Πήξης

Προκειμένου να διαπιστωθούν οι φυσικοχημικοί μηχανισμοί που λαμβάνουν χώρα κατά τη διάρκεια της πήξης του γάλακτος σε γιαούρτι, μελετήθηκαν οι διαταραχές των εσωτερικών δομικών ιδιοτήτων των μικκυλίων καζεΐνης λόγω διαλυτοποίησης του φωσφορικού ασβεστίου. Τα μικκύλια καζεΐνης σε φυσιολογικό βοοειδές γάλα περιέχουν διάφορες πρωτεΐνες καζεΐνης σε συνδυασμό με φωσφορικό ασβέστιο («μικκυλιακό» ή «κολλοειδές» φωσφορικό ασβέστιο). Η μεταβολή της τιμής του pH είναι ιδιαίτερα σημαντική για την παραγωγή γιαουρτιού και κατά τη διάρκεια αυτής συμβαίνουν αλλαγές στη μικκυλιακή σύνθεση (Dalglish & Law 2009).

Οι τρεις περιοχές pH όπου συμβαίνουν μεταβολές είναι οι εξής (Lee & Lucey 2010) :

- **pH 6,7 έως 6,0**

Μειώνεται το καθαρό αρνητικό φορτίο στα μικκύλια καζεΐνης και άρα μειώνεται η ηλεκτροστατική απώθηση. Επίσης προς το παρόν μόνο μια μικρή ποσότητα φωσφορικού ασβεστίου διαλυτοποιείται και συνεπώς δεν μεταβάλλεται το μέγεθος των μικκυλίων καζεΐνης.

- **pH 6,0 έως 5,0**

Το pH μειώνεται ακόμα περισσότερο και αντίστοιχα ελαττώνεται σε σημαντικό βαθμό το καθαρό αρνητικό φορτίο στα μικκύλια καζεΐνης και παρατηρείται συρρίκνωση των φορτισμένων «τρίχων» της κ-καζεΐνης. Το αποτέλεσμα αυτού είναι η μείωση της ηλεκτροστατικής απώθησης και της στερεοχημικής σταθεροποίησης, τα οποία ευθύνονται για τη σταθερότητα των μικκυλίων. Επίσης ο ρυθμός διαλυτοποίησης του φωσφορικού ασβεστίου αυξάνεται και άρα αποδυναμώνεται η εσωτερική δομή των μικκυλίων καζεΐνης.

- **pH < 5,0**

Το pH πλησιάζει το ισοηλεκτρικό σημείο της καζεΐνης (pH=4,6) όπου μειώνονται το καθαρό αρνητικό φορτίο και η ηλεκτροστατική απώθηση μεταξύ των μορίων της καζεΐνης. Παράλληλα αυξάνονται οι έλξεις καζεΐνης-καζεΐνης λόγω υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων φορτίου και τελικά δημιουργείται ένα τρισδιάστατο δίκτυο αποτελούμενο από συστάδες και αλυσίδες καζεϊνών.

## 2.5 Καλλιέργεια

Ο χαρακτηρισμός των μικροοργανισμών που αποτελούν τις καλλιέργειες και συντελούν στη ζύμωση των γαλακτοκομικών προϊόντων είναι αποτέλεσμα εκατό χρόνων γαλακτοκομικής μικροβιολογίας. Οι καλλιέργειες διαχωρίζονται σε δύο κατηγορίες, τις μεσόφιλες οι οποίες δρουν σε θερμοκρασίες 25-30°C και στις θερμόφιλες όπου δρουν σε θερμοκρασίες 40-45°C. Στην περίπτωση του γιαουρτιού χρησιμοποιούνται οι μικροοργανισμοί *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* και *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, οι οποίοι είναι θερμόφιλοι και συνδυάζονται για την επίτευξη της γαλακτικής ζύμωσης του γάλακτος (Marshall 1993).

### *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*

Ο μικροοργανισμός *Streptococcus thermophilus* θεωρείται ως το μοναδικό είδος του γένους *Streptococcus* που είναι ασφαλές προς κατανάλωση από τον άνθρωπο («Γενικά

Χαρακτηρισμένο ως Ασφαλές», GRAS), σε αντίθεση με τα άλλα επιβλαβή και παθογόνα είδη του όπως είναι ο *Streptococcus pyogenes* ή ο *Streptococcus pneumoniae* (Bolotin et. al. 2004). Απομονώνεται από γαλακτοκομικά περιβάλλοντα γενικότερα, αλλά έχουν απομονωθεί και στελέχη του από φυτά στη Βουλγαρία. Αυτά τα απομονωμένα στελέχη του είναι αναερόβια, αεροανθεκτικά, αρνητικά στη καταλάση και θετικά κατά Gram. Έχουν τη δυνατότητα να αναπτυχθούν σε γραμμικές αλυσίδες ωοειδών κυττάρων αλλά όχι σε θερμοκρασία 10°C, pH ίσο με 9,6 και διάλυμα NaCl 6,5%. Ο λόγος που χρησιμοποιείται στο γιαούρτι είναι γιατί προκαλεί ταχεία μετατροπή της λακτόζης σε γαλακτικό οξύ με μείωση της τιμής του pH και παράγει χρήσιμους μεταβολίτες που συμβάλλουν στις τεχνολογικές ιδιότητες του γιαουρτιού. Συγκεκριμένα συνθέτουν εξωπολυσακχαρίτες (ESP) οι οποίοι συμβάλλουν στην παχύρρευστη υφή και στις ρεολογικές ιδιότητες του τελικού ζυμωμένου προϊόντος (Delorme 2008). Η βιομηχανική παραγωγή του είναι πολύ μεγάλη με ετήσια αξία στην αγορά 40 δις δολαρίων και άρα περισσότερα από 10<sup>21</sup> ζωντανά κύτταρα καταναλώνονται ετησίως από το σύνολο των ανθρώπων (Bolotin et. al. 2004).

### **Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus**

Ο *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* είναι ένα από τα τρία υποείδη του *L. delbrueckii* και θεωρείται ένα προαιρετικά αναερόβιο ομοζυμωτικό βακτήριο, δηλαδή μπορεί να μετατρέψει τις εξόζες σε γαλακτικό οξύ μέσω της διαδικασίας Emden–Meyerhof, και προέρχεται από το γιαούρτι και το τυρί. Μπορεί να ζυμώσει σάκχαρα όπως η φρουκτόζη, η γλυκόζη και η λακτόζη. Τα κύτταρα του έχουν σχήμα ράβδου με στρογγυλεμένα άκρα (0,5-0,8 × 2-9 μm). Συνήθως είναι μεμονωμένα ή σε μικρές αλυσίδες, αλλά στην περίπτωση καλλιέργειας που βρίσκεται σε όψιμη σταθερή φάση σχηματίζουν μακριές αλυσίδες (Delorme 2008). Επιπλέον είναι θετικό κατά Gram και ως ομοζυμωτικό βακτήριο μεταβολίζει τη λακτόζη και παράγει D(-)-γαλακτικό οξύ, το οποίο δεν μεταβολίζεται πολύ εύκολα από τον άνθρωπο. Συγκεκριμένα το D(-)-γαλακτικό οξύ έχει την ιδιότητα να απομακρύνεται αργά από το αίμα και μπορεί να προκαλέσει μεταβολική οξέωση και το χαμηλό pH να επηρεάσει την μεταβολική δραστηριότητα των ενζύμων στο αίμα. Αυτό αποτελεί ένα μειονέκτημα του, το οποίο λαμβάνεται υπόψη για τη διατροφή των βρεφών. Τέλος, είναι θερμοφίλο βακτήριο και αναπτύσσεται σε θερμοκρασία 45°C, ιδανικό για την παραγωγή γιαουρτιού (Narvhus & Abrahamsen 2022).

### **Καλλιέργεια γιαουρτιού – Συνδυασμός *S. thermophilus* και *L. bulgaricus***

Οι μικροοργανισμοί *S. thermophilus* και *L. bulgaricus* χρησιμοποιούνται ευρέως σε συνδυασμό για την ζύμωση των γιαουρτιών, καθώς έχουν μια αρκετά ευνοϊκή αλληλεπίδραση μεταξύ τους. Συγκεκριμένα ο *S. thermophilus* διεγείρεται από τα ελεύθερα αμινοξέα και πεπτίδια που απελευθερώνονται από τις πρωτεΐνες του γάλακτος μέσω του *L. bulgaricus*. Αντίστοιχα ο *L. bulgaricus* διεγείρεται από το μυρμηκικό οξύ και το διοξειδίο του άνθρακα που παράγεται από ενεργά αναπτυσσόμενα κύτταρα του *S. thermophilus* (Marshall 1993). Η αναλογία τους κατά την επώαση του γιαουρτιού αλλάζει συνεχώς καθώς στην αρχή αναπτύσσεται γρήγορα ο *S. thermophilus* παράγοντας γαλακτικό οξύ και μειώνοντας το pH μέχρις ότου επιτευχθεί το βέλτιστο για την ανάπτυξη του *L. bulgaricus*. Ύστερα επιβραδύνεται η ανάπτυξη του *S. thermophilus* (Hamann & Marth 1984).

Ο *S. thermophilus* παράγει διακετύλιο που προσφέρει στο γιαούρτι κρεμώδη ή βουτυρώδη γεύση, ενώ ο *L. bulgaricus* παράγει ακεταλδεΐδη δίνοντας τη χαρακτηριστική όξινη γεύση του γιαουρτιού (Hamann & Marth 1984).

## 2.6 Φυσικοχημικοί Μηχανισμοί κατά την Αποθήκευση του Γιαουρτιού

Μετά τη ζύμωση του γιαουρτιού ακολουθεί η άμεση ψύξη του στη θερμοκρασία των 4-5°C, όπου αποθηκεύεται μέχρι να φτάσει στον καταναλωτή. Κατά το διάστημα αυτό ωστόσο οι ιδιότητες του γιαουρτιού μεταβάλλονται λόγω της ικανότητας επιβίωσης του βακτηρίου *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, ο γαλακτοβάκιλλος αναπτύσσεται ιδιαίτερα σε χαμηλά, όξινα pH και προκαλεί αύξηση της οξύτητας του γιαουρτιού όταν βρίσκεται στη θερμοκρασία ψύξης του. Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται μετα-οξίνιση του γιαουρτιού και έχει σημαντικά αρνητικές συνέπειες στην ποιότητα και τη διάρκεια ζωής του τελικού προϊόντος (Undugova, & Nilmini 2019). Συγκεκριμένα η μετα-οξίνιση προκαλεί μείωση της διάρκειας ζωής, υψηλή οξύτητα, συναίρεση ορού γάλακτος, όξινη γεύση, μειωμένο αριθμό βακτηρίων του γαλακτικού οξέος ή ακόμα και παραγωγή αερίων από ρύπους όπως κωλοβακτηρίδια και ζυμομύκητες, εφόσον υπάρχουν. Ο λόγος που συμβαίνουν αυτά είναι γιατί προκαλεί αυξημένες υδρόφοβες και ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των πρωτεϊνών. Αποτέλεσμα αυτού είναι η μεγέθυνση των σωματιδίων καζεΐνης, η διαλυτοποίηση του κολλοειδούς φωσφορικού ασβεστίου και η μερική αναδιάρθρωση του πρωτεϊνικού δικτύου. Εν τέλει δημιουργείται ένα πιο σταθερό πρωτεϊνικό δίκτυο με μεγαλύτερο ιξώδες και σφικτότητα, ενώ παράλληλα αυξάνεται η συναίρεση που συνδέεται άμεσα με την υπολειπόμενη γαλακτική δραστηριότητα των μικροβίων σε συνδυασμό με την πιθανή παραγωγή εξωπολυσακχαρίτη (EPS) (Deshwal et. al. 2021).

Για τη μείωση λοιπόν του φαινομένου της μετα-οξίνισης χρησιμοποιούνται είτε διάφορες μέθοδοι επεξεργασίας του γάλακτος είτε γίνεται προσθήκη πρόσθετων συστατικών όπως του ενζύμου Τρανσγλουταμινάσης. Οι Lorenzen et.al. (2002) προσέθεσαν το ένζυμο αυτό για την παραγωγή γιαουρτιών τύπου σεντ και διαπίστωσαν μειωμένη μετα-οξίνιση του προϊόντος σε διάστημα αποθήκευσης τριών εβδομάδων στους 4–6°C. Η χρήση τέτοιων νέων τεχνολογιών θα μπορούσε να βελτιώσει αυτό το πρόβλημα, όπως η εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης και παλμικών ηλεκτρικών πεδίων.

## 2.7 Σύσταση του γιαουρτιού

Το γιαούρτι προέρχεται από την πήξη του γάλακτος και άρα περιέχει όλα τα συστατικά του όπως λακτόζη, πρωτεΐνες, λιπαρά, μεταλλικά στοιχεία, βιταμίνες και νερό (Πίνακας 2.2). Ωστόσο κατά την παραγωγική διαδικασία του προστίθενται και επιπλέον συστατικά όπως για παράδειγμα σταθεροποιητές, προβιοτικά, γλυκαντικά και φρούτα (Chandan 2017). Επιπλέον στο γιαούρτι προστίθεται καλλιέργεια μικροοργανισμών για την πήξη του, η οποία λόγω κάποιων μηχανισμών επηρεάζει τη σύσταση του τελικού προϊόντος.

Οι μικροοργανισμοί *S. thermophilus* και *L. bulgaricus* μπορούν να προκαλέσουν πρωτεόλυση κατά τη ζύμωση, με αποτέλεσμα την απελευθέρωση πεπτιδίων διαφορετικών μεγεθών και ελεύθερων αμινοξέων. Η πρωτεολική δραστηριότητά τους οφείλεται στο γεγονός ότι περιέχουν εξωπεπτιδάσες και ενδοπεπτιδάσες και συγκεκριμένα ο *S. thermophilus* περιέχει κυρίως εξωπεπτιδάσες. Αρχικά οι ενδοπεπτιδάσες υδρολύουν την καζεΐνη για να δώσουν πολυπεπτίδια και στη συνέχεια διασπώνται από τις εξωπεπτιδάσες του *S. thermophilus* για την απελευθέρωση των αμινοξέων. Τα πεπτίδια και τα ελεύθερα αμινοξέα συντελούν στη

διαμόρφωση της φυσικής δομής του γιαουρτιού, ενώ παράλληλα απελευθερώνονται πεπτίδια με λειτουργικές ιδιότητες, βιοδραστικά πεπτίδια, τα οποία έχουν πολύ καλές θεραπευτικές ιδιότητες (Mann 2017).

Η λακτόζη που προέρχεται από το γάλα, κατά τη ζύμωση μετατρέπεται σε γαλακτικό οξύ λόγω της καλλιέργειας των μικροοργανισμών. Συγκεκριμένα περίπου το 20%-40% της λακτόζης που υπάρχει στο γάλα μετατρέπεται, ενώ παράλληλα το ποσοστό του γαλακτικού οξέος στο γιαούρτι είναι περίπου 0,9% (Huppertz 2017).

**Πίνακας 2.2:** Αναλυτική καταγραφή συστατικών των γιαουρτιών τύπου σετ και αποβουτυρωμένο, τύπου σετ με λίγα λιπαρά και φρούτα καθώς και του Ελληνικού αναμεμιγμένου, χωρίς λιπαρά (Chandan 2017).

Συστατικά/Είδος γιαουρτιού	Γιαούρτι τύπου σετ, αποβουτυρωμένο (13g πρωτεΐνης/8 oz ή 226,8 g)	Γιαούρτι τύπου σετ, Λίγα λιπαρά, με φρούτα (9g πρωτεΐνης/8 oz ή 226,8 g)	Γιαούρτι Ελληνικό αναμεμιγμένο, χωρίς λιπαρά
%Υγρασία	85,23	75,30	85,10
Πρωτεΐνη (g)	5,73	3,98	10,19
Λίπη (g)	0,18	1,15	0,39
Κορεσμένα λιπαρά οξέα (g)	0,116	0,742	0,117
Μονοακόρεστα λιπαρά οξέα (g)	0,049	0,316	0,053
Πολυακόρεστα λιπαρά οξέα(g)	0,005	0,033	0,012
Χοληστερόλη (mg)	2	5	5
Υδατάνθρακας (g)	7,68	18,64	3,60
Ασβέστιο (mg)	199	138	110
Σίδηρος (mg)	0,09	0,06	0,07
Μαγνήσιο (mg)	19	13	11
Φώσφορο (mg)	157	109	135
Κάλιο (mg)	255	177	141
Νάτριο (mg)	77	53	36
Ψευδάργυρος (mg)	0,97	0,67	0,52
Βιταμίνη C (mg)	0,9	0,6	0
Θειαμίνη (mg)	0,048	0,034	0,023
Ριβοφλαβίνη (mg)	0,234	0,162	0,278
Νιασίνη (mg)	0,124	0,086	0,208
Βιταμίνη B <sub>6</sub> (mg)	0,053	0,037	0,063
Φολικό Οξύ (μg)	12	9	7
Βιταμίνη B <sub>12</sub> (μg)	0,61	0,43	0,75
Βιταμίνη A, RAE(μg)	2	11	1
Βιταμίνη E (mg)	0	0,02	0,01
Βιταμίνη K (μg)	0,2	0,1	0

## 2.8 Φυσικοχημικά Χαρακτηριστικά Γιαουρτιού

### 2.8.1 Οξύτητα

Η οξύτητα του γιαουρτιού οφείλεται στην παραγωγή του γαλακτικού οξέος από τους μικροοργανισμούς *S. thermophilus* και *L. bulgaricus*. Το γαλακτικό οξύ ελαττώνει το pH μέχρι την τιμή 4,6-4,7 όπου πραγματοποιείται η πλήρης κατακρήμνιση της καζεΐνης λόγω της αφαλάτωσης των μικκυλίων καζεΐνης και της αποσταθεροποίησής τους. Κατά την περίοδο αποθήκευσης του γάλακτος είναι πολύ πιθανό να συμβεί περαιτέρω οξίνιση του γιαουρτιού λόγω πιθανής παραγωγής γαλακτικού οξέος στις χαμηλές θερμοκρασίες, γεγονός που οδηγεί σε μεταβολές στις οργανοληπτικές ιδιότητες του τελικού προϊόντος (Zourari et. al. 1992).

### 2.8.2 Χρώμα

Το χρώμα αποτελεί ένα βασικό ποιοτικό χαρακτηριστικό του γιαουρτιού καθώς επηρεάζει την αποδοχή ή μη του προϊόντος από τον καταναλωτή εφόσον είναι το αρχικό στοιχείο που διαπιστώνει με τις αισθήσεις του. Τα γιαούρτια που περιέχουν φρούτα είναι πιο ευάλωτα στην αλλοίωση του χρώματος τους κατά την περίοδο της αποθήκευσης τους λόγω της υψηλής υγρασίας (Ścibisz et. al. 2019). Τα ελαττώματα του χρώματος είναι άτυπο χρώμα που διαφέρει από το συνηθισμένο, όπως για παράδειγμα ενός γιαουρτιού με φράουλα που παράχθηκε χωρίς πρόσθετα χημικά και έκπλυση χρώματος γύρω από τα φρούτα (Tribby 2008).

### 2.8.3 Γεύση – Άρωμα

Η γεύση και το άρωμα του γιαουρτιού προκύπτει από την παρουσία του γαλακτικού οξέος και πτητικών οργανικών αρωματικών ενώσεων που προέρχονται από την καλλιέργεια εκκίνησης. Ωστόσο το γιαούρτι περιέχει ήδη από το γάλα και δικές του οργανικές αρωματικές ενώσεις όπως είναι αλδεΐδες, κετόνες και αλκοόλες. Η πιο σημαντική ένωση που αποτελεί το βασικό συστατικό που προσδίδει το άρωμα στο γιαούρτι είναι η ακεταλδεΐδη (Beshkova et. al. 1998). Προσδίδει ένα φρέσκο και φρουτώδες άρωμα στο γιαούρτι και παράγεται από τα βακτήρια του γαλακτικού οξέος σε συγκεντρώσεις μεταξύ 5 και 40 mg/kg. Συγκεκριμένα, παράγεται άμεσα από το πυροσταφυλικό οξύ μέσω της πυροσταφυλικής αποκαρβοξυλάσης και έμμεσα από το ακετυλοσυνένζυμο Α μέσω της πυροσταφυλικής αφυδρογονάσης και της αφυδρογονάσης της αλδεΐδης. Επίσης ο *L. bulgaricus* μετατρέπει τη θρεονίνη σε ακεταλδεΐδη και γλυκίνη, μέσω της δράσης της υδροξυλο-μέθυλο τρανσφεράσης της σερίνης. Τέλος, ο *S. thermophilus* παράγει α-ακετολακτικό το οποίο εν μέρει μεταβολίζεται σε διακετύλιο ή ακετοΐνη με τη βοήθεια της ακετολακτικής αποκαρβοξυλάσης (Corrieu & Beal 2016). Συνεπώς προκειμένου να παρασκευαστεί ένα γιαούρτι με ευχάριστη γεύση πρέπει να υπάρχει η σωστή αναλογία των δύο αυτών μικροοργανισμών. Η ιδανική αναλογία στρεπτόκοκκου/γαλακτοβάκिलου είναι 1:1 στο τελικό προϊόν, ενώ γενικά για τη δημιουργία επιθυμητών γιαουρτιών πρέπει να είναι τουλάχιστον μικρότερη από 3:2 (Kroger 1976). Τα ελαττώματα στη γεύση που μπορούν να εμφανιστούν στο γιαούρτι λόγω κάποιων μη φυσιολογικών συνθηκών ή φυσικοχημικών μεταβολών ή λανθασμένων χειρισμών είναι η αυξημένη περιεκτικότητα σε ακεταλδεΐδη, γεγονός που υπερτονίζει το άρωμα που προσφέρει, η πικρή γεύση λόγω πιθανής χαμηλής

ποιότητας γάλακτος, ψημένη-μαγειρεμένη γεύση, ασυνήθιστη γεύση, πολύ ή λίγο οξίνη, έντονη ή άτονη, μεταλλική και γλυκιά γεύση (Tribby 2008).

## 2.9 Συναίρεση

Συναίρεση ονομάζεται η απομάκρυνση του ορού γάλακτος από το σχηματιζόμενο πήγμα του γιαουρτιού. Σχετίζεται με τη δημιουργία ασταθούς πρωτεϊνικού δικτύου, το οποίο οφείλεται σε πιθανή αύξηση των αναδιάταξεων της μήτρας-πήγματος ή σε βλάβη που προκλήθηκε στο αδύναμο δίκτυο της πήγματος (Lee & Lucey 2010). Κάποιοι από τους παράγοντες που την προκαλούν είναι οι εξής (Kroger 1976):

- ✓ Σπάσιμο του πήγματος από κακό χειρισμό του γιαουρτιού καθώς και διατήρησή του σε πολύ υψηλές θερμοκρασίες
- ✓ Λανθασμένη οξύτητα και μη φυσιολογικό γάλα
- ✓ Περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη κάτω του 3,4%
- ✓ Χαμηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά
- ✓ Υψηλή περιεκτικότητα σε μεταλλικά στοιχεία του γάλακτος
- ✓ Ανεπαρκής θερμική επεξεργασία του γάλακτος
- ✓ Υψηλές θερμοκρασίες επώασης

Οι πιο συνηθισμένοι τρόποι για την αντιμετώπιση του φαινομένου αυτού είναι η προσθήκη σταθεροποιητών (πηκτίνη, ζελατίνη), η ομογενοποίηση του λίπους, η αύξηση της περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη πάνω από 3,5%, η καλή αποστείρωση γάλακτος και να επιτυγχάνεται επαρκής ανάπτυξη οξέος (χαμηλό pH τελικού προϊόντος) καθώς και προσεκτικός χειρισμός κατά τη μεταφορά του γιαουρτιού (Kroger 1976).

## 2.10 Δομή – Υφή Γιαουρτιού

Η δημιουργία συνεκτικών και σταθερών πηγμάτων αποτελεί απαραίτητο χαρακτηριστικό των γιαουρτιών ώστε να θεωρηθούν καλής ποιότητας προϊόντα. Σύμφωνα με τον Διεθνή Οργανισμό Προτύπων, η υφή των τροφίμων σχετίζεται με όλα τα ρεολογικά και δομικά χαρακτηριστικά που γίνονται αντιληπτικά από μηχανικούς, απτικούς, οπτικούς και ακουστικούς υποδοχείς. Χαρακτηριστικά μεγέθη για τη μελέτη της υφής των γιαουρτιών είναι η σφικτότητα, συνεκτικότητα, ελαστικότητα, προσκολλησιμότητα και κομμιώδες, και τα οποία μπορούν να προκύψουν από την ανάλυση του προφίλ της υφής (Texture Profile Analysis, TPA) (Ozcan 2013). Οι βασικοί παράμετροι που επηρεάζουν την υφή είναι η περιεκτικότητα ή η προσθήκη στερεών, η περιεκτικότητα σε λίπος, η προσθήκη ή μη σταθεροποιητών, οι συνθήκες επώασης όπως η θερμοκρασία και το τελικό pH, η ποιότητα των πρώτων υλών και των πρόσθετων, η καλλιέργεια εκκίνησης και τέλος η μεταχείριση των προϊόντων μετά την παρασκευή τους (Kroger 1976). Ο μηχανισμός δημιουργίας του πήγματος λαμβάνει χώρα κατά την μετουσίωση της β-λακτογλοβουλίνης όπου η σύνδεση της β-λακτογλοβουλίνης με την κ-καζεΐνη γίνεται στη επιφάνεια του μικκυλίου της καζεΐνης με δισουλφιδικό δεσμό. Η χημική αυτή αλληλεπίδραση είναι υπεύθυνη για το ιξώδες και την



αντοχή του πήγματος του γιαουρτιού (Ozcan 2013). Για την βελτίωση της υφής των γιαουρτιών έχουν προταθεί οι εξής μέθοδοι (Ozcan 2013):

- ✓ Χρήση νέων σταθεροποιητών
- ✓ Χρήση διαφορετικών καλλιιεργειών εκκίνησης
- ✓ Προσθήκη ενζύμου όπως η τρανσγλουταμινάση για ενζυμική διασύνδεση των πρωτεϊνών του γάλακτος
- ✓ Χρήση υψηλής υδροστατικής πίεσης, μεγαλύτερης των 200 MPa με στόχο τη μετουσίωση των πρωτεϊνών του ορού γάλακτος
- ✓ Εφαρμογή υψηλής πίεσης ομογενοποίησης

## 2.11 Διατροφική Αξία

Το γιαούρτι αποτελεί ένα τρόφιμο με υψηλή διατροφική αξία καθώς περιέχει πολλά θρεπτικά συστατικά λόγω του γάλακτος από το οποίο προέρχεται. Συγκεκριμένα, περιέχει σε μεγάλες ποσότητες βιταμίνες, πρωτεΐνες, ασβέστιο, φωσφόρο, κάλιο και μαγνήσιο, συστατικά τα οποία είναι απαραίτητα σε ενήλικες αλλά και στην ανάπτυξη των παιδιών (Buttriss 2003). Επιπλέον έχει αποδειχθεί ότι τα βακτήρια του γαλακτικού οξέος μπορούν κατά την ζύμωση να συνθέσουν βιταμίνη Β όπως για παράδειγμα το φολικό οξύ. Ωστόσο υπάρχει και η αντίθετη περίπτωση όπου τα βακτήρια του γαλακτικού οξέος χρησιμοποιούν βιταμίνες του συμπλέγματος Β, όπως η Β12, κατά τη ζύμωση, με αποτέλεσμα την μείωση τους στο τελικό προϊόν. Γενικά θεωρείται ότι η περιεκτικότητα βιταμινών στο γιαούρτι είναι μεγαλύτερη από ότι στο γάλα (Chandan et. al. 2017).

Το γιαούρτι παρόλο που έχει την ίδια θρεπτική σύνθεση με το γάλα, ουσιαστικά αποτελεί μια συμπυκνωμένη μορφή του γάλακτος και άρα η περιεκτικότητα σε θρεπτικά συστατικά είναι μεγαλύτερη. Συγκεκριμένα το γιαούρτι χαμηλών λιπαρών αποτελείται από περίπου 25% περισσότερο κάλιο, ασβέστιο και μαγνήσιο ανά μερίδα 226,8 g σε σχέση με μια ίση μερίδα γάλακτος με χαμηλά λιπαρά. Επιπλέον τα θρεπτικά συστατικά του έχουν πολλά οφέλη για τον οργανισμό όπως για παράδειγμα το κάλιο, του οποίου η περιεκτικότητα είναι υψηλή στο γιαούρτι (**Πίνακας 2.2**), μειώνει τις επιδράσεις του νατρίου το οποίο αυξάνει την αρτηριακή πίεση. Επίσης η έλλειψη καλίου αυξάνει τον κίνδυνο για πέτρες στα νεφρά και οστεοπόρωση (Freitas 2017).

Μια ευεργετική ιδιότητα του γιαουρτιού είναι ότι ενισχύει την υγεία του εντέρου και βοηθά στην ανακούφιση του οργανισμού από παρενέργειες που προκαλεί η μόλυνση από παθογόνα βακτήρια. Έχουν την δυνατότητα να ενισχύουν τον μεταβολισμό και τη σύνθεση της μικροχλωρίδας του εντέρου, με αποτέλεσμα να διατηρούν σε αυτό μια υγιή μικροβιακή ισορροπία. Συγκεκριμένα, τα βακτήρια εκκίνησης του γιαουρτιού παράγουν βακτηριοσίνες, οι οποίες είναι πρωτεΐνες ή πεπτίδια, και έχουν αντιμικροβιακή δράση. Επίσης κάποιοι γαλακτοβάκιλλοι παράγουν υπεροξειδίο του υδρογόνου, το οποίο είναι και αυτό αντιμικροβιακή ουσία. Τέλος η προσθήκη προβιοτικών μπορεί να αντιμετωπίσει ακόμα πιο αποτελεσματικά γαστρεντερικά προβλήματα σε περίπτωση κάποιας μόλυνσης (Chandan et. al. 2017).

Ιδιαίτερα σημαντικό χαρακτηριστικό του γιαουρτιού είναι ότι άτομα με δυσανεξία ή δυσπεψία στη λακτόζη, μπορούν να το καταναλώσουν λόγω της διάσπασης της λακτόζης. Τα άτομα αυτά παρουσιάζουν γαστρεντερικά προβλήματα μετά από την κατανάλωση της, λόγω της απουσίας του ενζύμου της λακτάσης, το οποίο έχει την ικανότητα να διασπάσει το δισακχαρίτη λακτόζη σε μονοσακχαρίτες. Οι βασικοί μηχανισμοί που καθιστούν το γιαούρτι καλύτερο από το γάλα σε αυτή την περίπτωση είναι ότι κατά τη ζύμωση τα βακτήρια του γιαουρτιού μετατρέπουν τη λακτόζη σε γαλακτικό οξύ και επίσης κάποια από αυτά έχουν την ιδιότητα να παράγουν λακτάση (Fernandez et. al. 2017).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3<sup>ο</sup> : ΈΝΖΥΜΟ

### ΤΡΑΝΣΓΛΟΥΤΑΜΙΝΑΣΗ

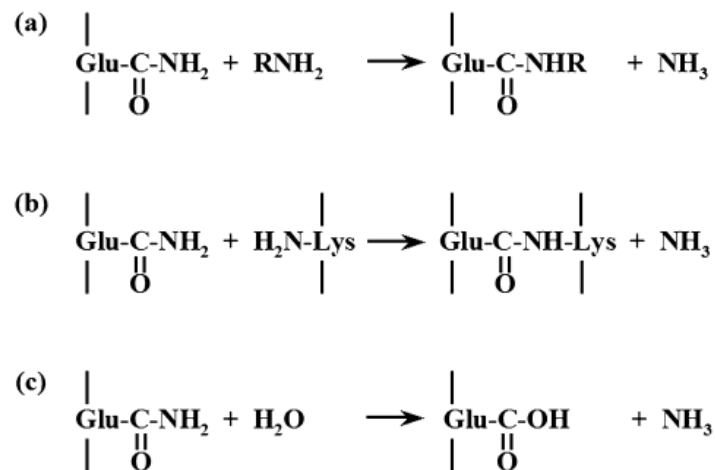
Τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των καινοτόμων προϊόντων από τυρόγαλα που παράχθηκαν κατά την εκπόνηση των πειραμάτων της διπλωματικής εργασίας, ενισχύθηκαν με την εφαρμογή ενζυμικής επεξεργασίας καθώς όπως προκύπτει και από την παρακάτω βιβλιογραφία, έχει θετική επίδραση σε αυτά. Στο παρόν κεφάλαιο, αναλύεται η δράση του ενζύμου της τρανσγλουταμινάσης, τα χαρακτηριστικά του, η επίδραση στα ένζυμα και τις πρωτεΐνες καθώς και η εφαρμογή του στο γιαούρτι.

### 3.1 Εισαγωγή

Οι τρανσγλουταμινάσες είναι μια ομάδα ενζύμων που καταλύουν τη μετα-μεταφραστική τροποποίηση των πρωτεϊνών με το σχηματισμό ισοπεπτιδικών δεσμών. Αυτό επιτυγχάνεται είτε με τη σταυροειδή σύνδεση των πρωτεϊνών μέσω των δεσμών ε-(γ-γλουταμυλ)λυσίνης είτε μέσω ενσωμάτωσης πρωτοταγών αμινών στο επίπεδο σύνδεσης με πεπτίδια γλουταμίνης (Beninati & Piacentini 2004).

Συγκεκριμένα η τρανσγλουταμινάση (TGase, protein-glutamine γ-glutamyltransferase, EC 2.3.2.13) καταλύει την αντίδραση μεταφοράς ακυλίου μεταξύ της γ-καρβοξυαμιδικής ομάδας της πεπτιδικά συνδεδεμένης γλουταμίνης (δότης ακυλίου) και πολλών πρωτοταγών αμινών (δέκτης ακυλίου), περιλαμβανομένης της ε-αμινομάδας της λυσίνης των πρωτεϊνών (Motoki & Seguro 1998) (**Εικόνα 3.1**).

Οι τρανσγλουταμινάσες εμφανίζονται σε ζωικούς ιστούς και σωματικά υγρά, στα ψάρια, στα φυτά και στους μικροοργανισμούς. Ανάλογα με την προέλευση τους παρουσιάζουν και αρκετά διαφορετική δράση και ιδιότητες (Zhu et. al. 2019).



**Εικόνα 3.1:** Αντιδράσεις που καταλύουν οι τρανσγλουταμινάσες όπου (a) Μεταφορά ακυλίου, (b) Σταυροειδής σύνδεση γλουταμίνης – λυσίνης σε πρωτεΐνη ή πεπτίδιο, (c) Αποαμίδωση

## 3.2 Ιστορική Αναδρομή

Η ανακάλυψη της τρανσγλουταμινάσης έγινε το 1957 από τον Heinrich Waelsch στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής, ο οποίος ανακάλυψε ότι υπήρχαν κάποια ένζυμα, στα εκχυλίσματα εγκεφάλου, που μπορούσαν να κάνουν ομοιοπολική σύνδεση πρωτεϊνών από αμίνες και η δράση τους εξαρτάται από την προσθήκη ιόντων ασβεστίου. Επίσης οι δραστηριότητές τους ήταν πολύ υψηλότερες σε άλλους ιστούς, όπως το συκώτι. Στη συνέχεια, έπειτα από περαιτέρω έρευνα του Waelsch, διαπιστώθηκε ότι η δράση αυτή συνδέεται με τη διασύνδεση των πρωτεϊνών (σταυροειδής σύνδεση) καθώς και με την αποαμίδωση της γλουταμίνης στις πρωτεΐνες με μηχανισμούς που έμοιαζαν με αυτούς των πρωτεΐνασών. Η τρανσγλουταμινάση απομονώθηκε πρώτη φορά από ένα ιστικό εκχύλισμα που αναπτύχθηκε στο εργαστήριο του John E. Folk, στο NIH, το οποίο αποτελούσε και από τα κύρια εργαστήρια μελέτης του ενζύμου αυτού (1985). Προερχόταν από το συκώτι ινδικού χοιριδίου (GPL) όπου υπάρχει μεγάλη περιεκτικότητα του ενζύμου τρανσγλουταμινάση, σε σχέση με άλλους ιστούς. Η συγκεκριμένη ποσότητα που απομονώθηκε αποτέλεσε αντικείμενο πολλών ερευνών για την κατανόηση των δράσεων του ενζύμου και ως βάση για τη σύγκριση του με ίδια ένζυμα από άλλες περιοχές (Beninati 2008).

## 3.3 Ζωική - Φυτική Τρανσγλουταμινάση

Η τρανσγλουταμινάση ανακαλύφθηκε πρώτη φορά στο συκώτι ενός ινδικού χοιριδίου, υπάρχει ωστόσο και σε αρκετούς ευκαρυώτες και προκαρυώτες. Το κόστος εξαγωγής της ζωικής TGase και παράλληλα το γεγονός ότι εξαρτάται από την παρουσία ιόντων ασβεστίου ( $Ca^{2+}$ ) την καθιστούσαν μη επιθυμητή από τη βιομηχανία. Συγκεκριμένα η βιομηχανία των τροφίμων δεν μπορεί να τη χρησιμοποιήσει καθώς λόγω του ασβεστίου, οι πρωτεΐνες ορισμένων τροφίμων όπως οι καζεΐνες και οι σφαιρίνες σόγιας θα καθιζάνουν (Martins et. al. 2014).

Η φυτική TGase προέρχεται από το κυτταρικό τοίχωμα των φυτών, είναι ιδιαίτερα ευαίσθητη στο φως και σε ένα φυτό μπορούν να αναγνωριστούν έως 8 διαφορετικές ενεργές μορφές της με διάφορες λειτουργίες η κάθε μια. Ο ρόλος της είναι η συμμετοχή στη μετα-μεταφραστική τροποποίηση των πρωτεϊνών, στη σταθεροποίηση της μήτρας και στη ρύθμιση της αλληλεπίδρασης ιντεγκρίνης με τον υποδοχέα ινωδονεκτίνης. Επίσης είναι και αυτή εξαρτώμενη από τα ιόντα ασβεστίου ( $Ca^{2+}$ ) (Wang et. al. 2018).

## 3.4 Μικροβιακή Τρανσγλουταμινάση

Η μικροβιακής προέλευσης τρανσγλουταμινάση ή αλλιώς MTGase (protein-glutamine gamma-glutamyltransferase, EC 2.3.2.13) είναι ένα εξοκυτταρικό ένζυμο, το οποίο ανήκει στην κατηγορία των τρανσφερασών και παράγεται, εμπορικά, μέσω παραδοσιακής ζύμωσης από τον μικροοργανισμό *Streptovorticillium moboarense*. Η MTGase καταλύει τις αντιδράσεις στην **Εικόνα 3.1** και λόγω των ιδιαίτερων χαρακτηριστικών της χρησιμοποιείται ευρέως στη βιομηχανία τροφίμων. Συγκεκριμένα η επιστημονική κοινότητα και ο οργανισμός FDA έχει αναγνωρίσει το ένζυμο αυτό ως ασφαλή για κατανάλωση από τον άνθρωπο (Gaspar & de Góes-Favoni 2015).

### 3.4.1 Χαρακτηριστικά MTGase

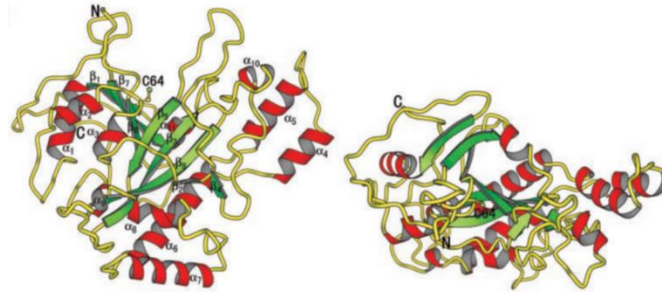
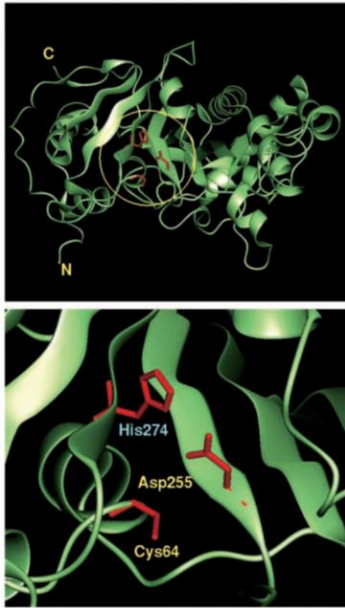
Η MTGase είναι μια μονομερής, απλή πρωτεΐνη με μοριακό βάρος περίπου 38,000 kDa και ισοηλεκτρικό σημείο (pI) ίσο με 9. Μέσω φασματομετρίας μάζας και της αυτοματοποιημένης μέθοδου Edman βρέθηκε ότι η κύρια δομή της αποτελείται από 331 αμινοξέα και επίσης περιέχει μια μόνο κυστεΐνη. Παρόλο που περιέχει 2 θέσεις για γλυκοζυλίωση (-Thr-Xxx-Asn) δεν θεωρείται γλυκοπρωτεΐνη ή λιποπρωτεΐνη (Yokoyama et. al. 2004).



**Εικόνα 3.2 :** Πρωτοταγής δομή MTGase, τα αμινοξέα συμβολίζονται από τους 3 κωδικούς γραμμάτων τους. (Motoki & Seguro 1998)

### 3.4.2 Κρυσταλλική Δομή MTGase

Η κρυσταλλική δομή της MTGase προσδιορίστηκε με ανάλυση 2,4 Å. Προέκυψε ότι η πρωτεΐνη διπλώνει σε σχήμα πετάλου καθώς και ότι έχει μια βαθιά σχισμή στην άκρη του μορίου. Το μόριο της σχηματίζει μια ενιαία, συμπαγή περιοχή με συνολικές διαστάσεις 65 x 59 x 41 Å. Το Cys<sup>64</sup>, το οποίο είναι ένα κατάλοιπο απαραίτητο για την καταλυτική δραστηριότητα, βρίσκεται στο κάτω μέρος της σχισμής και έτσι ονομάζεται ως σχισμή ενεργού χώρου. Η δομή της MTGase ανήκει στην α+β μορφή αναδίπλωσης και περιέχει 11 α-έλικες και 8 β-πτυχωτές επιφάνειες, τα οποία βρίσκονται κυρίως στα άμυνο και καρβοξύλο άκρα του πολυπεπτιδίου, αντίστοιχα (**Εικόνα 3.2**). Η δευτερεύουσα δομή έχει διαταχθεί με τέτοιο τρόπο ώστε το β-πτυχωτό φύλλο να περιβάλλεται από α-έλικες όπου συγκροτούν τρεις περιοχές. Το κεντρικό β-πτυχωτό φύλλο σχηματίζει μια δομή από επτά αντιπαράλληλους κλώνους, παρόλο το γεγονός ότι είναι ιδιαίτερα στριμμένο μεταξύ του 5<sup>ου</sup> και 6<sup>ου</sup> κλώνου και ότι υπάρχει μόνο ένας δεσμός υδρογόνου μεταξύ των κύριων αλυσίδων αυτών των κλώνων (Trp<sup>258</sup> και Thr<sup>273</sup>). Επιπλέον το πρώτο σύμπλεγμα α-ελικών υπάρχει στην αριστερή πλευρά της μπροστινής όψης της MTGase και αποτελείται από τις α<sub>1</sub>, α<sub>2</sub>, α<sub>3</sub> έλικες. Το Cys<sup>64</sup> βρίσκεται συγκεκριμένα στο βρόγχο μεταξύ α<sub>2</sub> και α<sub>3</sub> έλικας. Το δεύτερο σύμπλεγμα περιέχει τις έλικες α<sub>4</sub>, α<sub>5</sub> και α<sub>10</sub>, ενώ το τρίτο σύμπλεγμα περιέχει τις α<sub>6</sub>, α<sub>7</sub>, α<sub>8</sub> και α<sub>9</sub> έλικες και βρίσκονται στη δεξιά και κάτω πλευρά του μπροστινού μέρους του MTGase, αντίστοιχα (Kashiwagi et. al. 2002).



**Εικόνα 3.3:** Κρυσταλλική δομή και θέση κατάλοιπων (Cys<sup>64</sup>, Asp<sup>255</sup>, His<sup>274</sup>)(Kashiwagi et. al. 2002)

### 3.4.3 Ενζυμική Δραστηριότητα της MTGase

Η MTGase είναι ένα ένζυμο το οποίο είναι σταθερό σε μεγάλο εύρος pH, δηλαδή μπορεί να εμφανίσει ενζυμική δραστηριότητα σε pH μεταξύ 4 έως 9. Ωστόσο το βέλτιστο pH της κυμαίνεται από 5 έως 8 (Motoki & Seguro 1998). Η ιδανική θερμοκρασία της είναι στους 50°C αλλά δρα σε θερμοκρασίες από 40°C έως 70°C (Gaspar & de Góes-Favoni 2015). Όμως από τους 70°C και πάνω απενεργοποιείται και χάνει τη δράση της. Έχει μελετηθεί επίσης ότι εμφανίζει δράση και σε θερμοκρασία 10°C καθώς και κάποια μειωμένη δράση σε θερμοκρασίες κατάψυξης. Όσον αφορά την εξειδίκευση του υποστρώματος, η MTGase μπορεί να καταλύσει αντιδράσεις σταυροειδούς σύνδεσης πολλών πρωτεϊνών των τροφίμων όπως για παράδειγμα σε σφαιρίνες οσπρίων, γλουτένες σίτου, πρωτεΐνες κρόκου αυγού και αλβουμίνης, μυοσίνες, καζεΐνες γάλακτος, α-λακταλβουμίνη και άλλες αλβουμίνες. Επιπλέον, σε αντίθεση με τα TGase φυτικής και ζωικής προέλευσης, η MTGase είναι ανεξάρτητη της ύπαρξης ιόντων ασβεστίου Ca<sup>2+</sup> και για αυτό το λόγο χρησιμοποιείται ευρέως στα τρόφιμα, καθώς μπορεί να τροποποιήσει τις πρωτεΐνες τους χωρίς να τις κατακρημνίσει (Beninati & Piacentini 2004).

Η MTGase έχει τη δυνατότητα, όπως και η ζωικής προέλευσης TGase, να δημιουργήσει πήγμα σε συμπυκνωμένα διαλύματα πρωτεϊνών όπως είναι οι πρωτεΐνες σόγιας και οι πρωτεΐνες γάλακτος. Οι καζεΐνες του γάλακτος μπορούν να σχηματίσουν πήγμα με τη βοήθεια της MTGase (ζελατινοποίηση-πηκτωμάτωση) χωρίς θέρμανση όπως και η ζελατίνη, όπου είναι μια πρωτεΐνη ψυχρής-πήξης. Η σύνδεση διαφορετικών πρωτεϊνών μεταξύ τους μαζί με MTGase μπορεί να οδηγήσει και σε ακόμα πιο βελτιωμένους συνδυασμούς με νέες λειτουργίες (Beninati & Piacentini 2004).

Επιπλέον λειτουργική ιδιότητα της MTGase είναι να ενσωματώνει με ομοιοπολικούς δεσμούς, αμινοξέα ή πεπτίδια σε πρωτεΐνες. Με αυτόν τον τρόπο επιτυγχάνεται μεγαλύτερη θρεπτική αξία στις πρωτεΐνες των τροφίμων αφού τα ομοιοπολικά συνδεδεμένα πεπτίδια ή αμινοξέα

συμπεριφέρονται σαν τα αμινοξέα που υπάρχουν στην πρωτεΐνη. Η αντίδραση αυτή μπορεί να χρησιμοποιηθεί για παράδειγμα στην περίπτωση των καζεϊνών και των πρωτεϊνών σόγιας όπου η μεθειονίνη και η λυσίνη είναι περιοριστικοί παράγοντες. Ωστόσο, από τα περισσότερα αμινοξέα η λυσίνη θεωρείται από τα καλύτερα υποστρώματα της MTGase επειδή η αμινομάδα της είναι μια πρωτοταγής αμίνη. Τα υπόλοιπα αμινοξέα προκειμένου να γίνουν επιθυμητά υποστρώματα θα πρέπει η α-καρβοξυλοομάδα τους να είναι είτε αμιδωμένη, είτε εστεροποιημένη, είτε αποκαρβοξυλιωμένη. Στις περιπτώσεις αυτές, οι πρωτεΐνες δρουν ως δότες ακυλίου, ενώ τα αμινοξέα όπως και η λυσίνη, δρουν ως δέκτες ακυλίου. Όσον αφορά τα πεπτίδια, όσα περιέχουν λυσίνη καθώς και εκείνα που περιέχουν γλουταμίνη έχουν την δυνατότητα χωρίς κάποια τροποποίηση, σε αντίθεση με τα αμινοξέα, να γίνουν υποστρώματα. Τα πεπτίδια που περιέχουν λυσίνη δρουν ως οι ακυλο-δέκτες, ενώ οι πρωτεΐνες δρουν ως δότες ακυλίου. Τα πεπτίδια που έχουν γλουταμίνη δρουν ως ακύλο-δότες, ενώ οι πρωτεΐνες ενεργούν ως ακυλο-δέκτες (Motoki & Seguro 1998).

### 3.4.4 Μηχανισμοί δράσεων της MTGase στις λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνών

Οι αντιδράσεις που καταλύει η MTGase δηλαδή η αποαμίδωση, η μεταφορά ακυλίου και η σταυροειδής σύνδεση γλουταμίνης - λυσίνης σε πρωτεΐνη (G-L) επηρεάζουν τις λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνών στα τρόφιμα. Οι λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνών είναι οι φυσικοχημικές ιδιότητες που μπορούν να επηρεάσουν τη συμπεριφορά τους στα συστήματα τροφίμων και μπορούν να ταξινομηθούν ως εξής (Gaspar & de Góes-Favoni 2015):

- ✓ Υδρόφιλες, ανάλογα με την αλληλεπίδραση πρωτεΐνης και νερού (διαλυτότητα, ικανότητα συγκράτησης νερού, ιξώδες, προσκολλησιμότητα).
- ✓ Μεσοφασικές ή επιφανειακές, το οποίο σχετίζεται με την αμφίφυλη φύση (γαλακτωματοποίηση, ικανότητα αφρισμού)
- ✓ Διαμοριακές, οι οποίες εξαρτώνται από την ικανότητα αλληλεπίδρασης μεταξύ πρωτεϊνών είτε πρωτεϊνών με άλλα μακρομόρια (πηκτωμάτωση-ζελατινοποίηση, καθίζηση, σχηματισμός φακέλων)

#### Διαλυτότητα

Η διαλυτότητα των πρωτεϊνών προκύπτει από την υδροφιλία και υδροφοβικότητα της επιφάνειας του μορίου που έρχεται σε επαφή με το νερό που το περιβάλλει. Όσο λιγότερα υδρόφοβα τμήματα περιέχονται στην επιφάνεια τόσο πιο διαλυτό θα είναι το μόριο. Ανάλογα με την τιμή pH, τη θερμοκρασία, την ιοντική ισχύ καθώς και άλλους εξωγενείς παράγοντες, μεταβάλλεται και η διαλυτότητα. Επιπλέον η διαλυτότητα θεωρείται ιδιαίτερα σημαντική καθώς επηρεάζει και τις υπόλοιπες λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνών όπως είναι η πηκτωμάτωση-ζελατινοποίηση και η γαλακτωματοποίηση, οι οποίες αλλάζουν με τη χρήση της MTGase. Η αντίδραση της αποαμίδωσης που πραγματοποιείται από τη MTGase έχει την δυνατότητα να αυξήσει τη διαλυτότητα των πρωτεϊνών. Αυτή η ιδιότητα βρίσκει εφαρμογή στην περίπτωση της σόγιας και των πρωτεϊνών σιταριού καθώς και σε χοιρινή μυοϊνδική πρωτεΐνη (Gaspar & de Góes-Favoni 2015). Στην περίπτωση της μελέτης της διαλυτότητας

απομονωμένης πρωτεΐνης ορού η οποία επεξεργάστηκε και θερμικά, παρατηρήθηκε ότι σε τιμές pH 4-5 υπήρξε η ελάχιστη διαλυτότητα καθώς και ο μεγαλύτερος βαθμός κατακρήμνισης. Το γεγονός αυτό οφείλεται στη θερμική σταθερότητα που παρουσιάζουν οι α-λακταλβουμίνες και τις καθιστά πιο ευαίσθητες στην αντίδραση του πολυμερισμού (G-L σύνδεση). Η αντίδραση αυτή της σταυροειδής σύνδεσης γλουταμίνης-λυσίνης στην πρωτεΐνη, η οποία οδηγεί στην απώλεια ε-αμινο ομάδων της λυσίνης, έχει ως αποτέλεσμα να μεταβάλλει σε μεγάλο βαθμό την αναλογία υδροφοβικότητας-υδροφιλικότητας της πρωτεϊνικής επιφάνειας, με κατακρήμνιση κοντά στο ισοηλεκτρικό σημείο (Damodaran & Agyare 2013).

### **Πηκτωμάτωση-Ζελατινοποίηση**

Ως πήγμα θεωρείται η ενδιάμεση φάση μεταξύ στερεής και υγρής κατάστασης και σχηματίζεται από διασυνδεδεμένα πολυμερή μέσω ομοιοπολικών ή μη-ομοιοπολικών δεσμών. Με αυτό τον τρόπο επιτυγχάνεται η δημιουργία ενός δικτύου όπου συγκρατεί νερό ή άλλα μόρια χαμηλού μοριακού βάρους. Αποτελεί μια πολύ σημαντική λειτουργική ιδιότητα των πρωτεϊνών στα συστήματα τροφίμων και μπορεί να επηρεαστεί από παράγοντες όπως η τιμή pH, η θερμοκρασία, η παρουσία αλάτων ή άλλων πρόσθετων συστατικών. Η χρήση της MTGase μέσω των σταυροειδών διασυνδέσεων που πραγματοποιεί, οδηγεί σε πολύ ελαστικά και μη αναστρέψιμα πήγματα σε διαφορετικά υποστρώματα ακόμη και στην περίπτωση χαμηλής συγκέντρωσης πρωτεΐνης (Gaspar & de Góes-Favoni 2015). Η δημιουργία πήγματος αποτελεί βασική λειτουργική ιδιότητα των γιαουρτιών καθώς επιτυγχάνεται η πήξη του γιαουρτιού δηλαδή η συσσωμάτωση μετουσιωμένων μορίων και η συσσωμάτωση λόγω της επικράτησης των αλληλεπιδράσεων πρωτεΐνης- πρωτεΐνης και όχι των αλληλεπιδράσεων πρωτεΐνης-νερού. Η δυναμικότητα του πήγματος φαίνεται από το φαινόμενο της συναίρεσης όπου το νερό διαχωρίζεται από το πήγμα έπειτα από την εφαρμογή κάποιων δυνάμεων σε αυτό ή με το πέρασμα του χρόνου (Ταούκης & Τζιά 2020). Η προσθήκη MTGase έχει την δυνατότητα να μειώσει το φαινόμενο αυτό σε μεγαλύτερο βαθμό καθώς οι διασυνδέσεις G-L που γίνονται λόγω της δράσης του ενζύμου οδηγούν στο σχηματισμό ενός ισχυρού και σταθερού πήγματος με καλύτερη ικανότητα συγκράτησης νερού στο πρωτεϊνικό δίκτυο. Η δυναμικότητα του πήγματος σχετίζεται με την αύξηση των δεσμών αυτών, ωστόσο όμως η υπερβολική ποσότητα MTGase μπορεί να οδηγήσει και σε αντίθετα αποτελέσματα γιατί η περίσσεια των δεσμών G-L μπορεί να αναστείλει την ανάπτυξη ενός ομοιόμορφου δικτύου πρωτεϊνών (Gaspar & de Góes-Favoni 2015).

### **Ιξώδες**

Το ιξώδες ορίζεται ως η εσωτερική τριβή που δρα μέσα σε ένα ρευστό δηλαδή η αντίσταση του στη ροή και μπορεί να αποτελέσει επίσης ένα μέτρο του ρυθμού ροής. Το ιξώδες μπορεί εύκολα να μεταβληθεί μετά από διάφορες επεξεργασίες όπως είναι η θέρμανση, η ομογενοποίηση, η ψύξη και η συμπύκνωση. Σε προϊόντα όπως είναι το γιαούρτι, οι κρέμες, οι τοματοπολτοί μπορεί να επηρεάσει ιδιαίτερα την υφή και την εμφάνιση του προϊόντος (Lewis 1996). Στην περίπτωση των πρωτεϊνών, η συμπεριφορά του ιξώδους προκύπτει από πολύπλοκες αλληλεπιδράσεις μεταξύ πολλών μεταβλητών όπως για παράδειγμα το σχήμα, το μέγεθος, οι αλληλεπιδράσεις πρωτεΐνης-διαλύτη, ο υδροδυναμικός όγκος και η μοριακή ευκαμψία στην περίπτωση της ενυδατωμένης κατάστασης. Ερευνήθηκε από τον Faria (2010) ότι με την προσθήκη διαφορετικών συγκεντρώσεων MTGase σε γιαούρτια που περιέχουν τυρόγαλα σε μεγάλη συγκέντρωση, υπήρξε αύξηση του ιξώδους λόγω της παράλληλης



αύξησης της αντοχής του πήγματος, η οποία καθορίζεται από τους σταυροειδείς δεσμούς. Γενικότερα ο πολυμερισμός αυτός οδηγεί στο σχηματισμό πολυμερών υψηλού μοριακού βάρους, τα οποία έχουν τη δυνατότητα να μειώνουν την κινητικότητα του νερού στο πρωτεϊνικό δίκτυο, με αποτέλεσμα να υπάρχει μεγαλύτερη αντίσταση ροής και συνεπώς να παράγονται προϊόντα με καλύτερη συνοχή (Gaspar & de Góes-Favoni 2015).

### 3.4.5 Εφαρμογή MTGase στο Γιαούρτι

Η χρήση της MTGase αποτελεί μια ιδιαίτερα καινοτόμο μέθοδο για την παραγωγή γιαουρτιών με σταθερότερο πήγμα. Το γιαούρτι λόγω διάφορων παραμέτρων και διαδικασιών που υπόκειται, όπως για παράδειγμα διάφοροι μηχανικοί παράγοντες (ανάδευση), θερμοκρασία, μεταβολές στις πρωτεΐνες του γάλακτος πριν και μετά τη ζύμωση, οδηγούν σε μείωση της σταθερότητας του πήγματος στα τελικά προϊόντα. Το αποτέλεσμα αυτού είναι ο διαχωρισμός του ορού από το πήγμα δηλαδή το φαινόμενο της συναίρεσης. Η αντίδραση που καταλύεται από το ένζυμο MTGase, δηλαδή η σταυροειδής σύνδεση γλουταμίνης - λυσίνης (**Εικόνα 3.1 b**) είναι η αιτία της αύξησης του ιξώδους του γιαουρτιού και κατά συνέπεια της βελτίωσης της δομής και της συνοχής του (Ziarno & Zaręba 2019).

Γενικότερα η μακρομοριακή δομή μεμονωμένων πρωτεϊνών καθορίζει την δυνατότητα ή μη της σταυροειδής σύνδεσης της MTGase. Μεμονωμένα οι καζεΐνες και οι πρωτεΐνες ορού γάλακτος είναι καλά υποστρώματα για την MTGase, ωστόσο σε ένα μικτό σύστημα όπως είναι το γάλα, κυρίως διασυνδέονται οι καζεΐνες έναντι των φυσικών πρωτεϊνών του ορού. Για να επιτευχθεί η διασύνδεση των πρωτεϊνών ορού πρέπει να προηγηθεί τροποποίησή τους δηλαδή για παράδειγμα θερμική μετουσίωση, και έτσι να πραγματοποιηθεί η σταυροειδής σύνδεση μεταξύ αυτών και των καζεϊνών (O'Sullivan et. al. 2002).

Πολλές έρευνες έχουν διεξαχθεί κατά καιρούς για τη χρήση του MTGase στη παραγωγή γιαουρτιού και όλες επιβεβαιώνουν τη συνεισφορά του στη βελτίωση των ποιοτικών χαρακτηριστικών του. Οι Jooyandeh et. al. (2015) μελέτησαν την επίδραση της προσθήκης της MTGase σε επίπεδα 0,01 , 0,02 και 0,03 % και στερεών μη λιπαρών (8 και 9%) στις φυσικοχημικές ιδιότητες του σετ γιαουρτιού κατά τη διάρκεια 21 ημερών αποθήκευσης. Στο πείραμα που έκαναν έπειτα από την ομογενοποίηση και παστερίωση, πρόσθεσαν τη MTGase και έπειτα την καλλιέργεια εκκίνησης χωρίς απενεργοποίηση του ενζύμου, και άφησαν να επωάσουν μαζί μέχρι την επιθυμητή τιμή pH (4,6) και έπειτα αποθήκευσαν τα γιαούρτια στους 4°C για 21 μέρες. Τα αποτελέσματα της έρευνας τους ήταν ότι η προσθήκη ενζύμου έχει καθοριστική επίδραση στη συναίρεση και στο ιξώδες του γιαουρτιού σε επίπεδο  $p < 0,001$ , και όσο αυξάνεται η περιεκτικότητα του ενζύμου τόσο λιγότερη συναίρεση υπάρχει και τόσο μεγαλύτερο ιξώδες. Επίσης κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης των γιαουρτιών για 21 ημέρες παρατηρήθηκε και πάλι μικρότερο ποσοστό συναίρεσης και αύξηση του ιξώδους αναλογικά με την ποσότητα του ενζύμου, σε σχέση με τα τυφλά δείγματα. Το ιξώδες επίσης παρουσιάζει άνοδο μέχρι την 11<sup>η</sup> ημέρα και μετέπειτα μειώνεται, αλλά σε μικρότερο βαθμό στην περίπτωση των γιαουρτιών με MTGase. Το γεγονός αυτό μπορεί να οφείλεται είτε στην αύξηση της οξύτητας στις τελευταίες μέρες αποθήκευσης είτε στη μείωση της ενζυμικής δραστηριότητας λόγω παγίδευσης του ενζύμου στο πήγμα.

Οι Yüksel & Erdem (2010) μελέτησαν επίσης την επίδραση της MTGase στις λειτουργικές ιδιότητες του σετ γιαουρτιού με τρεις διαφορετικούς τρόπους προσθήκης του ενζύμου. Η

πρώτη μέθοδος χρήσης της MTGase ήταν η προσθήκη του στα δείγματα γάλακτος στους 42°C και επώαση για 90 min και έπειτα η προσθήκη της καλλιέργειας εκκίνησης (Ενεργό MTGase-Standard). Η δεύτερη μέθοδος ήταν η προσθήκη του ενζύμου και επώαση στους 42°C για 90 min και έπειτα απενεργοποίηση του MTGase με θερμική επεξεργασία στους 80°C για 5 min. Ύστερα προστίθεται η καλλιέργεια εκκίνησης (Ανενεργό MTGase). Η τρίτη μέθοδος είναι η ταυτόχρονη προσθήκη MTGase και καλλιέργειας (Ενεργό MTGase-Immediate). Από την έρευνα τους διεξήχθησαν τα εξής συμπεράσματα:

- ✓ **Πρωτεόλυση:** Όταν η MTGase παρέμεινε ενεργή στα δείγματα κατά τη διάρκεια της ζύμωσης και αποθήκευσης, η πρωτεολυτική δραστηριότητα μειώθηκε. Επίσης το ένζυμο δεν είχε σημαντική επίδραση στην πρωτεόλυση σε θερμοκρασία αποθήκευσης 4°C και pH=4,6-4,7. Στην περίπτωση απενεργοποιημένου ενζύμου παρατηρήθηκε μειωμένη πρωτεολυτική δράση σε σχέση με τα τυφλά δείγματα. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι επειδή το ένζυμο απενεργοποιήθηκε πριν την προσθήκη της καλλιέργειας και την επώαση του γιαουρτιού, οι τροποποιήσεις των πρωτεϊνών του γάλακτος λόγω των σταυροειδών συνδέσεων που προκαλούνται από τη MTGase επηρέασαν αρνητικά την πρωτεόλυση. Γενικά βρέθηκε με μέτρηση της τυροσίνης, η οποία αποτελεί ένα προϊόν της πρωτεόλυσης, ότι την υψηλότερη τυροσίνη είχαν τα τυφλά δείγματα, μετά με λιγότερη ήταν τα δείγματα με το απενεργοποιημένο MTGase, ύστερα ακολουθούσαν εκείνα που επώαστηκαν με MTGase και καλλιέργεια ταυτόχρονα και τέλος με μικρή διαφορά τα δείγματα που προστέθηκε πρώτα MTGase, επώαστηκαν και μετά προστέθηκε και η καλλιέργεια.
- ✓ **Οξύτητα:** Η τιτλοδοτούμενη οξύτητα προέκυψε μεγαλύτερη στα δείγματα χωρίς TGase σε σχέση με τα δείγματα που είχαν το ένζυμο.
- ✓ **Συναίρεση:** Εμφανίστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των τυφλών και των MTGase δειγμάτων. Συγκεκριμένα διαχωρίζεται περισσότερος όρος στα τυφλά γιαούρτια.
- ✓ **Υφή:** Τη μεγαλύτερη σκληρότητα, κομμιώδες και ακαμψία εμφάνιζαν τα δείγματα με ενεργό MTGase και μετά ακολουθούσαν τα δείγματα με το απενεργοποιημένο MTGase και τέλος τα τυφλά.

Οι Gauche et. al (2009) μελέτησαν την επίδραση της τρανσγλουταμινάσης καθώς και της προσθήκης τυρογάλακτος, στα φυσικά χαρακτηριστικά των παραγόμενων γιαουρτιών. Στο πείραμα τους πραγματοποιήθηκε απενεργοποίηση του ενζύμου. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν για την αναλογία γάλα-τυρόγαλα, 70:30, ήταν ότι η ενζυμική επεξεργασία δεν επηρέασε την οξύτητα, μείωσε τη συναίρεση κατά 16%, αύξησε την σφικτότητα, μείωσε τη συνεκτικότητα, δεν επηρέασε την προσκολλησιμότητα και αύξησε το κομμιώδες.

Οι Neve et. al. (2001) αξιολόγησαν την επίδραση της τρανσγλουταμινάσης στην παραγωγή και αποθήκευση άπαχων γιαουρτιών τύπου σετ. Στο πείραμα τους απενεργοποίησαν το ένζυμο μετά την επώασή του και τα αποτελέσματα που προέκυψαν ήταν ότι δεν υπήρξε σημαντική επίδραση στο χρόνο ζύμωσης από την ενζυμική επεξεργασία και στην αρχή της αποθήκευσης τα δείγματα που είχαν υποστεί ενζυμική επεξεργασία εμφάνισαν μια μικρή μείωση της οξύτητας, σημαντικά αυξημένη σφικτότητα και μειωμένη συναίρεση.

Αντίστοιχα αποτελέσματα προέκυψαν και από τους Oner et. al. (2008), οι οποίοι μελέτησαν επίσης την επίδραση της τρανσγλουταμινάσης στα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του γιαουρτιού τύπου σετ. Πραγματοποιήθηκε επίσης απενεργοποίηση του ενζύμου και από τις αναλύσεις προέκυψε ότι η ενζυμική επεξεργασία αυξάνει την σφικτότητα και μειώνει τη συναίρεση.

Επίσης οι Tsevdou et. al. (2020) μελέτησαν την επίδραση της ενζυμικής επεξεργασίας με τρανσγλουταμινάση στο αγελαδινό γάλα, στις παραμέτρους ποιότητας του παραγόμενου γιαουρτιού. Το αποτέλεσμα της έρευνάς τους ήταν ότι τα δείγματα εμφάνισαν βελτιωμένα χαρακτηριστικά υφής και μειωμένο διαχωρισμό ορού γάλακτος. Αντίστοιχα σημαντικά μειωμένη συναίρεση και αύξηση της σφικτότητας, παρατήρησαν και πάλι οι Tsevdou et. al. (2013a) στα παραγόμενα τύπου σετ γιαούρτια ύστερα από ενζυμική επεξεργασία του γάλακτος. Τέλος ερευνήθηκε η επίδραση της ενζυμικής επεξεργασίας του γάλακτος, στη γεύση και στο άρωμα του γιαουρτιού από την ομάδα των Tsevdou et. al. (2013). Η εφαρμογή ενζυμικής επεξεργασίας του γάλακτος φάνηκε ότι δεν τροποποίησε σημαντικά τον ρυθμό σχηματισμού των πτητικών ενώσεων, που ευθύνονται για το άρωμα και τη γεύση του γιαουρτιού (ακεταλδεΐδη, διακετύλιο, ακετοΐνη και 2-βουτανόνη), ωστόσο μείωσε τη διάρκεια της φάσης υστέρησης του σχηματισμού τους.



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4<sup>ο</sup> : ΠΑΛΜΙΚΑ ΗΛΕΚΤΡΙΚΑ ΠΕΔΙΑ

*Τα παλμικά ηλεκτρικά πεδία αποτελούν μια νέα τεχνολογία που τα τελευταία χρόνια αρχίζει να ερευνάται περισσότερο και να μελετάται η επίδρασή της στην παραγωγή γιαουρτιού. Στην παρούσα διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκε εφαρμογή των παλμικών ηλεκτρικών πεδίων προκειμένου να διαπιστωθεί η επίδρασή τους στα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά ζυμωμένων προϊόντων. Στο παρόν κεφάλαιο γίνεται αναλυτική περιγραφή της λειτουργίας και του εξοπλισμού τους καθώς και της επίδρασης που έχουν στους μικροοργανισμούς, στα ένζυμα και στις πρωτεΐνες του γάλακτος, αλλά και την επίδρασή τους στα γαλακτοκομικά προϊόντα.*

### 4.1 Εισαγωγή

Τα παλμικά ηλεκτρικά πεδία (ΠΗΠ ή PEF) είναι μια τεχνολογία που προκαλεί ηλεκτροδιάτρηση των κυτταρικών μεμβρανών με την εφαρμογή σύντομων παλμών ηλεκτρικού πεδίου υψηλής έντασης για χρονική διάρκεια της τάξης των μs. Με την ηλεκτροδιάτρηση επιτυγχάνεται η αύξηση της διαπερατότητας της κυτταρικής μεμβράνης στα ιόντα ή μακρομόρια, λόγω των σχηματισμών τοπικών ελαττωμάτων ή πόρων. Όσο μεγαλύτερη είναι η ένταση της ισχύος του εξωτερικού ηλεκτρικού πεδίου τόσο πιο πιθανό είναι η μη αναστρέψιμη ηλεκτροδιάτρηση στο κύτταρο και κατά συνέπεια ο κυτταρικός θάνατός του. Η περίπτωση αυτή είναι ένας ιδιαίτερα αποτελεσματικός τρόπος απενεργοποίησης μικροοργανισμών. Γενικότερα προτιμάται στην τεχνολογία τροφίμων ως μία μη θερμική μέθοδος επεξεργασίας έναντι της θερμικής επεξεργασίας (Raso et. al. 2014).

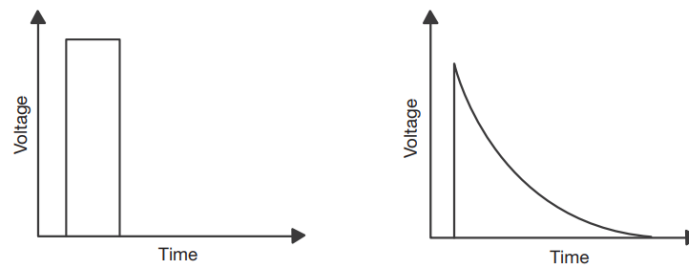
Η θερμική επεξεργασία μπορεί να οδηγήσει σε μεταβολές στις οργανοληπτικές ιδιότητες (υφή, άρωμα, γεύση) καθώς και στις θρεπτικές ιδιότητες (απώλεια βιταμινών) στα επεξεργασμένα προϊόντα. Για αυτό το λόγο αναπτύσσονται μη θερμικές μέθοδοι επεξεργασίας, οι οποίες λέγονται και αλλιώς ψυχρή παστερίωση, οι οποίες διασφαλίζουν υψηλή ποιότητα και ασφάλεια (Ahmad et. al. 2019).

### 4.2 Εξοπλισμός και Λειτουργία ΠΗΠ

Τα παλμικά ηλεκτρικά πεδία παράγουν παλμούς πολλών και διαφορετικών μορφών, με επικρατέστερες ωστόσο το ορθογώνιο και εκθετικό σχήμα (**Εικόνα 4.1**). Οι παλμοί αυτοί εφαρμόζονται για σύντομα χρονικά διαστήματα (μs) σε υλικά που βρίσκονται μεταξύ δύο ηλεκτροδίων. Η τάση αυτή οδηγεί στη δημιουργία ενός ηλεκτρικού πεδίου, του οποίου η ένταση εξαρτάται από το διάκενο μεταξύ των ηλεκτροδίων και της παραδιδόμενης τάσης (Raso et. al. 2014).

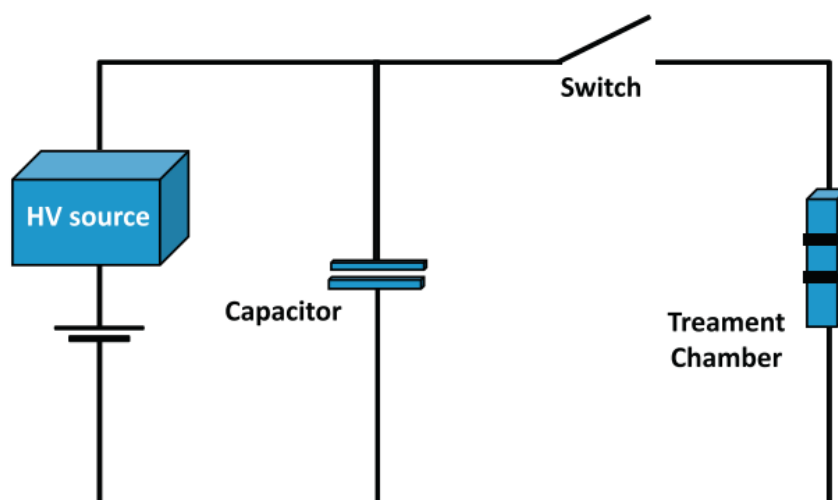
Οι εκθετικοί παλμοί παράγονται από το κύκλωμα που περιέχει ένα τροφοδοτικό συνεχούς ρεύματος, μια συστοιχία πυκνωτών συνδεδεμένων σε σειρά σε μία αντίσταση φόρτισης και ένα διακόπτη εκφόρτισης για τη δημιουργία παλμών. Χαρακτηρίζονται από μία απότομη αύξηση της έντασης του ηλεκτρικού πεδίου μέχρι μία μέγιστη τιμή και έπειτα μειώνεται εκθετικά. Οι ορθογώνιοι παλμοί, θεωρούνται πιο ενεργητικοί, και παράγονται από μία σειρά πυκνωτών, επαγωγέων και διακοπών. Χαρακτηρίζονται από μία απότομη αύξηση, ύστερα

σταθερή ένταση και μετά απότομη μείωση της έντασης του ηλεκτρικού πεδίου (Guerrero-Beltrán & Welti-Chanes 2016).



**Εικόνα 4.1:** Διαγράμματα τάσης συναρτήσει του χρόνου για ορθωγώνιους και εκθετικούς παλμούς, αντίστοιχα (Guerrero-Beltrán & Welti-Chanes 2016).

Η βασική δομή των παλμικών ηλεκτρικών πεδίων εμπεριέχει τη γεννήτρια παλμών, το θάλαμο επεξεργασίας όπου μπαίνει το δείγμα, τη συσκευή αποθήκευσης ενέργειας όπως είναι ο πυκνωτής και το διακόπτη (**Εικόνα 4.2**). Η γεννήτρια παλμών αποτελείται από έναν φορτιστή που μετατρέπει το εναλλασσόμενο ρεύμα (AC) σε συνεχές (DC) και φορτίζει τον πυκνωτή. Ο ρόλος του διακόπτη είναι ιδιαίτερα σημαντικός καθώς ανοιγοκλείνει και έτσι εκφορτίζεται ο πυκνωτής προς το θάλαμο επεξεργασίας και παράγεται ο παλμός. Το ανοιγοκλείσιμο του διακόπτη γίνεται αυτόματα από το μηχανήμα. Ο θάλαμος επεξεργασίας αποτελείται από δύο ηλεκτρόδια που συγκρατούνται στη θέση τους από μονωτικό υλικό, παράγονται κυρίως από ανοξείδωτο χάλυβα έτσι ώστε να ελαχιστοποιήσουν την επίδραση της ηλεκτρόλυσης και της διάβρωσης. Γενικότερα χρησιμοποιούνται οι στατικοί θάλαμοι επεξεργασίας με παράλληλες πλάκες για βασικές μελέτες, ωστόσο όμως η ανάπτυξη θαλάμων επεξεργασίας συνεχούς ροής αποτελεί βασική προϋπόθεση για κλιμάκωση της διαδικασίας (Raso et. al. 2014).



**Εικόνα 4.2:** Κύρια δομή του συστήματος των παλμικών ηλεκτρικών πεδίων (Raso et. al. 2014).

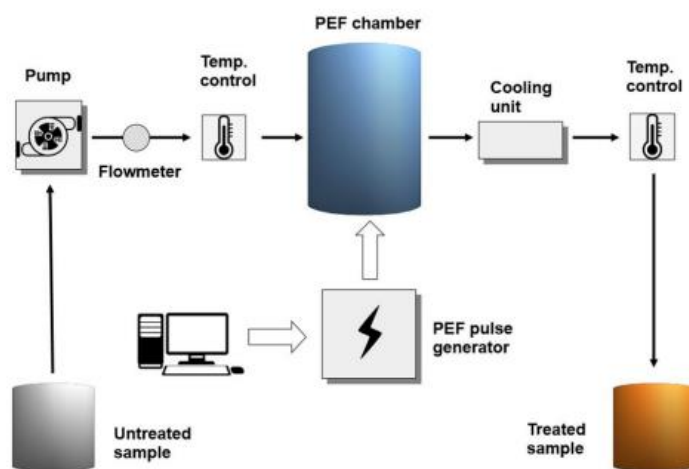
## Βασικές Αρχές ΠΗΠ

Η συνηθέστερη χρήση των ΠΗΠ είναι η πρόκληση μη θερμικής διαπερατότητας των κυτταρικών μεμβρανών. Οι παράμετροι από τις οποίες εξαρτάται είναι η ένταση του εξωτερικού ηλεκτρικού πεδίου, ο αριθμός και η διάρκεια των ηλεκτρικών παλμών, τα χαρακτηριστικά της κυψέλης όπως είναι το σχήμα, μέγεθος, προσανατολισμός και η αγωγιμότητα. Για τη χρήση αυτή χρησιμοποιούνται παλμοί μικρής διάρκειας (1-100 ms) και ένταση ηλεκτρικού πεδίου  $0.1-1 \text{ kV cm}^{-1}$  όταν πρόκειται για αναστρέψιμη διαπερατότητα στα φυτικά κύτταρα,  $0.5-3 \text{ kV cm}^{-1}$  για μη αναστρέψιμη διαπερατότητα φυτικών και ζωικών κυττάρων και  $15-40 \text{ kV cm}^{-1}$  για μη αναστρέψιμη διαπερατότητα μικροβιακών κυττάρων.

Οι ηλεκτρικοί παλμοί δημιουργούνται από την εκκένωση μιας κατάλληλης συστοιχίας πυκνωτών. Τα χαρακτηριστικά αυτού του κυκλώματος εκκένωσης καθορίζουν τη μορφή του χρονικά εξαρτώμενου δυναμικού στο θάλαμο επεξεργασίας. Ο θάλαμος επεξεργασίας πρέπει να λαμβάνει επίσης υπόψη την ομοιογενή κατανομή της έντασης του ηλεκτρικού πεδίου και τα χαρακτηριστικά της ροής του ρευστού όπως είναι το ιξώδες και το μέγεθος των σωματιδίων (Jaeger et. al. 2014).

## 4.3 Βιομηχανικός εξοπλισμός

Σε βιομηχανική κλίμακα ένα ολοκληρωμένο σύστημα ΠΗΠ αποτελείται, όπως φαίνεται και από την **Εικόνα 4.3**, από μια γεννήτρια παλμών υψηλής τάσης, το θάλαμο επεξεργασίας, την αντλία, τη μονάδα ψύξης, τα όργανα μέτρησης θερμοκρασίας και το σύστημα ελέγχου και παρακολούθησης. Η γεννήτρια τροφοδοτεί τους παλμούς υψηλής τάσης με το κατάλληλο σχήμα, ένταση και διάρκεια. Οι παλμοί εφαρμόζονται σε ένα ζεύγος ηλεκτροδίων μέσα στο θάλαμο όπου ανάμεσα τους τοποθετείται και το δείγμα. Ανάλογα με τη φύση του προϊόντος διακρίνονται οι θάλαμοι επεξεργασίας σε θαλάμους διαλείποντος και συνεχούς επεξεργασίας. Ο κεντρικός υπολογιστής έχει τη δυνατότητα να ρυθμίζει τις παραμέτρους, να ελέγχει την αντλία και να συλλέγει τα δεδομένα από τους ανιχνευτές (Nowosad et. al. 2020). Η μονάδα ψύξης είναι απαραίτητη γιατί με την εφαρμογή των παλμικών ηλεκτρικών πεδίων παρατηρείται και μικρή αύξηση της θερμοκρασίας των δειγμάτων.



**Εικόνα 4.3:** Σύστημα παλμικών ηλεκτρικών πεδίων σε βιομηχανική κλίμακα (Nowosad et. al. 2020).

Ο εξοπλισμός που φαίνεται στην **Εικόνα 4.4** είναι ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα εξοπλισμού ΠΗΠ βιομηχανικής κλίμακας. Το συγκεκριμένο μηχάνημα έχει τη δυνατότητα επεξεργασίας στερεών, ημιστερεών και υγρών δειγμάτων. Για την εφαρμογή των παραμέτρων υπάρχει οθόνη αφής και έχει ενσωματωθεί PLC και άλλες εκτεταμένες λειτουργίες παρακολούθησης για ευκολία στη λειτουργία του μηχανήματος (Pulsemaster).



**Εικόνα 4.4:** Εξοπλισμός παλμικών ηλεκτρικών πεδίων (Pulsemaster).

## 4.4 Πλεονεκτήματα-Μειονεκτήματα χρήσης ΠΗΠ

Τα βασικά πλεονεκτήματα της χρήσης παλμικών ηλεκτρικών πεδίων είναι τα εξής:

- ✓ Το κυριότερο πλεονέκτημα της είναι ότι αποτελεί μία μη θερμική μέθοδο επεξεργασίας από την οποία παράγονται επεξεργασμένα σε μικρό βαθμό, ασφαλή τρόφιμα, τα οποία διατηρούν τα φυσικά χαρακτηριστικά και τη θρεπτική αξία τους (Soltanzadeh et. al. 2020).
- ✓ Έχει τη δυνατότητα να απενεργοποιήσει παθογόνους μικροοργανισμούς, όπως για παράδειγμα τη *Salmonella typhimurium*, *Listeria innocua*, και το *E. coli* έως και 5 λογαριθμικούς κύκλους (Mosqueda-Melgar et. al. 2008).
- ✓ Χρησιμοποιείται για όλων των ειδών τα τρόφιμα δηλαδή για υγρά, ημιστερεά και στερεά (Nowosad et. al. 2020).
- ✓ Πολύ μικρός χρόνος επεξεργασίας και μετέπειτα μεγάλη διατηρησιμότητα του επεξεργασμένου τροφίμου.



- ✓ Μπορεί να επεκταθεί σε βιομηχανική κλίμακα και να εισέλθει στην παραγωγική γραμμή της βιομηχανίας τροφίμων.

Τα βασικά μειονεκτήματα της χρήσης παλμικών ηλεκτρικών πεδίων είναι τα εξής:

- ✓ Έχει παρατηρηθεί κάποια διαρροή μεταλλικών ιόντων από τα ηλεκτρόδια προς το επεξεργασμένο τρόφιμο, δηλαδή αύξηση της περιεκτικότητας σε μέταλλα όπως σίδηρος, ψευδάργυρος, μαγγάνιο και χρώμιο (Evrendilek et. al. 2004).
- ✓ Δεν έχει τη δυνατότητα απενεργοποίησης βακτηριακών σπορίων, τα οποία είναι ιδιαίτερα ανθεκτικά, και για την επίτευξη αυτού απαιτείται συνδυασμός με άλλη μέθοδο επεξεργασίας όπως η θερμική (Knorr et. al. 1994).
- ✓ Η αγωγιμότητα και το ιξώδες του υγρού δείγματος ενδέχεται να επηρεάζει την αποτελεσματικότητα και την απόδοση της διεργασίας (Ivorra et. al. 2010).

## 4.5 Χρήση ΠΗΠ σε Γαλακτοκομικά προϊόντα

Γενικότερα μέχρι στιγμής η χρήση των παλμικών ηλεκτρικών πεδίων έχει ερευνηθεί κυρίως για την απενεργοποίηση μικροοργανισμών του γάλακτος και αύξηση του χρόνου ζωής των προϊόντων. Ως μία μη θερμική μέθοδος επεξεργασίας μπορεί να αντικαταστήσει εν μέρει ή ολοκληρωτικά την παστερίωση του γάλακτος με πολύ αποτελεσματικό τρόπο. Η απενεργοποίηση των μικροοργανισμών *Escherichia coli*, *Pseudomonas genus*, *Bacillus genus*, *Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus genus*, *Salmonella genus*, *Listeria genus*, *Saccharomyces cerevisiae* και άλλων μικροοργανισμών, είχε πολύ καλά αποτελέσματα επιτυγχάνοντας μεγάλη μείωσή τους. Επιπλέον πραγματοποιείται απενεργοποίηση των ενζύμων καθώς και κάποιες μεταβολές στις οργανοληπτικές και φυσικοχημικές ιδιότητες του γάλακτος και των παραγώγων του (Sampedro et. al. 2005). Σε βιομηχανική κλίμακα δεν έχει χρησιμοποιηθεί ακόμα σε μεγάλο βαθμό για τις παραπάνω διαδικασίες καθώς πρόκειται για μία σχετικά πιο σύγχρονη μέθοδο επεξεργασίας, ωστόσο έχει τις δυνατότητες για μεγάλης κλίμακας παραγωγή.

## 4.6 Επίδραση ΠΗΠ στους Μικροοργανισμούς του Γάλακτος

Τα παλμικά ηλεκτρικά πεδία, όπως προαναφέρθηκε, είναι μία εναλλακτική μη θερμική μέθοδος επεξεργασίας, που κύριο στόχο έχει την απενεργοποίηση των παθογόνων ή αλλοιογόνων μικροοργανισμών, έτσι ώστε να καταστήσει το τρόφιμο ασφαλές για κατανάλωση. Η μορφή των μικροοργανισμών δηλαδή το σχήμα, το μέγεθός τους καθώς και το πάχος του κυτταρικού τοιχώματος επιδρά στην αποτελεσματικότητα των ΠΗΠ. Συγκεκριμένα στην περίπτωση μεγάλων βακτηρίων είναι πιο εύκολη η αδρανοποίησή τους καθώς αποκτούν υψηλότερο διαμεμβρανικό δυναμικό κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας. Οι μικροοργανισμοί επίσης με παχύτερο κυτταρικό τοίχωμα είναι λιγότερο ευαίσθητοι στην αδρανοποίηση που προκαλείται από τα ΠΗΠ (El-hag et. al. 2011). Επιπλέον τα θετικά κατά Gram βακτήρια είναι λιγότερο ευαίσθητα στην επίδραση των ΠΗΠ από τα αρνητικά κατά Gram (Raso et. al. 2014). Το γεγονός αυτό πιθανόν να οφείλεται στη σύνθεση του βακτηριακού τοιχώματος τους καθώς τα αρνητικά κατά Gram βακτήρια έχουν ένα λεπτό

στρώμα πεπτιδογλυκάνης και μία εξωτερική μεμβράνη που περιέχει λιποπολυσακχαρίτη, σε αντίθεση με τα θετικά κατά Gram (Trevors et. al. 1992).

Πολλές έρευνες έχουν πραγματοποιηθεί για να διαπιστωθεί η αποτελεσματικότητα αυτής της μεθόδου επεξεργασίας και τα αποτελέσματα αυτών είναι ιδιαίτερα ενθαρρυντικά. Οι Lee et. al. (2015) απέδειξαν με τα πειράματα που διεξήγαγαν ότι ακόμη και σε χαμηλή ένταση ηλεκτρικού πεδίου της τάξης των 10 kV/cm και συνολική ηλεκτρική ενέργεια άνω των 200 kJ/L αδρανοποιήθηκαν οι μικροοργανισμοί *Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisiae* και *Lactobacillus brevis* στο γάλα σε επίπεδα μικρότερα από 5-λογαριθμικές μειώσεις στον αριθμό των μικροβίων. Επίσης διαπίστωσαν ότι ο αριθμός των μικροοργανισμών παραμένει σταθερός κατά την αποθήκευση για 14 μέρες στους 4° C. Οι Alvarez et. al. (2003) μελέτησαν την επίδραση των ΠΗΠ στους μικροοργανισμούς *Pseudomonas fluorescens*, *Lactococcus lactis* and *Bacillus cereus* σε αποβουτυρωμένο γάλα και κατέληξαν στο γεγονός ότι η βιωσιμότητα των κυττάρων εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το μέγεθος και έπειτα από τον τύπο του βακτηρίου. Συγκεκριμένα το *B. cereus* είναι το μεγαλύτερο κύτταρο μεταξύ των τριών μικροοργανισμών και παρουσίασε αντίστοιχα τη μεγαλύτερη αδρανοποίηση. Το θετικό κατά Gram *L. lactis* ήταν πιο ανθεκτικό στο ηλεκτρικό πεδίο σε σχέση με το αρνητικό κατά Gram *P. fluorescens*, αλλά όχι σε σχέση με το θετικό κατά Gram *B. cereus*, γεγονός που πιθανόν να δείχνει ότι το μέγεθος επιδρά περισσότερο από τον τύπο στην απόδοση των ΠΗΠ στον εκάστοτε μικροοργανισμό (Michalac et al. 2003). Οι Sharma et. al. (2017) επιβεβαίωσαν το γεγονός ότι ύστερα από επεξεργασία ΠΗΠ (προθέρμανση στους 55°C για 24 s και έπειτα στα 25.7 kV/cm για 34 μs) και ύστερα από 21 μέρες αποθήκευσης στους 4°C το μικροβιακό φορτίο ήταν παρόμοιο με την επίδραση της θερμικής επεξεργασίας. Συγκεκριμένα το μικροβιακό φορτίο ήταν <3 log cfu/mL, το οποίο είναι μικρότερο από τους κανονισμούς (FDA 2007) όπου απαιτούν έως 4,3 log cfu/mL. Οι Fernandez-Molina et. al. (2005) επέλεξαν να διερευνήσουν περαιτέρω τον συνδυασμό των μεθόδων επεξεργασίας ΠΗΠ (για 28, 32 και 36 kV/cm και 84 μs) και θερμικής επεξεργασίας (65°C για 21 s) και κατέληξαν ότι ήταν ιδιαίτερα αποτελεσματική η μέθοδος αυτή στον έλεγχο της ανάπτυξης των αερόβιων βακτηρίων στο αποβουτυρωμένο γάλα που αποθηκεύτηκε στους 4°C. Συγκεκριμένα ενώ μεμονωμένα σε κάθε επεξεργασία η διάρκεια ζωής ξεπερνούσε τις 14 ημέρες, στην περίπτωση του συνδυασμού τους η διάρκεια ζωής του γάλακτος ξεπέρασε τις 30 ημέρες.

## 4.7 Επίδραση ΠΗΠ στα Ένζυμα

Η ενζυμική δραστηριότητα όπως και η μικροβιακή μπορεί να προκαλέσει ταχύτατη αλλοίωση του γάλακτος με αποτέλεσμα την υποβάθμιση της ποιότητας και τη μείωση του χρόνου ζωής του. Έχουν ανακαλυφθεί περίπου 70 ένζυμα στο γάλα μέχρι στιγμής και πολλά εγγενή ένζυμα του γάλακτος έχουν καθοριστική σημασία σε αυτό. Η ύπαρξη των ενζύμων μπορεί να ενισχύσει τη μικροβιακή ανάπτυξη καθώς διασπούν πρωτεΐνες και λιπίδια, ευνοώντας την ανάπτυξη μικροοργανισμών (Ahmad et. al. 2019).

Η χρήση των ΠΗΠ μπορεί να προκαλέσει μεταβολές στη δομή και τη διαμόρφωση των ενζύμων και αυτό να οδηγήσει σε τροποποίηση των δραστηριοτήτων τους. Η καταλυτική δραστηριότητα του ενζύμου εξαρτάται άμεσα από τη φυσική δομή του και άλλων εξωτερικών παραγόντων. Διάφορα αμινοξέα τα οποία σχετίζονται με τα ένζυμα κατανέμουν ασύμμετρα φορτία πάνω από τη μοριακή τους δομή. Πολλές ομοιοπολικές και μη ομοιοπολικές αλληλεπιδράσεις σχετίζονται με τη δομή του ενζύμου και σε περίπτωση οποιασδήποτε

μεταβολής τους επιφέρουν αλλαγές στη δραστηριότητα του ενζύμου εξαιτίας τροποποιήσεων στη δομή των ενεργών θέσεων ή των συνολικών τρισδιάστατων μοριακών διαμορφώσεων του ενζύμου. Τα ΠΗΠ διασπών λειτουργικά τμήματα σε πρωτεΐνες, γεγονός που οδηγεί σε διαχωρισμό φορτίου και άρα σε αποσταθεροποίηση ή ακόμα και μετουσίωση των σφαιρικών δομών των ενζύμων. Στην περίπτωση αδρανοποίησης του ενζύμου πραγματοποιείται ξεδίπλωμα ή μετουσίωση της πρωτεΐνης. Ωστόσο η επίδραση των ΠΗΠ εξαρτάται από την ένταση και τις συνθήκες που θα πραγματοποιηθεί η επεξεργασία στο τρόφιμο (Poojary et. al. 2016). Για παράδειγμα οι Grahl και Markl (1996) μετά από εφαρμογή ΠΗΠ στο γάλα, σε συνθήκες  $E = 21.5 \text{ kV/cm}$ , συχνότητα ίση με  $1\text{--}22 \text{ Hz}$ , θερμοκρασία ίση με  $45\text{--}50^\circ\text{C}$ , και χρόνο επεξεργασίας  $10\text{--}1,000 \text{ }\mu\text{s}$ , διαπίστωσαν περίπου 90% καταστροφή του ενζύμου της λιπάσης.

## 4.8 Επίδραση ΠΗΠ στις Πρωτεΐνες του Γάλακτος-Ορού Γάλακτος

Η επίδραση της χρήσης ΠΗΠ στις πρωτεΐνες του γάλακτος δεν έχει μελετηθεί επαρκώς και τα αποτελέσματα που έχουν προκύψει είναι αντικρουόμενα. Οι Floury et.al (2005) αξιολόγησαν την επίδραση των ΠΗΠ στις φυσικοχημικές και λειτουργικές ιδιότητες του γάλακτος και συμπέραναν ότι επηρέασε τα πρωτεϊνικά συστατικά του γάλακτος όπως είναι τα μικκύλια καζεΐνης, και το αποτέλεσμα αυτού ήταν η μείωση του ιξώδους, ενώ παράλληλα ενισχύθηκαν οι ιδιότητες πήξης για υψηλά επίπεδα πεδίου. Οι Barsotti et.al (2001) μελέτησαν την επίδραση των ΠΗΠ στη β-λακτογλοβουλίνη με ένταση πεδίου  $30 \text{ kV/cm}$  για έως  $260 \text{ }\mu\text{s}$  και συμπέραναν ότι δεν υπήρξε κάποια επίδραση στη θολότητα και το ιξώδες των διαλυμάτων τους και άρα δεν προκλήθηκε ξεδίπλωμα ή συσσώρευση της β-λακτογλοβουλίνης. Οι Xiang et. al. (2007) μελέτησαν επίσης την επίδραση των ΠΗΠ στην μετουσίωση της πρωτεΐνης σε πλήρες γάλα και έδειξαν ότι για ένταση  $22 \text{ kV/cm}$  και αριθμό παλμών 80 τροποποιήθηκε εν μέρη η πρωτεϊνική δομή με μετουσίωση της τάξης του 25%. Η αύξηση των παλμών έδειξε καλύτερα αποτελέσματα ως προς τη μετουσίωση των πρωτεϊνών. Επίσης και πάλι οι Xiang et al. (2009) ερεύνησαν την πιθανή δομική τροποποίηση της απομονωμένης πρωτεΐνης ορού με τη χρήση των ΠΗΠ και κατέληξαν ότι οι διαφορετικές εντάσεις, ο αριθμός των παλμών και η συγκέντρωση της πρωτεΐνης οδήγησαν στην τροποποίηση της πρωτεϊνικής δομής. Παρατηρήθηκε επίσης και έκθεση μεγαλύτερης υδροφοβικότητας στην πρωτεΐνη. Από την άλλη μεριά, ο Dunn (1996) δεν παρατήρησε κάποια μεταβολή στα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του γάλακτος με τη χρήση ΠΗΠ. Τα παραπάνω οδηγούν στο συμπέρασμα ότι πιθανόν η επίδραση των ΠΗΠ στις πρωτεΐνες να μεταβάλλεται ανάλογα με τις παραμέτρους και τις εκάστοτε συνθήκες των πειραμάτων και στην περίπτωση πιο ήπιων συνθηκών να επιτυγχάνεται μείωση μικροβιακού φορτίου χωρίς καταστροφή πρωτεϊνικής δομής. Στην περίπτωση αντίθετα πιο ισχυρών συνθηκών να πραγματοποιείται κάποια αλλαγή στην δομή της πρωτεΐνης, με αποτέλεσμα τη μεταβολή των φυσικοχημικών παραγόντων του γάλακτος.

## 4.9 Επίδραση ΠΗΠ στη Διατροφική Αξία του Γάλακτος

Η επιλογή των εναλλακτικών μεθόδων επεξεργασίας του γάλακτος έναντι της θερμικής επεξεργασίας γίνεται λόγω της επιθυμίας των καταναλωτών για πιο φυσικά, μη θερμικά επεξεργασμένα προϊόντα, τα οποία θα περιέχουν όλα τα θρεπτικά συστατικά και τις βιταμίνες της πρώτης ύλης, δηλαδή στην περίπτωση αυτή, του γάλακτος. Η χρήση των ΠΗΠ εκπληρώνει

αυτό το στόχο καθώς πολλές από τις βιταμίνες του γάλακτος δεν επηρεάζονται από αυτή την επεξεργασία. Οι Renier et. al. (2009) μελέτησαν την επίδραση των ΠΗΠ στις βιταμίνες του βόειου νοπού γάλακτος και κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι δεν επηρεάστηκε η περιεκτικότητα της ριβοφλαβίνης, θειαμίνης, ρετινόλης και α-τοκοφερόλης στο επεξεργασμένο γάλα σε σχέση με το νοπό . Ωστόσο, οι Grahl & Markl (1996) διαπίστωσαν ότι η βιταμίνη C (ασκορβικό οξύ) μειώνεται με την επίδραση των παλμικών ηλεκτρικών πεδίων αλλά κυρίως σε πολύ υψηλές συνθήκες μπορεί να μειωθεί έως και 90%. Τα υπόλοιπα συστατικά του γάλακτος παρέμειναν ανεπηρέαστα και η τελική γεύση του γάλακτος δεν παρουσίασε διαφορές σε σχέση με την αρχική. Γενικότερα η μέθοδος των ΠΗΠ είναι ιδιαίτερα προσεκτική όσον αφορά τα συστατικά του γάλακτος και σε συνδυασμό με τη δυνατότητα παρασκευής ασφαλών προϊόντων με μεγάλη διατηρησιμότητα, μπορεί να παράγει τρόφιμα υψηλής διατροφικής αξίας και ποιότητας.

#### 4.10 Επίδραση ΠΗΠ στις Ιδιότητες και στα Χαρακτηριστικά του Γιαουρτιού

Η επίδραση των ΠΗΠ στα λειτουργικά και ποιοτικά χαρακτηριστικά των παραγόμενων γιαουρτιών ύστερα από επεξεργασία του γάλακτος με ΠΗΠ δεν έχει μελετηθεί ιδιαίτερα από τους ερευνητές. Οι έρευνες που έχουν διεξαχθεί αφορούν κυρίως την επίδραση των ΠΗΠ σε προϊόντα που έχουν ως βάση το γιαούρτι, ύστερα από επεξεργασία τους με αυτό όπως μελέτησαν οι Evrendilek et. al. (2004) και Yeom et. al. (2004). Τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τις έρευνες τους έδειξαν ότι τα ΠΗΠ δεν είχαν κάποια επίδραση στα ποιοτικά χαρακτηριστικά των προϊόντων. Επίσης μελετήθηκε και η επίδραση των ΠΗΠ στο γιαούρτι, ωστόσο όμως ύστερα από επεξεργασία της καλλιέργειας εκκίνησης όπως πραγματοποιήσαν οι Chanos et. al. (2020). Οι Sfakianakis & Tzia (2014) διαμέσου της έρευνας τους για την επίδραση των ΠΗΠ στο γιαούρτι συμπέραναν ότι η υφή και συγκράτηση νερού δεν διαφέρει από τα θερμικώς επεξεργασμένα γιαούρτια.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5<sup>ο</sup>: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ – ΥΛΙΚΑ – ΜΕΘΟΔΟΙ

Στο παρόν κεφάλαιο πραγματοποιείται περιγραφή των υλικών και των οργάνων καθώς και της συνολικής πειραματικής διαδικασίας της παρούσας διπλωματικής εργασίας. Ο σχεδιασμός των πειραμάτων είχε ως στόχο την εύρεση των ιδανικών συνθηκών για την επεξεργασία του τυρογάλακτος και της βέλτιστης σύστασης του τελικού προϊόντος, μέσω της μελέτης της επίδρασης των διαφορετικών μεθόδων επεξεργασίας στα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των παραγόμενων καινοτόμων ζυμωμένων προϊόντων, με απώτερο στόχο την παραγωγή υψηλής ποιότητας προϊόντων.

### 5.1 Υλικά και Μέθοδοι

#### 5.1.1 Υλικά

Οι πρώτες ύλες που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή των καινοτόμων ζυμωμένων προϊόντων είναι οι ακόλουθες:

##### Γλυκός Ορός - Τυρόγαλα

Γλυκός ορός προερχόμενος από την παραγωγή λευκού τυριού από αγελαδινό γάλα, περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη 2,9% w/w.

##### Skim Milk Powder

Συμπυκνωμένη αποβουτυρωμένη σκόνη γάλακτος με περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη 35% w/w (Epi ingredients, France).

##### Καλλιέργεια Γιαουρτιού

Εμπορική καλλιέργεια εκκίνησης που αποτελείται από τους μικροοργανισμούς *Streptococcus salivarius* spp. *thermophilus* και *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus* σε λυοφιλιωμένη μορφή (YC-X11, Christian-Hansen, Denmark).

##### Ένζυμο

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

##### Αγελαδινό Γάλα

1. Φρέσκο αγελαδινό γάλα εμπορίου με περιεκτικότητα 3,5 % w/v σε λίπος και 3,2 % w/v πρωτεΐνη, για την παρασκευή συμβατικών γιαουρτιών τύπου σετ.
2. Ημι-αποβουτυρωμένο αγελαδινό γάλα μακράς διάρκειας με 1,5 % w/v λίπος και 3,2 % w/v πρωτεΐνη, για την παρασκευή της καλλιέργειας εκκίνησης.

Για τον προσδιορισμό του γαλακτικού οξέος χρησιμοποιήθηκαν τα χημικά αντιδραστήρια:

- Χλωριούχος σίδηρος III ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ )
- DL-γαλακτικό οξύ 85% w/w

Για τον προσδιορισμό του λίπους χρησιμοποιήθηκαν τα χημικά αντιδραστήρια:

- Αμμωνία
- Αιθανόλη 96% v/v
- Διαιθυλαιθέρας
- Πετρελαϊκός Αιθέρας

### 5.1.2 Όργανα και Συσκευές

- Υδατόλουτρο (MEMMERT, GERMANY)
- Φούρνος Μικροκυμάτων (KOR-804M, Daewoo, France)
- Επωαστήρας (SANYO INCUBATOR)
- Μηχάνημα παλμικών ηλεκτρικών πεδίων (ELCRACK HV-5 kW, DIL, Quackenbrück, Germany)
- Ζυγός (MARK 3100, BEL ENGINEERING)
- pHμετρο (AMEL 338, AMEL Instruments, Italy)
- Αναλυτής Υφής (Texture Analyzer TA-XT2i, Stable Microsystems, UK) και ακρυλικό κυλινδρικό στέλεχος διαμέτρου 25,4 mm, μήκους 35 mm (Brookfield Viscometers Ltd., Harlow Essex, UK)
- Αυτόκλειστο (MLS-2420U, Sanyo, Japan)
- Χρωματομετρο Minolta (CR-200, Minolta Co., Chuo-Ku, JAPAN)
- Φασματοφωτόμετρο UV-Vis (U-2900, Hitachi)
- Κυψελίδα χαλαζία πλάτους 1 cm και χωρητικότητας 1,75 mL
- Περιστροφικός εξατμιστήρας υπό κενό
- Φούρνος κενού
- Πυριατήριο
- Κάμινος
- Ζυγός ακριβείας 4 δεκαδικών
- Συσκευή διήθησης υπό κενό Buchner
- Υάλινα σκεύη και άλλα σκεύη
  - ✓ Θερμόμετρο
  - ✓ Κωνικές φιάλες
  - ✓ Διαχωριστική χοάνη με πώμα
  - ✓ Σφαιρική φιάλη
  - ✓ Ογκομετρικοί κύλινδροι
  - ✓ Ογκομετρικές φιάλες
  - ✓ Δοκιμαστικοί σωλήνες
  - ✓ Σιφόνιο
  - ✓ Προχοΐδα
  - ✓ Κάψουλες πορσελάνης διαστάσεων 70 x 60 mm
  - ✓ Πλαστικά κύπελλα
  - ✓ Μεταλλικά σκεύη

## 5.2 Μέθοδοι Παραγωγής και Επεξεργασίας δειγμάτων

### 5.2.1 Προετοιμασία Δειγμάτων Ορού – Σκόνης Γάλακτος

Παραλήφθηκε γλυκός ορός περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη 2,9% w/w από βιομηχανία παρασκευής τυριού ο οποίος αρχικά διηθήθηκε υπό κενό με φιάλη Buchner έτσι ώστε να απομακρυνθούν τυχόν υπολείμματα από τυρί. Ύστερα παστεριώθηκε για 20 min στους 85°C προκειμένου να αδρανοποιηθούν όλοι οι εναπομείναντες μικροοργανισμοί.

Ύστερα παρασκευάζονται τα δείγματα τυρογάλακτος με την προσθήκη ποσότητας αποβουτυρωμένης σκόνης γάλακτος με τελικές περιεκτικότητες πρωτεΐνης 6%, 8%, 10% w/v σε 800 mL ορού. Έπειτα ακολουθεί προθέρμανση των δειγμάτων στους 85°C και μετά παστερίωση για 20 min. Στην περίπτωση της εφαρμογής των παλμικών ηλεκτρικών πεδίων, πρώτα γίνεται προθέρμανση των δειγμάτων στους 85°C, μετά παστερίωση για 15 min και έπειτα εφαρμογή των παλμών (100, 500, 800, 1000 pulses – 1.2kV/cm – 50Hz – 15 μs).

### 5.2.2 Ενζυμική Επεξεργασία με Τρανσγλουταμινάση

Τα δείγματα που υπέστησαν θερμική επεξεργασία καθώς και εκείνα που υπέστησαν επεξεργασία με παλμικά ηλεκτρικά πεδία, θερμάνθηκαν σε υδατόλουτρο μέχρι τη θερμοκρασία των 43°C και έπειτα εμβολιάστηκαν με το ένζυμο TGase (συγκέντρωση ενζύμου 2,2 Units/g πρωτεΐνης). Η ενζυμική επεξεργασία διήρκεσε 3 h και έλαβε χώρα μέσα στο υδατόλουτρο σε γυάλινα δοχεία. Μετά το πέρας της ενζυμικής επεξεργασίας ακολούθησε απενεργοποίηση του ενζύμου σε φούρνο μικροκυμάτων στους 80-82 °C για 1 min. Έπειτα τα δείγματα ψύχθηκαν ώστε να ακολουθήσει ο εμβολιασμός με καλλιέργεια εκκίνησης.

### 5.2.3 Επεξεργασία με Παλμικά Ηλεκτρικά Πεδία

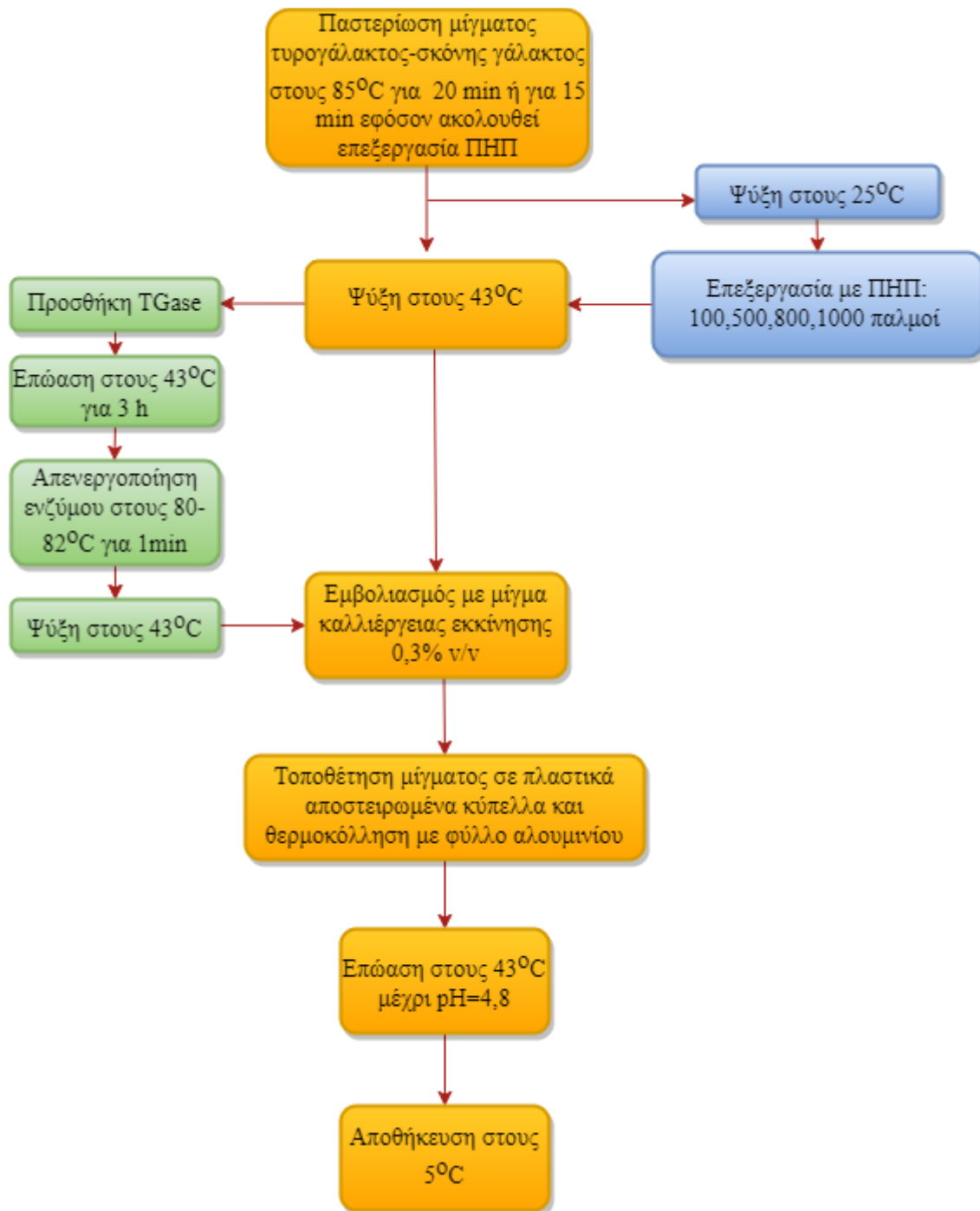
Αρχικά δείγματα 600 mL περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη 10% w/v που επεξεργάστηκαν θερμικά για 15 min, ψύχονται μέχρι τη θερμοκρασία των 25 °C και έπειτα οδηγούνται προς επεξεργασία με ΠΗΠ (Εικόνα 5.1). Κάθε δείγμα των 600 mL χωρίζεται σε 10 των 60 mL, τα οποία μεταφέρονται με σιφόνιο από το αρχικό γυάλινο δοχείο στον ειδικό θάλαμο επεξεργασίας και έπειτα σε καινούργιο αποστειρωμένο γυάλινο δοχείο. Τα πειράματα πραγματοποιούνται για 100, 500, 800, και 1000 παλμούς σε συνθήκες έντασης ηλεκτρικού πεδίου  $E=1,2$  kV/cm, διάρκεια παλμών ίση με 15 μs και συχνότητα παλμών 50 Hz. Μετά την επεξεργασία τους τα δείγματα τοποθετούνται σε υδατόλουτρο σε θερμοκρασία 43°C είτε για την προσθήκη ενζύμου TGase είτε για τον μετέπειτα εμβολιασμό τους με καλλιέργεια εκκίνησης και την παραγωγή των ζυμωμένων προϊόντων.



Εικόνα 5.1 : Συσκευή παλμικών ηλεκτρικών πεδίων της σχολής Χημικών Μηχανικών του ΕΜΠ

### 5.2.4 Παραγωγή ζυμωμένων προϊόντων

Έπειτα από τη θερμική επεξεργασία, τον εμβολιασμό με το ένζυμο TGase και την επεξεργασία με ΠΗΠ ακολουθεί ο εμβολιασμός με καλλιέργεια εκκίνησης σε ποσοστό 0,3% v/v, η οποία διαλύεται σε 450 g γάλα μακράς διάρκειας. Το μίγμα διαχωρίζεται σε κύπελλα των 200 g και κλείνεται με φύλλο αλουμινίου σε ασηπτικές συνθήκες. Τα κύπελλα μεταφέρονται σε κλίβανο και επωάζουν στους 43°C έως ότου φτάσουν την επιθυμητή τελική τιμή pH (4,9). Τέλος, μεταφέρονται σε ψυγείο όπου ψύχονται μέχρι τη θερμοκρασία των 4-5°C (Εικόνα 5.2).



Εικόνα 5.2 : Διάγραμμα Ροής Παραγωγικής Διαδικασίας καινοτόμων ζυμωμένων προϊόντων με πρώτη ύλη το τυρόγαλα



## 5.3 Φυσικές και Χημικές Αναλύσεις των Δειγμάτων

### 5.3.1 Προσδιορισμός συστατικών τυρογάλακτος

#### 5.3.1.1 Προσδιορισμός Γαλακτικού Οξέος

Αρχικά σε μια ογκομετρική φιάλη (100mL) μεταφέρονται 0,3333g  $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$  και πληρώνεται με απιονισμένο νερό. Ακολουθεί ανάδευση μέχρι πλήρους διαλυτοποίησης του άλατος.

Σε ογκομετρική φιάλη (100mL) μεταφέρονται 1,1765g DL-γαλακτικού οξέος 85% w/w και γίνεται πλήρωση με απιονισμένο νερό. Ακολουθεί καλή ανακίνηση της φιάλης. Το διάλυμα αυτό αποτελεί το μητρικό περιεκτικότητας 1% w/v σε γαλακτικό οξύ. Με βάση το μητρικό παρασκευάζονται διαλύματα με περιεκτικότητες γαλακτικού οξέος 0,1, 0,2, 0,3, 0,4 και 0,5 % w/v. Για καθένα από τα παραπάνω πρότυπα διαλύματα γαλακτικού οξέος μεταφέρονται εις τριπλούν εντός δοκιμαστικού σωλήνα 2 mL διαλύματος  $\text{FeCl}_3$  και γίνεται προσθήκη 50  $\mu\text{L}$  πρότυπου διαλύματος γαλακτικού οξέος. Ακολουθεί έντονη ανάδευση του σωλήνα. Γίνεται ύστερα καταγραφή της απορρόφησης τους διαλύματος στα 390 nm εντός 15 min από την ανάμιξη σε φασματοφωτόμετρο UV-Vis. Με βάση τα αποτελέσματα καταστρώνεται το διάγραμμα απορρόφησης συναρτήσει της συγκέντρωσης γαλακτικού οξέος και χαράσσεται η βέλτιστη ευθεία.

Το άγνωστο δείγμα γλυκού ορού αραιώνεται κατάλληλα, ώστε η συγκέντρωση γαλακτικού οξέος να είναι εντός του εύρους των τιμών όπου η καμπύλη αναφοράς είναι γραμμική (0-0,5% w/v). Ύστερα εντός δοκιμαστικού σωλήνα μεταφέρονται 2 mL διαλύματος  $\text{FeCl}_3$  0,2% w/v και προστίθενται 50  $\mu\text{L}$  δείγματος. Ακολουθεί έντονη ανάδευση του σωλήνα. Ύστερα καταγράφεται η απορρόφηση του διαλύματος στα 390 nm εντός 15 min από την ανάμιξη. Από την καμπύλη αναφοράς υπολογίζεται η περιεκτικότητα του δείγματος σε γαλακτικό οξύ. Η διαδικασία αυτή γίνεται τρεις φορές.

#### 5.3.1.2 Προσδιορισμός Λίπους

Ο προσδιορισμός του λίπους του τυρογάλακτος πραγματοποιείται με τη μέθοδο RÖSE-GOTTLIEB (Εικόνα 5.3). Αρχικά παρασκευάζονται τα διαλύματα τυρογάλακτος-σκόνης γάλακτος με πρωτεϊνικό περιεχόμενο 6%, 8% και 10% w/v. Λαμβάνονται 30 g δείγματος και μεταφέρονται εντός διαχωριστικής χοάνης. Προστίθεται σε αυτή 4,5 mL διαλύματος αμμωνίας (πυκνότητα 0,88 g/mL), ώστε να διαλυτοποιηθεί η καζεΐνη του δείγματος και γίνεται ανάμιξη τους. Μετά προστίθενται 30 mL αιθανόλης 96% v/v, ώστε να διασπαστεί το γαλάκτωμα το λίπους και να εκχυλιστούν τα λιπίδια. Έπειτα η διαχωριστική χοάνη πωματίζεται και ανακινείται ελαφρώς. Προστίθεται αμέσως μετά 75 mL διαιθυλαιθέρα για την εκχύλιση του μη γαλακτοποιημένου λίπους. Επίσης προστίθενται 75 mL πετρελαϊκού αιθέρα για τη βελτίωση της απόδοσης της εκχύλισης, μειώνοντας τη διαλυτότητα του νερού, της λακτόζης και της αιθανόλης στον διαιθυλαιθέρα. Η χοάνη μετά πωματίζεται και ανακινείται πολλές φορές ώστε να εκχυλιστούν τα λιπαρά στην οργανική φάση. Στην περίπτωση που εμφανιστεί γαλάκτωμα γίνεται προσθήκη αιθανόλης και ξανά ανακίνηση. Η χοάνη ύστερα αφήνεται σε ηρεμία για 30 min έως ότου σχηματιστεί διαυγής υπερκείμενη οργανική φάση που να διακρίνεται από την υποκείμενη υδατική φάση. Η υποκείμενη υδατική φάση μεταφέρεται σε

ποτήρι ζέσεως και η υπερκείμενη οργανική σε σφαιρική φιάλη των 500 mL. Η υδατική φάση μεταφέρεται ξανά εντός της διαχωριστικής χοάνης και ακολουθεί η ίδια διαδικασία άλλες 2 φορές. Στο τέλος η υδατική φάση απορρίπτεται. Οι οργανικοί διαλύτες του μίγματος που είναι στη σφαιρική φιάλη εξατμίζονται πλήρως με χρήση περιστροφικού εξατμιστήρα υπό κενό. Έπειτα το περιεχόμενο της φιάλης αναδιαλύεται σε 50 mL διαιθυλαιθέρα και το μίγμα μεταφέρεται εντός φιάλης των 100 mL και ο διαιθυλαιθέρας εξατμίζεται πλήρως και πάλι με τη χρήση του περιστροφικού εξατμιστήρα υπό κενό. Κατόπιν η σφαιρική φιάλη ξηραίνεται σε πυριατήριο στους 102°C. Ακολουθεί ζύγιση της σφαιρικής φιάλης με το ξηρό λίπος σε ζυγό 4 δεκαδικών ψηφίων και καταγράφεται το μικτό βάρος της φιάλης και του λίπους. Η φιάλη μετά πλένεται καλά με μίγμα διαιθυλαιθέρα-πετρελαϊκού αιθέρα ίσων όγκων μέχρι να αφαιρεθεί το λίπος και έπειτα ξηραίνεται στο πυριατήριο. Ξαναζυγίζεται η φιάλη και καταγράφεται το καθαρό βάρος της. Η διαφορά μικτού και καθαρού βάρους είναι το βάρος του λίπους και υπολογίζεται η περιεκτικότητα του δείγματος σε λίπος.



**Εικόνα 5.3 :** Εξοπλισμός διαδικασίας προσδιορισμού λίπους, Σχολή Χημικών Μηχανικών.

### 5.3.1.3 Προσδιορισμός Στερεού Υπολείμματος και Τέφρας

Για τον προσδιορισμό του στερεού υπολείμματος και της τέφρας του τυρογάλακτος αρχικά γίνεται ξήρανση των κάψων πορσελάνης σε πυριατήριο για 24 h στους 102°C. Έπειτα μετράται το καθαρό βάρος των ξηρών καψών πορσελάνης σε ζυγό ακριβείας 0,01 g ( $m_{\text{net(A)}}$ ). Εντός κάθε κάψας πορσελάνης μεταφέρονται 50 mL δείγματος και μετريέται το μικτό βάρος κάψας και δείγματος ( $m_{\text{tot(in)}}$ ) σε ζυγό ακριβείας 0,01 g. Οι κάψες με το περιεχόμενο δείγμα μεταφέρονται εντός πυριατηρίου που λειτουργεί στους 102°C και αφήνονται να ξηραθούν για 24 h. Μετά την ξήρανση, οι κάψες με το ξηρό δείγμα μεταφέρονται εντός ξηραντήρα μέχρι να λάβουν θερμοκρασία περιβάλλοντος. Έπειτα μετρείται το μικτό βάρος της κάψας και ξηρού δείγματος ( $m_{\text{tot(dry)}}$ ) ζυγό ακριβείας 0,0001 g. Στη συνέχεια οι κάψες με τα ξηρά δείγματα μεταφέρονται εντός καμίνου στους 550°C και αφήνονται για 16 h. Μετά την αποτέφρωση, οι κάψες μεταφέρονται εντός ξηραντήρα μέχρι να αποκτήσουν θερμοκρασία περιβάλλοντος. Μετράται το μικτό βάρος κάψας και τέφρας ( $m_{\text{tot(ash)}}$ ) σε ζυγό ακριβείας 0,0001 g. Υπολογίζεται το στερεό υπόλειμμα του δείγματος από τη σχέση:

$$\text{στερεό υπόλειμμα} = \frac{m_{tot(dry)} - m_{net(A)}}{m_{tot(in)} - m_{net(A)}} \cdot 100\% \quad (\text{Εξίσωση 5.1})$$

Υπολογίζεται η τέφρα του δείγματος από την σχέση :

$$\text{τέφρα} = \frac{m_{tot(ash)} - m_{net(A)}}{m_{tot(in)} - m_{net(A)}} \cdot 100\% \quad (\text{Εξίσωση 5.2})$$

### 5.3.2 Χρόνος Ζύμωσης

Ως χρόνος ζύμωσης θεωρείται η χρονική διάρκεια που απαιτείται ώστε να επιτευχθεί η επιθυμητή μείωση του pH κατά την επώαση των ζυμωμένων προϊόντων. Η τιμή αυτή είναι για pH=4,9 καθώς ακολουθεί και περαιτέρω μείωση του κατά την αποθήκευση και ψύξη των δειγμάτων στους 5°C αφού η αρχική τους θερμοκρασία μειώνεται σταδιακά.

### 5.3.3 Προσδιορισμός Κινητικής Ζύμωσης

Προσδιορίζεται η κινητική της ζύμωσης με την καταγραφή μετά από τις 2 h και μέχρι το τέλος της ζύμωσης, της τιμής pH των δειγμάτων. Με αυτόν τον τρόπο διαπιστώνεται η επίδραση των διαφορετικών μεθόδων επεξεργασίας στην πήξη των παραγόμενων προϊόντων.

### 5.3.4 Φυσικές και Χημικές Αναλύσεις Παραγόμενων Πηγμάτων

#### 5.3.4.1 Οξύτητα Παραγόμενων Πηγμάτων

Η οξύτητα μπορεί να προσδιοριστεί με δύο τρόπους, δηλαδή μέσω της μέτρησης της τιμής pH και μέσω της τιτλοδοτούμενης οξύτητας των προϊόντων με τη μέθοδο IDF (IDF 1991). Εκφράζεται σε περιεκτικότητα % γαλακτικό οξύ και υπολογίζεται από τον τύπο:

$$\% \text{ lactic acid} = 0,9 \cdot \frac{V}{m} \quad (\text{Εξίσωση 5.3})$$

V, όγκος NaOH που καταναλώθηκε κατά την τιτλοδότηση (mL)

m, μάζα του δείγματος που τιτλοδοτήθηκε (g)

#### 5.3.4.2 Συναίρεση Παραγόμενων Πηγμάτων

Η συναίρεση υπολογίζεται μέσω της μέτρησης της ποσότητας του αποβαλλόμενου ορού από το πήγμα. Αρχικά ζυγίζονται 100 g δείγματος και τοποθετούνται σε χωνί που έχει διηθητικό χαρτί και το οποίο βρίσκεται πάνω σε κωνική φιάλη. Ύστερα τοποθετείται σε κλίβανο θερμοκρασίας 5°C όπου αφήνεται σε ηρεμία για 3 h. Η τελική ποσότητα αποβαλλόμενου ορού εκφράζεται σε g ορού ανά 100 g αρχικού δείγματος, δηλαδή σε περιεκτικότητα % κ.β. του αρχικού δείγματος γιαουρτιού.

### 5.3.4.3 Χρώμα

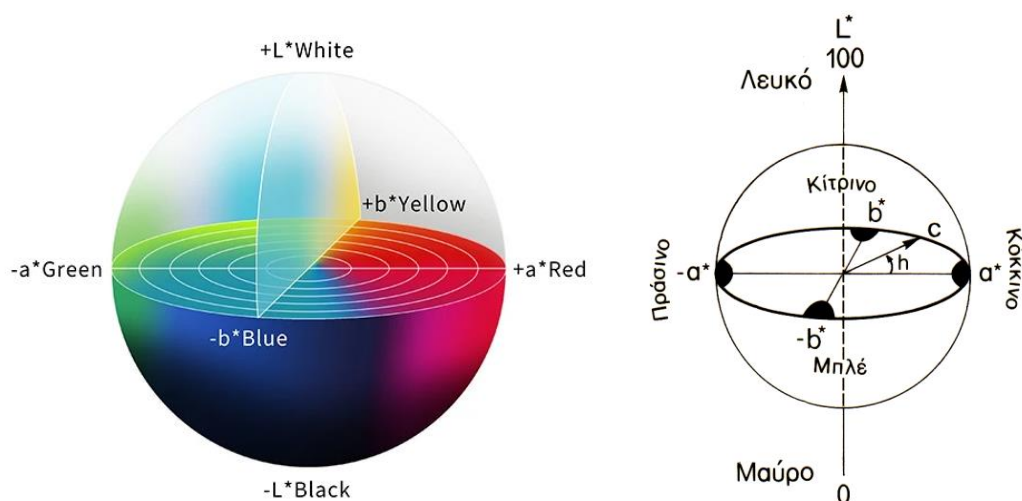
Η μέτρηση του χρώματος των παραγόμενων δειγμάτων πραγματοποιήθηκε με το χρωματόμετρο Minolta CR200 στη χρωματική κλίμακα CIELab (Εικόνα 5.4). Αρχικά τα δείγματα ανακατεύονται και έπειτα τοποθετείται ποσότητα αυτών σε μικρά γυάλινα τρυβλία και σκεπάζονται με γυάλινο καπάκι. Ακολουθεί βαθμονόμηση του οργάνου σε λευκή πλάκα αναφοράς. Έπειτα μετρούνται τα δείγματα με τρεις επαναλήψεις. Το ολικό χρώμα υπολογίζεται από τον τύπο:

$$E = \sqrt{a^2 + b^2 + L^2} \quad (\text{Εξίσωση 5.4})$$

L, φωτεινότητα του χρώματος

a, αν θετικό (+) τότε κόκκινο χρώμα, αν αρνητικό (-) τότε πράσινο χρώμα

b, αν θετικό (+) τότε κίτρινο χρώμα, αν αρνητικό (-) τότε μπλε χρώμα



Εικόνα 5.4 : Τρισδιάστατη αναπαράσταση της χρωματικής κλίμακας CIELab

### 5.3.4.4 Ανάλυση Υφής

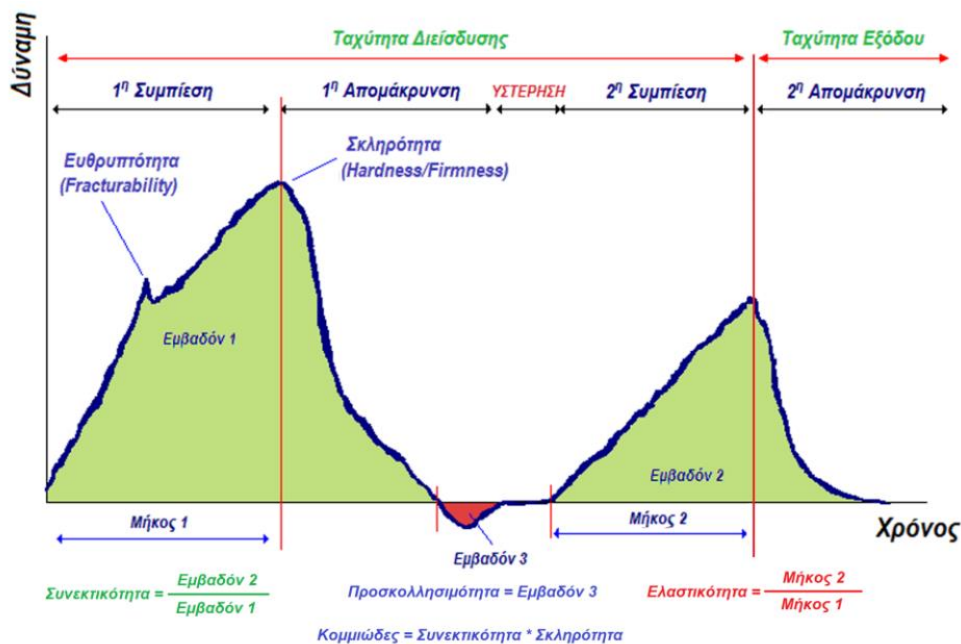
Η μέτρηση της υφής των παραγόμενων δειγμάτων πραγματοποιήθηκε με τον αναλυτή υφής TA-XT2i με μετατροπέα δύναμης 5 kg. Αρχικά τα προϊόντα μεταφέρονται σε κλίβανο θερμοκρασίας 10°C και παραμένουν μέχρι να αποκτήσουν την θερμοκρασία αυτή. Η μέτρηση των δειγμάτων γίνεται με χρήση κυλινδρικού ακρυλικού στελέχους διαμέτρου 25,4 mm και μήκους 35 mm. Για τη μέτρηση πραγματοποιείται δοκιμή διπλής συμπίεσης και οι παράμετροι που ρυθμίζονται στο όργανο είναι οι εξής:

- Ταχύτητα στελέχους πριν τη διείσδυση: 10 mm/s
- Ταχύτητα στελέχους κατά τη διείσδυση: 4 mm/s
- Ταχύτητα στελέχους μετά τη διείσδυση: 4 mm/s
- Βάθος διείσδυσης: 13 mm
- Θερμοκρασία: 10°C
- Αντίσταση που αναγνωρίζει το στέλεχος για να ξεκινήσει η μέτρηση: 4 g

Από τον αναλυτή υφής καταγράφονται τα διαγράμματα δύναμης-χρόνου (Εικόνα 5.5, Εικόνα 5.6) και με τη χρήση του λογισμικού Texture Exponent 32 υπολογίζονται οι ζητούμενες παράμετροι υφής: σφικτότητα (firmness/hardness), συνεκτικότητα, προσκολλησιμότητα, ελαστικότητα και κομμιώδες.



Εικόνα 5.5: Εξοπλισμός και Διαγράμματα αποτελεσμάτων ανάλυσης υφής



Εικόνα 5.6: Υπολογισμοί παραμέτρων υφής (Τσεβδού 2015)

## 5.4 Σχεδιασμός Πειραμάτων

Η δημιουργία ενός καινοτόμου προϊόντος ξεκινά με αρχικά πειράματα που έχουν ως σκοπό να διαπιστώσουν εάν ο τελικός στόχος της δημιουργίας ενός νέου γαλακτοκομικού προϊόντος με βάση το τυρόγαλα είναι εφικτός. Αρχικά λοιπόν έγιναν δοκιμές με μικρές ποσότητες δειγμάτων τυρογάλακτος 100 g και πρωτεϊνικής σκόνης περιεκτικότητας 80% w/w σε

πρωτεΐνη, από τα οποία ωστόσο μετά τη ζύμωση είχε διαχωριστεί ο ορός. Για αυτόν τον λόγο αποφασίστηκε να χρησιμοποιηθεί αποβουτυρωμένη σκόνη γάλακτος με περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη 35% w/w. Η σκόνη γάλακτος περιέχει αναλογία πρωτεϊνών ορού/καζεϊνών 20:80, γεγονός το οποίο πιθανόν να οδήγησε και στην επιτυχή δημιουργία πηγμάτων. Τα πηγματα που δημιουργήθηκαν ήταν τύπου σερ και επιλέχθηκαν να μελετηθούν με διαφορετικά πρωτεϊνικά περιεχόμενα. Αρχικά δείγματα τυρογάλακτος των 100g και περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη 3,5%, 5%, 6%, 8% και 10% w/v ζυμώθηκαν ώστε να διαπιστωθούν σε ποιες περιπτώσεις πρωτεϊνικού περιεχομένου δεν διαχωρίζεται ο ορός μετά τη ζύμωση. Τα πιο συνεκτικά πηγματα διαπιστώθηκαν ότι ήταν εκείνα με πρωτεΐνη 6%, 8% και 10% w/v και με βάση αυτά έγιναν και όλες οι αναλύσεις της παρούσας διπλωματικής εργασίας. Επιπλέον έγινε ζύμωση και σε εμπορικό αγελαδινό γάλα για την παραγωγή συμβατικών γιαουρτιών τύπου σερ ώστε να γίνει σύγκριση με τα καινοτόμα προϊόντα. Η ενζυμική επεξεργασία σε όλα τα πειράματα πραγματοποιήθηκε στα δείγματα ορού με τις τρεις διαφορετικές περιεκτικότητες σε πρωτεΐνη 6%, 8% και 10% w/v καθώς και στο εμπορικό γάλα. Η επίδραση των παλμικών ηλεκτρικών πεδίων στα ποιοτικά χαρακτηριστικά των ζυμωμένων προϊόντων, πραγματοποιήθηκε σε δείγματα τυρογάλακτος περιεκτικότητας 10% w/v σε πρωτεΐνη, σε διαφορετικό αριθμό παλμών (100,500,800,1000). Η περαιτέρω μελέτη και σύγκριση των διαφορετικών μεθόδων επεξεργασίας έγινε με τη χρήση των 500 παλμών ως βέλτιστη επιλογή. Πραγματοποιήθηκε εν τέλει η μελέτη της επίδρασης της ενζυμικής επεξεργασίας και των παλμικών ηλεκτρικών πεδίων στα δείγματα σε σχέση με τα αντίστοιχα δείγματα από θερμικά επεξεργασμένα μίγματα καθώς και με τα δείγματα συμβατικού γιαουρτιού.

## 5.5 Ανάλυση Δεδομένων

### 5.5.1 Προσδιορισμός κινητικής ζύμωσης

Οι τιμές pH που μετρήθηκαν κατά τη διάρκεια της ζύμωσης παραστάθηκαν γραφικά συναρτήσει του χρόνου και οι παράμετροι που περιγράφουν την κινητική της ζύμωσης υπολογίζονται με βάση την τροποποιημένη εξίσωση Gompertz (De Brabandere & De Baerdemaeker 1999).

$$pH = pH_0 + (pH_{\infty} - pH_0) \exp \left\{ -\exp \left[ \frac{\mu e}{(pH_{\infty} - pH_0)} (\lambda - t) + 1 \right] \right\} \quad (\text{Εξίσωση 5.5})$$

$pH_0$ , αρχική τιμή pH

$pH_{\infty}$ , τελική τιμή pH

$\mu$ , μέγιστος ρυθμός οξίνισης (pH/min)

$\lambda$ , χρόνος λανθάνουσας φάσης (min)

Για την εύρεση των παραμέτρων χρησιμοποιείται το λογισμικό SigmaPlot 10.0 (TE Sub Systems, Inc. & Sax Software, 2006, Germany).

### 5.5.2 Στατιστική Επεξεργασία Αποτελεσμάτων

Η ανάλυση της επίδρασης των σχεδιαστικών παραμέτρων στα ποιοτικά χαρακτηριστικά των παραγόμενων προϊόντων πραγματοποιήθηκε με στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων ώστε να διαπιστωθούν οι στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων και των πειραμάτων. Συγκεκριμένα έγινε γραμμική παραμετρική ανάλυση διακύμανσης (Factorial ANOVA), με παράλληλη σύγκριση των μέσων όρων μέσω της δοκιμής Duncan (Duncan's means post hoc comparison test) και ως στάθμη σημαντικότητας θεωρήθηκε το  $\alpha=0,95$  ( $p\text{-value}= 0,05$ ).





## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6<sup>ο</sup>: ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΚΑΙ ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

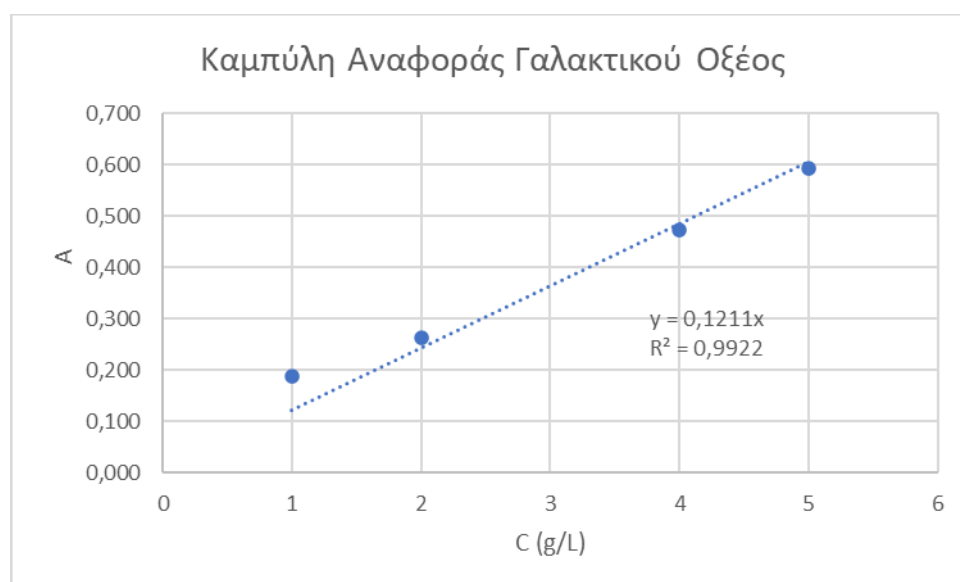
Για την καλύτερη κατανόηση των αποτελεσμάτων αξίζει να αναφερθεί ότι τα δείγματα φέρουν τις ονομασίες *Control (CNT)*, όταν τα μίγματα έχουν υποστεί μόνο θερμική επεξεργασία, *TGase (TG)*, όταν έχουν υποστεί εκτός από θερμική και ενζυμική επεξεργασία, *PEF-100, 500, 800, 1000*, όταν υπέστησαν επεξεργασία παλμικών ηλεκτρικών πεδίων με τους αντίστοιχους παλμούς. Τα δείγματα με την ονομασία *PEF-TG* προέρχονται από μίγματα που έχουν επεξεργαστεί αρχικά με παλμικά ηλεκτρικά πεδία στους 500 παλμούς και έπειτα με ενζυμική επεξεργασία. Για τα συμβατικά προϊόντα γιαουρτιού από εμπορικό αγελαδινό γάλα, οι αντίστοιχες κωδικοποιήσεις είναι *MILK-CNT* και *MILK-TG*, όταν τα μίγματα έχουν υποστεί μόνο θερμική ή θερμική και μετέπειτα ενζυμική επεξεργασία, αντίστοιχα.

Τα διαφορετικά γράμματα στις μπάρες των διαγραμμάτων υποδεικνύουν στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0,05$ ) μεταξύ των εξεταζόμενων δειγμάτων με βάση τη δοκιμή σύγκρισης μέσω των όρων του *Duncan (Duncan's mean values post hoc comparison test)*. Η σειρά των γραμμάτων είναι κατά σύμβαση από το μικρότερο προς το μεγαλύτερο μέσο όρο.

### 6.1 Χημική Ανάλυση Τυρογάλακτος

#### 6.1.1 Προσδιορισμός Γαλακτικού Οξέος

Στο **Διάγραμμα 6.1.1** απεικονίζεται η καμπύλη αναφοράς του γαλακτικού οξέος, η οποία κατασκευάστηκε με τη μεθοδολογία που αναλύθηκε στην υποενότητα 5.4.1.1.



**Διάγραμμα 6.1.1:** Καμπύλη Αναφοράς του Γαλακτικού Οξέος - Απορρόφηση συναρτήσει της Συγκέντρωσης του Γαλακτικού Οξέος

Η εξίσωση που προέκυψε από την καμπύλη αναφοράς για την απορρόφηση (A) συναρτήσει της συγκέντρωσης του γαλακτικού οξέος (C) είναι η εξής:

$$A = 0,1211 \cdot C_{\gamma.o} \quad (\text{Εξίσωση 6.1})$$

$C_{\gamma.o}$ , συγκέντρωση γαλακτικού οξέος σε g/L

- Για το άγνωστο δείγμα τυρογάλακτος μετρήθηκε η απορρόφηση και με τη χρήση της **Εξίσωσης 6.1** υπολογίστηκε η συγκέντρωση γαλακτικού οξέος. Η συγκέντρωση γαλακτικού οξέος στο τυρόγαλα βρέθηκε ίση με  $C_{\gamma.o} = 3,59$  g/L.

### 6.1.2 Προσδιορισμός Λίπους

Ο προσδιορισμός του λίπους έγινε σύμφωνα με τη μεθοδολογία που αναλύθηκε στην υποενότητα 5.4.1.2 και υπολογίστηκε για τα μίγματα τυρογάλακτος και αποβουτυρωμένης σκόνης γάλακτος, περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη 6% και 8% w/v.

Έπειτα από τη μέτρηση του μικτού βάρους και του καθαρού βάρους των φιαλών όπου πραγματοποιήθηκε το πείραμα, το λίπος που υπολογίστηκε για κάθε περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη είναι:

- Για 6% w/v περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη, το δείγμα περιέχει 0,48% w/w λίπος
- Για 8% w/v περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη, το δείγμα περιέχει 0,45% w/w λίπος

### 6.1.3 Προσδιορισμός Στερεού Υπολείμματος και Τέφρας

Ο προσδιορισμός του στερεού υπολείμματος και της τέφρας του τυρογάλακτος πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τη μεθοδολογία που αναφέρθηκε στην υποενότητα 5.4.1.3. Μετρήθηκαν τα μεγέθη  $m_{net(A)}$ ,  $m_{tot(in)}$ ,  $m_{tot(dry)}$ ,  $m_{tot(ash)}$  και από τις εξισώσεις 5.1 και 5.2 προέκυψαν τα εξής αποτελέσματα.

- Στερεό Υπόλειμμα = 6,47 % w/w
- Τέφρα = 0,69 % w/w

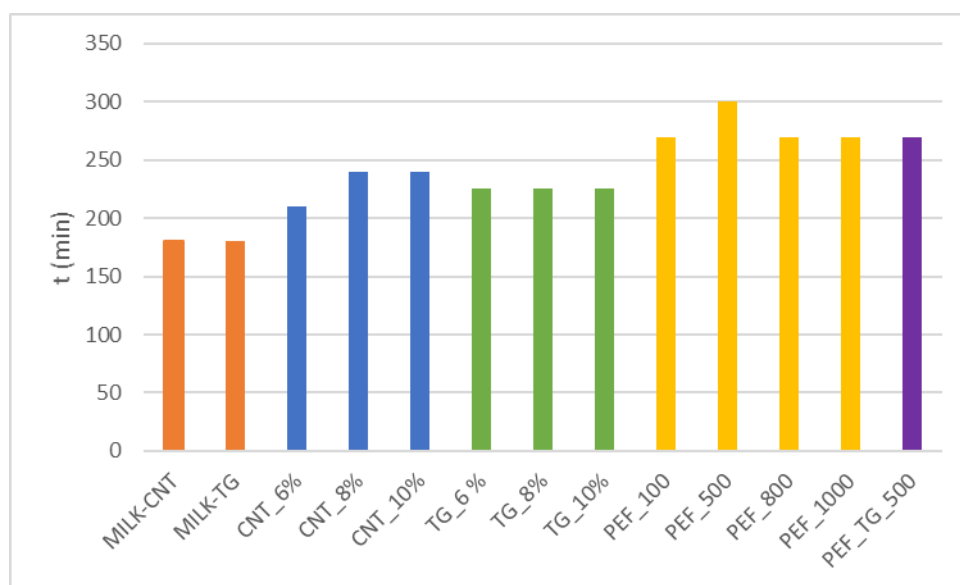
**Πίνακας 6.1:** Συγκεντρωτικός πίνακας χημικής ανάλυσης τυρογάλακτος και μιγμάτων.

	Τυρόγαλα	Μίγμα 6% w/v πρωτεΐνη	Μίγμα 8% w/v πρωτεΐνη
Πρωτεΐνη (% w/v)	2,9	6	8
Γαλακτικό οξύ (g/L)	3,59	-	-
Λίπος (% w/w)	-	0,48	0,45
Στερεό Υπόλειμμα (% w/w)	6,47	-	-
Τέφρα (% w/w)	0,69	-	-

## 6.2 Χρόνος Ζύμωσης - Κινητική Ζύμωσης - Μεταβολή pH – Επίδραση Επεξεργασίας Τυρογάλακτος στη Κινητική Ζύμωσης

### 6.2.1 Χρόνος Ζύμωσης

Αρχικά για να ερευνηθεί η πορεία της ζύμωσης των παραγόμενων προϊόντων από τυρόγαλα αναλύονται τα αποτελέσματα των χρόνων που χρειάστηκαν κατά μέσο όρο τα διαφορετικά μίγματα για να ζυμωθούν. Η τιμή pH στην οποία ολοκληρωνόταν η ζύμωση κατά τη διάρκεια των πειραμάτων ήταν 4,8-4,9. Στο **Διάγραμμα 6.2.1** απεικονίζονται οι χρόνοι ζύμωσης, συγκεντρωτικά για όλα τα δείγματα που παράχθηκαν με την εφαρμογή θερμικής, ενζυμικής επεξεργασίας και επεξεργασίας με ΠΗΠ.



**Διάγραμμα 6.2.1:** Χρόνοι Ζύμωσης Παραγόμενων Προϊόντων με Θερμική, Ενζυμική Επεξεργασία και Επεξεργασία με ΠΗΠ και Συμβατικών Γιαουρτιών Τύπου Σετ.

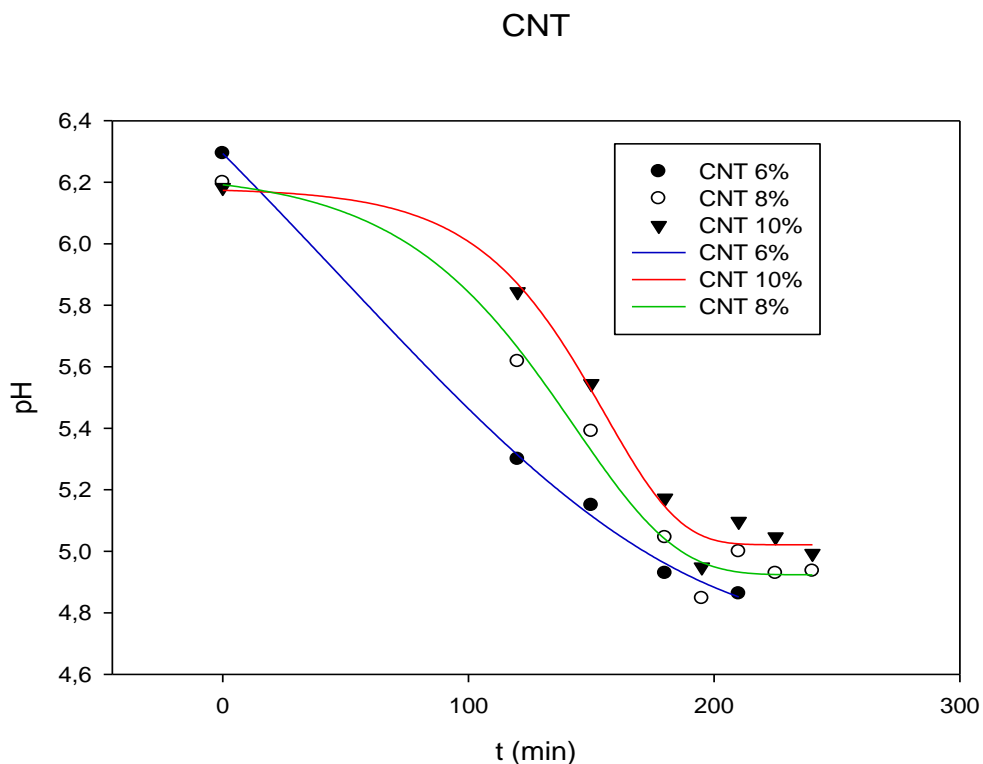
Από το παραπάνω διάγραμμα προκύπτει ότι ταχύτερους χρόνους ζύμωσης εμφάνισαν τα συμβατικά προϊόντα (MILK-CNT, MILK-TG), ενώ για τα ζυμωμένα προϊόντα από τυρόγαλα παρατηρείται αύξηση του χρόνου ζύμωσης (περίπου 1 h παραπάνω). Τα ζυμωμένα προϊόντα από τυρόγαλα, στον οποίων τα μίγματα εφαρμόστηκε ενζυμική επεξεργασία, εμφάνισαν λίγο μικρότερο χρόνο ζύμωσης σε σχέση με τα δείγματα από θερμικά επεξεργασμένα μίγματα (περίπου 15 min λιγότερο). Η εφαρμογή των παλμικών ηλεκτρικών πεδίων των μιγμάτων αύξησε το χρόνο ζύμωσης κατά 30 min σε σχέση με τα θερμικά επεξεργασμένα μίγματα και τα συμβατικά μίγματα, όπου παρατηρήθηκε διαφορά περίπου 1 h και 30 min. Τέλος, το πρωτεϊνικό περιεχόμενο δεν φάνηκε να επηρεάζει σημαντικά το χρόνο ζύμωσης των μιγμάτων.

Συμπερασματικά προκύπτει ότι τα παλμικά ηλεκτρικά πεδία προκαλούν σημαντική αύξηση του χρόνου ζύμωσης και ο λόγος που συμβαίνει αυτό, είναι ότι ίσως επιδρούν στο πρωτεϊνικό σύστημα όπως είναι τα μικκύλια καζεΐνης, και επιβραδύνεται η διαδικασία της ζύμωσης. Η

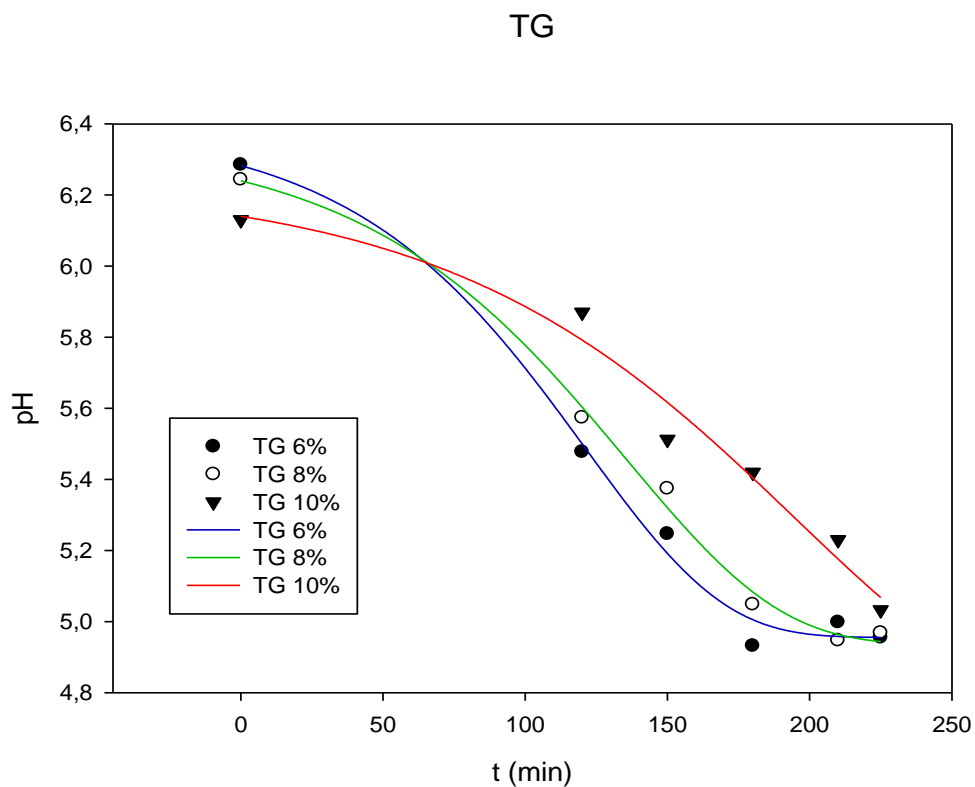
ενζυμική επεξεργασία, ωστόσο φαίνεται να προκαλεί μικρή μείωση του χρόνου ζύμωσης, η οποία ωστόσο δεν κρίνεται ιδιαίτερα σημαντική.

### 6.2.2 Μεταβολή pH κατά την ζύμωση – Καμπύλη Κινητικής Ζύμωσης

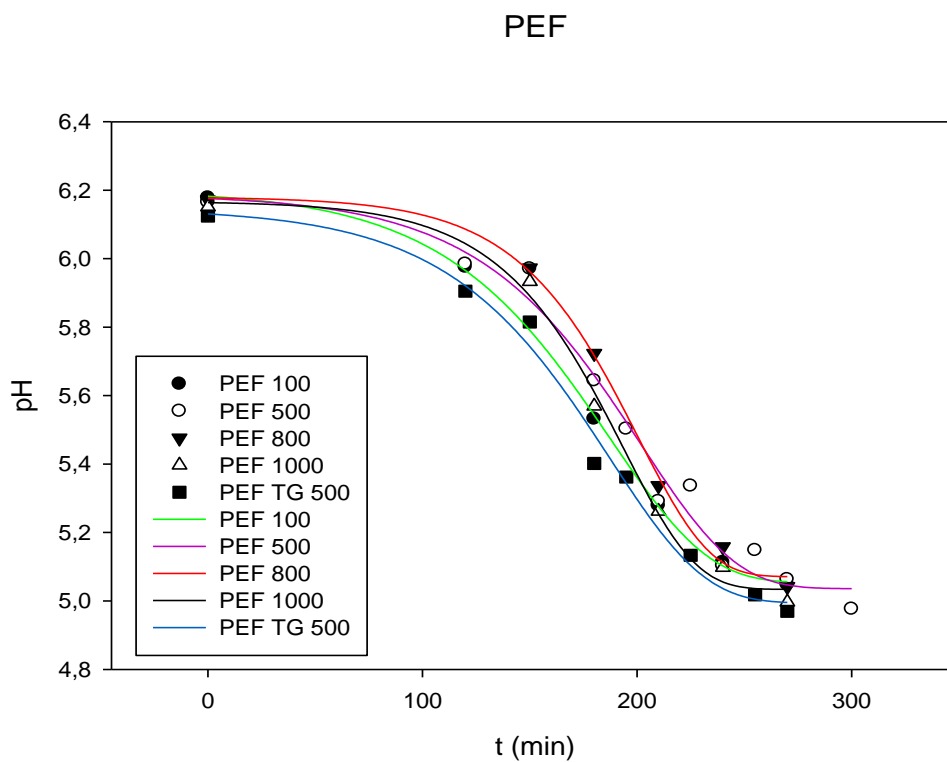
Η μεταβολή του pH κατά τη ζύμωση εκφράζεται με την τροποποιημένη εξίσωση Gompertz (Εξίσωση 5.5) και η οποία αναπαρίσταται με μια σιγμοειδής καμπύλη. Η καμπύλη χωρίζεται σε τρεις φάσεις, όπου στη πρώτη φάση παρατηρείται μικρή μεταβολή του pH (λανθάνουσα φάση), στη δεύτερη φάση όπου γίνεται ραγδαία μείωση του pH και στη τρίτη φάση όπου μειώνεται και πάλι, σταδιακά, η μεταβολή του pH. Η διακύμανση του pH οφείλεται στην αλληλεπίδραση των *S. thermophilus* και *L. bulgaricus* όταν συνδυάζονται για τη ζύμωση των μιγμάτων (ενότητα 2.5). Στα παρακάτω διαγράμματα απεικονίζονται οι σιγμοειδής καμπύλες για τα μίγματα που έχουν υποστεί θερμική (Διάγραμμα 6.2.2.1), ενζυμική (Διάγραμμα 6.2.2.2) επεξεργασία καθώς και επεξεργασία με παλμικά ηλεκτρικά πεδία (Διάγραμμα 6.2.2.3).



**Διάγραμμα 6.2.2.1:** Μεταβολή της τιμής pH συναρτήσει του χρόνου για τα θερμικά επεξεργασμένα μίγματα



**Διάγραμμα 6.2.2.2:** Μεταβολή της τιμής pH συναρτήσει του χρόνου για τα θερμικά και μετέπειτα ενζυμικά επεξεργασμένα μίγματα



**Διάγραμμα 6.2.2.3:** Μεταβολή της τιμής pH συναρτήσει του χρόνου για τα επεξεργασμένα με ΠΗΠ μίγματα

Στα παραπάνω διαγράμματα γίνεται αντιληπτή η σιγμοειδής μορφή της καμπύλης της μεταβολής του pH καθώς και οι τρεις φάσεις, στις οποίες χωρίζεται. Στην πρώτη φάση γίνεται παραγωγή πρωτεολυτικών ενζύμων λόγω της μεταβολικής δραστηριότητας του *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, τα οποία καταλύουν την απελευθέρωση ελεύθερων αμινοξέων που χρησιμοποιούνται μετέπειτα από το *Streptococcus thermophilus* (Τσεβδού 2015). Στη δεύτερη φάση πραγματοποιείται συμβιωτική δράση μεταξύ των μικροοργανισμών και στην τρίτη φάση (ενότητα 2.5 & 2.6) πλέον δρα μόνο ο μικροοργανισμός *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, ο οποίος μειώνει περαιτέρω το pH.

Γενικότερα οι μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν για τη μέτρηση του pH ήταν σχετικά λίγες καθώς απώτερος σκοπός της μέτρησης του pH κατά τη διάρκεια των πειραμάτων ήταν η διερεύνηση του τέλους της ζύμωσης. Για αυτό το λόγο εμφανίζονται κάποια σφάλματα στις καμπύλες όπως για παράδειγμα για τα μίγματα CNT 6% και TG-10% , όπου δεν σχηματίζεται καμπύλη με σιγμοειδής μορφή. Οι συνεχείς μετρήσεις βοηθούν στην καλύτερη προσέγγιση των καμπυλών καθώς στη συγκεκριμένη περίπτωση εμφανίζονται πιο μεγάλες και απότομες μεταβολές μεταξύ των μετρήσεων, και αυτό οδηγεί στην εμφάνιση σφαλμάτων. Ωστόσο για τις υπόλοιπες καμπύλες εμφανίζονται ικανοποιητικά αποτελέσματα, λόγω αύξησης των μετρήσεων pH κατά τη διάρκεια της ζύμωσης.

### 6.2.3 Κινητικές Παράμετροι της Ζύμωσης

Στο **Πίνακα 6.2** απεικονίζεται ο χρόνος λανθάνουσας φάσης και ο μέγιστος ρυθμός μείωσης του pH, για τα τα διαφορετικώς επεξεργασμένα μίγματα, τα οποία προέκυψαν από την εξίσωση τεσσάρων παραμέτρων του Gompertz. Επιπλέον επειδή τα μίγματα CNT-6% και TG-10%, δεν απέδωσαν καμπύλη pH σιγμοειδή μορφής στην υποενότητα 6.2.2 λόγω υψηλών σφαλμάτων, δεν συμπεριλήφθηκε ο χρόνος λανθάνουσας φάσης και ο μέγιστος ρυθμός μείωσης του pH τους στο **Πίνακα 6.2**.

Ο χρόνος της λανθάνουσας φάσης αυξάνεται σημαντικά με την εφαρμογή των παλμικών ηλεκτρικών πεδίων, ενώ η ενζυμική επεξεργασία προκαλεί σχετικά μικρή επίδραση στη λανθάνουσα φάση. Συγκεκριμένα, η λανθάνουσα φάση στα μίγματα που είναι επεξεργασμένα με παλμικά ηλεκτρικά πεδία αυξάνεται περίπου κατά 45 min, ενώ στα μίγματα που έχουν υποστεί και ενζυμική επεξεργασία κατά 6 min (μίγματα TG\_8% - CNT\_8%), σε σχέση με τα αντίστοιχα θερμικά επεξεργασμένα μίγματα. Ωστόσο, για το μίγμα PEF\_TG\_500 η λανθάνουσα φάση μειώθηκε κατά 14 min σε σχέση με το PEF\_500.

Από τα αποτελέσματα φάνηκε ότι τον μεγαλύτερο μέγιστο ρυθμό μείωσης της τιμής του pH εμφάνισαν τα θερμικά επεξεργασμένα μίγματα και ότι η ενζυμική επεξεργασία και τα παλμικά ηλεκτρικά πεδία προκαλούν ελάττωση της τιμής της παραμέτρου αυτής. Ωστόσο να σημειωθεί ότι όλα τα μίγματα εμφανίζουν μεγάλες τυπικές αποκλίσεις, οι οποίες είναι σχετικά ίσες μεταξύ τους, και αυτό οφείλεται στα συσσωρευμένα σφάλματα που υπήρξαν στις παραμέτρους που υπολογίστηκαν από την εξίσωση Gompertz. Τα σφάλματα αυτά, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, οφείλονται στον μικρό αριθμό μετρήσεων του pH κατά την διάρκεια των πειραμάτων. Παρόλο αυτά, μπορούν να προκύψουν κάποια γενικά συμπεράσματα ως προς τη συμπεριφορά του μέγιστου ρυθμού μείωσης του pH ως προς τις μεθόδους επεξεργασίας. Από τα μίγματα PEF, λοιπόν, σημαντική ελάττωση του μέγιστου ρυθμού μείωσης του pH εμφανίζουν τα μίγματα PEF\_100 και PEF\_500, και αυτό μπορεί να διαπιστωθεί και από τον

αυξημένο χρόνο ζύμωσης που εμφανίζουν τα μίγματα αυτά (Πίνακα 6.2). Επιπλέον όσον αφορά το πρωτεϊνικό περιεχόμενο, στα θερμικά επεξεργασμένα μίγματα εμφανίζεται αύξηση του μέγιστου ρυθμού μείωσης του pH αυξανόμενου του πρωτεϊνικού περιεχομένου των μιγμάτων, ενώ στα μίγματα TG συμβαίνει το αντίστροφο. Τέλος, το μίγμα PEF\_TG\_500 εμφανίζει ίδια τιμή μέγιστου ρυθμού μείωσης της τιμής του pH με το PEF\_500.

**Πίνακας 6.2 :** Λανθάνουσα Φάση και Μέγιστος ρυθμός μείωσης της τιμής του pH

<b>6% w/v Πρωτεϊνική Περιεκτικότητα</b>	<b>Χρόνος λανθάνουσας φάσης (λ, min)</b>	<b>Μέγιστος ρυθμός μείωσης της τιμής του pH (μ, pH/min)</b>
6% - TG	169 ± 8,42	-0,0110 ± 0,0038
<b>8% w/v Πρωτεϊνική Περιεκτικότητα</b>	<b>Χρόνος λανθάνουσας φάσης (λ, min)</b>	<b>Μέγιστος ρυθμός μείωσης της τιμής του pH (μ, pH/min)</b>
8% - CNT	184 ± 4,27	-0,012 ± 0,0040
8% - TG	190 ± 7,52	-0,0096 ± 0,0039
<b>10% w/v Πρωτεϊνική Περιεκτικότητα</b>	<b>Χρόνος λανθάνουσας φάσης (λ, min)</b>	<b>Μέγιστος ρυθμός μείωσης της τιμής του pH (μ, pH/min)</b>
10% - CNT	185 ± 1,35	-0,014 ± 0,0049
<b>Επεξεργασία PEF</b>	<b>Χρόνος λανθάνουσας φάσης (λ, min)</b>	<b>Μέγιστος ρυθμός μείωσης της τιμής του pH (μ, pH/min)</b>
PEF-100	233± 0,681	-0,0092 ± 0,0037
PEF-500	245± 2,24	-0,0096 ± 0,0043
PEF-800	233± 0,72	-0,012 ± 0,0048
PEF-1000	227 ± 1,20	-0,012 ± 0,0046
<b>Επεξεργασία PEF-TG</b>	<b>Χρόνος λανθάνουσας φάσης (λ, min)</b>	<b>Μέγιστος ρυθμός μείωσης της τιμής του pH (μ, pH/min)</b>
PEF-TG-500	231 ± 2,35	-0,0096 ± 0,0040

Οι τιμές είναι μέσοι όροι ± τυπική απόκλιση διαφορετικών πειραμάτων.

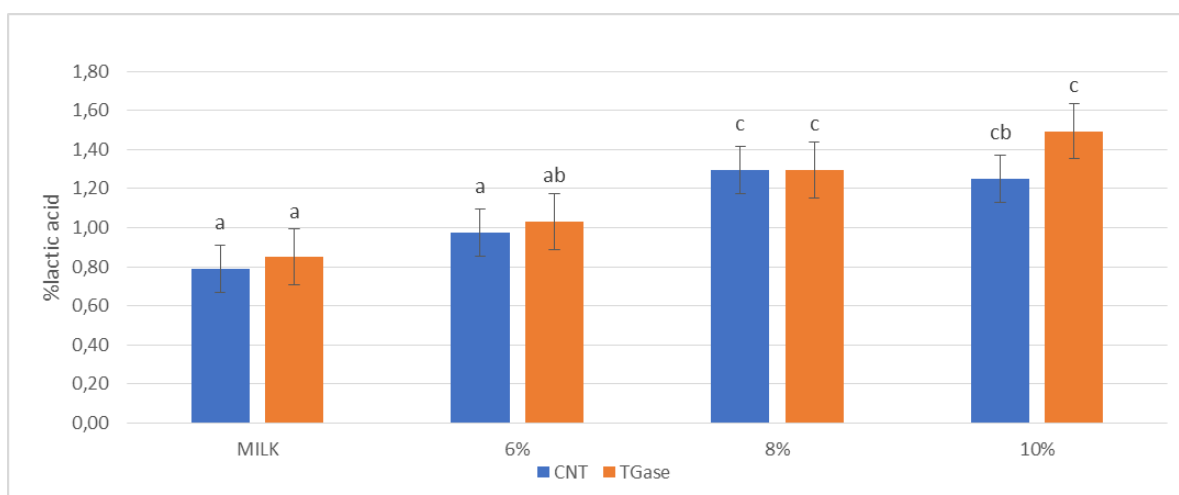
## 6.3 Επίδραση Πρωτεϊνικού Περιεχομένου – Επεξεργασίας του Τυρογάλακτος στα Φυσικοχημικά Χαρακτηριστικά των Παραγόμενων Ζυμωμένων Προϊόντων

Αρχικά αναλύονται τα αποτελέσματα που προήλθαν από φυσικοχημικές αναλύσεις στα παραγόμενα προϊόντα, τα οποία προέκυψαν ύστερα από την εφαρμογή απλής θερμικής επεξεργασίας (CNT) καθώς και μιγμάτων τυρογάλακτος που υπέστησαν και μετέπειτα ενζυμική επεξεργασία (TG). Επίσης στα διαγράμματα έχουν ενσωματωθεί τα αντίστοιχα αποτελέσματα από τις αναλύσεις στα συμβατικά γιαούρτια που παρασκευάστηκαν από εμπορικό αγελαδινό γάλα, ώστε να συγκριθούν με τα αντίστοιχα από τυρόγαλα.

### 6.3.1 Τιτλοδοτούμενη Οξύτητα

Η οξύτητα μετρήθηκε για τα παραγόμενα προϊόντα με βάση τη ποσοστιαία περιεκτικότητα τους σε γαλακτικό οξύ και τα αποτελέσματα που προέκυψαν για τα δείγματα από θερμικά ή/και ενζυμικά επεξεργασμένα μίγματα απεικονίζονται στο **Διάγραμμα 6.3.1**.

Όπως προκύπτει από το διάγραμμα της τιτλοδοτούμενης οξύτητας και του στατιστικού ελέγχου που πραγματοποιήθηκε (ANOVA, Duncan), δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ως προς την τιτλοδοτούμενη οξύτητα μεταξύ των δειγμάτων από θερμικά επεξεργασμένα ή/και ενζυμικά επεξεργασμένα μίγματα. Οι μέσες τιμές της τιτλοδοτούμενης οξύτητας μεταξύ CNT και TGase δειγμάτων δεν παρουσιάζουν διαφορές μεταξύ τους. Ωστόσο, όσον αφορά το πρωτεϊνικό περιεχόμενο, παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0,001$ ) μεταξύ των δειγμάτων διαφορετικής πρωτεϊνικής περιεκτικότητας. Παρατηρείται ότι αυξάνοντας την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη αυξάνεται και η τιτλοδοτούμενη οξύτητα, ωστόσο όμως τα δείγματα με περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη 8% w/v και 10% w/v δεν παρουσιάζουν σημαντική διαφορά μεταξύ τους. Επιπλέον τα δείγματα 8% w/v και 10% w/v παρουσιάζουν στατιστική διαφορά με τα δείγματα MILK και 6% w/v, όπου τα τελευταία διαφέρουν σε μικρό βαθμό μεταξύ τους.



**Διάγραμμα 6.3.1** : Επίδραση του Πρωτεϊνικού Περιεχομένου και της Επεξεργασίας του Τυρογάλακτος στην τιτλοδοτούμενη οξύτητα (% γαλακτικού οξέος) των παραγόμενων προϊόντων



Συμπερασματικά η τιτλοδοτούμενη οξύτητα δεν διαφοροποιείται ανάλογα με τη μέθοδο επεξεργασίας (θερμική ή/και με TGase) αλλά μεταβάλλεται ανάλογα με το πρωτεϊνικό περιεχόμενο. Επιπλέον τα δείγματα που προσεγγίζουν, ως προς την τιτλοδοτούμενη οξύτητα, περισσότερο τα συμβατικά γιαούρτια από αγελαδινό γάλα είναι εκείνα με περιεκτικότητα 6% w/v σε πρωτεΐνη.

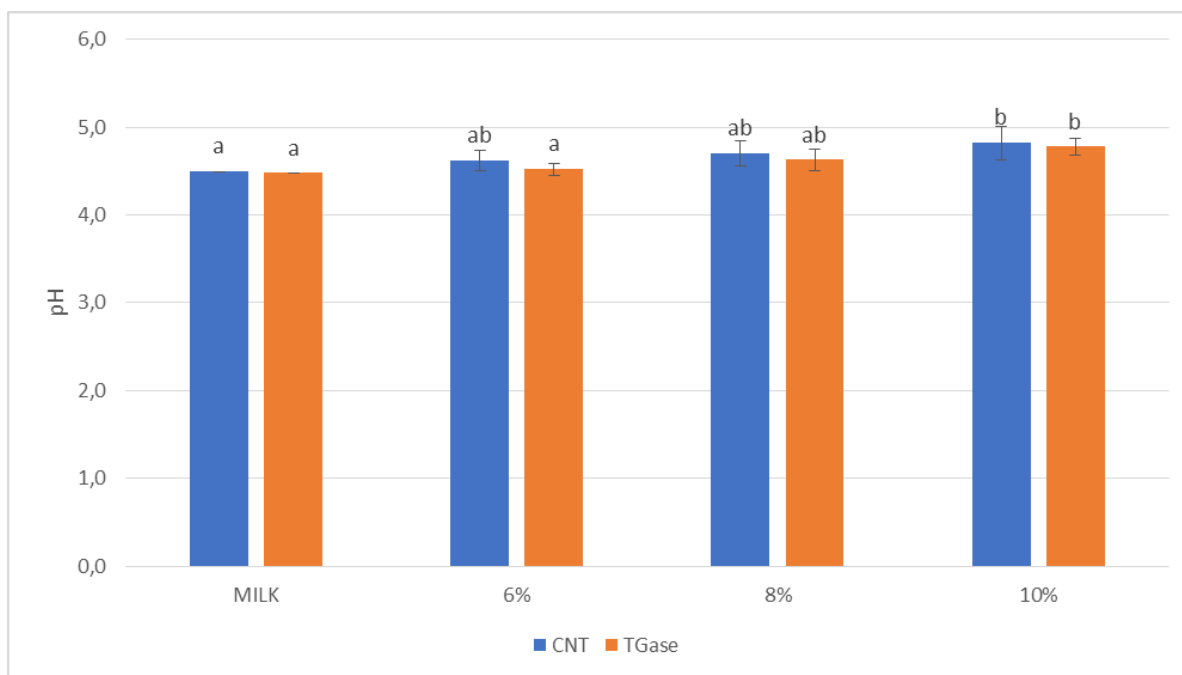
Ανάλογα αποτελέσματα για την τιτλοδοτούμενη οξύτητα, όσον αφορά το ενζυμικό περιεχόμενο προέκυψαν και από τις έρευνες των Gauche et. al (2009) για γιαούρτι αναλογίας γάλα-τυρόγαλα, 80:30, και από τους Neve et. al. (2001) για γιαούρτια τύπου-σετ από γάλα. Συγκεκριμένα δεν παρατήρησαν σημαντικές μεταβολές στη τιτλοδοτούμενη οξύτητα λόγω της προσθήκης του ενζύμου.

Επιπλέον οι Tsevdou et al. (2013a) παρατήρησαν αύξηση της οξύτητας με βάση το πρωτεϊνικό περιεχόμενο για δείγματα με περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη 3,00% και 3,40%.

### 6.3.2 pH τελικού προϊόντος

Το pH του τελικού προϊόντος μετρήθηκε ώστε να διαπιστωθεί η μετα-οξίνιση των δειγμάτων λόγω της ψύξης τους αμέσως μετά το πέρας της ζύμωσης και της αποθήκευσης τους για 1 ημέρα στη θερμοκρασία των 4-5°C. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν για τα δείγματα από θερμικά ή/και ενζυμικά επεξεργασμένα μίγματα και τα συμβατικά προϊόντα απεικονίζονται στο **Διάγραμμα 6.3.2**.

Όπως προκύπτει από το διάγραμμα του pH και του στατιστικού ελέγχου που πραγματοποιήθηκε (ANOVA, Duncan), δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ως προς την τελική τιμή pH μεταξύ των δειγμάτων από θερμικά επεξεργασμένα ή/και ενζυμικά επεξεργασμένα μίγματα. Ως προς την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0,01$ ), δηλαδή με αύξηση της περιεχόμενης πρωτεΐνης αυξάνεται και το τελικό pH των παραγόμενων προϊόντων. Όσον αφορά τα δείγματα MILK, όπως προκύπτει από τη δοκιμή Duncan για τις δύο σχεδιαστικές παραμέτρους (πρωτεϊνικό περιεχόμενο και επεξεργασία μιγμάτων), έχουν στατιστικά σημαντική διαφορά από τα δείγματα 10% w/v, ενώ με τα υπόλοιπα δεν εμφανίζουν ιδιαίτερες διαφορές.



**Διάγραμμα 6.3.2 :** Επίδραση του Πρωτεϊνικού Περιεχομένου και της Επεξεργασίας του Τυρογάλακτος στο τελικό pH των παραγόμενων προϊόντων

Συμπερασματικά η τελική τιμή pH των δειγμάτων δεν επηρεάζεται από το είδος της επεξεργασίας που πραγματοποιείται στο τυρόγαλα (ή γάλα), αλλά μεταβάλλεται ανάλογα το πρωτεϊνικό περιεχόμενο. Τα δείγματα 10% w/v από τυρόγαλα ως πρώτη ύλη έχουν μεγαλύτερη τελική τιμή pH, η οποία διαφέρει στατιστικά σημαντικά από τα δείγματα με πρώτη ύλη το γάλα.

Η τελική τιμή pH εμφανίζει κάποιες αποκλίσεις σε σχέση με την τιτλοδοτούμενη οξύτητα που προέκυψε στην υποενότητα 6.3.1. Το γεγονός αυτό πιθανόν να οφείλεται σε σφάλματα όσον αφορά το όργανο μέτρησης αλλά και τη θερμοκρασία που είχαν τα δείγματα όταν μετρήθηκαν.

### Συσχέτιση pH στο τέλος της ζύμωσης – pH τελικού προϊόντος

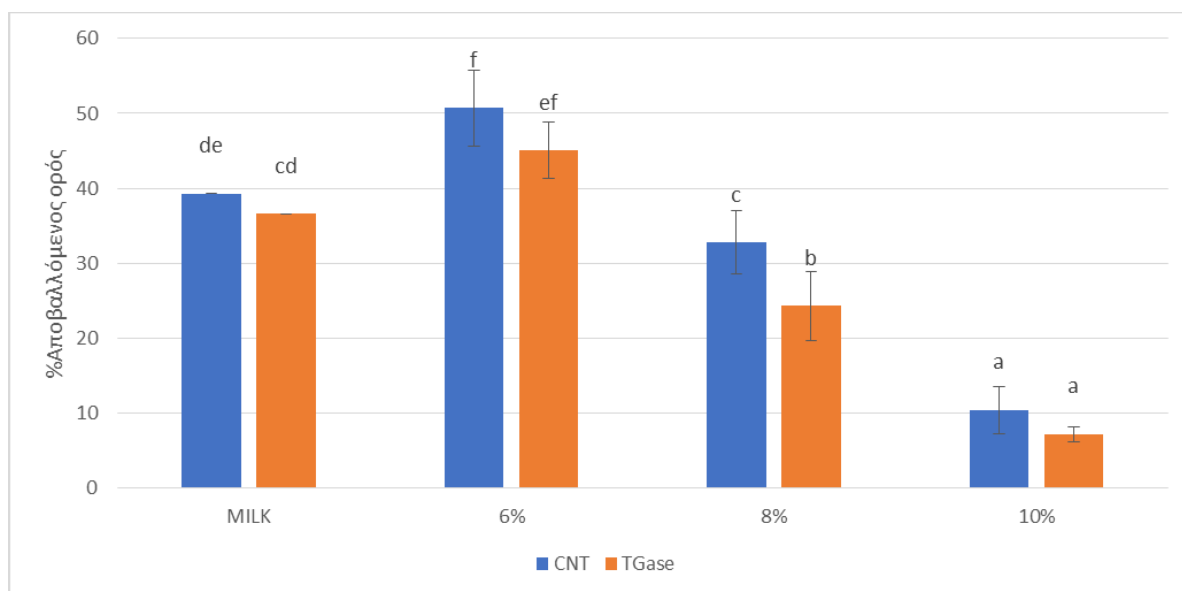
Η τιμή pH του τελικού προϊόντος (ενότητα 6.2) διαφέρει από την τιμή pH που μετρήθηκε στο τέλος της ζύμωσης, γεγονός το οποίο ήταν αναμενόμενο. Μετά τη ζύμωση και κατά την ψύξη των παραγόμενων δειγμάτων, και έως ότου τα δείγματα να αποκτήσουν την επιθυμητή θερμοκρασία ψύξης, συνεχίζεται η δράση της καλλιέργειας εκκίνησης και έπειτα ακολουθεί μία περίοδος μετα-οξίνισης, όπως έχει αναφερθεί στην ενότητα 2.6. Επιπλέον το τελικό pH που εμφανίζει μετά την ψύξη του κάθε προϊόν εξαρτάται άμεσα από το pH, στο οποίο σταμάτησε η ζύμωση καθώς και από ζητήματα όπως η θερμοκρασία ψύξης, η οποία μπορεί να μεταβληθεί σε περίπτωση υπερφορτωμένου ψυγείου ή τοποθέτηση των προϊόντων σε διαφορετική θέση μέσα σε αυτό. Για αυτό το λόγο τυχόν διακυμάνσεις της τελικής τιμής του pH πιθανόν να οφείλονται στους παραπάνω παράγοντες.

### 6.3.3 Συναίρεση

Η συναίρεση μετρήθηκε μέσω του ποσοστού του αποβαλλόμενου ορού που διαχωρίστηκε έπειτα από 3 h ηρεμίας σε κλίβανο των 5°C και τα αποτελέσματα που προέκυψαν για τα

δείγματα από θερμικά ή/και ενζυμικά επεξεργασμένα μίγματα απεικονίζονται στο **Διάγραμμα 6.3.3**.

Όπως προκύπτει από το διάγραμμα της συναίρεσης και του στατιστικού ελέγχου που πραγματοποιήθηκε (ANOVA, Duncan), υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δειγμάτων από θερμικά επεξεργασμένα ή/και ενζυμικά επεξεργασμένα μίγματα ( $p < 0,01$ ). Συγκεκριμένα, τα δείγματα TGase παρουσιάζουν σημαντικά μικρότερη συναίρεση, δηλαδή ποσοστό αποβαλλόμενου ορού, σε σχέση με τα CNT δείγματα (Στατιστικός μέσος όρος: TGase = 28,27%, CNT = 33,29%). Όσον αφορά την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη, παρατηρείται σημαντική επίδραση στη συναίρεση ( $p < 0,001$ ), δηλαδή με την αύξηση του πρωτεϊνικού περιεχομένου παρατηρείται ελάττωση του διαχωριζόμενου ορού (Στατιστικός μέσος όρος: 10% w/v = 8,77%, 8% w/v = 28,52%, 6% w/v = 47,89%). Από ξεχωριστή ανάλυση Duncan για καθεμία από τις δύο παραμέτρους, διακρίνεται ότι τα δείγματα 10% w/v, CNT ή TGase, δεν εμφανίζουν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους, σε αντίθεση με τα δείγματα 8% w/v. Τα δείγματα MILK δεν διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους και το MILK-CNT έχει κοντινή τιμή με το 6%- TG, ενώ το MILK-TG αντιστοιχεί με αυτή του 8%-CNT. Γενικά τα δείγματα MILK ως προς την συναίρεση βρίσκονται σε τιμές μεταξύ των δειγμάτων περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη 8% w/v και 6% w/v (Στατιστικός μέσος όρος: MILK=37,95%).



**Διάγραμμα 6.3.3** : Επίδραση του Πρωτεϊνικού Περιεχομένου και της Επεξεργασίας του Τυρογάλακτος στο ποσοστό του Αποβαλλόμενου Ορού των παραγόμενων προϊόντων

Συμπερασματικά η συναίρεση των παραγόμενων προϊόντων επηρεάζεται τόσο από την επεξεργασία του γάλακτος όσο και από την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη. Η ενζυμική επεξεργασία και η υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη οδηγεί σε μείωση του αποβαλλόμενου ορού, σε ποσοστό αρκετά μικρότερο από εκείνο που προκύπτει από τα συμβατικά γιαούρτια από αγελαδινό γάλα.

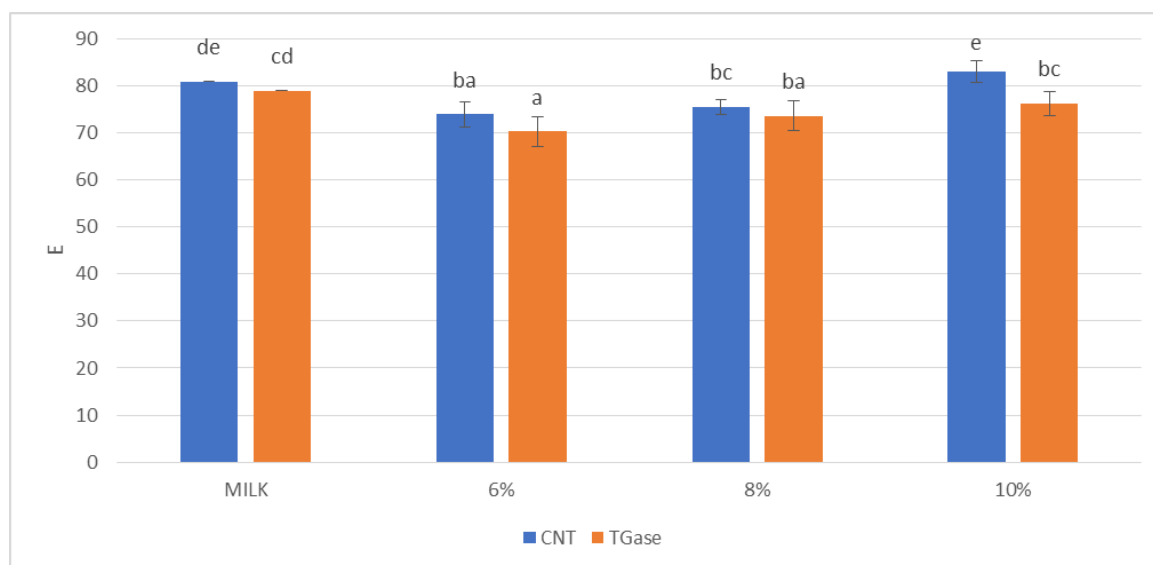
Η επίδραση του ενζύμου τρανσγλουταμινάση στη μείωση της συναίρεσης έχει μελετηθεί ιδιαίτερα, λόγω της ποιοτικής υποβάθμισης που προκαλεί η συναίρεση στο τρόφιμο. Όπως αναφέρθηκε και στη θεωρία, τα πειράματα που έχουν πραγματοποιηθεί κυρίως στο συμβατικό γιαούρτι έχουν δείξει ότι το ένζυμο επιτυγχάνει σημαντική ελάττωση του αποβαλλόμενου ορού (Gauche et. al 2009, Neve et. al. 2001, Oner et. al. 2008, Tsevdou et al. 2013a). Από την

άλλη μεριά, η αύξηση του πρωτεϊνικού περιεχομένου αποτελεί μία από τις μεθόδους μείωσης της συναίρεσης όπως αναλύθηκε στην ενότητα 2.9.

#### 6.3.4 Χρώμα

Το χρώμα μετρήθηκε με το χρωματόμετρο Minolta ώστε να διαπιστωθεί αυτή η σημαντική ποιοτική παράμετρος και να συγκριθεί με το χρώμα του συμβατικού γιαουρτιού από γάλα. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν για τα δείγματα από θερμικά ή/και ενζυμικά επεξεργασμένα μίγματα απεικονίζονται στο **Διάγραμμα 6.3.4**.

Όπως προκύπτει από το διάγραμμα της τιμής του χρώματος και του στατιστικού ελέγχου που πραγματοποιήθηκε (ANOVA, Duncan), υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0,01$ ) μεταξύ των δειγμάτων από θερμικά επεξεργασμένα και ενζυμικά επεξεργασμένα μίγματα. Συγκεκριμένα, τα δείγματα TGase παρουσιάζουν μικρότερη τιμή χρώματος, E, σε σχέση με τα δείγματα CNT (Στατιστικός μέσος όρος: TGase= 74,79, CNT =78,36). Το πρωτεϊνικό περιεχόμενο έχει στατιστικά σημαντική επίδραση ( $p < 0,001$ ) στο χρώμα των παραγόμενων δειγμάτων, για τα οποία αυξανόμενης της ποσότητας της περιεχόμενης πρωτεΐνης αυξάνεται και το χρώμα. Από την ανάλυση Duncan για όλα τα δείγματα, και για τις δύο σχεδιαστικές παραμέτρους, προκύπτει ότι στατιστικά σημαντικά διαφέρουν τα δείγματα 6%-TG και 10%-CNT. επίσης, το δείγμα MILK-CNT δεν διαφέρει σημαντικά με το 10%-CNT και το MILK-TG, αντίστοιχα με το 10%-TG και 8%-CNT.



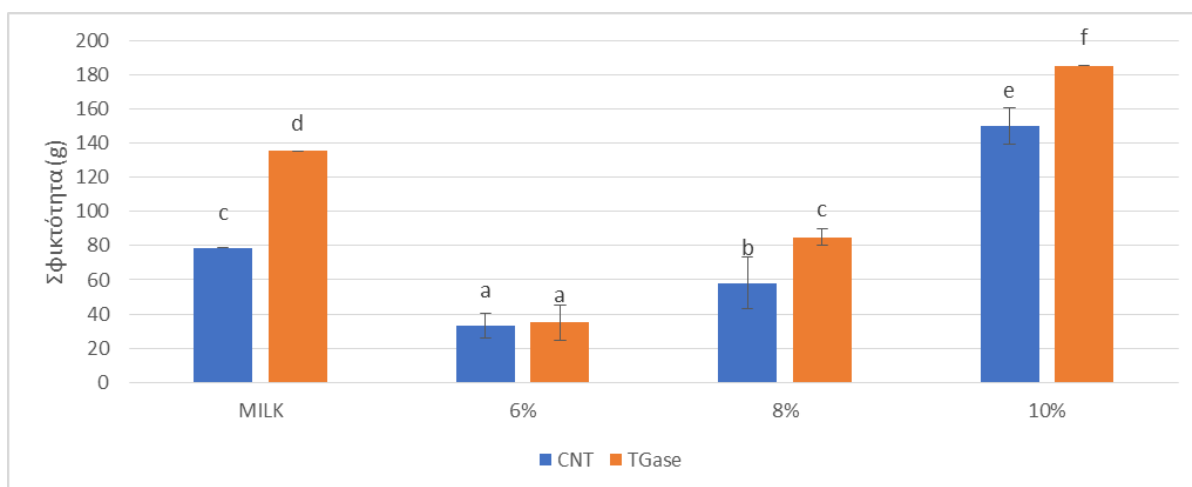
**Διάγραμμα 6.3.4 :** Επίδραση του Πρωτεϊνικού Περιεχομένου και της Επεξεργασίας του Τυρογάλακτος στο Χρώμα (E) των παραγόμενων προϊόντων

Συμπερασματικά, η επεξεργασία του τυρογάλακτος με TGase και το πρωτεϊνικό περιεχόμενο επιδρά στο χρώμα των παραγόμενων προϊόντων, παρουσιάζοντας μείωση με την ενζυμική προεπεξεργασία και αύξηση με την προσθήκη επιπλέον πρωτεΐνης. Οι τιμές του χρώματος των δειγμάτων με περιεκτικότητα 10% w/v σε πρωτεΐνη προσεγγίζουν το χρώμα των συμβατικών γιαουρτιών από γάλα, ανεξαρτήτως της ενζυμικής προεπεξεργασίας.

### 6.3.5 Ιδιότητες Υφής

Η **σφικτότητα** αποτελεί βασικό χαρακτηριστικό που ερευνάται κατά τη μελέτη υφής των προϊόντων και αποτελεί μέτρο της δύναμης που χρειάζεται για να διασπαστεί το τρόφιμο. Από την αντίστοιχη ανάλυση υφής που πραγματοποιήθηκε για τα παραγόμενα καινοτόμα προϊόντα, υπολογίστηκε η πηκτικότητα τους και τα αποτελέσματα που προέκυψαν για τα δείγματα από θερμικά ή/και ενζυμικά επεξεργασμένα μίγματα απεικονίζονται στο **Διάγραμμα 6.3.5.1**.

Όπως προκύπτει από το διάγραμμα της σφικτότητας και του στατιστικού ελέγχου που πραγματοποιήθηκε (ANOVA, Duncan), υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0,001$ ) μεταξύ των δειγμάτων από θερμικά επεξεργασμένα και ενζυμικά επεξεργασμένα μίγματα. Συγκεκριμένα, η ενζυμική προεπεξεργασία οδήγησε σε αύξηση της σφικτότητας των παραγόμενων προϊόντων (Στατιστικός μέσος όρος: CNT= 79,95 g, TGase= 110,11 g). Όσον αφορά το πρωτεϊνικό περιεχόμενο, εμφανίζεται επίσης στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0,001$ ) μεταξύ των δειγμάτων με διαφορετικές περιεκτικότητες πρωτεϊνών. Όσο αυξάνεται η περιεκτικότητα της περιεχόμενης πρωτεΐνης, τόσο πιο πηκτά και σφιχτά γίνονται τα παραγόμενα προϊόντα (Στατιστικός μέσος όρος: 6% w/v = 34,14 g, 8% w/v = 71,50 g, 10% w/v = 167,56 g). Αξίζει να σημειωθεί ότι τα δείγματα με 6% w/v και 8% w/v πρωτεΐνη είναι λιγότερο σφιχτά από τα δείγματα MILK (Στατιστικός μέσος όρος: MILK= 106,92 g), σε αντίθεση με τα δείγματα με 10% w/v πρωτεΐνη. Από την ανάλυση Duncan για όλα τα δείγματα, και για τις δύο σχεδιαστικές παραμέτρους προκύπτει ότι, τα δείγματα 6%CNT και 6%TG δεν εμφανίζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές, καθώς και ότι τα δείγματα MILK-CNT και 8%-TG εμφανίζουν μικρές διαφορές μεταξύ τους.

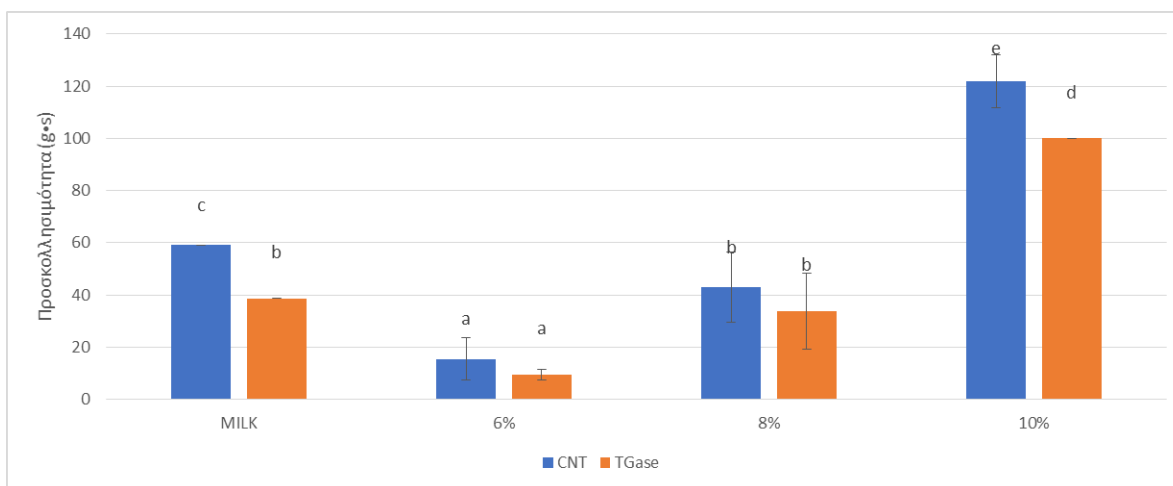


**Διάγραμμα 6.3.5.1 :** Επίδραση του Πρωτεϊνικού Περιεχομένου και της Επεξεργασίας του Τυρογάλακτος στη Σφικτότητα των παραγόμενων προϊόντων

Συμπερασματικά, η επεξεργασία του τυρογάλακτος με TGase και το πρωτεϊνικό περιεχόμενο επιδρά στην σφικτότητα των παραγόμενων προϊόντων. Η σφικτότητα αυξάνεται με την ενζυμική προεπεξεργασία καθώς και με την αύξηση της περιεχόμενης πρωτεΐνης, και μάλιστα γίνεται μεγαλύτερη από την αντίστοιχη των συμβατικών γιαουρτιών με γάλα, σε περιεκτικότητα πρωτεΐνης 10% w/v. Η σφικτότητα όπως διαπίστωσαν οι Gauche et. al (2009) και Neve et. al. (2001), αυξήθηκε σημαντικά με την ενζυμική επεξεργασία για το γιαούρτι από μίγμα γάλα-τυρόγαλα (70:30) και το συμβατικό γιαούρτι από γάλα, αντίστοιχα.

Η **προσκολλησιμότητα** είναι το έργο που απαιτείται για την απομάκρυνση ενός τροφίμου από την επιφάνεια και υπολογίστηκε από τα διαγράμματα της ανάλυσης υφής. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν για τα δείγματα από θερμικά ή/και ενζυμικά επεξεργασμένα μίγματα απεικονίζονται στο **Διάγραμμα 6.3.5.2**

Όπως προκύπτει από το διάγραμμα της προσκολλησιμότητας και του στατιστικού ελέγχου που πραγματοποιήθηκε (ANOVA, Duncan), υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0,001$ ) ως προς την προσκολλησιμότητα μεταξύ των δειγμάτων από θερμικά επεξεργασμένα και ενζυμικά επεξεργασμένα μίγματα. Συγκεκριμένα, ύστερα από ενζυμική προεπεξεργασία με TGase παρατηρείται μείωση της προσκολλησιμότητας σε σχέση με αυτή των δειγμάτων από θερμικά επεξεργασμένα μίγματα (Στατιστικός μέσος όρος: TGase=45,49 g·s, CNT= 59,84 g·s). Η πρωτεϊνική περιεκτικότητα έχει σημαντική επίδραση ( $p < 0,001$ ) στην προσκολλησιμότητα των προϊόντων, δηλαδή όπως φαίνεται και στο διάγραμμα, αυξάνοντας το πρωτεϊνικό περιεχόμενο του μίγματος, αυξάνεται και η προσκολλησιμότητα (Στατιστικός μέσος όρος: 6% w/v =12,44 g·s, 8% w/v = 38,32 g·s, 10% w/v =110,96 g·s). Η προσκολλησιμότητα των δειγμάτων MILK βρίσκεται ανάμεσα σε εκείνη των δειγμάτων 8% w/v και 10% w/v (Στατιστικός μέσος όρος: MILK= 48,96 g·s). Από την ανάλυση Duncan για όλα τα δείγματα και για τις δύο σχεδιαστικές παραμέτρους προέκυψε ότι, τα δείγματα 6% CNT και 6%TG δεν διαφέρουν μεταξύ τους, ομοίως και τα 8%CNT και 8%TG, σε αντίθεση με τα δείγματα MILK και 10% w/v. Επίσης, παρόμοιες τιμές προσκολλησιμότητας με τα συμβατικά δείγματα από γάλα εμφανίζουν τα δείγματα με 8% w/v πρωτεΐνη, ανεξαρτήτως της ενζυμικής προεπεξεργασίας.



**Διάγραμμα 6.3.5.2 :** Επίδραση του Πρωτεϊνικού Περιεχομένου και της Επεξεργασίας του Τυρογάλακτος στην Προσκολλησιμότητα των παραγόμενων προϊόντων

Συμπερασματικά, η ενζυμική προεπεξεργασία με TGase του τυρογάλακτος οδηγεί σε μείωση της προσκολλησιμότητας των παραγόμενων προϊόντων, ενώ αντίθετα η αύξηση του πρωτεϊνικού περιεχομένου των μιγμάτων οδηγεί σε αύξηση της προσκολλησιμότητας των δειγμάτων, και μάλιστα υψηλότερη από την αντίστοιχη των συμβατικών δειγμάτων MILK. Οι πλησιέστερες τιμές προσκολλησιμότητας από τα καινοτόμα προϊόντα σε σχέση με τα συμβατικά δείγματα από γάλα προκύπτουν για τα δείγματα με περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη 8% w/v.

Όπως προκύπτει από τα αποτελέσματα των Tsevdou et al. (2013a), η προσκολλησιμότητα φαίνεται να μειώθηκε για τα γιαούρτια από ενζυμικά επεξεργασμένο γάλα με πρωτεϊνικό περιεχόμενο 3,00% και 3,40%. Ωστόσο, οι Gauche et. al (2009) δεν παρατήρησαν σημαντική μεταβολή για τα δείγματα από μίγμα γάλα-τυρόγαλα (70:30).

Από την ανάλυση υφής προέκυψαν αποτελέσματα για τη **συνεκτικότητα, τη ελαστικότητα και το κομμιώδες** για τα δείγματα από θερμικά ή/και ενζυμικά επεξεργασμένα μίγματα, και τα οποία απεικονίζονται στον **Πίνακα 6.3**.

Η **συνεκτικότητα** φανερώνει το πόσο καλή είναι η δομή του προϊόντος ως προς την σύνδεση των εσωτερικών δεσμών που το αποτελούν (αδιάστατο μέγεθος). Όπως προκύπτει από τον **Πίνακα 6.3** και το στατιστικό έλεγχο που πραγματοποιήθηκε (ANOVA, Duncan), υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0,05$ ) ως προς την συνεκτικότητα μεταξύ των δειγμάτων από θερμικά επεξεργασμένα και ενζυμικά επεξεργασμένα μίγματα. Τα καινοτόμα προϊόντα που παράχθηκαν από ενζυμικά επεξεργασμένα μίγματα προέκυψαν πιο συνεκτικά σε σχέση με τα δείγματα από θερμικά επεξεργασμένα μίγματα (Στατιστικός μέσος όρος: CNT=0,53, TG=0,56). Το πρωτεϊνικό περιεχόμενο επιδρά σημαντικά ( $p < 0,001$ ) στη συνεκτικότητα των προϊόντων, δηλαδή αυξάνοντας την περιεκτικότητα της πρωτεΐνης μειώνεται η συνεκτικότητα. Από την ανάλυση Duncan για όλα τα δείγματα και για τις δύο σχεδιαστικές παραμέτρους προκύπτει ότι, τα δείγματα 8% CNT και 8%TG δεν διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους αλλά και ούτε με το 10% TG. Τα δείγματα MILK προσεγγίζουν την συνεκτικότητα των δειγμάτων περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη 10% w/v, και το MILK-TG δεν παρουσιάζει μεγάλες διαφορές με τα δείγματα 8% w/v.

Συμπερασματικά, η συνεκτικότητα επηρεάζεται από την εφαρμογή ή όχι της ενζυμικής προεπεξεργασίας καθώς και από τις διαφορετικές περιεκτικότητες σε πρωτεΐνη. Η ενζυμική προεπεξεργασία με TGase οδηγεί σε αύξηση της συνεκτικότητας, ωστόσο όμως η αύξηση της περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη, προκαλεί μείωση της συνεκτικότητας των δειγμάτων. Τα δείγματα 8% w/v και 10% w/v κυμαίνονται σε παρόμοιες τιμές συνεκτικότητας με τα συμβατικά δείγματα γιαουρτιού από γάλα.

Η **ελαστικότητα** θεωρείται το ποσοστό στο οποίο ένα τρόφιμο αποκτά το αρχικό του μέγεθος μετά το πέρας της συμπίεσης και υπολογίζεται και αυτό από την ανάλυση υφής. Στην περίπτωση της ελαστικότητας από την ανάλυση ANOVA δεν προέκυψαν στατιστικά σημαντικές διαφορές, ούτε μεταξύ των δειγμάτων από θερμικά επεξεργασμένα και ενζυμικά επεξεργασμένα μίγματα, αλλά ούτε και μεταξύ των δειγμάτων διαφορετικού πρωτεϊνικού περιεχομένου. Η τιμή γενικά της ελαστικότητας ήταν στην πλειοψηφία των δειγμάτων περίπου ίση με  $0,94 \pm 0,06$ .

Ανάλογα συμπεράσματα προέκυψαν και από τα συμβατικά γιαούρτια τύπου σεντ στα μίγματα των οποίων πραγματοποιήθηκε θερμική ή/και ενζυμική προεπεξεργασία και είχαν δείκτη ελαστικότητας  $0,94 \pm 0,01$ , αποτελέσματα τα οποία είναι σε συμφωνία με προηγούμενες μελέτες (Tsevdou et al. 2013a).

Το **κομμιώδες** ορίζεται ως η ενέργεια που απαιτείται για να διασπαστεί, αποσυντεθεί ένα τρόφιμο, μέχρι να είναι έτοιμο για κατάποση και προκύπτει όπως και τα παραπάνω από την ανάλυση υφής (Chandan & Kilara 2011). Όπως προκύπτει από τον **Πίνακα 6.3** και το στατιστικό έλεγχο που πραγματοποιήθηκε (ANOVA, Duncan) υπάρχει στατιστικά σημαντική

διαφορά ( $p < 0,001$ ) ως προς το κομμιώδες μεταξύ των δειγμάτων από θερμικά επεξεργασμένα και ενζυμικά επεξεργασμένα μίγματα. Η ενζυμική προεπεξεργασία οδηγεί σε αύξηση του κομμιώδους σε όλα τα δείγματα (Στατιστικός μέσος όρος: CNT= 41,39 g, TG=58,62 g). Αντίστοιχα το πρωτεϊνικό περιεχόμενο επηρεάζει σημαντικά το κομμιώδες ( $p < 0,001$ ), και όσο αυξάνεται η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη, τόσο αυξάνεται και το κομμιώδες (Στατιστικός μέσος όρος: 6% w/v = 21,81 g, 8% w/v = 39,25 g, 10% w/v = 84,96 g). Η τιμή του κομμιώδους των συμβατικών δειγμάτων MILK βρίσκεται ανάμεσα σε αυτή των δειγμάτων με 8% w/v και 10% w/v πρωτεΐνη (Στατιστικός μέσος όρος: MILK= 54,01 g). Από την ανάλυση Duncan για όλα τα δείγματα και για τις δύο σχεδιαστικές παραμέτρους προέκυψε ότι, όλα τα δείγματα διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους. Το δείγμα MILK-CNT εμφανίζει μέση τιμή κομμιώδους ανάμεσα στα δείγματα 8%-CNT και 8%-TG, ενώ το δείγμα MILK-TG εμφανίζει τιμή κομμιώδους ανάμεσα στο 8%-TG και 10%-CNT.

Συμπερασματικά, η ενζυμική επεξεργασία καθώς και η αύξηση του πρωτεϊνικού περιεχομένου οδηγεί σε αύξηση του κομμιώδους του παραγόμενου προϊόντος. Όλα τα δείγματα διαφέρουν ως προς το κομμιώδες στατιστικά σημαντικά από τα συμβατικά γιαούρτια από αγελαδινό γάλα. Επιπλέον, το κομμιώδες είναι μία παράμετρος που υπολογίζεται από τις τιμές της σφικτότητας και της συνεκτικότητας, και δεδομένου ότι η συνεκτικότητα δεν μεταβάλλεται σημαντικά, το κομμιώδες των δειγμάτων εμφανίζει παρόμοια συμπεριφορά με την πηκτικότητα τους.

**Πίνακας 6.3 :** Ιδιότητες υφής παραγόμενων ζυμωμένων προϊόντων από μίγματα με διαφορετική πρωτεϊνική περιεκτικότητα και επεξεργασία.

<b>MILK Δείγματα</b>	<b>Συνεκτικότητα</b>	<b>Ελαστικότητα</b>	<b>Κομμιώδες (g)</b>
MILK-CNT	0,48 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,94 ± 0,00 <sup>a</sup>	37,6 ± 0,00 <sup>d</sup>
MILK-TG	0,52 ± 0,00 <sup>ba</sup>	1,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	70,4 ± 0,00 <sup>f</sup>
<b>6% w/v Πρωτεϊνική Περιεκτικότητα</b>	<b>Συνεκτικότητα</b>	<b>Ελαστικότητα</b>	<b>Κομμιώδες (g)</b>
6% - CNT	0,57 ± 0,02 <sup>bc</sup>	0,94 ± 0,00 <sup>a</sup>	18,9 ± 3,59 <sup>a</sup>
6% - TG	0,62 ± 0,03 <sup>c</sup>	0,98 ± 0,07 <sup>a</sup>	24,7 ± 3,61 <sup>b</sup>
<b>8% w/v Πρωτεϊνική Περιεκτικότητα</b>	<b>Συνεκτικότητα</b>	<b>Ελαστικότητα</b>	<b>Κομμιώδες (g)</b>
8% - CNT	0,55 ± 0,03 <sup>b</sup>	0,94 ± 0,00 <sup>a</sup>	31,3 ± 6,29 <sup>c</sup>
8% - TG	0,55 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,94 ± 0,00 <sup>a</sup>	47,2 ± 1,29 <sup>e</sup>
<b>10% w/v Πρωτεϊνική Περιεκτικότητα</b>	<b>Συνεκτικότητα</b>	<b>Ελαστικότητα</b>	<b>Κομμιώδες (g)</b>
10% - CNT	0,52 ± 0,03 <sup>ba</sup>	0,97 ± 0,00 <sup>a</sup>	77,7 ± 1,26 <sup>g</sup>
10% - TG	0,54 ± 0,06 <sup>b</sup>	0,94 ± 0,00 <sup>a</sup>	92,2 ± 0,00 <sup>h</sup>

Τα διαφορετικά γράμματα μεταξύ των γραμμών των όμοιων στηλών δείχνουν στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0,05$ ) μεταξύ των εξεταζόμενων δειγμάτων με βάση τη δοκιμή σύγκρισης μέσω όρων του Duncan (Duncan's mean values post hoc comparison test). Η σειρά των γραμμάτων είναι κατά σύμβαση από το μικρότερο προς το μεγαλύτερο μέσο όρο.

Οι τιμές είναι μέσοι όροι ± τυπική απόκλιση διαφορετικών πειραμάτων.

Τα μεγέθη συνεκτικότητα και ελαστικότητα δεν έχουν μονάδες.



### 6.3.6 Συνολικά Συμπεράσματα - Επιλογή Βέλτιστου Δείγματος

Η μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε αυτήν την ενότητα είχε ως στόχο να ερευνηθεί την επίδραση της ενζυμικής προεπεξεργασίας και του πρωτεϊνικού περιεχομένου στις ιδιότητες των παραγόμενων καινοτόμων προϊόντων από τυρόγαλα. Η επιμέρους αυτή μελέτη χρησιμοποιήθηκε επίσης για την επιλογή του δείγματος με τη βέλτιστη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη, σύμφωνα με τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τις φυσικοχημικές αναλύσεις. Η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη που επιλέχθηκε για τα περαιτέρω πειράματα είναι η 10% w/v και αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι τα δείγματα από θερμικά ή/και ενζυμικά επεξεργασμένα μίγματα παρουσίασαν εξαιρετικά μειωμένη συναίρεση (ποσοστό αποβαλλόμενου ορού) σε σχέση με αυτή των δειγμάτων από χαμηλότερες πρωτεϊνικές περιεκτικότητες, παρόμοιο χρώμα με τα συμβατικά γιαούρτια από γάλα, αρκετά υψηλή σφικτότητα, καλή συνεκτικότητα, και αυξημένη προσκολλησιμότητα και κομμιάδες σε σχέση με τα δείγματα με πρωτεϊνικό περιεχόμενο 6% w/v και 8% w/v.

Γενικότερα από την ενότητα 6.3 προέκυψαν τα ακόλουθα συμπεράσματα:

- Η προσθήκη μεγαλύτερης ποσότητας σκόνης γάλακτος, δηλαδή η αύξηση του πρωτεϊνικού περιεχομένου των μιγμάτων οδηγεί σε αύξηση της τιτλοδοτούμενης οξύτητας των παραγόμενων προϊόντων, ενώ δεν επηρεάζεται από την ενζυμική προεπεξεργασία του μίγματος.
- Η αύξηση του πρωτεϊνικού περιεχομένου οδηγεί σε σημαντική μείωση του φαινομένου της συναίρεσης και αυτό συμβαίνει γιατί η αποβουτυρωμένη σκόνη γάλακτος που προστίθεται περιέχει καζεΐνες και πρωτεΐνες ορού σε αναλογία 80:20. Οι καζεΐνες κυρίως είναι εκείνες που μπορούν να δεσμεύσουν περισσότερο νερό (2,82g νερού/g πρωτεΐνης) κατά την διάρκεια της πήξης του γιαουρτιού, σε αντίθεση με τις πρωτεΐνες ορού (μη μετουσιωμένες: 0,32 g νερού/ g πρωτεΐνης, μετουσιωμένες: 2,34 g νερού/ g πρωτεΐνης) (Τσεβδού 2015).
- Μείωση της συναίρεσης επιτυγχάνεται και με την ενζυμική προεπεξεργασία των μιγμάτων με TGase, καθώς οι καζεΐνες και οι πρωτεΐνες ορού γάλακτος είναι καλά υποστρώματα για την MTGase, ωστόσο σε ένα μικτό σύστημα, κυρίως διασυνδέονται οι καζεΐνες έναντι των φυσικών πρωτεϊνών του ορού, εκτός και αν οι δεύτερες μετουσιωθούν.
- Το χρώμα μειώνεται σε μικρό βαθμό με την ενζυμική επεξεργασία και αυξάνεται με την αύξηση του πρωτεϊνικού περιεχομένου.
- Η σφικτότητα και το κομμιάδες αυξάνονται σε μεγάλο βαθμό με την ενζυμική προεπεξεργασία των μιγμάτων και την αύξηση της περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη και ο λόγος που συμβαίνει είναι ο ίδιος με το φαινόμενο της συναίρεσης.
- Η προσκολλησιμότητα αυξάνεται σημαντικά με την αύξηση του πρωτεϊνικού περιεχομένου, ωστόσο παρατηρείται ότι η ενζυμική προεπεξεργασία των μιγμάτων οδηγεί σε μείωση των τιμών της παραμέτρου αυτής.
- Η συνεκτικότητα παρουσιάζει μικρές διακυμάνσεις μεταξύ των δειγμάτων, ωστόσο εμφανίζει μικρή μείωση με αύξηση του πρωτεϊνικού περιεχομένου και μικρή αύξηση με ενζυμική προεπεξεργασία των μιγμάτων.
- Η τιμή pH και η ελαστικότητα δεν παρουσιάζουν ιδιαίτερες διαφορές μεταξύ των δειγμάτων.

## 6.4 Επίδραση διαφορετικών συνθηκών επεξεργασίας ΠΗΠ στα Φυσικοχημικά Χαρακτηριστικά των Παραγόμενων Ζυμωμένων Προϊόντων

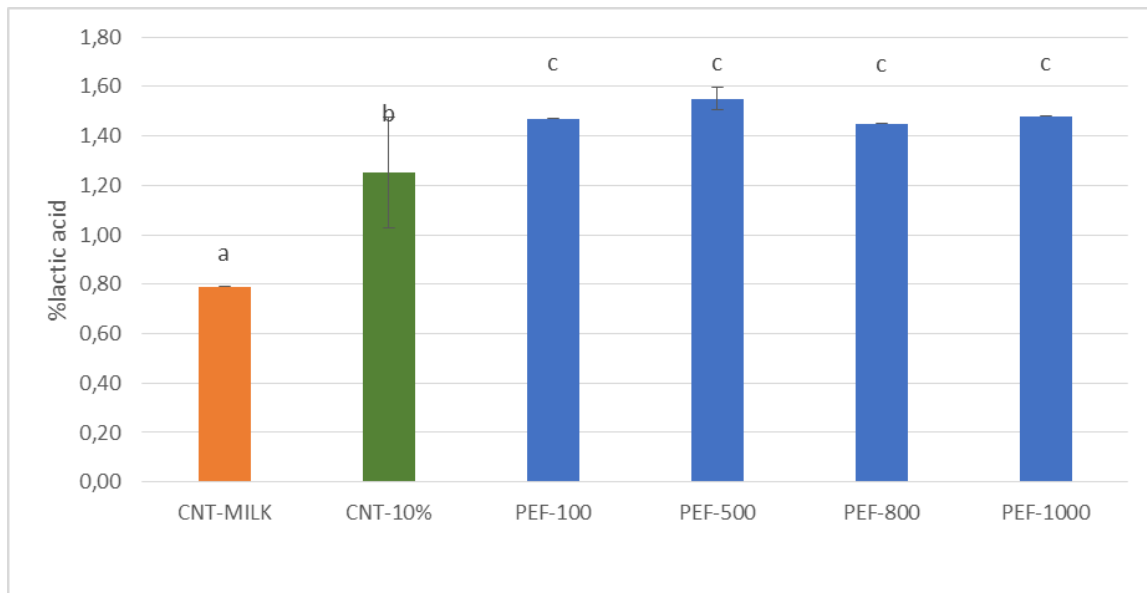
Η μελέτη των αποτελεσμάτων της ενότητας 6.3 έδειξε ότι ιδανική πρωτεϊνική περιεκτικότητα για τη δημιουργία καινοτόμων ζυμωμένων προϊόντων από τυρόγαλα είναι η αυτώ του 10% w/v. Η ενζυμική προεπεξεργασία των μιγμάτων, μάλιστα, βελτίωσε ακόμη περισσότερο τις φυσικοχημικές ιδιότητες των παραγόμενων προϊόντων. Η επόμενη μέθοδος επεξεργασίας που επιλέχθηκε να εξεταστεί είναι η εφαρμογή της νέας τεχνολογίας των παλμικών ηλεκτρικών πεδίων.

Τα παρακάτω διαγράμματα εξετάζουν την επίδραση διαφορετικών συνθηκών της επεξεργασίας των μιγμάτων με ΠΗΠ στα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των παραγόμενων προϊόντων, έπειτα από τις αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν σε δείγματα με περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη 10% w/v. Ο λόγος της παρακάτω ανάλυσης είναι για να διαπιστωθεί ποια είναι η ιδανικότερη συνθήκη (παλμοί) για την επεξεργασία με ΠΗΠ, ώστε να επιτευχθούν τα βέλτιστα αποτελέσματα στις ποιοτικές παραμέτρους του τελικού προϊόντος. Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται παρακάτω αφορούν δείγματα που παράχθηκαν από μίγματα που επεξεργάστηκαν με ΠΗΠ σε 100, 500, 800 και 1000 παλμούς, και η σύγκρισή τους γίνεται με τα αντίστοιχα αποτελέσματα για τα προϊόντα που παράχθηκαν από μίγματα με 10% w/v σε πρωτεΐνη (CNT-10%) και τα συμβατικά γιαούρτια από γάλα (CNT-MILK).

### 6.4.1 Τιτλοδοτούμενη Οξύτητα

Η τιτλοδοτούμενη οξύτητα που μετρήθηκε μέσω του προσδιορισμού της % περιεκτικότητας σε γαλακτικό οξύ για τα δείγματα από επεξεργασμένα με παλμικά ηλεκτρικά πεδία (ΠΗΠ) μίγματα καθώς και για τα αντίστοιχα δείγματα από θερμικά επεξεργασμένα μίγματα control από τυρόγαλα και γάλα, απεικονίζεται στο **Διάγραμμα 6.4.1**.

Όπως προκύπτει από το διάγραμμα της τιτλοδοτούμενης οξύτητας και του στατιστικού ελέγχου που πραγματοποιήθηκε (ANOVA) υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ως προς την τιτλοδοτούμενη οξύτητα ( $p < 0,0001$ ) συνολικά σε όλα τα δείγματα. Συγκεκριμένα, παρατηρείται αύξηση της τιτλοδοτούμενης οξύτητας στα δείγματα των οποίων τα μίγματα έχουν επεξεργαστεί με ΠΗΠ σε σύγκριση με τα αντίστοιχα από θερμικά επεξεργασμένα μίγματα. Από την ανάλυση Duncan προκύπτει ωστόσο ότι τα δείγματα PEF μεταξύ τους δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά, αλλά παρουσιάζουν διαφορές από τα δείγματα από θερμικά επεξεργασμένα μίγματα. Το δείγμα PEF-800 έχει τη μικρότερη μέση τιμή από τα δείγματα PEF και συνεπώς πιο κοντινή στο CNT-10%, ενώ για όλα τα δείγματα η τιτλοδοτούμενη οξύτητα είναι αρκετά διαφορετική και μικρότερη από την αντίστοιχη του δείγματος CNT-MILK.



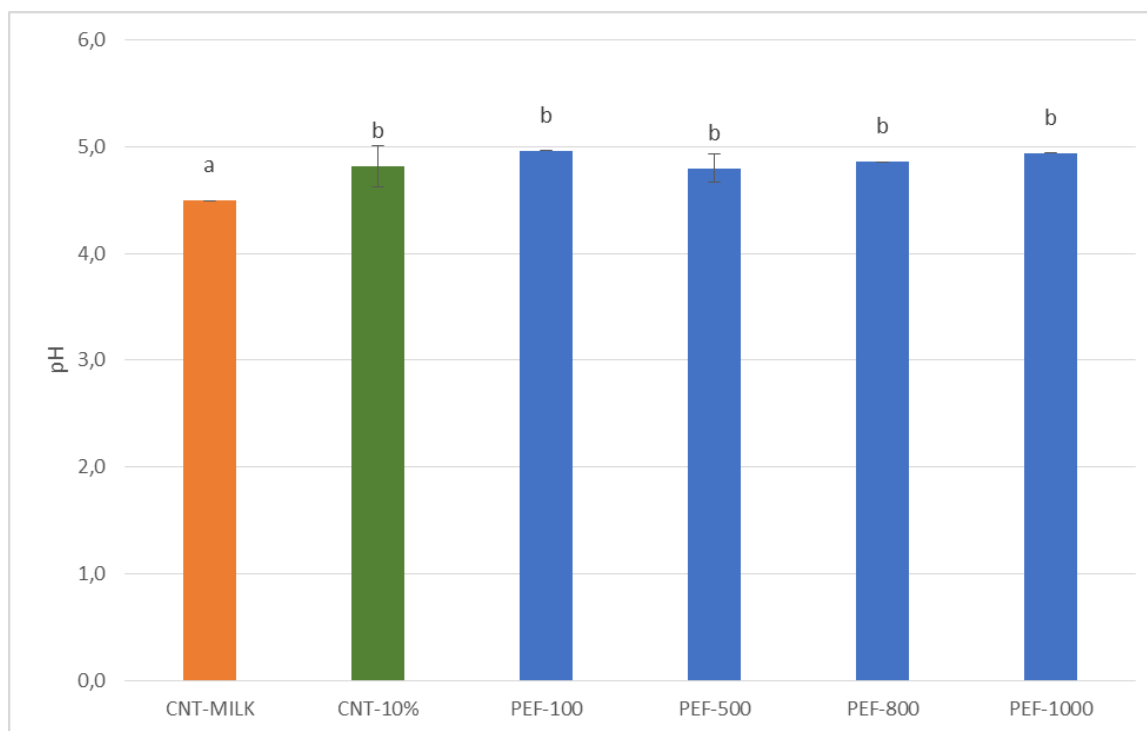
**Διάγραμμα 6.4.1 :** Επίδραση των Διαφορετικών Συνθηκών Επεξεργασίας ΠΗΠ (Παλμοί 100, 500, 800, 1000) στην Τιτλοδοτούμενη Οξύτητα (%γαλακτικό οξύ) των παραγόμενων προϊόντων

Συμπερασματικά, η τιτλοδοτούμενη οξύτητα δεν παρουσιάζει στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων PEF διαφορετικών παλμών. Ωστόσο, η τεχνολογία των παλμικών ηλεκτρικών πεδίων φαίνεται να επηρεάζει την τιτλοδοτούμενη οξύτητα των δειγμάτων, αυξάνοντάς τη, σε σύγκριση με τη τιτλοδοτούμενη οξύτητα που προκύπτει για τα δείγματα τα μίγματα των οποίων έχουν υποστεί μόνο θερμική επεξεργασία.

#### 6.4.2 pH τελικού προϊόντος

Το pH των δειγμάτων, που επεξεργάστηκαν με παλμικά ηλεκτρικά πεδία (PEF) καθώς και των θερμικά επεξεργασμένων δειγμάτων control από τυρόγαλα και γάλα, απεικονίζεται στο **Διάγραμμα 6.4.2.**

Όπως προκύπτει από το διάγραμμα της τιμής του pH και του στατιστικού ελέγχου που πραγματοποιήθηκε (ANOVA) υπάρχει σημαντική διαφορά ( $p < 0,01$ ) ως προς την τιμή του pH μεταξύ του συνόλου των δειγμάτων. Ωστόσο από την ανάλυση Duncan διαπιστώνεται ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δειγμάτων PEF και του CNT-10%, με τα δείγματα αυτά να διαφέρουν και εμφανίζουν υψηλότερες τιμές pH από αυτή του CNT-MILK.



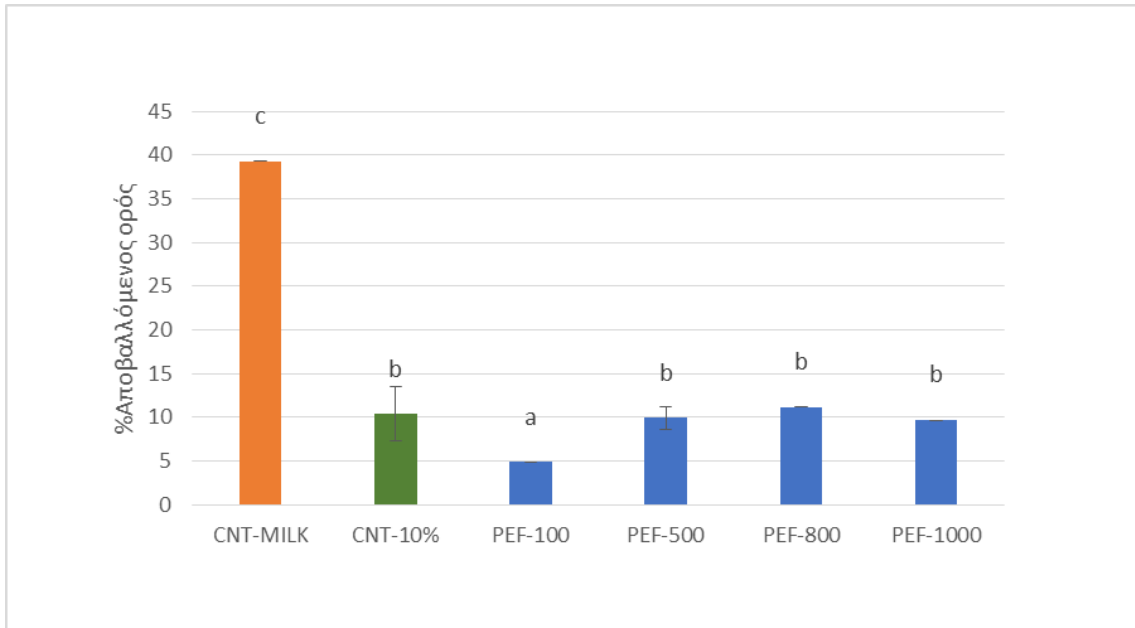
**Διάγραμμα 6.4.2 :** Επίδραση των Διαφορετικών Συνθηκών Επεξεργασίας PEF (Παλμοί 100, 500, 800, 1000) στην τιμή pH των παραγόμενων προϊόντων

Συμπερασματικά, η τιμή του pH δεν επηρεάζεται από τις διαφορετικές συνθήκες PEF (παλμών) και επίσης παρουσιάζει μέσες τιμές κοντά στη μέση τιμή pH του CNT-10%, αλλά σημαντικά διαφορετικές από τη μέση τιμή pH του συμβατικού γιαουρτιού από γάλα (CNT-MILK).

### 6.4.3 Συναίρεση

Η συναίρεση που παρουσίασαν τα δείγματα τα μίγματα των οποίων επεξεργάστηκαν με παλμικά ηλεκτρικά πεδία (PEF) καθώς και οι αντίστοιχες τιμές για τα δείγματα από θερμικά επεξεργασμένα μιγμάτων από τυρόγαλα ή γάλα, απεικονίζονται στο **Διάγραμμα 6.4.3**.

Όπως προκύπτει από το διάγραμμα της συναίρεσης και του στατιστικού ελέγχου που πραγματοποιήθηκε (ANOVA) υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0,001$ ) ως προς το ποσοστό αποβαλλόμενου ορού μεταξύ του συνόλου των δειγμάτων. Συγκεκριμένα από ανάλυση Duncan προκύπτει ότι τα δείγματα PEF-500, PEF-800 και PEF-1000 δεν παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές μεταξύ τους, και μάλιστα η συναίρεση που παρουσιάζουν δεν διαφέρει σημαντικά και από εκείνη των δειγμάτων CNT-10%. Το δείγμα PEF-100 διαφοροποιείται από τα υπόλοιπα δείγματα που επεξεργάστηκαν με παλμικά ηλεκτρικά πεδία και εμφανίζει το μικρότερο ποσοστό αποβαλλόμενου ορού. Αξίζει να σημειωθεί ότι, η συναίρεση μειώθηκε σημαντικά για τα δείγματα PEF σε σχέση με την αντίστοιχη τιμή για τα συμβατικά γιαούρτια από γάλα (CNT-MILK).



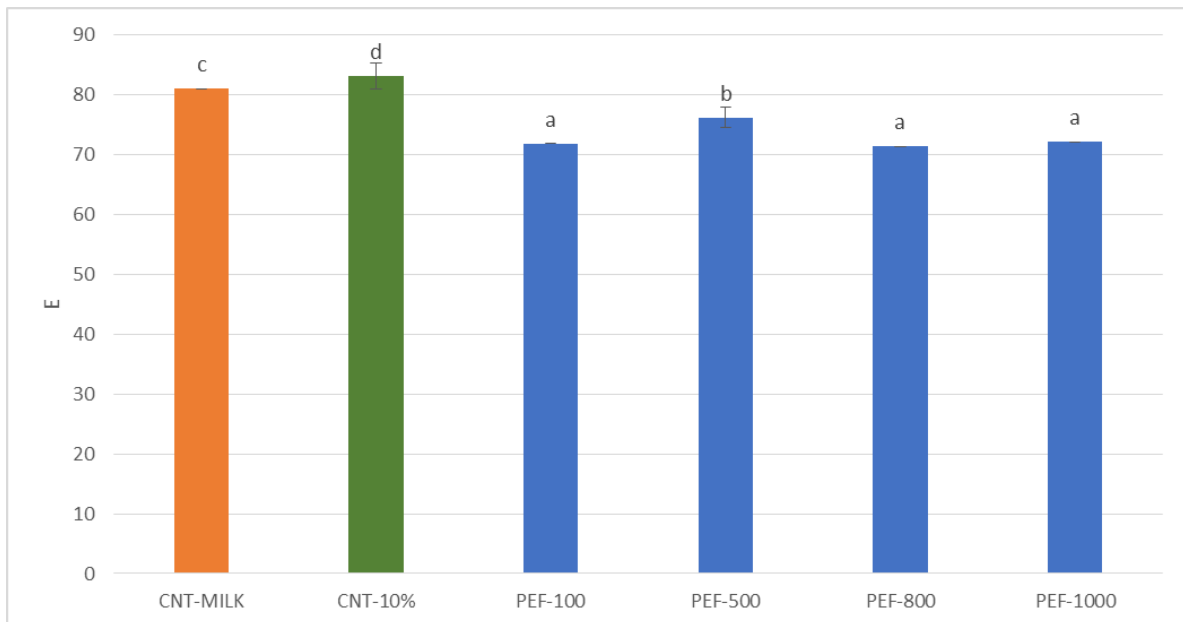
**Διάγραμμα 6.4.3 :** Επίδραση των Διαφορετικών Συνθηκών Επεξεργασίας PEF (Παλμοί 100, 500, 800, 1000) στο Ποσοστό Αποβαλλόμενου Ορού των παραγόμενων προϊόντων

Συμπερασματικά, τα παλμικά ηλεκτρικά πεδία επηρεάζουν την συναίρεση (μείωση), αλλά με εξαίρεση τους 100 παλμούς, δεν παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά. επίσης, η συναίρεση των PEF δειγμάτων είναι σημαντικά μικρότερη σε σχέση με αυτή των συμβατικών γιαουρτιών από γάλα.

#### 6.4.4 Χρώμα

Το χρώμα που μετρήθηκε για τα δείγματα τα μίγματα των οποίων επεξεργάστηκαν με παλμικά ηλεκτρικά πεδία (PEF) καθώς και οι αντίστοιχες τιμές για τα δείγματα από θερμικά επεξεργασμένα μίγματα από τυρόγαλα ή γάλα, απεικονίζονται στο **Διάγραμμα 6.4.4**.

Όπως προκύπτει από το διάγραμμα του χρώματος και του στατιστικού ελέγχου που πραγματοποιήθηκε (ANOVA) υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0,001$ ) ως προς το χρώμα μεταξύ του συνόλου των δειγμάτων. Συγκεκριμένα από την ανάλυση Duncan προκύπτει ότι τα δείγματα PEF-100, PEF-800 και PEF-1000 δεν παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές μεταξύ τους, ωστόσο διαφέρουν από το PEF-500 και από τα δείγματα από θερμικά επεξεργασμένα μίγματα. Το χρώμα του PEF-500 προσεγγίζει περισσότερο το χρώμα του CNT-MILK (Στατιστικός μέσος όρος: PEF-500= 76,15, CNT-MILK=80,96). Παρατηρείται ότι τα γιαούρτια επεξεργασμένα με PEF παρουσιάζουν χαμηλότερες τιμές χρώματος σε σχέση με τα δείγματα από θερμικά επεξεργασμένα μίγματα είτε από τυρόγαλα είτε από γάλα.



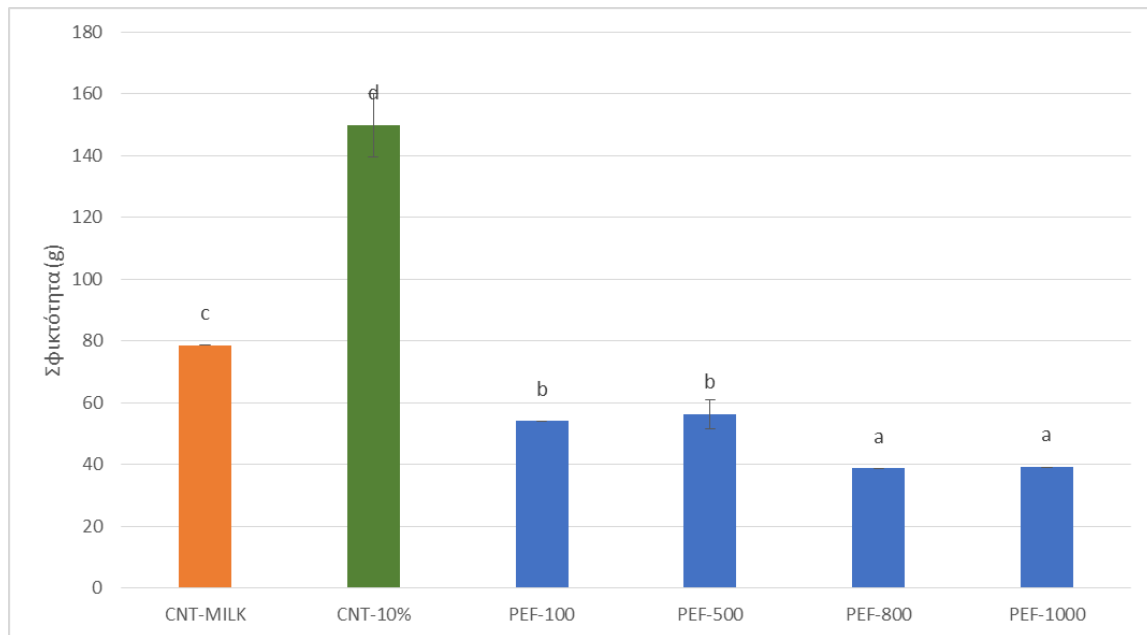
**Διάγραμμα 6.4.4 :** Επίδραση των Διαφορετικών Συνθηκών Επεξεργασίας PEF (Παλμοί 100, 500, 800, 1000) στο Χρώμα των παραγόμενων προϊόντων

Συμπερασματικά, το χρώμα επηρεάζεται από την επεξεργασία των παλμικών ηλεκτρικών πεδίων (μειώνεται), αλλά οι τιμές του δεν διαφέρουν σημαντικά για τα δείγματα από μίγματα επεξεργασμένα με διαφορετικό αριθμό παλμών, με εξαίρεση τα δείγματα PEF-500, των οποίων η τιμή του χρώματος προσεγγίζει περισσότερο τις τιμές του χρώματος των συμβατικών γιαουρτιών από γάλα.

#### 6.4.5 Ιδιότητες Υφής

Η **σφικτότητα** που υπολογίστηκε από την ανάλυση υφής για τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με παλμικά ηλεκτρικά πεδία (PEF), καθώς και των δειγμάτων από θερμικά επεξεργασμένα μίγματα από τυρόγαλα ή γάλα, απεικονίζονται στο **Διάγραμμα 6.4.5.1**.

Όπως προκύπτει από το διάγραμμα της σφικτότητας και του στατιστικού ελέγχου που πραγματοποιήθηκε (ANOVA) υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0,001$ ) ως προς την σφικτότητα μεταξύ του συνόλου των δειγμάτων. Συγκεκριμένα, από την ανάλυση Duncan προέκυψε ότι στατιστικά μεγαλύτερη σφικτότητα παρατηρείται για τα δείγματα PEF-100 και PEF-500 (Στατιστικός μέσος όρος: PEF-100= 54,09 g, PEF-500= 56,38 g), μεταξύ των δειγμάτων PEF. Ωστόσο, τα δείγματα PEF εμφάνισαν μικρότερη σφικτότητα από τα δείγματα CNT-MILK και σημαντικά πιο μικρή από το CNT-10%.

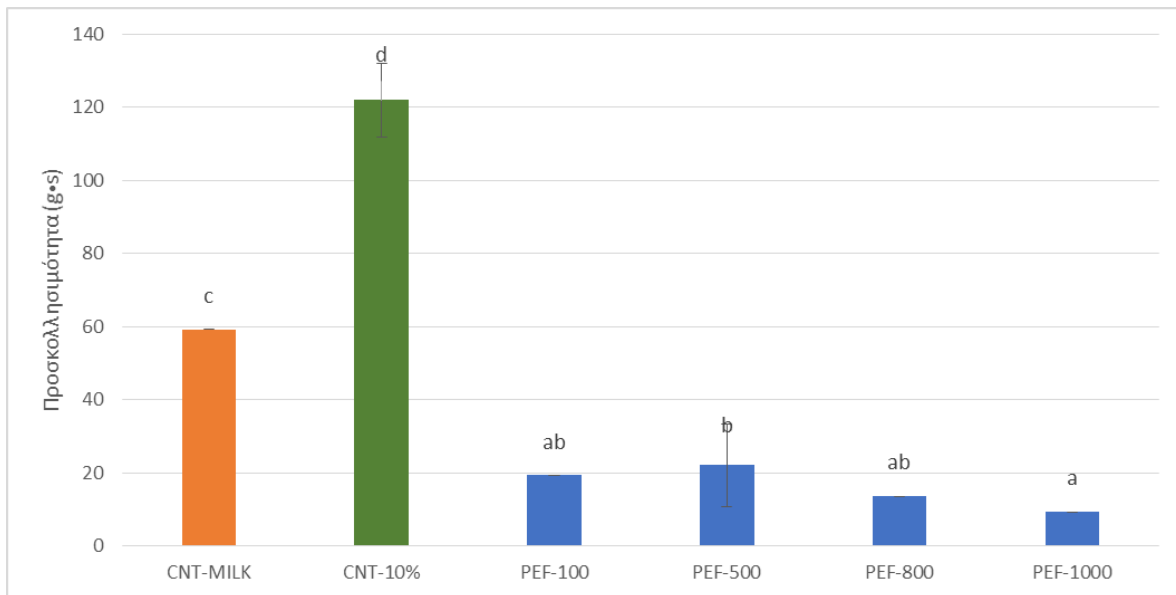


**Διάγραμμα 6.4.5.1:** Επίδραση των Διαφορετικών Συνθηκών Επεξεργασίας PEF (Παλμοί 100, 500, 800, 1000) στη Σφικτότητα των παραγόμενων προϊόντων

Συμπερασματικά, διαπιστώθηκε ότι η επεξεργασία με ΠΗΠ επηρεάζει την σφικτότητα των παραγόμενων προϊόντων και μάλιστα οδηγεί σε μείωση της τιμής της παραμέτρου σε σχέση με τις αντίστοιχες τιμές για τα δείγματα από θερμικά επεξεργασμένα μίγματα από τυρόγαλα. Ωστόσο το PEF-500 εμφανίζει την πιο υψηλή σφικτότητα από τα υπόλοιπα δείγματα PEF, η οποία έχει μέση τιμή πιο κοντά στη σφικτότητα του συμβατικού γιαουρτιού από γάλα (Στατιστικός μέσος όρος: CNT-MILK= 78,56 g).

Η **προσκολλησιμότητα** που υπολογίστηκε από την ανάλυση υφής για τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με παλμικά ηλεκτρικά πεδία (PEF) καθώς και τα δείγματα από θερμικά επεξεργασμένα μίγματα από τυρόγαλα ή γάλα, απεικονίζονται στο **Διάγραμμα 6.4.5.2**.

Όπως προκύπτει από το διάγραμμα της προσκολλησιμότητας και του στατιστικού ελέγχου που πραγματοποιήθηκε (ANOVA) υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0,001$ ) ως προς την προσκολλησιμότητα μεταξύ του συνόλου των δειγμάτων. Συγκεκριμένα από την ανάλυση Duncan προέκυψε ότι, τα δείγματα PEF-500 και PEF-1000 παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους, ενώ τα PEF-100 και PEF-800 δεν διαφέρουν. Την μεγαλύτερη τιμή προσκολλησιμότητας εμφανίζει το PEF-500 (Στατιστικός μέσος όρος: PEF-500= 22,03 g·s). Ωστόσο, προκύπτει σημαντική επίδραση ( $p < 0,05$ ) της επεξεργασίας με ΠΗΠ στις τιμές της προσκολλησιμότητας για τα δείγματα αυτά, που μειώνονται σημαντικά σε σχέση με τις αντίστοιχες τιμές για τα δείγματα CNT-10% και CNT-MILK.



**Διάγραμμα 6.4.5.2 :** Επίδραση των Διαφορετικών Συνθηκών Επεξεργασίας PEF (Παλμοί 100, 500, 800, 1000) στη Προσκολλησιμότητα των παραγόμενων προϊόντων

Συμπερασματικά μεταξύ των δειγμάτων PEF, μεγαλύτερη προσκολλησιμότητα εμφανίζεται στα δείγματα PEF-500. Επίσης η επίδραση της μεθόδου επεξεργασίας με παλμικά ηλεκτρικά πεδία στη προσκολλησιμότητα των παραγόμενων προϊόντων είναι σημαντική, προκαλώντας σημαντική μείωσή της σε σχέση με αυτή για τα συμβατικά δείγματα από γάλα ή των δειγμάτων από θερμικά επεξεργασμένα μίγματα τυρογάλακτος.

Η **συνεκτικότητα** που υπολογίστηκε από την ανάλυση υφής για τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με παλμικά ηλεκτρικά πεδία (PEF) καθώς και των δειγμάτων από θερμικά επεξεργασμένα μίγματα από τυρόγαλα ή γάλα, απεικονίζονται στο **Πίνακα 6.4**. Όπως προκύπτει από τον **Πίνακα 6.4** και το στατιστικό έλεγχο που πραγματοποιήθηκε (ANOVA) υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0,001$ ) ως προς την συνεκτικότητα μεταξύ του συνόλου των δειγμάτων. Συγκεκριμένα, από την ανάλυση Duncan προέκυψε ότι από τα δείγματα PEF την υψηλότερη συνεκτικότητα εμφανίζουν τα δείγματα PEF-1000 και PEF-800, με στατιστικά σημαντικές διαφορές από τα υπόλοιπα. Τα δείγματα PEF-100 και PEF-500 εμφανίζουν μικρότερη συνεκτικότητα από τα υπόλοιπα δείγματα PEF, αλλά χωρίς σημαντικές διαφορές μεταξύ τους καθώς και μεταξύ των δειγμάτων CNT-10% και PEF-800. Το δείγμα CNT-MILK εμφανίζει τη χαμηλότερη συνεκτικότητα από τα υπόλοιπα δείγματα.

Συμπερασματικά διαπιστώθηκε ότι, τα δείγματα PEF-1000 και PEF-800 εμφανίζουν τη μεγαλύτερη συνεκτικότητα, ενώ τα δείγματα PEF-100 και PEF-500 εμφανίζουν τη μικρότερη συνεκτικότητα και με μικρές διαφορές από τα συμβατικά δείγματα γιαουρτιού από γάλα ή/και τα καινοτόμα προϊόντα από τυρόγαλα.



Η **ελαστικότητα** που υπολογίστηκε από την ανάλυση υφής για τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με παλμικά ηλεκτρικά πεδία (PEF) καθώς και των δειγμάτων από θερμικά επεξεργασμένα μίγματα από τυρόγαλα ή γάλα, απεικονίζονται στο **Πίνακα 6.4**.

Στην περίπτωση της ελαστικότητας από την ανάλυση ANOVA δεν προέκυψαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ του συνόλου των δειγμάτων. Η τιμή της ελαστικότητας κυμάνθηκε στην πλειοψηφία των δειγμάτων στην τιμή  $0,94 \pm 0,06$ . Μικρή απόκλιση εμφάνισαν τα δείγματα CNT-10%, χωρίς ωστόσο αυτή να θεωρείται στατιστικά σημαντική.

Το **κομμιώδες** που υπολογίστηκε από την ανάλυση υφής για τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με παλμικά ηλεκτρικά πεδία (PEF) καθώς και των δειγμάτων από θερμικά επεξεργασμένα μίγματα από τυρόγαλα ή γάλα, απεικονίζονται στο **Πίνακα 6.4**. Όπως προκύπτει από τον **Πίνακα 6.4** και το στατιστικό έλεγχο που πραγματοποιήθηκε (ANOVA) υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0,001$ ) ως προς το κομμιώδες μεταξύ του συνόλου των δειγμάτων. Συγκεκριμένα από την ανάλυση Duncan προέκυψε ότι όλα τα δείγματα PEF εμφάνισαν μεταξύ τους στατιστικά σημαντικές διαφορές. Την μικρότερη μέση τιμή κομμιώδους εμφάνισαν τα δείγματα PEF-800 και PEF-1000, ακολούθησε το δείγμα PEF-100 και τέλος την υψηλότερη τιμή εμφάνισε το δείγμα PEF-500 (Στατιστικός μέσος όρος: PEF-800= 22,05 g, PEF-1000= 24,16 g, PEF-100= 29,81 g, PEF-500= 31,64 g). Σε σύγκριση με τα δείγματα CNT-MILK και CNT-10%, τα δείγματα PEF εμφάνισαν μικρότερη τιμή κομμιώδους.

Συμπερασματικά από τα δείγματα PEF, καλύτερα αποτελέσματα για το κομμιώδες εμφάνισε το δείγμα PEF-500. Γενικά, η επεξεργασία των μιγμάτων με παλμικά ηλεκτρικά πεδία επηρέασε το κομμιώδες των τελικών δειγμάτων, ωστόσο τα αποτελέσματα είναι συσχετίσιμα με τα αποτελέσματα από το δείγμα συμβατικού γιαουρτιού από γάλα.

**Πίνακας 6.4** : Ιδιότητες υφής παραγόμενων ζυμωμένων προϊόντων από μίγματα επεξεργασμένα με παλμικά ηλεκτρικά πεδία.

<b>MILK Δείγματα</b>	<b>Συνεκτικότητα</b>	<b>Ελαστικότητα</b>	<b>Κομμιώδες (g)</b>
MILK-CNT	$0,48 \pm 0,00^a$	$0,94 \pm 0,00^a$	$37,6 \pm 0,00^e$
<b>10% w/v Πρωτεϊνική Περιεκτικότητα</b>	<b>Συνεκτικότητα</b>	<b>Ελαστικότητα</b>	<b>Κομμιώδες (g)</b>
10% - CNT	$0,52 \pm 0,03^b$	$0,97 \pm 0,00^a$	$77,7 \pm 1,26^f$
<b>Επεξεργασία PEF</b>	<b>Συνεκτικότητα</b>	<b>Ελαστικότητα</b>	<b>Κομμιώδες (g)</b>
PEF-100	$0,55 \pm 0,00^{bc}$	$0,94 \pm 0,00^a$	$29,8 \pm 0,00^c$
PEF-500	$0,55 \pm 0,04^{bc}$	$0,96 \pm 0,02^a$	$31,6 \pm 1,64^d$
PEF-800	$0,57 \pm 0,00^c$	$0,94 \pm 0,00^a$	$22,1 \pm 0,00^a$
PEF-1000	$0,62 \pm 0,00^d$	$0,94 \pm 0,00^a$	$24,2 \pm 0,00^b$

Τα διαφορετικά γράμματα μεταξύ των γραμμών των όμοιων στηλών δείχνουν στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0,05$ ) μεταξύ των εξεταζόμενων δειγμάτων με βάση τη δοκιμή σύγκρισης μέσω όρων του Duncan (Duncan's mean values post hoc comparison test). Η σειρά των γραμμάτων είναι κατά σύμβαση από το μικρότερο προς το μεγαλύτερο μέσο όρο.

Οι τιμές είναι μέσοι όροι  $\pm$  τυπική απόκλιση διαφορετικών πειραμάτων.

Τα μεγέθη συνεκτικότητα και ελαστικότητα δεν έχουν μονάδες.

#### 6.4.6 Συνολικά Συμπεράσματα - Επιλογή Βέλτιστων Συνθηκών ΠΗΠ (PEF)

Η μελέτη που πραγματοποιήθηκε είχε ως στόχο να διερευνήσει τις επιδράσεις των διαφορετικών συνθηκών (παλμοί) των Παλμικών Ηλεκτρικών Πεδίων στις ιδιότητες των παραγόμενων καινοτόμων προϊόντων από τυρόγαλα. Η ανάλυση αυτή χρησιμοποιήθηκε για την επιλογή της ιδανικής συνθήκης PEF, από την οποία θα προκύπτουν προϊόντα με τα καλύτερα δυνατά φυσικοχημικά χαρακτηριστικά. Με βάση τα παραπάνω αποτελέσματα αλλά και τον οπτικό έλεγχο που πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο διαπιστώθηκε ότι, η συνθήκη των 500 παλμών παράγει προϊόντα με πιο συνεκτικό και πηκτό πήγμα σε αντίθεση με τις υπόλοιπες συνθήκες. Σύμφωνα με τα διαγράμματα, το PEF-500 εμφανίζει υψηλότερο χρώμα, μεγαλύτερη σφικτότητα, προσκολλησιμότητα και κομμιώδες σε σχέση με τα υπόλοιπα δείγματα PEF. Αξίζει να σημειωθεί ότι, το PEF-100 εμφανίζει μικρότερη συναίρεση από το PEF-500, από την οπτική παρατήρηση των δειγμάτων στο εργαστήριο φάνηκε ότι τα δείγματα PEF-100 δεν ήταν αρκετά πηκτά και εσωτερικά η δομή του δεν προσέγγιζε αρκετά το συμβατικό γιαούρτι από γάλα.

Σε γενικές γραμμές, προέκυψαν τα εξής συμπεράσματα:

- Η εφαρμογή Παλμικών Ηλεκτρικών Πεδίων προκαλεί αύξηση της τιτλοδοτούμενης οξύτητας και μείωση του χρώματος των προϊόντων σε σχέση με τα προϊόντα από θερμικά επεξεργασμένα μίγματα.
- Η τιμή του pH και η συναίρεση (με εξαίρεση το PEF-100) των προϊόντων από μίγματα με εφαρμογή των ΠΗΠ δεν μεταβάλλονται σημαντικά σε σχέση με αυτές των προϊόντων από θερμικά επεξεργασμένα μίγματα .
- Όσον αφορά την υφή των καινοτόμων προϊόντων, η επεξεργασία με ΠΗΠ των μιγμάτων προκαλεί μείωση της σφικτότητας, της προσκολλησιμότητας, του κομμιώδους και σε μικρό βαθμό της ελαστικότητας, ενώ αυξάνει σε μικρό βαθμό τη συνεκτικότητα των τελικών προϊόντων. Όπως συζητήθηκε και στη θεωρία, η επίδραση των ΠΗΠ στις πρωτεΐνες δεν έχει πλήρως αναλυθεί, ωστόσο στην προκειμένη περίπτωση φαίνεται ότι τα παλμικά ηλεκτρικά πεδία έχουν επιδράσει στο πρωτεϊνικό σύστημα, με αποτέλεσμα να μην μπορεί να σχηματιστεί αρκετά καλό πήγμα. Το συμπέρασμα αυτό, συνδέεται και με το γεγονός ότι αυξάνεται και ο χρόνος ζύμωσης και ο χρόνος λανθάνουσας φάσης των επεξεργασμένων με ΠΗΠ μιγμάτων, όπως διαπιστώθηκε στην ενότητα 6.2.
- Οι διαφορετικές συνθήκες επεξεργασίας με ΠΗΠ δεν επηρεάζουν σε σημαντικό βαθμό την τιτλοδοτούμενη οξύτητα, την τιμή του pH και την ελαστικότητα των δειγμάτων.
- Μεταξύ των δειγμάτων PEF διαφορετικών παλμών, μεγαλύτερη σφικτότητα, κομμιώδες και προσκολλησιμότητα εμφανίζουν τα δείγματα με τους λιγότερους παλμούς δηλαδή τα PEF-500 και PEF-100, με το δεύτερο να εμφανίζει και μειωμένη συναίρεση.

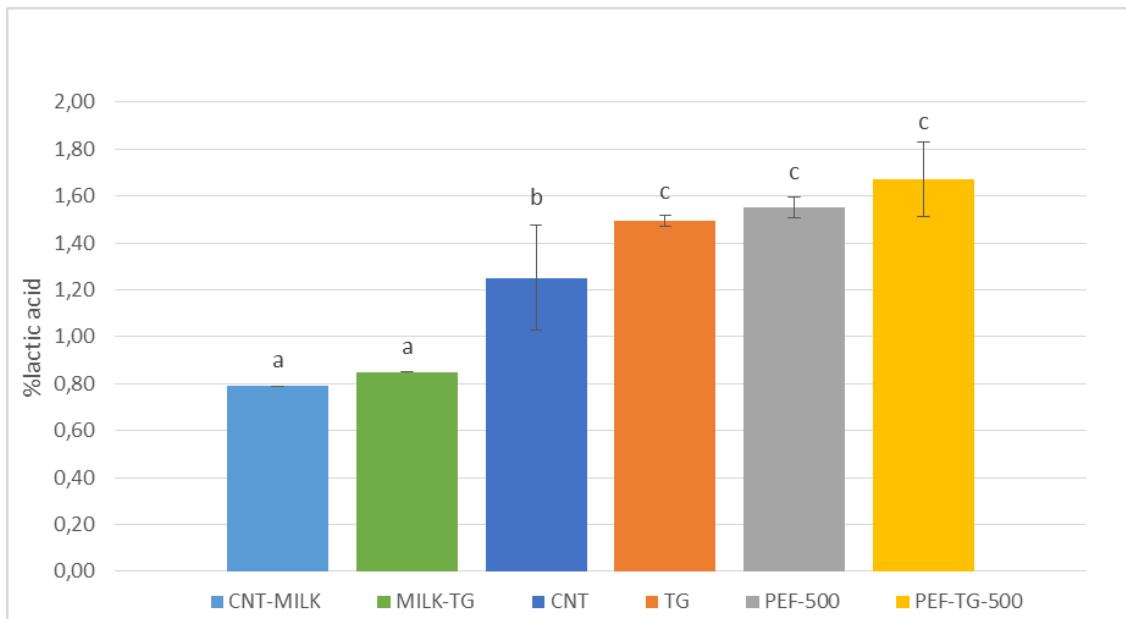
## 6.5 Σύγκριση Θερμικής Επεξεργασίας – Ενζυμικής Επεξεργασίας – Επεξεργασίας με ΠΗΠ με βάση την Επίδρασή τους στα Φυσικοχημικά Χαρακτηριστικά των παραγόμενων προϊόντων

Από τις αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν στις ενότητες 6.3 και 6.4 προέκυψε ότι η πιο κατάλληλη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη για την δημιουργία ενός συνεκτικού καινοτόμου προϊόντος από μίγμα τυρογάλακτος είναι η 10% w/v και η ιδανικότερη συνθήκη για την επεξεργασία του με παλμικά ηλεκτρικά πεδία είναι οι 500 παλμοί. Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στα παρακάτω διαγράμματα αφορούν μόνο σε καινοτόμα προϊόντα από μίγματα τυρογάλακτος με 10% w/v περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη, τα οποία υπέστησαν θερμική επεξεργασία (CNT), θερμική και μετέπειτα ενζυμική επεξεργασία (TG), επεξεργασία με παλμικά ηλεκτρικά πεδία με 500 παλμούς (PEF-500) καθώς και επεξεργασία με παλμικά ηλεκτρικά πεδία με 500 παλμούς με ακόλουθη ενζυμική επεξεργασία (PEF-TG-500). Επιπλέον στα διαγράμματα έχουν προστεθεί και πάλι οι τιμές των παραμέτρων για τα συμβατικά δείγματα γιαουρτιών από γάλα που έχει υποστεί θερμική ή/και ακόλουθη ενζυμική επεξεργασία, ώστε να συγκριθούν με τα αντίστοιχα του τυρογάλακτος. Στόχος της ενότητας αυτής είναι να συγκρίνει και να διερευνήσει την διαφορετική επίδραση κάθε μεθόδου στα ποιοτικά χαρακτηριστικά των καινοτόμων προϊόντων σε σχέση με τα συμβατικά γιαούρτια από γάλα.

### 6.5.1 Τιτλοδοτούμενη Οξύτητα

Στο **Διάγραμμα 6.5.1** απεικονίζονται τα διαφορετικά ποσοστά γαλακτικού οξέος (τιτλοδοτούμενη οξύτητα) που περιέχονται στα δείγματα από τυρόγαλα που επεξεργάστηκαν με θερμική επεξεργασία και με επεξεργασία με παλμικά ηλεκτρικά πεδία και ακόλουθη ενζυμική επεξεργασία, καθώς και τα συμβατικά δείγματα γιαουρτιού από γάλα μετά από θερμική ή/και ενζυμική επεξεργασία.

Όπως προκύπτει από το διάγραμμα της τιτλοδοτούμενης οξύτητας και του στατιστικού ελέγχου που πραγματοποιήθηκε (ANOVA) υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0,001$ ) ως προς την τιτλοδοτούμενη οξύτητα μεταξύ του συνόλου των δειγμάτων. Συγκεκριμένα από την ανάλυση Duncan προέκυψε ότι τα δείγματα TG, PEF-500 και PEF-TG-500 δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους, ωστόσο έχουν υψηλότερη τιτλοδοτούμενη οξύτητα από τα δείγματα CNT και MILK. Όλα τα δείγματα από μίγματα τυρογάλακτος εμφανίζουν μεγαλύτερη τιτλοδοτούμενη οξύτητα από τα συμβατικά γιαούρτια από γάλα, ενώ η ενζυμική επεξεργασία ή/και η επεξεργασία με ΠΗΠ οδηγούν σε περαιτέρω αύξηση της περιεκτικότητας των τελικών προϊόντων σε γαλακτικό οξύ.



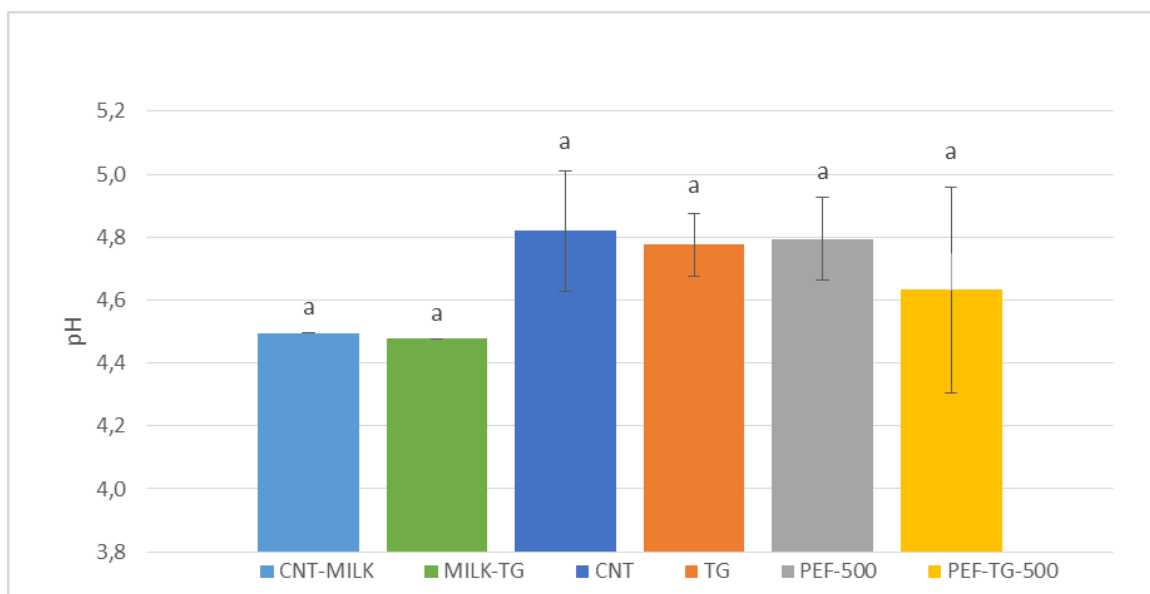
**Διάγραμμα 6.5.1:** Σύγκριση των Διαφορετικών Επεξεργασιών του Τυρογάλακτος στην Τιτλοδοτούμενη Οξύτητα των παραγόμενων προϊόντων

Συμπερασματικά προκύπτει ότι, η ενζυμική επεξεργασία και η επεξεργασία με παλμικά ηλεκτρικά πεδία των μιγμάτων τυρογάλακτος αυξάνει την τιτλοδοτούμενη οξύτητα σε ίδια περίπου επίπεδα. Η εφαρμογή παλμικών ηλεκτρικών πεδίων σε συνδυασμό με ενζυμική επεξεργασία οδηγούν σε περαιτέρω αύξηση της τιτλοδοτούμενης οξύτητας αλλά χωρίς στατιστικά σημαντικές διαφορές με τις επιμέρους μεθόδους.

### 6.5.2 pH

Στο **Διάγραμμα 6.5.2** απεικονίζονται οι τιμές pH που μετρήθηκαν στα δείγματα από τυρόγαλα, το οποίο επεξεργάστηκε θερμικά ή με παλμικά ηλεκτρικά πεδία, με ή χωρίς ακόλουθη ενζυμική επεξεργασία, καθώς και των συμβατικών δειγμάτων γιαουρτιού από αγελαδινό γάλα το οποίο επεξεργάστηκε θερμικά, με ή χωρίς ακόλουθη ενζυμική επεξεργασία.

Όπως προκύπτει από το διάγραμμα του pH και του στατιστικού ελέγχου που πραγματοποιήθηκε (ANOVA) δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ως προς την τιμή του pH μεταξύ του συνόλου των δειγμάτων. Από το διάγραμμα ωστόσο παρατηρείται ότι, τα δείγματα CNT, TG και PEF-500 εμφανίζουν υψηλότερη τιμή pH από τα συμβατικά δείγματα, ενώ το PEF-TG-500 έχει χαμηλότερη τιμή pH, παρόμοια με αυτή των συμβατικών δειγμάτων από γάλα.

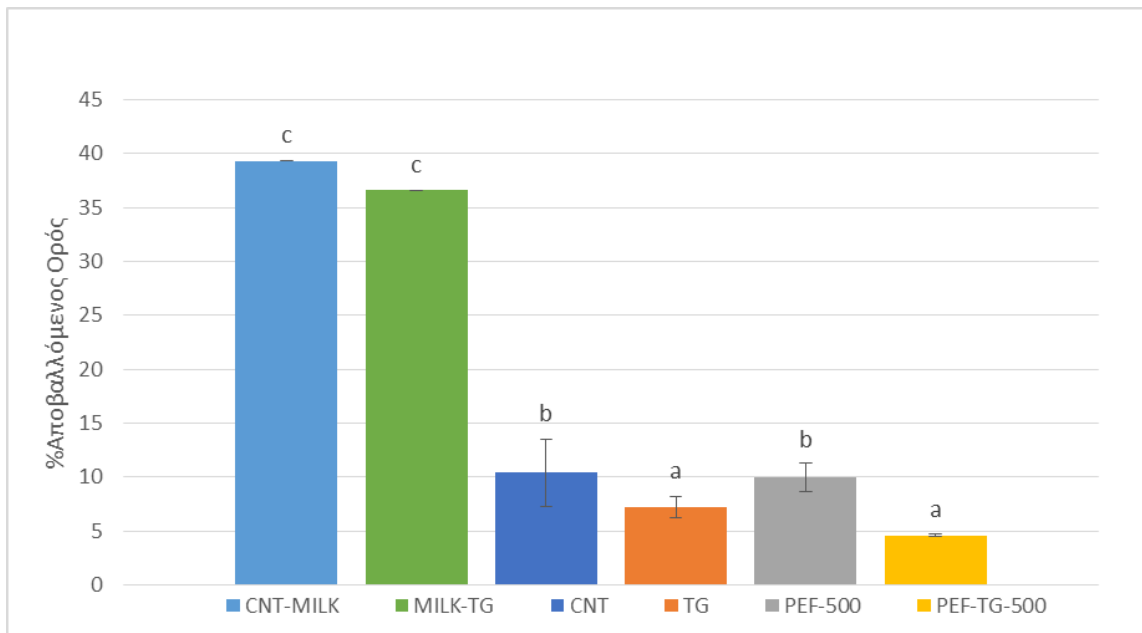


**Διάγραμμα 6.5.2 :** Σύγκριση των Διαφορετικών Επεξεργασιών του τυρογάλακτος στη τιμή pH των παραγόμενων προϊόντων

### 6.5.3 Συναίρεση

Στο **Διάγραμμα 6.5.3** απεικονίζονται τα διαφορετικά ποσοστά αποβαλλόμενου ορού (συναίρεση) για τα δείγματα από μίγματα τυρογάλακτος το οποίο υπέστη θερμική επεξεργασία ή επεξεργασία με παλμικά ηλεκτρικά πεδία, με ή χωρίς ακόλουθη ενζυμική επεξεργασία, καθώς και των συμβατικών δειγμάτων γιαουρτιού από αγελαδινό γάλα το οποίο επεξεργάστηκε θερμικά, με ή χωρίς ακόλουθη ενζυμική επεξεργασία.

Όπως προκύπτει από το διάγραμμα της συναίρεσης και του στατιστικού ελέγχου που πραγματοποιήθηκε (ANOVA) υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0,001$ ) ως προς το ποσοστό αποβαλλόμενου ορού μεταξύ του συνόλου των δειγμάτων. Συγκεκριμένα από την ανάλυση Duncan προέκυψε ότι τα προϊόντα από γάλα (CNT-MILK, MILK-TG) εμφανίζουν μεγάλο ποσοστό αποβαλλόμενου ορού, το οποίο διαφέρει σημαντικά ( $p < 0,001$ ) από το αντίστοιχο ποσοστό των προϊόντων από τυρόγαλα. Στη συνέχεια ακολουθούν τα δείγματα CNT και PEF-500, τα οποία δεν διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους (Στατιστικός μέσος όρος: CNT=10,39%, PEF-500=11,20%). Τα δείγματα TG και PEF-TG-500 εμφανίζουν την μικρότερη συναίρεση, χωρίς σημαντικές διαφορές μεταξύ τους, με το δείγμα PEF-TG-500 να εμφανίζει τη μικρότερη μέση τιμή αποβαλλόμενου ορού (Στατιστικός μέσος όρος: TG= 7,15%, PEF-TG-500= 4,6%).



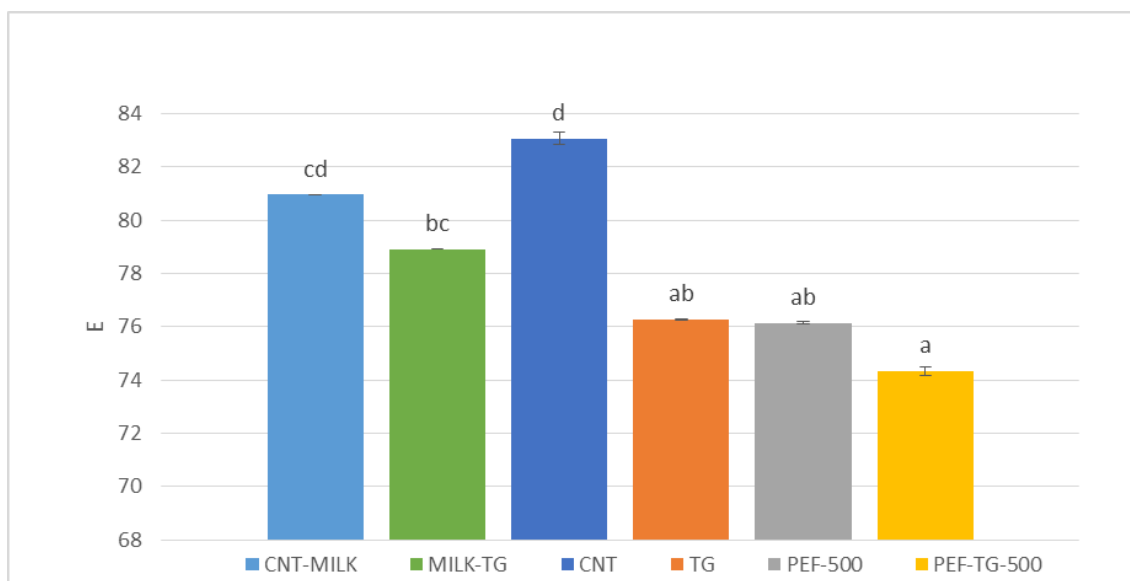
**Διάγραμμα 6.5.3 :** Σύγκριση των Διαφορετικών Επεξεργασιών του τυρογάλακτος στη Συναίρεση (ποσοστό Αποβαλλόμενου ορού) των παραγόμενων προϊόντων

Συμπερασματικά, η ενζυμική επεξεργασία ευνοεί την ελάττωση του φαινομένου της συναίρεσης και δράοντας συνεργιστικά με την επεξεργασία με τα παλμικά ηλεκτρικά πεδία οδηγεί σε περαιτέρω μείωση του ποσοστού του αποβαλλόμενου ορού των τελικών προϊόντων.

#### 6.5.4 Χρώμα

Στο **Διάγραμμα 6.5.4** απεικονίζονται τα αποτελέσματα του χρώματος (E) για τα δείγματα από μίγματα τυρογάλακτος το οποίο υπέστη θερμική επεξεργασία ή επεξεργασία με παλμικά ηλεκτρικά πεδία, με ή χωρίς ακόλουθη ενζυμική επεξεργασία, καθώς και των συμβατικών δειγμάτων γιαουρτιού από αγελαδινό γάλα το οποίο επεξεργάστηκε θερμικά, με ή χωρίς ακόλουθη ενζυμική επεξεργασία.

Όπως προκύπτει από το διάγραμμα του χρώματος και του στατιστικού ελέγχου που πραγματοποιήθηκε (ANOVA) υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0,001$ ) ως προς το χρώμα (E) μεταξύ του συνόλου των δειγμάτων. Συγκεκριμένα από την ανάλυση Duncan προέκυψε ότι τα μίγματα που έχουν υποστεί ενζυμική επεξεργασία και παλμικά ηλεκτρικά πεδία (TG, PEF-500, PEF-TG-500) οδηγούν σε προϊόντα που εμφανίζουν μικρότερη τιμή χρώματος, χωρίς στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους. Σημαντική διαφορά στο χρώμα υπάρχει μεταξύ του δείγματος CNT και του δείγματος PEF-TG-500, γεγονός που υποδηλώνει ότι οι δύο επεξεργασίες που υπέστη το δεύτερο δείγμα επιδρούν σημαντικά στο χρώμα, μειώνοντας το. Επίσης το χρώμα των δειγμάτων TG και PEF-500 είναι παρόμοιο με το χρώμα του δείγματος MILK-TG, το οποίο δεν διαφέρει σημαντικά από το χρώμα των συμβατικών δειγμάτων (CNT-MILK).



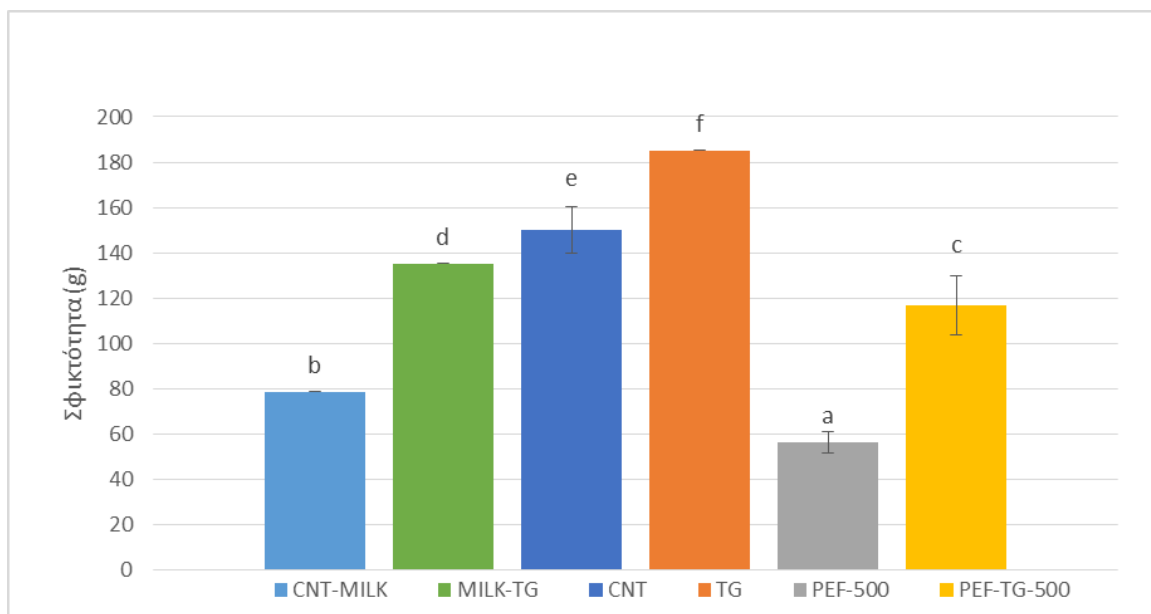
**Διάγραμμα 6.5.4 :** Σύγκριση των Διαφορετικών Επεξεργασιών του Τυρογάλακτος στο Χρώμα (E) των παραγόμενων προϊόντων

Συμπερασματικά, τα δείγματα από τυρόγαλα τα οποία υπέστη μόνο θερμική επεξεργασία εμφανίζουν μεγαλύτερες τιμές χρώματος από τα συμβατικά γιαούρτια. Ωστόσο, έπειτα από την εφαρμογή και ενζυμικής επεξεργασίας των μιγμάτων ή/και παλμικών ηλεκτρικών πεδίων, παρατηρείται μείωση του χρώματος των τελικών προϊόντων, σε τιμές χαμηλότερες από αυτές των συμβατικών γιαουρτιών.

### 6.5.5 Ιδιότητες Υφής

Στο **Διάγραμμα 6.5.5.1** απεικονίζονται τα αποτελέσματα της **σφικτότητας** για τα δείγματα από μίγματα τυρογάλακτος το οποίο υπέστη θερμική επεξεργασία ή επεξεργασία με παλμικά ηλεκτρικά πεδία, με ή χωρίς ακόλουθη ενζυμική επεξεργασία, καθώς και των συμβατικών δειγμάτων γιαουρτιού από αγελαδινό γάλα το οποίο επεξεργάστηκε θερμικά, με ή χωρίς ακόλουθη ενζυμική επεξεργασία.

Όπως προκύπτει από το διάγραμμα της σφικτότητας και του στατιστικού ελέγχου που πραγματοποιήθηκε (ANOVA) υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0,001$ ) ως προς τη σφικτότητα μεταξύ του συνόλου των δειγμάτων. Συγκεκριμένα από την ανάλυση Duncan προέκυψε ότι, τα δείγματα CNT εμφανίζουν μεγαλύτερη σφικτότητα από τα δείγματα γιαουρτιών από γάλα (CNT-MILK, MILK-TG) και επακόλουθη ενζυμική επεξεργασία των μιγμάτων τυρογάλακτος οδηγεί σε περαιτέρω αύξηση της τιμής της παραμέτρου αυτής. Ωστόσο, τα δείγματα PEF-500 παρουσίασαν αρκετά μειωμένη σφικτότητα, σε επίπεδα ακόμα μικρότερα και της σφικτότητας των δειγμάτων CNT-MILK. Η μετέπειτα, παρόλο αυτά, ενζυμική επεξεργασία των μιγμάτων με είχαν υποστεί επεξεργασία με ΠΗΠ (PEF-TG-500), οδήγησε σε σημαντική αύξηση της σφικτότητας σε επίπεδα υψηλότερα της σφικτότητας των συμβατικών γιαουρτιών (Στατιστικός μέσος όρος: CNT-MILK=78,56 g, PEF-TG-500= 116,93 g).



**Διάγραμμα 6.5.5.1 :** Σύγκριση των Διαφορετικών Επεξεργασιών του Τυρογάλακτος στη Σφικτότητα των παραγόμενων προϊόντων

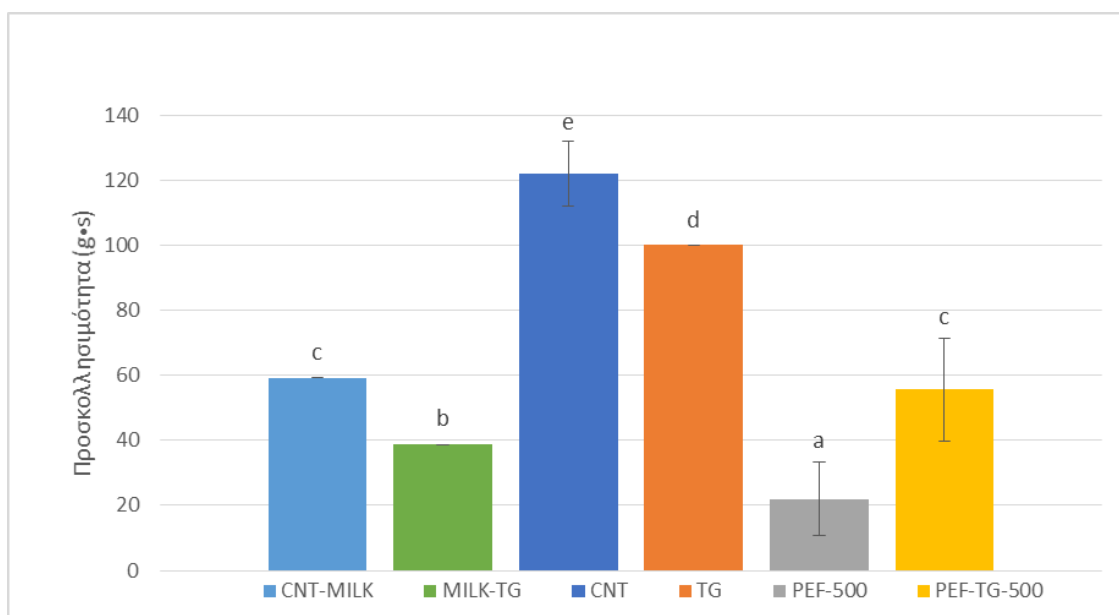
Συμπερασματικά, η επεξεργασία με παλμικά ηλεκτρικά πεδία (PEF) μειώνει τη σφικτότητα των δειγμάτων, ωστόσο με επακόλουθη ενζυμική επεξεργασία των μιγμάτων, τα αποτελέσματα βελτιώνονται. Αξίζει να σημειωθεί ότι μπορεί η σφικτότητα του PEF-TG-500 να μην είναι τόσο υψηλή όσο του TG, ωστόσο προσεγγίζει περισσότερο τη σφικτότητα του συμβατικού γιαουρτιού από γάλα, ενώ στη δεύτερη περίπτωση (TG) είναι παραπάνω από διπλάσια της.

Στο **Διάγραμμα 6.5.5.2** απεικονίζονται τα αποτελέσματα της **προσκολλησιμότητας** για τα δείγματα από μίγματα τυρογάλακτος το οποίο υπέστη θερμική επεξεργασία ή επεξεργασία με παλμικά ηλεκτρικά πεδία, με ή χωρίς ακόλουθη ενζυμική επεξεργασία, καθώς και των συμβατικών δειγμάτων γιαουρτιού από αγελαδινό γάλα το οποίο επεξεργάστηκε θερμικά, με ή χωρίς ακόλουθη ενζυμική επεξεργασία.

Όπως προκύπτει από το διάγραμμα της προσκολλησιμότητας και του στατιστικού ελέγχου που πραγματοποιήθηκε (ANOVA) υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0,001$ ) ως προς την προσκολλησιμότητα μεταξύ του συνόλου των δειγμάτων. Συγκεκριμένα από την ανάλυση Duncan προέκυψε ότι τα δείγματα CNT και TG εμφανίζουν τη μεγαλύτερη προσκολλησιμότητα, έπειτα ακολουθούν τα δείγματα CNT-MILK και PEF-TG-500, τα οποία δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους, και τη μικρότερη προσκολλησιμότητα εμφανίζει το δείγμα PEF-500, γεγονός που σημαίνει ότι τα παλμικά ηλεκτρικά πεδία μειώνουν την προσκολλησιμότητα των δειγμάτων. Η ενζυμική επεξεργασία των μιγμάτων οδήγησε σε μείωση της προσκολλησιμότητας στα δείγματα MILK-TG και TG σε σχέση με τα δείγματα



από τα αντίστοιχα θερμικά επεξεργασμένα μίγματα τους, με εξαίρεση την περίπτωση όπου τα μίγματα είχαν υποστεί αρχικά επεξεργασία με ΠΗΠ (PEF-TG-500).



**Διάγραμμα 6.5.5.2 :** Σύγκριση των Διαφορετικών Επεξεργασιών στην Προσκολλησιμότητα των παραγόμενων προϊόντων

Συμπερασματικά, τα δείγματα PEF-TG-500 και CNT-MILK εμφάνισαν περίπου την ίδια προσκολλησιμότητα, χωρίς σημαντικές διαφορές, προσεγγίζοντας αρκετά καλά τα συμβατικά γιαούρτια από γάλα. Επιπλέον, ο συνδυασμός των παλμικών ηλεκτρικών πεδίων και της ενζυμικής επεξεργασίας ενίσχυσε την προσκολλησιμότητα, σε αντίθεση με τα υπόλοιπα δείγματα με ένζυμο, στα οποία παρατηρήθηκε μείωση της τιμής της παραμέτρου.

Στο **Πίνακα 6.5** απεικονίζονται τα αποτελέσματα της **συνεκτικότητας** για τα δείγματα από μίγματα τυρογάλακτος το οποίο υπέστη θερμική επεξεργασία ή επεξεργασία με παλμικά ηλεκτρικά πεδία, με ή χωρίς ακόλουθη ενζυμική επεξεργασία, καθώς και των συμβατικών δειγμάτων γιαουρτιού από αγελαδινό γάλα το οποίο επεξεργάστηκε θερμικά, με ή χωρίς ακόλουθη ενζυμική επεξεργασία.

Όπως προκύπτει από τον **Πίνακα 6.5** και το στατιστικό έλεγχο που πραγματοποιήθηκε (ANOVA) δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ως προς τη συνεκτικότητα μεταξύ του συνόλου των δειγμάτων. Συγκεκριμένα από την ανάλυση Duncan στατιστικά σημαντική διαφορά διαπιστώθηκε μόνο στα δείγματα CNT-MILK και PEF-500. Γενικά από τις μέσες τιμές και τον πίνακα φαίνεται ότι η ενζυμική επεξεργασία και η επεξεργασία με τα παλμικά ηλεκτρικά πεδία των μιγμάτων, όταν αυτές εφαρμόζονται μεμονωμένα, οδηγούν σε μικρή αύξηση της συνεκτικότητας σε σχέση με τα δείγματα CNT-MILK. Ωστόσο, με εφαρμογή και των δύο μεθόδων παρατηρείται μικρή ελάττωση της συνεκτικότητας των τελικών προϊόντων, η οποία είναι αλλά και πάλι υψηλότερη της συνεκτικότητας του συμβατικού δείγματος (CNT-MILK).

Συμπερασματικά, η συνεκτικότητα γενικά κυμαίνεται στα ίδια επίπεδα, με μικρές διαφορές για τις διαφορετικές επεξεργασίες των δειγμάτων. Ωστόσο παρατηρείται μικρή αύξηση στα δείγματα μίγματα τυρογάλακτος μετά από ενζυμική επεξεργασία και εφαρμογή παλμικών ηλεκτρικών πεδίων στα τελικά προϊόντα τους σε σχέση με τα συμβατικά γιαούρτια από γάλα.

Στο **Πίνακα 6.5** απεικονίζονται τα αποτελέσματα της **ελαστικότητας** για τα δείγματα από μίγματα τυρογάλακτος το οποίο υπέστη θερμική επεξεργασία ή επεξεργασία με παλμικά ηλεκτρικά πεδία, με ή χωρίς ακόλουθη ενζυμική επεξεργασία, καθώς και των συμβατικών δειγμάτων γιαουρτιού από αγελαδινό γάλα το οποίο επεξεργάστηκε θερμικά, με ή χωρίς ακόλουθη ενζυμική επεξεργασία.

Όπως προκύπτει από τον **Πίνακα 6.5** και το στατιστικό έλεγχο που πραγματοποιήθηκε (ANOVA) δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ως προς τη ελαστικότητα μεταξύ του συνόλου των δειγμάτων. Όπως παρατηρήθηκε και στις προηγούμενες ενότητες, οι διαφορετικές επεξεργασίες των μιγμάτων δεν επηρεάζουν την ελαστικότητα των τελικών προϊόντων, με την τιμή της να είναι περίπου  $0,94 \pm 0,06$ .

Στο **Πίνακα 6.5** απεικονίζονται τα αποτελέσματα του **κομμώδους** για τα δείγματα από μίγματα τυρογάλακτος το οποίο υπέστη θερμική επεξεργασία ή επεξεργασία με παλμικά ηλεκτρικά πεδία, με ή χωρίς ακόλουθη ενζυμική επεξεργασία, καθώς και των συμβατικών δειγμάτων γιαουρτιού από αγελαδινό γάλα το οποίο επεξεργάστηκε θερμικά, με ή χωρίς ακόλουθη ενζυμική επεξεργασία.

Όπως προκύπτει από τον **Πίνακα 6.5** και το στατιστικό έλεγχο που πραγματοποιήθηκε (ANOVA) υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0,001$ ) ως προς το κομμώδες μεταξύ του συνόλου των δειγμάτων. Συγκεκριμένα από την ανάλυση Duncan προέκυψε ότι, μεγαλύτερο κομμώδες όσον αφορά τα δείγματα από μίγματα τυρογάλακτος εμφανίζει το δείγμα TG, έπειτα το CNT και μετά ακολουθούν τα PEF-TG-500 και PEF-500. Σε όλες τις περιπτώσεις εφαρμογής ενζυμικής επεξεργασίας παρατηρείται αύξηση του κομμώδους των δειγμάτων, ενώ στην εφαρμογή παλμικών ηλεκτρικών πεδίων υπάρχει σημαντική μείωση του (PEF-500) σε σχέση με τα δείγματα από θερμικά επεξεργασμένα μίγματα (CNT). Ωστόσο, αναφορικά με τα δείγματα από αγελαδινό γάλα, το PEF-500 προσεγγίζει περισσότερο το CNT-MILK, αν και έχει σχετικά μικρότερη προσκολλησιμότητα, σε σχέση με τα υπόλοιπα δείγματα. Το κομμώδες του TG είναι σχεδόν 2,5 φορές μεγαλύτερο του συμβατικού γιαουρτιού.

Συμπερασματικά, η ενζυμική επεξεργασία αυξάνει το κομμώδες των δειγμάτων που έχουν υποστεί είτε θερμική επεξεργασία είτε επεξεργασία με παλμικά ηλεκτρικά πεδία. Η εφαρμογή μόνο παλμικών ηλεκτρικών πεδίων μειώνει το κομμώδες σε μεγάλο βαθμό σε σχέση με τα δείγματα από θερμικά επεξεργασμένα μίγματα (CNT), ωστόσο προσεγγίζουν το κομμώδες των συμβατικών δειγμάτων γιαουρτιού με γάλα. Η ενζυμική επεξεργασία των μιγμάτων μάλιστα, δηλαδή το (PEF-TG-500), εμφανίζει καλύτερα αποτελέσματα ως προς το κομμώδες των τελικών δειγμάτων, χωρίς ωστόσο να προσεγγίζει τις τιμές των TG δειγμάτων.

**Πίνακας 6.5 :** Ιδιότητες υφής παραγόμενων ζυμωμένων προϊόντων από μίγματα

<b>MILK Δείγματα</b>	<b>Συνεκτικότητα</b>	<b>Ελαστικότητα</b>	<b>Κομμιώδες (g)</b>
MILK-CNT	0,48 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,94± 0,00 <sup>a</sup>	37,6± 0,00 <sup>b</sup>
MILK-TG	0,52 ± 0,00 <sup>ab</sup>	1,00± 0,00 <sup>a</sup>	70,4± 0,00 <sup>d</sup>
<b>10% w/v Πρωτεϊνική Περιεκτικότητα</b>	<b>Συνεκτικότητα</b>	<b>Ελαστικότητα</b>	<b>Κομμιώδες (g)</b>
10% - CNT	0,52± 0,03 <sup>ab</sup>	0,97± 0,00 <sup>a</sup>	77,7± 1,26 <sup>c</sup>
10% - TG	0,54± 0,06 <sup>ab</sup>	0,94± 0,00 <sup>a</sup>	92,2± 0,00 <sup>f</sup>
<b>Επεξεργασία PEF</b>	<b>Συνεκτικότητα</b>	<b>Ελαστικότητα</b>	<b>Κομμιώδες (g)</b>
PEF-500	0,55± 0,04 <sup>b</sup>	0,96± 0,02 <sup>a</sup>	31,6± 1,64 <sup>a</sup>
<b>Επεξεργασία PEF-TG</b>	<b>Συνεκτικότητα</b>	<b>Ελαστικότητα</b>	<b>Κομμιώδες (g)</b>
PEF-TG-500	0,52± 0,01 <sup>ab</sup>	0,91± 0,04 <sup>a</sup>	60,4± 6,09 <sup>c</sup>

Τα διαφορετικά γράμματα μεταξύ των γραμμών των όμοιων στηλών δείχνουν στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0,05$ ) μεταξύ των εξεταζόμενων δειγμάτων με βάση τη δοκιμή σύγκρισης μέσω των όρων του Duncan (Duncan's mean values post hoc comparison test). Η σειρά των γραμμάτων είναι κατά σύμβαση από το μικρότερο προς το μεγαλύτερο μέσο όρο.

Οι τιμές είναι μέσοι όροι ± τυπική απόκλιση διαφορετικών πειραμάτων.

Τα μεγέθη συνεκτικότητα και ελαστικότητα δεν έχουν μονάδες.

### 6.5.6 Συνολικά Συμπεράσματα – Σύγκριση Μεθόδων

Η σύγκριση των μεθόδων στην ενότητα 6.5 πραγματοποιήθηκε για τα δείγματα μόνο με 10% περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη των οποίων τα μίγματα έχουν υποστεί θερμική, ενζυμική επεξεργασία, επεξεργασία με παλμικά ηλεκτρικά πεδία καθώς και συνδυασμό τους. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν συγκρίνονται και με τα συμβατικά δείγματα γαλακτικού από γάλα στα οποία δεν έχει προστεθεί παραπάνω πρωτεΐνη, από όση περιέχει ήδη το αγελαδινό γάλα. Συνολικά από την παραπάνω ανάλυση προέκυψαν τα ακόλουθα συμπεράσματα:

- Η επεξεργασία των μιγμάτων τυρογάλακτος με ένζυμο ή παλμικά ηλεκτρικά πεδία επιδρά σημαντικά στην τιτλοδοτούμενη οξύτητα, τη συναίρεση, το χρώμα, τη σφικτότητα, την προσκολλησιμότητα και το κομμιώδες.
- Παρατηρείται αύξηση της τιτλοδοτούμενης οξύτητας σε σχέση με το δείγμα CNT στα δείγματα TG και λίγο μεγαλύτερη αύξηση στα δείγματα PEF και PEF-TG, αλλά με μη στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους.
- Η συναίρεση μειώνεται σημαντικά στο δείγμα TG, ενώ το δείγμα PEF-TG εμφανίζει τη μικρότερη συναίρεση από όλα τα δείγματα. Ο συνδυασμός των δύο μεθόδων επεξεργασίας φαίνεται να ελαχιστοποιεί σε μεγάλο ποσοστό το ανεπιθύμητο φαινόμενο της συναίρεσης.
- Μείωση της τιμής του χρώματος στα ίδια επίπεδα παρατηρείται στα δείγματα TG και PEF σε σχέση με το CNT, ενώ ο συνδυασμός τους οδηγεί σε περαιτέρω ελάττωση της τιμής του.
- Σημαντική μείωση της σφικτότητας εμφανίζεται κατά την εφαρμογή παλμικών ηλεκτρικών πεδίων, ενώ η ενζυμική επεξεργασία των μιγμάτων προκαλεί αύξηση της σφικτότητας.

- Μείωση της προσκολλησιμότητας εμφανίζεται τόσο με την εφαρμογή της ενζυμικής επεξεργασίας όσο και με τα παλμικά ηλεκτρικά πεδία, ωστόσο στη δεύτερη περίπτωση υπήρξε μεγαλύτερη ελάττωση. Παρόλο αυτά ο συνδυασμός των μεθόδων οδήγησε σε αύξηση της προσκολλησιμότητας.
- Το κομμιώδες, όπως είναι λογικό, έχει την ίδια συμπεριφορά με τη σφικτότητα, δηλαδή αυξάνεται με εφαρμογή ενζυμικής επεξεργασίας και μειώνεται σημαντικά με εφαρμογή παλμικών ηλεκτρικών πεδίων, σε σχέση με το CNT.
- Σε γενικές γραμμές, τα καινοτόμα προϊόντα με περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη 10% w/v εμφανίζουν εξ αρχής μεγαλύτερη τιτλοδοτούμενη οξύτητα, χρώμα, σφικτότητα, προσκολλησιμότητα και κομμιώδες καθώς και μικρότερη συναίρεση από τα αντίστοιχα συμβατικά προϊόντα.

Το δείγμα PEF-TG-500, αποτελεί τον συνδυασμό των μεθόδων επεξεργασίας και ουσιαστικά θεωρείται ως πιθανό τελικό προϊόν. Συγκεντρωτικά, λοιπόν, τα αποτελέσματα που προέκυψαν για αυτό είναι:

- Η τιτλοδοτούμενη οξύτητα του είναι ιδιαίτερα αυξημένη σε σχέση με την τιτλοδοτούμενη οξύτητα των συμβατικών γιαουρτιών.
- Εμφανίζει σχεδόν 10 φορές μικρότερη συναίρεση από τα συμβατικά γιαούρτια, ενώ αποτελεί το δείγμα με την μικρότερη συναίρεση γενικά μεταξύ των παραγόμενων καινοτόμων προϊόντων.
- Παρατηρείται αρκετά μειωμένες τιμές χρώματος σε σχέση με τα συμβατικά γιαούρτια.
- Δεν παρατηρούνται διαφορές στην τιμή του pH του, στη συνεκτικότητα και ελαστικότητα σε σχέση με τα αντίστοιχα χαρακτηριστικά των συμβατικών γιαουρτιών.
- Η σφικτότητα είναι υψηλότερη από εκείνη των συμβατικών γιαουρτιών, παρόλο που αν και σε σχέση με την σφικτότητα των δειγμάτων από θερμικά επεξεργασμένα μίγματα παρατηρείται μείωση.
- Η προσκολλησιμότητα είναι σημαντικά μικρότερη σε σχέση με τα συμβατικά γιαούρτια και επίσης το κομμιώδες παρουσιάζει μικρότερη τιμή.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7<sup>ο</sup> : ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Το τυρόγαλα αποτελεί ένα βασικό παραπροϊόν της βιομηχανίας τυριού και λόγω του περιβαλλοντικού προβλήματος που δημιουργεί η απόρριψη του στο περιβάλλον, κρίνεται αναγκαία η αξιοποίησή του. Ωστόσο εκτός από το ζήτημα της προστασίας του περιβάλλοντος, το τυρόγαλα είναι μια πολύτιμη πρώτη ύλη καθώς περιέχει πολλά θρεπτικά συστατικά όπως πρωτεΐνες, μεταλλικά στοιχεία και βιταμίνες. Από την άλλη μεριά, το γιαούρτι αποτελεί ένα ιδιαίτερα διαδεδομένο γαλακτοκομικό προϊόν με πολλά οφέλη για τον οργανισμό. Στην παρούσα διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκε ένας συνδυασμός αυτών των δύο προϊόντων. Συγκεκριμένα δημιουργήθηκαν νέα καινοτόμα προϊόντα με πρώτη ύλη το τυρόγαλα. Για την βελτίωση των φυσικοχημικών και ποιοτικών χαρακτηριστικών τους μελετήθηκε η ενζυμική επεξεργασία και η εφαρμογή Παλμικών Ηλεκτρικών Πεδίων του τυρογάλακτος.

Στις προηγούμενες ενότητες πραγματοποιήθηκε ανάλυση των αποτελεσμάτων που προέκυψαν από τα πειράματα και μελετήθηκε η μεταβολή της τιμής του pH και η κινητική της ζύμωσης, η επίδραση της ενζυμικής επεξεργασίας, η επίδραση των διαφορετικών συνθηκών επεξεργασίας των παλμικών ηλεκτρικών πεδίων και έγινε η σύγκριση των μεθόδων μεταξύ τους και με τα συμβατικά δείγματα γιαουρτιού από αγελαδινό γάλα.

Αρχικά πραγματοποιήθηκε ανάλυση των κυριότερων συστατικών του τυρογάλακτος, δηλαδή έγινε προσδιορισμός του γαλακτικού οξέος με τη μέθοδο της φασματοφωτομετρίας, του στερεού υπολείμματος και της τέφρας, καθώς και του λίπους. Για το λίπος ο προσδιορισμός έγινε για τα μίγματα τυρογάλακτος και σκόνης γάλακτος, με περιεκτικότητες σε πρωτεΐνη 6% και 8% w/v και προέκυψε ότι περιέχουν 0,48% w/w και 0,45% w/w λίπος, αντίστοιχα. Επίσης στο τυρόγαλα, το στερεό υπόλειμμα βρέθηκε ίσο με 6,472 % w/w, η τέφρα ίση με 0,690 % w/w και η συγκέντρωση του γαλακτικού οξέος υπολογίστηκε ίση με 3,590 g/L.

Έπειτα, μελετήθηκε ο χρόνος ζύμωσης, η μεταβολή της τιμής του pH και η κινητική της ζύμωσης που προκύπτει με βάση την εξίσωση τεσσάρων παραμέτρων του Gompertz. Στα προϊόντα που παράχθηκαν, παρατηρήθηκε αύξηση του χρόνου ζύμωσης σε σχέση με τα συμβατικά γιαούρτια και στην περίπτωση εφαρμογής παλμικών ηλεκτρικών πεδίων στην πρώτη ύλη του τυρογάλακτος παρατηρήθηκε περαιτέρω επιβράδυνση της ζύμωσης. Η ενζυμική επεξεργασία ωστόσο δεν έχει σημαντική επίδραση στον χρόνο ζύμωσης αλλά παρατηρήθηκε μικρή μείωσή του. Η εφαρμογή και των δύο μεθόδων επεξεργασίας (ενζυμική και παλμικά ηλεκτρικά πεδία) φάνηκε να επιταχύνει τη ζύμωση σε σχέση με τον αντίστοιχο χρόνο που χρειάζονται τα μίγματα που έχουν επεξεργαστεί μόνο με παλμικά ηλεκτρικά πεδία. Επιπλέον μέσω της μεταβολής της τιμής του pH και της κινητικής της ζύμωσης προσδιορίστηκε η λανθάνουσα φάση και ο μέγιστος ρυθμός μείωσης της τιμής του pH. Όπως διαπιστώθηκε και για τον χρόνο ζύμωσης, τα παλμικά ηλεκτρικά πεδία επιδρούν και στη λανθάνουσα φάση, αυξάνοντας της διάρκειά της, ενώ παράλληλα εμφανίζουν σχετικά μικρό μέγιστο ρυθμό μείωσης της τιμής του pH σε σχέση με τα θερμικά επεξεργασμένα μίγματα. Από την άλλη μεριά, η ενζυμική επεξεργασία δεν φάνηκε να επιδρά σημαντικά στο χρόνο της λανθάνουσας φάσης και στο μέγιστο ρυθμό μείωσης της τιμής του pH.

Η δημιουργία ενός καινοτόμου προϊόντος προϋποθέτει διεξοδική μελέτη και εύρεση των βέλτιστων χαρακτηριστικών που πρέπει να διαθέτει το προϊόν, καθώς και των βέλτιστων συνθηκών επεξεργασίας, ώστε να προκύψει ένα υψηλής ποιότητας τρόφιμο. Αρχικά λοιπόν πραγματοποιήθηκε σύγκριση των δειγμάτων από θερμικά και μετέπειτα ενζυμικά

επεξεργασμένα μίγματα με τα δείγματα από μόνο θερμικά επεξεργασμένα μίγματα και με συμβατικά δείγματα γιαουρτιού, καθώς και σύγκριση των δειγμάτων ως προς το πρωτεϊνικό τους περιεχόμενο. Για το πρωτεϊνικό περιεχόμενο, με αύξηση της περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη, παρατηρήθηκε σημαντική μείωση της συναίρεσης καθώς και μεγάλη αύξηση της σφικτότητας, προσκολλησιμότητας και κομμιάδους των τελικών προϊόντων. Επίσης σημειώθηκε αύξηση της τιτλοδοτούμενης οξύτητας, ενώ το χρώμα, η τιμή του pH, η συνεκτικότητα και η ελαστικότητα δεν εμφάνισαν σημαντικές διαφορές. Αποτέλεσμα της ανάλυσης αυτής ήταν η επιλογή ως βέλτιστης πρώτης ύλης για την περαιτέρω διεξαγωγή πειραμάτων το μίγμα τυρογάλακτος-σκόνης γάλακτος με περιεκτικότητα 10% w/v σε πρωτεΐνη. Επιπλέον σχετικά με την ενζυμική επεξεργασία των μιγμάτων προέκυψε ότι έχει σημαντική επίδραση στις ιδιότητες και στα χαρακτηριστικά των τελικών προϊόντων. Συγκεκριμένα οδήγησε σε αύξηση της τιτλοδοτούμενης οξύτητας, σημαντική μείωση της συναίρεσης και αύξηση σε μεγάλο βαθμό της σφικτότητας και του κομμιάδους, και σε μείωση της προσκολλησιμότητας των τελικών δειγμάτων. Επίσης μικρή μείωση παρατηρήθηκε στις τιμές του χρώματος των τελικών προϊόντων και μικρή αύξηση στη συνεκτικότητά τους, ενώ οι τιμές του pH και της ελαστικότητας δεν παρουσίασαν σημαντικές διαφορές.

Έπειτα πραγματοποιήθηκαν πειράματα για την εύρεση των βέλτιστων συνθηκών επεξεργασίας με παλμικά ηλεκτρικά πεδία, όσον αφορά τον αριθμό των παλμών. Από την αντίστοιχη ανάλυση προέκυψε ότι η αύξηση των παλμών προκαλεί μείωση της σφικτότητας, του κομμιάδους και της προσκολλησιμότητας, και αύξηση της συνεκτικότητας των τελικών προϊόντων, ενώ η τιτλοδοτούμενη οξύτητα, η τιμή του pH, το χρώμα, η συναίρεση (εξαίρεση οι 100 παλμοί) και η ελαστικότητα δεν εμφάνισαν σημαντικές διαφορές. Αποτέλεσμα της έρευνας ήταν η επιλογή ως βέλτιστης συνθήκης επεξεργασίας για τα παλμικά ηλεκτρικά πεδία τους 500 παλμούς, λόγω του ότι σε αυτή τη συνθήκη παρατηρήθηκε οι υψηλότερες τιμές χρώματος, η υψηλότερη σφικτότητα, προσκολλησιμότητα και κομμιάδες των τελικών δειγμάτων, και παράλληλα κατά τον οπτικό έλεγχο των δειγμάτων στο εργαστήριο διαπιστώθηκε ότι αυτά τα δείγματα είχαν πιο πηκτό και σταθερό πήγμα.

Τελικά διεξήχθησαν πειράματα με τον συνδυασμό της ενζυμικής επεξεργασίας και των παλμικών ηλεκτρικών πεδίων σε συνθήκες 500 παλμών σε μίγματα τυρογάλακτος-σκόνης γάλακτος με περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη 10% w/v και παράχθηκαν τα αντίστοιχα καινοτόμα προϊόντα. Από την παραπάνω ανάλυση των συνθηκών των παλμικών ηλεκτρικών πεδίων αλλά και από τα συγκεντρωτικά διαγράμματα των μεθόδων διερευνήθηκε η επίδραση των παλμικών ηλεκτρικών πεδίων στα ποιοτικά χαρακτηριστικά των καινοτόμων προϊόντων σε σχέση με τα προϊόντα από θερμικά επεξεργασμένα μίγματα. Διαπιστώθηκε ότι τα παλμικά ηλεκτρικά πεδία επιδρούν σημαντικά στα χαρακτηριστικά και στις ιδιότητες των τελικών προϊόντων. Παρατηρήθηκε αύξηση της τιτλοδοτούμενης οξύτητας, μείωση του ολικού χρώματος και σημαντική ελάττωση της σφικτότητας, της προσκολλησιμότητας και του κομμιάδους των δειγμάτων αυτών, ενώ μικρή αύξηση παρουσίασε η συνεκτικότητά τους. Η συναίρεση, η τιμή του pH τους και η ελαστικότητά τους δεν επηρεάστηκαν σημαντικά.

Σημαντική ανάλυση για τη δημιουργία του τελικού προϊόντος αποτελεί η σύγκριση των παραγόμενων προϊόντων με πρωτεϊνική περιεκτικότητα 10% w/v στα μίγματα των οποίων εφαρμόστηκε είτε ενζυμική επεξεργασία είτε παλμικά ηλεκτρικά πεδία, με τα συμβατικά γιαούρτια από γάλα. Όπως προέκυψε από τη συγκεντρωτική ανάλυση, όσον αφορά τα δείγματα από ενζυμικά επεξεργασμένα μίγματα, παρατηρείται σημαντικά αυξημένη τιτλοδοτούμενη οξύτητα, αρκετά μειωμένη συναίρεση (περίπου 5-6 φορές μικρότερη),

μικρότερες τιμές χρώματος και λίγο υψηλότερη συνεκτικότητα, ενώ δεν παρατηρούνται διαφορές στην ελαστικότητα, συγκρινόμενα πάντα με τα συμβατικά γιαούρτια. Αξιοσημείωτη είναι η διαφορά τους ως προς την σφικτότητα και το κομμιώδες με τα καινοτόμα προϊόντα από ενζυμικά επεξεργασμένα μίγματα τυρογάλακτος να εμφανίζουν σχεδόν 2,5 φορές μεγαλύτερη τιμή στην σφικτότητα και το κομμιώδες, ενώ η προσκολλησιμότητά τους είναι περίπου 1,5 φορές μεγαλύτερη. Από την άλλη πλευρά, τα καινοτόμα προϊόντα τα μίγματα των οποίων έχουν επεξεργαστεί με παλμικά ηλεκτρικά πεδία, σε σύγκριση με τα συμβατικά γιαούρτια από γάλα, εμφανίζουν μικρότερη σφικτότητα, κομμιώδες και συναίρεση, ενώ η προσκολλησιμότητά τους είναι σχεδόν υποδιπλάσια της αντίστοιχης για τα συμβατικά προϊόντα.

Τέλος ο συνδυασμός των δύο μεθόδων επεξεργασίας, δηλαδή της ενζυμικής και των παλμικών ηλεκτρικών πεδίων, για την δημιουργία ενός προϊόντος, βελτίωσε τις αρνητικές επιπτώσεις των παλμικών ηλεκτρικών πεδίων που αναλύθηκαν παραπάνω. Συγκεκριμένα μείωσε τη συναίρεση σε επίπεδα ακόμα πιο χαμηλά και από την συναίρεση που εμφανίστηκε για τα δείγματα από ενζυμικά επεξεργασμένα μίγματα, επιτυγχάνοντας σχεδόν 10 φορές λιγότερο αποβαλλόμενο ορό σε σχέση με τα συμβατικά γιαούρτια. Επιπλέον, η σφικτότητα και το κομμιώδες αυξήθηκαν σε επίπεδα υψηλότερα των γιαουρτιών από γάλα, ενώ η προσκολλησιμότητα αυξήθηκε και απέκτησε παραπλήσια τιμή. Αξίζει να σημειωθεί ωστόσο ότι παρατηρήθηκε περαιτέρω μείωση του χρώματος, ενώ η τιτλοδοτούμενη οξύτητα, το pH, η συνεκτικότητα και η ελαστικότητα, δεν παρουσίασαν σημαντικές διαφορές.

Συμπερασματικά, η ενζυμική επεξεργασία και η αύξηση του πρωτεϊνικού περιεχομένου των μιγμάτων επιδρούν θετικά στα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά και τις ιδιότητες υψής των παραγόμενων γιαουρτιών, με αποτέλεσμα να παράγονται προϊόντα με σφιχτό και συνεκτικό πήγμα, ελαφρώς όξινα αλλά χωρίς προβλήματα συναίρεσης. Ιδανική πρωτεϊνική περιεκτικότητα για την παραγωγή τέτοιων προϊόντων είναι η 10% w/v. Τα παλμικά ηλεκτρικά πεδία, ωστόσο, επιδρούν κυρίως αρνητικά στα χαρακτηριστικά και στις ιδιότητες των τελικών προϊόντων καθώς μειώνουν σημαντικά την σφικτότητα, ενώ παράλληλα αυξάνουν και τον χρόνο ζύμωσης. Παρόλη την αρνητική τους επίδραση, τα παλμικά ηλεκτρικά πεδία (συνθήκη 500 παλμών) όταν συνδυαστούν με ενζυμική επεξεργασία, οδηγούν σε προϊόντα με εξαιρετικά μειωμένη συναίρεση σε σχέση με κάθε μέθοδο επεξεργασίας ξεχωριστά. Παράλληλα, τα τελικά προϊόντα δημιουργούν πιο σφιχτό και σταθερό πήγμα από τα συμβατικά γιαούρτια.

## 7.1 Προτάσεις για μελλοντική έρευνα

Η δημιουργία των νέων γραμμών παραγωγής των καινοτόμων προϊόντων προϋποθέτει τη διεξαγωγή τεχνοοικονομικής και περιβαλλοντικής μελέτης, έτσι ώστε να διαπιστωθεί αν τελικά αξίζει η παραγωγή τους. Ως πλεονεκτήματα, όσον αφορά το κόστος, θεωρείται η χρήση ενός παραπροϊόντος, το οποίο σε αντίθετη περίπτωση θα αξιοποιούνταν με διαφορετικό τρόπο, η μη αγορά γάλακτος ως πρώτη ύλη, η μείωση του χρόνου παστερίωσης λόγω χρήσης ΠΗΠ καθώς και ο μειωμένος χρόνος επεξεργασίας ΠΗΠ. Ωστόσο προκύπτουν και κάποιοι περιορισμοί, οι οποίοι οδηγούν σε αύξηση του κόστους, όπως είναι η αγορά της τρανσγλουταμινάσης (αύξηση 0,07-0,08 €/kg στη τελική τιμή), η αγορά της αποβουτυρωμένης σκόνης γάλακτος (αύξηση περίπου 0,57 €/kg στη τελική τιμή), η χρήση του ενζύμου λόγω παραμονής για 3 h στους 43°C και της απενεργοποίησης του στους 80°C, η αύξηση του χρόνου ζύμωσης λόγω των ΠΗΠ καθώς και η αγορά του εξοπλισμού ΠΗΠ (πάγιο κόστος).

Όσον αφορά τα αποτελέσματα που προέκυψαν από την παρούσα διπλωματική εργασία, διαπιστώθηκε ότι είναι ιδιαίτερα ενθαρρυντικά καθώς η ενζυμική επεξεργασία σε συνδυασμό με τα παλμικά ηλεκτρικά πεδία, συνετέλεσαν στην δημιουργία νέων προϊόντων με βάση το τυρόγαλα, τα οποία έχουν στο σύνολο τους βελτιωμένα χαρακτηριστικά σε σχέση με τα συμβατικά γιαούρτια από γάλα. Συνεπώς θεωρείται σκόπιμη η περαιτέρω μελέτη των προϊόντων αυτών και η οργανοληπτική τους αξιολόγηση για τη διερεύνηση της αποδοχής τους από τους καταναλωτές. Επιπρόσθετα, κρίνεται σημαντική η μελέτη της συμπεριφοράς τους σε συνθήκες αποθήκευσης για τουλάχιστον 28 ημέρες, που αποτελεί ένα συνηθισμένο χρόνο διατηρησιμότητας τέτοιων προϊόντων.

Επιπλέον, θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν και άλλες μέθοδοι επεξεργασίας οι οποίες είναι γνωστό ότι συντελούν στη βελτίωση των ποιοτικών χαρακτηριστικών τέτοιων προϊόντων, όπως η υπερυψηλή πίεση και να πραγματοποιηθεί μία συνολική σύγκριση της επίδρασης των εναλλακτικών αυτών επεξεργασιών. Στις μελέτες αυτές δύναται να συμπεριληφθούν και άλλα προϊόντα, τύπου αναμεμιγμένου γιαουρτιού με κομμάτια ή σιρόπια φρούτων.

Τέλος, με βάση βιβλιογραφικές αναφορές που υποστηρίζουν ότι τέτοιου είδους εναλλακτικές τεχνολογίες βοηθούν στην ενίσχυση του βιολειτουργικού προφίλ (αντιυπερτασικές και ανοσορρυθμιστικές ιδιότητες) των τελικών προϊόντων, προτείνεται η μελέτη τόσο του συγκεκριμένου υποστρώματος όσο και των προτεινόμενων τεχνολογιών στις βιολειτουργικές ιδιότητες των καινοτόμων αυτών προϊόντων.



## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Ahmad, T., Butt, M. Z., Aadil, R. M., Inam-ur-Raheem, M., Abdullah, Bekhit, A. E., ... Cruz, A. G. (2019). Impact of nonthermal processing on different milk enzymes. Review, *International Journal of Dairy Technology*.
- Barsotti, L., Dumay, E., Mu, T. H., Fernandez Diaz, M. D., & Cheftel, J. C. (2001). Effects of high voltage electric pulses on protein-based food constituents and structures. *Trends in Food Science & Technology*, 12(3-4), 136–144.
- Beninati, S., & Piacentini, M. (2004). The transglutaminase family: an overview: Minireview article. *Amino Acids*, 26, 367-372.
- Beninati, S., Bergamini, C. M., & Piacentini, M. (2008). An overview of the first 50 years of transglutaminase research. *Amino Acids*, 36, 591–598.
- Beshkova, D., Simova, E., Frengova, G., & Simov, Z. (1998). Production of flavour compounds by yogurt starter cultures. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 20, 180–186.
- Boland, M. (2011). Handbook of Food Proteins || Whey proteins. Woodhead Publishing Limited, 30–55.
- Bolotin, A., Quinquis, B., Renault, P., Sorokin, A., Ehrlich, S. D., Kulakauskas, S., ... Hols, P. (2004). Complete sequence and comparative genome analysis of the dairy bacterium *Streptococcus thermophilus*. *Nature Biotechnology*, 22, 1554–1558.
- Buttriss, J. (2003). YOGURT | Dietary Importance. Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition, Second Edition, 6264-6266
- Buttriss, J. (2003). YOGURT | Dietary Importance. Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition, Second Edition, 6264–6266
- Bylund, G. (1995). Dairy processing Handbook. Tetra Pak Processing Systems AB, Sweden
- Carvalho, F., Prazeres, A. R., & Rivas, J. (2013). Cheese whey wastewater: Characterization and treatment. *Science of The Total Environment*, 445-446, 385–396.
- Chandan, R. C. (2017). An Overview of Yogurt Production and Composition. *Yogurt in Health and Disease Prevention*, 31–47.
- Chandan, R. C., Gandhi, A., & Shah, N. P. (2017). Yogurt: Historical Background, Health Benefits, and Global Trade. *Yogurt in Health and Disease Prevention*, 3–29
- Chandan, R.C., & Kilara, A. (2011). Dairy Ingredients for Food Processing. Blackwell Publishing Ltd., USA
- Chandan, R.C., Gandhi, A., & Shah, N.P. (2017). Yogurt: Historical Background, Health Benefits, and Global Trade. *Yogurt in Health and Disease Prevention*, 3-29
- Chanos, P., Warncke, M. C., Ehrmann, M. A., & Hertel, C. (2020). Application of mild pulsed electric fields on starter culture accelerates yogurt fermentation. *European Food Research and Technology*, 246, 621–630.

- Corrieu, G. & Beal, C. (2016). Yogurt: The Product and its Manufacture. *Encyclopedia of Food and Health*, 617–624.
- Corrieu, G., & Béal, C. (2016). Yogurt: The Product and its Manufacture. *Encyclopedia of Food and Health*, 617–624
- Dalgleish, D.G, & Law, A.J.R. (2009). pH-Induced dissociation of bovine casein micelles. II. Mineral solubilization and its relation to casein release. *Journal of Dairy Research* , 56,727 - 735
- Damodaran, S., & Agyare, K. K. (2013). Effect of microbial transglutaminase treatment on thermal stability and pH-solubility of heat-shocked whey protein isolate. *Food Hydrocolloids*, 30, 12–18.
- De Brabandere, A.G., & De Baerdemaeker, J.G. (1999). Effects of process conditions on the pH development during yoghurt fermentation. *Journal of Food Engineering*, 41, 221-227.
- De Oliveira, M. N. (2014). FERMENTED MILKS | Fermented Milks and Yogurt. *Encyclopedia of Food Microbiology*, 908–922.
- Deeth, H., & Bansal, N. (2019). Whey Proteins: An Overview. *Whey Proteins, From Milk to Medicine*, 1-50
- Delorme, C. (2008). Safety assessment of dairy microorganisms: *Streptococcus thermophilus*. *International Journal of Food Microbiology*, 126, 274–277.
- Deshwal, G. K., Tiwari, S., Kumar, A., Raman, R. K., & Kadyan, S. (2021). Review on factors affecting and control of post-acidification in yoghurt and related products. *Trends in Food Science & Technology*, 109, 499–512.
- Dunn, J. (1996). Pulsed Light and Pulsed Electric Field for Foods and Eggs. *Poultry Science*, 75, 1133–1136.
- Eleftheriadis, I., Nikolaidis, N. & Tsatsaroni, E. (2015). *Μέτρηση του Χρώματος*. Kallipos, Open Academic Editions, 14.
- El-Hag, A. H., Jayaram, S. H., Gonzalez, O. R., & Griffiths, M. W. (2011). The Influence of Size and Shape of Microorganism on Pulsed Electric Field Inactivation. *IEEE Transactions on NanoBioscience*, 10, 133–138.
- Evrendilek, G. A., Li, S., Dantzer, W. R., & Zhang, Q. H. (2004). Pulsed electric field processing of beer: Microbial, sensory, and quality analyses. *Journal of Food Science*, 69, 228–232
- Evrendilek, G. A., Yeom, H. W., Jin, Z. T., & Zhang, Q. H. (2004). Safety and Quality Evaluation of a yogurt-based drink processed by a pilot plant pef system. *Journal of Food Process Engineering*, 27, 197–212.
- Faria, D.S. (2010). Estudo dos efeitos da aplicação de transglutaminase em bebida láctea fermentada com alto conteúdo de soro. Escola de Engenharia Mauá de Tecnologia
- Farkye, N. Y. (2004). Cheese technology. *International Journal of Dairy Technology*, 57, 91–98.

- Fernandez, M. A., Fisberg, M., & Marette, A. (2017). Role of Yogurt in the Nutrition and Health of Children and Adolescents. *Yogurt in Health and Disease Prevention*, 491–505.
- Fernandez-Molina, J. J., Fernandez-Gutierrez, S. A., Altunakar, B., Bermudez-Aguirre, D., Swanson, B. G., & Barbosa-Canovas, G. V. (2005). The combined effect of pulsed electric fields and conventional heating on the microbial quality and shelf life of skim milk. *Journal of Food Processing and Preservation*, 29, 390–406.
- Fisberg, M., & Machado, R. (2015). History of yogurt and current patterns of consumption. *Nutrition Reviews*, 73, 4–7.
- Floury, J., Grosset, N., Leconte, N., Pasco, M., Madec, M.N, & Jeantet, R. (2005). Continuous raw skim milk processing by pulsed electric field at non-lethal temperature: effect on microbial inactivation and functional properties. *Lait*, 86, 43–57
- Fox, P. F. (1993). Cheese: An Overview. *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, 1–36.
- Fox, P. F., & McSweeney, P. L. H. (2017). Cheese: An Overview. *Cheese*, 5–21.
- Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., & McSweeney, P. L. H. (2017). Fundamentals of Cheese Science.
- Freitas, M. (2017). The Benefits of Yogurt, Cultures, and Fermentation. *The Microbiota in Gastrointestinal Pathophysiology*, 209–223.
- Gallardo-Escamilla, F.J., Kelly, A.L., & Delahunty, C.M. (2005). Sensory Characteristics and Related Volatile Flavor Compound Profiles of Different Types of Whey. *Journal of Dairy Science*, 88, 2689-2699
- Gaspar, A. L. C., & de Góes-Favoni, S. P. (2015). Action of microbial transglutaminase (MTGase) in the modification of food proteins: A review. *Food Chemistry*, 171, 315–322
- Gauche, C., Tomazi, T., Barreto, P. L. M., Ogliari, P. J., & Bordignon-Luiz, M. T. (2009). Physical properties of yoghurt manufactured with milk whey and transglutaminase. *LWT - Food Science and Technology*, 42, 239–243.
- Grahl, T., & Märkl, H. (1996). Killing of microorganisms by pulsed electric fields. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 45(1-2), 148–157.
- Guerrero-Beltrán, J. Á., & Welte-Chanes, J. (2016). Pulsed Electric Fields. *Encyclopedia of Food and Health*, 561–565.
- Hamann, W. T., & Marth, E. H. (1984). Survival of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* in Commercial and Experimental Yogurts. *Journal of Food Protection*, 47, 781–786.
- Huppertz, T. (2017). Lactose in Yogurt. *Yogurt in Health and Disease Prevention*, 387–394.
- Ivorra, A., Villemejane, J., & Mir, L. M. (2010). Electrical modeling of the influence of medium conductivity on electroporation. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 12(34), 10055.
- Jaeger, H., Meneses, N., & Knorr, D. (2014). Food Technologies: Pulsed Electric Field Technology. *Encyclopedia of Food Safety*, 239–244.

- Johnson, J.M., & Conforti, F.D. (2003). Lactose. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*, Second Edition, 3472-3476
- Johnson, M. E. (2016). Cheese: Preparation of Cheese Milk. Reference Module in Food Science.
- Jooyandeh, H., Mortazavi, S.A., Farhang, P., & Samavati, V. (2015). Physicochemical Properties of Set-Style Yoghurt as Effect by Microbial Transglutaminase and Milk Solids Contents. *Journal of Applied Environmental and Biological Sciences*, , 4, 59-67
- Kashiwagi, T., Yokoyama, K., Ishikawa, K., Ono, K., Ejima, D., Matsui, H., & Suzuki, E. (2002). Crystal Structure of Microbial Transglutaminase from *Streptovorticillium mobaraense*. *The Journal of biological chemistry*, Japan
- Kilara, A., & Vaghela, M. N. (2018). Whey proteins. *Proteins in Food Processing*, 93–126
- Knorr, D., Geulen, M., Grahl, T., & Sitzmann, W. (1994). Food application of high electric field pulses. *Trends in Food Science & Technology*, 5, 71–75.
- Kosaric, N., & Asher, Y. J. (2006). The utilization of cheese whey and its components. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 25–60.
- Kosikowski, F.V. (1979). Whey Utilization and Whey Products. *Journal of Dairy Science*, 62, 1149-1160
- Kroger, M. (1976). Quality of Yogurt. *Journal of Dairy Science*, 59(2), 344–350.
- Lee, G.J., Han, B. K., Choi, H.J., Kang, S.H., Baick, S.C., & Lee, D.U. (2015). *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 35, 800–806.
- Lee, W.J., & Lucey, J.A. (2010). Formation and Physical Properties of Yogurt. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 23, 1127-1136.
- Lewis, M. J. (1996). Viscosity. *Physical Properties of Foods and Food Processing Systems*, 108–136.
- Litopoulou-Tzanetaki, E. (2007). Soft-ripened and fresh cheeses: Feta, Quark, Halloumi and related varieties. *Improving the Flavour of Cheese*, 474–493
- Lorenzen, P. C., Neve, H., Mautner, A., & Schlimme, E. (2002). Effect of enzymatic cross-linking of milk proteins on functional properties of set-style yoghurt. *International Journal of Dairy Technology*, 55, 152–157.
- Mann, B., Athira, S., Sharma, R., & Bajaj, R. (2017). Bioactive Peptides in Yogurt. *Yogurt in Health and Disease Prevention*, 411–426.
- Marshall, V. M. (1993). Starter cultures for milk fermentation and their characteristics. *International Journal of Dairy Technology*, 46, 49–56.
- Martins, I. M., Matos, M., Costa, R., Silva, F., Pascoal, A., Estevinho, L. M., & Choupina, A. B. (2014). Transglutaminases: recent achievements and new sources. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98, 6957–6964.

- Marwaha, S.S., & Kennedy, J.F. (1988). Review of whey-pollution problem and potential utilization. *International Journal of Food Science and Technology*, 23, 323-336
- Mavropoulou, I.P., & Kosikowski, F.V. (1973). Composition, Solubility, and Stability of Whey Powders. *Journal of Dairy Science*, 56, 1128-1134
- Mendez, N.G. (2020). Lactose and Lactose Derivatives. Published by Intech Open
- Michalac, S., Alvarez, V., Ji, T., & Zhang, Q. H. (2003). Inactivation of selected microorganisms and properties of pulsed electric field processed milk. *Journal of Food Processing and Preservation*, 27(2), 137–151.
- Mollea, C., Marmo, L. & Bosco, F. (2013). Valorisation of Cheese Whey, a By-Product from the Dairy Industry. Food Industry
- Mosqueda-Melgar, J., Elez-Martínez, P., Raybaudi-Massilia, R. M., & Martín-Belloso, O. (2008). Effects of Pulsed Electric Fields on Pathogenic Microorganisms of Major Concern in Fluid Foods: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48, 747–759.
- Motoki, M., & Seguro, K. (1998). Transglutaminase and its use for food processing. *Trends in Food Science & Technology*, 9, 204–210.
- Mudgil, D., & Barak, S. (2019). Dairy-Based Functional Beverages. *Milk-Based Beverages*, 9, 67-93
- Narvhus, J.A., & Abrahamsen, R.K. (2022). Yogurt: Role of Starter Culture. *Encyclopedia of Dairy Sciences* (Third edition), 496-501
- Neve, H., Lorenzen, P. Chr., Mautner, A., Schlimme & E., Heller, K.J (2001). Effects of transglutaminase treatment on the production of set skim milk yoghurt: microbiological aspects. *Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte* 53, 347-361.
- Nowosad, K., Sujka, M., Pankiewicz, U., & Kowalski, R. (2020). The application of PEF technology in food processing and human nutrition. Review Article, *Journal of Food Science and Technology*.
- Oner, Z., Karahan, A. G., Aydemir, S., & Aloglu, H. S. (2008). Effect of Transglutaminase on Physicochemical Properties of Set-style Yogurt. *International Journal of Food Properties*, 11, 196–205.
- Onwulata, C.I., & Huth, P.J. (2008). Whey processing, Functionally and Health Benefits. Blackwell Publishing and the Institute of Food Technologists, IFT Press
- O'Sullivan, M.M., Kelly, A. L. & Fox, P. F. (2002). Influence of transglutaminase treatment on some physico-chemical properties of milk. *Journal of Dairy Research*. Ireland
- Ozcan, T. (2013). Determination of Yogurt Quality by Using Rheological and Textural Parameters. 2nd International Conference on Nutrition and Food Sciences IPCBEE, 53
- Philippopoulos, C. D., & Papadakis, M. T. (2001). Current trends in whey processing and utilization in Greece. *International Journal of Dairy Technology*, 54, 14–19.

- Poojary, M.M., Roohinejad, S., Koubaa, M., Barba, F.J., Passamonti, P., Jambrak, A.R., Oey, I., & Greiner, R. (2016). Impact of Pulsed Electric Fields on Enzymes. Handbook of Electroporation. Springer International Publishing AG
- Prazeres, A. R., Carvalho, F., & Rivas, J. (2012). Cheese whey management: A review. *Journal of Environmental Management*, 110, 48–68.
- Pulsemaster. PEF Machinery. Pulsemaster's pulsed electric field equipment.
- Raso, J., Condón, S., & Álvarez, I. (2014). NON-THERMAL PROCESSING | Pulsed Electric Field. Encyclopedia of Food Microbiology, 966–973.
- Riener, J., Noci, F., Cronin, D.A., Morgan, D.J., & Lyng, J.G. (2009). Effect of high intensity pulsed electric fields on enzymes and vitamins in bovine raw milk, 62, 1–6.
- Sampedro, F., Rodrigo, M., Martínez, A., Rodrigo, D., & Barbosa-Cánovas, G. V. (2005). Quality and Safety Aspects of PEF Application in Milk and Milk Products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45, 25–47.
- Ścibisz, I., Ziarno, M., & Mitek, M. (2019). Color stability of fruit yogurt during storage. *Journal of Food Science and Technology*, 56, 1997–2009.
- Sfakianakis, P., & Tzia, C. (2014). Conventional and Innovative Processing of Milk for Yogurt Manufacture; Development of Texture and Flavor: A Review. *Foods*, 3, 176–193.
- Shahbandeh, M. (2021). Annual consumption of cheese worldwide in 2021, by selected country (in 1,000 metric tons). Statista.
- Shahbandeh, M. (2021). Annual production of yogurt in Europe from 2014 to 2020 (in 1,000 tons). Statista.
- Shahbandeh, M. (2022). Global cheese production 2015-2021. Statista.
- Sharma, P., Oey, I., Bremer, P., & Everett, D.W. (2017). Microbiological and enzymatic activity of bovine whole milk treated by pulsed electric fields. *International Journal of Dairy Technology*, 71
- Sharma, R., & Shah, N. (2010). Health benefits of whey proteins. *Nutrafoods*, 9, 39–45
- Solak, B.B., & Akin, N. (2012). Health Benefits of Whey Protein: A Review. *Journal of Food Science and Engineering*, 2, 129-137
- Soltanzadeh, M., Peighambaroust, S. H., Gullon, P., Hesari, J., Gullón, B., Alirezalu, K., & Lorenzo, J. (2020). Quality aspects and safety of pulsed electric field (PEF) processing on dairy products: a comprehensive review. *Food Reviews International*, 1–22.
- Standard for Fermented Milks. International Food standards. Codex Alimentarius, Food and Agriculture Organization of the United Nations & World Health Organization.
- Teixeira, P. (2014). LACTOBACILLUS | Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus. Encyclopedia of Food Microbiology, 425–431.
- Trevors, J.T., Chassy, B.M., Dower, W.J., & Blaschek, H.P. (1992). Electrotransformation of Bacteria by Plasmid DNA. *Food Science and Human Nutrition*, 17, 265-290

- Tribby, D. (2008). Yogurt. *The Sensory Evaluation of Dairy Products*, 191–223.
- Tsevdou, M., Theodorou, G., Pantelaiou, S., Chatzigeorgiou, A., Politis, I. & Taoukis, P.S. (2020). Impact of Type and Enzymatic/High Pressure Treatment of Milk on the Quality and Bio-Functional Profile of Yoghurt. Article, *Foods*, MDPI, 9, 49.
- Tsevdou, M., Eleftheriou, E.G, & Taoukis, P.S.(2013a). Transglutaminase treatment of thermally and high pressure processed milk: Effects on the properties and storage stability of set yoghurt. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 17, 144-152
- Tsevdou, M., Soukoulis, C., Cappellin, L., Gasperi, F, Taoukis, P.S., & Biasioli, F.(2013). Monitoring the effect of high pressure and transglutaminase treatment of milk on the evolution of flavour compounds during lactic acid fermentation using PTR-ToF-MS. *Food Chemistry*, 138, 2159-2167.
- Undugova, L.J.S. & Nilmini, A.H.L. (2019). Effect of Lactic Acid Microbial Ratio of Yoghurt Starter Culture in Yoghurt Fermentation and Reduction of Post Acidification. *Journal of Food & Industrial Microbiology*, 5:1
- Wang, L., Yu, B., Wang, R., & Xie, J. (2018). Biotechnological routes for transglutaminase production: Recent achievements, perspectives and limits. *Trends in Food Science & Technology*, 81, 116–120.
- Wang, Y., Jiang, C., Bazinet, L., & Xu, T. (2019). Electrodialysis-Based Separation Technologies in the Food Industry. *Separation of Functional Molecules in Food by Membrane Technology*, 349-381
- Xiang, B. Y., Ngadi, M. O., Gachovska, T., Simpson, B. K. (2007). Protein denaturation in whole milk treated by pulsed electric field. American Society of Agricultural and Biological Engineers.
- Xiang, B. Y., Ngadi, M. O., Ochoa-Martinez, L. A., & Simpson, M. V.(2009). Pulsed electric field-induced structural modification of whey protein isolate. *Food Bioprocess Technology*.
- Yeom, H. W., Evrendilek, G. A., Jin, Z. T., & Zhang, Q. H. (2004). Processing of yogurt-based products pulsed electric fields : microbial, sensory and physical evaluations. *Journal of Food Processing and Preservation*, 28, 161–178.
- Yokoyama, K., Nio, N., & Kikuchi, Y. (2004). Properties and applications of microbial transglutaminase. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 64, 447–454.
- Yüksel, Z., & Erdem, Y. K. (2010). The influence of transglutaminase treatment on functional properties of set yoghurt. *International Journal of Dairy Technology*, 63, 86–97.
- Zhu, D., Wu, Q., & Hua, L. (2019). Industrial Enzymes. *Comprehensive Biotechnology*, 1–13.
- Ziarno, M., & Zaręba, D. (2019). The effect of the addition of microbial transglutaminase before the fermentation process on the quality characteristics of three types of yogurt. *Food Science and Biotechnology*, 29, 109-119.
- Zourari, A., Accolas, J.P., & Desmazeaud, M.J. (1992). Metabolism and biochemical characteristics of yogurt bacteria. A review. *Lait*, 72, 1-34

Ταούκης, Π. & Τζιά, Κ. (2020). Χημεία, Μικροβιολογία και αρχές Συντήρησης Τροφίμων. Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων, Σχολή Χημικών Μηχανικών, Ε.Μ.Π., Αθήνα

Τσεβδού, Μ. (2015). Μελέτη Εναλλακτικών Τεχνολογιών Επεξεργασίας του Γάλακτος και Υπερβιοτικών Μικροοργανισμών κατά την Παραγωγή και Συντήρηση Γαλακτοκομικών Προϊόντων. Διδακτορική Διατριβή, Ε.Μ.Π, Σχολή Χημικών Μηχανικών, Εργαστήριο Χημείας & Τεχνολογίας Τροφίμων, Αθήνα.