



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ

ΤΟΜΕΑΣ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ

ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΩΝ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Μελέτη Ομογενοποίησης με Υπέρηχους σε Ζυμωμένα Προϊόντα Γάλακτος

Παναγιώτης Κ. Σφακιανάκης
Χημικός Μηχανικός ΕΜΠ
psfakian@gmail.com

Επιβλέπουσα Καθηγήτρια
Κωνσταντίνα Τζιά
Καθηγήτρια ΕΜΠ

Εξεταστική Επιτροπή

Κωνσταντίνα Τζιά

Βασιλική Ωραιοπούλου

Δημήτριος Κέκος

Πέτρος Ταούκης

Μαγδαληνή Κροκίδα

Ευάγγελος Τόπακας

Διομή Μαμμά

Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ανωτάτη Σχολή Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα.

(Ν. 5343/1932, Άρθρο 202)

Πρόλογος

Πρόλογος

Η παρούσα διδακτορική διατριβή εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου υπό την επίβλεψη της Καθηγήτριας Κωνσταντίνας Τζιά, της οποίας η συμμετοχή, οι συμβουλές, η βοήθεια και η καθοδήγηση ήταν καταλυτικά σε όλη τη διάρκεια της εκπόνησης. Της οφείλω ένα μεγάλο ευχαριστώ, από καρδιάς, για όλα τα μαθήματα που μου προσέφερε, τόσο επιστημονικά όσο και σε θέματα ήθους. Η παρουσία της, κατά τη διάρκεια των πειραμάτων όσο και κατά τη συγγραφή αποτέλεσε ένα φάρο που με προστάτευε από το να χαθώ σε σκοτεινά νερά.

Θερμές ευχαριστίες οφείλω και στην τριμελή επιτροπή, τον Καθηγητή Δημήτριο Κέκο και την Καθηγήτρια Βασιλική Ωραιοπούλου για τη συνεισφορά τους, την καθοδήγησή τους και τις παρατηρήσεις τους για την όλη μελέτη, αλλά και ειδικότερα για το τελικό κείμενο. Επίσης ένα μεγάλο ευχαριστώ σε όλα τα μέλη της επταμελούς εξεταστικής επιτροπής για τη συνεισφορά τους στην ολοκλήρωση της διατριβής. Ειδικότερα στον Καθηγητή Πέτρο Ταούκη για την καθημερινή του συνεισφορά και τις συμβουλές κατά τη διεξαγωγή των πειραμάτων, την Καθηγήτρια Μαγδαληνή Κροκίδα για την «χρυσή» βοήθειά της για την ανάλυση της μικροδομής, τον Καθηγητή Ευάγγελο Τόπακα και την Επ. Καθηγήτρια Διομή Μαμμά για την καθοδήγησή τους μέσα από την, τότε, terra incognita της ηλεκτροφόρησης.

Πρέπει να ευχαριστήσω, την Δρ. Βιργινία Γιάννου, της οποίας η βοήθεια και η στήριξη, από την πρώτη κιόλας μέρα που μπήκα στο Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων, ήταν λίγο μεγαλύτερη του απείρου. Επίσης ένα μεγάλο ευχαριστώ στον Δρ. Δημήτριο Τσιμογιάννη για τη βοήθειά του με την αέρια χρωματογραφία, για τις γνώσεις του που μοιράστηκε αφειδώς, αλλά και ευχάριστη παρουσία του. Επίσης στη Δρ. Μαρία Τσεβδού για όλα όσα μου έμαθε για τη χημεία του γάλακτος και των προϊόντων του. Φυσικά σε όλο το προσωπικό του Εργαστηρίου Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων οφείλω ένα μεγάλο ευχαριστώ, τη Δρ. Ευφήμια Δερμενσολούογλου, τη Δρ. Ελένη Γώγου, και την επίκουρη καθηγήτρια Θεοφάνια Τσιρώνη. Ένα ακόμη ευχαριστώ στους, τότε, Υ.Δ. και πάντα φίλους, Βασιλική Πολύχινιάτου, Δρ. Μαρία Κατσούλη, Δρ. Σοφία Χανιώτη, Δρ. Δήμητρα Λεμπέση, Δρ. Χαρίκλεια Χρανιώτη, και Δρ. Γεωργία Φρακολάκη.

Φυσικά ευχαριστώ την Επ. Καθηγήτρια Αναστασία Ζέρβα, και τον Δρ. Πέτρο Σχοινά για τη βοήθειά τους.

Ευχαριστώ ακόμη τον συνάδελφο χημικό μηχανικό Επαμεινώνδα Κλάψη και την κα Ρούλα Κουρέλη από την εταιρεία ΦΑΓΕ Α.Ε. που εξασφάλισαν τις πρώτες ύλες για την παρούσα μελέτη.

Πρόλογος

Τέλος να ευχαριστήσω του γονείς μου και όλους τους φίλους που όσο διήρκεσε η συγγραφή με στηρίξαν, με ανέχτηκαν και με σταμάτησαν από το να παραδώσω τα όπλα.

Αθήνα, Απρίλιος 2024

Παναγιώτης Κ. Σφακιανάκης

Στον Ντίνο και τη Λιολιώ

Περίληψη

Περίληψη

Ανέκαθεν η επιστήμη τροφίμων ανακάλυπτε και δημιουργούσε καινοτόμες τεχνικές και μεθόδους για τη βελτιστοποίηση των διεργασιών παραγωγής και της ποιότητας των τροφίμων. Πρόσφατα έχει δημιουργηθεί μεγάλο ενδιαφέρον, και από τη βιομηχανία τροφίμων για εναλλακτικές τεχνολογίες που συνδυάζουν απόδοση και αποτελεσματικότητα με ελάχιστη επεξεργασία και μικρό κόστος, αλλά παράλληλα παρέχουν ασφαλή και υψηλής ποιότητας προϊόντα. Η εφαρμογή υπερήχων είναι μία καινοτόμος μέθοδος επεξεργασίας τροφίμων που έχει χαμηλό κόστος και μικρή ενεργειακή κατανάλωση, είναι απλή, γρήγορη, μη τοξική και φιλική προς το περιβάλλον. Οι υπέρηχοι, ειδικότερα οι υψηλής έντασης, κατά τη διάδοσή τους σε συστήματα τροφίμων προκαλούν φυσικοχημικές αλλαγές συγκρίσιμες, αν όχι πιο ωφέλιμες, με ήδη καθιερωμένες τεχνικές που εφαρμόζονται για χρόνια στη βιομηχανία τροφίμων. Συγκεκριμένα, η ομογενοποίηση γάλακτος με πίεση, μέθοδος που εφαρμόζεται κατά κόρον στη γαλακτοβιομηχανία, είναι μία διεργασία με αποτέλεσμα που, θεωρητικά, θα μπορούσε να επιτευχθεί αποτελεσματικά με υπέρηχους υψηλής έντασης.

Η παρούσα μελέτη αποσκοπεί στην αξιολόγηση των υπερήχων υψηλής έντασης ως μέθοδο ομογενοποίησης του γάλακτος και, δεδομένης της αποτελεσματικότητάς τους, στην ενσωμάτωση της μεθόδου στην παραγωγική διαδικασία του γιαουρτιού σε σύγκριση με την ήδη εφαρμοζόμενη μέθοδο ομογενοποίησης με πίεση δύο σταδίων. Εν προκειμένω, σε αγελαδινό (ακατέργαστο) γάλα, σταθερής περιεκτικότητας λιπαρών 3,5% κ.β., εφαρμόστηκαν υπέρηχοι συχνότητας 20 kHz και εντάσεων 150, 262, 375, 562 και 750 W για 10 min, και αντίστοιχα ομογενοποίηση με πίεση 2 σταδίων 10/5, 15/5, 20/5, 25/5 και 30/5 MPa.

Οι διάφορες συνθήκες προς μελέτη αξιολογήθηκαν ως προς το ομογενοποιητικό τους αποτέλεσμα με βάση το μέγεθος (μέση διάμετρος) και την κατανομή των λιποσφαιρίων, τον χρόνο σταθερότητας του γάλακτος ως γαλάκτωμα και το ζ-δυναμικό του. Ακόμη εξετάστηκε η επίδραση των συνθηκών αυτών στην ολική μικροβιακή χλωρίδα και τον πληθυσμό των γαλακτικών βακτηρίων στο γάλα, στα αρωματικά συστατικά και στις πρωτεΐνες του γάλακτος. Ακολούθως, τα δείγματα γάλακτος που είχαν υποστεί ομογενοποίηση με τις δύο μεθόδους στις διάφορες συνθήκες που αναφέρθηκαν, εμβολιάστηκαν με συμβατική οξυγαλακτική καλλιέργεια *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* και *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* και μελετήθηκε η πορεία της ζύμωσής τους κατά την παραγωγή γιαουρτιού με βάση τον χρόνο ζύμωσης, όπως και το μέγιστο ρυθμό αλλαγής του pH (μ_{pH}) και του ιξώδους (μ_{visc}) και τη διάρκεια της λανθάνουσας φάσης των ίδιων παραμέτρων (λ_{pH} και λ_{visc} αντίστοιχα). Στο τέλος της ζύμωσης τα δείγματα γιαουρτιού, αναλύθηκαν ως προς το ιξώδες και τα χαρακτηριστικά υφής τους (σκληρότητα, συνεκτικότητα, προσκολλησιμότητα και κομμιώδες), τις ουσίες

Περίληψη

που απαρτίζουν το αρωματικό προφίλ τους, τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά τους και τη μικροδομή τους. Τέλος, γάλα ομογενοποιημένο στις ίδιες συνθήκες και με τις δύο μεθόδους ομογενοποίησης εμβολιάστηκε με *Bifidobacterium animalis* sub. *lactis* για την παραγωγή προβιοτικού γιαουρτιού και εξετάστηκαν οι αντίστοιχες παράμετροι της διεργασίας ζύμωσης (χρόνος ζύμωσης, μ_{pH} , μ_{visc} , λ_{pH} και λ_{visc}), το ιξώδες και τα χαρακτηριστικά υφής του.

Τα λιποσφαίρια του γάλακτος μειώθηκαν σε μέγεθος και παρουσίασαν πιο ομοιογενή κατανομή σε σχέση με το ανεπεξεργαστο γάλα σε όλες τις συνθήκες που μελετήθηκαν. Όμως η κατανομή των λιποσφαιρίων στο γάλα που είχε ομογενοποιηθεί με υπέρηχους είχε μεγαλύτερη ομοιομορφία ακόμη και σε χαμηλές εντάσεις, ενώ στο γάλα που είχε ομογενοποιηθεί με πίεση εντοπίστηκαν τα λιποσφαίρια διέφεραν σε μέγεθος και δημιουργούσαν οπτικά ανομοιογένεια στην εμφάνιση του γάλακτος. Οι δύο μέθοδοι ομογενοποίησης, και με πίεση και με υπέρηχους, προκάλεσαν μείωση στο μέγεθος των λιποσφαιρίων, και μάλιστα όσο πιο ισχυρή ήταν η ένταση ομογενοποίησης, δηλαδή μεγαλύτερη ένταση υπερήχων ή υψηλότερη πίεση, τόσο μικρότερα ήταν τα λιποσφαίρια. Η μέση διάμετρος των λιποσφαιρίων στο μη ομογενοποιημένο γάλα ήταν 1,53 μm και στο ομογενοποιημένο με πίεση γάλα έφτασε στην τιμή 0,62 μm (για δείγμα που είχε ομογενοποιηθεί με πίεση 30/5 MPa), ενώ στο ομογενοποιημένο με υπέρηχους γάλα η μέση διάμετρος λιποσφαιρίων που επιτεύχθηκε ήταν 0,61 μm (για δείγμα που είχε ομογενοποιηθεί με υπέρηχους έντασης 750 W).

Ο χρόνος για τον οποίον τα δείγματα γάλακτος παρέμειναν σε μία φάση παρουσίασε σημαντική ($P < 0,05$) διαφορά ανάλογα με τις συνθήκες ομογενοποίησης. Οι συνθήκες ομογενοποίησης με πίεση που μελετήθηκαν οδήγησαν σε χρόνο σταθερότητας του γάλακτος ως γαλάκτωμα για 6-8 ημέρες. Η ομογενοποίηση με υπέρηχους οδήγησε σε διαφορετικό χρόνο σταθερότητας του γάλακτος ανάλογα με την ένταση των υπερήχων, ξεκινώντας από 2 ημέρες σε συνθήκες ομογενοποίησης 150 W, μέχρι 14 ημέρες σε συνθήκες ομογενοποίησης 750W.

Η απόκριση του ζ-δυναμικού του γάλακτος στις συνθήκες που μελετήθηκαν ήταν παρόμοια και για τις δύο μεθόδους, και αυξήθηκε ανάλογα με την ένταση ομογενοποίησης. Ελάχιστα μεγαλύτερη αύξηση παρουσιάστηκε στα δείγματα που είχαν ομογενοποιηθεί με υπέρηχους. Οι συνθήκες πίεσης που εφαρμόστηκαν οδήγησαν σε μέγιστη αύξηση του ζ-δυναμικού του γάλακτος μέχρι 4 mV (ομογενοποίηση με πίεση 30/5 MPa), ενώ οι υπέρηχοι μέχρι 7mV αντίστοιχα (ομογενοποίηση με υπέρηχους έντασης 750 W).

Η ομογενοποίηση με υπέρηχους προκάλεσε μείωση του ολικού μικροβιακού φορτίου και της περιεκτικότητας του γάλακτος σε γαλακτικά βακτήρια, σε αντίθεση με την ομογενοποίηση με πίεση που δεν επηρέασε σημαντικά τη μικροβιακή χλωρίδα του γάλακτος. Η αύξηση της έντασης των υπερήχων

Περίληψη

ομογενοποίησης οδήγησε σε λιγότερες αποικίες στα δείγματα γάλακτος, με το μέγιστο ποσοστό μείωσης ολικής μικροβιακής χωρίδας (69%) και αποικιών γαλακτικών βακτηρίων (73%) επιτεύχθηκε με επεξεργασία υπερήχων έντασης 750 W.

Στα δείγματα ομογενοποιημένου γάλακτος ταυτοποιήθηκαν οι εξής αρωματικές ουσίες: ακεταλδεΐδη, εξανάλη, ακετόνη, 2-βουτανόνη, 3-βουταδιόνη, 2-επτανόνη, δικυκλο[2.2.1]-επτα-2όνη, 2-εννεανόνη 2-ενδεκανόνη, βουτυρικό οξύ, οκτανικό οξύ, δεκανοϊκό οξύ, δεκαεξανικό οξύ, διμεθυλοσουλφίδιο, 1-βουτεν-3-ένιο, 2,1-επτένιο και Δ-δεκαλακτόνη. Οι συγκεντρώσεις των κετονών, των αλδεϋδών και των οξέων που ταυτοποιήθηκαν ήταν μεγαλύτερες στα δείγματα γάλακτος που είχαν ομογενοποιηθεί με υπέρηχους, σε σχέση με τα δείγματα γάλακτος που είχαν ομογενοποιηθεί με πίεση, και επιπλέον οι μεγαλύτερες εντάσεις υπερήχων ομογενοποίησης οδήγησαν σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις αυτών των ενώσεων στο γάλα. Η αύξηση των συγκεντρώσεων των ενώσεων που προαναφέρθηκαν αποδίδεται σε οξειδωτικές αντιδράσεις που συμβαίνουν στο γάλα κατά την ομογενοποίηση με υπέρηχους.

Οι πρωτεΐνες του γάλακτος υπέστησαν μερική μετουσίωση κατά την ομογενοποίηση με υπέρηχους. Το ποσοστό της πρωτεϊνικής μετουσίωσης κυμάνθηκε ανάλογα με τις συνθήκες ομογενοποίησης από 7,08% (για ένταση υπερήχων 150 W) έως 68,78%. (για ένταση υπερήχων 750 W). Αντίθετα, η ομογενοποίηση με πίεση προκάλεσε ελάχιστη μετουσίωση των πρωτεϊνών (<3%) σε όλες τις συνθήκες που μελετήθηκαν. Η επίδραση των υπερήχων υψηλής έντασης στα μόρια των πρωτεϊνών του γάλακτος ξεδιπλώνει τις πεπτιδικές αλυσίδες των πρωτεϊνών, εκθέτοντας ενεργά κέντρα των μορίων τους. Έτσι διευκολύνονται αλληλεπιδράσεις των πρωτεϊνών με άλλα μόρια και συστατικά του γάλακτος (άλλες πρωτεΐνες, λιποσφαίρια), με θετικές επιδράσεις σε αρκετά χαρακτηριστικά και λειτουργικές ιδιότητες του γάλακτος (αύξηση σταθερότητας γάλακτος ως γαλάκτωμα, αύξηση ζ-δυναμικού, ομοιογενής κατανομή λιποσφαιρίων, αύξηση ρυθμού πήξης προς γιαούρτι, αύξηση ιξώδους και βελτίωση χαρακτηριστικών υφής του παραγόμενου γιαουρτιού).

Η εξέλιξη της διεργασίας ζύμωσης του ομογενοποιημένου γάλακτος παρουσίασε σημαντικές διαφορές για τις δύο διαφορετικές μεθόδους ομογενοποίησης. Παρόλο που ο χρόνος ζύμωσης δεν παρουσίασε σημαντικές διαφορές ανάλογα με τις διαφορετικές συνθήκες ομογενοποίησης με τις δύο μεθόδους (μέσος όρος για τις συνθήκες που μελετήθηκαν ήταν 295 ± 10 min), οι χρόνοι ζύμωσης των δειγμάτων γάλακτος ομογενοποιημένων με υπέρηχους ήταν ελάχιστα συντομότεροι, οι κινητικές παράμετροι της ζύμωσης (μ_{pH} , μ_{visc} , λ_{pH} και λ_{visc}) επηρεάστηκαν σημαντικά ($P < 0,05$). Ο μ_{pH} των δειγμάτων γάλακτος που είχαν ομογενοποιηθεί με πίεση είχε μέσο όρο $1,50 \cdot 10^{-3} \pm 1,05 \cdot 10^{-4} \text{ min}^{-1}$ ενώ των δειγμάτων γάλακτος που είχαν ομογενοποιηθεί με υπέρηχους είχε $8,6 \cdot 10^{-3} \pm 5,5 \cdot 10^{-4} \text{ min}^{-1}$ αντίστοιχα. Η

Περίληψη

λ_{pH} των ομογενοποιημένων με πίεση δειγμάτων είχε μέσο όρο 120 ± 5 min και δεν παρουσίασε σημαντικές διαφορές σε σχέση με την πίεση ομογενοποίησης του γάλακτος. Όμως η λ_{pH} των ομογενοποιημένων με υπέρηχους δειγμάτων γάλακτος ήταν σημαντικά συντομότερη ($P < 0,05$) από την αντίστοιχη των ομογενοποιημένων με πίεση δειγμάτων, και μειωνόταν όσο αυξανόταν η ένταση των υπερήχων ομογενοποίησης, με ελάχιστη τιμή λ_{pH} (24 min) να αντιστοιχεί στο δείγμα γάλακτος ομογενοποιημένο με υπέρηχους έντασης 750 W. Ο μ_{visc} επηρεάστηκε σημαντικά μόνο από την ένταση υπερήχων ή την πίεση ομογενοποίησης ($P < 0,05$), με τις τιμές του να αυξάνονται όσο αυξανόταν η ένταση υπερήχων ή η πίεση ομογενοποίησης στις δύο μεθόδους αντίστοιχα. Η λ_{visc} των ομογενοποιημένων με πίεση δειγμάτων είχε μέσο όρο 130 ± 17 min, ενώ των ομογενοποιημένων με υπέρηχους δειγμάτων 124 ± 12 min. Η ένταση υπερήχων και η πίεση ομογενοποίησης δεν είχαν σημαντική επίδραση στη λ_{visc} .

Η τιμή του ιξώδους του γιαουρτιού, γενικώς, αυξανόταν όσο αυξανόταν η πίεση ή η ένταση των υπερήχων ομογενοποίησης του γάλακτος από το οποίο προήλθε το προϊόν. Όμως οι τιμές ιξώδους των δειγμάτων γιαουρτιού από ομογενοποιημένο με υπέρηχους γάλα ήταν υψηλότερες από εκείνες των δειγμάτων από ομογενοποιημένο με πίεση γάλα. Για τα δείγματα γιαουρτιού από ομογενοποιημένο με υπέρηχους γάλα οι τιμές κυμαίνονταν από $1,03 \text{ Pa} \cdot \text{s}$ έως $2,65 \text{ Pa} \cdot \text{s}$ (ομογενοποίηση σε 150 W και 750 W αντίστοιχα), ενώ για τα δείγματα από ομογενοποιημένο με πίεση γάλα κυμαίνονταν μεταξύ $1,29 \text{ Pa} \cdot \text{s}$ και $1,55 \text{ Pa} \cdot \text{s}$ (ομογενοποίηση σε 10/5 MPa και 30/5 MPa αντίστοιχα).

Η σκληρότητα του γιαουρτιού για τα δείγματα από ομογενοποιημένο με πίεση γάλα κυμάνθηκε από 0,964 N έως 1,153 N (ομογενοποίηση σε 10/5 MPa και 30/5 MPa αντίστοιχα), ενώ για τα δείγματα από ομογενοποιημένο με υπέρηχους γάλα από 1,049 N έως 1,503 N (ομογενοποίηση σε 150 W και 750 W αντίστοιχα). Οι τιμές κομμωδούς των γιαουρτιών από ομογενοποιημένο με πίεση γάλα κυμάνθηκαν από $0,572 \text{ N} \cdot \text{s}$ έως $0,726 \text{ N} \cdot \text{s}$ (ομογενοποίηση σε 10/5 MPa και 30/5 MPa αντίστοιχα) και από ομογενοποιημένο με υπέρηχους γάλα μεταξύ $0,580 \text{ N} \cdot \text{s}$ και $0,824 \text{ N} \cdot \text{s}$ (ομογενοποίηση σε 150 W και 750 W αντίστοιχα). Η συνεκτικότητα των γιαουρτιών από ομογενοποιημένο με πίεση γάλα είχε εύρος από 0,517 έως 0,547 (ομογενοποίηση σε 10/5 MPa και 30/5 MPa αντίστοιχα), ενώ των δειγμάτων από ομογενοποιημένο με υπέρηχους γάλα από 0,542 έως 0,632 (ομογενοποίηση σε 150 W και 750 W αντίστοιχα). Η σκληρότητα, η συνεκτικότητα και το κομμωδες των δειγμάτων γιαουρτιού αυξάνονταν όσο πιο έντονες ήταν οι συνθήκες ομογενοποίησης του γάλακτος από το οποίο προήλθε το προϊόν. Η προσκολλησιμότητα των γιαουρτιών δεν παρουσίασε σημαντικές διαφορές ως προς τις συνθήκες ομογενοποίησης του γάλακτος και είχε τιμές $0,351 \pm 0,019 \text{ N} \cdot \text{s}$ για όλες τις συνθήκες που μελετήθηκαν.

Η μικροδομή των γιαουρτιών από ομογενοποιημένο με πίεση γάλα είχε μορφή που προσομοίαζε με αφρό, ενώ εντοπίστηκαν επίσης κενά και ασυνέχειες. Αντίθετα, η μικροδομή των

Περίληψη

γιαουρτιών από ομογενοποιημένο με υπέρηχους γάλα, ειδικότερα σε υψηλότερες εντάσεις, ήταν πιο λεία, ομοιογενής και συνεχής.

Στα δείγματα γιαουρτιού από γάλα ομογενοποιημένο με υπέρηχους και με πίεση ταυτοποιήθηκαν οι ίδιες ενώσεις με εκείνες που ταυτοποιήθηκαν και στα δείγματα γάλακτος, και επιπλέον η 3-υδροξυ-βουτανόνη και το εξανικό οξύ. Αυξημένες συγκεντρώσεις στα δείγματα γιαουρτιού από γάλα ομογενοποιημένο με υπέρηχους σε σχέση με τα δείγματα από γάλα ομογενοποιημένο με πίεση εντοπίστηκαν στις ενώσεις: ακεταλδεΐδη, 1-βουτεν-3-ένιο, ακετόνη, διμεθυλοσουλφίδιο, 1-επτένιο, εξανάλη, βουτυρικό οξύ, 2-επτανόνη, εξανικό οξύ, 2-εννεανόνη, δικυκλο[2.2.1]-επτα-2όνη, οκτανικό οξύ, δεκανοϊκό οξύ, 2-ενδεκανόνη και δεκαεξανικό οξύ. Για τον υπολογισμό της συνολικής αρέσκειας του γιαουρτιού βάσει των αρωματικών ενώσεων που περιλαμβάνει, προτάθηκε μαθηματικό μοντέλο με τη μέθοδο μερικής παλινδρόμησης ελαχίστων τετραγώνων και σύμφωνα με το κριτήριο «leave-p-out cross validation» (LpOCV) επιλέχθηκαν οι εξής ενώσεις: η ακεταλδεΐδη, η 2-βουτανόνη, η 2-3-βουταδιόνη, η 3-υδροξυ-2-βουτανόνη και η Δ-δεκαλακτόνη (με ευχάριστα χαρακτηριστικά αρώματος-γεύσης), και η εξανάλη, το βουτυρικό οξύ, η 2-επτανόνη, η 2-ενδεκανόνη και το δεκαεξανικό οξύ (με δυσάρεστα χαρακτηριστικά αρώματος-γεύσης), ως παράμετροι με τη σημαντικότερη επίδραση.

Εξετάζοντας τα δείγματα γιαουρτιού για 37 οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, εντοπίστηκαν σημαντικές ($P < 0,05$) διαφορές μεταξύ των δειγμάτων από ομογενοποιημένο με πίεση γάλα και από ομογενοποιημένο με υπέρηχους γάλα τόσο στα χαρακτηριστικά υφής όσο και στα χαρακτηριστικά αρώματος και γεύσης. Σε σχέση με τα δείγματα γιαουρτιού από ομογενοποιημένο με πίεση γάλα, τα δείγματα γιαουρτιού από ομογενοποιημένο με υπέρηχους γάλα έλαβαν υψηλότερες βαθμολογίες στα ευχάριστα χαρακτηριστικά υφής (συνεκτικότητα, σκληρότητα, πηγματώδης υφή, αρέσκεια υφής) αλλά έλαβαν χαμηλότερη βαθμολογία στην αποδοχή αρώματος και γεύσης. Αφενός διότι βρέθηκαν να έχουν πολύ έντονα αρωματικά χαρακτηριστικά που δημιουργούσαν αρνητική εντύπωση στους δοκιμαστές, και αφετέρου διότι εντοπίστηκαν και αρνητικά - ξένα αρώματα (χλόης, ταγγό, καμένο). Εντούτοις η συνολική αποδοχή των γιαουρτιών δεν παρουσίασε μεγάλη απόκλιση σε σχέση με τη μέθοδο και την ένταση ομογενοποίησης του γάλακτος, με τα δείγματα γιαουρτιού από ομογενοποιημένο με πίεση γάλα να έχουν ελάχιστα μεγαλύτερη αποδοχή, λόγω του πιο αποδεκτού αρώματός τους και της ευχάριστης γεύσης τους. Για τον υπολογισμό της συνολικής αρέσκειας βάσει των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών οσμής, γεύσης και αρώματος προτάθηκε μαθηματικό μοντέλο, με τη μέθοδο μερικής παλινδρόμησης ελαχίστων τετραγώνων, και επιλέχθηκαν τα χαρακτηριστικά με τη σημαντικότερη επίδραση: οσμή ορού γάλακτος, οσμή χόρτου/αλδεΐδης, καμένη οσμή, γεύση γιαουρτιού, άρωμα γάλακτος, άρωμα ορού, λιπαρό άρωμα, άρωμα χλόης και ταγγό άρωμα.

Περίληψη

Η ζύμωση των δειγμάτων γάλακτος που είχαν υποστεί ομογενοποίηση με υπέρηχους και με πίεση για παραγωγή γιαουρτιού από καλλιέργεια *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis* έδειξε τιμές χρόνου ζύμωσης 192 ± 12 min για όλες τις συνθήκες ομογενοποίησης που μελετήθηκαν. Ο μ_{pH} των δειγμάτων ομογενοποιημένου με πίεση γάλακτος είχε μέσο όρο $9,48 \cdot 10^{-3} \pm 3,1 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ και διέφερε σημαντικά ($P < 0,05$) από τον μ_{pH} των δειγμάτων ομογενοποιημένου με υπέρηχους γάλακτος που είχε μέσο όρο $11 \cdot 10^{-3} \pm 7,4 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$. Η λ_{pH} είχε χαμηλότερες τιμές για τα δείγματα ομογενοποιημένου με υπέρηχους γάλακτος, που κυμαίνονταν από 50 min έως 31 min (ομογενοποίηση σε 150 W και 750 W αντίστοιχα), ενώ για δείγματα ομογενοποιημένου με πίεση γάλακτος οι τιμές κυμαίνονταν από 66 έως 56 min (ομογενοποίηση σε 10/5 MPa και 30/5 MPa αντίστοιχα). Ο μ_{visc} των δειγμάτων ομογενοποιημένων με πίεση γάλακτος είχε μέση τιμή $4,72 \cdot 10^{-3} \pm 0,27 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ όμως διέφερε σημαντικά ($P < 0,05$) από τον αντίστοιχο των δειγμάτων ομογενοποιημένου με υπέρηχους γάλακτος που ήταν υψηλότερος με τιμές από $4,48 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ έως $19,35 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ (ομογενοποίηση σε 150 W και 750 W αντίστοιχα). Η λ_{visc} των δειγμάτων ομογενοποιημένου με πίεση γάλακτος είχε τιμές από 82 min έως 78 min (ομογενοποίηση σε 10/5 MPa και 30/5 MPa αντίστοιχα), ενώ των δειγμάτων ομογενοποιημένου με υπέρηχους γάλακτος είχε τιμές από 92 min έως 32 min (ομογενοποίηση σε 150 W και 750 W αντίστοιχα).

Όπως και στο συμβατικό γιαούρτι, το ιξώδες, η σκληρότητα, η συνεκτικότητα και το κομμώδες του προβιοτικού γιαουρτιού επηρεάστηκαν σημαντικά ($P < 0,05$) από τη μέθοδο καθώς και την ένταση υπερήχων ή την πίεση ομογενοποίησης. Η μέθοδος υπερήχων οδήγησε σε υψηλότερες τιμές των χαρακτηριστικών αυτών, ενώ και αύξηση της πίεσης ή της έντασης υπερήχων αύξανε τις τιμές αυτών των χαρακτηριστικών. Ειδικότερα η τιμή του ιξώδους των προβιοτικών γιαουρτιών από ομογενοποιημένο με πίεση γάλα κυμάνθηκε από 1,02 Pa*s έως 1,44 Pa*s (ομογενοποίηση σε 10/5 MPa και 30/5 MPa αντίστοιχα), ενώ των δειγμάτων από ομογενοποιημένο με υπέρηχους γάλα μεταξύ 0,95 Pa*s και 2,48 Pa*s (ομογενοποίηση σε 150 W και 750 W αντίστοιχα). Η σκληρότητα των προβιοτικών γιαουρτιών από ομογενοποιημένο με πίεση γάλα κυμάνθηκε από 1,08 N έως 1,208 N (ομογενοποίηση σε 10/5 MPa και 30/5 MPa αντίστοιχα), ενώ των δειγμάτων από ομογενοποιημένο με υπέρηχους γάλα από 1,049 N έως 1,503 N (ομογενοποίηση σε 150 W και 750 W αντίστοιχα). Η συνεκτικότητα των προβιοτικών γιαουρτιών από ομογενοποιημένο με πίεση γάλα κυμάνθηκε από 0,617 έως 0,632 (ομογενοποίηση σε 10/5 MPa και 30/5 MPa αντίστοιχα), ενώ των δειγμάτων από ομογενοποιημένο με υπέρηχους γάλα μεταξύ 0,591 και 0,731 (ομογενοποίηση σε 150 W και 750 W αντίστοιχα). Το κομμώδες των προβιοτικών γιαουρτιών από ομογενοποιημένο με πίεση γάλα κυμάνθηκε από 0,671 N*s έως 0,764 N*s (ομογενοποίηση σε 10/5 MPa και 30/5 MPa αντίστοιχα), ενώ των δειγμάτων από ομογενοποιημένο με υπέρηχους γάλα μεταξύ 0,620 N*s και 1,099 N*s (ομογενοποίηση σε 150 W και 750 W αντίστοιχα). Η προσκολλησιμότητα δεν

Περίληψη

επηρεάστηκε ούτε από τη μέθοδο ούτε από την ένταση της ομογενοποίησης και είχε μέσο όρο τιμών $0,445 \pm 0,02 \text{ N} \cdot \text{S}$.

Συνοψίζοντας, οι υπέρηχοι υψηλής έντασης έχουν ομογενοποιητικό αποτέλεσμα καλύτερο από τη συμβατική ομογενοποίηση με πίεση δύο σταδίων, καθότι επιτυγχάνουν συγκρίσιμη μείωση στο μέγεθος των λιποσφαιρίων του γάλακτος, αλλά και πιο ομοιόμορφη κατανομή μεγέθους όπως και μεγαλύτερη σταθερότητα του γάλακτος ως γαλάκτωμα για περισσότερο χρόνο. Επίσης διαταράσσουν τις κυτταρικές μεμβράνες των μικροβίων του γάλακτος μειώνοντας την ΟΜΧ και ελευθερώνοντας στον όγκο του γάλακτος ένζυμα και μεταβολίτες που μπορούν να αξιοποιηθούν από τις καλλιέργειες εκκίνησης κατά την οξυγαλακτική ζύμωση του γάλακτος προς γιαούρτι. Ακόμη, προκαλούν μερική μετουσίωση στις πρωτεΐνες του γάλακτος, γεγονός που ευνοεί τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ πρωτεϊνικών μορίων και άλλων συστατικών του γάλακτος, αυξάνοντας έτσι τη λειτουργικότητά τους και ενισχύοντας το ομογενοποιητικό αποτέλεσμα. Στα αρωματικά μόρια του γάλακτος, οι υπέρηχοι υψηλής έντασης έχουν αρνητική επίδραση, καθώς προκαλούν το σχηματισμό ενώσεων όπως αλδεΐδες, κετόνες και οργανικά οξέα, που στην πλειοψηφία τους προκαλούν μη αποδεκτό άρωμα στο γάλα και τα προϊόντα του. Η εφαρμογή ομογενοποίησης γάλακτος με υπέρηχους στην παραγωγή γιαουρτιού, διευκολύνει την ζύμωση και την πήξη του γάλακτος, καταλήγοντας σε γιαούρτι με υψηλότερο ιξώδες, βελτιωμένα χαρακτηριστικά υφής και πιο ομοιόμορφη μικροδομή αλλά με λιγότερο ευχάριστο άρωμα.

Περίληψη

Abstract

Title of Dissertation:

Study of milk homogenization by ultrasound and application to milk fermented products

Abstract

One of the most important aspect of food science is the discovery and creation of innovative techniques and methods to optimize production processes and food quality. Recently, there has been great interest, from the food industry, for alternative technologies that combine performance and efficiency with minimal processing and cost, but at the same time provide safe and high quality products. The application of ultrasound is an innovative food processing method that has low cost and low energy consumption, is simple, fast, non-toxic and environmentally friendly. High-intensity ultrasound, when propagated in food systems causes physicochemical changes comparable, if not more beneficial, to the results of established techniques applied for years in the food industry. In particular, milk homogenization by pressure, a method widely applied in the dairy industry, is a process with a result that, theoretically, could be effectively achieved with high-intensity ultrasound.

The current study aims to evaluate high-intensity ultrasound as a milk homogenization method and, given its effectiveness, to integrate the method into the yogurt production process, in comparison to the already, commonly, applied two-stage homogenization method. In this case, cow's milk (raw) with a fixed fat content of 3,5% w/w, has been treated with ultrasound (frequency 20 kHz) of different amplitudes, 150, 262, 375, 562 and 750 W, for 10 min, and compared with conventional 2 stage pressure homogenization with pressure values of 10/5, 15/5, 20/5, 25/5 and 30/5 MPa.

The various homogenization conditions studied here, were evaluated for their homogenizing effect based on the size (mean diameter) and distribution of fat globules, the emulsion stability of milk and it's z-potential. In addition, the effect of these conditions on the total microbial flora and the population of lactic bacteria, the volatile components and the proteins of the milk were also studied. Subsequently, milk samples homogenized by the various conditions mentioned, were inoculated with conventional lactic acid culture *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* and the course of their fermentation process into yogurt was analyzed, in terms of fermentation time, the maximum change rate in pH and viscosity (μ_{pH} and μ_{visc} respectively) as well as the duration of the lag phase of the same parameters (λ_{pH} and λ_{visc} respectively). Following the completion of the fermentation process, yogurt samples were analyzed for their viscosity and texture characteristics

Abstract

(hardness, cohesiveness, adhesiveness and gumminess), their volatile components, their sensory profile and their microstructure. Finally, the homogenization conditions mentioned above, were utilized into the fermentation process of probiotic yogurt, with the probiotic strain *Bifidobacterium animalis* sub. *Lactis* in action and the fermentation parameters (fermentation time, μ_{pH} , μ_{visc} , λ_{pH} , λ_{visc}) as well as the yogurt characteristics (viscosity, hardness, cohesiveness, adhesiveness and gumminess) were measured.

Milk fat globules decreased in size and showed a more homogeneous distribution than raw milk in response to all conditions studied. However, fat globules, in milk that had been homogenized by ultrasound, were more homogeneously distributed, even at low ultrasound intensities, while in milk samples that had been homogenized by pressure, fat globules of bigger size were detected occasionally. Both homogenization methods led to milk fat globule size decrease and the stronger the homogenization intensity, either higher ultrasound amplitude or higher pressure, the smaller the milk fat globules. The mean diameter of fat globules in non-homogenized milk was 1.53 μm . The lowest average mean diameter of milk fat globules achieved by pressure homogenization was 0.62 μm (corresponding to pressure value of 30/5 MPa), while the respective for ultrasound homogenization was 0.61 μm (corresponding to ultrasound amplitude of 750 W).

Homogenization intensity and method had significant effect ($P < 0.05$) on the milk emulsion stability. Pressure homogenized samples remained stable for 6-8 days, no matter the homogenization pressure value. On the other hand, ultrasound homogenized samples displayed higher variance of their emulsion stability depending on the ultrasound amplitude. Higher ultrasound amplitude led to milk samples remaining stable for longer times, from 2 days (corresponding to ultrasound amplitude of 150 W) to 14 days (corresponding to ultrasound amplitude of 750 W).

Homogenization intensity had significant effect ($P < 0.05$) on milk z-potential. The more intense the homogenization treatment, the higher the z-potential value. Slightly higher were the z-potential values of the milk samples homogenized by ultrasound. Pressure homogenization led to up to 4 mV increase (corresponding to pressure value of 30/5 MPa) while ultrasound homogenization led to up to 7 mV increase (corresponding to ultrasound amplitude of 750 W).

Ultrasound homogenization caused significant reduction ($P < 0.05$) in the total microbial and lactic acid bacteria content of the milk samples, in contrast to pressure homogenization that did not significantly affect the microbial flora. Higher ultrasound amplitude led to lower microbial content, maximum reduction of TMC achieved was 69% and maximum reduction of lactic bacteria content achieved was 73%, corresponding to homogenization with ultrasound amplitude of 750 W.

Abstract

In the milk homogenized samples the following volatile components were identified: acetaldehyde, hexanal, acetone, 2-butanone, 3-butanone, 2-heptanone, bicyclo[2.2.1]-heptan-2-one, 2-nonanone, 2-undecanone, butyric acid, octanoic acid, decanoic acid, hexadecanoic acid dimethyl sulfide, 1-butene-3-ene, 2,1-heptene and delta-decalactone. The concentrations of ketones, aldehydes and carboxylic acids, identified here, were greater in the milk samples homogenized by ultrasound, compared to the pressure homogenized samples, additionally higher ultrasound amplitudes led to greater concentrations of these compounds. The increase in concentrations of the compounds is attributed to oxidative reactions occurring in milk during homogenization by ultrasound.

The milk proteins underwent partial denaturation during ultrasonic homogenization. The percentage of protein denaturation, depending on homogenizing ultrasound amplitude, ranged from 7.08% (corresponding to ultrasound amplitude of 150 W) to 68.78% (corresponding to ultrasound amplitude of 750 W). In contrast, pressure homogenization caused minimal protein denaturation (<3%) in all pressure values studied. High-intensity ultrasound, unfolds the peptide chains of proteins, exposing active sites of their molecules, therefore facilitating interaction with other molecules present in milk (proteins, milk fat globules) and improving the milk's properties and functionality (increase emulsion stability, increase z-potential, create homogeneous distribution of milk fat globules, increase gelation rate, leading to the production of yogurt with higher viscosity and improved texture characteristics).

The evolution of the fermentation process of homogenized milk showed significant differences depending on the two different milk homogenization methods studied. Although the fermentation time did not display significant differences in response to the differentiation of the milk homogenization conditions studied here (mean value 295 ± 10 min), the fermentation kinetic parameters (μ_{pH} , μ_{visc} , λ_{pH} and λ_{visc}) were significantly affected ($P < 0.05$). The mean value of μ_{pH} for the milk samples homogenized by pressure had was $1.50 \cdot 10^{-3} \pm 1.05 \cdot 10^{-4} \text{ min}^{-1}$ the respective value of the ultrasound homogenized samples was $8.6 \cdot 10^{-3} \pm 5.5 \cdot 10^{-4} \text{ min}^{-1}$. The λ_{pH} of milk samples homogenized by pressure had mean value equal to 120 ± 5 min and was not significantly affected by the pressure values. However, the λ_{pH} of the ultrasound homogenized samples were significantly ($P < 0.05$) shorter than the respective of the pressure homogenized samples. The higher the ultrasound amplitude of the homogenization the shorter the λ_{pH} , with the lowest value (24 min) corresponding to the milk sample homogenized by ultrasound amplitude of 750 W.

The μ_{visc} was significantly affected only by ultrasonic intensity or homogenization pressure ($P < 0.05$), with its values increasing as the ultrasonic intensity or homogenization pressure increased. The mean value of λ_{visc} was 130 ± 17 min for the pressure homogenized samples, while for the ultrasound

Abstract

homogenized samples was 124 ± 12 min. Ultrasound intensity and homogenization pressure had no significant effect on λ_{visc} .

Yogurt viscosity values increased in response to the increase of the homogenization intensity, either pressure value or ultrasound amplitude. However, viscosity values of yogurt samples derived from milk homogenized by ultrasound were higher than the corresponding values of yogurts derived from pressure homogenized milk. Viscosity values of the yogurt samples derived from milk homogenized by ultrasound ranged from $1.03 \text{ Pa}\cdot\text{s}$ to $2.65 \text{ Pa}\cdot\text{s}$ (corresponding to samples derived from milk homogenized by ultrasound amplitude of 150 W and 750 W respectively), while for the samples derived from milk homogenized by pressure ranged from $1.29 \text{ Pa}\cdot\text{s}$ to $1.55 \text{ Pa}\cdot\text{s}$ (corresponding to samples derived from milk homogenized by pressure 10/5 MPa and 30/5 MPa respectively).

The hardness of the yogurt samples, derived from pressure homogenized milk ranged from 0.964 N to 1.153 N (corresponding to samples derived from milk homogenized by pressure 10/5 MPa and 30/5 MPa respectively) while of the samples derived from milk homogenized by ultrasound ranged from 1.049 N to 1.503 N (corresponding to samples derived from milk homogenized by ultrasound amplitude of 150 W and 750 W respectively). Gumminess values the yogurt samples, derived from pressure homogenized milk ranged from $0.572 \text{ N}\cdot\text{s}$ to $0.726 \text{ N}\cdot\text{s}$ (corresponding to samples derived from milk homogenized by pressure 10/5 MPa and 30/5 MPa respectively) and of the samples derived from milk homogenized by ultrasound ranged from $0.580 \text{ N}\cdot\text{s}$ to $0.824 \text{ N}\cdot\text{s}$ (corresponding to samples derived from milk homogenized by ultrasound amplitude of 150 W and 750 W respectively). Cohesiveness values the yogurt samples, derived from pressure homogenized milk ranged from 0.517 to 0.547 (corresponding to samples derived from milk homogenized by pressure 10/5 MPa and 30/5 MPa respectively), and of the samples derived from milk homogenized by ultrasound ranged from 0.542 to 0.632 (corresponding to samples derived from milk homogenized by ultrasound amplitude of 150 W and 750 W respectively). Hardness, cohesiveness and gumminess of the yogurt samples increased the more intense the homogenization conditions of the milk which the sample was derived from. Yogurt adhesiveness was not significantly affected by the milk homogenization (method or intensity) and displayed mean value $0.351 \pm 0.019 \text{ N}\cdot\text{s}$.

The microstructure of yogurts made from pressure homogenized milk had a foam resembling form, while gaps and discontinuities were also detected. In contrast, the microstructure of yogurts from ultrasonically homogenized milk, especially at higher ultrasound amplitudes, was smoother, more homogeneous and continuous.

In the yogurt samples derived from milk homogenized by ultrasound and pressure milk, the same compounds were identified as those identified in the milk samples, plus 3-hydroxy-butanone and

Abstract

hexanoic acid. Increased concentrations in yogurt samples from ultrasound-homogenized milk compared to yogurt samples from pressure-homogenized samples were detected in the following compounds: acetaldehyde, 1-buten-3-ene, acetone, dimethyl sulfide, 1-heptene, hexanal, butyric acid, 2-heptanone, hexanoic acid, 2-nonanone, bicyclo[2.2.1]-hepta-2-one, octanoic acid, decanoic acid, 2-decanone and hexadecanoic acid. In order to predict the total degree of liking (DOL) of yogurt based on the aromatic compounds it contains, a mathematical model was suggested using the least squares partial regression method (PLS) and the «leave-p-out cross validation» (LpOCV) methodology, the following compounds were selected: acetaldehyde, 2-butanone, 2-3-butadione, 3-hydroxy-2-butanone and D-decalactone (with pleasant aroma-taste characteristics), and hexanal, butyric acid, 2-heptanone, 2-decanone and hexadecanoic acid (with unpleasant aroma-taste characteristics), as parameters with the most significant effect.

The sensory evaluation of the yogurt samples derived from milk homogenized by pressure and ultrasound involved the analysis of 37 characteristics in order to describe adequately their appearance, texture, mouthfeel, odor, taste and flavor. The results displayed significant differences ($P < 0.05$) between samples from pressure homogenized milk and from ultrasonically homogenized milk in texture, mouthfeel, odor, taste and flavor characteristics. Yogurt samples derived from milk homogenized by ultrasound scored higher in the positive texture and mouthfeel characteristics (cohesiveness, hardness, texture DOL) but scored lower on odor, and flavor characteristics, compared to samples from milk homogenized by pressure. However, the total DOL scores of all the samples, did not differ significantly. For the prediction of the total DOL of yogurt based on the odor, taste and aroma characteristics, a mathematical model was suggested, using PLS method and LpOCV methodology and the characteristics with the most significant effect were selected: whey odor, grass/aldehyde odor, burnt odor, yogurt taste, milk flavor, whey flavor, oily flavor, grassy/aldehydic flavor and pungent flavor.

The fermentation process of the milk samples homogenized by ultrasound or pressure by the probiotic culture of *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis* lasted 192 ± 12 min for all homogenization conditions studied. The μ_{pH} of the milk samples homogenized by pressure had mean value of $9.48 \cdot 10^{-3} \pm 3.1 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ and differ significantly with the μ_{pH} of the samples homogenized by ultrasound, the latter's mean value was $11 \cdot 10^{-3} \pm 7.4 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$. The values of λ_{pH} of the milk samples homogenized by ultrasound ranged from 50 min to 31 min (corresponding to the milk samples homogenized by ultrasound amplitude of 150 W and 750 W respectively) and for the milk samples homogenized by pressure ranged from 66 to 56 min (corresponding to the milk samples homogenized by pressure of 10/5 MPa and 30/5 MPa respectively). The milk samples homogenized by pressure had mean value of μ_{visc} equal to $4.72 \cdot 10^{-3}$

Abstract

$3 \pm 0.27 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$; but had significant difference ($P < 0.05$) from the μ_{visc} of the milk samples homogenized by ultrasound, which ranged from $4.48 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ to $19.35 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ (corresponding to the milk samples homogenized by ultrasound amplitude of 150 W and 750 W respectively). The values of λ_{visc} for the milk samples homogenized by pressure ranged from 82 min to 78 min (corresponding to the milk samples homogenized by pressure of 10/5 MPa and 30/5 MPa respectively), and for the milk samples homogenized by ultrasound ranged from 92 min to 32 min (corresponding to the milk samples homogenized by ultrasound amplitude of 150 W and 750 W respectively).

The viscosity, hardness, cohesiveness and gumminess of the probiotic yogurt samples were significantly affected ($P < 0.05$) by the homogenization method and the homogenization intensity (either pressure or ultrasound amplitude). Highest values of those properties were measured on the yogurt samples from milk homogenized by ultrasound. Additionally, higher homogenization pressure values or higher homogenization ultrasound amplitude lead to the increase of the viscosity, hardness, cohesiveness and gumminess of the probiotic yogurt samples. Specifically, viscosity values of probiotic yogurt samples derived from milk homogenized by pressure ranged from 1.02 Pa*s to 1.44 Pa*s (corresponding to samples derived from milk homogenized by pressure of 10/5 MPa and 30/5 MPa respectively), while viscosity values of probiotic yogurt samples derived from milk homogenized by ultrasound ranged from 0.95 Pa*s to 2.48 Pa*s (corresponding to samples derived from milk homogenized by ultrasound amplitude of 150 W and 750 W respectively). Hardness values of probiotic yogurt samples derived from milk homogenized by pressure ranged from 1.08 N to 1,208 N (corresponding to samples derived from milk homogenized by pressure of 10/5 MPa and 30/5 MPa respectively), and of probiotic yogurt samples derived from milk homogenized by ultrasound ranged from 1.049 N to 1.503 N (corresponding to samples derived from milk homogenized by ultrasound amplitude of 150 W and 750 W respectively). Cohesiveness values of probiotic yogurt samples derived from milk homogenized by pressure ranged from 0.617 to 0.632 (corresponding to samples derived from milk homogenized by pressure of 10/5 MPa and 30/5 MPa respectively), and of probiotic yogurt samples derived from milk homogenized by ultrasound ranged from 0.591 to 0.731 (corresponding to samples derived from milk homogenized by ultrasound amplitude of 150 W and 750 W respectively). Adhesiveness values of probiotic yogurt samples derived from milk homogenized by pressure ranged from 0.671 N*s to 0.764 N*s (corresponding to samples derived from milk homogenized by pressure of 10/5 MPa and 30/5 MPa respectively), and of probiotic yogurt samples derived from milk homogenized by ultrasound ranged from 0.620 N*s to 1.099 N*s (corresponding to samples derived from milk homogenized by ultrasound amplitude of 150 W and 750 W respectively).

Abstract

Adhesiveness was not significantly affected neither by the method nor by the intensity of homogenization and displayed mean value equal to 0.445 ± 0.02 N*s.

In conclusion, high-intensity ultrasound has better homogenizing effect than conventional homogenization with two-stage pressure, achieving similar reduction in milk fat globules size, but a more homogenous distribution as well as emulsion stability of milk for longer period of time. In addition, high intensity ultrasound disrupts the cellular membranes of the native milk microflora, therefore unleashing in the milk enzymes and metabolites that can be utilized by added starter cultures and facilitate the latter's growth during fermentation process. Also, causes partial denaturation in milk proteins, which favors interactions between protein molecules and other components of milk, thereby increasing their functionality and enhancing the homogenizing effect. As far as the volatile components of the milk are concerned, high-intensity ultrasound has a negative effect, as it causes the formation of compounds such as aldehydes, ketones and carboxylic acids, components responsible for of undesirable flavor in milk and subsequent dairy products. Utilization of ultrasound homogenization of milk in yogurt production, facilitates fermentation and coagulation of milk, resulting in yogurt with higher viscosity, improved texture characteristics and more homogenous microstructure but with unpleasant flavors.

Περιεχόμενα

Περιεχόμενα

Πρόλογος.....	3
Περίληψη	6
Abstract	14
Κατάλογος Εικόνων.....	27
Κατάλογος Πινάκων.....	30
Κεφάλαιο 1 Γάλα	32
1.1 Γενικά	32
1.2 Ιστορική αναδρομή.....	32
1.3 Σχηματισμός του γάλακτος στα θηλαστικά.....	33
1.4 Χημική σύσταση του γάλακτος.....	34
1.4.1 Γενικά.....	34
1.4.2 Λακτόζη.....	36
1.4.3 Πρωτεΐνες	38
1.4.3.1 Καζεΐνες.....	40
1.4.3.2 Πρωτεΐνες ορού	45
1.4.4 Λιπαρά γάλακτος	55
1.4.4.1 Λιπαρά οξέα.....	55
1.4.4.2 Τριγλυκερίδια	57
1.4.4.3 Φωσφολιπίδια	58
1.4.4.4 Λιποσφαίρια	59
1.4.5 Άλατα και ιόντα	61
1.4.6 Βιταμίνες.....	63
1.4.6.1 Λιποδιαλυτές βιταμίνες.....	63
1.4.6.2 Υδατοδιαλυτές βιταμίνες.....	64

Περιεχόμενα

Κεφάλαιο 2 Γιαούρτι	67
2.1 Ορισμός.....	67
2.2 Ιστορική αναδρομή.....	67
2.3 Είδη γιαουρτιού	69
2.4 Παραγωγική διαδικασία γιαουρτιού.....	70
2.4.1 Αρχική επεξεργασία του γάλακτος.....	71
2.4.2 Τυποποίηση των λιπαρών και του ΣΥΑΛ (στερεών μη λιπαρών) του γάλακτος	73
2.4.3 Ομογενοποίηση	75
2.4.4 Θερμική επεξεργασία	76
2.4.5 Διαδικασία ζύμωσης.....	79
2.4.6 Μοντελοποίηση - πρόβλεψη εξέλιξης ζύμωσης	82
2.4.7 Ψύξη.....	85
2.4.8 Προσθήκη καρπών.....	85
2.4.9 Συσκευασία.....	86
2.4.10 Ενισχυτικά πρόσθετα.....	87
2.4.9.1 Σταθεροποιητές	87
2.4.10.2 Γλυκαντικά	88
2.5 Σύνθεση γιαουρτιού και φυσικοχημικά χαρακτηριστικά.....	89
2.6 Έλεγχος ποιότητας της παραγωγής γιαουρτιού	93
2.7 Λειτουργικά γαλακτοκομικά τρόφιμα	94
2.7.1 Βιταμίνες.....	94
2.7.2 Προβιοτικά.....	95
2.7.2 Πρεβιοτικά	98
Κεφάλαιο 3: Υπέρηχοι και Ομογενοποίηση	99
3.1 Γενικά.....	99
3.2 Σημασία της ομογενοποίησης του γάλακτος	101

Περιεχόμενα

3.3 Αρχές ομογενοποίησης γάλακτος.....	101
3.3.1 Μηχανισμός ομογενοποίησης.....	101
3.3.2 Ελάττωση μεγέθους λιποσφαιρίων.....	102
3.2.3 Σταθεροποίηση του γάλακτος ως γαλάκτωμα	102
3.3 Μηχανικές μέθοδοι ομογενοποίησης γάλακτος	103
3.3.1 Ομογενοποιητές ρότορα-στάτορα	103
3.3.2 Ομογενοποιητές λεπίδας.....	104
3.3.3 Μύλοι Κολλοειδών	105
3.3.4 Ομογενοποίηση με βαλβίδα.....	106
3.3.5 Ομογενοποίηση υψηλής πίεσης.....	106
3.3.6 Μικρορευστοποίηση	107
3.3.7 Περιορισμοί των μηχανικών μεθόδων ομογενοποίησης.....	110
3.4 Τεχνολογία υπερήχων στην ομογενοποίηση γάλακτος	111
3.4.1 Βασικές αρχές των υπερήχων.....	111
3.4.1.1 Ακουστική σπηλαίωση.....	112
3.4.1.1 Θερμικές συνέπειες	115
3.4.2 Εφαρμογή των υπερήχων στην επεξεργασία τροφίμων.....	116
3.4.3 Ομογενοποίηση γάλακτος με υπέρηχους	116
3.4.3.1 Επίδραση στα λιποσφαίρια	117
3.4.3.2 Επίδραση στο μικροβιακό φορτίο	118
3.4.3.3 Επιδράσεις στις πρωτεΐνες του γάλακτος	120
3.4.3.4 Χημικές επιδράσεις των υπερήχων στα συστατικά του γάλακτος.....	121
3.4.3.5 Επίδραση επεξεργασίας υπερήχων στην παραγωγική διαδικασία και στα χαρακτηριστικά του γιαουρτιού	123
3.5 Συσκευές υπερήχων.....	125
3.5.1 Εργαστηριακά συστήματα	125

Περιεχόμενα

3.5.2 Βιομηχανικά συστήματα.....	127
3.6 Σύγκριση Τεχνικών Ομογενοποίησης	128
Κεφάλαιο 4. Πειραματικό Μέρος.....	130
4.1 Σκοπός.....	130
4.2 Υλικά	132
4.3 Πειραματική διαδικασία.....	132
4.3.1 Προετοιμασία - τυποποίηση δειγμάτων γάλακτος	132
4.3.2 Ομογενοποίηση γάλακτος	132
4.3.3 Θερμική Κατεργασία γάλακτος	133
4.3.4 Εμβολιασμός.....	133
4.3.5 Διεργασία ζύμωσης γάλακτος προς γιαούρτι	133
4.3.6 Ψύξη - Συντήρηση γιαουρτιού.....	134
4.4 Μετρήσεις.....	134
4.4.1 Μετρήσεις σε δείγματα γάλακτος	134
4.4.1.1 Μέγεθος λιποσφαιρίων.....	134
4.4.1.2 Σταθερότητα του γάλακτος ως γαλάκτωμα	134
4.4.1.3 ζ-δυναμικό γάλακτος	135
4.4.1.4 Ποσότητα πρωτεϊνών – Επίπεδο πρωτεϊνικής μετουσίωσης.....	135
4.4.1.5 Μικροβιολογική ανάλυση	135
4.4.1.6 Ανάλυση αρωματικού προφίλ.....	136
4.4.2 Μετρήσεις κατά την ζύμωση του γάλακτος προς γιαούρτι	137
4.4.3 Μετρήσεις σε δείγματα γιαουρτιού.....	138
4.4.3.1 Ιξώδες.....	138
4.4.3.2 Ανάλυση Υφής.....	138
4.4.3.3 Ανάλυση αρωματικού προφίλ.....	139
4.4.3.4 Οργανοληπτική ανάλυση.....	139

Περιεχόμενα

4.4.3.5 Μικροδομή γιαουρτιού	143
4.5 Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων.....	143
4.5.1 Ανάλυση διακύμανσης	143
4.5.2 Ανάλυση κύριων συνιστωσών (Principal Component Analysis, PCA)	143
4.4.3 Παλινδρόμηση μερικών ελαχίστων τετραγώνων (Partial Least Square Regression, PLS)	144
4.6 Σχεδιασμός Πειραμάτων	144
Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση	146
5.1 Μελέτη επίδρασης ομογενοποίησης με υπέρηχους στα χαρακτηριστικά του γάλακτος και σύγκριση με συμβατική ομογενοποίηση με πίεση	147
5.1.1 Μέγεθος και κατανομή λιποσφαιρίων.....	147
5.1.2 Σταθερότητα γάλακτος ως γαλάκτωμα	151
5.1.3 ζ-δυναμικό γάλακτος	152
5.2 Μελέτη επίδρασης συνθηκών ομογενοποίησης γάλακτος με υπέρηχους στις παραμέτρους της ζύμωσης και τα χαρακτηριστικά υφής, αρώματος και τα οργανοληπτικά του γιαουρτιού	153
5.2.1 Παρακολούθηση οξυγαλακτικής ζύμωσης από συμβατική καλλιέργεια <i>Streptococcus salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i> και <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> , YF-L702. Χρόνος ζύμωσης, εξέλιξη pH - ιξώδους.....	154
5.2.2 Προσδιορισμός κινητικής ζύμωσης.....	158
5.2.3 Ιξώδες παραγόμενου γιαουρτιού.....	160
5.2.4 Χαρακτηριστικά υφής παραγόμενου γιαουρτιού	161
5.2.5 Ανάλυση αρωματικού προφίλ γιαουρτιού.....	163
5.2.6 Οργανοληπτική εξέταση γιαουρτιού.....	167
5.2.7 Μοντέλα πρόβλεψης συνολικής αρέσκειας γιαουρτιού βάσει οργανοληπτικών χαρακτηριστικών οσμής-γεύσης-αρώματος και συγκέντρωσης αρωματικών ενώσεων.....	174
5.3 Μελέτη επίδρασης συνθηκών ομογενοποίησης γάλακτος με υπέρηχους στο μικροβιολογικό περιεχόμενο, τα πρωτεϊνικά συστατικά του γάλακτος και τη μικροδομή του γιαουρτιού	182

Περιεχόμενα

5.3.1 Μικροβιακή ανάλυση γάλακτος.....	183
5.3.2 Ανάλυση αρωματικού προφίλ γάλακτος.....	185
5.3.3 Ποσότητα πρωτεϊνών-επίπεδο πρωτεϊνικής μετουσίωσης	188
5.3.3 Μικροδομή γιαουρτιού	190
5.4 Μελέτη επίδρασης συνθηκών ομογενοποίησης γάλακτος με υπέρηχους στις παραμέτρους της ζύμωσης και τα χαρακτηριστικά προβιοτικού γιαουρτιού	194
5.4.1 Παρακολούθηση εξέλιξης οξυγαλακτικής ζύμωσης με προβιοτικό στέλεχος <i>Bifidobacterium animalis sub. Lactis BB-12</i> . Χρόνος ζύμωσης, εξέλιξη pH - ιξώδους.....	194
5.4.2 Προσδιορισμός κινητικής ζύμωσης.....	198
5.4.3 Ιξώδες παραγόμενου προβιοτικού γιαουρτιού.....	202
5.4.4 Χαρακτηριστικά υφής παραγόμενου προβιοτικού γιαουρτιού	203
Κεφάλαιο 6 Συμπεράσματα και Προτάσεις.....	208
Βιβλιογραφία	217

Κατάλογος Εικόνων

Κατάλογος Εικόνων

Εικόνα 1.1: Κύτταρο μαστικού αδένος θηλαστικού κατά την παραγωγή γάλακτος.....	33
Εικόνα 1.2 : Μόριο α-Λακτόζης.....	36
Εικόνα 1.3 : Βιοχημική οδός σύνθεσης λακτόζης.....	37
Εικόνα 1.4 : Μόρια καζεΐνών.....	40
Εικόνα 1.5 : Καζεϊνικό μικύλλιο σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο SEM.....	41
Εικόνα 1.6: Μοντέλα δομών καζεϊνικών μικυλλίων.....	43
Εικόνα 1.7 : Τρισδιάστατη αναπαράσταση μορίου α-λακταλβουμίνης.....	45
Εικόνα 1.8 : Τρισδιάστατη αναπαράσταση μορίου β-λακτογλοβουλίνης.....	47
Εικόνα 1.9 : Σχηματική απεικόνιση μορίων ανοσοσφαιρινών IgG, IgA και IgM.....	49
Εικόνα 1.10 : Στερεοδομή φωσφολιπιδίων γάλακτος.....	58
Εικόνα 1.11 : Λιποσφαίριο (MFG) γάλακτος.....	60
Εικόνα 2.1: Διάγραμμα ροής παραγωγικής διαδικασίας γιαουρτιού	70
Εικόνα 2.2: Βακτήρια <i>Streptococcus salivarius</i> subsp. <i>Thermophilus</i> και <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>Bulgaricus</i>	77
Εικόνα 2.3: Διάγραμμα pH-χρόνου και ιξώδους-χρόνου κατά την ζύμωση γάλακτος προς γιαούρτι	82
Εικόνα 2.4: Τυπικό διάγραμμα ανάλυσης υφής γιαουρτιού.....	88
Εικόνα 3.1: Κατανομή μεγέθους σωματιδίων λίπους σε καλώς ομογενοποιημένο γάλα σε υψηλές θερμοκρασίες...97	
Εικόνα 3.2: Απεικόνιση λιποσφαιρίων γάλακτος, μη ομογενοποιημένου, ομογενοποιημένου σε ένα και σε 2 στάδια.....	98
Εικόνα 3.1: Εργαστηριακός ομογενοποιητής τύπου ρότορα-στάτορα.....	102
Εικόνα 3.2: Λεπίδες ομογενοποιητή τύπου λεπίδας.....	103
Εικόνα 3.5: Μικρορευστοποιητής μονής εισόδου και μικρορευστοποιητής δύο εισόδων.....	107
Εικόνα 3.6: Εύρος συχνοτήτων και ισχύων του ήχου.....	110
Εικόνα 3.7: Σχηματική αναπαράσταση των κυμάτων υπερήχων σε υγρό μέσο.....	111
Εικόνα 3.8: Φαινόμενο σπηλαίωσης.....	112
Εικόνα 3.9: Εικόνες SEM κυττάρων <i>L. Innesia</i> εμβολιασμένων σε ακατέργαστο πλήρες γάλα.....	117
Εικόνα 3.10: Γενικές οδοί μεταβολισμού των τριγλυκεριδίων και των λιπαρών οξέων του γάλακτος	121
Εικόνα 3.11: Εργαστηριακό σύστημα λουτρού υπερήχων.....	124
Εικόνα 3.12: Εργαστηριακό σύστημα υπερήχων τύπου ακίδας.....	124
Εικόνα 3.13: Βιομηχανικά συστήματα υπερήχων.....	154
Εικόνα 4.1: Τυπικό διάγραμμα ανάλυσης υφής γιαουρτιού.....	137
Εικόνα 4.2: Έντυπο οργανοληπτικής εξέτασης γιαουρτιού.....	140
Εικόνα 5.1: Λιποσφαίρια αγελαδινού γάλακτος ομογενοποιημένου με πίεση.....	146
Εικόνα 5.2: Λιποσφαίρια αγελαδινού γάλακτος ομογενοποιημένου με υπέρηχους.....	147

Κατάλογος Εικόνων

Εικόνα 5.3A: Καμπύλες μεταβολής pH-χρόνου και ιξώδους-χρόνου κατά την ζύμωση δειγμάτων γάλακτος ομογενοποιημένων με πίεση.....	154
Εικόνα 5.3B: Καμπύλες μεταβολής pH-χρόνου και ιξώδους-χρόνου κατά την ζύμωση δειγμάτων γάλακτος ομογενοποιημένων με υπέρηχους.....	155
Εικόνα 5.4: Τιμές ιξώδους τελικού προϊόντος γιαουρτιού από γάλα ομογενοποιημένο με πίεση και υπέρηχους.....	158
Εικόνα 5.5: Χαρακτηριστικά υφής γιαουρτιού από γάλα ομογενοποιημένο με πίεση.....	159
Εικόνα 5.6: Χαρακτηριστικά υφής γιαουρτιού από γάλα ομογενοποιημένο και υπέρηχους.....	160
Εικόνα 5.7A: Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών οργανοληπτικών χαρακτηριστικών γιαουρτιού.....	170
Εικόνα 5.7B: Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών δειγμάτων γιαουρτιού (score plot) από γάλα ομογενοποιημένο με πίεση και με υπέρηχους.....	172
Εικόνα 5.8A: Συντελεστές PLS μοντέλου οργανοληπτικών χαρακτηριστικών αρώματος-οσμής-γεύσης και συνολικής αρέσκειας.....	174
Εικόνα 5.8B: Προβολές συντελεστών PLS μοντέλου οργανοληπτικών χαρακτηριστικών αρώματος-οσμής-γεύσης και συνολικής αρέσκειας σε 2 συνιστώσες X και Y.....	174
Εικόνα 5.8Γ: Προβολές δειγμάτων γιαουρτιού για το PLS μοντέλο οργανοληπτικών χαρακτηριστικών αρώματος-οσμής-γεύσης και συνολικής αρέσκειας σε 2 συνιστώσες X και Y.....	175
Εικόνα 5.8Δ: Επίδραση μεταβλητών οργανοληπτικών χαρακτηριστικών στο PLS μοντέλο οργανοληπτικών χαρακτηριστικών αρώματος-οσμής-γεύσης και συνολικής αρέσκειας.....	175
Εικόνα 5.9A: Συντελεστές PLS μοντέλου αρωματικών συστατικών και συνολικής αρέσκειας.....	177
Εικόνα 5.9B: Προβολές συντελεστών PLS μοντέλου αρωματικών συστατικών και συνολικής αρέσκειας σε 2 συνιστώσες X και Y.....	178
Εικόνα 5.9Γ: Προβολές δειγμάτων γιαουρτιού για το PLS μοντέλο αρωματικών συστατικών και συνολικής αρέσκειας σε 2 συνιστώσες X και Y.....	178
Εικόνα 5.9Δ: Επίδραση μεταβλητών αρωματικών συστατικών στο PLS μοντέλο αρωματικών συστατικών και συνολικής αρέσκειας	179
Εικόνα 5.10.: Gel SDS-PAGE ηλεκτροφόρησης με ροζ μάρτυρα, για νωπό γάλα και γάλα ομογενοποιημένο με πίεση, καθώς και γάλα ομογενοποιημένο με υπέρηχους.....	187
Εικόνα 5.11: Μικροδομή γιαουρτιού από γάλα ομογενοποιημένο με πίεση.....	189
Εικόνα 5.12: Μικροδομή γιαουρτιού από γάλα ομογενοποιημένο με υπέρηχους.....	190
Εικόνα 5.13A: Καμπύλες μεταβολής pH-χρόνου και ιξώδους-χρόνου κατά την ζύμωση από προβιοτική καλλιέργεια δειγμάτων γάλακτος ομογενοποιημένων με πίεση.....	194
Εικόνα 5.13B: Καμπύλες μεταβολής pH-χρόνου και ιξώδους-χρόνου κατά την ζύμωση από προβιοτική καλλιέργεια δειγμάτων γάλακτος ομογενοποιημένων με υπέρηχους.....	195
Εικόνα 5.14A: Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών κινητικών παραμέτρων ζύμωσης γάλακτος ομογενοποιημένο με πίεση και με υπέρηχους από συμβατική και προβιοτική καλλιέργειας	199

Κατάλογος Εικόνων

Εικόνα 5.14B: Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών δειγμάτων γάλακτος (score plot) ομογενοποιημένο με πίεση και με υπέρηχους ζυμωμένο από συμβατική και προβιοτική καλλιέργεια.....	200
Εικόνα 5.15: Τιμές ιξώδους τελικού προβιοτικού γιαουρτιού από γάλα ομογενοποιημένο με πίεση ή υπέρηχους..	201
Εικόνα 5.16: Χαρακτηριστικά υφής προβιοτικού γιαουρτιού από γάλα ομογενοποιημένο με πίεση ή υπέρηχους..	202
Εικόνα 5.17A: Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών χαρακτηριστικών υφής προβιοτικού και συμβατικού γιαουρτιού από γάλα ομογενοποιημένο με πίεση και με υπέρηχους.....	203
Εικόνα 5.17B: Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών δειγμάτων προβιοτικού και συμβατικού γιαουρτιού (score plot) από γάλα ομογενοποιημένο με πίεση και με υπέρηχους.....	204

Κατάλογος Πινάκων

Κατάλογος Πινάκων

Πίνακας 1.1: Επί τοις 100 κατά βάρος σύσταση (% w/w) του γάλακτος διαφόρων θηλαστικών.....	34
Πίνακας 1.2: Επί τοις 100 κατά βάρος σύσταση (% w/w) αγελαδινού γάλακτος.....	35
Πίνακας 1.3: Πρωτεΐνες αγελαδινού γάλακτος.....	39
Πίνακας 1.4: Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά καζεϊνικών μικκυλίων.....	41
Πίνακας 1.5: Αντιδράσεις πλευρικών ομάδων αμινοξέων πρωτεϊνών γάλακτος σε υψηλές θερμοκρασίες (>70°C)..	53
Πίνακας 1.6: Λιπαρά αγελαδινού γάλακτος.....	55
Πίνακας 1.7: Λιπαρά οξέα γάλακτος.....	56
Πίνακας 1.8: Συγκεντρώσεις ιόντων στο γάλα.....	61
Πίνακας 1.9: Περιεκτικότητα γάλακτος σε βιταμίνες.....	62
Πίνακας 2.1: Σύσταση γιαουρτιού τύπου σετ και στραγγιστού.....	87
Πίνακας 2.2: Φυσικοχημικές σταθερές γιαουρτιού.....	88
Πίνακας 2.3: Αρωματικές ενώσεις γιαουρτιού με συγκέντρωση C > 20,00 ng/mL).....	90
Πίνακας 4.1: Κωδικοποίηση και τιμές πίεσης, έντασης υπέρηχων ομογενοποίησης γάλακτος.....	131
Πίνακας 4.2: Περιγραφή οργανοληπτικών χαρακτηριστικών γιαουρτιού.....	138-139
Πίνακας 4.3: Σχεδιασμός Πειραμάτων.....	142-143
Πίνακας 5.1: Μέγεθος διαμέτρου λιποσφαιρίων ομογενοποιημένου γάλακτος.....	148
Πίνακας 5.2: Χρόνος σταθερότητας ομογενοποιημένου γάλακτος.....	149
Πίνακας 5.3: ζ-Δυναμικό ομογενοποιημένου γάλακτος.....	150
Πίνακας 5.4: Χρόνος ζύμωσης γάλακτος ομογενοποιημένου με πίεση και υπέρηχους από συμβατική οξυγαλακτική καλλιέργεια.....	153
Πίνακας 5.5: Παράμετροι κινητικής ζύμωσης γάλακτος ομογενοποιημένου με πίεση και υπέρηχους.....	156
Πίνακας 5.6: Αρωματικά χαρακτηριστικά μορίων που ανιχνεύθηκαν σε δείγματα γιαουρτιού με αέρια χρωματογραφία.....	161
Πίνακας 5.7 Εμβαδά κορυφών GC-MS αρωματικών μορίων γιαουρτιού από γάλα ομογενοποιημένο με πίεση και υπέρηχους.....	164
Πίνακας 5.8: Αποτελέσματα Οργανοληπτικής εξέτασης δειγμάτων γιαουρτιού από γάλα ομογενοποιημένο με πίεση και με υπέρηχους.....	167
Πίνακας 5.9: Συντελεστές Κύριων Συνιστωσών οργανοληπτικών χαρακτηριστικών γιαουρτιού, σύμφωνα με τις συσχετίσεις τους.....	171
Πίνακας 5.10: ΟΜΧ και περιεκτικότητα σε γαλακτικά βακτήρια ομογενοποιημένου γάλακτος.....	182
Πίνακας 5.11: Εμβαδά κορυφών GC-MS αρωματικών μορίων γάλακτος ομογενοποιημένο με πίεση και υπέρηχους.....	185
Πίνακας 5.12: Συγκέντρωση μη μετουσιωμένων πρωτεϊνών σε ομογενοποιημένο γάλα.....	186

Κατάλογος Πινάκων

Πίνακας 5.13: Χρόνος ζύμωσης από προβιοτική καλλιέργεια γάλακτος ομογενοποιημένου με πίεση και υπέρηχους.....	192
Πίνακας 5.14 : Παράμετροι κινητικής ζύμωσης από προβιοτική καλλιέργεια γάλακτος ομογενοποιημένου με πίεση και υπέρηχους.....	196

Κεφάλαιο 1 Γάλα

Κεφάλαιο 1 Γάλα

1.1 Γενικά

Το γάλα είναι η κύρια τροφή των νεογνών των θηλαστικών ειδών, και εκκρίνεται από τα θηλυκά μέλη των θηλαστικών. Στη γη υπάρχουν περισσότερα από 4500 είδη θηλαστικών που παράγουν γάλα. Η φύση και η σύνθεση του γάλακτος είναι τέτοια, ώστε να προσφέρει στα βρέφη όλα τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά για την ανάπτυξή τους. Καθώς το γάλα περιέχει συστατικά ωφέλιμα για τον οργανισμό, σε συνδυασμό με τα ευχάριστα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του, αποτελεί αναπόσπαστο μέρος της ανθρώπινης διατροφής εδώ και χιλιετίες. Το γάλα που καταναλώνεται από τον άνθρωπο μετά το πρώτο έτος της ζωής του προέρχεται κυρίως από βοοειδή, αμνοερίφια ή βουβάλια, και ανεξαρτήτως της προέλευσης του ζώου, περιέχει τα ίδια περίπου θρεπτικά συστατικά, συνεπώς προσφέρει οφέλη και στην υγεία (Fox, 2011b).

Σύμφωνα με τον Ελληνικό Κώδικα Τροφίμων και Ποτών (Απρίλιος 2014) ως «Γάλα» χαρακτηρίζεται το προϊόν που παράγεται από θηλυκά βοοειδή, είναι νωπό, πλήρες, δεν έχει υποστεί αφυδάτωση ή συμπύκνωση και δεν περιέχει άλλες εξωγενείς προσθήκες. Οποιαδήποτε άλλη περίπτωση, είτε προέλευσης ή επεξεργασίας του νωπού γάλακτος, θα πρέπει να δηλώνεται.

Στην παρούσα διατριβή ο όρος «γάλα» θα αντιστοιχεί σε γάλα αγελάδας, ένεκα του ότι γάλα αυτού του είδους χρησιμοποιήθηκε προς μελέτη.

1.2 Ιστορική αναδρομή

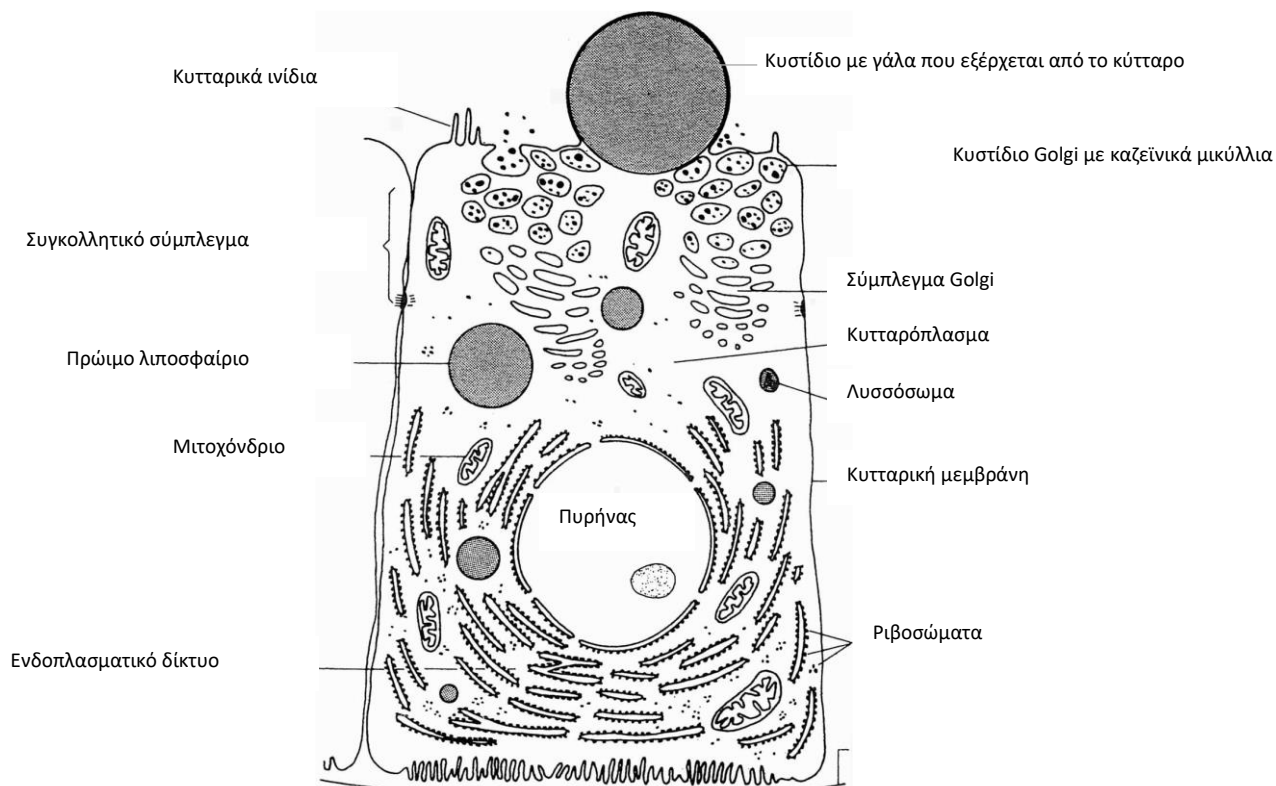
Το γάλα αποτελεί μέρος της ανθρώπινης διατροφής από τα πρώτα χρόνια ανάπτυξης της κτηνοτροφίας. Ταυτόχρονα με την εκτροφή των ζώων για το κρέας και το δέρμα τους, ο άνθρωπος συνειδητοποίησε ότι το γάλα τους μπορεί να ενταχθεί στη διατροφή του. Έτσι, υπάρχουν ενδείξεις για εκτροφή και άμελη γαλακτοφόρων ζώων από το 10000 π.Χ. Οι πρώτες επίσημες αναφορές τοποθετούν την εξημέρωση και εκτροφή γαλακτοφόρων ζώων περί το 8000 π.Χ. στην περιοχή της Μεσοποταμίας. Τα πρώτα είδη που εκμεταλλεύτηκε ο άνθρωπος για την παραγωγή γάλακτος ήταν οι καμήλες, τα αμνοερίφια και τα βοοειδή. Συγκεκριμένα, τα πρώτα βοοειδή που εξημερώθηκαν ήταν του γένους *Bos primigenius* και *Bos namadicus*, πρόγονοι των σημερινών βοοειδών *Bos taurus* και *Bos indicus* (Fox, 2022b; McGuffey et al., 2011).

1.3 Σχηματισμός του γάλακτος στα θηλαστικά

Το γάλα σχηματίζεται στα κύτταρα των μαστικών αδένων από μόρια και ουσίες που αποτελούν προϊόντα της πέψης και του μεταβολισμού των τροφών. Στην Εικόνα 1.1 παρουσιάζεται ένα κύτταρο μαστικού αδένου θηλαστικού. Τα πρόδρομα μόρια που χρησιμοποιούνται στο σχηματισμό του γάλακτος είναι κυρίως ουσίες υδατοδιαλυτές και χαμηλού μοριακού βάρους, μονοσακχαρίτες, μονογλυκερίδια, αμινοξέα, μικρά πεπτίδια αλλά και λιπαρά οξέα. Τα μόρια αυτά παράγονται στο πεπτικό σύστημα του θηλαστικού, από την ενζυμική διάσπαση των τροφών και διαδίδονται μέσω του αίματος στα κύτταρα και στους μαστικούς αδένες (Bauman et al., 2011). Στα βοοειδή και στα αμνοερίφια που είναι μηρυκαστικά, ένα μεγάλο μέρος της πέψης γίνεται στη μεγάλη κοιλία, όπου εκεί παράγονται τα λιπαρά οξέα και τα περισσότερα αμινοξέα, ενώ τα υπόλοιπα προαναφερθέντα μόρια σχηματίζονται στο στομάχι και στο έντερο.

Η σύνθεση του γάλακτος γίνεται στα εκκριτικά κύτταρα των μαστικών αδένων. Μέσω της κυτταρικής μεμβράνης διέρχονται τα πρόδρομα μόρια των συστατικών του γάλακτος στο κύτταρο και διαδίδονται μέσω του κυτταροπλάσματος στα ενδοκυτταρικά σωματίδια όπου γίνεται η σύνθεση. Οι πρωτεΐνες σχηματίζονται στο ενδοπλασματικό δίκτυο του κυττάρου. Τα τριγλυκερίδια, τα λιπαρά οξέα και οι στερόλες συντίθενται στο κυτταρόπλασμα, σχηματίζοντας μικρά λιποσφαίρια, τα οποία αναπτύσσονται ενώ μεταφέρονται μέσα στο κυτταρόπλασμα. Τα άλατα, τα μεταλλικά ιόντα και το νερό δεν σχηματίζονται στο κύτταρο, αλλά παραλαμβάνονται από το αίμα μέσω της κυτταρικής μεμβράνης. Όλα τα επιμέρους συστατικά του γάλακτος μετακινούνται μέσα στο κυτταρόπλασμα μέχρι το σύμπλεγμα Golgi όπου και σχηματίζουν κυστίδια με γάλα. Τα κυστίδια μετακινούνται στο κυτταρόπλασμα και εξέρχονται από το κύτταρο απελευθερώνοντας το γάλα στους αυλούς των μαστών. Το γάλα κατά την έξοδό του από το εκκριτικό κύτταρο, ενίοτε, παρασύρει μικρές ποσότητες κυτταροπλάσματος που μερικές φορές προσκολλώνται στα λιποσφαίρια και σχηματίζουν τις λιποπρωτεΐνες. Τα κυστίδια γάλακτος κινούνται στους αυλούς των μαστών μέχρι να φτάσουν σε μία κοιλότητα που ονομάζεται δεξαμενή. Από τη δεξαμενή αυτή, το γάλα φτάνει στη θηλή με την κατάλληλη διέγερση. Η διέγερση επιτυγχάνεται με τη συστολή του μυϊκού ιστού (θηλασμός ή άμελη) που οδηγεί στην παραγωγή της ορμόνης οξυτοκίνης, η οποία προκαλεί σύσπαση, με αποτέλεσμα την απελευθέρωση του γάλακτος στη θηλή. Από τη θηλή, και λόγω της διαφοράς πίεσης που δημιουργείται με το θηλασμό ή την άμελη, το γάλα εξέρχεται από τον οργανισμό του θηλαστικού (Bauman et al., 2011).

Κεφάλαιο 1 Γάλα



Εικόνα 1.1: Κύτταρο μαστικού αδένος θηλαστικού κατά την παραγωγή γάλακτος

1.4 Χημική σύσταση του γάλακτος

1.4.1 Γενικά

Το γάλα αποτελεί υδατικό διάλυμα, με ποσοστό ύδατος μεγαλύτερο από 80 % κατά βάρος (w/w) και πλήθος διαλυμένων ουσιών όπως λακτόζη, λιπαρά, πρωτεΐνες, ιόντα, ένζυμα καθώς και βιταμίνες, τόσο υδατοδιαλυτές (C και του συμπλέγματος B) όσο και λιποδιαλυτές (A, D, E και K). Η ακριβής σύσταση του γάλακτος ποικίλει ανάλογα με το είδος, τον τρόπο διαβίωσης και τη διατροφή του θηλαστικού από το οποίο προέρχεται, καθώς και τη χρονική περίοδο του έτους κατά το οποίο παράγεται. Παρόλα αυτά, τα συστατικά του δεν διαφέρουν σε σχέση με το θηλαστικό από το οποίο παράγεται το γάλα. Στον Πίνακα 1.1 παρουσιάζεται η σύσταση επί τοις 100 κατά βάρος (% w/w) (Fox, 2011b) του γάλακτος από διάφορα είδη θηλαστικών και στον Πίνακα 1.2 η μέση σύσταση του αγελαδινού γάλακτος αντίστοιχα.

Κεφάλαιο 1 Γάλα

Είδος γαλ/ρου ζώου	Στερεά %	Λιπαρά %	Πρωτεΐνες %	Λακτόζη %	Τέφρα %
Αγελάδα	12,7	3,7	3,4	4,8	0,7
Αίγα	12,3	4,8	2,9	4,1	0,8
Αμνός	19,3	7,4	4,5	4,8	1,0
Καμήλα	15,0	5,4	3,8	5,2	0,7
Βουβάλι	16,8	7,4	3,8	4,8	0,8
Άλογο	11,2	1,9	2,5	6,2	0,5
Όνος	11,7	1,4	2,0	7,4	0,5

(O. McCarthy, 2011)

Το γεγονός ότι το γάλα είναι τόσο πολυσύνθετο σύστημα, το καθιστά πολύ ενδιαφέρον από επιστημονική άποψη. Επιπλέον, πολλά από τα συστατικά του δεν απαντώνται αλλού στη φύση (π.χ. η λακτόζη). Οι λειτουργικές ιδιότητες και η θρεπτική του αξία οφείλονται στα συστατικά αυτά. Στην παραγωγική διαδικασία όλων των γαλακτοκομικών προϊόντων, όπως το γιαούρτι, αξιοποιούνται οι φυσικοχημικές και βιοχημικές ιδιότητες των ίδιων των συστατικών του (Jensens et al., 1991).

Κεφάλαιο 1 Γάλα

Πίνακας 1.2: Επί τοις 100 κατά βάρος σύσταση (% w/w) αγελαδινού γάλακτος

Συστατικό	Περιεκτικότητα % w/w
Νερό	86
Λακτόζη	4,8
Πρωτεΐνες	3,4
Καζεΐνες	2,6
β-Λακτογλοβουλίνη	0,32
α-Λακταλβουμίνη	0,12
Λακτοφερίνη	0,01
Αλβουμίνη ορού	0,04
Ανοσοσφαιρίνες	0,07
Ένζυμα	ίχνη
Λιπαρά	3,7
Τριγλυκερίδια	4
Φωσφολιπίδια	0,03
Λιπαρά οξέα	0,04
Ίόντα	0,3
Ca ²⁺	0,13
Mg ²⁺	0,10
Na ⁺	0,04
K ⁺	0,15
Cl ⁻	0,11
p ³⁻	0,09
Βιταμίνες	
C	0,02
D	4,01
K	0,02
B2	0,01
B3	0,01
B5	0,03
B9	0,4
B12	0,04

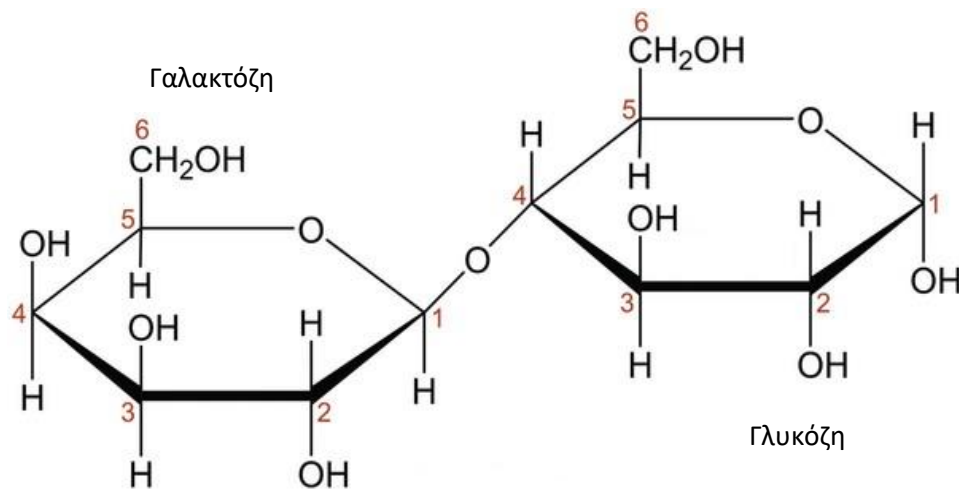
(O. J. McCarthy, 2022)

1.4.2 Λακτόζη

Η λακτόζη (β-D-γαλακτοπυρανοζυλο-(1→4)-D-γλυκόζη) (Εικόνα 1.2) είναι ο κύριος υδατάνθρακας του γάλακτος όλων των θηλαστικών και είναι συστατικό που απαντάται αποκλειστικά στο γάλα. Είναι δισακχαρίτης που αποτελείται από ένα μόριο γαλακτόζης και ένα μόριο γλυκόζης, ενωμένα με β-1→4 γλυκοζιτικό δεσμό. Το μοριακό βάρος της λακτόζης είναι 342,3 g·mol⁻¹ και απαντάται σε 2 μορφές, α- και β-λακτόζη, η διαφορά των οποίων έγκειται στον προσανατολισμό των υποκαταστατών

Κεφάλαιο 1 Γάλα

στο C₁. Η μορφή α- είναι η πιο διαδεδομένη, αποτελώντας περίπου το 99,9 % του συνόλου, όμως η β-λακτόζη είναι πολύ πιο δραστική με πολύ έντονο αναγωγικό χαρακτήρα, λόγω του αλδεϋδικού άκρου που διαθέτει. Η διαλυτότητά της εξαρτάται από τη μορφή της, με την α-λακτόζη να έχει διαλυτότητα στο νερό 17g ανά 100mL νερού (15 °C) και η β-λακτόζη 50g ανά 100mL νερού (15 °C). Σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες από τη διαλυτότητά της η λακτόζη υφίσταται κρυστάλλωση (Fox, 2011a, 2022c).



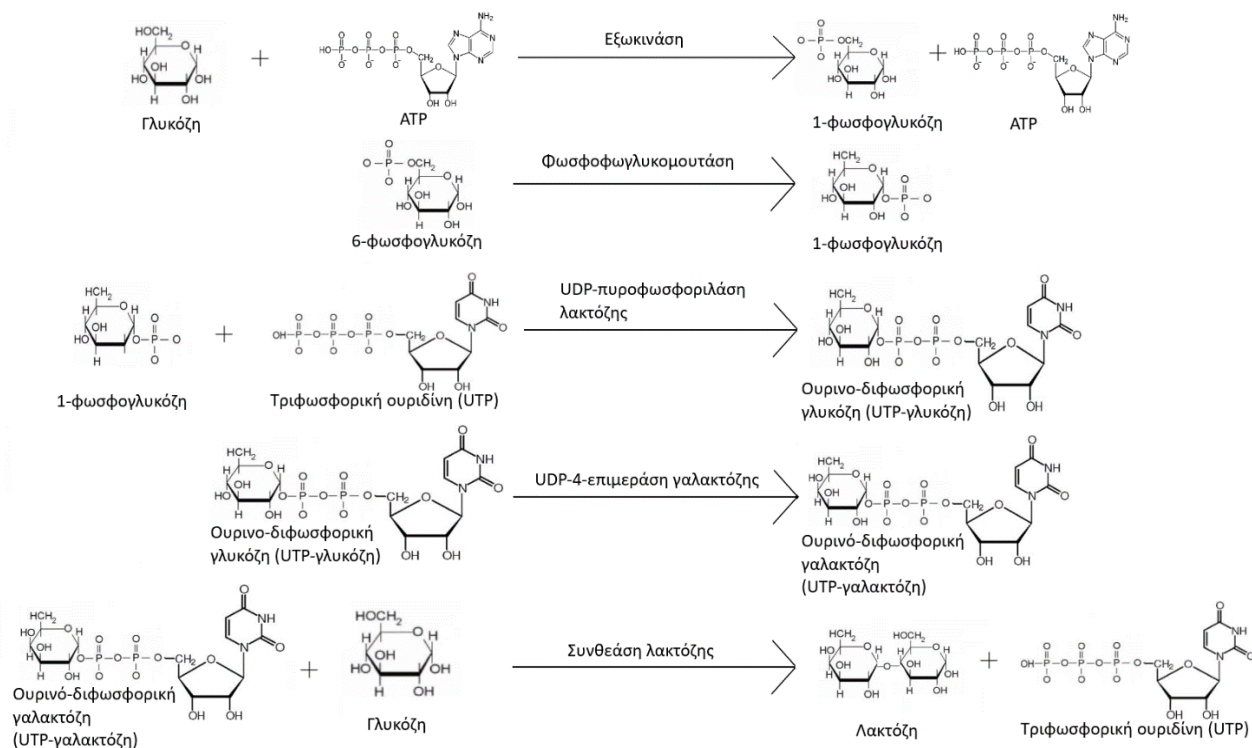
Εικόνα 1.2 : Μόριο α-Λακτόζης

Οι συνήθεις αντιδράσεις της λακτόζης είναι οξειδώσεις προς καρβοβοξυλικά οξέα, και αναγωγές προς αλκοόλες. Ακόμη, η λακτόζη μπορεί να ισομεριστεί σε λακτουλόζη (μετατροπή της γλυκόζης σε φρουκτόζη) και η αντίδραση αυτή καταλύεται από τα ήδη υπάρχοντα συστατικά του γάλακτος. Επιπλέον, η λακτόζη συμμετέχει σε αντιδράσεις Maillard, οδηγώντας σε σχηματισμό καφέ χρώματος (Fox, 2011a).

Η σύνθεσή της γίνεται στο σύμπλεγμα Golgi των μαστικών κυττάρων των θηλαστικών από τους μονοσακχαρίτες που την απαρτίζουν και περιλαμβάνει τις πέντε αντιδράσεις που παρουσιάζονται στην Εικόνα 1.3. Όπως φαίνεται στην εικόνα, ο πρόδρομος της λακτόζης είναι η γλυκόζη που προσλαμβάνεται από το αίμα, και στην όλη διαδικασία συμμετέχουν ένζυμα και μόρια όπως τριφωσφορική αδενοσίνη (ATP) και τριφωσφορική ουριδίνη (UTP) (Hill & Brew, 1973). Στο γάλα, η λακτόζη, μαζί με τα λιπαρά, είναι η κύρια πηγή ενέργειας - συγκεκριμένα 1 g λακτόζης αποδίδει 17 kJ ενέργειας. Στα ανώτερα θηλαστικά, ο μεταβολισμός της λακτόζης καταλύεται από το ένζυμο λακτάση (β-γαλακτοζιδάση) στο λεπτό έντερο. Πέραν της θρεπτικής αξίας της λακτόζης για τα θηλαστικά, είναι σημαντική πηγή άνθρακα και ενέργειας και για τους προκαρυωτικούς οργανισμούς. Χαρακτηριστικές μεταβολικές οδοί της λακτόζης είναι η αλκοολική και η οξυγαλακτική ζύμωσή της σε αιθανόλη και γαλακτικό οξύ αντίστοιχα. Η οξυγαλακτική ζύμωση της λακτόζης από τα γαλακτικά βακτήρια, που αφορά στην παρούσα μελέτη, περιλαμβάνει τη

Κεφάλαιο 1 Γάλα

διάσπαση της λακτόζης στα μονομερή της και στη συνέχεια η γλυκόζη καταβολίζεται σε πυροσταφυλικό οξύ, μέσω της γλυκολυτικής οδού, το οποίο με τη δράση της γαλακτικής αφυδρογονάσης, ανάγεται σε γαλακτικό οξύ. Κατά συνέπεια, η λακτόζη κατέχει σημαντικό ρόλο στην παραγωγική διαδικασία του γιαουρτιού (Lee and Lucey 2010).



Εικόνα 1.3 : Βιοχημική οδός σύνθεσης λακτόζης

Πέραν της λακτόζης το γάλα περιέχει και άλλους υδατάνθρακες, σε χαμηλές συγκεντρώσεις, κυρίως ολιγο- ή μονοσακχαρίτες καθώς και N-ακετυλογλυκοζαμίνη (Fox, 2011a, 2022c).

1.4.3 Πρωτεΐνες

Το γάλα περιέχει 100 διαφορετικά μόρια πρωτεϊνών τα οποία ανήκουν σε τρεις μεγάλες κατηγορίες: καζεΐνες που αποτελούν το 78% του συνόλου των πρωτεϊνών, πρωτεΐνες ορού που αποτελούν το 17% του συνόλου των πρωτεϊνών, και ένζυμα. Επίσης πρωτεϊνικά μόρια υπάρχουν στις μεμβράνες των λιποσφαιρίων. Στον Πίνακα 1.3 παρουσιάζονται αναλυτικά οι πρωτεΐνες του αγελαδινού γάλακτος, η επί τοις εκατό περιεκτικότητά τους κατά βάρος (% w/w), και ο αριθμός των αμινοξέων που απαρτίζουν τις πεπτιδικές τους αλυσίδες και τα ισοηλεκτρικά τους σημεία.

Κεφάλαιο 1 Γάλα

Οι πρωτεΐνες του γάλακτος συντίθενται κυρίως στα μαστικά κύτταρα των γαλακτοφόρων ζώων πλην των ανοσοσφαιρινών και της αλβουμίνης ορού που παραλαμβάνονται από το αίμα. Σε κάθε περίπτωση, η σύνθεση όλων των πρωτεϊνών του γάλακτος ακολουθεί την κλασική οδό της πρωτεϊνοσύνθεσης σε ευκαρυωτικά κύτταρα, μεταγραφή του DNA, μετάφραση και αντίστοιχη γονιδιακή ρύθμιση. Η ακριβής διεργασία παρεκκλίνει της παρούσας εργασίας, όμως χρειάζεται να αναφερθεί ότι η πρωτεϊνοσύνθεση και οι παραγόμενες πρωτεΐνες εξαρτώνται από τη διατροφή του ζώου, το ενδοκρινολογικό του σύστημα, το στάδιο της γαλακτοφορίας, τη συχνότητα άμελης, το είδος του ζώου και τις ασθένειες των μαστών (Jensens et al., 1991; Ng-Kwai-Hang, 2011).

Η διατροφή του ζώου επηρεάζει έμμεσα το πρωτεϊνικό περιεχόμενο του γάλακτος, λόγω του ότι τα αμινοξέα που απαρτίζουν τις πρωτεΐνες προέρχονται από τη μεταβολική οδό του ζώου. Γενικώς, η προσθήκη μικρού ποσοστού πρωτεϊνών και/ή αμινοξέων στην τροφή οδηγεί σε αύξηση του πρωτεϊνικού περιεχομένου του γάλακτος. Οι ορμόνες του ζώου και το ενδοκρινικό του σύστημα επηρεάζουν έμμεσα τις πρωτεΐνες του παραγόμενου γάλακτος. Όπως σε κάθε ευκαρυωτικό οργανισμό, το ισοζύγιο των ορμονών καθορίζει και την έκφραση των γονιδίων και την πρωτεϊνοσύνθεση. Συγκεκριμένα, ορμόνες όπως η ινσουλίνη, η προλακτίνη και η κορτιζόλη ενισχύουν την έκφραση των γονιδίων που κωδικοποιούν τις καζεΐνες και τις πρωτεΐνες ορού, ενώ η προγεστερόνη την περιορίζει. Οι σχετικές μελέτες έχουν οδηγήσει στον σχηματισμό ενισχυτικών σκευασμάτων, ορμονικής φύσης, για τα γαλακτοφόρα ζώα, ώστε να ενισχύεται το πρωτεϊνικό περιεχόμενο του γάλακτος (Cohick, 1998; Daniel et al., 1996; Fukasawa et al., 2008). Ακόμη, κατά την αρχή της γαλακτικής περιόδου οι συγκεντρώσεις των πρωτεϊνών στο γάλα βρίσκονται σε υψηλά επίπεδα, και στη συνέχεια μειώνονται λόγω της διατάραξης του ισοζυγίου αμινοξέων στον οργανισμό του ζώου. Οι συχνές αμέλειες προκαλούν φθορά στους μαστούς και κατά την κίνηση του γάλακτος παρατηρούνται φαινόμενα ώσμωσης με το αίμα. Τέλος, η μαστίτιδα είναι μία ασθένεια που προκαλεί αύξηση ανοσοσφαιρινών στο γάλα και μείωση των υπολοίπων πρωτεϊνών.

Κεφάλαιο 1 Γάλα

Πίνακας 1.3: Πρωτεΐνες αγελαδινού γάλακτος			
Πρωτεΐνη	Περιεκτικότητα % w/w	Αριθμός Αμινοξέων	Ισοηλεκτρικό σημείο (pH)
Καζεΐνες	2,6		
α _{s1} -Καζεΐνη	1,07	199	4,7
α _{s2} -Καζεΐνη	0,28	207	5,2
β-Καζεΐνη	0,86	209	4,6
κ-Καζεΐνη	0,31	169	4,1
γ-Καζεΐνη	0,08	96	μ.δ.
Πρωτεΐνες ορού	0,63		
β-Λακτογλοβουλίνη	0,32	162	5,1
α-Λακταλβουμίνη	0,12	129	4,2-4,5
Αλβουμίνη ορού	0,08	607	4,7
Ανοσοσφαιρίνες	0,04		
IgG1, IgG2	0,065	660-667	8,1-8,4
IgA	0,014	660-667	μ.δ.
IgM	0,005	760-767	5,5-7,9
Λοιπές πρωτεΐνες	0,09		
Λακτοφερίνη	0,01	692	8,7
Τρανσφερίνη	0,001	679	5,6-5,2
Πρωτεΐνες μεμβράνης λιποσφαιρίων	0,07		
Ένζυμα	ίχνη		

(Gordon et al., 1953; Loveday & Sawyer, 2016; Ng-Kwai-Hang, 2011; Permyakov & Berliner, 2000)

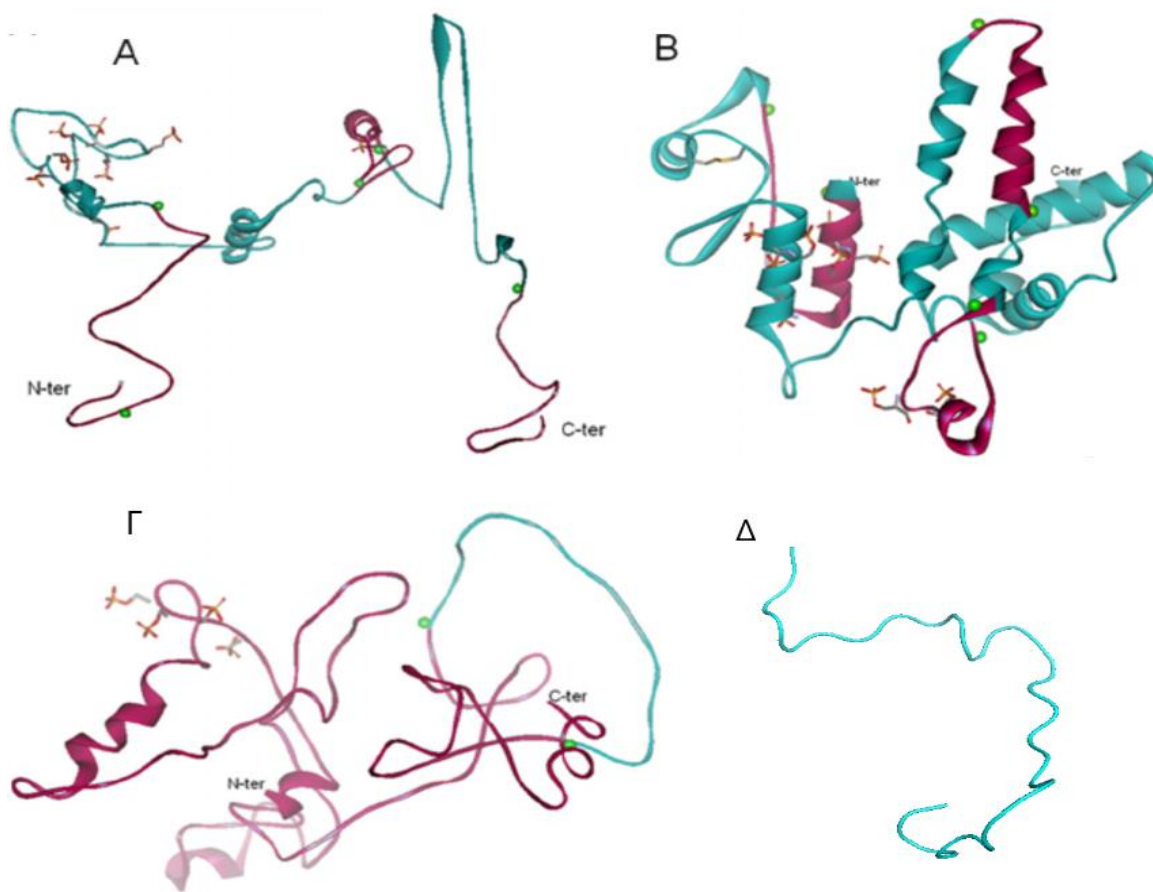
1.4.3.1 Καζεΐνες

Καζεΐνες είναι ομάδα υδρόφοβων φωσφοπρωτεϊνών με αρκετά υψηλό φορτίο, και ιδιαίτερο χαρακτηριστικό τους είναι ότι οι δευτεροταγείς και οι τριτοταγείς δομές τους είναι πολύ χαλαρές, με αποτέλεσμα οι πεπτιδικές τους αλυσίδες να είναι εν μέρει ξεδιπλωμένες με πολλές υδρόφοβες ομάδες εκτεθειμένες. Κατά συνέπεια, οι καζεΐνες σχηματίζουν δεσμούς τόσο μεταξύ τους όσο και με άλλα μόρια που υπάρχουν στο γάλα (πρωτεΐνες ορού και μόρια λιπαρών), και στο γάλα βρίσκονται ως συσσωματώματα, τα μικύλλια καζεΐνης, που είναι πολύ δύσκολο να απομονωθούν. Στην Εικόνα 1.4 παρουσιάζονται τα μόρια των α_{s1}-, α_{s2}-, β- και κ-καζεϊνών. Επιπλέον, λόγω των δευτεροταγών και τριτοταγών δομών τους και του υδρόφοβου χαρακτήρα τους τα μόρια καζεΐνης δεν μπορούν μετουσιωθούν, παρά μόνο να υποστούν χημικές αλλαγές και να γίνουν πλέον μη διαλυτά (Farrell, 2011).

Η α_{s1}- καζεΐνη αποτελείται από 199 αμινοξέα, έχει υψηλό αρνητικό φορτίο (στην περιοχή του pH του γάλακτος) και υψηλή περιεκτικότητα σε PO₄. Η α_{s2}-καζεΐνη αποτελείται από 207 αμινοξέα, και έχει υψηλό αρνητικό φορτίο (στην περιοχή του pH του γάλακτος) και υψηλή περιεκτικότητα σε PO₄ όπως η

Κεφάλαιο 1 Γάλα

α_{s1} -καζεΐνη. Οι α_{s1} - και α_{s2} - καζεΐνες έχουν την ίδια πρωτοταγή δομή πλην του 67ου αμινοξέος, προλίνη στην α_{s1} - και ιστιδίνη στην α_{s2} -. Η β -καζεΐνη αποτελείται από 209 αμινοξέα και έχει ισχυρά υδρόφοβο χαρακτήρα, με το φορτίο να μην είναι ομοιόμορφα κατανεμημένο στο μόριο. Υπάρχει ένα πολύ έντονα πολικό άκρο, ενώ η υπόλοιπη αλυσίδα είναι άπολη. Ενίοτε τα μόρια της β -καζεΐνης λύονται από πρωτεολυτικά ένζυμα και σχηματίζουν γ -καζεΐνη και πεπτιδία πρωτεόνης. Η κ -καζεΐνη αποτελείται από 169 αμινοξέα και διαφέρει πολύ από τα άλλα καζεϊνικά μόρια. Περιέχει δύο αμινοξέα κυστεΐνης που σχηματίζουν δισουλφιδικούς δεσμούς με άλλα μόρια κ -καζεΐνης. Λόγω αυτού, οι κ -καζεΐνες του γάλακτος σχηματίζουν πολυμερή με 5 έως 11 μονομερή μόρια. Τα μόρια της κ -καζεΐνης είναι εκείνα που δημιουργούν τους δεσμούς που σχηματίζουν τα καζεϊνικά μικύλλια, λόγω των χημικών τους ιδιοτήτων (Horne, 2002; Rocha-Mendoza & Jiménez-Flores, 2022).

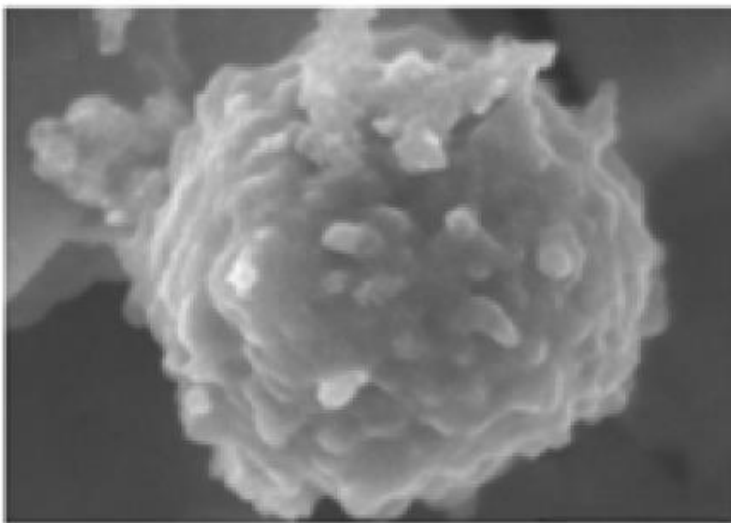


Εικόνα 1.4 : Μόρια καζεϊνών. **A**: α_{s1} - καζεΐνη, **B**: α_{s2} - καζεΐνη, **Γ**: β - καζεΐνη, **Δ**: κ -καζεΐνη (Sadat-Mekmene et al., 2011)

Η ομάδα των καζεϊνών περιλαμβάνει 5 πρωτεΐνες τις: α_{s1} -, α_{s2} -, β -, κ - και γ -καζεΐνη. Τα μόρια των καζεϊνών, επειδή είναι υδρόφοβα, βρίσκονται στο γάλα κυρίως σε σφαιρικά σωματίδια, τα καζεϊνικά

Κεφάλαιο 1 Γάλα

μικύλλια (Εικόνα 1.5) διαμέτρου 50-500 nm και όγκου $2,1 \times 10^{-15} \text{ cm}^3$. Περισσότερα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των καζεϊνικών μικυλλίων του αγελαδινού γάλακτος παρουσιάζονται στον Πίνακα 1.4. Κατά μέσο όρο σε ένα καζεϊνικό μικύλλιο βρίσκονται 10^4 καζεϊνικά μόρια, κολλοειδή μόρια φωσφορικού ασβεστίου, σε αναλογία 8% κατά βάρος, ένζυμα και αρκετά μόρια νερού (Rocha-Mendoza & Jiménez-Flores, 2022).



Εικόνα 1.5 : Καζεϊνικό μικύλλιο σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο SEM (Goff et al. 2023)

Πίνακας 1.4: Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά καζεϊνικών μικυλλίων	
Χαρακτηριστικά	Μέση τιμή
Διάμετρος	150 nm (50–500 nm)
Εμβαδό επιφάνειας	$8,0 \times 10^{-10} \text{ cm}^2$
Όγκος	$2,1 \times 10^{-15} \text{ cm}^3$
Μάζα	$2,2 \times 10^{-10} \text{ g}$
Πυκνότητα (ένυδρο)	$1,0632 \text{ g cm}^{-3}$
Ποσοστό νερού	63%
Ζήτα δυναμικό (25 °C)	$- 18,7 \pm 0.3 \text{ mV}$
Μοριακό βάρος (ένυδρο)	$1,3 \times 10^9 \text{ Da}$
Μοριακό βάρος (επί ξηρού)	$5 \times 10^8 \text{ Da}$
Αριθμός πεπτιδικών αλυσίδων	5×10^3

(Horne, 2006)

Για την εσωτερική δομή των καζεϊνικών μικυλλίων έχουν προταθεί διάφορα μοντέλα τις τελευταίες δεκαετίες, το μοντέλο του υπομικυλλίου (Waugh et al., 1970), των διπλών δεσμών (Horne, 2006) και το μοντέλο του νανοσυμπλέγματος. Όλα τα μοντέλα συμφωνούν στο ότι στην επιφάνεια των

Κεφάλαιο 1 Γάλα

μικυλλίων υπάρχουν μόρια κ-καζεΐνών, σταθεροποιώντας τα με μικύλλια με ηλεκτροστατικές δυνάμεις (C. G. De Kruijff, 1999). Τα μοντέλα δεν συμφωνούν για το εσωτερικό των μικυλλίων (Q. Li & Zhao, 2019).

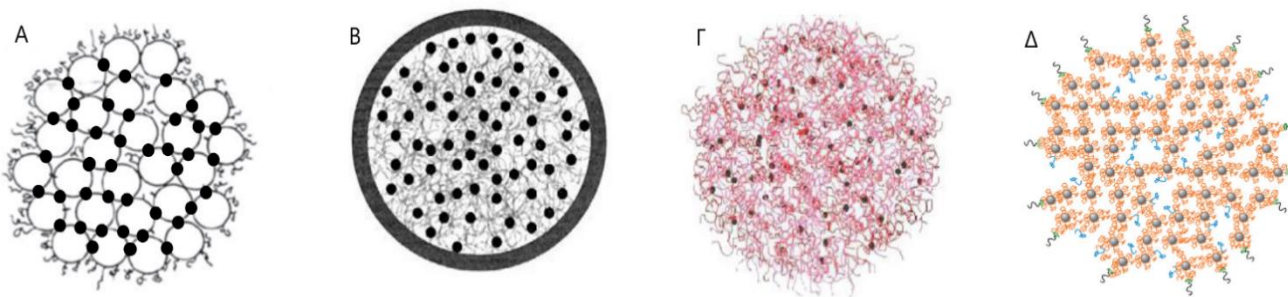
Το μοντέλο του Waugh περιγράφει ότι κάθε μικύλλιο αποτελείται από μικρότερα μικύλλια, τα υπομικύλλια. Τα υπομικύλλια είναι και αυτά με τη σειρά τους σφαιρικοί σχηματισμοί με $\alpha s1$ -, $\alpha s2$ - και β -καζεΐνες στο εσωτερικό τους και κ-καζεΐνες στο εξωτερικό τους. Τα υπομικύλλια συγκρατούνται και σχηματίζουν κάθε μικύλλιο με γέφυρες κολλοειδούς φωσφορικού ασβεστίου και μόρια σερίνης. Στην Εικόνα 1.6 Α φαίνεται ένα μικύλλιο αποτελούμενο από υπομικύλλια (άσπροι κύκλοι) και συνδεδεμένα με φωσφορικό ασβέστιο (μαύροι κύκλοι). Ωστόσο, το μοντέλο αυτό δεν μπορεί να εξηγήσει πώς τα καζεϊνικά μικύλλια αποσταθεροποιούνται από την οξίνιση και για ποιο λόγο η συγκέντρωση της κ-καζεΐνης είναι ενδεικτική του μέσου μεγέθους των μικυλλίων (Waugh et al., 1970).

Το μοντέλο των διπλών δεσμών (Horne, 2002) παρουσιάζει το εσωτερικό του κάθε μικυλλίου ως ένα σύμπλεγμα από αλυσίδες $\alpha s1$ -, $\alpha s2$ - και β -καζεΐνών (γκρι αλυσίδες στην Εικόνα 1.6 Β) συνδεδεμένες μεταξύ τους στα υδρόφοβα άκρα τους, λόγω ελκτικών δυνάμεων, καθώς και με γέφυρες κολλοειδούς φωσφορικού ασβεστίου (μαύροι κύκλοι στην Εικόνα 1.6 Β) και περιβαλλόμενες από ένα στρώμα κ-καζεΐνών (εξωτερικός μαύρος κύκλος στην Εικόνα 1.6 Β). Η ακεραιότητα του μικυλλίου βασίζεται στην ισορροπία ελκτικών και απωστικών δυνάμεων μεταξύ των υδρόφοβων-υδρόφιλων άκρων των πρωτεϊνικών μορίων. Επιπλέον η παρουσία της κ-καζεΐνης στην επιφάνεια των μικυλλίων λειτουργεί ως ερματισμός της αλυσίδας της και περιοριστικό της περαιτέρω ανάπτυξής της. Το μοντέλο αυτό αποκλείει την παρουσία νερού στο εσωτερικό των μικυλλίων, λόγω υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων που τα συγκρατούν, ενώ το εσωτερικό των μικυλλίων καζεΐνης έχει αποδειχθεί ότι είναι έντονα ενυδατωμένο (Bouchoux et al., 2010).

Το μοντέλο του νανοσυμπλέγματος που προτάθηκε από τον Horne το 2003 περιγράφει τα μικύλλια καζεΐνης ως ομοιόμορφα, ομογενή συμπλέγματα από αλυσίδες $\alpha s1$ -, $\alpha s2$ -, β -καζεΐνών και κολλοειδούς φωσφορικού ασβεστίου στο εσωτερικό και κ-καζεΐνες στο εξωτερικό. Οι δυνάμεις που συγκρατούν τα μικύλλια, σε αντίθεση με το μοντέλο των διπλών δεσμών, είναι δεσμοί υδρογόνου μεταξύ των φωσφορικών άκρων των καζεΐνών και των φωσφορικών αλάτων ασβεστίου. Το μοντέλο αυτό εξηγεί καλύτερα τις αλλαγές που υφίστανται τα καζεϊνικά μικύλλια κατά την επεξεργασία του γάλακτος (οξίνιση ή θέρμανση), αν και εξακολουθούν να υπάρχουν αποκλίνουσες απόψεις για την εσωτερική δομή. Μία ακόμη πιο πρόσφατη μελέτη, το 2012 από τους De Kruijff, Huppertz, Urban και Petukhov ενισχύει το μοντέλο του νανοσυμπλέγματος, υποστηρίζοντας ότι η μάζα εντός του μικυλλίου είναι ομοιογενής (Cornelis G. De Kruijff et al., 2012).

Κεφάλαιο 1 Γάλα

Και τα δύο μοντέλα, τόσο των διπλών δεσμών όσο και του νανοσυμπλέγματος, υστερούν στο να εξηγήσουν την ταυτόχρονη παρουσία νερού και των ισχυρά υδρόφοβων β-καζεϊνών στο εσωτερικό των μικυλλίων καθώς και τις περιπτώσεις μικυλλίων με όγκο $> 3,5 \times 10^{-15} \text{ cm}^3$ (Nöbel et al., 2012). Ακόμη, μελέτες με σκέδαση ακτίνων Χ έδειξαν ότι η κατανομή του φωσφορικού ασβεστίου και η πρωτεϊνική μήτρα μέσα στα μικύλλια καζεΐνης είναι ετερογενής, και σε μερικά σημεία υπάρχουν «κενά» γεμάτα με νερό (Bouchoux et al., 2010; Dalgleish, 2011; Trejo et al., 2011). Ένα τροποποιημένο μοντέλο νανοσυμπλέγματος προτάθηκε από τον Dalgleish (2011) (Εικόνα 1.6 Δ), με το εσωτερικό των μικυλλίων να αποτελείται από φωσφορυλιωμένες α_1 -, α_2 -, β-καζεΐνες συνδεδεμένες με κολλοειδές φωσφορικό ασβέστιο (γκρίζες σφαίρες). Επιπλέον, κάποια μόρια β-καζεΐνης (μπλε) δεσμεύονται υδρόφοβα με άλλες καζεΐνες αλλά αποδεσμεύονται με ψύξη. Στην όλη δομή υπάρχουν πόροι εσωτερικά που επιτρέπουν την κυκλοφορία νερού, πεπτιδίου ή βιοδραστικών ενώσεων μέσω των μικυλλίων ελεύθερα. Η ύπαρξη αυτών των πόρων νερού εξηγεί τους σχετικά μεγάλους όγκους των μικυλλίων καζεΐνης και το φαινόμενο που οι β-καζεΐνες εγκαταλείπουν το μικύλλιο και εισέρχονται πάλι κατά τη διάρκεια της ψύξης και της αναθέρμανσης. Οι συγκεκριμένοι πόροι σταθεροποιούνται από τη β-καζεΐνη που αλληλεπιδρά με τα υδρόφοβα τμήματα των υπόλοιπων πρωτεϊνών του μικυλλίου. Οι αλυσίδες κ-καζεΐνης (μαύρο) στα εξώτατα τμήματα της επιφάνειας παρέχουν στερεοχημική και ηλεκτροστατική σταθεροποίηση του μικυλλίου.



Εικόνα 1.6: Μοντέλα δομών καζεϊνικών μικυλλίων. Α) Μοντέλο υπομικυλλίων. Β) Μοντέλο διπλών δεσμών. Γ) Μοντέλο νανοσυμπλέγματος. Δ) Τροποποιημένο μοντέλο νανοσυμπλέγματος κατά Dalgleish

Στο εσωτερικό των καζεϊνικών μικυλλίων, οι α_1 - και β-καζεΐνες, έχουν την τάση να αναπτύσσουν δεσμούς μεταξύ τους με την παρουσία των ιόντων Ca^{2+} και να καθιζάνουν, εντούτοις, η παρουσία της κ-καζεΐνης εμποδίζει αυτό το φαινόμενο. Σε κατάλληλες συνθήκες pH, και/ή με την παράλληλη δράση ενζύμων, τα μόρια των κ-καζεϊνών ξεδιπλώνονται και έτσι καταστρέφονται οι δομές των μικυλλίων, με αποτέλεσμα να υπερισχύουν οι δυνάμεις μεταξύ των καζεϊνικών μορίων και να διευκολύνεται η

Κεφάλαιο 1 Γάλα

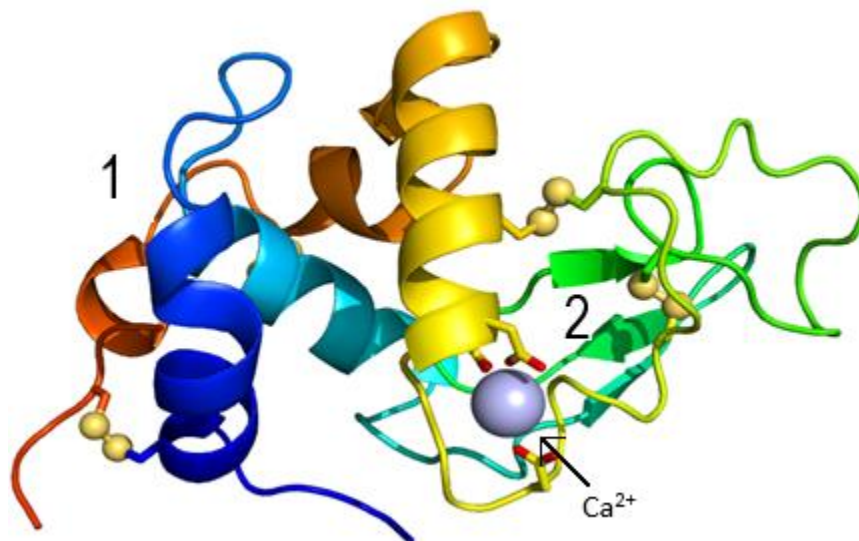
καθίζηση. Το φαινόμενο αυτό μπορεί να εκμεταλλευτεί για την παραγωγή γαλακτοκομικών προϊόντων όπως τυρί και γιαούρτι. Στις διαδικασίες παραγωγής αυτών των δύο προϊόντων ο μηχανισμός καθίζησης είναι αρκετά διαφορετικός, ειδικότερα για την παραγωγή τυριού τα καζεϊνικά μικύλλια διαρρηγνύονται ενζυμικά και καθιζάνουν, ενώ για τη παραγωγή γιαουρτιού η καθίζηση γίνεται λόγω πτώσης του pH. Συγκεκριμένα, για την παραγωγή γιαουρτιού, το οποίο μελετάται στα πλαίσια την παρούσας διατριβής, ο μηχανισμός περιλαμβάνει σημαντικές αλλαγές στις φυσικοχημικές ιδιότητες των μικυλλίων καζεΐνης. Με την πτώση του pH η διαφορά δυναμικού που δημιουργείται στο γάλα δημιουργεί πιο ισχυρές δυνάμεις από αυτές που αναπτύσσονται μεταξύ των καζεϊνικών μορίων και του κολλοειδούς ασβεστίου, έτσι το τελευταίο διαχωρίζεται σταδιακά από τα πρωτεϊνικά μόρια (Jacob et al., 2011), και οι καζεΐνες απελευθερώνονται στον ορό (Renault et al., 2000). Η διαλυτοποίηση των ιόντων ασβεστίου αυξάνεται σε τιμές pH χαμηλότερες από 5,6, με τη μέγιστη διαλυτοποίηση σε τιμή pH 5,0 (Le Graët & Gaucheron, 1999). Στην επιφάνεια του μικυλλίου, το φορτίο της κ-καζεΐνης δεν είναι πλέον τόσο ισχυρό και οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των αλυσίδων δεν είναι πλέον επαρκείς για να διατηρηθεί το εξωτερικό στρώμα του μικυλλίου και απελευθερώνονται μόρια καζεΐνης στον ορό (C. G. De Kruijff, 1999). Στη συνέχεια, τα μόρια αυτά έρχονται πιο κοντά το ένα στο άλλο, και επέρχεται συσσωμάτωση, οδηγώντας σε μακροσκοπική μετάβαση σε κολλοειδές πήγμα. Σε μη θερμαινόμενο γάλα, η συσσωμάτωση εμφανίζεται πολύ κοντά στο ισοηλεκτρικό σημείο των καζεϊνών, σε pH περίπου 4,8 (Jacob et al., 2011; Waugh et al., 1970).

1.4.3.2 Πρωτεΐνες ορού

Οι πρωτεΐνες ορού, όπως φαίνεται από το όνομά τους, βρίσκονται διαλυμένες στον ορό του γάλακτος, έχουν σφαιρικό σχήμα, σχετικώς υδρόφοβο χαρακτήρα, συμπαγείς δευτεροταγείς και τριτοταγείς δομές και το φορτίο είναι ομοιόμορφα κατανεμημένο στα μόριά τους. Στις πρωτεΐνες ορού ανήκουν η α-λακταλβουμίνη, η β-λακτογλοβουλίνη, η αλβουμίνη ορού και οι ανοσοσφαιρίνες (IgG1, IgG2, IgA και IgM).

1.4.3.2.1 Α-λακταλβουμίνη

Η α-λακταλβουμίνη (pdb number 1HFZ) αποτελείται από 123 αμινοξέα και η δευτεροταγής δομή της προσδίδει στο μόριό της σφαιρικό σχήμα, όπως φαίνεται στην Εικόνα 1.7. Τα γονίδια που κωδικοποιούν την α-λακταλβουμίνη απαντώνται μόνο στο γονιδίωμα ευκαρυωτικών κυττάρων θηλαστικών, κατά συνέπεια η α-λακταλβουμίνη βρίσκεται μόνο στο γάλα. Η α-λακταλβουμίνη, παρόλο που δεν ανήκει στην κατηγορία των EF-hand πρωτεϊνών, μπορεί να δεσμεύει ιόντα Ca^{2+} , γεγονός πολύ σημαντικό για τη λειτουργικότητά της (Brew, 2011).



Εικόνα 1.7 : Τρισδιάστατη αναπαράσταση μορίου α-λακταλβουμίνης

Το μόριο της α-λακταλβουμίνης αποτελείται τέσσερις α-έλικες και ένα πτυχωτό φύλλο που συνδέονται μεταξύ τους με τον υποδοχέα πρόσδεσης ιόντος Ca^{2+} . Στην Εικόνα 1.7, στο σημείο 1, φαίνονται οι τρεις κύριες α-έλικες (αμινοξέα 5-11, 23-24 και 86-98) και δύο μικρότερες 3_{10} έλικες (αμινοξέα 18-20 και 115-118). Ενώ στο σημείο 2 φαίνεται πτυχωτό αντιπαράλληλο φύλλο (αμινοξέα 41-44, 47-50 και 55-56) και μία μικρή 3_{10} έλικα (τρία αμινοξέα ανά πτύχωση και ένα βρόχο με 10 δεσμούς υδρογόνου που ενώνουν τις αλυσίδες, αμινοξέα 77-80). Οι αλυσίδες και το φύλλο συγκρατούνται μαζί από τη γέφυρα κυστεΐνης μεταξύ των αμινοξέων 73 και 91, σχηματίζοντας τον υποδοχέα για τη δέσμευση των Ca^{2+} . Επίσης, συνδέονται μεταξύ τους στα αμινοξέα 61 και 77 με έναν δισουλφιδικό δεσμό. Συνολικά, όλο το μόριο της α-λακταλβουμίνης σταθεροποιείται από τέσσερις δισουλφιδικούς δεσμούς μεταξύ των αμινοξέων 6 και 120, 61 και 77, 73 και 91 καθώς 28 και 111 (Permyakov & Berliner, 2000). Πολύ σημαντική για τη δράση της α-λακταλβουμίνης είναι η ικανότητά της να δεσμεύει ιόντα Ca^{2+} . Ο υποδοχέας για τα ιόντα αυτά σχηματίζεται από τα καρβοξυλικά άκρα των αμινοξέων 82,87 και 88, από τις καρβονυλομάδες των αμινοξέων 79 και 84 και τέσσερα επιπλέον αμινοξέα, τη θρεονίνη στη θέση 38, τη γλυκίνη στη θέση 39, την ασπαραγίνη στη θέση 83 και το οξυγόνο από το καρβονύλιο της λευκίνης στη θέση 81. Το αποτέλεσμα είναι μία δομή παρόμοια με πενταγωνική πυραμίδα στην επιφάνεια του μορίου της πρωτεΐνης που εκεί δεσμεύονται τα Ca^{2+} (Ho & Bansal, 2022; Permyakov & Berliner, 2000).

Από θρεπτική άποψη, ο ρόλος της α-λακταλβουμίνης είναι πολύ σημαντικός, διότι είναι πηγή απαραίτητων αμινοξέων (τρυπτοφάνη, φαινυλαλανίνη, τυροσίνη, λευκίνη, ισολευκίνη, θρεονίνη,

Κεφάλαιο 1 Γάλα

μεθειονίνη, κυστεΐνη, λυσίνη και βαλίνη) για τον άνθρωπό και τα βρέφη (Heine et al., 1991), και ο μεταβολισμός της είναι ο πιο εύκολος συγκριτικά με τις υπόλοιπες πρωτεΐνες ορού (Keith & Bell, 1988). Από λειτουργική άποψη, η α-λακταλβουμίνη συμμετέχει στη σύνθεση της λακτόζης στα μαστικά κύτταρα, σχηματίζοντας σύμπλοκα με τη γαλακτοζυλοτρανσφεράση (Hill & Brew, 1973). Σημαντικός παράγοντας στην όλη διαδικασία είναι η ικανότητα της α-λακταλβουμίνης να δεσμεύει μεταλλικά ιόντα (Mn^{2+} , Zn^{2+} και Ca^{2+}) αν και ο ρόλος των τελευταίων δεν είναι σαφής. Επίσης, μετά από πρωτεόλυση από συγκεκριμένες ενδοπεπτιδάσες (θρυψίνη και χυμοθρυψίνη) της α-λακταλβουμίνης, σχηματίζονται πεπτίδια με βακτηριογόνες δράσεις, κατά κύριο λόγο ενάντια σε θετικά Gram βακτήρια (Håkansson et al., 2000; Pellegrini et al., 1999).

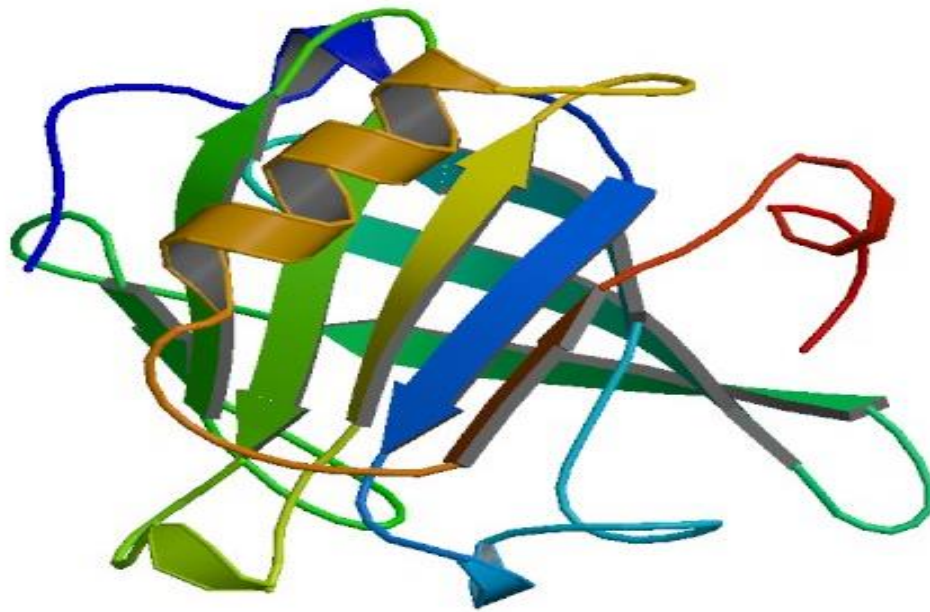
Σχετικά με τη συμμετοχή της α-λακταλβουμίνης στον σχηματισμό του πρωτεϊνικού πλέγματος του γαουρτιού, μελέτες έχουν δείξει ότι πριν και μετά την ζύμωση η ποσότητα της α-λακταλβουμίνης στον ορό του γάλακτος παραμένει ίδια (Bertrand-Harb et al., 2003), όμως αυτό δεν σημαίνει ότι η α-λακταλβουμίνη δεν συμμετέχει στο καζεϊνικό πλέγμα. Μετά από θέρμανση σε θερμοκρασίες $>65\text{ }^{\circ}\text{C}$ τα μόρια της α-λακταλβουμίνης σχηματίζουν δισουλφιδικούς δεσμούς με τις εξωτερικές καζεΐνες των μικυλλίων, και καθώς τα τελευταία σχηματίζουν το πλέγμα, παγιδούνται τελικά μέσα σε αυτό. Επιπλέον, όσο αυξάνεται η θερμοκρασία, τόσο ευνοούνται οι δεσμοί μεταξύ α-λακτογλοβουλινών και καζεϊνών (Ho & Bansal, 2022; Ye et al., 2004).

1.4.3.2.2 Β-λακτογλοβουλίνη

Η β-λακτογλοβουλίνη (pdb number 2Q2M) είναι η κυρίαρχη πρωτεΐνη ορού, αφού αποτελεί περισσότερο από το 50% των πρωτεϊνών ορού. Η πρωτοταγής δομή της περιλαμβάνει 162 αμινοξέα, η δευτεροταγής δομή της έχει σφαιρικό σχήμα και πολύ ισχυρή τριτοταγή δομή, γεγονός που δυσχεραίνει πολύ την πλήρη μετουσίωσή της. Η τεταρτοταγής δομή της είναι ουσιαστικά η ένωση σε ένα διμερές που συγκρατείται από δυνάμεις υδροφοβικού χαρακτήρα (Loveday & Sawyer, 2016). Η β-λακτογλοβουλίνη έχει πολλές ομοιότητες στο δομή της με μία οικογένεια πρωτεϊνών, τις λιποκαλίνες, γνωστές για την ικανότητά τους να προσδέονται σε υδρόφοβά μόρια. Τόσο οι λιποκαλίνες όσο και η β-λακτογλοβουλίνη περιλαμβάνουν ένα αντιπαράλληλο β-φύλλο αποτελούμενο από 8 κλώνους και μία α-έλικα τριών στροφών. Συγκεκριμένα, στο μονομερές της β-λακτογλοβουλίνης οι οκτώ κλώνοι που απαρτίζουν το αντιπαράλληλο φύλλο αναδιπλώνονται με τέτοιο τρόπο, ώστε να σχηματίζουν μία εσωτερική κοιλότητα, τον κάλυκα, ο οποίος πλαισιώνεται από την α-έλικα τριών στροφών (βλέπε Εικόνα 1.8) (Flower, 1996). Σε κάθε μονομερές β-λακτογλοβουλίνης υπάρχουν πέντε κυστεΐνες, η μία εξ αυτών έχει ένα ελεύθερο θειικό άκρο και οι άλλες τέσσερις σχηματίζουν δισουλφιδικούς δεσμούς μεταξύ τους

Κεφάλαιο 1 Γάλα

(Cys66 με Cys160 και Cys106 με Cys119) στο εσωτερικό του «κάλυκα». Ο κάλυκας με το ελεύθερο θειικό του άκρο είναι που επιτρέπει στη β-λακταλβουμίνη να δεσμεύει ένα ευρύ φάσμα υδρόφοβων μορίων (Crowther et al., 2016). Επιπλέον, με ήπια θέρμανση (>65 °C) τα άτομα θείου εκτίθενται, και εξαιτίας της δραστηριότητάς τους, ευνοούν το σχηματισμό δεσμών με άλλα μόρια που βρίσκονται στο γάλα (βιταμίνες, καζεΐνες, μόρια λιπαρών) (Xiong & Bansal, 2022).



Εικόνα 1.8 : Τρισδιάστατη αναπαράσταση μορίου β-λακτογλοβουλίνης

Η λειτουργικότητα της β-λακτογλοβουλίνης, πέραν της θρεπτικότητάς της ως πηγή αμινοξέων για τον άνθρωπο, δεν είναι πλήρως γνωστή. Λόγω της ικανότητάς της να σχηματίζει δεσμούς με υδρόφοβα μόρια, εικάζεται ότι θα μπορούσε να συμμετέχει στη μεταφορά και στον μεταβολισμό των λιπαρών του γάλακτος συνδεδεμένη με λιπαρά οξέα (Kushibiki et al., 2001). Κατά παρόμοιο τρόπο με την α-λακταλβουμίνη, μετά από πρωτεόλυση από θρυψίνη, σχηματίζει πεπτίδια με βακτηριογόνες δράσεις, κατά κύριο λόγο ενάντια σε θετικά Gram βακτήρια (Pellegrini et al., 1999).

Σε θερμοκρασίες >60°C ή σε έντονες συνθήκες πίεσης οι δισουλφιδικοί δεσμοί μεταξύ των κυστεϊνών στις θέσεις 66-160 και 106-119 διασπώνται και τα ελεύθερα θειικά άκρα τους επιτρέπουν τον σχηματισμό δεσμών με άλλα υδρόφοβα ή αμφίφιλα μόρια που υπάρχουν στο γάλα. Με αυτόν τον τρόπο, η β-λακτογλοβουλίνη σχηματίζει δεσμούς με καζεϊνικά μικύλλια, με άλλες πρωτεΐνες ορού, καθώς και με τα φωσφολιπίδια ή τις πρωτεΐνες που περιβάλλουν τα λιποσφαίρια (Creamer et al., 2011; Wilbey, 2011).

Κεφάλαιο 1 Γάλα

Κατά συνέπεια, οι δεσμοί αυτοί επιτρέπουν στη β-λακτογλοβουλίνη να συμμετέχει στη σταθερότητα του γάλακτος ως γαλάκτωμα και στο σχηματισμό του πρωτεϊνικού πλέγματος του γιαουρτιού. Μετά την ομογενοποίηση, όπου αναπτύσσονται οι κατάλληλες συνθήκες, κάποια μόρια β-λακτογλοβουλίνης σχηματίζουν δεσμούς με λιπαρά μόρια του γάλακτος ή με τις πρωτεΐνες της μεμβράνης των λιποσφαιρίων, και όταν σχηματιστούν τα νέα λιποσφαίρια, θα έχουν στη μεμβράνη τους και μόρια β-λακτογλοβουλίνης. Αυτό τα εμποδίζει, σε κάποιο βαθμό, να συσσωματωθούν με αποτέλεσμα να διατηρείται η σταθερότητα του γάλακτος ως γαλάκτωμα (Wilbey, 2011). Με βάση την ίδια αρχή, αφού οι θεϊκές ομάδες των κυστεϊνών εκτεθούν και σχηματιστούν δεσμοί με καζεΐνες, όταν σχηματίζεται το καζεϊνικό πλέγμα του γιαουρτιού, θα υπάρχουν μέσα σε αυτό μόρια β-λακτογλοβουλίνης παγιδευμένα. Σε μακροσκοπικό επίπεδο, αυτό ενισχύει τη σκληρότητα και το ιξώδες του παραγόμενου γιαουρτιού (Crowther et al., 2016). Πέραν αυτού, η συμμετοχή των διαλυμένων μορίων β-λακτογλοβουλίνης στον ορό του γάλακτος, παραμένει σταθερή πριν και μετά τον σχηματισμό του πήγματος (Xiong & Bansal, 2022; Ye et al., 2004).

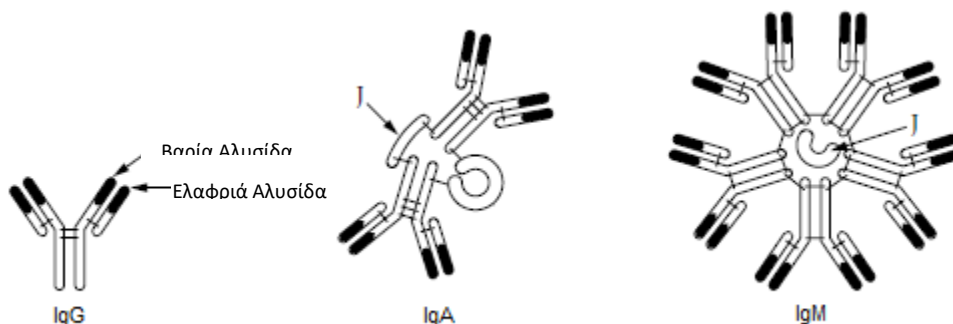
1.4.3.2.3 Ανοσοσφαιρίνες

Οι ανοσοσφαιρίνες (αντισώματα) είναι γλυκοπρωτεΐνες σχήματος Y που παράγονται από το ανοσοποιητικό σύστημα των οργανισμών για την αντιμετώπιση αντιγόνων. Ανοσοσφαιρίνες υπάρχουν στο γάλα των θηλαστικών και στο αίμα, και η βασική τους λειτουργία είναι η ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος των βρεφών καθώς και η προστασία των μαστικών αδένων από βακτηριακές μολύνσεις (Marnila & Korhonen, 2002). Οι ανοσοσφαιρίνες αποτελούνται από δύο πανομοιότυπες ελαφρές αλυσίδες (Light Chain) και δύο πανομοιότυπες βαριές αλυσίδες (Heavy chain) που συνδέονται με δισουλφιδικούς δεσμούς. Η ελαφρά αλυσίδα έχει μία μεταβλητή περιοχή (Variable region, V_L) και μία σταθερή περιοχή (Constant region, C_L), ενώ η βαριά αλυσίδα έχει μία μεταβλητή περιοχή (V_H) και τρεις σταθερές περιοχές ($C_{H1}-C_{H3}$). Οι ελαφριές αλυσίδες των ανοσοσφαιρινών διακρίνονται σε δύο τύπους, κ και λ, με βάση τις διαφορές στην αλληλουχία των αμινοξέων. Οι δύο βαριές αλυσίδες συνδέονται με δισουλφιδικούς δεσμούς δημιουργώντας την περιοχή άρθρωσης (Hinge region) η οποία προσδίδει την ευελιξία που απαιτείται για τις αλληλεπιδράσεις αντισώματος-αντιγόνου (ικανότητα πρόσδεσης με αντιγονικούς επίτοπους των οποίων οι αποστάσεις είναι διαφορετικές).

Η περιοχή V εμφανίζει μεγάλο βαθμό μεταβλητότητας ως προς την αμινοξική αλληλουχία ανάμεσα στα διαφορετικά αντισώματα. Η μεταβλητότητα της αλληλουχίας δεν κατανέμεται ομοιόμορφα καθώς υπάρχουν τμήματα με εξαιρετική μεταβλητότητα (υπερμεταβλητές περιοχές, hypervariable regions - HR) και άλλα πιο διατηρημένα. Οι υπερμεταβλητές περιοχές αντιστοιχούν σε τρεις θηλιές

Κεφάλαιο 1 Γάλα

(loops), στο αμινοτελικό άκρο (N-terminus), τόσο της βαριάς όσο και της ελαφριάς αλυσίδας. Όταν η πρωτεΐνη διπλώνεται δημιουργούνται οι θέσεις πρόσδεσης του αντιγόνου (παράτοπος). Κατ' αυτόν τον τρόπο οι υπερμεταβλητές περιοχές καθορίζουν την εξειδίκευση του αντισώματος και για το λόγο αυτό ονομάζονται και περιοχές καθορισμού της συμπληρωματικότητας (complementarity determining regions, CDRs). Στον άνθρωπο συναντώνται πέντε ισότυποι ανοσοσφαιρινών οι IgA, IgD, IgE, IgG και IgM με βάση τις αλληλουχίες των βαριών αλυσίδων οι οποίες ονομάζονται α , δ , ϵ , γ και μ , αντίστοιχα. Στο γάλα απαντώνται κυρίως 3 μόρια ανοσοσφαιρινών τα IgA, IgG και IgM, η δομή των οποίων παρουσιάζεται στην Εικόνα 1.9 (Borad & Singh, 2022; Marnila & Korhonen, 2002).



Εικόνα 1.9 : Σχηματική απεικόνιση μορίων ανοσοσφαιρινών IgG, IgA και IgM

Η IgG είναι μονομερής πρωτεΐνη, έχει συνολικό βάρος 150 kDa και δύο θέσεις πρόσδεσης αντιγόνου. Η λειτουργικότητα της IgG περιλαμβάνει αντιμετώπιση διαφόρων αντιγόνων και αντιβακτηριακή. Η IgA είναι διμερής πρωτεΐνη (τα δύο μονομερή συνδέονται μεταξύ τους με τη βοήθεια ενός μικρού πεπτιδίου που ονομάζεται, πεπτίδιο J, J-chain), ενώ η IgM μία κυκλική πενταμερής πρωτεΐνη (τα μονομερή συνδέονται μεταξύ με τη βοήθεια δισουλφιδικών δεσμών και του πεπτιδίου J). Κάθε υπομονάδα των IgA και IgM έχει τη βασική δομή της IgG. Διαφορές εμφανίζονται στις βαριές αλυσίδες (γ για την IgG, α και μ για τις IgA και IgM, αντίστοιχα) και στην παρουσία ενός οκταπεπτιδίου στο καρβοξυτελικό άκρο IgA. Το συνολικό μοριακό βάρος της IgA είναι 380 kDa, ενώ της IgM 900 kDa (Marnila & Korhonen, 2002). Ο βιολογικός ρόλος της IgA περιλαμβάνει την κροκίδωση βακτηριακών τοξινών και την αδρανοποίηση ιών. Οι IgM αντιμετωπίζουν αντιγόνα όπως βακτήρια και ιούς. Η IgM ανήκει στην πρωτεϊνική ομάδα των αλουτινινών, δηλαδή προκαλεί κροκίδωση, που είναι ο κύριος μηχανισμός για την αντιμετώπιση βακτηρίων, όμως αυτή της η ικανότητα προκαλεί και συσσωμάτωση των λιπαρών του γάλακτος σε κάποιο βαθμό. Να σημειωθεί ότι με θερμική κατεργασία, όπως και κατά την ομογενοποίηση του γάλακτος, αυτή η δράση της IgM αναστέλλεται (Marnila & Korhonen, 2002).

Κεφάλαιο 1 Γάλα

1.4.3.2.4 Αλβουμίνη Ορού

Μία ακόμη πρωτεΐνη ορού είναι η αλβουμίνη ορού (pdb number 4F5S), η οποία είναι μικρού μοριακού βάρους (66 kDa), βρίσκεται στον ορό του αίματος των θηλαστικών και ενσωματώνεται στο γάλα κατά την κίνησή του μέσα στους μαστικούς αυλούς. Είναι ένα μεγαλομόριο που έχει τρεις σφαιρικές περιοχές, με αποτέλεσμα να έχει μέγεθος περίπου 3×12 nm. Περιέχει 17 δισουλφιδικούς δεσμούς και μία υδροθειομάδα (Morgan et al., 2016).

1.4.3.2.5 Ένζυμα

Τα ένζυμα που απαντώνται στο γάλα προέρχονται από δύο πιθανές πηγές, είτε συντίθενται στα μαστικά κύτταρα του θηλαστικού, είτε παράγονται από μικροοργανισμούς της φυσικής χλωρίδας του γάλακτος - τα τελευταία δεν θεωρούνται ως συστατικά του γάλακτος. Τα ενδογενή ένζυμα αριθμούν περί τα 70, εκ των οποίων τα 20 περίπου έχουν χαρακτηριστεί. Προέρχονται κυρίως από το αίμα του ζώου, από τα σωματικά ή από τα γαλακτικά κύτταρα και μπορεί να είναι συνδεδεμένα με διαφορετικά δομικά στοιχεία του γάλακτος. Αρκετά βρίσκονται στον ορό του γάλακτος, μερικά είναι συνδεδεμένα στα καζεϊνικά μικύλλια (πλασμίνη, λιποπρωτεϊνική λιπάση) και άλλα στη μεμβράνη των λιποσφαιρίων (π.χ. αλκαλική φωσφατάση, ξανθίνη-οξειδάση). Παρά τη μεγάλη ποικιλία και τον αριθμό των ενζύμων, δεν προκαλούν σημαντική αλλοίωση στο γάλα, λόγω των πολύ μικρών συγκεντρώσεων ή ένεκα του ότι μερικά δεν βρίσκονται στην ενεργή τους μορφή. Η δραστηριότητα των περισσότερων ενδογενών ενζύμων του γάλακτος διαφέρει μεταξύ των ειδών των ζώων, κατά τη διάρκεια της γαλακτικής περιόδου και των συνθηκών που βρίσκεται το γάλα (θερμοκρασία, pH κτλ.). Όμως μαστίτιδες και λοιπές παθήσεις των μαστών των ζώων αυξάνουν σημαντικά τη δράση των ενδογενών ενζύμων του γάλακτος (Buys & Seifu, 2022; Farkye & Kelly, 2022; Morrissey & Hill, 2011b)

Αν και τα ένζυμα ανήκουν στα δευτερεύοντα συστατικά του γάλακτος από άποψη ποσότητας, έχουν πολύ μεγάλη σημασία για το γάλα και τα προϊόντα του, όντας υπεύθυνα για την παραγωγή ουσιών γεύσης-αρώματος (επιθυμητών ή ανεπιθύμητων) όπως συμβαίνει για παράδειγμα με τη λιποπρωτεϊνική λιπάση. Ακόμη, προκαλούν υδρόλυση των πρωτεϊνών (πρωτεόλυση) όπως συμβαίνει για παράδειγμα με τη δράση της πλασμίνης κατά την ωρίμαση πολλών τυριών. Όλα τα ένζυμα αδρανοποιούνται με τις διάφορες θερμικές κατεργασίες, μερικά όμως αδρανοποιούνται και με απλή παστερίωση, με αποτέλεσμα να αποτελούν κριτήριο για τη θερμοκρασία της θερμικής κατεργασίας του γάλακτος, όπως τέτοιο παράδειγμα αποτελεί η αλκαλική φωσφατάση.

Τέλος τα ένζυμα έχουν αντιβακτηριακή δράση, όπως π.χ. η λυσοζύμη και η λακτοϋπεροξειδάση. Από τα ένζυμα που παράγονται στους μαστικούς αδένες, ενδιαφέρον παρουσιάζουν η πλασμίνη, η

Κεφάλαιο 1 Γάλα

λιποπρωτεϊνική λιπάση, η αλκαλική φωσφατάση, η λακτοϋπεροξειδάση, η καταλάση, η ξανθίνη-οξειδάση και η λυσοζύμη.

Η πλασμίνη (EC 3.4.217) είναι υδρολάση (σερινική πρωτεάση) και αποτελεί την κύρια ενδογενή πρωτεάση του γάλακτος. Η δράση της στο γάλα καθορίζεται από τη δράση άλλων ενδογενών ενζύμων (ενεργοποιητές του πλασμινογόνου), καθώς και συστατικών του γάλακτος που δρουν ως αναστολείς της (π.χ. πρωτεΐνες του ορού), με αποτέλεσμα να αναφέρεται συχνά ο όρος «σύστημα πλασμίνης». Υδρολύει κυρίως τη β-καζεΐνη παρέχοντας προϊόντα υδρόλυσης γ-καζεΐνες και μερικές πρωτεόζες-πεπτόνες. Υδρολύει επίσης και την α₂-καζεΐνη και συμμετέχει στην εξέλιξη της πρωτεόλυσης κατά την ωρίμαση των τυριών. Είναι εξαιρετικά θερμοανθεκτική και έχει αναφερθεί ότι σχετίζεται με ελαττώματα που παρατηρούνται κατά την αποθήκευση του UHT γάλακτος, όπως εμφάνιση πικρής γεύσης και δημιουργία πηγμάτων (H. C. Deeth, 2022a).

Η λιποπρωτεϊνική λιπάση (EC 3.1.1.34) είναι υδρολάση που η δράση της έγκειται στην απελευθέρωση λιπαρών οξέων από τις θέσεις C1 και C3 των τριγλυκεριδίων. Αποτέλεσμα αυτής της δράσης είναι να εμφανίζονται δυσάρεστα χαρακτηριστικά γεύσης-αρώματος λόγω υδρολυτικού ταγγισμού. Δρα κυρίως με τα λιπαρά μόρια που βρίσκονται στο εσωτερικό των λιποσφαιρίων, και για να έρθει σε επαφή μαζί τους πρέπει να διαπεράσει τη μεμβράνη των τελευταίων. Είναι ευπαθής στη θερμότητα και το μεγαλύτερο μέρος της καταστρέφεται κατά την παστερίωση του γάλακτος (H. C. Deeth, 2022a).

Η αλκαλική φωσφατάση (EC 3.1.3.1) είναι υδρολάση που μπορεί κάτω από κατάλληλες συνθήκες, οι οποίες είναι δύσκολο να υπάρξουν στο γάλα και στα προϊόντα του, να αποφωσφορυλιώσει τις καζεΐνες. Έχει μεγάλη τεχνολογική σημασία, γιατί οι συνθήκες αδρανοποίησής της είναι λίγο υψηλότερες από αυτές που απαιτούνται για την αδρανοποίηση του μυκοβακτηρίου της φυματίωσης (*Mycobacterium tuberculosis*), του πιο ανθεκτικού παθογόνου μικροοργανισμού του γάλακτος. Καταστρέφεται κατά την παστερίωση του γάλακτος και η αδρανοποίησή της έχει χρησιμοποιηθεί από τη νομοθεσία (ΕΚ 1664/2006) ως δείκτης για την επαρκή παστερίωση του γάλακτος (Shakeel-Ur-Rehman & Farkye, 2022).

Η υπεροξειδάση του γάλακτος (EC 1.11.1.17) είναι μία οξειδάση που παρουσιάζει αντιβακτηριακή δράση στο γάλα παρουσία χαμηλών συγκεντρώσεων H₂O₂ και SCN⁻. Είναι ανθεκτική στις θερμοκρασίες που χρησιμοποιούνται για την παστερίωση του γάλακτος, αλλά καταστρέφεται σε υψηλότερες συνθήκες θέρμανσης. Χρησιμοποιείται από τη νομοθεσία (Άρθρο 04 της ΔΔ ΕΠΙ ΤΟΥ ΤΕΛΙΚΟΥ ΣΧΕΔΙΟΥ ΤΕΧΝΙΚΩΝ ΠΡΟΔΙΑΓΡΑΦΩΝ ΚΑΙ ΠΡΟΤΥΠΩΝ ΓΙΑ ΠΡΟΜΗΘΕΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ 1 Ιουνίου 2016) ως δείκτης θερμικής επεξεργασίας σε συνθήκες εντονότερες από εκείνες της παστερίωσης (π.χ.

Κεφάλαιο 1 Γάλα

υψηλή παστερίωση). Είναι το ένζυμο με την υψηλότερη συγκέντρωση στο γάλα και αποτελεί ~0,5% των πρωτεϊνών του ορού (~0,1% των συνολικών πρωτεϊνών του γάλακτος) (Buys & Seifu, 2022).

Η καταλάση (EC 1.11.1.6) είναι μία οξειδοαναγωγάση, της οποίας η συγκέντρωση αυξάνεται, όταν αυξάνεται ο αριθμός των σωματικών κυττάρων στο γάλα. Επομένως, η αυξημένη δραστηριότητά της θεωρείται ένδειξη κακής υγείας του μαστού. Στη σύγχρονη γαλακτοκομία, ωστόσο, σπάνια χρησιμοποιείται ως δείκτης για τη μαστίτιδα, καθώς η ποσότητά της επηρεάζεται και από άλλους παράγοντες, όπως η διατροφή και το στάδιο της γαλακτικής περιόδου (McSweeney, 2022).

Η οξειδάση-ξανθίνης (EC 1.2.3.2) είναι οξειδοαναγωγάση συμμετέχει στη δομή της μεμβράνης των λιποσφαιρίων και φαίνεται ότι διαδραματίζει κάποιο ρόλο κατά την έκκριση των λιποσφαιρίων από τα γαλακτικά κύτταρα. Μπορεί να δρα ως προοξειδωτικός παράγοντας κατά την αυτοοξειδωση του λίπους του γάλακτος. Επεξεργασίες όπως η ομογενοποίηση και η ψύξη μπορούν να προκαλέσουν απελευθέρωσή της από τη μεμβράνη των λιποσφαιρίων (McSweeney, 2022).

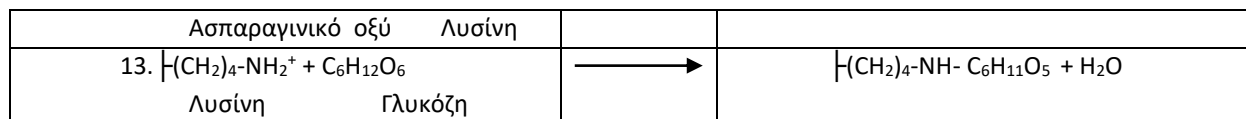
Η λυσοζύμη (EC 3.2.1.17) είναι αντιβακτηριακό ένζυμο που υδρολύει την πεπτιδογλυκάνη (συστατικό του κυτταρικού τοιχώματος των θετικών κατά Gram βακτηρίων). Μπορεί, επιπλέον να υδρολύσει γλυκοζιτικούς δεσμούς στο μόριο της χιτίνης. Υπάρχει σε μικρές ποσότητες στο αγελαδινό γάλα.

Άλλα ενδογενή ένζυμα του γάλακτος είναι διάφορες πρωτεάσες των λυσοσωμάτων των σωματικών κυττάρων με κυριότερη να είναι η καθεψίνη D (EC 3.4.23.5), αλλά και η όξινη φωσφατάση (EC 3.1.3.2), η α-αμυλάση (EC 3.2.11) και β-αμυλάση (EC 3.2.12), η ριβονουκλεάση (EC 3.1.27.5), η γ-γλουταμυλ-τρανσφεράση (EC 2.3.2.2) η οποία έχει προταθεί και ως δείκτης για τη θερμική επεξεργασία του γάλακτος, η δισμουτάση των υπεροξειδίων (EC 1.15.1.1) η οποία συμμετέχει στην αυτοοξειδωση των λιπών ως αντιοξειδωτικός παράγοντας, η οξειδάση των σουλφιδριλίων, η αλδολάση (EC 4.1.2.13) κ.α. (Farkye, Kelly, 2022).

1.4.3.2.6 Επιδράσεις θερμικής κατεργασίας στις πρωτεΐνες του γάλακτος

Με την αύξηση της θερμοκρασίας σε τιμές μεγαλύτερες από τους 70°C οι δομές των πρωτεϊνών του γάλακτος, κυρίως των πρωτεϊνών ορού, διαταράσσονται, με αποτέλεσμα να ξεδιπλώνονται οι πεπτιδικές αλυσίδες και να εκτίθενται τα άτομα θείου και οι θειώδεις ομάδες των αμινοξέων. Τα μέρη αυτά των μορίων είναι δραστικά, και με την αύξηση της θερμοκρασίας αντιδρούν σχηματίζοντας άλλες ενώσεις όπως φαίνεται στον Πίνακα 1.5. Οι αντιδράσεις αυτές εμποδίζουν τις πεπτιδικές αλυσίδες να επαναδιπλωθούν, με συνέπεια οι πρωτεΐνες να παραμένουν μετουσιωμένες και να χάνουν τη λειτουργικότητά τους, όχι όμως τη θρεπτική τους αξία.

Κεφάλαιο 1 Γάλα



(Huppertz, 2017)

1.4.4 Λιπαρά γάλακτος

Κατά κύριο λόγο, τα λιπαρά μόρια στο σύστημα του γάλακτος είναι οργανωμένα σε σφαιρικούς σχηματισμούς περιβεβλημένους από μία μεμβράνη, που αποτελείται από πρωτεΐνες, φωσφολιπίδια, τριγλυκερίδια και στερόλες. Οι σχηματισμοί αυτοί ονομάζονται λιποσφαίρια (Milk fat globules-MFG) και η μεμβράνη που τους περιβάλλει μεμβράνη λιποσφαιρίων αντίστοιχα (Milk fat globules membrane-MFGM) (Ortega-Anaya et al., 2022). Τα λιπαρά μόρια που απαντώνται στο γάλα είναι κυρίως τριγλυκερίδια (περίπου 98% των λιπαρών του γάλακτος), φωσφολιπίδια, χοληστερόλη, ελεύθερα λιπαρά οξέα, μονο- και διγλυκερίδια. Ακόμη, στο γάλα υπάρχουν σε ίχνη β-καροτένιο, λιποδιαλυτές βιταμίνες (A, D, E και K) και κάποια φλαβονοειδή. Η κατά βάρος περιεκτικότητα (w/w) των λιπαρών του γάλακτος παρουσιάζεται στον Πίνακα 1.6. Όσον αφορά τις οργανοληπτικές ιδιότητες του γάλακτος, τα λιπαρά μόρια και οι σχηματισμοί τους παίζουν τον πιο σημαντικό ρόλο, τόσο στη υφή του όσο και στη γεύση και το άρωμά του (MacGibbon, 2022; Taylor & MacGibbon, 2011).

1.4.4.1 Λιπαρά οξέα

Το γάλα περιέχει περί τα 400 λιπαρά οξέα, από τα οποία τα πιο σημαντικά είναι 16 και παρουσιάζονται στον Πίνακα 1.7. Το μεγαλύτερο ποσοστό των λιπαρών οξέων στο γάλα δεν είναι ελεύθερα, αλλά αποτελούν μέρος των μορίων των τριγλυκεριδίων, μικρότερες ποσότητες βρίσκονται σε εστεροποιημένη μορφή σε μόρια μονο- και διγλυκεριδίων, και μόνο το 0,1% της συνολικής ποσότητας λιπαρών οξέων είναι ελεύθερα. Τα μόρια των λιπαρών οξέων επηρεάζουν σημαντικά το άρωμα, τις συνθήκες αλλαγής φάσης (πήξη-τήξη λόγω αλλαγής θερμοκρασίας) και την οξείδωση του γάλακτος.

Το μεγαλύτερο ποσοστό των λιπαρών οξέων στο γάλα (περίπου 62-70 %) είναι κορεσμένα και το μήκος τους ποικίλει από 4 έως 18 άτομα C, με σημαντικότερο το παλμιτικό (16 άτομα C, 65-70% w/w των συνολικών λιπαρών οξέων). Όσον αφορά τα ακόρεστα λιπαρά οξέα του γάλακτος, το κυριότερο είναι το ελαϊκό (18 άτομα C, 17-22% w/w των συνολικών λιπαρών οξέων) και, σε μικρότερες ποσότητες τα: μυριστελαϊκό (14 άτομα C), παλμιτελαϊκό (16 άτομα C), βαξενικό (18 άτομα C) και λινελαϊκό (18 άτομα C) (Huppertz, 2017).

Τα λιπαρά του γάλακτος είτε συντίθενται στους μαστικούς αδένες είτε αυτά προέρχονται από τα λιπίδια στο πλάσμα του αίματος του θηλαστικού. Από τους μαστικούς αδένες προέρχονται τα λιπαρά

Κεφάλαιο 1 Γάλα

οξέα μήκους ανθρακικής αλυσίδας από 4 έως 14 C, ενώ από το πλάσμα του αίματος προέρχονται τα αντίστοιχα μήκους 16 και 18 C. Η σύνθεση των λιπαρών οξέων στο μαστικό αδένα χρησιμοποιεί κυρίως οξικά άλατα, που παράγονται από την ζύμωση μεταβολικών προϊόντων. Ο μηχανισμός περιλαμβάνει την καρβοξυλίωση του ακετυλο-συνέζυμου A σε μηλονυλ-συνέζυμο A, του οποίου η αλυσίδα επιμηκύνεται και σχηματίζονται τα λιπαρά οξέα μήκους 4-8 C. Εν αντιθέσει, τα λιπαρά οξέα του αίματος προέρχονται κυρίως από τη διατροφή, και κάποια απελευθερώνονται από το λιπαρό ιστό του θηλαστικού. Κατά συνέπεια, η διατροφή του θηλαστικού και η περιεκτικότητά της σε λιπαρά έχουν επίδραση στην περιεκτικότητα του γάλακτος σε λιπαρά οξέα, και συγκεκριμένα η αύξηση των λιπαρών οξέων μεγέθους 16 και 18 C στη διατροφή οδηγεί σε αύξηση της συγκέντρωσης των αντίστοιχων μορίων στο γάλα. Να σημειωθεί ότι μεταβολές στις ποσότητες πολυακόρεστων λιπαρών οξέων στη διατροφή του θηλαστικού επηρεάζει τη συγκέντρωση μόνο του στεατικού (18: 0) και του ελαϊκού οξέος (18: 1) στο παραγόμενο γάλα. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι τα περισσότερα πολυακόρεστα λιπαρά τα οξέα υδρογονώνονται στον προστόμαχο των μυρικαστικών και ενσωματώνονται στο γάλα. Κατά συνέπεια, το γάλα των μη-μηρυκαστικών θηλαστικών είναι πιο πλούσιο σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα.

Είδος Λιπαρού	Μέσο Μοριακό Βάρος (kDa)	Ποσοστό κατά βάρος (% w/w)
Τριγλυκερίδια	728	98,3
Διγλυκερίδια	536	0,3
Μονογλυκερίδια	314	0,03
Ελεύθερα λιπαρά οξέα	253	0,1
Φωσφολιπίδια		0,8
Φωσφατιδυλοχολίνη	764	0,27
Φωσφατιδυλοαιθανολαμίνη	742	0,26
Φωσφατιδυλοσερίνη	784	0,03
Φωσφατιδυλινοσιτόλη	855	0,04
Σφιγγομυελίνη	770	0,2
Εγκεφαλίδες	770	0,1
Γαγγλιοσίδες	1600	0,01
Στερόλες		0,32
Χοληστερόλη	387	0,30
Εστέρες χοληστερόλης	642	0,02
Καροτενοειδή + βιταμίνη A		0,002

(MacGibbon & Haddadian, 2022)

Οι αναλογίες λιπαρών οξέων στο γάλα επηρεάζονται σημαντικά από τη διατροφή των ζώων, την εποχή του έτους και το στάδιο της γαλακτικής περιόδου. Ειδικότερα, η ελεύθερα βοσκή (άνοιξη-καλοκαίρι) οδηγεί σε αύξηση λιπαρών οξέων μήκους 18 ατόμων C και μείωση σε λιπαρά οξέα μήκους 14

Κεφάλαιο 1 Γάλα

και 16 ατόμων C, σε σχέση με αντίστοιχη εκτροφή με άχυρο και ξηρά τροφή. Όσον αφορά την εποχή του έτους, κατά τους καλοκαιρινούς μήνες αυξάνεται η συγκέντρωση των λιπαρών οξέων μήκους 18 ατόμων C και μειώνεται αντίστοιχα των λιπαρών οξέων μήκους 14 και 16 ατόμων C, γεγονός που συνάδει με το αντίστοιχο φαινόμενο που σχετίζεται με τη διατροφή των ζώων. Τέλος, κατά την πάροδο της γαλακτικής περιόδου μειώνεται η συγκέντρωση των λιπαρών οξέων με μικρή ανθρακική αλυσίδα, 4-6 C και 18 C, ενώ αυξάνεται των αντίστοιχων μήκους 6-14 C (Huppertz, 2017; MacGibbon & Haddadian, 2022).

Λιπαρό οξύ	Εμπειρική ονομασία	Ονομασία κατά UPAC	mol %
4:0	Βουτυρικό	Βουτανικό	9,6
6:0	Καπροϊκό	Εξανικό	4,7
8:0	Καπρυλικό	Οκτανικό	2,3
10:0	Καπρικό	Δεκανοϊκό	4,2
12:0	Λαυρικό	Δωδεκανικό	4,1
14:0	Μυριστικό	Δεκατετρανικό	11,0
14:1	Μυριστελαϊκό	cis-9-δεκατετρανικό	0,9
15:0		Δεκαπεντανικό	1,1
16:0	Παλμιτικό	Δεκαεξανικό	25,3
16:1	Παλμιτελαϊκό	cis-9-δεκαεξανικό	1,5
18:0	Στεατικό	Δεκαοκτανικό	9,5
18:1	Ελαϊκό	cis-9-δεκαοκτανικό	15,4
18:1	Βαξενικό	trans-11-δεκαοκτανικό	3,4
18:2	Λινελαϊκό	cis, cis-9,12-δεκαοκτανικό	1,1
18:3	Λινολενικό	cis, cis, cis-9,12,15-δεκαοκτανικό	0,8

1.4.4.2 Τριγλυκερίδια

Τα τριγλυκερίδια του γάλακτος ποικίλουν σημαντικά σε μοριακά βάρη και σε βαθμό ακορεστότητας. Γενικά τα τριγλυκερίδια είναι μη πολικά μόρια που αποτελούνται από ένα μόριο γλυκερόλης στο οποίο είναι εστεροποιημένα τρία μόρια λιπαρών οξέων. Τα λιπαρά οξέα στα μόρια των τριγλυκεριδίων, είτε είναι και τα τρία μεγάλων ανθρακικών αλυσίδων είτε δύο μεγάλων αλυσίδων και ένα βραχείας αλυσίδας εστεροποιημένο στη θέση sn-3. Όλα τα είδη των λιπαρών οξέων του γάλακτος συμμετέχουν στα μόρια των τριγλυκεριδίων του γάλακτος. Έτσι, παρόλο που οι ανθρακικές αλυσίδες τους είναι μεγέθους 28-56 ατόμων C, υπάρχουν περισσότερα από 560 πιθανά μόρια τριγλυκεριδίων στο γάλα που διαφέρουν στη στερεοχημεία τους και στο βαθμό ακορεστότητάς τους. Η μεγάλη αυτή ποικιλία μορίων οφείλεται στο γεγονός ότι τα τριγλυκερίδια συντίθενται στους μαστικούς αδένες των ζώων υπό την κατάλυση ενζύμων. Ο σχηματισμός των μορίων γίνεται με προσάρτηση των ατόμων σε πολλά σημεία του μορίου, και στη συνέχεια λαμβάνει το μόριο την τελική του στερεοδομή. Τα ένζυμα που συμμετέχουν

Κεφάλαιο 1 Γάλα

στις αντιδράσεις σχηματισμού, όντας πολύ επιλεκτικά και ποικίλα, σχηματίζουν διαφορετικές στερεοδομές και οδηγούν στη μεγάλη ποικιλομορφία των μορίων τριγλυκεριδίων του γάλακτος.

Οι αντιδράσεις στις οποίες συμμετέχουν τα τριγλυκερίδια, όντας μη ιδιαίτερα δραστικά μόρια, είναι η υδρόλυση και η οξειδωση, που προκαλούν και αλλοιώσεις στην ποιότητα και στα χαρακτηριστικά του γάλακτος (Huppertz, 2017; MacGibbon & Fuller, 2022).

1.4.4.3 Φωσφολιπίδια

Τα φωσφολιπίδια είναι λιπαρά μόρια που χαρακτηρίζονται ως πολικά, διότι στο μόριό τους υπάρχουν φωσφορικές ομάδες που δημιουργούν πόλωση στο μόριο και αυξάνουν το φορτίο τους. Έτσι, τα φωσφολιπίδια λόγω της πολικότητάς τους, έχουν και υδρόφοβο και υδρόφιλο χαρακτήρα. Αυτός ο διττός χαρακτήρας τους αξιοποιείται στο γάλα στη σταθεροποίηση των λιποσφαιρίων. Συγκεκριμένα, στη μεμβράνη που περιβάλλει τα λιποσφαίρια και διατηρεί τη σταθερότητα του γάλακτος ως γαλάκτωμα, δρουν ως τασιενεργά μόρια όπως οι πρωτεΐνες. Στις μεμβράνες των λιποσφαιρίων βρίσκεται το 60-65% των συνολικών φωσφολιπιδίων του γάλακτος και το υπόλοιπο 35-40% στην υδατική φάση του γάλακτος, ενίοτε συνδεδεμένα σε πρωτεΐνες. Στο γάλα απαντώνται τα φωσφολιπίδια του Πίνακα 1.6, φωσφατιδυλοχολίνη, φωσφατιδυλοαιθανολαμίνη, φωσφατιδυλοσερίνη, φωσφατιδυλινοσιτόλη και σφιγγομυελίνη (MacGibbon & Fong, 2022).

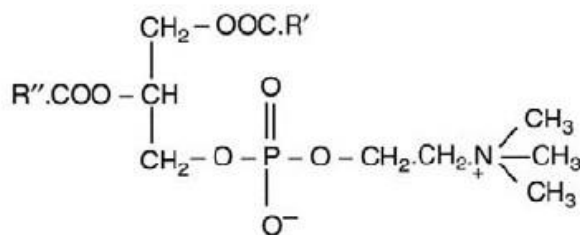
Η δομή των φωσφολιπιδίων, όπως φαίνεται στην Εικόνα 1.10, αποτελείται από δύο λιπαρά οξέα στις θέσεις sn1 και sn2 του μορίου και μία φωσφορική ομάδα στη θέση sn3.

Τα φωσφολιπίδια απομονώνονται από την τροφή κατά το μεταβολισμό από τα γαλακτοφόρα ζώα και ενσωματώνονται είτε στη μεμβράνη των λιποσφαιρίων (περίπου 60-65% του συνόλου τους) κατά το σχηματισμό της, στα εκκριτικά κύτταρα των μαστών των ζώων, είτε σχηματίζουν δεσμούς με πρωτεΐνες στην υδατική φάση του γάλακτος (περίπου 35-40% του συνόλου τους). Η περιεκτικότητα του γάλακτος σε φωσφολιπίδια παρουσιάζει μικρή διακύμανση κατά τη γαλακτική περίοδο, έτσι ώστε να μειώνεται, πλην των τελευταίων εβδομάδων όπου παρουσιάζει μία μικρή αύξηση (MacGibbon & Fong, 2022).

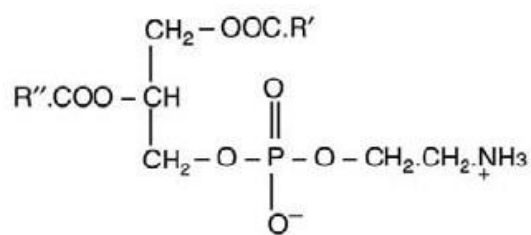
Από χημική σκοπιά, τα φωσφολιπίδια στο γάλα δεν είναι πολύ δραστικά. Πέραν από αντιδράσεις εστεροποίησης των λιπαρών οξέων τους στη θέση sn2, δεν αντιδρούν σημαντικά.

Κεφάλαιο 1 Γάλα

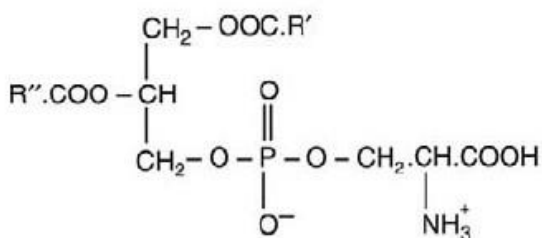
Φωσφατιδυλοχολίνη



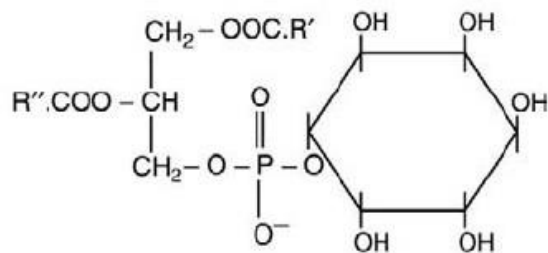
Φωσφατιδυαιθυλοαμίνη



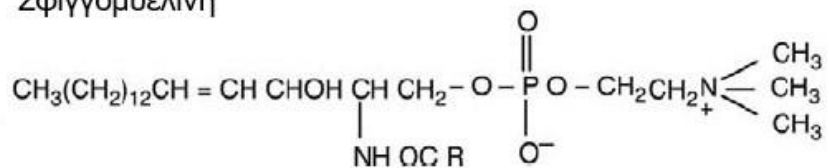
Φωσφατιδυλοσερίνη



Φωσφατιδυλινοσιτόλη



Σφιγγομελίνη



Εικόνα 1.10 : Στερεοδομή φωσφολιπιδίων γάλακτος

1.4.4.4 Λιποσφαίρια

Το γάλα αποτελεί ένα υδατικό μίγμα, με κάποια από τα συστατικά του να είναι λιπαρά μόρια. Λόγω διαφοράς πολικότητας, τα λιπαρά μόρια είναι αδιάλυτα στο νερό και αναπτύσσεται μεταξύ τους επιφανειακή τάση, με αποτέλεσμα να συσσωματώνονται σε σφαιρικούς σχηματισμούς λιπαρών, διεσπαρμένους στο υδατικό περιβάλλον το γάλακτος, που ονομάζονται λιποσφαίρια. Ο άπολος

Κεφάλαιο 1 Γάλα

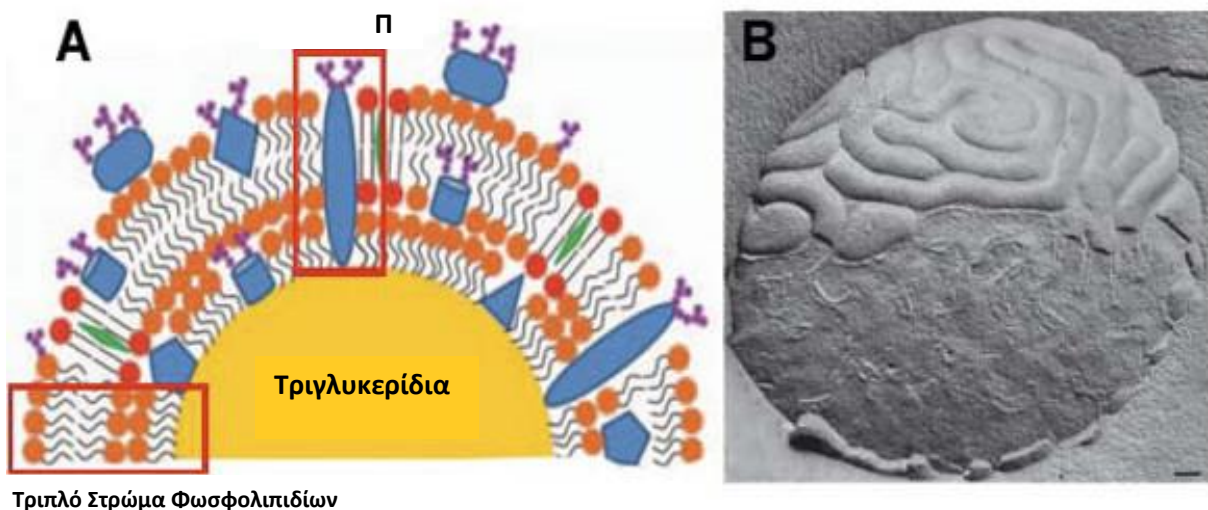
χαρακτήρας των λιπαρών μορίων στο πολικό περιβάλλον του γάλακτος αναγκάζει τα λιποσφαίρια να ενώνονται, σχηματίζοντας μεγαλύτερα και εν τέλει, και μακροσκοπικά να δημιουργούν δύο φάσεις στον όγκο του γάλακτος, μία λιπαρή και μία υδατική. Η παρουσία όμως μίας μεμβράνης γύρω τους από πρωτεΐνες και φωσφολιπίδια, διατηρεί ως ένα βαθμό τα λιποσφαίρια σε διασπορά. Κατά συνέπεια, το γάλα είναι ένα γαλακτωματικό λιπαρού σε νερό (oil in water o/w) και οι πρωτεΐνες και τα φωσφολιπίδια δρουν ως γαλακτωματοποιητές (Fox, 2022a; Ortega-Anaya et al., 2022).

Τα λιποσφαίρια του μη ομογενοποιημένου γάλακτος έχουν διάμετρο 0,1-20μm, αν και το 75% τους έχουν μικρότερη διάμετρο από 1μm και υπάρχουν 15×10^9 λιποσφαίρια/mL γάλακτος με συνολικό εμβαδόν μεμβρανών 1,5-2,5 m²/g λιπαρού. Όπως φαίνεται και στην Εικόνα 1.11 το εσωτερικό τους αποτελείται εξ ολοκλήρου από τριγλυκερίδια και η μεμβράνη των λιποσφαιρίων είναι ένα τριπλό στρώμα από φωσφολιπίδια με παγιδευμένα μόρια γλυκοσφιγκολιπιδίων και πρωτεϊνών. Περίπου το 40% των συνολικών φωσφολιπιδίων του γάλακτος βρίσκεται στις μεμβράνες όπου και απαντώνται τα πέντε φωσφολιπίδια που αναφέρθηκαν στην παράγραφο 1.4.4.3. Όσον αφορά τις πρωτεΐνες που βρίσκονται στη μεμβράνη των λιποσφαιρίων, πέραν από πρωτεΐνες ορού και ανοσοσφαιρίνες IgM, έχουν ταυτοποιηθεί περισσότερα από 100 διαφορετικά πρωτεϊνικά μόρια με κυριότερα τα εξής: βλεννίνη MUC-1, ένζυμο οξειδοαναγωγής αφυδρογονάσης ξανθίνης/οξειδάση (XDH/XO), βλεννίνη MUC-15, ένα σύμπλεγμα διαφοροποίησης 36 (CD36), βουτυροφυλίνη 1A1 (BTN), αδιποφυλίνη, κάποιες γλυκοζυλιωμένες παραλλαγές του ενζύμου PAS 6/7, και πρωτεΐνες δέσμησης λιπαρών οξέων (Fatty Acid Binding Protein) FABP-1, FABP-2, FABP-3 και FABP-4. Οι παραπάνω πρωτεΐνες, αν και εκτός του συστήματος του γάλακτος απαντώνται γενικότερα στα θηλαστικά καταλύοντας αντιδράσεις μεταβολικών και μη οδών, στο γάλα βρίσκονται σε πολύ μικρή συγκέντρωση και μόνο στη μεμβράνη των λιποσφαιρίων. Ο κύριος ρόλος τους είναι η γαλακτωματοποίηση των λιπαρών και η προσδεσιμότητα των λιποσφαιρίων με τις λιπές πρωτεΐνες του γάλακτος (MacGibbon, 2022; Ortega-Anaya et al., 2022).

Ο σχηματισμός των λιποσφαιρίων, η αλλιώς η γαλακτωματοποίηση του λίπους στο γάλα γίνεται κατά τον εμπλουτισμό του γάλακτος με λιπαρά, στα μαστικά κύτταρα, τα λιπαρά μόρια συνδέονται με μόρια πρωτεϊνών και καθώς εκκρίνονται από το κύτταρο στον αυλό, σχηματίζεται η μεμβράνη που τα περιβάλλει. Ειδικότερα, στο ενδοπλασματικό δίκτυο σχηματίζεται ο πυρήνας των λιποσφαιρίων από τριγλυκερίδια, διγλυκερίδια και κάποια ενζυμικά μόρια τρανφερασών. Κατά την έξοδο του αρχικού αυτού πυρήνα από το ενδοπλασματικό δίκτυο, σχηματίζεται, γύρω του μία μεμβράνη από φωσφολιπίδια και πρωτεΐνες. Στην πρώτη αυτή μεμβράνη η κυρίαρχη πρωτεΐνη είναι η αδιποφυλίνη (ADPH). Στη συνέχεια μετακινούνται μέσα στο κυτταρόπλασμα και συγχωνεύονται με άλλα παρόμοια σταγονίδια. Μέχρι την έξοδό τους από το μαστικό κύτταρο, τα μεγαλύτερα, πλέον, σταγονίδια αλληλεπιδρούν με τα

Κεφάλαιο 1 Γάλα

οργανίδια του κυττάρου (σύμπλεγμα Golgi, μιτοχόνδρια κτλ.) και συνεχίζουν να προστίθενται στη μεμβράνη πρωτεΐνες και φωσφολιπίδια. Όταν πλέον κάθε λιποσφαίριο εκκριθεί από το μαστικό κύτταρο, περιβάλλεται από μία πολυστρωματική μεμβράνη που περιλαμβάνει την αρχική στοιβάδα πρωτεΐνης και φωσφολιπιδίων που σχηματίζεται στο ενδοπλασματικό δίκτυο, ένα ενδιάμεσο στρώμα κυρίως πρωτεϊνικής φύσης και την εξωτερική στοιβάδα πιο πλούσια σε φωσφολιπίδια (Mac Gibbon 2022, Ortega-Anaya et al., 2022) .



Εικόνα 1.11 : Λιποσφαίριο (MFG) γάλακτος. Α: Σχηματική απεικόνιση, Β: Φωτογραφία από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης ηλεκτρονίων.

1.4.5 Άλατα και ιόντα

Η περιεκτικότητα του γάλακτος σε άλατα είναι περίπου 0,8-0,9% w/v και συνήθως στο γάλα απαντώνται τα εξής ανιόντα (PO_4^{3-} , $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}(\text{COOH})_3^{3-}$, Cl^- , CO_3^{2-} και SO_4^{2-}) και κατιόντα (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} και Mg^{2+}). Τα ιόντα αυτά βρίσκονται είτε διαλυμένα στην υδατική φάση του γάλακτος ή σχηματίζουν δεσμούς με καζεΐνες και συμμετέχουν στα καζεϊνικά μικύλλια. Η συγκέντρωση των ιόντων στις δύο φάσεις φαίνεται στον Πίνακα 1.8. Τα ιόντα που βρίσκονται στην υδατική φάση και στα καζεϊνικά μικύλλια και πιο συγκεκριμένα του ασβεστίου και του μη-οργανικού φωσφόρου, διέπονται από μία ευαίσθητη ιοντική ισορροπία που εξαρτάται από διάφορους φυσικοχημικούς παράγοντες, όπως το pH, η θερμοκρασία, η συγκέντρωση εκάστου ιόντος και η θέση των ιόντων σε κάθε καζεϊνικό μικύλλιο (Cornelis G. De Kruif et al., 2012).

Κεφάλαιο 1 Γάλα

Στην υδατική φάση του γάλακτος τα ιόντα βρίσκονται είτε διαλυμένα ή σε μόρια αλάτων. Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ κατιόντων και ανιόντων εξαρτώνται από τις εκάστοτε τιμές της σταθεράς διαλυτότητάς τους. Γενικά, το ασβέστιο βρίσκεται σε ιοντική μορφή (Ca^{2+}) και σχηματίζει δεσμούς με $[\text{C}_3\text{H}_5\text{O}(\text{COOH})_3]^{-3}$ και, σε μικρότερο βαθμό, με φωσφορικές ρίζες και φωσφορικά άλατα ($[\text{H}_2\text{PO}_4]$ και $[\text{HPO}_4]^{-2}$) και χλώριο. Η διαλυτότητα του φωσφορικού ασβεστίου με τη μορφή άλατος είναι πολύ χαμηλή, και κατά συνέπεια η συγκέντρωσή του στην υδατική φάση είναι μικρότερη από 1 mmol/L. Το νάτριο και το κάλιο βρίσκονται περισσότερο ως ελεύθερα ιόντα παρά σε άλατα με $[\text{C}_3\text{H}_5\text{O}(\text{COOH})_3]^{-3}$, φωσφορικές ρίζες και φωσφορικά άλατα και χλώριο. Έτσι, σε pH 6,6-6,7 και λαμβάνοντας υπόψη αυτές τις διαφορετικές ενώσεις, στο γάλα η υδατική φάση είναι υπερκορεσμένη με φωσφορικό ασβέστιο (Bauland et al., 2022; Gaucheron, 2010).

Ιόν	Συγκέντρωση κατ' όγκο του Γάλακτος	Συγκέντρωση στην Υδατική Φάση	Συγκέντρωση στα Καζεϊνικά Μικύλλια
Ca	30,0	9,0	21,0
Mg	5,0	3,5	1,5
Na	22,0	21,5	0,5
K	35,0	34,3	0,7
P	21,0	11,0	10,0
$\text{C}_3\text{H}_5\text{O}(\text{COOH})_3$	9,0	8,1	0,9
Cl	30,0	30,	0,0

(Bauland et al., 2022)

Όσον αφορά την οργάνωση των ιόντων στα καζεϊνικά μικύλλια, υπάρχει μεγάλη πολυπλοκότητα και ετερογένεια. Για το ασβέστιο, που είναι το κυρίαρχο ανόργανο ιόν σε αυτή τη φάση, έχουν προταθεί δύο μοντέλα είτε βρίσκεται σε καζεϊνικά άλατα (που περιέχουν οργανικό φωσφορικό άλας) ή ως φωσφορικό ασβέστιο. Τα καζεϊνικά άλατα ασβεστίου είναι νανο-συσσωματώματα όπου το αδιάλυτο φωσφορικό ασβέστιο βρίσκεται σε αλληλεπίδραση με φωσφοπεπτίδια. Σύμφωνα με αυτό το μοντέλο μία αλυσίδα καζεΐνης, που περιέχει φωσφοπεπτίδια, μπορεί να δεσμεύσει ιόντα ασβεστίου, μαγνησίου και κίτρινης ρίζας. Οι σχηματισμοί αυτοί έχουν ακριβή τύπο: $[\text{Ca}_{13.2}(\text{Pi})_{6.5}\text{Mg}_{1.0}\{\text{C}_3\text{H}_5\text{O}(\text{COOH})_3\}_{1.3}\text{SerP}_4\text{Cas}]_{49}$. Ένα τυπικό μικύλλιο με μέση ακτίνα 108 nm έχει μάζα $7,2 \cdot 10^8$ Da και σύμφωνα με το μοντέλο, περιέχει 830 νανο-συσσωματώματα ασβεστίου. Το εναλλακτικό μοντέλο προτείνει ότι το ασβέστιο στα καζεϊνικά μικύλλια βρίσκεται σε μόρια $[\text{Ca}(\text{HPO}_4)_{0.7}(\text{PO}_4)_{0.2}]$. Σε κάθε περίπτωση, οι σχηματισμοί ασβεστίου προσδιορίστηκαν ως άμορφοι. Ο ρόλος του ασβεστίου στα

Κεφάλαιο 1 Γάλα

καζεϊνικά μικύλλια είναι να συνδέει τα μόρια των καζεϊνών, ώστε να σχηματίζονται τα μικύλλια και συμβάλλει επιπλέον, στη σταθερότητα των τελευταίων (Horne, 2006; Nieuwenhuijse & Huppertz, 2022).

1.4.6 Βιταμίνες

Στο γάλα περιέχονται οι βιταμίνες που φαίνονται στον Πίνακα 1.9. Είναι σχεδόν όλες οι βιταμίνες που χρειάζονται τα βρέφη. Η κατηγοριοποίηση των βιταμινών γίνεται βάσει της διαλυτότητάς τους στο νερό ή σε λίπη, συνεπώς υπάρχουν υδατοδιαλυτές και λιποδιαλυτές βιταμίνες. Γενικώς, το πρωτόγαλα είναι πιο πλούσιο σε βιταμίνες σε σχέση με το γάλα, αυτό καθαυτό. Όσον αφορά τα γαλακτοκομικά προϊόντα, αυτά έχουν μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε λιποδιαλυτές βιταμίνες, ενώ η περιεκτικότητά τους σε υδατοδιαλυτές βιταμίνες ποικίλει και εξαρτάται από την τεχνολογία παρασκευής τους (Nohr, 2011)

Βιταμίνη	Περιεκτικότητα (mg/L)
Βιταμίνη A	1,1
Βιταμίνη D	0,0006
Βιταμίνη E	0,98
Βιταμίνη K	0,01
Θειαμίνη (B1)	0,44
Ριβοφλαβίνη (B2)	1,75
Νιασίνη	0,94
Παντοθενικό οξύ	3,46
Βιταμίνη B6	0,64
Βιοτίνη	0,031
Φυλλικό οξύ	0,050
Κοβαλαμίνη (B12)	0,0043
Ασκορβικό οξύ (C)	21
(Nohr, 2011)	

1.4.6.1 Λιποδιαλυτές βιταμίνες

Οι λιποδιαλυτές βιταμίνες που περιέχονται στο γάλα είναι η βιταμίνη A (ρετινόλη), D (καλσιφερόλη), E (τοκοφερόλη) και η K (Nohr, 2011).

Η βιταμίνη A στο γάλα υπάρχει και προσλαμβάνεται από τα γαλακτοφόρα ζώα μέσω της τροφής. Η συγκέντρωση της βιταμίνης A στο γάλα εξαρτάται από την ποσότητα των καροτενοειδών της τροφής και, όπως είναι φυσικό, είναι χαμηλότερη στο γάλα που παράγεται το χειμώνα. Εξαρτάται επίσης και από το υποείδος του γαλακτοφόρου ζώου.

Από χημική άποψη, η βιταμίνη A είναι σταθερή στις θερμικές επεξεργασίες του γάλακτος, μέχρι τους 100 °C και επιπλέον, και δεν καταστρέφεται από τη θερμική επεξεργασία. Κατά την παρασκευή γαλακτοκομικών προϊόντων, το μεγαλύτερο μέρος της, όντας διαλυμένο στη λιπαρή φάση, δεν επηρεάζεται από την παραγωγική διαδικασία και περνά στο προϊόν (Sauvant et al., 2011).

Κεφάλαιο 1 Γάλα

Οι καλσιφερόλες, βιταμίνη D, είναι αντιραχητικές βιταμίνες και ο κύριος ρόλος τους είναι ο έλεγχος της πρόσληψης ασβεστίου από τα οστά, ενισχύοντας την πρόσληψή του από το έντερο. Είναι ανθεκτικές στη θερμότητα και δεν καταστρέφονται από τη θερμική επεξεργασία του γάλακτος. Στο γάλα απαντώνται οι βιταμίνες D₂ (εργοκαλσιφερόλη) και D₃ (χοληκαλσιφερόλη). Και οι 3 βιταμίνες D σχηματίζονται με την επίδραση της υπεριώδους ακτινοβολίας είτε στην τροφή των ζώων, είτε στα ζώα (van Staveren & de Groot, 2011).

Οι τοκοφερόλες, βιταμίνες E, με κυριότερη την α-τοκοφερόλη, είναι αντιοξειδωτικά συστατικά που αντιδρούν με τις ελεύθερες ρίζες και προλαμβάνουν την οξείδωση. Στο σύστημα του γάλακτος βρίσκονται στις μεμβράνες των λιποσφαιρίων και προστατεύουν τα φωσφολιπίδια από την οξείδωση. Η περιεκτικότητα σε βιταμίνη E επηρεάζεται από τη διατροφή του ζώου και επαγωγικά από την εποχή του έτους, συγκεκριμένα είναι λιγότερη στο γάλα που παράγεται τον χειμώνα. Από φυσικοχημική άποψη δεν επηρεάζεται από τη θέρμανση σε θερμοκρασίες <100 °C (και διατηρείται κατά την παραγωγική διαδικασία γιαουρτιού ή τυριού (Morrissey & Hill, 2011b; Napolì, 2021).

Η βιταμίνη K υπάρχει σε μικρές ποσότητες στο γάλα. Η φυσιολογική της δράση εντοπίζεται στη διαδικασία πήξης του αίματος, καθώς είναι απαραίτητη για τη σύνθεση πρωτεϊνών που εμπλέκονται σε αυτή (όπως η προθρομβίνη) (Morrissey & Hill, 2011b).

1.4.6.2 Υδατοδιαλυτές βιταμίνες

Οι υδατοδιαλυτές βιταμίνες που απαντώνται στο γάλα είναι η βιταμίνη C και οι βιταμίνες της ομάδας B (B1, B2, B3, B6, B9, B12) (Nohr, 2011).

Η βιταμίνη C είναι σημαντικός αντιοξειδωτικός παράγοντας για πολλά βιολογικά συστήματα και το ίδιο ισχύει και για το γάλα. Στα γαλακτοφόρα ζώα παραλαμβάνεται από την τροφή και ένα μέρος της συντίθεται στο συκώτι τους. Στο σύστημα του γάλακτος δρα ως αντιοξειδωτικό, αλλά δεν έχει σημαντική επίδραση, καθώς υπάρχει σε μικρές ποσότητες (~10-25 mg/L) και είναι θερμοευαίσθητο μόριο. Οι θερμικές διεργασίες που συμπεριλαμβάνονται στην επεξεργασία του γάλακτος μειώνουν την ποσότητά της σε τέτοιο βαθμό, που ούτε για τον καταναλωτή είναι θρεπτική, ούτε συμμετέχει σε φυσικοχημικές δράσεις. Ακόμη, η βιταμίνη C του γάλακτος ασκεί προστατευτικό ρόλο έναντι των οξειδώσεων άλλων συστατικών του (Morrissey & Hill, 2011a).

Η βιταμίνη B1, που αναφερόταν και ως ανευρίνη, δρα ως συνένζυμο με τη μορφή της πυροφωσφορικής θειαμίνης στις αντιδράσεις μεταβολισμού των υδατανθράκων. Στο γάλα βρίσκεται σε συγκέντρωση 0,3-0,5 mg/L, κατά τα 2/3 με την ελεύθερη μορφή της και κατά το 1/3 φωσφορυλιωμένη ή συνδεδεμένη σε πρωτεΐνες. Στο μεγαλύτερο ποσοστό της παράγεται από τους μικροοργανισμούς της

Κεφάλαιο 1 Γάλα

μεγάλης κουλίας και η συγκέντρωσή της στο γάλα δεν επηρεάζεται από τη διατροφή, την εποχή του έτους και τη φυλή του ζώου. Είναι σταθερή σε θερμοκρασίες <100 °C, όμως είναι ευαίσθητη στην παρουσία οξυγόνου και στην έκθεση στο φως (Nohr et al., 2011d).

Η Β2 στο γάλα βρίσκεται σε συγκέντρωση 1,7 mg/L, και επηρεάζεται σε μικρό βαθμό από την εποχή του έτους και τη φυλή του ζώου. Είναι σταθερή στη θέρμανση και στην παρουσία οξυγόνου, αλλά αποτελεί και το πιο φωτοευαίσθητο συστατικό του γάλακτος. Η αποικοδόμηση της βιταμίνης Β2 οδηγεί σε ανεπιθύμητες οσμές στο γάλα (Nohr et al., 2011c).

Η Βιταμίνη Β3, στο γάλα απαντάται κυρίως με τη μορφή νικοτιναμιδίου σε συγκέντρωση 1-2 mg/L και δεν επηρεάζεται από τη φυλή του ζώου, τη διατροφή, την εποχή του έτους και το στάδιο της γαλακτικής περιόδου. Είναι σταθερή κατά την έκθεση στο φως και στις θερμικές επεξεργασίες του γάλακτος, ακόμη και σε θερμοκρασίες >100 °C (Nohr et al., 2011a).

Η βιταμίνη Β5 αυτή αποτελεί μέρος του συνένζυμου Α, και επομένως συμμετέχει στο μεταβολισμό των λιπιδίων και των υδατανθράκων. Το γάλα περιέχει 3,5 mg/L παντοθενικό οξύ που εξαρτάται από τη διατροφή, τη φυλή του ζώου, την εποχή του έτους και το στάδιο της γαλακτικής περιόδου. Είναι σταθερό στο φως και στις θερμικές επεξεργασίες που εφαρμόζονται σε αυτό (Nohr et al., 2011b).

Η βιταμίνη Β6 συμμετέχει στη δομή των τρανσαμινασών. Στο γάλα απαντάται με τη μορφή της πυριδοξάλης κατά 80% και το υπόλοιπο με τη μορφή της πυριδοξαμίνης. Η συγκέντρωσή της στο γάλα είναι χαμηλή ~0,5 mg/L, ενώ στο πρωτόγαλα είναι σημαντικά υψηλότερη. Δεν επηρεάζεται σημαντικά από τη φυλή του ζώου και τη διατροφή. Είναι αρκετά ανθεκτική σε υψηλές θερμοκρασίες (Nohr et al., 2011f).

Στο γάλα η βιταμίνη Β12 βρίσκεται σε περιεκτικότητα 4 μg/L και είναι συνδεδεμένη με μόρια πρωτεϊνών. Η συγκέντρωσή της εξαρτάται από τα επίπεδα Co στην τροφή των γαλακτοφόρων ζώων. Στο πρωτόγαλα υπάρχει σε υψηλότερες συγκεντρώσεις. Είναι ανθεκτική στη θέρμανση σε θερμοκρασίες <100 °C και στο φως (Nohr et al., 2011e).

Κεφάλαιο 1 Γάλα

Κεφάλαιο 2 Γιαούρτι

2.1 Ορισμός

«Γιαούρτι» χαρακτηρίζεται το γαλακτοκομικό προϊόν το οποίο παράγεται από την ζύμωση και την πήξη του γάλακτος, με τη χρήση υποχρεωτικά των καλλιεργειών *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* και *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, ώστε το τελικό ζυμωμένο προϊόν να περιέχει τουλάχιστον 10^7 cfu/g προϊόντος μέχρι την ημερομηνία ανάλωσής του (Κώδικας Τροφίμων και Ποτών άρθρο 82, τροποποιημένο κατά ΦΕΚ 2457/Β/09.08.2016). Σύμφωνα με τον διεθνή οργανισμό τροφίμων FAO/WHO, γιαούρτι ορίζεται: «Το πηγμένο γαλακτοκομικό προϊόν που παράγεται με γαλακτική ζύμωση του γάλακτος με τη δράση του *Lactobacillus bulgaricus* και του *Streptococcus thermophilus*. Οι μικροοργανισμοί αυτοί πρέπει να βρίσκονται στο τελικό προϊόν άφθονοι και ζωντανοί (Codex Alimentarius STANDARD FOR FERMENTED MILKS CXS 243-2003, revised 2018, amended 2022).

2.2 Ιστορική αναδρομή

Οι πρώτες εμφανίσεις ζυμωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων, όπως το γιαούρτι, χρονολογούνται στην ίδια χρονική περίοδο με την κτηνοτροφία (8000-7000 π.Χ.) και τοποθετούνται στις περιοχές της Μεσοποταμίας και της Αιγύπτου. Το πρώτο ζυμωμένο γάλα θα ήταν προϊόν τυχαίας ζύμωσης, ένεκα των θερμοκρασιών σε αυτές τις περιοχές που είναι ιδανικές για την ανάπτυξη των σχετικών μικροοργανισμών. Τα κείμενα της εποχής αποδίδουν τη διαδικασία ζύμωσης και τα προϊόντα της σε θεϊκή παρέμβαση. Έτσι, οι περισσότεροι μύθοι γύρω από το γιαούρτι αναφέρουν ότι το πρώτο δοχείο με ζυμωμένο, πηγμένο γάλα δόθηκε στους ανθρώπους από αγγελιοφόρο του Θεού. Στη Βίβλο αναφέρεται ότι ο Αβραάμ προσέφερε ξινό και γλυκό γάλα και γιαούρτι στους αγγέλους, όταν τους υποδέχθηκε σπίτι του, όπως και ότι όφειλε τη μακροζωία του στη συστηματική κατανάλωση αυτού του τροφίμου θεϊκής προέλευσης. Επίσης, ανάμεσα στις τροφές που έδωσε ο Θεός στο Μωυσή και στους ανθρώπους του ήταν και το γάλα από βοοειδή και αιγοπρόβατα καθώς και τα παράγωγά του. Η παραγωγή προϊόντων ζυμωμένου γάλακτος ήταν γνωστή και στα βόρεια παράλια της Μεσογείου, όπου υπάρχουν ιστορικές αναφορές, οι οποίες εντάσσουν το γάλα και τα ζυμωμένα προϊόντα του στη διατροφή των Ελλήνων, των Ετρούσκων και των Ρωμαίων (Tamime & Robinson, 2007b).

Το όνομα “γιαούρτι”, που μαζί με το τυρί είναι τα πιο διαδεδομένα προϊόντα γάλακτος, πρωτοεμφανίστηκε στην Εγγύς Ανατολή, όπου οι πρώτες τουρκικές φυλές ζούσαν νομαδικά. Το προϊόν με το τουρκικό όνομα «Yogurt» για πρώτη φορά τον 8^ο αιώνα μ.Χ., ενώ τη σημερινή του μορφή πήρε αργότερα (γύρω στον 11^ο αιώνα). Άλλες μορφές γιαουρτιού της τότε εποχής ήταν το Kurut

Κεφάλαιο 2 Γιαούρτι

(αφυδατωμένο γιαούρτι) και το *Sunuk yoghurt* (αφέψημα γιαουρτιού, όπως το σημερινό αριάνι). Άλλοι μελετητές υποστηρίζουν ότι το γιαούρτι πρωτοπαρασκευάστηκε από τους Βαλκάνιους. Οι κάτοικοι της Θράκης ήταν γνωστοί για την εκτροφή προβάτων, από τα οποία έφτιαχναν ένα σκεύασμα γάλακτος το *Prokish* που κατόπιν γινόταν γιαούρτι. Αργότερα, η περιοχή αποικήθηκε από Σλάβους που υιοθέτησαν την παραγωγή γιαουρτιού.

Για την παραγωγή γιαουρτιού χρησιμοποιείτο, κυρίως γάλα από πρόβατα και βουβάλια και κατά ένα μικρό ποσοστό από ερίφια και βοοειδή. Η διεργασία ήταν πολύ απλή και περιελάμβανε τον εμβολιασμό με ποσότητα γιαουρτιού από προηγούμενη παραγωγή που αναμιγνυόταν με θερμό γάλα και επώαση μέχρι τον σχηματισμό του πήγματος. Αυτή η περιγραφή της παραγωγικής διαδικασίας διατηρήθηκε μέχρι τα μέσα του 20^{ου} αιώνα.

Στην αρχή του 20^{ου} αιώνα ο Ρώσος βιολόγος και νομπελίστας *Élie Mechnikov* (1845-1915) στο *Essais Optimistes (The Prologation of Life, Optimistic studies)* υποστήριζε ότι η κατανάλωση γιαουρτιού έχει τεράστιο όφελος για τον άνθρωπο καθώς και ότι παρατείνει την ζωή του. Το έργο του *Mechnikov* ήταν επικεντρωμένο στους μικροοργανισμούς και στις θετικές επιδράσεις τους στην υγεία του ανθρώπου. Το γεγονός ότι ξεχώρισε το γιαούρτι για τα οφέλη του στην υγεία βασίστηκε κυρίως στις θετικές επιδράσεις που έχουν οι μικροοργανισμοί που περιέχονται σε αυτό. Η θεωρία αυτή συνεισέφερε, ώστε το γιαούρτι να γίνει ένα ευρέως καταναλώσιμο προϊόν σε πολλές χώρες της Ευρώπης και να αποκτήσει επιστημονικό ενδιαφέρον.

Με τη βιομηχανική επανάσταση, στη βιομηχανική παραγωγή τροφίμων εντάχθηκε και το γιαούρτι. Η πρώτη εταιρεία που παρήγαγε γιαούρτι σε βιομηχανικό επίπεδο ήταν η *Danone*, εταιρεία η οποία υπάρχει ακόμη και είναι γνωστή διεθνώς για τα γαλακτοκομικά προϊόντα και το γιαούρτι της. Σήμερα το γιαούρτι παράγεται σε μεγάλο βαθμό σε Ευρώπη, Αμερική, Ασία και Ωκεανία και είναι το 3^ο πιο καταναλισκόμενο γαλακτοκομικό προϊόν μετά το γάλα, αυτό καθαυτό, και το τυρί. Μετά τον Β' παγκόσμιο πόλεμο και πιο συγκεκριμένα μετά το 1950, η επιστημονική μελέτη του γιαουρτιού έγινε πιο επισταμένη, με αποτέλεσμα να διασαφηνιστούν οι διεργασίες που περιλαμβάνονται στην παραγωγή του, οι μικροοργανισμοί που δρουν, οι ακριβείς συνθήκες κάθε σταδίου της παραγωγικής διαδικασίας και οι παράγοντες που επιδρούν στα οργανοληπτικά και στα ποιοτικά χαρακτηριστικά του. Η χρήση καλλιεργειών *Lactobacillus bulgaricus* και *Streptococcus thermophiles* καθώς και η πρόοδος της τεχνολογίας, οδήγησαν σε συνεχείς παραγωγικές διαδικασίες. Ακόμη, η χρήση φρούτων και η παραγωγή γιαουρτιών με διάφορες γεύσεις αύξησε κατά πολύ την κατανάλωση του γιαουρτιού από το ευρύ κοινό (Chandan et al., 2017; Narvhus & Abrahamsen, 2022).

2.3 Είδη γιαουρτιού

Προς τα τέλη του 20^{ου} αιώνα η παραγωγή του γιαουρτιού άλλαξε δραστικά λόγω της αυξημένης καταναλωτικής ζήτησης, της εφαρμογής βιομηχανικών πρακτικών και της εξέλιξης της επιστήμης τροφίμων και διατροφής. Πολύ σημαντική είναι η διάκριση των προϊόντων γιαουρτιού με βάση την προέλευση του γάλακτος, τη χημική σύνθεση, τη μέθοδο παραγωγής, τα χρησιμοποιούμενα πρόσθετα γεύσης, την επεξεργασία μετά την ζύμωση και τη συμβολή άλλων ειδών μικροοργανισμών στη διαδικασία ζύμωσης.

Τα είδη του γιαουρτιού κατηγοριοποιούνται με βάση το είδος του ζώου παραγωγής του γάλακτος, με το πιο συνηθισμένο να είναι το γάλα από βοοειδή. Επίσης, συνήθη είδη γιαουρτιού προέρχονται από αίγες, πρόβατα, βουβάλια, όνους, καμήλες, και άλογα (de Oliveira, 2014; Tamime & Robinson, 2007a).

Όσον αφορά τη σύνθεση, τα γιαούρτια κατηγοριοποιούνται σε γιαούρτια υψηλών λιπαρών από πλήρες γάλα (με περιεκτικότητα σε λιπαρά άνω του 3,5%), γιαούρτια μέτριων λιπαρών από ημιαποβουτυρωμένο γάλα (με περιεκτικότητα σε λιπαρά που κυμαίνεται από 0,5 έως 2%) και γιαούρτια χαμηλών λιπαρών από αποβουτυρωμένο γάλα (με περιεκτικότητα σε λιπαρά μικρότερη από 0,5%).

Με βάση τη διαδικασία παρασκευής, τα προϊόντα γιαουρτιού ταξινομούνται ως τύπου σετ ή αναμεμιγμένα. Τα τύπου σετ γιαούρτια ζυμώνονται μέσα στο δοχείο λιανικής πώλησης, με αποτέλεσμα ένα συνεχές ημιστερεό πήγμα. Τα αναμεμιγμένα γιαούρτια, αντιθέτως, δεν αφήνονται να σχηματίσουν μία ισχυρή δομή πήγματος, το μίγμα διαταράσσεται μετά το πέρας της ζύμωσης πριν τη συσκευασία, με αποτέλεσμα την εμφάνιση μίας κρεμώδους υφής (de Oliveira, 2014).

Τελευταία, αλλά όχι λιγότερο σημαντική, είναι η διαφοροποίηση των προϊόντων γιαουρτιού ανάλογα με την περαιτέρω επεξεργασία που πραγματοποιείται μετά την ζύμωση. Διαδικασίες όπως η ξήρανση, η κατάψυξη ή η πρόσθετη παστερίωση έχουν εφαρμοστεί στην παραγωγή γιαουρτιού, με αποτέλεσμα το σχηματισμό προϊόντων όπως κατεψυγμένο γιαούρτι, σκόνη γιαουρτιού και UHT ή παστεριωμένο γιαούρτι. Το κατεψυγμένο γιαούρτι είναι ένα προϊόν παρόμοιο με το παγωτό, όσον αφορά στην υφή, ενώ διατηρεί τη χημική σύνθεση και τα χαρακτηριστικά της γεύσης του γιαουρτιού. Η διαδικασία παρασκευής είναι ίδια με του συμβατικού γιαουρτιού, με την προσθήκη μόνο της διαδικασίας κατάψυξης. Το γιαούρτι σε μορφή σκόνης, γνωστό και ως αφυδατωμένο γιαούρτι, παρασκευάζεται εφαρμόζοντας στο γιαούρτι κάποια διαδικασία ξήρανσης, όπως υπό κατάψυξη, με ψεκασμό ή με θέρμανση, οπότε αφαιρείται το νερό που είναι παγιδευμένο στη μήτρα καζεΐνης, ενώ προκαλείται απώλεια αρκετών συστατικών γεύσης. Η παρασκευή γιαουρτιού από γάλα που έχει υποστεί υπερυψηλή θερμική κατεργασία συνεπάγεται την πρόσθετη θέρμανση του πήγματος του γιαουρτιού

Κεφάλαιο 2 Γιαούρτι

μετά το σχηματισμό του, με αποτέλεσμα να θανατώνονται οι μικροοργανισμοί μαζί με την καλλιέργεια εκκίνησης, επιπλέον να μειώνεται η συγκέντρωση αρκετών γευστικών συστατικών του γιαουρτιού (de Oliveira, 2014).

Παρόλο που δεν υπακούν πλήρως στον ορισμό του γιαουρτιού, αξίζει να αναφερθούν ορισμένα γαλακτοκομικά προϊόντα που έχουν υποστεί ζύμωση και περιλαμβάνουν άλλα μικροβιακά στελέχη. Αυτά τα προϊόντα είναι γνωστά ως προβιοτικά, προϊόντα που περιέχουν προβιοτικούς μικροοργανισμούς. Μία άλλη κατηγορία γιαουρτιών είναι τα προβιοτικά από γαλακτοκομικά προϊόντα που έχουν υποστεί ζύμωση και περιλαμβάνουν άλλα μικροβιακά στελέχη. Οι προβιοτικοί μικροοργανισμοί ορίζονται ως ζωντανοί μικροοργανισμοί, οι οποίοι κατά την πρόσληψη ωφελούν την υγεία του ξενιστή μέσω επίδρασης στην εντερική μικροχλωρίδα. Τα προϊόντα για να επισημανθούν ως προβιοτικά πρέπει να έχουν 10^7 - 10^8 CFU/g ή mL. Τα πιο κοινά προβιοτικά βακτήρια είναι τα στελέχη και τα είδη των *Lactobacilli*, *Bifidobacteria*, *Enterococci* και *Lactococci*. Τα είδη που έχουν μελετηθεί πιο πολύ είναι: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus helveticus*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium lactis*, *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* και *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum* και *Bifidobacterium bifidus*. Αυτά τα είδη έχει αποδειχθεί ότι προσφέρουν οφέλη στην υγεία του ανθρώπου και βελτιώνουν τις λειτουργίες του γαστρεντερικού συστήματος και της πέψης. Επίσης, τα τελευταία 20 χρόνια προβιοτικά ζυμωμένα γαλακτοκομικά προϊόντα είναι διαθέσιμα στη λιανική αγορά, με υψηλή αποδοχή από τους καταναλωτές (Vasiljevic, 2021).

2.4 Παραγωγική διαδικασία γιαουρτιού

Η διαδικασία παρασκευής του γιαουρτιού ξεκινά από την άμελη και ολοκληρώνεται με τη συσκευασία και τη διανομή ή αποθήκευση του τελικού προϊόντος (Tamime & Robinson, 2007a). Στην Εικόνα 2.1 παρουσιάζεται όλο το διάγραμμα ροής της παραγωγικής διαδικασίας του γιαουρτιού. Σε όλη τη διάρκεια της εν λόγω διαδικασίας το γάλα διέρχεται από αρκετές επιμέρους βιοφυσικοχημικές διεργασίες, ώστε να επέλθουν οι φυσικοχημικές αλλαγές και να επιτευχθούν τα επιθυμητά χαρακτηριστικά του τελικού προϊόντος. Επιγραμματικά, οι διεργασίες που συμπεριλαμβάνονται στην παραγωγική διαδικασία του γιαουρτιού αφορούν την προκατεργασία του γάλακτος αμέσως μετά την άμελη, την τυποποίηση των λιπαρών και στερεών εκτός του λίπους (ΣΥΑΛ-Στερεά Άνευ Λίπους) του γάλακτος, την ομογενοποίηση του γάλακτος, τη θερμική επεξεργασία, τον εμβολιασμό με την καλλιέργεια εκκίνησης, την ζύμωση, τη συσκευασία και τέλος την αποθήκευση υπό ψύξη. Η σημαντικότερη παράμετρος σε όλη τη διαδικασία παρασκευής είναι η θερμοκρασία, λόγω της επίδρασής

Κεφάλαιο 2 Γιαούρτι

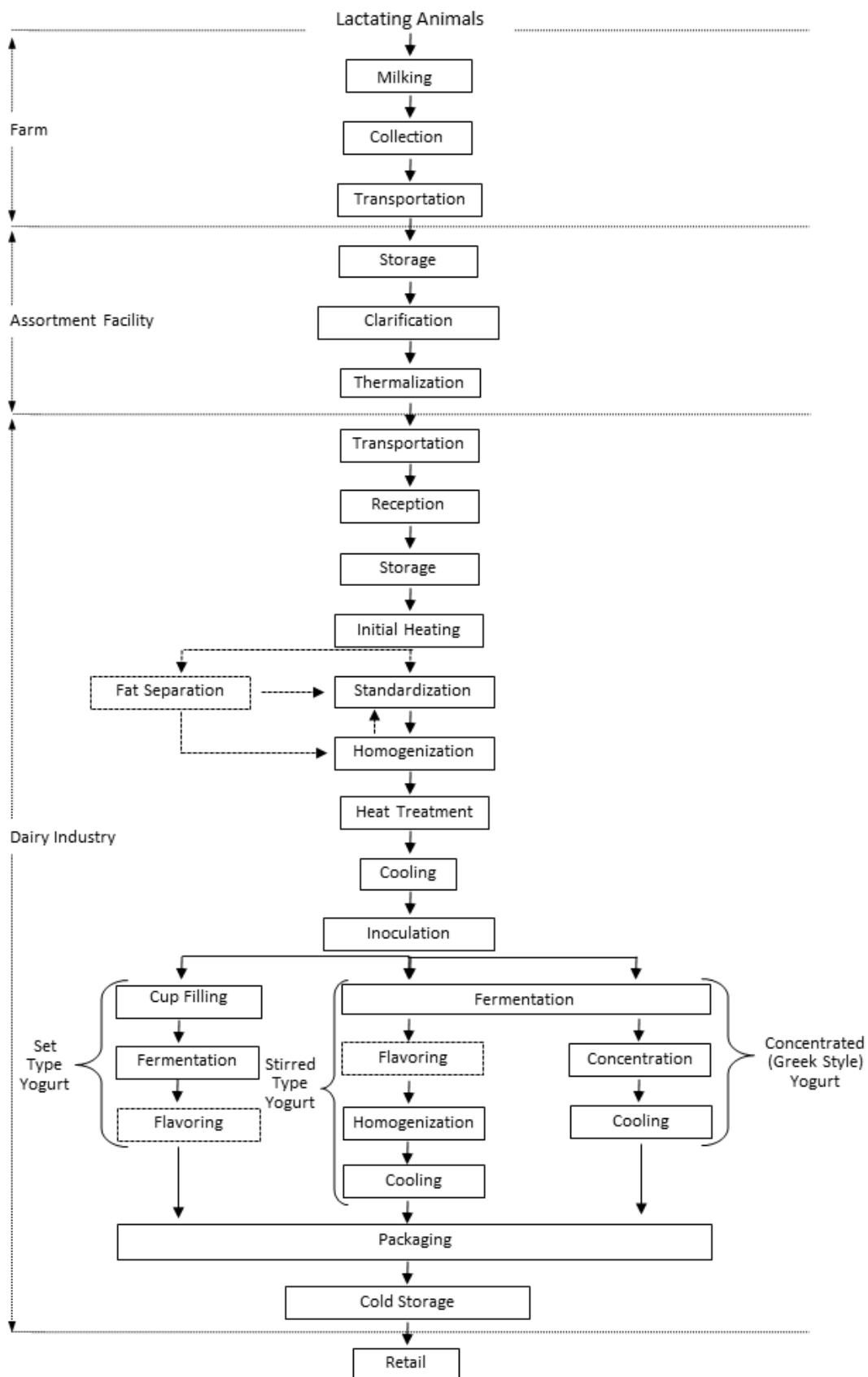
της στο ίδιο το γάλα, τη μικροβιακή χλωρίδα και την ανάπτυξη της οξυγαλακτικής καλλιέργειας κατά την ζύμωση (Panagiotis Sfakianakis & Tzia, 2014; Walstra et al., 2005).

2.4.1 Αρχική επεξεργασία του γάλακτος

Το γάλα είναι επιρρεπές σε μολύνσεις, ιδιαίτερα κατά τη διάρκεια και αμέσως μετά την έκκρισή του από τους μαστικούς αδένες και μπορεί να μολυνθεί από το εσωτερικό του μαστού, το εξωτερικό του μαστού κατά την άμελη και τον εξοπλισμό αποθήκευσης.

Οι διάφορες μολύνσεις στο νεοσύστατο γάλα είναι σωματικά κύτταρα του θηλαστικού, σκόνη, τρίχες και άλλες στερεές ακαθαρσίες από το περιβάλλον, αντιβιοτικά καθώς και μικροοργανισμοί (Shah, 2003). Οι μικροοργανισμοί που έχουν εντοπιστεί στο νωπό γάλα είναι κυρίως παθογόνα, ειδικότερα Gram θετικά βακτήρια (*Bacillus cereus*, *Bacillus anthracis* και *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pyogenes*, *Listeria monocytogenes*, *Mycobacterium tuberculosis* κ.α.), Gram αρνητικά βακτήρια (*Escherichia coli*, *Salmonella*, *Y. enterocolitica*, *Campylobacter jejuni*, *Aeromonas hydrophila*, κ.α.), πρωτεοβακτήρια (*Coxiella burnetii*), ιοί (εντεροϊοί, ιός αφθώδους πυρετού και άλλοι), μύκητες και πρωτόζωα (*Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia* και *Toxoplasma gondii*) (Corrieu & Béal, 2015; Narvhus & Abrahamsen, 2022).

Οι στερεές προσμίξεις απομακρύνονται μέσω φυγοκέντρησης ή διήθησης. Τα ένζυμα απενεργοποιούνται με ήπια θερμική επεξεργασία, γνωστή ως θέρμιση, σε θερμοκρασία 60-69 °C για 20-30 s και μετέπειτα ψύξη σε θερμοκρασία μικρότερη από 5 °C ή με εμβολιασμό με βακτήρια της φυσικής μικροχλωρίδας του γάλακτος (Panagiotis Sfakianakis & Tzia, 2014; Tamime & Robinson, 2007a). Τα ελεύθερα λιπαρά οξέα στο γάλα σχηματίζονται στο μαστό των θηλαστικών, με υδρόλυση των τριγλυκεριδίων από τη λιπάση των λιποπρωτεϊνών. Ωστόσο, αυτή η αντίδραση μπορεί να συνεχιστεί μετά την άμελη και να αυξηθεί περαιτέρω η συγκέντρωση των λιπαρών οξέων, οδηγώντας έτσι σε ταγγισμένη γεύση. Η θέρμανση αναστέλλει τη δραστηριότητα της λιπάσης και κατά συνέπεια την περαιτέρω αύξηση των λιπαρών οξέων. Εκτός από τις διαδικασίες μετά την άμελη, η ποιότητα και η ασφάλεια του γάλακτος εξαρτάται από την υγεία των θηλαστικών, τις ζωτροφές που αυτά καταναλώνουν, τις συνθήκες αρμέγματος, την ποιότητα και την υγιεινή του εξοπλισμού αρμέγματος και τις ορθές πρακτικές χειρισμού στη συνολική διαδικασία (Martin et al., 2023; Walstra et al., 2005)



Εικόνα 2.1: Διάγραμμα ροής παραγωγικής διαδικασίας γιαουρτιού

Κεφάλαιο 2 Γιαούρτι

2.4.2 Τυποποίηση των λιπαρών και του ΣΥΑΛ (στερεών μη λιπαρών) του γάλακτος

Καθώς η σύσταση του γάλακτος ποικίλει, όπως έχει αναφερθεί ανάλογα με τη διατροφή και το είδος του γαλακτοφόρου ζώου ή την εποχή του έτους, η μαζική παραγωγή γιαουρτιού και η διάθεσή του στο εμπόριο έχει οδηγήσει στη σύσταση κανονισμών και επιταγών ποιότητας που επιβάλλουν συγκεκριμένη σύνθεση στο γάλα που θα οδηγήσει στην παραγωγή αντίστοιχου τυποποιημένου προϊόντος γιαουρτιού. Ακόμη, η σταθερή σύσταση του γάλακτος οδηγεί σε τελικό προϊόν γιαουρτιού με συγκεκριμένα φυσικοχημικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, σε συμφωνία με τις αντίστοιχες επιταγές ποιότητας. Κατά συνέπεια, η συγκέντρωση λιπαρών και λοιπών ΣΥΑΛ του γάλακτος δεν πρέπει να παρουσιάζουν σημαντική διακύμανση. Συγκεκριμένα τα λιπαρά του πλήρους γάλακτος πρέπει να κυμαίνονται μεταξύ 3,2 και 4,2% w/w, 0,5% για το αποβουτυρωμένο γάλα, και 2% για το ημιαποβουτυρωμένο γάλα (O. McCarthy, 2011; Tamime & Robinson, 2007a). Τα ποσοστά αυτά οδηγούν στην παραγωγή γιαουρτιών με περιεκτικότητα σε λιπαρές ουσίες 0,1 έως 10%. Η περιεκτικότητα του γάλακτος σε ΣΥΑΛ ποικίλει από 11% έως 14% του συνολικού βάρους του γάλακτος, οδηγώντας σε προϊόν γιαουρτιού με περιεκτικότητα ΣΥΑΛ μεταξύ 9% και 16% (Panagiotis Sfakianakis & Tzia, 2014). Τα επιθυμητά ποσοστά περιεκτικότητας σε λίπος και ΣΥΑΛ στο γάλα επιτυγχάνονται είτε με την προσθήκη λιπαρών γάλακτος σε αποβουτυρωμένο γάλα, είτε γάλακτος, είτε με διαχωρισμό του λιπαρού από το γάλα με φυγοκέντρηση και κατόπιν ανάμιξη του λιπαρού με αποβουτυρωμένο γάλα στην επιθυμητή αναλογία (Thiebaud et al., 2003). Ο κύριος λόγος για την εφαρμογή της τυποποίησης στην παρασκευή γιαουρτιού είναι το γεγονός ότι η περιεκτικότητα σε λίπος και ΣΥΑΛ έχει σημαντική επίδραση στη διαδικασία ζύμωσης, στην υφή και στο ιξώδες του τελικού προϊόντος. Συγκεκριμένα, η υψηλή περιεκτικότητα σε λίπος και πρωτεΐνη γάλακτος οδηγεί σε γιαούρτι με υψηλό ιξώδες και χαρακτηριστικά υψηλής υφής, εκτός του ότι έχει επίδραση στη διαδικασία ζύμωσης του γάλακτος, το μέγιστο ρυθμό μείωσης του pH και τη διάρκεια της λανθάνουσας φάσης της ζύμωσης (Corrieu & Béal, 2015; Tamime & Robinson, 2007a).

Η επιλογή οποιασδήποτε μεθόδου τυποποίησης πρέπει να γίνεται με βάση το κόστος, τη διαθεσιμότητα των υλικών, την κλίμακα παραγωγής και τον εξοπλισμό. Επίσης ενδέχεται να υπάρξουν κάποια/ορισμένα ανεπιθύμητα αποτελέσματα, π.χ. κατά την προσθήκη σκόνης γάλακτος (πλήρους ή χωρίς λιπαρά) όπου πέρα από ένα ορισμένο επίπεδο μπορεί να οδηγήσει σε κομμώδη υφή στο γιαούρτι. Οι πιο διαδεδομένες μέθοδοι τυποποίησης λιπαρών και ΣΥΑΛ είναι με συμπύκνωση με βρασμό και η προσθήκη σκόνης γάλακτος και συμπυκνωμάτων πρωτεϊνών γάλακτος.

Η συμπύκνωση με βρασμό είναι η παραδοσιακή μέθοδος κατά την οποία το γάλα θερμαίνεται μέχρι να μειωθεί ο όγκος του στα 2/3 του αρχικού και έτσι, καθώς μειώνεται ο όγκος, αυξάνεται η

Κεφάλαιο 2 Γιαούρτι

συγκέντρωση των πρωτεϊνών του γάλακτος. Η θέρμανση, ωστόσο, προκαλεί και άλλες φυσικοχημικές αλλαγές. Ο βαθμός συμπύκνωσης που επιτυγχάνεται με τη διαδικασία δεν μπορεί να υπολογιστεί με ακρίβεια, αλλά, εάν παραδείγματος χάριν, το ποσοστό στερεών είναι 13 g/100 g γάλακτος, με το βρασμό θα αυξηθεί σε περίπου 19–20g/100 g γάλακτος. Η συγκεκριμένη μέθοδος ενίσχυσης των στερεών του γάλακτος χρησιμοποιείται σε μικρή κλίμακα παραγωγής σε βιοτεχνικό ή οικιακό επίπεδο (Tamime & Robinson, 2007a).

Η προσθήκη σκόνης γάλακτος (από πλήρες ή αποβουτυρωμένο) χρησιμοποιείται ευρέως στη βιομηχανία για να ενισχύσει το γάλα, ώστε το παραγόμενο γιαούρτι να έχει καλύτερη υφή. Το ποσοστό προσθήκης στο μίγμα γιαουρτιού μπορεί να κυμανθεί από 1-6% w/w, ενώ προσθήκη μεγαλύτερου ποσοστού σκόνης μπορεί να οδηγήσει σε κομμώδη υφή στο προϊόν (Horne, 1999). Σε μερικές αναπτυσσόμενες χώρες, το γιαούρτι παράγεται αποκλειστικά χρησιμοποιώντας σκόνη αποβουτυρωμένου γάλακτος και άνυδρα λιπαρά γάλακτος. Ο λόγος είναι ότι η σκόνη πλήρους γάλακτος προκαλεί οξειδωμένη γεύση στο γιαούρτι. Να σημειωθεί ότι η ενίσχυση του γάλακτος με σκόνη αποβουτυρωμένου γάλακτος εξαλείφει τις αυξομειώσεις που παρουσιάζει το γάλα στην περιεκτικότητα πρωτεϊνών (Barrantes et al., 1996; Fox, 2003).

Για τη σκόνη γάλακτος (SMP: skim milk powder) έχουν σημασία οι προδιαγραφές, καθώς μπορεί να επηρεάσουν την ποιότητα του τελικού προϊόντος. Γενικώς, η σκόνη γάλακτος πρέπει να είναι απαλλαγμένη από οποιαδήποτε στοιχεία που αναστέλλουν την πήξη, όπως και απαλλαγμένη από μικροβιακό φορτίο. Ακόμη, ορισμένες απαιτήσεις για τη σκόνη SMP, η οποία χρησιμοποιείται για την ενίσχυση του γάλακτος σύμφωνα με τον Wilcek (1990), αφορούν τον δείκτη αζώτου πρωτεΐνης ορού γάλακτος (4,5–5,9), τον αριθμό κυστεΐνης (38–48) και τον αριθμό θειόλης, (7,5–9,4). Αυτές οι προδιαγραφές εξασφαλίζουν ότι η ενίσχυση του γάλακτος με σκόνη γάλακτος θα οδηγήσει σε βελτίωση του τελικού προϊόντος γιαουρτιού και δεν θα δυσχεράνει τη διεργασία της ζύμωσης (Fuquay et al., n.d.; Tamime & Robinson, 2007a).

Η προσθήκη υπερσυμπυκνώματος πρωτεΐνης ορού γάλακτος (whey protein isolate) αξιοποιήθηκε σε τρόφιμα και γαλακτοκομικά προϊόντα μετά το 1970. Το συνιστώμενο επίπεδο προσθήκης πρωτεΐνης ορού γάλακτος στο μίγμα γιαουρτιού είναι περίπου 1–2% w/w, δεδομένου ότι μεγαλύτερα ποσοστά θα προσδώσουν στο γιαούρτι γεύση ορού. Η πρωτεΐνη ορού γάλακτος παρουσιάζει πολύ καλή σταθερότητα στις εναλλαγές θερμότητας που συμβαίνουν κατά την παρασκευή του γιαουρτιού. Η επιπλέον πρωτεΐνη ορού στο μίγμα γάλακτος έχει θετικές επιδράσεις στο παραγόμενο γιαούρτι και συγκεκριμένα, οδηγεί σε αύξηση της παραγόμενης ακεταλδεΐδης, αυξημένο ιξώδες,

Κεφάλαιο 2 Γιαούρτι

μειωμένη εμφάνιση συναίρεσης και βελτίωση των οργανοληπτικών ιδιοτήτων (Fuquay et al., n.d.; Tamime & Robinson, 2007a).

2.4.3 Ομογενοποίηση

Όπως έχει προαναφερθεί, το γάλα είναι ένα τυπικό γαλάκτωμα νερού ελαίου σε νερό (o/w), με τα λιποσφαίρια (MFG: milk fat globule) να είναι η διεσπαρμένη φάση και η μεμβράνη των λιποσφαιρίων (MFGM: milk fat globule membrane) να δρα ως γαλακτωματοποιητής. Ωστόσο, το γάλα δεν είναι ένα σταθερό γαλάκτωμα και τείνει να διαχωρίζεται σε δύο φάσεις, με το λίπος να ανέρχεται στην επιφάνεια. Ο διαχωρισμός αυτός συμβαίνει, διότι τα λιποσφαίρια συγκρούονται μεταξύ τους και συσσωματώνονται (Wilbey, 2011). Για να αποφευχθεί το φαινόμενο διαχωρισμού των λιπαρών, το γάλα υφίσταται ομογενοποίηση, κατά τη διάρκεια της οποίας, τα λιποσφαίρια υποβάλλονται σε έντονες διατμητικές τάσεις και η μεμβράνη τους διαρρηγνύεται, απελευθερώνοντας τα εσωτερικά μόρια των τριγλυκεριδίων στον όγκο του γάλακτος. Στη συνέχεια τα μόρια πρωτεΐνης της διαρρηχθείσας μεμβράνης σχηματίζουν μία νέα μεμβράνη στη διεπιφάνεια λιπαρού και νερού (ορού), ενώ παράλληλα σχηματίζονται μικρότερα λιποσφαίρια με μεγαλύτερη αναλογία πρωτεϊνικών μορίων στη μεμβράνη τους. Πλην των μορίων της «παλαιάς/αρχικής» μεμβράνης, κατά τη διάρκεια του σχηματισμού της νέας αυτής μεμβράνης, απορροφώνται σε αυτήν πρωτεϊνικά μόρια, κυρίως καζεΐνες και από τον ορό του γάλακτος, προκειμένου να γαλακτωματοποιηθούν τα νεοεμφανιζόμενα σφαιρίδια, καθώς αυξάνεται η επιφάνεια του λίπους (Cano-Ruiz & Richter, 1997). Τα νέα λιποσφαίρια, λόγω του μικρότερου μεγέθους και της σύνθεσης της μεμβράνης τους, είναι δυσκολότερο να συσσωματωθούν και να διαχωριστούν από τον όγκο του γάλακτος, αυξάνοντας έτσι τη σταθερότητα του γάλακτος ως γαλάκτωμα (Riccio, 2004). Επιπλέον, η περίσσεια καζεϊνών στη MFGM, επιτρέπει τη συμμετοχή των λιποσφαιρίων στο καζεϊνικό πλέγμα του γιαουρτιού (Cho et al., 1999; Walstra et al., 2005).

Οι μέθοδοι ομογενοποίησης που χρησιμοποιούνται στην παραγωγική διαδικασία του γιαουρτιού είναι η εφαρμογή υψηλής πίεσης και η μικρορευστοποίηση. Επίσης έχουν προταθεί η ομογενοποίηση με χρήση υπερήχων, η ανάμιξη με υψηλή ταχύτητα, και η γαλακτωματοποίηση μέσα από μεμβράνες (Panagiotis Sfakianakis & Tzia, 2014).

Η διεργασία της ομογενοποίησης και τα φαινόμενα που συμβαίνουν στα συστατικά του γάλακτος έχουν σημαντική επίδραση στη διεργασία ζύμωσης γιαουρτιού και στην ποιότητα του παραγόμενου προϊόντος. Τα ομογενοποιημένα λιποσφαίρια, λόγω του μικρότερου μεγέθους τους και της πλουσιότερης μεμβράνης τους σε μόρια καζεϊνών, δρουν ως μεγάλα μικύλλια καζεΐνης. Έτσι, με την πτώση του pH κατά την ζύμωση, δημιουργούν δεσμούς με άλλα μόρια καζεϊνών και συμμετέχουν στο

Κεφάλαιο 2 Γιαούρτι

πρωτεϊνικό πλέγμα. Μακροσκοπικά, αυτό το φαινόμενο αυξάνει το ιξώδες του παραγόμενου γιαουρτιού, τη σκληρότητα και τη συνεκτικότητά του και βελτιώνει την αίσθηση στο στόμα (Tamime & Robinson, 2007c). Ακόμη, έχει αποδειχθεί ότι η επεξεργασία του γάλακτος με πίεση, ευνοεί την ανάπτυξη της οξυγαλακτικής καλλιέργειας και οδηγεί σε γιαούρτι με αυξημένο αριθμό ζωντανών βακτηρίων και κατά συνέπεια, σε αυξημένο ρυθμό οξίνισης και μικρότερους χρόνους ζύμωσης (Sert et al., 2023).

2.4.4 Θερμική επεξεργασία

Το επόμενο στάδιο της παρασκευής γιαουρτιού μετά την ομογενοποίηση είναι η θερμική επεξεργασία του τυποποιημένου σε λιπαρά και στερεά γάλακτος. Η θερμική επεξεργασία αποσκοπεί στη μείωση του μικροβιακού περιεχομένου του γάλακτος σε επίπεδα ασφαλή για τον καταναλωτή, αλλά και για την ανάπτυξη της οξυγαλακτικής καλλιέργειας, ενώ επιπλέον στην πρόκληση ορισμένων τροποποιήσεων στα πρωτεϊνικά μόρια που συμμετέχουν στο σχηματισμό του πλέγματος του πήγματος του γιαουρτιού (Chandan, 2007). Οι παθογόνοι μικροοργανισμοί που υπάρχουν στο νωπό γάλα είναι κυρίως οι *Mycobacterium tuberculosis*, *Coxiella burnetii*, *Staphylococcus aureus*, μερικά είδη *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* και *Campylobacter jejuni*. Ένα ασφαλές γαλακτοκομικό προϊόν είναι δυνατόν να παραχθεί, λόγω του ότι τα προαναφερθέντα παθογόνα είτε θανατώνονται με τη θερμική επεξεργασία του γάλακτος, είτε επειδή οι παθογόνοι μικροοργανισμοί που είναι ανθεκτικοί στη θέρμανση δεν αναπτύσσονται στο γάλα (π.χ. *Bacillus anthracis*), είτε επειδή υπερτερούν οι μη παθογόνοι μικροοργανισμοί του γάλακτος εις βάρος των παθογόνων (π.χ., *Clostridium perfringens*). Έτσι, προκαλείται αλλοίωση πριν η ποσότητά τους γίνει ικανή να προκαλέσει προβλήματα υγείας (π.χ. *Bacillus cereus*) (De et al., 2023; Panagiotis Sfakianakis & Tzia, 2014).

Εκτός από την επίδραση στο μικροβιακό φορτίο, η θερμική επεξεργασία προκαλεί επιπλέον αλλαγές στις φυσικοχημικές ιδιότητες του γάλακτος. Η έκθεση του γάλακτος σε υψηλή θερμοκρασία, προκαλεί εκπομπές CO₂ και O₂, ενώ παράλληλα αυξάνει τη συγκέντρωση αδιάλυτου κolloειδούς φωσφορικού ασβεστίου και μειώνει τη συγκέντρωση των κατιόντων ασβεστίου. Επιπλέον, προκαλεί ισομερίωση της λακτόζης και αντιδράσεις Maillard, με σημαντική επίδραση στο pH και στη γεύση του γάλακτος (Huppertz et al., 2003; Panagiotis Sfakianakis & Tzia, 2014). Οι πρωτεΐνες του γάλακτος, τόσο του ορού όσο και οι καζεΐνες υφίστανται σημαντικές αλλαγές κατά τη διάρκεια της θερμικής επεξεργασίας. Αυτές οι αλλαγές μπορούν να αξιοποιηθούν στην παρασκευή του γιαουρτιού για να ενισχυθεί η διαμόρφωση του πρωτεϊνικού πλέγματος, καθώς και για να βελτιωθούν η ρεολογία και τα χαρακτηριστικά υφής του προϊόντος αυτού (Chandan, 2007; Tamime & Robinson, 2007a). Οι καζεΐνες, αν και είναι αρκετά ευπαθή μόρια στη θέρμανση, δεν μετουσιώνονται σε θερμοκρασίες μικρότερες από 70

Κεφάλαιο 2 Γιαούρτι

°C, διότι βρίσκονται σε μορφή μικυλλίων που είναι αρκετά σταθερά και απαιτούν μεγάλη ποσότητα ενέργειας για να διαλυθούν (Horne, 2019). Αντίστοιχα, οι πρωτεΐνες ορού γάλακτος είναι αρκετά σταθερά μόρια και υπάρχουν σε διάλυση στον ορό. Πάνω από τους 80 °C μετουσιώνονται μερικώς, διαταράσσεται η τριτοταγής δομή τους και ξεδιπλώνεται η πεπτιδική τους αλυσίδα (Brew, 2011; Creamer et al., 2011; Xiong & Bansal, 2022), με αποτέλεσμα να εκτίθενται οι ομάδες θείου, επιτρέποντας έτσι την αλληλεπίδρασή τους με άλλα μόρια, και το σχηματισμό δισουλφιδικών δεσμών. Οι μετουσιωμένες πρωτεΐνες ορού γάλακτος μπορούν να συνδεθούν με άλλες πρωτεΐνες ορού γάλακτος ή καζεΐνες (κ- και α_{s1} - ως επί το πλείστον) και να ενσωματωθούν στη μεμβράνη των λιποσφαιρίων (De et al., 2023). Αυτή η αλληλεπίδραση μεταξύ πρωτεϊνών ορού γάλακτος και καζεϊνών, αυξάνει τις υδρόφιλες ιδιότητες της καζεΐνης, επιτρέποντας, συγχρόνως, στις πρωτεΐνες του ορού γάλακτος να συνεισφέρουν στο καζεϊνικό πλέγμα του γιαουρτιού και να ενδυναμώνουν το πήγμα του γιαουρτιού. Έτσι, το παραγόμενο γιαούρτι παρουσιάζει λιγότερη συναίρεση, αποκτά μεγαλύτερο ιξώδες, υψηλότερα χαρακτηριστικά υφής και γενικότερα πιο σταθερό πήγμα. Επομένως, η προκαλούμενη από τη θερμότητα μετουσίωση των πρωτεϊνών του ορού γάλακτος, με την επακόλουθη αλληλεπίδραση με τις καζεΐνες, είναι ευεργετική για την ανάπτυξη της υφής του γιαουρτιού και συνεπώς αξιοποιείται κατά την παραγωγική διαδικασία του γιαουρτιού (Gregersen et al., 2021b; Ion-Titariccolo et al., 2013).

Οι θερμικές επεξεργασίες που χρησιμοποιούνται στην επεξεργασία των γαλακτοκομικών προϊόντων και στην παρασκευή γιαουρτιού ποικίλουν. Το εύρος θερμοκρασίας και η διάρκεια της διαδικασίας διαφέρουν ανάλογα με το επιθυμητό αποτέλεσμα. Οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενες θερμικές επεξεργασίες που χρησιμοποιούνται στην παρασκευή γιαουρτιού είναι η χαμηλή και η υψηλή παστερίωση, η αποστείρωση και η υπερυψηλής θερμοκρασίας επεξεργασία (Ultra High Temperature - UHT) (Panagiotis Sfakianakis & Tzia, 2014).

Η χαμηλή παστερίωση είναι μία θερμική επεξεργασία, ελαφρώς πιο έντονη από το θέρμισμα και πιο αποτελεσματική, κατά τη διάρκεια της οποίας το γάλα θερμαίνεται στους 63-65 °C για 20 min ή στους 72-75 °C για 15-20 s (επίσης αναφέρεται ως HTST, High Temperature Short Time). Με αυτή τη διαδικασία, τα περισσότερα παθογόνα βακτήρια, οι ζύμες και οι μύκητες εξαλείφονται από το γάλα. Επιπλέον, με τη χαμηλή παστερίωση απενεργοποιούνται πολλά ένζυμα. Ωστόσο, η χαμηλή παστερίωση δεν προκαλεί μη αποδεκτά αρώματα στο γάλα, και ελάχιστη ή καθόλου μετουσίωση των πρωτεϊνών του ορού (Walstra et al., 2005).

Η παστερίωση σε υψηλή θερμοκρασία είναι μία έντονη θερμική επεξεργασία που πραγματοποιείται σε συνδυασμό θερμοκρασίας και χρόνου 85 °C για 20-30 min ή 90-95 °C για 5 min. Τα αποτελέσματα που έχει η παστερίωση υψηλής θερμοκρασίας στο γάλα είναι η εξάλειψη των

Κεφάλαιο 2 Γιαούρτι

περισσότερων μικροοργανισμών εκτός των σπορίων τους. Επίσης, σε αυτές τις θερμοκρασίες τα περισσότερα ένζυμα, που περιέχονται στο γάλα, απενεργοποιούνται με εξαίρεση την πρωτεΐνάση του γάλακτος, την πλασμίνη, και μερικές βακτηριακές πρωτεΐνάσες και λιπάσες. Τα επιπλέον συστατικά του γάλακτος που επηρεάζονται είναι οι πρωτεΐνες του ορού γάλακτος, οι οποίες μετουσιώνονται, και μερικά λιπίδια του γάλακτος, τα οποία οξειδώνονται και στη συνέχεια παράγονται κετόνες, αλδεΐδες και πολλά σουλφίδια που οδηγούν στην ανάπτυξη του "καμένου" αρώματος. Η θερμική επεξεργασία, τόσο η χαμηλή όσο και η υψηλή παστερίωση πραγματοποιείται σε σωληνοειδείς ή πλακοειδείς εναλλάκτες θερμότητας (H. Deeth & Lewis, 2017).

Η αποστείρωση είναι η πιο έντονη και αποτελεσματική θερμική επεξεργασία του γάλακτος. Το γάλα θερμαίνεται στους 110 °C για 30 min ή στους 130 °C για 40 s. Αυτή η επεξεργασία προκαλεί την πλήρη εξόντωση όλης της μικροβιακής χλωρίδας του γάλακτος, συμπεριλαμβανομένων των βακτηριακών σπορίων, καθώς και την απενεργοποίηση των περισσότερων ενζύμων του γάλακτος (εκτός από μερικές βακτηριακές λιπάσες). Επιπλέον, προκαλεί αντιδράσεις Maillard και ως εκ τούτου το χρώμα του γάλακτος σκουραίνει. Επίσης, κατά τη διάρκεια της αποστείρωσης, τα λιπίδια του γάλακτος οξειδώνονται, χωρίς όμως να προκαλείται άσχημη γεύση, επειδή τα πτητικά αρώματα σε αυτές τις θερμοκρασίες εξατμίζονται. Τέλος, η αποστείρωση προκαλεί υψηλό βαθμό μετουσίωσης και μη αναστρέψιμη βλάβη σε όλες τις πρωτεΐνες του γάλακτος, ακόμη και στις καζεΐνες. Η αποστείρωση πραγματοποιείται σε πλακοειδείς εναλλάκτες θερμότητας (έμμεσα) ή με άμεση έγχυση ατμού (H. Deeth & Lewis, 2017).

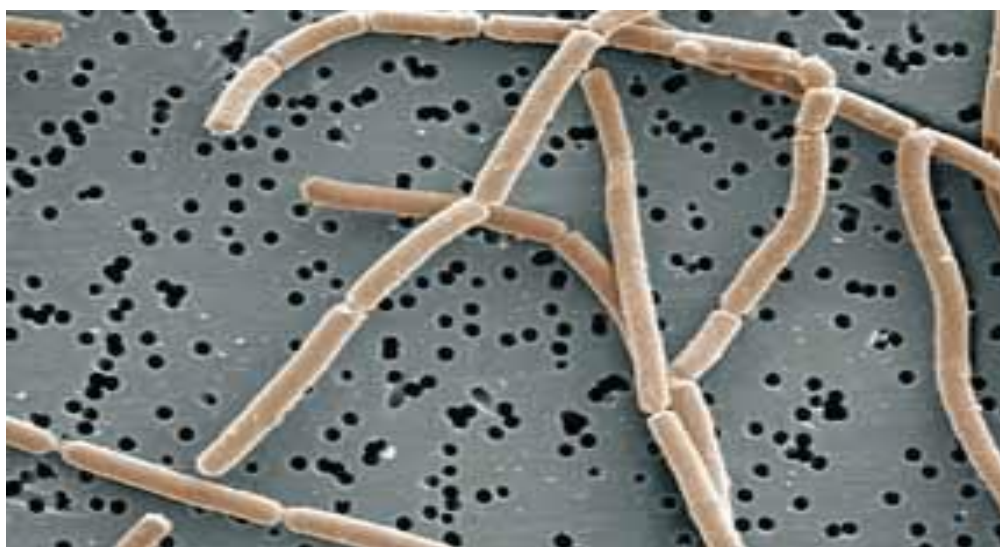
Η UHT είναι επίσης μία αποτελεσματική θερμική επεξεργασία, όσον αφορά τη μείωση του μικροβιακού περιεχομένου του γάλακτος, προκαλεί όμως σημαντικά μικρότερες βλάβες από την αποστείρωση. Η UHT επεξεργασία περιλαμβάνει τη θέρμανση του γάλακτος στους 145 °C για 1-2 s. Το 99% της μικροβιακής χλωρίδας του γάλακτος εξαλείφεται, ενώ μόνο μερικές πρωτεΐνες του ορού γάλακτος μετουσιώνονται (β-λακτογλοβουλίνη, αλβουμίνη ορού και μερικές ανοσοσφαιρίνες). Η UHT προκαλεί οξείδωση των λιπιδίων και εκπομπή πολλών πτητικών στο γάλα, όπως: 2-πεντανόνη, 2-επτανόνη, 2-εννεανόνη, 2-ενδεκανόνη, 2,6-διμεθυλπυραζίνη, 2-αιθυλπυραζίνη, πεντανοϊκό οξύ, βενζοθειαζόλη βανιλίνη, εξανάλη, βενζοθειαζόλη, δεκαλακτόνη, H₂S, μεθανοθειόλη, διμεθυλοσουλφίδιο και καρβοξυλοσουλφίδιο. Αυτά τα μόρια που περιέχουν θείο είναι υπεύθυνα για το "καμένο" άρωμα που αναπτύσσεται κατά τη διάρκεια της UHT επεξεργασίας και της υψηλής θερμοκρασίας παστερίωσης (Durand et al., 2003). Η UHT εκτελείται άμεσα, με έγχυση υπέρκορου ατμού στο γάλα, ή έμμεσα σε σωληνοειδείς ή πλακοειδείς εναλλάκτες θερμότητας, ή με συνδυασμό άμεσων και έμμεσων μεθόδων (H. Deeth & Lewis, 2017).

Κεφάλαιο 2 Γιαούρτι

Στη βιομηχανική παρασκευή γιαουρτιού και άλλων γαλακτοκομικών προϊόντων, η υψηλή παστερίωση είναι η πιο συχνά εφαρμοζόμενη θερμική επεξεργασία (H. C. Deeth, 2022b).

2.4.5 Διαδικασία ζύμωσης

Το πιο σημαντικό στάδιο της παρασκευής γιαουρτιού είναι η διαδικασία ζύμωσης. Κατά τη διάρκεια αυτού του σταδίου, συμβαίνουν αρκετές βιοφυσικοχημικές αντιδράσεις που οδηγούν στο σχηματισμό του πηγματος και στην ανάπτυξη του σχετικού αρώματος και της γνωστής υφής (Tamime, Robison, 2007). Ο κύριος παράγοντας στη διαδικασία ζύμωσης είναι η καλλιέργεια εκκίνησης, καθώς τα βακτηριακά στελέχη που δρουν καθορίζουν ολόκληρη τη διαδικασία, τις συνθήκες υπό τις οποίες λαμβάνει χώρα η διαδικασία καθώς και το τελικό αποτέλεσμα. Τα είδη που εμπλέκονται στην ζύμωση γάλακτος είναι αρκετά όπως *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus jugurti*, *Lactobacillus helveticus*, *Bidobacterium animalis ssp. Lactis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium bifidus* και *Bifidobacterium infantis*, *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus*. Ωστόσο, προκειμένου να φέρει ένα προϊόν γάλακτος που έχει υποστεί ζύμωση την ονομασία «γιαούρτι», οι διεθνείς και κρατικές νομοθεσίες επιτάσσουν ότι θα πρέπει να περιέχει τα δύο βακτηριακά στελέχη του *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* (ST) και *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* (LB) ζωντανά και σε αφθονία (Εικόνα 2.2). Το ST είναι το μοναδικό είδος του γένους στρεπτόκοκκου που χρησιμοποιείται σε καλλιέργειες γαλακτομικών προϊόντων (Uriot et al., 2017).



Εικόνα 2.2: Βακτήρια *Streptococcus salivarius subsp. Thermophilus* (χρωματισμένα μαύρα) και *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus* (χρωματισμένα καφέ)

Κεφάλαιο 2 Γιαούρτι

Το ST είναι Gram θετικό βακτηριακό στέλεχος με βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης στους 35-53 °C, ταξινομούμενο ως θερμόφιλο. Τα κύτταρα ST αλλάζουν τη μορφολογία τους σε όλη τη διάρκεια της ζωής τους - στο πρώιμο στάδιο της ζωής τους είναι σφαιρικά και σχηματίζουν αλυσίδες, ενώ, καθώς ωριμάζουν, αποκτούν μορφολογία που μοιάζει με ράβδο και σχηματίζουν αποικίες. Το LB είναι θετικό κατά Gram αναερόβιο βακτήριο με βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης στους 40-44 °C και επιπλέον, μπορεί να παράγει πολύ υψηλές ποσότητες γαλακτικού οξέος μεταβολίζοντας τη λακτόζη. Η μεταβολική οδός αμφότερων των LB και ST οδηγεί στη μείωση της λακτόζης στο γάλα και στην αύξηση του γαλακτικού οξέος, κατά συνέπεια στη μείωση του pH του γάλακτος (Walstra et al., 2005). Η παρουσία του LB στο γάλα διευκολύνει την ανάπτυξη του ST και αντιστρόφως, συνεπώς η συνδυασμένη δράση αμφοτέρων των στελεχών οδηγεί σε υψηλότερο ρυθμό μεταβολισμού λακτόζης και παραγωγής γαλακτικού οξέος, σε σύγκριση με το αν κάθε στέλεχος ενεργούσε ξεχωριστά. Η συνέργεια αυτών των ειδών βασίζεται σε πολλά χαρακτηριστικά που κάθε είδος έχει, και ενισχύει την ανάπτυξη του άλλου. Συγκεκριμένα, το ST είναι περισσότερο «αερόβιο» από το LB, στερείται καλής πρωτεολυτικής ικανότητας σε σύγκριση με το LB, αλλά έχει μεγαλύτερη δραστικότητα πεπτιδάσης. Όταν αναπτύσσονται μαζί στο γάλα, το ST αναπτύσσεται έντονα αρχικά, ενώ το LB αναπτύσσεται αργά. Το ST, λόγω της μεγάλης πρωτεολυτικής δράσης του, δημιουργεί μία αφθονία πεπτιδίων για την τόνωση της ανάπτυξης του LB. Η βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης για τη συμβιωτική καλλιέργεια ST και LB είναι 45 °C (Corrieu & Béal, 2015; Uriot et al., 2017).

Το στάδιο ζύμωσης κατά την παρασκευή γιαουρτιού αρχίζει με τον εμβολιασμό του γάλακτος με τη συμβιωτική καλλιέργεια εκκίνησης. Το μίγμα εμβολιασμού περιέχει 10^6 - 10^8 CFU βακτηρίων. Η θερμοκρασία του γάλακτος κατά τον εμβολιασμό και κατά τη διάρκεια της διαδικασίας ζύμωσης είναι 45 °C. Κατά την ζύμωση 1 mol λακτόζης οδηγεί στην παραγωγή 1 mol γαλακτόζης και 2 mol γαλακτικού οξέος, και επιπλέον ενδοκυτταρική ενέργεια με τη μορφή 2 mol ATP. Η μεταβολική οδός της γλυκόλυσης της λακτόζης προς γαλακτικό οξύ ξεκινά με το μόριο λακτόζης που εισέρχεται στο κύτταρο με τη βοήθεια ενός ενζύμου, της γαλακτικής περμεάσης. Στη συνέχεια, το μόριο της λακτόζης υδρολύεται σε γλυκόζη και γαλακτόζη από το ένζυμο α -γαλακτοζιδάση. Το ST παράγει σημαντικά επίπεδα λακτάσης, που καταλύει την υδρόλυση της λακτόζης σε γλυκόζη και γαλακτόζη. Η γλυκόζη καταβολίζεται σε πυροσταφυλικό οξύ μέσω της γλυκολυτικής οδού και η γαλακτόζη αποβάλλεται από το κύτταρο. Στη συνέχεια το πυροσταφυλικό οξύ, με τη δράση της γαλακτικής αφυδρογονάσης, ανάγεται σε γαλακτικό οξύ. Κάθε μικροοργανισμός συνθέτει διαφορετικά ισομερή γαλακτικού οξέος, το ST παράγει L(+) γαλακτικό οξύ και το LB γαλακτικό οξύ D (-). Στη συνέχεια, το ενδοκυτταρικό γαλακτικό απεκκρίνεται από το κύτταρο και προκαλεί οξίνιση του εξωκυτταρικού περιβάλλοντος. Στο αρχικό στάδιο της διαδικασίας

Κεφάλαιο 2 Γιαούρτι

ζύμωσης, μόνο τα κύτταρα του ST είναι σε ισχύ και καθώς τα ST αναπτύσσονται, λόγω της μεγάλης πρωτεολυτικής δράσης τους, δημιουργούν μία αφθονία πεπτιδίων που διεγείρουν την ανάπτυξη του LB. Μέσω συντονισμένων αλληλεπιδράσεων και τα δύο βακτήρια επιταχύνουν την ζύμωση, την οποία κανένα από αυτά δεν θα μπορούσε να επιτύχει μεμονωμένα. Όταν το pH του γιαουρτιού προσεγγίζει το 5,0, η δραστηριότητα του ST υποχωρεί και το LB σταδιακά κυριαρχεί στη συνολική διαδικασία ζύμωσης μέχρις ότου επιτευχθεί η τιμή-στόχος του pH (4,8 έως 4,5), οπότε παύει η διαδικασία ζύμωσης (Corrieu & Béal, 2015; Narvhus & Abrahamsen, 2022). Προκειμένου να εμποδιστεί η δράση της συμβιωτικής καλλιέργειας και να διακοπεί η διαδικασία ζύμωσης, η θερμοκρασία του συστήματος μειώνεται στους 4 °C όπου η καλλιέργεια επιβιώνει, αλλά η δραστηριότητά της μειώνεται δραστικά.

Άλλα βακτηριακά είδη, που εμπλέκονται στην ζύμωση του γάλακτος, μπορούν να ακολουθήσουν διαφορετικές μεταβολικές οδούς για να παράγουν ενδοκυτταρική ενέργεια και γαλακτικό οξύ. Συγκεκριμένα, άλλοι λακτοβάκιλοι (*Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus casei* και *Lactobacillus paracasei*) παράγουν 1 mol γαλακτικού οξέος, αιθανόλης, CO₂ και ATP από 1 mol γλυκόζης, ενώ τα είδη *Bifidobacterium* συνθέτουν 3 mol οξικού οξέος και 2 mol L(+) γαλακτικού οξέος και ATP, χωρίς δημιουργία CO₂ από 2 mol γλυκόζης. Οι διαφορετικές μεταβολικές οδοί των διάφορων ειδών αλλάζει τα ποσοστά οξίνισης και κατά συνέπεια, τη γεύση και την υφή του τελικού προϊόντος (Frakolaki et al., 2021; Gopal, 2022).

Μετά τη διαδικασία ζύμωσης του γάλακτος από τα ST και LB, το όλο σύστημα έχει υποστεί δραστικές αλλαγές. Συγκεκριμένα, η λακτόζη, οι πρωτεΐνες γάλακτος και το μικροβιακό περιεχόμενο, καθώς και αρκετές ενώσεις άνθρακα, υφίστανται σημαντικές αλλαγές, ενώ παρατηρούνται μικρές αλλαγές σε βιταμίνες και μέταλλα. Η συγκέντρωση της λακτόζης μειώνεται κατά 30% και παράγεται διπλάσια ποσότητα γαλακτικού οξέος. Οι πρωτεΐνες (καζεΐνες και ορού γάλακτος), συνδέονται με δεσμούς και φτιάχνουν το πλέγμα του πηγματος. Λόγω της πρωτεόλυσης που προκαλείται από την οξυγαλακτική καλλιέργεια, τα αμινοξέα (κυρίως προλίνη και γλυκίνη) απελευθερώνονται στο γιαούρτι, ακόμη και κατά την αποθήκευσή του στους 4 °C (de Oliveira, 2014; Narvhus & Abrahamsen, 2022). Το μικροβιακό περιεχόμενο αυξάνεται από 10⁸ έως 10¹⁰ CFU/g. Η συγκέντρωση μερικών οργανικών μορίων, κυρίως καρβονυλικών ενώσεων αυξάνεται (γαλακτικό οξύ, ακεταλδεΐδη, διμεθυλοσουλφίδιο, 2,3-βουτανودیονη, 2,3-πεντανودیονη, 3-μεθυλο- τρισουλφίδιο, 1-νονεν-3-όνη, οξικό οξύ, μεθειονικό, (cis, cis)-εννενάλη, 2-μεθυλ τετραϋδροθειοφαιν-3-όνη, 2-φαινυλακεταλδεΐδη, 3-μεθυλβουτυρικό οξύ, καπροϊκό οξύ και βενζοθειοζόλη). Τα μόρια αυτά είναι υποπροϊόντα του μεταβολισμού της συμβιωτικής καλλιέργειας και συνεισφέρουν στο χαρακτηριστικό άρωμα του γιαουρτιού (Serra et al., 2009). Μεταξύ αυτών, η ακεταλδεΐδη είναι το κυρίαρχο μόριο που δίνει το ευχάριστο φρέσκο άρωμα στο γιαούρτι, η

Κεφάλαιο 2 Γιαούρτι

συγκέντρωση της οποίας στο προϊόν κυμαίνεται μεταξύ 5 και 40 mg/kg. Κατά τη διάρκεια της ζύμωσης, η ακεταλδεΐδη συντίθεται από πυροσταφυλικό οξύ με τη βοήθεια του ενζύμου πυροσταφυλικής αποκαρβοξυλάσης ή έμμεσα από το ακετυλο-συνένζυμο Α, μέσω της δράσης της πυροσταφυλικής αφυδρογονάσης και της αφυδρογονάσης της αλδεΐδης. Επιπλέον, το LB συνθέτει την ακεταλδεΐδη με μετατροπή της θρεονίνης σε ακεταλδεΐδη και γλυκίνη, με τη βοήθεια του ενζύμου υδροξυλο-μεθυλο τρανσφεράσης σερίνης (Shah, 2003). Η βιταμίνη Β αυξάνεται σε όλη τη διάρκεια της διαδικασίας ζύμωσης και αποθήκευσης. Τέλος, η ποσότητα των μετάλλων στο γιαούρτι παραμένει η ίδια με αυτή του γάλακτος, η μόνη αλλαγή είναι ότι, λόγω της μείωσης του pH, τα μέταλλα αυτά βρίσκονται σε ιοντική παρά σε κolloειδή μορφή (Corrieu & Béal, 2015; Riener et al., 2009a).

Η πιο σημαντική αλλαγή που υφίστανται οι πρωτεΐνες του γάλακτος κατά την ζύμωση είναι ο σχηματισμός του πρωτεϊνικού πλέγματος που σχηματίζει το πήγμα. Η μείωση του pH οδηγεί σε πήξη ως αποτέλεσμα της αποσταθεροποίησης των μικυλλίων καζεΐνης. Ο μηχανισμός βασίζεται σε δύο ταυτόχρονα φαινόμενα. Οι ομάδες καρβοξυλίου διαχωρίζονται, η φωσφορική σερίνη ιοντίζεται και το αρνητικό φορτίο μεταξύ των μικυλλίων της καζεΐνης αυξάνεται. Ταυτόχρονα, το κolloειδές σύμπλοκο του φωσφορικού ασβεστίου διαλυτοποιείται, πράγμα που έχει ως αποτέλεσμα να αποδυναμώνονται οι δυνάμεις που συγκρατούν τα μικύλλια. Κατά συνέπεια, οι δυνάμεις που κυριαρχούν είναι οι ελκτικές δυνάμεις μεταξύ των καζεϊνών, και τα μόρια καζεΐνης συσσωματώνονται σχηματίζοντας ένα δίκτυο μικρών αλυσίδων. Αυτή η συσσωμάτωση προκαλεί αύξηση του ιξώδους και, επαγωγικά, το σχηματισμό του πηγματος του γιαουρτιού. Η όλη διαδικασία σχηματισμού του πηγματος καθορίζεται από το pH. Μέχρι την τιμή pH 5,5 δεν συμβαίνει καμία αλλαγή, σε μικρότερες τιμές διασπώνται οι δεσμοί Ca-PO_4 και υπάρχει μία γραμμική σχέση των συγκεντρώσεων των ιόντων Ca^{2+} , Mg^{2+} , PO_4^{-3} και $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}(\text{COO})_3^-$. Όσο το pH μειώνεται κάτω από 5,2 τα μόρια της καζεΐνης σχηματίζουν δομές με κενά μεταξύ τους. Από την τιμή pH 4,8 και όσο προσεγγίζεται το ισοηλεκτρικό σημείο της καζεΐνης (4,6) σχηματίζεται το τρισδιάστατο δίκτυο από συστάδες και αλυσίδες καζεϊνών, μακροσκοπικά, και τελικά το πήγμα του γιαουρτιού (Cho et al., 1999; Gregersen et al., 2021a).

2.4.6 Μοντελοποίηση - πρόβλεψη εξέλιξης ζύμωσης

Η διαδικασία ζύμωσης του γάλακτος γιαουρτιού μπορεί να περιγραφεί επαρκώς με την εξέλιξη του pH και του ιξώδους σε σχέση με το χρόνο. Το μαθηματικό μοντέλο που εκφράζει την εξέλιξη του pH κατά τη διάρκεια της ζύμωσης είναι το τροποποιημένο μοντέλο Gompertz των de Brabandere και de Baerdemaeker (1999)

$$pH = pH_0 + (pH_0 - pH_\infty) - \left\{ -\exp \left[\frac{\mu_{pH} \cdot e}{(pH_0 - pH_\infty)} \cdot (\lambda_{pH} - t) + 1 \right] \right\}$$

pH_0, pH_∞ = αρχική και τελική τιμή pH, αντίστοιχα

μ_{pH} (min^{-1}) = μέγιστος ρυθμός πτώσης pH

λ_{pH} (min) = διάρκεια λανθάνουσας φάσης

Ο μ_{pH} είναι ο βασικός παράγοντας της διαδικασίας ζύμωσης και της διάρκειας αυτής. Επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες, όπως η σύνθεση και η δραστικότητα της οξυγαλακτικής καλλιέργειας, η προκαταρκτική επεξεργασία του γάλακτος και, το σημαντικότερο, η θερμοκρασία ζύμωσης. Ωστόσο, τα φαινόμενα πήξης που εμφανίζονται σε pH μικρότερο από 5,1, δημιουργούν διακυμάνσεις στη θερμοκρασία του μίγματος και στη συνέχεια μεταβάλλουν την τιμή του μ_{pH} με τελικό αποτέλεσμα η διάρκεια της διαδικασίας ζύμωσης να κυμαίνεται από 3 έως 8 h (De Brabandere & De Baerdemaeker, 1999).

Η παράμετρος λ_{pH} της εξίσωσης είναι επίσης ένας σημαντικός παράγοντας. Ουσιαστικά δείχνει την ικανότητα της οξυγαλακτικής καλλιέργειας να εγκλιματιστεί στο περιβάλλον του γάλακτος και να αρχίσει να αναπτύσσεται. Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, τον κύριο ρόλο παίζει το ST, επειδή είναι ο πρώτος μικροοργανισμός που εγκλιματίζεται στο σύστημα και ξεκινά τη διαδικασία ζύμωσης. Βασικός παράγοντας για το λ_{pH} είναι η θερμοκρασία ζύμωσης και η επεξεργασία που έχει υποστεί το γάλα πριν από την ζύμωση. Η επίδραση που έχει η θερμοκρασία ζύμωσης στο ST και στη συνέχεια στο λ_{pH} είναι ότι όσο πιο κοντά είναι η θερμοκρασία στη βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης, τόσο μικρότερη είναι η λ_{pH} . Η θερμική επεξεργασία του γάλακτος διευκολύνει την αλληλεπίδραση των κυττάρων του ST με τα απαραίτητα μόρια για την ανάπτυξή τους, επομένως όσο πιο κατάλληλη είναι η θερμική επεξεργασία, τόσο μικρότερη είναι η λ_{pH} (De Brabandere & De Baerdemaeker, 1999).

Επιπλέον, το μοντέλο που περιγράφει την εξέλιξη του ιζώδους κατά την ζύμωση είναι το τροποποιημένο μοντέλο Gompertz του Soukoulis et al. (2007).

$$\mu_\alpha = \mu_{\alpha 0} + (\mu_{\alpha 0} - \mu_{\alpha \infty}) - \left\{ -\exp \left[\frac{\mu_\nu \cdot e}{(\mu_{\alpha 0} - \mu_{\alpha \infty})} \cdot (\lambda_\nu - t) + 1 \right] \right\}$$

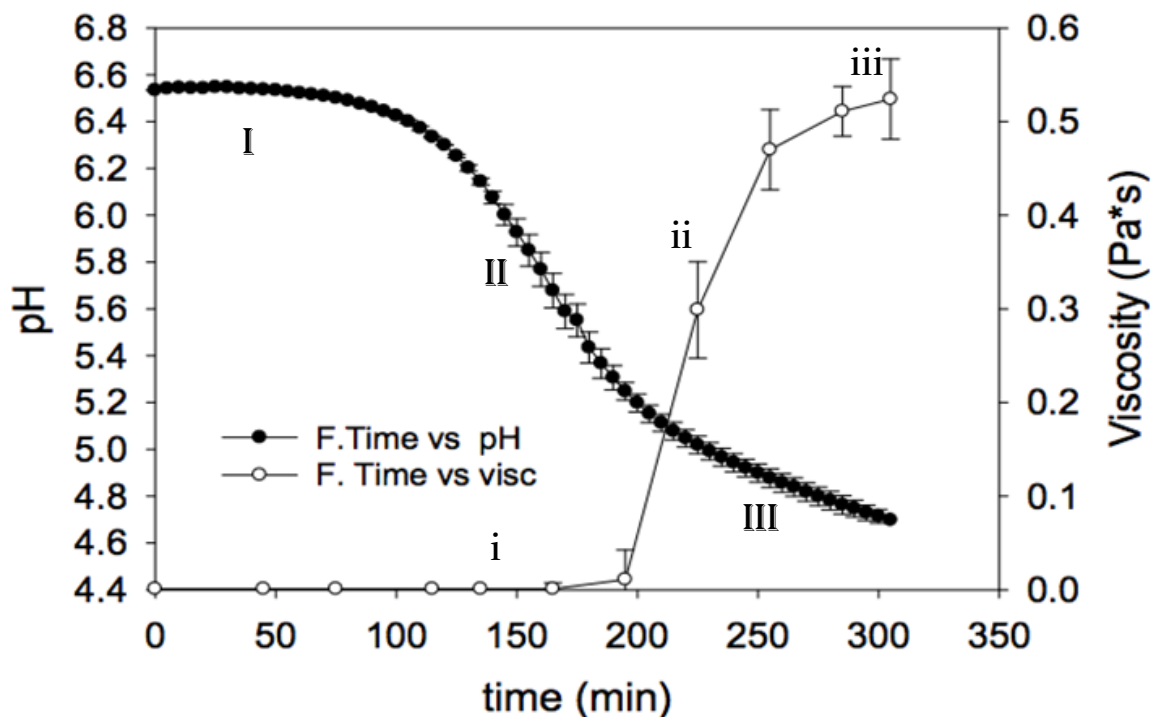
$\mu_{\alpha 0}, \mu_{\alpha \infty}$ (Pa·s) = αρχική και τελική τιμή ιζώδους αντίστοιχα

μ_ν (min^{-1}) = μέγιστος ρυθμός αύξησης ιζώδους

λ_ν (min) = διάρκεια λανθάνουσας φάσης ιζώδους

Κεφάλαιο 2 Γιαούρτι

Ένα τυπικό γράφημα της εξέλιξης του pH και του ιξώδους κατά τη διάρκεια της διαδικασίας ζύμωσης φαίνεται στην Εικόνα 2.3. Και οι δύο καμπύλες είναι σιγμοειδείς και στις περισσότερες περιπτώσεις οι εξισώσεις 1 και 2 προσαρμόζονται με μεγάλη ακρίβεια.



Εικόνα 2.3: Διάγραμμα pH-χρόνου και ιξώδες χρόνου κατά την ζύμωση γάλακτος προς γιαούρτι

Στην καμπύλη pH σε σχέση με το χρόνο ζύμωσης μπορούν να παρατηρηθούν 3 διακριτές περιοχές: η πρώτη περιοχή (I), από $t = 0$ έως το πρώτο σημείο καμπής, η δεύτερη περιοχή (II) μεταξύ των δύο σημείων καμπής και η τρίτη (III) από το δεύτερο σημείο καμπής έως το τέλος της καμπύλης. Η πρώτη περιοχή του διαγράμματος τελειώνει, όταν ο χρόνος ζύμωσης φτάσει σε χρόνο ίσο με λ_{pH} . Κατά τη διάρκεια της περιοχής (I) του διαγράμματος, δρα κυρίως το ST, η οξυγαλακτική καλλιέργεια εγκλιματίζεται στο περιβάλλον του γάλακτος και ο ρυθμός μείωσης του pH είναι χαμηλός. Η δεύτερη περιοχή (II) του γραφήματος του pH σε σχέση με το χρόνο, δηλώνει το χρόνο της ζύμωσης, ότι δηλαδή και τα δύο βακτηριακά στελέχη βρίσκονται στο μέγιστο της ανάπτυξής τους και της παραγωγής γαλακτικού οξέος. Κατά το διάστημα αυτό, ο ρυθμός μείωσης του pH είναι ίσος με μ_{pH} . Μετά το δεύτερο σημείο καμπής (περιοχή III), γύρω από τιμές pH 5,2-5,1, ο ρυθμός μείωσης του pH μειώνεται μαζί με την αποτελεσματικότητα του ST. Κατά τη διάρκεια αυτού του χρόνου δρουν κυρίως τα κύτταρα LB, και λαμβάνει χώρα ο σχηματισμός του πλέγματος καζεΐνης (De Brabandere & De Baerdemaeker, 1999).

Κεφάλαιο 2 Γιαούρτι

Το γράφημα ιξώδους-χρόνου είναι σχεδόν αντίστροφο προς το γράφημα του pH-χρόνου, περιλαμβάνοντας τρεις διακριτές φάσεις αντίστοιχα που χωρίζονται από τα δύο σημεία καμπής. Η πρώτη φάση (i), από $t = 0$ έως $t = \lambda_{visc}$, με ρυθμό αύξησης του ιξώδους χαμηλό, η δεύτερη (ii) μεταξύ των δύο σημείων καμπής, με μεγάλη αύξηση του ιξώδους και η τρίτη (iii) μετά το δεύτερο σημείο καμπής με ρυθμό αύξησης του ιξώδους πάλι χαμηλό. Στη βιβλιογραφία αυτή η συγκεκριμένη περίοδος (i) αναφέρεται ως λανθάνουσα φάση. Η όλη εξέλιξη του ιξώδους κατά τη διάρκεια της ζύμωσης επηρεάζεται κυρίως από την αλληλεπίδραση μεταξύ των πρωτεϊνών του γάλακτος και το σχηματισμό των δεσμών μεταξύ τους, ως εκ τούτου οι βασικοί παράγοντες είναι ο ρυθμός παραγωγής των οξέων από τα βακτήρια και η κατάσταση των πρωτεϊνικών μορίων (C. Soukoulis et al., 2007).

2.4.7 Ψύξη

Η διαδικασία ζύμωσης διακόπτεται όταν το pH του συστήματος φτάσει στην επιθυμητή τιμή. Ανάλογα με τον παραγωγό και τις απαιτήσεις του καταναλωτή, η τελική τιμή pH κυμαίνεται από 4,7 έως 4,3. Μετά από αυτό το σημείο, η θερμοκρασία του γιαουρτιού πρέπει να μειωθεί, όσο το δυνατόν γρηγορότερα, σε χαμηλότερη τιμή από τους 20 °C, προκειμένου να ανασταλεί η δράση της οξυγαλακτικής καλλιέργειας και να σταματήσει η οξίνιση (Tamime & Robinson, 2007a). Οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για την ψύξη εξαρτώνται από τον τύπο του παραγόμενου γιαουρτιού. Τα είδη γιαουρτιού, ανάλογα με τον τύπο, ψύχονται με διεργασία ενός ή δύο σταδίων. Τα γιαούρτια τύπου σετ ψύχονται σε ένα στάδιο, με διάρκεια 1 ή 2 h στους 4 ή 5 °C, χρησιμοποιώντας ψυχρό αέρα σε αεριζόμενες αίθουσες ψύξης ή σήραγγες. Τα αναμεμιγμένα γιαούρτια ψύχονται με διεργασία 2 σταδίων, συνήθως σε εναλλάκτη θερμότητας, με το πρώτο στάδιο σε θερμοκρασία μεταξύ 15 και 20 °C με διάρκεια 20-60 min, και κατά το δεύτερο στάδιο με βαθμιαία πτώση της θερμοκρασίας μέχρι τους 4 ή 5 °C (Shah N., 2006). Κατά το πρώτο στάδιο ψύξης προστίθενται τα πρόσθετα αρωματικά, γλυκαντικά και φρούτα (μαρμελάδα, πολτός ή κομμάτια) (Sodini et al., 2005; Christos Soukoulis et al., 2010a).

2.4.8 Προσθήκη καρπών

Στην περίπτωση προϊόντων γιαουρτιού με προσθήκη φρούτων, το στάδιο κατά το οποίο γίνεται η προσθήκη εξαρτάται από τον τύπο του γιαουρτιού. Για το αναμεμιγμένο γιαούρτι, τα φρούτα προστίθενται στο πρώτο στάδιο ψύξης, ενώ για το γιαούρτι τύπου σετ, τα φρούτα προστίθενται πριν από το στάδιο ζύμωσης. Στην περίπτωση του αναμεμιγμένου γιαουρτιού με φρούτα, αφού το γιαούρτι περάσει από τον εναλλάκτη θερμότητας και έχει φτάσει σε θερμοκρασία χαμηλότερη από 20 °C,

Κεφάλαιο 2 Γιαούρτι

προστίθενται τα φρούτα είτε σε δεξαμενή ανάμιξης σε συνδυασμό με δυναμικό αναδευτήρα, είτε σε γραμμή πλήρωσης. Στην τελευταία περίπτωση, το μίγμα γιαουρτιού και φρούτων περνούν μέσα από αντλία στη γραμμή πλήρωσης (Narvhus & Abrahamsen, 2022).

Στην παρασκευή σετ γιαουρτιού με φρούτα, οι καρποί προστίθενται στο γάλα πριν από τον εμβολιασμό με την οξυγαλακτική καλλιέργεια, και το μίγμα στη συνέχεια υφίσταται ζύμωση. Αυτή η πρακτική έχει σημαντική επίδραση στην κινητική της ζύμωσης, καθώς τα σάκχαρα των φρούτων μπορεί να επιβραδύνουν τη μεταβολική δραστηριότητα των βακτηρίων. Επίσης, η παρουσία των φρούτων στο πηγάμα αυξάνει το φαινόμενο της συναίρεσης. Προκειμένου να αποφευχθεί αυτό, χρησιμοποιούνται στελέχη βακτηρίων που παράγουν πολυσακχαρίτες κατά τον μεταβολισμό τους ή προστίθενται σταθεροποιητές. Οι βέλτιστες συγκεντρώσεις σταθεροποιητών κυμαίνονται μεταξύ 0,25-0,75% ανάλογα με τον τύπο του σταθεροποιητή. Η πηκτίνη και η καρβοξυμεθυλοκυτταρίνη είναι οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενοι σταθεροποιητές στα γιαούρτια με φρούτα. Σε περίπτωση χρήσης βενζοϊκού νατρίου ή σορβικού καλίου ως συντηρητικών, οι συγκεντρώσεις αυτών των συντηρητικών δεν πρέπει να υπερβαίνουν το 0,03%.

Τα κομμάτια φρούτων που προστίθενται στα γιαούρτια, είτε μετά είτε πριν από την ζύμωση, πρέπει να έχουν παστεριωθεί προηγουμένως. Ωστόσο, η παστερίωση-θερμική επεξεργασία υποβαθμίζει την υφή και μειώνει την ένταση του αρώματος των φρούτων. Προκειμένου να αντιμετωπιστεί αυτό, αναπτύχθηκε η τεχνική έγχυσης υπό κενό, κατά την οποία, το άρωμα των φρούτων συμπυκνώνεται πριν από τη θερμική επεξεργασία (Narvhus & Abrahamsen, 2022).

2.4.9 Συσκευασία

Προκειμένου τα προϊόντα γιαουρτιού να φθάσουν στον καταναλωτή σε ασφαλή κατάσταση, βρώσιμα και αποδεκτά για κατανάλωση, πρέπει να συσκευάζονται. Η συσκευασία προστατεύει το προϊόν από βιολογικούς (παθογόνους και αλλοιογόνους μικροοργανισμούς) και χημικούς (οξείδωση, υγρασία, φωτοχημικές αλλοιώσεις) παράγοντες αλλοίωσης, καθώς και από μηχανικές καταπονήσεις. Επιπλέον, η συσκευασία αποτελεί ένα μέσο διαφήμισης του προϊόντος, ώστε να προσελκύει τον καταναλωτή να το αγοράσει. Το υλικό των βιομηχανικών συσκευασιών γιαουρτιού περιλαμβάνει πλαστικό, κεραμικό και γυαλί. Τα πιο διαδεδομένα πολυμερή για συσκευασία γιαουρτιού είναι το πολυαιθυλένιο (PE), πολυπροπυλένιο (PP), πολυστυρένιο (PS) και το τереφθαλικό πολυαιθυλένιο (PET). Το κλείσιμο των συσκευασιών γίνεται με φύλλα αλουμινίου ή πλαστικά. Η παρουσία μόνο της συσκευασίας δεν είναι αρκετή για να διατηρηθεί η ποιότητα και η ασφάλεια του προϊόντος, αλλά θα πρέπει να έχει προηγηθεί η απολύμανσή της, ώστε να είναι απαλλαγμένη από αλλοιογόνους και

Κεφάλαιο 2 Γιαούρτι

παθογόνους παράγοντες. Κάτι τέτοιο επιτυγχάνεται με καθαρισμό και αποστείρωσή της, συνήθως με ατμό 100-120 °C για 1-5 s (Narvhus & Abrahamsen, 2022).

Στην περίπτωση του σετ τύπου γιαουρτιού, τα κύπελλα γεμίζονται και σφραγίζονται αμέσως μετά τον εμβολιασμό με την οξυγαλακτική καλλιέργεια και η ζύμωση γίνεται μέσα στα δοχεία λιανικής πώλησης. Στην περίπτωση αναμεμιγμένου γιαουρτιού, τα κύπελλα γεμίζονται μετά τη διαδικασία ζύμωσης. Η τεχνολογία της συσκευασίας αναφέρεται ως τεχνολογία "τύπου-πλήρωσης-σφράγισης". Η διαδικασία περιλαμβάνει την πλήρωση των προσχηματισμένων δοχείων σε στείρο περιβάλλον, και τέλος τη θερμοσφράγιση των γεμισμένων δοχείων με ένα καπάκι από αλουμίνιο επισημασμένο για την παροχή πληροφοριών για το προϊόν. Μετά τη συσκευασία, οι γεμάτοι περιέκτες με γιαούρτι αποθηκεύονται σε χαμηλή θερμοκρασία (4 ή 5 °C), στην οποία διατηρούνται κατά τη διάρκεια της μεταφοράς και πώλησης. Η χαμηλή θερμοκρασία εξασφαλίζει την ασφάλεια και διατηρεί την ποιότητα του προϊόντος καθώς και εμποδίζει τη δράση της καλλιέργειας εκκίνησης που, επαγωγικά, παρεμποδίζει την αύξηση της οξύτητας (Chandan et al., 2017; Corrieu & Béal, 2015).

2.4.10 Ενισχυτικά πρόσθετα

Για τη βελτιστοποίηση των χαρακτηριστικών του γιαουρτιού, ενίοτε προστίθενται επιπλέον ουσίες, οι οποίες δεν υπάρχουν φυσικά στο γάλα. Η προσθήκη αυτή αποσκοπεί στη βελτίωση οργανοληπτικών ή/και θρεπτικών ιδιοτήτων του γιαουρτιού. Κατά κύριο λόγο η προσθήκη γίνεται πριν το στάδιο της ομογενοποίησης. Η χρήση τους και οι επιτρεπτές συγκεντρώσεις διέπονται από τη νομοθεσία (Κώδικας Τροφίμων και Ποτών άρθρο 82, τροποποιημένο κατά ΦΕΚ 2457/Β/09.08.2016; Codex Alimentarius STANDARD FOR FERMENTED MILKS CXS 243-2003, revised 2018, amended 2022). Οι ουσίες που χρησιμοποιούνται για την ενίσχυση του γιαουρτιού είναι σταθεροποιητές, συντηρητικά και γλυκαντικά.

2.4.9.1 Σταθεροποιητές

Σταθεροποιητές είναι ουσίες, που η προσθήκη τους στα γαλακτοκομικά προϊόντα αποσκοπεί στην ενίσχυση και διατήρηση των επιθυμητών χαρακτηριστικών υφής και του ιξώδους τους. Συγκεκριμένα, στο γιαούρτι χρησιμοποιούνται φυσικά κόμμεα (παράγονται από φυτά), φυσικά τροποποιημένα ή μερικώς συντιθέμενα κόμμεα (χημικά τροποποιημένα φυσικά κόμμεα ή άλλες πηκτικές ουσίες) και συνθετικά κόμμεα (συντίθενται χημικά). Λόγω μηχανικών καταπονήσεων που συμβαίνουν κατά την παραγωγική διαδικασία του γιαουρτιού και τη διακίνησή του, διαταράσσεται το πήγμα και υποβαθμίζεται η υφή του. Η προσθήκη των σταθεροποιητών μπορεί να διατηρήσει τα χαρακτηριστικά

Κεφάλαιο 2 Γιαούρτι

του σε αποδεκτά επίπεδα (Hansen, 1993; Kontogiorgos, 2021). Οι σταθεροποιητές είναι υδροκολλοειδή και ο τρόπος που ενισχύουν το ιξώδες και την υφή του γιαουρτιού είναι με δέσμευση του νερού. Τα μόρια των σταθεροποιητών σχηματίζουν δεσμούς με τα συστατικά του γάλακτος (κυρίως τις πρωτεΐνες) και ταυτόχρονα με το νερό. Έτσι, το νερό βρίσκεται δεσμευμένο με τις πρωτεΐνες στο πλέγμα τους και εμποδίζεται η ελεύθερη κίνησή του. Επομένως, τα υδροκολλοειδή στο γιαούρτι ενισχύουν το σχηματισμό πηκτής (gel) και πήγματος και το κάνουν πιο σταθερό (Kontogiorgos, 2021; Truong, 2022).

Η επιλογή σταθεροποιητή γίνεται βάσει των λειτουργικών ιδιοτήτων τους, αν έχουν δηλαδή τοξικές ή ανασταλτικές δράσεις στον άνθρωπο ή στην οξυγαλακτική καλλιέργεια, ή με βάση τη διαλυτότητά τους, τις συνθήκες που χρειάζονται για τη λειτουργία τους και φυσικά με το νομοθετικό πλαίσιο κάθε χώρας.

2.4.10.2 Γλυκαντικά

Γλυκαντικές ενώσεις προστίθενται σε γιαούρτι με γεύσεις φρούτων ή σε επιδόρπια γιαουρτιού με διάφορες γεύσεις. Ο κύριος στόχος της προσθήκης γλυκαντικών στο γιαούρτι είναι να περιορίσουν την όξινη γεύση. Τα πιο συνήθη γλυκαντικά που χρησιμοποιούνται στην παραγωγή του είναι η σακχαρόζη, το ιμβερτοζάχαρο, η φρουκτόζη, η γλυκόζη και η γαλακτόζη. Για την επιλογή των γλυκαντικών σημαντικό ρόλο παίζει η αποδοχή τους από τους καταναλωτές, το αν αυτά δημιουργούν προβλήματα στην ανάπτυξη των γαλακτικών βακτηρίων και επίσης το κόστος τους. Γενικώς, τα φρούτα και τα γλυκαντικά προστίθενται μετά την πήξη, διότι προκαλούν μείωση του ρυθμού οξίνισης και βλάπτουν τους μικροοργανισμούς που διέπουν την πήξη του γάλακτος (Narvhus & Abrahamsen, 2022). Γενικώς, ο *Streptococcus Thermophilus* είναι πιο ανθεκτικός στην παρουσία γλυκαντικού σε σχέση με τον *Lactobacillus Bulgaricus* (Uriot et al., 2017). Η παρεμποδιστική δράση των γλυκαντικών στη δράση των γαλακτικών βακτηρίων οφείλεται κυρίως στο φαινόμενο ώσμωσης των διαλυμένων ουσιών μέσα στο γάλα, αλλά και στη μείωση της ενεργότητας του νερού (Corrieu & Béal, 2015). Ως εκ τούτου, είναι προφανές ότι η ωσμωτική πίεση και η ενεργότητα νερού μπορούν να επηρεάσουν την ανασταλτική δράση των γλυκαντικών στα γαλακτικά βακτήρια και στη διαδικασία της οξίνισης. Σύμφωνα με τα παραπάνω στοιχεία, η χρήση των γλυκαντικών στην παραγωγή γιαουρτιού γίνεται ως εξής: αρχικά, προστίθεται μία μικρή ποσότητα γλυκαντικού στο προς πήξη μίγμα (περίπου 5-10% w/w μίγματος) και μετά την πήξη προστίθεται όσο γλυκαντικό χρειάζεται ακόμη για να επιτευχθεί η γλυκύτητα που επιδιώκεται στο τελικό προϊόν (Corrieu & Béal, 2015; Tamime & Robinson, 2007a).

2.5 Σύνθεση γιαουρτιού και φυσικοχημικά χαρακτηριστικά

Η σύσταση του γιαουρτιού είναι παρόμοια με τη σύσταση του γάλακτος από το οποίο προέρχεται, με τις επιπλέον αλλαγές που συμβαίνουν κατά την ζύμωση. Η σύσταση του γάλακτος εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, όπως παράγοντες που σχετίζονται με το ζώο που το παράγει μέχρι παράγοντες που επηρεάζουν αυτό καθαυτό το γάλα κατά την κατεργασία και την αποθήκευσή του (Tamime & Robinson, 2007b; Trachoo, 2002). Ένας σημαντικός παράγοντας, όπως αναφέρθηκε και στο 1ο κεφάλαιο, είναι το είδος του ζώου που παράγει το γάλα, η ηλικία του, οι συνθήκες εκτροφής του και η διατροφή του, η εποχή του έτους κατά το οποίο έγινε η άμελξη, καθώς και το στάδιο του θηλασμού στο οποίο βρισκόταν το ζώο τη συγκεκριμένη περίοδο. Από τις θηλές του ζώου μέχρι την κατανάλωση του γιαουρτιού, το γάλα περνά από πολλά στάδια-διεργασίες, τα οποία έχουν επίδραση στη σύστασή του (Jensens et al., 1991; Tamime & Robinson, 2007a). Όλοι οι παράγοντες που επηρεάζουν τη σύσταση του γάλακτος επηρεάζουν και τη σύσταση του γιαουρτιού. Κατά την ζύμωση η λακτόζη μετατρέπεται σε γαλακτικό οξύ (για αυτό το λόγο μειώνεται και η θερμιδική αξία του γιαουρτιού σε σχέση με εκείνη του αρχικού γάλακτος κατά 3-4%) και αυξάνει ο αριθμός των ελεύθερων πεπτιδίων, αμινοξέων και λιπαρών οξέων. Τέλος, συμβαίνουν αλλαγές σε κάποιες βιταμίνες. Στον Πίνακα 2.1 φαίνεται η σύσταση του σετ και στραγγιστού γιαουρτιού από πλήρες και αποβουτυρωμένο αγελαδινό γάλα (Fox, 2003; Tamime & Robinson, 2007a).

Πίνακας 2.1: Σύσταση γιαουρτιού τύπου σετ και στραγγιστού				
Συστατικά γιαουρτιού	Γιαούρτι τύπου Σετ		Στραγγιστό γιαούρτι	
	Πλήρες (g/L)	Αποβουτυρωμένο (g/L)	Πλήρες (g/L)	Αποβουτυρωμένο (g/L)
Νερό	81,9	84,9	77,0	77,0
Πρωτεΐνες	5,7	5,1	4,1	6,4
Λιπαρά	3,0	0,8	9,1	0,4
Υδατάνθρακες	7,8	7,8	2,9	1,8
Ασβέστιο (Ca)	200 x 10 ⁻³	190 x 10 ⁻³	150 x 10 ⁻³	150 x 10 ⁻³
Φωσφόρος (P)	170 x 10 ⁻³	160 x 10 ⁻³	120 x 10 ⁻³	130 x 10 ⁻³
Νάτριο (Na)	80 x 10 ⁻³	83 x 10 ⁻³	64 x 10 ⁻³	64 x 10 ⁻³
Κάλιο (K)	280 x 10 ⁻³	250 x 10 ⁻³	210 x 10 ⁻³	200 x 10 ⁻³
Ψευδάργυρος (Zn)	0,7 x 10 ⁻³	0,6 x 10 ⁻³	0,5 x 10 ⁻³	0,5 x 10 ⁻³

(Gaucheron, 2010; Jensens et al., 1991)

Τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του γιαουρτιού που καθορίζουν την ποιότητά του, καθορίζονται από διάφορους παράγοντες, όπως η σύνθεση και η μικροβιολογία της πρώτης ύλης, η παραγωγική διαδικασία και ειδικότερα η ζύμωση, η περαιτέρω επεξεργασία του πηγματος και τα πρόσθετα

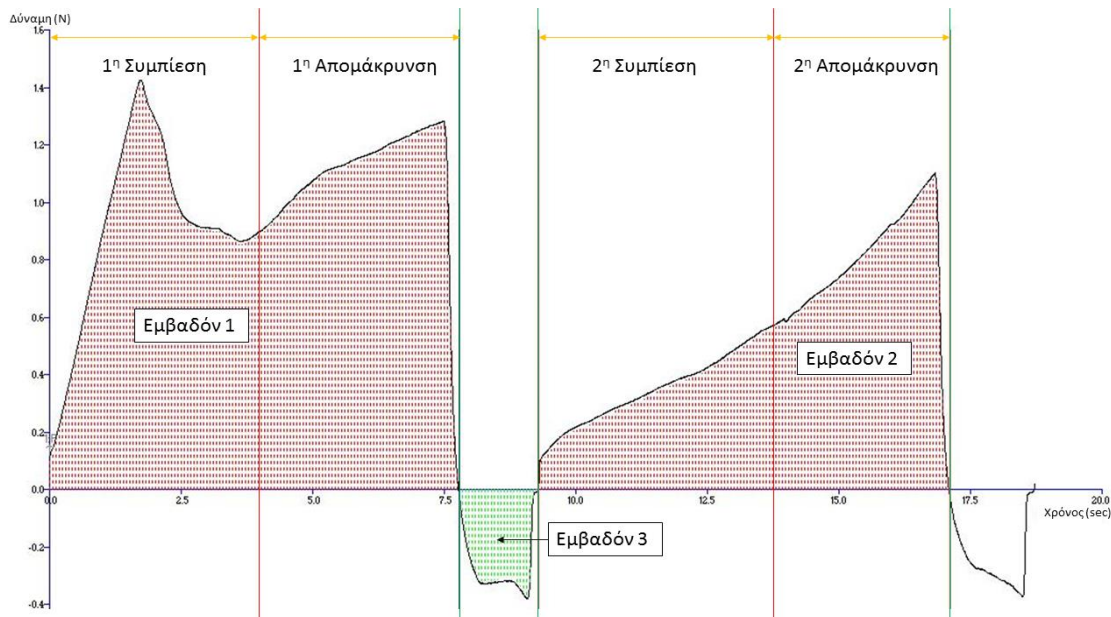
Κεφάλαιο 2 Γιαούρτι

στατικά. Οι τιμές pH, οξύτητας, ιξώδους και τα χαρακτηριστικά υφής είναι οι αντικειμενικές σταθερές βάσει των οποίων κρίνεται η ποιότητα του γιαουρτιού, με ενδεικτικές τιμές όπως αυτές παρουσιάζονται στον Πίνακα 2.2 (Trachoo, 2002).

Πίνακας 2.2: Φυσικοχημικές σταθερές γιαουρτιού	
Χαρακτηριστικό	Τιμή
pH	4,7-4,3
Οξύτητα	0,11-0,18 % w/v γαλακτικού οξέος
Ιξώδες	0,7-1,7 Pa*s
Σκληρότητα	0.8-1.8 N
Συνεκτικότητα	0.5-0.8 N/s

(Gaucheron, 2010; Jensens et al., 1991)

Από άποψη ρεολογίας το γιαούρτι είναι ένα ψευδοπλαστικό ρευστό με τιμή ιξώδους μεγαλύτερη από 0,7 Pa*s σε ρυθμό διάτμησης 50 s⁻¹. Ακόμη η υφή του γιαουρτιού αναμένεται να έχει μία ομοιογένεια, απαλλαγμένη από συσσωματώματα και ρωγμές. Ένα τυπικό διάγραμμα ανάλυσης υφής γιαουρτιού δύο διεισδύσεων παρουσιάζεται στην Εικόνα 2.4 (Ahmed et al., 2022; Walstra et al., 2005).

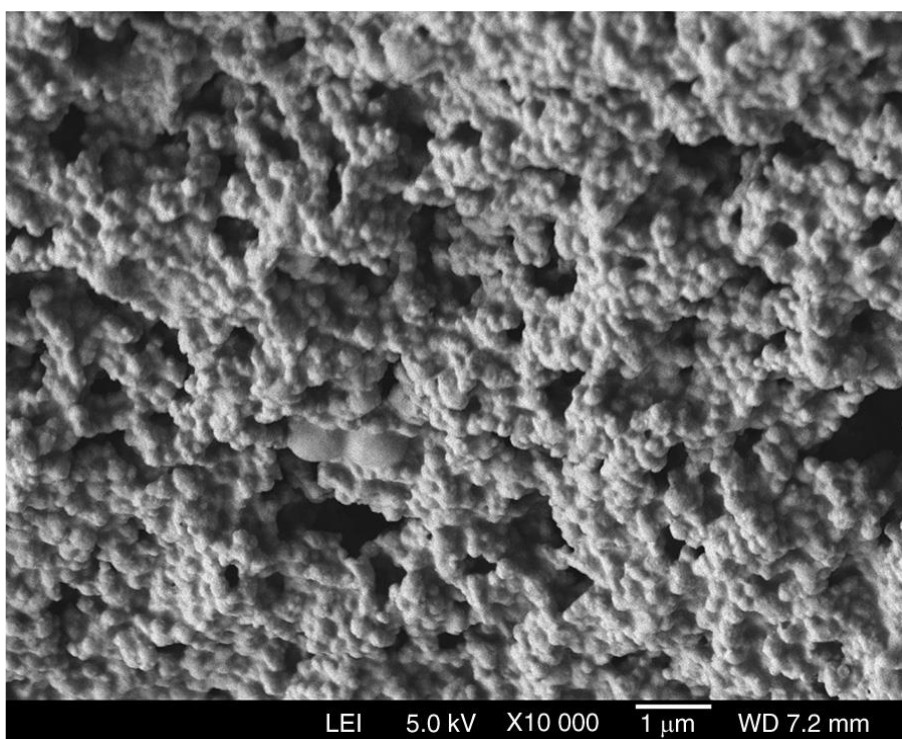


Εικόνα 2.4: Τυπικό διάγραμμα ανάλυσης υφής γιαουρτιού

Κεφάλαιο 2 Γιαούρτι

Στο εν λόγω διάγραμμα φαίνονται ήδη η ψευδοπλαστική συμπεριφορά του γιαουρτιού (η δεύτερη καμπύλη έχει μικρότερο εμβαδό από την πρώτη, γεγονός που οφείλεται στο ότι η διαταραχή του πηγματος μειώνει τα χαρακτηριστικά υφής και το ιξώδες), η σκληρότητα (το ύψος της πρώτης κορυφής) και η προσκολλησιμότητα (το αρνητικό εμβαδόν, κάτω από τον οριζόντιο άξονα).

Η υφή και το ιξώδες του γιαουρτιού καθορίζονται από τη μικροδομή που σχηματίζεται κατά την πήξη στο στάδιο της ζύμωσης. Όπως φαίνεται στην Εικόνα 2.5 η μικροδομή του είναι ένα σπογγοειδές δίκτυο συσσωματωμένων μικυλλίων καζεΐνης με επιπλέον μόρια πρωτεϊνών ορού και λιποσφαιρίων, που σχηματίζεται από την ισοηλεκτρική καταβύθιση των καζεϊνών λόγω της πτώσης του pH. Οι μεγαλύτεροι πόροι του δικτύου είναι της τάξης των 10 μm (Ahmed et al., 2022; Auty, 2011).



Εικόνα 2.5: Μικροδομή γιαουρτιού σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης ηλεκτρονίων - μεγέθυνση 10000x

Κατά συνέπεια, οι τιμές των χαρακτηριστικών υφής του γιαουρτιού εξαρτώνται από τους διάφορους παράγοντες που επηρεάζουν τη μικροδομή, συγκεκριμένα από την περιεκτικότητα του γάλακτος σε καζεΐνες και πρωτεΐνες ορού, σε λιπαρά, από τη διεργασία ομογενοποίησης, τη θερμική κατεργασία και φυσικά από τη διεργασία της ζύμωσης (τελική τιμή pH, θερμοκρασία και τα είδη των μικροοργανισμών) (Tunick, 2000). Μία ακόμα παράμετρος που επηρεάζει σημαντικά την υφή του γιαουρτιού είναι η συναίρεση, το φαινόμενο δηλαδή κατά το οποίο το πήγμα συστέλλεται και αποβάλλει υγρό και συγκεκριμένα ορό γάλακτος. Αυτό οφείλεται, κυρίως, στο μέγεθος των πόρων του πλέγματος

Κεφάλαιο 2 Γιαούρτι

καζεΐνών, αν είναι αρκετά ευρείς ώστε να επιτρέπουν τη ροή υγρού μέσω αυτών. Ένα καζεϊνικό μόριο θα μπορούσε να σχηματίσει δεσμούς με πολλά άλλα, λόγω των πολλών ενεργών σημείων του, και αν συνέβαινε αυτό, το πήγμα θα είχε μικρότερους πόρους και θα ήταν πολύ πιο συμπαγές. Ωστόσο, κατά τον σχηματισμό του πήγματος δεν προλαβαίνουν να πλησιάσουν αρκετά μόρια μεταξύ τους, και έτσι σχηματίζονται μεγάλοι πόροι. Επιπροσθέτως, η τοπική διάσπαση των δεσμών και η διαταραχή του πλέγματος μπορεί να οδηγήσει στον επακόλουθο σχηματισμό νέων και συχνά περισσότερων δεσμών, προκαλώντας έτσι συναίρεση. Κοντά σε τιμή pH 5,25 η τάση για εμφάνιση συναίρεσης είναι ισχυρότερη, ενώ είναι πιο αδύνατη κοντά στο ισοηλεκτρικό σημείο της καζεΐνης (Ahmed et al., 2022; Gonzalez Avila & Ohi, 2016).

Πίνακας 2.3: Αρωματικές ενώσεις γιαουρτιού με συγκέντρωση C > 20,00 ng/mL)	
Αρωματικό μόριο	Περιεκτικότητα (ng/mL γάλακτος)
Αλειφατικοί υδρογονάνθρακες	
4,5-Διμεθυλο-1-εξένιο	101,48 ± 2,25
5-Αιθυλο-2-μεθυλο-επτάνιο	46,11 ± 6,45
1,5-Εξαδιεν-3-όλη	56,13 ± 8,82
Αλδεΐδες	
2-Μεθυλο-βουτανάλη	22,86 ± 0,12
3-Μεθυλο-βουτανάλη	56,41 ± 1,49
Κετόνες	
Ακετόνη	29,40 ± 5,04
2-βΒουτανόνη	71,10 ± 2,96
3-Μεθυλο-2βουτανόνη	38,98 ± 2,69
2-Πεντανόνη	99,74 ± 7,76
2-Εξανόνη	89,70 ± 2,97
2-Επτανόνη	60,47 ± 1,01
2-Εννεανόνη	12,03 ± 0,71
Οργανικά οξέα	
Βουτανικό οξύ	62,50 ± 4,52
Εξανικό οξύ	193,57 ± 23,2
Οκτανικό οξύ	109,38 ± 2,25
Δεκανοϊκό οξύ	38,57 ± 3,22
Αρωματικοί υδρογονάνθρακες	
Οξικό αιθύλιο	39,33 ± 7,25
Αιθανικός βουτυλεστέρας	14,58 ± 1,30
Τολουόλιο	23,51 ± 4,15
1,3-δΔιμεθυλο-βενζόλιο	49,34 ± 11,83

Κεφάλαιο 2 Γιαούρτι

Η γεύση και το άρωμα του γιαουρτιού είναι συνέπεια της συγκέντρωσης διαφόρων οργανικών ενώσεων που είτε προϋπάρχουν στο γάλα, είτε σχηματίζονται κατά την ζύμωση, ως παραπροϊόντα της μεταβολικής διαδικασίας των μικροοργανισμών. Οι κυρίαρχες γεύσεις του γιαουρτιού είναι η ξινή και η γλυκιά. Τα μόρια που συνθέτουν το αρωματικό προφίλ του γιαουρτιού είναι περισσότερα από 200 μέλη των χαρακτηριστικών ομάδων αλειφατικών υδρογονανθράκων, αλκοολών, αλδευδών, οξέων, κετονών και κάποιων αρωματικών υδρογονανθράκων. Τα αρωματικά μόρια με τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις παρουσιάζονται στον Πίνακα 2.3. Η ακεταλδεΐδη, ως το πιο σημαντικό αρωματικό μόριο του γιαουρτιού, πρέπει να βρίσκεται σε περιεκτικότητα μεγαλύτερη από 10 ppm (Pan et al., 2014).

2.6. Έλεγχος ποιότητας της παραγωγής γιαουρτιού

Η ποιότητα του γιαουρτιού απαιτεί τον έλεγχο των πρώτων υλών και των διεργασιών της διαδικασίας παραγωγής καθώς και του τελικού προϊόντος. Το μικροβιακό περιεχόμενο όλων των πρώτων υλών, το νωπό γάλα, το γάλα σε σκόνη, τα φρούτα, και η οξυγαλακτική καλλιέργεια πρέπει να ελέγχονται εκ των προτέρων. Επίσης, πρέπει να εξετάζεται η παρουσία σωματικών κυττάρων στο νωπό γάλα, ενώ επιπλέον πρέπει να ελέγχονται κάποιες φυσικοχημικές ιδιότητες του νωπού γάλακτος, όπως: η οξύτητα, η περιεκτικότητα σε λίπος και πρωτεΐνες, η απουσία αντιβιοτικών, όπως και η διαλυτότητα, η υγρασία και η περιεκτικότητα σε λιπαρές ουσίες του γάλακτος σε σκόνη, και το pH, το ιξώδες και η τιμή Brix των προστιθέμενων φρούτων. Για την οξυγαλακτική καλλιέργεια, είναι απαραίτητο να εκτιμηθεί η ικανότητα οξίνισης και η βιωσιμότητα των στελεχών (Corrieu & Béal, 2015; Narvhus & Abrahamsen, 2022).

Σε όλη τη διάρκεια της παραγωγικής διαδικασίας του γιαουρτιού, πρέπει να διατηρείται ο έλεγχος για κάθε διεργασία, ώστε να εξασφαλίζονται οι ελάχιστες αποκλίσεις στην παραγωγή και τα μέγιστα επίπεδα ποιότητας και ασφάλειας για το προϊόν και τους καταναλωτές. Οι κύριες παράμετροι που ελέγχονται είναι η θερμοκρασία (σε δεξαμενές ζύμωσης, εναλλάκτες θερμότητας, θαλάμους επώασης και συστήματα ψύξης), το pH (με δειγματοληψία είτε στις δεξαμενές ζύμωσης είτε απευθείας στους περιέκτες ανάλογα με τον τύπο του γιαουρτιού αναμεμιγμένου ή σετ) και η διάρκεια κάθε σταδίου της παραγωγικής διαδικασίας. Φυσικά υπάρχουν και αναλύσεις που σχετίζονται με την ασφάλεια και το HACCP (Hazard Analysis Critical Control Points) στη διαδικασία παρασκευής γιαουρτιού, και ως κρίσιμα σημεία ελέγχου θεωρούνται η παστερίωση του γάλακτος, η συσκευασία και η αποθήκευση υπό ψύξη (Corrieu & Béal, 2015; Narvhus & Abrahamsen, 2022).

Στο τελικό προϊόν και κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης, εκτελούνται διάφορες δοκιμές ελέγχου με κατάλληλη συχνότητα δειγματοληψίας που καθορίζεται από τις απαιτήσεις της βιομηχανίας και τις βιομηχανικές πρακτικές που αυτή ακολουθεί (Good Manufacturing Practices - GMP). Το μικροβιακό

Κεφάλαιο 2 Γιαούρτι

πλήθος των δύο βασικών βακτηριακών στελεχών (*Streptococcus thermophilus* και *Lactobacillus bulgaricus*) πρέπει να μετρηθεί προκειμένου να εξακριβωθεί ότι είναι εντός της περιοχής της τιμής στόχου (10^7 CFU/g). Επιπλέον, ο μικροβιολογικός έλεγχος πρέπει να διασφαλίζει ότι το προϊόν είναι απαλλαγμένο από αλλοιογόνους και παθογόνους μικροοργανισμούς, συμπεριλαμβανομένων των *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., κολοβακτηρίων, ζυμών και μυκήτων. Επίσης φυσικοχημικές ιδιότητες όπως το λίπος και το ΣΥΑΛ, η οξύτητα ή το pH πρέπει να βρίσκονται σε συγκεκριμένα επίπεδα, και κατά συνέπεια να ελέγχονται συνεχώς. Τέλος, πρέπει να εκτιμηθεί το οργανοληπτικό προφίλ των προϊόντων, ιδίως ιδιότητες όπως η εμφάνιση (συναίρεση και χρώμα), η υφή (συνεκτικότητα προσκολλησιμότητα και σκληρότητα), και η οσμή, το άρωμα, η γεύση και η μετάγευση (φρεσκάδα, οξύτητα και ένταση). Ένα άλλο σημαντικό χαρακτηριστικό που σχετίζεται με την ποιότητα του γιαουρτιού είναι η πιθανή συναίρεση που παρατηρείται κατά την αποθήκευση, διακινδυνεύοντας έτσι το επίπεδο ποιότητας του προϊόντος και την αποδοχή του από τον καταναλωτή. Η τιμή κάθε φυσικοχημικής και οργανοληπτικής ιδιότητας του γιαουρτιού ποικίλει ανάλογα με τον τύπο και τις προδιαγραφές της εταιρείας (Saint-Eve et al., 2008; Tamime & Robinson, 2007c).

2.7 Λειτουργικά γαλακτοκομικά τρόφιμα

Λειτουργικά τρόφιμα θεωρούνται αυτά που, εκτός της θρεπτικής τους αξίας, επιδρούν θετικά σε μία ή περισσότερες λειτουργίες του οργανισμού, με τρόπο τέτοιο που να επιφέρουν είτε βελτίωση της υγείας ή/και μείωση του κινδύνου προσβολής από διάφορες ασθένειες. Ακόμη, ένα λειτουργικό τρόφιμο δεν μπορεί να είναι ούτε χάπι ούτε κάψουλα, αλλά μέρος μίας ισορροπημένης διατροφής. Σύμφωνα με το Διεθνές Ινστιτούτο Επιστημών Ζωής (International Life Sciences Institute – ILSI) το έτος 2002. Κατά συνέπεια, τα γαλακτοκομικά προϊόντα αποτελούν σημαντικό μέρος των λειτουργικών τροφίμων και έχουν αποδεδειγμένο όφελος στην υγεία του ανθρώπινου οργανισμού (Shah 2007). Επιπλέον υπάρχουν και γαλακτοκομικά προϊόντα ενισχυμένα με επιπλέον λειτουργικά συστατικά που ενισχύουν τις θετικές επιδράσεις στην υγεία. Τα πιο κοινά λειτουργικά γαλακτοκομικά προϊόντα είναι εκείνα στα οποία περιέχονται προβιοτικοί μικροοργανισμοί (probiotics), πρεβιοτικοί υδατάνθρακες (prebiotics) ή συνδυασμός των δύο προηγούμενων περιπτώσεων (synbiotics) και επιπλέον βιταμίνες.

2.7.1 Βιταμίνες

Οι πιο συνήθεις βιταμίνες που προστίθενται επιπλέον σε προϊόντα γιαουρτιού είναι η Α, η C και η D. Κατά την παραγωγή γιαουρτιού, τα μόρια των βιταμινών Α και C καταστρέφονται λόγω της θερμικής κατεργασίας και του χαμηλού pH, αλλά και κατά την αποθήκευση συνεχίζει να μειώνεται η συγκέντρωσή

Κεφάλαιο 2 Γιαούρτι

τους. Στην προσπάθεια να διατηρηθούν σε σταθερά επίπεδα κατά τη διαδικασία παρασκευής γιαουρτιού, προστίθεται στο προς πήξη μίγμα προβιταμίνη της βιταμίνης A (Thomas, 2021). Ακόμη, η βιταμίνη D είναι το πιο σύνηθες συστατικό ενισχυτικό της θρεπτικής αξίας του γιαουρτιού. Η θετική επίδραση που έχει στην υγεία του ανθρώπου είναι η ρύθμιση της απορρόφησης του ασβεστίου και του φωσφόρου. Επίσης, διευκολύνει τη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος. Η επαρκής πρόσληψή της είναι απαραίτητη για τη σωστή ανάπτυξη των οστών και των δοντιών, αλλά και για την αυξημένη αντίσταση σε ορισμένες ασθένειες (Thomas, 2021).

2.7.2 Προβιοτικά

Ως προβιοτικά προϊόντα ονομάζονται τα λειτουργικά τρόφιμα που περιέχουν προβιοτικούς μικροοργανισμούς. Ο όρος "προβιοτικός", προέρχεται από τις λέξεις προ- και βίος και σημαίνει «για τη ζωή», περιγράφει μικροοργανισμούς, οι οποίοι είναι ζωντανοί και όταν καταναλώνονται σε επαρκείς ποσότητες επιφέρουν οφέλη στην υγεία του οργανισμού (FAO/WHO, 2001). Προκειμένου να έχουν ευεργετική επίδραση στην υγεία του ξενιστή οι προβιοτικοί μικροοργανισμοί πρέπει να επιβιώνουν σε όλη την εντερική και τη γαστρική οδό και να επιβιώνουν στις όξινες συνθήκες που επικρατούν εκεί. Ακόμη, τα προβιοτικά στελέχη πρέπει, τουλάχιστον προσωρινά, να εγκλιματιστούν εντός της φυσικής μικροχλωρίδας του εντέρου. Η πρώτη αναφορά σε μικροοργανισμούς που ωφελούν την υγεία του ξενιστή, μέσω των τροφών, αποδίδεται στον Élie Metchnikoff στις αρχές του 20^{ου} αιώνα (Metchnikoff, 1907). Η ορολογία "προβιοτικό" αποδίδεται στους Lilley και Stillwell (Lilly & Stillwell, 1964) προκειμένου να τα διαφοροποιήσει από τα αντιβιοτικά. Το προβιοτικό καθορίστηκε ως μία ουσία που παράγεται από ένα μικροοργανισμό που διεγείρει την ανάπτυξη ενός άλλου μικροοργανισμού. Αργότερα, το 1971, ο Sperti έδωσε το όνομα αυτό σε εκχυλίσματα ιστών που προάγουν την ανάπτυξη μικροβίων. Ο ορισμός του Parker το 1974 είναι πιο κοντά στον πλέον αποδεκτό ορισμό: οργανισμοί και ουσίες που συμβάλλουν στην εντερική μικροβιακή ισορροπία. Ο αποδεκτός ορισμός των προβιοτικών είναι ελαφρώς βελτιωμένος από εκείνον του Fuller το 1989 ως "ζωντανό μικροβιακό συμπλήρωμα διατροφής που επηρεάζει επωφελώς τον ξενιστή βελτιώνοντας την εντερική μικροχλωρίδα" (Lourens-Hattingh & Viljoen, 2001). Ο πιο περιγραφικός ορισμός των προβιοτικών μικροοργανισμών αποδίδεται στους Pineiro και Stanton, το 2007 και τους ορίζει ως «ζωντανούς μικροοργανισμούς, οι οποίοι όταν καταναλώνονται σε επαρκείς ποσότητες ως μέρος ενός τροφίμου, επιφέρουν οφέλη στην υγεία του οργανισμού.

Τα προβιοτικά βακτήρια έχουν πολλαπλά οφέλη στον ανθρώπινο οργανισμό που εξαρτώνται από το είδος και το στέλεχος. Έχει αναφερθεί ότι ενισχύουν το πεπτικό σύστημα και δρουν ανταγωνιστικά στους παθογόνους μικροοργανισμούς και τους ιούς που δρουν εκεί, προλαμβάνοντας ή

Κεφάλαιο 2 Γιαούρτι

και θεραπεύοντας συμπτώματα οξείας διάρροιας, γαστρίτιδες και πεπτικά έλκη (Boltin, 2016; FAO/WHO 2001). Επίσης, τροποποιούν τη μικροχλωρίδα του εντέρου και προλαμβάνουν φλεγμονές. Ακόμη, αναφέρεται η ενδυνάμωση του ανοσοποιητικού συστήματος από προβιοτικά βακτήρια και η μείωση επιβλαβών ενζύμων/ουσιών του εντέρου που πιθανόν να ευθύνονται για καρκινογένεση (Vandenplas et al., 2015). Έχει επίσης σημειωθεί ότι οι προβιοτικοί μικροοργανισμοί μειώνουν τη χοληστερόλη του ορού αίματος, αυξάνουν την ανταγωνιστική ικανότητα του οργανισμού έναντι των εντεροπαθογόνων μικροβίων που εισέρχονται στο γαστρεντερικό σωλήνα μέσω των τροφών, προάγουν τη ρύθμιση των μικροβίων της οδοντικής πλάκας και τη βελτίωση των συμπτωμάτων που οφείλονται στη δυσανεξία στη λακτόζη και συμβάλλουν στην αντιμετώπιση της καντιντίασης (Candidiasis) και των λοιμώξεων του ουροποιητικού συστήματος (Lee & Salminen, 2008). Είναι γνωστό ότι η χορήγηση αντιβιοτικών μπορεί να έχει σημαντικές παρενέργειες στο γαστρεντερικό σύστημα, συγκεκριμένα, η διατάραξη της γαστρεντερικής μικροχλωρίδας που προκαλείται από τα αντιβιοτικά μπορεί να προκαλέσει εμετούς και διάρροια. Τα προβιοτικά βακτήρια έχει παρατηρηθεί ότι μπορούν να περιορίσουν τις παρενέργειες αυτές και ταυτόχρονα να αυξήσουν το ρυθμό ολοκλήρωσης της αντιβιοτικής θεραπείας. Επιπλέον, μπορούν να επιταχύνουν την ανάρρωση μετά την αντιβιοτική θεραπεία (Jungersen et al., 2014). Προβιοτικά στελέχη που μπορούν να παράγουν το ένζυμο λακτάση, χρησιμοποιούνται για να παρέχουν ανακούφιση από τα δυσάρεστα συμπτώματα της δυσανεξίας στη λακτόζη (Binda et al., 2020). Τέλος, αξίζει να γίνει ξεχωριστή αναφορά του γένους *Bifidobacterium* και συγκεκριμένα του στελέχους BB-12 που έχει μελετηθεί σε παραπάνω από 300 επιστημονικές εργασίες και πάνω από 130 κλινικές μελέτες, αξιοποιείται από το 1987 με θετική επίδραση στην κανονική λειτουργία του εντέρου, μειώνοντας τη συχνότητα και διάρκεια φαινομένων διάρροιας και γαστρεντερικών λοιμώξεων, λοιμώξεων του αναπνευστικού, και σε συνδυασμό με το *Lactobacillus acidophilus* LA-5 αντιμετωπίζει το παθογόνο *Helicobacter pylori* (De Vrese et al., 2011; Sheu et al., 2002).

Τα πιο κοινά προβιοτικά βακτήρια είναι τα στελέχη και τα είδη των *Lactobacilli*, *Bifidobacteria* και *Enterococci*, που χρησιμοποιούνται σε λειτουργικά τρόφιμα.

Αυτά τα γένη έχουν χαρακτηριστεί ως GRAS (Generally Recognized As Safe) και είναι κυρίαρχα γένη μικροοργανισμών του λεπτού (*Lactobacillus*) ή του παχέος εντέρου του ανθρώπινου οργανισμού (Dimitrellou et al., 2019; Tripathi & Giri, 2014). Τα στελέχη του γένους *Lactobacillus* θεωρούνται γενικώς πιο ανθεκτικά από αυτά που ανήκουν στο γένος *Bifidobacterium*. Πιο συγκεκριμένα, παρουσιάζουν μεγαλύτερη ανθεκτικότητα σε χαμηλές τιμές pH και καλύτερη προσαρμοστικότητα στο γάλα και σε άλλα τρόφιμα που μπορούν να λειτουργήσουν ως υποστρώματα αυτών (Tripathi & Giri, 2014).

Κεφάλαιο 2 Γιαούρτι

Τα γαλακτοκομικά προϊόντα που έχουν υποστεί ζύμωση, ιδίως το γιαούρτι, είναι ιδανικοί φορείς για την είσοδο προβιοτικών καλλιεργειών στο ανθρώπινο πεπτικό σύστημα και την εξασφάλιση της επιβίωσής τους μέσω του στομάχου (Elizaquível et al., 2011). Τα προβιοτικά προστίθενται στα τρόφιμα ως συμπληρωματικές καλλιέργειες σε συγκεντρώσεις 10^7 - 10^8 CFU/g ή mL, αν δεν συμμετέχουν στη διαδικασία ζύμωσης, ενώ αν συμμετέχουν μπορούν να φθάσουν σε συγκέντρωση μεταξύ 10^8 και 10^9 CFU/g ή mL μετά τη διαδικασία ζύμωσης (Vinderola et al., 2009). Σύμφωνα με τους κανονισμούς που έχουν τεθεί από τη διεθνή ομοσπονδία γαλακτοκομικών προϊόντων (International Dairy Federation, IDF), την Ευρωπαϊκή Ένωση (ΕΕ), το ελάχιστο φορτίο προβιοτικών κυττάρων πρέπει να είναι 10^6 - 10^7 cfu/g ή mL προϊόντος τη στιγμή της κατανάλωσης, προκειμένου τα προβιοτικά βακτήρια να αποφέρουν τα οφέλη τους στον οργανισμό (Mortazavian et al., 2006).

Η παραγωγή γιαουρτιού με προβιοτικά στελέχη βακτηρίων έχει μελετηθεί εκτενώς και προτείνεται η χρήση είτε αποκλειστικά προβιοτικών καλλιεργειών, είτε να γίνει συνδυασμός συμβατικών καλλιεργειών γιαουρτιού (*S. thermophilus* και *Lb. Bulgaricus*) με προβιοτικά στελέχη. Έχουν αναφερθεί στελέχη που η χρήση τους για την παραγωγή γιαουρτιού δεν έχει σημαντική επίδραση στη διαδικασία ζύμωσης ή στις οργανοληπτικές ιδιότητες του γιαουρτιού, συγκεκριμένα τα *Bifidobacterium lactis* και *Lactobacillus acidophilus* (Allgeyer et al., 2010; Cruz et al., 2013; Illurapalayam et al., 2014). Στην πλειονότητά τους όμως τα προβιοτικά βακτήρια έχουν αρνητική επίδραση τόσο στη διεργασία ζύμωσης όσο και στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του παραγόμενου γιαουρτιού (Maragkoudakis et al. 2006), έτσι προτιμάται ο συνδυασμός με τη συμβατική καλλιέργεια. Επίσης τίθεται θέμα για τη βιωσιμότητα των προβιοτικών στελεχών, κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης, λόγω του όξινου pH του γιαουρτιού (Chen et al., 2017; Tsevdou & Taoukis, 2011).

Μία εναλλακτική, με μικρότερο αντίκτυπο στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του γιαουρτιού που, ταυτόχρονα, εξασφαλίζει την επιβίωση των προβιοτικών κατά την αποθήκευση, είναι ο εγκλεισμός των προβιοτικών και η προσθήκη σε ενδιάμεσο ή τελικό στάδιο της (Frakolaki et al., 2021). Στα υλικά που χρησιμοποιούνται ευρέως ως εγκλειστικά μέσα περιλαμβάνονται τα υδατανθρακικά πολυμερή, τα οποία είναι και τα πιο διαδεδομένα, οι πρωτεΐνες και τα λιπίδια (Chranioti et al., 2015; Nedovic et al., 2011). Τα υδατανθρακικά πολυμερή ταξινομούνται σε: άμυλο και παράγωγά του (αμυλόζη, αμυλοπηκτίνη, δεξτρίνες, μαλτοδεξτρίνες, πολυδεξτρόζη, σιρόπια και κυτταρίνη και παράγωγά της), φυτικά εκχυλίσματα (αραβικό κόμμα, γαλακτομαννάνες, πηκτίνες και διαλυτοί πολυσακχαρίτες σόγιας), εκχυλίσματα από φύκια (καραγενάνες και αλγινικό νάτριο) και πολυσακχαρίτες μικροβιακής ή ζωικής προέλευσης (δεξτράνη, χιτοζάνη, ξανθάνη και τζελάνη) (Nedovic et al., 2011). Εγκλειστικά μέσα πρωτεϊνικής φύσης είναι η ζελατίνη, το καζεϊνικό νάτριο, η πρωτεΐνη ορού γάλακτος και τα

Κεφάλαιο 2 Γιαούρτι

συμπυκνώματα πρωτεΐνης σόγιας (Chranioti and Tzia, 2015). Τέλος, οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για τον εγκλεισμό προβιοτικών βακτηρίων και ενσωμάτωσής τους σε προϊόντα γιαουρτιού περιλαμβάνουν, γαλακτωματοποίηση, ξήρανση με ψεκασμό, κατάψυξη με ψεκασμό, ξήρανση υπό κατάψυξη, εγκλεισμό με ρευστοποιημένη κλίνη, ηλεκτροστατική εναπόθεση και εξώθηση πολλαπλού γαλακτώματος (Chranioti et al., 2015; Frakolaki et al., 2021; Nedovic et al., 2011). Η εφαρμογή του εγκλεισμού στην παραγωγή προβιοτικού γιαουρτιού εξασφαλίζει την προστασία των προβιοτικών βακτηρίων κατά τη διεργασία ζύμωσης χωρίς την παρεμποδίζει, ακόμη προστατεύει τα στελέχη από το όξινο pH κατά την αποθήκευση και επιτρέπει στην προβιοτική καλλιέργεια να φτάσει στο σημείο στόχο του ξενιστή, ώστε να λειτουργήσει και να επιφέρει τα επιθυμητά οφέλη στην υγεία του.

2.7.2 Πρεβιοτικά

Ως πρεβιοτικά ονομάζονται ορισμένα συστατικά τροφίμων που επηρεάζουν επωφελώς τον ανθρώπινο οργανισμό με έμμεσο τρόπο. Τα πρεβιοτικά είναι συστατικά τροφίμων, μη εύπεπτα από τον άνθρωπο, τα οποία επιλεκτικά διεγείρουν την ανάπτυξη και τη δραστηριότητα ορισμένων βακτηριακών ειδών που ήδη υπάρχουν στο ανθρώπινο έντερο και επαγωγικά βελτιώνουν την υγεία του ανθρώπου. Τα περισσότερα πρεβιοτικά είναι γενικώς ολιγοσακχαρίτες, ειδικότερα φρουκτοολιγοσακχαρίτες. Οι συνηθέστεροι ολιγοσακχαρίτες με πρεβιοτικό χαρακτήρα είναι η ινουλίνη, ο τρανς-γαλακτοολιγοσακχαρίτης, η γαλακτόζη, η ισομαλτόζη και η ολιγοφρουκτόζη. Έχει αποδειχθεί ότι ευνοούν την ανάπτυξη ενδογενών *Bifidobacteria* και τα καθιστούν τα κυρίαρχα είδη στο ανθρώπινο πεπτικό σύστημα. Η προσθήκη ολιγοφρουκτόζης σε απλό γιαούρτι, δεν επηρεάζει την εξέλιξη του pH ή τη βιωσιμότητα των οξυγαλακτικών βακτηρίων, όμως επηρεάζει αρνητικά τα χαρακτηριστικά υφής και το ιξώδες του παραγόμενου γιαουρτιού. Ακόμη, η προσθήκη ινουλίνης σε γιαούρτι έχει θετική επίδραση στα χαρακτηριστικά υφής του γιαουρτιού και μπορεί να οδηγήσει σε ενδιαφέροντα αποτελέσματα στις οργανοληπτικές ιδιότητες και ιδιαίτερα στα χαρακτηριστικά της υφής του προϊόντος. Γενικώς, οι περισσότερες μελέτες σχετικά με την προσθήκη πρεβιοτικών ολιγοσακχαριτών στο γιαούρτι συμφωνούν ότι τα περισσότερα από τα χαρακτηριστικά του τελικού προϊόντος και της διαδικασίας παραμένουν αρκετά κοντά στις τιμές των συμβατικών. Ειδικότερα, πολλά πρεβιοτικά μικρού μοριακού βάρους έχουν ελαφρώς αρνητική επίδραση στη υφή του γιαουρτιού, ενώ τα πρεβιοτικά μεγάλου μοριακού βάρους την βελτιώνουν (Ahmad et al., 2022).

3.1 Γενικά

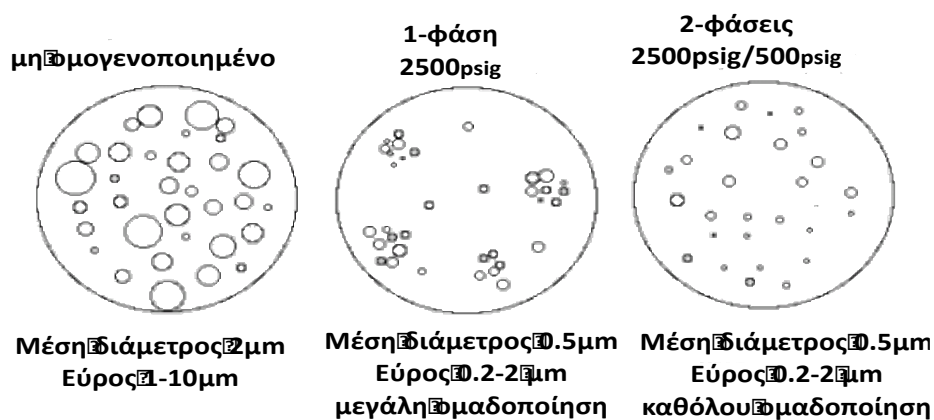
Με τον όρο "ομογενοποίηση" νοείται η διεργασία που υποβάλλεται στο γάλα και γενικώς στα γαλακτώματα, ώστε να διατηρούνται σε μία φάση και να μην διαχωρίζονται, και επιτυγχάνεται με τη διάσπαση της διεσπαρμένης φάσης (στο γάλα τα λιποσφαίρια) σε μικρότερα σωματίδια (De, 2001). Η ομογενοποίηση επινοήθηκε από τον Gaulin το 1899, αναφέρεται δε στα γαλλικά ως "fixer la composition des liquides", υποδηλώνοντας την ικανότητά της να σταθεροποιεί τη σύνθεση των υγρών. Πρωταρχικός στόχος της είναι να περιορίζει το φαινόμενο της αποκορύφωσης που συμβαίνει φυσικά στο γάλα, εμποδίζοντας τα λιποσφαίρια να συσσωματωθούν και τη λιπαρή φάση να διαχωριστεί από τον όγκο του γάλακτος (Bylund, 2003). Στη βιομηχανία γάλακτος και γενικότερα στη γαλακτοκομία, όταν γίνεται αναφορά στην ομογενοποίηση, πρόκειται για μία καθαρά μηχανική διεργασία που περιλαμβάνει την καταπόνηση του γάλακτος και των συστατικών του με έντονες διατμητικές τάσεις (Tamime, 2009). Όσον αφορά τη μέση διάμετρο των λιποσφαιρίων, στο ακατέργαστο γάλα κυμαίνεται από 5 έως 6 μm , ενώ μετά από μία αποτελεσματική ομογενοποίηση είναι μικρότερη από 1 μm (Fellows, 2000). Πέραν αυτών των συγκεκριμένων διαστάσεων, οποιαδήποτε προσπάθεια για περαιτέρω μείωσή τους αποδεικνύεται ασύμφορη, αφού απαιτεί μεγάλο ενεργειακό κόστος. Ωστόσο, είναι σημαντικό η πλειονότητα των λιποσφαιρίων (>90%) να μην έχει διάμετρο μεγαλύτερη από 1,0 μm , ώστε να αποφεύγεται η συνένωσή τους και ο μετέπειτα διαχωρισμός του λίπους κατά την αποθήκευση (Hooi et al., 2004; Wehr & Frank, 2004). Στην Εικόνα 3.1 φαίνεται μία τυπική κατανομή μεγέθους των λιποσφαιρίων γάλακτος κατόπιν ομογενοποίησης και στην Εικόνα 3.2 το αποτέλεσμα της ομογενοποίησης ως μέση διάμετρος λιποσφαιρίων με τη μέθοδο με πίεση ενός ή δύο σταδίων.



Εικόνα 3.1: Κατανομή μεγέθους σωματιδίων λίπους σε καλώς ομογενοποιημένο γάλα σε υψηλές θερμοκρασίες (Deeth & Lewis, 2017)

Κεφάλαιο 3 Υπέρηχοι και Ομογενοποίηση

Εκτός από τη μείωση του μεγέθους των λιποσφαιρίων και την πρόληψη της αποκορύφωσης, η ομογενοποίηση έχει επιπλέον αποτελέσματα στο γάλα. Τα ομογενοποιημένα λιποσφαίρια μπορεί να οδηγήσουν σε αύξηση του ιξώδους των γαλακτοκομικών προϊόντων, λόγω της μεγαλύτερης ειδικής επιφάνειάς τους καθώς και της συμμετοχής μορίων καζεΐνης στη μεμβράνη τους. Η ομογενοποίηση επίσης έχει αναφερθεί ότι δημιουργεί λευκότερο χρώμα, επιταχύνει την πήξη του γάλακτος κατά την παραγωγή ζυμωμένων προϊόντων, δυσχεραίνει την οξείδωση των λιπαρών και τον σχηματισμό ξένων αρωμάτων και βοηθά στην απορρόφηση των λιπών και των πρωτεϊνών από τον ανθρώπινο οργανισμό (Walstra et al., 2005; Tamime, 2009).



Εικόνα 3.2: Απεικόνιση λιποσφαιρίων γάλακτος, μη ομογενοποιημένου, ομογενοποιημένου σε ένα και σε 2 στάδια (Goff et al. 2023)

Η εν λόγω διαδικασία παρουσιάζει, ωστόσο, και ορισμένα μειονεκτήματα τα οποία σχετίζονται με τη γεύση, την οσμή και το άρωμα των προϊόντων. Συγκεκριμένα έχει παρατηρηθεί η ανάπτυξη μίας γεύσης «ιχθύος», η οποία αποδίδεται στην απελευθέρωση φωσφολιπιδίων όταν καταστρέφεται η μεμβράνη των λιποσφαιρίων υπό την επίδραση ορισμένων μικροοργανισμών όπως ψευδομονάδες, παράγοντας μεταβολίτες με τη χαρακτηριστική μυρωδιά. Ακόμη, η έκθεση ομογενοποιημένου γάλακτος σε ηλιακό φως δημιουργεί μεταλλική επίγευση η οποία αποδίδεται στη δράση λιπολυτικών ενζύμων, όπου λόγω διάρρηξης της μεμβράνης των λιποσφαιρίων διευκολύνεται η επαφή με τα λιπαρά μόρια και, κατά συνέπεια, η πραγματοποίηση αντιδράσεων λιπόλυσης (Walstra et al., 2005).

3.2 Σημασία της ομογενοποίησης του γάλακτος

Οι ιδιότητες του γάλακτος και των παραγώγων του επηρεάζονται σε μεγάλο βαθμό από το μέγεθος και την κατανομή των λιποσφαιρίων του, κατά συνέπεια από τη διαδικασία ομογενοποίησης. Για το φρέσκο γάλα, η ομοιόμορφη σύνθεση δημιουργεί ευχάριστα και αποδεκτά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, τόσο εμφάνισης όσο και υφής, ακόμη, ενώ το τυποποιημένο γάλα διαθέτει προκαθορισμένες τιμές περιεκτικότητας σε λίπος. Η ομογενοποίηση διευκολύνει την τυποποίηση του γάλακτος και δημιουργεί αυτά τα ευχάριστα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά στο γάλα, με αποτέλεσμα να αποτελεί απαραίτητη διεργασία για την παραγωγή τυποποιημένου και αποδεκτού προϊόντος.

Οι αλλαγές που συμβαίνουν στο γάλα λόγω της ομογενοποίησης επηρεάζουν θετικά την υφή των παραγόμενων γαλακτοκομικών προϊόντων. Μέσω της διάσπασης των λιποσφαιρίων, η διαδικασία της ομογενοποίησης αυξάνει τη διαθέσιμη επιφάνεια, επηρεάζοντας έτσι την πιθανή αλληλεπίδραση με τις πρωτεΐνες του γάλακτος, όπως της καζεΐνης και παρέχει στο προϊόν δυνατότητα αποθήκευσης χωρίς αλλοίωση για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, καθώς αυτό παρουσιάζει μειωμένη ευπάθεια σε αλλοιώσεις και αυξημένη αντοχή σε διαχωρισμό φάσεων. Ακόμη, μελέτες έχουν αποδείξει ότι η χρήση ομογενοποιημένου γάλακτος στην παραγωγή γιαουρτιού ή τυριού έχει θετική επίδραση στη διεργασία ζύμωσης αλλά και στα χαρακτηριστικά του τελικού προϊόντος (Sert, Mercan, & Tanrikulu, 2023; Walstra et al., 2011; Fox, 2006).

Η διαδικασία της ομογενοποίησης επηρεάζει και τις θρεπτικές ιδιότητες του γάλακτος, αφού βοηθά στην αφομοίωση των βιταμινών που είναι διαλυτές στο λίπος, ενισχύοντας έτσι τη θρεπτική σύνθεση των γαλακτοκομικών προϊόντων, ενώ παράλληλα, έχει αντίκτυπο και στην απελευθέρωση και διαθεσιμότητα συγκεκριμένων βιοενεργών συστατικών που βρίσκονται στο γάλα, συμπεριλαμβανομένων των πεπτιδίων και των λιπιδίων (Jensen, Ferris & Lammi-Keefe, 1991).

3.3 Αρχές ομογενοποίησης γάλακτος

3.3.1 Μηχανισμός ομογενοποίησης

Ο μηχανισμός ομογενοποίησης περιλαμβάνει δύο στάδια. Στο πρώτο στάδιο, οι διατμητικές τάσεις που αναπτύσσονται στο υγρό ξεπερνούν σε ισχύ τις δυνάμεις μεταξύ των μορίων που απαρτίζουν τη μεμβράνη των λιποσφαιρίων και έτσι αυτή διαλύεται. Στο δεύτερο στάδιο, τα λιπαρά μόρια των λιποσφαιρίων λόγω του υδρόφοβου χαρακτήρα τους συγκλίνουν και συσσωματώνονται, ενώ ταυτόχρονα τα πρωτεϊνικά μόρια της προηγούμενης μεμβράνης αγκαλιάζουν τα συσσωματώματα αυτά και δημιουργούν νέα και μικρότερα λιποσφαίρια. Οι νέες μεμβράνες, που είναι μικρότερες σε εμβαδό,

Κεφάλαιο 3 Υπέρηχοι και Ομογενοποίηση

έχουν μεγαλύτερη συγκέντρωση σε πρωτεϊνικά μόρια. Η νέα τους αυτή σύνθεση και το μικρότερο μέγεθός τους, δυσχεραίνει τις μεταξύ τους αλληλεπιδράσεις και τη συσσωμάτωσή τους σε μεγαλύτερα σωματίδια (Fox, 2022; Cano-Ruiz, Richter, 1997). Έτσι, διατηρείται περισσότερο το μικρό μέγεθος των λιποσφαιρίων και η σταθερότητα του γάλακτος ως γαλάκτωμα.

3.3.2 Ελάττωση μεγέθους λιποσφαιρίων

Τα λιποσφαίρια στο νωπό γάλα παρουσιάζουν μία φυσική κατανομή μεγέθους, που κυμαίνεται από μερικά μικρόμετρα έως μερικές δεκάδες μικρόμετρα σε διάμετρο, επειδή προέρχονται από διαφορετικούς τύπους κυττάρων του μαστικού αδένου, και έχουν μεταβλητή περιεκτικότητα σε λιπαρά μόρια. Ακόμη, η κατανομή και το μέγεθος των λιποσφαιρίων ποικίλει ανάλογα με το είδος του ζώου, τη φυλή, τη διατροφή και την εποχή του έτους. Στο αγελαδινό γάλα, για παράδειγμα, το μέγεθος των λιποσφαιρίων κυμαίνεται συνήθως από 0,1 έως 15 μm , με μέση τιμή περίπου 4 μm (Abesinghe et al., 2019). Κατά την ομογενοποίηση, τα λιποσφαίρια υφίστανται έντονη μηχανική καταπόνηση, με αποτέλεσμα η μεμβράνη που τα περιβάλλει να διασπάται και τα εσωτερικά λιπαρά μόρια, να απελευθερώνονται στον όγκο του γάλακτος. Λόγω των διαμοριακών δυνάμεων, τα «ελεύθερα» λιπαρά μόρια έλκονται και συσσωματώνονται, και τα μόρια πρωτεΐνης της διαρρηχθείσας μεμβράνης σχηματίζουν μία νέα μεμβράνη στη διεπιφάνεια λιπαρού - νερού (ορού). Οι δράσεις αυτές λαμβάνουν χώρα μέσα σε κλάσματα του δευτερολέπτου και τα νέα λιποσφαίρια που σχηματίζονται είναι μικρότερα και με μεγαλύτερη αναλογία πρωτεϊνικών μορίων στη μεμβράνη. Πλην των μορίων της «αρχικής» μεμβράνης, κατά τη διάρκεια του σχηματισμού της νέας μεμβράνης, απορροφώνται σε αυτή πρωτεϊνικά μόρια, κυρίως καζεΐνες, από τον ορό του γάλακτος, προκειμένου να γαλακτωματοποιηθούν (Cano-Ruiz & Richter, 1997; Domian & Mańko-Jurkowska, 2022).

3.2.3 Σταθεροποίηση του γάλακτος ως γαλάκτωμα

Το ακατέργαστο γάλα δεν είναι ένα σταθερό γαλάκτωμα, και σε λιγότερο από 24h συμβαίνει το φαινόμενο της αποκορύφωσης και διαχωρίζεται σε δύο φάσεις, τη λιπαρή στην επιφάνεια, και τον ορό. Ο διαχωρισμός αυτός συμβαίνει, διότι τα λιποσφαίρια συγκρούονται μεταξύ τους και συσσωματώνονται. Στη συσσωμάτωση συμβάλλουν η τυχαία κίνηση Brown των λιποσφαιρίων, η διεπιφανειακή ένταση μεταξύ τους και το γεγονός ότι η πίεση είναι μεγαλύτερη μέσα στα μικρότερα λιποσφαίρια από ότι μέσα στα μεγαλύτερα, επομένως, τα μεγάλα τείνουν να αυξάνονται σε βάρος των μικρότερων (αρχή Laplace) (Fox, 2011). Η ομογενοποίηση περιορίζει ή προλαμβάνει το φαινόμενο της αποκορύφωσης των λιπαρών, αφενός λόγω του μικρότερου μεγέθους και της καλύτερης διασποράς των

Κεφάλαιο 3 Υπέρηχοι και Ομογενοποίηση

λιποσφαιρίων, αφετέρου λόγω των περισσότερων πρωτεϊνικών μορίων που βρίσκονται στη μεμβράνη που περιβάλλει τα ομογενοποιημένα λιποσφαίρια. Αν και πάλι συμβαίνουν συγκρούσεις μεταξύ των λιποσφαιρίων, λόγω της τυχαίας της κίνησής τους, πιο σπάνια αυτά συσσωματώνονται, διότι οι περισσότερες πρωτεΐνες στη διεπιφάνεια μεταξύ εσωτερικού λιπαρού και υδατικού περιβάλλοντος δεν επιτρέπουν τη συνένωση. Μακροσκοπικά η σταθερότητα του γάλακτος με τη μορφή γαλακτώματος διατηρείται, και το γάλα παραμένει σε μία φάση για πολύ περισσότερο χρόνο (Wilbey, 2011; Fox, 2022).

Η σταθερότητα γαλακτώματος η οποία προκύπτει, αποτελεί κριτήριο της απόδοσης για μία διαδικασία ομογενοποίησης. Η αποτελεσματικότητα της μεθόδου ομογενοποίησης ή μίας διάταξης ομογενοποίησης, μπορεί να εκτιμηθεί αφήνοντας ποσότητα 100 mL γάλακτος να καθιζάνει σε ηρεμία, σε ογκομετρικό κύλινδρο για 24 h υπό ψύξη. Η διαφορά στην περιεκτικότητα σε λίπος μεταξύ του ανώτερου στρώματος και του υπόλοιπου γάλακτος μπορεί στη συνέχεια να μετρηθεί με τη μέθοδο Gerber. Το μέτρο της αποτελεσματικότητας της ομογενοποίησης περιγράφεται από την παρακάτω εξίσωση (Wilbey, 2011):

$$\text{Δείκτης ομογενοποίησης} = \frac{\text{Διαφορά στην περιεκτικότητα σε λίπος}}{\text{Τιμή λίπους στο ανώτερο στρώμα}} \times 100$$

3.3 Μηχανικές μέθοδοι ομογενοποίησης γάλακτος

Η ομογενοποίηση του γάλακτος έχει ιστορικά βασιστεί σε διάφορες παραδοσιακές μεθόδους για την επίτευξη της επιθυμητής ομοιομορφίας στην κατανομή μεγέθους των λιπαρών. Οι πιο συνήθεις διατάξεις ομογενοποίησης είναι μηχανικής φύσης και περιλαμβάνουν αναμικτήρες που λειτουργούν με υψηλή ταχύτητα (τύπου ρότορα-στάτορα ή τύπου λεπίδων), ομογενοποιητές υψηλής πίεσης, μύλους κολλοειδών και μικρορευστοποιητές.

3.3.1 Ομογενοποιητές ρότορα-στάτορα

Οι ομογενοποιητές με ρότορα-στάτορα είναι μηχανήματα που χρησιμοποιούνται σε εργαστήρια, πιλοτικές εγκαταστάσεις και παραγωγικές εγκαταστάσεις για την επεξεργασία υγρών δειγμάτων από 0,01 mL έως 20 L. Η κύρια λειτουργία των ομογενοποιητών αυτών είναι η διάσπαση ή η ομογενοποίηση των δειγμάτων με ομοιόμορφα κατανεμημένα σωματίδια μικρότερου μεγέθους με την εφαρμογή υψηλών διατμητικών τάσεων (Dhankhar, 2014).

Ο ομογενοποιητής ρότορα-στάτορα (Εικόνα 3.3) έχει ένα στενό διάκενο προσαρμογής μεταξύ του ρότορα και του στάτορα, το οποίο δημιουργεί μία ζώνη υψηλής διάτμησης. Ο ρότορας διαθέτει μία

Κεφάλαιο 3 Υπέρηχοι και Ομογενοποίηση

σειρά από πτερύγια που περιστρέφονται με υψηλές ταχύτητες (Dhankhar, 2014). Ο στάτορας, από την άλλη πλευρά, είναι σταθερός και τοποθετημένος γύρω από τον ρότορα. Καθώς οι λεπίδες περιστρέφονται, το δείγμα αναρροφάται μέσω της ζώνης διάτμησης και οι υψηλές διατμητικές δυνάμεις που ασκούνται από τις λεπίδες προκαλούν τη διάσπαση και την ομοιόμορφη ανάμιξη του δείγματος έως ότου σχηματιστεί ένα σταθερό γαλάκτωμα. Η αποδοτικότητα και η απόδοση του ομογενοποιητή ρότορα-στάτορα επηρεάζονται από διάφορους παράγοντες. Το διάκενο ρότορα-στάτορα, η γεωμετρία του ρότορα και του στάτορα, τα υλικά κατασκευής, το ιξώδες του δείγματος, ο όγκος του δείγματος, το σχήμα του δοχείου ομογενοποίησης και το κάλυμμά του, είναι όλα σημαντικές παράμετροι που θα μπορούσαν να επηρεάσουν την επιτυχία της διαδικασίας (Dhankhar, 2014).



Εικόνα 3.3: Εργαστηριακός Ομογενοποιητής τύπου ρότορα-στάτορα

3.3.2 Ομογενοποιητές λεπίδας

Οι ομογενοποιητές τύπου λεπίδας, γνωστοί και ως αναμίκτες, χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία τροφίμων, φαρμάκων και καλλυντικών και η κύρια λειτουργία τους είναι η διάσπαση ή η ομογενοποίηση μεγάλων σωματιδίων σε φυτικούς ή ζωικούς ιστούς σε μικρά, ομοιόμορφου μεγέθους σωματίδια.

Οι ομογενοποιητές με λεπίδες (Εικόνα 3.4) αποτελούνται από λεπίδες που μπορούν να είναι άνω ή κάτω και να περιστρέφονται σε υψηλές ταχύτητες που κυμαίνονται από 6.000 έως 50.000 RPM. Οι

Κεφάλαιο 3 Υπέρηχοι και Ομογενοποίηση

κοπτικές λεπίδες περιστρέφονται και επεξεργάζονται το δείγμα σε ένα δοχείο, ρευστοποιώντας το, και διασπώντας το μέγεθος των σωματιδίων μέχρι το επίπεδο της τάξης των μm.



Εικόνα 3.4: Λεπίδες ομογενοποιητή τύπου λεπίδας

Η αποτελεσματικότητα των ομογενοποιητών λεπίδων, σε σχέση με εκείνη των λοιπών μεθόδων ομογενοποίησης είναι χαμηλότερη, διότι οι διατμητικές δυνάμεις κατευθύνονται προς μία μόνο κατεύθυνση. Ένα παράδειγμα θα ήταν, όταν οι δυνάμεις διάτμησης κινούνται προς την κατεύθυνση των πτερυγίων, δημιουργώντας νεκρά σημεία που δεν φτάνουν στην υψηλότερη ζώνη διάτμησης, μειώνοντας έτσι την αποτελεσματικότητά τους. Οι ομογενοποιητές τύπου λεπίδας έχουν καλύτερη εφαρμογή, όταν το ιξώδες του δείγματος είναι υψηλό (Dhankhar, 2014).

3.3.3 Μύλοι Κολλοειδών

Οι μύλοι κολλοειδών είναι διατάξεις που αποτελούνται από δύο δίσκους κάθετους μεταξύ τους με ένα μικρό διάκενο μεταξύ τους. Ο ένας δίσκος είναι σταθερός και ο δεύτερος περιστρέφεται με ταχύτητα που κυμαίνεται από 3000 έως 15000 RPM. Οι μύλοι αυτοί δημιουργούν έντονες διατμητικές τάσεις, ξεπερνώντας την αποτελεσματικότητα των ομογενοποιητών πίεσης σε ρευστά με υψηλό ιξώδες. Όταν πρόκειται για ρευστά μεσαίου ιξώδους, οι κολλοειδείς μύλοι αποδίδουν μεγέθη σφαιριδίων μεγαλύτερα από εκείνα που παράγονται από ομογενοποιητές πίεσης. Δεδομένου του επιπέδου τριβής που προκαλείται από τρόφιμα με υψηλό ιξώδες, καθίσταται αναγκαία η χρήση συστήματος κυκλοφορίας νερού για την ψύξη των μύλων (Fellows, 2000).

Κεφάλαιο 3 Υπέρηχοι και Ομογενοποίηση

3.3.4 Ομογενοποίηση με βαλβίδα

Η ομογενοποίηση με βαλβίδα αντιπροσωπεύει μία μηχανική μέθοδο που χρησιμοποιείται με σκοπό την ομογενοποίηση του γάλακτος. Σε αυτή την πειραματική διαδικασία, το γάλα εκτίθεται σε αυξημένη πίεση και ταχύτητα, ενώ διέρχεται από μία στενή βαλβίδα. Η απότομη μείωση της πίεσης κατά μήκος της βαλβίδας δημιουργεί έντονες διατμητικές τάσεις, με αποτέλεσμα την κατάτμηση των λιποσφαιρίων. Η αποτελεσματικότητα της ομογενοποίησης με βαλβίδα είναι ευρέως αναγνωρισμένη, όμως οι απαιτήσεις σχεδιασμού και συντήρησης του εξοπλισμού μπορεί να παρουσιάσουν δυσκολίες στο πλαίσιο βιομηχανικών εφαρμογών μεγάλης κλίμακας.

3.3.5 Ομογενοποίηση υψηλής πίεσης

Η ομογενοποίηση υψηλής πίεσης (High Pressure Homogenization - HPH) είναι μία συμβατική τεχνική που έχει χρησιμοποιηθεί εκτενώς στον τομέα των γαλακτοκομικών προϊόντων και υποβάλλει το γάλα σε αυξημένες πιέσεις της τάξης των 10 έως 25 MPa, γεγονός που καθιστά αναγκαία τη διέλευσή του μέσω ενός μικροσκοπικού ανοίγματος. Η συγκεκριμένη μέθοδος δημιουργεί σημαντικές διατμητικές τάσεις οι οποίες προκαλούν την ομογενοποίηση.

Οι υψηλής πίεσης ομογενοποιητές έχουν μία βαλβίδα ομογενοποίησης συνδεδεμένη σε μία αντλία υψηλής πίεσης. Κατά την εξαναγκασμένη κίνηση του υγρού στο διάκενο μεταξύ της βαλβίδας και της έδρας της, παρατηρείται μεγάλη αύξηση της πίεσης, με αποτέλεσμα την αύξηση της ταχύτητας του υγρού (80-150 m/s). Καθώς το υγρό εξέρχεται από τη βαλβίδα, η στιγμιαία μείωση της ταχύτητας δημιουργεί τις διατμητικές τάσεις που σπάνε τη μεμβράνη που περιβάλλει τα λιποσφαίρια και τα τελευταία καταστρέφονται, ενώ στη συνέχεια σχηματίζονται νέα λιποσφαίρια με μέση διάμετρο μικρότερη από 1 μm (Fellows, 2000; Fox, 2022).

Χρησιμοποιούνται δύο τύποι υψηλής πίεσης ομογενοποιητές, που χαρακτηρίζονται είτε από μία διάταξη ομογενοποίησης είτε από δύο εν σειρά, που καλούνται ομογενοποιητές ενός σταδίου και ομογενοποιητές δύο σταδίων αντίστοιχα. Ο ομογενοποιητής δύο σταδίων είναι η μέθοδος που χρησιμοποιείται συχνότερα, καθώς επιτυγχάνει βέλτιστα αποτελέσματα ομογενοποίησης και παρακάμπτει την πιθανή συσσωμάτωση των λιποσφαιρίων που μπορεί να προκύψει κατά την ομογενοποίηση ενός σταδίου (Εικόνα 3.2). Για δείγματα με υψηλό ιξώδες χρησιμοποιείται ομογενοποίηση ενός σταδίου, ενώ για δείγματα με υψηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά και όταν επιδιώκεται υψηλή απόδοση χρησιμοποιούνται ομογενοποιητές δύο σταδίων.

Η ομογενοποίηση υψηλής πίεσης (HPH) είναι μία τεχνική επεξεργασία που χρησιμοποιείται κατά κόρον στη γαλακτοβιομηχανία. Μπορεί να συνδυαστεί με άλλες επεξεργασίες όπως η θερμική

Κεφάλαιο 3 Υπέρηχοι και Ομογενοποίηση

επεξεργασία για την περαιτέρω βελτίωση της λειτουργικότητας και της ποιότητας των γαλακτοκομικών προϊόντων, ενώ παράλληλα, επηρεάζει τις φυσικοχημικές ιδιότητες του γάλακτος, συμπεριλαμβανομένου του μεγέθους και της κατανομής των μικυλλίων καζεΐνης, τον βαθμό υδρόλυσης, την πεπτικότητα των πρωτεϊνών και την αντιοξειδωτική δραστηριότητα καθώς και τον χρόνο ζύμωσης του γιαουρτιού (Ma et al., 2023). Ακόμη, προκαλεί αύξηση του σχηματισμού πρωτογενών οξειδωμένων λιπαρών οξέων, γνωστών ως οξυλιπίνες, οι οποίες έχουν τη δυνατότητα να επηρεάσουν την οξειδωτική σταθερότητα του γάλακτος (Thum et al., 2023). Επιπλέον, η ομογενοποίηση υπό υψηλή πίεση σε συνδυασμό με χαμηλό pH έχει αποδειχθεί ότι μειώνει και το μέγεθος των καζεϊνικών μικυλλίων (Touhami et al., 2022). Επίσης, κατά την ομογενοποίηση με πίεση έχουν παρατηρηθεί ελαφρές τροποποιήσεις της δευτερογενούς δομής των πρωτεϊνών του ορού γάλακτος, όπως μερική αναδίπλωση της αλυσίδας της αλβουμίνης του ορού και εμφάνιση ελεύθερων ομάδων -SH στο μόριό της. Αντιθέτως, στην α-λακταλβουμίνη και στη β-λακτογλοβουλίνη παρουσιάστηκε μείωση των ελεύθερων ομάδων -SH, πιθανώς λόγω της διάσπασης και της συμπίεσης των φυσικών συσσωματωμάτων τους. Αυτές οι τροποποιήσεις στη διαμόρφωση των πρωτεϊνών επηρεάζουν τον βαθμό ενζυμικής υδρόλυσής τους (Carullo et al., 2020).

Παράλληλα με τις θετικές επιπτώσεις μέσω της επεξεργασίας του γάλακτος με ομογενοποίηση υψηλής πίεσης (HPH), είναι δυνατή και η εμφάνιση αρνητικών επιπτώσεων που συνδέονται με αυτή, όπως είναι η παρουσία ενός δυσάρεστου γευστικού προφίλ. Ειδικότερα, έχει παρατηρηθεί ότι υψηλές τιμές πίεσης (>200MPa) μπορεί να προκαλέσουν λιπόλυση (μειωμένο pH και απελευθέρωση ελεύθερων λιπαρών οξέων) και ανάπτυξη ταγγισμένου αρώματος λόγω παρουσίας υπολειμματικής δραστηριότητας της λιπάσης. Περαιτέρω αύξηση της πίεσης ομογενοποίησης προκαλεί την οξείδωση των λιπαρών μορίων, και πιο έντονο το χαρακτηριστικό ταγγισμού (Pereda et al., 2008).

3.3.6 Μικρορευστοποίηση

Η μικρορευστοποίηση είναι μία ακόμη τεχνική ομογενοποίησης που με υψηλή πίεση και μεγάλες ταχύτητες κίνησης υγρού προκαλεί έντονες διατμητικές τάσεις για να διαταράξει τις δομές των λιποσφαιρίων. Έχει εφαρμοστεί εκτενώς για την παραγωγή γαλακτωμάτων με εξαιρετικά μικρά σταγονίδια (συχνά με διάμετρο μικρότερη από 100 nm) (Jafari et al., 2008; Qian & McClements, 2011).

Πολυάριθμες έρευνες έχουν τεκμηριώσει την αποτελεσματικότητα της μικρορευστοποίησης ως μεθόδου ομογενοποίησης, αλλά και τις θετικές της επιδράσεις στα χαρακτηριστικά του γάλακτος και των προϊόντων του. Έχει παρατηρηθεί ότι η μικρορευστοποίηση του γάλακτος πριν από την ζύμωση παρουσίασε δυνατότητα βελτίωσης της ζύμωσης και μείωση του χρόνου ζύμωσης, όπως και ότι

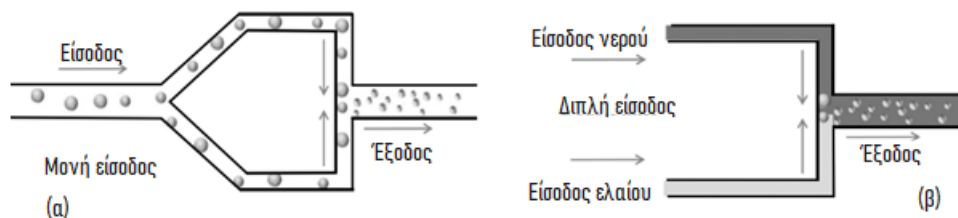
Κεφάλαιο 3 Υπέρηχοι και Ομογενοποίηση

διευκόλυνε την ανάπτυξη προβιοτικής καλλιέργειας (Bucci et al. 2018; Demirkesen et al. 2018), καθώς και αυξημένη σκληρότητα στο παραγόμενο τυρί ή γιαούρτι (Meghwal et al., 2017). Εκτός από τη μείωση του μεγέθους των λιποσφαιρίων, η μικρορευστοποίηση φάνηκε ότι οδηγεί και σε μικρότερα συσσωματώματα πρωτεϊνών (Bogahawaththa et al., 2018). Επιπλέον, παρατηρήθηκε ότι η χρήση της μικρορευστοποίησης προκαλεί το ξεδίπλωμα και τη μετουσίωση της β-λακτογλοβουλίνης λόγω της αυξημένης πίεσης και των διατμητικών τάσεων, οδηγώντας στον επακόλουθο σχηματισμό συσσωματωμάτων (Croguennec et al., 2004). Και σε άλλα γαλακτώματα ελαίου σε νερό, η μικρορευστοποίηση έχει παρατηρηθεί ότι οδηγεί σε αυξημένη σταθερότητα και συνεκτικότερη υφή (Ozturk & Turasan, 2021).

Οι τυπικές διατάξεις μικρορευστοποιητών είναι ενός ή δύο εισόδων. Οι μικρορευστοποιητές μίας εισόδου, αποτελούνται από θάλαμο κωνικού σχήματος με σωλήνες εξόδου να βρίσκονται στα άκρα του κώνου (Εικόνα 3.5α). Το προς ομογενοποίηση ρευστό εισάγεται στο θάλαμο με μεγάλη ταχύτητα και επιταχύνεται εντός του θαλάμου, αυξάνοντας επιπλέον την ταχύτητα μέχρι να φθάσει στην έξοδο της διάταξης. Όλη αυτή η διαδικασία ολοκληρώνεται σε σύντομο χρονικό διάστημα λίγων δευτερολέπτων. Οι ανόμοιες ταχύτητες που παρατηρούνται μεταξύ των γειτονικών στρωμάτων του υγρού δημιουργούν σημαντικές διατμητικές δυνάμεις, οι οποίες, σε συνδυασμό με τη σπηλαίωση και τις δονήσεις υψηλής συχνότητας, έχουν ως αποτέλεσμα την κατάτμηση των λιποσφαιρίων σε μικρότερα σωματίδια μεγέθους περίπου 2-8 μm. Οι μικρορευστοποιητές μονής εισόδου χρησιμοποιούνται με σκοπό τη μείωση των διαστάσεων των σταγονιδίων εντός ενός ήδη υπάρχοντος γαλακτώματος. Αυτό επιτυγχάνεται με την πρόκληση της διέλευσης διαφορετικών τμημάτων ενός χονδροειδούς γαλακτώματος από δύο ξεχωριστά κανάλια (Fellows, 2000).

Οι μικρορευστοποιητές δύο εισόδων περιλαμβάνουν δύο σωλήνες εισόδου ρευστών, έναν μηχανισμό άντλησης και έναν θάλαμο αλληλεπίδρασης (Εικόνα 3.5β). Τα προς ομογενοποίηση ρευστά εισέρχονται στο θάλαμο, ήδη με μεγάλη ταχύτητα όπου συγκρούονται, και στη συνέχεια επιταχύνονται σε ακόμη υψηλότερη ταχύτητα μέσω ενός μηχανισμού άντλησης. Η σύγκρουση μεταξύ δύο ρευμάτων ρευστών δημιουργεί σημαντικές δυνάμεις διάσπασης, με αποτέλεσμα την ανάμιξη των ρευστών και τη διάσπαση των μεγαλύτερων σταγονιδίων. Τα γαλακτώματα μπορούν να παραχθούν απευθείας από χωριστές φάσεις ελαίου και ύδατος με τη χρήση μικρορευστοποιητών διπλής εισόδου, οι οποίοι ενσωματώνουν ξεχωριστές εισόδους για κάθε φάση, ώστε να διευκολύνεται η ομογενοποίηση (Panagiotou et al., 2008; Panagiotou & Fisher, 2008).

Κεφάλαιο 3 Υπέρηχοι και Ομογενοποίηση



Εικόνα 3.5: Μικρορευστοποιητής μονής εισόδου (α) με ροή ήδη υπάρχοντος γαλακτώματος. Μικρορευστοποιητής δύο εισόδων (β) με ανάμιξη λιπαρής και υδατικής φάσης.

Έχουν αναπτυχθεί διάφοροι τύποι καναλιών για την ενίσχυση της αποτελεσματικότητας της διάσπασης των σταγονιδίων στην ζώνη ομογενοποίησης, όπως ευθύγραμμα ή τεθλασμένα κανάλια. Οι μικρορευστοποιητές προσφέρονται σε πολλές διαμορφώσεις, όπως μοντέλα πάγκου, πιλοτικής μονάδας και κλίμακας παραγωγής. Οι ειδικά αναπτυγμένοι μικρορευστοποιητές εργαστηριακής κλίμακας έχουν τη δυνατότητα παραγωγής ελάχιστων ποσοτήτων τόσο μικρών όσο μερικά mL. Χρησιμοποιούνται συνήθως για την ομογενοποίηση ρευστών με χαμηλό έως μέτριο ιξώδες (Bucci et al., 2018).

Σύμφωνα με προηγούμενες μελέτες έχει παρατηρηθεί ότι το μέγεθος των σταγονιδίων που παράγονται από έναν μικρορευστοποιητή εξαρτάται από συγκεκριμένους παράγοντες, όπως η πίεση ομογενοποίησης, ο αριθμός των περασμάτων και η συγκέντρωση γαλακτωματοποιητή (Wooster et al., 2008). Παρόλα αυτά, αξίζει να σημειωθεί ότι οι μικρορευστοποιητές παράγουν γενικώς μικροσκοπικά σταγονίδια σε ένα μόνο πέρασμα, ενώ δεν θεωρείται ενεργειακά αποδοτικό να υποβάλλονται τα γαλακτώματα σε πολυάριθμα περάσματα (McClements, 2016). Το μέγεθος των σταγονιδίων επηρεάζεται ακόμη, από τη διεπιφανειακή τάση μεταξύ ελαίου και νερού, το λόγο ιξώδους μεταξύ των φάσεων ελαίου και νερού, τον ρυθμό προσρόφησης του γαλακτωματοποιητή και την ικανότητα του γαλακτωματοποιητή να αποτρέπει τη συνένωση κατά την ομογενοποίηση (Jafari et al., 2008). Ωστόσο, κατά την όλη διεργασία αυξάνεται η θερμοκρασία του δείγματος, και συνεπώς μπορεί να απαιτηθούν συμπληρωματικά μέτρα για τον έλεγχο της θερμοκρασίας που αυξάνεται κατά τη διαδικασία (Bucci et al., 2018).

Η χρήση της μικρορευστοποίησης έχει χρησιμοποιηθεί και στον γαλακτοκομικό τομέα ως μέσο ομογενοποίησης, συνήθως σε διάταξη μίας εισόδου. Εκτός από τη διάσπαση των λιποσφαιρίων, η μικρορευστοποίηση έχει αναφερθεί ότι προκαλεί μεταβολές στις πρωτεΐνες. Οι παρατηρούμενες μεταβολές μπορούν να αποδοθούν στις δυνάμεις διάτμησης και στα φαινόμενα σπηλαιώσης που λαμβάνουν χώρα εντός της συσκευής μικρορευστοποίησης. Φυσικά, η διαδικασία μικρορευστοποίησης

Κεφάλαιο 3 Υπέρηχοι και Ομογενοποίηση

δεν οδηγεί μόνο στην ομοιογένεια του γάλακτος, αλλά μειώνει επίσης το φαινόμενο της αποκορύφωσης, βελτιώνοντας έτσι τη συνολική σταθερότητα του γάλακτος ως γαλάκτωμα (Fonseca et al., 2007).

3.3.7 Περιορισμοί των μηχανικών μεθόδων ομογενοποίησης

Αν και οι παραδοσιακές μέθοδοι ομογενοποίησης αποδίδουν αρκετά και εφαρμόζονται κατά κόρον στα γαλακτοκομικά προϊόντα, συνοδεύονται από ορισμένα εμπόδια και περιορισμούς. Ένα συχνό πρόβλημα που αντιμετωπίζεται είναι η αύξηση της θερμοκρασίας του γάλακτος κατά τη διαδικασία ομογενοποίησης υψηλής πίεσης, η οποία μπορεί να οδηγήσει σε θερμική αλλοίωση των ευαίσθητων συστατικών του γάλακτος, συμπεριλαμβανομένων των πρωτεϊνών και των βιταμινών. Η θέρμανση στο γάλα έχει τη δυνατότητα να προκαλέσει μετουσίωση των πρωτεϊνών του, να υποβαθμίσει τα ευαίσθητα συστατικά του και να τροποποιήσει τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά της γεύσης και της οσμής του, ενώ επιδρά και στη διατήρηση των θρεπτικών συστατικών του γάλακτος. Ως εκ τούτου, είναι επιτακτική ανάγκη να γίνεται έλεγχος της θερμοκρασίας κατά την ομογενοποίηση.

Επιπροσθέτως, η πολυπλοκότητα των συμβατικών μηχανημάτων ομογενοποίησης και οι απαιτήσεις συντήρησης μπορεί να οδηγήσουν σε αυξημένες λειτουργικές δαπάνες, αφού η συχνή αντικατάσταση εξαρτημάτων του ομογενοποιητή, όπως βαλβίδες και σφραγίδες, λόγω μηχανικής φθοράς, μπορεί να έχει αρνητικές επιπτώσεις τόσο στην απόδοση όσο και στην οικονομική σκοπιμότητα. Επίσης, η παρουσία πρωτεϊνών και άλλων συστατικών του γάλακτος μπορεί να οδηγήσει σε ρύπανση του εξοπλισμού, η οποία μπορεί να δημιουργήσει αξιοσημείωτες προκλήσεις συντήρησης. Η συσσώρευση επικαθήσεων στα μικροκανάλια ή τα ακροφύσια (όπως στην περίπτωση της μικρορευστοποίησης και της υψηλής πίεσης) απαιτεί τακτικό καθαρισμό, που μπορεί ενδεχομένως να επηρεάσει την απόδοση της διαδικασίας ομογενοποίησης. Ακόμη, μπορεί να οδηγήσει σε αυξημένα έξοδα και περιόδους αδράνειας. Τα παραπάνω μεταφράζονται σε επιπλέον κόστος και σαφώς επηρεάζουν τη συνολική αποδοτικότητα και βιωσιμότητα της εκάστοτε μεθόδου ομογενοποίησης.

Ένας πρόσθετος περιορισμός που συνδέεται με την ομογενοποίηση υψηλής πίεσης είναι το γεγονός ότι δεν είναι εφικτός ο ακριβής χειρισμός της κατανομής του μεγέθους των σωματιδίων, αφού δεν οδηγεί, πάντα, σε μία ομοιόμορφη κατανομή. Η παρουσία σωματιδίων διαφορετικών μεγεθών μπορεί να έχει σημαντικές επιπτώσεις στη σταθερότητα των προϊόντων και μπορεί τελικά να βλάψει τη συνολική ποιότητα των γαλακτοκομικών προϊόντων. Αυτό αναδεικνύει την ανάγκη για εναλλακτικές τεχνικές που προσφέρουν μεγαλύτερο έλεγχο της διαδικασίας ομογενοποίησης.

Η γαλακτοβιομηχανία δίνει ιδιαίτερη έμφαση στις ενεργειακές απαιτήσεις, για την επιλογή των μεθόδων που εφαρμόζει. Οι συμβατικές τεχνικές ομογενοποίησης, ιδίως εκείνες που χρησιμοποιούν

Κεφάλαιο 3 Υπέρηχοι και Ομογενοποίηση

υψηλές πιέσεις, μπορεί να απαιτούν σημαντική χρήση ενέργειας, ενώ η διερεύνηση εναλλακτικών τεχνολογιών ομογενοποίησης υποκινείται από τις περιβαλλοντικές συνέπειες και τα λειτουργικά έξοδα που συνδέονται με την υπερβολική χρήση ενέργειας.

Η επίλυση αυτών των εμποδίων και περιορισμών απαιτεί την εφαρμογή μίας ολοκληρωμένης και ποικιλόμορφης στρατηγικής. Ερευνητές και επαγγελματίες του κλάδου ασχολούνται επί του παρόντος με τη διερεύνηση νέων προσεγγίσεων, όπως η ομογενοποίηση με τη βοήθεια υπερήχων, οι οποίες παρέχουν τη δυνατότητα για την αντιμετώπιση των ζητημάτων θερμικής υποβάθμισης και προσφέρουν βελτιωμένη ρύθμιση της κατανομής μεγέθους των σωματιδίων και έχουν διαφορετικές ενεργειακές απαιτήσεις.

3.4 Τεχνολογία υπερήχων στην ομογενοποίηση γάλακτος

Οι υπέρηχοι είναι μία αναπτυσσόμενη μη θερμική τεχνολογία, που χρησιμοποιείται στην επεξεργασία τροφίμων και γαλακτοκομικών προϊόντων και παρουσιάζει ενδιαφέρον λόγω της οικονομικής αποδοτικότητας και της λειτουργικής απλότητας. Κατά τις τελευταίες δύο δεκαετίες έχουν σημειωθεί αξιοσημείωτες εξελίξεις στην τεχνολογία των υπερήχων, οι οποίες διευκολύνουν τη χρήση της στον τομέα της βιομηχανικής επεξεργασίας τροφίμων (Cameron et al., 2009; Villamiel & De Jong, 2000). Η τεχνολογία υπερήχων υψηλής έντασης έχοντας τη δυνατότητα δημιουργίας φαινομένων όπως η ακουστική ροή, τα ηχητικά κύματα, η διάτμηση, η μικρο-εκτόξευση, η σπηλαιώση και τα κρουστικά κύματα, μπορεί να εφαρμοστεί και σε δείγματα γάλακτος με ενδιαφέροντα αποτελέσματα (Kot et al., 2023). Η εφαρμογή υπερήχων σε διεργασίες όπως η γαλακτωματοποίηση, η διήθηση, η αδρανοποίηση μικροοργανισμών, η ομογενοποίηση, η κρυστάλλωση και ο διαχωρισμός λίπους, έχει δείξει ήδη θετικά αποτελέσματα (Uluko et al., 2015; Gamlath et al., 2022; Balthazar et al., 2019; Van Hekken et al., 2019).

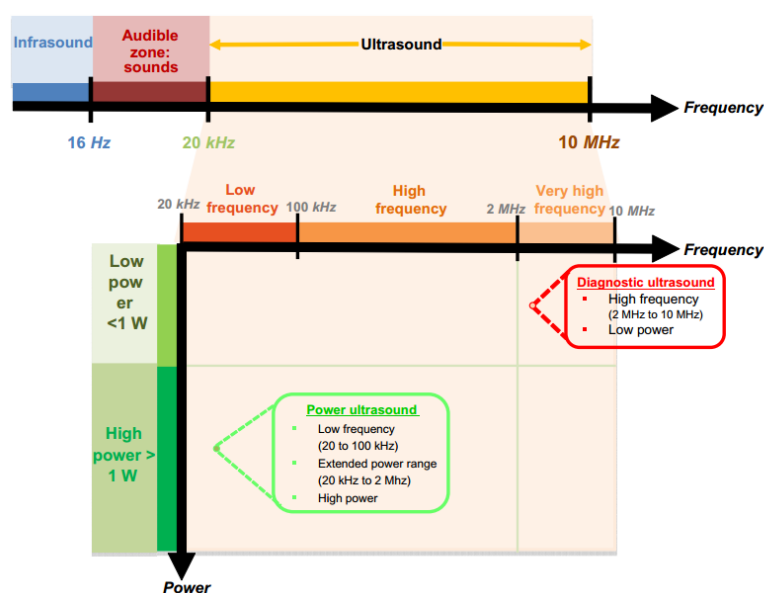
3.4.1 Βασικές αρχές των υπερήχων

Οι υπέρηχοι, ως κύματα, χαρακτηρίζονται από τέσσερις θεμελιώδεις φυσικές παραμέτρους, τη συχνότητα (εκφρασμένη σε hertz ή Hz), την ισχύ (μετρούμενη σε Watt ή W), το μήκος κύματος (μετρούμενο σε εκατοστά ή cm) και την ένταση (συντομογραφία UI) (μετρούμενη σε W/cm²) (Chemat et al., 2017).

Όπως φαίνεται και στην Εικόνα 3.6, η συχνότητα των υπερήχων (US) βρίσκεται εκτός του εύρους της ανθρώπινης ακοής (που είναι από 16 Hz έως 20 kHz) και κυμαίνεται συνήθως από 20 kHz έως 10 MHz. Οι υπέρηχοι κατηγοριοποιούνται με βάση τη συχνότητα και την ισχύ τους. Σε υψηλές συχνότητες (2-10 MHz) και χαμηλή ισχύ (κάτω του 1 W), λειτουργούν οι διαγνωστικοί υπέρηχοι οι οποίοι

Κεφάλαιο 3 Υπέρηχοι και Ομογενοποίηση

χρησιμοποιούνται για ανιχνευτικούς σκοπούς, όπως η ιατρική απεικόνιση. Δεν προκαλούν αλλαγές στο μέσο διάδοσης και ο στόχος τους είναι η ανίχνευση της δομής του μέσου, βάσει της τροποποίησης του υπερηχητικού κύματος κατά τη διάδοσή τους (Mason et al., 2003). Η τεχνική περιλαμβάνει την παραγωγή ηχητικών κυμάτων υψηλής συχνότητας τα οποία μεταδίδονται μέσω του μέσου και ανακλώνται από τα περιεχόμενά του, με διαφορετική πυκνότητα, δημιουργώντας μία ηχώ που ανιχνεύεται περαιτέρω και μετατρέπεται σε εικόνα από ειδικούς ανιχνευτές. Η ανάπτυξη αυτής της τεχνολογίας χρονολογείται από τις αρχές του 18^{ου} αιώνα, και έκτοτε έχει καταστεί ως ένα από τα σημαντικότερα διαγνωστικά εργαλεία της ιατρικής (Sánchez Rodas et al., 2023).



Εικόνα 3.6: Εύρος συχνοτήτων και ισχύος του ήχου (Khadhraoui et al., 2019).

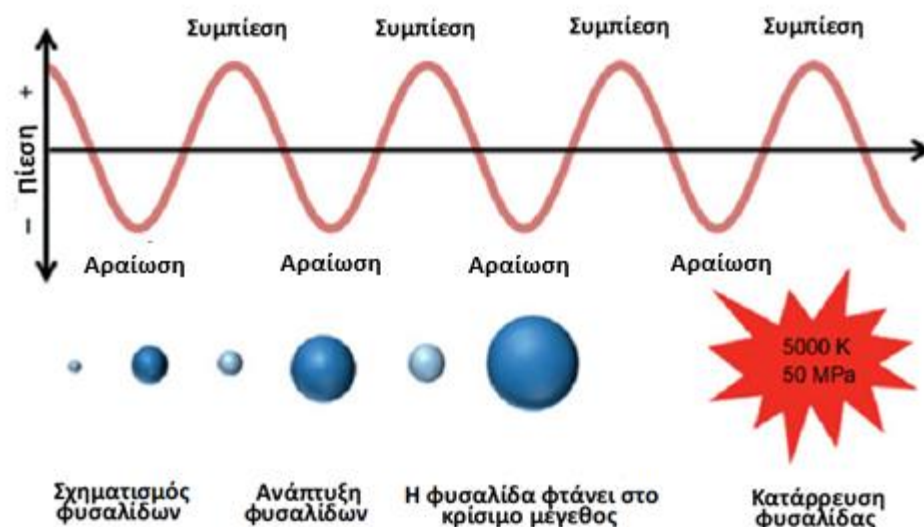
Άλλη κατηγορία υπερήχων είναι εκείνη με υψηλές συχνότητες (20-100 kHz) και υψηλή ισχύ (πάνω από 1 W). Η διάδοση των υπερήχων υψηλής ισχύος σε ένα μέσο προκαλεί μηχανικές δονήσεις, αλλαγή θερμοκρασίας, μεταφορά μάζας και φαινόμενα σπηλαίωσης, προκαλώντας με τον τρόπο αυτό σημαντικές φυσικές και χημικές αλλαγές στο μέσο. Αυτό το εύρος συχνοτήτων χρησιμοποιείται συνήθως σε τομείς όπως η επεξεργασία τροφίμων και η εκχύλιση φυσικών προϊόντων (Mason et al., 2003; Ojha et al., 2020; Chemat et al., 2017).

3.4.1.1 Ακουστική σπηλαίωση

Κατά τη διάδοση υπερήχων προκαλούνται περιοδικές συμπιέσεις και αραιώσεις όπως φαίνεται και στην Εικόνα 3.7. Η ταλάντωση αυτή της πίεσης έχει την ίδια συχνότητα με το υπερηχητικό κύμα

Κεφάλαιο 3 Υπέρηχοι και Ομογενοποίηση

(Lavilla & Bendicho, 2017). Κατά τη διάρκεια της συμπίεσης τα μόρια του μέσου έρχονται πιο κοντά, ενώ κατά την αραιώση απομακρύνονται (Vaidya et al., 2016). Ουσιαστικά, οι εναλλαγές πίεσης αναγκάζουν τα μόρια του υγρού να κινηθούν γύρω από τη μέση θέση τους, και όταν οι υπέρηχοι εφαρμόζονται με επαρκή ένταση, η αρνητική πίεση που ασκείται κατά τη φάση της αραιώσης υπερβαίνει τις ελκτικές δυνάμεις μεταξύ των μορίων του μέσου, δημιουργώντας φυσαλίδες (Suslick, 1989; Vaidya et al., 2016). Κατά τις αραιώσεις οι φυσαλίδες μεγαλώνουν σε μέγεθος. Μετά από αρκετούς κύκλους πίεσης, αποκτούν κρίσιμο μέγεθος, γίνονται ασταθείς και εκρήγνυνται βίαια, κατά μία φάση συμπίεσης (Εικόνα 3.8). Η κατάρρευση και η σύγκρουση των φυσαλίδων σπηλαιώσης δημιουργούν ένα θερμό σημείο με ακραία θερμοκρασία μεγαλύτερη από 4500°C (Ashokkumar, 2011; Leong et al., 2011).

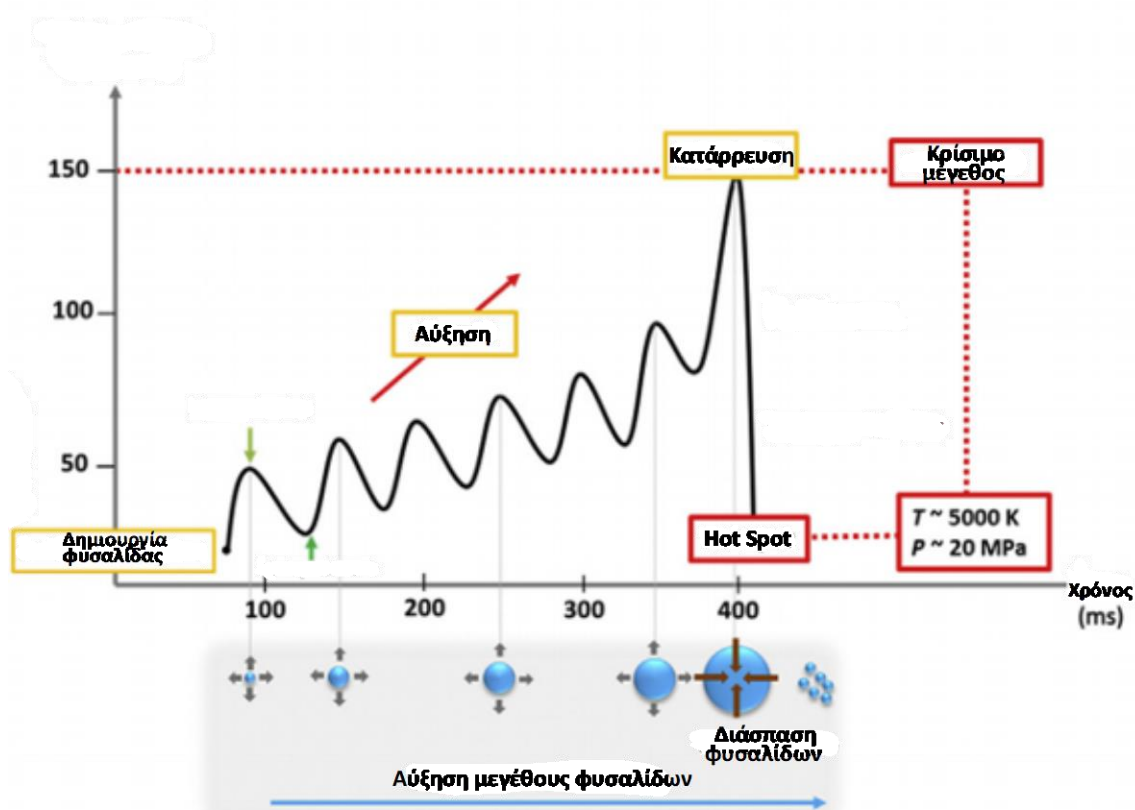


Εικόνα 3.7: Σχηματική αναπαράσταση των κυμάτων υπερήχων σε υγρό μέσο (Barba et al., 2021)

Σε υγρά μέσα συμβαίνουν φαινόμενα σπηλαιώσης δύο ειδών. Η ομοιογενής σπηλαιώση, όταν ο σχηματισμός φυσαλίδων λαμβάνει χώρα μέσα σε ομοιόμορφα υγρά και στη συνέχεια υφίσταται συμμετρική κατάρρευση (Mason et al., 2003), που προκαλεί ισχυρά κρουστικά κύματα και διατμητικές τάσεις ευνοώντας τη μεταφορά μάζας και χημικές αντιδράσεις (Villamiel et al., 2000; Vyas & Ting, 2017). Υπάρχει επίσης και η ετερογενής σπηλαιώση που χρησιμεύει σε περιπτώσεις ετερογενών αντιδράσεων υγρού-υγρού που περιλαμβάνουν δύο υγρές φάσεις που δεν είναι διαλυτές μεταξύ τους. Οι αντιδράσεις αυτές συχνά διέπονται από τη μετακίνηση ενός αντιδρώντος από τη μία φάση στην άλλη. Σε αυτό το συγκεκριμένο σενάριο, το φαινόμενο της σπηλαιώσεως θα οδηγήσει στο σχηματισμό γαλακτωμάτων με εξαιρετικά μικρά σωματίδια, αυξάνοντας έτσι σημαντικά τη διεπιφανειακή επαφή και

Κεφάλαιο 3 Υπέρηχοι και Ομογενοποίηση

κατά συνέπεια, εντείνοντας την αντίδραση μεταξύ των διαφορετικών υγρών φάσεων (Mason et al., 2003). Η ακουστική σπηλαιώση μπορεί επίσης να εκδηλωθεί εντός ενός υγρού μέσου που περιέχει ετερογενή στερεά σωματίδια ή συσσωματώματα. Τα αιωρούμενα σωματίδια υφίστανται επιταχυνόμενη κίνηση, η οποία συχνά οδηγεί σε συγκρούσεις μεταξύ των σωματιδίων. Στη συγκεκριμένη περίπτωση, είναι εμφανής η διακριτή μείωση του μεγέθους των σωματιδίων (Mason et al., 2003).



Εικόνα 3.8: Φαινόμενο σπηλαιώσης (Khadhraoui et al., 2019)

Έχουν διεξαχθεί πολυάριθμες ερευνητικές εργασίες για να εξεταστεί η συσχέτιση αφενός μεταξύ της σπηλαιώσης και αφετέρου του τρόπου που θα μειωθεί η διάμετρος των λιποσφαιρίων του γάλακτος, κατά τη διαδικασία της ομογενοποίησης. Τα αποτελέσματα συγκλίνουν στο ότι η αύξηση της έντασης της σπηλαιώσης οδηγεί σε μείωση του μέσου μεγέθους των σφαιριδίων λίπους του γάλακτος (Zamora et al., 2012) και δημιουργεί καλύτερη διασπορά τους στον όγκο του γάλακτος (Massoud et al., 2016; Sandra & Dalgleish, 2005). Υπάρχει όμως και αντίλογος που υποστηρίζει ότι το φαινόμενο της σπηλαιώσης μπορεί να δημιουργήσει «πόρους» στο σύστημα του γάλακτος που μπορεί να δράσουν ενάντια στη σταθερότητά του ως γαλάκτωμα (Babu & Amamcharla, 2023). Ακόμη, η σπηλαιώση μπορεί να οδηγεί σε αύξηση της

Κεφάλαιο 3 Υπέρηχοι και Ομογενοποίηση

υδροφοβικότητας των πρωτεϊνών, γεγονός που επίσης μπορεί να βλάψει τη σταθερότητα του γάλακτος (Ye et al., 2017).

3.4.1.1 Θερμικές συνέπειες

Ως αποτέλεσμα της απορρόφησης των υπερηχητικών κυμάτων, το σύστημα του γάλακτος υφίσταται θερμικές μεταβολές με συνέπεια την παραγωγή θερμότητας σε ορισμένες περιοχές του (Nguyen & Anema, 2010). Σε αντίθεση με τις συμβατικές τεχνικές ομογενοποίησης που προκαλούν θέρμανση ομοιόμορφα σε ολόκληρο τον όγκο, η χρήση των υπερήχων επιτρέπει την ακριβή ρύθμιση της θερμοκρασίας τοπικά, παρέχοντας έτσι μία πιο εστιασμένη και αποτελεσματική προσέγγιση στην επεξεργασία (Jambrak et al., 2022; Kuruc, 2021; Liu et al., 2021).

Η θέρμανση που προκαλείται από υπέρηχους στο γάλα παρουσιάζει ένα ρυθμισμένο και εντοπισμένο χαρακτήρα, και μπορεί να επιφέρει τα οφέλη της θερμικής κατεργασίας χωρίς να προκαλεί αλλοιώσεις στα θερμοευαίσθητα συστατικά του γάλακτος. Φαινόμενα όπως η μετουσίωση των πρωτεϊνών, η αποικοδόμηση των βιοδραστικών ουσιών, η οξείδωση των λιπαρών και τυχόν αλλοιώσεις στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά μπορούν να περιοριστούν (De et al., 2023; Wiking et al., 2022).

Στα οφέλη που μπορεί να προκαλέσει η αύξηση της θερμοκρασίας γάλακτος λόγω υπερήχων, περιλαμβάνονται τροποποιήσεις στην κατανομή και τις διαστάσεις των συσσωματωμάτων καζεΐνης, και δευτερευόντως βελτίωση των χαρακτηριστικών του παραγόμενου γιαουρτιού και συγκεκριμένα ενίσχυση της σκληρότητας και της ελαστικότητάς του (Kamal et al., 2017; Lucey et al., 2001).

Ακόμη η εφαρμογή προσανατολισμένης θέρμανσης λόγω υπερήχων συμβάλλει στη βελτίωση της διαλυτότητας και της διασποράς των συστατικών του γάλακτος. Η αύξηση της θερμοκρασίας βοηθά στην υδρόλυση των λιπαρών και ενισχύει την αποτελεσματική κατανομή των πρωτεϊνών, με αποτέλεσμα την αυξημένη σταθερότητα του γαλακτώματος, φαινόμενα που βελτιώνουν τις βασικές ιδιότητες του παραγόμενου γιαουρτιού όπως η υφή και η σταθερότητα στη συναίρεση (Li et al., 2021).

Παρόλα αυτά, αν και η αξιοποίηση των θερμικών επιδράσεων στην ομογενοποίηση με τη βοήθεια υπερήχων παρουσιάζει ορισμένα πλεονεκτήματα όσον αφορά την αυξημένη ακρίβεια και τη ρυθμιζόμενη θέρμανση, είναι επιτακτική ανάγκη να βελτιστοποιηθούν σχολαστικά οι διάφορες παράμετροι της διαδικασίας. Η επίτευξη μίας ευαίσθητης ισορροπίας μεταξύ της βέλτιστης ομογενοποίησης και των πιθανών κινδύνων που συνδέονται με την υπερβολική θέρμανση, απαιτεί έλεγχο της διεργασίας με τη θερμοκρασία του γάλακτος να αποτελεί ένα κρίσιμο σημείο ελέγχου. Προκειμένου να επιτευχθούν τα επιθυμητά θερμικά αποτελέσματα με παράλληλη διατήρηση της συνολικής ποιότητας του γάλακτος, οι ερευνητές και η βιομηχανία γάλακτος πρέπει να λαμβάνουν

Κεφάλαιο 3 Υπέρηχοι και Ομογενοποίηση

υπόψη διάφορες πτυχές όπως η συχνότητα υπερήχων, η πυκνότητα ισχύος και ο χρόνος έκθεσης του γάλακτος.

3.4.2 Εφαρμογή των υπερήχων στην επεξεργασία τροφίμων

Οι υπέρηχοι υψηλής έντασης βρίσκουν πολλές εφαρμογές στον τομέα των τροφίμων είτε ως διεργασία επεξεργασίας είτε ως ενίσχυση ήδη υπαρχουσών διεργασιών. Διεργασίες όπως η ανάμιξη, η απομάκρυνση αερίων από υγρά, η διήθηση, η εκχύλιση, η γαλακτωματοποίηση, η ομογενοποίηση, η ξήρανση και η παστερίωση, είναι μερικές στις οποίες εφαρμόζονται ή συμμετέχουν οι υπέρηχοι (Arzeni et al., 2012). Ακόμη η χρήση των υπερήχων μειώνει σε μεγάλο βαθμό τον χρόνο επεξεργασίας (πλέον γίνεται σε μερικά λεπτά της ώρας), προσφέροντας συγχρόνως ευκολία και ασφάλεια στη χρήση. Επιπλέον, ο εξοπλισμός που χρησιμοποιείται στην τεχνολογία υπερήχων είναι κατά κύριο λόγο σχεδιασμένος χωρίς κινητά μέρη, εξασφαλίζοντας την απουσία οποιουδήποτε πιθανού κινδύνου για τον χειριστή.

Επιπλέον η εξοικονόμηση ενέργειας και η αποφυγή χρήσης επικίνδυνων χημικών - οργανικών διαλυτών οδηγούν στο συμπέρασμα ότι οι υπέρηχοι είναι μία φιλική προς το περιβάλλον τεχνική (Chemat et al., 2011).

3.4.3 Ομογενοποίηση γάλακτος με υπέρηχους

Η εφαρμογή υπερήχων υψηλής έντασης στην επεξεργασία τροφίμων χρησιμοποιείται εκτενώς στον τομέα της ομογενοποίησης, αφού μελέτες έχουν δείξει ότι εντάσεις άνω του 1 W/cm^2 μπορούν να μειώσουν αποτελεσματικά το μέγεθος των σταγονιδίων ελαίου ή των λιποσφαιρίων στο γάλα, επηρεάζοντας έτσι το σχηματισμό γαλακτωμάτων (Taha et al., 2023). Η χρήση της τεχνολογίας των υπερήχων στην ομογενοποίηση του γάλακτος είναι μία καινοτόμος μέθοδος συγκρίσιμη ως προς το ομογενοποιητικό της αποτέλεσμα με τις κλασικές. Η ενέργεια που αποδίδεται στο γάλα από το υπερηχητικό κύμα και η σπηλαιώση προκαλούν έντονες διατμητικές τάσεις που μειώνουν το μέγεθος των λιποσφαιρίων, και δημιουργούν ομοιογενή διασπορά τους στον όγκο του γάλακτος. Ακόμη η επεξεργασία με υπέρηχους προκαλεί μεταβολές στη μεμβράνη των λιποσφαιρίων έτσι που εμποδίζεται η συσσωμάτωσή τους, με αποτέλεσμα το γάλα να διατηρεί τη σταθερότητά του ως γαλάκτωμα κατά την αποθήκευση. Η χρήση της ομογενοποίησης με τη βοήθεια υπερήχων παρουσιάζει επίσης αξιοσημείωτα οφέλη σε σχέση με την ενεργειακή απόδοση, όπως μειωμένη κατανάλωση ενέργειας και ικανότητα επίτευξης ομογενοποίησης σε σύγκριση με τις συμβατικές τεχνικές ομογενοποίησης υψηλής πίεσης, που

Κεφάλαιο 3 Υπέρηχοι και Ομογενοποίηση

είναι και σύμφωνη με τους στόχους βιωσιμότητας της βιομηχανίας. Τέλος, μελέτες έχουν δείξει ότι η παραγωγή ζυμωμένων προϊόντων γάλακτος από γάλα που έχει υποστεί ομογενοποίηση με υπέρηχους βελτιώνει την αποδοχή, τη θρεπτική αξία και τα χαρακτηριστικά υφής των τελικών προϊόντων (Wu et al., 2000).

Η ρύθμιση της συχνότητας, της ισχύος και του χρόνου έκθεσης ενός προϊόντος στους υπέρηχους είναι μερικές παράμετροι που μπορούν να προσαρμόσουν την ομογενοποίηση, ανάλογα με τις εκάστοτε ανάγκες. Τέτοιου είδους έλεγχος είναι απαραίτητος σε περιπτώσεις όπου η επίτευξη συγκεκριμένων χαρακτηριστικών υφής και οργανοληπτικών χαρακτηριστικών στα γαλακτοκομικά προϊόντα εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την κατανομή του μεγέθους σωματιδίων.

Αν και υπάρχουν πολλά θετικά στοιχεία που σχετίζονται με τη χρήση των υπερήχων στην ομογενοποίηση του γάλακτος, υπάρχουν ακόμη διάφορα εμπόδια που πρέπει να αντιμετωπιστούν. Απαιτείται η βελτιστοποίηση των παραμέτρων της διαδικασίας, ο μετριασμός της ρύπανσης του εξοπλισμού και η αντιμετώπιση των προβλημάτων που δημιουργούνται από την έκταση εφαρμογής της ομογενοποίησης (Gamlath et al., 2020; Munir et al., 2019).

3.4.3.1 Επίδραση στα λιποσφαίρια

Αρκετές μελέτες έχουν αποδείξει ότι η εφαρμογή των υπερήχων στο γάλα επηρεάζει το μέγεθος των λιποσφαιρίων και τη δομή τους. Η σπηλαιώση και οι έντονες διατμητικές τάσεις που αναπτύσσονται στο γάλα κατά τη διάδοση των υπερήχων υψηλής έντασης, διασπούν τη μεμβράνη που περιβάλλει τα λιποσφαίρια, καταστρέφοντας τη δομή τους και απελευθερώνοντας τα λιπαρά μόρια του εσωτερικού τους στον όγκο του γάλακτος. Στη συνέχεια, τα λιποσφαίρια επανασυντίθενται σε μικρότερα, με μέση διάμετρο, πλέον, 0,1 - 0,6 μm (Demirdöven, Baysal, 2009; Ertugay et al., 2004; Villamiel & De Jong, 2000). Επιπλέον, η νεοσύστατη μεμβράνη έχει διαφορετική σύσταση, καθώς περιλαμβάνει περισσότερα μόρια πρωτεϊνών, καζεϊνών και πρωτεϊνών ορού. Η αύξηση αυτή στην περιεκτικότητα της μεμβράνης των λιποσφαιρίων σε πρωτεΐνες, οφείλεται στη μερική μετουσίωση που υφίστανται λόγω των υπερήχων. Διαταράσσεται η τριτοταγής και δευτεροταγής δομή τους, ξεδιπλώνονται οι πεπτιδικές αλυσίδες τους και δημιουργούνται θέσεις πρόσδεσης με άλλα μόρια. Έτσι σχηματίζονται δισουλφιδικοί δεσμοί μεταξύ των πρωτεϊνών ορού, των καζεϊνών και των λιπαρών μορίων, και ενσωματώνονται στη μεμβράνη των λιποσφαιρίων (Chandrapala et al., 2011, Madadlou et al., 2009; Morand et al., 2011). Ειδικότερα, η συμμετοχή των καζεϊνών παρατηρείται κυρίως στην περίπτωση των υπερήχων σε αντίθεση με τις κλασσικές μεθόδους ομογενοποίησης (Huppertz, 2022; Bermúdez-Aguirre et al., 2008). Τα ομογενοποιημένα με υπέρηχους λιποσφαίρια είναι πιο ομοιόμορφα κατανεμημένα στον όγκο του

Κεφάλαιο 3 Υπέρηχοι και Ομογενοποίηση

γάλακτος, σε σχέση με το ανεπεξέργαστο (Ertugay et al., 2004). Αυτό συμβαίνει λόγω των δυνάμεων που αναπτύσσονται από τα πρωτεϊνικά μόρια των μεμβρανών τους. Εκτός από την ομοιογένεια στην υφή, η κατανομή αυτή εμποδίζει την τάση των λιποσφαιρίων για συσσωμάτωση, με αποτέλεσμα το γάλα να διατηρεί περισσότερο τη σταθερότητά του ως γαλάκτωμα (Huppertz, 2022).

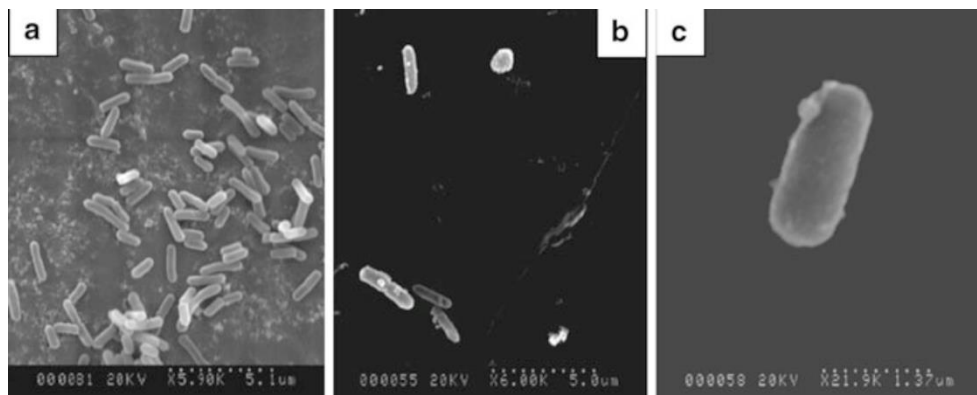
Η θερμοκρασία ομογενοποίησης επηρεάζει το μέγεθος των λιποσφαιρίων που προκύπτουν από την επεξεργασία με υπέρηχους. Σε θερμοκρασία υψηλότερη των 40 °C, επιτυγχάνεται η βέλτιστη ομογενοποίηση, με το μέγεθος των σωματιδίων να μειώνεται, ενώ σε μικρότερη θερμοκρασία, οι υπέρηχοι προκαλούν τη συνένωση των λιποσφαιρίων, με αποτέλεσμα το σχηματισμό λιπαρών συσσωματωμάτων και αύξηση του μεγέθους τους (Chandrapala et al., 2016).

3.4.3.2 Επίδραση στο μικροβιακό φορτίο

Αρκετές μελέτες έχουν αποδείξει την αντιμικροβιακή δράση των υπερήχων. Ειδικότερα, υπέρηχοι με υψηλά επίπεδα ισχύος και παρατεταμένοι χρόνοι επαφής απενεργοποιούν αποτελεσματικά τους μικροοργανισμούς σε συστήματα τροφίμων υπό κανονικές περιβαλλοντικές συνθήκες (Ashokkumar & Mason, 2007; Chandrapala et al., 2012; Cameron et al., 2009). Πρόσφατες εξελίξεις αναδεικνύουν τη χρήση πολλών τεχνικών σχετικών με τους υπέρηχους, όπως οι υπέρηχοι υπό θερμοκρασία (Thermosonication-TS), υπέρηχοι υπό πίεση (Manosonication-MS) ή υπέρηχοι σε συνδυασμό πίεσης και θερμοκρασίας (Manothermosonication-MTS), προκειμένου να βελτιστοποιήσουν την αδρανοποίηση μικροβίων σε δείγματα τροφίμων. Ειδικότερα, στο σύστημα του γάλακτος, υπάρχουν πολλές μεταβλητές που επηρεάζουν το κατά πόσον αυτές οι μέθοδοι αδρανοποιούν τα μικρόβια, όπως ο όγκος του γάλακτος που επεξεργάζεται, η συγκέντρωση των πρωτεϊνών, λιπαρών και λοιπών συστατικών, το ιξώδες και φυσικά, τα είδη των μικροοργανισμών. Μικροοργανισμοί που έχουν μελετηθεί σε δείγματα γάλακτος που έχουν επεξεργαστεί με υπέρηχους, περιλαμβάνουν *Listeria monocytogenes*, εντεροβακτήρια, *E.coli*, *Pseudomonas fluorescens*, *Listeria innocua*, *Cronobacter sakazakii*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, διάφορα κολοβακτήρια καθώς και μεσόφιλους μικροοργανισμούς της φυσικής μικροχλωρίδας του γάλακτος (Peterz et al., 1989; D'Amico et al., 2006; Juraga et al., 2011; Cameron et al., 2009; Gera & Doores, 2011; Khan, 2011; Bermúdez-Aguirre & Barbosa-Cánovas, 2008; Adekunle et al., 2010; Gabriel, 2015). Η απόκριση των μικροοργανισμών στους υπέρηχους φάνηκε ότι ακολουθεί το ίδιο μοτίβο - μείωση των αποικιών μετά την επεξεργασία, και περαιτέρω με αύξηση της έντασης των υπερήχων ή του χρόνου επεξεργασίας μειώνονται επιπλέον ή εξαλείφονται πλήρως οι αποικίες. Η αδρανοποίηση που παρατηρήθηκε σε όλα τα δείγματα παρουσίασε ένα διφασικό μοτίβο, το οποίο χαρακτηρίζεται από μία αρχική φάση υστέρησης κατά την οποία δεν παρατηρήθηκε αξιοσημείωτη

Κεφάλαιο 3 Υπέρηχοι και Ομογενοποίηση

αλλαγή στο μικροβιακό φορτίο, ακολουθούμενη από μία λογαριθμική φάση αδρανοποίησης. Όσον αφορά την περιεκτικότητα λιπαρών στο γάλα και την επίδρασή της στην απενεργοποίηση των μικροοργανισμών λόγω υπερήχων, η παρουσία των λιπαρών μειώνει τον ρυθμό αδρανοποίησης (Gabriel, 2015; Gabriel, 2015; Bermúdez-Aguirre & Barbosa-Cánovas, 2008). Η δράση που ευθύνεται για την απενεργοποίηση των μικροοργανισμών λόγω των υπερήχων, είναι η δημιουργία φυσικών δυνάμεων που προκύπτουν από την ακουστική σπηλαιώση. Η ασύμμετρη κατάρρευση μίας φυσαλίδας δημιουργεί έντονες διατμητικές τάσεις και υψηλές θερμοκρασίες, τοπικά, που καταστρέφουν τις κυτταρικές μεμβράνες. Στην Εικόνα 3.9 φαίνεται η μείωση του αριθμού των μικροοργανισμών και η επίδραση της σπηλαιώσης στην κυτταρική τους μεμβράνη, όπως και η εμφάνιση της τοπικής θέρμανσης, και η δημιουργία ελεύθερων ριζών που οδηγούν σε βλάβη του DNA και η επακόλουθη λέπτυνση των κυτταρικών τοιχωμάτων.



Εικόνα 3.9: Εικόνες SEM κυττάρων *L. Inppocua* εμβολιασμένων σε ακατέργαστο πλήρες γάλα (a) χωρίς επεξεργασία, (b) μετά από 10 min επεξεργασίας υπερήχων σε θερμοκρασία (63 °C και 120 W)(μεγέθυνση 5900x), (c) λεπτομερέστερη άποψη ενός κυττάρου μετά την επεξεργασία (μεγέθυνση 21900x) (Bermúdez & Barbosa-Cánovas, 2008).

Μία ακόμη σημαντική παράμετρος για τη δραστικότητα των υπερήχων σε μικροοργανισμούς είναι η ύπαρξη ή μη πυκνής βακτηριακής κάψουλας, η οποία είναι ένα βιοπολυμερές στρώμα, και θωρακίζει την κυτταρική μεμβράνη, αποτρέποντας έτσι την αποσύνθεση του βακτηριακού κυττάρου. Αντιθέτως, η ύπαρξη μίας σημαντικά ενυδατωμένης κάψουλας μπορεί να διευκολύνει την απορρόφηση των μηχανικών δυνάμεων που ασκούνται στο βακτηριακό κύτταρο. Ορισμένοι μικροοργανισμοί, συγκεκριμένα τα βακτήρια που σχηματίζουν σπόρια, παρουσιάζουν διαφορετικό βαθμό ανθεκτικότητας υπό συγκεκριμένες συνθήκες, καθιστώντας την αδρανοποίησή τους δύσκολη μόνο με την εφαρμογή

Κεφάλαιο 3 Υπέρηχοι και Ομογενοποίηση

υπερήχων (Gao et al., 2014). Ο συνδυασμός όμως με πίεση ή θέρμανση μπορεί να αδρανοποιήσει μέχρι και το 99% του πληθυσμού των σπορίων (Raso et al., 1998).

3.4.3.3 Επιδράσεις στις πρωτεΐνες του γάλακτος

Η απόκριση των δύο τύπων πρωτεϊνών γάλακτος στους υπέρηχους επηρεάζεται από τις συνθήκες επεξεργασίας με υπέρηχους, τη σύνθεση του γάλακτος και τα επίπεδα pH. Τόσο οι πρωτεΐνες ορού όσο και οι καζεΐνες υφίστανται τροποποιήσεις στη δομή τους από τη δράση υπερέχων, που επηρεάζουν τις ιδιότητές τους, αλλά και τις αλληλεπιδράσεις τους με άλλα μόρια ή συστατικά του γάλακτος.

Η εφαρμογή υπερέχων μπορεί να προκαλέσει ποικίλους βαθμούς μετουσίωσης στις πρωτεΐνες του ορού, ανάλογα με το επίπεδο της ενέργειας που εφαρμόζεται. Η μετουσίωση των πρωτεϊνών ορού γάλακτος έχει συγκεντρώσει σημαντική προσοχή, λόγω του ρόλου της στα λειτουργικά χαρακτηριστικά του γάλακτος, αλλά και των παραγόμενων γαλακτοκομικών προϊόντων (Chandrapala et al., 2012; Nguyen & Anema, 2010). Η μετουσίωση των πρωτεϊνών ορού γάλακτος παρατηρήθηκε ως αποτέλεσμα της ταυτόχρονης εφαρμογής υπερέχων χαμηλής συχνότητας και θερμικής επεξεργασίας (Villamiel & De Jong, 2000). Αλλά και η επεξεργασία με υπέρηχους χωρίς ρύθμιση της θερμοκρασίας, φάνηκε ότι έχει πάλι ως αποτέλεσμα μετουσίωση των πρωτεϊνών του ορού (Nguyen and Anema, 2010). Επιπλέον, η εφαρμογή υπερέχων χαμηλής συχνότητας (22,5 kHz) σε συνδυασμό με θέρμανση άνω των 60°C είχε ως αποτέλεσμα τη μετουσίωση των πρωτεϊνών ορού γάλακτος, αλλά και τη συσσωμάτωση των πρωτεϊνών γάλακτος με τα λιποσφαίρια. Οι παρατηρούμενες τροποποιήσεις αποδόθηκαν κυρίως στη διαδικασία θερμικής επεξεργασίας και όχι μόνο στην εφαρμογή των υπερέχων (Nguyen and Anema, 2017). Φυσικά, το φαινόμενο της σπηλαιώσης λόγω των υπερέχων προκαλεί μετουσίωση των πρωτεϊνών ορού (Chandrapala et al., 2011, 2012b- Arzeni et al., 2012- Silva et al., 2018). Ένα ακόμη επακόλουθο της μετουσίωσης που υφίστανται οι πρωτεΐνες του ορού, είναι ο σχηματισμός πρωτεϊνικών συσσωματωμάτων μέσω υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων και δισουλφιδικών δεσμών. Η μερική μετουσίωση που υφίστανται η α-λακταλβουμίνη και η β-λακτογλοβουλίνη αλλάζει τη δευτεροταγή δομή τους εκθέτοντας μόρια θείου, τα οποία μπορούν να αποτελέσουν θέσεις πρόσδεσης με άλλα πρωτεϊνικά μόρια, ελεύθερα ή σε σχηματισμούς (μεμβράνες λιποσφαιρίων, καζεϊνικά μικύλλια) (Silva et al., 2018; Al-Attabi et al.). Τέλος, έχει παρατηρηθεί ότι οι πρωτεΐνες του ορού γάλακτος που έχουν υποστεί μετουσίωση και διαθέτουν ανοικτή δομή, είναι ευάλωτες σε οξειδώσεις που ξεκινούν από ελεύθερες ρίζες (Roberts et al., 2015).

Κεφάλαιο 3 Υπέρηχοι και Ομογενοποίηση

Έχουν καταγραφεί διάφορα ευρήματα σχετικά με την επίδραση των υπερήχων στα μικύλλια της καζεΐνης. Αρχικές μελέτες πάνω στο θέμα υποστηρίζουν ότι τα καζεϊνικά μικύλλια μειώνονται σε μέγεθος ή και διασπώνται λόγω των υπερήχων, και απελευθερώνουν μόρια καζεϊνών στο γάλα (Taylor & Richardson, 1980; Madadlou et al., 2009). Πιο πρόσφατες μελέτες υποστηρίζουν το αντίθετο, ότι δηλαδή τα καζεϊνικά μικύλλια δεν επηρεάζονται από τη διάδοση των υπερήχων στο γάλα (Villamiel και de Jong, 2000; Chandrapala et al., 2012a). Απλώς, οι υπέρηχοι διαταράσσουν τα συσσωματώματα που σχηματίζονται μεταξύ είτε καζεϊνικών μικυλλίων είτε πρωτεϊνών ορού και καζεϊνικών μικυλλίων και όχι τις δομές των μικυλλίων αυτών καθ' αυτών (Ashokkumar et al. 2009; Chandrapala et al., 2012a). Γενικότερα, έχει παρατηρηθεί ότι οι υπέρηχοι διασπούν τα συσσωματώματα πρωτεϊνών γάλακτος, τόσο φυσικά στο γάλα αλλά και σε διαλύματα ανασυσταθέντων πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων (Shanmugam et al., 2012; Leong et al., 2018; Jambrak et al., 2014).

3.4.3.4 Χημικές επιδράσεις των υπερήχων στα συστατικά του γάλακτος

Η χρήση υπερήχων υψηλής έντασης δημιουργεί ελεύθερες ρίζες στο γάλα (Bernmúdez-Aguirre et al., 2008) και ταυτόχρονα με τη διάσπαση των μεμβρανών των λιποσφαιρίων και την απελευθέρωση των λιπαρών μορίων δημιουργούνται οι κατάλληλες συνθήκες για την οξειδωση των μορίων αυτών. Εκτός από οξειδωση των λιπαρών μορίων του εσωτερικού των λιποσφαιρίων, που απελευθερώνονται κατά τη διάσπαση των λιποσφαιρίων, οξειδώνονται και τα πολυακόρεστα φωσφολιπίδια στη μεμβράνη, καθώς και το πρωτογενές τριακυλογλυκεριδικό συστατικό των λιποσφαιρίων (Cadwallader and Singh, 2009).

Η χρήση υπερήχων υψηλής συχνότητας επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό την πρωτεόλυση, εξαιτίας των ριζών που δημιουργούνται από τη χρήση αυτή (Munir et al., 2019). Εξαιτίας των μεγάλων ταχυτήτων αντίδρασης των πρωτεϊνών με τις σχηματιζόμενες (κατά τη χρήση υπερήχων) ρίζες, οι πρωτεΐνες αποτελούν τους βασικούς στόχους αυτής της οξειδωσης (Roberts et al., 2015). Ωστόσο, δεν υπάρχει μεγάλος αριθμός μελετών που διερευνούν ιδιαίτερα την επίδραση των υπερήχων στην οξειδωση των πρωτεϊνών. Η έρευνα δείχνει ότι η αυξημένη πίεση, οι δυνάμεις διάτμησης και οι υψηλές θερμοκρασίες, οι συνθήκες δηλαδή που αναπτύσσονται λόγω της ακουστικής σπηλαίωσης, μπορούν να προκαλέσουν οξειδωτικές τροποποιήσεις στις πρωτεΐνες του γάλακτος, κυρίως μετουσίωση, οδηγώντας σε λειτουργική αδρανοποίηση με την πλειονότητα των μεταβολών που προκαλούνται στις πρωτεΐνες από την οξειδωση να είναι μη αναστρέψιμες. Η μετουσίωση που συμβαίνει με αυτόν τον τρόπο αφορά κυρίως βλάβες είτε στην κύρια πρωτεϊνική αλυσίδα είτε στις πλευρικές αλυσίδες, δημιουργώντας με τον τρόπο αυτό υπεροξειδία. Οι οξειδωμένες-μετουσιωμένες πρωτεΐνες έχουν την τάση να συσσωματώνονται (Roberts

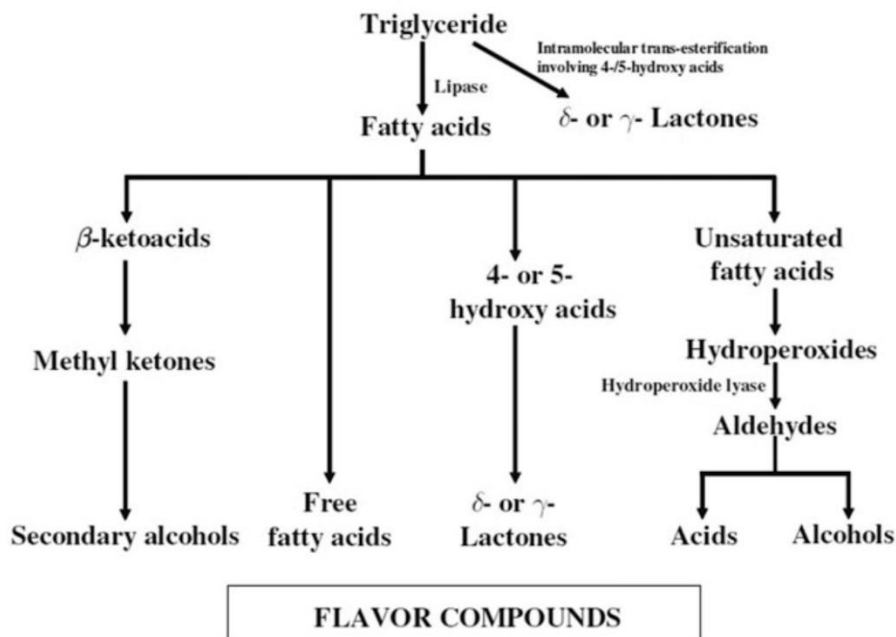
Κεφάλαιο 3 Υπέρηχοι και Ομογενοποίηση

et al., 2015). Η διαδικασία διάσπασης των υδροϋπεροξειδίων ακολουθείται από τον σχηματισμό ριζών αλκοξυλίου (Davis, 2005). Οι αντιδράσεις οξείδωσης της πλευρικής αλυσίδας των πρωτεϊνών είναι πιο πολύπλοκες και πιο ευάλωτες στις ελεύθερες ρίζες σε σύγκριση με την οξείδωση της κύριας πρωτεϊνικής αλυσίδας. Η παραγωγή διτυροσίνης, κνουρενίνης, N-φορμυλοκουανουρενίνης, 5- και 7-υδροξυ-τρυπτοφάνης, 2-οξοχιστιδίνης ή οξυοξέων ευνοείται από την παρουσία μη δεσμευμένων ριζών οι οποίες προσβάλλουν αρωματικά αμινοξέα όπως η τυροσίνη, η τρυπτοφάνη, η φαινυλαλανίνη και η ιστιδίνη. Επιπλέον, αμινοξέα που περιέχουν θείο μπορούν να σχηματίσουν μικτά δισουλφίδια μέσω αυτής της διαδικασίας (Roberts et al., 2015). Η άμεση οξείδωση της κύριας αλυσίδας έχει επίσης ως αποτέλεσμα αλδεΐδες ή κετόνες που περιλαμβάνονται σε ομάδες καρβονυλίου να σχηματίζονται μέσω της οξείδωσης της προλίνης, της αργινίνης, της λυσίνης και της θρεονίνης. Πρωτεϊνικά καρβονύλια μπορεί ακόμα, να δημιουργηθούν από αντιδράσεις τόσο κυστεΐνης όσο και ιστιδίνης και λυσίνης (Εικόνα 3.10). Χημικές διεργασίες που περιλαμβάνουν αλδεΐδες που έχουν δύο λειτουργικές ομάδες, παράγωγα καρβονυλικών ενώσεων όπως κετο-αμίνες και κετο-αλδεΐδες και παρόμοιες ουσίες, μπορούν να λάβουν χώρα κατά τη διαδικασία της υπεροξείδωσης των λιπιδίων (Dalle-Donne et al., 2003- Roberts et al., 2015).

Συμπερασματικά, πρέπει να αναφερθεί ότι η μετουσίωση των πρωτεϊνών στο γάλα μπορεί να επιταχυνθεί από τη χημική επίδραση των υπερήχων, οδηγώντας στη δημιουργία ενώσεων θείου, αρωματικών υδρογονανθράκων και συγκεκριμένων πτητικών μορίων καρβονυλίου, μαζί με άλλες ανεπιθύμητες πτητικές χημικές ουσίες. Οι πρωτεΐνες του γάλακτος μπορεί να υποστούν μετουσίωση και αποικοδόμηση, εάν δεν ελεγχθούν οι φυσικοί και χημικοί παράγοντες, με τις φυσικές επιδράσεις να έχουν τη δυνατότητα να επέμβουν στη βελτίωση των λειτουργικών και φυσικοχημικών χαρακτηριστικών των πρωτεϊνών γάλακτος και των γαλακτοκομικών προϊόντων. Αντίθετα, οι χημικές επιδράσεις, με τη δυνατότητα που παρουσιάζουν να δημιουργούν ανεπιθύμητες πτητικές ουσίες, επηρεάζουν αρνητικά τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των προϊόντων γάλακτος (εκτός της γεύσης). Προκειμένου να μετριαστούν οι βλαβερές επιπτώσεις των ελεύθερων ριζών στα συστατικά του γάλακτος, είναι ζωτικής σημασίας η σχολαστική αξιολόγηση των παραμέτρων επεξεργασίας με υπέρηχους, συμπεριλαμβανομένης της διάρκειας της επεξεργασίας και της χρησιμοποιούμενης συχνότητας.

Formatted

Deleted:



Εικόνα 3.10: Γενικές οδοί μεταβολισμού των τριγλυκεριδίων και των λιπαρών οξέων του γάλακτος (Thi Hong Bui et al., 2020).

3.4.3.5 Επίδραση επεξεργασίας υπερήχων στην παραγωγική διαδικασία και στα χαρακτηριστικά του γιαουρτιού

Οι υπέρηχοι έχουν την ικανότητα να μεταβάλλουν τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του γάλακτος και τα συνέπεια των γαλακτοκομικών προϊόντων που παράγονται από αυτό. Μελέτες έχουν παρατηρήσει αξιοσημείωτες αλλαγές στην ζύμωση και στα χαρακτηριστικά του παραγόμενου γιαουρτιού από γάλα που έχει ομογενοποιηθεί με υπέρηχους.

Κατόπιν της επεξεργασίας με υπέρηχους, οι μικροοργανισμοί που αποτελούν τη φυσική μικροχλωρίδα του γάλακτος έχουν μειωθεί σημαντικά λόγω της αντιμικροβιακής δράσης των υπερήχων (Sakakibara et al., 1994; Chandrapala et al., 2012; Cameron et al., 2009). Αυτό καθιστά το γάλα ιδανικό υπόστρωμα για την ανάπτυξη της οξυγαλακτικής καλλιέργειας του γιαουρτιού, αλλά και καλλιιεργειών προβιοτικών βακτηρίων (Akdeniz & Akalin, 2019b). Κατά συνέπεια, η ανάπτυξη των μικροοργανισμών είναι πιο εύκολη και έτσι, διευκολύνεται η ζύμωση του γάλακτος προς γιαούρτι. Η διάρκεια της λανθάνουσας φάσης μέχρι να αρχίσει η ραγδαία (εκθετική φάση) ανάπτυξη των οξυγαλακτικών βακτηρίων έχει παρατηρηθεί ότι μειώνεται, ο ρυθμός που αναπτύσσονται τα μικρόβια αυξάνεται και κατά συνέπεια, η διάρκεια της ζύμωσης μειώνεται (Akdeniz & Akalin, 2019a; Sfakianakis et al., 2014; Wu et al., 2000).

Κεφάλαιο 3 Υπέρηχοι και Ομογενοποίηση

Από την επεξεργασία με υπέρηχους επηρεάζεται και η πήξη του γάλακτος προς γιαούρτι. Η πήξη οφείλεται στις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των καζεϊνών που δημιουργούν δεσμούς μεταξύ τους λόγω πτώσης του pH και σχηματίζουν το πλέγμα που μακροσκοπικά αποτελεί το πήγμα του γιαουρτιού (W. J. Lee & Lucey, 2010; Lucey, 2002). Η διάδοση των υπερήχων στο γάλα μετουσιώνει τις πρωτεΐνες του γάλακτος και διευκολύνει τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ τους. Έτσι, λόγω των υπερήχων, οι καζεΐνες συνδέονται ευκολότερα μεταξύ τους και σχηματίζουν το πήγμα. Ακόμη, η μετουσίωση που έχουν υποστεί και οι πρωτεΐνες ορού, επηρεάζουν τον σχηματισμό του πρωτεϊνικού πλέγματος του γιαουρτιού. Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, λόγω των υπερήχων εκτίθενται ενεργά κέντρα των πρωτεϊνών ορού και των καζεϊνών και τα μόριά τους σχηματίζουν δεσμούς και συσσωματώματα. Έτσι, κατά την ισοηλεκτρική καταβύθιση που συμβαίνει στην πήξη, οι πρωτεΐνες ορού δρουν ως υλικό γεφύρωσης μεταξύ των μικυλλίων καζεΐνης και αλληλο-παρασύρουν οι ορού τις καζεΐνες και το αντίθετο. Αυτό, για την πήξη του γιαουρτιού, μεταφράζεται στο ότι ξεκινά στην περιοχή pH που καθιζάνουν οι πρωτεΐνες ορού (που είναι υψηλότερο από το pH που καθιζάνουν οι καζεΐνες) (Ahmed et al., 2022; Glantz et al., 2010). Σε δεύτερο χρόνο, το πήγμα που παράγεται από το γάλα που έχει επεξεργαστεί με υπέρηχους έχει αντοχή στη συναίρεση, υψηλές τιμές ιξώδους και χαρακτηριστικών υφής (σταθερότητα, συνεκτικότητα) και η μικροδομή του παρομοιάζει με κηρήθρα (Nguyen, Anema, 2010; Wu et al., 2001). Φυσικά όσο υψηλότερη είναι η ένταση της υπερηχητικής επεξεργασίας, τόσο υψηλότερες είναι οι τιμές του ιξώδους και της σκληρότητας του γιαουρτιού (Krešić et al. 2008; Sfakianakis et al., 2015).

Τέλος, εκτός από την επιρροή που έχει η επεξεργασία με υπέρηχους του γάλακτος στη διεργασία ζύμωσης του γιαουρτιού και στην υφή του, επηρεάζεται και το αρωματικό προφίλ του γιαουρτιού. Όπως αναφέρθηκε και σε προηγούμενη παράγραφο, οι υπέρηχοι δημιουργούν ενώσεις στο γάλα, είτε από την οξείδωση των λιπαρών, είτε από οξειδωτικές τροποποιήσεις των πρωτεϊνών που αλλάζουν το άρωμα (Dalle-Donne et al., 2003; Roberts et al., 2015; Cadwallader and Singh, 2009). Παρόλο που το γιαούρτι έχει διαφορετικό αρωματικό προφίλ από το γάλα και πολλά από τα αρωματικά του μόρια σχηματίζονται κατά την ζύμωση, αρωματικά μόρια όπως αλδεΐδες και κετόνες που σχηματίζονται κατά την επεξεργασία με υπέρηχους, φτάνουν στο γιαούρτι και επηρεάζουν το αρωματικό προφίλ του. Μελέτες έχουν δείξει ότι το γιαούρτι από γάλα ομογενοποιημένο με υπέρηχους παρουσιάζει έντονα χαρακτηριστικά αρώματος και αρώματα όπως τα γαγγό και καμένο που οφείλονται σε καρβοξυλικές ενώσεις που αναφέρθηκαν (Noci, 2017; Pereda et al., 2008; P. Sfakianakis & Tzia, 2017). Αν και τα χαρακτηριστικά αυτά δεν είναι ευχάριστα, το γιαούρτι που παράγεται από γάλα επεξεργασμένο με υπέρηχους, διατηρεί την οργανοληπτική αποδοχή του από δοκιμαστές (Akdeniz & Akalin, 2023; Sfakianakis & Tzia, 2017).

3.5 Συσκευές υπερήχων

Είτε η συσκευή υπερήχων χρησιμοποιείται σε εργαστήριο είτε σε βιομηχανική κλίμακα, η επιλογή του κατάλληλου συστήματος είναι σημαντική για την επίτευξη του επιθυμητού αποτελέσματος. Κάθε συσκευή υπερήχων αποτελείται από έναν μετατροπέα που πάλλεται και μετατρέπει την ηλεκτρική ενέργεια σε υπέρηχους και την πηγή ή ηχώδιο, που τους διαδίδει (Pingret et al., 2013). Οι συσκευές υπερήχων διακρίνονται βασικά σε τρία είδη, που είναι οι πιεζοηλεκτρικοί, μαγνητοκεντρικοί και μηχανικοί (Khadhraoui et al., 2019). Αναφορικά με τις μηχανικές συσκευές, η κυκλοφορία υγρού προκαλεί μηχανική δόνηση που παράγει το υπερηχητικό κύμα, ενώ τόσο για τους πιεζοηλεκτρικούς όσο και τους μαγνητοκεντρικούς ο υπέρηχος παράγεται μέσα από μηχανική δόνηση του μετατροπέα σε δεδομένη συχνότητα (Khadhraoui et al., 2019). Η πιο δημοφιλής συσκευή υπερήχων είναι ο πιεζοηλεκτρικός μετατροπέας, του οποίου η βάση αποτελείται από κεραμικό υλικό σε κρυσταλλική μορφή που αντιδρά στην ηλεκτρική ενέργεια (Pingret et al., 2013).

3.5.1 Εργαστηριακά συστήματα

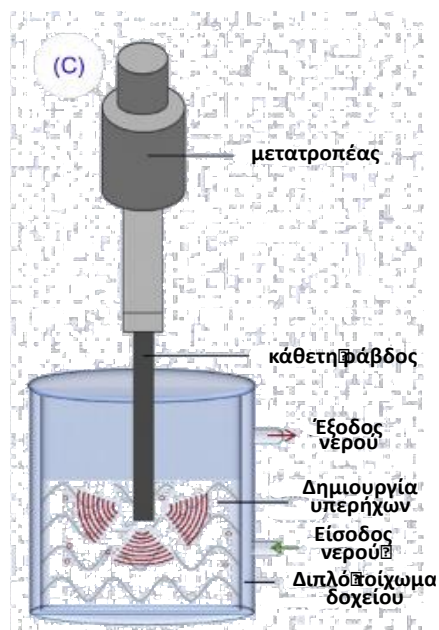
Σε εργαστηριακές συνθήκες χρησιμοποιούνται συχνά δύο βασικοί τύποι εξοπλισμού υπερήχων: το λουτρό υπερήχων και το λουτρό με ακίδα. Τα δύο συστήματα εμφανίζουν μεταξύ τους σημαντικές διαφορές, όπως είναι το σχήμα, η αποτελεσματικότητα και ο σκοπός, μεταξύ άλλων. Παρόλα αυτά, είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι και τα δύο συστήματα βασίζονται σε έναν μετατροπέα ως κύρια πηγή ισχύος υπερήχων (US) (Pingret et al., 2013). Τα συστήματα λουτρού υπερήχων χρησιμοποιούνται ευρέως σε εφαρμογές εκχύλισης λόγω της προσιτής τιμής τους. Τα συστήματα αυτά (Εικόνα 3.11) αποτελούνται συνήθως από μία δεξαμενή από ανοξείδωτο χάλυβα με έναν ή περισσότερους μετατροπείς προσαρτημένους στα εξωτερικά της τοιχώματα, ενώ το λουτρό μπορεί να περιλαμβάνει έλεγχο της θερμοκρασίας κατά τη διάρκεια της διαδικασίας. Τα εμπορικά λουτρά υπερήχων λειτουργούν γενικώς σε συχνότητα 40-45 kHz και πληρώνονται με νερό. Ένα γυάλινο δοχείο που περιέχει την πρώτη ύλη και τον διαλύτη εκχύλισης βυθίζεται στη συνέχεια μέσα στο λουτρό. Ωστόσο, η θέση του δοχείου είναι κρίσιμη και μπορεί να επηρεάσει την ομοιομορφία της έντασης των υπερήχων. Αυτή η έλλειψη ομοιομορφίας μπορεί να οδηγήσει σε έλλειψη αναπαραγωγιμότητας στα αποτελέσματα της επεξεργασίας, ενώ το νερό και το γυάλινο δοχείο μπορούν να μειώσουν την εφαρμοζόμενη ισχύ και να καταστήσουν τα συστήματα λουτρού λιγότερο αποδοτικά.

Κεφάλαιο 3 Υπέρηχοι και Ομογενοποίηση



Εικόνα 3.11: Εργαστηριακό σύστημα λουτρού υπερήχων

Τα συστήματα ακίδας (Εικόνα 3.12) αποτελούνται από μία μεταλλική ράβδο που στο ένα άκρο της βρίσκεται ο μετατροπέας, ο τελευταίος πάλλεται στη δεδομένη συχνότητα (συνήθως στα 20 kHz) και παράγει υπέρηχους υψηλής έντασης. Οι ράβδοι κατασκευάζονται συνήθως από κράμα τιτανίου, καθώς είναι αποτελεσματικοί στη διάδοση της ενέργειας, και ανθεκτικοί στη διάβρωση. Το μέγεθος και το σχήμα των ακίδων ποικίλουν ανάλογα με τις συγκεκριμένες εφαρμογές και τους όγκους των δειγμάτων. Η ικανότητά τους να παρέχουν υπέρηχους υψηλής έντασης αυξάνει γρήγορα τη θερμοκρασία, αλλά μπορεί επίσης να προκαλέσει αποδόμηση των θερμοδιαλυτών ενώσεων του δείγματος. Κατά συνέπεια, καθίσταται απαραίτητο να περιλαμβάνεται και σύστημα ελέγχου θερμοκρασίας (Cravotto et al., 2008).



Εικόνα 3.12: Εργαστηριακό σύστημα υπερήχων τύπου ακίδας

Κεφάλαιο 3 Υπέρηχοι και Ομογενοποίηση

Το κύριο πλεονέκτημα αυτής της τεχνολογίας έγκειται στη δυνατότητα τροποποίησης του άκρου της ακίδας, μεταβάλλοντας έτσι την επιφάνεια εκπομπής, και επηρεάζοντας έτσι τη διεπαφή με το μέσο. Το χαρακτηριστικό αυτό εγγυάται μειωμένο επίπεδο απώλειας ενέργειας στα υπερηχητικά κύματα και αντίστοιχα μεγαλύτερη ένταση υπερήχων (UI) σε σύγκριση με εναλλακτικά συστήματα υπερήχων (Khadhraoui et al., 2019).

3.5.2 Βιομηχανικά συστήματα

Συστήματα συσκευών υπερήχων υψηλής ισχύος, δηλαδή συστήματα λουτρού και ακίδας, χρησιμοποιούνται εκτενώς και σε βιομηχανικές εφαρμογές. Η επιλογή ενός συστήματος υπερήχων εξαρτάται από τον επιδιωκόμενο στόχο, ενώ σε βιομηχανική βάση λειτουργούν τόσο συστήματα συνεχούς λειτουργίας όσο και λειτουργίας ανάλογα με τις εκάστοτε ανάγκες. Βιομηχανικά συναντώνται συστήματα βιομηχανικών υπερήχων που αποτελούνται από αντιδραστήρες με χωρητικότητα που κυμαίνεται από 30 έως 1000 L, όπως απεικονίζεται στην Εικόνα 3.13. Συγκεκριμένα, αντιδραστήρες με όγκο 30-50 L σχεδιάζονται για εφαρμογές πιλοτικής κλίμακας, ενώ αντιδραστήρες με όγκο 500-1000 L προορίζονται για επιχειρήσεις βιομηχανικής κλίμακας (Khadhraoui et al., 2019).



Εικόνα 3.13: Βιομηχανικά συστήματα υπερήχων (Khadhraoui et al., 2019)

Κεφάλαιο 3 Υπέρηχοι και Ομογενοποίηση

Τα συστήματα αντλιών που συνδέονται με αυτούς τους αντιδραστήρες διευκολύνουν την εισαγωγή των δειγμάτων στο λουτρό υπερήχων, τη διαδικασία ανάδευσης και την ανάκτηση των δειγμάτων μετά την εφαρμογή των υπερηχητικών κυμάτων. Τα συνεχή συστήματα υπόσχονται την επεξεργασία σημαντικών ποσοτήτων σε αντιδραστήρα περιορισμένου όγκου, επιτρέποντας έτσι την επίτευξη μέγιστης ισχύος ανά μονάδα όγκου (Khadhraoui et al., 2019).

3.6 Σύγκριση Τεχνικών Ομογενοποίησης

Η ομογενοποίηση υψηλής πίεσης και οι λοιπές μηχανικές τεχνικές έχουν σημαντική επίδραση στα λιποσφαίρια, το χρώμα και τη σταθερότητα του γάλακτος όπως και μικρότερη επίδραση στα υπόλοιπα συστατικά του γάλακτος (πρωτεΐνες, μικροβιακό φορτίο, αρωματικά συστατικά). Οι υπέρηχοι ως μέθοδος ομογενοποίησης έχει αντίστοιχο ή και καλύτερο αποτέλεσμα από τις μηχανικές μεθόδους όσον αφορά στη μείωση του μεγέθους των λιποσφαιρίων, την ομοιογενή κατανομή τους στον όγκο του γάλακτος και τη σταθερότητα του γάλακτος ως γαλάκτωμα, και θεωρείται πιο αποδοτική από ενεργειακή σκοπιά. Ενώ οι μηχανικές μέθοδοι ομογενοποίησης, ως ένα βαθμό, προκαλούν μετουσίωση των πρωτεϊνών του γάλακτος και αλλάζουν τη δομή των λιποσφαιρίων, η ομογενοποίηση με υπέρηχους δείχνει να ευνοεί περισσότερο την αλληλεπίδραση των πρωτεϊνών μεταξύ τους και την ενίσχυση της μεμβράνης των λιποσφαιρίων με πρωτεΐνες (Liu et al., 2021). Ακόμη, οι αλλαγές στις πρωτεΐνες, λόγω υπερήχων, επηρεάζουν σε μεγαλύτερο βαθμό τη δραστηριότητά τους κατά τον σχηματισμό γαλακτοκομικών προϊόντων και κατά συνέπεια τα χαρακτηριστικά υφής τους, συγκριτικά με τις μηχανικές μεθόδους (Qi et al., 2015). Ωστόσο, η επίτευξη του ιδανικού επιπέδου βελτίωσης που μπορεί να επιτευχθεί ανά προϊόν με τη βοήθεια των υπερήχων αποτελεί μία λεπτή ισορροπία και εξαρτάται από τις ιδιαιτερότητες κάθε προϊόντος. Με αυτή την προσέγγιση διατηρείται η οργανοληπτική αποδοχή των τελικών γαλακτοκομικών προϊόντων, ενώ παράλληλα επιτυγχάνονται τα πλεονεκτήματα της ενίσχυσης της επιθυμητής υφής.

Η ομογενοποίηση με υπέρηχους φαίνεται να είναι η πιο αποτελεσματική μέθοδος για τη διατήρηση των θερμοευαίσθητων συστατικών του προϊόντος όπως είναι οι πρωτεΐνες και οι βιταμίνες, σε αντίθεση με τις παραδοσιακές μεθόδους ομογενοποίησης οι οποίες περιλαμβάνουν θέρμανση του γάλακτος σε βαθμό που θα μπορούσε ενδεχομένως να αλλάξει τη θρεπτική του σύνθεση. Οι υπέρηχοι επιτρέπουν την ελεγχόμενη διάσπαση των πρωτεϊνών, των βιταμινών και άλλων βιοδραστικών συστατικών σε εμπλουτισμένα γάλατα και διατροφικά ποτά με αποτέλεσμα τη βελτίωση της κατανομής και της σταθερότητας των ουσιών αυτών. Αυτό υπογραμμίζει τη δυνατότητα των υπερήχων να βοηθούν στη διατήρηση και βελτίωση της θρεπτικής ποιότητας των γαλακτοκομικών προϊόντων.

Κεφάλαιο 3 Υπέρηχοι και Ομογενοποίηση

Τα πλεονεκτήματα της τεχνολογίας των υπερήχων στη βελτίωση της ποιότητας των προϊόντων είναι προφανή, ωστόσο υπάρχουν ακόμη προκλήσεις που πρέπει να ξεπεραστούν. Μία επίμονη πρόκληση στην ομογενοποίηση με τη βοήθεια υπερήχων είναι η επίτευξη της λεπτής ισορροπίας μεταξύ της επίτευξης της βέλτιστης διάσπασης και της πιθανής υποβάθμισης των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών. Προκειμένου να επιτευχθούν τα επιδιωκόμενα αποτελέσματα για διαφορετικά προϊόντα, είναι απαραίτητη η βελτιστοποίηση των παραμέτρων της κατεργασίας υπερήχων. Επιπλέον, είναι επιτακτική ανάγκη να αντιμετωπιστούν συνολικά οι ανησυχίες σχετικά με τις πιθανές επιπτώσεις στο μικροβιακό φορτίο.

Τέλος, η δράση των υπερήχων στη μικροβιακή χλωρίδα του γάλακτος, αλλά και σε παθογόνα μικρόβια είναι πολύ πιο σημαντική σε σχέση με τις μηχανικές μεθόδους ομογενοποίησης. Χρειάζεται, ωστόσο, απόλυτη κατανόηση της περίπλοκης συσχέτισης μεταξύ υπερήχων και μικροβιακού φορτίου, δεδομένου ότι οι τρέχουσες μελέτες διερευνούν μεθόδους για την επιλεκτική εξάλειψη των επιβλαβών μικροοργανισμών, διατηρώντας παράλληλα τα ωφέλιμα μικρόβια του γάλακτος.

Κεφάλαιο 4 Πειραματικό Μέρος

4.1 Σκοπός

Σκοπός της παρούσας διατριβής ήταν η μελέτη της καινοτομικής μεθόδου ομογενοποίησης με υπέρηχους σε σύγκριση με τη συμβατική μέθοδο ομογενοποίησης με πίεση 2 σταδίων στο γάλα, αυτό καθ' αυτό, αλλά και στα πλαίσια της παραγωγικής διαδικασίας του γιαουρτιού καθώς και των χαρακτηριστικών του παραγόμενου γιαουρτιού.

Οι δύο βασικοί άξονες της παρούσας πειραματικής μελέτης είναι η ομογενοποίηση του γάλακτος με υπέρηχους, ως καινοτόμος και υπό μελέτη μέθοδος και με πίεση, ως η πιο διαδεδομένη και συνήθως χρησιμοποιούμενη συμβατική μέθοδος ομογενοποίησης στη γαλακτοβιομηχανία και τις βιβλιογραφικές αναφορές. Στόχος ήταν αφενός να γίνει σύγκριση των δύο μεθόδων όσον αφορά το ομογενοποιητικό αποτέλεσμα και τον αντίκτυπο που έχουν στο ίδιο το γάλα, τα συστατικά του και τα χαρακτηριστικά του, και αφετέρου να διερευνηθεί η επίδραση των διαφορετικών μεθόδων ομογενοποίησης του γάλακτος περαιτέρω στα πλαίσια της παραγωγικής διαδικασίας του γιαουρτιού, αλλά και στο τελικό προϊόν γιαουρτιού.

Ο συνδετικός κρίκος και το μέτρο σύγκρισης μεταξύ των δύο μεθόδων είναι ακριβώς ο λόγος για τον οποίο εφαρμόζεται η ομογενοποίηση στο γάλα, δηλαδή, η πρόληψη της αποκορύφωσης των λιπαρών του γάλακτος που επιτυγχάνεται με τη μείωση του μεγέθους των λιποσφαιρίων και η ομοιογενής κατανομή τους στον όγκο του, γεγονός που είναι απαραίτητο για την παραγωγή τυποποιημένου γάλακτος και γαλακτοκομικών προϊόντων όπως το γιαούρτι. Οι υπέρηχοι υψηλής έντασης έχει αναφερθεί ότι έχουν τέτοιο αποτέλεσμα σε γαλακτώματα και σε γάλα, όμως το ερώτημα είναι κατά πόσο είναι συγκρίσιμοι με τη συμβατική μέθοδο ομογενοποίησης με πίεση. Ακόμη όταν το μέσο είναι τόσο περίπλοκο σύστημα, όπως το γάλα, οι υπέρηχοι προκαλούν και επιπλέον αλλαγές στα συστατικά και στις ιδιότητές του, οι οποίες πρέπει να εξεταστούν.

Στο πρώτο μέρος της παρούσας μελέτης εξετάζεται το ομογενοποιητικό αποτέλεσμα των δύο μεθόδων σε αγελαδινό γάλα. Εφαρμόζεται ευρύ φάσμα (ελαφρώς διευρυμένο από τις μέχρι τώρα μελέτες της βιβλιογραφίας) συνθηκών πίεσης και υπερήχων υψηλής έντασης και μέσω απεικόνισης των λιποσφαιρίων του γάλακτος, μέτρησης της διαμέτρου τους όπως και της τάσης τους για συσσωμάτωση (μετρώντας το ζ-δυναμικό), και ακόμη του χρόνου διατήρησης της σταθερότητας του γάλακτος ως γαλάκτωμα αξιολογούνται τα αποτελέσματα και συγκρίνονται οι δύο μέθοδοι ομογενοποίησης μεταξύ τους.

Κεφάλαιο 4 Πειραματικό Μέρος

Στο δεύτερο μέρος της παρούσας διατριβής, στη διεργασία παραγωγής του γιαουρτιού όπως εφαρμόζεται στη βιομηχανία και παρουσιάζεται στη βιβλιογραφία, ενσωματώνεται η ομογενοποίηση του γάλακτος με εφαρμογή υπερήχων σε αντικατάσταση της ομογενοποίησης με πίεση. Η επιλογή που έγινε να μελετηθεί η ζύμωση του γιαουρτιού, αλλά και το τελικό προϊόν-γιαούρτι οφείλεται σε βιβλιογραφικές αναφορές σχετικά με το ότι τα αποτελέσματα της ομογενοποίησης επηρεάζουν σημαντικά τη «λειτουργία» του γάλακτος στη διεργασία της οξυγαλακτικής ζύμωσης, αλλά και στα χαρακτηριστικά του παραγόμενου γιαουρτιού. Για να ποσοτικοποιηθούν οι διαφορές μεταξύ των συνθηκών ομογενοποίησης στην ζύμωση, εφαρμόζονται τα μαθηματικά μοντέλα της βιβλιογραφίας, που περιγράφουν την εξέλιξη του pH και του ιξώδους με τον χρόνο και υπολογίζονται οι παράμετροί τους ανάλογα με τις συνθήκες ομογενοποίησης. Τέλος αξιολογείται το τελικό προϊόν-γιαούρτι ως προς τα σημαντικά χαρακτηριστικά του αντικειμενικά (ιξώδες, υφή, αρωματικό προφίλ) και οργανοληπτικά. Τα ανωτέρω μελετώνται τόσο σε συμβατικό όσο και σε προβιοτικό γιαούρτι.

Με βάση τα αποτελέσματα των δύο πρώτων μερών και τις τυχόν διαφορές μεταξύ των δειγμάτων γιαουρτιού ένεκα των διαφορετικών συνθηκών ομογενοποίησης, κρίνεται σκόπιμο να διερευνηθεί σε τι οφείλονται οι διαφορές αυτές. Για να απαντηθούν τα ερωτήματα εντοπίζονται τα «στοιχεία» εκείνα του γάλακτος που επηρεάζουν αντίστοιχα τα χαρακτηριστικά του γιαουρτιού και μελετώνται οι αλλαγές που υφίστανται από τις δύο διαφορετικές μεθόδους ομογενοποίησης.

Για να εξηγηθεί ο μηχανισμός που προκαλεί τις διαφορές στην εξέλιξη του pH κατά την ζύμωση, σκόπιμο είναι να μελετηθεί η επίδραση της ομογενοποίησης στη μικροβιακή χλωρίδα, που σύμφωνα με τη βιβλιογραφία επηρεάζει την εξέλιξη των μικροοργανισμών (καλλιέργεια γαλακτικών βακτηρίων) και τη διεργασία ζύμωσης. Για τις διαφορές στην εξέλιξη του ιξώδους κατά την ζύμωση, στο τελικό ιξώδες και στην υφή του γιαουρτιού, χρειάζεται να μελετηθούν τα στοιχεία του γάλακτος που, σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, συμμετέχουν στο σχηματισμό του πηγματος του γιαουρτιού, ειδικότερα οι πρωτεΐνες και οι μεταβολές που υφίστανται λόγω της εκάστοτε μεθόδου και της έντασης ομογενοποίησης. Όσον αφορά τις διαφορές στο άρωμα του παραγόμενου γιαουρτιού κρίνεται απαραίτητο να σχηματιστεί μία εικόνα για τη χημική σύσταση του αρωματικού προφίλ του γάλακτος μετά την επεξεργασία με υπερήχους, και συγκεκριμένα για τις ουσίες που απαρτίζουν τις υπεύθυνες ουσίες που σχετίζονται με τις οργανοληπτικές παραμέτρους και σε σύγκριση με τη συμβατική ομογενοποίηση με πίεση.

Εν κατακλείδι μελετώντας και συγκρίνοντας τις τροποποιήσεις που υφίστανται τα συστατικά του γάλακτος λόγω των υπερήχων και εξηγώντας τις διαφορές με τη συμβατική μέθοδο με πίεση, συγκρίνονται συνολικά οι δύο μέθοδοι και αξιολογείται αν είναι δόκιμη και αποδοτική η τεχνική εφαρμογής υπερήχων υψηλής έντασης ως μέθοδος ομογενοποίησης.

Κεφάλαιο 4 Πειραματικό Μέρος

4.2 Υλικά

Οι πρώτες ύλες που χρησιμοποιήθηκαν για τα πειράματα της παρούσας διατριβής ήταν:

❖ Γάλα

- Αποβουτυρωμένο αγελαδινό γάλα, περιεκτικότητας σε λιπαρά < 0,1% w/w, το οποίο έχει υποστεί θέρμιση στους 60 °C (προσφορά της εταιρείας ΦΑΓΕ Α.Ε.)
- Κρέμα «αποβουτύρωσης», περιεκτικότητας σε λιπαρά 35-40 % w/w η οποία έχει υποστεί θέρμιση στους 60 °C (προσφορά της εταιρείας ΦΑΓΕ Α.Ε.)

❖ Καλλιέργειες εκκίνησης

- Εμπορική καλλιέργεια *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* και *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (YF-L702) σε λιοφυλιωμένη μορφή (CRS-Hansen)
- Προβιοτική καλλιέργεια *Bifidobacterium animalis* sub. *Lactis* (BB-12) σε λιοφυλιωμένη μορφή (CRS-Hansen)

4.3 Πειραματική διαδικασία

4.3.1 Προετοιμασία - τυποποίηση δειγμάτων γάλακτος

Η παρασκευή των δειγμάτων γάλακτος που χρησιμοποιήθηκαν στα πλαίσια της παρούσας διατριβής περιελάμβανε την τυποποίησή τους σε περιεκτικότητα λιπαρών 3,5 % w/v και περιεκτικότητα στερεού υπολείμματος άνευ λίπους 13% w/v. Κατόπιν τα δείγματα υπέστησαν μία ήπια θερμική κατεργασία στους 60 °C.

4.3.2 Ομογενοποίηση γάλακτος

Οι μέθοδοι ομογενοποίησης που μελετήθηκαν ήταν με πίεση 2 σταδίων και με υπέρηχους υψηλής έντασης.

4.3.2.1 Ομογενοποίηση με Πίεση

Η διαδικασία ομογενοποίησης με πίεση έγινε σε εργαστηριακό ομογενοποιητή πίεσης APV 1000 (Albertslund, Denmark). Η διαδικασία περιελάμβανε το πέρασμα του γάλακτος μέσα από τη διάταξη του ομογενοποιητή και την εφαρμογή πίεσης σε 2 στάδια. Η μεν πρώτη βαλβίδα εφαρμόζε υψηλότερη πίεση και η δεύτερη χαμηλότερη. Οι συνθήκες πίεσης που εφαρμόστηκαν φαίνονται στον Πίνακα 4.1

4.3.2.2 Ομογενοποίηση με Υπέρηχους

Η ομογενοποίηση με υπέρηχους έγινε σε συσκευή υπερήχων VC750 Vibracell© (Sonics & Materials, Inc., Newtown, CT, USA). Το στέλεχος που χρησιμοποιήθηκε ήταν από κράμα τιτανίου Ti-6Al-

Κεφάλαιο 4 Πειραματικό Μέρος

4 V, κυλινδρικού σχήματος, μήκους 136 mm και διαμέτρου διατομής 13 mm. Η διαδικασία της επεξεργασίας με υπέρηχους έγινε σε δείγματα γάλακτος 250 mL με το στέλεχος βυθισμένο στο δείγμα περίπου 2,5 cm. Η διάρκεια της έκθεσης του γάλακτος στους υπέρηχους ήταν 10 min. Οι τιμές έντασης των υπερήχων που μελετήθηκαν φαίνονται στον Πίνακα 4.1.

Πίνακας 4.1: Κωδικοποίηση και τιμές πίεσης, έντασης υπερήχων ομογενοποίησης γάλακτος				
Ομογενοποίηση με Πίεση			Ομογενοποίηση με Υπέρηχους	
Κωδικοποίηση	Πίεση Βαλβίδας 1 (MPa)	Πίεση Βαλβίδας 2 (MPa)	Κωδικοποίηση	Ένταση Υπερήχων (W)
10/5	10	5	150	150
15/5	15	5	262	262
20/5	20	5	375	375
25/5	25	5	562	562
30/5	30	5	750	750

4.3.3 Θερμική Κατεργασία γάλακτος

Μετά το πέρας της ομογενοποίησης τα δείγματα γάλακτος, ομογενοποιημένα με πίεση, τοποθετήθηκαν σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 80 °C για 20 min. Η στάθμη του νερού ήταν υψηλότερη από τη στάθμη του γάλακτος στα γυάλινα ποτήρια ζέσεως, ώστε να υπάρχει καλύτερη και ομοιόμορφη μεταφορά θερμότητας και κατά συνέπεια ταχεία αύξηση της θερμοκρασίας των δειγμάτων.

4.3.4 Εμβολιασμός

Τα δείγματα γάλακτος ψύχθηκαν στη θερμοκρασία ζύμωσης (45 ± 1 °C για τα δείγματα που θα ζυμώνονταν από τη συμβιωτική καλλιέργεια YF-L702, και 40 ± 1 °C για τα δείγματα που θα ζυμώνονταν από την προβιοτική καλλιέργεια BB-12). Ο εμβολιασμός έγινε σύμφωνα με τις οδηγίες της προμηθεύτριας εταιρείας, 0,08 % w/v. Να σημειωθεί ότι οι δύο καλλιέργειες εκκίνησης ήταν τύπου direct και ο εμβολιασμός έγινε σε λυοφιλιωμένη μορφή. Στη συνέχεια, το μείγμα γάλακτος χωρίστηκε σε δείγματα των 200 mL, σε πλαστικούς αποστειρωμένους περιέκτες και σφραγίστηκαν με φύλλο αλουμινίου.

4.3.5 Διεργασία ζύμωσης γάλακτος προς γιαούρτι

Τα εμβολιασμένα δείγματα γάλακτος προς ζύμωση τοποθετήθηκαν σε επωαστήρες θερμοκρασίας 45 °C (όταν περιείχαν συμβιωτική καλλιέργεια YF-L 702) ή θερμοκρασίας 40 °C (όταν περιείχαν προβιοτική καλλιέργεια BB-12) μέχρις ότου το pH φτάσει την τιμή στόχο $4,6 \pm 0,1$.

Κεφάλαιο 4 Πειραματικό Μέρος

4.3.6 Ψύξη - Συντήρηση γιαουρτιού

Τα δείγματα γιαουρτιού μετά το πέρας της ζύμωσης μεταφέρθηκαν σε θάλαμο θερμοκρασίας 4 °C για 24 h, ώστε να περιοριστεί η δράση των βακτηρίων και να διατηρηθούν οι ιδιότητές τους μέχρι την επόμενη ημέρα, οπότε και μετρήθηκαν.

4.4 Μετρήσεις

Οι μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν χωρίζονται σε τρεις μεγάλες ενότητες. Η πρώτη αφορά τα δείγματα γάλακτος αμέσως μετά την ομογενοποίηση, είτε με υπέρηχους είτε με πίεση, η δεύτερη αφορά τα δείγματα μείγματος γάλακτος-καλλιέργειας κατά την ζύμωση και η τρίτη τα δείγματα γιαουρτιού 24 h μετά τη διεργασία ζύμωσης.

4.4.1 Μετρήσεις σε δείγματα γάλακτος

Οι μετρήσεις στα δείγματα γάλακτος έγιναν αμέσως μετά το πέρας της διαδικασίας ομογενοποίησης, είτε με πίεση είτε με υπέρηχους, πριν το εκάστοτε δείγμα υποστεί οποιαδήποτε επεξεργασία.

4.4.1.1 Μέγεθος λιποσφαιρίων

Τα λιποσφαίρια των δειγμάτων γάλακτος παρατηρήθηκαν σε οπτικό μικροσκόπιο Leica DM 750 (Leica Microsystems, Switzerland), με φακό μεγέθυνσης 100x. Οι εικόνες των λιποσφαιρίων ελήφθησαν με την εγκατεστημένη κάμερα του μικροσκοπίου (Leica EC3, Leica Microsystems, Switzerland) και επεξεργάστηκαν με το σχετικό λογισμικό (Leica Application Suite, LAS).

Επιπλέον, το μέγεθος των λιποσφαιρίων μετρήθηκε με δυναμική σκέδαση φωτός σε Mastersizer Micro (Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, UK) με τη χρήση δέσμης RF He-Ne laser μήκους κύματος $\lambda=300$ nm. Πριν τη μέτρηση τα δείγματα είχαν αναμειχθεί σε αναλογία 10 % (v/v) με ρυθμιστικό διάλυμα 8M ουρίας και 50 mM EDTA, pH 7.0, και αφέθηκαν για 1 h, ώστε να διασπαστούν τυχόν συσσωματώματα λιπαρών και καζεϊνικών μικυλλίων.

4.4.1.2 Σταθερότητα του γάλακτος ως γαλάκτωμα

Τα δείγματα ομογενοποιημένου γάλακτος τοποθετήθηκαν σε βαθμονομημένους δοκιμαστικούς σωλήνες σε θερμοκρασία 4 °C μέχρι να διαχωριστούν πλήρως τα λιπαρά από το όγκο του γάλακτος και να σχηματιστούν 2 φάσεις. Η σταθερότητα εκφράζεται σε μονάδες χρόνου (ημέρες).

Κεφάλαιο 4 Πειραματικό Μέρος

4.4.1.3 ζ-δυναμικό γάλακτος

Το ζ-δυναμικό μετρήθηκε με δυναμική σκέδαση φωτός σε Zetasizer nano-zs 2000, (Malvern Instruments Ltd, UK). Οι μετρήσεις έγιναν στα 488nm, στους 25 °C. Οι τιμές του ζ-δυναμικού υπολογίστηκαν από την εξίσωση Helmholtz-Smoluckowski:

$$V_{av} = - \frac{E_z \cdot \epsilon_r \cdot \epsilon_0 \cdot \zeta}{\mu}$$

Όπου:

v_{av} : η μέση ηλεκτροστατική ταχύτητα ροής (m/s)

E_z : εφαρμοζόμενο ηλεκτρικό πεδίο (V/m)

ϵ_r : η διηλεκτρική σταθερά του μέσου

ϵ_0 η διαπερατότητα του κενού ($8.85 \cdot 10^{-12}$ F/m)

ζ : το ζ-δυναμικό του επίπεδου διάτμησης (V)

μ : το δυναμικό ιξώδες (kg/(m*s)).

4.4.1.4 Ποσότητα πρωτεϊνών – Επίπεδο πρωτεϊνικής μετουσίωσης

Η περιεκτικότητα των δειγμάτων γάλακτος σε μη μετουσιωμένες πρωτεΐνες, μετρήθηκε με τη μέθοδο Bradford χρησιμοποιώντας αλβουμίνη ορού γάλακτος (BSA, Sigma, USA) ως πρότυπο (Bradford, 1976).

Για τον προσδιορισμό του ποσοστού των μη μετουσιωμένων πρωτεϊνών των ομογενοποιημένων δειγμάτων γάλακτος χρησιμοποιήθηκε ηλεκτροφόρηση πηκτής δωδεκυλοθειικού νατρίου-πολυακρυλαμιδίου (SDS-PAGE) σύμφωνα με τη μέθοδο Laemmli (1970), χρησιμοποιώντας πηκτή πολυακρυλαμιδίου 12,5%. Για την πρόληψη τυχόν συσσωματωμάτων μεταξύ των πρωτεϊνών χρησιμοποιήθηκε ρυθμιστικό διάλυμα 2-μερκαπτοαιθανόλης. Ο διαχωρισμός των πρωτεϊνικών ζωνών πραγματοποιήθηκε στην πηκτή χρησιμοποιώντας συσκευή ηλεκτροφόρησης Mini-PROTEAN (Mini-PROTEAN TGX, BioRad Lab., US). Οι πηκτές λειτουργούσαν στα 35 mA και κατόπιν βάφτηκαν σε χρωστικό διάλυμα 4 g·L⁻¹ Coomassie Brilliant Blue G (Coomassie Brilliant Blue G με διάλυμα 5:4:1 απιονισμένου νερού : μεθανόλης : οξικού οξέος) για 20 min. Ακολούθησε αποχρωματισμός της πηκτής με διάλυμα αποχρωματισμού (διάλυμα 5:4:1 απιονισμένου νερού : μεθανόλης : οξικού οξέος) έως ότου καθαρίσει η πηκτή και παραμείνουν χρωματισμένες μόνο οι πρωτεϊνικές ζώνες. Τα δείγματα πριν τις εν λόγω μετρήσεις (Bradford και SDS-PAGE) υπέστησαν φυγοκέντρηση σε 10.000 rpm (18.000 g) για 10 min, έτσι ώστε να διαχωριστεί το διαλυτό μέρος του πρωτεϊνικού περιεχομένου του γάλακτος (Laemmli U.K., 1970).

4.4.1.5 Μικροβιολογική ανάλυση

Στα δείγματα ομογενοποιημένου γάλακτος, πριν τη θερμική κατεργασία, μετρήθηκε η ολική μικροβιακή χλωρίδα και η ποσότητα των γαλακτικών βακτηρίων. Για την καταμέτρηση του μικροβιακού

Κεφάλαιο 4 Πειραματικό Μέρος

φορτίου, δείγμα προϊόντων 10 g μεταφερόταν σε αποστειρωμένη σακούλα με προσθήκη 90 mL διαλύματος Ringer (1.15525, Merck) και ομογενοποιείτο για 1 min σε ομογενοποιητή σακουλών (BagMixer® Interscience, France). Δείγμα από διαδοχικές δεκαδικές αραιώσεις των ομογενοποιημένων δειγμάτων τοποθετείτο σε επιλεγμένα θρεπτικά υλικά σε τρυβλία Petri.

Για τον προσδιορισμό της ολικής μικροβιακής χλωρίδας χρησιμοποιείτο θρεπτικό υλικό Plate Count Agar (1.05463, Merck). Η επώαση των τρυβλίων γινόταν στους 25°C για 72 h υπό αερόβιες συνθήκες.

Για τον προσδιορισμό των γαλακτικών βακτηρίων, χρησιμοποιείτο θρεπτικό υλικό MRS Agar (1.10660, Merck) με τροποποιημένη τιμή pH στο 4,58 και η επώαση των τρυβλίων γινόταν στους 45 °C για 72 h υπό αναερόβιες συνθήκες (Anaerocult Jar/Catalyst, 1.16387/1.13829, Merck).

4.4.1.6 Ανάλυση αρωματικού προφίλ

Η ανάλυση του αρωματικού προφίλ του γάλακτος και η ταυτοποίηση των αρωματικών ενώσεων που το συνθέτουν πραγματοποιήθηκε συνδυάζοντας τη μέθοδο της αέριας χρωματογραφίας με φασματομετρία μάζας (Gas Chromatography/Mass spectrometry) GC/MS) και τη μέθοδο της μικροεκχύλισης στερεάς φάσης (Solid Phase Microextraction, SPME). Η ίνα SPME που χρησιμοποιήθηκε ήταν πάχους 75 μm, τύπου Caboxen®/PDMS (polydimethylsiloxane) (Sigma-Aldrich USA). Για την εν λόγω μέτρηση τα δείγματα γάλακτος είχαν κλειστεί αεροστεγώς σε φιάλες με βιδωτό πώμα με διάφραγμα από πολυπροπυλένιο. Οι φιάλες τοποθετήθηκαν σε θάλαμο θερμοκρασίας 45 °C υπό ανάδευση για 15 min, ώστε να αποκατασταθεί ισορροπία μεταξύ του δείγματος και του υπερκείμενου χώρου σε περιεκτικότητα αρωματικών συστατικών. Κατόπιν τοποθετήθηκε η ίνα SPME μέσω του διαφράγματος και αφέθηκε εκτεθειμένη στον υπερκείμενο χώρο για 90 min. Στη συνέχεια η ίνα τοποθετήθηκε στην είσοδο την στήλης της αέριας χρωματογραφίας, που βρισκόταν σε θερμοκρασία 240 °C για 2 min, ώστε να εκλύσει όλα τα αρωματικά μόρια που απορρόφησε. Ο αέριος χρωματογράφος που χρησιμοποιήθηκε ήταν 7890A GC (Agilent Technologies USA) σε συνδυασμό με φασματόμετρο μάζας με ανιχνευτή 3 αξόνων 5975 CMSD (Agilent Technologies USA). Η στήλη του χρωματογράφου ήταν Agilent 1909/S τριχοειδής στήλη (30 m × 0.25 mm εσωτερικής διαμέτρου και πάχος επένδυσης 0.25 μm). Το φέρον αέριο που χρησιμοποιήθηκε ήταν ήλιον, με ταχύτητα ροής 1 mL*min⁻¹, γραμμική ταχύτητα 40 cm/s και βαθμό ιονισμού: EI 70 eV. Η θερμοκρασία της στήλης αρχικά ήταν 40 °C για 10 min και στη συνέχεια αυξανόταν με ρυθμό 5 °C/min μέχρι τους 250 °C όπου και παρέμεινε για 15 min (Mouchili et al., 2005).

Κεφάλαιο 4 Πειραματικό Μέρος

4.4.2 Μετρήσεις κατά την ζύμωση του γάλακτος προς γιαούρτι

Σε όλη τη διάρκεια της ζύμωσης και σε θερμοκρασία 45 °C λαμβάνονταν μετρήσεις για το pH και το ιξώδες των δειγμάτων.

4.4.2.1 Παρακολούθηση της εξέλιξης του pH – Χρόνος ζύμωσης

Το pH των δειγμάτων μετρείτο ανά 5 min, μέχρι να φτάσει την τιμή στόχο 4,6, κάνοντας χρήση pHμέτρου WTW pHmeter 3110 ακριβείας 3 δεκαδικών ψηφίων (WTW, Wissenschaftlich-Technische Werkstätte, Germany) και ηλεκτροδίου SenTix 51 (WTW, Wissenschaftlich-Technische Werkstätte, Germany). Ως χρόνος ζύμωσης θεωρείται ο χρόνος που απαιτήθηκε, ώστε κάθε δείγμα να αποκτήσει pH ίσο με την τιμή στόχο 4,6.

4.4.2.2 Παρακολούθηση της εξέλιξης του ιξώδους

Το ιξώδες των δειγμάτων μετρείτο ανά 30 min σε περιστροφικό ιξωδόμετρο Brookfield (Brookfield Engineering Laboratories Inc., USA) με την προσθήκη Hellipath (Brookfield Engineering Laboratories Inc., USA). Τα στελέχη που χρησιμοποιήθηκαν ήταν τα Hellipath spindles A, B και C και η ταχύτητα περιστροφής 50rpm.

4.4.2.3 Προσδιορισμός κινητικής ζύμωσης

Οι τιμές pH που μετρήθηκαν κατά την ζύμωση εφαρμόστηκαν στο μοντέλο των De Brabandere and De Baerdemaeker (1999), για την κινητική εξέλιξης του pH ως προς τον χρόνο. Το μοντέλο που περιγράφει την εξέλιξη του pH με το χρόνο είναι η εξίσωση 1:

$$pH = pH_0 + (pH_0 - pH_\infty) - \left\{ -exp \left[\frac{e \cdot \mu_{pH}}{(pH_0 - pH_\infty)} \cdot (\lambda_{pH} - t) + 1 \right] \right\} \quad (1)$$

Όπου:

pH_0, pH_∞ = η αρχική και τελική τιμή pH

t = χρόνος (min)

μ_{pH} (min^{-1}) = μέγιστος ρυθμός μείωσης pH

λ_{pH} (min) = διάρκεια λανθάνουσας φάσης pH

Οι τιμές ιξώδους που μετρήθηκαν κατά την ζύμωση εφαρμόστηκαν στο μοντέλο των Soukoulis, Panagiotidis, Kourelis & Tzia (1999), για την κινητική εξέλιξης του ιξώδους ως προς τον χρόνο. Το μοντέλο που περιγράφει την εξέλιξη του pH με το χρόνο είναι η εξίσωση 2:

Κεφάλαιο 4 Πειραματικό Μέρος

$$\mu_{\alpha} = \mu_{\alpha 0} + (\mu_{\alpha 0} - \mu_{\alpha \infty}) - \left\{ -\exp \left[\frac{e \cdot \mu_v}{(\mu_{\alpha 0} - \mu_{\alpha \infty})} \cdot (\lambda_v - t) + 1 \right] \right\} \quad (2)$$

Όπου:

$\mu_{\alpha 0}, \mu_{\alpha \infty}$ (Pa*s) = αρχική και τελική τιμή ιξώδους αντίστοιχα

t (min) = χρόνος

μ_v (min⁻¹) = μέγιστος ρυθμός αύξησης ιξώδους

λ_v (min) = διάρκεια λανθάνουσας φάσης ιξώδους

Βάσει των πειραματικών μετρήσεων και των εξισώσεων 1 και 2 υπολογίστηκαν οι παράμετροι των μοντέλων μ_{pH} , λ_{pH} , μ_{visc} και λ_{visc} .

4.4.3 Μετρήσεις σε δείγματα γιαουρτιού

Κατόπιν της ζύμωσης, τα δείγματα γιαουρτιού μεταφέρθηκαν σε θάλαμο ψύξης (4 °C) και αποθηκεύτηκαν. Μετά από 24 h αποθήκευσης ελήφθησαν μετρήσεις για τα φυσικοχημικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των δειγμάτων γιαουρτιού.

4.4.3.1 Ιξώδες

Το ιξώδες των δειγμάτων γιαουρτιού μετρήθηκε με τη μέθοδο που παρουσιάστηκε στην παράγραφο 2.4.1 ελαφρώς τροποποιημένη. Χρησιμοποιήθηκε το στέλεχος Hellipath Spindle F (Brookfield Engineering Laboratories Inc., USA) και η θερμοκρασία του δείγματος ήταν 4 °C. Η κίνηση του στελέχους, κατά τη μέτρηση, εκτός από περιστροφική στα 50 rpm ήταν και κατακόρυφη, ώστε ο θιζοτροπικός χαρακτήρας του γιαουρτιού να μην επηρεάζει τη μέτρηση.

4.4.3.2 Ανάλυση Υφής

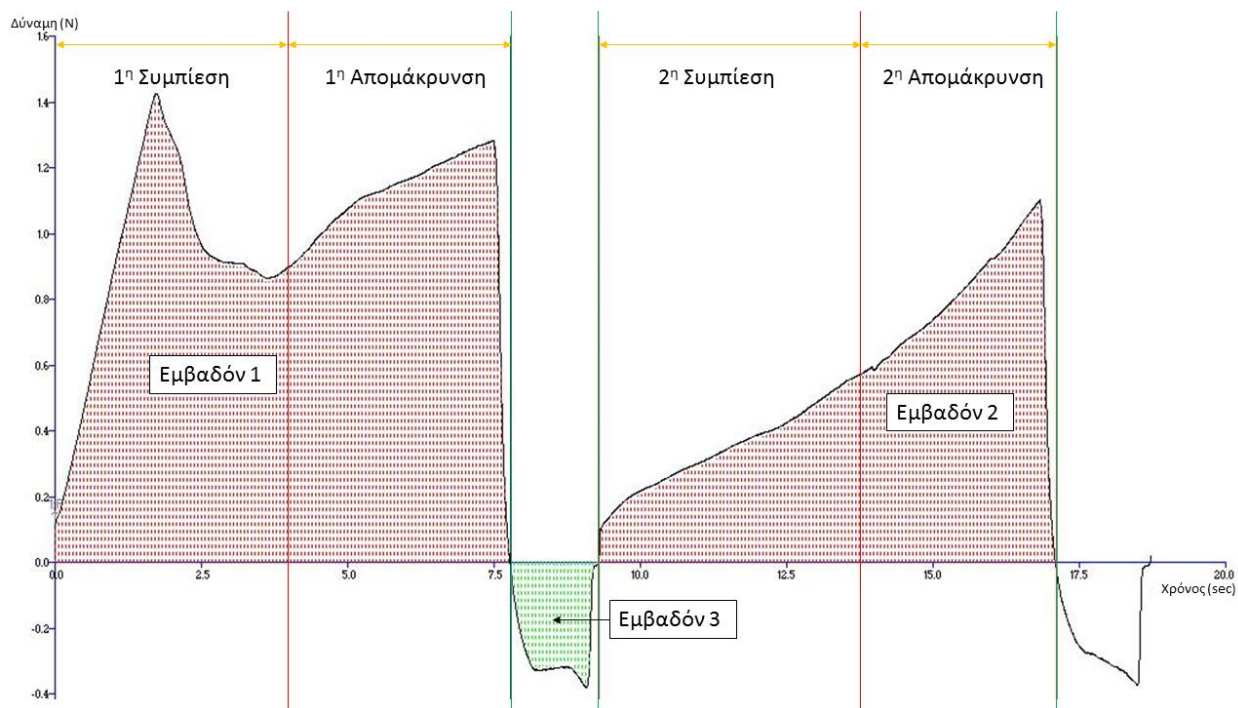
Στα δείγματα γιαουρτιού μετρήθηκαν η σκληρότητα, η συνεκτικότητα και η προσκολλησιμότητα σε αναλυτή υφής Texture Analyser TA-XT2i, (Stable Microsystems, UK), κάνοντας χρήση ακρυλικού κυλινδρικού στελέχους διαμέτρου 25,4 mm και μήκους 35 mm. Η μέτρηση περιελάμβανε τη διπλή διείδυση του στελέχους στο δείγμα μέχρι το βάθος των 10 mm και με ταχύτητα 2,0 mm*s⁻¹ σε δείγματα γιαουρτιού 200mL. Η θερμοκρασία των δειγμάτων κατά τη μέτρηση ήταν 4 °C.

Τα διαγράμματα δύναμης (N) - χρόνου (s) καταγράφηκαν στο λογισμικό Texture Exponent 32 και βάσει αυτών υπολογίστηκαν τα χαρακτηριστικά υφής.

Ως σκληρότητα ορίζεται η μέγιστη δύναμη που χρειάζεται για την πρώτη διείδυση στο δείγμα. Στο διάγραμμα υφής, δύναμης-χρόνου, η σκληρότητα υπολογίζεται ως είναι το μέγιστο της πρώτης καμπύλης. Ως συνεκτικότητα ορίζεται ο λόγος του έργου που χρειάζεται για τη δεύτερη διείδυση προς

Κεφάλαιο 4 Πειραματικό Μέρος

το έργο που χρειάζεται για την πρώτη. Από το διάγραμμα υφής, δύναμης-χρόνου η συνεκτικότητα υπολογίζεται ως ο λόγος του Εμβαδού 2 προς το Εμβαδό 1. Ως προσκολλησιμότητα ορίζεται το έργο που χρειάζεται για την έξοδο του στελέχους από το δείγμα μετά την πρώτη διείσδυση. Στο διάγραμμα υφής, δύναμης-χρόνου, ως προσκολλησιμότητα ορίζεται το Εμβαδό 3.



Εικόνα 4.1: Τυπικό διάγραμμα ανάλυσης υφής γιαουρτιού

4.4.3.3 Ανάλυση αρωματικού προφίλ

Η ανάλυση του αρωματικού προφίλ των δειγμάτων γιαουρτιού και η ταυτοποίηση των χημικών ενώσεων που το απαρτίζουν έγινε με τη συνδυαστική μέθοδο μικροεκχύλισης στερεάς φάσης (SPME) και αέριας χρωματογραφίας με φασματομετρία μάζας (GC/MS) όπως παρουσιάστηκε στην παράγραφο 4.4.1.6.

4.4.3.4 Οργανοληπτική ανάλυση

Η οργανοληπτική ανάλυση των δειγμάτων γιαουρτιού έγινε από την εκπαιδευμένη οργανοληπτική ομάδα του εργαστηρίου Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων της σχολής Χημικών Μηχανικών ΕΜΠ. Οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν στο χώρο οργανοληπτικών δοκιμών του εργαστηρίου χημείας και τεχνολογίας τροφίμων της Σχολής Χημικών Μηχανικών ΕΜΠ, ο οποίος κατά την περίοδο διεξαγωγής των πειραμάτων ήταν διαπιστευμένος κατά το ISO 17025. Η προετοιμασία των

Κεφάλαιο 4 Πειραματικό Μέρος

δειγμάτων και ο ορισμός των περιγραφικών όρων που χρησιμοποιήθηκαν έγιναν βάσει μεθοδολογίας που περιγράφεται στη βιβλιογραφία (Drake, 2022; Janhøj et al., 2008; Pereira et al., 2003; Christos Soukoulis et al., 2010b). Οι δοκιμαστές αξιολογούσαν τα δείγματα σε ξεχωριστούς φωτιζόμενους θαλάμους, στους οποίους υπήρχε σταθερή θερμοκρασία του χώρου (23 ± 1 °C), ενώ τα αναλώσιμα (π.χ. κουτάλια, ποτήρια, εμφιαλωμένο νερό για την έκπλυση του στόματος μεταξύ της δοκιμής διαφορετικών δειγμάτων) που χρησιμοποιούνταν είχαν σταθερά χαρακτηριστικά. Τα δείγματα γιαουρτιού παρουσιάστηκαν στους δοκιμαστές σε θερμοκρασία 4 °C, σε κωδικοποιημένους περιέκτες 200mL κατά το ίδιο τρόπο. Σε κάθε δοκιμαστή προσφέρονται δύο δείγματα γιαουρτιού, ένα για την εκτίμηση της εμφάνισης και των χαρακτηριστικών υφής κατά τον τεμαχισμό και ένα για την αξιολόγηση της γεύσης/αρώματος και των χαρακτηριστικών υφής κατά την κατανάλωσή τους. Επιπλέον, μεταξύ των διαδοχικών δοκιμών οι δοκιμαστές ξέπλεναν το στόμα τους με εμφιαλωμένο νερό, προκειμένου να ουδετεροποιήσουν τους υποδοχείς της γλώσσας.

Εξετάστηκαν τα εξής 37 χαρακτηριστικά: η εμφάνιση (χρώμα, συναίρεση, επιφάνεια - κρούστα), η υφή κατά την κοπή (σκληρό, συνεκτικό, ελαστικό, συναίρεση, πήγμα, ινώδες, βλεννώδες, υπολείμματα) και στο στόμα (σκληρό, συνεκτικό, ελαστικό, λιπαρότητα, κομμιώδες, βλεννώδες, υδαρές, κοκκώδες), η οσμή (φυσική, χλωώδης, ορού, αψιά, καμένη), η γεύση (γλυκιά, όξινη) και το άρωμα (φυσικό, χλωώδες, γάλακτος, ορού, αψύ, καμένο, λιπαρό). Στον Πίνακα 4.2 παρουσιάζονται εκτενώς οι ακριβείς όροι που χρησιμοποιήθηκαν για την περιγραφή των δειγμάτων γιαουρτιού και στην Εικόνα 4.2 το έντυπο που χρησιμοποιήθηκε.

Πίνακας 4.2: Περιγραφή οργανοληπτικών χαρακτηριστικών γιαουρτιού		
Ιδιότητα		Περιγραφή
Εμφάνιση	Επιφάνεια	Όψη επιφάνειας δείγματος, ρωγμές, ανωμαλίες, κόκκοι κλπ.
	Χρώμα (λευκό - κίτρινο)	Ένταση λευκότητας δείγματος, απόκλιση προς το κίτρινο
	Κρούστα	Εμφάνιση κρούστας λιπαρών στην επιφάνεια
	Συναίρεση	Εμφάνιση αποβαλλόμενου ορού στην επιφάνεια ή αποκόλληση του πήγματος από τα τοιχώματα του περιέκτη
Υφή στο κουτάλι	Σκληρό	Ένταση δύναμης που χρειάζεται για να εισχωρήσει το κουτάλι στο δείγμα
	Ελαστικό	Ικανότητα του δείγματος να επαναφέρει το σχήμα του μετά από καταπόνηση
	Συναίρεση στον τεμαχισμό	Αποβολή ορού από το δείγμα μετά την κοπή

Κεφάλαιο 4 Πειραματικό Μέρος

Πίνακας 4.2 (συνέχεια)

	Πηγματώδες	Αν κατά την κοπή διατηρείται το πήγμα του δείγματος και δεν καταρρέει
	Συνεκτικό	Ομοιογένεια της υφής του δείγματος κατά την ανάδευση
	Υπολείμματα στο κουτάλι	Ποσότητα υπολειμμάτων δείγματος στο κουτάλι μετά την αποχώρηση του από τον όγκο του δείγματος
Υφή στο στόμα	Λιπαρό	Εμφάνιση λιπαρού στρώματος στο στόμα και διατήρησή του μετά την κατάποση
	Σκληρό	Ένταση δύναμης που χρειάζεται για να σπάσει η δομή του δείγματος στο στόμα
	Συνεκτικό	Ομοιογένεια της υφής του δείγματος στο στόμα
	Βλεννώδες	Κατά πόσο η υφή του δείγματος θυμίζει βλέννα
	Κρεμώδες	Κατά πόσο η υφή του δείγματος είναι απαλή, ομοιογενής και χωρίς ελαττώματα
	Υδαρές	Κατά πόσο το πήγμα είναι αδύναμο
	Αρέσκεια υφής	Βαθμός αρέσκειας υφής δείγματος
Οσμή	Φυσική	Χαρακτηριστική οσμή γιαουρτιού
	Γάλακτος	Χαρακτηριστική οσμή γάλακτος
	Ορού	Χαρακτηριστική οσμή ορού γάλακτος
	Χλωδής	Χαρακτηριστική οσμή χόρτου, γρασιδιού
	Ταγγή	Χαρακτηριστική οσμή ταγγισμένου λιπαρού, αψύ
	Καμένη	Χαρακτηριστική οσμή καμένου γάλακτος
Γεύση	Φυσική	Χαρακτηριστική γεύση γιαουρτιού
	Γλυκιά	Η ένταση της γλυκιάς γεύσης του δείγματος
	Όξινη	Η ένταση της όξινης γεύσης του δείγματος
	Αρέσκεια γεύσης	Βαθμός αρέσκειας της γεύσης του δείγματος
Άρωμα	Φυσικό	Χαρακτηριστικό άρωμα γιαουρτιού
	Χλωδές	Χαρακτηριστικό άρωμα χόρτου, γρασιδιού
	Καμένο	Χαρακτηριστικό άρωμα καμένου γάλακτος
	Αψύ-Ταγγό - Οξειδωμένο	Χαρακτηριστικό άρωμα ταγγισμένου λιπαρού, αψύ
	Όξινο	Όξινο άρωμα
	Γάλακτος	Χαρακτηριστικό άρωμα γάλακτος
	Ορού	Χαρακτηριστικό άρωμα ορού γάλακτος
	Αρέσκεια αρώματος	Βαθμός αρέσκειας αρώματος
	Συνολική Εντύπωση	Συνολικός βαθμός αρέσκειας του δείγματος

Κεφάλαιο 4 Πειραματικό Μέρος

ΕΝΤΥΠΟ ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΗΣ ΕΞΕΤΑΣΗΣ ΓΙΑΟΥΡΤΙΟΥ

Όνομα Δοκιμαστή:

Ημερομηνία:

Κωδικός Δείγματος:

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Εμφάνιση	Επιφάνεια	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Χρώμα (Λευκό - κίτρινο)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Κρούστα	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Συναίρεση	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Υφή											
◆ Στο κουτάλι	Σκληρό	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Ελαστικό	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Συναίρεση στον τεμαχισμό	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Πηγματώδες	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Συνεκτικό	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Υπολείμματα στο κουτάλι	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
◆ Στο στόμα	Λιπαρό	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Σκληρό	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Συνεκτικό	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Βλεννώδες	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Κρεμώδες	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Υδαρές	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Αρέσκεια υφής	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Οσμή	Φυσική	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Γάλακτος	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Ορού	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Χλωώδης	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Ταγγή	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Καμένη	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Γεύση	Φυσική	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Γλυκιά	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Όξινη	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		Αρέσκεια γεύσης	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Άρωμα	Φυσικό	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Γάλακτος	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Ορού	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Λιπαρό	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Ξένο	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Χλωώδης	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Αψύ-Ταγγό-Οξειδωμένο	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Καμμένο	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Αρέσκεια αρώματος	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	Συνολική Εντύπωση	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Εικόνα 4.2: Έντυπο οργανοληπτικής εξέτασης γιαουρτιού

Κεφάλαιο 4 Πειραματικό Μέρος

4.4.3.5 Μικροδομή γιαουρτιού

Η μικροδομή των δειγμάτων γιαουρτιού μελετήθηκε σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης ηλεκτρονίων (SEM) FEI Quanta 200 (FEI Company, Netherlands) χρησιμοποιώντας ανιχνευτή μεγάλου πεδίου (large-field detector, LFD). Το μικροσκόπιο λειτουργούσε στα 25 kV και σε μεγεθύνσεις επί 5.000 ή 10.000. Τα δείγματα πριν την ανάλυση είχαν υποστεί λυοφιλίωση σε εργαστηριακή συσκευή ξήρανσης υπό κατάψυξη (Alpha 1-4LDplus, CHRIST, Germany), στη συνέχεια επιστρώθηκαν με μείγμα χρυσού-παλλαδίου σε συσκευή επιχρύσωσης στο εργαστήριο Τεχνικής Φυσικών Διεργασιών της Σχολής Χημικών Μηχανικών ΕΜΠ.

4.5 Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων

4.5.1 Ανάλυση διακύμανσης

Προκειμένου να μελετηθεί η σημαντικότητα της επίδρασης των μεθόδων ομογενοποίησης του γάλακτος και της έντασης ομογενοποίησης στα χαρακτηριστικά που μελετήθηκαν, τα πειράματα επαναλήφθηκαν εις τριπλούν και τα αποτελέσματα των πειραματικών μετρήσεων υποβλήθηκαν σε γραμμική παραμετρική ανάλυση διακύμανσης (factorial analysis of variance, ANOVA) και παράλληλα συγκρίθηκαν οι μέσοι όροι με δοκιμή Duncan (Duncan's means post hoc comparison test) για να διαπιστωθούν οι στατιστικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων. Ως επίπεδο σημαντικότητας θεωρήθηκε η τιμή $p=0,05$.

Η κωδικοποίηση που χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση διακύμανση 2 μεταβλητών είναι:

Είδος ομογενοποίησης 1: πίεση, 2: υπέρηχοι

Ένταση ομογενοποίησης 10: 10/5 MPa, 15: 15/5 MPa, 20: 20/5 MPa, 25:25/5 MPa, 30:30/5 MPa
150: 150 W, 262: 262 W, 375: 375 W, 562: 562 W, 750: 750 W

4.5.2 Ανάλυση κύριων συνιστωσών (Principal Component Analysis, PCA)

Στην παρούσα διατριβή χρησιμοποιήθηκε η ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA) για να διαπιστωθεί η επίδραση των δύο μεθόδων ομογενοποίησης του γάλακτος και των διαφορετικών εντάσεων που χρησιμοποιήθηκαν, στις παραμέτρους της ζύμωσης αλλά και στα χαρακτηριστικά (οργανοληπτικά και αντικειμενικά) του παραγόμενου γιαουρτιού. Ακόμη, μέσω της PCA, επετεύχθη συσχέτιση των αντικειμενικών και των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των δειγμάτων γάλακτος και γιαουρτιού σε σχέση με τη μέθοδο και την ένταση ομογενοποίησης.

Ο μέγιστος αριθμός κύριων συνιστωσών που χρειάστηκε για την επαρκή επεξήγηση της ολικής διακύμανσης καθορίστηκε βάσει του διαγράμματος ιδιοτιμών, ενώ οι συσχετίσεις των ποιοτικών

Κεφάλαιο 4 Πειραματικό Μέρος

παραμέτρων με τους εκάστοτε κύριους άξονες καθορίστηκε με βάση την τιμή $|a| > 0,7$, όπου a είναι η εξηγηόμενη ολική διακύμανση ανά κύριο άξονα για την εκάστοτε ποιοτική παράμετρο.

4.4.3 Παλινδρόμηση μερικών ελαχίστων τετραγώνων (Partial Least Square Regression, PLS)

Για τη δημιουργία μοντέλων πρόρρησης του ολικού βαθμού αρέσκειας των δειγμάτων γιαουρτιού (DOL) βάσει των οργανοληπτικών και αντικειμενικών μετρήσεων (υφής και αρωματικού προφίλ) έγινε χρήση της παλινδρόμησης μερικών ελαχίστων τετραγώνων. Ο προσδιορισμός των μοντέλων πρόρρησης έγινε στο λογισμικό Simca P-10.5 (Umetrics, Sweden) χρησιμοποιώντας τα αποτελέσματα των οργανοληπτικών μετρήσεων για το μοντέλο 1 και τα αποτελέσματα της ανάλυσης αρωματικών ενώσεων από τη μέθοδο της αέριας χρωματογραφίας για το μοντέλο 2. Τα δεδομένα εισήχθησαν ως μέσοι όροι σε μορφή πίνακα χωρίς κάποια περαιτέρω επεξεργασία. Για τον προσδιορισμό του βέλτιστου αριθμού των συνιστωσών PLS εφαρμόστηκε το κριτήριο Martens σε συνδυασμό με διασταυρωτική επαλήθευση (cross-validation) (Martens & Martens 2000).

4.6 Σχεδιασμός Πειραμάτων

Στον παρακάτω Πίνακα 4.3 παρουσιάζονται οι σειρές πειραμάτων με τις σχεδιαστικές παραμέτρους των πειραμάτων και τα μελετούμενα χαρακτηριστικά σε κάθε σειρά.

Πίνακας 4.3: Σχεδιασμός Πειραμάτων			
Δείγμα	Μέθοδος Ομογενοποίησης	Ένταση Ομογενοποίησης	Μελετούμενα χαρακτηριστικά
Σειρά 1: Μελέτη επίδρασης συνθηκών ομογενοποίησης με υπέρηχους στα χαρακτηριστικά του γάλακτος - Σύγκριση με συμβατική μέθοδο ομογενοποίησης με πίεση (2 σταδίων)			
Γάλα	Πίεση (1)	10/5, 15/5, 20/5, 25/5, 30/5 (MPa)	<u>Ποιοτικά χαρακτηριστικά γάλακτος</u> <ul style="list-style-type: none">• Μέση διάμετρος λιποσφαιρίων• Διασπορά λιποσφαιρίων• ζ- Δυναμικό• Σταθερότητα γάλακτος ως γαλάκτωμα
	Υπέρηχοι (2)	150, 262, 375, 562, 750 (W)	

Κεφάλαιο 4 Πειραματικό Μέρος

Πίνακας 4.3 (συνέχεια)

Σειρά 2: Μελέτη επίδρασης συνθηκών ομογενοποίησης γάλακτος με υπέρηχους στις παραμέτρους της ζύμωσης και τα χαρακτηριστικά υφής, αρώματος και τα οργανοληπτικά του γιαουρτιού - Σύγκριση με συμβατική μέθοδο ομογενοποίησης με πίεση (2 σταδίων)			
Γιαούρτι (συμβατικό)	Πίεση (1)	10/5, 15/5, 20/5, 25/5, 30/5 (MPa)	<u>Παράμετροι ζύμωσης</u> <ul style="list-style-type: none"> • Χρόνος ζύμωσης • Εξέλιξη pH κατά την ζύμωση (μ_{pH}, λ_{pH}) • Εξέλιξη ιζώδους κατά την ζύμωση (μ_{vis}, λ_{vis})
	Υπέρηχοι (2)	150, 262, 375, 562, 750 (W)	<u>Ποιοτικά χαρακτηριστικά γιαουρτιού</u> <ul style="list-style-type: none"> • Τελικό ιζώδες • Υφή • Αρωματικό προφίλ γιαουρτιού • Οργανοληπτική εξέταση
Σειρά 3: Μελέτη επίδρασης συνθηκών ομογενοποίησης γάλακτος με υπέρηχους στα πρωτεϊνικά συστατικά και το μικροβιολογικό περιεχόμενο του γάλακτος και τη μικροδομή του γιαουρτιού - Σύγκριση με συμβατική μέθοδο ομογενοποίησης με πίεση (2 σταδίων)			
Γάλα	Πίεση (1)	10/5, 15/5, 20/5, 25/5, 30/5 (MPa)	<ul style="list-style-type: none"> • Μικροβιολογική ανάλυση • Προσδιορισμός πρωτεϊνικής μετουσίωσης • Αρωματικό προφίλ
	Υπέρηχοι	150, 262, 375, 562, 750 (W)	
Γιαούρτι	Πίεση (1)	10/5, 15/5, 20/5, 25/5, 30/5 (MPa)	<ul style="list-style-type: none"> • Μικροδομή
	Υπέρηχοι (2)	150, 262, 375, 562, 750 (W)	
Σειρά 4: Μελέτη επίδρασης συνθηκών ομογενοποίησης γάλακτος με υπέρηχους στις παραμέτρους της ζύμωσης και τα χαρακτηριστικά προβιοτικού γιαουρτιού - Σύγκριση με συμβατική μέθοδο ομογενοποίησης με πίεση (2 σταδίων)			
Γιαούρτι (προβιοτικό)	Πίεση (1)	10/5, 15/5, 20/5, 25/5, 30/5 (MPa)	<u>Παράμετροι ζύμωσης</u> <ul style="list-style-type: none"> • Χρόνος ζύμωσης • Εξέλιξη pH κατά τη ζύμωση (μ_{pH}, λ_{pH}) • Εξέλιξη ιζώδους κατά τη ζύμωση (μ_{vis}, λ_{vis})
	Υπέρηχοι (2)	150, 262, 375, 562, 750 (W)	

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση

Η ομογενοποίηση είναι μία διαδικασία που εφαρμόζεται στο γάλα για να προλάβει το φαινόμενο της αποκορύφωσης των λιπαρών και να επιφέρει μείωση του μεγέθους και ομοιογενή κατανομή των λιποσφαιρίων, βάσει των οποίων κρίνεται και η αποδοτικότητα της μεθόδου. Η διεργασία της ομογενοποίησης είναι απαραίτητη για την παραγωγή τυποποιημένων προϊόντων γάλακτος και γαλακτοκομικών προϊόντων σταθερής σύστασης. Το γάλα, ωστόσο, δεν αποτελεί ένα απλό σύστημα γαλακτώματος (διαλύτης-διεσπαρμένη φάση-γαλακτωματοποιητής), αλλά περιέχει και άλλα συστατικά τα οποία του προσδίδουν ευχάριστα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και λειτουργικές ιδιότητες. Η πρόταση μίας καινοτόμου μεθόδου, όπως η εφαρμογή υπερήχων, για την ομογενοποίηση του γάλακτος που ερευνάται πειραματικά στην παρούσα διατριβή, αφενός πρέπει να αξιολογηθεί με βάση την αποτελεσματικότητά της, αφετέρου πρέπει να διερευνηθεί ως προς την επίδρασή της στα υπόλοιπα συστατικά του γάλακτος (όπως στις πρωτεΐνες) αλλά και στις λειτουργικές τους ιδιότητες. Επίσης, δεδομένου ότι στη βιομηχανία εφαρμόζεται ευρέως η μέθοδος με πίεση 2 σταδίων για την ομογενοποίηση του γάλακτος, απαιτείται η σύγκριση της προτεινόμενης καινοτόμου μεθόδου με τη συμβατική. Για τον λόγο αυτό, επιλέχθηκε η μελέτη των συνηθέστερα χρησιμοποιούμενων συνθηκών πίεσης δύο σταδίων και η σύγκρισή τους με διάφορες συνθήκες υπερήχων με αντίστοιχη κλιμάκωση έντασης (βλέπε Κεφ. 4.3.2). Σε κάθε συνθήκη και των δύο μεθόδων εξετάστηκε η αποτελεσματικότητα της ομογενοποίησης και η επίδραση που έχει στο γάλα όπως και στην παραγωγική διαδικασία και τα χαρακτηριστικά του παραγόμενου γιαουρτιού. Για την ερμηνεία των διαφορών μεταξύ των δειγμάτων για κάθε συνθήκη ομογενοποίησης κρίθηκε σκόπιμο να μελετηθούν η μικροδομή του γιαουρτιού που επηρεάζει την υφή του προϊόντος, οι πρωτεΐνες του γάλακτος, οι οποίες παίζουν καθοριστικό ρόλο στον σχηματισμό του πηγματος, το μικροβιακό φορτίο του γάλακτος που επηρεάζει την ανάπτυξη της οξυγαλακτικής καλλιέργειας και την εξέλιξη της ζύμωσης κατά την παραγωγική διαδικασία του γιαουρτιού, καθώς και οι ουσίες που συνθέτουν το αρωματικό προφίλ του γάλακτος και επαγωγικά του γιαουρτιού. Τέλος, διερευνήθηκε η επίδραση της μεθόδου ομογενοποίησης με υπέρηχους (στις ίδιες συνθήκες) συγκριτικά με τη συμβατική ομογενοποίηση με πίεση στη διεργασία ζύμωσης και τα χαρακτηριστικά του γιαουρτιού με προβιοτική καλλιέργεια.

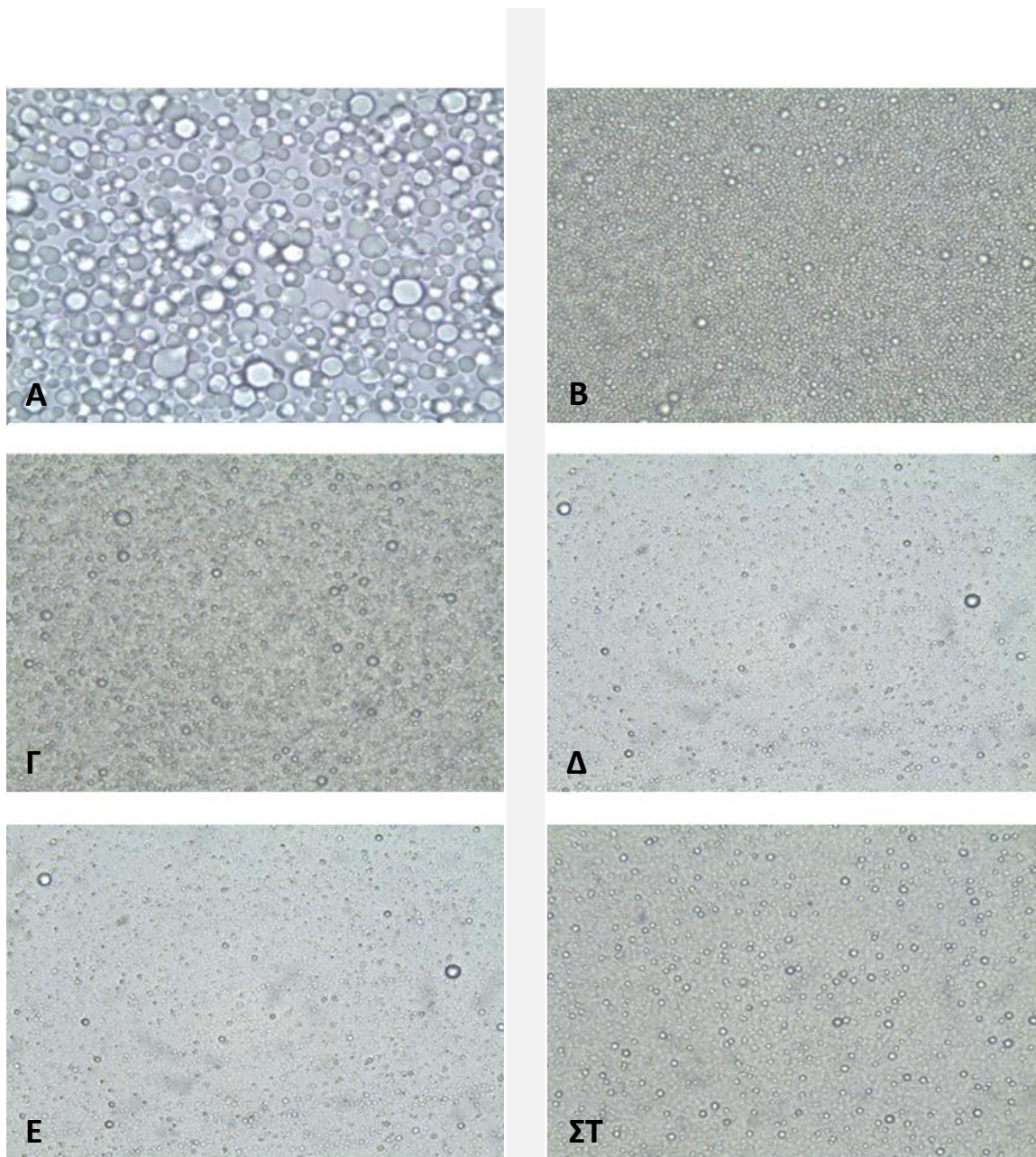
5.1 Μελέτη επίδρασης ομογενοποίησης με υπέρηχους στα χαρακτηριστικά του γάλακτος και σύγκριση με συμβατική ομογενοποίηση με πίεση

Ο λόγος που εφαρμόζεται η ομογενοποίηση στο σύστημα του γάλακτος είναι η πρόληψη του φαινομένου της αποκορύφωσης, όπως προαναφέρθηκε, η οποία σχετίζεται άμεσα με το μέγεθος των λιποσφαιρίων και την τάση τους να συσσωματώνονται. Οι συγκεκριμένες παράμετροι αποτέλεσαν και τα βασικά κριτήρια, ώστε να αξιολογηθεί η αποτελεσματικότητα των υπερήχων ως μέθοδος ομογενοποίησης, σε σύγκριση πάντα με τη συμβατικά εφαρμοσμένη στην πράξη μέθοδο με πίεση. Για την εκτίμηση της αποτελεσματικότητας της ομογενοποίησης, μετρήθηκαν το μέγεθος και η κατανομή των λιποσφαιρίων, η σταθερότητα του γάλακτος ως γαλάκτωμα, ή η αντίστασή του ως προς την αποκορύφωση των λιπαρών και το ζ-δυναμικό του γάλακτος, που αποτελεί μέτρο της άπωσης μεταξύ των σωματιδίων της διεσπαρμένης φάσης και της τάσης τους να ενώνονται και να σχηματίζουν μεγαλύτερα σωματίδια. Συγκρίνοντας τα αποτελέσματα της συμβατικής μεθόδου με πίεση με την υπό εξέταση μέθοδο των υπερήχων, αναμένεται η εξαγωγή συμπεράσματος κατά πόσον και αν οι υπέρηχοι είναι δόκιμη μέθοδος για την ομογενοποίηση του γάλακτος.

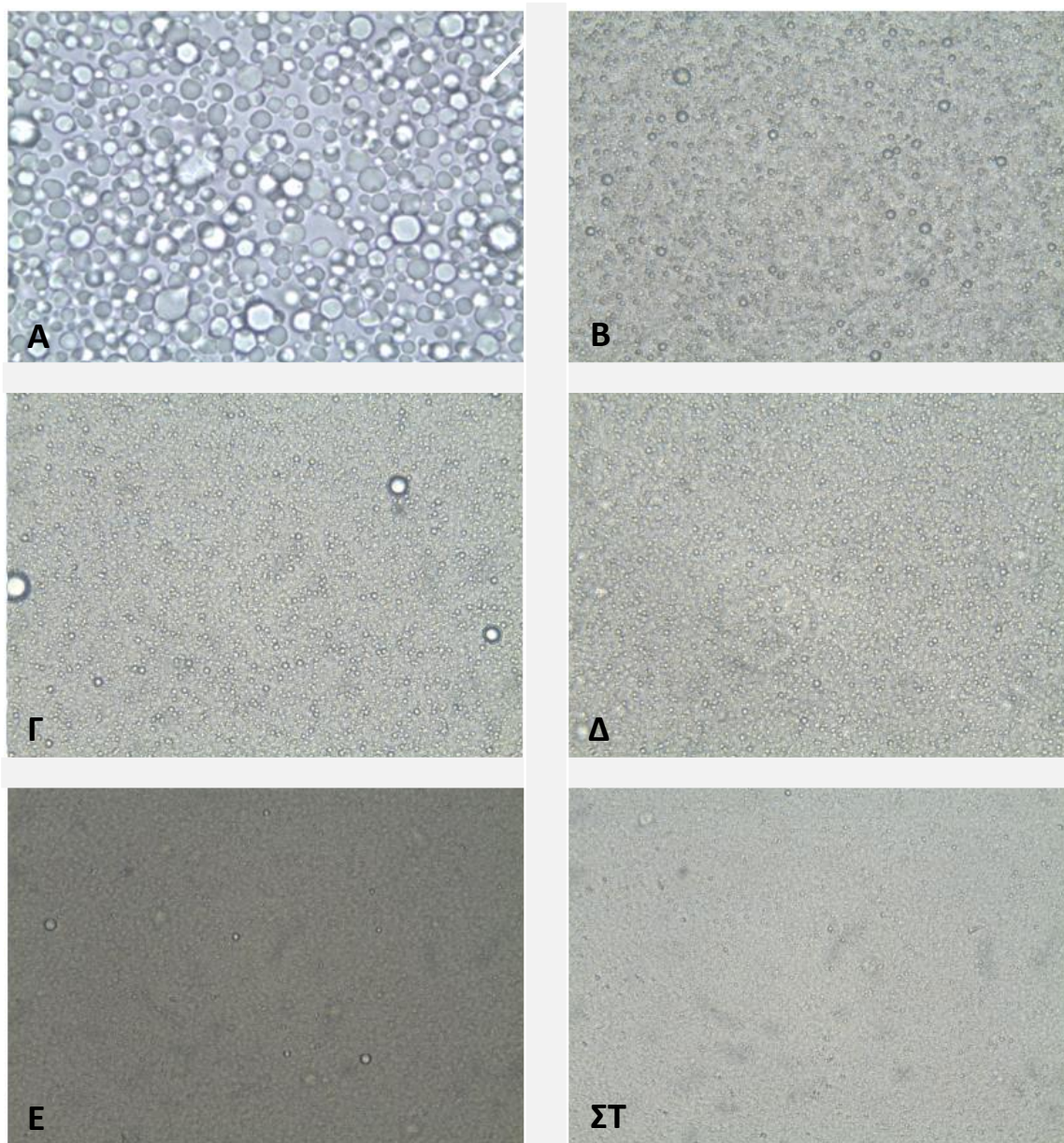
5.1.1 Μέγεθος και κατανομή λιποσφαιρίων

Μετά το πέρας της ομογενοποίησης και με τις δύο μεθόδους, τα δείγματα γάλακτος παρατηρήθηκαν στο οπτικό μικροσκόπιο για την απεικόνιση των λιποσφαιρίων τους. Στις Εικόνες 5.1 και 5.2 φαίνονται τα λιποσφαίρια του γάλακτος ομογενοποιημένου με πίεση 2 σταδίων και ομογενοποιημένου με υπέρηχους, αντίστοιχα. Όπως είναι εμφανές και στις επιμέρους εικόνες, το μέγεθος των λιποσφαιρίων μειωνόταν όσο αυξανόταν η ένταση του φαινομένου της ομογενοποίησης είτε με τη μέθοδο της πίεσης είτε με τη μέθοδο των υπερήχων.

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση



Εικόνα 5.1: Λιποσφαίρια αγελαδινού γάλακτος ομογενοποιημένου με πίεση **A:** Μη ομογενοποιημένο γάλα, **B:** 10/5 MPa, **Γ:** 15/5 MPa, **Δ:** 20/5 MPa, **Ε:** 25/5 MPa και **ΣΤ:** 30/5 MPa (μεγέθυνση 100x)



Εικόνα 5.2: Λιποσφαίρια αγελαδινού γάλακτος ομογενοποιημένου με υπέρηχους έντασης **A:** Μη ομογενοποιημένο, **B:** 150 W, **Γ:** 262 W, **Δ:** 375 W, **Ε:** 562 W και **ΣΤ:** 750 W (μεγέθυνση 100x)

Παρατηρώντας τις Εικόνες 5.1 και 5.2 φαίνεται η μείωση του μεγέθους των λιποσφαιρίων σε όλες τις συνθήκες που μελετήθηκαν. Όσο αυξάνεται είτε η πίεση είτε η ένταση των υπερήχων, τόσο μικρότερα είναι τα λιποσφαίρια που προκύπτουν. Ενδιαφέρον όμως έχει και η ομοιομορφία τους. Στα δείγματα ομογενοποιημένα με πίεση, φαίνονται λιποσφαίρια που ξεχωρίζουν από τα υπόλοιπα της εκάστοτε εικόνας και γενικώς σε κάθε επιμέρους Εικόνα της 5.1 υπάρχει μία ανομοιομορφία. Ακόμη και

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση

στις μεγάλες πιέσεις 25/5 MPa και 30/5 MPa (Εικόνες 5.1 Ε και ΣΤ) φαίνονται λιποσφαίρια που ξεχωρίζουν. Αντιθέτως, στις επιμέρους Εικόνες της 5.2 τα λιποσφαίρια έχουν οπτικά μία πιο ομοιόμορφη κατανομή σε σύγκριση με της πίεσης, ειδικότερα στις συνθήκες 375W, 562W και 750W (Εικόνες 5.2 Δ, Ε και ΣΤ) παρουσιάζουν αρκετά ομοιογενή εμφάνιση.

Στον Πίνακα 5.1 παρουσιάζονται οι διάμετροι των λιποσφαιρίων που προέκυψαν στις διάφορες συνθήκες ομογενοποίησης με τις δύο μεθόδους που μελετήθηκαν. Συμπερασματικά, και οι δύο μέθοδοι αποδείχθηκαν αποτελεσματικές στη μείωση της διαμέτρου των λιποσφαιρίων. Τόσο η ομογενοποίηση υψηλής έντασης υπερήχων (>300 W) όσο και πίεσης (>150/5 MPa), οδηγούν σε αποδεκτό μέγεθος λιποσφαιρίων ($d < 1 \mu\text{m}$). Στο μέγεθος των λιποσφαιρίων τα οποία προέκυψαν, σημαντική επίδραση ($P < 0,05$) έχει η μέθοδος και η ένταση της ομογενοποίησης. Τα δείγματα που είχαν ομογενοποιηθεί με υπέρηχους, κατέληξαν σε μικρότερου μεγέθους λιποσφαίρια σε σχέση με εκείνα που είχαν ομογενοποιηθεί με πίεση. Και στις δύο μεθόδους όσο πιο ισχυρή ήταν η ένταση της διεργασίας (πίεση ή ένταση υπερήχων) τόσο μικρότερα ήταν και τα λιποσφαίρια που προέκυψαν. Βάσει της μέσης διαμέτρου μπορούν να προταθούν ισοδύναμες συνθήκες στις δύο μεθόδους σύμφωνα με ανάλυση διακύμανσης, όπως: 10/5 MPa με 262 W, 20/5 MPa με 375 W, 20/5 MPa, 25/5 MPa και 30/5 MPa με 562 W και 750 W. Παρόμοιες συνθήκες υπερήχων οι οποίες έχουν εξεταστεί (20kHz, 50-500W) σε προηγούμενες μελέτες, έχουν δείξει ικανοποιητικό αποτέλεσμα όσον αφορά το μέγεθος και την κατανομή των λιποσφαιρίων στο γάλα, και συγκρίσιμο αποτέλεσμα με την ομογενοποίηση με πίεση (Floury et al., 2000; Scudino et al., 2020; H. Wu et al., 2000).

Πίνακας 5.1: Μέγεθος διαμέτρου λιποσφαιρίων ομογενοποιημένου γάλακτος						
Μέθοδος Ομογενοποίησης		Dv 0.1 (μm)	Dv 0.5 (μm)	Dv 0.9 (μm)	d _{3.2} (μm)	d _{4.3} (μm)
Νωπό		0,69±0,016	2,21±0,024	5,33±0,172	2,73±0,082	1,53±0,024
Πίεση (MPa)	10/5	0,51±0 ^b	1,13±0,024 ^d	2,31±0,072 ^a	1,34±0,082 ^c	1,27±0,024 ^c
	15/5	0,45±0,015 ^a	0,85±0,08 ^c	1,77±0,025 ^a	1,16±0,015 ^{a,b}	0,90±0,095 ^{a,b,c}
	20/5	0,44±0,016 ^a	0,81±0,057 ^{b,c}	1,82±0,041 ^a	1,07±0,074 ^a	0,77±0,016 ^{a,b}
	25/5	0,41±0,009 ^a	0,64±0,021	1,18±0,017 ^a	0,95±0,018 ^a	0,62±0,025 ^a
	30/5	0,40±0 ^a	0,62±0,014	1,04±0,026 ^a	0,78±0,017 ^a	0,61±0,012 ^a
Υπέρηχοι (W)	150	0,62±0,041 ^c	1,73±0,082 ^e	5,07±1,125 ^b	1,31±0,025 ^d	2,05±0,021 ^d
	262	0,45±0 ^a	1,04 ±0,008 ^d	2,55 ±0,033 ^a	0,95±0,021 ^{b,c}	1,41±0,008 ^{b,c}
	375	0,41±0,008 ^a	0,68±0,016 ^{a,b}	1,25±0,042 ^a	0,89±0,041 ^{a,b}	0,75±0,041 ^{a,b}
	562	0,41±0,005 ^a	0,64±0 ^a	1,15±0,017 ^a	0,86±0,021 ^a	0,62±0 ^a
	750	0,40±0,005 ^a	0,60±0,005 ^a	0,99±0,033 ^a	0,78±0,005 ^a	0,58±0,016 ^a

^{a-d} Διαφορετικό γράμμα μεταξύ των γραμμών σε κάθε στήλη υποδηλώνει διαφορές σύμφωνα με το Duncan's post hoc comparison test ($P < 0,05$)

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση

5.1.2 Σταθερότητα γάλακτος ως γαλάκτωμα

Μετά την ομογενοποίηση, τα δείγματα γάλακτος αποθηκεύτηκαν σε θερμοκρασία 4 °C μέχρι να διαχωριστούν σε δύο φάσεις, στη φάση των λιπαρών (κρέμας) και του ορού. Στον Πίνακα 5.2 παρουσιάζονται οι ημέρες που χρειάστηκαν, ώστε να επέλθει ο διαχωρισμός και οι δύο φάσεις να είναι ευδιάκριτες.

Μέθοδος Ομογενοποίησης		Ημέρες
	Νωπό γάλα	1 ^a
Πίεση (Mpa)	10/5	6 ^b
	15/5	7 ^b
	20/5	7 ^b
	25/5	7 ^b
	30/5	8 ^{b,c}
Υπέρηχοι (W)	150	2 ^a
	262	2 ^a
	375	5 ^b
	562	9 ^c
	750	14 ^d

^{a-d} Διαφορετικό γράμμα μεταξύ των γραμμών υποδηλώνει σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το Duncan's post hoc comparison test (P<0,05)

Όπως φαίνεται και στον Πίνακα 5.2, ο χρόνος σταθερότητας επηρεάστηκε σημαντικά από την εφαρμοζόμενη μέθοδο ομογενοποίησης και την ένταση αυτής (P<0,05). Τα δείγματα γάλακτος που ομογενοποιήθηκαν με πίεση, δεν παρουσίασαν σημαντική διαφορά μεταξύ τους ως προς τη σταθερότητά τους (6-8 ημέρες) ούτε με το επεξεργασμένο με υπέρηχους έντασης 375 W δείγμα, ενώ τα επεξεργασμένα δείγματα με υπέρηχους σε υψηλές εντάσεις 562 W και 750 W παρέμειναν σταθερά για παραπάνω από 9 ημέρες αποθήκευσης σε ψύξη. Αντίθετα, τα δείγματα που είχαν ομογενοποιηθεί με υπέρηχους χαμηλής έντασης 150 W και 262 W διαχωρίστηκαν εντός 2 ημερών, γεγονός που δεν τα διαφοροποιεί σημαντικά από το μη ομογενοποιημένο γάλα.

Συμπερασματικά, οι υπέρηχοι ομογενοποίησης υψηλότερης έντασης οδηγούν σε σταθερότητα του γάλακτος για χρόνους συγκρίσιμους και μεγαλύτερους από τους αντίστοιχους με ομογενοποίηση με πίεση, γεγονός που έρχεται σε συμφωνία με προηγούμενες μελέτες στις οποίες γάλα ομογενοποιημένο με υπέρηχους έντασης 475 W διατηρήθηκε μέχρι και 6 ημέρες (Abesinghe et al., 2020; Scudino et al., 2020). Με την ομογενοποίηση, είτε με πίεση είτε με υπέρηχους, μειώνεται το μέγεθος των λιποσφαιρίων και η συσσωμάτωσή τους δυσχεραίνεται. Στην περίπτωση, όμως, των υπερήχων, οι μεμβράνες των

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση

λιποσφαιρίων εμπλουτίζονται σε πρωτεϊνικά μόρια που λόγω της επιφανειοδραστικής τους ικανότητας διατηρούν τα λιποσφαίρια σε διασπορά και το γάλα σε μία ενιαία φάση για περισσότερο χρόνο.

5.1.3 ζ-δυναμικό γάλακτος

Το ζ-δυναμικό είναι το δυναμικό της διεπιφάνειας μεταξύ της διεσπαρμένης φάσης και της φάσης του διαλύτη σε ένα κολλοειδές σύστημα. Όσο υψηλότερη τιμή έχει το ζ-δυναμικό τόσο μεγαλύτερη είναι η απωστική δύναμη μεταξύ των σωματιδίων της διεσπαρμένης φάσης. Εν προκειμένω, το ζ-δυναμικό δείχνει την αντίσταση που αντιμετωπίζουν τα λιποσφαίρια προκειμένου να συσσωματωθούν. Οι τιμές για το ζ-δυναμικό της διεπιφάνειας των εξεταζόμενων δειγμάτων γάλακτος παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.3.

Μέθοδος Ομογενοποίησης		μV
	Νωπό γάλα	-31,2 ± 0,60 ^a
Πίεση (MPa)	10/5	-33,7 ± 0,20 ^b
	15/5	-34,2 ± 0,04 ^b
	20/5	- 34,6 ± 0,06 ^b
	25/5	-35,4 ± 0,02 ^c
	30/5	-35,7± 0,01 ^{c,d}
Υπέρηχοι (W)	150	-32,4 ± 0,80 ^a
	262	-33,6 ± 0,40 ^{a,b}
	375	-35,2 ± 0,07 ^c
	562	-37,4 ± 0,01 ^e
	750	-38,8 ± 0,01 ^e

^{a-e} Διαφορετικό γράμμα μεταξύ των γραμμών υποδηλώνει σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το Duncan's post hoc comparison test (P<0,05)

Το ζ-δυναμικό του μη επεξεργασμένου νωπού γάλακτος ήταν -31,2 ± 0,6 mV. Σε όλα τα δείγματα ομογενοποιημένου γάλακτος παρουσιάστηκε αύξηση της τιμής του ζ-δυναμικού. Οι δύο μέθοδοι ομογενοποίησης δεν παρουσίασαν σημαντική διαφορά στην τιμή του ζ-δυναμικού, παρόλα αυτά, διαφορές παρουσίασε η ένταση ομογενοποίησης (P<0,05). Τα δείγματα που είχαν ομογενοποιηθεί σε χαμηλότερες πιέσεις ή σε χαμηλότερες εντάσεις υπερήχων, ήτοι 10/5 MPa, 15/5 MPa, 20/5 MPa και 150 W και 262 W παρείχαν παρόμοιες τιμές ζ-δυναμικού. Τα ομογενοποιημένα δείγματα γάλακτος με πίεση 25/5 MPa και 30/5 MPa είχαν παρόμοιες τιμές ζ-δυναμικού με το ομογενοποιημένο δείγμα γάλακτος με υπέρηχους έντασης 375 W.

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση

Τέλος, οι μεγαλύτερες τιμές ζ-δυναμικού αντιστοιχούν στα επεξεργασμένα δείγματα με υπέρηχους 562 W και 750 W. Αντίστοιχες τιμές ζ-δυναμικού έχουν μετρηθεί και σε μελέτες ομογενοποίησης γάλακτος με υπέρηχους έντασης 100-475 W, ήτοι -31,1 mV μέχρι -36,6 mV (Scudino et al., 2020). Να σημειωθεί ότι στο ζ-δυναμικό του γάλακτος συνεισφέρει το ζ-δυναμικό των καζεϊνικών μικυλλίων που στο νωπό γάλα έχουν τιμή περίπου -20 mV (Glantz et al., 2010). Η αύξηση του ζ-δυναμικού του γάλακτος αποδίδεται στις αλλαγές που υφίστανται οι μεμβράνες των λιποσφαιρίων λόγω της εντονότερης ομογενοποίησης. Μετά την ομογενοποίηση οι μεμβράνες των λιποσφαιρίων γίνονται πιο πλούσιες σε πρωτεΐνες και λόγω της παρουσίας τους αυξάνει το δυναμικό της επιφάνειας των λιποσφαιρίων (D. Bermúdez-Aguirre et al., 2008). Αποτέλεσμα των αλλαγών αυτών αποτελεί η φόρτιση των μεμβρανών (Scudino et al., 2020).

Συνολικά, από τις μετρήσεις του μεγέθους των λιποσφαιρίων προέκυψε ότι η μέθοδος ομογενοποίησης γάλακτος με υπέρηχους είναι αποδοτική, οδηγώντας σε ελάχιστη μέση διάμετρο σωματιδίων 0,58 nm, η οποία είναι μικρότερη από εκείνη που έχει επιτευχθεί με την ομογενοποίηση με πίεση (0,61 nm). Ακόμη, από τις μετρήσεις της σταθερότητας του γάλακτος ως γαλάκτωμα και του ζ-δυναμικού, προέκυψε ότι η ομογενοποίηση με υπέρηχους εμποδίζει το διαχωρισμό των λιπαρών του γάλακτος με μεγαλύτερη επιτυχία από την ομογενοποίηση με πίεση. Δεδομένου ότι η χρήση υπερήχων είναι δόκιμη και αποδοτική ως μέθοδος ομογενοποίησης, υπάρχει ενδιαφέρον ως προς την ενσωμάτωσή τους στην παραγωγική διαδικασία του γιαουρτιού και για την περαιτέρω μελέτη της επίδρασής τους στα χαρακτηριστικά του προϊόντος.

5.2 Μελέτη επίδρασης συνθηκών ομογενοποίησης γάλακτος με υπέρηχους στις παραμέτρους της ζύμωσης και τα χαρακτηριστικά υφής, αρώματος και τα οργανοληπτικά του γιαουρτιού

Με βάση τα αποτελέσματα της προηγούμενης ενότητας, η εφαρμογή των υπερήχων φάνηκε ότι μπορεί να αποτελέσει μία αποτελεσματική μέθοδο για την ομογενοποίηση του γάλακτος. Συνεπώς, κρίθηκε σκόπιμο να μελετηθεί περαιτέρω η χρήση των δειγμάτων γάλακτος που ομογενοποιήθηκαν με υπέρηχους σε μία διεργασία παραγωγής ενός γαλακτοκομικού προϊόντος και να αξιολογηθεί η επίδραση τόσο στη διεργασία παραγωγής του όσο και στο τελικό προϊόν. Για το λόγο αυτό, επιλέχθηκε η διεργασία ζύμωσης του γάλακτος προς γιαούρτι, στην οποία οι ιδιότητες του γάλακτος και των συστατικών του έχουν καθοριστική σημασία. Βασικές παράμετροι για την εξέλιξη της ζύμωσης, όπως έχει αποδειχθεί και

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση

από προηγούμενες μελέτες, είναι η εξέλιξη του pH και του ιξώδους κατά την οξυγαλακτική πήξη, αλλά και ο χρόνος που διαρκεί η διεργασία πήξης (χρόνος ζύμωσης). Για την καλύτερη περιγραφή της εξέλιξης του pH και του ιξώδους, εφαρμόστηκαν δεδομένα μαθηματικά μοντέλα της βιβλιογραφίας (De Brabandere & De Baerdemaeker, 1999; C. Soukoulis et al., 2007) (βλέπε κεφ. 4.4.2.3) και υπολογίστηκαν οι παράμετροι που περιγράφουν ικανοποιητικά τη διεργασία για κάθε συνθήκη ομογενοποίησης.

Μετά το πέρας της ζύμωσης, αξιολογήθηκαν τα παραγόμενα δείγματα γιαουρτιού για τα ποιοτικά τους χαρακτηριστικά (ιξώδες, υφή και αρωματικό προφίλ), αλλά και τη συνολική τους οργανοληπτική εικόνα. Με σκοπό, πάντα, την αξιολόγηση της μεθόδου ομογενοποίησης και έχοντας συνδυάσει τα αποτελέσματα από τις ενόργανες και οργανοληπτικές αναλύσεις των δειγμάτων γιαουρτιού, προτάθηκαν μοντέλα που περιγράφουν τη συνολική αρέσκεια του τελικού προϊόντος γιαουρτιού σε σχέση με τη μέθοδο και την ένταση ομογενοποίησης με βάση τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και τις αρωματικές ουσίες με τη σημαντικότερη επίδραση.

5.2.1 Παρακολούθηση οξυγαλακτικής ζύμωσης από συμβατική καλλιέργεια *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* και *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, YF-L702. Χρόνος ζύμωσης, εξέλιξη pH - ιξώδους

Το πιο σημαντικό στάδιο στην παραγωγική διαδικασία του γιαουρτιού είναι η διεργασία της ζύμωσης, όπου τα βακτήρια μεταβολίζουν τη λακτόζη σε γαλακτικό οξύ. Καθώς αυξάνεται η συγκέντρωση του γαλακτικού οξέος, μειώνεται το pH, οι καρβοξυλομάδες διασπώνται, η φωσφορική σερίνη ιοντίζεται και αυξάνεται το αρνητικό φορτίο μεταξύ μικυλλίων καζεΐνης. Ωστόσο, η παρουσία φωσφορικού ασβεστίου εξουδετερώνει αυτό το αρνητικό φορτίο, διατηρώντας την ηλεκτροστατική άπωση σε ένα επίπεδο όπου κυριαρχούν οι ελκτικές δυνάμεις μεταξύ των πρωτεϊνικών μορίων. Εξαιτίας των δυνάμεων αυτών, τα μικύλλια καζεΐνης συνδέονται μεταξύ τους και σχηματίζουν ένα δίκτυο αλυσίδων, το οποίο είναι υπεύθυνο για την αύξηση του ιξώδους, καθώς και για τον σχηματισμό του πήγματος γιαουρτιού

Η διάρκεια μίας διαδικασίας ζύμωσης γάλακτος θεωρείται ως ο χρόνος που απαιτείται για να φτάσει το μείγμα γάλακτος-καλλιέργειας στην τιμή pH $4,6 \pm 0,1$. Στον Πίνακα 5.4 παρουσιάζονται οι χρόνοι ζύμωσης που προέκυψαν πειραματικά για τα εξεταζόμενα δείγματα γάλακτος που είχαν ομογενοποιηθεί με υπέρηχους ή με πίεση. Αν και τα δείγματα γάλακτος ομογενοποιημένα με υπέρηχους παρουσίασαν συντομότερη ζύμωση από τα δείγματα ομογενοποιημένα με πίεση, ο πραγματικός χρόνος ζύμωσης δεν επηρεάστηκε σημαντικά ούτε από τη μέθοδο ομογενοποίησης ούτε από την ένταση αυτής.

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση

Οι τιμές χρονικής διάρκειας ζύμωσης κυμαίνονταν μεταξύ 280 και 310 min. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, ο χρόνος ζύμωσης του γιαουρτιού εξαρτάται κυρίως από τη θερμική κατεργασία του γάλακτος, τη θερμοκρασία ζύμωσης και την οξυγαλακτική καλλιέργεια (Corrieu & Béal, 2015; De Brabandere & De Baerdemaeker, 1999; Pacheco et al., 2023).

Μέθοδος Ομογενοποίησης		Χρόνος Ζύμωσης (min)
	Νωπό	285 ± 10
Πίεση (Mpa)	10	310 ± 5
	15	300 ± 5
	20	290 ± 5
	25	300 ± 5
	30	300 ± 5
Υπέρηχοι (W)	150	280 ± 10
	262	295 ± 10
	375	290 ± 10
	562	280 ± 10
	750	280 ± 10

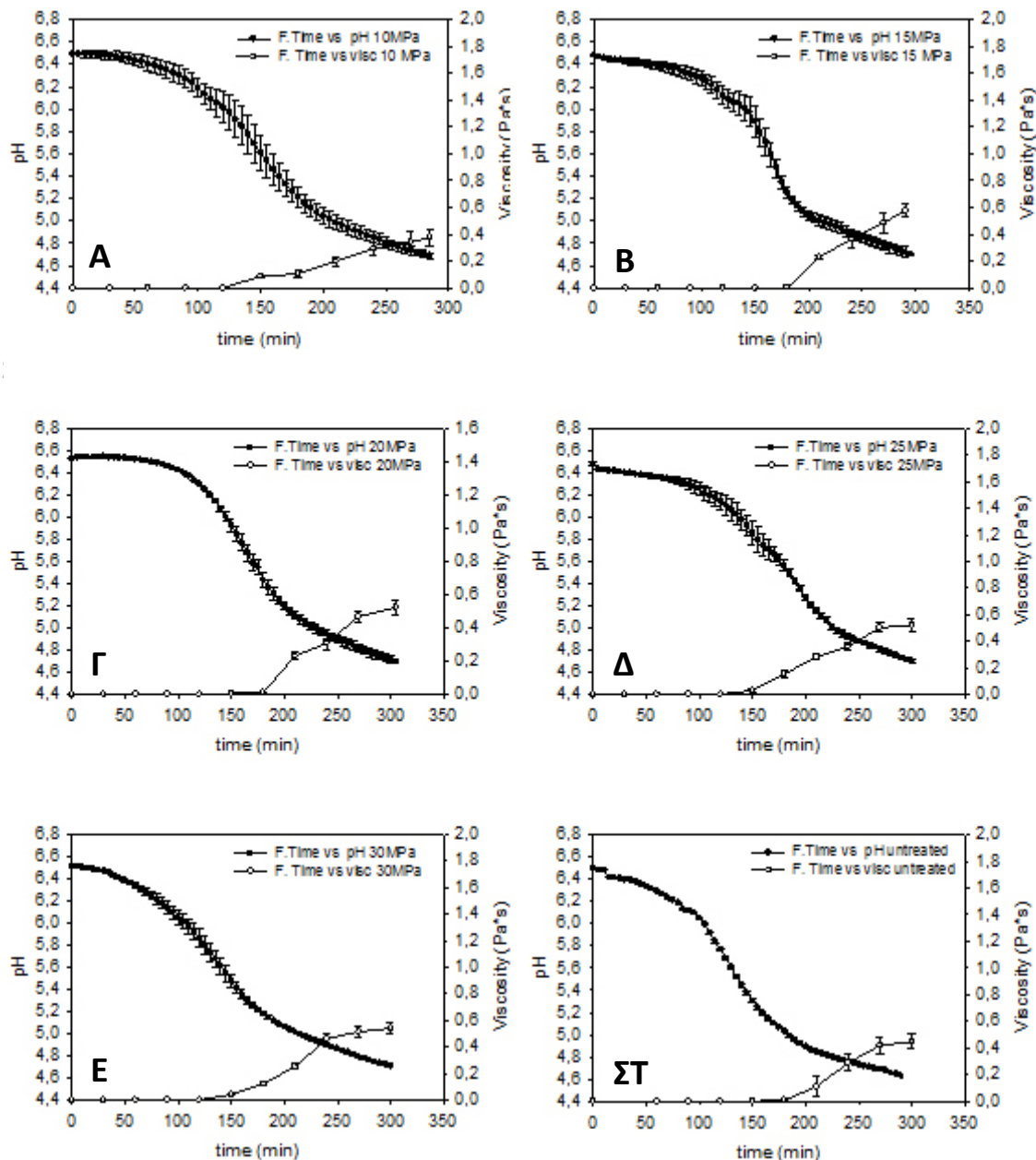
Για τα αποτελέσματα του πίνακα δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές

Στις Εικόνες 5.3A και 5.3B παρουσιάζεται η μεταβολή του pH και του ιξώδους με τον χρόνο ζύμωσης έως ότου το pH φτάσει στην επιθυμητή τιμή χρησιμοποιώντας γάλα ομογενοποιημένο με πίεση και υπέρηχους αντίστοιχα. Οι καμπύλες για τα διαγράμματα pH-χρόνου και ιξώδους-χρόνου είχαν σιγμοειδή πορεία και για τις δύο μεθόδους ομογενοποίησης όπως περιγράφουν και παλαιότερες μελέτες (De Brabandere & De Baerdemaeker, 1999; C. Soukoulis et al., 2007). Συγκεκριμένα, το τροποποιημένο μοντέλο Gompertz των De Brabandere και De Baerdemaeker (1999) που περιγράφει την εξέλιξη του pH σε σχέση με τον χρόνο ζύμωσης, εφαρμόστηκε για όλα τα δείγματα γιαουρτιού, από ομογενοποιημένο γάλα με υπέρηχους και με πίεση, με πολύ καλή προσαρμογή ($R^2 > 0,999$). Ωστόσο, οι καμπύλες που περιγράφουν το pH κατά την ζύμωση του ομογενοποιημένου γάλακτος με υπέρηχους ήταν πιο απότομες, χωρίς οι τρεις φάσεις να διακρίνονται σαφώς (Εικόνα 5.3B), σε αντίθεση με τις αντίστοιχες καμπύλες του γάλακτος το οποίο είχε ομογενοποιηθεί με πίεση (Εικόνα 5.3A).

Όσον αφορά την εξέλιξη του ιξώδους κατά την ζύμωση, επαληθεύθηκε το σιγμοειδές τροποποιημένο μοντέλο Gompertz των Soukoulis et al. (2007) με πολύ καλή προσαρμογή ($R^2 > 0,997$) τόσο για τα δείγματα γιαουρτιού από ομογενοποιημένο γάλα με πίεση όσο και με υπέρηχους. Ακόμη, σε όλες τις καμπύλες είναι ευδιάκριτες και οι τρεις φάσεις (λανθάνουσα φάση, φάση ανάπτυξης και φάση λήξης).

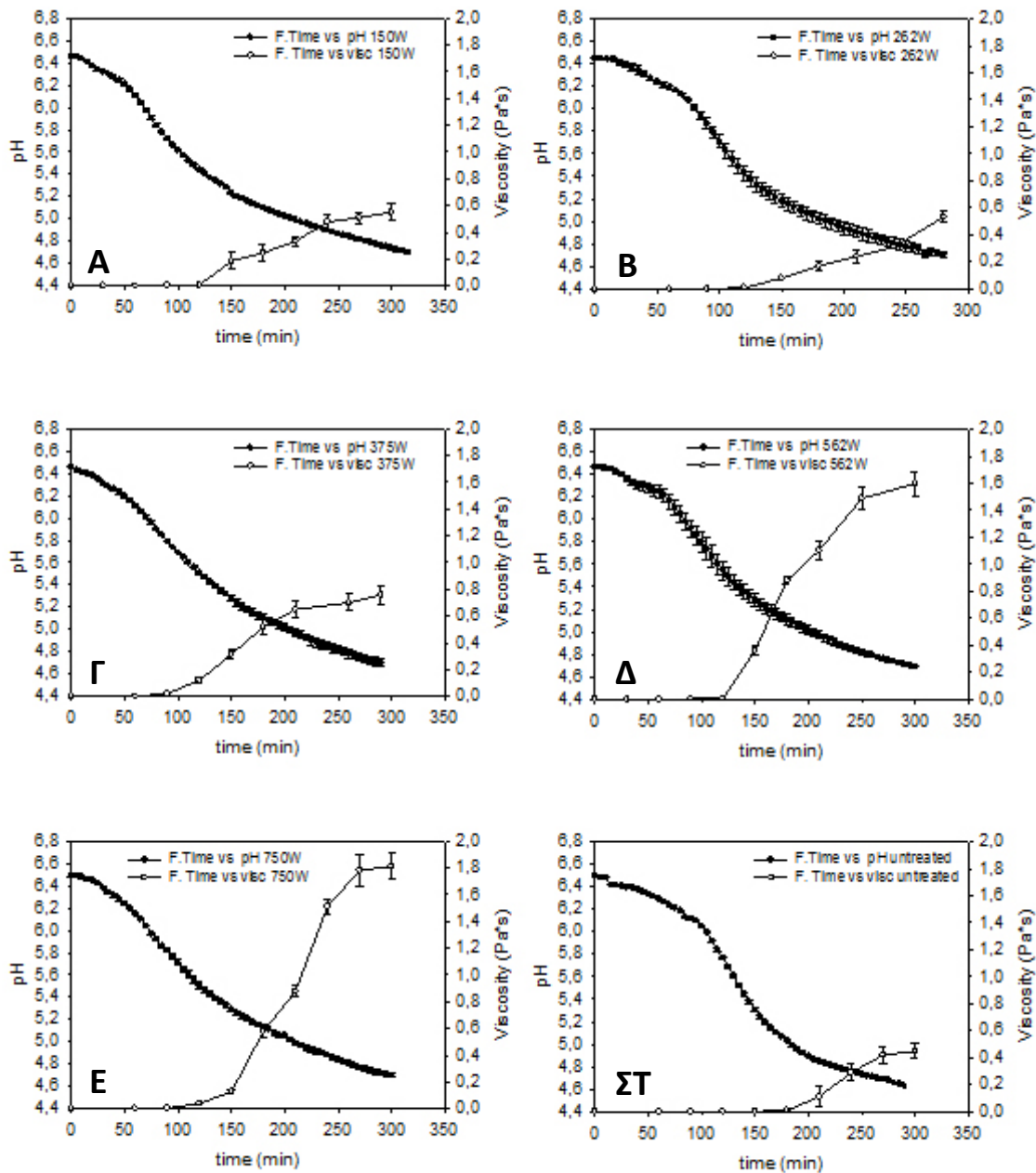
Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση

Να σημειωθεί ότι οι τελικές τιμές ιξώδους για δείγματα γιαουρτιού από γάλα που ομογενοποιήθηκε με υψηλής έντασης υπέρηχους, (562 W και 750 W, Εικόνα 5.3Δ και 5.3Ε) ήταν πολύ μεγαλύτερες σε σύγκριση με εκείνες δειγμάτων γιαουρτιού από συμβατικά ομογενοποιημένο γάλα.



Εικόνα 5.3Α: Καμπύλες μεταβολής pH-χρόνου και ιξώδους-χρόνου κατά την ζύμωση από συμβατική καλλιέργεια δειγμάτων γάλακτος ομογενοποιημένων με πίεση **A:** 10/5 MPa, **B:** 15/5 MPa, **Γ:** 20/5 MPa, **Δ:** 25/5 MPa και **Ε:** 30/5 MPa, **ΣΤ:** νωπού γάλακτος

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση



Εικόνα 5.3B: Καμπύλες μεταβολής pH-χρόνου και ιξώδους-χρόνου κατά την ζύμωση από συμβατική καλλιέργεια δειγμάτων γάλακτος ομογενοποιημένων με υπέρηχους έντασης **A:** 150 W, **B:** 262 W, **Γ:** 375 W, **Δ:** 562 W, **E:** 750 W, **ΣΤ:** νωπού γάλακτος

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση

5.2.2 Προσδιορισμός κινητικής ζύμωσης

Οι δύο παράμετροι των εξισώσεων 1 και 2 του κεφαλαίου 4.4.2.3, μ_{pH} - λ_{pH} και μ_{visc} - λ_{visc} αντίστοιχα, υπολογίστηκαν με προσαρμογή των μοντέλων στις καμπύλες που παρουσιάστηκαν στις Εικόνες 5.3α και 5.3β για τα δείγματα γιαουρτιού από γάλα που ομογενοποιήθηκε με πίεση και υπέρηχους αντίστοιχα και παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.5.

Πίνακας 5.5 : Παράμετροι κινητικής ζύμωσης γάλακτος ομογενοποιημένου με πίεση και υπέρηχους					
Μέθοδος Ομογενοποίησης		$\mu_{pH} \text{ (min}^{-1}\text{)}$	$\lambda_{pH} \text{ (min)}$	$\mu_{visc} \text{ (min}^{-1}\text{)}$	$\lambda_{visc} \text{ (min)}$
Μη ομογενοποιημένο		12,84e-3 ± 6,51e-4 ^b	127 ± 9,18 ^c	4,29e-3 ± 2,58e-4 ^b	205 ± 8,15 ^d
Πίεση (MPa)	10/5	14,22e-3 ± 5,13e-4 ^{b,c}	116 ± 0,92 ^c	2,69e-3 ± 8,06e-4 ^b	134 ± 23,64 ^c
	15/5	13,58e-3 ± 1,49e-3 ^b	117 ± 4,92 ^c	6,62e-3 ± 4,24e-5 ^b	180 ± 9,32 ^{c,d}
	20/5	15,08e-3 ± 4,93e-4 ^c	117 ± 3,54 ^c	5,76e-3 ± 1,38e-4 ^b	177 ± 7,14 ^{c,d}
	25/5	16,24e-3 ± 9,39e-4 ^c	129 ± 4,85 ^c	4,47e-3 ± 6,42e-4 ^b	148 ± 4,86 ^c
	30/5	15,71e-3 ± 5,62e-4 ^c	124 ± 4,97 ^c	5,88e-3 ± 2,08e-3 ^b	162 ± 5,32 ^c
Υπέρηχοι (W)	150	8,27e-3 ± 7,9e-4 ^a	86 ± 6,47 ^a	4,00e-3 ± 3,25e-4 ^a	115 ± 23,18 ^{a,b}
	262	8,40e-3 ± 5,05e-4 ^a	83 ± 8,79 ^b	5,54e-3 ± 4,17e-4 ^a	135 ± 12,25 ^{a,b,c}
	375	8,14e-3 ± 2,72e-4 ^a	66 ± 5,63 ^b	7,36e-3 ± 3,28e-3 ^b	106 ± 18,49 ^{a,b}
	562	8,53e-3 ± 4,61e-4 ^a	76 ± 4,23 ^b	15,52e-3 ± 2,32e-3 ^{b,c}	126 ± 14,32 ^{a,b}
	750	8,72e-3 ± 3,01e-4 ^a	24 ± 4,13 ^a	17,17e-3 ± 5,68e-4 ^c	141 ± 5,88 ^a

^{a-c} Διαφορετικό γράμμα μεταξύ των γραμμών σε κάθε στήλη υποδηλώνει διαφορές σύμφωνα με το Duncan's post hoc comparison test (P<0,05)

Όπως φαίνεται και από τον Πίνακα 5.5 η διάρκεια της λανθάνουσας φάσης του pH (λ_{pH}) επηρεάστηκε σημαντικά τόσο από τη μέθοδο ομογενοποίησης του γάλακτος όσο και από την έντασή της (P<0,05). Ειδικότερα, τα δείγματα γάλακτος που είχαν ομογενοποιηθεί με υπέρηχους, είχαν συντομότερη λανθάνουσα φάση ζύμωσης από εκείνα που είχαν ομογενοποιηθεί με πίεση. Τα δείγματα από γάλα ομογενοποιημένο με υπέρηχους έντασης 562 και 750 W παρουσίασαν συντομότερη λανθάνουσα φάση από τα αντίστοιχα έντασης 150 και 262 W. Η λ_{pH} δεν διέφερε στα δείγματα από γάλα ομογενοποιημένο με πίεση, ενώ γενικά βρέθηκε μεγαλύτερη από τις αντίστοιχες των δειγμάτων από γάλα ομογενοποιημένο με υπέρηχους. Αυτή η διαφορά που παρατηρήθηκε στις λ_{pH} , ανάλογα με τη μέθοδο ομογενοποίησης μπορεί να αποδοθεί στην επίδραση των υπερήχων στη μικροβιακή χλωρίδα και στη διαθεσιμότητα των θρεπτικών ουσιών που βρίσκονται στο γάλα (Cameron et al. 2009), παρέχοντας έτσι ένα ευνοϊκότερο περιβάλλον για τους μικροοργανισμούς της ζύμωσης να αναπτυχθούν και κατά συνέπεια να περάσουν στη φάση ανάπτυξης γρηγορότερα. Ο μέγιστος ρυθμός μείωσης του pH (μ_{pH}) επηρεάστηκε σημαντικά από τη μέθοδο ομογενοποίησης του γάλακτος (P<0,05), αλλά όχι από την

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση

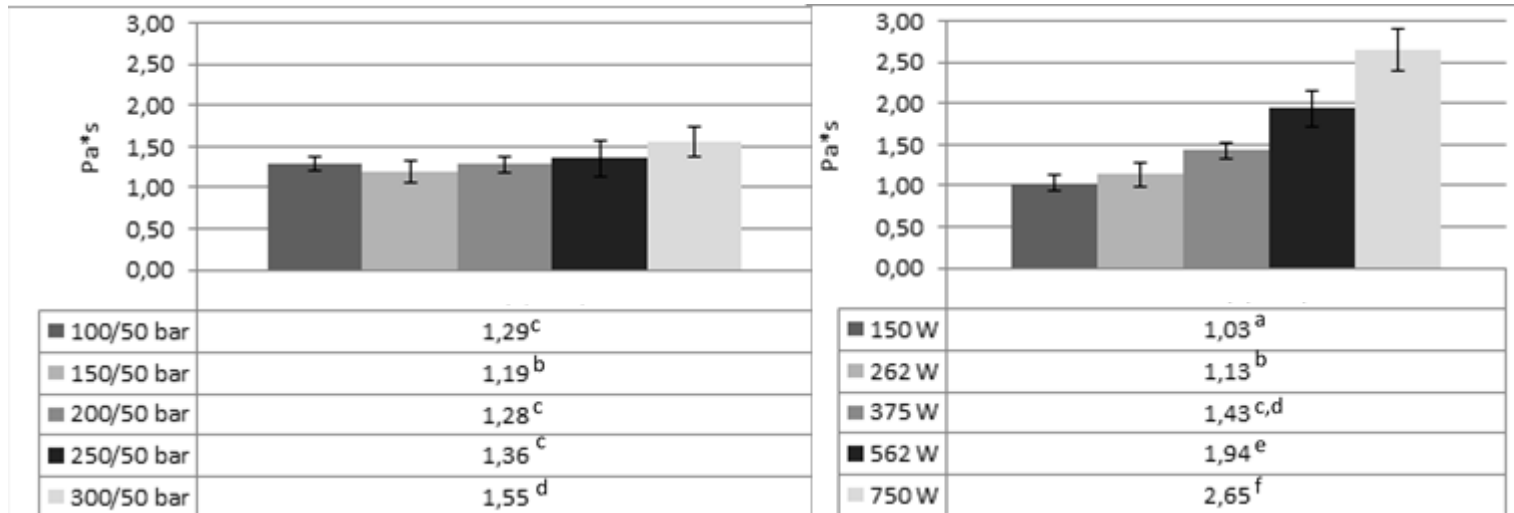
ένταση της μεθόδου ομογενοποίησης. Συγκεκριμένα, τα δείγματα από ομογενοποιημένο με πίεση γάλα έδειξαν μέσο μ_{pH} $1,50 \cdot 10^{-2} \pm 1,05 \cdot 10^{-3} \text{ min}^{-1}$ ενώ με υπέρηχους μ_{pH} $8,6 \cdot 10^{-3} \pm 5,5 \cdot 10^{-4} \text{ min}^{-1}$ αντίστοιχα.

Όσον αφορά τις κινητικές παραμέτρους του ιξώδους, η διάρκεια της λανθάνουσας φάσης του ιξώδους (λ_{visc}) επηρεάστηκε σημαντικά μόνο από τη μέθοδο ομογενοποίησης του γάλακτος ($P < 0,05$) και όχι από την ένταση αυτής. Η λ_{visc} βρέθηκε συντομότερη στα δείγματα από γάλα ομογενοποιημένο με υπέρηχους σε σύγκριση με τα δείγματα από γάλα ομογενοποιημένο με πίεση. Ο μέγιστος ρυθμός αύξησης του ιξώδους (μ_{visc}) επηρεάστηκε σημαντικά από την ένταση ($P < 0,05$) και όχι από τη μέθοδο ομογενοποίησης. Οι υψηλές τιμές μ_{visc} παρατηρήθηκαν σε δείγματα γάλακτος ομογενοποιημένα με υπέρηχους υψηλής έντασης (562 και 750 W), ακολουθούμενα από τα αντίστοιχα στα 375 W ή με πίεση (10, 15, 20, 25 και 30 MPa), ενώ οι χαμηλότερες τιμές μ_{visc} παρατηρήθηκαν στα δείγματα από γάλα ομογενοποιημένο με υπέρηχους έντασης 150 και 262 W. Στην περίπτωση των υπερήχων, και συγκεκριμένα εκείνων με μεγάλη ένταση, οι αυξημένες τιμές μ_{visc} και οι μειωμένες τιμές λ_{visc} μπορούν να αποδοθούν στη μετουσίωση των πρωτεϊνών του γάλακτος που συμβαίνει κατά τη διάρκεια της ομογενοποίησης, είτε λόγω αύξησης της θερμοκρασίας είτε λόγω φαινομένων σπηλαιώσης. Κατά την ζύμωση, όπου σχηματίζεται το καζεϊνικό πλέγμα, οι μετουσιωμένες πρωτεΐνες ορού γάλακτος, που έχουν συνδεθεί με καζεϊνικά μικύλλια κατά την ομογενοποίηση, λειτουργούν ως γέφυρες μεταξύ των μικυλλίων και των μορίων καζεΐνης. Ως αποτέλεσμα, οι δεσμοί του πλέγματος καζεΐνης σχηματίζονται πιο εύκολα, διευκολύνοντας έτσι την πήξη του γιαουρτιού (Horne, 1999; Morand et al., 2011). Συνεπώς, η μετουσίωση των πρωτεϊνών ορού γάλακτος, που προκαλείται από την αύξηση της θερμοκρασίας και τη σπηλαιώση που συμβαίνουν κατά την ομογενοποίηση με υπέρηχους, συμβάλλει στον σχηματισμό και στη δύναμη του πήγματος του γιαουρτιού (H. Li et al., 2021; Shanmugam et al., 2012; Ye et al., 2004). Η λανθάνουσα φάση του ιξώδους των δειγμάτων από ομογενοποιημένο με υπέρηχους γάλα τελείωσε στην τιμή pH 5,1, η οποία αντιστοιχεί στο ισοηλεκτρικό σημείο της β-λακτογλοβουλίνης, επομένως, η πήξη άρχισε στο ισοηλεκτρικό σημείο της β-λακτογλοβουλίνης και όχι στην τιμή pH όπου καθιζάνουν οι καζεΐνες. Ακόμη το γεγονός ότι με την ομογενοποίηση, και σε μεγαλύτερο βαθμό με την ομογενοποίηση με υπέρηχους, αυξάνεται η περιεκτικότητα της μεμβράνης των λιποσφαιρίων σε μόρια καζεϊνών, και επιτρέπει στα λιποσφαίρια να συμμετέχουν στο πλέγμα του πήγματος του γιαουρτιού και διευκολύνει επιπλέον το σχηματισμό του διευκολύνεται επιπλέον ο σχηματισμός του πήγματος (Gregersen et al., 2019a; Michalski et al., 2002).

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση

5.2.3 Ιξώδες παραγόμενου γιαουρτιού

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων ιξώδους των δειγμάτων γιαουρτιού από γάλα ομογενοποιημένο με πίεση και υπέρηχους παρουσιάζονται στα διαγράμματα της Εικόνας 5.4



^{a-f} Διαφορετικό γράμμα μεταξύ των γραμμών υποδηλώνει διαφορές σύμφωνα με το Duncan's post hoc comparison test

Εικόνα 5.4: Τιμές ιξώδους τελικού προϊόντος γιαουρτιού από γάλα ομογενοποιημένο με πίεση και υπέρηχους

Όπως φαίνεται και από το διάγραμμα, το ιξώδες του γιαουρτιού επηρεάζεται από τη μέθοδο ομογενοποίησης καθώς και από την ένταση ομογενοποίησης. Συγκεκριμένα, τις υψηλότερες τιμές ιξώδους επέδειξαν τα γιαούρτια που προέρχονταν από γάλα ομογενοποιημένο με υπέρηχους υψηλής έντασης (562 και 750 W). Τα δείγματα από γάλα ομογενοποιημένο με υπέρηχους έντασης 375 W και με πίεση 30/5 MPa οδήγησαν σε γιαούρτι με υψηλότερο από το μέσο ιξώδες (περί τα 1,5 Pa*s). Τέλος, τα δείγματα ομογενοποιημένα συμβατικά, με πιέσεις στα 10/5-20/5 MPa και τα δείγματα ομογενοποιημένα με υπέρηχους χαμηλής έντασης οδηγούν σε γιαούρτι με τιμές ιξώδους περί το 1 Pa*s. Όπως φαίνεται στην Εικόνα 5.4, η πιο έντονη ομογενοποίηση του γάλακτος, είτε με υπέρηχους είτε με πίεση, αυξάνει το ιξώδες του παραγόμενου γιαουρτιού. Όμως στην περίπτωση των υπερήχων η αύξηση είναι πολύ μεγαλύτερη και οφείλεται στη μετουσίωση των πρωτεϊνών του γάλακτος που συμβαίνει κατά την ομογενοποίηση. Οι τροποποιήσεις στα μόρια των καζεϊνών και των πρωτεϊνών ορού που προκαλούνται από την αύξηση της θερμοκρασίας και τη σπηλαιώση κατά τη διάρκεια της ομογενοποίησης με υπέρηχους, ενισχύουν τους δεσμούς των πρωτεϊνών κατά τον σχηματισμό του πηγματος. Το τελευταίο, μάλιστα, είναι ισχυρότερο και με μεγαλύτερο ιξώδες (Ichimura et al., 2022; Körzendörfer et al., 2019).

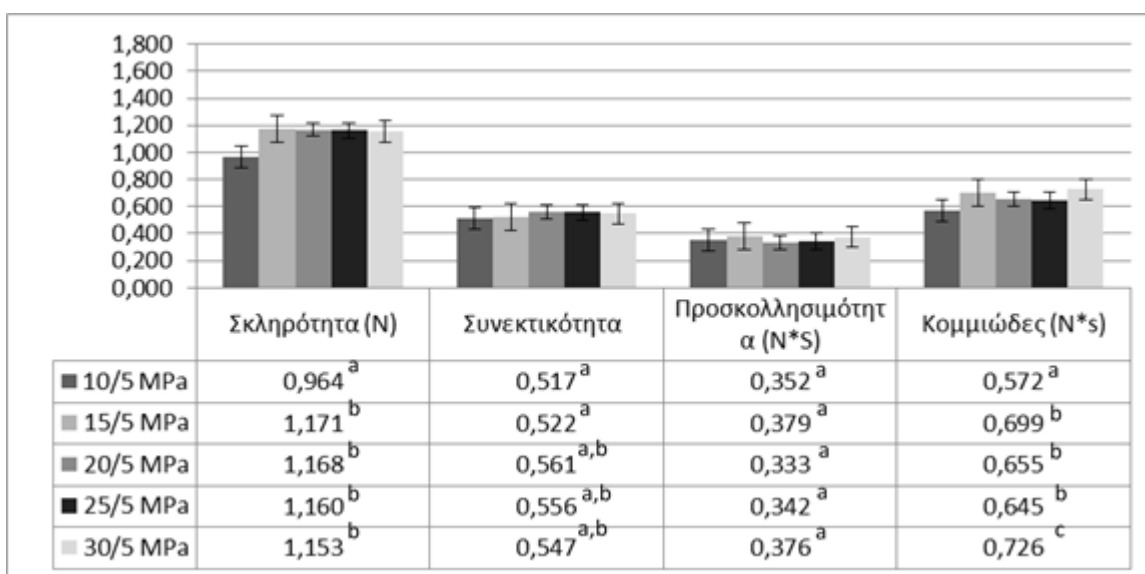
Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση

5.2.4 Χαρακτηριστικά υφής παραγόμενου γιαουρτιού

Μετά την ολοκλήρωση της ζύμωσης τα δείγματα γιαουρτιού αποθηκεύτηκαν σε θερμοκρασία 4°C για 24h και στη συνέχεια μετρήθηκε η υφή τους. Οι μετρήσεις υφής έγιναν στη θερμοκρασία συντήρησης (4 °C) σε δείγματα όγκου 200 mL, με κυλινδρικό στελέχος διαμέτρου 25 mm και μήκους 35 mm. Η μέτρηση περιελάμβανε τη διπλή διείσδυση του στελέχους στο δείγμα μέχρι το βάθος των 10 mm με ταχύτητα 2,0 mm*s⁻¹.

Τα χαρακτηριστικά υφής που μελετήθηκαν ήταν η σκληρότητα, η συνεκτικότητα, η προσκολλησιμότητα και το κομμιώδες. Η σκληρότητα είναι η μέγιστη δύναμη που χρειάζεται για την πρώτη διείσδυση στο δείγμα και μετριέται σε μονάδες δύναμης (N). Ως συνεκτικότητα ορίζεται ο λόγος του έργου που χρειάζεται για τη δεύτερη διείσδυση προς το έργο που χρειάζεται για την πρώτη και είναι καθαρός αριθμός. Με τον όρο "προσκολλησιμότητα" εννοείται το έργο που χρειάζεται για την έξοδο του στελέχους από το δείγμα μετά την πρώτη διείσδυση και μετριέται σε μονάδες έργου (N*s). Τέλος, ως κομμιώδες ορίζεται το γινόμενο σκληρότητας επί συνεκτικότητας και μετριέται σε μονάδες έργου (N*s).

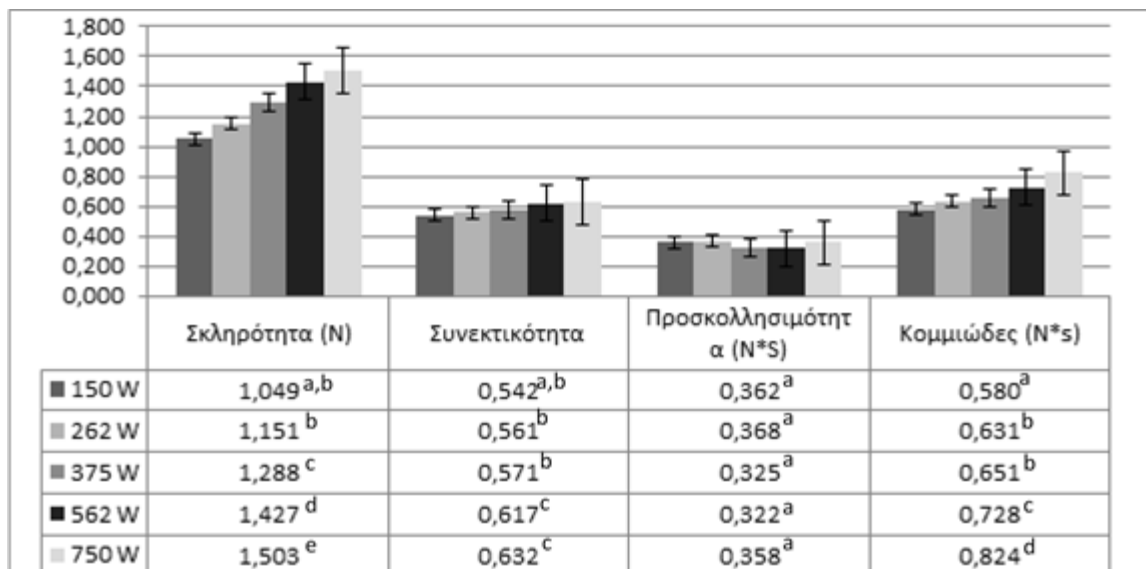
Στις Εικόνες 5.5 και 5.6 παρουσιάζονται τα χαρακτηριστικά υφής των δειγμάτων γιαουρτιού από γάλα που είχε ομογενοποιηθεί με πίεση και υπέρηχους.



^{a-d} Διαφορετικό γράμμα μεταξύ των γραμμών σε κάθε στήλη υποδηλώνει διαφορές σύμφωνα με το Duncan's post hoc comparison test (P<0,05)

Εικόνα 5.5: Χαρακτηριστικά υφής γιαουρτιού από γάλα ομογενοποιημένο με πίεση

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση



^{a-d} Διαφορετικό γράμμα μεταξύ των γραμμών σε κάθε στήλη υποδηλώνει διαφορές σύμφωνα με το Duncan's post hoc comparison test (P<0,05)

Εικόνα 5.6: Χαρακτηριστικά υφής γιαουρτιού από γάλα ομογενοποιημένο και υπέρηχους

Από τα χαρακτηριστικά υφής που μελετήθηκαν, η προσκολλησιμότητα δεν επηρεάστηκε σημαντικά ούτε από τη μέθοδο ομογενοποίησης του γάλακτος ούτε την έντασή της. Η συνεκτικότητα αυξήθηκε στις περιπτώσεις ομογενοποίησης του γάλακτος με υπέρηχους έντασης 562 και 750 W, ενώ στις υπόλοιπες συνθήκες παρέμεινε ανεπηρέαστη. Τέλος, η σκληρότητα και το κομμιώδες παρουσίασαν παρόμοια συμπεριφορά με το ιζώδες. Υψηλές τιμές των χαρακτηριστικών υφής αντιστοιχούν σε δείγματα γιαουρτιού από γάλα που είχε υποστεί ομογενοποίηση υψηλής έντασης υπερήχων (562 και 750 W). Χαμηλότερες αλλά ακόμα πάνω από τον μέσο όρο τιμές χαρακτηριστικών υφής, αντιστοιχούν στα δείγματα γιαουρτιού από γάλα ομογενοποιημένο με υπέρηχους έντασης 375 W και υψηλής πίεσης (30/5 MPa). Τέλος, η συμβατική ομογενοποίηση (10/5 - 20/5 MPa) και η ομογενοποίηση με χαμηλές εντάσεις υπερήχων (262 και 150 W) οδήγησαν στα δείγματα γιαουρτιού με τις χαμηλότερες τιμές σε σκληρότητα και κομμιώδες.

Αντίστοιχα με το ιζώδες, η αύξηση των τιμών των χαρακτηριστικών υφής του γιαουρτιού οφείλεται στη μετουσίωση των πρωτεϊνών του γάλακτος κατά την ομογενοποίηση. Οι μετουσιωμένες πρωτεΐνες σχηματίζουν ισχυρότερους δεσμούς κατά τον σχηματισμό του πηγματος, με αποτέλεσμα να αυξάνονται οι τιμές της σκληρότητας, της συνεκτικότητας και του κομμιώδους (Abesinghe et al., 2020; Ichimura et al., 2022).

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση

5.2.5 Ανάλυση αρωματικού προφίλ γιαουρτιού

Τα δείγματα γιαουρτιού, μετά από 24 h αποθήκευσης σε θερμοκρασία 4°C, τοποθετήθηκαν σε θάλαμο θερμοκρασίας 45 °C σε κλειστό, αεροστεγές, περιέκτη υπό ανάδευση για 15-30 min, ώστε να εξατμιστούν αρκετά αρωματικά μόρια από το δείγμα και να κορεστεί ο υπερκείμενος χώρος του δοχείου. Στη συνέχεια με τη μικροϊνα SPME απομονώθηκαν και μετρήθηκαν σε αέρια χρωματογραφίας με φασματομετρία μάζας (GC-MS). Με τη συγκεκριμένη διαδικασία ταυτοποιήθηκαν οι οργανικές ενώσεις που φαίνονται στον Πίνακα 5.6, όπου, επίσης, παρουσιάζονται ο χρόνος έκλυσης και τα αρωματικά χαρακτηριστικά που προσδίδουν αυτές οι ενώσεις στο γιαούρτι.

Οι ενώσεις που ταυτοποιήθηκαν ήταν κυρίως αλδεΐδες, κετόνες, καρβοξυλικά οξέα, υδρογονάνθρακες, ένα σουλφίδιο και ένας κυκλικός μονοεστέρας (Δ-δεκαλακτόνη). Συγκεκριμένα, οι αλδεΐδες που ταυτοποιήθηκαν ήταν η ακεταλδεΐδη και η εξανάλη. Η ακεταλδεΐδη είναι η πιο χαρακτηριστική ένωση που απαντάται στο γιαούρτι και του προσδίδει το χαρακτηριστικό αψύ του άρωμα (Ott et al., 1997). Η εξανάλη προσδίδει τα χαρακτηριστικά του φρέσκου-φρουτώδους και λιπαρού αρώματος (Mounchili et al., 2005). Οι κετόνες που ανιχνεύθηκαν ήταν η ακετόνη, 2-βουτανόνη, 2,3-βουταδιόνη, 3-υδροξυ-βουτανόνη, 2-επτανόνη, δικυκλο[2.2.1]-επτα-2όνη, 2-εννεανόνη και 2-ενδεκανόνη. Η παρουσία των κετονών αυτών στο γιαούρτι, προσδίδει σε αυτό ένα γλυκό, βουτυρώδες και λιπαρό άρωμα (Ott et al., 1997; Mounchili et al., 2005). Η ακετόνη και η βουτανόνη είναι, κυρίως, προϊόντα του μεταβολισμού των γαλακτοφόρων ζώων και επιβιώνουν της οξυγαλακτικής ζύμωσης. Ωστόσο, οι κετόνες μεγαλύτερων ανθρακικών αλυσίδων εμφανίζονται κατόπιν της ομογενοποίησης με υπέρηχους. Κατά την ομογενοποίηση με υπέρηχους, λόγω της αύξησης της θερμοκρασίας, των έντονων διατμητικών τάσεων και των φαινομένων σπηλαιώσης, ευνοούνται αντιδράσεις οξειδωσης των λιπαρών μορίων και αντιδράσεις αποκαρβοξυλίωσης. Αντίστοιχες κετόνες έχουν ανιχνευθεί και σε προηγούμενες μελέτες επεξεργασίας γάλακτος με υπέρηχους (Riener et al., 2009a).

Όσον αφορά τα καρβοξυλικά οξέα, στα δείγματα γιαουρτιού, ταυτοποιήθηκαν: βουτανικό (βουτυρικό), εξανικό (καπροϊκό), οκτανικό (καπριλικό), δεκανοϊκό (καπρικό) και δεκαεξανικό (παλμιτικό) οξύ. Τα ευχάριστα αρώματα που αναπτύσσονται στο γιαούρτι, λόγω των καρβοξυλικών οξέων είναι όξινο και τυρώδες (Ott et al., 1997; Mounchili et al., 2005) και οφείλονται σε οξέα μικρής ανθρακικής αλυσίδας. Αντίθετα, τα καρβοξυλικά οξέα με μεγάλες ανθρακικές αλυσίδες (δεκανοϊκό, δεκαεξανικό) δημιουργούν μη επιθυμητά αρώματα, δημιουργώντας το αψύ και κηρώδες άρωμα (Mounchili et al., 2005; Ott et al., 1997). Τα καρβοξυλικά οξέα παράγονται από τη λιπόλυση του γάλακτος, την αποσύνθεση της λακτόζης και των αμινοξέων και από τα μεταβολικά παράγωγα των μικροοργανισμών της ζύμωσης (Sfakianakis, Tzia 2014).

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση

Πίνακας 5.6 Αρωματικά χαρακτηριστικά μορίων που ανιχνεύθηκαν σε δείγματα γιαουρτιού με αέρια χρωματογραφία		
Μόριο	Χρόνος έκλουσης	Χαρακτηριστικά αρώματος
Ακεταλδεΐδη	0,376	Αψύ, χλόης, φρουτώδες
1-Βουτεν-3-ένιο	0,41	Γλυκό, ανθέων, ξυλώδες
Ακετόνη	0,852	Χημικό, μήλου, αχλαδιού
Διμεθυλοσουλφίδιο	0,88	Θείου, κρεμμυδιού, γλυκό, λαχανικού, λάχανου
2-Βουτανόνη	1,112	Γλυκό, καραμέλας βουτύρου
2,3-Βουταδιόνη	1,284	Γλυκό, βουτυρώδες, κρεμώδες, πικάντικο
1-Επτένιο	1,57	Χωρίς άρωμα
Εξανάλη	1,733	Φρέσκο, χλόης, φρουτώδες, λιπαρό, ιδρώτα
3-Υδροξυ-2-βουτανόνη	2,602	Γλυκό, βουτυρώδες, κρεμώδες, γάλακτος, λιπαρό
Βουτυρικό οξύ	3,03	Αψύ, όξινο, τυριού, βουτυρώδες
2-Επτανόνη	4,322	Φρουτώδες, πικάντικο, γλυκό, βοτανικό, καρύδας, ξυλώδες
Εξανικό οξύ	6,244	Πικρό, λιπαρό, ιδρώτα, τυριού
2-Εννεανόνη	7,791	Φρέσκο, γλυκό, χλόης, γήινο, βοτανικό
Δικυκλο[2.2.1]-επτα-2-όνη	7,944	Καμφοράς (πολύ αδύνατο)
Οκτανικό οξύ	8,773	Λιπαρό, κηρώδες, ταγγό, ελαίου, τυριού
Δεκανοϊκό οξύ	10,8	Δυσάρεστο, ταγγό, πικρό, λιπαρό, κιτρικό
2-Ενδεκανόνη	11,001	Κηρώδες, φρουτώδες, κετονικό, ανανά
Δ-Δεκαλακτόνη	11,963	Φρέσκο, γλυκό, ελαίου, καρύδας, φρουτώδες, ροδάκινου, γάλακτος
Δεκαεξανικό οξύ	15,23	Κηρώδες (αδύνατο)

Οι υδρογονάνθρακες που ανιχνεύθηκαν στα δείγματα γιαουρτιού ήταν το 1-βουτεν-3-ένιο και το 1-επτένιο, που, όμως, δεν επηρεάζουν σημαντικά το αρωματικό προφίλ του γιαουρτιού, ένεκα του υψηλού κατωφλίου αρώματός τους (Ott et al., 1997). Το άρωμα που προκύπτει από το διμεθυλοσουλφίδιο είναι θείου και γλυκό. Τέλος, η Δ-δεκαλακτόνη προσδίδει άρωμα γλυκό, φρουτώδες και γάλακτος, σχηματίζεται από υδροξυ- και καρβοξυ- ελεύθερες ρίζες υδροξυ-οξέων με την αφαίρεση ενός μορίου νερού από το μόριο του οξέος (Riener et al., 2009).

Η επεξεργασία του γάλακτος με υπέρηχους οδηγεί σε αύξηση της συγκέντρωσης ορισμένων αρωματικών ουσιών στο γάλα (Riener et al., 2009) καθώς και στο γιαούρτι. Για παράδειγμα, η βουταδιόνη 2,3 ή 3-υδροξυ-2-βουτανόνη, εμφάνισαν παρόμοια εμβαδά κορυφών στα χρωματογραφήματα των δειγμάτων ομογενοποιημένων με πίεση και με υπέρηχους, ενώ η συγκέντρωση ακεταλδεΐδης, 1-βουτενο-3-υνίου, ακετόνης, διμεθυλοσουλφιδίου, 2-βουτανόνης, 1-επτενίου, εξανάλης, βουτυρικού οξέος, 2-επτανόνης, εξανικού οξέος, 2-εννεανόνης, δικυκλο[2.2.1]επτανο-2-όνης, οκτανοϊκού οξέος, δεκανικού οξέος, ενδεκανόνης και δεκαδεκανικού οξέος, στα δείγματα γιαουρτιού ήταν υψηλότερη μετά την επεξεργασία με υπέρηχους. Ως εκ τούτου, η ομογενοποίηση με υπέρηχους οδηγεί σε αυξημένες συγκεντρώσεις μορίων αλδεϊδών μακράς αλυσίδας, αρκετών κετονών, καρβοξυλικών οξέων και διμεθυλοσουλφιδίου στο παραγόμενο γιαούρτι.

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση

Η ποσοτικοποίηση των αρωματικών ενώσεων παρουσιάζεται στον Πίνακα 5.7, με βάση το εμβαδό κάθε κορυφής στο χρωματογράφημα της αέριας χρωματογραφίας.

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση

Πίνακας 5.7 Εμβαδά κορυφών GC-MS αρωματικών μορίων γιαουρτιού από γάλα ομογενοποιημένο με πίεση και υπέρηχους

Μόριο	Πίεση (MPa)					Υπέρηχοι (w)				
	10/5 MPa	15/5 MPa	20/5 MPa	25/5 MPa	30/5 MPa	150 W	262 W	375 W	562 W	750 W
Ακεταλδεΐδη	504785 ^a	515654 ^a	500214 ^a	523653 ^a	606012 ^a	1065868 ^c	1301082 ^b	1236793 ^b	1273724 ^b	1314284 ^b
1-Βουτεν-3-ένιο	230 ^a	330 ^a	222 ^a	359 ^a	410 ^a	2104 ^c	3238 ^b	3438 ^b	6380 ^d	7819 ^e
Ακετόνη	21254 ^e	231123 ^a	279662 ^{a,b}	229168 ^a	256680 ^a	310601 ^{b,c}	322654 ^{b,c,d}	320289 ^{b,c,d}	350221 ^{c,d}	364319 ^d
Διμεθυλοσουλφίδιο	11347 ^a	11654 ^a	11176 ^a	12102 ^a	13219 ^a	12221 ^a	15863 ^b	16991 ^b	18420 ^{b,c}	19822 ^c
2-Βουτανόνη	97471 ^a	98117 ^a	99149 ^a	99723 ^a	104303 ^a	92295 ^a	95817 ^a	103626 ^a	107098 ^a	98154 ^a
2,3-Βουταδιόνη	284120 ^b	279053 ^{a,b}	277706 ^{a,b}	212785 ^{c,d}	253479 ^{a,b}	203915 ^b	269838 ^{a,b}	233716 ^a	237281 ^{a,b,c,d}	266940 ^{a,b}
1-Επτένιο	13247 ^d	135744 ^a	134669 ^a	131033 ^a	132701 ^a	136150 ^a	162583 ^a	220107 ^b	242933 ^{b,c}	261954 ^c
Εξανάλη	15741 ^a	18926 ^a	15714 ^a	15353 ^a	14479 ^a	12828 ^a	19068 ^a	15897 ^a	64829 ^b	75945 ^c
3-Υδροξυ-2-βουτανόνη	2215234 ^b	2256651 ^b	2277971 ^b	2123146 ^b	2233724 ^b	1685271 ^a	1653259 ^a	1614431 ^a	1675991 ^a	1644837 ^a
Βουτυρικό οξύ	15698 ^b	17943 ^b	71632 ^a	61159 ^a	69866 ^a	77769 ^a	138105 ^c	201433 ^d	252520 ^e	290121 ^f
2-Επτανόνη	15221 ^b	15318 ^b	16248 ^b	38981 ^c	38841 ^c	94922 ^d	114852 ^a	114457 ^a	113307 ^a	117624 ^a
Εξανικό οξύ	6254 ^a	6651 ^a	5378 ^a	4500 ^a	5351 ^a	251179 ^c	255475 ^{b,c}	257159 ^{b,c}	286738 ^b	289484 ^b
2-Εννεανόνη	23126 ^a	2357 ^a	2506 ^a	2396 ^a	2740 ^a	10393 ^b	12883 ^{b,c}	13591 ^c	24859 ^d	32620 ^e
Δικυκλο[2.2.1]-επτα-2όνη	98 ^a	129 ^a	88 ^a	387 ^b	190 ^{a,b}	1184 ^c	1377 ^c	1713 ^e	1934 ^d	1967 ^d
Οκτανικό οξύ	1658 ^a	1696 ^a	1725 ^a	4587 ^a	4460 ^a	48677 ^b	66735 ^c	98636 ^d	116702 ^e	203860 ^f
Δεκανοϊκό οξύ	228 ^a	231 ^a	181 ^a	231 ^a	272 ^a	11521 ^c	16276 ^b	17715 ^b	25531 ^d	32389 ^e
2-Ενδεκανόνη	4184 ^a	4193 ^a	4138 ^a	4117 ^a	3919 ^a	5364 ^b	5654 ^b	5693 ^b	7912 ^c	10856 ^d
Δ-Δεκαλακτόνη	4548 ^b	4071 ^b	3996 ^b	3994 ^b	7169 ^a	7146 ^a	7151 ^a	7236 ^a	7181 ^a	7125 ^a
Δεκαεξανικό οξύ	24528 ^a	24803 ^a	24186 ^a	25383 ^a	24641 ^a	63084 ^c	71932 ^{b,c}	76262 ^b	77567 ^b	87936 ^d

^{a-f} Διαφορετικό γράμμα μεταξύ των γραμμών σε κάθε στήλη υποδηλώνει διαφορές σύμφωνα με το Duncan's post hoc comparison test (P<0,05)

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση

5.2.6 Οργανοληπτική εξέταση γιαουρτιού

Η οργανοληπτική εξέταση των δειγμάτων γιαουρτιού έγινε στο διαπιστευμένο οργανοληπτικό εργαστήριο του εργαστηρίου Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων της Σχολής Χημικών Μηχανικών του ΕΜΠ από εκπαιδευμένη ομάδα δοκιμαστών. Τα χαρακτηριστικά που μελετήθηκαν, όπως φαίνονται και στην παράγραφο 4.3.3.4, ήταν η εμφάνιση των δειγμάτων (χρώμα, συναίρεση, επιφάνεια - κρούστα), η υφή κατά την κοπή (σκληρό, ελαστικό, συναίρεση, πήγμα, βλεννώδες και υπολείμματα στο κουτάλι) και στο στόμα (λιπαρό, σκληρό, συνεκτικό, βλεννώδες, κρεμώδες, υδαρές, ελαστικό), η οσμή (φυσική, ορού, χλόης, ταγγή, καμένη), η γεύση (φυσική, γλυκιά, όξινη) και το άρωμα (φυσικό, χλόης, καμένο, ταγγό, ξένο, λιπαρό, γάλακτος και ορού) καθώς και η αρέσκεια υφής, γεύσης, αρώματος και η συνολική αρέσκεια (Degree of Liking, DOL). Τα αποτελέσματα φαίνονται στον Πίνακα 5.8. Η βαθμολόγηση των χαρακτηριστικών έγινε σε 10-βάθμια κλίμακα όπου το 1 αντιστοιχεί σε παντελή έλλειψη του χαρακτηριστικού και το 10 σε πολύ έντονη παρουσία του.

Η υφή των δειγμάτων γιαουρτιού εξετάστηκε αφενός κατά την τομή του δείγματος από τους δοκιμαστές, αφετέρου κατά την κατάποσή του. Τα χαρακτηριστικά υφής των δειγμάτων γιαουρτιού από γάλα ομογενοποιημένο με πίεση δεν παρουσίασαν σημαντική διακύμανση στα αποτελέσματά τους, είτε θετικά είτε αρνητικά. Αντίθετα, τα δείγματα γιαουρτιού από γάλα ομογενοποιημένο με υπέρηχους παρουσίασαν διακύμανση στα χαρακτηριστικά υφής τους, τόσο στα χαρακτηριστικά που αφορούσαν την υφή κατά την τομή με το κουτάλι όσο και στα χαρακτηριστικά που αφορούσαν την υφή στο στόμα.

Κατά την τομή των δειγμάτων γιαουρτιού από τους δοκιμαστές, τα δείγματα από γάλα ομογενοποιημένο με πίεση, δεν παρουσίασαν σημαντικές διαφορές στα χαρακτηριστικά που μελετήθηκαν. Αντίθετα, τα δείγματα γιαουρτιού από γάλα ομογενοποιημένο με υπέρηχους παρουσίασαν διαφορές στα χαρακτηριστικά τους, ανάλογα με την ένταση των υπερήχων. Ειδικότερα, η αύξηση της έντασης υπερήχων ομογενοποίησης οδήγησε σε αύξηση στη σκληρότητα, ελαστικότητα, συνεκτικότητα και πηκτικότητα, καθώς και μείωση στη συναίρεση και τα υπολείμματα στο κουτάλι.

Η υφή που παρουσίασαν τα δείγματα γιαουρτιού, κατά την κατάποσή τους, ακολούθησε το ίδιο μοτίβο απόκρισης στην αλλαγή μεθόδου και έντασης ομογενοποίησης με την υφή κατά την τομή του δείγματος. Τα δείγματα γιαουρτιού από γάλα ομογενοποιημένο με πίεση δεν παρουσίασαν σημαντικές διαφορές στα χαρακτηριστικά υφής τους. Αντίθετα, στα δείγματα από ομογενοποιημένο με υπέρηχους γάλα, οι δοκιμαστές εντόπισαν αύξηση σε σκληρότητα,

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση

συνεκτικότητα και ελαστικότητα, και μείωση σε λιπαρότητα, βλενώδη και υδαρή υφή. Τη μεγαλύτερη αρέσκεια υφής παρουσίασαν τα δείγματα γιαουρτιού από γάλα που είχε ομογενοποιηθεί με υπέρηχους έντασης 750 W, με σημαντική διαφορά ($P < 0,05$) από τα υπόλοιπα.

Κατ' αναλογία με την ενόργανη ανάλυση υφής, τα δείγματα γιαουρτιού από γάλα ομογενοποιημένο με υπέρηχους παρουσίασαν υψηλότερες τιμές σε χαρακτηριστικά υφής όπως η σκληρότητα και συνεκτικότητα, τόσο κατά την τομή με το κουτάλι όσο και στο στόμα. Γενικότερα, τα χαρακτηριστικά που υποδηλώνουν ισχυρότερο πήγμα (σκληρότητα, συνεκτικότητα, πηγματώδες) των δειγμάτων από γάλα που είχε ομογενοποιηθεί με υπέρηχους, σημείωσαν μεγαλύτερες βαθμολογίες από τα αντίστοιχα δείγματα από γάλα ομογενοποιημένο με πίεση. Αντίστοιχα, τα «αρνητικά» χαρακτηριστικά υφής (βλενώδης, υδαρής υφή) είχαν χαμηλότερες βαθμολογίες σε σχέση με τα δείγματα πίεσης.

Γενικότερα, η υφή του γιαουρτιού επηρεάστηκε σημαντικά και από τη μέθοδο και από την ένταση ομογενοποίησης του γάλακτος, τόσο στα θετικά χαρακτηριστικά, όσο και στα αρνητικά. Συγκεκριμένα, στα δείγματα γιαουρτιού από γάλα ομογενοποιημένο με πίεση, και στα δείγματα από γάλα ομογενοποιημένο με υπέρηχους έντασης 262 W, τα περισσότερα χαρακτηριστικά υφής (σκληρότητα, σκληρότητα στο στόμα, συνεκτικότητα, συνεκτικότητα στο στόμα, υπολείμματα στο κουτάλι, υδαρής, πηγματώδης, κρεμώδης και αρέσκεια υφής) είχαν παρόμοιες βαθμολογίες από τους δοκιμαστές και ομαδοποιούνται. Ενώ τα δείγματα από γάλα ομογενοποιημένο με υπέρηχους έντασης 150 W είχαν σημαντικά διαφορετικές βαθμολογίες, καθώς και τα δείγματα από υπέρηχους έντασης 375, 562 και 750 W.

Αναφορικά με το άρωμα και τη γεύση, τα δείγματα γιαουρτιού από γάλα ομογενοποιημένο με πίεση, σημείωσαν υψηλότερη βαθμολογία συνολικής αρέσκειας (Πίνακας 5.8), σε σύγκριση με εκείνα από γάλα ομογενοποιημένο με υπέρηχους. Αξιοσημείωτο, το γεγονός ότι τα δείγματα γιαουρτιού από ομογενοποιημένο γάλα με υπέρηχους σημείωσαν υψηλότερη βαθμολογία στα περισσότερα μεμονωμένα χαρακτηριστικά τους. Μεταξύ αυτών ήταν τα θετικά (γλυκιά, όξινη γεύση, οσμή και γεύση ορού γάλακτος, γαλακτώδης οσμή και γεύση) αλλά και αρνητικά (οσμή και άρωμα χλόης, ταγγή οσμή και άρωμα, καμένη οσμή και άρωμα και ξένο άρωμα). Ωστόσο, η συνολική αρέσκεια του γιαουρτιού ήταν σημαντικά χαμηλότερη ($P < 0,05$) (Πίνακας 5.8), γεγονός που μπορεί να αποδοθεί στην υπερβολικά υψηλή ένταση και των θετικών αλλά και των αρνητικών χαρακτηριστικών.

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση

Πίνακας 5.8: Αποτελέσματα Οργανοληπτικής εξέτασης δειγμάτων γιαουρτιού από γάλα ομογενοποιημένο με πίεση και με υπέρηχους											
	Μέθοδος	Πίεση (MPa)					Υπέρηχοι (W)				
	Ένταση	10/5	15/5	20/5	25/5	30/5	150	262	375	562	750
Εμφάνιση	Επιφάνεια	6,0 ^b	4,0 ^{b,c}	2,4 ^d	1,8 ^e	1,2 ^e	7,4 ^a	6,0 ^b	3,4 ^c	1,4 ^d	1,0 ^d
	Χρώμα	6,6 ^c	7,6 ^{b,c}	8,2 ^b	9,0 ^a	8,1 ^b	7,6 ^{b,c}	7,4 ^{b,c}	7,0 ^c	7,6 ^{b,c}	9,3 ^a
	Κρούστα	4,5 ^c	2,4 ^b	2,1 ^b	1,8 ^{a,b}	2,0 ^b	2,6 ^b	1,6 ^{a,b}	1,6 ^{a,b}	2,0 ^b	1,0 ^a
	Συναίρεση	5,4 ^{c,d}	5,0 ^c	5,0 ^c	5,0 ^c	4,8 ^c	7,2 ^e	5,8 ^d	4,8 ^c	3,8 ^b	2,8 ^a
Υφή στο κουτάλι	Σκληρό	5,6 ^c	6,2 ^c	6,2 ^c	5,8 ^c	6,2 ^c	3,6 ^a	4,8 ^b	5,8 ^c	7,0 ^d	8,8 ^e
	Ελαστική	6,2 ^a	6,2 ^a	6,6 ^{a,b}	7,0 ^b	6,6 ^{a,b}	6,2 ^a	6,2 ^a	6,8 ^{a,b}	7,6 ^c	7,3 ^{b,c}
	Συναίρεση κοπή	5,4 ^c	5,8 ^c	5,6 ^c	6,0 ^c	6,2 ^c	9,4 ^d	5,6 ^c	4,4 ^b	4,0 ^b	1,8 ^a
	Πηγματώδης	5,8 ^b	5,8 ^b	5,8 ^b	5,5 ^b	6,2 ^b	3,0 ^a	5,2 ^b	7,6 ^c	7,8 ^c	8,8 ^d
	Συνεκτική	5,2 ^b	5,2 ^b	5,6 ^b	6,5 ^c	7,2 ^c	3,6 ^a	4,0 ^a	6,0 ^c	8,0 ^d	8,8 ^d
	Υπολείμματα	1,8 ^a	2,2 ^{a,b}	2,8 ^b	1,8 ^a	3,6 ^c	1,4 ^a	2,0 ^{a,b}	3,2 ^c	5,4 ^d	6,3 ^d
Υφή στο στόμα	Λιπαρή	6,6 ^e	5,6 ^d	3,0 ^c	2,3 ^b	1,6 ^a	6,6 ^e	5,8 ^d	2,6 ^b	2,6 ^b	1,5 ^a
	Σκληρή	5,6 ^b	5,8 ^b	5,8 ^b	5,8 ^b	5,8 ^b	2,2 ^a	2,6 ^a	5,2 ^b	7,4 ^c	8,5 ^c
	Συνεκτική	6,4 ^c	6,4 ^c	6,4 ^c	7,0 ^c	7,0 ^c	3,4 ^a	4,2 ^b	6,6 ^c	8,4 ^d	9,0 ^d
	Βλενώδης	4,0 ^b	5,2 ^c	4,6 ^{b,c}	4,8 ^{b,c}	4,2 ^b	7,8 ^d	5,4 ^c	4,2 ^b	4,0 ^b	2,3 ^a
	Κρεμώδης	5,6 ^b	6,2 ^c	5,6 ^b	6,0 ^c	6,0 ^c	3,6 ^a	3,6 ^a	6,6 ^{c,d}	7,0 ^d	7,0 ^d
	Υδαρής	4,2 ^d	4,2 ^d	4,2 ^d	4,5 ^d	3,8 ^c	7,0 ^e	4,8 ^d	2,4 ^b	2,2 ^b	1,3 ^a
	Αρέσκεια	6,2 ^a	6,1 ^a	6,4 ^a	6,5 ^a	6,5 ^a	6,3 ^a	6,6 ^a	7,1 ^b	7,5 ^b	8,2 ^c
Οσμή	Γιαουρτιού	8,0 ^a	7,0 ^a	7,7 ^a	7,3 ^a	7,7 ^a	7,0 ^a	5,7 ^c	5,3 ^c	3,3 ^b	2,7 ^b
	Γάλακτος	5,7 ^{b,c}	6,0 ^c	6,0 ^c	6,7 ^{c,d}	6,0 ^c	6,0 ^c	6,0 ^c	5,3 ^b	5,0 ^b	3,0 ^a
	Ορού	5,3 ^b	4,7 ^b	5,3 ^b	5,3 ^b	4,7 ^b	3,0 ^a	5,0 ^b	7,3 ^b	7,7 ^c	7,0 ^c
	Χλόης	2,3 ^a	1,3 ^a	3,3 ^b	3,7 ^{c,d}	2,7 ^{b,c}	2,7 ^{b,c}	4,7 ^d	6,7 ^e	7,7 ^e	7,7 ^e
	Ταγγή	2,3 ^{a,b}	2,3 ^{a,b}	3,0 ^b	2,7 ^{a,b}	1,3 ^a	2,3 ^{a,b}	5,3 ^c	6,3 ^c	7,7 ^d	8,3 ^d
	Καμένη	2,3 ^a	1,3 ^a	1,7 ^a	2,0 ^a	1,3 ^a	2,3 ^a	4,0 ^b	5,7 ^c	7,0 ^d	8,7 ^e
Γεύση	Γιαουρτιού	7,3 ^d	7,7 ^d	7,7 ^d	7,3 ^d	7,3 ^d	7,7 ^d	6,3 ^{c,d}	5,7 ^c	3,7 ^b	2,3 ^a
	Γλυκιά	3,0 ^a	4,0 ^a	4,0 ^a	3,0 ^a	4,0 ^a	6,0 ^b	6,3 ^b	7,0 ^{b,c}	7,3 ^{b,c}	8,7 ^c
	Όξινη	3,0 ^a	4,0 ^b	4,0 ^a	3,0 ^a	4,0 ^b	6,0 ^c	6,3 ^c	7,0 ^{c,d}	7,3 ^d	8,7 ^e
	Αρέσκεια	7,0 ^d	6,7 ^d	6,7 ^d	7,0 ^d	7,0 ^d	7,0 ^d	4,7 ^c	4,3 ^b	3,3 ^{a,b}	2,3 ^a
Άρωμα	Γιαουρτιού	7,7 ^c	7,3 ^c	7,7 ^c	7,7 ^c	7,7 ^c	7,0 ^c	5,7 ^b	4,3 ^{a,b}	3,7 ^a	2,3 ^a
	Γάλακτος	5,0 ^b	5,0 ^b	5,7 ^c	4,7 ^b	5,0 ^b	5,7 ^c	5,0 ^{b,c}	4,0 ^{a,b}	4,7 ^b	3,3 ^a
	Ορού	4,3 ^a	5,0 ^b	5,3 ^b	5,0 ^b	5,0 ^b	3,0 ^a	5,3 ^b	7,3 ^c	8,3 ^{c,d}	9,0 ^d
	Λιπαρό	5,0 ^a	5,3 ^{a,b}	5,0 ^a	5,0 ^a	4,7 ^a	5,0 ^a	6,3 ^b	7,3 ^c	7,7 ^c	7,7 ^c
	Ξένο	1,7 ^{a,b}	2,0 ^b	2,0 ^b	1,3 ^a	1,7 ^{a,b}	2,7 ^b	4,7 ^c	5,7 ^{c,d}	6,7 ^d	8,3 ^e
	Καμένο	1,7 ^{a,b}	2,0 ^b	2,0 ^b	2,0 ^b	1,3 ^a	2,7 ^b	5,3 ^c	6,0 ^{c,d}	7,7 ^d	8,3 ^e
	Χλόης	2,3 ^b	1,3 ^a	1,3 ^a	2,0 ^{a,b}	1,7 ^a	2,3 ^b	3,3 ^b	5,3 ^c	7,7 ^d	8,3 ^e
	Ταγγό	2,0 ^{a,b}	1,3 ^a	1,3 ^a	1,7 ^{a,b}	2,0 ^b	2,3 ^b	4,3 ^c	6,3 ^d	7,3 ^d	8,7 ^e
	Αρέσκεια	6,7 ^c	7,0 ^c	7,0 ^c	7,7 ^c	7,3 ^c	7,7 ^c	6,7 ^c	6,0	3,3 ^b	1,7 ^a
	Συνολική Αρέσκεια	8,7 ^{b,c}	9,5 ^d	8,8 ^c	8,5 ^{b,c}	8,7 ^{b,c}	8,1 ^{b,c}	7,5 ^b	7,2 ^b	6,5 ^{a,b}	5,7 ^a

^{a-e} Διαφορετικό γράμμα μεταξύ των γραμμών σε κάθε στήλη υποδηλώνει διαφορές σύμφωνα με το Duncan's post hoc comparison test (P<0,05)

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση

Ακόμη, το ξένο άρωμα και ειδικά το καμένο, το οποίο ανιχνεύθηκε στα δείγματα γιαουρτιού από γάλα που υποβλήθηκε σε ομογενοποίηση με υπέρηχους, επηρέασαν πολύ αρνητικά τον βαθμό συνολικής αρέσκειας. Αντίστοιχα, τα δείγματα από γάλα που ομογενοποιήθηκε με πίεση σημείωσαν χαμηλότερη βαθμολογία στα περισσότερα χαρακτηριστικά γεύσης και οσμής, ωστόσο, ο βαθμός συνολικής αρέσκειας ήταν σημαντικά υψηλότερος.

Όσον αφορά τη γεύση, οι βαθμολογίες γλυκού και όξινου ήταν παρόμοιες για όλα τα δείγματα από γάλα ομογενοποιημένο με πίεση και αποδεκτά από τους δοκιμαστές. Αντίθετα, τα δείγματα από γάλα που ομογενοποιήθηκε με υπέρηχους ήταν σημαντικά πιο γλυκά και πιο όξινα και πολύ λιγότερο αποδεκτά. Τα προφίλ γεύσης εμφάνισαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων από γάλα που υποβλήθηκε σε διαφορετική επεξεργασία. Τα δείγματα από γάλα που ομογενοποιήθηκε με πίεση, σημείωσαν χαμηλότερη βαθμολογία στα περισσότερα μεμονωμένα χαρακτηριστικά αρώματος, συγκριτικά με τα αντίστοιχα από γάλα με υπέρηχους, και η αρέσκεια αρώματος ήταν σημαντικά υψηλότερη. Ειδικότερα, το ξένο άρωμα των δειγμάτων από γάλα ομογενοποιημένο με πίεση ήταν κάτω από το όριο του 2, στην πραγματικότητα ήταν ελάχιστα ανιχνεύσιμο, ενώ τα δείγματα από γάλα που υποβλήθηκε σε ομογενοποίηση με υπέρηχους παρουσίασαν σημαντικά ($P < 0,05$) υψηλότερες τιμές. Τα δείγματα από γάλα που υποβλήθηκε σε ομογενοποίηση με υπέρηχους έντασης 150 W, είχαν παρόμοια προφίλ γεύσης και αρώματος με εκείνα από ομογενοποιημένο με πίεση γάλα, ενώ τα δείγματα από γάλα που υποβλήθηκε σε επεξεργασία με υπέρηχους έντασης 375 W ή υψηλότερη, εμφάνισαν διαφοροποίηση. Όσο υψηλότερη ήταν η ένταση των υπερήχων στο γάλα, τόσο πιο έντονα είναι τα αρνητικά χαρακτηριστικά γεύσης (καμένο, χλόης, ταγγό), τα οποία, τελικώς, μειώνουν τη συνολική αρέσκεια του γιαουρτιού. Τα αρώματα καμένου, χλόης και ταγγό που ανιχνεύτηκαν από τους δοκιμαστές κατά την οργανοληπτική ανάλυση, επιβεβαιώνονται και από τα αποτελέσματα της ανάλυσης που πραγματοποιήθηκε με την αέρια χρωματογραφία. Τα δείγματα γιαουρτιού από γάλα που ομογενοποιήθηκε με υπέρηχους, είχαν υψηλότερες συγκεντρώσεις σε ουσίες που δημιουργούν ξένα αρώματα στο γιαούρτι, ήτοι οργανικά οξέα (οκτανικό, δεκανοϊκό οξύ) και κετόνες (2-εννεανόνη). Κατά συνέπεια, τα αρώματα των ουσιών αυτών ήταν πιο έντονα σε σύγκριση με τα δείγματα από ομογενοποιημένο με πίεση γάλα, με αποτέλεσμα να μειώνεται η συνολική αρέσκεια των δειγμάτων από γάλα επεξεργασμένο με υπέρηχους.

Η μέθοδος ομογενοποίησης είτε πρόκειται για ομογενοποίηση με πίεση είτε με υπέρηχους, είχε σημαντική επίδραση ($P < 0,05$) σε όλα τα χαρακτηριστικά οσμής, γεύσης και αρώματος εκτός από το άρωμα γάλακτος. Η ένταση ομογενοποίησης είχε σημαντική επίδραση

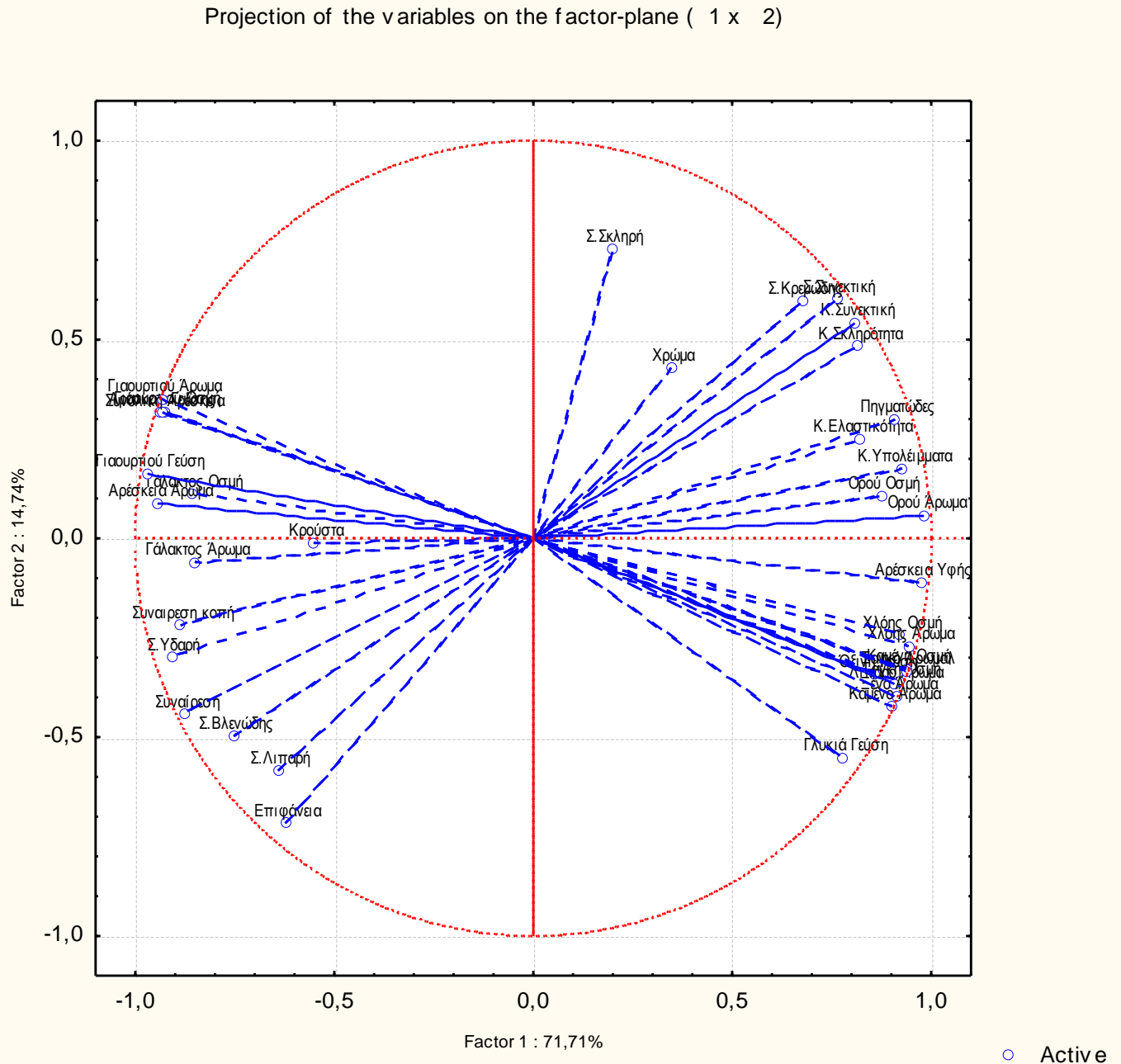
Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση

($P < 0,05$) στα περισσότερα χαρακτηριστικά οσμής, γεύσης και αρώματος, εκτός από την οσμή και το άρωμα του γάλακτος. Τέλος, η συνδυασμένη επίδραση της μεθόδου ομογενοποίησης και της έντασης επηρέασε σημαντικά ($P < 0,05$) τα περισσότερα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, εκτός από την οσμή γιαουρτιού, τη γλυκιά γεύση, την όξινη γεύση και το άρωμα γάλακτος. Σε γενικές γραμμές, οι διαφορετικές μέθοδοι ομογενοποίησης του γάλακτος είχαν σημαντικές επιπτώσεις στα ερεθίσματα των δοκιμαστών. Η παρουσία ξένου αρώματος, η έντονη γεύση, η οσμή και το άρωμα των δειγμάτων γιαουρτιού από γάλα που είχε ομογενοποιηθεί με υπέρηχους, τα ξεχώριζε από τα δείγματα από γάλα ομογενοποιημένο με πίεση, τα οποία εμφάνισαν χαμηλότερες τιμές στα περισσότερα χαρακτηριστικά και υψηλότερη αποδοχή από τους δοκιμαστές. Τέλος, η αύξηση της πίεσης ομογενοποίησης του γάλακτος δεν προκάλεσε σημαντικές αλλαγές στην αποδοχή των δειγμάτων γιαουρτιού, σε αντίθεση με την αύξηση της έντασης των υπερήχων που οδήγησε σε μείωση της συνολικής αρέσκειας του γιαουρτιού.

Στην Εικόνα 5.7 παρουσιάζεται η ανάλυση κύριων συνιστωσών για τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των δειγμάτων. Η πρώτη κύρια συνιστώσα συνεισφέρει κατά 71,72%, ενώ η δεύτερη κατά 14,76% στη διακύμανση του πειράματος. Συνεπώς, το σύστημα περιγράφεται ικανοποιητικά από τις δύο κύριες συνιστώσες. Από το πρώτο διάγραμμα ή τον Πίνακα 5.9 φαίνεται η συνεισφορά των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών πάνω στις κύριες συνιστώσες. Συγκεκριμένα, με αρνητική συνεισφορά στην πρώτη κύρια συνιστώσα βρίσκονται τα περισσότερα ευχάριστα χαρακτηριστικά αρώματος, οσμής και γεύσης όπως η γεύση γιαουρτιού, το φυσικό άρωμα γάλακτος και γιαουρτιού, η αρέσκεια αρώματος, η συνολική αρέσκεια και τα μη αποδεκτά της υφής όπως η συναίρεση, λιπαρή, υδαρής και βλενώδης υφή. Αντίθετα, με θετική συνεισφορά στην πρώτη κύρια συνιστώσα βρίσκονται τα αποδεκτά χαρακτηριστικά υφής όπως η συνεκτικότητα (στο στόμα και στο κουτάλι) και η σκληρότητα (στο κουτάλι), πηγματώδης, κρεμώδης υφή και η αρέσκεια υφής αλλά και μη αποδεκτά χαρακτηριστικά αρώματος και οσμής όπως χλόη, καμένο, ταγγό και ξένο. Στη δεύτερη κύρια συνιστώσα παρουσιάζεται με θετική συνεισφορά η σκληρότητα στο στόμα και με αρνητική η επιφάνεια. Από το δεύτερο διάγραμμα φαίνεται η ομαδοποίηση των δειγμάτων βάσει των οργανοληπτικών τους χαρακτηριστικών. Σε μία ομάδα βρίσκονται τα δείγματα γιαουρτιού από γάλα ομογενοποιημένο με πίεση, που σημαίνει ότι δεν παρουσίασαν μεγάλη διακύμανση στις βαθμολογίες των χαρακτηριστικών τους και χαρακτηρίζονταν από υψηλή αποδοχή αρώματος και γεύσης. Αντίθετα, τα δείγματα από γάλα ομογενοποιημένο με υπέρηχους έχουν μεγάλη απόσταση μεταξύ τους, το οποίο υποδηλώνει ότι τα χαρακτηριστικά τους είχαν μεγάλη διακύμανση στις βαθμολογίες τους, και

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση

βρίσκονται κατανομημένα σε όλο το μήκος του διαγράμματος. Η κατανομή τους στο διάγραμμα υποδεικνύει ότι αυξανόμενης της έντασης των υπερήχων ομογενοποίησης του γάλακτος, παράγεται γιαούρτι με μεγαλύτερη αποδοχή στην υφή αλλά με μικρότερη αποδοχή στο άρωμα και τη γεύση.

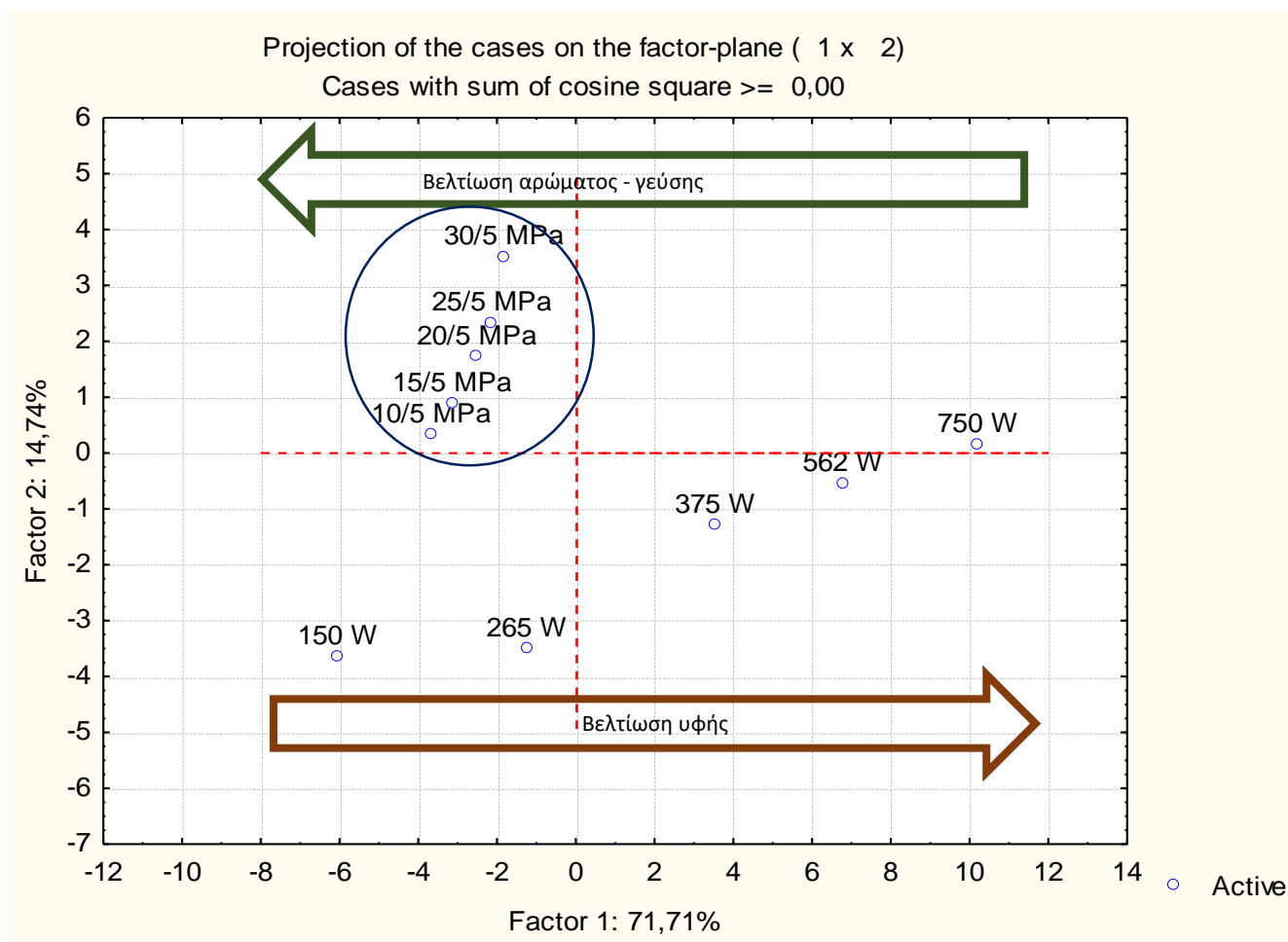


Εικόνα 5.7Α: Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών οργανοληπτικών χαρακτηριστικών γιαουρτιού από γάλα ομογενοποιημένο με πίεση και με υπέρηχους

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση

Πίνακας 5.9: Συντελεστές Κύριων Συνιστωσών οργανοληπτικών χαρακτηριστικών γιαουρτιού, σύμφωνα με τις συσχετίσεις τους					
Factor coordinates of the variables, based on correlations (Οργανοληπτικά)					
	Factor 1	Factor 2	Factor 3	Factor 4	Factor 5
Επιφάνεια	-0,623441	-0,716809	-0,261421	-0,134834	-0,033411
Χρώμα	0,345957	0,429227	0,687493	-0,257535	-0,365273
Κρούστα	-0,552108	-0,011330	-0,732401	-0,168243	0,176944
Συναίρεση	-0,875024	-0,442977	0,097257	0,066327	0,118845
Σκληρότητα στο Κουτάλι	0,816048	0,483349	-0,107891	-0,209275	-0,166843
Ελαστικότητα στο Κουτάλι	0,822166	0,250057	0,219452	0,248820	0,092619
Συναίρεση κοπή	-0,885981	-0,219838	0,268351	0,008385	0,243667
Πηγματώδες στο Κουτάλι	0,909321	0,299151	-0,235134	0,086172	-0,007596
Συνεκτική στο Κουτάλι	0,809413	0,543131	0,067341	-0,066855	0,125652
Υπολείμματα στο Κουτάλι	0,927227	0,175993	0,049307	-0,193142	0,183504
Λιπαρή στο Στόμα	-0,641732	-0,584047	-0,396846	-0,195003	-0,108855
Σκληρή στο Στόμα	0,198569	0,727412	0,113541	-0,238692	0,541212
Συνεκτική στο Στόμα	0,763294	0,602102	-0,154357	-0,001028	-0,025678
Βλενώδης στο Στόμα	-0,752754	-0,497938	0,313722	0,064668	0,129567
Κρεμώδης στο Στόμα	0,678296	0,596779	-0,235444	0,153255	0,028603
Υδαρή στο Στόμα	-0,909321	-0,299151	0,235134	-0,086172	0,007596
Αρέσκεια Υφής	0,974400	-0,111656	0,127240	0,010395	0,080698
Οσμή Γιαουρτιού	-0,926190	0,320376	-0,093872	0,057385	0,002032
Οσμή Γάλακτος	-0,857400	0,111115	0,120701	0,448570	0,050735
Οσμή Ορού	0,875236	0,106299	-0,265167	0,384853	-0,017087
Οσμή Χλόης	0,921792	-0,243989	0,099090	0,216796	0,052936
Οσμή Ταγγή	0,918300	-0,359672	-0,014853	0,111898	-0,089701
Οσμή Καμένη	0,937661	-0,326036	-0,027184	-0,031991	-0,002573
Γεύση Γιαουρτιού	-0,969549	0,162868	-0,005783	0,132443	-0,010130
Γεύση Γλυκιά	0,779716	-0,550437	0,184289	-0,116035	0,121688
Γεύση Ώξινη	0,859247	-0,341394	0,145982	-0,041137	0,204476
Αρέσκεια Γεύσης	-0,938762	0,319101	-0,002002	0,006609	0,040191
Άρωμα Γιαουρτιού	-0,932950	0,351332	-0,019604	0,035713	-0,018698
Άρωμα Γάλακτος	-0,850312	-0,058351	0,069825	0,047956	0,154174
Άρωμα Ορού	0,983550	0,059519	-0,048374	0,119068	-0,036985
Άρωμα Λιπαρό	0,906123	-0,369105	-0,075013	0,164315	0,002505
Άρωμα Ξένο	0,913201	-0,396910	0,026206	-0,058333	0,016502
Άρωμα Καμένο	0,902190	-0,421603	0,039010	0,046738	-0,005261
Άρωμα Χλόης	0,943104	-0,271615	-0,034337	-0,025238	0,088977
Άρωμα Ταγγό	0,935330	-0,332335	-0,006319	-0,002630	0,093399
Αρέσκεια Αρώματος	-0,942364	0,088805	0,104644	0,242706	0,035421
Συνολική Αρέσκεια	-0,932158	0,314427	-0,020792	-0,043854	-0,021504

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση



Εικόνα 5.7B: Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών δειγμάτων γιαουρτιού (score plot) από γάλα ομογενοποιημένο με πίεση και με υπέρηχους

5.2.7 Μοντέλα πρόβλεψης συνολικής αρέσκειας γιαουρτιού βάσει οργανοληπτικών χαρακτηριστικών οσμής-γεύσης-αρώματος και συγκέντρωσης αρωματικών ενώσεων

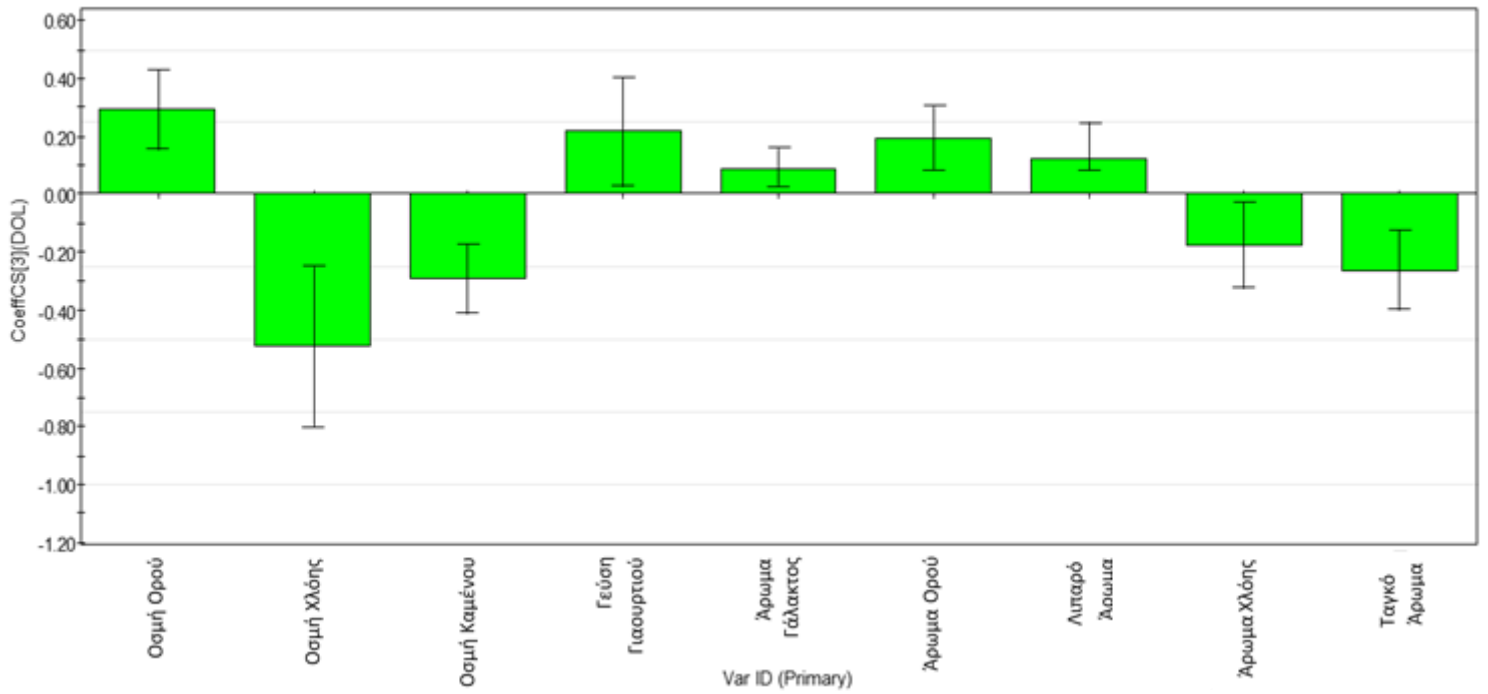
Η οργανοληπτική αξιολόγηση των δειγμάτων γιαουρτιού και ο προσδιορισμός της συνολικής αρέσκειας είναι το αποτέλεσμα του σύνθετου μοτίβου αντίληψης, που περιλαμβάνει κυρίως τα μεμονωμένα χαρακτηριστικά οσμής, γεύσης και γεύσης. Τα χαρακτηριστικά γεύσης που ανιχνεύθηκαν από τους δοκιμαστές αποδίδονται στην παρουσία και την ποσότητα κάθε

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση

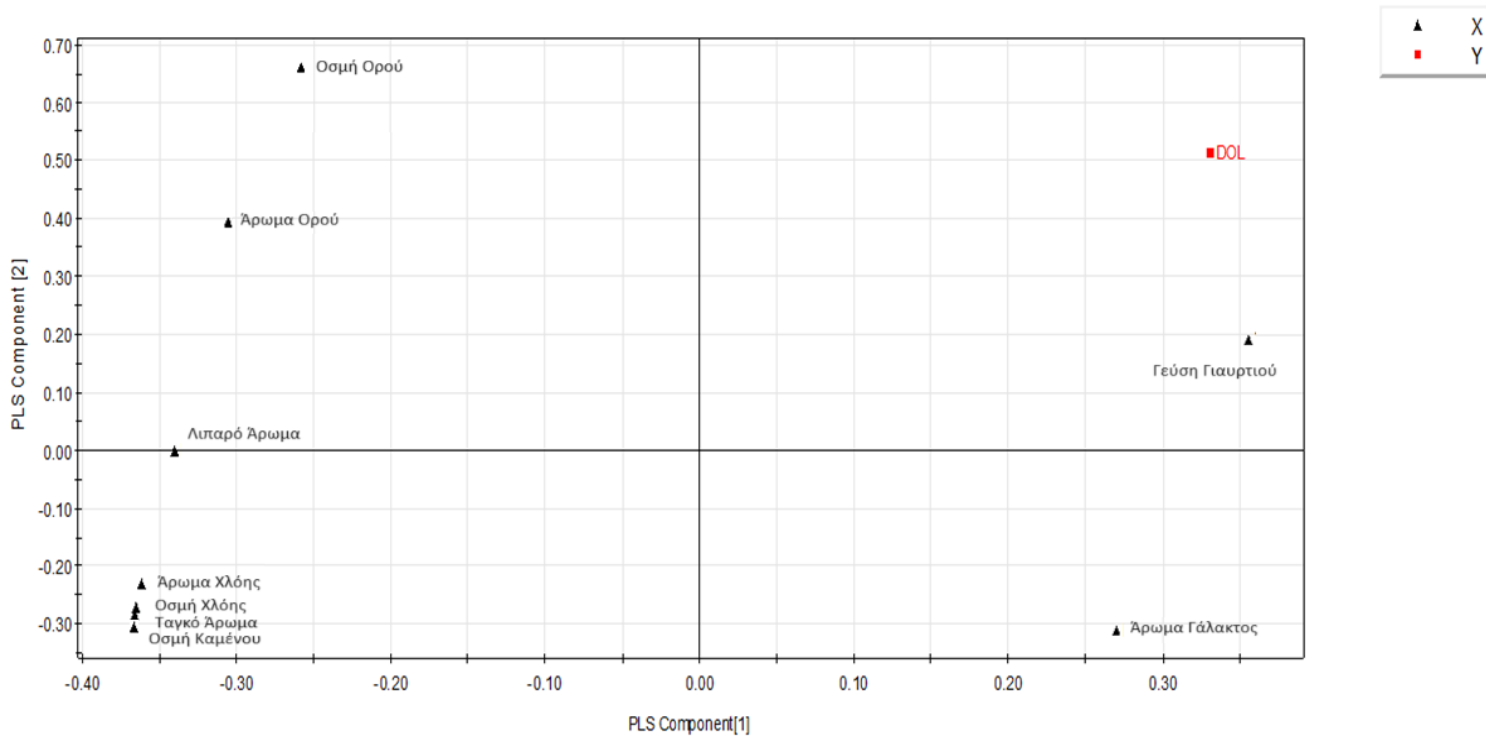
αρωματικού μορίου στα δείγματα, όπως ανιχνεύθηκαν στην αέρια χρωματογραφία (GC-MS). Προκειμένου να δημιουργηθούν αξιόπιστα μοντέλα που περιγράφουν τη συνολική αρέσκεια ελήφθησαν υπόψη ξεχωριστά: (i) κάθε ανιχνεύσιμο χαρακτηριστικό αρώματος και (ii) κάθε αρωματική ουσία, χρησιμοποιήθηκε η μερική παλινδρόμηση ελαχίστων τετραγώνων (PLS) με το λογισμικό Simca 14.1. Τα μοντέλα που παρουσιάζονται εδώ έχουν δημιουργηθεί χρησιμοποιώντας το κριτήριο «leave-p-out cross validation» (LpOCV).

Το πρώτο μοντέλο συσχετίζει τη συνολική αρέσκεια με τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά αρώματος, γεύσης και οσμής που αναλύονται στην παράγραφο 5.2.6. Μετά τη χρήση του LpOCV το μοντέλο αποτελείται από 9 μεταβλητές-οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, οσμή ορού γάλακτος, οσμή χόρτου/αλδεΐδης, καμένη οσμή, γεύση γιαουρτιού, άρωμα γάλακτος, άρωμα ορού, λιπαρό άρωμα, άρωμα χλόης και ταγγό άρωμα. Οι συντελεστές παλινδρόμησης παρουσιάζονται στην Εικόνα 5.8Α η τιμή R^2 του μοντέλου είναι 0,992. Η Εικόνα 5.8Β δείχνει την αντιστοίχιση των συνιστωσών του μοντέλου στις μεταβλητές - άξονες X και Y και η Εικόνα 5.8Γ δείχνει τις βαθμολογίες των δειγμάτων. Οι διακυμάνσεις X και Y είναι πολύ υψηλές (99% και 96% αντίστοιχα) για τη συνιστώσα 1, ενώ οι διακυμάνσεις X και Y για τη συνιστώσα 2 είναι πολύ χαμηλές. Αυτό μπορεί να αποδοθεί στο γεγονός ότι τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά που μελετήθηκαν έχουν μεγάλη συσχέτιση μεταξύ τους. Οι φορτίσεις X και Y, ουσιαστικά, αντιπροσωπεύουν τις προβολές των μεταβλητών στις συνιστώσες PLS 1 και 2 και οι αντίστοιχες διακυμάνσεις αντιπροσωπεύουν τον αντίκτυπο που έχουν οι μεταβλητές στην αρέσκεια. Η οσμή ορού γάλακτος, η φυσική γεύση γιαουρτιού, το άρωμα γάλακτος, το άρωμα ορού γάλακτος και το λιπαρό άρωμα συσχετίστηκαν θετικά με το DOL, ενώ η οσμή και το άρωμα χλόης, η καμένη οσμή και η ταγγή γεύση συσχετίστηκαν αρνητικά. Οι βαθμολογίες των δειγμάτων αντιπροσωπεύουν τις προβολές των δειγμάτων στις συνιστώσες PLS 1 και 2. Συνδυάζοντας τις προβολές X, Y (Εικόνα 5.8Γ) με τις βαθμολογίες των δειγμάτων (Εικόνα 5.8Γ), μπορούν να εξαχθούν ορισμένα συμπεράσματα σχετικά με τα χαρακτηριστικά των δειγμάτων και την αποδοχή τους. Οι δοκιμαστές έχουν συνδέσει τη συνολική αρέσκεια με τη φυσικότητα της οσμής, της γεύσης και του αρώματος, βαθμολογώντας υψηλά την αποδοχή στα ομογενοποιημένα δείγματα με υψηλές τιμές στην οσμή γιαουρτιού, γεύση γιαουρτιού και άρωμα γιαουρτιού. Αντίθετα, τα δείγματα που υποβλήθηκαν σε επεξεργασία με υπέρηχους είχαν υπερβολικά έντονα χαρακτηριστικά αρώματος και γεύσης και ως εκ τούτου έλαβαν χαμηλότερες βαθμολογίες στη συνολική αποδοχή. Ο αντίκτυπος, αυτών των ιδιοτήτων, ιδίως στα δείγματα που υποβλήθηκαν σε ομογενοποίηση με υπέρηχους, στη συνολική αποδοχή ήταν

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση

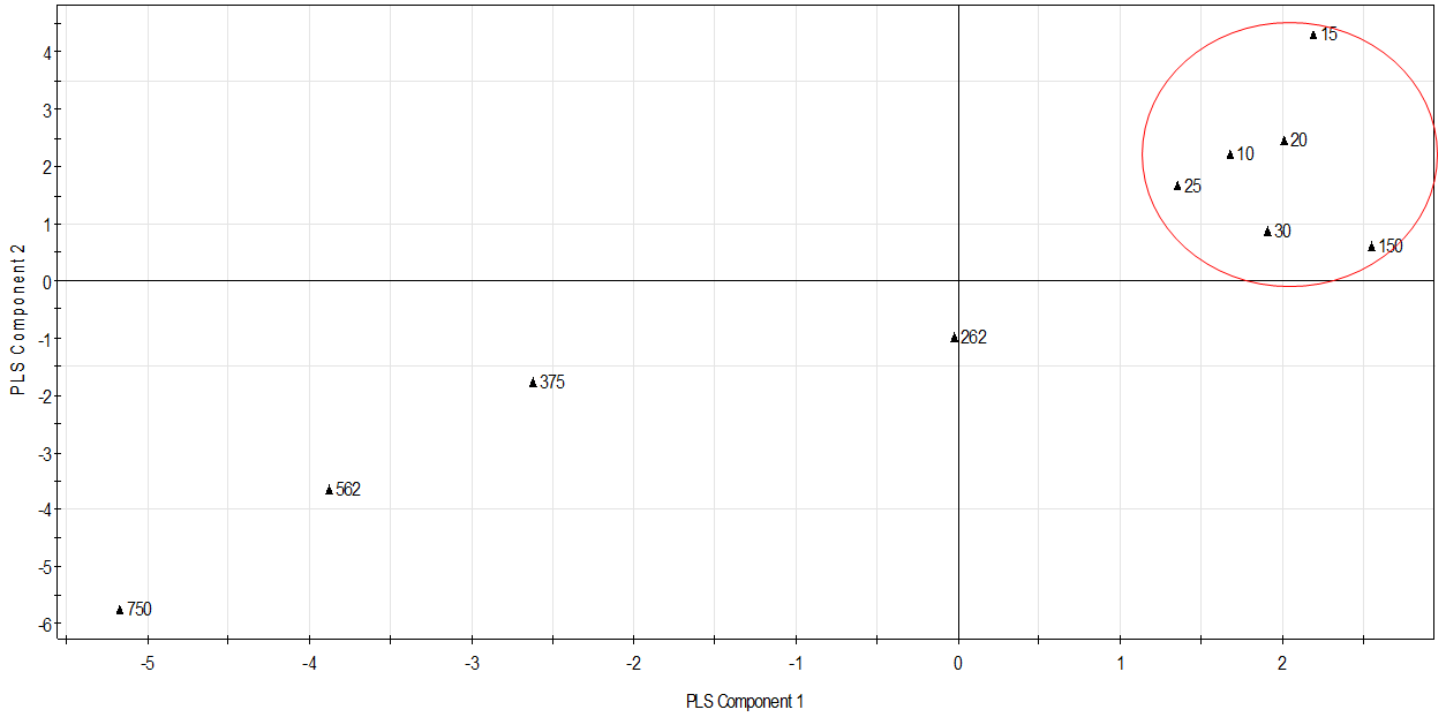


Εικόνα 5.8A: Συντελεστές PLS μοντέλου οργανοληπτικών χαρακτηριστικών αρώματος-οσμής-γεύσης και συνολικής αρέσκειας

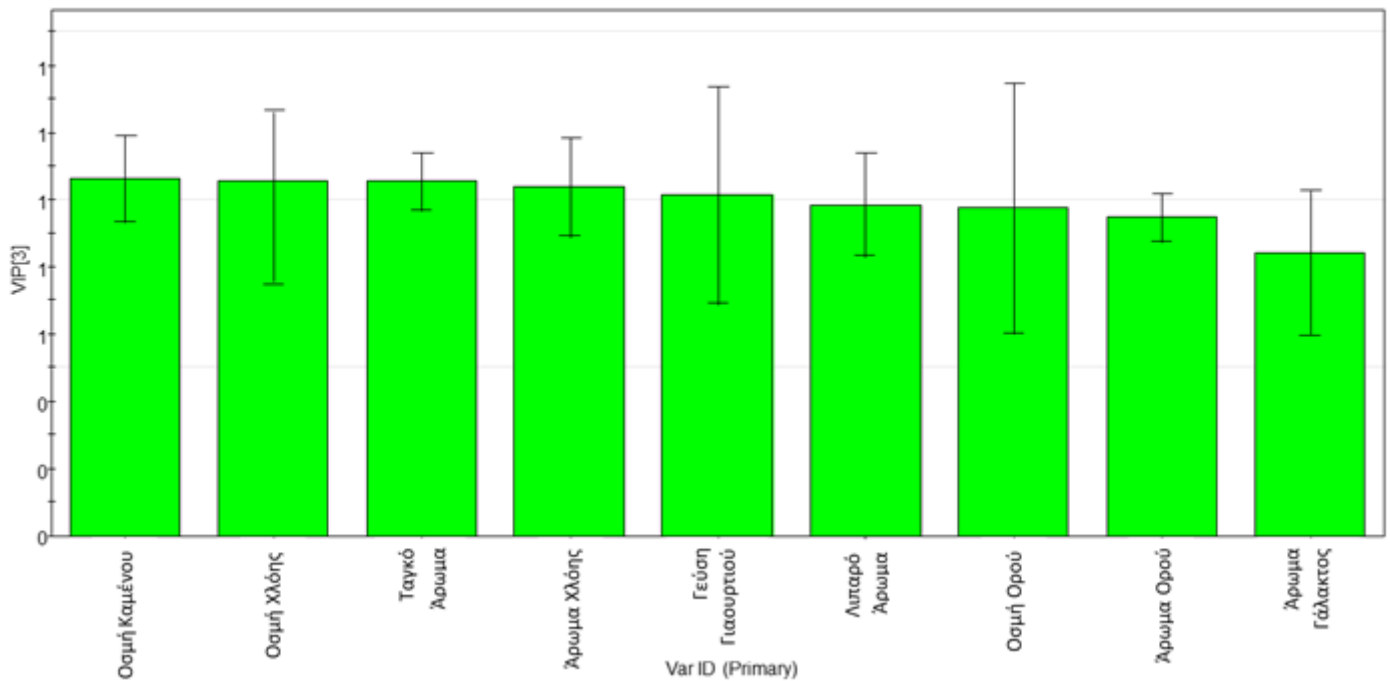


Εικόνα 5.8B: Προβολές συντελεστών PLS μοντέλου οργανοληπτικών χαρακτηριστικών αρώματος-οσμής-γεύσης και συνολικής αρέσκειας σε 2 συνιστώσες X και Y

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση



Εικόνα 5.8Γ: Προβολές δειγμάτων γιαουρτιού για το PLS μοντέλο οργανοληπτικών χαρακτηριστικών αρώματος-οσμής-γεύσης και συνολικής αρέσκειας σε 2 συνιστώσες X και Y



Εικόνα 5.8Δ: Επίδραση μεταβλητών οργανοληπτικών χαρακτηριστικών στο PLS μοντέλο οργανοληπτικών χαρακτηριστικών αρώματος-οσμής-γεύσης και συνολικής αρέσκειας

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση

σημαντικός. Έτσι, οι προβολές αυτών των χαρακτηριστικών ήταν στην αριστερή πλευρά του άξονα 1 (Εικόνα 5.8B) κοντά στα ομογενοποιημένα δείγματα με υπέρηχους (Εικόνα 5.8Γ).

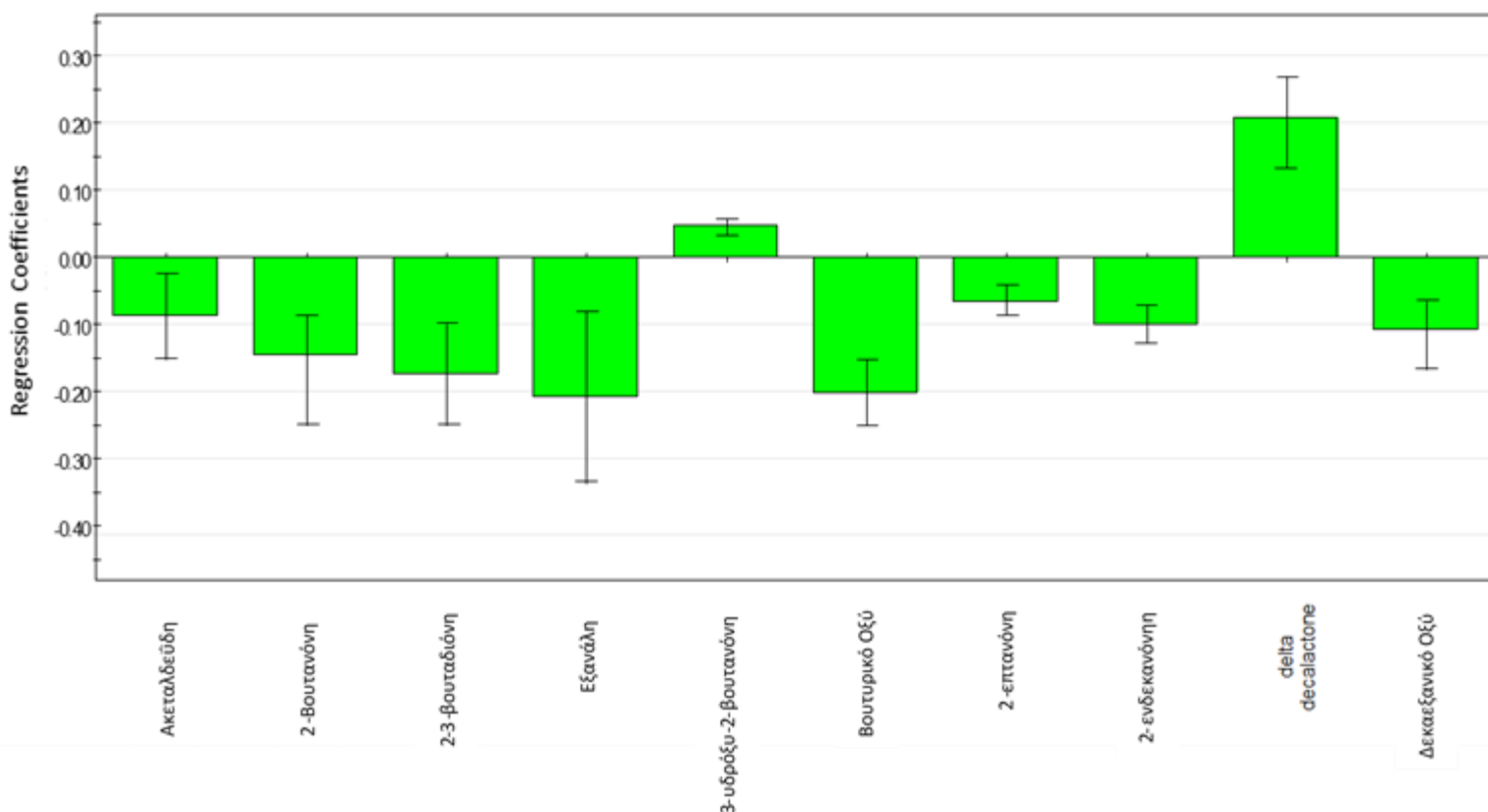
Το δεύτερο μοντέλο συσχετίζει τη συνολική αρέσκεια με τα αποτελέσματα από την ανάλυση των αρωματικών μορίων στην αέρια χρωματογραφία (GC-MS). Το μοντέλο PLS αποτελείται από 10 πτητικά μόρια που ανιχνεύθηκαν μετά τη χρήση του κριτηρίου $LpOCV$, τα οποία είναι τα εξής: η ακεταλδεΐδη, η 2-βουτανόνη, η 2-3 βουταδιόνη, η εξανάλη, η 3-υδροξυ-2-βουτανόνη, το βουτυρικό οξύ, η 2-επτανόνη, η 2-ενδεκανόνη, η Δ-δεκαλακτόνη και το δεκαεξανικό οξύ. Η ακεταλδεΐδη, η 2-βουτανόνη, η 2-3-βουταδιόνη, η 3-υδροξυ-2-βουτανόνη και η Δ-δεκαλακτόνη προσδίδουν ευχάριστα χαρακτηριστικά γεύσης, ενώ η εξανάλη, το βουτυρικό οξύ, η 2-επτανόνη, η 2-ενδεκανόνη και το δεκαεξανικό οξύ προσδίδουν δυσάρεστα χαρακτηριστικά αρώματος, όπως φαίνεται στον Πίνακα 5.6. Ωστόσο, από τους συντελεστές παλινδρόμησης PLS που αντιστοιχούν σε αυτά τα συστατικά, μόνο η 3-υδροξυ-2-βουτανόνη και η Δ-δεκαλακτόνη έχουν θετική επίδραση στη DOL, στον τρέχοντα πειραματικό σχεδιασμό.

Οι συντελεστές παλινδρόμησης παρουσιάζονται στην Εικόνα 5.9A με το αντίστοιχο R^2 να είναι 0,96. Στην Εικόνα 5.9β απεικονίζονται οι προβολές στους άξονες X και Y των συντελεστών του μοντέλου, δηλαδή των αρωματικών μορίων, και στην Εικόνα 5.9Γ η επίδραση βαθμολογίας των δειγμάτων που μελετήθηκαν. Οι προβολές των αρωματικών ουσιών στους άξονες X και Y αντιπροσωπεύουν την επίδρασή τους στις συνιστώσες PLS 1 και 2 και οι αντίστοιχες διακυμάνσεις αντιπροσωπεύουν την επίδραση που έχουν οι μεταβλητές (αρωματικές ουσίες) στη συνολική αρέσκεια. Από την Εικόνα 5.9B, μπορεί να σημειωθεί ότι η εξανάλη, το βουτυρικό οξύ, η 2-επτανόνη, η 2-ενδεκανόνη και το δεκαεξανικό οξύ βρίσκονται στα αριστερά του άξονα X και συνδέονται αρνητικά με τη συνολική αρέσκεια, ενώ η 3-υδροξυ-2-βουτανόνη και η Δ-δεκαλακτόνη, μαζί με την ίδια την αρέσκεια βρίσκονται στα δεξιά του άξονα συστατικών X και η 2,3 βουταδιόνη στον άξονα, αρκετά κοντά στη συνολική αρέσκεια, έτσι ώστε αυτές οι αρωματικές ουσίες και η αρέσκεια να συνδέονται θετικά. Ως εκ τούτου, τα συγκεκριμένα αρωματικά μόρια έχουν θετική συσχέτιση με την αρέσκεια, κάτι το οποίο είναι αναμενόμενο, λόγω της θετικής επίδρασής τους στο άρωμα και κατά συνέπεια στη συνολική αρέσκεια (Ott et al., 1997; Mounchili et al., 2005).

Στα δείγματα γιαουρτιού από ομογενοποιημένο με υπέρηχους γάλα, η ποσότητα των αρωματικών ουσιών που έχουν αρνητική επίδραση στο άρωμα και την οσμή ήταν σημαντικά υψηλότερη, με αποτέλεσμα τη χαμηλότερη αποδοχή από τους δοκιμαστές και τη χαμηλότερη βαθμολογία συνολικής αρέσκειας. Το διάγραμμα βαθμολογίας (Εικόνα 5.9A) είναι παρόμοιο με

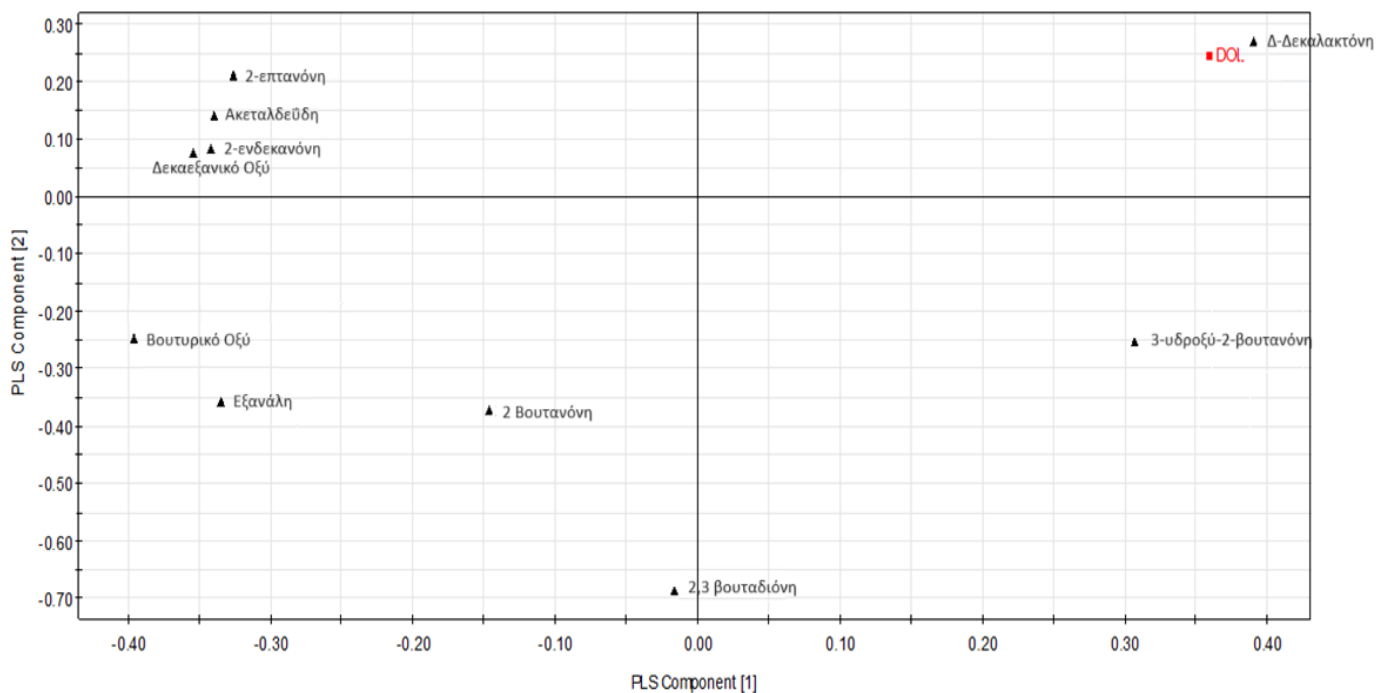
Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση

το αντίστοιχο μοντέλο που περιγράφει τον βαθμό συνολικής αρέσκειας βάσει των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών (Εικόνα 5.8Α). Η προβολή των δειγμάτων στις συνιστώσες PLS 1 και 2 αντιπροσωπεύει την επίδραση των συγκεντρώσεων κάθε αρωματικού συστατικού του εκάστοτε δείγματος στο μοντέλο (Εικόνα 5.9B). Λαμβάνοντας υπόψη τις προβολές στους άξονες X και Y (Εικόνα 5.9B) και τις προβολές των δειγμάτων (Εικόνα 5.9Γ) μπορεί να εξηγηθεί η επίδραση των συνθηκών ομογενοποίησης και η συμβολή των πτητικών συστατικών στην εξαρτημένη μεταβλητή, τον βαθμό συνολικής αρέσκειας. Τα δείγματα γιαουρτιού από ομογενοποιημένο με πίεση γάλα σχηματίζουν μία ομάδα στα δεξιά του άξονα X, ενώ τα δείγματα από ομογενοποιημένο με υπέρηχους γάλα παρουσιάζουν μία σαφή τάση προς τα αριστερά του ίδιου άξονα. Τα δείγματα στα δεξιά του άξονα είχαν υψηλό βαθμό συνολικής αρέσκειας και, κινούμενα προς την αριστερή πλευρά του άξονα, η συνολική αρέσκειά τους μειώνεται.

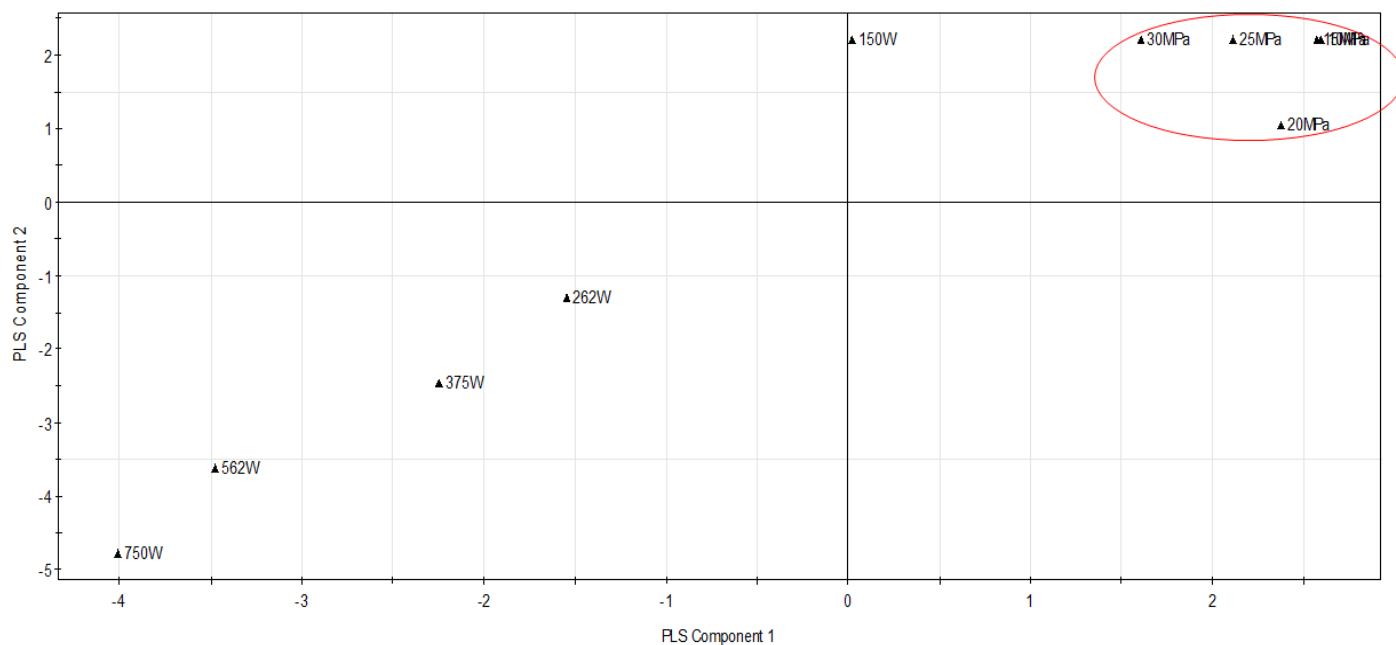


Εικόνα 5.9A: Συντελεστές PLS μοντέλου αρωματικών συστατικών και συνολικής αρέσκειας

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση

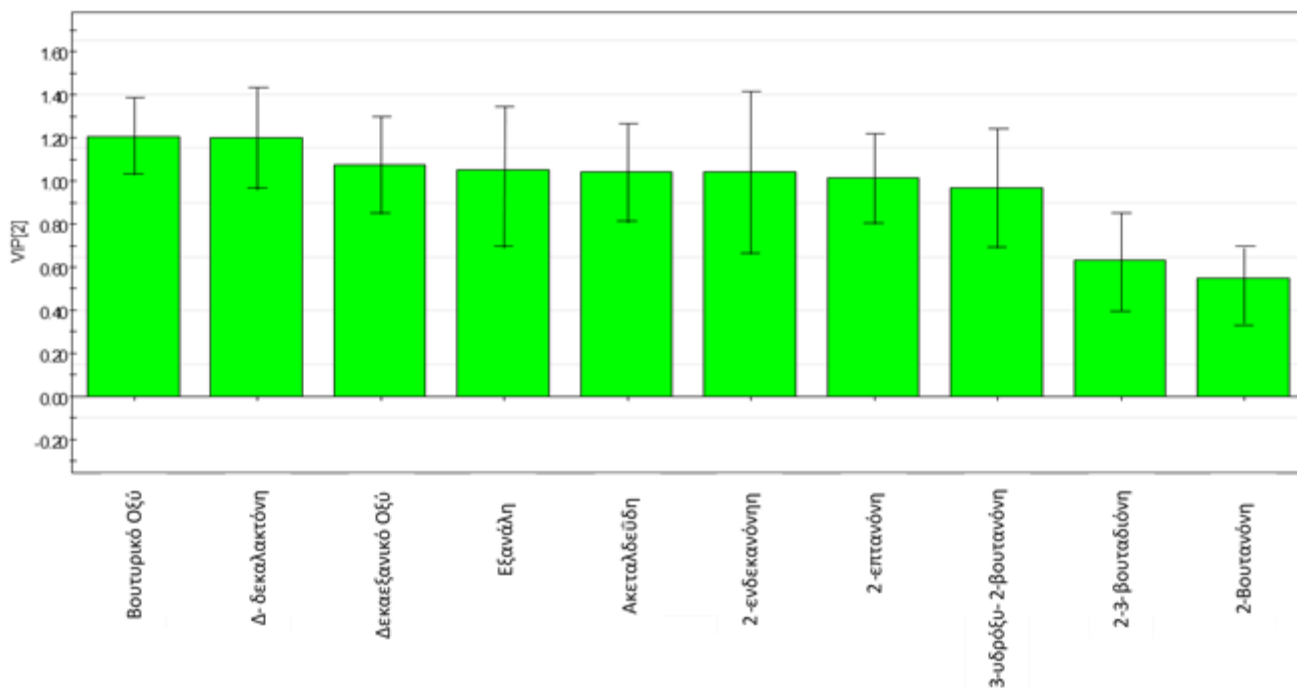


Εικόνα 5.9B: Προβολές συντελεστών PLS μοντέλου αρωματικών συστατικών και συνολικής αρέσκειας σε 2 συνιστώσες X και Y



Εικόνα 5.9Γ: Προβολές δειγμάτων γιαουρτιού για το PLS μοντέλο αρωματικών συστατικών και συνολικής αρέσκειας σε 2 συνιστώσες X και Y

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση



Εικόνα 5.9Δ: Επίδραση μεταβλητών αρωματικών συστατικών στο PLS μοντέλο αρωματικών συστατικών και συνολικής αρέσκειας

Τα μοντέλα που αναπτύχθηκαν με PLS δείχνουν ότι η εφαρμογή υπερήχων πολύ υψηλής έντασης στο γάλα προς παρασκευή γιαουρτιού, οδηγεί σε ανεπιθύμητα χαρακτηριστικά αρώματος και στη συνέχεια σε αρνητική επίδραση στη συνολική αρέσκεια. Ο σχηματισμός ορισμένων αρωματικών ουσιών κατά την ομογενοποίηση με υπέρηχους είχε σημαντική επίδραση στην οργανοληπτική αξιολόγηση του γιαουρτιού, ακόμη και μετά τις αλλαγές που συμβαίνουν κατά τη διάρκεια της ζύμωσης (Riener et al., 2009). Ωστόσο, εντάσεις της τάξης των 375W οδηγούν σε δείγματα γιαουρτιού με αποδεκτό άρωμα και, σε συνδυασμό με τη θετική επίδραση στην υφή του γιαουρτιού και στη διαδικασία ζύμωσης, είναι συνθήκες υπερήχων με θετική επίδραση στο γιαούρτι (Sfakianakis et al., 2015).

Συμπερασματικά, η ενσωμάτωση των υπερήχων ως μέθοδος ομογενοποίησης στην παραγωγική διαδικασία του γιαουρτιού, είναι δόκιμη. Σε σύγκριση με την ομογενοποίηση με

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση

πίεση, σημειώθηκε μείωση στο χρόνο ζύμωσης χωρίς να είναι σημαντική, αλλά οι μέγιστοι ρυθμοί αύξησης του pH και μείωσης του ιξώδους αυξήθηκαν καθώς και οι λανθάνουσες φάσεις του pH και του ιξώδους ήταν συντομότερες. Επίσης, στο παραγόμενο γιαούρτι παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις δύο μεθόδους ομογενοποίησης του γάλακτος. Το ιξώδες και τα χαρακτηριστικά υφής, πλην της προσκολλησιμότητας, ήταν αυξημένα για τα γιαούρτια που προέρχονταν από γάλα ομογενοποιημένο με υψηλής έντασης υπέρηχους (>375 W). Ενώ τα γιαούρτια από γάλα ομογενοποιημένο με χαμηλής έντασης υπέρηχους (≤ 262 W) είχαν τιμές χαρακτηριστικών υφής παρεμφερείς με τα γιαούρτια από γάλα ομογενοποιημένο με πίεση. Η ομογενοποίηση με υπέρηχους άλλαξε σημαντικά το αρωματικό προφίλ του παραγόμενου γιαουρτιού, αυξάνοντας την περιεκτικότητά του σε κετόνες, οξέα και αλδεΐδες. Αυτό είχε ως αποτέλεσμα στα γιαούρτια από γάλα που είχε ομογενοποιηθεί με υψηλής έντασης υπέρηχους να εντοπιστούν μη αποδεκτά αρώματα όπως καμένο, ταγγό και άρωμα χλόης. Τέλος η οργανοληπτική ανάλυση των δειγμάτων έδειξε ότι η ομογενοποίηση του γάλακτος με υπέρηχους οδηγεί σε γιαούρτι με ευχάριστη και αποδεκτή υφή, αλλά με υποδεέστερα χαρακτηριστικά αρώματος σε σχέση με την ομογενοποίηση με πίεση. Η συνθήκη που έχει θετική επίδραση στο γιαούρτι και την ζύμωσή του, χωρίς τα μειονεκτήματα στο άρωμα και τη γεύση είναι η ένταση υπερήχων 375 W.

5.3 Μελέτη επίδρασης συνθηκών ομογενοποίησης γάλακτος με υπέρηχους στο μικροβιολογικό περιεχόμενο, τα πρωτεϊνικά συστατικά του γάλακτος και τη μικροδομή του γιαουρτιού

Η μέθοδος υπερήχων είναι αποτελεσματική για την ομογενοποίηση γάλακτος και έχει θετικές επιδράσεις στις κινητικές παραμέτρους της ζύμωσης του γάλακτος προς γιαούρτι, αυξάνοντας τον μ_{pH} , τον μ_{visc} και μειώνοντας τη λ_{visc} σε σχέση με τη συμβατική ομογενοποίηση με πίεση. Ακόμη, διαφορές παρατηρήθηκαν μεταξύ του γιαουρτιού που παρήχθη από γάλα που είχε ομογενοποιηθεί με υπέρηχους και πίεση, ειδικότερα στο ιξώδες, στα χαρακτηριστικά υφής του και στις ουσίες που σχηματίζουν το αρωματικό προφίλ του, κατά συνέπεια και στη συνολική οργανοληπτική του εικόνα. Δεδομένου ότι η ομογενοποίηση γίνεται στο γάλα, ενδιαφέρον έχει να εξεταστούν τα στοιχεία του γάλακτος που επηρεάζονται από τους υπέρηχους (ή/και την πίεση) αλλά επιδρούν στην ζύμωση, στην πήξη, στην υφή και το άρωμα του γιαουρτιού.

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση

Έχει αναφερθεί από προηγούμενες μελέτες ότι η επεξεργασία του γάλακτος με υπέρηχους πριν την ζύμωση ευνοεί την ανάπτυξη της οξυγαλακτικής καλλιέργειας κατά την ζύμωση (Akdeniz et al., 2024). Η ανάπτυξη της οξυγαλακτικής καλλιέργειας επηρεάζει την πορεία της ζύμωσης, και επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες όπως από τη θερμοκρασία, το είδος των μικροοργανισμών που την απαρτίζουν, τη διαθεσιμότητα των απαραίτητων θρεπτικών συστατικών και την παρουσία άλλων μικροοργανισμών που πιθανόν δρουν ανταγωνιστικά (Aghababaie et al., 2015; Martin et al., 2023). Επιλέχθηκε να εξεταστεί η μικροβιακή χλωρίδα του γάλακτος προκειμένου να διαπιστωθεί αν η ομογενοποίηση με υπέρηχους την επηρεάζει, και επαγωγικά αν επηρεάζει τον εγκλιματισμό της οξυγαλακτικής καλλιέργειας.

Το αρωματικό προφίλ των δειγμάτων γιαουρτιού από γάλα ομογενοποιημένο με υπέρηχους διέφερε σημαντικά από το αντίστοιχο των δειγμάτων από γάλα ομογενοποιημένο με πίεση, λόγω αυξημένης συγκέντρωσης σε κετόνες αλδεΐδες και καρβοξυλικά οξέα. Η παρουσία των ενώσεων αυτών επηρέασε σημαντικά το άρωμα των δειγμάτων γιαουρτιού και τη συνολική αρέσκειά τους από τους δοκιμαστές. Υπάρχει ενδιαφέρον να διερευνηθεί αν οι ενώσεις αυτές οφείλονται στην επεξεργασία με υπέρηχους. Έτσι, μελετήθηκαν οι ενώσεις που απαρτίζουν το αρωματικό προφίλ του γάλακτος κατόπιν της ομογενοποίησης με υπέρηχους και πίεση. Έπειτα, συγκρίθηκαν μεταξύ τους, καθώς και με τις ενώσεις που απαρτίζουν το αρωματικό προφίλ του γιαουρτιού.

Τα χαρακτηριστικά υφής και το ιξώδες του γιαουρτιού είναι γνωστό ότι σχετίζονται σε μεγάλο βαθμό με τις ιδιότητες του πρωτεϊνικού πλέγματος που σχηματίζει το πήγμα. Η δομή του πλέγματος, οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των μορίων των πρωτεϊνών για το σχηματισμό του καθώς και τα μόρια αυτά καθαυτά των πρωτεϊνών που το απαρτίζουν, είναι εκείνα που καθορίζουν τις φυσικές ιδιότητες του γιαουρτιού (ρεολογία υφή) (Gilbert & Turgeon, 2021; Horne, 1999). Έχοντας παρατηρήσει ότι η ομογενοποίηση με υπέρηχους οδηγεί σε γιαούρτι με σημαντικές διαφορές στο ιξώδες και την υφή από ότι η συμβατική ομογενοποίηση με πίεση, ενδιαφέρον παρουσιάζει η εξέταση των διαφορών που προκύπτουν στη μικροδομή του γιαουρτιού και τις πρωτεΐνες του γάλακτος λόγω των διαφορετικών συνθηκών ομογενοποίησης που μελετήθηκαν.

5.3.1 Μικροβιακή ανάλυση γάλακτος

Μετά το πέρας της ομογενοποίησης των δειγμάτων γάλακτος μετρήθηκε η ολική μικροβιακή τους χλωρίδα (ΟΜΧ) και η περιεκτικότητά τους σε γαλακτικά βακτήρια. Στον Πίνακα 5.10, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των μετρήσεων.

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση

Η μικροβιακή χλωρίδα των δειγμάτων γάλακτος που είχαν ομογενοποιηθεί με πίεση δεν επηρεάστηκε σημαντικά από τη διεργασία ομογενοποίησης. Αντίθετα, και σε συμφωνία με τη βιβλιογραφία, τα δείγματα που είχαν ομογενοποιηθεί με υπέρηχους παρουσίασαν μείωση τόσο στην OMX, αλλά και στις αποικίες γαλακτικών βακτηρίων, ειδικότερα εκείνα που είχαν ομογενοποιηθεί με υψηλής έντασης υπέρηχους (562 και 750 W). Αντίθετα, οι χαμηλότερες εντάσεις δεν επέτυχαν σημαντική μείωση στο φορτίο των μικροοργανισμών. Οι διατμητικές τάσεις και τα φαινόμενα σπηλαιώσης που αναπτύσσονται λόγω των υπερήχων, διαταράσσουν τις κυτταρικές μεμβράνες των μικροοργανισμών και έτσι μειώνεται ο πληθυσμός τους χωρίς όμως αυτοί να εξαλείφονται πλήρως (D'Amico et al., 2006; Gabriel, 2015; Juraga et al., 2011).

Μέθοδος Ομογενοποίησης		OMX (log CFU)	Γαλακτικά βακτήρια (log CFU)
	Νωπό	6,88 ± 0,59 ^a	5,70 ± 0,38 ^a
Πίεση (Μρα)	10/5	6,83 ± 0,58 ^a	5,69 ± 0,38 ^a
	15/5	6,81 ± 0,59 ^a	5,68 ± 0,37 ^a
	20/5	6,83 ± 0,59 ^a	5,66 ± 0,40 ^a
	25/5	6,82 ± 0,6 ^a	5,67 ± 0,39 ^a
	30/5	6,81 ± 0,59 ^a	5,66 ± 0,39 ^a
Υπέρηχοι (W)	150	6,84 ± 0,60 ^a	5,66 ± 0,39 ^a
	262	6,63 ± 0,56 ^{a,b}	5,43 ± 0,36 ^{a,b}
	375	5,58 ± 0,52 ^b	5,11 ± 0,34 ^b
	562	5,18 ± 0,49 ^{b,c}	4,69 ± 0,30 ^{b,c}
	750	4,70 ± 0,40 ^c	4,20 ± 0,30 ^c

^{a-c} Διαφορετικό γράμμα μεταξύ των γραμμών σε κάθε στήλη υποδηλώνει διαφορές σύμφωνα με το Duncan's post hoc comparison test (P<0,05)

Έχει αποδειχθεί, όμως ότι οι υπέρηχοι χαμηλής έντασης με ταυτόχρονο έλεγχο της θερμοκρασίας του δείγματος δεν επιφέρουν σημαντική μείωση της μικροβιακής χλωρίδας του γάλακτος (Daniela Bermúdez-Aguirre & Barbosa-Cánovas, 2008). Οι διαταραχές που προκαλούν οι υπέρηχοι στις κυτταρικές μεμβράνες και η μείωση στον αριθμό των μικροοργανισμών στο γάλα είναι μία πιθανή εξήγηση για το γεγονός ότι τα δείγματα γάλακτος που είχαν ομογενοποιηθεί με υπέρηχους κατά την ζύμωσή τους είχαν συντομότερες λ_{pH} και μεγαλύτερους μ_{pH} . Η μείωση του μικροβιακού πληθυσμού στο γάλα επιτρέπει στην οξυγαλακτική καλλιέργεια να εγκλιματιστεί ευκολότερα και πιο σύντομα στο γάλα. Ακόμη, έχει αναφερθεί ότι κατόπιν της επεξεργασίας με υπέρηχους, η διαταραχή των μεμβρανών ή/και η καταστροφή των

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση

μικροοργανισμών που υπάρχουν στο γάλα, απελευθερώνει στο γάλα βιοδραστικά μόρια, τα οποία αξιοποιούνται από την καλλιέργεια των μικροοργανισμών μετά τον εμβολιασμό για την ανάπτυξή τους. Τέτοια μόρια είναι η β-γαλακτοζιδάση και λοιπά ένζυμα του μεταβολισμού τους (Abesinghe et al., 2020; Riener et al., 2009b) .

5.3.2 Ανάλυση αρωματικού προφίλ γάλακτος

Τα δείγματα γάλακτος αναλύθηκαν για τις ενώσεις που απαρτίζουν το αρωματικό τους προφίλ με αέρια χρωματογραφία, σε συνδυασμό με φασματομετρία μάζας (GC-MS). Οι ενώσεις που ταυτοποιήθηκαν φαίνονται στον Πίνακα 5.11A και 5.11B.

Οι ενώσεις που ταυτοποιήθηκαν στο γάλα ήταν αλδεΐδες, κετόνες, καρβοξυλικά οξέα, ένα σουλφίδιο, δύο υδρογονάνθρακες και η Δ-δεκαλακτόνη (κυκλικός μονοεστέρας). Συγκεκριμένα, οι αλδεΐδες που ταυτοποιήθηκαν ήταν η ακεταλδεΐδη και η εξανάλη. Οι κετόνες ήταν η ακετόνη, η 2-βουτανόνη, η 3-βουταδιόνη, η 2-επτανόνη, η δικυκλο[2.2.1]-επτα-2όνη, η 2-εννεανόνη και η 2-ενδεκανόνη. Τα καρβοξυλικά οξέα ήταν το βουτυρικό, το οκτανικό, το δεκανοϊκό και το δεκαεξανικό. Ταυτοποιήθηκε επίσης το διμεθυλοσουλφίδιο, το 1-βουτεν-3-ένιο και το 2,1-επτένιο. Οι ενώσεις αυτές είχαν ταυτοποιηθεί και στα δείγματα γιαουρτιού, όπως φάνηκε και στο κεφάλαιο 5.2.5, αλλά τα εμβαδά των κορυφών τους στα χρωματογραφήματα ήταν διαφορετικά. Οι ενώσεις των οποίων η συγκέντρωση στο γάλα επηρεάστηκε σημαντικά από τη μέθοδο και την ένταση ομογενοποίησης, ήταν οι κετόνες, οι αλδεΐδες, τα καρβοξυλικά οξέα και η Δ-δεκαλακτόνη. Στα δείγματα γάλακτος ομογενοποιημένα με υπέρηχους οι συγκεντρώσεις των κετονών, των αλδεϊδών και των οξέων που ταυτοποιήθηκαν ήταν μεγαλύτερες, σε σχέση με τα δείγματα γάλακτος που είχαν ομογενοποιηθεί με πίεση. Ακόμη, οι μεγαλύτερες εντάσεις υπερήχων ομογενοποίησης οδήγησαν σε μεγαλύτερα εμβαδά αυτών των ενώσεων στα αντίστοιχα χρωματογραφήματα. Συγκριτικά, ωστόσο, με το γιαούρτι, στο γάλα οι συγκεντρώσεις της 2-βουτανόνης, της 2-3-βουταδιόνης, της επτανόνης και της εξανάλης ήταν μεγαλύτερες. Αντίθετα, η ακετόνη, η ακεταλδεΐδη, και τα καρβοξυλικά οξέα βρέθηκαν σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στο γιαούρτι. Τέλος, οι συγκεντρώσεις της εννεανόνης, ενδεκανόνης, της δικυκλο-[2.2.1]-επτανόνης και της δ-δεκαλακτόνης ήταν στα ίδια επίπεδα στα δείγματα γάλακτος και γιαουρτιού που είχαν υποστεί την ίδια επεξεργασία με υπέρηχους. Στα δείγματα γάλακτος δεν εντοπίστηκε εξανικό οξύ. Ενδιαφέρον παρουσίασαν οι αποκρίσεις του διμεθυλοσουλφιδίου, που ήταν μεγαλύτερες στα δείγματα γάλακτος που ήταν

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση

ομογενοποιημένα με πίεση και όχι στα ομογενοποιημένα με υπέρηχους, σε αντίθεση με τις αποκρίσεις στα δείγματα γιαουρτιού.

Η βιβλιογραφία συμφωνεί για τον μηχανισμό σχηματισμό των ενώσεων που προαναφέρθηκαν στο γάλα κατόπιν της επεξεργασίας με υπέρηχους και προτείνει τον σχηματισμό ελεύθερων ριζών λόγω της σπηλαιώσης, που συμβαίνει κατά τη διάδοση των υπερήχων στο γάλα, οι οποίοι επαγωγικά προκαλούν ανεπιθύμητες αντιδράσεις οξείδωσης και αναγωγής με τα λιπαρά, τις πρωτεΐνες και τα ελεύθερα αμινοξέα στο γάλα (Abrahamsen & Narvhus, 2022; D. Bermúdez-Aguirre et al., 2008; Pagnossa et al., 2020; Riener et al., 2009a). Πιο πρόσφατες μελέτες έχουν ταυτοποιήσει επιπλέον ενώσεις στο ομογενοποιημένο με υπέρηχους γάλα 2-ισοπροπυλο-τολουόλιο, γ-τερπένιο, 4-εννεανάλη, 2-μεθυλο-δεκανοϊκό οξύ, γαλλικό οξύ (3,4,5-τριυδροξυβενζοϊκό οξύ), γ-δωδεκαλακτόνη, 2-δεκαπεντανόνη και Z-7-δεκατετρανικό οξύ (Abrahamsen & Narvhus, 2022; Dhahir et al., 2020).

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση

Πίνακας 5.11 Εμβαδά κορυφών GC-MS αρωματικών μορίων γαλακτος ομογενοποιημένο με πίεση και υπέρηχους

Μόριο	Χρόνοι Έκλυσης (min)	Νωπό	10/5 MPa	15/5 MPa	20/5 MPa	25/5 MPa	30/5 MPa	150 W	262 W	375 W	562 W	750 W
Ακεταλδεΰδη	0,376	54055 ^a	57935 ^a	59834 ^a	57005 ^a	57066 ^a	58277 ^a	76766 ^b	85385 ^c	95245 ^d	104911 ^e	76179 ^b
1-Βουτεν-3-ένιο	0,41	666 ^b	765 ^b	720 ^b	545 ^b	429 ^{a,b}	245 ^a	18016 ^c	48626 ^d	68693 ^e	81634 ^f	82016 ^f
Ακετόνη	0,852	1584564 ^b	1657981 ^b	1846084 ^c	1331634 ^a	1646204 ^b	1639517 ^b	1693487 ^b	1802398 ^c	1939213	2289876 ^d	2660154 ^b
Διμεθυλοσουλφίδιο	0,88	49208 ^b	50520 ^b	58278 ^{b,c}	58011 ^{b,c}	63795 ^c	62904 ^c	22559 ^a	23969 ^a	27301 ^a	29248 ^a	29559 ^a
2-Βουτανόνη	1,112	210543 ^a	201236 ^a	205158 ^a	207674 ^a	246189 ^a	211612 ^a	384647 ^b	398533 ^b	447574 ^c	460907 ^c	481802 ^c
2,3-Βουταδιόνη	1,284	23265 ^a	24475 ^a	28715 ^a	26239 ^a	29646 ^a	25569 ^a	215872 ^b	457445 ^c	532513 ^d	565058 ^d	608193 ^e
1-Επτένιο	1,57	797025 ^e	800715 ^e	803603 ^e	723607 ^d	788558 ^{d,e}	817638	533763 ^c	346515 ^b	310027 ^b	261002 ^a	241837 ^a
Εξανάλη	1,733	76830 ^a	71896 ^a	75279 ^a	76567 ^a	76067 ^a	77906 ^a	187161 ^b	197950 ^b	385618 ^c	718952 ^e	741891 ^e
Βουτυρικό οξύ	3,03	832 ^a	627 ^a	488 ^a	605 ^a	564 ^a	554 ^a	1276 ^b	1810 ^b	2621 ^c	2721 ^c	2937 ^c
2-Επτανόνη	4,322	2373 ^b	2122 ^b	1638 ^a	1637 ^a	1474 ^a	2539 ^b	3093 ^b	8093 ^c	13337 ^d	16917 ^d	18591 ^{d,e}
2-Εννεανόνη	7,791	670 ^a	365 ^a	355 ^a	222 ^a	210 ^a	311 ^a	4106 ^b	5878 ^b	16692 ^c	20275 ^c	22242 ^c
Δικυκλο[2.2.1]-επτα-2όνη	7,944	681 ^a	706 ^a	526 ^a	314 ^a	393 ^a	698 ^a	2179 ^b	3579 ^b	7669 ^c	7645 ^c	8580 ^c
Οκτανικό Οξύ	8,773	2412 ^a	3738 ^b	3716 ^b	4859 ^b	3888 ^b	2767 ^a	8394 ^c	13675 ^d	19726 ^d	25012 ^e	30927 ^f
Δεκανοϊκό Οξύ	10,8	104 ^a	208 ^a	226 ^a	217 ^a	198 ^a	239 ^a	5019 ^b	6324 ^b	7297 ^{b,c}	8651 ^c	8899 ^c
2-Ενδεκανόνη	11,001	453 ^a	567 ^a	552 ^a	550 ^a	520 ^a	555 ^a	1472 ^b	2412 ^b	13095 ^c	19396 ^c	18823 ^c
Δ-Δεκαλακτόνη	11.963	208 ^a	723 ^a	712 ^a	685 ^a	833 ^a	428 ^a	1326 ^b	1104 ^b	3514 ^c	4161 ^d	6264 ^e
Δεκαεξανικό Οξύ	15,23	1513 ^a	3185 ^b	2900 ^b	3105 ^b	3118 ^b	2705 ^b	13276 ^c	14102 ^c	14819 ^c	15916 ^c	16192 ^c

^{a-f} Διαφορετικό γράμμα μεταξύ των στηλών ανά γραμμή υποδηλώνει διαφορές σύμφωνα με το Duncan's post hoc comparison test (P<0,05)

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση

5.3.3 Ποσότητα πρωτεϊνών-επίπεδο πρωτεϊνικής μετουσίωσης

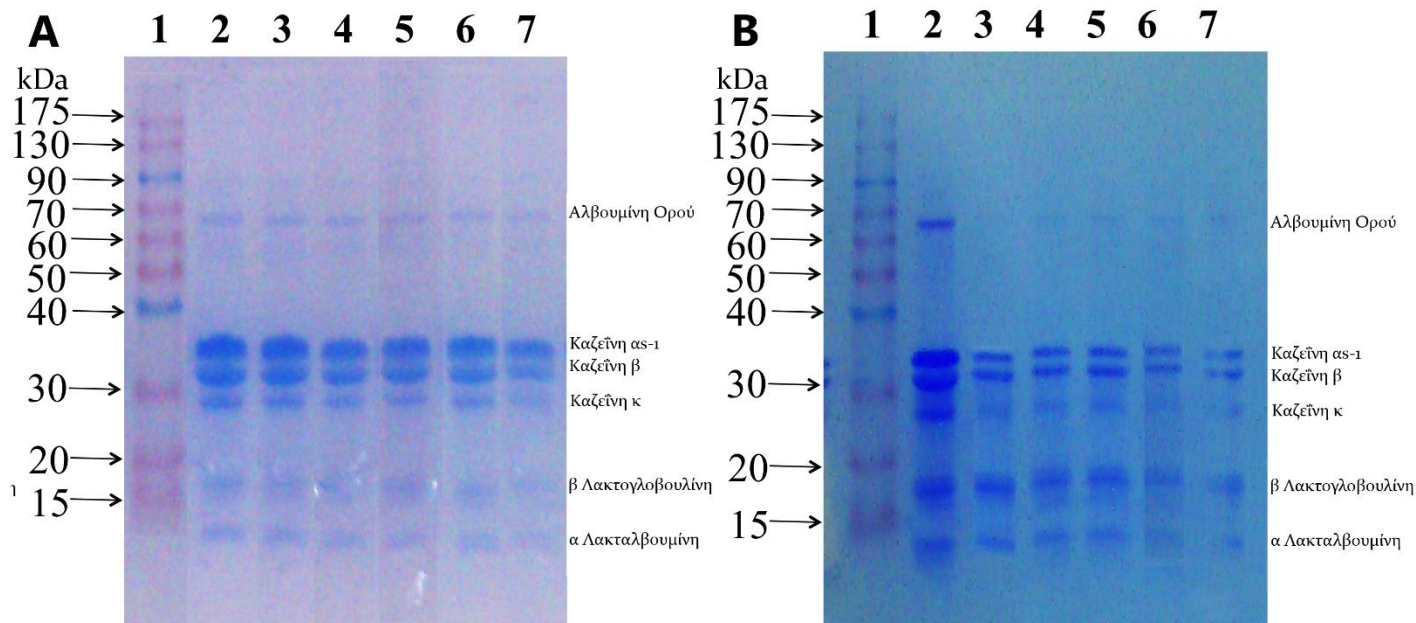
Κατόπιν της ομογενοποίησης, τα δείγματα γάλακτος μετρήθηκαν για την περιεκτικότητά τους σε πρωτεΐνες με τη μέθοδο Bradford (Bradford, 1976). Επίσης, οι πρωτεΐνες των δειγμάτων γάλακτος αναλύθηκαν με τη μέθοδο ηλεκτροφόρησης πηκτής δωδεκυλοθειικού νατρίου-πολυακρυλαμιδίου (SDS-PAGE) (Laemmli U.K., 1970). Στον Πίνακα 5.12 παρουσιάζεται η συγκέντρωση των μη μετουσιωμένων πρωτεϊνών των δειγμάτων γάλακτος που ομογενοποιήθηκαν με πίεση ή με υπέρηχους, και στην Εικόνα 5.10 παρουσιάζεται η πηκτική ηλεκτροφόρησης των πρωτεϊνών αυτών.

Μέθοδος Ομογενοποίησης		Συγκέντρωση πρωτεϊνών (mg/100 mL)	% Μετουσιωμένων πρωτεϊνών
Πίεση (Μpa)	Νωπό	36,36 ± 0,90 ^a	0
	10/5	36,20 ± 0,72 ^a	0,52
	15/5	36,18 ± 0,27 ^a	0,55
	20/5	35,91 ± 0,77 ^a	1,31
	25/5	35,58 ± 0,44 ^a	2,22
	30/5	35,36 ± 0,96 ^a	2,83
Υπέρηχοι (W)	150	33,97 ± 0,32 ^a	7,08
	262	32,74 ± 0,58 ^{a,b}	10,42
	375	21,69 ± 0,63 ^b	40,67
	562	16,35 ± 0,91 ^c	55,26
	750	11,41 ± 0,31 ^c	68,78

^{a-c} Διαφορετικό γράμμα μεταξύ των γραμμών υποδηλώνει διαφορές σύμφωνα με το Duncan's post hoc comparison test (P<0,05)

Η περιεκτικότητα του γάλακτος σε μη μετουσιωμένες πρωτεΐνες (Πίνακας 5.12), δεν επηρεάστηκε σημαντικά από την ομογενοποίηση με πίεση, ενώ η ομογενοποίηση με υπέρηχους την μείωσε σημαντικά. Ισχυρότερες εντάσεις υπερήχων ομογενοποίησης οδηγούν σε μεγαλύτερο ποσοστό μείωσης της περιεκτικότητας του γάλακτος σε μη μετουσιωμένες πρωτεΐνες. Οι συνθήκες υπερήχων που μελετήθηκαν μείωσαν το ποσοστό αυτό σε τιμές από 7,08% (που αντιστοιχεί σε υπέρηχους έντασης 150W) μέχρι και 68,78% (που αντιστοιχεί σε υπέρηχους έντασης 750 W), σε αντίθεση με την ομογενοποίηση με πίεση, όπου η μείωση του ποσοστού των μη μετουσιωμένων πρωτεϊνών του γάλακτος που παρατηρήθηκε ήταν μέχρι 2,83%.

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση



Εικόνα 5.10: Gel SDS-PAGE ηλεκτροφόρησης με ροζ μάρτυρα (**A1**, **B1**), για νωπό γάλα (**A2**, **B2**), και γάλα ομογενοποιημένο με πίεση 10/5 MPa (**A3**), 15/5 MPa (**A4**), 20/5 MPa (**A5**), 25/5 MPa (**A6**) και 30/5 MPa, καθώς και γάλα ομογενοποιημένο με υπέρηχους έντασης 150 W (**B3**), 262 W (**B4**), 375 W (**B5**), 562 W (**B6**) και 750 W (**B7**)

Στην ηλεκτροφόρηση φαίνονται οι κύριες ζώνες πρωτεϊνών του γάλακτος αυξανόμενου μοριακού βάρους, από κάτω προς τα πάνω, α-λακταλβουμίνη, β-λακτογλοβουλίνη, κ-, β- και αS1-καζεΐνη και αλβουμίνη ορού (Εικόνα 5.10). Στη δεύτερη στήλη σε κάθε ηλεκτροφόρηση (A2 και B2) που αντιστοιχεί στο μη επεξεργασμένο γάλα, όλες οι κύριες πρωτεϊνικές ζώνες ήταν πιο έντονες, μεγαλύτερες. Παρόμοια εικόνα είχαν όλες οι στήλες της ηλεκτροφόρησης A που αντιστοιχούν στις πρωτεΐνες των δειγμάτων γάλακτος που ήταν ομογενοποιημένο με πίεση. Η ηλεκτροφόρηση B που περιλαμβάνει τα δείγματα γάλακτος που ήταν ομογενοποιημένο με υπέρηχους, έχει διαφορετική εικόνα, καθώς οι ζώνες των πρωτεϊνών γίνονται όλο και πιο δυσδιάκριτες όσο αυξάνεται η ένταση των υπερήχων ομογενοποίησης. Ειδικότερα, η ζώνη που αντιστοιχεί στην αλβουμίνη ορού είναι ελάχιστα ορατή ακόμα και στη στήλη που αντιστοιχεί στο δείγμα που είχε ομογενοποιηθεί με υπέρηχους έντασης 150 W (B3). Η φαινομενική μείωση της συγκέντρωσης των πρωτεϊνών, αποδίδεται, από προηγούμενες μελέτες, στο γεγονός ότι οι πρωτεΐνες του γάλακτος, κατόπιν της επεξεργασίας του με υπέρηχους υψηλής έντασης, σχηματίζουν συσσωματώματα υψηλού μοριακού βάρους με άλλα πρωτεϊνικά μόρια ή ενσωματώνονται στις μεμβράνες των λιποσφαιρίων (Rahman & Lamsal, 2021; Shen et al., 2017; Shokri et al., 2022). Η βιβλιογραφία προτείνει διάφορους μηχανισμούς για τον σχηματισμό αυτών των συσσωματωμάτων μεταξύ πρωτεϊνικών μορίων ή μεταξύ

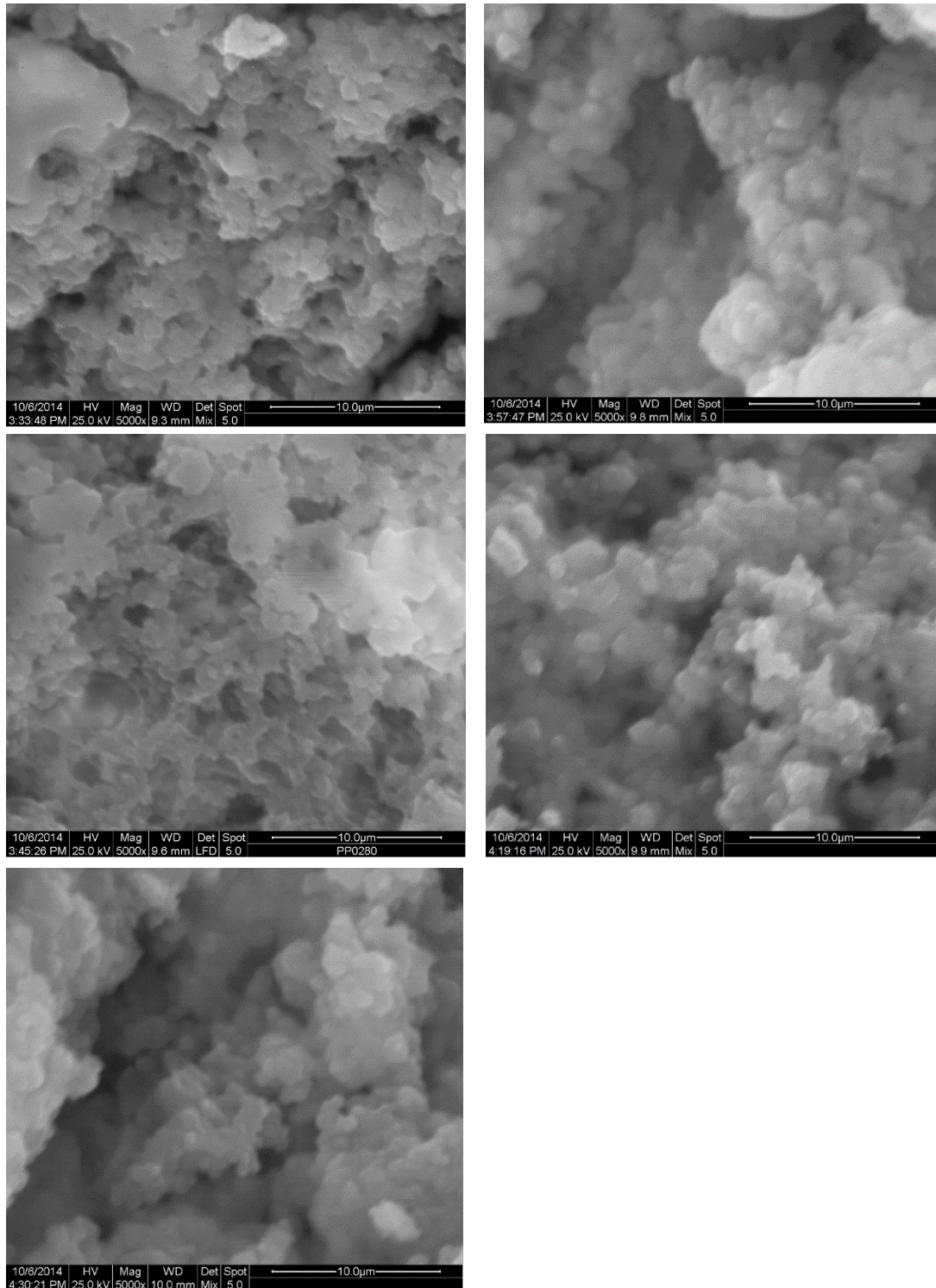
Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση

πρωτεϊνικών μορίων και λιποσφαιρίων. Κοινό για όλους τους μηχανισμούς είναι το ότι λόγω διατμητικών τάσεων, των φαινομένων σπηλαιώσης και της αύξησης της θερμοκρασίας που συμβαίνουν κατά την ομογενοποίηση με υπέρηχους υψηλής έντασης, προκαλείται μερική μετουσίωση των πρωτεϊνών ορού γάλακτος και ξεδιπλώνεται η πεπτιδική τους αλυσίδα (Gregersen et al., 2019b; N. H. A. Nguyen & Anema, 2010; Villamiel & De Jong, 2000). Στην περίπτωση συσσωματωμάτων μεταξύ ομοίων πρωτεϊνικών μορίων (πρωτεΐνη ορού με πρωτεΐνη ορού) ή με λιπαρά μόρια των λιποσφαιρίων, το ξεδίπλωμα των πεπτιδικών αλυσίδων αφήνει εκτεθειμένα τα υδρόφοβα μέρη των πρωτεϊνικών μορίων, με αποτέλεσμα να έλκονται μεταξύ τους και να σχηματίζουν συσσωματώματα στο υδατικό περιβάλλον του γάλακτος (Rahman & Lamsal, 2021; Shen et al., 2017). Για την περίπτωση συσσωματωμάτων πρωτεϊνών ορού και καζεϊνών ή/και καζεϊνικών μικυλλίων καθώς και με καζεΐνες στη μεμβράνη των λιποσφαιρίων, το ξεδίπλωμα των πεπτιδικών αλυσίδων αφήνει εκτεθειμένες θεικές ομάδες που βρίσκονταν στο εσωτερικό των πρωτεϊνικών μορίων, επιτρέποντας έτσι το σχηματισμό δισουλφιδικών δεσμών μεταξύ των μορίων (Gülseren et al., 2007; Shanmugam et al., 2012). Εν πάση περιπτώσει, αυτά τα αδιάλυτα συσσωματώματα υψηλού μοριακού βάρους διαχωρίστηκαν από τον όγκο του γάλακτος μετά τη φυγοκέντρηση και δεν ανιχνεύθηκαν στην ηλεκτροφόρηση, οδηγώντας σε ζώνες χαμηλότερης πυκνότητας και κατ' επέκταση σε χαμηλότερη απορρόφηση στις μετρήσεις ανάλυσης με τη μέθοδο Bradford. Η μερική μετουσίωση που υφίστανται οι πρωτεΐνες του γάλακτος κατά την ομογενοποίηση με υπέρηχους και, επαγωγικά, οι δεσμοί που αναπτύσσονται μεταξύ καζεϊνών και πρωτεϊνών ορού, εξηγούν εν μέρει την αύξηση στον ρυθμό μεταβολής του ιξώδους κατά την ζύμωση, το αυξημένο ιξώδες και την αύξηση στις τιμές των χαρακτηριστικών υφής του γιαουρτιού, που παρατηρήθηκαν στις προηγούμενες παραγράφους (Gregersen et al., 2019b).

5.3.3 Μικροδομή γιαουρτιού

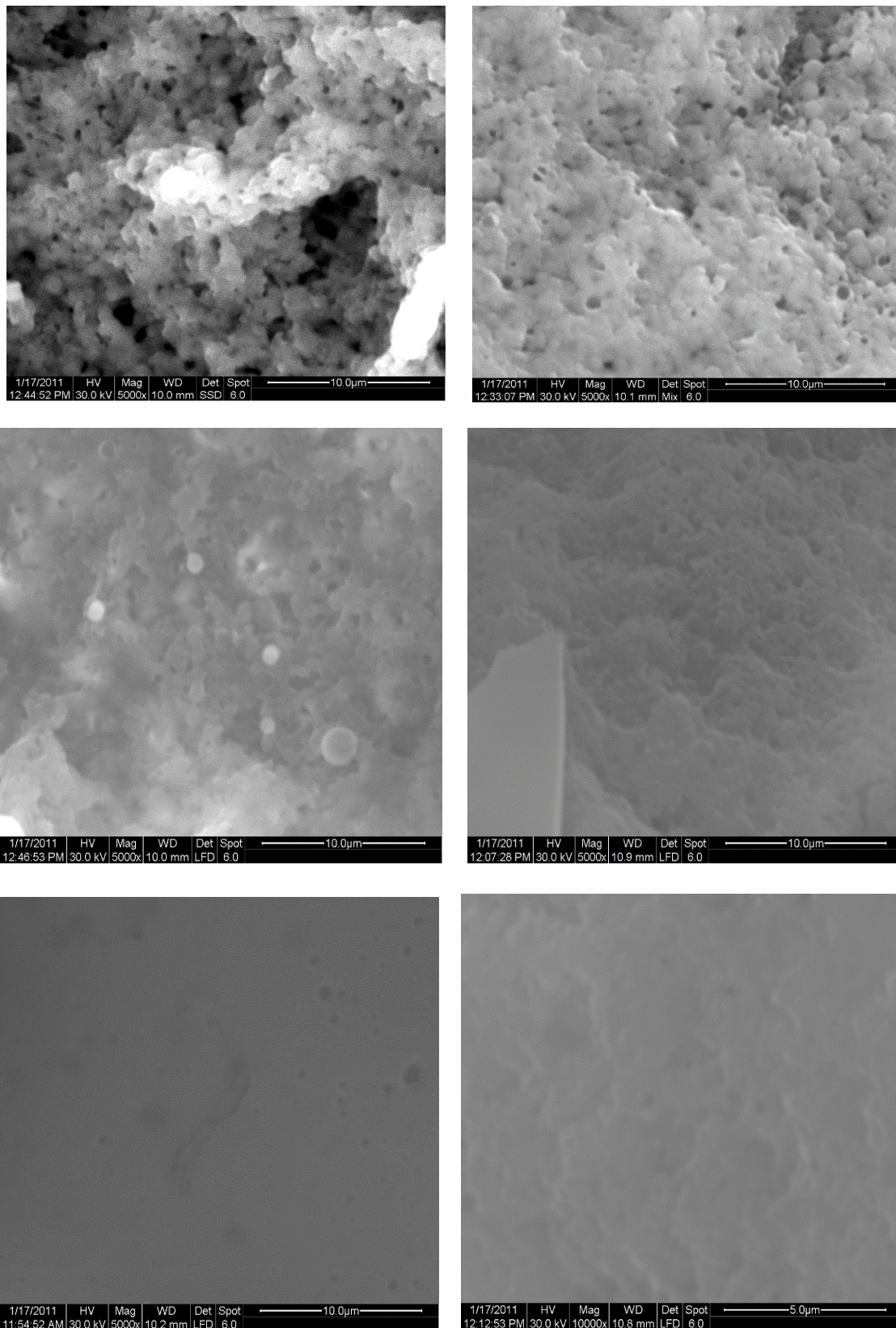
Για την ανάλυση της μικροδομής του γιαουρτιού χρησιμοποιήθηκαν δείγματα αποθηκευμένα στους 4°C. Τα δείγματα αρχικά επιχρυσώθηκαν και απεικονίστηκε η δομή του πλέγματός τους σε μικροσκόπιο σάρωσης ηλεκτρονίων. Στις Εικόνες 5.11 και 5.12 παρουσιάζονται οι μικροδομές των δειγμάτων γιαουρτιού από γάλα ομογενοποιημένο με πίεση και υπέρηχους αντίστοιχα σε μεγέθυνση 5000x και 10000x (Εικόνα 5.11 ΣΤ)

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση



Εικόνα 5.11: Μικροδομή γιαουρτιού από γάλα ομογενοποιημένο με πίεση. **A:** 10/5 MPa, **B:** 15/5 MPa, **Γ:** 20/5 MPa, **Δ:** 25/5 MPa, **E:** 30/5 MPa. Μεγέθυνση 5000x

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση



Εικόνα 5.12: Μικροδομή γιαουρτιού από γάλα ομογενοποιημένο με υπέρηχους. **A:** 150W, **B:** 262 W, **Γ:** 375 W, **Δ:** 562 W, **E:** 750 W. Μεγέθυνση 5000x **ΣΤ:** 750 W - Μεγέθυνση 10000x

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση

Όπως φαίνεται και από τις εικόνες, η μικροδομή του γιαουρτιού επηρεάζεται σημαντικά από τον τρόπο ομογενοποίησης. Στην Εικόνα 5.11, των ομογενοποιημένων δειγμάτων με πίεση, η εικόνα που παρουσιάζεται είναι κοινή και στις πέντε συνθήκες που μελετήθηκαν. Η μικροδομή των ομογενοποιημένων δειγμάτων με πίεση, προσομοιάζει με βαμβάκι, ή αφρό, ενώ και τα μικύλλια των καζεϊνών που σχηματίζουν το πλέγμα του γιαουρτιού είναι ορατά. Ακόμη, στις επιμέρους εικόνες της 5.11 φαίνονται κενά και ασυνέχειες στη δομή των δειγμάτων. Παρόμοιες εικόνες παρουσιάζονται και σε αντίστοιχες μελέτες γιαουρτιού που έχει παραχθεί με συμβατική ομογενοποίηση (Sandoval-Castilla et al., 2004; Wu et al., 2023) Αντίθετα, η μικροδομή των δειγμάτων γιαουρτιού από γάλα που ομογενοποιήθηκε με υπέρηχους, ειδικότερα με υψηλότερες εντάσεις, φαίνονται πιο ομοιογενείς πιθανόν λόγω των έντονων διατμητικών τάσεων και της σπηλαίωσης, η οποία οδηγεί σε μικρότερο μέγεθος μικυλλίων καζεΐνης (Riener et al., 2009b). Ωστόσο παρατηρώντας την Εικόνα 5.12 ΣΤ, που είναι σε μεγέθυνση 10000x, φαίνεται και πάλι η αφρώδης δομή. Μόνο στην Εικόνα 5.12 Α (που αντιστοιχεί σε γιαούρτι από γάλα που είχε ομογενοποιηθεί με υπέρηχους έντασης 150 W) υπάρχουν κενά στη δομή του δείγματος. Η ομοιόμορφη και συνεχής δομή χωρίς κενά στο πλέγμα του γιαουρτιού, μεταφράζεται σε υψηλότερες τιμές ιξώδους και χαρακτηριστικών υφής, γεγονός που επιβεβαιώνει τις τιμές των χαρακτηριστικών αυτών στα κεφάλαια 5.2.3 και 5.2.4 (Gilbert & Turgeon, 2021; Gregersen et al., 2021a).

Εν κατακλείδι, η ομογενοποίηση με υπέρηχους υψηλής έντασης επηρεάζει, εκτός από τα λιποσφαίρια, τις πρωτεΐνες, τα αρωματικά μόρια και τη μικροβιακή χλωρίδα του γάλακτος σε διαφορετικό βαθμό από την ομογενοποίηση με πίεση. Ειδικότερα, διαταράσσει τις μεμβράνες των μικροοργανισμών μειώνοντας τον πληθυσμό τους και ελευθερώνοντας στον όγκο του γάλακτος ένζυμα και προϊόντα του μεταβολισμού τους. Διευκολύνει έτσι τον εγκλιματισμό και την ανάπτυξη της επόμενης καλλιέργειας στο γάλα. Επιπροσθέτως, διαταράσσει τις δομές των πρωτεϊνών διευκολύνοντας τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ τους, αλλά και αυτών με τα λιποσφαίρια, με αποτέλεσμα να επηρεάζεται θετικά η πήξη του γάλακτος σε γιαούρτι και τα χαρακτηριστικά υφής του τελευταίου. Επιπλέον, απόδειξη αυτού αποτελεί και η μικροδομή του γιαουρτιού από γάλα που είχε ομογενοποιηθεί με υπέρηχους, που σε σύγκριση με την αντίστοιχη του γιαουρτιού από ομογενοποιημένο γάλα με πίεση, είναι πιο ομοιογενής και συνεχής.

5.4 Μελέτη επίδρασης συνθηκών ομογενοποίησης γάλακτος με υπέρηχους στις παραμέτρους της ζύμωσης και τα χαρακτηριστικά προβιοτικού γιαουρτιού

Εκτός από τη συμβατική οξυγαλακτική καλλιέργεια *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* και *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, για την παραγωγή ζυμωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων, χρησιμοποιούνται και καλλιέργειες προβιοτικών βακτηρίων. Από τα πιο συνήθη στελέχη που αξιοποιούνται στη βιομηχανία και είναι περισσότερο μελετημένα στη βιβλιογραφία είναι το *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis* (Lourens-Hattingh & Viljoen, 2001; Vasiljevic, 2021). Σε αυτή τη σειρά πειραμάτων έγινε σύγκριση της ζύμωσης από *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis* γάλακτος που είχε ομογενοποιηθεί με υπέρηχους, με γάλα που είχε ομογενοποιηθεί με πίεση, καθώς και των χαρακτηριστικών των παραγόμενων προβιοτικών γιαουρτιών.

5.4.1 Παρακολούθηση εξέλιξης οξυγαλακτικής ζύμωσης με προβιοτικό στέλεχος *Bifidobacterium animalis* sub. *Lactis* BB-12. Χρόνος ζύμωσης, εξέλιξη pH - ιξώδους

Όσον αφορά το χρόνο ζύμωσης, αυτός δεν επηρεάστηκε σημαντικά από τη μέθοδο και την ένταση ομογενοποίησης και όπως φαίνεται και στον Πίνακα 5.13 όλες οι συνθήκες που μελετήθηκαν με ομογενοποιημένο γάλα οδήγησαν σε παρόμοιους χρόνους ζύμωσης με εκείνον του μη επεξεργασμένου γάλακτος. Κατ' αναλογία με τη συμβατική καλλιέργεια (βλέπε κεφάλαιο 5.7), ο χρόνος ζύμωσης επηρεάζεται από τη θερμική κατεργασία του γάλακτος, τη θερμοκρασία ζύμωσης και την οξυγαλακτική καλλιέργεια (Corrieu & Béal, 2015; De Brabandere & De Baerdemaeker, 1999; Lourens-Hattingh & Viljoen, 2001; Pacheco et al., 2023).

Πίνακας 5.13: Χρόνος ζύμωσης από προβιοτική καλλιέργεια γάλακτος ομογενοποιημένου με πίεση και υπέρηχους		
Μέθοδος Ομογενοποίησης		Χρόνος Ζύμωσης (min)
	Νωπό	190 ± 10
Πίεση (Mpa)	10	210 ± 5
	15	210 ± 5
	20	200 ± 10
	25	205 ± 5
	30	200 ± 5
Ultrasound (W)	150	190 ± 10
	262	180 ± 10
	375	180 ± 15
	562	180 ± 5
	750	170 ± 10

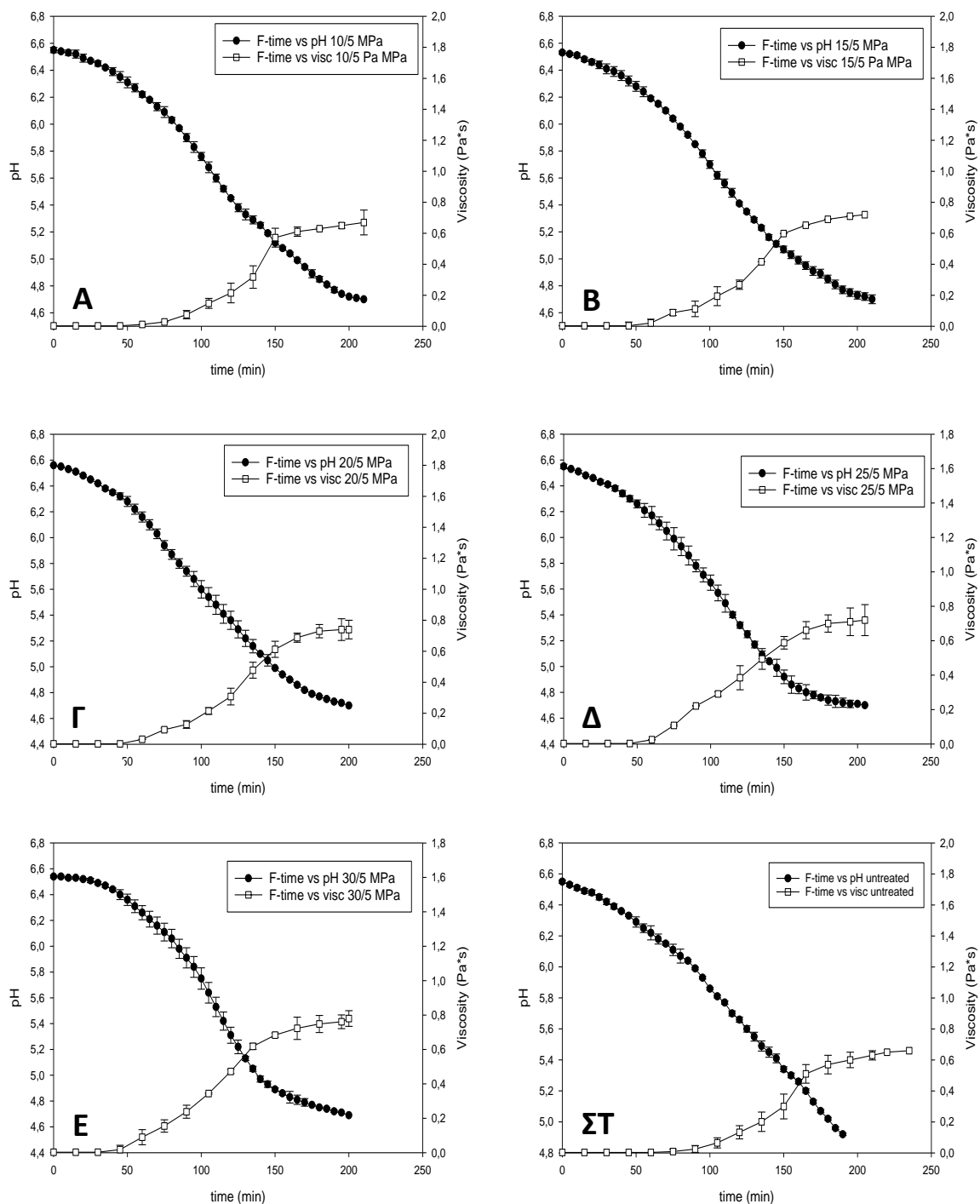
Για τα αποτελέσματα του πίνακα δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση

Στις εικόνες 5.13A και 5.13B παρουσιάζονται η εξέλιξη του pH και του ιξώδους αντίστοιχα κατά την ζύμωση από προβιοτική καλλιέργεια BB-12 ομογενοποιημένου με πίεση και υπέρηχους γάλακτος με τον χρόνο έως ότου το pH φτάσει στην τιμή $4,6 \pm 0,1$. Με αυτό το στέλεχος, όπως και με τη συμβατική καλλιέργεια, οι καμπύλες pH-χρόνου και ιξώδους-χρόνου ακολούθησαν τη σιγμοειδή πορεία και για τις δύο μεθόδους ομογενοποίησης. Το τροποποιημένο μοντέλο Gompertz των De Brabandere και De Baerdemaeker εφαρμόστηκε και εδώ με πολύ καλή προσαρμογή ($R^2 > 0,99$) (De Brabandere & De Baerdemaeker, 1999). Ωστόσο, στις καμπύλες που περιγράφουν το pH κατά την ζύμωση του ομογενοποιημένου γάλακτος με υπέρηχους η λανθάνουσα φάση ήταν πιο διακριτή (Εικόνα 5.9B), σε αντίθεση με τις αντίστοιχες καμπύλες του γάλακτος που ομογενοποιήθηκε με πίεση (Εικόνα 5.9A). Ακόμη, οι φάσεις ανάπτυξης των καμπυλών, στις περιπτώσεις των υπερήχων ήταν πιο απότομες σε σχέση με τις αντίστοιχες της πίεσης. Οι μορφές των καμπυλών περιγράφουν τη συμπεριφορά των βακτηρίων στο γάλα κατά την ζύμωση. Στην περίπτωση ομογενοποίησης με υπέρηχους υπάρχει διακριτή λανθάνουσα φάση, αλλά με το πέρας αυτής ο ρυθμός πτώσης pH είναι μεγαλύτερος, ενώ στην περίπτωση ομογενοποίησης με πίεση ο ρυθμός πτώσης του pH είναι τόσο μικρός που η διαφορά εκθετικής και λανθάνουσας φάσης δεν είναι εμφανώς διακριτή. Αυτό συμβαίνει, διότι η επεξεργασία με υπέρηχους έχει εν μέρει αντιμικροβιακή δράση, όπως έχει προαναφερθεί, και το γάλα, απαλλαγμένο από άλλους μικροοργανισμούς, είναι ιδανικό σύστημα για την ανάπτυξη της καλλιέργειας (Potoroko et al., 2018; Vasiljevic, 2021).

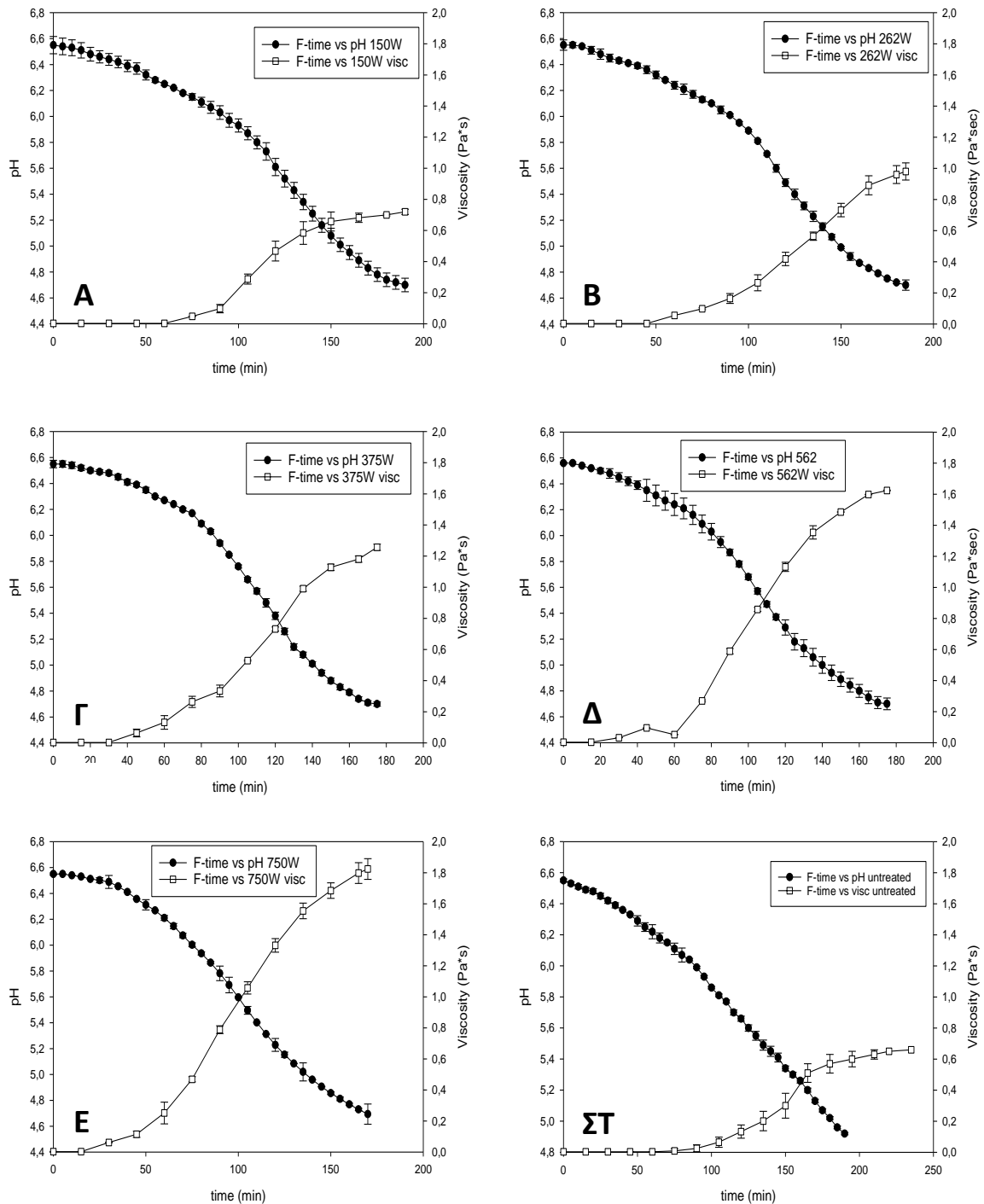
Όσον αφορά την εξέλιξη του ιξώδους, οι ομοιότητες με την εξέλιξη τους ιξώδους κατά την ζύμωση από συμβατική καλλιέργεια είναι εμφανείς. Και στην περίπτωση του BB-12 επαληθεύθηκε το σιγμοειδές τροποποιημένο μοντέλο Gompertz των Soukoulis et al. (2007) με πολύ καλή προσαρμογή ($R^2 > 0,97$), τόσο για τα δείγματα από γάλα ομογενοποιημένο με πίεση όσο και με υπέρηχους. Σε όλες τις καμπύλες είναι ευδιάκριτες οι τρεις φάσεις του σιγμοειδούς μοντέλου (λανθάνουσα φάση, φάση ανάπτυξης και φάση λήξης). Οι τελικές τιμές ιξώδους για δείγματα από γάλα που ομογενοποιήθηκε με υψηλής έντασης υπέρηχους (562 W και 750 W, Εικόνα 5.9Δ και 5.9Ε) ήταν πολύ μεγαλύτερες σε σύγκριση με τις τιμές ιξώδους για δείγματα από συμβατικά ομογενοποιημένο γάλα. Οι ομοιότητες στην εξέλιξη του ιξώδους με τη συμβατική καλλιέργεια οφείλονται στο γεγονός ότι το ιξώδες εξαρτάται κυρίως από τις πρωτεΐνες και τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ τους κατά το σχηματισμό του πηγματος.

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση



Εικόνα 5.13A: Καμπύλες μεταβολής pH-χρόνου και ιξώδους χρόνου κατά την ζύμωση από προβιοτική καλλιέργεια δειγμάτων γάλακτος ομογενοποιημένων με πίεση **A:** 10/5 MPa, **B:** 15/5 MPa, **Γ:** 20/5 MPa, **Δ:** 25/5 MPa, **E:** 30/5 MPa, **ΣΤ:** νωπό γάλα

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση



Εικόνα 5.13B: Καμπύλες μεταβολής pH-χρόνου και ιξώδους-χρόνου κατά την ζύμωση από προβιοτική καλλιέργεια δειγμάτων γάλακτος ομογενοποιημένων με υπέρηχους έντασης **A:** 150 W, **B:** 262 W, **Γ:** 375 W, **Δ:** 562 W, **E:** 750 W, **ΣΤ:** νωπού γάλακτος

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση

5.4.2 Προσδιορισμός κινητικής ζύμωσης

Όπως και στην περίπτωση της συμβατικής καλλιέργειας, για την εξέλιξη του pH κατά την ζύμωση του γάλακτος από το στέλεχος *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis* προσαρμόστηκε το τροποποιημένο μοντέλο Gompertz των De Brabandere and De Baerdemaeker (1999), (Κεφάλαιο 4.4.2.3 Εξίσωση 1) και για την εξέλιξη του ιώδους το τροποποιημένο μοντέλο Gompertz από τους Soukoulis, Panagiotidis, Koureli & Tzia (1999) (Κεφάλαιο 4.4.2.3, Εξίσωση 2).

Στον Πίνακα 5.13 παρουσιάζονται οι τιμές του μέγιστου ρυθμού μείωσης pH (μ_{pH}), της διάρκειας λανθάνουσας φάσης pH (λ_{pH}), του μέγιστου ρυθμού αύξησης ιώδους (μ_{visc}) και της διάρκειας λανθάνουσας φάσης ιώδους (λ_{visc}) όπως υπολογίστηκαν με την προσαρμογή στα τροποποιημένα μοντέλα του Gompertz που περιγράφουν την ζύμωση.

Πίνακας 5.14 : Παράμετροι κινητικής ζύμωσης από προβιοτική καλλιέργεια γάλακτος ομογενοποιημένου με πίεση και υπέρηχους					
Μέθοδος Ομογενοποίησης		μ_{pH}	λ_{pH} (min)	μ_{visc}	λ_{visc} (min)
Μη ομογενοποιημένο		7,64e-3 ± 3,14e-4 ^a	75 ± 12,4 ^d	3,85e-3 ± 1,32e-4 ^a	138 ± 15,9 ^e
Πίεση (MPa)	10/5	8,92e-3 ± 7,18e-4 ^b	66 ± 4,17 ^c	4,27e-3 ± 5,49e-4 ^b	82 ± 14,81 ^d
	15/5	9,68e-3 ± 6,27e-3 ^b	69 ± 5,15 ^c	4,59e-3 ± 5,17e-4 ^b	78 ± 12,91 ^d
	20/5	9,41e-3 ± 3,67e-4 ^b	62 ± 6,48 ^c	4,88e-3 ± 3,15e-4 ^b	69 ± 6,29 ^c
	25/5	9,57e-3 ± 8,39e-4 ^b	59 ± 7,22 ^c	4,81e-3 ± 6,19e-4 ^b	65 ± 3,24 ^c
	30/5	9,82e-3 ± 5,37e-4 ^b	56 ± 5,38 ^c	5,06e-3 ± 7,34e-3 ^b	58 ± 7,62 ^b
Υπέρηχοι (W)	150	10,19e-3 ± 4,4e-4 ^c	50 ± 7,62 ^b	4,48e-3 ± 2,17e-4 ^b	92 ± 18,44 ^d
	262	10,53e-3 ± 7,43e-4 ^c	67 ± 14,1 ^c	6,07e-3 ± 2,63e-4 ^c	67 ± 12,5 ^c
	375	10,62e-3 ± 5,37e-4 ^c	42 ± 8,32 ^{a,b}	9,37e-3 ± 5,22e-4 ^c	56 ± 17,28 ^b
	562	11,57e-3 ± 6,25e-4 ^c	38 ± 5,81 ^a	14,34e-3 ± 8,42e-3 ^e	49 ± 7,14 ^{a,b}
	750	12,18e-3 ± 5,82e-4 ^c	31 ± 6,12 ^a	19,35e-3 ± 9,35e-4 ^f	33 ± 6,18 ^a

^{a-c} Διαφορετικό γράμμα μεταξύ των γραμμών σε κάθε στήλη υποδηλώνει διαφορές σύμφωνα με το Duncan's post hoc comparison test (P<0,05)

Ο μέγιστος ρυθμός μείωσης του pH (μ_{pH}) επηρεάστηκε σημαντικά από τη μέθοδο ομογενοποίησης, με τη μέθοδο με πίεση να οδηγεί σε μικρότερους ρυθμούς σε σχέση με εκείνη με υπέρηχους, ενώ η διάρκεια της λανθάνουσας φάσης (λ_{pH}) φάνηκε ότι επηρεάζεται και από τη μέθοδο και από την ένταση ομογενοποίησης του γάλακτος. Οι λ_{pH} διέφεραν σημαντικά μεταξύ των δύο μεθόδων, ενώ των δειγμάτων πίεσης δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ τους. Αντίθετα, οι λ_{pH} που αντιστοιχούν στα δείγματα από ομογενοποιημένο με υπέρηχους γάλα διέφεραν σημαντικά μεταξύ τους και των δειγμάτων από γάλα με υπέρηχους 562 W και 750 W ήταν σημαντικά υψηλότερες. Κάτι τέτοιο σημαίνει πως η

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση

αύξηση της έντασης των υπερήχων μειώνει τον χρόνο που χρειάζεται η προβιοτική καλλιέργεια, ώστε να εγκλιματιστεί στο γάλα και να αρχίσει να αναπτύσσεται ταχέως, ενώ οι διαφορετικές πιέσεις δεν επιδρούν στον χρόνο αυτό. Κατ' αναλογία με τη συμβατική καλλιέργεια, η διαφορά που συνέβη στη λ_{pH} σύμφωνα με τη μέθοδο ομογενοποίησης μπορεί να αποδοθεί στην εν μέρει αντιμικροβιακή δράση των υπερήχων στο γάλα (Cameron et al., 2009), εξαλείφοντας έτσι άλλους, πιθανόν ανταγωνιστικούς μικροοργανισμούς, και επιτρέποντας στην καλλιέργεια να περάσει στη φάση ανάπτυξης γρηγορότερα.

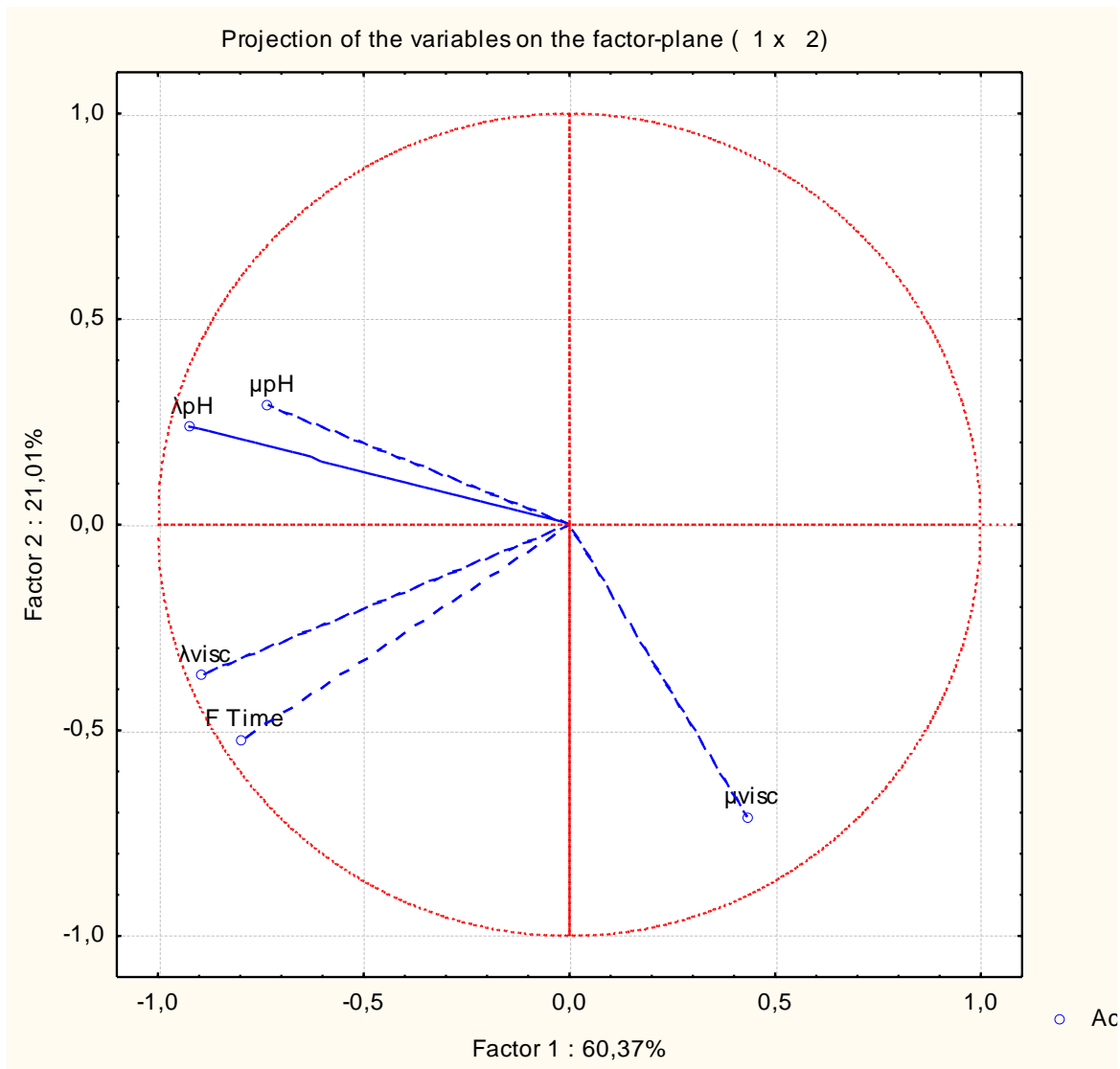
Όσον αφορά τις κινητικές παραμέτρους του ιξώδους, ο μέγιστος ρυθμός αύξησης αυτού (μ_{visc}) επηρεάστηκε σημαντικά από την ένταση ($P < 0,05$) και από τη μέθοδο ομογενοποίησης. Σημαντική διαφορά είχαν οι μ_{visc} των δειγμάτων από ομογενοποιημένο με υπέρηχους γάλα από τους μ_{visc} των δειγμάτων γιαουρτιού από ομογενοποιημένο με πίεση γάλα και συγκεκριμένα των υπερήχων ήταν σημαντικά μεγαλύτεροι. Ακόμη, διαφορές υπήρχαν και ανάμεσα στους μ_{visc} των δειγμάτων γιαουρτιού από ομογενοποιημένο με υπέρηχους γάλα, με εκείνους των δειγμάτων 562 W και 750 W να είναι σημαντικά μεγαλύτεροι, ακολουθούμενοι από εκείνους των δειγμάτων από ομογενοποιημένο γάλα με υπέρηχους έντασης 375 W και 262 W, και σημαντικά μικρότεροι εκείνων από ομογενοποιημένο γάλα με υπέρηχους έντασης 150 W. Τέλος, η διάρκεια της λανθάνουσας φάσης του ιξώδους (λ_{visc}) επηρεάστηκε σημαντικά και από τη μέθοδο ($P < 0,05$) και από την ένταση ομογενοποίησης. Η ομαδοποίηση βάσει της λ_{visc} διαφοροποιεί το δείγμα γιαουρτιού από γάλα ομογενοποιημένο με υπέρηχους έντασης 750 W (με τη μικρότερη τιμή λ_{visc}) σε μία ομάδα και τα δείγματα από γάλα ομογενοποιημένο με υπέρηχους έντασης 562 W και 375 W σε δεύτερη ομάδα. Το δείγμα γιαουρτιού από γάλα ομογενοποιημένο με υπέρηχους έντασης 262 W ομαδοποιήθηκε με τα δείγματα από ομογενοποιημένο γάλα στις υψηλότερες συνθήκες πίεσης (20, 25 και 30 MPa) και το δείγμα από ομογενοποιημένο γάλα με υπέρηχους έντασης 150W με τα δείγματα από ομογενοποιημένο γάλα με πιέσεις (10 και 15 MPa) που είχαν και τις μεγαλύτερες λ_{visc} . Όπως αναφέρθηκε και στην παράγραφο 5.5 δεδομένης της μετουσίωσης που υφίστανται οι πρωτεΐνες του γάλακτος κατά την ομογενοποίηση με υπέρηχους υψηλής έντασης, εξηγούνται οι διαφορές στις κινητικές παραμέτρους της εξέλιξης του ιξώδους. Αφού η μετουσίωση διευκολύνει τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των πρωτεϊνών του γάλακτος και επιτρέπει στις πρωτεΐνες ορού γάλακτος, που έχουν συνδεθεί με καζεϊνικά μικύλλια κατά την ομογενοποίηση, να λειτουργήσουν ως γέφυρες μεταξύ των μικυλλίων, το πλέγμα καζεΐνης σχηματίζεται πιο εύκολα, με ισχυρότερους δεσμούς και η πήξη διευκολύνεται (Horne, 1999; Morand et al., 2011). Όπως και με τη συμβατική καλλιέργεια η λανθάνουσα φάση του ιξώδους των δειγμάτων γιαουρτιού από ομογενοποιημένο γάλα με υπέρηχους τελείωσε στην τιμή pH 5,1, η οποία αντιστοιχεί στο ισοηλεκτρικό σημείο της β-λακτογλοβουλίνης, οπότε η πήξη άρχισε στο ισοηλεκτρικό σημείο της β-λακτογλοβουλίνης, γεγονός που επιβεβαιώνει, ότι οι πρωτεΐνες ορού συμμετέχουν και

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση

ενισχύουν το πήγμα του γιαουρτιού ανεξάρτητα από το είδος του μικροοργανισμού που προκαλεί την οξίνιση και την πήξη (Q. Li & Zhao, 2019; T. M. P. Nguyen et al., 2009; Ye et al., 2004).

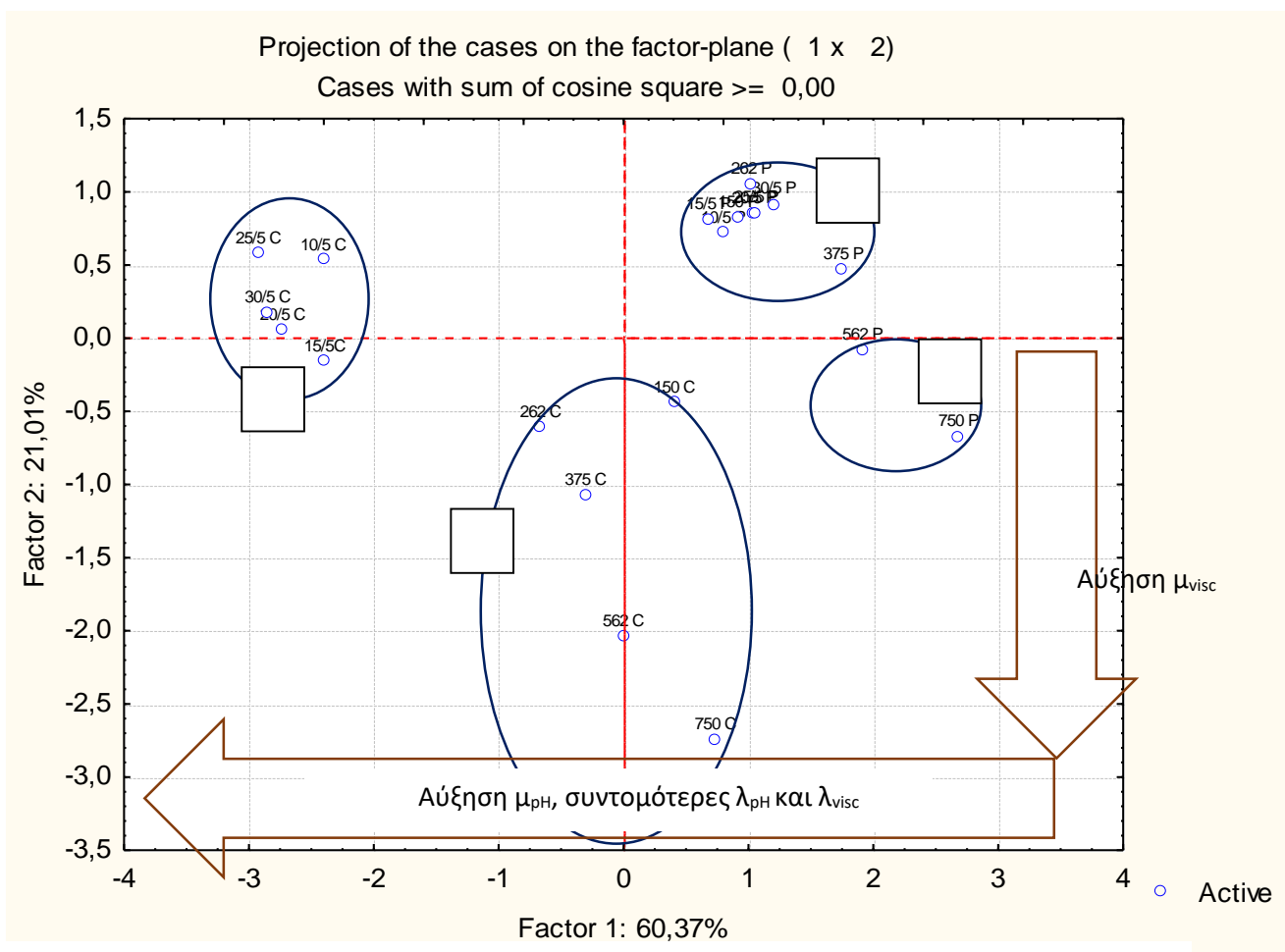
Συγκρίνοντας τις δύο μεθόδους ομογενοποίησης του γάλακτος που μελετήθηκαν στην παραγωγή γιαουρτιού με τις δύο διαφορετικές καλλιέργειες (συμβατική και προβιοτική) μέσω ανάλυσης κύριων συνιστωσών (PCA) ως προς τις παραμέτρους της ζύμωσης (μ_{pH} , λ_{pH} , μ_{visc} , λ_{visc} , χρόνος ζύμωσης) σχηματίστηκαν τα γραφήματα της Εικόνας 5.14. Από την ανάλυση προέκυψαν δύο κύριες συνιστώσες, με την πρώτη κύρια συνιστώσα να συνεισφέρει στην ολική διακύμανση του πειράματος κατά 60,37% και τη δεύτερη κατά 21,01%. Οι παράμετροι λ_{pH} , λ_{visc} είχαν αρνητική συνεισφορά στην πρώτη κύρια συνιστώσα. Από το διάγραμμα των δειγμάτων (Εικόνα 5.14B) προκύπτει η ομαδοποίηση των δειγμάτων και συγκεκριμένα, στην ομάδα 1 βρίσκονται τα δείγματα γιαουρτιού από γάλα ομογενοποιημένο με πίεση με συμβατική καλλιέργεια και χαρακτηρίζονται από μεγάλες τιμές μ_{pH} και λ_{pH} . Στην ομάδα 2 αλλά με απόσταση μεταξύ τους, άρα με μεγάλη διασπορά, βρίσκονται τα δείγματα συμβατικής καλλιέργειας από γάλα ομογενοποιημένο με υπέρηχους. Τα δείγματα της ομάδας 2 είχαν σχετικά υψηλές τιμές μ_{visc} και ενδιάμεσες τιμές στις υπόλοιπες εξεταζόμενες παραμέτρους. Τα δείγματα προβιοτικής καλλιέργειας από γάλα ομογενοποιημένο με πίεση και τα δείγματα προβιοτικής καλλιέργειας από γάλα ομογενοποιημένο με υπέρηχους χαμηλής-μέσης έντασης (150, 262 και 375 W) σχημάτισαν την ομάδα 3 με χαμηλές τιμές λ_{visc} και χρόνους ζύμωσης. Τέλος, στην ομάδα 4 βρίσκονται τα δείγματα προβιοτικής καλλιέργειας από γάλα ομογενοποιημένο με υπέρηχους υψηλής έντασης (562 και 750 W), τα οποία είχαν χαμηλότερες τιμές μ_{pH} , λ_{pH} και λ_{visc} και χρόνους ζύμωσης και υψηλότερες τιμές μ_{visc} . Να σημειωθεί ότι η διασπορά της ομάδας 2 οφείλεται στη σημαντική επίδραση της έντασης των υπερήχων ομογενοποίησης στον μ_{visc} (αυξανομένης της έντασης των υπερήχων αυξάνεται και ο μ_{visc}). Συμπερασματικά, και οι τρεις μεταβλητές, η μέθοδος, η ένταση ομογενοποίησης και το είδος της καλλιέργειας επιδρούν στην εξέλιξη της ζύμωσης. Η μέθοδος και το είδος της καλλιέργειας επιδρούν κυρίως στη μεταβολή του pH, με τους υπέρηχους και την προβιοτική καλλιέργεια να αυξάνουν τον μ_{pH} και να μειώνουν τη λ_{pH} σε σχέση με τη συμβατική καλλιέργεια και την ομογενοποίηση με πίεση. Η μεταβολή του ιξώδους δέχεται σημαντική επίδραση από τη μέθοδο και την ένταση ομογενοποίησης με τον μ_{visc} να αυξάνεται και τη λ_{visc} να μειώνεται όσο αυξάνεται η ένταση ομογενοποίησης και σε μεγαλύτερο βαθμό για τη μέθοδο ομογενοποίησης με υπέρηχους. Ακόμη, η διαφορετική καλλιέργεια επηρέασε και την εξέλιξη του ιξώδους, με την προβιοτική καλλιέργεια να το αυξάνει με μεγαλύτερο μ_{visc} και συντομότερη λ_{visc} σε σχέση με τη συμβατική.

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση



Εικόνα 5.14A: Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών κινητικών παραμέτρων ζύμωσης γάλακτος ομογενοποιημένο με πίεση και με υπέρηχους από συμβατική και προβιοτική καλλιέργειας

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση

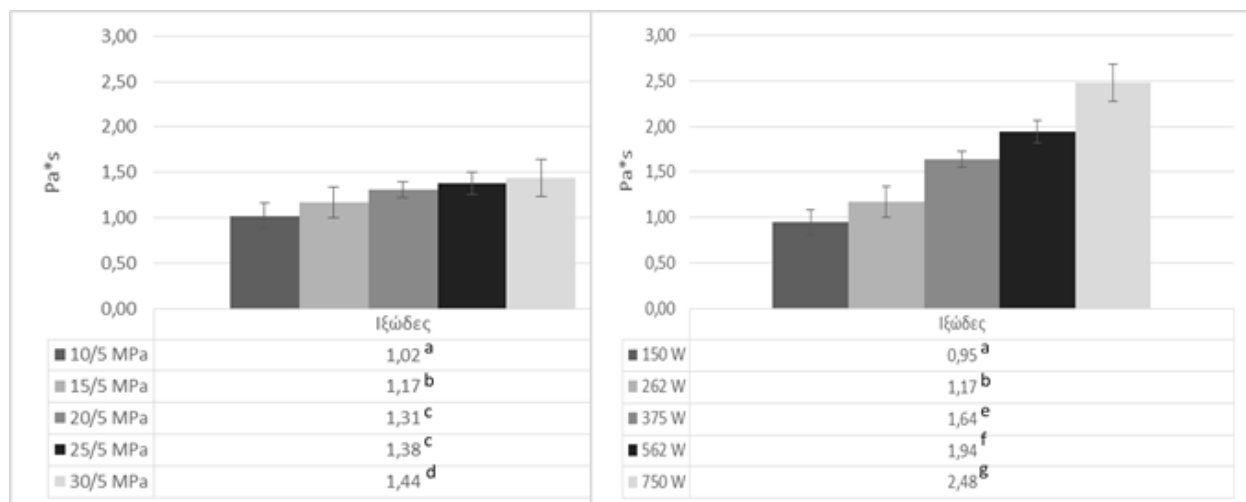


Εικόνα 5.14B: Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών δειγμάτων γάλακτος (score plot) ομογενοποιημένο με πίεση και με υπέρηχους ζυμωμένο από συμβατική και προβιοτική καλλιέργεια

5.4.3 Ιξώδες παραγόμενου προβιοτικού γιαουρτιού

Ομοίως με τα δείγματα γιαουρτιού με συμβατική καλλιέργεια, τα δείγματα γιαουρτιού με προβιοτική καλλιέργεια, μετά την ζύμωση, αποθηκεύτηκαν σε θερμοκρασία 4 °C και μετρήθηκε το ιξώδες τους με την ίδια μέθοδο (βλέπε Κεφ. 4.4.3.1). Τα αποτελέσματα των μετρήσεων παρουσιάζονται στην Εικόνα 5.15. Όπως φαίνεται και από το διάγραμμα, το ιξώδες του προβιοτικού γιαουρτιού ακολούθησε το ίδιο μοτίβο με εκείνο του συμβατικού (βλέπε Εικόνα 5.4) και επηρεάστηκε τόσο από τη μέθοδο ομογενοποίησης όσο και από την ένταση αυτής. Συγκεκριμένα, οι υψηλές εντάσεις υπερήχων (562 και 750 W) οδήγησαν σε υψηλές τιμές ιξώδους και παρόμοιες με τα αντίστοιχα δείγματα με συμβατική καλλιέργεια. Κατ' αντιστοιχία, η ομογενοποίηση του γάλακτος με υπέρηχους έντασης 375 W και με πίεση 30/5 MPa οδήγησε σε γιαούρτι με υψηλότερο από το μέσο ιξώδες (περίπου 1,5 Pa*s).

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση



^{a-g} Διαφορετικό γράμμα μεταξύ των γραμμών υποδηλώνει διαφορές σύμφωνα με το Duncan's post hoc comparison test

Εικόνα 5.15: Τιμές ιζώδους τελικού προβιοτικού γιαουρτιού από γάλα ομογενοποιημένο με πίεση ή υπέρηχους

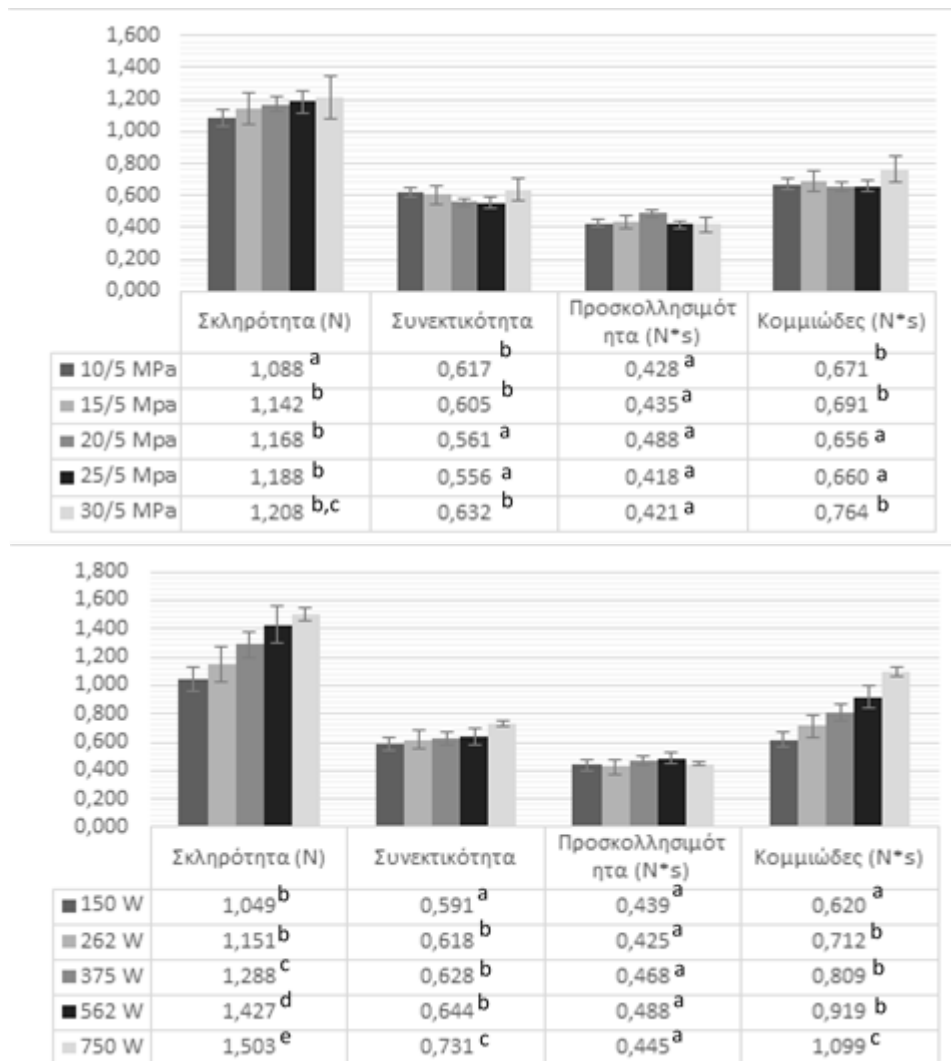
Τέλος, οι χαμηλότερες τιμές ιζώδους παρατηρήθηκαν στα συμβατικά δείγματα από ομογενοποιημένο γάλα με πιέσεις στα 10/5 - 20/5 MPa και στα δείγματα από γάλα ομογενοποιημένο με υπέρηχους χαμηλής έντασης. Ομοίως και με τα δείγματα της συμβατικής καλλιέργειας, η πιο έντονη ομογενοποίηση, είτε με υπέρηχους είτε με πίεση, αυξάνει το ιζώδες του παραγόμενου γιαουρτιού. Ωστόσο, στην περίπτωση των υπερήχων η αύξηση είναι πολύ μεγαλύτερη και οφείλεται στη μετουσίωση των πρωτεϊνών του γάλακτος που συμβαίνει κατά την ομογενοποίηση, ενώ το είδος της καλλιέργειας δεν επηρέασε σημαντικά τις τιμές ιζώδους του γιαουρτιού. Οι τροποποιήσεις στα μόρια των καζεϊνών και των πρωτεϊνών ορού που προκαλούνται από την αύξηση της θερμοκρασίας και τη σπηλαιώση κατά τη διάρκεια της ομογενοποίησης με υπέρηχους, ενισχύουν τους δεσμούς των πρωτεϊνών κατά τον σχηματισμό του πηγματος, με αποτέλεσμα το τελευταίο να είναι ισχυρότερο και να έχει μεγαλύτερο ιζώδες και στην περίπτωση του προβιοτικού γιαουρτιού (Ichimura et al., 2022; Körzendörfer et al., 2019).

5.4.4 Χαρακτηριστικά υφής παραγόμενου προβιοτικού γιαουρτιού

Τα δείγματα γιαουρτιού με προβιοτική καλλιέργεια, όπως πραγματοποιήθηκε και στα αντίστοιχα δείγματα γιαουρτιού με συμβατική καλλιέργεια, κατόπιν της ζύμωσης αποθηκεύτηκαν σε θερμοκρασία 4 °C, και μετρήθηκε η υφή τους με την ίδια μέθοδο (βλέπε Κεφ. 4.4.3.2). Τα χαρακτηριστικά υφής που μελετήθηκαν και στο προβιοτικό γιαούρτι, ήταν η σκληρότητα, η συνεκτικότητα, η προσκολλησιμότητα και το κομμώδες.

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση

Στην Εικόνα 5.16 παρουσιάζονται τα χαρακτηριστικά υφής των δειγμάτων προβιοτικού γιαουρτιού από γάλα που είχε ομογενοποιηθεί με πίεση ή υπέρηχους.



^{a-e} Διαφορετικό γράμμα μεταξύ των γραμμών υποδηλώνει διαφορές σύμφωνα με το Duncan's post hoc comparison test ($P < 0,05$)

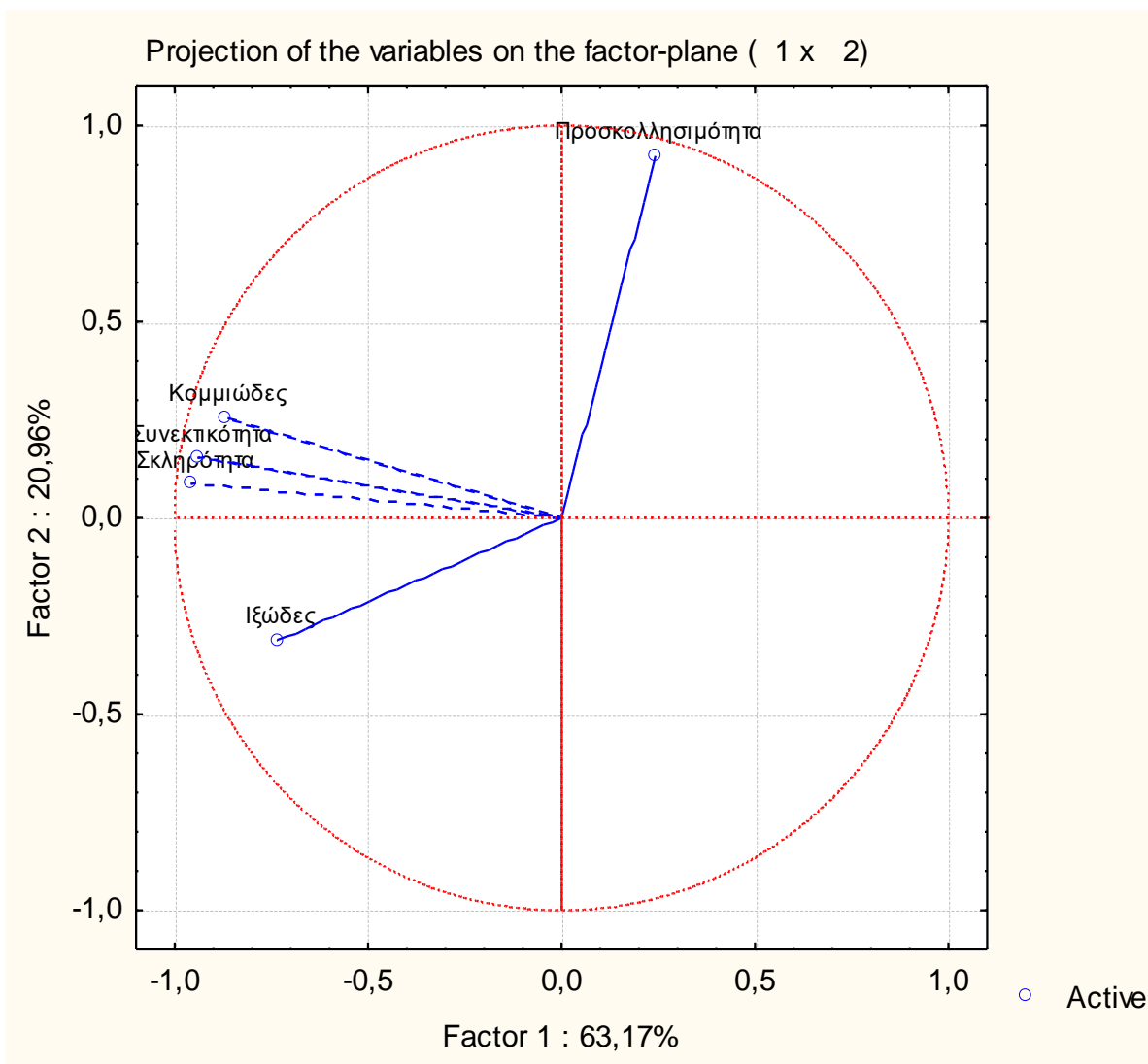
Εικόνα 5.16: Χαρακτηριστικά υφής προβιοτικού γιαουρτιού από γάλα ομογενοποιημένο με πίεση ή υπέρηχους

Τα χαρακτηριστικά υφής των δειγμάτων προβιοτικού γιαουρτιού παρουσίασαν παρόμοια απόκριση με του συμβατικού και στις δύο μεθόδους και τις διάφορες εντάσεις ομογενοποίησης του γάλακτος. Η σκληρότητα, και το κομμιώδες του γιαουρτιού επηρεάστηκαν σημαντικά ($P < 0,05$) από τη μέθοδο και την ένταση ομογενοποίησης, με τις υψηλότερες τιμές να αντιστοιχούν σε ομογενοποίηση με υπέρηχους έντασης 562 και 750 W. Τα δείγματα από γάλα που είχε ομογενοποιηθεί με υπέρηχους

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση

έντασης 375 W ή πίεση 30/5 MPa είχαν παρόμοιες τιμές σκληρότητας και κομμιώδους, μικρότερες, όμως, από εκείνες των δειγμάτων ομογενοποιημένων με υπέρηχους 750 και 562 W. Τις μικρότερες τιμές σε αυτές τις παραμέτρους παρουσίασαν τα δείγματα με συμβατική ομογενοποίηση (10/5 - 20/5 MPa) ή ομογενοποίηση με χαμηλές εντάσεις υπερήχων (262 και 150 W). Η προσκολλησιμότητα δεν επηρεάστηκε ούτε από τη μέθοδο, ούτε από την ένταση ομογενοποίησης.

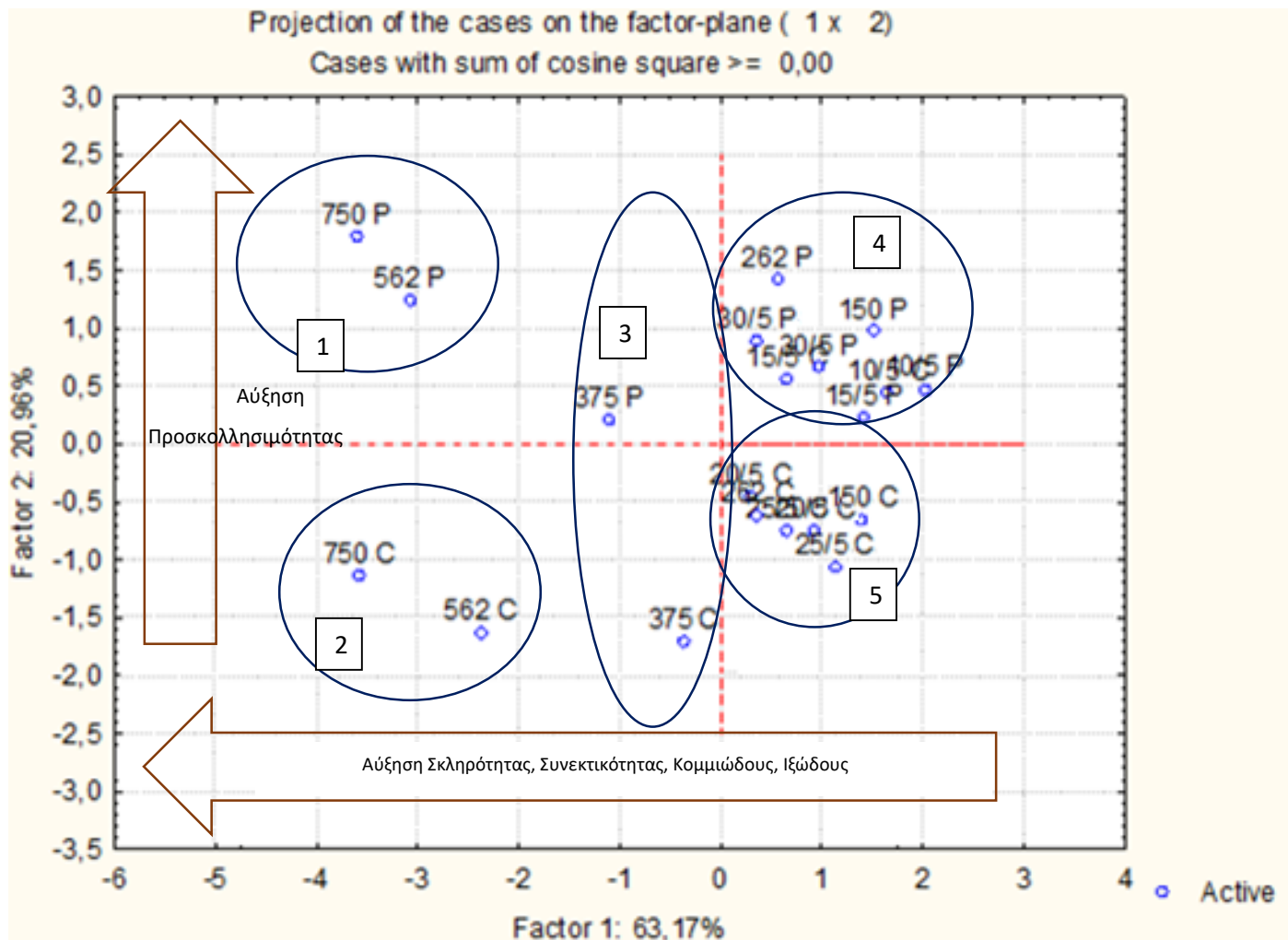
Εφαρμόζοντας ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA) στα χαρακτηριστικά υφής και στο τελικό ιξώδες του παραγόμενου γιαουρτιού με συμβατική και προβιοτική καλλιέργεια σχηματίστηκαν τα γραφήματα της Εικόνας 5.17.



Εικόνα 5.17Α: Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών χαρακτηριστικών υφής προβιοτικού και συμβατικού γιαουρτιού από γάλα ομογενοποιημένο με πίεση και με υπέρηχους

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση

Εφαρμόζοντας ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA) στα χαρακτηριστικά υφής και στο τελικό ιξώδες του παραγόμενου γιαουρτιού με συμβατική και προβιοτική καλλιέργεια σχηματίστηκαν τα διαγράμματα (Εικόνα 5.17). Από την ανάλυση αυτή προέκυψαν δύο κύριες συνιστώσες, με την πρώτη να συνεισφέρει κατά 63,17% και τη δεύτερη κατά 20,96% στη συνολική διακύμανση του πειράματος. Στην πρώτη κύρια συνιστώσα αρνητική συνεισφορά έχουν η σκληρότητα, η συνεκτικότητα και το κομμώδες, ενώ στη δεύτερη κύρια συνιστώσα, θετική συνεισφορά έχει η προσκολλησιμότητα (Εικόνα 5.17A).



Εικόνα 5.17B: Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών δειγμάτων προβιοτικού και συμβατικού γιαουρτιού (score plot) από γάλα ομογενοποιημένο με πίεση και με υπέρηχους

Στο διάγραμμα των δειγμάτων (Εικόνα 5.17B) φαίνεται η ομαδοποίηση των δειγμάτων σε πέντε ομάδες. Στην ομάδα 1 βρίσκονται τα δείγματα προβιοτικού γιαουρτιού από γάλα ομογενοποιημένο με υπέρηχους έντασης 750 και 562 W, δείγματα με αυξημένη σκληρότητα, συνεκτική υφή και υψηλή προσκολλησιμότητα. Στην ομάδα 2 δείγματα συμβατικού γιαουρτιού από γάλα ομογενοποιημένο με

Κεφάλαιο 5 Αποτελέσματα και Συζήτηση

υπέρηχους έντασης 750 και 562 W που χαρακτηρίζονται από υψηλό ιξώδες, αυξημένη σκληρότητα, συνεκτική υφή, αλλά χαμηλή προσκολλησιμότητα. Η ομάδα 3 περιλαμβάνει τα δείγματα συμβατικού και προβιοτικού γιαουρτιού από γάλα ομογενοποιημένο με υπέρηχους έντασης 375 W, των οποίων τα χαρακτηριστικά υφής είχαν ενδιάμεσες τιμές. Η ομάδα 4, με τα δείγματα προβιοτικού γιαουρτιού από γάλα ομογενοποιημένο με πίεση και υπέρηχους χαμηλής έντασης (150 W και 262 W) που είχαν χαμηλές τιμές σκληρότητας, συνεκτικότητας, κομμώδους και ιξώδους, και υψηλές τιμές προσκολλησιμότητας (δείγματα). Τέλος, η ομάδα 5 με τα δείγματα συμβατικού γιαουρτιού από γάλα ομογενοποιημένο με πίεση και υπέρηχους χαμηλής έντασης (150 W και 262 W) με χαμηλές τιμές σκληρότητας, συνεκτικότητας και προσκολλησιμότητας.

Συμπερασματικά, μελετώντας την ομογενοποίηση με υπέρηχους σε σχέση με την ομογενοποίηση με πίεση σε σύστημα προβιοτικού γιαουρτιού, προκύπτει ότι οι υπέρηχοι μπορούν να εφαρμοστούν με θετική επίδραση στις κινητικές παραμέτρους της ζύμωσης, αλλά και στα χαρακτηριστικά υφής του παραγόμενου προβιοτικού γιαουρτιού. Ειδικότερα, η ομογενοποίηση με υπέρηχους αύξησε τους μέγιστους ρυθμούς πτώσης του pH και αύξησης του ιξώδους, μείωσε τις λανθάνουσες φάσεις του pH και του ιξώδους και αύξησε το τελικό ιξώδες, και τα χαρακτηριστικά υφής (σκληρότητα, συνεκτικότητα, κομμώδους) των γιαουρτιών, αλλά δεν επηρέασε την προσκολλησιμότητά τους. Τέλος, αντιπαραθέτοντας τα αποτελέσματα των χαρακτηριστικών που μελετήθηκαν με τα αντίστοιχα του συμβατικού γιαουρτιού, εντοπίστηκαν διαφορές στα χαρακτηριστικά αυτά καθαυτά, λόγω των διαφορετικών ειδών μικροοργανισμών που δρουν, αλλά το μοτίβο απόκρισης της διεργασίας στις διαφορετικές συνθήκες ομογενοποίησης ήταν ανάλογο.

Κεφάλαιο 6 Συμπεράσματα και Προτάσεις

Στην παρούσα διδακτορική διατριβή εφαρμόστηκε η καινοτομική μέθοδος υπερήχων υψηλής έντασης σε αγελαδινό πλήρες γάλα με σκοπό την ομογενοποίησή του και μελετήθηκε, επιπλέον, η επίδραση που έχει η μέθοδος αυτή στο γάλα αυτό καθαυτό, όπως και στη μετέπειτα διεργασία παραγωγής γιαουρτιού και στο τελικό προϊόν αυτής με συμβατική καλλιέργεια *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* και *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* και με προβιοτική καλλιέργεια *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis*. Στα πλαίσια αξιολόγησης της μεθόδου ομογενοποίησης με υπέρηχους, συγκρίθηκαν τα αποτελέσματά της με τη θερμοθετημένη, από τη βιβλιογραφία και τη βιομηχανική πρακτική, μέθοδο ομογενοποίησης με πίεση. Εν προκειμένω, σε δείγματα αγελαδινού γάλακτος, τυποποιημένα σε 3,5% περιεκτικότητας λιπαρών, εφαρμόστηκαν υπέρηχοι συχνότητας 20kHz και εντάσεις 150, 262, 375, 562 και 750 W για 10 min. Για τη σύγκριση με τη μέθοδο ομογενοποίησης με πίεση, αντίστοιχα δείγματα γάλακτος ομογενοποιήθηκαν με πίεση 2 σταδίων 10/5, 15/5, 20/5, 25/5 και 30/5 MPa.

Το ομογενοποιητικό αποτέλεσμα και από τις δύο μεθόδους ήταν ικανοποιητικό και συγκρίσιμο μεταξύ τους, με τα λιποσφαίρια του γάλακτος να μειώνονται σε μέγεθος αλλά και να παρουσιάζουν πιο ομοιογενή κατανομή σε σχέση με το ανεπεξέργαστο γάλα. Ωστόσο, μεταξύ των δύο μεθόδων ομογενοποίησης προέκυψαν διαφορές. Η κατανομή των λιποσφαιρίων στο γάλα που είχε ομογενοποιηθεί με υπέρηχους είχε μεγαλύτερη ομοιομορφία ακόμη και σε χαμηλές εντάσεις, ενώ αντίθετα, στο γάλα που ομογενοποιήθηκε με πίεση (σε όλες τις συνθήκες που μελετήθηκαν), υπήρχαν λιποσφαίρια που ξεχώριζαν λόγω μεγέθους. Μείωση μεγέθους λιποσφαιρίων παρατηρήθηκε και στις δύο μεθόδους. Μεγαλύτερες εντάσεις υπερήχων και υψηλότερες πιέσεις μείωναν περισσότερο το μέγεθος των λιποσφαιρίων. Μέση διάμετρος των λιποσφαιρίων $\delta \leq 1 \mu\text{m}$, παρατηρήθηκε σε εντάσεις υπερήχων μεγαλύτερες από 300 W και σε πιέσεις μεγαλύτερες από 15/5 MPa. Βάσει της μέσης διαμέτρου των λιποσφαιρίων, ισοδύναμες θα μπορούσαν να θεωρηθούν οι συνθήκες ομογενοποίησης: 10/5 MPa με 262 W, 20/5 MPa με 375W, 20/5, 25/5 και 30/5 MPa με 562 W και 750 W. Οι μικρότερες τιμές μέσης διαμέτρου που επετεύχθησαν ήταν 0,62 μm που αντιστοιχούσε στο δείγμα γάλακτος ομογενοποιημένο με πίεση 30/5 MPa και 0,61 στο δείγμα που είχε ομογενοποιηθεί με υπέρηχους έντασης 750 W.

Άμεση συνέπεια της μείωσης του μεγέθους των λιποσφαιρίων αποτελεί η μειωμένη τάση τους προς συσσωμάτωση, με αποτέλεσμα το γάλα να διατηρείται σε μία φάση για περισσότερο χρόνο. Η σταθερότητα του γάλακτος παρουσίασε σημαντική διαφορά ανάλογα με τη μέθοδο ομογενοποίησης. Το

Κεφάλαιο 6 Συμπεράσματα και Προτάσεις

γάλα που είχε ομογενοποιηθεί με πίεση, παρέμεινε σε μία φάση για περίπου 6-8 ημέρες, για όλες τις συνθήκες πίεσης που μελετήθηκαν. Αντίθετα το γάλα που είχε ομογενοποιηθεί με υπέρηχους παρέμεινε για διαφορετικό χρόνο σταθερό, ανάλογα με την ένταση των υπερήχων που εφαρμόστηκαν, ελάχιστο για 2 ημέρες σε συνθήκες ομογενοποίησης 150 W και μέγιστο 14 ημέρες σε συνθήκες ομογενοποίησης 750 W. Συμπερασματικά, η ομογενοποίηση με πίεση αυξάνει το χρόνο σταθερότητας του γάλακτος ως γαλακτώματος μέχρι ενός ορίου, ενώ οι υπέρηχοι μεγάλης έντασης μπορούν να αυξήσουν το χρόνο αυτό μέχρι και 2 εβδομάδες.

Η παρεμπόδιση της συσσωμάτωσης των λιποσφαιρίων και η σταθεροποίηση του γάλακτος ως γαλακτώματος επιβεβαιώθηκε και από την τιμή του ζ-δυναμικού του ομογενοποιημένου γάλακτος. Σε όλες τις περιπτώσεις, ανεξάρτητα από τη μέθοδο ομογενοποίησης, το ζ-δυναμικό παρουσίασε αύξηση ανάλογη με την ένταση ομογενοποίησης. Σε γάλα που είχε ομογενοποιηθεί με υπέρηχους, η αύξηση του ζ-δυναμικού ήταν μεγαλύτερη σε σύγκριση με την αντίστοιχη για το ομογενοποιημένο με πίεση γάλα. Οι συνθήκες πίεσης που εφαρμόστηκαν οδήγησαν σε μέγιστη αύξηση του ζ-δυναμικού του γάλακτος μέχρι 4mV, ενώ οι υπέρηχοι μέχρι 7 mV.

Η ομογενοποίηση με υπέρηχους οδήγησε σε αρωματικό προφίλ του γάλακτος διαφορετικό από ότι η ομογενοποίηση με πίεση. Στα δείγματα ομογενοποιημένου γάλακτος ταυτοποιήθηκαν οι εξής ενώσεις: ακεταλδεΐδη εξανάλη, ακετόνη, 2-βουτανόνη, 3-βουταδιόνη, 2-επτανόνη, δικυκλο[2.2.1]-επτα-2όνη, 2-εννεανόνη 2-ενδεκανόνη, βουτυρικό οξύ, οκτανικό οξύ, δεκανοϊκό οξύ, δεκαεξανικό οξύ διμεθυλοσουλφίδιο, 1-βουτεν-3-ένιο, 2,1-επτένιο και Δ-δεκαλακτόνη. Στα δείγματα γάλακτος που είχαν ομογενοποιηθεί με πίεση οι συγκεντρώσεις των αλδεϋδών, κετονών και καρβοξυλικών οξέων ήταν μεγαλύτερες από τις αντίστοιχες σε γάλα που είχαν ομογενοποιηθεί με πίεση. Η ακεταλδεΐδη η εξανάλη, η βουτανόνη και το βουτυρικό οξύ είναι μόρια που υπάρχουν στο γάλα και επιδρούν στο άρωμά του, αλλά η ομογενοποίηση με υπέρηχους αύξησε την συγκέντρωσή τους, ενώ οι κετόνες που αναφέρθηκαν είναι προϊόντα οξειδωτικών αντιδράσεων που προέκυψαν κατά την ομογενοποίηση με υπέρηχους, εξού και η αυξημένη ποσότητά τους σε αυτό σε σχέση με το γάλα που είχε ομογενοποιηθεί με πίεση.

Εκτός από τα λιποσφαίρια και τις καρβοξυλικές ενώσεις, η ομογενοποίηση με υπέρηχους είχε επίδραση και στις πρωτεΐνες του γάλακτος προκαλώντας μερική μετουσίωσή τους που αυξάνεται αυξανόμενης της έντασης των εφαρμοζόμενων υπερήχων. Ένταση υπερήχων 150 W οδήγησε σε ποσοστό μετουσιωμένων πρωτεϊνών 7,08%, ένταση 262 W σε ποσοστό 10,42%, ένταση 375 W σε ποσοστό 40,67%, ένταση 562 W σε ποσοστό 55,26% και ένταση 750 W σε ποσοστό μετουσιωμένων πρωτεϊνών 68,78%. Αντίθετα, η ομογενοποίηση με πίεση μετουσίωσε ελάχιστο ποσοστό των πρωτεϊνών (<3%) για όλες τις συνθήκες που μελετήθηκαν. Η μετουσίωση των πρωτεϊνών του γάλακτος που προέκυψε λόγω των

Κεφάλαιο 6 Συμπεράσματα και Προτάσεις

υπερήχων είναι μέγιστης σημασίας, διότι επηρεάζει πολλά χαρακτηριστικά του γάλακτος και την ικανότητα του σχηματισμού πήγματος στην παραγωγή γιαουρτιού. Επιτρέπει στα μόρια των πρωτεϊνών να αλληλοεπιδρούν με άλλα μόρια που βρίσκονται στο γάλα, είτε άλλα πρωτεϊνικά μόρια είτε τα λιποσφαίρια και να δημιουργούν δεσμούς μεταξύ τους. Έτσι, ενσωματώνονται περισσότερες πρωτεΐνες στις μεμβράνες των λιποσφαιρίων, και τα τελευταία συσσωματώνονται δυσκολότερα, όπως φάνηκε από την αυξημένη σταθερότητα του γάλακτος με τη μορφή γαλακτώματος, αλλά και από την αύξηση του ζ-δυναμικού. Ακόμη, ευνοείται η ομοιογενής κατανομή τους, όπως φάνηκε στην απεικόνισή τους στο οπτικό μικροσκόπιο. Επίσης, οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των μερικώς μετουσιωμένων πρωτεϊνών έχουν σημαντική επίδραση στον σχηματισμό του πήγματος του γιαουρτιού, αλλά και στα χαρακτηριστικά υφής του. Αφενός οι καζεΐνες μπορούν να σχηματίσουν ευκολότερα δεσμούς μεταξύ τους και να δημιουργήσουν ένα ισχυρότερο πλέγμα που μεταφράζεται σε σκληρότερο πήγμα και αυξημένο ιξώδες στο παραγόμενο γιαούρτι, αφετέρου οι δεσμοί που σχηματίζουν οι καζεΐνες και οι πρωτεΐνες ορού επιτρέπει στις τελευταίες να συμμετέχουν στο πρωτεϊνικό πλέγμα του γιαουρτιού, διευκολύνοντας τον σχηματισμό του και να αυξάνουν επιπλέον το ιξώδες και τα χαρακτηριστικά υφής (σκληρότητα - συνεκτικότητα) του παραγόμενου γιαουρτιού. Η μετουσίωση που προκαλούν οι υπέρηχοι στις πρωτεΐνες του γάλακτος είναι, ίσως, η σημαντικότερη επίδρασή τους καθώς επηρεάζει και τα χαρακτηριστικά του γάλακτος και του παραγόμενου γιαουρτιού.

Σημαντική ήταν η επίδραση των υπερήχων στο μικροβιακό περιεχόμενο του γάλακτος, μειώνοντας σημαντικά την OMX και την περιεκτικότητα σε γαλακτικά βακτήρια, σε αντίθεση με την ομογενοποίηση με πίεση που δεν επηρέασε το μικροβιακό φορτίο. Καθώς αυξήθηκε η ένταση των υπερήχων, αυξήθηκε και το ποσοστό μείωσης της OMX και των γαλακτικών βακτηρίων. Πιο συγκεκριμένα, η OMX του γάλακτος μειώθηκε κατά 69% και ο πληθυσμός των γαλακτικών βακτηρίων στο γάλα κατά 73%, κατόπιν επεξεργασίας με υπέρηχους έντασης 750W. Οι υπέρηχοι προκαλούν διαταραχές στις κυτταρικές μεμβράνες των μικροοργανισμών, μειώνοντας τον πληθυσμό τους και απελευθερώνοντας στο γάλα βιοδραστικά μόρια που βρίσκονται στο εσωτερικό των κυττάρων τους. Η μείωση του μικροβιακού πληθυσμού και η παρουσία ελεύθερων μεταβολιτών στο γάλα διευκολύνει τον εγκλιματισμό και την ανάπτυξη της οξυγαλακτικής καλλιέργειας κατόπιν του εμβολιασμού.

Με δεδομένη την ομογενοποιητική ικανότητα των υπερήχων και την επίδρασή τους στα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του γάλακτος, οι υπέρηχοι ως μέθοδος ομογενοποίησης εντάχθηκαν στην παραγωγική διαδικασία του γιαουρτιού από συμβατική καλλιέργεια *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* και *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus*, και συγκρίθηκε η επίδρασή τους στην ζύμωση (εξέλιξη pH και ιξώδους) και στα χαρακτηριστικά του τελικού προϊόντος (ιξώδες, υφή, αρωματικό

Κεφάλαιο 6 Συμπεράσματα και Προτάσεις

προφίλ και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά) με τη συμβατική ζύμωση, η οποία περιλαμβάνει ομογενοποίηση του γάλακτος με πίεση.

Ο πραγματικός χρόνος ζύμωσης, ήταν πιο σύντομος για τα δείγματα γάλακτος ομογενοποιημένα με υπέρηχους, χωρίς όμως σημαντική διαφορά από τα δείγματα γάλακτος ομογενοποιημένα με πίεση. Οι επιμέρους παράμετροι που περιγράφουν την ζύμωση επηρεάστηκαν σημαντικά και παρουσίασαν ενδιαφέρουσα απόκριση στις διαφορετικές συνθήκες ομογενοποίησης. Ο μέγιστος ρυθμός μείωσης του pH (μ_{pH}) διέφερε σημαντικά ($P < 0,05$) στις δύο μεθόδους ομογενοποίησης, αλλά δεν επηρεάστηκε από την ένταση της διεργασίας. Μέσος όρος για τη μέθοδο πίεσης του μ_{pH} ήταν $1,50 \cdot 10^{-2} \pm 1,05 \cdot 10^{-3} \text{ min}^{-1}$ ενώ για τη μέθοδο υπερήχων μ_{pH} $8,6 \cdot 10^{-3} \pm 5,5 \cdot 10^{-4} \text{ min}^{-1}$. Η διάρκεια της λανθάνουσας φάσης pH (λ_{pH}) των δειγμάτων γάλακτος ομογενοποιημένων με υπέρηχους ήταν σημαντικά ($P < 0,05$) συντομότερη από την λ_{pH} των δειγμάτων γάλακτος ομογενοποιημένων με πίεση. Μεταξύ των δειγμάτων γάλακτος ομογενοποιημένων με πίεση, οι τιμές της λ_{pH} είχαν μέσο όρο $120 \pm 5 \text{ min}$ χωρίς να διαφέρουν σημαντικά ανάλογα με την πίεση ομογενοποίησης. Αντίθετα, για τα δείγματα από γάλα ομογενοποιημένο με υπέρηχους, η λ_{pH} μειωνόταν με την αύξηση της έντασης των υπερήχων ομογενοποίησης, με ελάχιστη τιμή λ_{pH} (24min) να αντιστοιχεί στο δείγμα γάλακτος ομογενοποιημένο με υπέρηχους έντασης 750W. Οι διαφορές στους μ_{pH} και στις λ_{pH} , μεταξύ των δύο μεθόδων ομογενοποίησης, αποδίδεται στην επίδραση των υπερήχων στις κυτταρικές μεμβράνες της ΟΜΧ του γάλακτος. Η μείωση του μικροβιακού πληθυσμού του γάλακτος και η απελευθέρωση μεταβολιτών από τα κύτταρα των μικροοργανισμών, διευκολύνει την ανάπτυξη της οξυγαλακτικής καλλιέργειας μετά τον εμβολιασμό, με αποτέλεσμα να επιταχύνεται η δράση της τελευταίας και να μειώνει το pH με μεγαλύτερο ρυθμό.

Στην εξέλιξη του ιξώδους η διάρκεια της λανθάνουσας φάσης λ_{visc} επηρεάστηκε σημαντικά μόνο από τη μέθοδο ομογενοποίησης ($P < 0,05$) έχοντας τιμές $130 \pm 17 \text{ min}$ για το γάλα επεξεργασμένο με πίεση και $124 \pm 12 \text{ min}$ για το γάλα με επεξεργασία υπερήχων. Ωστόσο, ο μέγιστος ρυθμός αύξησης μ_{visc} επηρεάστηκε σημαντικά μόνο από την ένταση ομογενοποίησης, με τις τιμές του, και στις δύο μεθόδους, να αυξάνονται όσο αυξανόταν η ένταση ομογενοποίησης είτε με τη μέθοδο με πίεση είτε με υπέρηχους.

Το ιξώδες του παραγόμενου γιαουρτιού επηρεάστηκε από τη μέθοδο και από την ένταση ομογενοποίησης παρουσιάζοντας υψηλότερες τιμές ανάλογα με την ένταση της ομογενοποίησης. Παρόλα αυτά, κάνοντας τη σύγκριση, το ιξώδες των δειγμάτων γιαουρτιού από γάλα ομογενοποιημένο με υπέρηχους ήταν πολύ υψηλότερο. Συγκεκριμένα, τα γιαούρτια από γάλα ομογενοποιημένο με πίεση είχαν ιξώδες από $1,29 \text{ Pa} \cdot \text{s}$ (ομογενοποίηση σε 10/5 MPa) έως $1,55 \text{ Pa} \cdot \text{s}$ (ομογενοποίηση σε 30/5 MPa),

Κεφάλαιο 6 Συμπεράσματα και Προτάσεις

ενώ από γάλα ομογενοποιημένο με υπέρηχους τα γιαούρτια είχαν ιξώδες από 1,09 Pa*s (ομογενοποίηση σε 150 W) έως 2,65 Pa*s (ομογενοποίηση σε 750 W). Παρόμοια απόκριση στην εναλλαγή συνθήκων ομογενοποίησης με το ιξώδες επέδειξαν και η σκληρότητα και το κομμώδες των γιαουρτιών από τα χαρακτηριστικά υφής. Όσο πιο έντονες ήταν οι συνθήκες ομογενοποίησης τόσο υψηλότερες ήταν και οι τιμές τους, αλλά στα γιαούρτια από γάλα ομογενοποιημένο με υπέρηχους οι τιμές ήταν υψηλότερες. Οι τιμές σκληρότητας των γιαουρτιών κυμάνθηκαν από 0,964 N έως 1,153 N (ομογενοποίηση σε 10/5 MPa και 30/5 MPa αντίστοιχα) από επεξεργασμένο με πίεση γάλα, ενώ από γάλα επεξεργασμένο με υπέρηχους από 1,049N έως 1,503N (ομογενοποίηση σε 150 W και 750 W αντίστοιχα). Αντίστοιχα, οι τιμές κομμώδους των γιαουρτιών κυμάνθηκαν από 0,572 N*s έως 0,726 N*s (ομογενοποίηση σε 10/5 MPa και 30/5 MPa αντίστοιχα) και από 0,580 N*s έως 0,824 N*s (ομογενοποίηση σε 150 W και 750 W αντίστοιχα). Η συνεκτικότητα των γιαουρτιών δεν επηρεάστηκε από τις διάφορες συνθήκες ομογενοποίησης και είχε τιμές $0,545 \pm 0,015$, εκτός από τις δύο υψηλότερες εντάσεις υπερήχων (0,617 και 0,632 για ομογενοποίηση με 562 W και 750 W αντίστοιχα). Η προσκολλησιμότητα των γιαουρτιών δεν επηρεάστηκε σημαντικά ούτε από τη μέθοδο ομογενοποίησης ούτε από την ένταση ομογενοποίησης και είχε τιμές $0,351 \pm 0,019$ N*s για όλες τις συνθήκες που μελετήθηκαν.

Η μικροδομή των γιαουρτιών από γάλα ομογενοποιημένο με πίεση είχε μορφή όμοια με αφρό, με ανομοιομορφίες και ασυνέχειες. Ενώ η μικροδομή των γιαουρτιών από γάλα ομογενοποιημένο με υπέρηχους, ειδικότερα σε υψηλότερες εντάσεις, φαίνεται πιο ομογενής συνεχής και λεία.

Αναλύοντας το αρωματικό προφίλ του γιαουρτιού από γάλα ομογενοποιημένο με υπέρηχους και με πίεση ταυτοποιήθηκαν οι ίδιες ενώσεις με εκείνες που ταυτοποιήθηκαν και στα δείγματα γάλακτος, και επιπλέον η 3-υδροξυ-βουτανόνη και το εξανικό οξύ. Όσο μεγαλύτερη ήταν η ένταση των υπερήχων ομογενοποίησης του γάλακτος από το οποίο προήλθαν τα δείγματα γιαουρτιού, τόσο μεγαλύτερες ήταν οι συγκεντρώσεις της ακεταλδεΐδης, του 1-βουτεν-3-ενίου, της ακετόνης, του διμεθυλοσουλφιδίου, του 1-επτενίου, της εξανάλης, του βουτυρικού οξέος, της 2-επτανόνης, του εξανικού οξέος, της 2-εννεανόνης, της δικυκλο[2.2.1]-επτα-2όνης, του οκτανικού οξέος, του δεκανοϊκού οξέος, της 2-ενδεκανόνης και του δεκαεξανικού οξέος. Αντίθετα, οι συγκεντρώσεις της 2-βουτανόνης και της 2,3-βουταδιόνης ήταν υψηλότερες στα δείγματα από γάλα που είχε ομογενοποιηθεί με πίεση. Η διαφορά στις συγκεντρώσεις των οξέων, των αλδεϋδών και των κετονών με μεγάλες ανθρακικές αλυσίδες λόγω των υπερήχων, αποδίδεται στην αύξηση της θερμοκρασίας και των έντονων διατμητικών τάσεων κατά την ομογενοποίηση, οι οποίες ευνοούν αντιδράσεις οξείδωσης των λιπαρών μορίων και αντιδράσεις αποκαρβοξυλίωσης, με αποτέλεσμα να παράγονται οι καρβοξυλικές αυτές ενώσεις.

Κεφάλαιο 6 Συμπεράσματα και Προτάσεις

Μέσω του μοντέλου που προέκυψε από τη μέθοδο μερικής παλινδρόμησης ελάχιστων τετραγώνων, και σύμφωνα με το κριτήριο «leave-p-out cross validation» (LpOCV) εντοπίστηκαν οι αρωματικές ενώσεις που είχαν τη σημαντικότερη επίδραση στη συνολική αρέσκεια των γιαουρτιών και είναι οι εξής: η ακεταλδεΐδη, η 2-βουτανόνη, η 2-3-βουταδιόνη, η 3-υδροξυ-2-βουτανόνη και η Δ-δεκαλακτόνη (με ευχάριστα χαρακτηριστικά αρώματος-γεύσης), και η εξανάλη, το βουτυρικό οξύ, η 2-επτανόνη, η 2-ενδεκανόνη και το δεκαεξανικό οξύ (με δυσάρεστα χαρακτηριστικά αρώματος-γεύσης).

Τα αποτελέσματα της οργανοληπτικής ανάλυσης των γιαουρτιών προερχόμενα από γάλα επεξεργασμένο με υπέρηχους και με πίεση, έδειξαν σημαντικές διαφορές μεταξύ τους και επηρεάστηκαν τόσο από τη μέθοδο όσο και από την ένταση ομογενοποίησης. Η υφή των γιαουρτιών από γάλα ομογενοποιημένο με υπέρηχους βαθμολογήθηκε με μεγαλύτερη αποδοχή, ενώ το άρωμα η οσμή και η γεύση τους με μικρότερη σε σχέση με τα δείγματα από γάλα ομογενοποιημένο με πίεση. Όπως φάνηκε και στην ενόργανη ανάλυση της υφής, τα γιαούρτια από γάλα ομογενοποιημένο με υπέρηχους ήταν πιο συνεκτικά και σκληρά, αλλά είχαν πού έντονα αρωματικά χαρακτηριστικά, θετικά και αρνητικά, που απέδιδαν δυσάρεστο άρωμα. Επίσης, η παρουσία αρνητικών και ξένων αρωμάτων (χλόης, ταγγό, καμένο) μείωσε την αποδοχή του αρώματος και της γεύσης τους. Η συνολική αποδοχή των γιαουρτιών από γάλα ομογενοποιημένο με πίεση και με υπέρηχων είχε μικρή διαφορά, με τα δείγματα από γάλα ομογενοποιημένο με πίεση να έχουν ελάχιστα μεγαλύτερη λόγω του πιο αποδεκτού αρώματός τους και της ευχάριστης γεύσης τους. Εφαρμόζοντας και πάλι τη μέθοδο μερικής παλινδρόμησης ελάχιστων τετραγώνων και το κριτήριο LpOCV, ταυτοποιήθηκαν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά οσμής, γεύσης και αρώματος με τη μεγαλύτερη συνεισφορά στη συνολική αρέσκεια του γιαουρτιού, τα οποία μπορούν να αξιοποιηθούν για το μοντέλο πρόβλεψής της και είναι τα εξής: οσμή ορού γάλακτος, οσμή χόρτου/αλδεΐδης, καμένη οσμή, γεύση γιαουρτιού, άρωμα γάλακτος, άρωμα ορού, λιπαρό άρωμα, άρωμα χλόης και ταγγό άρωμα.

Η σύγκριση των δύο μεθόδων ομογενοποίησης στην παραγωγή προβιοτικού γιαουρτιού με καλλιέργεια *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis* έδειξε παρόμοια αποτελέσματα με τη συμβατική καλλιέργεια *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* και *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus*. Ο χρόνος ζύμωσης δεν επηρεάστηκε σημαντικά από τη μέθοδο και την ένταση ομογενοποίησης και όλες οι συνθήκες ομογενοποίησης οδήγησαν σε τιμές χρόνου ζύμωσης 192 ± 12 min. Η ζύμωση όλων των δειγμάτων γάλακτος ακολούθησε τα τροποποιημένα μοντέλα Gompertz pH-χρόνου και ιξώδους-χρόνου με πολύ καλή προσαρμογή και τα δείγματα γάλακτος ομογενοποιημένο με υπέρηχους κατέληξαν σε υψηλότερες τιμές ιξώδους στο τέλος της ζύμωσης. Ο μ_{pH} επηρεάστηκε σημαντικά από τη μέθοδο ομογενοποίησης, με τα δείγματα ομογενοποιημένα με πίεση να έχουν τιμές $9,48 \pm 0,31 \text{ s}^{-1}$ και τα δείγματα

Κεφάλαιο 6 Συμπεράσματα και Προτάσεις

ομογενοποιημένα με υπέρηχους $11 \pm 0,74 \text{ s}^{-1}$. Η λ_{pH} επηρεάζεται και από τη μέθοδο και από την ένταση, όσο είναι δηλαδή μεγαλύτερη η ένταση των υπερήχων τόσο μικρότερη είναι η λ_{pH} με τιμές, για τα δείγματα γάλακτος ομογενοποιημένου με υπέρηχους από 50 min (ένταση υπερήχων ομογενοποίησης γάλακτος 150 W) έως 31 min (ένταση υπερήχων ομογενοποίησης γάλακτος 750 W) και για τα δείγματα από γάλα ομογενοποιημένο με πίεση με τιμές 66 έως 56 min (για πιέσεις ομογενοποίησης 10/5 MPa και 30/5 MPa αντίστοιχα). Ο μ_{visc} επηρεάστηκε σημαντικά από την ένταση και τη μέθοδο ομογενοποίησης.

Τα δείγματα γάλακτος ομογενοποιημένου με πίεση είχαν χαμηλότερους μ_{visc} για όλες τις συνθήκες που μελετήθηκαν (από $4,27 \text{ s}^{-1}$ για 10/5 MPa έως $5,06 \text{ s}^{-1}$ για 30/5 MPa), ενώ τα δείγματα γάλακτος ομογενοποιημένου με υψηλής έντασης υπερήχων είχαν υψηλότερες μ_{visc} . Μέγιστες τιμές του μ_{visc} αντιστοιχούν στα δείγματα γάλακτος ομογενοποιημένου με υπέρηχους έντασης 562 και 750 W, $14,34 \text{ s}^{-1}$ και $19,35 \text{ s}^{-1}$ αντίστοιχα. Σε αντίθεση με τη λ_{visc} στην περίπτωση ζύμωσης με συμβατική καλλιέργεια, η προβιοτική καλλιέργεια επηρεάστηκε σημαντικά και από τη μέθοδο ομογενοποίησης ($P < 0,05$) και από την ένταση. Έτσι, γίνεται συσχέτιση των λ_{visc} των δειγμάτων χαμηλής πίεσης (10/5 MPa και 15/5 MPa) με το δείγμα υπερήχων χαμηλής έντασης 150 W, των δειγμάτων 262 W υπερήχων με τις υψηλότερες συνθήκες πίεσης (20, 25 και 30 MPa) και τα δείγματα υπερήχων 562 W και 375 W να ξεχωρίζουν με τις μεγαλύτερες τιμές.

Τα χαρακτηριστικά υφής και το ιξώδες του προβιοτικού γιαουρτιού είχαν παρόμοια απόκριση στις διάφορες συνθήκες ομογενοποίησης με τα αντίστοιχα του συμβατικού. Το ιξώδες, η σκληρότητα, η συνεκτικότητα και το κομμώδες είχαν σημαντικά ($P < 0,05$) υψηλότερες τιμές για τα γιαούρτια από γάλα που είχε ομογενοποιηθεί με υπέρηχους, η προσκολλησιμότητα δεν επηρεάστηκε ούτε από τη μέθοδο ούτε από την ένταση της ομογενοποίησης του γάλακτος από το οποίο προερχόταν το γιαούρτι. Ενδεικτικά για τα δείγματα από γάλα ομογενοποιημένο με πίεση οι τιμές ιξώδους κυμάνθηκαν μεταξύ $1,02 \text{ Pa} \cdot \text{s}$ έως $1,44 \text{ Pa} \cdot \text{s}$, οι τιμές σκληρότητας από 1,08 N έως 1,208 N, συνεκτικότητας και κομμώδους μεταξύ $0,671 \text{ N} \cdot \text{s}$ έως $0,764 \text{ N} \cdot \text{s}$ (δείγματα από γάλα ομογενοποιημένα με πίεση 10/5 MPa και 30/5 MPa, αντίστοιχα). Ενώ για τα δείγματα από γάλα ομογενοποιημένο με υπέρηχους οι τιμές ιξώδους κυμάνθηκαν από $0,95 \text{ Pa} \cdot \text{s}$ έως $2,48 \text{ Pa} \cdot \text{s}$, οι τιμές σκληρότητας από 1,049 N έως 1,503 N, οι τιμές συνεκτικότητας από 0,591 έως 0,731 και του κομμώδους από $0,620 \text{ N} \cdot \text{s}$ έως $1,099 \text{ N} \cdot \text{s}$ (δείγματα από γάλα ομογενοποιημένο με υπέρηχους έντασης 150W και 750W αντίστοιχα). Η προσκολλησιμότητα είχε μέσο όρο τιμών $0,445 \pm 0,02 \text{ N} \cdot \text{S}$ για όλες τις συνθήκες που μελετήθηκαν.

Εν κατακλείδι η χρήση υπερήχων είναι δόκιμη μέθοδος ομογενοποίησης για το γάλα, παρέχοντας ομογενοποιητικό αποτέλεσμα καλύτερο από τη συμβατική μέθοδο ομογενοποίησης με πίεση και, επιπλέον, διαθέτει «αντιμικροβιακή» δράση. Ωστόσο, εκτός από τα λιποσφαίρια και τη σταθερότητα του

Κεφάλαιο 6 Συμπεράσματα και Προτάσεις

γάλακτος με τη μορφή γαλακτώματος, τα οποία επηρεάζει η συγκεκριμένη μέθοδος, επηρεάζει, ακόμη, τις πρωτεΐνες και τις ενώσεις που απαρτίζουν το αρωματικό προφίλ του. Η επίδραση στις πρωτεΐνες έχει θετικό χαρακτήρα, καθώς αφορά σε μερική μετουσίωσή τους που αυξάνει τη λειτουργικότητά τους και τις αλληλεπιδράσεις με τα λιποσφαίρια, ενισχύοντας, έτσι, το ομογενοποιητικό αποτέλεσμα. Η επίδραση, όμως, στα αρωματικά μόρια είναι αρνητική, καθότι δημιουργεί ενώσεις που προκαλούν μη αποδεκτό άρωμα στο γάλα και τα προϊόντα του. Η ενσωμάτωση των υπερήχων, οι οποίοι αποτελούν μία διεργασία ομογενοποίησης στην παραγωγή γιαουρτιού, είτε συμβατικού είτε προβιοτικού, παρουσιάζει πλεονεκτήματα αλλά και μειονεκτήματα, διότι διευκολύνει μεν την ζύμωση και οδηγεί σε γιαούρτι με υψηλότερο ιξώδες και βελτιωμένα χαρακτηριστικά υφής, ένεκα της μετουσίωσης των πρωτεϊνών, είναι ωστόσο, δυσμενής για το αρωματικό προφίλ του.

Σε συνέχεια της παρούσας μελέτης, θα είχε ενδιαφέρον να βελτιστοποιηθεί η διεργασία ομογενοποίησης με υπέρηχους, ώστε να περιοριστούν στο ελάχιστο τα μειονεκτήματα (ανάπτυξη μη αποδεκτών αρωματικών μορίων) και παράλληλα, να διατηρηθούν και να αξιοποιηθούν τα πλεονεκτήματα (ομογενοποιητικό αποτέλεσμα, βελτίωση υφής), για παράδειγμα η χρήση υπερήχων για στην παραγωγική διαδικασία επιδόρπιων γιαουρτιού με αρωματικά πρόσθετα ή φρούτα. Επίσης, ενδιαφέρον θα είχε η ανάλυση της διεργασίας ομογενοποίησης με υπέρηχους από ενεργειακής σκοπιάς. Δεδομένου ότι οι υπέρηχοι υπακούν στους νόμους της κυματικής, θα μπορούσε να υπολογιστεί το ποσό ενέργειας που προσφέρουν στο μέσο (γάλα) και η ποσότητα ενέργειας που καταναλώνεται ανά φαινόμενο που παρατηρήθηκε (σπηλαίωση, ομογενοποίηση, μετουσίωση πρωτεϊνών κλπ.). Τέλος, αξίζει να μελετηθεί το scale up της μεθόδου υπερήχων σε βιομηχανική κλίμακα, καθώς ένα τέτοιο εγχείρημα θα περιλαμβάνει, εκτός από την επιλογή των βέλτιστων συνθηκών, και την κοστολόγηση ολόκληρης της διεργασίας (έξοδα εγκατάστασης, λειτουργίας, συντήρησης) για ποσότητες γάλακτος της τάξης m^3 σε ημερήσια βάση.

Κεφάλαιο 6 Συμπεράσματα και Προτάσεις

Βιβλιογραφία

Βιβλιογραφία

- Abesinghe, A. M. N. L., Islam, N., Vidanarachchi, J. K., Prakash, S., Silva, K. F. S. T., & Karim, M. A. (2019). Effects of ultrasound on the fermentation profile of fermented milk products incorporated with lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, 90, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2018.10.006>
- Abesinghe, A. M. N. L., Vidanarachchi, J. K., Islam, N., Prakash, S., Silva, K. F. S. T., Bhandari, B., & Karim, M. A. (2020). Effects of ultrasonication on the physicochemical properties of milk fat globules of *Bubalus bubalis* (water buffalo) under processing conditions: A comparison with shear-homogenization. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 59(April 2019), 102237. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.102237>
- Abrahamsen, R. K., & Narvhus, J. A. (2022). Can ultrasound treatment replace conventional high temperature short time pasteurization of milk? A critical review. In *International Dairy Journal* (Vol. 131, p. 105375). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2022.105375>
- Adekunte, A., Tiwari, B. K., Scannell, A., Cullen, P. J., & O'Donnell, C. (2010). Modelling of yeast inactivation in sonicated tomato juice. *International Journal of Food Microbiology*, 137(1), 116–120. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.10.006>
- Aghababaie, M., Khanahmadi, M., & Beheshti, M. (2015). Developing a kinetic model for co-culture of yogurt starter bacteria growth in pH controlled batch fermentation. *Journal of Food Engineering*, 166, 72–79. <https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2015.05.013>
- Ahmad, I., Hao, M., Li, Y., Zhang, J., Ding, Y., & Lyu, F. (2022). Fortification of yogurt with bioactive functional foods and ingredients and associated challenges - A review. *Trends in Food Science & Technology*, 129, 558–580. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2022.11.003>
- Ahmad, T., Butt, M. Z., Aadil, R. M., Inam-ur-Raheem, M., Abdullah, Bekhit, A. E., Guimarães, J. T., Balthazar, C. F., Rocha, R. S., Esmerino, E. A., Freitas, M. Q., Silva, M. C., Sameen, A., & Cruz, A. G. (2019). Impact of nonthermal processing on different milk enzymes. *International Journal of Dairy Technology*, 72(4), 481–495. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12622>
- Ahmed, J., Barua, S., & Roy, S. (2022). Rheology and microstructure of yogurt. In *Advances in Food Rheology and Its Applications: Development in Food Rheology, Second Edition* (pp. 335–363). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823983-4.00020-0>
- Akdeniz, V., Öcal, G. K., Armağan, G., & Akalin, A. S. (2024). High-energy ultrasound improves culture activity, polyunsaturated fatty acids and in-vitro protein digestibility in probiotic yogurt. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 92, 103573. <https://doi.org/10.1016/J.IFSET.2024.103573>

Βιβλιογραφία

- Amador-Espejo, G. G., Suárez-Berencia, A., Juan, B., Bárcenas, M. E., & Trujillo, A. J. (2014). Effect of moderate inlet temperatures in ultra-high-pressure homogenization treatments on physicochemical and sensory characteristics of milk. *Journal of Dairy Science*, *97*(2), 659–671. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7245>
- Applied Sciences | Free Full-Text | The Effectiveness of Combination Stabilizers and Ultrasound Homogenization in Milk Ice Cream Production. (n.d.). Retrieved November 10, 2023, from <https://www.mdpi.com/2076-3417/13/13/7561>
- Arzeni, C., Martínez, K., Zema, P., Arias, A., Pérez, O. E., & Pilosof, A. M. R. (2012). Comparative study of high intensity ultrasound effects on food proteins functionality. *Journal of Food Engineering*, *108*(3), 463–472. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.08.018>
- Ashokkumar, M. (2011). The characterization of acoustic cavitation bubbles – An overview. *Ultrasonics Sonochemistry*, *18*(4), 864–872. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2010.11.016>
- Ashokkumar, M., & Mason, T. J. (2007). Sonochemistry. In *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*. John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/0471238961.1915141519211912.a01.pub2>
- Ashokkumar, M., Bhaskaracharya, R., Kentish, S., Lee, J., Palmer, M., & Zisu, B. (2010). The ultrasonic processing of dairy products—An overview. *Dairy Science & Technology*, *90*(2–3). <https://doi.org/10.1051/dst/2009044>
- Ashokkumar, M., Kentish, S., Lee, J. Y., Zisu, B., Martin, P., & Augustin, M. A. (2009). Processing of dairy ingredients by ultrasonication. <https://openresearch.surrey.ac.uk/esploro/outputs/patent/Processing-of-dairy-ingredients-by-ultrasonication/99514564102346>
- Ashokkumar, M., Sunartio, D., Kentish, S., Mawson, R., Simons, L., Vilku, K., & Versteeg, C. (Kees). (2008). Modification of food ingredients by ultrasound to improve functionality: A preliminary study on a model system. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *9*(2), 155–160. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2007.05.005>
- Astráin-Redín, L., Alejandre, M., Raso, J., Cebrián, G., & Álvarez, I. (2021). Direct Contact Ultrasound in Food Processing: Impact on Food Quality. *Frontiers in Nutrition*, *8*. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnut.2021.633070>
- Auty, M. A. E. (2011). Microstructure of Milk Constituents and Products. In J. W. Fuquay, P. E. Fox, & P. L. . Mc Sweeney (Eds.), *Encyclopedia of Dairy Sciences: Second Edition* (2nd ed., pp. 1796–1805). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/b0-12-227235-8/00647-7>
- Awad, T. S., Moharram, H. A., Shaltout, O. E., Asker, D., & Youssef, M. M. (2012). Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A review. *Food Research International*, *48*(2), 410–427. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.05.004>

Βιβλιογραφία

- Babu, K. S., & Amamcharla, J. K. (2023). Influence of Bulk Nanobubbles Generated by Acoustic Cavitation on Powder Microstructure and Rehydration Characteristics of Spray-Dried Milk Protein Concentrate Powders. *Nanomaterials*, 13(6), 1093. <https://doi.org/10.3390/nano13061093>
- Balthazar, C. F., Santillo, A., Guimarães, J. T., Bevilacqua, A., Corbo, M. R., Caroprese, M., Marino, R., Esmerino, E. A., Silva, M. C., Raices, R. S. L., Freitas, M. Q., Cruz, A. G., & Albenzio, M. (2019). Ultrasound processing of fresh and frozen semi-skimmed sheep milk and its effects on microbiological and physical-chemical quality. *Ultrasonics Sonochemistry*, 51, 241–248. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.10.017>
- Barba, F. J., Cravotto, G., Chémat, F., Rodríguez, J. M. L., & Muneke, P. E. S. (Eds.). (2021). Design and optimization of innovative food processing techniques assisted by ultrasound: Developing healthier and sustainable food products. Academic Press, an imprint of Elsevier.
- Barrantes, E., Tamime, A. Y., Sword, A. M., Muir, D. D., & Kaláb, M. (1996). The manufacture of set-type natural yoghurt containing different oils - 1. Compositional quality, microbiological evaluation and sensory properties. *International Dairy Journal*, 6(8–9), 811–826. [https://doi.org/10.1016/0958-6946\(96\)00009-X](https://doi.org/10.1016/0958-6946(96)00009-X)
- Bauland, J., Gaucheron, F., & Croguennec, T. (2022). Milk Salt Composition, Distribution and Analysis. In *Encyclopedia of Dairy Sciences* (pp. 941–953). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-818766-1.00262-2>
- Bauman, D. E., McGuire, M. A., & Harvatine, K. J. (2011). Mammary Gland, Milk Biosynthesis and Secretion: Milk Fat. In J. W. Fuquay, P. E. Fox, & P. L. Mc Sweeney (Eds.), *Encyclopedia of Dairy Sciences: Second Edition* (2nd ed., pp. 352–358). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00292-2>
- Bermúdez, D., & Barbosa-Cánovas, G. V. (2008). Scanning Electron Microscopy of Thermo-Sonicated *Listeria Innocua* Cells. In G. F. Gutiérrez-López, G. V. Barbosa-Cánovas, J. Welti-Chanes, & E. Parada-Arias (Eds.), *Food Engineering: Integrated Approaches* (pp. 287–294). Springer. https://doi.org/10.1007/978-0-387-75430-7_17
- Bermúdez-Aguirre, D., & Barbosa-Cánovas, G. V. (2008). Study of butter fat content in milk on the inactivation of *Listeria innocua* ATCC 51742 by thermo-sonication. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(2), 176–185. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2007.07.008>
- Bermúdez-Aguirre, D., & Barbosa-Cánovas, G. V. (2010). Processing of Soft Hispanic Cheese (“ Queso Fresco ”) Using Thermo-Sonicated Milk: A Study of Physicochemical Characteristics and Storage Life. *Journal of Food Science*, 75(9). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01850.x>

Βιβλιογραφία

- Bermúdez-Aguirre, D., Mawson, R., & Barbosa-Cánovas, G. V. (2008). Microstructure of fat globules in whole milk after thermosonication treatment. *Journal of Food Science*, 73(7), 325–332. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.00875.x>
- Bermúdez-Aguirre, D., Mawson, R., Versteeg, K., & Barbosa-Cánovas, G. V. (2009). COMPOSITION PROPERTIES, PHYSICO-CHEMICAL CHARACTERISTICS AND SHELF LIFE OF WHOLE MILK AFTER THERMAL AND THERMOSONICATION TREATMENTS. *Journal of Food Quality*, 32(3), 283–302. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.2009.00250.x>
- Bermúdez-Aguirre, Daniela, & Barbosa-Cánovas, G. V. (2008). Study of butter fat content in milk on the inactivation of *Listeria innocua* ATCC 51742 by thermo-sonication. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(2), 176–185. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2007.07.008>
- Bertrand-Harb, C., Ivanova, I. V., Dalgalarondo, M., & Haertllé, T. (2003). Evolution of β -lactoglobulin and α -lactalbumin content during yoghurt fermentation. *International Dairy Journal*, 13(1), 39–45. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(02\)00140-1](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(02)00140-1)
- Binda, S., Hill, C., Johansen, E., Obis, D., Pot, B., Sanders, M. E., Tremblay, A., & Ouwehand, A. C. (2020). Criteria to Qualify Microorganisms as “Probiotic” in Foods and Dietary Supplements. *Frontiers in Microbiology*, 11(July), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01662>
- Bogahawaththa, D., Buckow, R., Chandrapala, J., & Vasiljevic, T. (2018). Comparison between thermal pasteurization and high pressure processing of bovine skim milk in relation to denaturation and immunogenicity of native milk proteins. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 47, 301–308. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.03.016>
- Boltin, D. (2016). Probiotics in *Helicobacter pylori*-induced peptic ulcer disease. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 30(1), 99–109. <https://doi.org/10.1016/J.BPG.2015.12.003>
- Borad, S. G., & Singh, A. K. (2022). Immunoglobulins. In *Encyclopedia of Dairy Sciences* (pp. 894–900). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818766-1.00367-6>
- Bouchoux, A., Gésan-Guiziou, G., Pérez, J., & Cabane, B. (2010). How to squeeze a sponge: Casein micelles under osmotic stress, a SAXS study. *Biophysical Journal*, 99(11), 3754–3762. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2010.10.019>
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1–2), 248–254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)

Βιβλιογραφία

- Brew, K. (2011). Milk Proteins: α -Lactalbumin. In J. W. Fuquay, P. E. Fox, & P. L. Mc Sweeney (Eds.), *Encyclopedia of Dairy Sciences: Second Edition* (pp. 780–786). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00432-5>
- Bucci, A. J., Hekken, D. L., Tunick, M., Renye, J., & Tomasula, P. (2018). The effects of microfluidization on the physical, microbial, chemical, and coagulation properties of milk. *Journal of Dairy Science*, 101. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13907>
- Bucci, A. J., Van Hekken, D. L., Tunick, M. H., Renye, J. A., & Tomasula, P. M. (2018). The effects of microfluidization on the physical, microbial, chemical, and coagulation properties of milk. *Journal of Dairy Science*, 101(8), 6990–7001. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13907>
- Buys, E. M., & Seifu, E. (2022). Enzymes Indigenous to Milk: Lactoperoxidase. In *Encyclopedia of Dairy Sciences* (pp. 670–676). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-818766-1.00252-x>
- Cameron, M., McMaster, L. D., & Britz, T. J. (2009). Impact of ultrasound on dairy spoilage microbes and milk components. *Dairy Science & Technology*, 89(1), 83–98. <https://doi.org/10.1051/dst/2008037>
- Cano-Ruiz, M. E., & Richter, R. L. (1997). Effect of Homogenization Pressure on the Milk Fat Globule Membrane Proteins. *Journal of Dairy Science*, 80(11), 2732–2739. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(97\)76235-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)76235-0)
- Carrillo-Lopez, L. M., Garcia-Galicia, I. A., Tirado-Gallegos, J. M., Sanchez-Vega, R., Huerta-Jimenez, M., Ashokkumar, M., & Alarcon-Rojo, A. D. (2021). Recent advances in the application of ultrasound in dairy products: Effect on functional, physical, chemical, microbiological and sensory properties. *Ultrasonics Sonochemistry*, 73, 105467. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105467>
- Carullo, D., Donsì, F., & Ferrari, G. (2020). Influence of high-pressure homogenization on structural properties and enzymatic hydrolysis of milk proteins. *LWT*, 130, 109657. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109657>
- Chandan, R. C. (2007). Manufacturing Yogurt and Fermented Milks. In *Manufacturing Yogurt and Fermented Milks*. <https://doi.org/10.1002/9780470277812>
- Chandan, R. C., Gandhi, A., & Shah, N. P. (2017). Yogurt: Historical background, health benefits, and global trade. In *Yogurt in Health and Disease Prevention* (pp. 1–29). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805134-4.00001-8>
- Chandrapala, J., Martin, G. J. O., Zisu, B., Kentish, S. E., & Ashokkumar, M. (2012). The effect of ultrasound on casein micelle integrity. *Journal of Dairy Science*, 95(12), 6882–6890. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5318>

Βιβλιογραφία

- Chandrapala, J., Oliver, C., Kentish, S., & Ashokkumar, M. (2012). Ultrasonics in food processing – Food quality assurance and food safety. *Trends in Food Science & Technology*, 26(2), 88–98. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2012.01.010>
- Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A.-G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A.-S., & Abert-Vian, M. (2017). Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 540–560. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.035>
- Chemat, F., Zill-e-Huma, & Khan, M. K. (2011). Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18(4), 813–835. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2010.11.023>
- Chen, J., Wang, Q., Liu, C. M., & Gong, J. (2017). Issues deserve attention in encapsulating probiotics: Critical review of existing literature. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(6), 1228–1238. <https://doi.org/10.1080/10408398.2014.977991>
- Cho, Y. H., Lucey, J. A., & Singh, H. (1999). Rheological properties of acid milk gels as affected by the nature of the fat globule surface material and heat treatment of milk. *International Dairy Journal*, 9(8), 537–545. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(99\)00123-5](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(99)00123-5)
- Chranioti, C., Nikoloudaki, A., & Tzia, C. (2015). Saffron and beetroot extracts encapsulated in maltodextrin, gum Arabic, modified starch and chitosan: Incorporation in a chewing gum system. *Carbohydrate Polymers*, 127, 252–263. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2015.03.049>
- Ciron, C. I. E., Gee, V. L., Kelly, A. L., & Auty, M. A. E. (2010). Comparison of the effects of high-pressure microfluidization and conventional homogenization of milk on particle size, water retention and texture of non-fat and low-fat yoghurts. *International Dairy Journal*, 20(5), 314–320. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2009.11.018>
- Cohick, W. S. (1998). Role of the Insulin-like Growth Factors and Their Binding Proteins in Lactation. *Journal of Dairy Science*, 81(6), 1769–1777. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(98\)75746-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75746-7)
- Corrieu, G., & Béal, C. (2015). Yogurt: The Product and its Manufacture. In *Encyclopedia of Food and Health* (pp. 617–624). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00766-2>
- Cravotto, G., Boffa, L., Mantegna, S., Perego, P., Avogadro, M., & Cintas, P. (2008). Improved extraction of vegetable oils under high-intensity ultrasound and/or microwaves. *Ultrasonics Sonochemistry*, 15(5), 898–902. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2007.10.009>

Βιβλιογραφία

- Creamer, L. K., Loveday, S. M., & Sawyer, L. (2011). Milk Proteins: β -Lactoglobulin. In J. W. Fuquay, P. E. Fox, & P. L. Mc Sweeney (Eds.), *Encyclopedia of Dairy Sciences: Second Edition* (pp. 787–794). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00433-7>
- Croguennec, T., O’Kennedy, B. T., & Mehra, R. (2004). Heat-induced denaturation/aggregation of β -lactoglobulin A and B: Kinetics of the first intermediates formed. *International Dairy Journal*, 14(5), 399–409. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2003.09.005>
- Crowther, J. M., Jameson, G. B., Hodgkinson, A. J., & Dobson, R. C. J. (2016). Structure, Oligomerisation and Interaction of β -Lactoglobulin. In I. Gigli (Ed.), *Milk Proteins - From Structure to Biological Properties and Health Aspects* (pp. 33–50). IntechOpen. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.5772/62992>
- Cui, P., Yang, X., Liang, Q., Huang, S., Lu, F., Owusu, J., Ren, X., & Ma, H. (2020). Ultrasound-assisted preparation of ACE inhibitory peptide from milk protein and establishment of its in-situ real-time infrared monitoring model. *Ultrasonics Sonochemistry*, 62, 104859. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.104859>
- D’Amico, D. J., Silk, T. M., Wu, J., & Guo, M. (2006). Inactivation of microorganisms in milk and apple cider treated with ultrasound. *Journal of Food Protection*, 69(3), 556–563. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-69.3.556>
- Dalgleish, D. G. (2011). On the structural models of bovine casein micelles - Review and possible improvements. *Soft Matter*, 7(6), 2265–2272. <https://doi.org/10.1039/c0sm00806k>
- Dalle-Donne, I., Rossi, R., Giustarini, D., Milzani, A., & Colombo, R. (2003). Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry*, 329(1–2), 23–38. [https://doi.org/10.1016/s0009-8981\(03\)00003-2](https://doi.org/10.1016/s0009-8981(03)00003-2)
- Daniel, N., Waters, M. J., Bignon, C., & Djiane, J. (1996). Involvement of a subset of tyrosine kinases and phosphatases in regulation of the β -lactoglobulin gene promoter by prolactin. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 118(1–2), 25–35. [https://doi.org/10.1016/0303-7207\(95\)03763-2](https://doi.org/10.1016/0303-7207(95)03763-2)
- Davies, M. J. (2005). The oxidative environment and protein damage. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1703(2), 93–109. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2004.08.007>
- De Brabandere, A. G., & De Baerdemaeker, J. G. (1999). Effects of process conditions on the pH development during yogurt fermentation. *Journal of Food Engineering*, 41(3), 221–227. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(99\)00096-5](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(99)00096-5)
- De Kruif, C. G. (1999). Casein micelle interactions. *International Dairy Journal*, 9(3–6), 183–188. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(99\)00058-8](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(99)00058-8)

Βιβλιογραφία

- De Kruif, Cornelis G., Huppertz, T., Urban, V. S., & Petukhov, A. V. (2012). Casein micelles and their internal structure. *Advances in Colloid and Interface Science*, 171–172, 36–52. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2012.01.002>
- de Oliveira, M. N. (2014). Fermented Milks: Fermented Milks and Yogurt. In *Encyclopedia of Food Microbiology: Second Edition (Second Edi, Vol. 2)*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00121-X>
- De Vrese, M., Kristen, H., Rautenberg, P., Laue, C., & Schrezenmeir, J. (2011). Probiotic lactobacilli and bifidobacteria in a fermented milk product with added fruit preparation reduce antibiotic associated diarrhea and *Helicobacter pylori* activity. *Journal of Dairy Research*, 78(4), 396–403. <https://doi.org/10.1017/S002202991100063X>
- De, B., Goswami, T. K., Pandey, S., Pou, J., Sharma, S. P., & Raghavan, V. G. S. (2023). Influence of Heating on the Physico-Biochemical Attributes of Milk. *Current Nutrition & Food Science*, 19(1), 32–42. <https://doi.org/10.2174/1573401318666220401170209>
- Deeth, H. C. (2022a). Enzymes Exogenous to Milk in Dairy Technology: Lipases. In *Encyclopedia of Dairy Sciences* (pp. 640–647). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-818766-1.00225-7>
- Deeth, H. C. (2022b). Heat Treatment of Milk: Pasteurization (HTST) and thermization (LTLT). *Encyclopedia of Dairy Sciences: Third Edition*, 4, 645–654. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818766-1.00133-1>
- Deeth, H., & Lewis, M. J. (2017). High temperature processing of milk and milk products. Wiley/Blackwell.
- Demirkesen, I., Vilgis, T. A., & Mert, B. (2018). Effect of microfluidization on the microstructure and physical properties of a novel yoghurt formulation. *Journal of Food Engineering*, 237, 69–77. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.05.025>
- Dhahir, N., Feugang, J., Witrick, K., Park, S., & AbuGhazaleh, A. (2020). Impact of ultrasound processing on some milk-borne microorganisms and the components of camel milk. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 32(4), 245–254. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2020.v32.i4.2088>
- Dhankhar, P. (2014). Homogenization Fundamentals. *IOSR Journal of Engineering*, 4(5), 01–08. <https://doi.org/10.9790/3021-04540108>
- Di Marzo, L., & Barbano, D. M. (2016). Effect of homogenizer performance on accuracy and repeatability of mid-infrared predicted values for major milk components. *Journal of Dairy Science*, 99(12), 9471–9482. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11618>
- Dimitrellou, D., Kandyli, P., Lević, S., Petrović, T., Ivanović, S., Nedović, V., & Kourkoutas, Y. (2019). Encapsulation of *Lactobacillus casei* ATCC 393 in alginate capsules for probiotic fermented milk production. *LWT*, 116, 108501. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2019.108501>

Βιβλιογραφία

- Domian, E., & Mańko-Jurkowska, D. (2022). The effect of homogenization and heat treatment on gelation of whey proteins in emulsions. *Journal of Food Engineering*, 319, 110915. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2021.110915>
- Drake, M.A. 2022. "Sensory Evaluation." *Encyclopedia of Dairy Sciences*: 572–76. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128187661001513> (March 30, 2024).
- Durand, A., Franks, G. V., & Hosken, R. W. (2003). Particle sizes and stability of UHT bovine, cereal and grain milks. *Food Hydrocolloids*, 17(5), 671–678. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(03\)00012-2](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(03)00012-2)
- Earnshaw, R. G., Appleyard, J., & Hurst, R. M. (1995). Understanding physical inactivation processes: Combined preservation opportunities using heat, ultrasound and pressure. *International Journal of Food Microbiology*, 28(2), 197–219. [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(95\)00057-7](https://doi.org/10.1016/0168-1605(95)00057-7)
- ERTUGAY, M., ŞENGÜL, M., & ŞENGÜL, M. (2004). Effect of Ultrasound Treatment on Milk Homogenisation and Particle Size Distribution of Fat. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 28(2), 303–308. <https://doi.org/->
- Farkye, N. Y., & Kelly, A. L. (2022). Enzymes Indigenous to Milk: Minor Indigenous Milk Enzymes. In *Encyclopedia of Dairy Sciences* (pp. 682–687). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-818766-1.00263-4>
- Farrell, H. M. (2011). Milk Proteins: Casein Nomenclature, Structure, and Association. In J. W. Fuquay, P. E. Fox, & P. L. . Mc Sweeney (Eds.), *Encyclopedia of Dairy Sciences: Second Edition* (pp. 765–771). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00430-1>
- Fellows, P. (2000). *Food processing technology: Principles and practice* (2nd ed). Woodhead Pub. ; CRC Press.
- Floury, J., Desrumaux, A., & Lardières, J. (2000). Effect of high-pressure homogenization on droplet size distributions and rheological properties of model oil-in-water emulsions. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 1(2), 127–134. [https://doi.org/10.1016/S1466-8564\(00\)00012-6](https://doi.org/10.1016/S1466-8564(00)00012-6)
- Flower, D. R. (1996). The lipocalin protein family: Structure and function. *Biochemical Journal*, 318(1), 1–14. <https://doi.org/10.1042/bj3180001>
- Fox, P. F. (2003). Milk Proteins: General and Historical Aspects. In P. F. Fox & P. L. H. McSweeney (Eds.), *Advanced Dairy Chemistry—1 Proteins: Part A / Part B* (pp. 1–48). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-8602-3_1
- Fox, P. F. (2011a). Lactose and Oligosaccharides: Lactose: Chemistry, Properties. In J. W. Fuquay, P. E. Fox, & P. L. . Mc Sweeney (Eds.), *Encyclopedia of Dairy Sciences: Second Edition* (2nd ed., pp. 173–181). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00273-9>

Βιβλιογραφία

- Fox, P. F. (2011b). Milk: Introduction. In J. W. Fuquay, P. E. Fox, & P. L. . Mc Sweeney (Eds.), *Encyclopedia of Dairy Sciences: Second Edition* (2nd ed., pp. 458–466). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00310-1>
- Fox, P. F. (2022c). Fat Globules in Milk. In *Encyclopedia of Dairy Sciences* (pp. 803–807). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-818766-1.00323-8>
- Fox, P. F. (2022d). History of Dairy Chemistry. In *Encyclopedia of Dairy Sciences* (pp. 586–593). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-818766-1.00332-9>
- Fox, P. F. (2022e). Lactose: Chemistry, Properties. In *Encyclopedia of Dairy Sciences* (pp. 749–756). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-818766-1.00304-4>
- Frakolaki, G., Giannou, V., Kekos, D., & Tzia, C. (2021). A review of the microencapsulation techniques for the incorporation of probiotic bacteria in functional foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(9), 1515–1536. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1761773>
- Fukasawa, M., Tsukada, H., Kosako, T., & Yamada, A. (2008). Effect of lactation stage, season and parity on milk cortisol concentration in Holstein cows. *Livestock Science*, 113(2–3), 280–284. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2007.05.020>
- Fuquay, J. W., Fox, P. E., & Mc Sweeney, P. L. . (n.d.). *Encyclopedia of Dairy Science*.
- Gabriel, A. A. (2015). Inactivation of *Listeria monocytogenes* in Milk by Multifrequency Power Ultrasound: Ultrasound Inactivation of *Listeria* in Milk. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(6), 846–853. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12295>
- Gamlath, C. J., Leong, T. S. H., Ashokkumar, M., & Martin, G. J. O. (2020). Incorporating whey protein aggregates produced with heat and ultrasound treatment into rennet gels and model non-fat cheese systems. *Food Hydrocolloids*, 109, 106103. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106103>
- Gao, S., Lewis, G. D., Ashokkumar, M., & Hemar, Y. (2014). Inactivation of microorganisms by low-frequency high-power ultrasound: 2. A simple model for the inactivation mechanism. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(1), 454–460. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.06.007>
- Gaucheron, F. (2010). Analysing and improving the mineral content of milk. In *Improving the Safety and Quality of Milk: Improving Quality in Milk Products* (pp. 207–228). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1533/9781845699437.2.207>
- Gera, N., & Doores, S. (2011). Kinetics and mechanism of bacterial inactivation by ultrasound waves and sonoprotective effect of milk components. *Journal of Food Science*, 76(2), M111-119. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.02007.x>

Βιβλιογραφία

- Gilbert, A., & Turgeon, S. L. (2021). Studying stirred yogurt microstructure and its correlation to physical properties: A review. *Food Hydrocolloids*, 121(June), 106970. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106970>
- Glantz, M., Devold, T. G., Vegarud, G. E., Lindmark Månsson, H., Stålhammar, H., & Paulsson, M. (2010). Importance of casein micelle size and milk composition for milk gelation. *Journal of Dairy Science*, 93(4), 1444–1451. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2856>
- Goff, H. D., Hill, A., & Ferrer, M. A. (n.d.). Homogenization of Milk and Milk Products. Retrieved November 11, 2023, from <https://books.lib.uoguelph.ca/dairyscienceandtechnologyebook/chapter/homogenization-of-milk-and-milk-products/>
- Gonzalez Avila, S. R., & Ohi, C.-D. (2016). Fragmentation of acoustically levitating droplets by laser-induced cavitation bubbles. *Journal of Fluid Mechanics*, 805, 551–576. <https://doi.org/10.1017/jfm.2016.583>
- Gopal, P. K. (2022). Bacteria, Beneficial: Probiotic Lactic Acid Bacteria: An Overview. *Encyclopedia of Dairy Sciences: Third Edition*, 4, 32–33. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818766-1.00018-0>
- Gordon, W. G., Semmett, W. F., & Bender, M. (1953). Amino Acid Composition of γ -Casein. *Journal of the American Chemical Society*, 75(7), 1678–1679. <https://doi.org/10.1021/ja01103a048>
- Gregersen, S. B., Glover, Z. J., Wiking, L., Simonsen, A. C., Bertelsen, K., Pedersen, B., Poulsen, K. R., Andersen, U., & Hammershøj, M. (2021a). Microstructure and rheology of acid milk gels and stirred yoghurts – quantification of process-induced changes by auto- and cross correlation image analysis. *Food Hydrocolloids*, 111(August 2020). <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106269>
- Gregersen, S. B., Glover, Z. J., Wiking, L., Simonsen, A. C., Bertelsen, K., Pedersen, B., Poulsen, K. R., Andersen, U., & Hammershøj, M. (2021). Microstructure and rheology of acid milk gels and stirred yoghurts – quantification of process-induced changes by auto- and cross correlation image analysis. *Food Hydrocolloids*, 111(August 2020). <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106269>
- Gregersen, S. B., Wiking, L., & Hammershøj, M. (2019). Acceleration of acid gel formation by high intensity ultrasound is linked to whey protein denaturation and formation of functional milk fat globule-protein complexes. *Journal of Food Engineering*, 254(March), 17–24. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.03.004>
- Griffin, W. G., & Griffin, M. C. A. (1990). The attenuation of ultrasound in aqueous suspensions of casein micelles from bovine milk. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 87(6), 2541–2550. <https://doi.org/10.1121/1.399047>

Βιβλιογραφία

- Gülseren, I., Güzey, D., Bruce, B. D., & Weiss, J. (2007). Structural and functional changes in ultrasonicated bovine serum albumin solutions. *Ultrasonics Sonochemistry*, 14(2), 173–183. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2005.07.006>
- Håkansson, A., Svensson, M., Mossberg, A. K., Sabharwal, H., Linse, S., Lazou, I., Lönnnerdal, B., & Svanborg, C. (2000). A folding variant of α -lactalbumin with bactericidal activity against *Streptococcus pneumoniae*. *Molecular Microbiology*, 35(3), 589–600. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2000.01728.x>
- Hansen, P. M. T. (1993). Food Hydrocolloids in the Dairy Industry BT - Food Hydrocolloids: Structures, Properties, and Functions (K. Nishinari & E. Doi (eds.); pp. 211–224). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-2486-1_32
- Heine, W. E., Klein, P. D., & Reeds, P. J. (1991). The importance of α -lactalbumin in infant nutrition. *Journal of Nutrition*, 121(3), 277–283. <https://doi.org/10.1093/jn/121.3.277>
- Hill, R. L., & Brew, K. (1973). Lactose Synthetase. In A. Meister (Ed.), *Advances in Enzymology and Related Areas of Molecular Biology* (Vol. 43, Issue C, pp. 411–484). [https://doi.org/10.1016/S1874-6047\(08\)60121-3](https://doi.org/10.1016/S1874-6047(08)60121-3)
- Ho, T. M., & Bansal, N. (2022). α -Lactalbumin. In *Encyclopedia of Dairy Sciences* (pp. 854–859). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-818766-1.00371-8>
- Horne, D. S. (1999). Formation and structure of acidified milk gels. *International Dairy Journal*, 9(3–6), 261–268. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(99\)00072-2](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(99)00072-2)
- Horne, D. S. (2002). Casein structure, self-assembly and gelation. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 7(5–6), 456–461. [https://doi.org/10.1016/S1359-0294\(02\)00082-1](https://doi.org/10.1016/S1359-0294(02)00082-1)
- Horne, D. S. (2006). Casein micelle structure: Models and muddles. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 11(2–3), 148–153. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2005.11.004>
- Horne, D. S. (2019). Casein micelle structure and stability. In *Milk Proteins: From Expression to Food* (pp. 213–250). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815251-5.00006-2>
- Huang, G., Chen, S., Dai, C., Sun, L., Sun, W., Tang, Y., Xiong, F., He, R., & Ma, H. (2017). Effects of ultrasound on microbial growth and enzyme activity. *Ultrasonics Sonochemistry*, 37, 144–149. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.12.018>
- Huppertz, T. (2017). Milk Lipids: Composition, Origin and Properties. In *Reference Module in Food Science*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-100596-5.21395-4>
- Huppertz, T. (2022a). Homogenization of Milk: Low Pressure Homogenization (High-Speed Mixing, Ultrasonics, Microfluidizers, Membrane Emulsification). In *Encyclopedia of Dairy Sciences* (pp. 691–694). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818766-1.00145-8>

Βιβλιογραφία

- Huppertz, T. (2022b). Homogenization of Milk: Principles and Purpose. In *Encyclopedia of Dairy Sciences* (pp. 695–697). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818766-1.00124-0>
- Huppertz, T., Fox, P. F., & Kelly, A. L. (2003). High pressure-induced changes in the creaming properties of bovine milk. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 4(4), 349–359. [https://doi.org/10.1016/S1466-8564\(03\)00057-2](https://doi.org/10.1016/S1466-8564(03)00057-2)
- Ichimura, T., Osada, T., Yonekura, K., & Horiuchi, H. (2022). A new method for producing superior set yogurt, focusing on heat treatment and homogenization. *Journal of Dairy Science*, 105(4), 2978–2987. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-21326>
- Ion-Titapiccolo, G., Alexander, M., & Corredig, M. (2013). Heating of Milk Before or After Homogenization Changes its Coagulation Behaviour During Acidification. *Food Biophysics*, 8(2), 81–89. <https://doi.org/10.1007/s11483-012-9275-y>
- Jacob, M., Nöbel, S., Jaros, D., & Rohm, H. (2011). Physical properties of acid milk gels: Acidification rate significantly interacts with cross-linking and heat treatment of milk. *Food Hydrocolloids*, 25(5), 928–934. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2010.09.003>
- Jafari, S., Assadpoor, E., He, Y., & Bhandari, B. (2008). Re-coalescence of emulsion droplets during high-energy emulsification. *Food Hydrocolloids*, 22, 1191–1202. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2007.09.006>
- Jambrak, A. R., Mason, T. J., Lelas, V., Herceg, Z., & Herceg, I. L. (2008). Effect of ultrasound treatment on solubility and foaming properties of whey protein suspensions. *Journal of Food Engineering*, 86(2), 281–287. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.10.004>
- Jambrak, A. R., Nutrizio, M., Pingret, D., Fabiano-Tixier, A.-S., & Chemat, F. (2022). Chapter 3. Ultrasound-assisted Extraction. In J. Prado & M. Rostagno (Eds.), *Green Chemistry Series* (2nd ed., pp. 117–143). Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/9781839165894-00117>
- Janahar, J. J., Marciniak, A., Balasubramaniam, V. M., Jimenez-Flores, R., & Ting, E. (2021). Effects of pressure, shear, temperature, and their interactions on selected milk quality attributes. *Journal of Dairy Science*, 104(2), 1531–1547. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19081>
- Janhøj, Thomas, Michael Bom Frøst, and Richard Ipsen. 2008. “Sensory and Rheological Characterization of Acidified Milk Drinks.” *Food Hydrocolloids* 22(5): 798–806.
- Jensens, R. G., Ferris, A. M., & Lammi-Keefe, J. (1991). The composition of milk. *Journal of Dairy Research*, 74, 3228–3243. <https://doi.org/10.1039/AN910350231b>
- Jungersen, M., Wind, A., Johansen, E., Christensen, J. E., Stuer-Lauridsen, B., & Eskesen, D. (2014). The science behind the probiotic strain bifidobacterium animalis subsp. Lactis bb-12®. *Microorganisms*, 2(2), 92–110. <https://doi.org/10.3390/microorganisms2020092>

Βιβλιογραφία

- Juraga, E., Sobota Šalamon, B., Herceg, Z., & Režek Jambrak, A. (2011). Application of high intensity ultrasound treatment on Enterobacteriae count in milk. *Mljekarstvo : Časopis Za Unaprjeđenje Proizvodnje i Prerade Mlijeka*, 61(2), 125–134.
- Kamal, M., Foukani, M., & Karoui, R. (2017). Rheological and physical properties of camel and cow milk gels enriched with phosphate and calcium during acid-induced gelation. *Journal of Food Science and Technology*, 54(2), 439–446. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2480-9>
- Keith, M. O., & Bell, J. M. (1988). Digestibility of nitrogen and amino acids in selected protein sources fed to mice. *Journal of Nutrition*, 118(5), 561–568. <https://doi.org/10.1093/jn/118.5.561>
- Khadhraoui, B., Fabiano-Tixier, A.-S., Robinet, P., Imbert, R., & Chemat, F. (2019). Ultrasound technology for food processing, preservation, and extraction. In *Green Food Processing Techniques* (pp. 23–56). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815353-6.00002-1>
- Khaire, R. A., & Gogate, P. R. (2018). Intensified recovery of lactose from whey using thermal, ultrasonic and thermosonication pretreatments. *Journal of Food Engineering*, 237, 240–248. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.04.027>
- Khan, muhammed A. S. (2011). Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*. https://www.academia.edu/24452054/Applications_of_ultrasound_in_food_technology_Processing_preservation_and_extraction
- Kontogiorgos, V. (2021). Stabilisers. In *Encyclopedia of Dairy Sciences: Third edition* (Vol. 2, pp. 689–694). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-818766-1.00321-4>
- Körzendörfer, A., Schäfer, J., Hinrichs, J., & Nöbel, S. (2019). Power ultrasound as a tool to improve the processability of protein-enriched fermented milk gels for Greek yogurt manufacture. *Journal of Dairy Science*, 102(9), 7826–7837. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16541>
- Kot, A., Jakubczyk, E., & Kamińska-Dwórznička, A. (2023). The Effectiveness of Combination Stabilizers and Ultrasound Homogenization in Milk Ice Cream Production. *Applied Sciences*, 13(13), 7561. <https://doi.org/10.3390/app13137561>
- Krasulya, O., Bogush, V., Trishina, V., Potoroko, I., Khmelev, S., Sivashanmugam, P., & Anandan, S. (2016). Impact of acoustic cavitation on food emulsions. *Ultrasonics Sonochemistry*, 30, 98–102. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2015.11.013>
- Krešić, G., Lelas, V., Jambrak, A. R., Herceg, Z., & Brnčić, S. R. (2008). Influence of novel food processing technologies on the rheological and thermophysical properties of whey proteins. *Journal of Food Engineering*, 87(1), 64–73. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.10.024>

Βιβλιογραφία

- Kuruc, M. (2021). The Application of the Ultrasound. In M. Kuruc, Rotary Ultrasonic Machining (pp. 41–52). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-67944-6_6
- Kushibiki, S., Hodate, K., Kurisaki, J., Shingu, H., Ueda, Y., Watanabe, A., & Shinoda, M. (2001). Effect of β -lactoglobulin on plasma retinol and triglyceride concentrations, and fatty acid composition in calves. *Journal of Dairy Research*, 68(4), 579–586. <https://doi.org/10.1017/S0022029901005040>
- Labbafi, M., Thakur, R., Vial, C., & Djelveh, G. (2007). Development of an on-line optical method for assessment of the bubble size and morphology in aerated food products. *Food Chemistry - FOOD CHEM*, 102. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.06.011>
- Laemmli U.K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature Publishing Group*, 228, 680–680.
- Lavilla, I., & Bendicho, C. (2017). Fundamentals of Ultrasound-Assisted Extraction. In *Water Extraction of Bioactive Compounds* (pp. 291–316). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809380-1.00011-5>
- Le Graët, Y., & Gaucheron, F. (1999). pH-induced solubilization of minerals from casein micelles: Influence of casein concentration and ionic strength. *Journal of Dairy Research*, 66(2), 215–224. <https://doi.org/10.1017/S0022029999003386>
- Lee, Y. K., & Salminen, S. (2008). *HANDBOOK OF PROBIOTICS AND PREBIOTICS* (S. S. Yuan Kun Lee (ed.); 2nd ed., Issue september 2016). Wiley.
- Leong, T. S. H. (2020). Ultrasound-Assisted Cream Separation. In T. Truong, C. Lopez, B. Bhandari, & S. Prakash (Eds.), *Dairy Fat Products and Functionality: Fundamental Science and Technology* (pp. 453–474). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-41661-4_18
- Leong, T. S. H., Zhou, M., Kukan, N., Ashokkumar, M., & Martin, G. J. O. (2017). Preparation of water-in-oil-in-water emulsions by low frequency ultrasound using skim milk and sunflower oil. *Food Hydrocolloids*, 63, 685–695. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.10.017>
- Leong, T., Ashokkumar, M., & Kentish, S. (2011). The fundamentals of power ultrasound—A review. *Acoustics Australia*, 39.
- Li, H., Zhao, T., Li, H., & Yu, J. (2021). Effect of Heat Treatment on the Property, Structure, and Aggregation of Skim Milk Proteins. *Frontiers in Nutrition*, 8. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnut.2021.714869>
- Li, Q., & Zhao, Z. (2019). Acid and rennet-induced coagulation behavior of casein micelles with modified structure. *Food Chemistry*, 291(April), 231–238. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.04.028>
- Lilly, D. M., & Stillwell, R. H. (1964). Probiotics: Growth-Promoting Factors Produced By Microorganisms. *Science*, 147, 747–748. <https://doi.org/10.1126/science.147.3659.747>

Βιβλιογραφία

- Liu, Y., Boeren, S., Zhang, L., Zhou, P., & Hettinga, K. (2021). Ultrasonication retains more milk fat globule membrane proteins compared to equivalent shear-homogenization. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 70, 102703. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2021.102703>
- Lourens-Hattingh, A., & Viljoen, B. C. (2001). Yogurt as probiotic carrier food. *International Dairy Journal*, 11(1–2), 1–17. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00036-X](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00036-X)
- Loveday, S. M., & Sawyer, L. (2016). β -Lactoglobulin: Nomenclature, Structure, and Function. Reference Module in Food Science, about 1890. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-100596-5.00940-9>
- Lucey, J., Tamehana, M., Singh, H., & Munro, P. (2001). Effect of heat treatment on the physical properties of milk gels made with both rennet and acid. *International Dairy Journal*, 11, 559–565. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00081-4](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00081-4)
- Ma, J., Wang, Q., Dou, N., Li, Y., Ma, Y., Liu, Y., Wu, M., Wei, X., Miao, Y., Chen, L., Xu, D., Hou, J., & Jiang, Z. (2023). Evaporative concentration and high-pressure homogenization for improving the quality attributes and functionality of goat milk yogurt. *LWT*, 184, 115016. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.115016>
- Ma, S., Wang, C., & Guo, M. (2018). Changes in structure and antioxidant activity of β -lactoglobulin by ultrasound and enzymatic treatment. *Ultrasonics Sonochemistry*, 43, 227–236. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.01.017>
- MacGibbon, A. K. H. (2022). General Characteristics of Milk Lipids. In *Encyclopedia of Dairy Sciences* (pp. 814–820). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-818766-1.00295-6>
- MacGibbon, A. K. H., & Fong, B. Y. (2022). Phospholipids. In *Encyclopedia of Dairy Sciences* (pp. 843–848). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818766-1.00318-4>
- MacGibbon, A. K. H., & Fuller, G. T. (2022). Triacylglycerols. In *Encyclopedia of Dairy Sciences* (pp. 849–853). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-818766-1.00319-6>
- MacGibbon, A. K. H., & Haddadian, Z. (2022). Fatty Acids. In *Encyclopedia of Dairy Sciences* (pp. 808–813). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818766-1.00294-4>
- Marnila, P., & Korhonen, H. (2002). MILK PROTEINS | Immunoglobulins. In *Encyclopedia of Dairy Sciences* (pp. 1950–1956). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b0-12-227235-8/00323-0>
- Martens, Harald, and Magni Martens. 2000. “Modified Jack-Knife Estimation of Parameter Uncertainty in Bilinear Modelling by Partial Least Squares Regression (PLSR).” *Food Quality and Preference* 11(1–2): 5–16.
- Martin, N. H., Evanowski, R. L., & Wiedmann, M. (2023). Invited review: Redefining raw milk quality—Evaluation of raw milk microbiological parameters to ensure high-quality processed dairy products. *Journal of Dairy Science*, 106(3), 1502–1517. <https://doi.org/10.3168/JDS.2022-22416>

Βιβλιογραφία

- Mason, T. J., Paniwnyk, L., & Chemat, F. (2003). Ultrasound as a preservation technology. In *Food Preservation Techniques* (pp. 303–337). Elsevier. <https://doi.org/10.1533/9781855737143.3.303>
- Massoud, R., Belgheisi, S., & Massoud, A. (2016). Effect of High Pressure Homogenization on Improving the Quality of Milk and Sensory Properties of Yogurt: A Review. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*, 7, 66–70. <https://doi.org/10.7763/IJCEA.2016.V7.544>
- McCarthy, O. J. (2022). Physical and Physico-Chemical Properties of Milk. In *Encyclopedia of Dairy Sciences* (pp. 603–614). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-818766-1.00334-2>
- McClements, D. J. (2016). *Food emulsions: Principles, practices, and techniques* (Third edition). CRC Press, Taylor & Francis Group.
- McDonnell, C., & Tiwari, B. K. (2017). Ultrasound. In *Comprehensive Analytical Chemistry* (Vol. 76, pp. 111–129). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/bs.coac.2017.03.005>
- McGuffey, R. K., Shirley, J. E., & Cogan, T. M. (2011). History of Dairy Science and Technology. In J. W. Fuquay, P. E. Fox, & P. L. Mc Sweeney (Eds.), *Encyclopedia of Dairy Sciences: Second Edition* (2nd ed., p. 1). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00537-9>
- McSweeney, P. L. H. (2022). Enzymes Exogenous to Milk in Dairy Technology: Catalase, Glucose Oxidase, Glucose Isomerase and Hexose Oxidase. In *Encyclopedia of Dairy Sciences* (pp. 637–639). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-818766-1.00297-x>
- Medina-Torres, N., Ayora-Talavera, T., Espinosa-Andrews, H., Sánchez-Contreras, A., & Pacheco, N. (2017). Ultrasound Assisted Extraction for the Recovery of Phenolic Compounds from Vegetable Sources. *Agronomy*, 7(3), 47. <https://doi.org/10.3390/agronomy7030047>
- Meghwal, M., Goyal, M. R., & Chavan, R. S. (Eds.). (2017b). *Dairy engineering: Advanced technologies and their applications* (1st ed). Apple Academic Press.
- Miano, A. C., Ibarz, A., & Augusto, P. E. D. (2016). Mechanisms for improving mass transfer in food with ultrasound technology: Describing the phenomena in two model cases. *Ultrasonics Sonochemistry*, 29, 413–419. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2015.10.020>
- Michalski, M. C., Cariou, R., Michel, F., & Garnier, C. (2002). Native vs. Damaged Milk Fat Globules: Membrane Properties Affect the Viscoelasticity of Milk Gels. *Journal of Dairy Science*, 85(10), 2451–2461. [https://doi.org/10.3168/JDS.S0022-0302\(02\)74327-0](https://doi.org/10.3168/JDS.S0022-0302(02)74327-0)
- Morand, M., Guyomarc'h, F., Pezennec, S., & Famelart, M. H. (2011). On how κ -casein affects the interactions between the heat-induced whey protein/ κ -casein complexes and the casein micelles during the acid gelation of skim milk. *International Dairy Journal*, 21(9), 670–678. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2011.01.012>

Βιβλιογραφία

- Morgan, A. J., Wynn, P. C., & Sheehy, P. A. (2016). Milk Proteins: Minor Proteins, Bovine Serum Albumin, and Vitamin-Binding Proteins and their Biological Properties. In Reference Module in Food Science. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-100596-5.00947-1>
- Morrissey, P. A., & Hill, T. R. (2011a). Vitamins: Vitamin C. In Encyclopedia of Dairy Sciences: Second Edition (pp. 667–674). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00483-0>
- Mortazavian, A. M., Ehsani, M. R., Mousavi, S. M., Reinheimer, J. A., Emamdjomeh, Z., Sohrabvandi, S., & Rezaei, K. (2006). Preliminary investigation of the combined effect of heat treatment and incubation temperature on the viability of the probiotic micro-organisms in freshly made yogurt. *International Journal of Dairy Technology*, 59(1), 8–11. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2006.00216.x>
- Mouchili, A. et al. 2005. "HS-SPME Gas Chromatographic Characterization of Volatile Compounds in Milk Tainted with off-Flavour." *International Dairy Journal* 15(12): 1203–15.
- Mouchili, A., Wichtel, J. J., Bosset, J. O., Dohoo, I. R., Imhof, M., Altieri, D., Mallia, S., & Stryhn, H. (2005). HS-SPME gas chromatographic characterization of volatile compounds in milk tainted with off-flavour. *International Dairy Journal*, 15(12), 1203–1215. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.11.018>
- Mulder, H., & Walstra, P. (1975). vCAB/ Commonwealth Agricultural Bureaux " Farnham Royal, Bucks., England, 1974.
- Munir, M., Nadeem, M., Qureshi, T. M., Leong, T. S. H., Gamlath, C. J., Martin, G. J. O., & Ashokkumar, M. (2019). Effects of high pressure, microwave and ultrasound processing on proteins and enzyme activity in dairy systems—A review. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 57, 102192. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.102192>
- Muthukumar, S., Kentish, S. E., Stevens, G. W., Ashokkumar, M., & Mawson, R. (2007). The application of ultrasound to dairy ultrafiltration: The influence of operating conditions. *Journal of Food Engineering*, 81(2), 364–373. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.11.008>
- Nadykto, V. (Ed.). (2019). *Modern Development Paths of Agricultural Production: Trends and Innovations*. Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-14918-5>
- Napoli, J. L. (2021). Vitamins: Vitamin A (Retinoids). In *Encyclopedia of Biological Chemistry: Third Edition* (Vol. 2, pp. 1088–1096). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.21374-5>
- Narvhus, J. A., & Abrahamsen, R. K. (2022). Yogurt: Types and Manufacture. In *Encyclopedia of Dairy Sciences* (pp. 502–510). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-818766-1.00234-8>
- Nedovic, V., Kalusevic, A., Manojlovic, V., Levic, S., & Bugarski, B. (2011). An overview of encapsulation technologies for food applications. *Procedia Food Science*, 1, 1806–1815. <https://doi.org/10.1016/J.PROFOO.2011.09.265>

Βιβλιογραφία

- Ng-Kwai-Hang, K. F. (2011). Milk Proteins: Heterogeneity, Fractionation, and Isolation. In J. W. Fuquay, P. E. Fox, & P. L. . Mc Sweeney (Eds.), *Encyclopedia of Dairy Sciences: Second Edition* (pp. 751–764). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00429-5>
- Nguyen, N. H. A., & Anema, S. G. (2010). Effect of ultrasonication on the properties of skim milk used in the formation of acid gels. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 11(4), 616–622. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2010.05.006>
- Nguyen, T. M. P., Lee, Y. K., & Zhou, W. (2009). Stimulating fermentative activities of bifidobacteria in milk by highintensity ultrasound. *International Dairy Journal*, 19(6–7), 410–416. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2009.02.004>
- Nieuwenhuijse, H., & Huppertz, T. (2022). Milk Salts: Interaction with Caseins. In *Encyclopedia of Dairy Sciences* (pp. 954–960). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-818766-1.00279-8>
- Nöbel, S., Weidendorfer, K., & Hinrichs, J. (2012). Apparent voluminosity of casein micelles determined by rheometry. *Journal of Colloid and Interface Science*, 386(1), 174–180. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2012.07.075>
- Noci, F., Walkling-Ribeiro, M., Cronin, D. A., Morgan, D. J., & Lyng, J. G. (2009). Effect of thermosonication, pulsed electric field and their combination on inactivation of *Listeria innocua* in milk. *International Dairy Journal*, 19(1), 30–35. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2008.07.002>
- Nohr, D. (2011). Vitamins: General Introduction. In *Encyclopedia of Dairy Sciences: Second Edition* (pp. 636–638). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00478-7>
- Nohr, D., Biesalski, H. K., & Back, E. I. (2011a). Vitamins: Niacin. In *Encyclopedia of Dairy Sciences: Second Edition* (pp. 690–693). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00487-8>
- Nohr, D., Biesalski, H. K., & Back, E. I. (2011b). Vitamins: Pantothenic Acid. In *Encyclopedia of Dairy Sciences: Second Edition* (pp. 694–696). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00488-X>
- Nohr, D., Biesalski, H. K., & Back, E. I. (2011c). Vitamins: Riboflavin. In *Encyclopedia of Dairy Sciences: Second Edition* (pp. 704–706). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00491-X>
- Nohr, D., Biesalski, H. K., & Back, E. I. (2011d). Vitamins: Thiamine. In *Encyclopedia of Dairy Sciences: Second Edition* (pp. 701–703). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00490-8>
- Nohr, D., Biesalski, H. K., & Back, E. I. (2011e). Vitamins: Vitamin B12. In *Encyclopedia of Dairy Sciences: Second Edition* (pp. 675–677). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00484-2>
- Nohr, D., Biesalski, H. K., & Back, E. I. (2011f). Vitamins: Vitamin B6. In *Encyclopedia of Dairy Sciences: Second Edition* (pp. 697–700). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00489-1>

Βιβλιογραφία

- O'Brien, N. M., & O'Connor, T. P. (2022). Lipid Oxidation. In *Encyclopedia of Dairy Sciences* (pp. 821–826). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818766-1.00333-0>
- Ojha, K. S., Aznar, R., O'Donnell, C., & Tiwari, B. K. (2020). Ultrasound technology for the extraction of biologically active molecules from plant, animal and marine sources. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 122, 115663. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.115663>
- Ortega-Anaya, J., Marciniak, A., & Jiménez-Flores, R. (2022). Milk Lipids: Milk Fat Globule Membrane. In *Encyclopedia of Dairy Sciences* (pp. 835–842). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-818766-1.00007-6>
- Ott, A., Fay, L. B., & Chaintreau, A. (1997). Determination and Origin of the Aroma Impact Compounds of Yogurt Flavor. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(3), 850–858. <https://doi.org/10.1021/jf960508e>
- Ozturk, O. K., & Turasan, H. (2021). Applications of microfluidization in emulsion-based systems, nanoparticle formation, and beverages. *Trends in Food Science & Technology*, 116, 609–625. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.07.033>
- Pacheco, F. C., Teixeira, E. de F., Pacheco, A. F. C., Paiva, P. H. C., Tribst, A. A. L., & Leite Júnior, B. R. de C. (2023). Impact of ultrasound-assisted fermentation on buffalo yogurt production: Effect on fermentation kinetic and on physicochemical, rheological, and structural characteristics. *Applied Food Research*, 3(2), 100338. <https://doi.org/10.1016/j.afres.2023.100338>
- Pagnossa, J. P., Rocchetti, G., Ribeiro, A. C., Piccoli, R. H., & Lucini, L. (2020). Ultrasound: beneficial biotechnological aspects on microorganisms-mediated processes. *Current Opinion in Food Science*, 31, 24–30. <https://doi.org/10.1016/J.COFS.2019.10.006>
- Pan, D. D., Wu, Z., Peng, T., Zeng, X. Q., & Li, H. (2014). Volatile organic compounds profile during milk fermentation by *Lactobacillus pentosus* and correlations between volatiles flavor and carbohydrate metabolism. *Journal of Dairy Science*, 97(2), 624–631. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7131>
- Panagiotou, T., & Fisher, R. (2008). Reactions and Separations Form Nanoparticles via Controlled Crystallization. *Chemical Engineering Progress*.
- Panagiotou, T., Mesite, S., Bernard, J., Chomistek, K., & Fisher, R. (2008). Production of Polymer Nanosuspensions Using Microfluidizer® Processor Based Technologies.
- Pedras, M. M., Tribst, A. A. L., & Cristianini, M. (2014). Effects of high-pressure homogenisation on physicochemical characteristics of partially skimmed milk. *International Journal of Food Science & Technology*, 49(3), 861–866. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12378>

Βιβλιογραφία

- Pellegrini, A., Thomas, U., Bramaz, N., Hunziker, P., & Von Fellenberg, R. (1999). Isolation and identification of three bactericidal domains in the bovine α -lactalbumin molecule. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*, 1426(3), 439–448. [https://doi.org/10.1016/S0304-4165\(98\)00165-2](https://doi.org/10.1016/S0304-4165(98)00165-2)
- Pereda, J., Ferragut, V., Quevedo, J. M., Guamis, B., & Trujillo, A. J. (2007). Effects of Ultra-High Pressure Homogenization on Microbial and Physicochemical Shelf Life of Milk. *Journal of Dairy Science*, 90(3), 1081–1093. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(07\)71595-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(07)71595-3)
- Pereda, J., Jaramillo, D. P., Quevedo, J. M., Ferragut, V., Guamis, B., & Trujillo, A. J. (2008). Characterization of volatile compounds in ultra-high-pressure homogenized milk. *International Dairy Journal*, 18(8), 826–834. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2007.12.002>
- Pereira, R. B., H. Singh, P. A. Munro, and M. S. Luckman. 2003. “Sensory and Instrumental Textural Characteristics of Acid Milk Gels.” *International Dairy Journal* 13(8): 655–67.
- Permyakov, E. A., & Berliner, L. J. (2000). α -Lactalbumin : structure and function. *Federation of European Biochemical Societies Letters*, 473, 269–274. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(00\)01546-5](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(00)01546-5)
- Peterz, M., Wiberg, C., & Norberg, P. (1989). The effect of incubation temperature and magnesium chloride concentration on growth of salmonella in home-made and in commercially available dehydrated Rappaport-Vassiliadis broths. *Journal of Applied Bacteriology*, 67(6), 523–528. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1989.tb02535.x>
- Picó, Y. (2013). Ultrasound-assisted extraction for food and environmental samples. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 43, 84–99. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.12.005>
- Pingret, D., Fabiano-Tixier, A.-S., & Chemat, F. (2013). CHAPTER 3. Ultrasound-assisted Extraction. In M. A. Rostagno & J. M. Prado (Eds.), *Green Chemistry Series* (pp. 89–112). Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/9781849737579-00089>
- Potoroko, I., Kalinina, I., Botvinnikova, V., Krasulya, O., Fatkullin, R., Bagale, U., & Sonawane, S. H. (2018). Ultrasound effects based on simulation of milk processing properties. *Ultrasonics Sonochemistry*, 48, 463–472. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.06.019>
- Putnik, P., Bursać Kovačević, D., Režek Jambrak, A., Barba, F., Cravotto, G., Binello, A., Lorenzo, J., & Shpigelman, A. (2017). Innovative “Green” and Novel Strategies for the Extraction of Bioactive Added Value Compounds from Citrus Wastes—A Review. *Molecules*, 22(5), 680. <https://doi.org/10.3390/molecules22050680>
- Putnik, P., Lorenzo, J., Barba, F., Roohinejad, S., Režek Jambrak, A., Granato, D., Montesano, D., & Bursać Kovačević, D. (2018). Novel Food Processing and Extraction Technologies of High-Added Value Compounds from Plant Materials. *Foods*, 7(7), 106. <https://doi.org/10.3390/foods7070106>

Βιβλιογραφία

- Qi, P. X., Ren, D., Xiao, Y., & Tomasula, P. M. (2015). Effect of homogenization and pasteurization on the structure and stability of whey protein in milk. *Journal of Dairy Science*, 98(5), 2884–2897. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8920>
- Qian, C., & McClements, D. J. (2011). Formation of nanoemulsions stabilized by model food-grade emulsifiers using high-pressure homogenization: Factors affecting particle size. *Food Hydrocolloids*, 25(5), 1000–1008. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2010.09.017>
- Rahman, M. M., & Lamsal, B. P. (2021). Ultrasound-assisted extraction and modification of plant-based proteins: Impact on physicochemical, functional, and nutritional properties. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(2), 1457–1480. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12709>
- Raso, J., Palop, A., Pagán, R., & Condón, S. (1998). Inactivation of *Bacillus subtilis* spores by combining ultrasonic waves under pressure and mild heat treatment. *Journal of Applied Microbiology*, 85(5), 849–854. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.1998.00593.x>
- Reis, M. G., Harris, P., Berry, C., Nguyen, H., Maclean, P., & Weeks, M. (2020). Tracking changes in volatile components and lipids after homogenisation and thermal processing of milk. *International Dairy Journal*, 103, 104624. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2019.104624>
- Renault, C., Gastaldi, E., Cuq, J. L., & De La Fuente, B. T. (2000). Effect of Temperature of Milk Acidification on Rennet Gel Properties. *Journal of Food Science*, 65(4), 630–634. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb16063.x>
- Riccio, P. (2004). The proteins of the milk fat globule membrane in the balance. *Trends in Food Science and Technology*, 15(9), 458–461. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.12.005>
- Riener, J., Noci, F., Cronin, D. A., Morgan, D. J., & Lyng, J. G. (2009). Characterisation of volatile compounds generated in milk by high intensity ultrasound. *International Dairy Journal*, 19(4), 269–272. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2008.10.017>
- Riener, J., Noci, F., Cronin, D. A., Morgan, D. J., & Lyng, J. G. (2009b). The effect of thermosonication of milk on selected physicochemical and microstructural properties of yoghurt gels during fermentation. *Food Chemistry*, 114(3), 905–911. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.10.037>
- Roberts, S. M., Kehrler, J. P., & Klotz, L.-O. (2015). *Studies on experimental toxicology and pharmacology*. Humana Press.
- Rocha-Mendoza, D., & Jiménez-Flores, R. (2022). Casein Nomenclature, Structure, and Association. In *Encyclopedia of Dairy Sciences* (pp. 870–880). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-818766-1.00277-4>

Βιβλιογραφία

- Saint-Eve, A., Lévy, C., Le Moigne, M., Ducruet, V., & Souchon, I. (2008). Quality changes in yogurt during storage in different packaging materials. *Food Chemistry*, 110(2), 285–293. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.01.070>
- Sadat-Mekmene, L., Jardin, J., Corre, C., Mollé, D., Richoux, R., Delage, M. M., Lortal, S., & Gagnaire, V. (2011). Simultaneous presence of PrtH and PrtH2 proteinases in *Lactobacillus helveticus* strains improves breakdown of the pure α s1-casein. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(1), 179–186. <https://doi.org/10.1128/AEM.01466-10>
- Sakakibara, M., Wang, D., Ikeda, K., & Suzuki, K. (1994). Effect of ultrasonic irradiation on production of fermented milk with *Lactobacillus delbrueckii*. *Ultrasonics Sonochemistry*, 1(2), S107–S110. [https://doi.org/10.1016/1350-4177\(94\)90007-8](https://doi.org/10.1016/1350-4177(94)90007-8)
- Sánchez Rodas, M., Gallego, D. C., Oraevsky, A. A., & Lamela, H. (2023). Laser ultrasound emitter using low cost and compact high power diode laser for ultrasound biomedical imaging. In A. A. Oraevsky & L. V. Wang (Eds.), *Photons Plus Ultrasound: Imaging and Sensing 2023* (p. 131). SPIE. <https://doi.org/10.1117/12.2657988>
- Sandoval-Castilla, O., Lobato-Calleros, C., Aguirre-Mandujano, E., & Vernon-Carter, E. J. (2004). Microstructure and texture of yogurt as influenced by fat replacers. *International Dairy Journal*, 14(2), 151–159. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(03\)00166-3](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(03)00166-3)
- Sandra, S., & Dalgleish, D. G. (2005). Effects of ultra-high-pressure homogenization and heating on structural properties of casein micelles in reconstituted skim milk powder. *International Dairy Journal*, 15(11), 1095–1104. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.11.015>
- Santana, R. C., Perrechil, F. A., & Cunha, R. L. (2013). High- and Low-Energy Emulsifications for Food Applications: A Focus on Process Parameters. *Food Engineering Reviews*, 5(2), 107–122. <https://doi.org/10.1007/s12393-013-9065-4>
- Sauvant, P., Graulet, B., Martin, B., Grolier, P., & Azais-Braesco, V. (2011). Vitamins: Vitamin A. In *Encyclopedia of Dairy Sciences: Second Edition* (pp. 639–645). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00479-9>
- Scudino, H., Silva, E. K., Gomes, A., Guimarães, J. T., Cunha, R. L., Sant’Ana, A. S., Meireles, M. A. A., & Cruz, A. G. (2020). Ultrasound stabilization of raw milk: Microbial and enzymatic inactivation, physicochemical properties and kinetic stability. *Ultrasonics Sonochemistry*, 67, 105185. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105185>

Βιβλιογραφία

- Serra, M., Trujillo, A. J., Guamis, B., & Ferragut, V. (2009). Flavour profiles and survival of starter cultures of yoghurt produced from high-pressure homogenized milk. *International Dairy Journal*, 19(2), 100–106. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2008.08.002>
- Sert, D., Mercan, E., & Tanrikulu, M. (2023). Impact of high-pressure homogenisation of milk on physicochemical, microbiological, and textural characteristics of sheep milk yoghurt. *International Dairy Journal*, 144, 105704. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2023.105704>
- Sfakianakis, P., & Tzia, C. (2014). Conventional and Innovative Processing of Milk for Yogurt Manufacture; Development of Texture and Flavor: A Review. *Foods*, 3(1), 176–193. <https://doi.org/10.3390/foods3010176>
- Sfakianakis, P., Topakas, E., & Tzia, C. (2015). Comparative Study on High-Intensity Ultrasound and Pressure Milk Homogenization: Effect on the Kinetics of Yogurt Fermentation Process. *Food and Bioprocess Technology*, 8(3), 548–557. <https://doi.org/10.1007/s11947-014-1412-9>
- Shakeel-Ur-Rehman, & Farkye, N. Y. (2022). Enzymes Indigenous to Milk: Phosphatases. In *Encyclopedia of Dairy Sciences* (pp. 688–692). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-818766-1.00331-7>
- Shanmugam, A., Chandrapala, J., & Ashokkumar, M. (2012). The effect of ultrasound on the physical and functional properties of skim milk. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 16, 251–258. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2012.06.005>
- Shen, X., Zhao, C., & Guo, M. (2017). Effects of high intensity ultrasound on acid-induced gelation properties of whey protein gel. *Ultrasonics Sonochemistry*, 39, 810–815. <https://doi.org/10.1016/J.ULTSONCH.2017.05.039>
- Sheu, B. S., Wu, J. J., Lo, C. Y., Wu, H. W., Chen, J. H., Lin, Y. S., & Lin, M. D. (2002). Impact of supplement with *Lactobacillus*- and *Bifidobacterium*-containing yogurt on triple therapy for *Helicobacter pylori* eradication. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 16(9), 1669–1675. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2036.2002.01335.x>
- Shokri, S., Javanmardi, F., Mohammadi, M., & Mousavi Khaneghah, A. (2022). Effects of ultrasound on the techno-functional properties of milk proteins: A systematic review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 83, 105938. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2022.105938>
- Silva, M., Zisu, B., & Chandrapala, J. (2018). Influence of low-frequency ultrasound on the physico-chemical and structural characteristics of milk systems with varying casein to whey protein ratios. *Ultrasonics Sonochemistry*, 49, 268–276. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.08.015>

Βιβλιογραφία

- Sodini, I., Lucas, A., Tissier, J. P., & Corrieu, G. (2005). Physical properties and microstructure of yoghurts supplemented with milk protein hydrolysates. *International Dairy Journal*, 15(1), 29–35. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.05.006>
- Soria, A. C., & Villamiel, M. (2010). Effect of ultrasound on the technological properties and bioactivity of food: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 21(7), 323–331. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2010.04.003>
- Soukoulis, C., Panagiotidis, P., Koureli, R., & Tzia, C. (2007). Industrial yogurt manufacture: Monitoring of fermentation process and improvement of final product quality. *Journal of Dairy Science*, 90(6), 2641–2654. <https://doi.org/10.3168/jds.2006-802>
- Soukoulis, Christos, Eleni Lyroni, and Constantina Tzia. 2010. “Sensory Profiling and Hedonic Judgement of Probiotic Ice Cream as a Function of Hydrocolloids, Yogurt and Milk Fat Content.” *LWT - Food Science and Technology* 43(9): 1351–58. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2010.05.006>.
- Suslick, K. S. (1989). The Chemical Effects of Ultrasound. *Scientific American*, 260(2), 80–86. <https://doi.org/10.1038/scientificamerican0289-80>
- Sutariya, S., Sunkesula, V., Kumar, R., & Shah, K. (2018). Emerging applications of ultrasonication and cavitation in dairy industry: A review. *Cogent Food & Agriculture*, 4(1), 1549187. <https://doi.org/10.1080/23311932.2018.1549187>
- Taha, A., Mehany, T., Pandiselvam, R., Anusha Siddiqui, S., Mir, N. A., Malik, M. A., Sujayasree, O. J., Alamuru, K. C., Khanashyam, A. C., Casanova, F., Xu, X., Pan, S., & Hu, H. (2023). Sonoprocessing: Mechanisms and recent applications of power ultrasound in food. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1–39. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2161464>
- Tamime, A. Y. (2009). *Dairy fats and related products*. Wiley-Blackwell.
- Tamime, A. Y., & Robinson, R. K. (2007a). Background to manufacturing practice. In *Tamime and Robinson’s Yoghurt* (pp. 13–161). Elsevier. <https://doi.org/10.1533/9781845692612.13>
- Tamime, A. Y., & Robinson, R. K. (2007b). Historical background. In *Tamime and Robinson’s Yoghurt* (pp. 1–12). Elsevier. <https://doi.org/10.1533/9781845692612.1>
- Tamime, A. Y., & Robinson, R. K. (2007c). Quality control in yoghurt manufacture. In *Tamime and Robinson’s Yoghurt* (pp. 685–753). Elsevier. <https://doi.org/10.1533/9781845692612.685>
- Tao, Y., Wang, P., Wang, Y., Kadam, S. U., Han, Y., Wang, J., & Zhou, J. (2016). Power ultrasound as a pretreatment to convective drying of mulberry (*Morus alba* L.) leaves: Impact on drying kinetics and selected quality properties. *Ultrasonics Sonochemistry*, 31, 310–318. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.01.012>

Βιβλιογραφία

- Taylor, M. J., & Richardson, T. (1980). Antioxidant Activity of Skim Milk: Effect of Sonication. *Journal of Dairy Science*, 63(11), 1938–1942. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(80\)83161-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(80)83161-4)
- Taylor, M. W., & MacGibbon, A. K. H. (2011). Milk Lipids: General Characteristics. In *Encyclopedia of Dairy Sciences: Second Edition* (pp. 649–654). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00331-9>
- Thi Hong Bui, A., Cozzolino, D., Zisu, B., & Chandrapala, J. (2020). Effects of high and low frequency ultrasound on the production of volatile compounds in milk and milk products – a review. *Journal of Dairy Research*, 87(4), 501–512. <https://doi.org/10.1017/S0022029920001107>
- Thiebaud, M., Dumay, E., Picart, L., Guiraud, J. P., & Cheftel, J. C. (2003). High-pressure homogenisation of raw bovine milk. Effects on fat globule size distribution and microbial inactivation. *International Dairy Journal*, 13(6), 427–439. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(03\)00051-7](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(03)00051-7)
- Thomas, J. (2021). Consumer perceptions of additives in dairy products. In *Encyclopedia of Dairy Sciences: Third edition* (Vol. 5, pp. 737–741). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-818766-1.00053-2>
- Thompson, L. H., & Doraiswamy, L. K. (1999). Sonochemistry: Science and Engineering. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 38(4), 1215–1249. <https://doi.org/10.1021/ie9804172>
- Thum, C., Cirelli, A., Otoki, Y., Ozturk, G., Taha, A. Y., McNabb, W. C., Roy, N. C., & Leite Nobrega De Moura Bell, J. M. (2023). Concentration of milk oxylipins after heat and homogenization treatments. *Frontiers in Food Science and Technology*, 3, 1027418. <https://doi.org/10.3389/frfst.2023.1027418>
- Tiwari, B. K. (2015). Ultrasound: A clean, green extraction technology. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 71, 100–109. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.04.013>
- Tobin, J., Heffernan, S. P., Mulvihill, D. M., Huppertz, T., & Kelly, A. L. (2015). Applications of High-Pressure Homogenization and Microfluidization for Milk and Dairy Products. In N. Datta & P. M. Tomasula (Eds.), *Emerging Dairy Processing Technologies* (1st ed., pp. 93–114). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781118560471.ch4>
- Touhami, S., Marciniak, A., Doyen, A., & Brisson, G. (2022). Effect of alkalization and ultra-high-pressure homogenization on casein micelles in raw and pasteurized skim milk. *Journal of Dairy Science*, 105(4), 2815–2827. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20700>
- Trachoo, N. (2002). Yogurt : The fermented milk. *Journal of Science and Technology*, 24(4)(February), 727–737.
- Trejo, R., Dokland, T., Jurat-Fuentes, J., & Harte, F. (2011). Cryo-transmission electron tomography of native casein micelles from bovine milk. *Journal of Dairy Science*, 94(12), 5770–5775. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4368>

Βιβλιογραφία

- Tripathi, M. K., & Giri, S. K. (2014). Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. *Journal of Functional Foods*, 9(1), 225–241. <https://doi.org/10.1016/J.JFF.2014.04.030>
- Truong, T. (2022). Emulsifiers. In *Encyclopedia of Dairy Sciences* (pp. 637–649). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818766-1.00320-2>
- Tsevdou, M. S., & Taoukis, P. S. (2011). Effect of non-thermal processing by High Hydrostatic Pressure on the survival of probiotic microorganisms: Study on *Bifidobacteria* spp. *Anaerobe*, 17(6), 456–458. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2011.06.007>
- Tunick, M. H. (2000). Rheology of dairy foods that gel, stretch, and fracture. *Journal of Dairy Science*, 83(8), 1892–1898. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(00\)75062-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)75062-4)
- Uluko, H., Zhang, S., Liu, L., Tsakama, M., Lu, J., & Lv, J. (2015). Effects of thermal, microwave, and ultrasound pretreatments on antioxidative capacity of enzymatic milk protein concentrate hydrolysates. *Journal of Functional Foods*, 18, 1138–1146. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.11.024>
- Uriot, O., Denis, S., Junjua, M., Roussel, Y., Dary-Mouro, A., & Blanquet-Diot, S. (2017). *Streptococcus thermophilus*: From yogurt starter to a new promising probiotic candidate? *Journal of Functional Foods*, 37, 74–89. <https://doi.org/10.1016/J.JFF.2017.07.038>
- Vaidya, H. A., Ertunç, Ö., Lichtenegger, T., Delgado, A., & Skupin, A. (2016). The penetration of acoustic cavitation bubbles into micrometer-scale cavities. *Ultrasonics*, 67, 190–198. <https://doi.org/10.1016/j.ultras.2015.12.009>
- Van Hekken, D. L., Renye, J., Bucci, A. J., & Tomasula, P. M. (2019). Characterization of the physical, microbiological, and chemical properties of sonicated raw bovine milk. *Journal of Dairy Science*, 102(8), 6928–6942. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15775>
- van Staveren, W. A., & de Groot, L. C. P. M. G. (2011). Vitamins: Vitamin D. In *Encyclopedia of Dairy Sciences: Second Edition* (pp. 646–651). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00480-5>
- Vandenplas, Y., Huys, G., & Daube, G. (2015). Probiotics: an update. *Jornal de Pediatria*, 91(1), 6–21. <https://doi.org/10.1016/J.JPED.2014.08.005>
- Vasiljevic, T. (2021). Probiotic cultures in cheese and yogurt. In *Encyclopedia of Dairy Sciences: Third edition* (Vol. 3, pp. 472–488). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818766-1.00163-X>
- Villamiel, M., & De Jong, P. (2000). Influence of High-Intensity Ultrasound and Heat Treatment in Continuous Flow on Fat, Proteins, and Native Enzymes of Milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(2), 472–478. <https://doi.org/10.1021/jf990181s>
- Villamiel, M., Verdurmen, R., & Jong, P. de. (2000). Degassing of milk by high-intensity ultrasound. *Milchwissenschaft*, 55(3), 123–125.

Βιβλιογραφία

- Vinderola, G., Prosello, W., Molinari, F., Ghiberto, D., & Reinheimer, J. (2009). Growth of *Lactobacillus paracasei* A13 in Argentinian probiotic cheese and its impact on the characteristics of the product. *International Journal of Food Microbiology*, 135(2), 171–174. <https://doi.org/10.1016/J.IJFOODMICRO.2009.08.021>
- Vyas, S., & Ting, Y.-P. (2017). A Review of the Application of Ultrasound in Bioleaching and Insights from Sonication in (Bio)Chemical Processes. *Resources*, 7(1), 3. <https://doi.org/10.3390/resources7010003>
- Wali, A., Ma, H., Shah Nawaz, M., Hayat, K., Xiaong, J., & Jing, L. (2017). Impact of Power Ultrasound on Antihypertensive Activity, Functional Properties, and Thermal Stability of Rapeseed Protein Hydrolysates. *Journal of Chemistry*, 2017, 1–11. <https://doi.org/10.1155/2017/4373859>
- Walstra, P., Walstra, P., Wouters, J. T. M., & Geurts, T. J. (2005). *Dairy Science and Technology* (0 ed.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781420028010>
- Waugh, D. F., Creamer, L. K., Slattey, C. W., & Dresdner, G. W. (1970). Core Polymers of Casein Micelles. *Biochemistry*, 9(4), 786–795. <https://doi.org/10.1021/bi00806a011>
- Wehr, H. M., & Frank, J. F. (Eds.). (2004). *Standard methods for the examination of dairy products* (17th edition). American Public Health Association.
- Wiking, L., Gregersen, S. B., Hansen, S. F., & Hammershøj, M. (2022). Heat-induced changes in milk fat and milk fat globules and its derived effects on acid dairy gelation – A review. *International Dairy Journal*, 127, 105213. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105213>
- Wilbey, R. A. (2011). HOMOGENIZATION OF MILK | Principles and Mechanism of Homogenization, Effects and Assessment of Efficiency: Valve Homogenizers. In *Encyclopedia of Dairy Sciences* (pp. 750–754). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00223-5>
- Wilbey, R. A. (2011). Homogenization of Milk. In J. W. Fuquay, P. E. Fox, & P. L. Mc Sweeney (Eds.), *Encyclopedia of Dairy Sciences: Second Edition* (2nd ed., Issue 1994, pp. 1346–1349). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/b0-12-227235-8/00202-9>
- Wooster, T. J., Golding, M., & Sanguansri, P. (2008). Impact of Oil Type on Nanoemulsion Formation and Ostwald Ripening Stability. *Langmuir*, 24(22), 12758–12765. <https://doi.org/10.1021/la801685v>
- Wu, H., Hulbert, G. J., & Mount, J. R. (2000). Effects of ultrasound on milk homogenization and fermentation with yogurt starter. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 1(3), 211–218. [https://doi.org/10.1016/S1466-8564\(00\)00020-5](https://doi.org/10.1016/S1466-8564(00)00020-5)
- Wu, J., Dai, T., Lin, R., Niu, J., Li, Z., Chang, Z., Jia, C., Zou, C., Jiang, D., Jin, M., Huang, J., & Gao, H. (2023). Effect of protein-glutaminase on the texture, rheology, microstructure and sensory properties of skimmed set-type yoghurt. *Food Chemistry*, 429, 136831. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136831>

Βιβλιογραφία

- Xiong, X., & Bansal, N. (2022). β -Lactoglobulin. In *Encyclopedia of Dairy Sciences* (pp. 860–869). Elsevier.
<https://doi.org/10.1016/b978-0-12-818766-1.00372-x>
- Ye, A., Cui, J., Dalgleish, D., & Singh, H. (2017). Effect of homogenization and heat treatment on the behavior of protein and fat globules during gastric digestion of milk. *Journal of Dairy Science*, 100(1), 36–47.
<https://doi.org/10.3168/jds.2016-11764>
- Ye, A., Singh, H., Oldfield, D. J., & Anema, S. (2004). Kinetics of heat-induced association of β -lactoglobulin and α -lactalbumin with milk fat globule membrane in whole milk. *International Dairy Journal*, 14(5), 389–398.
<https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2003.09.004>
- Zamora, A., Trujillo, A. J., Armaforte, E., Waldron, D. S., & Kelly, A. L. (2012). Effect of fat content and homogenization under conventional or ultra-high-pressure conditions on interactions between proteins in rennet curds. *Journal of Dairy Science*, 95(9), 4796–4803. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5351>
- Zisu, B., & Chandrapala, J. (2015). High Power Ultrasound Processing in Milk and Dairy Products. In N. Datta & P. M. Tomasula (Eds.), *Emerging Dairy Processing Technologies* (1st ed., pp. 149–180). Wiley.
<https://doi.org/10.1002/9781118560471.ch6>
- Zisu, B., Bhaskaracharya, R., Kentish, S., & Ashokkumar, M. (2010). Ultrasonic processing of dairy systems in large scale reactors. *Ultrasonics Sonochemistry*, 17(6), 1075–1081.
<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2009.10.014>