

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΥ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ
ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

**«ΜΕΛΕΤΗ ΒΙΩΣΙΜΟΤΗΤΑΣ ΤΗΣ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΗΣ
ΜΙΚΡΟΧΛΩΡΙΔΑΣ ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΟΥ ΖΥΜΩΜΕΝΟΥ ΑΓΕΛΑΔΙΝΟΥ
ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ ΣΕ ΟΙΚΙΑΚΟ
ΨΥΓΕΙΟ»**

ΣΑΛΑΜΟΥΡΑ ΧΡΥΣΟΥΛΑ

ΑΜ.:2010086



Επιβλέπων καθηγητής: Κανδύλης Παναγιώτης

ΚΑΛΑΜΑΤΑ
2015

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα μελέτη προβιοτικά ζυμωμένα γάλατα παράχθηκαν χρησιμοποιώντας παστεριωμένο αγελαδινό γάλα. Τρεις διαφορετικοί μικροοργανισμοί χρησιμοποιήθηκαν στην παραγωγή τους δηλαδή *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* (CH-1), και *Lactobacillus casei* ATCC 393. Η βιωσιμότητά τους παρακολουθήθηκε κατά την αποθήκευση στους 4 °C για 4 εβδομάδες. Όλοι οι μικροοργανισμοί ήταν παρόντες στους ίδιους αριθμούς κατά την πρώτη ημέρα ($\approx 8.5 \log \text{cfu/g}$), αλλά κατά την διάρκεια της αποθήκευσης ο αριθμός τους μειώθηκε. Η μείωση ήταν μεγαλύτερη στην περίπτωση του *L. bulgaricus*. Στις μετρήσεις των *L. casei* και *S. thermophilus* μια αργή και σταθερή μείωση παρατηρήθηκε. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι όλοι οι μικροοργανισμοί διατήρησαν τους αριθμούς των ζωντανών κυττάρων υψηλότερα από $6 \log \text{cfu/g}$, ακόμη και στο τέλος της αποθήκευσης, κάτι που είναι σημαντικό για την επιβεβαίωση του προβιοτικού χαρακτήρα του προϊόντος. Οι τιμές του pH συνεχώς μειωνόταν κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης και ταυτόχρονα οι τιμές της οξύτητας αυξάνοταν. Στην οργανοληπτική αξιολόγηση διαπιστώθηκε η συνολική ποιότητα των προβιοτικών ζυμωμένων γαλάτων, η οποία σημείωσε παρόμοιες αν και ελαφρά μικρότερες τιμές σε σχέση με το εμπορικό δείγμα.

Λέξεις κλειδιά: ζυμωμένα γάλατα, προβιοτικό, *L. casei*, οργανοληπτικός έλεγχος

ABSTRACT

In the present study probiotic fermented milks were produced using pasteurized cow's milks. Three different microorganisms were used in their production namely *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* (CH-1) and *Lactobacillus casei* ATCC 393. Their viability was monitored during storage at 4 °C for 4 weeks. All microorganisms were present at the same numbers at the first day (≈ 8.5 log cfu/g), but during storage their numbers were declined. This decline was higher in the case of *L. bulgaricus*. In the counts of *L. casei* and *S. thermophilus* a slow and constant decrease was observed. It should be noted that all microorganisms retained viable numbers higher than 6 log cfu/g even at the end of the storage, something that is important to confirm the probiotic character of the product. The pH values of the products were continuously reduced and the acidity was continuously increased. The sensory evaluation ascertained the overall quality of the probiotic fermented milks that scored slightly lower values than those of the commercial sample.

Keywords: fermented milk, probiotic, *L. casei*, sensory evaluation

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ	7
1. ΓΕΝΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΓΙΑ ΤΟ ΓΑΛΑ	9
1.1. Προϊόντα επεξεργασίας γάλακτος	10
1.1.1. Στάδια παραγωγής γαλακτοκομικών προϊόντων	14
1.1.2. Παραγωγή προϊόντων γάλακτος ρευστής μορφής	17
1.1.3. Συμπυκνωμένα/αποβουτυρωμένα προϊόντα γάλακτος	19
1.2. Γαλακτοκομικά προϊόντα - διαδικασία ζύμωσης	20
1.2.1. Κεφίρ	21
1.2.2. Προϊόντα τυριού - Προϊόντα τυρογάλακτος	22
1.3. Ξινόγαλα	22
1.3.1. Τύποι οξυγαλάτων	23
1.3.2. Ελληνικό οξύγαλα ή ξινόγαλα	24
1.3.3. Ξινισμένο βιομηχανικής παραγωγής (ξινόγαλα)	25
1.3.4. Χαρακτηριστικά καλής ποιότητας ξινογάλακτος	25
1.4. Η καλλιέργεια του ξινόγαλα – Χαρακτηριστικά γνωρίσματα	26
1.4.1. Γένος <i>Lactobacillus</i>	27
1.4.2. Γένος <i>Streptococcus</i>	32
1.4.3. Συμβίωση	34
1.4.4. Γαλακτική Ζύμωση – Βιοχημικές αντιδράσεις	34
1.5. Προβιοτικά	35
1.6. Διάρκεια Συντήρησης Ξινογάλακτος	43
1.7. Οφέλη ξινογάλακτος	45
2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	47
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΥ ΜΕΡΟΥΣ	
ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ	53
3.1. Γενικά	53
3.2. Πίνακες αποτελεσμάτων	53
3.3. Γραφική απεικόνιση και ανάλυση αποτελεσμάτων	55

3.4. Οργανοληπτικός έλεγχος	57
4. ΤΕΛΙΚΑ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΕΡΓΑΣΙΕΣ	58
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	59
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	68

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ

Διάγραμμα 1: Διάγραμμα ροής οξυγάλατος	23
Διάγραμμα 2: Διάγραμμα ροής πειράματος	52
Διάγραμμα 3: Απεικόνιση της ανάπτυξης του <i>Streptococcus thermophilus</i> και μεταβολή της οξύτητας για χρονική περίοδο 28 ημερών.	55
Διάγραμμα 4: Απεικόνιση της ανάπτυξης του <i>Lactobacillus bulgaricus</i> και μεταβολή της οξύτητας για χρονική περίοδο 28 ημερών.	55
Διάγραμμα 5: Απεικόνιση της ανάπτυξης του <i>Lactobacillus casei</i> ATCC 393 και μεταβολή της οξύτητας για χρονική περίοδο 28 ημερών.	56
Διάγραμμα 6: Αποτελέσματα οργανοληπτικού ελέγχου	57

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1 : Μορφολογική απεικόνιση <i>Lactobacillus casei</i>	30
Εικόνα 2: Μορφολογική απεικόνιση <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	32
Εικόνα 3: Μορφολογική απεικόνιση <i>Streptococcus thermophilus</i>	33
Εικόνα 4: Μέτρηση θερμοκρασίας του δείγματος κατά τη διάρκεια του υδατόλουτρου	47
Εικόνα 5: Μέτρηση οξύτητας, με τη μέθοδο της ογκομέτρησης	48
Εικόνα 6: Εμβολιασμός τριβλίων Petri για μέτρηση μικροβιακών πληθυσμών	49
Εικόνα 7: «Τα θρεπτικά MRS, LM17 και MRS (pH 5.2) για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών»	50
Εικόνα 8: «Τοποθέτηση των θρεπτικών υλικών πριν μπουν στον επωαστικό θάλαμο»	50
Εικόνα 9: «Προϊόν της δειγματοληψίας πριν την αξιολόγησή του»	51

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Η σύστασή του γάλακτος όνου και των κυριότερων γαλακτοπαραγωγών ζώων	10
Πίνακας 2. Οι γενιές των καλλιιεργειών και ζυμωμένων προϊόντων γάλακτος σε σχέση με τις προβιοτικές ιδιότητες.	36
Πίνακας 3. Είδη μικροοργανισμών που χρησιμοποιούνται ως προβιοτικά	37
Πίνακας 4. Ευεργετικές δράσεις όξινων προϊόντων γάλακτος	39
Πίνακας 5. Κλίμακα βαθμολόγησης οργανοληπτικού ελέγχου.	51
Πίνακας 6. Βιωσιμότητα (log cfu/mL) των <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii</i> spp. <i>bulgaricus</i> και <i>Lactobacillus casei</i> ATCC 393, στα ζυμώμενα γάλατα κατά την αποθήκευσή τους στους 4 °C	53
Πίνακας 7. Τιτλοδοτούμενη οξύτητα και pH στα ζυμώμενα γάλατα κατά την αποθήκευσή τους στους 4 °C.	54

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Το βουτυρόγαλα εμφανίζεται μετά το σχηματισμό των κόκκων του βουτύρου κατά τη βουτυροποίηση της κρέμας. Η σύσταση του ξινογάλακτος εξαρτάται από την παρασκευή βουτύρου και αν αυτό προέρχεται από γλυκιά ή από ώριμη κρέμα.

Το βουτυρόγαλα λοιπόν, είναι το γάλα που παραμένει μετά την αποβουτύρωση του ξινογάλακτος, περιέχει 4,5% λιπαρά και 5% υγρασία. Το περιεχόμενο των πρωτεϊνών του βουτυρογάλακτος ανέρχεται σε ένα ποσοστό γύρω στο 30%. Σε αυτό το σημείο πρέπει να επισημανθεί ότι η ορολογία του βουτυρογάλακτος, χρησιμοποιείται όπως και του ξινογάλακτος, με τη διαφορά ότι το ξινογάλα είναι προϊόν ζυμώσεως μέσω των οξυγαλακτικών βακτηρίων και η οξύτητά του ρυθμίζεται ώστε να κυμαίνεται από 0,7% μέχρι 0,9% (εκφραζόμενη σε γαλακτικό οξύ). Το συγκεκριμένο προϊόν χρησιμοποιείται σε γαλακτοκομικά είδη, όπως είναι το παγωτό, όπως επίσης και στα αρτοσκευάσματα και στα ζαχαρωτά. Περιέχει ένα σημαντικό επίπεδο φωσφορολιπιδίων που δρουν ως παράγοντες σχηματισμού του γαλακτώματος ελαίου. Η διάρκεια ζωής του εξαιτίας των φωσφορολιπιδίων είναι σημαντικά μειωμένη, επειδή υπόκειται σε φθορά που έχει ένα άμεσο αντίκτυπο στα ποιοτικά του χαρακτηριστικά που αναφέρονται τόσο στην γεύση όσο και στο άρωμά του (United States Department of Agriculture, 2002).

Σύμφωνα με τον Wouters και άλλων ερευνητών (2002), οι γαλακτικοί βάκιλοι που αναπτύσσονται σε ζεστές συνθήκες είναι υπεύθυνοι για την ζύμωση του γάλακτος. Οι γαλακτικοί βάκιλοι προσδίδουν στα ζυμωμένα γάλατα έναν σημαντικό αριθμό διατροφικών πλεονεκτημάτων, συγκριτικά με το συνηθισμένο τύπο γάλακτος. Το ζυμωμένο γάλα διατηρείται καλύτερα, μειώνοντας το pH.

Η οξίνιση του γάλακτος προκαλείται κατά κύριο λόγο από τα βακτήρια. Στην πρώτη περίπτωση παράγεται σε μεγάλο βαθμό το γαλακτικό οξύ, ενώ στην περίπτωση των ζυμών παράγεται επιπλέον και οινόπνευμα. Πέρα από αυτά και στις δύο περιπτώσεις ανευρίσκονται και άλλες ουσίες που προέρχονται από τη διάσπαση του λίπους και των λευκωμάτων, οι οποίες μαζί με το γαλακτικό οξύ ή και το οινόπνευμα δίνουν στο γάλα την γεύση.

Η μεγάλη ποσότητα γαλακτικού οξέος του ξινογάλακτος βελτιώνει το ανοσοποιητικό σύστημα και συμβάλλει στην καταπολέμηση ασθενειών. Η βιταμίνη B₁₂ βοηθά στη σύνθεση των οξέων και των αμινοξέων, καταπολεμά την αναιμία, το στρες και την προώθηση της ανάπτυξης των νευρικών κυττάρων. Ακόμη, η B₁₂ είναι υπεύθυνη για τη μετατροπή της γλυκόζης σε

ενέργεια. Το ξινόγαλα είναι μία καλή πηγή κατανάλωσης γαλακτοκομικών για όσους έχουν πρόβλημα δυσανεξίας στο γάλα.

Στην παρούσα εργασία θα μελετηθεί η παρασκευή προβιοτικού ζυμωμένου αγελαδινού γάλακτος καθώς επίσης η βιωσιμότητα της μικροχλωρίδας του ζυμωμένου γάλακτος κατά την αποθήκευσή του στους 4 °C.

1. ΓΕΝΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΓΙΑ ΤΟ ΓΑΛΑ

Η ιστορία του γάλακτος είναι τόσο παλιά όσο και η εξημέρωση της κατσίκας και του προβάτου, πριν από 9000 χρόνια, στα οροπέδια του Ιράν και του Αφγανιστάν. Δύο χιλιάδες χρόνια αργότερα, εξημερώθηκαν και οι αγελάδες στις περιοχές της Μέσης Ανατολής και σε μερικά τμήματα της Αφρικής. Η παραγωγή του γάλακτος και των γαλακτοκομικών προϊόντων επεκτάθηκε εμπορικά μετά το 1863 και την ανακάλυψη από τον Παστέρ της διαδικασίας αδρανοποίησης των βακτηριδίων που μετατρέπουν το κρασί σε ξίδι. Η μέθοδος αυτή, που είναι γνωστή σήμερα ως «παστερίωση», βρήκε μεγάλη πρακτική εφαρμογή στην παραγωγή, διακίνηση και τυποποίηση προϊόντων γάλακτος, με αποτέλεσμα να εκτιναχθεί η χρήση των γαλακτοκομικών στα ύψη.

Το γάλα είναι θρεπτικό υγρό, λευκό ή ελαφρώς κιτρινωπό, εκκρινόμενο από τους μαστούς των θηλυκών θηλαστικών συμπεριλαμβανομένου του ανθρώπινου είδους. Το γάλα δεν είναι ομοιογενές, αλλά είναι μείγμα διάφορων ουσιών και αποτελείται από νερό, λίπος, πρωτεΐνες, υδατάνθρακες, ένζυμα, άλατα και βιταμίνες. Μερικά από τα συστατικά αυτά, όπως το λίπος, είναι δυνατό να χωριστούν από το υπόλοιπο γάλα με μηχανικό τρόπο. Η σύνθεση και ο χαρακτήρας του γάλακτος εξαρτώνται από πολλούς παράγοντες, σπουδαιότερος από τους οποίους είναι το είδος του ζώου από το οποίο προέρχεται. Έτσι, το αγελαδινό γάλα είναι διαφορετικό στη σύνθεσή του από το γάλα της κατσίκας, το οποίο είναι διαφορετικό από το γάλα της προβατίνας κ.α. Η σύνθεση όμως του γάλακτος είναι δυνατό να διαφέρει και στο ίδιο το ζώο, ανάλογα με την τροφή που έχει φάει ή ακόμη και την ώρα που έγινε το άρμεγμα. Στις αγελάδες, κατά κανόνα, το πρωινό γάλα έχει μεγαλύτερο ποσοστό λίπους από εκείνο που αρμέγεται το βράδυ. Ιδιαίτερα το αγελαδινό γάλα περιέχει πρωτεΐνες, υδατάνθρακες, βιταμίνες, ασβέστιο και φώσφορο σε τεράστιες ποσότητες. Ειδικά οι πρωτεΐνες αποτελούν το βασικό δομικό συστατικό του οργανισμού. Διασφαλίζουν τη σωστή λειτουργία του καθώς και την ανάπτυξη των μυών.

Το γάλα προσφέρει, όλα τα θρεπτικά συστατικά που χρειάζεται για την ανάπτυξη και βοηθά στην ολοκλήρωση των φυσιολογικών λειτουργιών του οργανισμού. Περιέχει ανοσοσφαιρίνες που έχουν προστατευτική δράση, διάφορους αντιβακτηριακούς παράγοντες, βοηθητικά πέψης όπως ένζυμα και ενζυμικούς αναστολείς (που δεσμεύουν ή μεταφέρουν πρωτεΐνες) και αυξητικούς παράγοντες και ορμόνες (Fox *et al.*, 2003).

Πίνακας 1: Η σύστασή του γάλακτος όνου και των κυριότερων γαλακτοπαραγωγών ζώων.

Είδος ζώου	Ολικά στερεά	Λίπος	Λακτόζη	Πρωτεΐνες	Άλατα
<i>Αγελάδα</i>	12,73%	3,85%	4,72%	3,5%	0,72%
<i>Κατσίκια</i>	12,95%	3,93%	4,65%	6,56%	0,81%
<i>Πρόβατο</i>	18,66%	6,86%	4,91%	6,00%	0,89%

1.1. Προϊόντα επεξεργασίας γάλακτος

Η επεξεργασία των γαλακτοκομικών προϊόντων αναφέρεται στην μετατροπή του ακατέργαστου γάλακτος σε προϊόντα γάλακτος σε ρευστή μορφή, καθώς και σε μία σειρά γαλακτοκομικών προϊόντων, όπως είναι το βούτυρο, το γιαούρτι και το ζυμωμένο γάλα, καθώς επίσης και το γάλα σε σκόνη (πλήρες), το ξινόγαλα, το τυρί, το τυρόγαλα, το παγωτό και τα κατεψυγμένα επιδόρπια (Aneja *et al.*, 2002).

Παράγοντες που σχετίζονται με την αγελάδα, όπως είναι η αναπαραγωγή της, τα στάδια του αρμέγματός της, η περίοδος παραγωγής του γάλακτος, η ειδική διατροφή που ακολουθεί, το διατροφικό επίπεδο, η περιβαλλοντική θερμοκρασία, η κατάσταση της υγείας της, η ηλικία της, ο καιρός, ο οιστρικός της κύκλος και η περίοδος κυοφορίας είναι γνωστό ότι προκαλούν μεταβολές στο λίπος, στις πρωτεΐνες, στη λακτόζη και στα μεταλλικά στοιχεία του γάλακτος που καταναλώνεται ευρέως (Kilara, 2006).

Εντούτοις, οι εποχιακές μεταβολές που παρατηρούνται στα κύρια συστατικά του γάλακτος σχετίζονται με τη βιομηχανική επεξεργασία, εφόσον έχει μία σημαντική επίδραση στις ιδιότητες των προϊόντων του γάλακτος που είναι έτοιμα για κατανάλωση. Γενικά, στις Ηνωμένες

Πολιτείες, περίπου το 10% των μεταβολών του λίπους και των πρωτεϊνών του γάλακτος, παρατηρούνται κυρίως τον Ιούλιο και τον Αύγουστο.

Επίσης, τόσο το ξινόγαλα όσο και το τυρί επηρεάζονται αρνητικά από τις εποχιακές μεταβολές που παρατηρούνται στη σύνθεση του γάλακτος. Ακολουθώς, η λειτουργική συμβολή των πρωτεϊνών του γάλακτος (στερεότητα της πήξης στην διαδικασία παραγωγής τυριού), ακολουθεί μία παρόμοια τάση. Η συγκέντρωση των μεταλλικών στοιχείων στο γάλα, όπως είναι μεταξύ άλλων το μαγνήσιο, το νάτριο, το φωσφορικό άλας, το κιτρικό άλας και το ασβέστιο είναι σημαντική για τη διαδικασία επεξεργασίας του, τη θρεπτική αξία που παρέχει στους καταναλωτές και την διάρκεια συντηρήσεως των γαλακτοκομικών προϊόντων. Όλα τα μεταλλικά στοιχεία που θεωρούνται απαραίτητα στην διατροφή του ανθρώπου βρίσκονται στο γάλα (Chandan, 2007a).

Από την πλευρά του καταναλωτή, τα ποιοτικά κριτήρια που συνδέονται με το γάλα είναι η εμφάνιση, το χρώμα, το άρωμα, η γεύση και η αίσθηση που του αφήνει στο στόμα. Το χρώμα του γάλακτος εκλαμβάνεται από τον καταναλωτή ως ένδειξη πλούσιας υφής και καθαρότητας. Το ομογενοποιημένο γάλα και η κρέμα έχουν πιο έντονο άσπρο χρώμα από τα μη ομογενοποιημένα προϊόντα. Το γάλα που προέρχεται από τις κατσίκες και τα πρόβατα παρουσιάζει μία μεγαλύτερη λευκότητα, επειδή υπολείπεται της λιθορουβίνης. Το βάθος του χρώματος ποικίλει ανάλογα με την ποσότητα του λίπους που παραμένει στο τυρόγαλα. Οι φυσιολογικές μεταβολές που παρατηρούνται στην αγελάδα έχουν ως συνέπεια την εμφάνιση ενός πιο έντονου μπλε χρώματος στο γάλα, ενώ το γάλα που προέρχεται από το πρόβατο, την κατσίκα και το βουβάλι παρουσιάζει την τάση να είναι πιο λευκό στο χρώμα (Fox, 2002).

Η γεύση και το άρωμα του γάλακτος αποτελούν σημαντικά κριτήρια αξιολόγησης των ποιοτικών του χαρακτηριστικών από τον καταναλωτή. Η γεύση είναι μία οργανοληπτική ιδιότητα, στο πλαίσιο της οποίας παρατηρείται μία αλληλεπίδραση τόσο της οσμής όσο και της γεύσης. Η γλυκιά γεύση της λακτόζης εξισορροπείται με την αλμυρή γεύση της *chloride*, ενώ και οι δύο μετριάζονται από τις πρωτεΐνες. Αυτή η ισορροπία διατηρείται σε μία ευρεία κλίμακα της σύνθεσης του γάλακτος, ακόμα και όταν το ιόν της *chloride* ποικίλει από 0,06 έως 0,12%. Η αλμύρα μπορεί να ανιχνευθεί μέσω της οργανοληπτικής εξέτασης των δειγμάτων που περιέχουν ένα ποσοστό της τάξεως του 0,12%, ενώ γίνεται έντονη στα δείγματα των οποίων το ποσοστό αγγίζει το 0,15%. Ορισμένοι αποδίδουν το χαρακτηριστικό της πλούσιας γεύσης των γαλακτοκομικών προϊόντων μεταξύ άλλων σε ορισμένα χαρακτηριστικά της αλδεϋδης, όπως

επίσης και σε κάποια χαρακτηριστικά των λιπαρών οξέων. Καθώς η έκκριση του γάλακτος εξελίσσεται, η λακτόζη παρουσιάζει μία μείωση ενώ η *chlorides* αυξάνεται, επομένως η ισορροπία κλίνει προς το αλμυρό (Harding, 1995).

Αντίστοιχα, το άρωμα του γάλακτος σχετίζεται με την αναλογία της λακτόζης/*chlorides*. Το φρέσκο γάλα που προέρχεται από το θηλαστικό έχει μία αμυδρή οσμή που είναι απόρροια μίας φυσικής μυρωδιάς που είναι χαρακτηριστικό του ζώου. Τα παραπάνω ισχύουν για την αγελάδα, την κατσίκα και τη φοράδα. Η οσμή του αγελαδινού γάλακτος παρουσιάζει μία μεταβλητότητα, η οποία εξαρτάται από την κάθε εποχή του έτους, όπως επίσης και από τις συνθήκες υγιεινής της διαδικασίας του αρμέγματος. Μία δυνατή οσμή που είναι χαρακτηριστικό της αγελάδας και η οποία παρατηρείται συχνά στη διάρκεια των χειμερινών μηνών, μπορεί να οφείλεται στην παρουσία της ακετόνης στο γάλα μέσω του αίματος του ζώου που υποφέρει από οξοναιμία. Η τροφοδότηση των διάφορων ουσιών που σχετίζονται με τη γεύση και τη μυρωδιά στο γάλα προέρχεται από οσμές και αρώματα που διακρίνονται στο χώρο μίας σιταποθήκης. Επιπλέον, ορισμένες μυρωδιές και γεύσεις που διακρίνονται στο γάλα μπορούν να μεταδοθούν άμεσα από το ίδιο το ζώο, ενώ ακόμα και τα φυτά που αποτελούν μέρος της διατροφικής του κατανάλωσης επηρεάζουν τη γεύση του γάλακτος (Hui *et al.*, 2007).

Η τεχνολογία των γαλακτοκομικών προϊόντων μπορεί να προσδιοριστεί ως η εφαρμογή των θεωρητικών γνώσεων, όπως επίσης και της εφαρμοσμένης επιστήμης που παρέχει την τεχνογνωσία της μετατροπής του γάλακτος σε ένα σύνολο εμπορικών προϊόντων που θα διοχετευθούν στο εμπόριο. Η επεξεργασία των γαλακτοκομικών προϊόντων πλαισιώνεται από αρχές που άπτονται της χημείας, της μικροβιολογίας, της φυσικής και της μηχανικής, ενώ η πλήρης κατανόησή τους συμβάλει στην αποτελεσματική διαχείριση της όλης διαδικασίας (Miller *et al.*, 2007).

Επιπλέον, είναι πολύ σημαντική η επιτυχημένη λειτουργία επεξεργασίας των γαλακτοκομικών προϊόντων μέσω του αποτελεσματικού ελέγχου της ποιότητας, της ασφάλειας, της διάρκειας ζωής τους και των σωστών κριτηρίων μεταφοράς τους, γιατί έχει ως στόχο την άμεση ανταπόκρισή της στις προσδοκίες του καταναλωτικού κοινού. Στις πρόσφατες δεκαετίες, τα σημαντικά επιτεύγματα που σημειώθηκαν στο πεδίο της επεξεργασίας των γαλακτοκομικών προϊόντων είχαν ως αποτέλεσμα τη βελτίωση των κριτηρίων της ασφάλειας και της ποιότητας των προϊόντων. Τέτοιου είδους εξελίξεις οδήγησαν σε μία ποιοτική αναβάθμιση της μηχανοποίησης, του αυτοματισμού, της ηλεκτρονικής επεξεργασίας, της υγιεινής, της υψηλής

παστερίωσης και της συσκευασίας των γαλακτοκομικών προϊόντων. Οι ποικίλες έρευνες και επιστημονικές εργασίες που έχουν εκπονηθεί κατά καιρούς από διάφορα πανεπιστημιακά ιδρύματα, από κυβερνητικούς φορείς και από βιομηχανίες του γάλακτος προσέθεσαν σημαντικές γνώσεις στον τομέα της βιομηχανικής επεξεργασίας των γαλακτοκομικών προϊόντων. Οι επιστημονικές έρευνες που πραγματοποιήθηκαν γύρω από το γάλα και τα διάφορα παράγωγά του ωφέλησαν σημαντικά τον καταναλωτή, κάνοντας τα γαλακτοκομικά προϊόντα πιο ασφαλή και επεκτείνοντας την διάρκεια ζωής τους, καθιστώντας τα διαθέσιμα σε ευρύτερα σημεία διανομής (Robinson, 1994).

Επιπλέον, οι έρευνες και οι προσπάθειες αναβάθμισης των ποιοτικών και των ποσοτικών τους κριτηρίων οδήγησαν στην παραγωγή μίας ευρείας σειράς καινούργιων γαλακτοκομικών προϊόντων που διοχετεύτηκαν στην αγορά. Οι γαλακτοκομικές βιομηχανίες συνεχίζουν να προχωρούν σε μεγάλες επενδύσεις πάνω στις εγκαταστάσεις επεξεργασίας των γαλακτοκομικών προϊόντων, ενώ διαχειρίζονται ένα ολοένα και αυξανόμενο όγκο προϊόντων του γάλακτος. Ο τομέας της βιομηχανικής επεξεργασίας των γαλακτοκομικών προϊόντων ωφελήθηκε από τις καινοτομίες που σημειώθηκαν στον σχεδιασμό του μηχανολογικού εξοπλισμού και στην εκπόνηση των προγραμμάτων της συστηματικής διαχείρισης και ελέγχου των ποιοτικών κριτηρίων (HACCP), με στόχο τη διασφάλιση της ποιότητας και της ασφάλειας των προϊόντων. Η προηγμένη ηλεκτρονική επεξεργασία των δεδομένων όπως επίσης και οι διαδικασίες ελέγχου εφαρμόζονται καθημερινά σε πολλές βιομηχανικές μονάδες του γαλακτοκομικού κλάδου (Speer and Mixa, 1998).

Επίσης, οι σύγχρονες τεχνολογικές μέθοδοι όπως είναι η ηλεκτροδιάλυση στην παραγωγή τυριού και τυρογάλακτος είχαν ως αποτέλεσμα την ορθολογική χρήση της συνεχούς ροής των αποβλήτων από την παραγωγή των γαλακτοκομικών προϊόντων. Η επεξεργασία των αποβλήτων που συνδέεται με τη λειτουργία των βιομηχανικών μονάδων επεξεργασίας και παραγωγής των γαλακτοκομικών προϊόντων συνέβαλε στον αποτελεσματικό έλεγχο των προβλημάτων που σχετίζονται με τον παράγοντα της μόλυνσης (Nath, 1993).

Μία ακόμα θετική εξέλιξη είναι ότι οι πρόοδοι που σημειώθηκαν στη βιοτεχνολογία των ενζύμων και του γαλακτικού «υιοθετήθηκαν» από την βιομηχανία των γαλακτοκομικών προϊόντων με στόχο τη βελτίωση της παραγωγής του τυριού και του γιαουρτιού. Οι τεχνικές υψηλής παστερίωσης και η υψηλής τεχνολογίας συσκευασία των γαλακτοκομικών προϊόντων παρείχαν στον καταναλωτή προϊόντα μακράς διάρκειας. Το εξειδικευμένο προσωπικό είναι το

κλειδί για την αποτελεσματική λειτουργία των βιομηχανικών μονάδων επεξεργασίας και παραγωγής των γαλακτοκομικών προϊόντων. Διασφαλίζουν την άριστη ποιότητα και την ανταπόκριση αυτού του τύπου των προϊόντων στα υψηλά κριτήρια που έχουν τεθεί από τους αρμόδιους φορείς, καθώς επίσης και την αποθήκευση και τη διάθεση τους στο καταναλωτικό κοινό την κατάλληλη χρονική στιγμή. Εφαρμόζουν επίσης τις καθορισμένες αναλυτικές διαδικασίες που απαιτούνται (εγκεκριμένες από τις ρυθμιστικές αρχές) για την κατάλληλη συσκευασία, φύλαξη και μεταφορά του τελικού προϊόντος. Χρειάζεται να λαμβάνουν πολλές φορές κρίσιμες αποφάσεις ως προς την αποδοχή ή την απόρριψη των πρώτων υλών καθώς και για τα προϊόντα που έχουν ήδη πάρει μία τελική μορφή. Εν συντομία, είναι υπεύθυνοι για τα προγράμματα του ελέγχου της ποιότητας των πρώτων υλών, των εσωτερικών διαδικασιών επεξεργασίας τους και της διασφάλισης των ειδικών προδιαγραφών που πρέπει να τηρούνται για τη διοχέτευση τους στην αγορά. Η λειτουργία των βιομηχανικών μονάδων επεξεργασίας και παραγωγής των γαλακτοκομικών προϊόντων θα πρέπει να ανταποκρίνεται στο σύνολο των προδιαγραφών που άπτονται των πεδίων της μικροβιολογίας, της χημείας και της φυσικής. Επίσης, θα πρέπει να τηρούνται οι υγειονομικές προδιαγραφές που απαιτούνται για την εύρυθμη λειτουργία των μονάδων επεξεργασίας και παραγωγής των γαλακτοκομικών προϊόντων (Walstra *et al.*, 1999).

1.1.1. Στάδια παραγωγής γαλακτοκομικών προϊόντων

Είναι πολύ σημαντική η διασφάλιση των ποιοτικών κριτηρίων του γάλακτος. Οι φάρμες παραγωγής του γάλακτος βρίσκονται υπό την επίβλεψη των αρμόδιων υπηρεσιών υγείας και αγροτικής ανάπτυξης, διασφαλίζοντας την προστασία των καταναλωτών από τυχόν μολύνσεις που μπορούν να μεταδοθούν από το γάλα και τα παράγωγα προϊόντα του. Η θέσπιση κριτηρίων συμβάλει στην εξασφάλιση της συνεχούς ροής της ποιότητας του γάλακτος και των παράγωγων προϊόντων του σε περιφερειακό επίπεδο. Σε πρακτικό επίπεδο, το γάλα μεταφέρεται μέσα σε βυτιοφόρα. Οι δεξαμενές αποθηκεύσεως διατηρούν το γάλα μέχρι μία περίοδο 72 ωρών πριν την τελική διαδικασία (Varley and Andrews, 1994).

Το γάλα που έχει λάβει από τους εξουσιοδοτημένους επιθεωρητές ένα πιστοποιητικό διαβάθμισης (Grade A) με βάση κάποιων προκαθορισμένων χαρακτηριστικών, ως προς την μορφή της τελικής του παστερίωσης, πρέπει να αποθηκεύεται στους 1,7 - 4,4 βαθμούς Κελσίου

(35 – 40 °F). Ο μέγιστος αριθμός βακτηρίων είναι 300.000 cfu/mL σε αντιδιαστολή με 100.000 cfu/mL, το μέγιστο ποσοστό στη φάρμα (Chandan, 2007b).

Το επόμενο βήμα είναι ο διαχωρισμός του γάλακτος σε αποβουτυρωμένο γάλα και σε κρέμα. Όλο το ακατέργαστο γάλα διοχετεύεται μέσα σε ειδικά μηχανήματα διαχωρισμού που αναπτύσσουν ρυθμούς υψηλής ταχύτητας, ενώ μία ειδική συσκευή μεγάλης χωρητικότητας συλλέγει όλα τα εναπομένον υλικά, όπως είναι τα λευκοκύτταρα, τα μεγαλύτερα βακτήρια, τις κυτταρικές ουσίες από τον μαστό του ζώου, σκόνη και τρίχες. Τόσο το αποβουτυρωμένο γάλα όσο και η κρέμα αποθηκεύονται χωριστά για την περαιτέρω επεξεργασία τους. Η χρήση του ειδικού μηχανήματος διαχωρισμού επιτρέπει την τμηματοποίηση του γάλακτος σε καθορισμένους τύπους γάλακτος (αποβουτυρωμένο γάλα, γάλα με χαμηλά λιπαρά) και σε κρέμα. Το αποβουτυρωμένο γάλα περιέχει κανονικά ένα ποσοστό 0,01% λίπους ή και λιγότερο. Η ανάμειξη της κρέμας και του αποβουτυρωμένου γάλακτος έχει ως συνέπεια την παραγωγή ποικίλων γαλακτοκομικών προϊόντων που περιέχουν την απαραίτητη ποσότητα λίπους. Κατόπιν ακολουθεί θερμική επεξεργασία του γάλακτος που έχει ως στόχο την εξολόθρευση όλων των οργανισμών που προκαλούν ασθένειες (παθογένειες) και την αύξηση της διάρκειας ζωής του, απομακρύνοντας περίπου το 95% όλων των βλαβερών οργανισμών (Mistry, 2001).

Η θερμική επεξεργασία είναι ένα αναπόσπαστο μέρος όλων των διαδικασιών που εφαρμόζονται από τις βιομηχανικές μονάδες παραγωγής και επεξεργασίας των γαλακτοκομικών προϊόντων. Η συστηματική θερμική επεξεργασία επιφέρει μία σειρά αλληλεπιδράσεων ορισμένων αμινοξέων με τη λακτόζη, έχοντας ως αποτέλεσμα την εμφάνιση των αλλαγών στο χρώμα του γάλακτος, όπως παρατηρείται τόσο στα προϊόντα του αποστειρωμένου γάλακτος όσο και του συμπυκνωμένου γάλακτος. Μεταξύ των πρωτεϊνών του γάλακτος, οι φωσφο-πρωτεΐνες που αποτελούν την κύρια βάση του τυριού, είναι σχετικά σταθερές στα αποτελέσματα της θερμότητας. Ενώ οι πρωτεΐνες του ορού γάλακτος έχουν την τάση να μεταβάλλονται σταδιακά, εξαιτίας των αυστηρών μεθόδων της θερμικής επεξεργασίας, αγγίζοντας ένα ποσοστό 100% της χημικής και φυσικής μεταβολής στους 100 βαθμούς Κελσίου (212 °F) (Chandan, 2007a).

Από την πλευρά του καταναλωτή, η θερμική επεξεργασία του γάλακτος παράγει αρκετές αισθητήριες αλλαγές, οι οποίες εξαρτώνται από την ένταση της θερμότητας. Σε γενικές γραμμές, το παστεριωμένο γάλα διατηρεί την πιο αποδεκτή γεύση. Τόσο ο χρόνος όσο και η θερμοκρασία των ποικίλων προϊόντων της παστερίωσης έχουν προσδιοριστεί από τα αρμόδια τμήματα του

Υπουργείου Αγροτικής Ανάπτυξης, με στόχο την διασφάλιση της δημόσιας υγείας. Η επιθυμητή διαδικασία είναι η απομάκρυνση όλων των οργανισμών που προκαλούν διάφορες παθογένειες, καθώς επίσης και η μείωση σε ένα ποσοστό της τάξεως του 95% των υπόλοιπων μικροβίων. Η διαδικασία της παστερίωσης συνιστά την θερμική επεξεργασία του γάλακτος ή των προϊόντων του, με την βοήθεια ενός κατάλληλα σχεδιασμένου και λειτουργικού εξοπλισμού, σε μια καθορισμένη θερμοκρασία και για ένα καθορισμένο χρονικό διάστημα. Οι προδιαγραφές που έχουν τεθεί ως προς τη διαδικασία της παστερίωσης όσον αφορά το μίνιμουμ της θερμοκρασίας και αντίστοιχα του χρόνου, στηρίζονται πάνω σε ειδικές μελέτες που ερευνούν τους πιο ανθεκτικούς παθογόνους οργανισμούς που μπορούν να μεταδοθούν μέσω του γάλακτος. Συγκεκριμένα τα γαλακτοκομικά προϊόντα βαθιάς ψύξης υπόκεινται σε μία θερμική επεξεργασία που κυμαίνεται από 125 έως 137 βαθμούς Κελσίου (257 - 280° F) για 2 έως 5 δευτερόλεπτα και εσωκλείονται σε ειδικές αποστειρωμένες χάρτινες συσκευασίες σε καθαρή ατμόσφαιρα. Σε ορισμένες χώρες, το αποστειρωμένο γάλα παράγεται κατόπιν μίας ειδικής διαδικασίας αποστείρωσης στους 115,6 βαθμούς Κελσίου (240 °F) για 20 λεπτά και αποκτά ένα καφέ χρώμα με μία καραμελωμένη γεύση.

Το στάδιο που ακολουθεί είναι της ομογενοποίησης. Η ομογενοποίηση μειώνει το μέγεθος των σταγονιδίων του λίπους του γάλατος, με τη βοήθεια μίας ειδικής βαλβίδας σε συνθήκες υψηλής πίεσης. Η ομογενοποίηση συντελείται σε θερμοκρασίες που είναι υψηλότερες από 37 βαθμούς Κελσίου (99 °F). Η συγκεκριμένη διαδικασία προκαλεί διαχωρισμό των αρχικών σταγονιδίων του λίπους (μέση διάμετρος γύρω στα 3,5 μ.m) σε ένα πολύ μεγαλύτερο αριθμό πολύ μικρότερων σταγονιδίων (μέσο μέγεθος < 1 μ.m) (Hui, 1993).

Ως συνέπεια των παραπάνω, πραγματοποιείται μία σημαντική αύξηση στο πεδίο της επιφάνειας. Η επιφάνεια των νέων παραγόμενων σταγονιδίων του λίπους καλύπτεται τότε από μία καινούργια μεμβράνη που σχηματίζεται από τις πρωτεΐνες του γάλακτος. Επομένως, η παρουσία της ελάχιστης αξίας των 0,2 g της καζεΐνης είναι επιθυμητή, επειδή συμβάλει στον σχηματισμό της πρόσφατα παραγόμενης επιφάνειας. Η διαδικασία αυτή είναι χρήσιμη στην παραγωγή των γαλακτοκομικών προϊόντων τα οποία περιέχουν χαμηλά λιπαρά ή στην παραγωγή των προϊόντων όπου επιδιώκεται ο υψηλός βαθμός ρευστότητας, όπως είναι οι κρέμες. Οι βιομηχανίες πραγματοποιούν την ομογενοποίηση σε δύο στάδια καθώς είναι κατάλληλη για τα γαλακτοκομικά προϊόντα που περιέχουν υψηλό λίπος, όπως επίσης και στην περίπτωση που απαιτείται ένας χαμηλός βαθμός ρευστότητας. Το ομογενοποιημένο γάλα δεν

σχηματίζει ένα στρώμα κρέμας σε συνθήκες συντήρησης. Παρουσιάζει ένα πιο λευκό χρώμα και έχει γευστικά χαρακτηριστικά. Συνεπώς η διαδικασία της ομογενοποίησης έχει ως αποτέλεσμα ένα καλύτερο βαθμό ρευστότητας και σταθερότητας, παράμετροι που αντανακλώνται σε ορισμένα γαλακτοκομικά προϊόντα, όπως είναι το παγωτό και το γιαούρτι.

Τέλος, τα παστεριωμένα προϊόντα γάλακτος ψύχονται γρήγορα σε λιγότερο από 4,4 °C/40 °F, συσκευάζονται μέσα σε κατάλληλα πλαστικά μπουκάλια ή σε χάρτινες συσκευασίες και αποθηκεύονται σε ειδικά ψυγεία τροφίμων πριν διανεμηθούν στα σημεία λιανικής πώλησης (Frye, 2006).

1.1.2. Παραγωγή προϊόντων γάλακτος ρευστής μορφής

Τα γαλακτοκομικά προϊόντα μπορούν να ταξινομηθούν σε προϊόντα ρευστής μορφής, σε προϊόντα βουτύρου, σε συμπυκνωμένα προϊόντα, σε γευστικά προϊόντα, σε προϊόντα τυριού, στο τυρόγαλα, στο παγωτό και στα κατεψυγμένα επιδόρπια. Το γάλα που διατίθεται στο εμπόριο παρουσιάζει ποικίλα λιπαρά. Ο όρος «γάλα» ταυτίζεται με όλα τα είδη του γάλακτος, ενώ δεν πρέπει να περιέχει λιγότερο από 3,25% λιπαρά και 8,25% στερεά. Η προσθήκη των βιταμινών Α και D είναι προαιρετική, σε όλα τα ροφήματα του γάλακτος όμως, μπορούν να προστεθούν οι βιταμίνες Α και D (Chandan and Shah, 2007).

Το γάλα που είναι μειωμένο σε λιπαρά πρέπει να έχει μία ετικέτα που να καταγράφει τα γραμμάρια του λίπους ανά ποσότητα αναφοράς (RA) των 240 mL. Το γάλα που έχει χαμηλά λιπαρά περιέχει λιγότερο από 3 g ανά RA, ενώ το γάλα που δεν περιέχει καθόλου λιπαρά περιέχει λιγότερο από 0,5 g του λίπους ανά RA. Αντίστοιχα, το γάλα που περιέχει λιπαρά της τάξεως του 2% δεν παρουσιάζεται ως γάλα χαμηλών λιπαρών, αλλά ως γαλακτοκομικό προϊόν που παρουσιάζει ποσοστά μειωμένων λιπαρών. Το γάλα χαμηλών λιπαρών που διατίθεται στο εμπόριο περιέχει ένα ποσοστό λιπαρών που κυμαίνεται στο 1%, ενώ το αποβουτυρωμένο γάλα περιέχει λιπαρά της τάξεως του 0,2%. Εντούτοις, στην πραγματικότητα το αποβουτυρωμένο γάλα περιέχει λιγότερο από 0,1% λιπαρά (Fox and McSweeney, 1998).

Η κρέμα παρασκευάζεται από το γάλα μέσω ενός φυγόκεντρου διαχωρισμού. Η «βαριά χτυπημένη» κρέμα δεν περιέχει λιγότερο από 36% λιπαρά ενώ η «ελαφριά χτυπημένη» κρέμα περιέχει 30% ή και περισσότερο λιπαρά. Η μίξη της μισής και μισής αναλογίας αντιστοιχεί σε μία ισοδύναμη αναλογία του γάλακτος και της κρέμας, περιέχοντας 10,5% λιπαρά. Η κρέμα που χρησιμοποιείται ως κύριο συστατικό στις μεθόδους επεξεργασίας περιέχει 36 έως 40% λιπαρά.

Μέσω της τυποποίησης της με το αποβουτυρωμένο γάλα, μπορεί να παραχθεί η κρέμα που παρουσιάζει διαφορετικά επίπεδα λιπαρών (Tamime, 2006).

Τόσο η «ελαφρά χτυπημένη» κρέμα όσο και η κρέμα που είναι αποτέλεσμα μίας μισής και μισής μείξης αποτελούν ομογενοποιημένα προϊόντα. Η ειδική μορφή ομογενοποίησης και η ειδική θερμική επεξεργασία παράγουν τον επιθυμητό βαθμό της ρευστότητας που παρατηρείται στα γαλακτοκομικά προϊόντα της κρέμας. Τόσο η επεξεργασία τους όσο και η συσκευασία τους είναι παρόμοιες με τις αντίστοιχες που ακολουθούνται στο γάλα. Η κρέμα που είναι σε πλαστική συσκευασία περιέχει 80% λιπαρά. Τόσο το γάλα όσο και τα υπόλοιπα γαλακτοκομικά προϊόντα χρησιμοποιούνται ως κύρια συστατικά σε ποικίλα προϊόντα τροφίμων και επιτελούν ένα σημαντικό διατροφικό και λειτουργικό ρόλο (Varley and Andrews, 1994).

Οι λειτουργικές ιδιότητες των συστατικών των γαλακτοκομικών προϊόντων σχετίζονται με τη χημική τους σύνθεση και με τις ειδικές συνθήκες επεξεργασίας στις οποίες υποβάλλονται, με στόχο την τροποποίηση των διατροφικών τους πλεονεκτημάτων σε ένα δεδομένο διατροφικό σύστημα.

Το βούτυρο είναι μία συμπυκνωμένη μορφή του λίπους του γάλακτος που περιέχει τουλάχιστον 80% λιπαρά. Η παρασκευή του βουτύρου επιτυγχάνεται μέσω ενός ειδικού μηχανήματος (καρδάρα) στο οποίο η κρέμα ή ολόκληρο το γάλα αναταράσσονται έντονα για να παραχθεί το βούτυρο. Η θερμοκρασία που απαιτείται στην όλη διαδικασία προσδιορίζεται από την βέλτιστη αναλογία του κρυσταλλικού, του στερεού και του υγρού λίπους. Η κρέμα υποβάλλεται σε διαδικασία παστερίωσης στους 73,8 °C (165 °F) για 30 λεπτά ή στους 85 °C (185 °F) για 15 δευτερόλεπτα και έπειτα ψύχεται στους περίπου 7 °C (45 °F) για την κρυσταλλοποίηση του λίπους. Η παραπάνω διαδικασία ολοκληρώνεται «κρατώντας» την κρέμα για περίπου 16 ώρες. Η μετατροπή της κρέμας σε βούτυρο προσδιορίζεται ως φάση αντιστροφής ενώ το επόμενο βήμα που προσδιορίζει την συστηματική επεξεργασία του βουτύρου κατευθύνεται στον καθορισμό της υγρασίας μέχρι το περιεχόμενο των λιπαρών να φτάσει σε ένα ποσοστό της τάξεως του 80% (Hui, 1993).

Στην επόμενη φάση το βούτυρο συσκευάζεται. Η διαδικασία της τήξεως επηρεάζει τις εφαρμογές του βουτύρου στα διατροφικά προϊόντα. Ο ρυθμός της μετατροπής της αναλογίας των στερεών λιπαρών σε υγρά είναι σημαντικός και χαρακτηρίζεται από την κλίμακα της τήξεως, το θερμικό προφίλ και το περιεχόμενο των στερεών λιπαρών. Το βούτυρο που περιέχει

40% λιπαρά χαρακτηρίζεται ως ελαφρύ ή μειωμένων λιπαρών, ενώ το βούτυρο ελαιολάδου περιέχει τουλάχιστον 99,6% λιπαρά (Chandan, 1997).

1.1.3. Συμπυκνωμένα/αποβουτυρωμένα προϊόντα γάλακτος

Οι λειτουργικές ιδιότητες των προϊόντων συμπυκνωμένου γάλακτος, περιλαμβάνοντας και το γάλα που δεν περιέχει λιπαρά, υπόκεινται σε μία ειδική θερμική επεξεργασία. Η τελευταία επηρεάζει επίσης τα ποιοτικά χαρακτηριστικά της σκόνης του γάλακτος. Τόσο η θερμοκρασία όσο και οι χρονικοί συνδυασμοί παρουσιάζουν μία ευρεία ποικιλία που εξαρτάται από τις απαιτούμενες λειτουργικές ιδιότητες. Με στόχο την παρασκευή των προϊόντων του συμπυκνωμένου γάλακτος, το γάλα υποβάλλεται σε παστερίωση (υψηλές θερμοκρασίες, σύντομο χρονικό διάστημα), μέσω της θερμικής επεξεργασίας στους 161 °F (72 °C), ενώ διατηρείται πάνω από αυτή τη θερμοκρασία για τουλάχιστον 15 δευτερόλεπτα. Μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί ένας ισοδύναμος συνδυασμός χρόνου και θερμοκρασίας (Chandan *et al.*, 2006).

Η απομάκρυνση μίας σημαντικής αναλογίας του νερού από το γάλα έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή μίας σειράς συστατικών, τα οποία προσφέρουν μία εξοικονόμηση του κόστους που συνδέεται με την χωρητικότητα της συντήρησης, τον χειρισμό της όλης διαδικασίας, την συσκευασία και την μεταφορά. Το συμπυκνωμένο γάλα διατίθεται σε πολλούς τύπους, σε πλήρες, σε γάλα χαμηλών λιπαρών και σε 0% λιπαρά. Υποβάλλεται σε παστερίωση και μπορεί να ομογενοποιηθεί και να προστεθεί στο γάλα η βιταμίνη D. Το συμπυκνωμένο, αποβουτυρωμένο γάλα χρησιμοποιείται συχνά στην παραγωγή του παγωτού, του παγωμένου γιαουρτιού και άλλων παγωμένων επιδορπίων, ενώ τα παραπάνω προϊόντα θα πρέπει να μεταφέρονται και να συντηρούνται στους 4,4 °C (40 °F), καθώς επίσης και να καταναλώνονται εντός πέντε ημερών, ώστε να διατηρούνται τα ποιοτικά τους χαρακτηριστικά. Το συμπυκνωμένο, αποβουτυρωμένο και ζαχαρούχο γάλα περιέχει ένα ποσοστό 60% ζάχαρης στην φάση του νερού, γεγονός που έχει ως συνέπεια την αύξηση της διάρκειας ζωής του. Όταν συσκευάζεται σωστά, το προϊόν παραμένει σταθερό για πολλούς μήνες σε θερμοκρασία συντήρησης (Kilara and Chandan, 2007).

Το συμπυκνωμένο, αποβουτυρωμένο και ζαχαρούχο γάλα μπορεί να έχει είτε χαμηλά λιπαρά είτε καθόλου λιπαρά. Προέρχεται από το γάλα μετά την απομάκρυνση του 60% του νερού. Σε σύγκριση με το γάλα, η ρευστότητα του είναι πολύ υψηλή, ενώ χρησιμοποιείται

συνήθως στην βιομηχανία ζαχαρωτών και των εξωτικών εδεσμάτων. Το εβαπορέ είναι επίσης ένας τύπος συμπυκνωμένου γάλακτος το οποίο υποβάλλεται σε διαδικασία ομογενοποίησης και θερμικής αποστείρωσης. Η διαδικασία της θερμικής αποστείρωσης καθιστά το προϊόν ασφαλές για κατανάλωση, ενώ μπορεί να συντηρηθεί σε θερμοκρασία δωματίου για αρκετούς μήνες, χωρίς να χειροτερεύσει η γεύση. Περιέχει κατά βάρος τουλάχιστον 7,5% λιπαρά και 25% ολικά στερεά (USDHHS PMO, 2003).

Το εβαπορούχο γάλα είναι το προϊόν που προκύπτει από την απομάκρυνση του λίπους και του νερού από το γάλα και περιέχει λακτόζη, πρωτεΐνες γάλακτος και μεταλλικά στοιχεία, στο πλαίσιο της ίδιας σχετικής αναλογίας με την αντίστοιχη του φρέσκου γάλακτος. Το περιεχόμενο των λιπαρών δεν υπερβαίνει το 1,5% ανά βάρος, ενώ χρησιμοποιείται μεταξύ άλλων στην παραγωγή των γαλακτοκομικών προϊόντων, στον κλάδο της αρτοποιίας, των χημικών και της επεξεργασίας του κρέατος.

Το ξινόγαλα είναι το γάλα που παραμένει μετά την αποβουτύρωση του ξινογάλακτος, ενώ περιέχει 4,5% λιπαρά και 5% υγρασία. Το περιεχόμενο των πρωτεϊνών του ξινογάλακτος ανέρχεται σε ένα ποσοστό γύρω στο 30%. Χρησιμοποιείται όπως και το ξινόγαλα. Η οξύτητα του ρυθμίζεται ώστε να κυμαίνεται από 0,7% μέχρι 0,9% (εκφραζόμενη σε γαλακτικό οξύ). Το συγκεκριμένο προϊόν χρησιμοποιείται σε γαλακτοκομικά είδη, όπως είναι το παγωτό, όπως επίσης και στα αρτοσκευάσματα και στα ζαχαρωτά. Περιέχει ένα σημαντικό επίπεδο φωσφορολιπιδίων που δρουν ως παράγοντες σχηματισμού του γαλακτώματος ελαίου. Η διάρκεια ζωής του εξαιτίας των φωσφορολιπιδίων είναι σημαντικά μειωμένη, επειδή υπόκειται σε φθορά που έχει ένα άμεσο αντίκτυπο στα ποιοτικά του χαρακτηριστικά που αναφέρονται τόσο στην γεύση όσο και στο άρωμά του (United States Department of Agriculture, 2002).

1.2. Γαλακτοκομικά προϊόντα - διαδικασία ζύμωσης

Κατά προσέγγιση, γύρω στα 400 διαφορετικά προϊόντα που προέρχονται από τη ζύμωση του γάλακτος καταναλώνονται σε όλο τον κόσμο. Η διαδικασία της ζυμώσεως διατηρεί τα ζωτικά διατροφικά συστατικά του γάλακτος. Παράλληλα, τροποποιεί ορισμένα συστατικά του γάλακτος με στόχο την αύξηση της διατροφικής τους κατάστασης, παρέχοντας ορισμένα ευδιάκριτα οφέλη στην υγεία των καταναλωτών, πέρα από τα συμβατικά οφέλη. Τα ζυμωμένα προϊόντα του γάλακτος μπορεί να προσδιοριστούν ως «λειτουργικά προϊόντα διατροφής». Η ποικιλία των γαλακτοκομικών προϊόντων που είναι αποτέλεσμα της ζύμωσης μπορεί να

αποδοθεί στην χρήση του γάλακτος που προέρχεται από ποικίλα ζώα και την χλωρίδα, από την προσθήκη της ζάχαρης, των δημητριακών και των φρούτων με στόχο την δημιουργία μίας γκάμας γεύσεων και μείγματος, καθώς και από την εφαρμογή των επιπρόσθετων μεθόδων συντήρησης (USDHHS PMO, 2003).

Το γιαούρτι είναι ένα ημίρρευστο προϊόν είναι αποτέλεσμα της διαδικασίας της ζυμώσεως και παρασκευάζεται από ένα καθορισμένο και θερμικά επεξεργασμένο μείγμα γάλακτος, μέσω της δραστηριότητας των συμβιωτών οργανισμών του *Streptococcus thermophilus* και του *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus*.

Το γιαούρτι κατηγοριοποιείται σε ποικίλους τύπους. Το απλό γιαούρτι αποτελεί τον βασικό τύπο των γαλακτοκομικών προϊόντων του συγκεκριμένου είδους, ενώ δεν περιέχει καθόλου προστιθέμενες γεύσεις ή ζάχαρη. Το γιαούρτι που έχει την γεύση των φρούτων μπορεί να περιέχει στην βάση του είτε φρούτα είτε γλυκαντικά. Σήμερα, τα προϊόντα γιαουρτιού συμπληρώνονται με προβιοτικά και άλλα λειτουργικά συστατικά (Chandan and O'Rell, 2006b).

Ένα ακόμη προϊόν γαλακτικής ζύμωσης είναι το ξινόγαλα. Το ξινόγαλα επιτυγχάνεται μέσω της επεξεργασίας του παστεριωμένου αποβουτυρωμένου γάλακτος ή αποτελεί προϊόν άπαχου γάλακτος με οξυγαλακτική καλλιέργεια (*Streptococcus cremoris*, *Streptococcus lactis* και *Leuconostoc citrovorum*). Το όξινο ανθόγαλα είναι παστεριωμένο ανθόγαλα λιποπεριεκτικότητας 18 - 19%, το οποίο έχει υποστεί γαλακτική ζύμωση. Χρησιμοποιείται ως έδεσμα, για την άρτυση σαλατών και για την παρασκευή βουτύρου (Sodini and Tong, 2006).

Το γάλα που δεν αποτελεί προϊόν ζύμωσης βασίζεται στο παστεριωμένο και υπερεψυγμένο γάλα χαμηλών λιπαρών στο οποίο έχει ενσωματωθεί μία ποσότητα *Lactobacillus acidophilus* για να μεταφέρει το μίνιμουμ του ενός εκατομμυρίου οργανισμών ανά milliliter. Σε αυτή την περίπτωση, αποφεύγεται σκόπιμα η ανάπτυξη της καλλιέργειας, για να διατηρηθεί η φρέσκια γεύση του γάλακτος. Το προϊόν διατηρείται σε θερμοκρασία ψύξεως με διάρκεια ζωής δύο έως τριών εβδομάδων. Αρκετοί προβιοτικοί οργανισμοί όπως είναι οι *Bifidobacteria*, *Lactobacillus delbrueckii* ή ο *Lactobacillus casei* μπορούν να συμπεριληφθούν (Marth and Steele, 2001).

1.2.1. Κεφίρ

Το κεφίρ καλλιεργείται υπό τη μορφή κόκκων (μεγέθους μπιζελιού) ανώμαλης επιφάνειας. Μέσα στους κόκκους βρίσκονται οι μικροοργανισμοί που προκαλούν τη ζύμωση

του γάλακτος. Τα κύρια συστατικά τους είναι πολυσακχαρίτες και πρωτεΐνες. Οι μικροοργανισμοί που περιέχονται στους κόκκους είναι ένα μίγμα βακτηρίων και ζυμών που συμβιώνουν. Τα κυριότερα είδη μεσόφιλων στρεπτόκοκκων είναι οι *Streptococcus lactis* και *Streptococcus cremoris* (ομοζυμωτικοί), *Leuconostoc mesenteroides* και *L. dextranicum* (ετεροζυμωτικοί), οι οποίοι παράγουν εκτός από γαλακτικό οξύ, CO₂, αρωματικές ουσίες που συμβάλλουν στη γεύση του κεφίρ. Επίσης στους κόκκους του κεφίρ έχουν βρεθεί μεσόφιλοι και θερμοφιλοι λακτοβάκιλλοι (π.χ. *L. casei*, *L. bulgaricus*), (Κεχαγιάς, 2011).

1.2.2. Προϊόντα τυριού - Προϊόντα τυρογάλακτος

Το τυρί προέρχεται από την μετατροπή και τη διατήρηση των συστατικών του γάλακτος που ήταν σε υγρή μορφή και μετασχηματίστηκαν σε ρευστή. Υπάρχουν τουλάχιστον 400 ποικιλίες τυριού. Τα κύρια συστατικά του γάλακτος (πρωτεΐνες, λίπος και μεταλλικά) συγκεντρώνονται και προστατεύονται από τη γρήγορη αλλοίωση που προκαλείται μέσω των μικροοργανισμών. Το τυρί επομένως είναι ένα συμπυκνωμένο γαλακτικό προϊόν. Παρέχει διατροφική αξία, ευκολία στη χρήση, διατροφική ασφάλεια και ποικιλία γεύσεων και αρωμάτων στον καταναλωτή. Τα τυριά τυρογάλακτος γίνονται απευθείας από το γάλα. Είναι τα τυριά που λαμβάνονται με υψηλή θέρμανση τυρογάλακτος και με την προσθήκη γάλακτος ή χωρίς του αφρογάλακτος και του μαγειρικού άλατος. Το επιθυμητό άρωμα και η υφή στην γεύση αποτελούν παράγοντες που επιτυγχάνονται σε πολλά τυριά μέσω μίας ειδικής επεξεργασίας στο πλαίσιο μίας ειδικής θερμοκρασίας, υγρασίας και χρονικής περιόδου (Zehren and Nusbaum, 2000).

Το τυρόγαλα αποτελεί έναν ορό γάλακτος, ο οποίος λαμβάνεται κατά την παρασκευή τυριών ή καζεΐνης. Η σύνθεση του εξαρτάται ευρέως από την ποικιλία των τυριών από τα οποία φτιάχνεται. Τα παραπάνω στερεά αποτελούν πολύτιμες προσθήκες στις λειτουργικές ιδιότητες μίας ποικιλίας τροφών, καθώς και πηγή πολύτιμων διατροφικών συστατικών (Kosikowski and Mistry, 1997).

1.3. Ξινόγαλα

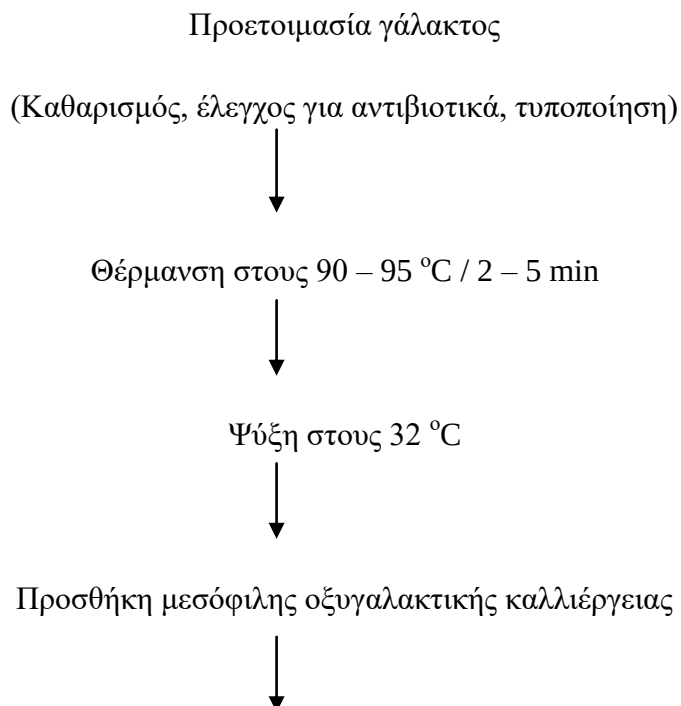
Από τα αρχαία χρόνια, ο πρωτόγονος άνθρωπος ήξερε ότι το γάλα, άβραστο αλλά και βρασμένο, όταν έμενε εκτεθειμένο σε θερμοκρασίες περιβάλλοντος ξίνιζε μέσα σε σύντομο χρονικό διάστημα. Από το τελευταίο εύκολα διαχώριζε το βούτυρο με απλό χτύπημα μέσα σε

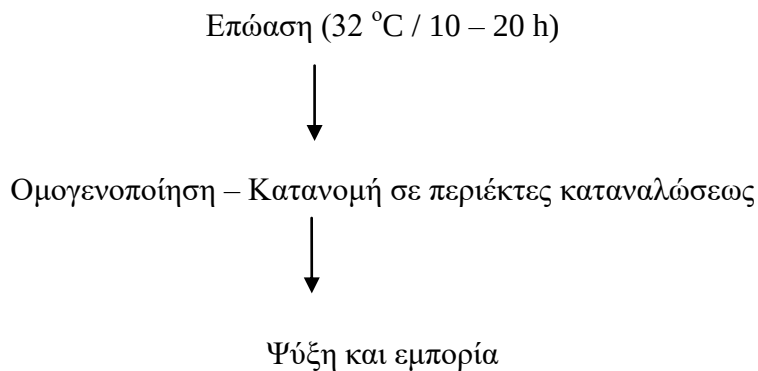
μακρόστενο κάδο (καράμπα). Το υπόλειμμα ήταν το περίφημο ξινόγαλα που τόσο διαφημίστηκε στην περιοχή της Κριμαίας ως ποτό χρήσιμο και πολύ ωφέλιμο για τον άνθρωπο.

Το βουτυρόγαλα ή όπως συνηθίζεται να λέγεται στη χώρα μας ξινόγαλα εμφανίζεται μετά το σχηματισμό των κόκκων του βουτύρου κατά τη βουτυροποίηση της κρέμας. Η σύσταση του ξινογάλακτος εξαρτάται κατά αρχάς από το αν αυτό προέλθει από την παρασκευή βουτύρου από γλυκιά ή από ώριμη κρέμα. Επειδή στις χώρες όπου έχει διαδοθεί η κατανάλωση ξινογάλακτος οι ποσότητες που προέρχονται από την παρασκευή βουτύρου δεν επαρκούσαν, για αυτό το ξινόγαλα παρασκευάστηκε με επιτυχία από αποβουτυρωμένο ή ημιαποβουτυρωμένο γάλα (Tamime & Marshall, 1997). Συνήθως η λιποπεριεκτικότητα κυμαίνεται από 0.4 – 3% στις διάφορες χώρες. Ένας άλλος λόγος που οδήγησε στην παρασκευή ξινογάλακτος από γάλα είναι ότι το ξινόγαλα από την παρασκευή βουτύρου είναι ένα υποπροϊόν με μικρή σχετικά διατηρησιμότητα, ενώ το ξινόγαλα που παρασκευάζεται από γάλα παράγεται κάτω από συνθήκες απόλυτα ελεγχόμενες, που μπορούν να επηρεάσουν ευνοϊκά την ποιότητα του προϊόντος (Κεχαγιάς, 2011).

1.3.1. Τύποι οξυγαλάτων

Στο παρακάτω διάγραμμα περιγράφονται τα βασικά στάδια παραγωγής οξυγαλάτων:





Διάγραμμα 1: Διάγραμμα ροής οξυγάλατος

1.3.2. Ελληνικό οξύγαλα ή ξινόγαλα

Είναι παραδοσιακό προϊόν ζυμώσεως του ξινογάλακτος ή του άπαχου γάλακτος και αντίστοιχο του «Cultured buttermilk», το οποίο παράγεται σε αρκετές χώρες και ιδιαίτερα στις Η.Π.Α. Η κατανάλωση του προϊόντος αυτού στη χώρα μας έμεινε σε χαμηλά επίπεδα. Τελευταία παρατηρείται τάση για διάδοση τέτοιου προϊόντος σε σύγχρονη μορφή.

Κατά τον παραδοσιακό τρόπο παρασκευής το ξινόγαλα ή το γάλα αφήνεται να υποστεί ζύμωση από τη φυσική οξυγαλακτική του χλωρίδα. Η πορεία όμως της ζύμωσης είναι συχνά ανώμαλη και η πιθανή ύπαρξη παθογόνων βακτηρίων καθιστά τη μέθοδο αυτή ανασφαλή. Η υγιεινή επιβάλλει θέρμανση του ξινογάλακτος ή του άπαχου γάλακτος στους 90 – 95 °C για 15 min, ψύξη στους 25 – 28 °C και εμβολιασμό με την οξυγαλακτική καλλιέργεια σε αναλογία 10 - 15%. Η οξυγαλακτική καλλιέργεια είναι είτε οξύγαλα προηγούμενης μέρας είτε ειδικά προετοιμασμένη καλλιέργεια σε αποστειρωμένο ξινόγαλα ή γάλα με χρήση αφυδατωμένης μητρικής καλλιέργειας. Τα οξυγαλακτικά στελέχη που χρησιμοποιούνται είναι ο *Lactococcus cremoris*, ο *Lactococcus lactis* και το *Leuconostoc citrovorum*.

Μετά την προσθήκη της οξυγαλακτικής καλλιέργειας γίνεται επώαση στους 28 – 30 °C και αφού πήξει θραύεται με χτύπημα το πήγμα και το προϊόν μετατρέπεται σε παχύρρευστο υγρό, το οποίο συσκευάζεται σε φιάλες και διακινείται σε θερμοκρασίες ψύξεως. Η θέρμανση του ξινογάλακτος ή του γάλακτος στους 90 °C για 15 min, παστεριώνει το προϊόν, το οποίο είναι ασφαλές για τη Δημόσια Υγεία εφόσον προστατεύεται από επιμολύνσεις μέχρι τη συσκευασία του. Είναι προϊόν εύγεστο και εύπεπτο (Tamime & Marshall, 1997).

1.3.3. Ξινισμένο βιομηχανικής παραγωγής (ξινόγαλα)

Το ξινισμένο ξινόγαλα (cultured buttermilk), προϊόν που παρασκευάζεται σε πολλές χώρες, είναι ιδιαίτερα δημοφιλές στις Η.Π.Α. Η Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων (F.D.A) των Η.Π.Α ορίζει ότι το «cultured buttermilk» είναι το προϊόν που παρασκευάζεται με οξίνιση, με ειδικά οξυγαλακτικά βακτήρια, από το μερικώς ή πλήρως αποβουτυρωμένο γάλα και το οποίο περιέχει τουλάχιστον 9.5% στερεό υπόλειμμα άνευ λίπους.

Το γάλα που προορίζεται για την παρασκευή ξινογάλακτος, μετά την τυποποίηση υφίσταται θερμική επεξεργασία εντονότερη της παστερίωσης (85 °C για 30 min ή 95 °C για 3 - 5 min) για να διασφαλισθεί κατάλληλη υφή στο τελικό προϊόν. Το ποσοστό της καλλιέργειας που χρησιμοποιείται για την παρασκευή ξινογάλακτος ανέρχεται στο 0.5 – 1%. Στην καλλιέργεια περιλαμβάνονται δύο ή περισσότερα οξυγαλακτικά βακτήρια (*S. lactis*, *S. cremoris*) και βακτήρια που δίδουν άρωμα στο τελικό προϊόν (*Leuconostoc citrovorum*, *L. dextranicum*) ή στελέχη με μικρή ικανότητα παραγωγής διακετυλίου, όπως ο *S. diacetylactis* (Robinson, 2002). Γίνεται επώαση στους 20 – 23 °C για 8 - 14 ώρες. Ακολουθεί ψύξη στους 11 – 14 °C για μερικές ώρες και κατά διαστήματα ανάδευση για την απομάκρυνση του CO₂, που έχει βρεθεί ότι προκαλεί διαχωρισμό των φάσεων και ελευθέρωση ορού. Το πήγμα, λεπτόρρευστο, οξύτητας περίπου 0.75 – 0.80% (pH = 4.5) ανακινείται, ψύχεται στους 10 °C, συσκευάζεται σε φιάλες ή άλλους περιέκτες και διατηρείται σε θερμοκρασία χαμηλότερη των 5 °C, για να αποφευχθεί η υπερβολική οξίνιση του προϊόντος κατά τη διάρκεια της συντήρησης. Συντηρείται μέχρι 30 ημέρες. Η μέση χημική σύσταση είναι: Νερό 90.5%, Λίπος 0.1%, Πρωτεΐνες 3,6%, Λακτόζη 4.3%, Γαλακτικό οξύ 0.8% και τέφρα 0.7% (Μάντης, 2000).

1.3.4. Χαρακτηριστικά καλής ποιότητας ξινογάλακτος

Τα χαρακτηριστικά ενός καλής υφής ξινογάλακτος είναι:

- Λεία υφή χωρίς κροκιδώματα
- Ιξώδες τέτοιο ώστε το προϊόν να ρέει βραδέως όταν χύνεται
- Απουσία ελεύθερου ορού

Για να αποφευχθούν τα ελαττώματα υφής, είναι ανάγκη το γάλα να έχει υποστεί υψηλή θερμική επεξεργασία, να έχουμε σχετική υψηλή περιεκτικότητα σε ολικά στερεά και το ξινόγαλα να έχει ικανοποιητική οξύτητα (pH περίπου 4.6). Η χαρακτηριστική γεύση ενός καλού ξινογάλακτος πρέπει να είναι ευχάριστα όξινη, με γεύση διακετυλίου και με ελαφρά γεύση πτητικών οξέων. Η

έλλειψη χαρακτηριστικής γεύσης μπορεί να οφείλεται στην έλλειψη κατάλληλης ισορροπίας μεταξύ των βακτηρίων που παράγουν γαλακτικό οξύ και αυτών που παράγουν αρωματικές ουσίες ή και στη μη χρησιμοποίηση κατάλληλης θερμοκρασίας επώασης.

Σύμφωνα με την έρευνα του Wouters και άλλων ερευνητών (2002), οι γαλακτικοί βάκιλοι που αναπτύσσονται σε ζεστές συνθήκες είναι υπεύθυνοι για την ζύμωση του γάλακτος. Οι γαλακτικοί βάκιλοι προσφέρουν στα ζυμωμένα γάλατα έναν σημαντικό αριθμό διατροφικών πλεονεκτημάτων, συγκριτικά με το συνηθισμένο τύπο γάλακτος. Το ζυμωμένο γάλα διατηρείται καλύτερα, μειώνοντας το pH. Επίσης, η λακτόζη υδρολύεται μερικώς, γεγονός που ωφελεί εκείνους τους καταναλωτές που υποφέρουν από την έλλειψη της λακτάσης (ένζυμο). Ορισμένα είδη γαλακτικών βακίλων προχωρούν στην σύνθεση των βιταμινών, με συνέπεια τον εμπλουτισμό του γάλακτος (Forssen *et al.*, 2000). Το *L. bulgaricus* διαθέτει ένα υψηλά ανταγωνιστικό πρωτεολυτικό σύστημα, το οποίο αποτελείται από μία εξωκυτταρική πρωτεΐνωση (ένζυμο) (Khalid & Marth, 1990) και αρκετά πεπτίδια (Bockelmann *et al.*, 1991, 1992). Η διαδικασία της υδρόλυσης των πρωτεϊνών του γάλακτος μέσω του πρωτεολυτικού συστήματος δεν διεγείρει μόνο την ανάπτυξη της καλλιέργειας του *S. thermophilus*, αλλά επίσης απελευθερώνει τα πεπτίδια από την καζεΐνη και τον ορό πρωτεϊνών. Οι παραπάνω πρωτεΐνες περιλαμβάνουν ορισμένα αμινοξέα τα οποία ασκούν μία ειδική βιολογική δραστηριότητα πάνω στη φυσιολογία του καταναλωτή (Meisel & Schlimme, 1996). Υπάρχουν αναφορές ως προς την παρουσία των λειτουργικών πεπτιδίων στα γάλατα τα οποία έχουν υποστεί ζύμωση με *L. helveticus* (Yamamoto *et al.*, 1994, Masuda *et al.*, 1996), εντούτοις, δεν έχει ακόμα διατυπωθεί με ακρίβεια ο ρόλος του *L. bulgaricus*. Η σωστή επιλογή των γαλακτικών βακίλων προσφέρει αρκετές δυνατότητες στην διαδικασία παραγωγής του ζυμωμένου γάλακτος, όπως είναι το ξινόγαλα, το οποίο παρέχει στους καταναλωτές επιπλέον οφέλη για την υγεία του.

1.4. Η καλλιέργεια του ξινόγαλα – Χαρακτηριστικά γνωρίσματα

Η οξίνιση του γάλακτος προκαλείται κατά κύριο λόγο από τα βακτήρια και σε μικρότερο κατά πολύ βαθμό από τις ζύμες. Στην πρώτη περίπτωση παράγεται σε μεγάλο βαθμό το γαλακτικό οξύ, ενώ στην περίπτωση των ζυμών παράγεται επιπλέον και οινόπνευμα. Πέρα από αυτά και στις δύο περιπτώσεις ανευρίσκονται και άλλες ουσίες που προέρχονται από τη διάσπαση του λίπους και των λευκωμάτων, οι οποίες μαζί με το γαλακτικό οξύ ή και το

οινόπνευμα δίνουν στο γάλα γεύση που αρέσει ιδιαίτερα στους καταναλωτές ορισμένων περιοχών της γης. Στη Βαλκανική Χερσόνησο, τη Μέση Ανατολή και άλλες χώρες της Ασίας, καταναλώνεται ξινόγαλα σε ευρεία κλίμακα. Η γεύση του ξινογάλακτος διαφοροποιείται ανάλογα με το είδος του γάλακτος, τους χρησιμοποιούμενους μικροοργανισμούς και την ακολουθούμενη τεχνολογία κατά την παρασκευή τους (Βεϊνόγλου, 1980).

Τα χαρακτηριστικά γνωρίσματα των βακτηρίων του ξινόγαλα, τόσο μορφολογικά όσο και βιομηχανικά, αποτελούν αντικείμενο της μικροβιολογίας. Παρακάτω, αναλύονται αυτά που έχουν σημασία για την τεχνολογία του ξινόγαλα και που χρησιμοποιήθηκαν στη διάρκεια του ερευνητικού μέρους.

1.4.1. Γένος *Lactobacillus*

Τα κύτταρα, του γένους Λακτοβάκιλλους, είναι μακρά και λεπτά ραβδία, ενίοτε ελαφρώς καμπύλα, που σμικρύνονται σε ότι αφορά το μήκος και φθάνουν στο σχήμα κορυνόμορφου κοκκοβακίλλου σε ορισμένα είδη. Αλυσίδες κυττάρων σχηματίζονται εύκολα, ιδιαίτερα προς το τέλος της λογαριθμικής φάσεως. Κατά γενικό κανόνα οι Γαλακτοβάκιλλοι είναι ανίκανοι για κίνηση με εξαίρεση μεμονωμένες περιπτώσεις Βακίλλων που φέρουν περίτριχες βλεφαρίδες, όπως οι Στρεπτόκοκκοι. Είναι όλα ασποριογόνα, εντονώς θετικά κατά Gram και αρνητικά ως προς την καταλάση. Σε γερασμένες καλλιέργειες η χρώση κατά Gram ποικίλλει και μπορεί να γίνει αρνητική (Damin *et al.*, 2008).

Γενικά τα Γαλακτοβακτήρια, ανεξαρτήτως σχήματος, απαντούν σε ζεύγη (*Streptococcus pneumoniae*) ή σε αλυσίδες βραχείες ή επιμήκεις κατά περίπτωση και σπανίως μεμονωμένα. Ο μεταβολισμός τους είναι ζυμωτικός, μπορούν όμως να χαρακτηρισθούν ως προαιρετικώς αναερόβια (*facultative anaerobes*) ή μικροαερόφιλα. Σχεδόν όλα τα Γαλακτοβακτήρια μπορούν να αναπτυχθούν υπό αερόβιες συνθήκες (μέσα σε *Petri*) με εξαίρεση ορισμένα είδη *Leuconostoc*, παρά το γεγονός ότι δεν είναι ικανά να κάνουν οξείδωση των συστατικών του υποστρώματος. Υποχρεωτικά αναερόβια Γαλακτοβακτήρια είναι ελάχιστα στελέχη, αν όχι κανένα.

Έχουν μικρές συνθετικές ικανότητες και για αυτό το λόγο αναπτύσσονται μόνο σε πλούσια θρεπτικά υλικά. Πολλά αναπτύσσονται καλύτερα σε στερεά υλικά, εάν εξασφαλισθεί στον ελεύθερο χώρο 5 – 20% διοξείδιο του άνθρακος. Χαρακτηριστικό βεβαίως όλων των ειδών

του γένους είναι ο σχηματισμός του γαλακτικού οξέος, ως κυρίου προϊόντος μεταβολισμού των υδατανθράκων.

Τα γαλακτοβακτήρια, λόγω της ικανότητας να σχηματίζουν οξέα και να αντέχουν στην αυξημένη συγκέντρωσή τους, μπορούν να επιβιώσουν σε μεικτούς πληθυσμούς και να υπερισχύσουν. Στην περίπτωση αυτή, τα ίδια δημιουργούν εκλεκτικό περιβάλλον και ταυτόχρονα ζυμώνουν φυτικές και ζωικές πρώτες ύλες πλούσια σε σάκχαρα (πίκλες, τουρσιά, βούτυρο, διάφορα τυριά, ξινόγαλα, γιαούρτι) προς τελικά προϊόντα χρήσιμα για τον άνθρωπο (Μπαλατσούρας, 2006).

Ακόμη, αναπτύσσονται σιγά στο γάλα και στα προϊόντα του, παρουσιάζουν μεγάλη αντοχή σε όξινο περιβάλλον και εξακολουθούν να αναπτύσσονται καλά και μετά τη πήξη του γάλακτος. Είναι πολύ σημαντική ομάδα βακτηρίων, διότι συντελούν σε μεγάλο βαθμό στην ωρίμανση των τυριών και στην Παρασκευή ορισμένων γαλακτοκομικών προϊόντων. Εισέρχονται στο γάλα από τις ζωοτροφές και τα εκκρίματα του ζώου (Βεϊνόγλου, 1980).

Οι λακτοβάκιλλοι χωρίζονται σε υποχρεωτικά ομοζυμωτικούς, προαιρετικά ομοζυμωτικούς και υποχρεωτικά ετεροζυμωτικούς με κριτήριο το χαρακτήρα της ζύμωσης.

Ο ομοζυμωτικός τρόπος (*Homofermentation*) προκαλεί γλυκόλυση των εξοζών και συμβαίνει στα στελέχη των *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus* και *Pediococcus*. Χαρακτηρίζεται από τη διάσπαση της 1.6 - διφωσφο - φρουκτοζης (FDP) σε δύο ίσο - τριόζες, την 3 - φωσφο- γλυκεριναλδεϋδη (GAP) και την φωσφο - διυδροξυ - ακετόνη, με τη δράση της 1.6 - διφωσφορικής αλδολάσης. Από την 3 - φωσφο- γλυκεριναλδεϋδη σχηματίζεται πυροσταδυλικό οξύ από το οποίο τελικά παράγεται γαλακτικό οξύ που είναι και το μόνο προϊόν αυτού του τρόπου ζύμωσης (Axelsson, 1998). Στην κατηγορία αυτή ανήκουν τα στελέχη *L. delbrueckii*, *L. acidophilus*, *L. helveticus*, *L. farmicicus* και *L. kefirafaciens*. Το *L. acidophilus* χρησιμοποιείται στην παραγωγή ξινόγαλου και κατατάσσεται στην κατηγορία των προβιοτικών βακτηρίων μαζί με το *L. jensonii* (Axelsson, 1998).

Ο ετεροζυμωτικός τρόπος (*Heterofermentation*) χαρακτηρίζεται από την οξείδωση της γλυκόζης προς 6 - φωσφο - γλυκονικό οξύ, ακολουθούμενο από μία αποκαρβοξυλίωση. Η πεντόζη στη συνέχεια διασπάται σε 3 - φωσφο - γλυκεριναλδεϋδη και ακετυλο - φωσφορικό οξύ με τη δράση μιας φωσφοκετολάσης. Το αποτέλεσμα αυτού του τρόπου ζύμωσης της εξόζης είναι ότι παράγει CO₂, αιθανόλη και γαλακτικό οξύ σε ίσα μέρη. Εδώ ανήκουν τα στελέχη *Leunostoc* και μερικά στελέχη του *Lactobacillus spp.* Τα ετεροζυμωτικά βακτήρια έχουν επίσης

την ικανότητα να χρησιμοποιούν εξωτερικούς δείκτες ηλεκτρονίων για να αναγεννούν το NADH και να αποδίδουν ενέργεια. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν τα στελέχη *L. casei*, *L. rhamnosus* και *L. plantarum*. Ο *L. casei* εντοπίζεται στα γαλακτικά προϊόντα, τον εντερικό σωλήνα κ.α. (Stiles & Holzapfel, 1997).

Ομοζυμωτικός τρόπος:

$1 \text{ εξόζη} + 2\text{ADP} + 2 \text{ Pi} \rightarrow 2 \text{ γαλακτικά οξέα} + 2 \text{ ATP}$

Ετεροζυμωτικός τρόπος:

$1 \text{ εξόζη} + 1 \text{ ADP} + \text{Pi} \rightarrow \text{γαλακτικό οξύ} + \text{αιθανόλη} + \text{CO}_2 + 1 \text{ ATP}$

ή (αν υπάρχει εξωτερικός δέκτης ηλεκτρονίων)

$1 \text{ εξόζη} + 2 \text{ ADP} + \text{Pi} \rightarrow \text{γαλακτικό οξύ} + \text{αιθανόλη} + \text{CO}_2 + 2 \text{ ATP}$

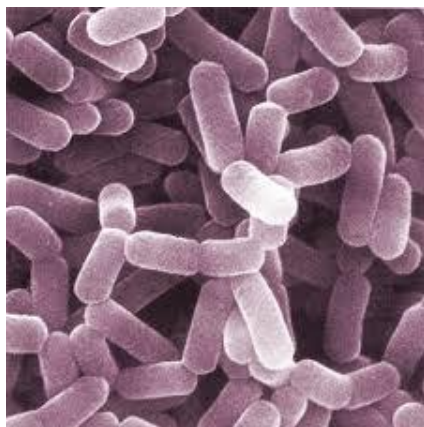
➤ *Lactobacillus casei*

Είναι ένα από τα πολλά είδη βακτηρίων που ανήκουν στο γένος *Lactobacillus*. Είναι προαιρετικά ετεροζυμωτικό είδος Γαλακτοβάκιλλου. Τα κύτταρα είναι ραβδία, συχνά με τετραγωνισμένα τα άκρα, διαστάσεων $0.7 - 1.1 \times 2.0 - 4.0 \mu\text{m}$ που τείνουν σε σχηματισμό αλυσίδων μικρού μήκους. Δεν σημειώνεται ανάπτυξη στους 45°C (εξαιρέσει του *Lactobacillus casei subsp. rhamnosus*). Είναι δύστροπο στην ανάπτυξη και έχει ανάγκη επτά βιταμινών του συμπλόκου Β στο υπόστρωμα. Απομονώθηκε από γάλα, τυρί γαλακτοκομικά προϊόντα γενικά, ξινή μαγιά, εντερικό σωλήνα του ανθρώπου, στοματική κοιλότητα και απόβλητα (Μπαλατσούρας, 2006). Ακόμη, είναι ένα μεσόφιλο βακτήριο που είναι θετικό κατά gram, σε σχήμα ράβδου, μη σποριογόνο, *nonmotile*, αναερόβιο, και δεν περιέχει κυτόχρωμα (Holzapfel *et al.*, 2001). *L. casei* μπορεί να βρεθεί σε διάφορα περιβάλλοντα όπως σε ζυμωμένα γαλακτοκομικά προϊόντα, στο εντερικό κομμάτι και το αναπαραγωγικό σύστημα του ανθρώπου και των ζώων, καθώς επίσης σε νωπά και φυτικά προϊόντα που έχουν υποστεί ζύμωση (Cai *et al.*, 2007). Το βέλτιστο pH για *L. casei* είναι το 5,5. Το γαλακτικό οξύ που παράγεται από το *L. casei* μέσω ζύμωσης είναι πολύ σημαντική δεδομένου ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να κάνει τυριά και γιαούρτια, καθώς μειώνουν τα επίπεδα της χοληστερόλης, ελέγχουν τη διάρροια, ανακουφίζουν από τη δυσανεξία της λακτόζης, αναστέλλουν τους εντερικά παθογόνους μικροοργανισμούς και χρησιμεύουν ως προβιοτικά (Mishra and Prasad, 2005).

Ο *L. casei* είναι προαιρετικά αναερόβιος οργανισμός που παίρνει ενέργεια μέσω της ζύμωσης. Τα περισσότερα στελέχη *L. casei* μπορούν να ζυμώσουν γαλακτόζη, γλυκόζη,

φρουκτόζη, μαρννόζη, μαρννιτόλη, Ν-ακετυλογλυκοζαμίνη, και ταγκατόζη (Cai *et al.*, 2007). Η ικανότητα να ζυμώνουν λακτόζη είναι λιγότερο συνή στα στελέχη που απομονώνονται από φυτικά υλικά από ό, τι εκείνων που προέρχονται από το τυρί και τα ανθρώπινα γαστρεντερικού (Cai *et al.*, 2007). Οι συνθήκες της ζύμωσης όπως η θερμοκρασία, το pH, το είδος του μέσου ανάπτυξης, το οξυγόνο, και μερικά εξουδετέρωσης παίζουν επίσης ένα ρόλο στην ανάπτυξη της δραστηριότητας του *L. casei* (Ha *et al.*, 2003). Η πλέον σημαντική ένωση που παράγει *L. casei* είναι το γαλακτικό οξύ. Λαμβάνεται με ζύμωση της γλυκόζης και τον σχηματισμό γαλακτικού. Γαλακτικό οξύ είναι ένα υδροξυ-οξύ που μπορεί να παραχθεί χημικά από την ακεταλδεΐδη και κυανιούχο υδρογόνο ή με μικροβιακή ζύμωση (Chan-Blanco *et al.*, 2003). Χρησιμοποιείται για πολλές βιομηχανικές διεργασίες, όπως χημική και βιολογική παραγωγή των οργανικών οξέων, ως άρτυμα σε τρόφιμα, για την κατασκευή καλλυντικών, καθώς και για την παραγωγή των βιοδιασπώμενων πλαστικών (Chan-Blanco *et al.*, 2003).

Επίσης παράγει γαλακτικό οξύ, το οποίο χρησιμοποιείται σε διάφορες εφαρμογές στον τομέα της βιοτεχνολογίας, δεδομένου ότι έχει πολλές ευεργετικές επιδράσεις, όπως η αύξηση της ανοσολογικής απόκρισης του συστήματος, ένα μειωμένο κίνδυνο για καρκίνο της ουροδόχου κύστης, και μειωμένα επίπεδα χοληστερόλης.



Εικόνα 1 : Μορφολογική απεικόνιση *Lactobacillus casei*

➤ ***Lactobacillus bulgaricus***

Ο *Lactobacillus delbrueckii* θεωρούνταν ότι αποτελείται από μια ομάδα τεσσάρων ειδών με πανομοιότυπο φαινότυπο (*L. delbrueckii*, *L. leichmannii*, *L. lactis* και *L. bulgaricus*). Ο γενότυπος αυτός των ειδών εμφανίζεται να έχει ομόλογο DNA 80%, και 50 εξαιτίας αυτής της ομοιότητας σήμερα θεωρείται ως ένα είδος με τρία υποείδη. Αυτά τα τρία υποείδη, τα οποία δεν

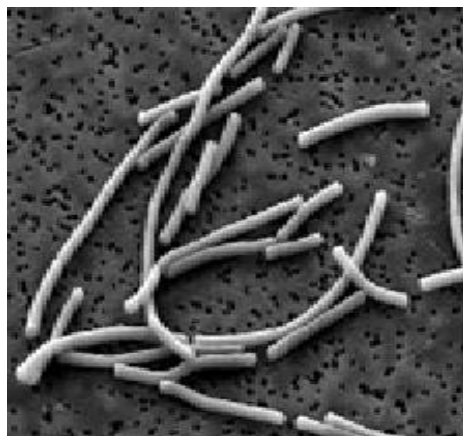
διαχωρίζονται με ανάλυση της αλληλουχίας rRNA, είναι ο *L. delbrueckii subsp. lactis*, *L. delbrueckii subsp. delbrueckii* και *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* (Crow & Curry, 2002).

Ο *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* είναι βάκιλος που στην τυπική του μορφή έχει σχήμα λεπτών ράβδων με στρογγυλεμένα άκρα, που όταν αναπτύσσεται στο γάλα υπάρχει είτε σε ανεξάρτητα κύτταρα ή σχηματίζει αλυσίδες. Οι μέσες διαστάσεις του είναι 0.8 – 1.0 μ. και 4 – 6 μ. μήκος. Το θρεπτικό υλικό, η κατάσταση αυτού και η θερμοκρασία επηρεάζουν σε μεγάλο βαθμό τη μορφολογία του, οπότε το μήκος του βακίλου μπορεί να φτάσει στα 500μ. Σε ορισμένες περιπτώσεις, όταν η συνθήκες αναπτύξεώς του είναι πολύ δυσμενείς, η παραμόρφωση των κυττάρων είναι τόσο μεγάλη και ακανόνιστη, ώστε η εικόνα που παρουσιάζουν αυτά στο μικροσκόπιο, να δίδει την εντύπωση ότι πρόκειται για ξένα προς τη μικροβιολογία αντικείμενα. Ο *L. bulgaricus* παρουσιάζει ευαισθησία στα αντιβιοτικά, σε σημαντικό όμως μικρότερο βαθμό από τον *S. thermophilus*.

Αναπτύσσεται σε ευρέα όρια θερμοκρασίας 22 °C μέχρι 60 °C και η άριστη θερμοκρασία είναι 40 – 43 °C. Ορισμένα στελέχη του μικροοργανισμού αυτού επιζούν σε θερμοκρασία 75 °C για 30 min. Επίσης παραλλαγές του *bulgaricus* παράγουν σπόρια σε γάλα ή και βλεννώδεις ουσίες. Τα κύτταρα του υπό κανονικές συνθήκες δεν παράγουν σπόρια, αποκτούν όμως την ιδιότητα της σπορογεννέσεως, ιδιαίτερα όταν αναπτύσσονται σε αντίξοες συνθήκες.

Ο *bulgaricus* είναι τυπικός μικροοργανισμός του γάλακτος στο οποίο αναπτύσσεται κάλλιστα και απομονώθηκε από το γιαούρτι. Υπάγεται στην ομοζυμωτική (*Lomofermentative*) ομάδα των βακτηρίων γαλακτικής ζύμωσης και παράγει μέχρι 1.7% D(-) γαλακτικό οξύ στο γάλα. Πέρα από το γαλακτικό οξύ παράγονται και μικρές ποσότητες άλλων πτητικών ουσιών μεταξύ των οποίων ακεταλδεΰδη και σε δεύτερη μοίρα ακετόνη, βουτανόνη και ίχνη ακετόνης. Αυτές οι ουσίες παρά τη μικρή ποσότητα που υπάρχουν στο ξινόγαλα, προσδίδουν άρωμα και βελτιώνουν τη γεύση, παράγονται όμως κυρίως από τον *L. bulgaricus*.

Από τα λιπαρά οξέα που δημιουργούνται από υδρόλυση, τα πιο αξιόλογα είναι το οξικό, προπιονικό, βουτυρικό ισοβαλερικό, καπροϊκό, καπρυλικό και καπρικό οξύ. Έχει επίσης ο μικροοργανισμός αυτός και μικρή πρωτεολυτική ικανότητα στο γάλα που οδηγεί στη συσσώρευση ελεύθερων αμινοξέων (Donkor *et al.*, 2007, Damin *et al.*, 2008).



Εικόνα 2: Μορφολογική απεικόνιση *Lactobacillus bulgaricus*

1.4.2. Γένος *Streptococcus*

Τα στελέχη του γένους *Streptococcus* περιγράφονται με βάση μορφολογικά, φυσιολογικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά. Έχουν μορφή κόκκων που σχηματίζουν μεγάλες αλυσίδες και περιλαμβάνουν ένα μεγάλο εύρος οργανισμών, όπως τα ισχυρά παθογόνα βακτήρια *S. faecalis* και *S. faecium* και τα βακτήρια που χρησιμοποιούνται ως καλλιέργειες εκκίνησης *S. cremoris* και *S. lactis*. Οι στρεπτόκοκκοι έχουν πολύπλοκες τροφικές απαιτήσεις και ευδοκimούν σε περιβάλλοντα με επαρκείς πηγές πρωτεϊνών και υδατανθράκων, συμπεριλαμβανομένων των ιστών του εντερικού σωλήνα, του γάλατος κι των γαλακτοκομικών, των λαχανικών κ.α. Το εξελικτικό δέντρο της κλωστριδικής υποομάδας Gram⁺ βακτηρίων χωρίζει τους στρεπτόκοκκους σε τρία διαφορετικά είδη: *Streptococcus sensu stricto*, *Enterococcus* και *Lactococcus*.

➤ *Streptococcus thermophilus*

Ο *Streptococcus thermophilus* είναι το είδος που ενδιαφέρει ιδιαίτερα τη Μικροβιολογία Τροφίμων. Έχει κύτταρα σφαιρικά ή ωοειδή, διαστάσεων 0.7 – 0.9μ. στερούμενα κινητικότητας που υπάρχουν στο γάλα ανά ζεύγη ή σε αλυσίδες. Παρουσιάζει έντονο πολυμορφισμό που προκαλείται κατά κύριο λόγο από το είδος του θρεπτικού υλικού, τη θερμοκρασία αναπτύξεως, τη συχνή μετασπορά, την ηλικία των κυττάρων και την παρουσία αντιβιοτικών ή άλλων παρεμποδιστικών για την ανάπτυξη των ουσιών. Ζυμώνει τα απλά σάκχαρα και επιπλέον τους δισακχαρίτες σακχαρόζη και λακτόζη μέχρι να διαμορφωθεί τιμή pH 4.0 – 4.5. Το είδος αυτό έχει αυξημένες απαιτήσεις σε τροφικούς παράγοντες του υποστρώματος (6 βιταμίνες του συμπλόκου B και πολλά αμινοξέα).

Η άριστη θερμοκρασία αναπτύξεως είναι 37 °C, η ελάχιστη και μέγιστη 19 – 21 °C και η μέγιστη 52 °C. Η θερμοαντοχή του είναι σχετικά υψηλή και αυτή η ιδιότητα ενδιαφέρει το Μικροβιολόγο Τροφίμων γιατί το είδος του Στρεπτόκοκκου μπορεί να επιζήσει σε θέρμανση στους 65 °C για 30 λεπτά.

Επίσης είναι πολύ ευαίσθητος σε παρεμποδιστικές ουσίες κατά την ανάπτυξη των μικροοργανισμών ιδιαίτερα στα αντιβιοτικά. Η παρουσία ακόμα 0.01 I.U πενικιλίνης ή 5 mcg στρεπτομυκίνης σε ένα χιλιοστό του λίτρου γάλακτος, εμποδίζει την ανάπτυξη του μικροοργανισμού αυτού. Υπάρχουν όμως στελέχη (strains) που παρουσιάζουν μεγαλύτερη αντοχή στα αντιβιοτικά. Επίσης ορισμένοι μικροοργανισμοί αυτού του είδους σχηματίζουν έλυτρα στο γάλα ή ακόμα συντελούν στην παραγωγή γλοιωδών ουσιών, που έχουν σημασία στη διαμόρφωση της υφής του ξινόγαλου (Gilliland *et al.*, 2002).

Ο στρεπτόκοκκος αυτός θεωρείται σαν τυπικός μικροοργανισμός του γάλακτος, εκτός του οποίου πολλαπλασιάζεται πολύ δύσκολα. Υπάγεται στην ομοζυμωτική ομάδα των βακτηρίων που παράγουν γαλακτικό οξύ, σε ποσοστό μέχρι 95% από ζυμωμένα σάκχαρα και σε μικρό ποσοστό άλλες ουσίες.

Στο γάλα παράγει 0.7 – 0.8%, L(+) γαλακτικό οξύ, ενώ στελέχη αυτού φθάνουν και μέχρι 0.1% του ισομερούς του. Έχει πολύ μικρή πρωτεολυτική επίδραση στο γάλα και τα περισσότερα από τα ελευθερωμένα αμινοξέα αναλύονται κατά τη λογαριθμική φάση της αναπτύξεώς τους.



Εικόνα 3: Μορφολογική απεικόνιση *Streptococcus thermophilus*

1.4.3. Συμβίωση

Με τον όρο συμβίωση εννοούμε το φαινόμενο κατά το οποίο υπάρχει μία αμοιβαία σχέση ανάπτυξης μεταξύ δύο μικροοργανισμών, δηλαδή ο κάθε μικροοργανισμός βοηθά τον άλλον στην ανάπτυξή του.

Θα πρέπει να τονιστεί ότι οι *S. thermophilus* και *L. bulgaricus*, συμβιώνουν. Η πήξη του γάλακτος προκαλείται πολύ συντομότερα, πράγμα που σημαίνει ταχύτερο ρυθμό πολλαπλασιασμού των κυττάρων, από εκείνο που παρατηρείται όταν οι μικροοργανισμοί καλλιεργούνται χωριστά.

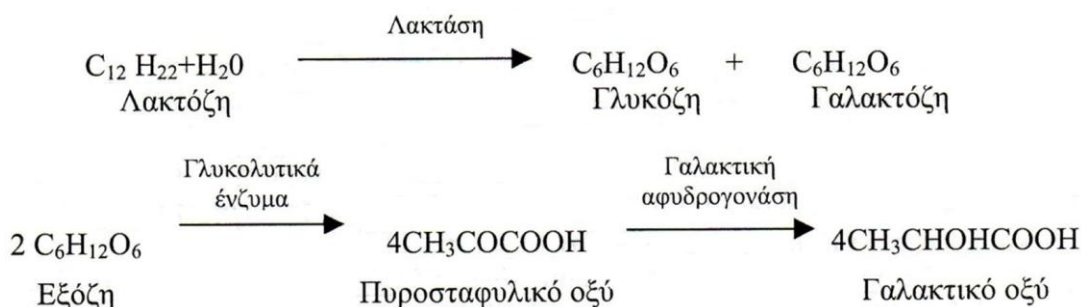
Έχει εξάλλου διαπιστωθεί ότι ο *L. bulgaricus* ενισχύει την ανάπτυξη του *S. thermophilus*, αρχικά με την απελευθέρωση αμινοξέων, μεταξύ των οποίων σημαντικότερη είναι η βαλίνη. Η ευνοϊκή επίδραση των αμινοξέων έχει ως αποτέλεσμα τη σμίκρυνση του χρόνου αναπαραγωγής των στρεπτόκοκκων και αύξηση του αριθμού τους. Έτσι στην αρχική φάση της αναπτύξεως των συμβιούντων μικροοργανισμών τα κύτταρα του *S. thermophilus* πολλαπλασιάζονται ταχύτερα και υπερτερούν αριθμητικά των βακίλλων με σχέση 3 – 4 προς 1. Αργότερα ο ρυθμός επιβραδύνεται χάρη στη συσσώρευση του γαλακτικού οξέος, που αρχίζει να δρα ανασταλτικά και έτσι ο αριθμός των βακίλλων προσεγγίζει προς εκείνο των κόκκων (Βεϊνογλου, 1980). Ο *S. thermophilus* παράγει μυρμηκικό οξύ (formic acid) που βοηθά την ανάπτυξη του *L. bulgaricus*. Μικρές ποσότητες μυρμηκικού οξέος παράγονται και κατά τη θερμική επεξεργασία του γάλακτος. Παράλληλα, ο *L. bulgaricus* βοηθάται στην ανάπτυξή του από το CO₂ που παράγεται σε μικρές ποσότητες από τον *S. thermophilus* και με αυτόν αναπληρώνεται το CO₂ που χάνεται κατά τη θερμική επεξεργασία του γάλακτος (Champagne *et al.*, 2005).

Θα ήταν παράλειψη αν δεν αναφερθεί ότι και οι δύο ζυμώνουν τη λακτόζη και παράγουν γαλακτικό οξύ. Επομένως και χωριστά αν προστεθούν στο γάλα, αυτό θα πήξει. Συνήθως όμως, προστίθεται συγχρόνως ως καλλιέργεια, λόγω των πλεονεκτημάτων που διασφαλίζονται από την κοινού ανάπτυξή τους, που έχει γίνει γνωστή ως συμβίωση.

1.4.4. Γαλακτική Ζύμωση – Βιοχημικές αντιδράσεις

Η συνηθέστερη, αλλά και πιο σημαντική ζύμωση της λακτόζης είναι η “γαλακτική”. Το νωπό, μόλις αρμεγμένο, γάλα έχει ελαφρώς γλυκιά γεύση. Αυτό όμως με ευνοϊκές συνθήκες θερμοκρασίας αποκτά σιγά – σιγά όξινη γεύση, που συνοδεύεται από χαρακτηριστική οσμή. Η

αλλαγή αυτή οφείλεται, κατά κύριο λόγο στην επίδραση των μικροοργανισμών, που με τα ένζυμα, τα οποία εκκρίνουν, μετατρέπουν τη λακτόζη σε γαλακτικό οξύ, κατά την ακόλουθη εξίσωση:



Όταν η συγκέντρωση του γαλακτικού οξέος φθάσει στο 0.3 μέχρι 0.4% τότε γίνεται αισθητή η όξινη γεύση του γάλακτος, ενώ στο επίπεδο 0.6 – 0.7% επέρχεται η πήξη, σε συνηθισμένες θερμοκρασίες περιβάλλοντος. Όταν η οξύτητα γίνει 0.1% τότε διακόπτεται η παραγωγή του γαλακτικού οξέος, διότι η συγκέντρωση αυτή επιδρά ανασταλτικά στη δράση των μικροοργανισμών του γάλακτος, αρχίζει όμως πάλι όταν εξουδετερωθεί το γαλακτικό οξύ. Το τελευταίο στην καθαρή του μορφή δεν έχει ούτε τη γεύση, ούτε την οσμή του όξινου γάλακτος, διότι η μετατροπή της λακτόζης σε γαλακτικό οξύ δεν γίνεται με τον απλό τρόπο που εκθέτουμε πιο πάνω, αλλά αφού προηγηθεί μακρά σειρά χημικών αντιδράσεων. Εκδηλώνεται σε δέκα βαθμίδες, οπότε εμφανίζεται εκτός από το γαλακτικό οξύ και πολυάριθμες άλλες ουσίες, όπως το CO₂, οξέα, αλδεΐδες και αλκοόλες. Τα παράγωγα αυτά βρίσκονται σε πολύ μικρή αναλογία και αντιπροσωπεύουν μόλις το 5%, ενώ το υπόλοιπο 95% είναι γαλακτικό οξύ. Παρά τη μικρή αναλογία, οι ουσίες αυτές συντελούν πολύ στη διαμόρφωση της χαρακτηριστικής γεύσεως και οσμής του όξινου γάλακτος (Donkor *et al.*, 2007, Damin *et al.*, 2008).

1.5. Προβιοτικά

Η λέξη probiotic είναι σύνθετη από τη λέξη pro που σημαίνει για και τη λέξη biotic που σημαίνει βιοτικός – βίος - ζωή. Δηλαδή προβιοτικά = για ζωή. Οι καλλιέργειες μικροοργανισμών είναι γνωστές από αρχαιοτάτων χρόνων. Ο Kurmann (1993) παρουσίασε την πορεία εξέλιξης των καλλιιεργειών δια μέσου των αιώνων, όπως δείχνει ο Πίνακας 2.

Πίνακας 2. Οι γενιές των καλλιιεργειών και ζυμωμένων προϊόντων γάλακτος σε σχέση με τις προβιοτικές ιδιότητες (Kurmann, 1993).

Γενιές των ζυμωμένων προϊόντων γάλακτος	Μικροβιολογικά χαρακτηριστικά των καλλιιεργειών	Ευεργετικά χαρακτηριστικά των προϊόντων
1 ^η γενιά από το 8000πΧ.	Εμπειρικές καλλιέργειες Μη προσδιορισμένη μικροχλωρίδα Μη προσδιορισμένη δράση	Εμπειρικές ευεργετικές δράσεις
2 ^η γενιά από το 1903	Τεχνητές καλλιέργειες Προσδιορισμένη μικροχλωρίδα Προσδιορισμένη δράση	Θεωρία του Metchnikoff Συγκεκριμένες ευεργετικές Δράσεις Προτεραιότητα στις ζυμωτεχνικές ιδιότητες
3 ^η γενιά από το 1921	Προβιοτικές καλλιέργειες •εντερικά βακτήρια επιλεγμένα •άλλοι μικροοργανισμοί	Προβιοτικές πολλαπλές δράσεις
4 ^η γενιά από το 2000	Προβιοτικές και θεραπευτικές καλλιέργειες με επιλογή	Τελειοποιημένα προβιοτικά •ενισχυμένες ιδιότητες •χημική σύνθεση

	στελεχών και εφαρμογή γενετικής	προϊόντων για τελειοποίηση
--	---------------------------------------	-------------------------------

Στο πίνακα 2 παρατηρούμε ότι οι καλλιέργειες και τα ζυμωμένα γάλατα, θεωρούμενα από τη σκοπιά των προβιοτικών ιδιοτήτων, έχουν μια μακρά εξέλιξη μέχρι σήμερα που υπάρχουν και επιλεγμένες προβιοτικές καλλιέργειες και ποικιλία προβιοτικών.

Στη Βίβλο γίνονται αρκετές αναφορές στα όξινα γάλατα, ενώ στις αρχές του εικοστού αιώνα το 1908 ο Metchnikoff στην διδακτορική του διατριβή “The prolongation of life” αναφέρεται στη διατροφή των Βουλγάρων με γιαούρτι εμπλουτισμένο με *Lactobacillus* και στην παράταση του χρόνου ζωής τους για το λόγο αυτό. Παρόμοιες παρατηρήσεις έγιναν αργότερα από τον Rettger το 1921 με την παρασκευή προβιοτικών προϊόντων με τη χρήση του *L. acidophilus* και αργότερα *Bifidobacterium* κ.λπ.

Οι προβιοτικοί μικροοργανισμοί που χρησιμοποιούνται σήμερα ως καλλιέργειες είναι πολλοί, όπως παρουσιάζεται στον Πίνακα 3.

Πίνακας 3. Είδη μικροοργανισμών που χρησιμοποιούνται ως προβιοτικά

<u>ΓΑΛΑΚΤΙΚΑ ΒΑΚΤΗΡΙΑ</u>	
Λακτοβάκιλλοι	<i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>L. gasseri</i> <i>L. johnsonii</i> <i>L. delbrueckii subsp. bulgaricus</i> <i>L. helveticus</i> <i>L. paracasei subsp. paracasei</i> <i>L. casei</i> <i>L. plantarum</i> <i>L. GG</i> <i>L. rhamnosus</i> <i>L. curvatus</i>

	<i>L. brevis</i> <i>L. fermentum</i> <i>L. reuteri</i> <i>L. cellobiosus</i>
Λακτόκοκκοι	<i>L. lactis subsp. lactis</i> <i>L. lactis subsp. cremoris</i>
Leuconostoc	<i>Leu. mesenteroides subsp. dextranicu</i>
Στρεπτόκοκκοι	<i>Streptococcus thermophilus</i>
Εντερόκοκκοι	<i>Enterococcus faecium</i> <i>E. faecalis</i>
Πεδιόκοκκοι	<i>Pediococcus acidilactici</i>
Προπιονικά βακτήρια	<i>Propionibacterium freudenreichii</i>
Bifidobacteria	<i>Bifidobacterium bifidum</i> <i>B. infantis</i> <i>B. longum</i> <i>B. breve</i> <i>B. adolescentis</i>
Ζύμες	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>S. boulardii</i>

Οι ευεργετικές δράσεις των προβιοτικών μπορεί να είναι αντιμικροβιακές, βιοχημικές και φυσιολογικές. Στις αντιμικροβιακές δράσεις περιλαμβάνονται η παρεμπόδιση ανάπτυξης των παθογόνων μικροοργανισμών με τη παραγωγή οργανικών οξέων όπως γαλακτικό, οξικό, κιτρικό, προπιονικό κ.λπ. υπεροξειδίου του υδρογόνου, ακεταλδεΐδη, διακετυλίου, χολικών οξέων, λιπαρών οξέων χαμηλού μοριακού βάρους και βακτηριοσινών (acidolin, acidophilin, lactonin, lactobrevin, plantaricin κ.α.).

Στις βιοχημικές δράσεις περιλαμβάνονται μείωση πολλές φορές δραστική των εντερικών ενζύμων (β-glucuronidase, azoreductase και nitroreductase), ανακούφιση δυσανοχής στη λακτόζη, διάσπαση των νιτροζαμινών, μείωση των επιπέδων της χοληστερόλης, αντιυπερτασική δράση κ.α. Στις φυσιολογικές δράσεις περιλαμβάνονται η διέγερση του ανοσοποιητικού συστήματος και η αντιμετώπιση των αλλεργιών (Τζανετάκης, Λιτοπούλου-Τζανετάκη, 2000).

Τελευταία αναφέρονται ευεργετικές δράσεις σε άτομα που πάσχουν από διαβήτη, οστεοπόρωση, κολπίτιδες, στοματίτιδες και άλλες ασθένειες. Οι διάφορες επιδράσεις των όξινων προϊόντων γάλακτος, σύμφωνα με τον Kurmann (1993), μπορούν να συνοψισθούν στον Πίνακα 4, σύμφωνα με τον οποίο όξινα γάλατα που περιέχουν καλλιέργειες γιαούρτης (θερμόφιλη) δίνουν αρκετά καλές προβιοτικές ιδιότητες, με μεσόφιλες καλλιέργειες οι δράσεις είναι μηδαμινές, ενώ προϊόντα με εντερικά βακτήρια *Bifidobacterium* ή *L. acidophilus* έχουν πολύ καλές προβιοτικές ιδιότητες.

Πίνακας 4. Ευεργετικές δράσεις όξινων προϊόντων γάλακτος

Ξινογάλατα με μεσόφιλες καλλιέργειες	Γιαούρτι ή Ξινογάλατα με καλλιέργειες γιαουρτιού	Ζυμωμένα γάλατα με επιλεγμένα εντερικά βακτήρια τύπου <i>Bifidobacterium</i> ή <i>L. acidophilus</i>
Προφυλακτική δράση: μειωμένη ή αδύνατη. Προβιοτική δραστηριότητα: ίχνη. Εγκατάσταση στον εντερικό σωλήνα: μηδαμινή. Διέγερση του ανοσοποιητικού συστήματος: θετική, ποικίλη. Δράση στη φυσιολογική χλωρίδα του εντέρου που έχει υποστεί βλάβη λόγω	Προφυλακτική δράση: θετική, περιορισμένη. Προβιοτική δράση: αξιοσημείωτη ή περιορισμένη. Μεταφορά των ενζύμων του κυττάρου των μικροοργανισμών στον εντερικό σωλήνα: θετική, π.χ. λακτάση. Εγκατάσταση στον εντερικό σωλήνα:	Προφυλακτική δράση: πολλαπλή. Προβιοτική δράση: αξιοσημείωτη. Μεταφορά ενζύμων του κυττάρου των μικροοργανισμών στο έντερο: αξιοσημείωτη. Εγκατάσταση στον εντερικό σωλήνα: ανάλογα με το στέλεχος. Διέγερση του ανοσοποιητικού συστήματος και δράση στην εντερική χλωρίδα

π.χ. λήψης αντιβιοτικών: άγνωστη	μηδαμινή. Διέγερση του ανοσοποιητικού συστήματος: θετική. Δράση στη φυσιολογική εντερική χλωρίδα που έχει υποστεί βλάβη: θετική, περιορισμένη	που έχει υποστεί βλάβη: θετική, ανάλογα με το στέλεχος.
--	--	--

Η τάση της χρήσης των προβιοτικών στην παραγωγή των γαλακτοκομικών προϊόντων, όπως είναι το ξινόγαλα και των προϊόντων γιαουρτιού που προκύπτουν από την ζύμωση, εναρμονίζεται με τις προσδοκίες του σύγχρονου καταναλωτικού κοινού ως προς την κατανάλωση ανώτερων ποιοτικά διατροφικών προϊόντων (Tamime, 2005).

Τα ευεργετικά αποτελέσματα της εφαρμογής της παραπάνω τακτικής που καταγράφονται σε πολυάριθμες μελέτες, περιλαμβάνουν:

- την αποτροπή του καρκίνου,
- την μείωση της διάρροιας,
- την αντιβιοτική θεραπεία,
- την βελτίωση του γαστρεντερικού συστήματος,
- την αύξηση της ανοσίας απέναντι σε διάφορα παράσιτα που παρεισφρέουν στον ανθρώπινο οργανισμό,
- την βελτίωση των συμπτωμάτων της ανοχής της λακτόζης,
- την προστασία του οργανισμού από τις διάφορες μολύνσεις που προκαλούνται από τους μικροοργανισμούς που μεταδίδονται μέσω των τροφών,
- τον έλεγχο της κολπίτιδας και
- την ενίσχυση των δραστηριοτήτων του εμβολίου.

Τα προβιοτικά είναι ζωντανοί οργανισμοί που εισάγονται στο γαστρεντερικό σύστημα των ανθρώπων, με στόχο την βελτίωση της ισορροπίας ή της μεταβολικής δραστηριότητας των ωφέλιμων οργανισμών. Λειτουργικά συστατικά, όπως είναι τα λιπαρά οξέα omega και τα

αντιοξειδωτικά ενισχύουν, σύμφωνα με κλινικές δοκιμές, την υγεία του ανθρώπου, αποτρέπουν τις ασθένειες και συμβάλουν στην αντιμετώπιση ορισμένων διαταραχών (Tamime, 2005).

Σύμφωνα με το FAO/WHO (2002), τα προβιοτικά ορίζονται ως ζωντανοί μικροοργανισμοί, τα οποία όταν αποτελούν αντικείμενο επεξεργασίας στις κατάλληλες ποσότητες, παρέχουν υγιεινά οφέλη στο φορέα που τα φιλοξενεί. Συνήθως, οι μικροοργανισμοί που είναι χρήσιμοι στις διεργασίες της τεχνολογικής μετατροπής, δεν είναι οι ίδιοι με εκείνους που έχουν θετικές ιδιότητες για την υγεία των ατόμων. Εντούτοις, είναι πιθανόν ένα μικρόβιο να επικεντρώνεται και στους δύο στόχους ή ένα μόνο διατροφικό προϊόν να περιλαμβάνει τη μικροβιακή καλλιέργεια και των δύο τύπων.

Τα κύρια εμπορικά προβιοτικά προϊόντα είναι τα γαλακτοκομικά, εξαιτίας των ιδιοτήτων αντοχής του γάλακτος που διασφαλίζουν την επιβίωση των προβιοτικών, κατά τη διάρκεια της ζύμωσης και της εναποθήκευσης σε ψυχόμενο θάλαμο (Chandan, 1999). Τα πιο γνωστά γαλακτοκομικά προβιοτικά προϊόντα είναι τα γιαούρτια και τα ζυμωμένα γάλατα, όπως είναι το ξινόγαλα. Σήμερα, είναι πολύ συχνό φαινόμενο να βρει κανείς στην αγορά γάλατα που είναι προϊόντα γαλακτικής ζύμωσης και τα οποία περιέχουν *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *bifidobacteria* ή συνδυασμό των παραπάνω (Codex Alimentarius, 2003).

Η ανάπτυξη του χαρακτηριστικού αρώματος και υφής στα γαλακτοκομικά προϊόντα αυτού του τύπου, όπως είναι το ξινόγαλα, εξαρτάται από αναρίθμητες μεταβλητές, από τις οποίες οι πιο σημαντικές είναι ο τύπος της μικροβιακής και οξυγαλακτικής καλλιέργειας, καθώς και ο χρόνος και η θερμοκρασία της ζύμωσης, τα οποία με τη σειρά τους προσδιορίζουν το τελικό pH του προϊόντος (Tamine and Robinson, 1999).

Η έλλειψη της πρωτεολυτικής δραστηριότητας σε ορισμένα προβιοτικά βακτήρια (Klaver *et al.*, 1993), μπορεί να επεκτείνει το χρόνο της ζύμωσης κατά τη διάρκεια της παραγωγής των γαλακτοκομικών προϊόντων αυτού του τύπου. Ορισμένοι ερευνητές αναφέρονται επίσης στις δυνατότητες που έχουν τα προστιθέμενα προβιοτικά από τη στιγμή που επιτευχθεί η ζύμωση του γαλακτοκομικού προϊόντος (Gilliland *et al.*, 2002).

Τα προβιοτικά βακτήρια παρέχουν οφέλη για την υγεία των καταναλωτών, ενώ σε σχέση με τα γαλακτοκομικά προϊόντα, όπως είναι το ξινόγαλα, μπορούν να αναπτύξουν διαφορετικά μοντέλα γεύσης και υφής. Κάθε μείγμα μικροβιακής καλλιέργειας μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα ένα ειδικό προϊόν. Τα προβιοτικά που περιλαμβάνονται στην τελική διαμόρφωση των γαλακτοκομικών προϊόντων που έχουν υποστεί γαλακτική ζύμωση μπορεί ή όχι να επηρεάζουν

την ανάπτυξη των ειδικών αισθητήριων ιδιοτήτων. Οι προβιοτικές καλλιέργειες δεν έχουν την τάση να τροποποιούν τις αισθητήριες ιδιότητες των προϊόντων στα οποία προστίθενται (Champagne *et al.*, 2005).

Σε ορισμένες περιπτώσεις, οι καταναλωτές θεωρούν ότι ορισμένα προϊόντα που έχουν υποστεί ζύμωση με *L. delbrueckii bulgaricus* διακρίνονται ως πολύ ξινισμένα. Επομένως, οι προβιοτικές καλλιέργειες έχουν επιλεχθεί ώστε να αναπτύξουν ορισμένες χαρακτηριστικές γεύσεις, όπως συμβαίνει με την περίπτωση της γνωστής καλλιέργειας της ABT (*L. acidophilus*, *bifidobacterium* and *S. thermophilus*), (Saarela *et al.*, 2000).

Εντούτοις, οι πιο σημαντικοί παράγοντες που σχετίζονται με τα ζυμωμένα γαλακτοκομικά προϊόντα και τα οποία περιέχουν προβιοτικά είναι η διασφάλιση της βιωσιμότητας των προβιοτικών και ο προσδιορισμός των αισθητήριων αλλαγών και των φυσικών ιδιοτήτων που μπορεί να λάβουν χώρα, ιδιαίτερα εάν χρησιμοποιείται ένα μείγμα βακτηρίων γαλακτικού οξέος (LAB) ως προβιοτικό ή οξυγαλακτικό.

Υπάρχουν λίγες έρευνες, στο πλαίσιο των οποίων να έχει αποδοθεί ένας ιδιαίτερος χαρακτηρισμός στα ζυμωμένα γάλατα ή στο γιαούρτι στα οποία έχει προστεθεί *Lactobacillus reuteri* ή να έχει γίνει σύγκριση των ποικίλων προβιοτικών προϊόντων σε σχέση με μία ευρεία ποικιλία ιδιοτήτων. Οι περισσότερες έρευνες έχουν εστιάσει σε ειδικά πεδία, όπως είναι για παράδειγμα οι διαθρωτικές ή οι αισθητήριες ιδιότητες ή ακόμα και η μικροβιακή βιωσιμότητα. Ο σκοπός της έρευνας ήταν η εκτίμηση της βιωσιμότητας των οξυγαλακτικών και προβιοτικών βακτηρίων κατά τη διάρκεια της ζύμωσης και της εναποθήκευσης σε ψυχόμενο θάλαμο, καθώς επίσης και η εκτίμηση αρκετών φυσικοχημικών ιδιοτήτων, όπως επίσης και της καταναλωτικής προτίμησης των γαλακτοκομικών προϊόντων, όπως το ξινόγαλα που γίνονται με ένα διαφορετικό συνδυασμό του LAB.

Σήμερα, η βιομηχανία τροφίμων θέλει να επεκτείνει την κλίμακα των προβιοτικών γαλακτοκομικών προϊόντων, ωστόσο κάθε προβιοτικό βακτήριο προσφέρει διαφορετικά και ειδικά οφέλη για την υγεία των ατόμων (Katz, 2001). Υπάρχουν ελάχιστες πληροφορίες για την επιρροή των προβιοτικών ειδών πάνω στις φυσικοχημικές ιδιότητες και στα αισθητήρια χαρακτηριστικά των γαλακτοκομικών προϊόντων που γίνονται με γαλακτική ζύμωση.

Ο Vinderola και άλλοι ερευνητές (2002), ανέφεραν ότι τα προβιοτικά βακτήρια καθυστερούν την ανάπτυξη της οξυγαλακτικής και μικροβιακής καλλιέργειας. Παρατήρησαν επίσης ότι το *L. casei* επιβραδύνει την ανάπτυξη του *S. thermophilus* και του *L. delbrueckii ssp.*

bulgaricus στο γάλα. Μία παρόμοια συμπεριφορά μπορεί να συμβεί με το *L. reuteri*, ωστόσο, ελάχιστες έρευνες αναφέρουν την ανάπτυξή του στο γάλα, καθώς και την αλληλεπίδρασή του με την οξυγαλακτική και μικροβιακή καλλιέργεια. Προϊόντα που περιέχουν *S. thermophilus* – *L. casei* και *S. thermophilus* – *L. reuteri* απαιτούσαν περισσότερες από 14 ώρες για να φτάσουν στο επιθυμητό pH.

Η μεταβλητότητα στο χρόνο ζύμωσης μπορεί να οφείλεται στις διαφορές που παρατηρούνται στην ικανότητα των βακτηρίων του γαλακτικού οξέος να μεγαλώσουν και να συμβάλουν στην οξυγαλακτική καλλιέργεια του γάλακτος. Παρόμοιες διαπιστώσεις επίσης για το ξινόγαλα έκαναν οι Dave και Shah (1997a, 1998). Άλλοι ερευνητές επίσης ανέφεραν ότι τα προβιοτικά βακτήρια παρουσιάζουν μία φτωχή απόδοση, όσον αφορά τη διαδικασία όξυνσης του γάλακτος, συγκριτικά με τη συνηθισμένη οξυγαλακτική και μικροβιακή καλλιέργεια του γιαουρτιού (Donkor *et al.*, 2007, Damin *et al.*, 2008).

Το γάλα που αποτελεί προϊόν της ζύμωσης ξινογάλακτος ή άπαχου γάλακτος με οξυγαλακτική καλλιέργεια, όπως είναι το ξινόγαλα και το οποίο δεν περιλαμβάνει *L. delbrueckii ssp. bulgaricus* είχε λιγότερες αλλαγές στο pH κατά τη διάρκεια της εναποθήκευσης σε ψυχόμενο θάλαμο, ενώ το γάλα που περιέχει *L. acidophilus*, *L. casei* και *L. reuteri*, παρουσιάζει ένα μικρότερο βαθμό όξυνσης. Σε γενικές γραμμές, η βιωσιμότητα των προβιοτικών βακτηρίων εξαρτάται από τον τύπο του είδους, τις συνθήκες εναποθήκευσης των προϊόντων σε ψυχόμενο θάλαμο και το μείγμα της οξυγαλακτικής και μικροβιακής καλλιέργειας.

1.6. Διάρκεια Συντήρησης Ξινογάλακτος

Η διάρκεια ζωής του γάλακτος αποτελεί μία λειτουργία της μικροβιολογικής ποιότητας της ακατέργαστης μορφής του γάλακτος, της θερμοκρασίας και της χρονικής έκθεσης κατά τη διάρκεια της συντήρησης, των συνθηκών παστερίωσης και συσκευασίας, καθώς και άλλων πρακτικών στη διάρκεια της διανομής του. Η διάρκεια ζωής του γάλακτος που διανέμεται από τα παντοπωλεία εξαρτάται ευρέως από τη θερμοκρασία της συντήρησης. Τα προϊόντα γάλακτος που είναι σε ρευστή μορφή παρουσιάζουν μία μέγιστη διάρκεια όταν συντηρούνται σε θερμοκρασίες που αγγίζουν το σημείο πήξεως (4 °C/32 F) (Robinson, 2002).

Αν διατυπωθεί η υπόθεση ότι η διάρκεια ζωής του παστεριωμένου γάλακτος είναι 40 ημέρες σε θερμοκρασία συντήρησης των 0 °C/32 °F. Έχει αποδειχθεί ότι η διάρκεια ζωής

μειώνεται σε 20 ημέρες σε συνθήκης συντήρησης στους 2 °C/35,6 °F, σε 10 ημέρες στους 4 °C/39,2 °F, στις 5 ημέρες στους 7 °C/44,6 °F και σταδιακά σε λιγότερες ημέρες σε συνθήκες υψηλότερης θερμοκρασίας. Τα παραπάνω τονίζουν τη σημασία της διατήρησης των όσο το δυνατόν χαμηλών θερμοκρασιών συντήρησης, με στόχο την επίτευξη της μέγιστης διάρκειας ζωής του γάλακτος. Τα γαλακτοκομικά προϊόντα υψηλής παστερίωσης συσκευάζονται σε ειδικά αποστειρωμένα δοχεία και διατηρούνται σε συνθήκες κατάψυξης με στόχο την επίτευξη μίας μακράς διάρκειας ζωής. Όταν τα προϊόντα υψηλής παστερίωσης συσκευαστούν σε ειδικά σχεδιασμένα δοχεία που περιέχουν πολλαπλές στρώσεις, παρουσιάζουν μία ακόμα μακρύτερη διάρκεια ζωής από οποιοδήποτε άλλο αντίστοιχο προϊόν καθώς και από γαλακτοκομικά προϊόντα με κύριο συστατικό την κρέμα.

Στο παρελθόν, το ζυμωμένο και οξινοποιημένο γάλα θεωρούνταν ότι αποτελεί ένα πιθανό μέσο, σύμφωνα με το οποίο οι καταναλωτές μπορούν να λάβουν την κατάλληλη ποσότητα του *Lactobacillus acidophilus*. Εντούτοις, το παραπάνω προϊόν θεωρήθηκε ότι περιέχει έναν αριθμό βιώσιμων βακτηρίων που είναι επαρκή μόνο για μία εβδομάδα, στην διάρκεια της οποίας μπορεί να επιτευχθεί η διαδικασία εναποθήκευσής τους σε ψυχόμενο θάλαμο (Kosikowski, 1977).

Σύμφωνα με τον Kosikowski (1977), χωρίς την καλλιέργεια το *acidophilus* παρουσιάζει «μία γρήγορη κατάπτωση», για αυτό το λόγο πρότεινε τη γρήγορη διανομή του ζυμωμένου οξινοποιημένου γάλακτος στους καταναλωτές. Ο Kulr (1991), εντούτοις, θεώρησε ότι το *acidophilus* παραμένει σταθερό για περισσότερο από μία εβδομάδα, εφόσον γίνει η κατάλληλη επεξεργασία του. Σήμερα, το ζυμωμένο και οξινοποιημένο γάλα δεν έχει μεγάλη καταναλωτική απήχηση, εξαιτίας της φτωχής του γεύσης.

Ως εκείνο το σημείο δεν είχε αναφερθεί καμία προηγούμενη έρευνα που να επικεντρώνεται στο συμπλήρωμα του *Lactobacilli* στο ξινόγαλα, εντούτοις, τα αντι-μικροβιακά αποτελέσματα του οξικού οξέος και του γαλακτικού οξέος που ήταν εμφανή στο συγκεκριμένο προϊόν (Dodd and Gasson, 1994), μπορεί να είναι υπεύθυνα για τη μείωση της βιωσιμότητας. Τα δεδομένα δείχνουν ότι το ξινόγαλα μπορεί να αποτελεί ένα κατάλληλο διατροφικό συμπλήρωμα που παρέχει στους καταναλωτές *Lactobacilli*, με πιθανά οφέλη πάνω στους τομείς της υγείας και της διατροφής. Ωστόσο, θα πρέπει να δοθεί ιδιαίτερη προσοχή στην επιλογή των ειδών ως προς την παράμετρο της μέγιστης επιβίωσης, κατά τη διάρκεια της εναποθήκευσης του ξινογάλακτος σε ψυχόμενο θάλαμο. Θα πρέπει να ληφθεί επίσης σοβαρά υπόψη η επιλογή της μικροβιακής

και οξυγαλακτικής καλλιέργειας, επειδή η καλλιέργεια του ξινογάλακτος δύναται να επηρεάζει το βαθμό επιβίωσης του προστιθέμενου *Lactobacilli*.

1.7. Οφέλη ξινογάλακτος

Ένα προβιοτικό τρόφιμο που περιέχει το είδος των βακτηρίων που αντί να είναι επιβλαβείς για τον οργανισμό, έχει μεγάλα οφέλη στην ανθρώπινη υγεία και ειδικότερα στο γαστρεντερικό σύστημα. Η μεγάλη ποσότητα γαλακτικού οξέος του ξινογάλακτος βελτιώνει το ανοσοποιητικό σύστημα και συμβάλλει στην καταπολέμηση ασθενειών. Η βιταμίνη B₁₂ βοηθά στη σύνθεση των οξέων και των αμινοξέων και καταπολεμά την αναιμία, το στρες και την προώθηση της ανάπτυξης των νευρικών κυττάρων. Ακόμη, η B₁₂ είναι υπεύθυνη για τη μετατροπή της γλυκόζης σε ενέργεια. Επίσης, το ξινόγαλα είναι μία καλή πηγή κατανάλωσης γαλακτοκομικών για όσους έχουν πρόβλημα δυσανεξίας στο γάλα.

Σε περιοχές όπου οι καλοκαιρινοί μήνες χαρακτηρίζονται από υψηλές θερμοκρασίες, ένα ποτήρι ξινόγαλα μπορεί να χαρακτηριστεί ως ένα δροσερό – ψυκτικό ρόφημα που μειώνει τη θερμοκρασία του σώματος και είναι πλούσια πηγή καλίου, βιταμίνης B₁₂, ριβοφλαβίνης, φωσφόρου και ασβεστίου. Εκτός όμως από τη χρήση ενός υγιεινού “αναψυκτικού”, τα καλά βακτήρια του ξινογάλακτος ενισχύουν την πέψη, παρέχοντας χαμηλές θερμίδες στη διατροφή, καθώς το γάλα περιέχει λιγότερο λίπος αφού το περισσότερο έχει ληφθεί κατά την παρασκευή του βουτύρου. Συνεπώς, ενδείκνυται σε δίαιτες απώλειας βάρους, καθώς περιέχει όλα τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά που απαιτούνται από το σώμα, σε χαμηλά ποσά θερμίδων.

Η κατανάλωση του γαλακτοβάκιλλου, όπως είναι το *acidophilus*, *Lactobacillus casei*, ή και τα δύο, έχουν τη δυνατότητα να συμβάλουν στην πέψη της λακτόζης (Kim and Gilliland, 1983), να βοηθήσουν στον έλεγχο του ορού της χοληστερόλης (De Rodas, 1994; Gilliland *et al.*, 1985; Harrison and Peat, 1975), να συμβάλουν επίσης στον έλεγχο των εσωτερικών μολύνσεων (Gilliland and Speck, 1977; Perdigon *et al.*, 1990; Sandine *et al.*, 1972), καθώς επίσης και στην καταπολέμηση των δραστηριοτήτων του νεοπλάσματος (Goldin and Gorbach, 1984; Kato *et al.*, 1994; Perdigon *et al.*, 1986; Shahani *et al.*, 1983).

Για την επίτευξη των παραπάνω ωφέλιμων παραμέτρων, πρέπει να καταναλωθεί ένας επαρκής αριθμός βιώσιμων κυττάρων του *L. acidophilus* ή του *L. casei*. Επομένως, είναι σημαντικό για το γαλακτοβάκιλλο να παραμείνει βιώσιμος κατά τη διάρκεια της εναποθήκευσής των προϊόντων που το περιέχουν. Τα γαλακτοκομικά προϊόντα ζυμώσεως άπαχου γάλακτος με

οξυγαλακτική καλλιέργεια (ξινόγαλα), καθώς επίσης και τα γαλακτοκομικά προϊόντα που περιέχουν *L. acidophilus* έχουν κερδίσει την σημαντική προσοχή των καταναλωτών τα πρόσφατα χρόνια, για αυτό το λόγο, τα περισσότερα προϊόντα αυτού του είδους έχουν μεγάλη απήχηση στο καταναλωτικό κοινό.

Στο παρελθόν, ελάχιστες μελέτες ανέφεραν αυτού του τύπου της συμπληρωματικής καλλιέργειας πάνω σε καλλιεργημένα γαλακτοκομικά προϊόντα, εντούτοις, ορισμένες μελέτες (Gilliland and Speck, 1977; Hull *et al.*, 1984), έδειξαν ότι το *hydrogen peroxide* που είναι προϊόν της καλλιέργειας γιαουρτιού μπορεί να είναι επιζήμιο για την βιωσιμότητα των προστιθέμενων κυττάρων του *L. acidophilus*. Δεν υπήρξε καμία έρευνα ως προς τη σταθερότητα της καλλιέργειας του *L. acidophilus* ή του *L. casei* ως προσθετικά συμπληρώματα στο ξινόγαλα ή στο καλλιεργημένο ξινόγαλα, εντούτοις, αυτού του τύπου το προϊόν μπορεί να αποτελεί ένα δυνατό μέσο για την υποστήριξη των συμπληρωμάτων με βακτήρια, παρέχοντας στον ανθρώπινο οργανισμό πιθανά οφέλη για την υγεία του.

Τέλος, θα ήταν χρήσιμο να αναφερθεί ότι το ξινόγαλα καταλαμβάνει σημαντική θέση στη βιομηχανία καλλυντικών αφού το χρησιμοποιεί εκτεταμένα σε προϊόντα ομορφιάς, ως ενυδατική και απολεπιστική μάσκα ομορφιάς. Έχει αποδειχθεί ότι το όξινο, στυπτικό από τη φύση του γαλακτικού οξέος, απομακρύνει τις κηλίδες, τις φακίδες, ενώ συσφίγγει και τη χαλάρωση του δέρματος.

2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Μικροοργανισμοί.

Η θερμοφίλη καλλιέργεια γιαούρτης, CH-1 που αποτελείται από συγκεκριμένες καλλιέργειες *S. thermophilus* και *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* σε λυοφιλιωμένη μορφή (Chr. Hansen, Horsholm, Denmark) χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα εργασία. Πριν από τη χρήση η CH-1 καλλιέργεια ενεργοποιήθηκε προσθέτοντας ένα φακελάκι των 50U (αποτελούμενο από $\approx 1 \times 10^6$ cfu/g *S. thermophilus* και $\approx 1 \times 10^8$ cfu/g *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*) σε 500 mL αποστειρωμένου 14% (w/v) αποβουτυρωμένου γάλακτος και αναδεύτηκε για 15 λεπτά για τη δημιουργία ομογενούς καλλιέργειας. Επίσης το προβιοτικό στέλεχος *L. casei* ATCC 393 (DSMZ, Braunschweig, Germany) χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα εργασία και αναπτύχθηκε στους 37 °C σε θρεπτικό de Man, Rogosa, and Sharpe (MRS).

Παραγωγή ζυμώμενου γάλακτος

Παστεριωμένο, ομογενοποιημένο αγελαδινό γάλα του εμπορίου χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα εργασία (3,5% λιπαρά). Το γάλα θερμάνθηκε στους 37 °C και στη συνέχεια προστέθηκε η καλλιέργεια (καλλιέργεια CH-1 σε ποσοστό 0.3% v/v, και *L. casei* $\approx 1 \times 10^8$ cfu/mL). Τα δείγματα αφέθηκαν στους 37 °C για ζύμωση μέχρι την τιμή pH 4,6. Στη συνέχεια τα ζυμωμένα γάλατα ψύχθηκαν στους 15 °C σε παγόλουτρο. Τέλος τα δείγματα αποθηκεύτηκαν σε οικιακό ψυγείο (4 °C). Το πείραμα επαναλήφθηκε δύο φορές.



Εικόνα 4: Μέτρηση θερμοκρασίας του δείγματος κατά τη διάρκεια του υδατόλουτρου

Μέτρηση φυσικοχημικών παραμέτρων

pH: Η μέτρηση του pH έγινε με πεχάμετρο, βυθίζοντας τα ηλεκτρόδια στο δείγμα μέχρι να σταθεροποιηθεί η τιμή.

Οξύτητα: Ζυγίστηκαν 9 g δείγματος, σε κωνική φιάλη, προστέθηκε διπλάσια ποσότητα απεσταγμένου νερού και δείκτης φαινολοφθαλεΐνης. Τέλος έγινε τιτλοδότηση με πρότυπο διάλυμα NaOH 0.1 N, μέχρις ότου το χρώμα του διαλύματος να γίνει ελαφρώς ροζ σε όλο τον όγκο του δείγματος. Η τιτλοδοτούμενη οξύτητα εκφράστηκε σε % γαλακτικό οξύ χρησιμοποιώντας το τύπο:

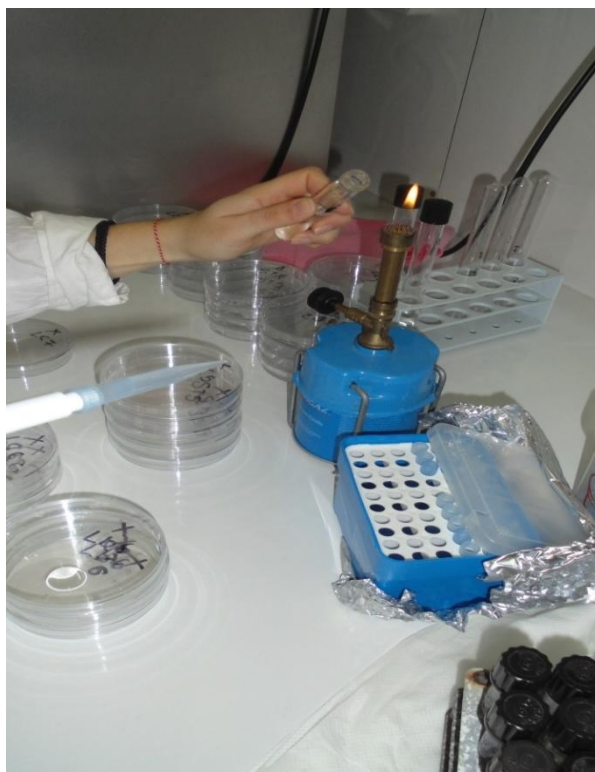
$$\text{Γαλακτικό οξύ (\%)} = \frac{\text{ml } \frac{N}{10} \text{ NaOH} \times 0,009}{\text{Ποσότητα δείγματος}} \times 100$$



Εικόνα 5: Μέτρηση οξύτητας, με τη μέθοδο της ογκομέτρησης

Βιωσιμότητα καλλιέργειας

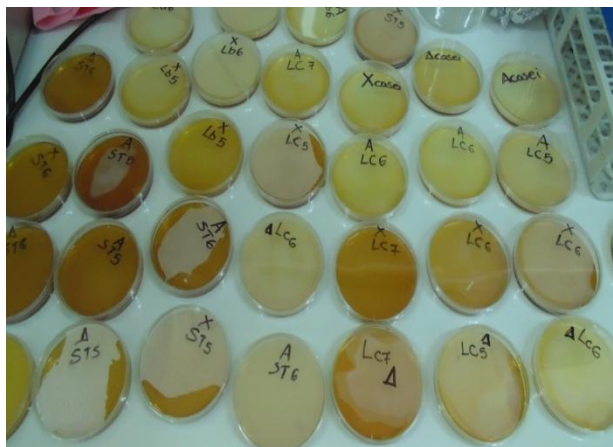
Για την μέτρηση των μικροοργανισμών χρησιμοποιήθηκαν δείγματα από τα ζυμώμενα γάλατα από διάφορα χρονικά διαστήματα της αποθήκευσης. Τα δείγματα αυτά διαλύθηκαν και ομογενοποιήθηκαν σε διάλυμα Ringer, στη συνέχεια αραιώθηκαν και στρώθηκαν σε τριβλία χρησιμοποιώντας τα αντίστοιχο εκλεκτικό θρεπτικό για κάθε μικροοργανισμό. Συγκεκριμένα ο *S.thermophilus* και ο *L. bulgaricus* μετρήθηκαν σε θρεπτικά LM17 και MRS (το pH ρυθμίστηκε στο 5,2) αντίστοιχως στους 45°C, σύμφωνα με τον Kearny *et al.*, (2009). Ο *L. casei* μετρήθηκε σε εκλεκτικό θρεπτικό MRS στο οποίο προστέθηκαν χλωριούχο λίθιο (0.2% w/v) και προπιονικό νάτριο (0.3% w/v), στους 37 °C (Vinderola and Reinheimer 2000).



Εικόνα 6: Εμβολιασμός τριβλίων Petri για μέτρηση μικροβιακών πληθυσμών



Εικόνα 7: «Τα θρεπτικά MRS, LM17 και MRS (pH 5.2) για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών»



Εικόνα 8: «Τοποθέτηση των θρεπτικών υλικών πριν μπουν στον επωαστικό θάλαμο»

Οργανοληπτικός έλεγχος

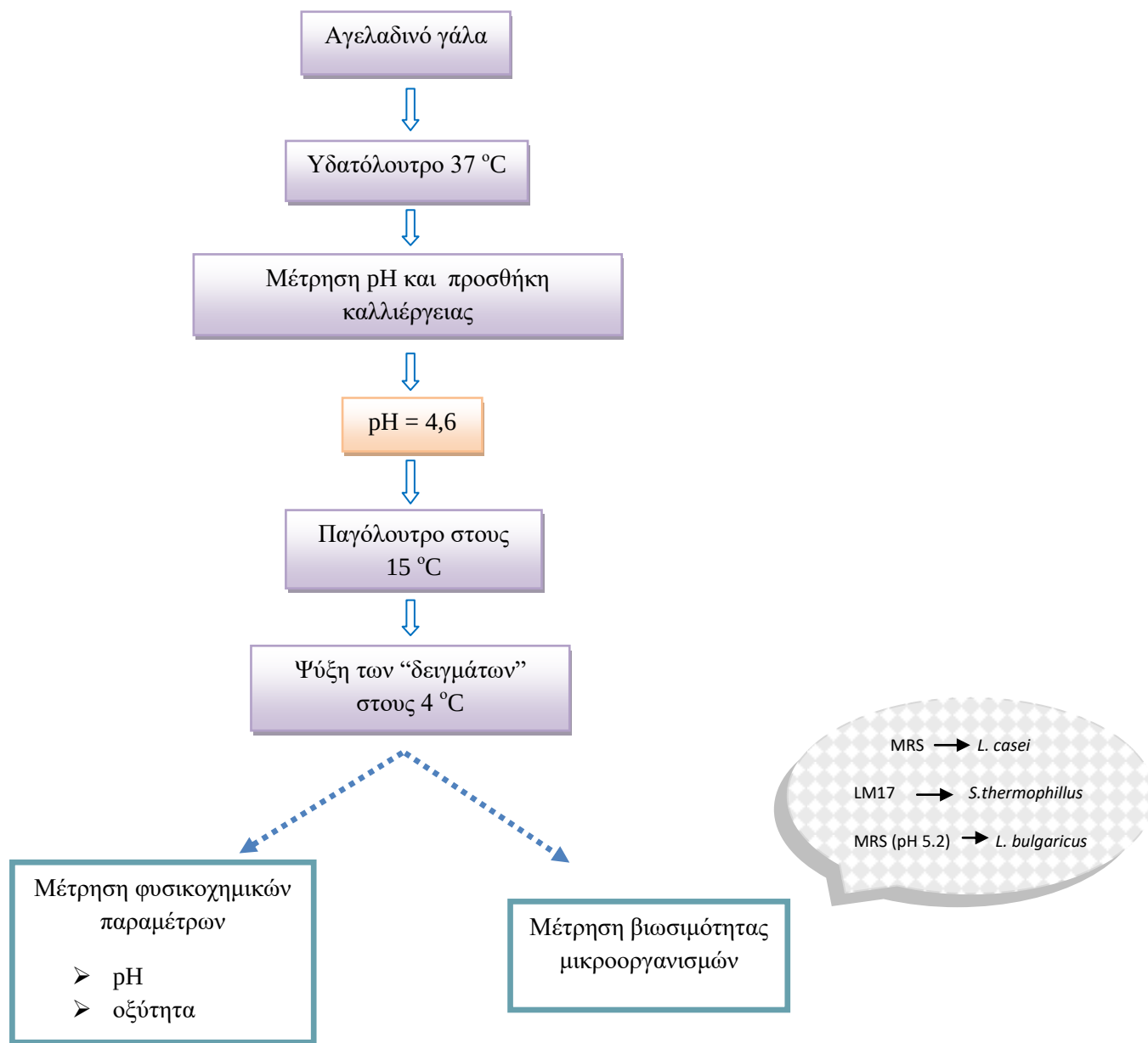
20 δοκιμαστές από το Τμήμα Τεχνολογίας Τροφίμων του ΤΕΙ Πελοποννήσου, χρησιμοποιήθηκαν για να αξιολογήσουν τα παραχθέντα ζυμώμενα γάλατα και να τα συγκρίνουν με εμπορικά δείγματα ως προς χρώμα, γλυκό άρωμα, ξινό άρωμα, λεία υφή, γλυκύτητα, ιξώδες, επίγευση και γενική εντύπωση. Ζητήθηκε από τους δοκιμαστές να βαθμολογήσουν κάθε ένα χαρακτηριστικό χρησιμοποιώντας μια κλίμακα από το 1 (εξαιρετικά μη αποδεκτό) έως το 10 (εξαιρετικά αποδεκτό).

Πίνακας 5. Κλίμακα βαθμολόγησης οργανοληπτικού ελέγχου.

Χαρακτηριστικό	Περιγραφή	Κλίμακα 1 έως 10
ΧΡΩΜΑ	Λευκότητα	Ασθενή έως έντονη
ΓΛΥΚΟ ΑΡΩΜΑ	Άρωμα σχετικό με «νότεες» γλυκού, ψημένου ή ανθών ακόμα και καμένη ζάχαρη.	Ασθενές έως έντονο
ΞΙΝΟ ΑΡΩΜΑ	Φρέσκα ξινή μυρωδιά, για παράδειγμα, φρέσκια κρέμα γάλακτος	Ασθενές έως έντονο
ΛΕΙΑ ΥΦΗ	Παρουσία ανιχνεύσιμων στερεών σωματιδίων	Έντονη παρουσία έως απουσία
ΓΛΥΚΥΤΗΤΑ	Γλυκιά αίσθηση ζάχαρης	Ασθενή έως έντονη
ΙΞΩΔΕΣ	Αντίσταση του προϊόντος να ρέει	Μεγάλη έως μικρή
ΕΠΙΓΕΥΣΗ	Αίσθηση γεύσης που εμφανίζεται στο στόμα μετά την εξάλειψη του προϊόντος	Ασθενές έως έντονο
ΓΕΝΙΚΗ ΕΝΤΥΠΩΣΗ	Πόσο καλή είναι η γενική εντύπωση από το προϊόν	



Εικόνα 9: «Προϊόν της δειγματοληψίας πριν την αξιολόγησή του»



Διάγραμμα 2: Διάγραμμα ροής πειράματος

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΥ ΜΕΡΟΥΣ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

3.1. Γενικά

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η παραγωγή ζυμωμένου αγελαδινού γάλακτος και μελετήθηκε η επίδραση του χρόνου αποθήκευσης στα φυσικοχημικά, μικροβιολογικά και γευσιγνωστικά χαρακτηριστικά του. Πιο αναλυτικά παρασκευάστηκαν ζυμώμενα γάλατα με την παραδοσιακή χλωρίδα της γιαούρτης, δηλαδή *Streptococcus thermophilus* και *Lactobacillus bulgaricus* μαζί με το αναγνωρισμένο ως προβιοτικό μικροοργανισμό *Lactobacillus casei* ATCC 393. Το γάλα μαζί με τους μικροοργανισμούς αφέθηκε για ζύμωση στους 37 °C μέχρι το pH να φτάσει την τιμή 4,6. Στη συνέχεια τοποθετήθηκε σε παγόλoutρο και τελικά τα παραγόμενα ζυμώμενα γάλατα τοποθετήθηκαν στο ψυγείο (4 °C) για 28 ημέρες.

3.2. Πίνακες αποτελεσμάτων

Στον πίνακα 6 παρατίθενται οι λογαριθμικές τιμές του πληθυσμού κάθε μικροοργανισμού που συμμετείχε στη ζύμωση και πώς μεταβάλλεται η ανάπτυξη τους με το χρόνο. Στον πίνακα 7 παρουσιάζονται αντίστοιχα οι μεταβολές που παρατηρούνται στο pH και κατά επέκταση στην οξύτητα του προϊόντος ως αποτέλεσμα της δράσης των προαναφερθέντων μικροοργανισμών.

Πίνακας 6. Βιωσιμότητα (log cfu/mL) των *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus* και *Lactobacillus casei* ATCC 393, στα ζυμώμενα γάλατα κατά την αποθήκευσή τους στους 4 °C.

Μέρες αποθήκευσης	<i>Streptococcus</i> <i>thermophilus</i>	<i>Lactobacillus</i> <i>bulgaricus</i>	<i>L. casei</i> ATCC 393
0	8,56±0,03	8,58±0,07	8,83±0,02
7	8,34±0,01	8,31±0,02	8,55±0,08
14	8,22±0,06	8,25±0,03	8,45±0,05
21	8,20±0,01	8,01±0,02	8,40±0,02
28	8,02±0,03	7,96±0,06	8,43±0,06

Η επίδραση της αποθήκευσης στην τιμή του pH των ζυμωμένων προϊόντων παρουσιάζεται στον πίνακα 6. Η αρχική τιμή του pH κυμάνθηκε μεταξύ 4,55 – 4,60, ενώ κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης παρουσιάστηκε συνεχής μείωση. Αυτή η μείωση ήταν πιο έντονη τις πρώτες μέρες της αποθήκευσης φτάνοντας τις τιμές 4,13 και 3,94 μετά από 7 και 14 ημέρες αντίστοιχα. Στη συνέχεια η μείωση συνεχίστηκε αλλά με μικρότερους ρυθμούς φτάνοντας την τιμή 3,83 μετά από 28 ημέρες αποθήκευσης στους 4 °C.

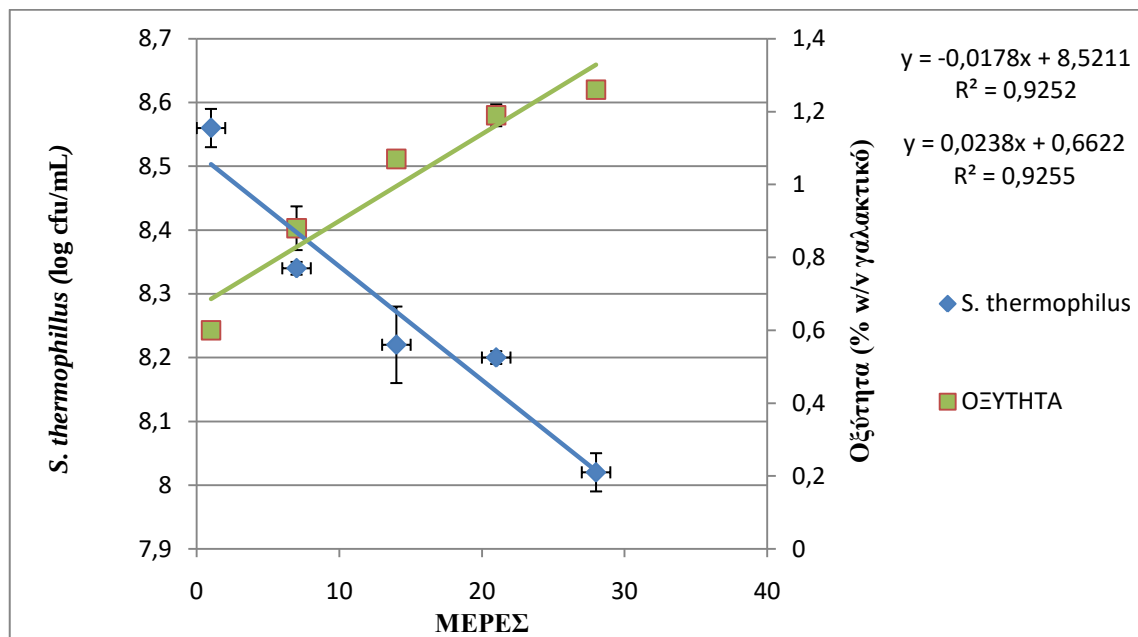
Πίνακας 7. Τιτλοδοτούμενη οξύτητα και pH στα ζυμώμενα γάλατα κατά την αποθήκευσή τους στους 4 °C.

Μέρες αποθήκευσης	pH	Οξύτητα (%w/v γαλακτικό)
7	4,13±0,02	0,88±0,03
14	3,94±0,03	1,07±0,03
21	3,85±0,03	1,19±0,06
28	3,83±0,03	1,26±0,03

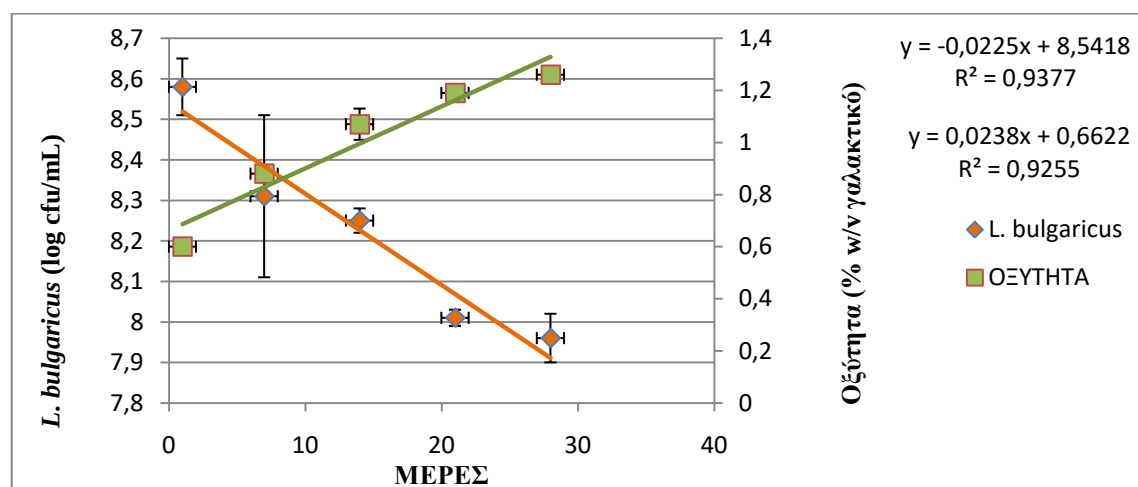
Ο πίνακας 7 επίσης παρουσιάζει την επίδραση της αποθήκευσης στις τιμές της τιτλοδοτούμενης οξύτητας των ζυμωμένων προϊόντων. Κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης παρατηρήθηκε συνεχής αύξηση των τιμών της τιτλοδοτούμενης οξύτητας. Η αύξηση αυτή, όπως και στην περίπτωση του pH ήταν πιο έντονη τις πρώτες μέρες της αποθήκευσης φτάνοντας τις τιμές 0,88 και 1,07% w/v γαλακτικό οξύ μετά από 7 και 14 ημέρες. Στη συνέχεια οι καλλιέργειες συνέχισαν να παράγουν οξύ αλλά με μικρότερους ρυθμούς φτάνοντας 1,19% w/v γαλακτικό οξύ την 21^η ημέρα και 1,26% w/v γαλακτικό οξύ την 28^η ημέρα.

3.3. Γραφική απεικόνιση και ανάλυση αποτελεσμάτων

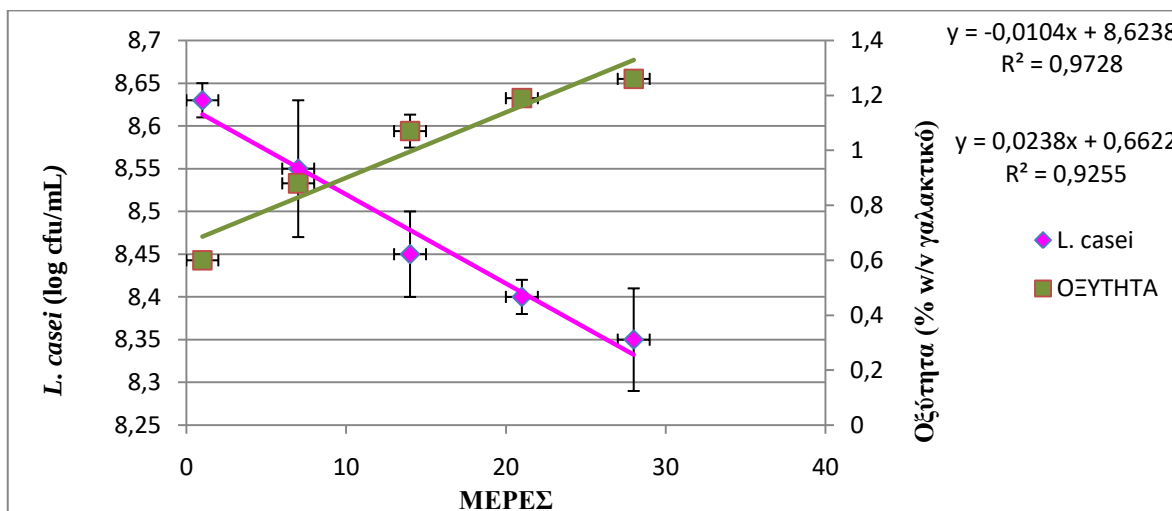
Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται επίσης γραφικά στα διαγράμματα 3, 4 και 5 όπου επιπρόσθετα προσδιορίζονται οι γραμμές τάσης για το ρυθμό μεταβολής της ανάπτυξης των προαναφερθέντων μικροοργανισμών και της αντίστοιχης οξύτητας.



Διάγραμμα 3: Απεικόνιση της ανάπτυξης του *Streptococcus thermophilus* και μεταβολή της οξύτητας για χρονική περίοδο 28 ημερών.



Διάγραμμα 4: Απεικόνιση της ανάπτυξης του *Lactobacillus bulgaricus* και μεταβολή της οξύτητας για χρονική περίοδο 28 ημερών.



Διάγραμμα 5: Απεικόνιση της ανάπτυξης του *Lactobacillus casei* ATCC 393 και μεταβολή της οξύτητας για χρονική περίοδο 28 ημερών.

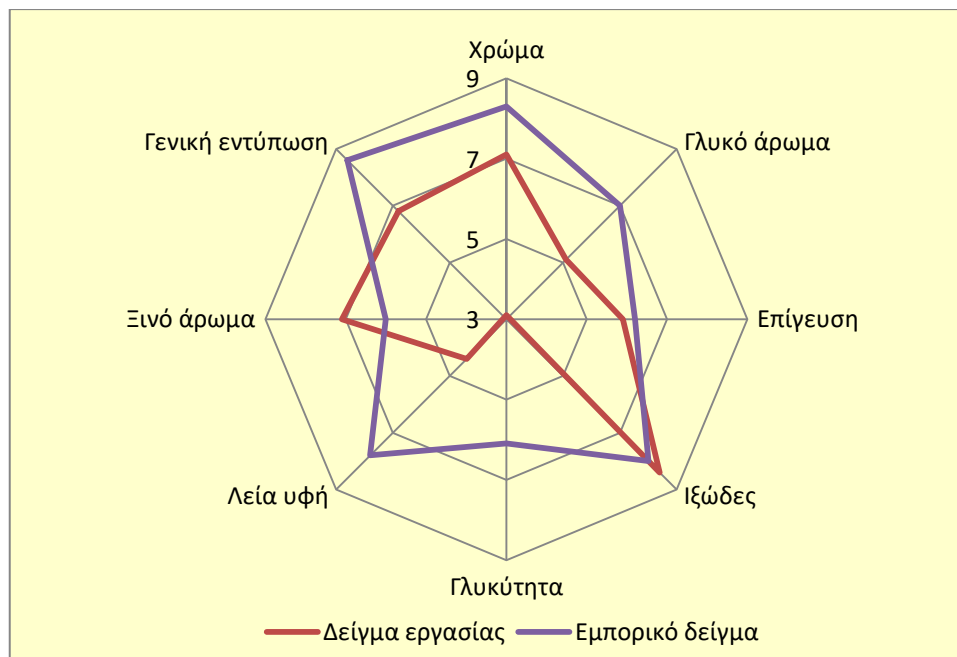
Από τα συγκεκριμένα διαγράμματα παρατηρείται ότι οι δυο από τους τρεις μικροοργανισμούς ο *Streptococcus thermophilus* και ο *Lactobacillus bulgaricus* παρουσιάζουν παρόμοιο ρυθμό μεταβολής (-0,017 ; -0,022) στη βιωσιμότητα τους σε αντίθεση με τον *Lactobacillus casei* ATCC 393 (-0,010) που παρουσιάζεται ανθεκτικότερος ως προς την επιβίωση του μετά από 28 ημέρες συντήρησης.

Ο *S. thermophilus* διατήρησε υψηλούς αριθμούς ζωντανών κυττάρων κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης. Αυτά τα αποτελέσματα είναι σε συμφωνία με άλλων εργασιών όπου αναφέρεται ότι ο *S. thermophilus* γενικά επιβιώνει αρκετά καλά ($>10^8$ cfu/mL) σε ζυμώμενα προϊόντα αποθηκευμένα σε συνθήκες οικιακού ψυγείου για 3 έως και 6 μήνες (Varga *et al.*, 2014; Kudelka, 2010). Σε όλα τα στάδια της αποθήκευσης οι αριθμοί του *S. thermophilus* ήταν υψηλότεροι σε σχέση με τον *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*. Επιπλέον το άθροισμα των *S. thermophilus* και *L. bulgaricus* ήταν πάνω από την ελάχιστη απαίτηση των 10^7 ζωντανών μικροοργανισμών ανά γραμμάριο προϊόντος (FAO/WHO, 2003). Ο *L. bulgaricus* ήταν ο μικροοργανισμός με τη μεγαλύτερη μείωση της βιωσιμότητας. Συγκεκριμένα μετά από 28 ημέρες αποθήκευσης οι τιμές του μειώθηκαν σε 7,96 log cfu/mL. Ο *L. casei* ATCC 393 ήταν ο μικροοργανισμός με τις μεγαλύτερες τιμές βιωσιμότητας καθ' όλη τη διάρκεια της αποθήκευσης ($> 10^8$ cfu/g). Θα πρέπει να σημειωθεί ότι καθ' όλη τη διάρκεια της αποθήκευσης οι αριθμοί του

L. casei ήταν μεγαλύτεροι από την ελάχιστη απαίτηση των 6 log cfu/g για να χαρακτηριστεί ως προβιοτικό προϊόν.

3.4. Οργανοληπτικός έλεγχος

Ο οργανοληπτικός έλεγχος έδειξε ότι το δείγμα της παρούσας εργασίας παρουσίασε σημαντικές διαφορές σε σχέση με το εμπορικό δείγμα. Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές ως προς την επίγευση. Το προϊόν της παρούσας εργασίας έλαβε υψηλότερη βαθμολογία για το ιξώδες ενώ σημαντικά μικρότερη ως προς το γλυκό του άρωμα και τη γλυκύτητα και σημαντικά μεγαλύτερη ως προς το ξινό άρωμα. Η τελευταία παρατήρηση μπορεί να αποδοθεί στη χαμηλή τελική τιμή pH και αντίστοιχα υψηλή τιμή τιτλοδοτούμενης οξύτητας κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης. Η γενική εντύπωση ήταν το προϊόν ήταν υποδεέστερο σε σχέση με το αντίστοιχο εμπορικό δείγμα, χωρίς όμως τα αποτελέσματα να είναι απογοητευτικά. Περαιτέρω μελέτη απαιτείται ώστε να ρυθμιστεί η ποσότητα των προστιθέμενων μικροοργανισμών ώστε να αποφευχθούν φαινόμενα υπεροξίνισης του προϊόντος.



Διάγραμμα 6. Αποτελέσματα οργανοληπτικού ελέγχου

4. ΤΕΛΙΚΑ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΕΡΓΑΣΙΕΣ

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η παρασκευή προβιοτικού ζυμωμένου αγελαδινού γάλακτος. Μελετήθηκε επίσης η βιωσιμότητα της μικροχλωρίδας του ζυμωμένου γάλακτος κατά την αποθήκευσή του στους 4 °C.

Κατά την αποθήκευση των προβιοτικών προϊόντων παρατηρήθηκε πτώση στο pH και αύξηση της τιτλοδοτούμενης οξύτητας σε όλες τις περιπτώσεις που μελετήθηκαν. Όσο αφορά τη βιωσιμότητα των καλλιιεργειών σε όλα τα στάδια της αποθήκευσης οι αριθμοί του *S. thermophilus* ήταν υψηλότεροι σε σχέση με τον *L. delbrueckii ssp. bulgaricus*. Μάλιστα ο *L. bulgaricus* ήταν ο μικροοργανισμός με τη μεγαλύτερη μείωση της βιωσιμότητας. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι καθ' όλη τη διάρκεια της αποθήκευσης οι αριθμοί του *L. casei* ήταν μεγαλύτεροι από την ελάχιστη απαίτηση των 6 log cfu/g για να χαρακτηριστεί ως προβιοτικό προϊόν. Επίσης ο οργανοληπτικός έλεγχος επιβεβαίωσε την υψηλή ποιότητα των ζυμωμένων προϊόντων τα οποία έλαβαν βαθμολογίες ελαφρά μικρότερες από τα αντίστοιχα εμπορικά προϊόντα.

Αυτά τα αποτελέσματα είναι πολύ σημαντικά από τεχνολογική άποψη, αφού δίνουν μια πρώτη εικόνα στη βιωσιμότητα των προβιοτικών μικροοργανισμών κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης, βέβαια απαιτείται περισσότερη και πιο συστηματική έρευνα στον τομέα αυτό. Ιδιαίτερα περαιτέρω μελέτη απαιτείται ώστε να ρυθμιστεί η ποσότητα των προστιθέμενων μικροοργανισμών σε συνδυασμό και με άλλους, με σκοπό την αποφυγή φαινομένων υπεροξίνισης, καθώς η εξάντληση των υποστρωμάτων ανάπτυξης των μικροοργανισμών προσδίδει χαμηλότερη ποιότητα του προϊόντος και για να βελτιωθούν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Ο οργανοληπτικός έλεγχος πιθανά να έδινε καλύτερα αποτελέσματα σε προγενέστερο στάδιο και αυτό μπορεί να επιτευχτεί αναλύοντας τις γραμμές παλινδρόμησης, ώστε να σταματήσει περαιτέρω η ζύμωση, με αποτέλεσμα τη διατήρηση κάποιων συστατικών .

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Aneja RP, Mathur BN, Chandan RC, Banerjee AK. (2002). Technology of Indian Milk Products. Dairy India Yearbook, New Delhi, India, pp. 183-196.
- Axelsson, L. (1998). Lactic acid bacteria: Classification and physiology. In Lactic Acid Bacteria: Microbiology and functional aspects, 2nd Edition, Revised and Expanded. Edited by S. Salminen & A. von Wright. pp. 1-72. Marcel Dekker, Inc. New York.
- Bockelmann W., Fobker, M., & Teuber, M. (1991). Purification and characterization of the X-prolyl-dipeptidyl-aminopeptidase from *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Lactobacillus acidophilus*. *Int. Dairy J.* 1: 51-66.
- Bockelmann W., Schulz, Y., & Teuber, M. (1992). Purification and characterization of an aminopeptidase from *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. *Int. Dairy J.* 2: 95-107.
- Cai H., Rodriguez B.T., Zhang W., Broadbent J.R. and Steele J.L. (2007). Genotypic and phenotypic characterization of *Lactobacillus casei* strains isolated from different ecological niches suggests frequent recombination and niche specificity. *Microbiology*, 153, pp. 2655-2665.
- Champagne C. P., D. Roy and N. J. Gardner (2005). Challenges in the addition of probiotic cultures to foods. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 45:61-84.
- Chan-Blanco Y., Bonilla-Leiva A.R. and Velazquez A.C. (2003). Using banana to generate lactic acid through batch process fermentation. *Microbiology Biotechnology*, 63, pp. 147-152.
- Chandan RC (Ed), White C, Kilara A. Hui YH (Associate Eds) (2006). Manufacturing Yogurt and Fermented Milks. Blackwell Publishing, Ames, IA, p. 364.
- Chandan RC, O'Rell KR. (2006b). Manufacture of various types of yogurt. In: RC Chandan (Ed), CH White, A Kilara, YH Hui (Associate Eds), Manufacturing Yogurt and Fermented Milks. Blackwell Publishing, Ames, IA, pp. 211-236.

- Chandan RC, Shah NP. (2007). Functional foods based on dairy ingredients. In: YH Hui (Ed), RC Chandan, S Cfark, N Cross, J Dobbs, WJ Hurst, LML Nollet, E Shimoni, N Sinha, EB Smith, S Surapat, A Titchenal, F Toldra (Associate Eds), Handbook of Food Products Manufacturing. Vol. 2: Health, Meat, Milk, Poultry, Seafood and Vegetables. John Wiley and Interscience Publishers, New York, pp. 957-970.
- Chandan RC. (1997). Dairy-Based Ingredients. Eagan Press, St. Paul, MN, p. 137.
- Chandan RC. (1997). Dairy-Based Ingredients. Eagan Press, St. Paul, MN, pp. 1-56.
- Chandan RC. (2007a). Milk composition, physical and processing characteristics. In: YH Hui (Ed), RC Chandan, S Clark, N Cross, J Dobbs, WJ Hurst, LML Nollet, E Shimoni, N Sinha, EB Smith, S Surapat, A Titchenal, F Toldra (Associate Eds), Handbook of Food Products Manufacturing. Vol. 2; Health, Meat, Milk, Poultry, Seafood and Vegetables. John Wiley and Interscience Publishers, New York, pp. 347-377.
- Chandan RC. (2007b). Functional properties of milk constituents. In: YH Hui (Ed), RC Chandan, S Clark, N Cross, J Dobbs, WJ Hurst, LML Nollet, E Shimoni, N Sinha, EB Smith, S Surapat, A Titchenal, F Toldra (Associate Eds), Handbook of Food Products Manufacturing. Vol. 1: Principles, Bakery, Beverages, Cereals, Cheese, Confectionary, Fats, Fruits, and Functional Foods. John Wiley and Interscience Publishers, New York, pp. 971-987.
- Chandan R. C. (1999). Enhancing market value of milk by adding cultures. J. Dairy Sci. 82:2245-2256.
- Codex Alimentarius (2003). Codex-standard 243-2003: Codex standard for fermented milks. Accessed Apr. 7, 2013. http://www.codexalimentarius.net/input/download/standards/400/CXS_243e.pdf.
- Crow V. and Curry B. (2002). *Lactobacillus Delbrueckii* Group. Elsevier Science Ltb.
- Damin M. R., E. Minowa, M. R. Alcantara and M. N. Oliveira (2008). Effect of cold storage on culture viability and some rheological properties of fermented milk prepared with yogurt and probiotic bacteria. J. Texture Stud. 39:40-55.

- Dave R. I. and N. P. Shah (1997a). Viability of yogurt and probiotic bacteria in yogurts made from commercial starter cultures. *Int. Dairy J.* 7:31-41.
- Dave R. I. and N. P. Shah (1998). Ingredient supplementation effects on viability of probiotic bacteria in yogurt. *J. Dairy Sci.* 81:2804-2810.
- de Rodas B. Z. (1994). The effect of *Lactobacillus acidophilus* and dietary calcium on serum cholesterol level in swine. Ph.D. Diss., Oklahoma State Univ., Stillwater.
- Dodd H. M. and M. J. Gasson (1994). Bacteriocins of lactic acid bacteria. J. J. Gasson and M. W. de Vos ed. *Genetics and Biotechnology of Lactic Acid Bacteria*. Blackie Acad. Profess. Publ., London, England.
- Donkor O. N., S. L. I. Nilmini, P. Stolic, T. Vasiljevic and K. P. Shall (2007). Survival and activity of selected probiotic organisms in set-type yogurt during cold storage. *Int. Dairy J.* 17:657-665.
- FAO/WHO (2002). Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Report of a joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food, London Ontario, Canada. April 30 and May 1, 2002. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome, Italy: World Health Organization (WHO). Geneva, Switzerland.
- Forssen K.M., Jagerstad M.I., Wigertz K. & Witthoft C.M. (2000). Folate and dairy products: A critical update. *Journal of the American College of Nutrition*, 19, 100-110.
- Fox PF (Ed) (2002). *Advances in Dairy Chemistry, Proteins*. Chapman and Hall, London, p. 768.
- Fox PF, McSweeney PLH (Eds) (1998). *Dairy Chemistry and Biochemistry*. Blackie Academic and Professional, New York, p. 478.
- Fox L.K., G. A. Bohach, S. U. Lee, K.T. Park and Y.H. Park (2003). Mastitis: Effect on milk quality, causative agents and control. *Kor. J. Vet. Publ Health.* 27:69-76.

- Frye CP (2006). Regulatory requirements for milk production, transportation, and processing. In: RC Chandan (Ed), CH White, A Kilara, YH Hui (Associate Eds), Manufacturing Yogurt and Fermented Milks. Blackwell Publishing, Ames, IA. pp. 41-56.
- Gilliland S. E., S. S. Reilly, G. B. Kim and H. S. Kim (2002). Viability during storage of selected probiotic lactobacilli and bifidobacteria in a yogurt-like product. *J. Food Sci.* 67:3091-3095.
- Gilliland S. E. and M. L. Speck (1977). Enumeration and identity of lactobacilli in dietary products. *J. Food Prot.* 40:760.
- Gilliland S. E., C. R. Nelson and C. Maxwell (1985). Assimilation of cholesterol by *L. acidophilus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 49:377.
- Gilliland. S. E. and M. L. Speck (1977). Instability of *Lactobacillus acidophilus* in yogurt. *J. Dairy Sci.* 60:1394.
- Goldin B. R., and S. L. Gorbach (1984). Alterations of the intestinal microflora by diet, oral antibiotics and *Lactobacillus*: decreased production of free amines from aromatic nitro compounds, azo dyes, and glucuronides. *J. Natl. Cancer Inst.* 73: 689.
- Ha M.Y., Kim S.W., Lee Y.W., Kim M.Y. and Kim S.J. (2003). Kinetics analysis of growth and lactic acid production in pH-controlled batch cultures of *Lactobacillus casei* KH-1 using yeast extract/corn steep liquor/glucose medium. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 96, pp. 134-140.
- Harding F (Ed) (1995). Milk Quality. Blackie Academic and Professional, Chapman and Hall, London, p. 166.
- Harrison V. C and G. Peat (1975). Serum cholesterol and bowel flora in the newborn. *Am. J. Clin. Nutr.* 28:1351.
- Holzapfel W.H., Haberer P., Geisen R., Bjorkroth J. and Schillinger U. (2001). Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 73, pp. 365S-373S.

- Hui YH (Ed) (1993). Dairy Science and Technology Handbook. Vol. 1: Principles and Properties. VCH Publishers, New York, p. 400.
- Hui YH (Ed) (1993). Dairy Science and Technology Handbook. Vol. 2: Product Manufacturing. VCH Publishers, New York, p. 435.
- Hui YH (Ed) (1993). Dairy Science and Technology Handbook. Vol. 3: Applications Science, Technology and Engineering. VCH Publishers, New York, p. 437.
- Hui YH, Chandan RC, Clark S, Cross N, Dobbs J, Hurst WJ, Nollet LML, Shimoni E, Sinha N, Smith EB, Surapat S, Titchenal A, Toldra F (Eds) (2007). Handbook of Food Products Manufacturing. Vol. 2: Health, Meat, Milk, Poultry, Seafood and Vegetables. John Wiley and Interscience Publishers, New York, p. 1221.
- Hull R. R., A. V. Roberts and J. J. Mayes (1984). Survival of *Lactobacillus acidophilus* in yogurt. Aust. J. Dairy Technol. 39: 164.
- Kato I., K. Endo and T. Yokokura (1994). Effects of oral administration of *Lactobacillus casei* on antitumor responses induced by tumor resection in mice. Int. J. Immunopharmacol. 16: 29.
- Katz F. (2001). Active cultures add function to yogurt and other foods. Food Technol. 55:46-49.
- Kearney N., Meng X.C., Stanton C., Kelly J., Fitzgerald G.F. and Ross R.P. (2009). Development of a spray dried probiotic yoghurt containing *Lactobacillus paracasei* NFBC 338. Int. Dairy J., 19:684–689.
- Khalid N.M. & Marth E.H. (1990). Lactobacilli – their enzymes and role in ripening and spoilage of cheese: A review. Journal of Dairy Science, 73, 2669-2684.
- Kilara A, Chandan RC. (2007). Ice cream and frozen desserts. In: YH Hui (Ed), RC Chandan, S Clark, N Cross, J Dobbs, WJ Hurst, LML Nollet, E Shimoni, N Sinha, EB Smith, S Surapat, A Titchenal, F Toldra (Associate Eds), Handbook of Food Products Manufacturing, Vol. 2: Health, Meat, Milk, Poultry, Seafood and Vegetables. John Wiley and Interscience Publishers, New York, pp. 593-633.

- Kilara A. (2006). Basic dairy processing principles. In: RC Chandan (Ed), CH White, A Kilara, YH Hui (Associate Eds), Manufacturing Yogurt and Fermented Milks. Blackwell Publishing, Ames, IA, pp. 73-87.
- Kim H. S. and S. E. Gilliland (1983). *Lactobacillus acidophilus* as a dietary adjunct for milk to aid lactose digestion in humans. J. Dairy Sci. 66:959.
- Klaver, F. A. M., F. Kingmaa and A. H. Weerkamp (1993). Growth and survival of bifidobacteria in milk. Neth. Milk Dairy J. 47:151-164.
- Kosikowski FV, Mistry VV. (1997). Cheese and Fermented Milk Foods, Vols. 1 and 2. Kosikowski, Stamford, CT, p. 900.
- Kosikowski F. V. (1977). Cheese and Fermented Milk Products. 2nd ed. Edwards Brothers, Inc., Ann Arbor, MI.
- Kulp W. L. (1991). Studies on the viability of *Lactobacillus acidophilus* in acidophilus milk. Am. J. Publ. Health 21:873.
- Kurmann JA. (1993). Une nouvelle generation de cultures en industrie laitière: aspects microbiologiques, biotechnologiques et probiotiques de cultures de bactéries composées de souches sélectionnées d'origine intestinale humaine Lait 73, 233.
- Marth E, & Steele JL (Eds). (2001). Applied Dairy Microbiology. Marcel Dekker, New York, p. 744.
- Masuda O., Nakamura Y. & Takano T. (1996). Antihypertensive peptides are present in aorta after oral administration of sour milk containing these peptides to spontaneously hypertensive rats. Journal of Nutrition, 126, 3063-3068.
- Meisel H. & Schlimme E. (1996). Bioactive peptides derived from milk proteins: Ingredients for functional foods? *Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte*, 48, 343-357.
- Miller G, Jarvis J, McBean L. (2007). Handbook of Dairy Foods and Nutrition. CRC Press, Boca Raton, FL, p.407.

- Mishra V. and Prasad D.N. (2005). Application of in vitro methods for selection of *Lactobacillus casei* strains as potential probiotics. *International Journal of Food Microbiology*, 103, pp. 109-115.
- Mistry VV. (2001). Fermented milks and cream. In: EH Marth, JL Steele (Eds), *Applied Microbiology*, 2nd ed. Marcel Dekker, New York, pp. 301-325.
- Nath RK (1993). Cheese. In: YH Hui (Ed), *Dairy Science and Technology Handbook*, Vol. 2: Product Manufacturing. VCH Publishers, New York, pp.161-255.
- Perdigon, G., M.E.N. Demacias, S. Alvarez, G. Oliver and A.A.D, Ruiz Holgado (1990). Prevention of gastrointestinal infection using immunobiological methods with milk fermented with *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus acidophilus*. *J. Dairy Res.* 57:255.
- Perdigon, G., M.E.N. Demacias, M. E. Roux and A.A.D. Ruiz Holgado (1990). The oral administration of lactic acid bacteria increases the mucosal intestinal immunity in response to enter-pathogens. *J. Food Prot.* 53:404.
- Perdigon, G., S. Alvarez, M. E. Demacias, R. A. Margni, G. Oliver, and A.A.D. Ruiz Holgado (1986). Lactobacilli administered orally induce release of enzymes from peritoneal macrophages in mice. *Milchwissenschaft* 41:344.
- Robinson R.K. (2002). *Dairy Microbiology Handbook*. The microbiology of milk and milk products. Wiley – Interscience. New York.
- Robinson RK (Ed) (1994). *Modern Dairy Technology*. Vol. 1: Advances in Milk Processing. Chapman and Hall, New York, p. 485.
- Saarela, M., G. Mogensen, R. Fonden, J. Matto and T. Mattila-Sandholm (2000). Probiotic bacteria: Safety, functional and technological properties. *J. Biotechnol.* 84:197-215.
- Sandine, W. E., K. S. Muralidhara, P, R. Elliker and D. C. England (1972). Lactic acid bacteria in food and health: a review with special reference to enteropathogenic *E. coli* as well as certain enteric diseases and their treatment with antibiotics and lactobacilli. *J. Milk Food Technol.* 35:691.

- Shahani, K. M., B. A. Friend and P. J. Bailey (1983). Antitumor activity of fermented colostrum and milk. *J. Food Prot.* 46:385.
- Sodini I, Tong PS (2006). Milk and milk-based dairy ingredients. In: RC Chandan (Ed), CH White, A Kilara, YH Hui (Associate Eds), *Manufacturing Yogurt and Fermented Milks*. Blackwell Publishing, Ames, IA, p. 168.
- Speer E & Mixa A (1998). *Milk and Dairy Product Technology*. Marcel Dekker, New York, p. 483.
- Stiles, E. and H. Holzapfel (1997). Lactic acid bacteria 27. Courtin, P., V. Monnet and F. Rul, 2002. Cell-wall of foods and to their current taxonomy. *Intl. J. Food. proteinases prtS and prtB cuts A different role Microbiol.*, 36, pp. 1-29.
- Tamime A (Ed) (2005). *Probiotic Dairy Products*. Blackwell Publishing, Oxford, UK, p. 216.
- Tamime A.Y. and Marshall V.M.E (1997). *Microbiology and Technology of Fermented Milks*. In Law B.A. (Ed) *Microbiology and Biochemistry of Cheese and Fermented Milk, edition*. Blackie Academic & Professional, London, UK.
- Tamime AY. (2006). *Fermented Milks*. Blackwell Publishing, Oxford, UK, p. 262.
- Tamine, A. Y., and R. K. Robinson (1999). *Yoghurt: Science and Technology*. Woodhead Publ. Ltd., Cambridge, UK.
- United States Department of Agriculture (October 2002). *Nutritive Value of Foods*, USDA, Washington, DC, pp. 22-23.
- USDHHS PMO (U.S. Department of Health and Human Services) (2003). *Grade "A" Pasteurized Milk Ordinance. 2003 Revision*. Department of Public Health, USDHHS, Food and Drug Administration, Washington, DC.
- Varley J, Andrews AT (Eds) (1994). *Biochemistry of Milk Products*. Royal Society of Chemists, London, UK, p. 190.
- Vinderola, C. G., P. Mocchiutti, and J. A. Reinheimer (2002). Interactions among lactic acid starter and probiotic bacteria used for fermented dairy products. *J. Dairy Sci.* 85:721-729.

- Vinderola, C.G., and Reinheimer, J.A. (2000). Enumeration of *Lactobacillus casei* in the presence of *L. acidophilus*, bifidobacteria and lactic acid bacteria in fermented dairy products. *Int. Dairy J.* 10:271-275.
- Walstra P, Guerts TJ, Noomen A, Jellema A, van Boekel MAJS (1999). Dairy Technology. Marcel Dekker, New York, p. 727.
- Wouters, J.T.M., Ayad, E.H.E., Hugenholtz, J., Smit, G. (2002) Microbes from raw milk for fermented dairy products. *Int. Dairy J.* 12: 91-109.
- Yamamoto, N., Akino, A., & Takano, T. (1994). Antihypertensive effects of different kinds of fermented milk in spontaneously hypertensive rats, *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 58, 776-778.
- Zehren VL, Nusbaum DD (Dave) (2000). Process Cheese. Cheese Reporter Publishing Co., Madison, WI, p. 363.

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Βεϊνόγλου Β. Κ. (1980). ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΑ ΤΟΜΟΣ Α΄ Είδη γάλακτος – Οξυγάλατα – Παγωτά. Γεωπονική σχολή Αθηνών.
- Κεχαγιάς Χ. (2011). ΓΑΛΑ, Επιστήμη, Τεχνολογία και Έλεγχοι Για τη Διασφάλιση της Ποιότητας. Εκδόσεις: Ίων.
- Μάντης Α. (2000). Υγιεινή και Τεχνολογία Γάλακτος και των Προϊόντων του. Γ΄ Έκδοση. Εκδόσεις Αδελφών Κυριακίδη.
- Μπαλατσούρας Γ. (2006). Μικροβιολογία Τροφίμων. Εκδόσεις: Έμβρυο.
- Τζανετάκης Ν., Λιτοπούλου-Τζανετάκη Ε. (2000). Μικροβιολογία και Υγιεινή Παραδοσιακών τυριών. Τεχνολογία Τροφίμων και Αειφορία Θεσσαλονίκη ΑΠΘ.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

ΔΗΜΟΣΙΕΥΜΕΝΕΣ ΕΡΓΑΣΙΕΣ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΤΥΧΙΑΚΗ

1. Poster presentation στο πλαίσιο διεθνούς συνεδρίου

Salamoura, C., Kontogianni, A., Katsipi, D., Kandyliis, P., Varzakas, T. (2014). Probiotic fermented milks made of cow's milk, goat's milk and their mixture. European Biotechnology Congress, May 15-18, Lecce, Italy. Poster presentation.

Probiotic fermented milks made of cow's milk, goat's milk and their mixture

C. Salamoura, A. Kontogianni, D. Katsipi, P. Kandyliis, T. Varzakas

Department of Food Technology, Technological Educational Institute of Peloponnese, Antikalamos, 24100 Kalamata, Greece. e-mail: pkandyliis@yahoo.gr



Abstract

In the present study probiotic fermented milks were produced using pasteurized cow's milk, goat's milk and a mixture of them. Three different microorganisms were used in their production namely *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* and *Lactobacillus casei* ATCC 393. Their viability was monitored during storage at 4°C for 4 weeks. All microorganisms were present at the same numbers at the first day ($\approx 8.5 \log \text{cfu/g}$), but during storage their numbers were declined. This decline was higher in the case of *L. bulgaricus* in all milks used. In the counts of *L. casei* and *S. thermophilus* a slow and constant decrease was observed; however, their final viability percentages did not differ significantly in the probiotic fermented milks tested, apart from goat milk where the numbers of *S. thermophilus* were significantly lower than the other milks. It should be noted that all microorganisms retained viable numbers higher than 6 logcfu/g even at the end of the storage, something that is important to confirm the probiotic character of the product. The sensory evaluation ascertained the overall quality of the probiotic fermented milks that scored similar values with the commercial sample, apart from the fermented cow milk which scored significantly lower values.

INTRODUCTION

Over the last decades, there is great interest in developing novel foods containing probiotic microorganisms, such as bifidobacteria and lactic acid bacteria. Such functional foods demonstrate a great potential in promoting human health. Maintenance of the intestinal microbial homeostasis, prevention of pathogenic infections, stabilization of the gastrointestinal barrier function, reduction of blood cholesterol and production of anti-carcinogenic and anti-mutagenic compounds are included among the beneficial effects of probiotic-based foods [1,2]. To deliver the health benefits, probiotics need to contain an adequate amount of live bacteria (at least 10^6cfu/g), able to survive the acidic conditions of the upper gastrointestinal tract and proliferate in the intestine, a requirement that is not always fulfilled [2,3]. The milk used in dairy products is very important and it is responsible, among others, for the organoleptic characteristics of the final product. Every mammal species has a unique milk composition in terms of both major (proteins, fats, and lactose) and minor (vitamins, oligosaccharides, free aminoacids, peptides, trace minerals, etc) milk constituents and this may influence the growth and survival rates of lactobacilli and bifidobacteria. The aim of the present study was to monitor the viability during refrigerated storage of *L. casei* ATCC 393, *L. bulgaricus*, and *S. thermophilus* in probiotic cultured dairy foods made from different varieties of milk, and to evaluate their sensory characteristics.

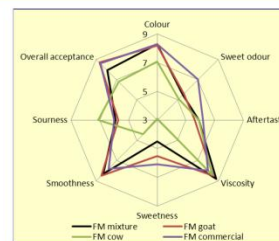


Figure 1. Sensory analysis results for fermented milk (FM) with cow's, goat's, cow's and goat's milk and commercial fermented milk.

RESULTS & DISCUSSION

Culture viability

- ✓ *L. casei* ATCC 393 was the most numerous culture component in all 3 products (Table 1) both at the beginning and at the end of the 4-week storage period ($> 10^6 \text{cfu/g}$).
- ✓ *S. thermophilus* retained high numbers of viable cells throughout storage (Table 2). Our findings are in agreement with those of previous studies, that *S. thermophilus* generally survives well ($> 10^6 \text{cfu/g}$) in yogurt or similar fermented milks stored under refrigeration for 3 to 6 weeks [6,7].
- ✓ *L. bulgaricus* was the microorganism with the highest viability reduction (Table 3). From $8.5 \log \text{cfu/g}$ at the beginning of storage its viability declined to values lower than $8 \log \text{cfu/g}$. Higher reduction was observed in goat's milk.
- ✓ The sum of *S. thermophilus* and *L. bulgaricus* was above the minimum requirement of 10^7 viable microorganisms per gram [8].
- ✓ All microorganisms retained viable numbers higher than $6 \log \text{cfu/g}$ even at the end of the storage, something that is important to confirm the probiotic character of the products.

Sensory evaluation

- ✓ The sensory evaluation ascertained the overall quality of the probiotic fermented milks that scored similar values with the commercial sample, apart from the fermented cow milk which scored significantly lower values (Figure 1).
- ✓ No significant differences observed between the samples in terms of aftertaste and viscosity. Fermented cow milk scored significantly lower values in color, smoothness and sweetness and significantly higher in sourness. Commercial fermented milk had higher values in sweet odor.
- ✓ The overall acceptability was higher for the commercial and the fermented goat milk, followed by the mixture of milks. Fermented cow milk scored significantly lower values.

CONCLUSIONS

Cow's milk, goat's milk, and their mixture proved to be suitable raw materials for the manufacture of fermented dairy products potentially capable of producing a beneficial effect on human metabolism and health even after 4 weeks of refrigerated storage.

REFERENCES

1. Möller & de Vrese, 2004. *Milchwissenschaft*, 59:597-601.
2. Leahy et al., 2005. *J. Appl. Microbiol.*, 98:1303-1315.
3. Boylston et al., 2004. *Int. Dairy J.*, 14:375-387.
4. Kearney et al., 2009. *Int. Dairy J.*, 19:684-689.
5. Vinderola & Reinheimer, 2000. *Int. Dairy J.*, 10:271-275.
6. Varga et al., 2014. *J. Dairy Sci.*, 97:1-6.
7. Kudelka, 2010. *Milchwissenschaft*, 65:407-410.
8. FAO/WHO 2003. *Codex standard for fermented milks* 243.

Storage days	Cow milk	Cow and goat milk	Goat milk
	8.83±0.04 ^a	8.83±0.02 ^a	8.78±0.05 ^{ab}
7	8.55±0.08 ^{bcd}	8.72±0.03 ^{abc}	8.59±0.02 ^{abcd}
14	8.45±0.05 ^{cdef}	8.50±0.04 ^{cdef}	8.55±0.01 ^{bcd}
21	8.40±0.02 ^{def}	8.48±0.01 ^{cdef}	8.41±0.07 ^{def}
28	8.43±0.06 ^{def}	8.31±0.04 ^{ef}	8.24±0.09 ^f

Table 1
Survival of *Lactobacillus casei* ATCC 393 in fermented milks during refrigerated storage at 4°C

Storage days	Cow milk	Cow and goat milk	Goat milk
	8.56±0.03 ^a	8.44±0.05 ^{abc}	8.53±0.07 ^{ab}
7	8.34±0.01 ^{abcd}	8.31±0.01 ^{abcd}	8.40±0.04 ^{abcd}
14	8.22±0.06 ^{cde}	8.30±0.01 ^{bcd}	8.29±0.02 ^{bcd}
21	8.20±0.01 ^{cde}	8.24±0.05 ^{cde}	8.34±0.05 ^{abcd}
28	8.02±0.03 ^e	8.15±0.08 ^{de}	8.15±0.06 ^{de}

Table 2
Survival of *Streptococcus thermophilus* in fermented milks during refrigerated storage at 4°C

Storage days	Cow milk	Cow and goat milk	Goat milk
	8.58±0.07 ^a	8.57±0.05 ^a	8.57±0.06 ^a
7	8.31±0.02 ^b	8.32±0.01 ^b	8.13±0.03 ^{bcd}
14	8.25±0.03 ^{bc}	8.28±0.02 ^b	8.00±0.03 ^{de}
21	8.01±0.02 ^{de}	8.03±0.03 ^{cde}	7.82±0.05 ^{ef}
28	7.96±0.06 ^{de}	7.91±0.01 ^{de}	7.63±0.04 ^f

Significant differences ($p < 0.05$) are indicated by different letters in superscript

METHODS

Strains: *L. casei* (DSMZ, ATCC 393) and the thermophilic starter, CH-1 (Chr. Hansen) *S. thermophilus* and *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*.

Fermented milk production: Pasteurized commercial milks were heated at 37°C and the starter microorganisms were added. Milks were fermented at 37°C until pH value of 4.6. Thereafter, the fermented milks cooled to 15°C in ice water and stored at 4°C.

Culture viability: Aliquots of fermented milk were serially diluted to sterilized quarter-strength Ringer solution and plated onto the appropriate selective medium for each strain. *S. thermophilus* and *L. bulgaricus* were enumerated on L-M17 and MRS (adjusted to pH 5.2) respectively at 45°C [4], while *L. casei* on a selective medium of MRS supplemented with lithium chloride and sodium propionate, at 37°C [5].

Sensory evaluation: 20 panelists familiar with the consumption of fermented milks from the Department of Food Technology, were used to evaluate the produced fermented milks and a commercial sample for color, sweet odor, sourness, smoothness, sweetness, viscosity, aftertaste and overall acceptability, using a 10-point hedonic scale ranging from 1 ("dislike extremely") to 10 ("like extremely").

Statistical analysis: All experiments and analyses were carried out in duplicate and the mean values are presented. Analysis of variance (ANOVA) was performed on the data, and the means were compared using the Tukey honest significant difference (HSD) test, with significance defined at $P < 0.05$. The statistical package Statistica version 5.0 (StatSoft Inc., Tulsa, USA) was used.

2. Η περίληψη δημοσιεύτηκε στο διεθνές περιοδικό *Journal of Biotechnology (Elsevier, I.F. 2.884)*

Salamoura, C., Kontogianni, A., Katsipi, D., Kandyli, P., Varzakas, T. (2014). Probiotic fermented milks made of cow's milk, goat's milk and their mixture. *Journal of Biotechnology*, 185S, S77.

Abstracts / Journal of Biotechnology 185S (2014) S37–S125

S77

Probiotic fermented milks made of cow's milk, goat's milk and their mixture



Chrysoula Salamoura^{*}, Artemis Kontogianni, Despoina Katsipi, Panagiotis Kandyli, Theodoros Varzakas

Department of Food Technology, Technological Educational Institute of Peloponnese, Antikalamos, Kalamata, Greece

E-mail address: chrys.salamoura@gmail.com (C. Salamoura).

In the present study probiotic fermented milks were produced using pasteurized cow's milk, goat's milks and a mixture of them. Three different microorganisms were used in their production namely *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* (CH-1) and *Lactobacillus casei* ATCC 393. Their viability was monitored during storage at 4°C for 4 weeks. All microorganisms were present at the same numbers at the first day ($\approx 8 \log \text{cfu/g}$), but during storage their numbers were declined. This decline was higher in the case of *L. bulgaricus* in all milks used. In the counts of *L. casei* and *S. thermophilus* a slow and constant decrease was observed; however, their final viability percentages did not differ significantly in the probiotic fermented milks tested, apart from goat milk where the numbers of *S. thermophilus* were significantly lower than other milks. It should be noted that all microorganisms retained viable numbers higher than $6 \log \text{cfu/g}$ even at the end of the storage, something that is important to confirm the probiotic character of the product. The sensory evaluation ascertained the overall quality of the probiotic fermented milks that scored similar values with the commercial sample, apart from the fermented cow milk which scored significantly lower values.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiotec.2014.07.262>

Immune response in Balb/C vs C57BL/6 mice during oral immunization with pea albumins



Acknowledgement

Research was supported by NCN Poland projects 2011/01/N/NZ9/07281.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiotec.2014.07.263>

Modulation of T cell response by probiotics orally delivered to Balb/C vs C57BL/6 mice



Dagmara Zlotkowska^{*}, Justyna Chudzik Kozłowska, Ewa Wasilewska

Department of Food Immunology and Microbiology, Institute of Animal Reproduction and Food Research of PAS, Olsztyn, Poland

E-mail address: j.chudzik-kozłowska@pan.olsztyn.pl (D. Zlotkowska).

Murine model for research of mucosal system immune response is still need. Many different strains of mice is used in immunological research response gut mucosal system. Presenting experiments show differences between response of two strains of mice C57BL/6 and Balb/C routinely used in immunological research. Two groups of mice (4–6 weeks old) Balb/C and C57BL/6, kept in IVC conditions, were immunized orally with: commercial probiotics Multilac[®] together with PA (albumin fraction from *Pisum sativum*) in dose of 5×10^7 jtk/mouse and 200 μg PA/mouse by 10 consequence days with CT as adjuvant. Blood and fecal samples were taken on 14, 21, 28 and 35 day of experiment. Specific antibodies level was determinate by ELISA. Significantly lower level of specific serum IgG and IgA, and fecal sIgA was determinate in C57BL/6 mice. After termination lymphocytes were isolated from some tissue (SPL, HNLN, MLN, PP) and cultured with stimulation agents (PA). Lymphocytes were phenotype and it was found that both strains gave statistically different percentage of CD^{8+} , CD^{4+} , $\text{CD}^{8+}\text{CD}^{4+}$ T cells subpopulations. Even C57BL/6 does not induce $\text{CD}^{4+}\text{CD}^{25+}$ subpopulation (important for allergy mechanisms). Presented experiments show