

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

ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ



ΘΕΜΑ: «ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΖΥΜΩΜΕΝΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΜΕ
ΧΡΗΣΗ ΑΚΙΝΗΤΟΠΟΙΗΜΕΝΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ
LACTOBACILLUS CASEI ΣΕ ΜΗΛΟ»

Σπουδάστρια: ΝΤΟΥΝΗ ΠΑΓΩΝΑ, ΑΜ:2010243

Επιβλέπων καθηγητής: Κανδύλης Παναγιώτης

Καλαμάτα 2015

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η συγγραφή της πτυχιακής εργασίας αυτής με θέμα την «Παρασκευή ζυμωμένου γάλακτος με χρήση ακινητοποιημένων κυττάρων *Lactobacillus casei* σε μήλο», έγινε στα πλαίσια των υποχρεώσεών μου ως σπουδάστρια του τμήματος Τεχνολογίας Τροφίμων της σχολής Τεχνολογίας Γεωπονίας και Τροφίμων και Διατροφής.

Η ανάθεση του θέματος έγινε από τον εισηγητή της εργασίας Δρ. Παναγιώτη Κανδύλη, επιστημονικό συνεργάτη του τμήματος Τεχνολογίας Τροφίμων. Επιπλέον θα ήθελα να τον ευχαριστήσω για τη συνεχή παρακολούθηση κατά την εκτέλεση του πειραματικού μέρους και για την εκπόνηση της πτυχιακής εργασίας.

Πιστεύω ότι η παρουσίαση όλων των σχετικών στοιχείων δίνουν μια αρκετά σφαιρική εικόνα του θέματος στον αναγνώστη, καθώς επίσης μπορεί να αποδειχθεί χρήσιμη σε όποιον μελλοντικά χρειαστεί πληροφορίες για το συγκεκριμένο θέμα.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ	2
ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ	3
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	5
ABSTRACT	6
ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	7
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	8
1.1 Ιστορική αναδρομή ζυμώμενων προϊόντων	9
1.2. Στοιχεία γάλακτος	13
1.2.1. Γενικά	13
1.2.2. Παραγωγή γάλακτος	13
1.2.3. Βασικά συστατικά γάλακτος	15
1.2.4. Πρωτεΐνες	16
1.2.5. Λακτόζη	18
1.2.6. Λιπίδια	18
1.2.7. Άλατα	19
1.2.8. Λοιπά συστατικά	19
1.3. Επεξεργασία γάλακτος	20
1.3.1. Διήθηση	20
1.3.2. Ψύξη	20
1.3.3. Παστερίωση	22
1.4. Είδη γάλακτος	23
1.5. Ζυμωμένα προϊόντα	26
1.5.1. Γενικά	26
1.5.2. Είδη ζυμωμένων προϊόντων	27
1.5.2.1. Γιαούρτη	27
1.5.2.2. Τύποι γιαούρτης	29
1.5.2.3. Τυρί	29
1.5.2.4. Κυριότερα είδη τυριών	30
1.5.2.5. Βούτυρο	31
1.5.2.6. Κεφίρ	32
1.5.2.7. Κουμίσ	33
1.5.2.8. Ξινόγαλα	34
1.6 Καλλιέργεια γιαούρτης	35
1.6.1. <i>Streptococcus thermophilus</i>	37
1.6.2. <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	39
1.7 <i>Lactobacillus casei</i>	40
1.8. Γαλακτική ζύμωση	42
1.8.1 Διαδικασία ζύμωσης	42
1.8.2 Μικροβιολογία της ζύμωσης	45
1.9. Ακίνητοποίηση καλλιιεργειών σε τρόφιμα	46
1.9.1 Στηρίγματα ακίνητοποίησης των κυττάρων και των τεχνικών	46
1.9.1.1. Ακίνητοποίηση επί στερεών φορέων επιφάνειας	47
1.9.1.2. Παγίδευση εντός μιας πορώδους	47

μήτρας	
1.9.1.3. Κύτταρα κροκίδωσης (Aggregation)	49
1.9.1.4. Κυτταρική συγκράτηση πίσω από φράγματα	49
1.9.2. Προϋποθέσεις για την ακίνητοποίηση των κυττάρων	50
1.9.3. Επίδραση της ακίνητοποίησης σε μικροβιακά κύτταρα	51
1.9.4. Πλεονεκτήματα των ακίνητοποιημένων κυττάρων έναντι των ελεύθερων κυττάρων	51
ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	53
2.1 Μικροοργανισμοί	54
2.2. Παραγωγή ζυμώμενου γάλακτος	54
2.3. Μέτρηση φυσικοχημικών παραμέτρων pH	55
2.4. Βιωσιμότητα καλλιέργειας	55
3. Αποτελέσματα και συζήτηση	55
3.1. Γενικά	55
3.2. Επίδραση της καλλιέργειας στην ικανότητα οξίνισης του γάλακτος	56
3.3. Επίδραση της αποθήκευσης στις τιμές του pH των ζυμώμενων προϊόντων	57
3.4. Επίδραση της αποθήκευσης στις τιμές της τιτλοδοτούμενης οξύτητας των ζυμώμενων προϊόντων	58
3.5. Επίδραση της αποθήκευσης στις τιμές της βιωσιμότητας των καλλιιεργειών	58
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	61
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	62

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η επίδραση της χρήσης νέων ακινητοποιημένων αρχικών καλλιεργείων στην παραγωγή και στα κύρια φυσικοχημικά χαρακτηριστικά ζυμώμενων γαλάτων κατά την αποθήκευση στους 4°C για 4 εβδομάδες. Συγκεκριμένα παρασκευάστηκαν δύο διαφορετικά ζυμώμενα γάλατα χρησιμοποιώντας μόνο την παραδοσιακή καλλιέργεια γιαούρτης *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* και *Streptococcus thermophilus* αλλά και σε συνδυασμό με ακινητοποιημένα κύτταρα *Lactobacillus casei* σε μήλο. Κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης μελετήθηκαν διάφορα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των ζυμώμενων γαλάτων όπως pH και τιτλοδοτούμενη οξύτητα. Η χρήση των νέων μικροοργανισμών οδήγησε σε μικρότερους χρόνους ζύμωσης. Συγκεκριμένα η χρήση *L. casei* οδήγησε σε 21% μείωση του χρόνου ζύμωσης. Κατά την αποθήκευση των προϊόντων παρατηρήθηκε πτώση στο pH και ταυτόχρονη αύξηση της τιτλοδοτούμενης οξύτητας σε όλες τις περιπτώσεις που μελετήθηκαν. Αυτά τα αποτελέσματα είναι πολύ σημαντικά από τεχνολογική άποψη για τις γαλακτοβιομηχανίες. Επιπλέον μελετήθηκε και η βιωσιμότητα των τριών καλλιεργείων κατά τη παραγωγή και την αποθήκευση των ζυμώμενων γαλάτων. Οι αριθμοί των καλλιεργείων διατηρήθηκαν σε επίπεδα που επιτρέπουν τον χαρακτηρισμό των νέων προϊόντων ως προβιοτικά.

Λέξεις κλειδιά: προβιοτικά, pH, τιτλοδοτούμενη οξύτητα, γαλακτοκομικά προϊόντα

ABSTRACT

In the present study the effect of new immobilized starter cultures on production and physicochemical characteristics of fermented milks during 4 weeks storage at 4°C was evaluated. More specifically two different fermented milks were produced using the traditional yogurt culture of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* but also in combination with immobilized cells of *Lactobacillus casei* on apple pieces. During storage different physicochemical characteristics were analyzed like pH and titratable acidity. The use of new starters led to lower fermentation times. More specifically the use of immobilized *L. casei* led to 21% reduction of fermentation time. During storage of fermented milks, there was a decline in pH and subsequent increase of titratable acidity in all cases. These results are very important from a technological point of view for the dairy industries. Additionally the viability of the three cultures was evaluated during fermented milk production and storage. The viable numbers of the cultures remained in levels that allow the characterization of the new products as probiotics.

Keywords: probiotics, pH, titratable acidity, dairy products

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το γάλα και τα προϊόντα αποτέλεσαν βασικές τροφές για τον άνθρωπο πολύ πριν αρχίσει ο πολιτισμός. Οι άνθρωποι πολύ νωρίς άρχισαν να προβληματίζονται με τη συντήρηση του γάλακτος. Διαπίστωσαν ότι όταν το γάλα παρέμενε ξίνιζε και αποκτούσε ευχάριστη γεύση. Τότε το προϊόν καταναλώνονταν χωρίς προβλήματα και συντηρούνταν περισσότερο. Αυτό όμως δεν συνέβαινε πάντα και πολλές φορές, όταν το γάλα που παρέμενε, δεν αποκτούσε την ευχάριστη ξινή γεύση και προκαλούσε ενοχλήσεις σε αυτούς που το καταλάωναν.

Η ιστορία των ζυμωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων, δηλαδή των προϊόντων που παρασκευάζονται με τη βοήθεια μικροοργανισμών, άρχισε από πολύ παλιά. Σ' αυτό συντέλεσε η ευκολία με την οποία αναπτύσσονται οι διάφοροι μικροοργανισμοί στο γάλα. Η κυριότερη κατηγορία μικροοργανισμών που χρησιμοποιούνται ευρύτατα στην παρασκευή γαλακτοκομικών προϊόντων με ζύμωση είναι τα οξυγαλακτικά βακτήρια.

Εκτός από τα οξυγαλακτικά βακτήρια, χρησιμοποιούνται και άλλοι μικροοργανισμοί: προπιονικά βακτήρια, βακτηρία που έχουν ευνοϊκές επιδράσεις στην υγεία (προβιοτικά, τα περισσότερα των οποίων είναι οξυγαλακτικά) και ζύμες, μύκητες, για να προδώσουν ιδιαίτερα χαρακτηριστικά στα προϊόντα. Τα οξυγαλακτικά βακτήρια ζυμώνουν τη λακτόζη για να σχηματίσουν κυρίως γαλακτικό οξύ, αλλά και μερικές άλλες ουσίες. Το γαλακτικό οξύ δίνει την ευχάριστη όξινη γεύση στα ζυμωμένα προϊόντα, πήζει το γάλα ή βοηθά στ πήξιμο του γάλακτος και στην υφή του τυροπήγατος κατά την παρασκευή τυριών, το χαμηλό pH παρεμποδίζει την ανάπτυξη των παθογόνων και των σαπροφυτικών μικροοργανισμών που δημιουργούν προβλήματα στα προϊόντα.

Τα γαλακτικά βακτήρια παράγουν επίσης αρωματικές ουσίες και η πρωτεολυτική και δευτερευόντως λιπολυτική τους δράση βοηθά στη διαμόρφωση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των γαλακτοκομικών προϊόντων.

Στόχος της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη της επίδρασης κατά τη χρήση νέων ακινητοποιημένων αρχικών καλλιιεργειών στην παραγωγή και στα κύρια φυσικοχημικά χαρακτηριστικά ζυμώμενων γαλάτων κατά την αποθήκευση στους 4°C για 4 εβδομάδες. Συγκεκριμένα παρασκευάστηκαν δύο διαφορετικά ζυμώμενα γάλατα χρησιμοποιώντας μόνο την παραδοσιακή καλλιέργεια γιαούρτης *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* και *Streptococcus thermophilus* αλλά και σε συνδυασμό με ακινητοποιημένα κύτταρα *Lactobacillus casei* σε μήλο.

Για την καλύτερη αποτύπωση των αποτελεσμάτων η εργασία χωρίζεται σε δυο μέρη, με το πειραματικό να πραγματοποιήθηκε στον εργαστηριακό χώρο του Ιδρύματος. Αρχικά στο πρώτο κεφάλαιο γίνεται παρουσίαση γενικών στοιχείων ως προς το γάλα και τα ζυμωμένα γαλακτοκομικά προϊόντα καθώς και τους μικροοργανισμούς και τις ζυμώσεις που γίνονται κατά τη παραγωγή τους.

Στο δεύτερο και ερευνητικό μέρος, το δεύτερο και τρίτο κεφάλαιο περιγράφεται η πειραματική διαδικασία με την ανάλυση της χρησιμοποιούμενης μεθόδου και των παραμέτρων που εξετάστηκαν.

1.1 Ιστορική αναδρομή ζυμώμενων προϊόντων

Η ζύμωση είναι μια από τις από τις παλαιότερους μεθόδους που έχουν εφαρμοστεί από τον άνθρωπο για την μετατροπή του γάλακτος σε προϊόντα με παρατεταμένη διάρκεια ζωής. Η ακριβής προέλευση των ζυμωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων είναι δύσκολο να προσδιοριστεί αλλά υπολογίζεται πριν από 10.000 χρόνια, όπου ξεκίνησε και η εξημέρωση της κατσίκας και του προβάτου, όταν ο άνθρωπος από τροφοσυλλέκτης εξελίχτηκε σε παραγωγό τροφίμων (Pederson, 1979). Η εξέλιξη αυτή συμπεριλάμβανε επίσης την εξημέρωση των ζώων (αγελάδα, πρόβατο, κατσίκα, βουβάλι και καμήλα) και είναι πολύ πιθανό η μετάβαση αυτή να έλαβε χώρα σε διαφορετικές χρονικές στιγμές στα διάφορα μέρη του κόσμου. Αρχαιολογικά στοιχεία δείχνουν ορισμένοι πληθυσμοί, όπως οι Σουμέριοι, οι Μεσοποτάμιοι, οι Αιγύπτιοι και οι Ινδοί είχαν αναπτύξει μεθόδους γεωργίας, κτηνοτροφίας και παραγωγής ζυμωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων (Tamime, 2002).

Αν και δεν υπάρχουν διαθέσιμες εγγραφές για την προέλευση των ζημιωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων πιστεύεται ότι πιθανό κατάγονται από τη Μικρά Ασία και την Ινδία, η ακριβής καταγωγή τους όμως αποτελεί θέμα συζήτησης.(Robinson,2002)

Ιστορικά, τα προϊόντα που προέρχονται από τη ζύμωση του γάλακτος διαφόρων εξημερωμένων ζώων είχε ως αποτέλεσμα τη διατήρηση των πολύτιμων θρεπτικών συστατικών τα οποία διαφορετικά θα αλλοιώνονταν γρήγορα κάτω από τις υψηλές θερμοκρασίες περιβάλλοντος που επικρατούν στη Νότια Ασία και η Μέση Ανατολή. Έτσι, η μέθοδος επιτρέπει την κατανάλωση του γάλακτος κατά τη διάρκεια μιας περιόδου σημαντικά μεγαλύτερη από ό, τι ήταν δυνατό για το ίδιο το γάλα. Ταυτόχρονα, η μετατροπή του γάλακτος σε ζυμωμένα προϊόντα έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή ενός διακριτικού ιξώδες με συνέπεια, λεία υφή και χαρακτηριστική γεύση. Επιπλέον, παρέχεται η ζύμωση τροφίμων με ασφάλεια, φορητότητα και καινοτομία για τον καταναλωτή. Κατά συνέπεια, τα ζυμωμένα γαλακτοκομικά τρόφιμα εξέλιξαν το πολιτιστικό και διαιτητικό ήθος των ανθρώπων που κατοικούν σε περιοχές του κόσμου όπου οφείλουν την καταγωγή τους. Το γάλα είναι ένα κανονικό ενδιαίτημα ενός αριθμού βακτηρίων γαλακτικού οξέος, τα οποία προκαλούν αυθόρμητη όξυνση του γάλακτος διατηρείται σε θερμοκρασίες βακτηριακής ανάπτυξης για ένα συγκεκριμένο χρονικό διάστημα. Ανάλογα με τους τύπους των γαλακτικών βακτηρίων κερδίζουν είσοδο από περιβαλλοντικές πηγές, (αέρας, σκεύη, εξοπλισμός αρμέγματος, άρμεγμα προσωπικό, αγελάδες, ζωοτροφές), το ξινόγαλο επιτυγχάνει μια χαρακτηριστική γεύση και υφή. Περίπου 400 διαφορετικά προϊόντα που προέρχονται από την ζύμωση του γάλακτος καταναλώνονται σε όλο τον κόσμο. Όπως προαναφέρθηκε, η ζύμωση διατηρεί τις ζωτικής σημασίας θρεπτικές ουσίες στο γάλα. Ταυτόχρονα, τροποποιεί ορισμένα συστατικά του γάλακτος για την ενίσχυση της διατροφικής τους κατάσταση, και προσκομίζει στον καταναλωτή ζωντανούς και ενεργούς τους πολιτισμούς σε σημαντικό αριθμό, παρέχοντας διακριτά οφέλη υγείας πέρα από τη συμβατική διατροφή. Τα προϊόντα ζημιωμένου γάλακτος μπορεί να ονομαστούν «λειτουργικά τρόφιμα». Αποτελούν ένα σημαντικό και κρίσιμο τομέα της ανθρώπινης διατροφής. Τα προϊόντα προσαρμόζονται στις πολιτιστικές και θρησκευτικές παραδόσεις και στα διατροφικά πρότυπα των ανθρώπων που τα καταναλώνουν. Εκτός από το κύριο συστατικό, το γάλα, άλλα, συστατικά τροφίμων, που ενσωματώνονται καινοτόμα είναι μια σειρά θρεπτικών συστατικών, όπως

γεύσεις, υφές και αίσθηση του στόματος, προσφέροντας με αυτόν τον τρόπο μια σειρά από επιλογές για τον καταναλωτή. Τα ζυμωμένα τρόφιμα και τα παράγωγά τους, αποτελούν βασικό γεύμα , ή μπορεί να καταναλωθεί ως συνοδευτικό του γεύματος. Μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν σαν ένα σνακ, ποτό, Η ποικιλομορφία των ζυμωμένων γαλάτων μπορεί να αποδοθεί:

- Χρήση γάλακτος που λαμβάνεται από μία ποικιλία οικόσιτα ζώα επιδόρπιο, καρύκευμα, ή ως συστατικό στα μαγειρευτά πιάτα.
- Εφαρμογή ποικίλων εκκινητών μικροχλωρίδας
- Η προσθήκη της ζάχαρης, καρυκευμάτων , δημητριακών , φρούτων και ξηρών καρπών για να δημιουργήσετε μια ποικιλία γεύσεων και υφών.
- Εφαρμογή πρόσθετων μεθόδων συντήρησης για παράδειγμα, κατάψυξη, και ξήρανση.

Τα ζυμωμένα γάλατα παράγονται σε ολόκληρο τον κόσμο και περίπου 400 κοινές ονομασίες, εφαρμόζεται σε παραδοσιακά και βιομηχανικά προϊόντα, (Kurmann et al, 1992),στη πραγματικότητα η λίστα περιλαμβάνει μόνο λίγες ποικιλίες.

Πίνακας 1: Τα κυριότερα είδη ζυμωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων που παράγονται στον κόσμο.

Όνομα προϊόντος	Κύριες χώρες/ θρησκεία
Acidophilus milk	United states, Russia
Ayran/eyran//jugurt	Tyrkey
Busa	Tyrkestan
Chal	Tyrkmenistan
Cicddu	Italy
Cultured buttermilk	United States
Dahi/dudhee/dahee	Indian subcontinent
Donskaya/varenetes/kurygna/ryzhenka/guslyanka	Russia

Dough/abdoogh/mast	Afghanistan, Iran
Ergo	Ethiopia
Filmjolk/fillbunke/fillbunk/surmelk/taettemjolk/tettem elk	Sweden, Norway, Scandinavia
Gioddu	Sardinia
Gruzovina	Yugoslavia
Iogurte	Brazil, Portugal
Jogurt/eyran/ayran	Turkey
Katyk	Transcaucasia
Kefir/Koumiss/Kumys	Russia, Central Asia
Kissel maleka/naja/yaourt/urgotnic	Balkans
Kurunga	Western Asia
Leben/labani/labani rayeb	Lebanon, Syria, Jordan
Mazun/matzoen/matsun/matsoni/matzoen	America
Mezoradu	Sicily
Pitkapiima	Finland
Roba/rob	Iraq
Shosim/sho/thara	Nepal
Shrikhand	India
Skyr	Iceland
Tarag	Mongolia
Tarho/taho	Hungary
Viili	Finland
Yakult	Japan
Yiaourti	Greece
Ymer	Denmark
Zabady/zabade	Egypt, Sudan

Πηγή: (Chandan , 2002, Tamine , 1999)

1.2. Στοιχεία γάλακτος

1.2.1. Γενικά

Γάλα είναι το έκκριμα του μαστικού αδένα των θηλαστικών που προορίζεται για τη διατροφή του νεογέννητου για το οποίο αποτελεί τη μοναδική τροφή μέχρι μια ορισμένη ηλικία. Για τον άνθρωπο όμως, το γάλα εξακολουθεί να αποτελεί μέρος της καθημερινής διαίτας του είτε αυτούσιο είτε με τη μορφή γαλακτοκομικών προϊόντων (τυριά, βούτυρο, γιαούρτη κ.λ.π.) για όλη τη διάρκεια της ζωής του.(Μάντης, ,2000, 2005, 2011) Είναι θρεπτικό, λευκό ή ελαφρώς κιτρινωπό υγρό. (Βικιπαιδεια, 2015)

Ο ελληνικός Κώδικας Τροφίμων και Ποτών (Κ.Τ.Π. 1998) ορίζει ότι «γάλα είναι το απαλλαγμένο από πρωτόγαλα προϊόν του ολοσχερούς χωρίς διακοπή αρμέγματος, υγιούς γαλακτοφόρου ζώου, που ζει και τρέφεται υπό υγιεινούς όρους και που δεν βρίσκεται σε κατάσταση υπερκόπωσης». (Μάντης, ,2000, 2005, 2011). Το γάλα είναι η πρώτη και αποκλειστική τροφή των νεογνών των θηλαστικών . Το γάλα χρησιμοποιείται σαν τροφή του ανθρώπου από τους προϊστορικούς χρόνους. Σε αντίθεση με τα άλλα θηλαστικά, που για να ικανοποιήσουν τις διατροφικές τους ανάγκες χρησιμοποιούν μόνο το μητρικό τους γάλα για λίγες μόνο ημέρες ή το πολύ μήνες μετά τη γέννησή τους , ο άνθρωπος χρησιμοποιεί το γάλα και άλλων θηλαστικών και μάλιστα σε όλες τις ηλικίες.(Ζαρμπούτης, 1994).

1.2.2. Παραγωγή γάλακτος

Διάφορα είδη ζώων χρησιμοποιούνται για την παραγωγή γάλακτος. Το αγελαδινό γάλα έχει τη μεγαλύτερη σπουδαιότητα. Η συμμετοχή του στην παγκόσμια παραγωγή ανέρχεται στο 90%. Μετά το αγελαδινό ακολουθούν το βουβαλίσιο (5%), το γίδινο (3%), και το πρόβειο (2%). Στη χώρα μας, όμως, το πρόβειο και το γίδινο γάλα έχουν πολύ μεγαλύτερη συμμετοχή στη συνολική παραγωγή γάλακτος σε σύγκριση με άλλες χώρες. Είναι αξιοσημείωτο ότι η χώρα μας παράγει περίπου το 30% του συνολικά παραγόμενου πρόβειου και γιδίνου γάλακτος στην Ευρωπαϊκή Ένωση(ΕΕ).

Μεταξύ των κρατών – μελών της ΕΕ, η χώρα μας κατέχει, μαζί με τη Γαλλία, ισότιμα την πρώτη θέση στην παραγωγή γίδινου γάλακτος και τη δεύτερη, μετά τη Ιταλία, στη παραγωγή πρόβειου. Ενώ, όμως, η συμμετοχή του πρόβειου και γίδινου γάλακτος στη συνολική παραγωγή γάλακτος στη Γαλλία είναι μικρότερη του 5%, στην Ελλάδα υπερβαίνει το 60%. Σε παγκόσμια κλίμακα, ελάχιστες χώρες η ποσοστιαία συμμετοχή του γίδινου και πρόβειου γάλακτος προσεγγίζει ή υπερβαίνει αυτή της χώρας μας. Η συνολική ετήσια παραγωγή του πρόβειου γάλακτος τα τελευταία χρόνια κυμαίνεται από 600 έως 700 χιλιάδες τόνους, ενώ του γίδινου από 400 έως 500 χιλιάδες τόνους. Η μεγαλύτερη συμμετοχή πρόβειου και γίδινου γάλακτος στη συνολική παραγωγή γάλακτος στη χώρα μας αποτελεί ένα ιδιαίτερο χαρακτηριστικό σε σύγκριση με τις άλλες χώρες της ΕΕ. Το μεγαλύτερο ποσοστό του αγελαδινού γάλακτος χρησιμοποιείται για την παρασκευή παστεριωμένου γάλακτος και ένα μικρότερο ποσοστό για την παρασκευή άλλων προϊόντων. Το πρόβειο και γίδινο γάλα αξιοποιούνται κυρίως για την παρασκευή τυριών σε ποσοστά που υπερβαίνουν αντίστοιχα το 80% και 70%. Το 87% της συνολικής μας παραγωγής σε τυριά παρασκευάζονται από γίδινο και πρόβειο γάλα, με κυριότερο εκπρόσωπο τη Φέτα. Η επεξεργασία τους γινόταν συνήθως σε μικρές βιοτεχνίες (τυροκομεία), ενώ του αγελαδινού σε μεγαλύτερες μονάδες (Κεχαγιάς, 2011).

Σύμφωνα με την Ελληνική νομοθεσία, γάλα είναι το απαλλαγμένο από πρωτόγαλα προϊόν που παίρνουμε από τους μαστούς γαλακτοφόρου ζώου μετά από ένα πλήρες, ολοκληρωτικό και χωρίς διακοπή άρμεγμα ζώων που έχουν καλά στην υγεία τους, διατηρούνται και διατρέφονται καλά και δεν καταπονούνται. Όταν η λέξη γάλα δεν συνοδεύεται από κάποιο επίθετο που να δηλώνει την προέλευση του, εννοείται ότι το γάλα είναι αγελαδινό. Όταν όμως προέρχεται από άλλο ζώο, υποχρεωτικά πρέπει να συνοδεύεται από λέξεις που να δηλώνουν την προέλευση του (πρόβειο, γίδινο, βουβαλίσιο, κλπ.). Παραπλήσιοι ορισμοί για το γάλα δίδονται και στις νομοθεσίες άλλων χωρών. Στη νομοθεσία της χώρας μας, σα νωπό χαρακτηρίζεται το γάλα που διατίθεται στην κατανάλωση χωρίς καμία επεξεργασία, με εξαίρεση τη διήθηση και ψύξη. Παραπλήσιος ορισμός περιλαμβανόταν και στον πρώτο βασικό κανονισμό 1411/71 της ΕΟΚ, όπως και στην οδηγία 92/46 και τον κανονισμό (ΕΚ) αριθμ. 853/2004 και στις περιπτώσεις αυτές με τον όρο νωπό (raw) νοείται το γάλα που διατίθεται στην κατανάλωση και το οποίο δεν έχει υποστεί θερμική επεξεργασία ή άλλη ισοδύναμη επίδραση άνω των 40 °C. Ο όρος όμως

νωπό, τόσο στον ελληνικό χώρο όσο και στο διεθνή, χρησιμοποιείται πολλές φορές και με την έννοια του φρέσκου, πράγμα που δημιουργεί σύγχυση. Χρησιμοποιείται π.χ. συχνά ο όρος <<νωπό βούτυρο>>. Στην περίπτωση αυτή ο όρος νωπό δεν έχει την έννοιά ότι το βούτυρο παρασκευάστηκε από νωπό γάλα, αλλά ότι είναι φρέσκο και ότι δεν ήταν συντηρημένο με κατάψυξη πριν δοθεί στην κατανάλωση. Επίσης μερικές φορές χρησιμοποιείται ο όρος <<νωπά γαλακτοκομικά προϊόντα>> (γιαούρτη, παστεριωμένο γάλα) και στη περίπτωση αυτή ο όρος νωπό χρησιμοποιείται για να υποδηλώσει κάτι που δεν συντηρείται για μεγάλο χρονικό διάστημα. (Κεχαγιάς, 2011).

1.2.3. Βασικά συστατικά γάλακτος

Τα βασικά συστατικά γάλακτος από τα διάφορα είδη μηρυκαστικών το γάλα των οποίων χρησιμοποιείται για ανθρώπινη κατανάλωση είναι τα ίδια, υπάρχουν όμως ποσοτικές διαφορές. Στα βασικά συστατικά γάλακτος που χαρακτηρίζονται και ως κύρια, περιλαμβάνονται η λακτόζη, το λίπος, οι πρωτεΐνες και τα άλατα. Εκτός από τα κύρια συστατικά, το γάλα περιέχει πολλά άλλα συστατικά τα οποία χαρακτηρίζονται ως <<δευτερεύοντα>>, χωρίς ο όρος αυτός να σχετίζεται και με τη σημασία που έχουν στη διατροφή του ανθρώπου, αφού σ' αυτά περιλαμβάνονται οι βιταμίνες, σάκχαρα εκτός από τη λακτόζη (αμινοσάκχαρα), ιχνοστοιχεία, ορμόνες, ένζυμα, αντιμικροβιακές ουσίες.

Παρακάτω αναφέρονται οι κυριότεροι παράγοντες που επηρεάζουν ποσοτικά ή ποιοτικά τα συστατικά του γάλακτος:

- Το είδος και η φυλή του ζώου
- Το κληρονομικό δυναμικό του ζώου
- Ο αριθμός των αμέλξεων ανά εικοσιτετράωρο
- Η περίοδος της ημέρας (πρωί ή απόγευμα)
- Η σωματική κατάσταση του ζώου (κυρίως κατά το χρόνο του τοκετού)
- Η διάρκεια της ξηρής περιόδου

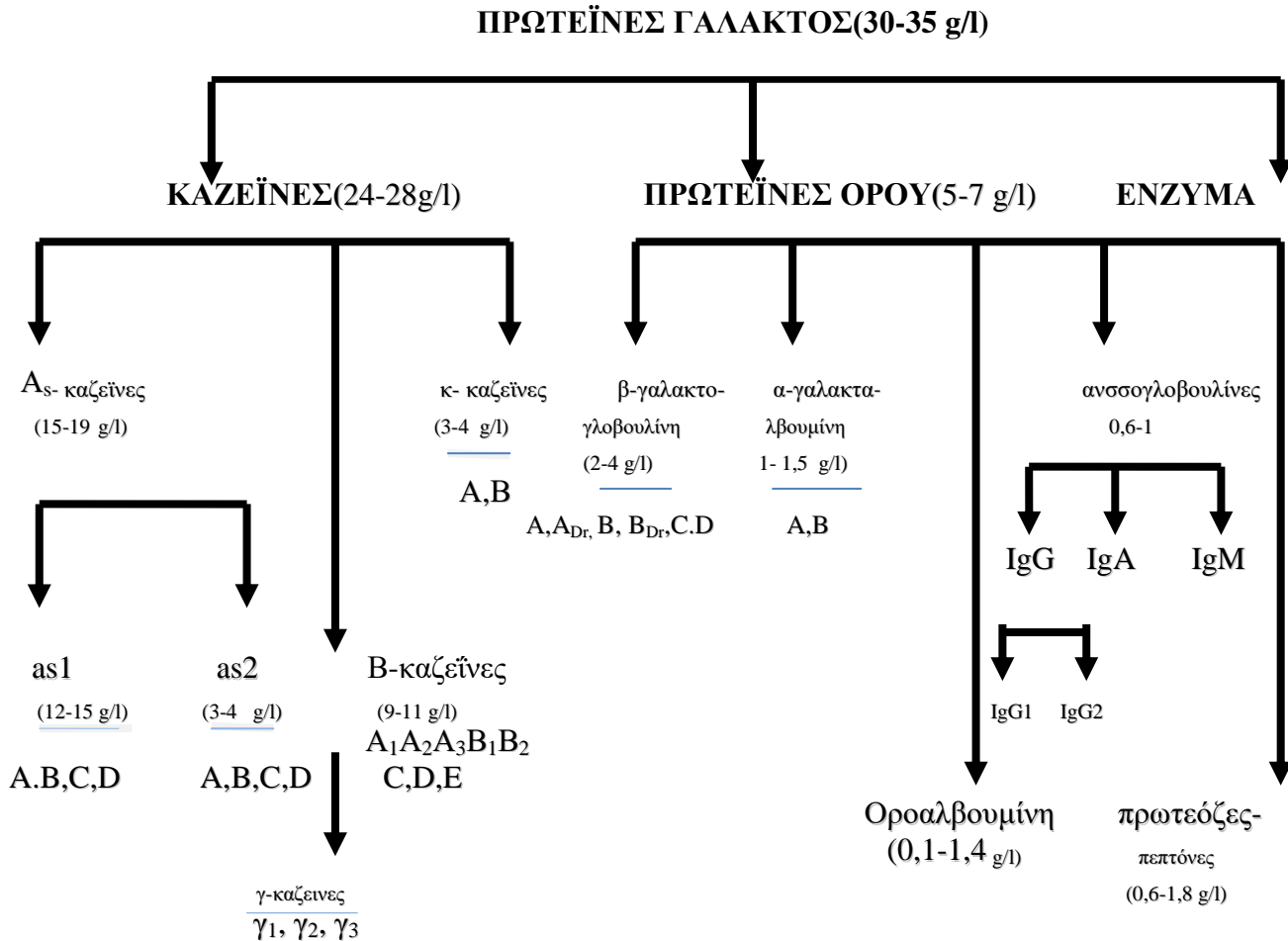
- Η συχνότητα των τοκετών
- Ο οργανισμός
- Η ηλικία του ζώου
- Η κόπωση των ζώων και η συμπεριφορά του ανθρώπου σ' αυτά
- Η υγιεινή κατάσταση του ζώου
- Οι συνθήκες διατροφής
- Το στάδιο της γαλακτικής περιόδου
- Η θερμοκρασία περιβάλλοντος
- Ο τρόπος άμελξης

1.2.4. Πρωτεΐνες

Αρχικά έχει παρατηρηθεί ότι με την οξίνιση του γάλακτος σε $\text{pH}=4,6$ στους 20°C κατακρημνίζονταν το μεγαλύτερο μέρος των πρωτεϊνών, το οποίο και ονομάστηκε καζεΐνη, ενώ το υπόλοιπο μέρος του γάλακτος (ορός) περιείχε τις πρωτεΐνες του ορού. Η καζεΐνη στο ισοηλεκτρικό της σημείο ($\text{pH}=4,6$) κατακρημνίζεται, ενώ οι πρωτεΐνες του ορού στο ισοηλεκτρικό τους σημείο που είναι σε pH στην περιοχή του 5,0 παραμένουν εν διαλύσει. Αυτή είναι η πρώτη βασική διαφορά καζεΐνης-πρωτεϊνών ορού. Στην ιδιότητα αυτή της καζεΐνης βασίζεται η παρασκευή των ζυμωμένων ειδών γάλακτος (γιαούρτη, κεφίρ). Οι καζεΐνες αποτελούν περίπου το 80% των πρωτεϊνών του γάλακτος. Αποτελούνται από τις $\alpha\text{s}1$ -καζεΐνες, τις $\alpha\text{s}2$ -καζεΐνες, τις β -καζεΐνες και τις κ -καζεΐνες. Φαίνονται επίσης τέσσερις γενετικές παραλλαγές της $\alpha\text{s}1$ -καζεΐνης, τέσσερις της $\alpha\text{s}2$ -καζεΐνης, οκτώ της β -καζεΐνης και οι δύο της κ -καζεΐνης. Οι κυριότερες πρωτεΐνες που ανήκουν στην ομάδα των πρωτεϊνών του

ορού είναι: η β-γαλακτογλοβουλίνη, η α-γαλακταλβουμίνη, οι ανοσογλοβουλίνες, η οροαλβουμίνη και οι πρωτεόζες- πεπτόνες.

Σχήμα 1: Πρωτεΐνες γάλακτος με ορισμένες γενετικές παραλλαγές, μέσα στην παρένθεση δίδεται η περιεκτικότητα σε g/l



Πηγή: Κεχαγιάς, 2011

1.2.5. Λακτόζη

Η λακτόζη είναι υδατάνθρακας και υπάρχει μόνο στο γάλα. Οι ποσότητες διαφέρουν: το αγελαδινό γάλα περιέχει περίπου 4,6% λακτόζη, ενώ το ανθρώπινο περίπου το 7%. Οι διακυμάνσεις της περιεκτικότητας σε λακτόζη είναι πολύ μικρότερες σε σύγκριση με τα άλλα κύρια συστατικά του γάλακτος, το λίπος και τις πρωτεΐνες. Η λακτόζη είναι δισακχαρίτης που σχηματίζεται από την ένωση ενός μορίου D-γλυκόζης και ενός μορίου D-γαλακτόζης. Οι δύο μονοσακχαρίτες ενώνονται μεταξύ τους με την αλδευδική ομάδα της D-γαλακτόζης, ενώ η αλδευδική ομάδα της γλυκόζης είναι ελεύθερη. Η λακτόζη εμφανίζεται με δύο ισομερείς μορφές, την α και τη β, που διακρίνονται μεταξύ τους από τη θέση του υδροξυλίου στο μόριο της γλυκόζης (Κεχαγιάς, 2011).

1.2.6. Λιπίδια

Το λίπος του γάλακτος εκκρίνεται με τη μορφή σφαιριδίων, τα οποία περιβάλλονται από μεμβράνη. Η παρουσία της μεμβράνης, αφενός μεν εξασφαλίζει τη σφαιρική μορφή και αφετέρου επιτρέπει τη διασπορά του λίπους σ' ένα υδατικό περιβάλλον, όπως είναι αυτό του γάλακτος. Τα λιποσφαίρια δεν έχουν όλα το ίδιο μέγεθος, υπάρχουν διαφορές. Αποτελούνται αποκλειστικά από τριγλυκερίδια, ενώ οι μεμβράνες που τα περιβάλλουν από πιο πολύπλοκες κατηγορίες λιπιδίων. Τα τριγλυκερίδια αποτελούν τη βασικότερη κατηγορία λιπιδίων και αποτελούν το 97-98% των ολικών λιπιδίων. Τα τριγλυκερίδια είναι εστέρες της γλυκερίνης με διάφορα λιπαρά οξέα. Οι κυριότερες κατηγορίες λιπιδίων στα διάφορα είδη γάλακτος είναι: τριγλυκερίδια, διγλυκερίδια, μονογλυκερίδια, εστέρες χοληστερόλης, χοληστερόλη, ελεύθερα λιπαρά οξέα, φωσφολιπίδες (Κεχαγιάς, 2011).

1.2.7. Άλατα

Στο γάλα, με τον όρο άλατα εννοούμε τις ουσίες εκείνες που βρίσκονται σ' αυτό υπό τη μορφή ιόντων ή μη ιονισμένες(στο pH που έχει το γάλα), σχετικά μικρού μοριακού βάρους (300). Τα άλατα του γάλακτος παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον από θρεπτική και τεχνολογική άποψη: α) το ασβέστιο και ο φώσφορος έχουν ιδιαίτερη σημασία για τη διατροφή του ανθρώπου, β) η σταθερότητα της καζεΐνης εξαρτάται από τα άλατα, ενώ από έλλειψη ισορροπίας αλάτων παρουσιάζεται αστάθεια του γάλακτος κατά τη θερμική επεξεργασία, γ) ο χρόνος πήξεως του γάλακτος μετά από προσθήκη πυτιάς για παρασκευή τυριού επηρεάζεται από τα ιόντα ασβεστίου, δ) τα κιτρικά άλατα παίζουν σημαντικό ρόλο στο σχηματισμό αρωματικών ουσιών σε ζυμωμένα γαλακτοκομικά προϊόντα (βούτυρο, βουτυρόγαλα) και ε) μερικά μέταλλα (χαλκός και σίδηρος) καταλύουν την οξειδωση του λίπους του γάλακτος (Κεχαγιάς, 2011).

1.2.8. Λοιπά συστατικά

Από τα υπόλοιπα συστατικά του γάλακτος, αξίζει να γίνει αναφορά στα ένζυμα εκείνα που υπάρχουν φυσιολογικά στο γάλα ως προϊόντα εκκριτικής δραστηριότητας των ζώων και τις βιταμίνες. Τα συστατικά αυτά χαρακτηρίζονται ως δευτερεύοντα επειδή βρίσκονται σε μικρές ποσότητες σε σχέση με τα κύρια συστατικά του γάλακτος, εντούτοις η σημασία τους είναι μεγάλη διότι τα ένζυμα καταλύουν πολλές αντιδράσεις και οι βιταμίνες είναι πολύτιμα συστατικά για τη διατροφή του ανθρώπου. Το γάλα περιέχει όλες τις απαραίτητες για τον οργανισμό βιταμίνες. Μεταξύ των βιταμινών, όμως, του γάλακτος, σπουδαιότερες θεωρούνται οι Α, Β¹,(θειαμίνη), Β² (ριβοφλαβίνη), Β¹²(κομπαλαμίνη), νικοτινικό οξύ, παντοθενικό οξύ, αφού με την κατανάλωση γάλακτος και των προϊόντων καλύπτεται ένα σχετικά μεγάλο ποσοστό της Συνιστώμενης Ημερήσιας Πρόσληψης (RDI) (Κεχαγιάς, 2011).

1.3. Επεξεργασία γάλακτος

Το γάλα επειδή αποτελεί ένα θαυμάσιο μέσο ανάπτυξης των μικροοργανισμών είναι απαραίτητο αμέσως μετά το άρμεγμα να κάνουμε δύο δουλειές. Το στράγγισμα ή διήθηση και την ψύξη, ώστε να διατηρηθεί σε καλή ποιοτική κατάσταση μέχρι της παραλαβής του από το εργοστάσιο. (Ζαρμπούτης, 1994). Η κυριότερη επεξεργασία του γάλακτος που πρόκειται να διατεθεί στην κατανάλωση ή να μετατραπεί σε ορισμένα άλλα γαλακτοκομικά προϊόντα είναι η παστερίωση. Παράλληλα όμως υφίσταται και ορισμένους άλλους χειρισμούς όπως διήθηση, τυποποίηση ως προς το λίπος και ενίοτε ομοιογενοποίηση. (Μάντης, 2000, 2005, 2011).

1.3.1. Διήθηση

Είναι η απαραίτητη εργασία που αποσκοπεί στην απομάκρυνση από το γάλα των ξένων στοιχείων (κυττάρων, φυτικών ινών, χόματος, βακτηρίων κ.ά) τα οποία και στην καλύτερη περίπτωση ανέρχονται τουλάχιστον σε 1 kg/10000 λίτρα γάλακτος.

Η διήθηση γίνεται με τη χρήση ειδικών φυγοκεντρικών διηθητήρων-διαχωριστήρων, οι οποίοι σε ορισμένες περιπτώσεις έχουν τη δυνατότητα να κάνουν, εφόσον είναι επιθυμητό και διαχωρισμό κρέμας. Τα κύτταρα και οι άλλες ξένες ύλες καθώς και μεγάλος αριθμός βακτηρίων συγκεντρώνονται στην περιφέρεια του διαχωριστήρα με τη μορφή ιλύος και απομακρύνονται κατά διαστήματα. (Μάντης, 2000, 2005, 2011).

1.3.2. Ψύξη

Η ψύξη του γάλακτος αποτελεί μέσο για τη συντήρηση του γάλακτος καλής ποιότητας και ότι δεν καταστρέφει τους μικροοργανισμούς αλλά αναστέλλει την

ανάπτυξή τους. Βασική προϋπόθεση επομένως για να είναι αποτελεσματικός ο χειρισμός του γάλακτος με την ψύξη είναι το γάλα να είναι καθαρό και να περιέχει μικρό αριθμό μικροοργανισμών ψύχουμε το γάλα αμέσως μετά το άρμεγμα. Η ψύξη και η συντήρηση του γάλακτος σε χαμηλές θερμοκρασίες μέχρι να φτάσει στη γαλακτοβιομηχανία μπορεί να γίνει

- Στο στάβλο

-Να υπάρχει στο χωριό σταθμός συγκεντρώσεων και ψύξης, όπου ο κάθε παραγωγός πρέπει αμέσως μετά το άρμεγμα να μεταφέρει το γάλα

-Να υπάρχει ένα κέντρο ψύξης σε ένα κεντρικό χωριό όπου συγκεντρώνεται το γάλα των γύρω απ' αυτό χωριών.

Στην περίπτωση αυτή χρησιμοποιείται πλακοειδής ψυκτήρας που επιτρέπει τη γρήγορη ψύξη ποσοτήτων γάλακτος. Η διατήρηση του γάλακτος μετά την ψύξη γίνεται σε χαμηλές δεξαμενές με θερμομόνωση. Η ψύξη του γάλακτος επιτυγχάνεται με δύο μεθόδους. 1) Χρησιμοποιούμε ψυκτικές δεξαμενές όπου το ψυκτικό μέσο εκτονώνεται απ' ευθείας στα τοιχώματα της και ψύχει το γάλα..

2) Κατά την δεύτερη μέθοδο ψύξης χρησιμοποιούνται ψυκτικές δεξαμενές όπου το ψυκτικό μέσο εκτονώνεται σ' ένα χώρο που περιβάλλεται από νερό, το ψύχει και στη συνέχεια το παγωμένο νερό ψύχει το γάλα. Η ψύξη δεν καταστρέφει τους μικροοργανισμούς, απλά αναστέλλει την ανάπτυξή τους.

-Δεν βελτιώνει την ποιότητα.

-Το κακής ποιότητας γάλα όταν αναμιχθεί με καλής ποιότητας τότε μολύνεται.

-Για να έχουμε καλά αποτελέσματα με την ψύξη θα πρέπει να γίνεται στους 4°C .

-Ψύξη γύρω απ' τους 10°C προκαλεί αλλοιώσεις.

-Οι σταθμοί προψύξεως εφόσον λειτουργούν σωστά βοηθούν σημαντικά στη διατήρηση της ποιότητας του γάλακτος .

-Πέρα των 24 ωρών διατήρηση του γάλακτος σε χαμηλές θερμοκρασίες, προκαλεί φυσικοχημικές αλλαγές στο γάλα που δεν προσφέρεται για τυροκόμηση. (Ζαρμπούτης, 1994).

1.3.3. Παστερίωση

Η παστερίωση του γάλακτος αποσκοπεί στην εξυγίανση του με την καταστροφή των επικινδύνων για το άνθρωπο μικροοργανισμών. Συγχρόνως επιδιώκεται μείωση όσο το δυνατόν περισσότερο του αριθμού των μη παθογόνων βακτηρίων καθώς και η αδρανοποίηση των περισσότερων ενζυμικών συστημάτων του. Με τον τρόπο αυτό συντηρείται για περισσότερο χρόνο, επειδή ο χρόνος συντηρήσεως περιορίζεται από τη δράση της σαπρόφυτης κυρίως χλωρίδας του. Παράλληλα πρέπει να διαφυλαχθούν, η θρεπτική αξία και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του προϊόντος. Δύο είναι τα είδη της παστερίωσης που χρησιμοποιούνται 1) η βραδεία παστερίωση ή παστερίωση LTLT (Low Temperature Long Time) και η 2) Ταχεία παστερίωση ή παστερίωση HTST (High Temperature Short Time). Η βραδεία παστερίωση ή παστερίωση LTLT (Low Temperature Long Time) πρόκειται για την αρχαιότερη χρονολογικά μέθοδο που όμως έχει εφαρμογή ακόμα και σήμερα γιατί παρουσιάζει ορισμένα πλεονεκτήματα. Το γάλα θερμαίνεται, χωρίς διακοπή στους 62-65 °C/30 min. Η θέρμανση γίνεται σε ειδικούς λέβητες με διπλά τοιχώματα, στα οποία κυκλοφορεί θερμό νερό ή ατμός. Ο κάθε λέβητας είναι εφοδιασμένος με θερμορυθμιστικούς και καταγραφικούς μηχανισμούς για τον έλεγχο της θερμοκρασίας και του χρόνου θερμάνσεως. Η λειτουργία είναι ασυνεχής, αλλά μπορεί να συνδεθούν πολλοί λέβητες κατά τέτοιον τρόπο ώστε να υπάρχει συνεχής τροφοδοσία γραμμής (Kay, 1962, Davis, 1963). Η μέθοδος έχει αντικατασταθεί σχεδόν από την ταχεία παστερίωση η οποία πλεονεκτεί συγκριτικά σε πολλά σημεία. Η βραδεία προσφέρεται για επεξεργασία μικρών ποσοτήτων γάλακτος από μικρές μονάδες, οι οποίες πρέπει να παστεριώσουν το γάλα προκειμένου να το χρησιμοποιήσουν στη παραγωγή διαφόρων γαλακτοκομικών προϊόντων. Ενώ η Ταχεία παστερίωση ή παστερίωση HTST (High Temperature Short Time) είναι η επικρατέστερη μέχρι σήμερα μέθοδος παστερίωσης και χρησιμοποιείται για την εξυγίανση όλης σχεδόν της ποσότητας γάλακτος που καταναλώνεται σε όλο τον κόσμο ως παστεριωμένο. Το γάλα πρέπει να θερμανθεί τουλάχιστον στους 72 °C για χρόνο τουλάχιστον 15 sec. Η καταστροφή των επικινδύνων για τη Δημόσια Υγεία

μικροοργανισμών δεν είναι αποτέλεσμα μόνο του παραπάνω συνδυασμού χρόνου και θερμοκρασίας αλλά επιτυγχάνεται κυρίως με το θερμικό σοκ που επιφέρεται στα βακτήρια διότι:- το γάλα από 4⁰ C περίπου θερμαίνεται εντός δευτερολέπτων στους 72⁰ C

-παραμένει στη θερμοκρασία 72⁰ C για 15 sec και ψύχεται και πάλι σε θερμοκρασία κάτω των 7⁰ C εντός δευτερολέπτων.

Οι απότομες μεταβολές της θερμοκρασίας επιτυγχάνονται με ειδικά συστήματα ανταλλαγής θερμότητας (heat exchangers) στα οποία το γάλα ρέει με ορισμένη ταχύτητα και σε πολύ λεπτό στρώμα κατά μήκος των κυψελίδων του εναλλακτήρα (παστεριωτήρα) όπου προθερμαίνεται, θερμαίνεται και ψύχεται διαδοχικά. Υπάρχουν πολλοί τύποι εναλλακτήρων θερμότητας (σωληνοειδείς, ελασματοειδείς κ.ά), αλλά αυτός που έχει επικρατήσει στην παστερίωση του γάλακτος είναι πλακοειδής. (Μάντης, ,2000, 2005, 2011).

1.4. Είδη γάλακτος

- **Νωπό γάλα** : χαρακτηρίζεται το πλήρες γάλα που δεν έχει υποστεί καμιά άλλη επεξεργασία, εκτός από διήθηση, ομογενοποίηση και ψύξη. Το νωπό γάλα δεν πρέπει να περιέχει πρωτόγαλα, χρωστικές ουσίες και οποιουδήποτε είδους αιωρήματα, δεν πρέπει να προέρχεται από άρρωστα ζώα ή ζώα που διατρέφονται με φάρμακα και ουσίες, δεν πρέπει να περιέχει συντηρητικά αλλά ούτε και πρόσθετα σάκχαρα , ούτε πρόσθετο νερό. (Διαιτολογία, 2015.)
- **Παστεριωμένο γάλα** : είναι το γάλα που υποβάλλεται σε ήπια παστερίωση ή θερμική επεξεργασία ώστε να καταστραφούν όλοι οι παθογόνοι μικροοργανισμοί οι οποίοι είναι επικίνδυνοι για την υγεία του ανθρώπου. Επιπλέον εκτός από τους επικίνδυνους μικροοργανισμούς μειώνεται και ο αριθμός των μη παθογόνων και έτσι μεγαλώνει ο χρόνος συντήρησης του

γάλακτος (Ζαρμπούτης, 1994). Διατίθεται προς πώληση σε στεγανά δοχεία που φέρουν στο πάμα τους την ημερομηνία παστερίωσης. Κατά την παστερίωση σκοτώνεται το 95-99% των βακτηριδίων. Στην συνέχεια το γάλα αυτό πρέπει να διατηρείται συνέχεια στο ψυγείο.

- **γάλα μακράς διάρκειας U.H.T.** (ultra high temperature), ή αλλιώς γάλα υψηλής θερμικής επεξεργασίας είναι το γάλα που θερμαίνεται στην υψηλή θερμοκρασία των 135-150⁰ C για χρόνο μερικών sec και στη συνέχεια συσκευάζεται άσηπτα. (ΜΑΝΤΗΣ, ,2000, 2005, 2011). Με την αποστείρωση στοχεύουμε στην ολική καταστροφή των ενζύμων των μικροοργανισμών των βλαστικών μορφών, καθώς και των τοξινών τους ώστε να γίνει κατάλληλο προς κατανάλωση. Συντηρείται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος 20-22⁰ C για περισσότερο από ένα εξάμηνο μενεκτή σε σχέση με τις άλλες μορφές γάλακτος με μακρά διάρκεια ζωής (εβαπορέ, ζαχαρούχα κ.τ.λ.), γιατί διατηρεί όλα σχεδόν τα συστατικά του φρέσκου παστεριωμένου γάλακτος, λόγω, που η θερμική του κατεργασία είναι πολύ ταχύτατη (2 sec) (Ζαρμπούτης, 1994).
- **αποστειρωμένο γάλα:** είναι το γάλα που έχει μακρόχρονη συντήρηση και παράλληλη διατήρηση των οργανοληπτικών και θρεπτικών χαρακτηριστικών του, και χαρακτηρίζεται ως γάλα μακράς διάρκειας (long life milk) (Μάντης, ,2000, 2005, 2011).
- **Συμπυκνωμένο γάλα :** είναι το προϊόν που προέρχεται από το πλήρες, μερικώς αποβουτυρωμένο ή αποβουτυρωμένο γάλα ύστερα από εξάτμιση μέρους του νερού του και στο οποίο προσθέεται ή όχι σάκχαρο. Η συμπύκνωση έχει ως σκοπό την ελάττωση του όγκου του γάλακτος και τη μείωση του κόστους συσκευασίας και μεταφοράς. Συνδυάζεται δε είτε με αποστείρωση είτε με βιοσταθεροποίηση (προσθήκη σακχαρόζης), ώστε το προϊόν να μπορεί να συντηρηθεί για μεγάλο χρονικό διάστημα. Το συμπυκνωμένο γάλα διακρίνεται: α) σε αποστειρωμένο συμπυκνωμένο ή εβαπορέ: σύμφωνα με την Κοινοτική και την Ελληνική νομοθεσία(Οδηγ.76/118, 78/630, 79/1067, Π.Δ 518/83) χαρακτηρίζεται ως «γάλα μερικώς αφυδατωμένο, που λαμβάνεται με μερική αφυδάτωση του πλήρους γάλακτος, του μερικά ή ολικά αποβουτυρωμένου γάλακτος ή

μίγματος αυτών των προϊόντων, ενδεχομένως ενισχυμένων με κρέμα γάλακτος, με γάλα ολικά αφυδατωμένο ή με τα δύο αυτά προϊόντα. Η προσθήκη του ολικά αφυδατωμένου γάλακτος πρέπει να μη ξεπερνά στο τελικό προϊόν το 25% του ολικού στερεού υπολείμματος του γάλακτος». β) σε συμπυκνωμένο σακχαρούχο ή απλώς σακχαρούχο: χαρακτηρίζεται το γάλα που προέρχεται από μερική αφυδάτωση του γάλακτος και προσθήκη σακχάρων. Ο ελληνικός Κώδικας Τροφίμων και Ποτών(1998) και το Π.Δ. 518/83 ορίζει ότι το συμπυκνωμένο σάκχαρο γάλα μπορεί να κυκλοφορεί σε 3 τύπους ανάλογα με τη λιποπεριεκτικότητάς του (Ζαρμπούτης, 1994).

- **Κατεψυγμένο :** είναι το νωπό γάλα που μετά την συλλογή και την παστερίωση του, υποβάλλεται σε ταχεία κατάψυξη και διατήρηση στους - 15οc. Το γάλα αυτό διατίθεται προς πώληση μετά την πλήρη απόψυξη του. (ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑ, 2015.)
- **Αποβουτυρωμένο γάλα :** είναι αυτό που μένει νωπό μετά από την αφαίρεση του λίπους του με μηχανική επεξεργασία, χωρίς καμία άλλη προσθήκη. Στο γάλα αυτό, το λίπος δεν πρέπει να υπερβαίνει το 0,2%. Στην συνέχεια υφίσταται παστερίωση και πωλείται (Ζαρμπούτης, 1994).
- **Ημιαποβουτυρωμένο γάλα :** είναι το νωπό γάλα από το οποίο αφαιρέθηκε μέρος του λίπους του, χωρίς καμία άλλη προσθήκη. Το λίπος εδώ δεν πρέπει να υπερβαίνει το 1,5 με 1,8%. Στην συνέχεια υφίσταται παστερίωση και πωλείται (Ζαρμπούτης, 1994).
- **Μερικώς αποβουτυρωμένο γάλα :** είναι ακριβώς το ίδιο με το ημιαποβουτυρωμένο γάλα, με την διαφορά ότι εδώ το λίπος πρέπει υποχρεωτικά να είναι πάνω από 1,8%, κάτι που πρέπει να αναγράφεται υποχρεωτικά και ακριβώς στην συσκευασία του. Το γάλα αυτό διατίθεται στο εμπόριο μόνο μετά από ειδική έγκριση. (Διαιτολογία, 2015.)
- **Σκόνη γάλακτος:** νοείται το προϊόν που προκύπτει μετά από συμπύκνωση του νωπού γάλακτος και το οποίο περιέχει υγρασία μέχρι το πολύ 5%. Σκόνη γάλακτος παράγεται από πλήρες γάλα (έχει το μειονέκτημα ότι διατηρείται για λίγο χρονικό διάστημα) από άπαχο γάλα, επίσης από τυρόγαλο. Παραγωγή γάλα σκόνης με την μέθοδο της εκνεφώσεως του ψεκασμού- (Spray drying) (Ζαρμπούτης, 1994).

1.5. Ζυμωμένα προϊόντα

1.5.1. Γενικά

Πρόκειται μια σειρά από προϊόντα τα οποία παράγονται ύστερα από ζύμωση και όξινη πήξη γάλακτος με τη βοήθεια οξυγαλακτικών βακτηρίων. Η Διεθνής Ένωση Γάλακτος (FIL-IDF) ορίζει σαν ‘ζυμωμένα γάλατα’ (Fermented milks) ‘ τα προϊόντα που παρασκευάζονται από γάλακτα (πλήρη, μερικώς ή πλήρως αποβουτυρωμένα, συμπυκνωμένα, ή παρασκευασμένα από σκόνη γάλακτος πλήρως ή μερικώς αποβουτηρωμένη) ομογενοποιημένα ή όχι, παστεριωμένα ή αποστειρωμένα και ζυμωμένα με τη βοήθεια ειδικών μικροοργανισμών ’ (FIL-IDF, 1969). Ανάμεσα στα προϊόντα αυτά πρωταρχική θέση σε παγκόσμια κλίμακα κατέχει η γιαούρτη, ενώ μεγάλης σημασίας για ορισμένες χώρες είναι επίσης και προϊόντα όπως τα κεφίρ, κουμίσ και οξύγαλα. (Μάντης, ,2000, 2005, 2011).

Υπάρχει σε παγκόσμια κλίμακα μεγάλη ποικιλία προϊόντων που μπορούν να περιληφθούν στα ζυμωμένα γάλατα. Παραδοσιακά προϊόντα με διαφορετικές ονομασίες έχουν καθιερωθεί στις διαφορετικές χώρες. Στη χώρα μας η γιαούρτη με συνεκτική δομή είναι παραδοσιακά το πιο γνωστό προϊόν της κατηγορίας αυτή. Σε ορισμένες χώρες της Β. Ευρώπης (Ολλανδία, Βέλγιο) είναι καθιερωμένη η γιαούρτη με λιγότερο συνεκτική δομή (ημίρρευστη), καθώς και το βουτυρόγαλα (ξινόγαλα). Μερικά άλλα προϊόντα που έχουν καθιερωθεί σε άλλες χώρες είναι: το Κεφίρ (Ρωσία), Dahi (Ινδία), Zabad (Αίγυπτος) ,Ymer (Δανία), Villi (Φιλανδία), Acidophilus (Σουηδία). Μερικά παραδοσιακά προϊόντα διατήρησαν τα χαρακτηριστικά τους, σε άλλα έγιναν αλλαγές στον τρόπο παρασκευής τους, με την εισαγωγή νέας τεχνολογίας. Παράλληλα, έγιναν τροποποιήσεις στη σύνθεση του γάλακτος, κυρίως με ελάττωση της λιποπεριεκτικότητας ή αύξηση της περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη, για να καλυφθούν οι απαιτήσεις των καταναλωτών για προϊόντα με λιγότερα λιπαρά (ελάττωση θερμίδων) και βελτιωμένη συνεκτικότητα (με την αύξηση των πρωτεϊνών). Βελτιωτικά γεύσης (φρούτα, γλυκαντικές ύλες, δημητριακά) σε διαφορετικές ποσότητες προστίθενται για να προσελκύσουν ευρύτερα το καταναλωτικό κοινό. Μεγαλύτερες καινοτομίες στα ζυμωμένα γάλατα έχουν προκύψει από τη συσσώρευση γνώσεων τόσο για τους μικροοργανισμούς που παραδοσιακά χρησιμοποιούνται στην παρασκευή των προϊόντων, καθώς και για νέους μικροοργανισμούς δημιούργησε νέα δεδομένα και νέα προϊόντα. Σε ορισμένες

χώρες, μαζί με τους μικροοργανισμούς της γιαούρτης προστίθενται για τη ζύμωση του γάλακτος και προβιοτικοί μικροοργανισμοί. Προβληματισμός προέκυψε για το αν ένα τέτοιο προϊόν θα πρέπει να διατηρήσει την παραδοσιακή του ονομασία. Σε ορισμένες χώρες γίνεται θερμική επεξεργασία σε ζυμωμένα γάλατα μετά τη ζύμωση, με σκοπό την αύξηση της διάρκειας ζωής των προϊόντων. Παρ' όλα αυτά εξακολουθούν να χρησιμοποιούν την ίδια ονομασία για το προϊόν, παρά την καταστροφή που υπέστησαν οι ωφέλιμοι μικροοργανισμοί και ένζυμα, όπως η β-γαλακτοσιδάση στην περίπτωση της γιαούρτης, που παίζει σημαντικό ρόλο στη διάσπαση της λακτόζης. Σε άλλες χώρες, όταν γίνει θερμική επεξεργασία δεν επιτρέπεται να χρησιμοποιηθεί το παραδοσιακό όνομα για το προϊόν. (Κεχαγιάς, 2011).

1.5.2. Είδη ζυμωμένων προϊόντων

1.5.2.1. Γιαούρτη

Ως γιαούρτη κατά την ελληνική νομοθεσία (Κ.Τ.Π., 1988), χαρακτηρίζεται το προϊόν 'το οποίο προκύπτει μετά από πήξη αποκλειστικά και μόνο νωπού γάλακτος της αντίστοιχης προς ονομασία φύσης και προέλευσης με την επίδραση καλλιέργειας ζύμης που προκαλεί ειδική ζύμωση' (Κεχαγιάς, 2011).

Σύμφωνα με τον Codex Alimentarius (FAO/WHO, 1977^a) η γιαούρτη ορίζεται ως 'πηγμένο γαλακτοκομικό προϊόν που παράγεται με γαλακτική ζύμωση του γάλακτος με την δράση του *Lactobacillus bulgaricus* και του *Streptococcus thermophilus*. Οι μικροοργανισμοί αυτοί πρέπει να είναι στο τελικό προϊόν άφθονοί και ζωντανοί'. Ο ορισμός του FAO/WHO, είναι οπωσδήποτε ορθότερος και πληρέστερος. (Κεχαγιάς, 2011).

Το γιαούρτι πρέπει να περιέχει λίπος και στερεό υπόλειμα άνευ λίπους σε ποσοστό ανώτερο κατά 10% τουλάχιστον από τα όρια των αντίστοιχων ειδών γάλακτος, από τα οποία παρασκευάστηκε. Το γιαούρτι είναι γάλα συμπυκνωμένο και ζυμωμένο με τη βοήθεια μικροοργανισμών. Παρασκευάζεται από γάλα ζώων και διατηρείται χάρης στην οξυγαλακτική ζύμωση. Το πήξιμο του οφείλεται στη δράση του βακτηρίου *Lactobacillus bulgaricus* και η ζύμωση στον *Streptococcus*

thermophilus ο οποίος μετατρέπει την λακτόζη, που είναι το σάκχαρο του γάλακτος σε γαλακτικό οξύ. Αυτό το ευγενές οξύ πήζει την πρωτεΐνη σε γιαούρτη και λειτουργεί συγχρόνως ως συντηρητικό. Μερικές φορές για την παρασκευή γιαούρτης χρησιμοποιείται και ο *Lactobacillus acidophilus*.(Μάντης, ,2000, 2005, 2011).

Πίνακας 2: τα κυριότερα ζυμώμενα γάλατα και τα κύρια χαρακτηριστικά τους

Όνομα	Μικροοργανισμοί που χρησιμοποιούνται	Οξύτητα γ.ο.(%)	Αλκόολη κατά όγκο (%)	Αριθμός ειδικών μικροοργανισμών/ g
γιαούρτι	<i>Streptococcus thermophilus</i> & <i>Lactobacillus bulgaricus</i> (μίγμα)	>0.7	-	>10 ⁷
Οξύφιλο γάλα (Acidophilus)	<i>Lactobacillus Acidophilus</i> (Ανθρώπινη προέλευση)	>0.1	-	>10 ⁷
βουτυρόγαλα	<i>Streptococcus lactis</i> ή <i>Streptococcus lactis subsp Cremoris</i> ή <i>Streptococcus lactis Diacetylactis</i> ή <i>Leuconostoc spp.</i>	>0.6	-	>10 ⁷
Κεφίρ	Ανάμικτη καλλιέργεια αποτελούμενη από:α) ζύμες που ζυμώνουν την λακτόζη ή όχι β)βακτήρια από διάφορα γένη <i>Lactobacillus</i> , <i>Leuconostoc</i> , <i>Streptococci</i>	>0.8	>1.0	>10 ⁷
κουμίσ	<i>Lactobacillus bulgaricus</i> & <i>Kluyveromyces marxianus</i>	>0.7	>1.0	>10 ⁷

Πηγή: IDF(1992)

1.5.2.2. Τύποι γιαούρτης

Τα είδη γιαούρτης διαιρούνται σε διάφορους τύπους που εξαρτάται αρχικά από την μέθοδο παρασκευής, σύνθεση, τα προστιθέμενα ξένα προς το γάλα υλικά και το είδος των χρησιμοποιημένων καλλιεργειών.

- Γιαούρτη με στερεά δομή που προέρχεται από γάλα(αγελαδινό, γίδινο, ή μίγμα αυτών) το οποίο δεν έχει ομογενοποιηθεί. Σε αυτή την κατηγορία ανήκει το «το παραδοσιακό γιαούρτι» ή αλλιώς το γιαούρτι με «πέτσα».
- Γιαούρτη με στερεά δομή αλλά το γάλα έχει ομογενοποιηθεί: στο γάλα δεν γίνεται καμία προσθήκη. Είναι η βιομηχανική γιαούρτη του παραδοσιακού τύπου.
- Γιαούρτη παχύρρευστη ή αναμιγμένη: το γάλα από το οποίο παρασκευάζεται και υφίσταται ομογενοποίηση, όμως μετά τη πήξη του γάλακτος η γιαούρτη υφίσταται ανάδευση.
- Γιαούρτη με προσθήκη φρούτων, άρωμα φρούτων ή χυμούς: στην παχύρρευστη γιαούρτη προστίθεται στη δεξαμενή πήξεως του γάλακτος ή στα κύπελλα συσκευασίας.
- Γιαούρτη στραγγισμένη: σε αυτό τον τύπο γιαούρτης, το πήγμα υφίσταται πολτοποίηση και εισάγεται στην συνέχεια σε σακούλες με σκοπό να αποβληθεί σημαντική ποσότητα υγρού. Σήμερα παράγεται γιαούρτη σε βιομηχανικό επίπεδο με φυγοκέντρωση (Ζαρμπούτης, 1994).

1.5.2.3. Τυρί

Σύμφωνα με ορισμό του Codex Alimentarius (FAO/WHO, 1973) ‘Τυρί είναι το νωπό ή ώριμο προϊόν που προέρχεται από την στράγγιση, ύστερα από πήξη του

πλήρους, μερικώς αποβουτυρωμένοι ή άπαχου γάλακτος ή βουτυρογάλακτος ή μίγματος ορισμένων ή όλων αυτών των προϊόντων’.

Ο ελληνικός Κώδικας Τροφίμων και Ποτών (1998) ορίζει τα τυριά που παράγονται από γάλα και ωριμάζουν, ως ‘τα προϊόντα ωρίμανσης του πήγματος (στάλπης) που είναι απαλλαγμένο από το τυρόγαλα, στον επιθυμητό κάθε φορά βαθμό και τα οποία παρασκευάστηκαν με την επενέργεια πυτιάς ή άλλων ενζύμων που δρουν ανάλογα σε γάλα (νωπό ή παστεριωμένο αγελάδας, προβάτου, κατσίκας, βουβάλου ή σε μίγματα αυτών ή/ και σε μίγματα αυτών με κρέμα γάλακτος (αφρόγαλα)’. Στην πράξη το τυρί προέρχεται από πήξη του γάλακτος και στράγγιση του πήγματος. Η πήξη γίνεται κατά κύριο λόγο με ένζυμα (πυτιά) αλλά μπορεί να γίνει και με οξίνιση ή θέρμανση (π.χ. τυρί Ricotta από πλήρες γάλα). Τα ο τυρόπηγμα αφού υποστεί ορισμένους χειρισμούς καταναλώνεται είτε αμέσως (νωπό) ή ύστερα από ωρίμανση. Συνεπώς ο ορισμός του FAO/WHO είναι πλησιέστερα προς την πραγματικότητα.(Μάντης, ,2000, 2005, 2011).

Απαραίτητες πρώτες ύλες για παρασκευή τυριού:

-γάλα

-πυτιά

-αλάτι.(Ζαρμπούτης, 1994).

1.5.2.4. Κυριότερα είδη τυριών

Ο μεγάλος αριθμός ειδών τυριών που παράγονται σήμερα ανά τον κόσμο, οι ποικιλίες ανάμεσα στα είδη τους, οι πολλές ομοιότητες αλλά και διαφορές, καθιστούν δύσκολη αν όχι αδύνατη την ύπαρξη ενός γενικά αποδεκτού τρόπου ταξινομήσεώς του. Στην πράξη χρησιμοποιούνται διάφορα σχήματα ταξινομήσεως ανάλογα νε ποια χαρακτηριστικά λαμβάνονται ως κριτήριο. Έτσι με βάση τη δομή και τη συνεκτικότητα τους τα τυριά διακρίνονται σε:

α) Μαλακά (π.χ. Mozzarella, Cottage, Baker’s, Cream cheese, Φέτα κ.ά).

β) Ημίσκληρα (Gouda, Edam, Roquefort, Danbo κ.ά)

γ) Σκληρά (Provolone, Emmedal, Κασέρι, Γραβιέρα κ.ά)

δ) Πολύ σκληρά (Parmigiano, Romano, Pecorino,(κ.ά)

Με κριτήριο το εάν ωριμάζουν με βακτήρια και πως ωριμάζουν διακρίνονται σε:

α) τυριά που δεν ωριμάζουν (Cottage, Ymer, Ricotta κ.ά)

β) τυριά που ωριμάζουν με βακτήρια που αναπτύσσονται σε όλη τη μάζα τους. Εδώ μπορούν να υπαχθούν τα περισσότερα είδη τυριών.

γ) τυριά που ωριμάζουν με εσωτερική ανάπτυξη μυκήτων ή βακτηρίων (π.χ. Roquefort, Stilton, Danablu κ.ά)

δ) τυριά που ωριμάζουν με επιφανειακή ανάπτυξη μυκήτων ή βακτηρίων (π.χ. Camembert, Brie, Limburger, Monster κ.ά)

τυριά που δεν ωριμάζουν: πρόκειται για τυριά που καταναλώνονται αμέσως ή εντός ολίγων ημερών από τη χρόνο παρασκευής τους. Έχουν υψηλό ποσοστό υγρασίας και μαλακή και εύθρυπτη σύσταση.

- 1) Cottage
- 2) Cream cheese
- 3) Baker's
- 4) Quarg
- 5) Ricotta
- 6) Mozzarella
- 7) Queso Blanco

(Μάντης, ,2000, 2005, 2011).

1.5.2.5 Βούτυρο

Βούτυρο ή βούτυρο γάλακτος είναι το προϊόν που παράγεται από αποβουτύρωση της κρέμας (κορυφής), έχει απαλλαγεί κατά το μεγαλύτερο μέρος από τα άλλα συστατικά του γάλακτος και δεν περιέχει νερό σε ποσοστό μεγαλύτερο από 16% κατά βάρος. Ο Κώδικας Τροφίμων και Ποτών (Κ.Τ.Π., 1998) ορίζει ως ‘Βούτυρο ‘ ή Βούτυρο Γάλακτος’ το προϊόν που λαμβάνεται με χτύπημα γάλακτος ή αφρογάλακτος ή μίγματος αυτών, είτε ως έχουν, είτε μετά από οξύνιση με βιολογικό όμως και μόνο τρόπο, περιεκτικότητας σε λίπος τουλάχιστον 80%. Το βούτυρο αποτελείται κατά συνέπεια, κατά 80-82% από λίπος με κύριο κλάσμα τα τρυγλικερίδια (82% του λίπους) αλλά σε μικρότερο ποσοστό και από άλλες λιπαρές ύλες ,κατά 2% περίπου από στερεό υπόλειμα (ΑΣΥΑΛ) και κατά το 16-18% από νερό. (Μάντης, ,2000, 2005, 2011).

Η μέση σύνθεση του βουτύρου είναι:

-λίπος 80-84%

-μη λιπαρά συστατικά λιγότερο από 2%

-νερό

Το βούτυρο είναι γαλάκτωμα του τύπου νερό μέσα σε λίπος. .(Ζαρμπούτης, 1994).

1.5.2.6. Κεφίρ

Είναι παραδοσιακό προϊόν των χωρών γύρω από τον Καύκασο αλλά έχει διαδοθεί και σε άλλες χώρες. Για την παρασκευή του χρησιμοποιείται κυρίως γάλα αίγας, αλλά μπορεί να χρησιμοποιηθεί και γάλα προβάτου ή αγελάδας.

Η οξυγαλακτική καλλιέργεια με την οποία προκαλείται η ζύμωση του γάλακτος είναι μικτή και διαιωνίζεται με τη μορφή αφυδατωμένων κόκκων μεγέθους πείσου. Οι κόκκοι αυτοί, γνωστοί σαν κόκκοι κεφίρ (Kefir grains) που περιέχουν κατά τον Lampert (1970) *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus bulgaricus* και *Saccharomyces kefir*, ενώ κατά τον Pederson (1971) η ζύμη ανήκει στο γένος *Torula*. Η ζύμωση που γίνεται στο κεφίρ είναι γαλακτική και αλκοολική. Είναι τρόφιμο εύγευστο, εύπεπτο και υγιεινό. Οι Καυκάσιοι υποστηρίζουν ότι χαρίζει μακροζωία και ότι οι κόκκοι του κεφίρ είναι ‘δώρο των Θεών’ (Kosikowski, 1977). Η μέση χημική σύσταση του κεφίρ έχει ως εξής: νερό 89,5%, λίπος 2%, λακτόζη 2%, πρωτεΐνες 4,8%, γαλακτικό οξύ 0,9%, αιθανόλη 0,8%. Στην Ρωσία λειτουργεί βιομηχανία με δυναμικότητα 6 τόνων ημερησίως και παράγει ειδική μορφή κεφίρ για μικρά παιδιά (Ivanona et.al, 1981). Είναι πλούσιο σε βιταμίνες B12, B1, βιοτίνης και βιταμίνης K. Περιέχει πρωτεΐνες, ενώ είναι υψηλής περιεκτικότητας σε ασβέστιο και φωσφόρο. Τέλος, περιέχει αρκετά μεγάλες ποσότητες του αμινοξέος τρυπτοφάνη, αλλά μαγνησίου, τα οποία είναι υπεύθυνα για την ηρεμία και την υγεία του νευρικού συστήματος. (Λόγω διατροφής, 2015).

1.5.2.7 Κουμίσ

Το κουμίσ ή οινόγαλα κατά Ζυγούρη (1956) είναι παραδοσιακό προϊόν των λαών που ζουν γύρω από την Κασπία θάλασσα. Το όνομα του προέρχεται από τους Κουμάνες, φυλή που έζησε έως τον 1236 μ.Χ. στις κεντρικές Ασιατικές στέπες. Η παραγωγή του συνεχίστηκε από τους Τάταρους και σήμερα έχει διαδοθεί σε όλες τις χώρες της πρώην Σοβιετικής Ένωσης.

Το παραδοσιακό κουμίσ παραγόταν από γάλα φοράδας. Σε περιοχές που δεν υπήρχε γάλα όνου ή καμήλας. Σήμερα χρησιμοποιείται και γάλα αγελάδας. Η ζύμωση γίνεται με συνδυασμό στελεχών *Lactobacillus* (*L. bulgaricus*, ή *L. casei* ή *L. lactis*) και ζυμομήκυτα (*Torula*, *koumiss*, *Kluyveromyces lactis*) και είναι γαλακτική και αλκοολική. Τα κύρια τελικά προϊόντα είναι το γαλακτικό οξύ (1% περίπου), η αιθανόλη (2-2,5%) και το CO₂. Είναι αφρώδες, θρεπτικό, εύπεπτο και ευχάριστο στη γεύση τρόφιμο. Λόγω όμως της περιεκτικότητας του σε αλκοόλη θεωρείται περισσότερο ως ευφραντικό ποτό και λιγότερο ως τρόφιμο (Lampert, 1970). Στις

χώρες της πρώην Σοβιετικής Ένωσης χρησιμοποιήθηκε για τη θεραπεία της πνευμονικής φυματίωσης με αξιοσημείωτα αποτελέσματα κατά τους Ρώσους συγγραφείς. (Ζαρμπούτης, 1994).

1.5.2.8. Ξινόγαλα

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 βουτυρογάλακτος εξαρτάται κατ' αρχάς από το αν αυτό έχει προέλθει από την παρασκευή βουτύρου από γλυκιά ή από ώριμη κρέμα. Όταν το βουτυρόγαλα προέρχεται από ώριμη κρέμα έχει μικρότερη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη, γιατί ένα μέρος της καζεΐνης συγκρατείται από το βούτυρο κατά τη βουτυροποίηση. Τα ολικά στερεά του βουτυρογάλακτος κυμαίνεται από 7 - 9,5%. Επειδή στις χώρες όπου είχε διαδοθεί η κατανάλωση βουτυρογάλακτος οι ποσότητες που προέρχονται από την παρασκευή βουτύρου δεν επαρκούσαν, γι' αυτό το βουτυρόγαλα παρασκευάστηκε με επιτυχία από αποβουτυρωμένο ή ημιαποβουτυρωμένο γάλα. Συνήθως η λιποπεριεκτικότητα κυμαίνεται από 0,4 – 3% στις διάφορες χώρες. Ένας άλλος λόγος που οδήγησε στην παρασκευή βουτύρου είναι υποπροϊόν με μικρή σχετικά δραστηριότητα, ενώ το βουτυρόγαλα που παρασκευάζεται από γάλα παράγεται κάτω από συνθήκες απόλυτα ελεγχόμενες, που μπορούν να επηρεάσουν ευνοϊκά την ποιότητα του προϊόντος.

Πρέπει να επισημανθεί ότι το βουτυρόγαλα που προέρχεται από την παρασκευή του βουτύρου περιέχει ένα μεγάλο μέρος από τη μεμβράνη των λιποσφαιρίων μετά τη θραύση της κατά τη διάρκεια της βουτυροποίησης. Η μεμβράνη περιέχει αρκετές ουσίες με βιοενεργή δράση και ευνοϊκές επιδράσεις στην υγεία. Το ποσοστό της καλλιέργειας που χρησιμοποιείται για την παρασκευή βουτυρογάλακτος 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*. (Κεχαγιας, 2011).

Είναι ιδιαίτερα πλούσιο σε ασβέστιο και φωσφόρο, ενώ περιέχει πρωτεΐνες και βιταμίνες A, C, D, E και σύμπλεγμα βιταμινών B.(Λόγω διατροφής, 2015).

Τα χαρακτηριστικά ενός καλής υφής βουτυρογάλακτος είναι:

- λεία υφή χωρίς κροκιδώματα
- ιξώδες τέτοιο το προϊόν να ρέει βραδέως όταν χύνεται και
- απουσία ελεύθερου ορού

Αντί του όρου ξινόγαλα χρησιμοποιείται και ο όρος οξύγαλα που ήταν και πιο συνηθισμένος παλαιότερα. Όταν σε ξινόγαλα ή οξύγαλα προστίθεται αλάτι, το προϊόν ονομάζεται αριάνι. (Κεχαγιάς, 2011).

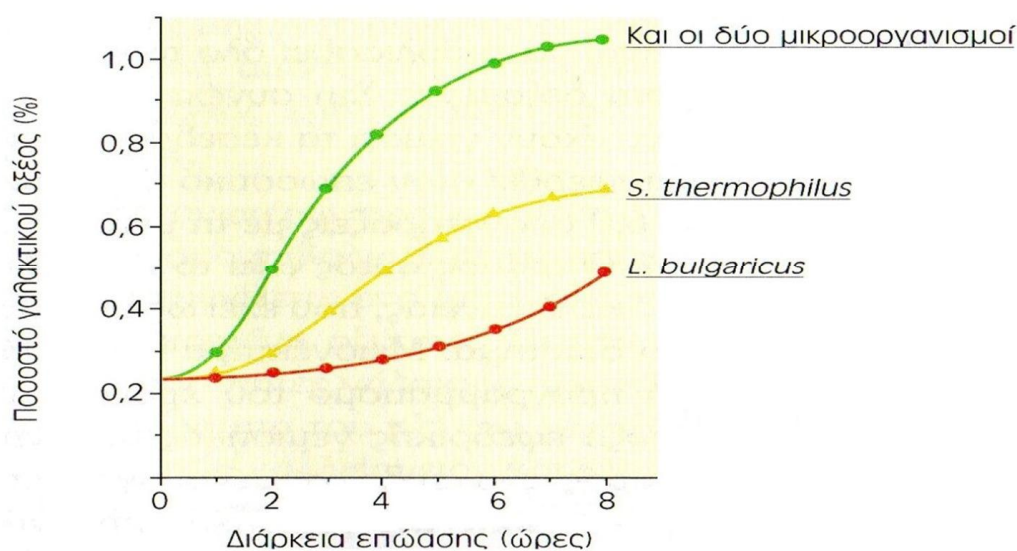
1.6 Καλλιέργεια γιαούρτης

Το γιαούρτι είναι ένα από τα πιο δημοφιλή ζυμωμένα γαλακτοκομικά προϊόντα και η κατανάλωση αυξάνεται σε όλο τον κόσμο (Shiby et al., 2013). Σύμφωνα με το πρότυπο του Codex τα ζυμωμένα γαλακτοκομικά προϊόντα (CODEX, 2003), όπως το γιαούρτι χαρακτηρίζεται ειδικά από την παρουσία συμβιωτικών καλλιιεργειών των *Streptococcus thermophilus* και *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Κατά τη διάρκεια της ζύμωσης, τα βακτήρια αυτά εκτελούν τρεις μεγάλες βιοχημικές μετατροπές των συστατικών του γάλακτος: (i) μετατροπή της λακτόζης σε γαλακτικό οξύ (ζύμωση), (ii) υδρόλυση των καζεϊνών σε πεπτίδια και ελεύθερα αμινοξέα (πρωτεόλυση) και (iii) την κατανομή του λίπους γάλακτος σε ελεύθερα λιπαρά οξέα (λιπόλυση) (Smit et al., 2005). Αυτές οι αντιδράσεις οδηγούν στην παραγωγή διαφόρων μεταβολιτών με αποτέλεσμα τη μείωση του pH, ο σχηματισμός ημιστερεής υφής και χαρακτηριστικής γεύσης γιαουρτιού (Irigoyen et al., 2012). Ακόμα κι αν *S. thermophilus* και *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* είναι σε θέση να αναπτυχθούν ξεχωριστά σε γάλα, μπορούν να έχουν μια συμβιωτική αλληλεπίδραση και ονομάζεται «πρώτη-συνεργασία» σε μικτές καλλιέργειες. Η αλληλεπίδραση βασίζεται στην ανταλλαγή διαφόρων μεταβολιτών που παρέχουν αμοιβαία ανάπτυξη διεγερτικών επιδράσεων (Sieuwert et al., 2008). Εν περιλήψει, ο *S. thermophilus* παράγει πυροσταφυλικό οξύ, μυρμηκικό οξύ, φολικό οξύ, ορνιθίνη, μακράς αλύσου λιπαρά οξέα και CO² οι οποίες διεγείρουν την ανάπτυξη του *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Το γαλακτικό οξύ που παράγεται από τον *S. thermophilus* μειώνει επίσης

το pH του γάλακτος σε ένα βέλτιστο επίπεδο για το *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Κατά συνέπεια, η ανάπτυξη του *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* παρέχει πεπτίδια, ελεύθερα αμινοξέα και πουτρεσκίνη που διεγείρουν την ανάπτυξη του *S. thermophilus* (Sieuwerts et al., 2008).

Η ανάπτυξη του *L. bulgaricus* εξαρτάται από το μυρμηκικό οξύ, το οποίο παράγεται από τον *S. thermophilus* μόνο όταν είναι μειωμένη η περιεκτικότητα σε οξυγόνο. Η παρουσία οξυγόνου, όπως τονίστηκε, καθυστερεί αρκετά τη ζύμωση. Παράλληλα, κάτω από τις θερμοφίλες συνθήκες σε σχετικά ουδέτερο pH μπορεί να αναπτυχθούν παθογόνα σπορογόνα βακτήρια, όπως *Bacillus cereus* όταν επιμυκίνεται η επώαση, με κίνδυνο για την υγεία του καταναλωτή. Για τον λόγο αυτό, παράγοντες που επιβραδύνουν τη ζύμωση και καθυστερεί η πτώση του pH πρέπει να λαμβάνονται υπ' όψιν, όχι μόνο επειδή επηρεάζουν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, αλλά και επειδή μπορούν να δημιουργήσουν κινδύνους για την υγεία του καταναλωτή (Κεχαγιάς, 2011).

σχήμα 2: παραγωγή γαλακτικού οξέος από τους μικροοργανισμούς της γιαούρτης όταν αναπτύσσονται στο γάλα μαζί ή χωριστά ο κάθε ένας



πηγή: IDF Bulletin 227,1988

Οι πρόσφατες μετα-γονιδιωματικές μελέτες σε μικτή καλλιέργεια του *S. thermophilus* και *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* αποκάλυψαν νέες ιδέες στη φυσιολογία και τη μοριακή βάση της αλληλεπίδρασης (Sieuwert et al., 2008). Μολονότι η αλληλεπίδραση μεταξύ των δύο ειδών είναι συχνά θετική (πρωτο-συνεργασία), η απουσία αλληλεπίδρασης ή ακόμη και τα αρνητικά αποτελέσματα μπορεί να λάβουν χώρα ανάλογα με το συνδυασμό των βακτηριακών στελεχών, τον τύπο και τη διαδικασία θέρμανσης με το βάση γάλα και τις συνθήκες ζύμωσης (Courtin et al, 2004).

Τα πρωτεολυτικά συστήματα βακτηρίων γαλακτικού οξέος βασίζονται στην λειτουργία των βακτηριακών πρωτεϊνών κυτταρικού φακέλου, στα συστήματα μεταφοράς πεπτιδίου και στις ενδοκυτταρικές πεπτιδάσες (Mayo et al., 2010). Η πρωτεολυτική δραστηριότητα ενός από τα είδη στις μικτές καλλιέργειες (κυρίως *L. delbrueckii* subsp. *Bulgaricus*) παίζουν σημαντικό ρόλο στην πρωτο-συνεργασία, όπως αναφέρθηκε προηγουμένως. Η παραδοσιακή γιαουρτιού αποτελείται από μη-πρωτεολυτικά (PRT-) *S. thermophilus* και υψηλή πρωτεολυτική *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (Walstra et al., 2006). Έτσι, τα πρώην βακτήρια επωφελούνται από το ενεργό σύστημα της δεύτερης πρωτεολυτικής να ικανοποιούν την απαίτηση των αμινοξέων τους. Εξάλλου, ο μεταβολισμός των αμινοξέων παράγει πτητικές μεταβολίτες υπεύθυνοι για το προφίλ αρώματος του προϊόντος (Mayo et al., 2010). Οι συνεισφορές του *S. thermophilus* και *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* για την παραγωγή πτητικών και το σχηματισμό αρώματος στα ζυμωμένα γάλατα είναι καλά τεκμηριωμένες (Imhof et al, 1994, Ott et al., 1997, Routray et al, 2011).

Γένος Στρεπτόκοκκος

1.6.1. *Streptococcus thermophilus*

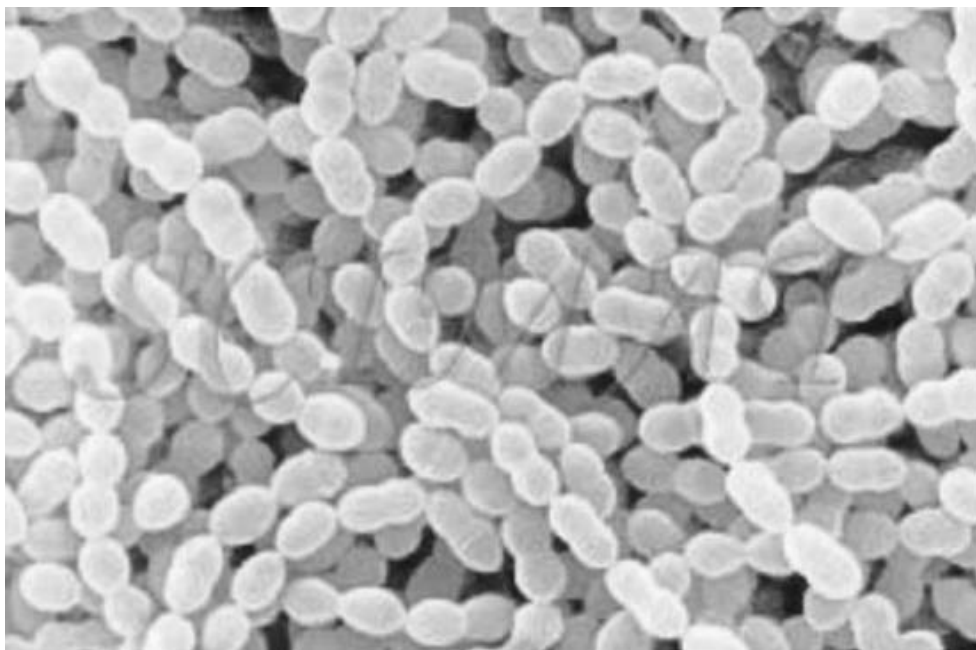
Ο *Streptococcus thermophilus* είναι ένα θερμόφιλος, θετικός κατά Gram μικροοργανισμός που ανήκει στην ομάδα των βακτηρίων γαλακτικού οξέος (LAB). Χρησιμοποιείται για την παραγωγή γάλακτος που έχουν υποστεί ζύμωση, όπως το γιαούρτι και για την παραγωγή ορισμένων ιταλικών και ελβετικών τυριών, όπως μοτσαρέλα και τυριά *emmental* (Iyer et al., 2010). Οι κύριοι ρόλοι του *S.*

thermophilus κατά τη ζύμωση γάλακτος είναι να χρησιμοποιήσει τη γαλακτόζη και να παρέχει ταχεία οξίνιση με την παραγωγή γαλακτικού οξέος.

Ο *Streptococcus thermophilus* έχει " γενικώς αναγνωριστεί ως ασφαλής " χρησιμοποιείται ευρέως για την κατασκευή πολλών σημαντικών ζυμωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων, Ο *S. thermophilus* έχει επίσης μια σειρά από λειτουργικές δραστηριότητες, όπως η παραγωγή των εξωκυτταρικών πολυσακχαρίδιων , βακτηριοσινών και βιταμινών. Επιπλέον, έχει επίσης δυνατότητες ως προβιοτικό, όπως αποδεικνύεται από διάφορες επιπτώσεις στην υγεία, παροδική επιβίωση, και μέτρια προσκόλληση στη γαστρεντερική οδό (Iyer et al., 2009).

Αρκετές άλλες σημαντικές τεχνολογικές ιδιότητες, όπως μεταβολισμός του σακχάρου, πρωτεολυτική δραστηριότητα και δραστηριότητα ουρεάσης είναι επίσης γνωστές, και αντιπροσωπεύουν τον βαθμό της φαινοτυπικής ποικιλομορφίας υφιστάμενων εντός των ειδών. Στο τέλος των μεταβολικών δραστηριοτήτων, ορισμένα στελέχη οξυγαλακτικών βακτηρίων μπορούν να παράγουν τοξικές ενώσεις όπως βιογενείς αμίνες (BA) (Ladero et al., 2012).

Εικόνα 1: *Streptococcus salivarius* subsp.*thermophilus*



Πηγή: Yildiz 2010

Γένος λακτοβάκιλλος

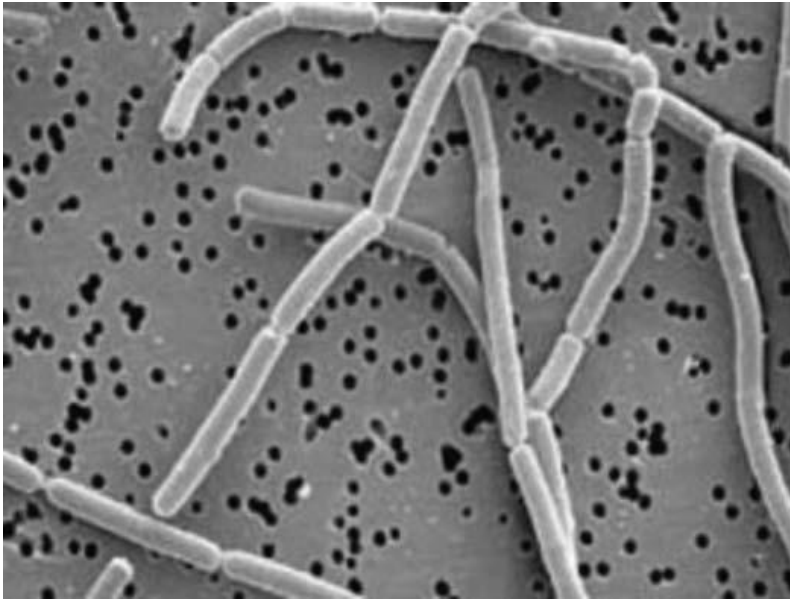
1.6.2. *Lactobacillus bulgaricus*

Ο *Lactobacillus bulgaricus* είναι ένας αναερόβιος μικροοργανισμός που χρησιμοποιείται σε ένα μεγάλο αριθμό ζυμώσεων σε προϊόντα τροφίμων σε όλο τον κόσμο. Αρκετά πιθανά οφέλη για την υγεία έχουν αποδοθεί στην κατανάλωση τροφών που έχουν υποστεί ζύμωση από τον συγκεκριμένο μικροοργανισμό. (Teixeira, 2014).

Ο *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ζυμώνει τη λακτόζη και διαθέτει το ένζυμο β-γαλακτοσιδάση αντί φωσφο-β-γαλακτοσιδάση. Όπως στο *S. thermophilus*, η λακτόζη, μεταφέρεται από το κύτταρο με την εκδίωξη της γαλακτόζης μέσω ενός συστήματος αντιμεταφοράς (Teixeira 1999).

Τα πρωτεολυτικά συστήματα των λακτοβακίλλων αποτελούνται από πρωτεΐνάσες και πεπτιδάσες με διαφορετικές κυτταρικές θέσεις. Οι πρωτεΐνάσες του *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* βρίσκονται κυρίως επί του κυτταρικού τοιχώματος και ρυθμίζονται από τη θερμοκρασία και τη φάση ανάπτυξης. Σημαντική πηγή αμινοξέων κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης είναι η καζεΐνη. Η υψηλή πρωτεολυτική δραστηριότητα του *L. bulgaricus* είναι σημαντική στην παραγωγή γιαουρτιού, επειδή τα πεπτίδια τα οποία απελευθερώνονται από τον *L. bulgaricus*, διεγείρουν την ανάπτυξη του *S. thermophilus* (Robinson 2002).

Εικόνα 2: *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*



Πηγή: Yildiz, 2010

1.7. *Lactobacillus casei*

Είναι ένα μεσόφιλο είδος και έχει χρησιμοποιηθεί στην παραγωγή ορισμένων ειδών τυριών. Πρόσφατα ορισμένα στελέχη χρησιμοποιήθηκαν για την παραγωγή ειδικού ξυνογάλακτος, διότι έχουν ευεργετική δράση στην καλή λειτουργία του εντέρου. Ο *L. casei* θεωρείται μέλος της φυσικής μικροχλωρίδας του λεπτού εντέρου. Ορισμένοι συγγραφείς διαπίστωσαν ότι στελέχη *L. casei* ενισχύουν το ανοσοποιητικό σύστημα (Perdigon et al., 1990) ενώ δεν αμφισβητείται η ανασχετική του δράση έναντι ορισμένων παθογόνων αρνητικών κατά Gram βακτηρίων, όπως σαλμονέλες, σιγκέλλες, και ψευδομονάδες (Μάντης, ,2000, 2005, 2011).

Τα κύτταρα του είναι ραβδία, συχνά με τετραγωνισμένα άκρα, διαστάσεων 0,7-1,1*2,0-4,0 μm που σχηματίζουν αλυσίδες μικρού μήκους. Δεν σημειώνεται ανάπτυξη πάνω από τους 45 °C (εξαιρέσει αποτελεί ο *Lactobacillus casei* subsp *rhamnosus*). Είναι δύσκολο στην ανάπτυξη και έχει ανάγκη επτά βιταμινών του συμπλόκου Β στο υπόστρωμα. Απομονώθηκε από γάλα, τυρί, γαλακτοκομικά προϊόντα, μαγιά, κοπριά αγελάδας, εντερικό σωλήνα του ανθρώπου, στοματική κοιλότητα (Μπαλατσούρας, 2006).

Η ομάδα *Lactobacillus casei* περιλαμβάνει βακτήρια γαλακτικού οξέος ως επί το πλείστον που συνδέονται με τα γαλακτοκομικά προϊόντα. Είδη εντός αυτής της ομάδας είναι *Lb. casei*, *Lb. paracasei* και τον *Lb. rhamnosus*. Ο *Lactobacillus paracasei* και / ή *Lb. rhamnosus* συνήθως εμφανίζονται ως τα κυρίαρχα μη-εκκνηνιές βακτήρια γαλακτικού οξέος σε πολλά ώριμα τυριά, συμβάλλοντας στην ανάπτυξη της γεύσης του τυριού. Τα επιλεγμένα στελέχη από την ομάδα *Lb. casei* προστίθενται μερικές φορές στο γάλα για τυρί ως πρόσθετα για αγωνιστικούς ανεπιθύμητους μικροοργανισμούς και για τη βελτίωση και την τυποποίηση της ποιότητας του τυριού. Ορισμένα στελέχη αυτής της ομάδας έχουν επίσης προβιοτικό δυναμικό και, συνεπώς, συμπεριλαμβάνονται στα «λειτουργικά» τυριά και ροφήματα γάλακτος που έχουν υποστεί ζύμωση (π.χ., ζυμωμένα γάλατα), όπου παραμένουν σε υψηλές πυκνότητες κυττάρων.(Minervini, 2011).

Το είδος *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei*, και *Lactobacillus rhamnosus* είναι φυλογενετικά και φαινοτυπικά και συνδέονται στενά (Coudeyras et al., 2008, Δικαστική Επιτροπή της Διεθνούς Επιτροπής για Συστηματική των βακτηρίων, 2008, Τοί et al., 2013). Αυτά τα βακτήρια είναι σε θέση να αποικίσουν σε μια ποικιλία από προϊόντα ζύμωσης των τροφίμων, και αντιπροσωπεύουν το κυρίαρχο μέλος των μη-εκκνηνιτών βακτηρίων του γαλακτικού οξέος σε μεγάλα ώριμα τυριά και σε παραδοσιακά ζυμωμένα γαλακτοκομικά προϊόντα (Coppola et al., 2003, Rossi et al., 2012, Shi et al., 2012 και Succì et al., 2005). Έχει αναφερθεί ότι πιθανώς υπάρχουν και στο προζύμι (Reale et al., 2011), στο κρασί (Lorenzini et al., 2010), στα λαχανικά που έχουν υποστεί ζύμωση (Argyri, et al., 2013, Paramithiotis, et. al., 2013, Kim, 2005). Πολλά βακτηριακά στελέχη που ανήκουν στο είδος *L. casei*, *L. paracasei* και ο *L.rhamnosus* χρησιμοποιούνται ως καλλιέργειες εκκίνησης σε ζύμωση του γάλακτος, ως συμπλήρωμα καλλιέργειας για την εντατικοποίηση και την επιτάχυνση της ανάπτυξης γεύσης σε γαλακτοκομικά προϊόντα και για τα προβιοτικά χαρακτηριστικά τους (Ortígoza, et. al., 2006). Επιπλέον, οι προβιοτικές ιδιότητες έχουν αποδειχθεί για τα στελέχη που ανήκουν σε αυτό το είδος (Verdenelli et al., 2009), σύμφωνα με τον ορισμό του FAO / WHO του προβιοτικού ως ένα «ζωντανό μικροοργανισμό», του οποίου όταν χορηγείται σε επαρκείς ποσότητες παρέχει όφελος για την υγεία του καταναλωτή"(FAO / WHO, 2002).

Λαμβάνοντας υπόψη την πολλαπλότητα των πιθανών εφαρμογών, τα βακτήρια αυτά θα πρέπει να είναι σε θέση να ανεχτούν διαφορετικές αντίξοες συνθήκες, όπως οι όξινες και οσμωτικές προκλήσεις, θερμικές καταπονήσεις και κατάψυξη, που συναντώνται στη βιομηχανική παραγωγή και κατά την αποθήκευση των προβιοτικών παρασκευασμάτων που περιέχουν και τα τρόφιμα. Επιπλέον, τα προβιοτικά στελέχη πρέπει να διατηρούν τη βιωσιμότητα κατά τη διέλευση στο γαστρεντερικό σωλήνα και ως εκ τούτου πρέπει να ανέχονται την οξύτητα, τα χολικά άλατα και την υψηλή οσμωμοριακότητα για να επιβιώσουν στον στόμαχο και το λεπτό έντερο (Franz et. al., 2011). Για την εξασφάλιση των θετικών επιπτώσεών τους και να την αξιολόγηση την καταλληλότητά τους για τα διάφορα τρόφιμα και τις προβιοτικές χρήσεις, η εξερεύνηση της ανοχής άγχος αυτών των βακτηρίων είναι συνεπώς θεμελιώδους σημασίας. Πράγματι, η ανοχή προς μερικούς από τους παράγοντες που αναφέρονται παραπάνω όπως στρες μελετήθηκαν είτε για στελέχη που χρησιμοποιούνται ήδη ως εμπορικές καλλιέργειες ή για έναν περιορισμένο αριθμό στελεχών. Αυτά τα στελέχη που χαρακτηρίζονται για την ικανότητά τους να αντέχουν σε υψηλή οξύτητα, παρουσία χολικών αλάτων, υψηλή οσμωμοριακότητα, θερμικές και κρύες καταπονήσεις.(Realea, et al.,2015).

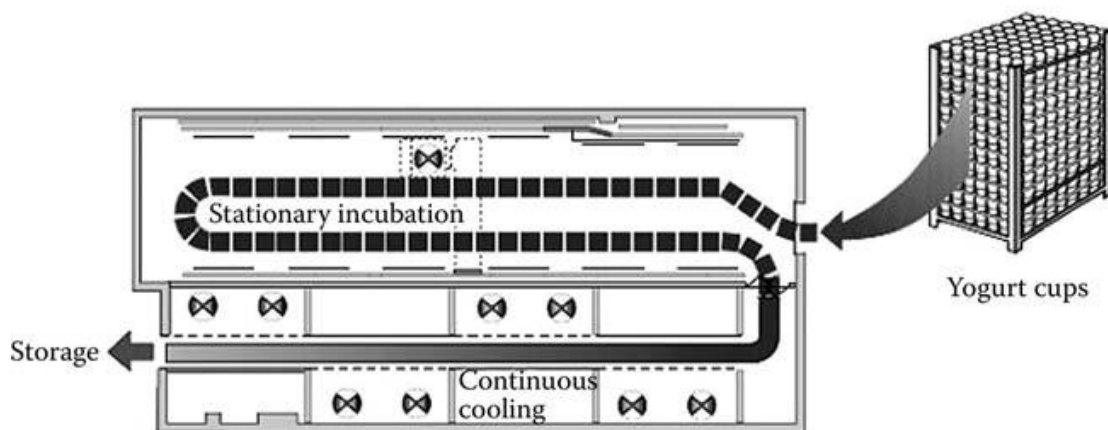
1.8. Γαλακτική ζύμωση

1.8.1 Διαδικασία ζύμωσης

Μετά το στάδιο της θερμικής επεξεργασίας, το γάλα ψύχεται στους 42-43 ° C και εμβολιάζεται με την καλλιέργεια εκκίνησης που αποτελείται από ένα 1: 1 μίγμα του *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* και του *Streptococcus thermophilus*. Εμβολιασμός μπορεί να επιτευχθεί είτε με την ανάπτυξη καλλιεργείων όγκου που απαιτούνται κατά την διαδικασία εμβολιασμού του γάλακτος (χύδην καλλιέργεια) ή με την ενσωμάτωση συμπυκνωμένων ξηραμένων με ψύξη ή κατεψυγμένων καλλιεργείων. Στην πρώτη περίπτωση, το γάλα είναι πιο επιρρεπές σε προβλήματα μόλυνσης και μπορεί να οδηγήσει σε αλλαγές στην καλλιέργεια σε σχέση με την ισορροπία μεταξύ των στελεχών του δεδομένου είδους. Ως εκ τούτου, σήμερα, οι περισσότεροι

κατασκευαστές προτιμούν είτε κατεψυγμένες ή λυοφιλοποιημένες καλλιέργειες με συγκεκριμένες ιδιότητες. Στην περίπτωση της χρήσης της μαζικής καλλιέργειας, ο βέλτιστος ρυθμός καλλιέργειας εμβολιασμού είναι 2 g / 100 mL. Ο ρυθμός προσθήκης για τις συμπυκνωμένες λυοφιλοποιημένες ή κατεψυγμένες καλλιέργειες καθορίζεται συνήθως από τους προμηθευτές (Robinson, 2006). Το ποσοστό του εμβολιασμού είναι καθοριστικό για το τελικό της υφής και των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του γιαουρτιού. Τα χαμηλότερα επίπεδα του εμβολιασμού μπορούν να προκαλέσουν αργή ανάπτυξη οξύτητας κατά τη διάρκεια της ζύμωσης, την παράταση της περιόδου ζύμωσης και αδύναμο πήγμα που οδηγεί σε διαχωρισμό ορό γάλακτος. Αντιθέτως, τα υπερβολικά επίπεδα εμβολιασμού μπορούν να οδηγήσουν σε γρήγορη ανάπτυξης οξύτητας, μείωση της παραγωγικής ικανότητας ενυδάτωσης της πρωτεΐνης, και να διεγείρει την απομάκρυνση του τυρογάλακτος κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης. Μόλις το γάλα έχει εμβολιαστεί με καλλιέργεια εκκίνησης, θα συμπληρωθεί σε κύπελλα για ζύμωση (γιαουρτιού) ή θα αναδευτούν σε δεξαμενές χύμα (αναδευόμενο γιαούρτι). Στις μικρής κλίμακας παραγωγές, τα χαρτοκιβώτια του γιαουρτιού στοιβάζονται σε δίσκοι από χαρτόνι κρατώντας 9 ή 12 μονάδες και στη συνέχεια τοποθετείται σε ένα ράφι στο εκκολαπτήριο. Εναλλακτικά, σε μεγάλης κλίμακας παραγωγές, οι δίσκοι γιαουρτιού μπορεί να τοποθετηθούν σε ένα μεταφορικό ιμάντα που τρέχει αργά μέσω μιας σήραγγας που λειτουργεί στην ίδια θερμοκρασία και ακολουθεί αναγκαστική ψύξη του αέρα.. Η θέρμανση και ψύξη επιτυγχάνονται με κυκλοφορία θερμού και ψυχρού αέρα.. Η ταχύτητα του μεταφορέα ιμάντας προσαρμόζεται λαμβάνοντας υπόψη το ποσοστό των οξέων ανάπτυξης στο γάλα γιαούρτι. Όταν τα κύπελλα γιαουρτιού εισέλθουν στο στάδιο ψύξης το pH της ζύμωσης γάλακτος θα πρέπει να είναι περίπου 4,5-4,6. Κατά την παραγωγή του αναδευόμενου γιαουρτιού, η ζύμωση επιτυγχάνεται σε μια δεξαμενή χύμα με καταγραφικά της θερμοκρασίας και του pH, και μόλις το προκαθορισμένο pH έχει επιτευχθεί, το πήγμα αναδεύεται ήπια και αντλείται στη μηχανή πλήρωσης. Οι δεξαμενές ζύμωσης είναι συνήθως σχεδιασμένες κωνικά να απορρίπτουν το γιαούρτι από τη βάση πιο εύκολα. Αυτό το είδος της δεξαμενής είναι ένας μανδύας με ζεστό νερό στους 40-45 ° C και κυκλοφορεί κατά την διάρκεια της περιόδου επώασης, ακολουθούμενη από το κρύο ή παγωμένο νερό για μερική ψύξη του πηγματος (Tamime, 2007). Προκειμένου να παράσχει ένα υγιεινό περιβάλλον, οι δεξαμενές ζύμωσης είναι συνήθως εξοπλισμένες με φίλτρα αέρα , ώστε να εμποδίσουν την είσοδο των σωματιδίων μεγαλύτερων από 0,3 μm.

Η τυπική θερμοκρασία ζύμωσης για το γιαούρτι είναι 42 ° C. Ωστόσο, σε ορισμένα γιαούρτια οι κατασκευαστές μπορεί να προτιμούν χαμηλότερες θερμοκρασίες επώασης (δηλαδή, 40 ° C). Σε χαμηλότερες θερμοκρασίες ζύμωσης ο χρόνος ζελατινοποίησης θα παραταθεί και το μέγεθος της καζεΐνης στα σωματίδια θα αυξηθεί λόγω της μείωσης σε υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις, οι οποίες, με τη σειρά τους, οδηγούν σε πήγμα με σταθερότερο και κάτω σώμα διαχωρισμού τυρογάλακτος (Lucey, 2002, Lee, 2003). Από την άλλη πλευρά, σε χαμηλότερες θερμοκρασίες επώασης, ο σχηματισμός των ενώσεων αρώματος αποδυναμώνεται (Ozer, 2004). Ο προσδιορισμός των τελικών σημείων επώασης είναι κρίσιμης σημασίας σε σχέση με το χαρακτηριστικά της υφής του τελικού προϊόντος. Δεδομένου ότι η εκμετάλλευση του νερού και η ενυδάτωση και η χωρητικότητα του γιαουρτιού είναι το βέλτιστο σε pH 4,2-4,6, και κατά το στάδιο της ζύμωσης καταλήγει συνήθως σε pH 4,5-4,6. Κατά τη διάρκεια της ζύμωσης, ανάλογα με τις μεταβολικές δραστηριότητες του γαλακτικού οξέος τα βακτήρια, οι συγκεντρώσεις του γαλακτικού και η αύξηση του αμμωνίου, η οποία, με τη σειρά της, οδηγεί στην αύξηση της ηλεκτρικής αγωγιμότητας του γάλακτος. Στις απευθείας μετρήσεις του pH και της ηλεκτρικής αγωγιμότητας, τα δεδομένα έχουν καταστήσει δυνατή την πρόσβαση του χρόνου και το χαρακτηριστικό ρυθμό στα θερμοφιλα σημεία ζυμώσεων του γαλακτικού οξέος. Ηλεκτρικής αγωγιμότητας -μετρητές σχεδιάζονται για τη παραγωγή γιαουρτιού όπου κερδίζουν τη δημοτικότητα στη βιομηχανία γιαουρτιού (Yildiz, 2010).

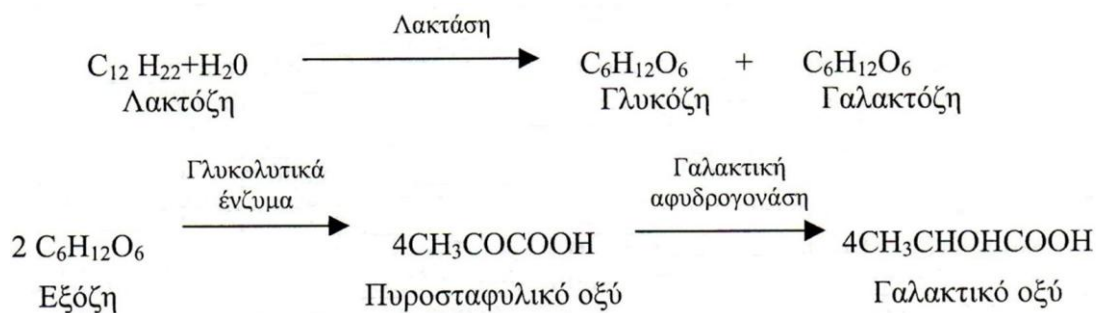


Εικόνα 3: Ενιαία επώαση και σήραγγα ψύξης. (Courtesy of Tetra Pak A/B, Lund, Sweden.)

1.8.2 Μικροβιολογία της ζύμωσης

Για μια ικανοποιητική γεύση κατά την ανάπτυξη, χρειάζονται περίπου ίσο αριθμό *Streptococcus thermophilus* και *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* όπου θα πρέπει να είναι παρόντες. Η βασική χλωρίδα του γιαουρτιού δείχνουν μια υποχρεωτική συμβιωτική σχέση κατά τη διάρκεια της ζύμωσης. Τα ποσοστά του οξέος και του αρώματος παραγωγής από μικτή καλλιέργεια γιαουρτιού είναι σημαντικά υψηλότερα σε σχέση με το να αναπτύσσονταν οι δύο οργανισμοί χωριστά (Chandan, 2006). Η ενέργεια και το άζωτο απαιτούνται από τα βακτήρια εκκίνησης γιαουρτιού για να διατηρήσουν τον κύκλο ζωής τους. Οι κυτταρικές δεσμευμένες πρωτεΐνες του *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* είναι ικανές για τον σχηματισμό μικρών πεπτιδίων και αμινοξέων, όπου το κύριο αμινοξύ είναι η βαλίνη (Fira, 2001). Τα πεπτίδια, τα αμινοξέα και τα οξέα που σχηματίζονται από τους γαλακτοβάκιλλους που χρησιμοποιούνται από *Streptococcus thermophilus* για την ανάπτυξη τους. Η δραστηριότητα πρωτεΐνωσης του *Streptococcus thermophilus* είναι πολύ ασθενέστερη από ό,τι *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Ωστόσο, οι πεπτιδάσες του *Streptococcus thermophilus* μπορούν να υδρολύουν τα ενδιάμεσα προϊόντα της καζεΐνης πρωτεόλυσης από *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, η οποία είναι μια σημαντική πτυχή στην συνεργική σχέση μεταξύ των δύο οργανισμών στο γιαούρτι (Abu-Tarboush, 1996). Ο *Streptococcus thermophilus* παράγει πουρίνη, πυριμιδίνη, CO₂, μυρμηκικό οξύ, οξαλοξικό οξύ, και φουμαρικό οξύ τα οποία διεγείρουν την ανάπτυξη *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Το μυρμηκικό οξύ και το CO₂ είναι ο κύριος παράγοντας για την ανάπτυξη του *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Η παραγωγή μυρμηκικού οξέος μπορεί να είναι δυνατή μόνο όταν η συγκέντρωση του οξυγόνου του γάλακτος είναι <4 mg O₂. Κατά την ανάπτυξη στο γάλα, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* παρουσιάζει προφανώς την προτίμησή τους για τη χρήση της β-καζεΐνης σε σχέση με άλλες πρωτεΐνες ως πηγή αζώτου, υποδεικνύοντας ότι ο τύπος πρωτεΐνης είναι επίσης ένας σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει την ανάπτυξη αυτής της καλλιέργειας (Abu-Tarboush, 1996). Το πρακτικό αποτέλεσμα της συνέργειας είναι ότι και τα δύο είδη αναπτύσσονται ραγδαία και ενεργά και αρκεί να μεταβολίζουν την λακτόζη σε γαλακτικό οξύ για να ολοκληρωθεί η ζύμωση του γάλακτος με γιαούρτι εντός 3,5-4,0 ωρών. Επιπλέον, οι μεταβολίτες που απελευθερώθηκαν από τα δύο είδη δίνουν το άρωμα στο γιαούρτι που είναι σαφώς διαφορετικό από

οποιοδήποτε άλλο γάλα που έχει υποστεί ζύμωση. Η περιεκτικότητα σε ακεταλδεΐδη, είναι ένα σημαντικό συστατικό καθορισμού της γεύσης, μπορεί να πάει μέχρι 40 mg kg⁻¹ κατά τη διάρκεια της ζύμωσης με τη μικτή καλλιέργεια.



Σχήμα 3: Γαλακτική ζύμωση

1.9. Ακίνητοποίηση καλλιιεργειών σε τρόφιμα

1.9.1 Στηρίγματα ακίνητοποίησης των κυττάρων και των τεχνικών

Ολόκληρη η ακίνητοποίηση των κυττάρων ορίστηκε ως " ο φυσικός περιορισμός ή εντοπισμός των αέριων κυττάρων σε μια ορισμένη περιοχή του χώρου με τη διατήρηση κάποιας επιθυμητής καταλυτικής δράσης " (Karel et al., 1985). Η ακίνητοποίηση συχνά μιμείται αυτό που συμβαίνει φυσικά όταν τα κύτταρα αναπτύσσονται σε επιφάνειες ή σε φυσικές δομές. Πολλοί μικροοργανισμοί κατέχουν την ικανότητα να προσκολλώνται σε διάφορα είδη του επιφανειών στη φύση. Πολυάριθμες βιοτεχνολογικές μεθόδους είναι ευνοημένες με τεχνικές ακίνητοποίησης και, ως εκ τούτου αρκετά τέτοιες τεχνικές και υλικά στήριξης έχουν προταθεί. Αυτές οι τεχνικές μπορούν να διαιρεθούν σε τέσσερες κύριες κατηγορίες με βάση το φυσικό μηχανισμό που χρησιμοποιείται: (α) σύνδεση ή προσρόφηση σε στερεό φορέα επιφάνειας, (β) την παγίδευση εντός μιας πορώδους μήτρας, (γ) αυτοσυσσωμάτωση με κροκίδωση(φυσικό) ή με παράγοντες διασταυρούμενης

σύνδεσης (τεχνητή), και (δ) κυτταρική συγκράτηση πίσω από φράγματα (Pilkington et al., 1998).

1.9.1.1. Ακίνητοποίηση επί στερεών φορέων επιφάνειας

Η ακίνητοποίηση του κυττάρου ενός στερεού φορέα διεξάγεται με φυσική προσρόφηση, λόγω ηλεκτροστατικών δυνάμεων ή με ομοιοπολική σύνδεση μεταξύ της κυτταρικής μεμβράνης και του φορέα. Το πάχος της μεμβράνης των κυττάρων κυμαίνεται συνήθως από ένα στρώμα κυττάρων σε 1 χιλιοστό ή και περισσότερο. Τα συστήματα που χρησιμοποιούν τα ακινητοποιημένα κύτταρα σε μία επιφάνεια είναι δημοφιλείς λόγω της σχετικής ευκολίας διεξαγωγής αυτού του τύπου ακινητοποίησης. Η δύναμη με την οποία τα κύτταρα είναι συνδεδεμένα με τον φορέα όπως επίσης και το βάθος του βιοφίλμ συχνά ποικίλει και δεν προσδιορίζονται εύκολα.. Δεδομένου ότι δεν υπάρχουν εμπόδια μεταξύ των κύτταρων και του διαλύματος, η αποκόλληση των κυττάρων και η μετεγκατάσταση είναι δυνατόν με δυνατότητα καθιέρωσης της ισορροπίας μεταξύ των απορροφημένων και ελεύθερων αιωρούμενων κύτταρων. Παραδείγματα στερεών φορέων που χρησιμοποιούνται σε αυτόν τον τύπο της ακινητοποίησης είναι κυτταρινικά υλικά (κυτταρίνη, ξύλο, πριονίδι, απολιγνινοποιημένο πριονίδι), ανόργανα υλικά (πολυκορσκήτη, μοντομοριλονίτης, πορώδη πορσελάνη, πορώδες ύαλος), κλπ Στερεά υλικά όπως γυαλί ή κυτταρίνη μπορεί επίσης να αντικατασταθούν με πολυκατιόντα, χιτοζάνη ή άλλες χημικές ουσίες (προ-σχηματισμένοι φορείς) που ενισχύουν την ικανότητα προσρόφησης τους (Nortonan et. al, 1994, Navarro et. al., 1977).

1.9.1.2. Παγίδευση εντός μιας πορώδους μήτρας

Σε αυτόν τον τύπο ακινητοποίησης, τα κύτταρα είτε αφήνονται να διεισδύσουν μέσα στην πορώδη μήτρα μέχρι η κινητικότητα τους να παρεμποδίζεται από την παρουσία άλλων κυττάρων, ή το πορώδες υλικό να διαμορφώνεται επί τόπου σε μια καλλιέργεια κύτταρων. Και οι δύο μέθοδοι παγίδευσης γίνονται με βάση την ενσωμάτωση των κυττάρων εντός ενός άκαμπτου δικτύου για την πρόληψη των κύτταρων από διάχυση στο περιβάλλον, ενώ εξακολουθεί να επιτρέπει μαζική

μεταφορά των θρεπτικών ουσιών και των μεταβολιτών. Χαρακτηριστικά παραδείγματα αυτού του τύπου ακινητοποίησης είναι η παγίδευση σε τζελ πολυσακχαρίτη, όπως αλγινικά άλατα, κ-καρραγενάνη, άγαρ, χιτοζάνη και πολυγαλακτουρονικό οξύ ή άλλες πολυμερείς μήτρες, όπως η ζελατίνη, κολλαγόνο και πολυβινυλική αλκοόλη (Nortonan et. al., 1994, Park et. al., 2000). Η κυτταρική ανάπτυξη στη πορώδους μήτρα εξαρτάται από τους περιορισμούς που επιβάλλονται από τη διάχυση της πορώδους του υλικού και αργότερα από τις επιπτώσεις της συσσώρευσης βιομάζας για την αποτελεσματική διείσδυση. Ένα πρότυπο μη-ομογενούς πληθυσμού κυττάρων μπορεί ως εκ τούτου αναπτύσσονται και τα κύτταρα κοντά στην επιφάνεια μπορεί να συμπεριφερθούν διαφορετικά σε σύγκριση με τα μερικώς υποσιτισμένα κύτταρα μέσα στα σφαιρίδια (Freemanan et. al., 1998). Ένα από τα προβλήματα της κυτταρικής παγίδευσης εντός μιας πορώδους μήτρα όπως του πηκτώματος πολυσακχαρίτη είναι η ικανότητα του τα κύτταρα που βρίσκονται στην εξωτερική επιφάνεια των σφαιριδίων να πολλαπλασιάζονται για να απελευθερωθούν από το σφαιρίδιο με ενσωμάτωση. Αυτό οδηγεί σε ένα σύστημα που αποτελείται από ακινητοποιημένα και ελεύθερα κύτταρα. Για να αποφεύγεται αυτό το πρόβλημα πρέπει τα σφαιρίδια με διπλό στρώμα που έχουν τα σφαιρίδια υδρογέλης να περιέχουν ένα εσωτερικό πυρήνα που περιέχει τα κύτταρα και ένα εξωτερικό στρώμα, το οποίο εμποδίζει τα κύτταρα από τον πυρήνα για να ξεφύγουν (Tanaka et al, 1989, Taillandier et al., 1994, Ramon-Portugal et al., 2003). Η απαρίθμηση της βιομάζας παγιδευμένη σε μία μήτρα πηκτώματος είναι κρίσιμη για την εφαρμογή βιοτεχνολογικών μεθόδων χρησιμοποιώντας βιώσιμα ακινητοποιημένα κύτταρα. Τέτοιες μέθοδοι είναι συνήθως σταθμικοί ή περιλαμβάνουν τον προσδιορισμό των πρωτεϊνών, DNA, NA₂H, η οποία εκφράζεται ως συγκέντρωση βιομάζας. Ο Navratil (2000) πρότεινε μια μέθοδο με λουμινομετρικές (Προσδιορισμός ATP) ως αξιόπιστη, ακριβή και ταχεία μέθοδος για την εκτίμηση της ενεργού βιομάζας ζυθοποίησης, οινοποίησης και στελέχη ζυμομυκήτων παραγωγής αιθανόλης, ενώ για τα ακινητοποιημένα χρησιμοποιούνται συνήθως σε υδροπηκτές ιονοτροπικούς μεθόδους όπως αλγινικά, πηκτινικό ασβέστιο και κ-καρραγενάνη.

1.9.1.3. Κύτταρα κροκίδωσης (Aggregation)

Τα Κύτταρα κροκίδωσης έχουν οριστεί από πολλούς συγγραφείς ως ένα άθροισμα των κυττάρων για να σχηματίσουν μια μεγαλύτερη μονάδα ή η ιδιοκτησία των

κυττάρων σε αναστολές να προσχωρήσουν στις μάζες και να καθιζάνουν γρήγορα (Jin et. al.,1998). Η κροκίδωση μπορεί να θεωρηθεί ως μία τεχνική ακινητοποίησης, όπως το μεγάλο μέγεθος των αδρανών καθιστά πιθανή τη χρήση τους σε αντιδραστήρες όπου είναι δυνατόν. Τέτοιοι αντιδραστήρες περιλαμβάνουν ρευστοποιημένη κλίνη και αντιδραστήρες συνεχούς αναδευόμενης δεξαμενής. Η ικανότητα να σχηματίζουν συσσωματώματα παρατηρείται κυρίως σε καλούπια, μύκητες και παράγοντες φυτικών κυττάρων.. Τεχνικές κροκίδωσης ή παράγοντες σχηματισμού σταυροειδών δεσμών μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να ενισχύσουν την συσσωμάτωση σε κυτταρικές καλλιέργειες που δεν κάνει φυσικά νιφάδες. Η κροκίδωση μαγιάς είναι μια ιδιότητα μεγάλης σημασίας για τη βιομηχανία ζυθοποιίας που επηρεάζει τη παραγωγικότητα και τη ποιότητα της ζύμωσης μύρας, επιπλέον την αφαίρεση ζύμης και ανάκτησης. Επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες συμπεριλαμβανομένης της σύνθεσης του κυτταρικού τοιχώματος, το pH, το διαλυμένο οξυγόνο και τις μεσαίες συνθέσεις.

1.9.1.4. Κυτταρική συγκράτηση πίσω από φράγματα

Η συγκράτηση των κυττάρων πίσω από ένα φράγμα μπορεί να επιτευχθεί είτε με χρήση μικροπορωδών φίλτρων μεμβράνης ή με παγίδευση των κυττάρων σε μια μικροκάψουλα ή με ακινητοποίηση του κύτταρου πάνω σε μία επιφάνεια με αλληλεπίδραση δύο μη αναμίξιμων υγρών. Αυτό το είδος της ακινητοποίησης είναι ιδανικό όταν το ελεύθερο κυτταρικό προϊόν και η ελάχιστη μεταφορά των ενώσεων απαιτούνται (Park et. al, 2000). Η τεχνολογία μεμβράνης του βιοαντιδραστήρα χρησιμοποιείται ευρέως στο κύτταρο κατά τη διαδικασία ανακύκλωσης και συνεχών διεργασιών (Lebeau et al., 1997, Kargupta et al., 1998). Επιλεγμένες ζύμες περιορίζονται από τις μεμβράνες μικρο-διήθησης που έχουν αναπτυχθεί και είναι διαθέσιμες για την παραγωγή κρασιού στην αγορά. Τα κύρια μειονεκτήματα των κυττάρων ακινητοποίησης μεταξύ μικροπορώδων μεμβρανών είναι οι περιορισμοί μεταφοράς μάζας (Lebeau et al., 1998) και η πιθανή βιορύπανση μεμβράνης που προκαλείται από την ανάπτυξη των κυττάρων (Gryta, 2002).

1.9.2. Προϋποθέσεις για την ακινητοποίηση των κυττάρων

Ένας φορέας είναι κατάλληλος για την κυτταρική ακινητοποίηση για χρήση σε παραγωγή αλκοολούχων ποτών, όταν η ακόλουθες προϋποθέσεις ικανοποιούνται (Freeman, 1984, Martin, 1991):

1. Ο φορέας θα πρέπει να έχει μια μεγάλη επιφάνεια, με λειτουργικές ομάδες και τα κύτταρα να τα τηρούν.

2. Ο μεταφορέας πρέπει να είναι εύκολο να χειριστεί και να αναγεννηθεί.

3. Η βιωσιμότητα των κυττάρων και η λειτουργική σταθερότητα του ακινητοποιημένου βιοκαταλύτη θα πρέπει να είναι υψηλή και να διατηρείται για μεγαλύτερα χρονικά διαστήματα.

4. Η βιολογική δραστικότητα των ακινητοποιημένων κυττάρων δεν θα πρέπει να επηρεαστεί αρνητικά από την διαδικασία ακινητοποίησης.

5. Το πορώδες της στήριξης θα πρέπει να είναι ενιαίο και ελεγχόμενο, επιτρέποντας την ελεύθερη ανταλλαγή των υποστρωμάτων, προϊόντων, συμπαραγόντων και αέριων.

6. Ο μεταφορέας πρέπει να διατηρεί καλή μηχανική, χημική, θερμική και βιολογική σταθερότητα και να μην αποικοδομείται εύκολα από ένζυμα, διαλύτες, μεταβολές πίεσεως ή διατμητικές δυνάμεις.

7. Η τεχνική φορέα και η ακινητοποίηση θα πρέπει να είναι εύκολη, αποδοτική και να υπόκειται σε κλιμάκωση προς τα πάνω.

8. Ο φορέας πρέπει να είναι καθαρότητας βαθμού τροφίμων, να μην επηρεάζει την ποιότητα των προϊόντων από τα εναπομείναντα υπολείμματα και να είναι εύκολα αποδεκτές από τους καταναλωτές.

1.9.3. Επίδραση της ακινητοποίησης σε μικροβιακά κύτταρα

Μεταβολές στην κυτταρική ανάπτυξη, τη φυσιολογία και μεταβολικές δραστηριότητες μπορούν να προκληθούν από κύτταρα ακινητοποίησης, και είδη βακτηρίων. Διάφορα σχόλια συζητήθηκαν για την αλλαγμένη μεταβολική συμπεριφορά του ακινητοποιημένου κύτταρου (Melzoch et. al., 1994, Norton et. al., 1994, Walsh et. al., 1995). Ένας αριθμός παραμέτρων έχουν θεωρηθεί υπεύθυνοι για αυτές μεταβολές, όπως οι περιορισμοί μεταφοράς μάζας με διάχυση (Webb et al., 1986), διαταραχές στην ανάπτυξη (Doran, et. al., 1986), την επιφανειακή τάση και τις επιδράσεις οσμωτικής πίεσης (Vijayalakshmi et al., 1979), την μειωμένη δραστηριότητα ύδατος (Mattiasson et. al., 1984), τις μεταβολές στη μορφολογία του κύτταρου (Shirai et al., 1988), την αλλοίωση στη διαπερατότητα της μεμβράνης (Brodellius et. al., 1983) και την διαθεσιμότητα στα συστατικά και τα μέσα ενημέρωσης (Chen et. al., 1990).

1.9.4. Πλεονεκτήματα των ακινητοποιημένων κυττάρων έναντι των ελεύθερων κυττάρων

Τα τελευταία χρόνια έχουν περιγραφεί πολλά πλεονεκτήματα για τη χρήση των ακινητοποιημένων κυττάρων τα οποία βέβαια εξαρτώνται από τα χαρακτηριστικά του κάθε συστήματος. Μερικά από αυτά αναφέρονται παρακάτω:

- Τα ακινητοποιημένα κύτταρα είναι ανθεκτικότερα από τα ελεύθερα. Αυτό αποδίδεται κυρίως στον προστατευτικό ρόλο του φορέα ακινητοποίησης έναντι φυσικοχημικών παραγόντων όπως η θερμοκρασία, το pH, οι διαλύτες και τα βαρέα μέταλλα.
- Τα ακινητοποιημένα κύτταρα προσφέρουν τη δυνατότητα επίτευξης υψηλότερων συγκεντρώσεων κυττάρων σε σχέση με τα ελεύθερα κύτταρα στους βιοαντιδραστήρες. Αυτό σημαίνει μεγάλες ταχύτητες ζύμωσης, υψηλό ρυθμό παραγωγής προϊόντων, υψηλή απόδοση και μείωση του απαιτούμενου όγκου του αντιδραστήρα, πράγμα που οδηγεί σε μικρότερο κόστος επένδυσης.
- Παρέχουν δυνατότητα εύκολης επαναχρησιμοποίησης του βιοκαταλύτη μειώνοντας το κόστος παραγωγής λόγω μη ανάπτυξης νέων καλλιιεργειών.

- Η χρήση ακινητοποιημένων κυττάρων μπορεί να οδηγήσει σε ζυμώσεις σε χαμηλές θερμοκρασίες με αποτέλεσμα τα τελικά προϊόντα να είναι βελτιωμένης ποιότητας και οργανοληπτικού χαρακτήρα.
- Η χρήση ακινητοποιημένων κυττάρων σε συνεχείς διεργασίες οδηγεί σε υψηλές παραγωγικότητες λόγω της ικανότητας λειτουργίας τους με μεγάλες ροές τροφοδοσίας. Τα κύτταρα παραμένουν ακινητοποιημένα στον φορέα και δε συμπαρασύρονται.
- Το προϊόν είναι απαλλαγμένο σε μεγάλο βαθμό από ελεύθερα κύτταρα το οποίο είναι πολύ σημαντικό στην παραγωγή ποτών όπως ο οίνος και η μπύρα. Με αυτό τον τρόπο περιορίζονται οι απαιτούμενες διεργασίες για την απομάκρυνση των κυττάρων όπως η διαύγαση, η φυγοκέντρωση και η διήθηση, μειώνοντας ταυτόχρονα και το λειτουργικό κόστος παραγωγής.
- Σε διεργασίες διαλείποντος έργου, τα ακινητοποιημένα κύτταρα δίνουν τη δυνατότητα επαναχρησιμοποίησης του βιοκαταλύτη σε πολλές διεργασίες για εκτεταμένες περιόδους χωρίς να απαιτείται η μετακίνηση του βιοκαταλύτη από το βιοαντιδραστήρα και χωρίς τη χρήση φυγοκεντρικού διαχωριστήρα.

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1 Μικροοργανισμοί

Η θερμόφιλη καλλιέργεια γιαούρτης, CH-1 που αποτελείται από συγκεκριμένες καλλιέργειες *S. thermophilus* και *L. delbrueckii ssp. bulgaricus* σε λυοφιλωμένη μορφή (Chr. Hansen, Horsholm, Denmark) χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα εργασία. Πριν από την 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).

2.2. 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 ακινητοποιημένα κύτταρα *L. casei* σε κομμάτια μήλου 10g/100mL). 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.

2.3. Μέτρηση φυσικοχημικών παραμέτρων pH:

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

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

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

εκφράστηκε σε % γαλακτικό οξύ χρησιμοποιώντας το τύπο:

2.4. 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).

3.Αποτελέσματα και συζήτηση

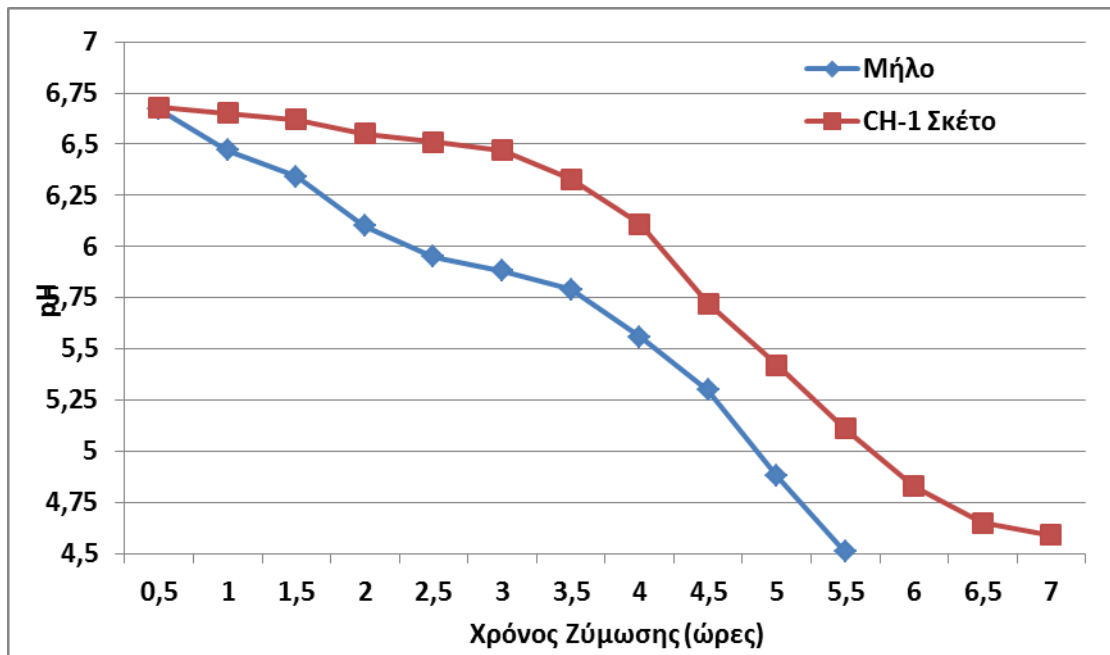
3.1. Γενικά

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η χρήση ακινητοποιημένων κυττάρων στην παραγωγή ζυμώμενου αγελαδινού γάλακτος και μελετήθηκε η επίδραση του χρόνου

αποθήκευσης στα φυσικοχημικά, μικροβιολογικά και γευστιγνωστικά χαρακτηριστικά του. Πιο αναλυτικά παρασκευάστηκαν ζυμώμενα γάλατα με την παραδοσιακή χλωρίδα της γιαούρτης, δηλαδή *Streptococcus thermophilus* και *Lactobacillus bulgaricus* αλλά και μαζί με το αναγνωρισμένο ως προβιοτικό μικροοργανισμό *L. casei* ATCC 393 ακινητοποιημένο σε κομμάτια μήλου. 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 παγόλουτρο και τελικά τα παραγόμενα ζυμώμενα γάλατα τοποθετήθηκαν στο ψυγείο (4°C) για 28 ημέρες. Στην εργασία αυτή χρησιμοποιήθηκαν κομμάτια μήλου ως φορείς ακινητοποίησης λόγω τις υψηλής τους διατροφικής αξίας αλλά και της συχνής χρήσης τους σε συνδυασμό με γαλακτοκομικά προϊόντα.

3.2. Επίδραση της καλλιέργειας στην ικανότητα οξίνισης του γάλακτος

Μετά την προσθήκη των καλλιιεργειών το γάλα αφέθηκε για ζύμωση στους 42°C και μελετήθηκε η κινητική της πτώσης του pH με μετρήσεις κάθε μισή ώρα έως την τιμή 4,6-4,5. Τα αποτελέσματα από την επίδραση της κάθε καλλιέργειας στην κινητική της πτώσης του pH παρουσιάζονται στο σχήμα 3. Από τα δεδομένα του σχήματος γίνεται φανερό ότι η χρήση μόνο της παραδοσιακής καλλιέργειας γιαούρτης CH-1 οδήγησε σε χρόνο πήξης περίπου 7 ωρών. Η προσθήκη επιπλέον της ακινητοποιημένης καλλιέργειας *L. casei* σε μήλο οδήγησε σε μείωση του συνολικού χρόνου πήξης στις 5,5 ώρες. Τα αποτελέσματα αυτά, και συγκεκριμένα η μείωση του χρόνου πήξης κατά 1,5 ώρες σε σχέση με την παραδοσιακή καλλιέργεια γιαούρτης, είναι πολύ σημαντικά από τεχνολογική άποψη. Η μείωση έστω και για 1,5 ώρες του χρόνου πήξης, δηλαδή κατά 21%, είναι πολύ σημαντική για τις γαλακτοβιομηχανίες αφού μειώνει το χρόνο παραμονής των προϊόντων στους θαλάμους επώασης αυξάνοντας την παραγωγικότητα του εργοστασίου και μειώνοντας τις ενεργειακές ανάγκες άρα και το κόστος παραγωγής.



Σχήμα 4: Κινητική πτώσης του pH κατά τη ζύμωση του γάλακτος με ακινητοποιημένα σε μήλο κύτταρα *L. casei* και μόνο με καλλιέργεια CH-1.

3.3.Επίδραση της αποθήκευσης στις τιμές του pH των ζυμώμενων προϊόντων

Η επίδραση της αποθήκευσης στην τιμή του pH των ζυμώμενων προϊόντων παρουσιάζεται στον πίνακα 3. Η αρχική τιμή του pH κυμάνθηκε μεταξύ 4,55 – 4,60, ενώ κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης παρουσιάστηκε συνεχής μείωση φτάνοντας σε τιμές λίγο πάνω από 4 στο τέλος της αποθήκευσης στους 4°C. Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων με την παραδοσιακή καλλιέργεια γιαούρτης CH-1 και αυτών με τα ακινητοποιημένα κύτταρα *L. casei*. Αυτό είναι πολύ σημαντικό για την τελική αποδοχή των νέων προϊόντων αφού δεν θα διαφέρουν από τα αντίστοιχα εμπορικά.

Πίνακας 3: pH στα ζυμώμενα γάλατα κατά την αποθήκευσή τους στους 4°C.

Μέρες αποθήκευσης	Σκέτο CH-1	Ακινητοποιημένο <i>L. casei</i> σε μήλο
7	4,41	4,35
14	4,36	4,23
21	4,16	4,18
28	4,03	4,07

3.4. Επίδραση της αποθήκευσης στις τιμές της τιτλοδοτούμενης οξύτητας των ζυμώμενων προϊόντων

Ο πίνακας 4 παρουσιάζει την επίδραση της αποθήκευσης στις τιμές της τιτλοδοτούμενης οξύτητας των ζυμώμενων προϊόντων. Κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης παρατηρήθηκε συνεχής αύξηση των τιμών της τιτλοδοτούμενης οξύτητας. Η αύξηση αυτή ήταν πιο έντονη τις πρώτες μέρες της αποθήκευσης φτάνοντας τις τιμές 0,79 και 0,82 % w/v γαλακτικό οξύ μετά από 14 ημέρες στην περίπτωση της χρήσης CH-1 και ακινητοποιημένου *L. casei* αντίστοιχα. Στη συνέχεια οι καλλιέργειες συνέχισαν να παράγουν οξύ αλλά με μικρότερους ρυθμούς φτάνοντας 0,90 και 0,89 % w/v γαλακτικό οξύ αντίστοιχα την 28^η ημέρα.

Πίνακας 4: Τιτλοδοτούμενη οξύτητα στα ζυμώμενα γάλατα κατά την αποθήκευσή τους στους 4°C.

Μέρες αποθήκευσης	Σκέτο CH-1	Ακινητοποιημένο <i>L. casei</i> σε μήλο
7	0,76	0,78
14	0,79	0,82
21	0,82	0,85
28	0,90	0,89

3.5. Επίδραση της αποθήκευσης στις τιμές της βιωσιμότητας των καλλιεργειών

Ο *S. thermophilus* διατήρησε υψηλούς αριθμούς ζωντανών κυττάρων κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης (Πίνακες 5,6). 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. Ο *L. casei* 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 logcfu/g για να χαρακτηριστεί ως προβιοτικό ένα προϊόν. Στα δείγματα που παράχθηκαν με την προσθήκη και ακινητοποιημένων κυττάρων *L. casei* οι αριθμοί τόσο του *S. thermophilus* όσο και του *L. bulgaricus* ήταν μικρότεροι σε σχέση με το δείγμα που παράχθηκε μόνο με την καλλιέργεια CH-1. Αυτό μπορεί να αποδοθεί στην συναγωνιστική δράση του *L. casei* έναντι αυτών των δύο μικροοργανισμών ακόμα στην παραγωγή ουσιών που αναστέλλουν την ανάπτυξή τους.

Πίνακας 5: Βιωσιμότητα (log cfu/mL) των *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus* και *Lactobacillus casei* ATCC 393, στα ζυμώμενα γάλατα που παρασκευάστηκαν με ακινητοποιημένα κύτταρα *L. casei* σε μήλο κατά την αποθήκευσή τους στους 4°C.

Μέρες αποθήκευσης	<i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	<i>L. casei</i> ATCC 393
0	8,41	8,43	8,80
7	8,19	8,16	8,52
14	8,07	8,10	8,43
21	8,05	7,86	8,40
28	7,87	7,83	8,33

Πίνακας 6: Βιωσιμότητα (log cfu/mL) των *Streptococcus thermophilus* και *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus*, στα ζυμώμενα γάλατα που παρασκευάστηκαν με καλλιέργεια CH-1 κατά την αποθήκευσή τους στους 4°C.

Μέρες αποθήκευσης	<i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>
0	8,45	8,33
7	8,25	8,18
14	8,17	8,12
21	8,11	8,06
28	8,01	7,98

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η επίδραση της χρήσης νέων ακινητοποιημένων καλλιεργείων όπως ο *L. casei* στη παραγωγή ζυμώμενου γάλακτος. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η χρήση αυτών των καλλιεργείων οδήγησε στην παραγωγή ζυμώμενων γαλάτων με παρόμοια φυσικοχημικά χαρακτηριστικά σε σχέση με τα αντίστοιχα ζυμώμενα γάλατα με παραδοσιακή καλλιέργεια. Συγκεκριμένα ο μικρότερος χρόνος ζύμωσης που επιτεύχθηκε με τις νέες ακινητοποιημένες καλλιέργειες κατά 21%, είναι πολύ σημαντικός για τις γαλακτοβιομηχανίες αφού μειώνει το χρόνο παραμονής των νέων προϊόντων στους θαλάμους επώασης αυξάνοντας την παραγωγικότητα του εργοστασίου και μειώνοντας τις ενεργειακές ανάγκες άρα και το κόστος παραγωγής. Τέλος η χρήση αυτών των μικροοργανισμών που θεωρούνται προβιοτικοί μπορεί να οδηγήσει και στην παραγωγή προβιοτικών γιαουρτιών με όλα τα θετικά χαρακτηριστικά που περιγράφηκαν στο εισαγωγικό μέρος. Η μελέτη της συμπεριφοράς των τριών καλλιεργείων *L. bulgaricus*, *S. thermophilus* και *L. casei* κατά την παραγωγή και αποθήκευση των νέων προϊόντων έδειξε ότι οι αριθμοί τους διατηρήθηκαν σε επίπεδα που επιτρέπουν τον χαρακτηρισμό των προϊόντων ως προβιοτικά.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ:

Ελληνική

Ζαρμπούτης Γ. Β.(1994). γαλακτοκομία, Εκδόσεις Ίων

Κεχαγιάς Χ. (2011). Γάλα,-επιστήμη, Τεχνολογία και έλεγχοι για τη Διασφάλιση της ποιότητας. Εκδοτικός Όμιλος Ίων

Κ.Τ.Π. 1998. Κώδικας Τροφίμων, Ποτών και αντικειμένων κοινής χρήσεως. Εθνικό τυπογραφείο. Αθήνα 1998

Μάντης Ι. Α. (2000, 2005, 2011). Υγιεινή και τεχνολογία του γάλακτος και των προϊόντων του. Τρίτη έκδοση. Εκδοτικός οίκος: Αδελφών Κυριακίδη α.ε

Μπαλατσούρας Γ., 2006. Μικροβιολογία τροφίμων, εκδόσεις ΕΜΒΡΥΟ, Αθήνα

Οδηγία αριθμ. 76/118 ΕΟΚ, του συμβουλίου «περι προσεγγίσεως των νομοθεσιών των κρατών μελών σχετικά με ορισμένα διατηρημένα γάλακτα μερικώς ή ολικώς αφυδατωμένα που προορίζονται για την ανθρώπινη διατροφή». Εφημ. Ευρ. Κοιν. αρ. L. 24/30-1-76. σ.148.

Οδηγίες 78/630 και 83/635 ΕΟΚ του συμβουλίου περί πρώτης και δεύτερης τροποποίησης της οδηγίας 76/118 ΕΟΚ, περι προσεγγίσεως των νομοθεσιών των κρατών μελών σχετικά με ορισμένα διατηρημένα γάλακτα μερικώς ή ολικώς αφυδατωμένα που προορίζονται για την ανθρώπινη διατροφή. Εφημ. Ε. Ε. L. 206, σελ. 66 και L. 357, σελ.250

Προεδρικό διάταγμα 518/83, Σχετικά διατηρημένα γάλακτα, μερικά ή ολικά αφυδατωμένα που προορίζονται για ανθρώπινη, σε συμμόρφωση προς τις Οδηγίες 76/118 ΕΟΚ, 78/630 ΕΟΚ και 79/1067 ΕΟΚ του συμβουλίου των Ευρωπαϊκών Κοινοτήτων ΦΕΚ197/83, τ.Α και ΦΕΚ 15/84 τ.Α.

Ξένη:

Abu-Tarboush, H.M.,(1996). Comparison of associative growth and proteolytic activity of yogurt starters in whole milk from camels and cows, J. Dairy Sci., 79, pp 366–371.

Argyri, A. A., Zoumpopoulou, G., Karatzas, K. A., Tsakalidou, E., Nychas, G. J., Panagou, E. Z., et al. (2013). Selection of potential probiotic lactic acid bacteria from fermented olives by in vitro tests. Food Microbiology, 33, 282e291.

Bockelmann, W., Schulz, Y. & Teuber, M. (1992). Purification and characterization of anaminopeptidase from *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*. Int. Dairy J., 2, 955107.

Brodelius, P., Nilsson, K., (1983). Permealization of immobilized plant cells, resulting in release of intracellularly stored products with preserved cell viability. *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 17, pp 275–280.

Chandan, R. (2002). Benefits of live fermented milks present diversity of products. *Proceedings of international Dairy Congress.* Paris.

Chandan, R.C. and O'Rell, K.R., (2006) Principles of yogurt processing, in *Manufacturing Yogurt and Fermented Milks*, R. Chandan, C. White, A. Kilara, and Y.H. Hui, Eds, Blackwell Publishing, Iowa, pp. 192.

Chandan R. C., (2013) , History and consumption trends, 1.4 Fermented/cultured dairy products pp 7-8, Global Technologies, Inc. , Coon Rapids , Minnesota, USA.

Chen, C., Dale, M.C., Okos, M.R., (1990). Minimal nutritional requirements for immobilized yeast. *Biotechnol. Bioeng.* 36, pp 993–1001.

CODEX, (2003). CODEX STAN 243–2003: standard for fermented milks [online]. Available at <http://www.fao.org/docrep/015/i2085e/i2085e00.pdf> (Accessed: November 3, 2012).

Coudeyras, S., Marchandin, H., Fajon, C., & Forestier, C. (2008). Taxonomic and strain-specific identification of the probiotic strain *Lactobacillus rhamnosus* 35 within the *Lactobacillus casei* group. *Applied and Environmental Microbiology*, 74, 2679e2689

Courtin, P., Rul, F., (2004). Interactions between microorganisms in a simple ecosystem: yogurt bacteria as a study model. *Lait* 84, 125–134.

Davis J. G. (1963). *A dictionary of dairying.* pp 788. Leonard Hill Ltd London.

Doran, P.M., Bailey, J.E., (1986). Effects of immobilization on growth, fermentation properties, and macromolecular composition of *Saccharomyces cerevisiae* attached to gelatin. *Biotechnol. Bioeng.* 28, pp 73–87.

FAO, CAC/M 1-(1973). Rome, Pederson, L.S. (1971) *Microbiology of food fermentations* pp. 83 A Vi. Publ Co. Westport Connecticut.

FAO/WHO, (1973). Code of principles milk and milk products. International standard and standard methods of sampling and analysis for milk products. 7th Edit.

FAO/WHO, (1977)^a. Code of principles concerning milk and milk products. Draft standard for yoghurt and sweetened yoghurt standard No A-11a, Step 7.

FAO/WHO. (2002). Working group report on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. London, Ontario, Canada.

FAO/WHO. (2003). Joint FAO/WHO food standards programme. Codex standard for fermented milks 243. Codex Alimentarius Commission.

Fira, D., Kojic, M., Banina, A., Spasojevic, I., Strahinic, I., and Topisirovic, L., (2001) Characterization of cell envelope-associated proteinases of thermophilic lactobacilli, *J. Appl. Microbiol.*, 90, pp 123–130.

Freeman, A., (1984). Gel entrapment of whole cells and enzymes in cross-linked, prepolymerized polyacrylamide hydrazide. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 434, pp 418–426

Freeman, A., Lilly, M.D., (1998). Effect of processing parameters on the feasibility and operational stability of immobilized viable microbial cells. *Rev. Enzyme Microb. Technol.* 23, pp 335–345.

Franz, C., & Holzapfel, W. (2011). The importance of understanding the stress physiology of lactic acid bacteria. In E. Tsakalidou, & K. Papadimitriou (Eds.), *Food microbiology and food safety Stress response of lactic acid bacteria*. New York: Springer, ISBN 978-0-387-92770-1.

Gezginc, Y. (2010). The investigation of potential usage in food industry in terms of plasmid content and biogenic amine production of lactic acid bacteria isolated from traditional yoghurts. PhD Thesis. University of Kahramanmaraş Sutcu Imam.

Gryta, M., (2002). The assessment of microorganism growth in the membrane distillation system. *Desalination* 142, pp.79–88.

IDF(1992). New technologies for fermented milks

Imhof, R., Bosset, J.O., (1994). Relationships between micro-organisms and formation of aroma compounds in fermented dairy products. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 198, 267–276.

Irigoyen, A., Ortigosa, M., Garcia, S., Ibanez, F.C., Torre, P., (2012). Comparison of free amino acids and volatile components in three fermented milks. *Int. J. Dairy Technol.* 65, 578–584.

Ivanona L.N. Bulatskaya, and A.E. Silaev. (1980). 'Industrial production of kefir for children. *Dairy Sci Abstr* 43.106 (1981)

Iyer, R., & Tomar, S. K. (2009). Folate: a functional food constituent. *Journal of Food Science*, 74, R114–122.

Iyer, R., Tomar, S. K., & Singh, A. K. (2010). Response surface optimization of the cultivation conditions and medium components for the production of folate by *Streptococcus thermophilus*. *Journal of Dairy Research*, 77, 350–356.

Iyer Ramya, S.K. Tomar, , T. Uma Maheswari, Rameshwar Singh (2010).

Streptococcus thermophilus strains: Multifunctional lactic acid bacteria. *International Dairy Journal* 20 pp:133–141

Jin, Y.L., Speers, R.A., (1998). Flocculation of *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Res. Int.* 31, 421–440.

Karel, S.F., Libicki, S.B., Robertson, C.R., (1985). The immobilization of whole cells-engineering principles. *Chem. Eng. Sci.* 40, pp1321–1354.

Kargupta, K., Siddhartha, D., Sanyal, S.K., 1998. Analysis of the performance of a continuous membrane bioreactor with cell recycling during ethanol fermentation. *Biochem. Eng. J.* 1, pp. 31–37.

Kay, H. D. (1962). Pasteurization Outlines of procedures and control. (In “milk Hygiene”. pp 257-267, WHO monograph. Series No 48. Geneva).

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

Kim, J. D. (2005). Antifungal activity of lactic acid bacteria isolated from kimchi against *Aspergillus fumigatus*. *Mycobiology*, 33, 210e214.

Kosikowski, F.(1977) Cheese and fermented milk foods. 2nd edit. New York.

Kourkoutas Y., A. Bekatorou, I.M. Banat, R. Marchant, A.A. Koutinas, (2004), Immobilization technologies and support materials suitable in alcohol beverages production: a review, *Food Microbiology* 21 pp 377–397

Kudělka, W. (2010). Probiotics in natural bio-yoghurts of goats’ milk. *Milchwissenschaft* 65:407–410.

Kurmann JA (1984): Aspects of the production of fermented milks. In: *Fermented Milks*, pp 16– 26, Bulletin no.179. Brussels: International Dairy Federation.

Kurmann JA, Rasic JLj & Kroger M (1992): *Encyclopedia of Fermented Fresh Milk Products*. New York: Van Nostrand Reinhold

Ladero, V., Fernandez, M., Calles-Enriquez, M., Sanchez-Llana, E., Canedo, E., Martin, M. C., et al. (2012). Is the production of the biogenic amines tyramine and putrescine a species-level trait in enterococci? *Food Microbiology*, 30(1),132–138.

Lampert L.M. (1970) *Modern Dairy Products* pp.206-213. Chemical Publ. Co

Lebeau, T., Jouenne, T., Junter, G.A., (1997). Simultaneous fermentation of glucose and xylose by pure and mixed cultures of *Saccharomyces cerevisiae* and *Candida shehatae* immobilized in a two-chambered bioreactor. *Enzyme Microb. Technol.* 21,

pp. 265–272.

Lebeau, T., Jouenne, T., Junter, G.A., (1998). Diffusion of sugars and alcohols through composite membrane structures immobilising viable yeast cells. *Enzyme Microb. Technol.* 22, pp. 434–438.

Lee, W. and Lucey, J.A.,(2003) Rheological properties, whey separation and microstructure in set-style yoghurt: Effects of heating temperature and gelation temperature, *J. Texture Stud.*, 34, pp 515–536.

Lorenzini, M., Fracchetti, F., Bolla, V., Stefanelli, E., Rossi, F., & Torriani, S. (June 20th e27th (2010). Ultraviolet light (UV-C) irradiation as an alternative technology for the control of microorganisms in grape juice and wine. OR.II.19-No 1240, V-2010_n 1240. In Proceedings OIV e International Organization of Vine and Wine e 33rdWorld Congress of Vine and Wine, 8th General Assembly of the OIV. Georgia: Tbilisi.

Lucey, J.A., (2002) Formation and physical properties of milk protein gels, *J. Dairy Sci.*,85, pp 281–294.

Martin, A.M., (1991). *Bioconversion of Waste Materials to Industrial Products*. Elsevier Applied Science, London, New York, pp. 63–116.

Mattiasson, B., Larsson, M., Hahn-Haegerdal, B., 1984. Metabolic behavior of immobilized cells-effects of some microenvironmental factors. *Ann. N. Y. Acad. Sci.:* *Enzyme Eng.* 434, pp 475–478.

Mayo, B., Aleksandrzyk-Piekarczyk, T., Fernandez, M., Magdalena, K., Alvarez-Martin, P.,Bardowski, J.,(2010). Updates in the metabolism of lactic acid bacteria. In: Mozzi, F.,Raya, R.R., Vignolo, G.M. (Eds.), *Biotechnology of Lactic Acid Bacteria : Novel Applications*.Wiley-Blackwell, Iowa, pp. 3–33.

Melzoch, K., Rychtera, M., Habova, V., (1994). Effect of immobilization upon the properties and behavior of *Saccharomyces cerevisiae* cells. *J. Biotechnol.* 32, pp 59–65.

Minervini F., (2011). *Bacteria | Lactobacillus spp.: Lactobacillus casei Group*. *Encyclopedia of Dairy Sciences (Second Edition)*, pp. 96–104

Navarro, J.M., Durand, G., (1977). Modification of yeast metabolism by immobilization on to porous glass. *Eur. J. Appl. Microbiol.* 4, pp 243–254.

Navratil, M., Domeny, Z., Hronsky, V., Sturdic, E., Smogrovicova, D., Gemeiner, P., (2000). Use of bioluminometry for determination of active yeast biomass immobilized in ionotropic hydrogels. *Anal. Biochem.* 284, pp 394–400.

Norton, S., D'Amore, T., (1994). Physiological effects of yeast cell immobilization: applications for brewing. *Enzyme Microb. Technol.* 16, pp 365–375

- Orla- Jensen s. (1931). Dairy Bacteriology, 2nd edition, Translated by Aryp, P.S., J. and A. Churchill, London. Farrow J.A.E. and Collins, M.D. (1984) Journal of General Microbiology
- Ortigosa, M., Arizcun, C., Irigoyen, A., Oneca, M., & Torre, P. (2006). Effect of Lactobacillus adjunct cultures on the microbiological and physicochemical characteristics of Roncal-type ewes'-milk cheese. Food Microbiology, 23, 591e598.
- Ott, A., Fay, L.B., Chaintreau, A., (1997). Determination and origin of the aroma impact compounds of yogurt flavor. J. Agric. Food Chem. 45, 850–858.
- Ozer, B.H.,(2006) Yogurt Bilimi ve Teknolojisi, Sidas Yayincilik, Izmir, p. 496.
- Park, J.K., Chang, H.N., (2000). Microencapsulation of microbial cells. Biotechnol. Adv. 18, pp 303–319.
- Pederson CS (1979): Microbiology of Food Fermentations, 2nd edn, pp 1 – 29. Connecticut: AVI Publishers.
- Perdigon, G. S. Alvarez., M. E. N. De Masias, M.E. Rous and A. P.R. Holgando,(1990). The oral administration of lactic bacteria increase the mucosal intestinal immunity in response to enteropathogens. J. Food Prot. 53: 404-410.
- Pilkington, P.H., Margaritis, A., Mensour, N.A., Russell, I., (1998). Fundamentals of immobilized yeast cells for continuous beer fermentation: a review. J. Inst. Brew. 104,pp 19–31.
- Reale, A., Di Renzo, T., Succi, M., Tremonte, P., Coppola, R., & Sorrentino, E. (2011). Identification of lactobacilli isolated in traditional ripe wheat sourdoughs by using molecular methods. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 27, 237e244.
- Realea Anna, Tiziana Di Renzo, Franca Rossi, Teresa Zotta, Lucilla Iacumin, Marco Preziuso, Eugenio Parente, Elena Sorrentino, Raffaele Coppola, (2015). Tolerance of Lactobacillus casei, Lactobacillus paracasei and Lactobacillus rhamnosus strains to stress factors encountered in food processing and in the gastro-intestinal tract. LWT - Food Science and Technology, 60 pp 721–728.
- Robinson (2002), fermented milk yoghurt type and manufacture , encyclopedia of gairy science, London ,academic press, pp1055-1058
- Robinson, R.K., Lucey, J.A., and Tamime, A.Y.,(2006). Manufacture of yoghurt, in Fermented Milks, A.Y. Tamime, Ed., Blackwell Publishing, London, pp. 53–75.
- Rossi, F., Gatto, V., Sabattini, G., & Torriani, S. (2012). An assessment of factors characterising the microbiology of Grana Trentino cheese, a Grana-type cheese. International Journal of Dairy Technology, 65, 401e409.
- Routray, W., Mishra, H.N., (2011). Scientific and technical aspects of yogurt aroma and taste: a review. Compr. Rev. Food Sci. Food Saf. 10, 208–220.

Taillandier, P., Cazottes, M.L., Strehaiano, P., (1994). Deacidification of grape musts by *Schizosaccharomyces* entrapped in alginate beads: a continuous-fluidised-bed process. *Chem. Eng. J. Bioch. Eng.* 55, B29–B33.

Tamine A.Y.R.R (1999), *YOGURT, SCIENCE AND TECHNOLOGY*. (Second edition ed.), Cambridge, Woodhead Publishing Limited.

Tamine (2002) Fermented milks: a historical food with modern applications—a review, *Diversity of fermented milks*, Kurmann JA, Rasic JLj & Kroger M (1992): *Encyclopedia of Fermented Fresh Milk Products*. New York: Van Nostrand Reinhold.

Tamine (2002), *Fermented milks: a historical food with modern applications—a review*, Dairy Science and Technology Consultant, Ayr, Scotland, UK

Tamine, A.Y. and Robinson, R.K., (2007). *Yoghurt Science and Technology*, 3rd edition, Woodhead Publishing, Cambridge, pp. 808. Cambridge England

Teixeira C. M. P. (1999). *Lactobacillus bulgaricus*. Escola Superior de Biotecnologia. Academic Press, Portugal.

Teixeira P. (2014). *Encyclopedia of Food Microbiology (Second Edition)*, pp: 425–431

Tanaka, H., Irie, S., Ochi, H., (1989). A novel immobilization method for prevention of cell leakage from the gel matrix. *J. Ferment. Bioeng.* 68, pp 216–219.

Sarn Settachaimongkon a,b,1, M.J. Robert Nout b, Elsa C. Antunes Fernandes a, Kasper A. Hetinga a, Jacques M. Vervoort c, Toon C.M. van Hooijdonk a, Marcel H. Shi, T., Nishiyama, K., Nakamata, K., Aryantini, N. P., Mikumo, D., Oda, Y., et al. (2012). Isolation of potential probiotic *Lactobacillus rhamnosus* strains from traditional fermented mare milk produced in Sumbawa Island of Indonesia. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 76, 1897e1903.

Shirai, Y., Hashimoto, K., Yamaji, H., Kawahara, H., (1988). Oxygen uptake rate of immobilized growing hybridoma cells. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 29, pp 113–118.

Shiby, V.K., Mishra, H.N., 2013. Fermented milks and milk products as functional foods: a review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 53, 482–496.

Sieuwerts, S., de Bok, F.A.M., Hugenholtz, J., van Hylckama Vlieg, J.E.T., (2008). Unraveling microbial interactions in food fermentations: from classical to genomics approaches. *Appl. Environ. Microbiol.* 74, 4997–5007.

Smit, G., Smit, B.A., Engels, W.J.M., (2005). Flavour formation by lactic acid bacteria and biochemical flavour profiling of cheese products. *FEMS Microbiol. Rev.* 29, 591–610.

Streptococcus thermophilus. *Journal of Dairy Research*, 77, 350–356.

- Succi, M., Tremonte, P., Reale, A., Sorrentino, E., Grazia, L., Pacifico, S., et al. (2005). Bile salt and acid tolerance of *Lactobacillus rhamnosus* strains isolated from Parmigiano Reggiano cheese. *FEMS Microbiology Letters*, 244, 129e137.
- Varga, L., Süle, J., and Nagy, P. (2014). Survival of the characteristic microbiota in probiotic fermented camel, cow, goat, and sheep milks during refrigerated storage. *J. Dairy Sci.* 97:1–6.
- Verdenelli, M. C., Ghelfi, F., Silvi, S., Orpianesi, C., Cecchini, C., & Cresci, A. (2009). Probiotic properties of *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus paracasei* isolated from human faeces. *European Journal of Nutrition*, 48, 355e363.
- Vijayalakshmi, M., Marcipar, A., Segard, E., Broun, G.B., (1979). Matrix-bound transition metal for continuous fermentation tower packing. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 326, pp 249–254.
- 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.
- Walsh, P.K., Malone, D.M., (1995). Cell growth in immobilization matrices. *Biotechnol. Adv.* 13, pp 13–43.
- Walstra, P., Wouters, J.T.M., Geurts, T.J., (2006). *Dairy Science and Technology*, 2nd ed. CRC/Taylor & Francis, New York.
- Webb, C., Fukuda, H., Alkinson, B., (1986). The production of cellulose in a spouted bed fermentor using cells immobilized in biomass support particles. *Biotechnol. Bioeng.* 28, pp 41–50.
- Wilhelm Bockelmann, Hans-Peter Beuck, Sonja Lick, Knut Heller (1995). Purification and characterization of a new tripeptidase from *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* B14. *International Dairy Journal* 5, pp. 493–502
- Yekta Gezginc, Ismail Akyolb, Esmeray Kuleyd, Fatih Özogul.(2013). Biogenic amines formation in *Streptococcus thermophilus* isolated from home-made natural yogurt. *Food Chemistry* 138 pp. 655–662.
- Yildiz Fatih(2010). *Development and manufacture of yogurt and other functional dairy products*. Taylor and Francis group, CRC Press, New York.
- Zwietering b, Eddy J. Smid b, Hein J.F. van Valenberg a, (2014), Influence of different proteolytic strains of *Streptococcus thermophilus* in co-culture with *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* on the metabolite profile of set-yoghurt. *International Journal of Food Microbiology*

Διαδίκτυο:

Βικιπαιδεια, 2015 Γάλα Διαθέσιμο στην ιστοσελίδα:

[.http://el.wikipedia.org/wiki/%CE%93%CE%AC%CE%BB%CE%B1](http://el.wikipedia.org/wiki/%CE%93%CE%AC%CE%BB%CE%B1) .Τελευταία επίσκεψη: 4/2/2015

ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑ, 2015. Το γάλα : ποιά είναι τα είδη του γάλατος που κυκλοφορούν στο εμπόριο; Διαθέσιμο στην ιστοσελίδα: <http://www.diaitologia.gr/gala/>. Τελευταία επίσκεψη:4/2/2015

Λόγω διατροφής, 2015. Διαθέσιμο στην ιστοσελίδα:<http://logodiatrofis.gr/2012-06-28-06-36-18/2012-06-28-06-59-52/763-2013-02-20-10-48-54>. Τελευταία επίσκεψη:4/2/2015

Paramithiotis, S., Kouretas, K., & Drosinos, E. H. (2013). Effect of ripening stage on the development of the microbial community during spontaneous fermentation of green tomatoes. Journal of the Science of Food and Agriculture. <http://dx.doi.org/10.1002/jsa.6464>. Τελευταία επίσκεψη:4/2/2015

Ramon-Portugal, F., Silva, S., Taillandier, P., Strehaiano, P., 2003. Immobilized yeasts: actual oenologic utilizations. Wine Internet Technical Journal. (1), (www.vinidea.net). Τελευταία επίσκεψη:4/2/2015