

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

ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ



ΘΕΜΑ: «Παρασκευή ζυμώμενου γάλακτος με χρήση ξηραμένων κυττάρων lactobacillus casei με ψεκασμο»

Σπουδάστρια: Πάλλη Ιωάννα, ΑΜ:2010224

Επιβλέπων καθηγητής: Κανδύλης Παναγιώτης

Καλαμάτα 2015

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η συγγραφή της πτυχιακής εργασίας αυτής με θέμα την «Παρασκευή ζυμώμενου γάλακτος με χρήση ξηραμένων κυττάρων *Lactobacillus casei* με ψεκασμο.», έγινε στα πλαίσια των υποχρεώσεών μου ως σπουδάστρια του τμήματος Τεχνολογίας Τροφίμων της σχολής Τεχνολογίας Γεωπονίας και Τροφίμων και Διατροφής. Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά όσους βοήθησαν και μου συμπαραστάθηκαν στην εκπόνηση αυτής της πτυχιακής εργασίας.

Ιδιαίτερα οφείλω να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή μου, Δρ. Παναγιώτη Κανδύλη επιστημονικό συνεργάτη του τμήματος Τεχνολογίας Τροφίμων για την πολύτιμη βοήθεια, καθοδήγηση και στήριξη που μου παρείχε όλο αυτό τον καιρό, από τον οποίο έγινε η ανάθεση του θέματος.

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	6
ABSTRACT	7
ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	8
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	9
1.1 Ιστορική αναδρομή ζυμώμενων προϊόντων	9
1.2. Γάλα	12
1.2.1. Η ιστορία του	12
1.2.2. Τύποι, κατηγορίες	14
1.2.3. Προϊόντα γάλακτος	15
1.3. Ζύμωση	16
1.3.1 Ιστορικά στοιχεία	16
1.3.2 Προϋποθέσεις για την παραγωγή ζυμωμένων προϊόντων	18
1.3.3 Είδη ζυμωμένων προϊόντων	18
1.3.4 Τα ζυμωμένα προϊόντα στη διατροφή μας	19
1.4. Ζυμώμενα προϊόντα γάλακτος	19
1.4.1 Γιαούρτη	19
1.4.1.1 Ιστορία	19
1.4.1.2 Διαχωρισμός γιαούρτης ανάλογα με τη χημική σύσταση	21
1.4. 1.3 Διαχωρισμός ανάλογα τον τύπο του γάλακτος	21
1.4.1.4 Τρόπος παρασκευής γιαούρτης	21

1.4.1.5	Θρεπτική αξία γιαούρτης	24
1.5.	Βούτυρο	25
1.5.1	Γενικά	25
1.5.2	Στάδια επεξεργασίας βουτύρου	25
1.6	Ξινόγαλα	26
1.6.1	Γενικά	26
1.6.2	Παρασκευή ξινογάλακτος	27
1.7	Κεφίρ	28
1.7.1	Γενικά	28
1.8	Τυρί	30
1.8.1	Γενικά	30
1.8.2	Το γάλα στο τυρί και ο ρόλος του	30
1.8.3	Μικροβιακές καλλιέργειες που χρησιμοποιούνται	31
1.8.4	Παρασκευή	31
1.8.5	Κατηγορίες τυριών	32
1.9	Βακτήρια του γαλακτικού οξέος	33
1.9.1	Γενικά	33
1.9.2	Οικογένεια lactobacteriaceae	35
1.9.2.1	Streptococcus	35
1.9.2.2.	Streptococcus thermophilus	36
1.9.2.3.	Φυσιολογικά χαρακτηριστικά	37
1.9.2.4.	Γένος lactobacillus:	38
1.9.2.5	Οι λακτοβάκιλλοι στα τρόφιμα	40
1.9.2.6.	Lactobacillus bulgaricus	40
1.9.2.7	Στη βιομηχανία τροφίμων	42
1.10	Lactobacillus casei	43

1.11 Γαλακτική ζύμωση - Παραγωγή γαλακτικού Οξέος	44
1.11.1 Διαδικασία ζύμωσης	46
1.11.2 Μικροβιολογία της ζύμωσης	48
1.12 Ακίνητοποίηση καλλιεργειών σε τρόφιμα	49
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	52
2.1 Μικροοργανισμοί	53
2.2. Παραγωγή ζυμώμενου γάλακτος	53
2.3.Μέτρηση φυσικοχημικών παραμέτρων	53
2.4. Βιωσιμότητα καλλιέργειας	54
3.Αποτελέσματα και συζήτηση	54
3.1. Γενικά	54
3.2. Επίδραση της καλλιέργειας στην ικανότητα οξίνισης του γάλακτος	55
3.3.Επίδραση της αποθήκευσης στις τιμές του pH των ζυμώμενων προϊόντων	56
3.4.Επίδραση της αποθήκευσης στις τιμές της τιτλοδοτούμενης οξύτητας των ζυμώμενων προϊόντων	56
3.5. Επίδραση της αποθήκευσης στις τιμές της βιωσιμότητας των καλλιεργειών	57
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	59
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	60

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η επίδραση της χρήσης νέων ξηραμένων με ψεκασμό 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 ξηραμένα με ψεκασμό κύτταρα *Lactobacillus casei*. 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 14% 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 καλλιιεργειών κατά τη παραγωγή και την αποθήκευση των ζυμώμενων γαλάτων. Οι αριθμοί των καλλιιεργειών διατηρήθηκαν σε επίπεδα που επιτρέπουν τον χαρακτηρισμό των νέων προϊόντων ως προβιοτικά.

Λέξεις κλειδιά: προβιοτικά, pH, τιτλοδοτούμενη οξύτητα, γαλακτοκομικά προϊόντα, ξήρανση με ψεκασμό

ABSTRACT

In the present study the effect of new spray dried 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 spray dried cells of *Lactobacillus casei*. 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 spray dried *L. casei* led to 14% 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, spray drying

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το γάλα είναι ένα μέρος της διατροφής μας αιώνες τώρα. Πλούσιο σε θρεπτικά συστατικά, το γάλα στις διάφορες μορφές του έχει μακρά ιστορία. Λόγω του ότι το γάλα ήταν άριστο υπόστρωμα ανάπτυξης μικροοργανισμών είχαμε πρόωγη εμφάνιση ζυμώμενων προϊόντων. Η παρασκευή ζυμώμενων προϊόντων βασίζεται κυρίως στη δράση γαλακτικών βακτηρίων (*streptococcus*, *lactobacillus*) που ζυμώνουν τη λακτόζη για τη δημιουργία κυρίως γαλακτικού οξέος. Το γαλακτικό οξύ εκτός από το ότι παρέχει ευχάριστη γεύση στα ζυμώμενα προϊόντα, παρεμποδίζει και την ανάπτυξη παθογόνων μικροοργανισμών. Τα γαλακτοβακτήρια αποδεδειγμένα βοηθούν στην καλή λειτουργία του εντέρου και βοηθά στην πρόληψη και θεραπεία ασθενειών.

Στόχος της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη της επίδρασης κατά τη χρήση νέων ακινητοποιημένων αρχικών καλλιεργειών 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 χρήση ξηραμένων κυττάρων *lactobacillus casei* με ψεκασμό. 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 παρουσίασή 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 Ιστορικά στοιχεία ζυμώμενων προϊόντων

Η πραγματική προέλευση του γάλακτος που έχει υποστεί ζύμωση είναι δύσκολο να προσδιοριστεί αλλά λέγεται ότι προήλθε από τη δυτική Ασία και μεταφέρθηκε στην Ανατολή, όπου νέες παραλλαγές αναπτύχθηκαν για να ταιριάζει με το διαφορετικό κλίμα. Από ανάγλυφες παραστάσεις που βρέθηκαν στη Μέση Ανατολή στην περιοχή της αρχαίας Βαβυλωνίας γίνεται φανερό ότι ο άνθρωπος άρμεγε την

αγελάδα και επεξεργαζόταν το γάλα της τουλάχιστον από το 2900 π.Χ. (Robinson, 2002). Η σχέση αυτή του ανθρώπου με τα ζώα και κυρίως με την παραγωγή γάλακτος, σίγουρα ξεκίνησε πολύ νωρίτερα, και μόνο όταν ανέπτυξε κάποιο πολιτισμό μπόρεσε να αφήσει κάποιες μαρτυρίες γύρω από τη σχέση αυτή. Συνταγές για ξινισμένο γάλα που περιέχουν φρούτα και μπαχαρικά στην αρχαία ελληνική και ρωμαϊκή εποχή και γάλατα που έχουν υποστεί ζύμωση έχουν παίξει σημαντικό ρόλο σε πολλούς διαφορετικούς πολιτισμούς σε όλη την ιστορία, π.χ., αναφέρονται στην Αγία Γραφή και το ιερό βιβλίο του Ινδουισμού. Η αποθήκευση γαλακτοκομικών προϊόντων και η καλλιέργειά τους, αναφέρονται επίσης στο αρχαϊκά κείμενα από τη Μεσοποταμία που χρονολογείται πριν από το 3000 π.Χ. (Farnworth, 2008).

Η σχέση των ανθρώπων με τα εξημερωμένα πλέον ζώα οδήγησε στην γρήγορη ένταξη της διατροφής τους το γάλα και τα γαλακτοκομικά προϊόντα κατά την προβιομηχανική περίοδο. Το γάλα ήταν πάντοτε ένα ευπαθές προϊόν και ο άνθρωπος είχε ανέκαθεν το πρόβλημα της συντηρήσεως του. Ασφαλώς και τότε όπως και τώρα το γάλα αμέσως μετά την παραγωγή του άρχιζε να αλλοιώνεται καθώς οι μικροοργανισμοί που προκαλούν τις αλλοιώσεις υπήρχαν πριν ακόμη υπάρξει ο άνθρωπος και τα ζώα. Με τις πρωτόγονες συνθήκες που επικρατούσαν το γάλα οπωσδήποτε ξίνιζε γρήγορα οπότε μετατρέποταν σε μια μορφή συντηρήσιμη και ο άνθρωπος αναγκαζόταν να το καταναλώσει και ξινό (<http://www.food-net.org>).

Ένας συνδυασμός πιθανής μόλυνσης, κλιματολογικών συνθηκών και τυχαίας ανακάλυψης έπαιξε ρόλο στην ανάπτυξη των παραδοσιακά ζυμωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων. Εφόσον στο γάλα επικρατούσαν τα βακτήρια γαλακτικού οξέος η γεύση του ξινισμένου γάλακτος ήταν ευχάριστη κι αυτό έγινε η αφορμή να δημιουργηθεί το πρώτο ίσως γαλακτοκομικό προϊόν το "ξινόγαλα". Η ζύμωση του γάλακτος επέτρεψε στους ανθρώπους να αποθηκεύουν και να χρησιμοποιούν περίσσεια γάλακτος και να διανύσουν μεγάλες αποστάσεις. Σήμερα, η ζύμωση χρησιμοποιείται για την παραγωγή γαλακτοκομικών προϊόντων με διαφορετικές γεύσεις, υφές και οφέλη για την υγεία. Διάφοροι παράγοντες επηρεάζουν την παρασκευή των παραδοσιακών γαλακτοκομικών προϊόντων ζύμωσης, με πρώτο τους γεωργικούς παράγοντες οι οποίοι επηρεάζουν σημαντικά τη διαδικασία (Πίνακας 1).

Πίνακας 1. Παράγοντες που επηρεάζουν την παραγωγή των παραδοσιακών γαλακτοκομικών προϊόντων ζύμωσης

Παράγοντες	Παράδειγμα
γεωργικός	Οι τρέχουσες γεωργικές πρακτικές Κτηνοτροφία Διαθεσιμότητα γάλακτος Είδη ζώων που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή γάλακτος
περιβαλλοντικός	καιρικές συνθήκες, κλιμα
Πολιτιστικός	Διατροφικές συνήθειες του Πληθυσμού Στάδια ανάπτυξης της Εμπορικής επεξεργασίας του γάλακτος Κατανάλωση και καταλληλότητα του γάλακτος

Πηγή: Κυριακίδης, 1983

Καλλιεργούμενα γαλακτοκομικά προϊόντα μπορούν να παρασκευαστούν από το γάλα διαφόρων θηλαστικών, με τις αγελάδες, τα βουβάλια, το κατσικίσιο και πρόβειο γάλα είναι η πιο κοινή. Σε ορισμένα μέρη του κόσμου, το γάλα των άλλων ζώων (όπως καμήλας, βούβαλου και ταράνδων) χρησιμοποιείται. Η γιαούρτι και το ζυμώμενο γάλα είναι ίσως τα πιο δημοφιλή ζυμώμενα γαλακτοκομικά προϊόντα. Παραλλαγές στο εσωτερικό των χωρών, ακόμη και εντός των περιφερειών που παρατηρούνται οφείλονται, εν μέρει, σε διαφορετικές εθνοτικές ομάδες με ξεχωριστές κουλτούρες και προτιμήσεις. Μερικά από τα παραδοσιακά ζυμώμενα γάλατα και συναφή προϊόντα που παρασκευάζονται σε διάφορα μέρη του κόσμου που περιγράφονται στον πίνακα 2.

Πίνακας 2. Παραδείγματα παραδοσιακά γαλακτοκομικά προϊόντα ζύμωσης και άλλα συναφή προϊόντα.

Περιοχές	παράγωγα
Βουλγαρία	Kisle Bulgarian milk
Ελλάδα	Yiaourti
Τουρκία	Jogurt, eyran, Ayrn
Ινδία	Shrikhand
Μογγολία	Tarag
Ρουμανία	Oxygala
Italy	Cicddu
Ουγγαρία	Sour cream, yogurt (tarho)
Ρωσία	Kefir, koumiss, prostokvasha

Πηγή: Chandan , 2002, Tamine , 1999

1.2 Γάλα:

1.2.1 Η ιστορία του:

Το γάλα είναι ένα από τα πιο κύρια κτηνοτροφικά προϊόντα, η απόκτηση του οποίου δεν προϋποθέτει τη σφαγή του ζώου το δεύτερο είναι το έριο το τρίχωμα δηλαδή των εριφίων και των αμνών. Μολονότι κάτι τέτοιο σήμερα ουδόλως επηρεάζει τον τρόπο με τον οποίο ασκείται η κτηνοτροφία, εντούτοις, κατά τη νεολιθική εποχή η σύνθεση ενός κοπαδιού, αλλά και οι ηλικίες σφαγής των μελών του, αποτελούσαν οικονομική επιλογή μεγάλης βαρύτητας. Η μελέτη μεγάλου αριθμού ζωικών καταλοίπων από οικισμούς των προϊστορικών χρόνων σε ολόκληρη

την Ελλάδα μας επιτρέπει να υποστηρίξουμε ότι η κτηνοτροφία βασιζόταν για πολλές χιλιετίες στην παραγωγή κρέατος και πολύ λιγότερο σε άλλα προϊόντα.

Ωστόσο, από το τέλος της νεολιθικής εποχής συντελείται μία στροφή προς τα προϊόντα του ζώντος ζώου (γάλα και έριο), γνωστή στη διεθνή βιβλιογραφία ως «επανάσταση των δευτερογενών προϊόντων» (secondary products revolution). Πρόκειται για πραγματική επανάσταση, με τους οικονομικούς όρους της εποχής εκείνης, καθ' όσον καταγράφονται συστηματικά αλλαγές τόσο στη δομή των κοπαδιών όσο και στις ηλικίες σφαγής των ζώων που τα απαρτίζουν. Αργότερα, κατά τη διάρκεια των ιστορικών χρόνων, το γάλα και τα προϊόντα του όχι μόνο αποτελούσαν βασικό είδος διατροφής αλλά γινόταν και συστηματική εκτροφή ειδικών φυλών ζώων για συγκεκριμένα προϊόντα. Η ιστορία του γάλακτος είναι τόσο παλιά όσο και η εξημέρωση της κατσίκας και του προβάτου, πριν από 9000 χρόνια, στα οροπέδια του Ιράν και του Αφγανιστάν. Δύο χιλιάδες χρόνια αργότερα, εξημερώθηκαν και οι αγελάδες στις περιοχές της Μέσης Ανατολής και σε μερικά τμήματα της Αφρικής.

Η παραγωγή του γάλακτος και των γαλακτοκομικών προϊόντων επεκτάθηκε εμπορικά μετά το 1863 και την ανακάλυψη από τον Παστέρ της διαδικασίας αδρανοποίησης των βακτηριδίων που μετατρέπουν το κρασί σε ξίδι. Η μέθοδος αυτή, που είναι γνωστή σήμερα ως «παστερίωση», βρήκε μεγάλη πρακτική εφαρμογή στην παραγωγή, διακίνηση και τυποποίηση προϊόντων γάλακτος, με αποτέλεσμα να εκτιναχθεί η χρήση των γαλακτοκομικών στα ύψη (Κυριακίδης Κ., 1983).

Το γάλα είναι θρεπτικό, λευκό ή ελαφρώς κιτρινωπό υγρό, που αποτελεί βιολογικό έκκριμα των μαστών των θηλαστικών, συμπεριλαμβανομένου του ανθρώπινου είδους, που προορίζεται για τη διατροφή των νεογνών τους. Η δια του θηλασμού απευθείας μεταφορά του γάλακτος από τους μαστούς στο πεπτικό σύστημα των νεογνών αποτελεί το μικρότερο κύκλωμα παραγωγής - κατανάλωσης που σημειώνεται στη φύση (Βικιπαιδεία, 2015). Το γάλα δεν είναι ομοιογενές, αλλά μείγμα διάφορων οργανικών ουσιών και αποτελείται από νερό, λίπος, πρωτεΐνες, υδατάνθρακες, ένζυμα, άλατα και βιταμίνες. Μερικά από τα συστατικά αυτά, όπως το λίπος, είναι δυνατό να χωριστούν από το υπόλοιπο γάλα με μηχανικό τρόπο.

Σύμφωνα με τον Ελληνικό Κώδικα Τροφίμων και Ποτών (Κ.Τ.Π. 2003), υπάρχει ο παρακάτω ορισμός για το γάλα: Γάλα είναι το απαλλαγμένο πρωτογάλατος προϊόν του πλήρους και χωρίς διακοπής αρμέγματος υγιούς γαλακτοφόρου ζώου, το οποίο διαβιώνει και διατρέφεται από υγιούς όρους και το οποίο δεν βρίσκεται σε κατάσταση υπερκόπωσης.

Με τον όρο γάλα απλά χωρίς να συνδέεται με κάποιο επίθετο νοείται αποκλειστικά και μόνο το γάλα το οποίο προέρχεται από αγελάδα, είναι νωπό, πλήρες, δεν έχει υποστεί αφυδάτωση ή συμπύκνωση και δεν περιέχει άλλες ουσίες που έχουν προστεθεί απ' έξω (Μάντης, 2000). Τα διάφορα είδη γάλακτος διαφέρουν στη σύσταση του. Τα κυριότερα συστατικά του γάλακτος είναι το νερό, το λίπος, οι πρωτεΐνες, η λακτόζη, τα διάφορα άλατα κ.α. (Ανυφαντάκης και Καλατζόπουλος, 1993).

1.2.2 Τύποι, κατηγορίες:

Στην αγορά διατίθενται πολλοί και διαφορετικοί τύποι γάλακτος. Με το αγελαδινό να κατέχει το μεγαλύτερο ποσοστό, ακολουθούν το κατσικίσιο, το πρόβιο κ.α. Στον παρακάτω Πίνακα 4 φαίνεται η μέση σύσταση των διαφόρων ειδών γάλακτος. Επίσης, υπάρχουν κατηγοριοποιήσεις που βασίζονται στα λιπαρά που περιέχει το γάλα (πίνακας 3), στα πρόσθετα (π.χ. ασβέστιο) και στη ράτσα της αγελάδας.

Πίνακας 3. Τύποι γάλακτος

Φυσικό πλήρες γάλα	Γάλα στο οποίο δεν έχει προστεθεί η αφαιρεθεί τίποτα με 3,5-5% λιπαρά ανάλογα με τη φυλή της αγελάδας.
Τυποποιημένο ή κανονικό πλήρες γάλα	Γάλα τυποποιημένο σε 3,5 με 4% λιπαρά.
Ημιαποβουτυρωμένο γάλα	Έχει αφαιρεθεί η μισή ποσότητα λίπους. Περιέχει 1,5-1,8% λιπαρά.
Αποβουτυρωμένο (χαμηλών λιπαρών) γάλα	Σχεδόν όλο το λίπος έχει αφαιρεθεί. Περιέχει λιγότερο από 0,5% λιπαρά.
Γάλα με μειωμένη λακτόζη ή γάλα ελεύθερο λακτόζης	Το σάκχαρο του γάλακτος (λακτόζη) έχει μερικώς ή ολικώς απομακρυνθεί προορίζεται για ανθρώπους με δυσανοχή στη λακτόζη.

Πηγή: Μάντης, 2000

Πίνακας 4. Μέση σύσταση του γάλακτος διαφόρων θηλαστικών(g/100g).

Μέση σύσταση του γάλακτος διαφόρων θηλαστικών(g/100g).							
Είδος γάλακτος:							
	Νερό	λίπος	Πρωτεΐνες	Λακτόζη	Τεφρά	ΣΥΑΛ	Ολ. στερεα συστ.
Γίδινο	87,00	4,25	3,52	4,27	0,86	8,75	13,00
Αγελαδινό	87,2	3,70	3,50	4,90	0,70	9,10	12,80
Πρόβιο	80,71	7,90	5,23	4,81	0,90	11,93	19,29
Ανθρώπινο	87,43	3,75	1,63	6,98	0,21	8,82	12,57

Πηγή: Μάντης, 2000

Τέλος έχουμε τις επεξεργασίες, προκειμένου να καταστεί το γάλα ασφαλές για κατανάλωση (πίνακας 5).

Πίνακας 5. Επεξεργασίες γάλακτος

Παστεριωμένο γάλα	Γάλα που έχει υποστεί ήπια θερμική επεξεργασία (72-75°C για 15-30 δευτερόλεπτα) για να θανατωθούν οι παθογόνοι μικροοργανισμοί.
Γάλα UHT (Γάλα υπερύψηλης θερμοκρασίας)	Γάλα που θερμαίνεται σε υψηλότερη θερμοκρασία ($\geq 135^\circ\text{C}$ για τουλάχιστον 1 δευτερόλεπτο) για να καταστραφούν οι περισσότεροι μικροοργανισμοί που περιέχει.
Αποστειρωμένο γάλα	Γάλα που υπόκειται σε επεξεργασία για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα (περίπου 110°C για 20-30 λεπτά) για να καταστραφούν όλοι οι μικροοργανισμοί που περιέχει.
Γάλα μακράς διάρκειας	Μικρο-φιλτραρισμένο ή/και επεξεργασμένο με θερμότητα.

Πηγή: Κυριακίδης, 1983

1.2.3 Προϊόντα γάλακτος:

Τα προϊόντα του γάλακτος διακρίνονται σε:

- 1) Τα μακράς διάρκειας διατηρούμενα προϊόντα δηλαδή γάλα εβαπορέ, γάλα σακχαρούχο, σκόνη γάλακτος κλπ.
- 2) Τα όξινα προϊόντα γάλακτος π.χ ξινόγαλα

- 3) Διάφορα άλλα προϊόντα
- 4) Προϊόντα από ορό γάλακτος
- 5) Παγωτά
- 6) Βούτυρο, μαργαρίνη
- 7) Τυρί

Λίγα λόγια για κάθε κατηγορία:

1) Το μακράς διαρκείας προϊόν γάλακτος είναι το προϊόν το οποίο έχει υποστεί θέρμανση και ταυτόχρονη συμπύκνωση που έχει ως αποτέλεσμα τη μεγάλη διατηρησιμότητα.

2) στην κατηγορία αυτών των προϊόντων περιλαμβάνονται προϊόντα τα οποία με τη βοήθεια ειδικής καλλιέργειας δημιουργούνται οι απαιτούμενες συνθήκες ανάπτυξης όξινης ευχάριστης γεύσης καθώς και κατάλληλης υφής.

3) γαλακτούχα άλευρα, σοκολατούχο και κακάο γάλα και παγωτά

4) λέγοντας ορός γάλακτος εννοούμε το υγρό το οποίο απομένει μετά τη λήψη του τυριού δηλαδή μετά τον αποχωρισμό της καζεΐνης από το λίπος κατά την πήξη του γάλακτος.

5) με τον όρο μαργαρίνη εννοούμε την λιπαρή τροφή παρόμοιας του βουτύρου, που διαφέρει όμως από αυτό στο ότι το λίπος είτε καθόλου είτε σε μικρή αναλογία προέρχεται από το λίπος του γάλακτος.

6) είναι γνωστό ότι μετά το γάλα είναι το σπουδαιότερο σε θρεπτική αξία (Κυριακίδης Κ., 1983) .

1.3 Ζύμωση:

1.3.1 Ιστορικά στοιχεία

Είναι γενικά αποδεκτό ότι τα ζυμωμένα προϊόντα είναι τα παλιότερα γαλακτοκομικά προϊόντα. Υπάρχουν πολυάριθμες αναφορές σε κείμενα για το πώς οι αρχαίοι πολιτισμοί χρησιμοποιούσαν τα ζυμωμένα προϊόντα, από την Αγία Γραφή με

αναφορά στον Αβραάμ μέχρι τις αρχαίες τουρκικές φυλές. Η εξήγηση για την πρόωρη εμφάνιση των ζυμωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων στη διατροφή των διαφόρων λαών της ιστορίας έχει να κάνει με τη φύση του ίδιου του γάλακτος, που αποτελεί άριστο υπόστρωμα για την ανάπτυξη μικροοργανισμών (όχι πάντα ευεργετικών). Η προέλευση αυτών των μικροβίων μπορεί να ήταν τυχαία (από το περιβάλλον) καθώς και από την συνεχή χρήση διαφόρων σκευών και περιεκτών, που λόγω του πλημμελούς καθαρισμού αποτελούσαν πηγή μικροβίων και συντελούσαν σε κάποιο βαθμό στην σταθερότητα της ζυμωτικής διεργασίας (Tamime, 2002) .

Η ζύμωση της λακτόζης σε γαλακτικό οξύ και άλλα προϊόντα είναι το κλειδί της αντίδραση στην παρασκευή του τυριού και ζυμώμενου γάλακτος. Το γαλακτικό οξύ δρα ως κύριο συντηρητικό στο προϊόν και κατά τη διάρκεια της διαδικασίας ο τιμής του pH πέφτει από την κανονική των 6.6 στο 4 (γιαούρτι), 4,6 (μαλακό τυρί και ζυμώμενα γάλατα) ή στο 5,2 για σκληρό τυρί. Αυτή η ζύμωση προκαλείται από ειδικές καλλιέργειες που ονομάζονται γαλακτικές ή καλλιέργειες εκκίνησης, οι οποίες ξεκινήσουν την παραγωγή οξέων στο γάλα που περιέχει αρκετά είδη βακτηρίων γαλακτικού οξέος (Diary microbiology, 1989) .

1.3.2 Προϋποθέσεις για την παραγωγή ζυμωμένων προϊόντων

Η διαδικασία δημιουργίας ζυμωμένων προϊόντων είναι απλή και ουσιαστικά παραμένει η ίδια για πολλά χρόνια. Ανεξάρτητα από την ποσότητα και το είδος του γαλακτοκομικού προϊόντος που θα θέλαμε να παράγουμε οι βασικές απαιτήσεις και προϋποθέσεις είναι οι ακόλουθες:

1. Κατάλληλο υπόστρωμα για τη ζύμωση
2. Ζωντανή καλλιέργεια μικροβίων
3. Βέλτιστες συνθήκες καλλιέργειας για τον πολλαπλασιασμό των μικροβίων

Η παρασκευή των ζυμωμένων προϊόντων βασίζεται κυρίως (και όχι μόνο) στη δράση των γαλακτικών βακτηρίων (*Streptococcus* και *Lactobacillus*) που ζυμώνουν την λακτόζη (του βασικού σακχάρου που υπάρχει στο γάλα) για τη δημιουργία διαφόρων οξέων κυρίως όμως του γαλακτικού οξέος. Το γαλακτικό οξύ δίνει αυτήν

τη ευχάριστη όξινη γεύση στα γαλακτοκομικά προϊόντα, βοηθά στο πήξιμο του γάλακτος και στην υφή και δομή του τυροπήγματος κατά την παραγωγή των τυριών. Επίσης, η δημιουργία οξέων δημιουργεί συνθήκες τέτοιες που εμποδίζεται η ανάπτυξη παθογόνων μικροβίων (χαμηλό pH). Πέρα από τη δημιουργία οξέων, τα γαλακτικά μικρόβια συμμετέχουν στη δημιουργία του αρωματικού προφίλ του τελικού προϊόντος, μέσω της πρωτεολυτικής (κυρίως) αλλά και της λιπολυτικής δράσης τους, που δημιουργούν πολλές αρωματικές ουσίες που χαρακτηρίζουν τα τελικά προϊόντα.

1.3.3 Είδη ζυμωμένων προϊόντων

Υπάρχουν πολλές κατατάξεις των ζυμωμένων προϊόντων. Η πιο χαρακτηριστική, με βάση το είδος του χρησιμοποιημένου μικροοργανισμού είναι η κάτωθι:

1. Ζυμωμένα με χρήση οξυγαλακτικών μικροβίων. Στην κατηγορία αυτή μπορούμε να διακρίνουμε τρεις υποκατηγορίες με βάση τις συνθήκες ανάπτυξης της καλλιέργειας

- Μεσόφιλα στελέχη, όπως το καλλιεργούμενο βουτυρόγαλα
- Θερμόφιλα στελέχη, όπως το κλασικό γιαούρτι
- Προβιοτικά στελέχη όπως το οξύγαλα

2. Ζυμωμένα με βάση ζυμομύκητες – οξυγαλακτικά όπως το κεφίρ και η κουμिस

3. Ζυμωμένα με βάση ευρωτομύκητες – οξυγαλακτικά όπως το viili (γιαούρτι σε σκανδιναβικές χώρες)

Τα μεσόφιλα βακτήρια έχουν σαν άριστη θερμοκρασία για τη δράση τους, τους 20-30 °C ενώ τα θερμόφιλα από 37-45 °C. Οπότε γίνεται αμέσως κατανοητό ότι τα προϊόντα που προέρχονται από χώρες με θερμό-εύκρατο κλίμα περιέχουν κυρίως θερμόφιλους μικροοργανισμούς, ενώ τα προϊόντα με μεσόφιλους μικροοργανισμούς προέρχονται από χώρες με ψυχρότερο κλίμα (Shiby et al., 2013).

1.3.4 Τα ζυμωμένα προϊόντα στη διατροφή μας

Έχουν περάσει πολλά χρόνια (1910) από το αρχικό άρθρο του Metchnikoff, που σύνδεσε την μακροβιότητα κάποιων κατοίκων της Βουλγαρίας με την κατανάλωση γιαουρτιού (Shah, 2007). Αυτό το άρθρο αποτέλεσε την αφετηρία για μια σειρά πολύχρονων ερευνών και αναλύσεων αλλά και την αρχή για μια πιο προσεκτική προσέγγιση της χρήσης των ζυμωμένων προϊόντων στην διατροφή μας. Σίγουρα η χρήση των ζυμωμένων γαλακτοκομικών (γιαουρτιών, τυριών) στο καθημερινό μας τραπέζι μας δίνει ένα μεγάλο αριθμό πλεονεκτημάτων (από ιατρικής αλλά και από διαιτολογικής πλευράς) και σίγουρα τα επόμενα χρόνια θα δούμε και νέα προϊόντα αλλά και νέα στελέχη μικροβίων (προβιοτικά) που μέσω των λειτουργικών τροφίμων θα συμβάλουν στη βελτίωση της ποιότητας ζωής του καταναλωτή (Parvez et al., 2006).

1.4 Ζυμώμενα προϊόντα γάλακτος:

Παρασκευάζονται από γάλα με δράση καταλλήλων μικροοργανισμών, που προκαλούν πήξιμο του γάλακτος μετά από πτώση του pH.

1.4.1 Γιαούρτη:

1.4.1.1 Ιστορία: Η σημερινή ονομασία γιαούρτη κατά άλλους μεν προήλθε από την Ασία όπου άλλοτε ζούσαν τούρκοι νομάδες οι οποίοι το λέγανε Yogurt ενώ τώρα στην τουρκική λέγεται Jugurt κατά άλλους δε προήλθε από τα Βαλκάνια. Με την ονομασία αυτή η οποία φαίνεται να είναι η επικρατέστερη στον κόσμο μεταδόθηκε σε πολλές χώρες όπως την Αγγλία (Yoghurt,) Αμερική (Yogurt), Βουλγαρία (Yahourth) κλπ. Υπάρχουν και παραλλαγές όμως της γιαούρτης με διάφορες ονομασίες. Έτσι το τουρκικό Airan ή Ayran (αραιωμένο γιαούρτη) είναι πιθανώς το "Αριάνι" των ποντίων δηλαδή "αραιωμένο" που γίνεται ύστερα από ανάδευση της γιαούρτης ή της στραγγιστής γιαούρτης με προσθήκη νερού. Το αντίστοιχο παραδοσιακό τουρκικό περιέχει μάλιστα και 0.5% αλάτι. (<http://www.food-net.org/>).

Η φυσική οξίνιση όμως του γάλακτος δεν εξασφάλιζε τη συντήρηση του γάλακτος για πολλές μέρες. Παρατηρήθηκε όμως ότι όταν η συντήρηση γινόταν μέσα σε ασκούς από δέρματα ζώων ήταν πιο μακροχρόνια παρά μέσα σε πήλινα δοχεία διότι

το δέρμα του ζώου επέτρεπε μερικώς στη γιαούρτη να διυλίζεται οπότε λάμβανε χώρα κάποια συμπύκνωση. Η συμπυκνωμένη μορφή είναι με λιγότερη υγρασία, λακτόζη και οξύτητα γι' αυτό διατηρείται περισσότερο και καταναλώνεται πιο ευχάριστα από την υπερβολικά ξινή γιαούρτη. Σήμερα χρησιμοποιούνται οι παραδοσιακοί ηθμοί από ύφασμα για διύλιση της γιαούρτης από την οποία προήλθε και η ονομασία υλιστόν από τους ποντίους ή στραγγιστή κατά την καθομιλουμένη επειδή αυτό είναι το στράγγισμα της γιαούρτης. Στην πορεία του χρόνου οι λαοί της μεσογείου τροποποίησαν τις παραδοσιακές μεθόδους παραγωγής που κληρονόμησαν από τις νομαδικές φυλές. Αποτέλεσμα ήταν η παραγωγή προϊόντος αρκετά διαφοροποιημένου από το αρχικό (Tamine and Robinson, 1999).

Οι γνώσεις στη μικροβιολογία των ζυμώσεων που ενισχύθηκαν από το τέλος του 20ου αιώνα, βοήθησαν στη βιομηχανία τροφίμων ώστε να προχωρήσει στη χρήση επιλεγμένων καλλιιεργειών εκκίνησης, τα οποία αποδίδουν σταθερά προϊόντα ζύμωσης (Robinson et al., 2002). Συνήθως κατασκευάζεται από πρόβιο αλλά και από αγελαδινό γάλα, είναι το πιο διαδεδομένο προϊόν γάλακτος λόγω της εύκολης παρασκευής του. Είναι λοιπόν πηγμένο γάλα που με την επίδραση ειδικής οξυγαλακτικής καλλιέργειας προκαλεί τη γαλακτική ζύμωση. Η καλλιέργεια των μικροοργανισμών που δημιουργεί αυτή τη ζύμωση είναι μικτή και αποτελείται από τον *lactobacillus bulgaricus* και τον *streptococcus thermophilus*.

Σύμφωνα με τους διεθνείς οργανισμούς FAO, WHO Codex alimentarius, γιαούρτι είναι ένα προϊόν πηγμένου γάλακτος το οποίο υπόκειται σε οξυγαλακτική ζύμωση μέσω της δράσης των *streptococcus thermophilus* και *lactobacillus bulgaricus* οι οποίοι μικροοργανισμοί στο τελικό προϊόν πρέπει να είναι βιώσιμοι και σε αφθονία. (food starts codex alimentarius, 1976).

1.4.1.2 Διαχωρισμός γιαούρτης ανάλογα με τη χημική σύσταση

Τα γιαούρτια χωρίζονται σύμφωνα με τη χημική τους σύσταση στις παρακάτω 3 κατηγορίες:

1)πλήρες

Ελάχιστη σύσταση λιπαρών	3,0% m/m
Ελάχιστη σύσταση μη λιπαρών στερεών συστατικών	8,2% m/m
2) ημίπαχο	
μέγιστη σύσταση λιπαρών	<3,0% m/m
ελάχιστη σύσταση λιπαρών	>0,5% m/m
Ελάχιστη σύσταση μη λιπαρών στερεών συστατικών	8,2% m/m
3) άπαχο	
μέγιστη σύσταση λιπαρών	0,5% m/m
Ελάχιστη σύσταση μη λιπαρών στερεών συστατικών	8,2% m/m

Καθώς και γιαούρτι με φρούτα και πρόσθετες ουσίες.

1.4.1.3 Διαχωρισμός ανάλογα τον τύπο του γάλακτος χωρίζονται σε :

- Γιαούρτι πρόβειο γάλακτος
- Γιαούρτι από κατσικίσιο γάλα
- Γιαούρτι από βουβαλίσιο γάλα
- Γιαούρτι από αγελαδινό γάλα
- Γιαούρτι από ανάμειξη γάλακτος διαφόρων ζώων.

1.4.1.4 Τρόπος παρασκευής γιαούρτης

Το γιαούρτι είναι τρόφιμο που παράγεται σε όλο τον κόσμο μέσω της γαλακτικής ζύμωσης αγελαδινού ή πρόβειου γάλακτος. Σήμερα γίνεται προσθήκη πρωτεϊνών γάλακτος, ζάχαρης και παράγοντες συμπύκνωσης (El-zahar, et al., 2003). Το γάλα

που πρόκειται να χρησιμοποιηθεί για την παρασκευή γιαουρτιού αρχικά παστεριώνεται (72 °C για 15 δευτερόλεπτα), για να καταστραφούν οι παθογόνοι μικροοργανισμοί που περιέχονται σε αυτό. Ένα από τα πιο σημαντικά χαρακτηριστικά είναι η υφή του, η οποία εξαρτάται από τη θερμοκρασία που εφαρμόζεται και από τις καλλιέργειες εκκίνησης που παίρνουν μέρος στη ζύμωση. (Sodini, et al.,2004). Έτσι στην συνέχεια προστίθεται καλλιέργεια μικροοργανισμών, όπως του γένους *Lactobacillus* και *Streptococcus*, που μετατρέπουν τη λακτόζη (δισακχαρίτης) του γάλακτος σε γαλακτικό οξύ, μειώνοντας το pH του γάλακτος σε 5,5 και προσδίδουν στο γιαούρτι τη χαρακτηριστική κρεμώδη υφή. Οι μικροοργανισμοί αυτοί παράγουν επίσης αιθανάλη (ακεταλδεΐδη), που προσδίδει χαρακτηριστικό άρωμα στο γιαούρτι. Για την πραγματοποίηση των παραπάνω αντιδράσεων το γάλα επωάζεται για 12 ώρες στους 32 °C. Αναλυτικότερα:

Εκλογή κατάλληλου γάλακτος: πρέπει να δύνεται προσοχή στο μικροβιακό φορτίο του γάλακτος, καθώς και σε ανασταλτικές ουσίες σε αυτό πχ. Αντιβιοτικών και απολυμαντικών ουσιών.

Θέρμανση (βρασμός): Αφού το γάλα σουρωθεί ζεσταίνεται μέχρι να φθάσει σε θερμοκρασία 85°-90 °C για 15-30 λεπτά ή 95 °C για 3-5 λεπτά. Κατά τη διάρκεια της θέρμανσης και μέχρι να βράσει, το γάλα πρέπει να ανακατεύεται συνεχώς, κυρίως όταν η θέρμανση γίνεται απευθείας στο δοχείο, για να μην καεί το γάλα και πάρει άσχημη μυρωδιά. Με το βράσιμο επιτυγχάνεται η καταστροφή όλων των μικροβίων, η διάσπαση της καζεΐνης και η αλβουμίνη του γάλακτος σχηματίζει λεπτό στρώμα, συγκρατώντας περισσότερο νερό.

Ομογενοποίηση: είναι γνωστό ότι με την ομογενοποίηση επιδιώκεται η διατήρηση της ομοιομορφίας του προϊόντος. Η ομογενοποίηση προκαλεί κυρίως θραύση των λιποσφαιρίων. Με αυτόν τον τρόπο παρεμποδίζεται η τάση των λιποσφαιρίων να ανέρχονται προς τα επάνω και να σχηματίζουν συσσωματώματα (πέτσα). Εκτός από την επίδραση στο λίπος, η ομογενοποίηση, χρησιμοποιείται υψηλή πίεση, επιδρά στη δομή των μικελλών της καζεΐνης. Το μέγεθος των μικελλών ελαττώνεται με αποτέλεσμα την αύξηση των υδρόφιλων χαρακτηριστικών του πήγματος.

Απόσμηση και απαέρωση: επειδή στο γάλα μεταφέρονται και απορροφώνται εύκολα οσμές συνηθίζεται να γίνεται απόσμηση του γάλακτος από τις βιομηχανίες γάλακτος.

Συγχρόνως με την απόσμιση επιτυγχάνεται και η απαέρωση, που έχει ιδιαίτερο ενδιαφέρον για την παρασκευή της γιαούρτης. Το γάλα που βρίσκεται σε θερμοκρασίες ψυγείου είναι σχεδόν κορεσμένο από οξυγόνο και όταν η θερμική του επεξεργασία γίνει σε κλειστό κύκλωμα, το οξυγόνο δεν απομακρύνεται. Δύο απλοί τρόποι απαέρωσης είναι η ανάδευση και η θέρμανση σε ανοιχτή δεξαμενή.

Εμβολιασμός με οξυγαλακτική καλλιέργεια: οι χαρακτηριστικοί μικροοργανισμοί που προστίθενται ως καλλιέργεια είναι ο *lactobacillus bulgaricus*, *streptococcus thermophilus*. Με αυτούς τους δυο μικροοργανισμούς το γάλα πήζει χωρίς προβλήματα και η γεύση της γιαούρτης είναι πολύ καλή. Σε οικιακό επίπεδο ως καλλιέργεια χρησιμοποιείται μαγιά. Η συμβίωση αυτών των δύο μικροοργανισμών προϋποθέτει μία ορισμένη σχέση κόκκων και ραβδίων εντός της καλλιέργειας. Η ποσοτική σχέση *streptococcus thermophiles* προς τον *lactobacillus bulgaricus* είναι 1:1 ή μέχρι 2:3.

Πήξιμο γάλακτος: μετά το βράσιμο το γάλα κρυώνεται στη θερμοκρασία πήξης. Η πιο κατάλληλη θερμοκρασία είναι 42°-45 °C για 2,5-3 ώρες. Σ' αυτή τη θερμοκρασία προστίθεται η μαγιά (ειδική καλλιέργεια). Η ποσότητα της μαγιάς κυμαίνεται γύρω στα 3% ανάλογα με την επιδιωκόμενη οξύτητα και τη διάρκεια πήξης του γάλακτος. Η μαγιά, πριν προστεθεί στο γάλα για πήξιμο, πρέπει να ανακατευτεί καλά προηγουμένως και να αραιωθεί με λίγο γάλα στη θερμοκρασία πήξης, ώστε να γίνει ομοιόμορφη ρευστή μάζα για να γίνεται καλύτερα η ανάμειξή της με το υπόλοιπο γάλα. Μετά την πήξη και την απόκτηση της κανονικής οξύτητας τα δοχεία με το γιαούρτι ψύχονται σε θερμοκρασία κάτω των 6 °C για 6 περίπου ώρες για ωρίμανση. Κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης η καζεΐνη του γάλακτος φουσκώνει με επακόλουθο τη συγκράτηση περισσότερου νερού και έτσι το γιαούρτι γίνεται πιο στερεό στη σύσταση. Αν δεν γίνει γρήγορα η ψύξη του γιαουρτιού ή παραταθεί η διάρκεια της πήξης, τότε η οξύτητά του θα αυξηθεί και θα αρχίσει να “κόβει νερό”. Με την ψύξη επιδιώκεται η αναστολή της βιολογικής δράσης των μικροοργανισμών. Ο ρυθμός με τον οποίο γίνεται η πτώση της θερμοκρασίας κατά την ψύξη επηρεάζει την τελική οξύτητα, αφού είναι γνωστό ότι η πτώση του pH συνεχίζεται και μετά τη διακοπή της επώασης κατά την αποθήκευση.

Αποθήκευση: το γιαούρτι πρέπει να μπαίνει σε ψυγείο μέχρι την ώρα της κατανάλωσης για να διατηρηθεί για περισσότερο χρονικό διάστημα. Στο ψυγείο

μπορεί να διατηρηθεί σε καλή κατάσταση για αρκετές ημέρες. (Καμιναρίδης, Μοάτσου, 2009)

1.4.1.5 Θρεπτική αξία γιαούρτης

Θα μπορούσαμε να συμπεράνουμε ότι η θρεπτική αξία του γιαουρτιού είναι ίδια με αυτή του γάλακτος. Αυτό όμως δεν ισχύει, γιατί με τη ζύμωση έχουμε σημαντικές μεταβολές στις ιδιότητες και στην διαιτητική αξία των συστατικών του γάλακτος. Άρα λοιπόν το γιαούρτι παρουσιάζει κάποια πλεονεκτήματα έναντι του γάλακτος τα οποία θα αναφερθούν παρακάτω:

1. Η περιεκτικότητα της λακτόζης λόγω της ζύμωσης μειώνεται και μπορεί να φτάσει έως 30% πράγμα που βοηθά ανθρώπους που έχουν πρόβλημα αφομοίωσης της, προκαλώντας τους κοιλιακούς πόνους και διάρροιες (Fernandes et al, 1999) .
2. Οι πρωτεΐνες που βρίσκονται στη γιαούρτη έχουν υποστεί ήδη πήξη πράγμα που τις κάνει πιο αφομοιώσιμες από τον οργανισμό. Το χαμηλό pH της γιαούρτης είναι ένας παράγοντας αφομοίωσης των πρωτεϊνών καθώς και η μερική πρωτεόλυση που έχουν υποστεί οι πρωτεΐνες από τα πρωτεολυτικά ένζυμα των μικροοργανισμών της γιαούρτης (Gaudichon et al, 1994).
3. Υπάρχουν ενδείξεις ότι η πρόσληψη του ασβεστίου από τον οργανισμό διευκολύνεται από το pH
4. Παρεμποδίζει την ανάπτυξη παθογόνων μικροοργανισμών στο πεπτικό σύστημα.
5. Ενισχύει το ανοσοποιητικό σύστημα
6. Αποκαθιστά την ισορροπία της μικροχλωρίδας του εντέρου μετά τη χορήγηση αντιβίωσης (Van Niel et al., 2002).
7. Οι μικροοργανισμοί που έχει έχουν αντικαρκινικές ιδιότητες.
8. Έχει βρεθεί ότι ο *L.acidophilus* προκαλεί μέτρια αναστολή στην προσκόλληση των εντεροπαθογόνων *Escherichia coli*, *salmonella typhimurium* στα εντεροκύτταρα Caco-2 καθώς επίσης αναστέλλει την εισαγωγή των *Escherichia coli*, *salmonella typhimurium* και *Yersinia pseudo tuberculosis* στα εντεροκύτταρα Caco-2 (Kerneis et al., 1994).

1.5 Βούτυρο

1.5.1.Γενικά

Η ιστορία του βουτύρου είναι λίγο πολύπλοκη καθώς υπάρχουν πολλοί μύθοι σχετικά με την προέλευση του βουτύρου. Έχουμε καταγραφή της χρήσης του ήδη 2000 χρόνια π.Χ . Η διάδοση του βουτύρου είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της ζήτησης του πράγμα το οποίο σήμανε την ίδρυση εργοστασίου παραγωγής βουτύρου.

Κατά τον ελληνικό κώδικα τροφίμων (1998) ο όρος «βούτυρο» ή «βούτυρο γάλακτος» αναφέρεται στο προϊόν, το οποίο λαμβάνεται με κτύπημα γάλακτος ή αφρογάλακτος ή μίγματός τους, είτε όπως έχουν, είτε μετά από οξίνιση με βιολογικό όμως και μόνο τρόπο, περιεκτικότητας σε λίπος τουλάχιστον 80%. Το χρώμα του βουτύρου είναι κιτρινωπό όταν προέρχεται από γάλα αγελάδας ή λευκωπό όταν προέρχεται από γάλα προβάτου, γίδας ή βουβαλιού. Πολλές φορές το βούτυρο χρωματίζεται τεχνητά οπότε έχει έντονα κίτρινο χρώμα. Μπορεί επίσης στο βούτυρο να προστεθεί αλάτι μαγειρικό μέχρι ποσοστό 2%, με την προϋπόθεση ότι αυτό να αναγράφεται στην συσκευασία. Το βούτυρο έχει μεγάλη θρεπτική αξία, γιατί αποτελεί μια από τις καλύτερες πηγές θερμίδων. Είναι πολύ εύπεπτο και περιέχει μεγάλη ποσότητα από τη βιταμίνη Α, καθώς και από βιταμίνη D. (Μάντης, ,2000, 2005, 2011).

Η θερμοκρασία συντήρησης του βουτύρου είναι 2-4 °C για το νωπό και 18 °C έως 20 °C για το κατεψυγμένο. Το βούτυρο λόγω της μεγάλης λιποπεριεκτικότητας του, όταν συντηρείται σε περιβάλλον με υψηλή θερμοκρασία, υγρασία ή διάχυτο ηλιακό φως "ταγίζει". Δηλαδή το χρώμα του γίνεται πιο κίτρινο, η οσμή του είναι δριμεία και η γεύση του κεντρίζει τον φάρυγγα.

1.5.2. Στάδια επεξεργασίας βουτύρου

Αποκορύφωση του γάλακτος και τυποποίηση της κρέμας

Ποιοτικός έλεγχος κρέμας και ρύθμιση οξύτητας

Παστερίωση κρέμας

Ωρίμανση της κρέμας

Φυσική ωρίμανση

Βιολογική ωρίμανση

Πλύσιμο και μάλαξη βουτύρου

Χρώση κρέμας

Συσκευασία και συντήρηση(Κεχαγιάς, 1997, Μαρτίνου- Βουλασίδη και Ζερφυρίδης, 2004)

1.6 Ξινόγαλα:

1.6.1 Γενικά

Το βουτυρόγαλα ή αλλιώς ξινόγαλα όπως συνηθίζεται να λέγεται στη χώρα μας παρασκευάζεται κατά την βουτυροποίηση της κρέμας όπου σχηματίζονται κόκκοι βουτύρου. Η σύσταση του ξινογάλακτος εξαρτάται από πού προέρχεται δηλαδή από γλυκιά ή ώριμη κρέμα. Το βουτυρόγαλα από ώριμη κρέμα έχει μικρότερη περιεκτικότητα πρωτεΐνης, γιατί ένα μέρος της καζεΐνης συγκρατείται από το βούτυρο κατά την βουτυροποίηση. Τα ολικά στερεά βουτυρογάλακτος κυμαίνονται από 7-9,5%. Όμως το ξινόγαλο μπορεί να παρασκευαστεί και από αποβουτυρωμένο ή ημιαποβουτυρωμένο γάλα, μιας και στις χώρες που έχει διαδοθεί το ξινόγαλα δεν επαρκούσε η ποσότητα από την παρασκευή βουτύρου. Συνήθως η λιποπεριεκτικότητα του κυμαίνεται από 0.4-3% στις διάφορες χώρες (Κεχαγιάς, 2011).

Με τη χρήση ημιαποβουτηρομένου γάλακτος παράγεται προϊόν ζελατινώδους υφής περιεκτικότητας σε λιπαρά 1,8% το οποίο έχει ευχάριστη όξινη γεύση οφειλόμενη στο γαλακτικό οξύ που προήλθε από τη οξυγαλακτική ζύμωση του γαλακτοσακχάρου του ημιαποβουτηρομένου γάλακτος αγελάδας μετά από παστερίωση του και προσθήκη καθαρής καλλιέργειας μικροβίων οξυγαλακτικής ζύμωσης κα επώασης του μίγματος στους 26 °C επι 13 ώρες. Ενώ με το πλήρες αγελαδινό γάλα μπορεί να ονομαστεί και οξεόφιλο οξύγαλα, με λιπαρά περίπου 3,5% έχει όξινη γεύση που οφείλεται στο γαλακτικό οξύ που προήλθε από οξυγαλακτική

ζύμωση του γαλακτοσακχάρου πλήρους αγελαδινού γάλακτος μετά από παστερίωση του και προσθήκη καθαρής καλλιέργειας μικροβίων οξυγαλακτικής ζύμωσης και επώασης του μίγματος στους 37 °C για 18 με 24 ώρες. χρησιμοποιείται περισσότερο στις ΗΠΑ (Γεωργόπουλος, 2014).

Ένας άλλος λόγος παρασκευής ξινογάλακτος από γάλα ήταν ότι το βουτυρόγαλα είναι ένα υποπροϊόν του βουτύρου με μικρή διατηρησιμότητα, ενώ το βουτυρόγαλα από γάλα παρασκευάζεται κάτω από ελεγχόμενες συνθήκες που επηρεάζουν ευνοϊκά την ποιότητα του προϊόντος.

Ξινόγαλα επίσης εννοούμε το προϊόν της ζύμωσης βουτυρογάλακτος ή άπαχου γάλακτος με οξυγαλακτική καλλιέργεια *streptococcus lactis*, *streptococcus cremoris* καθώς και βακτήρια που δίνουν άρωμα στο τελικό προϊόν *leconostoc citrovorum* (Καρδούλης, 1989). Ουσιαστικά σε αυτήν την κατηγορία στην Ελλάδα μπορούμε να το βρούμε ως ξινόγαλο ή αριάνι ή βουτυρόγαλο που είναι πιο διαδεδομένο στις ΗΠΑ. Το ξινόγαλο με το αριάνι τυπικά είναι το ίδιο η διάφορα είναι ότι το αριάνι παραδοσιακά γινόταν με αραιωμένο γιαούρτι, συχνά και με προσθήκη αλατιού. Το βουτυρόγαλα είναι το υγρό από το οποίο προκύπτει το κτύπημα ξινισμένης κρέμας με φυσική ζύμωση ή καλλιέργεια γάλακτος και την αφαίρεση του βουτύρου.

1.6.2 Παρασκευή ξινογάλακτος:

- α) παστερίωση γάλακτος
- β) θέρμανση παστεριωμένου γάλακτος στους 55 °C
- γ) ομογενοποίηση
- δ) ψύξη στους 20 °C
- ε) προσθήκη καλλιέργειας οξύνσεων (3% της ολικής ποσότητας)
- στ) πλήρωση των φιαλών
- ζ) παραμονή των φιαλών 18 ώρες στους 20 °C
- η) αποθήκευση στο ψυγείο

1.7 Κεφίρ

1.7.1 Γενικά:

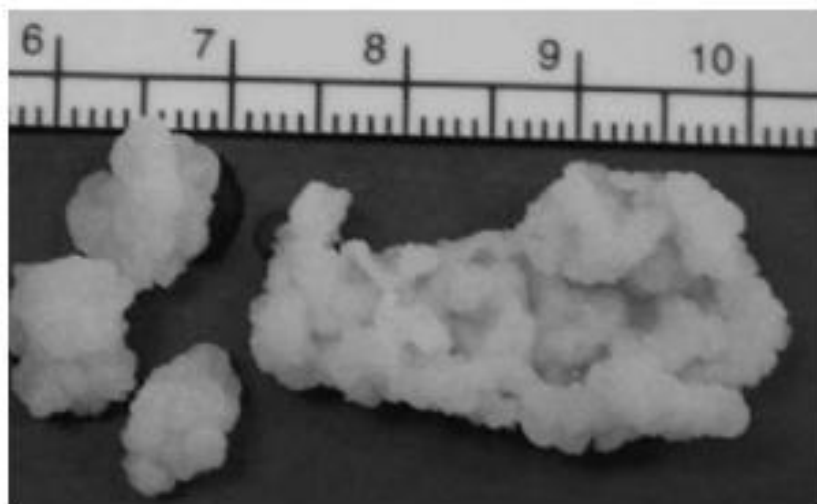
Το κεφίρ ή ορός του γάλακτος είναι ένα παρασκεύασμα που μοιάζει με υγρό γιαούρτι. Η καλλιέργεια του κεφίρ είναι υπό τη μορφή κόκκων μεγέθους μπιζελιού (εικόνα 1), με ανώμαλη επιφάνεια. Μέσα στους κόκκους είναι οι μικροοργανισμοί που προκαλούν την ζύμωση του γάλακτος (Wood and hodge , 1985; Koroleva, 1991).

Τα κύρια συστατικά που συμβάλουν στην δομή του κόκκου είναι οι πολυσακχαρίτες και οι 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).

Παρασκευάζεται από αγελαδινό, πρόβειο ή κατσικίσιο γάλα. Η παρασκευή του χρονολογείται από πολύ παλιά στη χώρα της Καυκάσου, της ανατολικής Ρωσίας, της Σιβηρίας, της κεντρικής Ασίας. Οι Καυκάσιοι υποστηρίζουν ότι χαρίζει μακροζωία και ότι οι κόκκοι του κεφίρ είναι 'δώρο των Θεών' (Kosikowski, 1977). Έπειτα από λίγα χρόνια άρχισε να γίνεται γνωστό στην Ευρώπη μόλις διαπιστώθηκαν πλήρως οι θεραπευτικές του ιδιότητες ,όπως τις παθήσεις των πνευμόνων, των εντέρων, της νεφρίτιδας και της δυσπεψίας. Στην Ρωσία λειτουργεί βιομηχανία με δυναμικότητα 6 τόνων ημερησίως και παράγει ειδική μορφή κεφίρ για μικρά παιδιά (Ivanona et al., 1981).

Αν και βασίζεται στο γάλα, το κεφίρ είναι τρόφιμο εύγευστο , εύπεπτο και υγιεινό. Σήμερα γνωρίζουμε ότι οι μικροοργανισμοί που περιέχονται στους κόκκους είναι ένα μίγμα βακτηρίων και ζυμών που βρίσκονται σε μία άριστη κατάσταση συμβίωσης (πίνακας 6). Τα κυριότερα είδη μεσόφιλων στρεπτόκοκκων είναι οι *streptococcus lactis* και *streptococcus cremoris*, που παράγουν γαλακτικό οξύ στα αρχικά στάδια. Επίσης έχουμε και το *Leuconostoc mesenteroides* και *L. dextranicum* που παράγουν εκτός από γαλακτικό οξύ CO₂ και αρωματικές ουσίες που συμβάλουν στη γεύση του κεφίρ. Επίσης στους κόκκους του κεφίρ έχουν βρεθεί μεσόφιλοι και θερμοφιλοι λακτοβάκιλλοι *lactobacillus brevis* και *L. Casei* *L. Bulgaricus*, *L. Helveticus*. Τα

κυριότερα είδη ζυμών που υπάρχουν στο κεφίρ είναι *kluuyveromyces marxianus*, *saccharomyces cerevisiae*, *candida kefir* (Wood and Hodge, 1985; Koroleva, 1991; Luis et al., 1993; Garrote et al., Witthuhn et al., 2005)



Εικόνα 1.Κόκκοι κεφίρ (Farnworth and Mainville, 2008)

Πίνακας 6. Σύσταση μικροχλωρίδας κεφίρ

Μικροοργανισμοί	Λειτουργικός ρόλος
Μεσόφιλοι και ομοζυμωτικοί στελτόκοκκοι	<ul style="list-style-type: none"> • Προκαλούν γρήγορη αύξηση της οξύτητας τις πρώτες ώρες της ζύμωσης
Ετεροζυμωτικοί λακτοβάκιλλοι	<ul style="list-style-type: none"> • Ο πληθυσμός τους αυξάνεται με την αύξηση της θερμοκρασίας
Μεσόφιλοι και ετεροζυμωτικοί στρεπτόκοκκοι	<ul style="list-style-type: none"> • Σχηματισμός γεύσης και αρώματος • Δημιουργούν αέρια
Ζύμες	<ul style="list-style-type: none"> • Ενισχύουν την ανάπτυξη των μικροοργανισμών του κεφίρ
Βακτήρια που παράγουν οξικό οξύ	<ul style="list-style-type: none"> • Ενισχύουν την ανάπτυξη των μικροοργανισμών του κεφίρ • Αυξάνουν το ιξώδες

Πηγή:Ivanova (1975), Silva et al.,(2009), Ota, (1999).

1.8. Τυρί

1.8.1 Γενικά:

Η παρασκευή του τυριού είναι μία πολύ αρχαία δραστηριότητα. Υποστηρίζεται ότι προήλθε από την ανατολική μεσόγειο όπου κουβαλούσαν το γάλα σε σάκους φτιαγμένους από δέρματα ζώων, ή στομάχων και κύστης. Ένα τρόφιμο υλικό βρέθηκε σε έναν τάφο το 3000 π.Χ. που αποδείχθηκε ότι είναι τυρί (Handbook of fermented functional food, 2008). Στο πέρασμα των χρόνων ένας πολύ μεγάλος αριθμός από ποικιλίες τυριών αναπτύχθηκαν. Όλες όμως οι ποικιλίες μοιράζονται μία κοινή τεχνολογία με καλλιέργεια εκκίνησης τα βακτήρια του γαλακτικού οξέος που παίζουν ρόλο κλειδί (Milk and Milk products, 1994) .

Σύμφωνα με την ελληνική νομοθεσία, τα τυριά είναι προϊόντα ωρίμανσης του πηγμάτος, απαλλαγμένα από τυρόγαλα στον επιθυμητό κάθε φορά βαθμό και τα οποία παρασκευάστηκαν με την επενέργεια της πυτιάς ή άλλων ενζύμων που δρουν ανάλογα σε γάλα ή σε μερικώς αποβουτυρωμένο γάλα ή σε μίγματα αυτών. Σύμφωνα με το γενικό στάνταρ για τα τυριά το codex alimentarius, το τυρί είναι προϊόν που μπορεί να προκύψει από ωρίμανση ή μη και να είναι μαλακό ή ημίσκληρο ή σκληρό ή πολύ σκληρό. Επίσης, στον ορισμό του codex alimentarius διευκρινίζεται ότι η περιεκτικότητα του τυριού σε πρωτεΐνη και ιδιαίτερα σε καζεΐνη πρέπει να είναι σαφώς υψηλότερη της περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη πρώτων θηλών που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή του (Κεχαγιάς, 2011) .

1.8.2 Το γάλα στο τυρί και ο ρόλος του

Το γάλα επηρεάζει ποσοτικά και ποιοτικά το τυρί που παρασκευάζεται από αυτό. Η απόδοση σε τυρί επηρεάζεται άμεσα από τη χημική σύσταση του γάλακτος. Ποιοτικά τώρα θεωρείται καλό όταν και η ποιότητα του γάλακτος είναι καλή. (Επιμορφωτικά σεμινάρια στη γαλακτοκομία, 1983) .

1.8.3 Μικροβιακές καλλιέργειες που χρησιμοποιούνται

Λόγω της παστερίωσης του γάλακτος μαζί με τους παθογόνους μικροοργανισμούς καταστρέφονται και οι μη παθογόνοι μικροοργανισμοί που περιέχει, γι' αυτό πρέπει να ενισχυθεί με ειδικές κατά περίπτωση μικροβιακές καλλιέργειες. Για την παρασκευή κάποιων απ' τα πιο γνωστά τυριά χρησιμοποιούμε τις εξής καλλιέργειες:

Οξυγαλακτικές (παράγουν κατά κύριο λόγο οξύτητα στο γάλα πχ *streptococcus lactis*, *s. Cremonis*, *str. Diacetilactis lactobacillus bulgaricus*, *lact. Casei*)

Μυκήτων(συντελούν στην εξουδετέρωση της οξύτητας του τυροπήγματος και στην εμφάνιση των υφών μέσα ή στην επιφάνεια των τυριών πχ *penicillium candidum*, *pen. Roqueforti*)

Προπιονικές (προσβάλλουν το γαλακτικό οξύ και ελευθερώνουν προπιονικό οξύ και διοξείδιο του άνθρακα που προκαλεί το σχηματισμό των οπών στα τυριά γραβιέρα και έμενταλ π.χ *propionibacterium shermanii*)

Βακτηρίων (αναπτύσσονται στην επιφάνεια των τυριών και επιφέρουν την πρωτεόλυση της καζεΐνης από την επιδερμίδα προς τα μέσα π.χ. *bacterium linens*) (Κυριακίδης Κ., 1983)

1.8.4 Παρασκευή:

Οι μέθοδοι παρασκευής των διαφόρων ειδών τυριού ανεξαρτήτως του τύπου τυριού είναι:

- Η παραλαβή ο έλεγχος και η εκλογή του κατάλληλου προς τυροκόμιση γάλακτος
- Η ωρίμαση του γάλακτος με την προσθήκη καλλιέργειας χρώση
- Πήξη με την προσθήκη πυτιάς
- Διαίρεση του τυροπήγματος προς απελευθέρωση ορού
- Αναθέρμανση του πήγματος και ανάδευσης (μόνο για σκληρά τυριά)
- Εξαγωγή του τυροπήγματος
- Εισαγωγή σε καλούπια

- Μορφοποίηση και πίεση του τυροπήγματος
- Αλάτιση
- ωρίμανση
- συσκευασία (Κυριακίδης Κ., 1983 και Επιμορφωτικά σεμινάρια στη γαλακτοκομία, 1983).

1.8.5 Κατηγορίες τυριών

Υπάρχουν περίπου 500 διαφορετικές ποικιλίες τυριών σύμφωνα με το International Dairy Federation. Αυτές οι ποικιλίες μπορούν να ταξινομηθούν με διάφορους τρόπους όπως ο χρόνος ωρίμανσης, η υφή, το λίπος, η προέλευση του γάλακτος, η χώρα προέλευσης κ.α. Παρακάτω ακολουθούν κάποιες κατηγορίες:

A. Βάση της Δομής

- Πολύ σκληρά: Παρμεζάνα, Κεφαλοτύρι
- Σκληρά: Γραβιέρα
- Ημισκληρα: κασέρι
- Μαλακά: Φέτα, ανθότυρο, μυζήθρα, μανούρι

B. Ωρίμανση

- Τυριά με επιφανειακή ανάπτυξη μυκήτων: brie
- Τυριά με εσωτερική ανάπτυξη μυκήτων: ροκφόρ
- Τυριά που δεν ωριμάζουν: cottage

- Τυριά που ωριμάζουν με βακτήρια: Τα περισσότερα τυριά όπως παρμεζάνα, κεφαλοτύρι, λαδωτήρι, τσένταρ, γραβιέρα, κασέρι, edam, gouda, φέτα, λευκό τυρί, χαλούμι

Γ. Περιεκτικότητα σε λίπος:

- Παχιά τυριά
- Χαμηλά σε λιπαρά
- Άπαχα

Δ. Σχέση υγρασίας και λιπαρών (Κυπαρισσίου, 2007)

1.9 Βακτήρια του γαλακτικού οξέος

1.9.1 Γενικά

Τα βακτήρια του γαλακτικού οξέος ανήκουν σε μια μεγάλη ομάδα ωφέλιμων βακτηρίων, τα οποία έχουν παρόμοιες ιδιότητες και παράγουν γαλακτικό οξύ ως το τελικό προϊόν της ζύμωσης. Είναι ευρέως διαδεδομένα στη φύση, ενώ βρίσκονται και στο πεπτικό μας σύστημα. Παρόλο που είναι γνωστά κυρίως για τον ρόλο τους στην παρασκευή ζυμωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων, χρησιμοποιούνται επίσης στην παρασκευή πίκλας, λαχανικών, κρασιού, στο ψήσιμο και στην αλιπάσωση του ψαριού, του κρέατος και των λουκάνικων.

Χωρίς να κατανοούν την επιστημονική βάση, οι άνθρωποι, χιλιάδες χρόνια πριν, χρησιμοποιούσαν τα βακτήρια του γαλακτικού οξέος για να παράγουν ξινισμένα τρόφιμα με βελτιωμένες ιδιότητες συντήρησης και με χαρακτηριστική γεύση και υφή, διαφορετικές από το πρωτότυπο τρόφιμο. Με παρόμοιο τρόπο σήμερα, μια μεγάλη ποικιλία ζυμωμένων προϊόντων γάλακτος, συμπεριλαμβανομένων των ποτών, όπως

το κεφίρ, και των ημιστερεών ή στερεών προϊόντων, όπως το γιαούρτι και το τυρί, αντιστοίχως, χρησιμοποιούν αυτές τις σειρές μικροβίων.

Τα βακτήρια του γαλακτικού οξέος (lactic acid bacteria, LAB) αποτελούν μία ομάδα από gram θετικά μη σποριογόνα, χωρίς αυτόνομη κίνηση αρνητικά στην καταλάση βακτήρια, τα οποία έχουν την ικανότητα να μεταβολίζουν τα σάκχαρα σε γαλακτικό οξύ και ενέργεια, παίρνοντας έτσι την ονομασία τους από το κύριο προϊόν της ζύμωσης της λακτόζης, το γαλακτικό οξύ. Διάκριση των οξυγαλακτικών βακτηρίων γίνεται με βάση το είδος της γαλακτικής ζύμωσης, όμοιο ή έτερο ζυμωτική, τη μορφολογία του κυττάρου και την άριστη θερμοκρασία ανάπτυξης. Εμφανίζονται σαν κόκκοι, κοκκοβάκιλοι ή βάκιλοι και βρίσκονται στα τρόφιμα φυτά και εντερική χλωρίδα. Τα οξυγαλακτικά βακτήρια περιλαμβάνουν τα γένη: *carnobacterium*, *enterococcus*, *tetragenococcus*, *lactobacillus*, *leuconostoc*, *oenococcus*, *pediococcus*, *streptococcus*, *vagococcus*, *weissella*. (Stiles and Holzapfel, 1997).

Η παρασκευή περιλαμβάνει τη μικροβιακή διαδικασία, κατά την οποία το σάκχαρο του γάλακτος, η λακτόζη, μετατρέπεται σε γαλακτικό οξύ. Καθώς η ποσότητα του οξέος αυξάνει, η δομή των πρωτεϊνών του γάλακτος αλλάζει (μετουσίωση ή θρόμβωση) και ομοίως αλλάζει και η υφή του προϊόντος. Άλλες μεταβλητές, όπως η θερμοκρασία και η σύσταση του γάλακτος, συνεισφέρουν στα συγκεκριμένα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των διαφορετικών προϊόντων.

Το γαλακτικό οξύ δίνει επίσης στο ζυμωμένο γάλα την ελαφρώς ξινή γεύση του. Επιπρόσθετες χαρακτηριστικές γεύσεις και αρώματα είναι συνήθως το αποτέλεσμα άλλων προϊόντων των οξυγαλακτικών βακτηρίων. Για παράδειγμα, η ακεταλδεΐδη προσδίδει το χαρακτηριστικό άρωμα στο γιαούρτι, και το διακετύλιο προσδίδει μια βουτυρώδη γεύση σε άλλα ζυμωμένα γάλατα. Και άλλοι μικροοργανισμοί, όπως οι ζύμες, μπορεί να συμπεριληφθούν στην καλλιέργεια (σύνολο μικροοργανισμών που προκαλούν τη ζύμωση) για να δώσουν μοναδικές γεύσεις. Για παράδειγμα, η αλκοόλη και το διοξείδιο του άνθρακα που παράγονται από τις ζύμες συνεισφέρουν στη δροσιστική αφρώδη γεύση του κεφίρ, του κουμίζ και του leben. Άλλες γεωργικές τεχνικές, όπως η απομάκρυνση του ορού ή η προσθήκη αρωμάτων, συνεισφέρουν επίσης στη μεγάλη ποικιλία των διαθέσιμων προϊόντων.

Για το γιαούρτι, η παρασκευή εξαρτάται από τη συμβιωτική σχέση δύο βακτηρίων, του *Streptococcus thermophilus* και του *Lactobacillus bulgaricus*, καθώς το ένα είδος βακτηρίου διεγείρει την ανάπτυξη του άλλου. Αυτή η αλληλεπίδραση οδηγεί σε αύξηση της ταχύτητας της ζύμωσης (ελάττωση του χρόνου επώασης) πιο σύντομη ζύμωση και σε ένα προϊόν με διαφορετικά χαρακτηριστικά από αυτό που θα παραγόταν από το ένα είδος βακτηρίου.

Για το γιαούρτι και άλλα ζυμωμένα γάλατα υπάρχει σημαντική δυνατότητα να αξιοποιηθούν τα βακτήρια του γαλακτικού οξέος ως προβιοτικές καλλιέργειες. Αυτές συμπληρώνουν και βοηθούν τα φυσιολογικά βακτήρια του εντέρου μας να λειτουργήσουν πιο αποτελεσματικά. Η παγκόσμια αγορά για τα προϊόντα αυτά συνεχίζει να επεκτείνεται σε απόκριση των απαιτήσεων ενός κοινού με συνεχώς αυξανόμενη συνείδηση για την υγεία.

Συνεπώς, τα βακτήρια του γαλακτικού οξέος είναι εξαιρετικοί πρεσβευτές για ένα συχνά κακόφημο μικροβιακό κόσμο. Δεν είναι μόνο καίριας οικονομικής σημασίας, αλλά και εξαιρετικής αξίας για τη διατήρηση και προαγωγή της υγείας του ανθρώπου (<http://www.eufic.org/>).

1.9.2 Οικογένεια lactobacteriaceae:

Τα μέλη της οικογένειας αυτής είναι ιδιαίτερης σημασίας στην τεχνολογία του γάλακτος δεδομένου ότι χρησιμοποιούνται υπό μορφή καλλιεργειών, για την παρασκευή τυριού, βουτύρου κλπ. Όπως αναφέρθηκε παραπάνω είναι θετικοί κατά gram, ακίνητοι, μη σπορογόνοι, μικροαερόφιλοι ή αναερόβιοι μικροοργανισμοί, μορφής ραβδίων ή κόκκων. Τα μορφής ραβδίου γαλακτικά βακτήρια ανήκουν στη φυλή *lactobacillae* και χωρίζονται σε 3 βασικά γένη : *lactobacillus*, *microbacterium* και *propionibacterium*. Τα σφαιρικής μορφής ανήκουν στη φυλή *streptococcae* με σπουδαιότερα τα γένη *streptococcus*, *leuconostoc*(Κυριακίδης Κ., 1983) .

1.9.2.1 Streptococcus

Γενικά χαρακτηριστικά: τα κύτταρα είναι σφαιρικά έως ωοειδή με διάμετρο μικρότερη από 2 μm που απαντούν σε ζεύγη ή αλυσίδες. Για κίνηση κατά κανόνα είναι ανίκανα εκτός από ορισμένες εξαιρέσεις και είναι θετικά κατά gram.(

Μπαλατσούρας Γεώργιος, 2006). Είναι αερόβια προαιρετικός αναερόβια ή μικροαερόφιλα, τα οποία πολλαπλασιάζονται με διαίρεση και σχηματίζουν ζεύγη ή αλυσίδα σφαιρικών κυττάρων. (Κυριακίδης Κ., 1983) Είναι ομοζυγωτικά και σχηματίζουν D(+) γαλακτικό οξύ. Μερικά είδη ζυμώνουν οργανικά οξέα , όπως το μηλικό και το κιτρικό και ορισμένα αμινοξέα, όπως η σερίνη και η αργινίνη. Δεν σχηματίζουν υμένιο, είναι αρνητικά ως προς την καταλάση και δεν συνθέτουν παράγωγα της αιμίνης (Μπαλατσούρας, 2006).

Ταξινόμηση στρεπτόκοκκων: οι στρεπτόκοκκοι απαντούν σε υποστρώματα διαφορετικά από πλευράς συνθέσεως, όπως ο βλεννογόνο του ανθρώπου και των ανωτέρων ζώων, πάνω σε φυτά, στο γάλα και στα γαλακτοκομικά προϊόντα. Έχουν πολύπλοκες τροφικές απαιτήσεις και ευδοκιμούν σε περιβάλλοντα με επαρκείς πηγές πρωτεϊνών και υδατανθράκων συμπεριλαμβανομένων των ιστών του εντερικού σωλήνα, γάλακτος και προϊόντων γάλακτος, λαχανικών κ.α. Η ταξινόμησή τους σε είδη ήταν ένα περίπλοκο θέμα και δεν θεωρείται ολοκληρωμένο ακόμα και σήμερα. Ο Sherman διαίρεσε τους στρεπτόκοκκους ανάλογα με τη θερμοκρασία αναπτύξεως τους(Κυριακίδης Κ., 1983). Ενώ ο Lancefiels χρησιμοποίησε ανοσολογικές μεθόδους. Τελευταία κατά τον bergey έχουν γίνει αποδεκτά 37 είδη στρεπτόκοκκου και άλλα 10 με αβέβαιη ταξινομική θέση. Οι κατηγορίες που ταξινομούνται είναι:

- α) πυογόνοι
- β) στοματικοί
- γ) εντερόκοκκοι
- δ) γαλακτόκοκκοι
- ε) αναερόβιοι
- στ) αχαρακτήριστοι

1.9.2.2 *Streptococcus thermophilus*:

Ο *Streptococcus thermophilus* έχει ταξινομηθεί ως *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* επειδή η ομολογία του DNA ανάμεσα *S. salivarius* και *S. thermophilus* έχει βρεθεί σε ποσοστό 75-97% (Farrow και Collins, 1984). Ωστόσο αυτά τα γενετικά δεδομένα δεν υποστηρίχτηκαν από μεγάλο αριθμό ταξινομικών μελετών και έτσι οι

περισσότερες πηγές έχουν επιστρέψει στην παλιά ονοματολογία του *S. thermophilus* (Hardie & Wiley,1995).

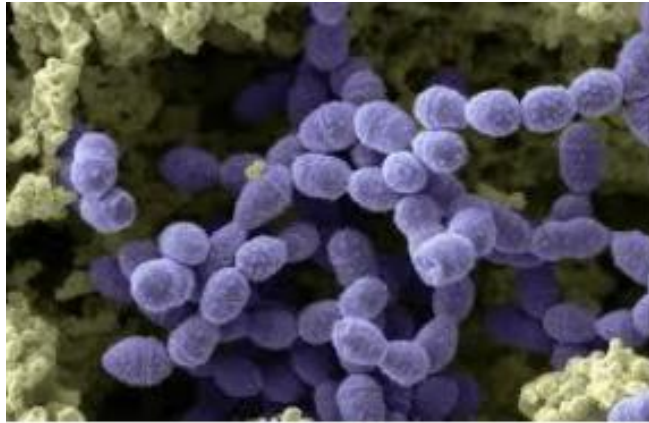
Το *S. thermophilus* είναι το μοναδικό στέλεχος των στρεπτόκοκκων που χρησιμοποιείται ως καλλιέργεια εκκίνησης στη βιομηχανία τροφίμων και είναι το βασικό στοιχείο στην παραγωγή γιαουρτιού και τυριού (Oylum et. al. 2013). Τα κύτταρα του έχουν σφαιρική ή ωοειδή μορφή με διάμετρο μικρότερη από 1 μm και σχηματίζουν ζεύγη ή αλυσίδες. Η ανάπτυξη του πραγματοποιείται σε θερμοκρασία μεταξύ 40- 45 °C, με ελάχιστη τους 20-25° C και μέγιστη τους 47-50 °C. Προκαλεί τη ζύμωση περιορισμένου αριθμού σακχάρων μεταξύ των οποίων συμπεριλαμβάνονται η λακτόζη, η φρουκτόζη, σακχαρόζη και γλυκόζη. Ο *Streptococcus thermophilus* χαρακτηρίζεται επίσης από το ότι είναι σχετικά ευαίσθητος (Zirnstein & Hutkins, 1999).

Είναι το είδος που ενδιαφέρει ιδιαίτερα τη μικροβιολογία τροφίμων. Τα κύτταρα είναι σφαιρικά, έχουν διάμετρο 0,7 -0.9 μm Η θερμοαντοχή του είναι σχετικά υψηλή και αυτή η ιδιότητα ενδιαφέρει τον τεχνολόγο τροφίμων, γιατί το είδος αυτό του στρεπτόκοκκου μπορεί να επιζήσει σε θέρμανση στους 65° C για 30 λεπτά. Για τη βέλτιστη ανάπτυξη του χρειάζονται βιταμίνες του συμπλέγματος B και κάποια αμινοξέα (γαλακτοκομία I). Ζυμώνει τα απλά ζάχαρα και επιπλέον τους δισακχαρίτες σακχαρόζη και λακτόζη μέχρι να διαμορφωθεί τιμή pH. 4 -4,5. (Μπαλατσούρας , 2006). Αναπτύσσονται σε 2% NaCL και παράγουν NH₃ από αργινίνη, αλλά δεν ζυμώνουν τη μαλτόζη. Είναι πού ευαίσθητο στα αντιβιοτικά.

1.9.2.3 Φυσιολογικά χαρακτηριστικά:

1. Αναπτύσσεται σε ζωμό γλυκόζης με 2,5% αλάτι αλλά όχι με 4%
2. Δεν αναπτύσσεται σε pH. 9,6 ή σε γάλα με 0,3% κυανού του μεθυλενίου.
3. Επιβιώνει σε θέρμανση διάρκειας 30 λεπτών υπό θερμοκρασία 60 οC.
4. Δεν ρευστοποιεί τη ζελατίνη και δεν αποικοδομεί την καζεΐνη (Μπαλατσούρας, 2006) .

Συμβιώνει με τους λακτοβάκιλλους και προκαλεί ταχεία πήξη. Χρησιμοποιείται για την παρασκευή καλλιεργειών έναρξης, στην παρασκευή τυριών και γιαουρτιού.



Εικόνα 2, 3.Κόκκοι *streptococcus thermophilus* από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο

Πηγή: (<http://www.visualsunlimited.com/image/I0000Gi2nEyX1k95>)

1.9.2.4 Γένος *lactobacillus*:

Το γένος *lactobacillus* έχει περίπου 50 είδη, τα οποία αναπτύσσονται σε γαλακτοκομικά προϊόντα, σε προϊόντα κρέατος, ψαριών και δημητριακών, μύρας στο κρασί στους χυμούς, στα φρούτα στη μαγιά και στο νερό. Βρίσκονται στη μικροχλωρίδα της στοματικής κοιλότητας, του εντερικού σωλήνα και του κόλπου του ανθρώπου αλλά και των ζώων. (Stiles and holzapfel, 1997)

Τα κύτταρα είναι μακρά και λεπτά ραβδία, ελαφρώς καμπύλα, που σμικρύνονται σε ότι αφορά το μήκος και φθάνουν στο σχήμα κορυνόμορφου κοκκοβακίλλου σε ορισμένα είδη. Κατά γενικό κανόνα οι γαλακτοβάκιλλοι απαντώνται συχνά με τη μορφή αλυσίδων, είναι ανίκανοι για κίνηση με εξαίρεση μεμονωμένες περιπτώσεις

βακίλων που φέρουν περίτριχες βλεφαρίδες. Τα κύτταρα παρουσιάζονται θετικά κατά Gram, και αρνητικά στη δοκιμασία καταλάσης. Σε γηρασμένες καλλιέργειες η χρώση των κυττάρων κατά gram ποικίλλει και μπορεί να γίνει και αρνητική. Το κυτταρικό τοίχωμά τους είναι χαρακτηριστικό των Gram θετικών βακτηρίων με κύριο συστατικό την πεπτιδογλυκάνη μουρείνη (Kandler and Weiss, 1986, Αγγελής, 2007).

Κατά τον Orla Jensen ο μεταβολισμός τους είναι αυστηρώς ζυμωτικός και χωρίζονται σε υποχρεωτικός ομοζυμωτικά, προαιρετικός και άλλα υποχρεωτικός ετεροζυμωτικά. Τα ομοζυμωτικά άριστης θερμοκρασία ανάπτυξης τους 40° C είναι το *thermobacterium*, ενώ με άριστη θερμοκρασία 30 °C ονομάζονται *streptobacterium*, τα ετεροζυμωτικά γαλακτικά βακτήρια χαρακτηρίζονται ως *betabacterium*. Από τα παραπάνω σπουδαιότερα θεωρούνται τα ομοζυμωτικά με κυριότερα τα *l. Helveticus*, *l. Bulgaricus*, *l. Lactis*, *l. Acidophilus*, *l. Plantarum*. Για τα ετεροζυμωτικά που δεν έχουν τόση σημασία στη μικροβιολογία του γάλακτος, σημαντικότερα θεωρούνται τα *l.brevis*, *l. Buchneri* και *l. Fermentum*. Ορισμένα είδη ζυμώνουν με ζαχαρόζη.

Είναι μικροαερόφιλα που αναπτύσσονται καλύτερα σε ατμόσφαιρα με 5-10% CO₂. Αυστηρώς αναερόβια εμφανίζονται μερικά στελέχη μόλις απομονωθούν από το φυσικό τους υπόστρωμα. Είναι αρνητικά στην καταλάση, έχουν αυξημένες απαιτήσεις σε θρεπτικά συστατικά (αμινοξέα, πεπτίδια, βιταμίνες, άλατα κλπ) αναπτύσσονται σε ένα μεγάλο εύρος θερμοκρασιών από 2 έως 53 οC. Είναι ανθεκτικά στα οξέα και το optimum pH ανάπτυξής τους είναι 5 ή κατώτερο. Κατά τον bergey (1984) όμως έχουν γίνει αποδεκτά 44 ήδη γαλακτοβακίλλου όπου χωρίζονται σε 3 κατηγορίες ανάλογα το πρότυπο διασπάσεως των υδατανθράκων:

Υποχρεωτικός ομοζυμωτικά (διασπούν τα ζάχαρα διαμέσου της γλυκόλυσης)

Υποχρεωτικός ετεροζυμωτικά (διασπούν τα ζάχαρα διαμέσου του κύκλου της φωσφοροπεντόζης)

Προαιρετικός ετεροζυμωτικά (διαθέτουν και τις 2 σειρές ενζύμων και διασπούν τα ζάχαρα είτε με τον έναν είτε με τον άλλο τρόπο).

Τα είδη και υποείδη που ενδιαφέρουν τη βιομηχανία τροφίμων είναι:

- *Lactobacillus delbrueckii*

- *Lactobacillus delbrueckii subsp. Delbrueckii*
- *Lactobacillus delbrueckii subsp. Delbrueckii bulgaricus*
- *Lactobacillus delbrueckii subsp. Delbrueckii lactis*
- *Lactobacillus acidophilus*
- *Lactobacillus casei*
- *Lactobacillus casei subsp. Casei*
- *Lactobacillus casei subsp. pseudoplantarum*
- *Lactobacillus casei subsp. tolerans*
- *Lactobacillus casei subsp. Rhamnosus* *Lactobacillus plantarum*

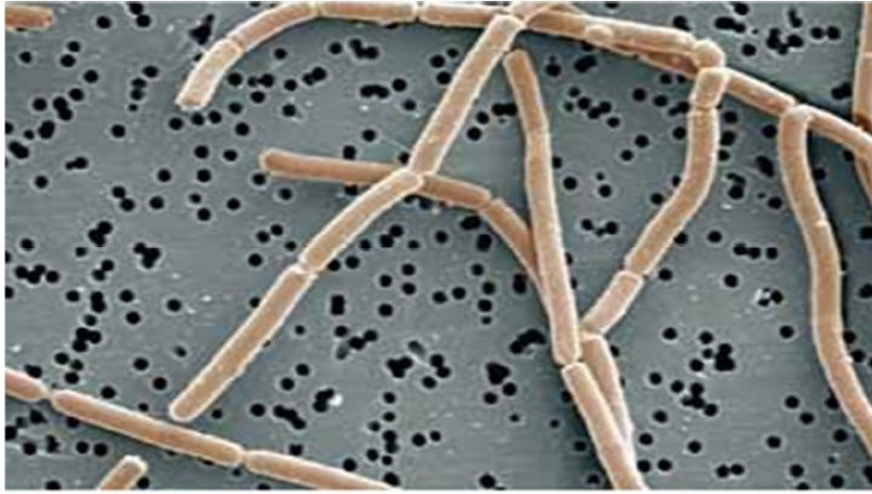
(Μπαλατσούρας, 2006)

1.9.2.5 Οι λακτοβάκιλλοι στα τρόφιμα:

Οι λακτοβάκιλλοι χρησιμοποιούνται ευρέως ως καλλιέργειες εκκίνησης για την παραγωγή γαλακτοκομικών προϊόντων και άλλων τροφίμων που υφίστανται ζύμωση. Η χρήση τους συμβάλλει στην αύξηση του χρόνου συντήρησης των τροφίμων, κυρίως λόγω της παραγωγής του γαλακτικού οξέος. Επιπλέον, ενισχύουν τη γεύση, το άρωμα και την υφή των τροφίμων (Gilliland, et al., 1985, Dugas et al., 1999). Σημαντική είναι η επίδρασή τους στο ζυμωμένο γάλα όπως το ξινόγαλο, το κεφίρ, το κουμίσ, το Dahi. Για την οξίνιση των προϊόντων αυτών τις περισσότερες φορές χρησιμοποιείται ο *L. Bulgaricus* σε συνδυασμό με τους *L. Acidophilus* και *L.rhamnosus*. Επίσης η χρήση του *L. Casei* σε ζυμώμενο γάλα, σε συνδυασμό με τη χρήση ολιγοσακχαριτών ως προβιοτικών, είχε ως αποτέλεσμα την εξυγίανση της μικροχλωρίδας του εντέρου των καταναλωτών (Shioiri et al., 2006).

1.9.2.6 *Lactobacillus bulgaricus*

Οι περισσότεροι άνθρωποι δεν σκέπτονται το πεπτικό τους σύστημα ως ένα πεδίο μάχης, αλλά η σύγκριση είναι ικανή αν σκεφτεί κανείς πόσο πιθανή είναι η διείσδυση των τοξινών που προσπαθούν να εισβάλουν στο γαστρεντερικό σωλήνα σε καθημερινή βάση. Κινούνται ως επιβλαβή βακτήρια μέσω του εντέρου του ανθρώπου όπως το *E.coli*. Τότε το φυσικό αμυντικό σύστημα ενεργοποιείται και μπαίνουν τα βοηθητικά βακτήρια του οργανισμού. Αυτά τα χρήσιμα βακτήρια αποτελούν τη μικροχλωρίδα όπως το *lactobacillus bulgaricus*.



Εικόνα 4. Αλυσίδες ραβδίων του *lactobacillus bulgaricus*

Παρά το ότι έχουν εντοπιστεί στο τυρί και στο γιαούρτι βρίσκονται και σε κάψουλες συμπληρώματος διατροφής. Στη γαλακτοκομική βιομηχανία έχει οριστεί ως καλλιέργεια εκκίνησης που ενθαρρύνει την ανάπτυξη άλλων άλλων προβιοτικών μικροβίων κατά την παραγωγή τυριού και γιαουρτιού (Teixeira, 2014). Το *lactobacillus bulgaricus* είναι προβιοτικό. Η λέξη προβιοτικά είναι σύνθετη και προέρχεται από τη λατινογενή πρόθεση προ- (που σημαίνει υπέρ) και το Ελληνικό επίθετο βιοτικός (από το ουσιαστικό βίος = ζωή), τα προβιοτικά λοιπόν δρουν υπέρ της ζωής.

Σύμφωνα με τον πρόσφατο ορισμό που θεσπίστηκε από τον FAO/WHO (Food and Agriculture Organization/World Health Organization), τα προβιοτικά είναι «ζωντανοί μικροοργανισμοί που όταν χορηγηθούν σε επαρκείς ποσότητες, παρέχουν πλεονέκτημα υγείας στον ξενιστή», δηλαδή στον άνθρωπο. Χρησιμοποιήθηκε πρώτα από τους lilley και Stillwell το 1965 για να περιγράψουν ουσίες που εκκρίνονται από ένα μικροοργανισμό οι οποίες ενίσχυσαν την ανάπτυξη άλλων. Η κατανάλωση ζυμώμενου γάλακτος σε πολλές διαφορετικές μορφές συνεχίστηκε μέχρι και σήμερα. Οι θετικές επιδράσεις του γιαουρτιού τέθηκαν σε επιστημονική βάση στις αρχές του αιώνα. Ο Metchnikoff ασχολήθηκε με το ξινόγαλο, αλλά στη συνέχεια, όταν οι καθαρές καλλιέργειες έγιναν διαθέσιμες ο ίδιος υποστήριξε τη χρησιμοποίηση του γάλακτος που έχει υποστεί ζύμωση με ένα μόνο στέλεχος του *Lactobacillus* (Fuller , 1992).

Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus (μέχρι 2014 γνωστό ως *Lactobacillus bulgaricus*) είναι ένα από τα πολλά βακτήρια που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή του γιαουρτιού. Βρίσκεται επίσης σε άλλα προϊόντα που έχουν υποστεί ζύμωση φυσικά. Εντοπίστηκε για πρώτη φορά το 1905 από τον Βούλγαρο γιατρό Stamen Grigorov, το βακτήριο τρέφεται με λακτόζη για την παραγωγή γαλακτικού οξέος, το οποίο χρησιμοποιείται για τη διατήρηση του γάλακτος. Η συγκέντρωση των ανασυσταθέντων αποξηραμένων καλλιεργειών με φυγοκέντρωση στα 550gr για 40 λεπτά έχει αποδειχθεί ότι μειώνει το χρόνο πήξης του γάλακτος στο μισό (diary microbiology). Είναι gram-θετικά ραβδία που μπορεί να εμφανιστούν μακρά και νηματοειδή. Είναι ακίνητα και δεν σχηματίζουν σπόρια. Θεωρούνται ως οξεόφιλα, δεδομένου ότι απαιτούν χαμηλό pH (περίπου 5,4 - 4,6) για να αυξηθούν αποτελεσματικά (en.wikipedia.org).

1.9.2.7 Στη βιομηχανία τροφίμων

Χρησιμοποιείται συνήθως μαζί με τον *Streptococcus thermophilus* ως εναρκτήρια καλλιέργεια για την παρασκευή γιαουρτιού. Τα δύο είδη λειτουργούν σε συνέργεια με το *L. d. bulgaricus* παράγοντας αμινοξέα από πρωτεΐνες γάλακτος, τα οποία στη συνέχεια χρησιμοποιούνται από τον *S. thermophilus*. Και τα δύο είδη παράγουν γαλακτικό οξύ, το οποίο δίνει στο γιαούρτι ξινή γεύση και δρα ως συντηρητικό. Η προκύπτουσα μείωση του pH επίσης πήζει μερικώς τις πρωτεΐνες του γάλακτος, όπως καζεΐνη, με αποτέλεσμα τη ρευστότητα του γιαουρτιού. Το *L. d. bulgaricus* παράγει ακεταλδεΐδη, ένα από τα κύρια συστατικά του αρώματος στο γιαούρτι. Ορισμένα στελέχη του *L. d. bulgaricus*, όπως *L. bulgaricus GLB44*, παράγουν επίσης βακτηριοκίνες, οι οποίες έχει αποδειχθεί ότι σκοτώνουν τα ανεπιθύμητα βακτήρια in vitro. Είναι συχνά χρήσιμο για τους πάσχοντες από δυσανεξία στη λακτόζη, των οποίων το πεπτικό σύστημα δεν διαθέτει τα ένζυμα για να σπάσει τη λακτόζη σε απλούστερα σάκχαρα. Μερικοί από τους μεγαλύτερους εισαγωγείς του βακτηρίου είναι η Ιαπωνία, οι ΗΠΑ και η ΕΕ (Robinson, 2002).

1.10 *Lactobacillus casei*:

Το *Lactobacillus casei* είναι ένα είδος βακτηρίων που βρίσκεται φυσικά στο ανθρώπινο έντερο, καθώς και στα ζυμώμενα τρόφιμα, όπως το γιαούρτι. Ενώ οι άνθρωποι συχνά σκέφτονται τα βακτήρια, ως αιτία των προβλημάτων υγείας, το *Lactobacillus casei*-ή *L. Casei*, δεδομένου ότι είναι συχνά συντομογραφία, είναι γνωστό ως «προβιοτικό» βακτήριο και έχει μια θετική επίδραση στην υγεία του ανθρώπου (<http://www.britannica.com/>). 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).

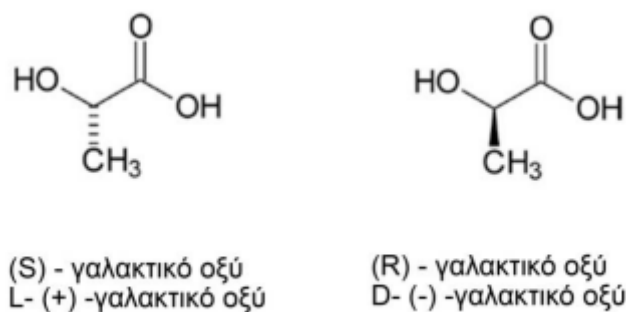
Μπορεί να αναπτύσσεται μαζί με το *candida lipolytica* και το *Lactococcus lactis sub-sp. Lactis* για να παραχθεί με ξήρανση δια ψεκασμού ή λυοφιλοποιημένο προϊόν που χρησιμοποιείται ως πρόσθετο στη γεύση του λιωμένου τυριού. Μπορεί επίσης να αναπτυχθεί σε συνδυασμό με το *Propionibacterium shermanii* σε ορό γάλακτος συμπληρωμένο με εκχύλισμα ζύμης για την παραγωγή ενός συντηρητικού με υψηλή περιεκτικότητα σε προπιονικό οξύ που μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως ένα μυκοστατικό μέσο σε προϊόντα αρτοποιίας (diary microbiology). Ορισμένοι συγγραφείς διαπίστωσαν ότι στελέχη *L. casei* ενισχύουν το ανοσοποιητικό σύστημα 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 B στο υπόστρωμα. Απομονώθηκε από γάλα, τυρί, γαλακτοκομικά προϊόντα, μαγιά, κοπριά αγελάδας, εντερικό σωλήνα του ανθρώπου, στοματική κοιλότητα (Μπαλατσούρας, 2006, γαλακτοκομεία I, 1983). Έχει άριστη θερμοκρασία ανάπτυξης τους 30 °C, ελάχιστη τους 10 και μέγιστη 37- 40 °C. Σχηματίζει περίπου 1,5% D- γαλακτικό οξύ, καθώς και L- γαλακτικό οξύ.

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-εκκηνιτές 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).

1.11. Γαλακτική ζύμωση - Παραγωγή γαλακτικού Οξέος:

Για την παραγωγή του γαλακτικού οξέος χρησιμοποιούνται ομοζυμωτικοί μικροοργανισμοί και πλήθος υποστρωμάτων, όπως, ορός γάλακτος, μελάσα, γλυκόζη κ.α. Το εμπορικό προϊόν «γαλακτικό οξύ», αποτελεί είτε τελικό προϊόν της ζύμωσης των μικροοργανισμών είτε προϊόν χημικής σύνθεσης και έχει 2 οπτικά ισομερή, το L (+) γαλακτικό οξύ και το D (-) γαλακτικό οξύ (εικόνα 5). Η χημική σύνθεση του γαλακτικού οξέος κατά κύριο λόγο βασίζεται στην υδρόλυση της λακτονιτρίλης από ισχυρά οξέα παράγοντας ένα μίγμα των δυο ισομερών σε αντίθεση με το παραγόμενο οξύ από ζύμωση στο οποίο επικρατεί η μορφή του L-γαλακτικού οξέος. (Holten et al, 1971, Datta et.al., 1995).



Σχήμα 1. Οι δύο εναντιομερείς μορφές του γαλακτικού οξέος

Η γαλακτική ζύμωση είναι η σπουδαιότερη μετά την αλκοολική. Τα βακτήρια του γαλακτικού οξέος ζυμώνουν σάκχαρα και παράγουν γαλακτικό οξύ κατά τη διάρκεια της παραγωγής και συντήρησης τροφίμων. Με απλά λόγια, η ζύμωση του γαλακτικού οξέος είναι η αναερόβια μικροβιακή διάσπαση της ζάχαρης, αποδίδοντας ενέργεια με τη μορφή του ATP και την απελευθέρωση αποβλήτων, ειδικά γαλακτικού οξέος. Το σημείο-κλειδί σε αυτόν τον ορισμό είναι ότι η διαδικασία είναι αναερόβια, ή θα πρέπει να συμβεί χωρίς οξυγόνο γύρω.

Χωρίς ζύμωση, δεν υπάρχει γαλακτικό οξύ και έτσι δεν υπάρχει και παραγωγή τροφίμου. Χρειαζόμαστε λοιπόν βακτήρια του γαλακτικού οξέος, μία πηγή θρεπτικών ουσιών τη ζάχαρη και ένα σύστημα χωρίς οξυγόνο για ζύμωση γαλακτικού οξέος να είναι επιτυχής (<http://study.com/>).

Οι μικροοργανισμοί που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παραγωγή γαλακτικού οξέος, πρέπει να συνδυάζουν μια σειρά χαρακτηριστικών για να είναι βιομηχανικά ελκυστικοί:

- Υψηλή παραγωγικότητα για να μειώνεται ο χρόνος ζύμωσης
- Υψηλή μετατροπή για να μειώνεται το κόστος του αρχικού υδρογονάνθρακα
- Δυνατότητα να χρησιμοποιηθούν φθηνά θρεπτικά συστατικά για να μειωθεί το κόστος συντήρησης
- Χαμηλή ποσότητα παραπροϊόντων για να αυξηθεί το επίπεδο καθαρότητας
- Υψηλή συγκέντρωση στο τελικό προϊόν για να μειωθεί το κόστος από διεργασίες εξάτμισης
- Οι μικροοργανισμοί θα πρέπει να είναι ανθεκτικοί στις μολύνσεις (Auras et al., 2010).

Οι μικροοργανισμοί που μπορούν να παράγουν γαλακτικό οξύ χωρίζονται σε δυο ομάδες:

- Βακτήρια (π.χ. γένη όπως *Lactobacillus* και *Streptococcus*)
- Μύκητες: Μπορεί να εμφανίσουν χαμηλή απόδοση γαλακτικού οξέος και σχηματισμό υποπροϊόντων όπως φουμαρικό οξύ και αιθανόλη.

Στη διαδικασία λοιπόν αυτή έχουμε μεταφορά της λακτόζης στο εσωτερικό του κυττάρου, τη φωσφορυλίωσή της και την ενζυμική υδρόλυσή της. Διαφέρει από την αλκοολική στο γεγονός ότι ενώ η αλκοολική προκαλείται από ζύμες (μύκητες), η γαλακτική προκαλείται από βακτήρια. Επιπλέον σχηματίζεται γαλακτικό οξύ μέσω της αποικοδόμησης των μονοσακχαριτών γλυκόζης και γαλακτόζης με μια σειρά αντιδράσεων. Στη συνέχεια προκύπτει L(+) ή D(-) γαλακτικό οξύ ή διάφορα μίγματά τους και έτσι έχουμε την οξίνιση του γάλακτος (Robinson, 2002, Καμινναρίδης & Μοάτσου, 2009).

Υπάρχουν πάντως και ελάχιστοι μύκητες, οι οποίοι μετατρέπουν τα σάκχαρα σε γαλακτικό οξύ. Οι γαλακτοβάκκιλοι διαιρούνται σε δύο κατηγορίες ανάλογα με τα προϊόντα που σχηματίζουν τελικά από τη διάσπαση των σακχάρων. α) στα ομοζυγωτικά γαλακτοβακτηρίδια, που μετατρέπουν ποσοτικά το σάκχαρο σε γαλακτικό οξύ (80-90%) και σε ελάχιστα ποσά άλλα προϊόντα και β) στα ετεροζυγωτικά γαλακτοβακτηρίδια, που μετατρέπουν το μισό σάκχαρο σε γαλακτικό οξύ, και το άλλο μισό σε CO₂, αλκοόλη και οξικό οξύ (CH₃COOH).

1.11.1 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 καλλιιεργειών όγκου που απαιτούνται κατά την διαδικασία εμβολιασμού του γάλακτος ή με την ενσωμάτωση συμπυκνωμένων ξηραμένων με ψύξη ή κατεψυγμένων καλλιιεργειών. Ως εκ τούτου, σήμερα, οι περισσότεροι κατασκευαστές προτιμούν είτε κατεψυγμένες ή λυοφιλοποιημένες καλλιιεργειες με συγκεκριμένες ιδιότητες. Στην περίπτωση της χρήσης της μαζικής καλλιιεργειας, ο βέλτιστος ρυθμός καλλιιεργειας εμβολιασμού είναι 2 g / 100 mL. Ο ρυθμός προσθήκης για τις συμπυκνωμένες λυοφιλοποιημένες ή κατεψυγμένες καλλιιεργειες 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 .

Στις μικρής κλίμακας παραγωγές, τα χαρτοκιβώτια του γιαουρτιού στοιβάζονται σε δίσκους 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 μίαντα 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 μίαντα 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 αναδευείται ήπια και αντλείται στη μηχανή πλήρωσης (Tamime, 2007).

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

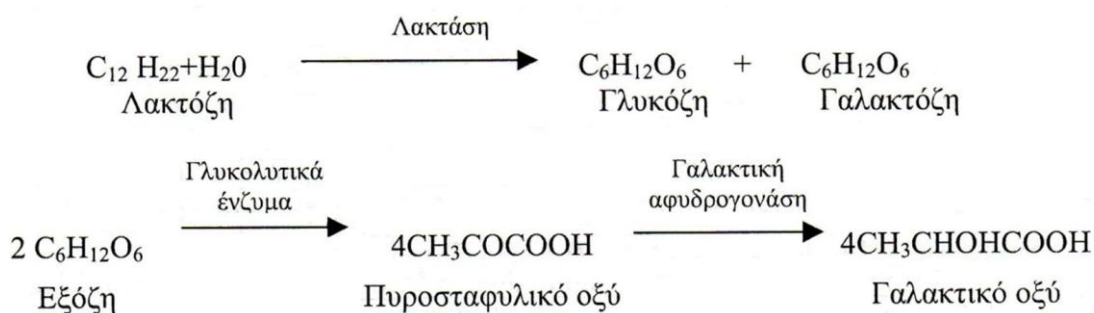
pH 4,2-4,6 και κατά το στάδιο της ζύμωσης καταλήγει συνήθως σε pH 4,5-4,6. Κατά τη διάρκεια της ζύμωσης, ανάλογα με τις μεταβολικές δραστηριότητες του γαλακτικού οξέος τα βακτήρια, οι συγκεντρώσεις του γαλακτικού και η αύξηση του αμμωνίου, η οποία, με τη σειρά της, οδηγεί στην αύξηση της ηλεκτρικής αγωγιμότητας 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 θερμοφιλά σημεία ζυμώσεων του γαλακτικού οξέος. Ηλεκτρικής αγωγιμότητας -μετρητές σχεδιάζονται για τη παραγωγή γιαουρτιού όπου κερδίζουν τη δημοτικότητα στη βιομηχανία γιαουρτιού (Yildiz, 2010).

1.11.2 Μικροβιολογία της ζύμωση

Για μια ικανοποιητική γεύση κατά την ανάπτυξη, χρειάζονται περίπου ίσο αριθμό *Streptococcus thermophilus* και *L. delbrueckii subsp. Bulgaricus*. Η βασική χλωρίδα του γιαουρτιού δείχνει, 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 πρωτεΐνης 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 O. 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.



Σχήμα2: Γαλακτική ζύμωση

1.12 Ακίνητοποίηση καλλιεργείων σε τρόφιμα

Ακίνητοποίηση είναι η παγίδευση ενός υλικού μέσα ή διάμεσο ενός πλέγματος. Είναι ένα γενικός όρος που χρησιμοποιείται για να περιγράψει την καθήλωση ενός βιοκαταλύτη μέσα ή πάνω σε στερεό φορέα. Οι ακίνητοποιημένοι βιοκαταλύτες αποτελούνται από το φορέα ακίνητοποίησης και τους βιοκαταλύτες. Ο όρος βιοκαταλύτης έχει σχέση με βιολογικές δομές που εμφανίζουν ενζυμική δραστηριότητα. Μπορεί να είναι ένα απλό ένζυμο έως ένα ζωντανό κύτταρο με το σύνολο των ενζύμων του. Ο ακίνητοποιημένος βιοκαταλύτης έχει τα φυσικά χαρακτηριστικά του υποστρώματος, ενώ διατηρεί βασική βιοχημική δραστηριότητα του ελεύθερου καταλύτη και βελτιώνει την αποδοτικότητά του (Chibata I., 1978).

Αρκετές βιοτεχνολογικές διεργασίες βελτιώνονται από την τεχνολογία των ακινητοποιημένων βιοκαταλυτών και συνεπώς κατά καιρούς έχουν προταθεί διάφορες τεχνικές και διάφορα υποστρώματα.

Οι τεχνικές ακινητοποίησης που έχουν χρησιμοποιηθεί μέχρι σήμερα, μπορούν να ταξινομηθούν σε τέσσερις γενικές κατηγορίες και περιλαμβάνουν, α) την προσκόλληση ή προσρόφηση σε επιφάνεια στερεού φορέα, β) εγκλωβισμό σε πορώδες υλικό, γ) συσσωμάτωση με κροκίδωση και δ) μηχανική συγκράτηση βιοκαταλυτών σε ένα φορέα. (Pilkington et al., 1998, Kourkoutas et al., 2004; Doleyres and Lacroix, 2005).

Η ακινητοποίηση κυττάρων σε στερεό φορέα γίνεται με φυσική προσκόλληση μέσω ηλεκτροστατικών δυνάμεων ή ομοιοπολικών δεσμών μεταξύ της κυτταρικής μεμβράνης και του υποστρώματος. Το πάχος του κυτταρικού στρώματος ποικίλει από μια στρώση κυττάρων μέχρι 1 mm ή περισσότερο. Συστήματα με ακινητοποιημένα κύτταρα σε μια επιφάνεια χρησιμοποιούνται συνήθως λόγω της σχετικής ευκολίας της μεθόδου ακινητοποίησης. Η δύναμη με την οποία τα κύτταρα συνδέονται με το φορέα ποικίλει και δεν μπορεί να προσδιοριστεί εύκολα. Επειδή δεν υπάρχουν εμπόδια μεταξύ των κυττάρων και του διαλύματος, είναι πιθανό τα κύτταρα συνεχώς να αποσπώνται και να ακινητοποιούνται, με αποτέλεσμα τη δημιουργία μιας κατάστασης ισορροπίας μεταξύ των προσροφημένων και των ελεύθερων κυττάρων. Παραδείγματα στερεών φορέων που χρησιμοποιούνται για αυτόν τον τύπο ακινητοποίησης είναι τα κυτταρινικά υλικά όπως το ξύλο και το πριονίδι καθώς και ανόργανα υλικά όπως πορώδης πορσελάνη, το πορώδες γυαλί κ.α. η ικανότητα προσρόφησης των στερεών φορέων, όπως το γυαλί ή η κυτταρίνη μπορεί να ενισχυθεί, ύστερα από την επεξεργασία τους με χιτοζάνη ή άλλα υλικά επικάλυψης (Navarro and Durand, 1977; Norton and D'Amore, 1994).

Κατά τον εγκλωβισμό των κυττάρων στο πορώδες υλικό τα κύτταρα είτε αφήνονται να διεισδύσουν στο πορώδες υλικό έως ότου η κινητικότητά τους εμποδιστεί, είτε το πήκτωμα σχηματίζεται *in situ* σε μια καλλιέργεια κυττάρων. Και οι δύο μέθοδοι βασίζονται στον εγκλωβισμό των κυττάρων σε ένα άκαμπτο δίκτυο έτσι ώστε να μην διαχέονται στο περιβάλλον ενώ παράλληλα επιτρέπεται η συνεχής μεταφορά θρεπτικών ουσιών και μεταβολιτών. Παράδειγμα αυτού του τύπου της ακινητοποίησης είναι η παγίδευση μέσα σε πηκτώματα πολυσακχαριτών όπως

αλγινικών, κ-καραγεννάνης, Άγαρ κ.α. (Norton et al., 1994; Park and Chang, 2000). Η ανάπτυξη των κυττάρων στο υλικό αυτό εξαρτάται από τους περιορισμούς της διάχυσης που καθορίζονται από το πορώδες του υλικού και από την επίδραση της συσσωρευμένης βιομάζας. Αναπτύσσεται έτσι ένας ανομοιογενώς κατανομημένος κυτταρικός πληθυσμός και πιθανόν εκείνα τα κύτταρα που βρίσκονται κοντά στην επιφάνεια συμπεριφέρονται διαφορετικά σε σύγκριση με τα ελλιπώς τροφοδοτούμενα κύτταρα του εσωτερικού.(Tanaka et al., 1989).

Κροκίδωση των κυττάρων ονομάζεται η συσσώρευση των κυττάρων ώστε να σχηματίσουν ένα μεγαλύτερο σωματίδιο ή η ιδιότητα που έχουν τα κύτταρα να σχηματίζουν θρόμβους και να καθιζάνουν γρήγορα. Η κροκίδωση μπορεί να θεωρηθεί τεχνική ακινητοποίησης αφού το μεγάλο μέγεθος των συσσωματωμάτων τα καθιστά ικανά να χρησιμοποιηθούν σε βιοαντιδραστήρες και να εγκλωβιστούν σε αυτού ακόμη και σε συστήματα συνεχούς λειτουργίας. Η ικανότητα σχηματισμού των συσσωματωμάτων παρατηρείται κυρίως σε ζυμομύκητες. Ωστόσο σε κυτταρικές καλλιέργειες που δεν γίνεται κροκίδωση, μπορούν να χρησιμοποιηθούν τεχνητοί παράγοντες κροκίδωσης ώστε να προκληθεί η θρόμβωση. Η κροκίδωση ζυμών είναι σημαντική για τη βιομηχανία παρασκευής μύρας αφού επηρεάζει την παραγωγικότητα της ζύμωσης και την ποιότητα του προϊόντος. Επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες όπως η σύσταση του κυτταρικού τοιχώματος, το pH, το διαλυμένο οξυγόνο και η σύσταση του θρεπτικού μέσου (Jin and Speers, 1998).

Τέλος, η μηχανική συγκράτηση των βιοκαταλυτών μπορεί να επιτευχθεί με (α) τη χρήση φίλτρων από μεμβράνες με μικρούς πόρους, (β) εγκλωβισμό των κυττάρων σε μικροκάψουλες και (γ) ακινητοποίηση των βιοκαταλυτών σε μία επιφάνεια αλληλεπίδρασης δύο μη αναμειγνυόμενων υγρών. Αυτός ο τύπος ακινητοποίησης είναι ιδανικός όταν απαιτείται προϊόν ελεύθερο κυττάρων (Park and Chang, 2000).

Πειραματικό μέρος

2.1 Μικροοργανισμοί.

Η θερμοφίλη καλλιέργεια γιαούρτης, CH-1 που αποτελείται από συγκεκριμένες καλλιέργειες *S. thermophilus* και *L. Delbrueckii ssp. bulgaricus* σε λυοφιλιωμένη μορφή (Chr. Hansen, Horsholm, Denmark) χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα εργασία. Πριν από 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, μετά από μικροενθυλάκωση με τη χρήση συστήματος ξήρανσης με ψεκασμό χρησιμοποιώντας αποβουτυρωμένο γάλα ως υπόστρωμα.

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 ξηραμένα με ψεκασμό κύτταρα *L. Casei* 0.1g/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 και στη συνέχεια αναδεύτηκε για την παραγωγή του ζυμώμενου γάλακτος. 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 φαινολοφθαλεΐνης. 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 εκφράστηκε σε % γαλακτικό οξύ χρησιμοποιώντας το τύπο:

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

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 c* και ο *L. Bulgaricus* μετρήθηκαν σε θρεπτικά LM17 και MRS (το pH ρυθμίστηκε στο 5,2) αντιστοίχως 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).

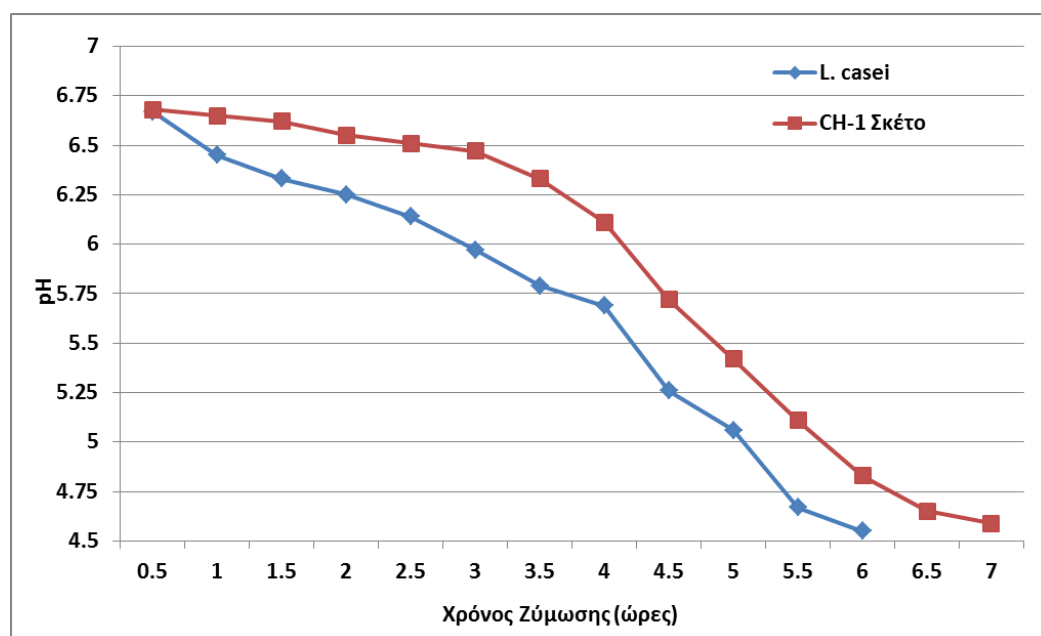
3.Αποτελέσματα και συζήτηση

3.1 Γενικά

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η χρήση ξηραμένων με ψεκασμό 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 ξηραμένο με ψεκασμό. 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 παγόλυτρο και τελικά τα παραγόμενα ζυμώμενα γάλατα τοποθετήθηκαν στο ψυγείο (4 °C) για 28 ημέρες. Στην εργασία αυτή χρησιμοποιήθηκε αποβουτυρωμένο γάλα ως φορέας μικροενθυλάκωσης λόγω της συνάφειάς του με τα γαλακτοκομικά προϊόντα, κάτι που αναμένεται να μην επηρεάσει αρνητικά τα χαρακτηριστικά του προϊόντος.

3.2 Επίδραση της καλλιέργειας στην ικανότητα οξίνισης του γάλακτος

Μετά την προσθήκη των καλλιεργειών το γάλα αφέθηκε για ζύμωση στους 37 °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 ξηραμένης με ψεκασμό καλλιέργειας *L. Casei* οδήγησε σε μείωση του συνολικού χρόνου πήξης στις 6 ώρες. Τα αποτελέσματα αυτά, και συγκεκριμένα η μείωση του χρόνου πήξης κατά 1 ώρα σε σχέση με την παραδοσιακή καλλιέργεια γιαούρτης, είναι πολύ σημαντικά από τεχνολογική άποψη. Η μείωση έστω και για 1 ώρα του χρόνου πήξης, δηλαδή κατά 14%, είναι πολύ σημαντική για τις γαλακτοβιομηχανίες αφού μειώνει το χρόνο παραμονής των προϊόντων στους θαλάμους επάσης αυξάνοντας την παραγωγικότητα του εργοστασίου και μειώνοντας τις ενεργειακές ανάγκες άρα και το κόστος παραγωγής.



Σχήμα 3. Κινητική πτώσης του pH κατά τη ζύμωση του γάλακτος με ξηραμένα με ψεκασμό 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 7. 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 ξηραμένα με ψεκασμό κύτταρα *L. casei*. Αυτό είναι πολύ σημαντικό για την τελική αποδοχή των νέων προϊόντων αφού δεν θα διαφέρουν από τα αντίστοιχα εμπορικά.

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

Μέρες αποθήκευσης	Σκέτο CH-1	Ξηραμένο με ψεκασμό <i>L. Casei</i>
7	4,41	4,38
14	4,36	4,33
21	4,19	4,16
28	4,03	4,07

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

Ο πίνακας 8 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 0,81% w/v γαλακτικό οξύ μετά από 14 ημέρες στην περίπτωση της χρήσης CH-1 και ξηραμένου με ψεκασμό *L. casei* αντίστοιχα. Στη συνέχεια οι καλλιέργειες συνέχισαν να παράγουν οξύ αλλά με μικρότερους ρυθμούς φτάνοντας 0,90 και 0,93% w/v γαλακτικό οξύ αντίστοιχα την 28^η ημέρα.

Πίνακας 8. Τιτλοδοτούμενη οξύτητα στα ζυμώμενα γάλατα κατά την αποθήκευσή τους στους 4 °C.

Μέρες αποθήκευσης	Σκέτο CH-1	Ξηραμένο με ψεκασμό <i>L. Casei</i>
7	0,76	0,78
14	0,79	0,81
21	0,82	0,89
28	0,90	0,93

3.5 Επίδραση της αποθήκευσης στις τιμές της βιωσιμότητας των καλλιιεργειών

Ο *S. Thermophilus* διατήρησε υψηλούς αριθμούς ζωντανών κυττάρων κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης (Πίνακας 9, 10). 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 (Vargaetal., 2014; Kudeřka, 2010). Σε όλα τα στάδια της αποθήκευσης οι αριθμοί του *S. Thermophilus* ήταν υψηλότεροι σε σχέση με τον *L. delbrueckii* sp. *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 log cfu/g για να χαρακτηριστεί ως προβιοτικό ένα προϊόν. Στα δείγματα που παράχθηκαν με την προσθήκη και ξηραμένων με ψεκασμό 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 9. Βιωσιμότητα (logcfu/mL) των *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* spp. *Bulgaricus* και *Lactobacillus casei* ATCC 393, στα ζυμώμενα γάλατα που παρασκευάστηκαν με ξηραμένα με ψεκάσμο κύτταρα *L. Casei* κατά την αποθήκευσή τους στους 4°C.

Μέρες αποθήκευσης	<i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	<i>L. casei</i> ATCC 393
0	8,26	7,53	8,08
7	8,19	7,46	7,88
14	8,07	7,40	7,65
21	8,05	7,19	7,53
28	7,87	7,03	7,54

Πίνακας 10. Βιωσιμότητα (logcfu/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	8,03
7	8,25	7,82
14	8,17	7,72
21	8,11	7,56
28	8,01	7,38

Συμπεράσματα

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η επίδραση της χρήσης νέων ξηραμένων με ψεκασμό 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 14%, 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 γαλακτοκομικών προϊόντων 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.

Επιπλέον θα πρέπει να τονιστεί και το πλεονέκτημα της χρήσης ξηραμένων καλλιεργείων οι οποίες ανταποκρίνονται στην ανάγκη των βιομηχανιών γάλακτος για καλλιέργειες ξηραμένες, εύκολες στη χρήση και την αποθήκευση, έτοιμες να χρησιμοποιηθούν ανά πάσα στιγμή, χωρίς σημαντικούς κινδύνους επιμόλυνσης.

Βιβλιογραφία

Ξένη βιβλιογραφία :

1. 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.
2. Aggelis G.: "Microbiology and Microbial Technology" (in Greek) A. Stamoulis Publications S.A., Athens, 2007.
3. Auras R., Lim L., Selke S., Tsuji H., (2010), 'Poly (lactic acid), Synthesis, Structures, Properties, Processing and Applications'.
4. Chandan, R. (2002). Benefits of live fermented milks present diversity of products. Proceedings of international Dairy Congress. Paris.
5. 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.
6. Chibata I. (1978). INDUSTRIAL APPLICATION OF IMMOBILIZED ENZYME SYSTEMS, pure and applied chemistry 50, 667-675
7. Datta R., Tsai S., Bonsignore P., Moon S., Frank JR. (1995), 'Technological and economic potential of poly (lactic acid) and lactic acid derivatives', FEMS Microbiol Rev., vol. 16, pp. 221–31.
8. Dairy microbiology the microbiology of milk (1989), edited by R. K. Robinson Elsevier applied science London and New York
9. Doleyres, Y., and Lacroix, C. (2005) technologies with free and immobilized cells for probiotic bifidbacteria production and protection. international dairy journals, 15, 973-988
10. Dugas, B., Mercenier, A., Lenoir- Wijnkoop, I., Arnand, C., Dugas, N., & Postaire, E. (1999). Immunology Today, 20, 387-390.
11. Edward R. Farnworth (2008) . Handbook of fermented functional food second edition. CRC Press Taylor and Francis group. Boca Raton London New York
12. El-Zahar K., Chobert J.M., Sitohy M., DalgalarIrondo M. and Haertle T. (2003) Proteolytic degradation of ewe milk proteins during fermentation of yoghurts and storage. Nahrung, 47(3), 199-206.

13. Encyclopedia of Dairy Sciences (Second Edition)2011, Introduction | History of Dairy Products and Processes .Pages 12–17. Publishes by Academic Press
14. FAO/WHO. 2003. Joint FAO/WHO food standards programme. Codex standard for fermented milks 243.Codex Alimentarius Commission.
15. Farnworth, E.R., & Mainville, I. (2008). Kefir—A Fermented Milk Product. In: E. Farnworth (Ed.), Handbook of Fermented Functional Foods (2nd ed) (pp. 90C116). Boca Raton, FL, USA: CRC Press Taylor & Francis Group.
16. Fernandes C.F., Chandan R.C. and Shahani K.M. (1999). Fermented DairyProducts and Health. In The Lactic Acid Bacteria in Health and Disease, Wood,Brian J.B., ed, Aspen Publications, Gaithersburg, Maryland, pp.297-339.
17. 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.
18. Food Standards Agency (2008). The Manual of Nutrition, 11th ed. UK
19. Food starts codex alimentarius a-11 (b) 1976 The Manual of Nutrition, 1. UK
20. Fuller R. 1992 History and development of probiotics. PublisherSpringer Netherlands
21. Garrote, G.L., Abraham, A.G., & De Antoni, G.L. (1997).Preservation of kefir grains . Acomparative study. Lebensmittel- Wissen schaft und-Technologie, 30, 77-84.
22. Gaudichon, C.,Roos N., Mahe S., Sick H., Bouley C. and Tome D. (1994).
23. Gastric Emptying Regulates the Kinetics of Nitrogen Absorption from 15N labelled milk and 15n-labelled yogurt in miniature Pigs. Journal of Nutrition, 124, 1970-77.
24. Gilliland, S.E., Nelson, C.R., & Maxwell, C. (1985). Assimilation of cholesterol by Lactobacillus acidophilus. Applied and Environmental Microbiology, 49,377-381.
25. Hardie, J.M. and Whiley, R.A. (1995) The genus Streptococcus.In The Genera of Lactic Acid Bacteria ed. Wood, B.J.B. and Holzapfel, W.H. Vol. 2, pp. 55–124. Blackie Academic and Professional.
26. Holten C., Mueller A., Rehbinder D. (1971), ‘Lactic acid properties and chemistry of lactic acid and derivatives’, Weinheim, Germany: Verlag Chemie.
27. Ivanova, L.M. (1975). Effect of kefir culture on coliform bacteria dring kefir manufacture Molochnaya promst, 9,8-11.

28. Ivanona L.N. Bulatskaya, and A.E. Silaev. (1980).‘Industrial production of kefir for children. Dairy Sci Abstr 43.106 (1981)
29. Jin, Y.L., Speers, R.A., (1998). Flocculation of *Saccharomyces cerevisiae*. Food Res. Int. 31, 421–440.
30. Kandler. O. and Weiss, N. (1986) Genus lactubacillus In: P.H.A. Sneath., N.S. Mair. , M.E. Sharpe and J.G. Holt (editors). Bergcy’s Manual of Systematic Bacteriology). Vol. 2. Williams and Wilkins. Baltimore MD. pp. 1209 1234.
31. 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 338Int. DairyJ., 19:684–689
32. Kerneis A., Deguin A., Feinberg M. (1994). Modeling applications of the number of microorganisms accordin to the residence time of drinking water in a distribution system. Proc Int Sem Biodegradable Organic Matter. Montreal,Quebee.
33. Koroleva, N.S. (1991). Products prepared with lactic acid bacteria and yeast. In: R.K Robinson (Ed.), Therapeutic properties of fermented milks (pp. 139-175). London, UK: Elserier Applied science Publishers.
34. Kosikowski, F.(1977) Cheese and fermented milk foods. 2nd edit. New York.
35. Kourkoutas, Y., Bekatorou, A., Banat, I.M., Marchant, R., & Koutinas, A. A. (2004). Immobilization technologies and support materials suitable in alcoholic beverages production: a review. Food Microbiology, 21, 377-397.
36. Kudelka, W. 2010.Probiotics in natural bio-yoghurts of goats’ milk.*Milchwissenschaft* 65:407–410.
37. 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.
38. Lucey, J.A., (2002) Formation and physical properties of milk protein gels, J. Dairy Sci.,85, pp 281–294
39. Luis, A., Lopez, E., & Lema, C. (1993). Microflora present in kefir grains of the Galician region. Journal of Diary Research, 60, 263-267.
40. McKeivith B., Shortt C. (2003) Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition). FERMENTED MILKS | Other Relevant Products, Pages 2383–2389 .Published by academic press

41. Milk and milk products edited by Alan h. Varnan and Jane P. Sutherland applied by chapman and hall (1994)
42. Minervini F., (2011). Bacteria | Lactobacillus spp.: Lactobacillus casei Group. Encyclopedia of Dairy Sciences (Second Edition), pp. 96–104
43. Navvaro, J. M., and Durand, G. (1977). Modification of yeast metabolism by immobilization on to porous glass. European Journal of Applied Microbiology, 4, 243-254.
44. Norton, S., & D' Amore, T. (1994). Physiological effects of yeast cell immobilization: applications for brewing. Enzyme and Microbial Technology, 16, 365-375.
45. Ota, A. (1999) Protection against an infection disease by enterohaemrragic E.coli 0-157. Medical Hypothesis, 3, 87-88.
46. Oylum Erkusa,1, Burcu Okuklua,1, Ali F. Yenidunyab, Sebnem Harsa (2013) High genetic and phenotypic variability of Streptococcus thermophilus strains isolated from artisanal Yuruk yoghurts. London, UK: Elserier Applied science Publishers.
47. Ozer, B.H.,(2006) Yogurt Bilimi ve Teknolojisi, Sidas Yayıncılık, Izmir, p. 496.
48. Park, J.K., Chang, H.N., (2000). Microencapsulation of microbial cells. Biotechnol. Adv. 18, pp 303–319.
49. Parvez,S., Malik,K.A., Kang,A.H., Kim,H.Y. (2006) Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. Journal of applied microbiology 100, 1171-1185
50. 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
51. Pilkington, P.H., margaritis, A., Mensout, N.A., and Russell, I. (1998). Fundamentals of immobilized yeast cells for continuous beer fermentation: a review. Journal of institure of brewing, 104, 19-31
52. Probiotics Protection Against Infection: Using Nature's Tiny Warriors To Stem Infection, (2009) By Casey Adams, PhD.
53. Robinson R.K. (2002). Dairy Microbiology Handbook. The Microbiology of milk and milk products. New York: Wiley- Interscience.

54. Robinson (2002), fermented milk yoghurt type and manufacture , encyclopedia of gairy science, London ,academic press, pp1055-1058
55. Robinson R.K., Tamime A.Y. and Wszolek M. (2002) Microbiology of fermented milks. In Dairy Microbiology Handbook, third ed., Robinson R.K., ed., Wiley Interscience, New York, pp. 367-430.
56. 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.
57. Shah, N. (2007). Functional cultures and health benefits. International Dairy Journal. 17: 1262-1277.
58. Shiby,V.K and Mishra ,H.N (2013) Fermented milks and milk products as functional foods a review. Critical reviews in food science and nutrition 53(5):482-96
59. Shioiri, J., Yahagi, K., Nakayamas., Asahara, T., Yuki, N., Kawakami, K., Yamaoka, Y., Sakai, Y., Nomoto, K., & Totani, M. (2006). The effects of a symbiotic fermented milk beverage containing *lactobacillus casei* strain shirota and transgalactosylated oligosaccharides on defecation frequency, intestinal microflora, organic acid concentrations, and putrefactive metabolites of sub-optimal health state volunteers: a randomized placebo- control cross- over study. Bioscience Microflora, 25 ,411-417.
60. Silva, K.R., Rodrigues, S.A., Filho, L.X., & Lima A.S.(2009) antimicrobial activity of broth fermented with kefir grains. Applied biotechnology, 152, 31-325.
61. Sodini I., Remeuf F., Haddad S. and Corrieu G. (2004) The relative effect of milk base, starter, and process on yoghurt texture: a review. Crit Rev food Sci Nutr., 44(2) 113-37.
62. Stiles, M.E., & Holzapfel, W.H.(1997). Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. International Journal of Food Microbiology, 36, 1-29.
63. Tamime A.Y.R.R (1999), YOGURT, SCIENCE AND TECHNOLOGY. (Second edititon ed.), Cambridge ,woodheat Puplishing Limited.
64. Tamime A.Y & Robinson R.K. (1999). Yogurt: Science and Technology, 2 nd edition, Woodhead Publishing Limited & CRC Press LLC pp. 1-128,432-485.

65. Tamime (2002) Fermented milks: a historical food with modern applications--a review. *European Journal of clinical nutrition* 56 Suppl 4:S2-S15. Retrieved from <http://www.nature.com/ejcn/journal/v56/n4s/pdf/1601657a.pdf>
66. Tamime, A.Y. and Robinson, R.K.,(2007). *Yoghurt Science and Technology*, 3rd edition, Woodhead Publishing, Cambridge, pp. 808.Cambridge England
67. Teixeira P. (2014).*Encyclopedia of Food Microbiology (Second Edition)*, pp: 425–431
68. 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.
69. Van Niel CW, Feudter C, Garrison MM, Dimitri A. 2002. *Lactobacillus* therapy for acute infections diarrhea in children: A meta-analysis. *Pediatrics* 109: 678-684.
70. 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.
71. 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.
72. Wood, J.B., & Hodge, M.M (1985). Yeast- Lactic acid bacteria interactions and their contribution to fermented food stuffs. In: J.B Wood (Ed.), *Microbiology of fermented foods*, Vol. I (pp. 263-293). London, UK: Elsevier Applied science Publishers.
73. Witthuhn, R.C., Schroeman, T., & Britz, T.J (2005) Characterisation of the microbial population at different stages of kefir grain mass cultivation. *International Dairy Journal*,15, 383-389.
74. Yildiz Fatih(2010). *Development and manufacture of yogurt and other functional dairy products*. Taylor and Francis group, CRC Press, New York.
75. Zirnstein G. and Hutkins R. (1999). *Streptococcus Thermophilus*, Academic Press.)

Ελληνική βιβλιογραφία :

1. Ανυφαντάκης Ε. & Καλαντζόπουλος Γ. (1993): Γαλακτοκομία, Α΄ και Β΄ Τόμοι (Εκδόσεις Σταμούλης).
2. Γεωργόπουλος Θεοφάνης (2014) : χημεία και τεχνολογία τροφίμων . Τμήμα διατροφής και διαιτολογίας, σημειώσεις για τεχνολογία τροφίμων.
3. Επιμορφωτικά σεμινάρια στη γαλακτοκομία Αθήνα 1983 εθνική επιτροπή γάλακτος
4. Μάντης Ι. Α. (2000, 2005, 2011). Υγιεινή και τεχνολογία του γάλακτος και των προϊόντων του. Τρίτη έκδοση. Εκδοτικός οίκος: Αδελφών Κυριακίδη α.ε
5. Μπαλατσούρας Γ., 2006. Μικροβιολογία τροφίμων, εκδόσεις ΕΜΒΡΥΟ, Αθήνα
6. Καμινारीδης Σ. & Μοάτσου Γ. (2009). Γαλακτοκομία. Εκδόσεις Έμβρυο, Αθήνα.
7. Καλαντζόπουλος Γ. (2005). Η Ιστορία του Ελληνικού Γάλακτος και των Προϊόντων του,. Εκδόσεις Τρίαινα.
8. Καρδούλης Αλέξανδρος . Οδηγός τροφίμων και ποτών τρίγωνο ερμηνευτικό λεξικό Αθήνα 1989. Εκδόσεις Παπασωτηρίου.
9. Κεχαγιάς Χρήστος (1997), Τεχνολογία γάλακτος & γαλακτοκομικών προϊόντων. [3] Μάντης Αντώνιος, Υγιεινή και τεχνολογία του γάλακτος και των προϊόντων του, 3η έκδοση
10. Κεχαγιάς Χ. (2011). Γάλα,-επιστήμη, Τεχνολογία και έλεγχοι για τη Διασφάλιση της ποιότητας. Εκδοτικός Όμιλος Ίων
11. Κυπαρισσίου Π, Μαζαράκη Σ, Παπακωνσταντίνου Μ (2007) Γνωρίζοντας τα τρόφιμα, τροφογνωσία – εμπορευματογνωσία, Β έκδοση, Les Livres du Tourisme, Αθήνα
12. Κυριακίδης Κ. Γαλακτοκομεία Ι, ΙΙ τεχνολογία γάλακτος, Θεσσαλονίκη 1983. Εκδοτικός οίκος Μανωκίδη.
13. Κώδικας Τροφίμων Κ.Τ.Π. 1998., Ποτών και αντικειμένων κοινής χρήσεως. Εθνικό τυπογραφείο. Αθήνα 1998
14. Κώδικας Τροφίμων και Ποτών και αντικειμένων κοινής χρήσης (2003). Μέρος Α: Τρόφιμα και Ποτά, Κεφάλαιο Ι. Ελληνική Δημοκρατία. Υπουργείο Οικονομίας και Οικονομικών. Γενικό Χημείο του Κράτους
15. Μαρτίνου-Βουλασίκη Ιωάννα και Ζερφυρίδης Γρηγόρης, Τμήματος Γεωπονίας Α.Π.Θ. (2004), Γαλακτοκομία.

16. Τριχοπούλου Α., Γεωργά Κ. (2004) Πίνακες Σύνθεσης Τροφίμων και Ελληνικών Φαγητών 3η έκδοση, Παρισιάνος, Αθήνα

Ιστοσελίδες:

1. Βακτήρια του γαλακτικού οξέος, 1999. Διαθέσιμο στο <http://www.eufic.org/article/el/nutrition/functional-foods/artid/lactic-acid-bacteria/> .Τελευταία επίσκεψη 24/10/2015
2. Βικιπαιδεια, 2015 Γάλα Διαθέσιμο στην ιστοσελίδα: <http://el.wikipedia.org/wiki/%CE%93%CE%AC%CE%BB%CE%B1>.
3. Τελευταία επίσκεψη: 27/10/2015
4. 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
5. Τυρί, 2015. Διαθέσιμο στο: <https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%A4%CF%85%CF%81%CE%AF> . τελευταία επίσκεψη 25/10/2015.
6. Cheese. Διαθέσιμο στο <http://en.wikipedia.org/wiki/Cheese>. Τελευταία επίσκεψη 24/10/2015
7. Cheese a European tradition, 2009. Διαθέσιμο στο <http://www.eufic.org/article/en/nutrition/salt/artid/Cheese-European-tradition/> .Τελευταία επίσκεψη 24/10/2015
8. Cheese low fat. Διαθέσιμο στο <http://www.whfoods.com/genpage.php?tname=foodspice&dbid=121> . Τελευταία επίσκεψη 24/10/2015
9. food-net, 2013. Διαθέσιμο στην ιστοσελίδα στην ιστοσελίδα: <http://www.food-net.org/2013/04/i.htm> . Τελευταία επίσκεψη: 24/10/2015

10. Lactic Acid Fermentation: Using Fermentation to Make Food, 2015. Διαθέσιμο στο: <http://study.com/academy/lesson/lactic-acid-fermentation-using-fermentation-to-make-food.html> . Τελευταία επίσκεψη 24/10/2015

11. *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus*. Διαθέσιμο στο: https://en.wikipedia.org/wiki/Lactobacillus_delbrueckii_subsp._bulgaricus .Τελευταία επίσκεψη 24/10/2015

12. Lactobacillus. Διαθέσιμο στο: <http://www.britannica.com/science/Lactobacillus#ref1072192> .Τελευταία επίσκεψη 24/10/2015

13. Lactobacillus, 2015. Διαθέσιμο στο: <https://www.nlm.nih.gov/medlineplus/druginfo/natural/790.html> . Διαθέσιμο στο:

14. What Is Buttermilk, 2014. Διαθέσιμο στο: <http://www.livescience.com/45614-what-is-buttermilk.html> . Τελευταία επίσκεψη 24/10/2015