

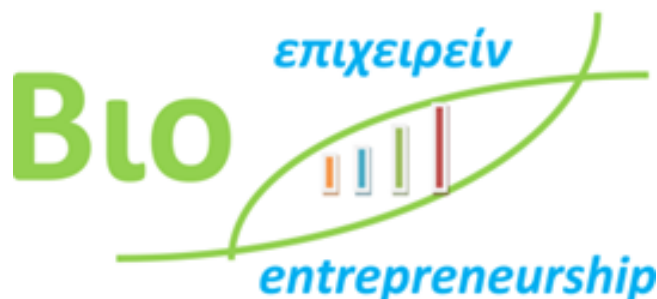


ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ



ΕΘΝΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΕΡΕΥΝΩΝ  
ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ, ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

## ΔΙΔΡΥΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ ΒΙΟΕΠΙΧΕΙΡΕΙΝ



### ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

---

**Επίδραση εκχυλισμάτων Guarana στα ποιοτικά χαρακτηριστικά  
παγωμένου γιαουρτιού.**

---

**ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ: Επίκουρος Καθηγήτρια, Περσεφόνη Γιαννούλη.**

**Μερκούριος Κωνσταντής  
Α.Μ. 00100  
Λάρισα, 2021-2022**



UNIVERSITY OF THESSALY  
SCHOOL OF HEALTH SCIENCES  
DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY AND BIOTECHNOLOGY



NATIONAL HELLENIC RESEARCH FOUNDATION  
INSTITUTE OF BIOLOGY, MEDICINAL CHEMISTRY & BIOTECHNOLOGY

## INTERSTITUTIONAL PROGRAM OF POSTGRADUATE STUDIES IN BIOENTREPRENEURSHIP



### MASTER THESIS

---

**Effect of Guarana extracts on the quality characteristics of  
frozen yogurt.**

---

**SUPERVISOR: ASSISTANT PROFESSOR, GIANNOULI PERSEPHONI**

**Merkourios Konstantis  
A.M. 00100  
Larisa, 2021-2022**

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο πλαίσιο σπουδών  
για την απόκτηση του Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης στο

## **ΒΙΟΕΠΙΧΕΙΡΕΙΝ**

που απονέμει το Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπι-  
στημίου Θεσσαλίας,  
Εγκρίθηκε την ..... από την τριμελή εξεταστική  
επιτροπή:

### **ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

| <b>ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ</b>                 | <b>ΒΑΘΜΙΔΑ</b>   | <b>ΥΠΟΓΡΑΦΗ</b> |
|--------------------------------------|------------------|-----------------|
| Περσεφόνη Γιαννούλη<br>(Επιβλέπουσα) | Επίκ. Καθηγήτρια |                 |
| Δημήτριος Λεωνίδας<br>(Μέλος)        | Καθηγητής        |                 |
| Νικόλαος Μπαλατσός<br>(Μέλος)        | Επίκ. Καθηγητής  |                 |

## **Ευχαριστίες**

Η συγγραφή της διπλωματικής εργασίας αυτής με θέμα τον «Επίδραση εκχυλισμάτων Guaraná/Paullinia Cupana στα ποιοτικά χαρακτηριστικά παγωμένου γιαουρτιού», έγινε στα πλαίσια των υποχρεώσεών μου ως σπουδαστής του τμήματος μεταπτυχιακών σπουδών Βιοεπιχειρείν της σχολής Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας στο Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Λάρισα.

Η ανάθεση του θέματος έγινε από τον εισηγητή της εργασίας Δρ. Περσεφόνη Γιαννούλη, Επίκουρος Καθηγήτρια του τμήματος Τεχνολογίας και Ποιοτικός Έλεγχος Τροφίμων Φυτικής Προέλευσης. Επιπλέον, θα ήθελα να την ευχαριστήσω για τη συνεχή παρακολούθηση κατά την εκτέλεση του πειραματικού μέρους και για την επίβλεψη της πτυχιακής εργασίας. Ακόμα, την ευχαριστώ για τη στήριξη της ως προς την εκτέλεση του πειραματικού μέρους, για όλα όσα μου δίδαξε παράλληλα με την πορεία του πειραματικού και για τη συμπαράσταση της μέσα στις μέρες που επικρατούσε η αναταραχή που προκάλεσε ο κορονοϊός.

Επίσης, ευχαριστώ τον Καθηγητή κ. Λεωνίδα Δημήτριο και τον Επίκουρο Καθηγητή κ. Μπαλασό Νικόλαο, μέλη της Τριμελούς Επιτροπής της μεταπτυχιακής μου διατριβής, για τις παρατηρήσεις τους και τις συμβουλές.

Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω την κα. Ελίνα Κουρουνιώτου για τη συνεργασία στα πλαίσια της παρασκευής των δειγμάτων που μελετήθηκαν σε αυτή τη μεταπτυχιακή διατριβή.

Τέλος, 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

**Η εργασία αυτή αφιερώνεται στην οικογένεια μου, που σε όλο αυτό το διάστημα δε  
σταμάτησαν να με στηρίζουν.**

**Μαμά, Μπαμπά, Αδερφούλα σας αγαπώ!**

## **Πίνακας Περιεχομένων**

|                                                     |               |
|-----------------------------------------------------|---------------|
| <b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ .....</b>                   | <b>σελ.6</b>  |
| 1.1 Ιστορία.....                                    | σελ.6         |
| 1.2 Καλλιέργειες Γιαουρτιού.....                    | σελ.8         |
| 1.3 Γιαούρτι και Υγεία.....                         | σελ.10        |
| 1.4 Παγωμένο Γιαούρτι.....                          | σελ.11        |
| 1.5 Γκουαρανά .....                                 | σελ.13        |
| 1.6 Σκοπός.....                                     | σελ.16        |
| <br><b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....</b>       | <b>σελ.17</b> |
| 2.1 Προετοιμασία Δειγμάτων.....                     | σελ.17        |
| 2.2 Μέτρηση pH.....                                 | σελ.18        |
| 2.3 Ανάλυση Δομής.....                              | σελ.18        |
| 2.4 Προσδιορισμός Ολικών Φαινολικών.....            | σελ.18        |
| 2.5. Προσδιορισμός Μικροδομής.....                  | σελ.18        |
| 2.6. Στατιστική Ανάλυση.....                        | σελ.19        |
| <br><b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....</b> | <b>σελ.20</b> |
| 3.1 Προετοιμασία Δειγμάτων.....                     | σελ.20        |
| 3.2 Μέτρηση pH.....                                 | σελ.20        |
| 3.3 Ανάλυση Δομής.....                              | σελ.21        |
| 3.4 Προσδιορισμός Ολικών Φαινολικών.....            | σελ.23        |
| 3.5. Προσδιορισμός Μικροδομής.....                  | σελ.24        |
| <br><b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....</b>            | <b>σελ.28</b> |
| <br><b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....</b>                        | <b>σελ.29</b> |

## **Περίληψη**

Τη σημερινή εποχή, οι νέες τάσεις της αγοράς οδηγούν τις γαλακτοβιομηχανίες στην αναζήτηση ποιοτικών και λειτουργικών γαλακτοκομικών προϊόντων με στόχο να προάγουν την υγεία του ανθρώπινου οργανισμού. Στην παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή μελετήθηκε το «μοντέλο τροφίμου» παγωμένου γιαούρτι με υδατικά εκχυλίσματα γκουαρανά 0%, 0,5%, 1%, 2% και 3% w/w με στόχο τη διερεύνηση των επιδράσεων των συνθηκών αποθήκευσης αλλά και των εκχυλισμάτων γκουαρανά στα ποιοτικά χαρακτηριστικά τους. Πιο συγκεκριμένα, διερευνήθηκε πως η αποθήκευση για 2 μήνες στους  $-20^{\circ}\text{C}$  και τα εκχυλίσματα επηρεάζουν βασικά ποιοτικά χαρακτηριστικά των δειγμάτων παγωμένου γιαουρτιού, όπως το pH, τη σκληρότητα, την ολική συγκέντρωση φαινολικών και τη μικροδομή. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων έδειξαν ότι η συγκέντρωση εκχυλίσματος 3% w/w γκουαρανά εμφάνισε τη μικρότερη σκληρότητα και στη μικροδομή, τη μικρότερη συνοχή στο δίκτυο των καζεϊνών του παγωμένου γιαουρτιού σε σχέση με τα υπόλοιπα δείγματα. Επίσης, η προσθήκη εκχυλισμάτων γκουαρανά στα δείγματα παγωμένου γιαουρτιού μπορεί να οδηγήσει στη δημιουργία εμπλουτισμένων λειτουργικών προϊόντων γιατί παρατηρήθηκε αύξηση των συγκεντρώσεων των ολικών φαινολικών ενώσεων στα δείγματα παγωμένου γιαουρτιού με τη αύξηση της συγκέντρωσης εκχυλισμάτων γκουαρανά. Τέλος, το «μοντέλο τροφίμου» παγωμένο γιαούρτι με εκχυλίσματα γκουαρανά θα μπορούσε να προταθεί ως βάση όπου με την προσθήκη επιπλέον προσθέτων να παρασκευαστούν παγωμένα λειτουργικά επιδόρπια ή και λειτουργικό παγωτό γιαούρτι.

**Λέξεις-Κλειδιά:** Γκουαρανά, Παγωμένο Γιαούρτι, Εκχυλίσματα Γκουαρανά, Σκληρότητα, Μικροδομή

## **Abstract**

Nowadays, new market trends lead dairy industries to search for quality and functional dairy products with the aim of promoting the health of human body. In this MSc thesis, the "food model" of frozen yogurt with guarana aqueous extracts 0%, 0.5%, 1%, 2% and 3% w/w were studied with the aim of investigating the effects of storage conditions and guarana extracts on their quality characteristics. More specifically, it was investigated how storage for 2 months at -20°C and guarana extracts affect main quality characteristics of frozen yogurt samples, such as pH, hardness, total phenolic content and microstructure. The results of the measurements showed that the concentration of 3% w/w guarana extract showed the smallest value in hardness and in microstructure, the least cohesion in the frozen yogurt casein network, compared to the rest of the samples. Also, the addition of guarana extracts to the frozen yogurt samples may lead to the creation of enriched functional products because an increase in the concentrations of total phenolic compounds was observed in frozen yogurt samples increased concentration of guarana extracts. Finally, the "food model" frozen yogurt with guarana extracts could be proposed as a basis and with the addition of additional additives, frozen functional desserts and/or functional yogurt ice cream can be prepared.

**Key Words:** Guarana, Frozen Yogurt, Guarana Extracts, Hardness, Microstructure



## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ**

### **1.1 Ιστορία**

Σήμερα γίνονται πολλές έρευνες για τη διερεύνηση των επιδράσεων των προβιοτικών γαλακτοκομικών προϊόντων στον εντερικό μικροβιόκοσμο και τη συνολική υγεία. Τα προβιοτικά βακτήρια ορίζονται ως "ζωντανοί μικροοργανισμοί, που όταν χορηγούνται σε επαρκείς ποσότητες και παρέχουν οφέλη για την υγεία του ξενιστή".

Το 1921 ο Heinemann κατέγραψε μια πρώιμη μέθοδο παρασκευής γιαουρτιού και περιέγραψε την παρασκευή γιαουρτιού ως βρασμό γάλακτος σε καθαρά πήλινα δοχεία σε χαμηλή θερμοκρασία ώστε να ο όγκος του γάλακτος κατά 25% με 50%. Συνέχεια της διαδικασίας είναι η ψύξη στους 37 ως 45°C, προσθήκη μικρής ποσότητας προϊόντος από προηγούμενη παρασκευή, τύλιγμά των δοχείων που περιέχουν αυτό το μείγμα με φλούδες και πανιά για να διατηρηθεί ομοιόμορφη θερμοκρασία για 10 έως 12 ώρες πριν είναι έτοιμο για κατανάλωση.

Για τις σύγχρονες μεθόδους παρασκευής γιαουρτιού, το μίγμα γιαουρτιού με κατάλληλη περιεκτικότητα σε λιπαρά (συνήθως <0,5, 1 ή 3,25%) και συνολική περιεκτικότητα σε στερεά (συνήθως 12 έως 15% και ρυθμίζεται με την προσθήκη άπαχου γάλακτος) ομογενοποιείται, παστεριώνεται συνήθως στους 90 έως 95°C για σχεδόν ένα λεπτό έως λίγα λεπτά ή στους 85°C για περίπου 30 λεπτά και ψύχεται στους 40 έως 45°C πριν από την άντληση σε δεξαμενή (συχνά κυλινδρικού σχήματος στην κορυφή και κωνικού σχήματος στον πυθμένα). Το μείγμα εμβολιάζεται στη συνέχεια με *Streptococcus Thermophilus* και *Lactobacillus Bulgaricus*. Μετά την τοποθέτηση του μίγματος σε κύπελλα αυτά μεταφέρονται στη συνέχεια σε θερμό δωμάτιο για επώαση. Όταν το γιαούρτι φτάσει το κατάλληλο pH (συνήθως περίπου 4,6), τα κύπελλα γιαουρτιού μεταφέρονται σε ψυγείο και διακόπτεται η ζύμωση.

Στην παραδοσιακή παρασκευή του γιαουρτιού υπάρχει αρκετή επιστημονική διεθνή βιβλιογραφία (Kosikowski et al. 1997). Το γιαούρτι ως προϊόν όμως έχει εξελιχθεί με την πάροδο του χρόνου. Ενώ η βιομηχανική παραγωγή γιαουρτιού με την

ενσωμάτωση μικροοργανισμών, ξεκίνησε από τον Isaac Carasso το 1919 άρχισε να εξελίσσεται αφού κατά τη διάρκεια των δεκαετιών του 1920 και 1930, το γάλα γιαουρτιού αποχαρακτηρίστηκε ότι είχε κακή γεύση λόγω της υψηλής οξύτητάς του (Winkler, 1929 - Nordsiek, 1938). Σήμερα, υπάρχουν πολλές μορφές γιαουρτιού, όπως σκέτο γιαούρτι, γιαούρτι με γεύση φρούτων (συμπεριλαμβανομένων των μορφών με φρούτα στον πάτο και των μορφών με μείγμα), γιαούρτι με σαντιγί, γιαούρτι με γρανίτες, γιαούρτι που μπορεί να πιει κανείς και γιαούρτι με διαφορετική περιεκτικότητα σε λιπαρά (κανονικό, χαμηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά και χωρίς λιπαρά).

Οι σημερινές τάσεις για το γιαούρτι περιλαμβάνουν τη μείωση της ζάχαρης (Chollet et al., 2013) και λιπαρών. Επομένως σήμερα αλλά και τις τελευταίες δεκαετίες στο εμπόριο υπάρχουν το γιαούρτι χαμηλών λιπαρών και το άπαχο γιαούρτι με συγκέντρωση λιπαρών μεταξύ 0,5% και 2% λιπαρά και λιγότερο από 0,5% λιπαρά, αντίστοιχα.

Κατά την παρασκευή νέων καινοτόμων γαλακτοκομικών προϊόντων στο γιαούρτι προστίθενται προαιρετικά γαλακτοκομικά συστατικά, όπως για παράδειγμα η κρέμα γάλακτος, και καλλιέργειες με *Lactobacillus bulgaricus* και *Streptococcus thermophilus* σε διαφορετικές αναλογίες που οδηγούν όμως σε τιτλοδοτούμενη οξύτητα τουλάχιστον 0,9% εκφρασμένη ως γαλακτικό οξύ. Σημαντικά στάδια πριν την προσθήκη καλλιιεργειών είναι η παστερίωση ή υπερ-παστερίωση. Σε αυτά τα προϊόντα γιαουρτιού γίνεται η προσθήκη και άλλων συστατικών όπως γλυκαντικά υδατάνθρακες, πρωτεΐνες, αρωματικά συστατικά, χρωστικές, σταθεροποιητές και βιταμίνες Α και D. Επίσης αρκετά καινοτόμα προϊόντα γιαουρτιού έχουν αυξημένα στερεά γάλακτος χωρίς λίπος και αυτό γίνεται με προσθήκη αποβουτυρωμένου ή πλήρους γάλακτος, συμπυκνωμάτων πρωτεϊνών γάλακτος, συμπυκνωμένου γάλακτος, σκόνη βουτυρογάλακτος, σκόνη ορού γάλακτος, συμπυκνωμάτων πρωτεϊνών ορού γάλακτος, μικροσωματιδιακή πρωτεΐνη ορού γάλακτος και καζεϊνικά άλατα (νατρίου, ασβεστίου ή νατρίου-ασβεστίου). Τέλος τα παραπάνω προϊόντα γιαουρτιού ή αλλιώς επιδόρπια γιαουρτιού μπορεί να υποστούν ποίκιλλες θερμικές επεξεργασίες για να σκοτωθούν οι βιώσιμοι μικροοργανισμοί και να παρατείνουν τη διάρκεια ζωής τους.

Το 1949 ο Schulz δήλωσε ότι η προσθήκη συμπυκνωμένου αποβουτυρωμένου γάλακτος στο γάλα για την παρασκευή γιαουρτιού βελτιώνει τη συνοχή του γιαουρτιού. Η προσθήκη σκόνης γάλακτος στο γάλα χρησιμοποιείται εδώ και πολλά χρόνια για την παραγωγή ενός πιο παχύρρευστου και στερεού γιαουρτιού (Pette and Lolkema, 1951). Οι Todoric και Savadinovic (1973) δήλωσαν ότι μέχρι 0,3% αποξηραμένος ορός γάλακτος μπορεί να αντικαταστήσει το αποξηραμένο αποβουτυρωμένο γάλα στην παρασκευή γιαουρτιού. Οι έρευνες στο γιαούρτι συνεχίστηκαν και οι Horton et al. (1972) ανέφεραν ότι τα συμπυκνώματα πρωτεϊνών ορού γάλακτος τυριού σε υγρή μορφή θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν στην παραγωγή γιαουρτιού. Αργότερα οι Modler et al. (1983) πρόσθεσαν καζεϊνικό εστέρα, συμπύκνωμα πρωτεϊνών γάλακτος, αποβουτυρωμένο γάλα σε σκόνη και συμπυκνώματα πρωτεϊνών ορού γάλακτος (που παρασκευάστηκαν με υπερδιήθηση, ιοντοανταλλαγή ή ηλεκτροδιάλυση/κρυστάλλωση λακτόζης) σε γιαούρτι σε συγκεντρώσεις που κυμαίνονταν από 0,5 έως 1,5% και διαπίστωσαν ότι η σταθερότητα της πηκτής έτεινε να είναι υψηλότερη σε σχέση με τη συνένωση της πηκτής με τη χρήση των πρόσθετων με βάση την καζεΐνη.

## 1.2. Καλλιέργειες Γιαουρτιού

Αν και οι τρέχουσες τυποποιημένες διαδικασίες και κανονισμοί απαιτούν την προσθήκη τόσο του *Streptococcus Thermophilus* όσο και του *Lactobacillus Bulgaricus* ως καλλιέργεια εκκίνησης που πρέπει να χρησιμοποιείται στην παραγωγή γιαουρτιού (ή ενδεχομένως προϊόντων που μοιάζουν με γιαούρτι) λόγω της συμβιωτικής τους σχέσης έχουν προταθεί με την πάροδο του χρόνου και άλλες καλλιέργειες ή συνδυασμοί.

Με βάση την επιστημονική βιβλιογραφία ο Rosell (1933) ήταν από τους πρώτους που περιέγραψε 3 τύπους βακτηρίων για την παρασκευή γάλακτος γιαουρτιού: "βακτήριο *yoghourtii*, το *Bacterium bulgaricum* (Grigoroff) και το *Streptococcus lacticus thermophilus* (Weigman και Henneberg)". Στη συνέχεια ο Davis (1973) χρησιμοποίησε τη φράση "καλλιέργεια του *L. bulgaricus* και άλλων γαλακτικών βακτηρίων σε γάλα ή συμπυκνωμένο γάλα" για να περιγράψει το παραδοσιακό

γιαούρτι και ο Orla-Jensen (1919) περιέγραψε τον *Streptococcus thermophilus*. Ο *Streptococcus thermophilus* είναι ο πιο συχνά εμφανιζόμενος *Streptococcus* στο γάλα που παστεριώνεται σε χαμηλές θερμοκρασίες. Η ταχύτερη ανάπτυξη συμβαίνει στους 40 έως 45°C και η καλύτερη ανάπτυξη είναι στο γάλα.

Ο *Streptococcus Thermophilus* σχηματίζει μεγαλύτερες αλυσίδες στους 45°C απ' ό,τι στους 30°C. Πυκνές κάψουλες, ή ακόμη και πήγματα (πιθανώς έξω-πολυσακχαρίτες και εξετάζονται λεπτομερέστερα παρακάτω), μπορούν να σχηματιστούν από διάφορα στελέχη. Ζυμώνει ελαφρά τη μαλτόζη και τη μαννόζη αλλά όχι τη σαλικίνη (Orla-Jensen, 1919). Οι Radke-Mitchell και Sandine (1986) διαπίστωσαν ότι η θερμοκρασία για τη βέλτιστη παραγωγή οξέος από τον *S. thermophilus* κυμαίνεται από περίπου 2 έως 8°C υψηλότερη από τη θερμοκρασία για τη βέλτιστη ανάπτυξή του. Ο *Streptococcus Thermophilus* επαναταξινομήθηκε αργότερα ως *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* (Farrow and Collins, 1984). Ο Grigoroff περιέγραψε τον *L. bulgaricus* το 1905, όπως τεκμηριώνεται και αναφέρεται από τους Kulr and Rettger (1924).

Οι Tharmaraj και Shah (2003) περιέγραψαν τις αποικίες του *S. thermophilus* ως στρογγυλές και κιτρινωπές και με διάμετρο 0,1 έως 0,5 mm, όταν τοποθετήθηκαν σε *Streptococcus Thermophilus* άγαρ, και τις αποικίες του *L. bulgaricus* ως λευκές, βαμβακερές, τραχιές και ακανόνιστες και με διάμετρο 1,0 mm, όταν τοποθετήθηκαν σε MRS άγαρ ρυθμισμένο σε pH 4,58. Έχουν αναπτυχθεί τεχνικές με μοριακή βάση για την ταυτοποίηση του *S. Thermophilus* και του *L. Bulgaricus*. Οι Lick και Teuber (1992) συνέθεσαν έναν ειδικό για το είδος ανιχνευτή DNA-ολιγονουκλεοτιδίων που επιτρέπει την ταχεία ταυτοποίηση του *S. Thermophilus* με τη χρήση υβριδισμού DNA. Στη συνέχεια, οι Lick et al. (1996) ανέπτυξαν μια τεχνική PCR με ειδικό εκκινητή που βασίζεται στην αλληλουχία του γονιδίου *lacZ* για την ταχεία και ακριβή ταυτοποίηση του *S. Thermophilus*.

Η ιστορία της ανάπτυξης των γαλακτοκομικών καλλιεργειών συνοψίζεται από τους Wigley (1977) και Jespersen (1977). Έχει παρατηρηθεί συμβιωτική σχέση μεταξύ του *S. Thermophilus* και του *L. Bulgaricus*. Αυτή η συμβιωτική σχέση μέσα στο γιαούρτι και σε άλλα γαλακτοκομικά προϊόντα με καλλιέργεια αναφέρθηκε από τον

Orla-Jensen (1921). Οι Pette και Lolkema (1950a) περιέγραψαν τη σχέση μεταξύ του *L. Bulgaricus* και του *S. Thermophilus* ως συμβίωση και στη συνέχεια ως αντιβίωση. Ο *Lactobacillus Bulgaricus* διεγείρει την ανάπτυξη του *S. Thermophilus* όταν ο *S. Thermophilus* βρίσκεται στη λογαριθμική φάση της ανάπτυξης, αλλά αργότερα ο *L. Bulgaricus* ανέστειλε τον *S. Thermophilus* λόγω της μεγάλης ποσότητας γαλακτικού οξέος που παρήγαγε ο *L. Bulgaricus*. Ωστόσο, οι Janckon και Stoyanov (1966) ανέφεραν ότι ορισμένα στελέχη του *L. Bulgaricus* ήταν σαφώς ανταγωνιστικά με το *S. Thermophilus* και, ως εκ τούτου, δεν ήταν κατάλληλα για την παραγωγή γιαουρτιού. Απομόνωσαν μόνο 6 στελέχη του *L. Bulgaricus* από 442 απομονώσεις γαλακτικών βακτηρίων από νωπό γάλα και μόνο 2 από αυτά τα στελέχη ήταν κατάλληλα για την παρασκευή γιαουρτιού. Επίσης, ανέφεραν ότι οι καταλληλότερες αναλογίες *L. Bulgaricus*: *S. Thermophilus* για να προκύψει επιθυμητό γιαούρτι ήταν μεταξύ 2:1 και 1:5 (Janckon and Stoyanov, 1966).

Μια συμβιωτική σχέση μεταξύ του *L. Bulgaricus* και του *S. Thermophilus* φάνηκε επίσης από την υψηλότερη παραγωγή ακεταλδεϋδης στο γάλα από ένα μίγμα 1:1 αυτών των μικροοργανισμών από ό, τι από έναν από τους μικροοργανισμούς μόνο του (Hamdan et al., 1971). Παρόλο που οι Radke-Mitchell και Sandine (1986) βρήκαν βέλτιστες θερμοκρασίες ανάπτυξης 35 έως 42°C για τον *S. Thermophilus* και 43 έως 46°C για τον *L. Bulgaricus*, η ανάπτυξη μικτών καλλιιεργειών *L. Bulgaricus* και *S. Thermophilus* στο γάλα δεν επηρεάστηκε από αυτές τις βέλτιστες θερμοκρασίες ανάπτυξης των στελεχών που αναπτύχθηκαν μεμονωμένα, αλλά φάνηκε να εξαρτάται από τη συγκέντρωση ή το είδος των διεγερτικών παραγόντων που παράγονται από τον *L. Bulgaricus*.

### 1.3 Γιαούρτι και υγεία

Το γιαούρτι είναι ένα γαλακτοκομικό προϊόν που εκτιμάται παγκοσμίως αφού παρουσιάζει σημαντικά αισθητηριακά και διατροφικά χαρακτηριστικά. Η συχνή κατανάλωση γιαουρτιού με γαλακτικές πρεβιοτικές καλλιέργειες είναι γνωστή για τη μείωση των εντερικών φλεγμονών και λοιμώξεων, της διάρροιας, του ιριδίζοντος εντέρου και των επιπέδων χοληστερόλης. Με στόχο τη βελτίωση των θρεπτικών

χαρακτηριστικών του γιαουρτιού, αρκετοί συγγραφείς έχουν μελετήσει την ενσωμάτωση φυσικών προϊόντων στο γιαούρτι, όπως τα κελύφη φουντουκιών, εκχύλισμα φυκιών και μαύρο, λευκό και πράσινο τσάι. Τα γιαούρτια με προσθήκη φυσικών πολτών φρούτων αυξάνουν την παγκόσμια αγορά τους λόγω της μεγάλης ζήτησης προϊόντων για μια πιο υγιεινή διατροφή, πλούσια σε ενώσεις με βιολογική δράση. Το γιαούρτι φράουλας είναι ένα από τα πιο διαδεδομένα λόγω των αισθητηριακών ιδιοτήτων, όπως η γεύση και το χρώμα, καθώς και των διατροφικών ιδιοτήτων, όπως η παρουσία βιοδραστικών ενώσεων, π.χ. ανθοκυανίνες.

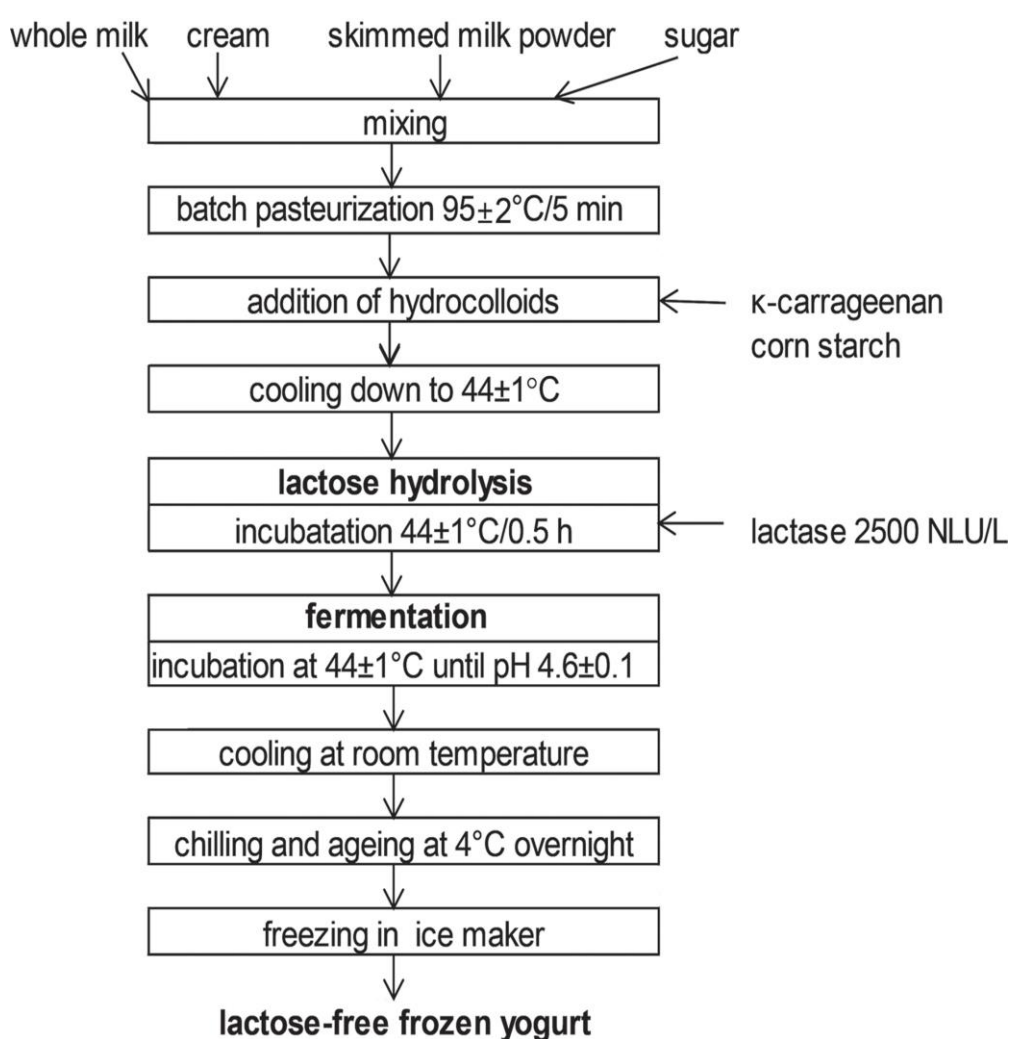
Αυτές οι φυσικές ενώσεις μπορούν να παρέχουν καλύτερη αισθητηριακή, διατροφική και αντιοξειδωτική ποιότητα σε σύγκριση με τα συνθετικά πρόσθετα στο γιαούρτι. Οι ανθοκυανίνες είναι οι κύριες φαινολικές ενώσεις της φράουλας. Οι ενώσεις αυτές εμφανίζουν αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες, καθώς και μεγάλη ποικιλία χημικοθεραπευτικών επιδράσεων, αποφεύγοντας το οξειδωτικό στρες και βελτιώνοντας την αντιοξειδωτική άμυνα. Ωστόσο, οι ενώσεις αυτές είναι συχνά ιδιαίτερα θερμοευαίσθητες, γεγονός που αποτελεί το κύριο μειονέκτημά τους. Υπό αυτή την έννοια, η συμπύκνωση με κατάψυξη σε μπλοκ είναι μια εναλλακτική τεχνολογία χαμηλού κόστους και χαμηλής πολυπλοκότητας που έχει χρησιμοποιηθεί με επιτυχία για τη συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων που εξάγονται από φυσικά προϊόντα, αποφεύγοντας την αποικοδόμηση αυτών των ενώσεων.

Η μεγάλη σημασία του γιαουρτιού στην υγεία οδήγησε τη Βιομηχανία Τροφίμων την ανάγκη για δημιουργία νέα προϊόντων με βάση το γιαούρτι.

#### **1.4 Παγωμένο Γιαούρτι**

Το παγωμένο γιαούρτι είναι ένα δροσιστικό και θρεπτικό επιδόρπιο, με ή χωρίς γεύση, που συνδυάζει την υφή του παγωτού ή γρανίτας και του γιαουρτιού. Όπως και τα περισσότερα κατεψυγμένα επιδόρπια γαλακτοκομικών προϊόντων, το κατεψυγμένο γιαούρτι μπορεί να περιέχει κάποια από τα παρακάτω λίπος γάλακτος, στερεά μη λιπαρά γάλακτος, γλυκαντικά, σταθεροποιητές, γαλακτοματοποιητές, νερό και άλλα πρόσθετα. Μπορεί να έχει χαμηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά, 2%-4%. Επιπλέον, υπάρχουν πολλοί παράγοντες που επηρεάζουν το σώμα και την υφή του

παγωμένου γιαουρτιού και παρόμοιων προϊόντων παγωμένων επιδορπίων. Οι σταθεροποιητές είναι ένα από τα κύρια συστατικά που έχουν σημαντικές λειτουργίες στην ποιότητα του τελικού προϊόντος. Για παράδειγμα, χρησιμοποιούνται κ-καραγεννάνη και άμυλο καλαμποκιού σε μίγμα με το γιαοούρτι για να αυξήσουν το ιξώδες του μείγματος Εικόνα 1.1. , για να αποτρέψουν τον διαχωρισμό του διαυγούς ορού κατά την τήξη και να περιορίσουν την ανάπτυξη κρυστάλλων πάγου και λακτόζης κατά τη διάρκεια των περιόδων αποθήκευσης, ιδίως σε περιόδους αυξομείωσης της θερμοκρασίας (Katarzyna Skryplonek, et al. 2019 ).



**Εικόνα 1.1.** Ενδεικτικό παράδειγμα παρασκευής του παγωμένου γιαουρτιού χωρίς λακτόζη. NLU: μονάδες φυσικής λακτάσης (Katarzyna Skryplonek, et al. 2019)

Οι μεγάλες εταιρείες χρησιμοποιούν συχνά γραμμές. Μία από τις τεχνικές σε αρκετές περιπτώσεις εφαρμόζεται στο παγωμένο γιαούρτι είναι η δημιουργία επιπλέον όγκου και απαλή συνοχή, ο αέρας ενσωματώνεται στο γιαούρτι καθώς το μείγμα αναδεύεται. Με επαρκή ποσότητα αέρα, το γιαούρτι παγώνει γρήγορα για να αποτρέψει το σχηματισμό μεγάλων κρυστάλλων πάγου και στη συνέχεια αποθηκεύεται στη θερμοκρασία καταψύκτη. Τέλος η διαδικασία παρασκευής και οι μορφές του παγωμένου γιαουρτιού ποικίλουν δεν υπάρχει κάποια συγκεκριμένη διαδικασία και σύσταση για τα προϊόντα αυτά.

### 1.5 Γκουαρανά (*Paulina Cupana*)

Η *Paullinia Cupana*, που αναφέρεται επίσης ως γκουαρανά, είναι ένα φυτό που είναι ενδημικό στη λεκάνη του Αμαζονίου και ιδιαίτερα διαδεδομένο στη Βραζιλία. Η σκόνη των σπόρων της καταναλώνεται συνήθως από άτομα όλων των ηλικιών στην περιοχή του Αμαζονίου κυρίως για τις τονωτικές και διεγερτικές της ιδιότητες. Άλλες αναφερόμενες φαρμακολογικές επιδράσεις του γκουαρανά περιλαμβάνουν την απώλεια βάρους, τη μείωση της σύνθεσης θρομβοξάνης στα αιμοπετάλια, την προστασία από γαστρικές βλάβες, την αντιοξειδωτική δράση και τις αντιφλεγμονώδεις επιδράσεις. Ωστόσο, όταν καταναλώνεται σε υπερβολική ποσότητα, το γκουαρανά μπορεί επίσης να επηρεάσει αρνητικά την ανθρώπινη υγεία, προκαλώντας άγχος, διαταραχή του ύπνου και ταχυκαρδία, για παράδειγμα, λόγω της υψηλής περιεκτικότητάς του σε καφεΐνη. Πιο συγκεκριμένα η συγκέντρωση καφεΐνης στη σκόνη Γκουαρανά εξαρτάται από τον τόπο παρασκευής και έχει βρεθεί ότι κατά μέσο όρο περιέχονται 50 mg καφεΐνης ανά γραμμάριο Γκουαρανά.

Η παράταση της μακροζωίας σε ανθρώπους που ζουν στο Maués, μια περιοχή του Αμαζονίου στη Βραζιλία, έχει συνδεθεί με τη διατροφή των Αμαζόνων, συμπεριλαμβανομένης της συνήθους κατανάλωσης γκουαρανά. Επιπλέον, μία επιδημιολογική μελέτη συσχέτισε τη λήψη γκουαρανά με χαμηλό επιπολασμό χρόνιων ασθενειών που σχετίζονται με την ηλικία στον πληθυσμό του Αμαζονίου. Πρόσφατα, μία μελέτη κατέδειξε επίσης το αντιγηραντικό δυναμικό του εκχυλίσματος των σπόρων γκουαρανά στον *Caenorhabditis elegans*. Ωστόσο, οι μηχανισμοί που διέπουν τις επιδράσεις του γκουαρανά στη γήρανση δεν



προσδιορίστηκαν. Η *C. elegans* αποτελεί κατάλληλο μοντέλο για την κατανόηση των αντιδράσεων του οργανισμού σε διάφορες συνθετικές και φυσικές ενώσεις και την επίδρασή τους στη γήρανση και τη διάρκεια ζωής. Οι ζωτικές βιολογικές οδοί και πολλές πτυχές της γήρανσης είναι ανάλογες στους νηματώδεις και στα θηλαστικά, συμπεριλαμβανομένων των ανθρώπων. Δεδομένου ότι το ποσοστό των ηλικιωμένων αυξάνεται παγκοσμίως και συνοδεύεται από αυξημένη συχνότητα ασθενειών που σχετίζονται με την ηλικία, είναι σημαντικό να εντοπιστούν αποτελεσματικές θεραπείες και θεραπευτικοί στόχοι που θα μπορούσαν να βελτιώσουν την ποιότητα ζωής.



**Εικόνα 1.2.** Γκουαρανά, (<https://www.healthyliving.gr/2015/10/28/gkoularana-5>)

Ο καρπός του Γκουαρανά έχει μεγάλες οικονομικές δυνατότητες λόγω των φαρμακευτικών, διεγερτικών και ενεργειακών ιδιοτήτων του. Το γκουαρανά είναι ένας ξηρός αφυδατωμένος καρπός που αποτελείται από ένα περικάρπιο και ένα πρέμνο, το οποίο είναι ένα εξάρτημα πλούσιο σε άμυλο και σπόρους (1-3 σπόροι ανά καρπό). Ο σπόρος είναι το κύριο εμπορικό προϊόν του φυτού λόγω της υψηλής περιεκτικότητάς του σε καφεΐνη, η οποία αντιστοιχεί σε 2,5 έως 5,8% του ξηρού βάρους του καρπού, υψηλότερη από εκείνη που περιγράφεται για τον καφέ (0,5 έως 2,8%).



**Εικόνα 1.3.** Γκουαρανά σε σκόνη

(<https://www.mednutrition.gr/portal/efarmoges/leksiko-diatrofis/16510-gouarana>)

Στο Γκουαρανά υπάρχουν και άλλοι μεταβολίτες με φαρμακευτικές ιδιότητες περιλαμβάνουν φλαβονοειδή, τα οποία έχουν ισχυρές αντιοξειδωτικές ιδιότητες, κατεχίνες, οι οποίες βοηθούν στην απώλεια βάρους, τανίνες, οι οποίες έχουν σημαντικές αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις δραστηριότητες, καθώς και άλλες που συμβάλλουν στην οικονομική δυναμική του καρπού αυτού. Επιπλέον, το γκουαρανά έχει σημαντικό κοινωνικό ρόλο στις αγροτικές περιοχές του βραζιλιάνικου Αμαζονίου, επειδή προσφέρει επιχειρηματικές ευκαιρίες για τις βιομηχανίες, αποζημίωση για χιλιάδες παραγωγούς και συμβάλλει επίσης στη διατήρηση των ανθρώπων στις αγροτικές περιοχές. αναφορές έχουν δείξει ότι οι ψημένοι σπόροι του γκουαρανά έχουν αφροδισιακές, αντιμικροβιακές και αντιοξειδωτικές δραστηριότητες.

Τέλος, το γκουαρανά έχει αποδειχθεί ότι βελτιώνει τη γνωστική ικανότητα, την πνευματική κόπωση και διεγείρει τη μνήμη και το κεντρικό νευρικό σύστημα, επιπλέον, παρέχει προστασία έναντι της γαστρικής βλάβης που προκαλείται από το αλκοόλ, μεταξύ άλλων ιδιοτήτων. Μια επιδημιολογική μελέτη με έναν ηλικιωμένο

ποτάμιο πληθυσμό στο δήμο Maués, τον κύριο παραγωγό γκουαρανά στην πολιτεία Amazonas, αποκάλυψε ότι η συνήθης πρόσληψη γκουαρανά μειώνει τον επιπολασμό της υπέρτασης, της παχυσαρκίας και των μεταβολικών συνδρόμων.

Λόγο των πολλών πλεονεκτημάτων για την υγεία που έχει το γκουαρανά έχει βρει αρκετές εμπορικές εφαρμογές. Σε αρκετά ποτά αλκοολούχα αλλά και μη, το γκουαρανά χρησιμοποιείται ως αρωματική ύλη. Το πιο δημοφιλές αναψυκτικό στη Βραζιλία είναι το Guarana Antartica, το οποίο περιέχει γκουαρανά και τροπικά φρούτα. Το αναψυκτικό αυτό είναι πλούσιο σε βιταμίνες ενώ παράλληλα περιέχει και καφεΐνη και διεγείρει το κεντρικό νευρικό σύστημα. Οι εμπορικές εφαρμογές του γκουαρανά και των εκχυλισμάτων του σε προϊόντα τροφίμων είναι ελάχιστες.

## **1.6 Σκοπός**

Ο σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι να μελετηθεί η επίδραση εκχυλισμάτων γκουαρανά στα ποιοτικά χαρακτηριστικά παγωμένου γιαουρτιού. Στα πλαίσια αυτής της πτυχιακής μελετήσαμε το «μοντέλο τροφίμου» παγωμένου γιαουρτιού το οποίο περιέχει μόνο εκχυλίσματα γκουαρανά τα οποία έχουν ενσωματωθεί στο δίκτυο των καζεϊνών του γιαουρτιού. Η παρούσα μελέτη θα διερευνήσει τις επιδράσεις υδατικών εκχυλισμάτων γκουαρανά 0%, 0,5%, 1%, 2% και 3% αυτών ως προς ποιοτικά χαρακτηριστικά των τελικών δειγμάτων παγωμένου γιαουρτιού που αποθηκεύτηκε στους -20°C για 2 μήνες και πιο συγκεκριμένα το pH, τα ολικά φαινολικά, τη δομή και τη μικροδομή. Στόχος είναι να διερευνήσουμε ένα η χρήση των εκχυλισμάτων γκουαρανά θα μπορέσει να οδηγήσει στη δημιουργία λειτουργικού παγωμένου γιαουρτιού.

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ**

### **2.1. Προετοιμασία Δειγμάτων**

Τα δείγματα ήταν γιαούρτι που παρασκευάστηκαν στα πλαίσια άλλης πτυχιακής διατριβής. Τα εκχυλίσματα γκουαρανά παρασκευαστήκαν από εμπορικό προϊόν βιολογικού γκουαρανά, ενώ το γάλα που χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή των γιαουρτιών ήταν από εμπορική σκόνη αποβουτυρωμένου γάλακτος (Kourouniotou E., 2022). Στη συνέχεια τα δείγματα αποθηκεύτηκαν σε κυλινδρικούς πλαστικούς περιέκτες με 30g δείγματος ο καθένας στους  $-20^{\circ}\text{C}$  για 2 μήνες. Οι συγκεντρώσεις των εκχυλισμάτων γκουαρανά που προστέθηκαν στο γάλα πριν την ζύμωση του γιαουρτιού ήταν οι παρακάτω Πίνακας 2.1.:

**ΠΙΝΑΚΑΣ 2.1.** Δείγματα παγωμένου γιαουρτιού με εκχυλίσματα Γκουαρανά.

| Αριθμός<br>Δείγματος | Παγωμένα Γιαούρτια με<br>Συγκεντρώσεις Γκουαρανά % w/w |
|----------------------|--------------------------------------------------------|
| 1                    | 0                                                      |
| 2                    | 0,5                                                    |
| 3                    | 1                                                      |
| 4                    | 2                                                      |
| 5                    | 3                                                      |

Τα δείγματα μεταφέρθηκαν από την κατάψυξη  $-20^{\circ}\text{C}$  στη συντήρηση του ψυγείου, δηλαδή στους  $4^{\circ}\text{C}$  και οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν μία μέρα μετά την παραμονή τους στη θερμοκρασία αυτή. Όλες οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν τρεις φορές.

## **2.2. Μέτρηση pH**

Μετά την απόψυξη των δειγμάτων και την παραμονή τους στους 4°C για μία μέρα, μετρήθηκε το pH τους. Για τον προσδιορισμό του pH, οι μετρήσεις επαναλήφθηκαν τρεις φορές.

## **2.3 Ανάλυση Δομής**

Η δομή προσδιορίστηκε χρησιμοποιώντας Αναλυτή Δομής (Admet Texture Analyzer eXpert 5601, AdMEt, Inc., USA) και κυλινδρικό έμβολο διάμετρου 20mm. Τα δείγματα συμπίεστηκαν κατά 75% του αρχικού τους ύψους και η ταχύτητα του εμβόλου ήταν 100 mm/min. Τα δείγματα ήταν μέσα σε κυλινδρικούς περιέκτες ίδιων διαστάσεων μεταξύ τους και η συνολική ποσότητα του κάθε δείγματος ήταν 30gr. Τα δείγματα ήταν αποθηκευμένα στους -20°C για 2 μήνες και παρέμειναν στους 4°C για μία μέρα. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν στους 4°C και επαναλήφθηκαν 3 φορές για κάθε πειραματική ομάδα γιαουρτιών.

## **2.4. Προσδιορισμός Ολικών φαινολών**

Για τον προσδιορισμό της συνολικής συγκέντρωσης φαινολών (TCP), προστέθηκαν 0,25 ml δείγματος σε 2 ml απεσταγμένου νερού και 0,25 ml του αντιδραστηρίου Folin-Ciocalteu (Singleton, Orthofer & Lamuela-Raventos, 1999). Στη συνέχεια, προστέθηκαν 0,25 ml κορεσμένου ανθρακικού νατρίου ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) σε κάθε δοκιμαστικό σωλήνα και ανακινήθηκε, προκειμένου να ολοκληρωθεί η αντίδραση. Η απορρόφηση μετρήθηκε στα 765 nm. Το TPC υπολογίστηκε χρησιμοποιώντας το γαλλικό οξύ ως αναφορά και τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως Ολικές φαινόλες mg/L.

## **2.5. Προσδιορισμός Μικροδομής**

Η παρατήρηση της μικροδομής πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας με ανάστροφο οπτικό μικροσκόπιο ZEISS Primovert με φακό μεγέθυνσης 40x. Μια σταγόνα από τα εμπλουτισμένα γιαούρτια με εκχυλίσματα γκουαρανά, μεταφέρθηκε σε

αντικειμενοφόρο πλάκα και αποθηκεύτηκε στους  $-20^{\circ}\text{C}$  για δύο μήνες. Στη συνέχεια αποψύχθηκαν για μία μέρα στους  $4^{\circ}\text{C}$ . Ο προσδιορισμός της μικροδομής έγινε με τριπλή επανάληψη (Qiu et al., 2021).

## **2.6. Στατιστική Ανάλυση**

Για την στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πακέτο IBM SPSS STATISTICS 26. Χρησιμοποιήθηκε η μη παραμετρική διαδικασία της μονόδρομης ανάλυσης της διασποράς Kruskal–Wallis κατά βαθμίδες. Επίπεδο σημαντικότητας 5% και με σημαντικά στατιστικές διαφορές όταν  $p < 0,05$ . Στις στατιστικές αναλύσεις οι μετρήσεις παρουσιάζονται ως μέσος όρος  $\pm$  τυπικό σφάλμα.

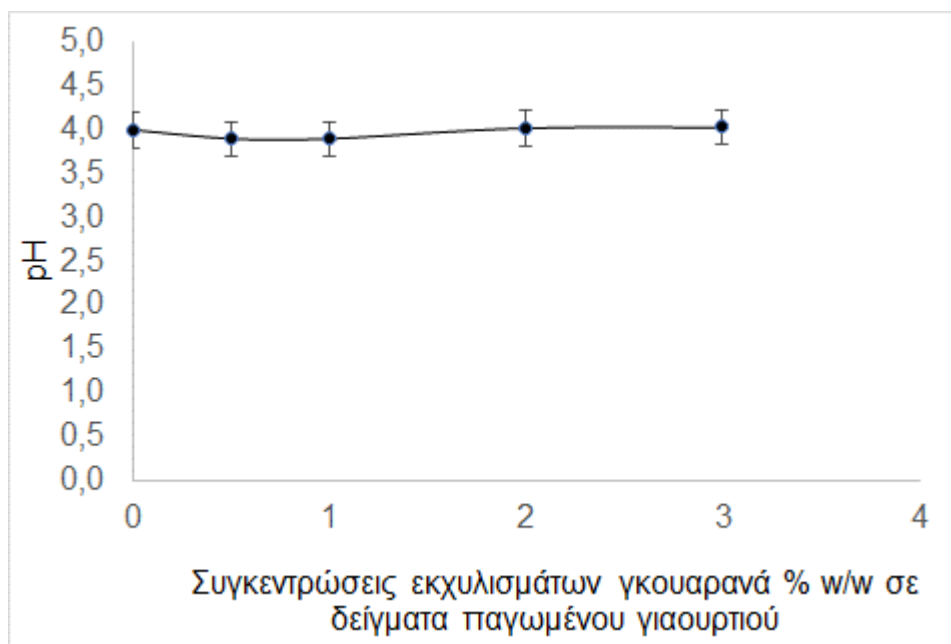
## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ**

### **3.1. Προετοιμασία Δειγμάτων**

Στην παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή παρασκευάστηκαν δείγματα γιαουρτιού με υδατικά εκχυλίσματα γκουαρανά συγκεντρώσεων 0%, 0,5%, 1%, 2% και 3% w/w. Η διαδικασία της ζύμωσης κατά την παρασκευή των γιαουρτιών είχε ολοκληρωθεί όταν η τιμή pH τους ήταν 4,6. Στη συνέχεια τα γιαούρτια με τα εκχυλίσματα τοποθετήθηκαν σε ειδικούς περιέκτες που ο καθένας περιείχε 30 γρ δείγματος. Η τοποθέτηση των δειγμάτων στους -20°C για 2 μήνες οδήγησε στη δημιουργία παγοκρυστάλλων με συνέπεια αλλαγές στις δομές των γιαουρτιών. Μετά την τοποθέτηση των δειγμάτων παγωμένου γιαουρτιού από τους -20°C στους 4°C τα δείγματα εμφάνισαν φαινόμενα απόψυξης αλλά δεν παρουσιάστηκε συναίρεση στην επιφάνεια των γιαουρτιών. Προκειμένου να ερευνηθούν οι αλλαγές που προκύψανε από την προσθήκη εκχυλισμάτων γκουαρανά και την αποθήκευση τους στη χαμηλή θερμοκρασία των -20°C μετρήθηκαν ποιοτικά χαρακτηριστικά. Όλες οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν μετά απόψυξη τοποθετώντας τα δείγματα για μία μέρα στους 4°C.

### **3.2. Η μέτρηση pH**

Παρατηρούμε στο Γράφημα 3.1. πως οι τιμές pH σε όλα τα δείγματα είναι παρόμοιες και δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές. Επομένως σε όλα τα δείγματα η πτώση της τιμής του pH στο 4,0 από το 4,6 (όπου ήταν το αρχικό pH του γιαουρτιού μόλις ολοκληρώθηκε η ζύμωση) οφειλόταν αποκλειστικά στην διαδικασία αποθήκευσης των δειγμάτων στους -20°C για 2 μήνες και στη συνέχεια στους 4°C για μία μέρα και όχι στην παρουσία διαφορετικών συγκεντρώσεων των εκχυλισμάτων γκουαρανά. Προφανώς κατά την αποθήκευση των γιαουρτιών στις χαμηλές θερμοκρασίες αυτής της μελέτης μειώνεται η μεταβολική δραστηριότητα των βακτηρίων του γαλακτικού οξέος με τον ίδιο τρόπο σε όλα τα δείγματα που περιέχουν εκχυλίσματα γκουαρανά αλλά και το control με 0% w/w γκουαρανά (Machado et al., 2022).



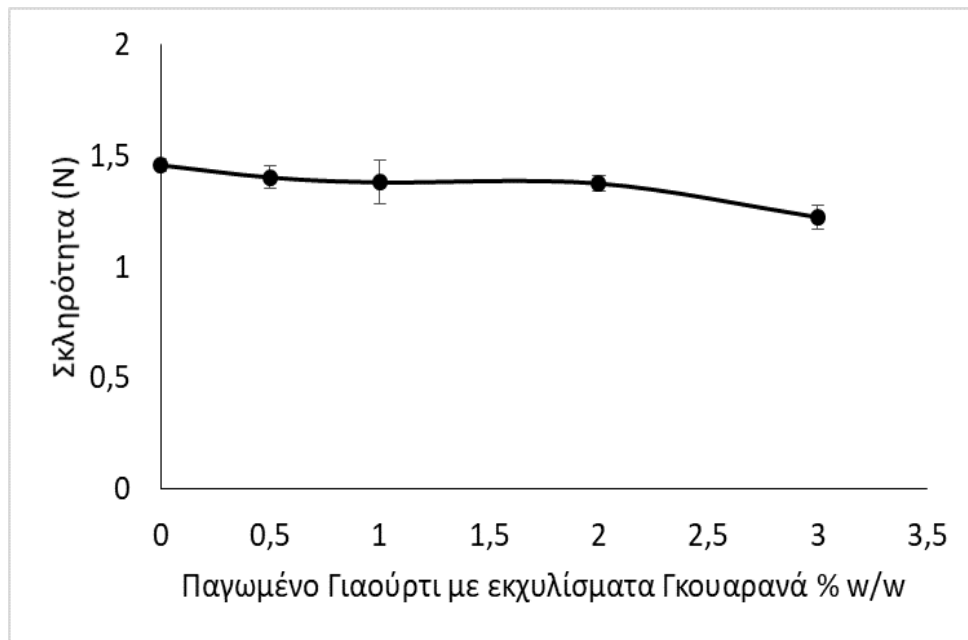
**Γράφημα 3.1.** Μετρήσεις pH στα δείγματα παγωμένου γιαουρτιού με 0% w/w 0,5% w/w, 1% w/w, 2% w/w και 3% w/w συγκεντρώσεις εκχυλισμάτων γκουαρανά που αποψύχθηκαν στους 4°C

### 3.2 Ανάλυση Δομής

Η σκληρότητα των γιαουρτιών αποτελεί ένα σημαντικό ποιοτικό χαρακτηριστικό και αναφέρεται στην αντίσταση τους να επιτύχουν μια δεδομένη παραμόρφωση μέχρι να εφαρμοστεί κάποια εξωτερική δύναμη. Στη συγκεκριμένη πτυχιακή θεωρήθηκε απαραίτητη η μέτρηση της σκληρότητας μετά την απόψυξη του γιαουρτιού για την προσομοίωση των συνθηκών κατά την κατανάλωση παγωμένου γιαουρτιού αλλά και για μελέτη της δομής των δειγμάτων μετά το λιώσιμο των σχηματιζόμενων παγοκρυστάλλων (Katarzyna Skryplonek et al. 2019).

Στο Γράφημα 3.2, παρουσιάζονται οι μετρήσεις σκληρότητας των δειγμάτων του παγωμένου γιαουρτιού με εκχυλίσματα γκουαρανά 0% w/w, 0,5% w/w, 1% w/w, 2% w/w και 3% w/w στους 4°C μετά από δίμηνη αποθήκευση στους -20°C και μια μέρα αποθήκευση στους 4°C. Το δείγμα γιαουρτιού με 3% w/w εκχύλισμα γκουαρανά εμφανίζει την χαμηλότερη σκληρότητα και μάλιστα χαμηλότερη από το control.



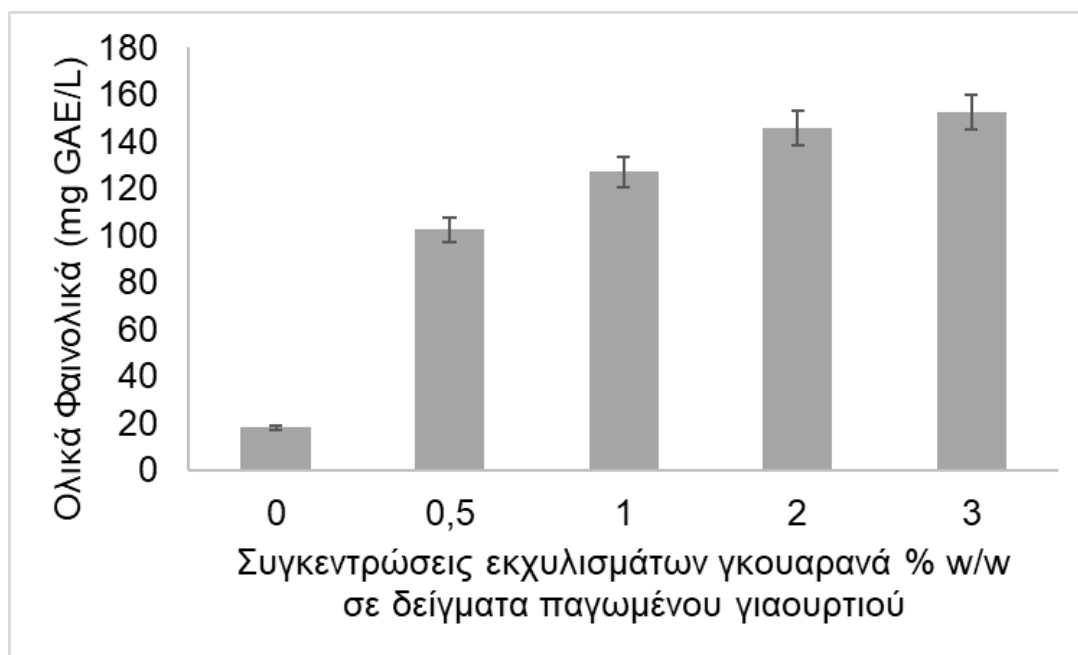


**Γράφημα 3.2.** Μετρήσεις σκληρότητας στα δείγματα παγωμένου γιαουρτιού με 0% w/w, 0,5% w/w, 1% w/w, 2% w/w και 3% w/w εκχυλίσματα γκουαρανά στους 4°C

Έρευνες αναφέρουν ότι η μείωση της περιεκτικότητας σε λίπος (αποβουτυρωμένη σκόνη γάλακτος) είναι πιθανό να δημιουργήσει μια εύθραυστη δομή λόγω του ασθενέστερου πρωτεϊνικού δικτύου στα γιαούρτια (Ramchandran & Shah, 2009). Επίσης, κατά την αποθήκευση στους -20°C η δημιουργία παγοκρυστάλλων οδήγησε σε εξασθένηση του δικτύου των καζεϊνών και έτσι μετά την απόψυξη στους 4°C οι δομές όλων των δειγμάτων είναι ασθενέστερες από αυτές που απλά είχαν ως γιαούρτια και αποθηκευτεί μόνο στους 4°C (Kourouniotou E., 2022). Δηλαδή, όσο αυξάνεται η συγκέντρωση γκουαρανά, δεν αυξάνεται και η δύναμη παραμόρφωσης της δομής των γιαουρτιών. Επίσης, η πτώση στη σκληρότητα μπορεί να οφείλεται στην αλληλεπίδραση μεταξύ φαινολικών ενώσεων των εκχυλίσματων και της καζεΐνης των πρωτεϊνών, που προκαλούν ελάττωση των τιμών της σκληρότητας του γιαουρτιού και μάλιστα η αλληλεπίδραση αυτή μπορεί να ενισχύεται κατά την αποθήκευση των δειγμάτων στη θερμοκρασία κατάψυξης.

### **3.4. Προσδιορισμός Ολικών Φαινολικών**

Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό των ολικών φαινολικών είναι μια φωτομετρική τεχνική που εφαρμόζεται για τον προσδιορισμό του ολικού φαινολικού περιεχομένου TPC και βασίζεται στην αναγωγική δράση παρουσία πολυφαινολικών ομάδων.



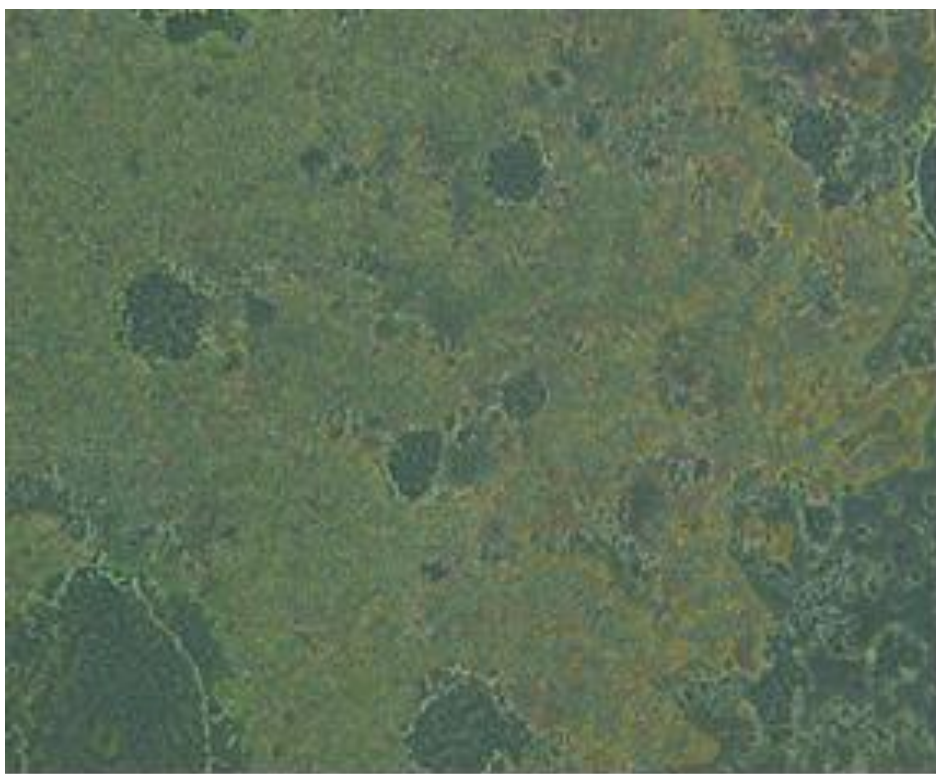
**Γράφημα 3.3.** Μέτρηση Ολικών Φαινολικών Ενώσεων στα δείγματα παγωμένου γιαουρτιού που περιέχουν εκχυλίσματα γκουαρανά συγκεντρώσεων 0%, 0,5%, 1%, 2%, 3% w/w

Η προσθήκη εκχυλίσματος γκουαρανά στο γάλα οδήγησε την αύξηση των Ολικών Φαινολικών Ενώσεων στο τέλος της ζύμωσης και αυτό φαίνεται στο παραπάνω γράφημα για όλα τα δείγματα που περιέχουν εκχυλίσματα γκουαρανά. Η ζύμωση αλλά και η αποθήκευση των δειγμάτων στους  $-20^{\circ}\text{C}$  επηρέασαν τα βιοενεργά συστατικά των εκχυλίσματος γκουαρανά. Δεδομένου ότι στο απλό γιαούρτι δεν υπάρχουν φυτικά εκχυλίσματα, από το γράφημα φαίνεται ότι μετρήθηκαν τα ολικά φαινολικά και στο control γιαούρτι. Οι τιμές αυτές για το control, αντικατοπτρίζουν τις φαινολικές ενώσεις που σχετίζονται με τη διάσπαση πρωτεΐνης γάλακτος (Damin et al. 2009). Για παράδειγμα το αμινοξύ τυροσίνη, έχει μια φαινολική πλευρική αλυσίδα που σύμφωνα με (Shah 2000) μπορεί να μετρηθεί με τη μέθοδο αυτή. Επίσης, παρατηρούμε ότι καθώς αυξάνεται η συγκέντρωση των εκχυλίσματος γκουαρανά %

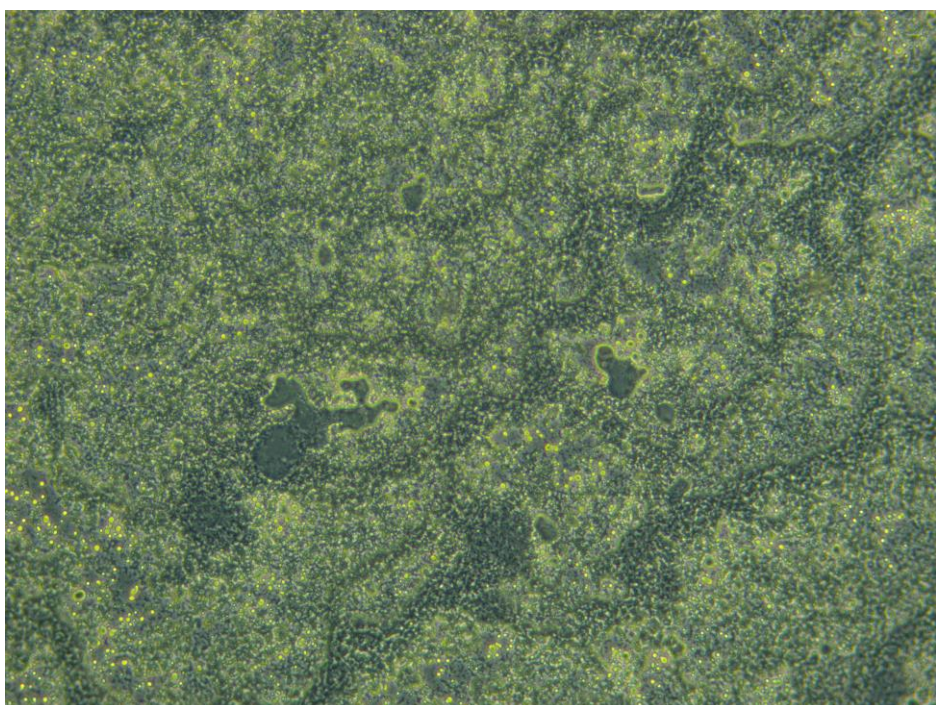
w/w αυξάνεται και η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών ενώσεων. Σίγουρα όμως η διαδικασία ζύμωσης, η ανάπτυξη παγοκρυστάλλων μέσα στο δίκτυο των καζείνων του παγωμένου γιαουρτιού αλλά και η αλληλεπίδραση μεταξύ φαινολικών ενώσεων των εκχυλισμάτων και των καζείνων επηρέασε τις ολικές φαινολικές ενώσεις των δειγμάτων σε σχέση με τη ολική συγκέντρωση των Φαινολικών ενώσεων που προϋπήρχαν στην αρχική σκόνη Γκουαρανά που χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή των δειγμάτων. Αυτό είναι σε συμφωνία και με τη μείωση των ολικών φαινολών που είχε παρατηρηθεί και κατά την προσθήκη πράσινου τσαγιού σε γιαούρτι (Najgebauer-Lejko *et al.*, 2014). Όλες αυτές όμως οι επιδράσεις δεν εμποδίζουν των εμπλουτισμό των παγωμένων γιαουρτιών με βιοδραστικές ουσίες και επομένως η προσθήκη εκχυλισμάτων γκουαρανά στα δείγματα παγωμένου γιαουρτιού μπορεί να οδηγήσει στη δημιουργία εμπλουτισμένων λειτουργικών προϊόντων.

### **3.5. Προσδιορισμός Μικροδομής**

Στις παρακάτω φωτογραφίες καταγράφηκαν οι αλλαγές στη μικροδομή των γιαουρτιών εμπλουτισμένα με συγκεντρώσεις 0% (control), 0.5%, 1%, 2% και 3% w/w εκχυλισμάτων γκουαρανά. Μετά από αποθήκευση για 2 μήνες στους 20°C και 1 μέρα στους 4°C. Σκοπός της απεικόνισης της μικροδομής είναι η επεξήγηση των αλλαγών που παρατηρήθηκαν στις ιδιότητες των δειγμάτων στα οποία ενσωματώθηκαν τα υδατικά εκχυλίσματα γκουαρανά.

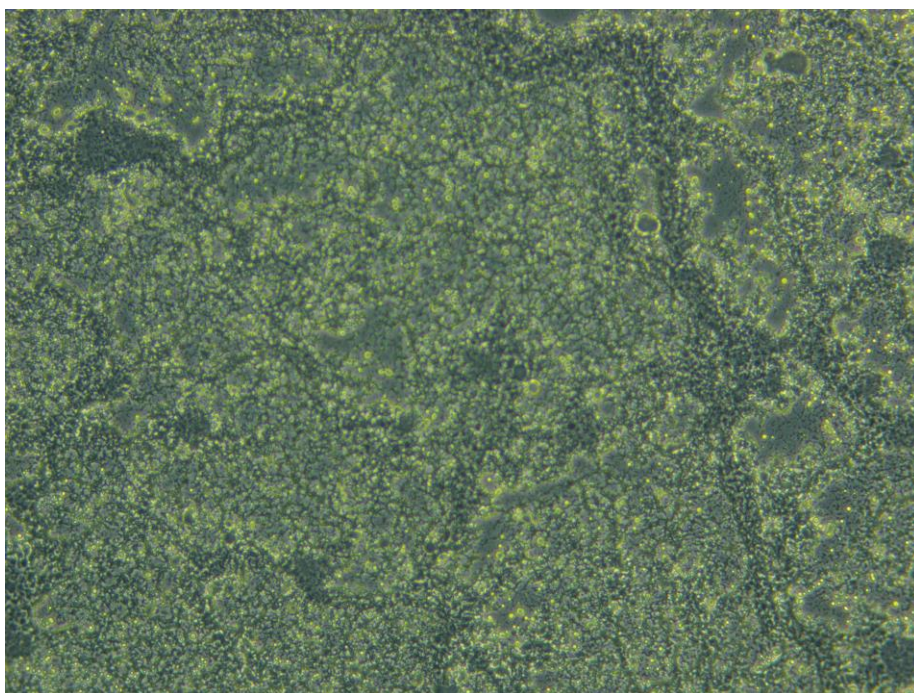


**Εικόνα 3.1.** Μικροδομή δείγματος παγωμένου γιαουρτιού με 0% w/w εκχυλίσματος Γκουαρανά

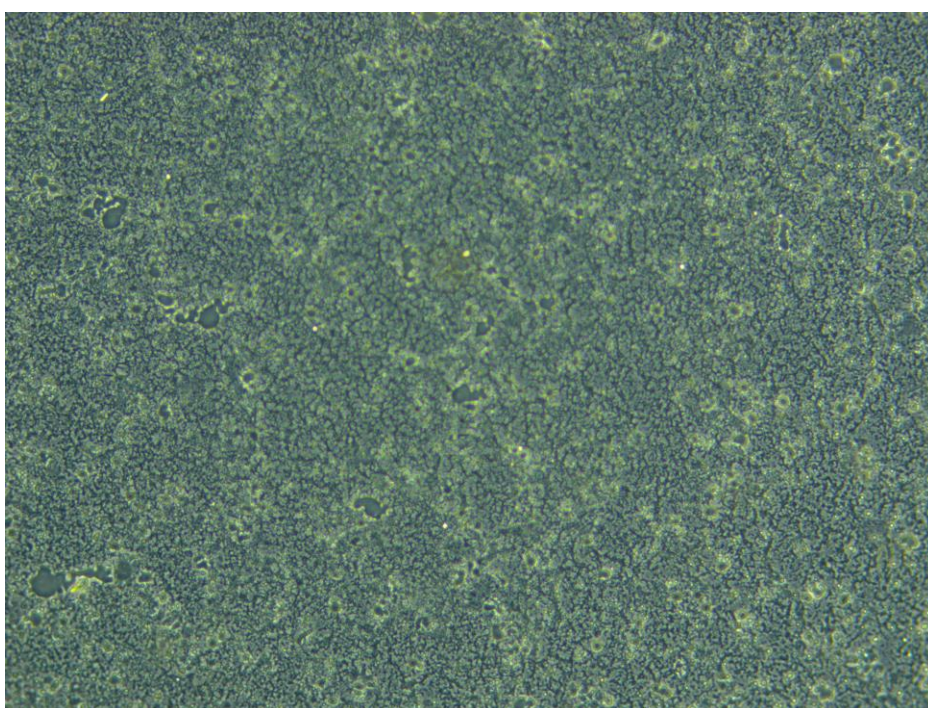


**Εικόνα 3.2.** Μικροδομή δείγματος παγωμένου γιαουρτιού με 0,5 % w/w εκχυλίσματος Γκουαρανά



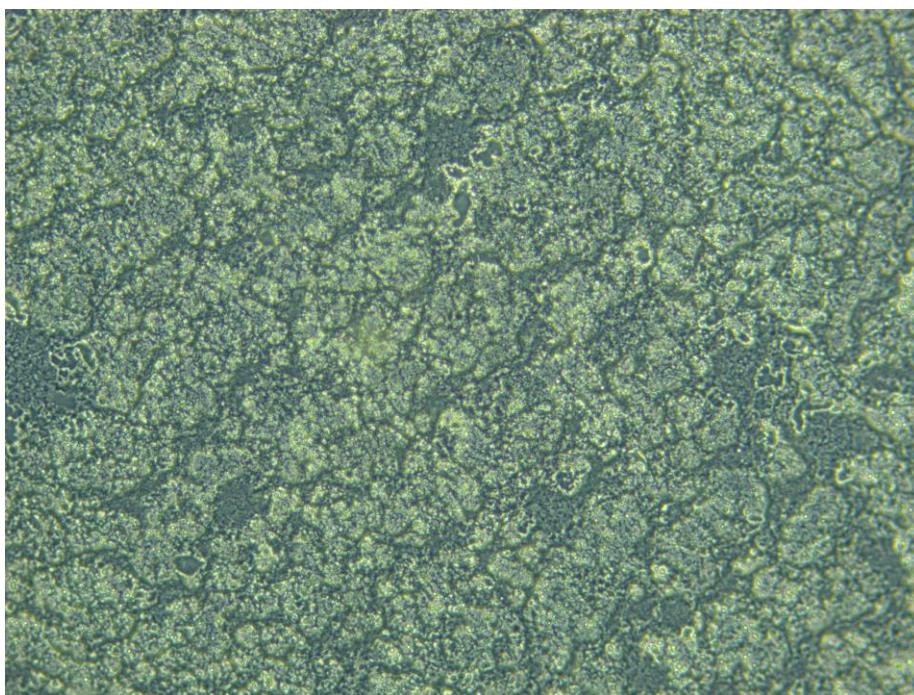


**Εικόνα 3.3.** Μικροδομή δείγματος παγωμένου γιαουρτιού με 1 % w/w εκχυλίσματος Γκουαρανά



**Εικόνα 3.4.** Μικροδομή δείγματος παγωμένου γιαουρτιού με 2 % w/w εκχυλίσματος Γκουαρανά





**Εικόνα 3.5.** Μικροδομή δείγματος παγωμένου γιαουρτιού με 3 % w/w εκχυλίσματος Γκουαρανά

Οι απεικονίσεις των μικροδομών των δειγμάτων έδειξαν διαφορές στις δομές της πηκτής του παγωμένου γιαουρτιού με διαφορετικές συγκεντρώσεις εκχυλισμάτων γκουαρανά τόσο ως προς τη συμπαγή μορφή του δικτύου καζεΐνης και όσο το μέγεθος των σχηματιζόμενων πόρων. Συγκεκριμένα, το δείγμα με 0% w/w συγκέντρωση γκουαρανά εμφάνισε ένα διακλαδισμένο πρωτεϊνικό δίκτυο με κενές περιοχές ακανόνιστου σχήματος, το οποίο οδήγησε σε αναδιάταξη και συστολή της πηκτής των καζεϊνών κατά την αποθήκευση στους  $-20^{\circ}\text{C}$  και μετέπειτα απόψυξη στους  $4^{\circ}\text{C}$ .

Με την προσθήκη 0.5% w/w εκχυλίσματος γκουαρανά, εξαφανίζεται ένα διακλαδισμένο δίκτυο και δημιουργούνται κάποιες γραμμικές δομές τις οποίες παρατηρούμε και στο δείγμα παγωμένου γιαουρτιού με 1% w/w εκχυλίσματος γκουαρανά. Όταν η συγκέντρωση των εκχυλισμάτων γκουαρανά γίνει 2% w/w παρατηρείται ο σχηματισμός μικρών κυκλικών δομών (οπές) οι οποίες μεγαλώνουν και έχουν τη μορφή από ακανόνιστα κενά στη συγκέντρωση γκουαρανά 3% w/w.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα μεταπτυχιακή ερευνητική εργασία μελετήθηκαν τα δείγματα παγωμένου γιαουρτιού με υδατικά εκχυλίσματα γκουαρανά και με βάση τα παραπάνω αποτελέσματα το δείγμα που παρουσίασε τη χαμηλότερη σκληρότητα ήταν στη συγκέντρωση 3% w/w γκουαρανά ενώ παράλληλα καταγράφηκε και η μη συνοχή του δικτύου των καζεϊνών στις μετρήσεις της μικροδομής για το ίδιο δείγμα. Τα υπόλοιπα δείγματα 0%, 0,5%, 1% και 2% w/w δεν παρουσίασαν σημαντικές διαφορές ως προς τη σκληρότητα τους.

Επίσης, παρατηρήθηκε αύξηση των συγκεντρώσεων των ολικών φαινολικών ενώσεων στα δείγματα παγωμένου γιαουρτιού σύμφωνα με την αύξηση της συγκέντρωσης των εκχυλισμάτων. Επομένως, η προσθήκη εκχυλισμάτων γκουαρανά στα δείγματα παγωμένου γιαουρτιού μπορεί να οδηγήσει στη δημιουργία εμπλουτισμένων λειτουργικών προϊόντων.

Τέλος, το «μοντέλο τροφίμου» παγωμένο γιαούρτι με εκχυλίσματα γκουαρανά θα μπορούσε να αποτελέσει βάση για παγωμένα επιδόρπια ή και για τη δημιουργία παγωτό γιαουρτιού. Η προσθήκη κάποιων τεχνολογιών προετοιμασίας πριν τη κατάψυξη ή η προσθήκη προσθέτων αλλά και λίπους θα ελάττωνε τη δημιουργία παγοκρυστάλλων, ίσως να διατηρούσε τα επίπεδα των ολικών φαινολικών σε υψηλότερα επίπεδα ενώ ταυτόχρονα θα βελτίωνε τη συνεκτικότητα και τη δομή των δειγμάτων παγωμένου γιαουρτιού με τα εκχυλίσματα γκουαρανά.

## **ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

Chollet et al., 2013. M. Chollet, D. Gille, A. Schmid, B. Walther, P. Piccinali, Acceptance of sugar reduction in flavored yogurt

Damin et al., 2008. M.R. Damin, E. Minowa, M.R. Alcântara, M.N. Oliveira. Effect of cold storage on culture viability and some rheological properties of fermented milk prepared with yogurt and probiotic bacteria.

Davis, J. G. 1973. Yoghurt manufacture. Food Manuf. 48:23, 25, 27, 28, 30, 73.

Hamdan, I. Y., J. E. Kunsman Jr., and D. D. Deane. 1971. Acet-aldehyde production by combined yogurt cultures. J. Dairy Sci. 54:1080–1082.

Heineman, P. G. 1921. Milk. W. B. Saunders Company, Philadelphia, PA.

Horton et al., 1972, B.S. Horton, R.L. Goldsmith, R.R. Zall. Membrane processing of cheese whey reaches commercial scale

Jespersen, N. J. T. 1977. The use of commercially available concentrated starters. Paper (b). J. Soc. Dairy Technol. 30:47–51.

Jankov, J., and I. V. Stoyanov. 1966. Study on the thermophilic lactobacilli in milk for yoghurt production. Pages 677–680 in Proc. XVII Int. Dairy Congr., Section F5. Munich, Germany. Verlag Th. Mann GmbH, Hildesheim, Germany.

Katarzyna Skryplonek, Marta Henriques, David Gomes, Jorge Viegas, Catarina Fonseca, Carlos Pereira, Izabela Dmytrów, Anna Mituniewicz-Malek (2019). Characteristics of lactose-free frozen yogurt with κ-carrageenan and corn starch as stabilizers, Journal of Dairy Science, Volume 102, Issue 9, Pages 7838-7848, ISSN 0022-0302,

Kourouniotou E., 2022. Study of milk fermentation for the production of yogurt under the effect of guarana extracts. Master Thesis, University of Thessaly, Larissa.

Kosikowski, F. V., and V. V. Mistry. 1997. Cheese and Fermented Milk Foods, Vol. I., Origins and Principles. Vol. 2, Procedures and Analysis. 3rd ed.

Kulp, W. L., and L. F. Rettger. 1924. Comparative study of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*. J. Bacteriol. 9:357–395.

Lindsay, R. C., E. A. Day, and W. E. Sandine. 1965a. Green flavor defect in lactic starter cultures. J. Dairy Sci. 48:863–869.



Lindsay, R. C., E. A. Day, and W. E. Sandine. 1965b. Identification of volatile flavor components of butter culture. *J. Dairy Sci.* 48:1566–1574.

Lick, S., and M. Teuber. 1992. Construction of a species-specific DNA oligonucleotide probe for *Streptococcus thermophilus* on the basis of a chromosomal *lacZ* gene. *Syst. Appl. Microbiol.* 15:456–459.

The John L. Murphy Pub. Co. Printers, Trenton, N. J. Lick, S., M. Keller, W. Bockelmann, and K. J. Heller. 1996. Rapid identification of *Streptococcus thermophilus* by primer-specific PCR amplification based on its *lacZ* gene. *Syst. Appl. Microbiol.* 19:74–77.

Machado, Manuela, et al. "Novel avocado oil-functionalized yogurt with anti-obesity potential: Technological and nutraceutical perspectives." *Food Bioscience* 50 (2022): 101983.

Modler et al.

1983, H.W. Modler, M.E. Larmond, C.S. Lin, D. Froehlich, D.B. Emmons. Physical and sensory properties of yogurt stabilized with milk proteins.

Najgebauer-Lejko, Dorota & Żmudziński, Daniel & Ptaszek, Anna & Socha, Robert. (2014). Textural properties of yogurts with green tea and Pu-erh tea additive. *International Journal of Food Science and Technology*. 49. 1149-1158. 10.1111/ijfs.12411.

Nordsiek, F. W., inventor. 1938. Process of manufacturing culture. The Sanoderm Company Inc., assignee. US Pat. No. 2,121,442.

Orla-Jensen, S. 1919. *The Lactic Acid Bacteria*. Mémoires de L'Académie Royale des Sciences et des Lettres de Danemark, Co-penhagen, Denmark.

Ramchandran and Shah, 2009, Effect of exopolysaccharides on the proteolytic and angiotensin-I converting enzyme-inhibitory activities and textural and rheological properties of low-fat yogurt during refrigerated storage

Pette, J. W., and H. Lolkema. 1951. Yogurt. 5. Firmness and whey separation of milk yoghurt. *Nederlandsch Melk- en Zuiveltijd-schrift* 5:27–45.

Qiu et al., 2021. J. Qiu, R. Li, D. Han, Q. Shao, Y. Han, X. Luo, Y. Wu, A multiplicity of environmental, economic and social factor analyses to understand COVID-19 diffusion

Rosell, 1933, J.M. Rosell. Yoghourt milk

Radke-Mitchell, L. C., and W. E. Sandine. 1986. Influence of temperature on associative growth of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*. *J. Dairy Sci.* 69:2558–2568.

Farrow, J. A. E., and M. D. Collins. 1984. DNA base composition, DNA-DNA homology and long-chain fatty acid studies on *Streptococcus thermophilus* and *Streptococcus salivarius*. *J. Gen. Microbiol.* 130:357–362.

Singleton, V.L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventos, R.M. (1999). Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent

Shah, N. P., W. E. V. Lankaputhra, M. L. Britz, and W. S. A. Kyle. 1995. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in commercial yoghurt during refrigerated storage. *Int. Dairy J.* 5:515–521.

Tharmaraj, N., and N. P. Shah. 2003. Selective enumeration of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacteria*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, and *Propionibacteria*. *J. Dairy Sci.* 86:2288–2296.

Brennan, J., & Shah, T. (2000). *Managing Quality in Higher Education*. Buckingham: Society for Research into Higher Education/Open University Press.

Todoric, R., and K. Savadinovic. 1973. Use of dried whey in yoghurt manufacture and its effect on acidity and consistency. *Mljekarstvo* 23:78–86.

Winkler, G. inventor. 1929. Process for the preparation of a mild aromatic yoghurt curdled milk or a sweet yoghurt junket. Alfred Zierer, assignee. US Pat. No. 1,710,133.

Wigley, R. C. 1977. The use of commercially available concentrated starters. Paper (a). *J. Soc. Dairy Technol.* 30:45–47.

<https://www.healthyliving.gr/2015/10/28/gkouarana-5>

<https://www.mednutrition.gr/portal/efarmoges/leksiko-diatrofis/16510-gouarana>