



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ ΑΓΡΟΤΙΚΟΥ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ
ΠΜΣ: ΔΕΙΦΟΡΟΣ ΑΓΡΟΤΙΚΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΚΑΙ ΔΙΑΧΕΙΡΗΣΗ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

**Μελέτη της επίδρασης εκχυλισμάτων μανιταριών στα ποιοτικά χαρακτηριστικά
του γιαουρτιού**

ΑΡΑΜΠΙΑΤΖΗΣ ΕΥΑΓΓΕΛΟΣ

ΒΟΛΟΣ, 2019

**Μελέτη της επίδρασης εκχυλισμάτων μανιταριών στα ποιοτικά χαρακτηριστικά του
γιαουρτιού**

Αραμπατζής Ευάγγελος

Τριμελής συμβουλευτική επιτροπή:

Π. Γιαννούλη, Επικ. Καθηγήτρια

Ν. Τσιρόπουλος, Καθηγητής

Ι. Γούναρης, Καθηγητής

Copyright © Ευάγγελος Αραμπατζής, 2019.

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All rights reserved.

Απαγορεύεται η αντιγραφή, αποθήκευση και διανομή της παρούσας διατριβής, εξ ολοκλήρου ή τμήματος αυτής για εμπορικό σκοπό. Επιτρέπεται η ανατύπωση, αποθήκευση και διανομή για σκοπό μη κερδοσκοπικό, εκπαιδευτικής ή ερευνητικής φύσης, υπό την προϋπόθεση να αναφέρεται η πηγή προέλευσης.

Η έγκριση της μεταπτυχιακής διατριβής ειδίκευσης από το τμήμα γεωπονίας φυτικής παραγωγής και αγροτικού περιβάλλοντος του πανεπιστημίου Θεσσαλίας δεν δηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ανάμεσα στα ζυμούμενα προϊόντα γάλακτος, το γιαούρτι αποτελεί ένα από τα ευρέως καταναλισκόμενα λόγω των ευεργετικών του ιδιοτήτων. Η παρούσα μελέτη έχει ως στόχο την παραγωγή γιαουρτιού μέσω της αξιοποίησης εκχυλισμάτων μανιταριών διαφορετικού είδους και διαφορετικής συγκέντρωσης που παραλήφθηκαν με υδατική εκχύλιση και προστέθηκαν στο γάλα πριν την πήξη. Η μελέτη αφορά στην επίδραση αυτών των εκχυλισμάτων στην οξύτητα, το χρώμα την δομή και την περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά. Από τα αποτελέσματα των μετρήσεων φάνηκε πως κάποια γιαούρτια με εκχυλίσματα μανιταριών παρουσίασαν σημαντικές διαφορές στα παραπάνω ποιοτικά χαρακτηριστικά οπότε συμπεραίνουμε ότι είναι δυνατή και ωφέλιμη η ανάπτυξη ενός γιαουρτιού με εκχυλίσματα μανιταριών με ενισχυμένα διατροφικά οφέλη έναντι του συμβατικού γιαουρτιού.

SUMMARY

Among the fermented milk products, yogurt is one of the widely consumed because of its beneficial status. The present study aims to produce yoghurt by utilizing extracts of mushrooms of different species and different concentration obtained by aqueous extraction and added to the milk before coagulation. The study concerns the effect of these extracts on acidity, color structure and content of phenolic components. From the results of the measurements it appeared that some yoghurt with mushroom extracts showed significant differences in the above qualitative characteristics so we conclude that it is possible and beneficial to develop a yoghurt with mushroom extracts with enhanced nutritional benefits over conventional yoghurt.

Εγώ ο Ευάγγελος Αραμπατζής, είμαι ο συγγραφέας αυτής της Μ.Δ.Ε. Αυτή η Μ.Δ.Ε αντικατοπτρίζει την έρευνα που έγινε από εμένα και δεν έχει υποβληθεί (εξ ολοκλήρου ή μέρος της) σαν προπτυχιακή διατριβή ή Μ.Δ.Ε ή ως μέρος Διδακτορικής Διατριβής σε αυτό ή άλλο προπτυχιακό ή μεταπτυχιακό Πρόγραμμα σπουδών τριτοβάθμιας εκπαίδευσης του εσωτερικού ή εξωτερικού. Όποια συνεργασία καθώς και το μέγεθος αυτής δηλώνονται επ' ακριβώς στο αντίστοιχο πεδίο αυτής της διατριβής. Επίσης έχω διαβάσει όλες τις βιβλιογραφικές αναφορές που παρατίθενται στο τέλος.

Υπογραφή

Ως επιβλέπων της έρευνας που περιγράφεται σε αυτή τη διατριβή, δηλώνω ότι όλοι οι όροι του εσωτερικού κανονισμού του μεταπτυχιακού προγράμματος σπουδών του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος έχουν τηρηθεί από τον Ευάγγελο Αραμπατζή.

Υπογραφή

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Μέσα απ' την εργασία αυτή θα ήθελα να ευχαριστήσω κάποιους ανθρώπους που μου πρόσφεραν αμέριστα τη βοήθειά τους, την υποστήριξή τους και τη συμπαράστασή τους κατά τη διάρκεια εκπόνησης της Διπλωματικής μου Διατριβής.

Πρώτα θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια μου καθώς και την επιβλέπουσα καθηγήτρια μου, κ. Γιαννούλη Περσεφόνη για την επίβλεψη της καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της διπλωματικής μου εργασίας και την άψογη συνεργασία την οποία είχαμε. Επίσης τις θερμές μου ευχαριστίες και στα υπόλοιπα μέλη της εξεταστικής επιτροπής.

Στον αγαπητό φίλο και συνάδελφο χημικό, κ. Γιώργο Βλάσση- Δημάκο και τέλος στην σύντροφό μου, Μαρία για την ηθική και ψυχολογική στήριξη και κατανόηση.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ	12
1.1 Τύποι Γιαουρτιού	12
1.1.1 Παραδοσιακό Γιαούρτι.....	13
1.1.2 Στραγγισμένο Γιαούρτι.....	15
1.1.3 Βιομηχανικό Γιαούρτι.....	15
1.1.4 Γιαούρτι με ‘προβιοτικά’ βακτήρια.....	18
1.1.5 Επιδόρπιο γιαουρτιού.....	20
1.2 Τα βασικότερα χαρακτηριστικά του γιαουρτιού.....	20
1.3 Τα ελαττώματα της γιαούρτης.....	21
1.4 Αγορανομικές Απαιτήσεις.....	21
1.4.1 Μικροβιολογικοί δείκτες ποιότητας του γιαουρτιού.....	21
1.4.2 Διάρκεια συντήρησης.....	22
1.5 Κρίσιμα στάδια της παραγωγικής διαδικασίας.....	22
1.5.1 Ομογενοποίηση.....	22
1.5.2 Θερμική επεξεργασία.....	23
1.5.3 Εμβολιασμός-Επώαση.....	25
1.5.4 Ψύξη.....	26
1.6 Φυσικοχημικές ιδιότητες.....	27
1.6.1 Συναίρεση- Ικανότητα Συγκράτησης νερού.....	27
1.6.2 Ιξώδες.....	28
1.6.3 Υφή.....	28

1.7Γαλακτικά Βακτήρια.....	29
1.7.1Streptococcus salivarius subsp thermophilus.....	29
1.7.2Lactobacillus deibrueckii subsp bulgaricus.....	30
1.7.3Συμβίωση.....	31
1.7.4Παράγοντες που επηρεάζουν την συμβίωση.....	32
1.8Σημαντικές μεταβολικές διεργασίες.....	33
1.8.1Μεταβολισμός υδατανθράκων.....	33
1.8.2Πρωτεόλυση και λιπόλυση.....	34
1.8.3Παραγωγή αρώματος.....	34
1.8.4Παραγωγή εξωπολυσακχαριτών.....	36
1.8.5Παραγωγή βιταμινών.....	37
1.9Καινοτομίες στην παραγωγή γιαουρτιού.....	37
1.10Σκοπός πειράματος.....	40
2.ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	41
2.1Υλικά-Αντιδραστήρια.....	41
2.2Όργανα- Συσκευές.....	41
2.3Δειγματοληψία και αναλύσεις.....	42
2.4Παρασκευή γιαουρτιού.....	44
2.5Μέτρηση οξύτητας.....	45
2.6Αποτίμηση ολικών φαινολικών.....	46
2.7Μέτρηση δομής.....	47
2.8Προσδιορισμός συναίρεσης.....	47

2.9Μέτρηση χρώματος.....	47
3.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	48
3.1Οξύτητα.....	48
3.2Συναίρεση.....	49
3.3Ολικά φαινολικά.....	50
3.4Χρώμα.....	53
3.5Μέτρηση δομής.....	57
4.ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	59
5.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	67

1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Σύμφωνα με τον Κώδικα Τροφίμων και Ποτών, 2003, ως Γιαούρτι χαρακτηρίζεται "το προϊόν το οποίο προκύπτει μετά από πήξη αποκλειστικά και μόνο νωπού γάλακτος της αντίστοιχης προς την ονομασία φύσης και προέλευσης, με την επίδραση καλλιέργειας ζύμης που προκαλεί ειδική για αυτό ζύμωση. Το γιαούρτι πρέπει να περιέχει λίπος και στερεό υπόλειμμα άνευ λίπους (ΣΥΑΛ) σε ποσοστό ανώτερο κατά 10% τουλάχιστον από τα όρια που καθορίζονται στο άρθρο 80 (παράγραφος 3) των αντίστοιχων ειδών γάλακτος, από τα οποία παρασκευάστηκε αυτό".

Το γιαούρτι είναι αποτέλεσμα της γαλακτικής ζύμωσης της λακτόζης του γάλακτος από τα θερμοφιλά γαλακτικά βακτήρια *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* και του *Streptococcus thermophilus* που δρουν συνεργιστικά. Από τη ζύμωση της λακτόζης παράγεται γαλακτικό οξύ, το οποίο μειώνει το pH. Όταν το pH φτάσει το ισοηλεκτρικό σημείο των καζεϊνών (pH 4,6), προκαλείται όξινη πήξη και δημιουργείται το πήγμα του γιαουρτιού. Τα δύο αυτά οξυγαλακτικά βακτήρια αναπτύσσονται και παράγουν γρήγορα οξύτητα στο γάλα όταν χρησιμοποιούνται και τα δύο μαζί, καθώς το ένα ενισχύει την ανάπτυξη του άλλου. Αρχικά ο στρεπτόκοκκος προκαλεί πτώση του pH μέχρι το 5,0 και στη συνέχεια ο βάκιλος ευθύνεται για την περαιτέρω πτώση του pH μέχρι το 4,2.

1.1 Τύποι γιαουρτιού

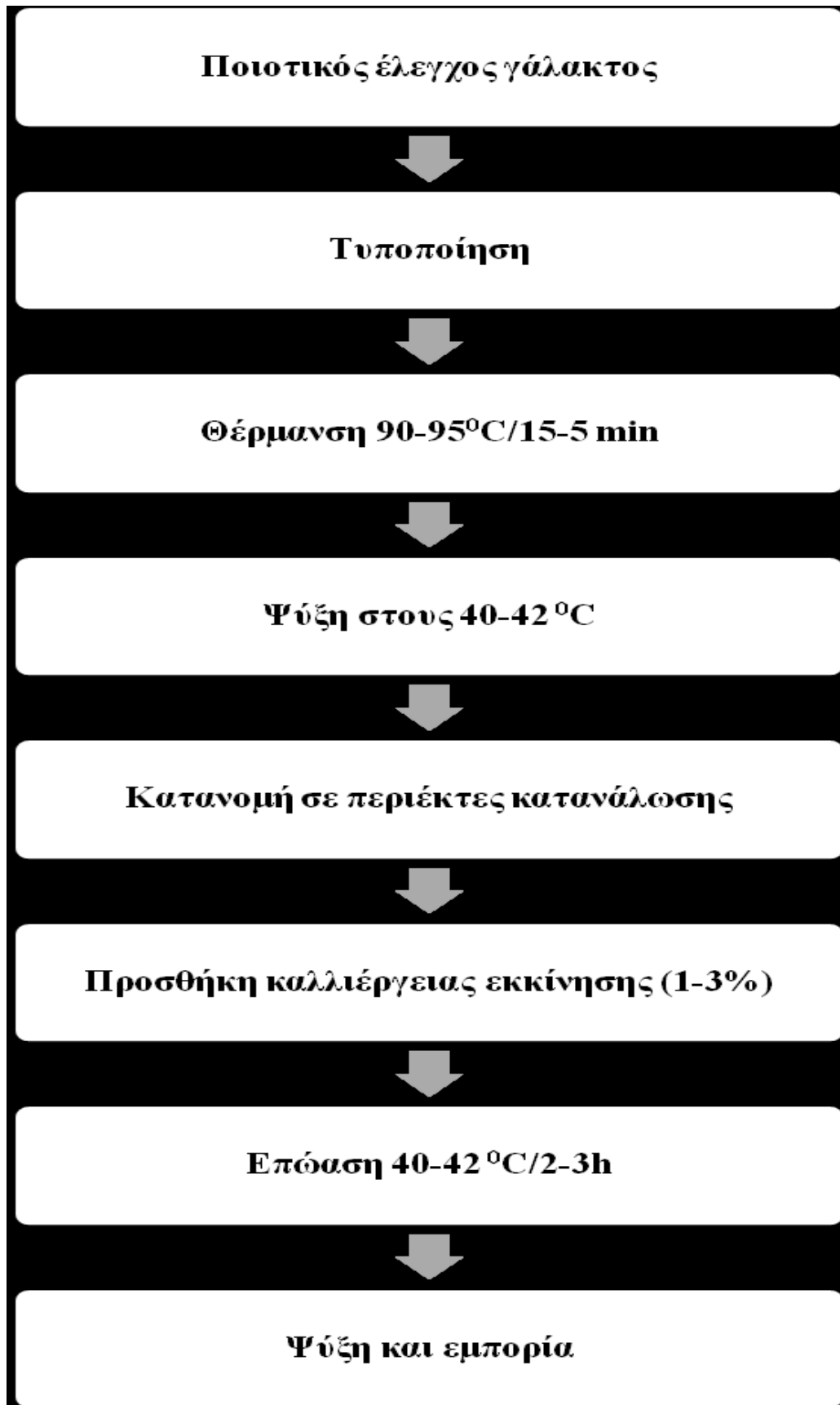
Η πρόοδος που σημειώθηκε κατά την τελευταία κυρίως δεκαετία στην τεχνολογία παραγωγής γιαούρτης, είχε σαν αποτέλεσμα τη διαφοροποίηση πολλών τύπων γιαουρτιού, μερικοί από τους οποίους δεν ανταποκρίνονται προς τον διεθνώς παραδεκτό ορισμό περί γιαούρτης και χαρακτηρίζονται ως επιδόρπια γιαουρτιού.

Οι κυριότεροι τύποι γιαουρτιού που παράγονται σήμερα περιγράφονται παρακάτω.

1.1.1 Παραδοσιακό γιαούρτι

Το παραδοσιακό γιαούρτι με επιδερμίδα (πέτσα) παρασκευάζεται από βρασμένο γάλα, χωρίς προηγούμενη τυποποίηση και ομογενοποίηση. Μετά το βρασμό το γάλα διαμοιράζεται σε κυτία, όπου παραμένει χωρίς ανάδευση προκειμένου να δημιουργηθεί στην επιφάνεια του η χαρακτηριστική στοιβάδα λιποσφαιρίων (επιδερμίδα). Όταν η θερμοκρασία φθάσει τους 45⁰ C , αναστηκόνεται η επιδερμίδα ελαφρά και γίνεται εμβολιασμός με ορισμένη ποσότητα γιαουρτιού που παρασκευάστηκε την προηγούμενη ημέρα ("μαγιά") και αποτελεί την καλλιέργεια εκκίνησης. Ακολουθεί η επώαση και η ψύξη (Καμιναρίδης και Μοάτσου, 2009). Σημαντικό μειονέκτημα που οδηγεί σε ασταθή χαρακτηριστικά είναι η χρησιμοποίηση της μαγιάς ως καλλιέργειας εκκίνησης. Από άποψη υγιεινής το παραδοσιακό γιαούρτι είναι ασφαλές εφόσον αυτό θερμαίνεται επαρκώς, και εξυγιαίνεται από τους επικινδύνους για τη Δημόσια Υγεία μικροοργανισμούς. Ωστόσο, σε γενικές γραμμές οι συνθήκες παραγωγής δεν είναι οι ιδανικές, καθώς υπάρχει μεγάλος κίνδυνος επιμόλυνσης από διάφορους παράγοντες, όπως τα σκεύη, το προσωπικό και το περιβάλλον.

Η Γαλακτοβιομηχανία, διατηρώντας τη βασική γραμμή παραγωγής αλλά εκσυγχρονίζοντας ορισμένα στάδια έχει καταφέρει να βελτιώσει τις συνθήκες υγιεινής και εμφάνισης του παραδοσιακού γιαουρτιού. Το διάγραμμα 1 παρουσιάζει το διάγραμμα ροής της παραγωγής παραδοσιακού γιαουρτιού. (Καμιναρίδης και Μοάτσου, 2009).



Διάγραμμα 1. Διάγραμμα ροής της παραγωγής παραδοσιακού γιαουρτιού σε βιομηχανική κλίμακα (Καμναρίδης και Μοάτσου, 2009).

1.1.2 Στραγγισμένο γιαούρτι

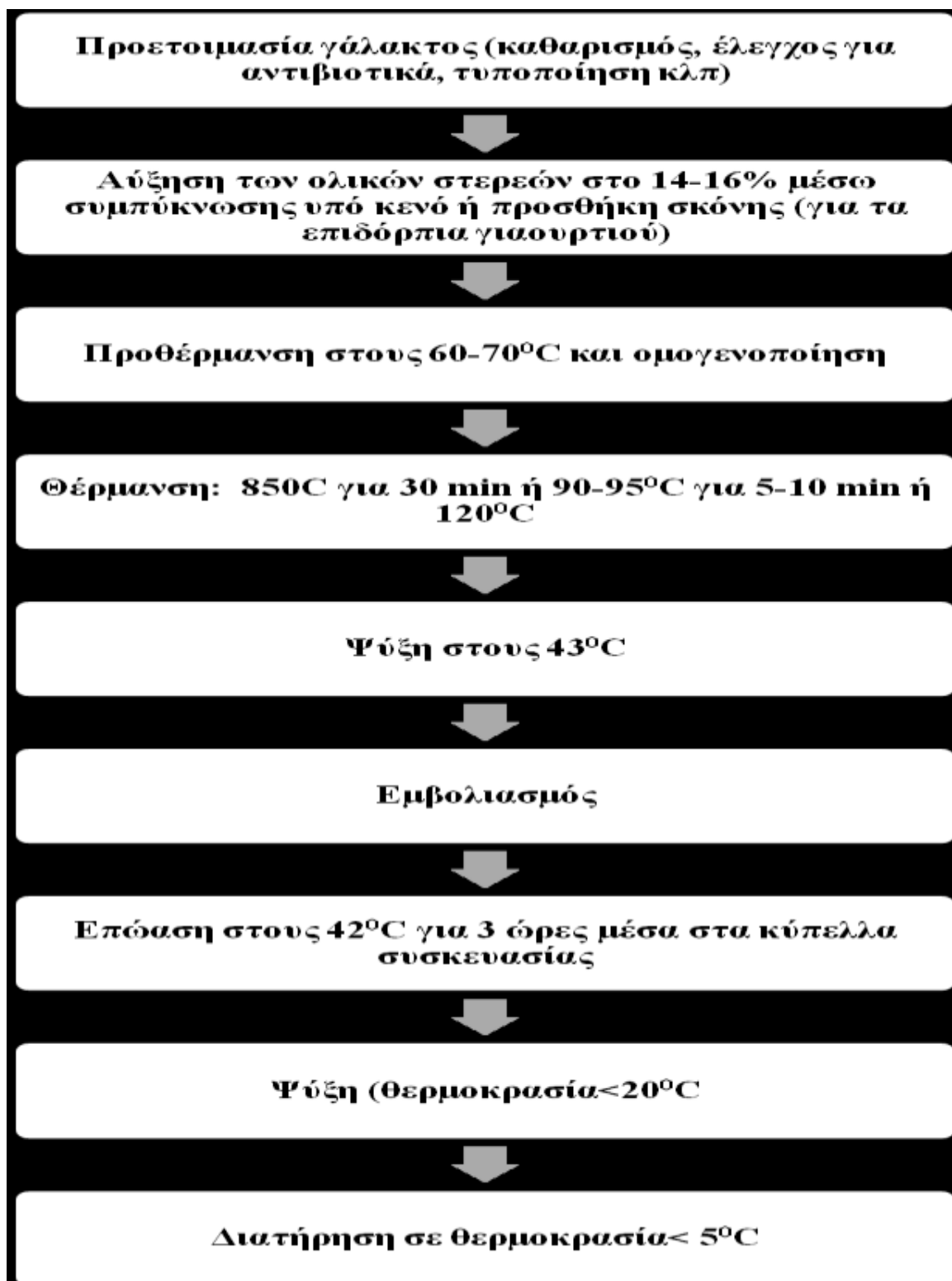
Στραγγισμένο γιαούρτι χαρακτηρίζεται το προϊόν, το οποίο λαμβάνεται από πλήρες γιαούρτι, μετά από απομάκρυνση (αποστράγγιση) μέρους του νερού του με τα διαλυμένα σ' αυτό συστατικά. Αυτό πρέπει να περιέχει λίπος σε ποσοστό 8% τουλάχιστον, με εξαίρεση το στραγγισμένο γιαούρτι αγελάδας, το οποίο πρέπει να περιέχει λίπος σε ποσοστό 5% τουλάχιστον (Κ.Τ.Π., 2003). Πρόκειται για γιαούρτι με αυξημένη αναλογία στερεών συστατικών (23-25%). Αυτό επιτυγχάνεται είτε με τον παραδοσιακό τρόπο της στράγγισης του πηγματος μέσα σε υφασμάτινους σάκους είτε με σύγχρονη τεχνολογία όπως η φυγοκέντρηση του πηγματος ή η συμπύκνωση του γάλακτος με υπερδιήθηση πριν από την πήξη του (Μάντης, 2000).

1.1.3 Βιομηχανικό γιαούρτι

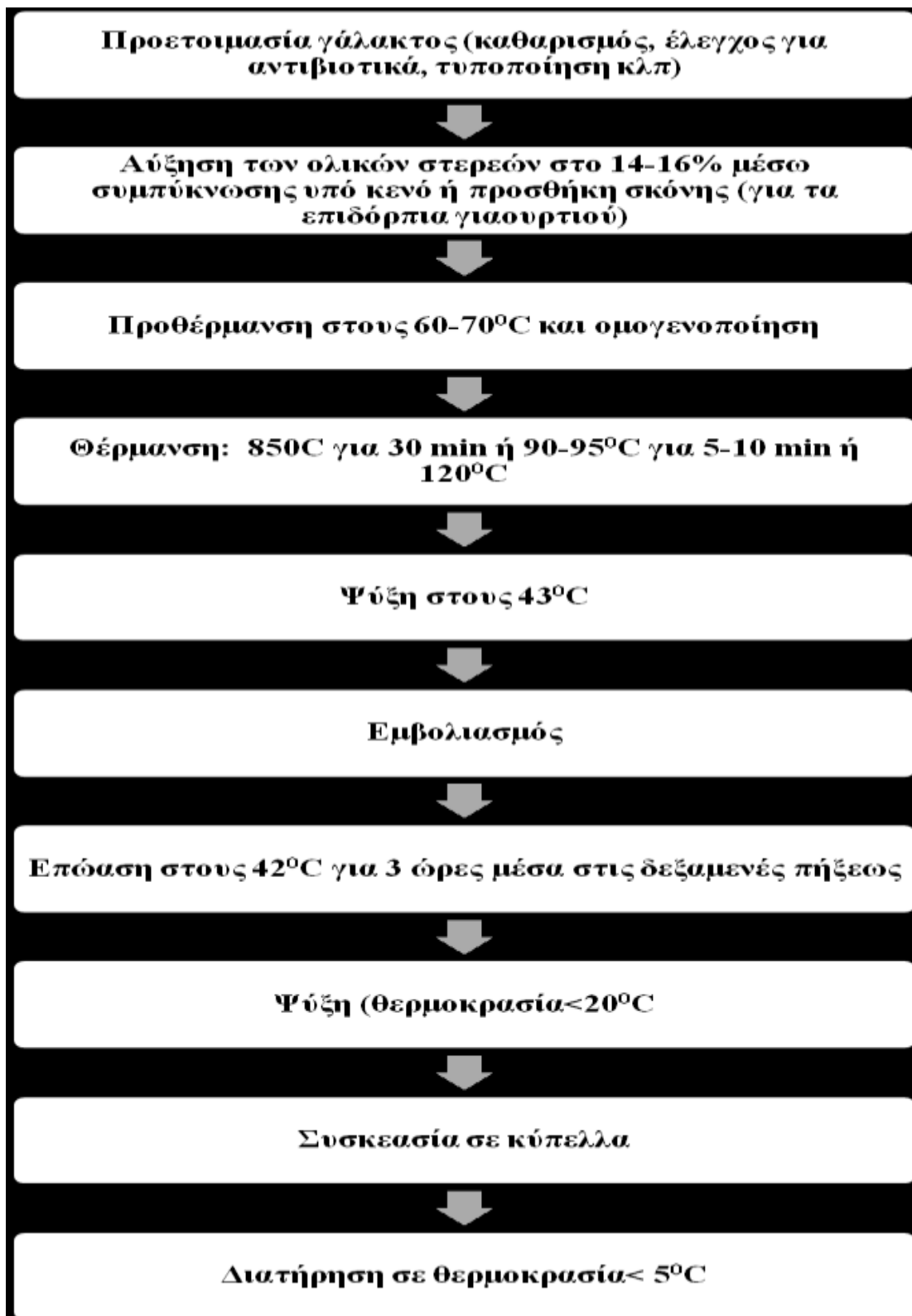
Οι τύποι του βιομηχανικού γιαουρτιού είναι το συμπαγές ή στερεάς δομής (set) και το αναδευμένο (stirred), τα οποία διαφέρουν ως προς τη συνεκτικότητα και την τεχνολογία (Robinson κ.ά., 2006), η οποία παρουσιάζεται στα Διαγράμματα 2 και 3 παρακάτω.

Το συμπαγές γιαούρτι είναι ο τύπος που έχει κυριαρχήσει σήμερα στη χώρα μας και παράγεται ως φυσικό γιαούρτι ή με φρούτα (επιδόρπιο γιαουρτιού). Το γάλα ομογενοποιείται και γι' αυτό δεν σχηματίζεται υμένιο στην επιφάνεια. Η συσκευασία του γίνεται σε ερμητικώς κλειστά κύπελλα. Η επώαση γίνεται στους περιέκτες και το πήγμα δεν διαταράσσεται μετά την πήξη.

Το αναδευμένο γιαούρτι διαφέρει από το συμπαγές στο ό,τι το γάλα επωάζεται σε δεξαμενές, το πήγμα, θραύεται, ψύχεται, αναμιγνύεται ή όχι με φρούτα και συσκευάζεται σε ερμητικά κλειστούς περιέκτες (κύπελλα). Από τα προϊόντα αυτού του τύπου μπορούν να προκύψουν τα επιδόρπια γιαουρτιού με την προσθήκη διαφόρων συστατικών.



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 2. Διάγραμμα ροής παραγωγής γιαουρτιού συμπαγούς ή στερεάς δομής (set yoghurt)



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 3. Διάγραμμα ροής παραγωγής αναδευμένου γιαουρτιού (stirred yoghurt)

1.1.4 Γιαούρτι με "προβιοτικά" βακτήρια

Επειδή ορισμένα οξυγαλακτικά βακτήρια, συμπεριλαμβανομένων και αυτών που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή γιαούρτης (*Lactobacillus bulgaricus* και *Streptococcus thermophilus*) αποδείχτηκε ότι ασκούν ευεργετική επίδραση στη λειτουργία του εντέρου και γενικότερα στην υγεία του ανθρώπου, κυκλοφόρησαν στο εμπόριο γιαούρτια που περιέχουν ορισμένα από αυτά τα βακτήρια, τα οποία χαρακτηρίζονται ως "προβιοτικά". Τα κυριότερα προβιοτικά βακτήρια που χρησιμοποιούνται είναι (Robinson, 2002):

- Είδη του γένους *Bifidobacterium* (*B. bifidum*, *B. longum*, κ.ά.).
- Είδη του γένους *Lactobacillus* (*L. acidophilus*, *L. casei*, *L. Paracasei*, *L. ramosus*).
- Είδη *Lactococcus* (*L. lactis*, *L. diacetylactis*).



Εικόνα 1. Lactobacillus Acidophilus



Εικόνα 2. Lactobacillus Bulgaricus



Εικόνα 3. Bifidobacteria

1.1.5 Επιδόρπια γιαουρτιού

Σύμφωνα με την Ελληνική νομοθεσία ως επιδόρπιο (Dessert) χαρακτηρίζεται προϊόν έτοιμο προς βρώση που παρασκευάζεται από μία ή περισσότερες κατηγορίες γάλακτος που προβλέπονται από το άρθρο 80 του Κ.Τ.Π. (2003), προϊόντα γάλακτος ή και συστατικό γάλακτος (πρωτεΐνη γάλακτος, λακτόζη) ή και μαγιά γιαουρτιού και στις δύο περιπτώσεις τα παραπάνω προϊόντα γάλακτος ή το γάλα σε αναλογία 75% τουλάχιστον κατά βάρος του τελικού προϊόντος, αναγόμενο σε νωπό γάλα, οξυγαλακτικές καλλιέργειες (π.χ. *Lactobacillus* πλέον αυτών των *Lactobacillus bulgaricus* και *Streptococcus thermophilus*), σακχαρούχες γλυκαντικές ύλες (σακχαρόζη ή άλλο σάκχαρο), φυσικές αρωματικές ουσίες όπως φρούτα (νωπά, αφυδατωμένα, εγκυτιωμένα κλπ), χυμοί φρούτων, κακάο σκόνη (λιποπερικτικότητα 10% τουλάχιστον σε βούτυρο κακάο,) σοκολάτα ή εκχύλισμα καφέ με ή χωρίς καφεΐνη και άλλες φυσικές ουσίες που δίνουν γεύση και άρωμα. Επίσης στα παραπάνω προϊόντα επιτρέπεται η προσθήκη τεχνικών αρωματικών και χρωστικών υλών, σταθεροποιητών (καραγενάνη, αραβικό κόμμι, εδώδιμη ζελατίνη κ.ά.)

1.2 Τα βασικότερα χαρακτηριστικά του γιαουρτιού

- Χαμηλό pH (περίπου 4,5-4,7)
- Υψηλή οξύτητα (90-100 °D ή 0,7-1,2% εκφρασμένη σε γαλακτικό οξύ)
- Χαρακτηριστική γεύση και άρωμα τα οποία οφείλονται στη δράση των οξυγαλακτικών βακτηρίων (γαλακτικό οξύ, ακεταλδεΐδη και διακετύλιο)
- Παρουσία ζωντανών βακτηριακών κυττάρων σε πληθυσμούς ανώτερους των $10^7/g$.

1.3 Τα ελαττώματα της γιαούρτης

- **Η έλλειψη συνεκτικότητας**, που οφείλεται σε γάλα φτωχό σε στερεά συστατικά, σε υπερθέρμανση ή ανατάραξη κατά την διάρκεια της πήξης του. Το ελάττωμα αυτό αντιμετωπίζεται με την προσθήκη στο γάλα πριν από την πήξη του σκόνη αποβουτυρωμένου γάλακτος σε ποσοστό 1-2%. Η προσθήκη όμως αυτή απαγορεύεται στην Ελλάδα και θεωρείται νοθεία.
- **Η πικρή γεύση**, που οφείλεται σε πεπτίδια που σχηματίζονται κατά την διάσπαση της καζεΐνης από βακτηρίδια.
- **Η πολύ ξινή γεύση**, που είναι αποτέλεσμα παρατεταμένης επώασης ή μακρόχρονης διατήρησης ή αυξημένου ποσοστού του *Lactobacillus bulgaricus* στην καλλιέργεια.

1.4 Αγορανομικές απαιτήσεις

1.4.1 Μικροβιολογικοί δείκτες ποιότητας του γιαουρτιού

Η εξέταση της μικροχλωρίδας του γιαουρτιού κρίνεται απαραίτητη καθώς πιστοποιεί τον πληθυσμό των ζώντων γαλακτικών βακτηρίων. Ο έλεγχος παρουσίας παθογόνων μικροοργανισμών δεν ενδείκνυται όπως σε άλλα τρόφιμα λόγω της χαμηλής τιμής pH που παρουσιάζει το συγκεκριμένο προϊόν, της ύπαρξης ανταγωνιστικής μικροχλωρίδας (τα γαλακτικά βακτήρια βρίσκονται σε πολύ υψηλούς πληθυσμούς), και του γαλακτικού οξέος που δρα ως φυσικό συντηρητικό.

Οι ομάδες μικροοργανισμών που εξετάζονται στο γιαούρτι είναι τα κολοβακτηρίδια, οι ζύμες και οι μύκητες. Η παρουσία των παραπάνω μικροοργανισμών πάνω από συγκεκριμένα όρια υποδηλώνει πιθανό κίνδυνο για τη δημόσια υγεία ή μη ορθές συνθήκες υγιεινής κατά την παρασκευή του προϊόντος.

1.4.2 Διάρκεια συντήρησης

Η διάρκεια συντήρησης του γιαουρτιού κυμαίνεται από 1 έως 6 εβδομάδες. Οι παράμετροι που επηρεάζουν το χρόνο ζωής του στο ράφι είναι η θερμοκρασία συντήρησης, η αρχική τιμή pH, οι ενδεχόμενες επιμολύνσεις, η μέθοδος παραγωγής και το είδος της συσκευασίας. Σύμφωνα με την Ελληνική Νομοθεσία (Κ.Π.Τ., 2003) ο ενδεικτικός χρόνος συντήρησης του γιαουρτιού είναι 15 ημέρες σε θερμοκρασία συντήρησης 0-2 °C.

Μετά το πέρας των 15 ημερών το προϊόν γίνεται ακατάλληλο προς βρώση κυρίως λόγω της υπεροξίνισης (post-acidification) από τη δράση των γαλακτικών βακτηρίων ή των ζυμών και της μεγάλης αποβολής ορού. Επιπλέον η παρουσία μυκήτων δύναται να επηρεάσει την εμφάνιση του προϊόντος και κατ' επέκταση την αποδοχή του από το καταναλωτικό κοινό.

1.5 Κρίσιμα στάδια της παραγωγικής διαδικασίας

1.5.1 Ομογενοποίηση

Η ομογενοποίηση προκαλεί μείωση του μεγέθους των λιποσφαιρίων του γάλακτος. Με αυτόν τον τρόπο αποφεύγεται η αποκορύφωση του λίπους κατά την πήξη του γιαουρτιού και επομένως αποφεύγεται ο σχηματισμός του χαρακτηριστικού υμενίου (πέτσα). Αναλυτικότερα, κατά την ομογενοποίηση παρατηρείται μείωση του μεγέθους των λιποσφαιρίων και ταυτόχρονη αύξηση της επιφάνειας τους κατά 6 φορές περίπου (Walstra et al., 2006). Σύμφωνα με τους Tamime και Muir (1998), η διάμετρος των λιποσφαιρίων μειώνεται από 0,1-20 μm σε 0,1-3 μm. Η ομογενοποίηση προκαλεί μερική καταστροφή της αγλουτινίνης, η οποία είναι μια πρωτεΐνη που καλύπτει την επιφάνεια των λιποσφαιρίων. Αποτέλεσμα αυτής της μερικής καταστροφής είναι η αγλουτινίνη να

μην επαρκεί για να καλύψει την πολλαπλάσια επιφάνεια των λιποσφαιρίων. Έτσι προσροφώνται στην επιφάνεια και άλλες πρωτεΐνες. Μετά την ομογενοποίηση, λοιπόν, η επιφάνεια των λιποσφαιρίων αποτελείται από 25% αγλουτινίνη, 25% καζεΐνη και 50% πρωτεΐνες ορού γάλακτος. Επομένως, τα λιποσφαίρια δεν έχουν πλέον την δυνατότητα να σχηματίσουν συσσωματώματα, να ανέλθουν στην επιφάνεια και να σχηματίσουν το χαρακτηριστικό υμένιο.

Επιπλέον, κατά την ομογενοποίηση του γάλακτος παρατηρείται αύξηση του ιξώδους. Αυτό συμβαίνει γιατί οι πρωτεΐνες που έχουν προσροφηθεί στην επιφάνεια των λιποσφαιρίων μετουσιώνονται, αυξάνεται ο υδρόφιλος χαρακτήρας τους και προσροφούν νερό (Tamime και Muir, 1998). Επίσης, διασπώνται τα καζεϊνικά μικκύλια αυξάνοντας έτσι τον υδρόφιλο χαρακτήρα των καζεϊνών. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα τη βελτίωση του ιξώδους του τελικού προϊόντος.

Επιπροσθέτως, η μείωση του μεγέθους των λιποσφαιρίων έχει σαν αποτέλεσμα την καλύτερη διάχυση του φωτός από αυτά άρα το γάλα φαίνεται λευκότερο. Επίσης, παρατηρείται αύξηση της λιπόλυσης του γάλακτος. Αυτό συμβαίνει γιατί η αύξηση της επιφάνειας των λιποσφαιρίων αυξάνει την επιφάνεια δράσης της λιπάσης. Για να αποφευχθεί αυτό, συνίσταται παστερίωση πριν την ομογενοποίηση ώστε να αδρανοποιείται η φυσική λιπάση.

1.5.2 Θερμική επεξεργασία

Η θέρμανση του γάλακτος διευκολύνει την ανάπτυξη της καλλιέργειας και προκαλεί κάποιες φυσικοχημικές μεταβολές στο γάλα οι οποίες βελτιώνουν τη συνεκτικότητα του γιαουρτιού που θα παραχθεί. Η θέρμανση γίνεται στις ακόλουθες θερμοκρασίες (Tamime και Robinson, 1985):

- 80-85 °C για 30 min (LTLT)
- 90-95 °C για 5 min (HTST)
- 110 °C για 30 sec (UHT)

Με τη θερμική επεξεργασία επιτυγχάνεται:

- Η μετουσίωση των πρωτεϊνών του ορού γάλακτος. Έτσι αυξάνεται ο υδρόφιλος χαρακτήρας τους και συγκρατούν μεγαλύτερη ποσότητα νερού. Προσροφούν δηλαδή περισσότερη υγρασία και το πήγμα γίνεται πιο συνεκτικό (Tamime και Muir, 1998, Ζερφυρίδη, 2001). Επιπλέον, καθίσταται δυνατή η σύνδεσή τους με τα καζεϊνικά μικκύλια μέσω της ανάπτυξης δισουλφιδικών δεσμών και υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων (Law, 1996). Γενικότερα, όσο αυξάνεται το ποσοστό των μετουσιωμένων πρωτεϊνών του ορού γάλακτος τόσο μειώνεται ο απαιτούμενος χρόνος επώασης για την παραγωγή γιαουρτιού (Labropoulos et al., 1984, Parnell-Clunies et al., 1986, Shaker et al., 2000, Thomopoulos et al., 1993). Σύμφωνα με τους Tamime και Robinson (1999), γιαούρτι που παρασκευάστηκε από μη θερμασμένο ή ανεπαρκώς θερμασμένο γάλα, εμφάνισε αδύναμη υφή, μικρή σταθερότητα πηκτής και παρουσίασε μεγάλη αποβολή ορού. Οι Lucey et al (1997) ανέφεραν πως η έναρξη της πήξης είναι ταχύτερη σε δείγματα τα οποία είχαν υποστεί έντονη θερμική επεξεργασία καθώς η μετουσίωση των πρωτεϊνών του ορού γάλακτος έλαβε χώρα σε μεγαλύτερο βαθμό. Αυτό είχε σαν αποτέλεσμα τη μείωση του συνολικού χρόνου επώασης του γιαουρτιού.
- Ο σχηματισμός πλέγματος καζεϊνικών μικκυλίων τα οποία κατανέμονται ομοιόμορφα στον όγκο του γάλακτος και περικλείουν ανάμεσά τους την υδατική φάση. Με αυτόν τον τρόπο τα καζεϊνικά μικκύλια του θερμασμένου γάλακτος δρουν σαν σταθεροποιητές. Έτσι αυξάνεται η συνεκτικότητα του πηγματος, μειώνεται η αποβολή ορού και ο διαχωρισμός φάσης.
- Η αύξηση της σταθερότητας του πηγματος εφόσον αυξάνεται η επιφάνεια των καζεϊνικών συσσωματωμάτων, δεδομένου ότι μειώνεται το μέγεθος τους.
- Η καταστροφή των βλαστικών μορφών των μικροοργανισμών που απαντώνται στο γάλα, πέραν των σπορίων τα οποία δεν καταστρέφονται (Ζερφυρίδη, 2001, Λιτοπούλου-Τζανετάκη, 2010).

- Ο περιορισμός της λιπόλυσης και της πρωτεόλυσης που οδηγούν σε τάγγιση του γάλακτος και ανεπιθύμητες γεύσεις. Αυτό συμβαίνει γιατί με τη θερμική επεξεργασία του γάλακτος αδρανοποιούνται ένζυμα, όπως λιπάσες και πρωτεάσες, που προέρχονται κυρίως από τη δράση των μικροοργανισμών του γάλακτος.
- Η μετατροπή του ασβεστίου, του μαγνησίου και των κιτρικών αλάτων από τη διαλυτή στην κολλοειδή μορφή τους.
- Η μερική καταστροφή ορισμένων υδατοδιαλυτών βιταμινών όπως B1, B6, B12 και φολικό οξύ (Ζερφυρίδη, 2001).
- Η απαέρωση του γάλακτος και η δημιουργία μικροαερόφιλων συνθηκών που ευνοούν την ανάπτυξη των μικροοργανισμών της μικτής καλλιέργειας εκκίνησης (Λιτοπούλου-Τζανετάκη,2010).

1.5.3 Εμβολιασμός-Επώαση

Μετά τη θερμική επεξεργασία του γάλακτος ακολουθεί ψύξη στη θερμοκρασία επώασης, στους 42-45 οC και εμβολιασμός με τα κύτταρα της μικτής καλλιέργειας εκκίνησης (*Streptococcus salivarius* subsp *thermophilus* και *Lactobacillus deibrueckii* subsp *bulgaricus*).

Όσο μικρότερη είναι η ποσότητα του εμβολίου που θα χρησιμοποιηθεί, τόσο περισσότερο καθυστερεί η πτώση της τιμής pH λόγω μειωμένης παραγωγής γαλακτικού οξέος. Αποτέλεσμα αυτού είναι ο σχηματισμός αδύναμου και μαλακού πλέγματος και η ανεπαρκής ανάπτυξη των λακτοβακίλλων.

Τέλος, η ζύμωση μπορεί εύκολα να καταστεί ανεπιτυχής καθώς η μικρή ποσότητα εμβολίου δεν μπορεί εύκολα να ξεπεράσει ορισμένες δυσμενείς συνθήκες, όπως η μικρή παρουσία αντιβιοτικών.

Από την άλλη μεριά, όταν η ποσότητα του εμβολίου που χρησιμοποιείται είναι αρκετά μεγάλη, η υπερβολικά γρήγορη αύξηση της οξύτητας δεν επιτρέπει τον ικανοποιητικό σχηματισμό αρωμάτων αφού η πτώση της τιμής pH γίνεται με πολύ γρήγορο ρυθμό. Έτσι το πήγμα σχηματίζεται σε πολύ σύντομο χρονικό διάστημα με αποτέλεσμα να γίνεται σκληρό και να έχει την τάση να αποβάλει ορό στην επιφάνεια του. Για το λόγο αυτό, δε συνίσταται η χρήση μεγάλης ποσότητας εμβολίου παρά μόνο όταν η δραστηριότητα της μικτής καλλιέργειας εκκίνησης είναι περιορισμένη.

Επομένως, ανάλογα με τη θερμοκρασία επώασης αλλά και τη δραστηριότητα της καλλιέργειας, η ιδανική ποσότητα εμβολίου είναι 2-3% (Tamime και Marshall, 1997).

1.5.4 Ψύξη

Μόλις η τιμή pH πέσει στο 4,5-4,7, ιδανικά 4,6, και η οξύτητα ανέλθει σε 0,9-1,1% εκφρασμένη σε γαλακτικό οξύ, η ζύμωση πρέπει να διακοπεί (Tamime και Deeth, 1980). Ακολουθεί ψύξη του πηγματος με σκοπό να ανασταλεί η δράση των γαλακτικών βακτηρίων και των ενζύμων. Εάν η ψύξη είναι πρόωρη, το πήγμα που σχηματίζεται δεν έχει ικανοποιητική συνεκτικότητα, ενώ αν η ψύξη είναι καθυστερημένη παρουσιάζονται προβλήματα όπως έντονη συναίρεση και μετοξίνιση.

Σε βιομηχανική κλίμακα η ψύξη του γιαουρτιού πραγματοποιείται σε δυο φάσεις. Αρχικά το πήγμα ψύχεται στους 20 °C με σκοπό την αναστολή της δράσης των γαλακτικών βακτηρίων και στη

συνέχεια ακολουθεί ψύξη σε θερμοκρασία χαμηλότερη των 5 °C που στοχεύει στην αναστολή της δράσης των ενζύμων (Tamime και Robinson, 1985).

1.6 Φυσικοχημικές ιδιότητες

1.6.1 Συναίρεση- Ικανότητα Συγκράτησης νερού

Η αποβολή ορού στην επιφάνεια του γιαουρτιού θεωρείται πρωταρχικό ελάττωμα. Πηκτή με υψηλή ικανότητα συγκράτησης νερού σημαίνει ότι τα μόρια του νερού μπορούν να συγκρατηθούν ισχυρότερα από το πλέγμα των πρωτεϊνών επομένως η αποβολή ορού θα είναι μικρότερη.

Η συναίρεση προκύπτει από τη συρρίκνωση του πηγματος αποτέλεσμα της οποίας είναι ο διαχωρισμός ορού δηλαδή η εμφάνιση ορού στην επιφάνεια του πηγματος. Κατά την συναίρεση λοιπόν, μειώνεται ο όγκος του πηγματος, χωρίς αυτό να οφείλεται σε εξωτερικές δυνάμεις. Όταν λαμβάνει χώρα το φαινόμενο αυτό παρατηρείται αναδιοργάνωση του πλέγματος των μορίων. Αυτό οφείλεται σε δυνάμεις έλξης (ενδομοριακούς και διαμοριακούς δεσμούς) που αναπτύσσονται μεταξύ των καζεϊνικών τμημάτων ή των συμπλεγμάτων μικκυλίων. Σαν αποτέλεσμα παρατηρείται συρρίκνωση του πηγματος και αποβολή ορού στην επιφάνειά του.

Παράγοντες που οδηγούν στο διαχωρισμό ορού είναι μεταβολές στην τιμή pH και θερμοκρασιακές μεταβολές (Dannenberg και Kessler, 1988). Επιπλέον, η επώαση του γάλακτος για το σχηματισμό γιαουρτιού σε υψηλή θερμοκρασία, η χαμηλή περιεκτικότητα σε στερεά, καθώς και η μη ορθή μεταχείριση του προϊόντος κατά την μεταφορά και συντήρησή του, αποτελούν αιτίες εμφάνισης συναίρεσης (Harwalkar και Kalab, 1983, Lucey, 2004). Επίσης, η πτώση της τιμής pH κάτω από το ισοηλεκτρικό σημείο, προκαλεί θρόμβωση των πρωτεϊνών, μείωση της ικανότητας συγκράτησης νερού και επομένως αύξηση του βαθμού συναίρεσης (Harwalkar και Kalab, 1986).

Για την αποφυγή εμφάνισης ορού κρίνεται απαραίτητη η θέρμανση του γάλακτος, πριν τον εμβολιασμό, σε θερμοκρασίες 85-90 °C η οποία συμβάλει στην παραγωγή σταθερού πήγματος (Harwalkar και Kalab, 1986)

1.6.2 Ιξώδες

Το γιαούρτι αποτελεί ένα μη νευτώνικό ρευστό, ιξωδοελαστικό, θιξότροπο και χρονικά εξαρτώμενο. Τα ρεολογικά χαρακτηριστικά του γιαουρτιού εξαρτώνται από τη θερμοκρασία ζύμωσης. Η δομή του καταρρέει με την εφαρμογή διατμητικής τάσης ωστόσο έχει την τάση να την επανακτά μέχρι ένα βαθμό κάτω από συνθήκες ηρεμίας (De Lorenzi et al, 1995).

Σύμφωνα με τον Λαζαρίδη (2007), το ιξώδες αναφέρεται στην αντίσταση που προβάλλει η μάζα του ρευστού κατά την εφαρμογή δυνάμεων διάτμησης. Τα μη νευτώνικά, χρονικά εξαρτώμενα ρευστά, είναι αυτά στα οποία η τάση παραμόρφωσης για συγκεκριμένο ρυθμό παραμόρφωσης μεταβάλλεται με το χρόνο με την εφαρμογή τάσης. Στα θιξότροπα ρευστά η καταστροφή της δομής εξαρτάται από τη χρονική διάρκεια της παραμόρφωσης και από το χρόνο που αυτή ασκείται. Μετά την παύση της τάσης παραμόρφωσης ωστόσο η δομή έχει την τάση να επανορθώνεται. Τα ιξωδοελαστικά ρευστά έχουν την τάση να ανακάμπτουν ελαστικά από τις παραμορφώσεις που δέχονται κατά τη ροή τους. Τα όργανα που χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό του ιξώδους είναι τα ιξωδόμετρα.

1.6.3 Υφή

Το Texture Profile Analyser αποτελεί ένα όργανο το οποίο μελετάει τη δομή κατά τη μάσηση. Με τη βοήθεια του οργάνου αυτού εκτιμώνται κάποιες παράμετροι κρίσιμες για την υφή των τροφίμων. Συγκεκριμένα στην περίπτωση του γιαουρτιού οι παράμετροι οι οποίες εκτιμώνται είναι η σκληρότητα, η συνεκτικότητα, η συγκολλητικότητα, το κομμιάδες κ.α. (Domagala et al. 2006).

Σύμφωνα με τους Tamime και Robinson (1999), το γιαούρτι αποτελεί ένα προϊόν το οποίο θα πρέπει να έχει τα εξής χαρακτηριστικά: να κόβεται εύκολα με το κουτάλι, να είναι συμπαγές και να μην έχει γλοιώδη υφή. Έτσι λοιπόν είναι σημαντική η εξέταση των παραπάνω παραμέτρων προκειμένου να παραχθεί γιαούρτι με ικανοποιητικά χαρακτηριστικά υφής.

1.7 Γαλακτικά Βακτήρια

Τα γαλακτικά βακτήρια αποτελούν μια κατηγορία μικροοργανισμών που χρησιμοποιείται ευρύτατα και είναι υψίστης σημασίας στη βιομηχανία των τροφίμων, καθώς τα οργανικά οξέα που παράγουν γαλακτικό και οξικό οξύ, δρουν σαν φυσικά συντηρητικά ενώ ρίχνουν σταδιακά το pH στο γάλα στο οποίο βρίσκονται. Η φυσική τους παρουσία στα τρόφιμα σε συνδυασμό με την αξιοποίησή τους από τα βάθη της ιστορίας τους προσέδωσε τον χαρακτηρισμό GRAS (generally recognized as safe) για την ανθρώπινη κατανάλωση (Liu et al., 2011).

1.7.1 Streptococcus salivarius subsp thermophilus

Ο *S. salivarius subsp thermophilus*, παλαιότερα γνωστός ως *Streptococcus thermophilus*, περιγράφηκε πρώτη φορά επισήμως από τους Orla-Jensen (1919) και ανήκει στην κατηγορία των λακτόκοκκων. Είναι ένα Gram-θετικό βακτήριο, το οποίο ζυμώνει ομοζυμωτικά τη λακτόζη και παράγει L(+)-γαλακτικό οξύ σε βασικό προϊόν. Η ελάχιστη θερμοκρασία στην οποία αναστέλλεται η ανάπτυξή του είναι 10 °C. Η μέγιστη θερμοκρασία αντίστοιχα είναι 50-52 °C, καθιστώντας το αρκετά θερμοανθεκτικό. Άριστη θερμοκρασία ανάπτυξης του μικροοργανισμού είναι οι 37 °C. Η μεταβολική δράση του αναστέλλεται σε επίπεδα γαλακτικού οξέος >1,0% και σε τιμές pH 4,3-4,5. Απομονώνεται αποκλειστικά από γαλακτοκομικά προϊόντα, ορισμένους ζυμούμενους υδατάνθρακες.

Ζυμώνει τη λακτόζη, σακχαρόζη, γλυκόζη και μερικές φορές γαλακτόζη. Η πρωτεολυτική του δράση είναι περιορισμένη.



Εικόνα 4. *Streptococcus thermophilus*

1.7.2 *Lactobacillus deibruueckii* subsp *bulgaricus*

Ο *L. deibruueckii* subsp *bulgaricus* περιγράφηκε πρώτη φορά επισήμως από τους Orla-Jensen (1919) με την ονομασία *Thermobacterium bulgaricum*. Σήμερα κατατάσσεται σε ένα από τα υποείδη του είδους *Lactobacillus delbrueckii*. Η παλιά ονομασία *Lactobacillus leichmannii* δε χρησιμοποιείται πλέον. Ανήκει στην κατηγορία των Gram-θετικών βακτηρίων και από την ζύμωση της λακτόζης παράγει D(-)-γαλακτικό οξύ σαν βασικό προϊόν σε επίπεδο 1,7-2,1% στο γάλα. Κατατάσσεται στα ομοζυμωτικά γαλακτικά βακτήρια, ζυμώνει μερικούς υδατάνθρακες ανάμεσα στους οποίους ανήκουν η γλυκόζη, η λακτόζη, η φρουκτόζη, και μερικές φορές η γαλακτόζη και η μαννόζη. Τέλος, παρουσιάζει υψηλή θερμοανθεκτικότητα (μέχρι 48-50 °C).

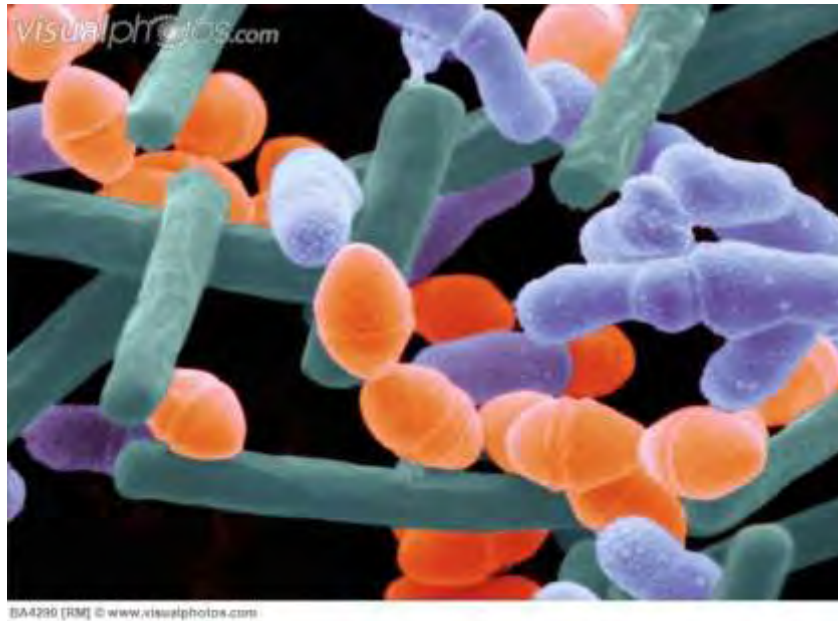


Εικόνα 5.Lactobacillus bulgaricus

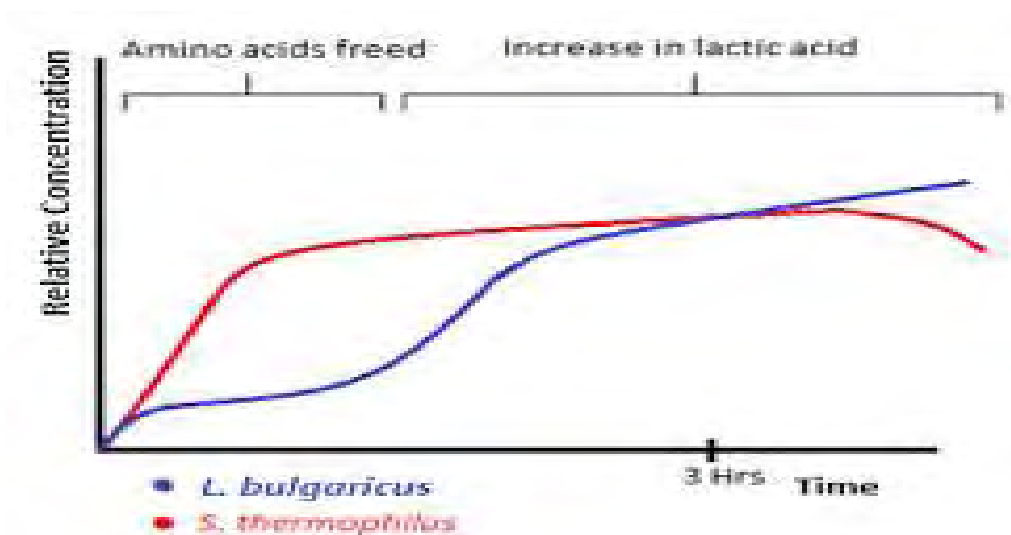
1.7.3 Συμβίωση

Έχει παρατηρηθεί πως ο χρόνος επώασης του γάλακτος είναι μικρότερος όταν τα δυο βακτήρια αναπτύσσονται από κοινού παρά όταν αναπτύσσεται το καθένα ξεχωριστά. Αυτό το φαινόμενο είναι το αποτέλεσμα της συμβίωσης των δυο γαλακτικών βακτηρίων, όπου η ανάπτυξη του ενός υποβοηθά την ανάπτυξη του άλλου.

Αρχικά η ανάπτυξη του *S. thermophilus* είναι ταχύτερη από αυτήν του *L. bulgaricus*. Ο τελευταίος υποβοηθά την ανάπτυξη του πρώτου μέσω κάποιων αμινοξέων που απελευθερώνει, σημαντικότερο εκ των οποίων είναι η βαλίνη. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα κατά τα πρώτα στάδια της ζύμωσης ο *S. thermophilus* να υπερτερεί σε πληθυσμό του *L. bulgaricus*. Επομένως συμπεραίνεται πως η αρχική παραγωγή γαλακτικού οξέος και κατ' επέκταση η αρχική πτώση της τιμής του pH οφείλεται στον *S. thermophilus*. Ωστόσο αυτή η πτώση της τιμής pH δημιουργεί ευνοϊκές συνθήκες ανάπτυξης για τον *L. bulgaricus* ο οποίος αναπτύσσεται ταχύτερα σε όξινο περιβάλλον. Η απελευθέρωση γαλακτικού οξέος και CO₂ από την αποικοδόμηση της ουρίας, της ουρεάσης και του φορμικού οξέος συμβάλλουν στην ανάπτυξη του *L. bulgaricus*. Κατόπιν, ο τελευταίος προκαλεί υδρόλυση της καζεΐνης με αποτέλεσμα την απελευθέρωση αμινοξέων τα οποία είναι απαραίτητα για την ανάπτυξη και των δυο μικροοργανισμών. Ωστόσο, μετά την αρχική πτώση της τιμής pH, η δράση του *S. thermophilus* περιορίζεται ενώ ο *L. bulgaricus* εξακολουθεί να αναπτύσσεται.



Εικόνα 6. Συμβίωση *Streptococcus thermophilus* και *Lactobacillus bulgaricus*



Διάγραμμα 4. Συγκέντρωση στελεχών *L. Bulgaricus* και *S. Thermophilus* κατά την πήξη

1.7.4 Παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη και τον πληθυσμό των γαλακτικών βακτηρίων

Οι παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη και τον πληθυσμό των γαλακτικών βακτηρίων κατά την παρασκευή και αποθήκευση του γιαουρτιού είναι οι εξής:

- το μέγεθος και ο τύπος του εμβολίου
- ο χρόνος και η θερμοκρασία επώασης
- η παρουσία μη επιθυμητής μικροχλωρίδας
- τα ένζυμα που περιέχονται στο μέσο καθώς και τα κατάλληλα θρεπτικά συστατικά.

1.8 Σημαντικές μεταβολικές διεργασίες κατά την παραγωγή γιαουρτιού

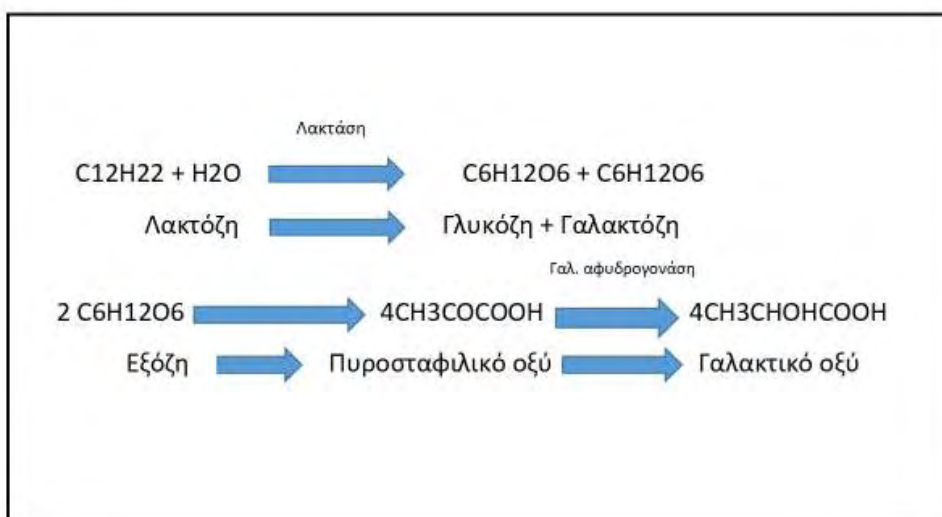
Ο ρόλος των γαλακτικών βακτηρίων κατά την παραγωγή γιαουρτιού συνοψίζεται ως εξής: οξίνιση του γάλακτος, δημιουργία χαρακτηριστικού αρώματος, μεταβολή των χαρακτηριστικών υφής και ιξώδους.

1.8.1 Μεταβολισμός υδατανθράκων

Ο κύριος ρόλος των γαλακτικών βακτηρίων του γιαουρτιού είναι η οξίνιση του γάλακτος, η οποία επιτυγχάνεται μέσω της παραγωγής γαλακτικού οξέος που προέρχεται από το μεταβολισμό της λακτόζης (Διάγραμμα 5). Η παραγωγή του γαλακτικού οξέος μειώνει την τιμή pH του γάλακτος

και οδηγεί σε μια σταδιακή διαλυτοποίηση του φωσφορικού ασβεστίου των μικκυλίων. Αυτό οδηγεί στην αποσταθεροποίησή τους και τέλος στην ολοκληρωτική κατακρήμνιση των καζεϊνικών μικκυλίων σε pH 4,6-4,7 (Fox, 1989).

Το γαλακτικό οξύ στα ζυμούμενα προϊόντα δρα ως φυσικό συντηρητικό αφού προκαλεί μείωση της τιμής pH και έτσι το προϊόν καθίσταται μικροβιολογικά ασφαλές (Alm, 1982). Η παρουσία του γαλακτικού οξέος στο γιαούρτι συμβάλλει στην χαρακτηριστική όξινη γεύση του και το άρωμά του (Tamime και Deeth, 1980). Το γαλακτικό οξύ που απαντάται στο γιαούρτι μπορεί να έχει D(-) διαμόρφωση, όταν παράγεται από τον *L. bulgaricus*, το οποίο είναι υπεύθυνο για την οξεία όξινη γεύση του πηγματος, ή L(+) διαμόρφωση όταν παράγεται από τον *S. thermophilus*, το οποίο είναι υπεύθυνο για την ήπια οξύτητα του γιαουρτιού. (Tamime και Robinson, 1985, Zourari et al., 1992). Τα γαλακτικά βακτήρια διασπούν τη λακτόζη στο εσωτερικό των κυττάρων τους με τη βοήθεια της β-γαλακτοσιδάσης (λακτάσης) και τα προϊόντα που προκύπτουν είναι γλυκόζη και γαλακτόζη. Στη συνέχεια, από τη γλυκόζη, μέσω ενζυμικών δράσεων, προκύπτει γαλακτικό οξύ, ενώ η γαλακτόζη μετατρέπεται αρχικά σε γλυκόζη και στη συνέχεια υφίσταται διάφορες μεταβολές μέσω της μεταβολικής οδού Meyerhof-Emden. Το Διάγραμμα 5 παρουσιάζει τη διάσπαση της λακτόζης προς γλυκόζη, γαλακτόζη και την παραγωγή γαλακτικού οξέος.



Διάγραμμα 5. Διάσπαση λακτόζης και παραγωγή γλυκόζης και γαλακτόζης

Η παραγωγή γαλακτικού οξέος μπορεί να παρατηρηθεί και κατά τη διάρκεια αποθήκευσης του γιαουρτιού σε χαμηλές θερμοκρασίες (post-acidification). Το φαινόμενο αυτό μπορεί να οδηγήσει σε παραγωγή γαλακτικού οξέος πάνω από τα επιθυμητά όρια (0,7-1,2%) και περαιτέρω πτώση της τιμής pH, γεγονός το οποίο επηρεάζει άμεσα τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του προϊόντος. Η δραστηριότητα αυτή εξαρτάται άμεσα από τα στελέχη που θα χρησιμοποιηθούν και ειδικότερα του *L. bulgaricus* (Accolas et al, 1977, Bouillanne και Desmazeaud, 1980, 1981).

1.8.2 Πρωτεόλυση και λιπόλυση

Κατά την παραγωγή γιαουρτιού η πρωτεολυτική δραστηριότητα των γαλακτικών βακτηρίων δε φαίνεται να επηρεάζει τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Ωστόσο, θεωρείται σημαντική για την ανάπτυξη τους καθώς μέσω αυτής προμηθεύονται κάποια απαραίτητα αμινοξέα που δεν μπορούν να συνθέσουν (Zourari et al, 1992). Η πρωτεολυτική δράση του *L. bulgaricus* συμβάλλει στην ανάπτυξη του *S. thermophilus*. Το μεγαλύτερο ποσοστό πρωτεόλυσης υφίστανται οι καζεΐνες ωστόσο, και οι πρωτεΐνες του ορού γάλακτος πρωτεολύονται σε μικρότερο βαθμό (Shishata και Shah, 2000).

Από την άλλη μεριά, το ποσοστό της λιπόλυσης στο γιαούρτι είναι σχετικά μικρό και έτσι η συμβολή της στο άρωμα και τη γεύση του πηγματος είναι ανεπαίσθητη (Zourari et al, 1992). Τα γαλακτικά βακτήρια έχουν μικρή λιπολυτική δράση και ειδικότερα από τα γαλακτικά βακτήρια του γιαουρτιού, ο *L. bulgaricus* είναι πιο λιπολυτικός από τον *S. thermophilus*. Η λιπόλυση προκαλείται από τις μικροβιακές λιπάσες και όχι από την λιπάση του γάλακτος, αφού η τελευταία έχει αδρανοποιηθεί κατά τη θερμική επεξεργασία.

1.8.3 Παραγωγή αρώματος

Το άρωμα και η γεύση του γιαουρτιού (flavor) προέρχονται κυρίως από το σχηματισμό του γαλακτικού οξέος και διαφόρων ενώσεων όπως η ακεταλδεΐδη, το διακετύλιο και η ακετοΐνη,

ενώσεις που παράγονται από τη δράση των γαλακτικών βακτηρίων. Έχουν εντοπιστεί, επίσης, κάποια πτητικά λιπαρά οξέα (Turcic et al, 1969, Dumont και Adda, 1973), καθώς και κάποιες ενώσεις που προέρχονται από τη θερμική αποικοδόμηση των λιπιδίων, της λακτόζης και των πρωτεϊνών κατά τη θερμική επεξεργασία που υφίσταται το γάλα πριν την παραγωγή του γιαουρτιού, όπως αλδεΐδες, κετόνες, αλκοόλες, και ενώσεις που περιέχουν θείο (Tamime και Deeth, 1980).

Η ακεταλδεΐδη είναι η κύρια ένωση που προσδίδει το χαρακτηριστικό άρωμα στο γιαούρτι (Pette και Lolkema, 1950c, Dumont και Adda, 1973, Law, 1981) και προέρχεται κατά κύριο λόγο από το μεταβολισμό της λακτόζης και λιγότερο από το μεταβολισμό των αμινοξέων (Tamime και Deeth, 1980).



Εικόνα 7. Ακεταλδεΐδη και Διακετύλιο

Το διακετύλιο συμβάλλει στην εκλεπτισμένη, γεμάτη γεύση του γιαουρτιού (Groux, 1973a). Προέρχεται κυρίως από το μεταβολισμό του κιτρικού οξέος και λιγότερο από το μεταβολισμό της λακτόζης, όπως και η ακετοΐνη. Το διακετύλιο όπως και η ακετοΐνη βρίσκονται σε ελάχιστες ποσότητες στο γιαούρτι (5 ppm) (Rasic και Kurmann, 1978).

1.8.4 Παραγωγή εξωπολυσακχαριτών

Οι εξωπολυσακχαρίτες παράγονται από ορισμένα γαλακτικά βακτήρια. Πρόκειται για ετεροπολυσακχαρίτες που αποτελούνται από διαφορετικά μονομερή. Στα μονομερή τους συναντάται κυρίως η γλυκόζη, η γαλακτόζη και σπανιότερα η ραμνόζη (De Vuyst και Degeest, 1999). Οι πολυσακχαρίτες αυτοί προσδίδουν συνεκτικότητα στο γιαούρτι. Επιπλέον, προκαλούν αύξηση του ιξώδους, μείωση της συναίρεσης, βελτίωση της δομής του πηγματος, καθώς και των οργανοληπτικών του χαρακτηριστικών. Οι παράγοντες που επηρεάζουν την παραγωγή εξωπολυσακχαριτών είναι η θερμοκρασία και ο χρόνος επώασης, η σύσταση του υποστρώματος και τα στελέχη της καλλιέργειας εκκίνησης (Hassan et al., 2003, Madiedo et al., 2005).

1.8.5 Παραγωγή βιταμινών

Τα γαλακτικά βακτήρια ειδικά κατά τη λογαριθμική φάση ανάπτυξης τους, χρειάζονται βιταμίνες, τις οποίες εάν δεν μπορούν να συνθέσουν, τις προμηθεύονται από το γάλα. Επομένως, η δράση των γαλακτικών βακτηρίων μειώνει το ποσοστό κάποιων βιταμινών και αυξάνει το ποσοστό κάποιων άλλων. Οι βιταμίνες που αυξάνονται λόγω της βιοσύνθεσης κατά τη ζύμωση του γάλακτος είναι το φολικό οξύ, η νιασίνη και η B12. Θα πρέπει, βέβαια, να σημειωθεί ότι οι πλέον θερμοευαίσθητες βιταμίνες (C, B1, B2, B6 και B12) μειώνονται σημαντικά με την εφαρμογή της θερμικής επεξεργασίας που προηγείται της επώασης.

1.9 Καινοτομίες στην παραγωγή γιαουρτιού

Οι ελεύθερες ρίζες παράγονται συνεχώς στο σώμα μας ως παραπροϊόντα πολλών μεταβολικών διεργασιών. Υπό κανονικές συνθήκες, το σώμα έχει το δικό του αμυντικό σύστημα που αποτελείται από πολλά ένζυμα όπως καταλάση, δισμουτάση υπεροξειδίου και υπεροξειδάση γλουταθειόνης για

την αποτοξίνωση αυτών των ελεύθερων ριζών. Διατροφή με αντιοξειδωτικά όπως οι βιταμίνες C, E και A διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στην καταπολέμηση αυτών των ελεύθερων ριζών.

Ωστόσο, όταν υπάρχει υπερπαραγωγή από αυτές τις ελεύθερες ρίζες οδηγούμαστε σε μια ανισορροπία μεταξύ δημιουργίας και εξάλειψης, κατάσταση που είναι γνωστή ως οξειδωτικό στρες. Αυτό με τη σειρά του έχει ως αποτέλεσμα οξειδωτική βλάβη στα κυτταρικά συστατικά και τα βιομόρια, έτσι οδηγούμαστε στην εμφάνιση πολλών εκφυλιστικών ασθενειών όπως οι καρδιαγγειακές παθήσεις, ο διαβήτης, ο καρκίνος και τα νευροεκφυλιστικά.

Δεδομένου ότι τα αντιοξειδωτικά είναι ζωτικής σημασίας για το ρόλο τους να καθυστερούν ή να εμποδίζουν οξείδωση κυτταρικών συστατικών, η επαρκής πρόσληψη αυτών των ενώσεων στη διατροφή είναι επωφελής για την προστασία του κυττάρου. Ωστόσο, η χρήση συνθετικών αντιοξειδωτικών όπως βουτυλιωμένο υδροξυτολουόλιο (BHT) και βουτυλιωμένη υδροξυανισόλη (BHA) είναι ακόμη υπό αξιολόγηση σε πολλές χώρες. Από αυτή την άποψη, εκχυλίσματα πολλών φυτών ή βότανων πλούσια σε φαινολικές ενώσεις χρησιμοποιούνται όλο και περισσότερο είτε ως πρόσθετο σε τρόφιμα είτε για άμεση κατανάλωση ως φυσική πηγή αντιοξειδωτικών.

Το γιαούρτι είναι ένα προϊόν γάλακτος που λαμβάνεται από τη ζύμωση που διεξάγεται με τη συνδυασμένη δράση δύο γαλακτικών βακτηρίων, *Streptococcus thermophilus* και *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*. Το γιαούρτι καταναλώνεται παραδοσιακά ως ένα υγιεινό τρόφιμο λόγω των διατροφικών ιδιοτήτων του, και τα οφέλη για την υγεία μπορεί να ενισχυθούν περαιτέρω με προσθήκη βιοδραστικών ουσιών.

Τα αντιοξειδωτικά που υπάρχουν στα φυτά και τα μανιτάρια είναι εξαιρετικά φυσικά πρόσθετα και έχουν παρουσιαστεί ως εναλλακτικές λύσεις στα συνθετικά πρόσθετα. Τα φυτά παράγουν τεράστιες ποσότητες δευτερογενών μεταβολιτών προκειμένου να προσαρμοστούν καλύτερα στις

περιβαλλοντικές συνθήκες, να προστατευθούν από μικροβιακές επιθέσεις και να αντισταθούν τόσο στις βιοτικές όσο και στις αβιοτικές πιέσεις.

Από αυτές τις ενώσεις, οι φαινολικές, καθώς επίσης και οι βιταμίνες και τα καροτενοειδή λαμβάνουν σημαντική προσοχή τα τελευταία χρόνια λόγω της αντιοξειδωτικής, της αντιφλεγμονώδους, και της αντι-πηκτικής δύναμης που έχουν και συσχετίζεται με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών παθήσεων και ανάπτυξης καρκίνου.

Τα μανιτάρια θεωρούνταν παλαιότερα ως τρόφιμα χαμηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά και μικρής διατροφικής αξίας. Ωστόσο, κατά την τελευταία δεκαετία, η έρευνα εστιάστηκε στους ρόλους των μανιταριών στην πρόληψη / θεραπεία χρόνιων ασθενειών. Τα μανιτάρια είναι μια εξαιρετική πηγή θρεπτικών συστατικών, όπως η ριβοφλαβίνη και άλλες βιταμίνες Β, το σελήνιο, ο χαλκός και το κάλιο και είναι επίσης πλούσια σε διαιτητικές ίνες, χιτίνη και β-γλυκάνες (βασικά συστατικά του κυτταρικού τοιχώματος των μυκήτων).

Έχει επίσης αποδειχθεί ότι τα μανιτάρια μπορούν να είναι μια πλούσια πηγή βιταμίνης D2 όταν εκτίθενται σε υπεριώδες φως. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα μανιτάρια που περιέχουν υψηλά επίπεδα δευτερογενών μεταβολιτών, συμπεριλαμβανομένων των διαφόρων φαινολικών ενώσεων, των πολυκετιδίων, των τερπενίων και των στεροειδών, τα οποία έχουν αποδειχθεί ότι λειτουργούν ως εξαιρετικά αντιοξειδωτικά. Τα μανιτάρια ανακαλύφθηκαν επίσης πρόσφατα ως η κύρια πηγή εργοθειονίνης(ERG), μια φυσικά απαντώμενης θειόλης που περιέχει αμινοξύ, γνωστή για τις αντιοξειδωτικές της ιδιότητες. Η ERG είναι υδατοδιαλυτή και ασκεί αντιοξειδωτικές ιδιότητες μέσω πολλών μηχανισμών, εκ των οποίων ένας είναι η ισχυρή της ικανότητα να καθαρίζει τις ελεύθερες ρίζες.

Πρώτα ταυτοποιήθηκε το 1909 κατά την έρευνα του μύκητα *Claviceps purpurea*, η ERGO παράγεται μόνο από μύκητες και μερικά κυανοβακτήρια και μυκοβακτηρίδια από ιστιδίνη με κυστεΐνη και μεθειονίνη παρέχοντας τις ομάδες θείου και μεθυλίου αντίστοιχα. Η ERGO χαρακτηρίζεται από την ύπαρξη κυρίως στη μορφή θειόνης, αντί της θειόλης, σε υδατικό διάλυμα και σε φυσιολογικό pH. Σε ορισμένα είδη μανιταριών η περιεκτικότητά τους σε ERG κυμαίνεται από 0.1-1 mg / g και 0.4-2.0 mg / g ξηρού βάρους.

1.10 Σκοπός

Ο εμπλουτισμός γαλακτοκομικών προϊόντων με θρεπτικά συστατικά αποτελεί μια νέα επιθυμία των καταναλωτών. Τα μανιτάρια είναι πλούσια σε φαινολικά συστατικά. Σε αυτή την ερευνητική μελέτη θα διερευνήσουμε την επίδραση εκχυλισμάτων μανιταριών στην ζύμωση του γάλακτος και την επίδραση τους στα δείγματα γιαουρτιού που προκύπτουν από αυτή. Στην παρούσα διατριβή χρησιμοποιήθηκαν εκχυλίσματα από μανιτάρια *Porcini* και *Pleurotus* σε συγκεντρώσεις 1% w/w, 1.5% w/w & 2% w/w. Τα ποιοτικά χαρακτηριστικά που μελετήθηκαν ήταν χρώμα, δομή, συναίρεση, οξύτητα και ολικά φαινολικά.

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Υλικά-Αντιδραστήρια

- Το πλήρες αγελαδινό γάλα που χρησιμοποιήθηκε ήταν εμπορικό προϊόν που αγοράστηκε από την αγορά του βόλου. Για την πήξη του γιαουρτιού χρησιμοποιήθηκε πυτιά από πρόβειο γιαούρτι που επίσης αγοράστηκε από την αγορά.
- Για τον προσδιορισμό της οξύτητας του γιαουρτιού χρησιμοποιήθηκε NaOH(s) της Merck και φαινολοφθαλείνη(s) της Sigma Aldrich.
- Για την μέτρηση των ολικών φαινολικών χρησιμοποιήθηκε αντιδραστήριο Folin, Na_2CO_3 και γαλλικό οξύ της εταιρίας Sigma Aldrich.

- Για τον προσδιορισμό των πρωτεϊνών χρησιμοποιήθηκε Αντιδραστήριο Bradford της Serva καθώς και διάλυμα Αλβουμίνης >96% της εταιρίας Sigma Aldrich.

2.2 Όργανα- Συσκευές

- Η εκτίμηση των παραμέτρων υφής πραγματοποιήθηκε με χρήση Texture Analyzer της Admet.
- Η μέτρηση της συναίρεσης έγινε με την βοήθεια μικροφυγοκέντρου Kubota 3500.
- Το χρώμα των δειγμάτων γιαουρτιού μετρήθηκε με φορητό χρωματόμετρο Miniscan XE Plus.
- Η αποτίμηση των ολικών φαινολικών και των πρωτεϊνών έγινε με φασματοφωτόμετρο UV-VIS Optizen pop.

2.3 Δειγματοληψία και αναλύσεις

Για τις ανάγκες του πειράματος παρασκευάστηκαν οι ακόλουθοι τύποι γιαουρτιού.

- Γιαούρτι από νωπό πλήρες αγελαδινό γάλα (Control)

- Γιαούρτια με την προσθήκη εκχυλίσματος μανιταριού ποικιλίας πλευρώτους σε διάφορες συγκεντρώσεις (PI 1% w/w), (PI 1.5%w/w) και (PI 2%w/w)
- Γιαούρτια με εκχύλισμα της ποικιλίας Porcini (Por 1%w/w), (Por 1.5%w/w) και (Por 2%w/w)

Όλα τα παραπάνω δείγματα γιαουρτιού παρασκευάστηκαν με την μέθοδο set type yoghurt και αποθηκεύτηκαν σε πλαστικούς περιέκτες σε θερμοκρασία 5 °C. Καθ' όλη την διάρκεια της πήξης σε τακτά χρονικά διαστήματα γινόταν μέτρηση του pH και της οξύτητας.

Οι αναλύσεις των δειγμάτων πραγματοποιήθηκαν την 1^η , 5^η , 8^η ,12^η και 15^η μέρα. Οι μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν ήταν:

- μέτρηση οξύτητας
- προσδιορισμός συναίρεσης
- μέτρηση ολικών φαινολικών
- μέτρηση χρώματος
- μέτρηση δομής

Όλα τα πειράματα επαναλήφθηκαν 3 φορές. Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με το πρόγραμμα SPSS.

2.4 Παρασκευή Γιαουρτιού

Για την παρασκευή του γιαουρτιού τόσο του control όσο και των δειγμάτων με εκχυλίσματα μανιταριών ακολουθήθηκε η διαδικασία που περιγράφεται παρακάτω.

Αγελαδινό γάλα (λίπος 3,5%)



Θέρμανση γάλακτος στους 90oC για 15 min



Εμβολιασμός με 1 ml καλλιέργειας



Διανομή σε κύπελλα



Ψύξη στους 50 οC



Επώαση στους 42οC για 4 h



Παραμονή στους 20οC για 30 min

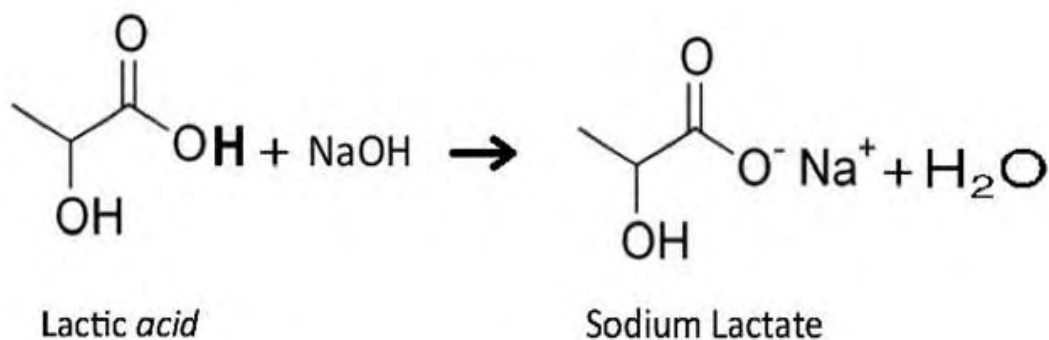


Ψύξη και διατήρηση στους 4οC για 15 ημέρες

**Στα δείγματα που περιείχαν τα εκχυλίσματα μανιταριών ακολουθήθηκε η ίδια διαδικασία όμως το εκχύλισμα του μανιταριού προστέθηκε πριν την προσθήκη της καλλιέργειας.*

2.5 Μέτρηση Οξύτητας

Η οξύτητα οφείλεται σε όξινα φωσφορικά άλατα και στο γαλακτικό οξύ. Βακτηριακή δραστηριότητα έχει ως αποτέλεσμα τη ζύμωση της λακτόζης προς γαλακτικό οξύ, το οποίο κροκιδώνει τις πρωτεΐνες. Η οξύτητα προσδιορίζεται με ογκομέτρηση ορισμένης ποσότητας δείγματος, παρουσία δείκτη φαινολοφθαλεΐνης και βάσης (NaOH) μέχρι την εξουδετέρωση του γαλακτικού οξέος.



10 ml milk + phenolphthalein



Titrate with 0.1N NaOH

1 ml 0.1 N NaOH \approx 0.009 g of lactic acid

Διάγραμμα 6. Αντίδραση προσδιορισμού ογκομετρικής οξύτητας

2.6 Αποτίμηση Ολικών Φαινολικών

Σύμφωνα με την μέθοδο folin-ciocalteau. Η μέθοδος αυτή βασίζεται στην οξείδωση των αντιοξειδωτικών σε αλκαλικό περιβάλλον με μίγμα φωσφοβολφραμικού και φωσφομολυβδαινικού οξέος. Τα οξέα ανάγονται σε μίγμα κυανών οξειδίων του βολφραμίου (W8O23) και του μολυβδαινίου (Mo8O23). Η ένταση του κυανού χρώματος, με μέγιστο στα 700-760 nm, είναι ανάλογη των φαινολικών συστατικών. Η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών του δείγματος εκφράζεται σε mg/L γαλλικού οξέος προκύπτει από πρότυπη καμπύλη γαλλικού οξέος γνωστών συγκεντρώσεων.



Εικόνα 8. Οξείδωση των φαινολικών συστατικών που παράγουν χαρακτηριστικό μπλε χρώμα.

2.7 Μέτρηση Δομής

Οι μετρήσεις δομής των δειγμάτων έγιναν με τον αναλυτή δομής Controlled Electronic Tensile Tester TC1000. Ο αναλυτής διαθέτει συνδεδεμένο υπολογιστή όπου καταγράφονται οι τιμές της μέγιστης δύναμης σε Newton (N) συναρτήση του χρόνου και του ποσοστού παραμόρφωσης. Τα δείγματα συντηρούνταν στους 5°C και ο έλεγχος έγινε σε θερμοκρασία περιβάλλοντος 20°C. Η ταχύτητα καθόδου του εμβόλου ήταν 100mm/s-1 και η διάμετρός του 1,8 cm. Η παραμόρφωση

έφτανε το 75% μέγιστο. Το κάθε δείγμα μετρήθηκε τρεις φορές. Ο περιέκτης διατομή 4 cm και ύψος 5 cm.

2.8 Προσδιορισμός Συναίρεσης

Συναίρεση είναι η απώλεια νερού από ένα γαλάκτωμα, που δίνει πήγμα. Η συναίρεση προσδιορίστηκε με φυγοκέντρηση των δειγμάτων σε προζυγισμένους σωλήνες και εκφράστηκε σε ως % w/w ποσοστό του υπολείμματος μετά την απομάκρυνση του ορού.

2.9 Μέτρηση Χρώματος

Οι μετρήσεις χρώματος των δειγμάτων έγιναν με το χρωματόμετρο Miniscan XE Plus, στους 5 °C. Οι μετρήσεις έγιναν τρεις φορές για κάθε δείγμα γιαουρτιού και μετρήθηκαν οι παρακάτω συντελεστές.

L*: φωτεινότητα που κυμαίνεται από 2 (μαύρο) έως 100 (λευκό)

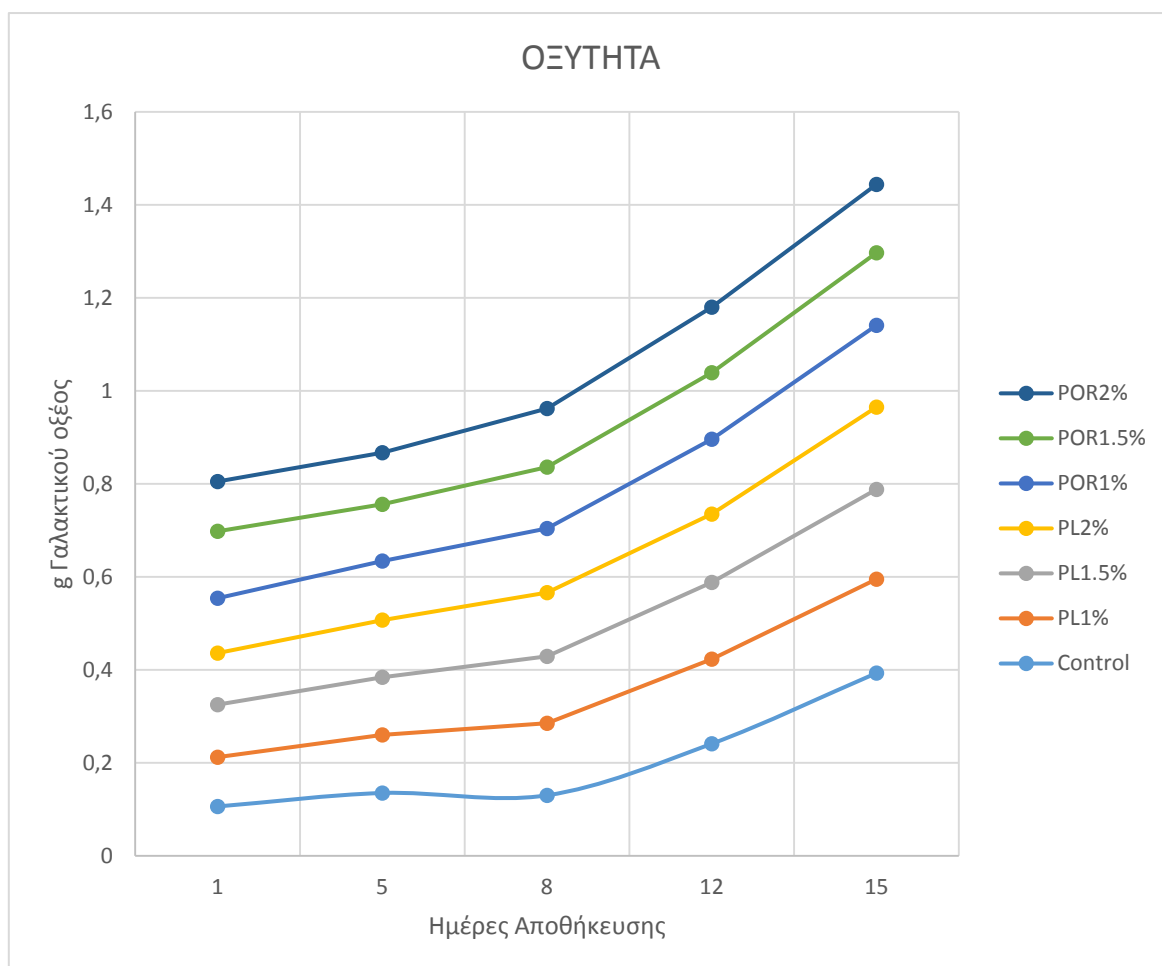
a*: διαβάθμιση χρώματος από -120* (πράσινο) έως +120* (κόκκινο)

b*: διαβάθμιση χρώματος από -120* (μπλε) έως +120* (κίτρινο)

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 οξύτητα

Οι μετρήσεις οξύτητας έγιναν την 1^η, 5^η, 8^η, 12^η και 15^η ημέρα και στα τρία δείγματα γιαουρτιού εις τριπλούν και από την μέση τιμή των μετρήσεων λήφθηκε το παρακάτω διάγραμμα.



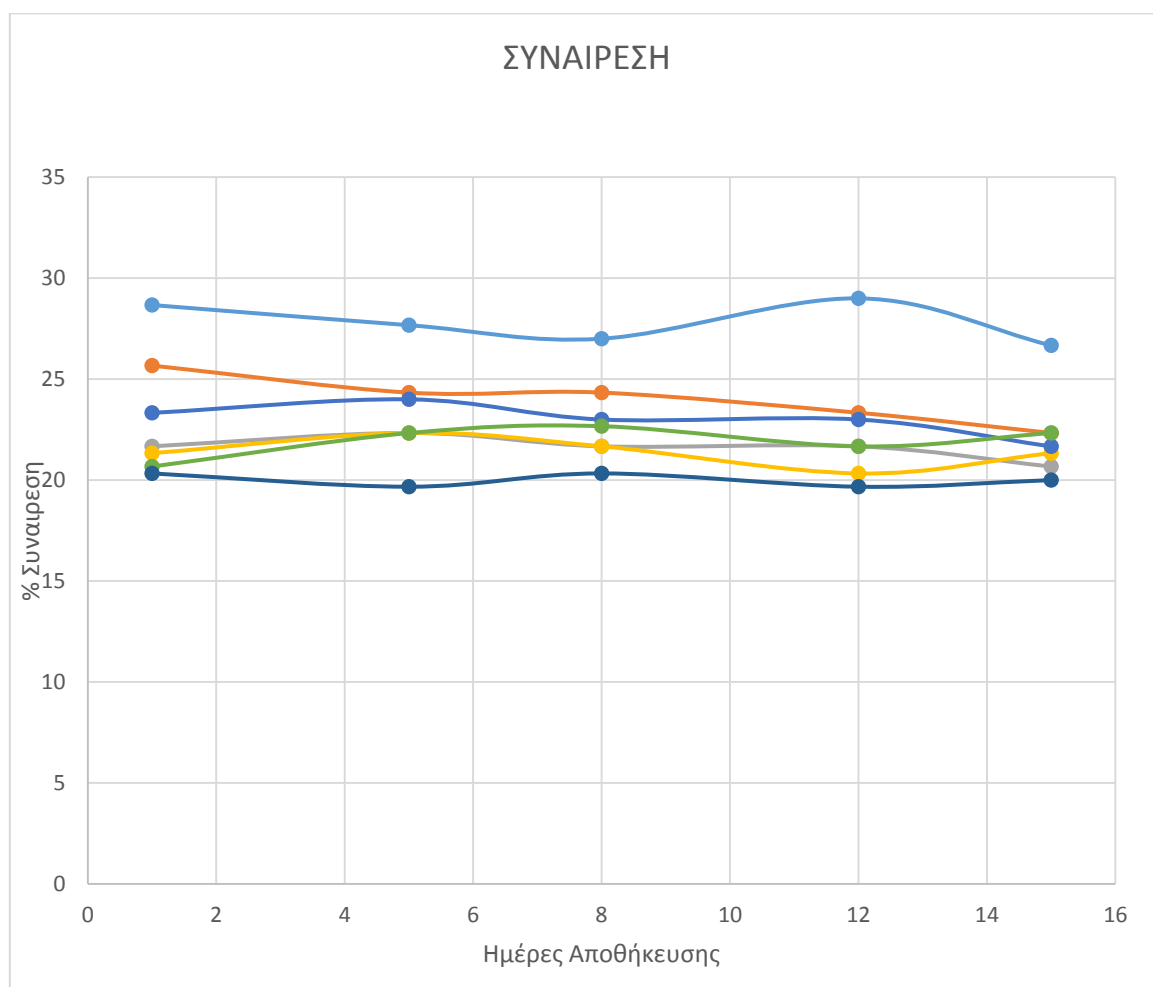
Διάγραμμα 3.1 Οξύτητα δειγμάτων συναρτήση των ημερών αποθήκευσης

Από το παραπάνω διάγραμμα 3.1 που απεικονίζει την ογκομετρούμενη οξύτητα του γιαουρτιού εκφρασμένη ως mg/L γαλακτικού οξέος κατά την διάρκεια της αποθήκευσής του στους 5 °C βλέπουμε ότι το control δείγμα ξεκινά από την μικρότερη τιμή οξύτητας εκφρασμένη σε g γαλακτικού οξέος και αυξάνεται σταδιακά με την πάροδο των ημερών. Στην συνέχεια έχουμε το γιαούρτι με την προσθήκη εκχυλίσματος Pleurotus 1% που όπως παρατηρούμε όλες οι τιμές της οξύτητας του κατά την αποθήκευση είναι πιο αυξημένες από τις αντίστοιχες του control δείγματος. Στην συνέχεια και με σειρά αυξανόμενης οξύτητας ακολουθούν τα δείγματα PL 1.5% w/w, PL 2% w/w, POR 1% w/w, POR 1.5% w/w και POR 2% w/w. Όλα τα δείγματα έχουν μια ομαλή αύξηση

της οξύτητας τους ως την 8^η ημέρα και μετά παρατηρείται μια πιο απότομη αύξηση της οξύτητας μέχρι την 15^η ημέρα.

3.2 Συναίρεση

Από τον προσδιορισμό της συναίρεσης για κάθε δείγμα έχουμε το παρακάτω διάγραμμα που απεικονίζει την συναίρεση σε συνάρτηση με τον χρόνο αποθήκευσης.



Διάγραμμα 3.2 % w/w συναίρεση σε συνάρτηση με τις ημέρες αποθήκευσης.

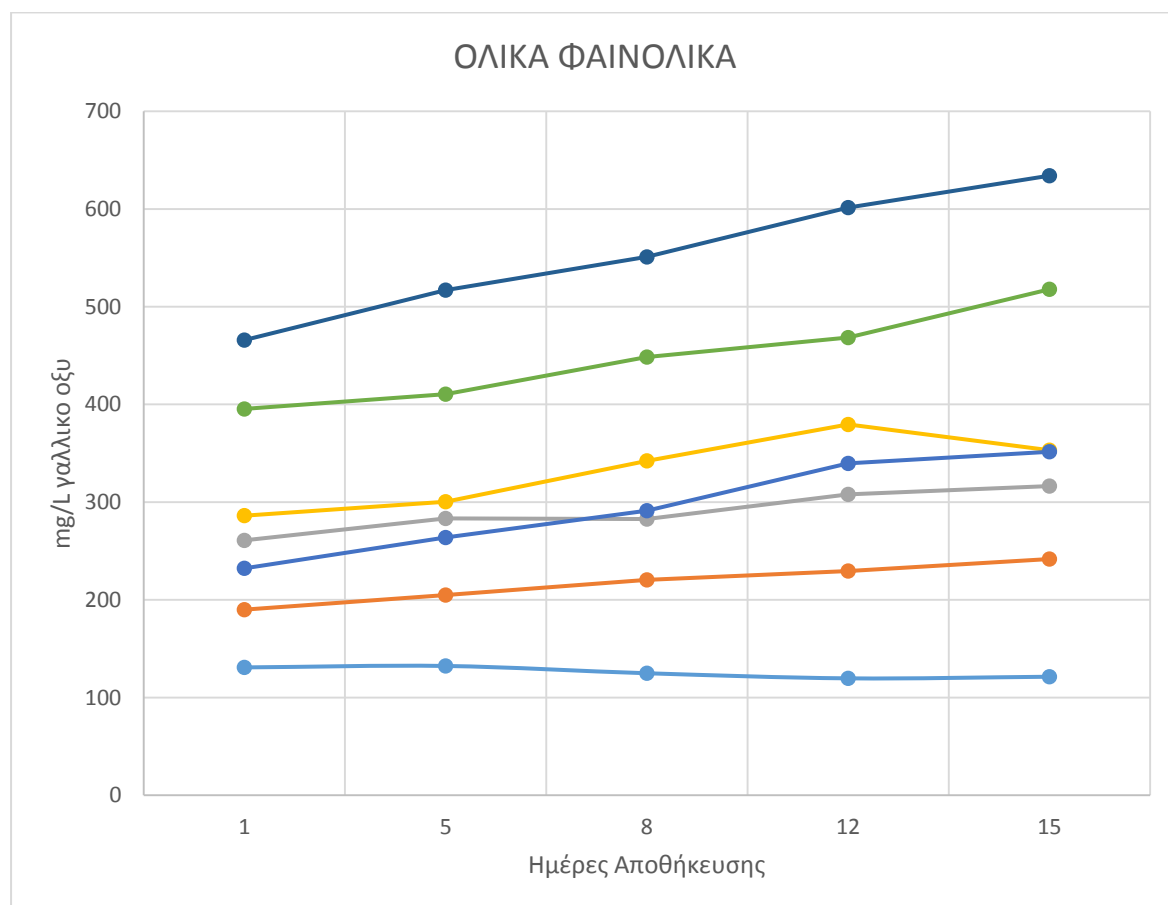
Στο παραπάνω διάγραμμα 3.2 έχουμε την συναίρεση εκφρασμένη ως % w/w ποσοστό σε συνάρτηση με τις ημέρες αποθήκευσης του γιαουρτιού. Από την γραφική παράσταση της συναίρεσης βλέπουμε ότι πιο πάνω στον άξονα βρίσκεται η γραφική του control γιαουρτιού. Εχουμε μια ελαφρά μείωση κατά την 5^η ημέρα αποθήκευσης του που συνεχίζεται και την όγδοη μέρα. Κατά την δωδέκατη μέρα

έχουμε και πάλι αύξηση της οξύτητας του και καταλήγουμε την 15^η ημέρα των δοκιμών με μία μείωση αντίστοιχη της 8^{ης} μέρας. Ακολουθεί το γιαούρτι PL1% w/w με συναίρεση μικρότερη από το control καθ' όλη την διάρκεια της αποθήκευσης του. Στο συγκεκριμένο δείγμα έχουμε μείωση της συναίρεσης του την 5^η μέρα και μια περίπου σταθερή τιμή την 8^η, στην συνέχεια η συναίρεση μειώνεται περαιτέρω και την 12^η και την 15^η ημέρα. Στο control παρατηρούμε ότι από την 12^η μέρα αυξήθηκε η συναίρεση σε σχέση με την 8^η και την 12^η μέρα ενώ παρατηρήθηκε μείωση την 15^η μέρα.

Το δείγμα PL 1.5% αυξάνεται κατά την 5^η ημέρα αποθήκευσης και η τιμή του πλησιάζει την συναίρεση του PL 1%. Έπειτα μειώνεται στην 8^η μέρα και την 12^η μέρα παραμένει σχεδόν σταθερή και στο τέλος έχει μια αρκετά σημαντική μείωση. Το δείγμα PL 2% καθώς και το δείγμα POR 1% έχουν παρόμοιες τιμές κατά την πρώτη μέρα και ακολουθούν την ίδια αύξηση την 5^η μέρα και μείωση την 8^η. Κατά την 12^η μέρα η τιμή του PL2% αυξάνεται ενώ του POR 2% μειώνεται. Την 15^η μέρα συμβαίνει το αντίθετο με μικρότερες μεταξύ τους διαφορές. Το POR 1.5% έχει αύξηση τόσο την 5^η όσο και την 8^η μέρα αποθήκευσης του, με τιμές που την Πέμπτη μέρα συμπίπτουν με τα δείγματα PL 1%, POR 1% και POR 1.5% και την 8^η με το δείγμα PL 1.5%. Στη συνέχεια κατά την 12^η μέρα μειώνεται και η τιμή του συμπίπτει με το δείγμα PL 2% και την 15^η μέρα αυξάνεται πάλι. Τέλος το δείγμα POR 2% έχει μια πιο σταθερή πορεία στις τιμές της συναίρεσης καθ' όλη την διάρκεια της αποθήκευσης. Οι τιμές του δεν συμπίπτουν με κανένα άλλο δείγμα.

3.3 Ολικά φαινολικά

Με την μέθοδο folin- ciocalteau για την μέτρηση των ολικών φαινολικών έχουμε το διάγραμμα των τιμών σε mg/ L γαλλικού οξέος σε συνάρτηση με της ημέρες αποθήκευσης στους 5 °C



Διάγραμμα 3.3 Συγκέντρωση ολικών φαινολικών σε συνάρτηση με της ημέρες αποθήκευσης

Από το παραπάνω διάγραμμα που απεικονίζει την συγκέντρωση των ολικών φαινολικών εκφρασμένα ως γαλλικό οξύ σε σχέση με τον χρόνο αποθήκευσης του γιαουρτιού βλέπουμε ότι το control δείγμα είναι αυτό που παρουσιάζει την μικρότερη συγκέντρωση φαινολικών και η συγκέντρωσή του παραμένει σταθερή στις περισσότερες μέρες ή παρουσιάζει μια ελαφρά μείωση. Με αρκετά πιο μεγάλη συγκέντρωση φαινολικών ακολουθεί το δείγμα PL 1% w/w με ελαφρώς πιο ανοδική πορεία σε σχέση με τον χρόνο. Μια αύξηση στο τέλος της 15^{ης} μέρας που φτάνει τα 50 mg/L.

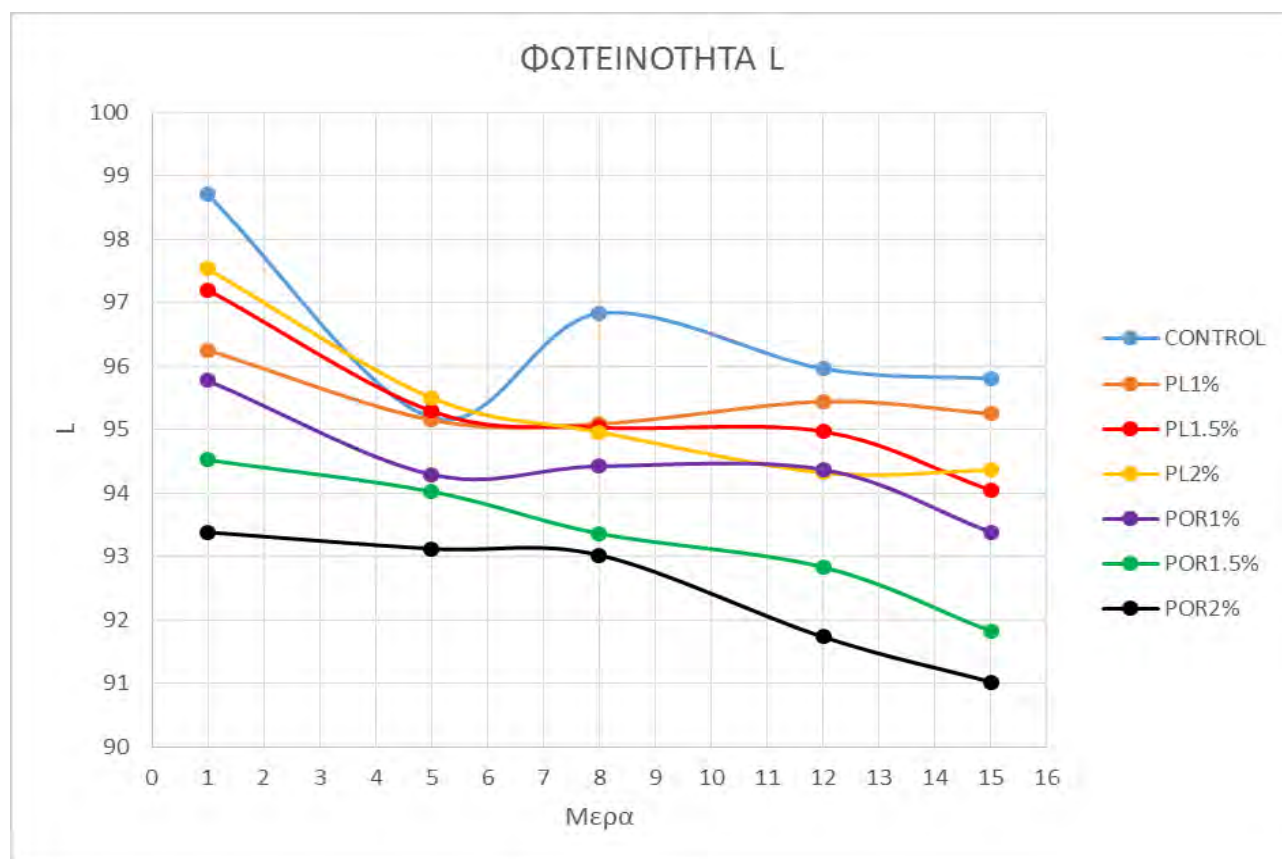
Έπειτα το αντίστοιχο δείγμα με συγκέντρωση εκχυλίσματος 1,5% w/w που παρουσιάζει και αυτό αύξηση στην συγκέντρωση που ξεπερνά ελαφρώς τις 50 μονάδες. Το δείγμα PL 2% w/w κατά τις

πρώτες δύο μέρες των μετρήσεων(1^η και 5^η μέρα) παρουσιάζει αύξηση σε σχέση με τα προηγούμενα δείγματα όμως κατά την 8^η μέρα παρατηρούμε μια ελαφρά μείωση που φτάνει στα επίπεδα της συγκέντρωσης του δείγματος PL 1.5% w/w. Κατά την 12^η και 15^η μέρα αυξάνεται ελαφρώς οι συγκεντρώσεις του όμως παραμένουν αρκετά πιο κάτω από αυτές του PL 1.5% w/w.

Όσον αφορά τα δείγματα με εκχυλίσματα Porcini βλέπουμε ότι το POR 1% έχει αυξημένη συγκέντρωση ακόμη και από το δείγμα PL 2% που αποτελεί δείγμα με αυξημένη συγκέντρωση εκχυλίσματος μανιταριών στην σύστασή του, το POR 1% έχει αύξηση της συγκέντρωσης καθ' όλη την περίοδο αποθήκευσης του εκτός από την 15^η μέρα που παρατηρούμε μείωση και φτάνει την συγκέντρωση του PL 1.5%. Με την μεγαλύτερη διαφορά μέχρι τώρα της τάξης των 100 mg/L έχουμε το POR 1.5% που παρουσιάζει αύξηση σε όλη την διάρκεια της αποθήκευσης του και διατηρεί μάλιστα αυτή την διαφορά που άλλοτε ξεπερνάει και της 100 μονάδες σε σχέση με το πιο φτωχό σε εκχύλισμα δείγμα. Τέλος με μεγαλύτερες συγκεντρώσεις φαινολικών έχουμε το πιο πλούσιο σε εκχύλισμα Porcini δείγμα που φτάνει σε αρκετά υψηλές συγκεντρώσεις σε σχέση με το συμβατικό γιαούρτι που οι διαφορές τους κυμαίνονται από 350 έως και 500 mg/L.

3.4 Χρώμα

Από τις μετρήσεις χρώματος των δειγμάτων έχουμε τα διαγράμματα των παραμέτρων L, a και b σε σχέση με τις ημέρες της αποθήκευσής τους.

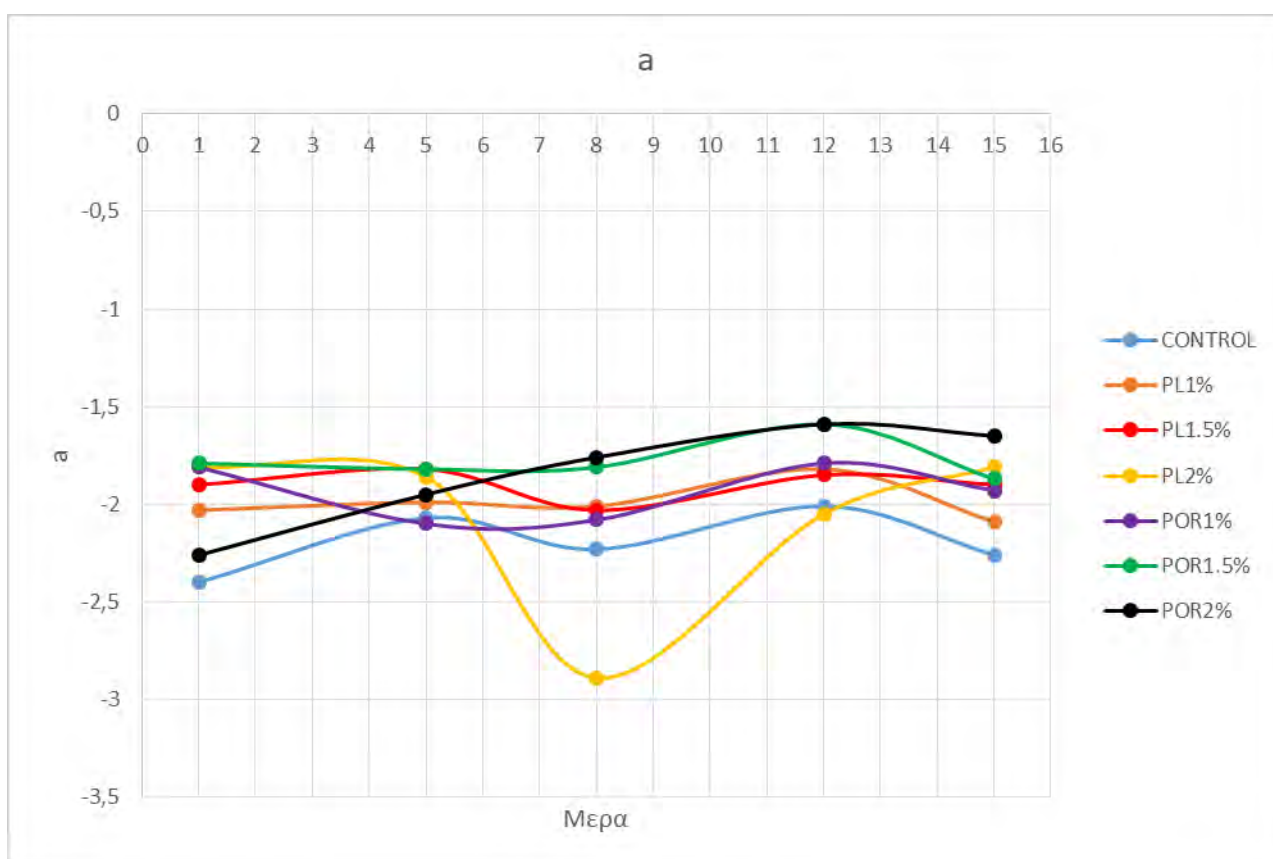


Διάγραμμα 3.4 Φωτεινότητα (L) σε συνάρτηση με το χρόνο

Στο συγκεκριμένο διάγραμμα έχουμε την παράμετρο L(φωτεινότητα) σε συνάρτηση με τις ημέρες της συντήρησης του γιαουρτιού στους 5 °C. Όσο οι τιμές πλησιάζουν προς το μηδέν τόσο πιο σκοτεινό είναι το δείγμα ενώ όσες πλησιάζουν στο εκατό τόσο πιο φωτεινό είναι. Όσον' αφορά τις μετρήσεις χρώματος, συγκεκριμένα στην φωτεινότητα έχουμε το control δείγμα με την υψηλότερη φωτεινότητα με μια μεγάλη πτώση την 5^η μέρα και έπειτα μια πιο ομαλή πορεία μέχρι το τέλος των αναλύσεων. Στη συνέχεια έχουμε το δείγμα PL 2% με λίγο μικρότερη φωτεινότητα που ακολουθεί μια πιο ομαλή μεν αλλά καθοδική πορεία. Το δείγμα PL 1.5% βρίσκεται στα ίδια σχεδόν επίπεδα φωτεινότητας.

Το δείγμα PL 1% κατά την πρώτη μέρα αναλύσεων έχει μικρότερη φωτεινότητα από τα υπόλοιπα δείγματα όμως την 5^η μέρα αναλύσεων έχουμε τιμή που συμπίπτει με τα δείγματα PL 2%, PL 1.5%

και control. Την 8^η μέρα έχουμε την ίδια ακριβώς εικόνα με εξαίρεση το control δείγμα και την 12^η και 15^η μέρα έχουμε τιμές φωτεινότητας που ξεπερνούν τις αντίστοιχες των άλλων δειγμάτων. Στα δείγματα με εκχύλισμα roscini έχουμε πιο πάνω στον άξονα, με υψηλότερη φωτεινότητα, το δείγμα POR 1% έπειτα το δείγμα POR 1.5% που κατά την 5^η μέρα συμπίπτει η τιμή του με το προηγούμενο δείγμα και τελευταίο με την μικρότερη φωτεινότητα το δείγμα POR 2%.

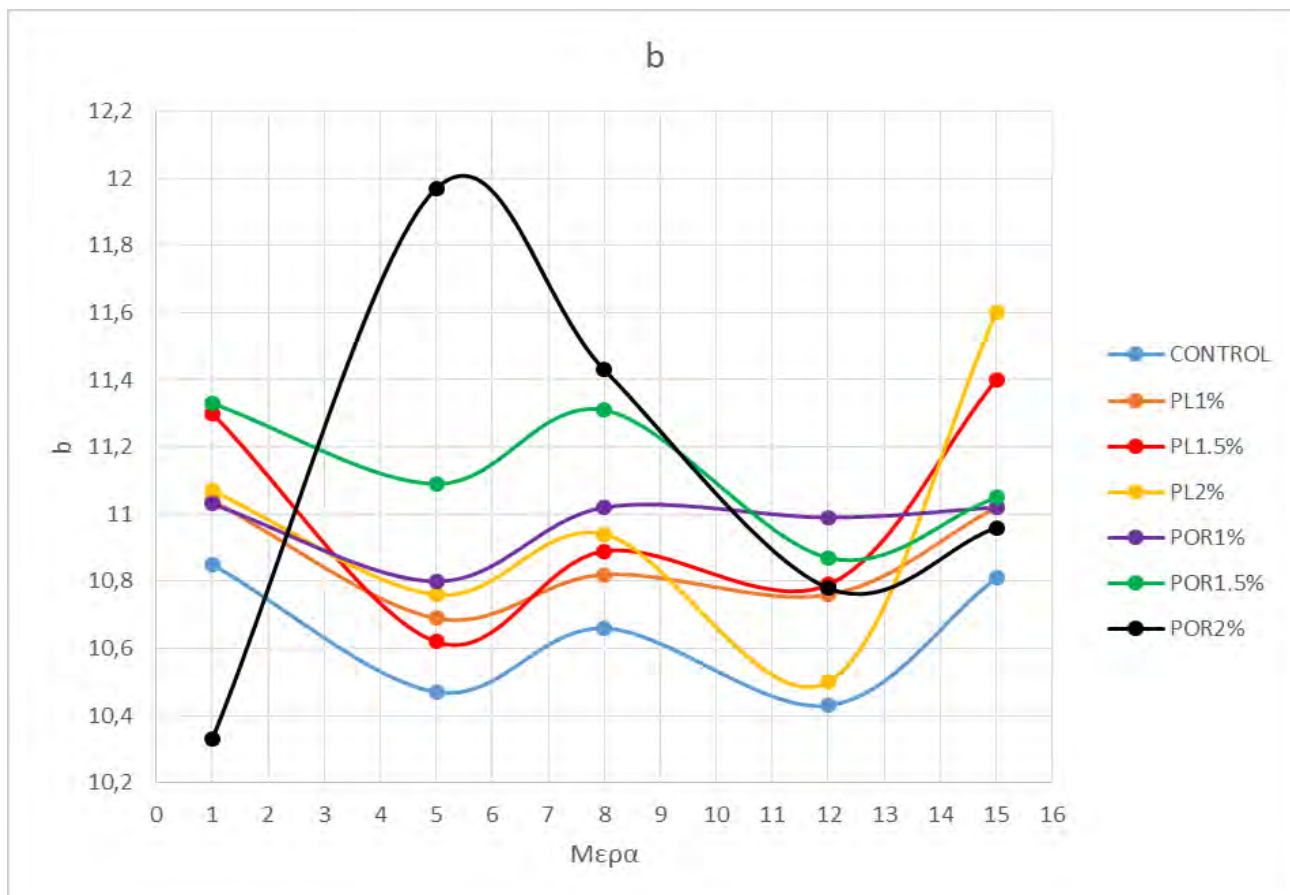


Διάγραμμα 3.5 Παράμετρος a σε συνάρτηση με τις ημέρες αποθήκευσης

Το διάγραμμα Δ2 απεικονίζει την παράμετρο a σε σχέση με τον χρόνο. Η παράμετρος a δείχνει την απόχρωση του κόκκινου ή πράσινου αντίστοιχα αν είμαστε στις θετικές ή στις αρνητικές τιμές των αξόνων. Στην θετική πλευρά του άξονα έχουμε την απόχρωση του κόκκινου ενώ στην αρνητική την

πράσινη απόχρωση. Από την μορφή του διαγράμματος βλέπουμε ότι οι τιμές κινούνται στο αρνητικό τμήμα των αξόνων άρα έχουμε αποχρώσεις του πράσινου. Το control δείγμα εμφανίζει τις πιο αρνητικές τιμές από όλα τα δείγματα με μια αύξηση της τιμής την 5^η μέρα και έπειτα μείωση την 8^η που επανέρχεται στα επίπεδα της αρχικής τιμής την 15^η μέρα. Αμέσως πιο πάνω έχουμε το δείγμα POR 2% που έχει τιμή κατά την 1^η μέρα πιο αυξημένη σε σχέση με το control δείγμα. Την 5^η · 8^η και 12^η μέρα έχουμε αύξηση του συντελεστή a σε επίπεδα που ξεπερνά όλα τα υπόλοιπα δείγματα που καταλήγει την 15^η μέρα σε μια μικρή μείωση.

Επόμενο έρχεται το δείγμα PL 1% που έχει ακόμη πιο μειωμένη τιμή συντελεστή a την πρώτη μέρα και σχεδόν ίδια τιμή κατά την 5^η μέρα με τον δείγμα POR 2% w/w όμως μετά ακολουθεί μια πιο σταθερή πορεία με μικρές μεταβολές και σαφώς πιο κάτω από τα επίπεδα του POR 2% w/w. Το δείγμα PL 1.5% w/w έχει σχεδόν σταθερές τιμές την 1^η και 5^η μέρα και μια μικρή πτώση την 8^η που συμπίπτει με την τιμή του PL 1% w/w και κατόπιν την 12 και 15^η μέρα έχουμε αύξηση. Το POR 1% w/w παρουσιάζει μια μεγάλη μείωση από την 1^η στην 5^η μέρα που παραμένει σχεδόν σταθερή την 8^η και αυξάνεται στα ίδια σχεδόν επίπεδα με την αρχική τιμή την 12^η μέρα. Το δείγμα POR 1.5% w/w έχει την πιο αυξημένη τιμή την 1^η και την 5^η μέρα απ' όλα τα δείγματα στην συνέχεια την 8^η και 12^η μέρα συμπίπτει με τις τιμές του POR 2% w/w και κατά την 15^η μέρα αντίθετα μειώνεται αισθητά. Το δείγμα με εκχύλισμα PL με την μεγαλύτερη συγκέντρωση ακολουθεί την πορεία του παραπάνω δείγματος την 1^η και 5^η μέρα όμως την 8^η μέρα παρουσιάζει μία τεράστια πτώση κάτω απ' όλα τα δείγματα και στην συνέχεια αυξάνεται στην αντίστοιχη τιμή του control δείγματος.



Διάγραμμα 3.6 Παράμετρος (b) σε συνάρτηση με το χρόνο

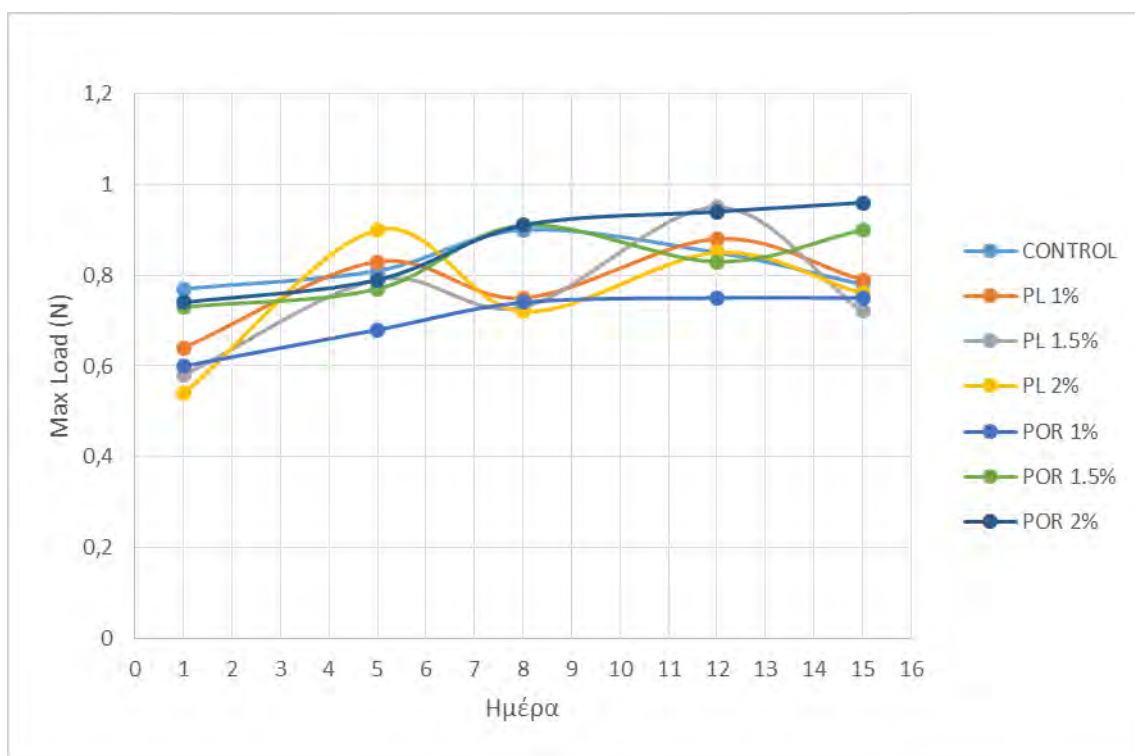
Ο συντελεστής b όταν έχει θετικές τιμές αποτυπώνει την απόχρωση του κίτρινου ενώ στις αρνητικές τιμές του μπλε. Το δείγμα POR 2% w/w έχει την πιο χαμηλή τιμή απ' όλα τα δείγματα την 1^η μέρα ενώ την 5^η μέρα κάνει μια απότομη αύξηση με περίπου 2 μονάδες διαφορά και κατά την 8^η μέρα έχουμε μια μικρή μείωση μισή μονάδα περίπου και ακολουθείται από περαιτέρω μείωση την 12^η μέρα. Την 15^η μέρα έχουμε μια μικρή αύξηση. Το δείγμα POR 1% w/w έχει πιο αυξημένη τιμή την 1^η μέρα και την 5^η μέρα μειώνεται ελαφρώς. Την 8^η μέρα έχουμε αύξηση που φτάνει την της 1^η μέρας και στην συνέχεια διατηρεί μια σταθερή πορεία.

Τα δείγματα PL 1% w/w και PL 2% w/w έχουν τιμή κατά την 1^η μέρα που είναι σχεδόν ίδια με του προηγούμενου δείγματος και καθ' όλη την διάρκεια της αποθήκευσης παραμένουν σε χαμηλότερα επίπεδα απ' το POR 1% w/w εκτός από την τελευταία μέρα που το δείγμα PL 2% w/w παρουσιάζει μια μεγάλη αύξηση. Το δείγμα PL 1.5% w/w ενώ την 1^η μέρα παρουσιάζει αυξημένη τιμή κατά τις

υπόλοιπες μέρες μειώνεται στα ίδια επίπεδα με τα προηγούμενα δείγματα. Το δείγμα POR 1.5% w/w κατά την 1^η μέρα έχει τιμή παρόμοια με αυτή του PL 1.5% w/w και στη συνέχεια μειώνεται με την 5^η μέρα αλλά όχι στα επίπεδα των προηγούμενων δειγμάτων. Την 12^η μέρα πέφτει ακόμη πιο πολύ κάτω από το δείγμα POR 1% w/w και την 15^η μέρα αυξάνεται στην αντίστοιχη τιμή του προηγούμενου δείγματος.

3.5 Μέτρηση δομής

Από τις μετρήσεις του αναλυτή δομής κατασκευάστηκε διάγραμμα της μέγιστης δύναμης σε συνάρτηση με το χρόνο παραμονής των δειγμάτων στους 5 °C



Διάγραμμα 3.7 Μέγιστη δύναμη εμβόλου(N) σε συνάρτηση με τις ημέρες αποθήκευσης

Στο παραπάνω διάγραμμα βλέπουμε τις τιμές τις μέγιστης δύναμης του texture analyzer συναρτήσει των διαφορετικών ημερών αποθήκευσης για κάθε δείγμα. Όσο μεγαλύτερη είναι η δύναμη που ασκείται στο έμβολο του texture analyzer τόσο πιο δύσκολο είναι να 'σπάσει' η δομή του γιαουρτιού άρα και πιο συνεκτική η δομή του. Στο συγκεκριμένο πείραμα ασκήσαμε την ίδια παραμόρφωση 75 % και μετρήσαμε την δύναμη που απαιτήθηκε να παραμορφωθούν τα δείγματα. Σύμφωνα με αυτό βλέπουμε ότι κατά την πρώτη μέρα με την μικρότερη δύναμη έχουμε το δείγμα PL 2% το οποίο κατά την 5^η μέρα παρουσιάζει μια αύξηση. Την 8^η μέρα έχουμε μείωση της μέγιστης δύναμης και κατόπιν πάλι μία αύξηση και καταλήγει την 15^η μέρα με τιμή στα μέσα του εύρους των τιμών καθ' όλη την διάρκεια της αποθήκευσης. Το δείγμα POR 1% w/w φαίνεται να έχει μια πιο σταθερή πορεία με μια ομαλή και μικρή αύξηση μέχρι την 8^η μέρα και μια διατήρηση της τιμής τις επόμενες μέρες μέχρι το τέλος της αποθήκευσης. Το δείγμα με τις υψηλότερες τιμές μέγιστης δύναμης είναι το POR 2% w/w, το οποίο ενώ ξεκινά από μια πιο χαμηλή τιμή παρουσιάζει μια μικρή αύξηση κατά την 5^η μέρα την οποία συνεχίζει και τις επόμενες μέρες. Το δείγμα control κινείται περίπου στα ίδια επίπεδα κατά τις πρώτες μέρες όμως την 12^η μέρα έχουμε σημαντική μείωση που συνεχίζει και την 15^η μέρα. Τα υπόλοιπα δείγματα κινούνται ανάμεσα σε αυτά το δύο πάνω και κάτω όρια.

4.ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Από το διάγραμμα 3.1 κατά την αρχική προσθήκη των εκχυλισμάτων μανιταριών (1^η ημέρα) φαίνεται ότι τα δείγματα PL 1.5% w/w, PL 2% w/w, POR 1% w/w, POR 1.5% w/w οδήγησαν σε αύξηση της οξύτητας στο τελικό προϊόν. Μετά το πέρας των 15 ημερών φαίνεται ότι μεγαλύτερη οξύτητα είχε το control δείγμα. Από τα αποτελέσματα παρατηρούμε ότι η προσθήκη εκχυλισμάτων στο γιαούρτι οδήγησε σε χαμηλότερη οξύτητα η οποία ήταν αντιστρόφως ανάλογη της συγκέντρωσής τους. Τα εκχυλίσματα από μανιτάρια Porcini προκάλεσαν μεγαλύτερη οξύτητα στο παραγόμενο γιαούρτι απ' ότι τα μανιτάρια Pleurotus ενώ το control έχει την μικρότερη οξύτητα απ' όλα τα δείγματα γιαουρτιού.

Κατά την αρχική προσθήκη των εκχυλισμάτων μανιταριών (1^η ημέρα) φαίνεται ότι όλα τα δείγματα στα οποία προστέθηκε εκχύλισμα μανιταριού ανεξαρτήτου συγκέντρωσης οδήγησαν σε αύξηση της οξύτητας στο τελικό προϊόν, κάτι το οποίο συνεχίστηκε και τις υπόλοιπες μέρες αποθήκευσης του. Στο control δείγμα βλέπουμε μία σταθεροποίηση της τιμής της οξύτητας κατά την 8^η μέρα, κάτι που δεν παρατηρείται στα δείγματα με την προσθήκη εκχυλίσματος. Αυτή η διαφορά ανάμεσα στο control και τα υπόλοιπα δείγματα μπορεί να οφείλεται και στο γεγονός ότι τα εκχυλίσματα μανιταριού περιέχουν σάκχαρα και πρωτεΐνες που αποτελούν θρεπτικό υλικό για την δράση των βακτηρίων.

Μετά το πέρας των 15 ημερών φαίνεται ότι μεγαλύτερη οξύτητα είχε το δείγμα POR2% ακολουθούμενο από τα δείγματα με μικρότερη συγκέντρωση εκχυλίσματος. Βλέπουμε ότι διαφορά υπάρχει και στην ποικιλία του μανιταριού που χρησιμοποιήθηκε για εκχύλισμα, πράγμα που θα οφείλεται στα χαρακτηριστικά του ίδιου του μανιταριού. Από τα στατιστικά αποτελέσματα παρατηρούμε ότι τα εκχυλίσματα οδήγησαν σε μεγαλύτερη οξύτητα η οποία ήταν ανάλογη της συγκέντρωσής τους. Τα αγορανομικά όρια για την οξύτητα κυμαίνονται μεταξύ 0.7% έως 1,2%. Το δείγμα POR 2% μετά την 12^η μέρα ξεπερνά αυτά τα όρια ενώ όλα τα υπόλοιπα δείγματα κινούνται εντός αγορανομικών ορίων.

Σύμφωνα με τους (Aida et al,2009) τα μανιτάρια έχουν πρεβιοτική επίδραση, καθώς περιέχουν διαιτητικές ίνες που αντιπροσωπεύονται από μη αφομοιώσιμους υδατάνθρακες όπως χιτίνη, β και α-γλυκάνες, ξυλάνες, μαννάνες και γαλακτάνια. Έχει επίσης αναφερθεί η ικανότητα των ινών να επιταχύνουν την αύξηση της οξύτητας του γάλακτος στην παρασκευή γιαουρτιού (McCann, Fabre, & Day, 2011, Puvanenthiran, Stevonitch-Rykner, McCann, & Day, 2014). Μελέτες επίσης έχουν δείξει ότι τα εκχυλίσματα μανιταριών βοηθούν τους ρυθμούς ανάπτυξης προβιοτικών βακτηρίων και η συμβίωση των εκχυλισμάτων μπορεί να είναι επιτυχής με ορισμένα στελέχη του *Lactobacillus* (Aida et al., 2009, Synytsya et al., 2009).

Κατά την πρώτη μέρα φαίνεται ότι το control δείγμα παρουσίασε την υψηλότερη συναίρεση ακολουθούμενο από τα PL 1% w/w, PL 1.5% w/w, PL 2% w/w, POR 1% w/w, POR 1.5% w/w και POR 2% w/w. Την 5^η και 8^η μέρα βλέπουμε μία μείωση στην τιμή της συναίρεσης του control μέχρι την 12^η μέρα που έχουμε πάλι αύξηση και καταλήγουμε σε μείωση την τελευταία μέρα. Μετά από την αποθήκευσή του για 15 ημέρες το control είχε την υψηλότερη συναίρεση, ενώ τα υπόλοιπα δείγματα δεν είχαν σημαντικές διαφορές.

Οι διαιτητικές ίνες που περιέχονται στα μανιτάρια όπως αναφέρονται προηγουμένως μεταφέρονται και στα εκχυλίσματα τους. Έτσι η προσθήκη τους στο γιαούρτι βοηθάει στο σχηματισμό δομών που συγκρατούν καλύτερα την υγρασία σε σχέση με το control. Σε μια έρευνα το 2011 αναφέρεται πως ο διαχωρισμός του ορού του γιαουρτιού μπορεί να μειωθεί, αυξάνοντας το σύνολο των στερεών συστατικών υποβάλλοντας το γάλα σε υψηλή θερμοκρασία ή με την προσθήκη σταθεροποιητών (ζελατίνη, πηκτίνη, άμυλο, συμπύκνωμα πρωτεΐνης ορού γάλακτος, κόμμεα) που αλληλεπιδρούν με το δίκτυο καζεΐνης (Everett & McLeod, 2005, Matumoto-Pintro et al., 2011).

Κατά την 8^η μέρα παρατηρούμε ότι τα δείγματα PL 1% w/w και POR 2% w/w έχουν μείωση της συναίρεσης σε σχέση με την αρχική τους τιμή κάτι που δεν παρατηρείται στα υπόλοιπα δείγματα. Τα δείγματα PL 1% w/w και POR 1.5% w/w έχουν ίδιες τιμές συναίρεσης την 15 μέρα αποθήκευσης όπως επίσης και τα δείγματα POR 1% w/w και POR 1.5% w/w κατά την 5^η μέρα. Επίσης από την γραφική παράσταση βλέπουμε ότι η πιο ομαλή καμπύλη με λιγότερο απότομα σημεία καμπής είναι αυτή του δείγματος POR 2% w/w.

Η συναίρεση λαμβάνει χώρα λόγω της μείωσης της ικανότητας του gel του γιαουρτιού να διατηρεί όλη τη φάση του ορού λόγω εξασθένησης του δικτύου πηκτώματος. Τα μικκύλια καζεΐνης συσσωματώνονται μέσω ισοηλεκτρικής καταβύθισης με τη δράση βακτηρίων γαλακτικού οξέος. Η συναίρεση και η αναδιάταξη των πρωτεϊνών συμβαίνει κατά την αποθήκευση (Everett & McLeod, 2005, Lucey, 2002).

Αντιφατικά αποτελέσματα έχουν αναφερθεί σε σχέση με τη συναίρεση του γιαουρτιού κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης. Οι Gasseem and Frank (1991) ανέφεραν ότι η συναίρεση σε γιαούρτι που παράγεται από 9% αποβουτυρωμένης σκόνης γάλακτος κατά τη διάρκεια 15 ημερών αποθήκευσης, αυξήθηκε από την ημέρα 1^η (35% w/w) έως 8^η (50% w/w) και στη συνέχεια μειώθηκε στην αρχική τιμή την 15^η ημέρα. Από την άλλη πλευρά, ο Salvador και ο Fiszman (2004) ανέφεραν αυξημένη συναίρεση στο γιαούρτι από αποβουτυρωμένο γάλα από την ημέρα 0 (0,5% w/w) έως 49^η (1,8% w/w). Αυτές οι διαφορές στην συναίρεση στα αποτελέσματα των Gasseem and Frank (1991) και των Salvador and Fiszman (2004) θα μπορούσε να οφείλεται στις διαφορές στις μεθόδους που χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της συναίρεσης ή στην διαφορά στα ολικά στερεά των γιαουρτιών.

Μελετώντας το διάγραμμα 3.2 που απεικονίζει την παράμετρο L δηλαδή την φωτεινότητα του δείγματος βλέπουμε ότι το control παρουσιάζεται ως το πιο φωτεινό δείγμα και στην συνέχεια τα δείγματα που περιέχουν τα εκχυλίσματα μανιταριού παρουσιάζουν μείωση στην φωτεινότητα κρίνοντας και από την φύση του εκχυλίσματος. Τα εκχυλίσματα από το μανιτάρι πλευρώτους παρουσιάζουν ένα πιο ανοιχτό χρώμα σε σχέση με τα εκχυλίσματα από το μανιτάρι Porcini. Επίσης από τους δείκτες a και b βλέπουμε ότι τα εμπλουτισμένα με εκχυλίσματα μανιτάρια έχουν υψηλότερη απόχρωση πράσινου καθώς και κίτρινου. Το χρώμα και η φωτεινότητα μεταβάλλονται με την προσθήκη εκχυλισμάτων μανιταριών και τα γιαούρτια αποκτούν πιο σκούρες αποχρώσεις με σκουρότερη αυτή με το εκχύλισμα POR 2% w/w.

Γενικά στη βιομηχανία τροφίμων, ο έλεγχος χρώματος χρησιμοποιείται για την παραγωγή νέων προϊόντων για την αγορά και θα μπορούσε επίσης να χρησιμοποιηθεί ως παράμετρος ποιοτικού ελέγχου κατά τον αναμενόμενο χρόνο αποθήκευσης. Η αλλαγή του χρώματος κατά την αποθήκευση θεωρείται μειονέκτημα, ωστόσο διαφορετικά προϊόντα χρώματος, ιδιαίτερα στα γιαούρτια, αποτελεί διακριτικό σήμα στη βιομηχανία τροφίμων (Cristina Caleja, Lillian Barros 2016). Σε παρόμοια μελέτη με γιαούρτια με εκχυλίσματα σταφυλιού (*Vitis vinifera*), παρατηρήθηκε ότι τα εκχυλίσματα σπόρων δεν επηρέασαν τις τιμές pH του γιαουρτιού, ωστόσο επηρέασε το χρώμα των γιαουρτιών (Chouchouli κ.ά., 2013). Μια άλλη μελέτη με γιαούρτια εμπλουτισμένα με βιοενεργές ενώσεις που λαμβάνονται από διαφορετικές ποικιλίες σταφυλιών παρουσίασαν θετικές τιμές και εμφάνισαν ανοικτό κόκκινο χρώμα (Karaaslan et al., 2011). Οι καταναλωτές επηρεάζονται από το χρώμα και την φωτεινότητα των γιαουρτιών και υπάρχει η σύνδεση της γεύσης και της εμφάνισης. Το ίδιο θα συμβαίνει και στα δείγματα με τα εκχυλίσματα μανιταριών και απαιτείται περαιτέρω διερεύνηση.

Οι πολυφαινόλες έχουν σημαντική έλξη για τις πρωτεΐνες που οδηγεί σε σχηματισμό διαλυτών συμπλοκών, τα οποία μπορούν να αναπτυχθούν σε μέγεθος και ακόμη και να σχηματίσουν ιζήματα. Τα περισσότερα μοντέλα υποδηλώνουν ότι τα σύμπλοκα πρωτεΐνων-πολυφαινόλης σχηματίζονται από πολλαπλές αδύναμες αλληλεπιδράσεις (κυρίως υδρόφοβες) μεταξύ της πλευράς του αμινοξέως της αλυσίδας και του αρωματικού δακτυλίου πολυφαινόλης, γεγονός που δείχνει ότι η συσχέτιση πολυφαινολών με πρωτεΐνες είναι κυρίως φαινόμενο επιφάνειας. Ωστόσο, μερικές φορές, αυτές οι αλληλεπιδράσεις θα μπορούσαν να είναι υποβοηθούμενες από δεσμούς υδρογόνου όπου έτσι σταθεροποιείται περισσότερο το σύμπλοκο. (Charlton et al., 2002, Oliveira et al., 2015).

Αυτά τα σταθερά σύμπλοκα πολυφαινόλης-καζεΐνης, λόγω της αλληλεπίδρασης της πρωτεΐνης-πολυφαινόλης, μπορεί να είναι ο λόγος της μειωμένης συναίρεσης στα δείγματα γιαούρτιου που περιείχαν εκχυλίσματα μανιταριών. Τα σταθερά σύμπλοκα με ισχυρότερους εσωτερικούς δεσμούς μπορεί να οδηγήσουν σε μείωση της αναδιάταξης των πρωτεϊνών κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης, παρέχοντας μεγαλύτερη σταθερότητα στα δίκτυα καζεΐνης, διατηρώντας το νερό στο δίκτυο και μειώνοντας τη συναίρεση. Ο σχηματισμός των συμπλοκών πρωτεΐνης-πολυφαινόλης επηρεάζεται από τη φύση της πρωτεΐνης, τη φύση της πολυφαινόλης, τη θερμοκρασία του συστήματος και η παρουσία άλλων συστατικών μπορεί να επηρεάσει την αλληλεπίδραση τους (Prigent et al., 2003).

Τα φαινολικά αντιπροσωπεύουν ένα σημαντικό μέρος των φυσικών ενώσεων με σημερινές γνωστές, πάνω από 8000 διαφορετικές (Bravo, 1998) που συμβάλλουν στον σχηματισμό οργανοληπτικών ιδιοτήτων και διατροφικών χαρακτηριστικών των προϊόντων διατροφής. Τα φαινολικά έχουν προσελκύσει μεγάλη προσοχή των επιστημόνων τροφίμων και υγείας τα τελευταία χρόνια λόγω των ελεύθερων ριζών και της ικανότητας αναστολής και αντιοξειδωτικής ισχύος (Macheix, Fleuriet & Billot, 1990). Επιπλέον, φαινολικά όπως φλαβονοειδή, ανθοκυανίνες παρέχουν μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ισχύ από τη βιταμίνη C, τη βιταμίνη E, και β-καροτένιο (Eberhardt, Lee, & Liu, 2000). Έτσι ο εμπλουτισμός των τροφίμων με φαινολικά μπορεί να είναι μια πολλά υποσχόμενη στρατηγική για να παράγουμε λειτουργικά τρόφιμα που εμφανίζουν υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση.

Κατά την αρχική προσθήκη των εκχυλισμάτων στο γιαούρτι φάνηκε να υπάρχει αύξηση του αντιοξειδωτικού περιεχομένου η οποία ήταν εξαρτημένη από την συγκέντρωση τους καθώς και την ποικιλία που προσθέταμε σε κάθε δείγμα. Το ίδιο συνέβη και κατά τις επόμενες μέρες αποθήκευσης εκτός από τα δείγματα PL 2% w/w, το οποίο παρουσίασε μία μείωση στον αντιοξειδωτικό του χαρακτήρα την 8 μέρα, και του δείγματος POR 1% w/w που είχαμε πτώση των φαινολικών του την 12 μέρα. Σε όλο το διάστημα αποθήκευσης των γιαουρτιών το Control δείγμα είχε πτώση στις τιμές των ολικών φαινολικών του κάτι που δεν συνέβη στα υπόλοιπα δείγματα, αυτό το αποτέλεσμα ίσως σχετίζεται με την δημιουργία του συμπλόκου μεταξύ πολυφαινολών και πρωτεΐνης (Lamothe, Azimy, Bazinet, Couillard & Britten, 2014). Η αύξηση φαίνεται να επηρεάζεται από την ποικιλία καθώς και την συγκέντρωση του εκχυλίσματος. Το μεγαλύτερο ποσοστό αύξησης κρίνοντας και από την καμπύλη που είναι πιο απότομη φαίνεται να έχει το δείγμα POR 2% w/w.

Βέβαια μια άλλη μελέτη επίσης αναφέρει μια αύξηση στην αντιοξειδωτική ικανότητα του γιαουρτιού που είχε εμπλουτιστεί με εκχύλισμα από κουκούτσια σταφυλιών κατά την διάρκεια της αποθήκευσης (Chouchouli et al, 2013). Οι Najgebauer-Lejko et al. (2011) επίσης ανέφεραν μία αύξηση στην αντιοξειδωτική ικανότητα σε γιαούρτι με εκχύλισμα τσαγιού. Αυτές οι διακυμάνσεις μπορεί να σχετίζονται με διάφορους παράγοντες. Οι φαινολικές ενώσεις επηρεάζονται από το κλίμα και την τοποθεσία, τον χρόνο συγκομιδής, καθώς και την επεξεργασία και τις συνθήκες αποθήκευσης, τις μεθόδους εκχύλισης και τις αναλυτικές μεθόδους. Η αντιοξειδωτική ικανότητα του αιθανολικού εκχυλίσματος του *P. Ostreatus* (Συγκέντρωση 10 mg / mL) βρέθηκε να είναι απορρόφηση 1,367, τιμή πιο μεγάλη και από το BHT(συνθετικό συντηρητικό) (Jayakumar, Thomas, & Geraldine, 2009).

Η σταθερότητα της δομής θεωρείται σημαντική παράμετρος για την υφή του γιαούρτιου. Η πιο σταθερή δομή υποδηλώνεται με την μεγαλύτερη δύναμη, max load (μετρημένη σε N) που χρειάζεται για να σπάσει η δομή του γιαουρτιού. Όσον αφορά τις μετρήσεις δομής, βλέποντας το διάγραμμα 3.7 παρατηρούμε ότι, το control δείγμα είχε την υψηλότερη τιμή σταθερότητας κατά τη διάρκεια αποθήκευσης. Αυτό πιθανότατα οφείλεται σε μια μεγαλύτερη αναδιάταξη πρωτεϊνών στο control γιαούρτι (Prasanna, Grandison, & Charalampopoulos, 2013).

Η προσθήκη εκχυλισμάτων άλλαξε σημαντικά τη σταθερότητα του gel. Η μειωμένη σταθερότητα του γιαουρτιού με εκχυλίσματα θα μπορούσε να αποδοθεί στην αύξηση του νερού στο σύστημα πηκτής λόγω της μειωμένης συναίρεσης. Παρόμοιες τιμές με το control δείγμα παρουσίασε το γιαούρτι με εκχύλισμα roscini 2% w/w κάτι που πιθανόν να οφείλεται στην αύξηση των πρωτεϊνών που συμμετέχουν στο σύστημα πηκτής του γιαουρτιού. Κάτι που δεν συνέβει στα γιαούρτια με εκχυλίσματα roscini μικρότερων συγκεντρώσεων. Στα υπόλοιπα γιαούρτια ανεξαρτήτου συγκέντρωσης δεν είχαμε κάποια μεταβολή. Ίσως το pH των εκχυλισμάτων επηρέασε το μηχανισμό πήξης και είχε ως αποτέλεσμα τη δημιουργία δομών γιαουρτιών που απαιτούσαν διαφορετικές δυνάμεις παραμόρφωσης.

Μετά την επεξεργασία και την ανάλυση των αποτελεσμάτων καταλήγουμε στα εξής συμπεράσματα:

- Τα εμπλουτισμένα γιαούρτια με εκχυλίσματα είχαν μεγαλύτερο αντιοξειδωτικό χαρακτήρα και μάλιστα ανάλογο με την συγκέντρωσή τους.
- Με την προσθήκη εκχυλισμάτων αυξήθηκε η σταθερότητα της δομής των γιαουρτιών που συμπεράναμε απ' τις μετρήσεις συναίρεσης και δομής.
- Οι οξύτητα των δειγμάτων με εκχυλίσματα επίσης αυξήθηκε τόσο στην αρχή όσο και στην τελευταία μέρα της αποθήκευσης που πλην του ενός δείγματος κυμάνθηκαν εντός αγορανομικών ορίων και ως εκ τούτου έχουμε ένα πιο αναλλοίωτο προϊόν.
- Όλες οι μεταβολές των ποιοτικών χαρακτηριστικών των δειγμάτων κατά την αποθήκευσή τους στους 5 °C ήταν ανάλογες των συγκεντρώσεων των εκχυλισμάτων και του είδους των μανιταριών.

5.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Charlton, A. J., Baxter, N. J., Khan, M. L., Moir, A. J. G., Haslam, E., Davies, A. P., et al.(2002). Polyphenol/peptide binding and precipitation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(6), 1593e1601.

Chouchouli, V., Kalogeropoulos, N., Konteles, S. J., Karvela, E., Makris, D. P., & Karathanos, V. T. (2013). Fortification of yoghurts with grape (*Vitis vinifera*) seed extracts. *LWT e Food Science and Technology*, 53(2), 522e529.

Lamothe, S., Azimy, N., Bazinet, L., Couillard, C., & Britten, M. (2014). Interaction of green tea polyphenols with dairy matrices in a simulated gastrointestinal environment. *Food & Function*, 5(10), 2621e2631.

Matumoto-Pintro, P. T., Rabiey, L., Robitaille, G., & Britten, M. (2011). Use of modified whey protein in yoghurt formulations. *International Dairy Journal*, 21(1), 21e26.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.idairyj.2010.07.003>.

Najgebauer-Lejko, D., Sady, M., Grega, T., & Walczycka, M. (2011). The impact of tea supplementation on microflora, pH and antioxidant capacity of yoghurt. *International Dairy Journal*, 21(8), 568e574.

Ανυφαντάκης Ε. (1992). Μέθοδοι εξέτασεως του γάλακτος και των προϊόντων του. Εκδόσεις Σταμούλη.

Ανυφαντάκης Ε. (2004). Τυροκομία (Χημεία-Φυσικοχημεία-Μικροβιολογία). Β έκδοση. Εκδόσεις Σταμούλη.

Καμιναρίδης Σ., Μοάτσου Γ. (2009). Βασικά Γαλακτοκομικά Προϊόντα. Γαλακτοκομία. Εκδόσεις Έμβρυο

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.

Κεχαγιάς Χ., Κουλούρης Σ. (2005).Στοιχεία Τεχνολογίας και Έλεγχοι Ποιότητας Γάλακτος και Γαλακτοκομικών Προϊόντων. Εκδόσεις Ίων.

Charlton, A. J., Baxter, N. J., Khan, M. L., Moir, A. J. G., Haslam, E., Davies, A. P., et al. (2002). Polyphenol/peptide binding and precipitation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(6), 1593e1601.

Chouchouli, V., Kalogeropoulos, N., Konteles, S. J., Karvela, E., Makris, D. P., & Karathanos, V. T. (2013). Fortification of yoghurts with grape (*Vitis vinifera*) seed extracts. *LWT e Food Science and Technology*, 53(2), 522e529

Domagała, J., Wszolek, M., Tamime, A. Y., & Kupiec-Teahan, B. (2013). The effect of transglutaminase concentration on the texture, syneresis and microstructure of set-type goat's milk yoghurt during the storage period. *Small Ruminant Research*, 112(1e3), 154e161.

Dubost, N. J., Ou, B., & Beelman, R. B. (2007). Quantification of polyphenols and ergothioneine in cultivated mushrooms and correlation to total antioxidant capacity. *Food Chemistry*, 105(2), 727e735.

Jayakumar, T., Thomas, P. A., & Geraldine, P. (2009). In-vitro antioxidant activities of an ethanolic extract of the oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus*. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 10(2), 228e234.

Lucey, J. A. (2002). Formation and physical properties of milk protein gels. *Journal of Dairy Science*, 85(2), 281e294.

Matumoto-Pintro, P. T., Rabiey, L., Robitaille, G., & Britten, M. (2011). Use of modified whey protein in yoghurt formulations. *International Dairy Journal*, 21(1), 21e26

Medina, M. B. (2011). Determination of the total phenolics in juices and superfruits by a novel chemical method. *Journal of Functional Foods*, 3(2), 79e87

Najgebauer-Lejko, D., Sady, M., Grega, T., & Walczycka, M. (2011). The impact of tea supplementation on microflora, pH and antioxidant capacity of yoghurt.

O'Connell, J. E., & Fox, P. F. (1999). Proposed mechanism for the effect of polyphenols on the heat stability of milk. *International Dairy Journal*,

Ramchandran, L., & Shah, N. P. (2010). Characterization of functional, biochemical and textural properties of synbiotic low-fat yogurts during refrigerated storage. *LWT e Food Science and Technology*

Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology*

and Viticulture,

Vasiljevic, T., Kealy, T., & Mishra, V. K. (2007). Effects of b-glucan addition to a probiotic containing yogurt. *Journal of Food Science*,

Yuksel, Z., Avci, E., & Erdem, Y. K. (2010). Characterization of binding interactions between green tea flavanoids and milk proteins. *Food Chemistry*

Afonso, I. M., and J. M. Maia. 1999. Rheological monitoring of structure evolution and development in stirred yoghurt. *Journal of Food Engineering*

Alm L. (1982). Effect of Fermentation on L(+) and L(-) Lactic Acid in Milk. *Journal of Dairy Science*

Benezech T. and Maingonnat J.F. (1994). Characterization of Rheological Properties of yogurt- A Review. *Journal of Food Engineering*

Bylund G. (1995). *Dairy Processing Handbook*, Tetra Pak Processing Systems, Lund, Sweden

Damin M.R., Alcantara M.R., Nunes A.P., Oliveira M.N., E. Effects of milk supplementation with skim milk powder, whey protein concentrate and sodium caseinate on acidification kinetics, rheological properties and structure of nonfat stirred yogurt. *Food Science and Technology*

De Brabandere, A. G., & De Baerdemaeker, J. G. (1999). Effects of process conditions on the pH development during yogurt fermentation. *Journal of Food Engineering*

De Lorenzi L., Pricl S. And Torriano G. (1995). Rheological Behaviour of Low-fat and Full-fat Stirred Yogurt. *International Dairy Journal*

Friedman, H. H., Whitney, J. E., & Szczesnaik, A. S. (1963). The texturometer—a new instrument for objective texture measurement. *Journal of Food Science*

Harwallkar V.R. and Kalab M. (1986). Relationship between microstructure and susceptibility to syneresis in yogurt made from reconstituted nonfat dry milk. *Food Microstructure*

Labropoulos, A. E., W. F. Collins, and W.K. Stone. 1984. Effects of ultra-high temperature and vat processes on heat-induced rheological properties of yogurt. *J. Dairy Sci*

Ozturk, B. A., & Öner, M. D. (1999). Production and evaluation of yogurt with concentrated grape juice. *Journal of Food Science*

Aida, F. M. N. A., Shuhaimi, M., Yazid, M., & Maaruf, A. G. (2009). Mushroom as a potential source of prebiotics: a review. *Trends in Food Science & Technology*

Elmastas, M., Isildak, O., Turkekul, I., & Temur, N. (2007). Determination of antioxidant activity and antioxidant compounds in wild edible mushrooms. *Journal*

of Food Composition and Analysis

McCann, T. H., Fabre, F., & Day, L. (2011). Microstructure, rheology and storage stability of low-fat yoghurt structured by carrot cell wall particles. *Food Research International*,