

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ
Δ.Π.Μ.Σ. «ΟΛΟΚΛΗΡΩΜΕΝΗ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΚΑΙ ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ»

Μεταπτυχιακή μελέτη

με θέμα

**Αρωματικά συστατικά και ανόργανα άλατα σε άπαχα και μειωμένης
λιποπεριεκτικότητας επιδόρπια τύπου γιαουρτιού χωρίς φρούτα και
άρωμα φρούτων**

της Παπαστάθη Κωνσταντίνας

Επιβλέπων Καθηγητής : Σ. Καμιναρίδης

Αθήνα, 2011

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή μου Καμινारीδη Στέλιο, τόσο για την ανάθεση του θέματος όσο και για την καθοδήγησή του κατά την διεξαγωγή του πειράματος, που εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Γαλακτοκομίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, καθώς και για τις συμβουλές του κατά την εκπόνηση της μεταπτυχιακής μελέτης μου.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Μασσούρα Θεόφιλο και τον κ. Πολίτη Ιωάννη για την αμέριστη συμπαράσταση και την θετική τους συμβολή στην ολοκλήρωση της μελέτης μου.

Θέλω επίσης να ευχαριστήσω ιδιαίτερα την κ. Ζωίδου Ευαγγελία που ήταν δίπλα μου από την αρχή, με στήριξε και αφιέρωσε πολύ προσωπικό χρόνο για να μπορέσω να ολοκληρώσω το έργο μου καθώς και την κ. Γεωργαλάκη Μαρίνα για τον χρόνο που μου αφιέρωσε και την βοήθεια που μου προσέφερε. Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον αδερφό μου Παπαστάθη Κων/νο Γεωπόνου, που με βοήθησε στην στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων καθώς και τον φίλο και συνάδελφο κ. Αφράτη Άγγελο που με βοήθησε στην συγγραφή και την διαμόρφωση του κειμένου της παρούσας μελέτης.

Τέλος ένα μεγάλο ευχαριστώ στον άντρα μου και στους γονείς μου- ιδιαίτερα στην μητέρα μου – για την μεγάλη υπομονή, ηθική στήριξη και κατανόηση που επέδειξαν όλο αυτό το χρονικό διάστημα.

Η μεταπτυχιακή μου μελέτη αφιερώνεται στα δύο μου μωρά 2,5 χρονών και 8 μηνών.

Περιεχόμενα

Περίληψη	8
Abstract	9
1 Εισαγωγή	10
1.1 Ιστορικά Στοιχεία.....	10
1.2 Τα ζυμωμένα προϊόντα γάλακτος και το γιαούρτι.....	10
1.3 Η αγορά γιαουρτιού και οι σύγχρονες καταναλωτικές συνήθειες.....	12
1.4 Είδη γιαουρτιού και παραγωγική διαδικασία	16
1.4.1 Παραγωγική διαδικασία γιαουρτιού τύπου stirred	17
1.4.2 Παραγωγική διαδικασία γιαουρτιού τύπου set	19
1.5 Η διατροφική αξία του γιαουρτιού	20
1.5.1 Υδρογονάνθρακες.....	23
1.5.2 Πρωτεΐνες.....	25
1.5.3 Λιπίδια	26
1.5.4 Ανόργανα συστατικά, ιχνοστοιχεία και βιταμίνες.....	27
1.6 Οι ωφέλιμες ιδιότητες του γιαουρτιού.....	30
2 Τα ανόργανα συστατικά του γιαουρτιού	33
2.1 Εισαγωγή	33
2.2 Τα ανόργανα άλατα στα γαλακτοκομικά προϊόντα και το γιαούρτι.....	34
2.2.1 Τα άλατα του γάλακτος	34
2.2.2 Τα άλατα του γιαουρτιού	35
2.2.3 Η ανάλυση των ανόργανων στοιχείων με την μέθοδο της φασματοσκοπίας ατομικής απορρόφησης	38
3 Τα οργανικά οξέα και τα σάκχαρα του γιαουρτιού	43
3.1 Εισαγωγή	43
3.2 Η ζύμωση του γιαουρτιού και τα παραγόμενα οξέα.....	43

3.3	Ο προσδιορισμός των οργανικών οξέων και των σακχάρων του γιαουρτιού με την μέθοδο της υγρής χρωματογραφίας υψηλής πίεσης (HPLC)	47
4	Τα αρωματικά συστατικά του γιαουρτιού	52
4.1	Εισαγωγή	52
4.2	Η παραγωγή πτητικών αρωματικών συστατικών κατά την ζύμωση του γιαουρτιού	53
4.3	Τα κύρια αρωματικά χαρακτηριστικά του γιαουρτιού	56
4.4	Η ανίχνευση των πτητικών αρωματικών ενώσεων με τη μέθοδο της φασματομετρίας μάζας - αέριας χρωματογραφίας (GC-MS).....	60
5	Υλικά και μέθοδοι.....	64
5.1	Δείγματα	64
5.2	Προσδιορισμός ανόργανων συστατικών	65
5.2.1	Προσδιορισμός Ca, Na, K, Mg με την μέθοδο της φασματοσκοπίας ατομικής απορρόφησης.....	65
5.2.2	Προσδιορισμός του φωσφόρου με φωτομετρική μέθοδο	66
5.3	Προσδιορισμός οργανικών οξέων	68
5.4	Προσδιορισμός των αρωματικών ουσιών.....	69
6	Αποτελέσματα και συζήτηση.....	72
6.1	Αποτελέσματα προσδιορισμού ανόργανων αλάτων	72
6.2	Αποτελέσματα προσδιορισμού σακχάρων και οργανικών οξέων	74
6.3	Αποτελέσματα προσδιορισμού αρωματικών ουσιών	77
6.4	Συμπεράσματα	81
7	Βιβλιογραφία	82
	Παράρτημα.....	89

Πίνακες και σχήματα

- Σχήμα 1.** Κατηγοριοποίηση των προϊόντων ζύμωσης του γάλακτος. 1: ABT=Lactobacillus acidophilus, Bifidobacterium bifidumand, Streptococcus thermophilus, 2: BRA= Bifidobacterium infantis, Lactobacillus reuteri and L. acidophilus. Προσαρμογή από Robinson and Tamime (1990).....11
- Σχήμα 2.** Παραγωγή ζυμωμένων προϊόντων γάλακτος και γιαουρτιού στην Ευρωπαϊκή Ένωση (27 χώρες) για την πενταετία 2005 - 2009 σε κιλά. (προσαρμογή από τη βάση δεδομένων Prodcorn της Ε.Ε.)12
- Πίνακας 1.** Η παραγωγή γιαουρτιού και λοιπών ζυμωμένων προϊόντων γάλακτος κατά βάρος στις πέντε κύριες παραγωγές χώρες. (προσαρμογή από τη βάση δεδομένων Prodcorn της Ε.Ε.)13
- Σχήμα 3.** Η παραγωγή γιαουρτιού στην Ελλάδα σε κιλά και η αντίστοιχη αξία σε ευρώ για τα έτη 2003 έως 2007. Προσαρμογή από στατιστικά στοιχεία της ΕΛ.ΣΤΑΤ. (2011)13
- Σχήμα 4.** Η διαδικασία παραγωγής γιαουρτιού τύπου stirred. Προσαρμογή από Bylund (1995).....18
- Σχήμα 5.** Η διαδικασία παραγωγής γιαουρτιού τύπου set. Προσαρμογή από Bylund (1995).....19
- Πίνακας 2.** Θρεπτικά συστατικά του γιαουρτιού (πλήρες και χαμηλών λιπαρών) ανά 100 γραμμάρια προϊόντος. Προσαρμογή από USDA National Nutrient Database for Standard Reference21
- Πίνακας 3.** Η περιεκτικότητα πτητικών λιπαρών οξέων του φρέσκου γάλακτος και του γιαουρτιού. Προσαρμογή από Akin (2006)27
- Πίνακας 4.** Περιεκτικότητα βιταμινών στο φρέσκο γάλα και το γιαούρτι. Προσαρμογή από Deeth & Tamime και Holland *et al.*29
- Πίνακας 5.** Σύσταση αλάτων γάλακτος. Προσαρμογή από Ανυφαντάκη (1994).....35
- Σχήμα 6.** Σχηματική απεικόνιση της διαδικασίας της ατομικής απορρόφησης. Προσαρμογή από The Perkin-Elmer Corporation (1996).....38

Σχήμα 7. Φωτόμετρο Ατομικής Απορρόφησης μονής δέσμης. Προσαρμογή από The Perkin-Elmer Corporation (1996).....	39
Σχήμα 8. Φωτόμετρο Ατομικής Απορρόφησης διπλής δέσμης. Προσαρμογή από The Perkin-Elmer Corporation (1996).....	40
Σχήμα 9. Διάγραμμα κατασκευής λυχνίας κοίλης καθόδου. Προσαρμογή από The Perkin-Elmer Corporation (1996).....	41
Σχήμα 10. Διαδικασία εκπομπής ακτινοβολίας από λάμπα κοίλης καθόδου. Προσαρμογή από The Perkin-Elmer Corporation (1996).....	42
Σχήμα 11. Οι κύριες οδοί καταβολισμού της λακτόζης. Προσαρμογή από Tamime και Robinson (1999).	44
Σχήμα 12. Οι κύριες οδοί για τη εναλλακτική χρήση του πυροσταφυλικού οξέως κατά την οξυγαλακτική ζύμωση. Προσαρμογή από Salminen, von Wright, Ouwehand (2004).....	46
Σχήμα 13. Γραφική απεικόνιση ενός συστήματος HPLC. Προσαρμογή από Ανώνυμος (2010).....	50
Σχήμα 14. Γενικές οδοί αποδόμησης του λίπους του γάλακτος κατά τη ζύμωση του γάλακτος. Προσαρμογή από Cheng (2010).....	54
Σχήμα 15. Οδοί αποδόμησης του γαλακτικού οξέως και του γαλακτικού άλατος κατά τη ζύμωση του γιαουρτιού. Προσαρμογή από Cheng (2010).....	55
Σχήμα 16. Οδός αποδόμησης του κιτρικού άλατος κατά την ζύμωση του γιαουρτιού. Προσαρμογή από Cheng (2010).....	56
Πίνακας 6. Λίστα των πτητικών ενώσεων που έχουν ταυτοποιηθεί στο γιαούρτι. Προσαρμογή από Cheng (2010).....	57
Σχήμα 17. Σχηματική αναπαράσταση της αρχής λειτουργίας του αέριου χρωματογράφου.....	62
Σχήμα 18. Εξοπλισμός Φασματοσκοπίας Ατομικής Απορρόφησης Shimadzu AA 6800 Spectrophotometer.....	68
Σχήμα 19. Εξοπλισμός Υγρής Χρωματογραφίας Υψηλής Πίεσης (HPLC) (GBC 1150 Pump).....	69

Σχήμα 20. Εξοπλισμός Headspace (HS -40) αέριου χρωματογράφου συνδεδεμένου με φασματογράφο μαζών (GCMS- QP5050, Szhimadzu).....	71
Σχήμα 21. Μέσοι όροι σακχάρων και οργανικών οξέων σε δείγματα με διαφορετική λιποπεριεκτικότητα.....	76
Πίνακας 11. Συγκεντρώσεις (ppm) των πτητικών αρωματικών ουσιών που ανιχνεύθηκαν σε δείγματα επιδορπίων τύπου γιαουρτιού με λιποπεριεκτικότητα 0% και 2%. ΔΑ : ΔΕΝ ΑΝΙΧΝΕΥΘΗΚΕ.....	78
Πίνακας 12. Μέσες συγκεντρώσεις (ppm) των πτητικών αρωματικών ουσιών ανά κατηγορία χημικών ενώσεων που ανιχνεύθηκαν σε δείγματα επιδορπίων τύπου γιαουρτιού με λιποπεριεκτικότητα 0% και 2%. Μ.Ο.: Μέσος όρος, ± : τυπικό σφάλμα του μέσου όρου.....	80
Πίνακας 13. Συγκεντρώσεις (ppm) των πτητικών αρωματικών ουσιών που ανιχνεύθηκαν σε ένα μόνο δείγμα γιαουρτιού με λιποπεριεκτικότητα 1%.....	80

Περίληψη

Σκοπός της μελέτης αυτής είναι να ερευνηθούν σε άπαχα και μειωμένης λιποπεριεκτικότητας γιαούρτια ή επιδόρπια τύπου γιαουρτιού χωρίς φρούτα και άρωμα φρούτων η περιεκτικότητα σε ανόργανα άλατα, οργανικά οξέα και αρωματικά συστατικά, αφού υπάρχει μία ολοένα και αυξανόμενη ζήτηση για τέτοια προϊόντα και να δοθούν πληροφορίες τόσο για την διατροφική αξία αυτών όσο και για την θρεπτικότητά τους.

Για τον λόγο αυτό χρησιμοποιήθηκαν 23 δείγματα γιαουρτιού και επιδορπίων τύπου γιαουρτιού από αγελαδινό γάλα με λιποπεριεκτικότητα 0%, 1% και 2% που κυκλοφορούν στο εμπόριο.

Με βάση τα πειραματικά αποτελέσματα στα δείγματα αυτά καταλήξαμε στα ακόλουθα συμπεράσματα. Καταρχήν, δεν έχει καθιερωθεί ενιαία τεχνολογία παρασκευής άπαχων ή μειωμένης λιποπεριεκτικότητας γιαουρτιών ή επιδορπίων τύπου γιαουρτιού, με αποτέλεσμα η περιεκτικότητα σε ανόργανα στοιχεία να κυμαίνεται πολύ λόγω της συμπύκνωσης ή της προσθήκης διαφόρων προϊόντων γάλακτος για την ενίσχυση της ξηρής ουσίας και την βελτίωση της υφής των προϊόντων αυτών. Επίσης, η περιεκτικότητα σε ασβέστιο, μαγνήσιο, νάτριο, κάλιο και φώσφορο είναι υψηλή και άρα τα προϊόντα αυτά εκτός από διαιτητικά είναι και θρεπτικά. Οι κυρίαρχες πτητικές αρωματικές ουσίες στα προϊόντα αυτά ήταν η 2-βουτενάλη, ο 1-μεθυλ-αιθυλ εστέρας του φορμικού οξέος, η ακεταλδεΐδη, η ακετοΐνη και το οξικό οξύ.

Η HPLC που χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό των σακχάρων και των οργανικών οξέων σε αυτά τα προϊόντα μας έδωσε χρήσιμες πληροφορίες για την ζύμωση της λακτόζης από τα οξυγαλακτικά βακτήρια.

Abstract

The purpose of this study is to investigate the content of mineral salts, organic acids and volatile flavor compounds in low-fat and no fat content yogurt or yogurt-type dessert without fruit and aromas of fruit, as there is an increasing demand for such products. This study also provides information on both the nutritional value of these products and for their nutritive.

For this reason, 23 samples of yogurt and yogurt-type dessert, taken from the market, made from cow's milk and with a fat content of 0%, 1% and 2%, were used.

Based on the experimental results of these samples, we reached to the following conclusions.

First, no specific technology has been introduced for manufacturing lean or reduced fat content of yogurt or yogurt-type dessert, so the mineral content can vary greatly due to condensation or addition of various milk products to increase the dry matter and improve the texture of the product them. In addition, calcium, magnesium, sodium, potassium and phosphorus are high and therefore these products are both dietary and nutritious. The dominant volatile aromatic compounds in these products were 2-butenale, the 1-methyl ethyl ester of formic acid, acetaldehyde, the acetoin and acetic acid.

The HPLC, the method used for determination of sugars and organic acids, has given useful information on the fermentation of lactose by the lactic acid bacteria.

1 Εισαγωγή

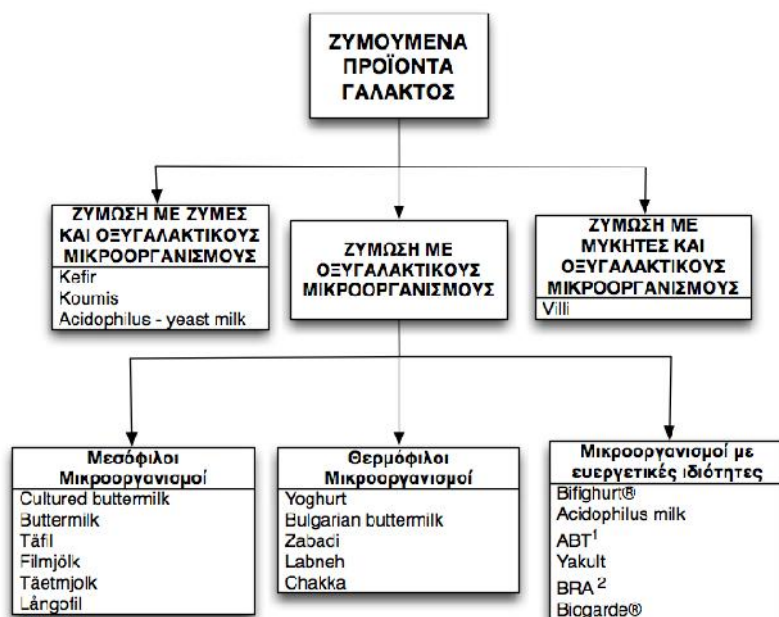
1.1 Ιστορικά Στοιχεία

Σε όλο τον κόσμο, ανεξάρτητα από το περιβάλλον, τις συνήθειες, τις παραδόσεις και την τεχνολογική υποδομή, ο άνθρωπος βρίσκεται σε μια συνεχή προσπάθεια να περιορίσει την επιμόλυνση των τροφίμων και να αυξήσει την διατηρησιμότητά τους. Απλές καθημερινές κινήσεις όπως το μαγείρεμα, η τοποθέτηση τροφίμων στο ψυγείο, η συσκευασία έχουν αυτό τον στόχο. Από τις παλαιότερες μεθόδους που υπάρχουν για τη διατήρηση των τροφίμων είναι η ζύμωση των τροφίμων.

Η ζύμωση των γαλακτοκομικών προϊόντων υπολογίζεται ότι ξεκίνησε περίπου πριν από 10.000 με 15.000 χρόνια όταν ο άνθρωπος από κυνηγός τροφής άρχισε να γίνεται παραγωγός τροφίμων (Pederson, 1979). Από αρχαιολογικά ευρήματα υπάρχουν ενδείξεις ότι το γιαούρτι προήλθε από την περιοχή της Μέσης Ανατολής και αναπτύχθηκε και διαδόθηκε από τις νομαδικές φυλές της περιοχής που ήταν κατά βάση κτηνοτρόφοι (Tamime and Robinson 1999a).

1.2 Τα ζυμωμένα προϊόντα γάλακτος και το γιαούρτι

Υπάρχουν περίπου 400 διαφορετικά ονόματα για τα παραδοσιακά και τα τυποποιημένα προϊόντα ζύμωσης του γάλακτος σε παγκόσμιο επίπεδο (Kuehmann *et al.*, 1992). Παρόλα τα διαφορετικά ονόματα, ουσιαστικά πρόκειται για το ίδιο προϊόν, το οποίο μπορεί να κατηγοριοποιηθεί σε λίγες ποικιλίες βάσει του είδους του γάλακτος που χρησιμοποιείται στην παρασκευή του, των μικροβίων που κυριαρχούν στην χλωρίδα του και των κύριων μεταβολικών προϊόντων που προκύπτουν (Σχήμα 1).



Σχήμα 1. Κατηγοριοποίηση των προϊόντων ζύμωσης του γάλακτος. 1: ABT=Lactobacillus acidophilus, Bifidobacterium bifidumand, Streptococcus thermophilus, 2: BRA= Bifidobacterium infantis, Lactobacillus reuteri and L. acidophilus. Προσαρμογή από Robinson and Tamime (1990)

Όλα τα ζυμωμένα προϊόντα γάλακτος είναι αποτέλεσμα της μετατροπής της λακτόζης κυρίως σε γαλακτικό οξύ, το οποίο και είναι υπεύθυνο για την χαρακτηριστική τους γεύση. Η διαφοροποίηση αυτών των προϊόντων είναι αποτέλεσμα του μεταβολισμού των μικροοργανισμών της ζύμωσης και των αρωματικών συστατικών που σχηματίζονται. Τυπικά προϊόντα του μεταβολισμού της λακτόζης και του αζώτου των ζυμωμένων προϊόντων γάλακτος είναι οξικές ενώσεις, ακεταλδεύδη, γαλακτικές ενώσεις, λιπαρά οξέα, πεπτίδια, αιθανόλη, CO₂ και διακετύλιο (Desmazeaud, 1990; Marshall *et al.*, 1997).

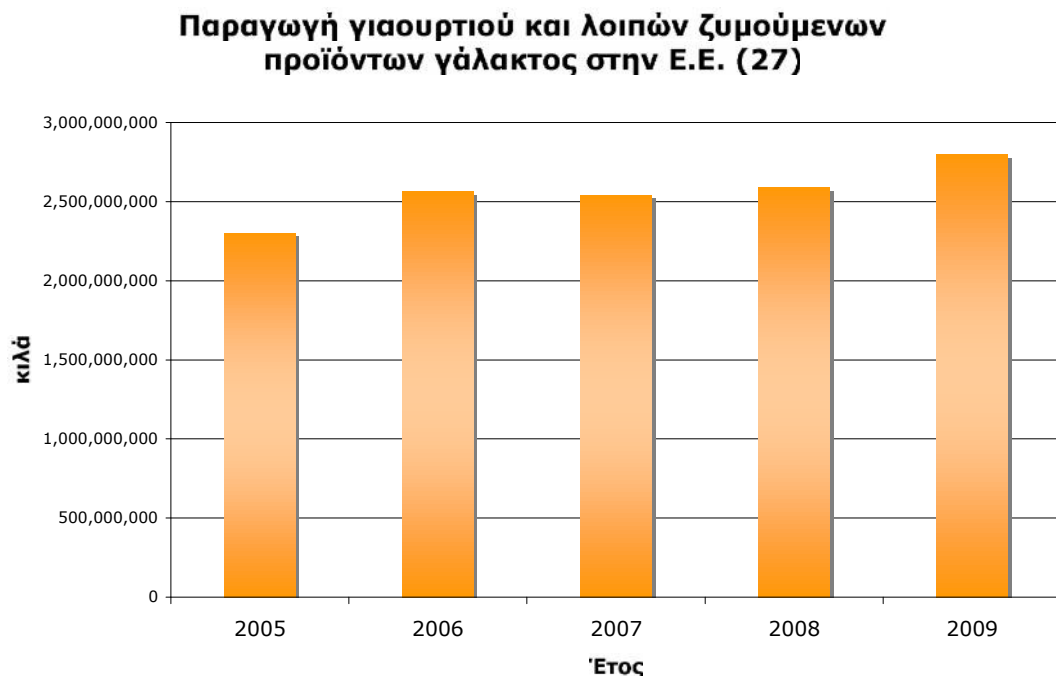
Σύμφωνα με τον Κώδικα Τροφίμων και Ποτών (Υπουργείο Οικονομίας και Οικονομικών, 2009) το «Γιαούρτι (πλήρες ή, κατά περίπτωση, Ημιαποβουτυρωμένο)... (όνομα ζώου)» χαρακτηρίζεται το προϊόν, το οποίο προκύπτει μετά από πήξη αποκλειστικά και μόνο νοπού γάλακτος της αντίστοιχης προς την ονομασία φύσης και προέλευσης, με την επίδραση καλλιέργειας ζύμης που προκαλεί ειδική γι' αυτό ζύμωση.

1.3 Η αγορά γιαουρτιού και οι σύγχρονες καταναλωτικές συνήθειες

Η παγκόσμια αγορά γιαουρτιού αναμένεται να ξεπεράσει, σε αξία, τα 65 δισεκατομμύρια δολάρια μέχρι το έτος 2015 έχοντας σαν κινητήριο δύναμη την ολοένα αυξανόμενη απαίτηση των καταναλωτών για εύκολα και υγιεινά προϊόντα διατροφής.

Το 80% της παγκόσμιας κατανάλωσης γιαουρτιού πραγματοποιείται στην Ευρώπη, την Άπω Ανατολή και την Ωκεανία. Η Άπω Ανατολή και η Ωκεανία παρουσιάζουν συνεχείς αυξητικές τάσεις στην κατανάλωση γιαουρτιού και για το έτος 2012 προβλέπεται να καταναλώσουν 5,6 εκατομμύρια τόνους (Global Industry Analysts Inc, 2011).

Στην Ευρώπη η τάση στην παραγωγή γιαουρτιού είναι σχετικά σταθερή με μικρές αυξητικές τάσεις που δεν μπορούν να ακολουθήσουν τους ρυθμούς εξέλιξης των περιοχών που προαναφέρθηκαν. Στο Σχήμα 2 που ακολουθεί παρουσιάζεται η εξέλιξη της παραγωγής ζυμωμένων προϊόντων γάλακτος και γιαουρτιού στην Ευρωπαϊκή Ένωση (27 χώρες).



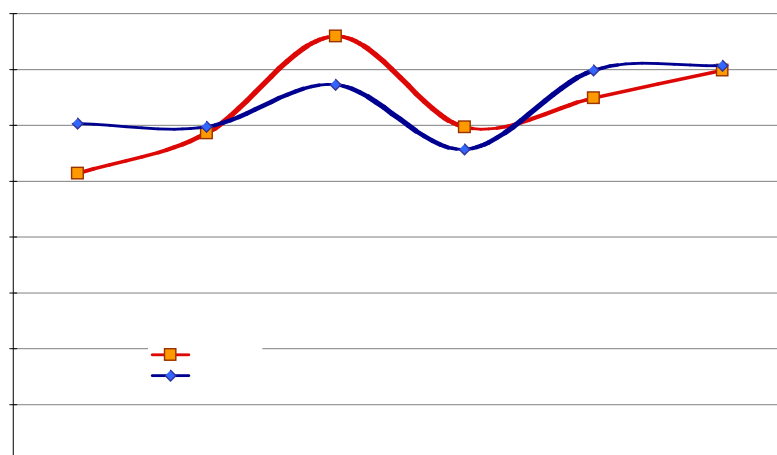
Σχήμα 2. Παραγωγή ζυμωμένων προϊόντων γάλακτος και γιαουρτιού στην Ευρωπαϊκή Ένωση (27 χώρες) για την πενταετία 2005 - 2009 σε κιλά. (προσαρμογή από τη βάση δεδομένων Prodcorn της Ε.Ε.)

Οι κύριες χώρες παραγωγής γιαουρτιού και λοιπών ζυμωμένων προϊόντων γάλακτος στην Ευρωπαϊκή Ένωση όπως φαίνεται και από τον πίνακα 1 που ακολουθεί είναι κατά σειρά όγκου παραγωγής η Γαλλία, η Γερμανία, Πολωνία, η Βουλγαρία, η Ελλάδα και η Ουγγαρία. Ακολουθούν το Ηνωμένο Βασίλειο, η Ιταλία και η Ρουμανία.

Πίνακας 1. Η παραγωγή γιαουρτιού και λοιπών ζυμωμένων προϊόντων γάλακτος κατά βάρος στις πέντε κύριες παραγωγές χώρες. (προσαρμογή από τη βάση δεδομένων Prodcorn της Ε.Ε.)

	2005	2006	2007	2008	2009
Γαλλία	526.628.084	620.723.952	535.738.671	526.802.449	516.668.832
Γερμανία	431.263.000	449.607.000	472.991.000	475.329.000	502.675.000
Πολωνία	210.174.000	267.274.000	165.178.000	196.878.000	247.956.000
Βουλγαρία	142.178.711	130.805.370	122.874.603	130.000.977	134.864.809
Ελλάδα	101.933.154	99.958.921	110.205.798	100.487.917	106.424.537
Ουγγαρία	94.154.000	101.626.000	90.867.000	110.466.000	113.347.000

Η ποσότητα του παραγόμενου γιαουρτιού στην Ελλάδα σύμφωνα με τα επίσημα στατιστικά της ΕΛ.ΣΤΑΤ. απεικονίζονται στο Σχήμα 3 που ακολουθεί.



Σχήμα 3. Η παραγωγή γιαουρτιού στην Ελλάδα σε κιλά και η αντίστοιχη αξία σε ευρώ για τα έτη 2003 έως 2007. Προσαρμογή από στατιστικά στοιχεία της ΕΛ.ΣΤΑΤ. (2011)

Η παραγωγή παρουσιάζει διακυμάνσεις με μικρές αυξητικές τάσεις. Οι διακυμάνσεις αυτές οφείλονται σε γεγονότα όπως οι Ολυμπιακοί Αγώνες το 2004, οπότε παρατηρήθηκε μεγάλη αύξηση της παραγωγής, ή σε μη ασφαλή προϊόντα που βρέθηκαν μετά από ελέγχους σε σημεία τελικής πώλησης (μείωση παραγωγής το 2005).

Μπαράζ προσφορών, νέα προϊόντα, έντονος ανταγωνισμός μεταξύ των κύριων πρωταγωνιστών και σταδιακή αύξηση των προϊόντων ιδιωτικής ετικέτας είναι τα βασικά χαρακτηριστικά της αγοράς των προϊόντων γιαουρτιού, μιας αγοράς που παρά τη στασιμότητά της, έχει αποτελέσει πεδίο σημαντικών ανακατατάξεων τα τελευταία χρόνια. Βασικοί πρωταγωνιστές του κλάδου είναι οι δύο μεγάλες δυνάμεις της ελληνικής γαλακτοβιομηχανίας ΦΑΓΕ και Vivartia, οι οποίες ελέγχουν περίπου το 50% της αγοράς, ενώ δυναμική ανάπτυξη την τελευταία δεκαετία παρουσιάζουν οι Μεβγάλ, Όλυμπος, Κρι Κρι, Friesland και Danone.

Σύμφωνα με εκτιμήσεις εκπροσώπων του κλάδου, η αγορά γιαουρτιού και επιδορπίων εκτιμάται στα 350 εκατ. ευρώ, αποτελώντας το 16% περίπου της συνολικής αγοράς γαλακτοκομικών προϊόντων. Το γιαούρτι παρουσιάζει υψηλή διείσδυση στα ελληνικά νοικοκυριά καθώς το 97% των Ελλήνων τρώει γιαούρτι τουλάχιστον μια φορά το χρόνο και το 75% περισσότερες από μια φορά το μήνα. Έτσι η εν λόγω αγορά θεωρείται ιδιαίτερα ώριμη, χωρίς περιθώρια περαιτέρω ανάπτυξης, με αποτέλεσμα την τελευταία τετραετία να έχει κινηθεί με μέσο ρυθμό αύξησης μόλις 0,5%.

Παρά την ιδιαίτερα διαδεδομένη και υψηλή κατανάλωσή όμως, ο κλάδος όπως και το σύνολο της αγοράς ειδών διατροφής, επηρεάστηκε έντονα από την οικονομική κρίση, οδηγώντας σε απώλειες μέσα στο 2009, κυρίως όσον αφορά στην αξία πωλήσεων. Μάλιστα αν δεν παρουσίαζε αύξηση η κατηγορία των προϊόντων ιδιωτικής ετικέτας αλλά και η εισαγωγή ειδικού τύπου προϊόντων όπως γιαούρτια (με προβιοτικά) τότε η πτώση θα ήταν ακόμη μεγαλύτερη. Η αξία πωλήσεων υποχώρησε βέβαια με μεγαλύτερο ρυθμό λόγω και της πίεσης της τιμής αφενός από τις προσφορές δωρεάν ποσοτήτων προϊόντων αλλά και λόγω της μετακίνησης των καταναλωτών προς τα κατά 30% (ή και περισσότερα) φθηνότερα προϊόντα ιδιωτικής ετικέτας.

Όπως σημειώθηκε και προηγουμένως, η αγορά γιαουρτιού στην Ελλάδα είναι ώριμη και παρουσιάζει στασιμότητα γεγονός που οδηγεί στη εκτίμηση ότι τα περιθώρια για ανάπτυξη είναι μικρά. Πολλές εταιρείες έχουν στραφεί στο εξωτερικό, με χαρακτηριστικότερο το παράδειγμα της ΦΑΓΕ η οποία πέρα από τις εξαγωγές της, διαθέτει παραγωγική μονάδα στις ΗΠΑ. Επίσης και αρκετές άλλες ελληνικές εταιρείες έχουν στρέψει το βλέμμα τους στο εξωτερικό αναζητώντας νέες δυναμικές αγορές καθώς και στρατηγικές συμμαχίες που θα τους επιτρέψουν να εκμεταλλευθούν τις ευκαιρίες που οι αγορές αυτές προσφέρουν. Η ευρύτερη

ευρωπαϊκή αγορά ήταν από τις πρώτες που κέντρισαν το ενδιαφέρον των ελληνικών το γαλακτοβιομηχανιών. Ήδη εκτός από τις μεγάλες γαλακτοβιομηχανίες της χώρας στον ευρωπαϊκό χώρο εξάγουν πλέον και άλλες εταιρείες, όπως η Δωδώνη, η Τυράς και η Κρι-Κρι. Σύμφωνα με στοιχεία της ICAP οι εξαγωγές γιαουρτιού ανήλθαν στους 23.468 τόνους το 2008, εκ των οποίων το 92% αφορούσε το λευκό γιαούρτι, ενώ συνολικά οι εξαγωγές κυμαίνονται κοντά στο 23% της συνολικής ετήσιας παραγωγής (Περιοδικό «Χρήμα», 2010).

Ενώ ο ανταγωνισμός εντείνεται στο πεδίο των προσφορών, οι μεγάλες γαλακτοβιομηχανίες έχουν στρέψει το ενδιαφέρον τους και στη δημιουργία νέων καινοτόμων προϊόντων που αφορούν συγκεκριμένες καταναλωτικές ομάδες. Με έμφαση στην υγιεινή διατροφή, η οποία έτσι και αλλιώς περιλαμβάνει και την κατανάλωση γιαουρτιού, αναζητούν νέους συνδυασμούς γεύσεων και ταυτόχρονα δημιουργούν προϊόντα που καλύπτουν συγκεκριμένες ανάγκες των καταναλωτών.

Η αυξανόμενη προτίμηση των καταναλωτών για προϊόντα υψηλής ποιότητας και προστιθέμενης αξίας, όπως τα ειδικά επιδόρπια γάλακτος και το σύνθετο γιαούρτι (με φρούτα, δημητριακά κ.λπ.) αποτελεί την κύρια τάση που παρουσιάζει η αγορά γαλακτοκομικών προϊόντων τα τελευταία χρόνια και οι βιομηχανίες δείχνουν να το εκμεταλλεύονται. Άλλωστε σε αυτό βοήθησε και η εξέλιξη των τεχνολογικών μέσων και οι μεγάλες επενδύσεις, τις οποίες πραγματοποίησαν οι εταιρείες στον τομέα της έρευνας, ώστε να παραχθούν νέα προϊόντα υψηλής προστιθέμενης αξίας, όπως γιαούρτια για βρέφη, για παιδιά, για αθλητές, για εκείνους που κάνουν δίαιτα κ.λπ. Έτσι προβιοτικά διαθέτουν στην αγορά η Danone και η Vivartia, ενώ η Όλυμπος και η συνεταιριστική ΕΒΟΛ έχουν μπει στην αγορά βιολογικού γιαουρτιού, οι εταιρείες Vivartia, ΦΑΓΕ, Friesland, Κρι-Κρι, Danone προσφέρουν παιδικά γιαούρτια ενώ σύνθετα γιαούρτια προσφέρουν όλες οι γαλακτοβιομηχανίες διευρύνοντας μάλιστα την γκάμα των γεύσεών τους (Δήμητρα Σκούφου 2009).

1.4 Είδη γιαουρτιού και παραγωγική διαδικασία

Βάσει του τρόπου παραγωγής του το γιαούρτι μπορεί να κατηγοριοποιηθεί στους εξής τύπους:

- Παραδοσιακό γιαούρτι, όπου σαν καλλιέργεια εκκίνησης χρησιμοποιείται γιαούρτι της προηγούμενης ημέρας
- Στραγγισμένο γιαούρτι. Πρόκειται για γιαούρτι με αυξημένη αναλογία στερεών συστατικών (23-25%).
- Επιδόρπιο γιαουρτιού, σύμφωνα με τον Κ.Τ.Π. 1988, χαρακτηρίζεται το προϊόν έτοιμο προς βρώση που παρασκευάζεται από:
 - Μία ή περισσότερες κατηγορίες γάλακτος που προβλέπονται από τον Κ.Τ.Π. στο άρθρο 80
 - Προϊόντα γάλακτος ή και συστατικό γάλακτος (πρωτεΐνη γάλακτος, λακτόζη) ή και μαγιά γιαουρτιού
 - Σακχαρούχες γλυκαντικές ύλες
 - Σκόνη κακάο, λιποπεριεκτικότητας 10% τουλάχιστον σε βούτυρο κακάο, σοκολάτα ή εκχύλισμα καφέ με ή χωρίς καφεΐνη
 - Χυμούς φρούτων με ή χωρίς ζάχαρη, τεμάχια φρούτων φρέσκα ή ζαχαρωμένα καθώς και προϊόντα με γλυκαντικές ύλες που περιλαμβάνονται στον Κ.Τ.Π.
 - Επιτρέπεται η προσθήκη χρωστικής ύλης, σταθεροποιητών, πυκνωτικών και πηκτικών υλών από ύλες που προβλέπονται από τον Κ.Τ.Π. (Μάντης Αντ., 2005)
- Γιαούρτι με προβιοτικά βακτήρια του γένους *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* και *Lactococcus*
- Τύπου set, όπου η επώαση των μικροοργανισμών και η ψύξη του προϊόντος γίνεται μέσα στην τελική συσκευασία
- Τύπου stirred, όπου η επώαση και η ψύξη γίνεται σε δεξαμενές πριν την τελική συσκευασία
- Τύπου drinking όπου είναι παρόμοια με τον τύπο stirred με τη διαφορά ότι το πήγμα μετατρέπεται σε υγρό πριν τη συσκευασία

- Τύπου frozen για stirred γιαούρτια, όπου η επώαση γίνεται σε δεξαμενές και στη συνέχεια καταψύχεται με διαδικασίες όμοιες με του παγωτού
- Συμπυκνωμένο, όπου η επώαση πραγματοποιείται σε δεξαμενές, συμπυκνώνεται και ψύχεται πριν τη συσκευασία

Τα στάδια παραγωγής βιομηχανικού γιαουρτιού είναι τα ακόλουθα:

- Προετοιμασία γάλακτος (καθαρισμός, έλεγχος για αντιβιοτικά, τυποποίηση)
- Συμπύκνωση υπό κενό ή προσθήκη σκόνης (αύξηση των στερεών συστατικών στο 14-15,5%)
- Προθέρμανση σε 60-70°C – Ομογενοποίηση
- Θέρμανση στους 85 °C για 30 min, ή στους 90-95 °C για 5-10 min, ή στους 120 °C για 2-3 sec
- Ψύξη στην θερμοκρασία επώασης (43 °C)
- Εμβολιασμός (*S. thermophilus* και *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*)
- Είτε συσκευασία σε κύπελλα και επώαση στους 42°C για 3h μέσα σε αυτά. Ακολουθεί ψύξη σε $\Theta < 20$ °C και διατήρηση σε $\Theta < 5$ °C (γιαούρτι τύπου set)
- Είτε επώαση στους 42 °C για 3h μέσα σε δεξαμενές. Ακολουθεί ψύξη σε $\Theta < 20$ °C, συσκευασία και διατήρηση σε $\Theta < 5$ °C (γιαούρτι τύπου stirred) (Καμιναρίδης Στ., Μοάτσου Γκ., 2009)

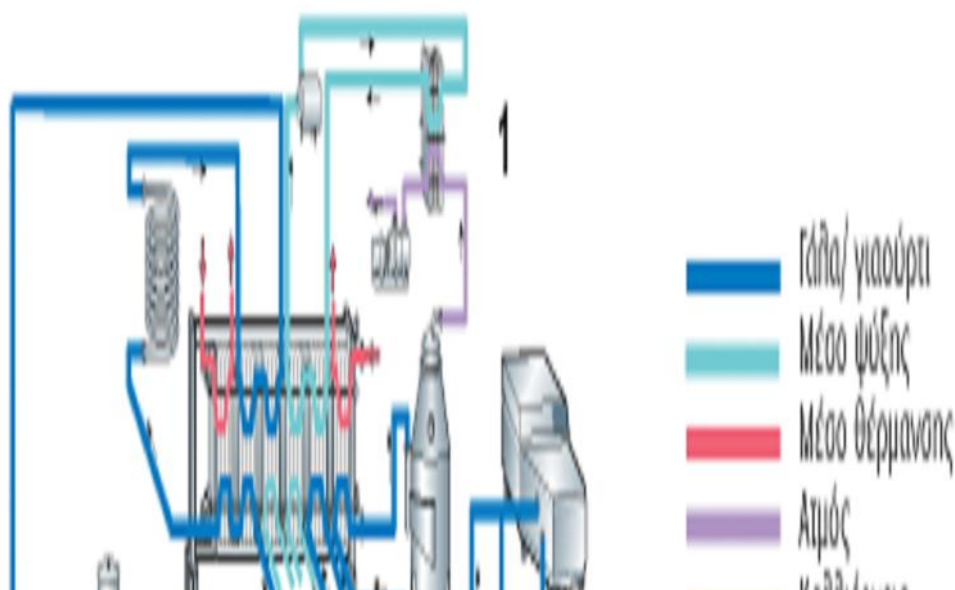
1.4.1 Παραγωγική διαδικασία γιαουρτιού τύπου stirred

Μια τυπική διαδικασία για την παραγωγή γιαουρτιού τύπου stirred είναι η εξής: επεξεργασμένο γάλα → προσθήκη καλλιέργειας → επώαση → ψύξη → προσθήκη αρωματικών υλών → συσκευασία → αποθήκευση υπό ψύξη.

Σχηματικά η παραγωγή σχετικά μεγάλου όγκου γιαουρτιού τύπου stirred παρουσιάζεται στο σχήμα 4 που ακολουθεί.

Το γάλα που έχει παστεριωθεί, ομογενοποιηθεί και ψυχθεί στη θερμοκρασία επώασης, μέσω αντλίας μεταφέρεται στις δεξαμενές επώασης (3) που συνήθως είναι

διατεταγμένες σε σειρά. Ταυτόχρονα μια προκαθορισμένη ποσότητα καλλιεργητών εκκίνησης (2) εισέρχεται στη ροή του γάλακτος. Όταν μια δεξαμενή επώασης γεμίζει τότε το περιεχόμενό της ανακινείται για μικρό χρονικό διάστημα με ειδικό μηχανισμό που εξασφαλίζει την ομοιόμορφη κατανομή των καλλιεργειών στο γάλα.



Σχήμα 4. Η διαδικασία παραγωγής γιαουρτιού τύπου stirred. Προσαρμογή από Bylund (1995)

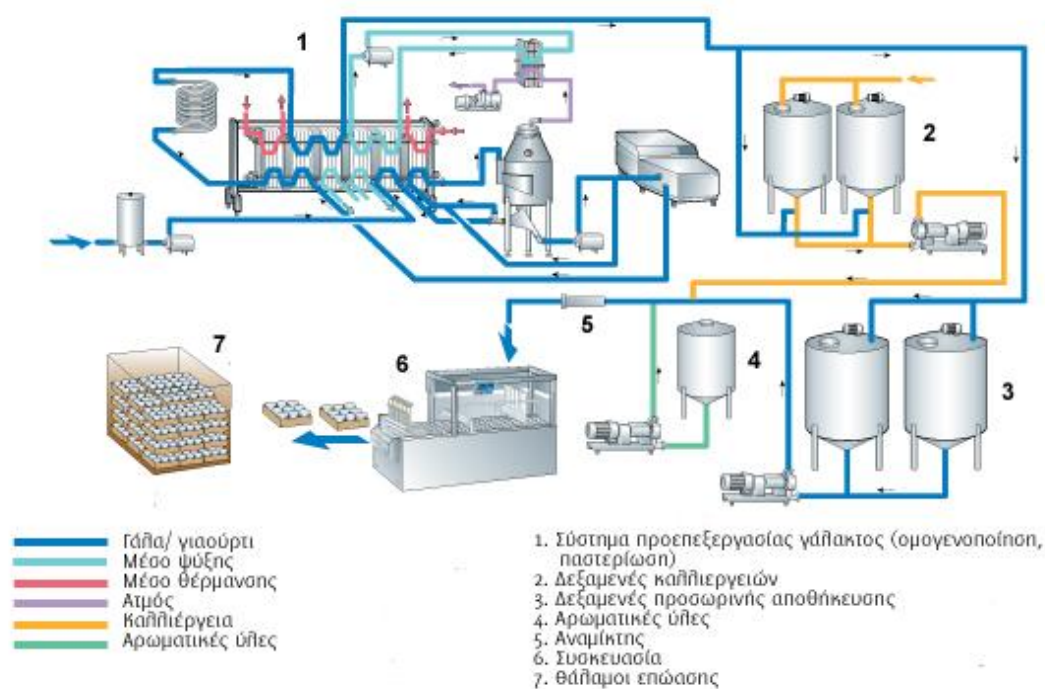
Οι δεξαμενές επώασης είναι μονωμένες για διατήρηση της θερμοκρασίας και συνήθως φέρουν συσκευές μέτρησης και παρακολούθησης του pH για τον έλεγχο της οξύτητας. Στην τυπική διαδικασία παραγωγής γιαούρτης τύπου stirred ο χρόνος επώασης κυμαίνεται μεταξύ 2,5 και 3 ωρών στους $42^{\circ} - 43^{\circ}\text{C}$ με χρήση ποσότητας καλλιεργειών εκκινητών 2,5 – 3% επί του συνόλου. Η μικρή διάρκεια της επώασης φανερώνει ότι η περίοδος πολλαπλασιασμού των βακτηρίων είναι γρήγορη (περίπου 20 με 30 λεπτά). Όταν με την επώαση επιτευχθεί η επιθυμητή τιμή pH (συνήθως μεταξύ 4,2 και 4,5) τότε το γιαούρτι ψύχεται στους $15 - 22^{\circ}\text{C}$ για να σταματήσει ο περαιτέρω πολλαπλασιασμός των βακτηρίων. Παράλληλα θα πρέπει, μέσω ήπιας μηχανικής επεξεργασίας, να διατηρείται η υφή του πηγματος. Η ψύξη πραγματοποιείται με τη βοήθεια εναλλάκτη θερμότητας πλακών (4), η δυναμικότητα του οποίου θα πρέπει να είναι τέτοια που θα μπορεί να αδειάσει μια δεξαμενή επώασης μέσα σε 20-30 λεπτά. Το γιαούρτι αφού κρυώσει οδηγείται στις δεξαμενές

προσωρινής αποθήκευσης (5) και από εκεί διοχετεύεται στην τελική συσκευασία μέσω του αναμίκτη (7). Σαν γενικός κανόνας ισχύει ότι, η δυναμικότητα της συσκευαστικής μηχανής πρέπει να είναι ίση με τη δυναμικότητα του μηχανήματος παστερίωσης (Gösta Bylund, 1995).

1.4.2 Παραγωγική διαδικασία γιαουρτιού τύπου set

Μια τυπική διαδικασία για την παραγωγή γιαουρτιού τύπου set είναι η εξής: επεξεργασμένο γάλα → προσθήκη καλλιέργειας → προσθήκη αρωματικών υλών → συσκευασία → επώαση → ψύξη → αποθήκευση υπό ψύξη.

Σχηματικά η παραγωγή σχετικά μεγάλου όγκου γιαουρτιού τύπου set παρουσιάζεται στο σχήμα 5 που ακολουθεί.



Σχήμα 5. Η διαδικασία παραγωγής γιαουρτιού τύπου set. Προσαρμογή από Bylund (1995)

Το γάλα που έχει παστεριωθεί, ομογενοποιηθεί και ψυχθεί στη θερμοκρασία επώασης, μέσω αντλίας μεταφέρεται στις δεξαμενές προσωρινής αποθήκευσης (3). Οι καλλιέργειες εκκίνησης εισέρχονται στη ροή του γάλακτος στο στάδιο πριν τον αναμίκτη (5). Στην συνέχεια ακολουθεί η συσκευασία σε κιβώτια και παλέτες, η ψύξη και η επώαση. Υπάρχουν διάφορες τεχνολογίες για την ψύξη και την επώαση με τις επικρατέστερες να είναι οι εξής:

- ταυτόχρονη επώαση και ψύξη σε ειδικούς θαλάμους όπου οι παλέτες παραμένουν αποθηκευμένες σε ακινησία για συγκεκριμένο χρονικό διάστημα και όταν επιτευχθεί η επιθυμητή τιμή pH, μεταφέρονται στα ψυγεία τελικής αποθήκευσης
- οι παλέτες με το συσκευασμένο προϊόν τοποθετούνται σε ειδικούς θαλάμους όπου πραγματοποιείται η επώαση και στη συνέχεια μεταφέρονται με ειδικό κινούμενο ιμάντα μέσα από ένα τούνελ ψύξης προς τους χώρους της τελικής αποθήκευσης.

Για την επιτυχή επώαση του γιαουρτιού τύπου set, οι παλέτες με τα συσκευασμένα προϊόντα θα πρέπει να τοποθετούνται στους θαλάμους επώασης κατά τέτοιο τρόπο ώστε ο αέρας που κυκλοφορεί και θερμαίνει ή ψύχει (κατά περίπτωση) να έχει μπορεί να επηρεάσει ομοιόμορφα το σύνολο της παρτίδας. Συνήθης χρόνος επώασης είναι 3 με 3,5 ώρες εκ των οποίων κατά τις τελευταίες 2 ώρες το προϊόν θα πρέπει να βρίσκεται σε πλήρη ακινησία για να αποφευχθεί η πιθανότητα διαχωρισμού του ορού του γάλακτος.

Η ψύξη που ακολουθεί το τέλος της επώασης (τιμή pH συνήθως περί το 4,5) έχει ως στόχο την ανάσχεση του πολλαπλασιασμού των μικροβίων της ζύμωσης. Στόχος είναι η πτώση της θερμοκρασίας του προϊόντος στους 18-20°C εντός 60 με 70 λεπτών της ώρας (Gösta Bylund, 1995).

1.5 Η διατροφική αξία του γιαουρτιού

Η χημική ανάλυση ενός τροφίμου παρέχει χρήσιμες πληροφορίες για την διατροφική του αξία. Πολλά χαρακτηριστικά του γιαουρτιού προκύπτουν από την νομοθεσία όπως ορίζεται στον Κώδικα Τροφίμων και Ποτών όπου αναφέρεται ότι το γιαούρτι κάθε είδους όταν έρχεται στην κατανάλωση πρέπει να πληροί τους πιο κάτω όρους:

- α) Να είναι συμπαγές, όχι πορώδες και η επιφάνεια της μάζας του, εκτός από τον υμένα, να εμφανίζει την όψη αλάβαστρου.
- β) Το γιαούρτι που πωλείται σε δοχεία πρέπει να καλύπτεται πάντα με φύλλο από αδιάβροχο χαρτί ή άλλα από τα επιτρεπόμενα είδη.

γ) Απαγορεύεται η πώληση γιαουρτιού που έχει αντιληπτό ίζημα. Σε περίπτωση, που κατά την εξέταση, διαπιστωθεί τέτοιο ίζημα, πρέπει με μικροσκοπική εξέταση να διευκρινίζεται αν αυτό οφείλεται σε ξένες ουσίες προς το γιαούρτι.

δ) Απαγορεύεται η πώληση γιαουρτιού που έχει υποστεί και κάποια άλλη ζύμωση, εκτός από την ειδική γι' αυτό.

ε) Απαγορεύεται η διάθεση στην κατανάλωση γιαουρτιού, του οποίου οι οργανοληπτικές ιδιότητες δεν είναι οι κανονικές και ευχάριστες.

στ) Απαγορεύεται η προσφορά για πώληση και η διάθεση γενικά στην κατανάλωση, γιαουρτιού χρωματισμένου με οποιαδήποτε χρωστική ή με κάποιο άλλο μέσο.

ζ) Απαγορεύεται η διάθεση στην κατανάλωση γιαουρτιού που περιέχει συντηρητικές ουσίες, γενικά.

Ωστόσο ορισμένες διεργασίες του γιαουρτιού στον ανθρώπινο οργανισμό δεν είναι δυνατόν να γίνουν ορατές μέσω της χημικής ανάλυσης (Robinson, 1977).

Στον πίνακα 2 που ακολουθεί παρουσιάζονται τα κύρια χαρακτηριστικά του γιαουρτιού όπως αναφέρονται στη βάση θρεπτικών συστατικών του USDA (2010).

Πίνακας 2. Θρεπτικά συστατικά του γιαουρτιού (πλήρες και χαμηλών λιπαρών) ανά 100 γραμμάρια προϊόντος. Προσαρμογή από USDA National Nutrient Database for Standard Reference

Ουσία	Μονάδα	Γιαούρτι χαμηλών λιπαρών	Πλήρες γιαούρτι
		Τιμή ανά 100 γρ προϊόντος	Τιμή ανά 100 γρ προϊόντος
Βασικά χαρακτηριστικά			
Νερό	g	85,07	87,90
Ενέργεια	kcal	63	61
Πρωτεΐνη	g	5,25	3,47
Ολικό λίπος	g	1,55	3,25
Τέφρα	g	1,09	0,72
Υδατάνθρακες	g	7,04	4,66
Ίνες	g	0,0	0,0
Σάκχαρα ολικά	g	7,04	4,66
Ανόργανα συστατικά			
Ασβέστιο, Ca	mg	183	121
Σίδηρος, Fe	mg	0,08	0,05
Μαγνήσιο, Mg	mg	17	12
Φώσφορος, P	mg	144	95
Κάλιο, K	mg	234	155

Νάτριο, Na	mg	70	46
Ψευδάργυρος, Zn	mg	0,89	0,59
Χαλκός, Cu	mg	0,013	0,009
Μαγγάνιο, Mn	mg	0,004	0,004
Φθόριο, F	mcg	12,0	12,0
Σελήνιο, Se	mcg	3,3	2,2
Βιταμίνες			
Βιταμίνη C	mg	0,8	0,5
Θειαμίνη	mg	0,044	0,029
Ριβοφλαβίνη	mg	0,214	0,142
Νιασίνη	mg	0,114	0,075
Παντοθενικό οξύ	mg	0,591	0,389
Βιταμίνη B-6	mg	0,049	0,032
Φολικό οξύ (folate)	mcg	11	7
Χολίνη, ολική	mg	15,2	15,2
Βεταΐνη	mg	0,9	0,0
Βιταμίνη B-12	mcg	0,56	0,37
Ρετινόλη	mcg	14	27
Καροτίνη β	mcg	2	5
Καροτίνη α	mcg	0	0
Κρυπτοξανθίνη β	mcg	0	0
Βιταμίνη A	IU	51	99
Λυκοπένιο	mcg	0	0
Λουτεΐνη	mcg	0	0
Βιταμίνη E	mg	0,03	0,06
Βιταμίνη D	IU	1	2
Βιταμίνη K	mcg	0,2	0,2
Λιπίδια			
Ολικά κορεσμένα λιπαρά οξέα	g	1,000	2,096
4:0	g	0,046	0,096
6:0	g	0,032	0,066
8:0	g	0,020	0,042
10:0	g	0,044	0,093
12:0	g	0,053	0,111
14:0	g	0,163	0,343
16:0	g	0,422	0,886
18:0	g	0,151	0,317
Ολικά μονοακόρεστα λιπαρά οξέα	g	0,426	0,893
Ολικά πολυακόρεστα λιπαρά οξέα	g	0,044	0,092
Χοληστερόλη	mg	6	13
Αμινοξέα			

Τρυπτοφάνη	g	0,030	0,020
Θρεονίνη	g	0,216	0,142
Ισολευκίνη	g	0,286	0,189
Λευκίνη	g	0,529	0,350
Λυσίνη	g	0,471	0,311
Μεθιονίνη	g	0,155	0,102
Κυστίνη	g	0,048	0,032
Φαινυλαλανίνη	g	0,286	0,189
Τυροσίνη	g	0,265	0,175
Βαλίνη	g	0,434	0,287
Αργινίνη	g	0,158	0,104
Ιστιδίνη	g	0,130	0,086
Αλανίνη	g	0,255	0,148
Ασπαρτικό οξύ	g	0,416	0,275
Γλουταμικό οξύ	g	1,028	0,679
Γλυκίνη	g	0,127	0,084
Προλίνη	g	0,622	0,411
Σερίνη	g	0,325	0,215

Οι πρωτεΐνες και τα ανόργανα στοιχεία (και ιδιαίτερα το ασβέστιο και ο φώσφορος) αυξάνουν τη βασική δομή του πήγματος. Επομένως, η κύρια πηγή ενέργειας για τις καλλιέργειες εκκίνησης είναι η λακτόζη (Robinson, 1999).

Οι προφανείς ομοιότητες της σύστασης των θρεπτικών συστατικών του γιαουρτιού και του φρέσκου γάλακτος, θέτουν το γιαούρτι ως την καλύτερη εναλλακτική πηγή στην καθημερινή δίαιτα για την πρόσληψη πρωτεϊνών, ασβεστίου, φωσφόρου, ριβοφλαβίνης, θειαμίνης, βιταμίνης B₁₂, φολικού οξέος, νιασίνης, μαγνήσιου και ψευδαργύρου (McKinley, 2005).

1.5.1 Υδατάνθρακες

Ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι διαθέσιμοι υδατάνθρακες, δηλαδή οι υδατάνθρακες που μπορούν να αφομοιωθούν από τον ανθρώπινο οργανισμό και επομένως να χρησιμοποιηθούν ως πηγή ενέργειας κατά τον μεταβολισμό. Υπάρχουν ορισμένοι μονοσακχαρίτες και δισακχαρίτες σε ίχνη, αλλά η λακτόζη ανιχνεύεται σε σημαντικά ποσά και είναι το κυρίαρχο σάκχαρο στο γιαούρτι. Ακόμα και μετά την ολοκλήρωση της ζύμωσης η εναπομείνασα ποσότητα λακτόζης είναι υπολογίσιμη και μπορεί να φτάσει τα 4-5 γραμμάρια ανά 100 γραμμάρια προϊόντος (Tamime, 1977; Scrimshaw

and Murray, 1988; Barrantes *et al.*, 1994). Ο λόγος για τον οποίο ανιχνεύεται αυτή η ποσότητα είναι ότι το γάλα που χρησιμοποιείται στην παραγωγική διαδικασία έχει ενισχυθεί σε ολικά στερεά (μέχρι και 14-16g/100g προϊόντος) εκ των οποίων τα 8 γραμμάρια, περίπου, αντιστοιχούν στη λακτόζη. Επομένως η περιεκτικότητα σε λακτόζη του γιαουρτιού διαφοροποιείται ελάχιστα από την περιεκτικότητα σε λακτόζη του γάλακτος, παρόλο που ζυμώνεται. Σημαντική διαφοροποίηση παρατηρείται στον αντίκτυπο που έχουν αυτές οι σχετικά ίδιες ποσότητες λακτόζης σε ανθρώπους που παρουσιάζουν δυσανεξία στην κατανάλωση της συγκεκριμένη ουσίας (Gilliland, 1991). Η απορρόφηση της λακτόζης από άτομα με δυσανεξία στη συγκεκριμένη ουσία είναι πολύ καλύτερη όταν η λακτόζη προέρχεται από το γιαούρτι σε σχέση με το γάλα. Η πέψη του γιαουρτιού από τη συγκεκριμένη ομάδα καταναλωτών είχε ως αποτέλεσμα λιγότερες διάρροιες και μετεωρισμούς σε σχέση με την κατανάλωση ίδιας ποσότητας λακτόζης προερχόμενης από πόσιμο γάλα. Η καλύτερη απορρόφηση της λακτόζης που προέρχεται από γιαούρτι από άτομα με δυσανεξία οφείλεται στην ενδοεντερική δέσμευση της λακτόζης από την λακτάση που παράγουν οι μικροοργανισμοί του γιαουρτιού (Joseph *et al.*, 1984). Πιο συγκεκριμένα, ενδοεντερική πέψη της λακτόζης πραγματοποιείται από τη β-γαλακτοσιδάση που παράγεται από τους μικροοργανισμούς *Streptococcus thermophilus* και *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (Rao *et al.*, 1991). Μάλιστα η ενδογενής λακτάση που παράγεται από τους μικροοργανισμούς του γιαουρτιού είναι ανώτερη από την εξωγενή λακτάση που προστίθεται στα προϊόντα για να μετριάσει τις παρενέργειες της δυσανεξίας στη λακτόζη (Onwulata *et al.*, 1989). Επομένως, το γιαούρτι αποτελεί μια καλή πηγή γαλακτοκομικών για τα άτομα με δυσανεξία στη λακτόζη.

Σε ορισμένα γιαούρτια και ιδίως σε αυτά κομμάτια φρούτων τύπου stirred συχνά προστίθενται σταθεροποιητικές ουσίες για την αποφυγή της συναίρεσης κατά την εμπορία του προϊόντος. Πολλές από αυτές τις ουσίες είναι πολύπλοκοι υδρογονάνθρακες όπως το κόμμι γκουάρ, το κόμμι χαρουπιών, η καραγενάνη και άλλα παράγωγα της κυτταρίνης. Τα μόρια αυτών των ουσιών είναι πολυσακχαρίτες οι οποίοι δεν επηρεάζονται από τα ένζυμα της πέψης του ανθρώπινου οργανισμού. Εκ τούτου οι υδροκολλοειδείς αυτές ουσίες συχνά αναφέρονται και ως μη διαθέσιμοι υδατάνθρακες (Robinson and Khan, 1978). Οι ουσίες αυτές μπορούν, λόγω της ιδιότητάς τους να μην επηρεάζονται από τα ένζυμα της πέψης, να έχουν διάφορες

θετικές επιδράσεις στην θρέψη του ανθρώπου (απορρόφηση πιθανώς τοξικών ουσιών που παράγονται από τους μικροοργανισμούς, μείωση της χοληστερόλης στο αίμα, καθυστέρηση της διάχυσης των σακχάρων στα εντερικά τοιχώματα κ.α.). Πάραυτα, οι ουσίες αυτές δεν χρησιμοποιούνται ευρέως λόγω των ακριβών πρώτων υλών και της αρνητικής επίδρασης που πιθανόν να έχουν στην υφή και τη γεύση του τελικού προϊόντος.

1.5.2 Πρωτεΐνες

Τα γαλακτικά βακτήρια υδρολύουν μερικώς τις πρωτεΐνες με αποτέλεσμα την αύξηση της ποσότητας των ελεύθερων αμινοξέων στα ζυμούμενα γαλακτοκομικά προϊόντα. Η υδρόλυση των πρωτεϊνών που πραγματοποιείται κατά τη ζύμωση μπορεί να είναι χρήσιμη για τους ανθρώπους που παρουσιάζουν έλλειψη των ενζύμων της πέψης. Συνεπώς, οι πρωτεΐνες του γιαουρτιού είναι πιο εύπεπτες από τις πρωτεΐνες που συναντώνται στο γάλα, παρόλο που η πρωτεϊνική σύσταση του γιαουρτιού και του φρέσκου γάλακτος είναι παρόμοια (Akin, 2006). Η διάσπαση των πρωτεϊνών σε αμινοξέα και πεπτίδια πραγματοποιείται κατά το στάδιο της επώασης και της αποθήκευσης (Butikofer *et al.*, 1995).

Η βιολογική αξία των πρωτεϊνών του γιαουρτιού είναι υψηλή αφενός λόγω της ευκολότερης πέψης τους, σε σχέση με το φρέσκο γάλα, αφετέρου λόγω της συσσωμάτωσης των πρωτεϊνών πριν τη λήψη τους από τον οργανισμό με συνέπεια να αποφεύγονται προβλήματα στο στομάχι και το έντερο (δυσπεψίες, μετεωρισμοί κλπ).

Οι πρωτεΐνες του γάλακτος παίζουν κυρίαρχο ρόλο στη δημιουργία του πήγματος με αποτέλεσμα η ρευστότητα του προϊόντος να είναι ανάλογη με την ποσότητα των πρωτεϊνών (Tamime and Robinson 1999b). Η αποτελεσματικότητα της προσθήκης πρωτεϊνών σε γιαούρτι τύπου stirred στην αύξηση της συνεκτικότητας του προϊόντος είναι μεγαλύτερη σε σχέση με τη δράση που έχει η προσθήκη υδροκολλοειδών ή λιπαρών ενώσεων (Keogh and O' Kennedy, 1998).

Επίσης, παρόλο που τα αμινοξέα και τα πεπτίδια δεν συνεισφέρουν άμεσα στη γεύση του γιαουρτιού, δρουν ως πρόδρομες ουσίες που συμμετέχουν στο πλήθος των χημικών αντιδράσεων που είναι υπεύθυνες για το σχηματισμό των αρωματικών συστατικών (Groux, 1976; Viani and Horman, 1976).

1.5.3 Λιπίδια

Παρόλο που το γιαούρτι στο σύγχρονο βιομηχανικό κόσμο παρασκευάζεται με τη χρήση αποβουτυρωμένου γάλακτος, το παραδοσιακό γιαούρτι περιέχει τυπικά 3-4 γραμμάρια λιπιδίων ανά 100 γραμμάρια προϊόντος. Η αντίστοιχη ποσότητα στα παραδοσιακά γιαούρτια ελληνικού τύπου φτάνει τα 9-10 γραμμάρια (Buttriss, 1997; Anonymous, 1997). Τα γιαούρτια μπορούν να καταταχθούν ως εξής σύμφωνα με την περιεκτικότητά τους σε λιπαρές ουσίες (Tamime and Robinson 1999c):

- <1% (χωρίς λίπος)
- >1% και <3% (χαμηλών λιπαρών – ημιαποβουτυρωμένα)
- >3% και <4%
- >4,5% και 10% (πλήρες)

Τα τελευταία χρόνια υπάρχει ένα συνεχώς αυξανόμενο ενδιαφέρον των καταναλωτών για θέματα που αφορούν την υγεία και τα τρόφιμα. Από τα μέσα της δεκαετίας του 90 κυρίαρχο κριτήριο στην επιλογή ενός προϊόντος ήταν η περιεκτικότητά του σε λίπος. Στην έκθεση «Shopping for Health» του 1996 που συνέταξε το Ινστιτούτο Μάρκετινγκ Τροφίμων αναφέρεται ότι το 72% των καταναλωτών στις ΗΠΑ αποφάσισε να αγοράσει κάποιο τρόφιμο που δεν είχε αγοράσει παλαιότερα βασιζόμενο στην περιεκτικότητά του προϊόντος σε λιπαρές ουσίες (Food Marketing Institute Research, 1996). Οι βιομηχανίες έχουν προσαρμόσει τις παραγωγικές διαδικασίες και τα προϊόντα τους στις σύγχρονες τάσεις. Από τους ισχυρισμούς διατροφής στις ετικέτες 1.224 νέων προϊόντων γιαουρτιού που πλασαρίστηκαν στην αγορά των ΗΠΑ το διάστημα 2008 – 2009, οι 245 (ποσοστό 20% περίπου) αφορούσαν την μειωμένη λιποπεριεκτικότητα (Purcell, 2010).

Η συνδυαστική δράση της ομογενοποίησης του γάλακτος που χρησιμοποιείται ως πρώτη ύλη και της λιπόλυσης που πραγματοποιείται κατά τη ζύμωση έχει ως αποτέλεσμα την ευκολότερη πέψη των λιπαρών ουσιών (Çelik, 2007). Το λίπος του γάλακτος υφίσταται βιοχημικές αλλαγές κατά τη ζύμωση με αποτέλεσμα μικρές ποσότητες ελεύθερων λιπαρών οξέων να απελευθερώνονται εξαιτίας της δράσης των λιπασών.

Στο γιαούρτι, όπως και στα υπόλοιπα γαλακτοκομικά προϊόντα, υπάρχει ικανή ποσότητα συζευγμένου λινελαϊκού οξέος (CLA - Conjugated Linoleic Acid) το οποίο

κατέχει σημαντικές ευεργετικές ιδιότητες για την ανθρώπινη υγεία όπως προκύπτουν από βιολογικές έρευνες σε πειραματόζωα. Μεταξύ άλλων το συζευγμένο λινελαϊκό οξύ έχει αντικαρκινική δράση, αντιδιαβητική δράση (για το διαβήτη τύπου II), αντιαθηροσκληρωτική δράση κλπ (Bauman *et al.*, 2001).

Η παρασκευή γιαουρτιού από αγελαδινό γάλα έχει ως αποτέλεσμα την αυξημένη περιεκτικότητα σε κορεσμένα λιπαρά οξέα με ταυτόχρονη όμως μείωση του συνολικού ποσοστού οξέων στο προϊόν. Τα πτητικά λιπαρά οξέα που συναντώνται στο γιαούρτι προέρχονται από το μεταβολισμό των λιπιδίων από τους μικροοργανισμούς της ζύμωσης και παίζουν σημαντικό ρόλο στη διαμόρφωση των οργανοληπτικών του χαρακτηριστικών, με μικρή όμως διατροφική αξία. Στον πίνακα 3 που ακολουθεί παρουσιάζονται τα πτητικά λιπαρά οξέα που περιέχονται στο φρέσκο γάλα και το γιαούρτι (Akin, 2006).

Πίνακας 3. Η περιεκτικότητα πτητικών λιπαρών οξέων του φρέσκου γάλακτος και του γιαουρτιού. Προσαρμογή από Akin (2006)

Πτητικά λιπαρά οξέα	Φρέσκο Γάλα		Γιαούρτι	
	mg	%	mg	%
Κιτρικό οξύ	229,6	89,4	232,40	28,1
Γαλακτικό οξύ	8,82	3,4	486,45	58,9
Ηλεκτρικό οξύ	0	0	18,95	2,3
Φουμαρικό οξύ	1,10	0,4	8,41	1,0
Κετογλουταρικό οξύ	0,74	0,3	0,87	0,1
Πυρουβικό οξύ	0,09	0	2,38	0,3
Φορμικό οξύ	1,33	0,5	19,51	2,4
Οξικό οξύ	8,35	3,2	43,80	5,3
Προπιονικό οξύ	0,74	0,3	1,78	0,2
n- Βουτυρικό οξύ	0,35	0,1	0,70	0,1
n- Βαλερικό οξύ	0,20	0,1	-	0
Καπρονικό οξύ	1,04	0,4	1,32	0,2
Καπρυλικό οξύ	2,88	1,1	6,63	0,8
Λαυρικό οξύ	1,72	0,7	2,58	0,3

1.5.4 Ανόργανα συστατικά, ιχνοστοιχεία και βιταμίνες

Τα ζυμωμένα προϊόντα γάλακτος είναι πηγές πλούσιες σε βιταμίνες. Οι καλλιέργειες εκκίνησης του γιαουρτιού χρησιμοποιούν ορισμένες από τις βιταμίνες που περιέχονται στο φρέσκο γάλα για να αναπτυχθούν κατά τη διάρκεια της ζύμωσης. Το

γεγονός αυτό συνεισφέρει στη μείωση της θρεπτικής αξίας του τελικού προϊόντος. Η ποσότητα των βιταμινών που καταναλώνονται κατά τη ζύμωση εξαρτάται από το ποσό του εμβολίου, το είδος των καλλιιεργειών και τις συνθήκες της ζύμωσης (Tamime and Robinson 1985).

Το φολικό οξύ (βιταμίνη B9) είναι η πιο σημαντική βιταμίνη για τα οξυγαλακτικά βακτήρια. Το φολικό οξύ που παράγεται από τον *S. thermophilus* κατά τη διάρκεια της ζύμωσης, χρησιμοποιείται στη συνέχεια από τον *L. bulgaricus* για την ανάπτυξή του. Με την επιλογή στελεχών μικροοργανισμών που παράγουν φολικό οξύ σε σημαντικές ποσότητες ή με τη χρήση μεγαλύτερων ποσοτήτων *S. thermophilus* σε σχέση με τις ποσότητες του *L. bulgaricus* επιτυγχάνονται υψηλές περιεκτικότητες φολικού οξέος στο τελικό προϊόν (Tamime and Robinson 1985). Υψηλές ποσότητες φολικού οξέος στο τελικό προϊόν είναι μια επιθυμητή ιδιότητα για τους παραγωγούς, καθώς το φολικό οξύ είναι ένα βασικό συστατικό της ανθρώπινης διατροφής.

Γενικά η περιεκτικότητα των ζυμωμένων γαλακτικών προϊόντων σε βιταμίνες της ομάδας B είναι υψηλότερη σε σχέση με το φρέσκο γάλα, εκτός από την περίπτωση του γιαουρτιού που προέρχεται από αποβουτυρωμένο γάλα. Επίσης, παρόλο που το φρέσκο γάλα περιέχει ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C) σε μικρές ποσότητες, αυτό χάνεται σχεδόν ολοκληρωτικά κατά τη διάρκεια της παραγωγικής διαδικασίας του γιαουρτιού και την μεταφορά των τελικών προϊόντων. Η περιεκτικότητα σε βιταμίνες του γιαουρτιού εξαρτάται από το τύπο του γάλακτος, τη διατροφή των γαλακτοπαραγωγών ζώων, τα θρεπτικά μέσα, τις συνθήκες παραγωγής, τις συνθήκες της ζύμωσης και τη δραστηριότητα των οξυγαλακτικών βακτηρίων (Tamime and Robinson 1985). Μια τυπική σύνθεση του γιαουρτιού και του φρέσκου γάλακτος, σε βιταμίνες παρουσιάζεται στον πίνακα 4 (Deeth and Tamime, 1981; Holland *et al.*, 1991). Επειδή όπως προαναφέρθηκε, η διαθεσιμότητα των βιταμινών εξαρτάται από πολλούς παράγοντες οι τιμές του πίνακα 4 είναι ενδεικτικές και μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως βάση για πιθανούς υπολογισμούς της θρεπτικής αξίας του γιαουρτιού.

Πίνακας 4. Περιεκτικότητα βιταμινών στο φρέσκο γάλα και το γιαούρτι. Προσαρμογή από Deeth & Tamime και Holland *et al.*

Βιταμίνες (μονάδα/100γρ)	Φρέσκο γάλα		Γιαούρτι	
	Πλήρες	Αποβουτυρωμένο	Πλήρες	Χαμηλών λιπαρών
Βιταμίνη Α (UI)	148	-	140	70
Θειαμίνη (B1) (μg)	37	40	30	42
Ριβοφλαβίνη (B2) (μg)	160	180	190	200
Πυριξοδίνη (B6) (μg)	46	42	46	46
Κυανοκοβαλαμίνη (B12) (μg)	0,39	0,4	-	0,23
Βιταμίνη C (mg)	1,5	1,0	-	0,7
Βιταμίνη D(IU)	1,2	-	-	-
Βιταμίνη E(IU)	0,13	-	-	Ίχνη
Φολικό οξύ (μg)	0,25	-	-	4,1
Νικοτινικό οξύ(μg)	480	-	-	125
Παντοθενικό οξύ (μg)	371	370	-	380
Βιοτίνη (μg)	3,4	1,6	1,2	2,6
Χολίνη (mg)	12,1	4,8	-	0,6

Η περιεκτικότητα του γιαουρτιού σε ανόργανα άλατα και ιχνοστοιχεία δεν διαφοροποιείται σε σχέση με το φρέσκο γάλα. Το γιαούρτι αποτελεί εξαιρετική πηγή ασβεστίου για τα άτομα που παρουσιάζουν δυσανεξία στη λακτόζη. Επιπρόσθετα, το ασβέστιο που προσλαμβάνεται από το γιαούρτι μπορεί να απορροφηθεί και να χρησιμοποιηθεί καλύτερα από το ασβέστιο που προλαμβάνεται από άλλες πηγές (McKinley, 2005).

Η αυξημένη οξύτητα του γιαουρτιού συμβάλλει στην αυξημένη απορρόφηση ορισμένων ανόργανων συστατικών συμπεριλαμβανομένου του ασβεστίου, του φωσφόρου και του μαγνησίου σε σχέση με τα υπόλοιπα γαλακτοκομικά προϊόντα. Παράλληλα, η αυξημένη οξύτητα του γιαουρτιού συμβάλλει στη μείωση της αρνητικής δράσης ορισμένων συστατικών όπως το φυτικό οξύ, το οποίο είναι γνωστό ότι παρεμποδίζει την απορρόφηση των ανόργανων συστατικών από τον οργανισμό (και ιδιαίτερα του ασβεστίου). Σημαντική είναι και η ποσότητα του φωσφόρου που υπάρχει στο γιαούρτι, στοιχείου που είναι γνωστό ότι είναι απαραίτητο για την υγεία των οστών και των δοντιών, της κυτταρικής δομής και της ρύθμισης του pH του οργανισμού. Το γιαούρτι είναι επίσης καλή πηγή μαγνησίου, καλίου, ψευδαργύρου, σελήνιου, σιδήρου και ιωδίου (The Dairy Council, 2007).

1.6 Οι ωφέλιμες ιδιότητες του γιαουρτιού

Η συνεχόμενη βιομηχανική αύξηση, η αστικοποίηση και η μηχανοποίηση της καθημερινότητας έχει οδηγήσει σε δραματικές αλλαγές τις διατροφικές συνήθειες του ανθρώπου. Οι αλλαγές αυτές με τη σειρά τους οδήγησαν στην συχνότερη εμφάνιση χρόνιων μη μεταδιδόμενων ασθενειών όπως η παχυσαρκία, ο διαβήτης, οι καρδιαγγειακές παθήσεις, η υπέρταση και ορισμένες μορφές καρκίνου. Γι' αυτό τα τελευταία χρόνια ο άνθρωπος αναζητά πιο υγιεινούς τρόπους ζωής προτιμώντας δίαιτες με φαγητά με μειωμένα λιπαρά ή άπαχα, με συνέπεια την εμφάνιση των λειτουργικών τροφίμων (functional foods) (Roberfroid, 1999; FAO/WHO, 2003; Cameron *et al.*, 2003).

Τα λειτουργικά τρόφιμα μπορούν να οριστούν ως τα τρόφιμα που «μπορούν να επηρεάσουν θετικά μια ή περισσότερες στοχευμένες λειτουργίες του σώματος, πέρα από την πλήρωση των θρεπτικών αναγκών, με τρόπο έχει ως αποτέλεσμα βελτίωση της υγείας του οργανισμού ή/ και μείωση του κινδύνου μιας ασθένειας» (Stanton *et al.*, 2005).

Τα γαλακτοκομικά προϊόντα και ιδιαίτερα αυτά που περιέχουν προβιοτικά, πρεβιοτικά και συμβιωτικά αποτελούν τα πιο δημοφιλή λειτουργικά τρόφιμα. Ως προβίωση μπορεί να οριστεί η «θετική επίδραση από την κατανάλωση ζυμωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων με οξυγαλακτικά βακτήρια, στην ισορροπία της εντερικής χλωρίδας» (Tomasik and Tomasik, 2003). Η κατανάλωση τέτοιων οργανισμών έχει θετική επίδραση στην υγεία του εντέρου, αυξημένη βιοπροσβασιμότητα των λιπιδίων και των πρωτεϊνών, μειωμένη αλλεργία σε τρόφιμα, καθώς και πλεονεκτήματα που προέρχονται από την παραγωγή βιταμινών των ομάδων Β και Κ, λιπαρών οξέων με μικρή αλυσίδα, πολυαμινών, ω-3 ακόρεστων λιπαρών οξέων και βιο ενεργών μεταβολιτών (Stanton *et al.*, 2005; Marteau *et al.*, 1990; Santos *et al.*, 2006; Tuohy *et al.*, 2003).

Τα πρεβιοτικά ορίζονται ως «ουσίες που δεν πέπτονται και οι οποίες έχουν κάποια βιολογική επίδραση στον άνθρωπο μέσω επιλεκτικών ερεθισμάτων αύξησης ή βιο δραστηριοποίησης των ωφέλιμων μικροοργανισμών που βρίσκονται ή εισάγονται στο έντερο» (Roberfroid, 1998). Ουσίες που έχουν αποδεδειγμένα πρεβιοτική δράση είναι οι φρουκτοολιγοσακχαρίτες, η ινουλίνη, η λακτουλόζη και οι

γαλακτοολιγοσακχαρίτες. Αυτοί οι ολιγοσακχαρίτες έχουν την δυνατότητα να διαφοροποιήσουν με ευεργετικό τρόπο τη εντερική χλωρίδα καθώς και το δυναμικό να μειώσουν το κίνδυνο του καρκίνου του παχέος εντέρου, να μειώσουν τα συμπτώματα του ευερέθιστου εντέρου, να μεταβάλουν τα τριγλυκερίδια του ορού και τη χοληστερόλη, να βελτιώσουν την απορρόφηση ανόργανων συστατικών από το έντερο και συνεπώς να μειώσουν τον κίνδυνο λοιμωδών ασθενειών του εντέρου, να μειώσουν τον κίνδυνο καρδιαγγειακών παθήσεων, παχυσαρκίας, οστεοπόρωσης και του καρκίνου (Tuohy *et al.*, 2003; Roberfroid, 2000; Shah, 2007; Williams and Jackson, 2002).

Τα συμβιωτικά μπορούν να οριστούν ως «ένα μίγμα προβιοτικών και πρεβιοτικών που επιδρούν θετικά στον ξενιστή μέσω της εισαγωγής συμπληρωμάτων διατροφής, μικροβιακής προέλευσης με αυξημένες δυνατότητες επιβίωσης, στο έντερο και διαμέσου επιλεκτικών ερεθισμάτων αύξησης ή/και ενεργοποίησης του μεταβολισμού ενός ή περιορισμένου αριθμού μικροβίων που ασκούν ευεργετική στην υγεία δράση, βελτιώνοντας εν τέλει την υγεία του ξενιστή» (Tuohy *et al.*, 2003). Έρευνες έχουν δείξει ότι τα συμβιωτικά αποδίδουν καλύτερα απ' ό,τι τα προβιοτικά ή πρεβιοτικά όσον αφορά το προφίλ των λιπιδίων στο αίμα και την προστασία από τον καρκίνο του παχέος εντέρου (Tuohy *et al.*, 2003; Gallaher and Gill, 1999).

Εφόσον τα περισσότερα προβιοτικά είναι ευαίσθητα στο περιβάλλον του τροφίμου όπως η οξύτητα και το διαλυμένο οξυγόνο, προϊόντα με μικρή διάρκεια ζωής όπως το γιαούρτι είναι τα πιο διαδεδομένα λειτουργικά τρόφιμα της αγοράς (Stanton *et al.*, 2003; Shah, 2003). Ο σύγχρονος καταναλωτής που ενδιαφέρεται για την υγεία του απαιτεί περαιτέρω οφέλη από το γιαούρτι, ανοίγοντας νέους ορίζοντες για έρευνα. Η ζήτηση για γιαούρτια χαμηλής λιποπεριεκτικότητας με τα πρόσθετα οφέλη των προ- και πρε- βιοτικών είναι σε συνεχή άνοδο. Τέτοια προϊόντα περιλαμβάνουν στελέχη των μικροοργανισμών *Lactobacillus* και *Bifidobacterium* σε ποσότητες 10^6 ζωντανών κυττάρων ανά χιλιοστόλιτρο προϊόντος τη στιγμή της κατανάλωσης (Arunachalam, 1999). Παρόλο που δεν υπάρχει προτεινόμενη ημερήσια δόση σε πρεβιοτικά, θεωρείται ότι δόσεις των 4-20g/d απαιτούνται για να υπάρξουν ορατά θετικά αποτελέσματα για την υγεία (Tuohy *et al.*, 2003). Τα γαλακτοκομικά προϊόντα αποτελούν το 60% των λειτουργικών τροφίμων που πωλούνται στην Ευρώπη (Shortt *et al.*, 2004), ενώ στην Αμερική οι καταναλωτές ξόδεψαν το 2004 περί τα 5 δισεκατομμύρια δολάρια σε λειτουργικά γαλακτοκομικά προϊόντα (Vierhile, 2006).

Ο Metchnikoff στις αρχές του προηγούμενου αιώνα συμπέρανε ότι οι οξυγαλακτικοί μικροοργανισμοί του γιαουρτιού είναι υπεύθυνοι για την μακροζωία των καταναλωτών του (Shah, 2007). Τα ζυμωμένα προϊόντα γάλακτος και ιδιαίτερα το γιαούρτι χρησιμοποιούνται εδώ και πάρα πολλά χρόνια για την βελτίωση της υγείας βασιζόμενα στην επικρατούσα άποψη ότι τα οξυγαλακτικά βακτήρια παρεμποδίζουν την ανάπτυξη διάφορων παθογόνων μικροοργανισμών. Η ανάπτυξη της κατανάλωσης γιαουρτιού με προβιοτικά και πρεβιοτικά παρουσιάζεται τα τελευταία μόλις χρόνια όταν η επιστήμη μπόρεσε να αποδείξει ότι η κατανάλωση προϊόντων με προβιοτικά έχει ως αποτέλεσμα την βελτίωση της ισορροπίας της μικροβιακής χλωρίδας, την μείωση των συμπτωμάτων της δυσανεξίας στη λακτόζη (μέσω της παραγωγής λακτάσης), την ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος, την προστασία από τον καρκίνο του μαστού και του παχέος εντέρου, τη μείωση των αλλεργιών σε τρόφιμα, τη μείωση της χοληστερόλης στο αίμα, τη μείωση της πίεσης σε υπερτασικά άτομα, τη σημαντική μείωση φαινομένων διάρροιας και την θανάτωση ορισμένων παθογόνων μικροοργανισμών (Alhaj *et al.*, 2007). Θετικές στην υγεία επιπτώσεις των προβιοτικών προέρχονται από συγκεκριμένα στελέχη και δεν μπορούν να αποδοθούν γενικά σε κάποιο είδος ή γένος μικροοργανισμού.

Μια άλλη θετική επίδραση του γιαουρτιού στον οργανισμό είναι η απελευθέρωση βιοδραστικών πεπτιδίων. Οι πρωτεΐνες, εκτός από τη θρεπτική τους αξία, έχουν βιολογικές και φυσικοχημικές ιδιότητες που είναι σημαντικές για την ανθρώπινη υγεία. Έρευνες που πραγματοποιήθηκαν τα τελευταία 10 – 15 χρόνια έδειξαν ότι η καζεΐνη και οι πρωτεΐνες του ορού μπορούν να αποτελέσουν σημαντικές πηγές βιοδραστικών πεπτιδίων. Τα βιοδραστικά πεπτίδια μπορούν να οριστούν ως «συστατικά που προέρχονται από τρόφιμα και τα οποία εκτός από τη θρεπτική τους αξία, επιδρούν σε επίπεδο φυσιολογίας στο ανθρώπινο σώμα» (Vermeirssen *et al.*, 2004). Τα βιοδραστικά πεπτίδια συνήθως περιέχουν 3 με 20 υπολείμματα αμινοξέων ανά μόριο και έχει βρεθεί ότι ασκούν στοχευμένη δράση όπως αντιυπερτασική, αντιοξειδωτική, αντιμικροβιακή, ανοσοτροποποιητική δράση. Ορισμένα βιοδραστικά πεπτίδια που προέρχονται από το γάλα παρουσιάζουν μια συνδυαστική δράση. Εξαιτίας της φυσιολογικής και φυσικοχημικής τους προσαρμοστικότητας, τα βιοδραστικά πεπτίδια που προέρχονται από το γάλα, θεωρούνται σημαντικά συστατικά των λειτουργικών τροφίμων που βοηθούν την υγεία (Korhonen and Pihlanto-Leppälä, 2004).

2 Τα ανόργανα συστατικά του γιαουρτιού

2.1 Εισαγωγή

Ανόργανα ονομάζονται τα συστατικά που απομένουν υπό μορφή τέφρας μετά την καύση φυτικών και ζωικών ιστών. Τα ανόργανα συστατικά μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε:

- κύρια συστατικά
- ιχνοστοιχεία
- υπεριχνοστοιχεία

Τα κύρια συστατικά (Na, K, Ca, Mg, Cl, P, S) είναι απαραίτητα για τον άνθρωπο σε ποσότητες >50 mg/ημέρα. Τα ιχνοστοιχεία (Fe, I, F, Zn, Se, Cu, Mn, Cr, Mo, Co, Ni) είναι απαραίτητα σε συγκεντρώσεις <50 mg/ημέρα και η βιολογική τους δράση έχει ερευνηθεί και διευκρινιστεί πλήρως. Τα υπεριχνοστοιχεία (Al, As, Ba, Bi, B, Br, Cd, Cs, Ge, Hg, Li, Pb, Rb, Sb, Si, Sm, Sn, Sr, Tl, Ti, W) είναι στοιχεία η αναγκαιότητα των οποίων έχει δοκιμαστεί σε πειραματόζωα σε διάρκεια πολλών γενεών, αποδεικνύοντας ότι η έλλειψή τους προκαλεί αρνητικά συμπτώματα. Εάν κάποιος υπεριχνοστοιχείο αποδειχτεί ότι ασκεί βιοχημική επίδραση σε κάποιο ιστό ή όργανο ζωτικής σημασίας, τότε αυτό μεταφέρεται στην κατηγορία των ιχνοστοιχείων (Belitz *et al.*, 2009).

Τα βασικά στοιχεία και τα ιχνοστοιχεία έχουν πολλές και διαφορετικές επιδράσεις στον ανθρώπινο οργανισμό π.χ. ως ηλεκτρολύτες, ως συστατικά των ενζύμων, ως δομικών στοιχείων στα οστά και τα δόντια κλπ.

Τα ανόργανα συστατικά των τροφίμων ποικίλουν ακόμα και στο ίδιο είδος πρώτης ύλης καθώς η ποσότητά τους επηρεάζεται από περιβαλλοντικούς παράγοντες, τις γεωργικές και κτηνοτροφικές πρακτικές, την σύσταση του εδάφους, το είδος των ζωοτροφών κ.α. Η περιεκτικότητα των τροφίμων σε ανόργανα συστατικά επηρεάζεται σημαντικά και από τις μεθόδους μεταποίησης όπως η θερμική επεξεργασία και ο διαχωρισμός των φάσεων.

Η πρόσληψη ανόργανων συστατικών από τον άνθρωπο δεν εξαρτάται μόνο από την περιεκτικότητα των τροφίμων που καταναλώνει σε αυτά τα συστατικά, αλλά κυρίως από τη βιο διαθεσιμότητα των ανόργανων συστατικών που εξαρτάται από τη

σύσταση των τροφίμων. Το οξειδοαναγωγικό δυναμικό και η τιμή του pH του τροφίμου καθορίζουν το σθένος, τη διαλυτότητα και κατά συνέπεια την δυνατότητα απορρόφησης των ανόργανων αλάτων. Διάφορα συστατικά των τροφίμων όπως οι πρωτεΐνες, τα πεπτίδια, τα αμινοξέα, οι πολυσακχαρίτες, τα σάκχαρα, η λιγνίνη, η φυτίνη και τα οργανικά οξέα, δεσμεύουν τα ανόργανα συστατικά και ενισχύουν ή αναστέλλουν την απορρόφηση τους.

Η σημασία των ανόργανων αλάτων δεν περιορίζεται στην θρεπτική τους αξία και το ρόλο που παίζουν στη φυσιολογία, αλλά συνεισφέρουν στην γεύση των τροφίμων, ενισχύουν ή αναστέλλουν ενζυμικά καταλυόμενες αντιδράσεις και επηρεάζουν τη υφή των τροφίμων.

2.2 Τα ανόργανα άλατα στα γαλακτοκομικά προϊόντα και το γιαούρτι

2.2.1 Τα άλατα του γάλακτος

Στα άλατα του γάλακτος κατατάσσονται τα συστατικά που υπάρχουν σε αυτό ως ιόντα ή σε ισορροπία με ιόντα, εκτός από τα ιόντα H^+ και OH^- . Μεγάλο μέρος τους είναι ανόργανες ενώσεις που περιλαμβάνουν μέταλλα και ρίζες ανόργανων οξέων. Ορισμένες σημαντικές ιδιότητες των ανόργανων αλάτων του γάλακτος είναι (Ανυφαντάκης, 1994):

- το ασβέστιο και ο φώσφορος υπάρχουν σε υψηλή σχετικά αναλογία και έχουν μεγάλη διαιτητική αξία
- η φυσική κατάσταση και σταθερότητα των πρωτεϊνών του γάλακτος, ιδιαίτερα της καζεΐνης, εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη σύσταση του συστήματος των αλάτων του
- κατά κύριο λόγο ο χαλκός και ο σίδηρος που περιέχονται στο γάλα καταλύουν την οξείδωση των λιπιδίων του, με αποτέλεσμα την εμφάνιση ανεπιθύμητων γεύσεων και οσμών
- ο χρόνος πήξεως του γάλακτος με την πυτιά επηρεάζεται σημαντικά από τη σύσταση των αλάτων του

- η περιεκτικότητα του γάλακτος σε χλώριο έχει χρησιμοποιηθεί από πολλούς ερευνητές ως κριτήριο για τη διαπίστωση προσβολής από μαστίτιδα
- το κιτρικό οξύ χρησιμοποιείται από ορισμένους μικροοργανισμούς για την παραγωγή αρωματικών συστατικών στα γαλακτοκομικά προϊόντα

Τα άλατα και η τέφρα του γάλακτος συνδέονται στενά μεταξύ τους, πλην όμως δεν πρόκειται για το ίδιο πράγμα. Η τέφρα ανέρχεται σε 0,7% και αντιστοιχεί σε περιεκτικότητα αλάτων 0,9%. Κατά την καύση ποσότητας γάλακτος καταστρέφεται η οργανική ουσία και λαμβάνεται στην τέφρα το καθαρό ανόργανο μέρος του που κατά κύριο λόγο περιέχει κάλιο, νάτριο, ασβέστιο, μαγνήσιο, χλώριο, φώσφορο, θείο και άνθρακα. Η σύσταση των αλάτων του γάλακτος παρουσιάζεται στον ακόλουθο πίνακα (Ανυφαντάκης, 1994).

Πίνακας 5. Σύσταση αλάτων γάλακτος. Προσαρμογή από Ανυφαντάκη (1994)

Άλατα	Περιεκτικότητα διαφόρων ειδών γάλακτος σε άλατα (g/100g)			
	Κατσίκας	Προβάτου	Γυναικάς	Αγελάδας
Κάλιο	1,60	1,50	0,50	1,60
Νάτριο	0,40	0,40	0,16	0,50
Ασβέστιο	1,30	2,30	0,30	1,30
Μαγνήσιο	0,15	-	0,50	0,14
Φώσφορος	1,00	1,60	0,15	1,00
Χλώριο	15,00	0,70	0,50	1,10
Θείο	0,20	-	0,15	0,35
Κιτρικά	1,50	-	0,80	1,80

Από τα ιχνοστοιχεία του γάλακτος άλλα παρουσιάζουν διαιτητικό ενδιαφέρον, ενώ άλλα δημιουργούν προβλήματα αν η συγκέντρωσή τους στο γάλα και τα γαλακτοκομικά προϊόντα ξεπεράσει ορισμένα όρια.

2.2.2 Τα άλατα του γιαουρτιού

Το γιαούρτι είναι μια καλή πηγή των απαραίτητων θρεπτικών συστατικών, όπως τα ανόργανα συστατικά, για τη διατροφή του ανθρώπου. Μπορεί να συμβάλει σημαντικά στις συνιστώμενες ημερήσιες ανάγκες για ασβέστιο και μαγνήσιο για τη διατήρηση των φυσιολογικών διεργασιών. Τα γιαούρτια είναι επίσης μια καλή διατροφική πηγή φωσφόρου (πέρα από το ασβέστιο, θεωρείται το πιο σημαντικό θρεπτικό συστατικό για την υγεία των οστών) και η συμβολή τους στη συνολική

πρόσληψη φωσφόρου φτάνει το 30 - 45% της συνολικής απαιτούμενης ποσότητας στις δυτικές χώρες (Flynn and Cashman, 1997). Η διαθεσιμότητα των ανόργανων αλάτων στα γαλακτοκομικά προϊόντα επηρεάζεται από τη φύση του προϊόντος. Η χημική μορφή των θρεπτικών ουσιών μπορεί να επηρεάσει τη βιοδιαθεσιμότητα: σε ελεύθερη ή διαλυτή μορφή, απορροφώνται καλά, ενώ εκείνα που είναι δεσμευμένα συνήθως έχουν χαμηλή διαθεσιμότητα. Οι τεχνολογικές διαδικασίες που ακολουθούνται κατά την παραγωγή γαλακτοκομικών προϊόντων είναι γνωστό ότι μπορούν να μεταβάλλουν τις αναλογίες των διαφόρων χημικών μορφών που έχουν τα ανόργανα άλατα (De la Fuente, 1998).

Η παραγωγή γαλακτικού οξέος από τη λακτόζη του γάλακτος με τη χρήση οξυγαλακτικών βακτηρίων είναι ένα ουσιαστικό βήμα στην παρασκευή του γιαουρτιού. Η μείωση του pH προκαλεί σημαντικές αλλαγές στη σύνθεση, τη δομή και τη δραστηριότητα των μικκυλίων της καζεΐνης και μεταβάλλει το ισοζύγιο των ανόργανων αλάτων.

Όταν το φρέσκο γάλα έχει pH ίσο με 6,7 περίπου τα δυο τρίτα της ποσότητας του ασβεστίου σχετίζεται με τα μικκύλια της καζεΐνης και καθιζάνουν κατά την φυγοκέντρωση. Καθώς αυξάνεται η οξύτητα του γάλακτος εξαιτίας της βακτηριακής δράσης κατά τη ζύμωση παρατηρούνται αλλαγές στο μικκυλιακό ασβέστιο και τον φώσφορο. Έτσι καθώς το pH του γάλακτος τείνει προς το 4 όταν γίνεται γιαούρτι, το ασβέστιο και ο φώσφορος που σχετίζονται με τα μικκύλια των πρωτεϊνών μειώνονται, ενώ αυξάνονται ταυτόχρονα οι ποσότητες του ασβεστίου και του φωσφόρου που βρίσκονται στον ορό του γάλακτος (Gastaldi *et al.*, 1996; Le Graet and Brulé, 1993). Η μείωση είναι σχετικά αργή μέχρι τιμές pH 6 – 5,8, ενώ μετά η διαδικασία επιταχύνεται. Σε τιμές pH 5,1 σχεδόν όλο το ποσό του μικκυλιακού ανόργανου φωσφόρου έχει διαλυθεί, ενώ ποσοστό 17% του ασβεστίου είναι ακόμα συνδεδεμένο με τα μικκύλια των πρωτεϊνών (Gastaldi *et al.*, 1996).

Στο αγελαδινό γάλα ποσοστό 25% του φωσφόρου απαντάται στα πρωτεϊνικά μικκύλια με τη μορφή του φωσφορικού ασβεστίου, ενώ ποσοστό 25% απαντάται ως οργανικό φωσφορικό άλας που εστεροποιείται σε καζεΐνη. Η υπόλοιπη μισή ποσότητα είναι διαλυτή με τη μορφή ελεύθερων φωσφορικών ιόντων (Miguel Angel de la Fuente, 2002). Για τον υπολογισμό του φωσφόρου στο γάλα χρησιμοποιείται η μέθοδος της φασματομετρίας μοριακής απορρόφησης.

Παρόλο που το ασβέστιο του γάλακτος *in vivo* ελέγχεται από πολύπλοκους ομοιοστατικούς μηχανισμούς, προκαλώντας αρκετές -συχνά αντικρουόμενες- συζητήσεις επί του θέματος, αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι η ύπαρξη ασβεστίου σε διαλυτή μορφή είναι προαπαιτούμενο για την καλύτερη απορρόφησή του από το γαστροεντερικό σωλήνα. Αντίθετα, το φωσφορικό ασβέστιο μπορεί να σχηματίσει αδιάλυτα ιζήματα στα οποία το ασβέστιο είναι σε μη διαθέσιμη μορφή.

Τα καζεϊνικά φωσφοπεπτίδια που σχηματίζονται κατά την πέψη των καζεϊνών, έχουν θετική επίδραση στην απορρόφηση του ασβεστίου εξαιτίας της ικανότητάς τους να δεσμεύουν το ασβέστιο και να το διατηρούν σε διαλυτή μορφή εντός του εντερικού αυλού, με συνέπεια την αυξημένη απορροφητικότητα αυτού. Παρόλο που σχετικές μελέτες στον άνθρωπο δεν έχουν πραγματοποιηθεί σε σημαντικό βαθμό, αρκετές μελέτες σε πειραματόζωα απέδειξαν πως τα φωσφοπεπτίδια βελτιώνουν την απορρόφηση του ασβεστίου στο έντερο (Fitzgerald, 1998; Jovani *et al.*, 2001). Η χρήση γάλακτος σκόνης ως εμπλουτιστικού μέσου στην παρασκευή γιαουρτιού μπορεί να αυξήσει την παρουσία τέτοιων φωσφοπεπτιδίων και βελτιώνοντας την βιοδιαθεσιμότητα του ασβεστίου και κατά συνέπεια την θρεπτική αξία του προϊόντος.

Στο αγελαδινό γάλα 65% του διαθέσιμου μαγνησίου απαντάται σε διαλυτή μορφή ενώ το υπόλοιπο βρίσκεται σε κολλοειδή μορφή που σχετίζεται με τα πρωτεϊνικά μικκύλια (περίπου μισή ποσότητα από αυτή τη μορφή σχετίζεται με το κολλοειδές φωσφορικό ασβέστιο και η υπόλοιπη ποσότητα δεσμεύεται απευθείας με τα υπολείμματα φωσφοσερίνης των καζεϊνών) (Flynn and Cashman, 1997). Αυτή η ποσότητα μικκυλιακού μαγνησίου απελευθερώνεται σταδιακά καθώς το pH μειώνεται από το 6,7 στο 4,9 (Dalglish and Law, 1989). Υπάρχουν ελάχιστες πληροφορίες σχετικά με τη βιοδιαθεσιμότητα του μαγνησίου, που προέρχεται από γαλακτοκομικά προϊόντα, στον άνθρωπο. Έρευνες έδειξαν ότι η απορρόφηση του μαγνησίου σε ποντίκια που κατανάλωσαν γαλακτοκομικά ήταν σημαντικά διαφοροποιημένη εντός του δείγματος, χωρίς να μπορούν να εξαχθούν σαφή αποτελέσματα (Delisle *et al.*, 1995). Την καλύτερη απορρόφηση παρουσίαζαν το γιαούρτι, το αποβουτυρωμένο γάλα και το γάλα σκόνη, ενώ αντίθετη επίδοση παρουσίαζαν τα τυροκομικά προϊόντα. Σε παλαιότερη μελέτη (Pantako *et al.*, 1992) αποδείχτηκε ότι η απορρόφηση του μαγνησίου ήταν γρηγορότερη όταν η διαίτα βασιζόταν στις καζεΐνες και ειδικότερα στην καζεΐνη-β, σε σχέση με την απορρόφηση όταν η διαίτα βασιζόταν σε πρωτεΐνες του ορού, καθιστώντας σαφή τον σημαντικό

ρόλο που διαδραματίζουν τα γαλακτοκομικά πρόσθετα στη βιοδιαθεσιμότητα του μαγνησίου. Συνεπώς τα γιαούρτια που παρασκευάζονται με την προσθήκη ενισχυτικών ουσιών όπως οι καζεΐνες μπορούν να βελτιώσουν την απορρόφηση του μαγνησίου.

2.2.3 Η ανάλυση των ανόργανων στοιχείων με την μέθοδο της φασματοσκοπίας ατομικής απορρόφησης

Η φασματοσκοπία ατομικής απορρόφησης (ΦΑΑ) είναι η αναλυτική μέθοδος που χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης ενός στοιχείου βασισμένη στη μέτρηση της απορρόφησης ακτινοβολίας χαρακτηριστικού μήκους κύματος από ελεύθερα ουδέτερα άτομα, αυτού του στοιχείου, που βρίσκονται στη θεμελιώδη κατάσταση (Χατζηιωάννου, 1992).

Στο σχήμα 6 που ακολουθεί παρουσιάζεται η διαδικασία της ατομικής απορρόφησης (The Perkin-Elmer Corporation, 1996).



Σχήμα 6. Σχηματική απεικόνιση της διαδικασίας της ατομικής απορρόφησης. Προσαρμογή από The Perkin-Elmer Corporation (1996)

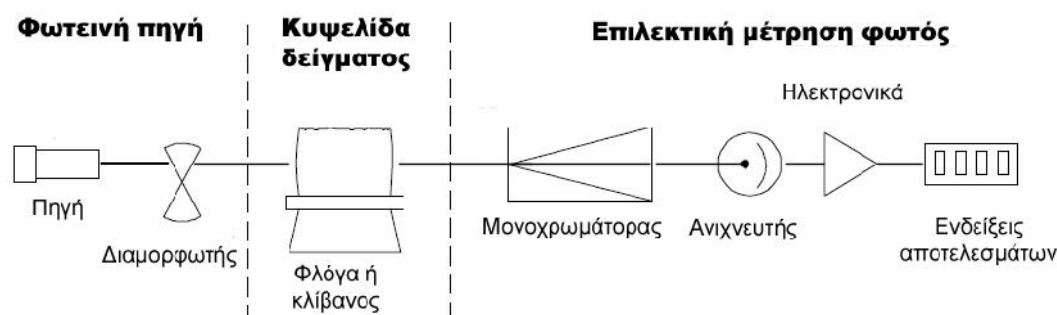
Καθώς το άτομο από τη θεμελιώδη κατάσταση εισέρχεται στη διεγερμένη κατάσταση, απορροφά φωτεινή ενέργεια συγκεκριμένου μήκους κύματος. Όσο ο αριθμός των ατόμων που συναντούν τη δέσμη που εκπέμπει η φωτεινή πηγή μεγαλώνει, τόσο μεγαλώνει και η ποσότητα του απορροφώμενου φωτός. Μετρώντας αυτή την ποσότητα του φωτός που απορροφάται, είναι δυνατός ο ποσοτικός προσδιορισμός του αναλύτη. Η χρήση ειδικών φωτεινών πηγών και προσεκτικής επιλογής του μήκους κύματος επιτρέπει τον ειδικό προσδιορισμό συγκεκριμένων στοιχείων.

Η ενόργανη ανάλυση με τη μέθοδο της φασματοσκοπίας ατομικής απορρόφησης γίνεται με ειδικό εξοπλισμό που συνήθως αποτελείται από τα εξής πέντε διακριτά τμήματα:

1. η φωτεινή πηγή που εκπέμπει το φάσμα του στοιχείου που μας ενδιαφέρει
2. μια «κυψελίδα απορρόφησης» στην οποία παράγονται τα άτομα του δείγματος (π.χ. γραφιτικός κλίβανος, φλόγα, κυψελίδα MHS, κυψελίδα FIAS, κυψελίδα FIMS)
3. ένας μονοχρωμάτορας για τη διασπορά του φωτός
4. ένας ανιχνευτής που μετρά την ένταση του φωτός και ενισχύει το σήμα
5. μια οθόνη όπου εμφανίζονται τα αποτελέσματα μετά την επεξεργασία τους από τα ηλεκτρονικά κυκλώματα του μηχανήματος

Υπάρχουν δυο βασικοί τύποι οργάνων ατομικής απορρόφησης: μόνης δέσμης και διπλής δέσμης.

Στο σχήμα 7 που ακολουθεί παρουσιάζεται η βασική αρχή λειτουργίας των οργάνων μόνης δέσμης (The Perkin-Elmer Corporation, 1996).



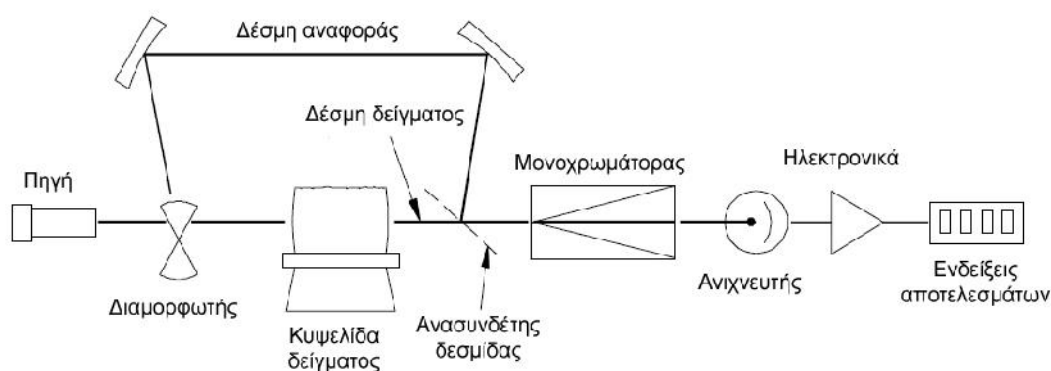
Σχήμα 7. Φωτόμετρο Ατομικής Απορρόφησης μόνης δέσμης. Προσαρμογή από The Perkin-Elmer Corporation (1996)

Η φωτεινή πηγή (λυχνία κοίλης καθόδου ή λαμπτήρας εκκένωσης χωρίς ηλεκτρόδια) εκπέμπει ένα φάσμα που είναι συγκεκριμένο για το στοιχείο που θέλουμε να μετρήσουμε και το οποίο εστιάζει διαμέσου της κυψελίδας δείγματος στον μονοχρωμάτορα.

Η φωτεινή πηγή θα πρέπει να είναι ηλεκτρονικά ή μηχανικά διαμορφωμένη έτσι ώστε να διαχωρίζεται το φως της πηγής και οι εκπομπές από τη κυψελίδα δείγματος. Ο

μονοχρωμάτορας διαχέει το φως και το συγκεκριμένο μήκος κύματος που απομονώνεται περνάει στον ανιχνευτή, ο οποίος είναι συνήθως ένας φωτοπολλαπλασιαστής. Ανάλογα με την ένταση του φωτός παράγεται ηλεκτρικό ρεύμα το οποίο επεξεργάζεται στα ηλεκτρονικά κυκλώματα του οργάνου. Το ηλεκτρονικό σύστημα μετρά την εξασθένηση του φωτός στην κυψελίδα του δείγματος και μετατρέπει το αποτέλεσμα στην πραγματική συγκέντρωση του στοιχείου.

Στο σχήμα 8 που ακολουθεί παρουσιάζεται η βασική αρχή λειτουργίας των οργάνων διπλής δέσμης (The Perkin-Elmer Corporation, 1996).



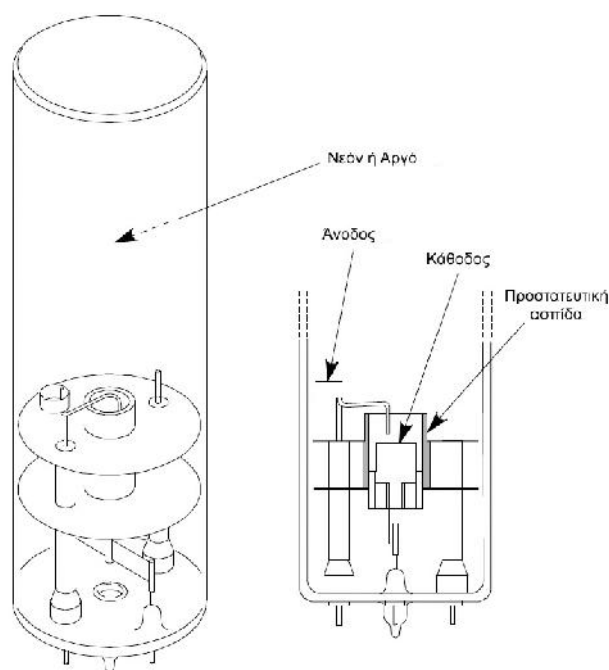
Σχήμα 8. Φωτόμετρο Ατομικής Απορρόφησης διπλής δέσμης. Προσαρμογή από The Perkin-Elmer Corporation (1996)

Στα όργανα ατομικής απορρόφησης διπλής δέσμης το φως από τη φωτεινή πηγή χωρίζεται στη δέσμη του δείγματος, η οποία διαπερνά τη κυψελίδα του δείγματος και την δέσμη αναφοράς που παρακάμπτει την κυψελίδα. Στα όργανα διπλής δέσμης το αποτέλεσμα αντιπροσωπεύει την αναλογία μεταξύ της δέσμης του δείγματος και της δέσμης αναφοράς. Κατά συνέπεια, τυχόν διακυμάνσεις στην ένταση της φωτεινής πηγής δεν μετατρέπονται σε διακυμάνσεις των αποτελεσμάτων, με αποτέλεσμα την αυξημένη σταθερότητα.

Καθώς τα άτομα απορροφούν το φως σε πολύ συγκεκριμένο μήκος κύματος, είναι απαραίτητη η χρήση μιας φωτεινής πηγής που εκπέμπει σε ένα πολύ στενό φάσμα που είναι χαρακτηριστικό για το στοιχείο προς ανάλυση. Οι κύριες φωτεινές πηγές για την ατομική απορρόφηση είναι οι λάμπες κοίλης καθόδου (hollow cathode lamp - HCL) και οι λάμπες εκτόνωσης χωρίς ηλεκτρόδια (electrodeless discharge lamp - EDL). Οι λάμπες κοίλης καθόδου είναι μια φωτεινή πηγή με εξαιρετική σταθερότητα

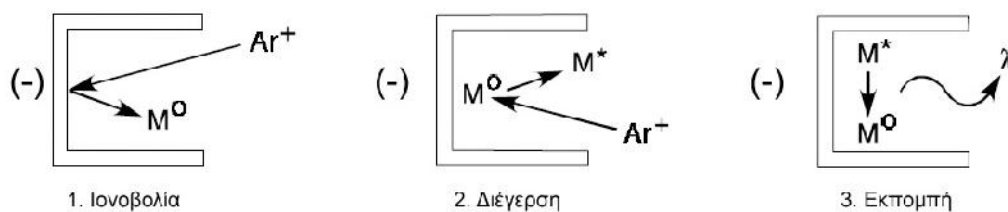
και φωτεινότητα για τα περισσότερα στοιχεία. Οι λάμπες εκτόνωσης χωρίς ηλεκτρόδια είναι χρήσιμες στον προσδιορισμό πτητικών στοιχείων όπου οι λάμπες κοίλης καθόδου δεν προσφέρουν την απαραίτητη ένταση και διάρκεια ζωής.

Οι λάμπες HCL χρησιμοποιούνται στην πλειοψηφία των περιπτώσεων και έχουν μορφή κοίλου κυλίνδρου ο οποίος κατασκευάζεται σχεδόν εξολοκλήρου από το στοιχείο το φάσμα του οποίου θέλουμε να παραχθεί. Υπάρχει η άνοδος και κάθοδος της λάμπας που είναι σφραγισμένες σε ένα γυάλινο κύλινδρο ο οποίος είναι γεμάτος με αέριο νέον ή αργό.



Σχήμα 9. Διάγραμμα κατασκευής λυχνίας κοίλης καθόδου. Προσαρμογή από The Perkin-Elmer Corporation (1996)

Ο γυάλινος κύλινδρος διαθέτει ένα άνοιγμα από κρύσταλλο χαλαζία ή γυαλί υπεριώδους για την βέλτιστη μετάδοση της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας. Η αρχή λειτουργίας της λάμπας κοίλης καθόδου απεικονίζεται στο σχήμα που ακολουθεί.



Σχήμα 10. Διαδικασία εκπομπής ακτινοβολίας από λάμπα κοίλης καθόδου. Προσαρμογή από The Perkin-Elmer Corporation (1996)

Με την εφαρμογή ηλεκτρικού δυναμικού μεταξύ της ανόδου και της καθόδου της λάμπας ορισμένα από τα άτομα του αερίου του κυλίνδρου ιονίζονται. Τα θετικά φορτισμένα ιόντα συγκρούονται με την αρνητικά φορτισμένη κάθοδο, με αποτέλεσμα να εκτοπίζονται άτομα του στοιχείου που είναι κατασκευασμένη η λάμπα (και το φάσμα των οποίων επιθυμούμε να εκπέμπουμε). Η διαδικασία αυτή ονομάζεται ιονοβολή. Τα ιονισμένα άτομα του εξεταζόμενου στοιχείου διεγείρονται και εκπέμπουν μέσω της σύγκρουσής τους με το αέριο της λάμπας.

3 Τα οργανικά οξέα και τα σάκχαρα του γιαουρτιού

3.1 Εισαγωγή

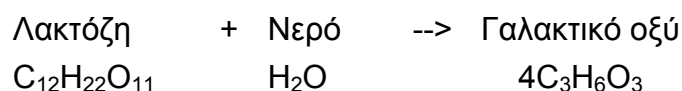
Τα οργανικά οξέα στα ζυμωμένα γαλακτοκομικά προϊόντα κατέχουν σημαντικό ρόλο ως φυσικά συντηρητικά, ενώ συνεισφέρουν στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των προϊόντων. Ως φυσικά συντηρητικά καταστέλλουν τη δράση παθογόνων οργανισμών, ιδιαίτερα στο γιαούρτι (Fernandez – Garcia and McGregor, 1994). Η παρουσία των οργανικών οξέων στα ζυμωμένα προϊόντα γάλακτος και ιδιαίτερα στο γιαούρτι οφείλεται σε πολλούς παράγοντες όπως οι μεταβολικές διεργασίες κατά την παραγωγή του γάλακτος, η μικροβιακή ανάπτυξη, η υδρόλυση του λίπους του γάλακτος και η απευθείας προσθήκη οξινιστικών παραγόντων.

Η παραγωγή των ζυμωμένων προϊόντων γάλακτος βασίζονται κατά κύριο λόγο στην δράση των οξυγαλακτικών καλλιεργειών. Η κύρια δραστηριότητα των οξυγαλακτικών βακτηρίων είναι η παραγωγή γαλακτικού οξέως διαμέσου της ζύμωσης του βασικού σακχάρου του γάλακτος που είναι η λακτόζη. Το παραγόμενο οξύ από τη ζύμωση όχι μόνο δίνει μια ευχάριστη, όξινη γεύση στο γιαούρτι, αλλά συμμετέχει σημαντικά στη δημιουργία του πήγματος.

3.2 Η ζύμωση του γιαουρτιού και τα παραγόμενα οξέα

Ο καταβολισμός της λακτόζης από τα γαλακτικά βακτήρια *S. thermophilus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. acidophilus* έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή γαλακτικού οξέως, ενώ όταν στον καταβολισμό χρησιμοποιείται και το γένος *Bifidobacterium* έχουμε παραγωγή γαλακτικού και οξικού οξέως ταυτόχρονα (βλέπε Σχήμα 11).

Παρόλο που για να επιτευχθεί η μετατροπή πραγματοποιούνται αρκετές βιοχημικές αντιδράσεις, μπορούμε να απλοποιήσουμε το βασικό μηχανισμό ως εξής:





Σχήμα 11. Οι κύριες οδοί καταβολισμού της λακτόζης. Προσαρμογή από Tamime και Robinson (1999).

Διάφοροι μικροοργανισμοί είναι δυνατό να διασπάσουν τη λακτόζη σε γαλακτικό οξύ. Όλοι αυτοί διαθέτουν το ένζυμο λακτάση που είναι απαραίτητο για την διάσπαση της λακτόζης σε γλυκόζη και γαλακτόζη. Το γαλακτικό οξύ αποτελεί το 75-95% της ολικής οξύτητας.

Το γαλακτικό οξύ διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην παραγωγή του γιαουρτιού βοηθώντας την αποδόμηση των μικκυλίων της καζεΐνης και συνεισφέροντας στον αρωματικό χαρακτήρα του τελικού προϊόντος. Τα οξυγαλακτικά βακτήρια διαθέτουν ένα ένζυμο την γαλακτική αφυδρογονάση (LDH), η οποία χρησιμοποιείται για τη σύνθεση του γαλακτικού άλατος από το πυροσταφυλικό άλας. Το παραγόμενο γαλακτικό οξύ μπορεί να απαντηθεί στο γιαούρτι σε διάφορα ισομερή (L(+), D(-) or DL(±)).

Από τις τυπικές καλλιέργειες που χρησιμοποιούνται στο γιαούρτι ο *S. thermophilus* παράγει κυρίως L(+) γαλακτικό οξύ (Garvie, 1978; Hemme *et al.*, 1981), ενώ ο *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* παράγει κυρίως D(-) οξύ (Gasser and Gasser, 1971). Το ένζυμο LDH βρίσκεται στο κυτόπλασμα των βακτηριακών κυττάρων και η δραστηριότητά του, στο γιαούρτι, εξαρτάται άμεσα από την ανηγμένη μορφή του νικοτιναμιδο-αδενινο-δινουκλεοτιδίου (NADH) και το νικοτιναμιδο-αδενινο-

δινουκλεοτίδιο (NAD). Κατά την παραγωγή του γιαουρτιού ο *S. thermophilus* αναπτύσσεται πιο γρήγορα από τον *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* και γι' αυτό προηγείται χρονικά η παραγωγή του L(+) γαλακτικού οξέως, με την D(-) να παράγεται σε μεγαλύτερους ρυθμούς προς το τέλος της ζύμωσης. Η αναλογία της ποσότητας μεταξύ του L(+) και του D(-) γαλακτικού οξέως μπορεί να αποτελέσει δείκτη για τα εξής:

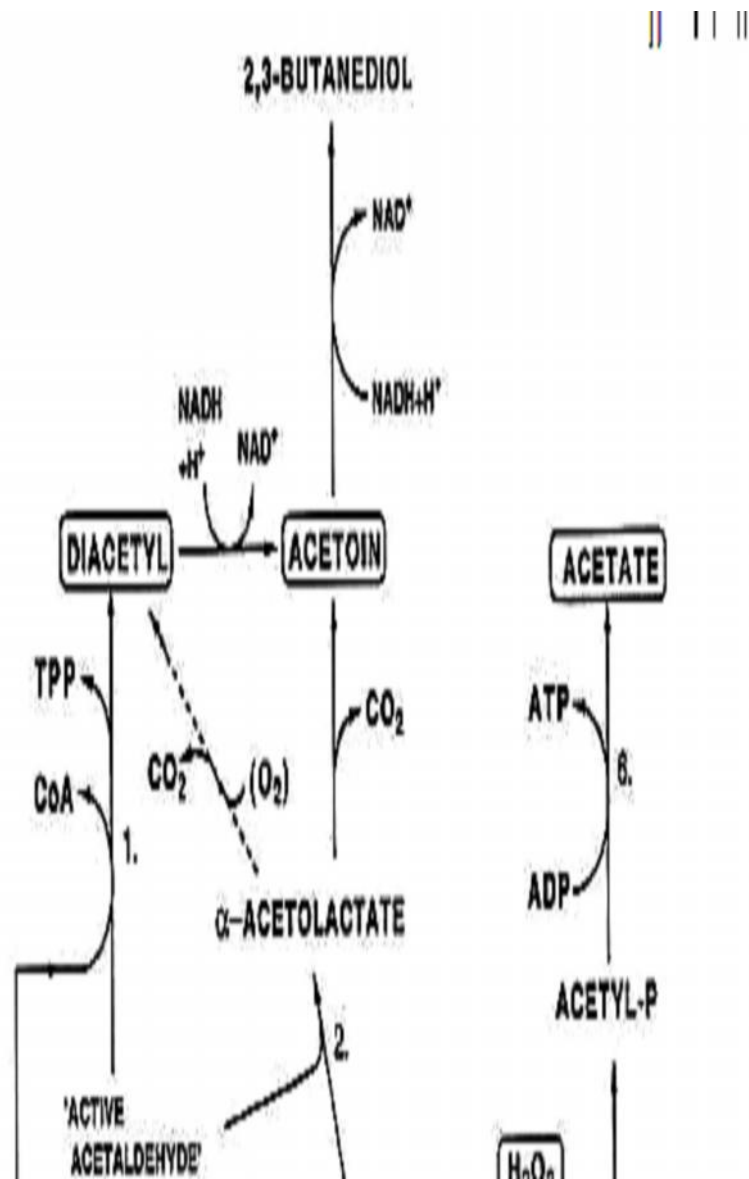
- 1) ότι το γιαούρτι που περιέχει περισσότερο από 70% L(+) γαλακτικό οξύ έχει εμβολιαστεί με καλλιέργεια με κυρίαρχο μικροοργανισμό τον *S. thermophilus* (Kunath and Kandler, 1980) ή ότι η ζύμωση πραγματοποιήθηκε σε θερμοκρασία μικρότερη των 40°C ή ότι το γιαούρτι είναι χαμηλής οξύτητας
- 2) ότι το γιαούρτι που περιέχει περισσότερο D(-) σε σχέση με το L(+) γαλακτικό οξύ εμβολιάστηκε σε υψηλή θερμοκρασία (άνω των 45°C) για μεγάλο χρονικό διάστημα με αποτέλεσμα το προϊόν να είναι ιδιαίτερα όξινο ή ότι το προϊόν έχει αποθηκευτεί για μεγάλη χρονική διάρκεια ή ότι ο ρυθμός εμβολιασμού ήταν μεγαλύτερος του 3%

Το γιαούρτι περιέχει συνήθως 45-60% L(+) γαλακτικό οξύ και 40-55% D(-) γαλακτικό οξύ (Puhan *et al.*, 1973; Kielwein and Daun, 1980; Aleksieva *et al.*, 1981), με την σχετική αναλογία να μπορεί να αποτελέσει δείκτη της ποιότητας του γιαουρτιού, χωρίς όμως να υπάρχει καθολική αποδοχή για το ποια πρέπει να είναι η αναλογία αυτή.

Είναι γνωστό ότι τα οξυγαλακτικά βακτήρια μπορούν να αλλάξουν το μεταβολισμό τους ως αντίδραση σε διάφορες συνθήκες, με αποτέλεσμα την παραγωγή διαφορετικών τελικών προϊόντων σε σχέση με την τυπική ζύμωση της γλυκόζης σε γαλακτικό οξύ. Στις περισσότερες περιπτώσεις η αλλαγή αυτή οφείλεται στη διαφοροποίηση του μεταβολισμού του πυροσταφυλικού οξέως και τη χρήση εξωτερικών δεκτών ηλεκτρονίων.

Το κύριο χαρακτηριστικό των περισσότερων μικροβιακών ζυμώσεων είναι η οξειδωση ενός υποστρώματος για την παραγωγή ενδιάμεσων προϊόντων πλούσιων σε ενέργεια, τα οποία στη συνέχεια μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παραγωγή ATP μέσω της φωσφορυλίωσης του υποστρώματος. Η οξειδωση οδηγεί στην παραγωγή NADH από NAD⁺, το οποίο πρέπει να αναγεννηθεί για να μπορούν να κύτταρα να συνεχίσουν τη ζύμωση. Το πυροσταφυλικό οξύ έχει καίριο ρόλο στη ζύμωση καθώς δρα ως δέκτης ηλεκτρονίων κατά το στάδιο της αναγέννησης που

προαναφέρθηκε. Κάτω από ειδικές συνθήκες, τα οξυγαλακτικά βακτήρια χρησιμοποιούν το πυροσταφυλικό οξύ με διαφορετικό τρόπο ώστε το τελικό προϊόν να μην είναι γαλακτικό οξύ.



Σχήμα 12. Οι κύριες οδοί για τη εναλλακτική χρήση του πυροσταφυλικού οξέως κατά την οξυγαλακτική ζύμωση. Προσαρμογή από Salminen, von Wright, Ouwehand (2004).

Υπάρχουν έξι ενζυματικές αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα στο παραπάνω σχήμα: 1. συνθάση του διακετυλίου, 2. οξικογαλακτική συνθάση, 3. πυροσταφυλικό – μυρμηκική λυάση, 4. πυροσταφυλική αφυδρογονάση, 5. πυροσταφυλική οξειδάση και 6. οξική κινάση.

Μέσω αντιδράσεων που προκαλούνται από την πυροσταφυλική αφυδρογονάση είναι δυνατή η παραγωγή οξικών ενώσεων. Μία άλλη οδός του πυροσταφυλικού μεταβολισμού είναι το σύστημα της πυροσταφυλικό – μυρμηκική λυάσης. Το ένζυμο πυροσταφυλικό – μυρμηκική λυάση καταλύει την αντίδραση του πυροσταφυλικού άλατος με το συνένζυμο A (CoA) προς μυρμηκικό άλας και ακετυλοσυνένζυμο A. Το ακετυλοσυνένζυμο A μπορεί να χρησιμοποιηθεί είτε σαν δέκτης ηλεκτρονίων με αποτέλεσμα την παραγωγή αιθανόλης, είτε σαν πρόδρομη ουσία στην φωσφορυλίωση του υποστρώματος μέσω ακετυλοφωσφορικού άλατος, είτε και στα δυο. Είναι κοινή η χρήση αυτής της οδού από ορισμένα στελέχη των *Lb. casei* και *Lc. lactis* σε περιπτώσεις αναερόβιας ανάπτυξης σε συνθήκες συνεχούς καλλιέργειας και περιορισμένου υποστρώματος, με αποτέλεσμα την αλλαγή της ζύμωσης από ομογαλακτική σε ετερογαλακτική (De Vries *et al.*, 1970; Thomas *et al.*, 1979). Τα τελικά προϊόντα που παράγονται είναι το γαλακτικό, το οξικό, το μυρμηκικό οξύ και η αιθανόλη. Παρόμοια τελικά προϊόντα λαμβάνονται όταν ορισμένα στελέχη του *Lc. lactis* ζυμώνουν την γαλακτόζη και τη μαλτόζη.

3.3 Ο προσδιορισμός των οργανικών οξέων και των σακχάρων του γιαουρτιού με την μέθοδο της υγρής χρωματογραφίας υψηλής πίεσης (HPLC)

Η χρωματογραφία είναι μια τεχνική στην οποία το δείγμα τοποθετείται στην μία άκρη ενός υλικού προσρόφησης που ονομάζεται ακίνητη φάση. Στην συνέχεια αυτό εκλούεται (ξεπλένεται) από την κινητή φάση (έναν διαλύτη ή ένα αέριο) η οποία κινείται προς την άλλη άκρη της ακίνητης φάσης. Όσες ουσίες είναι πολύ διαλυτές στην κινητή φάση και προσροφώνται λίγο από την ακίνητη φάση "τρέχουν" πρώτες, ενώ όσες προσροφώνται ισχυρά κινούνται πιο αργά. Το αποτέλεσμα είναι ο διαχωρισμός τους.

Ο διαχωρισμός βασίζεται στις διαφορές των φυσικοχημικών ιδιοτήτων των συστατικών ενός μίγματος, όπως είναι το σημείο ζέσεως, η πολικότητα, το μέγεθος των μορίων κ.α. Οι διαφορές αυτές διαφοροποιούν την φυσικοχημική συγγένεια κάθε συστατικού ως προς τις δυο φάσεις της χρωματογραφικής στήλης (της στατικής και της κινητής). Στην έξοδο της στήλης υπάρχει σύστημα ανίχνευσης και καταμέτρησης της ποσότητας κάθε συστατικού.

Στην υγρή χρωματογραφία στήλης, η στατική φάση είναι στερεό πορώδες υλικό ή υγρό καθηλωμένο σε στερεό υπόστρωμα, που βρίσκεται συσκευασμένο σε στήλη, ενώ η κινητή φάση είναι υγρό. Όταν η στατική φάση αποτελείται από πολύ μικρής διαμέτρου σωματίδια υψηλής διαχωριστικής απόδοσης και η διαβίβαση της υγρής κινητής φάσης μέσα από τη στατική φάση επιτυγχάνεται με τη χρήση αντλιών υψηλής πίεσης, τότε αναφερόμαστε στη μέθοδο της υγρής χρωματογραφίας υψηλής πίεσης (High Pressure Liquid Chromatography – HPLC).

Στην HPLC μπορούν να συμπεριληφθούν και να εφαρμοστούν όλα τα είδη που λαμβάνουν χώρα στους χρωματογραφικούς διαχωρισμούς, με την κατάλληλη χρήση υλικού πλήρωσης της στήλης και του διαλύτη έκλουσης (Παπαδογιάννης και Σαμανίδου, 2001; Στράτης, Βουλγαρόπουλος και Ζαχαριάδης, 1999).

- 1) **Χρωματογραφία Προσρόφησης.** Ο διαχωρισμός των διαφόρων ουσιών βασίζεται στο διαφορετικό βαθμό προσρόφησης στη στατική φάση. Οι κυριότερες αλληλεπιδράσεις που λαμβάνουν χώρα είναι ηλεκτροστατικής φύσης. Η χρωματογραφία προσρόφησης βρίσκει εφαρμογή στο διαχωρισμό ουσιών με παρόμοια δομή, αλλά με διαφορετική πολικότητα. Ανάλογα με τη σχέση πολικότητας μεταξύ της στατικής και της κινητής φάσης διακρίνονται δύο είδη χρωματογραφίας προσρόφησης:
 - a. Χρωματογραφία Κανονικής Φάσης
 - b. Εδώ, η στατική φάση (συνήθως SiO₂ ή Al₂O₃) είναι πολικότερη από την κινητή, η οποία αποτελείται από μη πολικούς διαλύτες όπως εξάνιο, χλωροφόρμιο
- 2) **Χρωματογραφία Αντίστροφης Φάσης.** Εδώ, η στατική φάση, η οποία είναι λιγότερο πολική της κινητής, αποτελείται από οξείδιο πυριτίου συζευγμένο με διάφορες ομάδες όπως αλκύλια (ακετύλιο, δεκαοκτύλιο), φαινύλιο, διόλες, αμινομάδες, κυανομάδες κ.ά., ενώ η κινητή φάση αποτελείται από μείγματα οργανικών διαλυτών (μεθανόλη ,ακετονιτρίλιο, κ.ά.) με υδατικά ρυθμιστικά διαλύματα και νερό.
- 3) **Χρωματογραφία Κατανομής.** Ο διαχωρισμός στηρίζεται στη διαφορετική κατανομή των συστατικών ενός μείγματος μεταξύ της κινητής και της υγρής στατικής φάσης και εφαρμόζεται στην ανάλυση ομόλογων, μη ιονικών ενώσεων.

- 4) **Χρωματογραφία Ιοντοανταλλαγής.** Ο διαχωρισμός οφείλεται στις ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των αναλυόμενων ιόντων και των φορτισμένων ομάδων της στατικής φάσης. Οι κυριότερες παράμετροι που καθορίζουν τη συγκράτηση στη χρωματογραφία ιοντοανταλλαγής είναι το αντίθετο ιόν της δραστικής ομάδας της στατικής φάσης, η ιονική ισχύς, το pH, ο τροποποιητής της κινητής φάσης και η θερμοκρασία.
- 5) **Χρωματογραφία Συγγένειας.** Για την επίτευξη του διαχωρισμού, οι προσδιοριζόμενες ενώσεις δεσμεύονται εκλεκτικά σε υποκαταστάτες, οι οποίοι είναι συνδεδεμένοι στην επιφάνεια του διοξειδίου του πυριτίου. Στη κατηγορία αυτή ανήκει η Χρωματογραφία Εναντιομερών, η οποία αποκτά αυξανόμενο ενδιαφέρον και με την οποία διαχωρίζονται εναντιομερείς μορφές ενώσεων που παρουσιάζουν χειρομορφία
- 6) **Χρωματογραφία Αποκλεισμού Μεγέθους ή Διάχυσης Πηκτής.** Ο διαχωρισμός γίνεται με βάση το σχήμα και το μέγεθος των μορίων των αναλυόμενων ενώσεων και βρίσκει εφαρμογές στην ανάλυση και το χαρακτηρισμό των πολυμερών. Τα μεγάλα μόρια εξέρχονται πρώτα από τη στήλη, ενώ τα μικρά μόρια, καθώς εισέρχονται στους πόρους των σωματιδίων της στατικής φάσης, καθυστερούν και βγαίνουν αργότερα.

Μια συσκευή HPLC αποτελείται από τα εξής στοιχεία:

- 1) Φιάλες αποθήκευσης διαλυτών
- 2) Αντλία (σταθερής ροής ,σταθερής πίεσης)
- 3) Μονάδα εισαγωγής δείγματος (βαλβίδα εισαγωγής δείγματος, αυτόματος δειγματολήπτης)
- 4) Χρωματογραφική στήλη
- 5) Ανιχνευτή
- 6) Καταγραφικό

Οι φιάλες αποθήκευσης διαλυτών είναι συνήθως γυάλινες χωρητικότητας τουλάχιστον 500ml. Στο σωλήνα τροφοδοσίας προσαρμόζεται ειδικό φίλτρο (2μm) που παρεμποδίζει την μεταφορά σωματιδίων που πιθανόν να μπλοκάρουν την αντλία. Το σύστημα διαλυτών που χρησιμοποιείται πρέπει να είναι υψηλής καθαρότητας και να έχει απαερωθεί.

φυσικοχημικών ιδιοτήτων τους. Υλικά πλήρωσης με μικρή διάμετρο σωματιδίων (5-10 μ m) παρέχουν γρηγορότερους και καλύτερους διαχωρισμούς, αλλά εμφανίζουν ευκολότερα προβλήματα ροής της στήλης (μπλοκάρισμα). Για διαχωρισμούς ενώσεων μοριακού βάρους 100- 2000 dalton, επιλέγονται υλικά πλήρωσης της στήλης με διάμετρο 6-10 μ m και επιφάνειας 200-400 m²/g. Για διαχωρισμό μακρομορίων επιλέγονται υλικά πλήρωσης με μεγαλύτερη διάμετρο πόρων. Τα υλικά μπορεί να είναι πορώδη ή μη πορώδη. Τα μη πορώδη αποτελούνται από ένα εσωτερικό συμπαγή πυρήνα και μια πορώδη εξωτερική στιβάδα, ενώ η μέση διάμετρος πόρων είναι 80-120 Angstrom. Ένα τρίτο είδος είναι τα υλικά διάχυσης τα οποία έχουν δύο μεγέθη πόρων (το πρώτο με διάμετρο μερικών χιλιάδων Å, και δεύτερο μικροί πόροι με διάμετρο μερικών εκατοντάδων Å. Τα τελευταία υλικά χρησιμοποιούνται για στην παρασκευαστική χρωματογραφία λόγω του μεγάλου μεγέθους των.

Ως ανιχνευτές (ανάλογα με τη φύση των ουσιών που πρόκειται να αναλυθούν) μπορούν να χρησιμοποιηθούν τα εξής:

- 1) φωτόμετρο UV – Vis. Είναι ο πιο συνηθισμένος τύπος ανιχνευτή για την HPLC. Οι ουσίες που μπορούν να ανιχνευτούν με αυτόν πρέπει να απορροφούν ακτινοβολία στην περιοχή του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος μεταξύ 190 – 600nm
- 2) διαφορικό διαθλασίμετρο. Καταγράφει τις διαφορές στο δείκτη διάθλασης μεταξύ καθαρού διαλύτη και προϊόντων
- 3) φθορισμόμετρο. Χρησιμοποιείται για την ανάλυση ουσιών που φθορίζουν με μεγάλη ευαισθησία
- 4) ηλεκτροχημικός ανιχνευτής. Χρησιμοποιείται σε διαχωρισμούς ουσιών που μπορούν να αναχθούν ή να οξειδωθούν.
- 5) φωτόμετρο IR

Τα σύγχρονα συστήματα HPLC είναι εφοδιασμένα με ηλεκτρονικό υπολογιστή και εκτυπωτή που παίζουν το ρόλο του καταγραφικού.

4 Τα αρωματικά συστατικά του γιαουρτιού

4.1 Εισαγωγή

Το άρωμα είναι ένα κρίσιμο συστατικό των τροφίμων, καθώς τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά ενός προϊόντος είναι το βασικό κριτήριο για την αποδοχή του προϊόντος από το καταναλωτικό κοινό. Στα ζυμωμένα προϊόντα του γάλακτος η αντίληψη της γεύσης προέρχεται κυρίως από τα πτητικά συστατικά (Kalviainen *et al.*, 2003). Τα περισσότερα γιαούρτια παράγονται βασιζόμενα στην δράση δυο μικροοργανισμών, *S. thermophilus* και *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*, οι οποίοι αναπτύσσονται ταυτόχρονα για να δώσουν στο γιαούρτι την χαρακτηριστική του γεύση, υφή και σώμα.

Πολλές είναι οι αρωματικές ουσίες που έχουν απομονωθεί από το γιαούρτι. Οι πιο σημαντικές από αυτές είναι το γαλακτικό οξύ, το οποίο προσδίδει μια όξινη και δροσιστική γεύση και ένα μίγμα καρβονυλικών συστατικών όπως η ακεταλδεΐδη, η αιθανόλη, η ακετόνη, το διακετύλιο και η 2-βουτανόνη. Από αυτά τα συστατικά, όπως έδειξαν διάφορες έρευνες, το κύριο συστατικό του αρώματος του τυπικού γιαουρτιού είναι η ακεταλδεΐδη (Ott *et al.*, 1997; Chaves *et al.*, 2002). Σημαντικό ρόλο στη γεύση του γιαουρτιού διαδραματίζει η αναλογία και η ισορροπία μεταξύ των συστατικών αυτών. Για παράδειγμα αναλογία 2:8 μεταξύ της ακεταλδεΐδης και της ακετόνης θεωρείται η βέλτιστη για την γεύση του προϊόντος (Chaves *et al.*, 2002; Gardini *et al.*, 1999). Επίσης, ένας μεγάλος αριθμός πτητικών αρωματικών συστατικών στο γιαούρτι δεν παράγονται αποκλειστικά από την μικροβιακή δραστηριότητα των καλλιιεργειών εκκίνησης, αλλά προϋπάρχουν στο γάλα (Beshkova. *et al.*, 1998).

Μια ποσοτική μελέτη των αρωματικών συστατικών μπορεί να βοηθήσει στη δημιουργία πιο κατάλληλων και σταθερών γεύσεων για το γιαούρτι. Τακτική ανάλυση των βασικών αρωματικών συστατικών μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παρακολούθηση της ποιότητας κατά την παραγωγή γιαουρτιού. Τέλος, το προφίλ των πτητικών ουσιών στο γιαούρτι μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως παράμετρος για την παραγωγή προϊόντων καλύτερης ποιότητας και ασφαλέστερων τροφίμων.

4.2 Η παραγωγή πτητικών αρωματικών συστατικών κατά την ζύμωση του γιαουρτιού

Η χαρακτηριστική γεύση των γαλακτοκομικών προϊόντων προέρχεται κατά κύριο λόγο από τα εγγενή αρωματικά συστατικά του αγελαδινού γάλακτος, τα οποία επηρεάζονται από την παστερίωση, τη ζύμωση, τις μεθόδους επεξεργασίας και την αποθήκευση. Το γάλα είναι ένα πολύπλοκο «οικοσύστημα» το οποίο αποτελείται από λιπίδια, πρωτεΐνες, υδρογονάνθρακες και ανόργανα συστατικά. Πάνω από 400 πτητικές αρωματικές ουσίες έχουν ανιχνευθεί στα γαλακτοκομικά προϊόντα (Walstra and Jenness, 1984).

Οι διαφορές μεταξύ των ενεργών αρωματικών συστατικών του γιαουρτιού και του γάλακτος προέρχονται κυρίως από τον μεταβολισμό των οξυγαλακτικών βακτηρίων. Αυτά τα αρωματικά συστατικά που σχετίζονται με τη δραστηριότητα των οξυγαλακτικών βακτηρίων παράγονται από μικροβιολογικές, ενζυματικές και χημικές μεταβολές της λακτόζης, των λιπιδίων του κιτρικού οξέος και των πρωτεϊνών – πεπτιδίων που περιέχονται στο γάλα (Boelrijk *et al.*, 2003; McGorin, 2001).

Τα αρωματικά συστατικά του γιαουρτιού μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε τέσσερις βασικές κατηγορίες (Cheng, 2010):

- 1) μη πτητικά οξέα (γαλακτικό, πυρουβικό, οξαλικό, ηλεκτρικό οξύ)
- 2) πτητικά οξέα (οξικό, προπιονικό, βουτυρικό)
- 3) καρβονυλικές ενώσεις (ακεταλδεΰδη, ακετόνη, ακετοΐνη, διακετύλιο)
- 4) διάφορες ενώσεις (συγκεκριμένα αμινοξέα και διάφορα παράγωγα της θερμικής αποδόμησης της λακτόζης, των πρωτεϊνών και του λίπους)

Ένας βασικός τρόπος παραγωγής των αρωματικών συστατικών του γιαουρτιού είναι μέσω της λιπόλυσης ή της οξειδωσης των λιπαρών οξέων του λίπους του γάλακτος, όπως παρουσιάζεται στο σχήμα 14. Σημαντικές ποσότητες λιπαρών οξέων μικρής αλυσίδας, τα οποία συνεισφέρουν σημαντικά στον αρωματικό χαρακτήρα, παράγονται από κορεσμένα λιπαρά οξέα. Τα ακόρεστα οξέα οξειδώνονται παρουσία ελεύθερων ριζών για να σχηματίσουν υδροϋπεροξίδια, τα οποία αποσυντίθενται γρήγορα προς εξανάλη και ακόρεστες αλδεΰδες (McGorin, 2001).



Σχήμα 14. Γενικές οδοί αποδόμησης του λίπους του γάλακτος κατά τη ζύμωση του γάλακτος. Προσαρμογή από Cheng (2010)

Ένα άλλο σημαντικό μονοπάτι είναι οι μεταβολές της λακτόζης, του γαλακτικού και κιτρικού άλατος που προκύπτει από την μικροβιολογική δραστηριότητα των οξυγαλακτικών βακτηρίων όπως παρουσιάζεται στα Σχήματα 15 και 16. Η δραστηριότητα αυτή έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή ακεταλδεΐδης, γαλακτικού οξέως, διακετυλίου, ακετοΐνης και αιθανόλης. Οι αλκοόλες του γιαουρτιού είναι πιθανό να συνδυαστούν με ελεύθερα οξέα σχηματίζοντας εστέρες που συνεισφέρουν στον αρωματικό χαρακτήρα του προϊόντος όπως ο αιθυλεστέρας και ο οξικός βουτυλεστέρας.

Επιπλέον, βιογενείς αμίνες και ενώσεις που περιέχουν άζωτο μπορούν να παραχθούν από την μετατροπή των πρωτεϊνών και των αμινοξέων, ενώ πιθανή είναι και η παραγωγή ενώσεων που περιέχουν θείο από μετατροπή του οργανικού θείου.

Μεγάλη σημασία για την σωστή αρωματική σύνθεση του τελικού προϊόντος διαδραματίζει ο σχηματισμός και η αποδόμηση της καζεΐνης που εμποδίζει τη συσσώρευση των πικρών στη γεύση πεπτιδίων.



Σχήμα 15. Οδοί αποδόμησης του γαλακτικού οξέως και του γαλακτικού άλατος κατά τη ζύμωση του γιαουρτιού. Προσαρμογή από Cheng (2010)



Σχήμα 16. Οδός αποδόμησης του κιτρικού άλατος κατά την ζύμωση του γιαουρτιού. Προσαρμογή από Cheng (2010)

4.3 Τα κύρια αρωματικά χαρακτηριστικά του γιαουρτιού

Δεν είναι όλες οι πτητικές ουσίες που βρίσκονται στα τρόφιμα σημαντικές για το άρωμά τους. Παρά τη πληθώρα των πτητικών συστατικών που έχουν βρεθεί στο γιαούρτι (Πίνακας 7), πολύ λίγα από αυτά έχουν βρεθεί σε ικανές συγκεντρώσεις. Μόνο η ακεταλδεΐδη, η αιθανόλη, η ακετόνη, το διακετύλιο και η 2-βουτανόνη έχουν αφενός σημαντική επίδραση στο άρωμα του γιαουρτιού και αφετέρου υπάρχουν σε ανιχνεύσιμες, από τον κοινό αναλυτικό εξοπλισμό, ποσότητες (Ulberth, 1991).

Έρευνα (Friedrich and Acree, 1998) έδειξε ότι η ακεταλδεΐδη και το διακετύλιο είναι οι πιο ισχυρά αρωματικές ουσίες του γιαουρτιού, γεγονός που διαφέρει από τα αντίστοιχα αποτελέσματα για τα υπόλοιπα ζυμωμένα γαλακτοκομικά προϊόντα και το γάλα.

Πίνακας 6. Λίστα των πτητικών ενώσεων που έχουν ταυτοποιηθεί στο γιαούρτι. Προσαρμογή από Cheng (2010)

Καρβονυλικές ενώσεις	Αλκοόλες	Θειούχες ενώσεις	Ετεροκυκλικές ενώσεις
Acetaldehyde	Methanol	Dimethyl sulfide	Furan
Acetone	Ethanol	Dimethyl disulfide	Furfural
Propanal	1-Propanol	Dimethyl trisulfide	2-Methylfuran
2-Propanone	2-Propanol	S-methyl thioacetate	2-Pentylfuran
Butanal	1-Butanol	Methional	2-Furanmethanol
2-Butanone	2-Butanol	Tetramethyl thiourea	Pyrazine
Diacetyl	2-Methyl-1-propanol	<i>Nitrogen compounds</i>	Methylpyrazine
Acetoin	Cyclobutanol	N,N-dimethylformamide	Pyrrole
Pentanal	1-Pentanol	Lactamide	1-Methylpyrrole
2-Methylbutanal	3-Pentanol	N-ethylbenzenamine	2-Methyl tetrahydrofuran-3-one
3-Methylbutanal	1-Penten-3-ol	<i>Hydrocarbons</i>	2-Methylthiophene
3-Methyl-2-butenal	3-Methyl-2-butenol	Heptane	2-Methyltetrahydrothiophen-3-one
2-Pentanone	3-Methylbutanol	Methylcyclohexane	Benzothiazole
3-Penten-2-one	Pentan-2-one-4-ol	Nonane	Methyl 2-piperidine
2-Hydroxy-3-pentanone	3-Methyl 3-cyclohexenol	Undecane	Furfuralcohol
2,3-Pentanedione	2-Ethyl hexanol	Αρωματικά συστατικά	1,2-Dihydro-2,2,4-Trimethylquinoline
Hexanal	2-Buthyl octanol	Benzene	2,3-dihydro-1,3,3-trimethyl 1H-Indole
2-Hexanone	Guaiacol	Toluene	Τερπένιο
3-Hexanone	Οξέα	Ethylbenzene	L-limonene
Heptanal	Acetic acid	1,3-Dimethylbenzene	Άλλα
2-Heptanone	Propionic acid	1,4-Dimethylbenzene	Acetonitrile
3-Heptanone	Butyric acid	1,2-Dimethylbenzene	Dichlorometane
Octanal	2-Methylpropanoic acid	Ethenylbenzene	Trichloromethane
3-Octanone	Pentanoic acid	Propylbenzene	
1-Octen-3-one	Isovaleric acid	Trimethylbenzene	
1-Nonen-3-one	Hexanoic acid	1-Methyl ethenylbenzene	
Nonanal	Heptanoic acid	1-Ethyl-4-methylbenzene	
(E)-2-Nonenal	Octanoic acid		
2-Nonanone	Nonanoic acid		
Decanal	Decanoic acid		
Undecanal	Benzoic acid		
2-Undecanone	Εστέρες		
2-Dodecanone	Methyl formate		
2-Pentadecanone	Methyl acetate		
γ-Dodecalactone	Ethyl acetate		
δ-Dodecalactone	Butyl acetate		
Benzaldehyde	Diethyl phthalate		
Phenylacetaldehyde			

Περισσότερες από 90 πτητικές ουσίες έχουν ταυτοποιηθεί στο γιαούρτι μεταξύ των οποίων υδρογονάνθρακες, αλκοόλες, αλδεΐδες, κετόνες, οξέα, εστέρες, λακτόνες,

συστατικά που περιέχουν θείο, πυραζίνες και παράγωγα του φουρανίου (Ott *et al.*, 1997; Marshall, 1982). Κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης τα αρωματικά συστατικά του γιαουρτιού μπορούν να μεταβληθούν ανάλογα με τις καλλιέργειες που χρησιμοποιήθηκαν, τη σύσταση του προϊόντος και τις συνθήκες της αποθήκευσης (Brauss *et al.*, 1999; Tamime and Deeth, 1980; Ulberth and Kneifel, 1992).

Οι καρβονυλικές ενώσεις είναι οι κύριες αρωματικές ενώσεις του γιαουρτιού, με την ακεταλδεΐδη να συνεισφέρει περισσότερο από κάθε άλλο συστατικό στην τυπική γεύση του γιαουρτιού (Bottazzi and Dellaglio, 1967; Gaafar, 1992; Law, 1981; Pourahmad and Assadi, 2005). Η καθαρή ακεταλδεΐδη έχει μια δριμεία ερεθιστική οσμή. Σε συγκεντρώσεις διαλύματος όμως αποκτά ένα ευχάριστο φρουτώδες άρωμα. Η ακεταλδεΐδη δίνει στο γιαούρτι το χαρακτηριστικό άρωμα που μοιάζει με αυτό του πράσινου μήλου ή των ξηρών καρπών.

Το διακετύλιο είναι ένα βασικό αρωματικό στοιχείο του γιαουρτιού και είναι υπεύθυνο για την γεύση που μοιάζει με αυτή του βουτύρου. Η παρουσία του είναι ιδιαίτερα σημαντική σε προϊόντα όπου η συγκέντρωση της ακεταλδεΐδης είναι χαμηλή, οπότε και διατηρεί την τυπική αρωματική σύσταση του γιαουρτιού. Το διακετύλιο προέρχεται από τη ζύμωση του κιτρικού οξέως του γάλακτος

Η ακετοΐνη είναι μια αρωματική ουσία που απαντάται στα γαλακτοκομικά προϊόντα. Έχει μια ελαφρώς κρεμώδη, ήπια γλυκιά και βουτυρώδη γεύση, η οποία μοιάζει με τη γεύση του διακετυλίου αν και είναι αρκετά πιο αδύναμη. Το διακετύλιο σε συνδυασμό με την ακετοΐνη δίνουν την ήπια, ευχάριστη και βουτυρώδη γεύση στο γιαούρτι και διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην πλούσια αντίληψη που έχουμε για το προϊόν αυτό.

Η ακετόνη και η 2-βουτανόνη προέρχονται από το γάλα και θεωρούνται ως πτητικά συστατικά που έχουν ελάχιστο σημασία στην διαμόρφωση του αρώματος των γαλακτοκομικών προϊόντων (Carcoba *et al.*, 2000). Η ακετόνη έχει γλυκό, φρουτώδες άρωμα και ενώ προέρχεται από το γάλα, μικρές ποσότητες παράγονται και από τη δράση των οξυγαλακτικών βακτηρίων (Georgala *et al.*, 1995). Η τυπική περιεκτικότητα του γιαουρτιού σε ακετόνη κυμαίνεται μεταξύ 0,3 και 4 mg/kg (Ott *et al.*, 1997; Pourahmad and Assadi, 2005). Η αντίστοιχη περιεκτικότητα για την 2-βουτανόνη, το άρωμα της οποίας είναι παρόμοιο με της ακετόνης, είναι 0,1 με 7

mg/kg (Ott *et al.*, 1997; Ulberth, 1991; Pourahmad and Assadi, 2005; Kaminarides *et al.*, 2007).

Το γαλακτικό οξύ, καθώς και άλλα οξέα διαδραματίζουν συγκεκριμένους ρόλους στην διαμόρφωση του αρώματος του γιαουρτιού. Το γαλακτικό οξύ είναι η πηγή γεύσης και λειτουργικότητας για πολλά ζυμωμένα προϊόντα και είναι υπεύθυνο για τη δροσερή ξινή γεύση του γιαουρτιού (Panagiotidis and Tzia, 2001). Κατά τη διάρκεια της διαδικασίας παραγωγής γιαουρτιού ποσοστό περίπου 20 – 40% της λακτόζης που υπάρχει στο γάλα, μετατρέπεται σε γαλακτικό οξύ με αποτέλεσμα η περιεκτικότητα του γιαουρτιού σε γαλακτικό οξύ να είναι περίπου 0,9%. Η οξύτητα είναι σημαντικό στοιχείο της γεύσης του γιαουρτιού, με το pH να είναι κοντά στο 4,4. Ορισμένα γιαούρτια με λιγότερη οξύτητα (πιο μαλακή γεύση) θεωρούνται από τους καταναλωτές ότι δεν έχουν εξίσου ισχυρή γεύση με τα γιαούρτια τυπικής οξύτητας. Εκτός από το γαλακτικό οξύ παράγονται και άλλα οξέα κατά τη διάρκεια της οξυγαλακτικής ζύμωσης, ως αποτέλεσμα λιπολυτικών διεργασιών (C₄ – C₂₀) και της μικροβιακής ζύμωσης (C₂ – C₄).

Μια άλλη ομάδα ουσιών που συνεισφέρουν στο άρωμα και τη γεύση του γιαουρτιού είναι οι αλκοόλες και κυρίως η αιθανόλη, η οποία είναι το τελικό προϊόν της αποδόμησης της γλυκόζης και του καταβολισμού των αμινοξέων (Guler, 2007; Urbach, 1995). Η συγκέντρωση της αιθανόλης στο αγελαδινό γιαούρτι κυμαίνεται μεταξύ 0,2 και 9,9 mg/kg (Pourahmad and Assadi, 2005; Hild, 1979; Ott *et al.*, 1999; Rysstad and Abrahamsen, 1987), ενώ η αντίστοιχη συγκέντρωση για το αιγοπρόβειο γιαούρτι είναι χαμηλότερη (Georgala *et al.*, 1995; Rysstad and Abrahamsen, 1987). Παρόλο που αιθανόλη αναφέρεται ως κύριο συστατικό του αρώματος του γιαουρτιού, δεν είναι ακόμα σαφής η συνεισφορά της στον αρωματικό χαρακτήρα του προϊόντος.

Στο γιαούρτι απαντώνται επίσης οι εστέρες που αντιστοιχούν στα οξέα και τις αλκοόλες που υπάρχουν στο γάλα και το ίδιο το γιαούρτι. Οι αιθυλικοί εστέρες που προέρχονται από την ενζυματική ή χημική εστεροποίηση των οξέων με αιθανόλη, διαθέτουν μια ευχάριστη και γλυκιά γεύση με φρουτώδεις τόνους. Οι περισσότεροι εστέρες έχουν μια φρουτώδη γεύση και συμβάλλουν στο άρωμα και τη γεύση με την ελαχιστοποίηση της ευκρίνειας και την πικράδα που μεταδίδεται από λιπαρά οξέα και αμίνες (Guler, 2007; Molimard and Spinnler, 1996).

4.4 Η ανίχνευση των πτητικών αρωματικών ενώσεων με τη μέθοδο της φασματομετρίας μάζας - αέριας χρωματογραφίας (GC-MS)

Η μέθοδος της φασματοσκοπίας μάζας – αέριας χρωματογραφίας GC-MS είναι η πιο δημοφιλής τεχνική που χρησιμοποιείται στην ανάλυση των αρωματικών συστατικών, λόγω της ικανότητάς της στην ανίχνευση και την ποσοτικοποίηση γνωστών ενώσεων, τον προσδιορισμό άγνωστων ενώσεων, καθώς και την αποσαφήνιση των χημικών ιδιοτήτων των μορίων. Αν και η ευαισθησία της φασματοσκοπίας μάζας εξαρτάται από την φύση των αναλυτών και τον τύπο των χρησιμοποιούμενων οργάνων, τα όρια ανίχνευσης των εξεταζόμενων ενώσεων συνήθως μπορούν να καθορίζονται με επίπεδα picogram ή και λιγότερο.

Η χημική ανάλυση της γεύσης στα γαλακτοκομικά προϊόντα είναι περίπλοκη λόγω της ανομοιογένειας του γάλακτος. Σημαντικά επίπεδα πρωτεϊνών λιπιδίων, και υδατανθράκων στο γάλα καθιστούν δύσκολο τον διαχωρισμό των χημικών ουσιών που συνεισφέρουν ενεργά στο άρωμα, με βάση γενικές ιδιότητες όπως η πολικότητα και η πτητικότητα. Είναι ιδιαίτερα δύσκολο να διαχωριστούν οι δραστικές χημικές ουσίες του αρώματος από τις πολλαπλές φάσεις που βρίσκονται στο πλήρες γάλα και το τυρί, ειδικά αν η πρόθεση μας είναι να αποκτήσουμε ένα απόσπασμα, κλάσμα ή ποσότητα που να είναι ικανά εμπλουτισμένη και αντιπροσωπευτική. Η απόσταξη και η εξόρυξη του διαλύτη μεταβάλλουν δραστικά τη σύνθεση του δείγματος και μπορεί να οδηγήσει σε λανθασμένες ανιχνεύσεις. Ωστόσο, η απόσταξη και η εκχύλιση με διαλύτες, σε συνδυασμό με την αέριο χρωματογραφία είναι γενικά η καλύτερη μέθοδος για την απομόνωση άγνωστων οσμών από γαλακτοκομικά προϊόντα¹⁰⁹. Μια άλλη μέθοδος απομόνωσης των αρωματικών στοιχείων είναι η ανάλυση της υπερκείμενης φάσης (headspace analysis).

Το φέρον αέριο (συνήθως N₂, He, H₂, Ar) από τη φιάλη υψηλής πίεσης, μέσα από ρυθμιστές παροχής, οδηγείται στη στήλη. Η εισαγωγή του δείγματος γίνεται με μικροσύριγγα στη βαλβίδα εισαγωγής του δείγματος στην κορυφή της στήλης. Τα συστατικά του δείγματος συμπαρασύρονται από το φέρον αέριο κατά μήκος της στήλης και διαχωρίζονται. Τα κλάσματα στη συνέχεια ανιχνεύονται στον ανιχνευτή και τα σήματα ανίχνευσης καταγράφονται από καταγραφικό. Σε ορισμένες

περιπτώσεις, στη συνέχεια υπάρχει μια διάταξη, όπου συλλέγονται τα διάφορα κλάσματα και ένα ροόμετρο για τον έλεγχο της ταχύτητας ροής του φέροντος αερίου.

Ως φέρον αέριο μπορεί να χρησιμοποιηθεί κάθε αέριο σε υπερκάθαρη κατάσταση, το οποίο μπορεί να διαφοροποιηθεί στον ανιχνευτή, από τα διάφορα συστατικά του μίγματος. Το φέρον αέριο πρέπει να είναι αδρανές και απαλλαγμένο από προσμίξεις. Επίσης δεν πρέπει να περιέχει οξυγόνο, γιατί οξειδώνει τη στατική φάση και αυτό σημαίνει καταστροφή της στήλης, ιδιαίτερα όταν αυτή είναι τριχοειδής και η ποσότητα της στατικής φάσης είναι ελάχιστη. Ίχνη υγρασίας επίσης απενεργοποιούν τη στατική φάση, για αυτό το φέρον αέριο πρέπει να είναι απαλλαγμένο από υγρασία. Η επιλογή του φέροντος αερίου εξαρτάται κυρίως από τον τύπο του ανιχνευτή που χρησιμοποιείται.

Η καρδιά του χρωματογράφου είναι η στήλη. Υπάρχουν δύο είδη στηλών οι πληρωμένες στήλες και οι τριχοειδείς. Η στήλη αποτελείται από έναν επιμήκη σωλήνα, συνήθως με τη μορφή σπειράματος ή U, ώστε να καταλαμβάνει κατά το δυνατόν μικρότερο χώρο, από ανοξειδωτο χάλυβα, χαλκό, αργίλιο, ύαλο ή πλαστικό, μήκους 1-2 m για τις πληρωμένες στήλες, μέχρις αρκετών εκατοντάδων μέτρων για τις τριχοειδείς, εσωτερικής διαμέτρου της τάξεως των mm στις αναλυτικές στήλες, πολλών δεκάδων cm στις παρασκευαστικές στήλες.

Το δείγμα, συνήθως όγκου 1μL εισάγεται στο ρεύμα του φέροντος αερίου στην αρχή της στήλης με μια μικροσύριγγα, διαμέσου μιας ελαστικής πλακέτας ή διαφράγματος (septum). Η ταχύτητα και η ικανότητα του διαχωρισμού εξαρτώνται από τη θερμοκρασία. Για αυτό το λόγο η στήλη βρίσκεται σε φούρνο, του οποίου η θερμοκρασία ελέγχεται αυστηρά.

Ο διαχωρισμός επιτυγχάνεται εξαιτίας των διαφόρων δυνάμεων συγκράτησης και έκλυσης ανάμεσα στα συστατικά του μίγματος, το υλικό πλήρωσης της στήλης και της ροής του φέροντος αερίου.

Το δεύτερο μέρος του χρωματογράφου περιλαμβάνει τον ανιχνευτή, ο οποίος τοποθετείται στο τέλος της στήλης. Τα σήματα ενισχύονται και καταγράφονται στο καταγραφικό σύστημα.



Σχήμα 17. Σχηματική αναπαράσταση της αρχής λειτουργίας του αέριου χρωματογράφου.

Αρκετοί κατασκευαστές οργάνων προσφέρουν αέριους χρωματογράφους, που μπορούν να συζευχθούν άμεσα με φασματομέτρα μαζών (MS) ταχείας σάρωσης. Η αρχή λειτουργίας της φασματομετρίας μαζών στηρίζεται στη δημιουργία ιόντων (κυρίως θετικών) μιας ένωσης, το διαχωρισμό τους με βάση το λόγο της μάζας προς φορτίο (m/z) και την καταγραφή τους. Με αυτόν τον τρόπο είναι δυνατό να προσδιοριστεί το μοριακό βάρος (MB) της ένωσης και ο τρόπος σύνδεσης των διαφόρων ομάδων μεταξύ τους.

Τα φασματομέτρα μαζών αποτελούνται από:

- 1) Το θάλαμο ιοντισμού, όπου μετατρέπεται η ένωση σε ιόντα, συνήθως κατιόντα με απόσπαση ενός ηλεκτρονίου,
- 2) Τον αναλυτή μαζών, όπου γίνεται διαχωρισμός των ιόντων με βάση το λόγο m/z ,
- 3) Τον ανιχνευτή.

Ο χώρος όπου δημιουργούνται και επιταχύνονται τα ιόντα διατηρείται σε κατάσταση υψηλού κενού. Με το υψηλό κενό δημιουργούνται σε χαμηλές θερμοκρασίες θέρμανσης ατμοί της προς προσδιορισμό ουσίας χωρίς τη διάσπασή της, που οδηγούνται στο θάλαμο ιοντισμού. Επίσης απομακρύνονται τα μόριά της και τα ουδέτερα προϊόντα της διάσπασης από το χώρο της ανάλυσης μετά από κάθε μέτρηση.

Ο αναλυτής αποτελείται από ένα σωλήνα σε σχήμα τόξου, που βρίσκεται μέσα σε ομογενές μαγνητικό πεδίο μεγάλης έντασης (3000-4000 gauss) και σε διεύθυνση κάθετη προς τις δυναμικές γραμμές του μαγνητικού πεδίου. Με δύο κυκλικές οπές –

διαφράγματα μεταβλητής ακτίνας στην αρχή και στο τέλος του σωλήνα ένα μέρος από τα ιόντα που δεν εστιάζονται στο κέντρο των διαφραγμάτων απορρίπτεται.

Ο συνηθέστερος τρόπος ιοντισμού είναι με βομβαρδισμό των αερίων μορίων της ένωσης με δέσμη ηλεκτρονίων (EI). Κατά τον ιοντισμό της ένωσης με ηλεκτρόνια, ο οποίος επιτυγχάνεται με βομβαρδισμό μορίων αυτής με δέσμη ηλεκτρονίων μεγάλης ενέργειας (συνήθως 70 eV), δημιουργείται με απώλεια ενός ηλεκτρονίου από μέρους της ένωσης μια κατιοντική ρίζα, που αντιστοιχεί στο μοριακό ιόν. Οι κατιοντικές αυτές ρίζες επιταχύνονται αρχικά με ηλεκτρικό πεδίο και στη συνέχεια κινούνται μέσα στο μαγνητικό πεδίο, οπότε εκτρέπονται και διαχωρίζονται με βάση το m/z . Άλλοι τρόποι σχηματισμού ιόντων είναι : ο χημικός ιοντισμός (CI), η εφαρμογή ηλεκτρικού πεδίου (FI), ο βομβαρδισμός με γρήγορα ουδέτερα άτομα Xe ή Ar ή ιόντα Cs (FIB). Οι συνηθέστεροι αναλυτές είναι: αναλυτής τομέα, τετραπολικός αναλυτής, παγίδα ιόντων, αναλυτής χρόνου πτήσης (Παπαδογιάννης, Σαμανίδου 2001; Χατζηιωάννου, Κουμπάρης, 2003).

5 Υλικά και μέθοδοι

5.1 Δείγματα

Τα δείγματα αυτής της εργασίας ήταν άπαχα και μειωμένης λιποπεριεκτικότητας γιαούρτια και επιδόρπια γιαουρτιού από αγελαδινό γάλα, τα οποία προέρχονταν από την ελληνική αγορά. Συνολικά εξετάστηκαν 23 δείγματα από διάφορες εταιρείες, τα οποία αγοράστηκαν και μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο σε σύντομο χρονικό διάστημα για να αποφευχθεί τυχόν υποβάθμισή τους. Τα δείγματα συντηρήθηκαν σε θερμοκρασία ψυγείου καθ' όλη τη διάρκεια του πειραματικού μέρους, ενώ το σύνολο των αναλύσεων πραγματοποιήθηκε πριν την λήξη της ημερομηνίας κατανάλωσής τους. Στον πίνακα 7 που ακολουθεί παρουσιάζεται η χημική σύσταση των δειγμάτων που αναφερόταν στην συσκευασία.

Πίνακας 7. Χημική σύσταση σε άπαχα και μειωμένης λιποπεριεκτικότητας δείγματα γιαουρτιών ή επιδορπίων τύπου γιαουρτιού. ΔΑ : Δεν Αναγράφεται στην συσκευασία, Μ.Ο. : Μέσος όρος, ± : τυπικό σφάλμα του μέσου όρου.

Κ/Α	Λίπος%	Πρωτεΐνη %	Υγρασία %	Υδατάνθρακες%
1	1	7,2	85,29	4,9
2	2	4,4	85,95	5,8
3	2	9	83,88	4
4	0	9	85,08	4
5	2	9	82,82	4
6	0	ΔΑ	87,46	ΔΑ
7	2	ΔΑ	86,94	ΔΑ
8	2	ΔΑ	85,91	ΔΑ
9	2	6,2	84,99	5,9
10	2	8,4	84,24	3,8
11	0	9	85,82	4
12	2	4,5	84,69	7,5
13	0	5	86,70	7,5
14	2	3,9	87,97	5,2
15	0	4	89,64	5,4
16	2	6,7	86,27	4,9
17	0	8	87,18	5
18	2	4,6	87,75	5,2
19	2	ΔΑ	83,15	ΔΑ
20	2	4,6	87,73	5,2
21	0	4,8	89,82	5,6
22	2	8	85,61	3,5
23	2	ΔΑ	84,26	ΔΑ
Μ.Ο.	1,347±0,38	6,461 ±0,81	86,05 ±0,75	5,077 ±0,46

5.2 Προσδιορισμός ανόργανων συστατικών

5.2.1 Προσδιορισμός Ca, Na, K, Mg με την μέθοδο της φασματοσκοπίας ατομικής απορρόφησης

Για τον προσδιορισμό των ανόργανων στοιχείων Ca, Mg, Na, K χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της φασματοσκοπίας ατομικής απορρόφησης όπως αυτή περιγράφεται από το πρότυπο IDF STANDARD 119:2007.

Για το πείραμα χρησιμοποιήθηκαν οι εξής διαλύτες:

- 1) Νιτρικό οξύ HNO_3 25% v/v
- 2) Διάλυμα χλωριούχου λανθάνιου LaCl_3 27g/l
- 3) Νιτρικό οξύ για το πλύσιμο των γυάλινων σκευών το οποίο παρασκευάστηκε με την προσθήκη δισαπεσταγμένου νερού σε 5ml πυκνού HNO_3 (65%) μέχρι του όγκου των 1000ml

Πριν την ανάλυση τα γυάλινα σκεύη ξεπλένονταν σχολαστικά με απορρυπαντικό και νερό βρύσης. Στην συνέχεια γινόταν ξέπλυμα με δισαπεσταγμένο νερό, παραμονή σε διάλυμα HNO_3 για μια μέρα και ξέπλυμα πάλι με δισαπεσταγμένο νερό.

Πιο συγκεκριμένα σε ποσότητα 0,025g τέφρας, διαλύθηκαν σε 1ml διαλύματος HNO_3 25% και συμπληρώθηκε δισαπεσταγμένο νερό μέχρι τον όγκο των 100ml. Το διάλυμα αυτό ονομάστηκε «μητρικό». Για τον προσδιορισμό του Ca και του Mg λήφθηκαν 5ml από το μητρικό διάλυμα, προστέθηκαν 10ml LaCl_3 και συμπληρώθηκε με δισαπεσταγμένο νερό μέχρι τον όγκο των 100ml. Το διάλυμα αυτό ονομάστηκε «διάλυμα Α». Για τον προσδιορισμό του Na και του K λήφθηκαν 10ml από το διάλυμα Α, προστέθηκαν 5ml LaCl_3 και συμπληρώθηκε με δισαπεσταγμένο νερό μέχρι τον όγκο των 50ml. Το διάλυμα αυτό ονομάστηκε «διάλυμα Β». Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε η ανάλυση των διαλυμάτων Α και Β με την Φασματοσκοπία Ατομικής Απορρόφησης σε φλόγα χρησιμοποιώντας το όργανο Shimadzu AA 6800 Spectrophotometer. Ο υπολογισμός των συγκεντρώσεων των αλάτων στα δείγματα της γιαούρτης γινόταν με βάση την πρότυπη καμπύλη της απορρόφησης ως προς τη συγκέντρωση.

Ο ποσοτικός υπολογισμός των ανόργανων στοιχείων πραγματοποιήθηκε με την χρήση του τύπου:

$$\text{πραγματική συγκέντρωση} = \frac{\text{conc} \times V_f \times D_f \times C_f}{W_f} \text{ mg/l}$$

όπου

conc: η συγκέντρωση όπως προκύπτει από τα πρότυπα

V_f : 100

W_f : 0,025

D_f : 20 για τα Ca, Mg και 100 για τα Na, K

C_f : $\frac{\text{ολική τέφρα}}{\text{ολικό βάρος γιαούρτης}}$

5.2.2 Προσδιορισμός του φωσφόρου με φωτομετρική μέθοδο

Ο προσδιορισμός του φωσφόρου πραγματοποιήθηκε με τη φωτομετρική μέθοδο σύμφωνα με το πρότυπο IDF STANDARD 42:2006. Ορισμένη ποσότητα δείγματος αποτεφρώνεται. Με προσθήκη διαλύματος μολυβδαιν-ασκορβικού οξέος σχηματίζεται μπλε του μολυβδαινίου και γίνεται μέτρηση του μπλέ χρώματος στο φωτόμετρο στα 820nm. Για την μετατροπή της ένδειξης του οργάνου σε συγκέντρωση φωσφόρου (ppm) κατασκευάζεται καμπύλη αναφοράς. Στη συνέχεια υπολογίζεται η ποσότητα του φωσφόρου που περιέχεται ανά g ξηρής ουσίας ή η εκατοστιαία περιεκτικότητα του δείγματος του γιαουρτιού σε φωσφόρο.

Τα διαλύματα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν:

- 1) Θεικό οξύ (H_2SO_4) $\approx 5 \text{ mol/l}$ το οποίο προέκυψε από την προσθήκη 278 ml συμπυκνωμένου θεικού οξέως (18mol/l) σε 722ml νερού.
- 2) Υδροχλωρικό οξύ (HCl) $\approx 1 \text{ mol/l}$ (για την αποξήρανση)
- 3) Υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2) $\approx 9 \text{ mol/l}$
- 4) Μολυβδαινικό νάτριο (Na_2MoO_4) $\approx 1 \text{ mol/l}$
- 5) Ασκορβικό οξύ ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$) $\approx 0,25 \text{ mol/l}$
- 6) διάλυμα μολυβδαινικού νατρίου/ ασκορβικού οξέως το οποίο προκύπτει από την ανάμιξη 25ml του διαλύματος του μολυβδαινικού νατρίου με 10ml του διαλύματος του ασκορβικού οξέος και αραιώσή τους μέχρι τα 100ml με νερό

Από την τέφρα που χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό των υπόλοιπων ανόργανων συστατικών ζυγίστηκε 0,04g τέφρας και διαλύθηκε σε 2-3 ml υδροχλωρικού οξέος και σε 3ml απεσταγμένου νερού. Μεταφέρθηκε το διάλυμα αυτό

σε μια ογκομετρική φιάλη των 100ml και ξεπλύθηκε το ποτηράκι ζέσεως το οποίο χρησιμοποιήθηκε για τη διάλυση της τέφρας, έτσι ώστε να ληφθεί όλη η ποσότητα του δείγματος. Συμπληρώθηκε η ογκομετρική φιάλη με απεσταγμένο νερό μέχρι τα 100ml και στη συνέχεια διηθήθηκε το περιεχόμενο της ογκομετρικής φιάλης, χρησιμοποιώντας φίλτρο μεσαίου πορώδους. Έπειτα λήφθηκαν 10ml από το διήθημα και μεταφέρθηκαν σε καθαρή ογκομετρική φιάλη των 100ml, η οποία επίσης συμπληρώθηκε με νερό μέχρι τα 100ml. Τέλος, λήφθηκαν 2 ml από το καινούργιο διάλυμα και μεταφέρθηκαν σε ογκομετρική φιάλη των 50ml, στην οποία προστέθηκαν 25ml απεσταγμένου νερού, 2ml διαλύματος μολυβδαιν-ασκορβικού οξέος και συμπληρώθηκε νερό μέχρι τη χαραγή. Έγινε καλή ανάδευση και παραμονή των διαλυμάτων για 15 λεπτά σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 100°C. Ακολούθησε ψύξη και μετρήθηκαν οι απορροφήσεις του φωσφόρου με φωτόμετρο (Hitachi U-3200 Spectrophotometer) σε μήκος κύματος 820nm. Ο υπολογισμός της ποσότητας του φωσφόρου προέκυπτε από τον τύπο:

$$W_p = \frac{m_1}{20m_0}$$

όπου:

W_p = ποσότητα ολικού φωσφόρου εκφρασμένη ως %

m_0 = η ποσότητα της μάζας του δείγματος γιαούρτης που αντιστοιχεί στην τέφρα που ελήφθη για την ανάλυση, εκφρασμένη σε g.

m_1 = η ποσότητα μάζας του φωσφόρου που προκύπτει από την πρότυπη καμπύλη, σε μg.

Η πρότυπη καμπύλη κατασκευάστηκε σύμφωνα με το πρωτόκολλο IDF 42:2006, (παράγραφος 9.4).



Σχήμα 18. Εξοπλισμός Φασματοσκοπίας Ατομικής Απορρόφησης Shimadzu AA 6800 Spectrophotometer.

5.3 Προσδιορισμός οργανικών οξέων

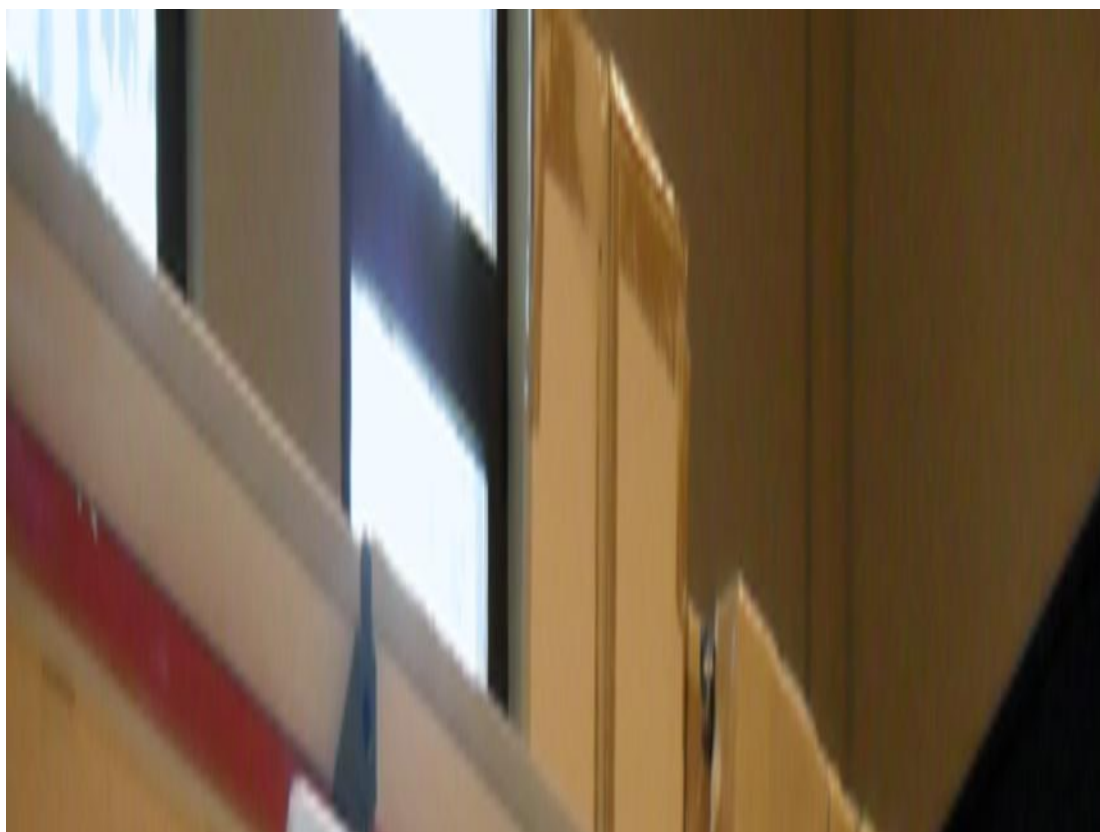
Προετοιμασία δειγμάτων για την HPLC

Ζυγίστηκαν 10g γιαούρτης, διαλύθηκαν με H_2O , μεταφέρθηκαν σε ογκομετρική φιάλη των 100ml στην οποία προστέθηκαν 40ml βολφραμικού οξέος. Η φιάλη ανακινήθηκε και στην συνέχεια αφέθηκε για λίγο σε ηρεμία. Ακολούθησε διήθηση σε φίλτρο Whatman No 40. Από το διήθημα κάθε δείγματος 1ml αναμίχθηκε με 100μl 70% $HClO_4$ (υπερχλωρικού οξέος) και μεταφέρθηκε στο ψυγείο όπου παρέμεινε για 24h. Ακολούθησε φυγοκέντρηση στις 12500 rpm για 60min στους $4^{\circ}C$ στην συσκευή Heraus Sepatech, Biofuge 22R. Η υπερκείμενη φάση διηθήθηκε από φίλτρο πορώδους 0,22μm. Η ανάλυση με την HPLC έγινε στο διήθημα.

Μέτρηση συγκέντρωσης της λακτόζης, γαλακτόζης, γλυκόζης και των οργανικών οξέων με την HPLC.

Ο προσδιορισμός των παραπάνω ουσιών έγινε με την χρήση Υγρής Χρωματογραφίας Υψηλής Πίεσης (HPLC) (GBC 1150 Pump). Κατά την ανάλυση έγινε ένεση δείγματος όγκου 20μl σε στήλη Bio-Rad Aminex HPX - 87H (300mm x 7.8mm) συνδεδεμένη σε ένα ανιχνευτή διαθλάσεως (RI) (GBC LC 1240 Detector). Η έκλουση έγινε ισοκρατικά με κινητή φάση 5mM H₂SO₄ υπό σταθερή θερμοκρασία 35°C και με ταχύτητα ροής 0,5ml/min.

Για τον ποσοτικό προσδιορισμό χρησιμοποιήθηκαν καμπύλες αναφοράς για κάθε χημική ένωση.



Σχήμα 19. Εξοπλισμός Υγρής Χρωματογραφίας Υψηλής Πίεσης (HPLC) (GBC 1150 Pump)

5.4 Προσδιορισμός των αρωματικών ουσιών

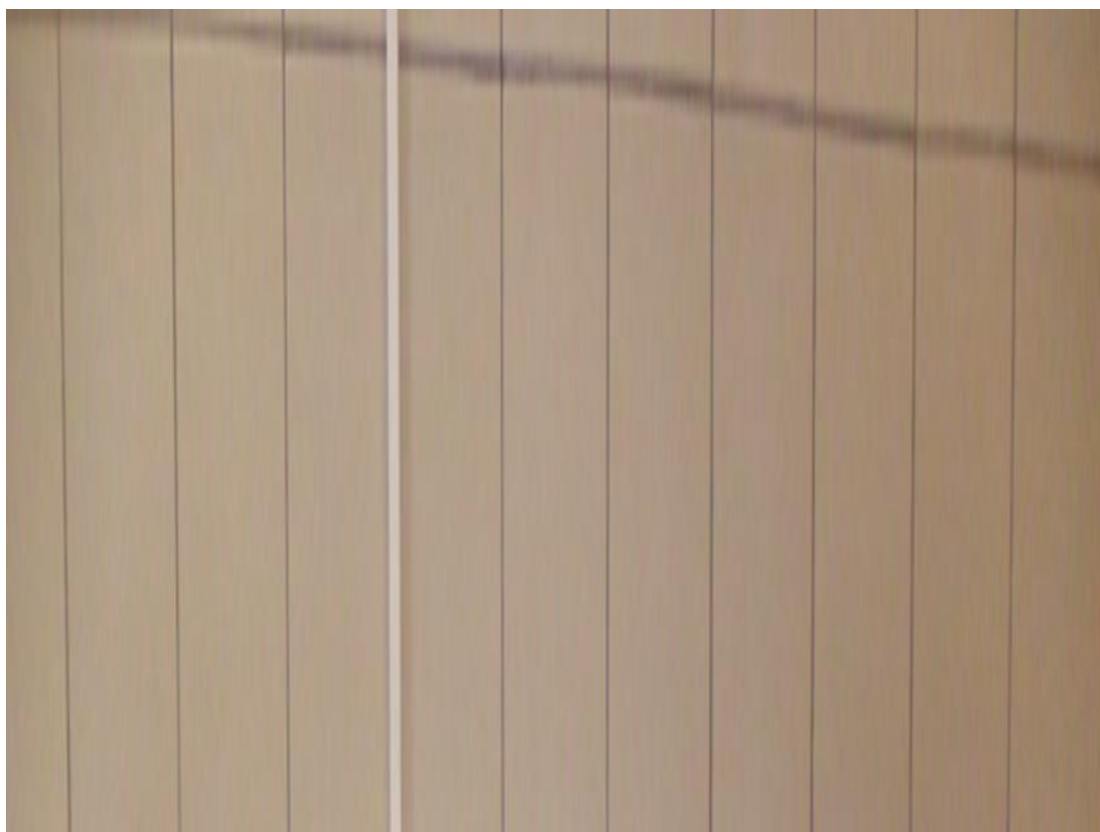
Ο προσδιορισμός των πτητικών αρωματικών ουσιών έγινε σε σύστημα Headspace (HS -40) αέριου χρωματογράφου συνδεδεμένου με φασματογράφο μαζών (GCMS-QP5050, Szhimadzu) με την μέθοδο SPME.

Χρησιμοποιήθηκαν τα εξής αντιδραστήρια:

1. Κορεσμένο δ/μα NaCl
2. Δ/μα κυκλοεξανόνης
3. Standard (σε κορεσμένο δ/μα NaCl των 250ml προσθέσαμε 250μl δ/τος κυκλοεξανόνης)

Ποσότητα 3ml δείγματος γιαούρτης και 40μl Standard μεταφέρθηκαν σε γυάλινο φιαλίδιο που σφραγίστηκε ερμητικά με ελαστικό καπάκι και στο οποίο τοποθετήθηκε η ίνα. Η ίνα που χρησιμοποιήθηκε ήταν η 50/30 μm DVB/CAR/PDMS (grey) SUPELCO, η οποία πριν από κάθε χρήση καθαριζόταν με ζεστό αέρα πολύ καλά για περίπου 5min, ενώ οι ίνες PDMS/DVB (blue) και CAR/PDMS (black) που δοκιμάστηκαν για την ανίχνευση των αρωματικών ουσιών κρίθηκαν ακατάλληλες. Κάθε φορά το φιαλίδιο με το δείγμα τοποθετούταν σε υδατόλουτρο (55°C) υπό συνεχή ανάδευση για περίπου 25min και στη συνέχεια γινόταν η ένεση. Η όλη διαδικασία διαρκούσε περίπου 37min. Το εύρος των θερμοκρασιών που χρησιμοποιήθηκαν κυμαινόταν από 40-250°C.

Ο διαχωρισμός των αρωματικών συστατικών έγινε με την βοήθεια της στήλης HP INNOWAX μήκους 60m , εσωτερικής διαμέτρου 0,25mm και πάχους φιλμ 0,25μm. Η ταυτοποίηση των ουσιών έγινε με την βοήθεια της βιβλιοθήκης των χημικών ουσιών Shimadzu NIST62. Ο ποσοτικός προσδιορισμός πραγματοποιήθηκε με την χρήση εσωτερικού προτύπου (standard) κυκλοεξανόνης σε κάθε δείγμα.



Σχήμα 20. Εξοπλισμός Headspace (HS -40) αέριου χρωματογράφου συνδεδεμένου με φασματογράφο μαζών (GCMS-QP5050, Szhimadzu).

6 Αποτελέσματα και συζήτηση

6.1 Αποτελέσματα προσδιορισμού ανόργανων αλάτων

Οι τιμές των συγκεντρώσεων των αλάτων Ca, Mg, Na, K και P στα 23 δείγματα άπαχων ή μειωμένης λιποπεριεκτικότητας γιαουρτιών και επιδορπίων τύπου γιαουρτιού που εξετάστηκαν στην παρούσα μελέτη παρουσιάζονται στον Πίνακα 8. Όπως παρατηρείται η συγκέντρωση μεταξύ των προϊόντων παρουσιάζει μεγάλες διακυμάνσεις. Η συγκέντρωση του ασβεστίου κυμαινόταν από 131-326 mg/100g προϊόντος, του μαγνησίου από 15-26 mg/100g προϊόντος, του νατρίου από 47-175 mg/100g προϊόντος, του καλίου από 206-486 mg/100g προϊόντος και του φωσφόρου από 73-242 mg/100g προϊόντος. Στην περίπτωση της τέφρας η διακύμανση ήταν από 0,71-1,21 mg/100g προϊόντος. Οι διακυμάνσεις αυτές αποδίδονται στις διακυμάνσεις της ξηρής ουσίας που είχαν τα δείγματα και προέρχονταν κυρίως από την προσθήκη διαφόρων τύπων προϊόντων γάλακτος, με σκοπό την αύξηση των ολικών στερεών των άπαχων και μειωμένης λιποπεριεκτικότητας επιδορπίων τύπου γιαουρτιού. Δείγματα που είχαν πολύ υψηλές συγκεντρώσεις αλάτων είναι πιθανώς ενισχυμένα με σκόνη άπαχου γάλακτος που είναι πλούσιες σε ανόργανα άλατα (Fuente M., Montes F. *et al.*, 2002). Οι μέσες συγκεντρώσεις των αλάτων όπως φαίνεται δεν επηρεάστηκαν ιδιαίτερα από την διαφορετική λιποπεριεκτικότητα των δειγμάτων (πίνακας 9). Στο ίδιο συμπέρασμα κατέληξαν και οι Fuente M., Montes F. *et al.*, 2002.

Πίνακας 9. Μέσες συγκεντρώσεις αλάτων και τέφρας (μέσος όρος \pm τυπικό σφάλμα του μέσου όρου) σε άπαχα και μειωμένης λιποπεριεκτικότητας δείγματα γιαουρτιών ή επιδορπίων τύπου γιαουρτιού.

	Συγκεντρώσεις (mg/100g προϊόντος)	
	Λιποπεριεκτικότητα	
	0%	2%
Ασβεστίου Ca	193,43 \pm 27,19	204,02 \pm 23,019
Μαγνησίου Mg	19,19 \pm 2,77	19,64 \pm 1,63
Νατρίου Na	94,70 \pm 22,84	110,68 \pm 18,71
Καλίου K	284,04 \pm 31,56	297,32 \pm 41,02
Φωσφόρου P	110,15 \pm 8,03	113,48 \pm 4,80
ΤΕΦΡΑ %	0,94 \pm 0,051	0,96 \pm 0,064

Πίνακας 8. Μέσες συγκεντρώσεις (mg/100g προϊόντος) ασβεστίου, μαγνησίου, νατρίου, καλίου, φωσφόρου και % περιεκτικότητα τέφρα σε άπαχα και μειωμένης λιποπεριεκτικότητας δείγματα γιαουρτιών ή επιδορπίων τύπου γιαουρτιού. ΔΑ : Δεν Ανιχνεύθηκε, Μ.Ο. : Μέσος όρος, ± : τυπικό σφάλμα του μέσου όρου.

Κ/Α	Ασβέστιο Ca	Μαγνήσιο Mg	Νάτριο Na	Κάλιο K	Φώσφορος P	ΤΕΦΡΑ %
1	189,30	20,23	144,34	307,15	242,26	1,06
2	131,82	15,08	73,78	212,27	ΔΑ	1,08
3	228,75	21,57	124,08	250,12	137,24	1,12
4	237,94	19,42	54,74	212,31	114,12	0,97
5	218,62	18,14	47,04	212,49	106,02	0,92
6	171,38	15,31	74,31	225,08	100,65	0,88
7	164,57	15,29	78,26	220,67	85,51	0,82
8	214,03	17,00	72,02	206,14	117,53	0,91
9	199,90	19,44	97,78	303,85	119,19	1,05
10	148,43	15,92	67,58	222,91	84,00	0,71
11	139,91	15,49	97,63	281,99	73,23	0,78
12	244,12	26,35	120,18	486,12	145,27	1,19
13	239,90	26,62	142,89	461,54	140,68	1,21
14	195,74	21,49	141,64	386,80	92,68	0,86
15	176,21	19,29	94,50	278,87	110,79	0,90
16	326,01	19,98	148,90	361,16	117,54	0,92
17	205,72	19,50	125,08	285,68	126,94	0,98
18	194,81	21,69	101,23	325,07	102,64	0,86
19	214,02	21,77	132,97	338,19	134,22	1,02
20	166,49	17,26	135,72	325,96	107,76	0,87
21	182,93	18,70	73,73	242,84	104,65	0,89
22	206,80	23,65	175,17	256,63	125,11	1,04
23	206,26	19,94	143,82	351,47	113,95	0,97
M.O.	200,16±16,91	19,53±1,33	107,28±14,45	293,71±32,00	118,27±13,64	0,96±0,05

6.2 Αποτελέσματα προσδιορισμού σακχάρων και οργανικών οξέων

Τα σάκχαρα και οργανικά οξέα που προσδιορίστηκαν ποιοτικά και ποσοτικά σε 22 δείγματα άπαχου και μειωμένης λιποπεριεκτικότητας γιαουρτιών ή επιδορπίων τύπου γιαουρτιού φαίνονται στον Πίνακα 10 και ήταν η λακτόζη, η γαλακτόζη, η γλυκόζη, το γαλακτικό οξύ και το οξικό οξύ. Τις πιο υψηλές συγκεντρώσεις παρουσιάζει η λακτόζη που δείχνει ότι δεν έχει μεταβολιστεί πλήρως από τα οξυγαλακτικά βακτήρια του γιαουρτιού, γιατί η συσσώρευση του γαλακτικού οξέος δρα ανασταλτικά στα βακτήρια.

Πίνακας 10. Μέσοι όροι συγκεντρώσεων σακχάρων και οργανικών οξέων σε 23 δείγματα άπαχου ή μειωμένης λιποπεριεκτικότητας δείγματα γιαουρτιών ή επιδορπίων τύπου γιαουρτιού (mg/100g προϊόντος).

Κ/Α	Λακτόζη	Γαλακτόζη	Γλυκόζη	Γαλακτικό οξύ	Οξικό οξύ
1	3125,88	647,00	194,97	835,14	12,94
2	3156,24	887,84	0,00	1038,84	22,61
3	2332,21	898,93	0,00	976,81	17,91
5	1799,96	699,40	89,03	822,85	0,00
6	1842,23	825,73	181,57	668,18	11,55
7	2133,94	712,26	97,16	651,45	15,53
8	1837,16	819,50	79,35	844,88	0,00
9	3963,33	705,30	0,00	697,68	0,00
10	2558,03	480,66	0,00	506,32	0,00
11	2465,65	525,31	0,00	489,28	0,00
12	4844,58	776,46	132,81	751,41	0,00
13	5083,81	845,13	82,80	875,73	0,00
14	3529,83	578,57	59,63	633,78	0,00
15	3244,57	666,45	61,46	686,78	0,00
16	2285,99	786,12	70,89	790,45	0,00

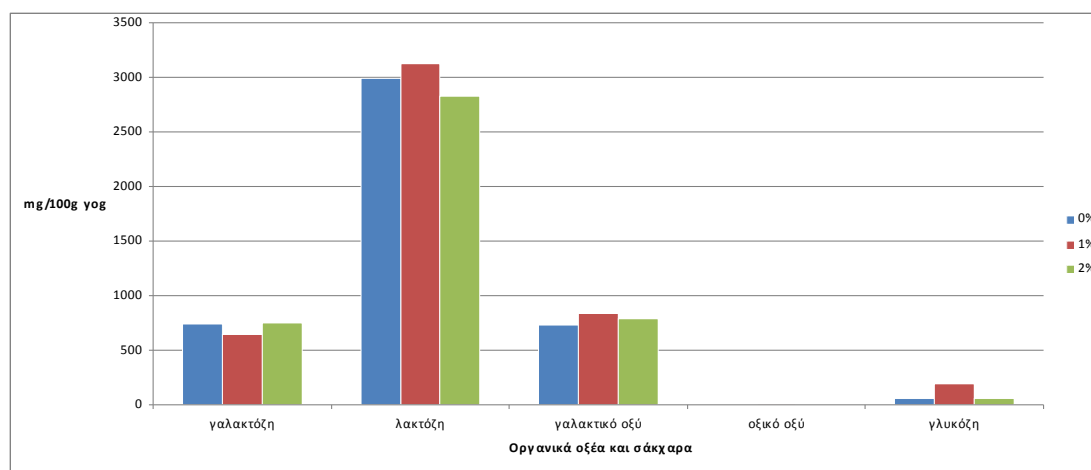
17	2518,89	856,80	0,00	842,69	0,00
18	2835,18	721,41	107,01	704,46	0,00
19	3217,60	658,75	138,93	715,23	0,00
20	2875,42	666,60	74,32	683,84	0,00
21	2813,72	747,73	0,00	833,36	0,00
22	2085,00	1025,88	0,00	1039,61	0,00
23	2914,43	876,30	62,15	900,37	0,00
M.O.	2884,71±367,94	745,82±54,56	65,09±25,53	772,23±61,62	3,66±3,00

Η ζύμωση της λακτόζης από τα γαλακτικά βακτήρια *S. thermophilus*, *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* καθώς και από *bifidus* βακτήρια είχε ως αποτέλεσμα την παραγωγή γαλακτόζης, γλυκόζης, γαλακτικού οξέος, ή γαλακτικού και οξικού οξέος όταν σαν συμπληρωματική καλλιέργεια εκκίνησης είχαν χρησιμοποιηθεί και βακτήρια του γένους *Bifidobacterium*. Είναι γνωστό ότι τα Bifidobacteria έχουν το ένζυμο της φωσφορικής φρουκτόζης και παράγουν κατά τον μεταβολισμό της γλυκόζης το οξικό και γαλακτικό οξύ σε μία αναλογία 3:2 αντίστοιχα.

Το γαλακτικό οξύ είναι απαραίτητο κατά την παρασκευή του γιαουρτιού. Καταρχήν, βοηθάει στην αποσταθεροποίηση των μικκυλίων της καζεΐνης με την σταδιακή εξουδετέρωση του αρνητικού τους φορτίου, την αποσταθεροποίησή τους και τελικά οδηγεί στην θρόμβωση των πρωτεϊνών του γάλακτος. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την πήξη των καζεϊνών σε pH 4.5- 4.6 και τον σχηματισμό του πήγματος του γιαουρτιού. Επίσης, το γαλακτικό οξύ προσδίδει στο γιαούρτι μία όξινη και δροσιστική γεύση, συνεισφέροντας με άλλους μεταβολίτες στη βελτίωση της γεύσης και του αρώματος του προϊόντος.

Με βάση τα αποτελέσματα του πειράματος φαίνεται ότι σε όλα τα δείγματα άπαχων ή μειωμένης λιποπεριεκτικότητας γιαουρτιών ανιχνεύτηκε γαλακτόζη, λακτόζη και γαλακτικό οξύ, ενώ το οξικό οξύ και η γλυκόζη δεν βρέθηκαν σε όλα τα δείγματα. Η γαλακτόζη και η γλυκόζη στα γιαούρτια προέρχονται ως γνωστόν από την υδρόλυση της λακτόζης. Όπως παρατηρούμε στο Σχήμα 21 οι μέσοι όροι των συγκεντρώσεων της γλυκόζης είναι πολύ χαμηλότεροι από τους αντίστοιχους της γαλακτόζης σε όλα τα δείγματα. Αυτό οφείλεται μάλλον στο ότι οι μικροοργανισμοί των γιαουρτιών

κατανάλωσαν γρηγορότερα την υπάρχουσα γλυκόζη σε σχέση με την γαλακτόζη (C. Vidal-Valverde, C.Martin-Villa and J.Herranz, 1983). Επομένως, η γλυκόζη είναι το πιο αφομοιώσιμο σάκχαρο από τα βακτήρια και χρησιμοποιείται ως πηγή ενέργειας σχεδόν άμεσα από αυτά, γι' αυτό και δεν βρέθηκε σε αρκετά δείγματα γιαουρτιού ή επιδορπίου τύπου γιαουρτιού. Η γαλακτόζη δεν ζυμώνεται από τα βακτήρια *S. thermophilus* και *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, με αποτέλεσμα να παρατηρείται συσσώρευση γαλακτόζης (σε ένα δείγμα η συγκέντρωση της γαλακτόζης έφθασε τα 1025,88 mg /100g προϊόντος). Στα τελικά προϊόντα μεταβολισμού της λακτόζης από τα οξυγαλακτικά βακτήρια του γιαουρτιού είναι και καρβονυλικές ενώσεις όπως ακεταλδεΐδη, ακετόνη, ακετοΐνη, διακετύλιο και άλλες πτητικές αρωματικές ουσίες που θα αναφερθούν πιο κάτω. Όσον αφορά τα οξέα, το γαλακτικό οξύ εμφανίστηκε σε μεγάλες συγκεντρώσεις και σε όλους τους τύπους των γιαουρτιών. Η συγκέντρωση του γαλακτικού οξέος φαίνεται να είναι λίγο χαμηλότερη στα γιαούρτια με λιποπεριεκτικότητα 0%. Ένα άλλο σημαντικό οξύ που ανιχνεύτηκε στα γιαούρτια σε χαμηλές όμως συγκεντρώσεις -όχι όμως σε όλα τα δείγματα- ήταν το οξικό οξύ. Ο σχηματισμός του μπορεί να προέρχεται από την ζύμωση της λακτόζης από ετεροζυμωτικά βακτήρια ή του κιτρικού οξέος από ορισμένα βακτήρια που διαθέτουν το ένζυμο λυάση του κιτρικού οξέος..



Σχήμα 21. Μέσοι όροι σακχάρων και οργανικών οξέων σε δείγματα άπαχου ή μειωμένης λιποπεριεκτικότητας δείγματα γιαουρτιών ή επιδορπίων τύπου γιαουρτιού

Πρέπει να σημειωθεί ότι κατά την τυχαία δειγματοληψία των γιαουρτιών χρησιμοποιήθηκε στην πειραματική ανάλυση μόνο ένα δείγμα γιαουρτιού με λιποπεριεκτικότητα 1%, του οποίου η τιμή απεικονίζεται με την κόκκινη ράβδο και για το οποίο δεν έχει νόημα η εύρεση του μέσου όρου.

6.3 Αποτελέσματα προσδιορισμού αρωματικών ουσιών

Οι πτητικές αρωματικές ουσίες που ανιχνεύτηκαν σε 22 δείγματα άπαχων ή μειωμένης λιποπεριεκτικότητας γιαουρτιών ή επιδορπίων ανήκαν στις εξής χημικές ομάδες: αλκοόλες, αλδεΐδες, κετόνες, εστέρες και οξέα. Επίσης, ανιχνεύτηκαν και άλλες ουσίες που δεν ανήκαν σε καμία από τις παραπάνω ομάδες. Ο συνολικός αριθμός των πτητικών αρωματικών ουσιών που ανιχνεύτηκαν ήταν 22.

Η ακεταλδεΐδη, η 2-βουτενάλη και το οξικό οξύ ανιχνεύθηκαν σε όλα τα δείγματα γιαουρτιού. Σε γενικές γραμμές ένα γιαούρτι με σωστό τυπικό άρωμα περιέχει 23 – 40 mg/kg ακεταλδεΐδης, με τα ελάχιστα αποδεκτά όρια να είναι τα 8 – 10 mg/kg (Gaafar, 1992; Georgala *et al.*, 1995; Kang *et al.*, 1988). Στα δείγματα που αναλύθηκαν η ακεταλδεΐδη ανιχνεύθηκε σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις όπως και το οξικό οξύ, ενώ αντίθετα η 2-βουτενάλη σε υψηλές. Ο σχηματισμός της ακεταλδεΐδης οφείλεται στην δράση και των δύο βακτηρίων *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* και *Streptococcus thermophilus*, είτε στην αποκαρβοξυλίωση του πυροσταφυλικού οξέος είτε στην μετατροπή του αμινοξέος θρεονίνη σε ακεταλδεΐδη, η οποία προσδίδει στο γιαούρτι την χαρακτηριστική γεύση πράσινου μήλου ή φουντουκιού (Bodyfelt *et al.*, 1988). Ο σχηματισμός της 2-βουτενάλης πιθανόν να οφείλεται στην οξειδωση των ακόρεστων λιπαρών οξέων, με αποτέλεσμα την δημιουργία υδροϋπεροξειδίων και στην συνέχεια ακόρεστων αλδεϋδικών ενώσεων. Το οξικό οξύ προέρχεται μάλλον είτε από το μεταβολισμό της λακτόζης, είτε του κιτρικού και του γαλακτικού οξέος από θερμοάαντοχα βακτήρια του γιαουρτιού (Degorge-Dumas *et al.*, 1986; McSweeney & Sousa, 2000) ή από τον καταβολισμό των αμινοξέων (Tavaria *et al.*, 2002). Σημαντική αύξηση της περιεκτικότητας σε οξικό οξύ έχει παρατηρηθεί και κατά την συντήρηση του γιαουρτιού υπό ψύξη (Gaafar, 1992; Guler, 2007; Kang *et al.*, 1988). Το οξικό οξύ παράγεται από τα οξυγαλακτικά βακτήρια και έχει βρεθεί στο γιαούρτι σε συγκεντρώσεις μεταξύ 0,5 και 18,8 mg/kg (Beshkova *et al.*, 1998; Alonso and Fraga, 2001). Υψηλά επίπεδα οξικού οξέως δίνουν στο γιαούρτι μια ξινή γεύση η οποία είναι ανεπιθύμητη από τους καταναλωτές (Tamine and Robinson, 1999).

Επίσης ανιχνεύθηκαν και άλλες ουσίες σε σχετικά χαμηλές συγκεντρώσεις όπως το διακετύλιο και η ακετοΐνη, όχι όμως σε όλα τα δείγματα. Το διακετύλιο έχει καθοριστικό ρόλο στον σχηματισμό του αρώματος του γιαουρτιού και είναι πολύ πιθανόν να προέρχεται από τον καταβολισμό της γλυκόζης και του κιτρικού οξέος

(Ott et al., 1997,1999). Σε υψηλές συγκεντρώσεις μπορεί να βελτιώσει τον αρωματικό χαρακτήρα του προϊόντος και η τυπική συγκέντρωση του διακετυλίου στο γιαούρτι κυμαίνεται μεταξύ 0,2mg/kg και 3mg/kg, ποσότητες που συνεισφέρουν στην ευχάριστη και λεπτή γεύση και στο άρωμα του προϊόντος (Pourahmad and Assadi, 2005; Georgala *et al.*, 1995; Kang *et al.*, 1988). Η ακετοΐνη χρησιμοποιείται για την μείωση της τραχύτητας που προσφέρει το διακετύλιο στον αρωματικό χαρακτήρα του γιαουρτιού. Η τυπική συγκέντρωση της ακετοΐνης στο γιαούρτι είναι από 1,2 έως 28,2 mg/kg (Beshkova *et al.*, 1998; Pourahmad and Assadi, 2005; Alonso and Fraga, 2001).

Η αναλογία 1:1 ακεταλδεΐδης και διακετυλίου προσδίδει στο γιαούρτι ένα χαρακτηριστικό επιθυμητό άρωμα (Borrazzi and Dellaglio, 1967; Zourari and Desmazeaud, 1991), ενώ αυξημένη περιεκτικότητα ακεταλδεΐδης σε σχέση με το διακετύλιο μπορεί να οδηγήσει σε δυσάρεστο άρωμα.

Πίνακας 11. Συγκεντρώσεις (ppm) των πτητικών αρωματικών ουσιών που ανιχνεύθηκαν σε δείγματα άπαχου ή μειωμένης λιποπεριεκτικότητας δείγματα γιαουρτιών ή επιδορπίων τύπου γιαουρτιού. ΔΑ : ΔΕΝ ΑΝΙΧΝΕΥΘΗΚΕ

Αρωματικές ουσίες	0%	2%
Αλδεΐδες		
Ακεταλδεΐδη	4,16±2,12	5,74±4,418
2-βουτενάλη	34,37±22,47	72,48±46,60
Νονανάλη	0,058±0,11	0,36±0,07
2,4- Εξαδιενάλη	0,11±0,21	0,17±0,33
Κετόνες		
Ακετοΐνη	3,40±2,5	5,99±2,11
Διακετύλιο	0,65±1,12	0,758±0,728
2-μεθυλ-3-πεντανόνη	ΔΑ	0,0031±0,005
2-Νονανόνη	0,38±0,28	0,27±0,18
Αλκοόλες		
Βουτύν-1-όλη	ΔΑ	0,003±0,004

3-μεθυλ-1-βουτανόλη	ΔΑ	0,001±0,002
Αιθανόλη	ΔΑ	0,61±1,20
3-μεθυλ-2-βουτανόλη	0,58±0,11	ΔΑ
2,1,1-διμεθυλ-αιθυλ-κυκλοεξανόλη	0,22	0
Μεθανόλη φουρανίου	ΔΑ	2,49±3,31
Οξέα		
Οξικό οξύ	3,10±3,38	2,54±1,30
Εστέρες		
Οξικός αιθυλεστέρας	ΔΑ	1,32±1,48
1-μεθυλ-αιθυλ εστέρας του φορμικού οξέος	2,46±1,28	13,23±14,54
Άλλες ενώσεις		
Ακετονιτρίλιο	ΔΑ	0,003±0,005
Καρβαλδεΐδη του φουρανίου	ΔΑ	0,32±0,43

Όπως παρατηρούμε στον Πίνακα 11, στα δείγματα γιαουρτιών με λιποπεριεκτικότητα 2% ανιχνεύθηκαν πολύ περισσότερες αρωματικές ουσίες σε σχέση με εκείνα με λιποπεριεκτικότητα 0%. Επίσης, οι συγκεντρώσεις των αρωματικών ουσιών, οι οποίες ανιχνεύθηκαν στα δείγματα με λίπος 2% είναι μεγαλύτερες σε σχέση με εκείνες στα δείγματα 0%.

Την υψηλότερη συγκέντρωση από τις πτητικές αρωματικές ουσίες τόσο στα γιαούρτια με λιποπεριεκτικότητα 0% όσο και σε εκείνα με 2% είχε η 2-βουτενάλη. Στα δείγματα με 2% λιποπεριεκτικότητα ακολουθούσε ο 1-μεθυλ-αιθυλ εστέρας του φορμικού οξέος, η ακεταλδεΐδη, η ακετοΐνη και το οξικό οξύ, ενώ οι υπόλοιπες πτητικές ουσίες ανιχνεύθηκαν σε ίχνη. Στα δείγματα με 0% λιποπεριεκτικότητα ακολουθούσε η ακεταλδεΐδη, μετά το οξικό οξύ και ο 1-μεθυλ-αιθυλ εστέρας του φορμικού οξέος, ενώ οι υπόλοιπες πτητικές ουσίες υπήρχαν σε ίχνη. Οι εστέρες συνήθως βρίσκονται σε χαμηλή συγκέντρωση σε γιαούρτι που έχει αποθηκευτεί επί μακρόν. Ο οξικός αιθυλεστέρας ανιχνεύεται σε ίχνη στο φρέσκο γιαούρτι ενώ η συγκέντρωσή του αρχίζει και αυξάνει μετά από 30 ημέρες αποθήκευσης.

Πίνακας 12. Μέσες συγκεντρώσεις (ppm) των πτητικών αρωματικών ουσιών ανά κατηγορία χημικών ενώσεων που ανιχνεύθηκαν σε δείγματα άπαχου ή μειωμένης λιποπεριεκτικότητας δείγματα γιαουρτιών ή επιδορπίων τύπου γιαουρτιού.

	Λιποπεριεκτικότητα	
	0%	2%
Αλδεΐδες	9,6745	19,687
Κετόνες	1,1075	1,755
Αλκοόλες	0,1333	0,517
Οξέα	3,1	2,54
Εστέρες	1,23	7,275
Άλλες ενώσεις	0	0,161
Μ.Ο.	2,54±2,93	5,32±5,99

Όπως φαίνεται στον Πίνακα 12, οι μεγαλύτερες μέσες συγκεντρώσεις ανά κατηγορία χημικών ενώσεων παρατηρούνται στα δείγματα με μειωμένη λιποπεριεκτικότητα 2%. Στα δείγματα αυτά την υψηλότερη συγκέντρωση την έχουν οι αλδεΐδες, ακολουθούν οι εστέρες και στην συνέχεια τα οξέα, οι κετόνες και οι αλκοόλες. Στα άπαχα δείγματα γιαουρτιού ή επιδορπίων τύπου γιαουρτιού οι αλδεΐδες κατέχουν πάλι την πρώτη θέση όσον αφορά τις μέσες συγκεντρώσεις και ακολουθούν τα οξέα, οι εστέρες, οι κετόνες και οι αλκοόλες.

Σε ένα μόνο δείγμα επιδορπίου με λιποπεριεκτικότητα 1%, στο οποίο υπήρχαν φυτικές στερόλες, ανιχνεύθηκαν οι πτητικές ουσίες που εμφανίζονται στον Πίνακα 13 που ακολουθεί.

Πίνακας 13. Συγκεντρώσεις (ppm) των πτητικών αρωματικών ουσιών που ανιχνεύθηκαν σε ένα μόνο δείγμα γιαουρτιού με λιποπεριεκτικότητα 1%.

Αρωματικές ουσίες	Λιποπεριεκτικότητα 1%
Ακεταλδεΐδη	0,10
Διακετύλιο	0,67
2-Βουτενάλη	6,63
Νονανάλη	0,16
Οξικό οξύ	0,79

6.4 . Συμπεράσματα

Με την έρευνα αυτή επιτεύχθηκε ο σκοπός, ο οποίος ήταν να προσδιοριστούν ποσοτικά τα ανόργανα άλατα (ασβέστιο, μαγνήσιο, νάτριο, κάλιο, φωσφόρος), τα οργανικά οξέα, τα σάκχαρα και τα αρωματικά συστατικά σε άπαχα και μειωμένης λιποπεριεκτικότητας γιαούρτια και επιδόρπια τύπου γιαουρτιού.

Με την φασματοσκοπία ατομικής απορρόφησης (ΦΑΑ) που είναι μία αναλυτική μέθοδος προσδιορίστηκαν οι συγκεντρώσεις των ανόργανων αλάτων, οι οποίες είχαν μεγάλες διακυμάνσεις λόγω προσθήκης διαφόρων προϊόντων γάλακτος με σκοπό την αύξηση των ολικών στερεών των γιαουρτιών ή των επιδορπίων.

Η τεχνική της HPLC φάνηκε κατάλληλη για την ακριβή, γρήγορη και ταυτόχρονη ανάλυση των σακχάρων και των οργανικών οξέων. Από τα σάκχαρα, η λακτόζη δεν ζυμώθηκε όλη και ανιχνεύθηκε σε μεγάλες συγκεντρώσεις, ενώ από τα οργανικά οξέα το γαλακτικό ήταν εκείνο που βρέθηκε σε υψηλές συγκεντρώσεις. Η γαλακτόζη επειδή δεν ζυμώνεται βρέθηκε σε σημαντική ποσότητα (1025,88 mg /100g προϊόντος).

Από τις πτητικές αρωματικές ουσίες που προσδιορίστηκαν με την μέθοδο της φασματοσκοπίας μάζας – αέριας χρωματογραφίας GC-MS που είναι η πιο δημοφιλής τεχνική, σε όλα τα δείγματα ανιχνεύθηκαν η ακεταλδεΐδη και το οξικό οξύ.

7 Βιβλιογραφία

- Akın, N. (2006). Modern Yoğurt Bilimi ve Teknolojisi. Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Konya.
- Aleksieva, P., Girginova, T. and Kondratenko, M. (1981). Dairy Science Abstracts, 43, 381
- Alhaj, O. A., Kanekian, A. D., and Peters, A. C. (2007). Investigation on whey proteins profile of commercially available milk-based probiotics health drinks using fast protein liquid chromatography. *British Food Journal*. 109:469-480.
- Alonso, L., and Fraga, M. J. (2001). Simple and rapid analysis for quantitation of the most important volatile flavor compounds in yogurt by headspace gas chromatography–mass spectrometry. *J. Chromatogr. Sci.* 39: 297–300.
- Anonymous (1997) In Nutritional Benefits of Yogurt and Other Fermented Milk Products, Topical Update – 8, National Dairy Council, London
- Arunachalam, K. D. (1999). Role of bifidobacteria in nutrition, medicine and technology. *Nutrition Research*. 19:1559-1597.
- Barrantes, E., Tamime, A.Y., Muir, D.D. and Sword, A.M. (1994) *Journal of the Society of Dairy Technology*, 47, 61.
- Bauman, D. E., B. A. Corl, L. H. Baumgard, and J. M. Griinari. (2001). Conjugated linoleic acid (CLA) and the dairy cow. Pages 221-250 in *Recent Advances in Animal Nutrition-2001*, P. C. Garnsworthy and J. Wiseman, eds. Nottingham University Press, Nottingham, UK.
- Belitz H.- D., Grosch W., Schieberle P. (2009) *Food Chemistry 4th revised and extended ed.*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, pp 421 – 428
- Beshkova, D., E. Simova, G. Frengova, Z. Simov. (1998). Production of flavour compounds by yoghurt starter cultures. *Journal of Industrial and Biotechnology* 20:180-186.
- Boelrijk, A. E. M., de Jong C., and Smit, G. (2003). Flavour generation in dairy products. In: *Dairy Processing - Improving Quality*. pp. 130–154. Smit, G., Ed., CRC Press, Boca Raton, FL.281–283.
- Bottazzi, V., and Dellaglio, F. (1967). Acetaldehyde and diacetyl production by *Streptococcus thermophilus* and other lactic streptococ. *J. Dairy Res.* 34: 109–113.
- Brauss, M. S., Linforth, R. S. T., Cayeux, I., Harvey, B., and Taylor, A. J. (1999). Altering the fat content affects flavor release in a model yogurt system. *J. Agric. Food Chem.* 47: 2055–2059.
- Butikofer, U., Eberhard, P., Fuchs, D. and Sieber, R. (1995) *Schweizerische-Milchwirtschaftliche- Forschung*, 24,1.
- Buttriss, J. (1997) *International Journal of Dairy Technology*, 50, 21
- Cameron, A. J., Wellborn, T. A., Zimmet, P. A., Dunstan, D. W., Owen, N., Salmon, J., Dalton, M., Jolley, D., and Shaw, J. E. (2003). Overweight and obesity in Australia: the 1999-2000 Australian diabetes, obesity and lifestyle study (AusDiab). *The Medical Journal of Australia*. 178:427-432.
- Carcoba, R., Delgado, T., and Rodr'iguez, A. (2000). Comparative performance of a mixed strain starter in cow's milk, ewe's milk and mixtures of these milks. *Eur. Food Res. Technol.* 211: 141–146.
- Çelik E.S. (2007), Determination of aroma compounds and exopolysaccharides formation by lactic acid bacteria isolated from

- traditional yogurts, Thesis Graduate School of Engineering and Sciences of Izmir Institute of Technology
- Chaves, A.C.S.D., M. Fernandez, A.L.S. Lerayer, I. Mierau, M. Kleerebezem, J. Hugenholtz. (2002). Metabolic engineering of acetaldehyde production by *Streptococcus thermophilus*. *Applied Environmental Microbiology* 68(11):5656- 5662.
- Cheng H., (2010) Volatile Flavor Compounds in Yogurt: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50: 938–950
- Dalglish, D. G., & Law, A. J. R. (1989). pH-induced dissociation of bovine casein micelles. II Mineral solubilization and its relation to casein release. *Journal of Dairy Research*, 56, 727–735.
- De la Fuente, M. A. (1998). Changes on the mineral balance in milk submitted to technological treatments. *Trends in Food Science & Technology*, 9, 281–288.
- De Vries, W.; Kapteijn, W.M.C.; Van der Beek, E.G.; Stouthamer, A.H. (1970). Molar growth yields and fermentation balances of *Lactobacillus casei* 13 in batch cultures and in continuous cultures. *J. Gen. Microbiol.*, 63, 333–345.
- Deeth, H.C. and Tamime, A.Y. (1981) *Journal of Food Protection*, 44,78.
- Delisle, J., Amiot, J., & Doré, F. (1995). Biological availability of calcium and magnesium from dairy products. *International Dairy Journal*, 5, 87–96.
- Desmazeaud, M.J. (1990) Rôle des cultures de microorganismes dans la flaveur et la texture des produits laitiers fermentés, in *Proceedings, XXIII International Dairy Congress*, volume 2, Huhest Press, Ottawa, pp. 1155–77.
- FAO/WHO, Fermentation: assessment and research - joint FAO/WHO workshop on fermentation as a household technology to improve food safety. Pretoria, South Africa, 11-15 December, 1995
- FAO/WHO. (2003). Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation. WHO Tech. Report Series 916
- Fernandez – Garcia E. and McGregor J.U. (1994). Determination of organic acids during the fermentation and cold storage of yogurt. *J. Dairy Sci.* 77, 2934-2939.
- Fitzgerald, R. J. (1998). Potential uses of caseinophosphopeptides. *International Dairy Journal*, 8, 451–457.
- Flynn, A. and Cashman, K. (1997). Nutritional aspects of minerals in bovine and human milks. In P. F. Fox (Ed.), *Advanced dairy chemistry*, vol. 3. Lactose, water, salts and vitamins (pp. 257–302). London: Chapman and Hall.
- Food Marketing Institute Research and Rodale Prevention Magazine (1996), Shopping for health
- Friedrich, J. E., and Acree, T. E. (1998). Gas chromatography olfactometry (GC/O) of dairy products. *Int. Dairy J.* 8: 235–241.
- Gaafar, A. M. (1992). Volatile flavour compounds of yoghurt, *Int. J. Food Sci. Technol.* 27: 87–91.
- Gallaher, D. D., and Gill, J. (1999). The effect of synbiotics on colon carcinogenesis in rats. *The Journal of Nutrition*. 129 (7 Supplement):1483S-1487S.
- Gardini, F., R. Lanciotti, M.E. Guerzoni, S. Torriani. (1999). Evaluation of aroma production and survival of *Streptococcus thermophilus*,

- Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus and Lactobacillus acidophilus in fermented milks. *International Dairy Journal* 9:125-134.
- Garvie, E.I. (1978). Lactate dehydrogenases of *Streptococcus thermophilus* *Journal of Dairy Research*, 45, 515.
- Gasser, F. and Gasser, C. (1971). Immunological Relationships Among Lactic Dehydrogenases in the Genera *Lactobacillus* and *Leuconostoc* *Journal of Bacteriology*, 106, 113.
- Gastaldi, E., Lagaude, A., & Tarodo de la Fuente, B. (1996). Micellar transition state in casein between pH 5.5 and 5.0. *Journal of Food Science*, 61, 59–68.
- Georgala, A. I. K., Tsakalidou, E., Kandarakis, I., and Kalantzopoulos, G. (1995). Flavour production in ewe's milk and ewe's milk yoghurt, by single strains and combinations of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, isolated from traditional Greek yoghurt. *Lait* 75: 271–283.
- Gilliland, S.E. (1991) In *Therapeutic Properties of Fermented Milks*, Ed. by Robinson, R.K. Chapman & Hall, London, pp. 65–80.
- Global Industry Analysts Inc, *Yoghurt: A Global Strategic Business Report*, Press Release, <http://www.strategy.com/pressMCP-6130.asp>, (2011)
- Gösta Bylund, (1995), *Tetra Pak Dairy Processing Handbook*, Tetra Pak Processing Systems AB, pp 249-253
- Groux, M. (1976) In *Nestlé Research News 1974/75*, Ed. by Boella, C. Nestlé Product Technical Assistance, Lausanne, pp.50–52.
- Guler, Z. (2007). Changes in salted yoghurt during storage. *Int. J. Food Sci. Technol.* 42: 235–245.
- Hemme D, Nardi M, Wahl D (1981) Propriétés des lactico-déshydrogénases de *Streptococcus thermophilus* indépendantes du fructose 1,6-diphosphate. *Lait* 61 , 1-18
- Hild, V. (1979). Quantitative determination of some important flavour components in dairy products by the headspace technique. *Milchwissenschaft* 34: 281–283.
- Holland, B., Welch, A.A., Unwin, I.D., Buss, D.H., Paul, A.A. and Southgate, D.A.T. (1991) In *McCance and Widdowson's The Composition of Foods*, 5th Edition, The Royal Society of Chemistry, Cambridge.
- Joseph C. Kolars, M.D., Michael D. Levitt, M.D., Mostafa Aouji, D.A.G., and Dennis A. Savaiano, (1984). Yogurt — An Autodigesting Source of Lactose, *Ph.D. N Engl J Med*; 310:1-3
- Jovani, M., Barbera, R., & Farré, R. (2001). Effect of some components of milk- and soy-based infant formulas on mineral bioavailability. *Food Science and Technology International*, 7, 191–198.
- Kalviainen N., K. Roininen, H. Tuorila. (2003). The relative importance of texture, taste and aroma on a yogurt-type snack food preference in the young and the elderly. *Food Quality and Preference* 14:177-186.
- Kaminarides, S., Stamou P., and Massouras, T. (2007). Comparison of the characteristics of set type yoghurt made from ovine milk of different fat content. *Int. J. Food Sci. Technol.* 42: 1019–1028.
- Kang, Y., Frank, J. F., and Lillard, D. A. (1988). Gas chromatographic detection of yogurt flavor compounds and changes during refrigerated storage. *Cult. Dairy Prod. J.* 23: 6–9.
- Keogh M.K. and O' Kennedy B.T., (1998) *Journal Of Food Science - Volume 63, No. 1*
- Kielwein, G. and Daun, U. (1980) *Dairy Science Abstracts*, 42, 361.

- Korhonen, H., and Pihlanto-Leppälä, A. (2004). Milk-derived bioactive peptides: Formation and prospects for health promotion. In *Handbook of Functional Dairy Products*. Shortt, C. and O'Brien, J. (Ed.). CRC Press: New York, U. S. A. pp 109-124.
- Kunath P, Kandler O. (1980) Der Gehalt an L(+)- und D(-)-Milchsaure in Joghurtprodukten. *Milchwissenschaft* 35, 470-473
- Kurmann, J.A., Rasic, J.L. and Kroger, M. (1992) In *Encyclopedia of Fermented Fresh Milk Products*, Van Nostrand Reinhold, New York
- Law, B. (1981). The formation of aroma and flavour compounds in fermented dairy products. *Dairy Sci. Abstr.* 43: 143–154.
- Le Graet, Y., & Brulé, G. (1993). Les équilibres minéraux du lait: influence du pH et de la force ionique. *Le Lait*, 73, 51–60.
- Marshall, V. M. (1982). Flavour compounds in fermented milks. *Perfumer & Flavorists* 7: 27–34.
- Marshall, V.M.E. and Tamime, A.Y. (1997) Physiology and biochemistry of fermented milk, in *Microbiology and Biochemistry of Cheese and Fermented Milk* (ed B.A. Law), Blackie Academic and Professional, Chapter 4, pp. 153–92.
- Marteau, P., Fluorie, B., and Pochart, P. (1990). Effect of the microbial lactase activity in yogurt on the intestinal absorption of lactose: In vivo study in lactase deficient humans. *British Journal of Nutrition*. 64:71-79.
- McGorin, R. J. (2001). Advances in dairy flavor chemistry. In: *Food Flavors and Chemistry: Advances of the New Millennium*. pp. 67–84. Spanier, A. M., Shahidi, F., Parliment, T. H., and Ho, C.-T., Eds., Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK.
- McKinley, M.C. (2005). The nutrition and health benefits of yoghurt. *Society of Dairy Technology* 58(1):1-12.
- Miguel Angel de la Fuente, Fernando Montes, Gonzalo Guerrero, Manuela Juárez (2002) Total and soluble contents of calcium, magnesium, phosphorus and zinc in yoghurts. *Food Chemistry* 80 (2003) 573–578.
- Molimard, P., and Spinnler, H. E. (1996). Compound involved in the flavor of surface mold-ripened cheeses: origins and properties. *J. Dairy Sci.* 79: 169–184.
- Onwulata, C.I., Rao, D.R. and Vankinen, P. (1989) *American Journal of Clinical Nutrition*, 49,1233.
- Ott, A., Germond, J., Baumgartner, M., and Chaintreau, A. (1999). Aroma comparisons of traditional and mild yogurts: Headspace gas chromatography quantification of volatiles and origin of α -diketones. *J. Agric. Food Chem.* 47: 2379–2385.
- Ott, A., J.E. Germond, L.B. Fay, A. Chaintreau. (1997). Determination and origin of the aroma compounds of yogurt flavor. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45:850-858.
- Panagiotidis, P., and Tzia, C. (2001). Effect of milk composition and heating on flavor and aroma of yogurt. In: *Food Flavors and Chemistry: Advances of the New Millennium*. pp. 160–167. Spanier, A. M., Shahidi, F., Parliment, T. H., and Ho, C.-T., Eds., Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK.
- Pantako, T. O., Passos, M., Desrosiers, T., & Amiot, J. (1992). Effect of dietary milk proteins on time-dependent variations in plasma Fe, Mg and Zn levels in aorta and portal vein in rats. *Le Lait*, 72, 553– 573.
- Pederson, C.S. (1979) In *Microbiology of Food Fermentation*, 2nd Edition,

- AVI, Connecticut, pp. 1–29.
- Pourahmad, R., and Assadi, M.M. (2005). Yoghurt production by Iranian native starter cultures. *Nutr. Food Sci.* 35: 410–415.
- Puhan, Z., Banhegyi, M. and Flüeler, O. (1973) Mikrobiologischer Zustand sowie Menge und Konfiguration der Milchsäure des industriell hergestellten Joghurts in der Schweiz. *Schweizerische Milchwirtschaftliche Forschung*, 2, 53.
- Purcell D. (2010), National Association for the Specialty Food Trade, <http://www.specialtyfood.com/news-trends/featured-articles/market-trends/yogurt-current-culture/>
- Rao, D.R., Alabi, S.O. and Chawan, C.B. (1991) *Milchwissenschaft*, 46, 219.
- Roberfroid, M. B. (1998). Prebiotics and synbiotics: concepts and nutritional properties. *British Journal of Nutrition*. 80:S197-S202.
- Roberfroid, M. B. (1999). Concepts in functional foods: The case of inulin and oligofructose. *The Journal of Nutrition*. 129:1398S-1401S.
- Roberfroid, M. B. (2000). Prebiotics and probiotics: are they functional foods? *American Journal of Clinical Nutrition*. 77:449-457.
- Robinson, R.K. (1977) *Nutrition Bulletin*, 4,191
- Robinson, R.K. (1999). “Fermented Milks: Yoghurt” in *Encyclopedia of Dairy Science*, edited by H. Roginski, J. Fuquay, P. Fox (Academic Press, United Kingdom).
- Robinson, R.K. and Khan, P. (1978) *Plant Foods for Man*, 2, 113.
- Rysstad, G., and Abrahamsen, R. K. (1987). Formation of volatile aroma compounds and carbon dioxide in yoghurt starter grown in cow’s and goats’ milk. *J. Dairy Res.* 54: 257–266.
- Salminen S., von Wright A., Ouwehand A. (2004). *Lactic Acid Bacteria Microbiological and Functional Aspects Third Edition, Revised and Expanded*. Marcel Dekker, Inc. New York
- Santos, A., Mauro, M. S., and Diaz, D. M. (2006). Prebiotics and their long term influence on the microbial populations of the mouse bowel. *Food Microbiology*. 23:498-503.
- Scrimshaw, N.S. and Murray, E.B.(1988) *American Journal of Clinical Nutrition*, 48, 1083.
- Shah, N. (2003). Yoghurt: The Product and its Manufacture. In *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*. Caballero, B., Trugo, L. C., and Finlas, P. M. (Ed.). Academic Press:New York, U. S. A. pp 6252-6259.
- Shah, N. P. (2007). Functional cultures and health benefits. *International Dairy Journal*. 17:1262-1277.
- Shortt, C., Shaw, D., and Mazza, G. (2004). Overview of opportunities for health-enhancing functional dairy products. In *Handbook of Functional Dairy Products*. Shortt C., and O’Brien, J. (Ed.). CRC Press:New York, U. S. A. pp 1-12.
- Stanton, C., Desmond, C., Fitzgerald, G. F., and Ross, R. P. (2003). Probiotic health benefits – myth or reality? *Australian Journal of Dairy Technology*. 58:107-113.
- Stanton, C., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F., and Sinderen, D. V. (2005). Fermented functional foods based on probiotics and their biogenic metabolites. *Current Opinion in Biotechnology*. 16:198-203.
- Tamime A.Y., Robinson R.K. (1999a) *Yoghurt Science and Technology*, Second edition, Woodhead Publishing Ltd and CRC Press LLC, p. 17
- Tamime A.Y., Robinson R.K. (1999b) *Yoghurt Science and Technology*,

- Second edition, Woodhead Publishing Ltd and CRC Press LLC, p. 466
- Tamime A.Y., Robinson R.K. (1999c) *Yoghurt Science and Technology*, Second edition, Woodhead Publishing Ltd and CRC Press LLC, p. 479
- Tamime, A., and Deeth, H. (1980). *Yogurt: Technology and biochemistry*. *J. Food Prot.* 43: 939–977.
- Tamime, A.Y. (1977) *Dairy Industries International*, 42(8), 7.
- Tamime, A.Y. and Robinson, R.K. (1985). *Yoghurt Science and Technology*. UK: Pergamon Press
- The Dairy Council. (2007). Minerals in yogurt. <http://www.milk.co.uk/page.aspx?intPageID=84>
- The Perkin-Elmer Corporation (1996) *Analytical Methods for Atomic Absorption Spectroscopy*
- Thomas, T.D.; Ellwood, D.C.; Longyear, V.M.C. (1979). Change from homo- to heterolactic fermentation by *Streptococcus lactis* resulting from glucose limitation in anaerobic chemostat cultures. *J. Bacteriol.*, 138, 109–117.
- Tomasik, P. J., and Tomasik, P. (2003). Probiotics and prebiotics. *Cereal Chemistry*. 80:113-117.
- Tuohy, K. M., Probert, H. M., Smejkal, C. W., and Gibson, G. R. (2003). Using probiotics and prebiotics to improve gut health. *Drug Discovery Today*. 8:692-700.
- Ulberth, F. (1991). Headspace gas chromatographic estimation of some yogurt volatiles. *J. Assoc Off. Anal. Chem.* 74: 630–643.
- Ulberth, F., and Kneifel, W. (1992). Aroma profiles and sensory properties of yogurt and yogurt-related products. II. Classification of starter cultures by means of cluster analysis. *Milchwissenschaft* 47: 432–434.
- Urbach, G. (1995). Contribution of lactic acid bacteria to flavour compound formation of dairy products. *Int. Dairy J.* 5: 877–903.
- USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 23 (2010), <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/>
- Vermeirssen, V., van Camp, J., and Verstraete, W. (2004). Bioavailability of angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides. *British Journal of Nutrition*. 92:357-366.
- Viani, R. and Horman, I. (1976) In *Nestlé Research News 1974/75*, Ed. by Boella, C., Nestlé Products Technical Assistance, Lausanne, pp. 53–54.
- Vierhile, T. (2006). Functional ‘add-ins’ boost yogurt consumption. *Food Technology*. 60: 44-48.
- Walstra, P., and Jenness, R. (1984). *Dairy Chemistry and Physics*. John Wiley & Sons, New York, NY.
- Williams, C. M., and Jackson, K. G. (2002). Inulin and oligofructose: effects on lipid metabolism from human studies. *British Journal of Nutrition*. 87:S261-S264.
- Ανυφαντάκης Ε., (1994) *Χημεία και Ανάλυση του Γάλακτος*, εκδ. Σταμούλη, σελ 129-131.
- Ανώνυμος (2010) <http://chimikoergastirio.blogspot.com/2009/12/hplc.html>
- Δήμητρα Σκούφου (2009), Πόλεμος τιμών και χαμόγελα στο γιαούρτι, Εφημερίδα «Τα Νέα», <http://www.tanea.gr/default.asp?pid=2&artid=4537041&ct=3>
- Καμινारीδης Σ., Μοάτσου Γκ. (2009) *Γαλακτοκομία*, εκδ. Έμβρυο
- Μάντη Αντ. (2000), *Υγιεινή & Τεχνολογία του Γάλακτος και των Προϊόντων του Γ΄ Έκδοση*

- Παπαδογιάννης, ΙΝ., Σαμανίδου, Β.Φ., Ενόργανη Χημική Ανάλυση, Θεσσαλονίκη 2001.
- Περιοδικό «Χρήμα», τεύχος 359, Φεβρουάριος 2010, Αφιέρωμα στην αγορά Γαλακτοκομικών, <http://www.hrma.gr/article.asp?view=878&ref=867>
- Στράτης Ι.Α, Βουλγαρόπουλος Α.Ν, Ζαχαριάδης Ι.Α., Ποσοτική Χημική Ανάλυση, Θεσσαλονίκη 1999
- Υπουργείο Οικονομίας και Οικονομικών, Γενικό Χημείο του Κράτους (Έκδοση 1, 2009), Κώδικας Τροφίμων, Ποτών και Αντικειμένων Κοινής Χρήσης, άρθρο 82
- Χατζιωάννου Θ.Π., (1992). Εργαστηριακά ασκήσεις ποσοτικής αναλυτικής χημείας. Σελ. 591.
- Χατζιωάννου, Θ.Π, Κουπάρης, Μ.Α., Ενόργανη Ανάλυση, Αθήνα 2003.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

1. Πίνακες οργανικών οξέων και σακχάρων που ανιχνεύθηκαν σε 23 δείγματα άπαχου και μειωμένης λιποπεριεκτικότητας επιδόρπια τύπου γιαουρτιού

K/A	γαλακτόζη	λακτόζη	γαλακτικό οξύ	οξικό οξύ	γλυκόζη
6	825,73	1842,23	668,18	11,55	181,57
11	525,31	2465,65	489,28	0,00	0,00
13	845,13	5083,81	875,73	0,00	82,80
15	666,45	3244,57	686,78	0,00	61,46
17	856,80	2518,89	842,69	0,00	0,00
21	747,73	2813,72	833,36	0,00	0,00
	744,52 ± 52,7519	2994,81 ± 458,0401	732,67 ± 60,0584	1,92 ± 1,9242	54,30 ± 29,3860

Πίνακας 1.1 Μέσες συγκεντρώσεις οργανικών οξέων και σακχάρων (mg/100g γιαουρτιού) που ανιχνεύθηκαν σε δείγματα με επιδόρπια τύπου γιαουρτιού λιποπεριεκτικότητας 0%.

2. Πίνακες πτητικών αρωματικών ουσιών σε επιδόρπια τύπου γιαουρτιού που ανιχνεύθηκαν σε 22 δείγματα άπαχου ή μειωμένης λιποπεριεκτικότητας

	R.TIME (min)	Πτητικές αρωματικές ουσίες	Εμβαδόν	Συγκεντρώσεις
1	7.862	Ακεταλδεΐδη	174699	0,102912
2	13.092	Διακετύλιο	1136064	0,669232
3	15.202	2-Βουτενάλη	11255293	6,63026
4	27.720	Νονανάλη	267074	0,157328
5	29.485	Οξικό οξύ	1345867	0,792822

Πίνακας 2.1 Πτητικές αρωματικές ουσίες γιαουρτιού που ανιχνεύθηκαν στο δείγμα με K/A 1 (Εμβαδόν κορυφών χρωματογραφήματος σε αυθαίρετες μονάδες και συγκεντρώσεις ουσιών σε ppm).

	R.TIME (min)	Πτητικές αρωματικές ουσίες	Εμβαδόν	Συγκεντρώσεις
1	6.878	Ακεταλδεΐδη	169826	0,028131
2	13.179	Διακετύλιο	14439651	2,39188
3	15.314	2-Βουτανάλη	10957498	1,815073
4	24.404	Ακετοΐνη	7248519	1,200693
5	28.079	Νοναναλη	3054435	0,505957
6	29.845	Οξικό οξύ	6535199	1,082534

Πίνακας 2.2 Πτητικές αρωματικές ουσίες γιαουρτιού που ανιχνεύθηκαν στο δείγμα με Κ/Α 2 (Εμβαδόν κορυφών χρωματογραφήματος σε αυθαίρετες μονάδες και συγκεντρώσεις ουσιών σε ppm).

	R.TIME (min)	Πτητικές αρωματικές ουσίες	Εμβαδόν	Συγκεντρώσεις
1	7.681	Ακεταλδεΐδη	20083499	9,039722
2	13.142	Διακετύλιο	822335	0,370139
3	15.273	2-βουτενάλη	129633923	58,34913
4	16.607	Ακετοΐνη	16381469	7,373413
5	29.780	Οξικό οξύ	2491519	1,12145
6	31.095	1-μεθυλ-αιθυλ εστέρας του φορμικού οξέος	8548677	3,847819

Πίνακας 2.3 Πτητικές αρωματικές ουσίες γιαουρτιού που ανιχνεύθηκαν στο δείγμα με Κ/Α 3 (Εμβαδόν κορυφών χρωματογραφήματος σε αυθαίρετες μονάδες και συγκεντρώσεις ουσιών σε ppm).

	R.TIME (min)	Πτητικές αρωματικές ουσίες	Εμβαδόν	Συγκεντρώσεις
1	7.136	Ακεταλδεΐδη	87756	0,011657
2	7.377	Οξικός αιθυλεστέρας	65387	0,008686
3	13.183	Διακετύλιο	1163151	0,154507
4	15.379	2- Βουτενάλη	10390999	1,380286
5	15.750	2-μεθυλ-3-πεντανόνη	295903	0,039306
6	15.802	3-μεθυλ-1-βουτανόλη	120230	0,015971
7	20.082	Ακετόνη	1069191	0,142026
8	20.209	3-μεθυλ -βουτανάλη	120144	0,015959
9	29.879	Οξικό οξύ	3785314	0,502821

Πίνακας 2.4 Πτητικές αρωματικές ουσίες γιαουρτιού που ανιχνεύθηκαν στο δείγμα με Κ/Α 5 (Εμβαδόν κορυφών χρωματογραφήματος σε αυθαίρετες μονάδες και συγκεντρώσεις ουσιών σε ppm).

	R.TIME (min)	Πτητικές αρωματικές ουσίες	Εμβαδόν	Συγκεντρώσεις
1	7.213	Ακεταλδεΐδη	48528338	15,26421
2	15.146	2-Βουτενάλη	199827539	62,85418
3	16.534	Ακετοΐνη	25501118	8,021176
4	27.766	2-Νονανόνη	875186	0,275283
5	28.652	2,4- Εξαδιενάλη	2491515	0,783686
6	29.797	Οξικό οξύ	1667652	0,524547
7	31.096	1-μεθυλ-αιθυλ εστέρας του φορμικού οξέος	27371475	8,609482
8	32.861	3-μεθυλ-2-βουτανόλη	1305830	0,410739

Πίνακας 2.5 Πτητικές αρωματικές ουσίες γιαουρτιού που ανιχνεύθηκαν στο δείγμα με Κ/Α 6 (Εμβαδόν κορυφών χρωματογραφήματος σε αυθαίρετες μονάδες και συγκεντρώσεις ουσιών σε ppm).

	R.TIME (min)	Πτητικές αρωματικές ουσίες	Εμβαδόν	Συγκεντρώσεις
1	7.606	Ακεταλδεϋδη	21677500	6,979185
2	15.263	2-Βουτενάλη	132276186	42,58701
3	16.607	Ακετοΐνη	17884925	5,758145
4	27.788	2-Νονανόνη	1772823	0,57077
5	29.786	Οξικό οξύ	5406409	1,740622
6	31.101	1-μεθυλ-αιθυλ εστέρας του φορμικού οξέος	13676706	4,403287

Πίνακας 2.6 Πτητικές αρωματικές ουσίες γιαουρτιού που ανιχνεύθηκαν στο δείγμα με Κ/Α 7 (Εμβαδόν κορυφών χρωματογραφήματος σε αυθαίρετες μονάδες και συγκεντρώσεις ουσιών σε ppm)

	R.TIME (min)	Πτητικές αρωματικές ουσίες	Εμβαδόν	Συγκεντρώσεις
1	7.599	Ακεταλδεϋδη	715951	0,322688
2	13.074	Διακετύλιο	424356	0,191263
3	15.240	2-Βουτενάλη	62752367	28,2833
4	16.573	Ακετοΐνη	5174865	2,332378
5	27.777	2-Νονανόνη	866171	0,390394
6	29.764	Οξικό οξύ	1872690	0,844045

Πίνακας 2.7 Πτητικές αρωματικές ουσίες γιαουρτιού που ανιχνεύθηκαν στο δείγμα με Κ/Α 8 (Εμβαδόν κορυφών χρωματογραφήματος σε αυθαίρετες μονάδες και συγκεντρώσεις ουσιών σε ppm).

	R.TIME (min)	Πτητικές αρωματικές ουσίες	Εμβαδόν	Συγκεντρώσεις
1	7.605	Ακεταλδεΐδη	9832953	4,260937
2	13.065	Διακετύλιο	156009	0,067604
3	15.232	2-βουτενάλη	78437355	33,98944
4	16.576	Ακετοΐνη	9110506	3,947877
5	29.777	Οξικό οξύ	4758113	2,061844
6	31.081	1-μεθυλ-αιθυλ εστέρας του φορμικού οξέος	10248688	4,441088

Πίνακας 2.8 Πτητικές αρωματικές ουσίες γιαουρτιού που ανιχνεύθηκαν στο δείγμα με Κ/Α 9 (Εμβαδόν κορυφών χρωματογραφήματος σε αυθαίρετες μονάδες και συγκεντρώσεις ουσιών σε ppm).

	R.TIME (min)	Πτητικές αρωματικές ουσίες	Εμβαδόν	Συγκεντρώσεις
1	7.587	Ακεταλδεΐδη	17447504	23,77006
2	15.240	2-Βουτενάλη	169988727	231,5885
3	16.525	Ακετοΐνη	15739399	21,44298
4	19.867	Ακετόνη	1030199	1,403518
5	27.535	2-Νονανόνη	1718994	2,341916
6	29.508	Οξικό οξύ	1907706	2,599013
7	30.805	1-μεθυλ-αιθυλ- εστέρας του φορμικού οξέος	23142530	31,52882

Πίνακας 2.9 Πτητικές αρωματικές ουσίες γιαουρτιού που ανιχνεύθηκαν στο δείγμα με Κ/Α 10 (Εμβαδόν κορυφών χρωματογραφήματος σε αυθαίρετες μονάδες και συγκεντρώσεις ουσιών σε ppm).

	R.TIME (min)	Πτητικές αρωματικές ουσίες	Εμβαδόν	Συγκεντρώσεις
1	7.548	Ακεταλδεϋδη	124442	0,087145
2	13.138	Διακετύλιο	62471	0,043748
3	15.285	2-Βουτενάλη	4563519	3,195772
4	29.480	Οξικό οξύ	2211467	1,548661

Πίνακας 2.10 Πτητικές αρωματικές ουσίες γιαουρτιού που ανιχνεύθηκαν στο δείγμα με Κ/Α 11 (Εμβαδόν κορυφών χρωματογραφήματος σε αυθαίρετες μονάδες και συγκεντρώσεις ουσιών σε ppm).

	R.TIME (min)	Πτητικές αρωματικές ουσίες	Εμβαδόν	Συγκεντρώσεις
1	6.357	Οξικός αιθυλεστέρας	299490	0,046195
2	6.417	Ακετονιτρίλιο	233875	0,036074
3	6.456	Βουτύν-1-όλη	160399	0,024741
4	7.272	Ακεταλδεϋδη	109628	0,016909
5	13.113	Διακετύλιο	827191	0,127589
6	15.264	2-Βουτενάλη	16061850	2,477443
7	29.879	Οξικό οξύ	5622640	0,867258

Πίνακας 2.11 Πτητικές αρωματικές ουσίες γιαουρτιού που ανιχνεύθηκαν στο δείγμα με Κ/Α 12 (Εμβαδόν κορυφών χρωματογραφήματος σε αυθαίρετες μονάδες και συγκεντρώσεις ουσιών σε ppm).

	R.TIME (min)	Πτητικές αρωματικές ουσίες	Εμβαδόν	Συγκεντρώσεις
1	6.962	Ακεταλδεϋδη	108016	0,05744
2	13.102	Διακετύλιο	591013	0,314284
3	15.206	2-Βουτενάλη	303702	0,1615
4	27.489	2-Νονανόνη	453600	0,241212
5	27.726	Νονανάλη	768369	0,408597
6	29.476	Οξικό οξύ	2007419	1,06749

Πίνακας 2.12 Πτητικές αρωματικές ουσίες γιαουρτιού που ανιχνεύθηκαν στο δείγμα με Κ/Α 13 (Εμβαδόν κορυφών χρωματογραφήματος σε αυθαίρετες μονάδες και συγκεντρώσεις ουσιών σε ppm)

	R.TIME (min)	Πτητικές αρωματικές ουσίες	Εμβαδόν	Συγκεντρώσεις
1	7.748	Ακεταλδεϋδη	135802	0,081301
2	13.041	Διακετύλιο	1069090	0,640035
3	15.248	2-Βουτενάλη	2656430	1,590331
4	29.445	Οξικό οξύ	1131180	0,677206

Πίνακας 2.13 Πτητικές αρωματικές ουσίες γιαουρτιού που ανιχνεύθηκαν στο δείγμα με Κ/Α 14 (Εμβαδόν κορυφών χρωματογραφήματος σε αυθαίρετες μονάδες και συγκεντρώσεις ουσιών σε ppm).

	R.TIME (min)	Πτητικές αρωματικές ουσίες	Εμβαδόν	Συγκεντρώσεις
1	7.628	Ακεταλδεΐδη	2302189	0,501765
2	15.274	2-Βουτενάλη	27158879	5,919312
3	16.627	Ακετοΐνη	804078	0,17525
4	29.675	Οξικό οξύ	4049327	0,882556

Πίνακας 2.14 Πτητικές αρωματικές ουσίες γιαουρτιού που ανιχνεύθηκαν στο δείγμα με Κ/Α 15 (Εμβαδόν κορυφών χρωματογραφήματος σε αυθαίρετες μονάδες και συγκεντρώσεις ουσιών σε ppm).

	R.TIME (min)	Πτητικές αρωματικές ουσίες	Εμβαδόν	Συγκεντρώσεις
1	7.680	Ακεταλδεΐδη	5618164	4,789378
2	13.098	Διακετύλιο	1491136	1,271165
3	15.290	2-Βουτενάλη	139658831	119,0565
4	16.599	Ακετοΐνη	9852574	8,399132
5	29.547	Οξικό οξύ	4015766	3,423364
6	30.846	1-μεθυλ-αιθυλ εστέρας του φορμικού οξέος	47807049	40,7546
7	36.277	Οξικός αιθυλεστέρας	4863818	4,146312

Πίνακας 2.15 Πτητικές αρωματικές ουσίες γιαουρτιού που ανιχνεύθηκαν στο δείγμα με Κ/Α 16 (Εμβαδόν κορυφών χρωματογραφήματος σε αυθαίρετες μονάδες και συγκεντρώσεις ουσιών σε ppm).

	R.TIME (min)	Πτητικές αρωματικές ουσίες	Εμβαδόν	Συγκεντρώσεις
1	7.688	Ακεταλδεΐδη	1206896	0,913678
2	13.261	Διακετύλιο	5395923	4,084973
3	15.375	2-Βουτενάλη	75853409	57,42468
4	16.625	Ακετοΐνη	4613202	3,492416
5	27.676	2-Νονανόνη	1473123	1,115225
6	29.590	Οξικό οξύ	17647905	13,36031

Πίνακας 2.16 Πτητικές αρωματικές ουσίες γιαουρτιού που ανιχνεύθηκαν στο δείγμα με Κ/Α 17 (Εμβαδόν κορυφών χρωματογραφήματος σε αυθαίρετες μονάδες και συγκεντρώσεις ουσιών σε ppm).

	R.TIME (min)	Πτητικές αρωματικές ουσίες	Εμβαδόν	Συγκεντρώσεις
1	6.995	Ακεταλδεΐδη	150888	0,100273
2	13.239	Διακετύλιο	7545059	5,014067
3	15.445	2-Βουτενάλη	17300609	11,49711
4	29.701	Οξικό οξύ	909042	0,604104

Πίνακας 2.17 Πτητικές αρωματικές ουσίες γιαουρτιού που ανιχνεύθηκαν στο δείγμα με Κ/Α 18 (Εμβαδόν κορυφών χρωματογραφήματος σε αυθαίρετες μονάδες και συγκεντρώσεις ουσιών σε ppm).

	R.TIME (min)	Πτητικές αρωματικές ουσίες	Εμβαδόν	Συγκεντρώσεις
1	7.553	Ακεταλδεΐδη	15374404	24,7509
2	15.249	2-Βουτενάλη	165262646	266,0525
3	16.592	Ακετοΐνη	14246447	22,93502
4	28.409	2,4- Εξαδιενάλη	1432711	2,306488
5	29.489	Οξικό οξύ	1419202	2,28474
6	30.808	1-μεθυλ-αιθυλ εστέρας του φορμικού οξέος	61336875	98,74481
7	36.408	Οξικός αιθυλεστέρας	3138430	5,052485

Πίνακας 2.18 Πτητικές αρωματικές ουσίες γιαουρτιού που ανιχνεύθηκαν στο δείγμα με Κ/Α 19 (Εμβαδόν κορυφών χρωματογραφήματος σε αυθαίρετες μονάδες και συγκεντρώσεις ουσιών σε ppm).

	R.TIME (min)	Πτητικές αρωματικές ουσίες	Εμβαδόν	Συγκεντρώσεις
1	7.587	Ακεταλδεΐδη	17447504	23,77006
2	15.240	2-Βουτενάλη	169988727	231,5885
3	16.525	Ακετοΐνη	15739399	21,44298
4	19.867	Ακετόνη	1030199	1,403518
5	27.535	2-Νονανόνη	1718994	2,341916
6	29.508	Οξικό οξύ	1907706	2,599013
7	30.805	1-μεθυλ-αιθυλ- εστέρας του φορμικού οξέος	23142530	31,52882

Πίνακας 2.19 Πτητικές αρωματικές ουσίες γιαουρτιού που ανιχνεύθηκαν στο δείγμα με Κ/Α 20 (Εμβαδόν κορυφών χρωματογραφήματος σε αυθαίρετες μονάδες και συγκεντρώσεις ουσιών σε ppm).

	R.TIME (min)	Πτητικές αρωματικές ουσίες	Εμβαδόν	Συγκεντρώσεις
1	7.620	Ακεταλδεΐδη	7047261	5,365472
2	13.083	Διακετύλιο	196005	0,14923
3	15.269	2-Βουτενάλη	89915506	68,45768
4	16.561	Ακετοΐνη	8348547	6,356214
5	27.538	2-Νονανόνη	619152	0,471395
6	29.489	Οξικό οξύ	3437921	2,617481
7	30.819	1-μεθυλ-αιθυλ εστέρας του φορμικού οξέος	5604234	4,266816
8	33.266	2,1,1-διμεθυλ-αιθυλ-κυκλοεξανόλη	2099202	1,598239

Πίνακας 2.20 Πτητικές αρωματικές ουσίες γιαουρτιού που ανιχνεύθηκαν στο δείγμα με Κ/Α 21 (Εμβαδόν κορυφών χρωματογραφήματος σε αυθαίρετες μονάδες και συγκεντρώσεις ουσιών σε ppm).

	R.TIME (min)	Πτητικές αρωματικές ουσίες	Εμβαδόν	Συγκεντρώσεις
1	7.470	Ακεταλδεΐδη	150360	0,095813
2	13.029	Διακετύλιο	233167	0,14858
3	15.237	2-Βουτενάλη	6849007	4,364366
4	19.848	Ακετόνη	978438	0,623486
5	27.519	2-Νονανόνη	1184190	0,754597
6	29.480	Οξικό οξύ	7104988	4,527483

Πίνακας 2.21 Πτητικές αρωματικές ουσίες γιαουρτιού που ανιχνεύθηκαν στο δείγμα με Κ/Α 22 (Εμβαδόν κορυφών χρωματογραφήματος σε αυθαίρετες μονάδες και συγκεντρώσεις ουσιών σε ppm).

	R.TIME (min)	Πτητικές αρωματικές ουσίες	Εμβαδόν	Συγκεντρώσεις
1	7.615	Ακεταλδεΐδη	7810680	6,686295
2	15.225	2-Βουτανάλη	149614139	128,0765
3	16.357	Ακετοΐνη	5795652	4,96134
4	29.470	Οξικό οξύ	10548599	9,030077
5	30.380	Καρβαλδεΐδη του φουρανίου	2593652	2,220283
6	30.801	1-μεθυλ-αιθυλ εστέρας του φορμικού οξέος	6407647	5,485235
7	31.412	Αιθανόλη	10075869	8,625399
8	35.478	Μεθανόλη του φουρανίου	19995745	17,11726

Πίνακας 2.22 Πτητικές αρωματικές ουσίες γιαουρτιού που ανιχνεύθηκαν στο δείγμα με Κ/Α 23 (Εμβαδόν κορυφών χρωματογραφήματος σε αυθαίρετες μονάδες και συγκεντρώσεις ουσιών σε ppm).