



**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ & ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΑΣ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΣΥΓΧΡΟΝΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ
I) ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΑ II) ΟΙΝΟΛΟΓΙΑ**

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Παρασκευή ξινού Τραχανά με τη χρήση προβιοτικού / προστατευτικού
μικροοργανισμού και μελέτη χαρακτηριστικών ποιότητας



Στέφανος Σ. Τσούκλας

Επιβλέπων Καθηγητής:
Αναστάσιος Ακτύπης, Λέκτορας ΓΠΑ

ΑΘΗΝΑ 2022

**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ & ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΑΣ**

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Παρασκευή ξινού Τραχανά με τη χρήση προβιοτικού / προστατευτικού
μικροοργανισμού και μελέτη χαρακτηριστικών ποιότητας

Preparation of sour Trahana with the use of probiotic / protective microorganism
and study of quality characteristics

Στέφανος Σ. Τσούκλας

Εξεταστική Επιτροπή:

Αναστάσιος Ακτύπης, Λέκτορας ΓΠΑ (επιβλέπων)

Ελευθέριος Δροσινός, Καθηγητής ΓΠΑ

Αικατερίνη Μοσχοπούλου, Επίκουρος Καθηγήτρια ΓΠΑ

Παρασκευή ξινού Τραχανά με την χρήση προβιοτικού / προστατευτικού μικροοργανισμού και μελέτη χαρακτηριστικών ποιότητας

ΠΜΣ Σύγχρονη Τεχνολογία Τροφίμων Ι) Γαλακτοκομία ΙΙ) Οινολογία
Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου
Εργαστήριο Γαλακτοκομίας

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο Τραχανάς αποτελεί ένα από τα δημοφιλέστερα αφυδατωμένα γαλακτοκομικά προϊόντα ζύμωσης στην Ελλάδα. Ο παραδοσιακός τρόπος παρασκευής του βασίζεται κυρίως σε συστατικά όπως το γάλα και το αλεύρι ή παράγωγα αυτών. Από διατροφικής άποψης λόγω της υψηλής θρεπτικής του αξίας έχει κερδίσει τον ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας για περαιτέρω μελέτες. Το βασικότερο ερευνητικό υλικό βασίζεται σε Τούρκικες δημοσιεύσεις ενώ στην χώρα μας παρά την ευρεία κατανάλωση του δεν έχει μελετηθεί αρκετά και αυτό καθιστά έναν από τους βασικούς λόγους για την πραγματοποίηση της συγκεκριμένης εργασίας.

Στην παρούσα Διπλωματική Μελέτη συγκρίθηκαν τέσσερα δείγματα Φρέσκου και Αποξηραμένου Τραχανά (Τελικό Προϊόν). Ο Μάρτυρας που παρασκευάστηκε από γιαούρτι με την παρουσία των μικροοργανισμών *Lactobacillus bulgaricus* ACA-DC 84 και *Streptococcus thermophilus* ACA-DC 4, ο Προβιοτικός Α που παρασκευάστηκε από το προβιοτικό στέλεχος *Lactobacillus fermentum* ACA-DC 179, ο Προβιοτικός Β που παρασκευάστηκε από το *Lactobacillus fermentum* ACA-DC 179 και το *Streptococcus thermophilus* ACA-DC 4 και δείγμα Τραχανά του Εμπόριου από γιαούρτι. Σε αυτά τα δείγματα Φρέσκου και Αποξηραμένου Τραχανά εφαρμόστηκαν δυο μέθοδοι παρασκευής, η πρώτη στηρίζεται στο παραδοσιακό τρόπο παρασκευής του Ξινού Τραχανά χωρίς επώαση του ζυμαριού και η δεύτερη βασίζεται στην επώαση του ζυμαριού στους 37°C για 17h με σχετική υγρασία 10% (RH). Πραγματοποιήθηκαν μικροβιολογικές και φυσικοχημικές αναλύσεις αλλά και Οργανοληπτικός έλεγχος από δοκιμαστές του Εργαστηρίου Γαλακτοκομίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών. Σε μικροβιολογικό επίπεδο, τα προβιοτικά δείγματα Φρέσκου και Αποξηραμένου Τραχανά παρουσίασαν θετικά αποτελέσματα σχετικά με τους πληθυσμούς γαλακτοβάκιλλων, θερμοφίλων κόκκων αλλά και της Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας. Επίσης, από υγειονομικής άποψης τα αποτελέσματα ήταν σε ικανοποιητικά πλαίσια. Σε φυσικοχημικό επίπεδο, λόγω της κοινής αναλογίας συστατικών που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή των δειγμάτων οι μετρήσεις σε γενικές γραμμές ήταν παρόμοιες. Σχετικά με τις ικανότητες αφρισμού, σταθερότητας αφρού, ικανότητα απορρόφησης νερού / λαδιού και γαλακτωματοποιητικής ικανότητας τα αποτελέσματα ήταν σε ικανοποιητικό επίπεδο. Τέλος, οι μικροβιολογικές και φυσικοχημικές μετρήσεις των δειγμάτων συγκρίθηκαν με αντίστοιχες έρευνες στον Τραχανά.

Επιστημονική περιοχή: Γαλακτοκομία

Λέξεις κλειδιά: Τραχανάς, *Lactobacillus fermentum* ACA-DC 179, Προβιοτικά

Preparation of sour Trahana with the use of probiotic / protective microorganism and study of quality characteristics

MSc Modern Food Technology I) Dairying II) Oenology
Department of Food Science and Human Nutrition
Laboratory of Dairy Science

ABSTRACT

Trahanas is one of the most popular fermented dehydrated dairy products in Greece. The traditional way of making it is mainly based on basic ingredients such as milk and flour or their derivatives. From a nutritional point of view, due to its high nutritional value, it has gained the interest of the scientific community for further studies. The main research material is based on Turkish publications, while in our country, despite its widespread consumption, it has not been studied enough and this makes it one of the main reasons for carrying out this specific work.

In this Diplomatic Study four samples of Fresh and Dried (Final Product) Trahana were compared. The Control prepared from yogurt in the presence of the microorganisms *Lactobacillus bulgaricus* ACA-DC 84 and *Streptococcus thermophilus* ACA-DC 4, Probiotic A prepared from the probiotic strain *Lactobacillus fermentum* ACA-DC 179, Probiotic B prepared from *Lactobacillus fermentum* ACA-DC 179 and *Streptococcus thermophilus* ACA-DC 4 and sample Trahana of Emporio from yogurt. Two preparation methods were applied to these samples of Fresh and Dried Trahana, the first is based on the traditional way of preparing Sour Trahana without incubation of the dough and the second is based on the incubation of the dough at 37°C for 17h with a relative humidity of 10% (RH). Microbiological and physicochemical analyzes were carried out as well as organoleptic control by testers of the Dairy Laboratory of the Agricultural University of Athens. At the microbiological level, the probiotic samples of Fresh and Dried Trahana showed positive results regarding the populations of lactobacilli, thermophilic grains and the Total Mesophilic Flora. Also, from a health point of view, the results were satisfactory. At the physicochemical level, due to the common ratio of components used to prepare the samples the measurements were generally similar. Regarding the foaming capacity, foam stability, water/oil absorption capacity and emulsifying capacity, the results were at a satisfactory level. Finally, the microbiological and physicochemical measurements of the samples were compared with corresponding investigations in Trahanas.

Scientific area: Dairying

Key words: Trahanas, *Lactobacillus fermentum* ACA-DC 179, Probiotics

Ευχαριστίες

Η Διπλωματική Μελέτη εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Γαλακτοκομίας του Τμήματος Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, στο πλαίσιο του Μεταπτυχιακού Προγράμματος 'Σύγχρονη Τεχνολογία Τροφίμων Γαλακτοκομία και Οινολογία' με επιλεγμένη κατεύθυνση την Γαλακτοκομία. Αρχικά θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στον Επιβλέποντα Καθηγητή μου κύριο Ακτύπη Αναστάσιο για τη εμπιστοσύνη που μου έδειξε, για τη στήριξη του όλο αυτό το διάστημα, αλλά και για τις γνώσεις που μου προσέφερε απλόχερα.

Την κυρία Μανωλοπούλου Ευγενία για τη βοήθεια και την στήριξη καθ' όλη τη διάρκεια της μελέτης αλλά και όλα τα μέλη του Εργαστηρίου της Γαλακτοκομίας για την άψογη συνεργασία.

Την κυρία Ζηκίδου Ασπασία, ιδιοκτήτρια της βιοτεχνίας Αμυλιάνθη στον Άγιο Στέφανο Αττικής, για την τεχνογνωσία, την παραχώρηση των μηχανημάτων και των υλικών στις προπαρασκευαστικές δοκιμές παραγωγής τραχανά.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια μου, τους φίλους μου και τους συμφοιτητές του Τμήματος για τη στήριξη και συμπαράσταση τους αλλά και τη βοήθεια τους καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μου.

«Με την άδειά μου, η παρούσα εργασία ελέγχθηκε από την Εξεταστική Επιτροπή μέσα από λογισμικό ανίχνευσης λογοκλοπής που διαθέτει το ΓΠΑ και διασταυρώθηκε η εγκυρότητα και η πρωτοτυπία της»

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	σελ. 10
1.1. Γενικά στοιχεία για τον Τραχανά στην Ελλάδα.....	σελ. 10
1.2. Ιστορική αναδρομή των αφυδατωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων ζύμωσης	σελ. 11
1.3. Βασικές πρώτες ύλες του Τραχανά	σελ. 11
1.3.1. Σιτάρι.....	σελ. 11
1.3.1.1. Αλεση σιταριού.....	σελ. 13
1.3.2. Γάλα.....	σελ. 14
1.3.2.1. Ζυμωμένα προϊόντα γάλακτος.....	σελ. 15
1.3.2.2. Γιαούρτι.....	σελ. 16
1.4. Οξυγαλακτικά βακτήρια.....	σελ. 17
1.4.1. Ιστορική αναδρομή.....	σελ. 18
1.4.2. Βακτηριακό γένος <i>Streptococcus</i>	σελ. 18
1.4.2.1. Είδος <i>Streptococcus thermophilus</i>	σελ. 18
1.4.3. Βακτηριακό γένος <i>Lactobacillus</i>	σελ. 19
1.4.3.1. Είδος <i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i>	σελ. 20
1.4.3.2. Είδος <i>Lactobacillus fermentum</i>	σελ. 20
1.5. Προβιοτικά.....	σελ. 21
1.5.1. Τρόπος δράσεις προβιοτικών.....	σελ. 21
1.5.2. Ιστορική αναδρομή.....	σελ. 21
1.6. Λειτουργικά τρόφιμα.....	σελ. 23
2. ΣΚΟΠΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	σελ. 25
3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	σελ. 26
3.1. Μεθοδολογία.....	σελ. 26
3.2. Τεχνολογία παρασκευής δειγμάτων τραχανά.....	σελ. 26
3.3. Προετοιμασία εμβολίων οξυγαλακτικών βακτηρίων.....	σελ. 30
3.3.1. Παρασκευή θρεπτικών υποστρωμάτων.....	σελ. 31
3.3.2. Παρατήρηση μορφολογίας και έλεγχος καθαρότητας μικροοργανισμών.....	σελ. 32
3.3.3. Δειγματοληψία.....	σελ. 34
3.3.4. Προετοιμασία δειγμάτων.....	σελ. 35
3.3.5. Διαδικασία καταμέτρησης.....	σελ. 35
3.4. Προσδιορισμός οξύτητας.....	σελ. 36

3.5. Προσδιορισμός ξηρής ουσίας / υγρασίας.....σελ.	37
3.6. Προσδιορισμός λιπαρών ουσιών (Μέθοδος εκχύλισης Soxhlet).....σελ.	37
3.7. Προσδιορισμός πρωτεϊνών (Μέθοδος Kjeldahl).....σελ.	39
3.7.1. Διαδικασία προσδιορισμού πρωτεϊνών για τα δείγματα Τραχανά.....σελ.	40
3.8. Προσδιορισμός ικανότητας και σταθερότητας αφρού (Foaming capacity and foam stability).....σελ.	42
3.9. Προσδιορισμός ικανότητας απορρόφησης νερού και λαδιού (water and oil absorption capacity).....σελ.	42
3.10. Προσδιορισμός γαλακτωματοποιητικής ικανότητας (Emulsifying activity).....σελ.	43
3.11. Οργανοληπτικός έλεγχος δειγμάτων Τραχανά.....σελ.	43
3.12. Στατιστική ανάλυση.....σελ.	44
4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....σελ.	45
4.1. Μικροβιολογικά Αποτελέσματα.....σελ.	45
4.1.1. Εξέλιξη του <i>S. thermophilus</i> στα δείγματα τραχανά.....σελ.	45
4.1.2. Εξέλιξη του <i>L. bulgaricus</i> & <i>L. fermentum</i> στα δείγματα τραχανά.....σελ.	48
4.1.3. Εξέλιξη της Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας (OMX) στα δείγματα τραχανά.....σελ.	51
4.1.4. Εξέλιξη ζυμών και μυκήτων στα δείγματα Τραχανά.....σελ.	54
4.1.5. Εξέλιξη κολοβακτηριδίων (coliforms) στα δείγματα τραχανά.....σελ.	56
4.2. Φυσικοχημικά Αποτελέσματα.....σελ.	59
4.2.1. Αποτελέσματα μετρήσεων οξύτητας.....σελ.	59
4.2.2. Αποτελέσματα μετρήσεων Υγρασίας.....σελ.	62
4.2.3. Αποτελέσματα μετρήσεων Λιπαρών ουσιών.....σελ.	64
4.2.4. Αποτελέσματα μετρήσεων Ολικών Πρωτεϊνών.....σελ.	66
4.2.5. Αποτελέσματα Σταθερότητας Αφρού.....σελ.	67
4.2.6. Αποτελέσματα Ικανότητας Αφρισμού.....σελ.	69
4.2.7. Αποτελέσματα Ικανότητας Απορρόφησης νερού / λαδιού.....σελ.	71
4.2.8. Αποτελέσματα Γαλακτωματοποιητικής Ικανότητας.....σελ.	74
4.2.9. Αποτελέσματα Οργανοληπτικού Ελέγχου.....σελ.	76
5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....σελ.	78
6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....σελ.	79

Πίνακες

Πίνακας 1: Χημική σύσταση των τμημάτων του σιταριού (%) (Καραμάνος, 1992).....σελ. 13
Πίνακας 2: % Σύσταση διαφορετικών ειδών γάλακτος.....σελ. 15
Πίνακας 3: Πειραματικές συνθήκες παρασκευής ζυμωμένου γάλακτος για την παρασκευή τραχανά.....σελ. 27
Πίνακας 4: Υλικά και ποσότητες για την παρασκευή του ζυμαριού.....σελ. 27
Πίνακας 5: Σύσταση (g/L) θρεπτικών υποστρωμάτων.....σελ. 32
Πίνακας 6: Συνθήκες και θρεπτικά υποστρώματα που απαιτήθηκαν για την ανάπτυξη και καταμέτρηση του μικροβιακού πληθυσμού των δειγμάτων Τραχανά.....σελ. 36
Πίνακας 7: Μικροβιακός πληθυσμός θερμοφίλων κόκκων σε θρεπτικό υπόστρωμα M17 Agar δειγμάτων Φρέσκου και Αποξηραμένου Τραχανά (M.Z.) και (X.Z.).....σελ. 45
Πίνακας 8: Μικροβιακός πληθυσμός γαλακτοβάκιλων σε θρεπτικό υπόστρωμα MRS Agar low pH δειγμάτων Φρέσκου και Αποξηραμένου Τραχανά (M.Z.) και (X.Z.).....σελ. 48
Πίνακας 9: Μικροβιακός πληθυσμός Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας (OMX) σε θρεπτικό υπόστρωμα PCA Agar δειγμάτων Φρέσκου και Αποξηραμένου Τραχανά (M.Z.) και (X.Z.).....σελ. 51
Πίνακας 10: Μικροβιακός πληθυσμός των ζυμών και μυκήτων σε θρεπτικό υπόστρωμα YGC Agar δειγμάτων Φρέσκου και Αποξηραμένου Τραχανά (M.Z.) και (X.Z.).....σελ. 54
Πίνακας 11: Μικροβιακός πληθυσμός κόλοβακτηριδίων (coliforms) σε θρεπτικό υπόστρωμα VRBL Agar δειγμάτων Φρέσκου και Αποξηραμένου Τραχανά (M.Z.) και (X.Z.).....σελ. 57
Πίνακας 12: Περιεκτικότητα οξύτητας (γαλακτικό οξύ %) στο Εμβόλιο (καλλιέργεια εκκίνησης) και στα δείγματα Φρέσκου και Αποξηραμένου Τραχανά (M.Z.).....σελ. 59
Πίνακας 13: Περιεκτικότητα Υγρασίας (%) δειγμάτων Φρέσκου και Αποξηραμένου Τραχανά (M.Z.).....σελ. 62
Πίνακας 14: Περιεκτικότητα λιπαρών ουσιών (%) δειγμάτων Αποξηραμένου Τραχανά (M.Z.).....σελ. 64
Πίνακας 15: Περιεκτικότητα Ολικών Πρωτεϊνών (%) δειγμάτων Αποξηραμένου Τραχανά (M.Z.)..σελ. 66
Πίνακας 16: Σταθερότητας Αφρού (min) δειγμάτων Αποξηραμένου Τραχανά (M.Z.).....σελ. 67

Πίνακας 17: Ικανότητας Αφρισμού (ml) δειγμάτων Αποξηραμένου Τραχανά (M.Z.).....σελ. 69
Πίνακας 18: Ικανότητας Απορρόφησης νερού / λαδιού (g) δειγμάτων Αποξηραμένου Τραχανά (M.Z.).....σελ. 71
Πίνακας 19: Γαλακτωματοποιητικής Ικανότητας (%) των δειγμάτων Αποξηραμένου Τραχανά (M.Z.).....σελ. 72
Πίνακας 20: Βαθμολογία δειγμάτων σούπας Τραχανά (M.Z.).....σελ. 76

Διαγράμματα

- Διάγραμμα 1: Ανάλυση διασποράς ANOVA του μικροβιολογικού πληθυσμού θερμοφίλων κόκκων των δειγμάτων Φρέσκου Τραχανά (M.Z.) και (X.Z.).....σελ. 46
- Διάγραμμα 2: Ανάλυση διασποράς ANOVA του μικροβιακού πληθυσμού θερμοφίλων κόκκων των δειγμάτων Αποξηραμένου Τραχανά (M.Z.) και (X.Z.).....σελ. 47
- Διάγραμμα 3: Σύγκριση μικροβιακού πληθυσμού θερμοφίλων κόκκων (\log_{10} cfu / ml ή g) μέσω του θρεπτικού υποστρώματος M17 Agar σε όλα τα δείγματα Φρέσκου και Αποξηραμένου Τραχανά (M.Z.) και (X.Z.).....σελ. 47
- Διάγραμμα 4: Ανάλυση διασποράς ANOVA του μικροβιακού πληθυσμού γαλακτοβάκιλλων των δειγμάτων Φρέσκου Τραχανά (M.Z.) και (X.Z.).....σελ. 49
- Διάγραμμα 5: Ανάλυση διασποράς ANOVA του μικροβιακού πληθυσμού γαλακτοβάκιλλων των δειγμάτων Αποξηραμένου Τραχανά (M.Z.) και (X.Z.).....σελ. 50
- Διάγραμμα 6: Σύγκριση μικροβιακού πληθυσμού των γαλακτοβάκιλλων (\log_{10} cfu / ml ή g) μέσω του θρεπτικού υποστρώματος MRS Agar low pH σε όλα τα δείγματα Φρέσκου και Αποξηραμένου Τραχανά (M.Z.) και (X.Z.).....σελ. 50
- Διάγραμμα 7: Ανάλυση διασποράς ANOVA του μικροβιακού πληθυσμού Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας (OMX) των δειγμάτων Φρέσκου Τραχανά (M.Z.) και (X.Z.).....σελ. 52
- Διάγραμμα 8: Ανάλυση διασποράς ANOVA του μικροβιακού πληθυσμού Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας (OMX) των δειγμάτων Αποξηραμένου Τραχανά (M.Z.) και (X.Z.).....σελ. 52
- Διάγραμμα 9: Μικροβιακός πληθυσμός OMX (\log_{10} cfu / ml ή g) σε θρεπτικό υπόστρωμα PCA Agar σε όλα τα δείγματα Φρέσκου και Αποξηραμένου Τραχανά (M.Z.) και (X.Z.).....σελ. 53
- Διάγραμμα 10: Ανάλυση διασποράς ANOVA του μικροβιακού πληθυσμού ζυμών και μυκητών των δειγμάτων Φρέσκου Τραχανά (M.Z.) και (X.Z.).....σελ. 55
- Διάγραμμα 11: Ανάλυση διασποράς ANOVA του μικροβιακού πληθυσμού ζυμών και μυκητών των δειγμάτων Αποξηραμένου Τραχανά (M.Z.) και (X.Z.).....σελ. 55
- Διάγραμμα 12: Μικροβιακός πληθυσμός ζυμών και μυκητών (\log_{10} cfu / g) σε θρεπτικό υπόστρωμα YGC Agar σε όλα τα δείγματα Φρέσκου και Αποξηραμένου Τραχανά (M.Z.) και (X.Z.).....σελ. 56

Διάγραμμα 13: Ανάλυση διασποράς ANOVA του μικροβιακού πληθυσμού κολοβακτηριδίων των δειγμάτων Φρέσκου Τραχανά (M.Z.) και (X.Z.).....σελ. 57	σελ. 57
Διάγραμμα 14: Ανάλυση διασποράς ANOVA του μικροβιακού πληθυσμού κολοβακτηριδίων των δειγμάτων Αποξηραμένου Τραχανά (M.Z.) και (X.Z.).....σελ. 58	σελ. 58
Διάγραμμα 15: Μικροβιακός πληθυσμός κολοβακτηριδίων (\log_{10} cfu / g) σε θρεπτικό υπόστρωμα VRBL Agar σε όλα τα δείγματα Φρέσκου και Αποξηραμένου Τραχανά (M.Z) και (X.Z.).....σελ. 58	σελ. 58
Διάγραμμα 16: Ανάλυση διασποράς (ANOVA) στην οξύτητα των εμβολίων εκφρασμένη σε γαλακτικό οξύ (%).....σελ. 60	σελ. 60
Διάγραμμα 17: Ανάλυση διασποράς (ANOVA) στην οξύτητα των δειγμάτων Φρέσκου Τραχανά (M.Z.) εκφρασμένη σε γαλακτικού οξέος (%).....σελ. 61	σελ. 61
Διάγραμμα 18: Ανάλυση διασποράς (ANOVA) στην οξύτητα των δειγμάτων Αποξηραμένου Τραχανά (M.Z.) εκφρασμένη σε γαλακτικό οξύ (%).....σελ. 61	σελ. 61
Διάγραμμα 19: Συγκέντρωση οξύτητας εκφρασμένη σε γαλακτικό οξύ (%) του εμβολίου και των δειγμάτων Φρέσκου και Αποξηραμένου τραχανά (M.Z.).....σελ. 62	σελ. 62
Διάγραμμα 20: Ανάλυση διασποράς (ANOVA) της περιεκτικότητας υγρασίας (%) των δειγμάτων Φρέσκου Τραχανά (M.Z.).....σελ. 63	σελ. 63
Διάγραμμα 21: Ανάλυση διασποράς (ANOVA) της περιεκτικότητας υγρασίας (%) των δειγμάτων Αποξηραμένου Τραχανά (X.Z.).....σελ. 63	σελ. 63
Διάγραμμα 22: Περιεκτικότητα υγρασίας (%) των δειγμάτων Φρέσκου και Αποξηραμένου Τραχανά (M.Z.).....σελ. 64	σελ. 64
Διάγραμμα 23: Ανάλυση διασποράς (ANOVA) της συγκέντρωσης λιπαρών οξέων (%) σε δείγματα Αποξηραμένου τραχανά (M.Z.).....σελ. 65	σελ. 65
Διάγραμμα 24: Περιεκτικότητα λιπαρών οξέων (%) σε δειγμάτων Αποξηραμένου Τραχανά (M.Z.).....σελ. 65	σελ. 65
Διάγραμμα 25: Ανάλυση διασποράς (ANOVA) της περιεκτικότητας ολικών πρωτεϊνών (%) σε δείγματα Αποξηραμένου Τραχανά (M.Z.).....σελ. 66	σελ. 66
Διάγραμμα 26: Περιεκτικότητα Ολικών Πρωτεϊνών (%) σε δείγματα Αποξηραμένου Τραχανά (M.Z.).....σελ. 67	σελ. 67

Διάγραμμα 27: Ανάλυση διασποράς (ANOVA) της Σταθερότητας αφρού (min) σε δείγματα Αποξηραμένου Τραχανά (M.Z.).....σελ.	68
Διάγραμμα 28: Σταθερότητα Αφρού (min) σε δείγματα Αποξηραμένου Τραχανα (M.Z.).....σελ.	69
Διάγραμμα 29: Ανάλυση διασποράς (ANOVA) της Ικανότητας αφρισμού (ml) σε δείγματα Αποξηραμένου τραχανά (M.Z.).....σελ.	70
Διάγραμμα 30: Ικανότητα Αφρισμού (ml) σε δείγματα Αποξηραμένου Τραχανα (M.Z.).....σελ.	71
Διάγραμμα 31: Ανάλυση διασποράς (ANOVA) της Ικανότητας Απορρόφησης νερού (g) σε δείγματα Αποξηραμένου τραχανά (M.Z.).....σελ.	72
Διάγραμμα 32: Ανάλυση διασποράς (ANOVA) της Ικανότητας Απορρόφησης λαδιού (g) σε δείγματα Αποξηραμένου Τραχανά (M.Z.).....σελ.	73
Διάγραμμα 33: Ικανότητα Απορρόφησης νερού / λαδιού (g) σε δείγματα Αποξηραμένου Τραχανά (M.Z.).....σελ.	73
Διάγραμμα 34: Ανάλυση διασποράς (ANOVA) της Γαλακτωματοποιητικής Ικανότητας (%) σε δείγματα Αποξηραμένου Τραχανά (M.Z.).....σελ.	75
Διάγραμμα 35: Γαλακτωματοποιητική Ικανότητα (%) σε δείγματα Αποξηραμένου Τραχανά (M.Z.).....σελ.	75
Διάγραμμα 36: Μοντέλο αξιολόγησης ‘αράχνη’ για το κάθε δείγμα σούπας Τραχανά (M.Z.).....σελ.	77

Εικόνες

- Εικόνα 1: Βασικά μέρη κόκκου σιταριού.....σελ. 12
- Εικόνα 2: Προϊόντα με βάση το γάλα.....σελ. 15
- Εικόνα 3: Στην εικόνα φαίνονται τέσσερα δείγματα ζυμαριού. Τα πρώτα δυο είναι οι Μάρτυρες από γιαούρτι (περιέχουν τα στελέχη *Streptococcus thermophilus* ACA-DC4 και *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ACA-DC 84). Στο αριστερό μύρο βέλος είναι το ζυμάρι Προβιοτικός Α το οποίο είναι φουσκωμένο λόγω ετεροζυμωτικής ιδιότητας του *Lactobacillus fermentum* ACA-DC 179 και στο δεξιό ο Προβιοτικός Β με τον *Lactobacillus fermentum* ACA-DC 179 και *Streptococcus thermophilus* ACA-DC 4 φουσκωμένο για τον ίδιο λόγο.....σελ. 28
- Εικόνα 4: Συρταριέρα με κομμάτια (πιτάκια) ζυμαριού μεγέθους περίπου 2cm x 2cm για την αποβολή υγρασίας του ζυμαριού και προετοιμασία τους για τρίξιμο.....σελ. 29
- Εικόνα 5: Παραδοσιακοί τρίφτες (κόσκινα) για Τραχανά και άλλα τρόφιμα.....σελ. 29
- Εικόνα 6: Συρταριέρες με τα τριμμένα πιτάκια (αριστερά) και συρταριέρες με το τριμμένο τραχανά εντός του ξηραντήρα (δεξιά).....σελ. 30
- Εικόνα 7: Αριστερά η τοποθέτηση του παρασκευάσματος στην τράπεζα του μικροσκοπίου και δεξιά η μικροσκοπική απεικόνιση του στελέχους *Lactobacillus fermentum* ACA-DC 179.....σελ. 33
- Εικόνα 8: Μικροσκοπική παρατήρηση των βακτηρίων *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* (αριστερά) Joanna Stephens and David Turner 2015 και *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. (δεξιά) <https://www.quora.com/What-is-the-bacteria-in-curd>.....σελ. 34
- Εικόνα 9: Μύλος αλέσεως εργαστηρίου Φυσιολογίας, Θρέψεως και Διατροφής του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών.....σελ. 35
- Εικόνα 10: Συσκευή εκχύλισης Soxhlet (SOXTEC AVANTI 2055), φυσίγγια κυτταρίνης και ποτήρια αλουμινίου τοποθετημένα σε στατό.....σελ. 38
- Εικόνα 11: Αριστερά οι κάψες ή σωλήνες Kjeldahl όπου τοποθετείται το δείγμα προς ανάλυση και δεξιά η συσκευή Foss – Kjelttec 8400.....σελ. 42
- Εικόνα 12: Έντυπο οργανοληπτικού ελέγχου.....σελ. 44

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. Γενικά στοιχεία για τον Τραχανά στην Ελλάδα

Στην Ελλάδα ένα από τα πιο γνωστά αφυδατωμένα γαλακτοκομικά προϊόντα ζύμωσης είναι ο Τραχανάς. Αποτελεί ένα παραδοσιακό προϊόν υψηλής διατροφικής αξίας, εύγεστο και υγιεινό που χρησιμοποιείται με διάφορους τρόπους. Μπορεί να καταναλωθεί φρέσκος πριν τη ξήρανση του ή αφυδατωμένος που είναι και το συνηθέστερο αφού αποτελεί το πρωινό ή το βραδινό κυρίως των αγροτικών οικογενειών ακόμα και το συνοδευτικό πολλών φαγητών. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι έχει θεραπευτικές ιδιότητες σε ορισμένες παθήσεις και δυσλειτουργίες του πεπτικού συστήματος κυρίως των ενηλίκων αλλά και των παιδιών. Τα 60 γραμμάρια Τραχανά ανά γεύμα είναι αρκετά για να επωφεληθεί η υγεία ενός ατόμου. Ο Τραχανάς στο παρελθόν και μέχρι το 1950 παρασκευαζόταν τους καλοκαιρινούς μήνες, όπου όσες αγροτικές οικογένειες μετακινούνταν στις αστικές περιοχές τον αξιοποιούσαν για τις ανάγκες του χειμώνα.

Μετέπειτα, ξεκίνησε μια αλλαγή στις διατροφικές συνήθειες των νέων Ελλήνων όπου περιόρισε την κατανάλωση των παραδοσιακών προϊόντων όπως και τον Τραχανά. Η διαφοροποίηση της Ελληνικής οικογένειας αλλά και γενικότερα όλης της Ελληνικής κοινωνίας με νέα ξενόφερτα πρότυπα του εξωτερικού, η δημιουργία διαφορετικών κοινωνικοοικονομικών συνθηκών αλλά και η ελλιπής ως μηδαμινή ενημέρωση των καταναλωτών για την διατροφική αξία των προϊόντων είναι κάποιοι από τους βασικότερους παράγοντες απαλοιφής βασικών παραδοσιακών συνηθειών της χώρας.

Τα τελευταία χρόνια μεγάλο μέρος του καταναλωτικού κοινού έχει στραφεί στα παραδοσιακά προϊόντα. Όλο αυτό έδωσε την δυνατότητα να μην εξαλειφθεί η παραγωγή Τραχανά όπου οδήγησε στην κατασκευή βιοτεχνικών μονάδων με εκσυγχρονισμένο εξοπλισμό για τις ανάγκες αυτών των καταναλωτών στην επαρχία αλλά και στις αστικές περιοχές. Στην Ελληνική αγορά υπάρχει μεγάλη ποικιλία αφυδατωμένων προϊόντων με την ονομασία Τραχανάς, από γάλα πρόβειο, αίγαιο, αγελαδινό ή μίγματα τους, πλήρες ή άπαχο, ξινό ή γλυκό (στο ξινισμένο συνήθως χρησιμοποιείται γιαούρτι) στα οποία αναμειγνύεται χοντροαλεσμένο σιτάρι (Ξινόχοντρος της Κρήτης), σιμιγδάλι ή αλεύρι. Σε κάποια μέρη υπάρχουν και κάποιες επιπλέον παραλλαγές όπως η προσθήκη αυγών, λαχανικών, μπαχαρικών, βότανα ή φρούτα για την δημιουργία ενός πρωτότυπου προϊόντος με νέες γεύσεις. Τα προϊόντα αυτά, έχουν τις προδιαγραφές στο μέλλον να ενταχθούν στην Ευρωπαϊκή Ένωση ως ΠΟΠ (Προϊόν Ονομασίας Προέλευσης) ή ΠΠΕ (Προϊόν Γεωγραφικής Ένδειξης) αποτελώντας αξιόλογα παραδοσιακά προϊόντα της Ελληνικής παράδοσης (Ανυφαντάκης, 2004).

1.2. Ιστορική αναδρομή

Αποτελούν μια ιδιαίτερη κατηγορία τροφών που καταναλώνεται από τα αρχαία χρόνια σε πολλές περιοχές του κόσμου όπως τα Βαλκάνια, την Μέση Ανατολή, την Αφρική και την Ασία. Προϊόντα τα οποία για να παραχθούν πρέπει το βασικότερο συστατικό τους το γάλα να υποστεί ζύμωση πριν ακολουθήσει η παρασκευή τους (Van Veen & Steinkraous, 1970).

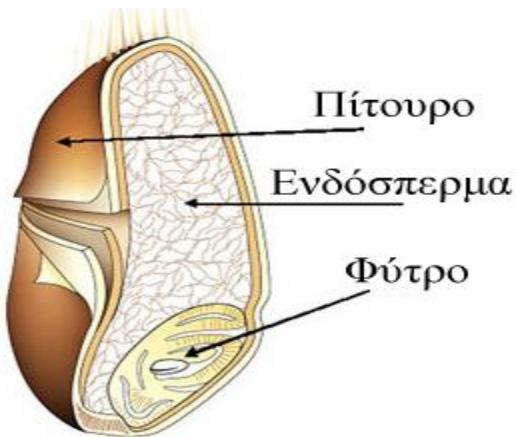
Ο βασικότερος λόγος που παράγονται τα συγκεκριμένα προϊόντα είναι η περίσσεια γάλακτος τους καλοκαιρινούς μήνες όπου το γάλα δεν είναι κατάλληλο για τυροκόμηση. Έτσι, αφού συλλεχθεί το γάλα ακολουθεί ζύμωση και έπειτα, ανάμειξη με σιτηρά και ξήρανση στον ήλιο για να αποκτήσει το τελικό προϊόν μεγαλύτερη διάρκεια ζωής και να αξιοποιηθεί και κατά την χειμερινή περίοδο. Για τους κατοίκους συνδέεται σε μεγάλο βαθμό με τις διατροφικές τους συνήθειες, τα ήθη, τα έθιμα και την ιστορία τους. Από περιοχή σε περιοχή διαφέρουν λόγω διαφορετικών πρώτων υλών, τεχνολογία παρασκευής και ονομασίας κάτι το οποίο έχει δημιουργήσει μεγάλη ποικιλία (Economidou, 1975; Kurmann et al., 1992). Τα πιο γνωστά αφυδατωμένα γαλακτοκομικά προϊόντα ζύμωσης είναι για τους Έλληνες και τους Κύπριους ο Τραχανάς, για τους Ιρακινούς το Kishk και για τους Τούρκους και κάποιους άλλους λαούς ο Ταρχανάς (Tamime & O' Connor, 1995). Να τονιστεί ότι παρόλο που δεν υπάρχουν ακριβή στοιχεία για την παγκόσμια παραγωγή τους, η κατανάλωση αυτών των προϊόντων σε αυτές τις χώρες είναι υψηλή (Economidou, 1975; Kurmann et al., 1992).

Οι βασικές πρώτες ύλες για την παραγωγή αυτών των προϊόντων είναι το γάλα και το σιτάρι ή παράγωγα τους όπου είναι και αυτά που καθορίζουν την χημική σύσταση και την διατροφική τους αξία. Αυτή η κατηγορία τροφίμων έχει παρακινήσει πολλούς επιστήμονες ανά τον κόσμο για περαιτέρω επιστημονικές έρευνες (Van Veen & Steinkraus, 1970 ; Economidou 1975 ; Steinkraus 1983 ; El Gendy, 1986; Jandal, 1989 ; Tammime & O' Connor, 1995).

1.3. Οι βασικές πρώτες ύλες του Τραχανά

1.3.1. Σιτάρι

Το σιτάρι (*Triticum*) αποτελεί ένα από τα βασικότερα αγαθά του ανθρώπου από τα αρχαία χρόνια και συγκριτικά με τα υπόλοιπα σιτηρά (καλαμπόκι, ρύζι, βρώμη κτλπ.), καλλιεργείται σε μεγαλύτερη κλίμακα παγκοσμίως και αποτελεί βασικό αγαθό της διατροφής για το μεγαλύτερο μέρος του πληθυσμού της γης. Προϊστορικά, πολύ πιθανόν στο 10.000 – 15.000 π.Χ. πρέπει να καλλιεργήθηκε για πρώτη φορά σε χώρες της Ν. Ασίας (Συρία, Παλαιστίνη, Μεσοποταμία και Αφγανιστάν).



Το σιτάρι από μορφολογικής άποψης διακρίνεται σε τρία βασικά μέρη. Το περικάλυμμα, το φύτρο και το ενδοσπέρμιο. Το περικάλυμμα αποτελεί το τμήμα του σιταριού που λειτουργεί κυρίως προστατευτικά για το κόκκο του δημητριακού και δημιουργεί συνθήκες ευνοϊκές για την ανάπτυξη του. Στο εσωτερικό του κόκκου υπάρχει το φύτρο και κάποιες ποσότητες θρεπτικών συστατικών που είναι απαραίτητες για την βλάστηση του (Κεφαλάς, 2009).

Εικόνα 1: Βασικά μέρη κόκκου σιταριού. <https://www.kountaxis.com/single>

Το περικάλυμμα είναι το περίβλημα του κόκκου και αποτελεί το 13-15% του σιταριού όπου κατά την άλεση του παρασκευάζεται το λεγόμενο πίτουρο (Βαρζάκας, 2012). Διακρίνεται σε τρία βασικά μέρη με σειρά από έξω προς τα μέσα, το περικάρπιο, το επισπέρμιο και η στοιβάδα αλευρόνης η οποία παρατηρείται εύκολα από το μικροσκόπιο χάρις τα μεγάλα κύτταρα που διαθέτει (Κεφαλάς, 2009).

Το φύτρο ή έμβρυο αποτελεί το 1,5-3 % του δημητριακού και είναι αυτό που επιφέρει την βλάστηση του νέου φυτού. Από τον υπόλοιπο καρπό χωρίζεται με μια μεμβράνη, το ασπίδιο. Στο φύτρο και στο ασπίδιο βρίσκονται τα απαραίτητα ένζυμα που απαιτούνται για την αναπαραγωγή του νέου φυτού. Επίσης, στο έμβρυο βρίσκεται η μεγαλύτερη ποσότητα ελαίου του καρπού και κάποιες λιποδιαλυτές βιταμίνες όπως η βιταμίνη E. Κατά την άλεση το φύτρο αποχωρίζεται το υπόλοιπο κόκκο και προορίζεται μαζί με το πίτουρο για ζωοτροφές. Παρά την σημαντική περιεκτικότητα του σε βιταμίνες και θρεπτικά συστατικά το φύτρο κατά την άλεση οι κυτταρικές του μεμβράνες σπάνε και διαχέεται το έλαιο και τα ένζυμα του τα οποία υδρολύουν ή οξειδώνουν την πρώτη ύλη, υποβαθμίζοντας την πρώτη ύλη (Κεφαλάς, 2009).

Το ενδοσπέρμιο είναι το εσωτερικό του κόκκου που βρίσκεται κάτω από την στοιβάδα της αλευρόνης και διαθέτει και το ασπίδιο. Σύμφωνα με ισχυρισμούς κάποιων βοτανολόγων, στο ενδοσπέρμιο περιλαμβάνεται και η στοιβάδα αλευρόνης παρόλα αυτά όμως, έχει επικρατήσει ότι το ενδοσπέρμιο αποτελείται μόνο από το αμυλώδες περιεχόμενο (*starchy endosperm*). Αυτό συμβαίνει επειδή, κατά την αλευροποίηση η στοιβάδα αλευρόνης κατατάσσεται στο πίτουρο και το αμυλώδες ενδοσπέρμιο στο αλεύρι και το σιμιγδάλι. Σε αυτό το τμήμα να επισημανθεί ότι, περιέχεται η μεγαλύτερη ποσότητα αμύλου του κόκκου και πρωτεΐνες που αποτελούν βασικά συστατικά για την βλάστηση του εμβρύου. Επίσης, περιέχει και την πρωτεΐνη γλουτένη (85% της συνολικής πρωτεΐνης του ενδοσπερμίου)

η οποία συνδέεται με το άμυλο και είναι αυτή που παρέχει στο αλεύρι της αρτοποιητικές ικανότητες. Τα υπόλοιπα στοιχεία βρίσκονται σε μικρές ποσότητες όπως το λίπος, ένζυμα, ανόργανα άλατα, πεντοζάνες και απλά σάκχαρα (Κεφαλάς, 2009).

Πίνακας 1: Χημική σύσταση των τμημάτων του σιταριού (%) (Καραμάνος, 1992).

Συστατικά	Σύνολο καρπού	Ενδοσπέρμιο	Έμβρυο	Περιβλήματα
Άμυλο	63-71	71	14	8,6
Πρωτεΐνες	9,0 -15,0	9,6	28,5	14,4
Λίπος	1,5 -2,0	1,4	10,4	4,7
Διαλυτά σάκχαρα	2,0-3,0	1,1	16,2	4,8
Τέφρα	1,5 -2,0	0,7	4,5	6,3
Κυτταρίνες	2,0-2,5	0,2	7,5	21,4
Ημικυτταρίνες	2,5 -3,0	1,8	6,8	26,2

1.3.1.1. Άλεση σιταριού

Ο διαχωρισμός των τριών τμημάτων του σιταριού από τεχνολογικής άποψης αποτελεί μια αρκετά δύσκολη και περίπλοκη διαδικασία. Για να ξεκινήσει η διαδικασία αλευροποίησης του σιταριού πρέπει να διαχωριστεί από το καρπό το εξωτερικό περίβλημα, το φύτρο και η στοιβάδα αλευρόνης κάτι το οποίο καθίσταται αρκετά δύσκολο λόγω της μορφολογίας του σιταριού. Ο αύλακας του σπόρου και η ανισότητα μεγέθους των κυττάρων της στοιβάδας αλευρόνης δυσκολεύει την αποφλοιώση του σιταριού. Αφού πραγματοποιηθεί ο διαχωρισμός των τμημάτων και η ταξινόμηση του με βάση το μέγεθος τότε ακολουθεί και η διαδικασία της διάσπασης του καρπού (Belitz et al., 2004).

Το πρώτο βήμα της άλεσης είναι η απομάκρυνση των ακαθαρσιών από τους σπόρους που εξαρτάται από το μέγεθος και το ειδικό βάρος του σιταριού. Έπειτα, ακολουθεί η διαδικασία του «κοντισιοναρίσματος» δηλαδή, εμποτισμού των σπόρων με νερό και παράλληλα θέρμανση για την διευκόλυνση της απορρόφησης του νερού στο εσωτερικό του κόκκου. Αυτή η διεργασία έχει ως αποτέλεσμα το διαχωρισμό του πτύρου από το ενδοσπέρμιο. Το πτύρο γίνεται πολύ σκληρό και δεν μπορεί να αλεσθεί και από την άλλη, στο ενδοσπέρμιο ελαττώνεται η σκληρότητα του και διευκολύνεται η άλεση του. Τα επιτρεπτά επίπεδα υγρασίας αποτελούν κρίσιμο σημείο για την αλευροποίηση του σπόρου. Τα υψηλά ποσοστά υγρασίας επηρεάζουν την θερμική επεξεργασία και αποτρέπουν τον διαχωρισμό του εμβρύου από το ενδοσπέρμιο αλλά και την διαδικασία του κοσκινίσματος. Από την άλλη, τα χαμηλά ποσοστά υγρασίας αλέθουν και τα δύο μέρη αποτρέποντας την δημιουργία αλεύρου

μόνο απο ενδοσπέρμιο. Ο τύπος του σιταριού επίσης καθιστά βασικό κριτήριο για τα κατάλληλα επίπεδα υγρασίας καθώς, το μαλακό σιτάρι απαιτεί χαμηλά επίπεδα υγρασίας σε σχέση με το σκληρό.

Στο επόμενο βήμα, οι κόκκοι για να αλεσθούν περνάνε από κύλινδρους, όπου σε κάθε πέρασμα μειώνει το μέγεθος τους μέσω της πίεσης και των διατμητικών δυνάμεων και έπειτα με το κοσκίνισμα διαχωρίζεται το αλεύρι ανάλογα με το μέγεθος των σωματιδίων. Παλαιότερα, για την αλευροποίηση των σιταριών χρησιμοποιούνταν μυλόπετρες (*ginding stones*), πλέον έχουν αντικατασταθεί με σύγχρονους σιδερένιους κύλινδρους (*iron rollers*) που ρυθμίζονται ανάλογα με τα χαρακτηριστικά του τελικού προϊόντος. Κάποιες από τις ρυθμιστικές ικανότητες των κυλίνδρων είναι το μέγεθος των κυλίνδρων, οι αύλακες που έχουν στην επιφάνεια, η ταχύτητα περιστροφής και το διάκενο μεταξύ των κυλίνδρων που κινούνται με αντίθετη φορά και διαφορετικές ταχύτητες (Dexter & Sarkar , 2004 , Posner & Hibbs , 2005).

Τέλος, ο διαχωρισμός ολοκληρώνεται σύμφωνα με το μέγεθος ή την διάμετρο των σωματιδίων. Το αλεύρι που έχει διαχωριστεί με άλλη μέθοδο αποδίδει πρώτη ύλη με διαφορετικές αρτοποιητικές ικανότητες, όπου σε αυτήν την διαφοροποίηση εξαρτάται ακόμα και η καλλιεργούμενη ποικιλία. Επίσης, η ποιότητα βασίζεται και στο εάν αλέσθηκε το εσωτερικό ή το εξωτερικό τμήμα του ενδοσπερμίου του κόκκου. Επιπλέον, να επισημανθεί ότι με αύξηση του βαθμού άλεσης μειώνεται το ποσοστό του αμύλου και αυξάνονται τα ποσοστά των συστατικών που υπάρχουν στο φλοιό όπως ανόργανα συστατικά, αδιάλυτες ίνες, βιταμίνες (Belitz et al., 2004).

1.3.2. Γάλα

Σύμφωνα με τον Κώδικα Τροφίμων και Ποτών του Γενικού Χημείου του Κράτους, ως νωπό γάλα νοείται «το γάλα που εκκρίνεται από τους μαστικούς αδένες μιας ή περισσότερων αγελάδων, προβατίνων, αιγών ή βουβάλων, το οποίο δεν έχει θερμανθεί πέραν των 40 °C, ούτε έχει υποβληθεί σε επεξεργασία με ισοδύναμο αποτέλεσμα». Αντίστοιχα, ως γάλα που προορίζεται για την παρασκευή προϊόντων με βάση το γάλα νοείται «είτε το νωπό γάλα που προορίζεται για μεταποίηση, είτε το υγρό ή κατεψυγμένο γάλα, που λαμβάνεται από νωπό γάλα, το οποίο έχει ή δεν έχει υποστεί επιτρεπόμενη φυσική επεξεργασία, όπως θερμική επεξεργασία ή θέρμισμα, και του οποίου έχει ή δεν έχει τροποποιηθεί η σύνθεση, εφόσον οι εν λόγω τροποποιήσεις περιορίζονται στην προσθήκη ή και την αφαίρεση φυσικών συστατικών του γάλακτος» (Μασούρας, 2015). Ο όρος «γάλα» απλά, χωρίς να συνοδεύεται από κάποιο επίθετο, αντιστοιχεί αποκλειστικά και μόνο σε γάλα, το οποίο: α) Προέρχεται από αγελάδα. β) Είναι νωπό. γ) Είναι πλήρες. δ) Δεν έχει υποστεί αφυδάτωση ή συμπύκνωση. ε) Δεν περιέχει άλλες ύλες που έχουν προστεθεί από έξω. Με ένα από τους όρους «Κατσίκας», «Προβάτου», «Βουβάλου» ή «Ανάμικτο

Προβάτου - Κατσίκας», εφόσον δεν προέρχεται από αγελάδα (Κώδικας Τροφίμων και Ποτών, 2016). Τα κύρια χαρακτηριστικά του γάλακτος είναι το νερό, το λίπος, η λακτόζη, οι πρωτεΐνες (καζεΐνες και πρωτεΐνες του ορού) και τα ανόργανα στοιχεία και το Συνολικό Υπόλοιπο Άνευ Λίπους (Σ.Υ.Α.Λ.). Ανάλογα από το είδος ζώου, από το οποίο προέρχεται το γάλα, η σύστασή του διαφοροποιείται.

Πίνακας 2: % Σύσταση διαφορετικών ειδών γάλακτος (ΚΤΠ, 2016).

Είδος γάλακτος	Λίπος	Πρωτεΐνες	Λακτόζη	Σ.Υ.Α.Λ.*	Ανόργανα και Δευτερεύοντα συστατικά
Αγελαδινό	3,95	3,29	4,82	8,82	0,71
Πρόβειο	6,64	5,68	4,77	11,18	0,73
Αίγιο	4,71	3,73	4,48	9,05	0,84

* Σ.Υ.Α.Λ. : Συνολικό Υπόλοιπο Άνευ Λίπους

1.3.2.1. Ζυμωμένα προϊόντα γάλακτος

Ζυμωμένα προϊόντα γάλακτος ‘fermented milks’, νοούνται τα τρόφιμα που με την παρουσία ορισμένων μικροοργανισμών προάγεται η γαλακτική ζύμωση ή η αλκοολική και οξυγαλακτική ζύμωση, όπου παράγεται μια μεγάλη κατηγορία προϊόντων (Καμιναρίδης και Μοάτσου, 2009). Να τονιστεί ότι, δημοφιλέστερο από όλα σύμφωνα με την παγκόσμια κατανάλωση είναι το γιαούρτι και ακολουθούν προϊόντα όπως το κεφίρ, το κούμης, το βουτυρόγαλα, το αιράνι και διάφορα άλλα (Hashemi et al., 2015).



Εικόνα 2: Προϊόντα με βάση το γάλα.

<https://www.minimarketmag.gr/milk/>

1.3.2.2.Γιαούρτι

Με βάση την Εθνική Νομοθεσία :

1. «Γιαούρτι» χαρακτηρίζεται το γαλακτοκομικό προϊόν που παράγεται από τη ζύμωση και πήξη του γάλακτος, με τη χρήση υποχρεωτικά των καλλιεργειών - εκκινητών *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* και *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, ώστε το τελικό ζυμωμένο προϊόν να περιέχει τουλάχιστον 10^7 cfu/g προϊόντος μέχρι την ημερομηνία ανάλωσής του (ΑΧΣ 106/2016).
2. Ως πρώτη ύλη του γιαουρτιού χρησιμοποιείται το γάλα όπως αυτό ορίζεται στον Κανονισμό (ΕΚ) 1308/2013 (Παράρτημα VII, Μέρος III, παράγραφος 1).
3. Δεν επιτρέπεται η χρήση ολικά αφυδατωμένου γάλακτος ή παραγώγων του γάλακτος σε μορφή σκόνης με εξαίρεση την περίπτωση της παρ. 5, σημ. β.
4. Η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη στο γιαούρτι από αγελαδινό ή αίγαιο γάλα πρέπει να είναι τουλάχιστον 3,2% και από πρόβειο γάλα τουλάχιστον 5,5%. Σε περίπτωση χρήσης μιγμάτων γάλακτος η ελάχιστη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη υπολογίζεται από την αναλογία των ειδών του γάλακτος.
5. Κατά την παρασκευή του γιαουρτιού, πέραν της πρώτης ύλης, επιτρέπεται μόνο: α) η προσθήκη κρέμας γάλακτος για τη ρύθμιση της περιεκτικότητας σε λιπαρές ουσίες β) η προσθήκη πρωτεϊνών γάλακτος για τεχνολογικούς λόγους ρύθμισης του Στερεού Υπολείμματος Άνευ Λίπους (ΣΥΑΛ), του ίδιου είδους ζώου, υπό την προϋπόθεση ότι η αύξηση του ΣΥΑΛ στο γιαούρτι δε θα ξεπερνά το ΣΥΑΛ του γάλακτος που χρησιμοποιήθηκε, όπως ορίζεται στο άρθρο 80, παρ. 3 του Κ.Τ.Π., κατά 4 μονάδες.
6. Στην περίπτωση που χρησιμοποιηθούν για τη ζύμωση και άλλοι μικροοργανισμοί επιπλέον της χαρακτηριστικής καλλιέργειας του γιαουρτιού της παρ. 1, αναγράφονται στην επισήμανση υπό την προϋπόθεση ότι ο πληθυσμός τους θα είναι τουλάχιστον 10^6 cfu/gr προϊόντος κατά την ημερομηνία ανάλωσης.
7. «Στραγγιστό γιαούρτι» χαρακτηρίζεται το προϊόν που λαμβάνεται από το γιαούρτι μετά από αποστράγγιση μέρους του ορού μετά την πήξη και έχει κατ' ελάχιστο 5,6% πρωτεΐνες για το αγελαδινό ή γίδινο γάλα και 8% για το πρόβειο γάλα. Σε περίπτωση μιγμάτων διαφόρων ειδών γάλακτος η ελάχιστη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες υπολογίζεται με βάση την αναλογία των ειδών γάλακτος.
8. «Παραδοσιακό» είναι το γιαούρτι που πληροί τις παρακάτω προδιαγραφές: α) Παρασκευάζεται με την παραδοσιακή μέθοδο ώστε να φέρει υμένα (πέτσα) στην επιφάνειά του. β) Προκύπτει από την πήξη αποκλειστικά νωπού ή παστεριωμένου γάλακτος που δεν έχει υποστεί τροποποίηση της φυσικής του σύνθεσης με μόνη εξαίρεση τη ρύθμιση της λιποπεριεκτικότητας, έως του σημείου που είναι τεχνικά επιτεύξιμη η δημιουργία υμένα.
9. α) Η επισήμανση του γιαουρτιού εν γένει πρέπει να περιλαμβάνει όλες τις υποχρεωτικές ενδείξεις που προβλέπονται από τις σχετικές διατάξεις του Κανονισμού (ΕΕ) 1169/2011. β) Επιπλέον των απαιτήσεων

του Κανονισμού (ΕΕ) 1169/2011, πρέπει να δίνονται οι εξής πληροφορίες, το είδος του ζώου από το οποίο προέρχεται το γάλα και στην περίπτωση χρήσης μειγμάτων γάλακτος διαφόρων ειδών ζώων αναφέρεται και η ποσοστιαία αναλογία κάθε είδους. Οι ενδείξεις αυτές συνοδεύουν την ονομασία πώλησης του προϊόντος. Ωστόσο η πληροφορία για την ποσοστιαία αναλογία των διαφορετικών ειδών γάλακτος μπορεί εναλλακτικά να περιλαμβάνεται στον κατάλογο συστατικών, εφόσον αυτός υπάρχει. ii. Στο ίδιο οπτικό πεδίο με την ονομασία πώλησης, βάσει των προβλεπομένων στην παρ. 1β του Μέρους III του Παραρτήματος VII του Καν. (ΕΕ) 1308/2013, στην περίπτωση εκτός του νωπού, η περιγραφή της φυσικής επεξεργασίας της βασικής πρώτης ύλης γάλακτος, η οποία ανάγεται σε ισοδύναμο γάλακτος. Ωστόσο η πληροφορία αυτή μπορεί εναλλακτικά να περιλαμβάνεται στον κατάλογο συστατικών, εφόσον αυτός υπάρχει. iii. Στο ίδιο οπτικό πεδίο με την ονομασία πώλησης, το επί τοις εκατό (%) ποσοστό της περιεκτικότητας σε λιπαρές ουσίες του έτοιμου προϊόντος. Οι ανωτέρω ενδείξεις θα πρέπει να αναγράφονται κατά τρόπο ώστε να είναι ευανάγνωστες και ανεξίτηλες.

10. Οι διατάξεις του παρόντος άρθρου αφορούν στα προϊόντα που παράγονται στην Ελλάδα, ενώ κάθε προϊόν το οποίο έχει παρασκευαστεί ή/και διατεθεί νομίμως στο εμπόριο σε άλλα κράτη μέλη της ΕΕ ή σε κράτος μέλος της ΕΖΕΣ που είναι συμβαλλόμενο μέρος της συνθήκης του ΕΟΧ ή στην Τουρκία, μπορεί να διατίθεται στην αγορά στην Ελλάδα, όταν έχει παρασκευασθεί σύμφωνα με πρότυπα, προδιαγραφές ή και διαδικασίες παρασκευής και δοκιμών, που αποδεδειγμένα εγγυώνται ισοδύναμο επίπεδο ποιότητας και ασφάλειας με τις απαιτήσεις του παρόντος τεχνικού κανονισμού για την προστασία της ανθρώπινης υγείας, ασφάλειας, των συμφερόντων του καταναλωτή και του περιβάλλοντος (ΚΤΠ, 2016).

1.4. Οξυγαλακτικά βακτήρια

Τα οξυγαλακτικά βακτήρια (Lactic Acid Bacteria: LAB) είναι προκαρυωτικά, ετερότροφα τα οποία έχουν πάρει το όνομα τους από το βασικό προϊόν που παράγεται κατά την ζύμωση της λακτόζης, το γαλακτικό οξύ (lactic acid). Υπάρχουν πολλά γένη βακτηρίων που ζυμώνουν την λακτόζη αλλά αυτά που κατατάσσονται στην κατηγορία των LAB είναι τα γένη *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Oenococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Weissella* και *Aerococcus* (Todar 2004 ;Fröhlich and König, 2009). Το μέγεθός τους κυμαίνεται από 30-100nm και διαθέτουν παχύ στρώμα πεπτιδογλυκάνης (Θετικά στην χρώση Gram+). Σχετικά με την παραγωγή ενέργειας στα LAB, δεν διαθέτουν την ικανότητα εφαρμογής του κύκλου του Krebs, δηλαδή δεν μπορούν να πραγματοποιήσουν αντιδράσεις οξειδωτικής φορφορυλίωσης. Ενέργεια παράγουν μόνο με την βοήθεια του μηχανισμού φορφορυλίωσης του υποστρώματος, όπου οι βιοσυνθετικές τους ικανότητες είναι ελάχιστες και οι διατροφικές τους ανάγκες βασίζονται κυρίως σε διάφορα αμινοξέα,

βιταμίνες, πουρίνες, πυριμιδίνες και κάποια πεπτίδια (Fröhlich and König, 2009). Το μεγαλύτερο όφελος των LAB στον άνθρωπο είναι ότι αποτελούν εναρκτήριοιες καλλιέργειες για την ανάπτυξη ζυμωμένων προϊόντων από βασικές πρώτες ύλες για την ανθρώπινη διατροφή όπως το γάλα, το κρέας, λαχανικά και δημητριακά. Η ικανότητά τους να παράγουν κατά την ζύμωση των πρώτων υλών προϊόντα όπως γαλακτικό οξύ, οξικό οξύ, αλκοόλη, βακτηριοσινών, CO₂, H₂O₂ κ.α. οδηγούν στην βελτιστοποίηση της θρεπτικής αξίας, αύξηση της διάρκειας ζωής του τροφίμου, παρεμπόδιση της ανάπτυξης παθογόνων και αλλοιογόνων μικροοργανισμών, τροποποίηση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών με βάση της απαιτήσεις του καταναλωτικού κοινού και αύξηση της οικονομικής αξίας του ζυμωμένου προϊόντος (Todar 2004 ; Fröhlich and König, 2009).

1.4.1. Ιστορική αναδρομή οξυγαλακτικών βακτηρίων

Τα οξυγαλακτικά βακτήρια από τα αρχαία χρόνια (3200-3000 π. Χ.) είχαν ξεκινήσει να σχετίζονται με την διατροφή των ανθρώπων. Η πρώτη έρευνα εμφανίστηκε το 1857 από τον Luis Pasteur. Το 1873 από το Lister πραγματοποιήθηκε η πρώτη απομόνωση καθαρής καλλιέργειας του *Bacterium lactis*. Το 1890 στην Κοπεγχάγη ο Weigmann ήταν αυτός που επιχείρησε την χρησιμοποίηση καλλιέργειας εκκίνησης για την παρασκευή τυριού όπου αποτέλεσε την είσοδο στην επιλογή καλλιεργείων στην παραγωγή ζυμωμένων προϊόντων στον κλάδο της Βιομηχανίας Τροφίμων. Το 1900 έγινε η έναρξη της κατηγοριοποίησης των οξυγαλακτικών βακτηρίων ως μια ομάδα μικροοργανισμών με συγκεκριμένες ιδιότητες στον τομέα των τροφίμων (Ζουμποπούλου, 2008 ; Fröhlich and König, 2009).

1.4.2. *Streptococcus*

Το γένος *Streptococcus* περιλαμβάνει πολλά διαφορετικά είδη βακτηρίων. Μορφολογικά το συγκεκριμένο γένος διαθέτει σφαιρικά ή ωοειδή κύτταρα θετικά κατά Gram με διάμετρο μικρότερη από 2 μm. Βρίσκονται σε ζεύγη ή αλυσίδες και δεν διαθέτουν την ικανότητα κίνησης παρά μόνο σε κάποιες σπάνιες περιπτώσεις. Στο συγκεκριμένο γένος συγκαταλέγονται τα παθογόνα του στόματος και του εντερικού συστήματος του ανθρώπου και των ζώων και για την παραγωγή ζυμωμένων τροφίμων μόνο το *Streptococcus thermophilus*, το οποίο αποτελεί ένα από τα βασικότερα στελέχη στην Βιομηχανία των Τροφίμων (Hutkins, 2006).

1.4.2.1. *Streptococcus thermophilus*

Στην παρούσα μελέτη το είδος που μελετήθηκε από το γένος *Streptococcus* είναι ο *Streptococcus thermophilus* ACA -DC 4. Είναι ένα είδος σφαιρικό με διάμετρο 0,7-0,9 μm και παρουσιάζεται σε ζεύγη ή αλυσίδες. Ανήκουν στην κατηγορία των ομοζυμωτικών, προαιρετικά αναερόβιων, έχουν υψηλές

απαιτήσεις σε θρεπτικά συστατικά και σχηματίζουν L-(+) γαλακτικό οξύ (Καραγεώργης, 2004). Η βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης είναι η 37° C, η ελάχιστη 19 -21°C και η μέγιστη 52 °C (Vedamunthu, 2006). Επίσης, ζυμώνει περιορισμένο αριθμό σακχάρων όπως της φρουκτόζης, της λακτόζης, της σακχαρόζης και της γλυκόζης αλλά κατά το μεταβολισμό της λακτόζης δεν υδρολύει την γαλακτόζη. Δεν διαθέτει την ικανότητα υδρόλυσης της αργινίνης. Επιπλέον, είναι αρκετά ευαίσθητος σε αντιβιοτικά και απολυμαντικά και έχει χαμηλή πρωτεολυτική δράση. Να τονιστεί ότι είναι ο μοναδικός στρεπτόκοκκος που δεν περιέχει ειδική ομάδα αντιγόνου (J Harnett New Zealand 2011). Κάποια επιπροσθετα ενδιαφέρον χαρακτηριστικά για το συγκεκριμένο είδος είναι ότι μπορεί να αναπτυχθεί σε ζυμό γλυκόζης με 2,5 % αλάτι αλλά όχι $\geq 4\%$, δεν αναπτύσσεται σε pH 9,6 ή σε γάλα με 0,3 % μπλέ του μεθυλενίου, μπορεί να επιβιώσει σε θερμοκρασία 60 °C για 30 min, δεν ρευστοποιεί την ζελατίνη και δεν αποικοδομεί την καζεΐνη (Μπαλατσούρας Γ., Αθήνα 2006).

1.4.3. *Lactobacillus*

Το γένος *Lactobacillus* ανήκει στα θετικά κατά Gram βακτήρια (σε γηρασμένες καλλιέργειες μπορεί να παρουσιαστούν και αρνητικά κατά Gram) που διαθέτουν μακριά και λεπτά ραβδόμορφα κύτταρα, ελαφρώς καμπυλόμορφα και σε κάποιες περιπτώσεις δημιουργούν σχήμα κοκκοβάκιλλου. Δημιουργούν αλυσίδες μεταξύ τους κυρίως στο τέλος της λογαριθμικής φάσης τους και δεν διαθέτουν την ικανότητα κίνησης παρά μόνο κάποια στελέχη που διαθέτουν τριχοειδή βλεφαρίδες. Αναπτύσσεται σε θερμοκρασίες από 2 °C έως 53 °C με βέλτιστη 30-40 °C. Αρνητικά στην καταλάση και σπάνια παράγουν χρωστικές οι οποίες είναι είτε κίτρινες , είτε πορτοκαλί ή κόκκινο κεραμιδί. Δεν ρευστοποιούν την ζελατίνη, δεν ανάγουν τα νιτρικά άλατα, δεν παράγουν ινδόλη ούτε υδρόθειο, έχουν αυξημένες θρεπτικές απαιτήσεις για την ανάπτυξη τους (αμινοξέα, πεπτίδια, βιταμίνες, άλατα κ.α.) (Μπαλατσούρας Γ. Αθήνα, 2006). Επίσης, είναι ανθεκτικοί σε pH ακόμα και κάτω από 4,5. Το γένος περιλαμβάνει 64 είδη και η πρώτη ταξινόμηση πραγματοποιήθηκε το 1919 από τον Orla-Jense κατηγοριοποιώντας τα σε τρεις ομάδες: *Thermobacterium*, *Streptobacterium* και *Betabacterium*. Όσον αφορά το μεταβολικό μονοπάτι ομαδοποιούνται σε τρεις κατηγορίες ανάλογα με το μεταβολισμό των σακχάρων. Στην 1η ομάδα κατατάσσονται τα είδη που είναι υποχρεωτικά ομοιοζυμωτικά και μεταβολίζουν τις εξόζες προς γαλακτικό οξύ ενώ δεν ζυμώνουν τις πεντόζες. Στην 2η ομάδα ανήκουν τα είδη που είναι προαιρετικά ομοιοζυμωτικά και μεταβολίζουν τις εξόζες, αλλά σε ανεπάρκεια γλυκόζης ακολουθούν ετεροζυμωτική διαδικασία δηλαδή ζυμώνουν τις πεντόζες προς γαλακτικό οξύ, οξικό οξύ, αιθανόλη και CO₂ . Στην 3η ομάδα υπάγονται οι υποχρεωτικά ετεροζυμωτικοί λακτοβάκιλλοι και μεταβολίζουν τις εξόζες προς γαλακτικό οξύ, αιθανόλη και CO₂. (Καραγεώργης 2004).

1.4.3.1. Είδος *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*

Το είδος *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* αναγνωρίστηκε το 1905 από το Βούλγαρο γιατρό Stamen Grigorov το οποίο απομόνωσε από γιαούρτι. Βρίσκεται στο γαστρεντερικό σωλήνα των θηλαστικών της περιοχής Shopluk της Βαλκανικής χερσονήσου, κάποιο στέλεχος έχει εμφανιστεί επίσης στα φύλλα του *Galanthu nivalis*. Στις περισσότερες χώρες αναπτύσσεται τεχνητά (Michaylova, M. et al. 2007). Είναι θετικό κατά Gram βακτήριο, ραβδόμορφο, χωρίς ικανότητα κίνησης, μη σποριογόνο, μη παθογόνο, οξέοφιλο (5,4 -4,6 pH), αναερόβιο και ομοζυμωτικό παράγοντας μέσω του καταβολισμού υδατανθράκων ως κύριο προϊόν γαλακτικό οξύ. Βέλτιστες συνθήκες ανάπτυξης αποτελούν οι αναερόβιες συνθήκες στους 40-44 °C θερμοκρασία και πολύπλοκες διατροφικές απαιτήσεις κυρίως από αμινοξέα, βιταμίνες, ακόρεστα λιπαρά οξέα και υδατάνθρακες. Αποτελεί οξυγαλακτικό βακτήριο με προβιοτικές ιδιότητες και παίζει καθοριστικό ρόλο στην παραγωγή γιαουρτιού και στην ωρίμανση κάποιων τυριών (He, Chen et al. 2017 ; Milena A. S. & Foligni Roberta, 2018).

1.4.3.2. Είδος *Lactobacillus fermentum*

Ο *Lactobacillus fermentum* αποτελεί έναν προβιοτικό μικροοργανισμό που έχει απομονωθεί από φυτικά προϊόντα ζύμωσης, προζύμι, γαλακτοκομικά προϊόντα και τα κόπρανα και το στομάχι ανθρώπου (Dellaglio, 2014). Το συγκεκριμένο βακτήριο ανήκει στο γένος *Lactobacillus* και πρόσφατα έχει κατηγοριοποιηθεί σε *Limosilactobacillus* (Zheng et al., 2020; Naghmouchi et al., 2020). Σύμφωνα με μελέτες που πραγματοποιήθηκαν *in vitro* ένας σημαντικός αριθμός στελεχών του *Lactobacillus fermentum* που απομονώθηκαν από γαλακτοκομικά προϊόντα, παρουσίασαν προβιοτικές ιδιότητες οι οποίες καθιστούν τα στελέχη σε μεγάλο βαθμό κατάλληλα για την χρησιμοποίησή τους στην παρασκευή λειτουργικών τροφίμων. Εμφανίστηκαν διάφορες ανταγωνιστικές ιδιότητες έναντι βακτηριακών παθογόνων του εντέρου, ικανότητες αυτοσυσσωμάτωσης αλλά και συσσωμάτωσης σε εντερικά παθογόνα. Επιπλέον, διαθέτουν ανοχή σε όξινες συνθήκες, προσομοίωση της ανοχής στο γαστρεντερικό υγρό, ανεχτικότητα σε χολικά άλατα. Και φυσικά κάποια στελέχη παρουσίασαν αρκετά σημαντική αντιμικροβιακή δράση και άλλες ιδιαίτερες ιδιότητες συσσωμάτωσης. Παρ'όλα αυτά, απαιτούνται περαιτέρω μελέτες σε *in vivo* επίπεδο για την διερεύνηση περισσότερων ιδιοτήτων και την αποσαφήνιση των παρόντων στοιχείων. Επίσης, η δυνατότητα τους να παράγουν αντιμικροβιακά πεπτίδια τα καθιστά κατάλληλα για την χρησιμοποίησή τους στην βιομηχανία ως συντηρητικά τροφίμων ή εναλλακτικά των αντιβιοτικών (Naghmouchi et al., 2020; de Souza et al., 2019; Bao et al., 2010).

Το στέλεχος *Lactobacillus fermentum* ACA- DC 179 είναι ένα δυνητικά προβιοτικό βακτήριο με αντιμικροβιακές δυνατότητες που απομονώθηκε με την μέθοδο της SDS-PAGE ολικών πρωτεϊνών

και αλληλούχηση του γονιδίου 16S rRNA από τυρί κασέρι στην Λάρισα και ανήκει στην συλλογή ACA – DC (Εργαστηρίου Γαλακτοκομίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών) είναι αυτό που χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή του προβιοτικού Τραχανά της παρούσας μελέτης. Για τις αναλύσεις, από την κατεψυγμένη μορφή αναζωογονήθηκε μέσω της καλλιέργειας του σε ζωμό MRS broth 1% (v/v) εμβόλιο στους 30-37 °C για 18 h (Zoumporoulou et al., 2021; Zoumporoulou et al. 2010; Zoumporoulou et al., 2008).

1.5. Προβιοτικά βακτήρια

Σύμφωνα με το Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (WHO) και τον Οργανισμό Τροφίμων και Γεωργίας των Ηνωμένων Εθνών (FAO) προβιοτικά ορίζονται, οι ζωντανοί μικροοργανισμοί (βακτήρια ή ζύμες) οι οποίοι είτε κατά την κατάποση είτε κατά την εφαρμογή τους σε τοπικό επίπεδο σε επαρκή ποσότητα παρέχουν ένα ή περισσότερα οφέλη στην υγεία του υποδοχέα “Live microorganisms (bacteria or yeasts), which when ingested or locally applied in sufficient numbers confer one or more specified demonstrated health benefits for the host “ (FAO/ WHO, 2001). Τα προβιοτικά στελέχη τα οποία πληρούν τα κλινικά κριτήρια των επιστημονικών αρχών είναι λίγα. Τα βασικότερα γένη με προβιοτικές ιδιότητες είναι το *Lactobacillus* και *Bifidobacterium* (Mercenier et al. 2003, Seth and Maulik 2011).

1.5.1. Τρόποι δράσεις προβιοτικών

Τα προβιοτικά στελέχη, για τον ανθρώπινο οργανισμό με βάση τους ισχυρισμούς, πρέπει να καταναλώνονται μέσω της διατροφής σε ποσότητες $10^6 - 10^7$ cfu/g προϊόντος ανά ημέρα έτσι ώστε σε βάθος χρόνου να παρουσιάσουν κάποιες από τις ευεργετικές τους ιδιότητες (Rasic, 1978). Οι κυριότερες δράσεις που μπορούν να παρουσιαστούν από αυτούς τους μικροοργανισμούς είναι η ρύθμιση της διατήρησης της εντερικής μικροχλωρίδας σε φυσιολογικά επίπεδα, δημιουργώντας ένα περιβάλλον κατάλληλο για την παρεμπόδιση των παθογόνων μικροοργανισμών του γαστρεντερικού συστήματος και η ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος μέσω της βελτίωσης του αμυντικού μηχανισμού του εντέρου και καταπολέμησης των φλεγμονών (Isolauri et al. 1991 ;Gilliland, 1990) .

1.5.2. Ιστορική αναδρομή προβιοτικών

Η πρώτη παρατήρηση που καταγράφηκε ιστορικά σχετικά με τις ευεργετικές δράσεις των προβιοτικών ήταν το 1892 από τον γυναικολόγο Albert Döderlein. Παρατήρησε ότι η παραγωγή

γαλακτικού από το μεταβολισμό των σακχάρων από τα κολπικά βακτήρια (vaginal bacteria) αναστέλλει την ανάπτυξη των παθογόνων μικροοργανισμών που βρίσκονται στην περιοχή του κόλπου. Το 1907 ο Metchnikoff ένας επιστήμονας από την Ρωσία μέσα από τις έρευνες του στα ζυμωμένα γαλακτοκομικά τρόφιμα δήλωσε ότι μπορεί να επέλθει από την δράση του οξυγαλακτικού βακτηρίου *Lactobacillus delbrueckii subsp.bulgaricus* η καταπολέμησης επιβλαβών μικροοργανισμών και να προκύψει η βελτιστοποίηση των συνθηκών του εντερικού συστήματος. Η έκδοση του συγγράμματος ‘*The Prolongation of Life*’ όπου παραθέτει στοιχεία που σχετίζονται με τις ευεργετικές ιδιότητες των LAB σε ζυμωμένα γαλακτοκομικά προϊόντα (γιαούρτι, βουτυρόγαλα) που καταναλώνονται στους Βαλκανικούς λαούς ήταν η αφορμή να του αποδοθεί το Νόμπελ Ιατρικής το 1908. Παρόλα αυτά, το ίδιο έτος οι αποκαλύψεις του Metchnikoff επισκιάστηκαν από τις μελέτες των Hertel και Kendall που υποστήριξαν ότι τα ευεργετικά βακτήρια των ζυμωμένων γαλακτοκομικών τροφίμων δεν εγκαθίστανται στην μικροχλωρίδα του εντέρου του ξενιστή, κάτι το οποίο επηρέασε την επιστημονική κοινότητα (Ζουμποπούλου, 2008). Παράλληλα με όλες αυτές τις εξελίξεις που δυσκόλευαν την αναγνώριση βακτηρίων σχετικά με τα θετικά οφέλη για την ανθρώπινη υγεία, ένας άλλος επιστήμονας από την Γαλλία, ο παιδίατρος Henry Tissier ήδη από το 1906 είχε αναφέρει ότι κάποιοι μικροοργανισμοί σε σχήμα «ύψιλον» εμφανίζονται σε μεγάλη συγκέντρωση στα κόπρανα υγιών βρεφών ενώ σε βρέφη με διάρροια, ο αριθμός τους ήταν πολύ μικρός και πίστευε ότι θα μπορούσε να εξουδετερωθεί η διάρροια μέσω της χορήγησης αυτών των στελεχών. Αυτά τα βακτήρια ανήκαν στο γένος *Bifidobacterium* και έχουν πάρει το όνομα τους από την λατινική λέξη *bifidum* που σημαίνει διχάλα. Τελικά, η πρώτη έρευνα η οποία αξιοποιήθηκε πραγματοποιήθηκε το 1930 από τον Ιάπωνα επιστήμονα Minoru Shirota, ο οποίος απομόνωσε το στέλεχος *Lb. casei Shirota* για την χρησιμοποίησή του ως καλλιέργεια εκκίνησης παρασκευάζοντας ζυμούμενο γάλα που πωλείται μέχρι και σήμερα από την εταιρεία Yakult επιδιώκοντας την εγκατάσταση αυτού του βακτηρίου, στο γαστρεντερικό σύστημα. Παρά ταύτα, το 2014 η επιστημονική κοινότητα του University College of London χαρακτήρισε τις ιδιότητες και τα οφέλη του προϊόντος μη αποδεκτές (Ζουμποπούλου, 2008; Fredua -Agyeman and Gaisford 2015). Το 1965 ήταν και η πρώτη φορά που χρησιμοποιήθηκε ο όρος «προβιοτικός» από τους Lilley και Stillwell για μικροοργανισμούς που παράγουν ουσίες ωφέλιμες για την ανάπτυξη άλλων μικροοργανισμών (Lilly & Stillwell, 1965). Το 1974 ο όρος προβιοτικός χρησιμοποιόταν για συμπληρώματα διατροφής ζώων και για την διατήρηση φυσιολογικών συνθηκών στην μικροχλωρίδα του εντέρου (Parker, 1974). Ύστερα από 15 χρόνια ο ορισμός επαναδιατυπώθηκε δυο φορές από τον R. Fuller (1989), την πρώτη φορά ως διατροφικό συμπλήρωμα ζωντανών μικροβίων που επηρεάζει ευεργετικά τον ξενιστή βελτιώνοντας την εντερική του κατάσταση και την δεύτερη φορά ως ζωντανή καλλιέργεια, αποτελούμενη από ένα ή περισσότερους μικροοργανισμούς, η οποία όταν χορηγηθεί σε ανθρώπους ή ζώα μπορεί να έχει ευεργετικές δράσεις στον ξενιστή βελτιώνοντας την ισορροπία της μικροχλωρίδας του εντέρου του

(Havenaar et al. 1992). Μετά από κάποια χρόνια ο ορισμός αλλάζει και ορίζει ως προβιοτικούς τους ζωντανούς μικροοργανισμούς που όταν καταναλωθούν από το ξενιστή σε κάποιες συγκεκριμένες ποσότητες για να μπορούν να λειτουργήσουν ευεργετικά (Guarner and Shaafsma 1998). Για μια ακόμα φορά, ο ορισμός τροποποιείται και ορίζεται προβιοτικό ένα σκεύασμα ή ένα προϊόν με ζωντανούς, καθορισμένους μικροοργανισμούς σε επαρκείς ποσότητες, οι οποίες ισορροπούν την κατάσταση του εντέρου σε μια συγκεκριμένη περιοχή του ξενιστή αποσπώντας θετικά οφέλη στην υγεία του (Schrezenmeir and De Vrese 2001). Η τελική διατύπωση που χρησιμοποιείται στην περιγραφή της έννοιας ‘προβιοτικού’ μέχρι και σήμερα θεσπίστηκε από το FAO/WHO ότι είναι «οι ζωντανοί μικροοργανισμοί (βακτήρια ή ζύμες) τα οποία είτε κατά την κατάποση είτε κατά την εφαρμογή τους σε τοπικό επίπεδο σε επαρκή ποσότητα παρέχουν ένα ή περισσότερα οφέλη στην υγεία του ξενιστή» (FAO/WHO, 2001).

1.6. Λειτουργικά τρόφιμα

Ο όρος ‘Λειτουργικά τρόφιμα’ μέχρι και σήμερα δεν έχει ένα κοινό αποδεκτό όρο και αυτό οφείλεται στην διαφορετική προσέγγιση των διεθνών οργανισμών σχετικά με την «λειτουργικότητα» αυτών των τροφίμων. Κάποιοι από τους ορισμούς που χρησιμοποιούνται είναι οι εξής:

1. «Λειτουργικά τρόφιμα είναι αυτά που προσφέρουν συγκεκριμένα υγιεινά οφέλη, πέραν του διαθρεπτικού περιεχομένου τους», σύμφωνα με το International Food Information Council (IFIC),
2. «Λειτουργικά είναι τρόφιμα παρόμοια σε εμφάνιση με τα συμβατικά, τα οποία καταναλώνονται στα πλαίσια συνήθους διαίτας και προσφέρουν πέραν των διαθρεπτικών τους ιδιοτήτων και αποδεδειγμένα οφέλη στη μείωση του κινδύνου εμφάνισης χρόνιων παθήσεων», σύμφωνα με τον Health Canada,
3. «Λειτουργικά είναι τα τρόφιμα στα οποία η συγκέντρωση ενός ή περισσότερων συστατικών του έχει αυξηθεί ώστε να ενισχυθεί η συνεισφορά τους στην υγεία», σύμφωνα με το Institute of Medicine National Academy of Sciences (US), όπως αναφέρονται στο (Ξενάκης, 2008).
4. Ο πιο συχνά χρησιμοποιούμενος ορισμός για τα λειτουργικά τρόφιμα είναι: «Λειτουργικά είναι τα τρόφιμα που έχουν σχεδιαστεί έτσι ώστε να παρέχουν κάποιο συγκεκριμένο όφελος για την υγεία, πέρα από τα θρεπτικά συστατικά που ούτως ή άλλως περιέχουν» (Ίδρυμα Α. Δασκαλόπουλος(α), 2008, Ζωΐδης και Μουντζούρης, 2008, Κόλλια, 2008).

Κάποιες από τις δυνατότητες των λειτουργικών τροφίμων είναι να επιδρούν θετικά σε λειτουργίες του οργανισμού, όπως στην ανάπτυξη, τον μεταβολισμό, την αντιοξειδωτική άμυνα, το

ανοσοποιητικό σύστημα, τις λειτουργίες συμπεριφοράς, διάθεσης και νόησης, την προστασία του καρδιακής κατάστασης και την καλή λειτουργία του πεπτικού συστήματος (Ζωΐδης και Μουντζούρης, 2008). Επίσης, μπορούν να συμβάλουν σημαντικά στον έλεγχο και στη διατήρηση του σωματικού βάρους, με τρόφιμα υψηλής περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες και φυτικές ίνες, οι οποίες προκαλούν αύξηση της αίσθησης του κορεσμού (Ιωάννου και Ρίσβας, 2009).

Για να χαρακτηριστεί λειτουργικό ένα τρόφιμο θα πρέπει να αποδεικνύεται επιστημονικά ότι έχει ωφέλιμες επιδράσεις σε τουλάχιστον μία από τις λειτουργίες του οργανισμού, έτσι ώστε να βελτιώνει την κατάσταση υγείας του καταναλωτή ή να οδηγεί στην μείωση του κινδύνου πρόσληψης κάποιων ασθενειών (Ζωΐδης και Μουντζούρης, 2008). Επιπλέον, πρέπει να ισχύουν τα παρακάτω:

1. Να είναι τρόφιμο και όχι φάρμακο, δηλαδή να μην είναι σε μορφή χαπιού, κάψουλας ή σκόνης.
2. Να καταναλώνεται ως μέρος μιας φυσιολογικής και ισορροπημένης διατροφής.
3. Να δρα ωφέλιμα στην υγεία κατά τη διάρκεια της πέννης.

Για να γίνει ένα τρόφιμο λειτουργικό, πρέπει να υποστεί μία από τις παρακάτω διαδικασίες:

- i. Να μειωθεί στο ελάχιστο η περιεκτικότητα των συστατικών που ενδέχεται να επιδρούν αρνητικά κατά τη λήψη τους.
- ii. Να αυξηθεί η συγκέντρωση ενός φυσικού συστατικού του τροφίμου, έτσι ώστε να παρέχει ωφέλιμα αποτελέσματα στον οργανισμό.
- iii. Να αντικατασταθεί ένα συστατικό, του οποίου η κατανάλωση είναι δυνατόν να προκαλέσει αρνητικά αποτελέσματα στην υγεία, με ένα άλλο, το οποίο αποδεδειγμένα προσφέρει οφέλη στον οργανισμό.
- iv. Να αυξηθεί η βιοδιαθεσιμότητα ή η σταθερότητα ενός συστατικού, το οποίο προκαλεί ευεργετικά αποτελέσματα (Κούτσικας και Παπαχρήστου, 2008).

Οι κατηγορίες των λειτουργικών προϊόντων είναι:

1. Γαλακτοκομικά προϊόντα
2. Βρεφικά γάλατα
3. Δημητριακά
4. Μπισκότα
5. Προϊόντα αρτοποιίας
6. Έτοιμα γεύματα
7. Κρεατοσκευάσματα
8. Προϊόντα διαίτης
9. Γλυκαντικές ύλες
10. Γλυκίσματα και
11. Ροφήματα (Ζωΐδης και Μουντζούρης, 2008).

2. ΣΚΟΠΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η ανάδειξη ενός νέου «λειτουργικού» παραδοσιακού προϊόντος με βάση το γάλα και το αλεύρι, τύπου ‘τραχανά’ και η μελέτη των μικροβιολογικών και φυσικοχημικών του χαρακτηριστικών, αλλά και η μελέτη της βιωσιμότητας του προβιοτικού μικροοργανισμού στο τελικό προϊόν. Η πρωτοτυπία που καθιστά την εργασία ενδιαφέρουσα προς μελέτη, είναι ότι δεν έχει μελετηθεί μέχρι τώρα στον Ελλαδικό χώρο η χρήση προβιοτικών στελεχών ζύμωσης για την παρασκευή του συγκεκριμένου προϊόντος από αλεύρι και γάλα.

3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.1. Μεθοδολογία

Η μεθοδολογία για την εκπλήρωση του πειραματικού μέρους αποτελείται από τρία βασικά μέρη :

- Την επιλογή και ανάπτυξη του κατάλληλου προβιοτικού μικροοργανισμού και εφαρμογή του στην παραγωγική διαδικασία του «Ξινού Τραχανά».
- Την μελέτη της μικροβιολογικής χλωρίδας του προϊόντος και της βιωσιμότητας του προβιοτικού στελέχους
- Την μελέτη των φυσικοχημικών και άλλα χαρακτηριστικών.

3.2. Τεχνολογία παρασκευής δειγμάτων Τραχανά

1. Πρώτες ύλες

- Πρόβειο γάλα μακράς διάρκειας ομογενοποιημένο ημιαποβουτυρωμένο του εμπορίου με 1,5 % λιπαρά, πρωτεΐνες 5,2 %, σάκχαρα 4,6 % και αλάτι 0,1 %.
- Χοντρό σταρένιο αλεύρι
- Ψιλό σιμιγδάλι
- Πρόβειο βούτυρο

2. Σχεδιασμός πειράματος

Στα πλαίσια της μελέτης σχεδιάστηκαν 2 διαφορετικές πειραματικές παρασκευές τραχανά : i) με Ζύμωση (Μ.Ζ.) και ii) Χωρίς ζύμωση (Χ.Ζ.) του μείγματος των υλικών, κάνοντας χρήση 3 διαφορετικών καλλιιεργειών ζύμωσης του χρησιμοποιούμενου γάλακτος.

Τα αντίστοιχα προϊόντα τραχανά που παρασκευάστηκαν ήταν:

1.Τραχανάς με γιαούρτι (Μάρτυρας). Γιαούρτι που παρασκευάστηκε με τα στελέχη *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* ACA -DC 84 και *Streptococcus thermophilus* ACA -DC 4.

2.Τραχανάς μόνο με προβιοτικό μικροοργανισμό. Τραχανάς από εμβόλιο (καλλιέργεια εκκίνησης) που έχει δημιουργηθεί από το στέλεχος *Lactobacillus fermentum* ACA -DC 179 όπου θα συμβολίζεται ως **Προβιοτικός Α.**

3.Τραχανάς με προβιοτικό μικροοργανισμό και θερμόφιλο κόκκο. Τραχανάς από εμβόλιο (Μεικτή καλλιέργεια εκκίνησης) που έχει παραχθεί από τα στελέχη *Lactobacillus fermentum* ACA-DC 179 και *Streptococcus thermophilus* ACA -DC 4 όπου θα συμβολίζεται ως **Προβιοτικός Β.**

Κάθε πειραματική δοκιμή επαναλήφθηκε τρεις φορές.

Σε κάθε παρασκευή χρησιμοποιήθηκε εμβόλιο 4 % (v/v). Στον παρακάτω πίνακα παραθέτονται επακριβώς οι συνθήκες επώασης και οι ποσότητες καλλιέργειας για την δημιουργία των πηγμάτων γάλακτος για χρήση στην παρασκευή του αντίστοιχου προϊόντος.

Πίνακας 3: Πειραματικές συνθήκες παρασκευής ζυμωμένου γάλακτος για την παρασκευή τραχανά.

Δείγμα	Ποσότητα γάλακτος (ml)	Εμβόλιο καλλιέργειας (mL)	Συνθήκες επώασης
Μάρτυρας	1000 ml	(ACA-DC 4) 20mL + (ACA-DC84) 20mL	42°C/ 24h
Προβιοτικός Α	1000 ml	(ACA-DC179) 40mL	42°C/ 24h
Προβιοτικός Β	500mL	(ACA-DC179) 10mL	42°C/ 24h
	500mL	(ACA-DC 4) 10mL	37°C/ 24h

1. Διαδικασία

Τα υλικά (Πίνακας 4) αναμείχθηκαν όλα μαζί σε μια οικιακή πλαστική λεκάνη και ζυμώθηκαν ήπια μέχρι να σχηματιστεί ένα ομοιογενές ζυμάρι. Η παρασκευή έγινε στον Εργαστηριακό χώρο του Εργαστηρίου Γαλακτοκομίας και λήφθηκαν όλα τα μέτρα καλής υγιεινής πρακτικής σε ότι αφορά τόσο τη προετοιμασία του εμβολίου όσο και τη διαδικασία του ζυμώματος (ασηπτική τεχνική κατά τον εμβολιασμό, καθαρές επιφάνειες, καθαρά κ.τ.λ.π.).

Πίνακας 4: Υλικά και ποσότητες για την παρασκευή του ζυμαριού.

Πρώτες ύλες	Ποσότητες (mL ή g)
Εμβόλιο (ζυμωμένο γάλα)	1000 mL
Χοντρό σταρένιο αλεύρι	1000 g
Ψιλό σιμιγδάλι	100g
Πρόβειο βούτυρο	60 g

2. Παρασκευή τελικού προϊόντος – Ξήρανση

Εφαρμόστηκαν δύο μέθοδοι επεξεργασίας του ζυμαριού :

α. Στην πρώτη μέθοδο, το ζυμάρι επεξεργάστηκε με το παραδοσιακό τρόπο δηλαδή, αφού σχηματίστηκε ολοκληρωτικά το ζυμάρι ακολούθησε άμεσα η διαδικασία της ξήρανσης.
(ΤΡΑΧΑΝΑΣ ΧΩΡΙΣ ΖΥΜΩΣΗ: X.Z)

β. Στην δεύτερη μέθοδο, το ζυμάρι, αφού σχηματίστηκε, επώαστηκε σε ειδικό κλίβανο στους 37°C για 17 h με 10% σχετική υγρασία (RH). Αφού ολοκληρώθηκε η επώαση τότε εφαρμόστηκε η διαδικασία

της ξήρανσης και μορφοποίησης του τελικού προϊόντος (ΤΡΑΧΑΝΑΣ ΜΕ ΖΥΜΩΣΗ: Μ.Ζ.) η οποία, είναι κοινή και στις δύο μεθόδους.

Όπως φαίνεται και στην εικόνα 3, τα ζυμάρια που επώστηκαν καλύφθηκαν πλήρως με μεμβράνη και με το πέρας την επώασης τα δύο προβιοτικά δείγματα (Προβιοτικός Α και Β) διογκώθηκαν λόγω της παραγωγής αερίου (CO₂) από το προβιοτικό στέλεχος *Lactobacillus fermentum* ACA-DC 179. Αυτό οφείλεται στην ετεροζυμωτική ικανότητα του βακτηρίου.



Εικόνα 3: Στην εικόνα φαίνονται τέσσερα δείγματα ζυμαριού. Τα πρώτα δυο είναι οι Μάρτυρες από γιαούρτι (περιέχουν τα στελέχη *Streptococcus thermophilus* ACA-DC4 και *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ACA-DC 84). Στο αριστερό μάυρο βέλος είναι το ζυμάρι Προβιοτικός Α το οποίο είναι φουσκωμένο λόγω ετεροζυμωτικής ιδιότητας του *Lactobacillus fermentum* ACA-DC 179 και στο δεξιό ο Προβιοτικός Β με τον *Lactobacillus fermentum* ACA-DC 179 και *Streptococcus thermophilus* ACA-DC 4 φουσκωμένο για τον ίδιο λόγο.

Κατόπιν, το ζυμάρι χωρίζεται σε κομμάτια μεγέθους 2cm x 2cm (πιτάκια) (Εικόνα 7) και αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου (20-25 °C) για ένα 24ωρο μέχρι να αποβάλλει ένα μέρος της ολικής υγρασίας για την διευκόλυνση της περαιτέρω ξήρανσης και μορφοποίησης του προϊόντος.



Εικόνα 4: Συρταριέρα με κομμάτια (πιτάκια) ζυμαριού μεγέθους περίπου 2cm x 2cm για την αποβολή υγρασίας του ζυμαριού και προετοιμασία τους για τρίξιμο.

Έπειτα, τρίβεται σε έναν παραδοσιακό τρίφτη όπως φαίνεται στην εικόνα 5 ή για μεγαλύτερη ευκολία χρησιμοποιείται μπλέντερ Waring (ρυθμισμένο σε χαμηλή ένταση) για το τρίξιμο του ζυμαριού σε νιάδες όπου τοποθετούνται απλωμένες σε συρταριέρες μέσα σε κλίβανο – ξηραντήρα στους 42 °C για όλο το βράδυ (15-17 ώρες) με σχετική υγρασία θαλάμου 10% (Εικόνα 6).



Εικόνα 5: Παραδοσιακοί τρίφτες (κόσκινα) για Τραχανά και άλλα τρόφιμα



Εικόνα 6: Συρταριέρες με τα τριμμένα πιτάκια (αριστερά) και συρταριέρες με το τριμμένο τραχανά εντός του ξηραντήρα (δεξιά).

Ο ξηραντήρας έχει την ιδιότητα να διατηρεί σταθερή τη θερμοκρασία διοχετεύοντας στον θάλαμο θερμό και ψυχρό αέρα. Αφού ολοκληρωθεί η τελική ξήρανση το προϊόν είναι έτοιμο προς κατανάλωση. Συσκευάζεται αεροστεγώς σε κατάλληλες για τρόφιμα πλαστικές σακούλες και αποθηκεύεται σε θερμοκρασία δωματίου (~20°C) σε σκοτεινό μέρος. Πρέπει να αποφεύγεται η απευθείας έκθεση στο φως.

3.3. Προετοιμασία εμβολίων οξυγαλακτικών βακτηρίων

Στην παρούσα μελέτη έγινε χρήση του προβιοτικού οξυγαλακτικού στελέχους *Lactobacillus fermentum* ACA-DC 179 και των βασικών οξυγαλακτικών στελεχών του γιαουρτιού το *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* ACA -DC84 *Streptococcus thermophilus* ACA-DC 4 που έχουν απομονωθεί από διάφορα ελληνικά γαλακτοκομικά προϊόντα και φυλάσσονται στην Συλλογή ACA-DC του Εργαστηρίου Γαλακτοκομίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών.

Οι καλλιέργειες αναπτύχθηκαν από κατεψυγμένα αποθέματα τα οποία αναζωογονήθηκαν με δυο διαδοχικές ανανεώσεις σε υγρό θρεπτικό υπόστρωμα (MRS broth) με pH 5,4 για τους γαλακτοβάκιλλους, και M17 broth για τους στρεπτόκοκκους στους 37°C για 18 h. Για την παρασκευή του εμβολίου τα στελέχη αναπτύχθηκαν σε σκόνη άπαχου γάλακτος 10 % (w/v) με εκχύλισμα ζύμης (Yeast extract, YE) 0,3 % (w/v) στους 37 °C για 16 h.

Η συντήρηση των στελεχών έγινε σε θερμοκρασία -80 °C σε υγρό θρεπτικό μέσο MRS με 15% γλυκερίνη ως κρυοπροστατευτικό παράγοντα, για το *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* ACA-DC 84, και *Lactobacillus fermentum* ACA-DC 179 και σε M17 broth με γλυκερίνη 15% για τον *Streptococcus thermophilus* ACA-DC 4.

3.3.1. Παρασκευή θρεπτικών υποστρωμάτων

Τα θρεπτικά υποστρώματα που χρησιμοποιήθηκαν για την καταμέτρηση των διαφόρων μικροβιακών ομάδων στα προς μελέτη δείγματα τραχανά καταγράφονται στον Πίνακα 5.

- Για την καταμέτρηση των γαλακτοβάκιλλων (στελέχη ACA-DC 179 & 84) χρησιμοποιήθηκε το θρεπτικό υπόστρωμα MRS broth με τιμή pH 5,7 (Condalab, Batch Number: 112112) και για τους στρεπτόκοκκους (ACA-DC 4) M17 broth (Himedia, LOT:0000392252 / REF: M1029-500G).
- Για την καταμέτρηση της Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας (OMX) χρησιμοποιήθηκε το θρεπτικό υλικό Skim Milk PCA (Himedia, LOT :0000035278 /REF:M1623-500G).
- Για τα κολοβακτηρίδια (coliforms) το VRBL Agar (Condalab, Cat. 1093.00).
- Για ζύμες και μύκητες το YGC Agar (Condalab).

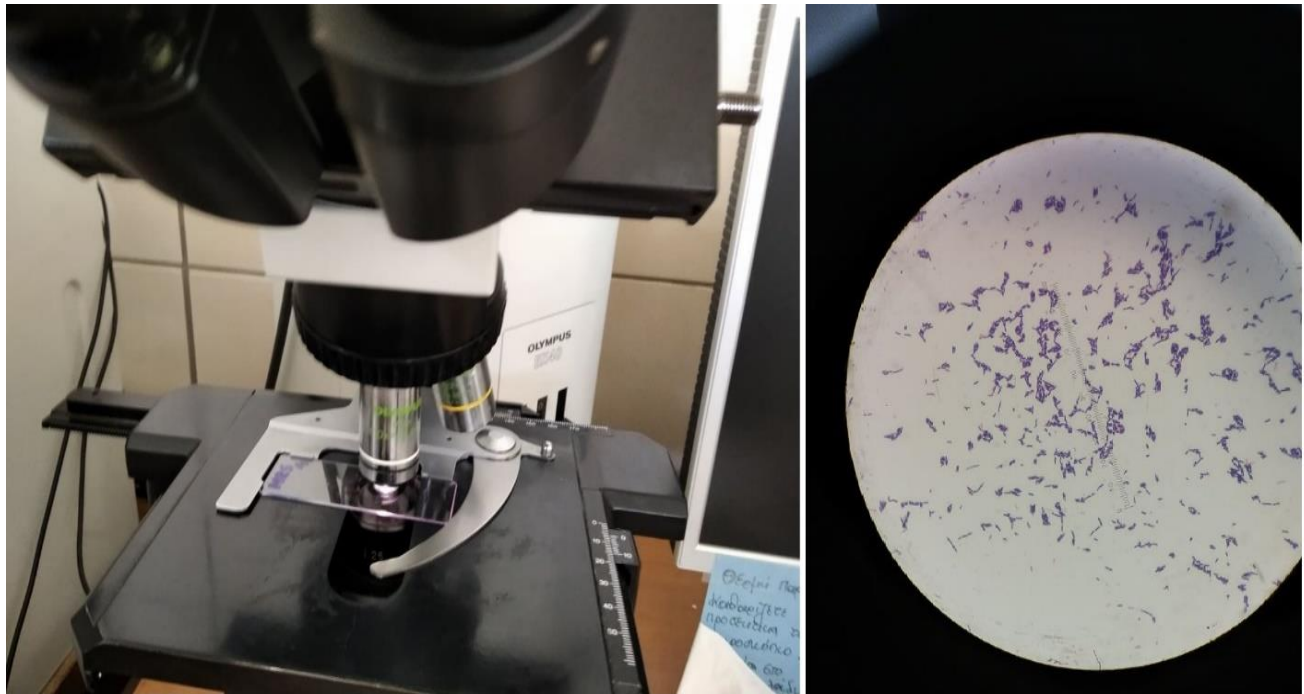
Πίνακας 5 : Σύσταση (g/L) θρεπτικών υποστρώματων

Θρεπτικά υποστρώματα	Σύσταση (g/l)
MRS Broth low pH	Dextrose:20, Enzymatic digest of casein:10, Dipotassium phosphate:2, Magnesium sulfate heptahydrate:0.2, Beef extract: 10, Sodium acetate:5, Tween 80 :1.08, Yeast extract :4, Triammonium citrate :2, Manganese sulfate tetrahydrate: 0.05 (pH at 25°C: 5,7 ±0,1)
M17 Broth	Tryptone:2.5, Peptone :2.5, Soya peptone: 5, Yeast extract: 2.5, HM peptone B #:5, Ascorbic acid: 0.5, Magnesium sulphate: 0.25, Lactose :5, Disodium -β-glycerophosphate :0.25, 19 (pH at 25°C :7,1 ±0.1)
VRBL Agar	Enzymatic Digest of Animal Tissues :7, Yeast extract :3, Lactose :10, Sodium Chloride: 5, Bile Salts :1.5, Neutral Red:0.03, Crystal Violet :0.002, Agar :14 (pH at 25°C: 7,4 ±0,2)
Yeast Extract Agar	Peptic Digest of Animal Tissue :5, Yeast Extract :3, Agar :15 (pH at 25 °C :7.2 ±0.2)
Skim Milk PCA	Casein enzymic Hydrolysate :5, Yeast Extract :2.5, Skim Milk Powder :1, Glucose :1, Agar :10.5 (pH at 25 °C :7 ±0.2)
YGC Agar	Yeast extract :5, D (+)-Glucose :20, Choramphenicol :0.1, Agar :14.9 (pH at 25 °C: 6,6 ±0,2)
Διάλυμα εμπλουτισμού Ringer	0.9 NaCl
Γάλα σκόνης	Yeast extract :0.3, Skim milk: 10

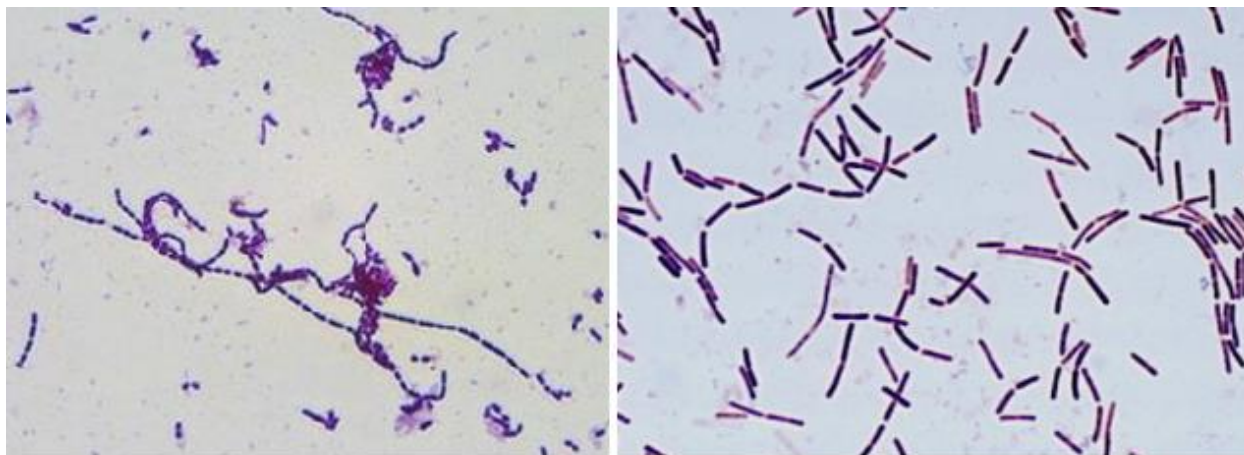
3.3.2. Παρατήρηση μορφολογίας και έλεγχος καθαρότητας μικροοργανισμών

Η παρακολούθηση των μικροοργανισμών πραγματοποιήθηκε στο εργαστηριακό μικροσκόπιο του Εργαστηρίου της Γαλακτοκομίας. Η προετοιμασία των δειγμάτων για την παρακολούθηση τους στο μικροσκόπιο απαιτεί την μέθοδο της χρώσης κατά Gram. Αφού αναπτυχθούν όλα τα δείγματα σε τρυβλία ή δοκιμαστικούς σωλήνες τότε με την βοήθεια μιας γυάλινης ράβδου ή κρικοφόρου στυλεού μεταφέρεται δείγμα του παρασκευάσματος σε μία αντικειμενοφόρο πλάκα. Έπειτα, γίνεται επίστρωση της αποικίας με κυκλικές και απαλές κινήσεις πάνω στην αντικειμενοφόρο πλάκα μέχρι να απλωθεί στο μεγαλύτερο μέρος της πλάκας. Στην συνέχεια, αφήνεται το παρασκεύασμα κοντά σε αναμμένο λύχνο Bunsen για μικρό χρονικό διάστημα μέχρι να στεγνώσει και για να ολοκληρωθεί η μονιμοποίηση του δείγματος πάνω στην πλάκα πρέπει να την περάσουμε τουλάχιστον 4-5 φορές πάνω από την φλόγα (η

αντικειμενοφόρος πλάκα κρατιέται με την βοήθεια λαβίδας για να μην τραυματιστεί ο χειριστής). Με την διαδικασία της χρώσης Gram επιδιώκεται η παρατήρηση της μορφολογίας και καθαρότητας των θετικών και αρνητικών κατά Gram βακτηρίων. Κατόπιν, τα κύτταρα χρωματίζονται με κρυσταλλικό ιώδιο (crystal violet) για 1 λεπτό μέχρι να αποκτήσουν βαθύ μπλε χρώμα. Ξεπλένεται με απιονισμένο νερό η περίσσεια της χρωστικής και προστίθεται σταγόνες ιωδιούχου καλίου για 30 δευτερόλεπτα. Ακολουθεί αποχρωματισμός με αιθανόλη, όπου το σκούρο μπλε ξεπλένεται από τα αρνητικά κατά Gram ενώ στην περίπτωση των θετικών διατηρούνται με μπλε χρώμα. Η αιθανόλη απομακρύνεται με νερό. Τέλος, η διαδικασία ολοκληρώνεται με την προσθήκη σαφρανίνης για διάστημα 30 δευτερολέπτων, όπου χρωματίζονται με κόκκινο χρώμα τα αρνητικά κατά Gram. Με αυτό το τρόπο, δίνεται η δυνατότητα παρακολούθησης στο μικροσκόπιο των αρνητικών(κόκκινο χρώμα) και θετικών(μπλε χρώμα) κατά Gram. Τα παρασκευάσματα στεγνώνονται απαλά με διηθητικό χαρτί και προστίθεται μια σταγόνα ελαίου και παρατηρούνται σε μεγέθυνση X100 (ελαιοκαταδυτικός φακός) (Αγγελής Δ.Γ. Πάτρα, 2007).



Εικόνα 7: Αριστερά η τοποθέτηση του παρασκευάσματος στην τράπεζα του μικροσκοπίου και δεξιά η μικροσκοπική απεικόνιση του στελέχους *Lactobacillus fermentum* ACA-DC 179.



Εικόνα 8: Μικροσκοπική παρατήρηση των βακτηρίων *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* (αριστερά) Joanna Stephens and David Turner 2015 και *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*. (δεξιά) <https://www.quora.com/What-is-the-bacteria-in-curd>.

3.3.3. Δειγματοληψία

Τα δείγματα τραχανά που μελετήθηκαν στην παρούσα μελέτη είναι τα εξής:

1. Μάρτυρας (X.Z.) (με προσθήκη γιαούρτης χωρίς ζύμωση)
2. Προβιοτικός Α (X.Z.) (με προσθήκη Lf χωρίς ζύμωση)
3. Προβιοτικός Β (X.Z.) (με προσθήκη Lf & St χωρίς ζύμωση)
4. Μάρτυρας (M.Z.) (με προσθήκη γιαούρτης με ζύμωση)
5. Προβιοτικός Α (M.Z.) (με προσθήκη Lf με ζύμωση)
6. Προβιοτικός Β (M.Z.) (με προσθήκη LF & St με ζύμωση)
7. Τραχανάς Εμπορίου

Τα δείγματα δημιουργήθηκαν από εμβόλια (καλλιέργειες εκκίνησης) σε γάλα, όπου η συγκέντρωση του μικροβιακού φορτίου κυμαίνεται από 8-9 cfu / mL. Οι μέθοδοι παρασκευής ήταν με ζύμωση του ζυμαριού (M.Z.) και χωρίς ζύμωση (X.Z.) και τα βασικά στάδια παρακολούθησης του μικροβιακού πληθυσμού ήταν δύο, φρέσκος τραχανάς και αποξηραμένος. Μόνο στο δείγμα του Εμπορίου δεν γνωρίζεται η αρχική συγκέντρωση του μικροβιακού πληθυσμού του εμβολίου επειδή παραλήφθηκε το προϊόν έτοιμο και στα δύο στάδια.

3.3.4. Προετοιμασία δειγμάτων

Για την διεξαγωγή μικροβιολογικών και φυσικοχημικών αναλύσεων.

Σε μύλους άλεσης ζωοτροφών του Εργαστηριακού χώρου του Εργαστηρίου Φυσιολογίας, Θρέψης και Διατροφής πραγματοποιήθηκε η άλεση των δειγμάτων τραχανά. Όλα τα στάδια της διαδικασίας λήφθηκαν υπό σωστές συνθήκες υγιεινής πρακτικής. Αυτό το στάδιο αποτέλεσε αναγκαίο για την αποτελεσματική εκπλήρωση των μικροβιολογικών και φυσικοχημικών αναλύσεων.



Εικόνα 9: Μύλος αλέσεως του Εργαστηρίου Φυσιολογίας, Θρέψεως και Διατροφής του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών.

3.3.5. Διαδικασία καταμέτρησης

Πρώτο βήμα είναι η αραιώση των δειγμάτων. Μεταφέρονται με την χρήση πιπέτας 100 μL δείγματος από την κάθε καλλιέργεια η οποία έχει ομογενοποιηθεί με την συσκευή vortex για κάποια δευτερόλεπτα σε αποστειρωμένους δοκιμαστικούς σωλήνες που περιέχουν 900 μL διάλυμα εμπλουτισμού Ringer με NaCl 0,9 % (w/v) δημιουργώντας με αυτό το τρόπο την αραιώση 10^{-1} (1:10). Το σωληνάκι με αραιώση 10^{-1} αναδεύεται στο vortex και μεταφέρονται 100 μL σε άλλο δοκιμαστικό σωλήνα που περιέχει 900 μL επιτυγχάνοντας την αραιώση 10^{-2} (1:100). Με τον ίδιο τρόπο δημιουργούνται και οι υπόλοιπες αραιώσεις μέχρι την 10^{-8} . Επόμενο βήμα είναι ο εμβολιασμός των αντίστοιχων αραιώσεων στο κάθε τρυβλίο. Στα θρεπτικά υποστρώματα PCA, M17 και MRS εφαρμόζεται η μέθοδος της ενσωμάτωσης, όπου 100 μL από την κάθε αραιώση που είναι υπό εξέταση μεταφέρονται στο κάθε τρυβλίο και ακολουθεί προσθήκη περίπου 10 mL θρεπτικού υλικού σε υγρή μορφή και θερμοκρασία 42-45 $^{\circ}\text{C}$ και με απαλές κυκλικές κινήσεις απλώνεται σε όλη την επιφάνεια και ομογενοποιεί το δείγμα. Το τρυβλίο αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου για λίγα λεπτά μέχρι να σταθεροποιηθεί και μετά εισέρχεται σε θάλαμο επώασης. Το MRS Agar στους 37-40 $^{\circ}\text{C}$ σε αναερόβιες συνθήκες για 72 h για το *Lactobacillus fermentum* και για το *Lactobacillus delbrueckii subsp.*

bulgaricus. Το M17 Agar σε αερόβιες συνθήκες στους 37 °C για 48 h. Το PCA Agar σε αερόβιες συνθήκες στους T=30 °C για 72h. Με την ολοκλήρωση της επώασης, καταμετρούνται οι αποικίες που έχουν σχηματιστεί στο κάθε τρυβλίο και υπολογίζονται οι μικροβιακοί πληθυσμοί της κάθε αραιώσης εκφρασμένη σε cfu μικροοργανισμών / mL ή g δείγματος (cfu: colony forming units). Με την μέθοδο της ενσωμάτωσης οι αποικίες είναι ενσωματωμένες και στο εσωτερικό αλλά και στην επιφάνεια του άγαρ.

Για το θρεπτικό υπόστρωμα YGC εφαρμόζεται η μέθοδος της επίστρωσης όπου ενοφθαλμίζονται 10μL δείγματος σε στερεοποιημένο άγαρ. Με την βοήθεια μιας αποστειρωμένης ράβδου επιστρώνεται με ομαλές κυκλικές κινήσεις στην επιφάνεια του άγαρ και μετά εισέρχεται στο θάλαμο επώασης στους 25-30 °C για 72h. Οι αποικίες αναπτύσσονται μόνο στην επιφάνεια του YGC Agar.

Όσο για το VRBL Agar είτε εφαρμόζεται η μέθοδος της ενσωμάτωσης και ακολουθούν αναερόβιες συνθήκες είτε ακολουθείτε η μέθοδος της διπλής επίστρωσης όπου εμβολιάζονται 100μL στο τρυβλίο και ομογενοποιούνται με μια μικρή ποσότητα θρεπτικού υλικού, όπου αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου για μερικά λεπτά μέχρι να σταθεροποιηθεί το άγαρ και προστίθεται προσεχτικά μια δεύτερη στρώση άγαρ και αφού σταθεροποιηθεί ολοσχερώς τότε ακολουθεί η επώαση σε αερόβιες συνθήκες. Στην παρούσα μελέτη εφαρμόστηκε η τεχνική της διπλής στρώσης επιτυγχάνονται αερόβιες συνθήκες κατάλληλες για την ανάπτυξη των κολοβακτηριδίων στους 37°C για 24h.

Πίνακας 6: Συνθήκες και θρεπτικά υποστρώματα που απαιτήθηκαν για την ανάπτυξη και καταμέτρηση του μικροβιακού πληθυσμού των δειγμάτων Τραχανά.

Μικροοργανισμοί	Θρεπτικό υπόστρωμα	Συνθήκες επώασης	Χρόνος Επώασης
ΟΜΧ	PCA Agar(ενσωμάτωση)	30°C αερόβια	72 h
Λακτοβάκιλλοι	MRS Agar low pH 5,7 (ενσωμάτωση)	37-40°C αναερόβια	72 h
Στρεπτόκοκκοι	M17 Agar(ενσωμάτωση)	37°C αερόβια	48 h
Ζύμες Μύκητες	Y.G.C. Agar (επιφανειακά)	25-30°C αερόβια	72 h
Κολοβακτηρίδια	VRBL Agar (διπλή στρώση)	37°C αερόβια	24 h

3.4.Προσδιορισμός οξύτητας

Για τον προσδιορισμό της οξύτητας δειγμάτων του τραχανά (Αποξηραμένος Τραχανάς) ζυγίζονται σε ζυγό 10 g και ομογενοποιούνται σε 90mL Ringer στην συσκευή Stomacher για 60 s. Στην συνέχεια μεταφέρονται 10 mL διαλύματος σε ποτήρι ζέσεως, προστίθεται 2-3 σταγόνες φαινολοφθαλεΐνης και γίνεται τιτλοδότηση με διάλυμα NaOH 0,1 N. Η ποσότητα που θα καταναλωθεί

για να επιτευχθεί η αλλαγή χρώματος του δείγματος (τιτλοδότηση) πολλαπλασιάζεται με το συντελεστή 0,36 και εκφράζεται σε % (v/v) γαλακτικό οξύ (Ανυφαντάκης Ε., 1982).

3.5. Προσδιορισμός ξηρής ουσίας / υγρασίας

Για τον προσδιορισμό της υγρασίας ακολουθείται η εξής διαδικασία. Σε πορσελάνη κάψα μαζί με ένα υάλινο ράβδο και αλάτι (περίπου 30 g), τοποθετούνται για 24 ώρες σε κλίβανο στους 105 °C. Με την ολοκλήρωση του 24ώρου η κάψα μένει στο ξηραντήριο να αποκτήσει θερμοκρασία περιβάλλοντος και ζυγίζεται (μαζί με τον αλάτι και την ράβδο) σε ζυγό ακριβείας 4 δεκαδικών ψηφίων. Καταγράφεται το βάρος και έπειτα προστίθενται 3 g. από το κάθε δείγμα (σκόνη φρέσκου ή αποξηραμένου τραχανά) στην κάψα, καταγράφεται ξανά ο αριθμός και ακολουθεί ομογενοποίηση του δείγματος με το αλάτι με την βοήθεια της υάλινης ράβδου. Η κάψα τοποθετείται για δεύτερη φορά στον κλίβανο στους 105 °C για άλλες 24 ώρες. Αφού περάσουν οι 24 ώρες οι κάψες τοποθετούνται σε ξηραντήρα μέχρι να αποκτήσουν θερμοκρασία δωματίου και τότε ζυγίζονται σε ζυγό ακριβείας (δείγμα, αλάτι και ραβδί) και καταγράφονται. Για το κάθε δείγμα οι μετρήσεις γίνονται εις διπλούν. Ο υπολογισμός της ξηρής ουσίας–υγρασίας του δείγματος πραγματοποιείται με τον παρακάτω τύπο :

$$\text{Υγρασία} = (B - \Gamma / B - A) * 100$$

Όπου : A = Βάρος πορσελάνης με αλάτι και το γυάλινο ραβδί πριν την ξήρανση (απόβαρο)

B= Βάρος πορσελάνης με αλάτι, γυάλινο ραβδί και 3g δείγματος πριν την ξήρανση(μεικτό βάρος)

Γ=Βάρος πορσελάνης με το δείγμα μετά την ξήρανση στον κλίβανο (βάρος μετά την ξήρανση) (IDF,1964).

3.6. Προσδιορισμός λιπαρών ουσιών (Μέθοδος εκχύλισης Soxhlet)

Σύμφωνα με την μέθοδο Soxhlet για τον προσδιορισμό των λιπαρών ουσιών το δείγμα εκχυλίζεται με οργανικό διαλύτη στην συσκευή SOXTEC AVANTI 2055. Κατόπιν, ο διαλύτης αποσπάζεται και το υπόλειμμα που θα συλλεχθεί, ξηραίνεται. Ότι απομένει από το υπόλειμμα αποτελεί το ολικό λίπος ή αιθέριο εκχύλισμα (ether extract).

Διαδικασία ανάλυσης

1. Ζυγίζονται 2 g δείγματος. Το βάρος καταγράφεται με ακρίβεια 4 δεκαδικών ψηφίων. Το δείγμα τοποθετείται σε φυσίγγιο κυτταρίνης μαζί με την μεταλλική στεφάνη και πωματίζεται με καθαρό βαμβάκι.
2. Τα φυσίγγια τοποθετούνται σε κλίβανος στους 103 °C για 60s έτσι ώστε να απομακρυνθεί η μεγαλύτερη ποσότητα υγρασίας για την διευκόλυνση της εκχύλισης.
3. Ζυγίζεται ειδικό αλουμινένιο ποτήρι το οποίο έχει προξηρανθεί στους 103°C για 60s και ψυχθεί σε θερμοκρασία δωματίου εντός του ξηραντήρα.
4. Τα φυσίγγια με την χρήση ειδικών στατό τοποθετούνται στην συσκευή εκχύλισης Soxhlet (SOXTEC AVANTI 2055) εντός ειδικών θέσεων με μαγνήτη (Εικόνα 10).



Εικόνα 10: Συσκευή εκχύλισης Soxhlet (SOXTEC AVANTI 2055) , φυσίγγια κυτταρίνης και ποτήρια αλουμινίου τοποθετημένα σε στατό.

5. Στα ποτήρια αλουμινίου με την χρήση δοσομετρικής αντλίας μεταγγίζονται 70 mL πετρελαϊκού αιθέρα.
6. Ακολουθεί βρασμός στους 80 °C/ 75 min, όπου εκχυλίζονται οι λιπαρές ουσίες μέσα στο ποτήρι.
7. Αφού ολοκληρωθεί η εκχύλιση τα ποτήρια με το υπόλειμμα λιπαρών ουσιών τοποθετούνται για ξήρανση σε κλίβανο στους 103 °C για 30 min.
8. Μετά ψύχονται σε ξηραντήρα και ζυγίζεται το μεικτό βάρος.
9. Υπολογισμός των Ολικών λιπαρών ουσιών σύμφωνα με τον τύπο:

Τύπος προσδιορισμού λιπαρών ουσιών (ΛΟ %):

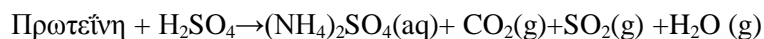
$$\text{ΛΟ \%} = [(\text{Βάρος δοχείου} + \text{λίπος}) - (\text{Βάρος δοχείου})] \times 100 / \text{καθαρό βάρος δείγματος}$$

3.7. Προσδιορισμός πρωτεϊνών (Μέθοδος Kjeldahl)

Για τον προσδιορισμό των πρωτεϊνών των δειγμάτων θα εφαρμοστεί η μέθοδος Kjeldahl, η οποία βασίζεται στο προσδιορισμό του αζώτου που αποτελεί ένα από τα βασικά στοιχεία των πρωτεϊνών. Τα βασικά στάδια της Kjeldahl είναι Α. Καύση Β. Απόσταξη Γ. Τιτλοδότηση.

Α. Καύση

Η καύση πραγματοποιείται με τον βρασμό των δειγμάτων (ομοιογενές δείγμα) σε πυκνό θειικό οξύ, όπου οδηγεί στην αποσύνδεση του αζώτου σε οργανικά δείγματα. Το τελικό αποτέλεσμα είναι ένα διάλυμα θειικού αμμωνίου. Η εξίσωση για την καύση ενός οργανικού δείγματος:



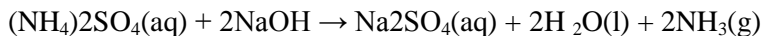
Οι ποσότητες άνθρακα, υδρογόνου και αζώτου αλλά και το μέγεθος του δείγματος καθορίζουν την ποσότητα οξέος που χρειάζεται. Όσο πιο λιπαρό είναι ένα δείγμα τόσο περισσότερο οξύ θα καταναλωθεί. Σχετικά με την απώλεια οξέος που χάνεται από την διαδικασία, πολύ μεγάλο ρόλο παίζει η εισροή θερμότητας και η διάρκεια της καύσης. Στην αρχή, η διαδικασία της καύσης του οργανικού δείγματος είναι πολύ έντονη λόγω της υψηλής θερμότητας οδηγώντας στην απανθράκωση (μαυρίζει το δείγμα). Στην συνέχεια, το δείγμα καθαρίζει και αποσυντίθενται καλύτερα χάρις την ανάμειξη του CO₂. Το μειονέκτημα που παρουσιάζεται με την χρήση του θειικού οξέος για την καύση είναι ότι είναι χρονοβόρα και για αυτό απαιτείται η χρήση ανόργανων αλάτων (όπως K₂SO₄), όπου αυξάνουν το σημείο βρασμού του θειικού οξέος. Από την θερμοκρασία 330 °C μπορεί να ανέλθει στους 390 °C και άνω σύμφωνα με την αναλογία άλατος προς οξύ. Η προσθήκη του ανόργανου άλατος εγκυμονεί και κάποιους κινδύνους. Αν η θερμοκρασία ξεπεράσει τους 400°C τότε μπορεί κάποια ποσότητα των πτητικών ενώσεων του αζώτου να χαθούν στην ατμόσφαιρα. Μια άλλη προφύλαξη είναι όταν η αναλογία αλατιού / οξέος είναι υψηλή τότε κάποια σημαντική ποσότητα του υλικού θα « αλατιστεί » κατά την ψύξη της καύσης.

Β. Απόσταξη

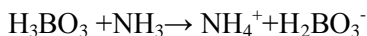
Η απόσταξη είναι η προσθήκη περίσσειας βάσης στο οξύ που υπάρχει στην κάψα για να επιτευχθεί η μετατροπή $\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NH}_3$. Έπειτα, ακολουθεί ο βρασμός και συμπύκνωση του αερίου NH₃ σε μορφή διαλύματος.

Βασικά στάδια :

1. Με την χρήση διαλύματος NaOH παρουσιάζεται αύξηση του pH και αλλαγή των ιόντων αμμωνίου NH₄ σε αμμωνία NH₃ (αέριο).



2. Διαχωρισμός του αζώτου από το μείγμα με απόσταξη του αερίου (αμμωνία) και συλλογή των ατμών σε ειδικό διάλυμα βορικού οξέος H₃BO₃



Το μεγαλύτερο μέρος της NH₃ αμμωνίας αποστάζεται και συλλέγεται στο διάλυμα υποδοχής σε 5 -10 λεπτά από το βρασμό. Για να εξασφαλιστεί η πλήρης ανάκτηση του αζώτου απαιτούνται 15 έως 150 min. Αν διατηρηθεί για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα η απόσταξη τότε συλλέγεται και νερό στο διάλυμα οξέος αλλά αυτό δεν επηρεάζει την τιτλοδότηση. Όταν προσδιορίζονται μικρές ποσότητες αζώτου, πρέπει η συσκευή απόσταξης να είναι ήδη “έτοιμη” πριν από την απόσταξη. Αυτό μπορεί να γίνει με απόσταξη 1:1 μίγματος νερού χωρίς αμμωνία και 50% υπεροξειδίου του νατρίου για 5 λεπτά ακριβώς πριν από την απόσταξη του δείγματος για να μειωθεί η μόλυνση από την ατμοσφαιρική αμμωνία.

Γ.Τιτλοδότηση

Υπάρχουν δύο μέθοδοι τιτλοδότησης: η αντίστροφη τιτλοδότηση και η άμεση τιτλοδότηση. Και οι δύο μέθοδοι υποδεικνύουν την αμμωνία που υπάρχει στο απόσταγμα με αλλαγή χρώματος και επιτρέπουν τον υπολογισμό των συγκεντρώσεων.

Παράλληλα, πραγματοποιείται λευκός προσδιορισμός όπου αντί για δείγμα τραχανά χρησιμοποιείται διάλυμα νερού και σακχαρόζης 0,85 g. για να διαπιστωθεί αν κάποιο από τα δείγματα είχε υπόλειμμα αζώτου.

3.7.1.Διαδικασία προσδιορισμού πρωτεϊνών για τα δείγματα Τραχανά

1. Δείγμα 2,5 γρ. αλεσμένου δείγματος τραχανά προστίθενται στην κάψα.
2. Αντιδραστήρας καύσης: Σε κάθε κάψα προστίθενται 2 ταμπλέτες καταλύτη K₂SO₄ + Se και 10 ml θειικού οξέος 98%.
3. Καύση : Στους 420 °C για 60 min.

4. Ψύξη και Αραίωση : Ψύξη (αφήνονται σε θερμοκρασία δωματίου μέχρι να πέσει σταδιακά η θερμοκρασία) σε συσκευή Foss – Kjelttec 8400 (εικόνα) στους 50-60°C και προσθήκη 50 ml νερού.

5.Απόσταξη : Προσθήκη 50 ml καυστικού νατρίου (35%) στα διαλυτοποιημένα δείγματα και τοποθέτηση τους στην συσκευή απόσταξης .Η απόσταξη διαρκεί μέχρι να συλλεχθούν 100ml διαλύματος σε 25 ml (4%) w/v βορικού οξέος.

6. Τιτλοδότηση : Προσθήκη 2-3 σταγόνων φαινολοφθαλεΐνης σε φιάλη Erlenmeyer και ογκομέτρηση με 0.2 N HCl.

7. Ο υπολογισμός της ποσότητας του ολικού αζώτου δίνεται από τον τύπο:

$$\%N = 1,4007 \times M \times (V_s - V_b) / W$$

V_s = Η κατανάλωση σε ml 0,2N HCl για την τιτλοδότηση του δείγματος Τραχανά.

V_b = Η κατανάλωση σε ml 0,2N HCl για την τιτλοδότηση του τυφλού.

M = Η μοριακότητα του διαλύματος HCl που χρησιμοποιήθηκε για την τιτλοδότηση

W = Το βάρος του κάθε δείγματος Τραχανά.

Η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη εκφράζεται επί τοις εκατό (%) και υπολογίζεται με τον πολλαπλασιασμό του ολικού αζώτου με τον συντελεστή 0,68.

$$\text{Ολική Πρωτεΐνη \%} = N \text{ ολ. \%} \times 6,38$$

$$\text{Επαναληψιμότητα} = \pm 0,006 \%$$

$$\text{Αναπαραγωγιμότητα} = \pm 0,007\%$$

(ISO 8969-1 IDF 20-1. 2001)



Εικόνα 11: Αριστερά οι κάψες ή σωλήνες Kjeldahl όπου τοποθετείται το δείγμα προς ανάλυση και δεξιά η συσκευή Foss – Kjeltec 8400.

3.8. Προσδιορισμός ικανότητας και σταθερότητας αφρού (Foaming capacity and foam stability)

Για τον προσδιορισμό της ικανότητας αφρισμού και σταθερότητας του αφρού ζυγίστηκαν 10 g σκόνης τραχανά από το κάθε δείγμα που είναι προς εξέταση εντός ενός ποτηριού ζέσεως των 100 ml, διαλυτοποιήθηκαν σε 25 ml απεσταγμένου νερού και αναδεύθηκαν για 20 λεπτά σε μαγνητικό αναδευτήρα. Το μίγμα φυγοκεντρήθηκε στα $4000 \times g$ για 20 λεπτά. Το υπερκείμενο που ελήφθη διηθήθηκε και ομογενοποιήθηκε με την βοήθεια ultra turrax (IKA ,T25, Germany) για 2 λεπτά σε ρύθμιση υψηλής ταχύτητας. Έπειτα, το διάλυμα χύθηκε αργά σε ογκομετρικό κύλινδρο και ο όγκος του αφρού καταγράφηκε μετά από 10 δευτερόλεπτα. Η ικανότητα αφρισμού εκφράστηκε ως ο όγκος (mL) αερίου που ενσωματώθηκε ανά mL διαλύματος. Η σταθερότητα του αφρού καταγράφηκε καθώς ο χρόνος πέρασε μέχρι να εξαφανιστεί το μισό του αρχικού όγκου αφρού (Hayta et al., 2002).

3.9. Προσδιορισμός ικανότητας απορρόφησης νερού και λαδιού (water and oil absorption capacity)

Η μέθοδος για τον προσδιορισμό της ικανότητας απορρόφησης νερού και λαδιού χρειάστηκε 5g σκόνης τραχανά διαλυτοποιημένα σε 25 ml απεσταγμένου νερού ή σε 25 ml ηλιέλαιο αντίστοιχα για την επίτευξη του κάθε προσδιορισμού, αναμίχθηκαν σε υψηλή ταχύτητα με ultra turrax σε θερμοκρασία δωματίου ($T= 25^{\circ}C$) εντός του κυλίνδρου φυγοκέντρωσης των 50 mL. Οι διασπορές αναδεύτηκαν σε

διαστήματα 15 λεπτών σε μια περίοδο 60 λεπτών και η φυγοκέντρωση στα 4000 x g για 20 λεπτά. Οι τιμές ικανότητας απορρόφησης νερού και λαδιού εκφράστηκαν ως γραμμάρια νερού ή απορροφηθέν λάδι ανά γραμμάριο δείγματος Τραχανά (g νερού ή λαδιού /g δείγματος) (Hayta et al., 2002).

3.10. Προσδιορισμός γαλακτωματοποιητικής ικανότητας (Emulsifying activity)

Ζυγίζονται 10 g σκόνης Τραχανά και διαλυτοποιούνται σε 25 ml απεσταγμένου νερού στους 25 ° C εντός ενός ποτηριού ζέσεως. Ακολουθεί ανάδευση για 20 λεπτά και στη συνέχεια φυγοκέντρωση στους 4000 × g για 20 λεπτά. Το υπερκείμενο που ελήφθη αναμίχθηκε με ίσες ποσότητες ηλιελαίου (v/v) και ομογενοποιήθηκε για 5 λεπτά σε ρύθμιση χαμηλής ταχύτητας σε ultra turrax (IKA ,T25, Germany). Το ομογενοποιημένο μείγμα μεταφέρθηκε και καταγράφηκε σε κύλινδρο μέτρησης. Η γαλακτωματοποιητική δραστηριότητα εκφράστηκε ως ποσοστό επί τοις εκατό όγκου της γαλακτωματοποιημένης στιβάδας σε ολικό όγκο του μίγματος (Hayta et al., 2002). Η γαλακτωματοποιητική ικανότητα του διαλύματος παρατηρήθηκε μετά από 24 ώρες.

3.11. Οργανοληπτικός έλεγχος δειγμάτων Τραχανά

Για τον προσδιορισμό των δομοισθητικών χαρακτηριστικών των τριών δειγμάτων σούπας τραχανά χρειάστηκαν: 25 g προϊόντος 250 mL απεσταγμένου νερού (10 °C), αναδεύοντας τα σε χαμηλή φωτιά για 10 λεπτά. Οκτώ συμμετέχοντες από το Εργαστήριο Γαλακτοκομίας και εξοικειωμένοι με το προϊόν κλήθηκαν να αξιολογήσουν τα τρία δείγματα με βάση την οξύτητα, γλυκύτητα, υφή του σώματος, ένταση του χρώματος, αίσθηση του σώματος, ομοιογένεια, συνοχή και συνολική αποδοχή χρησιμοποιώντας μια κλίμακα έντασης για το κάθε κριτήριο από το 1- 5. 1-2 Ασθενής, 3-4 Μέτρια και 5 Ισχυρή. Τα δείγματα διαμοιράστηκαν στους δοκιμαστές κωδικοποιημένα με αριθμούς και τυχαία (Ertaş, N. et al., 2015).

ΔΕΙΓΜΑ:					
ΚΡΙΤΗΡΙΑ	ΚΛΙΜΑΚΑ				
ΟΞΥΤΗΤΑ	1 ΑΣΘΕΝΗΣ	2	3 ΜΕΤΡΙΑ	4	5 ΙΣΧΥΡΗ
ΓΛΥΚΥΤΗΤΑ	1 ΑΣΘΕΝΗΣ	2	3 ΜΕΤΡΙΑ	4	5 ΙΣΧΥΡΗ
ΥΦΗ ΤΟΥ ΣΩΜΑΤΟΣ	1 ΚΑΚΗ	2	3 ΑΠΟΔΕΚΤΗ	4	5 ΕΞΑΙΡΕΤΙΚΗ
ΕΝΤΑΣΗ ΧΡΩΜΑΤΟΣ	1 ΚΑΚΗ	2	3 ΑΠΟΔΕΚΤΗ	4	5 ΕΞΑΙΡΕΤΙΚΗ
ΑΙΣΘΗΣΗ ΣΤΟ ΣΤΟΜΑ	1 ΚΑΚΗ	2	3 ΑΠΟΔΕΚΤΗ	4	5 ΕΞΑΙΡΕΤΙΚΗ
ΟΜΟΙΟΓΕΝΕΙΑ	1 ΚΑΚΗ	2	3 ΑΠΟΔΕΚΤΗ	4	5 ΕΞΑΙΡΕΤΙΚΗ
ΣΥΝΟΧΗ	1 ΚΑΚΗ	2	3 ΑΠΟΔΕΚΤΗ	4	5 ΕΞΑΙΡΕΤΙΚΗ
ΣΥΝΟΛΙΚΗ ΑΠΟΔΟΧΗ	1 ΚΑΚΗ	2	3 ΑΠΟΔΕΚΤΗ	4	5 ΕΞΑΙΡΕΤΙΚΗ

Εικόνα 12: Έντυπο οργανοληπτικού ελέγχου.

3.12. Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκε με το στατιστικό πρόγραμμα Stagraphics Centurion. Για την μελέτη των μικροβιολογικών και φυσικοχημικών αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκε το μοντέλο ανάλυσης διασποράς (ANOVA) όπου κατασκευάστηκαν διαγράμματα που απεικονίζουν την σύγκριση των μέσων τιμών μεταξύ τους. Επίσης, για την κάθε μέτρηση εκτιμήθηκαν οι στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδα σημαντικότητας p value 5% ($P < 0.05$).

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

4.1. Μικροβιολογικά Αποτελέσματα

4.1.1. Εξέλιξη του *S. thermophilus* στα δείγματα τραχανά

Στον Πίνακα 7 συγκρίθηκαν οι μικροβιακοί πληθυσμοί του *S. thermophilus* ACA-DC 4 σε θρεπτικό υπόστρωμα M17 Agar υπό αερόβιες συνθήκες στους 37°C για 48h των δειγμάτων τραχανά με ή χωρίς ζύμωση του ζυμαριού (M.Z. ή X.Z.) στα δύο βασικά στάδια (Φρέσκος και Αποξηραμένος Τραχανάς). Επίσης, τα αποτελέσματα σε αυτές τις συνθήκες αποτιμήθηκαν και με αντίστοιχες μελέτες στην διεθνή βιβλιογραφία με παρόμοια δείγματα Τραχανά.

Πίνακας 7: Μικροβιακός πληθυσμός θερμοφίλων κόκκων σε θρεπτικό υπόστρωμα M17 Agar δειγμάτων Φρέσκου και Αποξηραμένου Τραχανά (M.Z.) και (X.Z.).

Μικροβιακός πληθυσμός θερμοφίλων κόκκων (<i>Streptococcus thermophilus</i>)		
ΔΕΙΓΜΑΤΑ	ΣΤΑΔΙΑ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗΣ	
	Φρέσκος Τραχανάς	Αποξηραμένος Τραχανάς
Μάρτυρας (X.Z.)	5,11 ^a	5,14 ^a
Μάρτυρας (M.Z.)	6,63 ^b	4,14 ^a
Προβιοτικός A (X.Z.)	n.d.	n.d.
Προβιοτικός A (M.Z.)	n.d.	n.d.
Προβιοτικός B (X.Z.)	5,98 ^{ab}	5,29 ^a
Προβιοτικός B (M.Z.)	8,48 ^c	6,89 ^b
Τραχανάς Εμπορίου	5,79 ^{ab}	4,83 ^a

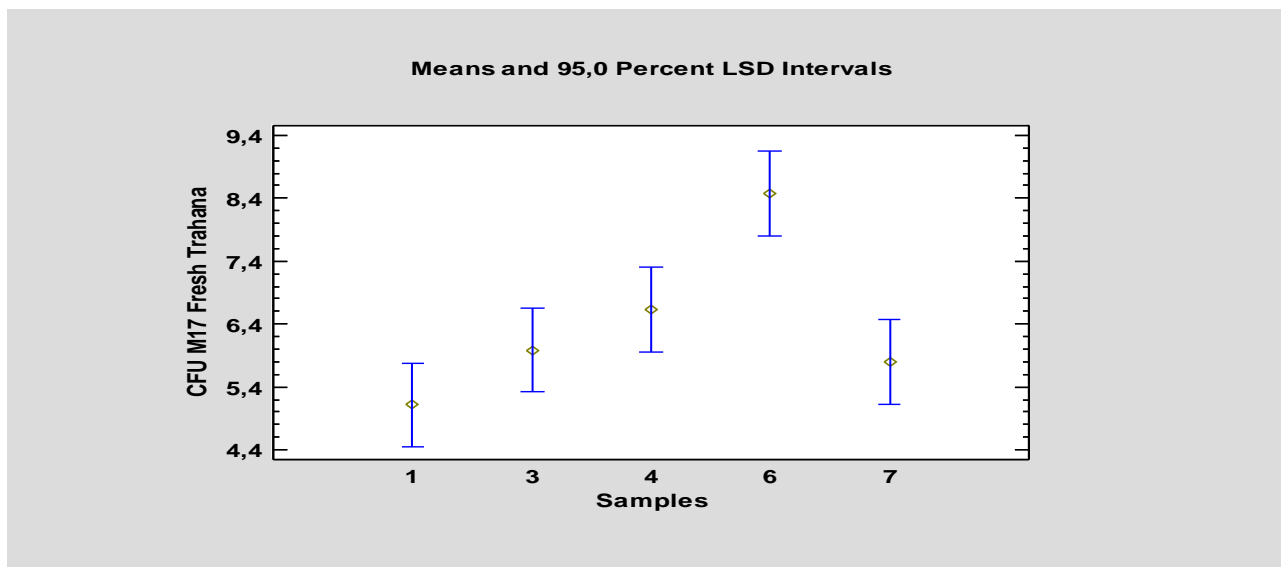
*Οι τιμές με τα διαφορετικά γράμματα ανά στήλη παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους, με επίπεδο σημαντικότητας ($P < 0.05$). *X.Z.: Χωρίς Ζύμωση, *M.Z.: Με Ζύμωση *n.d.: not detected

Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση διασποράς ANOVA όπως φαίνεται στα Διάγραμμα 1 και 2 και περιγράφονται στον Πίνακα 7, στα δείγματα Φρέσκου και Αποξηραμένου Τραχανά παρουσιάστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ως προς την μέθοδο παρασκευής (M.Z.) και (X.Z.) (Πίνακας 7). Στον Φρέσκο Τραχανά ο Μάρτυρας (M.Z.) διαφέρει κατά ένα λογάριθμο σε σύγκριση με το Μάρτυρα (X.Z.). Ο Προβιοτικός B (M.Z.) παρουσιάζει υψηλότερο μικροβιακό πληθυσμό από τον Προβιοτικό B (X.Z.) περίπου κατά 3 λογάριθμους και τέλος το δείγμα Εμπορίου διαφέρει στατιστικά μόνο με τον Προβιοτικό B (M.Z.) παρουσιάζοντας μικρότερο μικροβιακό πληθυσμό κατά 3 λογαριθμικούς κύκλους. Στο Αποξηραμένο Τραχανά μόνο ο Προβιοτικός B (M.Z.) διαφέρει στατιστικά σημαντικά από τα υπόλοιπα δείγματα. Στα Φρέσκα και Αποξηραμένα δείγματα Τραχανά Προβιοτικού A (M.Z.) και (X.Z.) δεν εμφανίστηκαν αποικίες θερμοφίλων κόκκων όπως και ήταν αναμενόμενο.

Μελέτες που πραγματοποιήθηκαν από την Bozoudi D., et al. (2017) σχετικά με τα μικροβιολογικά χαρακτηριστικά του παραδοσιακού Τραχανά, έδειξαν ότι σε καλλιέργεια εκκίνησης από ζυμωμένο γάλα τα οξυγαλακτικά βακτήρια σε θρεπτικό υπόστρωμα M17 Agar ήταν $5,48 \pm 0,73$. Άρα, τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης και στα τρία δείγματα είναι περίπου κατά τρεις λογάριθμους υψηλότερα στο στάδιο του εμβολίου στα δείγματα του Μάρτυρα και του Προβιοτικού Β.

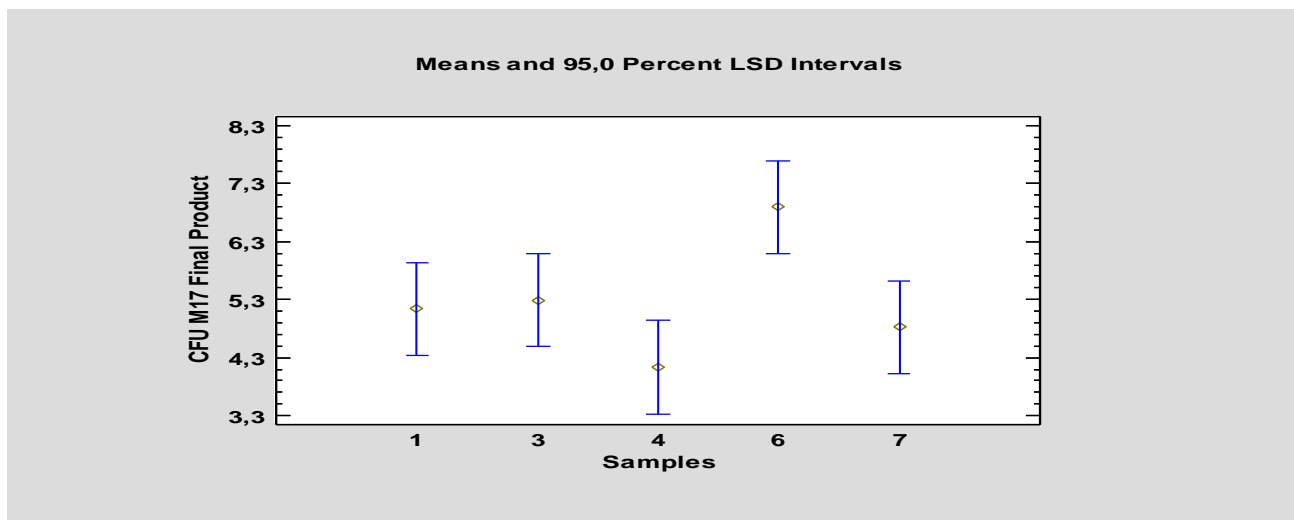
Ο Hendek Ertop et al. (2019) πραγματοποίησε μικροβιολογικές μετρήσεις σε δείγματα παραδοσιακού Φρέσκου Τραχανά με επώαση του ζυμαριού για 10 ημέρες σε διάφορες περιοχές της Τουρκίας όπου, στην οξυγαλακτική αερόβια βακτηριακή χλωρίδα τα αποτελέσματα των μέσων τιμών έχουν εύρος από 4,04-7,04. Τα αντίστοιχα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης έχουν εύρος από 5,11-8,48 δηλαδή κατά ένα λογάριθμο υψηλότερα.

Σύμφωνα με τον Sengul et al. (2009), σε μικροβιολογικές μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν σε διάφορα μέρη της Τουρκίας σε παραδοσιακό Τούρικο τραχανά (αποξηραμένο) από ζυμωμένο γάλα σε θρεπτικό υπόστρωμα M17 Agar στους 40°C καταμετρήθηκαν οξυγαλακτικά βακτήρια με εύρος μέσων τιμών 2-10. Οι συγκεκριμένες τιμές είναι υψηλότερες σε σύγκριση με τις αντίστοιχες της παρούσας μελέτης.



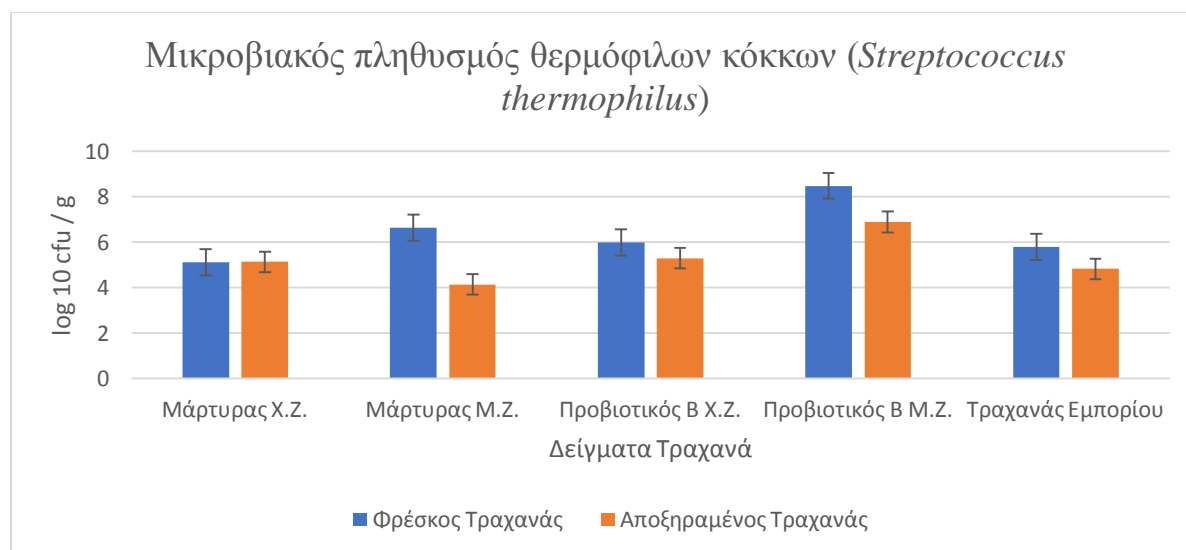
*1:Μάρτυρας Χωρίς Ζυμώση 3:Προβιοτικός Β Χωρίς Ζύμωση 4:Μάρτυρας Με Ζύμωση 6:Προβιοτικός Β Με Ζύμωση 7:Τραχανάς Εμπορίου

Διάγραμμα 1: Ανάλυση διασποράς ANOVA του μικροβιολογικού πληθυσμού θερμοφίλων κόκκων των δειγμάτων Φρέσκου Τραχανά (Μ.Ζ.) και (Χ.Ζ.).



*1:Μάρτυρας Χωρίς Ζυμώση 3:Προβιοτικός Β Χωρίς Ζύμωση 4:Μάρτυρας Με Ζύμωση 6:Προβιοτικός Β Με Ζύμωση 7:Τραχανάς Εμπορίου

Διάγραμμα 2: Ανάλυση διασποράς ANOVA του μικροβιακού πληθυσμού θερμοφίλων κόκκων των δειγμάτων Αποξηραμένου Τραχανά (Μ.Ζ.) και (Χ.Ζ.).



Διάγραμμα 3: Σύγκριση μικροβιακού πληθυσμού θερμοφίλων κόκκων (log₁₀ cfu / ml ή g) μέσω του θρεπτικού υποστρώματος M17 Agar σε όλα τα δείγματα Φρέσκου και Αποξηραμένου Τραχανά (Μ.Ζ.) και (Χ.Ζ.).

Στο Διάγραμμα 3 φαίνεται ότι, ο Προβιοτικός Β (Μ.Ζ.) σε Φρέσκο Τραχανά παρουσιάζει τον υψηλότερο μικροβιακό φορτίο από όλα τα δείγματα που μελετήθηκαν σε θρεπτικό υπόστρωμα M17

Agar. Σε δείγματα Αποξηραμένου Τραχανά πάλι ο Προβιοτικός Β (Μ.Ζ.) φανερώνει το υψηλότερο φορτίο θερμοφίλων κόκκων. Καταλήγοντας ότι, η μέθοδος της ζύμωσης αποδίδει καλύτερα αποτελέσματα και ο μικροβιακός πληθυσμός των προβιοτικών δειγμάτων έχει υψηλότερες αποδόσεις στον τραχανά και στις δυο μεθόδους σε σύγκριση με τα αντίστοιχα αποτελέσματα του Μάρτυρα.

4.1.2. Εξέλιξη του *L. bulgaricus* & *L. fermentum* στα δείγματα τραχανά

Στον Πίνακα 8 συγκρίθηκαν οι μικροβιακοί πληθυσμοί των γαλακτοβάκιλλων *L. bulgaricus* ACA-DC 84 & *L. fermentum* ACA-DC 179 σε θρεπτικό υπόστρωμα MRS Agar (low pH 5,7) υπό αναερόβιες συνθήκες στους 37-40°C για 72h των δειγμάτων Φρέσκου και Αποξηραμένου τραχανά (Μ.Ζ.) και (Χ.Ζ.). Επίσης, τα αποτελέσματα σε αυτές τις συνθήκες αποτιμήθηκαν και με αντίστοιχες μελέτες.

Πίνακας 8: Μικροβιακός πληθυσμός γαλακτοβάκιλλων σε θρεπτικό υπόστρωμα MRS Agar low pH δειγμάτων Φρέσκου και Αποξηραμένου Τραχανά (Μ.Ζ) και (Χ.Ζ.).

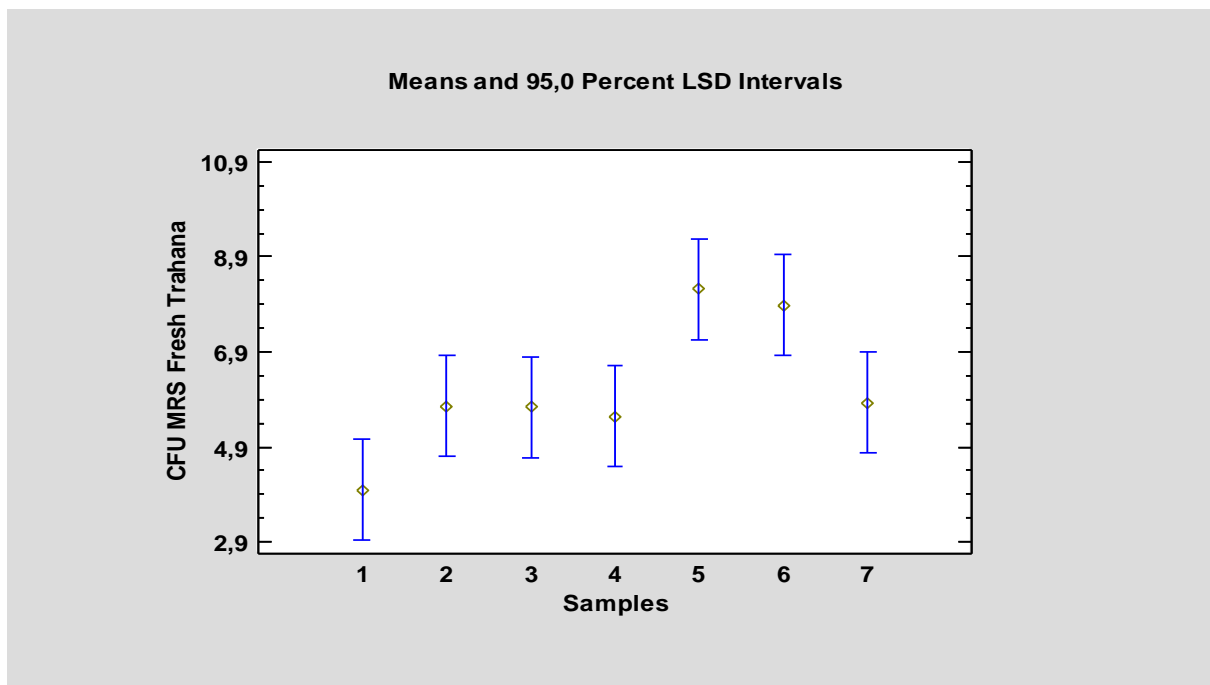
Μικροβιακός πληθυσμός γαλακτοβάκιλλων (<i>L. bulgaricus</i> & <i>L. fermentum</i>)		
ΔΕΙΓΜΑΤΑ	ΣΤΑΔΙΑ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗΣ	
	Φρέσκος Τραχανάς	Αποξηραμένος Τραχανάς
Μάρτυρας (Χ.Ζ.)	3,99 ^a	5,15 ^{abc}
Μάρτυρας (Μ.Ζ.)	5,55 ^a	5,27 ^{abc}
Προβιοτικός Α (Χ.Ζ.)	5,76 ^a	4,83 ^a
Προβιοτικός Α (Μ.Ζ.)	8,22 ^c	6,73 ^{bc}
Προβιοτικός Β (Χ.Ζ.)	5,73 ^a	3,64 ^a
Προβιοτικός Β (Μ.Ζ.)	7,89 ^{bc}	6,99 ^c
Τραχανάς Εμπορίου	5,84 ^{ab}	5,04 ^{ab}

*Οι τιμές με τα διαφορετικά γράμματα ανά στήλη παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους, με επίπεδο σημαντικότητας (P<0.05). * Χ.Ζ.: Χωρίς Ζύμωση, *Μ.Ζ.: Με Ζύμωση

Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση ANOVA όπως φαίνεται στα διαγράμματα 4 και 5 και περιγράφονται στο Πίνακα 8, και στο Φρέσκο αλλά και στο Αποξηραμένο Τραχανά παρουσιάστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ως προς την μέθοδο παρασκευής (Μ.Ζ ή Χ.Ζ.) (Πίνακας 8). Στο Φρέσκο Τραχανά ο Προβιοτικός Α (Μ.Ζ.) διαφέρει στατιστικά σημαντικά με όλα τα δείγματα εκτός από τον Προβιοτικό Β (Μ.Ζ.). Επίσης, ο Προβιοτικός Β (Μ.Ζ.) είναι περίπου κατά δυο λαριθμικούς κύκλους υψηλότερος από τον Προβιοτικό Β (Χ.Ζ.). Στο Αποξηραμένο Τραχανά μόνο ο Προβιοτικός Β (Μ.Ζ.) διαφέρει στατιστικά σημαντικά από τον Προβιοτικό Α και Β (Χ.Ζ.) και με το δείγμα Εμπορίου.

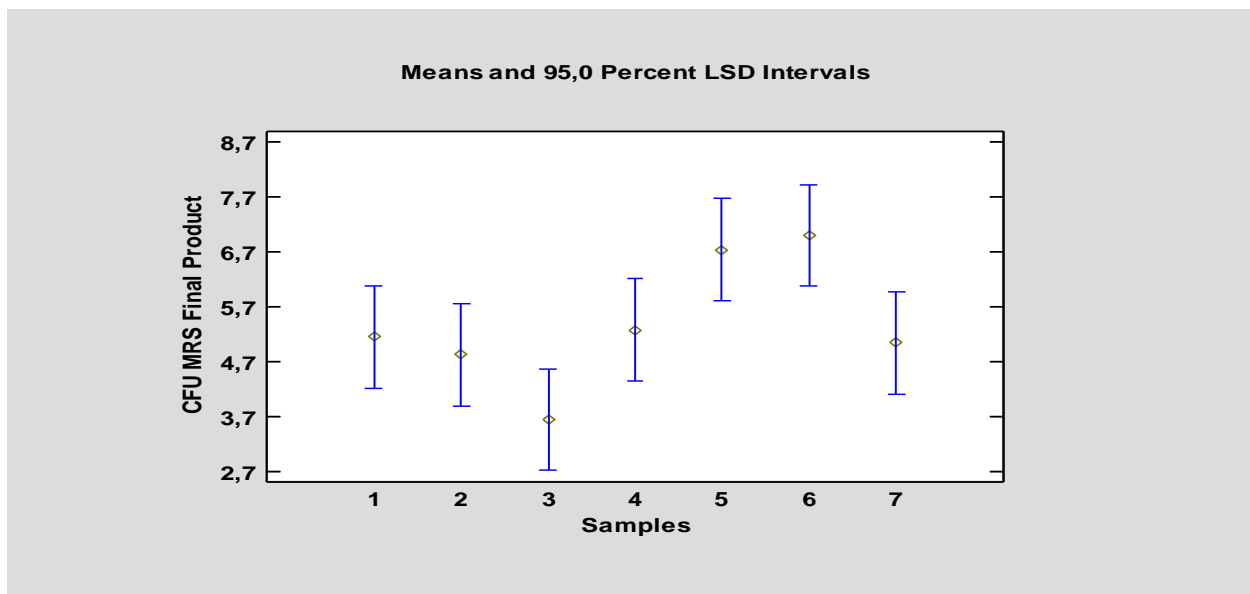
Σύμφωνα με αντίστοιχες μελέτες που εκπληρώθηκαν από τον Hendek Ertop et al. (2019) σε δείγματα Φρέσκου Τραχανά από διάφορες περιοχές της Τουρκίας, η οξυγαλακτική αναερόβια μικροχλωρίδα είχε εύρος από 6,89 έως 8,6. Στην παρούσα μελέτη το εύρος είναι από 3,99 έως 7,89, μεγαλύτερο εύρος αλλά με χαμηλότερες τιμές. Να τονιστεί ότι στα δείγματα της Τούρκικης έρευνας το ζυμάρι Τραχανά επωάστηκε για 10 μέρες ενώ στην συγκεκριμένη μελέτη για 17 ώρες.

Μικροβιολογικές μετρήσεις σε αποξηραμένο τραχανά που έχουν αναφερθεί σε Τούρκικη έρευνα του Sengul et al. (2009) έδειξαν αποτελέσματα σε MRS Agar στους 40°C από διάφορα μέρη της Τουρκίας με το εύρος μέσων τιμών να είναι από 1,2 έως 4,9. Στην παρούσα μελέτη το εύρος των μέσων τιμών είναι από 3,64-6,99 δηλαδή, αρκετά υψηλότερο υποδηλώνοντας εντονότερη οξυγαλακτική παρουσία στο τελικό προβιοτικό προϊόν σε σχέση με ένα αποξηραμένο προϊόν από ζυμωμένο γάλα με τον παραδοσιακό τρόπο.



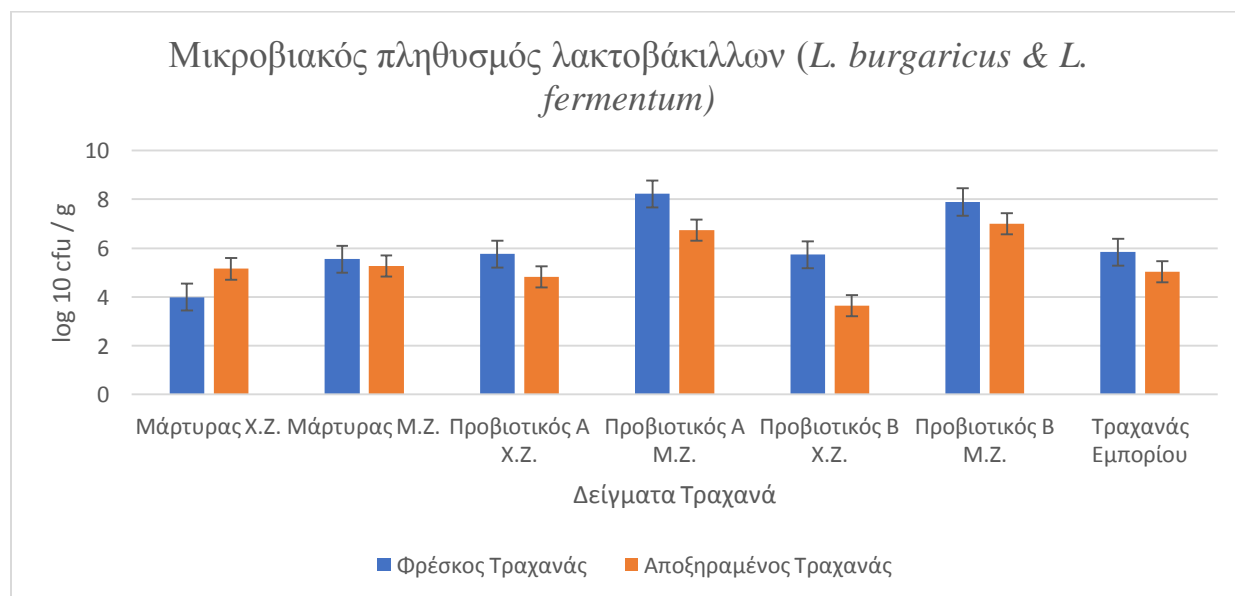
*1:Μάρτυρας Χωρίς Ζύμωση 2: Προβιοτικός Α Χωρίς Ζύμωση 3:Προβιοτικός Β Χωρίς Ζύμωση 4:Μάρτυρας Με Ζύμωση 5:Προβιοτικός Α Με Ζύμωση 6:Προβιοτικός Β Με Ζύμωση 7:Τραχανάς Εμπορίου

Διάγραμμα 4: Ανάλυση διασποράς ANOVA του μικροβιακού πληθυσμού γαλακτοβάκιλλων των δειγμάτων Φρέσκου Τραχανά (Μ.Ζ.) και (Χ.Ζ.).



*1:Μάρτυρας Χωρίς Ζύμωση 2: Προβιοτικός Α Χωρίς Ζύμωση 3:Προβιοτικός Β Χωρίς Ζύμωση
4:Μάρτυρας Με Ζύμωση 5:Προβιοτικός Α Με Ζύμωση 6:Προβιοτικός Β Με Ζύμωση 7:Τραχανάς Εμπορίου

Διάγραμμα 5: Ανάλυση διασποράς ANOVA του μικροβιακού πληθυσμού γαλακτοβάκιλλων των δειγμάτων Αποξηραμένου Τραχανά (Μ.Ζ.) και (Χ.Ζ.).



Διάγραμμα 6: Σύγκριση μικροβιακού πληθυσμού των γαλακτοβάκιλλων (log₁₀ cfu / ml ή g) μέσω του θρεπτικού υποστρώματος MRS Agar low pH σε όλα τα δείγματα Φρέσκου και Αποξηραμένου Τραχανά (Μ.Ζ.) και (Χ.Ζ.).

Στο Διάγραμμα 6 φαίνεται ότι, ο Προβιοτικός Α (Μ.Ζ.) στον Φρέσκο Τραχανά παρουσιάζει την υψηλότερη τιμή από όλα τα δείγματα που μελετήθηκαν. Στα δείγματα Αποξηραμένου Τραχανά ο Προβιοτικός Β (Μ.Ζ.) έχει την υψηλότερη τιμή. Τα δυο προβιοτικά δείγματα σε Φρέσκο και Αποξηραμένο προϊόν (Α και Β) με την μέθοδο της επώασης παρουσιάζουν πληθυσμούς αρκετά υψηλότερους από τα υπόλοιπα δείγματα.

4.1.3. Εξέλιξη της Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας (OMX) στα δείγματα τραχανά

Στον Πίνακα 9 συγκρίθηκαν οι μικροβιακοί πληθυσμοί σε θρεπτικό υπόστρωμα PCA Agar (30°C / 72h) των δειγμάτων Φρέσκου και Αποξηραμένου τραχανά (Μ.Ζ.) και (Χ.Ζ.). Επίσης, τα αποτελέσματα σε αυτές τις συνθήκες αποτιμήθηκαν και με αντίστοιχες μελέτες.

Πίνακας 9: Μικροβιακός πληθυσμός Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας (OMX) σε θρεπτικό υπόστρωμα PCA Agar δειγμάτων Φρέσκου και Αποξηραμένου Τραχανά (Μ.Ζ.) και (Χ.Ζ.).

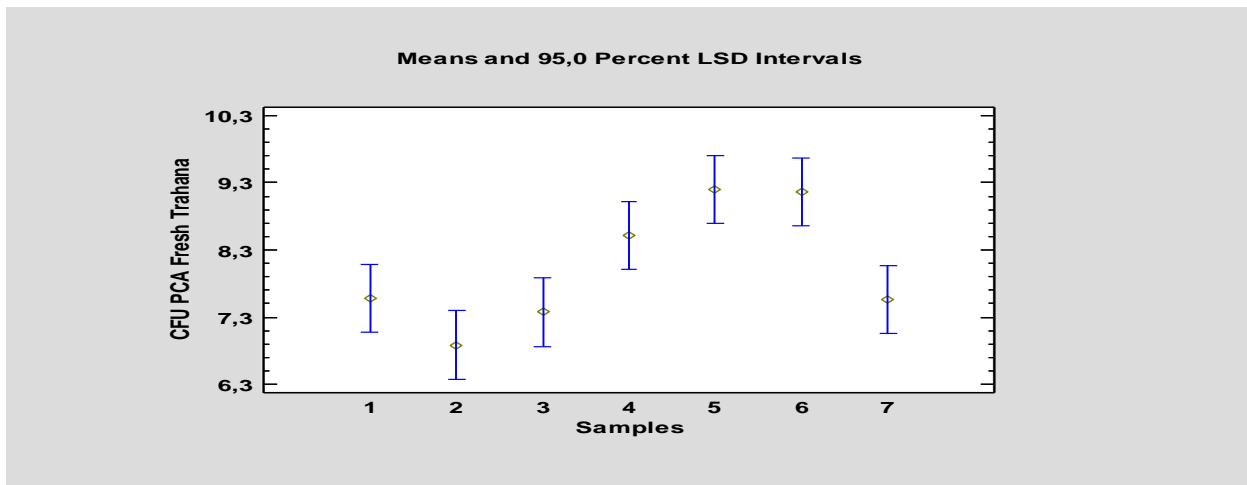
Μικροβιακός Πληθυσμός Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας (OMX)		
Δείγματα Τραχανά	Φρέσκος Τραχανάς	Αποξηραμένος Τραχανάς
Μάρτυρας (Χ.Ζ.)	7,57 ^{ab}	5,54 ^a
Μάρτυρας (Μ.Ζ.)	8,52 ^{bc}	5,9 ^{ab}
Προβιοτικός Α (Χ.Ζ)	6,89 ^a	6,13 ^{ab}
Προβιοτικός Α (Μ.Ζ)	9,19 ^c	7,3 ^b
Προβιοτικός Β (Χ.Ζ)	7,37 ^a	5,73 ^{ab}
Προβιοτικός Β (Μ.Ζ)	9,17 ^c	7,28 ^b
Εμπορίου	7,57 ^{ab}	4,83 ^a

*Οι τιμές με τα διαφορετικά γράμματα ανά στήλη παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους, με επίπεδο σημαντικότητας (P<0.05). *Χ.Ζ.: Χωρίς Ζύμωση, *Μ.Ζ.:Με Ζύμωση

Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση ANOVA και στα δυο στάδια παρασκευής όπως φαίνεται στα διάγραμμα 7 και 8 και περιγράφονται στο Πίνακα 9, παρουσιάστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές. Στον Φρέσκο Τραχανά ο Προβιοτικός Α και Β (Μ.Ζ.) παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ως προς την μέθοδο (Χ.Ζ.) αντίστοιχα αλλά και με τα δείγματα του Εμπορίου και Μάρτυρα (Χ.Ζ.). Επίσης, ο Προβιοτικός Β (Χ.Ζ.) διαφέρει στατιστικά από τον Μάρτυρα (Μ.Ζ.) παρουσιάζοντας μικρότερη τιμή κατά δυο λογάριθμους. Στο Αποξηραμένο Τραχανά μόνο το δείγμα Εμπορίου διαφέρει στατιστικά σημαντικά από τους Προβιοτικούς Α και Β (Μ.Ζ.).

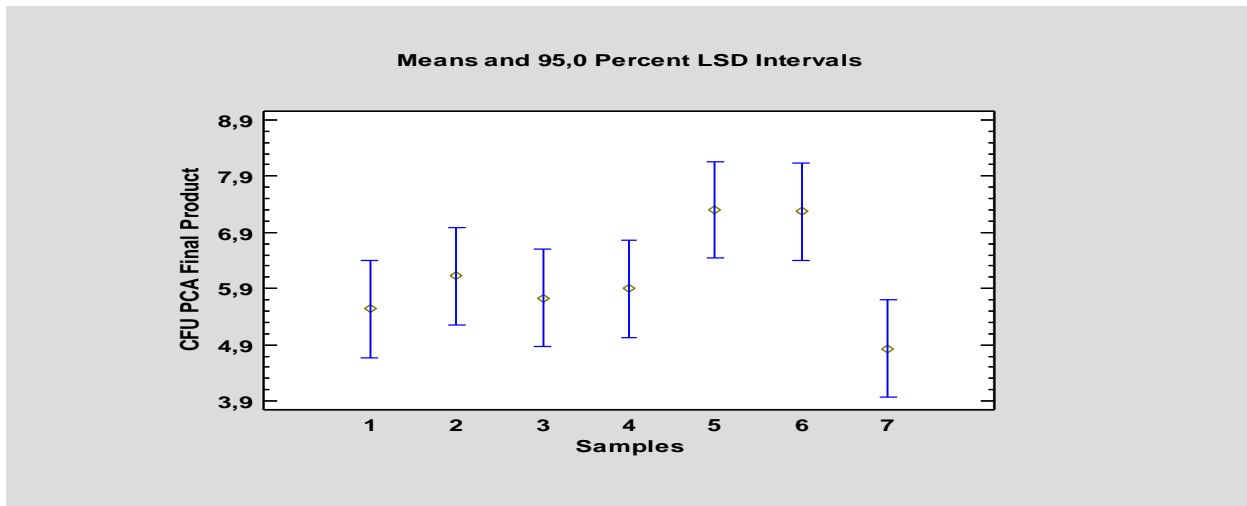
Αντίστοιχες μελέτες σε παραδοσιακό αποξηραμένο Τραχανά (Τελικό Προϊόν) από το Hendek Ertop et al. (2019) σε μικροβιολογικές μετρήσεις της Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας παρουσίασαν εύρος

μέσων τιμών 3,15-6,6, σχετικά μικρότερες κατά ένα λογάριθμο με τις αντίστοιχες της συγκεκριμένης μελέτης (4,83-7,3).



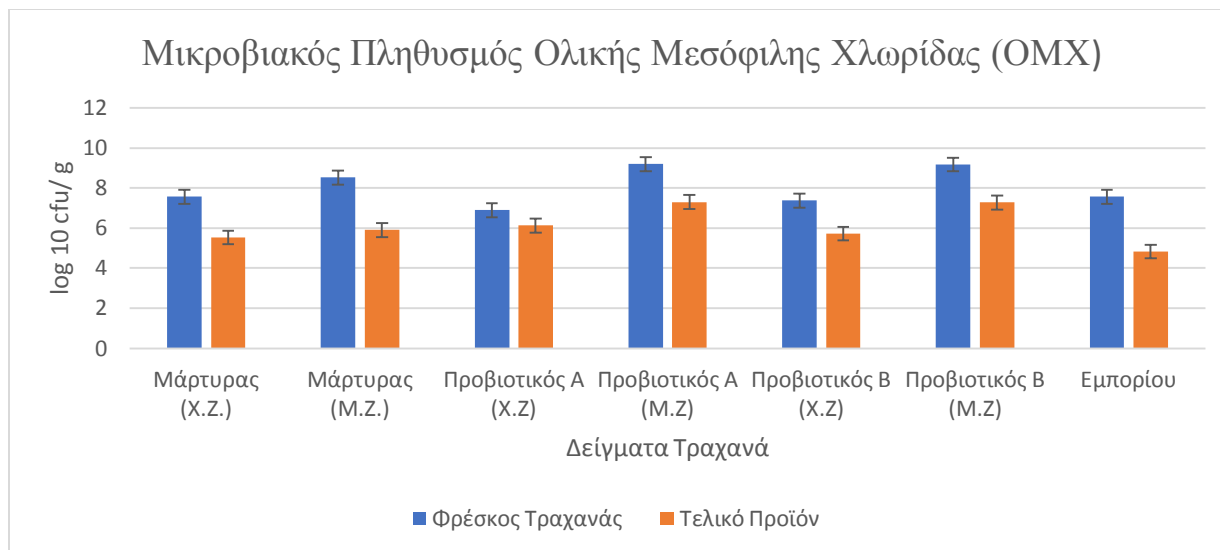
*1:Μάρτυρας Χωρίς Ζυμώση 2: Προβιοτικός Α Χωρίς Ζύμωση 3:Προβιοτικός Β Χωρίς Ζύμωση 4:Μάρτυρας Με Ζύμωση 5:Προβιοτικός Α Με Ζύμωση 6:Προβιοτικός Β Με Ζύμωση 7:Τραχανάς Εμπορίου

Διάγραμμα 7: Ανάλυση διασποράς ANOVA του μικροβιακού πληθυσμού Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας (OMX) των δειγμάτων Φρέσκου Τραχανά (M.Z) και (X.Z.).



*1:Μάρτυρας Χωρίς Ζυμώση 2: Προβιοτικός Α Χωρίς Ζύμωση 3:Προβιοτικός Β Χωρίς Ζύμωση 4:Μάρτυρας Με Ζύμωση 5:Προβιοτικός Α Με Ζύμωση 6:Προβιοτικός Β Με Ζύμωση 7:Τραχανάς Εμπορίου

Διάγραμμα 8: Ανάλυση διασποράς ANOVA του μικροβιακού πληθυσμού Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας (OMX) των δειγμάτων Αποξηραμένου Τραχανά (M.Z.) και (X.Z.).



Διάγραμμα 9: Μικροβιακός πληθυσμός OMX (\log_{10} cfu / ml ή g) σε θρεπτικό υπόστρωμα PCA Agar σε όλα τα δείγματα Φρέσκου και Αποξηραμένου Τραχανά (M.Z.) και (X.Z.).

Στο διάγραμμα 9 φαίνεται ότι, ο Προβιοτικός Α (M.Z.) σε Φρέσκο Τραχανά είναι ο πιο επιφορτισμένος μικροβιακά από όλα τα δείγματα που μελετήθηκαν. Στο στάδιο παρασκευής του Αποξηραμένου Τραχανά πάλι ο Προβιοτικός (M.Z.) παρουσιάζει τον υψηλότερο πληθυσμό Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας. Τα Προβιοτικά δείγματα Α και Β (M.Z.) παρουσιάζουν τον μεγαλύτερο αριθμό αποικιών στην παρούσα μελέτη. Στην μέθοδο (X.Z.) πάλι τα προβιοτικά στελέχη υπερέχουν σε σημαντικό βαθμό υποδεικνύοντας τις μεγαλύτερες ικανότητες ανάπτυξης στο μικροβίωμα του Τραχανά και χωρίς την μέθοδο της επώασης.

4.1.4.Εξέλιξη ζυμών και μυκήτων στα δειγμάτα Τραχανά

Στον Πίνακα 10 συγκρίθηκαν οι μικροβιακοί πληθυσμοί ζυμών και μυκητών σε θρεπτικό υπόστρωμα YGC Agar (25-30°C / 72h) των δειγμάτων Φρέσκου και Αποξηραμένου Τραχανά (M.Z.) και (X.Z.). Επίσης, τα αποτελέσματα σε αυτές τις συνθήκες αποτιμήθηκαν και με αντίστοιχες μελέτες.

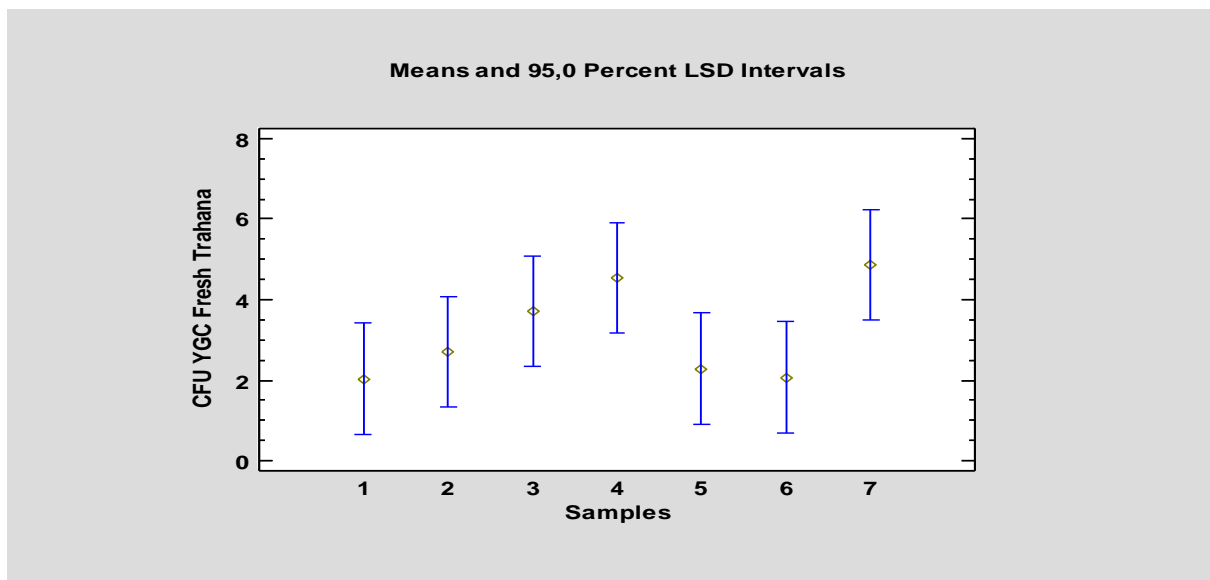
Πίνακας 10: Μικροβιακός πληθυσμός των ζυμών και μυκήτων σε θρεπτικό υπόστρωμα YGC Agar δειγμάτων Φρέσκου και Αποξηραμένου Τραχανά (M.Z.) και (X.Z.).

Μικροβιακός Πληθυσμός ζυμών και μυκήτων		
Δείγματα Τραχανά	Φρέσκος Τραχανάς	Αποξηραμένος Τραχανάς
Μάρτυρας (X.Z.)	2,03 ^a	4,44 ^a
Μάρτυρας (M.Z.)	4,54 ^{ab}	1,65 ^a
Προβιοτικός A (X.Z.)	2,71 ^{ab}	4,64 ^a
Προβιοτικός A (M.Z.)	2,29 ^{ab}	2,35 ^a
Προβιοτικός B (X.Z.)	3,72 ^{ab}	4,42 ^a
Προβιοτικός B (M.Z.)	2,07 ^a	2,77 ^a
Εμπορίου	4,86 ^a	3,67 ^a

*Οι τιμές με τα διαφορετικά γράμματα ανά στήλη παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους, με επίπεδο σημαντικότητας ($P < 0.05$). *X.Z.: Χωρίς Ζύμωση,* M.Z.:Με Ζύμωση

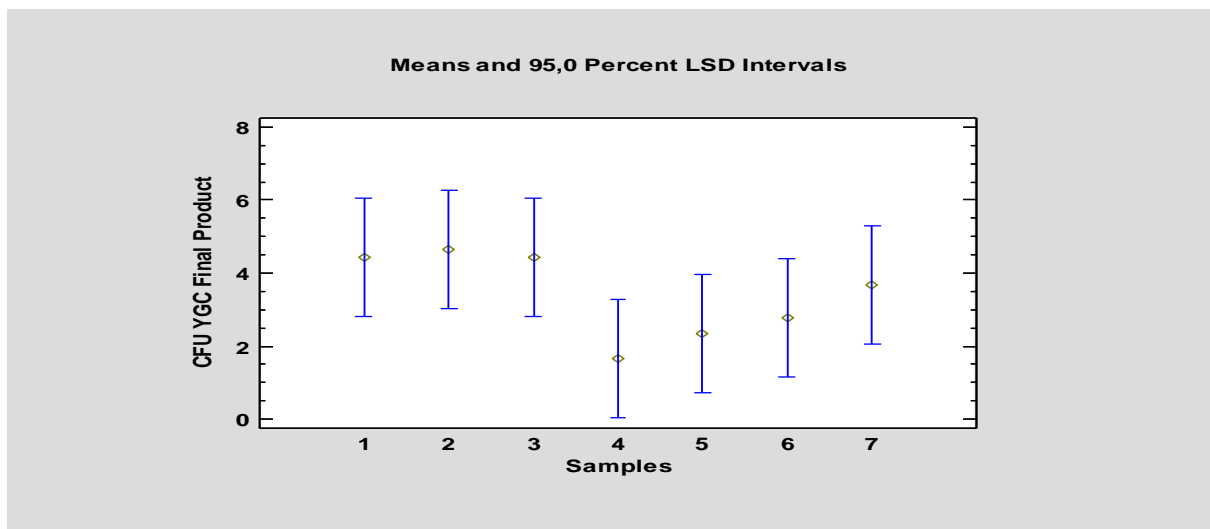
Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση ANOVA όπως φαίνεται στο διάγραμμα 10 και 11 και περιγράφονται στο Πίνακα 10, δεν παρουσιάστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ως προς την μέθοδο ζύμωσης στο Φρέσκο και Αποξηραμένο Τραχανά.

Μελέτες που πραγματοποιήθηκαν στην Τουρκία από τον Hendek Ertop et al. (2019) σε διάφορες περιοχές με δείγματα Φρέσκου Τραχανά από ζυμωμένο γάλα, έδειξαν ότι στην καταμέτρηση των ζυμών και μυκητών υπήρξε εύρος μέσων τιμών από 4,38 έως 7,48 ενώ σε αυτή την μελέτη 2,03 έως 4,54. Μικρότερο εύρος αλλά και μικρότερες μέσες τιμές κατά τρεις λογάριθμους συγκριτικά με τις υψηλές τιμές των μετρήσεων που πραγματοποίησε ο Hendek Ertop.



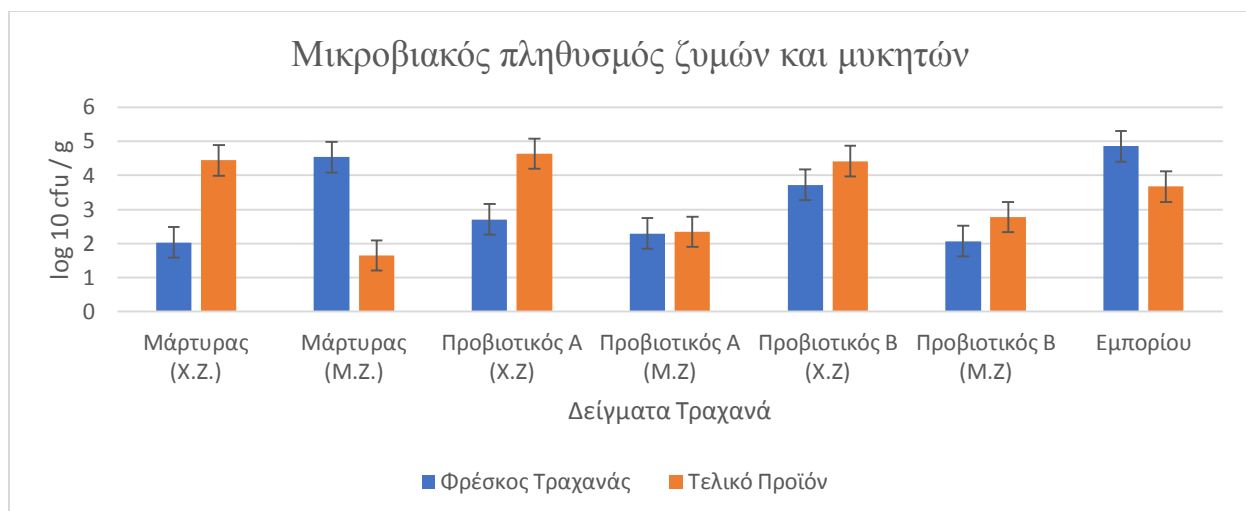
*1:Μάρτυρας Χωρίς Ζύμωση 2: Προβιοτικός Α Χωρίς Ζύμωση 3:Προβιοτικός Β Χωρίς Ζύμωση 4:Μάρτυρας Με Ζύμωση 5:Προβιοτικός Α Με Ζύμωση 6:Προβιοτικός Β Με Ζύμωση 7:Τραχανάς Εμπορίου

Διάγραμμα 10: Ανάλυση διασποράς ANOVA του μικροβιακού πληθυσμού ζυμών και μυκητών των δειγμάτων Φρέσκου Τραχανά (Μ.Ζ.) και (Χ.Ζ.).



*1:Μάρτυρας Χωρίς Ζύμωση 2: Προβιοτικός Α Χωρίς Ζύμωση 3:Προβιοτικός Β Χωρίς Ζύμωση 4:Μάρτυρας Με Ζύμωση 5:Προβιοτικός Α Με Ζύμωση 6:Προβιοτικός Β Με Ζύμωση 7:Τραχανάς Εμπορίου

Διάγραμμα 11: Ανάλυση διασποράς ANOVA του μικροβιακού πληθυσμού ζυμών και μυκητών των δειγμάτων Αποξηραμένου Τραχανά (Μ.Ζ.) και (Χ.Ζ.).



Διάγραμμα 12: Μικροβιακός πληθυσμός ζυμών και μυκητών (\log_{10} cfu / g) σε θρεπτικό υπόστρωμα YGC Agar σε όλα τα δείγματα Φρέσκου και Αποξηραμένου Τραχανά (M.Z.) και (X.Z.).

Στο Διάγραμμα 12 φαίνεται το δείγμα Φρέσκου Τραχανά Εμπορίου να παρουσιάζει την υψηλότερη τιμή από όλα τα δείγματα που μελετήθηκαν. Η χαμηλότερη τιμή παρουσιάζεται στο Μάρτυρα (M.Z.) Αποξηραμένου Τραχανά. Σχετικά με τα Προβιοτικά στελέχη A και B οι καταμέτρησεις των αποικιών διαφέρουν σε σημαντικό βαθμό ως προς την μέθοδο ζύμωσης. Τα προβιοτικά δείγματα (X.Z.) έχουν πολύ υψηλότερες τιμές από αυτά (M.Z.). Τα προβιοτικά στελέχη διαθέτουν προστατευτική δράση έναντι των ζυμών και μυκητών, παράγοντας προπιονικό οξύ το οποίο διαθέτει αντιμυκητιακή δράση. Σύμφωνα με το Πίνακα 11 και το Διάγραμμα 8 τα Προβιοτικά δείγματα Τραχανά που περιέχουν υψηλό μικροβιακό (προβιοτικό) φορτίο δρουν ανταγωνιστικά έναντι των ζυμών και μυκητών μειώνοντας την παρουσία τους όπως φαίνεται και στο παραπάνω Διάγραμμα.

4.1.5.Εξέλιξη κολοβακτηριδίων (coliforms) στα δείγματα τραχανά

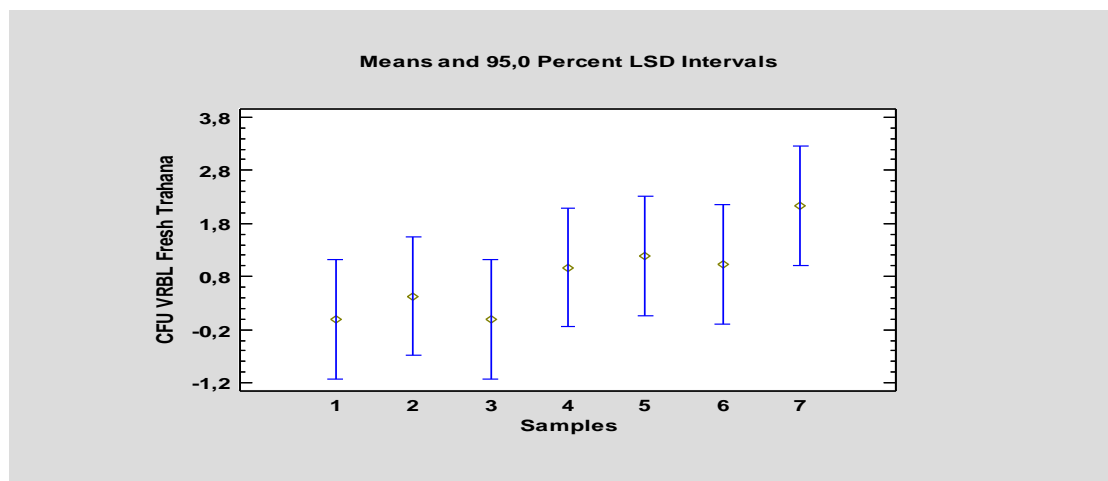
Στο Πίνακα 11 συγκρίθηκαν οι μικροβιακοί πληθυσμοί σε θρεπτικό υπόστρωμα VRBL Agar (37°C / 24h) των δειγμάτων Φρέσκου και Αποξηραμένου Τραχανά (M.Z.) και (X.Z.). Επίσης, τα αποτελέσματα σε αυτές τις συνθήκες αποτιμήθηκαν και με αντίστοιχες ερευνητικές μελέτες.

Πίνακας 11: Μικροβιακός πληθυσμός κολοβακτηριδίων (coliforms) σε θρεπτικό υπόστρωμα VRBL Agar δειγμάτων Φρέσκου και Αποξηραμένου Τραχανά (M.Z.) και (X.Z.).

Πληθυσμός κολοβακτηριδίων (coliforms)		
Δείγματα Τραχανά	Φρέσκος Τραχανάς	Τελικό Προϊόν
Μάρτυρας (X.Z.)	n.d.	0,6 ^{ab}
Μάρτυρας (M.Z.)	n.d.	n.d.
Προβιοτικός Α (X.Z)	0,43 ^a	1,55 ^b
Προβιοτικός Α (M.Z)	1,19 ^a	n.d.
Προβιοτικός Β (X.Z)	n.d.	0,97 ^{ab}
Προβιοτικός Β (M.Z)	1,02 ^a	n.d.
Εμπορίου	2,13 ^a	2,97 ^c

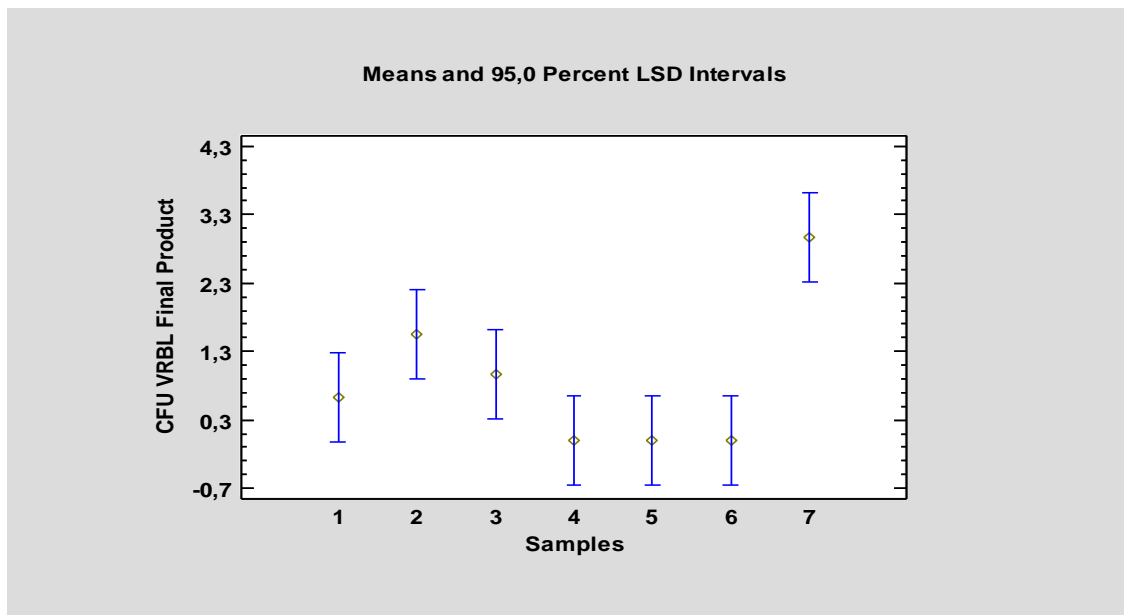
*Οι τιμές με τα διαφορετικά γράμματα ανά στήλη παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους, με επίπεδο σημαντικότητας ($P < 0.05$). *X.Z.: Χωρίς Ζύμωση, *M.Z.: Με Ζύμωση *n.d.: not detected

Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση ANOVA στα διαγράμματα 14 και 15 και όπως περιγράφονται στο Πίνακα 11, τα στάδια στα οποία παρουσιάστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ως προς την μέθοδο παρασκευής είναι στο Αποξηραμένο Τραχανά (Πίνακας 11). Το δείγμα Αποξηραμένου Τραχανά του Εμπορίου διαφέρει στατιστικά σημαντικά με όλα. Επίσης, ο Προβιοτικός Α (X.Z.) διαφέρει στατιστικά σημαντικά σχετικά με την μέθοδο παρασκευής.



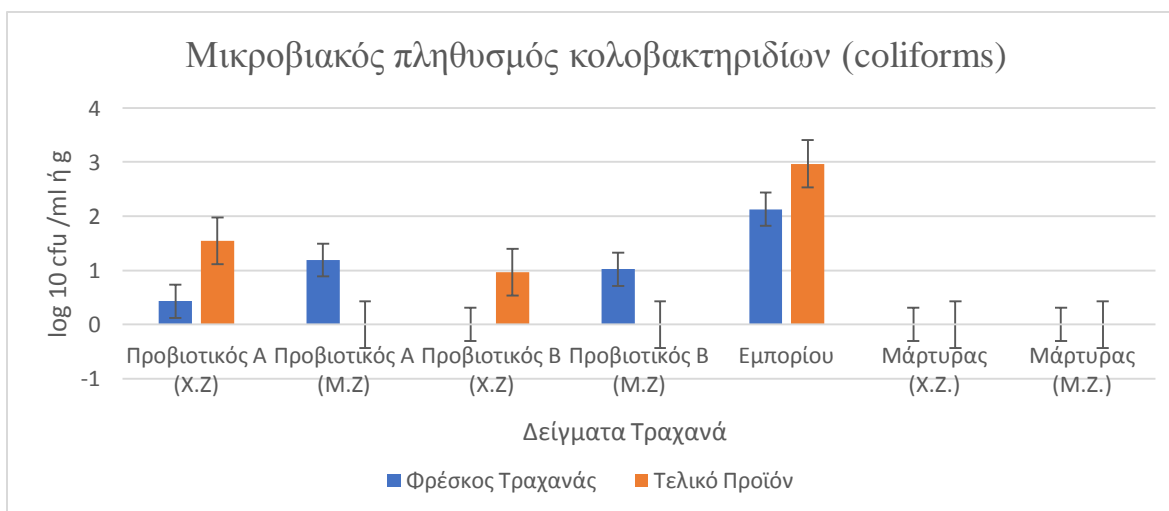
*1:Μάρτυρας Χωρίς Ζυμώση 2: Προβιοτικός Α Χωρίς Ζύμωση 3:Προβιοτικός Β Χωρίς Ζύμωση 4:Μάρτυρας Με Ζύμωση 5:Προβιοτικός Α Με Ζύμωση 6:Προβιοτικός Β Με Ζύμωση 7:Τραχανάς Εμπορίου

Διάγραμμα 13: Ανάλυση διασποράς ANOVA του μικροβιακού πληθυσμού κολοβακτηριδίων των δειγμάτων Φρέσκου Τραχανά (M.Z.) και (X.Z.).



*1:Μάρτυρας Χωρίς Ζύμωση 2: Προβιοτικός Α Χωρίς Ζύμωση 3:Προβιοτικός Β Χωρίς Ζύμωση 4:Μάρτυρας Με Ζύμωση 5:Προβιοτικός Α Με Ζύμωση 6:Προβιοτικός Β Με Ζύμωση 7:Τραχανάς Εμπορίου

Διάγραμμα 14: Ανάλυση διασποράς ANOVA του μικροβιακού πληθυσμού κολοβακτηριδίων των δειγμάτων Αποξηραμένου Τραχανά (Μ.Ζ.) και (Χ.Ζ.).



Διάγραμμα 15: Μικροβιακός πληθυσμός κολοβακτηριδίων (log₁₀ cfu / g) σε θρεπτικό υπόστρωμα VRBL Agar σε όλα τα δείγματα Φρέσκου και Αποξηραμένου Τραχανά (Μ.Ζ) και (Χ.Ζ.).

Οι καταμετρήσεις των κολοβακτηριδίων στα δείγματα αποσκοπούν στην αξιολόγηση του επιπέδου καλής υγιεινής. Στο Διάγραμμα 16 φαίνεται ότι, στα δείγματα Αποξηραμένου Τραχανά (Μ.Ζ.) δεν παρουσιάστηκαν αποικίες κολοβακτηριδίων αποσαφηνίζοντας και την άριστη ποιότητα σε επίπεδα υγιεινής των δειγμάτων τα οποία τα καθιστά κατάλληλα και για ειδικές ομάδες (βρέφη κτλπ.) σύμφωνα με την την νομοθεσία αφού υπάρχει απουσία κολοβακτηριδίων σε 10 g τελικού δείγματος Κανονισμός (ΕΚ) 2073/2005 Παράρτημα Ι. Στα υπόλοιπα δείγματα ο μικροβιακός πληθυσμός είναι σε χαμηλά επίπεδο και την υψηλότερη τιμή την παρουσίασε το δείγμα του εμπορίου και στα δυο στάδια. Τα Φρέσκα δείγματα παρουσίασαν υψηλότερες τιμές σε σύγκριση με το Αποξηραμένα σχετικά με την μέθοδο ζύμωσης. Να τονιστεί ότι τα προβιοτικά δείγματα (Μ.Ζ.) στο στάδιο παρασκευής Φρέσκου Προϊόντος παρουσίασαν χαμηλό μικροβιακό πληθυσμό και τα Αποξηραμένα δεν ανιχνεύτηκε παρουσία κολοβακτηριδίων καθιστώντας τα άριστα στα πλαίσια της υγιεινής τροφίμων. Απο την άλλη, τα προβιοτικά δείγματα (Χ.Ζ.) είχαν χαμηλό ποσοστό (Προβιοτικός Α) ή απουσία κολοβακτηριδίων (Προβιοτικός Β) στο στάδιο του Φρέσκου Τραχανά ενώ στα Αποξηραμένα δείγματα καταμετρήθηκαν υψηλότεροι μικροβιακοί πληθυσμοί.

4.2.Φυσικοχημικά αποτελέσματα

4.2.1.Αποτελέσματα μετρήσεων οξύτητας

Στο Πίνακα 12 συγκρίθηκαν τα αποτελέσματα Οξύτητας των δειγμάτων Φρέσκου και Αποξηραμένου Τραχανά (Μ.Ζ.) και στο εμβόλιο καλλιέργειας εκκίνησης των δειγμάτων. Τα αποτελέσματα είναι εκφρασμένα σε γαλακτικό οξύ % και συγκρίθηκαν με αντίστοιχες μελέτες.

Πίνακας 12: Περιεκτικότητα οξύτητας (γαλακτικό οξύ %) στο Εμβόλιο(καλλιέργεια εκκίνησης) και στα δείγματα Φρέσκου και Αποξηραμένου Τραχανά (Μ.Ζ.).

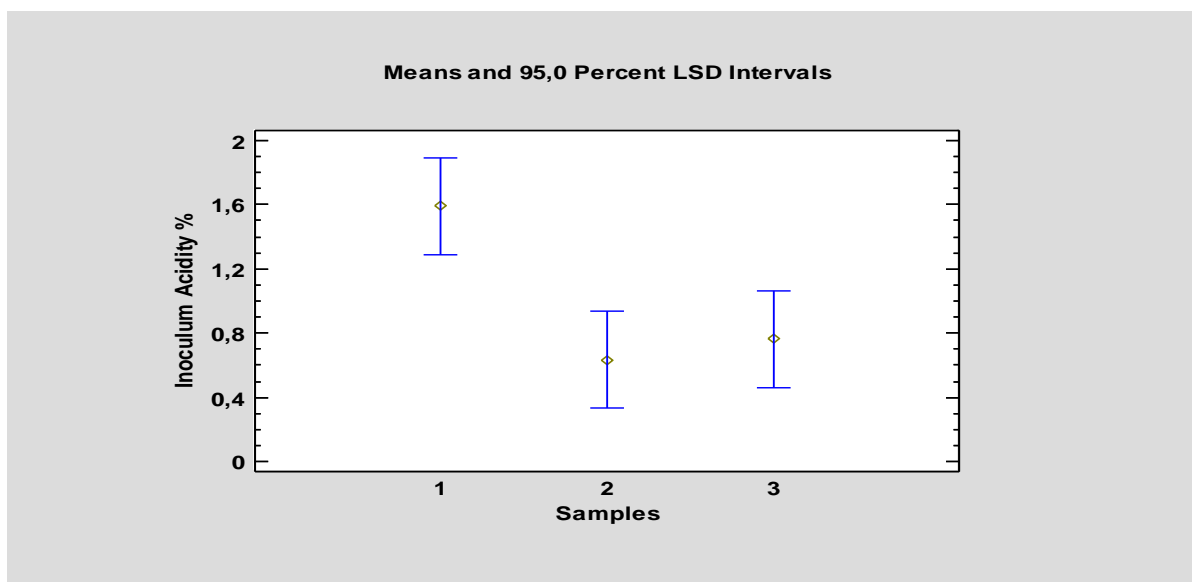
Οξύτητα (γαλακτικό οξύ %)			
Δείγματα	Εμβόλιο	Φρέσκος Τραχανάς	Αποξηραμένος Τραχανάς
Μάρτυρας	1,59 ^b	0,76 ^a	2,68 ^b
Προβιοτικός Α	0,63 ^a	0,67 ^a	2,28 ^a
Προβιοτικός Β	0,63 ^a	0,76 ^a	2,24 ^a

*Οι τιμές με τα διαφορετικά γράμματα ανά στήλη παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους, με επίπεδο σημαντικότητας (P<0.05).

Σύμφωνα με την ανάλυση ANOVA όπως φαίνεται στα διαγράμματα 17, 18 και 19 και περιγράφονται στο Πίνακα 24, στατιστικά σημαντικές διαφορές παρουσίασε ο Μάρτυρας σε σύγκριση με τα άλλα δείγματα του Εμβόλιου (καλλιέργεια εκκίνησης) και του Αποξηραμένου Τραχανά.

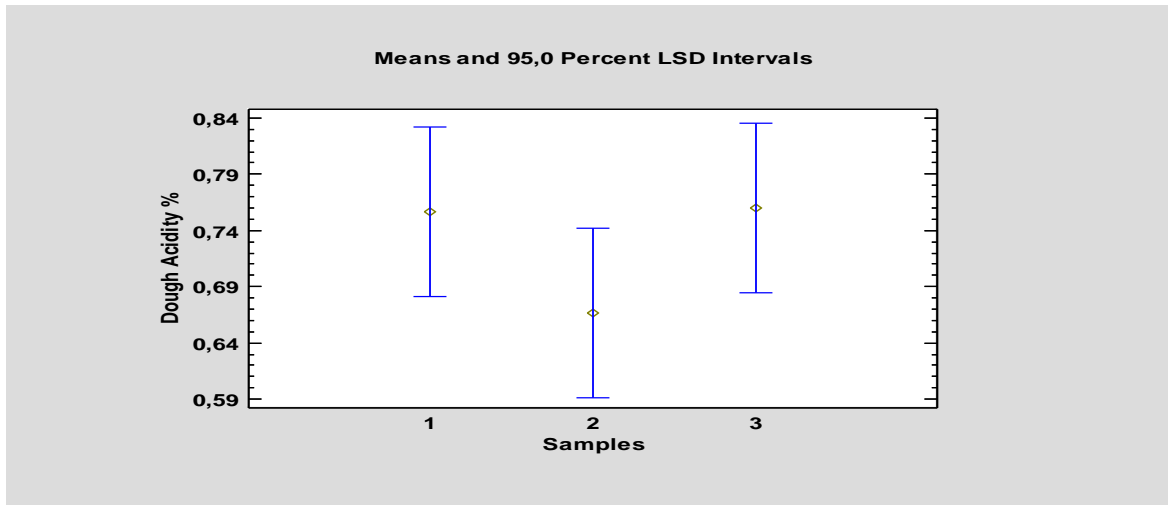
Χημικές αναλύσεις σε παραδοσιακό Φρέσκο Τραχανά από ζυμωμένο γάλα των ερευνών που πραγματοποίησε ο Hendek Ertop et al. (2019), το εύρος των μέσων τιμών οξύτητας εκφρασμένο σε γαλακτικό οξύ % ήταν 9,45-27 ενώ στην παρούσα μελέτη μόνο 0,67-0,76, υποδηλώνοντας ότι η παρατεταμένη ζύμωση του ζυμαριού για κάποιες μέρες αυξάνει την οξύτητα του προϊόντος.

Σύμφωνα με μελέτες του Ibanoglu S. et al. (1998) που πραγματοποιήθηκαν σε δείγματα αποξηραμένου τραχανά από αγελαδινό γιαούρτι με το ζυμάρι να επωάστηκε στους 30°C για 4 μέρες έδειξαν ότι, η οξύτητα εκφρασμένη σε γαλακτικό οξύ κυμαίνεται από 1,8-2% δηλαδή μικρότερες από τις αντίστοιχες αυτής της εργασίας.



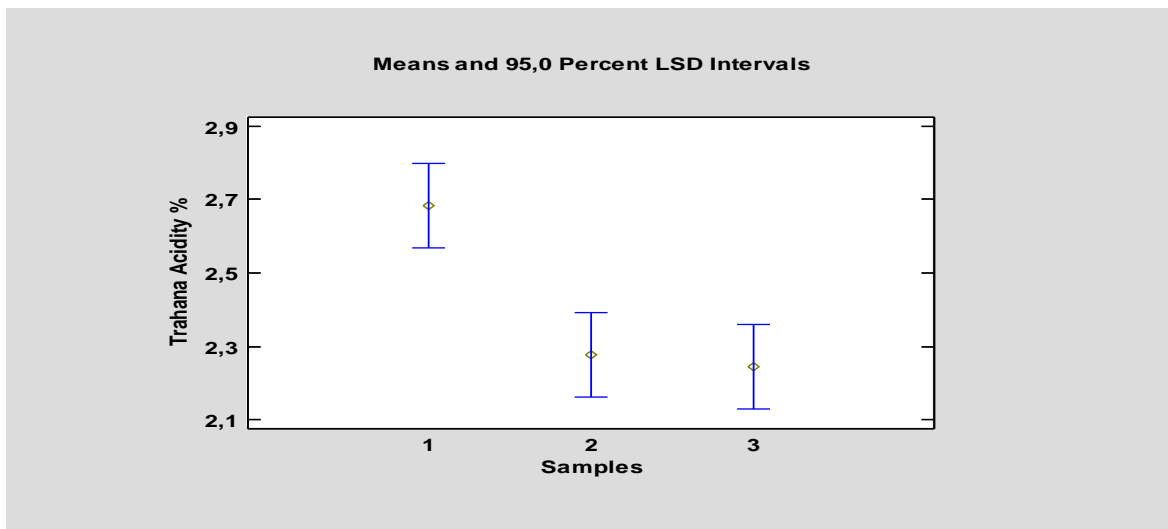
*1: Μάρτυρας M.Z. 2: Προβιοτικός A M.Z. 3: Προβιοτικός B M.Z.

Διάγραμμα 16: Ανάλυση διασποράς (ANOVA) στην οξύτητα των εμβολίων εκφρασμένη σε γαλακτικό οξύ (%).



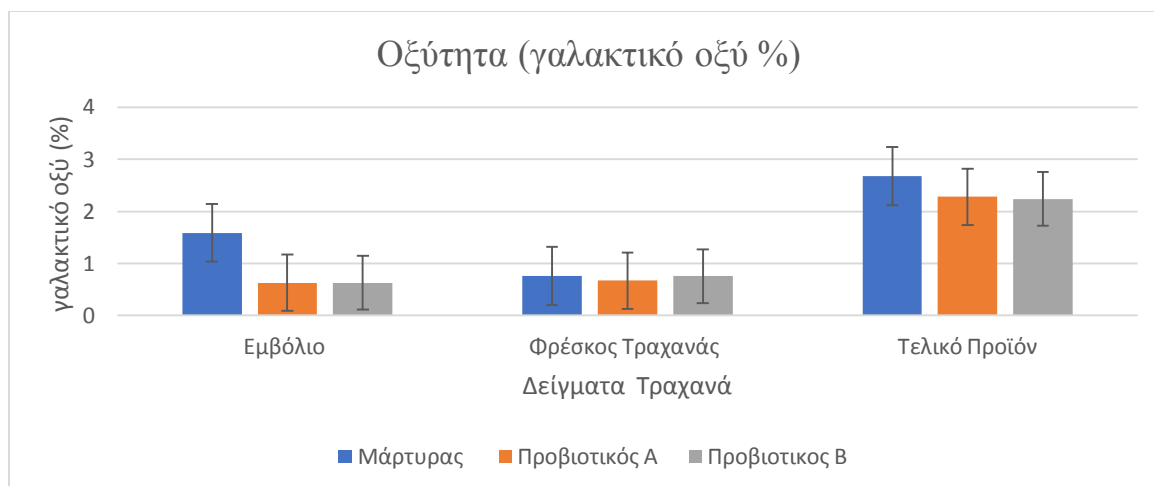
*1: Μάρτυρας M.Z. 2: Προβιοτικός Α Μ.Z. 3: Προβιοτικός Β Μ.Z.

Διάγραμμα 17: Ανάλυση διασποράς (ANOVA) στην οξύτητα των δειγμάτων Φρέσκου Τραχανά (Μ.Ζ.) εκφρασμένη σε γαλακτικού οξέος (%).



*1: Μάρτυρας M.Z. 2: Προβιοτικός Α Μ.Z. 3: Προβιοτικός Β Μ.Z.

Διάγραμμα 18: Ανάλυση διασποράς (ANOVA) στην οξύτητα των δειγμάτων Αποξηραμένου Τραχανά (Μ.Ζ.) εκφρασμένη σε γαλακτικό οξύ (%).



Διάγραμμα 19: Συγκέντρωση οξύτητας εκφρασμένη σε γαλακτικό οξύ (%) του εμβολίου και των δειγμάτων Φρέσκου και Αποξηραμένου τραχανά (Μ.Ζ.).

Στο Διάγραμμα 19 τα δείγματα με την υψηλότερη περιεκτικότητα γαλακτικού οξέος είναι του Αποξηραμένου Τραχανά (Τελικό Προϊόν). Τα δείγματα Φρέσκου Τραχανά με το εμβόλιο καλλιέργειας εκκίνησης έχουν σχεδόν παρόμοια αποτελέσματα εκτός από το εμβόλιο του Μάρτυρα (*Lactobacillus bulgaricus* & *Streptococcus thermophilus*) που παρουσιάζει διπλάσια τιμή.

4.2.2.Αποτελέσματα μετρήσεων Υγρασίας

Η μέτρηση της Υγρασίας των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε μόνο στα δείγματα Φρέσκου και Αποξηραμένου Τραχανά (Μ.Ζ.). Τα αποτελέσματα είναι εκφρασμένα (%) και συγκρίθηκαν με αντίστοιχες μελέτες.

Πίνακας 13: Περιεκτικότητα Υγρασίας (%) δειγμάτων Φρέσκου και Αποξηραμένου Τραχανά (Μ.Ζ.)

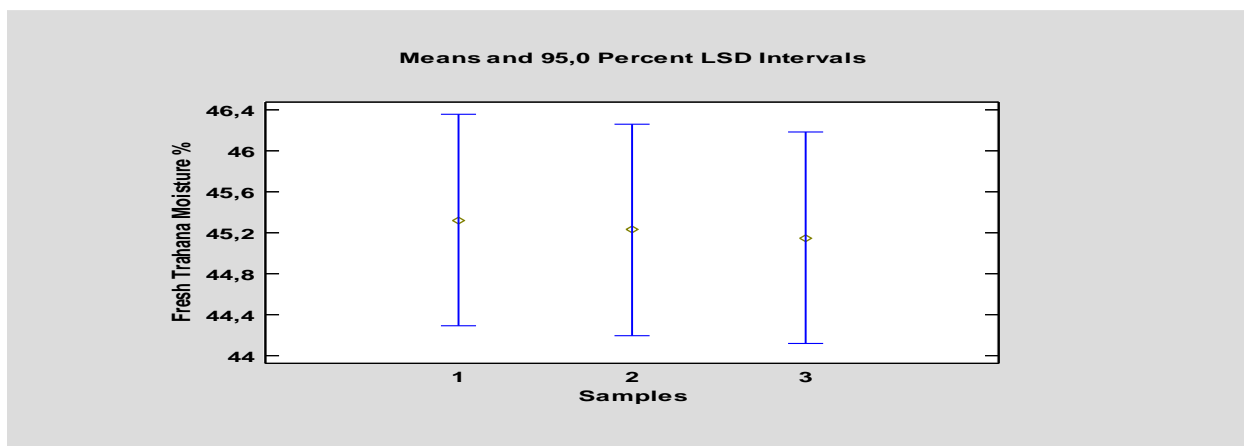
Δείγματα	Υγρασία (%)	
	Φρέσκος Τραχανάς	Αποξηραμένος Τραχανάς
Μάρτυρας	45,32 ^a	10,57 ^b
Προβιοτικός Α	45,23 ^a	10,26 ^{ab}
Προβιοτικός Β	45,15 ^a	9,91 ^a

*Οι τιμές με τα διαφορετικά γράμματα ανά στήλη παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους, με επίπεδο σημαντικότητας ($P < 0.05$).

Σύμφωνα με την ανάλυση ANOVA όπως φαίνεται στα διαγράμματα 21 και 22 και περιγράφονται στον Πίνακα 28, στατιστικά σημαντικές διαφορές παρουσίασε ο Μάρτυρας σε σύγκριση με το Προβιοτικό Β στο στάδιο του Αποξηραμένου Προϊόντος.

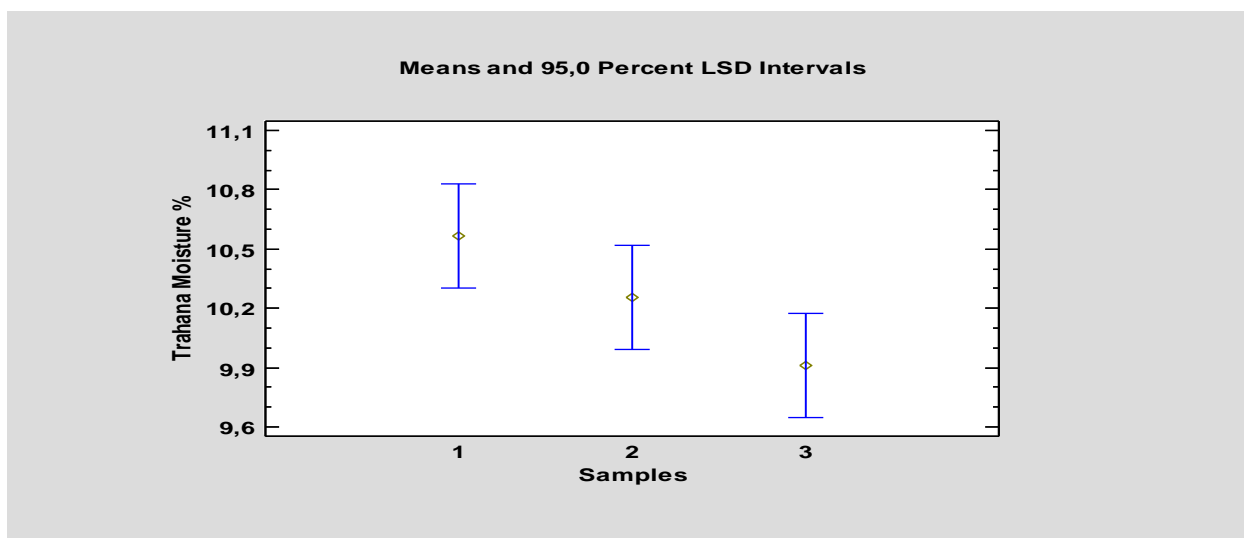
Σύμφωνα με μελέτες που πραγματοποιήθηκαν από τον Hendek Ertop et al. (2019), η περιεκτικότητα υγρασίας % του Φρέσκου τραχανά από ζυμωμένο γάλα είναι 49,22-54,97 και στην συγκεκριμένη μελέτη 45,15-45,32 δηλαδή σε μεγάλο βαθμό παρόμοιες.

Σύμφωνα με μελέτες του Ibanoglu S. et al. (1998) που πραγματοποιήθηκαν σε δείγματα Αποξηραμένου Τραχανά από αγελαδινό γιαούρτι με το ζυμάρι να επώαστηκε στους 30°C για 4 μέρες έδειξαν ότι, η υγρασία % κυμαίνεται από 7,7-9,9% δηλαδή σχετικά μικρότερες από τις αντίστοιχες αυτής της εργασίας.



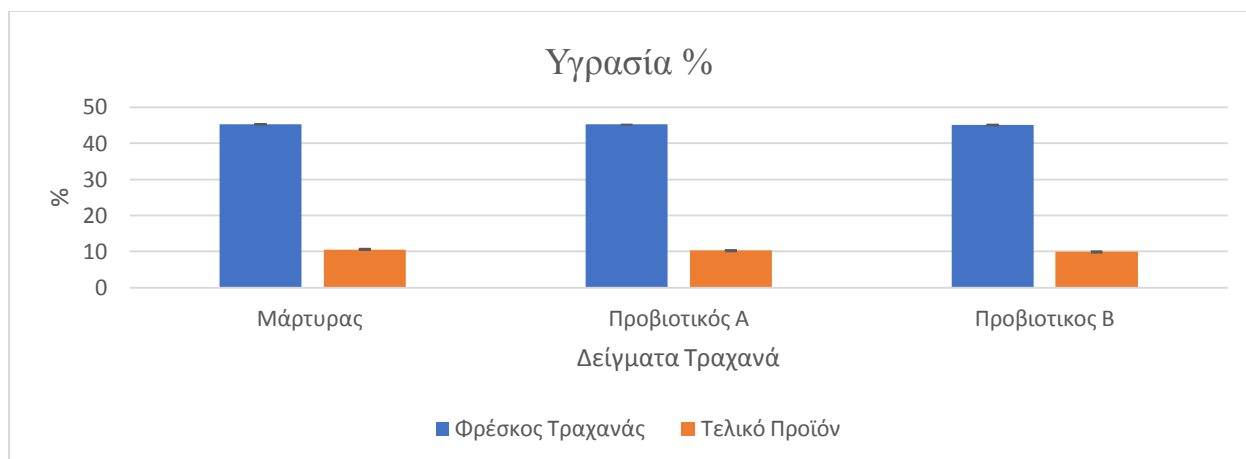
*1: Μάρτυρας M.Z. 2: Προβιοτικός A M.Z. 3: Προβιοτικός B M.Z.

Διάγραμμα 20: Αναλυση διασποράς (ANOVA) της περιεκτικότητας υγρασίας (%) των δειγμάτων Φρέσκου Τραχανά (M.Z.).



*1: Μάρτυρας M.Z. 2: Προβιοτικός A M.Z. 3: Προβιοτικός B M.Z.

Διάγραμμα 21: Ανάλυση διασποράς (ANOVA) της περιεκτικότητας υγρασίας (%) των δειγμάτων Αποξηραμένου Τραχανά (X.Z.).



Διάγραμμα 22: Περιεκτικότητα υγρασίας (%) των δειγμάτων Φρέσκου και Αποξηραμένου Τραχανά (Μ.Ζ.).

Στο Διάγραμμα 22 τα δείγματα Τελικού Αποξηραμένου Προϊόντος παρουσιάζουν χαμηλότερα ποσοστά υγρασίας από τα Φρέσκα δείγματα.

4.2.3. Αποτελέσματα μετρήσεων λιπαρών ουσιών

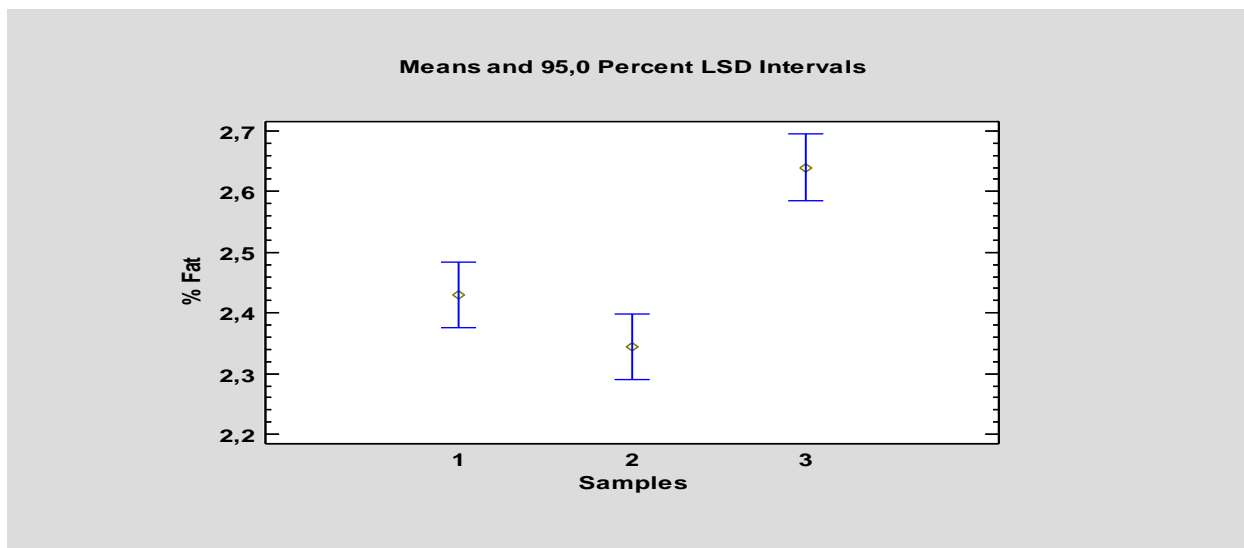
Στο Πίνακα 14 συγκρίνονται τα αποτελέσματα των λιπαρών οξέων των δειγμάτων Τελικού Αποξηραμένου Τραχανά (Μ.Ζ.) με την μέθοδο Soxhlet. Η συγκέντρωση των λιπαρών οξέων είναι εκφρασμένη (%).

Πίνακας 14: Περιεκτικότητα λιπαρών (%) δειγμάτων Αποξηραμένου Τραχανά (Μ.Ζ.).

Λιπαρά (%)	
Δείγματα	Αποξηραμένος Τραχανάς
Μάρτυρας	2,43 ^a
Προβιοτικός Α	2,34 ^a
Προβιοτικός Β	2,64 ^{ab}

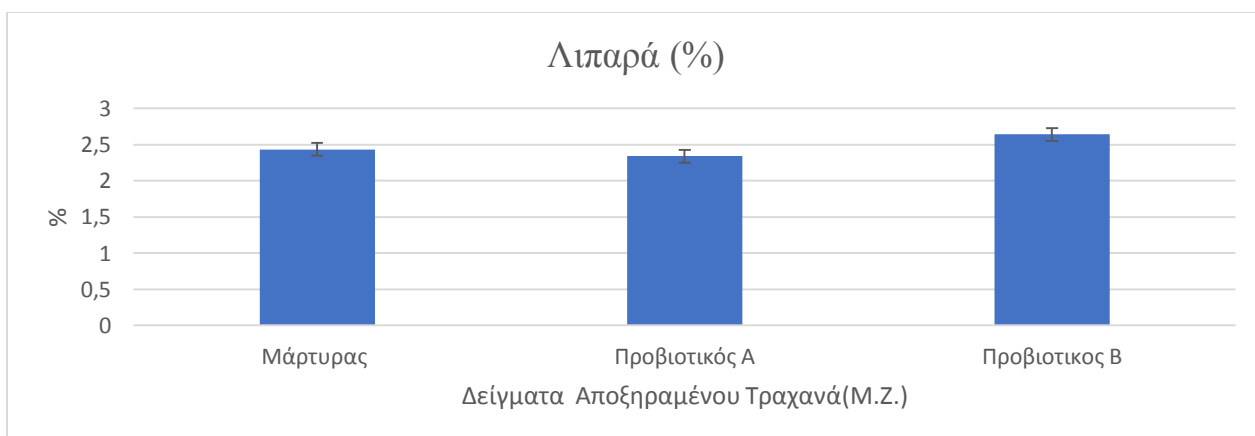
*Οι τιμές με τα διαφορετικά γράμματα ανά στήλη παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους, με επίπεδο σημαντικότητας ($P < 0.05$).

Σύμφωνα με την ανάλυση ANOVA όπως φαίνεται στο διάγραμμα 24 και περιγράφονται στο Πίνακα 14, δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων.



*1:Μάρτυρας Μ.Ζ. 2: Προβιοτικός Α Μ.Ζ. 3: Προβιοτικός Β Μ.Ζ.

Διάγραμμα 23: Ανάλυση διασποράς (ANOVA) της συγκέντρωσης λιπαρών (%) σε δείγματα Αποξηραμένου τραχανά (Μ.Ζ.).



Διάγραμμα 24: Περιεκτικότητα λιπαρών (%) σε δειγμάτων Αποξηραμένου Τραχανά (Μ.Ζ.).

Στο Διάγραμμα 24 φαίνεται ότι, τα τρία δείγματα δεν έχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ τους, το οποίο ήταν αναμενόμενο λόγω της κοινής αναλογίας των υλικών που χρησιμοποιήθηκαν. Το γάλα και το βούτυρο που αποτελούν τις βασικές πηγές λιπαρών οξέων είχαν κοινές αναλογίες.

4.2.4. Αποτελέσματα μετρήσεων Ολικών Πρωτεϊνών

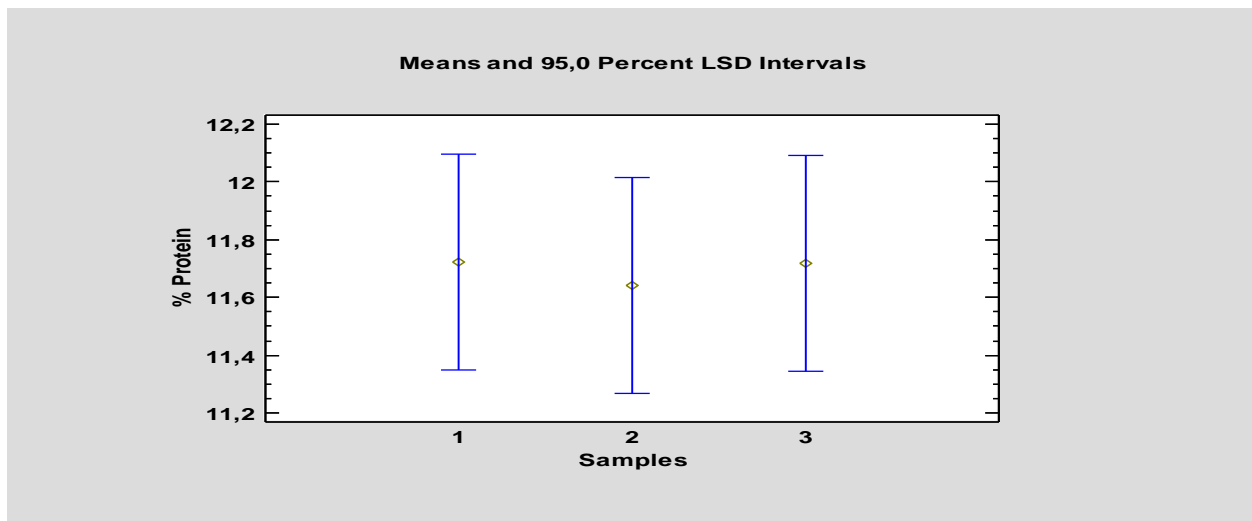
Στον Πίνακα 15 συγκρίνονται τα αποτελεσμάτα των Ολικών Πρωτεϊνών των δειγμάτων Αποξηραμένου Τραχανά (Μ.Ζ.) με την μέθοδο Kjeldahl. Οι μετρήσεις είναι εκφρασμένες (%).

Πίνακας 15: Περιεκτικότητα Ολικών Πρωτεϊνών (%) δειγμάτων Αποξηραμένου Τραχανά (Μ.Ζ.).

Ολική Πρωτεΐνη %	
Δείγματα	Αποξηραμένος Τραχανάς
Μάρτυρας	11,72 ^a
Προβιοτικός Α	11,72 ^a
Προβιοτικός Β	11,64 ^a

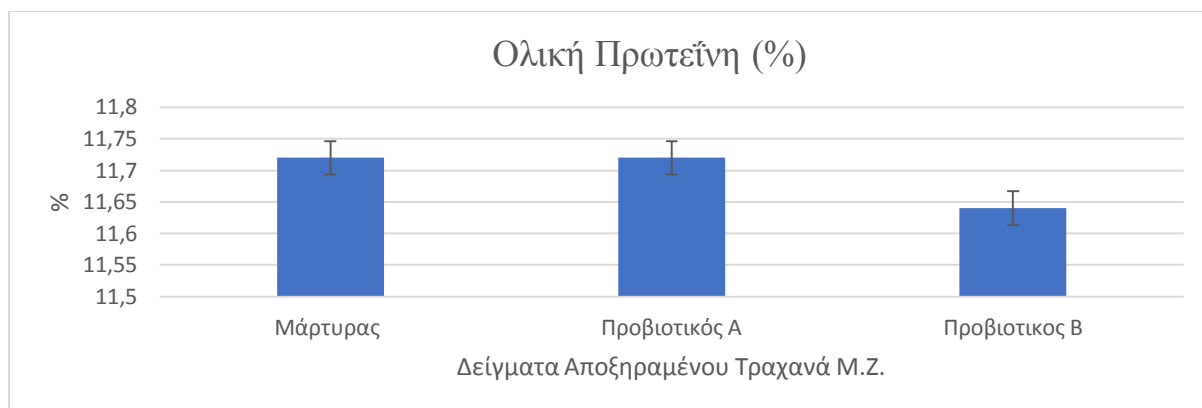
*Οι τιμές με τα διαφορετικά γράμματα ανά στήλη παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους, με επίπεδο σημαντικότητας ($P < 0.05$).

Σύμφωνα με την ανάλυση ANOVA όπως φαίνεται στο διάγραμμα 26 και περιγράφεται στο Πίνακα 15, δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές.



*1:Μάρτυρας Μ.Ζ. 2: Προβιοτικός Α Μ.Ζ. 3: Προβιοτικός Β Μ.Ζ.

Διάγραμμα 25: Ανάλυση διασποράς (ANOVA) της περιεκτικότητας ολικών πρωτεϊνών (%) σε δείγματα Αποξηραμένου Τραχανά (Μ.Ζ.).



Διάγραμμα 26: Περιεκτικότητα Ολικών Πρωτεϊνών (%) σε δείγματα Αποξηραμένου Τραχανά (Μ.Ζ.).

Στο Διάγραμμα 26 φαίνεται ότι, ο Προβιοτικός Β έχει την χαμηλότερη τιμή ενώ ο Μάρτυρας με το Προβιοτικό Α κυμαίνονται σε παρόμοια επίπεδα. Οι αναλογίες των υλικών για την παρασκευή των δειγμάτων είναι κοινές γι' αυτό και δεν παρουσιάζονται μεγάλες διαφορές. Κύριες πηγές πρωτεϊνών στο Τραχανά είναι το γάλα και μετά το αλεύρι.

4.2.5. Αποτελέσματα σταθερότητας αφρού

Στο Πίνακα 16 φαίνονται τα αποτελέσματα της Σταθερότητας Αφρού των δειγμάτων Αποξηραμένου Προϊόντος (Μ.Ζ.) και απεικονίζουν τον χρόνο (min) που απαιτείται μέχρι να εξαφανιστεί το μισό του αρχικού όγκου αφρού. Επίσης, πραγματοποιήθηκε σύγκριση με αντίστοιχες μελέτες.

Πίνακας 16: Σταθερότητας Αφρού (min) δειγμάτων Αποξηραμένου Τραχανά (Μ.Ζ.).

Σταθερότητα Αφρού (min)	
Δείγματα	Αποξηραμένος Τραχανάς
Μάρτυρας	9,13 ^b
Προβιοτικός Α	9 ^b
Προβιοτικός Β	7,4 ^a

*Οι τιμές με τα διαφορετικά γράμματα ανά στήλη παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους, με επίπεδο σημαντικότητας ($P < 0.05$).

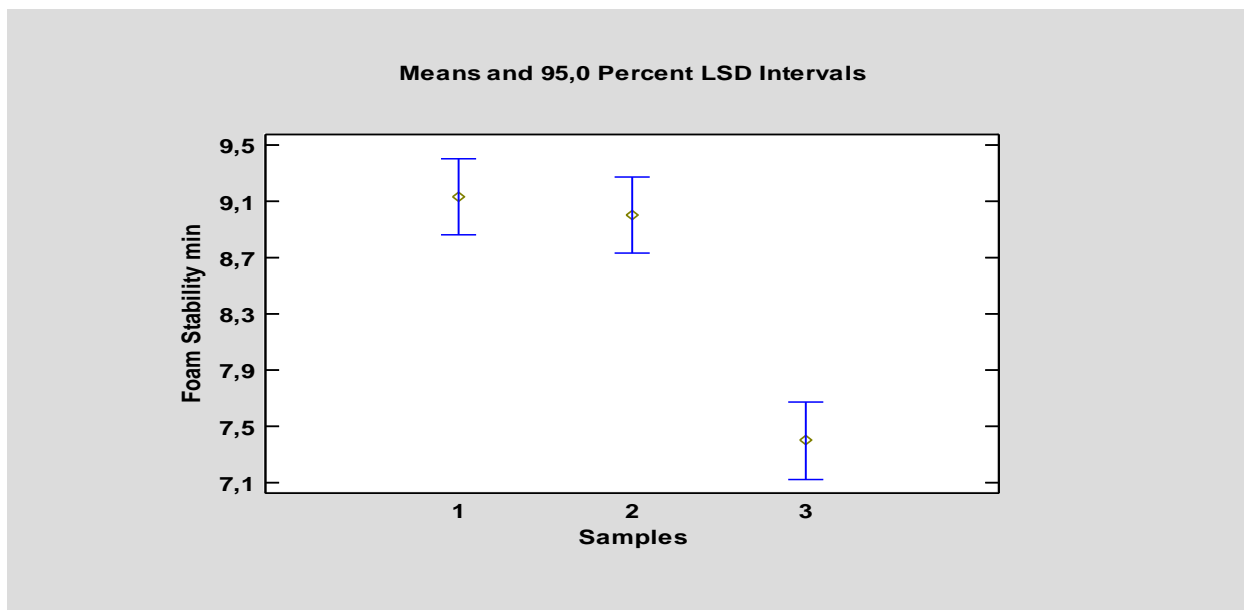
Σύμφωνα με την ανάλυση ANOVA όπως φαίνεται στο διάγραμμα 28 και περιγράφεται στο Πίνακα 16, στατιστικά σημαντικές διαφορές παρουσιάζει ο Προβιοτικός Β σε σύγκριση με τα υπόλοιπα δείγματα παρουσιάζοντας την μικρότερη τιμή.

Σύμφωνα με μελέτες του Bilgicli. et al. (2009) που πραγματοποιήθηκαν σε δείγματα τραχανά από γιαούρτι με επώαση του ζυμαριού για 72 ώρες στους 30°C και εμπλουτισμό με αλεύρι φαγόπυρου (*Fagopyrum esculentum*) σε συγκεντρώσεις 0%, 20%, 40%, 60%, 80%, 100% αντίστοιχα έδειξαν ότι,

στην σταθερότητα του αφρού του αποξηραμένου τραχανά χωρίς εμπλουτισμό είναι $7,09 \text{ ml} \pm 0,05$ και στα εμπλουτισμένα δείγματα με οι τιμές κυμαίνονται από 2,21-0,29. Τα αντίστοιχα δείγματα της μελέτης κυμαίνονται από 7,4-9,13 δηλαδή παρόμοια αποτελέσματα με τα μη εμπλουτισμένα δείγματα.

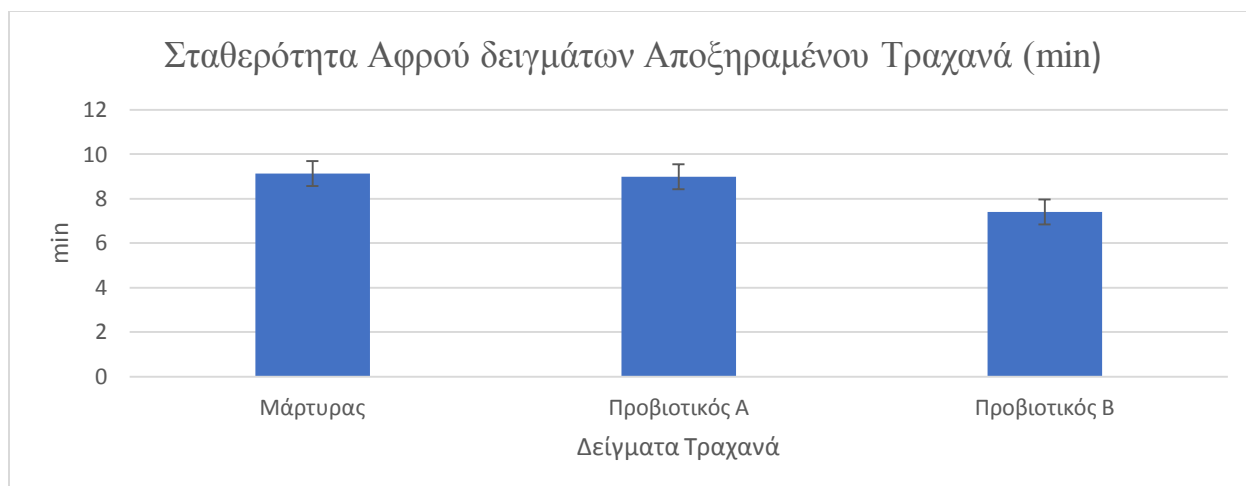
Το φαγόπυρο είναι ψευδοδημητριακό επειδή οι σπόροι του τρώγονται και είναι πλούσιο σε σύνθετους υδατάνθρακες, δεν έχει σχέση με σιτάρι αλλά με το λάπαθο και το ραβένι (USDA GRIN Taxonomy 2015). Είναι πλούσιο σε μέταλλα περιέχει όλα τα απαραίτητα αμινοξέα, δεν περιέχει γλουτένη και έχει ακατέργαστη πρωτεΐνη 18 % (Bonafaccia G. 2003; S. Ikeda 2000; Krefth S. 1999).

Σύμφωνα με τον Sathe (1982) τα δείγματα που είναι εμπλουτισμένα με πολυσακχαρίτες (άμυλο, αμυλοπηκτική) παρουσιάζουν αρνητικά (χαμηλές τιμές) αποτελέσματα σχετικά με την σταθερότητα του αφρού λόγω του ότι στο διεπιφανειακό υμένιο υπάρχει και συμμετοχή μορίων πολυσακχαριτών που διασπούν την συνοχή. Έτσι εξηγείται το γεγονός ότι, τα εμπλουτισμένα δείγματα σε συγκριση με τα υπόλοιπα δείγματα τραχανά παρουσιάζουν ήπια σταθερότητα αφρού.



*1:Μάρτυρας M.Z. 2: Προβιοτικός A M.Z. 3: Προβιοτικός B M.Z.

Διάγραμμα 27: Ανάλυση διασποράς (ANOVA) της Σταθερότητας αφρού (min) σε δείγματα Αποξηραμένου Τραχανά (M.Z.).



Διάγραμμα 28: Σταθερότητα Αφρού (min) σε δείγματα Αποξηραμένου Τραχανα (Μ.Ζ.).

Στο Διάγραμμα 28 φαίνεται ότι τα δείγματα που μελετήθηκαν παρουσιάζουν σχετικά παρόμοιες τιμές και η σταθερότητα αφρισμού είναι ικανοποιητική σε σύγκριση με άλλες μελέτες.

4.2.6. Αποτελέσματα Ικανότητας Αφρισμού

Τα αποτελέσματα της Ικανότητας Αφρισμού πραγματοποιήθηκαν στα δείγματα Τελικού Αποξηραμένου Προϊόντος (Μ.Ζ.) και απεικονίζουν τον όγκο (mL) αερίου που ενσωματώθηκε ανά mL διαλύματος. Επίσης, ακολούθησε σύγκριση με αντίστοιχες μελέτες.

Πίνακας 17: Ικανότητας Αφρισμού (ml) δειγμάτων Αποξηραμένου Τραχανά (Μ.Ζ.).

Ικανότητα Αφρισμού (ml)	
Δείγματα	Αποξηραμένος Τραχανάς
Μάρτυρας	1,6 ^a
Προβιοτικός Α	1,57 ^a
Προβιοτικός Β	1,53 ^a

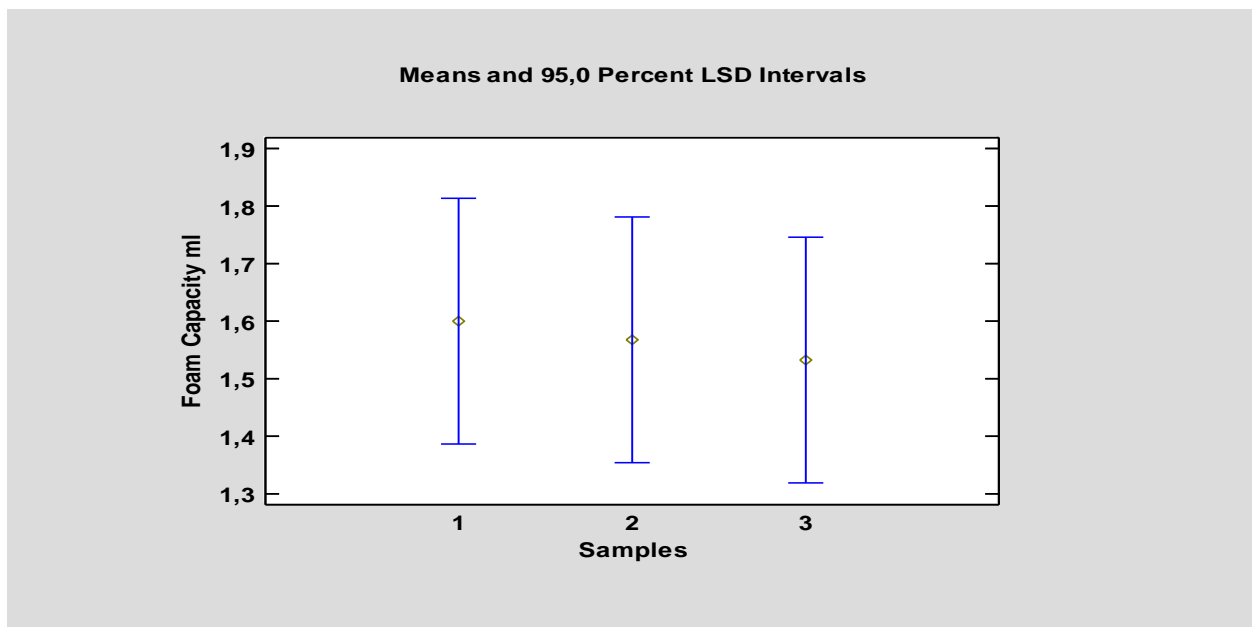
*Οι τιμές με τα διαφορετικά γράμματα ανά στήλη παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους, με επίπεδο σημαντικότητας ($P < 0.05$).

Σύμφωνα με την ανάλυση ANOVA όπως φαίνεται στο διάγραμμα 30 και περιγράφονται στο Πίνακα 17, δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

Σύμφωνα με μελέτες του Bilgicli. et al. (2009) που πραγματοποιήθηκαν σε δείγματα τραχανά από γιαούρτι με επώαση του ζυμαριού για 72 ώρες στους 30°C και εμπλουτισμό με αλεύρι φαγόπυρου σε συγκεντρώσεις 0%, 20%, 40%, 60%, 80%, 100% αντίστοιχα έδειξαν ότι, στην ικανότητα αφρισμού του αποξηραμένου τραχανά χωρίς εμπλουτισμό είναι 0,55 ml ± 0,06 και αυξάνει ανάλογα με την συγκέντρωση του αλεύριου. Στην παρούσα μελέτη τα αποτελέσματα έχουν εύρος 1,53-1,6 ml, ελαφρώς

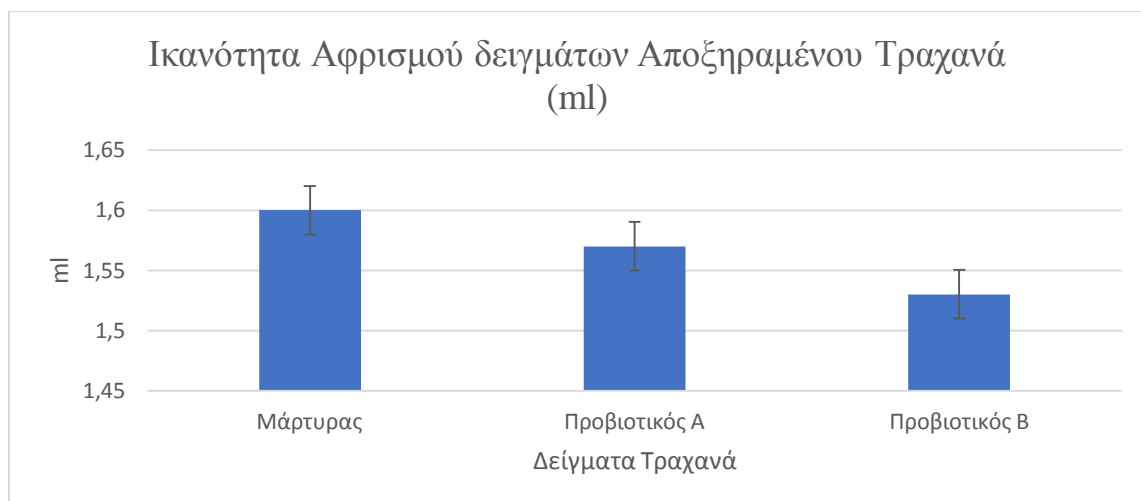
μεγαλύτερη διαφορά κάτι το οποίο ενδεχομένως να βασίζεται στο τρόπο παρασκευής του Προϊόντος αλλά και στην σύσταση των υλικών.

Σύμφωνα με το Sathe (1982) βελτιωμένη ικανότητα αφρισμού συσχετίζεται με την παρουσία σακχάρων και ευνοείται σε μετουσιωμένες πρωτεΐνες. Η προσθήκη πολυσακχαριτών αυξάνει την ικανότητα αφρού όπως και φαίνεται στην μελέτη του Bilgicli et al., (2009) όπου, ο εμπλουτισμός των δειγμάτων Τραχανά με φαγόπυρο (πλούσιο σε σάκχαρα) είναι ανάλογο της ικανότητας αφρισμού. Από την άλλη, τα δείγματα της παρούσας μελέτης παρουσιάζουν ικανοποιητικά αποτελέσματα που προφανώς σχετίζονται με άλλους παράγοντες.



*1:Μάρτυρας Μ.Ζ. 2: Προβιοτικός Α Μ.Ζ. 3: Προβιοτικός Β Μ.Ζ.

Διάγραμμα 29: Ανάλυση διασποράς (ANOVA) της Ικανότητας αφρισμού (ml) σε δείγματα Αποξηραμένου τραχανά (Μ.Ζ.).



Διάγραμμα 30: Ικανότητα Αφρισμού (ml) σε δείγματα Αποξηραμένου Τραχανά (Μ.Ζ.).

Στο Διάγραμμα 30 φαίνεται ότι τα προβιοτικά δείγματα παρουσιάζουν χαμηλότερες τιμές σε σύγκριση με τον Μάρτυρα. Η ικανότητα Αφρισμού σε σύγκριση με άλλες μελέτες είναι σε ικανοποιητικά επίπεδα.

4.2.7. Αποτελέσματα Ικανότητας Απορρόφησης νερού / λαδιού

Στο Πίνακα 18 φαίνονται τα αποτελέσματα της Ικανότητας Απορρόφησης νερού / λαδιού σε δείγματα Τελικού Αποξηραμένου Προϊόντος (Μ.Ζ.) και απεικονίζουν γραμμάρια νερού ή απορροφηθέν λάδι ανά γραμμάριο δείγματος Τραχανά (g νερού ή λαδιού /g δείγματος). Επίσης, ακολούθησε σύγκριση με αντίστοιχες μελέτες.

Πίνακας 18: Ικανότητας Απορρόφησης νερού / λαδιού (g) δειγμάτων Αποξηραμένου Τραχανά (Μ.Ζ.).

Ικανότητα Απορρόφησης νερού / λαδιού Τελικού Αποξηραμένου Προϊόντος(g)		
Δείγματα	Νερό	Λάδι
Μάρτυρας	2,87 ^a	4,13 ^a
Προβιοτικός Α	3,17 ^b	4,2 ^a
Προβιοτικός Β	2,97 ^{ab}	4,37 ^a

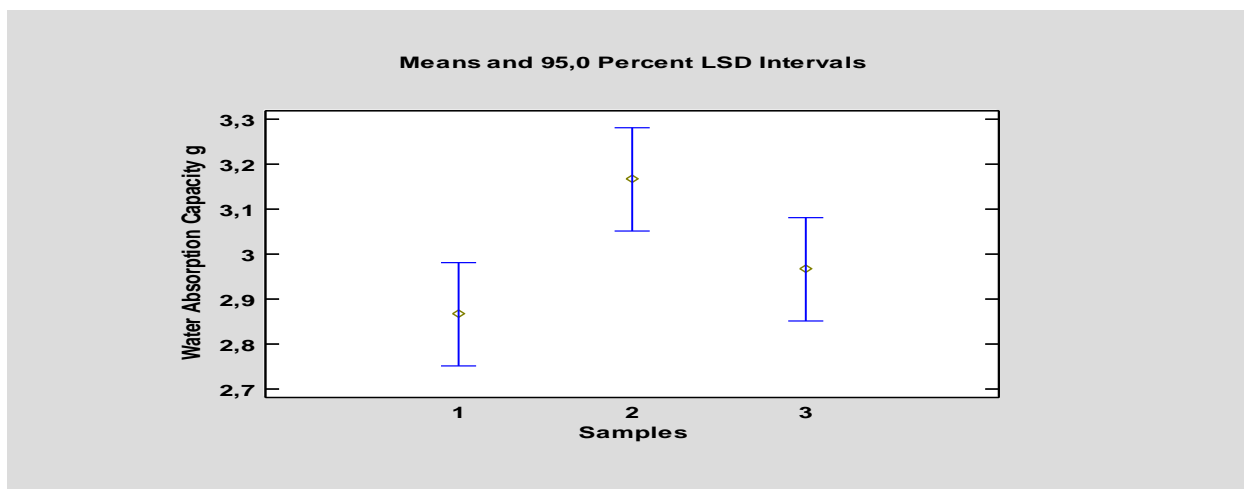
*Οι τιμές με τα διαφορετικά γράμματα ανά στήλη παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους, με επίπεδο σημαντικότητας ($P < 0.05$).

Σύμφωνα με την ανάλυση ANOVA όπως φαίνεται στα διάγραμμα 32 και 33 και περιγράφονται στο Πίνακα 18, υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές στο νερό μεταξύ Μάρτυρα και Προβιοτικό Α. Στην Ικανότητα Απορρόφηση λαδιού δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

Σύμφωνα με μελέτες του Bilgicli et al. (2009) που πραγματοποιήθηκαν σε δείγματα τραχανά από γιαούρτι με επώαση του ζυμαριού για 72 ώρες στους 30°C και εμπλουτισμό με αλεύρι φαγόπυρου σε συγκεντρώσεις 0%, 20%, 40%, 60%, 80%, 100% αντίστοιχα έδειξαν ότι, σχετικά με την ικανότητα απορρόφησης νερού των δειγμάτων οι τιμές έχουν εύρος 0,50-0,63 ml/g ενώ στην παρούσα πειραματική διαδικασία τα αποτελέσματα έχουν εύρος 2,87-3,17 ml/g αρκετά υψηλότερο.

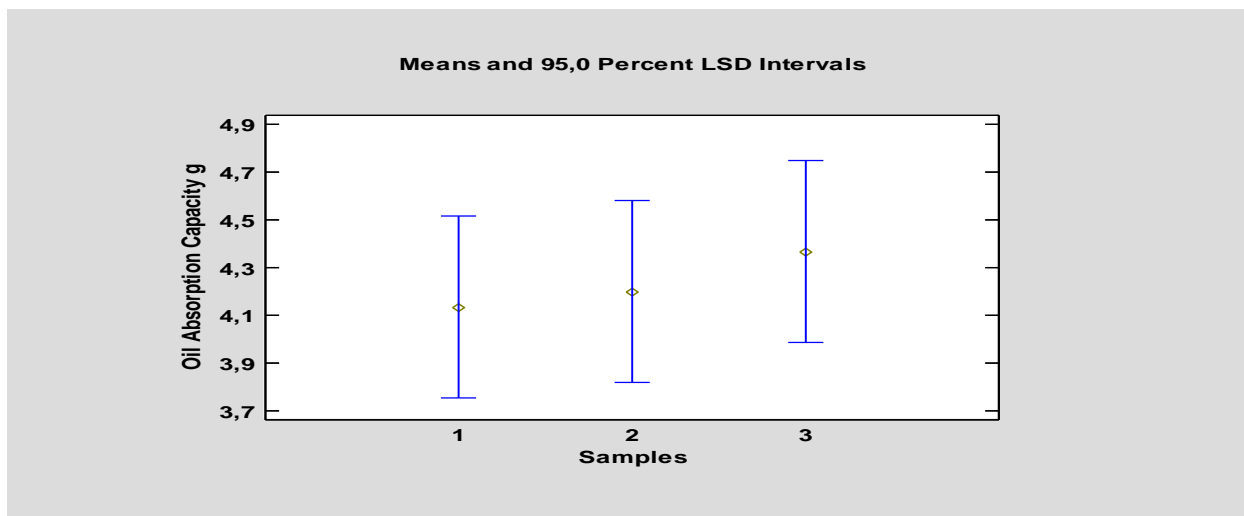
Η ικανότητα απορρόφησης λαδιού στο δείγμα τραχανά χωρίς εμπλουτισμό έχει 4,59 ml/g δηλαδή πολύ κοντά στις αντίστοιχες μετρήσεις. Όσο η αυξάνεται η συγκέντρωση του αλεύρου μειώνεται κατακόρυφα και αφίκνεται σε τιμή 0,50 ml/g.

Σύμφωνα με τον Kohnhost (1990) τα εμπλουτισμένα δείγματα παρουσιάζουν μειωμένη ικανότητα απορρόφησης νερού / λαδιού όπως φαίνεται στις έρευνες που μελετήθηκαν στην παρούσα μελέτη.



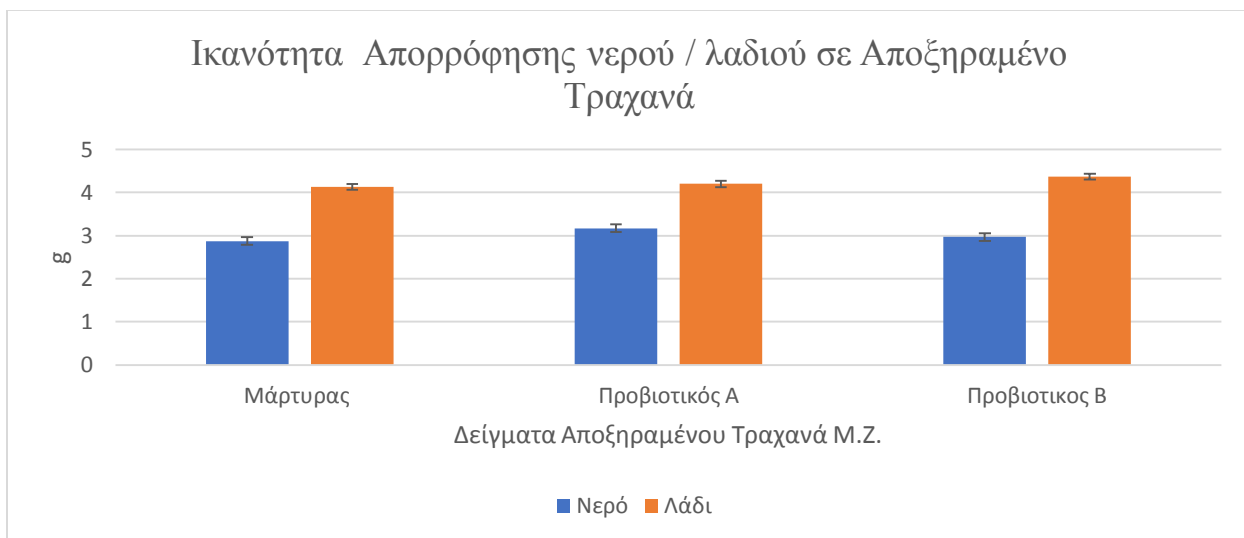
*1:Μάρτυρας M.Z. 2: Προβιοτικός A M.Z. 3: Προβιοτικός B M.Z.

Διάγραμμα 31: Ανάλυση διασποράς (ANOVA) της Ικανότητας Απορρόφησης νερού (g) σε δείγματα Αποξηραμένου τραχανά (M.Z.).



*1:Μάρτυρας Μ.Ζ. 2: Προβιοτικός Α Μ.Ζ. 3: Προβιοτικός Β Μ.Ζ.

Διάγραμμα 32: Ανάλυση διασποράς (ANOVA) της Ικανότητας Απορρόφησης λαδιού (g) σε δείγματα Αποξηραμένου Τραχανά (Μ.Ζ.).



Διάγραμμα 33: Ικανότητα Απορρόφησης νερού / λαδιού (g) σε δείγματα Αποξηραμένου Τραχανά (Μ.Ζ.).

Το λάδι παρουσιάζει υψηλότερες τιμές από το νερό όπως φαίνεται στο Διάγραμμα 33 και περιγράφεται στο Πίνακα 18, λόγω του λιπόφιλου χαρακτήρα των πρωτεϊνών και σε μικρότερο βαθμό

υδρόφιλο. Η υψηλή συγκράτηση ελαίου οφείλεται στην παρουσία μη πολικών πλευρικών ομάδων οι οποίες μπορούν να αλληλεπιδράσουν με τα αλκύλια των λιπών και των ελαίων (Sathe 1982).

4.2.8. Αποτελέσματα Γαλακτωματοποιητικής Ικανότητας

Στο Πίνακα 19 φαίνονται τα αποτελέσματα της Γαλακτωματοποιητικής Ικανότητας που πραγματοποιήθηκαν σε δείγματα Τελικού Αποξηραμένου Προϊόντος (Μ.Ζ.) και απεικονίζουν το ποσοστό επί τοις εκατό του όγκου της γαλακτωματοποιημένης στιβάδας στο ολικό όγκο του μίγματος. Επίσης, ακολούθησε σύγκριση με αντίστοιχες μελέτες.

Πίνακας 19: Γαλακτωματοποιητικής Ικανότητας (%) των δειγμάτων Αποξηραμένου Τραχανά (Μ.Ζ.).

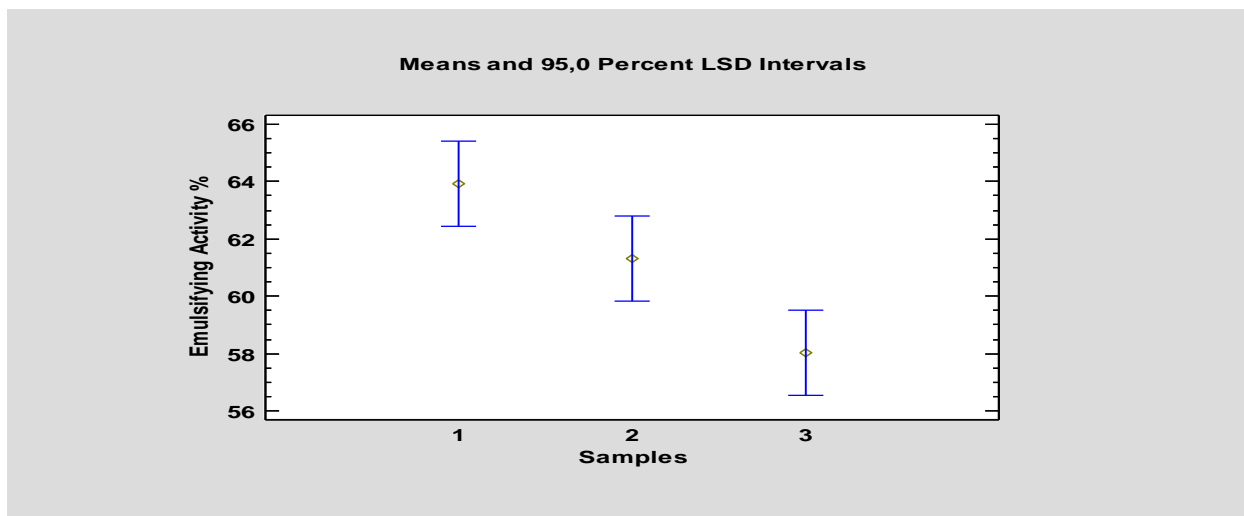
Γαλακτωματοποιητική Ικανότητα (%)	
Δείγματα	Αποξηραμένο Τραχανά
Μάρτυρας	63,93 ^b
Προβιοτικός Α	61,33 ^b
<i>Προβιοτικός Β</i>	58,02 ^a

*Οι τιμές με τα διαφορετικά γράμματα ανά στήλη παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους, με επίπεδο σημαντικότητας ($P < 0.05$).

Σύμφωνα με την ανάλυση ANOVA όπως φαίνεται στο διάγραμμα 35 και περιγράφεται στο Πίνακα 19, ο Προβιοτικός Β παρουσιάζει στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των άλλων δειγμάτων.

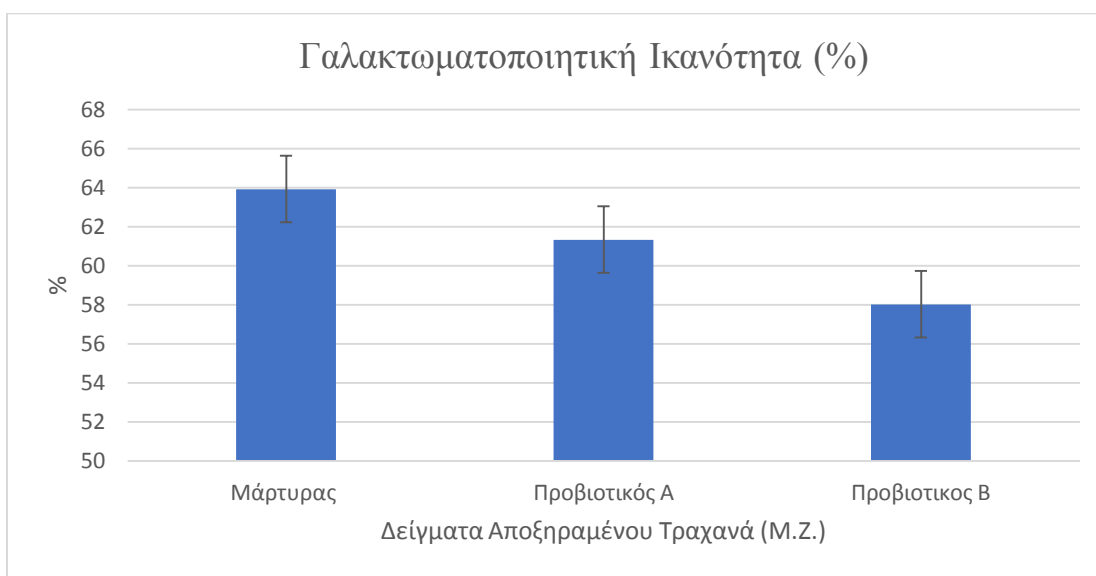
Σύμφωνα με μελέτες του Bilgili et al. (2009) που πραγματοποιήθηκαν σε δείγματα τραχανά από γιαούρτι με επώαση του ζυμαριού για 72 ώρες στους 30°C και εμπλουτισμό με αλεύρι φαγόπυρου σε συγκεντρώσεις 0%, 20%, 40%, 60%, 80%, 100% αντίστοιχα έδειξαν ότι, η γαλακτωματοποιητική ικανότητα έχει εύρος 90,53-93,16% όπου όσο αυξάνει ο εμπλουτισμός του αλευριού τόσο παρουσιάζεται ελαφρώς μείωση της ικανότητας. Στην παρούσα μελέτη οι τιμές είναι αρκετά μικρότερες.

Σύμφωνα με τον Sathe (1982) η γαλακτωματοποιητική ικανότητα σχετίζεται με την καλή διαλυτότητα των πρωτεϊνών. Στις υψηλές συγκεντρώσεις, η αλληλεπίδραση των πρωτεϊνικών μορίων υδρόφοβων ομάδων με την φάση του ελαίου είναι περισσότερο δυσχερές. Έτσι εξηγείται ότι, ο εμπλουτισμός των δειγμάτων μειώνει την γαλακτωματοποιητική ιδιότητα.



*1: Μάρτυρας M.Z. 2: Προβιοτικός A M.Z. 3: Προβιοτικός B M.Z.

Διάγραμμα 34: Ανάλυση διασποράς (ANOVA) της Γαλακτωματοποιητικής Ικανότητας (%) σε δείγματα Αποξηραμένου Τραχανά (M.Z.).



Διάγραμμα 35: Γαλακτωματοποιητική Ικανότητα (%) σε δείγματα Αποξηραμένου Τραχανά (M.Z.).

Στο Διάγραμμα 35 φαίνεται η γαλακτωματοποιητική ικανότητα των δειγμάτων Αποξηραμένου Τραχανά (M.Z.) όπου τα προβιοτικά στελέχη παρουσιάζουν χαμηλότερες τιμές σε σύγκριση με το Μάρτυρα. Η Γαλακτωματοποιητική Ικανότητα και των τριών δειγμάτων είναι σε ικανοποιητικά επίπεδα λόγω της υψηλής διαλυτότητας των πρωτεϊνών.

4.2.9. Αποτελέσματα Οργανοληπτικού Ελέγχου

Ο Οργανοληπτικός Έλεγχος πραγματοποιήθηκε από μια ομάδα οκτώ δοκιμαστών στο Εργαστήριο της Γαλακτοκομίας. Το τελικό αποξηραμένο προϊόν μαγειρεύτηκε σε σούπα. Οι δοκιμαστές σύμφωνα με 9 βασικά κριτήρια αξιολόγησαν τα τρία δείγματα σούπας, Μάρτυρας (Μ.Ζ.), Προβιοτικός Α (Μ.Ζ.), Προβιοτικός Β (Μ.Ζ.). Οι μέσες τιμές των βαθμολογιών και το διάγραμμα αράχνης για τα τρία δείγματα σούπας απεικονίζονται στο Πίνακα 20 και στο Διάγραμμα 25 αντίστοιχα.

Πίνακας 20: Βαθμολογία δειγμάτων σούπας Τραχανά (Μ.Ζ.)

ΚΡΙΤΗΡΙΑ	ΜΑΡΤΥΡΑΣ	ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΟΣ Α	ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΟΣ Β
ΟΞΥΤΗΤΑ	2,25 ^a	3,5 ^b	3,5 ^b
ΓΛΥΚΥΤΗΤΑ	2,125 ^a	1,75 ^a	2,125 ^a
ΥΦΗ ΤΟΥ ΣΩΜΑΤΟΣ	3,5 ^a	2,875 ^a	3,125 ^a
ΕΝΤΑΣΗ ΧΡΩΜΑΤΟΣ	3,625 ^a	3,5 ^a	3,5 ^a
ΑΙΣΘΗΣΗ ΣΤΟ ΣΤΟΜΑ	3,375 ^a	2,875 ^a	3,75 ^a
ΟΜΟΙΟΓΕΝΕΙΑ	4,375 ^b	2,875 ^a	2,875 ^a
ΣΥΝΟΧΗ	3,75 ^b	2,75 ^a	2,375 ^a
ΣΥΝΟΛΙΚΗ ΑΠΟΔΟΧΗ	3,125 ^{ab}	2,75 ^a	4 ^b

*Οι τιμές με τα διαφορετικά γράμματα ανά οριζόντια στήλη παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους, με επίπεδο σημαντικότητας ($P < 0.05$).

Η αξιολόγηση των δειγμάτων σούπας Τραχανά (Μ.Ζ.) πραγματοποιήθηκε από μια ομάδα οκτώ δοκιμαστών του Εργαστηρίου της Γαλακτοκομίας και απεικονίζεται στο παρακάτω διάγραμμα. Η οξύτητα της σούπας Τραχανά από γιαούρτι είναι η πιο ήπια και παρουσιάζει στατιστικά σημαντική διαφορά σε σύγκριση με τα άλλα δείγματα. Επίσης, η ομοιογένεια και η συνοχή είναι εντονότερη στα δείγματα σούπας Τραχανά από γιαούρτι με στατιστικά σημαντικές διαφορές σε σχέση με τα υπόλοιπα δείγματα. Σχετικά με την συνολική αποδοχή, η σούπα Τραχανά από Προβιοτικό στέλεχος και θερμόφιλο κόκκο (Προβιοτικός Β) αποκόμισε την υψηλότερη βαθμολογία και παρουσίασε στατιστικά σημαντική διαφορά σε σύγκριση με το Προβιοτικό Α. Στην συνολική βαθμολογία το δείγμα σούπας με την υψηλότερη βαθμολογία ήταν ο Μάρτυρας, ακολουθεί ο Προβιοτικός Β και τέλος ο Προβιοτικός Α. Καταλήγοντας ότι, τα δείγματα που περιείχαν τον στρεπτόκοκκο (*Streptococcus thermophilus*) ήταν πιο αποδεκτά από τους δοκιμαστές.



Διάγραμμα 36: Μοντέλο αξιολόγησης ‘αράχνη’ για το κάθε δείγμα σούπας Τραχανά (Μ.Ζ.).

Στο Διάγραμμα 36 φαίνονται η αξιολόγηση και σύγκριση των δειγμάτων σούπας τραχανά σύμφωνα με τα κριτήρια που θεσπίστηκαν στην παρούσα οργανοληπτική δοκιμή.

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Συνοψίζοντας, σε μικροβιολογικό επίπεδο οι πληθυσμοί των κόκκων, λακτοβάκιλλων αλλά και η Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα ήταν σε υψηλότερα ποσοστά στα προβιοτικά δείγματα Φρέσκου και Αποξηραμένου Τραχανά (Μ.Ζ.) συγκριτικά με τα δείγματα Εμπορίου και Μάρτυρα. Με την μέθοδο της ζύμωσης οι τιμές κυμαίνονταν άνω των 10^6 - 10^7 cfu/g προϊόντος, καθιστώντας το προϊόν λειτουργικό για την διατροφή των καταναλωτών. Επιπλέον, παρουσιάστηκαν χαμηλά επίπεδα ζυμών και μυκητών στα προβιοτικά δείγματα Φρέσκου και Αποξηραμένου Τραχανά (Μ.Ζ.) Οι υψηλές συγκεντρώσεις προπιονικού οξέος από τους γαλακτοβάκιλλους δρουν ανταγωνιστικά έναντι των ζυμών και μυκητών. Σχετικά με τα ποσοστά κολοβακτηριδίων, όλα τα δείγματα εκτός του Εμπορίου (Φρέσκος και Αποξηραμένος) παρουσίασαν θετικά αποτελέσματα στα πλαίσια της καλής υγιεινής. Τα προβιοτικά δείγματα Αποξηραμένου Τραχανά (Μ.Ζ.) είχαν μηδενικά ποσοστά και τα προβιοτικά δείγματα Φρέσκου Τραχανά (Χ.Ζ.) ομοίως.

Σε φυσικοχημικό επίπεδο, η πειραματική διαδικασία βασίστηκε μόνο στα δείγματα που είχαν υποστεί ζύμωση. Η αναλογία των συστατικών είναι ίδια για όλα τα δείγματα γι' αυτό και δεν παρουσιάστηκαν πολλές στατιστικές διαφορές και αυτές που παρουσιάστηκαν δεν είχαν μεγάλη απόκλιση. Η οξύτητα των δειγμάτων είναι σχετικά χαμηλή σε σύγκριση με δείγματα Φρέσκου Τραχανά που επώαστηκε το ζυμάρι τους για αρκετές ημέρες όπου η παρατεταμένη ζύμωση διευρύνει την παραγωγή γαλακτικού οξέος παρουσιάζοντας υψηλές τιμές οξύτητας. Σχετικά με τις φυσικές ιδιότητες του Αποξηραμένου Τραχανά τα αποτελέσματα στις περισσότερες περιπτώσεις παρουσίαζαν μεγάλες διαφορές με αντίστοιχα δείγματα άλλων ερευνών. Η ικανότητα αφρισμού και σταθερότητα του παρουσιάζει υψηλά αποτελέσματα. Επιπλέον, η ικανότητα απορροφησης λαδιού είναι υψηλότερη έναντι του νερού λόγω του λιπόφιλου χαρακτήρα των πρωτεϊνών. Σχετικά με την γαλακτωματοποιητική ικανότητα τα αποτελέσματα είναι σε ικανοποιητικά επίπεδα. Όσον αφορά τον οργανοληπτικό έλεγχο, το δείγμα σούπας που αποκόμισε την υψηλότερη βαθμολογία ήταν ο Μάρτυρας, μετά ο Προβιοτικός Β και τέλος ο Προβιοτικός Α. Συμπεραίνοντας ότι, τα δείγματα που περιείχαν τον στρεπτόκοκκο (*Streptococcus thermophilus*) είχαν πιο αποδεκτά χαρακτηριστικά σύμφωνα με τους δοκιμαστές.

Η παρούσα έρευνα προάγει το ενδιαφέρον για περαιτέρω μελέτη σχετικά με την βιωσιμότητα του *L. fermentum* ACA-DC 179 καθορίζοντας και την διάρκεια ζωής του προϊόντος. Επίσης, ενδιαφέρον θα ήταν να πραγματοποιηθεί η μέθοδος της ζύμωσης για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα όπως έχει συμβεί σε πολλές μελέτες Φρέσκου και Αποξηραμένου Τραχανά κυρίως στην Τουρκία.

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ελληνική

Αγγελής Δ.Γ. (Πατρα , 2007) . Πανεπιστήμιο Πατρών .Τμήμα Βιολογίας . Τομέας Γενετικής , Βιολογίας Κυττάρου και Ανάπτυξης .Εργαστηριακές ασκήσεις Γενικής Μικροβιολογίας .

Ανυφαντάκης, Ε., Γεωργάλα, Α., Κανδαράκη, Ι., Βαμβακάκη, Α., Μοσχοπούλου, Α., Μίαρη, Χ. (2004). *Εινόχοντρος* . Ενα παραδοσιακό βιολογικό προϊόν της Κρήτης , Εκδόσεις Επτάλοφος ΑΒΕΕ , Αθήνα.

Ανυφαντάκης Εμμανουήλ 1982. Μέθοδοι εξετάσεως του γάλακτος και των προϊόντων του.

Ανυφαντάκης, Ε. (1994). *Χημεία και Ανάλυση του Γάλακτος*, Εκδόσεις Α. Σταμούλη, Αθήνα.

Βαρζάκας Θ. (2012). Σημειώσεις εργαστηρίου στην τεχνολογία και ποιότητα σιτηρών , ΑΤΕΙ Πελοποννήσου.

Ζουμποπούλου Γ. (2008). Προβιοτικές ιδιότητες οξυγαλακτικών βακτηρίων In vitro και in vivo μελέτη της αντιμικροβιακής του ανοσορρυθμιστικής τους δράσεις. Διδακτορική Διατριβή . Αθήνα.

Ζωΐδης, Ε. και Μουντζούρης, Κ. (n.d.). *Λειτουργικά συστατικά και Τρόφιμα*. Ανακτήθηκε στις 07 Νοεμβρίου, 2008, από <http://www.crcy.com>

Ίδρυμα Α. Ψασκαλόπουλος(α). *Λειτουργικά τρόφιμα*. (n.d.). Ανακτήθηκε στις 17 Οκτωβρίου, 2008, από <http://www.iad.gr/ver2/site/content.php?sel=74&artid=58>

Ιωάννου, Ε. και Ρίσβας, Γ. (2008). *Λειτουργικά τρόφιμα: Η συμβολή τους στον έλεγχο του βάρους*. Ανακτήθηκε στις 25 Ιανουαρίου, 2009, από <http://www.iatronet.gr>

Καμινारीδης Σ. και Μοάτσου Γ. 2009 . Γαλακτοκομία Αθήνα : Εκδόσεις Έμβρυο σελ. 83-87 , 171-179.

Κανονισμός (ΕΚ) 2073/2005 Παράρτημα Ι περί μικροβιολογικών κριτηρίων

Καραγεώργης Β., Στέφανος 2004. Χρήση μεσόφιλων οξυγαλακτικών βακτηρίων στην παραγωγή τυριών φέτας και τελεμέ. Διδακτορική Διατριβή, Θεσσαλονίκη.

Καραμάνος, Α. (1992). *Τα σιτηρά των εύκρατων κλιμάτων* . Εκδόσεις Ελληνική Λιθογραφία . σελ. 58.

Κεφαλάς, Π.Σ. (2009). “Τρόφιμα από σιτηρά (Χημεία – Βιοχημεία – Τεχνολογία) “ Εκδόσεις Γαρταγάνης , Θεσσαλονίκη.

Κούτσικας, Κ. και Παπαχρήστου, Π. (n.d.). *Ο σύγχρονος τρόπος ζωής και διατροφής*. Ανακτήθηκε στις 07 Νοεμβρίου, 2008, από <http://www.dietologoi.gr>

Κώδικας Τροφίμων και Ποτών (2009).

Κώδικας Τροφίμων και Ποτών (2016) . Άρθρο 79, ΙΧ. Προϊόντα ζωικής προέλευσης εκτός αυτών του Κεφαλαίου Χ. ΜΕΡΟΣ Α΄ , ΤΡΟΦΙΜΑ ΚΑΙ ΠΟΤΑ, Γενικό Χημείο του Κράτους . Α.Α.Δ.Ε.

Κώδικας Τροφίμων και Ποτών (Σεπτ. 2016). Άρθρο: ‘Συνθήκες και όροι παραγωγής και εμπορίας νοπού γάλακτος , θερμικά επεξεργασμένου γάλακτος και προϊόντων με βάση το γάλα.’ΙΧ . Προϊόντα Ζωικής Προέλευσης , εκτός αυτών του Κεφαλαίου Χ. Α.Α.Δ.Ε. Εκδοση 6 .

Κώδικας Τροφίμων και Ποτών (ΚΤΠ) , 2016 . IX. Προϊόντα ζωικής προέλευσης εκτός αθτών του Κεφαλαίου X , Άρθρο 82 : Γιαούρτι (Άρθρο 82 – Έκδοση 1).

Μάντης ,Α.Ι., Παπαγεωργίου ,Δ.Κ., Φλετούρης , Δ.Ι., Αγγελίδης , Α.Σ. (2015) . Υγιεινή και τεχνολογία του γάλακτος και των προϊόντων του. Εκδόσεις ‘Αφοί Κυριακίδη’.

Μασούρας, Θ. (Δεκέμβριος 2015). Ελληνική Γαλακτοκομία .’Μοχλός ‘ Εξόδου Μας Απο την Κρίση. Dairy News.

Μπαλατσούρας Γ. Μικροβιολογία Τροφίμων. Αθήνα 2006.

Ξενάκης, Α. (n.d.). *Νεοφανή τρόφιμα και νάνο-βιοτεχνολογία*. Ανακτήθηκε στις 17 Οκτωβρίου, 2008, από <http://www.mednutrition.gr>

Ξενόγλωσση

AOAC, 2000. ‘*Official methods of analysis*’ 17th ed. Gaithersburg, MD: AOAC International.

Bilgiçli, N., & Elgün, A. 2005. Changes in some physical and nutritional properties of tarhana, a Turkish fermented cereal food, added various phytase sources. *Food Sci Technol Int*, **11**, 383–389.

Bilgiçli Nermin 2009. Effect of buckwheat flour on chemical and functional properties of tarhana. *Food Science and Technology* 42, 514-518

Belitz, H.D., Gosch, W., Schieberle, P. (2004). *Food Chemistry*, 3rd Revised Edition. Springer- Verlag Berlin Heidelberg New York.

Bonafaccia G, Marocchini M, Kreft I (2003). «Composition and technological properties of the flour and bran from common and tartary buckwheat». *Food Chemistry* **80** (1): 9–15. [doi:10.1016/S0308-8146\(02\)00228-5](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00228-5)

D. Bozoudi, M. Agathokleous, I. Anastasiou, P. Papademas, and D. Tsaltas, 2017. ‘‘Microbiological characteristics of Trachanas, a traditional fermented dairy product from Cyprus. ‘‘

Dellagio Franco, Sandra Torriani, Giovanna E. Felis 2004. Reclassification of *Lactobacillus cellobiosus* Rogosa et al., 1953 as a later synonym of *Lactobacillus fermentum* Beijerinck 1901.

De Souza, B. M. S., Borgonovi, T. F., Casarotti, S. N., Todorov, S. D., & Penna, A. L. B. (2019). *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus fermentum* strains isolated from mozzarella cheese: probiotic potential, safety, acidifying kinetic parameters and viability under gastrointestinal tract conditions. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 11(2), 382-396.

Dexter, J.E., Sarkar, A.K. (2004). Wheat: Dry Milling. In: *Encyclopedia of Grain Science*, pp. 363-375.

Economidou, Phr. (1975). *Studies on Greek Trahanas – a wheat fermented milk food*. M.Sc. Thesis. Cornell University

El-Gendy, S.M. (1986). *Fermented foods of Egypt and the Middle East*. In *Indigenous Fermented Food of Non-Western Origin*, ed. C.W. Hesseltine & H.L. Wang. J. Creamer, Berlin, Germany, pp. 169-92.

Ertas, N., Sert, D., Demir, 2015. Functional properties of tarhana enriched with whey concentrate. *Agronomy Research* 13 (4), 919 – 928.

FAO/WHO (2006). Probiotics in Food. Health and Nutritional Properties and Guidelines for Evaluation, FAO Food and Nutrition Paper -. 85. World Health Organization and Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.

Fredua -Agyeman M., Gaisford S. (2015). Comparative survival of commercial probiotic formulations: tests in biorelevant gastric fluids and real – time measurements using microcalorimetry *Beneficial Microbes*, 6, pp. 141-151.

Fröhlich J. and König H., (2009). Lactic Acid Bacteria. In: Fröhlich J., König H., Uden J. eds. *Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine*. Mainz: Springer. pp. 3-29.

Fuller R. (1989). Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology*, 66, pp. 365-378.

Georgala A. The nutritional value of two fermented milk/cereal foods named ‘Greek Trahanas’ and ‘Turkish Tarhana’: a review, 2013, *Journal of Nutritional Disorders and Therapy*, S (11): 1-4.

Gilliland S.E. (1991). Properties of yoghurt, in *Therapeutic Properties of Fermented Milks*, Robinson, R.K., Ed., Elsevier Applied Science, London, p. 75.

Guarner F., Schaafsma G. J., (1998). Probiotics, *International Journal of Food Microbiology*, 39, pp. 237-238.

Havenaar R., Brink B.T., Jos H. J. Huis In ‘t Veld. (1992). Selection of strains for probiotic use. In: Fuller F. ed. *Probiotics The scientific basis*. Netherlands: Springer. pp. 209-224.

Hashemi G. H., Eskandari M. H., Mesbahi G. and Hanifpour M. A., 2015. Scientific and technical aspects of yoghurt fortification: A review. *Food Science and Human Wellness*, 4: 1-8.

Hayta, M., Alparslan, M. & Baysar, A. 2002. Effect of drying methods on functional properties of tarhana: A wheat flour-yoghurt mixture. *J Food Sci*, 67, 740–744.

He, Chen; Huang, Jie; Shi, Xiaoyu; Li, Yichao; Liu, Yu (2017-12-30). School of Food and Biological Engineering, Shaanxi University of Science and Technology Xi'an, China; Shaanxi Heshi Dairy, China; ["Effects of six substances on the growth and freeze-drying of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* \[pdf\]](#)". *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*. 16 (4): 403–412.

Hendek Ertop M., Gorkem Cerit Z., Atasoy R. Evaluation of physicochemical, nutritional and sensory of the wet Tarhana. *Food Science and Quality Management*, 2019, 83(1): 61-67.

Hutkins W., R., 2006. *Microbiology and Technology of fermented foods*, Blackwell publishing, 25, 27.

IDF (1964). Determination of the water content of dried milk. Standard 26, International Dairy Federation, Brussels.

Isolauri E., Juntunen M., Rautanen T., Sillanaukee P., Koivula T. (1991). A human *Lactobacillus casei* strain (*Lactobacillus casei* sp strain GG) promotes recovery from acute diarrhea in children, *Pediatrics* 88, pp. 90-97.

- Jandal, J.M. (1989). *Kishk as fermented dairy product*. Indian Dairyman, vol. 41, pp.479-481.
- J Harnett, G. Davey, A Patrick, C Caddick, and L Pearce, Fonterra Research Centre, Palmerston North, New Zealand 2011.
- Joanna Stephens and David Turner 2015. *Streptococcus thermophilus* bacteraemia in a patient with transient bowel ischaemia secondary to polycythaemia.
- Kohnhorst, A. L., Uebersax, M. A. and Zabik, M. E. 1990. Production and Functional Characteristics of Protein Concentrates. *J. Am. Oil. Soi.*, 67, 5, 285-292.
- Kreft S, Knapp M, Kreft I (November 1999). «Extraction of rutin from buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) seeds and determination by capillary electrophoresis». *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47 (11): 4649–52. doi:10.1021/jf990186p. PMID 10552865
- Kurmann, J.A., Rasic, J.L., and Kroger, M. (1992). *Encyclopedia of fermented milk products* .Van Nostrand Reinhold , New York , pp. 81-287.
- Lilly D., Stillwell R. (1965). Probiotics: growth -promoting factors produced by microorganisms. *Science*, 147, pp. 747-748.
- Mercenier A., Pavan S., Pot B. (2003). Probiotics as biotherapeutic agents: Present knowledge and future prospects, *Current Pharmaceutical Design*, 9, pp. 175-191.
- Michaylova M, Minkova S, Kimura K, Sasaki T, Isawa K (April 2007). "Isolation and characterization of Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus and Streptococcus thermophilus from plants in Bulgaria". FEMS Microbiology Letters. 269 (1): 160–9.*
- Milena Alicja, Stachelska; Foligni, Roberta (2018). "Development of a time-effective and highly specific quantitative real-time polymerase chain reaction assay for the identification of Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus and Streptococcus thermophilus in artisanal raw cow's milk cheese". *Acta Veterinaria Brno.* 87 (3): 301–308.
- Milk–Determination of nitrogen content–Part1: Kjeldahl method*, ISO 8968-1, IDF20-1, First Edition 2001-12-15.
- Naghmouchi, K., Belguesmia, Y., Bendali, F., Spano, G., Seal, B. S., & Drider, D. (2020). Lactobacillus fermentum: A bacterial species with potential for food preservation and biomedical applications. *Critical reviews in food science and nutrition*, 60(20), 3387-3399.
- USDA GRIN Taxonomy 2015.
- Parker R.B. (1974). Probiotics, the other half of antibiotics story. *Animal Nutrition and Health*, 29, pp. 4-8.
- Posner, E.S., Hibbs, A.N. (2005). *Wheat Flour Milling*. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN.
- Rasic J.L. and Kurmann J.A., (1978). *Yogurt*, Technical Probiotics Dairy Publishing House, Copenhagen.
- Sathe, S. S., Deshpande, S. S and Salunkhe, D. K. 1982. Fuctional Properties of Lupin Seed (*Lupinus Mutabilis*) Proteins and Protein Concentrates. *J. Food Sci.* 47, 491-497.

- Schrezenmeir J., de Vrese M. (2001). Probiotics, prebiotics, and synbiotics - approaching a definition. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 73, pp. 361-364.
- Sengun I. Y., Dennis S. Nielsen D., Karapinar M., Mogens Jakobsen M. Identification of lactic acid bacteria isolated from Tarhana, a traditional Turkish fermented food. *International Journal of Food Microbiology*, 2009, 135 (2): 105-111.
- Seth S.D., Maulik M. (2011). Probiotics a pharmacologist's perspective. In: Balakrish N.G., Yoshifumi T eds. *Probiotics Food in Health and Disease*. New York: CRC Press, Taylor 7 Francis Group. pp. 41-47.
- Sperti G.S. (1971). *Probiotics*. Conn: AVI.
- Steinkraus, K.H. (1983). *Handbook of Indigenous Fermented Foods*. Marcel Dekker Inc., New York, USA, pp. 244-299.
- S. Ikeda, Y. Yamashita and I. Kreft (2000). «Essential mineral composition of buckwheat flour fractions». *Fagopyrum* 17: 57–61.
- Tamime, A.Y. and O'Connor T.P. (1995). *Kishk – A dried fermented milk / cereal mixture*. Review. *Int. Dairy J.*, vol. 5, pp. 109-128.
- Todar K. (2004). The Good, the Bad and the Deadly. (*SCIENCE Magazine*—vol 304: p. 1421)
- Van Veen, A.G. & Steinkraus, K.H. (1970). *Nutritive value and wholesomeness of fermented foods*. *J. Agric. Food Chem.*, vol. 18, pp. 576-578.
- Vedamunthu, 2006. Starter Cultures for Yogurt and Fermented Milks.
- V. Xanthopoulos, D. Petridis, and N. Tzanetakis, “Characterization and classification of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* strains isolated from traditional Greek yogurts,” *Journal of Food Science*, vol. 66, no. 5, pp. 747–752, (2001).
- Yan Bao, Yanchao Zhang, Yong Zhang, Yong Liu, Shniquan Wang, Ximei Dong, Yanyan Wang, Heping Zhang .2009. Screening of potential probiotic properties of *Lactobacillus fermentum* isolated from traditional dairy products. *Food Control* 21 (2010)695-701.
- Zheng Jinshui, Stijn Wittouck, Elisa Salvetti, Charles M.A.P. Franz, Hugh M. B. Harris, Paola Mattarelli, Paul W. O' Toole, Bruno Pot, Peter Vandamme, Jens Walter, Koichi Watanabe, Sander Wuyts, Giovanna E. Felis, Michael G. Ganzle, Sarah Lebeer 2020. A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*.
- Zoumpopoulou, G., Foligne, B., Christodoulou, K., Grangette, C., Pot, B., & Tsakalidou, E. (2008). *Lactobacillus fermentum* ACA-DC 179 displays probiotic potential in vitro and protects against trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS)-induced colitis and *Salmonella* infection in murine models. *International journal of food microbiology*, 121(1), 18-26.

Zoumpopoulou, G., Ioannou, M., Anastasiou, R., Antoniou, A., Alexandraki, V., Papadimitriou, K., ... & Tsakalidou, E. (2021). Kaimaki ice cream as a vehicle for *Limosilactobacillus fermentum* ACA-DC 179 to exert potential probiotic effects: Overview of strain stability and final product quality. *International Dairy Journal*, 123, 105177.

Zoumpopoulou G., Papadimitriou K., Polissiou M.G., Tarantilis P.A., Tsakalidou E. (2010). Detection of changes in the cellular composition of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in the presence of antimicrobial compound(s) of *Lactobacillus* strains using Fourier transform infrared spectroscopy. *International Journal of Food Microbiology*. 144. 202-207.