



**ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ**

**ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ**

---

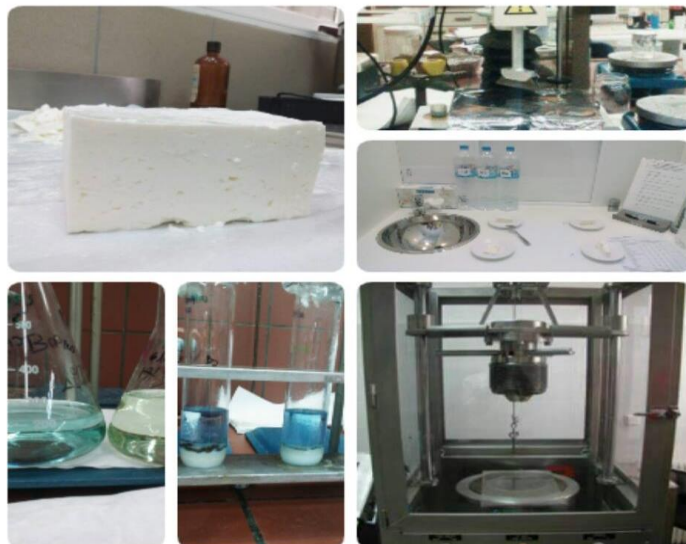
ΤΟΜΕΑΣ ΙV : ΣΥΝΘΕΣΗ & ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΒΙΟΧΗΜΙΚΩΝ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΩΝ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΧΗΜΕΙΑΣ & ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ  
ΥΔΡΟΣΤΑΤΙΚΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΣΤΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΚΑΙ ΣΕ  
ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΩΡΙΜΑΝΣΗΣ ΛΕΥΚΟΥ ΤΥΡΙΟΥ ΤΥΠΟΥ  
ΦΕΤΑΣ**

**ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ : ΚΑΡΡΑ ΖΩΗ**

**ΥΠΕΥΘΥΝΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ : ΤΑΟΥΚΗΣ ΠΕΤΡΟΣ**



ΑΘΗΝΑ, ΦΕΒΡΟΥΑΡΙΟΣ 2016



**ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ**

**ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ**

---

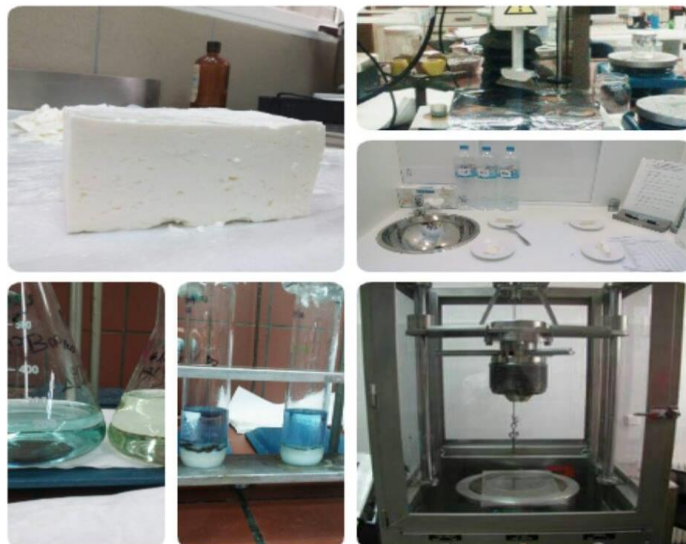
ΤΟΜΕΑΣ ΙV : ΣΥΝΘΕΣΗ & ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΒΙΟΧΗΜΙΚΩΝ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΩΝ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΧΗΜΕΙΑΣ & ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ  
ΥΔΡΟΣΤΑΤΙΚΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΣΤΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΚΑΙ ΣΕ  
ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΩΡΙΜΑΝΣΗΣ ΛΕΥΚΟΥ ΤΥΡΙΟΥ ΤΥΠΟΥ  
ΦΕΤΑΣ**

**ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ : ΚΑΡΡΑ ΖΩΗ**

**ΥΠΕΥΘΥΝΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ : ΤΑΟΥΚΗΣ ΠΕΤΡΟΣ**



ΑΘΗΝΑ, ΦΕΒΡΟΥΑΡΙΟΣ 2016

Copyright © Καρρά Ζωή, 2016.

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All rights reserved.

Απαγορεύεται η αντιγραφή, αποθήκευση και διανομή της παρούσας εργασίας, εξ ολοκλήρου ή τμήματος αυτής, για εμπορικό σκοπό. Επιτρέπεται η ανατύπωση, αποθήκευση και διανομή για σκοπό μη κερδοσκοπικό, εκπαιδευτικής ή ερευνητικής φύσης, υπό την προϋπόθεση να αναφέρεται η πηγή προέλευσης και να διατηρείται το παρόν μήνυμα. Ερωτήματα που αφορούν τη χρήση της εργασίας για κερδοσκοπικό σκοπό πρέπει να απευθύνονται προς τον συγγραφέα.

Οι απόψεις και τα συμπεράσματα που περιέχονται σε αυτό το έγγραφο εκφράζουν τον συγγραφέα και δεν πρέπει να ερμηνευθεί ότι αντιπροσωπεύουν τις επίσημες θέσεις του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου.

*Αφιερωμένη στον πατέρα μου,*



## **ΠΡΟΛΟΓΟΣ**

Η παρούσα διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου.

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή Ε.Μ.Π κ. Ταούκη Πέτρο για την ανάθεση του συγκεκριμένου θέματος και τη βοήθειά του, καθώς και για τις γνώσεις που μου παρείχε, τόσο κατά την εκπόνηση της διπλωματικής μου εργασίας, όσο και γενικότερα κατά την διάρκεια των σπουδών μου στο Πολυτεχνείο.

Ακόμη, θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές ευχαριστίες στην υποψήφια διδάκτορα Γιαννόγλου Μαριάννα για την καθοδήγηση και την άψογη συνεργασία της, τόσο στο σχεδιασμό όσο και στην εκτέλεση των πειραμάτων, καθώς και τις γνώσεις που μου προσέφερε κατά τη διάρκεια εκπόνησης της διπλωματικής μου εργασίας.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την ερευνήτρια Πλατάκου Ελένη, το Δρ. Κατσαρό Γεώργιο και τη Δρ. Θεοφανία Τσιρώνη για την πολύτιμη βοήθειά τους καθώς και τα υπόλοιπα μέλη του εργαστηρίου για το φιλικό κλίμα καθ' όλη τη διάρκεια πραγματοποίησης της έρευνας.

Θερμές ευχαριστίες στα μέλη του Εργαστηρίου Γαλακτοκομίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, κ. Πάσχο Θεόδωρο (Ειδικός Γαλακτοκόμος Τυροκόμος ΔΕ - Ε.Τ.Ε.Π.) και κ. Γραμματικά Ηλία για την πολύτιμη βοήθεια κατά τη διάρκεια των τυροκόμησεων.

Θα ήθελα, ακόμη να ευχαριστήσω τις καθηγήτριες κα Κωσταντίνα Τζιά και κα Βασιλική Ωραιοπούλου για τις γνώσεις που μου προσέφεραν κατά τη διάρκεια των σπουδών μου.

Τέλος, θα ήθελα να δώσω το μεγαλύτερο ευχαριστώ στους γονείς μου, Βάϊο και Βάϊα, στις αδερφές μου, Αθανασία και Ιωάννα και στο θείο μου Γεώργιο, για την αμέριστη υποστήριξή τους και στους οποίους οφείλω ότι έχω καταφέρει μέχρι σήμερα.

Καρρά Ζωή,

Αθήνα, Φεβρουάριος 2016



## **ΠΕΡΙΛΗΨΗ**

Τα γαλακτοκομικά προϊόντα, συμπεριλαμβανομένου του τυριού, αποτελούν αναπόσπαστο κομμάτι της διατροφής πολλών ανθρώπων, λόγω της υψηλής διατροφικής του αξίας. Ο κλάδος της βιομηχανίας γαλακτοκομικών προϊόντων παρουσιάζει σταθερή ανάπτυξη τα τελευταία χρόνια στη χώρα μας.

Η παραγωγή των περισσότερων ποικιλιών τυριού όπως είναι το ελληνικό παραδοσιακό τυρί Φέτα, αποτελείται από διάφορα στάδια, το σημαντικότερο εκ των οποίων, για την τελική ποιότητά τους είναι εκείνο της ωρίμανσης. Κατά το στάδιο αυτό, λαμβάνουν χώρα πολύπλοκες μεταβολικές αντιδράσεις που καθορίζουν τα τελικά φυσικοχημικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του προϊόντος. Η ωρίμανση, εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, όπως η χρησιμοποιούμενη καλλιέργεια, η πυτιά, το προστιθέμενο αλάτι, η ποιότητα του γάλακτος, καθώς και οι συνθήκες και ο χρόνος συντήρησης του κατά την ωρίμανση, οι οποίοι δρουν συνεργιστικά. Ο χρόνος αποθήκευσης κατά την ωρίμανση αποτελεί παράγοντα σημαντικής οικονομικής επιβάρυνσης για τη βιομηχανία. Γι' αυτό, επιδιώκεται η μείωση της περιόδου ωρίμανσης, χωρίς επιβάρυνση στην ποιότητα του προϊόντος. Με βάση τη διεθνή βιβλιογραφία, μία από τις μεθόδους που δυνητικά επιταχύνουν την ωρίμανση, προσδίδοντας και βελτιωμένα χαρακτηριστικά στο τυρί είναι η μέθοδος της Υπερυψηλής Υδροστατικής Πίεσης (ΥΠ).

Στόχος της έρευνας που πραγματοποιήθηκε στα πλαίσια της παρούσας διπλωματικής εργασίας ήταν η μελέτη της επίδρασης της Υπερυψηλής Υδροστατικής Πίεσης σε βασικά χαρακτηριστικά και σε παράγοντες ωρίμανσης λευκού τυριού τύπου Φέτας μετά από εφαρμογή της τεχνολογίας αυτής είτε στο ίδιο το προϊόν, είτε στην καλλιέργεια-εκκίνησης που προστίθεται κατά την τυροκόμηση. Η μέθοδος εφαρμόστηκε με τρεις διαφορετικούς τρόπους. Στα δείγματα που αναφέρονται ως HPA, μέρος της καλλιέργειας-εκκίνησης που προστέθηκε κατά την τυροκόμηση επεξεργάστηκε με ΥΠ σε πίεση 200 MPa, θερμοκρασία 20°C και χρόνο 20 min. Όσον αφορά τα δείγματα HPB παρασκευάστηκαν με πλήρως επεξεργασμένη με ΥΠ καλλιέργεια-εκκίνησης (ίδιες συνθήκες επεξεργασίας) και τέλος όσον αφορά στα δείγματα που κωδικοποιούνται ως HPC επεξεργάστηκε με ΥΠ το ίδιο το τυρί στο τέλος της φάσης προωρίμανσής του. Για σύγκριση των χρησιμοποιούμενων τρόπων επεξεργασίας παρασκευάστηκαν δείγματα αναφοράς (Control), η κατασκευή των οποίων ακολούθησε την κλασική μέθοδο παραγωγής της Φέτας.

Οι παράμετροι που μελετήθηκαν ήταν τόσο αντικειμενικοί όσο και οργανοληπτικοί. Συνοπτικά πραγματοποιήθηκε μελέτη στις εξής παραμέτρους: μικροβιολογικός έλεγχος, pH, ανάλυση υφής (σκληρότητα, προσκολλησιμότητα, ελαστικότητα, συνεκτικότητα), έλεγχος ολικών λιπαρών, πρωτεϊνών, περιεχόμενη υγρασία, ανόργανο περιεχόμενο, αλατότητα, ενεργότητα νερού, χρώμα και τέλος οργανοληπτική αξιολόγηση. Ακόμη, για την παρακολούθηση της πρωτεόλυσης (βασική αντίδραση κατά την ωρίμανση) πραγματοποιήθηκε προσδιορισμός του υδατοδιαλυτού αζώτου (SN), του διαλυτού σε



12% τριχλωροξικό οξύ (TCA-SN), το διαλυτό σε 5% φωσφοβολφραμικού οξέος (PTA-SN) καθώς και του ολικού αζώτου (TN) των δειγμάτων λευκού τυριού τύπου Φέτας.

Οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν σε χρόνους ωρίμανσης 0 έως και 90 ημέρες. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν επεξεργάστηκαν, παρουσιάστηκαν σχηματικά και υποβλήθηκαν σε ανάλυση κύριων συνιστωσών (ΑΚΣ) για την περαιτέρω ανάλυση της επίδρασης του χρόνου ωρίμανσης και των μεθόδων επεξεργασίας στα χαρακτηριστικά των δειγμάτων λευκού τυριού τύπου Φέτας. Τα αποτελέσματα του οργανοληπτικού ελέγχου επεξεργάστηκαν με τις κατάλληλες στατιστικές μεθόδους.

Στην περίπτωση των δειγμάτων ΗΡC, το τυρί παρουσίασε μειωμένη σκληρότητα σε σχέση με τα υπόλοιπα δείγματα, καθώς η επεξεργασία του τυριού με ΥΠ οδήγησε σε αύξηση της ικανότητας συγκράτησης νερού. Ειδικότερα, το δείγμα αυτό παρουσίασε σκληρότητα μειωμένη κατά 46,3% συγκριτικά με το δείγμα αναφοράς στο τέλος της ωρίμανσης (t=90 days). Όσον αφορά τα αποτελέσματα της οργανοληπτικής αξιολόγησης, η γεύση του δείγματος κυμάνθηκε σε παρόμοια επίπεδα με εκείνα του δείγματος αναφοράς, ωστόσο στη συνιστώσα της πικρότητας παρουσίασε αρκετά χαμηλότερο σκορ από αυτά. Επίσης το δείγμα αυτό, παρουσίασε λίγες μηχανικές τομές λόγω της επεξεργασίας του τυριού με ΥΠ. Ακόμη, εμφάνισε υψηλότερα ποσοστά αλατότητας τόσο στον αντικειμενικό έλεγχο όσο και στην οργανοληπτική αξιολόγηση, ενώ ελάχιστες διαφορές παρουσιάστηκαν σε σχέση με το δείγμα αναφοράς σε φυσικοχημικά χαρακτηριστικά όπως το pH, το ανόργανο περιεχόμενο και η ενεργότητα νερού. Ιδιαίτερη σημασία έχει το γεγονός ότι στο δείγμα αυτό υπάρχει μια μικρή διαφοροποίηση στα λιπαρά, καθώς παρουσιάζει το μικρότερο ποσοστό. Τέλος, με βάση τους πρωτεολυτικούς δείκτες εμφάνισε σε σχέση με το δείγμα αναφοράς, σχετική επιτάχυνση της ωρίμανσης, με υψηλότερο ποσοστό SN/TN% και PTA-SN% κατά 4,6%, και 0,22%, αντίστοιχα, σε σχέση με το δείγμα αναφοράς στις 90 ημέρες ωρίμανσης.

Όσον αφορά το δείγμα ΗΡΒ, εμφάνισε βελτιωμένα οργανοληπτικά και φυσικοχημικά χαρακτηριστικά. Πιο συγκεκριμένα, επέδειξε βελτιωμένη γεύση και οσμή, μεγαλύτερη σκληρότητα συγκριτικά με το δείγμα Control (αυξημένη κατά 49,4% στις ενενήντα ημέρες), ελάχιστες τομές στη μάζα του τυριού καθώς και μείωση της μεταβολής του χρώματος με το χρόνο ωρίμανσης. Ακόμη παρουσίασε, μαζί με το ΗΡΑ, τα βέλτιστα αποτελέσματα στη μείωση της πικρής γεύσης που συναντάται στη Φέτα (αποτελέσματα οργανοληπτικής αξιολόγησης). Αυτό συνέβη πιθανώς, επειδή η ΥΠ ενεργοποιεί ένζυμα των βακτηρίων-εκκινητών που συμβάλλουν στην περαιτέρω αποικοδόμηση σχηματιζόμενων πεπτιδίων στα οποία αποδίδεται το χαρακτηριστικό αυτό, γνωστά ως *bitter peptides*. Μη σημαντικές διαφορές υπήρξαν σε φυσικοχημικά χαρακτηριστικά όπως τα λιπαρά, η υγρασία, η ενεργότητα νερού και το ανόργανο περιεχόμενο σε σχέση με τα υπόλοιπα δείγματα. Επίσης, παρουσίασε μειωμένη περιεκτικότητα σε αλάτι. Με βάση τους πρωτεολυτικούς δείκτες, πραγματοποιήθηκε η ταχύτερη ωρίμανση συγκριτικά με τα υπόλοιπα δείγματα, δηλαδή το δείγμα περιείχε το μεγαλύτερο ποσοστό των

κλασμάτων αζώτου σε μικρότερο χρόνο ωρίμανσης, με υψηλότερο ποσοστό SN/TN%, TCA-SN% και PTA-SN% κατά 2,75%, 6,74% και 1,27%, αντίστοιχα, σε σχέση με το δείγμα αναφοράς στις 90 ημέρες ωρίμανσης.

Στην περίπτωση του δείγματος ΗΡΑ, προέκυψαν τα πιο βελτιωμένα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Το συγκεκριμένο δείγμα εμφάνισε το υψηλότερο σκορ στη δομή, στην εμφάνιση-χρώμα, αλλά και στη γεύση. Ειδικότερα για τη γεύση, όπως αναφέρθηκε και στην περίπτωση του δείγματος ΗΡΒ, μειώθηκε σημαντικά η πικρή αίσθηση. Όσον αφορά τις αντικειμενικές μετρήσεις, το χρώμα εμφανίστηκε πιο λευκό με μικρότερη μεταβολή με το χρόνο, ενώ εμφάνισαν υψηλότερες τιμές σκληρότητας (αυξημένη σκληρότητα κατά 169,5% από το δείγμα αναφοράς). Ταχύτερη ωρίμανση από τα δείγματα Control και ΗΡC επιτεύχθηκε και σε αυτήν την περίπτωση, με υψηλότερα ποσοστά SN/TN%, TCA-SN%, PTA-SN% κατά 6,45%, 5,72% και 0,49%, αντίστοιχα, σε σχέση με το δείγμα αναφοράς στις 90 ημέρες ωρίμανσης.

Συνεπώς, με βάση τα αποτελέσματα που προέκυψαν από την παρούσα έρευνα η επεξεργασία με χρήση της Υπερυψηλής Υδροστατικής Πίεσης φαίνεται να συμβάλλει θετικά στην επιτάχυνση της πρωτεόλυσης, μία εκ των βασικότερων βιοχημικών μεταβολών κατά την ωρίμανση των τυριών και στη βελτίωση της γεύσης και οσμής του τυριού και ειδικότερα στη μείωση της πικρής αίσθησης. Ακόμη, η χρήση της ΥΠ στην καλλιέργεια αύξησε τη σκληρότητα του τυριού. Φάνηκε τέλος, πως με εφαρμογή της μεθόδου στην καλλιέργεια-εκκίνησης προέκυψαν τελικά προϊόντα με παρόμοια οργανοληπτικά χαρακτηριστικά με εκείνα της Φέτας, συγκριτικά με το τελικό προϊόν που προέκυψε με χρήση της ΥΠ στο ίδιο το τυρί το οποίο εμφάνισε διαφορετικά δομικά χαρακτηριστικά.



## **ABSTRACT**

Dairy products, especially cheese, constitutes an integral part of human's diet due to its high nutritional value. This is the reason that dairy industry is one of a few that flourish in our country the last years.

The production of most cheese varieties, such as the traditional Greek Feta cheese, consists of many stages, of which the most important is maturation. During ripening, many intricate metabolic reactions take place and they play a key role on the configuration of the physicochemical and organoleptic characteristics of the final product. Mature cheese characteristics depend on many factors, such as the cheese-making starter culture, the rennet, the added salt, the quality of milk and the maturation duration, while all these factors act synergistically. The long necessary duration of this stage, is one of the most significant financial burden for the industry. Thus, maturation time has to be shortened without affecting the product's quality. Based on works cited in the literature, high hydrostatic pressure (HP) is one of the techniques that accelerate cheese ripening, while improving the final characteristics of the cheese.

The aim of the present research was the study of the effect of HP, on basic characteristics and maturation indices of a cheese in brine such as Feta, after application of this technology either directly on the cheese or on the cheese-making starter culture. The HP treated samples were coded as HPA, HPB and HPC, while control samples were also studied for comparison reasons. For the HPA samples, part of the starter-culture was treated by HP at 200 MPa, temperature 20°C for 20 minutes. HPB samples were prepared using only HP treated starter culture (same processing conditions) while for HPC samples, the HP technology was applied directly on the cheese at the end of the pre-maturation phase. Reference samples (coded control) were produced using the typical production of Feta cheese.

The parameters that were measured-studied include microbiological analysis, pH value measurement, texture analysis (hardness, adhesiveness, elasticity and cohesion), analysis of total fatty content, protein content, moisture content, mineral content (ash), salt content, water activity, color and finally sensory evaluation. Proteolysis progress (proteolysis takes place during ripening), was evaluated through the water-soluble nitrogen (SN), the nitrogen soluble at 12% trichloro acetic acid (TCA-SN), the soluble nitrogen at 5% phospho tungsten acid (PTA-SN) and the total nitrogen (TN) of the cheese samples determination.

All the parameters were determined at different time intervals from 0 to 90 days of ripening time. The results were analyzed, presented graphically and further analyzed using principal component analysis (PCA) to correlate the impact of ripening time and

processing techniques with the final characteristics of the cheeses. The results of the organoleptic evaluation were analyzed using data analysis of variance (ANOVA).

In the case of HPC samples, cheese seemed to be softer compared to the other samples, as the HP processing of cheese led to an increase in water holding capacity. With regards sensory evaluation, the sample's flavor was similar to the reference sample, while bitterness was less profound compared to the Control sample. Some mechanical incisions were observed, probably due to the cheese processing with HP. HPC appeared to have higher levels of salt content as evidenced both from the objective measurements and the sensory evaluation, while no significant differences were observed for the other physicochemical parameters such as pH, mineral content and water activity. This sample appeared to have the lowest total fatty content compared to all other samples. Based on proteolysis progress indices, relative acceleration in maturation of cheese comparatively to the reference samples (higher quota of SN/TN% and PTA-SN% by 4,6%, and 0,22%, respectively compared to reference sample at 90 days of ripening) was shown.

HPB sample appeared to have improved sensory and physicochemical characteristics. It demonstrated improved flavor, higher levels of hardness comparatively to the Control (increased by 49,4% at ninety days of maturation) sample, minimal incisions in the cheese body and reduction of color change through ripening time. HPB and HPA showed the higher reduction of the bitter taste that is usually developed in non-ripened Feta cheese (based on sensory evaluation). This could be attributed to the HP technology that activates starter-bacteria's proteolytic enzymes that contribute to the further degradation of formed peptides to which is attributed the characteristic *bitterness*. No significant differences were observed with regards to the measured physicochemical parameters like fat content, moisture, water activity and ash content compared when to the other samples. Low salt content was also measured. As far as it concerns the proteolysis progress, the appropriate indices measured, showed that fastest ripening was performed when compared to all the other samples, since the higher portion of nitrogen fractions were measured in less ripening time (higher rate of SN/TN%, TCA-SN% and PTA-SN% by 2,75%, 6,74% and 1,27% respectively, compared to reference sample at 90 days of maturation).

HPA sample showed the most improved organoleptic characteristics during the whole experiment, since it was evaluated with the higher score in structure, appearance-color and flavor. Significant reduction of bitter taste was also observed in short time after its production. Color appeared to be brighter with the less variation through ripening time and it revealed the higher hardness values (increase of hardness by 169,5% compared to the Control). Faster ripening was achieved compared to Control and HPC samples (higher quota of SN/TN%, TCA-SN%, PTA-SN% by 6,45%, 5,72% and 0,49% respectively, compared to the reference sample at 90 days of ripening).

Consequently, based on the results of the present research HP technology appears to have potentials in the production of cheeses in brine industry, since HP treated starter cultures result in accelerated proteolysis, improved flavor and reduction of bitter taste.



## **ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ**

<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 : ΓΑΛΑ – ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ - ΤΥΡΙ.....</b>	<b>24</b>
<b>1.1 Γάλα.....</b>	<b>24</b>
<b>1.2 Κύρια και δευτερεύοντα συστατικά του γάλακτος .....</b>	<b>24</b>
1.2.1 Κύρια Συστατικά .....	26
1.2.1.1 Νερό .....	26
1.2.1.2 Λίπος .....	26
1.2.1.3 Πρωτεΐνες Γάλακτος .....	27
1.2.1.4 Υδατάνθρακες .....	29
1.2.1.5 Άλατα και ιχνοστοιχεία .....	29
1.2.2 Δευτερεύοντα συστατικά .....	32
1.2.2.1 Λιπίδια εκτός των τριγλυκεριδίων .....	32
1.2.2.2 Αντιβακτηριακές ουσίες γάλακτος.....	32
1.2.2.3 Σωματικά κύτταρα γάλακτος.....	32
1.2.2.4 Ένζυμα γάλακτος .....	32
1.2.2.5 Βιταμίνες γάλακτος .....	33
1.2.2.6 Ορμόνες γάλακτος.....	33
1.2.2.7 Αλδεΐδες, κετόνες και αλιφατικά οξέα γάλακτος.....	33
1.2.2.8 Μη πρωτεϊνικής φύσεως αζωτούχες ουσίες γάλακτος.....	34
1.2.2.9 Θειούχες ενώσεις γάλακτος .....	34
1.2.2.10 Αέρια γάλακτος .....	34
<b>1.3 Παράγοντες που επηρεάζουν την ποιότητα του γάλακτος.....</b>	<b>34</b>
<b>1.4 Προϊόντα γάλακτος .....</b>	<b>35</b>
1.4.1 Θερμικά επεξεργασμένο γάλα .....	35
1.4.2 Γάλα αποβουτυρωμένο .....	36
1.4.3 Συμπυκνωμένο γάλα (γάλα εβαπορέ).....	36
1.4.4 Σακχαρούχο συμπυκνωμένο γάλα .....	37
1.4.5 Σκόνη γάλακτος .....	37
1.4.6 Ζυμούμενα Γάλατα .....	38
1.4.7 Γιαούρτη .....	39
1.4.8 Κρέμα Γάλακτος - Βούτυρο.....	40
1.4.9 Παγωτό .....	41
1.4.10 Τυρί.....	42
<b>1.5 : ΤΥΡΙ.....</b>	<b>44</b>
<b>1.5.1 Εισαγωγή στην Τυροκομία .....</b>	<b>44</b>
<b>1.5.2 Παρασκευή Τυριού.....</b>	<b>44</b>
1.5.2.1 Πρώτες ύλες για την παρασκευή τυριού.....	45
1.5.2.1.1 Γάλα προς τυροκόμηση.....	46
1.5.2.1.1.1 Μικροβιολογική κατάσταση του γάλακτος τυροκόμησης.....	47
1.5.2.1.1.2 Αντιμικροβιακές ουσίες στο γάλα τυροκόμησης .....	49
1.5.2.1.1.3 Γάλα προς τυροκόμηση για την παραγωγή Φέτας .....	50
1.5.2.1.2 Πυτιά-Υποκατάστατα πυτιάς.....	50
1.5.2.1.2.1 Ένζυμα πυτιάς .....	51
1.5.2.1.2.2 Πηκτική Δύναμη.....	52



1.5.2.1.2.3 Υποκατάστατα τυριάς .....	53
1.5.2.1.3 Βακτήρια Καλλιέργειών.....	53
1.5.2.1.3.1 Οξυγαλακτικά Βακτήρια.....	54
1.5.2.1.4 Επίδραση της προσθήκης αλατιού.....	59
1.5.2.1.5 Δευτερεύοντα Συστατικά .....	61
1.5.2.2 Απόδοση του γάλακτος σε τυρί.....	62
1.5.2.3 Αλλοιώσεις - Κίνδυνοι στα τυριά.....	63
<b>1.6 Ταξινόμηση Τυριού .....</b>	<b>65</b>
<b>1.7 Σύσταση - Θρεπτική Αξία Τυριού .....</b>	<b>68</b>
<b>1.8 Παγκόσμια - Ευρωπαϊκή Τυροκομία .....</b>	<b>70</b>
<b>1.9 Ελληνική Τυροκομία.....</b>	<b>73</b>
1.9.1 Εισαγωγή .....	73
1.9.2 Παραδοσιακά Τυριά Ελλάδος.....	74
<b>1.10 Τυριά σε Άλμη .....</b>	<b>77</b>
1.10.1 Φέτα.....	78
1.10.1.1 Προετοιμασία του γάλακτος.....	80
1.10.1.2 Προσθήκη καλλιέργειας.....	81
1.10.1.3 Πήξη του γάλακτος.....	82
1.10.1.4 Διαίρεση πήγματος .....	82
1.10.1.5 Εξαγωγή – Καλούπιασμα – Στράγγισμα του τυροπήγματος.....	83
1.10.1.6 Αλάτισμα Φέτας .....	85
1.10.1.7 Προωρίμανση – Ωρίμανση της Φέτας.....	87
<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 1<sup>ΟΥ</sup> ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ .....</b>	<b>88</b>
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 – ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΝΕΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΣΕ ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΚΑΙ ΤΥΡΙ .....</b>	<b>92</b>
<b>2.1 Θερμικές Μέθοδοι Επεξεργασίας Τροφίμων.....</b>	<b>92</b>
2.1.1 Παστερίωση και αποστείρωση .....	92
2.1.2 Μικροκύματα και ραδιοσυχνότητες.....	92
2.1.3 Ωμική Θέρμανση.....	93
<b>2.2 Μη Θερμικές Μέθοδοι Επεξεργασίας Τροφίμων.....</b>	<b>94</b>
2.2.1 Υπερψηλή Υδροστατική Πίεση (High Hydrostatic Pressure – HP).....	95
2.2.1.1 Τρόποι δημιουργίας υπερψηλής πίεσης - εξοπλισμός.....	96
2.2.1.2 Συστήματα λειτουργίας.....	98
2.2.1.3 Επίδραση της Υπερψηλής Υδροστατικής Πίεσης στους μικροοργανισμούς .....	99
2.2.1.4 Επίδραση της Υπερψηλής Υδροστατικής Πίεσης στις πρωτεΐνες-ένζυμα .....	101
2.2.1.5 Επίδραση της Υπερψηλής Υδροστατικής Πίεσης στην ποιότητα του τροφίμου .....	102
2.2.1.6 Η Υπερψηλή Υδροστατική Πίεση στον κλάδο της Τυροκομίας.....	104
2.2.1.7 Κανονισμοί που διέπουν τη μέθοδο της Υπερψηλής Υδροστατικής Πίεσης .....	104
2.2.2 Παλλόμενα Ηλεκτρικά Πεδία (Pulsed Electric Fields – PEF) .....	105
2.2.2.1 Εξοπλισμός Παλλόμενων Ηλεκτρικών Πεδίων .....	106
2.2.2.2 Μέθοδος Παλλόμενων Ηλεκτρικών Πεδίων στον τομέα των γαλακτοκομικών προϊόντων .....	106
2.2.3 Ταλαντούμενα Μαγνητικά Πεδία (Oscillating Magnetic Fields – OMFs) .....	108

2.2.3.1 Μέθοδος ταλαντούμενων μαγνητικών πεδίων στον τομέα των γαλακτοκομικών προϊόντων .....	109
2.2.4 Υπεριώδες Παλμικό Φώς .....	109
2.2.4.1 Μέθοδος Υπεριώδους Παλμικού Φωτός στον τομέα των γαλακτοκομικών προϊόντων .....	111
2.2.5 Ακτινοβολία (Irradiation) .....	111
2.2.5.1 Μέθοδος ακτινοβολίας στον τομέα των γαλακτοκομικών προϊόντων .....	112
2.2.6 Τεχνολογία Εμποδίων ( Hurdle Technology) .....	113
2.2.6.1 Μέθοδος Τεχνολογίας Εμποδίων στον τομέα των γαλακτοκομικών προϊόντων .....	114
2.2.7 Τεχνολογία Υπερήχων.....	115
2.2.7.1 Μέθοδος υπερήχων στον τομέα των γαλακτοκομικών προϊόντων .....	115
<b>2.3 Συνδυασμός Θερμικών και Μη Θερμικών Τεχνολογιών.....</b>	<b>116</b>
<b>BIBΙΟΓΡΑΦΙΑ 2<sup>ΟΥ</sup> ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ.....</b>	<b>117</b>
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 : ΩΡΙΜΑΝΣΗ – ΕΠΙΤΑΧΥΝΣΗ ΩΡΙΜΑΝΣΗΣ ΤΥΡΙΩΝ .....</b>	<b>124</b>
<b>3.1 Ωρίμανση .....</b>	<b>124</b>
3.1.1 Εισαγωγή .....	124
3.1.2 Βιοχημικές μεταβολές κατά την ωρίμανση του τυριού .....	125
3.1.2.1 Λιπόλυση .....	125
3.1.2.2 Πρωτεόλυση .....	126
3.1.2.3 Μεταβολισμός του γαλακτικού οξέος .....	130
3.1.2.4 Μεταβολισμός του κιτρικού οξέος .....	131
3.1.2.5 Μεταβολισμός τη εναπομένουσας λακτόζης .....	131
3.1.2.6 Δευτερεύοντα μεταβολικά μονοπάτια που οδηγούν στην παραγωγή πτητικών αρωματικών συστατικών .....	133
3.1.3 Μικροβιακές μεταβολές κατά την ωρίμανση του τυριού .....	134
3.1.4 Παράγοντες που επηρεάζουν την ωρίμανση .....	134
3.1.5 Σύνοψη του σταδίου της ωρίμανσης.....	136
<b>3.2 Επιτάχυνση της Ωρίμανσης.....</b>	<b>136</b>
3.2.1 Εισαγωγή .....	136
3.2.2 Μέθοδος Αυξανόμενης θερμοκρασίας ωρίμανσης .....	137
3.2.3 Προσθήκη εξωγενών ενζύμων ή τροποποιημένων εκκινήτων.....	137
3.2.3.1 Εξωγενή Ένζυμα` .....	137
3.2.3.2 Εξασθενημένοι ως προς την παραγωγή οξέος Εκκινήτες (Attenuated starters) .....	138
3.2.4 Προσθήκη γενετικά τροποποιημένων στελεχών.....	139
3.2.5 Προσθήκη μη εκκινήτων οξυγαλακτικών βακτηρίων ως πρόσθετες καλλιέργειες (NSLAB) .....	139
3.2.6 Εφαρμογή Υπερψηλής Υδροστατικής Πίεσης – HP .....	140
3.2.6.1 Εισαγωγή .....	140
3.2.6.2 Επεξεργασία τυριού με χρήση της Υπερψηλής Υδροστατικής Πίεσης .....	140
3.2.6.3 Επεξεργασία της καλλιέργειας τυριού με χρήση της Υπερψηλής Υδροστατικής Πίεσης .....	141
3.2.6.4 Επεξεργασία ενδογενών και εξωγενών ενζύμων οξυγαλακτικών καλλιεργειών - εκκινήτων με χρήση της Υπερψηλής Υδροστατικής Πίεσης .....	144
3.2.6.5 Επεξεργασία του γάλακτος τυροκόμησης με χρήση της Υπερψηλής Υδροστατικής Πίεσης .....	147
3.2.6.6 Επίδραση της Εφαρμογής ΥΠ στα διάφορα συστατικά .....	148
3.2.6.7 Χρήση Υπερψηλής Υδροστατικής Πίεσης στα παραγόμενα πεπτίδια που προκαλούν πικρή γεύση στα τυριά .....	149

<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 3<sup>ΟΥ</sup> ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ .....</b>	<b>153</b>
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 : ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ .....</b>	<b>160</b>
<b>4.1 Εισαγωγή .....</b>	<b>160</b>
<b>4.2 Επεξεργασία με τη μέθοδο της Υπερυψηλής Υδροστατικής Πίεσης.....</b>	<b>162</b>
4.2.1 Μέθοδος της Υπερυψηλής Υδροστατικής Πίεσης .....	162
4.2.1.1 Προετοιμασία καλλιέργειας για τυροκόμηση.....	165
4.2.1.2 Επεξεργασία δειγμάτων HPC με ΥΠ .....	166
<b>4.3 Παρασκευή Δειγμάτων Λευκού Τυριού τύπου Φέτας (Τυροκόμηση) .....</b>	<b>167</b>
<b>4.4 Αναλύσεις δειγμάτων .....</b>	<b>171</b>
4.4.1 Μικροβιολογικός Έλεγχος .....	171
4.4.2 Μέτρηση pH.....	174
4.4.3 Έλεγχος Ολικών Λιπαρών – Λιποπεριεκτικότητας τυριού.....	174
4.4.4 Μέτρηση Υγρασίας τυριού .....	175
4.4.5 Μέτρηση Τέφρας (ανόργανα συστατικά).....	176
4.4.6 Μέτρηση Αλατότητας .....	177
4.4.7 Μέτρηση Ενεργότητας Νερού .....	178
4.4.8 Ανάλυση Υφής .....	178
4.4.9 Ανάλυση Χρώματος .....	180
4.4.10 Οργανοληπτικός Έλεγχος.....	181
4.4.11 Προσδιορισμός αζωτούχων ενώσεων και πρωτεϊνών .....	182
4.4.11.1 Προσδιορισμός διαλυτού αζώτου (SN, TCA-SN, PTA-SN) .....	184
4.4.11.2 Προσδιορισμός ολικού αζώτου (TN%) .....	186
4.4.11.3 Προσδιορισμός ολικών πρωτεϊνών .....	186
<b>4.5 Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων .....</b>	<b>186</b>
<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 4<sup>ΟΥ</sup> ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ .....</b>	<b>187</b>
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 : ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ .....</b>	<b>188</b>
<b>5.1 Μικροβιολογικός έλεγχος.....</b>	<b>188</b>
<b>5.2 pH .....</b>	<b>193</b>
<b>5.3 Έλεγχος ολικών λιπαρών .....</b>	<b>195</b>
<b>5.4 Υγρασία .....</b>	<b>196</b>
<b>5.6 Τέφρα .....</b>	<b>197</b>
<b>5.6 Αλατότητα.....</b>	<b>199</b>
<b>5.7 Ενεργότητα νερού .....</b>	<b>200</b>
<b>5.8 Ολικές πρωτεΐνες .....</b>	<b>202</b>
<b>5.9 Αναλυτής Υφής.....</b>	<b>203</b>
<b>5.10 Χρώμα.....</b>	<b>207</b>
<b>5.11 Οργανοληπτικός Έλεγχος.....</b>	<b>211</b>
<b>5.12 Προσδιορισμών αζωτούχων ενώσεων.....</b>	<b>221</b>

5.12.1 Ολικό αζώτου TN .....	221
5.12.2 Ολικό υδατοδιαλυτό άζωτο (SN/TN%) .....	222
5.12.3 Διαλυτό άζωτο σε 12% τριχλωροξικού οξέος (TCA-SN/TN%).....	224
5.12.4 Διαλυτό άζωτο σε 5% φωσφοβολφραμικού οξέος (PTA-SN/TN%) .....	225
<b>5.13 Συσχετίσεις αντικειμενικών μετρήσεων με τον οργανοληπτικό έλεγχο – Στατιστική Επεξεργασία .....</b>	<b>227</b>
<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 5<sup>ΟΥ</sup> ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ .....</b>	<b>231</b>
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 : ΣΥΝΟΠΤΙΚΗ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ...</b>	<b>232</b>
<b>ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ I .....</b>	<b>238</b>
<b>ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ II.....</b>	<b>241</b>



**ΟΡΟΛΟΓΙΑ**

ΥΠ = Υπερψηλή Υδροστατική Πίεση.

HP = High Hydrostatic Pressure.

Control = Δείγματα αναφοράς.

HPC = Δείγματα επεξεργασμένου τυριού τύπου Φέτας.

HPA = Δείγματα λευκού τυριού τύπου Φέτας στα οποία τμήμα της καλλιέργειας έχει υποστεί επεξεργασία με ΥΠ.

HPB = Δείγματα λευκού τυριού τύπου Φέτας στα οποία ολόκληρη η καλλιέργεια έχει επεξεργαστεί με ΥΠ.

CEP = Cell envelope-associated.

Pep = Prolyl endopeptidase.

PepX = X-prolyl dipeptidyl aminopeptidase.

PepN = General monomeric metalloaminopeptidase.

PepC = General aminopeptidases.

PepA = Narrow specificity aminopeptidase.

LAB = Lactic acid bacteria

NSLAB = Non-starter lactic acid bacteria

TCA = Trichloroacetic acid

PTA = Phosphotungstic acid

SN = Soluble nitrogen

TN = Total nitrogen



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 : ΓΑΛΑ – ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ - ΤΥΡΙ

### 1.1 Γάλα

#### Ορισμός Γάλακτος

Σύμφωνα με τον Κώδικα Τροφίμων και Ποτών, 'γάλα' είναι το απαλλαγμένο από πρωτόγαλα προϊόν του ολοσχερούς, χωρίς διακοπή αρμέγματος υγιούς γαλακτοφόρου ζώου, που ζει και τρέφεται υπό υγιεινούς όρους και που δε βρίσκεται σε κατάσταση υπερκόπωσης. Με τον όρο γάλα, χωρίς αυτός να συνοδεύεται από κάποιο επίθετο, νοείται αποκλειστικά και μόνο το γάλα το οποίο: προέρχεται από αγελάδα, είναι νωπό, είναι πλήρες, δεν έχει υποστεί αφυδάτωση ή συμπύκνωση, δεν περιέχει ύλες που έχουν προστεθεί από έξω (Κ.Τ.Π., Άρθρο 80).

Σύμφωνα με τη Διεθνή Οργάνωση Τροφίμων και Γεωργίας (FAO) και τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας, 'γάλα' είναι η έκκριση των μαστικών αδένων γαλακτοφόρων ζώων, που προέρχεται από μία ή περισσότερες αρμέξεις, χωρίς επιπλέον προσθήκη ή εξαγωγή συστατικών από αυτό, που προορίζεται για κατανάλωση ως υγρό ή για περαιτέρω επεξεργασία (WHO, 2011).

Προς γνώση μας, αν και υπάρχουν διάφορα είδη γάλακτος, και η διάκριση έγκειται στο γαλακτοπαραγωγικό ζώο, ο γενικός όρος 'γάλα' αναφέρεται κυρίως στο αγελαδινό, που παράγεται από υγιή ζώα, εξαιρουμένης της γαλακτικής έκκρισης μεταξύ του χρονικού διαστήματος των δεκαπέντε ημερών πριν τη γέννηση και των πέντε ημερών μετά τη γέννηση των νεογνών, ή μέχρι την πλήρη απομάκρυνση του πρωτογάλακτος (Golden S., 2008). Στο εμπόριο, οποιοδήποτε γάλα εκτός του αγελαδινού πρέπει να συνοδεύεται από το είδος του ζώου από το οποίο παράγεται.

Το γάλα και γενικά τα γαλακτοκομικά προϊόντα, συμπεριλαμβάνονται συχνά σαν απαραίτητα συστατικά σε μία υγιεινή και ισορροπημένη διατροφή.

### 1.2 Κύρια και δευτερεύοντα συστατικά του γάλακτος

Το γάλα αποτελεί σύνθετη βιολογική έκκριση στην οποία απαντούν όλες οι μορφές διαμερισμού (αδρομερής, κολλοειδής, μοριακός). Ανάλογα με το είδος των διαφόρων ζώων, παρουσιάζει ποσοτικές μόνο διαφορές, δηλαδή όλα τα γνωστά είδη γάλακτος περιέχουν τα συστατικά που θα παρουσιαστούν παρακάτω (Πίνακας 1.1), συνήθως όμως οι διαφορές τους είναι ποσοτικές. Τα συστατικά που βρίσκονται σε μεγαλύτερες ποσότητες και αναφέρονται ως κύρια είναι: το νερό, το λίπος, οι πρωτεΐνες, οι υδατάνθρακες και τα ανόργανα ιόντα-άλατα. Ωστόσο, άλλα συστατικά περισσότερα σε αριθμό, που υπάρχουν σε αρκετά μικρότερες ποσότητες σε σχέση με τα κύρια, ονομάζονται δευτερεύοντα. Πολλά από αυτά δεν παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον για την τυροκομία, ωστόσο, άλλα δευτερεύοντα συστατικά έχουν μεγάλη βιολογική αξία και τεχνολογικό ενδιαφέρον παρά το γεγονός ότι υπάρχουν σε μικρές ποσότητες. Το σύνολο των συστατικών που υπάρχουν στο γάλα συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 1.1).



Πίνακας 1.1. Κύρια και Δευτερεύοντα Συστατικά Γάλακτος

ΚΥΡΙΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ*	ΔΕΥΤΕΡΕΥΟΝΤΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ
Νερό (80,71%-88%)	Αέρια (O <sub>2</sub> , N <sub>2</sub> , CO <sub>2</sub> )
Λίπος (3,90%-7,90%)	Λιπίδια εκτός λίπους (φωσφολιπίδια, Βιταμίνες D,E,K,A, στερόλες, καροτινοειδή, κερεβροσίτες)
Πρωτεΐνες (3,52%-5,23%) 1. Καζεΐνες 2. Πρωτεΐνες ορού	Ένζυμα (καταλάση, υπεροξειδάση, ξανθινοξειδάση, φωσφατάσες, αμυλάσες, λιπάσες, εστεράσες, πρωτεάσες, αλδολάσες, καρβονικήανυδράση)
Υδατάνθρακες (4,27%-4,93) Λακτόζη	Υδατοδιαλυτές Βιταμίνες (θειαμίνη, βιοτίνη, ριβοφλαβίνη, φυλλικό οξύ, νιασίνη, πυριδοξίνη, παντοθενικό οξύ, βιταμίνη B12, C)
Άλατα 0,7%-0,9% 1. Φωσφορικά 2. Θειικά 3. Χλωριούχα 4. Κιτρικά 5. Ανθρακικά	Μη πρωτεϊνικές αζωτούχες ενώσεις (αμμωνία, αμινοξέα, ουρία, ουρικό οξύ, αδενίνη, γουανιδίνη)
	Ίχνη μετάλλων (χαλκός, σίδηρος, ψευδάργυρος, μαγνήσιο, ιώδιο κοβάλτιο κ.α)
	Ορμόνες
	Αντιβακτηριακές ουσίες
	Μικροοργανισμοί (βακτήρια, ζύμες, μύκητες)
	Σωματικά κύτταρα (επιθηλιακά, λευκοκύτταρα)

[Πηγή: Αφυφαντάκης, 2004; Κεχαγιάς Χ., 1997]

\*Η διακύμανση υπάρχει καθώς το γάλα αναφέρεται και στα τρία ευρέως χρησιμοποιούμενα είδη γάλακτος (πρόβειο, γίδινο, αγελαδινό).

Η σύσταση που παρουσιάζεται στον Πίνακα 1.1, αποτελείται από τις μέσες τιμές των κύριων συστατικών, καθώς η ποιότητα και η ποσότητα του γάλακτος επηρεάζεται σημαντικά από διάφορους παράγοντες όπως η υγιεινή κατάσταση του ζώου, η διατροφή, οι περιβαλλοντικές συνθήκες κ.α. Επομένως είναι αδύνατο να παρατεθούν ακριβείς τιμές που περιλαμβάνουν όλες τις περιπτώσεις.

Για διάκριση των συστατικών ως προς το είδος του ζώου παρατίθεται συμπληρωματικά και ο παρακάτω πίνακας (Πίνακας 1.2).

**Πίνακας 1.2 Μέση Σύσταση κατσικίσιου, πρόβειου και αγελαδινού γάλακτος**

	<b>Κατσικίσιο</b>	<b>Πρόβειο</b>	<b>Αγελαδινό</b>
<b>Λίπος%</b>	3,8	7,9	3,6
<b>Υδατάνθρακες (Λακτόζη)%</b>	4,1	4,9	4,7
<b>Πρωτεΐνες%</b>	3,4	6,2	3,2
<b>Νερό</b>	87,00	80,71	86,90

[Πηγή : Ζερφυρίδης, 2001; Κεχαγιάς, 1997]

**1.2.1 Κύρια Συστατικά**

Η σύνθεση του γάλακτος προσδιορίζει τη θρεπτική του αξία, την αξία του ως ακατέργαστου υλικού για παραγωγή άλλων προϊόντων και πολλές από τις ιδιότητές του. Επομένως, φυσική απόρροια είναι τα συστατικά που βρίσκονται σε μεγαλύτερες ποσότητες στο γάλα να διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη θρεπτικότητα, αλλά και στην τυροκομία.

**1.2.1.1 Νερό**

Το νερό είναι το συστατικό που συναντάται σε συντριπτικά μεγαλύτερο ποσοστό σε σχέση με τα υπόλοιπα και αποτελεί μέσο διασποράς όλων των υπολοίπων. Ένα μικρό μέρος του βρίσκεται 'δεσμευμένο' στη λακτόζη και τις πρωτεΐνες του γάλακτος.

Η τυροκόμηση του γάλακτος αποσκοπεί στην απομάκρυνση του μεγαλύτερου μέρους του νερού που περιέχεται σε αυτό, ώστε να διατηρηθούν τα υπόλοιπα συστατικά του για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα. Η ποσότητα νερού που απομακρύνεται εξαρτάται από το είδος του τυριού που επιδιώκεται να παραχθεί (πολύ σκληρό, σκληρό, ημίσκληρο, μαλακό, αλοιφώδες).

**1.2.1.2 Λίπος**

Το λίπος του γάλακτος αποτελείται από πολυάριθμα διαφορετικά λιπίδια. Ποσοστό μεγαλύτερο του 98% του λίπους κατασκευάζεται από τριγλυκερίδια (αποτελούνται από ένα μόριο γλυκερόλης και τρία λιπαρά οξέα). Η βασική δομή των τριγλυκεριδίων προκύπτει από την εστεροποίηση των λιπαρών οξέων πάνω σε ένα μόριο γλυκερόλης. Τα λιπαρά οξέα είναι οργανικά οξέα που αποτελούνται από τις αλυσίδες των υδρογονανθράκων με μια καρβοξυλική ομάδα (-COOH) στο τέλος της αλυσίδας. Αυτά μπορεί να είναι είτε κορεσμένα είτε ακόρεστα (F. Harding, 1999).

Άλλα λιπίδια που υπάρχουν είναι η χοληστερόλη (<0.5%), διγλυκερίδια (~2%), ελεύθερα λιπαρά οξέα (0.1%), φωσφολιπίδια (~1%) και κερεβροζίδια. Τα τριγλυκερίδια και διγλυκερίδια αποτελούν τα ουδέτερα λίπη, σε αντίθεση με τα φωσφολιπίδια που αναφέρονται ως πολικά. Τα περιεχόμενα λιπαρά οξέα των λιπιδίων του γάλακτος επιδεικνύουν μεγάλη ποικιλία 4-20 ατόμων άνθρακα και 0-4 διπλών δεσμών. Ακόμη, το λίπος του γάλακτος είναι το πιο περίπλοκο όλων των φυσικών λιπαρών, λαμβάνοντας υπόψη ότι περισσότερα από 400 διαφορετικά λιπαρά οξέα σχηματίζουν τα

τριγλυκερίδια. Επιπλέον, περιέχονται ίχνη από υδρογονάνθρακες, λιποδιαλυτές βιταμίνες, αρωματικές ενώσεις και διάφορα συστατικά που εισέρχονται στο γάλα μέσω της λαμβανόμενης τροφής των ζώων (Walstra & Jenness, 1984).

Η ποσότητα και η σύσταση των λιπαρών του γάλακτος εξαρτάται από το είδος του ζώου, την γαλακτοπαραγωγική περίοδο, την ύπαρξη μαστίτιδας και γενικότερα την υγιεινή του ζώου, από την τροφή και πολλούς άλλους παράγοντες. Κατά μέσο όρο, περίπου το 70% του λιπαρού κλάσματος συντίθεται από κορεσμένα λιπαρά οξέα, ενώ το 30% από ακόρεστα (Pereira, 2014).

### 1.2.1.3 Πρωτεΐνες Γάλακτος

Το γάλα περιέχει μια μεγάλη ποικιλία από αζωτούχες ενώσεις, όπου το 95% εξ' αυτών είναι πρωτεϊνικής φύσεως, ενώ το 5% μη πρωτεϊνικής (Μαντής, 2000). Θεωρείται γενικά ως μια σημαντική πηγή πρωτεϊνών στην ανθρώπινη διατροφή, παρέχοντας κατά μέσο όρο 32 g protein/L. Οι πρωτεΐνες μπορούν να χωριστούν σε δύο μεγάλες κατηγορίες, τις διαλυτές και τις αδιάλυτες πρωτεΐνες. Οι διαλυτές, που αναφέρονται και ως πρωτεΐνες ορού, καταλαμβάνουν περίπου το 20% του συνολικού κλάσματος πρωτεϊνών, ενώ οι αδιάλυτες, δηλαδή οι καζεΐνες, το 80% (Pereira, 2014). Τα αμινοξέα διαφέρουν αισθητά μεταξύ των δύο αυτών κατηγοριών. Η διαφορά έγκειται κυρίως στο γεγονός ότι ο ορός είναι πλούσιος σε αμινοξέα διακλαδισμένης αλυσίδας, όπως για παράδειγμα λευκίνη, ισολευκίνη και βαλίνη, εν αντιθέσει με τις καζεΐνες, που περιέχουν φώσφορο στο μόριο τους και το μεγαλύτερο ποσοστό τους είναι ιστιδίνη, μεθειονίνη και φαινυλαλανίνη. Ακόμη, οι καζεΐνες είναι πιο υδρόφοβες από αυτές του ορού.

- **Καζεΐνες** : όλες οι καζεΐνες ( $\alpha_{s1}$ -,  $\alpha_{s2}$ -, κ-, β- καζεΐνες) περιέχουν φώσφορο συνδεδεμένο με το αμινοξύ σερίνη, σε διαφορετική ωστόσο περιεκτικότητα η καθεμιά. Οι  $\alpha_{s1}$ - και β- καζεΐνες καθιζάνουν παρουσία ιόντων ασβεστίου ( $Ca^{++}$ ) παρουσιάζοντας ευαισθησία. Σε αντίθεση με τις προηγούμενες οι κ-καζεΐνες είναι διαλυτές παρουσία των παραπάνω ιόντων σε όλες τις θερμοκρασίες και δεν καθιζάνουν. Ακόμη, οι κ-καζεΐνες σταθεροποιούν τις άλλες δύο κατηγορίες καζεϊνών έναντι των ιόντων ασβεστίου που υπάρχει στο γάλα (Κεχαγιάς Χ., 1997). Οι προαναφερόμενες πρωτεΐνες συναντώνται στο γάλα υπό μορφή συμπλόκων μορίων των  $\alpha_{s1}$ -,  $\alpha_{s2}$ -, β- και κ-καζεϊνών, τα οποία καλούνται μικκύλια και βρίσκονται σε κolloειδή διασπορά στην υδάτινη φάση. Τα σύμπλοκα αυτά αποτελούνται κατά 93% από καζεΐνες ενώ το υπόλοιπο συμπληρώνεται από ανόργανη ύλη. Κύρια συστατικά της ανόργανης ύλης αποτελούν ο φωσφόρος και το ασβέστιο τα οποία απαντούν κυρίως με τη μορφή κolloειδούς φωσφοασβεστίου (CCP) και συμβάλλουν στο σχηματισμό και τη διατήρηση του σχήματος των μικκυλίων. Σημαντικό ρόλο έχουν και τα κιτρικά άλατα, τα οποία ρυθμίζουν την ισορροπία της κατάστασης διασποράς των μικκυλίων. Μέσα στο γάλα τα μικκύλια είναι ισχυρώς ενυδατωμένα (2 g H<sub>2</sub>O / g πρωτεΐνης).

Τέλος, η ελεγχόμενη υδρόλυση των καζεϊνών είναι το μέσο παρασκευής τυριών και άλλων γαλακτοκομικών προϊόντων. Η εκτεταμένη αποσταθεροποίηση της δομής των καζεϊνικών μικυλλίων και η μερική υδρόλυση των καζεϊνών, ελαττώνει την ποιότητα του γάλακτος και την απόδοση του σε τυρί (Τσοχατζής, 2005).

- **Πρωτεΐνες ορού** : Οι πρωτεΐνες ορού αποτελούν περίπου το 20% των συνολικών πρωτεϊνών στο αγελαδινό (Walstra, 1999), στο βουβαλίσιο και στο αιγοπρόβειο (Anifantakis, 1986) γάλα. Οι πρωτεΐνες αυτές, στην κανονική τους μορφή είναι διαλυτές σε pH 4,6 ή σε περίπτωση κορεσμού σε NaCl, και παραμένουν διαλυτές σε αντίθεση με τις καζεΐνες που σε αυτό το pH καθιζάνουν. Κατά την κατασκευή τυριού, η πάνω φάση (ορός) περιέχει διάφορες πρωτεΐνες που γενικά καλούνται πρωτεΐνες ορού. Οι περισσότερες από αυτές είναι σφαιρικές και υπόκεινται σε μετουσίωση με την επιβολή θέρμανσης. Το κλάσμα των υδατοδιαλυτών αυτών πρωτεϊνών αποτελείται από τις: γαλακταλβουμίνες (οροαλβουμίνη, α-λακταλβουμίνη), γαλακτογλοβουλίνες (β-λακτογλοβουλίνη) και ανοσογλοβουλίνες. Οι τελευταίες περιλαμβάνουν μια ετερογενή οικογένεια πρωτεϊνών, που έχουν σαν κοινό χαρακτηριστικό τον εφοδιασμό των νεαρών ζώων με αντισώματα για την προστασία κατά των παθογόνων μικροοργανισμών (Κεχαγιάς, 1997). Ωστόσο μόνο οι δύο πρώτες κατηγορίες καζεϊνών, οι γαλακταλβουμίνες και οι γαλακτογλοβουλίνες, παρουσιάζουν ενδιαφέρον από τυροκομικής άποψης, κι αυτό επειδή είναι δυνατή η κατακρήμνισή τους με οξίνιση και θέρμανση, αποτελώντας βάση για την παραγωγή διαφόρων προϊόντων, όπως των τυριών τυρογάλακτος (ανθότυρο, μανούρι, μυζήθρα και άλλα). Τα κλάσματα αυτά, όμως, διαφέρουν μεταξύ τους ως προς τη δομή, την ηλεκτροφορητική ικανότητα και τις τυροκομικές ιδιότητες (Ανυφαντάκης, 2004). Ως προς τις δομικές διαφορές, η β-γαλακτογλοβουλίνη περιέχει δύο δισουλφιδικούς (-S-S-) δεσμούς και μια ελεύθερη ομάδα S-H. Η ελεύθερη αυτή ομάδα είναι δυνατόν να αντιδράσει κάτω από ειδικές συνθήκες και να σχηματίσει νέους δισουλφιδικούς δεσμούς. Αντιθέτως, η α-γαλακταλβουμίνη περιέχει τέσσερις δισουλφιδικούς δεσμούς σε κάθε μόριο, είναι σφαιρικής δομής, με τη λυσίνη της εκτεθειμένη στην επιφάνεια. Η τελευταία θεωρείται πιο θερμοάντοχη πρωτεΐνη και η πρόκληση των δομικών αλλαγών του μορίου λόγω θέρμανσης θεωρείται αντιστρεπτό φαινόμενο (Κεχαγιάς, 1997). Η προσεγγιστική σύσταση των ολικών, των υδατοδιαλυτών πρωτεϊνών και των καζεϊνών διαφόρων ειδών συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 1.3).

Πίνακας 1.3 Εκατοστιαία σύσταση πρωτεϊνών γάλακτος διαφόρων ειδών

Είδος γάλακτος	Ολική πρωτεΐνη	Καζεΐνες	Υδατοδιαλυτές πρωτεΐνες
Αγελαδινό	3,4	2,7	0,7
Πρόβειο	6,0	4,8	1,2
Κατσικίσιο	3,6	2,8	0,8
Βουβαλινό	4,4	3,5	0,9
Ονού	2,0	0,7	1,3
Γυναίκας	0,9	0,3	0,6

[Πηγή: Ζερφυρίδης, 2001]

#### 1.2.1.4 Υδατάνθρακες

Ο πιο επιφανής ελεύθερος υδρογονάνθρακας του γάλακτος, στα περισσότερα είδη, είναι η λακτόζη η οποία βρίσκεται σε μεγάλες ποσότητες.

- **Λακτόζη** : Είναι δισακχαρίτης που αποτελείται από ένα μόριο d-γλυκόζης και ένα μόριο d-γαλακτόζης συνδεδεμένα με β-1,4-γλυκοζιτικό δεσμό. Απαντάται σε δύο μορφές α και β, που διακρίνονται μεταξύ τους από τη θέση του υδροξυλίου στο μόριο της γλυκόζης. Οι μορφές αυτές σε υδατικό περιβάλλον βρίσκονται σε ισορροπία (Walstra & Jenness, 1984).

Στο κανονικό γάλα, η λακτόζη βρίσκεται σε ποσοστό 4,4% έως 5,2% και αντιπροσωπεύει το 50-52% των στερεών του άπαχου γάλακτος. Η παρουσία της στο γάλα αποτελεί απαραίτητη προϋπόθεση για την παρασκευή ζυμωμένων προϊόντων, όπως για παράδειγμα τα τυριά.

Στο γάλα η λακτόζη μπορεί να υποστεί δύο ζυμώσεις, τη γαλακτική και την οινοπνευματική, ενώ στα τυριά τρεις, την οξυγαλακτική, την προπιονική και τη βουτυρική.

#### 1.2.1.5 Άλατα και ιχνοστοιχεία

Ο όρος άλατα παραπέμπει σε εκείνες τις ουσίες, που βρίσκονται με τη μορφή ιόντων ή μη ιονισμένες, στο pH του γάλακτος και είναι σχετικά μικρού μοριακού βάρους. Δοσμένου του ορισμού αυτού, γίνεται κατανοητό ότι η κατηγορία αυτή διαφοροποιείται από τις ανόργανες ουσίες ή τα μέταλλα που υπάρχουν στο γάλα, αφού συμπεριλαμβάνονται και οργανικές ουσίες. Τα κυριότερα ανόργανα και οργανικά ιόντα του γάλακτος, δηλαδή τα άλατα, που περιέχονται σε ποσοστό περίπου 0,75% είναι τα φωσφορικά, τα θειικά, τα χλωριούχα, τα κιτρικά και τα ανθρακικά (Κεχαγιάς, 1997). Πρέπει να τονιστεί ότι τα άλατα αυτά δεν είναι όλα διαλυμένα στην υδατική φάση του γάλακτος. Τα καζεϊνικά μικκύλια περιέχουν μη διαλυτό φωσφορικό ασβέστιο, που συχνά καλείται κολλοειδές φωσφορικό ασβέστιο, και λίγα κιτρικά. Σχεδόν όλα τα άλατα περιέχονται στον ορό, ή στα καζεϊνικά μικκύλια και πολύ λίγα είναι συνδεδεμένα με τα λιποσφαιρίδια. Τα άλατα του γάλακτος, μπορούν να διαλυθούν με μείωση του pH στο 4,6

ή χαμηλότερα, καθώς και με διάλυση σε νερό ή σε διάλυμα απουσία ασβεστίου, αν και στη δεύτερη περίπτωση η διάλυση είναι αργή και μη ολοκληρωμένη.

Κατά την καύση του γάλακτος καταστρέφεται η οργανική του ουσία. Λαμβάνεται έτσι η τέφρα, το καθαρά ανόργανο μέρος του, που κατά κύριο λόγο περιέχει οξείδια καλίου, νατρίου, ασβεστίου, μαγνησίου, χλωρίου, φωσφόρου, θείου και άνθρακα. Τα στοιχεία αυτά δεν υπάρχουν στο γάλα στη μορφή των οξειδίων που βρίσκονται στην τέφρα αλλά ως πολύπλοκες ενώσεις που δεν έχουν επαρκώς διερευνηθεί μέχρι σήμερα. Κατατάσσονται συνήθως σε δύο κατηγορίες, με κριτήριο τη συγκέντρωσή τους στο γάλα. Στην πρώτη υπάγονται εκείνα που υπάρχουν σε σχετικά μεγάλη ποσότητα και χαρακτηρίζονται ως κύρια άλατα (κάλιο, νάτριο, ασβέστιο, μαγνήσιο, φωσφόρο, χλώριο, θείο, κιτρικά), ενώ στη δεύτερη εκείνα που απαντούν σε πολύ μικρή αναλογία και χαρακτηρίζονται ως δευτερεύοντα άλατα ή ιχνοστοιχεία (χαλκός, σίδηρος, μόλυβδος, ψευδάργυρος, βρώμιο, ιώδιο και άλλα). Σημειώνεται ότι η σπουδαιότητά τους δεν είναι πάντοτε ανάλογη της ποσότητας στην οποία απαντούν. Στο γάλα αγελάδας το 20% του ασβεστίου είναι δεσμευμένο στις καζεΐνες σε συνδυασμό με το φώσφορο, το 50% είναι σε ανόργανη κολλοειδή μορφή και το 30% σε ιονισμένη μορφή (Renner, 1983).

Κάποια από τα κύρια άλατα του γάλακτος αναλύονται περαιτέρω.

**Ασβέστιο** : Από θρεπτικής απόψεως το γάλα περιέχει αφθονία ασβεστίου και φωσφόρου. Η μέση συγκέντρωση ασβεστίου είναι περίπου 1200 mg/L, το οποίο μοιράζεται μεταξύ της μικκυλιακής και της υδατικής φάσης. Στην πρώτη, συνδέεται με τα φωσφορυλικά κατάλοιπα των καζεϊνών, ενώ στην υδατική φάση το ασβέστιο μπορεί να συνδεθεί με πρωτεΐνες ορού ή με μη οργανικές ενώσεις φωσφόρου σχηματίζοντας άλατα. Στο γάλα, οι δύο αυτές φάσεις βρίσκονται σε θερμοδυναμική ισορροπία, όμως σε περίπτωση αλλαγής της θερμοχημικής κατάστασης του γάλακτος, όπως για παράδειγμα μεταβολή στη θερμοκρασία ή/και στο pH, θα λάβει χώρα 'μετανάστευση' ασβεστίου από τη μία φάση στην άλλη (Pereira, 2014).

**Φώσφορος** : Εκτός από το ασβέστιο, το γάλα θεωρείται ως μία πολύ καλή πηγή φωσφόρου, ο οποίος βρίσκεται τόσο ως οργανικός αλλά και ως ανόργανος. Ο οργανικός φώσφορος, συνδέεται με οργανικά μόρια όπως οι πρωτεΐνες, τα φωσφολιπίδια, οργανικά οξέα και νουκλεοτίδια, τα οποία υπάρχουν κυρίως στη μικκυλιακή φάση. Αντίθετα ο ανόργανος φώσφορος απαντάται σε ιόντα φωσφόρου, το οποίο εξαρτάται από την τιμή pH και βρίσκεται στην υδατική φάση. Όπως και στο ασβέστιο έτσι κι εδώ, οι δύο φάσεις βρίσκονται σε ισορροπία και η κατανομή του φωσφόρου σε καθεμιά εξαρτάται από συνθήκες όπως το pH. Η μέση συγκέντρωση του φωσφόρου στο γάλα είναι περίπου 950 mg/L.

**Μαγνήσιο** : Αν και όχι σε αφθονία, στο γάλα, όπως και σε άλλα γαλακτοκομικά προϊόντα, υπάρχει και το μαγνήσιο, το οποίο επίσης περιέχεται στις δύο φάσεις, μικκυλιακή και υδατική, οι οποίες βρίσκονται σε ευαίσθητη θερμοδυναμική ισορροπία που επηρεάζεται

από τις συνθήκες. Χαρακτηριστικά, ένα λίτρο γάλακτος, μπορεί να παρέχει έως 120 mg μαγνησίου, ποσότητα η οποία αντιστοιχεί στο 29% περίπου της απαιτούμενης προσλαμβανόμενης διατροφικής ποσότητας (Pereira, 2014).

Η φυσική κατάσταση και σταθερότητα των πρωτεϊνών του γάλακτος εξαρτάται σε σημαντικό βαθμό από τη σύσταση των αλάτων του. Μερικά από τα μεταλλικά συστατικά του γάλακτος, κατά κύριο λόγο όμως ο χαλκός και ο σίδηρος, καταλύουν την οξειδωση των λιπιδίων του, με αποτέλεσμα την εμφάνιση ανεπιθύμητων γεύσεων και οσμών.

Ο χρόνος πήξης του γάλακτος με την πυτιά, στις περιπτώσεις παρασκευής τυριών, επηρεάζεται σημαντικά από τη σύσταση των αλάτων του και ιδιαίτερη σημασία έχουν τα ιόντα ασβεστίου. Ακόμη, ειδικότερα η σύσταση του ασβεστίου επηρεάζει σημαντικά και την υφή διάφορων γαλακτοκομικών προϊόντων όπως τυριά και γιαούρτη.

Στη συνέχεια παρατίθεται πίνακας (Πίνακας 1.4) της περιεκτικότητας σε άλατα σε διάφορα είδη γάλακτος.

**Πίνακας 1.4 Περιεκτικότητα σε άλατα (g/100g) σε διάφορα είδη γάλακτος**

	<b>Κατσικίσιο</b>	<b>Πρόβειο</b>	<b>Αγελαδινό</b>
<b>Κάλιο</b>	1,6	1,5	1,60
<b>Νάτριο</b>	0,4	0,4	0,50
<b>Ασβέστιο</b>	1,3	2,3	1,30
<b>Μαγνήσιο</b>	0,15		0,14
<b>Φώσφορος</b>	1,0	1,6	1,00
<b>Χλώριο</b>	1,5	0,7	1,10
<b>Θείο</b>	0,2		0,35
<b>Κιτρικά</b>	1,5		1,80

[Πηγή: Κεχαγιάς, 1997]

Συμπερασματικά, από τυροκομικής απόψεως ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν το ασβέστιο, χωρίς τα ιόντα του οποίου δεν μπορεί να πραγματοποιηθεί ενζυμική πήξη του γάλακτος, η σχέση ασβεστίου, καλίου, μαγνησίου και κιτρικών για τη σταθερότητα του γάλακτος στη θέρμανση, ο σίδηρος και ο χαλκός που συνεισφέρουν στην επιτάχυνση της οξειδωσης των λιπιδίων και τέλος το χλώριο, καθώς αποτελεί δείκτη της υγιεινής κατάστασης του μαστού και επηρεάζει τη γεύση του γάλακτος (Μαντής, 2000). Πρέπει να τονιστεί ότι με την επεξεργασία του γάλακτος, όπως θέρμανση και οξίνιση, η περιεκτικότητά του στα διάφορα άλατα μεταβάλλεται, ανεξάρτητα που η τέφρα παραμένει σχετικά σταθερή (Κεχαγιάς, 1997).

### **1.2.2 Δευτερεύοντα συστατικά**

Το γάλα περιέχει μεγάλη ποικιλία συστατικών της κατηγορίας αυτής. Από αυτά, ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν, από διατροφικής άποψης, οι βιταμίνες, οι στερόλες και τα φωσφολιπίδια, ενώ από τυροκομικής οι χρωστικές, οι αντιβακτηριακές ουσίες, τα σωματικά κύτταρα και τα ένζυμα.

#### **1.2.2.1 Λιπίδια εκτός των τριγλυκεριδίων**

Τα λιπίδια αυτά αποτελούν το 1,5-2% περίπου του συνολικού λίπους. Στην κατηγορία αυτή συμπεριλαμβάνονται λιποδιαλυτές βιταμίνες και καροτινοειδή, διγλυκερίδια, μονογλυκερίδια, ελεύθερα λιπαρά οξέα και φωσφολιπίδια, όπως λεκιθίνη, κεφαλίνη και σφυγγομυελίνη.

#### **1.2.2.2 Αντιβακτηριακές ουσίες γάλακτος**

Το γάλα εμφανίζει ασθενή βακτηριοστατική ενέργεια για πέντε ώρες περίπου μετά το άρμεγμα. Πολλοί ερευνητές αποδίδουν την ιδιότητα αυτή σε αντισώματα που περιέχει, άλλοι στην παρουσία λευκοκυττάρων, ενώ υπάρχουν αρκετοί που αμφισβητούν την ύπαρξή της. Η αντοχή του γάλακτος στην οξίνιση τις πρώτες ώρες μετά το άρμεγμά του αποδίδεται στις ουσίες αυτές.

#### **1.2.2.3 Σωματικά κύτταρα γάλακτος**

Το γάλα περιέχει ένα μικρό αριθμό επιθηλιακών κυττάρων που προέρχονται από το μαστό του ζώου από το οποίο προέρχεται. Μεταξύ αυτών είναι και τα λευκοκύτταρα, που είναι κύτταρα μεγάλης σχετικά διαμέτρου χωρίς χρωστική. Όταν το γάλα παράγεται από υγιή μαστό, ο αριθμός τους είναι συνήθως 50.000 έως 100.000/mL. Η παρουσία τους στο γάλα σε αριθμούς, μεγαλύτερους των 400.000/mL, αποτελεί ένδειξη ανώμαλης λειτουργίας του μαστού, συνήθως προσβολή από μαστίτιδα (Anifantakis et al., 2000). Το θέμα των μαστίτιδων είναι ιδιαίτερα σημαντικό για την τυροκομία.

#### **1.2.2.4 Ένζυμα γάλακτος**

Από τα υπόλοιπα δευτερεύοντα συστατικά του γάλακτος σημαντικότερα θεωρούνται τα ένζυμα που υπάρχουν φυσιολογικά στο γάλα ως προϊόντα εκκριτικής δραστηριότητας των ζώων. Παρόλο που βρίσκονται σε μικρές ποσότητες, καταλύουν πολλές αντιδράσεις και αποτελούν σημαντικά 'εργαλεία' στη γαλακτοκομία. Εκτός από τα φυσικά ένζυμα υπάρχουν και τα ένζυμα μικροβιακής προέλευσης, που παράγονται πριν ή μετά το άρμεγμα.

Τα ένζυμα που παρουσιάζουν εξαιρετικό ενδιαφέρον στη βιομηχανία γάλακτος μπορούν πρακτικά να συνοψιστούν σε τρεις κατηγορίες ανάλογα με τη χρησιμότητά τους.

1. Η μία περιλαμβάνει τα ένζυμα που μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες του βαθμού θερμικής επεξεργασίας του γάλακτος όπως η *φωσφατάση* και η *υπεροξειδάση*. Οι φωσφατάσες, ένζυμα που καταλύουν την υδρόλυση φωσφορικών εστέρων, καταστρέφονται σε θερμοκρασία παστερίωσης του γάλακτος (72°C, 15 sec) και χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο της καλής



- παστερίωσης. Το δεύτερο ένζυμο της κατηγορίας αυτής, η υπεροξειδάση, μεταφέρει το οξυγόνο κυρίως από το υπεροξείδιο του υδρογόνου και άλλα υπεροξείδια σε δέκτες οξυγόνου. Αδρανοποιείται όταν το γάλα θερμανθεί στους 80°C για μερικά δευτερόλεπτα και για το λόγο αυτό χρησιμοποιείται για να διαπιστωθεί αν το γάλα έχει υποστεί θερμική επεξεργασία μεγαλύτερη της παστερίωσης (υπερπαστερίωση) (Κεχαγιάς, 1997).
2. Η δεύτερη κατηγορία περιλαμβάνει τα ένζυμα εκείνα που προκαλούν ανεπιθύμητες αλλαγές στα συστατικά και στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του γάλακτος. Τα ένζυμα αυτά είναι η *λιπάσες* και οι *πρωτεάσες*. Οι λιπάσες υδρολύουν το λίπος και ελευθερώνουν τα λιπαρά οξέα από τη γλυκερόλη, το οποίο έχει ως αποτέλεσμα την εμφάνιση ανεπιθύμητης οσμής που προσδίδεται από τα λιπαρά οξέα. Το φαινόμενο αυτό είναι γνωστό ως λιπολυτική τάγγιση. Όσον αφορά τις πρωτεάσες, τα ένζυμα αυτά συμβάλλουν στην υδρόλυση των πεπτιδικών δεσμών. Η πιο σημαντική πρωτεάση του γάλακτος είναι η πλασμίνη, η οποία υπάρχει κυρίως στην ανενεργή μορφή του πλασμινογόνου. Κατά την τυροκόμηση η πλασμίνη μεταφέρεται στο τυρί και συμβάλλει στην ωρίμανσή του.
  3. Στην τρίτη κατηγορία ανήκουν τα ένζυμα που αποτελούν δείκτη της υγιεινής κατάστασης του μαστού του ζώου, όπως η *καταλάση*. Το ένζυμο αυτό διασπά το υπεροξείδιο του υδρογόνου σε νερό και οξυγόνο και καταστρέφεται όταν το γάλα θερμανθεί στους 75°C για 60 sec. Η ύπαρξη αυξημένης ποσότητας του ενζύμου αυτού στο γάλα, πέραν του φυσιολογικού, αποτελεί ένδειξη προσβολής του μαστού από μαστίτιδα.

#### **1.2.2.5 Βιταμίνες γάλακτος**

Το γάλα περιέχει πολλές βιταμίνες, άλλες σε μεγαλύτερες ποσότητες και άλλες σε ίχνη. Οι βιταμίνες του γάλακτος χωρίζονται σε δύο κατηγορίες, τις λιποδιαλυτές εκ των οποίων σπουδαιότερες θεωρούνται η Α και η D, ως μίγμα οι D3 και D2, ενώ σε μικρότερο ποσοστό απαντάται η Ε και σε ίχνη η Κ, και οι υδατοδιαλυτές. Οι σπουδαιότερες υδατοδιαλυτές πρωτεΐνες είναι η Β και η C. Η περιεκτικότητα της Β παραμένει σταθερή στο γάλα, ανεξάρτητα με την περιεκτικότητά της στην τροφή των ζώων.

#### **1.2.2.6 Ορμόνες γάλακτος**

Οι ορμόνες αυτές αφορούν τις φυσιολογικές ορμόνες του γαλακτοπαραγωγού ζώου, η περιεκτικότητά τους στο γάλα είναι μικρή και εξαρτάται από το στάδιο της γαλακτοπαραγωγής.

#### **1.2.2.7 Αλδεύδες, κετόνες και αλιφατικά οξέα γάλακτος**

Απαντούν σε συνολικό ποσό που κυμαίνεται από 10 έως 20 mg/100 mL. Έχουν ταυτοποιηθεί χρωματογραφικώς περισσότερες από 20 τέτοιες ενώσεις μεταξύ των οποίων το α-κετογλουταρικό οξύ (0,2-0,25 mg/100 mL), το γαλακτικό οξύ (3,4-10,5 mg/100 mL), το μυρμηκικό οξύ (1,8-8,3 mg/100 mL), η φορμαλδεΰδη, η ακεταλδεΰδη, η ακετόνη και άλλα (Johnson, 1974; Jenness, 1974).

#### **1.2.2.8 Μη πρωτεϊνικής φύσεως αζωτούχες ουσίες γάλακτος**

Τα μη πρωτεϊνικά αζωτούχα συστατικά αποτελούν περίπου το 5% του συνολικού αζώτου που υπάρχει στο γάλα. Στην κατηγορία αυτή συμπεριλαμβάνονται κυρίως η αμμωνία, ελεύθερα αμινοξέα, κρεατίνη, ουρικό οξύ, ουρία, ιππουρικό οξύ και άλλα.

#### **1.2.2.9 Θειούχες ενώσεις γάλακτος**

Οι θειούχες ενώσεις παίζουν σημαντικό ρόλο στην αντιμικροβιακή δράση του νωπού γάλακτος καθώς και στην οσμή και τη γεύση του. Τέτοιες ενώσεις αποτελούν για παράδειγμα οι θειοκυανικές ρίζες και διάφορες διμεθυλο-σουλφόνες.

#### **1.2.2.10 Αέρια γάλακτος**

Τα αέρια CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> και O<sub>2</sub> βρίσκονται στο αναερόβια διατηρημένο γάλα σε συγκεντρώσεις περίπου 120, 13, 1,4 mg/L αντίστοιχα (Noll & Surple, 1941). Από τη στιγμή που το γάλα εκτίθεται στον αέρα λαμβάνει χώρα απώλεια διοξειδίου του άνθρακα, ενώ ταυτόχρονα λαμβάνονται άζωτο και οξυγόνο. Το διοξείδιο του άνθρακα, φυσικά, βρίσκεται σε ισορροπία με το δισσάνθρακικό ιόν. Σχεδόν όλο το σύστημα CO<sub>2</sub>-HCO<sub>3</sub> μπορεί να αφαιρεθεί από το γάλα με θέρμανση ή επεξεργασία υπό κενό (Smith, 1964).

### **1.3 Παράγοντες που επηρεάζουν την ποιότητα του γάλακτος**

Η ποσότητα καθώς και η ποιότητα του γάλακτος, επηρεάζεται σημαντικά από διάφορους παράγοντες που έχουν άμεση σχέση με το ζώο και τον τρόπο διαχείρισής του. Κάποιοι από αυτούς τους παράγοντες συνοψίζονται παρακάτω.

- 1) Το είδος και η φυλή του ζώου. Τα ποιοτικά, καθώς και τα ποσοτικά χαρακτηριστικά, διαφέρουν σημαντικά ανάλογα με το είδος του γαλακτοφόρου ζώου, καθώς και από την φυλή προέλευσής του.
- 2) Ο αριθμός αμέλξεων, καθώς και ο τρόπος πραγματοποίησής των και η περίοδος της ημέρας (πρωί, βράδυ). Το λίπος είναι το συστατικό που επηρεάζεται ως επί το πλείστον από τον τρόπο άμελξης.
- 3) Οι περιβαλλοντικές συνθήκες. Σε ακραίες περιβαλλοντικές συνθήκες, μειώνεται αισθητά η γαλακτοπαραγωγή, όταν το ζώο εκτίθεται σε αυτές.
- 4) Η ηλικία, ο οργανισμός και η υγιεινή κατάσταση του ζώου.
- 5) Η διατροφή του. Θα πρέπει η διατροφή να είναι επαρκής και ισορροπημένη ώστε ο οργανισμός του ζώου να λαμβάνει τις απαραίτητες ποσότητες των θρεπτικών συστατικών. Η διατροφή έχει συνέπειες τόσο στην ποιότητα, αλλά και στην ποσότητα του γάλακτος.
- 6) Το στάδιο της γαλακτικής περιόδου. Γαλακτική περίοδος ονομάζεται το στάδιο από τον τοκετό μέχρι την διακοπή της γαλακτοπαραγωγικής περιόδου. Στα πρώτα στάδια της περιόδου αυτής, η οξύτητα, το ειδικό βάρος, το ιξώδες και η περιεκτικότητα σε ανοσογλοβουλίνες είναι αρκετά υψηλότερα του φυσιολογικού

γάλακτος. Το γάλα αυτό, που ονομάζεται κοινώς πρωτόγαλα, δεν είναι κατάλληλο για βιομηχανική χρήση, καθώς πήζει με θέρμανση (Κεχαγιάς, 1997).

Το γάλα που οδηγείται τόσο προς παραγωγή διαφόρων γαλακτοκομικών προϊόντων, όσο και προς άμεση κατανάλωση, θα πρέπει να πληροί βασικές προϋποθέσεις. Αυτές συμπεριλαμβάνουν τη χημική σύσταση του γάλακτος, τη μικροβιολογική του κατάσταση, καθώς και την ύπαρξη υπολειμμάτων ουσιών που χαρακτηρίζονται από φαρμακολογικής απόψεως ως δραστικές.

#### **1.4 Προϊόντα γάλακτος**

Στο άρθρο 79 του Κώδικα Τροφίμων και Ποτών, ορίζεται μεταξύ των υπόλοιπων ειδών γάλακτος και το «γάλα που προορίζεται για την παρασκευή προϊόντων με βάση το γάλα». Σύμφωνα με αυτό, λοιπόν, 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 θέρμιση, 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. Σύμφωνα με τον ίδιο Κώδικα 'προϊόντα με βάση το γάλα' νοούνται τα γαλακτοκομικά προϊόντα δηλαδή τα προϊόντα που παράγονται αποκλειστικά από γάλα στο οποίο είναι δυνατόν να προστίθενται οι απαραίτητες ουσίες για την κατασκευή τους, εφόσον οι ουσίες αυτές δε χρησιμοποιούνται για να αντικαταστήσουν εν όλω ή εν μέρει, κάποιο συστατικό του γάλακτος και τα προϊόντα που αποτελούνται από γάλα, δηλαδή τα προϊόντα των οποίων κανένα συστατικό δεν υποκαθιστά ή δεν αποσκοπεί να υποκαταστήσει κάποιο συστατικό του γάλακτος και των οποίων το γάλα ή ένα γαλακτοκομικό προϊόν αποτελεί συστατικό, είτε λόγω ποσότητας, είτε λόγω των χαρακτηριστικών που προσδίδει στο προϊόν (Άρθρο 79).

Το γάλα χρησιμοποιείται τόσο για άμεση κατανάλωση, όσο και ως μέσο για την παραγωγή προϊόντων γιαούρτης, επιδόρπιων γιαουρτιού, βουτύρου, παγωτών, τυριών καθώς και ζυμούμενων προϊόντων όπως το κεφίρ, το ξινόγαλα και το κουμίσ και άλλων προϊόντων. Τέλος, ανάλογα με την επεξεργασία την οποία υφίσταται το γάλα, όπως θερμική επεξεργασία, προθήκη ή/και αφαίρεση ουσιών, προκύπτει προϊόν με διαφορετική ονομασία.

##### **1.4.1 Θερμικά επεξεργασμένο γάλα**

Θερμικά επεξεργασμένο χαρακτηρίζεται το γάλα, το οποίο είναι κατάλληλο για ανθρώπινη κατανάλωση και παράγεται με θερμική επεξεργασία άμεσα και αποκλειστικά από νωπό γάλα, και το οποίο έχει τη μορφή γάλακτος παστεριωμένου, UHT και αποστειρωμένου.

- **Παστεριωμένο γάλα:** Υποβάλλεται σε επεξεργασία που περιλαμβάνει την έκθεσή του σε υψηλή θερμοκρασία για μικρό χρονικό διάστημα (τουλάχιστον 72°C για 15

δευτερόλεπτα) ή ισοδύναμος συνδυασμός χρόνου και θερμοκρασίας για την επίτευξη του επιθυμητού αποτελέσματος. Αμέσως μετά την παστερίωση, ψύχεται σε θερμοκρασία που δεν υπερβαίνει τους 6°C. Το γάλα αυτό πρέπει να παρουσιάζει αρνητικά αποτελέσματα στη δοκιμασία της φωσφατάσης και θετική αντίδραση στην δοκιμασία της υπεροξειδάσης.

- **Γάλα UHT:** Παράγεται με συνεχή θέρμανση του νωπού γάλακτος που συνεπάγεται τη βραχυχρόνια εφαρμογή υψηλής θερμοκρασίας (τουλάχιστον 135°C επί ένα περίπου δευτερόλεπτο) με σκοπό την καταστροφή όλων των υπολοιπομένων μικροοργανισμών και των σπορίων τους, και συσκευάζεται υπό ασηπτικές συνθήκες, σε αδιαφανή δοχεία ή σε δοχεία που καθίστανται αδιαφανή από δεύτερη συσκευασία, και αυτό συμβαίνει ώστε να μειώνονται στο ελάχιστο οι χημικές, φυσικές και οργανοληπτικές μεταβολές. Σε περίπτωση που εφαρμοστούν στην «πολύ υψηλής θερμοκρασίας» μέθοδο επεξεργασίας υδρατμοί, οι οποίοι έρχονται απευθείας σε επαφή με το γάλα, οι υδρατμοί αυτοί θα πρέπει να είναι από πόσιμο νερό και δεν πρέπει να μεταφέρουν ξένες ουσίες στο γάλα. Επίσης, η εφαρμογή της μεθόδου δεν πρέπει να μεταβάλει την περιεκτικότητα του γάλακτος σε νερό. Το γάλα UHT, διατηρείται χωρίς ανίχνευση αλλοιώσεων, σε θερμοκρασία 30°C για δεκαπέντε μέρες [Λιτοπούλου, 2010].
- **Αποστειρωμένο γάλα :** Το γάλα αυτό, θερμαίνεται και αποστειρώνεται σε ερμητικά κλειστές συσκευασίες ή δοχεία, των οποίων το σύστημα κλεισίματος πρέπει να παραμένει άθικτο. Πρέπει να διατηρείται όσο το δυνατόν χωρίς καμία αισθητή αλλοίωση, επί δεκαπενθήμερο, σε κλειστή συσκευασία και σε 30°C (Κ.Τ.Π, Άρθρα 79 & 80).

#### **1.4.2 Γάλα αποβουτυρωμένο**

Χαρακτηρίζεται το προϊόν που απομένει από το νωπό γάλα, ύστερα από την αφαίρεση του λίπους από αυτό με μηχανική κατεργασία και χωρίς καμία προσθήκη. Αυτό πρέπει να περιέχει λίπος σε ποσοστό 0,5 κατ' ανώτατο όριο και στερεό υπόλειμμα άνευ λίπους (Σ.Υ.Α.Λ) όπως καθορίζεται από την παράγραφο 3 του Κ.Τ.Π στο άρθρο 80, ή διαφορετικά ο δείκτης διάθλασης του ορρού του πρέπει να είναι τουλάχιστον 38 ή το ειδικό βάρος του ορρού να είναι 1,036 σε θερμοκρασία 15°C (Κ.Τ.Π, 1998).

#### **1.4.3 Συμπυκνωμένο γάλα (γάλα εβαπορέ)**

Το συμπυκνωμένο γάλα προκύπτει από το νωπό γάλα ύστερα από συμπύκνωση μέχρι του μισού του αρχικού του όγκου (για παράδειγμα από 2,1 kg νωπού γάλακτος προκύπτει 1 kg γάλα εβαπορέ). Με τη συμπύκνωση και την αφυδάτωση περιορίζεται ο όγκος του γάλακτος και αυξάνεται η δυνατότητα διατήρησής του για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα. Μία μέση σύσταση του γάλακτος αυτού φαίνεται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 1.5):

**Πίνακας 1.5 Μέση εκατοστιαία σύσταση του γάλακτος εβαπορέ**

Συστατικά	Πλήρες γάλα	Αποβουτυρωμένο γάλα
Λίπος	8,0	0,5
Πρωτεΐνες (Nx6,38)	6,9	11,1
Λακτόζη	9,7	15,0
Τέφρα	1,5	2,4
Νερό	73,9	71,0

[Πηγή: Βουδούρη &amp; Κοντομηνά, 2009]

Η παραγωγή του συμπυκνωμένου γάλακτος περιλαμβάνει συνοπτικά τα παρακάτω βήματα. Αρχικά λαμβάνει χώρα θέρμανση του γάλακτος στους 30-35°C και διηθείται ώστε να απομακρυνθεί οποιαδήποτε ξένη ύλη. Ακολουθεί προθέρμανση στους 95°C για περίπου 15 λεπτά ή στους 120-140°C για 25 δευτερόλεπτα. Η προθέρμανση πραγματοποιείται για την καταστροφή των μικροοργανισμών και ενζύμων, καθώς και για την πρόληψη ψύξης του προϊόντος κατά την παστερίωση. Στη συνέχεια συμπυκνώνεται υπό κενό, όπου το γάλα βράζει στους 43-57°C και ομογενοποιείται ώστε να αποφευχθεί η αποκορύφωση, ψύχεται, συσκευάζεται και αμέσως μετά αποστειρώνεται σε θερμοκρασία 120°C για 15 λεπτά. Το τελικό στάδιο περιλαμβάνει ξανά ψύξη και αποθήκευσή του σε θερμοκρασία μικρότερη των 21°C.

#### 1.4.4 Σακχαρούχο συμπυκνωμένο γάλα

Το προϊόν αυτό παρασκευάζεται σύμφωνα με τα βασικά στάδια παρασκευής του συμπυκνωμένου γάλακτος, με διαφορετική επεξεργασία ωστόσο σε ορισμένα σημεία. Η πρώτη διαφορά έγκειται στο στάδιο μετά την προθέρμανση, όπου στο γάλα προστίθεται ζάχαρη, (18 gr ζάχαρης / 100 kg νωπού γάλακτος) με τη μορφή αποστειρωμένου σιροπιού που περιέχει περίπου 70% καθαρής σακχαρόζης. Στη συνέχεια το σακχαρούχο προϊόν συμπυκνώνεται υπό κενό μέχρι την επιθυμητή τιμή (ειδικό βάρος ίσο με 1,30). Στο σημείο αυτό, πρέπει να τονιστεί ότι η διαδικασία της θέρμανσης πρέπει να γίνεται με ιδιαίτερη προσοχή καθώς με την υπερθέρμανση ευνοείται η ανάπτυξη σκοτεινού χρώματος του προϊόντος και ο σχηματισμός μεγάλων κρυστάλλων λακτόζης. Σημαντικό, ωστόσο είναι και το στάδιο της ψύξης, ώστε να μη δημιουργηθούν μεγάλοι κρύσταλλοι λακτόζης, οι οποίοι δίδουν αμμώδη υφή στο τελικό προϊόν. Μία μέση σύσταση του σακχαρούχου συμπυκνωμένου γάλακτος περιλαμβάνει λίπος 8,5%, πρωτεΐνες 8,2%, λακτόζη 12,2%, σακχαρόζη 42,0%, τέφρα 1,7% και νερό 27,4%.

#### 1.4.5 Σκόνη γάλακτος

Η ολική απομάκρυνση του νερού του γάλακτος (περίπου 97%) οδηγεί στη λήψη σκόνης γάλακτος. Παρασκευάζεται με ξήρανση σε ειδικές εγκαταστάσεις ξήρανσης, όπως

καταιονιστήρες ή τύμπανα. Το γάλα διαυγάζεται και συμπυκνώνεται υπό κενό έως ότου η περιεκτικότητά του σε ολικά στερεά να φτάσει 40-50%. Μετά με αντλία υψηλής πίεσης διοχετεύεται στον καταιονιστήρα του πύργου ξήρανσης. Στην περίπτωση χρήσης τυμπάνων, το γάλα διοχετεύεται σε μορφή υμενίου στην επιφάνεια αντίστροφα περιστρεφόμενων τυμπάνων, στο εσωτερικό των οποίων κυκλοφορεί ατμός υπό πίεση. Το γάλα τότε εξατμίζεται στην εξωτερική επιφάνεια των τυμπάνων και απομακρύνεται κατάλληλα (για παράδειγμα χρήση ξέστρου). Τέλος, το προϊόν συσκευάζεται σε ατμόσφαιρα αδρανούς αερίου (όπως για παράδειγμα άζωτο). Χαρακτηριστική σύσταση του προϊόντος αυτού αποτελεί η εξής : Λίπος 27,5%, πρωτεΐνες 25,0%, λακτόζη 37,5%, τέφρα 6,0% και νερό 3,0%.

#### **1.4.6 Ζυμούμενα Γάλατα**

Η ανάπτυξη των προϊόντων ζυμούμενου γάλακτος στην Ελλάδα είναι περιορισμένη σε σύγκριση με την παραγωγή και κατανάλωση της γιαούρτης (Παρ. 1.4.7), αν και τα τελευταία χρόνια όλο και περισσότερα προϊόντα του είδους αυτού κάνουν τη εμφάνισή τους στην αγορά. Ορισμένα από τα προϊόντα της κατηγορίας αυτής είναι το ξινόγαλα, το κεφίρ και το κούμις (λιγότερο γνωστό στη χώρα μας).

Όσον αφορά το ξινόγαλα, η περιεκτικότητά του σε λίπος κυμαίνεται στο 0,8-1,2%, και το γάλα ακολουθεί τα ίδια αρχικά στάδια επεξεργασία με αυτά της αναδευόμενης γιαούρτης (Παρ. 1.4.7), όμως η καλλιέργεια που προστίθεται περιέχει στελέχη τα οποία παράγουν πολυσακχαρίτες, *L. Acidophilus*. Το pH του φτάνει μέχρι 4,7.

Το κεφίρ όπως και το κούμις είναι ανθρακούχα αλκοολούχα ποτά. Στην μικροχλωρίδα του κεφίρ συμπεριλαμβάνεται η ζύμη *Torula*, που είναι υπεύθυνη για την αλκοολική ζύμωση, και τα βακτήρια *Lactobacillus brevis*, *L. casei*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Streptococcus durans*, *Saccharomyces delbrueckii*, *S. cerevisiae*, και *Acetobacteracetii*. Το κεφίρ είναι ένα δροσιστικό, εύγευστο, εύπεπτο και υγιεινό ζυμούμενο ποτό γάλακτος, που δεν υστερεί σε τίποτα από θρεπτικής απόψεως από τη γιαούρτη. Είναι παχύρρευστο, αφρίζον, ξινό ποτό με δριμεία γεύση. Ο βάκιλος του κεφίρ προκαλεί συσώρευση «κόκκων κεφίρ» 0,5-3 cm σε διάμετρο και είναι σωματίδια πηγμένου γάλακτος μαζί με οργανισμούς του κεφίρ. Οι κόκκοι αυτοί όταν είναι υγροί μοιάζουν με άνηθ κουνουπιδιού, ενώ όταν είναι ξηροί με καφέ σπόρους. Το κεφίρ περιέχει 0,5-1,0% γαλακτικό οξύ, αλκοόλη σε ποσοστό 0,5-2,0%, διοξείδιο του άνθρακα και μερικά ακόμα προϊόντα από την αποικοδόμηση της καζεΐνης που προκαλείται από την πρωτεολυτική δράση της ζύμης.

Το κούμις παράγεται από γάλα αλόγου ή κασίικας που ζυμώνεται με την κατάλληλη καθαρή καλλιέργεια «kumiss». Είναι ρευστό, αεριούχο, λόγω διοξειδίου του άνθρακα που παράγεται από την καλλιέργεια, ζυμούμενο ποτό γάλακτος, με όξινη και αναψυκτική

γεύση, περιεκτικότητας σε αλκοόλη 1,0%-3,0%. Το προϊόν αυτό δεν είναι τόσο γνωστό στην Ελλάδα σε σχέση με τα άλλα δύο της κατηγορίας αυτής.

#### 1.4.7 Γιαούρτη

«Γιαούρτη, πλήρης ή κατά περίπτωση ημιαποβουτυρωμένη, του αντίστοιχου ζώου από το οποίο παράγεται, χαρακτηρίζεται το προϊόν το οποίο προκύπτει μετά από πήξη αποκλειστικά και μόνο νωπού γάλακτος της αντίστοιχης προς την ονομασία φύσης και προέλευσης, με την επίδραση καλλιέργειας ζύμης που προκαλεί ειδική γι' αυτό ζύμωση.» (Κ.Τ.Π, 1998, Άρθρο 82). Ωστόσο ο ορισμός περιέχει αμφισβητούμενα σημεία, όπως η επισήμανση του γάλακτος που χρησιμοποιείται ως νωπού και μόνο. Ο όρος νωπό θεωρείται πως πλέον δεν υφίσταται, καθώς το γάλα που οδηγείται για την παραγωγή γιαούρτη έχει υποστεί τόσο υψηλή θερμική επεξεργασία, όσο και ρύθμιση της λιποπεριεκτικότητας και του ΣΥΑΛ (στερεό υπόλειμμα άνευ λίπους) του για να ανταποκριθεί στις απαιτήσεις του ίδιου κώδικα. Έτσι, για την πιο ολοκληρωμένη κατανόηση του όρου, θεωρείται σκόπιμο να δοθεί ένας επιπλέον ορισμός. Σύμφωνα με τον *Codex Alimentarius* (FAO/WHO, 1977) η γιαούρτη ορίζεται ως το πηγμένο γαλακτοκομικό προϊόν που παράγεται με γαλακτική ζύμωση του γάλακτος με τη δράση του *Lactobacillus bulgaricus* και του *Streptococcus thermophilus*. Οι μικροοργανισμοί αυτοί πρέπει να είναι στο τελικό προϊόν άφθονοι και ζωντανοί. Η προσθήκη οποιασδήποτε ουσίας πέραν των βασικών συστατικών (όπως σάκχαρα, σκόνη γάλακτος ή συμπυκνώματος τυρογάλακτος και άλλα) της γιαούρτη, ορίζει αυτόματα την ονομασία του προϊόντος αυτού ως επιδόρπιο γιαουρτιού. Τα στάδια παραγωγής της σε βιομηχανική κλίμακα μπορούν να συνοψιστούν ως εξής :

- i. Αρχική προετοιμασία γάλακτος, που περιλαμβάνει την επιλογή γάλακτος, την τυποποίησή του και την προσθήκη σακχάρων και σταθεροποιητών (εφόσον επιτρέπονται, σύμφωνα με τον FAO/WHO).
- ii. Προθέρμανση στους 60-70°C και ομογενοποίηση.
- iii. Θέρμανση του γάλακτος (85°C για 30 min, ή 90-95°C για 5-10 min, ή 120°C για 2-3 sec).
- iv. Ψύξη σε θερμοκρασία επώασης.
- v. Εμβολιασμός με οξυγαλακτική καλλιέργεια (*Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*).
- vi. Επώαση-πήξη στους περιέκτες (set γιαούρτι) ή σε δεξαμενή (stirred) και στη συνέχεια ψύξη και συσκευασία στους περιέκτες.

Από μια πρώτη άποψη, θα έλεγε κανείς ότι η γιαούρτη θα έχει τα ίδια θρεπτικά συστατικά με το γάλα από το οποίο προέρχεται, λαμβάνοντας υπόψη και τις επιπρόσθετες επεξεργασίες, προσθήκες/αφαιρέσεις συστατικών. Ωστόσο η θρεπτική αξία της γιαούρτη είναι μεγαλύτερη. Για παράδειγμα η ποσότητα πρωτεϊνών στο γάλα και στη γιαούρτη μπορεί να είναι περίπου η ίδια σε πολλές περιπτώσεις αλλά η ποιοτική

κατάσταση στην οποία βρίσκονται στη γιαούρτη διαφέρει και συμβάλλει στην καλύτερη αφομοίωση τους και τη βιολογική τους σημασία. Πιο συγκεκριμένα η απορρόφηση ασβεστίου στη γιαούρτη είναι αρκετά μεγαλύτερη από ότι στο γάλα. Ακόμη, συνήθως η περιεκτικότητα της γιαούρτης σε πρωτεΐνη είναι περίπου 20% μεγαλύτερη και το γαλακτικό οξύ το οποίο περιέχεται στη γιαούρτη αυξάνει σημαντικά την απορροφητικότητα των ιχνοστοιχείων από τον οργανισμό (Ζερφυρίδης, 2001).

Τα θρεπτικά συστατικά του γιαουρτιού είναι τα εξής : λιπαρά, υδατάνθρακες, πρωτεΐνη υψηλής βιολογικής αξίας, ασβέστιο, φώσφορος και βιταμίνες του συμπλέγματος Β, ενώ υπάρχουν και ικανοποιητικές ποσότητες μαγνησίου, καλίου και βιταμινών Α και D (ιδιαίτερα τα εμπλουτισμένα προϊόντα). Τα οφέλη της παραδοσιακής γιαούρτης συνοψίζονται εν συντομία :

- Η γιαούρτη βοηθά στην ανάπτυξη των παιδιών, λόγω της περιεκτικότητάς του σε ασβέστιο, φώσφορο και βιταμίνες του συμπλέγματος Β.
- Η οξίνιση και τα ένζυμα του γιαουρτιού διευκολύνουν την πέψη και βελτιώνουν την αφομοίωση των συστατικών.
- Τα πολυάριθμα ζωντανά και ενεργά βακτήρια ασκούν θετική επίδραση στη μικροχλωρίδα του εντέρου και στην παραγωγή εντερικών αντισωμάτων.
- Ως τροφή βοηθά στην καλύτερη αξιοποίηση του ασβεστίου, φωσφόρου και σιδήρου του γάλακτος.
- Άνθρωποι που εμφανίζουν δυσανεξία στη λακτόζη, το οποίο είναι φυσικό σάκχαρο του γάλακτος, δεν μπορούν να καταναλώσουν γάλα. Ωστόσο κατά τη μετατροπή του γάλακτος σε γιαούρτη, η λακτόζη μειώνεται κατά 20-30%. Οπότε, η γιαούρτη αποτελεί εύπεπτη τροφή ακόμα και για αυτήν την κατηγορία ανθρώπων.

#### **1.4.8 Κρέμα Γάλακτος - Βούτυρο**

**Κρέμα Γάλακτος.** Υπάρχει ένα μεγάλο φάσμα προϊόντων γάλακτος τα οποία έχουν ως βάση κάποιο συστατικό του γάλακτος. Επειδή το λίπος διαχωρίζεται από μόνο του από τα άλλα συστατικά του και έχει ικανότητα διατήρησης, αποτέλεσε ίσως το πρώτο συστατικό παραγωγής τέτοιων προϊόντων όπως η κρέμα και το βούτυρο. Η κρέμα είναι ένα ημίρευστο προϊόν που περιέχει λίπος σε ποσοστό 20-40% και καλείται ως κορυφή καθόσον το γάλα κατά την παραμονή του μέσα σε δοχείο επιτρέπει τον αυθόρμητο διαχωρισμό του λίπους το οποίο ανέρχεται στην επιφάνεια του γάλακτος, δηλαδή στο υψηλότερό του επίπεδο ή αλλιώς στην κορυφή, από όπου προήρθε η ονομασία του. Σύμφωνα με τον Κώδικα Τροφίμων και Ποτών (Κ.Τ.Π, 1998), η κρέμα γάλακτος χαρακτηρίζεται ως «αφρόγαλα» ή «ανθόγαλα» ή «καϊμάκι» (Άρθρο 81) και είναι η ύλη η οποία λαμβάνεται από νωπό γάλα με ειδικό κορυφολόγο, ή κατά την παραμονή του γάλακτος, χωρίς καμιά προσθήκη. Η εργασία παραλαβής της κρέμας από την επιφάνεια



του γάλακτος είναι η **αποκορύφωση** και πραγματοποιείται είτε με φυσικό τρόπο, είτε με την βοήθεια φυγοκεντρικών αντιδραστήρων, δηλαδή με μηχανική αποκορύφωση. Κατά τον Ελληνικό Κώδικα η κρέμα γάλακτος μπορεί να έχει λιποπεριεκτικότητες 10% ή 25% ή 40%, αν και επιτρέπονται και κρέμες με μεγαλύτερη ή μικρότερη λιποπεριεκτικότητα, με προϋπόθεση, ωστόσο, να αναγράφεται ευκρινώς πάνω στην συσκευασία η ακριβής περιεκτικότητα και η αραίωση, εφόσον χρειάζεται να γίνει με γάλα (Ζερφυρίδης, 2001).

**Βούτυρο.** Είναι το προϊόν που παράγεται από την αποβουτύρωση της κρέμας (κορυφής), το οποίο έχει απαλλαγεί κατά το μεγαλύτερο μέρος από τα άλλα συστατικά του γάλακτος και δεν περιέχει υγρασία σε ποσοστό μεγαλύτερο από 16% κατά βάρος. Ο Κώδικας Τροφίμων και Ποτών (Κ.Τ.Π., 1998) ορίζει ως "*Βούτυρο*" ή "*Βούτυρο Γάλακτος*" το προϊόν που λαμβάνεται με κτύπημα γάλακτος ή αφρογάλακτος ή μίγματος τους είτε όπως έχουν, είτε μετά από οξίνιση με βιολογικό όμως και μόνο τρόπο, περιεκτικότητας σε λίπος τουλάχιστον 80% (Άρθρο 81).

Τα στάδια παραγωγής του βουτύρου είναι αρκετά γι' αυτό καταγράφονται τα σημαντικότερα. Αρχικά πραγματοποιείται αποξίνιση της κρέμας (για οξύτητα κρέμας μεγαλύτερη των 10-12 °SH) και ακολουθεί παστερίωση της κρέμας. Στη συνέχεια η κρέμα ωριμάζει, φυσικά ή βιολογικά, και οδηγείται για αποβουτύρωση ή βουτυροποίηση. Τέλος λαμβάνει χώρα αλάτισμα του βουτύρου, δηλαδή προσθήκη NaCl σε αναλογία όχι μεγαλύτερη από 2%.

#### 1.4.9 Παγωτό

Σύμφωνα με το άρθρο 137 του ελληνικού Κώδικα Τροφίμων του 1988, «*παγωτό νοείται το προϊόν που παρασκευάζεται με ανάμιξη είτε νωπού πλήρους γάλακτος ή πλήρους γάλακτος που λαμβάνεται από αραίωση συμπυκνωμένου, ή μερικώς συμπυκνωμένου (εβαπορέ) γάλακτος, είτε χυμού φρούτων με φυσική γλυκαντική ύλη και άλλες ύλες (οι οποίες αναγράφονται ρητά στο άρθρο του κώδικα) μετά από πήξη με ψύξη της μάζας αυτής που έχει ομογενοποιηθεί.*»

Μία γενική περιγραφή για το παγωτό θα μπορούσε να αναφέρει ότι είναι τρόφιμο σε κατάσταση κατάψυξης αποτελούμενο από μίγμα λίπους γάλακτος, στερεό υπόλειμμα άνευ λίπους (ΣΥΑΛ) μαζί με σάκχαρα, σταθεροποιητές – γαλακτοματοποιητές (σε ποσοστό <1%) όπως εδώδιμη ζελατίνη, αλγινικά άλατα και άλλα, με ή χωρίς προσθήκη χρωστικών, ή ουσιών ενίσχυσης της γεύσης, νερό, πυκνωτικά μέσα, καθώς και με ή χωρίς άλλα πρόσθετα όπως φρούτα, ξηροί καρποί και άλλα. Τα πυκνωτικά μέσα χρησιμοποιούνται για αύξηση του ιξώδους και οι γαλακτωματοποιητές για την αποσταθεροποίηση των λιποσφαιριδίων, ευνοώντας την συσσωμάτωσή τους κατά την ψύξη (Γ. Ζερφυρίδης, 2001).

Συνοπτικά η διαδικασία παραγωγής του θα μπορούσε να συμπεριληφθεί στα εξής στάδια:

- 1) Το μίγμα των συστατικών υποβάλλεται σε βραχυχρόνια παστερίωση υψηλής θερμοκρασίας (80-85°C, 20-30 sec) για την καταστροφή των παθογόνων μικροοργανισμών.
- 2) Ομογενοποίηση υψηλής πίεσης (150-200 bar, 70-80°C).
- 3) Ψύξη περίπου στους 4-5°C. Στη θερμοκρασία αυτή το ομογενοποιημένο μίγμα παραμένει 4-24 ώρες για να ωριμάσει. Κατά την ωρίμανση στερεοποιείται το λίπος, αυξάνει το ιξώδες του μίγματος και ο σταθεροποιητής δεσμεύει νερό και διογκώνεται.
- 4) Εισαγωγή αέρα στο μίγμα 60% v/v.
- 5) Ψύξη στους -10°C και σκλήρυνση στους -40°C. Οι καταψύκτες που χρησιμοποιούνται συνήθως είναι κυλινδρικοί, εναλλάκτες θερμότητας αποξεόμενης επιφάνειας που ψύχονται συνήθως με αμμωνία. Στο πρώτο στάδιο, της ψύξης, το μίγμα ψύχεται ενώ ταυτόχρονα χτυπιέται και αναδεύεται ώστε να ενσωματωθεί ο αέρας στη μάζα του και να σχηματιστούν μικροί κρύσταλλοι νερού. Στο δεύτερο βήμα της κατάψυξης, το μερικά κατεψυγμένο μίγμα διοχετεύεται σε καλούπια ή συσκευάζεται κατάλληλα και μετά μεταφέρεται σε θαλάμους των -4°C για να παγώσει περισσότερο και να σκληρύνει.
- 6) Μετά την σκλήρυνση το παγωτό μεταφέρεται σε θαλάμους θερμοκρασίας -18°C έως -24°C όπου και διατηρείται έως την κατανάλωσή του.
- 7) Για τον αφρισμό του παγωτού πραγματοποιείται επιπλέον προσθήκη αέρα στο μίγμα μέσα στον κύλινδρο (Belitz et al., 2014; Βουδούρη & Κοντομηνά, 2009).

#### **1.4.10 Τυρί**

Η μεγάλη πληθώρα ποικιλιών τυριού μπορούν να ταξινομηθούν με πολλούς τρόπους όπως για παράδειγμα ανάλογα με το ζώο από το οποίο προέρχεται το γάλα που οδηγείται προς τυροκόμηση, τον τρόπο σχηματισμού της πηκτής (χρήση οξέων, εκχυλίσματος πυτιάς ή συνδυασμός), την υφή ή τη συνεκτικότητα και την περιεκτικότητα σε νερό (%). Για τα προϊόντα αυτά είναι σκόπιμο να γίνει, με βάση και τον Κώδικα Τροφίμων και Ποτών, διάκρισή τους ως προς την απαίτηση για ωρίμανση ή μη.

Σύμφωνα με τον *Κώδικα Τροφίμων και Ποτών* (άρθρο 83, 2008), τυριά που παρασκευάζονται από γάλα και για τα οποία απαιτείται ωρίμανση, *ορίζονται ως τα προϊόντα ωρίμανσης του πήγματος (στάλπης) που είναι απαλλαγμένο από το τυρόγαλα στον επιθυμητό βαθμό και τα οποία παρασκευάστηκαν, με την επενέργεια πυτιάς ή άλλων ενζύμων που δρουν ανάλογα σε γάλα (νωπό ή παστεριωμένο, αγελάδος, προβάτου, κατσίκας, βουβάλου και μίγματα αυτών) ή σε μερικώς αποβουτυρωμένο γάλα ή σε μίγματα αυτών ή/και σε μίγματα αυτών με κρέμα γάλακτος*. Τα τυριά ανάλογα με το ποσοστό υγρασίας τους ταξινομούνται ως εξής :

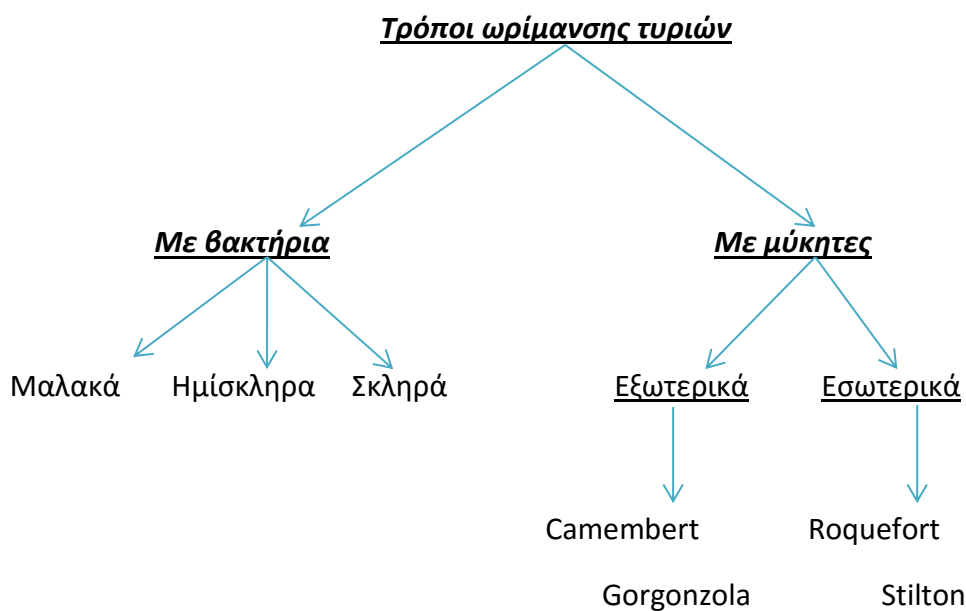
- i. Πολύ σκληρά, με υγρασία μικρότερη του 35% (Παρμεζάνα, μυζήθρα ξηρή)
- ii. Σκληρά, με υγρασία από 30% έως 40% (Γραβιέρα, Cheddar)

- iii. Ημίσκληρα, με εύρος υγρασία 40 – 47% (Κασέρι, Roquefort, Brick)
- iv. Μαλακά, με περιεκτικότητα σε υγρασία μεγαλύτερη του 47% (Φέτα, Τελεμές, Μυζήθρα νωπή, Cottage, Ricotta)

Όσον αφορά τα τυριά χωρίς ωρίμανση ο Κώδικας αναφέρει : *Τυριά χωρίς ωρίμανση με αλοιφώδη υφή χαρακτηρίζονται τα φρέσκα (νωπά) τυριά που παρασκευάζονται με την επενέργεια αβλαβών οξυγαλακτικών καλλιεργείων βακτηρίων σε παστεριωμένο γάλα ή παστεριωμένο γάλα και παστεριωμένη κρέμα γάλακτος, και των οποίων η υγρασία δεν υπερβαίνει το 75% (Κ.Τ.Π. άρθρο 83, 2008).* Τέτοια τυριά είναι το Cottage και το Creamcheese.

Ο γενικός ορισμός του Codex Alimentarius (FAO/WHO, 2011) περιλαμβάνει και τις δύο παραπάνω διακρίσεις και αναφέρει : *τυρί είναι το ώριμο ή χωρίς ωρίμανση μαλακό, ημίσκληρο, σκληρό ή πολύ σκληρό προϊόν, το οποίο μπορεί να επικαλύπτεται, και στο οποίο η αναλογία πρωτεϊνών ορού/καζεϊνών δεν υπερβαίνει αυτή του γάλακτος και προέρχεται από τη στράγγιση, ύστερα από πήξη του πλήρους, μερικώς αποβουτυρωμένου ή άπαχου γάλακτος ή βουτυρογάλακτος ή μίγματος ορισμένων ή όλων αυτών των προϊόντων.*

Τα τυριά, τα οποία υπόκεινται σε ωρίμανση καθώς και ο τρόπος ωρίμανσής τους μπορούν να παρασταθούν σχηματικά (Σχήμα 1.1).



[Πηγή: Ζερφυρίδης, 2001]

**Σχήμα 1.1 Κατάταξη τυριών με βάση τον τρόπο ωριμάνσεώς τους**

## 1.5 : ΤΥΡΙ

### 1.5.1 Εισαγωγή στην Τυροκομία

Μια από τις σημαντικότερες τροφές για τον άνθρωπο, είναι το γάλα. Δυστυχώς, όμως, δεν μπορεί να διατηρηθεί για μεγάλο χρονικό διάστημα επειδή αλλοιώνεται σχετικά γρήγορα και καθίσταται ακατάλληλο για κατανάλωση. Έτσι από την αρχαιότητα κίολας, προέκυψε η ανάγκη για μετατροπή του σε προϊόντα τα οποία μπορούν να διατηρηθούν χωρίς να προκληθεί μεταβολή στη βιολογική τους αξία. Η ανακάλυψη του τυριού φημολογείται πως ήταν τυχαία, και σύμφωνα μάλιστα με τον αρχαίο μύθο, ανακαλύφθηκε από έναν έμπορο ο οποίος έβαλε το γάλα του σε ένα ασκί από στομάχι προβάτου και ξεκίνησε για ταξίδι μέσα στην έρημο. Η πυτιά μέσα στα τοιχώματα του ασκίου και η ζέστη προκάλεσαν την πήξη του γάλακτος και το διαχωρισμό του σε πήγμα και ορό. Κατά την πορεία του διαπίστωσε ότι ο ορός και το πήγμα (τυρί) μετρίασαν την πείνα του, και μάλιστα το τυρί είχε και ευχάριστη γεύση. Έτσι, γεννήθηκε ένα από τα σπουδαιότερα τρόφιμα του ανθρώπου, το τυρί.

### 1.5.2 Παρασκευή Τυριού

Η παρασκευή του τυριού διαφέρει ανάλογα με την ποικιλία (γάλακτος, τυρογάλακτος), ωστόσο μπορεί να συνοψιστεί σε επτά βασικά στάδια, τα οποία παρουσιάζονται παρακάτω.

1. Αρχικά λαμβάνει χώρα η **προκατεργασία** του γάλακτος. Το βήμα αυτό συνίσταται στην τυποποίηση (είναι διεργασία που αποβλέπει στη λήψη της επιθυμητής σύστασης του γάλακτος) και στην παστερίωση για την απαλλαγή από παθογόνους μικροοργανισμούς.
2. **Πήξη** του γάλακτος. Η πήξη επιτυγχάνεται με την οξίνιση του γάλακτος ή την προσθήκη πυτιάς, βιομηχανοποιημένη είτε έκκριμα του στομαχιού νεαρών μοσχαριών ή κατσικιών και περιέχει το ένζυμο ρεννίνη το οποίο προκαλεί την πήξη. Στην πρώτη περίπτωση η οξίνιση προκαλείται από οξυπαραγωγικούς μικροοργανισμούς της καθαρής καλλιέργειας που προστίθεται στο γάλα. Οι μικροοργανισμοί αυτοί, λοιπόν, μειώνουν το pH του γάλακτος έως το ισοηλεκτρικό σημείο των καζεϊνών (pI=4.6) με αποτέλεσμα την πήξη του. Στη δεύτερη περίπτωση (χρήση πυτιάς) η ρεννίνη της πυτιάς προσβάλλει αρχικά την καζεΐνη με αποτέλεσμα τον σχηματισμό παρα-κ-καζεΐνης και στη συνέχεια παρουσία ιόντων ασβεστίου ακολουθεί η πήξη του γάλακτος. Στην πρώτη περίπτωση η πήξη του γάλακτος πραγματοποιείται μετά από περίπου 1-2 ώρες από την εισαγωγή της καθαρής καλλιέργειας (ο χρόνος εξαρτάται από τη δραστηριότητα των μικροοργανισμών που χρησιμοποιούνται), ενώ στην δεύτερη, ανάλογα με τον τύπο του τυριού που παράγεται, κυμαίνεται από 20-60 λεπτά. Κατά την πήξη, στο τυρόπηγμα μεταφέρονται η καζεΐνη, το μεγαλύτερο μέρος του λίπους του γάλακτος και μικρή ποσότητα από τη λακτόζη και τα άλατα του γάλακτος. Στο τυρόγαλα, αντιθέτως, συγκεντρώνονται όλη σχεδόν η ποσότητα της

αλβουμίνης και της γλοβουλίνης, το μεγαλύτερο μέρος της λακτόζης, τα άλατα και μικρή ποσότητα από το λίπος.

- 3. Τεμαχισμός** του τυροπήγματος. Η αποβολή του ορρού γάλακτος αυξάνεται με την αύξηση της επιφάνειας του τυροπήγματος, για τον λόγο αυτό, το τελευταίο τεμαχίζεται με ειδικούς τυροκόπτες, εξασφαλίζοντας έτσι με την αποβολή της υγρασίας, την απαραίτητη ωρίμανση του τυριού.
- 4. Αναθέρμανση** του τυροπήγματος. Το βήμα αυτό λαμβάνει χώρα μόνο στην παρασκευή σκληρών ή ημίσκληρων τυριών. Το τυρόπηγμα θερμαίνεται σε θερμοκρασία 40-50°C υπό συνεχή ανάδευση για να αποβληθεί από το τυρόπηγμα όσο το δυνατό μεγαλύτερη ποσότητα από το τυρόγαλα.
- 5. Τοποθέτηση σε καλούπια και πίεση του τυροπήγματος.** Κατά το στάδιο αυτό, αποβάλλεται επιπλέον ποσότητα τυρογάλακτος και το τυρόπηγμα παίρνει το σχήμα του καλουπιού.
- 6. Αλάτισμα τυριού.** Η προσθήκη αλατιού παίζει ρυθμιστικό ρόλο, καθώς με το αλάτισμα ελέγχονται, κατά κάποιο τρόπο, οι ζυμώσεις που γίνονται και βελτιώνονται τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του τυριού. Το αλάτισμα πραγματοποιείται είτε με απευθείας προσθήκη κόκκων αλατιού στη μάζα του τυροπήγματος, είτε με εμβάπτισή του σε άλμη (διάλυμα αλατιού περιεκτικότητας 12-20%).
- 7. Ωρίμανση του τυριού.** Το στάδιο αυτό είναι το τελευταίο της διαδικασίας παραγωγής του τυριού και για πολλούς είναι το σπουδαιότερο, καθώς κατά την περίοδο αυτή προσδίδονται τα μοναδικά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά στο τελικό προϊόν, διαμορφώνονται δηλαδή η οσμή, η γεύση, η υφή και μερικές φορές και το χρώμα του τυριού. Η λακτόζη διασπάται σε γλυκόζη και γαλακτόζη, οι οποίες μέσω ζύμωσης παράγουν γαλακτικό οξύ. Οι πρωτεΐνες διασπώνται σε αμινοξέα και άλλες αζωτούχες ενώσεις και το λίπος υδρολύεται κατά ένα ποσοστό σε λιπαρά οξέα. Με όλες, επομένως, τις παραπάνω μεταβολές το άγευστο τυρόπηγμα μετατρέπεται σε εύγευστο και εύπεπτο τυρί (Βουδούρη & Κοντομηνά, 2009). Το στάδιο αυτό, σε ορισμένες ποικιλίες τυριών παραλείπεται καθώς είναι έτοιμα προς κατανάλωση αμέσως μετά την παραγωγή τους.

#### **1.5.2.1 Πρώτες ύλες για την παρασκευή τυριού**

Η παρασκευή του τυριού απαιτεί, κατ' αρχάς τη βασική πρώτη ύλη, δηλαδή το γάλα και στη συνέχεια την πυτιά, την καλλιέργεια και το αλάτι. Τα υπόλοιπα συστατικά που πιθανόν να εισαχθούν ανάλογα με το είδος του τυριού, όπως για παράδειγμα οι χρωστικές, το χλωριούχο ασβέστιο και διάφορα άλλα πρόσθετα χαρακτηρίζονται ως δευτερεύοντα συστατικά και η χρήση τους δεν είναι απαραίτητη.

#### **1.5.2.1.1 Γάλα προς τυροκόμηση**

Το γάλα ως βασικότερη και σημαντικότερη πρώτη ύλη του τυριού επηρεάζει τόσο τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του, όσο και τη γενικότερη ποιότητα του καθώς και την απόδοσή του. Η ποιότητα του γάλακτος είναι ο πρωταρχικός παράγοντας από τον οποίο εξαρτάται η ποιότητα του τυριού οποιουδήποτε είδους. Με τον όρο ποιότητα του γάλακτος πριν την τυροκόμηση νοείται κάθε τι που έχει να κάνει με τη μικροβιολογική του και τη χημική του κατάσταση.

Όπως και κάθε άλλο τρόφιμο, έτσι και το γάλα, είτε προορίζεται για άμεση κατανάλωση είτε για την παρασκευή τυριού, δεν πρέπει να είναι επικίνδυνο ούτε ακατάλληλο. Πολλοί είναι οι παράγοντες εκείνοι που επηρεάζουν τα συστατικά του γάλακτος και ιδιαίτερα εκείνα που μεταφέρονται στο τυρί, όπως το λίπος και οι καζεΐνες και οι οποίες καθορίζουν την ποιότητα του τυριού. Στους παράγοντες αυτούς μπορούν να συμπεριληφθούν το είδος και η φυλή του ζώου, η διατροφή τους, καθώς και η γαλακτική περίοδος. Οι παραπάνω τρεις προφανείς παράγοντες, εκ πρώτης όψεως, έχουν άμεση σχέση τόσο με την απόδοση όσο και με την ποιότητα του τυριού. Λόγου χάρη, η σύνθεση των λιπαρών οξέων, η περιεκτικότητα τη καζεΐνης σε αμινοξέα καθώς και η δομή της ποικίλει ανάλογα με τη φυλή του ζώου, όπως στο πρόβειο γάλα όπου η αναλογία σε λιπαρά οξέα είναι υψηλότερη και των οποίων ο αριθμός των ατόμων άνθρακα είναι από έξι έως δέκα. Τα συγκεκριμένα λιπαρά οξέα, προσδίδουν δριμύτερη γεύση απ' ότι τα οξέα με αριθμό ανθράκων μικρότερο των τεσσάρων ή με δώδεκα έως δεκαοχτώ άτομα άνθρακα. Οι διαφορές αυτές έχουν ως αποτέλεσμα τη δημιουργία τυριού διαφορετικής γεύσεως και υφής ακόμη και αν ακολουθηθεί ακριβώς η ίδια τεχνολογική διαδικασία με χρήση γάλακτος από διαφορετικό ζώο. Ένα από τα πιο χαρακτηριστικά παραδείγματα είναι η Φέτα, η οποία μπορεί να παρασκευαστεί είτε από πρόβειο είτε από πρόβειο και γίδινο, σε συγκεκριμένες πάντα αναλογίες, παρουσιάζοντας σε κάθε περίπτωση διαφορετική γεύση και υφή. Ακόμη από τις ζωοτροφές μπορούν να μεταφερθούν στο γάλα και στη συνέχεια στο τυρί, ουσίες που θα προσδώσουν στο τυρί διαφορετικές οσμές πολλές φορές ακόμη και ανεπιθύμητες.

Ωστόσο, εκτός από τους παραπάνω προφανείς παράγοντες, πολλές είναι και εκείνες οι περιπτώσεις γάλακτος που η χρήση του για την παρασκευή τυριού πρέπει να αποφεύγεται. Πιο συγκεκριμένα, το γάλα που λαμβάνεται κατά τις πρώτες μέρες (4-5 μέρες) μετά τον τοκετό (πρωτόγαλα) δεν είναι φυσιολογικής σύνθεσης, καθώς η περιεκτικότητά του σε καζεΐνη και ασβέστιο είναι χαμηλότερη, ενώ σε γαλακταλβουμίνη και χλωριούχα άλατα υψηλότερη. Το γάλα αυτό, λοιπόν, κατά τη θερμική του επεξεργασία πήζει και γενικότερα εμφανίζει προβλήματα όταν χρησιμοποιείται για τυρί, όπως στη συνεκτικότητα του πήγματος. Μια δεύτερη περίπτωση είναι το γάλα προερχόμενο από ζώα που έχουν προσβληθεί από μαστίτιδα. Η σύστασή του είναι διαφορετική από το φυσιολογικό και έγκειται κυρίως στην υψηλότερη περιεκτικότητά του σε πρωτεΐνες ορού και ιόντα χλωρίου και τη χαμηλότερη περιεκτικότητά σε καζεΐνη και ασβέστιο. Τα προβλήματα που παρουσιάζονται και εδώ είναι παρόμοια με εκείνα

κατά τη χρήση πρωτογάλακτος (Κεχαγιάς, 1997). Τέλος, θα πρέπει να αποφεύγεται η χρήση γάλακτος που περιέχει αντιβιοτικά. Η χρήση των αντιβιοτικών οφείλεται στην καταπολέμηση ασθενειών όπως της μαστίτιδας που αναφέρθηκε παραπάνω. Τα αντιβιοτικά παρεμποδίζουν την ανάπτυξη των επιθυμητών μικροοργανισμών των οξυγαλακτικών καλλιιεργειών, ενώ δεν εμποδίζουν τα αρνητικά κατά Gram εντεροβακτηριοειδή που προκαλούν προβλήματα στα τυριά. Έτσι, η παρεμπόδιση δημιουργίας της επιθυμητής οξύτητας μπορεί να καταστήσει το τυρί ακατάλληλο για τον άνθρωπο. Για τον λόγο αυτό, πραγματοποιούνται πάντοτε έλεγχοι πριν τη χρήση του γάλακτος.

#### 1.5.2.1.1.1 Μικροβιολογική κατάσταση του γάλακτος τυροκόμησης

Ανεξαρτήτως της ποιότητας των συνθηκών που επικρατούν κατά την παραγωγή του γάλακτος πάντοτε περιέχεται σε αυτό ένας αρκετά μεγάλος αριθμός μικροοργανισμών. Ωστόσο, υψίστης σημασίας είναι η κατηγορία των μικροοργανισμών αυτών και όχι ο αριθμός τους. Για το λόγο αυτό αμέσως μετά το άρμεγμα το γάλα πρέπει να ψυχθεί. Σύμφωνα με τη νομοθεσία, δηλαδή το Π.Δ.56/95, το οποίο αποτελεί συμμόρφωση της Ελληνικής νομοθεσίας προς τις οδηγίες 95/46/ΕΟΚ και 92/47/ΕΟΚ του συμβουλίου περί των υγειονομικών κανόνων που διέπουν την παραγωγή γάλακτος και προϊόντων με βάση το γάλα, η μικροχλωρίδα του γάλακτος πρέπει να τηρεί τα όρια του παρακάτω πίνακα (Πίνακας 1.6).

**Πίνακας 1.6 Προδιαγραφές νωπού γάλακτος για παραγωγή προϊόντων**

Είδος γάλακτος	ΟΜΧ*	Σωματικά κύτταρα	<i>Staphylococcus aureus</i>
<b>Προϊόντα με θερμική επεξεργασία</b>			
<b>Αγελαδινό</b>	<100.000	<400.000	-
<b>Αιγοπρόβειο</b>	<1.000.000	-	-
<b>Προϊόντα νωπού γάλακτος</b>			
<b>Αγελαδινό</b>	<100.000	<400.000	m=500, M=2000, n=5, c=2 <sup>1</sup>
<b>Αιγοπρόβειο</b>	<500.000	-	Όπως το αγελαδινό

\*ΟΜΧ = ολική μικροβιακή χλωρίδα

[Πηγή: Ζερφυρίδης, 2001]

Οι παράμετροι m, M, n, c :

m : Τιμή κατωφλίου του αριθμού των βακτηρίων. Το αποτέλεσμα θεωρείται ικανοποιητικό εάν σε καμία μονάδα δειγματοληψίας ο αριθμός των βακτηρίων δεν υπερβαίνει το m.

M = Οριακή τιμή των βακτηρίων. Το αποτέλεσμα θεωρείται μη ικανοποιητικό εάν σε μία ή σε περισσότερες μονάδες δειγματοληψίας ο αριθμός βακτηρίων είναι τουλάχιστον ίσος προς το M.

$n$  = Αριθμός μονάδων δειγματοληψίας που αποτελούν το δείγμα.

$c$  = Αριθμός μονάδων δειγματοληψίας των οποίων ο αριθμός των βακτηρίων μπορεί να κυμαίνεται από  $m$  έως  $M$ . Το δείγμα θεωρείται ακόμα αποδεκτό εάν στις άλλες μονάδες δειγματοληψίας, ο αριθμός των βακτηρίων δεν υπερβαίνει το  $m$ .

Διαπιστώνεται, επομένως, ότι στο αγελαδινό γάλα προς τυροκόμηση θεωρείται ικανοποιητικό όταν η ολική μικροχλωρίδα του δεν υπερβαίνει τα 100.000 βακτήρια ανά mL. Ωστόσο στην πράξη, ακόμα και μεγαλύτεροι αριθμοί δεν προκαλούν προβλήματα όταν το γάλα ψύχεται, μεταφέρεται στη βιομηχανία και επεξεργάζεται. Τα όρια για το αιγοπρόβειο γάλα, από την άλλη μεριά, είναι αρκετά υψηλότερα. Στην περίπτωση αυτή επιτρέπονται αριθμοί μέχρι και 1.500.000 ανά mL, επειδή το γάλα αυτό παράγεται υπό δυσμενείς συνθήκες. Ωστόσο, σε όλα τα είδη γάλακτος, η τάση είναι ο αριθμός της ολικής μικροχλωρίδας να μειώνεται.

Η ψύξη του γάλακτος στους 15°C απλά περιορίζει τον ρυθμό ανάπτυξης των μικροοργανισμών. Η ψύξη σε 4-5°C αναστέλλει την ανάπτυξη τους και επιτρέπει την ανάπτυξη μόνο των ψυχρότροφων που ανήκουν κυρίως στα γένη *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Algaligenes* και *Flanobacterium*, αλλά με βραδύ ρυθμό. Επειδή αυτά είναι πρωτεολυτικά και λιπολυτικά, η διατήρηση του γάλακτος πέραν των τριών ημερών σε 5°C μπορεί να οδηγήσει σε ανεπιθύμητες οσμές στο γάλα, καθώς και στη δημιουργία ενζύμων που είναι ανθεκτικά στην παστερίωση και μπορούν αργότερα να προκαλέσουν προβλήματα στα παραγόμενα τυριά. Υπάρχουν ενδείξεις ότι η αποθήκευση του γάλακτος υπό ψύξη πριν από την παρασκευή τυριών αυξάνει τις απώλειες αζώτου στο γάλα, με αποτέλεσμα τη μείωση της απόδοσης σε τυρί, και τη συναίρεση του πήγματος. Ωστόσο την άποψη αυτή δεν ενστερνίζονται όλοι οι επιστήμονες (Κεχαγιάς, 1997). Έτσι το γάλα πρέπει να παστεριώνεται εγκαίρως ώστε να επιζήσουν μόνο οι θερμοφιλοί και οι σπορογόνοι. Από του τελευταίους τη μεγαλύτερη τεχνολογική σημασία έχουν τα αναερόβια κλωστρίδια που προκαλούν βουτυρική ζύμωση και το όψιμο 'ψίλιασμα' στο τυρί, κυρίως ελβετικού τύπου όπως το Emmental και η Γραβιέρα, που χάνουν ποιοτικά τη γεύση όσο και την εμφάνιση.

Οι επιμολύνσεις του γάλακτος μετά την παστερίωση παίζουν επίσης σημαντικό ρόλο στην τυροκομία και κυρίως όταν η μικροχλωρίδα επιμολύνσεων είναι τα κολοβακτηριοειδή και οι ζύμες. Από αυτά προκαλείται το πρώιμο φούσκωμα και η δημιουργία ανεπιθύμητων οπών στο τυρί καθώς επίσης ανεπιθύμητες γεύσεις που μειώνουν την εμπορική του αξία και μπορούν να καταστήσουν το τυρί ακόμη και επικίνδυνο για τη δημόσια υγεία (Ζερφυρίδης, 2001). Για το λόγο αυτό έχουν θεσπιστεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση συγκεκριμένες προδιαγραφές από μικροβιολογικής σκοπιάς, με τις οποίες θα πρέπει να συμμορφώνεται τόσο το γάλα κατά την συλλογή και εκμετάλλευση, όπως καταγράφηκε στον Πίνακα 1.6, όσο και τα προϊόντα με βάση το γάλα (Πίνακας 1.7).



Πίνακας 1.7 Μικροβιολογικές προδιαγραφές στα τυριά

Είδος μικροβίου	Είδος τυριού	Προδιαγραφές			
		m	M	n	c
Κολοβακτηριοειδή	Μαλακά από παστεριωμένο γάλα	10.000/g	100.000/g	5	2
<i>Esherichia coli</i>	Από απαστερίωτο ή θερμισμένο γάλα	10.000/g	100.000/g	5	2
	Μαλακά από παστεριωμένο γάλα	100/g	1.000/g	5	2
<i>S. aureus</i>	Νωπά ή από θερμισμένο γάλα	1.000/g	10.000/g	5	2
	Νωπά από παστεριωμένο γάλα	100/g	1.000/g	5	2
	Νωπά τυριά	10/g	100/g	5	2
<i>Salmonella spp.</i>	Όλα τα είδη		Απουσία σε 1g		
<i>Listeria Monocytogenes</i>	Σκληρά τυριά		Απουσία σε 1g		
	Όλα τα άλλα είδη		Απουσία σε 25g		

[Πηγή: Οδηγία 92/46 ΕΟΚ του Συμβουλίου; Ανυφαντάκης, 2004]

Οι συμβολισμοί m, M, n, c αναφέρονται στους ίδιους ορισμούς με αυτούς που δόθηκαν στον Πίνακα 1.6.

#### 1.5.2.1.1.2 Αντιμικροβιακές ουσίες στο γάλα τυροκόμησης

Επειδή το τυρί είναι ζυμούμενο προϊόν και το φαινόμενο της ωρίμανσής του είναι βιοχημικό θα πρέπει κατ' αρχήν το γάλα από το οποίο προέρχεται να είναι απαλλαγμένο

από υπολείμματα ουσιών που σταματούν τη μικροβιακή δραστηριότητα σ' αυτό και κατόπιν στο τυρόπηγμα και στο τυρί. Τέτοιες ουσίες είναι και τα αντιβιοτικά που χορηγούνται στα ζώα για την καταπολέμηση ασθενειών. Είναι σχεδόν διεθνώς παράνομο να παραδίνεται γάλα στο εργοστάσιο μέχρι 4-5 μέρες μετά την τελευταία δόση αντιβιοτικού στο ζώο ή τουλάχιστον δύο μέρες, πράγμα που εξαρτάται από την ποσότητα δόσεως και το είδος του παρασκευάσματος. Τα αντιβιοτικά στο τυροκομούμενο γάλα σκοτώνουν ή δεν αφήνουν τις καλλιέργειες και τα επιθυμητά βακτήρια να δράσουν οπότε αναπτύσσονται οι ανεπιθύμητοι μικροοργανισμοί που τελικά αλλοιώνουν το τυρί (Ζερφυρίδης, 2001).

#### **1.5.2.1.1.3 Γάλα προς τυροκόμηση για την παραγωγή Φέτας**

Σύμφωνα με τον Ελληνικό Κώδικα Τροφίμων και Ποτών, άρθρο 83, το γάλα που επρόκειτο να οδηγηθεί για την παραγωγή του τυριού Φέτα, θα πρέπει να πληροί της εξής βασικές προϋποθέσεις :

1. Το χρησιμοποιούμενο γίδινο γάλα δεν μπορεί να υπερβαίνει το 30% κατά βάρος.
  - Η λιποπεριεκτικότητα του γάλακτος πρέπει να είναι τουλάχιστον 6% κατά βάρος
  - Το pH του γάλακτος να είναι τουλάχιστον 6,5.
  - Η πήξη του πρέπει να γίνεται εντός 48 ωρών από την άλμεξη. Το γάλα μέχρι την πήξη διατηρείται σε ελεγχόμενες συνθήκες θερμοκρασίας.
  - Το γάλα πρέπει να προέρχεται από φυλές προβάτων και αιγών παραδοσιακά εκτρεφόμενες και προσαρμοσμένες στην περιοχή παρασκευής της Φέτας και η διατροφή τους πρέπει να βασίζεται στη χλωρίδα της εν λόγω περιοχής.
  - Το γάλα πρέπει να προέρχεται από αλμέξεις, που πραγματοποιούνται 10 μέρες τουλάχιστον μετά τον τοκετό.
  - Πρέπει να είναι καθαρό, αγνό, υγιεινό, πλήρες.
  - Το γάλα πρέπει να είναι νωπό ή παστεριωμένο.
2. Απαγορεύεται η παραγωγή Φέτας από άλλο είδος γάλακτος πλην των ανωτέρω καθορισμένων. Στο προς τυροκόμηση, για φέτα, γάλα απαγορεύεται η συμπύκνωση ή προσθήκη σκόνης ή συμπυκνώματος γάλακτος, πρωτεϊνών γάλακτος, καζεϊνικών αλάτων καθώς και η προσθήκη χρωστικών και συντηρητικών ουσιών.
3. Στο προς τυροκόμηση γάλα προστίθενται παραδοσιακή πυτιά ή άλλα ένζυμα με ανάλογη δράση. Όταν το γάλα παστεριώνεται προστίθενται αβλαβείς οξυγαλακτικές καλλιέργειες βακτηρίων, καθώς και χλωριούχο ασβέστιο, μέχρι 20 g/100 kg γάλακτος.

#### **1.5.2.1.2 Πυτιά-Υποκατάστατα πυτιάς**

Η χαρακτηριστική φάση στην τεχνολογία παραγωγής όλων των τυριών είναι η πήξη της πρωτεΐνης και η παγίδευση του λίπους μέσα στο πήγμα. Η πήξη, λοιπόν, του γάλακτος μπορεί να προκληθεί από διάφορες ουσίες και ποικίλες επιδράσεις. Στις ουσίες αυτές συμπεριλαμβάνονται αλκοόλες, οξέα, άλατα και στις επιδράσεις θέρμανση, κατάψυξη,

ακτινοβολία και ένζυμα. Ωστόσο στην κλασική τυροκομία, χρησιμοποιούνται για την πήξη του γάλακτος κατά κύριο λόγο, τόσο επιλεγμένα ένζυμα, δηλαδή πηκτικά παρασκευάσματα από όξινες πρωτεΐνες, όσο και η οξίνιση στο ισοηλεκτρικό σημείο των καζεϊνών (pH 4,6) ή οξίνιση σε pH 5,2 σε συνδυασμό με θέρμανση. Σε συγκεκριμένες ποικιλίες ιταλικών τυριών, ωστόσο, χρησιμοποιούνται συμβατικά λιπάσες.

Το πιο κοινό ένζυμο που χρησιμοποιείται στη σύγχρονη τυροκομία είναι ζωικής προέλευσης και ονομάζεται χυμοσίνη ή ρενίνη στην καθαρή του μορφή και παραλαμβάνεται από το τέταρτο τμήμα του στομαχιού των μικρών σε ηλικία μηρυκαστικών, το ήνυστρο, σαν εκχύλισμα. Περιέχει επίσης πεψίνη, τρυψίνη και πεπτιδάσες. Τέλος, η πυτιά είναι μια ετερογενής ουσία από την οποία παρασκευάζεται κρυσταλλική χυμοσίνη με εξαπλάσια δραστηριότητα.

Ο πρώτος που παρασκεύασε τυποποιημένη και σταθερή πυτιά ήταν ο Christian Ditlev Ammentorp Hansen στη Δανία το 1874 και στη συνέχεια διαδόθηκε ραγδαία και στις υπόλοιπες ευρωπαϊκές χώρες. Για την παραγωγή πυτιάς χρησιμοποιούνται ήνυστρα μοσχारीών που θηλάζουν και κυρίως δεκαπέντε-είκοσι ημερών, διότι σε ηλικία μεγαλύτερη των δεκαπέντε ημερών και κυρίως μετά τον απογαλακτισμό του νεογνού αρχίζει να εμφανίζεται η πεψίνη, η οποία σε αντίθεση με τη χυμοσίνη μπορεί να μεταβολίσει τις ανοσογλοβουλίνες του πρωτογάλακτος και μειώνεται σταδιακά η χυμοσίνη έως ότου εξαφανισθεί (Ανυφαντάκης, 2004).

#### **1.5.2.1.2.1 Ένζυμα πυτιάς**

1. Η **χυμοσίνη** είναι ενδοπεπτιδάση με ισοηλεκτρικό σημείο 4,6-4,7 και είναι διαλυτή σε υδατικό περιβάλλον. Στο ήνυστρο (τέταρτο στομάχι) των νεαρών μηρυκαστικών συντίθεται μία πρόδρομη ένωση που ονομάζεται προρενίνη ή προχυμοσίνη. Σε όξινο περιβάλλον διαχωρίζεται ένα πεπτίδιο μοριακού βάρους 5300 g/mol, απελευθερώνοντας τη χυμοσίνη. Αυτή η διάσπαση είναι ως ένα βαθμό αυτοκαταλυόμενη. Όσο το νεογνό μεγαλώνει το ήνυστρο παράγει, όπως προαναφέρθηκε, όλο και περισσότερη πεψίνη, σε αντίθεση με τη χυμοσίνη που η παραγωγή της μειώνεται έως ότου σταματήσει. Η πεψίνη που προέρχεται από μοσχάρια είναι αρκετά ίδια από δραστικής απόψεως με τη ρενίνη και μπορεί να μεταβολίσει τις ανοσογλοβουλίνες. Οι πυτιές του εμπορίου, περιέχουν πάντοτε εκτός από ρενίνη και ορισμένη ποσότητα πεψίνης. Ακόμη, η ρενίνη υδρολύει τα μόρια των πρωτεϊνών του γάλακτος σε πεπτίδια διαφορετικού μεγέθους τα οποία προσδίδουν τα διάφορα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά στο εκάστοτε τυρί (ιδιαίτερη γεύση και άρωμα). Η ενεργότητα της χυμοσίνης μειώνεται με την αύξηση του pH, με την καλύτερη τιμή pH για την πλήρη πρωτεόλυση να είναι το 3,8. Όμως στο τυρί το βέλτιστο pH δράσης της χυμοσίνης είναι μεγαλύτερο από ότι θα ήταν όταν το ένζυμο βρισκόταν σε υδατικό περιβάλλον. Επίσης, σημαντικό ρόλο στην ενεργότητα του ενζύμου παίζει η θερμοκρασία, αφού σε θερμοκρασία πάνω από τους 40°C η χυμοσίνη αδρανοποιείται. Ακόμη, τα άλατα προστατεύουν

τη χυμοσίνη από το να αδρανοποιηθεί, γι' αυτό και οι πυτιές του εμπορίου περιλαμβάνουν μεγάλη αναλογία αλάτων. Εκτός από την κ-καζεΐνη που παίζει σημαντικό ρόλο στη δημιουργία του πήγματος, η καθεμία από τις υπόλοιπες καζεΐνες διασπώνται σε διαφορετικούς χρόνους, σύμφωνα με την παρακάτω σειρά:  $\alpha s1 \rightarrow \beta \rightarrow \alpha s2$ -. Το αλάτι παρεμποδίζει την πρωτεολυτική δράση του ενζύμου, ιδίως πάνω στη β-καζεΐνη (Walstra & Jenness, 1984).

Τέλος, η δημιουργία του πρώτου πήγματος του τυριού είναι μια διαδικασία αφυδάτωσης κατά την οποία το λίπος και η καζεΐνη συμπυκνώνονται από 6 ως 12 φορές, ανάλογα με το είδος του τυριού. Η δημιουργία αυτού του πρώτου πήγματος συμβαίνει μετά την διάσπαση της κ-καζεΐνης από τα πρωτεολυτικά ένζυμα της πυτιάς, κυρίως τη χυμοσίνη ή την πεψίνη ή άλλες μικροβιακής φύσεως πρωτεϊνάσες.

Η βιομηχανική παραγωγή της πυτιάς πραγματοποιείται κυρίως με την παραγωγή της χυμοσίνης από γενετικά τροποποιημένους μικροοργανισμούς. Το γονίδιο που φυσιολογικά παράγει τη χυμοσίνη (ή προχυμοσίνη) στα μοσχάρια έχει κοινοποιηθεί σε επιλεγμένους μικροοργανισμούς, όπως παραδείγματος χάρη *Kluyveromyces lactis*, *Escherichia coli* και *Aspergillus niger* (Fox & Stepaniak, 1993).

2. Η **πεψίνη** που χρησιμοποιείται είναι κυρίως από μοσχάρι και χρησιμοποιείται ως επί το πλείστον ως μίγμα με χυμοσίνη στις πυτιές που χρησιμοποιούνται παγκοσμίως. Υπάρχει στα επιθηλιακά κύτταρα τόσο των μη απογαλακτισμένων μοσχαριών όσο και των ενήλικων βοοειδών σε μορφή προενζύμου, του πεψινογόνου, από το οποίο και λαμβάνεται με οξίνιση, όπως και στην περίπτωση της χυμοσίνης.

Η πρωτεολυτική δράση των δύο ενζύμων επί των καζεϊνικών κλασμάτων κατά την ωρίμαση των τυριών θεωρείται όμοια ως προς το κύριο προϊόν, πλην όμως στην περίπτωση της πεψίνης παράγεται μεγαλύτερος αριθμός πεπτιδίων χαμηλότερου μοριακού βάρους (Ανυφαντάκης, 2004). Τα παρασκευάσματα χυμοσίνης-πεψίνης σε αναλογία 50%-50% φαίνεται να είναι αρκετά αποδεκτά, αφού δεν έχουν παρατηρηθεί σημαντικές διαφορές του τελικού προϊόντος σε σχέση με την καθ' αυτό πυτιά. Ωστόσο, αναφέρονται ορισμένα αμελητέα μειονεκτήματα, όπως ότι το τυρόπηγμα γίνεται πιο μαλακό ενώ στη συνέχεια σκληραίνει. Ακόμη αναφέρεται ότι υπάρχει μεγαλύτερη απώλεια λίπους στο τυρόγαλα ιδίως την άνοιξη επομένως υπάρχει και μικρότερη απόδοση, καθώς επίσης και μερικά τυριά αποκτούν μειωμένη ένταση στη γεύση κατά την ωρίμανση (Ζερφυρίδης, 2001).

#### 1.5.2.1.2.2 Πηκτική Δύναμη

Η πυτιά κυκλοφορεί στο εμπόριο σε δύο μορφές : υγρή και σε σκόνη. Η πηκτική της δύναμη κυμαίνεται ανάλογα με τις συνθήκες και τη διάρκεια διατηρήσεως, καθώς και τη μορφή που διατίθεται. Συνήθως η υγρή έχει ισχύ 1:15000, ενώ η σκόνη 1:100000. Με τα παραπάνω εννοείται ότι ένα μέρος πυτιάς πήζει 15000 μέρη γάλακτος για την υγρή και αντίστοιχα για τη σκόνη, στους 35°C σε 40 λεπτά.

Στην πράξη η πηκτική δύναμη της πυτιάς προσδιορίζεται ως εξής : σε 100 mL γάλακτος θερμοκρασίας 35°C προστίθεται 1 mL υγρής πυτιάς ή 1 mL διαλύματος σκόνης και σημειώνεται ο χρόνος που απαιτείται για την πήξη του γάλακτος. Η δύναμη της πυτιάς δίδεται από τον τύπο:

$$P = (100 \times 2400) / T \quad (\text{Εξίσωση 1.1})$$

Όπου P: Η πηκτική δύναμη της πυτιάς

T: Ο χρόνος πήξης σε δευτερόλεπτα

Όταν το πήξιμο πραγματοποιείται σε χρόνο που κυμαίνεται από 4-6 λεπτά τότε η πηκτική δύναμη θεωρείται ικανοποιητική , διαφορετικά όταν ο χρόνος είναι μικρότερος των 4 λεπτών, η πυτιά αραιώνεται με νερό ή γίνεται πυκνότερο διάλυμα σε περίπτωση που ο χρόνος είναι μεγαλύτερος από 6 λεπτά (Κεχαγιάς, 2001).

Σε περιπτώσεις που αραιώνεται η πυτιά για να επιτευχθεί ο χρόνος πήξης εντός των ορίων που αναφέρθηκαν, πρέπει να λαμβάνεται υπόψη και ο συντελεστής αραιώσής της (Ανυφαντάκης, 2004).

#### 1.5.2.1.2.3 Υποκατάστατα πυτιάς

Τα τελευταία χρόνια, η τιμή της πυτιάς είναι αρκετά υψηλή κι αυτό οφείλεται αφ' ενός στη μεγάλη ζήτηση λόγω αύξησης της παγκόσμιας παραγωγής τυριών και αφ' ετέρου στη μείωση του αριθμού των μοσχαριών που σφάζονται σε νεαρή ηλικία, λόγω οικονομικής επιβαρύνσεως. Γι' αυτό η αγορά οδηγήθηκε στην παρασκευή υποκατάστατων πυτιάς. Αυτά πήζουν το γάλα όπως και η πυτιά και είναι πρωτεολυτικά ένζυμα που είναι είτε φυτικής, είτε μικροβιολογικής προελεύσεως, είτε από άλλα μηρυκαστικά εκτός των μοσχαριών. Ωστόσο, κάθε πρωτεολυτικό ένζυμο που πήζει το γάλα δεν καθίσταται αυτόματα κατάλληλο ως υποκατάστατο. Αυτά έχουν την ικανότητα να παράγουν πήγμα και στη συνέχεια τυρί, το οποίο έχει παρόμοια οργανοληπτικά χαρακτηριστικά με την κανονική πυτιά.

#### 1.5.2.1.3 Βακτήρια Καλλιέργειών

Τα βακτήρια που προκαλούν την ομοζυμωτική ζύμωση του γαλακτοσακχάρου στο γάλα είναι τα λεγόμενα οξυγαλακτικά βακτήρια και είναι αυτά που χρησιμοποιούνται κατά κύριο λόγο στην τυροκομία. Τα βακτήρια αυτά μετατρέπουν το γαλακτοσάκχαρο σε γαλακτικό οξύ με λίγα ακόμα υποπροϊόντα και κυρίως παραγωγή αερίων όπως διοξείδιο του άνθρακα. Η ζύμωση αυτή έχει ως αποτέλεσμα την πρόσδωση ευχάριστης οσμής και γεύσης, με εξαίρεση φυσικά ορισμένων καλλιέργειών που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή ορισμένων τυριών για να δώσουν ιδιαίτερα χαρακτηριστικά στη γεύση και τη δημιουργία οπών όπως είναι η προπιονική καλλιέργεια και ορισμένοι λακτοβάκιλλοι και στρεπτόκοκκοι. Άρα σαν καλλιέργεια νοείται ο εμβολιασμός αποστειρωμένου γάλακτος με οξυγαλακτικά βακτήρια συγκεκριμένου γένους και είδους και η επώασή τους μέχρι την πήξη του γάλακτος από τη δημιουργία οξύτητας.

Τέλος, οι καλλιέργειες προστίθενται μετά την παστερίωση του γάλακτος, όταν το γάλα ψυχθεί στη θερμοκρασία πήξης και πριν την προσθήκη πυτιάς. Οι ποσότητες κυμαίνονται από 0,5-3%.

#### **1.5.2.1.3.1 Οξυγαλακτικά Βακτήρια**

Από τα βακτήρια, τα οξυγαλακτικά είναι αυτά που συνήθως χρησιμοποιούνται στην τυροκομία. Αναφέρονται συχνά και με τον όρο εκκινήτες – starters καθώς με αυτά αρχίζει ουσιαστικά η τυροκόμηση και οι ζυμώσεις κατά την παραγωγική διαδικασία των τυριών. Αυτά όταν προστεθούν στο γάλα μετατρέπουν τη λακτόζη σε γαλακτικό οξύ μέσω ζυμώσεων. Ακόμη, είναι ομοζυμωτικά, δηλαδή κατά τη ζύμωση της λακτόζης δεν παράγουν αέρια σε αντίθεση με εκείνα που έχουν τη δυνατότητα να παράγουν αέρια και ονομάζονται ετεροζυμωτικά. Τα βακτήρια του γαλακτικού οξέος διεθνώς χαρακτηρίζονται με τα αρχικά LAB (Lactic Acid Bacteria). Εκτός από ορισμένες περιπτώσεις οι καλλιέργειες που χρησιμοποιούνται στην τυροκομία ανήκουν στην πλειονότητά τους στα γένη *Streptococcus* και *Lactobacillus*. Βασικά κριτήρια επιλογής των οξυγαλακτικών βακτηρίων είναι :

- Η έλλειψη παθογένειας ή τοξικότητας για τον άνθρωπο.
- Η ικανότητα ταχείας παραγωγής γαλακτικού οξέος στην επιθυμητή ποσότητα.
- Η ικανότητα επικράτησης της ανταγωνιστικής τους μικροχλωρίδας.
- Η ευκολία πολλαπλασιασμού τους.
- Η σταθερότητα των επιθυμητών ιδιοτήτων τους κατά τη διάρκεια του πολλαπλασιασμού και της αποθήκευσής τους.

Οι κυριότεροι μικροοργανισμοί που χρησιμοποιούνται στην τυροκομία καταγράφονται παρακάτω :

1. *Γένος Lactococcus* : Είναι μεσόφιλοι ομοζυμωτικοί μικροοργανισμοί που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή οξύτητας. Όταν αναπτύσσονται στο γάλα ζυμώνουν τη λακτόζη με τελικά προϊόντα 95% γαλακτικό οξύ και 5% άλλες ενδιαφέρουσες ενώσεις. Στο γένος αυτό ανήκουν 5 είδη από τα οποία μόνο ένα, το *Lactococcus lactis* είναι σημαντικό και χρησιμοποιείται ευρύτατα από τις γαλακτοβιομηχανίες. Υπάρχουν δύο υποείδη του τα *L. lactis subsp. lactis* και *L. lactis subsp. cremoris*, από τα οποία το πρώτο είναι πιο ανθεκτικό σε υψηλές θερμοκρασίες και στο αλάτι γι αυτό και χρησιμοποιείται περισσότερο. Μία παραλλαγή του, *L. lactis biovar. diacetylactis* ζυμώνει το κιτρικό οξύ σε διακετύλιο, διοξείδιο του άνθρακα και άλλα προϊόντα ιδιαίτερα σημαντικά για τη γεύση των φρέσκων τυριών. Μεταξύ των στελεχών του *L. lactis* υπάρχουν μερικά που παράγουν εξω-πολυσακχαρίτες και χρησιμοποιούνται στην παραγωγή γαλακτοκομικών, όταν επιδιώκεται αύξηση του ιξώδους. Οι λακτόκοκκοι είναι μικροοργανισμοί με περιορισμένη πρωτεολυτική δράση οι οποίοι όμως μπορούν να χρησιμοποιήσουν τις πρωτεΐνες του γάλακτος για την ανάπτυξή τους.

2. *Γένος Streptococcus* : Από το γένος *Streptococcus* ενδιαφέρον για τις γαλακτοβιομηχανίες παρουσιάζει μόνον ο *S. salivarius subsp. thermophilus*. Είναι μικροοργανισμός με μικρή πρωτεολυτική ικανότητα και ανθεκτικός στη θερμοκρασία (Ανυφαντάκης, 2004). Ο στρεπτόκοκκος αυτός επωάζεται σε θερμοκρασία 45°C ενώ οι άλλοι στρεπτόκοκκοι επωάζονται στους 25°C.

Έχει την ικανότητα να αναπτύσσεται και να παράγει οξύ και στους 50°C με ταυρόχρονη παραγωγή αρώματος. Επιβιώνει κατά την παστερίωση και σε ευνοϊκές συνθήκες αναπτύσσεται και δρα πολύ καλά, αλλά γενικά είναι μάλλον ευαίσθητος μικροοργανισμός. Δεν αντιδρά καλά ακόμη και σε χαμηλές συγκεντρώσεις άλατος (2%) και αντιβιοτικών (0,01 U/mL). Οι ιδιότητές του αυτές τον καθιστούν απαραίτητο για τα τυριά που αναθερμαίνονται σε υψηλές θερμοκρασίες αλλά πρέπει να χρησιμοποιείται παράλληλα με άλλες καλλιέργειες. Χρησιμοποιείται πολύ για τα τυριά ελβετικού τύπου, Cheddar και άλλα σκληρά τυριά. Μαζί με τον *L. bulgaricus* αποτελούν τα βακτήρια της γιαούρτης η οποία πολλές φορές χρησιμοποιείται σαν καλλιέργεια σε διάφορα τυριά μεταξύ των οποίων και η Φέτα (Ζερφυρίδης, 2001).

3. *Γένος Lactobacillus* : Στο γένος *Lactobacillus* κατατάσσονται διάφορα οξυγαλακτικά βακτήρια τα οποία παρουσιάζουν μεταξύ τους γενετικές διαφορές, καθώς και διαφορές στη φυσιολογία τους. Είναι οι πλέον οξυάντοχοι από τα οξυγαλακτικά βακτήρια και μπορούν να μειώσουν το pH του γάλακτος κάτω από 4.0 (Ανυφαντάκης, 2004).

Οι λακτοβάκιλοι συναντώνται σε όλα τα τυριά. Ο πληθυσμός τους είναι ιδιαίτερα αυξημένος στα προχωρημένα στάδια ωριμάνσεως όταν οι στρεπτόκοκκοι δείχνουν στασιμότητα ή μείωση. Οι συνθήκες αυξημένης οξύτητας που δημιουργούνται στα τυριά ανακόπτουν την αύξηση των στρεπτόκοκκων ενώ ευνοούν την ανάπτυξη των λακτοβάκιλλων. Εξάλλου για να αναπτυχθεί ο λακτοβάκιλλος πρέπει να δημιουργηθεί πρώτα όξινο περιβάλλον. Γι' αυτό στις καλλιέργειες των τυριών χρησιμοποιούνται οπωσδήποτε στρεπτόκοκκοι (συνήθως ο *S. salivarius subsp. thermophilus*) οι οποίοι ανεβάζουν την οξύτητα σε 0,6-0,8% γαλακτικό οξύ όπου ανακόπτεται η δική τους δράση και συνεχίζουν οι λακτοβάκιλοι μέχρι 1,2% γαλακτικό οξύ ή και περισσότερο, σαν δεύτερη καλλιέργεια και ποτέ μόνη της. Γενικά έχουν θερμοκρασία επώσεως 40°C (Ζερφυρίδης, 2001).

Ανάλογα με τα τελικά προϊόντα της ζύμωσης που προκαλούν οι λακτοβάκιλλοι διακρίνονται σε τρεις ομάδες:

- Τους ομοζυμωτικούς. Στην ομάδα αυτή ανήκουν οι *Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Lb. delbrueckii subsp. lactis*, *Lb. helveticus* και *Lb. acidophilus* οι οποίοι ζυμώνουν αποκλειστικά εξόζες σε γαλακτικό οξύ σύμφωνα με τον κύκλο Embden-Meyerhof, ενώ δε ζυμώνουν πεντόζες. Είναι μικροοργανισμοί θερμοάντοχοι και

αναπτύσσονται σε υψηλότερες θερμοκρασίες (>45°C) από ότι οι άλλοι γαλακτοβάκλιοι.

-Τους προαιρετικά ετεροζυμωτικούς. Οι μικροοργανισμοί της ομάδας αυτής ζυμώνουν εξόζες είτε προς γαλακτικό οξύ, είτε προς γαλακτικό οξύ, οξικό οξύ, αιθανόλη και φορμικό οξύ, όταν υπάρχει ανεπάρκεια γλυκόζης. Ζυμώνουν επίσης πεντόζες προς γαλακτικό οξύ και οξικό οξύ. Στην ομάδα αυτή ανήκει ο *Lb. casei* ο οποίος δε χρησιμοποιείται συχνά ως οξυγαλακτική καλλιέργεια, αναπτύσσεται όμως κατά τη διάρκεια της ωρίμασης των τυριών και συμβάλλει στη διαμόρφωση των οργανοληπτικών τους χαρακτηριστικών.

-Τους υποχρεωτικά ετεροζυμωτικούς. Ζυμώνουν τις εξόζες και πεντόζες σε γαλακτικό οξύ, οξικό οξύ ή αιθανόλη και σε διοξείδιο του άνθρακα. Οι μικροοργανισμοί αυτοί προκαλούν ανεπιθύμητη οσμή και γεύση και το σχηματισμό αερίων κατά την ωρίμαση των τυριών. Ο *Lb. kefir* που υπάρχει στις καλλιέργειες του Κεφίρ είναι ένας από αυτούς (Ανυφαντάκης, 2004). Από τους λακτοβάκιλλους σπουδαιότεροι είναι ο *L. helveticus* που χρησιμοποιείται στα τυριά ελβετικού τύπου που αναθερμαίνονται στους 50 - 53°C, ο *L. bulgaricus* που δίνει μεγαλύτερη οξύτητα χρησιμοποιείται σε πολλά σκληρά τυριά και τα λευκά τυριά άλμης όπως η Φέτα και ο *L. casei* που χρησιμοποιείται πιο σπάνια διότι δίνει πολύ μεγάλη οξύτητα (Ζερφυρίδης, 2001).

3. *Γένος Leuconostocs ή Betacocci* : Πρόκειται για μια κατηγορία στρεπτόκοκκων με κυριότερους αντιπροσώπους το *L. citrovorum* και *L. paracitrovorum* που ζυμώνουν το κιτρικό προς διακετύλιο. Δηλαδή παράγουν άρωμα στο τυρί αλλά αναπτύσσονται αργά και γι' αυτό πρέπει να χρησιμοποιηθούν παράλληλα με άλλη οξυγαλακτική καλλιέργεια. Οι μικροοργανισμοί αυτοί αντέχουν στην οξύτητα και επιβιώνουν στο τυρί καλύτερα από άλλους στρεπτόκοκκους γι' αυτό επιφέρουν το αποτέλεσμά τους με κάποια βραδύτητα. Ωστόσο, η ποσότητα στην οποία προστίθενται θα πρέπει να είναι συγκεκριμένη, καθώς η επιπλέον προσθήκη μπορεί σε ορισμένα τυριά να επιφέρει πικρή γεύση. Τέλος θα πρέπει να χρησιμοποιούνται καθαρά γνωστά στελέχη, διότι υπάρχουν στην κατηγορία αυτή και είδη ισχυρά ετεροζυμωτικά που είναι και γρήγορα στην ανάπτυξή τους σε βαθμό που να δημιουργούν ελαττώματα στα τυριά και μάλιστα από τα πρώτα στάδια παραγωγής αυτών.





**Εικόνα 1.1 *Leuconostoc mesenteroides***

4. *Γένος Enterococcus* : Είναι βακτήρια που ενδημούν στα έντερα των ανθρώπων και των ζώων. Το γάλα μολύνεται με αυτούς από την κοπριά και τα ακάθαρτα σκεύη. Αναπτύσσονται μέχρι τη θερμοκρασία των 45°C, με άριστη τους 37°C. Είναι θερμοάντοχοι μικροοργανισμοί και επιβιώνουν κατά την παστερίωση. Το γένος αυτό περιλαμβάνει παθογόνους μικροοργανισμούς, πλην όμως υπάρχουν και στελέχη του *E. faecalis* που χρησιμοποιούνται στην παρασκευή τυριών.

Αποστολή των οξυγαλακτικών βακτηρίων κατά την τυροκόμηση είναι η οξίνιση του πήγματος στον επιθυμητό κατά περίπτωση βαθμό και ρυθμό. Να ζυμώσουν τη λακτόζη προς γαλακτικό οξύ, η ποσότητα του οποίου εξαρτάται από το στέλεχος ή τα στελέχη των μικροοργανισμών που χρησιμοποιούνται και τους παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξή τους.

Το γαλακτικό οξύ προκαλεί μείωση του pH, με συνέπεια να παρεμποδίζεται η ανάπτυξη των μη επιθυμητών βακτηρίων, ιδιαίτερα των παθογόνων, ενώ παράλληλα επηρεάζει τη γεύση και το άρωμα των φρέσκων τυριών.

Στην περίπτωση των τυριών η παραγωγή γαλακτικού οξέος επιτελεί τις εξής λειτουργίες:

- Επιταχύνει τη συναίρεση του τυροπήγματος, με αποτέλεσμα την αποβολή μεγαλύτερης ποσότητας τυρογάλακτος από τη μάζα του - ταχύτερη στράγγιση.
- Αυξάνει τη συνεκτικότητα του τυροπήγματος, η οποία επηρεάζει την απόδοση σε τυρί.
- Επιταχύνει τη δράση της πυτιάς κατά την πήξη του γάλακτος.
- Επηρεάζει το ρυθμό αδρανοποίησης και το βαθμό κατακράτησής της στο τυρί.
- Παρεμποδίζει την ανάπτυξη πολλών βακτηρίων, ιδιαίτερα των παθογόνων και των μικροοργανισμών που προκαλούν αλλοιώσεις.
- Επηρεάζει την κατάσταση του κolloειδούς φωσφορικού ασβεστίου και τις ρεολογικές ιδιότητες των τυριών.
- Επηρεάζει τη γεύση των τυριών.

Η αναλογία στην οποία προστίθεται στο γάλα της τυροκόμησης, η θερμοκρασία του, η παρουσία αντιβιοτικών και άλλων ανασταλτικών ουσιών καθώς και η προσβολή τους από βακτηριοφάγους, αποτελούν τους πιο σημαντικούς

παράγοντες που επηρεάζουν το ρυθμό οξίνισης κατά περίπτωση (Ανυφαντάκης, 2004).

5. *Προπιονική καλλιέργεια* : Χρησιμοποιείται αποκλειστικά στα τυριά ελβετικού τύπου, δηλαδή σε τυριά «προπιονικής ζύμωσης», όπως είναι το Emmental και η Γραβιέρα για να δώσει στο τυρί τη 'γλυκίζουσα' γεύση που διαθέτει και τις οπές μέσα στην τυρομάζα, δηλαδή τη δημιουργία ανοιχτής δομής. Η ιδιαίτερη γεύση μπορεί να αποδοθεί κατά κύριο λόγο στην αυξημένη παραγωγή προλίνης και προπιονικού οξέος και οι οπές στη δημιουργία διοξειδίου του άνθρακα από τη ζύμωση του γαλακτικού οξέος που χρησιμοποιεί κατά βάση ως υπόστρωμα.

Το κύριο βακτήριο της καλλιέργειας είναι το *Propionibacterium shermanii*, το οποίο παράγει πολύ προπιονικό οξύ στο τυρί. Χρησιμοποιείται σε πολύ μικρές ποσότητες στο γάλα και αναπτύσσεται στο τυρί μετά από 15 μέρες. Έτσι για τα πρώτα στάδια του τυριού χρησιμοποιούνται άλλες καλλιέργειες και η προπιονική μπαίνει στο γάλα για να δράσει στα μετέπειτα στάδια της ωρίμανσης. Επιπλέον έχει και την ιδιότητα να παράγει και την αντιαναιμική βιταμίνη B<sub>12</sub>. Τέλος, για να αναπτυχθεί απαιτείται παρουσία σακχάρου και γαλακτικού νατρίου, επώαση στους 30°C και διατήρηση σε 16-18°C έως ότου χρησιμοποιηθεί.

Στους πίνακες 1.8 και 1.9 παρατίθενται μερικά από τα χαρακτηριστικά των σπουδαιότερων μικροοργανισμών που χρησιμοποιούνται ως οξυγαλακτικές καλλιέργειες στη βιομηχανία παραγωγής τυριού.

**Πίνακας 1.8 Χαρακτηριστικά σπουδαιότερων μικροοργανισμών που χρησιμοποιούνται ως οξυγαλακτικές καλλιέργειες**

Μικροοργανισμοί	Παλιά ονομασία	%Παραγωγή γαλακτικού οξέος στο γάλα	Μορφή ισομερούς γαλακτικού
<i>Streptococcus salivarius subsp. thermophilus</i>	<i>Str. thermophilus</i>	0.6	L
<i>Lactobacillus helveticus</i>	Χωρίς αλλαγή	2.0	DL
<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i>	<i>Lb. bulgaricus</i>	1.8	D
<i>Lactobacillus lactis subsp. I lactis</i>	<i>Lb. lactis</i>	1.8	D
<i>Lactobacillus lactis subsp. cremoris</i>	<i>Str. cremoris</i>	0.8	L

<i>Lactobacillus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	<i>Str lactis</i>	0.8	L
<i>Leuconoxtoc lactis</i>	Χωρίς αλλαγή	<0,5	D
<i>Leuconoxtoc mesenteroides</i> subsp. <i>cremoris</i>	<i>Leuc. cremoris</i>	0.2	D

[Πηγή: Fox, 1996]

**Πίνακας 1.9 Χαρακτηριστικά σπουδαιότερων μικροοργανισμών γαλακτικού οξέος που χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία**

Μικροοργανισμός	Ιδανική T°C	pH μετά την επώαση	Παραγωγή αρώματος	Παραγωγή αρώματος και οξέος
<i>Str. thermophilus</i>	35-40	4.6	-	-
<i>Lact. bulgaricus</i>	40-45	3.8	-	+
<i>Str. cremoris</i>	20-25	4.8	-	-
<i>Str. lactis</i>	20-30	4.5	-	-
<i>Lact. lactis</i>	40	4.5	-	+
<i>Lact. helveticus</i>	40-45	4.4	-	+
<i>Str. diacetylactis</i>	25-30	4.6	+	-
<i>Leuconostoc citrovorum</i>	20-25	5.2	+	-

[Πηγή: Ζερφυρίδης, 2001]

#### 1.5.2.1.4 Επίδραση της προσθήκης αλατιού

Το αλάτι της τυροκομίας πρέπει να είναι καθαρό, αφού προορίζεται για την παραγωγή βρώσιμων προϊόντων. Σε περίπτωση ακάθαρτου αλατιού, σημαίνει ότι μπορεί να εισέλθει στο τρόφιμο, δηλαδή στο τυρί, άγνωστη μικροχλωρίδα και πιθανώς επικίνδυνα ξένα σώματα. Το αλάτι πρέπει σε διάλυμα μέχρι 10% να είναι άχρωμο, να περιέχει υγρασία κάτω από 4% και το ξηρό αλάτι κάτω από 0,2%. Σύμφωνα με τον Κ.Τ.Π δεν πρέπει να περιέχει αρσενικό και μόλυβδο σε ποσότητες μεγαλύτερες από 3 και 10 ppm αντίστοιχα, όπως άλλωστε και οι υπόλοιπες συντηρητικές ουσίες των τροφίμων. Ως προς τα υπολείμματα άλλων στοιχείων ισχύουν οι προδιαγραφές του FAO από τα οποία ο σίδηρος δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 10 ppm διότι προκαλεί κόκκινα στίγματα στο τυρί και ο χαλκός τα 2 ppm, καθώς επιδρά στη μικροχλωρίδα, τις ενζυμικές δράσεις και τα οξειδωτικά φαινόμενα στο τυρί ( Ζερφυρίδης, 2001).

Σημαντικό ρόλο στην τυροκομία παίζει και το μέγεθος του αλατιού. Για παράδειγμα σε περίπτωση ξηρού αλατίσματος, αν το αλάτι είναι πολύ ψιλό λιώνει εύκολα επάνω στο τυρί, δημιουργώντας σκληρή εξωτερική επιφάνεια και αποτρέποντας την ομοιόμορφη

απορρόφηση από το εσωτερικό του τυριού. Ανεπιθύμητα αποτελέσματα έχουμε και σε περίπτωση που το αλάτι είναι πιο χοντρό από το κατάλληλο μέγεθος, κι αυτό καθώς αργεί να λιώσει, με αποτέλεσμα να καθυστερεί και η απορρόφησή του από το εσωτερικό του τυριού.

Ανάλογα με το είδος του τυριού μεταβάλλεται τόσο η ποσότητα του αλατιού, όσο και ο τρόπος αλατίσματος. Οι βασικότεροι τρόποι αλατίσματος, λοιπόν, είναι η άμεση ανάμιξη του αλατιού με το τυρόπηγμα, το ξηρό αλάτισμα ή αλλιώς επιφανειακό, και τέλος το αλάτισμα σε άλμη. Στην πρώτη μέθοδο, το αλάτι προστίθεται κατευθείαν στο τυρόπηγμα προτού το δεύτερο μπει στα καλούπια. Χαρακτηριστικό παράδειγμα το τυρί Cheddar. Υπάρχουν ακόμη περιπτώσεις, όπως το τυρί Domiati που παράγεται στην Αίγυπτο, όπου το αλάτι προστίθεται ακόμη και στο γάλα. Στη δεύτερη μέθοδο, χονδρόκοκκο αλάτι εισάγεται αρχικά στην πάνω επιφάνεια του τυριού και στη συνέχεια διασκορπίζεται το λιωμένο αλάτι και στις πλάγιες επιφάνειες. Συνήθως το ξηρό αλάτισμα προηγείται ή έπεται της μεθόδου αλατίσματος σε άλμη. Η τελευταία από τις μεθόδους θεωρείται από πολλούς πως αποτελεί τον καταλληλότερο τρόπο αλατίσματος των τυριών, αν και αυτό εξαρτάται κυρίως από το είδος του τυριού. Πρέπει, ωστόσο, να σημειωθεί ότι η πυκνότητα της άλμης ανάλογα και με το είδος του τυριού κυμαίνεται από 18-22% (Ζερφυρίδης, 2001).

Σαν φυσικό συντηρητικό του τυριού, εκτός από την οξύτητά του, που είναι αδιαμφισβήτητα ο βασικότερος παράγοντας, θα μπορούσε να θεωρηθεί και το αλάτι. Η προσθήκη του στο τυρί, επηρεάζει με πολλούς τρόπους την ωρίμανσή του, επιδρώντας στη μικροχλωρίδα του τυριού και σε πολλές ενζυμικές δράσεις. Όσον αφορά τη μικροχλωρίδα, το αλάτι αναστέλλει τη δράση ανεπιθύμητων ενώ επιβραδύνει την ανάπτυξη επιθυμητών μικροοργανισμών και ευνοεί άλλους για την ανάπτυξή τους. Με τον τρόπο αυτό εξισορροπεί τη δράση των μικροοργανισμών. Ακόμη συντελεί στις φυσικοχημικές του μεταβολές, όπως η αύξηση του pH και η διατήρησή του στα επιθυμητά επίπεδα για την πραγματοποίηση των κατάλληλων ζυμώσεων, ευνοεί την υδρόλυση της  $\alpha_2$ -καζεΐνης ενώ δεν επηρεάζει την υδρόλυση της  $\beta$ -καζεΐνης (συντελεστής άλατος >5%), της οποίας τα προϊόντα μπορεί να προσδώσουν πικρή γεύση στο τυρί. Ακόμη βοηθά στην απελευθέρωση των νεκρών βακτηριακών κυττάρων και ενεργοποιεί τα πρωτεολυτικά τους ένζυμα, ενισχύοντας την πρωτεόλυση η οποία είναι ένα από τα βασικότερα στάδια της ωρίμανσης. Τέλος, το αλάτι ρυθμίζει την υγρασία του τυριού, δημιουργώντας υψηλή οσμωτική πίεση η οποία μπορεί να αφαιρέσει νερό, ακόμα και δεσμευμένο, από το εσωτερικό του τυριού, γεγονός που επιδρά ακόμη και στην ανάπτυξη ανεπιθύμητων μικροβιακών δράσεων. Όλες οι προαναφερθείσες επιδράσεις του αλατιού, έχουν ως βασική απόρροια τη δημιουργία ενός ασφαλούς και ευχάριστου γευστικά τελικού προϊόντος, με την προϋπόθεση φυσικά ότι οι ποσότητες που εισάγονται είναι οι απαιτούμενες.

Καθώς η κατανάλωση τυριού αυξάνεται παγκοσμίως, η μείωση του αλατιού ως φορέας νατρίου, θα πρέπει να ληφθεί σοβαρά υπόψη. Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι η λήψη καλίου μέσω της διατροφής μπορεί να βοηθήσει προστατευτικά σε άτομα στα οποία το νάτριο προκαλεί υπέρταση, να μειώσει την απέκκριση ασβεστίου με τα ούρα και πιθανότατα να προστατεύει την σκελετική μάζα (Karagözü et al., 2008). Έρευνες έχουν γίνει για την αντικατάσταση του NaCl από KCl τόσο στην Κεφαλογραβιέρα, όσο και στη Φέτα (Katsiari et.al, 2000 ; Katsiari, 2001 ; Katsiari, 1997) και τα αποτελέσματα κάθε άλλο παρά αποθαρρυντικά ήταν από φυσιολογικής άποψης. Πιο συγκεκριμένα, αποδείχθηκε ότι τα δείγματα Φέτας στα οποία προστέθηκε μίγμα χλωριούχου νατρίου και χλωριούχου καλίου (>25%) δε διέφεραν σημαντικά από τα δείγματα αναφοράς στη σύνθεση, όπως η υγρασία, το pH , η ολική πρωτεΐνη και η αλατότητα. Ωστόσο από την οργανοληπτική πλευρά μεγαλύτερης αποδοχής έχαιραν οι Φέτες με μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε χλωριούχο νάτριο.

#### **1.5.2.1.5 Δευτερεύοντα Συστατικά**

Εκτός από τα βασικά συστατικά που αναφέρθηκαν σε προηγούμενη παράγραφο, για την παρασκευή του τυριού, μπορούν να χρησιμοποιηθούν, ανάλογα με την περίπτωση και άλλες ουσίες είτε για ενίσχυση της γεύσης, είτε για βελτίωση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών είτε για βελτίωση του ίδιου του τρόπου παρασκευής. Κάποιες από αυτές τις ουσίες παρουσιάζονται παρακάτω :

**Χλωριούχο ασβέστιο ( $CaCl_2$ ).** Είναι γνωστό ότι σε περίπτωση απώλειας ιόντων ασβεστίου από το γάλα, ο σχηματισμός πήγματος δεν ευνοείται. Το ασβέστιο του γάλακτος, υπάρχει σε φυσιολογικές συνθήκες σε ποσοστό περίπου 0,125%. Από αυτό περίπου το 60% βρίσκεται σε κolloειδή μορφή ενώ το υπόλοιπο είναι διαλυτό. Η μείωσή του ασβεστίου του γάλακτος, μπορεί να προκληθεί είτε με τη θέρμανση (θέρμανση > 80°C) είτε με την οξίνισή του. Αν το γάλα θερμανθεί σε θερμοκρασία μεγαλύτερη των 80°C, μια ποσότητα διαλυτού ασβεστίου μετατρέπεται σε αδιάλυτη μορφή σε ποσοστό περίπου 5% του διαλυτού ασβεστίου. Η απώλεια του διαλυτού ασβεστίου μπορεί να είναι μικρή, όμως η διαφορά της απώλειας φαίνεται καθαρά στο δημιουργούμενο από παστεριωμένο γάλα πήγμα, το οποίο είναι πιο μαλακό σε σχέση με αυτό που προκύπτει από μη παστεριωμένο (Ζερφυρίδης, 2001). Το ασβέστιο ενισχύει τους υδρόφοβους δεσμούς που σχηματίζονται μεταξύ των καζεϊνών για το σχηματισμό του πήγματος, άρα απώλειά του έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία ελαττωματικού πήγματος. Ωστόσο η ποσότητα του άνυδρου  $CaCl_2$  πρέπει να κυμαίνεται από 0,01-0,03% (Κεχαγιάς, 1997), καθώς μεγαλύτερες ποσότητες μπορεί να οδηγήσουν σε σκληρό πήγμα και αργότερα σε πικρή γεύση.

**Υπεροξειδίο του υδρογόνου ( $H_2O_2$ ).** Σε ορισμένες χώρες, μεταξύ των οποίων και στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής, επιτρέπεται και με βάση τη νομοθεσία, πριν από την πήξη του γάλακτος, επεξεργασία του με υπεροξειδίο του υδρογόνου ( $H_2O_2$ ) με σκοπό την

καταστροφή των μικροοργανισμών του προς τυροκόμηση γάλακτος. Φυσικά, τα παραπάνω ισχύουν στην περίπτωση που η βιομηχανία ή ο παραγωγός δεν επεξεργαστούν το γάλα με θερμικές μεθόδους. Πρέπει να τονιστεί, ωστόσο, ότι στην Ελλάδα δεν χρησιμοποιείται καθώς απαγορεύεται από τη νομοθεσία.

**Χρωστικές.** Όπως αναφέρθηκε σε προηγούμενο κεφάλαιο, στις περιεκτικότητες των συστατικών του γάλακτος, υπάρχουν διακυμάνσεις που οφείλονται στη χρονική περίοδο γαλακτοπαραγωγής και στο είδος γάλακτος. Την άνοιξη και το καλοκαίρι που στην τροφή των αγελάδων χρησιμοποιούνται πιο πολλές πράσινες τροφές, το γάλα περιέχει αφθονότερη β-καροτίνη, της οποίας το χρώμα είναι έως πορτοκαλί και επειδή είναι λιποδιαλυτή κατά την τυροκόμηση του γάλακτος εισέρχεται στο τυρί προσδίδοντας σε αυτό υποκίτρινη χροιά. Το πρόβλημα αυτό είναι εντονότερο στο αγελαδινό γάλα αφού το χρώμα του πρόβειου γάλατος είναι λευκό καθώς περιέχει περισσότερη βιταμίνη Α, ενώ η προβιταμίνη Α (β-καροτίνη) βρίσκεται σε ίχνη ανεξάρτητα αν τα ζώα λαμβάνουν χλωρά νομή ή όχι, σε αντίθεση με το αγελαδινό το οποίο είναι κιτρινωπό λόγω παρουσίας καροτίνης (Jandal, 1996). Έτσι, λόγω μεταβολών στην περιεκτικότητα σε καροτινοειδή, κυρίως στο αγελαδινό γάλα, η οποία προκαλεί ανομοιομορφίες στο χρώμα των τυριών, επιτρέπεται η χρήση διάφορων χρωστικών όπως το safran ή κρόκος, κουρκουμάς, καροτένιο, αννάτο και χλωροφύλλη. Οι προαναφερθείσες χρωστικές επιτρέπονται τόσο από την ελληνική όσο και από τη νομοθεσία άλλων χωρών.

Από τις χρωστικές αυτές, άλλες χρησιμοποιούνται για να 'λευκάνουν' το γάλα, όπως είναι η χλωροφύλλη και το διβενζοϊκό-υπεροξειδίο ( $C_6H_5-CO-O-O-CO-C_6H_5$ ) σε πιο σπάνιες περιπτώσεις, το οποίο οξειδώνει τα καροτίνια αποχρωματίζοντάς τα, ενώ άλλες για να προσδώσουν χρώμα όπως είναι το αννάτο που χρησιμοποιείται για να δώσει στο τυρί συγκεκριμένο χρώμα.

**Νιτρικά άλατα.** Πριν από την πήξη του γάλακτος, μπορεί να χρησιμοποιηθούν και διάφορες ουσίες για την ενίσχυση της γεύσης, τη βελτίωση του χρώματος, την πρόσδοση ενός ιδιαίτερου χαρακτηριστικού καθώς και για την εξασφάλιση της ποιότητας των τυριών από διάφορα ελαττώματα. Μια από αυτές τις ουσίες είναι το νιτρικό κάλιο ή νάτριο ( $NaNO_3$  ή  $KNO_3$ ). Αυτά χρησιμοποιούνται για την παρεμπόδιση σχηματισμού αερίων σε τυριά με χαμηλή οξύτητα, όπως το Edam και το Gouda, από βακτήρια του γένους *Clostridium*, όπως τα κολοβακτηριδοειδή, ενώ δεν επηρεάζουν τη δράση των οξυγαλακτικών, των προπιονικών και των βουτυρικών βακτηρίων. Στην χώρα μας, ωστόσο, δεν επιτρέπεται η χρήση τους.

#### 1.5.2.2 Απόδοση του γάλακτος σε τυρί

Στην ουσία, όταν αναφερόμαστε στην απόδοση, εννοούμε πόσα κιλά τυριού παράγονται από συγκεκριμένη ποσότητα γάλακτος. Η απόδοση του γάλακτος σε τυρί εξαρτάται κατά κύριο λόγο από την περιεκτικότητά του σε καζεΐνη και λίπος, το είδος του τυριού που παράγεται και τη σωστή εφαρμογή της τεχνολογίας παραγωγής και της διατήρησης του τυριού. Έτσι, κάθε είδος γάλακτος (πρόβειο, αγελαδινό, γίδινο, βουβαλίσιο) θα έχει και διαφορετική απόδοση σε τυρί, λαμβάνοντας υπόψη τις διακυμάνσεις μεταξύ των

παραπάνω συστατικών του σε κάθε είδος. Λαμβάνοντας σαν βάση σύγκρισης το αγελαδινό γάλα, γενικοί συντελεστές αναγωγής των άλλων ειδών γάλακτος σε γάλα αγελαδινό, από τυροπαραγωγική άποψη είναι αυτοί που απεικονίζονται στο πίνακα 1.10:

**Πίνακας 1.10 Συντελεστής αναγωγής διαφόρων ειδών γάλακτος σε αγελαδινό, ανάλογα με την τυροπαραγωγική τους δύναμη**

<i>Γάλα (ίδια ποσότητα γάλακτος)</i>	<i>Βάρος τυριού</i>
<i>Αγελαδινό</i>	<i>1,00</i>
<i>Γίδινο</i>	<i>1,25</i>
<i>Βουβαλίσιο</i>	<i>1,45</i>
<i>Πρόβειο</i>	<i>1,85</i>

[Πηγή: Ζερφυρίδης, 2001]

### 1.5.2.3 Αλλοιώσεις - Κίνδυνοι στα τυριά

Κατά την παραγωγή, τόσο στο στάδιο της ωρίμανσης όσο και στα υπόλοιπα στάδια, οι συνθήκες καθαριότητας, η ποιότητα των πρώτων υλών και οι μέθοδοι επεξεργασίας που χρησιμοποιούνται, οι συνθήκες του περιβάλλοντα χώρου και πληθώρα άλλων παραμέτρων παίζει σπουδαίο ρόλο στην ποιότητα του προϊόντος. Οι πιο συνηθισμένες αλλοιώσεις που προκαλούνται στα τυριά, είναι η διόγκωση ή κοινώς φούσκωμα, τα ρήγματα, η ευρωτίαση ή αλλιώς μούχλιασμα, η αλλοιωμένη οσμή και γεύση, καθώς και οι αλλοιωμένες χρώσεις. Όσον αφορά τη διόγκωση, αυτή μπορεί να οφείλεται στη δράση διάφορων μικροοργανισμών που παράγουν ανεπιθύμητα αέρια, τα οποία διογκώνουν το τυρί, όπως για παράδειγμα το διοξείδιο του άνθρακα. Τα ρήγματα, είναι αποτέλεσμα κακών χειρισμών κατά την παρασκευή και διατήρηση του τυριού και αποτελούν εστίες μόλυνσης από μικροοργανισμούς, συνεπώς περαιτέρω επιμόλυνση του προϊόντος. Η ευρωτίαση, όπως φανερώνει και το όνομά του, οφείλεται σε ευρωτομύκητες που αναπτύσσονται στην επιφάνεια ή στο εσωτερικό των τυριών όταν αυτά δε διατηρούνται κάτω από τις κατάλληλες συνθήκες. Αποτέλεσμα της δράσης των ευρωτομυκήτων, είναι η δημιουργία έγχρωμων κηλίδων ή η κάλυψη ολόκληρης της επιφάνειας του τυριού από 'μούχλα'. Ακόμη, η ταγγή γεύση που είναι δυνατόν να εμφανίσει το τυρί, μπορεί να οφείλεται στην παρουσία βουτυρικού οξέος που προέρχεται από την υδρόλυση του λίπους παρουσία του ενζύμου λιπάση. Τέλος, οι μη κανονικές χρώσεις, συνήθως είναι απόρροια δράσης ορισμένων μικροοργανισμών που μολύνουν το τυρί, σε κάποιο από τα στάδια παραγωγής του (Βουδούρη & Κοντομηνα, 2009; Harper & Hall, 1976).

Ένα ακόμη πρόβλημα, που εμφανίζεται σπάνια στα τυριά, είναι η ύπαρξη μυκοτοξινών, που είναι προϊόντα δράσης τοξικών μυκήτων, και ειδικότερα στα τυριά οι αφλατοξίνες. Αυτές μπορεί να παραχθούν κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης των τροφών που λαμβάνουν τα ζώα καθώς και στους αγρούς κατά τη διάρκεια καλλιέργειας των φυτών (Moss, 1989). Οι κύριοι παράγοντες που επιδρούν στην ανάπτυξη των μυκήτων είναι σαφώς οι επικρατούσες συνθήκες, όπως η υγρασία, η θερμοκρασία, το pH, το φως, το

διαθέσιμο οξυγόνο, και βιολογικοί παράγοντες όπως η ευαισθησία του φυτού σε στέλεχος του αφλατοξινογόνου μύκητα. Ωστόσο, τον σημαντικότερο παράγοντα αποτελεί η υγρασία, υψηλές τιμές της οποίας ευνοούν την ανάπτυξη των μυκήτων (Diekman & Green, 1992). Η παρουσία τους στα τυριά, μπορεί να οφείλεται σε τρεις πιθανές αιτίες:

1. Στην αφλατοξίνη  $M_1$  ( $AFM_1$ ) που μπορεί να βρίσκεται στο γάλα των ζώων που έχουν τραφεί με ζωοτροφές μολυσμένες με την αφλατοξίνη  $B_1$  (η αφλατοξίνη  $M_1$  αποτελεί υδροξυπαράγωγο της  $B_1$ ).
2. Στην παραγωγή των αφλατοξινών  $B_1$ ,  $B_2$ ,  $G_1$ ,  $G_2$  από του μύκητες *Aspergillus flavus* και *Aspergillus paracitius* που αναπτύχθηκαν στο τυρί.
3. Στη μεταφορά αφλατοξίνης  $M_1$  στο τυρί από σκόνη γάλακτος που την περιέχει ήδη και χρησιμοποιείται πολλές φορές για εμπλουτισμό του προς τυροκόμηση γάλακτος (Zerfiridis, 1985; Van Egmond, 1991; Blanco et al., 1988; Kamkar et al., 2008).

Αν και για το γάλα έχουν θεσπιστεί συγκεκριμένα όρια για τις αφλατοξίνες από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Commission Regulation EC, 2006) και τις επιτροπές του Κώδικα τροφίμων (Codex Alimentarius Commission, 2001), για το τυρί τέτοια όρια δεν έχουν θεσπιστεί, καθώς ο καλύτερος τρόπος για το έλεγχο αφλατοξινών στο γάλα και στα προϊόντα του είναι ο περιορισμός της  $AFB_1$  στις ζωοτροφές (Georgala et al., 2009).

Τα κριτήρια ασφάλειας της υγιεινής των τυριών από μικροβιολογικής σκοπιάς συνοψίζονται στον πίνακα 1.11.

**Πίνακας 1.11 Κριτήρια ασφάλειας από μικροβιολογική άποψης στα τυριά**

Μικροοργανισμός	Πλάνο δειγματοληψίας <sup>1</sup>		Όρια <sup>2</sup>	
<b>1.Κριτήρια ασφαλείας</b>				
	n	c	m	M
<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100 cfu/g <sup>3</sup>	
<i>Salmonella</i>	5	0	Απουσία σε 25 g <sup>4</sup>	
Σταφυλοκοκκικές εντεροτοξίνες	5	0	Απουσία σε 25 g <sup>5</sup>	
<b>2.Κριτήρια υγιεινής κατά την διάρκεια της διαδικασίας για τυριά από νωπό γάλα</b>				
	n	c	m	M
Σταφυλόκοκκοι θετικοί στην πηκτάση	5	2	10 <sup>4</sup> cfu/g	10 <sup>5</sup> cfu/g

[Πηγή: ΕΘΙΑΓΕ]

<sup>1</sup>n= αριθμός μονάδων / δείγμα, c=αριθμός μονάδων με τιμές > m ή μεταξύ m και M

<sup>2</sup>m= M για τυριά και άλλα προϊόντα, σε ότι αφορά τα κριτήρια ασφαλείας



## 1.6 Ταξινόμηση Τυριού

Ο Ελληνικός Κώδικας Τροφίμων, Ποτών και Αντικειμένων Κοινής Χρήσης (Κ.Τ.Π), στο άρθρο 83, κατατάσσει τα τυριά με βάση την πρώτη ύλη από την οποία παρασκευάζονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες, σε τυριά γάλακτος και σε τυριά τυρογάλακτος. Τα τυριά της πρώτης κατηγορίας διακρίνονται περαιτέρω, με κριτήριο την ωρίμανση, σε αυτά που ωριμάζουν και σε αυτά που δεν ωριμάζουν και έχουν αλοιφώδη υφή. Όσα ωριμάζουν, σύμφωνα με τον ίδιο πάντα Κώδικα, κατατάσσονται σε τέσσερις κατηγορίες, πολύ σκληρά, σκληρά, ημίσκληρα και μαλακά, τα οποία επιτρέπεται να διατίθενται στην κατανάλωση σε τέσσερις ποιότητες (Κ.Τ.Π) ανάλογα με την υγρασία και τη λιποπεριεκτικότητά τους (Scott,1981; Walter and Hagrove, 1972).

Επομένως, οι βασικές κατηγορίες των ωριμαζόντων τυριών και η περιεχόμενη υγρασία αυτών, παρουσιάζονται ως εξής :

- i. Πολύ σκληρά, με υγρασία μικρότερη του 35% (Παρμεζάνα, μυζήθρα ξηρή)
- ii. Σκληρά, με υγρασία από 30% έως 40% (Γραβιέρα, Cheddar)
- iii. Ημίσκληρα, με εύρος υγρασία 40 – 47% (Κασέρι, Roquefort, Brick)
- iv. Μαλακά, με περιεκτικότητα σε υγρασία μεγαλύτερη του 47% (Φέτα, Τελεμές, Μυζήθρα νωπή, ανθότυρος, Cottage, Ricotta)

Ωστόσο τα τυριά προς κατανάλωση, προέλευσης είτε εσωτερικού είτε εξωτερικού, μπορούν να διαχωριστούν σε πολλές ακόμα κατηγορίες. Χαρακτηριστικά παραδείγματα δίδονται στη συνέχεια.

1. Όλες οι παραπάνω κατηγορίες μπορούν να διαχωριστούν, ανάλογα με την ποιότητά τους σε **εξαιρετικής, πρώτης, δευτέρας ποιότητας** και **ημιαποβουτυρωμένα ή άπαχα τυριά**.
2. **Λιωμένα**, τα οποία είναι τα τυριά που έχουν τη σύσταση των μαλακών τυριών και παρασκευάζονται όπως αυτά, δεν υποβάλλονται ωστόσο σε ωρίμανση. Τέτοιοι τύποι τυριών για παράδειγμα είναι τα fondu, cream cheese, Neufchatel και άλλα.
3. **Ανακατεργασμένα τυριά**, που είναι προϊόντα με αλοιφώδη σύσταση, τα οποία προκύπτουν με αναθέρμανση ενός ή περισσότερων τύπων τυριών κάθε κατηγορίας. Στη μάζα που προκύπτει μπορούν να προστεθούν και άλλα τρόφιμα όπως κρέας, λαχανικά, φρούτα μέχρι ποσοστό 49%.
4. **Τριμμένα σκληρά τυριά** είναι τρίμματα ή/και κομματάκια σκληρών τυριών, που διατίθενται συσκευασμένα και πληρούν τους όρους των σκληρών τυριών. Η μεγαλύτερη συσκευασία στην οποία μπορούν να τοποθετηθούν είναι αυτή των 500 γραμμαρίων και πρέπει σε καμία περίπτωση να μην περιέχουν τη φλούδα του τυριού. Η μέγιστη εκατοστιαία περιεκτικότητα σε υγρασία για αυτήν την κατηγορία είναι 18% και η απουσία παθογόνων μικροοργανισμών αποτελεί απαραίτητη προϋπόθεση.

5. Τα τελευταία χρόνια παρασκευάζονται και **αφυδατωμένα τυριά** με υγρασία μέχρι 3% ή 1,5%. Για την κατασκευή τους χρησιμοποιούνται διάφορες τεχνικές αφυδάτωσης όπως η λυοφιλοποίηση, η ξήρανση με ψεκασμό σε κανονική πίεση ή υπό κενό, η ξήρανση με ψεκασμό με αφρό και άλλες.

Τα τυριά τυρογάλακτος, με ή χωρίς ωρίμανση, διακρίνονται επίσης σε τέσσερις ποιότητες. Για κάθε κατηγορία και ποιότητα τυριού καθορίζεται από τον Κ.Τ.Π μία μέγιστη υγρασία % και ένα ελάχιστο επί τοις % ξηράς ουσίας, για να διατίθενται στην αγορά.

Τα πιο γνωστά τυριά, οι συνθήκες ωρίμανσης και η σύστασή τους παρουσιάζονται στους πίνακες 1.12, 1.13, 1.14 και 1.15.

**Πίνακας 1.12 Είδη τυριών που ωριμάζουν με βακτήρια**

ΠΟΙΚΙΛΙΑ ΤΥΡΙΟΥ	ΧΩΡΑ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ	ΕΙΔΟΣ ΤΥΡΙΟΥ	pH	ΥΓΡΑΣΙΑ %	ΛΙΠΟΣ %	ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ %	NaCl
<b>Τυριά Γάλακτος</b>							
<b>Φέτα</b>	Ελλάδα	άλμης	4,4	52	25	20	2,5
<b>Τελεμές</b>	Ρουμανία	άλμης	4,2	54	22	18	3,0
<b>Χαλούμι</b>	Κύπρος	άλμης	6,0	42	28	25	
<b>Brindza</b>	Ρουμανία	άλμης	4,6	56	20	18	2,2
<b>Romano</b>	Ιταλία	πολύ σκληρό	5,3	34	23	35	4,6
<b>Cheddar</b>	Αγγλία	σκληρό	5,5	37	32	25	1,5
<b>Κεφαλοτύρι</b>	Ελλάδα	σκληρό	5,1	35	31	24	5,0
<b>Λαδοτύρι</b>	Ελλάδα	σκληρό	5,3	34	31	26	1,8
<b>Emmental</b>	Ελβετία	σκληρό	5,6	35	30	30	1,2
<b>Γραβιέρα</b>	Ελλάδα	σκληρό	5,0	-	-	-	-
<b>Κεφαλογραβιέρα</b>	Ελλάδα	σκληρό	5,2	36	36	31	-
<b>Provolone</b>	Ιταλία	σκληρό	5,4	42	27	25	3,0
<b>Κασέρι</b>	Ελλάδα	σκληρό	6,0	38	28	27	2,2
<b>Μετσοβόνε</b>	Ελλάδα	σκληρό	5,8	32	33	27	3,2
<b>Edam</b>	Ολλανδία	ημίσκληρο	5,7	42	24	26	2,0
<b>Gouda</b>	Ολλανδία	ημίσκληρο	5,8	40	28	26	2,0
<b>Fontina</b>	Ιταλία	ημίσκληρο	5,6	42	27	25	1,1
<b>Lancashire</b>	Αγγλία	ημίσκληρο	5,9	36	32	24	1,7

[Πηγή: Fox et al., 2004; Wong, 1988; Scott, 1986]

Πίνακας 1.13 Είδη τυριών που ωριμάζουν με μύκητες

ΠΟΙΚΙΛΙΑ ΤΥΡΙΟΥ	ΧΩΡΑ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ	pH	ΥΓΡΑΣΙΑ %	ΛΙΠΟΣ %	ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ %	NaCl
<b>Εσωτερική ανάπτυξη μυκήτων</b>						
Roquefort	Γαλλία	6,4	40	31	22	3,5
Blue cheese	Η.Π.Α.	6,5	42	29	21	4,5
Danablu	Δανία	6,2	0	28	22	3,5
Stilton	Αγγλία	5,5	42	24	18	3,0
Gorgonzola	Ιταλία	5,8	-	-	-	-
<b>Επιφανειακή ανάπτυξη μυκήτων</b>						
Camembert	Γαλλία	6,9	52	24	26	2,0
Brie	Γαλλία	6,9	49	28	20	1,9
Coulommiers	Γαλλία	6,7	53	23	22	2,0

[Πηγή: Fox et al., 2004 Wong, 1988]

Πίνακας 1.14 Είδη τυριών με επιφανειακή ανάπτυξη βακτηρίων

ΠΟΙΚΙΛΙΑ ΤΥΡΙΟΥ	ΧΩΡΑ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ	pH	ΥΓΡΑΣΙΑ %	ΛΙΠΟΣ %	ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ %	NaCl
Limburger	Βέλγιο	6,8	46	27	20	2,0
Munster	Γερμανία	6,2	43	29	23	1,8
Bel Paesa	Ιταλία	5,9	45	26	22	2,3
Port du Salut	Γαλλία	-	-	-	-	-
Tilsit	Γερμανία	5,9	42	26	25	2,6
Romadour	"	-	-	-	-	-
Brick	Η.Π.Α.	6,4	42	30	22	1,7
Κοπανιστή	Ελλάδα	5,7	48	35	12	4,5

[Πηγή: Fox et al., 2004; Wong, 1988]

Πίνακας 1.15 Είδη τυριών που δεν ωριμάζουν

ΠΟΙΚΙΛΙΑ ΤΥΡΙΟΥ	ΧΩΡΑ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ	pH	ΥΓΡΑΣΙΑ %	ΛΙΠΟΣ %	ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ %	NaCl
<b>Τυριά γάλακτος</b>						
Cottage	Η.Π.Α	5.0	80	0.4	14	1.0
Baker's	Αγγλία	4.4	74	0.2	19	1.0
Neufchatel	-	4.6	64	20	12	0.7
Cream cheese	-	4.6	54	33	10	0.7
Ymer	Δανία	4.6	72	0-3	6	<0.1
Quarg	Κεν.Ευρ.	4.5	60	0-12	15	0.7
Quesco Blanco		5.3	51	15	22	2-4
Mozzarella		5.2	56	18	22	0.7
Ricotta	Η.Π.Α.	5.9	72	12	11	<0.5
Χαλούμι	Κύπρος	6.0	42	28	25	4-5
<b>Τυριά τυρογάλακτος</b>						
Ricotta	Ιταλία	4.9	73	0.5	11	<0.5
Μυζήθρα	Ελλάδα	5.8	65-70	5-10	10-14	1.2
Μανούρι	Βαλκάνια	5.9	42-50	30-40	10-12	1.4
Ανθότυρος	Ελλάδα	5.8	65-70	20-21	10-12	1.0

[Πηγή: Davis, 1965; FAO/WHO,1972; Kosikowski and Mistry,1997., Βεϊνόγλου & Ανυφαντάκης, 1981; Scott, 1986, Μαντής,2000]

### 1.7 Σύσταση - Θρεπτική Αξία Τυριού

Από τα συστατικά του γάλακτος, αυτά που κυρίως μεταφέρονται στο τυρί είναι η πρωτεΐνη και το λίπος. Από τις πρωτεΐνες μόνο η καζεΐνη πηγαίνει στο τυρί, ενώ οι άλλες διαλυτές φεύγουν στο τυρόγαλα (Ζερφυρίδης, 2001). Το λίπος, με εξαίρεση ένα μικρό ποσοστό που απομακρύνεται στον ορό, εγκλωβίζεται στο τυρόπηγμα με αποτέλεσμα να αποτελεί συστατικό του τυριού. Από τα υπόλοιπα συστατικά του γάλακτος που είναι διαλυτά, ελάχιστη μόνο ποσότητα παραμένει μέσα στο τυρί ανάλογα με την υγρασία και τον τρόπο ωρίμανσης.

Επειδή το τυρί αποτελεί μέρος του καθημερινού σχεδόν διαιτολογίου του ανθρώπου, είναι εξαιρετικής σημασίας η κατανόηση της θρεπτικής του αξίας. Ως τρόφιμο, το τυρί είναι εύπεπτο και άριστης θρεπτικής αξίας. Είναι συμπυκνωμένο και πλούσιο σε υψηλής βιολογικής αξίας λευκώματα, τα οποία σε μεγάλο ποσοστό έχουν διασπαστεί και είναι εύκολη η πέψη τους. Περιέχει επίσης άλατα και τα περισσότερα είδη τυριών είναι

πλούσια σε ασβέστιο και φωσφόρο καθώς και σε λιποδιαλυτές βιταμίνες. Είναι φτωχό σε λακτόζη (>1 %) αλλά πλούσιο σε λίπος (>20%). Για να δοθεί μια πιο σφαιρική εικόνα της πλούσιας θρεπτικότητάς του, κρίνεται σκόπιμη η παρουσίαση του πίνακα 1.16, στον οποίο δίνεται η θρεπτική αξία του τυριού, του γάλακτος και κάποιων άλλων βασικών τροφίμων.

**Πίνακας 1.16 Θρεπτική Αξία τυριού σε σύγκριση με άλλα βασικά τρόφιμα**

Τρόφιμο 100 g					
	Τυρί Σκληρό	Γάλα πλήρες	Αυγά	Κρέας βοδινό	Ψάρια, σαρδέλες
Ενέργεια, kcal	412	65	147	180	180
Πρωτεΐνες, g	25,4	3,3	12,3	18,1	19,0
Λίπος, g	34,5	3,5	10,9	11,0	11,0
Υδατάνθρακες, g	0	4,8	0	0	0
Νερό, g	37	88	75	64	61
Ασβέστιο, mg	810	120	54	7	410
Σίδηρος, mg	0,6	0,1	2,1	1,9	2,1
Βιταμίνες					
A, μg	420	37	140	0	30
B1,mg	0,04	0,04	0,09	0,06	0,04
B2,mg	0,5	0,15	0,47	0,19	0,36
C,mg	0	1	0	0	0
D, μg	0,35	0,01	1,5	0	7

[Πηγή: Ζερφυρίδης Γ. Κ., 1998]

Η θρεπτική αξία ενός σκληρού τυριού, όπως αποτυπώνεται και στον παραπάνω πίνακα, συγκρινόμενη με άλλα σημαντικά τρόφιμα φαίνεται να υπερτερεί από τα αυγά, το κρέας και τα ψάρια ως προς τις πρωτεΐνες, το ασβέστιο, τη βιταμίνη A και τη ριβοφλαβίνη B<sub>2</sub>, αλλά υστερεί ως προς το σίδηρο και τη βιταμίνη D. Πολλά είδη τυριών, κυρίως μαλακών με λεπτές γεύσεις και λόγω της υψηλής διατροφικής τους αξίας και πεπτικότητας γενικά των πρωτεϊνών τους, μπορούν να χρησιμοποιηθούν και στο διαιτολόγια μωρών, όμως μετά το δεύτερο έτος της ηλικίας τους.

Επιπλέον στο τυρί επιτρέπεται η χρήση ορισμένων ουσιών, οι οποίες προβλέπονται από τη μέθοδο παρασκευής κάθε τύπου, όπως για παράδειγμα :

- i. Οι αβλαβείς φυσικές χρωστικές safran, kourkoumās, karoténio και annatto.
- ii. Καθαρές καλλιέργειες βακτηρίων ή ευρωτομυκήτων, με τις οποίες αναπτύσσονται οι διάφορες οργανοληπτικές ιδιότητες των τυριών κατά την ωρίμανσή τους.
- iii. Η χλωροφύλλη, η οποία επιτρέπεται να προστίθεται μόνο στο αγελαδινό γάλα το οποίο προορίζεται για τυροκομία.

Κρίνεται σκόπιμο στο σημείο αυτό να αποτυπωθεί η θρεπτική αξία των μαλακών τυριών σε σύγκριση με τα σκληρά. Για το λόγο αυτό, δίνεται ο παρακάτω πίνακας στον οποίο καταγράφονται τα κύρια θρεπτικά συστατικά του σημαντικότερου εκπροσώπου των μαλακών τυριών, της Φέτας και του αντίστοιχου των σκληρών, το Κεφαλοτύρι. Στον ίδιο πίνακα καταγράφονται, επίσης, και οι διατροφικές ανάγκες ενός μέτρια εργαζόμενου ενήλικα άντρα για το σχηματισμό μιας πιο ολοκληρωμένης εικόνας περί των θρεπτικών συστατικών.

**Πίνακας 1.17 Κύρια θρεπτικά συστατικά σε εκατό γραμμάρια τυρί και ποσοστά κάλυψης των ημερήσιων αναγκών ενός ενήλικα άντρα.**

Θρεπτικό συστατικό	Μαλακό τυρί (Φέτα)	Σκληρό τυρί (Κεφαλοτύρι)	Ημερήσιες Ανάγκες	%Κάλυψη ημερήσιων αναγκών	
				Φέτα	Κεφαλοτύρι
Λίπος, g	21	34	-	-	-
Πρωτεΐνες, g	17	25	55	31	45
Ενέργεια, kcal	250	412	3000	8	14
Ασβέστιο, mg	490	810	800	61	101
Βιταμίνη Α, μg	250	420	750	33	56
Βιταμίνη D, μg	0,3	0,5	10	3	5
Βιταμίνη Β <sub>2</sub> , mg	0,75	0,5	1,8	41	28

[Πηγή: Ζερφυρίδης, 1989]

Όπως φαίνεται από τα παραπάνω, τα σκληρά τυριά, επειδή έχουν περισσότερη ξηρή ουσία ανά 100 g τυριού καλύπτουν μεγαλύτερο ποσοστό ημερησίων αναγκών από ότι τα μαλακά τυριά.

### 1.8 Παγκόσμια - Ευρωπαϊκή Τυροκομία

Παγκοσμίως υπάρχει μια τεράστια ποικιλία από τυριά που παράγονται κατά κύριο λόγο από τις ίδιες πρώτες ύλες, όπως είναι συνήθως το βοδινό, γίδινο, πρόβειο, βουβαλίσιο ή και συνδυασμός αυτών, οξυγαλακτικά βακτήρια (LAB), πυτιά και χλωριούχο νάτριο (NaCl). Πράγματι, όπως έχει ειπωθεί άλλωστε *‘υπάρχει ένα τυρί για κάθε γευστική προτίμηση και μία γευστική προτίμηση για κάθε τυρί’* (Olson, 1990).

Η παραγωγή τυριού έχει μεγάλη ιστορία, η οποία αντανακλάται και στη μεγάλη ποικιλία των τεχνολογικών μέσων που κατασκευάζονται για την παραγωγή του. Η ιδέα προστασίας και διατήρησης της παραδοσιακής ποικιλότητας των τροφίμων, συμπεριλαμβανομένου και του τυριού, ξεκίνησε στο συνέδριο του Παρισιού το 1883,

όπου εισήχθη ο όρος Appellation d' Origine Contrôlée (AOC) (Ελεγχόμενης Προέλευσης), ώστε να είναι δυνατή η αναγνώριση της ιδιαίτερης κληρονομιάς τροφίμων από συγκεκριμένες περιοχές, εξασφαλίζοντας ταυτόχρονα και την αυθεντικότητα των προϊόντων (Bertozzi and Panarri, 1993). Αυτή η έννοια έγινε ευρύτατα γνωστή στην Ευρώπη και αντικαταστάθηκε από το ευρωπαϊκό σχέδιο : Protected Designations of Origin – PDO (Προστατευόμενη Ονομασία Προέλευσης), το οποίο όπως καταγράφεται και στη συνέχεια, αναφέρεται σε προϊόντα τα οποία παράγονται σε συγκεκριμένη γεωγραφική περιοχή, χρησιμοποιώντας την ενδεδειγμένη τεχνολογία. Τα αναγνωρισμένα τυριά ως PDO προστατεύονται από την Ευρωπαϊκή Ένωση υπό διάφορες διεθνείς συμφωνίες. Τα τρόφιμα που επισημαίνονται ως (PGI) Protected Geographical Indication (Προστατευόμενης Γεωγραφικής Ένδειξης) συνδέονται με συγκεκριμένη γεωγραφική περιοχή κατά τη διάρκεια ενός σταδίου της παραγωγής τους, είτε προετοιμασίας είτε διαδικαστικό. Πολλά από τα τυριά που έχουν καταχωρηθεί ως PDO και PGI, δίδονται στον πίνακα 1.18.

**Πίνακας 1.18 Ποικιλίες τυριών**

<b>Χώρα</b>	<b>Ποικιλία</b>
<b>Βέλγιο</b>	Fromage de Herve
<b>Γαλλία</b>	Camembert de Normandie, Chabichou du Poitou, Chaource, Comte, Crottin de Chavignol ou Chavignol, Emmental de Savoie*, Emmental francais est-central*, Epoisses de Bourgogne, Fourme d'Ambert ou fourme de Montbrison, Laguiole, Langres, Livarot, Maroilles ou Marolles, Mont d'Or ou vacherin du Haut-Doubs, Munster ou Munster-Gerome, Morbier, Neufchatel, Ossau-Iraty, Pelardon, Picodon de l' Ardeche ou picodon de la Drome, Pont-l' Eveque, Pouligny-Saint-Pierre. Reblochon ou eblchon de Savoie, Rocamadour, Roquefort, Saint-Nectaire, Sainte-Maure de Touraine, Salers, Selles-sur-Cher*, Tomme de Savoie, Tomme des Pyrenes*
<b>Γερμανία</b>	Allgauer Bergkase, Allgauer Emmentaler, Altenburger Ziegenkase, Odenwalder, Fruhstuckskase
<b>Δανία</b>	Danablu*, Esrom*
<b>Ελλάδα</b>	Γαλοτύρι, Κατίκι Δομοκού, Πηχτόγαλο Χανίων, Ανεβατό, Κοπανιστή, Φέτα, Καλαθάκι Λήμνου, Μανούρι, Ξινομυζήθρα Κρήτης, Σφέλα, Μπάτζος, Κασέρι, Φορμαέλλα Αράχωβας Παρνασσού, Κεφαλογραβιέρα, Γραβιέρα Αγράφων, Γραβιέρα Κρήτης, Γραβιέρα Νάξου, Λαδοτύρι Μυτιλήνης, Σαν Μιχάλη, Μετσοβόνη

<b>Ισπανία</b>	Cabrales, Idiazabal, Mahon, Picon Bejes-Tresviso, Queso de Cantabria, Queso de l'Alt Urgell y la Cerdanya, Queso de La Serena, Queso de Murcia, Queso de Murcia al vino, Queso Majorero, Queso Manchego, Queso Palmero o Queso de la Palma, Queso Tetilla, Queso I. imorano, Quesucos de Liebana, Roncal, Torta del Casar
<b>Ιρλανδία</b>	Imokilly Regato
<b>Ιταλία</b>	Asiago, Bitto, Bra, Caciocavallo Silano, Canestrato Pugliese, Casciotta d'Urbino, Castelmagno, Fiore Sardo, Fontina, Formai de Mut Dell'alta Valle Brembana, Gorgonzola, Grana Padano, Montasio, Monte Veronese, Mozzarella di Bufala Campana, Murazzano, Parmigiano Reggiano, Pecorino Romano, Pecorino Sardo, Pecorino Siciliano, Pecorino Toscano, Provolone Valpadana, Quartirolo Lombardo, Ragusano, Raschera, Robiola di Roccaverano, Taleggio, Toma Piemontese, Valle d'Aosta Fromadzo, Valtellina Casera
<b>Ολλανδία</b>	Booren-Leidse met sleutels, Kanterkaas, Kanternagelkaas, Kanterkimijnekaas, Noord-Hollandse Edammer, Noord-Hollandse Gouda
<b>Αυστρία</b>	Gailtaler Almkase, Tiroler AlmkaselTiroler Alpkase, Tiroler Bergkase, Tiroler Graukase, V orarlberger Alpkase, Vorarlberger Bergkase
<b>Πορτογαλία</b>	Queijo de Azeitao, Queijo de Cabra Transmontano, Queijo de Evora, Queijo de Nisa, Queijo do Pico, Queijo Mestico de Tolosa*, Queijo Rabacal, Queijo Sao J orge, Queijo Serpa, Queijo Serra da Estre!a, Queijo Terrincho, Queijos da Beira Baixa (Queijo de Castelo Branco, Queijo Amarelo da Beira Baixa, Queijo Picante da Beira Baixa)
<b>Σουηδία</b>	Svecia*
<b>Ηνωμένο Βασίλειο</b>	Beacon Fell traditional / Lancashire cheese*, Bonchester cheese, Buxton Blue, Dorset Blue cheese*, Dovedale cheese, Exmoor Blue cheese*, Single Gloucester, Swaledale cheese, Swaledale ewes' cheese, Teviotdale cheese*, West Country farmhouse Cheddar cheese, White Stilton cheese, Blue Stilton cheese. <u>Ιρλανδία:</u> Imokilly Regato

[Πηγή: Patrick F. Fox et al., 2004]

\*Επισήμανση ως PGI

Ωστόσο, πολλές από αυτές τις ποικιλίες τυριών είναι παρόμοιες και θα μπορούσαν να αναφέρονται ως παραλλαγές παρά ως ξεχωριστές ποικιλίες. Οι Walter και Hargrove (1972) υπέδειξαν συνολικά δεκαοχτώ διακριτές ποικιλίες τυριών, η καθεμιά από τις οποίες παρασκευάζονται με διαφορετική μέθοδο. Παραδείγματος χάρη, διαφέρουν ως προς την προετοιμασία του γάλακτος, τη διαίρεση του πήγματος, την ανάδευση, τη θέρμανση, την ξήρανση, την ασκούμενη πίεση, και το αλάτισμα του πήγματος ή την ωρίμανση του τυριού. Οι ποικιλίες αυτές, λοιπόν, όπως προτάθηκαν από τους



προαναφερθέντες είναι οι εξής : Άλμης, Camembert, Cheddar, Cottage, Κρεμώδη τυριά, Edam, Gouda, Hand, Limburger, Neufchatel, Parmesan, Provolone, Romano, Roquefort, Sapsago, Swiss, Trappist και τυριά τυρογάλακτος (Fox et al., 2004).

## 1.9 Ελληνική Τυροκομία

### 1.9.1 Εισαγωγή

Υπολογίζεται ότι το 75% περίπου της γαλακτοπαραγωγής στη χώρα μας μεταφέρεται στις γαλακτοβιομηχανίες για επεξεργασία, ενώ το υπόλοιπο χρησιμοποιείται από τους ίδιους τους παραγωγούς για αυτοκατανάλωση, ή για παραγωγή διάφορων προϊόντων. Από τα διάφορα είδη γάλακτος, το αγελαδινό γάλα χρησιμοποιείται για παραγωγή τυριού, σε ποσοστό μικρότερο του 40%, σε αντίθεση με το πρόβειο και το κατσικίσιο που χρησιμοποιούνται σε αρκετά μεγαλύτερο ποσοστό, περίπου 90%. Τα παραπάνω δεδομένα οδηγούν στο συμπέρασμα ότι τα ελληνικά τυριά παράγονται ως επί το πλείστον από αιγοπρόβειο γάλα, ενώ η συμμετοχή του αγελαδινού στον τομέα αυτό υστερεί. Αντιθέτως το αγελαδινό χρησιμοποιείται κυρίως για εμφιάλωση και παραγωγή γιαούρτης.

Σύμφωνα με το Υπουργείο Παραγωγικής Ανασυγκρότησης Περιβάλλοντος και Ενέργειας, και τις δηλώσεις ισοζυγίων γάλακτος, οι παραγόμενες ποσότητες τυριών ανά περιφέρεια για το ενδεικτικό έτος 2013 παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 1.19).

**Πίνακας 1.19 Παραγόμενες ποσότητες τυριών ανά περιφέρεια για το 2013**

Περιφέρεια	Σκληρά- Ημισκληρα	Μαλακά	Τυριά Τυρογάλακτος
Αττική	1.660.827	2.354.206	227.257
Βόρειο Αιγαίο	1.904.948	3.648.451	559.302
Δυτική Ελλάδα	4.031.766	13.817.947	2.526.446
Ήπειρος	3.333.279	18.603.963	2.435.957
Θεσσαλία	9.559.400	46.959.410	8.328.558
Ιόνιοι νήσοι	156.475	1.182.466	142.744
Κρήτη	4.605.241	1.446.119	2.480.837
Μακεδονία Ανατολική & Θράκη	391.631	3.395.181	413.380
Μακεδονία Δυτική	572.954	1.980.928	195.066
Μακεδονία Κεντρική	5.790.225	24.541.228	2.286.684
Νότιο Αιγαίο	1.427.115	109.829	54.360
Πελοπόννησος	1.822.852	8.549.211	2.216.912

<b>Στερεά Ελλάδα</b>	337.444	3.350.957	304.584
<b>Σύνολο</b>	35.594.156	129.939.896	22.172.087

[Πηγή: ΕΛΟΓΑΚ]

Σύμφωνα με τον παραπάνω πίνακα, γίνεται αντιληπτό πως η μεγαλύτερη παραγωγή των κατηγοριών τυριών που παρουσιάζονται στον πίνακα στην Ελλάδα, λαμβάνει χώρα στη Θεσσαλία, και μάλιστα με αισθητή διαφορά από την δεύτερη παράγουσα περιφέρεια.

### 1.9.2 Παραδοσιακά Τυριά Ελλάδος

Σύμφωνα με το διεθνές νομικό πλαίσιο για την κατοχύρωση και προστασία των παραδοσιακών προϊόντων, τα κατοχυρωμένα τυριά Π.Ο.Π (Προστατευόμενη Ονομασία Προέλευσης) από την Ελλάδα είναι αυτά που εμφανίζονται στον Πίνακα 1.20. Στον ίδιο πίνακα εμφανίζονται επιπλέον το είδος γάλακτος από το οποίο προέρχονται, η μέγιστη περιεχόμενη υγρασία (%), η ελάχιστη περιεκτικότητά τους σε λιπαρά επί ξηρής μάζας (%) και ο Κωδικός σήμανσής τους.

**Πίνακας 1.20 Κατάλογος προϊόντων προστατευόμενης ονομασίας προέλευσης (ΠΟΠ) & προστατευόμενης γεωγραφικής ένδειξης (ΠΓΕ) στα πλαίσια του Καν. (ΕΟΚ) αριθ. 510/06 του Συμβουλίου**

Ονομασία τυριού	Είδος γάλακτος	Μέγιστη Υγρασία (%)	Ελάχιστο Λ/Ξ (%)	Κωδικός Σήμανσης
<b>Τυριά άλμης</b>				
<b>Φέτα</b>	Π-Γ	56	43	ΦΕ
<b>Καλαθάκι Λήμνου</b>	Π-Γ	56	43	ΚΑΛ-ΛΗ
<b>Σφέλλα</b>	Π-Γ	45	40	ΣΦΕ
<b>Μπάτζος</b>	Π-Γ	45	25	ΜΠΑΤΖ
<b>Μαλακά – Αλοιφώμενα τυριά</b>				
<b>Γαλοτύρι</b>	Π-Γ	75	40	ΓΑ
<b>Κατίκι Δομοκού</b>	Π-Γ	75	40	ΚΑ-ΔΟ
<b>Πηχτόγαλο Χανίων</b>	Π-Γ	65	50	ΠΗΧ
<b>Ανεβατό</b>	Π-Γ	60	45	ΑΝΕΒΟ

Κοπανιστή	Π-Γ-Α	56	43	ΚΟΠ
Ξύγαλο Σητείας	Γ-Π	75	33	Χ
Πηχτόγαλο Χανίων	Γ-Π			
<b>Ημίσκληρα τυριά</b>				
Κασέρι	Π-Γ	40	40	ΚΑ
<b>Σκληρά τυριά</b>				
Κεφαλογραβιέρα	Π-Γ	40	40	ΚΓ
Γραβιέρα Αγράφων	Π-Γ	38	40	ΓΡ-ΑΓΡ
Γραβιέρα Κρήτης	Π-Γ	38	40	ΓΡ-ΚΡ
Γραβιέρα Νάξου	Α	38	40	ΓΡΑΝ
Λαδοτύρι Μυτιλήνης	Π-Γ	38	40	ΛΑΜΥ
Μετσοβόνη	Α/Α-Π-Γ	38	40	ΜΕΤΣ
Σαν Μιχάλη	Α	40	36	ΣΑΝΜΙ
Φορμαέλλα Αράχοβας Παρνασσού	Π-Γ	50	40	ΦΟΡ
<b>Τυριά τυρογάλακτος</b>				
Μανούρι	Π-Γ	60	70	ΜΑ
Ξινομυζήθρα Κρήτης	Π-Γ	55	45	ΞΥ-ΚΡ

\* Α = αγελαδινό, Π = πρόβειο, Γ = γίδινο

[Πηγή: Ανυφαντάκης, Ε.Μ,1995

Κώδικας Τροφίμων και Ποτών

European Commission]

Για την κατανόηση του όρου ΠΟΠ (Εικόνα 1.2), κρίνεται σκόπιμο να δοθεί ο ορισμός σύμφωνα με τον Κώδικα Τροφίμων και Ποτών. Ως «**Προστατευόμενη Ονομασία Προέλευσης – ΠΟΠ**» νοείται το όνομα μιας περιοχής, ενός συγκεκριμένου τόπου ή σε εξαιρετικές περιπτώσεις μιας χώρας, το οποίο χρησιμοποιείται στην περιγραφή ενός γεωργικού προϊόντος ή ενός τροφίμου που κατάγεται από αυτήν την περιοχή, το συγκεκριμένο τόπο ή τη χώρα, και του οποίου η ποιότητα ή τα χαρακτηριστικά οφείλονται

κυρίως ή αποκλειστικά στο γεωγραφικό περιβάλλον, που περιλαμβάνει τους φυσικούς και ανθρώπινους παράγοντες και του οποίου η παραγωγή, η μεταποίηση και η επεξεργασία λαμβάνουν χώρα στην οριοθετημένη γεωγραφική περιοχή.



**Εικόνα 1.2 Σύμβολο της προστατευόμενης ονομασίας προέλευσης - ΠΟΠ**

Στο σημείο αυτό, πρέπει να σημειωθεί ότι, στη χώρα μας το 1994 κατοχυρώθηκαν 25 ελληνικά παραδοσιακά τυριά με υπουργική απόφαση, ωστόσο όταν οι φάκελοι των τυριών αυτών προωθήθηκαν στην Ευρωπαϊκή Ένωση για αναγνώριση ως ΠΟΠ πέντε από αυτά, λόγω ελλειπών στοιχείων δεν αναγνωρίστηκαν από τον Κανονισμό 1017/96/ΕΕ. Τα τυριά αυτά είναι το Κεφαλοτύρι, ο Τελεμές, το Ανθότυρο, η Μυζήθρα και το Βικτωρία Θεσσαλονίκης. Παρακάτω δίνεται πίνακας με τις πληροφορίες αυτών των τυριών.

**Πίνακας 1.21 Κατάλογος τυριών μη κατοχυρωμένα ως ΠΟΠ**

Ονομασία τυριού	Είδος Τυριού	Είδος γάλακτος	Μέγιστη Υγρασία (%)	Ελάχιστο Λ/Ξ (%)	Κωδικός Σήμανσης
Κεφαλοτύρι	Σκληρό	Π-Γ	38	40	ΦΕ
Τελεμές	Μαλακό	Α-Π-Γ	56	43	ΤΕΛ
Ανθότυρο	Τυρί Τυρογάλακτος	Π-Γ	70	65	ΑΝ
Μυζήθρα	Τυρογάλακτος	Α-Π-Γ	70	50	ΜΥ
Βικτωρία Θεσσαλονίκης	Ημίσκληρο	Α	45	40	ΒΙ

Από όλα αυτά τα τυριά, τόσο του πίνακα 2.15, όσο και του πίνακα 2.16, το μεγαλύτερο ενδιαφέρον σε εθνικό και διεθνές επίπεδο παρουσιάζει η Φέτα, γι' αυτό και ήταν δύσκολη η αναγνώρισή της ως ΠΟΠ από την Ευρωπαϊκή Ένωση, αλλά και συνεχίζει να βάλλεται με προσφυγές στο ευρωπαϊκό δικαστήριο για άρση της αναγνώρισης. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι διάφορες χώρες της ΕΕ έχουν ιστορία πολλών ετών παραγωγής λευκού τυριού άλμης με την ονομασία Φέτα (Ζερφυρίδης, 2001). Τελευταία κατοχύρωση του ονόματός της πραγματοποιήθηκε στις 15/10/2002, ύστερα από προσφυγή της Δανίας και της Γερμανίας κατά του κανονισμού και μέχρι σήμερα συνεχίζει να αποτελεί ΠΟΠ

προϊόν της Ελλάδος [European Commission], παρά και την τελευταία απορριφθείσα προσφυγή των χωρών αυτών το 2005.



**Εικόνα 1.3 Μάχη για την κατοχύρωση της Φέτας ως ΠΟΠ Ελληνικό προϊόν**

Υπάρχει, επομένως, ένας σημαντικός αριθμός παραδοσιακών τυριών της Ελλάδας που έχουν εγγραφεί στα μητρώα της Ευρωπαϊκής Ένωσης και αποτελούν μονοπώλιο των Ελλήνων τυροκόμων και κτηνοτρόφων των περιοχών που ορίζει ο Κανονισμός ότι παράγονται αυτά (Ανυφαντάκης, 2004).

### **1.10 Τυριά σε Άλμη**

Τα τυριά άλμης (*brine cheeses* ή *pickled cheeses*) είναι από τις πιο παλιές ποικιλίες τυριών, προερχόμενα από τη Μέση Ανατολή και τη Μεσόγειο πριν από 8000 χρόνια. Ακόμη και σήμερα, στις περιοχές αυτές η παρασκευή και εμπορία τέτοιων τυριών παραμένει σε αρκετά υψηλά ποσοστά, κατατάσσοντας τα τυριά άλμης περίπου στο 6% της παγκόσμιας παραγωγής τυριού (Tamime, 2006). Ως τυριά άλμης χαρακτηρίζονται τα μαλακά τυριά που ωριμάζουν και διατηρούνται μέσα σε άλμη. Ανάλογα με τη χώρα προέλευσής τους φέρουν και διαφορετικά ονόματα (Πίνακας 1.22). Τυρί άσπρο που μπορεί να διατηρηθεί στην άλμη είναι και το Domiati της Αιγύπτου. Φημολογείται, τέλος, ότι τα τυριά άλμης, καταναλώνονται κυρίως σε περιοχές που το κλίμα είναι ζεστό, ώστε η περίσσεια αλατιού που περιέχουν να αναπληρώνει την απώλεια αλάτων του ανθρώπινου οργανισμού όταν ιδρώνει.

**Πίνακας 1.22 Πίνακας λευκών τυριών άλμης σε διάφορες χώρες**

<b>Χώρα Προέλευσης</b>	<b>Ονομασία</b>
<b>Αίγυπτος</b>	Beda, Kariesch
<b>Βουλγαρία</b>	Bjalo salamureno sirene ('feta'), Telemea bulgarsca
<b>Ελλάδα</b>	Φέτα, Τελεμές
<b>Ισραήλ</b>	Djibne
<b>Ρουμανία</b>	Telemea sarata (brinsa de Braila)
<b>Συρία</b>	Sirena
<b>Τουρκία</b>	Beyaz peynir, Teleme

### 1.10.1 Φέτα

Η Φέτα, και τα τυριά «τύπου Φέτας», τα οποία παράγονται στην Ελλάδα και γενικότερα στις Ευρωπαϊκές χώρες, είναι πιθανότατα οι κυριότεροι αντιπρόσωποι των τυριών άλμης και έχουν τη μεγαλύτερη παραγωγή. Ενώ, όπως παρουσιάστηκε σε προηγούμενη παράγραφο, η Φέτα (Εικόνα 1.4) είναι κατοχυρωμένο ως τυρί Π.Ο.Π (Προστατευόμενη Ονομασία Προέλευσης) της Ελλάδας το οποίο κατασκευάζεται από αιγοπρόβειο/πρόβειο γάλα, άλλες ποικιλίες τυριών «τύπου» Φέτας παράγονται στη Γερμανία και στη Δανία και από αγελαδινό γάλα. Τα τυριά αυτά υστερούν ποιοτικά της φέτας και δεν πρέπει να ονομάζονται Φέτα.

**Εικόνα 1.4 Παραδοσιακή Φέτα**

### **Φέτα Π.Ο.Π**

Οι προδιαγραφές καταχώρισης της Φέτας υπαγορεύονται από την Υπουργική Απόφαση 313025/11.01.1994 (ΦΕΚ 8B). Σύμφωνα με αυτήν, το γάλα που χρησιμοποιείται για την παρασκευή της Φέτας προέρχεται αποκλειστικά από τις περιοχές Μακεδονίας, Θράκης, Ηπείρου, Θεσσαλίας, Στερεάς Ελλάδας, Πελοποννήσου και το νομό Λέσβου και από φυλές αιγοπροβάτων παραδοσιακά εκτρεφόμενες και προσαρμοσμένες στην περιοχή παρασκευής της. Πρόκειται για γάλα πρόβειο ή μίγμα αυτού με γίδινο σε μέγιστο ποσοστό 30%, νωπό ή παστεριωμένο και με συγκεκριμένα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά, όπως ελάχιστη λιποπεριεκτικότητα 6% κ.β. και ελάχιστο pH 6,5.

Η Υπουργική Απόφαση για τη Φέτα υπαγορεύει αυστηρά την πήξη του γάλακτος εντός 48 ωρών από την άμελξή του, ενώ απαγορεύει ρητά τη συμπύκνωσή του, καθώς και την προσθήκη σκόνης ή συμπυκνώματος ή πρωτεϊνών γάλακτος, καζεϊνικών αλάτων, χρωστικών και συντηρητικών ουσιών σε αυτό. Για την πήξη του γάλακτος επιτρέπεται η προσθήκη παραδοσιακής πυτιάς ή άλλων ενζύμων με ανάλογη δράση. Στο παστεριωμένο γάλα είναι δυνατό να προστεθούν αβλαβείς οξυγαλακτικές καλλιέργειες ή χλωριούχο ασβέστιο σε μέγιστη συγκέντρωση 20 g/100 kg γάλακτος.

Η παρασκευή της Φέτας περιγράφεται συνοπτικά ως εξής: Μετά την πήξη του γάλακτος, το τυρόπηγμα τοποθετείται σε καλούπια για φυσική στράγγιση, χωρίς πίεση. Κατά τη διάρκεια της φυσικής στράγγισης και όταν στερεοποιηθεί το τυρόπηγμα, υποβάλλεται σε επιφανειακό ξηρό αλάτισμα. Σε αυτό το στάδιο, αναπτύσσεται στην επιφάνεια του τυροπήγατος άφθονη μικροχλωρίδα, η οποία συμβάλλει σημαντικά στην ωρίμανση του προϊόντος και στην απόκτηση των ιδιαίτερων οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του. Στη συνέχεια, το τυρόπηγμα τοποθετείται σε ξύλινους ή μεταλλικούς υποδοχείς και προστίθεται άλμη. Η ωρίμανση του τυριού λαμβάνει χώρα σε δύο στάδια. Το πρώτο, το οποίο διαρκεί μέχρι 15 ημέρες, γίνεται σε συνθήκες μέγιστης θερμοκρασίας 18°C και ελάχιστης σχετικής υγρασίας 85%. Στη συνέχεια και έως τη συμπλήρωση 2 μηνών, το τυρί ωριμάζει σε ψυκτικές εγκαταστάσεις θερμοκρασίας 2-4°C και ελάχιστης σχετικής υγρασίας 85%. Η ωρίμανση του προϊόντος γίνεται σε εγκαταστάσεις εντός της οριοθετημένης γεωγραφικής ζώνης.

Προκειμένου να διασφαλιστεί η αναγνωρισιμότητα του προϊόντος, αλλά και η δυνατότητα ιχνηλασιμότητάς του από ελεγκτικούς φορείς, η ίδια υπουργική απόφαση καθιστά υποχρεωτική την αναγραφή συγκεκριμένων ορισμών και συμβόλων. Επομένως, σύμφωνα με τον Ελληνικό Κ.Τ.Π, στα μέσα συσκευασίας που περιέχουν την Φέτα αναγράφονται υποχρεωτικά οι εξής ενδείξεις :

1. «ΦΕΤΑ» (FETA).
2. Προστατευόμενη ονομασία προέλευσης (ΠΟΠ).
3. Τυρί.
4. Η επωνυμία και η έδρα του παραγωγού – συσκευαστή.

5. Το βάρος του περιεχομένου.
6. Η ημερομηνία παραγωγής.
7. Στοιχεία ελέγχου, όπως τα αρχικά της ονομασίας ,ΦΕ, ο αύξοντας αριθμός του μέσου συσκευασίας και η ημερομηνία παραγωγής.

Η χαρακτηριστική σύσταση της φέτας παρουσιάζεται στον πίνακα 1.23.

**Πίνακας 1.23 Σύσταση Φέτας από πρόβειο γάλα**

Συστατικά	Γάλα	Τυρόγαλα	Τυρί	
			65 ημερών	125 ημερών
Υγρασία (%)	82.03	92.13	55.01	51.6
Λακτόζη(%)	4.86	5.33	0.75	-
Λίπος(%)	6.73	0.39	23.66	25.60
Λεύκωμα Ολικό (%)	5.45	1.61	19.99	20.52
Καζεΐνη(%)	4.60	-	16.24	16.34
Υδατοδιαλυτό Λεύκωμα(%)	1.39	1.61	3.75	4.18
CaO(%)	0.26	0.07	-	0.70
Συντελεστής ωρίμανσης	-	-	23.36	23.74
NaCl(%)	-	-	2.8	2.74

[Πηγή: Βεινόγλου, 1981]

Κρίνεται σκόπιμο, καθώς η Φέτα αποτελεί τη βάση της παρούσας εργασίας και δεδομένης της εξαιρετικά μεγάλης αποδοχής της, να δοθούν αναλυτικά τα στάδια παρασκευής της από την παραλαβή του γάλακτος έως το τελικό στάδιο της συσκευασίας του προϊόντος.

#### **1.10.1.1 Προετοιμασία του γάλακτος**

Παλιότερα το τυρί δημιουργούσε οξύτητα από την ήδη υπάρχουσα στο γάλα μικροχλωρίδα αλλά και από μικροοργανισμούς που αποκτούσε από το περιβάλλον (σκεύη, εργαλεία). Αυτού του είδους οι μικροχλωρίδες όμως, είναι ανεξέλεγκτες και μπορούν να δημιουργήσουν αλλοιώσεις τόσο στο τυρόπηγμα όσο και στο τελικό προϊόν καθιστώντας το σε ακραίες περιπτώσεις ακόμη και επικίνδυνο για κατανάλωση. Για το

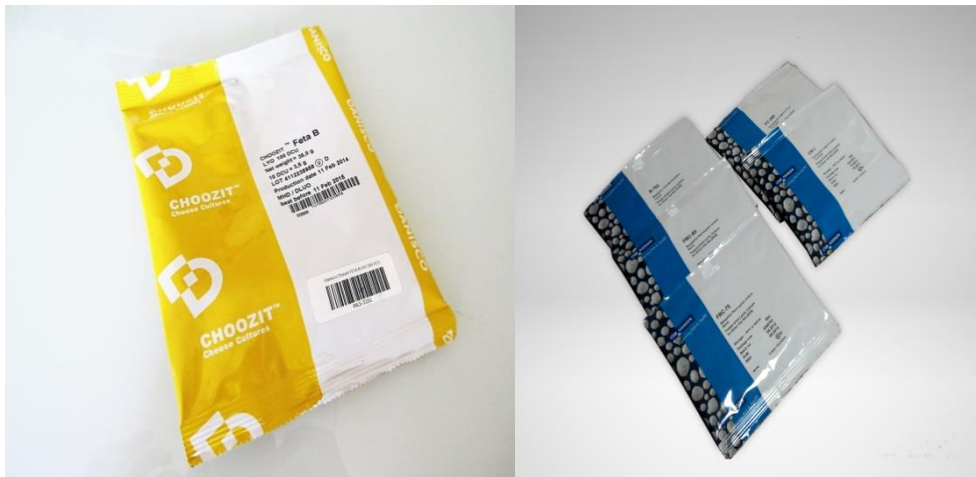


λόγο αυτό, το προς τυροκόμηση γάλα πρέπει να παστεριώνεται και να φυλάσσεται το εγκεκριμένο, σύμφωνα με τον κανονισμό του Κ.Π.Τ, χρονικό διάστημα σε κατάλληλες συνθήκες. Τέλος, όταν καθίσταται απαραίτητο, πραγματοποιείται προσθήκη χλωριούχου ασβεστίου μέσα στα ενδεδειγμένα όρια.

#### **1.10.1.2 Προσθήκη καλλιέργειας**

Για πολλούς η επιλογή σωστής καλλιέργειας προεξοφλεί το 90% της επιτυχίας του τυριού. Ωστόσο μεγίστης σημασίας είναι και η εξασφάλιση των κατάλληλων συνθηκών που θα τη βοηθήσουν να αναπτυχθεί και να δώσει συγκεκριμένο ρυθμό αύξησης της οξύτητας στο γάλα και στο τυρόπηγμα ώστε η καλλιέργεια να εκπληρώσει το σκοπό της. Για την επίτευξη του επιθυμητού ρυθμού οξύτητας λαμβάνονται υπόψη τρεις παράγοντες, η ποσότητα της καλλιέργειας, η ζωτικότητα της και η ωρίμανση του γάλακτος με αυτήν.

Η καλλιέργεια Φέτας (Εικόνα 1.5) και γενικά των λευκών τυριών άλμης πρέπει να έχει τόσο θερμοφιλά όσο και μεσόφιλα βακτήρια, καθώς η Φέτα ωριμάζει στα πρώτα στάδια στους 18°C όπου τα θερμοφιλά βακτήρια έχουν περιορισμένη δράση. Τα οξυγαλακτικά βακτήρια που προστίθενται στην Φέτα, είναι συνήθως συνδυασμός καλλιεργειών που δίνουν το καλύτερο δυνατό αποτέλεσμα. Οι πιο διαδεμένες καλλιέργειες αποτελούν μίγμα μεσόφιλων *Lactococcus lactis subsp. lactis* και *Lactococcus lactis subsp. cremoris* ή/και μίγμα θερμοφίλων *Streptococcus thermophilus* και *Lactobacillus bulgaricus* σε μορφή πηγμένου γάλακτος και σε ποσοστό 1-15%.



**Εικόνα 1.5 Δείγματα εμπορικών καλλιεργειών για την παραγωγή Φέτας (Danisco, Hansen)**

Παρ' όλα αυτά, πολλά τυροκομεία προτιμούν τη χρήση γιαούρτης αντί της καθαρής καλλιέργειας σε μια αναλογία 0,3-0,5%, όχι μόνο επειδή δίνει καλά αποτελέσματα αλλά

γιατί η προετοιμασία και η διατήρησή της είναι ευκολότερη. Ωστόσο η χρήση γιαούρτης κρύβει κινδύνους, καθώς με τις ανακαλλιέργειες της γιαούρτης το συνηθέστερο είναι να μειώνεται ο πληθυσμός του *Str. thermophilus* και να αυξάνεται ο πληθυσμός του *L. bulgaricus* με αποτέλεσμα να μεταβάλλεται η αρχική αναλογία (1:1) των δύο αυτών μικροοργανισμών και κατ' ακολουθία η συμπεριφορά της καλλιέργειας.

#### **1.10.1.3 Πήξη του γάλακτος**

Η πήξη του γάλακτος πραγματοποιείται με τη χρήση πυτιάς (Εικόνα 1.6). Προκειμένου το πήγμα να είναι σφιχτό ώστε να αποφευχθούν απώλειες κατά την τυροκόμηση, πρέπει να είναι γνωστή η οξύτητα του γάλακτος ώστε να είναι δυνατή η ρύθμιση της βέλτιστης θερμοκρασίας του γάλακτος, καθώς και η ποσότητα της πυτιάς που πρέπει να προστεθεί.



**Εικόνα 1.6 Δείγμα εμπορικής πυτιάς**

Η πιο συνηθισμένη θερμοκρασία του προς πήξη γάλακτος είναι 32°C. Σε περίπτωση μικρότερης της απαιτούμενης θερμοκρασίας, είναι δυνατόν να προκύψει μαλακό και εύθρυπτο πήγμα το οποίο διατηρεί υγρασία μεγαλύτερη της επιθυμητής, με αποτέλεσμα τη δύσκολη διατήρησή του.

Τέλος, η ποσότητα της πυτιάς θα πρέπει να είναι τέτοια ώστε το πήγμα να δημιουργηθεί το πολύ σε μία ώρα (Ζερφυρίδης, 2001). Σε περίπτωση που η πυτιά είναι σε σκόνη θα πρέπει πρώτα να διαλύεται σε καθαρό κρύο νερό μαζί με αλάτι, αν και οι πυτιές εμπορίου περιέχουν ορισμένη ποσότητα αλατιού. Ωστόσο στην περίπτωση αυτή πρέπει να ληφθεί υπόψη η μείωση της δραστηριότητάς της με το πέρασ λίγου χρόνου, γι' αυτό θα πρέπει να προστίθεται αρκετά σύντομα. Ακόμη και η υγρή πυτιά αραιώνεται σε αναλογία περίπου ένα προς οχτώ πριν εισαχθεί στο γάλα. Την εισαγωγή της πυτιάς ακολουθεί ανάδευση για την καλύτερη ενσωμάτωσή της στο γάλα.

#### **1.10.1.4 Διαίρεση πήγματος**

Η διαίρεση του δημιουργούντος πήγματος κόβεται με τυροκόπτη, ο οποίος έχει κάθετα σύρματα σε απόσταση περίπου 2 εκατοστά (Εικόνα 1.7). Κατά τη διαίρεση ο τυροκόπτης πρέπει να φτάνει μέχρι τον πυθμένα του τυρολέβητα και να διαιρεί όλα τα επίπεδα (σε

βάθος) του τυροπήγματος. Με τη βοήθεια του τυροκόπτη, τα κομμάτια που προκύπτουν είναι ομοιόμορφα για να μη δημιουργούνται τρίματα που θα απομακρυνθούν με το τυρόγαλα, μειώνοντας την απόδοση της τυροκόμησης ενώ αποφεύγεται και η δημιουργία αργότερα ανομοιομορφής τυρομάζας δηλαδή σε άλλα σημεία σκληρή και σε άλλα μαλακή, λόγω ανομοιομορφίας στο στράγγισμα με συνέπειες πολλές φορές σοβαρές στην ποιότητα του τυριού. Με το πέρας της διαίρεσης αρχίζει να απορρίπτεται από το τυρόπηγμα τυρόγαλα.



**Εικόνα 1.7 Διαίρεση τυροπήγματος με τυροκόπτη**

#### **1.10.1.5 Εξαγωγή – Καλούπιασμα – Στράγγισμα του τυροπήγματος**

Το τυρόπηγμα αφήνεται πέντε με δέκα λεπτά να ηρεμήσει για να αποβάλλει αρκετό τυρόγαλα. Ωστόσο, η φάση αυτή δεν μπορεί να διαρκέσει παραπάνω για να μην αποβληθούν πολλά υγρά και το τυρί που θα προκύψει να είναι σκληρό.

Κατά τον παραδοσιακό τρόπο το στράγγισμα πραγματοποιείται σε τσαντίλα (Εικόνα 1.8) ή τυροτύμπανο μέσα στα οποία προστίθεται λίγο - λίγο και ομοιόμορφα από όλη την επιφάνεια του τυρολέβητα. Η μεταφορά αυτή του τυροπήγματος μέσα στο καλούπι κατά στρώσεις προκαλεί τη δημιουργία αμυγδαλοειδών μικρών σχισμών μηχανικής προελεύσεως και όχι μικροβιακών ζυμώσεων στη μάζα του τυριού πράγμα που είναι χαρακτηριστικό γνώρισμα της δομής του τυριού Φέτα.



**Εικόνα 1.8: Στράγγισμα τυροπήγματος με τσαντίλα**

Η χρησιμοποίηση της παραδοσιακής μεθόδου, όμως, επιφέρει εκτός από τους κινδύνους μόλυνσης του τυροπήγματος, καθώς οι τσαντίλες που χρησιμοποιούνται είναι βαμβακερές, και μειονεκτήματα στα τελευταία στάδια παραγωγής (συσκευασία). Το τελευταίο φαίνεται καθαρά δεδομένου ότι το τυρί παίρνει το σχήμα του καλούπιού και είναι πάντα ομοιόμορφο, εφαρμόζοντας στον τελικό περιέκτη χωρίς να απαιτείται κόψιμο, θρυμματισμός του και συνεπώς απώλεια τυριού, γεγονός που συμβαίνει κατά το στράγγισμα με τσαντίλα.

Τα καλούπια της Φέτας μπορεί να είναι μεταλλικά από λευκοσίδηρο ή ψευδάργυρο, πλαστικά ή από ανοξείδωτη λαμαρίνα (Εικόνα 1.9). Το σχήμα και μέγεθός τους επιλέγεται τέτοιο ώστε να ταυτίζεται με τον περιέκτη, για τους λόγους που αναφέρθηκαν. Αν ο τελικός περιέκτης είναι βαρέλι επιλέγονται κυκλικά καλούπια, ενώ αν είναι δοχείο προτιμώνται τετράγωνα με την πλευρά του πυθμένα 23 εκατοστά και ύψος 20 έως 25 εκατοστά. Κατά το στράγγισμα τοποθετούνται επάνω στην τυροτράπεζα και εισάγεται λίγο - λίγο το τυρόπηγμα του τυρολέβητα. Για τη διευκόλυνση αποβολής του τυρογάλακτος τα καλούπια γέρνουν προς το πλάι. Σε μία έως δύο ώρες μετά το γέμισμα των καλούπιών τοποθετούνται σε αυτά καλύμματα και αναποδογυρίζονται ώστε να επιτευχθεί καλύτερη αποβολή του ορού. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται για τρεις με έξι ώρες σε τακτά χρονικά διαστήματα. Η θερμοκρασία στραγγίσματος καθώς και του χώρου αλατίσματος πρέπει να είναι 16-18°C (Ζερφυρίδης, 2001).

Όταν το τυρί σφίξει τόσο ώστε να μη παραμορφώνεται κατά την εξαγωγή του από το καλούπι, κόβεται σε φέτες κατάλληλου μεγέθους οι οποίες τοποθετούνται επάνω στην τυροτράπεζα η μία κοντά στην άλλη ώστε να μην χάσουν το σχήμα τους χωρίς όμως να συμπιέζονται.



**Εικόνα 1.9 Καλούπια για το στράγγισμα της Φέτας**

#### **1.10.1.6 Αλάτισμα Φέτας**

Το αλάτισμα της Φέτας πραγματοποιείται σε δύο φάσεις. Η πρώτη φάση περιλαμβάνει το ξηρό αλάτισμα του τυριού, ενώ κατά τη δεύτερη φάση το τυρί προστίθεται σε άλμη.

- i. Ξηρό αλάτισμα: Πραγματοποιείται στις φέτες ενώ βρίσκονται ακόμη επάνω στην τυροτράπεζα (Εικόνα 1.10). Σε αυτό, αλάτι απλώνεται επάνω στην τυροτράπεζα και τοποθετούνται οι φέτες επάνω στο αλάτι. Στο ίδιο αλάτι αλατίζεται και η επάνω επιφάνεια. Μετά από δώδεκα ώρες οι φέτες αναστρέφονται και αλατίζεται και η επάνω επιφάνεια. Κατά το πρώτο αλάτισμα το τυρί εξακολουθεί να στραγγίζει έντονα και να γίνεται όλο και πιο σφιχτό, φαινόμενο στο οποίο συντελεί φυσικά και το αλάτι. Η διαδικασία αυτή επαναλαμβάνεται κάθε 12 ώρες περίπου μέχρι να πραγματοποιηθούν 34 αλατίσματα από κάθε πλευρά ανάλογα με το πόσο χονδρές είναι οι φέτες και την ποσότητα του άλατος που ρίχνεται στο τυρί. Η ποσότητα του αλατιού που προστίθεται όσο σφίγγει το τυρί μειώνεται.

Ο συντελεστής άλατος του τυριού θα πρέπει στα πρώτα στάδια (μέσα στο πρώτο 24ωρο) να είναι πάνω από 2,5% ή περίπου 1,2% επί τυριού ως έχει. Ο υψηλός συντελεστής άλατος και το χαμηλό pH (5,2) που δημιουργεί η καλλιέργεια στο πρώτο 24ωρο είναι οι δύο συντελεστές της καλής διατήρησης του τυριού και της σωστής πορείας της ωρίμανσής του.

Η τελική ποσότητα του αλατιού στο τυρί πρέπει να είναι τόση ώστε ο συντελεστής άλατος του τυριού να είναι 5-6%. Μεγαλύτερη ποσότητα αλατιού (πάνω από 3% επί τυριού ως έχει) κάνει το τυρί αλμυρό χωρίς να είναι απαραίτητο διότι το pH του τυριού εν τω μεταξύ μειώνεται κάτω από 4,8 και το τυρί δεν κινδυνεύει να χαλάσει.



**Εικόνα 1.10 Ξηρό αλάτισμα**

- ii. Άλμη (Εικόνα 1.11): Κατά το ξηρό αλάτισμα μεγάλη ποσότητα άλατος απομακρύνεται με το τυρόγαλο, γεγονός που σημαίνει ότι το τυρί δεν έχει λάβει όλη την απαιτούμενη ποσότητα. Ευνόητο είναι ότι ο συντελεστής άλατος της άλμης θα πρέπει να είναι μεγαλύτερος από αυτόν του τυριού ώστε να μεταφέρεται αλάτι σε αυτό και να απομακρύνεται υγρασία στην άλμη από το τυρί. Η διαδικασία αυτή απαιτεί μέρες και όχι ώρες. Στο τέλος του σταδίου αυτού το τυρί θα πρέπει να έχει αλάτι 3-3,5% και η συγκέντρωση άλατος μέσα στο τυρί να είναι 5-6%.



**Εικόνα 1.11 Φέτα σε άλμη**

**1.10.1.7 Προωρίμανση - Ωρίμανση της Φέτας**

Η ωρίμανση της φέτας ξεκινάει από τη στιγμή που δημιουργείται και συνεχίζει έως την κατανάλωσή της. Το στάδιο αυτό παρουσιάζεται αναλυτικότερα στο τρίτο κεφάλαιο της παρούσας εργασίας.

**BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 1<sup>ΟΥ</sup> ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ**

1. Anifantakis E. M., '**Comparison of the physico-chemical properties of ewe's and cow's milk**', *Production and Utilization of Ewes' and Goats' Milk, Document No. 202*, pp. 42-53, *International Dairy Federation, Brussels*, 1986.
2. Belitz H. D., Grosch W., Schieberle P., '**Χημεία Τροφίμων**', 4<sup>η</sup> Ελληνική Έκδοση, pp. 521-563, 2014.
3. Berlozzi L, and Panari G, '**Cheese with Appellation d'Origine Controlle (AOC) : factors and affect quality**', *International Dairy Journal*, 3, pp. 297-312, 1993.
4. Blanco J.L., Domingues L., Gomez-Lucia E., Garayzabal J.F.F., Goyache J & Suarez G., '**Behavior of aflatoxin during the manufacture , ripening and storage of Manchego-type cheese**', *Journal of Food Science*, 53, pp. 1373-1376, 1998.
5. Codex Alimentarius, Milk and milk products, Second edition, FAO/WHO, 2011.
6. Davis W. G., '**Cheese**', Vol. I. *Churchil Ltd, London* , 1965.
7. Diekman M. A. & Green M. L., '**Mycotoxins and Reproduction in Domestic Livestock**', *Journal of Animal Science*, 70, pp. 1615-1627, 1992.
8. European Commission, Agricultural and Rural Development, *Βάση Δεδομένων DOOR*.
9. Fox Patrick F. & L. Stepaniak, '**Enzymes in Cheese Technology**', *International Dairy Journal* 3, pp. 509-530, 1993.
10. Fox Patrick F., '**Cheese : Chemistry, physics and microbiology, vol. 1 General aspects**', *Chapman and Hall, London*, 1996.
11. Fox Patrick F., Paul L. H. McSweeney, Timothy M. Cogan and Timothy P. Guinee, '**Cheese : Chemistry, Physics and Microbiology, Volume 2 – Major Cheese Groups**', 3<sup>rd</sup> Edition, 2004.
12. Georgala Aikaterini, F. Karali, G. Moatsou, S. Kaminarides, '**The presence of aflatoxin M<sub>1</sub> in cheeses**', *Greek Journal and Dairy Science and Technology*, 1, pp. 27-41, 2009.
13. Golden S., '**Colostrum management for dairy calves**', *Vet Clin North Am Food AnimPract*, 24, pp. 19-39, 2008.
14. Harding F., '**Milk quality**', A *Chapman and Hall Food Science Book. 1st Edition.*, *Aspen publishers Inc., Gaithersburg, Maryland*, 1999.
15. Harper W. J. and C. W. Hall, '**Dairy Technology and Engineering**', *AVI Publ. Co., Westport Conn.*, 1976.
16. Jassim Mohammed Jandal, '**Comparative aspects of goat and sheep milk**', *Small Ruminant Research* 22, pp. 177-185, 1996.
17. Jenness R., '**The composition of milk**', *Lactation Vol. III*, B. L. Larson and V. R. Smith ed. *Acad. Press. London*, pp. 3-101, 1974.



18. Johnson A. H., **'The composition of milk'**, *Fundamentals of dairy chemistry*, 2nd edition, B. H. Webb, A. H. Johnson, and J. A. Alford, ed. Avi Publ. Westport Conn, pp. 1-57, 1974.
19. Kamkar A., Karim G., Shojaee Aliabadi F. & Kheskar R., **'Fate of aflatoxin M1 in Iranian white cheese processing'**, *Food and Chemical Toxicology*, 46, 6, pp. 2236-2238, 2008.
20. Karagözlu C., Kinik O., and Akbulut N., **'Effects of fully and partial substitution of NaCl by KCl on physico-chemical and sensory properties of white pickled cheese'**, *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 59, pp. 181–191, 2008.
21. Katsiari M.C., Alichanidis E., Voutsinas L.P., and Roussis I.G., **'Proteolysis in reduced sodium Kefalograviera cheese made by partial replacement of NaCl with KCl'**, *Food Chem.*, 73, pp. 31–43, 2001.
22. Katsiari M. C., Voutsinas L. P., Alichanidis E., and Roussis I.G., **'Lipolysis in reduced sodium Feta cheese made by partial substitution of NaCl by KCl'**, *Int. Dairy J.*, 10, pp. 369–373; 635-646, 2000.
23. Katsiari M.C., Voutsinas, L.P., Alichanidis, E., and Roussis, I.G. **'Reduction of sodium content in Feta cheese by partial substitution of NaCl by KCl'**, *Int. Dairy J.*, 7, pp. 465–472, 1997.
24. Kosikowski F., W. Mistry, **'Cheese and Fermented Milk Foods'**, F. V. Kosikowski, L.L.C. Publs., Westport, Conn, 1997.
25. Moss M. O., **'Mycotoxins of Aspergillus and other filamentous fungi.'**, *Journal of Applied Bacteriology Symp Suppl.*, pp. 69S-81S, 1989.
26. Noll C. I. and Supplee G. C., **'Factors affecting the gas content of milk'**, *J. Dairy Sci.* 24, pp. 993–1013, 1941.
27. Olson N. E, **'The impact of lactic acid bacteria on cheese flavor'**, *FEMS Microbiol. Lett.* 87, pp. 131-147, 1990.
28. Pereira Paula C., **'Milk nutritional composition and its role in human health'**, *Volume 30*, Issue 6, pp. 619-627, June 2014.
29. Pieter Walstra & Robert Jenness , **'Dairy Chemistry and Physics'**, 1984.
30. Renner E., **'Milk and Dairy Products in Human Nutrition'**, W-GmbH, Munich :VolkswirtschaftlicherVerlag, 1983.
31. Scott R., **'Cheesemaking practice'**, *Appl. Sci. Publ. Ltd. London 7<sup>th</sup> edition.* FAO/WHO, CAM/M 1-1973, Rome, 1986.
32. Scott R., **'Cheesemaking Practice'**, Practice, *Elsevier Applied Science Publishers*, London, 1981.
33. Smith A. C., **'The carbon dioxide content of milk during handling, processing and storage and its effect upon the freezing point'**, *J. Milk Food Tech.* 27, pp. 38–41, 1964.
34. Tamime Adnan, **'Brined Cheeses'**, Blackwell Publishing, 2006.
35. Van Egmond H.P, **'Mycotoxins'**, *International Dairy Federation, Special Issue, 9101*, pp. 131-135, 1991.

36. Walstra P., **‘Dairy Technology: Principles of Milk Properties and Processes’**, Marcel Dekker, Inc., New York, 1999.
37. Walter H. E., Hargrove, **‘Cheeses of the world’**, Dover Publications Inc., New York, 1972.
38. WHO, **Milk and Milk Products**, Second Edition, World Health Organization, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome 2011.
39. Wong Noble P., **‘Fundamentals of Dairy Chemistry’**, Van Nostrand Reinhold Company, New York, 1988.
40. Zerfiridis G.K, **‘Potential aflatoxin hazards to human health from direct mold Teleme cheese’**, *Journal of Dairy Science*, 68, pp. 2184-2188, 1985.
41. Ανυφαντάκης Ε. Μ., **‘Τυροκομία’**, Τόμος Β. Εκδόσεις Σταμούλης, Αθήνα 2004.
42. Απόφαση ΑΧΣ 1050/1996, ΦΕΚ 263/Β/7.4.97 «Τροποποίηση των άρθρων 79 & 80 του Κώδικα Τροφίμων.
43. Απόφαση ΑΧΣ 187/1998, ΦΕΚ 765/Β/24.7.98. «Τροποποίηση του άρθρου 80 του ΚΤ σύμφωνα με τον Κανονισμό 2597/97.
44. Βεινόγλου Β. και Ε. Ανυφαντάκης, **‘Γαλακτοκομία’**, Τόμος Β., Εκδόσεις Καραμπελόπουλος, Αθήνα 1981.
45. Βουδούρη Ε. Κ., Κοντομηνά Μ. Γ, **‘Εισαγωγή στην Χημεία των Τροφίμων’**, Οργανισμός Εκδόσεων Διδακτικών Βιβλίων, 2009.
46. Ελληνικός Κώδικας Τροφίμων και Ποτών, 2004.
47. Ελληνικός Οργανισμός Γάλακτος και Κρέατος (<http://www.elogak.gr>)
48. Ζερφυρίδης Γ. Κ., **‘Τεχνολογία προϊόντων γάλακτος’**, Εκδόσεις Γαρταγάνη, Θεσσαλονίκη, 1989.
49. Ζερφυρίδης Γρηγόρης Κ., **‘Τεχνολογία Προϊόντων γάλακτος – Ζυμούμενα προϊόντα, Παγωτό, Κρέμα-Βούτυρο’**, 2<sup>η</sup> Έκδοση, Θεσσαλονίκη 2001.
50. Ζερφυρίδης Γρηγόρης Κ., **‘Τεχνολογία Προϊόντων Γάλακτος – Τυροκομία’**, 2<sup>η</sup> Έκδοση, Θεσσαλονίκη, 2001.
51. Κεχαγιάς Χ., **‘Τεχνολογία γάλακτος και γαλακτοκομικών προϊόντων**, 1997.
52. Λιτοπούλου – Τζανετάκη Ευανθία, **‘Μικροβιολογία Γάλακτος’**, Εκδόσεις Αϊβάζη Θεσσαλονίκη, σελ. 79-1 έως 79-3, 2010.
53. Μαντής Α. Ι., **‘Υγιεινή και τεχνολογία του γάλακτος και των προϊόντων του’**, Τόμος Γ’, Εκδόσεις Αδελφών Κυριακίδη Α.Ε., Θεσσαλονίκη, 2000.
54. ΟΔΗΓΙΑ 92/46/ΕΟΚ ΤΟΥ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟΥ της 16ης Ιουνίου 1992 για τη θέσπιση των υγειονομικών κανόνων για την παραγωγή και την εμπορία νωπού γάλακτος, θερμικά επεξεργασμένου γάλακτος και προϊόντων με βάση το γάλα, 1992.
55. Τζουβάρα-Καραγιάννη Σ., **‘Σύσταση, χημική ανάλυση και προδιαγραφές βασικών τροφίμων’**, 1986.
56. Τσοχατζής Ε., **‘Μελέτη και διαχωρισμός πρωτεϊνών του γάλακτος και έλεγχος νοθείας του γάλακτος με πρωτεΐνες σόγιας και άλατα καζεΐνων’**, ,

*Πτυχιακή εργασία, Αριστοτέλειο πανεπιστήμιο, τμήμα χημείας, σελ.2-4, 25-34, Θεσσαλονίκη, 2005.*

**Διαδικτυακοί Ιστότοποι**

<http://www.gcsf.gr/media/trofima/83.pdf> : για τα χαρακτηριστικά που ορίζει ο Κώδικας Τροφίμων & Ποτών

<http://www.elogak.gr>

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 – ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΝΕΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΣΕ ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΚΑΙ ΤΥΡΙ**

### **2.1 Θερμικές Μέθοδοι Επεξεργασίας Τροφίμων**

Η πλέον συμβατική μέθοδος επεξεργασίας των τροφίμων είναι η θερμική, η οποία χρησιμοποιείται για διάφορους σκοπούς, όπως η αποστείρωση, η παστερίωση, το ζεμάτισμα και το μαγείρεμα, που θα οδηγήσουν τελικά στην επιμήκυνση της ζωής του τροφίμου. Βασικότερος στόχος της, είναι η επίτευξη της μέγιστης ασφάλειας του τροφίμου, η οποία εξασφαλίζεται ως ένα βαθμό με την απενεργοποίηση/ενεργοποίηση ενζύμων, την καταστροφή των παθογόνων και αλλοιογόνων μικροοργανισμών και των σπορίων τους. Οι βασικότερες θερμικές μέθοδοι επεξεργασίας των τροφίμων συνοψίζονται παρακάτω.

#### **2.1.1 Παστερίωση και αποστείρωση**

Η παστερίωση είναι ίσως η πιο διαδεδομένη θερμική διεργασία επεξεργασίας τροφίμων. Εφαρμόζεται σε υγρά τρόφιμα, τα οποία θερμαίνονται σε θερμοκρασίες χαμηλότερες των 100°C με σκοπό την καταστροφή των παθογόνων μικροοργανισμών (κυρίως σε τρόφιμα χαμηλής οξύτητας όπως το γάλα) και σε κάποιες περιπτώσεις για την καταστροφή αλλοιογόνων μικροοργανισμών (κυρίως σε όξινα τρόφιμα). Ο βασικός εξοπλισμός της παστερίωσης είναι ένας εναλλάκτης θερμότητας ο οποίος θερμαίνει το υγρό τρόφιμο χρησιμοποιώντας ως μέσο θέρμανσης νερό ή ατμό.

Όταν στο τελικό τρόφιμο δεν πρέπει να υπάρχει κανένας μικροοργανισμός ή σπόριο (μηδενική ανοχή) τότε χρησιμοποιείται η αποστείρωση, η οποία πραγματοποιείται σε αρκετά υψηλή θερμοκρασία και για ένα αρκετά μεγάλο χρονικό διάστημα. Έτσι τα αποστειρωμένα τρόφιμα έχουν διάρκεια ζωής πάνω από έξι μήνες σε περιβαλλοντικές συνθήκες. Κλασική διεργασία αποστείρωσης είναι αυτή της αποστείρωσης κονσερβοποιημένων τροφίμων.

#### **2.1.2 Μικροκύματα και ραδιοσυχνότητες**

Η επεξεργασία με μικροκύματα και ραδιοσυχνότητες (Microwave and Radio Frequency Processing) ενός τροφίμου αναφέρεται στη χρήση ηλεκτρομαγνητικών κυμάτων συγκεκριμένων συχνοτήτων για την παραγωγή θερμότητας στο τρόφιμο μέσω ενός διηλεκτρικού κι ενός ιοντικού μηχανισμού. Πρόκειται για δύο εναλλακτικές θερμικές μεθόδους, οι οποίες προτιμώνται από την συμβατική θέρμανση, επειδή απαιτείται λιγότερος χρόνος για την επίτευξη της επιθυμητής θερμοκρασίας της διεργασίας. Η θερμική επίδραση είναι πιθανά ο μοναδικός μηχανισμός που προκαλεί τον θάνατο των μικροοργανισμών κατά την εφαρμογή μικροκυμάτων σ' ένα τρόφιμο. Ενώ τα τελευταία 30 χρόνια έχουν αναφερθεί βιομηχανικά συστήματα παστερίωσης και αποστείρωσης τροφίμων με τη χρήση μικροκυμάτων, δεν είναι γνωστή η χρήση εμπορικών συστημάτων θέρμανσης με ραδιοσυχνότητες.

### 2.1.3 Ωμική Θέρμανση

Τα τελευταία χρόνια οι βιομηχανίες έχουν υιοθετήσει τη μέθοδο της ωμικής θέρμανσης. Κατά την ωμική θέρμανση, ρεύμα διέρχεται μέσα από το τρόφιμο και λόγω της ηλεκτρικής του αντίστασης παράγεται εσωτερικά σε αυτό θερμότητα. Το ποσό της παραγόμενης θερμότητας εξαρτάται άμεσα από την ένταση του εισερχόμενου ρεύματος και την ηλεκτρική αγωγιμότητα του τροφίμου. Τα τρόφιμα που έχουν μεγάλη περιεκτικότητα σε νερό και άλατα είναι τα πιο κατάλληλα για να επεξεργαστούν με τη μέθοδο της ωμικής θέρμανσης (Jakob et al, 2010).

Η παστερίωση με ωμική θέρμανση υπερτερεί έναντι της συμβατικής, γιατί είναι πιο αποτελεσματική όσον αφορά την καταστροφή των μικροβίων και την απενεργοποίηση των ενζύμων και μάλιστα σε πολύ μικρότερο χρόνο. Επιπλέον, λόγω του μικρού χρόνου επεξεργασίας τα θρεπτικά συστατικά των τροφίμων διατηρούνται σχεδόν αναλλοίωτα παράγοντας καλύτερης ποιότητας προϊόντα. Τέλος, επειδή η παροχή θερμότητας στο τρόφιμο είναι πολύ γρήγορη και ομοιόμορφη, υπάρχει ενεργειακή οικονομία γεγονός που καθιστά την ωμική θέρμανση μια τεχνολογία αρκετά φιλική προς το περιβάλλον (Darvishi et al, 2012; Jakob et al, 2010).

Ωστόσο, μέθοδοι όπως αυτές που παρουσιάστηκαν χρησιμοποιούν ως βασικό εργαλείο την αύξηση της θερμοκρασία. Ωστόσο, με την επίτευξη υψηλών θερμοκρασιών, υπάρχουν ανεπιθύμητες δράσεις που ευνοούνται και επιταχύνονται, υποβαθμίζοντας την ποιότητα του τροφίμου. Στον όρο ποιότητα συμπεριλαμβάνονται τόσο τα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά (οσμή, γεύση, άρωμα), που αποτελούν σημαντικό κριτήριο των καταναλωτών, όσο και τα συστατικά του, όπως για παράδειγμα βιταμίνες και πρωτεΐνες. Φυσικά, οι συνθήκες θερμικής επεξεργασίας που χρησιμοποιούνται, επιδιώκουν την μεγαλύτερη δυνατή ελαχιστοποίηση των ανεπιθύμητων μεταβολής, επιτυγχάνοντας ταυτόχρονα τον έλεγχο της μικροβιακής κατάστασης και της ενζυμικής ενεργότητας του τροφίμου. Για την εφαρμογή της απαιτούμενης θερμικής επεξεργασίας, λαμβάνονται υπόψη τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του εκάστοτε τροφίμου, όπως η ενεργότητα, το pH, το νερό και τα άλλα συστατικά του.

Με τη θερμική επεξεργασία, επιφέρονται μεταβολές στη δομή των πρωτεϊνών, για παράδειγμα στο γάλα, χωρίς όμως απαραίτητα να μειώνεται η θρεπτική τους αξία. Όσον αφορά τις βιταμίνες, περισσότερο θερμοευαίσθητες εμφανίζονται οι B<sub>1</sub> και η C, ενώ η B<sub>2</sub> και οι λιποδιαλυτές βιταμίνες A, D, E εμφανίζουν μεγαλύτερη σταθερότητα στις υψηλότερες θερμοκρασίες. Ακόμη, ευαίσθησια παρουσιάζουν και οι υδατάνθρακες, στους οποίους προκαλούνται αλλοιώσεις που επιδρούν στις ιδιότητες της διαλυτότητας, της υδρόλυσης και της ζελατινοποίησης του αμύλου. Οι υδατάνθρακες μαζί με τις πρωτεΐνες δημιουργούν αντιδράσεις κασάνωσης παράγοντας μελανίνη, ουσία που επιβαρύνει τον οργανισμό (Τζιά, 1999). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα και την αλλοίωση του χρώματος του τελικού προϊόντος. Τέλος, όλες οι μεταβολές που προκαλούνται στα

συστατικά του τροφίμου έχουν εμφανή επίδραση στο άρωμα και τη φυσική κατάσταση του.

## **2.2 Μη Θερμικές Μέθοδοι Επεξεργασίας Τροφίμων**

Παραδοσιακά, τα περισσότερα διατηρημένα τρόφιμα επεξεργάζονται με θερμικές μεθόδους, όπου το τρόφιμο υποβάλλεται σε θερμοκρασία από 60°C έως 100°C για μερικά δευτερόλεπτα έως και λεπτά. Κατά την επεξεργασία αυτή μια μεγάλη ποσότητα ενέργειας μεταφέρεται στο τρόφιμο, η οποία μπορεί να διεγείρει ανεπιθύμητες αντιδράσεις σε αυτό, με αποτέλεσμα πιθανώς τη δημιουργία ανεπιθύμητων αλλαγών στο τρόφιμο καθώς και παραγωγή παραπροϊόντων που οδηγούν σε αλλοιώσεις. Όπως και στα περισσότερα τρόφιμα, έτσι και στο γάλα, οι παραδοσιακές μέθοδοι επεξεργασίας του είναι οι θερμικές. Η θέρμανσή του όμως, μπορεί να προσδώσει στο γάλα γεύση 'μαγειρεμένου', συνοδευόμενη από απώλεια βιταμινών, απαραίτητων θρεπτικών συστατικών και αρώματος. Από την άλλη, για τους καταναλωτές σημαντική παράμετρος δεν είναι μόνο η διάρκεια του προϊόντος, αλλά και η ποιότητά του, η γεύση και τα αρώματά του.

Έτσι, αποτέλεσε βασική επιδίωξη, η εύρεση μεθόδων διατήρησης των τροφίμων με μη θερμικές μεθόδους, οι οποίες θα μείωναν την υποβάθμιση της ποιότητας τους που προκαλείται από τις θερμικές. Κατά τις μη θερμικές μεθόδους, λοιπόν, η θερμοκρασία του τροφίμου παραμένει σε θερμοκρασίες αρκετά μικρότερες από εκείνες που επικρατούν στις θερμικές, καθώς επίσης και οι μεταβολές στις βιταμίνες τα θρεπτικά συστατικά και το άρωμα είναι οι ελάχιστες δυνατές. Τέλος, λαμβάνεται ως προτέρημα αυτών, η μικρότερη απαίτηση ως προς ενεργειακά αποθέματα, δεδομένου ότι οι θερμοκρασίες κινούνται σε χαμηλότερες τιμές από εκείνες των θερμικών μεθόδων επεξεργασίας.

Στις μεθόδους της κατηγορίας αυτής, συμπεριλαμβάνονται μεταξύ άλλων, η υπερυψηλή υδροστατική πίεση (High Hydrostatic Pressure – HP) , τα ταλαντούμενα μαγνητικά πεδία (Oscillating Magnetic Fields – OMF), τα υψηλής έντασης παλμικά ηλεκτρικά πεδία (High Intensity Pulsed Electric Fields), η χρήση έντονου υπεριώδους παλμικού φωτός (Intense UV-Light Pulses), ακτινοβολία (Irradiation) η χρήση χημικών και βιοχημικών και οι τεχνολογία εμποδίου (Hurdle Technology). Οι προαναφερθείσες τεχνολογίες χρησιμοποιούνται τόσο για την απενεργοποίηση των μικροοργανισμών που υπάρχουν στα τρόφιμα όσο και τη διατήρηση του τροφίμου.

Κάθε μια από τις μη θερμικές μεθόδους έχει συγκεκριμένες εφαρμογές όσον αφορά τον τύπο του τροφίμου που μπορεί να επεξεργαστεί. Για παράδειγμα, η HP, τα OMF, η χρήση αντιμικροβιακών ουσιών (χημικών και βιοχημικών), η εφαρμογή παλμικού φωτός και οι τεχνολογία εμποδίου είναι χρήσιμες τόσο για υγρά όσο και για στερεά τρόφιμα, ενώ τα ηλεκτρικά παλμικά πεδία είναι πιο κατάλληλα για υγρά και η ακτινοβολία για στερεά τρόφιμα. Ακόμη, η χρήση παλμικού φωτός είναι πιο χρήσιμη στην επιφανειακή παστερίωση. Η ακτινοβολία, η χρήση παλμικού φωτός και το μαγνητικό πεδίο μπορούν

να χρησιμοποιηθούν για επεξεργασία συσκευασμένων φαγητών, μειώνοντας τον κίνδυνο επιμόλυνσης του τροφίμου. Από τα παραπάνω παραδείγματα καταλαβαίνει κανείς, πως η χρήση των περισσότερων μεθόδων περιορίζεται κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες, όπως αυτές του τροφίμου και η επιλογή της καταλληλότερης είναι απόρροια πολλών παραμέτρων.

### **2.2.1 Υπερυψηλή Υδροστατική Πίεση (High Hydrostatic Pressure - HP)**

Μέχρι σήμερα, υπάρχουν αρκετές καινοτόμες επιχειρήσεις που βασίζονται στην τεχνολογία της υπερυψηλής υδροστατικής πίεσης, σε διάφορους τομείς (Εικόνα 2.1) όπως η επεξεργασία κρέατος, πολτών και χυμών, θαλασσινών, γαλακτοκομικών προϊόντων φρούτων και λαχανικών. Η μικροβιακή απενεργοποίηση και η διατήρηση είναι, τα κύρια χαρακτηριστικά που έχουν καταστήσει αποδεκτή την τεχνολογία αυτή στη βιομηχανία τροφίμων. Ωστόσο, η μέθοδος αυτή μπορεί να χρησιμοποιηθεί για πολλές ακόμα λειτουργίες, όπως η τροποποίηση της δομής των πρωτεϊνών σε προϊόντα που έχουν ως βάση τις πρωτεΐνες (όπως τα γαλακτοκομικά), ακόμα και την ψύξη, παγόλυση.



**Εικόνα 2.1 Παραδείγματα προϊόντων επεξεργασμένων με ΥΠ**

Η τεχνολογία αυτή χρησιμοποιούνταν παραδοσιακά στους τομείς παραγωγής κεραμικών, υπερκραμάτων και χάλυβα. Τα τελευταία χρόνια ερευνάται και από τη βιομηχανία τροφίμων. Γενικά η εφαρμογή της HP, το εύρος της οποίας κυμαίνεται από 100-1000 MPa ανάλογα με το τρόφιμο αλλά και άλλες παραμέτρους, έχει ως αποτέλεσμα την απενεργοποίηση των βακτηρίων και των ενζύμων, χωρίς ωστόσο να αλλοιώνεται η γεύση και το άρωμα του τροφίμου. Η Υπερυψηλή Υδροστατική Πίεση ουσιαστικά δίνει τη δυνατότητα ψυχρής παστερίωσης εντός της τελικής συσκευασίας και βρίσκει εφαρμογή σε ένα μεγάλο εύρος τροφίμων (αυγά, κρέας και προϊόντα κρέατος, γαλακτοκομικά, ψάρια και θαλασσινά, χυμοί φρούτων και λαχανικών, σάλτσες για ζυμαρικά και άλλα). Μπορεί να εφαρμοστεί ανεξαρτήτως της γεωμετρίας και του μεγέθους των τελικών προϊόντων. Η HP επιτυγχάνει την απενεργοποίηση μικροοργανισμών παρατείνοντας τη

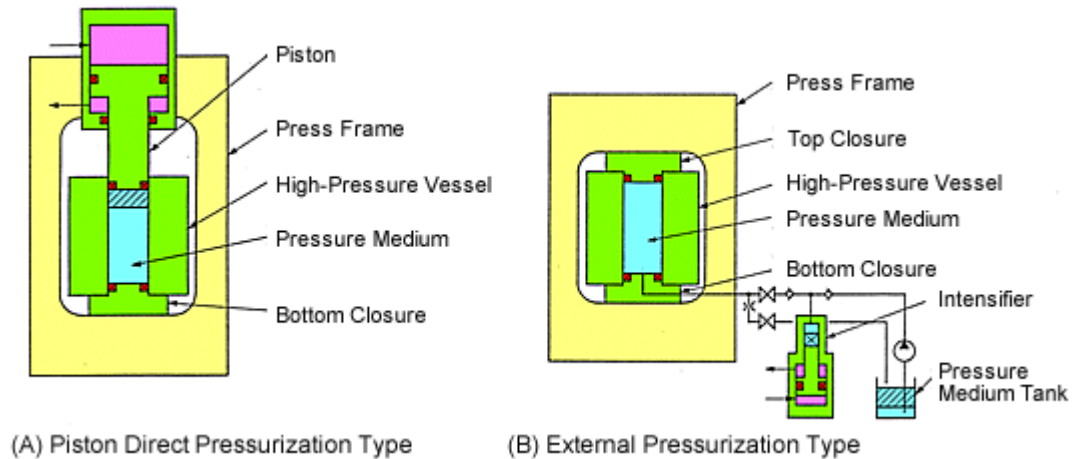
διάρκεια ζωής με ταυτόχρονη διατήρηση βιταμινών, υφής και συστατικών γεύσης και αρώματος του τροφίμου. Η αρχή λειτουργίας έγκειται στη διάρρηξη των εξωτερικών τοιχωμάτων μικροοργανισμών εξαιτίας της πολύ μεγάλης υδροστατικής πίεσης, χωρίς όμως να αλλοιώνεται η εμφάνιση του τροφίμου εξαιτίας της μηχανικής πίεσης. Η κατασκευή ενός μηχανήματος υπερυψηλής υδροστατικής πίεσης είναι μια εξειδικευμένη και πολύ ακριβή διαδικασία. Ένα τυπικό σύστημα ΥΠ αποτελείται από τα δοχεία υψηλής πίεσης (high pressure vessels) με τα καλύμματά τους, το σύστημα που δημιουργεί την υδροστατική πίεση, ένα σύστημα ελέγχου της θερμοκρασίας, το οποίο συνήθως βρίσκεται μέσα στα δοχεία και ένα σύστημα ελέγχου όλου του συστήματος, που περιλαμβάνει τα απαραίτητα όργανα και συσκευές.

#### **2.2.1.1 Τρόποι δημιουργίας υπερυψηλής πίεσης - εξοπλισμός**

Ουσιαστικά, η υπερυψηλή υδροστατική πίεση είναι η εφαρμογή πίεσης ομοιόμορφα σε όλη την επιφάνεια του τροφίμου. Η συμπίεση του έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της θερμοκρασίας του τροφίμου κατά περίπου 3°C ανά 100 MPa αν το μέσο μεταφοράς είναι το νερό, η οποία όμως σε ομοιογενή τρόφιμα είναι ομοιόμορφη όπως και η συμπίεση (Smith, Hui 2004). Η πίεση αυτή μπορεί να δημιουργηθεί με διάφορους τρόπους όπως περιγράφεται παρακάτω :

- *Άμεση συμπίεση*, η οποία δημιουργείται με τη συμπίεση ενός μέσου μετάδοσης της πίεσης από ένα έμβολο μικρής διαμέτρου. Η μέθοδος αυτή επιτρέπει πολύ γρήγορη συμπίεση, όμως οι περιορισμοί που προκύπτουν από την δυναμική της υψηλής πίεσης ανάμεσα στο έμβολο και στην εσωτερική επιφάνεια του δοχείου πίεσης (high pressure vessel) (Εικόνα 2.2) περιορίζει την χρήση αυτής της μεθόδου σε εργαστηριακή κλίμακα ή πιλοτικές μονάδες εργοστασίων.
- *Έμμεση συμπίεση*, στην οποία χρησιμοποιείται ένας ενισχυτής πίεσης για να αντλήσει το μέσο μεταφοράς πίεσης από μία δεξαμενή σένα κλειστό δοχείο υψηλής πίεσης μέχρι να αποκατασταθεί η επιθυμητή πίεση. Η μέθοδος αυτή χαρακτηρίζεται ως η καταλληλότερη για βιομηχανική χρήση.
- *Η μέθοδος θέρμανσης του μέσου μεταφοράς της πίεσης*, χρησιμοποιεί επέκταση του μέσου πίεσης με αύξηση της θερμοκρασίας για την παραγωγή υψηλής πίεσης. Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται ακόμη όταν η υπερυψηλή πίεση χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με θέρμανση. Ωστόσο στην περίπτωση αυτή, απαιτείται εξαιρετικά ακριβής έλεγχος της θερμοκρασίας στο εσωτερικό του δοχείου πίεσης.





[Πηγή: Kobelco]

**Εικόνα 2.2 Μέθοδοι παραγωγής υψηλής υδροστατικής πίεσης**

Τα συστήματα συμπίεσης μπορούν να λειτουργούν είτε ως ψυχρά (cold isostatic pressing - CIPs, 20°C - 25°C και 500-6000 atm), θερμά (warm isostatic pressing - WIPs, 25°C - 200°C) και ακόμη πιο θερμά συστήματα (hot isostatic pressing - HIPs, έως 2200°C και 1000-4000 atm) (G.V Barbosa et al., J.K Sahu).

#### **Δοχεία υψηλής πίεσης (High pressure vessels) :**

**Λειτουργία :** Το τρόφιμο τοποθετείται σε ένα αποστειρωμένο δοχείο το οποίο στη συνέχεια σφραγίζεται και τοποθετείται στον θάλαμο πίεσης για συμπίεση. Τα πιο συνιστώμενα υλικά για την συσκευασία στην οποία τοποθετείται το τρόφιμο, στην περίπτωση ασυνεχούς συστήματος κατά το οποίο το τρόφιμο συνήθως τοποθετείται στην τελική του συσκευασία, που οδηγείται στο θάλαμο είναι ένα φιλμ συμπολυμερούς βινυλικής αλκοόλης αιθυλενίου (EVOH) και πολυβινυλο αλκοόλης (PVOH). Επειδή η πίεση είναι ομοιόμορφη, δεν προκαλείται καμία παραμόρφωση στη συσκευασία. Μόλις το δοχείο πίεσης πληρωθεί με το συσκευασμένο τρόφιμο και σφραγιστεί, γεμίζεται με το μέσο μετάδοσης της πίεσης, είτε με τη βοήθεια εμβόλου μειώνεται ο όγκος του θαλάμου-μέσου ομοιόμορφα.

**Μέσο μετάδοσης της πίεσης :** Μπορεί να είναι νερό πολλές φορές εμπλουτισμένο με μικρή ποσότητα διαλυτού ελαίου για λιπαντικούς και διαβρωτικούς σκοπούς, υδατικό διάλυμα μονο-προπυλενογλυκόλης (MPG) που είναι κατάλληλο και για υψηλές θερμοκρασίες και ισοπροπυλική αλκοόλη (IPA), το οποίο είναι κατάλληλο για συστήματα υπερυψηλής πίεσης σε χαμηλές θερμοκρασίες. Κάθε μέσο που χρησιμοποιείται έχει και διαφορετική ειδική θερμότητα συμπίεσης, όπως για παράδειγμα το νερό που έχει περίπου 3°C ανά 100 MPa, τα λιπαρά και έλαια 6-8°C ανά 100 MPa και το υδατικό διάλυμα MPG περιεκτικότητας 30% περίπου 2°C ανά 100 MPa μεταβολή πίεσης. (J. K. Sahu, 2001). Οι παραπάνω ειδικές θερμότητες δείχνουν την ομοιόμορφη αύξηση της θερμοκρασίας του τροφίμου που έπεται της αντίστοιχης μεταβολής πίεσης.

Αν και το νερό ως μέσο μετάδοσης είναι σαφώς πιο οικονομικό από την MPG, απαιτεί πιο προσεκτικούς χειρισμούς, καθώς η αποσυμπίεση του πρέπει να γίνεται με τον κατάλληλο ρυθμό ώστε να μην δημιουργηθεί πάγος με κίνδυνο φραγής των σωλήνων και κατ' επέκταση καταστροφής του συστήματος. Τέλος ως μέσο συμπίεσης μπορούν να χρησιμοποιηθούν εκτός από υγρά και αέρια. Επειδή όμως η συμπίεση υγρών έχει ως αποτέλεσμα μικρή μεταβολή όγκου, τα συστήματα υψηλής πίεσης με υγρά δεν παρουσιάζουν τους ίδιους κινδύνους με τα αντίστοιχα που χρησιμοποιούν ως μέσο συμπιεσμένα αέρια. Παραδείγματα χρήσης αερίων είναι τα HIPs συστήματα στα οποία μέσα μετάδοσης πίεσης αποτελούν το αργό, το ήλιο, το άζωτο, ο αέρας και άλλα.

### **2.2.1.2 Συστήματα λειτουργίας**

1. Ασυνεχούς λειτουργίας σύστημα : Στα συστήματα αυτά, το τρόφιμο συμπιέζεται σε παρτίδες. Με τον τρόπο αυτό μειώνεται ο κίνδυνος επιμόλυνσης μεγάλων ποσοτήτων του προϊόντος είτε από τα λιπαντικά και από τα διάφορα μέρη του εξοπλισμού, είτε από άλλα τμήματα του τροφίμου. Ακόμη στο σύστημα HP δεν απαιτείται καθαρισμός μεταξύ των παρτίδων αφού το τρόφιμο είναι συσκευασμένο σε ειδικούς συσκευασίες. Ωστόσο, ο χειρισμός, το στέγνωμα της συσκευασίας από το μέσο μεταφοράς πίεσης και στη συνέχεια η αποθήκευσή αυξάνει το χρόνο της διεργασίας με ταυτόχρονη αύξηση τους κόστους της. Το τρόφιμο τοποθετείται σε ευέλικτη συσκευασία, σφραγίζεται ασηπτικά και τοποθετείται στο θάλαμο πίεσης, ο οποίος στη συνέχεια γεμίζεται με το κατάλληλο μέσο μεταφοράς της πίεσης. Η πίεση, όπως προαναφέρθηκε δημιουργείται είτε αντλώντας το μέσο που μεταφέρει την πίεση είτε υπόκειται σε ομοιόμορφη μείωση του όγκου του από έμβολο. Μόλις η πίεσης φτάσει στην επιθυμητή τιμή η άντληση του μέσου ή το έμβολο σταματούν. Η πίεση συνεχίζει να παραμένει σταθερή στον σφραγισμένο θάλαμο για τον απαιτούμενο χρόνο και με το πέρα του ο θάλαμος αποσυμπιέζεται και το τρόφιμο απομακρύνεται είτε χειροκίνητα, είτε αυτόματα.
2. Συστήματα ημισυνεχούς λειτουργίας : Τα συστήματα ημισυνεχούς λειτουργίας για την επεξεργασία υγρών τροφίμων χρησιμοποιούν ένα δοχείο πίεσης που περιέχει ένα ελεύθερο έμβολο συμπίεσης. Το γέμισμα του δοχείου πίεσης με το υγρό τρόφιμο πραγματοποιείται μέσω μιας αντλίας χαμηλής πίεσης. Όταν το δοχείο πληρωθεί η οπή εισόδου κλείνει και το υψηλής πίεσης υγρό διοχετεύεται πίσω από το ελεύθερο έμβολο ώστε να συμπιεστεί το υγρό τρόφιμο. Μία πίεση διεργασίας 680 MPa έχει ως αποτέλεσμα την συμπίεση του επεξεργασμένου υγρού τροφίμου κατά 15%. Μετά τον απαιτούμενο χρόνο της διεργασίας, το σύστημα αποσυμπιέζεται ελευθερώνοντας την πίεση του υγρού συμπίεσης. Το επεξεργασμένο υγρό τρόφιμο απομακρύνεται από το δοχείο πίεσης μέσω της οπής του δοχείου και οδηγείται σε αποστειρωμένη δεξαμενή αποθήκευσης. Μια χαμηλής πίεσης αντλία νερού χρησιμοποιείται για να μεταφερθεί το ελεύθερο έμβολο στην οπή εκκένωσης. Τέλος, το επεξεργασμένο υγρό τρόφιμο μπορεί να μεταφερθεί ασηπτικά σε προ-αποστειρωμένα δοχεία ( Farkas & Hoover, 2001).

3. Συστήματα συνεχούς λειτουργίας : Μέχρι στιγμής κανένα σύστημα συνεχούς λειτουργίας δεν έχει χρησιμοποιηθεί από τις βιομηχανίες. Μια συνεχής διεργασία πρέπει να συμπιέζει το υγρό τρόφιμο και να το αποσυμπιέζει με τέτοιο τρόπο, ώστε να αποφεύγεται η υπερβολική έκθεσή του σε υψηλές θερμοκρασίες και στη συνέχεια να μεταφέρεται σε αποστειρωμένο δοχείο, εάν δεν έχει συσκευαστεί ασηπτικά εξ' αρχής.

Η επιλογή του εξοπλισμού εξαρτάται στο είδος του τροφίμου που επρόκειτο να επεξεργαστεί. Τα στερεά προϊόντα με μεγάλα στερεά σωματίδια μπορούν να επεξεργαστούν μόνο σε ασυνεχή συστήματα. Αντιθέτως, τα υγρά και άλλα τρόφιμα που μπορούν να αντληθούν έχουν το πλεονέκτημα διαχείρισης τόσο σε ασυνεχή όσο και συνεχή διεργασία. Για κάθε σύστημα, η πίεση είναι ένας πολύ σημαντικός παράγοντας, όχι μόνο επειδή η αρχική τιμή του εξοπλισμού αυξάνεται σημαντικά με τη μέγιστη πίεση λειτουργίας που εφαρμόζεται, αλλά επίσης επειδή μείωση στην πίεση λειτουργίας μπορεί να ελαττώσει σε μεγάλο βαθμό τον αριθμό των βλαβών του συστήματος, αυξάνοντας έτσι το χρόνο ζωής του εξοπλισμού. Η τάξη των πιέσεων γίνεται πιο κατανοητή, αναπαριστώντας τη μέγιστη πίεση που χρησιμοποιείται στη βιομηχανία τροφίμων (1000 MPa) με την ύπαρξη δύο ελεφάντων των 5000 kg οι οποίοι ισορροπούν σε ένα εκατοστό.

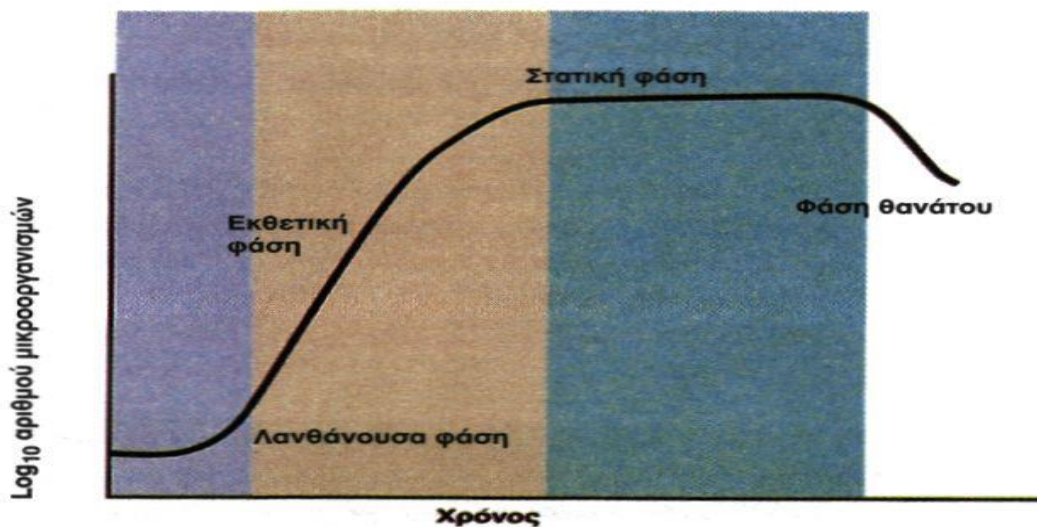
#### **2.2.1.3 Επίδραση της Υπερψηφής Υδροστατικής Πίεσης στους μικροοργανισμούς**

Η μικροβιακή απενεργοποίηση από την υψηλή υδροστατική πίεση έχει μελετηθεί εκτενώς και έχει εξαχθεί το συμπέρασμα ότι είναι αποτέλεσμα συνδυασμού πολλών παραγόντων. Πρωτογενή θέση στην απενεργοποίηση των μικροοργανισμών από την υπερψηφή πίεση είναι η κυτταρική μεμβράνη. Οι μικροοργανισμοί είναι ανθεκτικοί σε επιλεκτικούς χημικούς αναστολείς, εξαιτίας της ικανότητάς τους να αποκλείουν τέτοιους παράγοντες, κυρίως με τη δράση της κυτταρικής μεμβράνης. Ωστόσο αν με κάποιο τρόπο η μεμβράνη αυτή καταστραφεί, η ανθεκτικότητα που επιδεικνύει το κύτταρο, χάνεται. Η HP επιτυγχάνει εκτός από την καταστροφή της μεμβράνης, αλλαγές στη μορφολογία του κυττάρου και στις βιοχημικές αντιδράσεις, μετουσίωση των πρωτεϊνών και αναστολή των γενετικών μηχανισμών. Επιπλέον μηχανισμοί που συμβάλλουν στην απενεργοποίηση των μικροοργανισμών αποτελούν η μετουσίωση σημαντικών ενζύμων και η διάσπαση των ριβοσωμάτων (Linton & Patterson, 2000).

**Βακτήρια** : Τα βακτήρια είναι σχετικά απλοί μονοκύτταροι οργανισμοί και είναι ανάμεσα στους μικρότερους ελεύθερους ζώντες γνωστούς οργανισμούς. Τα κυριότερα βακτήρια που προκαλούν τροφικές δηλητηριάσεις είναι τα *Campylobacter spp.*, *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* και *Vibrio spp.* Από αυτά, όσον αφορά την επεξεργασία τους με HHP, έχουν μελετηθεί κυρίως τα *Listeria monocytogenes* και *Staphylococcus aureus*. Το είδος *Listeria monocytogenes* είναι θετικό κατά Gram και είναι σημαντικά παθογόνο σε οξινισμένα και άλλα τρόφιμα, όπως είναι τα γαλακτοκομικά προϊόντα. Το είδος αυτό απαιτεί ιδιαίτερους χειρισμούς κατά την επεξεργασία και αποθήκευση των τροφίμων, καθώς είναι ανθεκτικό σε μέτρια

θερμοκρασία και μπορεί να αναπτυχθεί αναερόβια υπό συνθήκες ψύξης. Το *Staphylococcus aureus* και το στέλεχος *E. coli* O157:H7 παρουσιάζουν αντοχή στην υψηλή πίεση προκαλώντας αλλοιώσεις σε τρόφιμα, όπως για παράδειγμα το *E. coli* στο νωπό και άπαχο γάλα (Garcia-Graells et al., 199; Linton et al., 2001).

Ο χειρισμός των τροφίμων με τις κατάλληλες συνθήκες HP μπορεί να καταστρέψει τόσο τους παθογόνους όσο και τους αλλοιογόνους μικροοργανισμούς. Ωστόσο, υπάρχει ένα ευρύ φάσμα βακτηρίων τα οποία επιδεικνύουν αντοχή στην πίεση, και το είδος ακόμη του μέσου μεταφοράς της υδροστατικής πίεσης μπορεί να επηρεάζει εξίσου την αντίδραση των μικροοργανισμών στην πίεση αυτή. Το στάδιο, τέλος, της ανάπτυξης των βακτηρίων παίζει έναν ακόμη σημαντικό ρόλο στον καθορισμό της αντοχής στην πίεση, με τα κύτταρα τα οποία βρίσκονται στην φάση στασιμότητας (Εικόνα 2.3) να είναι πιο ανθεκτικά από αυτά που βρίσκονται στην εκθετική φάση ανάπτυξης (McClements et al., 2001). Ακόμη, το θετικά κατά Gram και αρνητικά κατά Gram βακτήρια διαφέρουν σημαντικά ως προς τη χημική δομή των κυτταρικών τοιχωμάτων τους και πιο συγκεκριμένα τα τοιχώματα των τελευταίων είναι αρκετά πιο αδύναμα από αυτά των θετικών κατά Gram βακτηρίων. Άρα, δεδομένης αυτής της αδυναμίας βακτήρια αρνητικά κατά Gram είναι πιο ευαίσθητα κατά την εφαρμογή πίεσης σε αυτά (Patterson and Kilpatrick, 1998).



**Εικόνα 2.3** Χαρακτηριστική καμπύλη ανάπτυξης μικροοργανισμών

**Σπόρια βακτηρίων :** Ένας από τους δυσκολότερους χειρισμούς στην διατήρηση των τροφίμων στην βιομηχανία τροφίμων είναι η απενεργοποίηση των βακτηριακών σπορίων. Αν και η απενεργοποίησή τους είναι εφικτή με χρήση υψηλών θερμοκρασιών, αυτό δεν είναι ιδιαίτερα επιθυμητό, επειδή οι υψηλές θερμοκρασίες υποβαθμίζουν την ποιότητα του τροφίμου. Έχει αποδειχθεί (Johnson & Zobell, 1949) ότι τα σπόρια του στελέχους *Bacillus subtilis* σε υψηλές θερμοκρασίες και ατμοσφαιρική πίεση απενεργοποιούνται σε ένα βαθμό, ενώ με αύξηση της πίεσης στις ίδιες αυξημένες τιμές

θερμοκρασίας δεν πραγματοποιείται απενεργοποίηση. Από την άλλη, όμως η μελέτη έδειξε ότι σε θερμοκρασίες περιβάλλοντος με αύξηση της πίεσης είχε ως αποτέλεσμα την επιτάχυνση της απενεργοποίησης των σπορίων.

Ακόμη, άλλες εναλλακτικές μέθοδοι απενεργοποίησης των σπορίων είναι ο συνδυασμός HP με θέρμανση. Η συνδυασμένη αυτή τεχνική αποσκοπεί αρχικά στη ανάπτυξη των σπορίων σε βλαστικά κύτταρα, και στη συνέχεια απενεργοποίηση των δημιουργηθέντων βλαστικών κυττάρων. Η 'βλάστηση' των κυττάρων είναι μια διαδικασία κατά την οποία ένα αδρανές κύτταρο μετατρέπεται σε βλαστοκύτταρο. Η διέγερση για τη βλάστηση αυτή μπορεί να δημιουργηθεί με την επιβολή σχετικά χαμηλών πιέσεων (50-300 MPa), ενώ η μετέπειτα εξόντωσή τους μπορεί να γίνει είτε με ήπιες θερμοκρασίες, είτε με υψηλότερες πιέσεις (Smelt, 1998).

#### **2.2.1.4 Επίδραση της Υπερυψηλής Υδροστατικής Πίεσης στις πρωτεΐνες-ένζυμα**

Η έκθεση σε υψηλή πίεση έχει ως αποτέλεσμα, όπως προαναφέρθηκε την ενεργοποίηση ή απενεργοποίηση των ενζύμων. Η μέθοδος αυτή επιφέρει δραματικές αλλαγές στους ρυθμούς αντιδράσεων ή στην επιλεκτικότητα των ενζύμων και μπορεί να χρησιμοποιηθεί επιλεκτικά για την αφομοίωση μιας πρωτεΐνης από ένα σύνολο πρωτεϊνών. Για παράδειγμα η ενεργότητα της μυρμηκικής και μηλικής αφυδρογονάσης του βακτηρίου *Escherichia coli* έχει αποδειχθεί ότι μειώνεται με την αύξηση της πίεσης (R.Y Morita, 1957). Ακόμη, η απενεργοποίηση των ενζύμων με χρήση υψηλής πίεσης και θερμοκρασίας δεν μπορούν να συγκριθούν μεταξύ τους. Ο μηχανισμός απενεργοποίησης σε περιβάλλον υπερυψηλής πίεσης περιγράφεται κατά κύριο λόγο με την έννοια της μετουσίωσης των πρωτεϊνών:

4. Μπορεί να πραγματοποιηθεί αντιστρεπτό ή μη, μερικό ή ολικό ξεδίπλωμα της ενζυμικής δομής.
5. Ο μηχανισμός ενζυμικών αντιδράσεων μπορεί να επηρεαστεί όχι μόνο ως προς την ταχύτητα, αλλά και ως προς τα παραγόμενα προϊόντα.
6. Η αυξανόμενη ευαισθησία του υποστρώματος μπορεί να μεταβληθεί ύστερα από το ξεδίπλωμα που προκαλείται με την υψηλή πίεση.
7. Ο δεσμός ενζύμου-υποστρώματος μπορεί να ενισχυθεί με την απελευθέρωση ενδοκυτταρικών ενζύμων (διάρρηξη κυτταρικών τοιχωμάτων).

Γενικά, η πρωτοταγής δομή των ενζύμων δεν επηρεάζεται σημαντικά από την εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης (Heremans 1993; Mozhaev et al., 1994). Η πίεση επηρεάζει την τριτοταγή και τεταρτοταγή δομή των ενζύμων μεταβάλλοντας τις ηλεκτροστατικές και υδροφοβικές αλληλεπιδράσεις, καθώς και τους δεσμούς υδρογόνου, ενώ δεν επιδρά στους ομοιοπολικούς δεσμούς. Η δευτεροταγής τους δομή είναι δυνατόν να μεταβληθεί σε μεγαλύτερες πιέσεις της τάξεως των 700 MPa. Η διαμόρφωση των δεσμών υδρογόνου μπορεί να αλλάξει τόσο στον όγκο του μορίου όσο και στον συνολικό όγκο κατά την πίεση (Balny and Masson, 1993). Η αλλαγή αυτή στους δεσμούς επηρεάζει και τη μετουσίωση των ενζύμων.

Τέλος, έχει αποδειχθεί ότι στην απενεργοποίηση των ενζύμων με την εφαρμογή της HP σημαντικό ρόλο διαδραματίζουν η ενεργότητα του νερού, διάφορες οσμωλυτικές ουσίες όπως σάκχαρα, αμινοξέα και πολυόλες καθώς επίσης και το κλάσμα των ολικών διαλυτών σωματιδίων του μέσου μεταφοράς (Cano et al., 1997).

Ένα παράδειγμα εφαρμογής της μεθόδους της υπερυψηλής υδροστατικής πίεσης σε βιομηχανικό επίπεδο είναι το αιγοπρόβειο γάλα. Σε αυτό, δεν πραγματοποιείται μόνο απενεργοποίηση, αλλαγές στις ιδιότητες και τη σύσταση των παθογόνων και αλλοιογόνων βακτηριών, αλλά και διάρρηξη των καζεϊνικών μικκυλίων, μετουσίωση των πρωτεϊνών ορού, καθώς επίσης διαλυτοποίηση των μετάλλων του γάλακτος. Ωστόσο μελέτες (Rodriguez-Alcala et al., 2015) έχουν δείξει ότι η σύσταση των λιπιδίων και των λιπαρών οξέων του γάλακτος μπορεί να παραμείνει αμετάβλητη με πίεση 900 MPa και θερμοκρασία 15°C, καθώς επίσης και των πηκτικών συστατικών του με συνθήκες 620 MPa και 25°C (Vazquez-Landaverde et al., 2006).

#### **2.2.1.5 Επίδραση της Υπερυψηλής Υδροστατικής Πίεσης στην ποιότητα του τροφίμου**

Η επεξεργασία με υψηλή υδροστατική πίεση προσφέρει στη βιομηχανία τροφίμων μια τεχνολογία που μπορεί να επιτύχει την ασφάλεια που δίδουν οι θερμικές μέθοδοι ενώ ταυτόχρονα συναντά και τις απαιτήσεις των καταναλωτών για πιο φρέσκα προϊόντα. Για την επιλογή της μεθόδου επεξεργασίας, δηλαδή, θα πρέπει να λαμβάνεται σοβαρά υπόψη και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του τροφίμου. Με την αύξηση της πίεσης λειτουργίας, γενικά, αυξάνεται και η απενεργοποίηση των μικροοργανισμών σε μικρότερο χρόνο, όμως οι υψηλές πιέσεις μπορούν να προκαλέσουν μεγαλύτερη αποδιοργάνωση των πρωτεϊνών και άλλες πιθανές αλλαγές στην ποιότητα του τροφίμου που θα μπορούσαν να επηρεάσουν την εμφάνιση, τη δομή, και τη γεύση σε σχέση με το ανεπεξέργαστο τρόφιμο.

- Επίδραση στην Υφή του τροφίμου : Η φυσική δομή των περισσότερων τροφίμων υψηλής περιεκτικότητας σε υγρασία παραμένει αμετάβλητη ύστερα από την έκθεσή της σε υπερυψηλή πίεση, καθώς με την πίεση δεν δημιουργούνται διατμητικές τάσεις. Για προϊόντα που περιέχουν αέρια το χρώμα και υφή μπορούν να μεταβληθούν λόγω μετατόπισης του αερίου και διάχυσης τους υγρού, προκαλώντας συρρίκνωση τους τροφίμου. Όμως στα τρόφιμα στα οποία δεν υπάρχουν κενά αέρα, η πίεση προκαλεί ελάχιστη μόνιμη μεταβολή στα χαρακτηριστικά υφής του (Ting & Marshall, 2002). Σε ορισμένες περιπτώσεις, ωστόσο, η HP μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να προκαλέσει σε ένα τρόφιμο αλλαγές στη δομή, δημιουργώντας με αυτόν τον τρόπο ένα καινούργιο προϊόν, ή για να αυξήσει την λειτουργικότητα κάποιων συστατικών. Για παράδειγμα, η ανάπτυξη επιθυμητών ιδιοτήτων κατά την τήξη του τυριού Mozzarella (O' Reilly et al., 2002) το οποίο έχει υποστεί επεξεργασία με HP.
- Επίδραση στο χρώμα : Η σημασία του χρώματος ενός προϊόντος για την αποδοχή του από τον καταναλωτή απασχολεί εδώ και πολλά χρόνια τη βιομηχανία

τροφίμων. Σε κάποια προϊόντα, ανάλογα βέβαια και με το χρόνο έκθεσης και το μέγεθος της πίεσης, λαμβάνει χώρα μετουσίωση των πρωτεϊνών. Αυτό μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα αλλαγές στην φυσική λειτουργία, ακόμη και στο χρώμα κυρίως σε ωμά προϊόντα. Για παράδειγμα, στο φρέσκο κρέας, πουλερικά, και παρόμοια προϊόντα, οι πιθανές αλλαγές που μπορεί να επάγονται από την εφαρμοζόμενη πίεση, γίνονται λόγω μεταβολών της μυοσφαιρίνης, όπως μετουσίωσή της, μετατόπισης ή απελευθέρωση αίμης και οξείδωση σιδηρούχων ατόμων. Έτσι, η εφαρμογή της μεθόδου σε φρέσκα προϊόντα κρέατος, μπορεί να οδηγήσει το τελικό προϊόν σε εμφάνιση 'ψημένου' και πιθανώς ανάπτυξη 'λαστιχένιας' δομής (Hugas et al., 2002).

- Επίδραση στη γεύση : Ένα από τα σημαντικότερα πλεονεκτήματα της HP, είναι η διατήρηση της φρέσκιας γεύσης στα τρόφιμα, και κυρίως στους χυμούς φρούτων. Ακόμη, με την επεξεργασία των γαλακτοκομικών προϊόντων, και πιο συγκεκριμένα τυριού, με την HP, έχει αποδειχθεί ότι μειώνεται η χαρακτηριστική πικρή τους γεύση. Οι Hugas et al. είχαν δηλώσει ότι η ομάδα οργανοληπτικών δοκιμών δεν έβρισκαν διαφορά ανάμεσα στα προϊόντα κρέατος που είχαν υποστεί θερμική επεξεργασία ή/και επεξεργασία με HP και τα ανεπεξέργαστα.
- Επίδραση στις βιταμίνες : Όσον αφορά τις βιταμίνες, έχει αποδειχθεί ότι οι A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, C και E των φρούτων και λαχανικών δεν επηρεάζονται σημαντικά από τη διεργασία της υψηλής πίεσης, συγκριτικά φυσικά με τις συμβατικές θερμικές επεξεργασίες. Τα ίδια περίπου είναι και τα αποτελέσματα στην περίπτωση των βιταμινών στο γάλα ύστερα από την επεξεργασία του με την HP, αν και οι μελέτες είναι αρκετά λιγότερες. Οι Sierra et al., 2000, μελετώντας την επίδραση της υψηλής πίεσης στο γάλα, βρήκαν ότι δεν υπήρχε σημαντική απώλεια της βιταμίνης B<sub>1</sub> και B<sub>6</sub> ύστερα από επεξεργασία του γάλακτος στα 400 MPa για 30 min.

**Πίνακας 2.1 Εφαρμογές της HHP σε επεξεργασμένα τρόφιμα**

Επιρροή	Γλυκά	Τουρσί	Τυριά	Καρυκεύματα	Μπαχαρικά
Επιμήκυνση χρόνου ζωής τροφίμου	✓	✓	✓	✓	✓
Πρόληψη μικροβιακής μόλυνσης	-	-	-	-	-

✓ Μεγάλη εφαρμογή

[Πηγή: G.V Barbosa-Cánova, 1998]

- Ύπαρξη της εφαρμογής

### **2.2.1.6 Η Υπερυψηλή Υδροστατική Πίεση στον κλάδο της Τυροκομίας**

Η μελέτη για την επίδραση της υπερυψηλής υδροστατικής πίεσης στο γάλα ξεκίνησε από τον Hite το 1899, ο οποίος έδειξε ότι η εφαρμογή μείωσε σημαντικά το μικροβιακό φορτίο του γάλακτος, και επιμήκυνε το χρόνο ζωής του. Εκτός από αυτά, πλέον έχει αποδειχθεί ότι επηρεάζει σημαντικά και άλλα συστατικά του. Το πιο χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελούν οι πρωτεΐνες, καθώς η μεταβολή της λειτουργικότητάς τους έχει ως αποτέλεσμα τη μεταβολή στη δομή τόσο του ίδιου του γάλακτος όσο και των λειτουργιών του.

Ο κύριος στόχος της μεθόδους αυτής, ήταν εξ' αρχής η καταστροφή των μικροοργανισμών του τροφίμου, όπως το γάλα προς τυροκόμηση, ώστε να επιτευχθεί αύξηση του χρόνου ζωής, αποτελεί δηλαδή μια εναλλακτική μέθοδο παστερίωσης. Ωστόσο, η υπερυψηλή πίεση στον τομέα της τυροκομίας μπορεί να εφαρμοστεί για τη βελτίωση παραμέτρων όχι μόνο στο γάλα, αλλά και στα προϊόντα του όπως είναι το τυρί. Η χρήση της μεθόδου στα επιμέρους συστατικά του τυριού, όπως η πτυτιά, η καλλιέργεια ή/και το ίδιο το προϊόν βρίσκεται υπό μελέτη τα τελευταία χρόνια.

Όπως προαναφέρθηκε, σημαντικές μεταβολές επιφέρονται σε κύρια συστατικά του γάλακτος όπως οι πρωτεΐνες του, και τα ενδογενή ένζυμά του, το σύστημα πλασμίνη-πλασμινογόνου το οποίο συμπεριλαμβάνει τα ένζυμα πλασμίνη, το ανενεργό της προένζυμο πλασμινογόνο και τον ενεργοποιητή του πλασμινογόνου, καθώς και τα ένζυμα καθεψίνη D και οι κυστεϊνικές πρωτεάσες, η προέλευση των οποίων είναι τα σωματικά κύτταρα του γάλακτος. Μία ακόμη κατηγορία που επηρεάζεται από την πίεση του γάλακτος είναι τα εξωγενή ένζυμα, τα οποία είτε περιέχονται ήδη στη φυσική μικροχλωρίδα του γάλακτος, είτε προστίθενται σε αυτό μέσω οξυγαλακτικών καλλιεργιών κατά την τυροκόμηση (Politis et al., 1989; Politis et al., 1992; Somers et al., 2003). Η χρήση στα επιμέρους συστατικά της τυροκόμησης, όπως στις προστιθέμενες οξυγαλακτικές καλλιέργειες και στο ίδιο το προϊόν, που αποτελούν αντικείμενο της παρούσας εργασίας αναλύονται εκτενέστερα σε επόμενο κεφάλαιο.

### **2.2.1.7 Κανονισμοί που διέπουν τη μέθοδο της Υπερυψηλής Υδροστατικής Πίεσης**

Με την εισαγωγή της μεθόδους της υψηλής πίεσης στη βιομηχανία τροφίμων, έχουν προκύψει δύο ρυθμιστικές προσεγγίσεις για τα τρόφιμα που επεξεργάζονται με τη μέθοδο, εντός της ευρωπαϊκής ένωσης (ΕΕ) και εκτός. Στις χώρες εκτός της ΕΕ, δεν υπάρχει ακόμη κάποια συγκεκριμένη νομοθεσία προσαρμοσμένη στην ΗΡ επεξεργασία. Στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής, για παράδειγμα, προϊόντα όπως το γουακαμόλε και στρείδια που έχουν υποστεί την επεξεργασία, κυκλοφορούν σύμφωνα με τους ήδη υπάρχοντες κανονισμούς υγείας. Στις χώρες της ευρωπαϊκής ένωσης, ωστόσο, οι εθνικοί κανονισμοί για τα νέα προϊόντα έχουν αντικατασταθεί, στην απαίτηση για προληπτικά μέτρα, από έναν κοινοτικό κανονισμό για καινοτόμα προϊόντα και συστατικά (Regulation 258/97/EC). Τα προϊόντα, τα οποία έχουν επεξεργαστεί με την ΗΡ, θεωρούνται



καινοτόμα, αφού εμπίπτουν σε δύο καταστάσεις: η κατανάλωση τους ήταν έως τώρα αμελητέα, και επιπλέον παρήχθησαν από καινοτόμα διαδικασία. Συγκεκριμένα, από το 2002, όλα τα νέα δοχεία πίεσης που χρησιμοποιούνται στην ΕΕ, θα πρέπει να συμμορφώνονται με τον κανονισμό PED (Pressure Equipment Directive), ο οποίος είναι ουσιαστικά μια επέκταση των προτύπων ασφάλειας 'CE' που ίσχυε ήδη εντός της ΕΕ και είναι αναγνωρισμένος παγκοσμίως. Παρουσία της πιθανότητας, τα δοχεία πίεσης να χρησιμοποιούν επικίνδυνη ενέργεια, η συγκεκριμένη νομοθεσία αναγνωρίζει τον ορθό σχεδιασμό, σωστές πρακτικές κατασκευής των δοχείων, και λεπτομερής αξιολογήσεις όσον αφορά την ασφαλή λειτουργία και διατήρησή του εξοπλισμού (DA-Wen Sun, 2005). Ένας αντίστοιχος νόμος, αποφασίστηκε στο Ηνωμένο Βασίλειο, το 1999 και εφαρμόστηκε το 2002, PER 1999 (Pressure Equipment Regulations- SI 1999/2001).

### **2.2.2 Παλλόμενα Ηλεκτρικά Πεδία (Pulsed Electric Fields – PEF)**

Η μέθοδος των παλλόμενων ηλεκτρικών πεδίων ανήκει στις μη θερμικές διεργασίες, και χρησιμοποιείται για τη διατήρηση της ασφάλειας των τροφίμων και την αύξηση του χρόνου ζωής τους που επιτυγχάνεται με την απενεργοποίηση αλλοιογόνων και παθογόνων μικροοργανισμών. Η εφαρμογή της μεθόδου στοχεύει κατά κύριο λόγο σε ρευστά τρόφιμα, αν και πειράματα έχουν γίνει και σε στερεά τρόφιμα όπως σε κρέας και ψάρια (Klonowski et al., 2006). Η διαδικασία των υψηλής συχνότητας παλλόμενων ηλεκτρικών πεδίων, περιλαμβάνει την εφαρμογή παλμών υψηλού δυναμικού (τυπικά 20-80 kV\*cm<sup>-1</sup>) σε ένα υλικό τροφίμου που τοποθετείται ανάμεσα σε δύο ηλεκτρόδια. Η μέθοδος PEF διεξάγεται είτε σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, είτε χαμηλότερες ή ελαφρώς υψηλότερες τιμές από αυτή, για λιγότερο από 1 sec, και ελαχιστοποιεί την ενεργειακή απώλεια λόγω θέρμανσης του τροφίμου. Όσον αφορά τις επιπτώσεις της στα ποιοτικά χαρακτηριστικά του τροφίμου, η τεχνολογία PEF θεωρείται ανώτερη των παραδοσιακών μεθόδων θερμικής επεξεργασίας των τροφίμων, επειδή ελαχιστοποιεί τις μεταβολές στα φυσικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (Quass, 1997).

Τα παλλόμενα ηλεκτρικά πεδία μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την απενεργοποίηση των μικροοργανισμών και των ενζύμων. Ωστόσο, η απενεργοποίηση συμβαίνει όταν υπερβαίνεται ένα ανώτερο όριο της έντασης ηλεκτρικού πεδίου. Βασιζόμενη στη θεωρία της διηλεκτρικής ρήξης, το εξωτερικό ηλεκτρικό πεδίο επάγει μια διαφορά ηλεκτρικού δυναμικού σε όλη την επιφάνεια της κυτταρικής μεμβράνης γνωστή ως διαμεμβρανικό δυναμικό. Όταν λοιπόν, το δυναμικό αυτό φτάσει μια οριακή τιμή, στη μεμβράνη δημιουργείται ηλεκτροδιάτρηση ή δημιουργία πόρων. Αυτή η αύξηση διαπερατότητας της κυτταρικής μεμβράνης είναι μη αντιστρεπτή εάν το μέγεθος του εξωτερικού ηλεκτρικού πεδίου είναι ίσο ή ελαφρώς μεγαλύτερο της κρίσιμης τιμής. Η οριακή τιμή του διαμεμβρανικού δυναμικού εξαρτάται από τον μικροοργανισμό ή το ένζυμο, καθώς επίσης και από το μέσο στο οποίο αναπτύσσεται ο μικροοργανισμός ή το ένζυμο (Gustavo V. Barbosa – Cánovas, 1998).

Πιο συγκεκριμένα, η ηλεκτροδιάτρηση (electroporation) είναι το φαινόμενο που συμβαίνει όταν υψηλού δυναμικού παλλόμενα ηλεκτρικά πεδία, αποσταθεροποιούν προσωρινά το διπλό στρώμα των λιπιδίων και τις πρωτεΐνες μιας κυτταρικής μεμβράνης (Schoenbach et al., 2001; Joshi et al., 2002). Οι μεμβράνες πλάσματος των κυττάρων γίνονται διαπερατές σε μικρού μεγέθους μόρια, ύστερα από την έκθεσή τους σε ηλεκτρικά πεδία, και η διαπερατότητα έχει ως αποτέλεσμα τη διόγκωση και τελικά τη ρήξη των κυτταρικών μεμβρανών. Δηλαδή, η κύρια μεταβολή που προκαλείται στα κύτταρα των μικροοργανισμών λόγω PEF, είναι η αύξηση της διαπερατότητάς των κυτταρικών μεμβρανών εξαιτίας της συμπίεσης και της δημιουργίας 'πόρων' σε αυτή (Huang et al., 2003; Wouters Patrick et al., 2001).

Τέλος, η απενεργοποίηση των μικροοργανισμών με τη μέθοδο αυτή, αυξάνεται με ταυτόχρονη αύξηση στην ισχύ του ηλεκτρικού πεδίου, τον αριθμό των παλμών, τη διάρκεια του παλμού, το είδος του παλμού, τη θερμοκρασία του μέσου, τη φάση ανάπτυξης των βακτηρίων και της ιοντικής ισχύς του μέσου.

#### **2.2.2.1 Εξοπλισμός Παλλόμενων Ηλεκτρικών Πεδίων**

Η συγκεκριμένη μέθοδος περιλαμβάνει την εφαρμογή παλμών υψηλής τάσης (20-80 kV/cm) σε τρόφιμα που τοποθετούνται μεταξύ δύο ηλεκτροδίων. Η διεργασία αυτή μπορεί να εφαρμοστεί για χρόνο της τάξεως των microseconds σε θερμοκρασία μικρότερη, ίση ή μεγαλύτερη από τη θερμοκρασία περιβάλλοντος. Με την εφαρμογή των παλμών ηλεκτρικών πεδίων δεν παρατηρούνται σημαντικές απώλειες στο χρώμα, το άρωμα, τη γεύση και τα θρεπτικά συστατικά των τροφίμων [Yeom et al., 2000].

Το σύστημα επεξεργασίας με χρήση υψηλής έντασης παλλόμενα ηλεκτρικά πεδία αποτελείται από πολλά επιμέρους στοιχεία, όπως μία πηγή ενέργειας, πυκνωτή, έναν διακόπτη, το θάλαμο επεξεργασίας, πηγή τάσης, ανιχνευτές ρεύματος και θερμοκρασίας και εξοπλισμό για ασηπτική συσκευασία. Η πηγή ενέργειας χρησιμοποιείται για να φορτίσει τον πυκνωτή και ο διακόπτης χρησιμοποιείται για εκφόρτιση του πυκνωτή και παροχή της ενέργειας του στο θάλαμο όπου βρίσκεται το τρόφιμο. Το τρόφιμο μπορεί να εισάγεται σε στατικό θάλαμο ή να αντλείται μέσω συνεχούς θαλάμου. Ο στατικός θάλαμος είναι κατάλληλος για εργαστηριακή κλίμακα, ενώ το συνεχές σύστημα προτιμάται για πιλοτικές και βιομηχανικές μονάδες. Η τάση, το ρεύμα και το ηλεκτρικό πεδίο μετρώνται με παλμοσκόπιο. Το τρόφιμο στη συνέχεια τοποθετείται είτε στις ατομικές τελικές ασηπτικές συσκευασίες, είτε σε δεξαμενές μαζικής αποθήκευσης σε ασηπτικές συνθήκες.

#### **2.2.2.2 Μέθοδος Παλλόμενων Ηλεκτρικών Πεδίων στον τομέα των γαλακτοκομικών προϊόντων**

Η μέθοδος των παλλόμενων ηλεκτρικών πεδίων, αποτελεί με τη σειρά της, καινοτόμα μέθοδο παστερίωσης επιτυγχάνοντας μείωση του μικροβιακού φορτίου με ταυτόχρονη επιμήκυνση του χρόνου ζωής των υγρών κυρίως τροφίμων, όπως το γάλα, χωρίς απώλεια των οργανοληπτικών και φυσικοχημικών χαρακτηριστικών ή/και των προϊόντων που

παράγονται από το επεξεργασμένο γάλα (Dunn, 1996; Sepulveda-Ahymada et al., 2000; Shin et al., 2007). Ο Dunn (1996) ανέφερε ότι γάλα το οποίο είχε επεξεργαστεί με PEF (E=20-80 kV/cm), παρουσίασε λιγότερο ποιοτική υποβάθμιση αρώματος και γεύσης συγκρινόμενο με το φρέσκο γάλα. Ο συγκεκριμένος ερευνητής, τόνισε τη δυνατότητα παρασκευής γαλακτοκομικών προϊόντων όπως τυρί, βούτυρο και παγωτά χρησιμοποιώντας επεξεργασμένο γάλα, ωστόσο υπήρχαν περιορισμένες πληροφορίες στη μελέτη αυτή.

Οι Sepulveda-Ahymada et al. (2000) μελέτησαν τις διαφορές των αντικειμενικών και οργανοληπτικών χαρακτηριστικών υφής και δομής του τυριού Cheddar παραγόμενο με τρία διαφορετικά είδη γάλακτος, επεξεργασμένο με PEF, θερμικά παστεριωμένο και ανεπεξέργαστο. Στη μελέτη σκληρότητας και ελαστικότητας του τυριού βρέθηκε ότι το τυρί από ανεπεξέργαστο γάλα ήταν πιο μαλακό από εκείνα που παρασκευάστηκαν από το επεξεργασμένο γάλα, οποιασδήποτε μεθόδου. Στην περίπτωση του οργανοληπτικού ελέγχου τα αποτελέσματα που έδωσε το πάνελ ήταν παρόμοια με εκείνα των αντικειμενικών μετρήσεων. Ανεξαρτήτως των διαφορών, οι συγγραφείς εκφράζουν την άποψη ότι η χρήση επεξεργασμένου γάλακτος με PEF στην παραγωγή τυριού δίδει τη δυνατότητα βελτίωσης της ποιότητας του προϊόντος.

Οι Shin et al. (2007) εξέτασαν την επιρροή της μεθόδου σε μικροβιολογικά πλαίσια. Έτσι εφάρμοσαν παλλόμενα ηλεκτρικά πεδία σε γάλα το οποίο είχε εμβολιαστεί με μικροοργανισμούς όπως *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens*, και *Bacillus stearothermophilus*. Τα δείγματα εκτέθηκαν σε ηλεκτρικά πεδία έντασης 30-60 kV/cm με εύρος παλμού 1μs και για χρόνο 26-210 μs σε συνεχές σύστημα επεξεργασίας. Κατά την επεξεργασία για χρόνο 210 μs με ένταση 60 kV/cm στους 50°C, στην περίπτωση των *E. coli* και *P. fluorescens* επήλθε μείωση 8 λογαρίθμων και μείωση 3 λογαρίθμων για τον *B. Stearothermophilus*. Στα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά όπως το pH και η οξύτητα δεν βρήκαν σημαντικές μεταβολές στο γάλα.

Τέλος σύμφωνα με τον Li (2009), όπου εφάρμοσε τη μέθοδο σε γάλα τυροκόμησης για τυρί Cheddar, η περιεκτικότητα του γάλακτος σε λίπος, σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες των 45°C φάνηκε να επηρεάζει την αποτελεσματικότητα της μεθόδου στην απενεργοποίηση των μικροοργανισμών. Ακόμη, μελετώντας τα ρεολογικά χαρακτηριστικά κατά την πήξη του γάλακτος βρήκε ότι η θερμοκρασία, ο χρόνος επεξεργασίας όπως και η ένταση των ηλεκτρικών πεδίων είχε σημαντική επίδραση στις πηκτικές ιδιότητες του γάλακτος (στη συνεκτικότητα του πήγματος και στο χρόνο πήξης). Το γάλα το οποίο είχε επεξεργαστεί με PEF επέδειξε καλύτερη πηκτική ικανότητα από το αντίστοιχο που είχε παστεριωθεί με θερμική μέθοδο. Ακόμη, στα αποτελέσματα της πρωτεόλυσης του τυριού Cheddar, ο συγγραφέας υπέδειξε μεγαλύτερη παραγωγή ελεύθερων αμινοξέων (FAA) κατά την ωρίμανση του τυριού που παρασκευάστηκε με το επεξεργασμένο με PEF γάλα, συστατικών που συμβάλλουν στην πρόσδοση γεύσης στο τυρί.

### **2.2.3 Ταλαντούμενα Μαγνητικά Πεδία (Oscillating Magnetic Fields – OMFs)**

Η χρήση των ταλαντούμενων μαγνητικών πεδίων για την απενεργοποίηση των μικροοργανισμών έχει το πλεονέκτημα παστερίωσης των τροφίμων με ταυτόχρονη βελτίωση της ποιότητας και του χρόνου ζωής σε σύγκριση με τις παραδοσιακές μεθόδους παστερίωσης. Γενικά, τα μαγνητικά πεδία επηρεάζουν την ανάπτυξη και την αναπαραγωγή των μικροοργανισμών, αυξάνοντας το ρυθμό σύνθεσης του DNA, αλλάζοντας τη λειτουργία των βιομορίων και των βιομεμβρανών σε κατεύθυνση παράλληλη ή κάθετη με αυτή του εφαρμοζόμενου μαγνητικού πεδίου και αλλάζουν την ιοντική μετατόπιση μέσω της μεμβράνης του κυτταροπλάσματος, με αποτέλεσμα την μεταβολή του ρυθμού αναπαραγωγής των.

Μαγνητικά πεδία συνήθως δημιουργούνται εφαρμόζοντας ρεύμα σε ηλεκτρικό πηνίο. Η απενεργοποίηση των μικροοργανισμών απαιτεί πυκνότητα μαγνητικής ροής της τάξεως των 5 έως 50 Tesla. OMFs τέτοιας πυκνότητας μπορούν να δημιουργηθούν χρησιμοποιώντας είτε υπεραγωγίμα πηνία, είτε πηνία που παράγουν συνεχούς τάσης πεδία ή, τέλος, πηνία που τροφοδοτούνται από εκφορτιζόμενο πυκνωτή.

Οι βιολογικές μεμβράνες επιδεικνύουν ισχυρό προσανατολισμό στο μαγνητικό πεδίο εξαιτίας της εγγενούς ανισοτροπικής δομής των μεμβρανών. Ο προσανατολισμός των κυτταρικών μεμβρανών παράλληλος ή κάθετος με αυτόν του εφαρμοζόμενου μαγνητικού πεδίου, εξαρτάται από την ολική ανοσοτροπία των βιομορίων, όπως οι πρωτεΐνες που σχετίζονται με τις μεμβράνες.

Η χρήση των OMFs στη διατήρηση των τροφίμων, βοηθά στην απενεργοποίηση των μικροοργανισμών χωρίς να προσδίδει μη επιθυμητά χαρακτηριστικά. Τρόφιμα όπως το τυρί και η μπίρα είναι προϊόντα ζύμωσης από μικροοργανισμούς. Η ζύμωση πέρα από τα επιθυμητά όρια έχει ως αποτέλεσμα την αλλοίωση των προϊόντων. Επομένως, οι μικροοργανισμοί πρέπει να απενεργοποιηθούν με το πέρας της ζύμωσης και αυτό μπορεί να επιτευχθεί με την εφαρμογή των ταλαντούμενων μαγνητικών πεδίων. Μελέτη έδειξε ότι, απενεργοποίηση μικροοργανισμών με OMF πραγματοποιείται με πυκνότητα μεγαλύτερη των 2 T. Ένας μόνο παλμός, με πυκνότητα ροής μεταξύ 5 έως 50 T και συχνότητα 5 έως 500 kHz μειώνει τον αριθμό των μικροοργανισμών κατά τουλάχιστον δύο λογάριθμους (G.A Hofmann, 1985).

Ωστόσο, η πιο σημαντική αξίωση των τροφίμων, ώστε να μπορούν να διατηρηθούν επιτυχώς με την εφαρμογή μαγνητικών πεδίων, είναι η υψηλή ηλεκτρική αντίσταση, μεγαλύτερη από 10 έως 25 Ohms-cm. Πολλά τρόφιμα έχουν ηλεκτρική αντίσταση σε αυτό το εύρος. Για παράδειγμα, ο χυμός πορτοκαλιού έχει αντίσταση 30 Ohms-cm. Η ένταση του εφαρμοζόμενου μαγνητικού πεδίου είναι συνάρτηση της ηλεκτρικής αντίστασης και του πάχους του τροφίμου που πρόκειται να επεξεργαστεί. Μεγαλύτερες μαγνητικές εντάσεις χρησιμοποιούνται για μικρότερες τιμές ηλεκτρικής αντίστασης και υψηλότερες τιμές πάχους (G.V. Barbosa – Cánovas, 1998).

### **2.2.3.1 Μέθοδος ταλαντούμενων μαγνητικών πεδίων στον τομέα των γαλακτοκομικών προϊόντων**

Η μέθοδος των παλλόμενων μαγνητικών πεδίων μελετάται κυρίως προς την ικανότητά απενεργοποίησης των μικροοργανισμών. Ωστόσο δεν υπάρχουν αρκετές έρευνες για την εφαρμογή της μεθόδου σε γαλακτοκομικά προϊόντα.

### **2.2.4 Υπεριώδες Παλμικό Φώς**

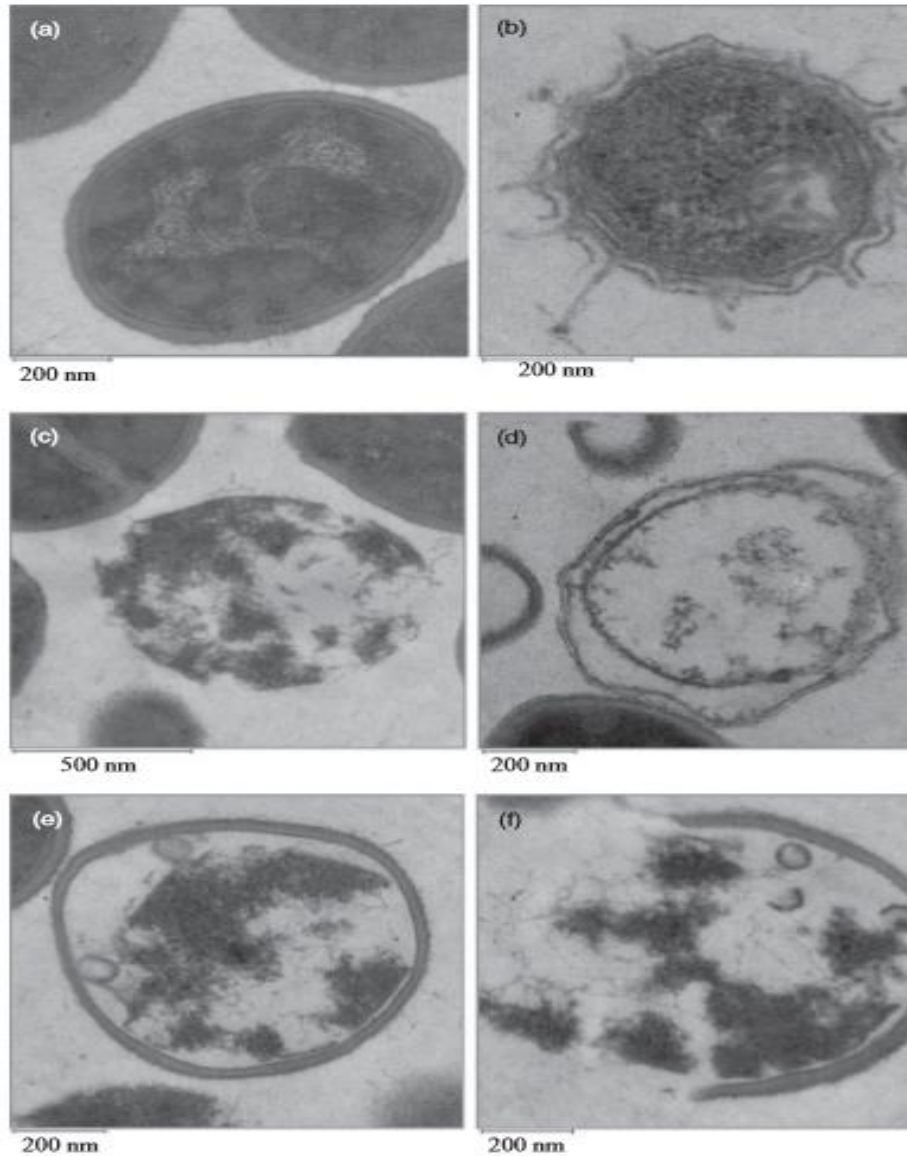
Η τεχνολογία υπεριώδους παλμικού φωτός, είναι μία μη χημική, μη θερμική απλή προσέγγιση απολύμανσης, που έχει, συγκριτικά με άλλες μεθόδους, λιγότερες απαιτήσεις ως προς τη συντήρηση.

Το υπεριώδες φως ορίζεται ως η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία σε περιοχή φασμάτων από 100 έως 400 nm και χωρίζεται σε τέσσερα εύρη μηκών κύματος : UV-A (315-400 nm), UV-B (280-315 nm), UV-C (200-280 nm) και UV κενού (100-200 nm) (Krishnamurthy et al., 2008). Το UV-C φως καταστρέφει το DNA των μικροοργανισμών, προκαλώντας τη διαμόρφωση θανατηφόρων φωτοπροϊόντων (photoproducts) και διμερών πυριμιδίνης (pyrimidine dimers) στο μικροβιακό DNA (J. Ahmed, M. S. Rahman, 2012). Η δημιουργία τέτοιων δεσμών αποτρέπει το μικροβιακό κύτταρο από την αναπαραγωγή, εμποδίζοντας την αντιγραφή του DNA.

Η τεχνολογία όμως του υπεριώδους παλμικού φωτός είναι μια νέα τεχνολογία που χρησιμοποιεί υπεριώδες φως, και είναι πιο αποτελεσματική από την συμβατική μέθοδο υπεριώδους φωτός που περιγράφηκε παραπάνω. Είναι και αυτή μη χημική και μη θερμική μέθοδος, η οποία απαιτεί ελάχιστο χρόνο επεξεργασίας. Σε ένα σύστημα υπεριώδους παλμικού φωτός, μία energized xenon gas lamp εκπέμπει έντονο παλμικό φως με ένα συνεχές ευρυζωνικό (broadband) φάσμα από το υπεριώδες έως το υπέρυθρο. Το φάσμα είναι ιδιαίτερα πλούσιο και αποτελεσματικό στην περιοχή της υπεριώδους. Η διάρκεια ενός παλμού είναι τόσο μικρή όσο μερικά εκατοστά microseconds.

Η απενεργοποίηση των μικροοργανισμών πραγματοποιείται κυρίως λόγω δημιουργίας φωτοχημικών αντιδράσεων που λαμβάνουν χώρα όταν φωτόνια στην περιοχή του υπεριώδους απορροφούνται από μικροβιακά συστατικά. Τα φωτόνια του υπεριώδους, τα οποία είναι τα βασικά σωματίδια του υπεριώδους φωτός, μεταφέρουν ένα μεγάλο ποσό ενέργειας, και έχουν την ικανότητα διάσπασης ή δημιουργίας χημικών δεσμών. Στην περίπτωση των μικροβιακών κυττάρων, οι χημικές αντιδράσεις που επάγονται από τα φωτόνια, γίνονται κυρίως στη δομή των πρωτεϊνών και του DNA (Jay et al., 2005). Όσον αφορά το DNA, προκαλούνται διασπάσεις σε αλυσίδες του, διασταυρούμενες συνδέσεις ανάμεσα στις έλικές του, υδρόλυση των πυριμιδινών και σχηματισμό διμερών πυριμιδίνης μεταξύ γειτονικών κατάλοιπων. Ακόμη πιο αποτελεσματικά δρα το παλλόμενο υπεριώδες φως, το οποίο περιλαμβάνει πολυχρωματική ακτινοβολία στη

φασματική περιοχή από το υπεριώδες έως το υπέρυθρο, και δεν περιορίζεται μόνο στις φωτοχημικές αντιδράσεις, αλλά έχει φωτοθερμικές και φωτοφυσικές επιδράσεις στα μικροβιακά κύτταρα (Krishnamurthy et al., 2007; Fine & Gervais, 2004). Οι Fine & Gervais ανέφεραν ότι το θερμικό στρες εξαιτίας της διαφοράς μεταξύ της απορρόφησης παλλόμενου υπεριώδους φωτός από έναν μικροοργανισμό και του περιβάλλοντος μέσου προκαλεί εξάτμιση του νερού στο βακτηριακό κύτταρο, οδηγώντας σε διάρρηξή του (Εικόνα 2.4).



[Πηγή: Krishnamurthy et al., 2010]

**Εικόνα 2.4** Επίδραση της επεξεργασίας με παλλόμενο υπεριώδες φως (*pulsed UV light*) στο *Staphylococcus aureus* μετά από 5sec.

#### **2.2.4.1 Μέθοδος Υπεριώδους Παλμικού Φωτός στον τομέα των γαλακτοκομικών προϊόντων**

Η βασική επιδίωξη που υπάρχει με τη χρήση της μεθόδου του παλλόμενου UV φωτός στον τομέα των γαλακτοκομικών προϊόντων, είναι μέχρι σήμερα η απενεργοποίηση μικροοργανισμών για βελτίωση της ποιότητας και αύξηση του χρόνου ζωής των προϊόντων. Μελέτες έχουν δείξει ότι η δόση UV που απαιτείται για την απενεργοποίηση ιών, ζυμών και μυκήτων είναι αρκετά υψηλότερη από εκείνη που απαιτείται στην περίπτωση των βακτηρίων (Datta & Tomasula, 2015). Η αποτελεσματικότητα της μεθόδου όσον αφορά τα βακτήρια εξαρτάται μεταξύ άλλων από το είδος, την ηλικία του μικροοργανισμού, τον αριθμό των κυττάρων, καθώς και την παρουσία σπορίων. Τα αρνητικά κατά Gramm βακτήρια *Pseudomonas*, *Escherichia coli* εμφανίζονται πιο επιρρεπή στην ακτινοβόληση με υπεριώδες φως από τα θετικά κατά Gramm *Bacillus*, *Staphylococcus*. Ακόμη, οι Matak et al. (2005) πέτυχαν μείωση μεγαλύτερη της τάξεως των 5 λογαρίθμων των μικροοργανισμών *Listeria monocytogenes*, *Cryptosporidium parvum* και *E. Coli* κατά την επεξεργασία γίδινου γάλακτος με υπεριώδες φως.

#### **2.2.5 Ακτινοβολία (Irradiation)**

Η ακτινοβολία στη βιομηχανία τροφίμων, είναι η έκθεση του τροφίμου σε μία πηγή ιοντίζουσας ακτινοβολίας, ώστε να παραληφθεί το τελικό προϊόν με τις επιθυμητές ιδιότητες. Τα τρόφιμα υφίστανται αυτή την επεξεργασία κυρίως για λόγους διατήρησης όπως η επέκταση του χρόνου ζωής (shelf-life) του τροφίμου, η μείωση του μικροβιακού φορτίου ή η εξάλειψη παθογόνων μικροοργανισμών. Κατά την διαδικασία της ακτινοβολίας, θα πρέπει να ληφθούν υπ' όψη αρκετές παράμετροι, ώστε να μπορεί η μέθοδος να καταστεί βιώσιμη στον τομέα των τροφίμων. Για παράδειγμα, ιδιαίτερη σημασία θα πρέπει να δοθεί :

- στην ετήσια διακίνηση
- τις εποχιακές διακυμάνσεις κατά τη διακίνηση
- τα φυσικά χαρακτηριστικά του τροφίμου (σχήμα, δομή, σύσταση)
- τις απαιτήσεις ως προς τους χειρισμούς και την αποθήκευση
- τα αποδεκτά όρια ακτινοβολίας και οι βέλτιστες δόσεις για το εκάστοτε τρόφιμο

Ο βέλτιστος σχεδιασμός του συστήματος ακτινοβολίας θα εξαρτηθεί από τη φυσική μορφή του προϊόντος, καθώς και από τις συνθήκες κάτω από τις οποίες επρόκειτο να επεξεργαστεί, να αποθηκευτεί και να μεταφερθεί. Η συσκευασία του προϊόντος πιθανώς να έχει σημαντική επίδραση στο κόστος της ολικής διεργασίας (J. Ahmed & M. S. Rahman, 2012). Τα φρούτα και τα λαχανικά, θα μπορούσαν να επεξεργαστούν με ακτινοβολία σε μικρό χρονικό διάστημα από τη συγκομιδή τους, ενώ το κρέας και τα θαλασσινά, θα πρέπει να ψυχθούν πριν την εφαρμογή της μεθόδου αυτή για περισσότερη ασφάλεια.

Η ιοντίζουσα ακτινοβολία, είναι μια ευρεία έννοια, που περιγράφει οποιαδήποτε ακτινοβόληση με επαρκή ενέργεια ώστε να προκαλέσει απελευθέρωση των ηλεκτρονίων

από τα άτομα. Η ακτινοβολία μπορεί να είναι αποτέλεσμα από αποσύνθεση ραδιενεργών υλικών ή ακτίνες Χ, ή ηλεκτρόνια υψηλής ενέργειας από έναν επιταχυντή. Για την εφαρμογή της μεθόδου στα τρόφιμα, ο FAO/WHO, 2003, (Codex General Standars) επιτρέπει τη χρήση των εξής τύπων ιοντίζουσας ακτινοβολίας : ακτίνες γ από τα ραδιονουκλεοτίδια  $^{60}\text{Co}$  και  $^{137}\text{Cs}$ , ακτίνες Χ παραγόμενες από μηχανικές πηγές που λειτουργούν σε ενεργειακά επίπεδα μικρότερα των 5 MeV (Mega electron Volt), και ηλεκτρόνια παραγόμενα από μηχανικές πηγές που λειτουργούν σε ενεργειακά επίπεδα μικρότερα των 10 MeV (J. Ahmed, M. S. Rahman, 2012). Τα όρια για τη μέγιστη ενέργεια για τις ακτίνες Χ ή τα ηλεκτρόνια, είναι βασισμένα στις ανησυχίες σχετικά με την πιθανότητα σχηματισμού ραδιοενεργών προϊόντων στο τρόφιμο (IAEA, 2002).

Όταν το τρόφιμο ακτινοβολείται, σχηματίζονται ελεύθερες ρίζες. Οι μικροοργανισμοί καταστρέφονται από τις ρίζες που σχηματίζονται στα κύτταρά τους αντιδρώντας με το DNA τους, ως εκ τούτου σπάζοντας του δεσμούς και εμποδίζοντας την αντιγραφή. Σε αντίθεση με τις θερμικές κατεργασίες, η μέθοδος αυτή δεν καταστρέφει τα ένζυμα που εμφανίζουν ανθεκτικότητα. Για την αδρανοποίησή τους, απαιτούνται υψηλότερες δόσεις ακτινοβολίας, γεγονός που μπορεί να προκαλέσει τη δημιουργία δευτερογενούς ραδιενέργειας. Για την αποφυγή δημιουργίας της, επομένως, προτείνεται συνδυασμένη τεχνική θερμικής κατεργασίας ακολουθούμενη από ακτινοβολήση.

Τέλος, οι ιοντίζουσες ακτινοβολίες μπορεί να έχουν ως αποτέλεσμα την πρόκληση χημικών δράσεων με ταυτόχρονη υποβάθμιση των ποιοτικών χαρακτηριστικών των τροφίμων, όπως ανεπιθύμητες μεταβολές χρώματος, γεύσης και υφής. Αναφέρεται ότι το γάλα, τα γαλακτοκομικά προϊόντα και το κρέας αποκτούν δυσάρεστη οσμή μετά την ακτινοβολήση, ενώ στα φρούτα και λαχανικά έχει παρατηρηθεί αποικοδόμηση των πηκτινών και μεταβολή της υφής των προϊόντων κατά την ακτινοβολήσή τους. Για τους λόγους αυτούς η ακτινοβολήση με ιοντίζουσες ακτινοβολίες πραγματοποιείται κυρίως σε κατεψυγμένα προϊόντα απουσία οξυγόνου (Θωμόπουλος, 1981; Gould, 1999).

#### **2.2.5.1 Μέθοδος ακτινοβολίας στον τομέα των γαλακτοκομικών προϊόντων**

Η επιμήκυνση του χρόνου ζωής ή/και η παστερίωση των γαλακτοκομικών προϊόντων με χρήση της ακτινοβολίας δεν είναι ευρέως αποδεκτή μέθοδος. Ο λόγος για την περιορισμένη αυτή χρήση είναι ότι η ιοντίζουσα ενέργεια, μέσω σχηματισμού ραδιολυτικών προϊόντων ειδικά σε τρόφιμα υψηλού περιεχομένου σε λιπαρά, παράγει μη αποδεκτή γεύση και οσμή μέσω οξειδωσης.

Οι Bongirwar και Kumta (1967) διαπίστωσαν ύστερα από επεξεργασία του τυριού Cheddar με ακτινοβολία στα 0,5 kGy ότι παρουσίασε δυσάρεστη οσμή και γεύση, αντιθέτως με επεξεργασία του στα 0,2 kGy η γεύση βελτιώθηκε. Ακόμη, εφαρμογή ακτινοβολίας της τάξεως των 1,5 kGy στο τούρκικο τυρί Kashar δεν προκάλεσε μόνο αλλοίωση στη γεύση και οσμή, αλλά και υποβάθμιση στο χρώμα του. Με μείωση, όμως της δόσης στα 1,2 kGy δεν παρουσιάστηκε σημαντική ποιοτική υποβάθμιση του τυριού



(Jones & Jelen, 1988). Ακόμη, η επεξεργασία του τυριού με ακτινοβολία σε συνδυασμό με διατήρηση του προϊόντος σε ψύξη, είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση του χρόνου ζωής του.

### **2.2.6 Τεχνολογία Εμποδίων ( Hurdle Technology)**

Η πλειοψηφία των τεχνικών διατήρησης των τροφίμων, βασίζεται στη καθυστέρηση ή παρεμπόδιση της μικροβιακής ανάπτυξης, χρησιμοποιώντας παράγοντες που επηρεάζουν περισσότερο την επιβίωση και την ανάπτυξη των μικροοργανισμών, όπως είναι η θερμοκρασία, η ενεργότητα νερού, το δυναμικό οξειδοαναγωγής, το pH, τα διαθέσιμα υποστρώματα, η διαθεσιμότητα του οξυγόνου, η συγκέντρωση σημαντικών διαλυτών συστατικών και τα συντηρητικά. Έτσι, η χρήση μεθόδων για τον έλεγχο πολλών εκ των παραμέτρων αυτών, μπορεί να οδηγήσει σε λύσεις στον τομέα διατήρησης και παρασκευής των τροφίμων. Στα περισσότερα τρόφιμα, τόσο καινοτόμα όσο και συμβατικά, ένας συνδυασμός από διάφορους παράγοντες που μπορούν να λειτουργήσουν ως συντηρητικό (hurdles), οι οποίοι φυσικά δεν θα πρέπει να επηρεάζονται από την ύπαρξη των μικροβιακών πληθυσμών, μπορεί να εξασφαλίσει τελικά τη μικροβιακή σταθερότητα και ασφάλεια του τροφίμου. Η τεχνολογία εμποδίου, ουσιαστικά, απεικονίζει την συνεργιστική σχέση μεταξύ των παραγόντων στην ανάπτυξη των μικροοργανισμών (Σαββαΐδης, 2002-2003; Barbosa – Cánovas et al., 1998).

Ένας μεγάλος τομέας εφαρμογής της μεθόδου είναι τα φρούτα. Η διατήρησή τους για μεγάλο χρονικό διάστημα καθίσταται αρκετά δύσκολη αποτελώντας πρόκληση για τη βιομηχανία τροφίμων. Ένας από τους κυριότερους λόγους είναι η υψηλή περιεκτικότητα σε υγρασία και η αυξημένη ενεργότητα του νερού, που ευνοούν την μικροβιακή ανάπτυξη. Η μέγιστη τιμή της ενεργότητας, ώστε το τρόφιμο να είναι μικροβιολογικά σταθερό είναι  $a_w = 0.85$ . Ενυδατικές και διαλυτές ουσίες, για προσαρμογή της ενεργότητας στα επιθυμητά όρια μπορούν να αποτελέσουν διάφορα σάκχαρα, άλατα και πολυόλες. Ωστόσο, πολλές φορές οι ποσότητες που απαιτούνται να εισαχθούν ώστε να φτάσει το τρόφιμο σε μια μικροβιακή σταθερότητα ( $a_w = 0.85$ ), προκαλούν αλλοιώσεις στη δομή του τροφίμου, όπως για παράδειγμα 'αφυδατωμένη' όψη. Το πρόβλημα αυτό, μπορεί να ξεπεραστεί, με μικρή μείωση της ενεργότητας από τις προστιθέμενες ουσίες, σε συνδυασμό με άλλες τεχνολογικές μεθόδους, όπως είναι η θερμική επεξεργασία. Η αρχική ιδέα της τεχνολογίας εμποδίων, παρουσιάστηκε για την διατήρηση των προϊόντων κρέατος (L. Leistner, 1987).

Η επίτευξη ελέγχου, πολλών εκ των παραμέτρων μπορεί να πραγματοποιηθεί σε συνδυασμό με πολλές από τις προαναφερθείσες μη θερμικές μεθόδους επεξεργασίας, όπως τα υψηλής έντασης παλλόμενα ηλεκτρικά πεδία, τα οποία προκαλούν ηλεκτροχημική αστάθεια στην κυτταρική μεμβράνη των κυττάρων, και η υψηλή υδροστατική πίεση, η οποία μαζί με θερμική επεξεργασία ή με προσθήκη άλλων ουσιών όπως οξέων για μείωση του pH δίνει ακόμη καλύτερα αποτελέσματα σε πληθώρα

τροφίμων. Παρακάτω, παρατίθεται πίνακας με τις τεχνολογικές μεθόδους (φυσικά εμπόδια), τα φυσικοχημικά και βιολογικά εμπόδια που μπορούν να χρησιμοποιηθούν.

**Πίνακας 2.2 Φυσικά, φυσικοχημικά και βιολογικά εμπόδια**

Φυσικά Εμπόδια	Φυσικοχημικά εμπόδια	Βιολογικά Εμπόδια
1. Θερμική επεξεργασία (π.χ αποστείρωση, παστερίωση)	1. Ενεργότητα νερού $a_w$	1. Υπεροξειδάση της λακτόζης
2. Θερμοκρασία συντήρησης	2. pH	2. Λυσοζύμη
3. Ακτινοβολήση	3. NaCl	3. Ανταγωνιστική μικροχλωρίδα
4. Ηλεκτρομαγνητική ενέργεια	4. $\text{NaNO}_2$ (Νιτρώδη)	4. Βακτηριοσίνες (Νισίνη)
5. Υπερυψηλή πίεση	5. $\text{CO}_2$	
6. Ultrasonication	6. Οργανικά οξέα (π.χ οξικό, βενζοϊκό, γαλακτικό, κιτρικό)	
7. Συσκευασία	7. Συντηρητικά	
8. MAP	8. Κάπνισμα	
9. Ασηπτική συσκευασία	9. Μπαχαρικά και βότανα	
10. Μικροϋφή	10. Αιθανόλη	
	11. $\text{SO}_2$	
	12. Οξειδοαναγωγικό δυναμικό (Eh)	

[Πηγή: Ταούκης & Ωραιοπούλου, 2009; Σαββαΐδης, 2002]

#### **2.2.6.1 Μέθοδος Τεχνολογίας Εμποδίων στον τομέα των γαλακτοκομικών προϊόντων**

Η βασική ιδέα της τεχνολογίας αυτής στην περίπτωση των μικροοργανισμών είναι η δημιουργία ενός εχθρικού περιβάλλοντος στο τρόφιμο ώστε να επιβραδυνθεί ή ακόμη και να ανασταλεί η λειτουργία του. Στα ζυμούμενα προϊόντα, όπως είναι και το τυρί, υπάρχει μία αλληλουχία εμποδίων, η οποία προκύπτει σε διαφορετικά στάδια της ωρίμανσης του προϊόντος και οδηγεί στη δημιουργία μικροβιολογικά σταθερών τελικών προϊόντων, όπως για παράδειγμα η παραγωγή οξέος με αποτέλεσμα τη μείωση του pH και η πρόσληψη άλατος (Rahman. 2007), .

Σημαντικές είναι οι προσπάθειες που έχουν γίνει για να προκύψει θετικό αποτέλεσμα από τις ανταγωνιστικές δραστηριότητες των μικροοργανισμών στο τυρί. Για παράδειγμα, έχουν χρησιμοποιηθεί οξυγαλακτικές καλλιέργειες τέτοιες ώστε να αποτρέπουν και να ελέγχουν μικροοργανισμούς όπως ο *L. monocytogenes* και αλλοιογόνους όπως το *Clostridium tyrobutyricum* στα πλαίσια εφαρμογής τεχνολογιών εμποδίου (για παράδειγμα παστερίωση γάλακτος, χρήση συγκεκριμένων καλλιεργειών) (Anastasiou et al., 2007; O'Sullivan et al., 2006). Οι καλλιέργειες αυτές χρησιμοποιούνται για να παράγουν ανταγωνιστικούς μεταβολίτες όπως βακτηριοσίνες, πεπτίδια ή/και χαμηλού

μοριακού βάρους μη πρωτεϊνικά συστατικά (οργανικά οξέα, λιπαρά οξέα και άλλα), και διαφέρουν από τις καλλιέργειες-εκκινητές που χρησιμοποιούνται κυρίως για την πρόσδοση των τεχνολογικών χαρακτηριστικών (παραγωγή οξέος και αρωματικών συστατικών) (Irlinger & Mounier, 2011).

### **2.2.7 Τεχνολογία Υπερήχων**

Η χρήση υπερήχων υψηλής έντασης αποτελεί για τη βιομηχανία τροφίμων τα τελευταία χρόνια ένα πολύ αποδοτικό μέσο για διεργασίες μεγάλης κλίμακας όπως η γαλακτωματοποίηση, η ομογενοποίηση, η εκχύλιση, η κρυσταλλοποίηση, η αφυδάτωση, η παστερίωση χαμηλής θερμοκρασίας, η απαέρωση, η απενεργοποίηση ενζύμων, η μείωση του μεγέθους σωματιδίων και η τροποποίηση του ιξώδους. Το ξαφνικό αυτό άλμα φυσικά που σημειώθηκε στη χρήση των υπερήχων οφείλεται καταρχήν στον πιο αποδοτικό σχεδιασμό και τη μεγαλύτερη αποδοτικότητα των συστημάτων επεξεργασίας μεγάλης κλίμακας και συνεχούς ροής.

Οι υπέρηχοι χρησιμοποιούνται όπως και τα ηχητικά κύματα, αλλά σε υψηλότερες συχνότητες, μεταξύ 18 και 500 MHz. Οι υπέρηχοι ως γνωστόν χρησιμοποιούνται για τη διάρρηξη του κυτταροπλάσματος και την απομόνωση της κυτταροπλασματικής μεμβράνης από το κύτταρο. Οι υπέρηχοι σε συνδυασμό με την πίεση (Mano-Thermo-Sonication) βελτιώνουν τις διεργασίες της παστερίωσης και της αποστείρωσης ορισμένων υγρών τροφίμων. Οι τιμές  $D_{10}$  (ελάττωση του μικροβιακού πληθυσμού κατά περίπου 90%) ορισμένων μικροοργανισμών είναι χαμηλότερες από τις αντίστοιχες τιμές των μεθόδων θερμικής επεξεργασίας τροφίμων. Συνήθως οι υπέρηχοι δεν χρησιμοποιούνται στη συντήρηση των τροφίμων λόγω των βλαβερών επιδράσεων στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά τους.

Η εφαρμογή των υπερήχων σε μια επεξεργασία μπορεί να πραγματοποιηθεί με τρεις βασικούς μηχανισμούς

1. Απευθείας εφαρμογή στο προϊόν
2. Σύζευξη με μια άλλη συσκευή επεξεργασίας
3. Βύθιση σε λουτρό υπερήχων

#### **2.2.7.1 Μέθοδος υπερήχων στον τομέα των γαλακτοκομικών προϊόντων**

Η μέθοδος των υπερήχων προτείνεται ως μια τεχνική παστερίωσης, χρήσιμη στην απενεργοποίηση μικροοργανισμών, ενζύμων και επιμήκυνσης του χρόνου ζωής του προϊόντος. Για παράδειγμα στην περίπτωση του γάλακτος, έχει μελετηθεί η απενεργοποίηση βακτηρίων όπως *Listeria monocytogenes* με χρήση υπερήχων (D'Amino et al., 2006). Ακόμη και ένζυμα του γάλακτος μπορούν να απενεργοποιηθούν με επεξεργασία του γάλακτος με υπερήχους, συμπεριλαμβανομένης και της αλκαλικής φωσφατάσης (Villamiel & de Jong, 2000). Ωστόσο, υπάρχουν και έρευνες σύμφωνα με τις οποίες σημειώθηκε αύξηση της ενζυμικής ενεργότητας ύστερα από χρήση της μεθόδου

(McClements, 1995). Ακόμη, έχει μελετηθεί το αποτέλεσμα των υπερήχων στα ένζυμα που παίρνουν μέρος στην πήξη του γάλακτος, όπως είναι η χυμοσίνη και η πεψίνη, καθώς και ένζυμα μυκήτων. Γενικά, ύστερα από επεξεργασία μακράς διάρκειας (ορισμένων λεπτών) η πρωτεολυτική δραστηριότητα των ενζύμων αυτών μειώθηκε. Ωστόσο, όταν η επεξεργασία έγινε σε μίγμα γάλακτος και χυμοσίνης, παρατηρήθηκε ελάχιστη απενεργοποίηση του ενζύμου (Raharintsoa, Gaulard, & Alais, 1977; 1978). Μελέτες έχουν δείξει ότι, η ενζυμική απενεργοποίηση αυξάνεται με αύξηση των περιεχόμενων στερεών και μειώνεται με αύξηση της συγκέντρωσης των ενζύμων (Sala et al., 1995; Villamiel & de Jong, 2000). Τέλος η απενεργοποίηση είναι πιο έντονη όταν η τεχνολογία γίνεται σε υψηλότερες θερμοκρασίες.

Από την άλλη, η τεχνολογία των υπερήχων είναι μία από τις ευρέως χρησιμοποιούμενες μη καταστρεπτικές τεχνικές ανάλυσης παρέχοντας τη δυνατότητα εύρεσης λεπτομερών πληροφοριών για το λιπαρό περιεχόμενο, το μέγεθος των λιποσφαιριδίων και την κατανομή τους, καθώς και ελέγχου της διαδικασίας πήξης του γάλακτος (Ramesh et al., 2016).

### **2.3 Συνδυασμός Θερμικών και Μη Θερμικών Τεχνολογιών**

Καλύτερα αποτελέσματα στην επεξεργασία των τροφίμων, μπορούν να επιτευχθούν με τη χρήση συνδυασμένων τεχνικών, εκμεταλλευόμενοι τις μεταβολές που προκαλούνται από τη καθεμιά. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η υψηλή υδροστατική πίεση, με την οποία επιτυγχάνεται αδρανοποίηση των μικροοργανισμών και κάποιων ενζύμων, σε συνδυασμό με την θερμική επεξεργασία με την οποία μπορεί να πραγματοποιηθεί απενεργοποίηση των σπορίων που είναι ανθεκτικά στην πίεση. Η πίεση, προκαλεί βλάστηση των σπορίων και η υψηλή θερμοκρασία απενεργοποίηση των κύτταρα που έχουν βλαστήσει. Όπως στην προηγούμενη περίπτωση, έτσι και στα υψηλής έντασης μαγνητικά πεδία, μπορεί να εφαρμοστεί συνδυασμός της μεθόδου με θέρμανση για απενεργοποίηση τόσο των μικροοργανισμών αλλά και των σπορίων τους. Ακόμη, η τεχνολογία εμποδίων, και η HP χρησιμοποιούνται πιο συνηθισμένα σε εμπορική κλίμακα.

Οι μη θερμικές διεργασίες, αναμένεται να προκαλούν την ελάχιστη ποιοτική υποβάθμιση, συγκριτικά με τις μεταβολές που προκαλούνται από τις θερμικές διεργασίες. Είναι σημαντικό, ως εκ τούτου, η εκτενής εκτίμηση των αλλαγών στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των τροφίμων, στις συγκεντρώσεις και στη δομή τόσο των λιπιδίων, των πρωτεϊνών, των υδρογονανθράκων, βιταμινών, όσο και των υπόλοιπων θρεπτικών συστατικών τους.

Δεδομένου ότι η παρούσα εργασία εστιάζεται στην εφαρμογή της ΥΠ για την βελτίωση των χαρακτηριστικών και του χρόνου ωρίμανσης του τυριού, στο επόμενο κεφάλαιο αναπτύσσεται διεξοδικά το θέμα και περιγράφεται η τρέχουσα γνώση και οι σχετικές ερευνητικές προσπάθειες.

**ΒΙΒΙΟΓΡΑΦΙΑ 2<sup>ΟΥ</sup> ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ**

1. Anastasiou R., Georgalaki M., Manolopoulou E., Kandarakis I., De Vuyst L., Tsakalidou E., **'The performance of Streptococcus macedonicus ACA-DC 198 as starter culture in Kasser cheese production'**, *Int Dairy J*, 17, pp. 208–217, 2007.
2. Balny C. and Masson P., **'Effects of high pressure on proteins'**, *Food Reviews International*, 9, pp. 611-628, 1993.
3. Bongirwar D. R. and Kumta U. S., **'Preservation of cheese with combined use of gamma-rays and sorbic acid'**, *Int. J. Appl. Rad. Isotopes*, 18, 133, 1967.
4. Cano M. P., Hernandez A. and Ancos B. D., **'High pressure and temperature effects on enzyme inactivation in strawberry and orange products'** *Journal of Food Science*, 62, 1, pp. 85-88, 1997.
5. **Commission Discussion Paper: Implementation of Regulation (EC) No. 258/97 of the European Parliament and of the Council of 27 January 1997 Concerning Novel Foods and Novel Food Ingredients** (<http://eur-lex.europa.eu/>).
6. D' Amico D. J., Silk T. M., Wu J., Guo M., **'Inactivation of microorganisms in milk and apple cider treated with ultrasonication'**, *J. Food Protect.* 69, 3, pp. 556-563, 2006.
7. Datta Nivedita & Peggy M. Tomasula, **'Emerging Dairy Processing Technologies : Opportunities for the Dairy Industry'**, *Wiley Blackwell, IFST Advances in Food Science*, 2015.
8. DA-Wen Sun, **'Emerging Technologies for Food Processing'**, *Elsevier Academy Press*, pp. 3-27, 2005.
9. Dunn J., **'Pulsed light and pulsed electric field for foods and eggs'**, *Poultry Science*, 75, 9, pp. 1133-1136, 1996.
10. FAO/WHO, Codex General Standard for Irradiated Foods , CODEX STAN 106 -1 983, Rev. - 2003, Codex Alimentarius Commission. Food and Agriculture Organization and World Health Organization, Rome, 2003.
11. Farkas D. F., Hoover D. G., **'High Pressure Processing»**, in: **Kinetics of microbial inactivation for alternative food processing technologies'**, *Journal of Food Science Supplement*, Volume 65, pp. 47-64, 2000.
12. Fine F. and Gervais P., **'Efficiency of pulsed UV-light for microbial decontamination of food powders'**, *Journal of Food Protection* 67, 4, pp. 787-792, 2004.
13. Garcia-Graells C., Masschalck B., Michiels C. W., **'Inactivation of Escherichia coli in milk by high hydrostatic pressure treatment in combination with antimicrobial peptides'**, *Journal of Food Protection*, 62, 11, pp. 1248-1254, 1999.
14. Gould G. W., **'New methods of food preservation'**, *Aspen publications, Gaithersburg*, 1999.

15. Barbosa – Cánovas Gustavo V. , Usha R. Pothakamury, Enrique Palou, Barry G. Swanson, '**Nonthermal Preservation of Foods**' , 1998.
16. Health and Safety Executive : <http://www.hse.gov.uk/>
17. Heremans K., '**The behavior of proteins under pressure**', In R. Winter and J. Jonas (Eds), *High Pressure Chemistry, Biochemistry and Materials Science*, pp. 443-469, 1994.
18. Hite B. H., '**The effect of pressure in the preservation of milk**', *Bull. West Virginia Univ. Virginia. Expt. Station*, 58, pp. 15-35, 1899.
19. Hofmann G. A., '**Deactivation of microorganisms by an oscillating magnetic field**', U.S Patent 4524079, 1985.
20. Hosain Darvishi, Adel Hosainpour, Farzad Nargesi, '**Ohmic Heating Behaviour and Electrical Conductivity of Tomato Paste**', *Nutrition & Food Sciences*, Vol. 2, 9, 2012.
21. Huang Y., Sekhon N. S., et al, '**Instantaneous, quantitative single- cell viability assessment by electrical evaluation of cell membrane integrity with microfabricated devices**', *Sensors and Actuators A: Physical* 105, 1, pp. 31–39, 2003.
22. Hugas M., Garriga M., Monfort J. M., '**New mild technologies in meat processing: high pressure as a model technology**', *Meat Science*, 61, 4, pp. 425-431, 2002.
23. IAEA, '**Natural and Induced Radioactivity in Food**' , IAEA -TEC DOC -1 287. *International Atomic Energy Agency*, Vienna, 2002.
24. Irlinger Françoise, Jérôme Mounier, '**Microbial interactions in cheese: implications for cheese quality and safety**', *HAL archives-ouvertes.fr*, 2011.
25. Jakób A., Bryjak J., Wójtowicz H., et al., '**Inactivation kinetics of food enzymes during ohmic heating**', *Food Chemistry*, 123, pp. 369-376, 2010.
26. Jasim Ahmed, Mohammad Shafiur Rahman, '**Handbook of Food Process Design**', Wiley-Blackwell publication, 2012.
27. Jatindra Kumar Sahu, '**Introduction to Advanced Food Process Engineering**', 152-180, 2001.
28. Jay J. M., Loessner M. J. and Golden D. A., '**Radiation protection of foods, and nature of microbial radiation resistance**', *Modern Food Microbiology* , 7th edition, Springer Science and Business Media, New York, pp. 372, 2005.
29. Johnson F. H. and C. E. Zobell, '**The radiation of thermal disinfection of Bacillus subtilis spores by hydrostatic pressure**' *Journal Bacteriol*, 57, pp. 353-358, 1949.
30. Jones T. H., Jelen P., '**Low dose gamma irradiation of camembert, cottage cheese and cottage cheese whey**', *Milchwissenschaft*, 43, 233, 1988.
31. Joshi R. P., Hu Q. et al., '**Improved energy model for membrane electroporation in biological cells subjected to electrical pulses**', *Physical*

- Review E (Statistical, Nonlinear, and Soft Matter Physics)* 65, 4, 041920/041921 – 041928, 2002.
32. Klonowski I., Heinz V., Toepfl S ., Gunnarsson G. and Porkelsson G. **‘Applications of Pulsed Electric Field Technology for the Food Industry’**, *R&D Report Summary 06-06, Icelandic Fisheries Laboratories*, 2006.
  33. Krishnamurthy K., Demirci A., and Irudayaraj J., **‘Inactivation of Staphylococcus aureus in milk using flow-through pulsed UV light treatment system’**, *Journal of Food Science* 72, 7, pp. 233 – 239, 2007.
  34. Krishnamurthy K., Demirci A., Irudayaraj J. AND Yang W., **‘UV pasteurization of food materials’**, *Food Processing Operations ModelingQ Design and Analysis, second edition*, CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 281-299, 2008.
  35. Krishnamurthy K., Tewari J. C., Irudayaraj J. and Demirci A., **‘Microscopic and spectroscopic evaluation of inactivation of Staphylococcus aureus by pulsed UV light and infrared heating’**, *Food and Bioprocess Technology* 3, 1, pp. 93–104, 2010.
  36. Leistner L., **‘Shelf-table products and intermediate moisture foods based on meat, Water activity: Theory and applications to Food’**, (L. B. Rockland and L. R. Beuchat eds), *Marcel Dekker, New York*, pp. 295-328, 1987.
  37. Li Juan Ya, **‘Application of pulsed electric fields treated milk on cheese processing and flavor development’**, *Department of Bioresource Engineering Macdonald Campus, McGill University Montreal, Quebec, Canada, ResearchGate*, 2009.
  38. Linton M., McClements J. M. J., Patterson M. F., **‘Inactivation of pathogenic Escherichia coli in skimmed milk using high hydrostatic pressure’**, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2, 99-104, 2001.
  39. Linton M, Patterson MF, **‘High Pressure Processing of Foods for Microbiological Safety and Quality’**, *Acta Microbiologica et Immunologica Hungaria*, 47, 2-3, pp. 175-182, 2000.
  40. Matak K. E., Churrey J. J., Worobo R. W. et al., **‘Efficacy of UV light for the reduction of Listeria monocytogenes in goat’s milk’**, *Journal of Food Protection*, 68, pp. 185-196, 2005.
  41. McClements J., **‘Advances in the application of ultrasonic in food analysis and processing’**, *Trends Food Sci. Technol.*, 6, 9, pp. 293-299, 1995.
  42. McClements JMJ, Patterson MF, Linton M, **‘The effect of growth stage and growth temperature on high hydrostatic pressure inactivation of some psychrotrophic bacteria in milk’**, *Journal of Food Protection*, 64, 4, pp. 514-522, 2001.
  43. Mozhaev V. V., Hermans K., Frank J., Masson P., Blany C., **‘Exploiting the effects of high hydrostatic pressure in biotechnological applications’**, *Trends in Biotechnology*, 12, 12, pp. 493-501, 1994.

44. O' Reilly C. E., Murphy P. M., Kelly A. L., Guinee T. P., 'The effect of high pressure treatment on the functional and rheological properties of Mozzarella cheese', *Innovative Food Science and Emerging Technology*, 3, pp. 3-9, 2002.
45. O'Sullivan L., O'connor E. B., Ross R. P., Hill C., 'Evaluation of live-culture-producing lactacin 3147 as a treatment for the control of *Listeria monocytogenes* on the surface of smear-ripened cheese', *J. Appl. Microbiol.*, 100, pp. 135-143, 2006.
46. Patterson M. F., Kilpatrick D., 'The combined effect of high hydrostatic pressure and mild heat on inactivation of pathogens in milk and poultry', *Journal of Food Protection*, 61, 4, pp. 432-436, 1998.
47. Politis I., K. F. Ng Kwai Hang, R. N. Giroux, 'Environmental factors affecting plasmin activity in milk', *Journal of Dairy Science* 72, pp. 1713-1718, 1989.
48. Politis I., E. Lachance, E. Block, and J.D. Turner. 1989. 'Plasmin and plasminogen in bovine milk: a relationship with involution', *Journal of Dairy Science* 72, pp. 900-906, 1989.
49. Quass D., 'Pulsed Electric Field Processing in the Food Industry', *Electric Power Research Institute, Palo Alto, CA*, 1997.
50. Morita R. Y., 'Effect of hydrostatic pressure on succinic, malic and formic dehydrogenases in *Escherichia coli*', *Journal Bacteriol*, 74, pp. 251-255, 1957.
51. Raharintsoa C., Gaulard M. L. & Alais C., 'Effet des ultrasons cavitans sur la coagulation du lait par les enzymes', *Lait*, 58, pp. 559-574, 1978.
52. Raharintsoa C., Gaulard M. L. & Alais C., 'Etude de l'action des ultrasons cavitans sur quelques enzymes coagulantes' *Lait*, 57, pp. 631-645, 1977.
53. Rahman M. Shafiur, 'Handbook of Food Preservation', *Second Edition, CRC Press*, pp. 895-902, 2007.
54. Ramesh C. Chandan, Arun Kilara, Nagendra P. Shah, 'Dairy Processing and Quality Assurance', *second edition, Wiley Blackwell*, 2016.
55. Rodríguez-Alcala L. M., Castro-Gomez P., Felipe X., Noriega L. & Fontecha J., 'Effect of processing of cow milk by high pressures under conditions up to 900 MPa on the composition of neutral, polar lipids and fatty acids', *LWT - Food Science and Technology*, 62, 1, pp. 265-270, 2015.
56. Sala F. J., Burgos J., Condon S., Lopez P., & Raso J., 'Effect of heat and ultrasounds on microorganisms and enzymes' *G. W. Gould, New Methods of Food Preservation, Glasgow: Blackie*, pp. 176-204, 1995.
57. Schoenbach K. H., Stark R. H., et al., 'Bioelectrics – new applications for pulsed power technology', *IEEE Conference Record Abstracts PPS (01CH31255)*, 56, 2001.
58. Sepulveda-Ahumada D. R., Ortega-Rivas E., and Barbosa-Cánovas G. V., 'Quality aspects of cheddar cheese obtained with milk pasteurized by pulsed



- electric fields'**, *The Transactions of the Institution of chemical Engineers*, 78, pp. 65-71, 2000.
59. Shin J. K., Jung K. J., Pyun Y. R., Chung M. S., '**Application of pulsed electric fields with square wave pulse to milk inoculated with E. coli, P.fluorescens, and B. stearothermophilus'**, *Food Science and Biotechnology*, 16(6), pp. 1082-1084, 2007.
60. Sierra I., Vidal-Valverde C. and Lopez-Fandino R., '**Effect of high pressure on the vitamin B1 and B6 content of milk'**, *Milchwiss*, 55, 7, pp. 365–367, 2000.
61. Smelt JPPM, '**Recent advances in the microbiology of high pressure processing'**, *Trends in Food Science & Technology*, 9, pp. 152-158, 1998.
62. Smith Scott J., Y. H. Hui '**Food Processing Principles and Applications'**, *Blackwell publishing*, 2004.
63. Somers J. M., O' Brien B., Meanev W. J., Kelly A. L., '**Heterogeneity of proteolytic enzyme activities in milk samples of different somatic cell count'** *Journal of Dairy Research* 70, 1, pp. 45-50, 2003.
64. Ting E. Y., Marshall R. G., '**Production issues related to UHP food'**, *In Engineering and Food for th 21<sup>st</sup> Century (Wolti-Chanes J, Barbosa-Canovas GV, Anguilera JM, EDS). FOOD Preservation Technology Series, Boca Rton Q CRC Press, Ch 44, pp. 727-738, 2002.*
65. Vazquez-Landaverde P. A., Torres J. A., & Qian M., '**Effect of high-pressure moderate-temperature processing on the volatile profile of milk'** *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, pp. 9184-9192, 2006.
66. Villamiel M. & de Jong P., '**Influence of high-intensity ultrasound and heat treatment in continuous flow on fat, proteins and native enzymes of milk'**, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, pp. 472–478, 2000.
67. Wouters Patrick C., Bos Ad. P. , et al., '**Membrane permeabilization in relation to inactivation kinetics of Lactobacillus species due to pulsed electric fields'**, *Applied and Environmental Microbiology* 67, 7, pp. 3092-3101, 2001.
68. Yeom H. W., Streaker C. B., Zhang Q. H., Min D. B., '**Effects of Pulsed Electric Fields on the Activities of Microorganisms and Pectin Methyl Esterase in Orange Juice'**, *Journal of Food Science*, Vol.65, 8, pp. 1359–1363, 2000.
69. Θωμόπουλος Χ. Δ., '**Τεχνολογία γεωργικών βιομηχανιών'**, Πανεπιστημιακές εκδόσεις ΕΜΠ, Αθήνα, 1981.
70. Σαββαΐδης Ιωάννης, '**Εισαγωγή στην τεχνολογία εμποδίων ως μεθόδου συντήρησης των τροφίμων'**, *Εργαστήριο Χημείας και Μικροβιολογίας Τροφίμων, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων*, 2002-2003.
71. Ταούκης Π. & Ωραιοπούλου Β., '**Επιστήμη και Μηχανική Διεργασιών Τροφίμων'**, *Εκδόσεις ΕΜΠ, Αθήνα*, 2009.
72. Τζια Κ., '**Στοιχεία χημείας τροφίμων'**, *εκδόσεις ΕΜΠ, Αθήνα*, 1999.

**Διαδικτυακοί Ιστότοποι**

- <http://www.hiperbaric.com/en/>
- <http://www.kobelco.co.jp/english/index.html>



## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 : ΩΡΙΜΑΝΣΗ – ΕΠΙΤΑΧΥΝΣΗ ΩΡΙΜΑΝΣΗΣ ΤΥΡΙΩΝ**

### **3.1 Ωρίμανση**

#### **3.1.1 Εισαγωγή**

Το στάδιο αυτό αποτελεί ίσως το δυσκολότερο και πιο κρίσιμο από όλα τα υπόλοιπα στην τυροκομία, κι αυτό έγκειται τόσο στη διαχείρισή του, καθώς η ωρίμανση επηρεάζεται εξίσου από ενδογενείς και από εξωγενείς παράγοντες οι οποίοι θα διαμορφώσουν την ποιότητα του τυριού, όσο και στο κόστος του. Οι παράγοντες αυτοί, όπως θα αναλυθεί και στη συνέχεια, αφορούν τις συνθήκες ωρίμανσης όπως για παράδειγμα η θερμοκρασία, η υγρασία και ο αερισμός του περιβάλλοντος χώρου, που έχουν και το αντίστοιχο αντίκτυπο στα μεταβολικά μονοπάτια και τις βιοχημικές αντιδράσεις που συμβαίνουν κατά την ωρίμανση. Το κόστος του προέρχεται κυρίως, από εκείνο που σχετίζεται με τη συντήρηση μεγάλων ποσοτήτων του προϊόντος σε αποθηκευτικούς χώρους για μεγάλα χρονικά διαστήματα (κυρίως στα μακράς ωρίμανσης τυριά), καθώς και από το κόστος κεφαλαίου για την εξασφάλιση των κατάλληλων συνθηκών καθ' όλη τη διάρκεια της ωρίμανσης.

Τα περισσότερα τυριά, η παρασκευή των οποίων απαιτεί τυτιά, ωριμάζουν ύστερα από ορισμένο χρονικό διάστημα που ποικίλει ανάλογα με το είδος του τυριού. Το εύρος των περιόδων ωρίμανσης μπορεί ενδεικτικά να οριοθετηθεί από τις δύο εβδομάδες, κατά τη διάρκεια των οποίων ωριμάζει παραδείγματος χάρη η Mozzarella (μαλακό τυρί ιταλικής προέλευσης) έως και τους 18 μήνες για το Parmigiano-Reggiano (σκληρό κοκκώδες τυρί από την Ιταλία) ή το extra-mature Cheddar (σκληρό κίτρινο τυρί από την Αγγλία). Υπάρχουν ωστόσο και ποικιλίες τυριών, τα φρέσκα, που είναι έτοιμα προς κατανάλωση αμέσως μετά την παρασκευή τους. Η ωρίμανση περιλαμβάνει μια περίπλοκη σειρά από σύνθετα βιοχημικά και μικροβιολογικά μονοπάτια που οδηγούν στη διαμόρφωση της τελικής χαρακτηριστικής γεύσης και υφής του τυριού. Οι πιο χαρακτηριστικές μικροβιακές μεταβολές που λαμβάνουν χώρα κατά τη διάρκεια της φάσης αυτής είναι, ο θάνατος και η λύση των βακτηριακών κυττάρων (starter cells), η ανάπτυξη τυχαίας χλωρίδας (non-starter οξυγαλακτικών βακτηρίων, κυρίως ετεροζυμωτικοί λακτοβάκιλλοι) και σε πολλές ποικιλίες τυριών η ανάπτυξη δευτερεύουσας μικροχλωρίδας, όπως για παράδειγμα το *Propionibacterium freudenreichii* στο τυρί Swiss και μύκητες στα τυριά των οποίων η ωρίμανση απαιτεί την ύπαρξη ειδών μούχλας. Συχνά αυτή η μικροχλωρίδα είναι μεγάλης σημασίας για την ανάπτυξη των χαρακτηριστικών γεύσης και υφής των εκάστοτε τυριών.

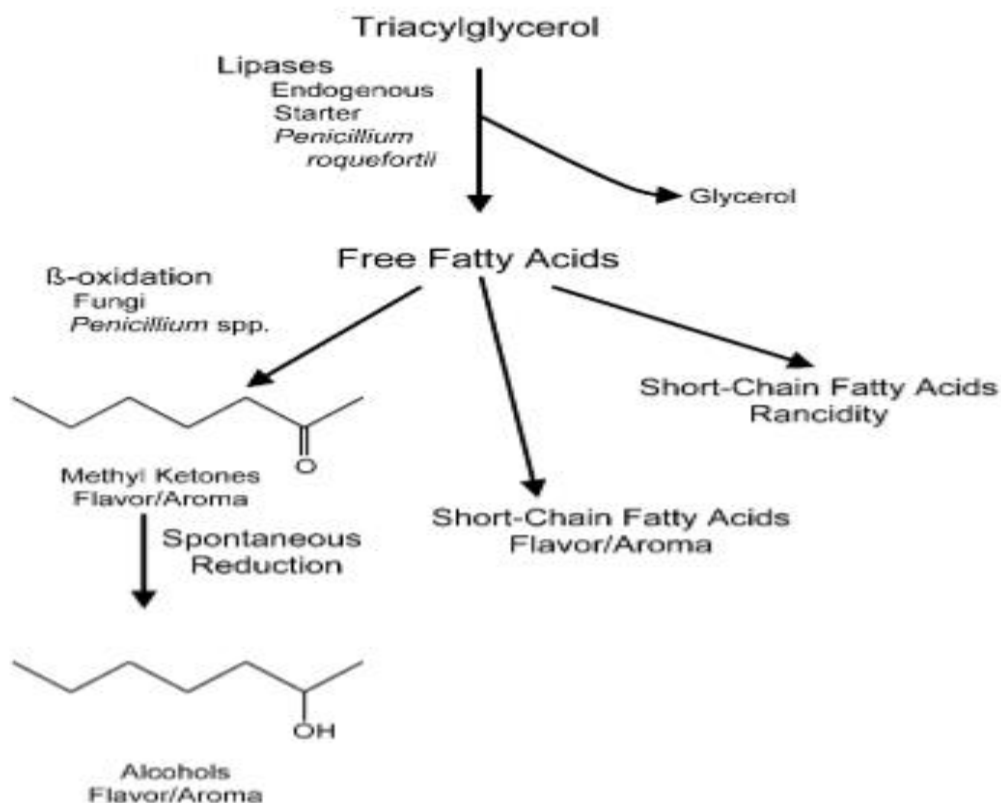
Τα βιοχημικά μονοπάτια κατά την ωρίμανση των τυριών περιλαμβάνουν το μεταβολισμό της εναπομένουσας λακτόζης (το μεγαλύτερό της μέρος απομακρύνεται με το τυρόγαλο κατά την τυροκόμηση), του γαλακτικού και κιτρικού οξέος, τη λιπόλυση και το μεταβολισμό των ελεύθερων λιπαρών οξέων, καθώς και το φαινόμενο της πρωτεόλυσης και του μεταβολισμού των αμινοξέων (Upadhyay & McSweeney, 2003).

### **3.1.2 Βιοχημικές μεταβολές κατά την ωρίμανση του τυριού**

Ως κύρια συστατικά που αποδίδουν την επιθυμητή ποιότητα και τα επιθυμητά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά στο τελικό προϊόν, μπορούν να θεωρηθούν τα λιπαρά οξέα, οι πρωτεΐνες, η λακτόζη και οι εστέρες, τα οποία σχηματίζονται υπό την επίδραση διάφορων ενζύμων κατά τη διάρκεια του σταδίου της ωρίμανσης. Ακόμη, τα κιτρικά και γαλακτικά οξέα, αν και υπάρχουν σε μικρές ποσότητες αποτελούν ιδανικό υπόστρωμα για διάφορους μικροοργανισμούς, τα προϊόντα της δράσης των οποίων προσδίδουν τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά στο τυρί. Τα ένζυμα, λοιπόν, που συμμετέχουν στην ωρίμανση προέρχονται είτε από το γάλα και τη μικροχλωρίδα του, όπως είναι η όξινη φωσφατάση, η λιπάση και η πλασμίνη τα οποία επιβιώνουν της παστερίωσης, είτε από τη μικροβιακή καλλιέργεια, την πυτιά ή άλλα σκευάσματα ενζύμων που μπορεί να προστίθενται κατά την κατασκευή κάθε ποικιλίας τυριού. Όσον αναφορά την πυτιά, όσο χαμηλότερο είναι το pH του τυροπήγματος, τόσο μεγαλύτερο κλάσμα ενζύμων (το είδος των οποίων εξαρτάται από το είδος του τυριού που παρασκευάζεται) μεταφέρεται στο τυρί. Τα ένζυμα αυτά και η πλασμίνη αποτελούν τον ισχυρότερο παράγοντα πραγματοποίησης της πρωτεόλυσης κατά την ωρίμανση (Fox, 1999).

#### **3.1.2.1 Λιπόλυση**

Τα λιπίδια στα τρόφιμα συνήθως υφίστανται υδρολυτική ή οξειδωτική υποβάθμιση. Ωστόσο, στο τυρί, οι αλλαγές λόγω οξείδωσης είναι περιορισμένες λόγω του χαμηλού οξειδοαναγωγικού δυναμικού (-250 mV) (Fox & Wallace, 1997; McSweeney & Sousa, 2000). Αντιθέτως, το λίπος (τριγλυκερίδια) σε όλες τις ποικιλίες τυριών, υφίσταται υδρόλυση (Εικόνα 3.1) κατά την ωρίμανση από τα ένζυμα λιπάσες, αυτόχθονες, ενδογενείς ή/και εξωγενείς, και κυρίως από αυτόχθονες λιποπρωτεϊνικές λιπάσες που περιέχονται ήδη στο γάλα ή προστίθενται με την πυτιά και την καλλιέργεια και έχουν ως αποτέλεσμα την απελευθέρωση λιπαρών οξέων. Πιο συγκεκριμένα, τα ελεύθερα λιπαρά οξέα, και δη τα μικρής αλυσίδας οξέα, είναι αυτά που συνεισφέρουν άμεσα στη γεύση, αποτελώντας ταυτόχρονα και πρόδρομα συστατικά για ένα μεγάλο αριθμό καταβολικών αντιδράσεων, συμπεριλαμβανομένου και του σχηματισμού της λακτόνης από ενδομοριακή εστεροποίηση των υδροξυοξέων, καθώς και πολλών πτητικών ενώσεων. Όμως, υπερβολικά επίπεδα λιπόλυσης είναι ανεπιθύμητα αφού οδηγούν στην τάγγιση του τυριού. Οι εστέρες είναι εκείνα τα συστατικά που αποδίδουν τη 'φρουτώδη' γεύση στο τυρί (Uradhyay et al., 2004).



[Πηγή Scott &amp; Hui, 2004]

**Εικόνα 3.1** Σχηματική αναπαράσταση του μεταβολισμού των λιπιδίων κατά την παραγωγή τυριού.

### 3.1.2.2 Πρωτεόλυση

Η πρωτεόλυση είναι το βασικό βιοχημικό φαινόμενο το οποίο πραγματοποιείται κατά την ωρίμανση μεγάλου μέρους τυριών, όπως τα σκληρά και συνεισφέρει αισθητά στη βελτίωση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών. Πρόδρομες ενώσεις στη διεργασία αυτή αποτελούν οι καζεΐνες. Οι καζεΐνες είναι οι πρωτεΐνες του γάλακτος που δημιουργούν κατά την τυροκόμηση το πήγμα. Σε αυτό ενσωματώνονται και μικρές ποσότητες πρωτεϊνών του ορού, κυρίως α-λακταλβουμίνη και β-λακτογλοβουλίνη, οι οποίες ωστόσο μεταβάλλονται ελάχιστα κατά την ωρίμανση. Το ενδιαφέρον, επομένως, για τις πρωτεολυτικές διεργασίες, περιορίζεται στις καζεΐνες και κυρίως στις σημαντικότερες εξ' αυτών, που είναι, οι  $\alpha_{s1}$ ,  $\alpha_{s2}$ , β- και κ- καζεΐνες. Άλλωστε έχει αποδειχθεί ότι στο τυρί Φέτα τα περισσότερα πεπτίδια που απελευθερώνονται προέρχονται κυρίως από διάφορα τμήματα της  $\alpha_{s1}$ -καζεΐνης, δύο προχέονται από το ανθρακικό άκρο της β-καζεΐνης και ένα από την κ-καζεΐνη (Sousa et al., 2001).

Όσον αφορά τη διαδικασία επομένως της πρωτεόλυσης (Εικόνα 3.2), μόλις αρχίσει η δημιουργία του πηγματος, ξεκινά η διάσπαση-υδρόλυση των καζεϊνών σε απλούστερες

ουσίες και η μείωση της ενεργότητας νερού εξαιτίας των δεσμών που δημιουργούνται μεταξύ του νερού με τις καρβοξυ- και αμινο-ομάδες των πεπτιδίων, αλλάζοντας έτσι τη δομή του τυροπήγματος. Η αρχική αποδόμηση των καζεϊνών καταλύεται από την απομένουσα χυμοσίνη (υπάρχει στην τυτιά που προστίθεται και παγιδύεται στο πήγμα) και την κύρια ενδογενή πρωτεϊνάση, την πλασμίνη. Συνοψίζοντας, με τη δράση της τυτιάς, διασπώνται ο Phe<sub>105</sub>-Met<sub>106</sub> δεσμός της κ-καζεΐνης, επάγοντας έτσι την συσσωμάτωση, και οι Phe<sub>23</sub>-Phe<sub>24</sub> και Phe<sub>24</sub>-Val<sub>25</sub> δεσμοί της α<sub>51</sub>-καζεΐνης. Η δράση της τυτιάς συνεχίζει καθ' όλη τη διάρκεια της ωρίμανσης απελευθερώνοντας μεγάλο μοριακού βάρους πεπτίδια, αλλά όχι ελεύθερα αμινοξέα.

Ένα ποσοστό μεγαλύτερο του 30% της δρατικότητας της τυτιάς παραμένει στο τυρόπηγμα, ενώ το υπόλοιπο απομακρύνεται με το τυρόγαλα, και διαφοροποιείται ανάλογα με το είδος των ενζύμων, τη θερμοκρασία επεξεργασίας και το pH κατά τη στράγγιση του ορού (Uradhaya et al., 2004). Ένα μέρος των ενζύμων που υπάρχει στη βακτηριακή καλλιέργεια-εκκινητή διασπά τα προκύπτοντα πεπτίδια. Η πρωτεϊνάση lactocerpine Prtp, η οποία είναι επικολημένη στην κυτταροπλασματική μεμβράνη (cell envelope-associated proteinase) των οξυγαλακτικών βακτηρίων (περιέχονται στο γάλα ή προστίθενται επιπλέον αν το γάλα τυροκόμησης είναι παστεριωμένο) είναι ιδιαίτερα σημαντική στη διάσπαση των μεσαίου μεγέθους πεπτιδίων που παράγονται από τη χυμοσίνη και την πλασμίνη, προς παραγωγή μικρότερου μεγέθους πεπτιδίων και αμινοξέων, μερικά εκ των οποίων προσδίδουν γεύση (συνήθως πικρή). Τα τελευταία, αποτελούν ιδανικό υπόστρωμα για διάφορες εσωκυτταρικές εξω-πεπτιδάσες που προέρχονται από τα οξυγαλακτικά βακτήρια και απελευθερώνονται στο τυρόπηγμα, όταν επέλθει λύση των κυττάρων και κατ' επέκταση κυτταρικός θάνατος. Έτσι παράγονται ελεύθερα αμινοξέα, τα οποία εκτός από την πρόσδοση οργανοληπτικών χαρακτηριστικών, λειτουργούν και ως πρόδρομα συστατικά για ένα μεγάλο πλέγμα καταβολικών αντιδράσεων, οι οποίες παράγουν πτητικά συστατικά που συνεισφέρουν κι αυτά στη γεύση και οσμή πολλών ποικιλιών τυριού. Τέλος, αν η πρωτεόλυση σταματήσει στην παραγωγή μικροπεπτιδίων, χωρίς την απελευθέρωση ελεύθερων αμινοξέων έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία πικρής γεύσης στο τυρί, ενώ με την έντονη πρωτεόλυση είναι δυνατόν να δημιουργηθούν σημαντικές ανεπιθύμητες μεταβολές στη δομή του τελικού προϊόντος.

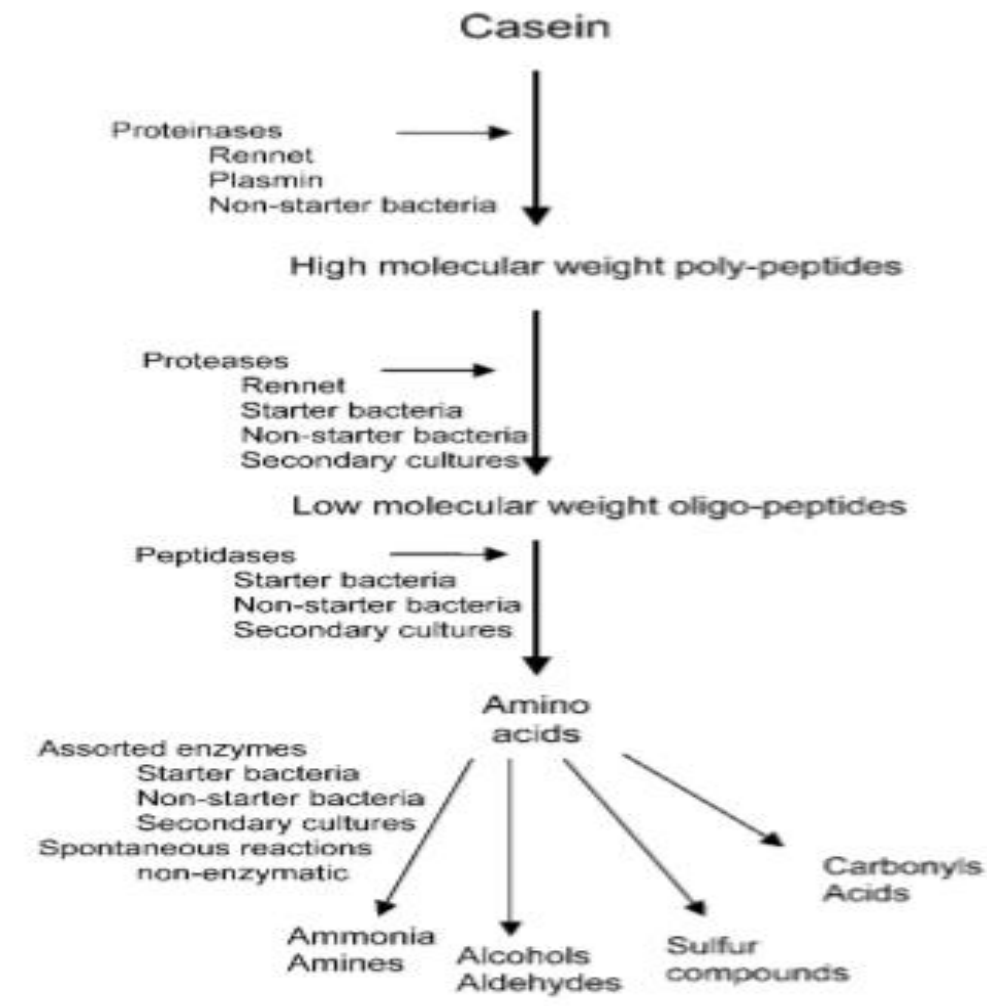
Οι πρωτεϊνάσες και πεπτιδάσες που καταλύουν την πρωτεόλυση στο τυρί προέρχονται κατά κύριο λόγο από έξι πηγές : την τυτιά, το γάλα (η πλασμίνη, ίσως και η καθεψίνη D και άλλα σωματικά κύτταρα), τα οξυγαλακτικά βακτήρια εκκινητές (καλλιέργεια εκκινητής LAB), τα οξυγαλακτικά βακτήρια που ήδη υπάρχουν και δεν προστίθενται ως εκκινητές (NSLAB), δευτερογενείς εκκινητές (παραδείγματος χάρη τα στελέχη *Pr. Freudenreichii* στα ελβετικού τύπου τυριά, *P. roqueforti* στα μπλε τυριά και άλλα) (Uradhaya et al., 2004) και εξωγενής πεπτιδάσες και πρωτεϊνάσες που πιθανώς προστίθενται για επιτάχυνση της ωρίμανσης. Η καθεψίνη D, ως ένζυμο του γάλακτος, παράγει το γλυκομακροπεπτίδιο, κ-CN (f106-169), το οποίο παράγεται επίσης από τη

χυμοσίνη και το οποίο διασπά την κ-καζεΐνη σε δύο ακόμη θέσεις : Leu<sub>32</sub>-Ser<sub>3</sub> και Leu<sub>79</sub>-Ser<sub>80</sub> (Larsen et al., 1996). Ωστόσο, τα επίπεδα καθεψίνης D στο γάλα είναι εξαιρετικά χαμηλά (περίπου 0,4 µg/mL) για να χρίζει ιδιαίτερης προσοχής ως προς την πήξη του γάλακτος (Sousa et al., 2001).

- **Δράση Χυμοσίνης :** Η χυμοσίνη είναι μια όξινη πρωτεάση, η οποία υδρολύει τις πρωτεΐνες (καζεΐνες) σε συγκεκριμένα σημεία της πρωτοταγής δομής τους. Η επιλεκτικότητα της χυμοσίνης σε όλες τις καζεΐνες είναι πλέον γνωστή. Σε διάλυμα, η χυμοσίνη διασπά τη β- καζεΐνη σε επτά μέρη (Visser & Slangen, 1997), πολλά από τα οποία συναντώνται κοντά στο υδροφοβικό C-άκρο της β-καζεΐνης και διάσπαση αυτών των σχηματισμών μπορεί να οδηγήσει στην παραγωγή υδροφοβικών πεπτιδίων, τα οποία έχουν πικρή γεύση. Η πρωτογενής θέση της δράσης της χυμοσίνης στην α<sub>51</sub>-καζεΐνης είναι η Phe<sub>23</sub>-Phe<sub>24</sub> (Phenylalanine) (McSweeney et al., 1993), το οποίο έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή μικρότερων πεπτιδίων (α<sub>51</sub>-CN fl-23) που υδρολύονται ταχύτατα από τις πρωτεΐνάσες των βακτηριακών εκκινήτων. Η χυμοσίνη διασπά την α<sub>51</sub>-καζεΐνη και σε άλλα σημεία, συγκεκριμένα Leu<sub>101</sub>-Lys<sub>102</sub>, που στη συνέχεια υδρολύονται κατά την ωρίμανση σε πολλά τυριά. Η α<sub>52</sub>-καζεΐνη είναι πιο ανθεκτική στην υδρόλυση από την α<sub>51</sub>-καζεΐνη. Οι θέσεις διάσπασης της α<sub>52</sub>-καζεΐνης από τη χυμοσίνη περιορίζονται στις υδροφοβικές περιοχές του μορίου. (McSweeney et al., 1994). Η χυμοσίνη διασπά τη κ-καζεΐνη μεταξύ των θέσεων Phe<sub>105</sub> και Me<sub>106</sub> (Methionine), διαιρώντας έτσι την αλυσίδα σε δύο διακριτά τμήματα, ένα υδρόφοβο και ένα υδρόφιλο. Τα προϊόντα της ενζυμικής δράσης είναι το υδατοδιαλυτό στοιχείο, γλυκομακροπεπτίδιο και το υδρόφοβο τμήμα παρα-κ-καζεΐνη. Μετά τη διάσπαση, το διαλυτό γλυκομακροπεπτίδιο διαχέεται στην υδατική φάση του τυρογάλακτος, ενώ η υδρόφοβη παρα-κ-καζεΐνη παραμένει στο καζεϊνικό μικκύλιο. Όταν η κ-καζεΐνη διασπάται, το καζεϊνικό μικκύλιο αποσταθεροποιείται από την απώλεια ενός αρνητικά φορτισμένου τμήματος. Επειδή μειώνονται τα επιφανειακά φορτία και οι στερεοχημικές αλληλεπιδράσεις των μικκυλίων, μπορούν να δημιουργηθούν μεταξύ τους υδροφοβικοί δεσμοί, που οδηγούν σε συσσωμάτωση τους (Smith & Hui, 2004). Αν και η παρα-κ-καζεΐνη έχει πολλές θέσεις διάσπασης στις οποίες θα μπορούσε να δράσει η χυμοσίνη, δεν εμφανίζεται να υδρολύεται ούτε σε διάλυμα ούτε στο τυρί, πιθανώς λόγω της δευτεροταγούς της δομής που διαφέρει από τις υπόλοιπες καζεΐνες. Τέλος, σε περιπτώσεις επεξεργασίας του γάλακτος ή του τυροπήγματος σε υψηλές θερμοκρασίες, η χυμοσίνη μετουσιώνεται, με αποτέλεσμα τη μείωση της δραστηριότητας και της επιλεκτικότητάς της.
- **Δράση Πλασμίνης :** Το γάλα περιέχει διάφορα αυτόχθονα πρωτεολυτικά ένζυμα, όπως η καθεψίνη D και η πλασμίνη που είναι και το βασικότερο. Το βέλτιστο pH δράσης της είναι γύρω στο 7,5 και εμφανίζει μεγάλη επιλεκτικότητα σε πεπτιδικούς δεσμούς συμπεριλαμβανομένων και των κατάλοιπων λυσίνης.



Μεγάλη ποσότητα του ενζύμου αυτού παραμένει στο τυρί και συμβάλει ως ένα βαθμό στην ωρίμανση πολλών ποικιλιών (στην πρωτεόλυση). Η πλασμίνη συναντάται στο γάλα μαζί με το πρόδρομο πλασμινογόνο και σχετίζεται με τα καζεϊνικά μικκύλια. Η ενεργότητα της πλασμίνης εξαρτάται από πολλούς παράγοντες όπως η γαλακτική περίοδος, η φυλή και η ηλικία του ζώου καθώς και η ύπαρξη μαστίτιδας. Το ένζυμο αυτό μπορεί να υδρολύσει τις  $\alpha_{s1}$ -καζεΐνη,  $\alpha_{s2}$ -καζεΐνη και τη  $\beta$ -καζεΐνη. Ωστόσο, στο τυρί η πλασμίνη υδρολύει κυρίως την  $\beta$ -καζεΐνη για να παράγει την  $\gamma$ -καζεΐνη και πρωτεόζες-πεπτόνες. Το σύστημα πλασμίνης-πλασμινογόνου γενικά είναι σταθερό σε θερμοκρασίες παστερίωσης και έχει ανιχνευτεί απομένουσα δραστικότητα της πλασμίνης ακόμη και σε γάλατα που έχουν υποστεί θερμική επεξεργασία στους 110°C και πάνω (Driessen, 1989).



[Πηγή: Fox et al., 1995]

**Εικόνα 3.2 Τα μεταβολικά μονοπάτια της πρωτεόλυσης**

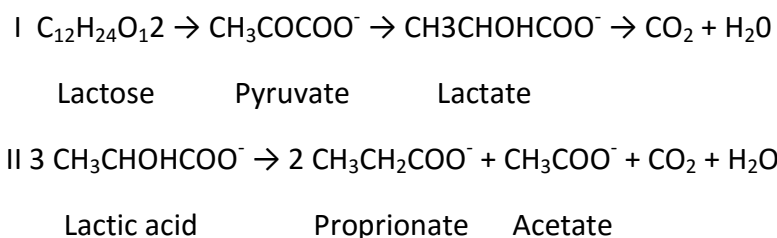
Τέλος, επειδή η πρωτεόλυση αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα βιοχημικά μονοπάτια κατά την ωρίμανση του τυριού η πορεία της μπορεί να αποτελέσει έναν δείκτη

ωρίμανσης των τυριών. Πιο συγκεκριμένα, έχουν αναπτυχθεί μέθοδοι, σύμφωνα με τις οποίες, προσδιορίζεται το στάδιο της ωρίμανσης των τυριών με βάση την περιεκτικότητά τους σε αμινοπεπτίδια διαφόρων μεγεθών (παραδείγματα χάρη SN ή WSN, TCA-SN, PTA-SN). Ανάλογα με την ποικιλία του τυριού και τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά της, καθώς και το χαρακτηριστικό για το οποίο πραγματοποιείται ο έλεγχος, επιλέγεται και η κατάλληλη ανάλυση. Το περιεχόμενο των αμινοξέων, λοιπόν, αυξάνεται κατά την ωρίμανση του τυριού. Εκτενέστερη ανάλυση μεθόδου προσδιορισμού της ωρίμανσης πραγματοποιείται στο πειραματικό μέρος της παρούσας εργασίας.

### **3.1.2.3 Μεταβολισμός του γαλακτικού οξέος**

Το γαλακτικό οξύ που παράγεται από τη λακτόζη με την ανάπτυξη της βακτηριακής καλλιέργειας, είναι ένα σημαντικό υπόστρωμα για την πραγματοποίηση πολλών αντιδράσεων που λαμβάνουν χώρα κατά την ωρίμανση των τυριών. Το D-γαλακτικό οξύ μπορεί να σχηματιστεί κατευθείαν από τη λακτόζη από εκκινητές λακτοβάκιλλους ή NSLAB ή από τη ρακεμοποίηση του L-γαλακτικού οξέος. Ο ρυθμός ρακεμοποίησης του τελευταίου εξαρτάται από τη σύνθεση της NSLAB χλωρίδας, γι' αυτό άλλωστε η ρακεμοποίηση είναι πιθανώς γρηγορότερη σε νωπό γάλα παρά σε παστεριωμένο. Το μονοπάτι της ρακεμοποίησης περιλαμβάνει την οξείδωση του L-γαλακτικού οξέος από L-γαλακτική αφυδρογονάση προς σχηματισμό πυροσταφυλικού οξέος, το οποίο στη συνέχεια ανάγεται σε D-γαλακτικό οξύ υπό τη δράση της D-γαλακτικής αφυδρογονάσης. Η ρακεμοποίηση του γαλακτικού οξέος είναι σημαντική καθώς η διαλυτότητα του Ca-DL-γαλακτικού οξέος είναι μικρότερη από αυτήν του Ca-L-γαλακτικού οξέος κι έτσι ευνοείται ο σχηματισμός κρυστάλλων Ca-DL-γαλακτικού οξέος που εκδηλώνονται στο τυρί ως λευκά στίγματα, ιδίως στις κομμένες επιφάνειες. Οι κρύσταλλοι αυτοί δεν είναι επικίνδυνοι, όμως είναι πιθανό να δημιουργήσουν στους καταναλωτές την αίσθηση μούχλας ή ότι στο τυρί περιέχονται ξένα σωματίδια. Αυξημένα επίπεδα λακτόζης ευνοούν την ανάπτυξη των NSLAB και κατ' επέκταση το σχηματισμό κρυστάλλων, όπως και οι παράγοντες που αυξάνουν τη διάσπαση του καζεϊνικού-ασβεστίου (όπως χαμηλό pH ή υψηλή περιεκτικότητα χλωριούχου νατρίου) ή μειώνουν τη διαλυτότητα του Ca-γαλακτικού οξέος, για παράδειγμα λόγω χαμηλών θερμοκρασιών κατά την ωρίμανση.

Το γαλακτικό οξύ μπορεί να οξειδωθεί στο τυρί και από τη δράση της μικροβιακής καλλιέργειας-εκκινητή με αποτέλεσμα την παραγωγή προϊόντων όπως οξικό άλας, αιθανόλη, μυρμηγκικό άλας και διοξείδιο του άνθρακα (Fox et al., 2000). Ωστόσο η δράση αυτή εξαρτάται κατά κύριο λόγο από την περιεκτικότητα του οξυγόνου στον περιβάλλοντα χώρο, άρα και από το υλικό της συσκευασίας.



[Πηγή: Scott &amp; Hui, 2004]

**Σχήμα 3.1 Μεταβολισμός γαλακτικού οξέος από το στέλεχος *Propionibacterium freundreichii* στο ελβετικό τυρί.**

Στο παραπάνω σχήμα (Σχήμα 3.1), η πρώτη αντίδραση, δείχνει αυτό που συμβαίνει σε όλα τα τυριά, δηλαδή το μεταβολισμό της λακτόζης σε γαλακτικό οξύ, ενώ η δεύτερη δείχνει το μεταβολισμό του γαλακτικού οξέος από το αναερόβιο στέλεχος *Propionibacterium freundreichii*, το οποίο προστίθεται μαζί με την καλλιέργεια-εκκινητή στην παραγωγή του ελβετικού τυριού. Στο τυρί αυτό, το χαμηλό pH του και η παρουσία του γαλακτικού οξέος ως πηγή ενέργειας άνθρακα, ευνοεί την ανάπτυξη του βακτηρίου αυτού που δίνει ως προϊόντα το ακετύλιο και το προπιονικό οξύ.

**3.1.2.4 Μεταβολισμός του κιτρικού οξέος**

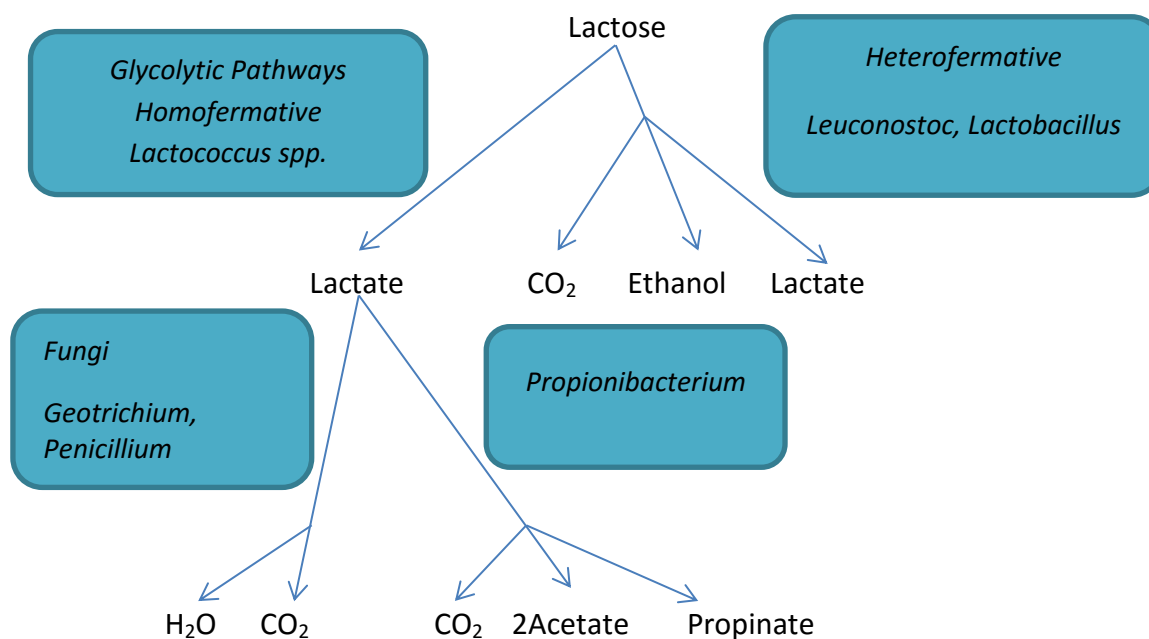
Στο γάλα, το κιτρικό οξύ περιέχεται κυρίως σε διαλυτή μορφή και γι' αυτό σημαντική ποσότητά του χάνεται με το τυρόγαλο κατά την τυροκόμηση. Ωστόσο τα επίπεδα κιτρικού οξέος στο τυρόπηγμα είναι περίπου τρεις φορές υψηλότερα από τα αντίστοιχα του ορού (Fryer et al., 1970) κι αυτό πιθανώς συμβαίνει λόγω της περιεκτικότητας του κολλοειδούς κιτρικού οξέος. Το κιτρικό οξύ είναι μια πρόδρομη ένωση για την περαιτέρω παραγωγή ενώσεων που προσδίδουν γεύση στο τυρί. Πιο συγκεκριμένα το κιτρικό οξύ μεταβολίζεται από κιτρικά-θετικά στελέχη λακτοβακίλλων (*Streptococcus diacetylactis*, *Lactococcus lactis* ssp., *Lactis biovar diacetylactis*), τα οποία περιέχουν ένα πλασμίδιο για τη μεταφορά του κιτρικού οξέος. Τα στελέχη *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *Cremoris* και *Ln. Lactis* μπορούν επίσης να μεταβολίσουν το κιτρικό οξύ. Ωστόσο δε μπορεί να μεταβολιστεί από άλλα οξυγαλακτικά (LAB) που χρησιμοποιούνται ως εκκινητές (όπως θερμόφιλοι λακτοβάκιλλοι, *Sc. thermophilus* και τα περισσότερα στελέχη λακτόκοκκων). Τα προϊόντα του μεταβολισμού του κιτρικού οξέος περιλαμβάνουν το διοξείδιο του άνθρακα που είναι υπεύθυνο για τις μικρές τρύπες στα τυριά και πολλά σημαντικά συστατικά που συμβάλλουν στη γεύση (για παράδειγμα διακετύλιο).

**3.1.2.5 Μεταβολισμός τη εναπομένουσας λακτόζης**

Καθόσον το τυρί είναι γαλακτοκομικό προϊόν ζύμωσης, σημαντικό χαρακτηριστικό της παρασκευής του αποτελεί ο μεταβολισμός της λακτόζης σε γαλακτικό οξύ από επιλεκτικές καλλιέργειες οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB) που χρησιμοποιούνται ως εκκινητές (Σχήμα 3.2). Ο ρυθμός και η έκταση της οξίνισης, δηλαδή της παραγωγής του γαλακτικού οξέος, επηρεάζει την αρχική δομή του τυροπήγματος με τον έλεγχο του ρυθμού απομάκρυνσης των αλάτων. Η αφαλάτωση αυξάνει την ευαισθησία των

καζεΐνικών μικκυλίων στην πρωτεόλυση. Το pH του τυροπήγματος επηρεάζει άμεσα τη δομή του, αφού επηρεάζει τη διαλυτότητα των καζεϊνών. Άλλωστε, συχνά παρατηρείται ότι τα τυριά με υψηλότερες τιμές pH είναι πιο μαλακά από τα αντίστοιχα που είναι πιο όξινα. Το φυσικοχημικό αυτό μέγεθος, καθορίζει την υφή και τη γεύση των τυριών και με έναν άλλο έμμεσο τρόπο. Αυτός αφορά την ενεργότητα των ενζύμων που είναι απαραίτητα για την ωρίμανση του τυριού, και στην περίπτωση της πυτιάς, όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, εμφανίζεται μείωση της κατακράτησης των απαραίτητων ενζύμων στο τυρόπηγμα σε περιπτώσεις υψηλότερων τιμών pH.

Η εναπομένουσα λακτόζη, δηλαδή αυτή που δε μεταβολίζεται από την καλλιέργεια-εκκινητή, πιθανώς να μεταβολιστεί από οξυγαλακτικά βακτήρια που υπάρχουν ήδη στο γάλα, δηλαδή βακτήρια που δεν είναι εκκινητές (NSLAB) (McSweeney & Fox, 2004). Όμως, είναι ιδιαίτερα σημαντική η ολοκληρωτική ζύμωση της λακτόζης στο τυρί, ώστε να αποφευχθεί η ανεξέλεγκτη ανάπτυξη δευτερεύουσας βακτηριακής μικροχλωρίδας, η οποία δεν είναι επιθυμητή. Ο μεταβολισμός της κύριας ποσότητας της λακτόζης σε γαλακτικό οξύ, που πραγματοποιείται από τα πρώτα κιάλας στάδια της ωρίμανσης του τυριού, εξαρτάται κυρίως από τη θερμοκρασία και από την περιεκτικότητα σε αλάτι και υγρασία που με τη σειρά τους επηρεάζουν τη δραστικότητα της καλλιέργειας-εκκινητή. Στις ποικιλίες τυριών, στις οποίες γίνεται ξηρό αλάτισμα, για παράδειγμα, η αύξηση του άλατος και όχι της υγρασίας, οδηγεί σε παύση της δραστικότητας της καλλιέργειας πολύ γρήγορα κατά το τέλος της παρασκευής του τυριού.



[Πηγή: Robinson &amp; Wilbey, 1998]

**Σχήμα 3.2 Μεταβολισμός της λακτόζης κατά την παραγωγή του τυριού**

### 3.1.2.6 Δευτερεύοντα μεταβολικά μονοπάτια που οδηγούν στην παραγωγή πτητικών αρωματικών συστατικών

- **Μεταβολισμός Ελεύθερων λιπαρών οξέων :** Ενώ τα μικρές αλυσίδας λιπαρά οξέα συμβάλουν άμεσα στη γεύση του τυριού, τα ελεύθερα λιπαρά οξέα (FFAs), συμβάλουν έμμεσα στην πρόσδωση τέτοιων χαρακτηριστικών με την ικανότητά τους να λειτουργούν ως πρόδρομες ενώσεις για την περαιτέρω παραγωγή πολλών πτητικών ενώσεων, μέσω μιας σειράς αντιδράσεων που είναι γνωστή ως μεταβολισμός των λιπαρών οξέων. Οι εστέρες που συναντώνται συχνά σε πολλά είδη τυριών, παράγονται με αντίδραση ενός ελεύθερου λιπαρού οξέος με μία αλκοόλη. Η κυριότερη κατηγορία εστέρων που υπάρχουν στο τυρί είναι οι αιθυλεστέρες κι αυτό επειδή η πιο κοινή αλκοόλη που είναι διαθέσιμη για την αντίδραση είναι η αιθανόλη, η οποία παράγεται από τη ζύμωση της λακτόζης ή από τον καταβολισμό των αμινοξέων. Ανάλογα με την ποικιλία του τυριού, τα βακτήρια και τους μύκητες που χρησιμοποιούνται, μπορούν να προκύψουν και άλλες ενώσεις, όπως οι λακτόνες (κυκλικές ενώσεις που παράγονται από ενδομοριακή εστεροποίηση υδρόξυ-οξέων), μεθυλοκετόνες και άλλες (McSweeney, 2004).
- **Μεταβολισμός ελεύθερων αμινοξέων :** Τα μονοπάτια για τον καταβολισμό των ελεύθερων αμινοξέων κατά την ωρίμανση, έχουν ως αποτέλεσμα την παραγωγή

διάφορων πτητικών ενώσεων που συμβάλουν στο άρωμα και τη γεύση του τυριού. Άλλωστε, θεωρείται πλέον πως η βασική συμβολή της πρωτεόλυσης στην ανάπτυξη της γεύσης των τυριών, είναι η απελευθέρωση των αμινοξέων, που λειτουργούν ως πρόδρομες ενώσεις για διάφορες καταβολικές αντιδράσεις. Τα αμινοξέα στο τυρί ακολουθούν μία εκ των δύο κυριότερων καταβολικών αντιδράσεων, εκκινητής της οποίας είναι ένα από τα ένζυμα αμινοτρανσφεράση (μετατρέπει ένα αμινοξύ στο αντίστοιχο α-κετοξύ) ή λύαση. Ωστόσο, πρέπει να τονιστεί ότι συμβαίνουν και άλλες δευτερεύουσες καταβολικές αντιδράσεις, όπως για παράδειγμα αποκαρβοξυλίωση και αμίνωση. Το α-κετοξύ που παράγεται με τη βοήθεια της αμινοτρανσφεράσης, αποικοδομείται περαιτέρω, μέσω ενζυμικά καταλυόμενων ή χημικών αντιδράσεων, σε πτητικές ενώσεις (McSweeney, 2004).

### **3.1.3 Μικροβιακές μεταβολές κατά την ωρίμανση του τυριού**

Τα βακτήρια εκκινητές, αρχικά, πολλαπλασιάζονται από περίπου  $10^6$ - $10^7$  βακτηριακές αποικίες (colony forming units-CFU) ανά mL γάλακτος έως  $10^9$  CFU ανά γραμμάριο φρέσκου τυροπήγματος. Καθ' όλη τη διάρκεια της ωρίμανσης, ο πληθυσμός των μικροοργανισμών υφίσταται μείωση (για παράδειγμα λόγω μείωσης πηγών ενέργειας-τροφής, λύσης κυττάρων-κυτταρικός θάνατος), ο ρυθμός της οποίας ποικίλει ανάλογα με το είδος τυριού και εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, όπως η ποσότητα της εναπομένουσας λακτόζης (λειτουργεί ως πηγή ενέργειας για τους μικροοργανισμούς), η παρεμπόδιση από το αλάτι και η αυτόλυση αυτών. Η δραστηριότητα της καλλιέργειας-εκκινητή αναστέλλεται όταν η περιεκτικότητα άλατος επί υγρασίας (Salt/Moisture) είναι υψηλότερη από περίπου 5% (Farkey, 2003). Τα αρχικά βακτήρια έχουν διπλό ρόλο στην παραγωγή του τυριού: την παραγωγή οξέος κατά την παρασκευή και την ανάπτυξη αρώματος κατά την ωρίμανση.

Εκτός από την ύπαρξη των μικροοργανισμών που εισάγονται ως εκκινητές, πιθανώς σε όλες τις ποικιλίες τυριών, υπάρχουν και τα βακτήρια που δεν εισάγονται ως εκκινητές αλλά υπάρχουν ήδη στο γάλα ή στην πυτιά που προστίθεται (NSLAB), και αναπτύσσονται κατά την ωρίμανση.

Ένας άλλος δείκτης ωρίμανσης της φέτας και βασική προδιαγραφή για την ασφάλεια του τελικού προϊόντος, είναι ο υπολογισμός της μικροβιακής χλωρίδας που πρέπει να πληροί τα πλαίσια της νομοθεσίας (Παράγραφοι : 1.5.2.1.1.1., 1.5.2.3).

### **3.1.4 Παράγοντες που επηρεάζουν την ωρίμανση**

Υγρασία : Κατά τα πρώτα κιάλας στάδια χειρισμού του προκύπτοντος τυροπήγματος ελέγχεται η περιεκτικότητά του σε υγρασία με τη διαδικασία του στραγγίσματος, καθώς είναι ένας από τους πιο καθοριστικούς παράγοντες προσδιορισμού του τελικού προϊόντος. Το νερό στο τυρί βρίσκεται σε αρκετές καταστάσεις : α) δεσμευμένο με συστατικά του τυροπήγματος, όπως οι πρωτεΐνες β) συγκρατείται χαλαρά με ελκτικές δυνάμεις με τα σωματίδια του πήγματος (υγροσκοπική υγρασία), γ) υγρασία η οποία

μπορεί να κινείται ελεύθερα μέσα στο πήγμα (ελεύθερη υγρασία) και λειτουργεί ως μεταφορέας διαλυμένων ουσιών. Οι καταστάσεις αυτές βρίσκονται σε ισορροπία μεταξύ τους, έτσι ώστε όταν απελευθερώνεται δεσμευμένο νερό ή όταν απαιτούνται μόρια νερού για μια αντίδραση η ισορροπία αλλάζει. Με την ελεύθερη υγρασία, μεταφέρονται όπως προειπώθηκε, τα διαλυτά συστατικά τα οποία επηρεάζουν την ανάπτυξη των βακτηρίων προκαλώντας ωσμωτικό φαινόμενο στα συστατικά των κυττάρων τους. Γι' αυτό, η ανάπτυξη των μικροοργανισμών σε περιβάλλον με περισσότερη υγρασία είναι πιο γόνιμη απ' ότι σε πήγματα μικρότερης περιεκτικότητας, καθιστώντας έτσι την ωρίμανση ταχύτερη (Robinson & Wilbey, 1998).

Θερμοκρασία Ωρίμανσης : Η θερμοκρασία, τόσο κατά τη διάρκεια παρασκευής, όσο και κατά την ωρίμανση, είναι ένας από τους σημαντικότερους παράγοντες που καθορίζει και τις βιοχημικές και τις μικροβιολογικές δράσεις, δεδομένου ότι οι υπόλοιπες παράμετροι είναι ικανοποιητικές. Η μεγαλύτερη επίδραση γίνεται στη φάση ανάπτυξης ή αλλιώς εκθετική φάση των μικροοργανισμών. Πιο συγκεκριμένα, μικρότερες θερμοκρασίες έχουν ως αποτέλεσμα την επιβράδυνση της ανάπτυξης των βακτηρίων και μείωση του ρυθμού πραγματοποίησης των διάφορων βιοχημικών αντιδράσεων, ενώ υψηλότερες θερμοκρασίες αυξάνουν τη βιοχημική και βακτηριακή δραστηριότητα στο τυρί. Μάλιστα, αν η αύξηση της θερμοκρασίας είναι αρκετά μεγάλη, οι μεταβολές μπορεί να είναι τέτοιες που να αλλοιωθούν τελείως τα χαρακτηριστικά του τυριού. Ακόμη η αύξηση της θερμοκρασίας σε συγκεκριμένα όρια μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα την επιτάχυνση της ωρίμανσης του τυριού, ωστόσο θα πρέπει να ελέγχεται προσεκτικά ώστε να μην υπάρξει ανεξέλεγκτη ανάπτυξη παθογόνων μικροοργανισμών και πραγματοποίηση μη επιθυμητών αντιδράσεων (Robinson & Wilbey, 1998; Robinson & Tamime, 1996).

Οξύτητα πηγματος/τυριού : Όπως η θερμοκρασία, έτσι και η τιμή του pH επηρεάζει μικροοργανισμούς και βιοχημικές αντιδράσεις στο τυρί. Η τιμή του pH μπορεί να κυμαίνεται από 4,5-5 στα όξινα τυριά και από 4,9-7 στις mould-ripened ποικιλίες. Από τα πρώτα στάδια παραγωγής του τυριού καθορίζεται η παραγωγή του οξέος (δράση καλλιέργειας) μέχρι το σημείο στο οποίο προστίθεται αλάτι (παρεμποδιστής) και αυτή η παραγωγή μαζί με την απώλεια της λακτόζης, καθορίζουν την ελάχιστη τιμή του pH που θα επιτευχθεί για το εκάστοτε τυρί. Κατά τα διάφορα στάδια της ωρίμανσης όπως στην έντονη πρωτεόλυση, μπορεί να υπάρξει αύξηση του pH λόγω των παραγόμενων προϊόντων, όπως η αμμωνία. Αυτή η βαθμιαία αλλαγή του pH από ένα στάδιο στο άλλο επιτρέπει την ωρίμανση του τυριού με την παραγωγή συγκεκριμένων προϊόντων. Καθώς προχωράει η διαδικασία, κάποια από τα συστατικά που παρήχθησαν στα αρχικά στάδια λειτουργούν ως πρόδρομες ενώσεις για την παραγωγή των τελικών συστατικών που χαρίζουν στο τυρί τα μοναδικά του χαρακτηριστικά αρώματος και γεύσης (χαρακτηριστικά παραδείγματα περιγράφονται στην Παράγραφο 3.1.2). Ακόμη, η τιμή του pH μεταβάλλει και τη δραστηριότητα των ενζύμων που συμβάλουν στην ωρίμανση. Κάθε ένζυμο έχει το βέλτιστο pH δράσης του και με απόκλιση από αυτή την τιμή μειώνεται και η δραστηριότητά του. Χαρακτηριστικό παράδειγμα, οι μειωμένες τιμές

μπορεί να οδηγήσουν σε εντονότερη υδρόλυση των λιπιδίων ή στην παραγωγή διαλυτών αζωτούχων ενώσεων στα σκληρά τυριά (Robinson & Wilbey, 1998; Fox et al., 2000).

Παρεμποδιστικές ουσίες και οξυγόνο : Κάποιες από αυτές τις ουσίες είναι και τα αντιβιοτικά, τα οποία υπήρχαν ήδη στο γάλα και δεν απομακρύνθηκαν με την παστερίωσή του, η νισίνη από τους λακτόκοκους και ουσίες που παράγονται από άλλους μικροοργανισμούς που αναπτύσσονται και μπορούν να εμποδίσουν τόσο τη δράση της καλλιέργειας-εκκινητή, όσο και να παρεμποδίσουν πολλές ενζυμικές αντιδράσεις. Παρεμποδιστικά μπορεί να λειτουργήσει και ο *Lactococcus lactis ssp. lactis*, ο οποίος φυσιολογικά προστίθεται ως οξυγαλακτο-παραγωγός με την αρχική καλλιέργεια, κάποιες φορές όμως παράγει και οξικό οξύ αφότου μεταβολιστεί η λακτόζη σε γαλακτόζη και γλυκόζη. Κατά τη διάρκεια αυτής της ζύμωσης μπορεί να παραχθεί και CO<sub>2</sub> που έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία ανεπιθύμητων κενών στο τυρί. Αν το στέλεχος αυτό αναπτυχθεί σε σχεδόν αναερόβιες συνθήκες παράγει οξικό οξύ, μυρμηκικό οξύ μαζί με αιθανόλη, ακετόνη, διακετύλια και 2,3 βουτανοδιόλη (Robinson & Wilbey, 1998).

### **3.1.5 Σύνοψη του σταδίου της ωρίμανσης**

Η χυμοσίνη είναι υπεύθυνη για την αρχική υδρόλυση του καζεϊνικού πλέγματος κατά την ωρίμανση (Fox et al., 1996). Η πλασμίνη, ένα ήδη υπάρχον στο γάλα ένζυμο, επίσης συμμετέχει στην ωρίμανση. Αυτά τα ένζυμα παράγουν μεγάλου και μεσαίου μεγέθους πεπτίδια. Η αρχική καλλιέργεια, *Lactococcus lactis*, έχει επικολλημένες στην κυτταρική μεμβράνη πρωτεΐνες (CEP) και συγκεκριμένα ενδοκυτταρικές πεπτιδάσες. Οι CEP υδρολύουν τα ενδιάμεσου μοριακού βάρους πεπτίδια σε μικρότερου μοριακού βάρους πεπτίδια, τα οποία στη συνέχεια αποικοδομούνται σε ελεύθερα αμινοξέα από ενδοκυτταρικές πεπτιδάσες ύστερα από την εξαγωγή τους στο κύτταρο ή την κυτταρική λύση (Kunji et al., 1996 ; Mierau et al., 1996; Christensen et al., 1999). Η πρωτεόλυση στο τυρί πραγματοποιείται μέχρι τη λύση των αρχικών βακτηρίων, η οποία καταλήγει σε απελευθέρωση ενδοκυτταρικών πεπτιδασών στη μάζα του τυριού όπου έχουν άμεση πρόσβαση στα πεπτιδικά τους υποστρώματα (Boutrou et al., 1998). Αυτά τα πεπτίδια υδρολύουν τα χαμηλού μοριακού βάρους πεπτίδια προς σχηματισμό ελεύθερων αμινοξέων που μπορούν να συμμετέχουν σε περαιτέρω χημικές αντιδράσεις.

## **3.2 Επιτάχυνση της Ωρίμανσης**

### **3.2.1 Εισαγωγή**

Η ωρίμανση είναι ένα από τα πιο πολύπλοκα και απαιτητικά στάδια της παραγωγής των τυριών, κατά τη διάρκεια του οποίου πρέπει να δίνεται ιδιαίτερη προσοχή στη διατήρηση των κατάλληλων συνθηκών, όπως της θερμοκρασίας και της υγρασίας, για όσο χρόνο διαρκεί. Όσο αυξάνεται ο απαιτούμενος χρόνος ωρίμανσης, αυξάνεται συνακόλουθα και το κόστος διατήρησης και συντήρησης. Αυτός είναι ένας από τους πολλούς λόγους που εδώ και πολλά χρόνια πραγματοποιούνται μελέτες για την εύρεση τρόπων επιτάχυνσης



αυτού του σταδίου. Έτσι, έχουν υιοθετηθεί διάφορες προσεγγίσεις και πολλές άλλες βρίσκονται ακόμη υπό μελέτη, συμπεριλαμβανομένων και των ακόλουθων :

- Χρήση αυξανόμενης θερμοκρασίας ωρίμανσης.
- Προσθήκη εξωγενών ενζύμων ή εξασθενημένους εκκινητές (attenuated starters).
- Χρήση πρόσθετων καλλιεργειών.
- Γενετική τροποποίηση των βακτηριακής καλλιέργειας – εκκινητή.
- Επεξεργασία με Υπερυψηλή Υδροστατική Πίεση.

### **3.2.2 Μέθοδος Αυξανόμενης θερμοκρασίας ωρίμανσης**

Η μέθοδος αυτή είναι από τις πιο απλές, από τεχνολογικής άποψης, τεχνικές επιτάχυνσης της ωρίμανσης και οι χαμηλότερες απαιτήσεις για ψύξη παρέχουν στον παραγωγό τη δυνατότητα της μείωσης του κόστους. Όπως προαναφέρθηκε, η αύξηση της θερμοκρασίας μέσα σε συγκεκριμένα όρια έχει ως αποτέλεσμα την επιτάχυνση της ωρίμανσης. Από την άλλη, η αρκετά αυξημένη θερμοκρασία μπορεί να οδηγήσει σε μικροβιακή αλλοίωση του τυριού και ανεξέλεγκτη ανάπτυξη μικροοργανισμών οδηγώντας πιθανώς σε ανεπιθύμητες αλλαγές στη γεύση και την υφή του. Για την καλύτερη δυνατή αποφυγή της μη ελεγχόμενης μικροβιακής ανάπτυξης (κυρίως παθογόνων μικροοργανισμών), θα πρέπει το γάλα να είναι πολύ καλής ποιότητας και καλά παστεριωμένο. Ακόμη, η θερμοκρασία ωρίμανσης επηρεάζει το ρυθμό της πρωτεόλυσης, της λιπόλυσης, τη μικροβιακή ανάπτυξη, την υφή και γενικότερα την ποιότητα του τυριού (Uradhyay & McSweeney, 2003).

### **3.2.3 Προσθήκη εξωγενών ενζύμων ή τροποποιημένων εκκινητών**

#### **3.2.3.1 Εξωγενή Ένζυμα`**

Η πυτιά (χυμοσίνη) και η πλασμίνη, είναι υπεύθυνες για την πραγματοποίηση της αρχικής πρωτεόλυσης, ενώ η πρωτεϊνάσες και οι πεπτιδάσες των LAB και NSLAB βακτηρίων μετατρέπουν τα μεγαλύτερα πεπτίδια, που παράγονται από τη δράση της πυτιάς στις καζεΐνες, σε ενδιάμεσου και μικρότερου μεγέθους πεπτίδια, τα οποία αποτελούν πρόδρομες ενώσεις για την παραγωγή ουσιών που συμβάλουν στη γεύση και στο άρωμα του τυριού. Έτσι, με την προσθήκη εξωγενών ενζύμων στο τυρί αυξάνεται ο αριθμός τους, κατ' επέκταση και η ενζυμική δραστικότητα στο σύνολό της, η οποία τελικά βοηθά στην επιτάχυνση ορισμένων αντιδράσεων στο τυρί, σε αντίθεση με την τεχνική της αυξανόμενης θερμοκρασίας ωρίμανσης, όπου αυξάνεται ο ρυθμός όλων των αντιδράσεων, πολλές από τις οποίες παράγουν πιθανώς συστατικά που αλλοιώνουν τη γεύση. Με δεδομένο ότι τα κυριότερα βιοχημικά μονοπάτια της ωρίμανσης είναι η πρωτεόλυση, η λιπόλυση και ο μεταβολισμός της λακτόζης, τα ένζυμα που λαμβάνονται κυρίως υπόψη είναι οι πρωτεϊνάσες, οι πεπτιδάσες, οι λιπάσες και οι β-γαλακτοζιδάσες που συμμετέχουν σε αυτά. Τα ένζυμα που προστίθενται μπορεί να προέρχονται είτε από πηγές που δεν έχουν σχέση με το τυρί, είτε από μικροοργανισμούς που χρησιμοποιούνται στην παρασκευή τυριών (*Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Propionibacterium*, *Pseudomonas* και άλλα). Ένα από τα μειονεκτήματα,

ωστόσο, της μεθόδου είναι ότι υπάρχουν συγκεκριμένα όρια με βάση τη νομοθεσία για τα εξωγενή ένζυμα που χρησιμοποιούνται στην τυροκομία. Επιπροσθέτως, η προσθήκη εξωγενών πρωτεϊνών, για την επιτάχυνση της ωρίμανσης, συχνά προκαλεί πικρή γεύση, η οποία ωστόσο μετριάζεται με την προσθήκη επιπλέον πεπτιδασών. Ακόμη, σε περίπτωση εισαγωγής των ενζύμων στο γάλα τυροκόμησης (πραγματοποιείται καλύτερη ομογενοποίηση, σε σχέση με την εισαγωγή τους στο τυρόπηγμα), η απόδοση είναι σχετικά χαμηλή, αφού τα περισσότερα ένζυμα απομακρύνονται με τον ορό και τα πρωτεολυτικά ένζυμα που παραμένουν στο τυρί διασπούν τις καζεΐνες σε πεπτίδια τα οποία απομακρύνονται και αυτά με τον ορό. Τέλος, η γρήγορη διάρρηξη του καζεϊνικού πλέγματος μπορεί να οδηγήσει σε τυρόπηγμα μειωμένης δομικής ικανότητας, το οποίο απαιτεί δύσκολους χειρισμούς κατά την επεξεργασία του (Fox, 1999). Για την αντιμετώπιση των δύο τελευταίων προβλημάτων, προτείνεται ο μικροεγκλεισμός τους, που ακόμη αποτρέπει και την έντονη πρωτεόλυση. Τα ακινητοποιημένα ένζυμα, διαχωρίζονται φυσικά από τα υποστρώματα που βρίσκονται στο γάλα και στο τυρόπηγμα κατά την παραγωγή και τα ένζυμα του ορού απελευθερώνονται στη μάζα του τυριού μόνο μετά την λύση της κάψουλας κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης. Κάποια ένζυμα που έχουν δοκιμαστεί σε μικροεγκλεισμό, είναι πρωτεϊνάσες, πεπτιδάσες, χυμοσίνη και λιπάσες (Anjani et al., 2007; Kheadar et al., 2000; Magee & Oslen, 1981; Picon et al., 1997; Kailasapathy et al, 1998).

### **3.2.3.2 Εξασθενημένοι ως προς την παραγωγή οξέος Εκκινητές (*Attenuated starters*)**

Ύστερα από πληθώρα μελετών πάνω στο θέμα της ωρίμανσης των τυριών, είναι πλέον ξεκάθαρος ο εξέχων ρόλος που παίζουν τα ένζυμα, τόσο των βακτηρίων εκκινητών–starter bacteria, όσο και των μη εκκινητών-non-starter, στην πρόσδοση των χαρακτηριστικών γεύσης και αρώματος. Η καλλιέργεια των μικροοργανισμών αυτών μπορεί να θεωρηθεί ως εκκινητής (LAB) αφού προστίθεται με τα αρχικά βακτήρια που χρησιμοποιούνται σε κάθε είδος τυριού. Σκοπός της είναι η αύξηση των αρχικών βακτηριακών κυττάρων χωρίς να παράγει μεγάλες ποσότητες οξέος (για την αποφυγή μεγάλης αύξησης της οξύτητας του τυροπήγματος) παρά μόνο να παρέχει δραστικά ένζυμα που είναι απαραίτητα για την ωρίμανση, κυρίως για το στάδιο της πρωτεόλυσης, τη γεύση και το άρωμα του τυριού. Η τροποποίηση των καλλιέργειών αυτών μπορεί να πραγματοποιηθεί α) με επεξεργασία της καλλιέργειας με λυσοζύμη β) με θέρμανση, γ) με φυσική ή τεχνική μετάλλαξη των κυττάρων, δ) με ψύξη ή παγόλυση ε) με ξήρανση με ψεκασμό ή κατάψυξη ε) με χρήση διαλυτών ζ) με χρήση υψηλής υδροστατικής πίεσης. Ανάλογα με το τυρί που παρασκευάζεται, οι τροποποιημένες καλλιέργειες μπορεί να περιλαμβάνουν θερμόφιλους λακτοβάκιλλους και λακτόκοκους, *L. bulgaricus*, *L. helveticus*, *S. thermophilus* και άλλους (FOX, 1999).

Η επεξεργασία θερμικού-ψυχρού σοκ της καλλιέργειας, έχει ως σκοπό τη μείωση της ικανότητάς παραγωγής οξέος, αλλά την ενίσχυση του ρυθμού αυτόλυσης, για την

απελευθέρωση των ενδοκυτταρικών ενζύμων που συμβάλλουν στην επιτάχυνση της ωρίμανσης (Upadhyay & McSweeney, 2003; Fox, 1999).

### **3.2.4 Προσθήκη γενετικά τροποποιημένων στελεχών**

Μία ακόμη μέθοδο για την επίτευξη ταχύτερης ωρίμανσης των τυριών, προσφέρει και η γενετική μηχανική. Αυτή, δίνει τη δυνατότητα παραγωγής βακτηρίων-εκκινητών, που περιέχουν πεπτιδάσες κι άλλα ενδοκυτταρικά ένζυμα (για παράδειγμα *PerX*, *PerN* και άλλα) που είναι εξαιρετικά χρήσιμα στη δευτερογενή πρωτεόλυση που πραγματοποιείται κατά την ωρίμανση του τυριού. Για τη μέθοδο αυτή θα πρέπει να είναι γνωστά τα γενετικά χαρακτηριστικά των μικροοργανισμών, όπως ισχύει για παράδειγμα για τον *Lactococcus lactis ssp. Lactis* IL 1403 (Bolotin et al., 2001), ώστε να καθίσταται δυνατή η στοχευμένη τροποποίησή τους. Στη γενετική τροποποίηση των βακτηρίων σημαντικό ρόλο παίζουν τα πλασμίδια που λειτουργούν ως φορείς γονιδίων. Συγκεκριμένα, οι πληροφορίες που χρειάζεται να εκφραστούν, κωδικοποιούνται σε ένα τμήμα πλασμιδίου και στη συνέχεια εισάγονται στον ξενιστή που δεν το διαθέτει. Όταν ο ξενιστής πολλαπλασιάζεται, το εισαγόμενο τμήμα του πλασμιδίου επίσης πολλαπλασιάζεται, εκφράζοντας έτσι τα κωδικοποιημένα χαρακτηριστικά (Upadhyay & McSweeney, 2003).

Στον τομέα της επιτάχυνσης της ωρίμανσης των τυριών, έχουν γίνει προσπάθειες για κλωνοποίηση και εισαγωγή γονιδίων για συγκεκριμένα ένζυμα σε βακτήρια, τα οποία χρησιμοποιούνται ως αρχική καλλιέργεια στην παρασκευή τυριών. Οι McGarry et al., 1995, παρήγαγαν τυρί Cheddar χρησιμοποιώντας ένα στέλεχος του *Lactococcus* που περιείχε κλωνοποιημένα γονίδια για την ουδέτερη πρωτεϊνάση του *Bacillus subtilis* (Neutrase). Τα τυριά αυτά όμως με το πέρας των δύο εβδομάδων ωρίμανσης γίνανε πολύ μαλακά.

### **3.2.5 Προσθήκη μη εκκινητών οξυγαλακτικών βακτηρίων ως πρόσθετες καλλιέργειες (NSLAB)**

Οι καλλιέργειες-εκκινητές (starters), είτε είναι πρωταρχικές είτε δευτερεύουσες, φυσικές ή εμπορικές, περιορίζονται σε συγκεκριμένα είδη οξυγαλακτικών βακτηρίων (για παράδειγμα *Lactococcus lactis subsp. lactis* και *Lactobacillus helveticus*) ή άλλων βακτηρίων (παραδείγματος χάρη βακτήρια προπιονικού οξέος) και μυκήτων (π.χ *Penicillium roqueforti*). Σε όλα τα είδη τυριών που υφίστανται το στάδιο της ωρίμανσης, καλλιεργούνται αυτόχθονοι μικροβιοτικοί οργανισμοί, οι οποίοι προκύπτουν κυρίως από περιβαλλοντικούς αλλά και τεχνολογικούς παράγοντες, και εξασφαλίζουν τη διαφορετικότητα μεταξύ των τυριών (Montel et al., 2014). Η μικροχλωρίδα αυτή, λοιπόν, αποτελείται κυρίως από non-starter οξυγαλακτικά βακτήρια (NSLAB), στα οποία συμπεριλαμβάνονται ως επί το πλείστον προαιρετικά μεσόφιλοι και ετεροζυμωτικοί λακτοβάκιλλοι. Ακόμη, μέρος αυτού του πληθυσμού αποτελούν και οι λακτόκοκκοι, πεδιόκοκκοι (*pediococci*), εντερόκοκκοι (*Leuconostoc sp.*), θερμόφιλα οξυγαλακτικά βακτήρια και μεσόφιλοι λακτοβάκιλλοι (παραδείγματος χάρη *Lactobacillus casei*, *Lb. parasei*, *Lb. curvatus*).

Τα NSLAB, τα οποία βρίσκονται σε συγκεντρώσεις κάτω των 100 cfu/g κατά την πρώτη ημέρα, αναπτύσσονται ταχύτητα στο τυρί και μπορούν να φτάσουν έως και 10<sup>8</sup> cfu/g μέσα σε δύο μήνες, ανάλογα με τις συνθήκες διατήρησης. Πολλές ποικιλίες τυριών περιέχουν μια δευτερογενή μικροχλωρίδα η οποία δεν παράγει οξύ κατά την παρασκευή του τυριού, αλλά είναι υπεύθυνη για την ανάπτυξη συγκεκριμένων χαρακτηριστικών στην εκάστοτε ποικιλία. Η κύρια πηγή αυτών των NSLAB είναι το φρέσκο γάλα (δεν έχει υποστεί θερμική ή άλλη επεξεργασία), αλλά μπορούν να εισέλθουν στο τυρί και από τον περιβάλλοντα χώρο (πατώματα, επιφάνειες μηχανημάτων και άλλα), δηλαδή επιμόλυνση αυτού.

### **3.2.6 Εφαρμογή Υπερψηλής Υδροστατικής Πίεσης – HP**

#### **3.2.6.1 Εισαγωγή**

Η μεγαλύτερη ερευνητική προσοχή δόθηκε στη χρησιμοποίηση της μεθόδου για θανάτωση και απενεργοποίηση μικροοργανισμών και λιγότερο στην επιτάχυνση, που έχει αποδειχθεί, ότι προσφέρει στην ωρίμανση του τυριού (O'Reilly et al., 2003; Saldo et al., 2000). Η εφαρμογή της υψηλής υδροστατικής πίεσης δεν υφίσταται κανένα απολύτως περιορισμό στον τομέα της τυροκομίας, μπορεί να χρησιμοποιηθεί στο γάλα τυροκόμησης, στο τυρί, στην καλλιέργεια (οξυγαλακτικά βακτήρια – εκκινητές) ακόμη και στην τυτιά (de Castro et al., 2015). Η επεξεργασία του γάλακτος με τη μέθοδο αυτή, επηρεάζει τόσο την μετέπειτα πήξη του, όσο και τις ιδιότητες του παραγόμενου τυριού, μέσω της επίδρασής του στις πρωτεΐνες του γάλακτος, όπως μείωση του μεγέθους των μικκυλίων της καζεΐνης και μετουσίωση κυρίως της β-γαλακτογλοβουλίνης, αλλά δεν εμφανίζει σημαντική επίδραση στην ταχύτητα του σταδίου της ωρίμανσης. Η μετουσίωση της ανοσογλοβουλίνης και της α-λακταλβουμίνης λαμβάνει χώρα σε υψηλότερες πιέσεις και θερμοκρασίες (Trujillo et al., 2000).

#### **3.2.6.2 Επεξεργασία τυριού με χρήση της Υπερψηλής Υδροστατικής Πίεσης**

Η επεξεργασία του ίδιου του τυριού με HP δίνει πιο ενθαρρυντικά αποτελέσματα στο πεδίο της επιτάχυνσης της ωρίμανσης, και βασίζεται στην απελευθέρωση των βακτηριακών ενζύμων, που συμμετέχουν στο στάδιο αυτό, απευθείας στη μάζα του τυριού. Οι O'Reilly et al., 2000, έδειξαν μεταξύ άλλων, ότι κατά την επεξεργασία του τυριού Cheddar με τη μέθοδο αυτή, μεγαλύτερη επιρροή στους μικροοργανισμούς είχε η δράση της ΥΠ στο τυρί και λιγότερη όταν η πίεση εφαρμόστηκε στο τυρόπηγμα. Ενδεικτικά οι Cheftel (1992) και Earnshaw (1992), απέδειξαν ότι η διαπερατότητα της κυτταρικής μεμβράνης, ύστερα από επεξεργασία με HP, ενισχύεται και έτσι καθίσταται δυνατή η απελευθέρωση ενδοκυτταρικού υλικού των βακτηρίων, όπως πεπτιδάσες, στο τυρί. Επιπλέον, η κατακράτηση νερού ενισχύεται στα επεξεργασμένα με ΥΠ τυριά, με αποτέλεσμα την αύξηση της υγρασίας που επηρεάζει την ταχύτητα της ωρίμανσης αλλά και το ρυθμό πρόσληψης αλατιού. Η κατακράτηση της υγρασίας μπορεί να αιτιολογηθεί από την λιγότερο στενή συσσωμάτωση των καζεϊνικών μικκυλίων και των λιποσφαιριδίων μετά τη συμπίεση, επιτρέποντας έτσι, τον εγκλωβισμό περισσότερης υγρασίας στο τυρί (G.Smit, 2003). Οι Juan et al., ύστερα από επεξεργασία τυριού, το

οποίο παρασκευάστηκε από πρόβειο γάλα, στα 300 MPa για 10 λεπτά, παρατήρησαν και αυτοί, καλύτερες ιδιότητες κατακράτησης υγρασίας στο τυρόπηγμα, με γρηγορότερη διάχυση άλατος από την εξωτερική επιφάνεια προς το εσωτερικό. Ακόμη, στα επεξεργασμένα με ΥΠ δείγματα παρατηρήθηκε ενισχυμένη πρωτεόλυση, πιο συγκεκριμένα υδρόλυση των  $\alpha_{s1}$ - και  $\beta$ - καζεϊνών. Τα αποτελέσματα της δευτερεύουσας πρωτεόλυσης εξαρτήθηκαν από τη χρονική στιγμή εφαρμογής της πίεσης (στην πρώτη ημέρα ωρίμανσης ή στην δέκατη πέμπτη). Ωστόσο η επεξεργασία στην πρώτη ημέρα, είχε ανεπιθύμητα χαρακτηριστικά στην υφή των δειγμάτων, καθιστώντας τα πιο μαλακά και πιο ελαστικά, σε αντίθεση με εκείνα που επεξεργάστηκαν στην δέκατη πέμπτη ημέρα, που ήταν γενικά αποδεκτά οργανοληπτικά εξίσου με τα ανεπεξέργαστα δείγματα (Juan et al., 2008). Τέλος, όλες οι παραπάνω αλλαγές προωθούν την πραγματοποίηση της πρωτεόλυσης (μια από τις βασικότερες βιοχημικές διεργασίες κατά την ωρίμανση) με γρηγορότερο ρυθμό.

### ***3.2.6.3 Επεξεργασία της καλλιέργειας τυριού με χρήση της Υπερψηλής Υδροστατικής Πίεσης***

Η ΥΠ μπορεί να εφαρμοστεί για την αναστολή της μικροβιακής ανάπτυξης στο τυρί και γενικότερα στα τρόφιμα. Ωστόσο, τα στελέχη μικροοργανισμών μπορεί να διαφέρουν ως προς τα φυσικά χαρακτηριστικά τους και να επιδεικνύουν διαφορετική συμπεριφορά και αντοχή στην εφαρμογή πίεσης. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, στα 50 MPa εφαρμοζόμενης πίεσης μπορεί να ανασταλεί η πρωτεϊνική σύνθεση στους μικροοργανισμούς και να μειωθεί ο αριθμός των ριβοσωμάτων τους. Στα 100 MPa, μπορεί να προκληθεί μερική μετουσίωση των πρωτεϊνών, και στα 200 MPa προκαλείται βλάβη στην κυτταρική μεμβράνη και στην εσωτερική κυτταρική δομή. Αυξανόμενης της πίεσης, από 300 MPa και άνω, επάγεται αναντίστροφη μετουσίωση των πρωτεϊνών και των ενζύμων, η οποία έχει ως αποτέλεσμα τη ρήξη της κυτταρικής μεμβράνης και την απέκκριση εσωκυτταρικού υλικού, οδηγώντας στον κυτταρικό θάνατο (Abe, 2007; Huang et al., 2014). Η υψηλή πίεση, επιφέρει αλλαγές τόσο στη μορφολογία (Εικόνα 3.3), στην επιβράδυνση μεταβολικών αντιδράσεων απαραίτητων για τη βιωσιμότητα των κυττάρων, όσο και στους γενετικούς μηχανισμούς.

- *Μεταβολές στη μορφολογία των κυττάρων* : Η κυτταρική μεμβράνη εμφανίζεται να είναι ένας από τους κυριότερους στόχους της υψηλής πίεσης. Αύξηση της πίεσης στο περιβάλλον του κυττάρου, έχει ως αποτέλεσμα τη διατάραξη της διαπερατότητας της μεμβράνης, φαινόμενο το οποίο ακολουθείται από απώλεια της ακεραιότητας της δομής της που καταλήγει σε κυτταρική λύση. Η αντιστρεψιμότητα ή μη της μεταβολής στη δομή της κυτταρικής μεμβράνης εξαρτάται από την εφαρμοζόμενη πίεση και το χρόνο έκθεσης του κυττάρου στις συνθήκες αυτές.
- *Μεταβολές στη φυσιολογική λειτουργία των κυττάρων* : Όταν η κυτταρική μεμβράνη υφίσταται μεταβολές λόγω εφαρμογής πίεσης, επηρεάζεται τόσο η απορρόφηση θρεπτικών συστατικών, όσο και η απομάκρυνση των αποβλήτων με

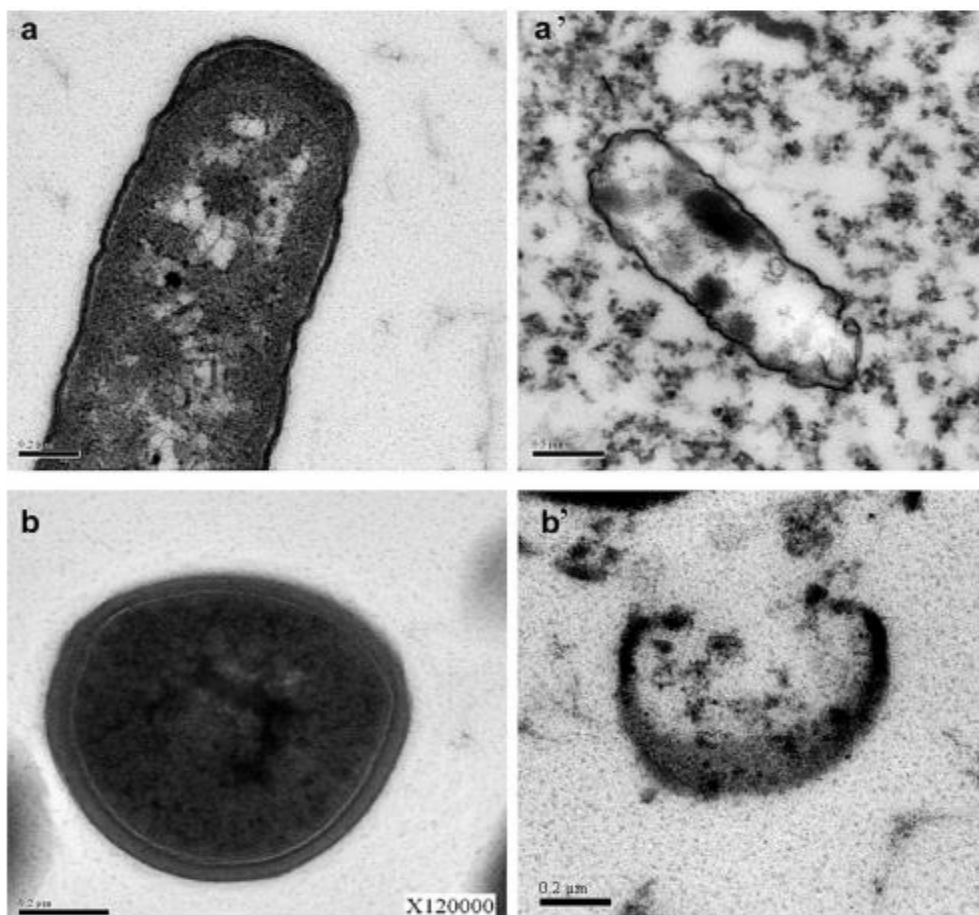
αποτέλεσμα τη συσσώρευσή τους εντός του κυττάρου, και γενικά διαταράσσονται τα μεταβολικά μονοπάτια (Torres & Velazquez, 2005). Μελέτες έδειξαν ότι οι υψηλές πιέσεις μπορούν είτε να ενεργοποιήσουν, είτε να απενεργοποιήσουν ένζυμα, ανάλογα με τη συμφυή ικανότητα αντοχής των εκάστοτε ενζύμων στην πίεση. Για παράδειγμα τα ένζυμα που είναι υπεύθυνα για την σύνθεση της ATP (adenosine triphosphate), λειτουργεί ως πηγή ενέργειας σε πολλές βιολογικές διεργασίες των κυττάρων, απομακρύνονται από την κυτταρική μεμβράνη ύστερα από την απενεργοποίησή τους, με αποτέλεσμα τη μείωση της σύνθεσης της ATP (Huang Hsiao-Wen et al., 2014). Ακόμη, οι υψηλές πιέσεις μπορούν να μετουσιώσουν λειτουργικές πρωτεΐνες και να οδηγήσουν σε μειωμένη ροή πρωτονίων, μειώνοντας έτσι το pH εντός του κυττάρου. Όσον αφορά τις πρωτεΐνες, οι μεταβολές λόγω εφαρμογής ΗΡ, σχετίζονται κυρίως με τη διάσπαση των μη-ομοιοπολικών δεσμών στα πρωτεϊνικά μόρια. Τα είδη των δεσμών, λοιπόν, ποικίλουν ανάλογα με τη δομή των πρωτεϊνών. Για παράδειγμα η πρωτοταγής δομή τους, που αποτελείται από πεπτιδικές αλυσίδες που σχηματίζονται από αλληλουχίες αμινοξέων ενωμένων με ομοιοπολικούς δεσμούς οι οποίοι δεν επηρεάζονται από την υπερυψηλή πίεση, δεν μεταβάλλεται. Αντιθέτως, η δευτεροταγής δομή των πρωτεϊνών αποτελείται από πεπτιδικές αλυσίδες που χρησιμοποιούν ενδομοριακούς και διαμοριακούς δεσμούς υδρογόνου σχηματίζοντας α-έλικες και β-πτυχωτά φύλλα. Αυτοί οι δεσμοί διασπώνται μόνο σε αρκετά υψηλές πιέσεις (μεγαλύτερες των 700 MPa), άρα οι μεταβολές στη δευτεροταγή δομή είναι ελάχιστες (Huang Hsiao-Wen et al., 2014). Στη τριτοταγή δομή υπάρχουν αναδιπλωμένες αλυσίδες σχηματίζοντας τρισδιάστατες υπομονάδες που δημιουργούνται από τις μη ομοιοπολικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των αμινοξέων των πεπτιδικών αλυσίδων, και με εφαρμογή πίεσης μεγαλύτερη των 200 MPa προκαλούνται μη αντιστρεπτές αλλαγές. Τέλος η τεταρτοταγής δομή των πρωτεϊνών αποτελείται από καλά σχηματισμένες μονάδες και μη ομοιοπολικούς δεσμούς που στηρίζονται στις υδροφοβικές αλληλεπιδράσεις, καθιστώντας τους αρκετά ευάλωτους στην υψηλή πίεση. Συνεπώς η έκταση της προκύπτουσας μεταβολής εξαρτάται από την ένταση της επιβαλλόμενης πίεσης, ενδεικτικά σε πιέσεις μεταξύ των 100-300 MPa οι μετουσιώσεις είναι αντιστρεπτές ενώ πιέσεις μεγαλύτερες των 300 MPa είναι μη αντιστρεπτές (Rastogi et al., 2007; Yaldagard et al., 2008)

- *Μεταβολές στους γενετικούς μηχανισμούς* : Η ΥΠ μπορεί να επιδράσει αρνητικά στη λειτουργία του γενετικού υλικού των μικροοργανισμών όπως την αντιγραφή του DNA και την έκφραση των γονιδίων. Συγκεκριμένα προκαλεί συμπύκνωση του γενετικού υλικού, και ως εκ τούτου υποβαθμίζει το χρωμοσωμικό DNA (Alpas et al., 2003; Kaletun et al., 2004). Ακόμη, η ΥΠ προκαλεί εκτεταμένες αλλαγές στη διαμόρφωση των νουκλεοτιδίων (Huang et al., 2014).

Όπως προαναφέρθηκε, η επιτάχυνση της ωρίμανσης των τυριών μπορεί να πραγματοποιηθεί και με τη χρήση τροποποιημένων-εξασθενημένων (attenuated starters)

καλλιεργείων. Η μερική απενεργοποίηση, λοιπόν, αυτών των καλλιεργείων μπορεί να επιτευχθεί με χρήση της μεθόδου ΥΠ. Μία παρόμοια προσπάθεια πραγματοποιήθηκε και από τους Uradhyay et al. (2007), οι οποίοι έδειξαν ότι με συμπίεση (200 MPa για 20 min στους 20°C) της καλλιέργειας για το τυρί Cheddar (τυρί με χρόνο ωρίμανσης 9-24 μήνες) και προσθήκη αυτής ως πρόσθετη στην LAB καλλιέργεια, επιτεύχθηκε επιτάχυνση της δευτερογενούς πρωτεόλυσης χωρίς αύξηση της οξύτητας, και πραγματοποίηση γρηγορότερης λύσης των βακτηριακών κυττάρων. Ακόμη, η μείωση του ρυθμού παραγωγής οξέος παρατηρήθηκε και από τους Casal & Gomez (1999), οι οποίοι έδειξαν ότι οξυγαλακτικές καλλιέργειες, που απομονώθηκαν από αιγοπρόβειο τυρί, μείωσαν την ικανότητα παραγωγής οξέος ύστερα από επεξεργασία με πίεση στα 400 MPa, ακόμα κι αν δεν υπήρχαν μεταβολές στην κυτταρική βιωσιμότητα, αποτελώντας ταυτόχρονα πηγή των απαραίτητων για το στάδιο της ωρίμανσης, ενζύμων. Το γένος *Lactococci* επέδειξε μεγαλύτερη ευαισθησία από το *Lactobacilli* σε πιέσεις 100-350 MPa. Η επεξεργασία με ΥΠ αυξάνει την υδρολυτική ικανότητα των λακτόκοκκων και λακτοβάκιλλων στο καρβοξυλικό άκρο της β-καζεΐνης, το οποίο συμβάλλει στην πρόσδοση πικρής γεύσης στο τυρί, ενώ η δραστηριότητα των αμινοπεπτιδασών και διπεπτιδασών βρέθηκε να μην επηρεάζεται ιδιαίτερα από την επεξεργασία. Με τη μέθοδο αυτή, στα βακτήρια μειώνεται η ικανότητα παραγωγής οξέος ενώ ταυτόχρονα λειτουργούν ως πηγή πολύτιμων ενζύμων που απελευθερώνονται με λύση των κυττάρων στη μάζα του τυριού και ενισχύουν την ωρίμανση.

Οι Moschopoulou et al., 2010, μελετώντας την επίδραση της υπερυψηλής υδροστατικής πίεσης (200 & 500 MPa στη δέκατη πέμπτη ημέρα ωρίμανσης) στη σύσταση και τη μικροχλωρίδα πρόβειου τυριού άλμης, παρατήρησαν ασήμαντη μεταφορά συστατικών από το τυρί στην άλμη. Από μικροβιολογικής σκοπιάς, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι, στο επεξεργασμένο στα 200 MPa τυρί, η ανάπτυξη των ολικών αερόβιων μεσόφιλων βακτηρίων, των θερμόφιλων εκκινητών και των NSLAB δεν επηρεάστηκε, σε αντίθεση με εκείνα που επεξεργάστηκαν στα 500 MPa και η ανάπτυξή αυτών επιβραδύνθηκε. Ακόμη, τα επεξεργασμένα τυριά απελευθερώθηκαν από τα ανεπιθύμητα κολοβακτηρίδια γρηγορότερα από το μη εξεργασμένο τυρί. Τέλος στην υψηλότερη πίεση εμφανίστηκε αύξηση της δραστηριότητας της ανιμοπεπτιδάσης Apep.



[Πηγή Yang et al., 2012]

**Εικόνα 3.3 Κυτταρικές δομές ασυμπιεστων και συμπιεσμένων (500 MPa-30 min) μικροοργανισμών *E. coli* : α-ασυμπιεστο *E.coli*, α'- επεξεργασμένο με HHP *E.coli*, β-ασυμπιεστο *Staphylococcus aureus*, β'- επεξεργασμένο με HHP *Staphylococcus aureus***

#### **3.2.6.4 Επεξεργασία ενδογενών και εξωγενών ενζύμων οξυγαλακτικών καλλιεργείων - εκκινήτων με χρήση της Υπερψηλής Υδροστατικής Πίεσης**

Η επεξεργασία των ενζύμων που είναι υπεύθυνα για την πήξη του τυριού, η οποία βρίσκεται ακόμη σε αρχικά στάδια, δείχνει ότι η HP οδηγεί όχι μόνο σε απενεργοποίηση επιβλαβών ενζύμων, αλλά και σε σταθεροποίηση και αύξηση της δραστηριότητας κάποιων άλλων (Eisenmenger et al., 2009) . Οι De Castro et al., 2015, εξετάζοντας την επίδραση της ΥΠ στην πρωτεολυτική και πηκτική δράση της κλασσικής πυτιάς, προερχόμενη από στομάχι νεογέννητου μοσχαριού, βρήκαν ότι προκαλείται αύξηση και στις δύο αυτές δράσεις. Πιο συγκεκριμένα η αύξηση της πρωτεολυτικής δράσης υπολογίστηκε στο είκοσι τρία τις εκατό, ενώ όσον αφορά την πηκτική δράση ήταν δεκαεπτά τις εκατό, με εμφανές πιο σφικτό και συνεκτικό παραγόμενο πήγμα σε μικρότερο χρόνο από τον κανονικά απαιτούμενο. Ακόμη παρατηρήθηκε αύξηση της απόδοσης σε τυρί. Ωστόσο, ακόμη δεν υπάρχουν σαφή αποτελέσματα και αρκετές έρευνες ώστε να αποδεικνύουν



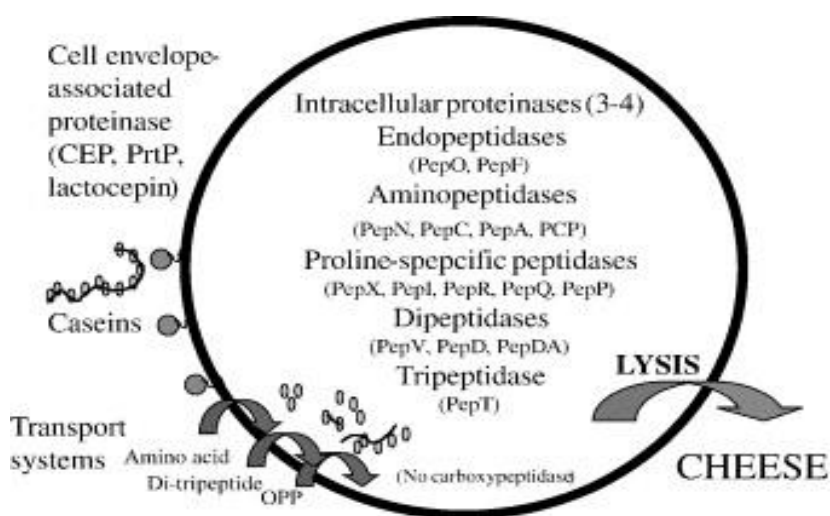
ξεκάθαρα ποια είναι η επιρροή της επεξεργασίας αυτής στο χρόνο ωρίμανσης του τυριού και αν η οποιαδήποτε επιτάχυνση που πιθανώς προκαλείται συμφέρει τη βιομηχανία.

- *Ενδογενή ένζυμα*: Στα ενδογενή ένζυμα του γάλακτος ανήκουν το σύστημα πλασμίνης-πλασμινογόνου, το οποίο περιλαμβάνει το ένζυμο πλασμίνη, το ανενεργό της προένζυμο πλασμινογόνο και τον ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (Politis et al., 1992), την καθεψίνη D και τις κυστεϊνικές πρωτεάσες, η προέλευση των οποίων είναι τα σωματικά κύτταρα του γάλακτος. Η εφαρμογή της Υπερψηφής Πίεσης στο γάλα, ειδικότερα του αγελαδινού γάλακτος, σύμφωνα με τους Hayes et al., 2005 είχε ως αποτέλεσμα τη σημαντική μείωση της ενεργότητας των ενδογενών ενζύμων, ειδικότερα της πλασμίνης.
- *Εξωγενή ένζυμα*: Στην κατηγορία αυτή ανήκουν τα ένζυμα μικροβιακής προέλευσης (εκκινητών και μη) και τα ένζυμα της πυτιάς (χυμοσίνη). Τα μικροβιακά ένζυμα προέρχονται από τη φυσική μικροβιακή χλωρίδα του γάλακτος, καθώς επίσης και από τις οξυγαλακτικές καλλιέργειες που χρησιμοποιούνται ως εκκινητές στην τυροκόμηση. Οι καλλιέργειες οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB) που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή τυριού είναι κυρίως μεσόφιλα είδη *Lactococcus* και *Leuconostoc* και θερμόφιλα είδη *Lactobacillus* και *Streptococcus thermophilus*. Όπως προαναφέρθηκε ο βασικός ρόλος είναι η παραγωγή γαλακτικού οξέος, μειώνοντας το pH. Αν και τα LAB που χρησιμοποιούνται είναι ασθενώς πρωτεολυτικά, έχουν ένα κατανοητό σύστημα πρωτεϊνών/πεπτιδών ικανό να υδρολύσει μεγαλοπεπτίδια σε μικρά πεπτίδια και αμινοξέα. Τα οξυγαλακτικά βακτήρια λοιπόν, περιέχουν μία επικολλημένη στην κυτταρική μεμβράνη (cell envelope-associated) πρωτεΐνη (CEP, lactocerin, PrtP), ενδοκυτταρικές ολιγοενδοπεπτιδάσες (PepO) και (PepF), τουλάχιστον τρεις γενικές αμινοπεπτιδάσες (PepN, PepC, PePG) και άλλα ένζυμα ( παραδείγματος χάρη PCR, PepL, PepX), όπως και συστήματα μεταφοράς πεπτιδίων και αμινοξέων (Εικόνα 3.4).

Οι Malone et al., 2003, μελέτησαν την επίδραση της επεξεργασίας υψηλών πιέσεων σε ενζυμικά συστήματα που είναι καθοριστικής σημασίας για την ωρίμανση των τυριών. Η επεξεργασία σε πιέσεις 400-800 MPa οδήγησε σε σημαντική μείωση ή ακόμη και απενεργοποίηση των πρωτεασών της μεμβράνης του *L. Lactis*, της x-προλίνης-διπεπτιδικής αμινοπεπτιδάσης, της αμινοπεπτιδάσης N και των γλυκολυτικών ενζύμων. Αντίθετα αποτελέσματα, δηλαδή αύξηση της ενεργότητας, είχε στην αμινοπεπτιδάση C και καμία επίδραση στην αμινοπεπτιδάση A.

Ακόμη, οι Katsaros et al., 2009, εφάρμοσαν την ΥΠ σε συνδυασμό με θερμοκρασίες (20<sup>ο</sup>-40<sup>ο</sup>C) και μελέτησαν την επίδραση στη δραστικότητα πέντε αμινοπεπτιδών του *Lactobacillus delbrueckii ssp. Bulgaricus ACA-DC 0105*, PepN, PepX, PepY, PepC και PepA . Σύμφωνα με τη δημοσίευση, οι PepN, PepX και PepA ενεργοποιήθηκαν με συμπίεση στα 200 MPa και θερμοκρασία 40<sup>ο</sup>C. Από την

άλλη, οι αμινοπεπτιδάσες PepC και PepY φάνηκαν να απενεργοποιούνται σε πιέσεις 100-200 MPa και θερμοκρασίες μεγαλύτερες των 30°C. Τελικά, οι βέλτιστες συνθήκες επεξεργασίας που οδήγησαν σε ενεργοποίηση τεσσάρων εκ των πέντε αμινοπεπτιδασών ήταν σε πίεση 200 MPa, θερμοκρασία 20°C και χρόνο επεξεργασίας 20 min. Λαμβάνοντας υπόψη τα αποτελέσματα αυτά, οι συγγραφείς πρότειναν την επεξεργασία ως βάση για την παραγωγή λευκών τυριών όπως η Φέτα (Katsaros et al., 2009).



[Πηγή: Sousa et al., 2001]

**Εικόνα 3.4 Αναπαράσταση πρωτεολυτικού (πρωτεϊνών/πεπτιδασών) συστήματος λακτόκοκκου.**

Κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης των τυριών, τα ένζυμα που συμμετέχουν αρχικά είναι εκείνα της κυτταρικής μεμβράνης των οξυγαλακτικών βακτηρίων, και όσο ο πληθυσμός τους μειώνεται και επέρχεται λύση των κυττάρων τους, τα ενδοκυτταρικά ένζυμα ελευθερώνονται στην κύρια μάζα του τυριού συμμετέχοντας στις διεργασίες ωρίμανσης. Με την εφαρμογή της ΥΠ, όμως, όπως περιγράφηκε σε προηγούμενη ενότητα, η κυτταρική μεμβράνη ανάλογα με το μέγεθος της πίεσης που εφαρμόζεται, υφίσταται μεταβολές επιτρέποντας την ευκολότερη απέκκριση ενδοκυτταρικού υλικού συμπεριλαμβανομένων και των ενζύμων. Όταν οι αλλαγές στην κυτταρική μεμβράνη είναι μη αντιστρεπτές, τότε επέρχεται και γρηγορότερη λύση του κυττάρου, επιταχύνοντας τις διεργασίες της ωρίμανσης. Ακόμη, οι μετουσιώσεις τόσο των πρωτεϊνών, όσο και των ενζύμων, μπορούν να ενεργοποιήσουν ή και να απενεργοποιήσουν τη δράση των τελευταίων.

### 3.2.6.5 Επεξεργασία του γάλακτος τυροκόμησης με χρήση της Υπερψηλής Υδροστατικής Πίεσης

Όσον αφορά την εφαρμογή της υπερψηλής πίεσης στο γάλα τυροκόμησης, χρησιμοποιείται κατά κύριο λόγο για απενεργοποίηση επιβλαβών μικροοργανισμών και ενζύμων, ενώ ταυτόχρονα διατηρεί την ικανότητα της πήξης του. Η μέθοδος αυτή επιτυγχάνει ακόμη καλύτερη ομογενοποίηση του γάλακτος, με ταυτόχρονη μείωση του μεγέθους των λιποσφαιριδίων, των καζεϊνικών μικκυλίων, μετουσίωση των πρωτεϊνών ορού και ενσωμάτωσή τους στο τυρόπηγμα, καθώς επίσης και αύξηση της απόδοσης τυροκόμησης (D.D. Voigt, 2012). Οι Lopez-Fandino, 1997, έδειξαν ότι με επεξεργασία του γάλακτος στα 100-300 MPa, βελτιώθηκαν τα πηκτικά του χαρακτηριστικά, ενώ με πίεση μεγαλύτερη των 300 MPa βελτιώθηκε η κατακράτηση τόσο πρωτεϊνών, όσο και υγρασίας στο τυρόπηγμα, αυξάνοντας έτσι την απόδοση. Ακόμη, οι Ohmiya et al., 1987, βρήκαν ότι το αρχικό (ενζυμικό) στάδιο πήξης του γάλακτος δεν επηρεάστηκε από πιέσεις του γάλακτος μεγαλύτερες των 130 MPa. Ωστόσο, οι Lopez-Ferdino et al., 1997 ανέφεραν ότι η ΥΠ μείωσε το ρυθμό απελευθέρωσης καζεϊνικών μακροπεπτιδίων από την κ-καζεΐνη στα 200-300 MPa, καθιστώντας την κ-καζεΐνη λιγότερο επιρρεπή στη δράση της χυμοσίνης. Σε πιέσεις μεγαλύτερες των 100 MPa, οι πρωτεΐνες ορού, κυρίως η β-λακτογλοβουλίνη, μετουσιώνονται (Needs et al., 2000). Ακόμη, κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι, η επεξεργασία μίγματος β-λακτογλοβουλίνης και κ-καζεΐνης στα 400 MPa μείωσε την ευαισθησία της κ-καζεΐνης στην υδρόλυσή της από τη χυμοσίνη (ως μέτρο χρησιμοποιήθηκε η παραγωγή καζεϊνομακροπεπτιδίων), ενώ η επεξεργασία μόνο της κ-καζεΐνης, απουσία της β-λακτογλοβουλίνης δεν επηρέασε το ρυθμό πήξης. Αυτό υποδεικνύει ότι οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των δύο αυτών πρωτεϊνών όταν μετουσιώνονται υπό πίεση, πιθανώς δημιουργούν δυσουλφιδικές γέφυρες μεταξύ τους, αναστέλλοντας την επακόλουθη υδρόλυση της κ-καζεΐνης από την χυμοσίνη (C.E. O'Reilly et al., 2001).

Οι Boonyaratankornkit et al. (2002) περιέγραψαν τα καζεϊνικά μικκύλια ως πλέγμα συμπολυμερών με εναλλασσόμενες υδροφιλικές και υδροφοβικές ακολουθίες. Η κ-καζεΐνη βρίσκεται κατά κύριο λόγο στην επιφάνεια των μικκυλίων, όπου λειτουργεί ως προστατευτικό κolloειδές για το μικκύλιο. Η χυμοσίνη, ως κύριο ένζυμο της τυτιάς, διασπά σχεδόν αποκλειστικά τον πεπτιδικό δεσμό Phe<sub>105</sub> - Phe<sub>106</sub> της κ-καζεΐνης κι έτσι απουσία του προστατευτικού κolloειδούς στην μικκυλιακή επιφάνεια, η σταθερότητα του πλέγματος μειώνεται και τα 'ενζυμικά επεξεργασμένα' καζεϊνικά μικκύλια του γάλακτος συσσωματώνονται. Η υψηλή υδροστατική πίεση, μπορεί να αλλάξει τη δομή των πρωτεϊνών και να προκαλέσει διαχωρισμό του πρωτεϊνικού συνόλου (Boonyaratankornkit et al., 2002). Επεξεργασίες μεγαλύτερες των 300 MPa μειώνουν τη διάμετρο των μικκυλίων από 150-200 nm σε περίπου 40 nm (Lopez-Fandino, 1996). Γενικά, όσο υψηλότερη είναι η πίεση και ο χρόνος επεξεργασίας, τόσο γρηγορότερος και πιο εκτεταμένος είναι ο διαχωρισμός των μικκυλίων σε μικρότερου μεγέθους υπομονάδες. Ο διαχωρισμός αυτός, αποδίδεται κυρίως στην διαλυτοποίηση του

καζεϊνικού φωσφορικού ασβεστίου και στην εξαθένιση των υδροφοβικών αλληλεπιδράσεων (Heinrich & Kulozik, 2011).

### **3.2.6.6 Επίδραση της Εφαρμογής ΥΠ στα διάφορα συστατικά**

- **Πρωτεΐνες:** Η σταθεροποίηση των πρωτεϊνών του γάλακτος, πραγματοποιείται με ομοιοπολικούς δεσμούς, πεπτιδικούς και δισουλφιδικούς, ηλεκτροστατικές και υδροφοβικές αλληλεπιδράσεις, καθώς και με δεσμούς υδρογόνου. Με την εφαρμογή της μεθόδου της υπερψηλής υδροστατικής πίεσης, οι ομοιοπολικοί δεσμοί φαίνεται να μην επηρεάζονται, κατ' επέκταση και η πρωτοταγής δομή των πρωτεϊνών αυτών. Μεταξύ των αλλαγών που επιφέρει η υψηλή πίεση στο γάλα είναι και η μείωση των ιδιοτήτων σκέδασης του φωτός, η μείωση της θολότητας και γενικότερες μεταβολές στην εμφάνιση, που προκαλούνται από την αποικοδόμηση των καζεϊνικών μικκυλίων σε μικρότερες δομές (Needs; Capellas et al., 2000). Αντιθέτως, οι πρωτεΐνες ορού δείχνουν να επηρεάζονται σημαντικά από τη μέθοδο. Συγκεκριμένα, το ποσοστό του μη καζεϊνικού αζώτου στον ορό μειώνεται με αύξηση της εφαρμοζόμενης πίεσης. Αυτό σημαίνει ότι οι πρωτεΐνες αυτές μετουσιώνονται και μειώνεται η ικανότητα διαλυτοποίησής τους. Από τις πρωτεΐνες ορού αυτή που παρουσιάζει τη μέγιστη ευαισθησία στην υψηλή πίεση είναι η β-γαλακτογλοβουλίνη, ενώ ακολουθούν η ανοσοσφαιρίνη και τέλος η α-γαλακτοαλβουμίνη. Η διαφορά ευαισθησίας μεταξύ της πρώτης και της τελευταίας πρωτεΐνης, ίσως οφείλεται στην παρουσία ενδομοριακών δισουλφιδίων (-S-S-) και την έλλειψη ελεύθερων υδροσουλφιδίων (-SH) στην α-γαλακτοαλβουμίνη.
- **Λιπαρά:** Η μέθοδος της υψηλής υδροστατικής πίεσης, έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση του χρόνου που απαιτείται για την πρόκληση κρυστάλλωσης του λίπους, και αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η θερμοκρασία μετάπτωσης στερεού/υγρού του λίπους του γάλακτος αυξάνεται όταν εκτίθεται σε υψηλές πιέσεις. Στο πρόβειο γάλα, έχει παρατηρηθεί ότι σε πίεση 800 MPa προκαλούνται αλλαγές στο μέγεθος και στην κατανομή των λιποσφαιριδίων. Στους 25 και 50°C η επεξεργασία με ΥΠ, φαίνεται να προκαλεί αύξηση του αριθμού των μικρών σφαιριδίων, διαμέτρου 1-2 μm, ενώ στους 4°C προκαλείται μείωση (Chawla et al., 2011). Τέλος, η υψηλή πίεση προκαλεί σε ένα βαθμό ενσωμάτωση των πρωτεϊνών ορού στα λιποσφαιρίδια, αλλά αφού δεν υπάρχει αύξηση της λιπόλυσης, η μεμβράνη υφίσταται κάποια ζημιά (Naik et al., 2013; Buchheim, 1996).
- **Βιταμίνες:** Τα μικρά μόρια, όπως οι αρωματικές ενώσεις, οι βιταμίνες και οι χρωστικές ουσίες, επηρεάζονται σε σημαντικό βαθμό από την υπερυψηλή πίεση σε σύγκριση με τη θερμική επεξεργασία. Γι' αυτό άλλωστε η ποιότητα του τροφίμου που έχει υποστεί πίεση είναι παρόμοια με εκείνη του φρέσκου (Rastogi, 2013).
- **Ανόργανα Συστατικά:** Η ισορροπία των ανόργανων συστατικών του γάλακτος, αναφέρεται στη διαλυτοποίηση και τον ιοντισμό των αλάτων του γάλακτος, όπως το ασβέστιο το οποίο υπάρχει σε πολλές μορφές και ενώσεις στο γάλα. Η δράση

της ΥΠ στα ανόργανα συστατικά του γάλακτος μπορεί να χωριστεί σε δύο κατηγορίες, την επίδραση στην κατανομή μεταξύ της διαχεόμενης και της κολλοειδούς φάσης και στην επίδραση στον ιοντισμό (Huppertz et al., 2002). Ακόμη, το pH αυξάνεται μετά από επεξεργασία με υψηλή πίεση, ωστόσο η αλλαγή αυτή στο pH θεωρείται αναστρέψιμη (Naik et al., 2013).

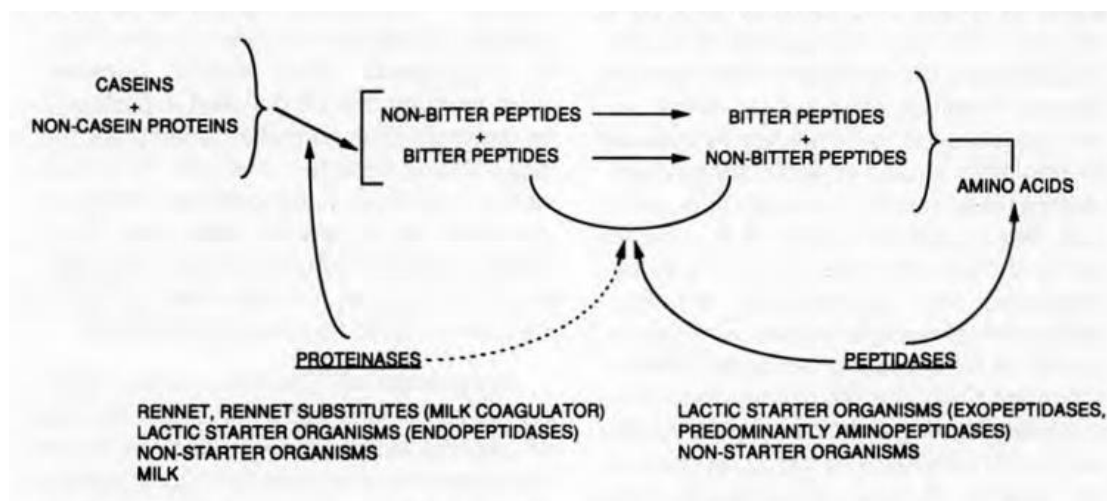
### **3.2.6.7 Χρήση Υπερψηλής Υδροστατικής Πίεσης στα παραγόμενα πεπτίδια που προκαλούν πικρή γεύση στα τυριά**

Η πικρή γεύση στο τυρί είναι αποτέλεσμα της παρουσίας υδροφοβικών πεπτιδίων, δηλαδή πεπτιδίων χαμηλού μοριακού βάρους, τα οποία δεν αποικοδομούνται περαιτέρω σε 'non-bitter' πεπτίδια και αμινοξέα (Εικόνα 3.5). Αυτά σχηματίζονται κυρίως από τη δράση της πυτιάς και των πρωτεΐνασών των βακτηρίων. Η πικρή γεύση προκύπτει όταν τέτοια πεπτίδια παράγονται σε υπερβολικές συγκεντρώσεις, είτε είναι αποτέλεσμα ανελλιπούς αποικοδόμησης από τα μικροβιακά ένζυμα ή τέλος παραγωγή τους από τις βακτηριακές πρωτεΐνάσες και συσώρευσή τους λόγω απουσίας βακτηριακών πεπτιδασών (Sousa et al., 2001). Άρα παρατηρείται διάκριση μεταξύ 'bitter' και 'non-bitter' πεπτιδίων. Άλλες μελέτες, ωστόσο, καταλήγουν στο συμπέρασμα ότι η πικρή γεύση εξαρτάται περισσότερο από τη φύση των πρωτεϊνών, παρά από την πρωτεολυτική δράση των ενζύμων, γεγονός που τονίζει τον ιδιαίτερο ρόλο της αλληλουχίας των αμινοξέων (Adda J. et al., 1982).

Η υδροφοβικότητα των πρωτεϊνών παίζει καθοριστικό ρόλο στην παραγωγή τέτοιων πεπτιδίων. Ορισμένες, αλληλουχίες στις καζεΐνες είναι ιδιαίτερα υδρόφοβες και όταν αποκόπτονται από τις πρωτεΐνάσες μπορούν να οδηγήσουν στην πικρή γεύση. Ανάμεσα στις πρωτεΐνες, αυτές που προσδίδουν πιο πικρή γεύση είναι οι καζεΐνες, και πιο συγκεκριμένα στο φαινόμενο αυτό συμβάλλει κυρίως η  $\alpha_{s1}$ -καζεΐνη και λιγότερο η  $\beta$ -καζεΐνη. Αυτό, πιθανώς εξηγεί και το γεγονός ότι τα τυριά από πρόβειο και γίδινο γάλα, που περιέχουν σχετικά λιγότερη  $\alpha_{s1}$ -καζεΐνη, είναι συνήθως λιγότερο πικρά από εκείνα που παρασκευάζονται από αγελαδινό (Pelissier & Manchon, 1976). Η δράση της χυμοσίνης (ένζυμο πυτιάς) είναι σημαντική στην παραγωγή 'bitter' πεπτιδίων, αφού η αρχική της δράση στην  $\beta$ -καζεΐνη απελευθερώνει αρκετά υδρόφοβα πεπτίδια. Έτσι, παράγοντες που επηρεάζουν τη διατήρηση και τη δραστηριότητα της πυτιάς στο τυρόπηγμα, όπως η εφαρμογή ΥΠ, επηρεάζουν σημαντικά και την ανάπτυξη της πικρής γεύσης. Ο Noomen (1983) ανέφερε ότι οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των τριών πρωτεολυτικών συστημάτων δηλαδή τα ένζυμα πυτιάς (κυρίως η χυμοσίνη), τα ένζυμα της βακτηριακής καλλιέργειας και οι πρωτεΐνάσες του γάλακτος (κυρίως η πλασμίνη) επιδρούν συνεργιστικά στο περιεχόμενο των bitter-πεπτιδίων στο τυρί.

Ένα ακόμη πείραμα που διεξήχθη από τους Emmons et al., 1962, οδήγησε στο συμπέρασμα ότι τα βακτηριακά στελέχη τα οποία παράγουν τυριά με πικρή γεύση είναι ανεπαρκή σε πρωτεολυτικά ένζυμα που αποικοδομούν τα πεπτίδια που αποδίδουν τη γεύση αυτή. Ωστόσο, οι μηχανισμοί σχηματισμού και αποικοδόμησης των 'bitter' πεπτιδίων κατά την ωρίμανση των τυριών, είναι αρκετά περίπλοκο φαινόμενο που

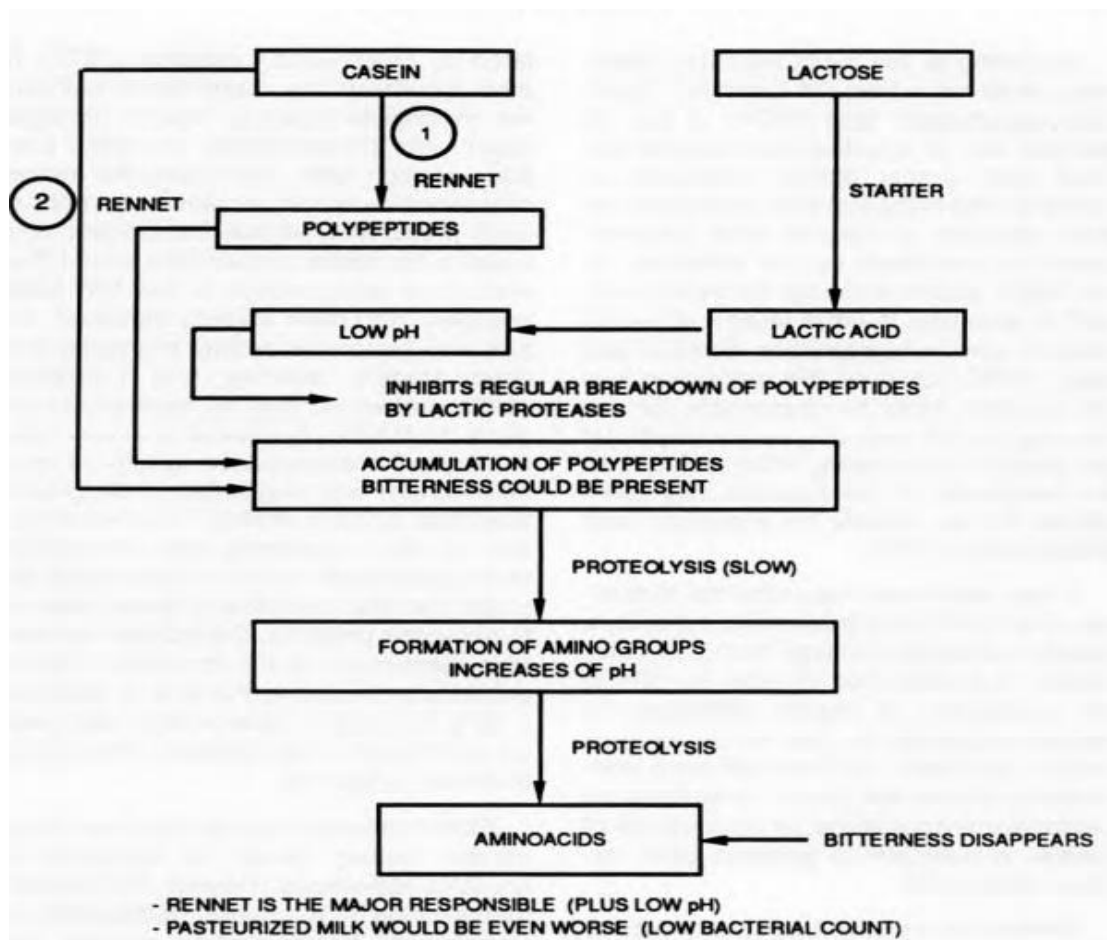
επιδέχεται περαιτέρω ανάλυση, όπως αποδεικνύεται από τις αντικρουόμενες δημοσιεύσεις που υπάρχουν στη βιβλιογραφία.



[Πηγή : Rouseff, 1990]

**Εικόνα 3.5 Πρωτεολυτικές αντιδράσεις που συμβάλλουν στο σχηματισμό των 'bitter' πεπτιδίων σε σκληρά τυριά κατά την ωρίμανσή τους.**

Για το μηχανισμό σχηματισμού και αποικοδόμησης των πεπτιδίων στο τυρί υπάρχει μία βασική θεωρία, η υπόθεση του Czulak's (1959) (Εικόνα 3.6).



[Πηγή : Furtado, 1984]

### Εικόνα 3.6 Υπόθεση Czulak

Σύμφωνα με αυτή, η ανάπτυξη της πικρής γεύσης στο τυρί, είναι αποτέλεσμα της συνδυαστικής δράσης της πυτιάς και των βακτηριακών πρωτεολυτικών ενζύμων. Τα πεπτίδια που απελευθερώνονται από τη δράση της πυτιάς, υδρολύονται περαιτέρω από 'non-bitter' στελέχη γαλακτικών στρεπτόκοκκων (*lactic streptococci*), ενώ τα 'bitter' στελέχη δεν είναι ικανά να υδρολύσουν αυτά τα πεπτίδια, τα οποία έτσι συσσωρεύονται και δημιουργούν την πικρή γεύση. Ακόμη, προτείνει ότι η συσσώρευση αυτή, ίσως προκαλείται από την αύξηση της δραστηριότητας της πυτιάς στο χαμηλό pH που προκαλείται από την παραγωγή του γαλακτικού οξέος.

Όπως αναφέρθηκε, η μείωση της συγκέντρωσης των bitter πεπτιδίων εξαρτάται κατά μεγάλο βαθμό από τη δράση των πρωτεϊνασών, πεπτιδασών και γενικότερα των ενζύμων που συμβάλλουν στον καταβολισμό των καζεϊνών. Με την εφαρμογή της μεθόδου της HP είτε στο τυρί, είτε στην αρχική καλλιέργεια, όπως αναπτύχθηκε σε προηγούμενη παράγραφο, παρατηρείται απενεργοποίηση ή/και ενεργοποίηση ορισμένων ενζύμων, επιτάχυνση ή/και επιβράδυνση της δράσης τους. Η επιτάχυνση της πρωτεόλυσης, που φαίνεται να επιτυγχάνεται με την ΥΠ, έχει ως αποτέλεσμα τη γρήγορη αποικοδόμηση των πεπτιδίων, που προκαλούν πικρή γεύση, σε 'non-bitter' πεπτίδια και αμινοξέα.

Τέλος, εκτός των πεπτιδίων, πολλές είναι, ακόμη, οι ουσίες εκείνες που συμβάλλουν στην πικρή γεύση του τυριού, όπως διάφορα αμινοξέα (κυρίως εκείνα με μη πολικές ή υδροφοβικές πλευρικές αλυσίδες), αμίνες, αμμίδια, υποκατεστημένα αμμίδια, κετόνες μακριάς αλυσίδας, ορισμένα μονογλυκερίδια και άλλα.

Μία από τις μεγαλύτερες οικονομικές προκλήσεις της βιομηχανίας παραγωγής γαλακτοκομικών προϊόντων και ειδικότερα τυριού είναι η χρονοβόρα και συνεπώς δαπανηρή φάση της ωρίμανσης. Το μεταβολικά μονοπάτια, που λαμβάνουν χώρα κατά το στάδιο αυτό και είναι υπεύθυνα για την πρόσδοση των ιδιαίτερων φυσικοχημικών και οργανοληπτικών χαρακτηριστικών σε κάθε ποικιλία τυριού, χρειάζονται συγκεκριμένες περιβαλλοντικές συνθήκες. Για την επίτευξη και διατήρηση των συνθηκών αυτών για μεγάλο χρονικό διάστημα, απαιτούνται μεγάλα ποσά ενέργειας και κατάλληλα διαμορφωμένοι χώροι, γεγονός που επιβαρύνει τον προϋπολογισμό της επιχείρησης. Το πρόβλημα είναι ακόμη εντονότερο κατά την παραγωγή τυριών μακράς ωρίμανσης (μεγαλύτερες των δύο μηνών). Για την αντιμετώπιση των δυσκολιών αυτών, ο επιστημονικός σε συνεργασία με τον τομέα της βιομηχανίας τροφίμων έχουν στραφεί στην εύρεση κατάλληλων μεθόδων, που θα προσφέρουν τη δυνατότητα μείωσης του χρόνου ωρίμανσης με ταυτόχρονη διατήρηση ή και τη βελτίωση των μοναδικών χαρακτηριστικών κάθε τυριού. Μία από τις μεθόδους αυτές, είναι η Υπερυψηλή Υδροστατική Πίεση που σύμφωνα με τη βιβλιογραφία επιτρέπει την επιτάχυνση του σταδίου αυτού και τη βελτίωση πολλών ιδιοτήτων. Γι' αυτό στην παρούσα μελέτη επιδιώκεται η εκτίμηση των φυσικοχημικών, οργανοληπτικών και βιοχημικών (πορεία πρωτεόλυσης) μεταβολών που προκαλούνται στο λευκό τυρί άλμης Φέτα με εφαρμογή της μεθόδου ΥΠ.



### **ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 3<sup>ΟΥ</sup> ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ**

1. Abe F., **'Exploration of the effects of high hydrostatic pressure on microbial growth, physiology, and survival: perspectives from piezophysiology'**, *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 71, pp. 2347-2357, 2007.
2. Adda J., Gripon J. C., Vassal L., **'The chemistry of flavor and texture generation in cheese'**, *Food Chemistry*, 9, pp. 115-129, 1982.
3. Alpas H., Lee J., Bozoglu F., & Kaletunc G., **'Evaluation of high hydrostatic pressure sensitivity of Staphylococcus aureus and Escherichia coli O157: H7 by differential scanning calorimetry'**, *International Journal of Food Microbiology*, 87, pp. 229-237, 2003.
4. Anjani K., K. Kailasapathy, M. Phillips, **'Microcapsulation of enzymes for potential application in acceleration of cheese ripening'**, *International Dairy Journal* 17, pp 79-86, 2007.
5. Bolotin A., Wincker P., Mauger S., Jaillon O., Malarme K., Weissenbach J., Ehrlich S. D. and Sorokin A., **'The complete genome sequence of the lactic acid bacterium Lactococcus lactis ssp. lactis IL1403'**, *Genome Res*, 11, pp. 731–753, 2001.
6. Boonyaratanakornkit B.B., C.B. Park, D.S. Clark, **'Pressure effects on intra- and intermolecular interactions within proteins '**, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1595, pp. 235–249, 2002.
7. Boutrou, R., A. Sepulchre, G. Pitel, C. Durier, L. Vassal, J. C. Gripon, and V. Monnet, **'Lactococcal lysis and curd proteolysis: Two predictable events important for the development of cheese flavor'**, *Int. Dairy J.*, 8, pp. 609–616, 1998.
8. Buchheim W., Frede E., **'Use of high-pressure treatment to influence the crystallization of emulsified fats'**, *DMZ: Lebensmittelindustrie und Milchwirtschaft*, 117, pp. 228–237, 1996.
9. Capellas M., & Needs E., **'Physical properties of yogurt prepared from pressure-treated concentrated or fortified milks'**, *Milchwissenschaft*, 58, pp. 46–48, 2003.
10. Casal V. & GoÂmez R., **'Effect of high pressure on the viability and enzymatic activity of mesophilic lactic acid bacteria isolated from caprine cheese'**, *Journal of Dairy Science*, 82, pp. 1092-1098, 1999.
11. Chawla R., Patil G. R., Singh A. K., **'High hydrostatic pressure technology in dairy processing: a review'**, *Journal of Food Science & Technology*, 48, pp. 260-268, 2011.
12. Cheftel J. C., **Effect of high hydrostatic pressure on food constituents: an overview**. In Balny, C., Hayashi, R., Heremans, K., & Masson, P., *High pressure and biotechnology* (Vol. 224) (pp. 195- 209). London, UK: Coloque INSERM/John Libbey Eurotext, 1992.
13. Christensen J. E., E. G. Dudley, J. A. Pedersen, and J. Steele., **'Peptidases and amino acid catabolism in lactic acid bacteria'**, *Antonie Van Leeuwenhoek* 76, pp. 217–246, 1999.
14. Czulak J., **'Bitter flavor in cheese'**, *Aust. J Dairy Technol.* 14, pp. 177-179, 1959.

15. Daniela D. Voigt, Francois Chevalier, John A. Donaghy, Margaret F. Pattern, Michael C. Qian, Alan L. Kelly, '**Effect of high-pressure treatment of milk for cheese manufacture on proteolysis, texture and functionality of Cheddar cheese during ripening**', *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 13, pp.23-30, 2012.
16. De Castro Leite Junior Bruno Ricardo, Alline Artigiani Lima Tribst, Carlos Francisco Sampaio Bonafe, Marcelo Cristianini, '**Determination of influence of high pressure processing on calf rennet using response surface methodology : Effects on milk coagulation**', *LWT – Food Science and Technology, Elsevier, Volume 65*, pp. 10-17, 2015 (Release January 2016).
17. Delgado Francisco Jose, Jose Gonzalez-Crespo, Ramon Cava, Rosario Ramirez, '**Changes in microbiology, proteolysis, texture and sensory characteristics of raw goat milk cheeses treated by high pressure at different stages of maturation**', *LWT – Food Science and Tecnology*, 48, , Elsevier, pp 268-275, 2012.
18. Driessen F. M., '**Heat-induced changes in milk**', Bulletin 238, *International Dairy Federation*, Brussels, 1989.
19. Earnshaw R.G., '**High pressure as a cell sensitizer : new opportunities to increase the efficiency of preservation processes**', In C. Balny, R. Hayashi, K. Heremans, and P. Masson Vol. 224, pp. 261-267, *High pressure and biotechnology*. London, UK: Coloque INSERM/John Libbey Eurotext Ltd, 1992.
20. Eisenmenger M. J., J. I. Reyes-De-Corcuera, '**High pressure enhancement of enzymes: a review**', *Enzymes and Microbial Technology*, pp. 331–347, 2009.
21. Emmons D. B., McGugan W. A., Elliott J. A., Morse P. M., '**Effect of strain of starter culture and of manufacturing procedure on bitterness and protein breakdown in Cheddar cheese**', *J Dairy Sci* 45, pp. 332-342, 1962.
22. Farkey N. Y., '**Cheeses/ Chemistry and Microbiology of Maturation**', Elsevier Science Ltd, pp. 1062-1066, 2003.
23. Fox P. F. and Wallace J. M., '**Formation of flavour compounds in cheese**', *Advances in Applied Microbiology* 45, pp. 17–85, 1997.
24. Fox P. F., '**Cheese : Chemistry, Physics and Microbiology**', an ASPEN publication, *Second Edition, Vol. 1 General Aspects*, 1999.
25. Fox P. F., Guinee T. P., Cogan T. M. and McSweeney P. L. H., '**Fundamentals of Cheese Science**' Gaithersburg, MD: Aspen, 2000.
26. Fox P. F., T. K. Singh, P. L. H. McSweeney, '**Biogenesis of flavour compounds in cheese**', *Advan Exp. Med. Biol.* 367, pp. 59–98, 1995.
27. Fox, P. F., J. M. Wallace, S. Morgan, C. M. Lynch, E. J. Niland, and J. Tobin., '**Acceleration of cheese ripening**', *Antonie Van Leeuwenhoek* 70, pp. 271–297, 1996.
28. Fryer T. F., Sharpe M. E. and Reiter B., '**Utilization of milk citrate by lactic acid bacteria and 'blowing' of filmwrapped cheese**', *Journal of Dairy Research* 3 , pp. 17–28, 1970.

29. Furtado M. M., '**Prevention of bitter taste in cheeses**', *Int Dairy Fed Bull* 177, pp. 113-122, 1984.
30. Hayes M. G., Fox P. F., Kelly A. L., '**Potential Applications of High Pressure Homogenisation in Processing of Liquid Milk**' *Journal of Dairy Research* 72(1), pp. 25-33, 2005.
31. Heinrich Martin, Ulrich Kulozik, '**Study of chymosin hydrolysis of casein micelles under ultra high pressure: Effect on re-association upon pressure release**', *International Dairy Journal*, Volume 21, Issue 9, September 2011, Pages 664–669, 2011.
32. Huang Hsiao-Wen, Hsiang-Mei Lung, Binghuei Barry Yang, Chung-Yi Wang, '**Responses of microorganisms to high hydrostatic pressure processing**', *Food Control*, 40, pp. 250-259, 2014.
33. Huppertz T., Kelly A. L., Fox P. F., '**Effects of high pressure on constituents and properties of milk: Review**', *International Dairy Journal*, 12, pp. 561–572, 2002.
34. Juan Bibiana, Victoria Ferragut, Buenaventura Guamis, Antonio-José Trujillo, '**The effect of high-pressure treatment at 300 MPa on ripening of ewes' milk cheese**', *International Dairy Journal* 18, pp. 129–138, 2008.
35. Kailasapathy K., Lam S. H. & Hourigan J. A., '**Studies on encapsulating enzymes to accelerate cheese ripening**', *The Australian Journal of Dairy Technology*, 53, 125, 1998.
36. Kaletun G., Lee J., Alpas H. & Bozoglu F., '**Evaluation of structural changes induced by high hydrostatic pressure in *Leuconostoc mesenteroides***', *Applied and Environmental Microbiology*, 70, pp. 1116-1122, 2004.
37. Katsaros G. I., Giannoglou M. N. and Taoukis P. S., '**Kinetic Study of the Combined Effect of High Pressure and Temperature on the Activity of *Lactobacillus delbrueckii ssp. Bulgaricus* Aminopeptidases**', *Journal of Food Science*, Vol. 74, Nr. 5, 2009.
38. Kheadr E. E., Vuilleumard J., & El Deeb S. A., '**Accelerated Cheddar cheese ripening with encapsulated proteinases**', *International Journal of Food science and Technology*, 35(5), pp. 483–495, 2000.
39. Kunji E. R., I. Mierau, A. Hagting, B. Poolman, and W. N. Konings., '**The proteolytic systems of lactic acid bacteria**', *Antonie Van Leeuwenhoek* 70, pp. 187–221, 1996.
40. Larsen L. B., C. Benfeldt, L. K. Rasmussen, T. E. Petersen, '**Bovine milk procathepsin D and cathepsin D: Coagulation and milk protein degradation**', *Journal of Dairy Research*, 63 pp. 119–130, 1996.
41. Lemieux L., Simard R. E., '**Bitter flavour in dairy products. II. A review of bitter peptides from caseins: their formation, isolation and identification, structure masking and inhibition**', *Hal archives-ouvertes*, Jan. 1992.
42. López-Fandino R., '**High pressure-induced changes in milk proteins and possible applications in dairy technology**', *International Dairy Journal*, 16, pp. 1119–1131, 2006.

43. Lopez-Fandino R., and Olano A., **'Effects of High Pressures Combined with Moderate Temperatures on the Rennet Coagulation Properties of Milk'** in *Int. Dairy J.* 8, 623–627, 1998.
44. Lopez-Fandino R., Carrascosa A. V., Olano A., **'Dairy products : The effects of high pressure on whey protein denaturation and cheese-making properties of raw milk'**, *Elsevier, Volume 79*, Issue 6, pp. 929–936, June 1996.
45. Lopez-Fandino R., Carrascosa A. V., Olano A., **'Rennet coagulation of milk subjected to high pressures'**, *J. Agric. Food Chem* 45, pp. 3233-3237, 1997.
46. Lopez-Fandino R., De La Fuente M. A., Ramos M. and Olano A., **'Distribution of minerals and proteins between the soluble and colloidal phases of pressurized milks from different species'**, *J. Dairy Res* 65, pp. 67-7., 1998.
47. Magee E. L., & Olsen N. F. , **'Microencapsulation of cheese ripening systems: Formation of microcapsules'**, *Journal of Dairy Science*, 64, pp. 600–610, 1981.
48. Malone A. S., Wick C., Shellhammer T. H., Courtney P. D., **'High Pressure Effects on Proteolytic and Glycolytic Enzymes involved in Cheese Manufacturing'** *Journal of Dairy Science* 86(4), pp. 1139-46, 2003.
49. McGarry A., Law J., Coffey A., Daly C., Fox P. F. and Fitzgerald G. F., **'Effect of genetically modifying the lactococcal proteolytic system on ripening and flavour development in Cheddar cheese'**, *Appl Environ Microbiol*, 60, pp. 4226–4233, 1995.
50. McSweeney P. L. H and Sousa M. J., **'Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheese during ripening'**, *Le Lait* 80, pp. 293–324, 2000.
51. McSweeney P. L. H. and Fox P. F. **'Metabolism of residual lactose and of lactate and citrate'**, *In Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology, Vol 1: General Aspects*, 3rd edn, pp 361–372. Fox P F, McSweeney P. L. H., Cogan T. M. and Guinee T. P., eds. London: Elsevier, 2004.
52. McSweeney P. L. H., Olson N. F., Fox P. F. and Healy A., **'Proteolysis of bovine  $\alpha$ 2-casein by chymosin'**, *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung* 119, pp. 429–432, 1994.
53. McSweeney P. L. H., Olson N. F., Fox P. F., Healy A. and Højrup P., **'Proteolytic specificity of chymosin on bovine  $\alpha$ 1 casein'**, *Journal of Dairy Research* 60, pp. 401–412, 1993.
54. McSweeney Paul L. H., **'Biochemistry of Cheese Ripening'**, *International Journal of Dairy Technology*, Vol 57, No 2/3, May/Ayguest 2004.
55. Mierau, I., E. R. Kunji, K. J. Leenhouts, M. A. Hellendoorn, A. J. Haandrikman, B. Poolman, W. N. Konings, G. Venema, and J. Kok., **'Multiple-peptidase mutants of Lactococcus lactis are severely impaired in their ability to grow in milk'**, *J. Bacteriol.* 178, pp. 2794–2803, 1996.
56. Montel M. C., Buchin S., Mallet A., Delbes-Paus C., Vuitton D., Desmaures N., F. Berthier, **'Traditional cheeses: rich and diverse microbiota with associated benefits'**. *International Journal of Food Microbiology*, 177, pp. 136-154, 2014.

57. Moschopoulou Ekaterini, Tsala Anisa, George Katsaros, Petros Taoukis, Golfo Moatsou, '**Application of high-pressure treatment on ovine brined cheese : Effect on composition and microflora throughout ripening**', *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11, pp. 543-550, 2010.
58. Naik L., Sharma, R., Rajput Y. S., Manju G., '**Application of High Pressure Processing Technology for Dairy Food Preservation - Future Perspective: A Review**', *Journal of Animal Production Advances*, 3, pp. 232-241, 2013.
59. Needs, E. C., Stenning, R. A., Gill, A. L., Ferragut, V., & Rich, G. T. , '**High-pressure treatment of milk: Effects on casein micelle structure and on enzymic coagulation**', *Journal of Dairy Research*, 67, pp. 31–42, 2000.
60. Needs, E.C., Stenning, R.A., Gill, A.L., Ferragut, V. and Rich, G.T., '**High-pressure Treatment of Milk: Effects on Casein Micelle Structure and on Enzymic Coagulation**' *J. Dairy Res.* 67, 31–42, 2000.
61. Noomen A., '**Proteolysis in cheese: sources and consequences**', *Neth. Milk Dairy J.* 37, pp. 96-97, 1983.
62. O'Reilly C.E, O'Connor P.M, Kelly A.L, Beresford T.P and Murphy P.M, '**Use of hydrostatic pressure for inactivation of microbial contaminants in cheese**', *Appl Environ Microbiol*, 66(11), pp. 4890–4896,2000.
63. O'Reilly Ciara E., Alan L. Kelly, Patrick M. Murphy, Thomas P. Beresford, '**High pressure treatment: Applications in cheese manufacture and ripening**', *Trends in Food Science and Technology*, 12, pp. 51-59, 2001.
64. Ohmiya K., Fukami K., Shimizu S and Gekko K. '**Milk Curdling by Rennet Under High Pressure**' *In J. Food Sci.* 52, 84–87, 1987.
65. O'Reilly Ciara E., Alan L. Kelly, Jorge C. Oliveira, Patrick M. Murphy, Mark A.E. Auty, Thomas P. Beresford, '**Effect of varying high-pressure treatment conditions on acceleration of cheese ripening of cheddar cheese**', *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, Vol. 4, I. 3, pp. 277-284, 2003.
66. Pelissier J. P. & Manchon P., '**Comparative study of the bitter taste of enzymic hydrolysates from cow, ewe and goat caseins**', *J. Food Sci.*, 41,231, 1976.
67. Picon A., Gaya P., Medina M., & Nunez M., '**Proteinases encapsulated in stimulated release liposomes for cheese ripening**. *Biotechnology Letters*, 19(4), pp. 345–348, 1997.
68. Politis I., E.Lachance, E. Block, and J.D. Turner, '**Plasmin and plasminogen in bovine milk: a relationship with involution?**', *Journal of Dairy Science* 72, pp. 900-906, 1989.
69. Politis I., R.C. Gorewit and D.M. Barbano, '**Distribution of plaminogen and plasmin in fractions of bovine milk**', *Journal of Dairy Science* 75, pp. 1402-1410, 1992.
70. Rastogi N. K., Raghavarao K. S. M. S., Balasubramaniam V. M., Niranjana K., & Knorr D., '**Opportunities and challenges in high pressure processing of foods. Critical Reviews in Food Science and Nutrition**', 47, pp. 69-112, 2007.

71. Rastogi N.K., '**High pressure processing of dairy products**', *In: Recent Developments in High Pressure Processing of Foods*, R.W. Hartel (Ed.), pp. 51-66, *Springer Briefs in Food, Health & Nutrition*, New York, 2013.
72. Robinson R. K. and R. A. Wilbey, '**Cheesemaking Practice**' R. Scott, third edition, Kluwer Academic/Plenum Publishers, pp. 271-287, 1998.
73. Robinson R. K. and Tamime A. Y., '**Feta and Related cheeses**', *Woodhead Publishing Limited*, 1996.
74. Rouseft R.L., '**Bitterness in Foods and Beverages**' *Developments in Food Science 25. Elsevier Sci Publ*, Amsterdam, 1990.
75. Saldo J., E. Sendra and B. Guamis, '**High Hydrostatic Pressure for Accelerating Ripening of Goat's Milk Cheese: Proteolysis and Texture**', *J. OF Food Science*, Volume 65, Issue 4, pp. 636–640, May 2000.
76. Smit Gerrit, '**Dairy processing – Improving quality**', *Woodhead publishing limited*, ch. 15, 19,22, 2003.
77. Smith J. Scott, Y. H. Hui, '**Food Processing Principles and Applications**', Blackwell Publishing, pp. 273-286, 2004.
78. Sousa M. J., Y. Ardö, P. L. H. McSweeney, '**Advances in study of proteolysis during cheese ripening**', *International Dairy Journal 11*, Elsevier, pp. 327-345, 2001.
79. Torres J. A., & Velazquez G., '**Commercial opportunities and research challenges in the high pressure processing of foods**', *Journal of Food Engineering*, 67, pp. 95-112,2005.
80. Trujillo A. J, M. Capellas, M. Buffa, C. Royo, R. Gervilla, X. Felipe, E. Sendra, J. Saldo, V. Ferragut, B. Guamis, '**Application of high pressure treatment for cheese production**', *Food Research International*, 33, pp. 311-316, 2000.
81. Upadhyay V K, McSweeney P L H, Magboul A A A and Fox P, '**Proteolysis in cheese during ripening**', *In Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology, Vol 1: General Aspects*, 3rd edn, pp 391–434. Fox P F, McSweeney P L H, Cogan T M and Guinee T P, eds. London: Elsevier, 2004.
82. Upadhyay V. K. and P. L. H. McSweeney, University College Cork, Ireland, '**Dairy Processing-Improving Quality**', ch.19, pp. 419-447, Woodhead Publishing Limited, 2003.
83. Upadhyay V. K., T. Huppert, A. L. Kelly, P. L. H. McSweeney, '**Use of high pressure treatment to attenuate starter bacteria for use as adjuncts for Cheddar cheese manufacture**', *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, V.8, Issue, pp. 485-492, 2007.
84. Visser S. and Slangen K. J., '**On the specificity of chymosin (rennin) in its action on bovine  $\beta$ -casein**', *Netherlands Milk and Dairy Journal 31*, pp. 16–30, 1977.
85. Yaldagard M., Mortazavi S. A., & Tabatabaie F. , '**The principles of ultra high pressure technology and its application in food processing/preservation: A review of microbiological and quality aspects**', *African Journal of Biotechnology*, 7,pp. 2739-2767, 2008.

86. Yang B., Shi Y., Xia, X., Xi M., Wang X., Ji,B., et al. (2012), '**Inactivation of foodborne pathogens in raw milk using high hydrostatic pressure**', *Food Control*, 28, pp.273-278, 2012.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 : ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

### 4.1 Εισαγωγή

Στόχος της παρούσας μελέτης ήταν αρχικά η παρασκευή λευκού τυριού τύπου Φέτας με προσθήκη επεξεργασμένης με Υπερυψηλή Υδροστατική Πίεση καλλιέργειας εκκινητών, καθώς και η παρασκευή λευκού τυριού τύπου Φέτας επεξεργασμένου με ΥΠ. Απώτερος στόχος ήταν η μελέτη κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης της επίδρασης της τεχνολογίας αυτής, στα φυσικοχημικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των λευκών τυριών καθώς και η επίδρασή της σε παράγοντες ωρίμανσής τους. Επιπλέον πραγματοποιήθηκε σύγκριση όλων των μελετηθέντων παραγόντων μεταξύ όλων των δειγμάτων καθώς και σύγκριση με ανεπεξέργαστα δείγματα Φέτας (Control).

Κατά το πρώτο στάδιο πραγματοποιήθηκε προετοιμασία των καλλιιεργειών-εκκινητών για προσθήκη τους κατά την τυροκόμηση. Οι καλλιέργειες αποτελούνταν από τα εξής οξυγαλακτικά βακτήρια : 1) *Lactobacillus delbrueckii ssp.bulgaricus* ACA-DC 0105, 2) *Streptococcus thermophilus* ACA-DC 0022, 3) *Lactococcus lactis* ACA-DC 0049.

Τα στάδια προετοιμασίας συνοψίζονται ως εξής :

- A. Πραγματοποίηση τριών ανακαλλιιεργειών για ανάπτυξη των μικροοργανισμών.
- B. Κατάλληλες ποσότητες των τριών βακτηρίων επεξεργάστηκαν με ΥΠ.

Κατά το δεύτερο στάδιο πραγματοποιήθηκε τυροκόμηση των 4 παρακάτω δειγμάτων και στην κατάλληλη τιμή pH, συσκευασία των δειγμάτων.

1. Το δείγμα **Control** (αναφοράς) παρασκευάστηκε με την κλασική μέθοδο παραγωγής της Φέτας. Στο τέλος της φάσης προωρίμανσης, το τυρί τεμαχίστηκε και οι Φέτες συσκευάστηκαν σε κατάλληλους περιέκτες οι οποίοι τοποθετήθηκαν σε θαλάμους συντήρησης στους 4°C για την ωρίμανση του τυριού.
2. Η μέθοδος παρασκευής που ακολουθήθηκε για την παρασκευή του δείγματος **HPC** ήταν ίδια με εκείνη του Control. Ωστόσο πριν την τελική συσκευασία τα τεμαχισμένα κομμάτια λευκού τυριού τύπου Φέτας συσκευάστηκαν σε κατάλληλα σακουλάκια από πολυστρωματικό υλικό και επεξεργάστηκαν με ΥΠ (200 MPa, 20°C για t=20 min). Μετά την επεξεργασία ακολούθησε η τελική συσκευασία και τοποθέτησή τους σε θαλάμους συντήρησης στους 4°C για την ωρίμανση του τυριού.
3. Το δείγμα **HPA** παρασκευάστηκε με προσθήκη καλλιέργειας-εκκινητή μέρος της οποίας ήταν επεξεργασμένο με ΥΠ. Στη συνέχεια τεμαχίστηκε, τοποθετήθηκε στους περιέκτες και οδηγήθηκε και αυτό στους 4°C για ωρίμανση.
4. Στο δείγμα **HPB** η τυροκόμηση πραγματοποιήθηκε με προσθήκη καλλιέργειας-εκκινητή η οποία ήταν ολόκληρη επεξεργασμένη με υπερυψηλή πίεση. Τέλος, το τυρί τεμαχίστηκε και οδηγήθηκε στο ψυγείο.



Το τρίτο μέρος του πειράματος περιελάμβανε την πραγματοποίηση μικροβιολογικών, φυσικοχημικών, οργανοληπτικών αναλύσεων καθώς και μελέτη δεικτών ωρίμανσης (για τον έλεγχο της πρωτεόλυσης) στα δείγματα του λευκού τυριού τύπου Φέτας.

Αναλυτικότερα οι παράμετροι που αναλύθηκαν περιγράφονται στο υποκεφάλαιο 4.4:

**Μικροβιολογικές Αναλύσεις των δειγμάτων (Υποκεφάλαιο 4.4.1)**

1. Ολική μικροβιακή χλωρίδα
2. Θερμόφιλοι λακτόκοκκοι
3. Θερμόφιλοι λακτοβάκιλλοι
4. Οξυγαλακτικά βακτήρια που δεν αποτελούν μέρος της προστιθέμενης καλλιέργειας (NSLAB)

**Φυσικοχημικές Αναλύσεις**

1. pH (4.4.2)
2. Ολικά λιπαρά (4.4.3)
3. Υγρασία (4.4.4)
4. Τέφρα (Ανόργανο περιεχόμενο) (4.4.5)
5. Αλατότητα (4.4.6)
6. Ενεργότητα νερού ( $a_w$ ) (4.4.7)
7. Ολικές πρωτεΐνες (4.4.11.3)
8. Ανάλυση υφής (Σκληρότητα, Προσκολλησιμότητα, Ελαστικότητα, Συνεκτικότητα) (4.4.8)
9. Ανάλυση Χρώματος (4.4.9)

**Οργανοληπτική Αξιολόγηση (Υποκεφάλαιο 4.4.10)**

- Ένταση :
  1. Λευκό ομοιογενές
  2. Σκληρότητα
  3. Μικρές χαρακτηριστικές τομές
  4. Ευθρυπτότητα
  5. Αλατότητα
  6. Οξύτητα
  7. Πικρή Γεύση
- Γενική Εντύπωση – Αρέσκεια
  1. Εμφάνιση – Χρώμα
  2. Υφή – Δομή
  3. Γεύση – Οσμή

4. Ευχάριστα Όξινη
5. Γενική Εντύπωση

#### **Δείκτες Ωρίμανσης (Υποκεφάλαια 4.4.11.1, 4.4.11.2)**

1. Ολικό άζωτο (TN%)
2. Ολικό υδατοδιαλυτό άζωτο (SN%)
3. Κλάσμα διαλυτού σε 12% τριχλωροξικού οξέος (TCA-SN%)
4. Κλάσμα διαλυτού σε 5% φωσφοβολφραμικού οξέος (PTA-SN%)

Με χρήση των αποτελεσμάτων κάθε μέτρησης κατασκευάστηκαν πίνακες και διαγράμματα ώστε να καταστεί η σύγκριση των αποτελεσμάτων μεταξύ των δειγμάτων ευκολότερη. Ακόμη πραγματοποιήθηκε στατιστική ανάλυση (ANOVA) των αποτελεσμάτων του οργανοληπτικού ελέγχου για να ελεγχθεί η σημαντικότητα της επίδρασης του χρόνου ωρίμανσης και της μεθόδου επεξεργασίας στα χαρακτηριστικά των δειγμάτων λευκού τυριού Φέτας. Επιπλέον, τα αποτελέσματα υποβλήθηκαν σε ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA) μέσω το προγράμματος Statistica για να διερευνηθεί περαιτέρω η επίδραση των εναλλακτικών τεχνολογιών στα φυσικοχημικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά.

## **4.2 Επεξεργασία με τη μέθοδο της Υπερυψηλής Υδροστατικής Πίεσης**

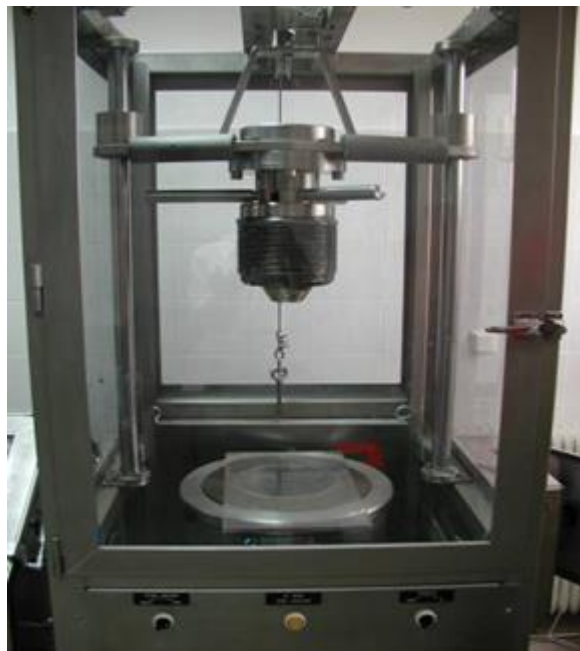
### **4.2.1 Μέθοδος της Υπερυψηλής Υδροστατικής Πίεσης**

- **Μονάδα Υ.Υ.Π** : Το σύστημα επεξεργασίας με υπερυψηλή πίεση περιλαμβάνει το θάλαμο υπερυψηλής πίεσης, ένα σύστημα δημιουργίας της επιθυμητής πίεσης και ένα σύστημα ελέγχου της θερμοκρασίας. Τα σημαντικότερα τεχνικά χαρακτηριστικά της επεξεργασίας είναι ο όγκος του θαλάμου, το θερμοκρασιακό εύρος της διεργασίας, η μέγιστη πίεση που μπορεί να επιτευχθεί και το χρονικό διάστημα που απαιτείται για την ολοκλήρωση ενός κύκλου της διεργασίας. Για την διεκπεραίωση των πειραμάτων χρησιμοποιήθηκε η μονάδα Food Pressure Unit FPU 1.01, της Resato International BV (Roden, Holland) η οποία βρίσκεται στο Εθνικό Ίδρυμα Αγροτικών Ερευνών. Ο εξοπλισμός της περιλαμβάνει :
  1. Μια μονάδα δημιουργίας Υ.Υ.Π, η οποία έχει τη δυνατότητα δημιουργίας πίεσης έως και 1000 MPa και συνδέεται με δύο τύπους θαλάμων υψηλών πιέσεων που λειτουργούν ανεξάρτητα μεταξύ τους.
  2. Από μια συστοιχία 6 μικρών θαλάμων κυλινδρικού σχήματος, χωρητικότητας 42 mL ο καθένας με δυνατότητα ανεξάρτητου χειρισμού, για τη συλλογή κινητικών δεδομένων (Εικόνα 4.1).



**Εικόνα 4.1 : Συστοιχία κυλινδρικών θαλάμων**

3. Ένα θάλαμο όγκου 1,5 L, που δίδει τη δυνατότητα διεξαγωγής πειραμάτων με μεγαλύτερου μεγέθους προϊόντα (Εικόνα 4.2). Τα πειράματα επεξεργασίας των λευκών τυριών Φέτας πραγματοποιηθήκαν στο συγκεκριμένο θάλαμο.



**Εικόνα 4.2 : Μεγάλος θάλαμος**

Η δημιουργία της υπερυψηλής πίεσης βασίζεται στη λειτουργία ενός ενισχυτή πίεσης (pressure intensifier). Μια σχετικά χαμηλή πίεση λαδιού χρησιμοποιείται για τη δημιουργία της επιθυμητής υψηλής πίεσης εξόδου. Αυτό επιτυγχάνεται με τη σύνδεση ενός μικρού εμβόλου με ένα έμβολο λαδιού μεγαλύτερης επιφάνειας. Η πίεση του υγρού μεταφοράς της πίεσης που δρα στη μικρή επιφάνεια αντισταθμίζει την πίεση του λαδιού που δρα στη μεγάλη επιφάνεια. Η πίεση του υγρού μεταφοράς της πίεσης είναι

μεγαλύτερη από την πίεση του λαδιού λόγω της αναλογίας των επιφανειών των εμβόλων του λαδιού και του υγρού. Η ρύθμιση έτσι της πίεσης εξόδου του ενισχυτή πίεσης μπορεί να γίνει ρυθμίζοντας την πίεση εισόδου του λαδιού. Ο ενισχυτής πίεσης της συγκεκριμένης μονάδας είναι διπλής δράσης και λειτουργεί με τη βοήθεια μιας υδραυλικής αντλίας (τροφοδοτούμενης από ηλεκτρικό κινητήρα), η οποία διοχετεύει το απαιτούμενο λάδι στον ενισχυτή ισοσταθμίζοντας την πίεση. Μια μικρότερη αντλία χρησιμοποιείται για την κυκλοφορία του λαδιού μέσω ενός συστήματος ψύξης (για τον έλεγχο της θερμοκρασίας του) και ενός φίλτρου λαδιού χαμηλής πίεσης. Ο ενισχυτής πίεσης διαθέτει βαλβίδες ελέγχου εισόδου και εξόδου λειτουργώντας έτσι ως παλινδρομική αντλία. Όταν το υδραυλικό έμβολο του ενισχυτή φτάσει στο τέλος, ενεργοποιεί έναν ηλεκτρονικό διακόπτη και η ροή του λαδιού αντιστρέφεται, καθώς πλέον το έμβολο κινείται προς την αντίθετη κατεύθυνση. Νερό ή κάποιο άλλο υγρό χαμηλής πίεσης εισέρχεται στον ενισχυτή. Η πίεση του υγρού αυξάνεται σύμφωνα με την παραπάνω αρχή και μεταβιβάζεται προς τους θαλάμους υπερυψηλής πίεσης μέσω της ροής του υγρού σε σωλήνες από ανοξείδωτο χάλυβα. Πνευματικές χειροκίνητες βαλβίδες ρυθμίζουν την εισαγωγή ή όχι του υγρού σε κάθε έναν από τους θαλάμους. Για λόγους ασφαλείας, το σύστημα περιλαμβάνει ειδικούς δακτυλίους, οι οποίοι διαρρηγνύονται σε περίπτωση προβλήματος για την εκτόνωση της υψηλής πίεσης.

Το μέσο πίεσης που χρησιμοποιήθηκε στο πείραμα είναι polyglycol ISO viscosity class VG 15 (Resato International BV, Roden, Holland). Η πολυγλυκόλη προτιμάται ως μέσο μετάδοσης της πίεσης σε σχέση με το νερό, κυρίως για λόγους ασφαλείας, και συγκεκριμένα σε περίπτωση απότομης εκτόνωσης του θαλάμου (απότομη μείωση της πίεσης), το νερό είναι δυνατόν να μετατραπεί σε πάγο με αποτέλεσμα το εκτεταμένης βλάβης στη μονάδα. Αντιθέτως, το σημείο πήξης της πολυγλυκόλης είναι αρκετά μικρότερο από το αντίστοιχο του νερού, αποτελώντας έτσι ασφαλέστερο μέσο. Για την προστασία του τροφίμου που επεξεργάζεται τα δείγματα συσκευάζονται κατάλληλα. Εκτός από την εσωτερική πολυστρωματική συσκευασία γίνεται χρήση και εξωτερικής, όχι μόνο για την αποφυγή μόλυνσης του τροφίμου από τη γλυκόλη, αλλά και το φράξιμο της οπής εισόδου/εξόδου του υγρού μεταφοράς που βρίσκεται στον πυθμένα των δοχείων πίεσης από τα σωματίδια του τροφίμου. Η πίεση του συστήματος καθώς και η πίεση στο εσωτερικό του μεγάλου θαλάμου, ελέγχονται και καταγράφονται μέσω δύο μετατροπέων σήματος (transducers), ενώ εμφανίζονται κατά την διάρκεια λειτουργίας του συστήματος σε PLC οθόνη της μονάδας ΥΥΠ, καθώς και σε ηλεκτρονικό υπολογιστή συνδεδεμένο με την μονάδα μέσω κατάλληλου λογισμικού. Η καταγραφή της θερμοκρασίας στο εσωτερικό καθενός θαλάμου πίεσης του συστήματος γίνεται με τη χρήση θερμοστοιχείων και παρακολουθείται μέσω του ίδιου λογισμικού από την οθόνη του υπολογιστή. Η πίεση λειτουργίας της μονάδας ρυθμίζεται με τη βοήθεια των πλήκτρων του PLC με βήμα αύξησης ή μείωσης 25 MPa. Για την επίτευξη ταχύτερης ανόδου της πίεσης, υπάρχει δυνατότητα άμεσης συμπίεσης στα 250, 500 και 50 MPa. Ο χρόνος επίτευξης της επιθυμητής πίεσης εξαρτάται από το μέγεθος και την ταχύτητα μεταβολής

της πίεσης. Ο ρυθμός αύξησης της πίεσης είναι περίπου 100 MPa ανά 7 s, ενώ ο χρόνος εκτόνωσης της πίεσης είναι μικρότερος από 3 s.

#### **4.2.1.1 Προετοιμασία καλλιέργειας για τυροκόμηση**

##### **Επώαση μικροοργανισμών**

Η καλλιέργεια είναι η ανάπτυξη ενός μικροοργανισμού σε γάλα μέχρι να πήξει. Άρα, διέρχεται από όλες τις φάσεις αναπτύξεως ενός μικροοργανισμού (Εικόνα 2.3) σε ένα υπόστρωμα που του προσφέρεται εξ' ολοκλήρου.

Το γάλα που προορίζεται για καλλιέργεια εμβολιάζεται με τον μικροοργανισμό της καλλιέργειας και μετά από μια περίοδο προσαρμογής, περίπου μισής ώρας, αρχίζει να αναπτύσσεται εκθετικά, δηλαδή να διπλασιάζεται ο πληθυσμός του ανά τακτά χρονικά διαστήματα μέχρι να πήξει το γάλα (εκθετική φάση ή φάση ανάπτυξης). Όσο πιο ευνοϊκές είναι οι συνθήκες (θερμοκρασία) τόσο πιο σύντομος είναι ο χρόνος ανάπτυξής του, μέσα στα πλαίσια ανάπτυξης του μικροοργανισμού. Όταν το γάλα πήξει από τη δημιουργία οξύτητας ενώ η καλλιέργεια δεν πέρασε ακόμη στη φάση στασιμότητας τότε :

- η καλλιέργεια διαθέτει το μέγιστο δυνατό αριθμό βακτηρίων κατά mL
- τα βακτήρια της είναι νεαρά , άρα με μεγάλη ζωτικότητα και
- έχουν μικρό χρόνο προσαρμογής στο τυροκομούμενο γάλα (Ζερφυρίδης, 2001).

Άρα για καλύτερη απόδοση η καλλιέργεια θα πρέπει να βρίσκεται στο τέλος της εκθετικής φάσης.

Στο πείραμα, η ανασύσταση των καλλιεργείων πραγματοποιήθηκε σε ανασυσταμένο γάλα από σκόνη (spray skimmed milk powder), 10% ολικών στερεών, 1,5% σε λιπαρά. Τα στελέχη *Streptococcus thermophilus* και *Lactococcus lactis* αναπτύχθηκαν σε αερόβιες συνθήκες στους 35°C και 30°C αντίστοιχα. Αντίθετα ο *Lactobacillus bulgaricus* αναπτύχθηκε αναερόβια στους 45°C. Η ανάπτυξη των μικροοργανισμών συσχετίστηκε και παρακολουθήθηκε φασματομετρικά μέσω μέτρησης της απορρόφησης στα 600 nm. Οι καλλιέργειες λαμβάνονται από τους επωαστήρες όταν η ανάπτυξη των μικροοργανισμών βρίσκεται στο τέλος της εκθετικής φάσης ( $10^8$  CFU/gr, με αντίστοιχη απορρόφηση  $A_{600nm} = 4.2$ ). Η τελευταία ανακαλλιέργεια (3<sup>η</sup> ανακαλλιέργεια) που πραγματοποιήθηκε, χωρίστηκε στη μη επεξεργασμένη και στην καλλιέργεια προς επεξεργασία με ΥΠ.

##### **Καλλιέργεια-εκκινητών επεξεργασμένη με Υ.Π**

Κατάλληλες ποσότητες των τριών μικροοργανισμών (*Lactococcus lactis*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* και *Streptococcus thermophilus*) τοποθετήθηκαν σε σακουλάκια από πολυστρωματικό υλικό (PE, φύλλο αλουμινίου, PP) και οδηγήθηκαν για επεξεργασία. Τα σακουλάκια πιέστηκαν στο μεγάλο θάλαμο (Εικόνα 4.2). Οι συνθήκες που επιλέχθηκαν ήταν η πίεση 200 MPa, η θερμοκρασία 20°C και χρόνος πίεσης 20 λεπτά. Οι τιμές των τεχνικών αυτών χαρακτηριστικών που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα, βασίστηκαν σε αποτελέσματα πειραμάτων που έχουν διεξαχθεί στο Εργαστήριο

Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων του ΕΜΠ, μέρος των οποίων παρουσιάζεται στη δημοσίευση Katsaros et al., 2009. Οι συγγραφείς μελέτησαν τις συνθήκες επεξεργασίας, υπερευψηλής πίεσης (100-700 MPa) και θερμοκρασίας (20-40°C) για ενεργοποίηση 5 πεπτιδασών (PepN, PepX, PepA, PepY, PepC) ενός εκ των μικροοργανισμών που χρησιμοποιήθηκαν στην καλλιέργεια, του *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* ACA-DC 0105. Τα αποτελέσματά τους, λοιπόν, υπέδειξαν πως οι συνθήκες επεξεργασίας που οδηγούν στη βέλτιστη ενεργοποίηση 4 εκ των 5 πεπτιδασών είναι η πίεση των 200 MPa σε θερμοκρασία 20°C. Ακόμη, υπέδειξαν ότι η εφαρμογή των συνθηκών αυτών για 20 min, αυξάνει την δραστικότητα των ενζύμων αυτών (3-fold increase in activity), γεγονός που ίσως δίδει τη δυνατότητα για καλύτερη και ταχύτερη ωρίμανση του λευκού τυριού Φέτα.

#### **4.2.1.2 Επεξεργασία δειγμάτων HPC με ΥΠ**

Τα δείγματα Φέτας, τοποθετήθηκαν σε πολυστρωματικές συσκευασίες και οδηγήθηκαν για επεξεργασία με ΥΠ. Η επεξεργασία τους πραγματοποιήθηκε στο μεγάλο θάλαμο (Εικόνα 4.2) της μονάδας υπερευψηλής πίεσης. Η επιθυμητή θερμοκρασία στο θάλαμο ρυθμίστηκε με τη βοήθεια κατάλληλου συστήματος θέρμανσης-ψύξης, υδατόλουτρου.

Αρχικά η βαλβίδα εισαγωγής του υγρού πίεσης στο θάλαμο έμεινε ανοιχτή ώστε να μεταφερθεί σε αυτό η επιθυμητή πίεση. Εφόσον ρυθμιστεί και επιτευχθεί η πίεση αυτή, η βαλβίδα έκλεισε, οπότε ο θάλαμος απομονώθηκε και η πίεση διατηρήθηκε σταθερή στο εσωτερικό του, έως ότου ανοιχτεί πάλι η βαλβίδα για να εκτονωθεί. Κατά την άνοδο της πίεσης, παρατηρήθηκε και αύξηση της θερμοκρασίας (αδιαβατική θέρμανση), η οποία εξαρτάται από το ρυθμό αύξησης της πίεσης, καθώς και από την τελική της πίεσης.

Η θερμοκρασία ύστερα από μικρό σχετικά διάστημα ισορρόπησε στην αρχική της τιμή. Στη χρονική αυτή στιγμή εξασφαλίζονται οι ισοθερμοκρασιακές και ισοβαρείς συνθήκες του πειράματος.

Οι συνθήκες που χρησιμοποιήθηκαν κατά την πίεση των δειγμάτων λευκού τυριού τύπου Φέτας (HPC), ήταν ίδιες με εκείνες που χρησιμοποιήθηκαν και στην επεξεργασία των καλλιεργειών, δηλαδή για  $t = 20$  min, στους 20°C και σε πίεση 200 MPa.

### 4.3 Παρασκευή Δειγμάτων Λευκού Τυριού τύπου Φέτας (Τυροκόμηση)

**1<sup>η</sup> Τυροκόμηση : Δείγματα Control (Δείγμα αναφοράς για τη φέτα) – HPC (Τυρί επεξεργασμένο με Υδροστατική Υπερψηλή Πίεση)**

#### **Διαδικασία :**

Υλικά τυροκόμησης :

1. Παστεριωμένο πρόβειο γάλα
2. Καλλιέργεια των μικροοργανισμών: Η καλλιέργεια – εκκίνησης που προστέθηκε (2%v/v) περιείχε **50% *Lactococcus lactis* ACA-DC 0049 και 50% *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* ACA-DC 0105 / *Streptococcus thermophilus* ACA-DC 0022 1:1.**
3. Πυτιά εμπορίου : Πυτιά HALA 1125, προέλευση Chr. Hansen, Naturen Extra 1125 NB.
4. CaCl<sub>2</sub> 10% w/v

#### **Χαρακτηριστικά του γάλακτος τυροκόμησης**

- Λίπος : 5,80%
- Πρωτεΐνη : 5,40%
- Λακτόζη : 5,47%
- ΣΥΑΛ : 11,68%
- Στερεό Υπόλειμμα : 17,52%

#### **Πρώτη μέρα :**

Παρελήφθησαν 50 kg πρόβειου γάλακτος με αρχικό pH 6,6 και οδηγήθηκαν για παστερίωση στους 68°C για δέκα λεπτά υπό ανάδευση. Μόλις η θερμοκρασία του παστεριωμένου γάλακτος έφτασε στους 36°C προστέθηκε καλλιέργεια 2% v/v στο σύνολο. Ακολούθησε ανάδευση και παραμονή για δέκα λεπτά. Στη συνέχεια προστέθηκε χλωριούχο ασβέστιο (CaCl<sub>2</sub>) 10% w/v. Η προσθήκη πραγματοποιήθηκε υπό συνεχή ανάδευση. Ακολούθησε προσθήκη πυτιάς. Η πυτιά προστέθηκε, αφού πρώτα είχε διαλυθεί σε 50 ml αποστειρωμένου νερού. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε ανάδευση για λίγα λεπτά και παρέμεινε σε ηρεμία. Μετά από έξι λεπτά πραγματοποιήθηκε έλεγχος με ειδική σπάτουλα της πηκτικότητας. Στο σημείο αυτό πρέπει να τονιστεί ότι η διάρκεια δράσης της πυτιάς εξαρτάται μεταξύ των άλλων και από την 'ηλικία της', καθώς όσο παλαιώνει απορροφά υγρασία με αποτέλεσμα η συγκέντρωση του ενζύμου να μειώνεται όπως και η δραστηριότητά του. Με το πέρασμα των σαράντα λεπτών από την προσθήκη της πυτιάς, και αφού είχε προηγηθεί ο έλεγχος πήξης στα πρώτα 6-10 λεπτά ο οποίος ήταν θετικός (σχηματισμός των κατάλληλων 'νιφάδων' πρώτου πήγματος στην ειδική

σπάτουλα) (Εικόνα 4.3), το τυρόπηγμα διαιρέθηκε με ειδικούς τυροκόπτες. Αφέθηκε ξανά σε ηρεμία για 10 λεπτά ώστε να αποβληθεί ορός από το τυρόπηγμα. Για να επιτευχθεί μεγαλύτερη αποβολή ορού πραγματοποιήθηκε ήπια ανάδευση. Ακολούθησε εξαγωγή του τυροπήγματος σε προζυγισμένα καλούπια και αναστροφή των καλουπιών σε τακτά χρονικά διαστήματα. Όταν ο κατάλληλος ορός είχε αποβληθεί, η σχηματισμένη τυρομάζα μεταφέρθηκε σε θάλαμο σταθερής θερμοκρασίας (17-18°C).

Η διαδικασία τυροκόμησης ήταν η ίδια και για τα άλλα τρία δείγματα ΗΡΑ, ΗΡΒ, ΗΡC, με τη μόνη διαφορά στην αναλογία και στο είδος της καλλιέργειας στα δύο πρώτα δείγματα.



**Εικόνα 4.3** Στάδια σχηματισμού τυροπήγματος

#### **Δεύτερη μέρα :**

Την επόμενη μέρα, πραγματοποιήθηκε εξαγωγή του τυριού από τα καλούπια και κόψιμο αυτού στο κατάλληλο μέγεθος. Στη συνέχεια, έλαβε χώρα ξηρό αλάτισμα του τυριού με 2,5% χονδρόκοκκο αλάτι. Ο υπολογισμός της κατάλληλης ποσότητας αλατιού έγινε αφού ζυγιστούν τα καλούπια με το τυρί και αφαιρεθεί το βάρος των κενών καλουπιών, το οποίο μετρήθηκε αρχικά. Το τυρί τοποθετήθηκε σε δοχεία προωρίμανσης και μετρήθηκε ξανά το pH του τυριού. Τέλος τα δοχεία αυτά τοποθετήθηκαν σε θάλαμο 17-18°C μέχρι το pH του τυριού να φτάσει στο 4,6.



Όταν το pH έφτασε στην τιμή 4,6 (μέσος ενδεδειγμένος χρόνος 6-10 μέρες) το τυρί τεμαχίστηκε και τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε ψυγείο στους 4°C για ωρίμανση και σε καθορισμένους χρόνος λαμβάνονταν δείγματα προς ανάλυση.

### **Ημέρα συσκευασίας για τα δείγματα Control**

Ακριβώς πριν τη συσκευασία τους, τα κομμάτια της Φέτας κόπηκαν σε διαστάσεις 10 x 5-5.5 x 7.5 cm. Στη συνέχεια τοποθετήθηκαν από 2 κομμάτια τυριού Φέτας στους τελικούς περιέκτες των 400 gr και προστέθηκε άλμη και ορός που είχε αποβληθεί από το ίδιο το τυρί. Η ποσότητα άλμης και ορού είναι τόση ώστε να μην επιτρέπεται η ύπαρξη αέρα μέσα στη συσκευασία.

### **Ημέρα συσκευασίας για τα δείγματα HPC**

Την ημέρα συσκευασίας του, το τυρί HPC πριν την εισαγωγή του στην τελική συσκευασία, συσκευάστηκε σε σακουλάκια από πολυστρωματικό υλικό και οδηγήθηκε για επεξεργασία με ΥΠ. Πρέπει εδώ να τονιστεί ότι στη συσκευασία τοποθετήθηκαν 4 κομμάτια, καθώς τα επεξεργασμένα κομμάτια ήταν στη μισή διάσταση από τα ανεπεξέργαστα ώστε να είναι δυνατή η εισαγωγή τους στη μονάδα επεξεργασίας ΥΠ. Τα δείγματα λευκού τυριού τύπου Φέτας HPC οδηγήθηκαν για επεξεργασία σε πίεση 200 MPa, σε θερμοκρασία 20°C για 20 λεπτά. Η διαδικασία και η μονάδα Υ.Π καταγράφεται σε προηγούμενη ενότητα.

### **2<sup>η</sup> Τυροκόμηση Δειγμάτων HPA (Δείγματα επεξεργασμένης και ανεπεξέργαστης καλλιέργειας)**

Τα βασικά στάδια παρασκευής του λευκού τυριού τύπου Φέτας HPA ήταν παρόμοια με εκείνα των δειγμάτων control. Οι διαφοροποιήσεις καταγράφονται ως εξής :

- i. Η ποσότητα γάλακτος που χρησιμοποιήθηκε ήταν 40 kg.
- ii. Η καλλιέργεια – εκκίνησης που προστέθηκε (2,5% v/v) περιείχε **50% *Lactococcus lactis* ACA-DC 0049 και 50% *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* ACA-DC 0105 / *Streptococcus thermophilus* ACA-DC 0022 1:1**. Μέρος της καλλιέργειας αυτής επεξεργάστηκε με ΥΠ (Παρ. 4.2.1.1). Η ποσότητα της επεξεργασμένης με ΥΠ καλλιέργειας υπολογίστηκε αφού λήφθηκε υπ' όψη το ποσοστό μείωσης του γαλακτικού οξέος (lactic acid) που προκαλείται λόγω επεξεργασίας της καλλιέργειας με ΥΠ, ώστε να είναι στα ίδια ποσοστά με τα δείγματα control.
- iii. Οι διαστάσεις των κομματιών στη συσκευασία ήταν οι ίδιες με τα δείγματα control.

### **Χαρακτηριστικά του γάλακτος τυροκόμησης**

- Λίπος : 5,97%
- Πρωτεΐνη : 5,40%
- Λακτόζη : 5,47%
- ΣΥΑΛ : 11,68%
- Στερεό Υπόλειμμα : 17,52%

### **3<sup>η</sup> Τυροκόμηση HPB (Δείγματα με επεξεργασμένη καλλιέργεια)**

Και για τα δείγματα HPB τα βασικά στάδια παραγωγής τους ήταν ίδια με εκείνα των control. Οι βασικές διαφορές ωστόσο, καταγράφονται παρακάτω :

- i. Για την παρασκευή των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκαν 40 kg πρόβειου γάλακτος.
- ii. Λαμβάνοντας υπόψη το ποσοστό μείωσης του γαλακτικού οξέος που προκαλείται λόγω της επεξεργασίας με ΥΠ της καλλιέργειας και για είναι στα ίδια ποσοστά με τα δείγματα Control η καλλιέργεια – εκκίνησης προστέθηκε σε ποσοστό 3% v/v και περιείχε **50% *Lactococcus lactis* ACA-DC 0049** και **50% *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* ACA-DC 0105 / *Streptococcus thermophilus* ACA-DC 0022 1:1**.
- iii. Οι διαστάσεις των κομματιών στη συσκευασία ήταν οι ίδιες με τα δείγματα Control.

### **Χαρακτηριστικά του γάλακτος τυροκόμησης**

- Λίπος : 5,97%
- Πρωτεΐνη : 5,40%
- Λακτόζη : 5,47%
- ΣΥΑΛ : 11,68%
- Στερεό Υπόλειμμα : 17,52%

### **Σημαντικές Παρατηρήσεις κατά την παρασκευή των δειγμάτων control, HPC, HPA, HPB.**

1. Οπτική παρατήρηση : Κατά την τυροκόμηση των δειγμάτων HPA παρατηρήθηκε μικρότερη αποβολή ορού συγκριτικά με τα δείγματα Control (Εικόνα 4.4) ενώ κατά την τυροκόμηση των δειγμάτων HPB (Εικόνα 4.4) παρατηρήθηκε ακόμη μικρότερη αποβολή ορού συγκριτικά με τα δείγματα Control και HPA καθώς και πιο ενιαία μάζα τυροπήγματος.
2. Την ημέρα της συσκευασίας των δειγμάτων παρατηρήθηκε πως τα τυριά HPA και HPB είχαν αποβάλει περισσότερο ορό συγκριτικά με τα άλλα δύο δείγματα, αποκτώντας καλύτερη και πιο συνεκτική δομή.



**Εικόνα 4.4 Δείγματα Control (επάνω μέρος), HPB (κάτω μέρος)**

#### **4.4 Αναλύσεις δειγμάτων**

##### **4.4.1 Μικροβιολογικός Έλεγχος**

Τα μικρόβια που προκαλούν τις αλλοιώσεις στα τρόφιμα είναι ετερότροφα, τρέφονται δηλαδή με 'έτοιμη' τροφή. Πρέπει, επομένως, να βρουν τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά τα οποία τους είναι απαραίτητα για την ανάπτυξή τους και τα οποία δεν μπορούν να συνθέσουν μόνα τους. Τα τρόφιμα είναι πλούσια σε τέτοια θρεπτικά συστατικά και για το λόγο αυτό μπορούν να υποστηρίξουν την ανάπτυξη πολλών ειδών μικροβίων. Έτσι, και οι εργαστηριακοί έλεγχοι χρησιμοποιούν υποστρώματα που υποστηρίζουν την ανάπτυξη των υπό εξέταση μικροβίων, ώστε να καθίσταται δυνατή η καταμέτρηση και ο προσδιορισμός τους. Για τον προσδιορισμό του μικροβιακού φορτίου εφαρμόστηκε η μέθοδος της επιφανειακής ανάπτυξης σε τρυβλία. Η μέθοδος αυτή στηρίζεται στην παραδοχή ότι από ένα μικροβιακό κύτταρο αναπτύσσεται μία και μόνο αποικία, και συνεπώς η μέτρηση των αποικιών δίνει τον αριθμό των μικροοργανισμών από τους οποίους προέρχονται.

Για τον έλεγχο των αερόβιων μη παθογόνων μικροοργανισμών χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω υλικά :

- A. PCA (Plate Count Agar, Merk, Darmstadt, Germany): Αυτό το μη επιλεκτικό υπόστρωμα χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό της ολικής μικροβιακής χλωρίδας (total viable count) και στα τέσσερα δείγματα τυριών. Χρησιμοποιήθηκε η τεχνική επιφανειακής ανάπτυξης σε διπλά τρυβλία (spread plate count), τα οποία επώαστηκαν στους 30°C για 72 ώρες.
- B. M17-Broth (1.15029, Merck, Germany) : Χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό των αερόβιων θερμοφίλων λακτόκοκκων με την τεχνική επιφανειακής ανάπτυξης σε διπλά τρυβλία (spread plate count), τα οποία επώαστηκαν στους 30°C για 72 ώρες.

Τα παραπάνω υποστρώματα χρησιμοποιούνται για αερόβιους μικροοργανισμούς. Η τεχνική επιφανειακής ανάπτυξης σε τρυβλία περιλαμβάνει τα εξής βήματα :

1. Χρήση αποστειρωμένου τρυβλίου Petri, στο οποίο προστίθεται αποστειρωμένο άγαρ. Στερεοποίηση του άγαρ ώστε κατά το άπλωμα του δείγματος να μην συνενωθούν οι μικροοργανισμοί.
2. Ύστερα, προστίθενται 100 μL των κατάλληλων αραιώσεων με πιπέτα των 100 μL στα τρυβλία Petri και απλώνονται με στυλιό στην επιφάνεια του στερεοποιημένου άγαρ (100 μL).
3. Επώαση των τρυβλίων στην κατάλληλη θερμοκρασία για συγκεκριμένο χρόνο.
4. Καταμέτρηση των αποικιών με το πέρας του χρόνου επώασης των τρυβλίων.

Για τους αναερόβιους μικροοργανισμούς χρησιμοποιήθηκαν τα εξής υποστρώματα :

- A. MRS – Broth (de Man-Rogosa and Sharpe's): Είναι επιλεκτικό και χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό των αναερόβιων θερμοφίλων λακτοβακίλλων με την τεχνική της ενσωμάτωσης με διπλό στρώμα. Πραγματοποιήθηκαν διπλές μετρήσεις για κάθε αραιώση. Τα τρυβλία επώαστηκαν στους 30°C για 72 ώρες, σε αναερόβιες συνθήκες.
- B. Rogosa – Agar: Για τον προσδιορισμό των γαλακτικών βακτηρίων που δεν ανήκουν στις εναρκτήριες καλλιέργειες (Non Starter LABs). Για το υλικό αυτό χρησιμοποιήθηκε η τεχνική της ενσωμάτωσης με διπλό στρώμα, , έτσι ώστε να εξασφαλιστούν αναερόβιες συνθήκες. Τα τρυβλία επώαστηκαν στους 30°C για 72 ώρες.

Κατά την τεχνική της ενσωμάτωσης σε διπλό στρώμα, ακολουθήθηκαν τα παρακάτω βήματα :

1. Εισαγωγή των κατάλληλων αραιώσεων σε αποστειρωμένα τρυβλία Petri (1 mL).
2. Διανομή του υποστρώματος στα τρυβλία και ανακίνηση για ενσωμάτωση και άπλωμα των μικροοργανισμών στο υπόστρωμα.

3. Στερεοποίηση του συστήματος στο τρυβλίο και προσθήκη δεύτερης στρώσης υποστρώματος. Η προσθήκη της δεύτερης στρώσης εξασφαλίζει την ύπαρξη αναερόβιων συνθηκών για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών.
4. Επώαση των τρυβλίων στην κατάλληλη θερμοκρασία για συγκεκριμένο χρόνο
5. Καταμέτρηση των αποικιών με το πέρας του χρόνου.

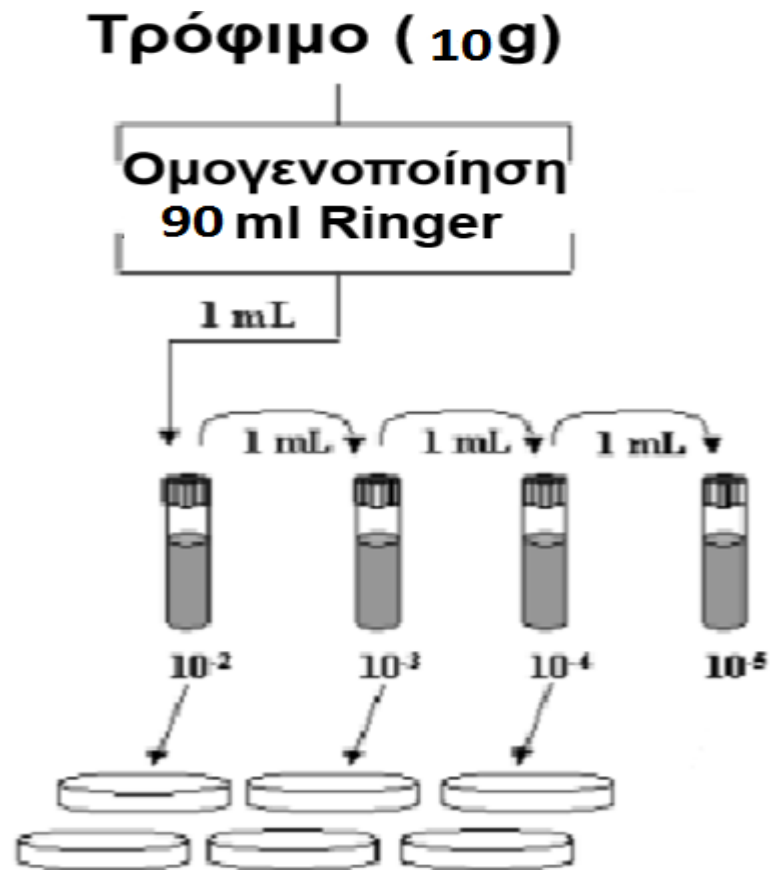
**Προετοιμασία των αραιώσεων (Εικόνα 4.5)**

1. Εισαγωγή 9 mL Ringer (Ringer Tablets, Merck, Darmstadt, Germany) σε κατάλληλο αριθμό δοκιμαστικών σωλήνων των 10 mL.
2. Τοποθέτηση 10 gr τυριού σε αποστειρωμένη πλαστική σακούλα .
3. Προσθήκη 90 mL Ringer στη σακούλα και εισαγωγή τους σε συσκευή Stomacher (MagMixer, interscience, France) για την πλήρη ομογενοποίησή τους.
4. Με πιπέτα των 1000 mL, 1 mL από το ομογενοποιημένο διάλυμα εισάγεται στο πρώτο φυαλίδιο και ανακινείται καλάς.
5. 1 mL από το πρώτο φυαλίδιο εισάγεται στο δεύτερο, ανακινείται και η διαδικασία αυτή συνεχίζεται μέχρι την τελική αραιώση. Κάθε αραιώση αποτελεί υποδεκαπλάσια της προηγούμενης.

Η καταμέτρηση των τρυβλίων πραγματοποιήθηκε σε κατάλληλες 2 αραιώσεις, ώστε να εξασφαλιστεί η επαναληψιμότητα των μετρήσεων. Λαμβάνοντας υπόψη την αραιώση του δείγματος, υπολογίστηκε ο αριθμός των μικροοργανισμών που περιέχει 1 gr δείγματος και μεταφράστηκε σε log CFU/gr.

**Υλικά και εξοπλισμός μεθόδου :**

- A. Πιπέτες των 1000 mL και 100 μL
- B. Τρυβλία Petri
- C. Stomacher (Mag Mixer interscience)
- D. Φυαλίδια των 10 mL
- E. Αποστειρωμένος απαγωγός
- F. Αποστειρωτήρας
- G. Στιλαιό
- H. Ζυγός
- I. Επωαστήρας



**Εικόνα 4.5 Μέθοδος Δεκαδικών Αραιώσεων**

#### 4.4.2 Μέτρηση pH

Το pH όλων των δειγμάτων μετρήθηκε στους καθορισμένους χρόνους με pH-μετρο (pH-meter 338, AMEL Instruments, Milan, Italy). Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν σε κομμάτια τυριού, αφού πρώτα έφταναν σε θερμοκρασία δωματίου. Πραγματοποιούνται διπλές μετρήσεις στα δείγματα.

#### 4.4.3 Έλεγχος Ολικών Λιπαρών - Λιποπεριεκτικότητας τυριού

Το λίπος είναι ένα συστατικό του τυριού, στο οποίο δίνεται μεγάλη σημασία και πολλές φορές συνδέεται με τη ποιότητα του. Στην κατανάλωση η διαφοροποίηση του τυριού γίνεται πολλές φορές με βάση την περιεκτικότητά του σε λίπος.

Για τον προσδιορισμό των λιπαρών χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος Smedes (Smedes, 1999).

Η μέθοδος προσδιορισμού του λίπους περιλαμβάνει τα παρακάτω βήματα :

1. Αντιπροσωπευτική ποσότητα τυριού (1 gr) τοποθετείται σε κωνική φιάλη των 100 mL.
2. Στην κωνική φιάλη προστίθεται επιπλέον 20 mL ισοπροπανόλης ( 2PrOH ) και 10 mL κυκλοεξάνιο υπό ανάδευση.

3. Ακολουθεί προσθήκη 10 mL κυκλοεξανίου υπό συνεχή ανάδευση. Η προσθήκη του κυκλοεξανίου πραγματοποιείται για την παραλαβή του λιπαρού.
4. Προσθήκη 18 mL απιονισμένου νερού (  $\text{dH}_2\text{O}$  ) και συνεχίζεται η ανάδευση. Το νερό βοηθάει στη δημιουργία των δύο φάσεων, ώστε να είναι δυνατός ο διαχωρισμός της λιπαρής από την υδατική φάση.
5. Στη συνέχεια το διάλυμα οδηγείται προς φυγοκέντρηση για 10 λεπτά στις 10000 rpm.
6. Πραγματοποιείται διαχωρισμός της πάνω φάσης ενώ η κάτω φάση επαναδιαλύεται με 20 mL ισοπροπανόλης 10% v/v σε κυκλοεξάνιο.
7. Ακολουθεί φυγοκέντρηση για 10 λεπτά στις 10000 rpm.
8. Λαμβάνεται ξανά η φάση του κυκλοεξανίου (πάνω φάση).
9. Τα κυκλοεξανικά κλάσματα τοποθετούνται σε σφαιρική φιάλη και οδηγούνται προς εξάτμιση σε περιστροφικό εξατμιστήρα. Εδώ πρέπει να τονιστεί ότι η φιάλη, στην οποία τοποθετείται το μίγμα για την εξάτμιση είναι προζυγισμένη, ώστε να τα λιπαρά που μένουν τελικά στη φιάλη να μπορούν να προσδιοριστούν.

#### Υπολογισμοί – Τύποι

$$\% \text{fat content} = \frac{W_f - W_{\text{after}}}{W_{\text{sample}}} * 100, \text{ (Σχέση 4.1)}$$

Όπου  $W_f$  = βάρος κενής φιάλης

$W_{\text{after}}$  = βάρος φιάλης και απομένουτος λιπαρού σε αυτή

$W_{\text{sample}}$  = βάρος δείγματος

#### **4.4.4 Μέτρηση Υγρασίας τυριού**

Πολλές είναι εκείνες οι μέθοδοι με τις οποίες μπορεί να πραγματοποιηθεί ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός της περιεχόμενης υγρασίας, όπως για παράδειγμα ηλεκτρικές μέθοδοι, οι οποίες βασίζονται κυρίως στη μέτρηση της διηλεκτρικής σταθεράς ή της αγωγιμότητας του δείγματος οι τιμές των οποίων εξαρτώνται σημαντικά από την περιεχόμενη υγρασία. Χαρακτηριστικές τεχνικές προσδιορισμού της υγρασίας είναι και η υπέρυθη φασματομετρία (IR), πυρηνικός μαγνητικός συντονισμός (NMR), φασματομετρία μάζας (MS) και θερμοσταθμική ανάλυση.

Για τον προσδιορισμό της περιεχόμενης υγρασίας στο τυρί που αποτελεί στερεό δείγμα η πιο συνηθισμένες και απλές είναι οι μέθοδοι ξήρανσης. Αυτές στηρίζονται στην εύρεση της επί τοις % απώλειας του βάρους του τροφίμου με την ξήρασή του, βάσει της παραδοχής ότι όλη η απώλεια του βάρους οφείλεται στην απομάκρυνση της υγρασίας του. Η έκφραση του αποτελέσματος στην προκειμένη περίπτωση γίνεται επί ξηρής μάζας του δείγματος.

Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε μπορεί να συνοψιστεί στα επόμενα βήματα :

1. Πολτοποίηση των δειγμάτων λευκού τυριού τύπου Φέτας.
2. 10 gr του κάθε πολτοποιημένου δείγματος απλώνονται με τη βοήθεια γυάλινης ράβδου σε προζυγισμένη ύαλο ωρολογίου. Το δείγμα απλώνεται έτσι ώστε να είναι όσο το δυνατόν μεγαλύτερη η επιφάνεια του πάνω στην ύαλο, προκειμένου να διευκολύνεται η εξάτμιση του νερού. Οι ζυγίσεις πραγματοποιούνται σε αναλυτικό ζυγό με ακρίβεια 0,001 g.
3. Το δείγμα παραμένει για ξήρανση σε κλίβανο (WTB BINDER 7200, Type E, Tuttlingen, Germany) στους 105-110°C μέχρι να σταθεροποιηθεί το βάρος του, 48 hr.
4. Τοποθέτηση του σε ξηραντήρα έως ότου να φτάσει στην θερμοκρασία περιβάλλοντος.
5. Ζύγιση της ύαλου σε αναλυτικό ζυγό.
6. Υπολογισμός υγρασίας.

#### Υπολογισμοί – Τύποι

Ο υπολογισμός της υγρασίας εκφράζεται μέσω του τύπου :

$$\% \text{Υγρασία} = \frac{\text{Βάρος (Υάλου+Δείγματος)} - \text{Βάρος Μετά}}{\text{Βάρος Δείγματος}} \times 100 \text{ (Σχέση 4.2)}$$

#### **4.4.5 Μέτρηση Τέφρας (ανόργανα συστατικά)**

Η τέφρα είναι το υπόλειμμα του τυριού που παραμένει μετά την καύση τους στους 600°C, και προσεγγίζει το ανόργανο περιεχόμενο. Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό της περιλαμβάνει την τοποθέτηση 3 gr δείγματος τυριού σε προζυγισμένη με αναλυτικό ζυγό κάψα. Το δείγμα απλώθηκε όσο το δυνατόν καλύτερα με γυάλινη ράβδο. Η κάψα τοποθετήθηκε σε κλίβανο τέφρας (Gallenkamp Muffle Furnace, size1) στους περίπου 550-600°C για 6 hr. Στη συνέχεια τοποθετήθηκε σε ξηραντήρα έως ότου η θερμοκρασία του φτάσει σε αυτή του περιβάλλοντος και λήφθηκε μέτρηση βάρους σε αναλυτικό ζυγό τριών δεκαδικών ψηφίων. Η περιεκτικότητα σε ανόργανα συστατικά εκφράστηκε σε % ποσοστό ανά βάρος του δείγματος.

#### Υπολογισμοί – Τύποι

$$\text{Τέφρα} = \frac{(\text{Βάρος κάψας+δείγματος μετά την έψηση}) - (\text{Βάρος κενής κάψας})}{\text{Βάρος δείγματος}} * 100 \text{ (Σχέση 4.3)}$$



#### 4.4.6 Μέτρηση Αλατότητας

Η μέτρηση αλατότητας, δηλαδή του ποσοστού άλατος, στα δείγματα τυριού προσδιορίστηκε σύμφωνα με τη μέθοδο Mohr, με τιτλοδότηση με διάλυμα νιτρικού αργύρου (James, 1995).

Παρασκευή διαλυμάτων που χρησιμοποιούνται στη μέθοδο :

- A. Χρωμικό κάλιο ( $K_2CrO_4$ ) : Διάλυση 5 g χρωμικού καλίου σε 1000 mL απιονισμένου νερού. Η ουσία αυτή χρησιμοποιήθηκε ως δείκτης κατά την τιτλοδότηση.
- B. Νιτρικός άργυρος 0,1 N ( $AgNO_3$ ) : Διάλυση 16,99 g σε 1000 mL απιονισμένου νερού. Ο νιτρικός άργυρος χρησιμοποιήθηκε ως τιτλοδότης.

Η μέθοδος περιελάμβανε τα εξής στάδια :

1. Μέτρηση 2 g δείγματος.
2. Ανάμιξη του δείγματος με 25 ml απιονισμένου νερού ώστε να αυξηθεί ο όγκος του διαλύματος και να είναι πιο εύκολη η ανάγνωση του τελικού σημείου.
3. Το διάλυμα εισήχθη σε αποστειρωμένη πλαστική σακούλα και οδηγήθηκε προς ομογενοποίηση με τη βοήθεια του οργάνου (Stomacher) Bag Mixer, interscience.
4. Εισαγωγή 2 mL του πλέον ομογενοποιημένου διαλύματος σε κωνική φιάλη.
5. Προσθήκη 2 mL (4-5 σταγόνες) δείκτη  $K_2CrO_4$ .
6. Τιτλοδότηση με διάλυμα νιτρικού αργύρου 0,1 N.
7. Καταγραφή της καταναλωθείσας ποσότητας του τιτλοδότη.
8. Προσδιορισμός του περιεχόμενου NaCl εκφρασμένο σε % ποσοστό επί του βάρους του δείγματος.

#### Υπολογισμοί – Τύποι

$$S = \frac{T * N * 0,05845 * 100}{V} * \frac{25}{W_{\text{δείγματος}}} \quad (\text{Σχέση 4.4})$$

Όπου S : Η αλατότητα του δείγματος

T : Η ποσότητα νιτρικού αργύρου που καταναλώθηκε σε mL

N : Η κανονικότητα του διαλύματος

V : Ο όγκος του δείγματος είναι εκφρασμένος σε mL

0,05845: Συντελεστής μετατροπής σε NaCl που αντιδρά με 1 mL κανονικού νιτρικού αργύρου

100 : Παράγοντας μετατροπής των αποτελεσμάτων σε % κατά βάρος ή όγκο

25 : Η αραίωση του δείγματος σε mL

$W_{\text{δείγματος}}$ : Βάρος δείγματος

#### 4.4.7 Μέτρηση Ενεργότητας Νερού

Το νερό είναι ένα από τα πιο απαραίτητα συστατικά για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Ως ενεργότητα νερού ορίζεται η παράμετρος που εκφράζει την ποσότητα νερού στο τρόφιμο που είναι διαθέσιμη για τις ανάγκες αύξησης των μικροοργανισμών. Η διαθεσιμότητα του νερού για την ανάπτυξη και δράση των μικροοργανισμών εξαρτάται επίσης και από το πόσο ισχυρά αυτό είναι δεσμευμένο. Το νερό που αποτελεί τμήμα των μη υδατικών συστατικών του τροφίμου και το γειτνιάζον νερό δεν είναι διαθέσιμα για τις μικροβιακές δράσεις. Από αυτό το νερό, ελάχιστο είναι διαθέσιμο. Αντιθέτως, το ελεύθερο νερό είναι πλήρως διαθέσιμο. Αυτό σημαίνει ότι η ικανότητα ανάπτυξης των μικροοργανισμών και μέσω αυτής η σταθερότητα των τροφίμων, δεν εξαρτάται από το ολικό ποσό του περιεχόμενου νερού, αλλά από το ελεύθερο ή ελαφρώς δεσμευμένο νερό και γι' αυτό σχετίζεται συνήθως με την ενεργότητα του νερού στο τρόφιμο. Οπότε, καθίσταται αναγκαίος ο προσδιορισμός της, καθώς επηρεάζει τα φυσικοχημικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των τροφίμων, όπως και την ευαισθησία στην αλλοίωσή τους.

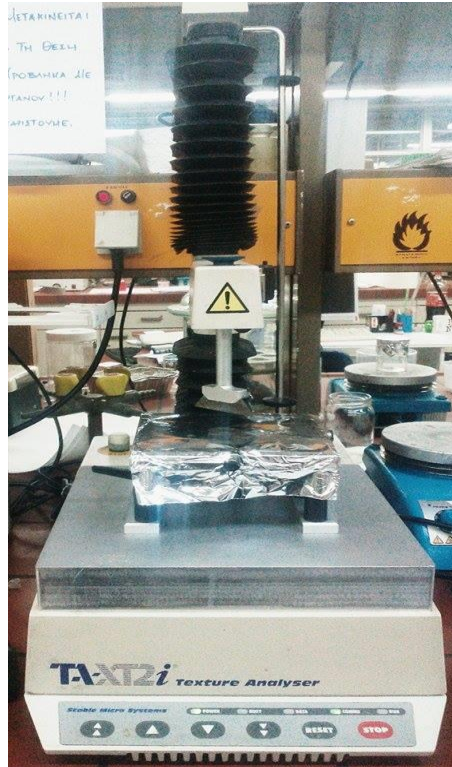
Για τη μέτρηση της ενεργότητας των δειγμάτων φέτας χρησιμοποιήθηκε η συσκευή AQUA LAB 4TEV της Decagon devices.

#### 4.4.8 Ανάλυση Υφής

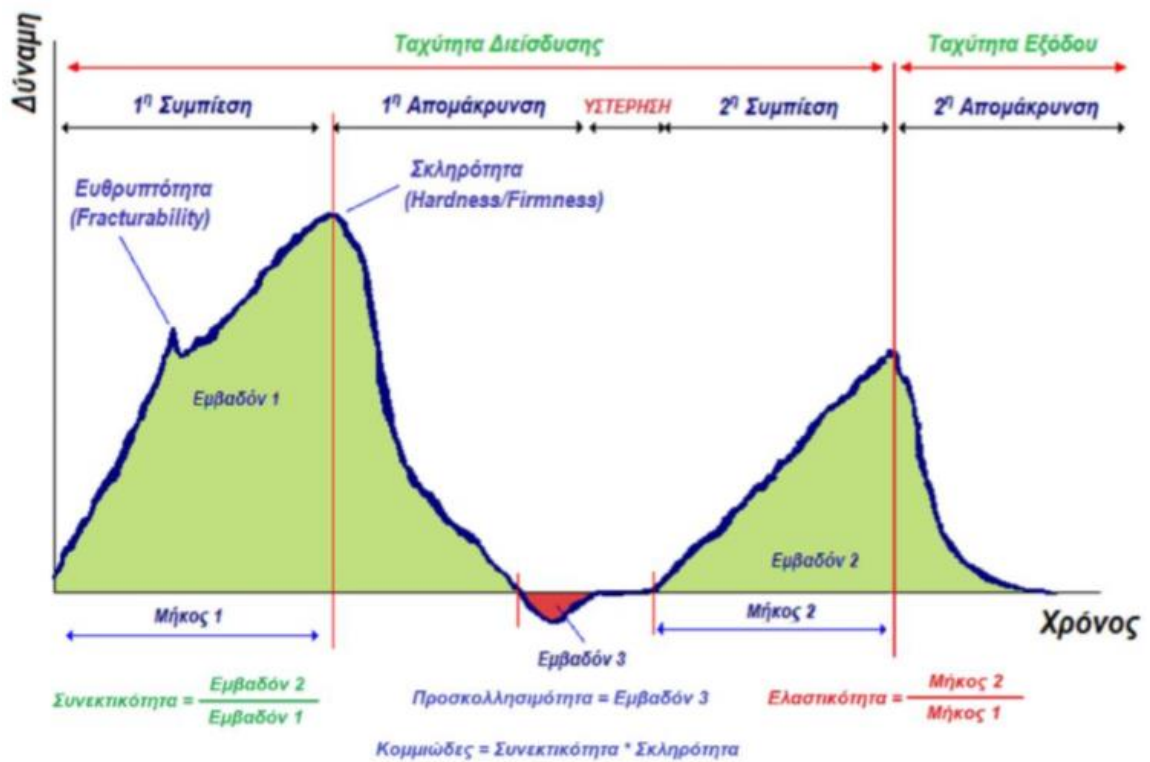
Τα δείγματα υποβλήθηκαν σε ανάλυση υφής με χρήση του αναλυτή υφής TA-XT2i Plus Texture Analyzer (Stable Micro Systems Ltd., UK). Για τη μέτρηση τους χρησιμοποιήθηκε πρόγραμμα διπλής διείσδυσης με χρήση στελέχους λεπίδας. Οι παράμετροι του προγράμματος που χρησιμοποιήθηκαν ήταν οι εξής :

- Ταχύτητα στελέχους πριν τη διείσδυση : 2 mm/sec
- Ταχύτητα στελέχους μετά τη διείσδυση: 2 mm/sec
- Ταχύτητα κατά τη διείσδυση : 1 mm/sec
- Βάθος διείσδυσης : 10 cm
- Δύναμη : 5,0 g

Τα χαρακτηριστικά υφής των δειγμάτων λευκού τυριού τύπου Φέτας που προσδιορίστηκαν με τη βοήθεια κατάλληλου προγράμματος (Texture Exponent 32, Stable Micro Systems Ltd., UK) (Εικόνα 4.6), ήταν η σκληρότητα, η προσκολλησιμότητα, η ελαστικότητα και η συνεκτικότητα. Στην παρακάτω εικόνα παρουσιάζεται μία τυπική καμπύλη διπλής διείσδυσης (Εικόνα 4.7), στην οποία φαίνεται πως υπολογίζονται τα μεγέθη που μας ενδιαφέρουν.



Εικόνα 4.6 Αναλυτής υφής TA-XT2i Plus Texture Analyzer (Stable Micro Systems Ltd., UK)

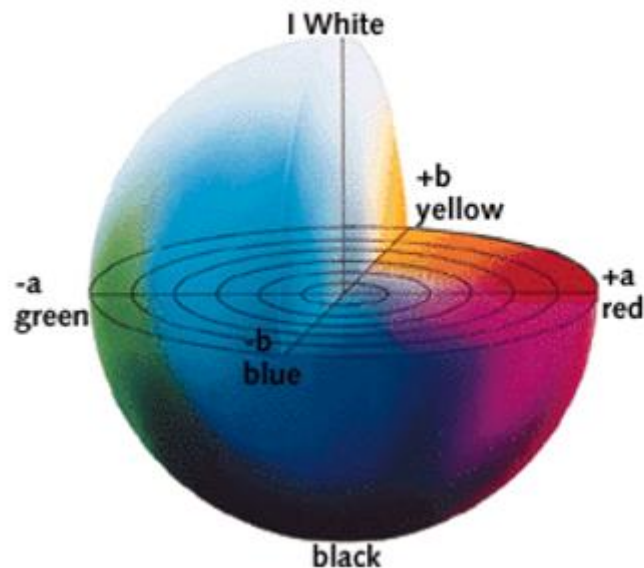


Εικόνα 4.7 Διάγραμμα διπλής διείσδυσης

#### 4.4.9 Ανάλυση Χρώματος

Το χρώμα των δειγμάτων μετρήθηκε με τη βοήθεια του χρωματομέτρου Minolta CR-200 (Minolta Company, Chuo-Ku, Osaka, Japan). Τα αποτελέσματα των μετρήσεων εκφράστηκαν στην κλίμακα CIELAB (Commission International de l'Éclairage) (L, a, b), η οποία εκφράζει τη μαθηματική προσέγγιση της μη γραμμικής απόκρισης του ματιού (CIE, 1978). Το χρωματομέτρο φέρει στο άκρο του σπή 8 mm. Αρχικά, πριν πραγματοποιηθεί η μέτρηση, προηγήθηκε βαθμονόμηση με τη βοήθεια λευκής πλάκας (Calibration plate CR-200, L=97.5, a=-0.31, b=-3.83). Οι μετρήσεις διεξήχθησαν σε αντιπροσωπευτικά σημεία των δειγμάτων λευκού τυριού Φέτας, απουσία των χαρακτηριστικών σχισμών.

Το μέγεθος L εκφράζει τη φωτεινότητα του χρώματος. Μια χαμηλή τιμή (0-50) υποδηλώνει ότι το χρώμα του δείγματος τείνει προς το μαύρο, ενώ μια υψηλή τιμή (51-100) προς το λευκό. Μια θετική τιμή του a υποδεικνύει κόκκινο χρώμα (redness), ενώ μια αρνητική τιμή πράσινο χρώμα (greenness). Αντίστοιχα, μια θετική τιμή για το b υποδεικνύει κίτρινο χρώμα (yellowness), ενώ μια αρνητική τιμή μπλε χρώμα (blueness). Οι δύο τελευταίες παράμετροι είναι οι ορθογώνιες συντεταγμένες του χρώματος (χρωματικότητα) πάνω στο επίπεδο διατομής του χρώματος, κάθετο στον άξονα μαύρου-άσπρου (**Εικόνα 4.8**).



**Εικόνα 4.8** Τρισδιάστατη απεικόνιση της κλίμακας CIELAB

Η ολική μεταβολή του χρώματος συναρτήσει του χρόνου δίδεται από τον τύπο :

$$\Delta E = \sqrt{(L - L_0)^2 + (a - a_0)^2 + (b - b_0)^2} \quad (\text{Σχέση 4.5})$$

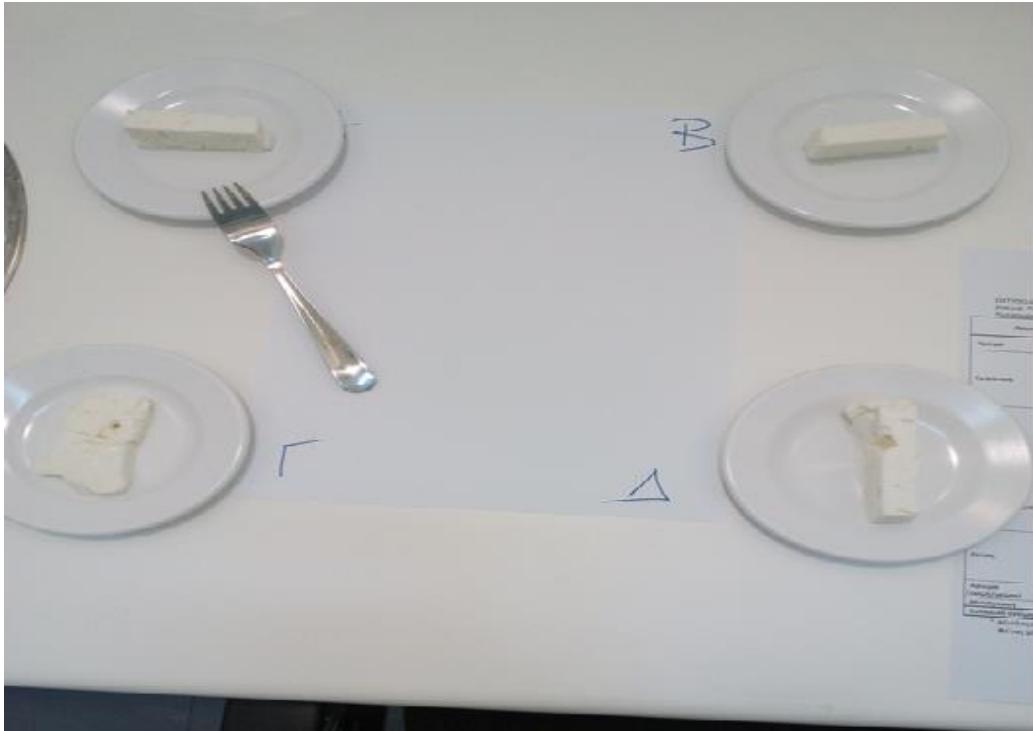
όπου  $L_0$ ,  $a_0$ ,  $b_0$  : οι τιμές των L, a, b τη χρονική στιγμή μηδέν.

#### **4.4.10 Οργανοληπτικός Έλεγχος**

Η οργανοληπτική εξέταση των δειγμάτων είναι απαραίτητη για τη συνολική εκτίμηση της ποιότητάς τους. Τα χαρακτηριστικά που εξετάστηκαν με τη σειρά που γίνονται αντιληπτά : εμφάνιση (χρώμα, σχήμα, μέγεθος, ελαττώματα), υφή με το μαχαίρι, οσμή, γεύση, υφή στο στόμα κατά το δάγκωμα ή το μάσημα (σκληρότητα, ελαστικότητα, λιπαρότητα και άλλα), και άρωμα (flavor-οσμή/γεύση).

Η σημασία του οργανοληπτικού ελέγχου είναι μεγάλη και ουσιαστικά αφορά την αναγνώριση των επιθυμητών για τον καταναλωτή χαρακτηριστικών όπως και των ελαττωμάτων και την περιγραφική απόδοσή τους, την ενσωμάτωση αυτών στο προϊόν και τον έλεγχο του αποτελέσματος. Η επιτυχία του οργανοληπτικού ελέγχου ολοκληρώνεται με τη συσχέτιση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των τροφίμων με τα αντίστοιχα τεχνολογικά χαρακτηριστικά (συστατικά και ποσότητες αυτών, συνθήκες παραγωγής και συντήρησης).

Μια ομάδα εκπαιδευμένων δοκιμαστών, αποτελούμενη από 6 άτομα εξέτασε τα δείγματα για το σκοπό αυτό. Η εξέταση λάμβανε χώρα κάθε φορά που πραγματοποιούνταν και οι υπόλοιπες φυσικοχημικές αναλύσεις. Τα τυριά αξιολογούνταν ως προς τα εξής χαρακτηριστικά : α) Ένταση των χαρακτηριστικών – ένταση χρώματος (λευκό ομοιογενές), σκληρότητα, μικρές χαρακτηριστικές τομές, ευθρυπτότητα, ένταση γεύσης (αλατότητα, οξύτητα, πικρή γεύση)- β) Γενική Εντύπωση/Αρέσκεια - Εμφάνιση/χρώμα, Υφή/δομή, Γεύση/οσμή, Ευχάριστη οξύτητα, Γενική εντύπωση (ολική αποδοχή) με κλίμακα 1-9 βαθμών. Επίσης ζητήθηκε από τους δοκιμαστές να αναφέρουν, οποιοδήποτε χαρακτηριστικό παρατηρήσουν. Οι δοκιμαστές βαθμολογούσαν τα τυριά και διατύπωναν τη γνώμη τους σε ειδικό έντυπο. Τα δείγματα ήταν ισομεγέθη. Κάθε δείγμα τυριού κωδικοποιήθηκε με ένα τυχαίο γράμμα (Εικόνα 4.9).



**Εικόνα 4.9** Οργανοληπτικός έλεγχος δειγμάτων (Α : δείγμα ΗΡΑ, Β : δείγμα ΗΡΒ, Γ : δείγμα ΗΡC, Δ : δείγμα Control)

#### **4.4.11 Προσδιορισμός αζωτούχων ενώσεων και πρωτεϊνών**

Για την έλεγχο ωρίμανσης των δειγμάτων φέτας πραγματοποιήθηκε προσδιορισμός αζωτούχων ενώσεων. Η συσκευή που χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό του αζώτου είναι η Büchi 321 Distillation unit, Flawwil, Switzerland (Εικόνα 4.10).



**Εικόνα 4.10 Συσσκευή Μεθόδου Kjeldahl**

Οι πρωτεΐνες του γάλακτος που μεταφέρονται στο τυρί είναι βασικά οι καζεΐνες και μικρό μόνο μέρος των πρωτεϊνών τυρογάλακτος. Έτσι, κατά τον έλεγχο ωρίμανσης του τυριού, αυτό που προσδιορίζεται ως ολική πρωτεΐνη είναι ουσιαστικά οι καζεΐνες και τα προϊόντα στα οποία διασπώνται κατά τη διάρκεια της πρωτεόλυσης.

Αν το τυρί εκχυλιστεί με νερό, λαμβάνεται το υδατοδιαλυτό άζωτο (WSN ή SN) που είναι το πρωτεϊνικό και μη πρωτεϊνικό υδατοδιαλυτό άζωτο. Αυτό περιλαμβάνει τις πρωτεΐνες τυρογάλακτος, τα χαμηλού μοριακού βάρους προϊόντα διάσπασης της καζεΐνης και ελεύθερα αμινοξέα. Από το υδατοδιαλυτό άζωτο κατακρημνίζονται οι πρωτεΐνες σε τελικό διάλυμα 12% τριχλωροξικού οξέος και κατά τον τρόπο αυτό πραγματοποιείται προσδιορισμός του πρωτεϊνικού κλάσματος του υδατοδιαλυτού αζώτου και το κλάσμα του μη πρωτεϊνικού αζώτου (NPN ή το διαλυτό σε TCA-SN). Οι αζωτούχες βάσεις που μένουν στο διάλυμα του τριχλωροξικού οξέος είναι μικρά πεπτιδία και αμινοξέα. Με τη χρησιμοποίηση 5% φωσφοβολφραμικού οξέος, λαμβάνονται ορισμένα ακόμη μικρότερου μοριακού βάρους πεπτιδία και αμινοξέα, ώστε ο προσδιορισμός αζώτου του διηθήματος να δίδει ουσιαστικά το άζωτο των αμινοξέων.

Οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό των αζωτούχων κλασμάτων όπως το υδατοδιαλυτό άζωτο (SN), το διαλυτό σε 12% τριχλωροξικό οξύ (TCA-SN) και το

διαλυτό σε 5% φωσφοβολφραμικού οξέος (PTA-SN) πραγματοποιήθηκαν όπως περιγράφονται στις δημοσιεύσεις Nega & Moatsou, 2012 και Zoidou et al., 2015.

#### 4.4.11.1 Προσδιορισμός διαλυτού αζώτου (SN, TCA-SN, PTA-SN)

Για τον προσδιορισμό των αζωτούχων ουσιών στο τυρί χρησιμοποιήθηκε η μέθοδο Kjeldahl (AOAC, 1990). Με τη μέθοδο αυτή μπορεί να προσδιοριστεί το ολικό και το υδατοδιαλυτό άζωτο. Η αρχή αυτής της μεθόδου στηρίζεται στην καύση των οργανικών ουσιών του τυριού με τη βοήθεια της θέρμανσης και του θεικού οξέος και στη μετατροπή του αζώτου του γάλακτος σε αμμωνιακό. Έπειτα, η αμμωνία ελευθερώνεται με την επίδραση καυστικού νατρίου, αποστάζεται, παραλαμβάνεται σε βορικό οξύ, τιτλοδοτείται με υδροχλωρικό οξύ και υπολογίζεται το ολικό άζωτο του τυριού.

Η πρωτογενής φάση της πήξης είναι ενζυμική και ολοκληρώνεται μέσα σε λίγα λεπτά. Κατ' αυτή πραγματοποιείται ειδική υδρόλυση της καζεΐνης που μετράται από το μη πρωτεϊνικό άζωτο (NPN) που εκλύεται από την κ-καζεΐνη και είναι διαλυτό σε 12% τριχλωροξικό οξύ (TCA). Η μέτρηση του ρυθμού πρωτεόλυσης μπορεί να γίνει με τη χρήση 12% TCA, οπότε καταπίπτουν όλες οι πρωτεΐνες και παραμένουν σε διάλυση τα πεπτίδια μικρού μοριακού βάρους (Γ Ζερφυρίδης, 2001). Το PTA χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό του αζώτου των αμινοξέων και ορισμένων πολύ μικρών πεπτιδίων.

#### Υπολογισμοί – Τύποι

$$SN\% = 1,4007 * N * \frac{V_s - V_b}{W} \quad (\text{Σχέση 4.6})$$

Όπου :  $V_s$  = κατανάλωση σε mL 0,1N HCl για την τιτλοδότηση του δείγματος

$V_b$  = κατανάλωση σε mL 0,1N HCl για την τιτλοδότηση του τυφλού δείγματος

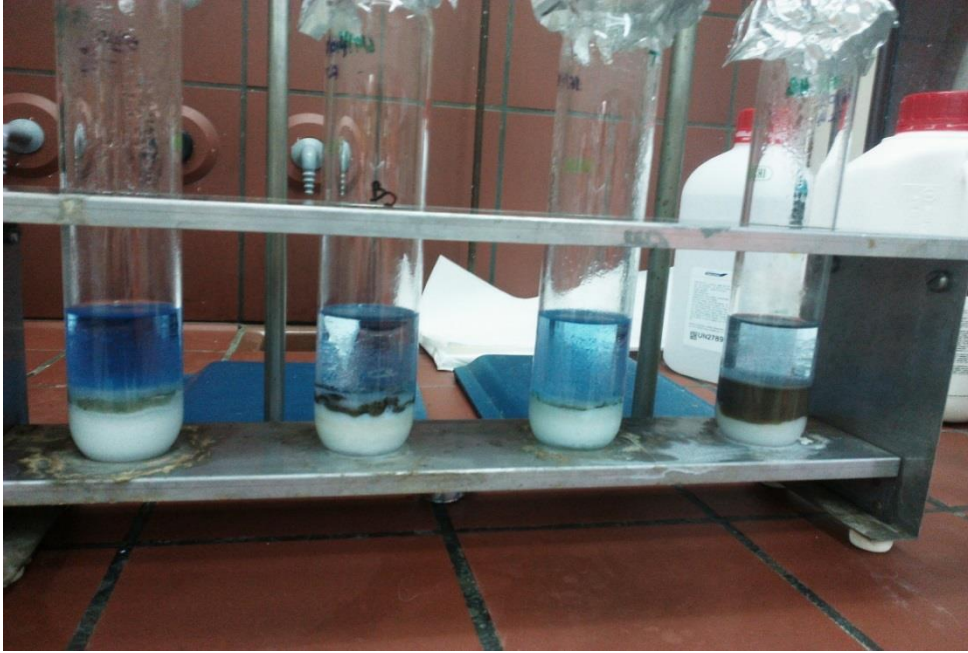
$N$  = η κανονικότητα του διαλύματος HCl που χρησιμοποιήθηκε για την τιτλοδότηση

$W$  = το βάρος του δείγματος

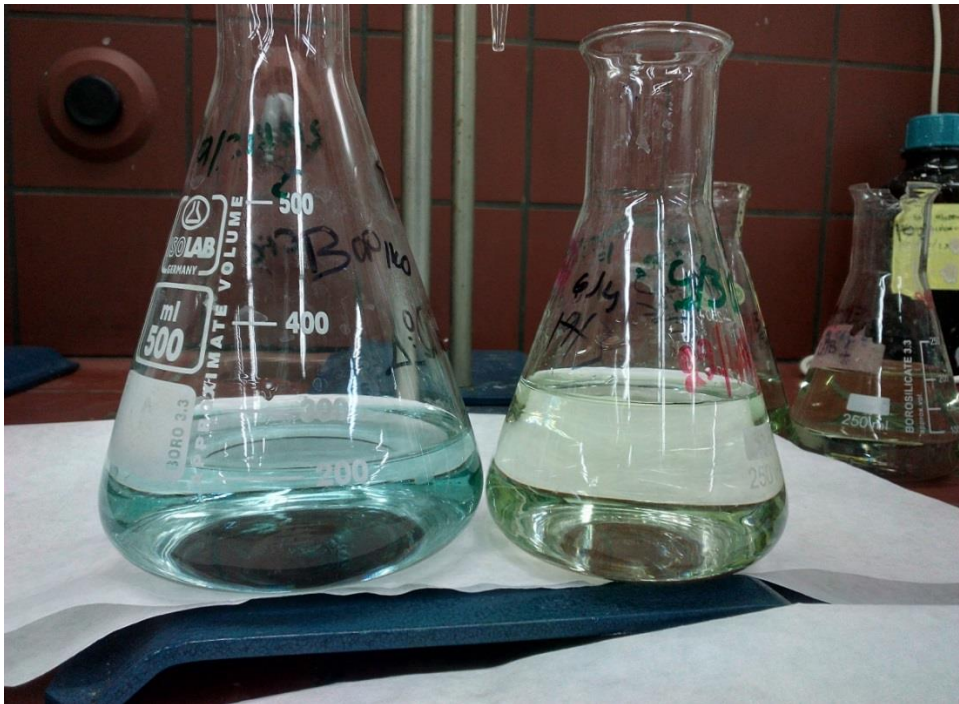
Παρατηρήσεις:

1. Για τα εκχυλίσματα εφαρμόζεται συντελεστής διόρθωσης στον αρχικό τύπο.
2. Για τον προσδιορισμό των TCA-SN και PTA-SN η κανονικότητα του υδροχλωρικού οξέος που χρησιμοποιείται κατά την τιτλοδότηση, κυμαίνεται μεταξύ 0.1-0.02 M ανάλογα με την κατανάλωση.





**Εικόνα 4.11** Μετά την εξουδετέρωση του θειικού οξέος με περίσσεια  $\text{NaOH}$



**Εικόνα 4.12** Δείγμα με δείκτη πριν την τιτλοδότηση (αριστερή κωνική φιάλη) και μετά (δεξιά κωνική φιάλη)

**4.4.11.2 Προσδιορισμός ολικού αζώτου (TN%)**

Το πείραμα για τον προσδιορισμό του ολικού αζώτου στα δείγματα λευκού τυριού τύπου Φέτας πραγματοποιήθηκε στο ίδιο το δείγμα και όχι σε εκχύλισμα του.

**Υπολογισμοί – Τύποι**

$$TN\% = 1,4007 * N * \frac{V_S - V_b}{W} \quad (\text{Σχέση 4.7})$$

Οι συμβολισμοί είναι ίδιοι με εκείνους της Σχέσης 4.6.

Πρέπει να σημειωθεί ότι σε κάθε μία από τις παραπάνω αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν διπλές μετρήσεις για καθένα από τα 4 δείγματα.

**4.4.11.3 Προσδιορισμός ολικών πρωτεϊνών**

Οι ολικές πρωτεΐνες υπολογίζονται με πολλαπλασιασμό του αποτελέσματος του ολικού αζώτου (TN%) με το συντελεστή 6,38.

Η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη εκφράζεται ως ποσοστό % και υπολογίζεται ως εξής:

**Υπολογισμοί – Τύποι**

$$\text{Πρωτεΐνες ολικές \%} = TN\% * 6,38 \quad (\text{Σχέση 4.8})$$

**4.5 Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων**

Προκειμένου να μελετηθεί η σημαντικότητα της επίδρασης των σχεδιαστικών παραμέτρων στα επιμέρους ποιοτικά χαρακτηριστικά των δειγμάτων, τα οργανοληπτικά δεδομένα υποβλήθηκαν σε παραμετρική ανάλυση διακύμανσης δύο παραγόντων χωρίς αλληλεπίδραση (ANOVA). Όλες οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας ως στάθμη σημαντικότητας την τιμή  $\alpha = 0,05$  ( $p\text{-value} = 0,05$ ). Ακόμη για να ελεγχθεί περαιτέρω η επίδραση τόσο του χρόνου ωρίμανσης όσο και των διαφορετικών τεχνολογιών επεξεργασίας στα φυσικοχημικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, καθώς και στην ωρίμανση των δειγμάτων λευκού τυριού τύπου Φέτας, τα αποτελέσματα υποβλήθηκαν σε Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (ΑΚΣ) μέσω του προγράμματος Statistica. Ο μέγιστος αριθμός κύριων συνιστωσών που απαιτείται για την επαρκή εξήγηση της ολικής διακύμανσης καθορίστηκε βάσει του διαγράμματος ιδιοτιμών (Παράρτημα II).

### **ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 4<sup>ΟΥ</sup> ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ**

1. AOAC, Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, Ed. Herlich K., 15th Edition, Association of Official Analytical Chemists Inc., Virginia, USA, 1990.
2. International Commission on Illumination, CIE Colorimetry - Part 4: 1976 L\*a\*b\* Colour Space, [http://cie.co.at/index.php?i\\_ca\\_id=485](http://cie.co.at/index.php?i_ca_id=485) (last accessed: 2015).
3. James C. S., '**Analytical chemistry of foods**', *Glasgow: Blackie Academic & Professional*, pp. 177, 1995.
4. Katsaros G. I., Giannoglou M. N., Taoukis P. S., '**Kinetic Study of the Combined Effect of High Hydrostatic Pressure and Temperature on the Activity of Lactobacillus delbrueckii ssp. Bulgaricus Aminopeptidases**', *Journal of Food Science*, vol. 74, 2009.
5. Maniou D., Tsala A., Moschopoulou E. Giannoglou M., Taoukis P., Moatsou G., '**Effect of high-pressure-treated starter on ripening of Feta cheese**', *Journal of Dairy Science and Technology*, online published on March, 2012.
6. Nega A., Moatsou G., '**Proteolysis and related enzymatic activities in ten Greek cheese varieties**', *Dairy Sci Technol* 92, pp. 57–73, 2012.
7. Smedes F., '**Determination of total lipid using non-chlorinated solvents**', *Analyst*, 124, pp. 1711–1718, 1999.
8. Zoidou Evangelia, Nikolaos Plakas, Dimitra Giannopoulou, Maria Kotoula, Golfo Moatsou, '**Effect of supplementation of brine with calcium on the Feta cheese ripening**', *International Journal of Dairy Technology*, © Society of Dairy Technology, Vol 67, 2015.
9. **Επιστήμη και μηχανική τροφίμων**, Εργαστήριο χημείας και τεχνολογίας τροφίμων, Αθήνα, 2014.
10. Ζερφυρίδης Γ. Κ., '**Τεχνολογία προϊόντων γάλακτος – Τυροκομία**', 2<sup>η</sup> Έκδοση, Εκδόσεις Γιαχουδη, 2001.
11. Τζιά Κωνσταντίνα, '**Σχεδιασμός και Λειτουργία Βιομηχανίας Τροφίμων**', Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, Αθήνα, 2010.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 : ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Προτού πραγματοποιηθεί η παρουσίαση των αποτελεσμάτων πρέπει να τονιστεί ότι σε όλα τα δείγματα ως χρόνος μηδέν θεωρείται η ημέρα κατά την οποία τα δείγματα αποθηκεύτηκαν στο θάλαμο (4°C) για ωρίμανση, εκτός από τα αποτελέσματα που έχουν ληφθεί σχετικά με το pH των δειγμάτων όπου χρόνος μηδέν θεωρείται η ημέρα παρασκευής των δειγμάτων λευκού τυριού τύπου Φέτας.

### Υπενθύμιση εννοιών

Control = Δείγματα Φέτας τα οποία δεν υπέστησαν οποιαδήποτε είδους επεξεργασία.

HPC = Δείγματα λευκού τυριού τύπου Φέτας τα οποία επεξεργάστηκαν με ΥΠ.

HPA = Δείγματα τυριού τύπου Φέτας κατά την τυροκόμηση των οποίων μέρος της καλλιέργειας-εκκίνησης που προστέθηκε ήταν επεξεργασμένο με ΥΠ ενώ το υπόλοιπο δεν έχει υποστεί επεξεργασία.

HPB = Δείγματα τυριού τύπου Φέτας κατά την τυροκόμηση των οποίων η καλλιέργειας-εκκίνησης που προστέθηκε ήταν ολόκληρη επεξεργασμένη με ΥΠ.

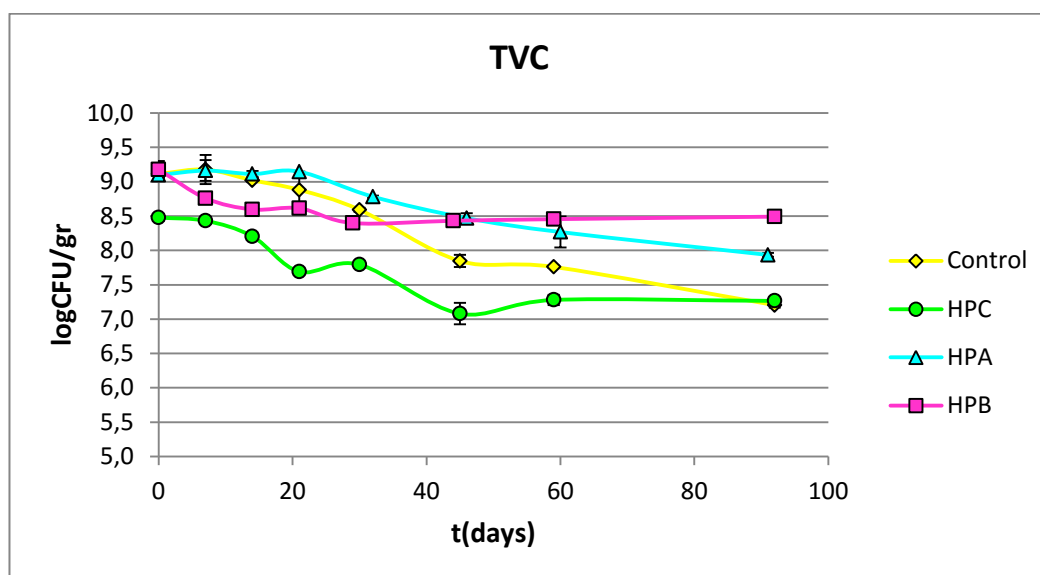
### 5.1 Μικροβιολογικός έλεγχος

Κατά τον μικροβιολογικό έλεγχο των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκαν τα υποστρώματα PCA, M17, MRS (pH = 5.4), Rogosa, για τον προσδιορισμό της ολικής μικροβιακής χλωρίδας, των θερμοφίλων λακτόκοκκων, των θερμοφίλων λακτοβακίλλων και των οξυγαλακτικών βακτηρίων που δεν αποτελούν εκκινητές (NSLAB), αντίστοιχα.

Τα αποτελέσματα παρατίθενται τόσο στους παρακάτω πίνακες (Πίνακες 5.1.1-5.1.4), όσο και σχηματικά στα διαγράμματα (Διαγράμματα 5.1.1-5.1.4) που ακολουθούν.

**Πίνακας 5.1.1 Ολική μικροβιακή χλωρίδα (logCFU/gr) ανά γραμμάριο λευκού τυριού τύπου Φέτας κατά τη διάρκεια ωρίμανσης των τεσσάρων δειγμάτων.**

t(days)	Control		HPC		HPA			HPB		
	logCFU/gr	stdev	logCFU/gr	stdev	t(days)	logCFU/gr	stdev	t(days)	logCFU/gr	stdev
0	9,11	±0,05	8,45	±0,04	0	9,10	±0,02	0	9,18	±0,12
7	9,18	±0,21	8,41	±0,04	7	9,16	±0,15	7	8,76	±0,05
14	9,02	±0,03	8,22	±0,02	14	9,11	±0,05	14	8,60	±0,01
21	8,88	±0,17	7,68	±0,01	21	9,15	±0,00	21	8,61	±0,06
30	8,59	±0,03	7,78	±0,02	32	8,78	±0,02	29	8,40	±0,02
45	7,85	±0,09	7,20	±0,16	46	8,47	±0,07	44	8,43	±0,07
59	7,76	±0,02	7,23	±0,07	60	8,27	±0,23	59	8,45	±0,01
92	7,20	±0,04	7,24	±0,03	91	7,93	±0,03	92	8,49	±0,02



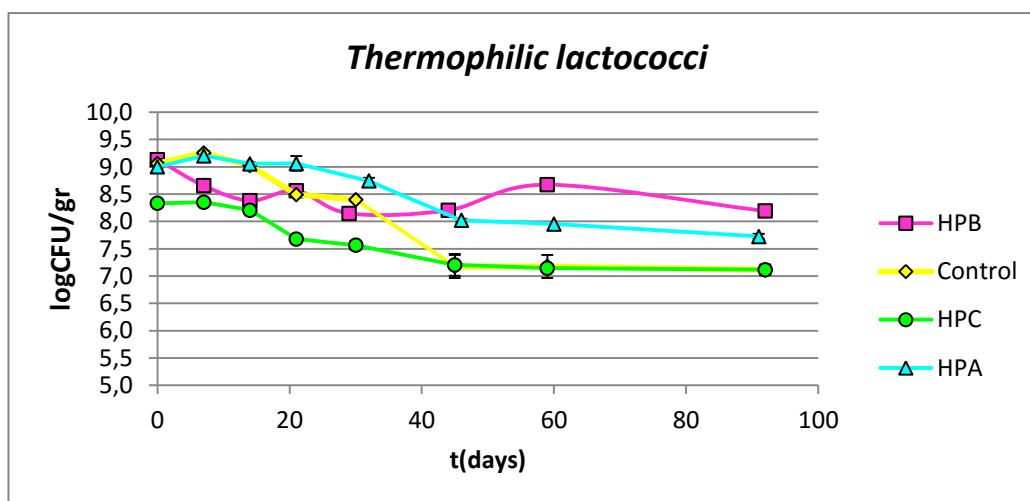
**Διάγραμμα 5.1.1 : Μεταβολή της ολικής μικροβιακής χλωρίδας κατά τη διάρκεια ωρίμανσης των τεσσάρων δειγμάτων λευκού τυριού τύπου Φέτας.**

Η γενική τάση που εμφανίζεται στην ολική μικροβιακή χλωρίδα είναι πτωτική για όλα τα δείγματα. Το δείγμα που φαίνεται να παρουσιάζει σταθερά, από το χρόνο 0 έως τις 90 ημέρες, το χαμηλότερο πληθυσμό είναι το επεξεργασμένο δείγμα τυριού, HPC. Στον τελικό χρόνο ωρίμανσης,  $t = 90$  days, λαμβάνει παρόμοια τιμή με εκείνες του Control. Στα υπόλοιπα τρία δείγματα η ολική μικροβιακή χλωρίδα, αν και ξεκινά από τις ίδιες περίπου τιμές εμφανίζει διαφορετικό ποσοστό μείωσης με το χρόνο. Το HPB, έως τις 32 ημέρες ωρίμανσης έχει μεγαλύτερη κλίση μείωσης των πληθυσμών, όμως στη συνέχεια παραμένει σχετικά σταθερό έως το τέλος της ωρίμανσης. Τα δείγματα HPA και Control παρουσιάζουν παρόμοια συμπεριφορά έως τις 21 ημέρες, ενώ αργότερα το δεύτερο σημειώνει ταχύτερη μείωση της ολικής μικροβιακής του χλωρίδας.

**Πίνακας 5.1.2 Μικροβιακό φορτίο θερμοφίλων λακτόκοκκων (logCFU/gr) ανά γραμμάριο λευκού τυριού τύπου Φέτας κατά τη διάρκεια ωρίμανσης των τεσσάρων δειγμάτων.**

t(days)	Control		HPC		HPA			HPB		
	logCFU/gr	stdev	logCFU/gr	stdev	t(days)	logCFU/gr	stdev	t(days)	logCFU/gr	stdev
0	9,06	±0,08	8,33	±0,01	0	9,00	±0,00	0	9,13	0±,12
7	9,26	±0,03	8,35	±0,04	7	9,20	±0,02	7	8,65	±0,07
14	9,02	±0,03	8,20	±0,00	14	9,05	±0,02	14	8,38	±0,03
21	8,49	±0,02	7,68	±0,01	21	9,06	±0,14	21	8,56	±0,04
30	8,40	±0,02	7,56	±0,08	32	8,74	±0,06	29	8,15	±0,00
45	7,18	±0,21	7,20	±0,20	46	8,02	±0,03	44	8,20	±0,08

59	7,18	±0,21	7,15	±0,04	60	7,95	±0,00	59	8,67	±0,03
92	7,11	±0,05	7,11	±0,10	91	7,72	±0,05	92	8,19	±0,02

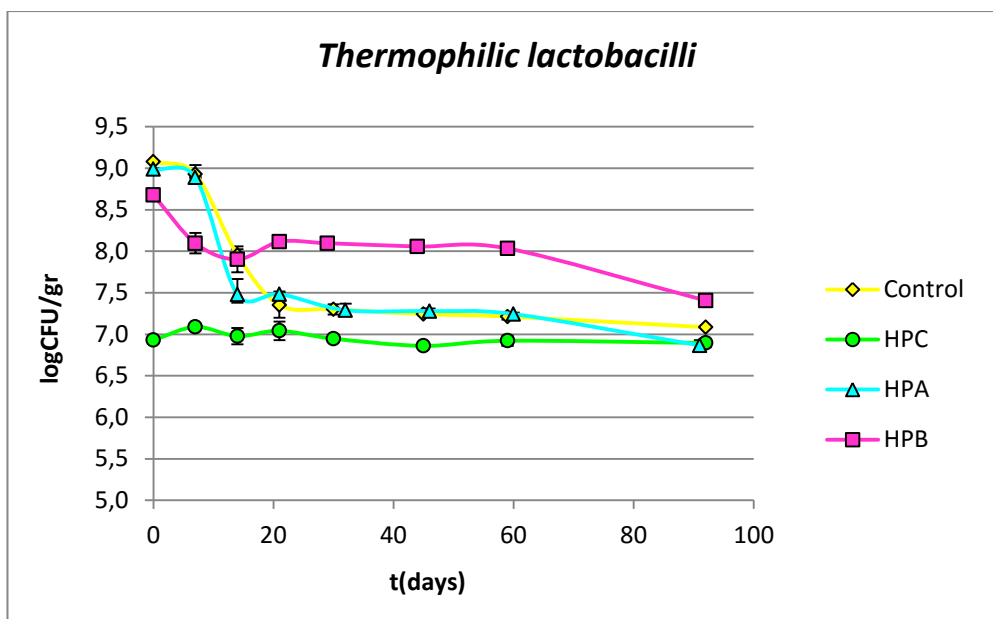


**Διάγραμμα 5.1.2 : Μεταβολή αποικιών θερμόφιλων λακτόκοκκων (*thermophilic lactococci*) κατά τη διάρκεια ωρίμανσης των τεσσάρων δειγμάτων λευκού τυριού τύπου Φέτας.**

Στην περίπτωση των λακτόκοκκων, σε όλα τα δείγματα υπάρχει μείωση των αποικιών με το χρόνο ωρίμανσης. Και σε αυτήν την περίπτωση, τα δείγματα εκτός του HPC ξεκινάνε από παρόμοιο αριθμό αποικιών. Στις 90 ημέρες (τέλος ωρίμανσης), το δείγμα που περιέχει ολόκληρη την καλλιέργεια επεξεργασμένη, έχει τις περισσότερες αποικίες, ενώ τα δείγματα Control και HPC μετά από τις 40 ημέρες σταθεροποιούνται σε παρόμοιες χαμηλές τιμές. Το HPA κυμαίνεται σε ενδιάμεσα επίπεδα.

**Πίνακας 5.1.3 Μικροβιακό φορτίο θερμόφιλων λακτοβάκιλλων (*logCFU/gr*) ανά γραμμάριο λευκού τυριού τύπου Φέτας κατά τη διάρκεια ωρίμανσης των τεσσάρων δειγμάτων.**

t(days)	Control		HPC		HPA			HPB		
	logCFU/gr	stdev	logCFU/gr	stdev	t(days)	logCFU/gr	stdev	t(days)	logCFU/gr	stdev
0	9,08	±0,00	6,93	±0,04	0	8,99	±0,02	0	8,68	±0,03
7	8,93	±0,11	7,09	±0,01	7	8,89	±0,01	7	8,10	±0,12
14	7,95	±0,07	6,98	±0,10	14	7,48	±0,19	14	7,90	±0,16
21	7,35	±0,15	7,04	±0,11	21	7,48	±0,03	21	8,11	±0,05
30	7,30	±0,06	6,95	±0,01	32	7,29	±0,08	29	8,10	±0,02
45	7,24	±0,02	6,86	±0,01	46	7,28	±0,03	44	8,06	±0,07
59	7,21	±0,04	6,92	±0,06	60	7,24	±0,02	59	8,03	±0,02
92	7,08	±0,01	6,89	±0,05	91	6,87	±0,06	92	7,41	±0,01

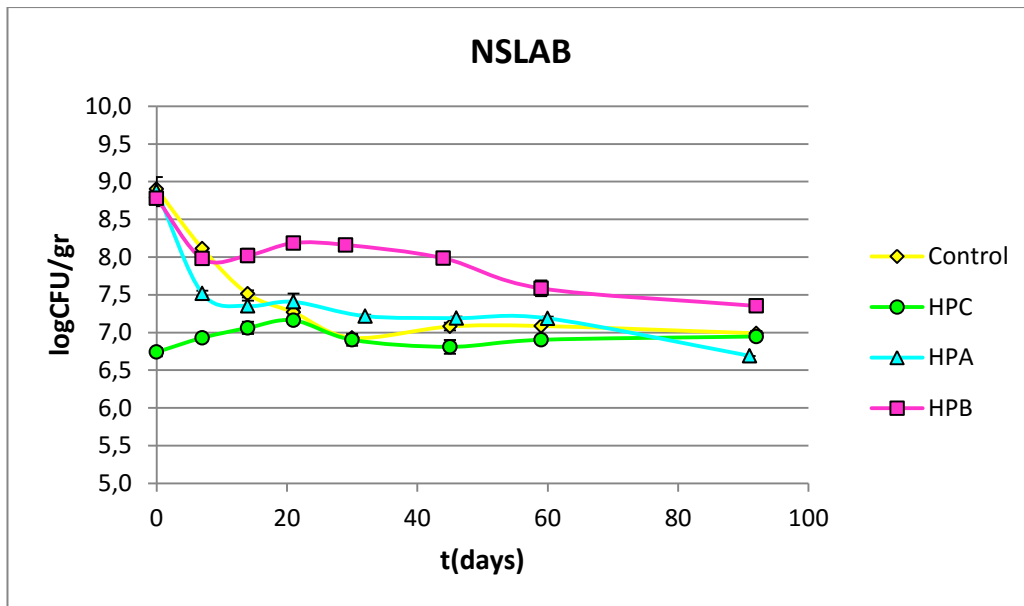


**Διάγραμμα 5.1.3 : Μεταβολή αποικιών θερμόφιλων λακτοβάκιλλων (*thermophilic lactobacilli*) κατά τη διάρκεια ωρίμανσης των τεσσάρων δειγμάτων λευκού τυριού τύπου Φέτας.**

Στα δείγματα HPB, HPA, Control οι αποικίες των θερμόφιλων λακτοβάκιλλων μειώνονται γενικά με το πέρας του χρόνου ωρίμανσης, αν και από τις είκοσι μία έως τις εξήντα ημέρες φαίνεται να πραγματοποιείται μια σχετική σταθεροποίηση και ξανά μείωση έως το τέλος της ωρίμανσης. Η μείωση αυτή είναι εντονότερη στα δύο τελευταία δείγματα τα οποία ξεκινούν από τις υψηλότερες τιμές (Control : 9,08, HPA : 8,99) και καταλήγουν σε χαμηλότερες (Control : 7,08, HPA : 6,87). Ακόμη, το δείγμα HPB και στην περίπτωση των θερμόφιλων λακτοβάκιλλων παρουσιάζει τους υψηλότερους πληθυσμούς από τις 21 ημέρες έως το τέλος της ωρίμανσης. Από την άλλη, το δείγμα HPC δε φαίνεται να επηρεάζεται από το χρόνο ωρίμανσης, παραμένοντας σταθερά στις χαμηλότερες τιμές.

**Πίνακας 5.1.4 Μικροβιακό φορτίο NSLAB (logCFU/gr) ανά γραμμάριο λευκού τυριού τύπου Φέτας κατά τη διάρκεια ωρίμανσης των τεσσάρων δειγμάτων.**

t(days)	Control		HPC		t(days)	HPA		t(days)	HPB	
	logCFU/gr	stdev	logCFU/gr	stdev		logCFU/gr	stdev		logCFU/gr	stdev
0	8,90	±0,16	6,74	±0,06	0	8,88	±0,04	0	8,78	±0,10
7	8,11	±0,00	6,93	±0,04	7	7,52	±0,04	7	7,98	±0,05
14	7,51	±0,05	7,06	±0,08	14	7,35	±0,07	14	8,02	±0,09
21	7,27	±0,02	7,16	±0,02	21	7,41	±0,11	21	8,19	±0,04
30	6,93	±0,04	6,90	±0,08	32	7,22	±0,02	29	8,16	±0,06
45	7,08	±0,05	6,81	±0,09	46	7,19	±0,02	44	7,98	±0,03
59	7,09	±0,00	6,90	±0,02	60	7,19	±0,02	59	7,59	±0,10
92	6,99	±0,03	6,95	±0,02	91	6,69	±0,00	92	7,35	±0,07



**Διάγραμμα 5.1.4 : Μεταβολή αποικιών NSLAB (μη εκκινητές οξυγαλακτικά βακτήρια) κατά τη διάρκεια ωρίμανσης των τεσσάρων δειγμάτων λευκού τυριού τύπου Φέτας.**

Η εμφάνιση των NSLAB οφείλεται σε επιμόλυνση από το περιβάλλον, σύμφωνα με του Fitzsimons et al., 1999, και η αύξησή τους στη συνέχεια στην ικανότητά τους να αναπτύσσονται σε χαμηλά pH. Ωστόσο, τα NSLAB με την παραγωγή γαλακτικού οξέος και την πρωτεολυτική και λιπολυτική δράση τους συμβάλλουν στην ωρίμανση των τυριών.

Με βάση το παραπάνω διάγραμμα, οι αποικίες των μη εκκινητών οξυγαλακτικών βακτηρίων των δειγμάτων HPA, HPB και Control μειώνονται όσο προχωρά η ωρίμανση, σε αντίθεση με το δείγμα HPC το οποίο παρουσιάζεται σχετικά σταθερό από το χρόνο 0 έως το τέλος της ωρίμανσης. Το HPB παρουσιάζει και στις αποικίες των NSLAB υψηλότερες τιμές από τα υπόλοιπα, ενώ τα δείγματα αναφοράς και HPA εμφανίζουν τη μεγαλύτερη μείωση των NSLAB.

Παρατηρώντας τα διαγράμματα 5.1.1 – 5.1.4, εξάγεται το συμπέρασμα ότι τα δείγματα HPB εμφανίζουν μικρότερα ποσοστά μείωσης σε μικροβιακές αποικίες σε σχέση με τα υπόλοιπα. Στην ολική μικροβιακή χλωρίδα, αν και τις πρώτες 30 μέρες παρουσιάζεται σημαντική μείωση σε σχέση με τα άλλα δείγματα, από τις 30 έως τις 90 μέρες φαίνεται να παραμένει σχετικά σταθερό σε υψηλές συγκεντρώσεις. Οι τελικές τιμές του HPB (t = 90 days), βρίσκονται σε όλα τα υποστρώματα σε αρκετά μεγαλύτερες τιμές σε σχέση με τα άλλα τρία δείγματα. Τέλος, σε όλα τα υποστρώματα το HPC εμφανίζει το χαμηλότερο αριθμό αποικιών. Η επεξεργασία του τυριού με ΥΠ, προκάλεσε πιθανώς τη λύση κυττάρων των μικροοργανισμών γεγονός που εμπόδισε την περαιτέρω ανάπτυξή τους.



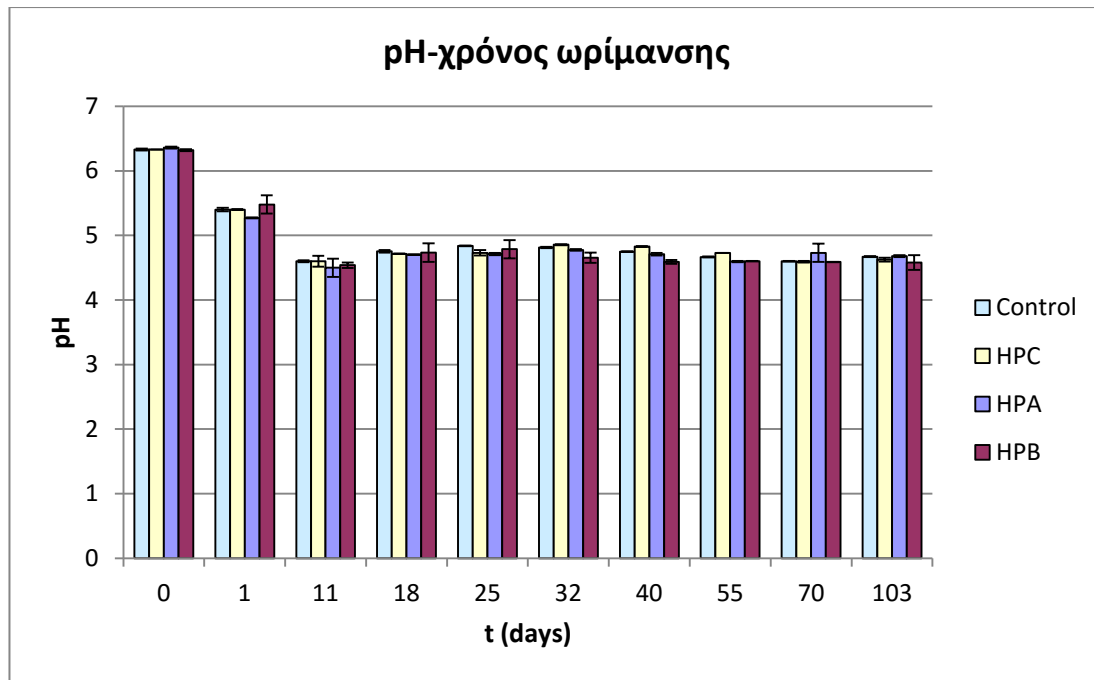
## 5.2 pH

Υπενθυμίζεται ότι μόνο στη μέτρηση αυτή, ως χρόνος μηδέν θεωρείται η ημέρα παρασκευής του τυριού, και όχι η μέρα της συσκευασίας των δειγμάτων, όπως ισχύει στις υπόλοιπες μετρήσεις.

Στη συνέχεια παρουσιάζονται τα δεδομένα του pH των δειγμάτων λευκού τυριού τύπου Φέτας (Πίνακας 5.2.1), και η σχηματική τους αναπαράσταση συναρτήσει του χρόνου ωρίμανσης.

**Πίνακας 5.2.1 Δεδομένα pH για τα τέσσερα δείγματα λευκού τυριού τύπου Φέτας συναρτήσει του χρόνου ωρίμανσης.**

	<i>Control</i>		<i>HPC</i>		<i>HPA</i>			<i>HPB</i>		
<i>t</i> <i>(days)</i>	<i>pH</i>	<i>stdev</i>	<i>pH</i>	<i>stdev</i>	<i>t</i> <i>(days)</i>	<i>pH</i>	<i>stdev</i>	<i>t</i> <i>(days)</i>	<i>pH</i>	<i>stdev</i>
<b>0</b>	6,33	±0,02	6,33	±0,00	<b>0</b>	6,36	±0,01	<b>0</b>	6,32	±0,01
<b>1</b>	5,40	±0,03	5,40	±0,01	<b>1</b>	5,27	±0,01	<b>1</b>	5,48	±0,14
<b>12</b>	4,60	±0,02	4,60	±0,08	<b>7</b>	4,50	±0,14	<b>11</b>	4,54	±0,04
<b>19</b>	4,76	±0,02	4,72	±0,00	<b>14</b>	4,70	±0,00	<b>18</b>	4,73	±0,15
<b>26</b>	4,84	±0,01	4,73	±0,04	<b>21</b>	4,71	±0,02	<b>25</b>	4,79	±0,14
<b>33</b>	4,81	±0,01	4,86	±0,01	<b>28</b>	4,78	±0,01	<b>32</b>	4,66	±0,08
<b>42</b>	4,75	±0,00	4,83	±0,00	<b>39</b>	4,71	±0,02	<b>40</b>	4,59	±0,03
<b>57</b>	4,67	±0,01	4,73	±0,00	<b>53</b>	4,60	±0,01	<b>55</b>	4,60	±0,00
<b>71</b>	4,60	±0,00	4,59	±0,01	<b>67</b>	4,73	±0,14	<b>70</b>	4,59	±0,00
<b>104</b>	4,67	±0,01	4,62	±0,03	<b>98</b>	4,68	±0,02	<b>103</b>	4,58	±0,11



**Διάγραμμα 5.2.1 : Μεταβολή του pH συναρτήσει του χρόνου ωρίμανσης για όλα τα δείγματα λευκού τυριού τύπου Φέτας.**

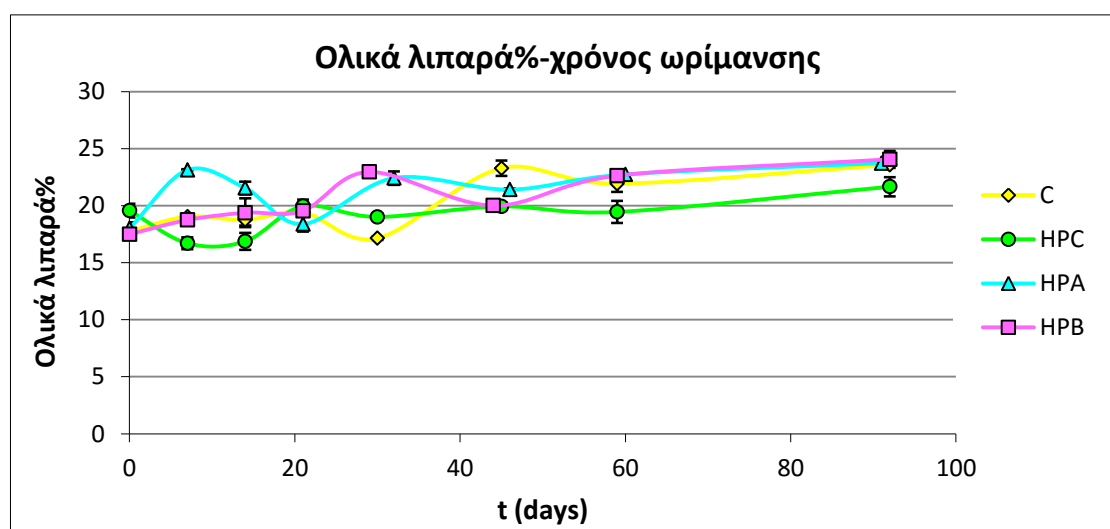
Τα όρια pH για τη Φέτα είναι  $\text{pH} = 4,4 - 4,8$ . Οι τιμές των δειγμάτων στο τέλος της ωρίμανσης βρίσκονται εντός ορίων. Με βάση το παραπάνω διάγραμμα δεν παρατηρείται σημαντική διαφορά μεταξύ των δειγμάτων, όσον αφορά το pH. Σε όλα, υπάρχει η μείωση, λόγω παραγωγής του γαλακτικού οξέος από τους μικροοργανισμούς, και σταθεροποίησή του προς το τέλος της ωρίμανσης. Η μικρή αύξηση που παρατηρείται μετά τις 14 ημέρες είναι φυσιολογικό φαινόμενο κατά την ωρίμανση του τυριού, καθώς όπως φαίνεται και στην Εικόνα 3.6 (Czulak's hypothesis) λαμβάνει χώρα σχηματισμός αμινομάδων που είναι αποτέλεσμα αποικοδόμησης των πεπτιδίων. Ακόμη, πρέπει να τονιστεί ότι η μείωση του pH του δείγματος HPB μετά τις 25 ημέρες είναι σχετικά μεγαλύτερη από τα υπόλοιπα, γεγονός που ίσως υποδεικνύει ταχύτερη αποικοδόμηση των αμινομάδων προς σχηματισμό μικρού μοριακού βάρους πεπτιδίων και αμινοξέων.

### 5.3 Έλεγχος ολικών λιπαρών

Τα αποτελέσματα που προέκυψαν πειραματικά καταγράφονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 5.4.1) και παρουσιάζονται σχηματικά (Διάγραμμα 5.4.1).

**Πίνακας 5.3.1 : Δεδομένα ολικών λιπαρών για τα τέσσερα δείγματα κατά την ωρίμανση.**

<i>t</i> (days)	Control		HPC		HPA			HPB		
	Λιπαρά%	stdev	Λιπαρά%	stdev	<i>t</i> (days)	Λιπαρά%	stdev	<i>t</i> (days)	Λιπαρά%	stdev
0	17,75	±0,19	19,56	±0,60	0	18,01	±0,52	0	17,49	±0,37
7	19,04	±0,19	16,71	±0,51	7	23,13	±0,06	7	18,74	±0,11
14	18,76	±0,51	16,87	±0,74	14	21,55	±0,56	14	19,38	±1,27
21	19,41	±0,35	19,95	±0,58	21	18,39	±0,66	21	19,55	±0,40
30	17,14	±0,14	19,01	±0,29	32	22,42	±0,59	29	22,96	±0,41
45	23,28	±0,67	19,94	±0,33	46	21,41	±0,10	44	20,00	±0,28
59	21,93	±0,72	19,45	±0,97	60	22,74	±0,00	59	22,63	±0,21
92	23,58	±0,04	21,66	±0,83	91	23,73	±0,15	92	24,06	±0,75



**Διάγραμμα 5.3.1 : Μεταβολή ολικών λιπαρών εκφρασμένων επί της εκατό για όλα τα δείγματα λευκού τυριού τύπου Φέτας συναρτήσει του χρόνου ωρίμανσης.**

Το ποσοστό των ολικών λιπαρών σε όλα τα δείγματα λευκού τυριού εμφανίζει αύξηση με το χρόνο ωρίμανσης. Αν και στο χρόνο  $t=0$  το δείγμα HPC εμφανίζει υψηλότερο ποσοστό λιπαρών, στη συνέχεια η αύξησή του δεν είναι τόσο σημαντική όσο των υπολοίπων δειγμάτων. Το αυξημένο ποσοστό ολικών λιπαρών στον αρχικό χρόνο σχετίζεται άμεσα με την απώλεια υγρασίας του δείγματος λόγω επεξεργασίας του με υπερυψηλή πίεση, άρα συμπύκνωση των υπόλοιπων συστατικών συμπεριλαμβανομένου και των λιπαρών. Όπως θα παρουσιαστεί στην επόμενη ενότητα η μείωση της υγρασίας με το χρόνο

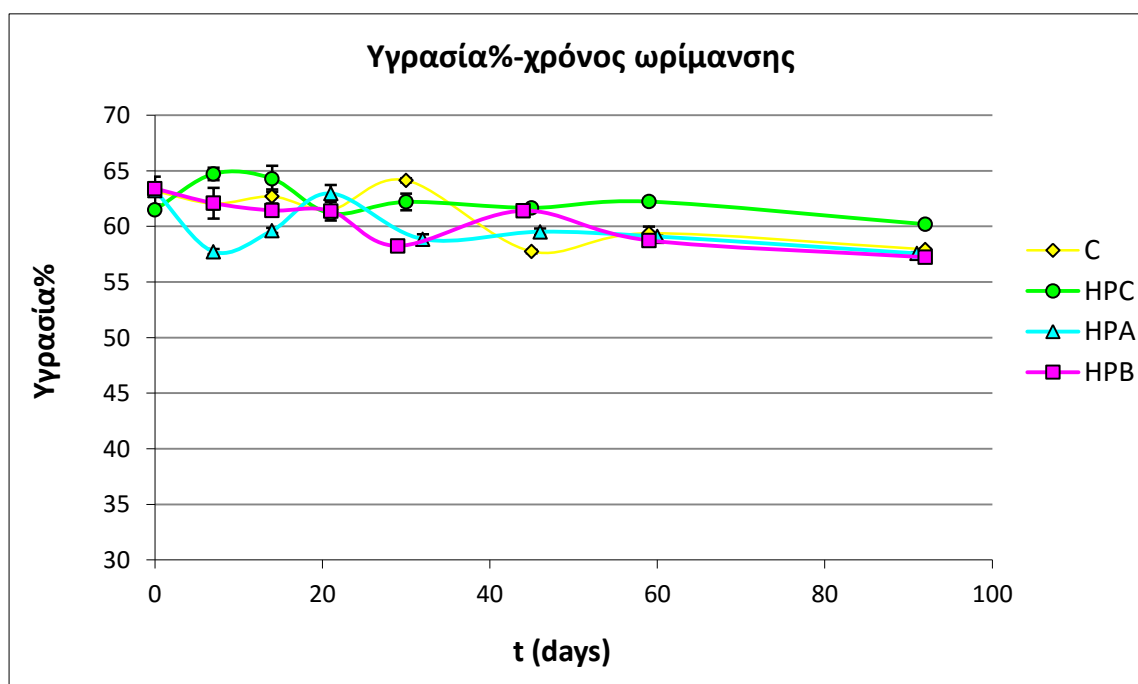
ωρίμανσης για το επεξεργασμένο τυρί (HPC) είναι εξαιρετικά μικρή γι' αυτό δεν υπάρχει και σημαντική αύξηση των λιπαρών.

## 5.4 Υγρασία

Παρακάτω παρουσιάζονται τα δεδομένα μέτρησης της υγρασίας όλων των δειγμάτων λευκού τυριού τύπου Φέτας.

**Πίνακας 5.4.1 : Δεδομένα Υγρασίας για όλα τα δείγματα κατά την ωρίμανση.**

t (days)	Control		HPC		HPA			HPB		
	Υγρασία%	stdev	Υγρασία%	stdev	t (days)	Υγρασία%	stdev	t (days)	Υγρασία%	stdev
0	63,19	±0,49	61,50	±0,11	0	63,23	±1,26	0	63,41	±0,13
7	62,06	±0,52	64,73	±0,56	7	57,73	±0,22	7	62,09	±1,39
14	62,69	±0,64	64,30	±1,17	14	59,63	±0,23	14	61,44	±0,21
21	61,50	±0,19	61,17	±0,65	21	62,97	±0,77	21	61,40	±0,05
30	64,15	±0,18	62,20	±0,75	32	58,86	±0,44	29	58,25	±0,25
45	57,75	±0,15	61,67	±0,05	46	59,52	±0,30	44	61,41	±0,09
59	59,39	±0,60	62,23	±0,05	60	59,09	±0,20	59	58,75	±0,37
92	57,94	±0,10	60,20	±0,06	91	57,57	±0,12	92	57,23	±0,11



**Διάγραμμα 5.4.1 : Μεταβολή υγρασίας εκφρασμένης επί της εκατό για όλα τα δείγματα λευκού τυριού τύπου Φέτας συναρτήσει του χρόνου ωρίμανσης.**

Σε όλα τα δείγματα, η υγρασία παρουσιάζει σταδιακή μείωση έως ότου λάβει τη χαμηλότερη τιμή της προς το τέλος της ωρίμανσης. Η υγρασία των λευκών τυριών, με

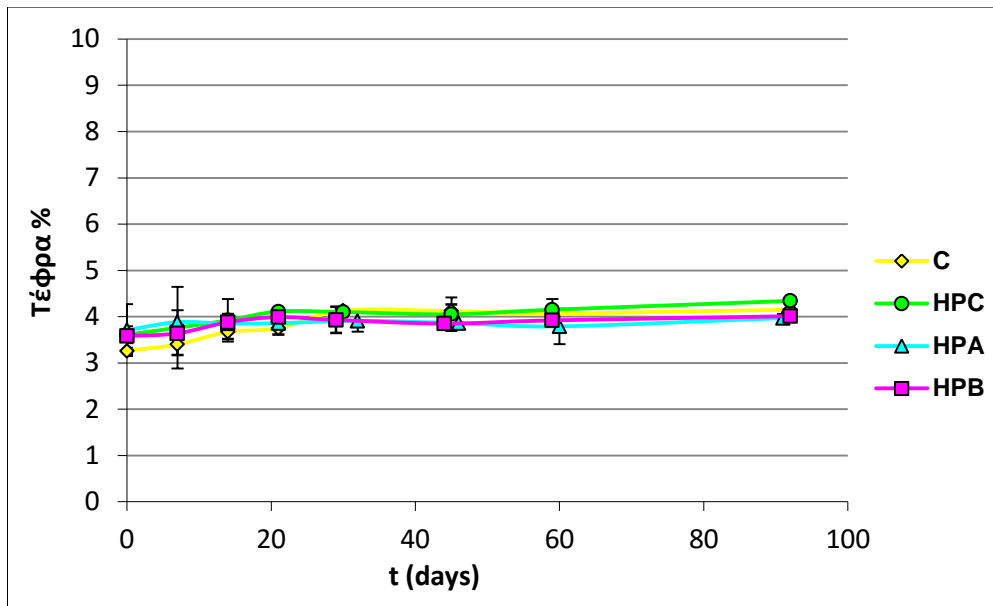
εξαίρεση το δείγμα HPC, κυμαίνεται από τις εξήντα έως τις ενενήντα ημέρες σε παρόμοιες τιμές, αντιθέτως το HPC εμφανίζεται να αποκτά την ικανότητα συγκράτησης περισσότερης υγρασίας (μεταβολή μόλις 1,3%), παραμένοντας σε ποσοστό περίπου 60%. Η κατακράτηση της υγρασίας μπορεί να αιτιολογηθεί από τη λιγότερο στενή συσσωμάτωση των καζεϊνικών μικκυλίων και των λιποσφαιριδίων μετά τη συμπύεση, επιτρέποντας έτσι, τον εγκλωβισμό περισσότερης υγρασίας στο τυρί (G.Smit, 2003). Επίσης πρέπει να τονιστεί ότι το δείγμα HPC ξεκινά ( $t=0$ ) από χαμηλότερη τιμή σε σχέση με τα υπόλοιπα δείγματα, όμως στη συνέχεια η αποβολή της περιεχόμενης υγρασίας της είναι ασθενής. Αυτό συμβαίνει καθώς κατά την επεξεργασία του δείγματος, αποβάλλεται μέρος της περιεχόμενης υγρασίας του, ενώ όταν εισαχθεί στην άλμη αρχίζει να λαμβάνει και πάλι υγρασία από το μέσο συντήρησης.

## 5.6 Τέφρα

Τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τις αναλύσεις παρατίθενται στον παρακάτω πίνακα (5.5.1) και παρουσιάζονται σχηματικά (Διάγραμμα 5.5.1).

**Πίνακας 5.5.1 : Δεδομένα Τέφρας για όλα τα δείγματα κατά την ωρίμανση.**

	Control			HPC			HPA			HPB		
<i>t (days)</i>	<i>Τέφρα%</i>	<i>stdev</i>	<i>Τέφρα%</i>	<i>stdev</i>	<i>t (days)</i>	<i>Τέφρα%</i>	<i>stdev</i>	<i>t (days)</i>	<i>Τέφρα%</i>	<i>stdev</i>		
<b>0</b>	3,26	±0,06	3,61	±0,18	<b>0</b>	3,71	±0,56	<b>0</b>	3,58	±0,03		
<b>7</b>	3,40	±0,23	3,76	±0,88	<b>7</b>	3,88	±0,26	<b>7</b>	3,64	±0,14		
<b>14</b>	3,67	±0,16	3,92	±0,46	<b>14</b>	3,85	±0,01	<b>14</b>	3,88	±0,18		
<b>21</b>	3,75	±0,13	4,11	±0,08	<b>21</b>	3,86	±0,08	<b>21</b>	3,99	±0,12		
<b>30</b>	4,13	±0,00	4,10	±0,04	<b>32</b>	3,91	±0,23	<b>29</b>	3,93	±0,28		
<b>45</b>	4,12	±0,14	4,05	±0,36	<b>46</b>	3,86	±0,01	<b>44</b>	3,85	±0,05		
<b>59</b>	4,07	±0,08	4,15	±0,23	<b>60</b>	3,79	±0,38	<b>59</b>	3,92	±0,09		
<b>92</b>	4,15	±0,19	4,34	±0,01	<b>91</b>	3,97	±0,09	<b>92</b>	4,01	±0,02		



**Διάγραμμα 5.5.1 : Μεταβολή τέφρας εκφρασμένης επί της εκατό για όλα τα δείγματα λευκού τυριού τύπου Φέτας συναρτήσει του χρόνου ωρίμανσης.**

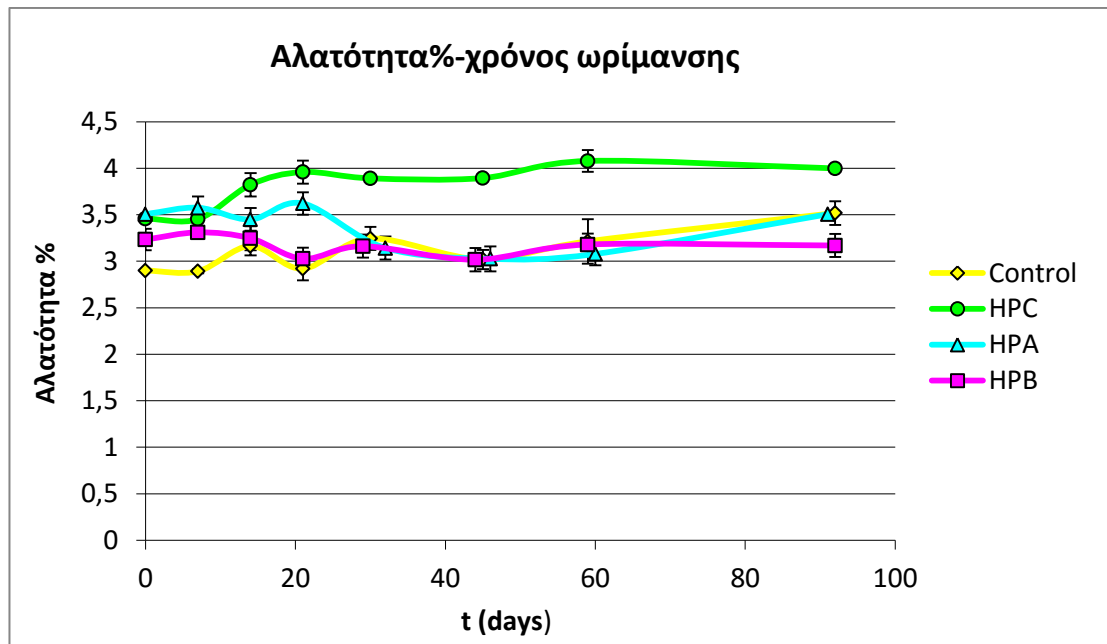
Σε όλα τα δείγματα το ποσοστό τέφρας ανά βάρος δείγματος παρουσιάζει μικρή αύξηση έως τις 21 ημέρες ενώ στη συνέχεια υπάρχει σχετική σταθεροποίηση. Η αρχική αύξηση είναι αποτέλεσμα απομάκρυνσης ποσοστού της υγρασίας του τυριού και συμπύκνωσης των υπολοίπων συστατικών του. Τα δείγματα Control, HPA και HPB περιέχουν το χαμηλότερο ποσοστό τέφρας, αφού είναι και εκείνα που παρουσιάζουν και το χαμηλότερο ποσοστό της περιεχόμενης αλατότητας τους (βλέπε Διάγραμμα 5.6.1). Το δείγμα HPC εμφανίζει τις υψηλότερες τιμές τέφρας, εφόσον παρουσιάζει και τα υψηλότερα ποσοστά άλατος. Ωστόσο οι διαφορές μεταξύ των δειγμάτων δεν είναι σημαντικές.

### 5.6 Αλατότητα

Η αλατότητα δείχνει το ποσοστό του περιεχόμενου άλατος στα δείγματα λευκού τυριού. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων παρατίθενται παρακάτω.

**Πίνακας 5.6.1 : Δεδομένα αλατότητας για όλα τα δείγματα συναρτήσει του χρόνου ωρίμανσης.**

	Control		HPC		HPA			HPB		
<i>t</i> (days)	salt%	stdev	salt%	stdev	<i>t</i> (days)	salt%	stdev	<i>t</i> (days)	salt%	stdev
0	2,90	±0,00	2,73	±0,00	0	3,52	±0,00	0	3,31	±0,11
7	2,89	±0,02	3,45	±0,00	7	3,61	±0,12	7	3,31	±0,00
14	3,16	±0,10	3,82	±0,13	14	3,54	±0,12	14	3,34	±0,13
21	2,92	±0,13	3,96	±0,12	21	3,53	±0,12	21	3,11	±0,12
30	3,24	±0,12	3,89	±0,00	32	3,23	±0,12	29	3,25	±0,12
45	3,02	±0,10	3,89	±0,00	46	3,12	±0,13	44	3,11	±0,13
59	3,21	±0,24	4,00	±0,12	60	3,16	±0,12	59	3,10	±0,12
92	3,52	±0,13	4,00	±0,00	91	3,51	±0,00	92	3,26	±0,13



**Διάγραμμα 5.6.1 : Μεταβολή αλατότητας εκφρασμένης επί της εκατό για όλα τα δείγματα λευκού τυριού τύπου Φέτας συναρτήσει του χρόνου ωρίμανσης.**

Το δείγμα που παρουσιάζει την υψηλότερη περιεκτικότητα σε αλάτι είναι το επεξεργασμένο με ΥΠ τυρί και η διαφορά αυτή με τα υπόλοιπα δείγματα είναι εμφανής. Με βάση τα αποτελέσματά του δείγματος HPC, παρατηρείται αύξηση της αλατότητας τις

πρώτες μέρες ωρίμανσης, ενώ η σταθεροποίησή της γίνεται από την 21<sup>η</sup> ημέρα. Παρόμοια αποτελέσματα προέκυψαν και από τον οργανοληπτικό έλεγχο (Διάγραμμα 5.10.5). Οι αυξημένες τιμές αλατότητας στα δείγματα επεξεργασμένου τυριού ίσως οφείλονται στη γρηγορότερη διάχυση άλατος από την εξωτερική επιφάνεια προς το εσωτερικό του τυριού, όπως απέδειξαν και οι Juan et al., 2008 ύστερα από επεξεργασία τυριού, το οποίο παρασκευάστηκε από πρόβειο γάλα, στα 300 MPa για 10 λεπτά.

Η κατανομή που προκύπτει είναι πιο εμφανής κατά τα τελικά στάδια της ωρίμανσης (από τις 60 έως τις 90 μέρες) όπου η φέτα, από φυσικοχημικής άποψης, σταθεροποιείται. Η αλατότητα του λευκού τυριού ΗΡΒ παραμένει σχετικά σταθερή καθ' όλη τη διάρκεια της ωρίμανσης, με κάποιες μικρές αυξομειώσεις στις ενδιάμεσες ημέρες, και έχει τη χαμηλότερη τιμή σε σχέση με τα υπόλοιπα δείγματα στο τέλος της ωρίμανσης. Τα δείγματα Control και ΗΡΑ αν και ξεκινούν από διαφορετικές αρχικές τιμές, στο τέλος καταλήγουν σε παρόμοιες (3,52 και 3,51 αντίστοιχα).

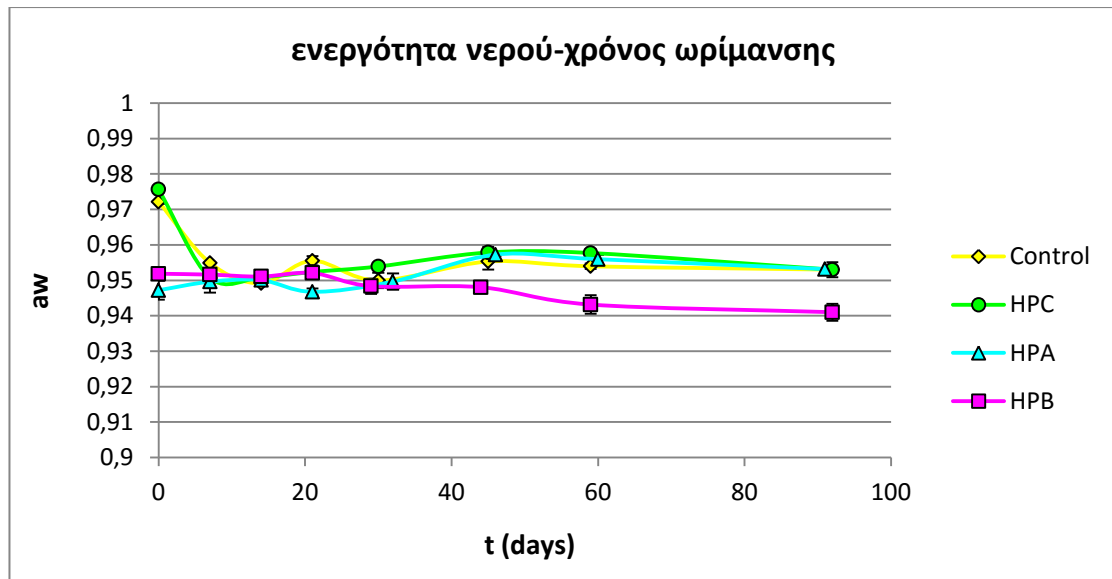
### 5.7 Ενεργότητα νερού

Τα δεδομένα ενεργότητας νερού που προέκυψαν παρουσιάζονται στη συνέχεια.

**Πίνακας 5.7.1 : Δεδομένα ενεργότητας νερού σε όλα τα δείγματα λευκού τυριού τύπου Φέτας συναρτήσει του χρόνου ωρίμανσης.**

<i>t</i> (days)	Control		HPC		HPA			HPB		
	<i>a<sub>w</sub></i>	<i>stdev</i>	<i>a<sub>w</sub></i>	<i>stdev</i>	<i>t</i> (days)	<i>a<sub>w</sub></i>	<i>stdev</i>	<i>t</i> (days)	<i>a<sub>w</sub></i>	<i>stdev</i>
<b>0</b>	0,9721	±0,0006	0,9756	±0,0004	<b>0</b>	0,9472	±0,0027	<b>0</b>	0,9519	±0,0004
<b>7</b>	0,9549	±0,0003	0,9508	±0,0006	<b>7</b>	0,9496	±0,0031	<b>7</b>	0,9516	±0,0006
<b>14</b>	0,9492	±0,0005	0,9509	±0,0004	<b>14</b>	0,9501	±0,0001	<b>14</b>	0,9511	±0,0012
<b>21</b>	0,9555	±0,0013	0,9524	±0,0006	<b>21</b>	0,9468	±0,0009	<b>21</b>	0,9521	±0,0013
<b>30</b>	0,9500	±0,0022	0,9539	±0,0010	<b>32</b>	0,9497	±0,0023	<b>29</b>	0,9484	±0,0022
<b>45</b>	0,9553	±0,0023	0,9579	±0,0016	<b>46</b>	0,9573	±0,0004	<b>44</b>	0,9481	±0,0013
<b>59</b>	0,9540	±0,0008	0,9577	±0,0010	<b>60</b>	0,9560	±0,0012	<b>59</b>	0,9432	±0,0026
<b>92</b>	0,9530	±0,0021	0,9530	±0,0006	<b>91</b>	0,9532	±0,0004	<b>92</b>	0,9410	±0,0024





**Διάγραμμα 5.7.1 : Μεταβολή ενεργότητας νερού ( $a_w$ ) των δειγμάτων λευκού τυριού “Φέτας” συναρτήσει του χρόνου ωρίμανσης.**

Η ενεργότητα νερού σχετίζεται άμεσα με τη μικροβιολογική σταθερότητα του τυριού, καθώς το ελεύθερο ή ελαφρώς δεσμευμένο νερό το οποίο μετράται, είναι αυτό που βοηθάει την ανάπτυξη και τη δράση των μικροοργανισμών.

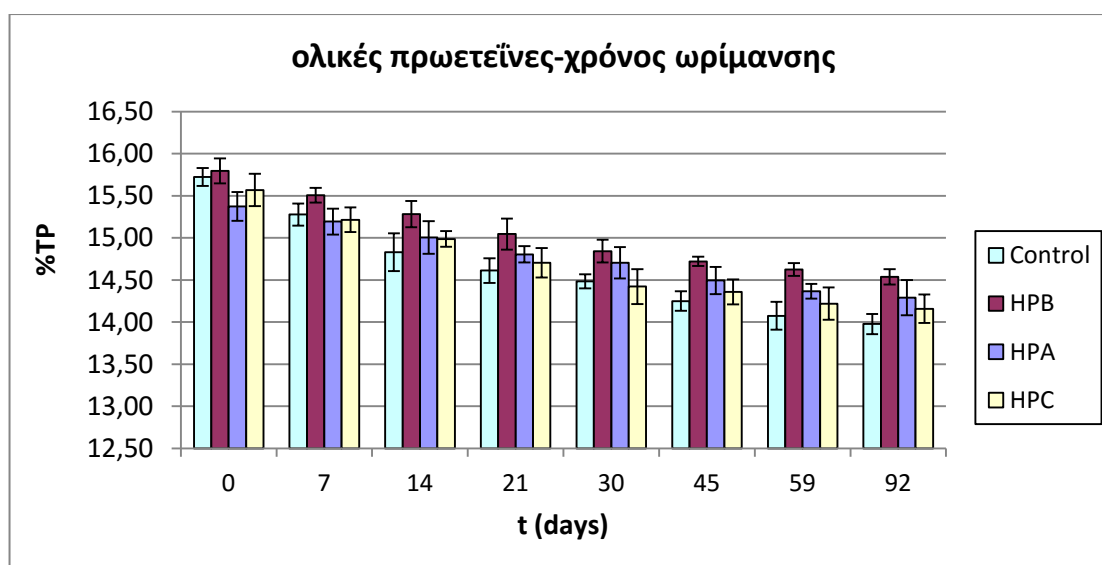
Οι τιμές της ενεργότητας νερού στο χρόνο  $t=0$  (υπενθυμίζεται ότι θεωρείται η ημέρα αποθήκευσης) διαφέρουν ανάμεσα στα δείγματα Control, HPC και HPB, HPA. Πιο συγκεκριμένα, τα πρώτα διαθέτουν ενεργότητα της τάξεως του 0,97, ενώ τα δεύτερα περίπου 0,95. Η  $a_w$  του δείγματος HPB εμφανίζεται να παραμένει σχετικά σταθερή τις πρώτες μέρες ωρίμανσης (έως  $t=20$  days), ενώ στη συνέχεια μειώνεται. Πρέπει να τονιστεί ότι το δείγμα αυτό εμφανίζει τις χαμηλότερες τιμές από την 30<sup>η</sup> ημέρα έως το τέλος της ωρίμανσης. Τα υπόλοιπα τυριά μετά τις 30 ημέρες κυμαίνονται περίπου σε παρόμοιες τιμές ενεργότητας νερού (0,94-0,95). Το HPA παρουσιάζει μια σταδιακή αύξηση έως τις 45 ημέρες, ενώ στη συνέχεια παρατηρείται μικρή μείωση. Τα Control και HPC παρουσιάζουν παρόμοια συμπεριφορά μεταξύ τους, αρχική μείωση (έως  $t=14$  days) και σχετική σταθεροποίηση έως το τέλος της ωρίμανσης.

### 5.8 Ολικές πρωτεΐνες

Τα αποτελέσματα των ολικών πρωτεϊνών που προέκυψαν, συνοψίζονται σε πίνακα (Πίνακας 5.8.1) και παρουσιάζονται διαγραμματικά (Διάγραμμα 5.8.1).

**Πίνακας 5.8.1 Δεδομένα ολικών πρωτεϊνών (Total Protein%) κατά το χρόνο ωρίμανσης.**

	Control			HPC			HRA			HPB		
<i>t</i> (days)	Πρωτεΐνες %	stdev	Πρωτεΐνες %	stdev	<i>t</i> (days)	Πρωτεΐνες %	stdev	<i>t</i> (days)	Πρωτεΐνες %	stdev		
0	15,72	±0,11	15,57	±0,19	0	15,37	±0,17	0	15,80	±0,15		
7	15,28	±0,13	15,22	±0,14	7	15,19	±0,16	7	15,51	±0,09		
14	14,83	±0,22	14,99	±0,09	14	15,00	±0,19	14	15,28	±0,16		
21	14,61	±0,15	14,70	±0,17	21	14,80	±0,10	21	15,05	±0,18		
30	14,48	±0,08	14,42	±0,21	32	14,70	±0,18	29	14,84	±0,14		
45	14,25	±0,12	14,36	±0,15	46	14,49	±0,16	44	14,72	±0,05		
59	14,07	±0,17	14,22	±0,19	60	14,37	±0,09	59	14,63	±0,08		
92	13,98	±0,12	14,16	±0,17	91	14,29	±0,21	92	14,54	±0,09		



**Διάγραμμα 5.8.1 Μεταβολή ποσοστό ολικών πρωτεϊνών των δειγμάτων λευκού τυριού τύπου Φέτας συναρτήσει του χρόνου ωρίμανσης.**

Με βάση τα αποτελέσματα που προέκυψαν, οι ολικές πρωτεΐνες μειώνονται όσο προχωράει η ωρίμανση σε όλα τα δείγματα τυριού. Το υψηλότερο ποσοστό ολικών πρωτεϊνών παρουσιάζεται στα δείγματα HPB, ενώ το χαμηλότερο στα δείγματα Control. Η μείωση των ολικών πρωτεϊνών στο τυρί είναι αποτέλεσμα απομάκρυνσης διαλυτών

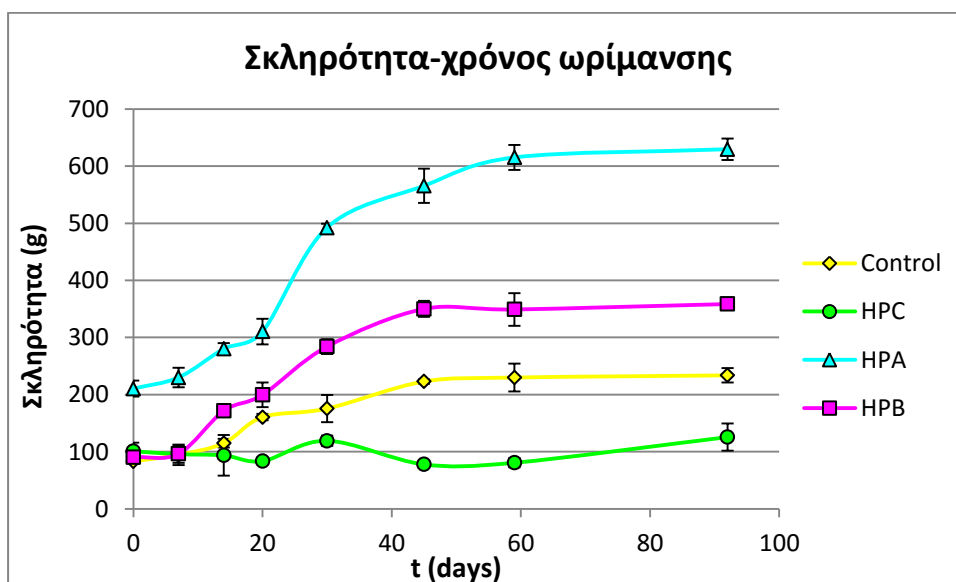
αζωτούχων κλασμάτων από το τυρί στην άλμη (είναι αποτέλεσμα πολλαπλασιασμού του ολικού αζώτου με το συντελεστή 6,38). Το γεγονός ότι τα δείγματα αναφοράς περιέχουν μικρότερο ποσοστό από τα υπόλοιπα στο τέλος της ωρίμανσης, πιθανώς να σημαίνει πως επιτρέπεται η μεταφορά τους πιο εύκολα στη άλμη.

### 5.9 Αναλυτής Υφής

Για την εύρεση της σκληρότητας, της προσκολλησιμότητας, της ελαστικότητας και της συνεκτικότητας τα δείγματα οδηγήθηκαν στον αναλυτή υφής. Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν παρουσιάζονται παρακάτω.

**Πίνακας 5.9.1 Δεδομένα Σκληρότητας για τα τέσσερα δείγματα λευκού τυριού Φέτας κατά τη διάρκεια ωρίμανσης.**

t(days)	Control		HPC		HPA		HPB	
	Σκληρότητα	stdev	Σκληρότητα	stdev	Σκληρότητα	stdev	Σκληρότητα	stdev
0	83,1	±2,7	100,8	±15,1	210,4	±14,1	90,5	±11,0
7	94,6	±17,8	95,7	±15,3	230,0	±17,2	96,3	±8,6
14	114,8	±7,6	93,6	±35,7	280,2	±9,9	171,6	±0,8
21	160,6	±5,4	83,6	±2,6	125,9	±22,4	199,7	±21,7
32	115,8	±23,9	119,1	±8,8	492,5	±6,8	284,1	±13,0
45	222,9	±3,9	77,7	±2,7	565,7	±30,0	324,2	±8,3
60	182,2	±24,4	80,6	±8,2	615,3	±21,8	350,1	±14,1
90	233,7	±12,7	125,5	±23,7	629,7	±18,6	349,1	±28,6

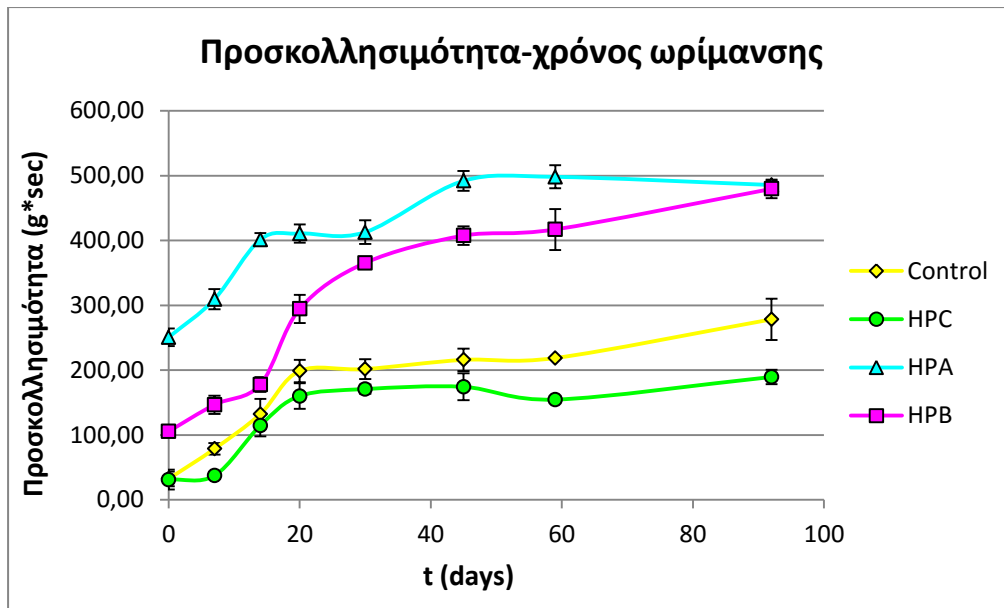


**Διάγραμμα 5.9.1 Μεταβολή της σκληρότητας συναρτήσει του χρόνου ωρίμανσης για όλα τα δείγματα λευκού τυριού τύπου Φέτας.**

Στο πρώτο διάγραμμα που προκύπτει από την επεξεργασία των αποτελεσμάτων του αναλυτή υφής, φαίνεται πως η σκληρότητα παρουσιάζει ανοδική τάση και σταθεροποίηση μετά από 45 ημέρες ωρίμανσης. Ωστόσο η τάση αυτή στο δείγμα HPC είναι αρκετά μικρότερη από τα υπόλοιπα (σχετικά σταθερό). Αντίστοιχα, η αύξηση στο δείγμα Control είναι μικρότερη από το HPB, και από το HPA το οποίο μεταβάλλεται περισσότερο από όλα τα άλλα δείγματα. Οι αρχικές τιμές των δειγμάτων HPB, HPC και Control κυμαίνονται σε παρόμοια επίπεδα, σε αντίθεση με το HPA, το οποίο εμφανίζεται εξ' αρχής να είναι το σκληρότερο. Στο τέλος της ωρίμανσης, το δείγμα HPA είναι κατά περίπου 300 μονάδες σκληρότερο από το δεύτερο δείγμα με την εξ' ολοκλήρου επεξεργασμένη καλλιέργεια (HPB) και ακολουθούν αντίστοιχα τα δείγματα Control και HPC. Η σκληρότητα σχετίζεται άμεσα και με την περιεχόμενη υγρασία του τυριού, η οποία σύμφωνα με το διάγραμμα 5.4.1 είναι σχετικά χαμηλότερη στο δείγμα HPA και κατά το τέλος της ωρίμανσης λαμβάνει παρόμοιες τιμές και το δείγμα HPB.

**Πίνακας 5.9.2 Δεδομένα προσκολλησιμότητας για τα τέσσερα δείγματα λευκού τυριού τύπου Φέτας κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης.**

<i>t(days)</i>	<i>Control</i>		<i>HPC</i>		<i>HPA</i>		<i>HPB</i>	
	<i>Προσκολλησιμότητα</i>	<i>stdev</i>	<i>Προσκολλησιμότητα</i>	<i>stdev</i>	<i>Προσκολλησιμότητα</i>	<i>stdev</i>	<i>Προσκολλησιμότητα</i>	<i>stdev</i>
<b>0</b>	32,23	±2,69	31,08	±15,13	250,60	±14,14	105,45	±10,96
<b>7</b>	78,65	±17,82	37,35	±15,27	309,49	±17,15	146,65	±8,63
<b>14</b>	132,39	±7,64	114,56	±35,71	401,49	±9,90	177,80	±0,78
<b>21</b>	198,70	±5,44	160,06	±2,55	410,80	±22,40	294,42	±21,71
<b>32</b>	201,65	±23,90	170,80	±8,77	412,84	±6,79	365,49	±13,01
<b>45</b>	215,90	±3,89	174,27	±2,73	492,03	±30,01	407,56	±8,27
<b>60</b>	218,71	±24,40	154,61	±8,20	498,18	±21,78	417,13	±14,14
<b>90</b>	278,37	±12,68	189,46	±23,70	485,65	±18,60	479,63	±28,64

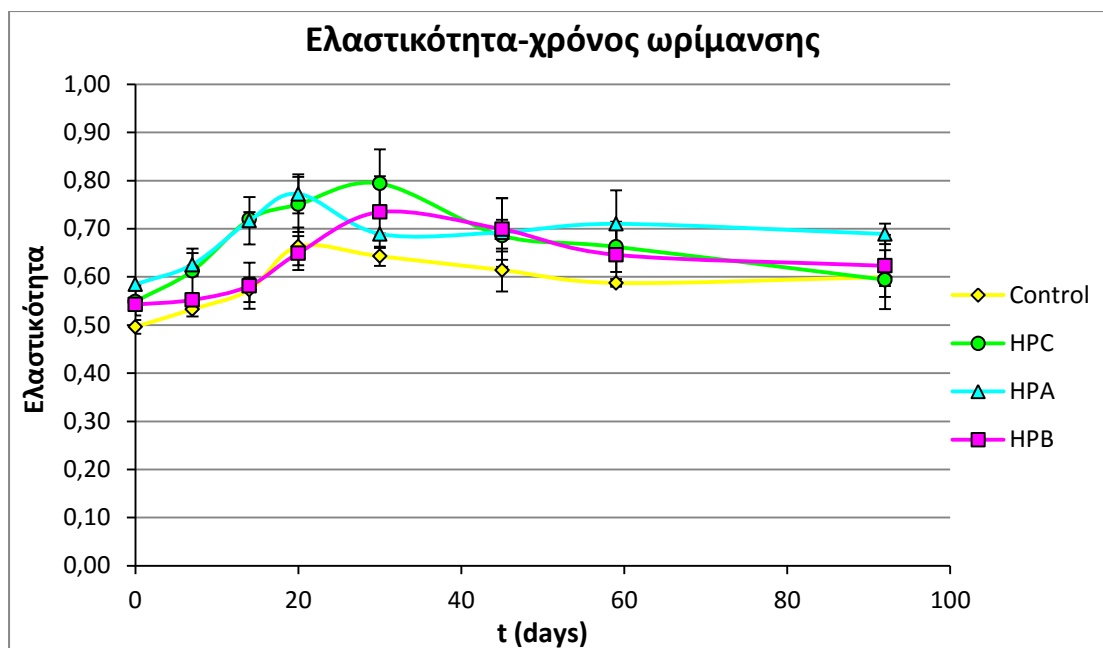


**Διάγραμμα 5.9.2 Μεταβολή της προσκολλησιμότητας συναρτήσει του χρόνου ωρίμανσης για όλα τα δείγματα λευκού τυριού τύπου Φέτας.**

Σύμφωνα με το παραπάνω διάγραμμα, η προσκολλησιμότητα φαίνεται να αυξάνεται με το χρόνο ωρίμανσης σε όλα τα δείγματα. Όπως στην περίπτωση της σκληρότητας, έτσι κι εδώ τις υψηλότερες τιμές παρουσιάζει το δείγμα HPA. Ακολουθούν κατά φθίνουσα σειρά τα δείγματα HPB, Control και HPC. Πιο συγκεκριμένα στην περίπτωση του επεξεργασμένου με ΥΠ λευκού τυριού υπάρχει αύξηση έως τις είκοσι μέρες ωρίμανσης, σταθεροποίηση έως τις εξήντα και πάλι αύξηση έως το τέλος της ωρίμανσης. Παρόμοια συμπεριφορά εμφανίζει και το Control. Στο δείγμα HPA, η προσκολλησιμότητα αυξάνεται τις πρώτες 14 ημέρες ωρίμανσης, σταθεροποιείται έως τις 32 και στη συνέχεια αυξάνεται έως τις 45 όπου λαμβάνει και την τελική τιμή της. Τέλος, στο δείγμα με την επεξεργασμένη καλλιέργεια (HPB) παρατηρείται μια συνεχή αύξηση καθ' όλη τη διάρκεια της ωρίμανσης.

**Πίνακας 5.9.3 Δεδομένα ελαστικότητας για τα τέσσερα δείγματα λευκού τυριού τύπου Φέτας κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης.**

t(days)	Control		HPC		HPA		HPB	
	Ελαστικότητα	stdev	Σκληρότητα	stdev	Σκληρότητα	stdev	Σκληρότητα	stdev
0	0,496	±0,014	0,549	±0,029	0,585	±0,002	0,543	±0,012
7	0,533	±0,015	0,613	±0,046	0,625	±0,024	0,552	±0,001
14	0,573	±0,026	0,719	±0,015	0,717	±0,049	0,581	±0,048
21	0,663	±0,039	0,751	±0,057	0,772	±0,041	0,649	±0,035
32	0,643	±0,020	0,794	±0,071	0,689	±0,001	0,735	±0,074
45	0,614	±0,044	0,685	±0,033	0,692	±0,071	0,699	±0,064
60	0,587	±0,008	0,662	±0,052	0,710	±0,069	0,646	±0,063
90	0,600	±0,018	0,594	±0,061	0,689	±0,021	0,623	±0,065

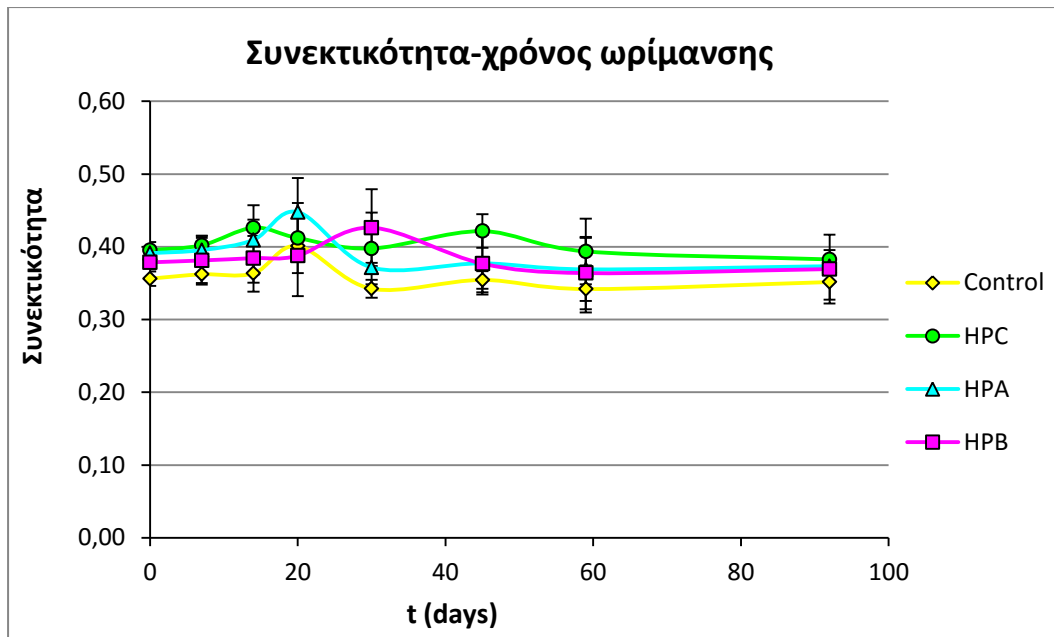


**Διάγραμμα 5.9.3 Μεταβολή της ελαστικότητας συναρτήσει του χρόνου ωρίμανσης για όλα τα δείγματα λευκού τυριού τύπου Φέτας.**

Στο διάγραμμα ελαστικότητας υπάρχει μια σχετική αύξηση για όλα τα δείγματα έως τις 30 ημέρες ωρίμανσης, ενώ στη συνέχεια οι τιμές της ελαστικότητας φαίνεται να σταθεροποιούνται για όλα τα δείγματα. Ακόμη, δεν εμφανίστηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων.

**Πίνακας 5.9.4 Δεδομένα συνεκτικότητας για τα τέσσερα δείγματα λευκού τυριού τύπου Φέτας κατά τη διάρκεια ωρίμανσης.**

t(days)	Control		HPC		HPA		HPB	
	Συνεκτικότητα	stdev	Συνεκτικότητα	stdev	Συνεκτικότητα	stdev	Συνεκτικότητα	stdev
0	0,356	±0,010	0,395	±0,003	0,391	±0,015	0,379	±0,009
7	0,362	±0,014	0,402	±0,013	0,395	±0,020	0,381	±0,031
14	0,363	±0,013	0,426	±0,011	0,410	±0,047	0,384	±0,046
21	0,401	±0,017	0,412	±0,048	0,448	±0,047	0,388	±0,055
32	0,342	±0,012	0,398	±0,049	0,372	±0,006	0,426	±0,053
45	0,354	±0,012	0,422	±0,023	0,377	±0,043	0,377	±0,039
60	0,342	±0,032	0,394	±0,045	0,369	±0,043	0,364	±0,050
90	0,352	±0,024	0,383	±0,013	0,373	±0,005	0,369	±0,047



**Διάγραμμα 5.9.4 Μεταβολή της συνεκτικότητας συναρτήσει του χρόνου ωρίμανσης για όλα τα δείγματα λευκού τυριού τύπου Φέτας.**

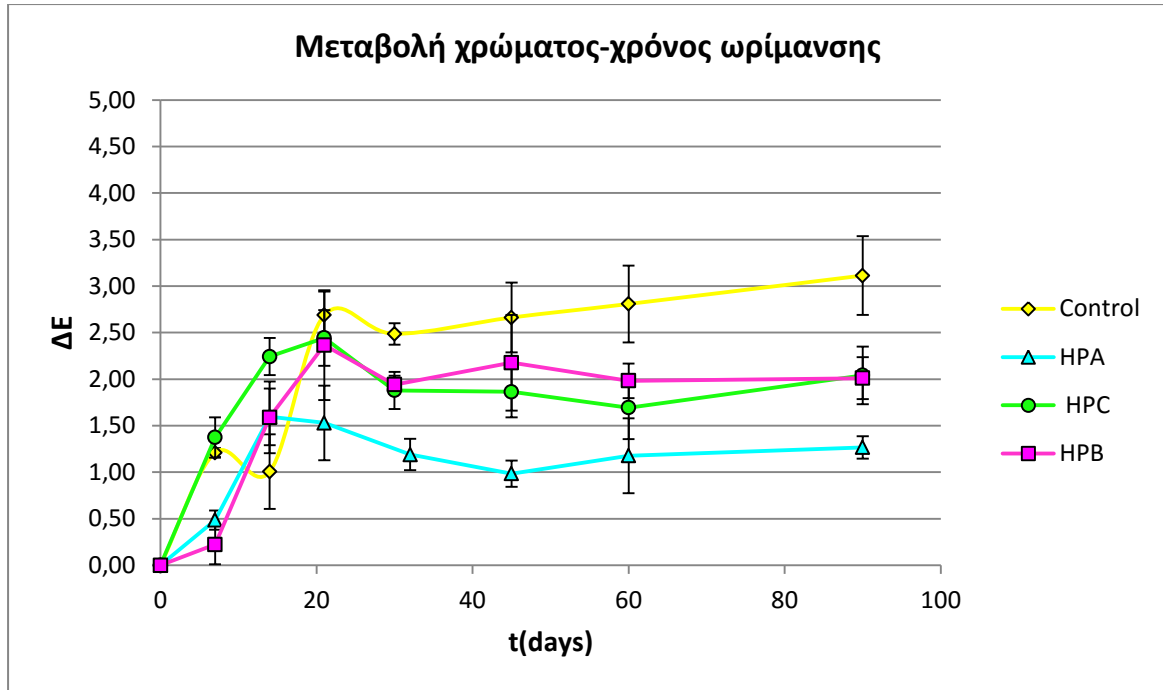
Η συνεκτικότητα δε φάνηκε να επηρεάζεται σημαντικά από το χρόνο ωρίμανσης (σε κάθε δείγμα χωριστά), όπως σημαντικές δεν ήταν και οι διαφορές μεταξύ των δειγμάτων λευκού τυριού τύπου Φέτας.

### 5.10 Χρώμα

Τα δεδομένα που ελήφθησαν από το χρωματόμετρο επεξεργάστηκαν και μέσω αυτών υπολογίστηκε η ολική μεταβολή χρώματος ( $\Delta E$ ) των δειγμάτων. Κρίνεται ωστόσο σκόπιμη η παρουσίαση όλων των παραμέτρων που μετρήθηκαν.

**Πίνακας 5.10.1 Δεδομένα συνολικής μεταβολής χρώματος  $\Delta E$  κατά την ωρίμανση για τα τέσσερα δείγματα λευκού τυριού τύπου Φέτας.**

t(days)	Control		HPC		HPA		HPB	
	$\Delta E$	stdev	$\Delta E$	stdev	$\Delta E$	stdev	$\Delta E$	Stdev
0	0,00	±0,00	0,00	±0,00	0,00	±0,00	0,00	±0,00
7	1,21	±0,05	1,37	±0,22	0,49	±0,10	0,22	±0,21
14	1,01	±0,40	2,24	±0,20	1,60	±0,30	1,59	±0,38
21	2,69	±0,25	2,44	±0,30	1,53	±0,40	2,37	±0,59
30	2,49	±0,12	1,88	±0,20	1,19	±0,17	1,94	±0,09
45	2,66	±0,37	1,86	±0,27	0,98	±0,14	2,18	±0,51
60	2,81	±0,41	1,69	±0,34	1,18	±0,40	1,98	±0,19
90	3,11	±0,42	2,04	±0,31	1,27	±0,12	2,01	±0,22



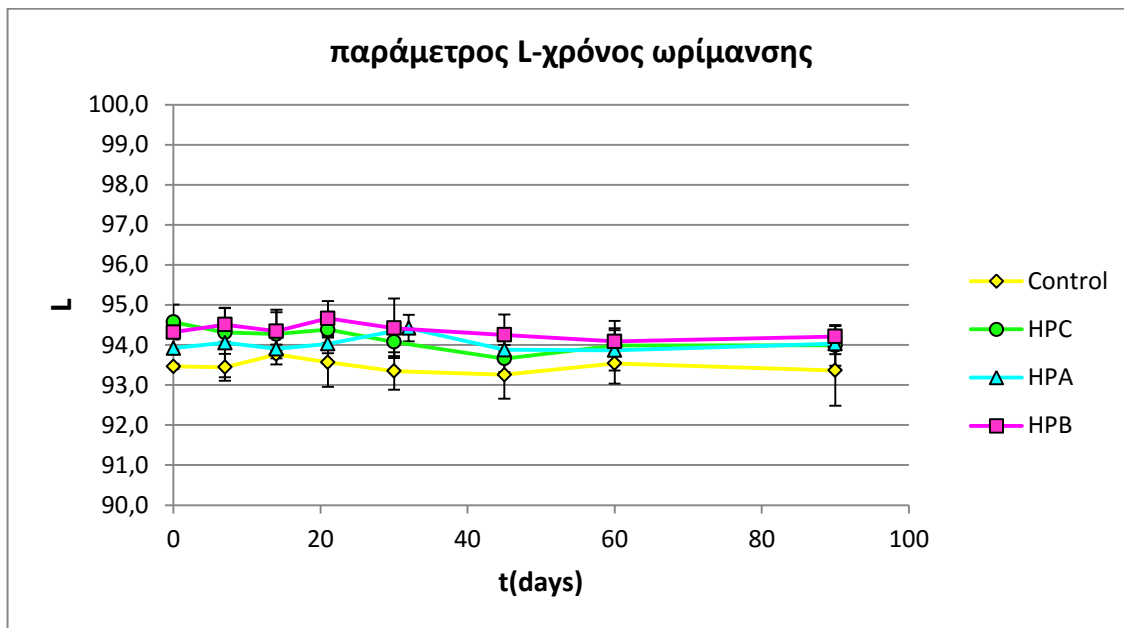
**Διάγραμμα 5.10.1 Μεταβολή χρώματος ΔΕ των δειγμάτων λευκού τυριού “Φέτας” με το χρόνο ωρίμανσης.**

Με βάση το παραπάνω διάγραμμα, το δείγμα που εμφανίζει την εντονότερη μεταβολή χρώματος είναι το Control, με τη μεγαλύτερη διαφορά του από τα υπόλοιπα δείγματα να εμφανίζεται στο τέλος της ωρίμανσης (t=90 days). Το δείγμα με τη μικρότερη μεταβολή στο χρώμα του είναι το HPA, ενώ τα δείγματα HPC και HPB κυμαίνονται σε ενδιάμεσες τιμές μεταβολής χρώματος χωρίς να εμφανίζουν ιδιαίτερες διαφορές μεταξύ τους. Για αναλυτικότερη εκτίμηση του χρώματος κρίνεται αναγκαία και η παράθεση των διαγραμμάτων των παραμέτρων L, a, b από τα οποία προκύπτει και η συνολική μεταβολή χρώματος.

**Πίνακας 5.10.2 Δεδομένα της παραμέτρου L για όλα τα δείγματα λευκού τυριού τύπου Φέτας κατά την ωρίμανση.**

t(days)	Control		HPC		HPA		HPB	
	L	stdev	L	stdev	L	stdev	L	stdev
0	93,47	±0,06	94,57	±0,44	93,92	±0,03	94,32	±0,18
7	93,44	±0,34	94,31	±0,34	94,06	±0,86	94,51	±0,42
14	93,76	±0,25	94,27	±0,61	93,90	±0,04	94,35	±0,47
21	93,57	±0,61	94,38	±0,34	94,03	±0,23	94,66	±0,44
30	93,35	±0,47	94,08	±0,35	94,42	±0,33	94,42	±0,74
45	93,26	±0,60	93,66	±0,34	93,88	±0,24	94,25	±0,51
60	93,54	±0,51	93,99	±0,43	93,87	±0,50	94,09	±0,51
90	93,37	±0,88	93,99	±0,51	94,03	±0,27	94,21	±0,26



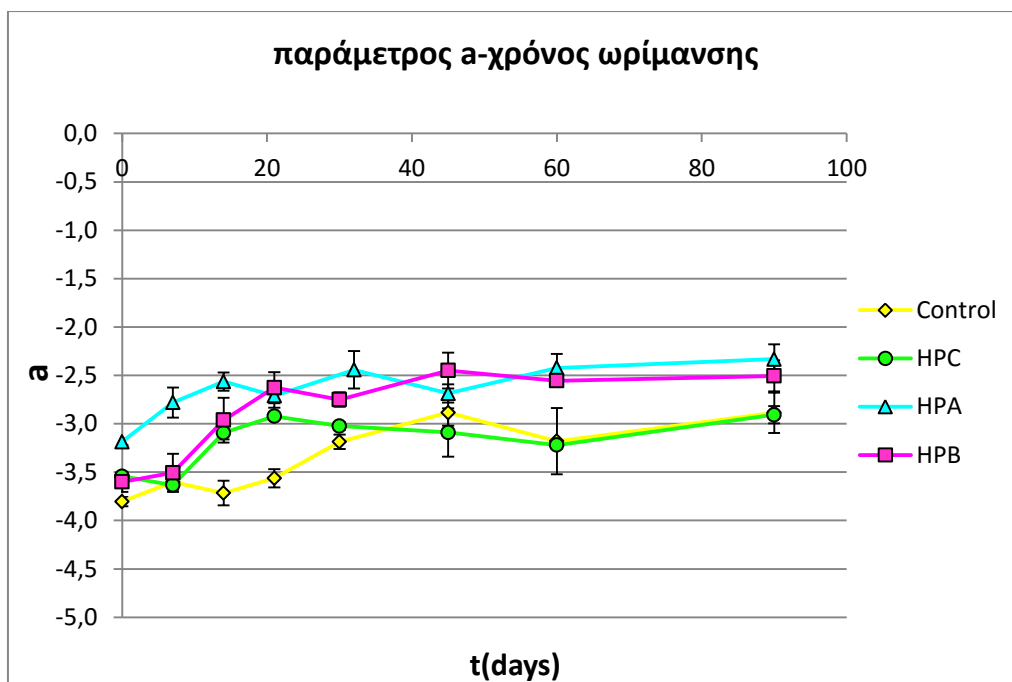


**Διάγραμμα 5.10.2** Μεταβολή της παραμέτρου  $L$  συναρτήσει του χρόνου ωρίμανσης για όλα τα δείγματα λευκού τυριού “Φέτας”.

Το μέγεθος  $L$  εκφράζει τη φωτεινότητα του χρώματος. Όσο υψηλότερες είναι οι τιμές του μεγέθους (όσο τείνει στο 100), τόσο πιο λευκό το δείγμα. Με βάση το παραπάνω διάγραμμα, τα δείγματα που έχουν επεξεργαστεί με την μέθοδο της υψηλής πίεσης κυμαίνονται σε παρόμοιες τιμές, υψηλότερες από εκείνες του δείγματος αναφοράς. Αυτό δείχνει ότι, τα τρία πρώτα δείγματα εμφανίζονται πιο λευκά από το control. Τέλος, δεν παρατηρείται κάποια σημαντική μεταβολή σε κανένα από τα δείγματα όσο προχωράει η ωρίμανση.

**Πίνακας 5.10.3** Δεδομένα της παραμέτρου  $a$  για όλα τα δείγματα λευκού τυριού τύπου Φέτας κατά την ωρίμανση.

$t(days)$	<i>Control</i>		<i>HPC</i>		<i>HPA</i>		<i>HPB</i>	
	$a$	$stdev$	$a$	$stdev$	$a$	$stdev$	$a$	$stdev$
<b>0</b>	-3,81	±0,05	-3,54	±0,03	-3,19	±0,04	-3,60	±0,11
<b>7</b>	-3,60	±0,08	-3,63	±0,06	-2,78	±0,16	-3,51	±0,20
<b>14</b>	-3,72	±0,13	-3,09	±0,07	-2,56	±0,09	-2,96	±0,23
<b>21</b>	-3,56	±0,09	-2,92	±0,02	-2,71	±0,12	-2,63	±0,16
<b>30</b>	-3,19	±0,07	-3,02	±0,04	-2,44	±0,19	-2,75	±0,08
<b>45</b>	-2,89	±0,13	-3,09	±0,25	-2,69	±0,10	-2,45	±0,19
<b>60</b>	-3,18	±0,34	-3,22	±0,04	-2,42	±0,14	-2,56	±0,05
<b>90</b>	-2,89	±0,21	-2,91	±0,09	-2,33	±0,15	-2,51	±0,16

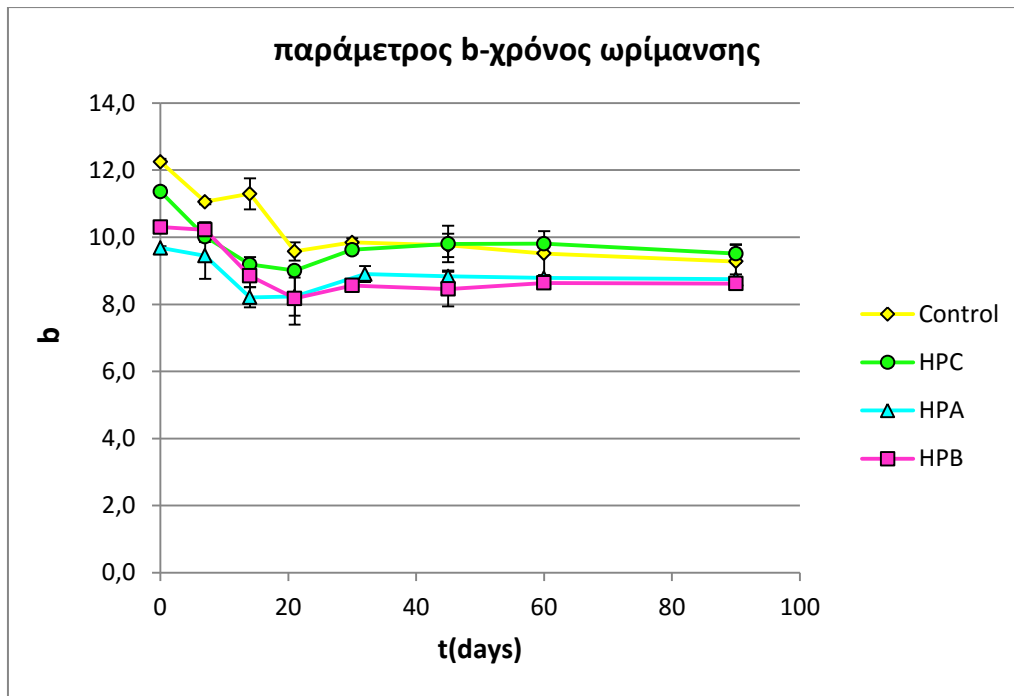


**Διάγραμμα 5.10.3** Μεταβολή της παραμέτρου  $\alpha$  συναρτήσει του χρόνου ωρίμανσης για όλα τα δείγματα λευκού τυριού “Φέτας”.

Σύμφωνα με το διάγραμμα μεταβολής της παραμέτρου  $\alpha$  παρατηρείται αρχική αύξηση και επακόλουθη σταθεροποίηση της παραμέτρου για όλα τα δείγματα έως το τέλος της ωρίμανσης. Η αύξηση αυτή υποδεικνύει μεταβολή του χρώματος του τυριού προς το κόκκινο. Η παράμετρος αυτή, όπως προειπώθηκε συμβάλλει στη γενικότερη μεταβολή των χρώματος των δειγμάτων.

**Πίνακας 5.10.4** Δεδομένα της παραμέτρου  $b$  για όλα τα δείγματα λευκού τυριού τύπου Φέτας κατά την ωρίμανση.

<i>t(days)</i>	<i>Control</i>		<i>HPC</i>		<i>HPA</i>		<i>HPB</i>	
	<i>b</i>	<i>stdev</i>	<i>b</i>	<i>stdev</i>	<i>b</i>	<i>stdev</i>	<i>b</i>	<i>stdev</i>
<b>0</b>	12,25	±0,08	11,36	±0,11	9,68	±0,06	10,30	±0,16
<b>7</b>	11,06	±0,08	10,02	±0,16	9,45	±0,69	10,22	±0,22
<b>14</b>	11,29	±0,47	9,19	±0,22	8,21	±0,30	8,85	±0,33
<b>21</b>	9,58	±0,27	9,01	±0,06	8,23	±0,57	8,17	±0,78
<b>30</b>	9,84	±0,13	9,63	±0,13	8,90	±0,24	8,56	±0,12
<b>45</b>	9,76	±0,35	9,80	±0,54	8,83	±0,18	8,46	±0,52
<b>60</b>	9,51	±0,67	9,81	±0,03	8,78	±0,09	8,64	±0,15
<b>90</b>	9,28	±0,49	9,51	±0,28	8,75	±0,14	8,62	±0,19



**Διάγραμμα 5.10.4 Μεταβολή της παραμέτρου  $b$  συναρτήσει του χρόνου ωρίμανσης για όλα τα δείγματα λευκού τυριού τύπου Φέτας.**

Οι θετικές τιμές της παραμέτρου αυτής υποδεικνύουν το κίτρινο χρώμα και συγκεκριμένα όσο υψηλότερες τόσο πιο έντονο το χρώμα αυτό στο τυρί. Με βάση το παραπάνω διάγραμμα, τα δείγματα Control και HPC εμφανίζονται πιο κίτρινα (υψηλότερες τιμές) από τα HPB και HPA. Η γενικότερη τάση όλων των δειγμάτων, ωστόσο, είναι πτωτική έως τις 21 ημέρες και σταθεροποίηση της παραμέτρου έως το τέλος της ωρίμανσης.

### 5.11 Οργανοληπτικός Έλεγχος

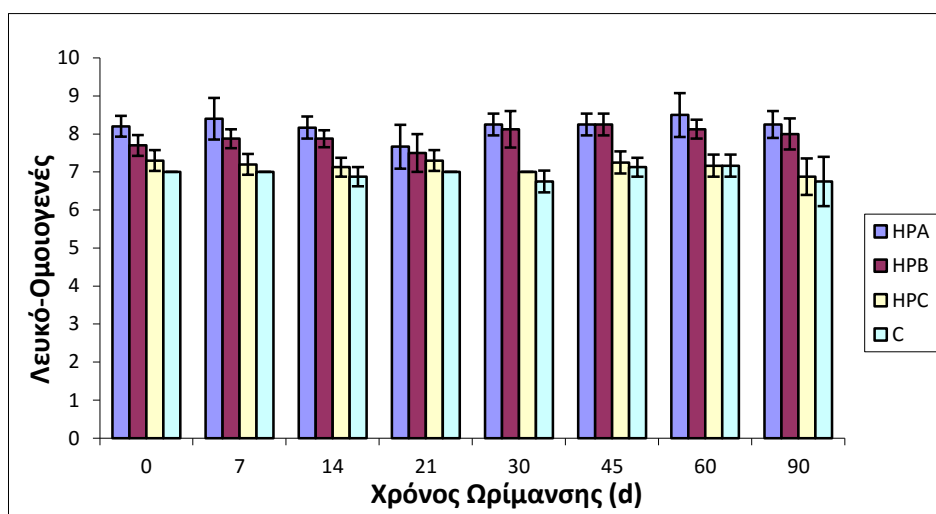
Τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τον οργανοληπτικό έλεγχο παρουσιάζονται σχηματικά για την καλύτερη κατανόησή τους. Η βαθμολογία κυμαίνεται από 1-9 μονάδες.

#### Ένταση χαρακτηριστικών

##### Λευκό ομοιογενές

Κατά τον οργανοληπτικό έλεγχο των δειγμάτων τυριού που πραγματοποιήθηκε, τα δείγματα βαθμολογήθηκαν ως προς την ένταση των εξής χαρακτηριστικών : χρώμα (λευκό ομοιογενές), σκληρότητα, γεύση (αλμυρή, όξινη, πικρή), δομή (μικρές τομές, εύθρυπτη), καθώς και ως προς την αρέσκεια όσον αφορά την εμφάνιση (εμφάνισης - χρώματος), τη δομή του (υφή - δομή) και το flavor (γεύση- οσμή).

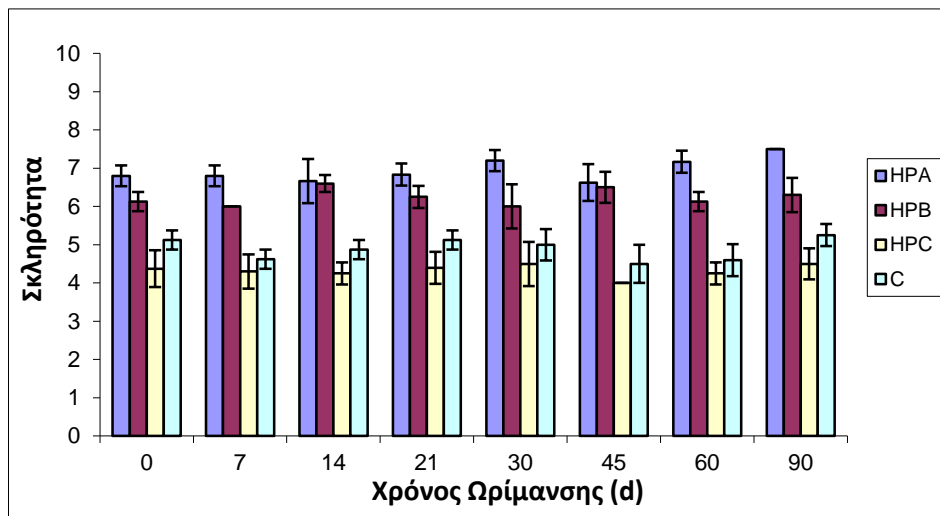
Στα διαγράμματα 5.11.1 έως 5.11.7 παρουσιάζονται οι βαθμολογίες των τεσσάρων δειγμάτων ως προς την ένταση των προαναφερόμενων χαρακτηριστικών κατά τη διάρκεια της ωρίμανσής τους.



**Διάγραμμα 5.11.1 : Ένταση Χρώματος (Λευκό – Ομοιογενές) των δειγμάτων λευκού τυριού “Φέτας” συναρτήσει του χρόνου ωρίμανσης.**

Το πάνελ του οργανοληπτικού ελέγχου, βρήκε πιο λευκό το δείγμα HPA, και ακολουθεί το HPB. Μικρότερη βαθμολογία δόθηκε στο δείγμα HPC, ενώ τη χαμηλότερη έλαβε το δείγμα control. Ωστόσο, λαμβάνοντας υπόψη τα σφάλματα, μπορεί να εξαχθεί με ασφάλεια μόνο το συμπέρασμα, ότι τα δείγματα HPA και HPB ήταν πιο λευκά σε σχέση με τα HPC και Control. Τα αποτελέσματα υποβλήθηκαν σε ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) και βρέθηκε ότι υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων ( $p < 0,05$ ) (Παράρτημα II), στην περίπτωση του λευκού ομοιογενούς χρώματος. Ακόμη βρέθηκαν μη σημαντικές μεταβολές του χαρακτηριστικού αυτού με το χρόνο ωρίμανσης ( $p > 0,05$ ). Τέλος, πρέπει να τονισθεί ότι οι βαθμολογίες και των τεσσάρων δειγμάτων ήταν σχετικά υψηλές, αφού ελάχιστες ήταν οι βαθμολογίες κάτω του 7.

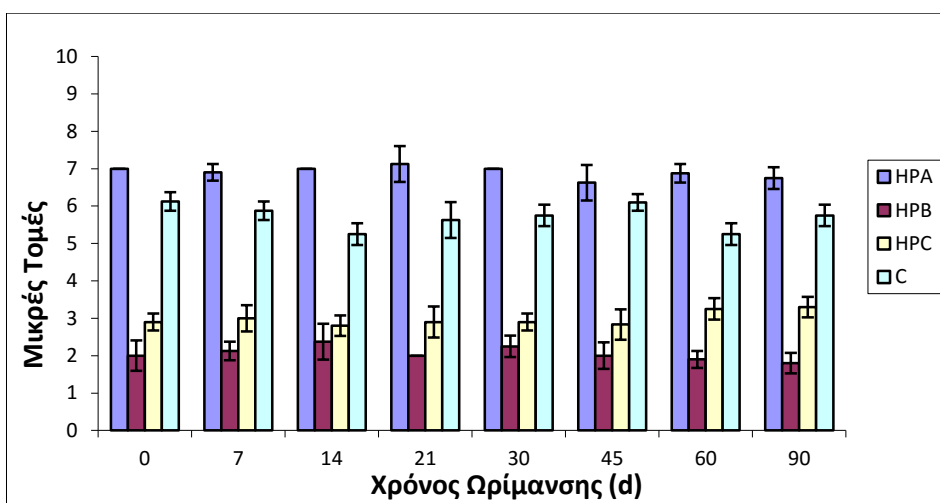
## Σκληρότητα



**Διάγραμμα 5.11.2 : Μεταβολή της σκληρότητας των δειγμάτων λευκού τυριού τύπου Φέτας συναρτήσει του χρόνου ωρίμανσης.**

Ένα από τα πιο σημαντικά χαρακτηριστικά της Φέτας και γενικότερα των τυριών, είναι η σκληρότητα, η οποία αποτελεί και κριτήριο διαχωρισμού αυτών (μαλακά, ημίσκληρα, σκληρά, πολύ σκληρά). Όπως και στην περίπτωση του χρώματος, έτσι και στη σκληρότητα, τις υψηλότερες βαθμολογίες παρουσιάζουν τα HRA και HPB. Πιο συγκεκριμένα, το HRA εμφανίζεται πιο σκληρό, ακολουθεί με μικρή διαφορά στη βαθμολογία το HPB, ενώ τα δείγματα Control και HPC έχουν αρκετά μικρότερο σκορ, με το HPC να εμφανίζει τις μικρότερες τιμές σκληρότητας. Οι διαφορές στη σκληρότητα μεταξύ των δειγμάτων προέκυψαν στατιστικά σημαντικές ( $p < 0,05$ ) (Παράρτημα II) με βάση την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) στην οποία υποβλήθηκαν τα αποτελέσματα.

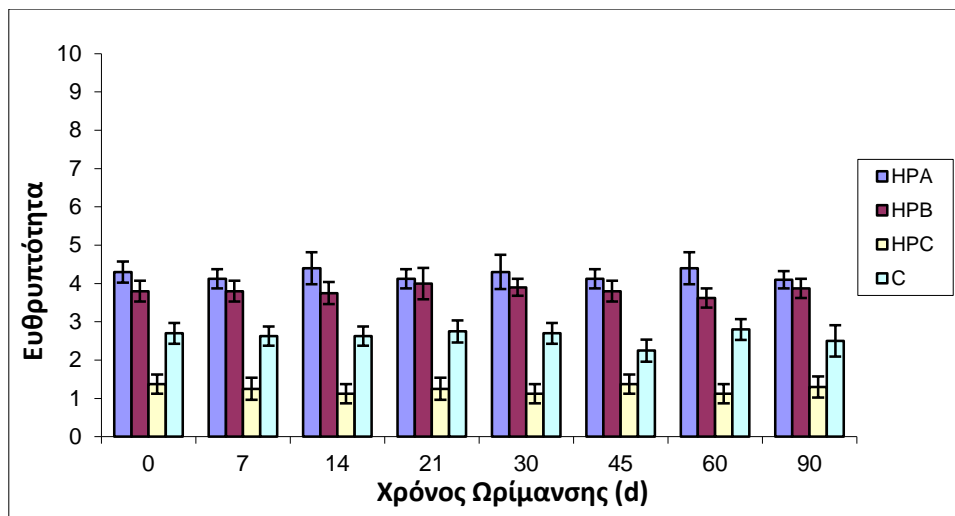
## Μικρές χαρακτηριστικές τομές



**Διάγραμμα 5.11.3 : Μεταβολή της δομής (Μικρές Τομές) δειγμάτων λευκού τυριού τύπου Φέτας συναρτήσει του χρόνου ωρίμανσης.**

Με βάση τον οργανοληπτικό έλεγχο που πραγματοποιήθηκε, το τυρί με τις πιο έντονες χαρακτηριστικές τομές βρέθηκε ότι είναι η ΗΡΑ, ενώ ακολουθεί η Φέτα Control. Τα δείγματα ΗΡΒ εμφανίστηκαν με την πιο ενιαία δομή και με ελάχιστες τομές, λιγότερες και από τα δείγματα επεξεργασμένου τυριού που έπονται των Control δειγμάτων. Οι διαφορές στη βαθμολογία των δύο δειγμάτων με τις περισσότερες τομές από εκείνα με την πιο ενιαία δομή είναι αρκετά εμφανείς. Οι διαφορές στη δομή μεταξύ των δειγμάτων προέκυψαν στατιστικά σημαντικές ( $p < 0,05$ ) με βάση την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) που πραγματοποιήθηκε (Παράρτημα II).

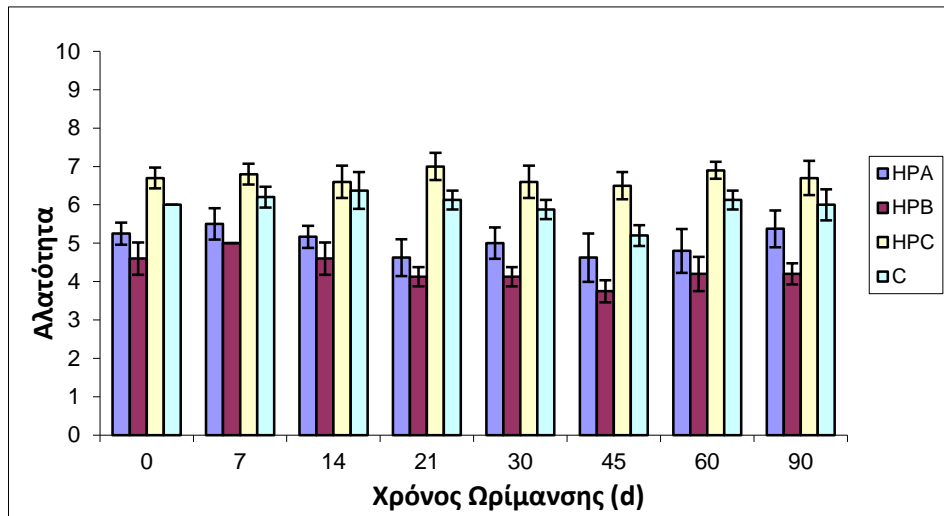
### Ευθρυπτότητα



**Διάγραμμα 5.11.4 : Μεταβολή της ευθρυπτότητας των δειγμάτων λευκού τυριού τύπου Φέτας συναρτήσει του χρόνου ωρίμανσης.**

Τα δείγματα ΗΡΑ και ΗΡΒ που βρέθηκαν πιο σκληρά, βαθμολογήθηκαν και με τις υψηλότερες τιμές ευθρυπτότητας. Πρέπει να τονιστεί, φυσικά, ότι οι τιμές αυτές είναι τόσο χαμηλές (4-5) που δεν οδηγούν σε ανεπιθύμητα αποτελέσματα στη δομή του δείγματος ή κατά τον τεμαχισμό και τη μάζηση. Τα δείγματα Control κυμαίνονται σε χαμηλότερες βαθμολογίες ενώ οι χαμηλότερες εμφανίζονται για τα δείγματα επεξεργασμένου με ΥΠ τυριού. Με βάση την στατιστική επεξεργασία (ANOVA) που πραγματοποιήθηκε στα αποτελέσματα για την ευθρυπτότητα, προέκυψαν αρκετά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων ( $p < 0,05$ ). Αντίθετα, δεν προέκυψαν και σε αυτήν την περίπτωση, σημαντικές διαφορές της ευθρυπτότητα με το χρόνο ωρίμανσης ( $p > 0,05$ ) (Παράρτημα II).

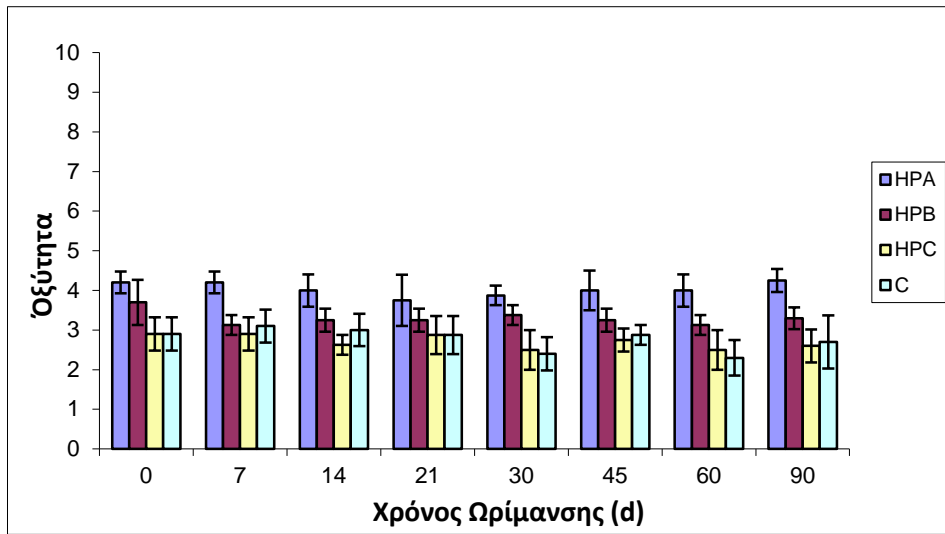
**Ένταση Γεύσης : Αλατότητα**



**Διάγραμμα 5.11.5 : Μεταβολή στην Αλατότητα των δειγμάτων λευκού τυριού “Φέτας” συναρτήσει του χρόνου ωρίμανσης.**

Σύμφωνα με το Διάγραμμα 5.10.5, τα δείγματα που εμφανίζονται πιο αλμυρά είναι το επεξεργασμένο με ΥΠ τυρί και αμέσως μετά ακολουθούν τα δείγματα Control. Μικρότερη βαθμολογία, έδωσε το πάνελ, στα δείγματα με την επεξεργασμένη καλλιέργεια (HPB), και ελαφρώς μεγαλύτερη αυτής στα δείγματα HPA. Και σε αυτήν την περίπτωση, τα δείγματα HPC και Control κυμαίνονται σε πιο κοντινές τιμές, όπως και τα HPA και HPB μεταξύ τους. Όπως προειπώθηκε και στην αντικειμενική αλατότητα, η υψηλότερη αλατότητα στα δείγματα HPC και Control (κατά τις πρώτες ημέρες ωρίμανσης) οφείλονται εν μέρει στην υψηλή περιεκτικότητα σε υγρασία. Σύμφωνα με τη στατιστική επεξεργασία της βαθμολογίας που έδωσε το πάνελ οργανοληπτικού ελέγχου, οι διαφορές μεταξύ των δειγμάτων όσον αφορά την ένταση της αλμυρής γεύσης είναι στατιστικά σημαντικές ( $p < 0,05$ ). Στην ανάλυση που πραγματοποιήθηκε βρέθηκαν ακόμη σημαντικές διαφορές του συγκεκριμένου χαρακτηριστικού ως προς το χρόνο ωρίμανσης ( $p < 0,05$ ) (Παράρτημα II).

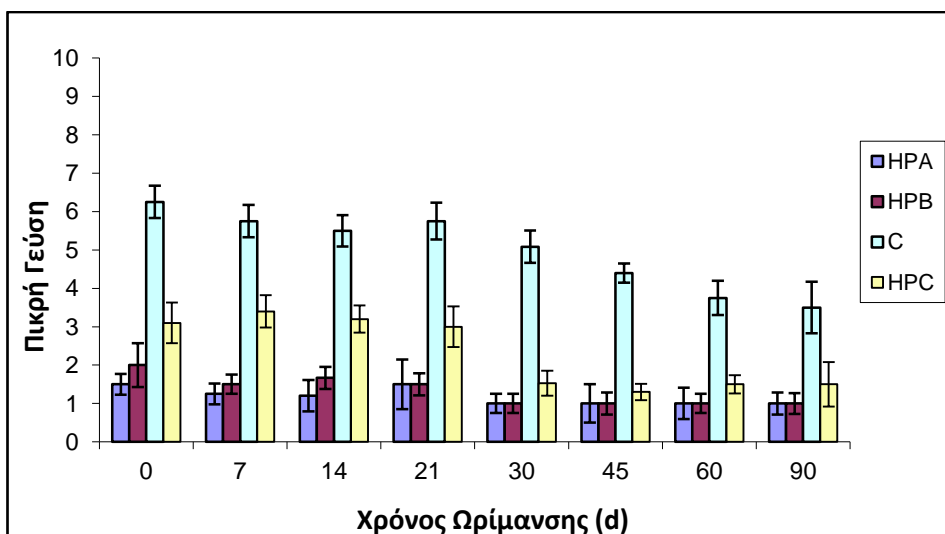
Ένταση Γεύσης : Οξύτητα



**Διάγραμμα 5.11.6 : Μεταβολή στην Οξύτητα των δειγμάτων λευκού τυριού τύπου Φέτας συναρτήσει του χρόνου ωρίμανσης.**

Γενικό χαρακτηριστικό της οξύτητας είναι οι χαμηλές τιμές σε όλα τα δείγματα. Ωστόσο συγκριτικά, περισσότερο όξινη εμφανίζεται το δείγμα HPA, και ακολουθεί το δείγμα HPB. Λαμβάνοντας υπόψη τα σφάλματα, οι διαφορές μεταξύ των άλλων δύο δειγμάτων είναι ελάχιστες. Υπάρχει μικρή τάση του δείγματος Control για υψηλότερες τιμές μεταξύ των δύο. Γενικά, οι διαφορές μεταξύ των δειγμάτων ως προς την οξύτητα είναι στατιστικά σημαντικές ( $p < 0,05$ ), με βάση την ανάλυση διακύμανσης που πραγματοποιήθηκε. Στατιστικά σημαντικές ( $p < 0,05$ ) προέκυψαν και οι διαφορές του χαρακτηριστικού αυτού με το χρόνο (Παράρτημα II).

Ένταση Γεύσης : Πικρή



**Διάγραμμα 5.11.7 : Μεταβολή της Πικρής Γεύσης των δειγμάτων λευκού τυριού “Φέτας” συναρτήσει του χρόνου ωρίμανσης.**



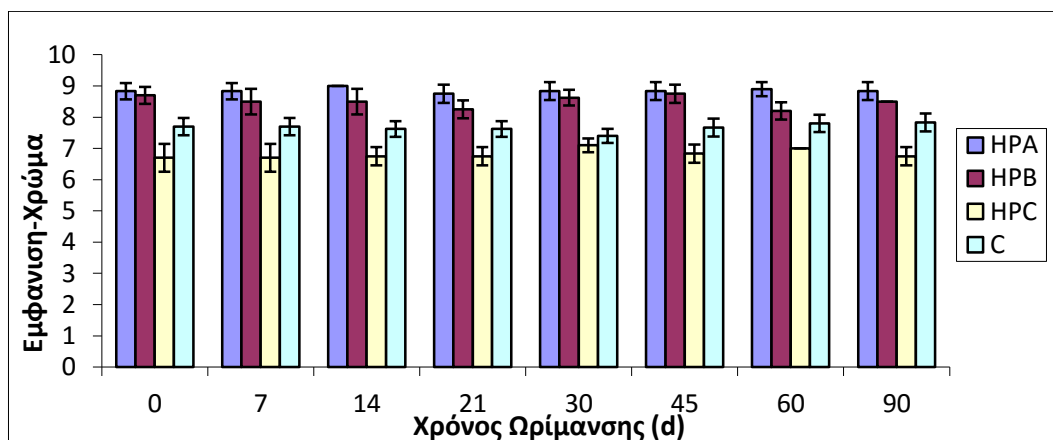
Με βάση το παραπάνω διάγραμμα, υπάρχει αρκετά μεγάλη διαφορά στο χαρακτηριστικό αυτό μεταξύ των δειγμάτων. Η πικρή γεύση μειώνεται σταδιακά συναρτήσει του χρόνου ωρίμανσης. Οι τιμές του δείγματος control κυμαίνονται από 6,5 έως 4,5, ενώ των δειγμάτων HPA και HPB από 2 έως 1. Με βάση την ανάλυση δεδομένων (ANOVA) που πραγματοποιήθηκε, υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των τεσσάρων δειγμάτων ως προς το χαρακτηριστικό της πικρής γεύσης ( $p < 0,05$ ). Συγκεκριμένα, στον πίνακα (Παράρτημα II) που προκύπτει από την ανάλυση διακύμανσης δύο παραμέτρων χωρίς αλληλεπίδραση, φαίνεται καθαρά και η σταδιακή μείωση της πικρής γεύσης με το χρόνο, αλλά και η αύξησή της με την εξής σειρά : HPA < HPB < HPC < Control.

Η ύπαρξη της πικρής γεύσης στα Control δείγματα, οφείλεται όπως αναλύθηκε σε προηγούμενο κεφάλαιο στην παραγωγή των bitter peptides, είτε λόγω έλλειψης πρωτεϊνικών των βακτηρίων της αρχικής καλλιέργειας, οι οποίες αποικοδομούν περαιτέρω τα πεπτίδια αυτά, είτε λόγω υπερβολικής παραγωγής τους από τις πρωτεάσες της πυτιάς, ή συνδυασμός των δύο. Στα δείγματα με τις επεξεργασμένες καλλιέργειες, ενεργοποιούνται ένζυμα που συμβάλλουν στην αποικοδόμησή τους με αποτέλεσμα τη μείωση της πικρής γεύσης. Σύμφωνα με του Casal & Gomez (1999), η επεξεργασία της καλλιέργειας με ΥΠ αυξάνει την υδρολυτική ικανότητα των λακτόκοκκων και λακτοβάκιλλων στο καρβοξυλικό άκρο της β-καζεΐνης, το οποίο συμβάλλει στην πρόσδοση πικρής γεύσης στο τυρί, ενώ η δραστηριότητα των αμινοπεπτιδασών και διπεπτιδασών βρέθηκε να μην επηρεάζεται ιδιαίτερα από την επεξεργασία.

### Γενική Εντύπωση - Αρέσκεια

#### **Εμφάνιση - Χρώμα**

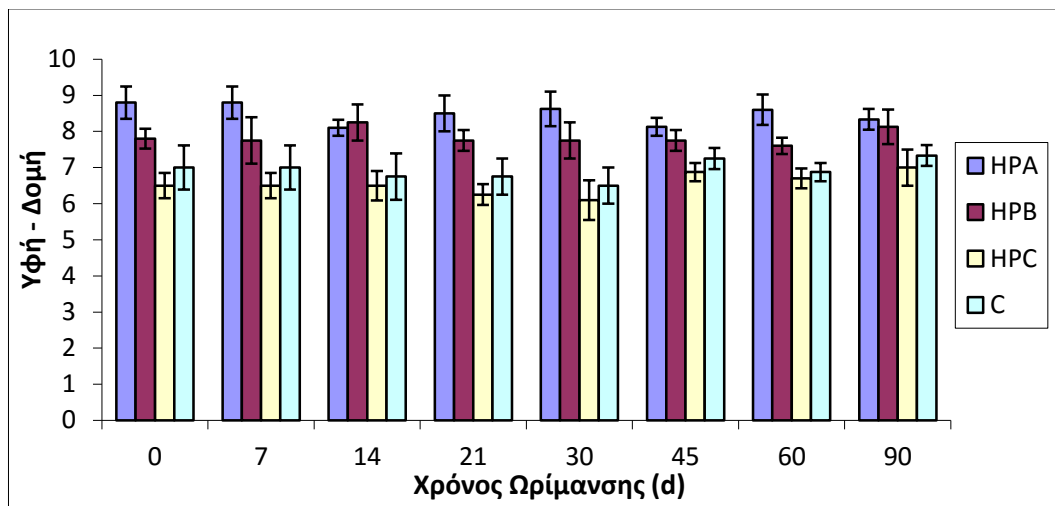
Στη συνέχεια (Διαγράμματα 5.11.8 έως 5.11.12) παρουσιάζονται τα διαγράμματα του οργανοληπτικού ελέγχου που πραγματοποιήθηκε με βάση την αρέσκεια και τη γενική εντύπωση του πάνελ δοκιμαστών για τα τέσσερα λευκά τυριά τύπου “Φέτας”.



**Διάγραμμα 5.11.8 : Μεταβολή Εμφάνισης – Χρώματος των δειγμάτων λευκού τυριού τύπου Φέτας συναρτήσει του χρόνου ωρίμανσης.**

Πραγματοποιήθηκε έλεγχος της εξωτερικής εμφάνισης και του χρώματος των δειγμάτων τυριού. Σύμφωνα με το πάνελ, τα δείγματα με την καλύτερη εμφάνιση είναι τα ΗΡΑ και εκείνα με την εξ' ολοκλήρου επεξεργασμένη καλλιέργεια (ΗΡΒ). Τρίτο στην προτίμηση του πάνελ είναι το δείγμα Control, με μικρή διαφορά από το τελευταίο στη σειρά δείγμα, το ΗΡC. Στα αποτελέσματα πραγματοποιήθηκε Ανάλυση Δεδομένων (ANOVA) για να διαπιστωθεί αν υπάρχουν σημαντικές διαφορές τόσο μεταξύ των δειγμάτων, όσο και του χαρακτηριστικού με το χρόνο ωρίμανσης. Όσον αφορά τη σύγκριση του χρώματος μεταξύ των δειγμάτων, εντοπίστηκαν σημαντικές διαφορές ( $p < 0,05$ ). Αντιθέτως, οι μεταβολές του χρώματος και της εμφάνισης με το χρόνο ωρίμανσης δεν εμφανίστηκαν σημαντικές ( $p > 0,05$ ) (Παράρτημα II). Δηλαδή παρατηρείται μια σχετική αύξηση με το πέρασμα του χρόνου ωρίμανσης, ωστόσο δεν είναι σημαντική αυτή η ανοδική τάση.

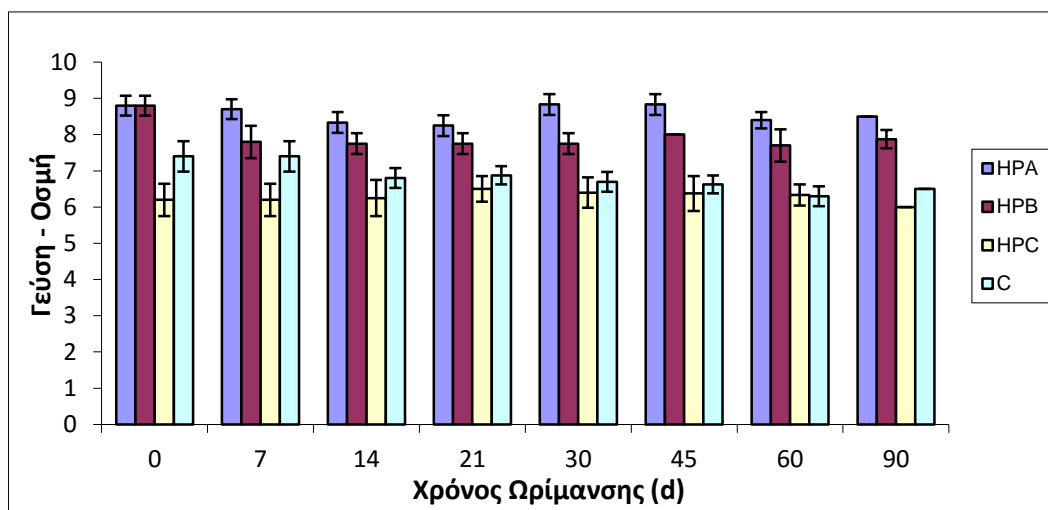
### Υφή - Δομή



**Διάγραμμα 5.11.9 : Μεταβολή Υφής – Δομής των δειγμάτων λευκού τυριού “Φέτας” συναρτήσει του χρόνου ωρίμανσης.**

Όπως και στην περίπτωση της εμφάνισης, έτσι κι εδώ, το δείγμα ΗΡΑ έλαβε ως επί το πλείστον την υψηλότερη βαθμολογία καθ' όλη τη διάρκεια του σταδίου ωρίμανσης. Ακολουθεί το δείγμα ΗΡΒ, το Control και με τη χαμηλότερη βαθμολογία τα δείγματα επεξεργασμένου με ΥΠ τυριού. Οι διαφορές μεταξύ των αποτελεσμάτων του οργανοληπτικού ελέγχου που αφορούν τη δομή και υφή των δειγμάτων εμφανίστηκαν ιδιαίτερα σημαντικές ( $p < 0,05$ ). Ωστόσο, όπως στο χρώμα έτσι κι στην περίπτωση της δομής οι διαφορές με το χρόνο ωρίμανσης του χαρακτηριστικού αυτού δεν είναι στατιστικά σημαντικές ( $p > 0,05$ ) (Παράρτημα II).

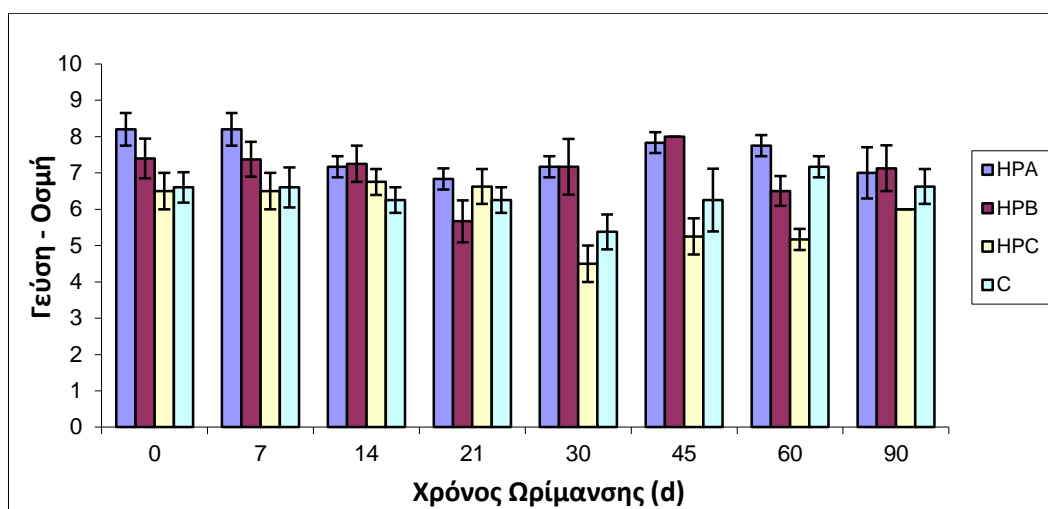
## Γεύση - Οσμή



**Διάγραμμα 5.11.10 : Μεταβολή της Γεύσης – Οσμής των δειγμάτων λευκού τυριού τύπου Φέτας συναρτήσει του χρόνου ωρίμανσης.**

Η σειρά των δειγμάτων, όσον αφορά τη γεύση και την οσμή, είναι ίδια με τις δύο προηγούμενες περιπτώσεις. Δηλαδή, υψηλότερη βαθμολογία είχαν τα δείγματα HPA, και ακολουθούν τα HPB, Control και τελευταία τα δείγματα HPC. Τα αποτελέσματα επεξεργάστηκαν με ANOVA και δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ως προς τη γεύση και την οσμή μεταξύ των δειγμάτων ( $p > 0,05$ ). Ακόμη, βρέθηκε ότι η γεύση και η οσμή, δεν μεταβλήθηκε σημαντικά με την πάροδο του χρόνου ωρίμανσης ( $p > 0,05$ ) (Παράρτημα II).

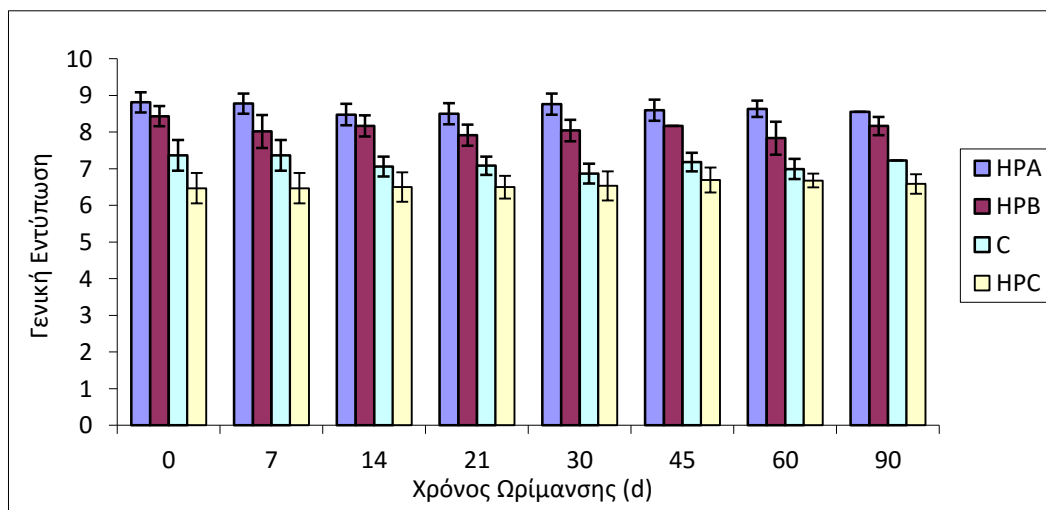
## Ευχάριστα Όξινη



**Διάγραμμα 5.11.11 : Μεταβολή ευχάριστα όξινης γεύσης των δειγμάτων λευκού τυριού τύπου Φέτας συναρτήσει του χρόνου ωρίμανσης.**

Ένα από τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά της φέτας είναι η ελαφρώς υπόξινη γεύση της. Η γενική τάση που εμφανίζουν όλα τα δείγματα, είναι μια μείωση στα μέσα της ωρίμανσης (λόγω παραγωγής αζωτούχων ενώσεων) και ξανά αύξηση προς το τέλος αυτής. Η μείωση αυτή, στα δείγματα HPA εμφανίζεται στις 21 μέρες ωρίμανσης και στα HPB στις 14 μέρες. Αντίθετα, στα δείγματα Control και HPC η μείωση αυτή παρουσιάζεται στις 30 μέρες. Προς το τέλος της ωρίμανσης, στις 60 μέρες, πιο ευχάριστα όξινη παρουσιάζεται η HPA και δεύτερα τα δείγματα Control, ενώ στις 90 μέρες, λαμβάνοντας υπόψη τα σφάλματα, τα δείγματα με τις επεξεργασμένες καλλιέργειες, HPA-HPB, θεωρήθηκαν τα πιο ευχάριστα όξινα, ενώ ακολουθούν τα δείγματα Control και τελευταία είναι τα δείγματα HPC. Η στατιστική επεξεργασία (ANOVA) των αποτελεσμάτων έδειξε σημαντικές διαφορές του χαρακτηριστικού αυτού μεταξύ των τεσσάρων δειγμάτων ( $p < 0,05$ ). Από την άλλη, η μεταβολή της ευχάριστης οξύτητας με το χρόνο ωρίμανσης δεν φαίνεται να είναι σημαντική ( $p > 0,05$ ) (Παράρτημα II).

### Γενική Εντύπωση



**Διάγραμμα 5.11.12 : Γενική Εντύπωση (Μέσος όρος του χρώματος, της υφής και της γεύσης) για τα δείγματα λευκού τυριού τύπου Φέτας συναρτήσει του χρόνου ωρίμανσης.**

Το παραπάνω διάγραμμα αποτελεί ένα μέσο όρο του χρώματος, της υφής και της γεύσης των δειγμάτων. Η κατάταξη των δειγμάτων με βάση τη γενική τους εικόνα είναι όπως και στα περισσότερα διαγράμματα η εξής : πρώτο το HPA και δεύτερο το HPB, με διαφορά από τα Control και HPC που έπονται. Οι διαφορές μεταξύ των δειγμάτων, όσον αφορά τη γενική εικόνα τους, βρέθηκαν με βάση τη στατιστική επεξεργασία που πραγματοποιήθηκε σημαντικές ( $p < 0,05$ ). Η στατιστική ανάλυση που πραγματοποιήθηκε, όμως, υπέδειξε μη σημαντικές διαφορές της γενικής εντύπωσης με το χρόνο ωρίμανσης ( $p > 0,05$ ) (Παράρτημα II).

Όπως φαίνεται από την πλειοψηφία των βαθμολογιών που δόθηκαν στα εξετασθέντα χαρακτηριστικά για τα τέσσερα τυριά, τα δείγματα με την επεξεργασμένη καλλιέργεια (HPA, HPB), εμφάνισαν καλύτερα αποτελέσματα συγκριτικά με τα δείγματα Control.

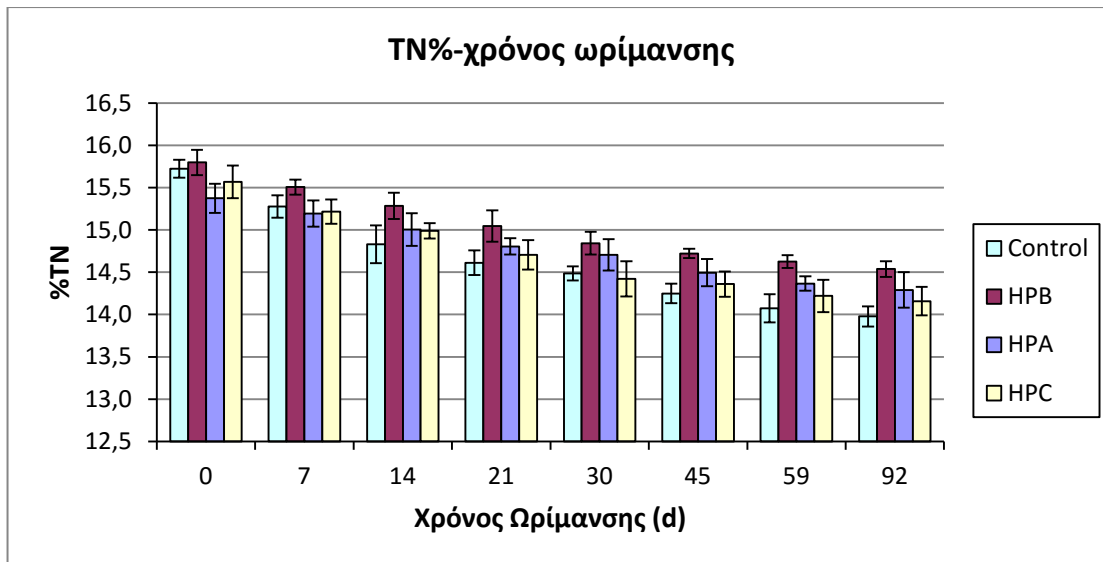
## 5.12 Προσδιορισμών αζωτούχων ενώσεων

### 5.12.1 Ολικό αζώτου TN

Στη συνέχεια παρατίθενται τα δεδομένα ολικού αζώτου των τεσσάρων δειγμάτων με το χρόνο ωρίμανσης.

**Πίνακας 5.12.1 Δεδομένα ολικού αζώτου % των δειγμάτων λευκού τυριού τύπου Φέτας κατά την ωρίμανση.**

	Control		HPC		HPA			HPB		
t (days)	TN%	stdev	TN%	stdev	t (days)	TN%	stdev	t (days)	TN%	stdev
0	2,48	±0,02	2,46	±0,03	0	2,43	±0,03	0	2,50	±0,02
7	2,41	±0,02	2,40	±0,02	7	2,40	±0,02	7	2,45	±0,01
14	2,34	±0,04	2,37	±0,01	14	2,37	±0,03	14	2,41	±0,02
21	2,31	±0,02	2,32	±0,03	21	2,34	±0,02	21	2,38	±0,03
30	2,29	±0,01	2,28	±0,03	32	2,32	±0,03	29	2,34	±0,02
45	2,25	±0,02	2,27	±0,02	46	2,29	±0,03	44	2,33	±0,01
59	2,22	±0,03	2,25	±0,03	60	2,27	±0,01	59	2,31	±0,01
92	2,21	±0,02	2,24	±0,03	91	2,26	±0,03	92	2,30	±0,01



**Διάγραμμα 5.12.1** Μεταβολή ποσοστού ολικού αζώτου συναρτήσει του χρόνου ωρίμανσης για όλα τα δείγματα λευκού τυριού τύπου Φέτας.

Με βάση το παραπάνω διάγραμμα φαίνεται ότι το ολικό άζωτο % παρουσιάζει σε όλα τα δείγματα μείωση μέχρι τις εξήντα ημέρες, ενώ στη συνέχεια έως το τέλος της ωρίμανσης (t=90 days) σταθεροποιείται. Η μείωση που παρουσιάζεται κατά το πρώτο διάστημα της ωρίμανσης έχει παρατηρηθεί και από άλλους ερευνητές σε τυριά άλμης και οφείλεται στη μεταφορά αζωτούχων κλασμάτων στην άλμη (Guven & Karaca, 2001; Zoidou et al., 2007). Το δείγμα HPB παρουσιάζεται με τα υψηλότερα ποσοστά ολικού αζώτου, ενώ ακολουθούν τα δείγματα HPA, HPC και Control. Σε γενικές γραμμές, ωστόσο, δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων.

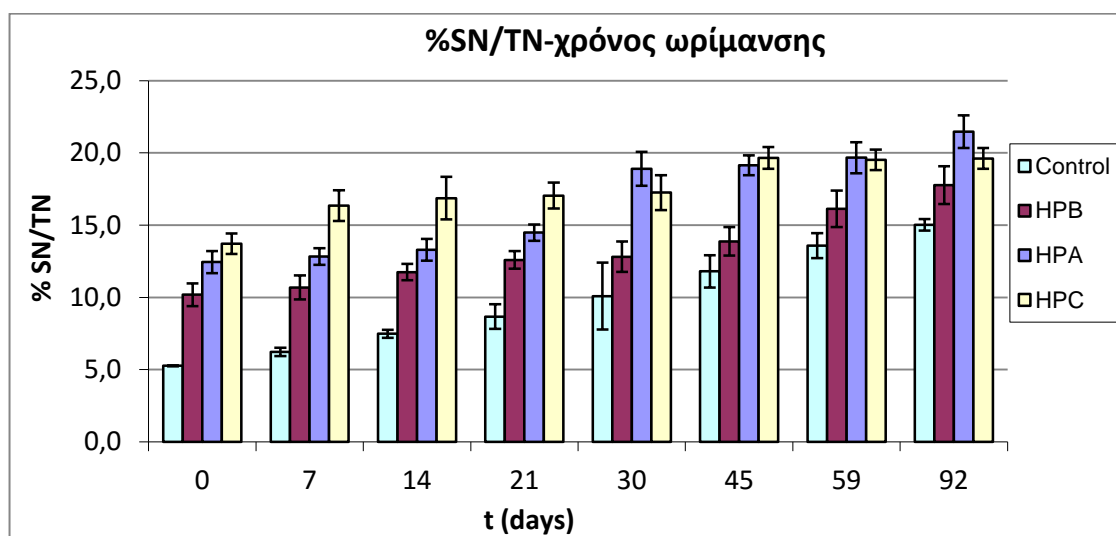
#### 5.12.2 Ολικό υδατοδιαλυτό άζωτο (SN/TN%)

Στο υδατοδιαλυτό άζωτο, καθώς και στα κλάσματα αζώτου TCA-SN/TN% και PTASN/TN% που παρουσιάζονται στις επόμενες ενότητες, οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν σε εκχυλίσματα των δειγμάτων τυριού, σε αντίθεση με το ολικό άζωτο όπου οι αναλύσεις έγιναν στο τυρί. Στη συνέχεια παρατίθενται τα δεδομένα ολικού υδατοδιαλυτού αζώτου των τεσσάρων δειγμάτων με το χρόνο ωρίμανσης.

**Πίνακας 5.12.2** Δεδομένα υδατοδιαλυτού αζώτου % εκφρασμένου ως προς το ολικό άζωτο κατά το χρόνο ωρίμανσης.

t(days)	Control		HPC		HPA			HPB		
	SN/TN%	stdev	SN/TN%	stdev	t(days)	SN/TN%	stdev	t(days)	SN/TN%	stdev
0	5,27	±0,53	13,72	±0,71	0	12,44	±0,77	0	10,18	±0,78
7	6,23	±0,42	16,35	±1,06	7	12,83	±0,58	7	10,69	±0,83
14	7,49	±0,31	16,87	±1,48	14	13,29	±0,75	14	11,75	±0,57
21	8,67	±0,55	17,05	±0,90	21	14,48	±0,56	21	12,59	±0,61
30	10,09	±1,25	17,25	±1,20	32	18,89	±1,17	29	12,82	±1,05

<b>45</b>	11,80	±0,69	19,65	±0,76	<b>46</b>	19,14	±0,69	<b>44</b>	13,87	±0,99
<b>59</b>	13,58	±0,67	19,52	±0,71	<b>60</b>	19,67	±1,08	<b>59</b>	16,13	±1,26
<b>92</b>	15,02	±0,38	19,62	±0,72	<b>91</b>	21,47	±1,13	<b>92</b>	17,77	±1,31



**Διάγραμμα 5.12.2 Μεταβολή ποσοστού υδατοδιαλυτού αζώτου ως προς το ολικό άζωτο των δειγμάτων λευκού τυριού τύπου Φέτας συναρτήσει του χρόνου ωρίμανσης.**

Το κλάσμα του υδατοδιαλυτού αζώτου εκφρασμένο ως προς το ολικό άζωτο, που είναι ένας από τους δείκτες πρωτεόλυσης των τυριών, παρουσιάζει συνεχή αύξηση κατά την ωρίμανση όλων των δειγμάτων. Ο ρυθμός αύξησης του υδατοδιαλυτού αζώτου στο δείγμα αναφοράς εμφανίζεται μεγαλύτερος από τη 14<sup>η</sup> ημέρα ωρίμανσης και μετά, αφού μέχρι τότε παραμένει σχετικά σταθερός σε χαμηλές τιμές. Η διαφορά του Control με τα υπόλοιπα δείγματα είναι εμφανής. Οι τιμές του υδατοδιαλυτού αζώτου εκφρασμένο ως ποσοστό % του ολικού αζώτου κυμαίνονται για τα δείγματα αναφοράς από 5,27% (για t=0 days) έως 15,02% (t=90 days), ενώ οι τιμές των τριών δειγμάτων που έχουν επεξεργαστεί με ΥΠ ξεκινούν από τιμές μεγαλύτερες του 10% και φτάνουν στο τέλος της ωρίμανσης έως και 21% (21,47% για το δείγμα HPA, 19,62% για το HPC και 17,77% για το HPB). Ωστόσο, τα δείγματα που παρουσιάζουν το υψηλότερο ποσοστό είναι τα HPC και HPA (υψηλότερο ποσοστό στις 90 ημέρες).

Τα υψηλότερα ποσοστά υδατοδιαλυτού αζώτου στο δείγμα HPC, μπορούν πιθανώς να εξηγηθούν ως εξής. Με εφαρμογή της πίεσης στο τυρί, επηρεάζονται όχι μόνο τα βακτήρια, αλλά και τα συστατικά του τυριού όπως οι πρωτεΐνες. Δηλαδή, επιτυγχάνεται μετουσίωση των πρωτεϊνών και αποσταθεροποίηση των μη ομοιοπολικών κυρίως δεσμών τους με αποτέλεσμα τη σταδιακή απελευθέρωση μεγαλοπεπτιδίων (υδατοδιαλυτών). Το γεγονός αυτό, σε συνδυασμό με την επίδραση της πίεσης στα βακτήρια, οδηγεί σε αύξηση διαπερατότητας της κυτταρικής μεμβράνης με συσκόλυση

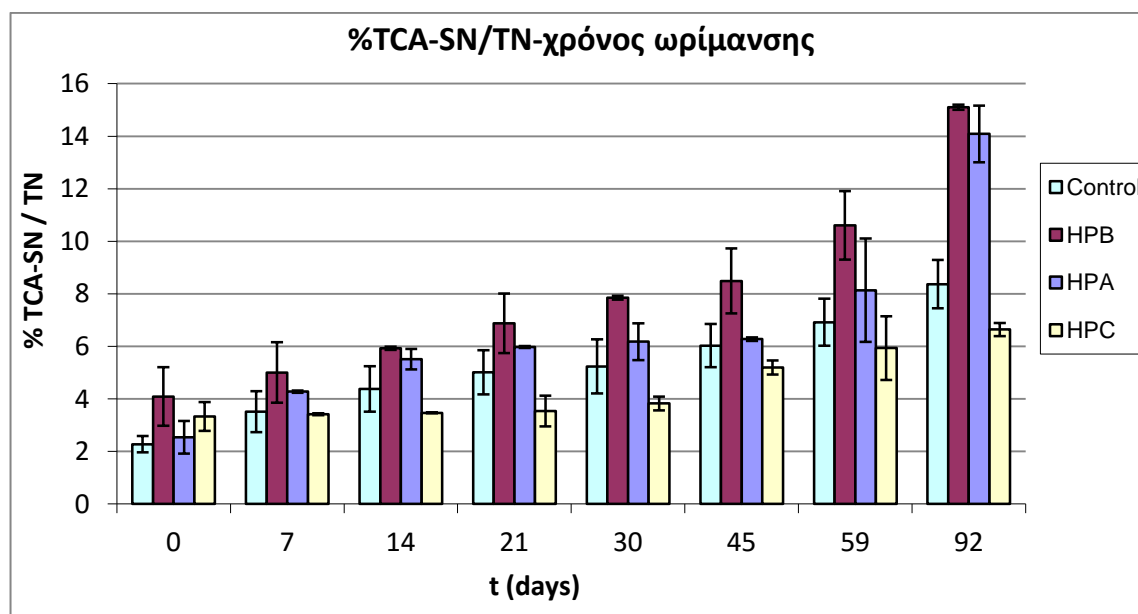
απελευθέρωση ενζύμων (Cheftel, 1992; Earnshaw, 1992) έχει ως αποτέλεσμα την εμφάνιση μεγαλοπεπτιδίων (κλάσμα SN) από τις πρώτες κιόλας ημέρες της ωρίμανσης.

### 5.12.3 Διαλυτό άζωτο σε 12% τριχλωροξικού οξέος (TCA-SN/TN%)

Στη συνέχεια παρατίθενται τα δεδομένα TCA-SN/TN % των τεσσάρων δειγμάτων λευκού τυριού τύπου Φέτας με το χρόνο ωρίμανσης.

**Πίνακας 5.12.3 Δεδομένα TCA-υδατοδιαλυτού αζώτου % ως προς το ολικό άζωτο των δειγμάτων λευκού τυριού τύπου Φέτας κατά το χρόνο ωρίμανσης.**

	Control		HPC		HPA			HPB		
<i>t</i> (days)	%TCA-SN/TN	stdev	%TCA-SN/TN	stdev	<i>t</i> (days)	%TCA-SN/TN	stdev	<i>t</i> (days)	%TCA-SN/TN	stdev
0	2,28	±0,31	3,34	±0,55	0	2,54	±0,63	0	4,09	±1,12
7	3,51	±0,78	3,42	±0,03	7	4,28	±0,04	7	5,01	±1,15
14	4,38	±0,86	3,47	±0,02	14	5,51	±0,39	14	5,93	±0,06
21	5,01	±0,84	3,53	±0,58	21	5,98	±0,04	21	6,88	±1,13
30	5,23	±1,03	3,83	±0,26	32	6,18	±0,70	29	7,85	±0,07
45	6,03	±0,82	5,20	±0,27	46	6,28	±0,07	44	8,49	±1,23
59	6,92	±0,90	5,93	±1,21	60	8,14	±1,97	59	10,60	±1,30
92	8,37	±0,92	6,64	±0,24	91	14,09	±1,08	92	15,11	±0,10



**Διάγραμμα 5.12.3 Μεταβολή ποσοστού TCA-SN ως προς το ολικό άζωτο για τα δείγματα λευκού τυριού “Φέτας” συναρτήσει του χρόνου ωρίμανσης.**



Τα μεγαλοπεπτίδια που παράγονται από τη δράση της πυτιάς επί των καζεϊνών, υδρολύονται από τις πρωτεάσες και πεπτιδάσες των καλλιέργειών και την εναπομένουσα πυτιά, σε ολιγοπεπτίδια τα οποία εκφράζονται ως άζωτο διαλυτό σε 12% TCA (TCA-SN). Το κλάσμα αυτό, φαίνεται να παρουσιάζει μια τάση αύξησης κατά την ωρίμανση σε όλα τα τυριά. Ωστόσο σημαντικό είναι το γεγονός ότι η αύξηση σε όλα τα δείγματα φαίνεται καθαρά από τις πρώτες κιάλας ημέρες ωρίμανσης, ενώ στα δείγματα HPC μετά από τις 21 ημέρες. Τα υψηλότερα ποσοστά εμφανίζονται στο HPB, ενώ προς το τέλος της ωρίμανσης και στο HPA (απότομη αύξηση από την 60<sup>η</sup> έως την 90<sup>η</sup> μέρα). Παρόμοια αποτελέσματα για το δείγμα αναφοράς προέκυψαν από τους Nega & Moatsou, 2012 (9,9% στο τέλος της ωρίμανσης) και από τους Maniou et al., 2012 (3,7% για t=0 έως 7,3% για t=90). Ωστόσο, σύμφωνα με τα αποτελέσματά των τελευταίων, στην περίπτωση επεξεργασίας τμήματος της προστιθέμενης καλλιέργειας με ΥΠ (200 MPa, στους 20°C για 12 min), το ποσοστό του TCA-SN% κυμάνθηκε από 3,0% για χρόνο 0 έως 9,7% στις 90 ημέρες, κάτι αντίστοιχο με το δείγμα HPA που ξεκινώντας από περίπου ίδιο ποσοστό (2,54%) αυξάνεται στο 14,09% στο τέλος της ωρίμανσης. Ακόμη μεγαλύτερο ποσοστό επιτυγχάνεται στο δείγμα ολόκληρης πιεσμένης καλλιέργειας (15,11%).

Οι O’Keeffe et al., 1976, αναφέρουν ότι η πυτιά ευθύνεται κυρίως για την παραγωγή του κλάσματος 12% TCA, αλλά και οι πρωτεϊνάσες και πεπτιδάσες των οξυγαλακτικών βακτηρίων συμβάλλουν εξίσου σε σημαντικό βαθμό. Το γεγονός εμφάνισης μεγαλύτερων ποσοστών στα δείγματα με επεξεργασμένες καλλιέργειες υποδεικνύουν αύξηση της δραστηριότητας των ενζύμων αυτών.

Τα χαμηλά ποσοστά που υπάρχουν στο δείγμα HPC συγκριτικά με τα δείγματα όπου η πίεση εφαρμόστηκε στην καλλιέργεια (HPA, HPB) πιθανώς δείχνουν την εντονότερη επίδραση της άμεσης εφαρμογής της ΥΠ στην καλλιέργεια εκκίνησης σε σχέση με την εφαρμογή της στο ίδιο το τυρί.

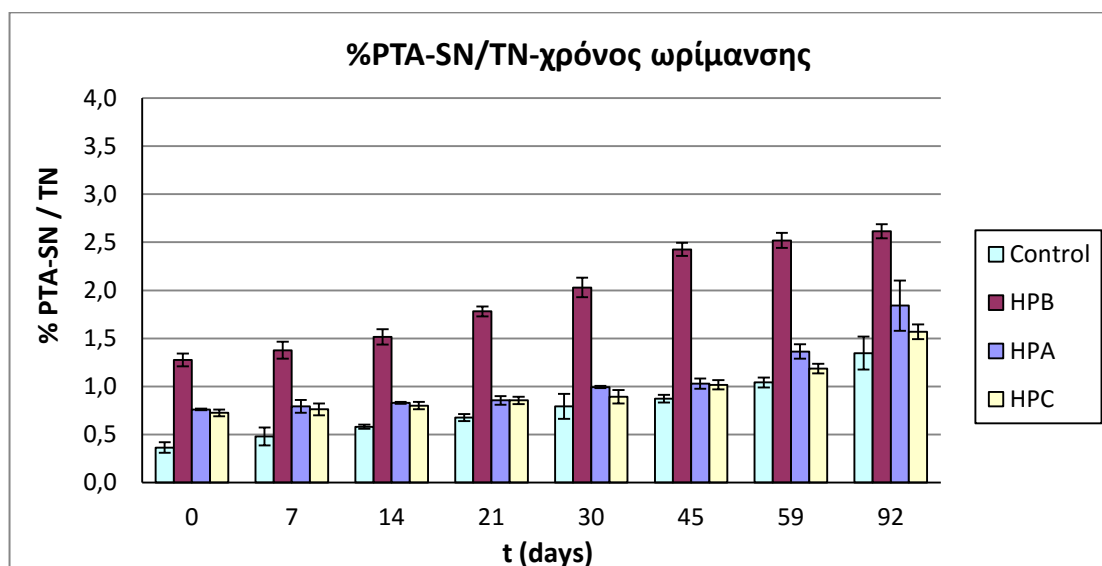
#### 5.12.4 Διαλυτό άζωτο σε 5% φωσφοβολφραμικού οξέος (PTA-SN/TN%)

Στη συνέχεια παρουσιάζεται η μεταβολή του κλάσματος PTA-SN/TN% των τεσσάρων δειγμάτων λευκού τυριού τύπου Φέτας ως προς το χρόνο ωρίμανσης.

**Πίνακας 5.12.4 Δεδομένα TCA-υδατοδιαλυτού αζώτου % ως προς το ολικό άζωτο των δειγμάτων λευκού τυριού τύπου Φέτας κατά το χρόνο ωρίμανσης.**

	Control			HPC		HPA			HPB		
<i>t</i> (days)	%PTA-SN/TN	stdev	%PTA-SN/TN	stdev	<i>t</i> (days)	%PTA-SN/TN	stdev	<i>t</i> (days)	%PTA-SN/TN	stdev	
0	0,37	±0,05	0,73	±0,04	0	0,76	±0,01	0	1,28	±0,07	
7	0,48	±0,09	0,76	±0,06	7	0,79	±0,07	7	1,38	±0,09	
14	0,58	±0,02	0,80	±0,04	14	0,83	±0,01	14	1,52	±0,08	
21	0,68	±0,04	0,86	±0,04	21	0,86	±0,04	21	1,78	±0,05	

30	0,79	±0,13	0,89	±0,07	32	0,99	±0,01	29	2,03	±0,10
45	0,87	±0,04	1,02	±0,05	46	1,03	±0,05	44	2,43	±0,07
59	1,04	±0,05	1,19	±0,05	60	1,36	±0,07	59	2,52	±0,08
92	1,35	±0,17	1,57	±0,08	91	1,84	±0,26	92	2,62	±0,07



**Διάγραμμα 5.12.4 Μεταβολή ποσοστού PTA-υδατοδιαλυτού αζώτου ως προς το ολικό άζωτο των δειγμάτων λευκού τυριού τύπου Φέτας συναρτήσει του χρόνου ωρίμανσης.**

Η περαιτέρω αποικοδόμηση των πεπτιδίων από τις πεπτιδάσες των βακτηρίων σε πολύ μικρά πεπτίδια με μοριακό βάρος μικρότερο από 600 Da και αμινοξέα, η οποία εκφράζεται με το PTA (Jarret et al., 1982) παρουσίασε για τα δείγματα HPA και HPC σταθερότητα από το χρόνο 0 έως τις 21 περίπου ημέρες, ενώ στη συνέχεια αυξήθηκε. Τα δείγματα αναφοράς και HPB από την άλλη, παρουσίασαν αύξηση με το χρόνο ωρίμανσης. Ωστόσο, εξαιρετικά σημαντικές ήταν οι διαφορές στα ποσοστά που εμφάνισε το HPB (1,28% για t=0 έως 2,62% στις 90 ημέρες) καθ' όλη τη διάρκεια της ωρίμανσης σε σχέση με τα υπόλοιπα δείγματα. Σημαντική είναι, και στην περίπτωση αυτού του αζωτούχου κλάσματος, η αύξηση που εμφάνισε το δείγμα HPA από τις 60 έως τις 90 ημέρες. Τέλος, πρέπει να τονιστεί ότι το δείγμα αναφοράς κατείχε τα χαμηλότερα ποσοστά PTA-SN.

Το HPB παρουσίασε υψηλότερο ποσοστό PTA-SN συγκριτικά με το HPA πιθανώς επειδή αυξήθηκε η δραστικότητα των ενζύμων όλης της καλλιέργειας με αποτέλεσμα να αποικοδομούνται τα μεγάλα μοριακού βάρους σε μικρά πεπτίδια και αμινοξέα.

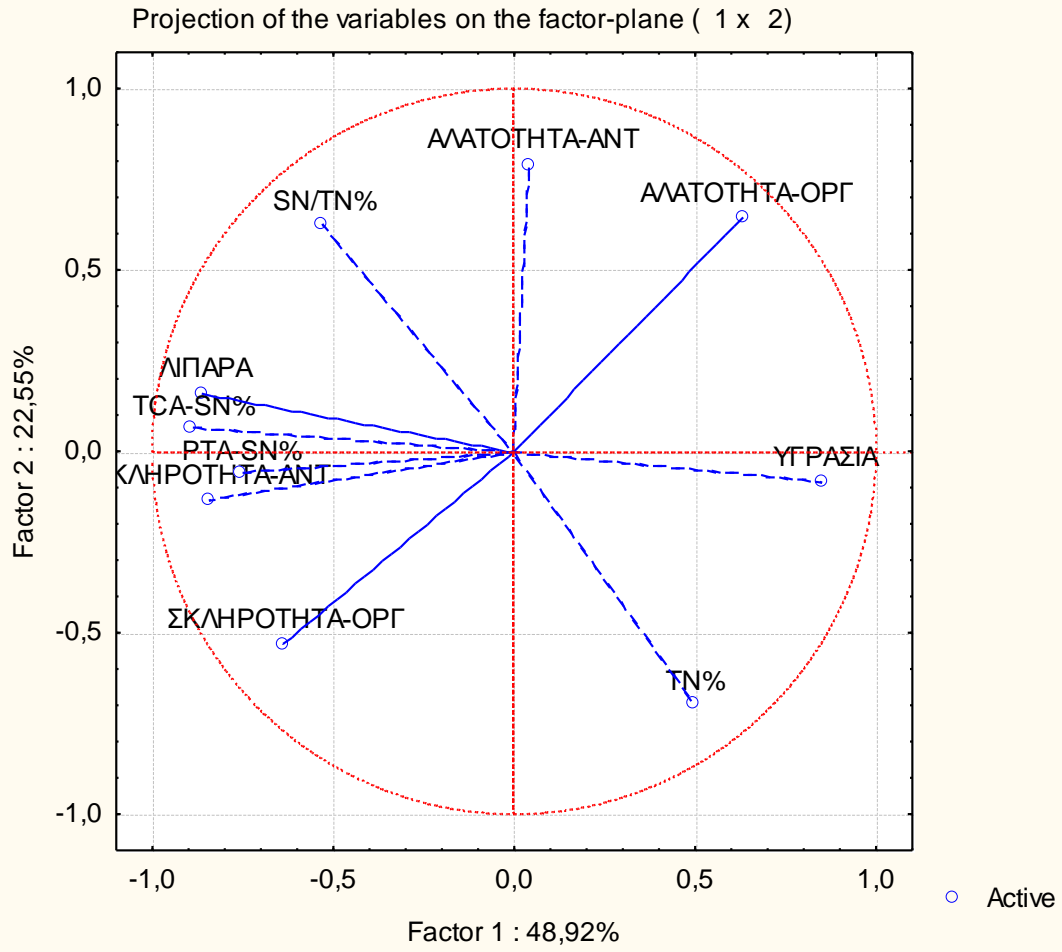
### 5.13 Συσχετίσεις αντικειμενικών μετρήσεων με τον οργανοληπτικό έλεγχο – Στατιστική Επεξεργασία

Για τις συσχετίσεις των φυσικοχημικών μετρήσεων (λιπαρά, αλατότητα, ολικές πρωτεΐνες%,) της ανάλυσης υφής (σκληρότητα), των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών (εμφάνιση, χρώμα, οσμή-γεύση, υφή-δομή (σκληρότητα), αλατότητα, πικρή γεύση, ευχάριστα όξινη γεύση) και των βιοχημικών παραμέτρων (SN%, TCA-SN%, PTA-SN%) χρησιμοποιήθηκε Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών PCA (Principal Component Analysis) μέσω του προγράμματος Statistica, μέσω της οποίας προέκυψε ότι οι 2 κύριες συνιστώσες αντιπροσωπεύουν το 71,74% της ολικής διακύμανσης (Παράρτημα II). Η πρώτη κύρια συνιστώσα, ΚΣ 1, αντιπροσωπεύει το 48,92% και η δεύτερη κύρια συνιστώσα, ΚΣ 2, το 22,55%.

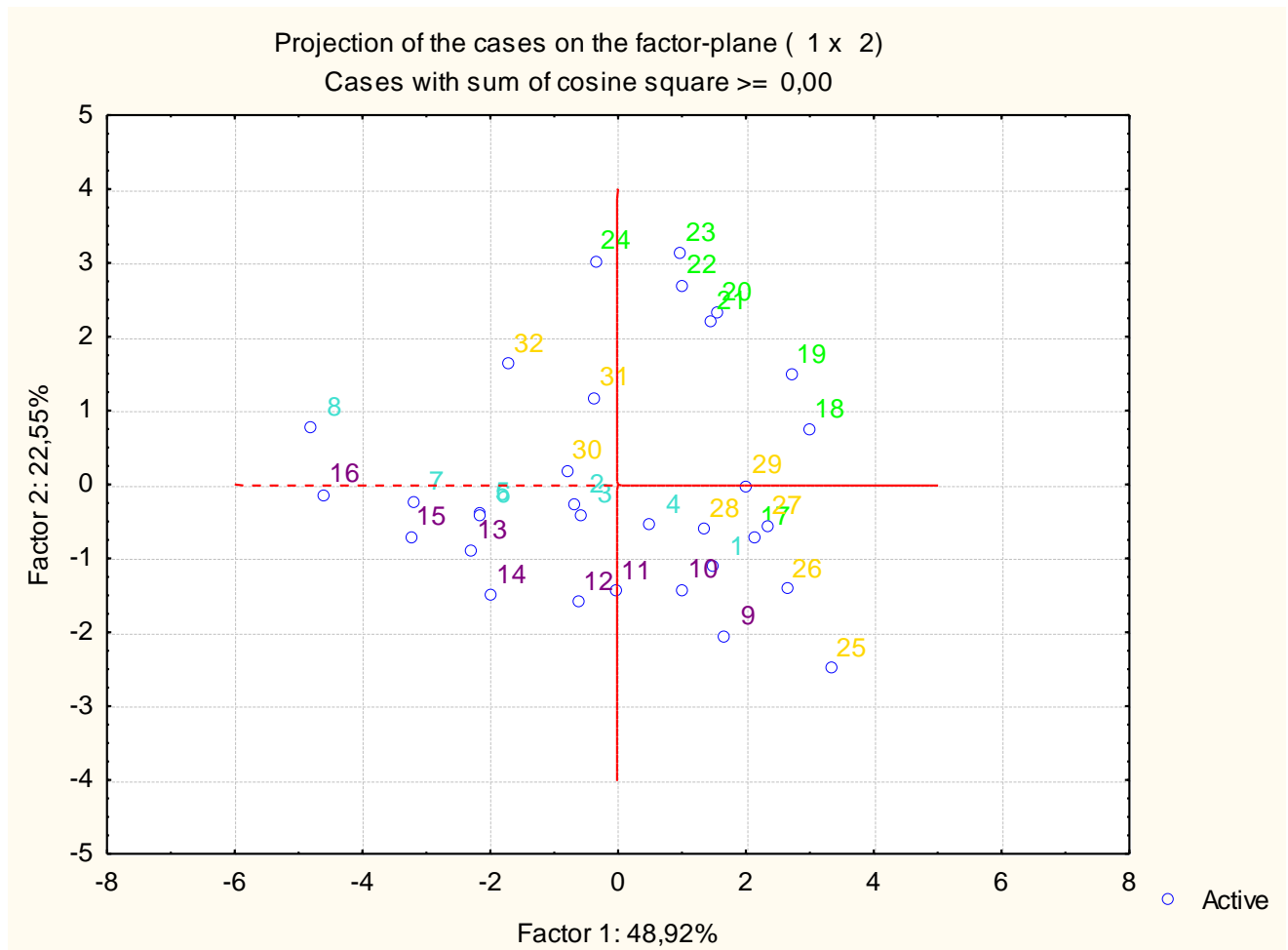
Από το PCA λαμβάνονται τρία διαγράμματα εκ των οποίων το πρώτο δείχνει ποιες είναι οι δύο πρώτες συνιστώσες, το δεύτερο δίνει τη συνεισφορά της κάθε συνιστώσας και ποιές παράμετροι επηρεάζουν, είτε θετικά είτε αρνητικά, την πρώτη κύρια συνιστώσα και ποιές τη δεύτερη. Τέλος, το τρίτο διάγραμμα δείχνει πώς μπορούν να ομαδοποιηθούν τα πειράματα αλλά και ποιές παράμετροι τα επηρεάζουν. Το τελευταίο συμπέρασμα προκύπτει με συνδυασμό των δύο διαγραμμάτων.

Σύμφωνα με το διάγραμμα (Παράρτημα II), η πρώτη κύρια συνιστώσα (ΚΣ1) συσχετίζεται θετικά με την υγρασία, και αρνητικά με τα λιπαρά, το ποσοστό διαλυτού αζώτου σε 12% TCA-SN (TCA-SN/TN%) και την αντικειμενική σκληρότητα (προκύπτει από την ανάλυση των δεδομένων του αναλυτή υφής). Η δεύτερη κύρια συνιστώσα (ΚΣ2) συσχετίζεται αρνητικά μόνο με το ποσοστό του ολικού αζώτου (TN%) και θετικά με την αντικειμενική αλατότητα (πειραματικός προσδιορισμός), την αλατότητα με βάση τον οργανοληπτικό έλεγχο και το ποσοστό του ολικού διαλυτού αζώτου εκφρασμένο ως προς το ολικό άζωτο (SN/TN%). Ακόμη με βάση το ίδιο διάγραμμα, φαίνεται να παρουσιάζεται αντιδιαμετρικότητα μεταξύ των παρακάτω παραμέτρων : 1) αλατότητα οργανοληπτικού - σκληρότητα οργανοληπτικού, 2) SN/TN% - TN%, 3) Υγρασία% - TCA-SN/TN%. Οι παράμετροι που είναι αντιδιαμετρικές εμφανίζουν αρνητική συσχέτιση μεταξύ τους. Πιο συγκεκριμένα στην παρούσα εργασία, με μείωση της υγρασίας προκύπτει αύξηση του αζωτούχου κλάσματος TCA-SN%, με μείωση του ολικού αζώτου (TN%) προκαλείται αύξηση του SN/TN% και με αύξηση των βαθμολογιών της σκληρότητας της οργανοληπτικής αξιολόγησης παρατηρείται μείωση στην αλατότητα με βάση επίσης τον οργανοληπτικό έλεγχο (Διάγραμμα 5.13.1).

Τέλος, τα χαρακτηριστικά που μπορούν να ομαδοποιηθούν, είναι η αλατότητα οργανοληπτικού με τη αντικειμενική αλατότητα, η σκληρότητα οργανοληπτικού με την αντικειμενική σκληρότητα, και τα αζωτούχα κλάσματα TCA-SN/TN% με το PTA-SN/TN% (Διάγραμμα 5.13.2).



**Διάγραμμα 5.13.1 Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (ΑΚΣ)**



**Διάγραμμα 5.13.2 Ομαδοποίηση των δειγμάτων**

Σημεία με πράσινο χρώμα : δείγμα HPC

Σημεία με κίτρινο χρώμα : δείγμα Control

Σημεία με μπλε χρώμα : δείγμα HPA

Σημεία με μωβ χρώμα : δείγμα HPB

Με συνδυασμό του διαγράμματος ΑΚΣ και της ομαδοποίησης των πειραμάτων, στην περιοχή της αλατότητας τόσο της αντικειμενικής όσο και της οργανοληπτικής, οι υψηλότερες τιμές εμφανίζονται σε δείγματα HPC (πράσινο χρώμα) και μάλιστα τις τελευταίες ημέρες ωρίμανσης (από τις 45 έως τις 90 ημέρες). Δηλαδή το δείγμα HPC διαφοροποιείται σημαντικά με την αλατότητα, εκτός από την πρώτη μέτρηση. Ακόμη, τα δείγματα HPA και HPB (2,3,5,6,7,8 – 16,15,14,13,12,11) διαφοροποιούνται σημαντικά από τα κλάσματα αζώτου και τη σκληρότητα (αντικειμενική και οργανοληπτική).

Το δείγμα αναφοράς στις τελευταίες ημέρες ωρίμανσης, φαίνεται να διαφοροποιείται σημαντικά από το SN/TN%, ενώ τις πρώτες μέρες από το ποσοστό ολικού αζώτου. Στο τέταρτο τεταρτημόριο, μπορεί να γίνει ομαδοποίηση των

1,9,10,11,26,25,17, όπου εμφανίζονται δηλαδή το υψηλότερο ποσοστό TN%. Πιο συγκεκριμένα, το ένα αποτελεί αρχική μέτρηση του ΗΡΑ, τα 9, 10, 11 αρχικές μετρήσεις του ΗΡΒ, το 17 του επεξεργασμένου τυριού, ενώ τα 25, 26 αρχικές μετρήσεις του δείγματος αναφοράς.

Συνοψίζοντας, με βάση τα σημεία (τα οποία όσο αυξάνονται αυξάνεται αντίστοιχα και ο χρόνος ωρίμανσης του κάθε δείγματος) παρατηρείται ότι σε μεγαλύτερους χρόνους ωρίμανσης διαφοροποιούνται, στην περίπτωση των ΗΡΑ και ΗΡΒ από τις υψηλότερες τιμές σκληρότητας (αντικειμενικής) και από τις υψηλότερες τιμές των αζωτούχων κλασμάτων (ΡΤΑ-SN%, ΤCΑ-SN%). Αυτό επαληθεύεται και από τις αντικειμενικές ματρήσεις των παραμέτρων αυτών. Αντίστοιχα σύμφωνα με τα σημεία του δείγματος Control, το δείγμα αυτό, διαφοροποιείται τις πρώτες ημέρες ωρίμανσης (σημεία 25, 26) από το ποσοστό ολικού αζώτου, σε αντίθεση με τις τελευταίες ημέρες ωρίμανσης που διαφοροποιείται με το υψηλό ποσοστό SN/TN% (σημεία 31, 32). Στην περίπτωση του δείγματος ΗΡC, η διαφοροποίησή του κυρίως από τα μέσα της ωρίμανσης (σημεία 20, 21, 22, 23, 24) γίνεται από το χαρακτηριστικό της αλατότητας, καθώς εμφανίζει φανερά τα υψηλότερα ποσοστά. Τόσο στην οργανοληπτική αξιολόγηση, όσο και στην αντικειμενική μέτρηση το δείγμα ΗΡC ήταν εκείνο με τις υψηλότερες βαθμολογίες/τιμές αλατότητας. Τέλος, με βάση το διάγραμμα ΑΚΣ φαίνεται ότι υπάρχει άμεση συσχέτιση της αλατότητας και της σκληρότητας μεταξύ της οργανοληπτικής συσχέτισης και της αντικειμενικής μέτρησης.

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων και της οργανοληπτικής αξιολόγησης που παρουσιάστηκαν παραπάνω, αναλύονται και συζητούνται λεπτομερώς στο επόμενο κεφάλαιο (Κεφάλαιο 6).

**ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 5<sup>ΟΥ</sup> ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ**

1. Cheftel J. C., ‘**Effect of high hydrostatic pressure on food constituents: an overview**’. In Balny C., Hayashi R., Heremans K., & Masson P., *High pressure and biotechnology, London, UK: Coloque INSERM/John Libbey Eurotext*, 224, pp. 195-209, 1992.
2. Earnshaw R. G. , ‘**High pressure as a cell sensitizer : new opportunities to increase the efficiency of preservation processes**’, In C. Balny, R. Hayashi, K. Heremans, and P. Masson, *High pressure and biotechnology. London, UK: Coloque INSERM/John Libbey Eurotext Ltd*, 224, pp. 261-267, 1992.
3. Fitzsimons N. A., Cogan T. M., Condon S. & Beresford T., ‘**Phenotypic and genotypic characterization of non starter lactic acid bacteria in mature Cheddar cheese**, *Appl. Environ. Microbiol.*, 65, pp. 3418-3426, 1999.
4. Guven M. & Karaca O. B. ‘**Proteolysis levels of white cheeses salted and ripened in brines prepared from various salts**’ *International Journal of Dairy Technology*, 54, pp. 29-33, 2001.
5. Jarret W. D., Aston J. W. & Dullely J. R., ‘**A simple method for estimating free amino acids in Cheddar cheese**’, *Australian Journal of Dairy Technology*, 37, pp. 55-58, 1982.
6. Juan Bibiana, Victoria Ferragut, Buenaventura Guamis, Antonio-Jose´ Trujillo, ‘**The effect of high-pressure treatment at 300 MPa on ripening of ewes’ milk cheese**’, *International Dairy Journal* 18, pp. 129–138, 2008.
7. Maniou D., Tsala A., Moschopoulou E. Giannoglou M., Taoukis P., Moatsou G., ‘**Effect of high-pressure-treated starter on ripening of Feta cheese**’, *Journal of Dairy Science and Technology*, online published March 2012.
8. Nega Agnes & Moatsou Golfo, ‘**Proteolysis and related enzymatic activities in ten Greek cheese varieties**’, *Journal of Dairy Science and Technology*, 92, pp. 57-73, 2012.
9. O’Keeffe R. B., Fox P. F. and Daly C., ‘**Contribution of rennet and starter proteases to proteolysis in Cheddar cheese**’, *J. Dairy Res.*, 43, 1976.
10. Smit Gerrit, ‘**Dairy processing – Improving quality**’, *Woodhead publishing limited*, ch. 15, 19,22, 2003.
11. Sousa M. J., Ardo Y. & McSweeney P. L. H., ‘**Advances in the study of proteolysis during cheese ripening**’, *International Dairy Journal*, 11, pp. 327-345, 2001.
12. Zoidou E., I. Kandarakis, E. Anifantakis, Th. Anesti, M. Fragoylaki, G. Kritaki, ‘**Evaluation of the use of a new type of rennet and starter culture on the quality of Feta cheese**’ *Journal of Dairy Science and Technology*, Issue 1, pp. 42-58, 2007.
13. Κώδικας Τροφίμων και Ποτών.

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 : ΣΥΝΟΠΤΙΚΗ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ**

Στην παρούσα διπλωματική εργασία εφαρμόστηκε η μέθοδος της Υπερυψηλής Υδροστατικής Πίεσης, τόσο στην καλλιέργεια-εκκίνησης που προστίθεται κατά την παραγωγή λευκού τυριού τύπου Φέτας όσο και στο ίδιο το προϊόν (200 MPa, στους 20°C για 20min) και μελετήθηκαν τα οργανοληπτικά και φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των δειγμάτων τυριού καθώς και παράγοντες ωρίμανσής τους καθ'όλη τη διάρκεια του σταδίου ωρίμανσης.

Τα υπό εξέταση δείγματα ήταν τέσσερα : τα δείγματα Control (αναφοράς) τα οποία δεν είχαν υποστεί καμία επεξεργασία, τα δείγματα HPC όπου η ΥΠ εφαρμόστηκε στο ίδιο το τυρί μετά το στάδιο της προωρίμανσής τους και τα δείγματα HPA και HPB, όπου η πίεση εφαρμόστηκε σε μέρος και σε ολόκληρη την καλλιέργεια-εκκίνησης, αντίστοιχα. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκαν διεξοδικές αναλύσεις σε φυσικοχημικά χαρακτηριστικά (pH, ολικά λιπαρά, υγρασία, τέφρα, ολικές πρωτεΐνες, αλατότητα, ενεργότητα νερού), αναλύσεις υφής και χρώματος, οργανοληπτική αξιολόγηση καθώς και βιοχημικός έλεγχος των δειγμάτων, δηλαδή έλεγχος της ωρίμανσής τους μέσω προσδιορισμού αζωτούχων κλασμάτων (πρωτεολυτικοί δείκτες) : του υδατοδιαλυτού αζώτου (SN), του διαλυτού σε 12% τριχλωροξικό οξύ (TCA-SN) και τέλος του διαλυτού σε 5% φωσφοβολφραμικό οξύ (PTA-SN) καθώς και του ολικού αζώτου (TN).

Κατά την ωρίμανση της Φέτας, η οποία αποτελεί τυρί άλμης, ένα από τα κύρια φαινόμενα που λαμβάνει χώρα είναι η αποβολή νερού από το τυρί στην άλμη και η πρόσληψη άλατος και στερεών. Αυτό συμβαίνει μέχρι την αποκατάσταση ισορροπίας μεταξύ της Φέτας και του μέσου συντήρησης. Αυτή η μείωση της υγρασίας η οποία παρατηρείται στα αποτελέσματα των δειγμάτων εξελίσσεται με διαφορετικούς, ωστόσο, ρυθμούς. Το δείγμα HPC φαίνεται να αποκτά την ιδιότητα συγκράτησης νερού, αφού η εκατοστιαία μεταβολής της από την αρχή έως το τέλος της ωρίμανσης φτάνει μόλις το 2,11%, εν αντιθέσει με τα υπόλοιπα δείγματα που η μείωση υπερβαίνει το 8% (Control : 8,31%, HPA : 8,96%, HPB : 9,75%). Στην περίπτωση των ολικών λιπαρών, η τάση είναι ανοδική, με τη μεγαλύτερη μεταβολή να εμφανίζεται στο δείγμα HPB ( 17,49% - 24,06%), γεγονός που αιτιολογείται ως ένα βαθμό από τη μεγαλύτερη απώλεια υγρασίας. Ακόμη, στα αποτελέσματα της τέφρας δεν σημειώνονται σημαντικές μεταβολές μεταξύ των δειγμάτων. Γενικά, ωστόσο παρατηρείται τάση αύξησης με το χρόνο ωρίμανσης. Τέλος, το ποσοστό ολικών πρωτεϊνών στις 90 ημέρες βρέθηκε και σε αυτήν την περίπτωση ελαφρώς υψηλότερο στο δείγμα HPB (14,54%), έπεται το HPA (14,29%), στη συνέχεια το επεξεργασμένο με ΥΠ τυρί (14,18%), ενώ με το χαμηλότερο ποσοστό ολικών πρωτεϊνών παρουσιάζεται το δείγμα αναφοράς (13,98%).

Όσον αφορά τη μεταβολή του pH, φαίνεται να υπάρχει γενικά σημαντική μείωση έως τις 14 ημέρες ωρίμανσης, μικρή αύξηση έως τις 30 ημέρες λόγω παραγωγής αμινομάδων



που είναι αποτέλεσμα αποικοδόμησης των μακροπεπτιδίων και στη συνέχεια σταθεροποίηση. Πρέπει να σημειωθεί ότι δεν παρατηρούνται σημαντικές διαφορές μεταξύ των τιμών των δειγμάτων. Όσον αφορά την αλατότητα, αν και το δείγμα HPC ξεκινά (t=0) από παραπλήσια χαμηλή τιμή με εκείνη των δειγμάτων HPA και HPB, στη συνέχεια παρουσιάζει απότομη αύξηση έως τις 20 ημέρες και μετέπειτα σταθεροποίηση έως το τέλος της ωρίμανσης. Αυξητική είναι και η τάση του δείγματος αναφοράς, αλλά με χαμηλότερο ρυθμό μεταβολής από το δείγμα HPC ενώ οι χαμηλότερες τιμές αλατότητας εμφανίζονται στα δείγματα HPA και HPB. Τέλος, με βάση τα δεδομένα ενεργότητας νερού, το δείγμα HPB φαίνεται να παρουσιάζει τις χαμηλότερες τιμές, ενώ τα υπόλοιπα τρία δείγματα κυμαίνονται σε παρόμοια επίπεδα.

Επιπλέον εκτιμήθηκαν και τα χαρακτηριστικά υφής/δομής των δειγμάτων με χρήση αναλυτή υφής. Όσον αφορά την ελαστικότητα και τη συνεκτικότητα των δειγμάτων παρατηρήθηκε αυξητική τάση και σταθεροποίηση κατά τη διάρκεια του χρόνου ωρίμανσης ενώ δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων. Αντίθετα, οι μεταβολές στη σκληρότητα και προσκολλησιμότητα των δειγμάτων ήταν εμφανείς. Πιο συγκεκριμένα, στην περίπτωση της σκληρότητας, το δείγμα HPA εμφανίστηκε ήδη από το χρόνο 0, πιο σκληρό από τα υπόλοιπα, παρουσιάζοντας μάλιστα από τις 20 έως τις 60 ημέρες ωρίμανσης σημαντική αύξηση (210,4 g για t=20 days και 615,3 g για t=60 days). Η διαφορά του από τα υπόλοιπα δείγματα, ακόμη και από το δεύτερο κατά σειρά σκληρότητας δείγμα (HPB), είναι σημαντική (έως και περίπου 300 μονάδες προς το τέλος της ωρίμανσης). Η τάση και των υπολοίπων δειγμάτων είναι αυξητική έως τις 60 ημέρες ωρίμανσης, ενώ στη συνέχεια υπάρχει σχετική σταθεροποίηση. Κατατάσσοντας τα δείγματα με βάση το χαρακτηριστικό αυτό προκύπτει : HPA > HPB > Control > HPC. Όσον αφορά την προσκολλησιμότητα των δειγμάτων, παρουσίασε αύξηση με το χρόνο ωρίμανσης για όλα τα δείγματα, ενώ η κατάταξή τους είναι η ίδια με εκείνη της σκληρότητας.

Σύμφωνα με την οργανοληπτική αξιολόγηση που πραγματοποιήθηκε, ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα αποτελέσματα του χρώματος (λευκό ομοιογενές), της σκληρότητας, της αλατότητας, της πικρής γεύσης, της ευθρυπτότητας, της γενικής εντύπωσης και των χαρακτηριστικών μηχανικών τομών.

Το δείγμα που εμφάνισε την υψηλότερη βαθμολογία, στο λευκό χρώμα, στη σκληρότητα, στις μικρές μηχανικές τομές, στην ευθρυπτότητα και στη γενικότερη εικόνα που εμφάνισαν τα δείγματα είναι το HPA και ακολουθεί το HPB με μικρή διαφορά στη βαθμολόγηση στα περισσότερα από αυτά τα χαρακτηριστικά (εκτός των τομών). Αναλυτικότερα, στην περίπτωση του χρώματος, το πάνελ των δοκιμαστών βρήκε πιο λευκό το δείγμα HPA, ενώ το δείγμα αναφοράς έλαβε τη χαμηλότερη βαθμολογία. Ακόμη, το δείγμα HPA εμφανίζεται πιο σκληρό από τα υπόλοιπα δείγματα, αποτέλεσμα που συμφωνεί και με τις μετρήσεις που ελήφθησαν από τον αναλυτή υφής. Έπεται το δείγμα HPB και αρκετά χαμηλότερα κατά φθίνουσα σειρά τα δείγματα Control και HPC.

Το δείγμα HPA παρουσίασε την υψηλότερη βαθμολογία και στην περίπτωση των μικρών χαρακτηριστικών τομών, σε αντίθεση με το δείγμα HPB το οποίο φαίνεται να παρουσιάζει την πιο ενιαία δομή με ελάχιστες τομές. Λαμβάνοντας υπ' όψη τις μηχανικές τομές της κλασσικής φέτας, το δείγμα HPA βρίσκεται πιο κοντά στην πρότυπη δομή, δηλαδή στο δείγμα αναφοράς σύμφωνα με την αξιολόγηση από το οργανοληπτικό πάνελ.

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα αποτελέσματα που προέκυψαν στα χαρακτηριστικά που αφορούν τη γεύση των προϊόντων σχετικά με την αλατότητα και την πικρή γεύση. Στην περίπτωση της αλατότητας, το δείγμα HPC παρουσίασε την υψηλότερη βαθμολογία, καθ' όλη τη διάρκεια της ωρίμανσης και ακολουθείται από το δείγμα αναφοράς. Πρέπει να τονιστεί ότι παρά το γεγονός ότι το λευκό τυρί HPC αποβάλλει τη λιγότερη υγρασία, παρουσιάζει και το υψηλότερο ποσοστό αλατότητας, είναι δηλαδή το αλμυρότερο από τα δείγματα. Όσον αφορά την πικρή γεύση, αν και υπάρχει σταδιακή μείωσή της για όλα τα δείγματα με το χρόνο ωρίμανσης, η διαφορά μεταξύ τους είναι εξαιρετικά μεγάλη τόσο στην αρχή όσο και στο τέλος της ωρίμανσης. Το δείγμα αναφοράς, εμφανίζει τις υψηλότερες βαθμολογίες σε αντίθεση με τα δύο δείγματα επεξεργασμένων καλλιεργειών τα οποία εμφανίζουν, ιδιαίτερα στις 90 ημέρες, την ελάχιστη δυνατή βαθμολογία. Αυτό, πιθανώς οφείλεται στην αύξηση της δραστηριότητας των βακτηριακών ενζύμων που αποικοδομούν τα πεπτίδια, που προκαλούν την πικρή γεύση στο τυρί, σε μικρότερου μοριακού βάρους πεπτίδια και αμινοξέα.

Τέλος, στην περίπτωση της γενικής εντύπωσης (μέσος όρος του χρώματος, της υφής και της γεύσης), το δείγμα με την υψηλότερη βαθμολογία είναι το HPA, ακολουθεί με μικρή διαφορά το HPB, στη συνέχεια έπεται το δείγμα αναφοράς και τέλος το επεξεργασμένο με ΥΠ τυρί. Η κατάταξη αυτή παραμένει ίδια καθ' όλη τη διάρκεια της ωρίμανσης.

Για τον έλεγχο της πορείας της πρωτεόλυσης, η οποία αποτελεί βασική βιοχημική διεργασία κατά την ωρίμανση της Φέτας και γενικότερα των τυριών, πραγματοποιήθηκε προσδιορισμός των αζωτούχων κλασμάτων.

Το ολικό άζωτο των δειγμάτων λευκού τυριού τύπου Φέτας παρουσίασε γενική μείωση κατά την εξέλιξη της ωρίμανσης. Το γεγονός αυτό συμβαίνει πιθανώς επειδή με τη διάσπαση των μακροπεπτιδίων σε μικρού μοριακού βάρους πεπτίδια και αμινοξέα, αυτά είναι πιο εύκολο να απομακρυνθούν με την υγρασία από την κύρια μάζα του τυριού στην άλμη. Η μείωση λαμβάνει χώρα σε όλα τα δείγματα με διαφορετικό ποσοστό. Ακόμη, παρατηρείται υψηλότερο ποσοστό ολικού αζώτου στο HPB, ενώ ακολουθεί κατά φθίνουσα σειρά το HPA, το HPC και τέλος το Control. Ωστόσο οι διαφορές μεταξύ τους δεν είναι σημαντικές.

Τα κλάσματα αζώτου TCA-SN και PTA-SN αποτελούν μέρος του ολικού υδατοδιαλυτού αζώτου (SN). Και στις τρεις περιπτώσεις παρατηρήθηκε αύξηση με το χρόνο. Στο ολικό υδατοδιαλυτό άζωτο, το μεγαλύτερο ποσοστό κυρίως έως τις 21 ημέρες ωρίμανσης,

εμφανίζεται από το δείγμα HPC, ενώ από τις 21 ημέρες και μετά το HPA φαίνεται να αυξάνεται σημαντικά φτάνοντας σε παρόμοιες τιμές με εκείνες του επεξεργασμένου λευκού τυριού. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι τιμές των δειγμάτων αναφοράς, οι οποίες παραμένουν σε σημαντικά χαμηλά ποσοστά συγκριτικά με τα υπόλοιπα δείγματα. Πιο συγκεκριμένα, το SN μεταβάλλεται από 5,27%, (HPC : 13,72, HPA : 12,44%, HPB :10,18%) σε 15,02% στις 90 ημέρες (HPC : 19,62%, HPA :21,47, HPB : 17,77%). Η επεξεργασία με ΥΠ τόσο της καλλιέργειας-εκκίνησης, όσο και του ίδιου του προϊόντος φάνηκε να επηρεάζει σημαντικά τα επίπεδα SN/TN%, γεγονός που πιθανώς υποδεικνύει αυξημένη πρωτεολυτική ικανότητα.

Τα μεγαλοπεπτίδια που παράγονται από τη δράση της πυτιάς επί των καζεϊνών, υδρολύονται από τις πρωτεάσες και πεπτιδάσες των καλλιιεργειών-εκκίνησης και την εναπομένουσα χυμοσίνη (πυτιά) σε μικρότερου μοριακού βάρους πεπτίδια τα οποία εκφράζονται ως διαλυτό άζωτο σε 12% TCA. Στο κλάσμα αυτό, το HPB φαίνεται να παρουσιάζει τα υψηλότερα ποσοστά, έως το τέλος της ωρίμανσης. Ακολουθείται από το HPA, που από τις 60 έως τις 90 ημέρες παρουσιάζει εξαιρετικά σημαντική αύξηση. Το ποσοστό των δύο αυτών έτοιμων προϊόντων (t=90 days) είναι εμφανώς υψηλότερο από τα δείγμα αναφοράς και το HPC. Παρόμοια εμφανίζονται και τα αποτελέσματα του PTA-SN% το οποίο εκφράζει την περαιτέρω υδρόλυση των πεπτιδίων από τις πεπτιδάσες των βακτηρίων σε πολύ μικρά πεπτίδια και αμινοξέα. Ωστόσο, σε αυτήν την περίπτωση το δείγμα αναφοράς παρουσιάζει τα χαμηλότερα ποσοστά, ακόμη και από το επεξεργασμένο τυρί. Ιδιαίτερη σημασία έχει και το γεγονός ότι το HPB παρουσιάζει εξαιρετικά μεγάλη διαφορά στις τιμές αυτές συγκριτικά με τα υπόλοιπα δείγματα.

Γενικά, με βάση τα αποτελέσματα που προέκυψαν στα πλαίσια της έρευνας, συμπεραίνεται ότι τα καλύτερα αποτελέσματα, τόσο από οργανοληπτικής όσο και από φυσικοχημικής απόψεως, προκύπτουν κατά την εφαρμογή της μεθόδου της Υπερυψηλής Υδροστατικής Πίεσης στην καλλιέργεια-εκκίνησης που προστίθεται κατά την τυροκόμηση. Συγκεκριμένα, βελτιωμένα χαρακτηριστικά προέκυψαν στο χρώμα (πιο λευκό χρώμα με μη σημαντικές μεταβολές στην πορεία της ωρίμανσης), στην υφή/δομή ενώ παρατηρήθηκε έντονη μείωση της πικρής γεύσης του τυριού. Τα τυριά στα οποία εφαρμόστηκε η ΥΠ, είχαν ως αποτέλεσμα τη διάσπαση πεπτιδίων που μπορούν να παραχθούν στη Φέτα και έχουν ως αποτέλεσμα τη δημιουργία ανεπιθύμητης πικρής γεύσης. Ακόμη, η χρήση της ΥΠ επιτάχυνε το στάδιο της ωρίμανσης, δεδομένου ότι τα κλάσματα του υδατοδιαλυτού αζώτου που χρησιμοποιούνται ως πρωτεολυτικοί δείκτες, υπήρχαν σε σημαντικά υψηλότερα ποσοστά από τις πρώτες κιόλας ημέρες ωρίμανσης. Αντίθετα, η χρήση της μεθόδου αυτής απευθείας στο τυρί μετά το στάδιο της προωρίμανσής του, είχε ως αποτέλεσμα τη δημιουργία νέας υφής (μείωση της σκληρότητάς του), γεγονός που ήταν ως ένα βαθμό αποτέλεσμα της συγκράτησης μεγαλύτερου ποσοστού νερού στη μάζα του τυριού. Ωστόσο μειώθηκε αισθητά η πικρή γεύση των δειγμάτων, ενώ επιτεύχθηκε και επιτάχυνση της ωρίμανσης με βάση τους πρωτεολυτικούς δείκτες. Με εφαρμογή, επομένως, της ΥΠ είτε στην καλλιέργεια

εκκίνησης είτε στο ίδιο το τυρί καθίσταται δυνατή η παραγωγή τροποποιημένων βακτηρίων-εκκίνησης με βελτιωμένες πρωτεολυτικές ικανότητες.

### **ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ**

Λαμβάνοντας υπόψη τα αποτελέσματα της παρούσας διπλωματικής εργασίας, η συνέχιση της ερευνητικής δραστηριότητας θα μπορούσε να συνοψισθεί στα ακόλουθα σημεία:

- Μελέτη της διάρκειας ζωής λευκού τυριού τύπου Φέτας το οποίο έχει επεξεργαστεί με ΥΠ, ή έχει παρασκευαστεί με καλλιέργεια επεξεργασμένη με την ίδια μέθοδο.
- Οικονομική μελέτη για την παρασκευή τυριών με χρήση της τεχνολογίας ΥΠ.
- Μελέτη και σύγκριση όσον αφορά την απόδοση του παραγόμενου τυριού το οποίο έχει παρασκευαστεί με χρήση της τεχνολογίας ΥΠ.



## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι

## Ι. Έντυπο οργανοληπτικού ελέγχου

## ΦΥΛΛΟ ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ ΦΕΤΑΣ (RANKING TEST)

ΟΝΟΜΑ:

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ:

Αξιολογήστε τα παρακάτω δείγματα Φέτας ως προς τα οργανοληπτικά τους χαρακτηριστικά, με κλίμακα 1-9, στην οποία το 9 αντιστοιχεί στο χαρακτηρισμό «εξαιρετικό». Σημειώστε τη βαθμολογία σας στο αντίστοιχο κελί.

✚ Αξιολογήστε ως προς την αρέσκεια, το χρώμα, την υφή και τη γεύση του τυριού:

	Φέτα Α	Φέτα Β	Φέτα Γ	Φέτα Δ
ΕΜΦΑΝΙΣΗ – ΧΡΩΜΑ (1-9 βαθμούς)				
ΥΦΗ – ΔΟΜΗ (1-9 βαθμούς)				
ΓΕΥΣΗ – ΟΣΜΗ (1-9 βαθμούς)				

✚ Αξιολογήστε ως προς την ένταση, την εμφάνιση και το χρώμα του τυριού:

	Φέτα Α	Φέτα Β	Φέτα Γ	Φέτα Δ
Λευκό, ομοιογενές χρώμα (1-9 βαθμούς)				
Υποκίτρινο χρώμα (1-9 βαθμούς)				
Μικρές χαρακτηριστικές σχισμές (1-9 βαθμούς)				
Μεγάλες σχισμές – Ρήγματα				

(1-9 βαθμούς)				
Ενιαία τομή με ελάχιστες σχισμές (1-9 βαθμούς)				

✚ Αξιολογείστε ως προς την ένταση την υφή - δομή του τυριού:

	Φέτα Α	Φέτα Β	Φέτα Γ	Φέτα Δ
Σκληρή (1-9 βαθμούς)				
Ημίσκληρη (1-9 βαθμούς)				
Μαλακή (1-9 βαθμούς)				
Εύθρυπτη (1-9 βαθμούς)				
Σπογγώδης (σαν σφουγγάρι) (1-9 βαθμούς)				
Αλοιφώδης (1-9 βαθμούς)				

✚ Αξιολογείστε ως προς την ένταση τη γεύση-οσμή του τυριού:

	Φέτα Α	Φέτα Β	Φέτα Γ	Φέτα Δ
Ευχάριστα όξινη (0-10 βαθμούς)				
Όξινη (0-10 βαθμούς)				
Πικάντικη				

(0-10 βαθμούς)				
Ταγγισμένη (0-10 βαθμούς)				
Πικρή (0-10 βαθμούς)				
Αλμυρή (0-10 βαθμούς)				



## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙ

- I. Πίνακες ανάλυσης διακύμανσης δύο παραγόντων χωρίς αλληλεπίδραση για τα χαρακτηριστικά οργανοληπτικού ελέγχου Έντασης και Γενικής Εντύπωσης/Αρέσκειας.
- II. Διαγράμματα ανάλυσης κύριων συνιστωσών

## Ένταση

## Χρώμα/Λευκό ομοιογενές

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ	Πλήθος	Άθροισμα	Μέσος όρος	Διακύμανση
0	4	30,2	7,55	0,27
7	4	30,475	7,61875	0,411406
14	4	30,04167	7,510417	0,371962
21	4	29,46667	7,366667	0,082222
30	4	30,125	7,53125	0,58724
45	4	30,875	7,71875	0,378906
60	4	30,95833	7,739583	0,461082
90	4	29,875	7,46875	0,58724
A	8	65,68333	8,210417	0,060313
B	8	63,45	7,93125	0,061027
Γ	8	57,21667	7,152083	0,022356
Δ	8	55,66667	6,958333	0,024306

## ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ

Προέλευση διακύμανσης	SS	βαθμοί ελευθερίας	MS	F	τιμή-P	κριτήριο F
Γραμμές	0,439679	7	0,062811	1,79137	0,142156	2,487578
Στήλες	8,713845	3	2,904615	82,83932	8,4E-12	3,072467
Σφάλμα	0,736328	21	0,035063			
Σύνολο	9,889852	31				

## Σκληρότητα

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ	Πλήθος	Άθροισμα	Μέσος όρος	Διακύμανση
0	4	22,425	5,60625	1,14724
7	4	21,725	5,43125	1,375573
14	4	22,39167	5,597917	1,495295
21	4	22,60833	5,652083	1,199462
30	4	22,7	5,675	1,4225

45	4	21,625	5,40625	1,826823
60	4	22,14167	5,535417	1,845295
90	4	23,55	5,8875	1,700625
A	8	55,59167	6,948958	0,093779
B	8	49,9	6,2375	0,048929
Γ	8	34,575	4,321875	0,026685
Δ	8	39,1	4,8875	0,079821

## ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ

Προέλευση διακύμανσης	SS	βαθμοί ελευθερίας	MS	F	τιμή-P	κριτήριο F
Γραμμές	0,644861	7	0,092123	1,759295	0,14926 4,56E-	2,487578
Στήλες	34,9388	3	11,64627	222,4115	16	3,072467
Σφάλμα	1,099635	21	0,052364			
Σύνολο	36,6833	31				

## Αλατότητα

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ	Πλήθος	Άθροισμα	Μέσος όρος	Διακύμανση
0	4	22,55	5,6375	0,828958
7	4	23,5	5,875	0,6225
14	4	22,74167	5,685417	0,91974
21	4	21,875	5,46875	1,764323
30	4	21,6	5,4	1,150417
45	4	20,075	5,01875	1,330573
60	4	22,025	5,50625	1,510156
90	4	22,275	5,56875	1,125573
A	8	40,34167	5,042708	0,112509
B	8	34,6	4,325	0,149821
Γ	8	53,8	6,725	0,027857
Δ	8	47,9	5,9875	0,12375

## ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ

Προέλευση διακύμανσης	SS	βαθμοί ελευθερίας	MS	F	τιμή-P	κριτήριο F
Γραμμές	1,752151	7	0,250307	4,589144	0,003026	2,487578
Στήλες	26,61131	3	8,870436	162,631	1,08E-14	3,072467
Σφάλμα	1,14541	21	0,054543			
Σύνολο	29,50887	31				

**Μικρές Τομές**

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ	Πλήθος	Άθροισμα	Μέσος όρος	Διακύμανση
0	4	18,025	4,50625	5,900156
7	4	17,9	4,475	5,179583
14	4	17,425	4,35625	4,711823
21	4	17,65	4,4125	5,645208
30	4	17,9	4,475	5,144167
45	4	17,55833	4,389583	5,351545
60	4	17,275	4,31875	4,798073
90	4	17,6	4,4	5,105
A	8	55,275	6,909375	0,025525
B	8	16,45	2,05625	0,034777
Γ	8	23,88333	2,985417	0,035511
Δ	8	45,725	5,715625	0,112132

## ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ

Προέλευση διακύμανσης	SS	βαθμοί ελευθερίας	MS	F	τιμή-P	κριτήριο F
Γραμμές	0,116389	7	0,016627	0,260724	0,96254	2,487578
Στήλες	124,1674	3	41,38915	649,0143	7,45E-21	3,072467
Σφάλμα	1,339219	21	0,063772			
		Σύνολο	125,6231	31		

**Ευθρυπτότητα**

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ	Πλήθος	Άθροισμα	Μέσος όρος	Διακύμανση
0	4	12,175	3,04375	1,684323
7	4	11,8	2,95	1,699583
14	4	11,9	2,975	2,05875
21	4	12,125	3,03125	1,795573
30	4	12,025	3,00625	2,035156
45	4	11,55	2,8875	1,686042
60	4	11,95	2,9875	1,968542
90	4	11,775	2,94375	1,70099
A	8	33,875	4,234375	0,016775
B	8	30,55	3,81875	0,012277
Γ	8	9,925	1,240625	0,011417
Δ	8	20,95	2,61875	0,030491

## ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ

Προέλευση διακύμανσης	SS	βαθμοί ελευθερίας	MS	F	τιμή-P	κριτήριο F
Γραμμές	0,072812	7	0,010402	0,515297	0,812828	2,487578
Στήλες	43,46297	3	14,48766	717,7077	2,62E-21	3,072467
Σφάλμα	0,423906	21	0,020186			
Σύνολο	43,95969	31				

## Οξύτητα

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ	Πλήθος	Άθροισμα	Μέσος όρος	Διακύμανση
0	4	13,7	3,425	0,409167
7	4	13,325	3,33125	0,345573
14	4	12,875	3,21875	0,33724
21	4	12,75	3,1875	0,171875
30	4	12,15	3,0375	0,503542
45	4	12,875	3,21875	0,316406
60	4	11,925	2,98125	0,58474
90	4	12,85	3,2125	0,573958
A	8	32,275	4,034375	0,030167
B	8	26,375	3,296875	0,033471
Γ	8	21,65	2,70625	0,029777
Δ	8	22,15	2,76875	0,080491

## ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ

Προέλευση διακύμανσης	SS	βαθμοί ελευθερίας	MS	F	τιμή-P	κριτήριο F
Γραμμές	0,57242	2	0,08177		0,03871	2,48757
Στήλες	9,08257	8	3,02752	2,66275	8	8
Σφάλμα	0,64492	21	0,03071	98,5825	1,55E-12	3,07246
Σύνολο	10,2999	2	1			7

## Πικρή Γεύση

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ	Πλήθος	Άθροισμα	Μέσος όρος	Διακύμανση
0	4	12,85	3,2125	4,547292
7	4	11,9	2,975	4,344167

14	4	11,56667	2,891667	3,753611
21	4	11,75	2,9375	4,015625
30	4	8,611333	2,152833	3,878765
45	4	7,7	1,925	2,7425
60	4	7,25	1,8125	1,723958
90	4	7	1,75	1,416667
A	8	9,45	1,18125	0,048527
B	8	10,66667	1,333333	0,150794
Γ	8	18,528	2,316	0,860562
Δ	8	39,98333	4,997917	1,016701

## ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ

Προέλευση διακύμανσης	SS	βαθμοί ελευθερίας	MS	F	τιμή-P	κριτήριο F
Γραμμές	10,19876	7	1,456966	7,054177	0,000218	2,487578
Στήλες	74,93043	3	24,97681	120,93	2,08E-13	3,072467
Σφάλμα	4,337328	21	0,206539			
Σύνολο	89,46652	31				

## Γενική Εντύπωση

## Εμφάνιση/Χρώμα

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ	Πλήθος	Άθροισμα	Μέσος όρος	Διακύμανση
0	4	31,93333	7,983333	0,987778
7	4	31,73333	7,933333	0,902222
14	4	31,875	7,96875	0,983073
21	4	31,375	7,84375	0,74349
30	4	31,95833	7,989583	0,751545
45	4	32,08333	8,020833	0,909144
60	4	31,9	7,975	0,629167
90	4	31,91667	7,979167	0,844329
A	8	70,81667	8,852083	0,005193
B	8	68,025	8,503125	0,03865
Γ	8	54,58333	6,822917	0,022059
Δ	8	61,35	7,66875	0,017475

## ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ

Προέλευση διακύμανσης	SS	βαθμοί ελευθερίας	MS	F	τιμή-P	κριτήριο F
--------------------------	----	----------------------	----	---	--------	---------------

Γραμμές	0,079963	7	0,011423	0,476279	0,840869	2,487578
Στήλες	19,74857	3	6,582855	274,4631	5,34E-17	3,072467
Σφάλμα	0,503674	21	0,023984			
Σύνολο	20,3322	31				

**Υφή/Δομή**

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ	Πλήθος	Άθροισμα	Μέσος όρος	Διακύμανση
0	4	30,1	7,525	1,009167
7	4	30,05	7,5125	1,000625
14	4	29,6	7,4	0,815
21	4	29,25	7,3125	1,015625
30	4	28,975	7,24375	1,341823
45	4	30	7,5	0,302083
60	4	29,775	7,44375	0,74599
90	4	30,79167	7,697917	0,402054
A	8	67,88333	8,485417	0,076047
B	8	62,775	7,846875	0,04865
Γ	8	52,425	6,553125	0,090078
Δ	8	55,45833	6,932292	0,075366

## ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ

Προέλευση διακύμανσης	SS	βαθμοί ελευθερίας	MS	F	τιμή-P	κριτήριο F
Γραμμές	0,549286	7	0,078469	1,112144	0,391951	2,487578
Στήλες	18,41541	3	6,138469	87,00026	5,23E-12	3,072467
Σφάλμα	1,481695	21	0,070557			
Σύνολο	20,44639	31				

**Γεύση/Οσμή**

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ	Πλήθος	Άθροισμα	Μέσος όρος	Διακύμανση
0	4	31,2	7,8	1,573333
7	4	30,1	7,525	1,075833
14	4	29,13333	7,283333	0,873889
21	4	29,375	7,34375	0,639323
30	4	29,68333	7,420833	1,221736
45	4	29,83333	7,458333	1,350694
60	4	28,73333	7,183333	1,083333
90	4	28,875	7,21875	1,358073

A	8	68,65	8,58125	0,057098
B	8	63,425	7,928125	0,133114
Γ	8	50,25833	6,282292	0,023818
Δ	8	54,6	6,825	0,157321

## ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ

Προέλευση διακύμανσης	SS	βαθμοί ελευθερίας	MS	F	τιμή-P	κριτήριο F
Γραμμές	1,103576	7	0,157654	2,213224	0,075132	2,487578
Στήλες	26,03276	3	8,677587	121,8204	1,93E-13	3,072467
Σφάλμα	1,495885	21	0,071233			
Σύνολο	28,63222	31				

## Ευχάριστα Όξινη

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ	Πλήθος	Άθροισμα	Μέσος όρος	Διακύμανση
0	4	28,7	7,175	0,629167
7	4	28,675	7,16875	0,625573
14	4	27,41667	6,854167	0,210069
21	4	25,375	6,34375	0,262008
30	4	24,20833	6,052083	1,783999
45	4	27,33333	6,833333	1,736111
60	4	26,58333	6,645833	1,233218
90	4	26,75	6,6875	0,255208
A	8	60,15	7,51875	0,295352
B	8	56,48333	7,060417	0,486443
Γ	8	47,29167	5,911458	0,699622
Δ	8	51,11667	6,389583	0,262237

## ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ

Προέλευση διακύμανσης	SS	βαθμοί ελευθερίας	MS	F	τιμή-P	κριτήριο F
Γραμμές	4,133921	7	0,59056	1,536458	0,209326	2,487578
Στήλες	12,1344	3	4,0448	10,52334	0,000197	3,072467
Σφάλμα	8,07166	21	0,384365			
Σύνολο	24,33998	31				

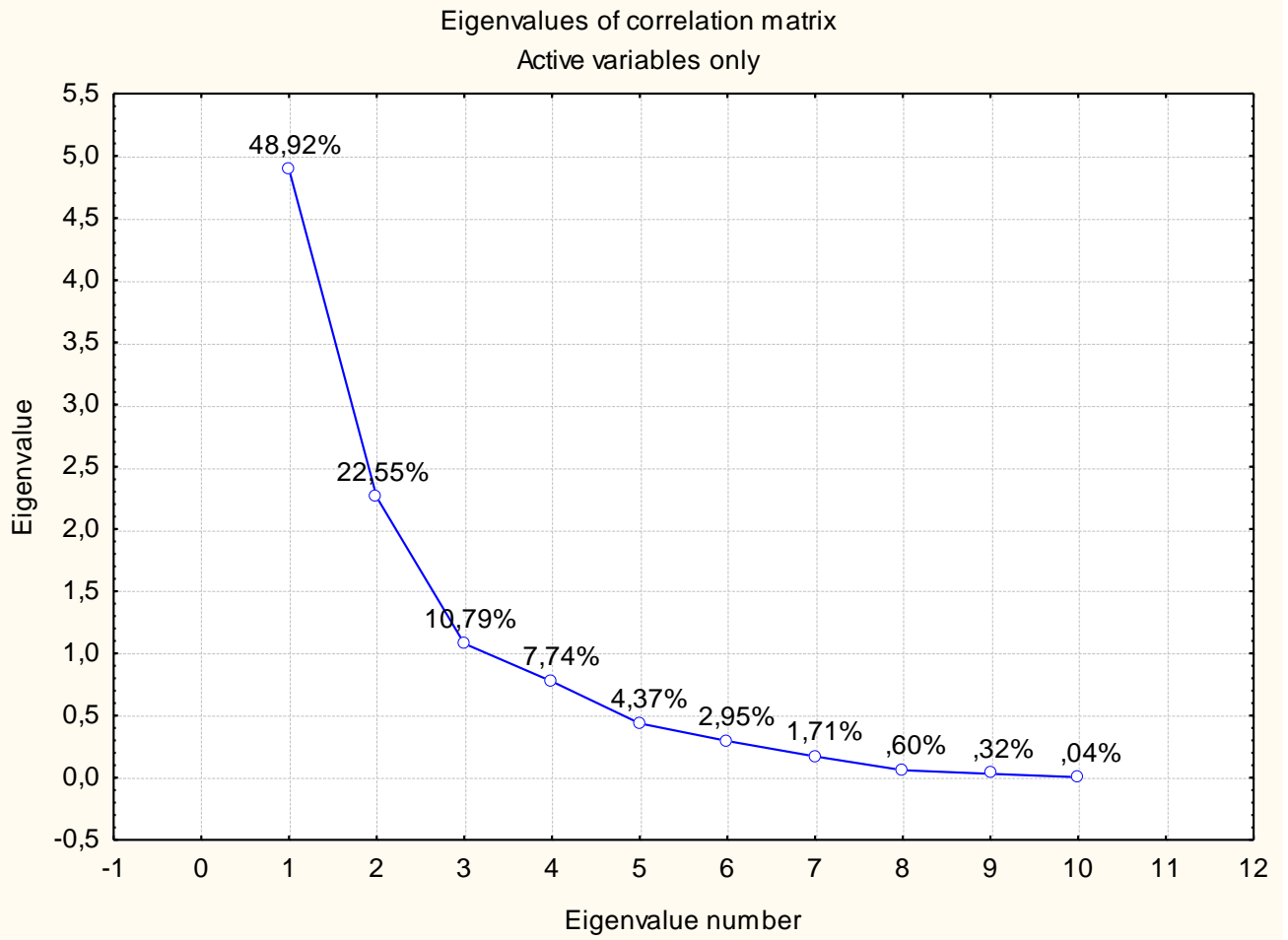
## Γενική Εντύπωση

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ	Πλήθος	Άθροισμα	Μέσος όρος	Διακύμανση
0	4	31,07778	7,769444	1,128426
7	4	30,62778	7,656944	0,96223
14	4	30,20278	7,550694	0,861761
21	4	30	7,5	0,782407
30	4	30,20556	7,551389	1,071937
45	4	30,63889	7,659722	0,765754
60	4	30,13611	7,534028	0,775125
90	4	30,52778	7,631944	0,802148
A	8	69,11667	8,639583	0,016933
B	8	64,74167	8,092708	0,034156
Γ	8	57,13611	7,142014	0,031103
Δ	8	52,42222	6,552778	0,008201

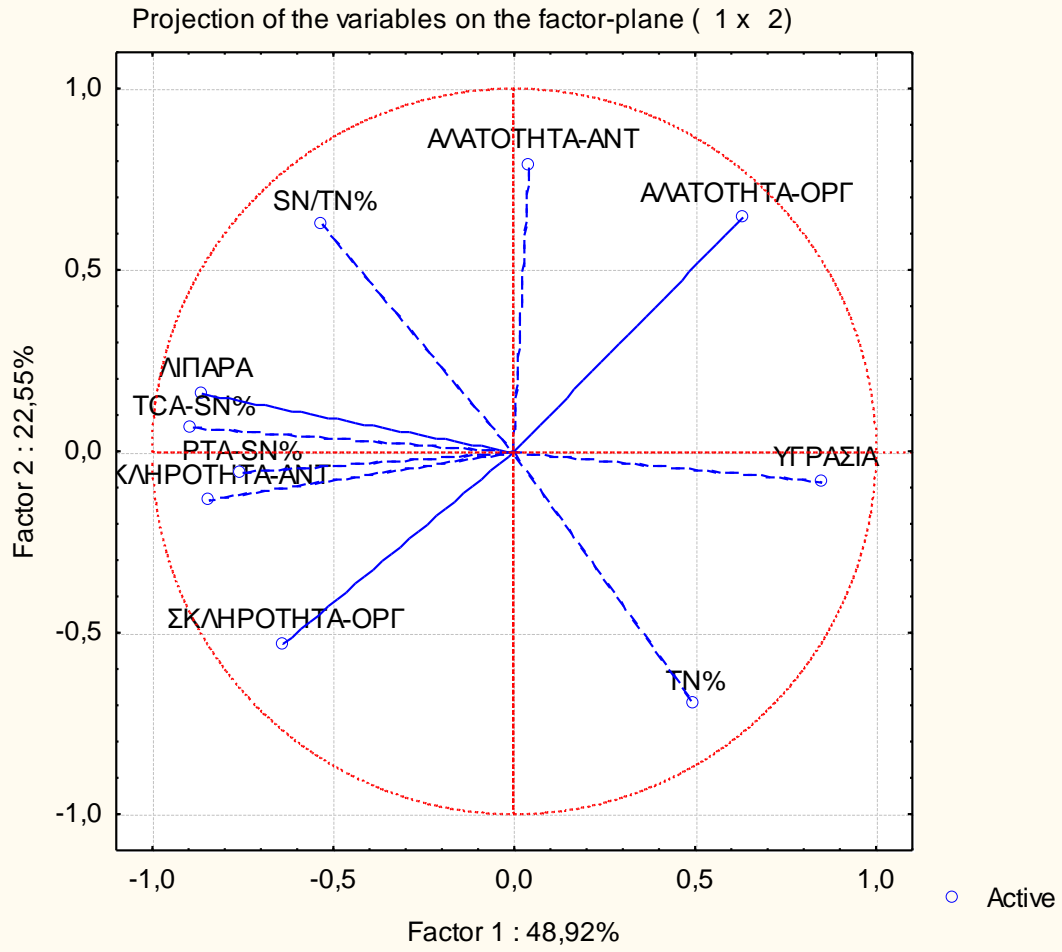
## ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ

Προέλευση διακύμανσης	SS	βαθμοί ελευθερίας	MS	F	τιμή-P	κριτήριο F
Γραμμές	0,221284	7	0,031612	1,613384	0,186302	2,487578
Στήλες	21,0379	3	7,012633	357,9047	3,51E-18	3,072467
Σφάλμα	0,411465	21	0,019594			
Σύνολο	21,67065	31				





**Διάγραμμα Ιδιοτιμών**



**Διάγραμμα Ανάλυσης Κύριων Συνιστωσών**

