



ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑΤΑ

ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ
ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΖΩΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΑΣ

ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

«ΟΛΟΚΛΗΡΩΜΕΝΗ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΚΑΙ ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΚΩΝ
ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ»

Επίδραση των συνθηκών αλατίσματος και ωρίμασης
στα χαρακτηριστικά ημισκληρού τυριού με μειωμένα
λιπαρά

Μεταπτυχιακή Ερευνητική Μελέτη

του

Δημητρίου Ν. Κουκλίδη

Επιβλέπουσα: Δρ. Γκόλφω Μοάτσου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια

ΑΘΗΝΑ, 2017

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΤΜΗΜΑΤΑ

ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ
ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΖΩΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ

Εργαστήριο Γαλακτοκομίας

ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

«ΟΛΟΚΛΗΡΩΜΕΝΗ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΚΑΙ ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΚΩΝ
ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ»

**Επίδραση των συνθηκών αλατίσματος και ωρίμασης στα
χαρακτηριστικά ημισκληρού τυριού με μειωμένα λιπαρά**

Μεταπτυχιακή Ερευνητική Μελέτη

του

Δημητρίου Ν. Κουκλίδη

Επιβλέπουσα: **Δρ. Γκόλφω Μοάτσου**, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια

ΑΘΗΝΑ, 2017

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΣΥΝΘΗΚΩΝ ΑΛΑΤΙΣΜΑΤΟΣ ΚΑΙ
ΩΡΙΜΑΣΗΣ ΣΤΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΗΜΙΣΚΛΗΡΟΥ
ΤΥΡΙΟΥ ΜΕ ΜΕΙΩΜΕΝΑ ΛΙΠΑΡΑ**

ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ Ν. ΚΟΥΚΛΙΔΗΣ

Επιβλέπουσα: **ΔΡ. ΓΚΟΛΦΩ ΜΟΑΤΣΟΥ**, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

Δρ. Ιωάννης Πολίτης, Καθηγητής ΕΖΠΥ

Δρ. Γκόλφω Μοάτσου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια ΤΕΤΤ

Δρ. Αικατερίνη Μοσχοπούλου, Λέκτορας ΤΕΤΤ

ΑΘΗΝΑ, 2017

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Επίδραση των συνθηκών αλατίσματος και ωρίμασης στα χαρακτηριστικά ημίσκληρου τυριού με μειωμένα λιπαρά.

Ο στόχος της παρούσας μελέτης ήταν η παρασκευή πειραματικών ημίσκληρων τυριών από μίγμα αίγειου και αποβουτυρωμένου αγελαδινού γάλακτος σε ημι-πilotική κλίμακα. Σε αυτό το πλαίσιο, εφαρμόστηκαν έντονη θερμική επεξεργασία του γάλακτος προς τυροκόμηση ($72^{\circ}\text{C}/10 \text{ min}$), ήπιες θερμοκρασίες κατά την τυροκόμηση, «πλύσιμο» του πήγματος και πίεση με το χέρι, για την παρασκευή μικρών κεφαλιών τυριών μέσου βάρους $\sim 900 \text{ g}$. Το αλάτισμα σε άλμη είχε ως αποτέλεσμα την δημιουργία δύο ομάδων τυριών, οι οποίες συμβολίστηκαν ως Α και Β με μειωμένη και κανονική αλατοπεριεκτικότητα αντίστοιχα. Μετά από παραμονή στους 15°C για 9 ημέρες και συσκευασία υπό κενό, τα τυριά και από τις δύο ομάδες διαφοροποιήθηκαν με βάση τους περαιτέρω χειρισμούς ωρίμασης. Τα τυριά Αa και Βa ωρίμασαν στους 15°C για 28 ημέρες και μετά στους 10°C μέχρι τις 54 ημέρες, ενώ τα αντίστοιχα Αb, Βb ωρίμασαν στους 10°C μέχρι τις 54 ημέρες. Στη συνέχεια, όλα τα τυριά μεταφέρθηκαν στους 4°C . Τα πειράματα διεξήχθησαν εις τριπλούν και έγινε δειγματοληψία την 9^η, 28^η, 54^η και 120^η ημέρα. Όλα τα δείγματα αναλύθηκαν σε σχέση με τη φυσικοχημική σύσταση, τα ποιοτικά και ποσοτικά χαρακτηριστικά πρωτεόλυσης και την κατατομή της υφής/δομής. Η σύσταση του ανόργανου κλάσματος μελετήθηκε στις 54 ημέρες και οι οργανοληπτικές ιδιότητες αξιολογήθηκαν στις 120 ημέρες.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, η σύσταση του γάλακτος προς τυροκόμηση και η επεξεργασία σε συνδυασμό με τις συνθήκες τυροκόμησης που εφαρμόστηκαν είχαν ως αποτέλεσμα την δημιουργία σταθερού τυροπήγματος. Στατιστικά σημαντικές διαφορές των συνθηκών ωρίμασης στις παραμέτρους που μελετήθηκαν ήταν σπάνιες, ενώ το αλάτισμα μετέβαλε κάποιες από αυτές τις παραμέτρους. Μάλιστα, ο παράγοντας που μετέβαλλε σημαντικά ($P < 0,05$) το μεγαλύτερο μέρος των χαρακτηριστικών των τυριών ήταν το στάδιο ωρίμασης. Τα τυριά μειωμένης αλατοπεριεκτικότητας Α είχαν σημαντικά υψηλότερη ($P < 0,05$) υγρασία, a_w και MNFS, παρόμοια συγκέντρωση ελεύθερων αμινομάδων και λιγότερη σκληρότητα σε σχέση με τα αντίστοιχα της ομάδας Β. Η θερμοκρασία ωρίμασης επηρέασε σημαντικά ($P < 0,05$) το ρυθμό πρωτεόλυσης εκφρασμένο ως συσσώρευση υδρόφιλων και αποικοδόμηση υδρόφοβων πεπτιδίων στο υδατοδιαλυτό εκχύλισμα του τυριού. Οι βαθμολογίες του οργανοληπτικού ελέγχου ήταν υψηλές και δε διέφεραν σημαντικά. Ωστόσο, το τυρί που ωρίμασε στους 10°C ανεξάρτητα από το επίπεδο αλατίσματος (Αb και Βb) ήταν περισσότερο αποδεκτό. Δεν παρατηρήθηκαν ελαττώματα δομής/υφής και δεν ανιχνεύθηκε πικρή γεύση σε κανένα από τα τυριά. Τέλος, η Ανάλυση Κυρίων Συνιστωσών (PCA) έδειξε πως η συνολική σύσταση και η ποσοτική αξιολόγηση των κατατομών της RP-HPLC ήταν αρκετές για την ανάλυση σε βάθος της επιρροής διαφόρων παραγόντων.

Συμπερασματικά, η μείωση του λίπους του αίγειου γάλακτος με την προσθήκη άπαχου αγελαδινού γάλακτος, η έντονη θερμική επεξεργασία του γάλακτος της τυροκόμησης, οι ήπιες συνθήκες τυροκόμησης και το «πλύσιμο» του πήγματος, η μέτρια αλατοπεριεκτικότητα και η ωρίμαση υπό συσκευασία στους 10°C είχε ως αποτέλεσμα την παρασκευή ημίσκληρων τυριών με πολύ καλά και διακριτά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, χωρίς ελαττώματα ως προς τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά ή την υφή/δομή. Τα τυριά είχαν $a_w=0,966$, $\text{pH}=5,0-5,1$ και γενική μέση σύσταση για την ηλικία ≥ 28 ημερών: Υγρασία=46,05-45,04%, Υγρασία επί μη-λιπαρών συστατικών (MNFS)=57,83-58,55%, Λίπος=21,35-22,12%, Λίπος επί ξηρού (FDM)=39,6-40,2%, Πρωτεΐνες=27,18-27,62%, Υγρασία/Πρωτεΐνες=1,63-1,70, Αλάτι=1,78-1,85%, Αλάτι στην υγρή φάση (S/M)=3,69-3,95%.

Επιστημονική περιοχή: Τυριά

Λέξεις -κλειδιά: ημίσκληρο τυρί, μειωμένα λιπαρά, συνθήκες αλατίσματος, συνθήκες ωρίμασης, συνθήκες τυροκόμησης

SUMMARY

Effect of salting and ripening conditions on the characteristics of semi-hard reduced-fat cheese

The objective of the present study was the manufacture of experimental semi-hard cheeses from a mixture of goat and skim cow milk, in semi-pilot scale. In this respect, intense heat treatment of cheese milk mixture (72°C/10 min), mild temperatures, curd washing and pressing by hand were applied for the manufacture of small cheese wheels of ~900 g. The salting in brine resulted in two groups of cheeses symbolized as A and B with reduced and normal salt content respectively. After stay at 15°C for 9 days and vacuum packaging cheeses of both groups were differentiated according to further ripening treatments. Cheeses Aa and Ba were ripened at 15°C up to 28 d and then at 10°C up to 54 d, while counterparts Ab and Bb were ripened at 10°C up to 54 d. Then, all cheeses were transferred at 4°C. The experiments were carried out in triplicate and samples were taken at 9, 28, 54 and 120 d. All samples were analyzed in respect to physicochemical composition, quantitative and qualitative features of proteolysis and textural profile. The composition of inorganic fraction was studied at 54 d and the organoleptic properties were assessed at 120 d.

According to the results, cheese milk composition and treatment combined with the applied cheese making conditions resulted in stable cheese curd. Statistically significant effects of ripening conditions on the studied parameters were scarce whereas salting affected some of them. In fact, the factor, which affected significantly ($P<0.05$) the most part of cheese features was the stage of ripening. Reduced-salt cheeses A had significantly higher ($P<0.05$) moisture, α_w and MNFS, similar concentration of free amino groups and less hardness than the respective B cheeses. The ripening temperature affected significantly ($P<0.05$) the proteolysis rate expressed as the accumulation of hydrophilic and decrease of hydrophobic peptides in cheese water-extract. The organoleptic scores of all cheeses were high and did not differ significantly; however, both cheeses Ab and Bb ripened at 10°C were the most accepted. Textural defects and bitterness were not detected in any cheese. Finally, PCA analysis showed that gross composition and quantitative assessment of RP-HPLC profiles were adequate for the thorough study of the effect of various factors.

In conclusion, the reduction of goat milk fat by the addition of skim cow milk, the intense heat treatment of cheese milk, the moderate cheese making temperatures and curd washing, the moderate salt content and the ripening under packaging at 10°C resulted in semi-hard cheese with very good and distinct organoleptic characteristics without textural or sensory defects. The physicochemical composition of cheese at ≥ 28 d was as follows: α_w 0.966, pH=5.0-5.1, Moisture 46.05-45.04%, Moisture on non-fat substances (MNFS) 57.83-58.55%, Fat 21.35-22.12%, Fat on dry matter (FDM)=39.6-40.2%, Protein 27.18-27.62%, Moisture/Protein 1.63-1.70, Salt 1.78-1.85%, Salt in moisture (S/M) 3.69-3.95%.

Scientific area: Cheese

Keywords: semi-hard cheese, reduced fat, salting conditions, ripening conditions, cheese making conditions

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα καταρχήν να ευχαριστήσω την καθηγήτριά μου και επιβλέπουσα της μελέτης Δρ. Γκόλφω Μοάτσου, για την καθοδήγηση, το χρόνο, τη βοήθεια και τις πολύτιμες συμβουλές που μου έδωσε καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της μελέτης. Της οφείλω όμως και ξεχωριστές ευχαριστίες για την κατανόηση και τις συνεχείς διευκολύνσεις που μου παρείχε σχετικά με την εξισορρόπηση των εργασιακών και ακαδημαϊκών μου υποχρεώσεων, κάτι που αποτέλεσε τη μεγαλύτερη πρόκληση για την ολοκλήρωση της παρούσας μελέτης.

Ευχαριστώ επίσης τα αξιότιμα μέλη της εξεταστικής επιτροπής, Δρ. Αικατερίνη Μοσχοπούλου και Δρ. Ιωάννη Πολίτη για τη συμβολή τους στην επιτυχή ολοκλήρωση της μεταπτυχιακής μου μελέτης.

Για τη βοήθειά τους στη διεξαγωγή των εργαστηριακών αναλύσεων θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τον κ. Λάμπρο Σακκά και τη κ. Ευαγγελία Ζωίδου, οι οποίοι μου προσέφεραν ουσιαστικές λύσεις και πολύτιμη καθοδήγηση.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Θεόδωρο Πάσχο για τη σκληρή δουλειά του κατά τη διάρκεια των τυροκομήσεων, καθώς και τους φοιτητές του Γ.Π.Α. Ευαγγελία Χουντάλα και Κώστα Κούτσαρη για τον ενεργό ρόλο που είχαν στις τυροκομήσεις κατά τη διάρκεια της πρακτικής τους άσκησης.

Τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ στη μέλλουσα σύζυγό μου Ειρήνη, για την υπομονή και στήριξή της καθ' όλη τη διάρκεια της προσπάθειάς μου.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΜΕΡΟΣ Α΄: ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ	1
1. ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗΣ ΤΥΡΙΩΝ	1
1.1. ΔΙΕΘΝΗ ΣΧΗΜΑΤΑ ΚΑΤΗΓΟΡΙΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΥΡΙΩΝ	1
1.2. ΤΟ ΤΥΡΙ ΣΤΗΝ ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΝΟΜΟΘΕΣΙΑ	11
2. ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΤΥΡΙΩΝ ΧΑΜΗΛΗΣ ΛΙΠΟΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ	14
2.1. ΓΕΝΙΚΑ	14
2.2. ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΑΡΕΜΒΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΤΥΡΙΩΝ ΧΑΜΗΛΗΣ ΛΙΠΟΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ	16
2.2.1. Αλλαγές στη μέθοδο τυροκόμησης	17
2.2.2. Χρήση εναρκτήριων και δευτερεύουσων καλλιιεργειών, χρήση ενζύμων	20
2.2.3. Προσθήκη απομιμήσεων λίπους	21
2.3. ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΟΥ ΠΟΣΟΣΤΟΥ ΛΙΠΟΥΣ ΣΤΟ ΤΥΡΙ	22
2.4. ΑΝΑΚΑΤΕΡΓΑΣΜΕΝΑ ΤΥΡΙΑ ΜΕΙΩΜΕΝΗΣ ΛΙΠΟΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ	26
3. ΑΛΑΤΙΣΜΑ ΤΩΝ ΤΥΡΙΩΝ	27
3.1. ΓΕΝΙΚΑ	27
3.2. ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΛΑΤΙΣΜΑΤΟΣ	29
3.3. ΠΡΟΣΛΗΨΗ ΤΟΥ ΑΛΑΤΙΟΥ	30
3.4. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΑΛΑΤΙΟΥ ΣΤΟ ΤΥΡΙ	33
3.5. ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΑΡΕΜΒΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΤΥΡΙΩΝ ΜΕΙΩΜΕΝΗΣ ΑΛΑΤΟΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ	34
3.6. ΑΝΑΚΑΤΕΡΓΑΣΜΕΝΑ ΤΥΡΙΑ ΜΕ ΜΕΙΩΜΕΝΗ ΑΛΑΤΟΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ	35
ΜΕΡΟΣ Β΄: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ	36
4. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	37
4.1. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΤΥΡΟΚΟΜΗΣΕΙΣ	37
4.2. ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ ΚΑΙ ΣΗΜΑΝΣΗ	39
4.3. ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΤΩΝ ΤΥΡΙΩΝ	40
4.3.1. Σύσταση	40
4.3.2. Ενεργότητα νερού (α_w) και pH	40
4.3.3. Πρωτεόλυση	40
4.3.3.1. Προσδιορισμός ελευθέρων αμινομάδων με τη μέθοδο TNBS (trinitrobenzenesulphonic acid)	40
4.3.3.2. HPLC ανεστραμμένης φάσης (Reversed Phase-HPLC, RP-HPLC)	41
4.3.4. Κατατομή δομής	42
4.3.5. Ανόργανο κλάσμα	42
4.3.6. Οργανοληπτικός έλεγχος και παράμετροι χρώματος	44
4.4. ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ	45

5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ	47
5.1. ΤΥΡΟΚΟΜΗΣΕΙΣ	47
5.1.1. Γάλα τυροκόμησης	47
5.1.2. Τυροκόμηση	49
5.1.3. Αλάτισμα	51
5.2. ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΗΣ ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΗΣ ΣΥΣΤΑΣΗΣ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΗΣ ΩΡΙΜΑΣΗΣ	53
5.3. ΠΡΩΤΕΟΛΥΣΗ	64
5.3.1. Εξέλιξη της συγκέντρωσης ελευθέρων αμινομάδων	66
5.3.2. RP-HPLC	69
5.4. ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΗΣ ΚΑΤΑΤΟΜΗΣ ΔΟΜΗΣ	79
5.5. ΣΥΣΤΑΣΗ ΤΟΥ ΑΝΟΡΓΑΝΟΥ ΚΛΑΣΜΑΤΟΣ ΤΩΝ ΩΡΙΜΩΝ ΤΥΡΙΩΝ	88
5.5.1. Σύσταση της τέφρας των ώριμων τυριών	88
5.5.2. Χλωριούχο νάτριο των ώριμων τυριών	90
5.6. ΧΡΩΜΑ ΚΑΙ ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΩΝ ΩΡΙΜΩΝ ΤΥΡΙΩΝ	91
5.6.1. Μέτρηση χρώματος	91
5.6.2. Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά	92
5.7. ΑΝΑΛΥΣΗ ΚΥΡΙΩΝ ΣΥΝΙΣΤΩΣΩΝ (PRINCIPAL COMPONENT ANALYSIS, PCA)	98
5.8. ΣΥΝΟΨΗ	104
6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	105
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	107

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Από το πήγμα του γάλακτος με πυτιά με την εφαρμογή διαφορετικών τεχνολογιών και τεχνικών κατά την τυροκόμηση και την ωρίμαση παράγονται πολλές διαφορετικές κατηγορίες τυριών που διαφέρουν μεταξύ τους ως προς τη σύσταση, την εμφάνιση, τη γεύση και τη διάρκεια ζωής. Μία από αυτές τις κατηγορίες είναι τα ημίσκληρα τυριά που παράγονται σε μεγάλες ποσότητες παγκοσμίως, συνήθως ως τυριά Ολλανδικού τύπου ή τύπου *pasta-filata*, από πλήρες ή μερικά αποκορυφωμένο αγελαδινό γάλα. Είναι γνωστό ότι το χαρακτηριστικό της Ελληνικής γαλακτοπαραγωγής είναι το γάλα των μικρών μηρυκαστικών, το οποίο αξιοποιείται με την παραγωγή πολλών τυριών Π.Ο.Π., και ότι το αίγαιο γάλα αξιοποιείται κυρίως σε μίγματά του με το πρόβειο. Οι ιδιαιτερότητες του πρωτεϊνικού και επομένως και του ανόργανου κλάσματός του, έχουν συνδεθεί με «αδυναμίες» του τυροπήγματος.

Σκοπός της παρούσας μελέτης, η οποία πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Γαλακτοκομίας του Γ.Π.Α., ήταν η τυροκόμηση μίγματος αίγειου και άπαχου αγελαδινού γάλακτος, εφαρμόζοντας στοχευμένες τεχνολογικές επεμβάσεις με σκοπό την παραγωγή ημίσκληρου τυριού, και η διερεύνηση της επίδρασης του αλατίσματος και των συνθηκών ωρίμασης στα χαρακτηριστικά του. Με την προσθήκη του άπαχου αγελαδινού γάλακτος στο αίγαιο μειώθηκε το λίπος του γάλακτος της τυροκόμησης και επομένως και του τυριού, ενισχύθηκε ποιοτικά το καζεϊνικό του κλάσμα, ενώ παράλληλα διατηρήθηκε το λίπος του αίγειου γάλακτος ως «πηγή» χαρακτηριστικής ιδιαίτερης γεύσης και αρώματος.

ΜΕΡΟΣ Α΄: ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

1. ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗΣ ΤΥΡΙΩΝ

1.1. ΔΙΕΘΝΗ ΣΧΗΜΑΤΑ ΚΑΤΗΓΟΡΙΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΥΡΙΩΝ

Τα τυριά είναι μια ευρεία ετερογενής ομάδα τροφίμων, τα οποία εμφανίζουν πολύ μεγάλες διαφορές στον τρόπο παρασκευής τους. Η Διεθνής Ομοσπονδία Γάλακτος (IDF) το 1981 αναγνώριζε περίπου 500 διαφορετικές ποικιλίες τυριών (Fox *et al.*, 2000). Ο FAO/WHO δίνει τον εξής ορισμό για τα τρόφιμα που μπορούν να χαρακτηριστούν τυριά:

«Τυρί είναι το φρέσκο ή ωριμασμένο στερεό ή ημιστερεό προϊόν το οποίο έχει παραληφθεί από την πήξη γάλακτος, αποβουτυρωμένου γάλακτος, ημιαποβουτυρωμένου γάλακτος, κρέμας, κρέμας τυρογάλακτος, βουτυρογάλακτος, ή από συνδυασμό αυτών των υλικών, μέσω της δράσης της πυτιάς ή άλλων κατάλληλων παραγόντων πήξης, και από το οποίο αφαιρείται τμηματικά ο ορός που προκύπτει από τέτοια πήξη.»

Η αρχική ιδέα της αναγνώρισης και προστασίας των διαφορετικών ειδών τυριών ανήκει στη Σύνοδο του Παρισιού το 1883, όπου θεσπίστηκε ο όρος «Προστατευόμενη Ονομασία Προέλευσης» (*Appellation d'Origine Contrôlée*), έτσι ώστε να αναγνωριστεί η ειδική κληρονομιά των τροφίμων τα οποία προέρχονται από συγκεκριμένη γεωγραφική περιοχή και να διαφυλαχθεί η ιδιαιτερότητά τους. Κατόπιν, την ιδέα αυτή ενστερνίστηκε η Ευρωπαϊκή Ένωση, και θέσπισε και την κατηγορία των τροφίμων με «Προστατευόμενη Γεωγραφική Ένδειξη» (*Protected Geographical Indication*). Η κατηγοριοποίηση των τυριών έχει σημασία καθώς διευκολύνει το διεθνές εμπόριο, την αναγραφή διατροφικών πληροφοριών και άλλους λόγους, όπως η έρευνα (McSweeney *et al.*, 2004).

Τα κριτήρια με τα οποία μπορεί κάποιος να κατατάξει τα τυριά σε ομάδες είναι πολυάριθμα και υπό συζήτηση. Υπάρχουν ερευνητές οι οποίοι έχουν δώσει τους δικούς τους ορισμούς σχετικά με την κατάταξη των τυριών. Για τους καταναλωτές, κυρίαρχο ρόλο διαδραματίζουν οι ιδιότητες οι οποίες σχετίζονται με τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, όπως το σχήμα, το μέγεθος, η εσωτερική και εξωτερική όψη, ενώ ακόμη μεγαλύτερη σημασία έχουν η γεύση, το άρωμα και η τα χαρακτηριστικά δομής (Walstra *et al.*, 2006).

Τα παραδοσιακά σχήματα κατηγοριοποίησης των τυριών βασίζονται πρωταρχικά στο ποσοστό περιεχόμενης υγρασίας. Το μειονέκτημα αυτής της μεθόδου είναι ότι ομαδοποιούνται τυριά με πολύ διαφορετικά χαρακτηριστικά και μεθόδους παρασκευής. Επιπρόσθετα κριτήρια κατηγοριοποίησης είναι το είδος γάλακτος, η υφή, οι πρωταρχικοί μικροοργανισμοί ωρίμασης, οι δείκτες ωρίμασης, η μέθοδος πήξης και η θερμοκρασία αναθέρμανσης (Fox *et al.*, 2000, McSweeney *et al.*, 2004, Almena-Aliste & Mietton, 2014).

Ο Scott (1998) κατηγοριοποιεί τα τυριά με βάση χρησιμοποιώντας ως κριτήρια την υγρασία, το είδος ωρίμασης, αλλά και ειδικά χαρακτηριστικά όπως παρουσιάζεται στη συνέχεια:

- Σκληρά τυριά.
 - Κατάταξη ανάλογα με τη θερμοκρασία αναθέρμανσης ή αν χρησιμοποιείται η τεχνολογία pasta-filata.
- Ημίσκληρα τυριά.
 - Υποκατηγοριοποίηση που λαμβάνει υπόψη της και την ειδική επιφανειακή ή εσωτερική μικροχλωρίδα.
- Μαλακά τυριά.
 - Υποκατηγοριοποίηση ανάλογα με τον τρόπο πήξης (όξινη, ενζυμική), την τυχόν ειδική επιφανειακή μικροχλωρίδα, τη δυνατότητα ωρίμασης.
- Τυριά τυρογάλακτος.
 - Διαχωρισμός μεταξύ τυριών στα οποία προστίθεται γάλα ή κρέμα, και αυτών στα οποία χρησιμοποιείται μόνο τυρόγαλα.
- Τυριά με προστιθέμενα μπαχαρικά.
- Τυριά με προστιθέμενα φυτικά αρωματικά πρόσθετα.
- Καπνιστά τυριά.
- Τυριά που ωριμάζουν σε άλμη.

Οι Walstra *et al.* (2006) κατατάσσουν τα τυριά σε κατηγορίες με βάση τα εξής κριτήρια:

- Διαφορές στην τεχνολογία παραγωγής
- Ιδιότητες του τυριού
- Οικονομική σημασία των κατηγοριών τυριών (π.χ. Gouda-type, Cheddar-type, fresh, κ.λπ.).

Starter	Mesophilic		Thermophilic		Mesophilic		
	Fresh	Ripened	Propionic acid bacteria	—	Bacterial smear	White mold	Blue mold
5	Quarg						
$\frac{w}{P}$							
$\log \frac{w}{P}$							
4	Cottage						
3		Feta ^{1,2}					
		Meshanger					
0.4		Queso blanco ^{2,3}				Camembert	
2		Butterkäse		Mozzarella ⁵	Munster		
		Caerphilly ⁴			Port Salut	Chèvre ²	Roquefort ²
		St. Paulin			Tilsiter		
1.50		Gouda	Jarlsberg	—x	x		Gorgonzola
1.25		Cheddar ⁴	Emmentaler	Provolone ⁵			
1			Gruyère		x		Stilton ⁴
0.8				Parmigiano			

Εικόνα 1.1. Κατηγοριοποίηση των τυριών με βάση τον τρόπο ωρίμασης και το λόγο υγρασίας προς πρωτεΐνη (Walstra *et al.*, 2006).

¹ Σε διάλυμα άλμης.

⁴ Αλάτισμα του πήγματος πριν από την πίεση.

² Μπορεί να προέρχεται από γάλα εκτός του αγελαδινού.

⁵ Πλαστικής (ζυμωμένης) τυρομάζας (pasta filata)

³ Συνήθως με όξινη πήξη.

x Ισχύει επιπροσθέτως.

Οι διαφορές στην τεχνολογία παραγωγής εντοπίζονται στα εξής σημεία:

- Είδος γάλακτος
- Τυποποίηση του γάλακτος
- Θερμική επεξεργασία του γάλακτος
- Προ-οξίνιση του γάλακτος πριν από την προσθήκη πυτιάς
- Σύσταση της εναρκτήριας καλλιέργειας και ποσοστό εμβολιασμού
- Προσθήκη δευτερεύουσας καλλιέργειας
- Είδος πήξης και τύπος πηκτικού παράγοντα
- Σχηματισμός τυροπήγματος
- Θερμοκρασία αναθέρμανσης του τυροπήγματος
- Πλύσιμο τυροπήγματος
- Μέγεθος και σχήμα του τυριού
- Πίεση
- Χρονικό διάστημα ανάμεσα στην πίεση και την αλάτισμα
- Μέθοδος αλατίσματος
- Περιεχόμενο αλάτι
- Πρόσθετα συστατικά
- Θερμοκρασία ωρίμασης
- Χειρισμοί κατά την ωρίμαση/αποθήκευση
- Χρονικό διάστημα ωρίμασης
- Κάλυψη της επιφάνειας του τυριού με συσκευασία
- Άλλες σύγχρονες πρακτικές

Οι Walstra *et al.* (2006) επισημαίνουν ότι ο αριθμός των διαφορετικών ειδών τυριών που μπορούν να προκύψουν από αυτές τις επεμβάσεις στον τρόπο παρασκευής των τυριών είναι υπερβολικά υψηλός, για αυτό το λόγο αναφέρουν τα παρακάτω ως κύριους παράγοντες ταξινόμησης:

- Ρύθμιση της υγρασίας (λόγος μεταξύ υγρασίας και πρωτεΐνης)
- Ρύθμιση του pH
- Τα ένζυμα που κυριαρχούν κατά την ωρίμαση

Επιπλέον, λαμβάνοντας υπόψιν και την οικονομική σημασία των διαφόρων τυριών, αναγνωρίζουν τρεις διαφορετικές κατηγορίες:

- Τύπου Gouda, τα οποία παράγονται από αγελαδινό γάλα και έχουν 40 με 50% λίπος στη ξηρή φάση. Γίνονται με χρήση μεσόφιλων καλλιιεργειών, αλατίζονται σε άλμη μετά την πίεση, έχουν ποσοστό υγρασίας επί των μη-λιπαρών συστατικών <63%, στερούνται μικροβιακής χλωρίδας στην επιφάνειά τους, και τέλος, ωριμάζουν για 2 έως 15 μήνες.
- Τύπου Cheddar, τα οποία διαφέρουν από τα τύπου Gouda στον τρόπο αλατίσματος τους, αφού αλατίζονται με ξηρό αλάτισμα στο στάδιο του τυροπήγματος. Τα τυριά τύπου Cheddar είναι ελαφρώς ξηρότερα και πιο όξινα, ενώ χαρακτηρίζονται και από διαφορετικό άρωμα.
- Φρέσκα τυριά, τα οποία χαρακτηρίζονται από υψηλό ποσοστό υγρασίας και είτε στερούνται ωρίμασης, είτε ωριμάζουν για σύντομο χρονικό διάστημα.

Πέραν αυτών, αναφέρονται και άλλες ομάδες τυριών, οι οποίες αν και μικρότερης οικονομικής σημασίας, είναι αρκετά δημοφιλείς σε παγκόσμιο επίπεδο:

- Πολύ σκληρά τυριά (Parmeggiano, Pecorino Romano)
- Προπιονικής ζύμωσης (Emmental)
- Πλαστικής ή ζυμωμένης τυρομάζας ή pasta-filata (Mozzarella, Provolone)
- Ημίσκληρα
- Λευκά τυριά άλμης (Φέτα, Domiati)
- Λευκά με λευκή επικάλυψη μυκήτων (Brie, Camembert)
- Μπλε τυριά (Roquefort, Gorgonzola, Stilton)
- Ανακατεργασμένα (processed) τυριά (ανασυσταμένα προϊόντα με βάση το τυρί)

Τα φρέσκα τυριά μπορεί να διαφέρουν σε σχέση με το είδος γάλακτος το οποίο χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή τους, το ποσοστό του περιεχόμενου λίπους και τους χειρισμούς κατά την παραγωγή. Συχνά τα τυριά αυτού του είδους προέρχονται με όξινη πήξη ή συνδυασμό οξίνισης και θέρμανσης. Χαρακτηρίζονται από αλοιφώδη ή ακόμα και αμμώδη υφή. Χαρακτηριστικά τυριά αυτής της κατηγορίας είναι το Quarg και το Cottage (Walstra *et al.*, 2006).

Τα τυριά τύπου Gouda είναι ωριμασμένα, σχετικά σκληρά τυριά τα οποία μπορούν να κοπούν σε φέτες και παράγονται από γάλα αγελάδας. Περιέχουν οπές στη μάζα τους, οι οποίες προέρχονται από την παραγωγή CO₂, το οποίο παράγουν μεσόφιλες καλλιέργειες κυρίως από τη ζύμωση του κιτρικού οξέος. Τα τυριά αυτού του τύπου πιέζονται, αλατίζονται σε διάλυμα άλμης και στερούνται επιφανειακής μικροβιακής χλωρίδας. Στην κατηγορία αυτή ανήκει και το Edam. (Walstra *et al.*, 2006).

Τα τυριά τύπου Cheddar χαρακτηρίζονται από το ξηρό αλάτισμα των κομματιών του τυροπήγματος που κατόπιν πιέζονται προς το σχηματισμό ενιαίου τυριού. Τα τυριά αυτά είναι σκληρά με μεγάλη διάρκεια ζωής, ενώ στερούνται επιφανειακής μικροβιακής χλωρίδας. Εκτός από το Cheddar, στην κατηγορία αυτή ανήκουν και άλλα Βρετανικά τυριά. (Walstra *et al.*, 2006).

Τα Ελβετικά τυριά και τα τυριά που παράγονται με τεχνολογία pasta-filata ξεχωρίζουν ως προς την εφαρμογή υψηλών θερμοκρασιών (>50°C) κατά την παραγωγή τους. Η τεχνολογία αυτή προσδίδει διαφορετικές ιδιότητες στα σχετικά τυριά, όπως χαμηλή περιεκτικότητα σε υγρασία, σχετικά υψηλό pH, μερική απενεργοποίηση της πυτιάς, επικράτηση θερμοφίλων μικροοργανισμών. Σε κάποιες περιπτώσεις, είναι εφικτό να μην πραγματοποιηθεί παστερίωση στο γάλα προς τυροκόμηση, καθώς το πήγμα υπόκειται σε θερμική επεξεργασία, η οποία μπορεί να αποφέρει τα αντίστοιχα αποτελέσματα. Χαρακτηριστικά τυριά αυτής της περίπτωσης είναι τα Gruyère, Emmental, Mozzarella. (Walstra *et al.*, 2006).

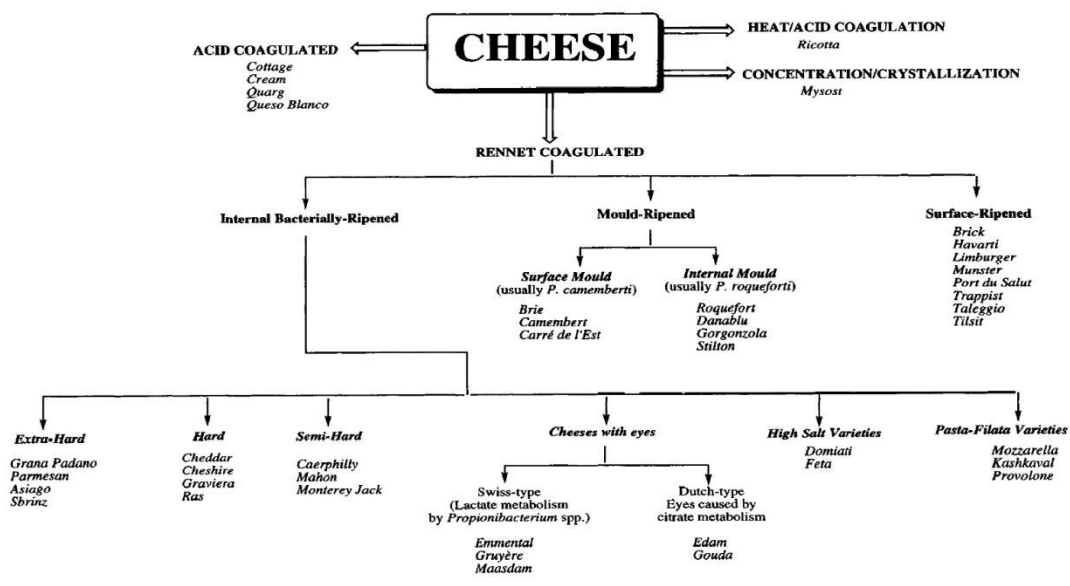
Τα τυριά με ειδική μικροβιακή χλωρίδα, εκτός από τη συνηθισμένη των οξυγαλακτικών βακτηρίων και βακτηρίων προπιονικής ζύμωσης, μπορεί να περιέχουν επιφανειακή χλωρίδα με τον *Penicillium Camemberti* να κυριαρχεί (Camembert, Brie), χλωρίδα από κορυνόμορφα βακτήρια όπως τα *Arthrobacter spp.*, *Brevibacterium linens* (Gruyère, Munster, Tilsiter), αλλά και εσωτερική χλωρίδα *Penicillium Roqueforti* (Roquefort, Stilton). (Walstra *et al.*, 2006).

Τέλος, η διαδικασία παραγωγής ανακατεργασμένων τυριών περιλαμβάνει τρίψιμο και ανάμιξη τυριών, προσθήκη γαλακτωματοποιητικών αλάτων, θέρμανση υπό ανάδευση, γέμισμα των περιεκτών με το κατεργασμένο τυρί και ψύξη. Η θέρμανση μπορεί να γίνει με χρήση

εναλλακτών αποξηρόμενης επιφάνειας. Άλλα πρόσθετα μπορεί να είναι το νερό, το βούτυρο, και το καζεϊνικό νάτριο. Τα ανακατεργασμένα τυριά μπορούν να χωριστούν σε δύο υποκατηγορίες, τα αλοιφώδη και εκείνα που μπορούν να τεμαχιστούν σε φέτες. Τα αλοιφώδη περιέχουν μεγαλύτερη αναλογία ώριμων τυριών, περίπου 58% υγρασία και 50% λίπος, ενώ τα τεμαχιζόμενα έχουν 46% υγρασία. Στην κατηγορία των ανακατεργασμένων ανήκουν και τα ανάλογα τυριών, τα οποία περιέχουν φυτικά λίπη και άλλα μη-γαλακτοκομικής προέλευσης συστατικά (Walstra *et al.*, 2006).

Παρ' όλα αυτά, κανένα από τα προαναφερθέντα σχήματα κατηγοριοποίησης δεν είναι αρκούντως ικανοποιητικό, και κανένα δεν είναι παγκοσμίως αποδεκτό. Για αυτό το λόγο, οι Fox *et al.* (2000) και Fox & McSweeney (2004) πρότειναν «υπερ-κατηγορίες» τυριών που βασίζονται στον τρόπο πήξης τους (Εικόνα 1.2):

- Ενζυμικής πήξης, η πιο σημαντική κατηγορία που περιλαμβάνει όλα τα τυριά ωρίμασης.
- Οξίνης πήξης, η δεύτερη πιο σημαντική κατηγορία.
- Πήξη με συνδυασμό οξίνισης και θέρμανσης, η οποία χρησιμοποιείται για λιγοστές ελάσσονες ποικιλίες.
- Συμπύκνωση του τυρογάλακτος και κρυστάλλωση της λακτόζης, που εφαρμόζονται κατά την παραγωγή κάποιων τυριών τυρογάλακτος στη Νορβηγία.



Εικόνα 1.2. Διάρθρωση των «υπερ-κατηγοριών» τυριών με βάση τη μέθοδο πήξης τους και περαιτέρω ομαδοποίηση με βάση τους πρωταρχικούς παράγοντες ωρίμασης και/ή τη χαρακτηριστική τεχνολογία παρασκευής τους (Fox *et al.*, 2000).

Τα τυριά της πρώτης υπερκατηγορίας, δηλαδή της ενζυμικής πήξης, διαίρουνται στις ακόλουθες κατηγορίες και υποκατηγορίες:

- Εσωτερικής βακτηριακής ωρίμασης με εσωτερική βακτηριακή μικροχλωρίδα
 - Πολύ σκληρά τυριά, τα οποία αποκτούν τη σκληρή υφή τους μέσω της χρήσης ημιαποβουτυρωμένου γάλακτος, της υψηλής θερμοκρασίας αναθέρμανσης και της εξάτμισης της υγρασίας κατά την ωρίμαση (Parmesan, Asiago, Romano).
 - Σκληρά τυριά, τα οποία περιέχουν υγρασία σε ποσοστό 30-45% και υπόκεινται σε υψηλή πίεση για το σχηματισμό σκληρής, ομοιόμορφης, κλειστής υφής (Cheddar, Κεφαλοτύρι, Manchego).
 - Ημίσκληρα τυριά, με ανόμοια τυριά να τις απαρτίζουν (Colby, Caerphilly, Mahon).
 - Τυριά με οπές στη μάζα τους, τα οποία χωρίζονται στις Ολλανδικές ποικιλίες (Edam, Gouda) και έχουν μικρές οπές, και στις Ελβετικές ποικιλίες, τα οποία έχουν μεγάλες οπές (Emmental, Gruyère). Στις Ολλανδικές ποικιλίες, το CO₂ παράγεται από τη ζύμωση του κιτρικού οξέος από καλλιέργειες DL, ενώ στις Ελβετικές, το CO₂ παράγεται από το μικροοργανισμό *Propionibacterium freudenreichii* spp. *shermanii* από τη ζύμωση του γαλακτικού οξέος κατά τη διάρκεια της ωρίμασης.

- Λευκά τυριά άλμης που μπορεί να έχουν υψηλή αλατοπεριεκτικότητα, τα οποία έχουν ως καταγωγή την ανατολική λεκάνη της Μεσογείου. Τα κύρια χαρακτηριστικά αυτών των ποικιλιών τυριών είναι η χρήση πρόβειου γάλακτος, το οποίο προσδίδει το έντονο άσπρο χρώμα, καθώς και η αποθήκευση σε διάλυμα άλμης εξαιτίας των υψηλών θερμοκρασιών περιβάλλοντος η οποία τους προσδίδει υψηλή αλατοπεριεκτικότητα για λόγους διατηρησιμότητας. Το δεύτερο στις ημέρες μας ρυθμίζεται με τον κλιματισμό των ωριμαντηρίων, τα ψυγεία και τη συσκευασία. Τα πιο χαρακτηριστικά τυριά αυτής της κατηγορίας είναι η Φέτα, ο Τελεμές και το Domiati.
- Τυριά pasta-filata, τα οποία περιλαμβάνουν ημίσκληρα τυριά, τα τυροπήγματα των οποίων μετά από βιολογική οξίνιση θερμαίνονται σε θερμοκρασίες υψηλότερες των 55°C, και κατεργάζονται με μηχανικό τρόπο. Τα περισσότερα εξ' αυτών έχουν προέλευση από την περιοχή της Μεσογείου, και το πιο γνωστό είναι η Mozzarella.
- Ωρίμασης με μύκητες, τα οποία χωρίζονται σε δύο υποκατηγορίες, ανάλογα με το αν η χλωρίδα αναπτύσσεται στο εξωτερικό του τυριού, δηλαδή την επιφάνειά του (Brie, Camembert), ή στο εσωτερικό της μάζας του (Roquefort, Danablu, Stilton).
- Επιφανειακής ωρίμασης μέσω μικτής χλωρίδας. Τα τυριά αυτά αποτελούν την πιο ετερογενή κατηγορία τυριών ενζυμικής πήξης, καθώς περιλαμβάνουν μαλακά, ημίσκληρα, αλλά και σκληρά τυριά. Το κύριο χαρακτηριστικό τους είναι η ανάπτυξη μικτής μικροχλωρίδας στην επιφάνεια του τυριού, η οποία αποκτά πορτοκαλί-κόκκινη απόχρωση. Αυτά τα τυριά παρασκευάζονται κάνοντας χρήση μεσόφιλων καλλιεργειών στις περισσότερες περιπτώσεις, αλλά και θερμοφίλων σε κάποιες άλλες (Gruyère). Συνήθως αλατίζονται σε διάλυμα άλμης, και οι συνθήκες τυροκόμησης οδηγούν σε τυροπήγματα υψηλής περιεκτικότητας σε υγρασία. Μετά το πέρας της τυροκόμησης, εγκαθίστανται στην επιφάνειά τους ζύμες με ανθεκτικότητα στο αλάτι, όπως οι *Kluveromyces*, *Debaromyces*, *Saccharomyces*, *Candida* κ.α., μαζί με τον *Geotrichum candidum*. Εκεί μεταβολίζουν το γαλακτικό οξύ προς CO₂ και νερό. Σε αυτό το στάδιο, οι συνθήκες γίνονται ευνοϊκές για την ανάπτυξη πρόσθετων μικροοργανισμών, κυρίως Gram-θετικών βακτηρίων όπως τα *Micrococcus*, *Staphylococcus*, καθώς και διάφορα κορυνόμορφα βακτήρια, τα οποία ευθύνονται για την πορτοκαλί-κόκκινη απόχρωση. Η ενζυμική δραστηριότητα των μικροοργανισμών της επιφάνειας συμβάλλει σημαντικά στη διαμόρφωση της γεύσης

και του αρώματος του τυριού, με τα μαλακά τυριά να εμφανίζουν εντονότερο άρωμα σε σχέση με τα σκληρότερα.

- Οξίνης πήξης. Τα τυριά αυτά παρασκευάζονται από γάλα ή κρέμα γάλακτος με οξίνιση κοντά στο pH 4,6. Η οξίνιση προκαλεί κατακρήμνιση των καζεϊνών στο ισοηλεκτρικό τους σημείο. Η οξίνιση προκαλείται από τη δράση μεσόφιλης καλλιέργειας, ή απευθείας με προσθήκη οξέος. Σε κάποιες περιπτώσεις προστίθεται και πυτιά, για να επιτευχθεί σκλήρυνση του πήγματος και να ελαχιστοποιηθούν οι απώλειες των καζεϊνών στο τυρόγαλα. Τα τυριά αυτού του τύπου πήξης συνήθως χαρακτηρίζονται από υψηλή περιεκτικότητα σε υγρασία και καταναλώνονται σε σύντομο χρονικό διάστημα από την παρασκευή τους.
- Πήξη με συνδυασμό οξίνισης και θέρμανσης. Γνωστά τυριά αυτού του τύπου είναι η Ricotta, η Μυζήθρα και το Μανούρι.
- Συμπύκνωση τυρογάλακτος και κρυστάλλωση της λακτόζης.

Μια ξεχωριστή τεχνολογία στην παρασκευή των τυριών, είναι η υπερδιήθηση. Τα πλεονεκτήματα της χρήσης της υπερδιήθησης αφορούν στην αυξημένη απόδοση σε πήγμα, στη μείωση του κόστους παραγωγής και στη δυνατότητα δημιουργίας νέων ειδών τυριών με διαφορετικά ρεολογικά και λειτουργικά χαρακτηριστικά. Επιτυχημένες εφαρμογές στην παραγωγή τυριών είναι η παραγωγή λευκού τυριού στη Δανία, φρέσκων τυριών όξινης πήξης στη Γερμανία και άλλες Ευρωπαϊκές χώρες, και η τυποποίηση της πρωτεΐνης του γάλακτος στο 4-5% για την παραγωγή Camembert και άλλων τυριών. Οι συνέπειες της υπερδιήθησης στην παραγωγή των τυριών είναι αρκετές (Fox *et al.*, 2000):

- Ο χρόνος ενζυμικής πήξης μειώνεται.
- Το επίπεδο της διαλυτής καζεΐνης στο στάδιο της πήξης αυξάνεται.
- Ο ρυθμός σκλήρυνσης του πήγματος μειώνεται.
- Ο χρόνος διαίρεσης του πήγματος και ο βαθμός συσσωμάτωσης μειώνονται.
- Το δίκτυο πρωτεϊνών γίνεται πιο πυκνό.
- Γίνεται πιο δύσκολο να κοπεί το πήγμα χωρίς να υπάρχουν σκισίματα στη μάζα του.
- Αυξάνονται οι απώλειες λίπους στον ορό.
- Ο ρυθμός πρωτεόλυσης μειώνεται, με αποτέλεσμα το περιορισμένο μαλάκωμα της τυρομάζας και τη μειωμένη ανάπτυξη του αρώματος.
- Το τυρί γίνεται πιο σκληρό προοδευτικά, πιο συνεκτικό, αμυλώδες και ξηρό.
- Το δίκτυο πρωτεϊνών του τυριού γίνεται πιο πυκνό και συμπαγές.

Η παραπάνω κατηγοριοποίηση χαρακτηρίζεται από αδυναμίες, οι οποίες περιλαμβάνουν την ομαδοποίηση τυριών τα οποία παράγονται από διαφορετικό είδος γάλακτος, τον ασαφή διαχωρισμό μεταξύ σκληρών και ημίσκληρων τυριών, την επικάλυψη των κατηγοριών μεταξύ τους και την παράλειψη κατηγοριοποίησης για τα επεξεργασμένα τυριά και τα υποκατάστατα τυριών (McSweeney *et al.*, 2004).

Όπως αναφέρουν οι McSweeney *et al.* (2004) και Almena-Aliste & Mietton (2014), ίσως το πιο πλήρες σχήμα ταξινόμησης τυριών είναι του Ottogalli. Το σχήμα αυτό ακολουθεί την ακόλουθη διάρθρωση:

- Τις κύριες κατηγορίες, που είναι οι: Lacticinia (ομοιάζουν στο γάλα), Formatica (σχηματισμένα), Miscellanea (διάφορα).
 - Τα Lacticinia περιλαμβάνουν προϊόντα τα οποία παράγονται από γάλα, κρέμα, ορό ή βουτυρόγαλα, με όξινη πήξη, με ή χωρίς θέρμανση. Σε κάποια από αυτά, χρησιμοποιείται μια μικρή ποσότητα πυτιάς, χωρίς όμως να είναι ο κύριος παράγοντας πήξης. Κατόπιν, υποκατηγοριοποιούνται σε επτά υποκατηγορίες, ανάλογα με τον τρόπο πήξης, την προσθήκη γάλακτος, κρέμας ή ορού, και την ενδεχόμενη θέρμανση.
 - Τα Formatica, περιλαμβάνουν τις περισσότερες ποικιλίες τυριών, οι οποίες προέρχονται από ενζυμική πήξη. Οι υποκατηγορίες ακολουθούν το διαχωρισμό μέσω του ποσοστού υγρασίας και της έκτασης της ωρίμασης, ενώ διαχωρίζονται περαιτέρω σε οικογένειες, ανάλογα με τη δευτερεύουσα μικροβιακή χλωρίδα, το είδος γάλακτος, την ύπαρξη οπών στη μάζα, την υφή, τις τεχνολογικές διαφορές κ.α.
 - Τα Miscellanea είναι μία ετερογενής ομάδα που περιλαμβάνει τα καπνιστά, τα τριμμένα, τα κατεργασμένα τυριά, καθώς και υποκατάστατα τυριών.

Το σχήμα του Ottogalli λαμβάνει υπόψιν τα τεχνολογικά, χημικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των τυριών, με σκοπό να διαχωριστούν καλύτερα τα τυριά και τα ζυμωμένα γάλατα, τα οποία σχετίζονται με τα τυριά. Για την κατάταξη των τυριών στις εκάστοτε κατηγορίες λήφθηκαν υπόψιν δείκτες ωρίμασης, λιπόλυσης και ο λόγος λίπους προς πρωτεΐνη (F/P). Το σχήμα αυτό μειονεκτεί ως προς τις πολύ εξειδικευμένες κατηγορίες, οι οποίες χρειάζονται την ιδιαίτερη γνώση της κάθε ποικιλίας. Επίσης, κάποια τυριά κατά τη διάρκεια της ωρίμασής τους μπορεί να αλλάξουν κατηγορία. Τα τυριά που προέρχονται από υπερδιήθηση

εμφανίζουν σημαντικές διαφορές μεταξύ τους, παρά τη συγκεκριμένη τεχνολογία που τα χαρακτηρίζει (McSweeney *et al.*, 2004).

Αναλυτικές μέθοδοι και επιστημονικά κριτήρια τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την κατάταξη των τυριών είναι τα (McSweeney *et al.*, 2004):

- Ηλεκτροφόρηση πηκτής ουρίας – πολυακρυλαμιδίου (PAGE), για την αναγνώριση των μεγάλων, αδιάλυτων πεπτιδίων.
- Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης αντίστροφης φάσης (RP-HPLC), για την αναγνώριση των μικρών, διαλυτών πεπτιδίων.
- Κατατομή ελεύθερων αμινοξέων.
- Κατατομή πτητικών συστατικών μέσω αέριας χρωματογραφίας/φασματογράφου μάζας (GC / MS).
- Ρεολογικά χαρακτηριστικά ή χαρακτηριστικά δομής.

Οι Almena-Aliste & Mietton (2014) σημειώνουν πως τα υπάρχοντα σχήματα κατηγοριοποίησης των τυριών είναι βασισμένα κυρίως στα Ευρωπαϊκά είδη τυριών, μη λαμβάνοντας υπόψιν τις καινοτόμες τεχνολογίες ή την ποικιλία των αμερικανικών παραδοσιακών τυριών, κάτι που αναδεικνύει πόσο μεγάλη πρόκληση είναι η ανάπτυξη ενός παγκόσμια αποδεκτού σχήματος αναγνώρισης τυριών.

1.2. ΤΟ ΤΥΡΙ ΣΤΗΝ ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΝΟΜΟΘΕΣΙΑ

Ο Ελληνικός Κώδικας Τροφίμων και Ποτών καθορίζει τα είδη των «*τυροκομικών προϊόντων*» στο Άρθρο 83. Σύμφωνα με αυτό, ο Κώδικας Τροφίμων και Ποτών διαχωρίζει τα ανακατεργασμένα ή τηγμένα τυριά από τα τυριά σε μια ξεχωριστή κατηγορία «*τυροκομικών προϊόντων*», ενώ τα τυριά με προστατευόμενη ονομασία προέλευσης (Π.Ο.Π.) αναφέρονται ξεχωριστά. Τα τυριά χωρίζονται στις παρακάτω κατηγορίες (Κώδικας Τροφίμων και Ποτών, 2009):

- Τυριά από γάλα με ωρίμαση, τα οποία ορίζονται ως εξής: «*Τα τυριά αυτά, είναι τα προϊόντα ωρίμασης του πήγματος (στάλπης) που είναι απαλλαγμένο από το τυρόγαλα στον επιθυμητό κάθε φορά βαθμό και τα οποία παρασκευάστηκαν, με την επενέργεια πυτιάς ή άλλων ενζύμων που δρουν ανάλογα σε γάλα (νωπό ή παστεριωμένο, αγελάδας, προβάτου, κασίικας, βουβάλου και μίγματα αυτών) ή σε μερικώς*

αποβουτυρωμένο γάλα ή σε μίγμα αυτών ή/και σε μίγματα αυτών με κρέμα γάλακτος (αφρόγαλα).»

- Πολύ σκληρά τυριά, με μέγιστη υγρασία 32%.
- Σκληρά τυριά, με μέγιστη υγρασία 38%.
- Ημίσκληρα τυριά, με μέγιστη υγρασία 46%.
- Τυριά των παραπάνω κατηγοριών, τριμμένα ή συσκευασμένα σε ένα κομμάτι.
- Μαλακά τυριά, με μέγιστη υγρασία 58%.
 - Λευκά τυριά άλμης.
 - Υπόλοιπα μαλακών τυριών.
- Τυριά από γάλα χωρίς ωρίμαση, με τον ακόλουθο ορισμό: «Τυριά χωρίς ωρίμαση 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 (αφρόγαλα) και των οποίων η υγρασία δεν υπερβαίνει το 75%.»
- Τυριά από τυρόγαλα με ή χωρίς ωρίμαση, για τα οποία δίνεται ο ακόλουθος ορισμός: «Τυριά τυρογάλακτος χαρακτηρίζονται τα τυριά, τα οποία λαμβάνονται με ισχυρή θέρμανση τυρογάλακτος (με ή χωρίς οξίνιση) και με ή χωρίς προσθήκη:
 - α) γάλακτος (πρόσγαλα),
 - β) γάλακτος και κρέμας γάλακτος (αφρόγαλα),
 - γ) βρώσιμου χλωριούχου νατρίου (κ. αλάτι),τα οποία μπορούν να διατεθούν νωπά (φρέσκα) [μερικά από αυτά μπορούν να διατεθούν και με μερική αφυδάτωση (ξερά) και άλλα κατόπιν ωρίμασης] και των οποίων η υγρασία δεν υπερβαίνει το 70%.»

Για τα τυριά αυτά, ορίζονται τα επιτρεπόμενα πρόσθετα, οι συνθήκες και ο χρόνος της ωρίμασης, οι συνθήκες αποθήκευσης, οι κατηγορίες ποιότητας και οι προδιαγραφές της καθεμίας, και τα χαρακτηριστικά των τυριών.

Τα ανακατεργασμένα τυριά, ορίζονται ως εξής: «Ανακατεργασμένα τυριά (*processed cheese*) ή τηγμένα τυριά (*fromage fondu, schmelzkäse*) και ανακατεργασμένα τυριά με αλοιφώδη υφή (*spreadable processed cheese*) ή τηγμένα τυριά με αλοιφώδη υφή χαρακτηρίζονται τα προϊόντα που παρασκευάζονται με άλεση, ανάμιξη, τήξη και γαλακτωματοποίηση διαφόρων ειδών τυριών με θέρμανση και προσθήκη γαλακτωματοποιητών και με ή χωρίς την προσθήκη προϊόντων γάλακτος και/ή άλλων τροφίμων.»

Για τα τυριά προστατευόμενης ονομασίας προέλευσης (Π.Ο.Π.) υπάρχει ξεχωριστό άρθρο, στο οποίο αναγράφονται ονομαστικά όλες οι διαφορετικές ποικιλίες:

- Γραβιέρα Αγράφων
- Γραβιέρα Νάξου
- Γραβιέρα Κρήτης
- Κεφαλογραβιέρα
- Λαδοτύρι Μυτιλήνης
- Μπάτζος
- Φορμαέλα Αραχώβης
- Παρνασσού
- Κασέρι
- Σφέλα
- Σαν-Μιχάλη
- Μετσοβόνη
- Φέτα
- Κοπανιστή
- Καλαθάκι Λήμνου
- Γαλοτύρι
- Ανεβατό
- Κατίκι Δομοκού
- Πηχτόγαλο Χανίων
- Μανούρι
- Ξινομυζήθρα Κρήτης

Σε αυτό το άρθρο, ορίζονται ρητά:

- Ο ορισμός του τύπου τυριού Π.Ο.Π. και ο γεωγραφικός χώρος στον οποίο επιτρέπεται να παραχθεί.
- Οι προϋποθέσεις για το γάλα προς τυροκόμηση.
- Η τεχνολογία παρασκευής του τυριού Π.Ο.Π.
- Τα χαρακτηριστικά του τυριού Π.Ο.Π.
- Η επιτρεπόμενη επισήμανσή του.
- Οι γενικές διατάξεις που ισχύουν για τον τύπο τυριού Π.Ο.Π.

2. ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΤΥΡΙΩΝ ΧΑΜΗΛΗΣ ΛΙΠΟΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ

2.1. ΓΕΝΙΚΑ

Το λίπος είναι ένα από τα κύρια συστατικά των τυριών. Οι διαφορές μεταξύ των διαφορετικών ποικιλιών τυριών αλλά και τυριών της ίδιας ποικιλίας σε λιποπεριεκτικότητα επηρεάζονται από παράγοντες όπως η σύσταση του τυροκομούμενου γάλακτος και η μέθοδος τυροκόμησης. Ο πιο σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει τη λιποπεριεκτικότητα είναι η αναλογία πρωτεΐνης προς το λίπος, καθώς λαμβάνει υπόψιν δύο από τα τρία κύρια συστατικά του τυριού, με το τρίτο να είναι η υγρασία (Guinee & McSweeney, 2006).

Καθώς το ποσοστό του λίπους εμφανίζει αντιστρόφως ανάλογη σχέση με το ποσοστό της υγρασίας, η έκφραση του λίπους ως ποσοστό επί της ξηρής ουσίας (% FDM) έχει μεγαλύτερο νόημα έναντι της έκφρασής του ως ποσοστό επί του συνολικού βάρους (% w/w) (Guinee & McSweeney, 2006).

Από την περιεκτικότητα σε λίπος επηρεάζονται πολλά χαρακτηριστικά ενός τυριού, όπως (Guinee & McSweeney, 2006, Fox *et al.*, 2000, Mistry, 2001, Mohamed, 2015):

- Η σύσταση. Η μείωση της λιποπεριεκτικότητας προκαλεί αύξηση των συγκεντρώσεων της υγρασίας και της πρωτεΐνης και μείωση του λίπους επί ξηρού (% FDM), της υγρασίας επί των μη λιπαρών συστατικών (MNFS) και του pH. Σε ώριμο Cheddar, διαπιστώνεται σημαντική αντιστρόφως ανάλογη σχέση μεταξύ λιποπεριεκτικότητας και υγρασίας. Η υγρασία επί των μη λιπαρών συστατικών (MNFS) είναι ένα μέγεθος με ιδιαίτερη σημασία, καθώς μια μικρή αύξησή της οδηγεί σε ακόμα μεγαλύτερη αύξηση του μη δεσμευμένου νερού, η στην αύξηση της δραστηριότητας των μικροοργανισμών και των ενζύμων, που τελικά επιδρά στο βαθμό της πρωτεόλυσης. Αυτές οι επιδράσεις καθιστούν την υγρασία επί των μη λιπαρών συστατικών (MNFS) ιδιαίτερα σημαντικό μέγεθος για τη βελτίωση των τυριών μειωμένης λιποπεριεκτικότητας. Πιο συγκεκριμένα, ο στόχος κατά την τροποποίηση των συνθηκών τυροκόμησης αποσκοπεί στη διατήρηση του ποσοστού αυτού σε ίδια επίπεδα με αυτά του τυριού πλήρους λιποπεριεκτικότητας.
- Η βιοχημεία. Σε τυριά ενζυμικής πήξης πλήρους λιποπεριεκτικότητας τα κύτταρα της εναρκτήριας καλλιέργειας είναι 4 με 10 φορές περισσότερα από ότι εκείνων χωρίς λίπος. Σχετικά με την πρωτεόλυση, οι έρευνες που έχουν γίνει σε σχέση με την επιρροή του ποσοστού λίπους στην πρωτεόλυση αφορούν ουσιαστικά στην επίδραση του ποσοστού υγρασίας επί των μη λιπαρών συστατικών (MNFS).

- Η μικροδομή, αφού τα ενσωματωμένα λιποσφαίρια καταλαμβάνουν το χώρο μεταξύ των πρωτεϊνικών δεσμών και ενδέχεται να εμποδίζουν τη συσσωμάτωση του παρακαζεϊνικού δικτύου, ανάλογα με τον όγκο τους και την κατανομή μεγέθους τους. Με βάση αυτό το γεγονός, υψηλότερα επίπεδα λίπους οδηγούν σε πιο αργή συναίρεση και αύξηση της υγρασίας επί των μη λιπαρών συστατικών (MNFS).
- Η απόδοση. Το λίπος συνεισφέρει στην απόδοση με άμεσο και έμμεσο τρόπο. Ο άμεσος τρόπος αποδεικνύεται από τον τύπο πρόβλεψης απόδοσης του τυριού με την εξίσωση van Slyke (Guinee & McSweeney, 2000):

$$Yp = \frac{\left[F \left(\frac{\% FRC}{100} \right) + (CN - a) + \left(WPum \times \frac{\% WPDpm}{100} \right) \right] \times (1 + SNFP)}{1 - \left(\frac{\text{reference moisture content}}{100} \right)}$$

Όπου, Yp = απόδοση σε τυρί και F = λιποπεριεκτικότητα.

Ο έμμεσος τρόπος έχει να κάνει με την επιρροή που έχει το λίπος στο βαθμό συστολής του πρωτεϊνικού δικτύου και συνεπακόλουθα στην περιεκτικότητα σε υγρασία και στην απόδοση σε προϊόν (Guinee & McSweeney, 2006). Ο λόγος της καζεΐνης προς το λίπος θα είναι πολύ μεγαλύτερος σε γάλα που χρησιμοποιείται για παραγωγή τυριού χαμηλού λίπους. Η απόδοση θα είναι μειωμένη καθώς το λίπος που αφαιρείται είναι περισσότερο από την υγρασία που το αντικαθιστά. Ο βαθμός ανάκτησης των αζωτούχων ουσιών είναι μεγαλύτερος από αυτόν του λίπους για τυριά χαμηλής λιποπεριεκτικότητας. Ο χαμηλός βαθμός ανάκτησης του λίπους μπορεί να ελεγχθεί μερικώς με τη ρύθμιση του λόγου της καζεΐνης προς το λίπος, αλλά και τον τεμαχισμό του πηγματος όταν η σκληρότητά του είναι ιδανική.

Το λίπος επηρεάζει τα χαρακτηριστικά δομής/υφής, τις ιδιότητες που εμφανίζουν κατά το ψήσιμο και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Το λίπος επιδρά στην γεύση μέσω της συμπεριφοράς του τυριού κατά τη μάσηση όπου απελευθερώνονται γευστικά συστατικά, αλλά και μέσω της έκτασης της λιπόλυσης (Guinee & McSweeney, 2000).

Τις τελευταίες δεκαετίες παρατηρείται αυξημένη ζήτηση για τρόφιμα με χαμηλότερη λιποπεριεκτικότητα, αποτέλεσμα των συστάσεων των ειδικών για μειωμένη πρόσληψη λίπους, ολικού αλλά και κορεσμένου, καθώς έχει συσχετιστεί με αυξημένες πιθανότητες για εμφάνιση παχυσαρκίας, αρτηριοσκλήρωσης, στεφανιαίας νόσου, υπέρτασης και αλλοιώσεις ιστών από την οξειδωση ακόρεστων λιπών. Ως εκ τούτου, η τάση αυτή έχει μεταφερθεί και στον κλάδο των τυροκομικών προϊόντων (Guinee & McSweeney, 2006). Ήδη από το 1998, στις Η.Π.Α. οι

πωλήσεις των τυροκομικών προϊόντων μειωμένων λιπαρών έφτασαν το ποσοστό των 20% επί του συνόλου (Mistry, 2001). Παρ' όλα αυτά, οι καταναλωτές αξιολογούν τα προϊόντα με βάση τη γεύση και την υφή, και τα τυριά μειωμένου λίπους υστερούν σε σχέση με τα τυριά με πλήρη σύσταση. Τα ελαττώματα στην υφή περιλαμβάνουν αυξημένη σκληρότητα, ελαστικότητα, ξηρότητα και αμμώδη υφή, ενώ το Cheddar μειωμένων λιπαρών εμφανίζει μικρότερη ένταση ως προς την τυπική γεύση και άρωμά του (Guinee & McSweeney, 2006, Singh & Cadwallader, 2008). Στα σκληρά τυριά οι επιπτώσεις της χαμηλής περιεκτικότητας σε λίπος είναι πιο εμφανείς από ότι στα μαλακά που δεν υφίστανται ωρίμαση (Mistry, 2001).

Η στρατηγική που ακολουθείται για την παραγωγή τυριών μειωμένου λίπους συνήθως αφορά στη βελτίωση της υφής και της γεύσης ταυτοχρόνως. Σε κάποιες περιπτώσεις όμως, μπορεί και να επιχειρηθεί να βελτιωθούν ξεχωριστά αυτές οι δύο πτυχές (Skeie *et al.*, 2013).

Σημαντική είναι η διάκριση μεταξύ τυριών χαμηλής λιποπεριεκτικότητας και μειωμένης λιποπεριεκτικότητας. Η διαφορά έγκειται στο βαθμό μείωσης του περιεχόμενου λίπους, σε σχέση με το προϊόν πλήρους περιεκτικότητας σε λίπος. Ο Κανονισμός (ΕΚ) 1924/2006 ορίζει ως τρόφιμα χαμηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά αυτά με μέγιστη λιποπεριεκτικότητα 3% για στερεές τροφές, ενώ για τα μειωμένων λιπαρών ορίζει πως αρκεί να υπάρχει μείωση κατά 30% σε σχέση με το προϊόν αναφοράς με πλήρη λιποπεριεκτικότητα.

2.2. ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΑΡΕΜΒΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΤΥΡΙΩΝ ΧΑΜΗΛΗΣ ΛΙΠΟΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ

Οι τακτικές που ακολουθούνται για τη βελτίωση των χαρακτηριστικών των τυριών μειωμένης λιποπεριεκτικότητας σύμφωνα με τους Drake & Swanson (1995), Guinee & McSweeney (2006), Mistry (2001) και Mohamed (2015), είναι οι εξής:

- Αλλαγές στη μέθοδο τυροκόμησης, με σκοπό τη μείωση της αναλογίας του ασβεστίου προς την καζεΐνη, την αύξηση της αναλογίας υγρασίας προς πρωτεΐνη και τη μείωση της συσσωμάτωσης των παρακαζεϊνών.
- Τη χρήση εξειδικευμένων καλλιεργειών και συμπληρωματικών καλλιεργειών εκκίνησης, σε συνδυασμό με εξωγενή ένζυμα.
- Την προσθήκη συστατικών που μιμούνται το λίπος στο γάλα.
- Καινοτόμες μέθοδοι αφαίρεσης λίπους, όπως η εξαγωγή του λίπους μετά την πήξη του γάλακτος και η εκχύλιση με υπερκρίσιμο ρευστό (Supercritical Fluid Extraction – SFE).

2.2.1. Αλλαγές στη μέθοδο τυροκόμησης

Οι αλλαγές στη μέθοδο τυροκόμησης είναι δυνητικά οι απλούστερες και πιο οικονομικά συμφέρουσες παρεμβάσεις για την παραγωγή τυριών χαμηλής λιποπεριεκτικότητας (Drake & Swanson, 1995). Το γάλα που επιλέγεται για την τυροκόμηση έχει ποσοστό λίπους στο εύρος του 0,5%-1,8%, όταν πρόκειται για αγελαδινό γάλα. Μπορεί να είναι ενισχυμένο με άπαχη σκόνη γάλακτος, συμπυκνωμένο μέχρι το βαθμό του 1,8 μέσω απευθείας υπερδιήθησης ή ενίσχυσης με υπερδιηθημένο ή ακόμα και μικροδιηθημένο γάλα. Μάλιστα, στη μελέτη των Rodriguez *et al.* (1999), αναφέρεται πως τα ημίσκληρα τυριά που παρήχθησαν από μικροδιηθημένο γάλα εμφάνισαν οργανοληπτικές ιδιότητες παραπλήσιες με αυτά της πλήρους λιποπεριεκτικότητας, λόγω της κατά 35% μικρότερης κατακράτησης πρωτεϊνών του ορού (Mistry, 2001).

Οι παράμετροι που μπορεί να μεταβληθούν κατά την τυροκόμηση τυριού χαμηλής λιποπεριεκτικότητας είναι οι εξής (Ardö, 1997, Mistry, 2001):

- Ο λόγος της καζεΐνης προς το λίπος.
- Θερμοκρασία αναθέρμανσης.
- Χρόνος διάρκειας αναθέρμανσης.
- pH κατά τη διαίρεση.
- Ρυθμός αλατίσματος.

Μια παρέμβαση για την αύξηση του ποσοστού υγρασίας είναι η προσθήκη κρύου νερού στο πήγμα. Με την παρέμβαση αυτή απομακρύνεται η πλεονάζουσα λακτόζη με σκοπό την αποτροπή υπερβολικής οξίνισης και η διευκολύνεται η διαλυτοποίηση του ασβεστίου για τη μείωση της σκληρότητας του τυριού. Τα αρνητικά της ενέργειας αυτής συνοψίζονται στην απώλεια αρωματικών συστατικών του τυριού και τη δημιουργία ανεπιθύμητων γεύσεων (Mistry, 2001).

Άλλη παρέμβαση με σκοπό την αύξηση του ποσοστού υγρασίας είναι η εντονότερη θερμική επεξεργασία του γάλακτος της τυροκόμησης. Έχει ως στόχο τη μετουσίωση των πρωτεϊνών του ορού, οι οποίες χαρακτηρίζονται από αυξημένη ικανότητα δέσμευσης του νερού με συνεπακόλουθη αύξηση της απόδοσης σε τυρί (Mistry, 2001). Η αύξηση των περιεχόμενων πρωτεϊνών του ορού με χρήση της μεθόδου της υπερδιήθησης προσφέρει πιο λεία δομή, αύξηση της απόδοσης και πιο ακριβή έλεγχο της τελικής υγρασίας του τυριού (Ardö, 1997). Η προσθήκη

υπερδιηθημένου μη οξιτισμένου βουτυρογάλακτος βελτιώνει την υφή των παραγόμενων τυριών όταν προστίθεται μέχρι ποσοστού 5%. Η προσθήκη εξωγενών πρωτεϊνών του ορού επηρεάζουν την πήξη του τυριού, ως εκ τούτου συνιστάται η χρήση τους σε ποσοστό μικρότερο του 0,5% (Schreiber *et al.*, 1998). Η αύξηση των πρωτεϊνών του ορού στο πήγμα μπορεί να μειώσει την έκταση της υδρόλυσης των καζεϊνών, επειδή οι πρωτεΐνες του ορού είναι ανθεκτικές στην υδρόλυση από τις πτυτιές και τα ένζυμα των μικροοργανισμών. Για την αντιμετώπιση αυτού του φαινομένου έχει προταθεί η προσθήκη πλασμίνης ή ενεργοποιητή πλασμίνης στο γάλα της τυροκόμησης. Η θερμοκρασία αναθέρμανσης έχει μεγαλύτερη επίπτωση στο ποσοστό υγρασίας του τυριού από ότι η προσθήκη 6% συμπυκνώματος μετουσιωμένων πρωτεϊνών τυρογάλακτος στο γάλα της τυροκόμησης (Ardö, 1997).

Μια σχετική τεχνολογική εφαρμογή, η οποία μεταβάλλει την κατάσταση του λίπους είναι η ομογενοποίηση. Κατά κοινή παραδοχή, μειώνει την ικανότητα συναίρεσης του πήγματος σε συνθήκες πίεσης 5-20 MPa, όταν αφορά στην ομογενοποίηση του γάλακτος προς τυροκόμηση, αλλά και στην ομογενοποίηση της κρέμας γάλακτος που θα χρησιμοποιηθεί για τυποποίηση του ποσοστού του λίπους στο γάλα (Guinee & McSweeney, 2006, Mistry, 2001). Ως εκ τούτου αυξάνει το ποσοστό υγρασίας επί των μη λιπαρών συστατικών (MNFS). Επίσης, οδηγεί σε δύσκολη ανάδευση του πήγματος και σε εύθρυπτο τελικό προϊόν. Η απουσία του ελεύθερου λίπους και η συμπεριφορά των επικαλυμμένων με καζεΐνη νέων λιποσφαιρίων ως πρωτεϊνικά σωματίδια, έχουν ως αποτέλεσμα τη μείωση της ικανότητας του πρωτεϊνικού δικτύου να παραμορφώνεται, αλλά και των σωματιδίων του πήγματος να «ρέουν» μαζί μετά την απομάκρυνση του ορού. Μια πρόσθετη επίπτωση της ομογενοποίησης στην παραγωγή των τυριών είναι η ανάπτυξη λευκότερου χρώματος. Τέλος, αυξάνει την ευαισθησία του λίπους στη λιπόλυση. Η χρήση μικρότερων πιέσεων μειώνει τις δυσμενείς επιπτώσεις. Παρόμοια επίδραση έχει και η μικρορευστοποίηση. Η μικρορευστοποίηση (microfluidization) διαφέρει από την ομογενοποίηση ως προς τις δυνάμεις που εφαρμόζονται και την κατανομή και το μέγεθος των «νέων» λιποσφαιρίων. Το μέγεθός τους μπορεί να είναι 0,03 μm και η μεμβράνη τους περιέχει σε μεγάλη αναλογία κλάσματα καζεϊνών και ελάχιστες ή καθόλου πρωτεΐνες ορού (Guinee & McSweeney, 2006).

Σε μαλακά τυριά όξινης πήξης με υψηλό ποσοστό σε λίπος, η ομογενοποίηση αποτρέπει την αποκορύφωση του λίπους και βελτιώνει την υφή του τελικού προϊόντος. Επίσης, έχει χρησιμοποιηθεί ως μέθοδος βελτίωσης της υφής και της συμπεριφοράς στη θέρμανση τυριών Cheddar και Mozzarella μειωμένης λιποπεριεκτικότητας. Αυτό επιτυγχάνεται με την αύξηση του αριθμού λιποσφαιρίων τα οποία μειώνουν τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των στρώσεων πρωτεΐνης.

Βέβαια, παραμένει η αρνητική συνέπεια της ομογενοποίησης, σύμφωνα με την οποία τα νέα λιποσφαίρια έχουν αποκτήσει πρωτεϊνικής φύσης μεμβράνη, και ως εκ τούτου «ενδυναμώνουν» το πρωτεϊνικό δίκτυο, συμμετέχοντας σε αυτό. Επίσης, η ομογενοποίηση σε συνθήκες πίεσης 2.6-30 MPa για το γάλα και 21 MPa για την κρέμα γάλακτος όταν εκείνη πρόκειται να αναμιχθεί με άπαχο γάλα, προκαλεί πιο ομοιογενή κατανομή των λιποσφαιρίων, μειώνοντας έτσι τη συσσωμάτωση τους σε τυριά Cheddar και Mozzarella (Guinee & McSweeney, 2006).

Η ομογενοποίηση του τυροκομούμενου γάλακτος μειώνει την ικανότητα ρευστότητας και επέκτασης της μάζας σε τυρί Cheddar πλήρες σε λιπαρά. Σε τυρί Mozzarella πλήρες σε λίπος, μειώνεται η ρευστότητα και η ποσότητα του ελεύθερου λίπους, όμως σε Mozzarella μειωμένων λιπαρών δεν παρατηρείται μείωση της ρευστότητας και αύξηση του εμφανούς ιξώδους, παραμένει παρ' όλα αυτά η μείωση του ελεύθερου λίπους. Οι επιπτώσεις της ομογενοποίησης στα χαρακτηριστικά των τυριών κατά τη θέρμανση πιθανώς οφείλονται στην αλληλεπίδραση των επικαλυμμένων με παρακαζεΐνες λιποσφαιρίων με το καζεϊνικό δίκτυο και το χαμηλότερο βαθμό συσσωμάτωσης του λίπους κατά τη τήξη. Οι αρνητικές αυτές επιπτώσεις μπορούν να μειωθούν με τη μείωση της πίεσης ομογενοποίησης, έτσι ώστε να μειωθεί ο αριθμός των νέων λιποσφαιρίων και της επιφάνειας της λιπαρής φάσης, αλλά και με τη χρήση λεκιθίνης. Η χρήση λεκιθίνης εμποδίζει τα καζεϊνικά μικκύλια να προσροφηθούν στην επιφάνεια διεπαφής λίπους-υγρασίας, η οποία ευαισθητοποιεί τα νεοσχηματισμένα λιποσφαίρια ως προς τη θέρμανση (Guinee & McSweeney, 2006).

Μέσω τεχνολογικών παρεμβάσεων όπως χρήση ομογενοποιημένου γάλακτος, χαμηλότερες θερμοκρασίες τυροκόμησης και ωρίμαση υπό ψύξη, μπορεί να παραχθεί επιτυχώς Mozzarella μειωμένων λιπαρών, με ανέπαφα τα χαρακτηριστικά της εκτατικότητας της μάζας και των χαρακτηριστικών τήξης. Αυτό συμβαίνει διότι οι χαμηλότερες θερμοκρασίες αναθέρμανσης κατά την τυροκόμηση επιτρέπουν μεγαλύτερη δραστηριότητα της πτυιάς στο τυρί. Μια άλλη βελτίωση που προτείνεται αφορά στην αλλαγή της εναρκτήριας καλλιέργειας, έτσι ώστε να ενισχυθεί η πεπτιδόλυση (Ardö, 1997).

Μέσω της μικροδιήθησης, είναι δυνατόν να διαχωριστούν τα λιποσφαίρια ανάλογα με το μέγεθός τους, έτσι ώστε να περιέχονται περισσότερα με μικρό μέγεθος, για την επίτευξη παρόμοιου αποτελέσματος με αυτού της ομογενοποίησης (Mistry, 2001).

Το πλύσιμο του πήγματος το οποίο γίνεται ως τεχνολογική παρέμβαση στα τυριά χαμηλής λιποπεριεκτικότητας για την αύξηση του ποσοστού της υγρασίας έχει ως αποτέλεσμα την ενίσχυση της ήπιας γεύσης των τυριών αυτών (Mistry, 2001).

Κατά τη διάρκεια του ψησίματος το τυρί υφίσταται έντονη θερμική καταπόνηση, κάτι που έχει ως αποτέλεσμα την αλλαγή της μικροδομής του. Η αλλαγή εξαρτάται από την περιεκτικότητα σε λίπος, το βαθμό γαλακτωματοποίησης, τη φύση της μεμβράνης των λιποσφαιρίων και τον τύπο του τυριού. Τα παστεριωμένα ανακατεργασμένα τυριά καθώς και το Cheddar πλήρους λιποπεριεκτικότητας που έχει τυροκομηθεί από ομογενοποιημένο γάλα διατηρούν τη δομή τους κατά τη διάρκεια του ψησίματος. Αυτό πιθανόν να οφείλεται στο μεγαλύτερο βαθμό γαλακτωματοποίησης και τη μεγαλύτερη θερμική αντοχή της μεμβράνης του τεχνητού λιποσφαιρίου σε σύγκριση με αυτής του φυσικού λιποσφαιρίου (Guinee & McSweeney, 2006).

2.2.2. Χρήση εναρκτήριων και δευτερεύουσων καλλιιεργειών, χρήση ενζύμων

Οι μέθοδοι που υπάρχουν για την ενίσχυση της γεύσης των τυριών μειωμένης λιποπεριεκτικότητας είναι τέσσερις (Ardö, 1997):

- Χρήση ελεύθερων ή έγκλειστων σε μικροκάψουλα ενζύμων ωρίμασης.
- Χρήση εξασθενημένων βακτηριακών κυττάρων που απελευθερώνουν ένζυμα, τα οποία δρουν ελεύθερα στο τυρί.
- Χρήση δευτερευουσών καλλιιεργειών.
- Χρήση εξειδικευμένων εναρκτήριων καλλιιεργειών.

Η χαμηλότερη θερμοκρασία αναθέρμανσης, το μεγαλύτερο ποσοστό υγρασίας και η αναμενόμενη χαμηλότερη αλατοπεριεκτικότητα έχουν ως αποτέλεσμα τον αυξημένο ρυθμό παραγωγής πικρών πεπτιδίων λόγω της υπερβολικής ανάπτυξης των μικροοργανισμών (Mistry, 2001). Το γεγονός αυτό επιτάσσει τη χρήση καλλιιεργειών, οι οποίες υφίστανται αυτόλυση στις χαμηλές θερμοκρασίες αναθέρμανσης (Ardö, 1997), έντονα πεπτιδολυτικές, αλλά ασθενώς πρωτεϊνολυτικές (Mistry, 2001).

Παρεμβάσεις που έχουν δοκιμαστεί για τη βελτίωση της γεύσης σε σκληρά τυριά είναι η αυξημένη θερμοκρασία ωρίμασης με παράλληλη χρήση βακτηριοσινών για τον έλεγχο της ανάπτυξης των βακτηρίων εκτός των καλλιιεργειών εκκίνησης (NSLAB), και η επιλογή καλλιιεργειών που παράγουν εξω-πολυσακχαρίτες (Mistry, 2001). Τα οξυγαλακτικά βακτήρια που παράγουν εξω-πολυσακχαρίτες χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία γαλακτοκομικών καθώς έχουν την ικανότητα να δεσμεύουν νερό. Αυτό το καταφέρνουν λόγω της τρισδιάστατης δομής τους, η οποία παγιδεύει το νερό. Επίσης, οι εξω-πολυσακχαρίτες λειτουργούν ως πυρήνες για τη δημιουργία μεγάλων πόρων στο τυρί, και αυξάνουν το ιξώδες της υδατικής φάσης,

μεταβάλλοντας τα ρεολογικά του χαρακτηριστικά. Τέλος, εμπλέκονται στις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των πρωτεϊνών (Mohamed, 2015).

Τα εξασθενημένα βακτηριακά κύτταρα χρησιμοποιούνται διότι έχουν την ικανότητα να παράγουν πρωτεολυτικά ένζυμα, χωρίς να εμφανίζουν αντίστοιχη παραγωγή οξέος. Ο τρόπος με τον οποίο επιτυγχάνεται αυτή η εξασθένηση είναι η επεξεργασία με λυσοζύμη, η ξήρανση και η ελεγχόμενη θέρμανση ή ψύξη των κυττάρων (Ardö, 1997, Mistry, 2001). Η συνεισφορά τους στην παραγωγή των τυριών έχει δύο πτυχές. Η μία αφορά στην επιτάχυνση της ωρίμασης, ενώ η άλλη στην ενίσχυση της γεύσης (Mistry, 2001). Η χρήση επεξεργασμένου με θέρμανση *Lactobacillus helveticus* σε ημίσκληρο τυρί χαμηλής λιποπεριεκτικότητας, απέδωσε ενισχυμένη γεύση, εξάλειψη της πικρής γεύσης και βελτιωμένη υφή (Ardö, 1997).

Η χρήση δευτερευουσών καλλιιεργειών έχει χρησιμοποιηθεί για τη βελτίωση της γεύσης των τυριών χαμηλής λιποπεριεκτικότητας, με την ενίσχυση του τυπικού αρώματος και τη μείωση της πικρής γεύσης να αποτελούν τα κύρια πλεονεκτήματα της προσθήκης τους. Η χρήση του μικροοργανισμού *Lactobacillus casei* προσέδωσε θετικά λειτουργικά χαρακτηριστικά σε Mozzarella χαμηλού λίπους (Mistry, 2001). Διαφορετικά στελέχη του *Lactobacillus ssp.* δίνουν διαφορετικά χαρακτηριστικά γεύσης στο τυρί, ανάλογα με τη χρησιμοποιούμενη τεχνολογία και τη μικροβιακή χλωρίδα που αναπτύσσεται κατά τη διάρκεια της ωρίμασης (Skeie *et al.*, 2013). Οι μικροοργανισμοί που θα χρησιμοποιηθούν θα πρέπει να είναι ανταγωνιστικοί ως προς τα ανεπιθύμητα βακτήρια, να είναι ανεκτικοί σε συνθήκες χαμηλού pH, στο οξειδοαναγωγικό δυναμικό και την αλατοπεριεκτικότητα, ενώ θα πρέπει να αναπτύσσονται σε θερμοκρασίες ωρίμασης (Ardö, 1997). Βακτηριακά στελέχη τα οποία χρησιμοποιούνται ως εξειδικευμένες εναρκτήριες καλλιέργειες πρέπει να επιλέγονται με βάση την ευαισθησία τους στη θέρμανση, τις αυτολυτικές ιδιότητες και τις πρωτεολυτικές και πεπτιδολυτικές δραστηριότητες (Ardö, 1997).

Τα πρόσθετα ένζυμα έχουν ως στόχο τη βελτίωση της υφής των τυριών χαμηλής λιποπεριεκτικότητας. Αυτό επιτυγχάνεται με την αύξηση της πρωτεόλυσης (Mistry, 2001).

2.2.3. Προσθήκη απομιμήσεων λίπους

Για την αντικατάσταση του λίπους έχουν χρησιμοποιηθεί διάφορες ουσίες, οι οποίες προσδίδουν παρόμοιες ιδιότητες υφής και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Οι ουσίες αυτές περιλαμβάνουν την καραγεννάνη, τις πηκτές κυτταρίνης, προϊόντα βασισμένα στο άμυλο, κόμμεα, υδροκολλοειδή, και προϊόντα βασισμένα σε πρωτεΐνες του γάλακτος και του αυγού, όπως οι πρωτεΐνες ορού σε μορφή μικροσωματιδίων (Mistry, 2001, Skeie *et al.*, 2013). Σύμφωνα

με τους Drake & Swanson (1995), η χρήση τους δεν είναι απαραίτητη όταν τα τυριά έχουν μειωμένη λιποπεριεκτικότητα κατά 25-33%, καθώς η κατακράτηση υγρασίας και η απόδοση σε τυρί είναι επαρκείς μόνο από τις τεχνολογικές παρεμβάσεις. Για την παραγωγή τυριών με μειωμένη κατά το ήμισυ λιποπεριεκτικότητα συνιστάται από τους Drake & Swanson (1995), η εφαρμογή και των τριών διαφορετικών επιλογών (αλλαγές στη μέθοδο τυροκόμησης, χρήση δευτερευουσών καλλιιεργειών–ενζύμων, χρήση απομιμήσεων λίπους), έτσι ώστε να ελαττωθούν τα ελαττώματα που θα προκληθούν.

Η παραγωγή τυριών χαμηλής λιποπεριεκτικότητας μπορεί να διαιρεθεί σε δύο κύριες κατηγορίες, ανάλογα με το αν έχει χρησιμοποιηθεί αντικαταστάτης για το λίπος. Οι αντικαταστάτες λίπους μπορούν να χωριστούν στα υποκατάστατα λίπους και τους μιμητές λίπους. Τα υποκατάστατα λίπους είναι κυρίως μακρομόρια βασισμένα σε λιπίδια, τα οποία είναι παρόμοια με τα λίπη και έλαια από φυσιολογική και χημική σκοπιά. Μερικά από αυτά είναι οι εστέρες και πολυεστέρες λιπαρών οξέων σακχαρόζης, οι εστέρες λιπαρών οξέων υδατανθράκων, γαλακτωματοποιητές και τα δομημένα λιπίδια με σχεδιασμένη σύσταση (π.χ. συγκεκριμένη αναλογία λιπαρών οξέων, βαθμό κορεσμού κ.λπ.). Οι μιμητές λίπους είναι σύμπλοκα βασισμένα σε υδατάνθρακες ή πρωτεΐνες. Ο σκοπός τους είναι να μιμηθούν τις οργανοληπτικές και φυσικές ιδιότητες του λίπους, δεσμεύοντας υγρασία. Είναι υδατοδιαλυτά με πολικές ιδιότητες, και έτσι προσφέρουν κρεμώδη υφή και «λιπαρή» αίσθηση. Δεν μπορούν παρ' όλα αυτά να δράσουν ως μεταφορείς γεύσης, καθώς δεν είναι ικανοί να υποκαταστήσουν τις μη πολικές λειτουργικές ιδιότητες του λίπους (Mohamed, 2015, Ferrão *et al.*, 2016).

2.3. ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΟΥ ΠΟΣΟΣΤΟΥ ΛΙΠΟΥΣ ΣΤΟ ΤΥΡΙ

Το λίπος συνεισφέρει στη γεύση του τυριού μέσω της λιπόλυσης με τους ακόλουθους τρόπους (Guinee & McSweeney, 2006):

- Επιδρώντας στα ρεολογικά χαρακτηριστικά και εκείνα της υφής, επηρεάζεται και ο βαθμός απελευθέρωσης των εύγευστων συστατικών από το πρωτεϊνικό πλέγμα.
- Ως πηγή ελεύθερων λιπαρών οξέων (FFA), τα οποία συνεισφέρουν άμεσα στη γεύση του τυριού αυτούσια, ή ως πρόδρομες ουσίες πηκτικών συστατικών, διευκολύνοντας αντιδράσεις οι οποίες λαμβάνουν χώρα στη διεπαφή υγρασίας–λίπους.

Το οξειδοαναγωγικό δυναμικό του τυριού είναι χαμηλό και το λίπος του γάλακτος περιέχει χαμηλό ποσοστό πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, έτσι η οξείδωση των λιπών δε λαμβάνει σημαντική έκταση κατά την ωρίμαση.

Οι πηγές λιπολυτικών παραγόντων στο τυρί είναι (Guinee & McSweeney, 2006):

- Το γάλα, το οποίο περιέχει τη λιποπρωτεϊνική λιπάση (LPL). Η LPL δρα περισσότερο σε τυριά που παράγονται από απαστερίωτο γάλα, καθώς η διαδικασία της παστερίωσης απενεργοποιεί σε μεγάλο βαθμό το ένζυμο. Για πλήρη απενεργοποίηση, απαιτούνται 15 s στους 78°C.
- Την πυτιά. Σε περιπτώσεις χρήσης παραδοσιακής πυτιάς, όπως για τα τυριά Provolone ή τη Φέτα, τα προϊόντα αποκτούν έντονη γεύση λιπόλυσης, η οποία οφείλεται στην ύπαρξη της προγαστρικής εστεράσης (PGE). Η PGE είναι μια ενδυνάμει λιπάση, και προέρχεται από τους αδένες στη βάση της γλώσσας του ζώου, του οποίου το ήνυστρο χρησιμοποιείται για την παραγωγή της πυτιάς αυτής.
- Την εναρκτήρια καλλιέργεια. Τα οξυγαλακτικά βακτήρια θεωρούνται αδύναμα ως προς τη λιπολυτική τους δράση. Κυρίως παράγουν εστεράσες, δρώντας ως επί το πλείστον σε λιπαρά οξέα μικρής αλύσου, όμως έχει παρατηρηθεί και δράση λιπασών σε αυτά. Τα ένζυμα των οξυγαλακτικών βακτηρίων είναι ενδοκυτταρικά, ως εκ τούτου απαιτείται λύση τους για να απελευθερωθούν τα ένζυμα και να δράσουν.
- Τη δευτερεύουσα εναρκτήρια μικροβιακή χλωρίδα (λ.χ. *Penicillium roqueforti*), η οποία εμφανίζει πολύ ισχυρότερη λιπολυτική δράση από αυτή των εναρκτήριων καλλιιεργειών.
- Τα οξυγαλακτικά βακτήρια, τα οποία δεν προέρχονται από την εναρκτήρια καλλιέργεια (NSLAB).
- Την εξωγενή προσθήκη ενζύμων.

Τυριά, τα οποία χαρακτηρίζονται από υψηλή περιεκτικότητα σε ελεύθερα λιπαρά οξέα (FFA), παράγονται από παραδοσιακή πυτιά, έχουν ισχυρή λιπολυτική δευτερεύουσα μικροβιακή χλωρίδα, ή ωριμάζουν για πολύ μεγάλο χρονικό διάστημα (Guinee & McSweeney, 2006).

Η “ελλιπής” γεύση των τυριών με χαμηλό λίπος μπορεί να οφείλεται στην έλλειψη πρόδρομων ενώσεων από το λίπος, την απουσία του λίπους ως διαλύτη για αρωματικές ουσίες, ή διαφορές στη φυσιολογική δομή του τυριού, το οποίο δεν επιτρέπει συγκεκριμένες απαραίτητες ενζυμικές αντιδράσεις για το σχηματισμό αρωματικών ενώσεων (Mohamed, 2015).

Οι αρωματικές ενώσεις που προέρχονται από τα FFA περιλαμβάνουν τις n-μεθυλο-κετόνες, δευτεροταγείς αλκοόλες, υδροξυοξέα, λακτόνες, εστέρες και θειοεστέρες (Guinee & McSweeney, 2006). Τα τυριά με χαμηλότερο λίπος περιέχουν χαμηλότερες συγκεντρώσεις ελεύθερων λιπαρών οξέων μικρής αλύσου, ενώ η συγκέντρωση των λιπαρών οξέων μακράς

αλύσου είναι η ίδια. Οι μεθυλοκετόνες εμφανίζουν την ίδια μείωση, όπως και τα FFA μικρής αλύσου (Ardö, 1997). Σε τυριά Cheddar χαμηλής λιποπεριεκτικότητας η “κατώτερη” γεύση έχει συσχετιστεί με χαμηλότερα επίπεδα λιπαρών οξέων όπως το βουτανοϊκό οξύ, το εξανοϊκό οξύ και οι μεθυλοκετόνες. Επίσης, η διαφορετική δομή του προϊόντος επηρεάζει το βαθμό απελευθέρωσης πτητικών συστατικών, μεταβάλλοντας έτσι την αντίληψη από τους γευστικούς κάλυκες. Τέλος, η συσχέτιση μεταξύ της λιποπεριεκτικότητας και του πληθυσμού των βακτηριακών κυττάρων στο πήγμα έχει βρεθεί πως είναι θετική (Mistry, 2001).

Η πρωτεόλυση στα τυριά χαμηλής λιποπεριεκτικότητας που υφίστανται ωρίμαση παρουσιάζει πικρές γεύσεις λόγω του χαμηλού επιπέδου αλατοπεριεκτικότητας που προκύπτει από το αυξημένο ποσοστό υγρασίας, που επιτρέπουν στους μικροοργανισμούς της εναρκτήριας καλλιέργειας να αναπτυχθούν υπερβολικά. Επίσης, επειδή οι υδρόφοβες ενώσεις που προκαλούν τις πικρές γεύσεις προσροφούνται από το λίπος, στα τυριά χαμηλής λιποπεριεκτικότητας γίνονται περισσότερο αντιληπτές. Η πικρή γεύση μπορεί να ελεγχθεί σε τυριά Cheddar με αύξηση της αλατοπεριεκτικότητας στο 4,5%, έχοντας όμως ως συνέπεια την αύξηση της σκληρότητας του τυριού (Mistry, 2001). Η αμινοξική ακολουθία πολλών πικρών πεπτιδίων περιλαμβάνει αρνητικά φορτισμένα αμινοξέα στη μία πλευρά, και κυρίως υδροφοβικά αμινοξέα στην άλλη. Η προσρόφησή τους στη διεπαφή μεταξύ του λίπους και του νερού μπορεί να καλύψει την πικρή γεύση. Από αυτό το γεγονός προκύπτει ότι όσο λιγότερο λίπος έχει ένα τυρί, τόσο περισσότερες οι πιθανότητες για να είναι πικρό (Ardö, 1997).

Η πρωτεόλυση επηρεάζεται και από διάφορες επεμβάσεις στην τεχνολογία παραγωγής των τυριών με χαμηλό λίπος. Συγκεκριμένα, ο Mistry (2001) αναφέρει ότι το υψηλότερο pH του τυρογάλακτος στο στάδιο της στράγγισης και οι χαμηλότερες θερμοκρασίες αναθέρμανσης οδηγούν σε μικρότερη κατακράτηση της χυμοσίνης στο πήγμα, καθώς και της ενεργότητας της πλασμίνης. Σημαντικό είναι να σημειωθεί πως λόγω των διαφορετικών ενζυματικών δράσεων πυτιάς και πλασμίνης, στην περίπτωση της δραστηριότητας της δεύτερης παράγονται διαφορετικά, πιο υδρόφιλα μικρά πεπτίδια από ότι προκαλεί η δραστηριότητα της πυτιάς. Αυτή η διαφορά έχει επιπτώσεις στην υφή και τη γεύση του ώριμου τυριού (Ardö, 1997).

Η υγρασία εξατμίζεται με υψηλότερους ρυθμούς από τυριά με μειωμένη λιποπεριεκτικότητα. Αυτό μπορεί να προκαλέσει υπερβολική ξήρανση της μάζας του τυριού. Για αυτό το λόγο, επιλέγονται για μείωση της λιποπεριεκτικότητας τα τυριά που κανονικά παράγονται με υψηλότερο ποσοστό υγρασίας και καλύπτεται η επιφάνειά τους με πλαστικό φιλμ. Θα πρέπει όμως να συνυπολογιστεί ο παράγοντας της υψηλής ενεργότητας νερού (a_w), ο οποίος

προκαλεί αυξημένη βακτηριακή δραστηριότητα, από την οποία μπορεί να προκύψουν ανεπιθύμητες γεύσεις και ανάπτυξη παθογόνων βακτηρίων και μυκήτων (Ardö, 1997).

Η μείωση του λίπους στο τυρί έχει σημαντικές επιπτώσεις στις ιδιότητες που σχετίζονται με τη θραύση στα διάφορα είδη τυριών, όπως το Cheddar, η Mozzarella και το Cottage. Η ανάπτυξη της δομής του τυριού ξεκινά με την υδρόλυση της α_{s1} -καζεΐνης κατά τη διάρκεια της ωρίμασης (Ardö, 1997). Επιπλέον, το λίπος του γάλακτος προσδίδει λεία δομή στα τυριά πλήρους λιποπεριεκτικότητας. Όταν το λίπος αυτό αφαιρεθεί, τότε η καζεΐνη παίζει πιο σημαντικό ρόλο στην διαμόρφωση της δομής του τυριού. Καθώς λοιπόν το ποσοστό της άθικτης καζεΐνης αυξάνεται, το τυρί σκληραίνει. Εξ' αιτίας των τεχνολογικών παρεμβάσεων στην παραγωγή των τυριών μειωμένης λιποπεριεκτικότητας, κατακρατείται περισσότερο ασβέστιο, το οποίο με τη σειρά του προσδίδει σκληρότητα στο προϊόν (Guinee & McSweeney, 2006).

Η μείωση του ποσοστού λίπους στο Cheddar έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της ελαστικότητας (elasticity), της πίεσης θραύσης (fracture stress- σ_f), της έντασης θραύσης (fracture strain- ε_f), της σφικτότητας/σκληρότητας (firmness- σ_{max}), της συνεκτικότητας (cohesiveness), της ελαστικής ανάκτησης (springiness), της μασητικότητας (chewiness), του κομμιάδους (gumminess), της ξηρότητας και της κοκκώδους αίσθησης (graininess). Από την άλλη, παρατηρείται μείωση στην προκολλησιμότητα (adhesiveness). Κατόπιν αυτών των αλλαγών το Cheddar με μειωμένο λίπος χαρακτηρίζεται από τον καταναλωτή ως σκληρό και ελαστικό, κάτι το οποίο θεωρείται ανεπιθύμητο. Όμοιες επιπτώσεις παρατηρούνται και στη Mozzarella (Guinee & McSweeney, 2006, Mohamed, 2015).

Η μείωση του λίπους έχει ως επακόλουθο την αύξηση της άθικτης καζεΐνης, η οποία συνεισφέρει στην ελαστικότητα του τυριού. Το υγρό λίπος δρα ως λιπαντικό στις επιφάνειες του παρακαζεΐνικού δικτύου που έχουν υποστεί θραύση, έτσι με τη μείωσή του αυξάνεται η σκληρότητα του τυριού (Guinee & McSweeney, 2006). Επίσης, μια απόρροια της αλλαγής των τεχνολογικών παραμέτρων της τυροκόμησης προκαλεί αυξημένη κατακράτηση ασβεστίου στο τυρί, κάτι το οποίο αυξάνει την σφικτότητα/σκληρότητα (firmness) (Mohamed, 2015).

Η ομογενοποίηση του γάλακτος ή της κρέμας γάλακτος προς τυροκόμηση μειώνει τη σκληρότητα και την πίεση θραύσης (σ_f) σε τυριά Cheddar μειωμένης λιποπεριεκτικότητας, βελτιώνοντας κατά τον τρόπο αυτό την ποιότητα της υφής τους. Επίσης αυξάνει την υγρασία και την υγρασία επί των μη λιπαρών συστατικών (MNFS), που με τη σειρά τους μειώνουν το μέτρο ελαστικότητας (E), την πίεση θραύσης (σ_f), ή/και την σταθερότητα (σ_{max}), ενώ παράλληλα αυξάνει την προσκολλησιμότητα και την ένταση θραύσης (ε_f) σε διαφορετικούς τύπους τυριών (Guinee & McSweeney, 2006).

Η μείωση του περιεχόμενου λίπους του τυριού έχει αρνητικές επιπτώσεις στη λειτουργικότητα του Cheddar και της Mozzarella, όταν αυτά θερμαίνονται. Συγκεκριμένα, μειώνεται η ρευστότητα (flowability) και η δυνατότητα επέκτασης της μάζας (stretchability), ενώ το ιξώδες (apparent viscosity) αυξάνεται. Οι αρνητικές αυτές επιπτώσεις μπορεί να οφείλονται στο αυξημένο ποσοστό άθικτης καζεΐνης, στο μικρότερο βαθμό πρωτεόλυσης, στην αναλογία υγρασίας προς πρωτεΐνη και στη συσσωμάτωση του λίπους εξαιτίας της θέρμανσης, παράγοντες οι οποίοι έχουν ως τελικό αποτέλεσμα να μειώνεται ο βαθμός εκτόπισης παρακείμενων στρώσεων του καζεϊνικού δικτύου (Guinee & McSweeney, 2006). Ο Mohamed (2015) αναφέρει πως η ικανότητα τήξης επηρεάζεται από τη συνεχή υδρόλυση της α_{s1} - και β -καζεΐνης προς μικρότερα πεπτίδια, και όχι από την αρχική υδρόλυση των άθικτων πρωτεϊνών. Άλλες αλλαγές που έχουν παρατηρηθεί σε Mozzarella είναι η κακή ικανότητα τήξης, περιορισμένος σχηματισμός ελεύθερου ελαίου, υπερβολική καστανώση και σχηματισμός λεπτής ταινίας κατά την τήξη σε pizza. Επίσης επηρεάζεται σημαντικά η εμφάνιση των τυριών, τόσο των σκληρών όσο και της Mozzarella. Αυτές οι αλλαγές περιλαμβάνουν την θαμπότητα της επιφάνειας του τυριού, ιδιαίτερα κοντά στις άκρες. Αυτό συμβαίνει λόγω της αλλαγής που προκαλείται στη διάχυση του φωτός εξαιτίας της απουσίας του λίπους. Κατά το ψήσιμο της Mozzarella με χαμηλή λιποπεριεκτικότητα, παρατηρείται μεγάλη αύξηση του λευκού χρώματος, που οφείλεται σε «πηκτές» οι οποίες σχηματίζονται από την καζεΐνη και προϊόντα της πρωτεόλυσης κατά τη διάρκεια της θέρμανσης (Mistry, 2001).

2.4. ΑΝΑΚΑΤΕΡΓΑΣΜΕΝΑ ΤΥΡΙΑ ΜΕΙΩΜΕΝΗΣ ΛΙΠΟΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ

Το ποσοστό λίπους στα ανακατεργασμένα τυριά μπορεί να μειωθεί με την αντικατάσταση του φυσικού λίπους με νερό, πρωτεΐνες ή ουσίες οι οποίες δεν βρίσκονται στα τυριά σε κανονικές συνθήκες, όπως κόμμεα και σταθεροποιητές. Παρ' όλα αυτά, καθώς το μεγαλύτερο ποσοστό του λίπους του τελικού προϊόντος προέρχεται από το φυσικό τυρί, μια από τις καλύτερες στρατηγικές είναι να χρησιμοποιηθούν τυριά μειωμένης λιποπεριεκτικότητας ως πρώτη ύλη. Αυτό το γεγονός προϋποθέτει ότι το φυσικό τυρί με μειωμένη λιποπεριεκτικότητα, το οποίο θα πρέπει να χαρακτηρίζεται από επαρκώς αποδεκτά ρεολογικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, έχει παραχθεί επιτυχώς (Ferrão *et al.*, 2016).

3. ΑΛΑΤΙΣΜΑ ΤΩΝ ΤΥΡΙΩΝ

3.1. ΓΕΝΙΚΑ

Τα τυριά είναι πεδίο εφαρμογής κλασικών μεθόδων συντήρησης τροφίμων έτσι ώστε να ελεγχθεί η ωρίμανσή τους και να συντηρηθούν. Αυτές οι κλασικές μέθοδοι είναι η ζύμωση, το αλάτισμα, η αφυδάτωση και η ψύξη (Fox *et al.*, 2000).

Η επίδραση του χλωριούχου νατρίου (NaCl) στη διατηρησιμότητα των τροφίμων πηγάζει από την επιρροή του στην ενεργότητα νερού (a_w) του μέσου, σύμφωνα με τον τύπο:

$$a_w = p/p_0,$$

όπου p είναι η πίεση των ατμών του νερού που περιέχεται σε ένα σύστημα και p_0 είναι η πίεση των ατμών του καθαρού νερού στην ίδια θερμοκρασία (Fox *et al.*, 2000, Guinee, 2004).

Στα τρόφιμα, η πίεση των ατμών θα είναι πάντα μικρότερη από εκείνη του καθαρού νερού, διότι περιέχουν διάφορες ουσίες οι οποίες είναι διαλυμένες μέσα στο νερό αυτό. Το νερό, περιέχεται σε τρεις διαφορετικές ζώνες (Fox *et al.*, 2000):

1. Υγρασία μονοστοιβάδας, δεσμευμένη ισχυρά σε πολικές ομάδες του τροφίμου, όπως εκείνες του υδροξυλίου (-OH), των υδατανθράκων, ή των καρβοξυτελικών και αμινοτελικών ομάδων των πρωτεϊνών (-COO⁻, -NH₃⁺).
2. Επιπρόσθετη της υγρασίας μονοστοιβάδας, υγρασία πολλαπλών στοιβάδων.
3. Επιπρόσθετο ελεύθερο νερό.

Η ενεργότητα νερού των τροφίμων εξαρτάται από την περιεχόμενη υγρασία και τη συγκέντρωση διαλυμένων ουσιών χαμηλής μοριακής μάζας. Στο πρόσφατα παραχθέν τυρί, η ενεργότητα νερού προσδιορίζεται από τη συγκέντρωση του χλωριούχου νατρίου στην υδατική φάση (Fox *et al.*, 2000).

Οι πρωταρχικές λειτουργίες του αλατιού στο τυρί αφορούν στη συντήρηση, στη γεύση, στη δομή και στην ωρίμαση (Walstra *et al.*, 2006), ή αλλιώς στη σύσταση, στη μικροχλωρίδα, στο ρυθμό ωρίμασης, στην δομή και την ποιότητα (Guinee & Fox, 2004, Guinee, 2004). Το περιεχόμενο αλάτι στο τυρί διαφέρει σημαντικά ανάλογα με τον τύπο τυριού. Στο Emmental είναι περίπου 1%, ενώ στο Domiatī φτάνει το 5% (Fox *et al.*, 2000, Guinee, 2004). Η ενεργότητα νερού (a_w) ανέρχεται στο 0,99 για το Cottage, ενώ για το Roquefort στο 0,91. Η τελευταία ταπεινώνεται και από άλλες ουσίες, όπως το γαλακτικό οξύ, άλλα οξέα, αμινοξέα, μικρά πεπτιδία και το φωσφορικό ασβέστιο (Fox *et al.*, 2000) (Πίνακας 3.1).

Πίνακας 3.1. Σύσταση δημοφιλών τύπων τυριών (Fox *et al.*, 2000).

<i>Cheese (%)</i>	<i>Total Fat (%)</i>	<i>Total Solids (%)</i>	<i>Protein (%)</i>	<i>Salt (%)</i>	<i>Ash (%)</i>	<i>pH (%)</i>
Blue	29.0	58.0	21.0	4.5	6.0	6.5
Brick	30.0	60.0	22.5	1.9	4.4	6.4
Bulgarian White	32.3	68.0	22.0	3.5	5.3	5.0
Camembert	23.0	47.5	18.5	2.5	3.8	6.9
Cheddar	32.0	63.0	25.0	1.5	4.1	5.5
Edam	24.0	57.0	26.1	2.0	3.0	5.7
Emmental	30.5	64.5	27.5	1.2	3.5	5.6
Gouda	28.5	59.0	26.5	2.0	3.0	5.8
Grana (Parmesan)	25.0	69.0	36.0	2.6	5.4	5.4
Gruyère	30.0	66.5	30.0	1.1	4.1	5.7
Limburger	28.0	55.0	22.0	2.0	4.8	6.8
Muenster	29.0	57.0	23.0	1.8	4.4	6.2
Provolone	27.0	57.5	25.0	3.0	4.0	5.4
Romano	24.0	77.0	35.0	5.5	10.5	5.4
Roquefort	31.0	60.0	21.5	3.5	6.0	6.4
Domiatī*	25.0	45.0	12.0	4.8	–	4.6
Feta	26.0	47.0	16.7	3.0	–	4.5

*made from buffalo milk

Το αλάτι αυξάνει την ωσμωτική πίεση της υδατικής φάσης των τροφίμων, προκαλώντας με τον τρόπο αυτό αφυδάτωση στα βακτηριακά κύτταρα. Έτσι, σταματά την ανάπτυξή τους, προκαλώντας ακόμη και το θάνατό τους. Οι τιμές της a_w στο τυρί δεν είναι ικανές να προκαλέσουν αναστολή της ανάπτυξης των ζυμών και μυκήτων, όμως σε συνδυασμό με χαμηλό pH θέτουν τη βακτηριακή ανάπτυξη υπό έλεγχο (Fox *et al.*, 2000).

Το περιεχόμενο αλάτι στο τυρί είναι ένα σημαντικό βήμα στον ποιοτικό έλεγχο της παραγωγής του. Η συγκέντρωση του αλατιού, καθώς και η κατανομή του μέσα στο τυρί, έχουν σημαντικό αντίκτυπο σε αρκετές πτυχές της ποιότητας του τυριού (Fox *et al.*, 2000).

Η a_w του «νεαρού» τυριού μπορεί να υπολογιστεί από τον ακόλουθο τύπο (Guinee & Fox, 2004):

$$a_w = 1 - 0.033[\text{NaCl}_m] = 1 - 0.00565[\text{NaCl}]$$

όπου το $[\text{NaCl}_m]$ είναι η μοριακότητα του NaCl και το $[\text{NaCl}]$ είναι η συγκέντρωση NaCl, εκφρασμένη σε g/100g.

Η επίδραση του αλατιού στο τυρί συνοψίζεται στα παρακάτω (Fox *et al.*, 2000, Guinee, 2004, Walstra *et al.*, 2006):

- Αναστέλλει ή επιβραδύνει την ανάπτυξη των μικροοργανισμών, συμπεριλαμβανομένων των παθογόνων και εκείνων που προκαλούν τροφοδηλητηριάσεις. Με τον τρόπο αυτό, αυξάνει το επίπεδο ασφάλειας της κατανάλωσης του τυριού.
- Αναστέλλει τη δράση διαφόρων ενζύμων.
- Επηρεάζει τη συναίρεση του πήγματος, αφού προκαλεί την αποβολή του ορού και την επακόλουθη μείωση της υγρασίας. Αυτή η μείωση σχετίζεται με τα δύο προηγούμενα σημεία, επηρεάζοντας την ανάπτυξη των μικροοργανισμών και τη δραστηριότητα των ενζύμων. Κατά τη διάρκεια αλατίσματος τυριού σε άλμη, χάνεται περίπου 3% του βάρους του τυριού.
- Προκαλεί αλλαγές στο τυρί που έχουν να κάνουν με την υφή, τη διαλυτότητα και τη διαμόρφωση των πρωτεϊνών.
- Επηρεάζει τη γεύση με άμεσο και έμμεσο τρόπο.
- Μεγάλες ποσότητες αλατιού είναι ανεπιθύμητες από διατροφική σκοπιά.

3.2. ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΛΑΤΙΣΜΑΤΟΣ

Οι μέθοδοι αλατίσματος είναι τέσσερις (Fox *et al.*, 2000, Guinee, 2004, Walstra *et al.*, 2006, Singh & Cadwallader, 2008):

- i. Ξηρό αλάτισμα με ανάμιξη του αλατιού με τεμαχίδια τυροπήγματος, όπως στο Cheddar και τις συναφείς ποικιλίες τυριών. Κατά την προσθήκη του αλατιού γίνεται ομοιόμορφη κατανομή, με αποτέλεσμα να επιβραδύνεται η ανάπτυξη των μικροοργανισμών και να σταματά η πτώση του pH. Το αλάτι διαλύεται στην υγρασία της επιφάνειας του τεμαχιδίου του πήγματος και εισχωρεί στο εσωτερικό της μάζας του σε μια μικρή απόσταση. Έτσι, σχηματίζεται μια κορεσμένη ποσότητα άλμης στην επιφάνεια του κάθε τεμαχιδίου. Παρά τη μικρή περαιτέρω πτώση του pH, η παραγωγή γαλακτικού οξέος από το μεταβολισμό της λακτόζης συνεχίζεται. Ο λόγος της ελάχιστης μεταβολής του pH οφείλεται στη ρυθμιστική ικανότητα του τυριού, η οποία φτάνει το μέγιστο στο pH 5.2, καθώς και στο γεγονός ότι το pH είναι λογαριθμικό μέγεθος. Για την επιτυχή κατανομή του αλατιού στη μάζα του πήγματος, είναι σημαντική η θερμοκρασία και υγρασία αποθήκευσης του τυριού. Σε σχέση με το αλάτισμα σε άλμη, ο τύπος αυτός του αλατίσματος είναι πολύ ταχύτερος.

- ii. Ξηρό αλάτισμα με τρίψιμο αλατιού ή πάστας αλατιού στην επιφάνεια του σχηματισμένου τυριού, η οποία αφορά σε τυριά στα οποία αναπτύσσεται επιφανειακή μικροβιακή χλωρίδα. Όπως και στο ξηρό αλάτισμα στο πήγμα, απαιτείται σχηματισμός υπερκορεσμένου διαλύματος άλμης στην επιφάνεια έτσι ώστε να διαχυθεί το αλάτι στο εσωτερικό του τυριού. Ξηρό αλάτισμα εφαρμόζεται και στη Φέτα.
- iii. Εμβάπτιση σε διάλυμα άλμης 15-23%. Με τη μέθοδο αυτή, παρατηρείται κίνηση ιόντων Na^+ και Cl^- προς το τυρί, ως συνέπεια της διαφοράς της ωσμωτικής πίεσης μεταξύ της υδατικής φάσης του τυριού και της άλμης. Δημιουργείται μια αντίθετη ροή αποβολής ύδατος από το πρωτεϊνικό δίκτυο προς την άλμη, έτσι ώστε να δημιουργηθεί ισορροπία της ωσμωτικής πίεσης. Το χλωριούχο νάτριο διαχέεται με πολύ μικρότερο ρυθμό από ότι στο καθαρό νερό (για το τυρί κυμαίνεται μεταξύ 0.1 και 0.2 $\text{cm}^2/\text{ημέρα}$). Το γεγονός αυτό οφείλεται στην καθυστέρηση της κίνησης των ιόντων Na^+ και Cl^- διαμέσου των πόρων του πρωτεϊνικού δικτύου εξ' αιτίας των λιποσφαιρίων και των σωματιδίων καζεΐνης, τη μεγαλύτερη απόσταση που πρέπει να διανύσουν, την τριβή, την αντίθετη κίνηση του νερού, αλλά και από το μεγαλύτερο ιξώδες της υγρασίας του τυριού από εκείνο του καθαρού νερού. Τα περισσότερα είδη τυριών περιλαμβάνουν το στάδιο της πίεσης και της σχηματοδότησης με καλούπι πριν αυτά εμβαπτιστούν στην άλμη. Αυτό γίνεται για να επιτευχθεί η ψύξη του τυριού, η αποφυγή της κατάρρευσης του τυριού από το βάρος του και για την διευκόλυνση της πρόσληψης του αλατιού.
- iv. Συνδυασμός δύο μεθόδων από τις παραπάνω.

Στο τυρί Domiati, το αλάτισμα γίνεται στο γάλα πριν την τυροκόμηση. Ωστόσο, η προσθήκη αυτή εμποδίζει έντονα την πήξη του γάλακτος προς σχηματισμό πήγματος. Αυτό οφείλεται στη δέσμευση ιόντων νατρίου από τις καζεΐνες και την επακόλουθη μείωση του κολλοειδούς ασβεστίου, και την αυξημένη ενυδάτωση των πρωτεϊνών σε pH εύρους από 6.6 έως 5.2 (Guinee, 2004).

3.3. ΠΡΟΣΛΗΨΗ ΤΟΥ ΑΛΑΤΙΟΥ

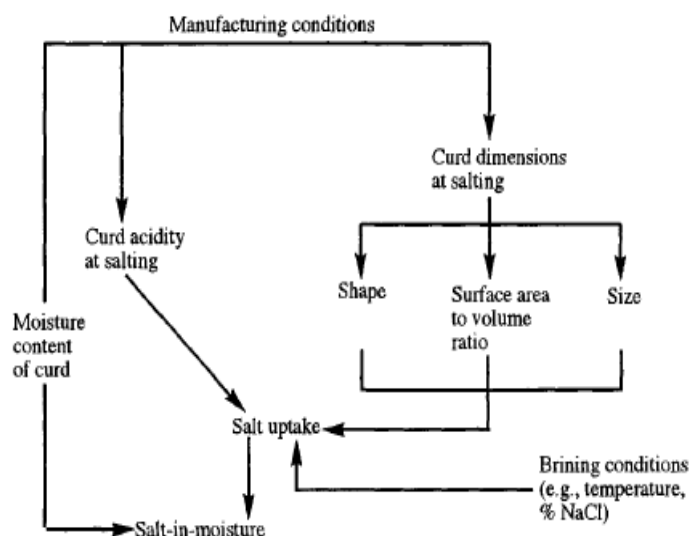
Η πρόσληψη του αλατιού αυξάνει με μειούμενο ρυθμό μέχρι την επίτευξη ισορροπίας, καθώς σταδιακά μειώνεται η διαφορά κορεσμού μεταξύ της υδατικής φάσης του τυριού και της άλμης. Η ποσότητα του αλατιού που προσλαμβάνεται αυξάνεται με την πάροδο του χρόνου, και

μπορεί να περιγραφεί από τον ακόλουθο τύπο (Fox *et al.*, 2000, Guinee, 2004, Walstra *et al.*, 2006):

$$M_t = 2(C - C_0)(D^*t/\pi)^{1/2}V_w$$

Όπου M_t είναι η ποσότητα του προσληφθέντος αλατιού με την πάροδο του χρόνου εκφρασμένη σε g NaCl/cm², το C είναι η συγκέντρωση του αλατιού στην άλμη (g NaCl/ml), C_0 η αρχική περιεκτικότητα αλατιού στο τυρί (g/ml), D^* ο συντελεστής (ψευδο)διάχυσης του αλατιού στην υγρασία του τυριού (cm²/d), t ο χρόνος αλατίσματος σε ημέρες και V_w το μέσο περιεχόμενο νερό στο τυρί στη χρονική στιγμή t (g/g). Από τον τύπο γίνεται ξεκάθαρο το γεγονός ότι η συγκέντρωση της άλμης επηρεάζει θετικά την πρόσληψη του αλατιού από το τυρί.

Ο ρυθμός πρόσληψης αλατιού αυξάνει ανάλογα με το λόγο της επιφάνειας του τυριού προς τον όγκο του. Στο αλάτισμα σε άλμη, διαδραματίζει σημαντικό ρόλο το σχήμα του τυριού. Για παράδειγμα, σε ένα τυρί ορθογώνιου σχήματος η πρόσληψη αλατιού θα είναι μεγαλύτερη από ότι σε ένα κυλινδρικό, καθώς στο πρώτο υπάρχουν έξι επιφάνειες, έναντι τριών του κυλίνδρου. Επίσης, έχει σημασία η αναλογία επίπεδων/καμπύλων επιφανειών. Σε τυριά μικρού μεγέθους τα οποία έχουν θερμοκρασία από 27°C έως 43°C η πρόσληψη αυξάνει, με εξαίρεση τους 32°C που το λίπος μετακινείται προς την επιφάνεια του τυριού και εμποδίζει την πρόσληψη αλατιού. Αυτό το φαινόμενο δεν παρατηρείται σε υψηλότερες ή χαμηλότερες θερμοκρασίες, καθώς σε χαμηλότερες περιορίζεται η μετακίνηση, ενώ σε υψηλότερες το λίπος υγροποιείται. Η αύξηση της θερμοκρασίας της άλμης επηρεάζει θετικά την κινητικότητα του NaCl και την πρόσληψή του, με την αύξηση της διάχυσης και την αύξηση της ουσιαστικής διαμέτρου των πόρων του καζεϊνικού δικτύου, αφού το δεσμευμένο νερό μειώνεται με την αύξηση της θερμοκρασίας. Το pH του πήγματος επηρεάζει αρνητικά την πρόσληψη αλατιού, ενώ η υγρασία θετικά. (Fox *et al.*, 2000, Guinee, 2004).



Εικόνα 3.2. Πρωταρχικοί παράγοντες που επηρεάζουν την πρόσληψη αλατιού από τυριά τα οποία αλατίζονται σε άλμη (Fox *et al.*, 2000).

Σε τυριά τα οποία αλατίζονται σε άλμη και σε τυριά τα οποία αλατίζονται επιφανειακά, δημιουργούνται ζώνες διαφορετικής αλατοπεριεκτικότητας εντός των μαζών τους. Οι ζώνες χαρακτηρίζονται από μειούμενη συγκέντρωση αλατιού από την επιφάνεια προς το κέντρο της μάζας. Για την ομοιόμορφη κατανομή του λόγου αλατιού προς υγρασία στη μάζα απαιτείται κάποιος χρόνος, ο οποίος εξαρτάται από τον τύπο του τυριού, τη σύστασή του, το μέγεθος, το σχήμα του και τις συνθήκες ωρίμασης. Οι παράγοντες οι οποίοι επηρεάζουν την πρόσληψη του αλατιού έχουν την ίδια επίδραση και στην κατανομή του εντός της μάζας. Άλλοι παράγοντες οι οποίοι επηρεάζουν τη διάχυση του αλατιού στη μάζα του τυριού, είναι οι εξής (Guinee, 2004):

- Η βαθμίδωση της συγκέντρωσης μεταξύ των διαφορετικών ζωνών αλατοπεριεκτικότητας μέσα στη μάζα του τυριού.
- Η θερμοκρασία της ωρίμασης, η οποία επηρεάζει θετικά τη διάχυση του αλατιού.
- Τα επίπεδα του λίπους, της πρωτεΐνης και της υγρασίας στο τυρί. Η υγρασία επηρεάζει θετικά το συντελεστή διάχυσης D^* , ενώ το λίπος και η πρωτεΐνη αρνητικά. Παρ' όλα αυτά, η μεταβολή του ενός συστατικού έχει ως αποτέλεσμα τη συνεπακόλουθη μεταβολή των άλλων, καθιστώντας με τον τρόπο αυτό δύσκολη την πρόβλεψη της επίδρασης στο συντελεστή διάχυσης.
- Άλλοι παράγοντες, όπως η γεωμετρία του τυριού, η σχετική υγρασία και η ταχύτητα του αέρα στο θάλαμο ωρίμασης, καθώς και η συχνότητα αναστροφής των τυριών

παίζουν ρόλο στην εξισορρόπηση της συγκέντρωσης του αλατιού στο εσωτερικό των τυριών.

- Στα τυριά Cheddar, επιτυγχάνεται πολύ δύσκολα πλήρως ομοιόμορφος λόγος υγρασίας προς λίπος, καθώς η κίνηση του αλατιού και της υγρασίας εμποδίζονται από τις πρωτεϊνικές στρώσεις οι οποίες βρίσκονται σε επαφή ανάμεσα στα τεμαχίδια, από την ύπαρξη μικροσκοπικών χώρων ανάμεσα στα τεμαχίδια λόγω ατελούς σύντηξης και την απουσία συνεχούς βαθμίδας του λόγου υγρασίας προς λίπος.

3.4. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΑΛΑΤΙΟΥ ΣΤΟ ΤΥΡΙ

Σε όλα τα τυριά, η υγρασία και η αλατοπεριεκτικότητα είναι αντιστρόφως ανάλογα μεγέθη. Η εισχώρηση του αλατιού στη μάζα του τυριού μπορεί να είναι ορατή, καθώς μεταβάλλει την υφή/δομή και την όψη του τυριού (Fox *et al.*, 2000). Όπως προαναφέρθηκε, σε ένα τυρί, αμέσως μετά το αλάτισμα παρατηρούνται διακυμάνσεις μέσα στη μάζα του, όσον αφορά στη συγκέντρωση του αλατιού και στο λόγο αλατιού προς υγρασία. Αυτές οι διακυμάνσεις μπορεί να παραμείνουν για μεγάλο χρονικό διάστημα, ανάλογα με τις συνθήκες αλατίσματος και τον χρησιμοποιούμενο εξοπλισμό, τη σύσταση του τυριού και τις συνθήκες ωρίμασης/αποθήκευσης, ενώ σε κάποιες περιπτώσεις μπορεί να προκαλέσουν ανεπιθύμητες διακυμάνσεις στο βαθμό πρωτεόλυσης (Guinee, 2004).

Η προσθήκη αλατιού μέχρι 1,4% (w/w) ενισχύει την ενυδάτωση των πρωτεϊνών, καθώς και την ικανότητα συγκράτησης ύδατος του πρωτεϊνικού δικτύου. Η χαμηλή θερμοκρασία της άλμης συντελεί στην ενυδάτωση των καζεϊνών, επειδή ευνοεί τη χαμηλότερη πρόσληψη αλατιού, το χαμηλό λόγο αλατιού προς υγρασία στην επιφάνεια του τυριού και περιορίζει τις υδροφοβικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των πρωτεϊνών (Guinee, 2004).

Η αλατοπεριεκτικότητα συσχετίζεται θετικά με την αύξηση της σκληρότητας (Walstra *et al.*, 2006). Η υψηλότερη συγκέντρωση σε αλάτι αυξάνει την πίεση θραύσης (σ_{max}) και τη σκληρότητα/σφικτότητα (σ_f) του τυριού, λόγω της αλλαγής που προκαλεί στη σύσταση, στην ενυδάτωση, διαμόρφωση και διαλυτότητα των παρακαζεϊνών, τις αλλαγές του pH και την επίδραση στην πρωτεόλυση (Guinee, 2004, Møller *et al.*, 2013).

Στη Mozzarella, η ρευστότητα κατά το ψήσιμο αυξάνει με την αλατοπεριεκτικότητα στο εύρος 0,1-0,5%. Η ανάλατη Mozzarella χαρακτηρίζεται από πολύ κακή συμπεριφορά κατά το

ψήσιμο. Η αύξηση της ρευστότητας συνοδεύεται από την αύξηση του ελεύθερου λίπους και της ικανότητας δέσμευσης νερού των παρακαζεϊνών (Guinee, 2004).

Οι συγκεντρώσεις της λακτόζης και του γαλακτικού οξέος επηρεάζονται από τη μικροβιακή δραστηριότητα, επομένως και από τη συγκέντρωση του αλατιού. Σε τυριά που αλατίζονται σε άλμη ή σε τυριά που αλατίζονται με ξηρό αλάτισμα επιφανειακά, η συγκέντρωση του αλατιού δε φτάνει σε απαγορευτική για τη μικροβιακή δραστηριότητα τιμή προτού της αναστολής της ανάπτυξης λόγω του μεταβολισμού ολόκληρης της ποσότητας της λακτόζης ή λόγω του χαμηλού pH. Επομένως, αν και οι θερμοφίλοι *Str. thermophilus* και *Lactobacillus* spp. είναι περισσότερο ευαίσθητοι στο αλάτι από τον *Lactococcus* spp., η ανάπτυξη οξύτητας από αυτούς δεν φαίνεται να επηρεάζεται κατά το αλάτισμα σε άλμη. Επίσης, η συγκέντρωση του αλατιού στο τυρί έχει μεγάλη επίδραση στο ρυθμό της πρωτεόλυσης. Η δραστηριότητα της πλασμίνης ενισχύεται σε χαμηλές συγκεντρώσεις (2%), ενώ αναστέλλεται σε υψηλές (8%) (Fox *et al.*, 2000).

Η επίδραση του αλατιού στην ποιότητα του τυριού είναι σημαντική. Σε υψηλές συγκεντρώσεις αλατοπεριεκτικότητας η πρωτεόλυση επιβραδύνεται, ενώ σε χαμηλές παρατηρούνται ελαττώματα όπως η πικρή και η όξινη γεύση. Οι ανεπιθύμητες γεύσεις εμφανίζονται λόγω υπερβολικής ή ανισόρροπης ενζυμικής δραστηριότητας (Fox *et al.*, 2000, Guinee, 2004). Το ίδιο το αλάτι συνεισφέρει ενεργά στη γεύση του τυριού, ενώ επίσης ενισχύει την αίσθηση στο στόμα και μειώνει τις ανεπιθύμητες γεύσεις (Møller *et al.*, 2013). Το ανάλατο τυρί χαρακτηρίζεται από υδαρή, άνοστη γεύση. Τα τυριά χαμηλής αλατοπεριεκτικότητας χαρακτηρίζονται από αδύναμο, μαλακό και αλοιφώδες σώμα, το οποίο είναι αποτέλεσμα υπερβολικής πρωτεόλυσης (Fox *et al.*, 2000, Guinee, 2004). Σε τυρί Cheddar με μειωμένο ποσοστό αλατοπεριεκτικότητας κατά το ήμισυ, η γεύση χαρακτηρίστηκε κατώτερη, ενώ η ρύθμιση της υγρασίας με τεχνολογικές παρεμβάσεις εξάλειψε τα ελαττώματα της υφής (Møller *et al.*, 2013).

3.5. ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΑΡΕΜΒΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΤΥΡΙΩΝ ΜΕΙΩΜΕΝΗΣ ΑΛΑΤΟΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ

Η υπερβολική πρόσληψη νατρίου έχει ανεπιθύμητες επιπτώσεις στον οργανισμό, από τις οποίες ξεχωρίζουν η υπέρταση και η αυξημένη αποβολή ασβεστίου, η οποία οδηγεί σε οστεοπόρωση (Guinee, 2004). Για την παραγωγή τυροκομικών προϊόντων χαμηλής περιεκτικότητας σε χλωριούχο νάτριο, ακολουθούνται οι παρακάτω στρατηγικές (Fox *et al.*, 2000, Guinee & Fox, 2004):

- Μείωση του προστιθέμενου αλατιού.
- Αντικατάσταση μέρους του χλωριούχου νατρίου (NaCl) από χλωριούχο κάλιο (KCl), χλωριούχο μαγνήσιο (MgCl₂), ή χλωριούχο ασβέστιο (CaCl₂).
- Χρήση ενισχυτών γεύσης για την κάλυψη των ελαττωμάτων, σε συνδυασμό με μειωμένη προσθήκη αλατιού.
- Τη χρήση ενισχυμένων γαλάτων από κατακράτημα υπερδιήθησης ή αντίστροφης ώσμωσης, προς μεταβολή των επιπέδων των μεταλλικών στοιχείων στο τυρί.
- Αλλαγές στη διαδικασία της τυροκόμησης, όπως πλύσιμο του πήγματος σε χαμηλή θερμοκρασία, ή θέρμανση σχηματοδοτημένου πήγματος μέχρι τους 85°C. Στο πλαίσιο αυτό έχει προταθεί η εφαρμογή υψηλής έντασης φυγοκέντρησης του γάλακτος με εκ νέου ενσωμάτωση της φάσης που περιέχει τα βακτήρια μετά από αποστείρωσή της. Το μίγμα αυτό τυροκομείται κανονικά, αλλά παραμένει λιγότερο χρόνο στην άλμη.

3.6. ΑΝΑΚΑΤΕΡΓΑΣΜΕΝΑ ΤΥΡΙΑ ΜΕ ΜΕΙΩΜΕΝΗ ΑΛΑΤΟΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ

Το ανακατεργασμένο τυρί προέρχεται από πολλά φυσικά τυριά, τα οποία διαφέρουν ως προς το στάδιο ωρίμασης, την περιεκτικότητα σε αλάτι και νερό. Διαμορφώνεται παρουσία γαλακτωματοποιητικών αλάτων. Τα τελευταία παίζουν σημαντικό ρόλο ώστε το τελικό προϊόν να αποκτήσει την επιθυμητή συνοχή. Το περιεχόμενο νάτριο στα επεξεργασμένα τυριά εξαρτάται κυρίως από τα γαλακτωματοποιητικά αλάτα, τα οποία περιέχουν νάτριο, και προστίθενται στο χλωριούχο νάτριο το οποίο φέρουν ήδη τα φυσικά τυριά από την παραγωγή τους (Ferrão *et al.*, 2016). Λόγω της χρήσης γαλακτωματοποιητικών αλάτων σε επεξεργασμένα τυριά, υπάρχει μεγαλύτερο πεδίο για τη μείωση της περιεκτικότητας σε νάτριο (Na) στα προϊόντα αυτά, παρά στα φυσικά τυριά (Fox *et al.*, 2000).

Μία εναλλακτική λύση είναι η χρήση χλωριούχου καλίου (KCl) αντί για το χλωριούχο νάτριο (NaCl). Αυτή η αντικατάσταση μέχρι 25% επιτρέπει τη μείωση του νατρίου χωρίς μείωση της γεύσης. Μια άλλη λύση είναι η χρήση γαλακτωματοποιητικών αλάτων τα οποία περιέχουν κάλιο. Αυτή η επιλογή όμως δημιουργεί προβλήματα όπως αυξημένη θραύση, μεγαλύτερη σκληρότητα, χαμηλότερη χωρητικότητα τήξης και διαλυτότητα των πρωτεϊνών. Τέλος, χρησιμοποιούνται ενισχυτές γεύσης όπως γλυκονο-δ-λακτόνη, πάστες τυριών και τυρί το οποίο έχει τροποποιηθεί ενζυμικά (Guinee & Fox, 2004, Ferrão *et al.*, 2016).

ΜΕΡΟΣ Β': ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

4. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

4.1. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΤΥΡΟΚΟΜΗΣΕΙΣ

Χρησιμοποιήθηκε αγελαδινό και αίγαιο γάλα από τα ζώα που εκτρέφονται στο Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών. Οι τυροκομήσεις που αναφέρονται στη συνέχεια έγιναν εις τριπλούν, τον Μάιο 2016.

Το αγελαδινό γάλα θερμάνθηκε σε τυρολέβητα μέχρι τους 40°C και στη συνέχεια αποκορυφώθηκε σε κορυφολόγο τύπου Franz Janschitz FJ125EAR. Κατόπιν, 50 kg αποκορυφωμένου αγελαδινού γάλακτος και 100 kg αίγειου γάλακτος αναμίχθηκαν στον τυρολέβητα και το μίγμα παστεριώθηκε στους 72°C για 10 min υπό συνεχή ανάδευση. Ακολούθησε γρήγορη ψύξη στους 35°C.

Έγινε μέτρηση pH και προστέθηκαν 60 mL διαλύματος χλωριούχου ασβεστίου (50% CaCl₂). Αφού το γάλα αναδεύτηκε, προστέθηκε εμπορική καλλιέργεια CHOOZIT™ AlpD της εταιρείας Danisco-DuPont στην ενδεικνυόμενη από τον παρασκευαστή ποσότητα. Η καλλιέργεια αυτή είναι μίγμα μεσόφιλων και θερμοφίλων στελεχών με μέτρια-υψηλή ικανότητα παραγωγής οξέος (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus lactis*).

Όταν η θερμοκρασία ήταν 32°C προστέθηκε η πτυιά τύπου Naturen® Extra 1115NB (CHR.Hansen) σύμφωνα με τις οδηγίες του παρασκευαστή. Μετρήθηκε ο χρόνος (πρό)πηξης ως εμφάνιση κροκιδωμάτων σε μαύρη σπάτουλα, και μετά από 40 min το πήγμα διαιρέθηκε σε κύβους ακμής 1 cm. Το διαιρεμένο πλέον τυρόπηγμα παρέμεινε σε ηρεμία για 5 min και απομακρύνθηκαν 35 kg τυρογάλακτος, για να προστεθεί ίση ποσότητα παστεριωμένου νερού θερμοκρασίας 52°C. Η θερμοκρασία του μίγματος τυρογάλακτος/νερού στο τέλος της προσθήκης του νερού ήταν 35°C. Το πήγμα αφέθηκε σε ηρεμία για άλλα 5 min και στη συνέχεια το πήγμα τοποθετήθηκε σε πλαστικά καλούπια για σχηματοδότηση και στράγγιση. Η στράγγιση διευκολύνθηκε με πίεση με τα χέρια και διαδοχικές αναστροφές. Τελικά, τα καλούπια τοποθετήθηκαν ανεστραμμένα σε θάλαμο θερμοκρασίας 16°C μέχρι το πρωί της επόμενης ημέρας.

Κατά τη διάρκεια της τυροκόμησης, προσδιοριζόταν η σύσταση των μεμονωμένων γαλάτων και των μιγμάτων τους με Milkoscan™.

Την επόμενη ημέρα τα τυριά εξήχθησαν από τα καλούπια, μετρήθηκαν οι διαστάσεις και τα βάρη τους. Ομαδοποιήθηκαν και τοποθετήθηκαν σε παστεριωμένη άλμη 20°Bé για διαφορετικές χρονικές περιόδους, έτσι ώστε να διαμορφωθούν οι δύο διαφορετικές ομάδες αλατοπεριεκτικότητας, «Α» και «Β». Η άλμη περιείχε 0,6% χλωριούχο ασβέστιο, ενώ το αλάτι που περιείχε ήταν ΚΑΛΑΣ NaCl που περιείχε max 10 ppm E536 (κωδικός L223444B291018).

Για το αλάτισμα χρησιμοποιήθηκαν λευκά πλαστικά δοχεία, τα οποία χρησιμοποιήθηκαν ως μικρές δεξαμενές άλμης. Σε κάθε δοχείο τοποθετήθηκαν τρία τυριά. Η άλμη ζυγίστηκε έτσι ώστε να είναι τετραπλάσια του συνολικού βάρους των εμβαπτιζόμενων τυριών. Η παραμονή κάθε τυριού στην άλμη είχε σχέση με την επιθυμητή αλατοπεριεκτικότητα και υπολογίστηκε με τον τύπο:

$$SM = 2 \times SB \times A / V (D^* \times t / \pi)^{1/2}$$

SM: salt-in-moisture, αλάτι στην υγρή φάση, δηλαδή αλάτι εκφρασμένο ως % ποσοστό της υγρασίας. $SM = 100 \times S / (S + M)$, S: salt, αλάτι, M: moisture, υγρασία

SB: συγκέντρωση της άλμης σε αλάτι, στην προκειμένη περίπτωση 20%

A: επιφάνεια του τυριού, cm^2 , V: όγκος του τυριού, cm^3

t: διάρκεια αλατίσματος, στην προκειμένη περίπτωση σε h, $\pi=3,14$

D*: συντελεστής διάχυσης του αλατιού στη μάζα του τυριού, cm^2h^{-1} ή cm^2d^{-1}

Μετά το αλάτισμα, τα τυριά εισήχθησαν σε θάλαμο θερμοκρασίας 15°C και παρέμειναν εκεί για 9 ημέρες με καθημερινές αναστροφές. Ύστερα, τα τυριά πλύθηκαν με αποστειρωμένη άλμη και συσκευάστηκαν σε πλαστικές συσκευασίες υπό κενό.

Από το σημείο αυτό και ύστερα κάθε ομάδα τυριών διαιρέθηκε σε δύο υπο-ομάδες που ακολούθησαν διαφορετικό τρόπο ωρίμασης. Συγκεκριμένα, τα μισά τυριά της ομάδας «Α» (μειωμένης αλατοπεριεκτικότητας) τοποθετήθηκαν σε θάλαμο 15°C (Aa), ενώ τα υπόλοιπα τοποθετήθηκαν σε θάλαμο 10°C (Ab). Ο ίδιος διαχωρισμός έγινε και για τα τυριά της ομάδας «Β» (κανονικής αλατοπεριεκτικότητας), τα οποία σημάνθηκαν ως Ba και Bb αντίστοιχα.

Στις 28 ημέρες, τα τυριά που βρίσκονταν στο θάλαμο με θερμοκρασία 15°C μεταφέρθηκαν στο θάλαμο θερμοκρασίας 10°C, όπου και παρέμειναν μέχρι το τέλος της ωρίμασης, δηλαδή τις 8 εβδομάδες. Μετά το τέλος της ωρίμασης τα τυριά μεταφέρθηκαν σε θάλαμο θερμοκρασίας 4°C.

4.2. ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ ΚΑΙ ΣΗΜΑΝΣΗ

Η σήμανση των δειγμάτων έγινε όπως περιγράφεται στον Πίνακα 4.1.

Πίνακας 4.1. Σήμανση (κωδικοποίηση) δειγμάτων.

Τυροκόμηση	Αλάτισμα	Ωρίμαση	Ηλικία (ημέρες)
1 ^η , 2 ^η , 3 ^η	A (μειωμένο αλάτι)	a (15°C)	9, 28, 54, 120
	B (κανονικό αλάτι)	b (10°C)	

Τα σημεία των δειγματοληψιών ορίστηκαν όπως φαίνεται στον Πίνακα 4.1. Ως δείγμα λαμβανόταν κάθε φορά ένα τυρί το οποίο χωρίζονταν σε κυκλικούς τομείς (υπο-δείγματα).

Πίνακας 4.2. Δειγματοληψίες πειραματικών τυριών.

Ηλικία τυριού (ημέρες)	9	28	54	120
Σήμανση	A9 ή B9	Aa28, Ab28 Ba28, Bb28	Aa54, Ab54 Ba54, Bb54	Aa120, Ab120 Ba120, Bb120
Στάδιο ωρίμασης	Συσκευασία	Τέλος διαφοροποιημένης ωρίμασης ομάδων Aa, Ba	Τέλος ωρίμασης	Τυρί στη συντήρηση

Την ημέρα της δειγματοληψίας, ένα μικρό κεφάλι του τυριού διαιρούνταν σε πέντε τμήματα, με το ένα να αποτελεί το ήμισυ του τυριού, και τα υπόλοιπα τέσσερα το 1/8. Το μεγαλύτερο κομμάτι χρησιμοποιήθηκε για ανάλυση ρεολογικών χαρακτηριστικών και τα υπόλοιπα για τις υπόλοιπες αναλύσεις.

4.3. ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΤΩΝ ΤΥΡΙΩΝ

4.3.1. Σύσταση

Το τριμμένο δείγμα του κάθε τυριού τοποθετούνταν σε τρυβλία Petri, τα οποία εισήχθησαν χωρίς το καπάκι στη συσκευή Foodscan™ της Foss Analytical Instruments με σκοπό τον προσδιορισμό της γενικής σύστασης.

4.3.2. Ενεργότητα νερού (a_w) και pH

Η μέτρηση της ενεργότητας νερού (a_w) έγινε με τη συσκευή AquaLab Point Water Activity Meter. Μετά τη βαθμονόμηση, μία λεπτή φέτα από το δείγμα τυριού σε θερμοκρασία δωματίου τοποθετούνταν στις ειδικές πλαστικές θήκες που εισάγονταν στο όργανο. Μετά την εισαγωγή των ειδικών θηκών στο όργανο, προσδιοριζόταν η τιμή της ενεργότητας νερού (a_w) του τυριού που ήταν η υγρασία του κενού χώρου επάνω από την επιφάνεια του τυριού, εφόσον είχε επιτευχθεί ισορροπία μεταξύ της ενεργότητας νερού του δείγματος και της ενεργότητας νερού του αέρα.

Από το ίδιο δείγμα, ζυγίστηκαν 5 g τυριού και αραιώθηκαν με ισόποση ποσότητα απιονισμένου νερού. Μετρήθηκε το pH του ομογενοποιημένου μίγματος με το όργανο WTW multi 3420.

4.3.3. Πρωτεόλυση

Η μελέτη της πρωτεόλυσης έγινε σε όλα τα στάδια ωρίμασης που μελετήθηκαν με δύο διαφορετικές αναλυτικές προσεγγίσεις. Η πρώτη αφορούσε στην εκτίμηση των ελεύθερων αμινομάδων στα τυριά και η δεύτερη στην κατατομή των πεπτιδίων των υδατοδιαλυτών εκχυλισμάτων των τυριών.

4.3.3.1. Προσδιορισμός ελευθέρων αμινομάδων με τη μέθοδο TNBS (trinitrobenzenesulphonicacid)

Η μέθοδος που εφαρμόστηκε ήταν τροποποίηση της μεθόδου που παρουσιάστηκε από την Polychroniadou (1988). Ποσότητα 1,2 g από κάθε δείγμα τριμμένου τυριού ζυγίζονταν εις διπλούν σε σωλήνες φυγοκέντρησης. Ακολουθούσε προσθήκη 12 mL διαλύματος Borax (0,1M $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ σε 0,1M NaOH, pH 9,5) στους σωλήνες φυγοκέντρησης και θέρμανση υπό ανάδευση στους 45°C για 15 min. Κατόπιν έγινε φυγοκέντρηση 3000×g για 20 min σε θερμοκρασία

περιβάλλοντος (~20-22°C). 3 mL από κάθε υπερκείμενο αραιώνονταν στα 50 mL με υπερκάθαρο νερό σε ογκομετρική φιάλη, και γινόταν σχολαστική ανάμιξη. Στη συνέχεια λάμβανε χώρα η αντίδραση TNBS ως εξής: 0,5 mL από αυτή την ανάμειξη + 0,5 mL διάλυμα Borax + 1 mL αντιδραστήριο TNBS συγκέντρωσης 1 mg/mL αναμιγνύονταν σχολαστικά και επωάζονταν στους 37°C για 30 min. Η αντίδραση τερματιζόταν με προσθήκη 2 mL διαλύματος 0,1M HCl. Ακολούθησε μέτρηση με το όργανο Perkin Elmer Lambda 20 στα 420 nm (A420) με λευκό δείγμα στη θέση της κυβέττας αναφοράς. Το λευκό προετοιμαζόταν με την ίδια διαδικασία, αλλά αντί για δείγμα τυριού περιείχε νερό. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως mM γλυκίνης και υπολογίζονται με βάση πρότυπη καμπύλη που βασιζόταν σε πρότυπα διαλύματα γλυκίνης με συγκεντρώσεις 0-0,2-0,4-0,8-1,2-2,5 mM. Για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης εφαρμόστηκε η παραπάνω διαδικασία, αντικαθιστώντας το δείγμα τυριού με τα πρότυπα διαλύματα γλυκίνης.

4.3.3.2. HPLC ανεστραμμένης φάσης (Reversed Phase-HPLC, RP-HPLC)

Προετοιμασία υδατοδιαλυτών εκχυλισμάτων (YE)

Ζυγίζονταν με ακρίβεια 1,5 g ομογενοποιημένου τυριού σε σωλήνες φυγοκέντρησης και προστίθονταν 5 mL υπερκάθαρου νερού. Ακολουθούσε ομογενοποίηση αυτής της διασποράς με ομογενοποιό UltraTurrax (IKA), για 2 min σε 9500 rpm. Εν συνεχεία, τα δείγματα παρέμειναν σε υδατόλουτρο υπό ανάδευση στους 40°C για 1 ώρα. Η ομογενοποίηση επαναλαμβανόταν όπως προηγουμένως και ακολουθούσε φυγοκέντρηση για 10 min σε 10000×g, στους 4°C. Μετά την απομάκρυνση της στερεοποιημένης επιφανειακής στιβάδας του λίπους γινόταν διήθηση από ηθμό Whatman No. 42. Το διήθημα συλλεγόταν και φυλασσόταν στους -25°C.

Χρωματογραφία

Αναλύθηκε ποσότητα 100 μL από τα YE των τυριών που είχαν προετοιμασθεί όπως περιγράφεται. Οι αναλύσεις έγιναν εις διπλούν με τη μέθοδο των Moatsou et al. (2004) και οι συνθήκες ανάλυσης ήταν:

- Στήλη: RP C18 Nucleosil (5 μm, 30nm, 250 ×4.0 mm) και Nucleosil C18 guard column 4 mm × 10 mm)
- Διαλύτης A: 0.1% TFA σε υπερκάθαρο νερό, Διαλύτης B: 0.1% TFA σε μίγμα ακετονιτριλίου και υπερκάθαρου νερού 60:40.
- Ταχύτητα ροής: 0,75 mL/min.

- Συνθήκες έκλυσης: 100% Διαλύτης A για 10 min, 0-80% Διαλύτης B για 80 min, 100% Διαλύτης B για 10 min και εξισορρόπηση με 100% Διαλύτη A για 10 min.
- Το δείγμα ΥΕ αραιωνόταν με διαλύτη A σε αναλογία 1:3 και πριν από την ανάλυση γινόταν διήθησή του με φίλτρο σύριγγος με πορώδες 0,45 μm (PVDF, Whatman).
- Ανίχνευση του εκλούσματος: στα 220 nm

4.3.4. Κατατομή δομής

Έγινε η «ενόργανη ανάλυση της κατατομής της δομής» (Instrumental Texture Profile Analysis) σε όλα τα στάδια ωρίμασης με το όργανο Shimadzu AGS-500 NG και με την εφαρμογή της μεθόδου της διπλής δαγκωματιάς των Kaminarides & Stachtiaris (2000). Για την ανάλυση αυτή χρησιμοποιήθηκαν ως δείγματα τα μισά κεφάλια των τυριών (~400g). Με τη βοήθεια μεταλλικής πλάκας το δείγμα παρέμενε ακινητοποιημένο, σε θέση ώστε το έμβολο (διάμετρος 6x6 mm) του μηχανήματος να εισχωρήσει στο κέντρο του, 20 mm κάτω από την επιφάνεια του τυριού. Το έμβολο αυτό πραγματοποιούσε σε κάθε τυρί δύο «δαγκωματιές» με ταχύτητα 25 mm/min. Η δύναμη που ασκούνταν κατά τη διείδυση από το τυρί στην κινούμενη πλάκα καταγράφονταν σε συνδεδεμένο με το μηχάνημα υπολογιστή (λογισμικό Shimadzu) με τη μορφή τυπικής καμπύλης δύο κύκλων συμπίεσης (δαγκωματιών). Η μέτρηση έγινε σε θερμοκρασία 10°C και επαναλήφθηκε στους 12°C. Μετά από επεξεργασία των μετρήσεων αποτυπώθηκαν οι παράμετροι που παρουσιάζονται στα αποτελέσματα.

4.3.5. Ανόργανο κλάσμα

Η λεπτομερής σύσταση του ανόργανου κλάσματος έγινε στην τέφρα των τυριών 54 ημερών.

Τέφρα

Ζυγίστηκε ~1 g δείγματος με ακρίβεια mg από κάθε τυρί εις τριπλούν σε πορσελάνινη κάψα. Τα δείγματα εισήχθησαν σε κλίβανο με αρχική θερμοκρασία 50°C, και κάθε μία ώρα αυξάνονταν κατά 50°C, μέχρι την επίτευξη της τελικής θερμοκρασίας των 550°C, όπου και παρέμεναν για 6 ώρες. Μετά το πέρας της αποτέφρωσης ζυγίζονταν το υπόλειμμα με ακρίβεια mg.

Ασβέστιο (Ca), μαγνήσιο (Mg), κάλιο (K) και νάτριο (Na)

Τα ανόργανα συστατικά που προσδιορίστηκαν στο τυρί ήταν το ασβέστιο (Ca), μαγνήσιο (Mg), κάλιο (K) και νάτριο (Na), όπως αναφέρεται από τους Nega & Moatsou, (2012). Ο προσδιορισμός τους έγινε με φασματοσκοπία ατομικής απορρόφησης με φλόγα, μίγματος C₂H₂/

αέρα με όργανο Shimadzu/AA-6800, εφοδιασμένου με αυτόματο δειγματολήπτη Shimadzu/ASC-6100, σύμφωνα με το πρότυπο IDF 119/ISO 8070 (2007). Η απορρόφηση των Ca, Mg, K, Na πραγματοποιήθηκε σε μήκη κύματος 422,7 nm, 285,2 nm, 766,5 nm, 589 nm αντίστοιχα. Η προετοιμασία των δειγμάτων έγινε με το πρότυπο ISO 8070/IDF 119 (2007). Πρώτο στάδιο ήταν η παρασκευή ενός μητρικού διαλύματος τέφρας, το οποίο περιείχε 40 mg από την τέφρα του διαλυμένα σε 1 mL νιτρικού οξέος 25% 100 mL με υπερκάθαρο νερό. Η επόμενη (1^η αραιώση) του μητρικού διαλύματος ήταν 5 mL από το μητρικό διάλυμα, 10 mL οξειδίου του λανθανίου για την αποφυγή αλληλεπιδράσεων με άλλα ιόντα (2,7% LaCl₃, σε υπερκάθαρο νερό) και υπερκάθαρο νερό μέχρι τη συμπλήρωση του όγκου των 100 mL. Ακολουθούσαν και άλλες διαδοχικές αραιώσεις κατά περίπτωση και ιδιαίτερα για το νάτριο, του οποίου η συγκέντρωση ήταν υψηλή εξαιτίας του αλατίσματος. Οι αναλύσεις έγιναν εις διπλούν για κάθε δείγμα και ο υπολογισμός της συγκέντρωσης των στοιχείων πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια των καμπυλών αναφοράς που υπολογίστηκαν με πρότυπα διαλύματα για κάθε στοιχείο.

Φώσφορος (P)

Ο προσδιορισμός του φωσφόρου έγινε σύμφωνα με την πρότυπη μέθοδο IDF Standard 042 (IDF, 2006). Η τέφρα από το κάθε δείγμα, διαλύθηκε με 2-3 mL διαλύματος υδροχλωρικού οξέος 1M και αραιώθηκε με 3 mL νερού. Ακολούθησε η μεταφορά του περιεχομένου σε φιάλη των 100 mL και ο όγκος συμπληρώθηκε με νερό. Από την παραπάνω φιάλη ελήφθησαν 2 mL και μεταφέρθηκαν σε φιάλη των 50 mL, όπου προστέθηκαν 2 mL διαλύματος μόλυβδο-ασκορβικού οξέος, και ο όγκος συμπληρώθηκε με νερό. Η φιάλη θερμάνθηκε σε υδατόλουτρο στους 100°C για 15 min και στην συνέχεια τα δείγματα ψύχθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολούθησε μέτρηση της απορρόφησης στα 820 nm έναντι του λευκού σε φωτόμετρο UV/VIS Spectrometer Perkin Elmer Lambda 20. Η ανάλυση έγινε εις διπλούν και ο ποσοτικός προσδιορισμός του φωσφόρου έγινε με την βοήθεια πρότυπης καμπύλης φωσφόρου.

Χλωριούχο νάτριο NaCl

Ο προσδιορισμός αυτός έγινε στα δείγματα 54 ημερών. Εφαρμόστηκε η πρότυπη μέθοδος της Διεθνούς Ομοσπονδίας Γάλακτος (IDF), Standard Method IDF 88/ISO 5943 (2006), η οποία είναι κατάλληλη για τα τυριά και τα επεξεργασμένα προϊόντα τους που περιέχουν περισσότερα από 0,2% (w/w) ιόντα χλωρίου. Είναι μία ποτενσιομετρική μέθοδος που ξεκινά με διάλυση του προς εξέταση δείγματος τυριού σε νερό. Ακολουθεί οξίνιση με νιτρικό οξύ και ποτενσιομετρική τιτλοδότηση των χλωριόντων με διάλυμα νιτρικού αργύρου. Πιο συγκεκριμένα, αρχικά ζυγίζονται μέσα σε ποτήρι ζέσεως σε αναλυτικό ζυγό περίπου 2 g τριμμένου και καλά ομογενοποιημένου τυριού με ακρίβεια mg. Ακολουθούσε η προσθήκη 30 mL απιονισμένου

νερού θερμοκρασίας 55°C και ανάδευση με χρήση γυάλινης ράβδου. Η ράβδος ξεπλενόταν με 10 mL απιονισμένο νερό μέσα στο ποτήρι ζέσεως και προστίθονταν 2,5 mL HNO₃ 4 mol/L. Τοποθετούνταν το ηλεκτρόδιο μέτρησης και το ηλεκτρόδιο αναφοράς μέσα στο διάλυμα του δείγματος και γινόταν τιτλοδότηση του διαλύματος του δείγματος με διάλυμα νιτρικού αργύρου (AgNO₃) 0.1 mol/L με διαρκή ανάδευση, μέχρι να προσεγγισθεί το τελικό σημείο (endpoint) της τιτλοδότησης. Έπειτα, η τιτλοδότηση εκτελούνταν αργά μέχρι το τελικό σημείο, το οποίο αντιστοιχεί στη μέγιστη σταθερή διαφορά δυναμικού που παρατηρείται ανάμεσα σε δυο διαδοχικές και ισόποσες προσθήκες γνωστής ποσότητας (περίπου 0,1 mL) διαλύματος νιτρικού αργύρου. Ο υπολογισμός του % NaCl γινόταν με χρήση της εξίσωσης:

$$\% \text{Cl}^- \text{ ή NaCl ή KC} = \frac{(V_1 - V_0) \times c \times f}{m}$$

Όπου:

V_1 = είναι ο όγκος (mL) του πρότυπου διαλύματος νιτρικού που καταναλώθηκε για το δείγμα

V_0 = είναι ο όγκος (mL), του διαλύματος νιτρικού αργύρου που καταναλώθηκε για το τυφλό

c = είναι η πραγματική συγκέντρωση, σε mol/L, του διαλύματος νιτρικού αργύρου

m = είναι το βάρος σε g, του προς εξέταση δείγματος

f = είναι ο συντελεστής για τα Cl⁻, NaCl και KCl, και ισούται με 3,55, 5,84 και 7,46 αντίστοιχα.

4.3.6. Οργανοληπτικός έλεγχος και παράμετροι χρώματος

Ο οργανοληπτικός έλεγχος έγινε στα τυριά 120 ημερών από ομάδα τεσσάρων έμπειρων στα τυριά δοκιμαστών, στους οποίους τα τυριά παρουσιάστηκαν με τυχαία κωδικοποίηση και σειρά. Η αξιολόγηση έγινε με το φύλλο οργανοληπτικού ελέγχου της Εικόνας 4.1 (Μοάτσου, προσωπική επικοινωνία). Κατά την επεξεργασία των αποτελεσμάτων, οι βαθμολογίες για τις παραμέτρους «εμφάνιση-χρώμα», «υφή-δομή» και «γεύση-άρωμα» πολλαπλασιάστηκαν με τους συντελεστές 1, 4 και 5 αντίστοιχα, ανάλογα με τη σχετική τους σημασία (Zoidou et al. 2015).

Η αξιολόγηση του χρώματος έγινε στα τυριά των 120 ημερών, με χρωματόμετρο Minolta CR-300 που κατέγραψε τις παραμέτρους L, a, b.

4.4. ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Η επίδραση των παραγόντων του πειράματος (συνθήκες ωρίμασης, αλάτισμα, ηλικία των τυριών) καθώς και οι τυχόν αλληλεπιδράσεις τους στις μεταβλητές που προσδιορίστηκαν ελέγχθηκε με τη μέθοδο ανάλυσης παραλλακτικότητας (Analysis Of Variance, ANOVA). Η επίδραση των επεξεργασιών θεωρήθηκε στατιστικά σημαντική όταν η τιμή P του F-test ήταν $<0,05$ ($P<0,05$). Ο έλεγχος των διαφορών των μέσων όρων έγινε με τη δοκιμή της Ελάχιστης Σημαντικής Διαφοράς (Least Significance Difference Test, LSD) σε επίπεδο σημαντικότητας 95%. Η στατιστική ανάλυση έγινε με το λογισμικό Statgraphics Centurion XVI.

ΦΥΛΛΟ ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ ΗΜΠΕΚΛΗΡΩΝ ΤΥΡΙΩΝ

ΟΝΟΜΑ:
ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ:

Αξιολογήστε τα παρακάτω δείγματα ΗΜΠΕΚΛΗΡΩΝ ΤΥΡΙΩΝ ως προς τα οργανοληπτικά τους χαρακτηριστικά, με κλίμακα 10 σημείων, στην οποία το 10 αντιστοιχεί στο χαρακτηρισμό «εξαιρετικό». Σημειώστε τη βαθμολογία σας στο αντίστοιχο κελί.

	321	657	289	429
ΕΜΦΑΝΙΣΗ-ΧΡΩΜΑ (0-10 βαθμούς)				
ΥΦΗ-ΔΟΜΗ (0-10 βαθμούς)				
ΓΕΥΣΗ-ΟΣΜΗ (0-10 βαθμούς)				

Χαρακτηρίστε με ✓ την εμφάνιση και το χρώμα του τυριού:

	321	657	289	429
Ομοιογενές χρώμα				
Ενιαία τομή χωρίς οπές, σγισμές κλπ				
Οπές (τρύπες κατά κανόνα συμμετρικές)*				
Σγισμές				
Κατάσταση επιδερμίδας **				

* παρακαλώ, σημειώστε εάν υπάρχουν οπές ή σγισμές και εάν είναι λίγες ή πολλές, μεγάλες ή μικρές

** παρακαλώ, σημειώστε εάν η εξωτερική επιφάνεια του τυριού είναι:
καθαρή, λεία ή ανώμαλη, σκληρή ή μαλακή, με μούγλα ή χωρίς, αποδεκτή ή μη-αποδεκτή

Χαρακτηρίστε με ✓ την υφή-δομή του τυριού:

	321	657	289	429
Σκληρή				
Ημισκληρή				
Μαλακή				
Ελαστική				
«Στεγνή»				
«Λασπωμένη»				

Χαρακτηρίστε με ✓ την γεύση-οσμή του τυριού:

	321	657	289	429
Γλυκιά				
Ξινή				
«Αρωματική - πλούσια»				
«Λιπαρή»				
Πικάντικη				
Ταγγισμένη				
Πικρή				
Αλμυρή				
Μεταλλική				

Χαρακτηρίστε με ✓ την κατάσταση ωριμότητας του τυριού:

Εικόνα 4.1. Φύλλο οργανοληπτικής αξιολόγησης των τυριών.

5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

5.1. ΤΥΡΟΚΟΜΗΣΕΙΣ

5.1.1. Γάλα τυροκόμησης

Σκοπός των πειραματικών αυτών τυροκομήσεων ήταν η παρασκευή και η μελέτη των χαρακτηριστικών και της ωρίμασης ημίσκληρων τυριών από μίγμα γάλακτος μειωμένων λιπαρών που αποτελούνταν από αίγιο με άπαχο αγελαδινό γάλα 2:1, το οποίο είχε επεξεργασθεί θερμικά στους 72°C για 10 min. Για τον σκοπό αυτό έγιναν τρεις διαφορετικές πειραματικές τυροκομήσεις. Από κάθε μία από τις τυροκομήσεις προέκυψαν τέσσερα πειραματικά τυριά με διαφορετική αλατοπεριεκτικότητα και συνθήκες ωρίμασης, ως εξής:

- Aa: Μειωμένο αλάτι, υψηλή θερμοκρασία ωρίμασης
- Ab: Μειωμένο αλάτι, χαμηλή θερμοκρασία ωρίμασης
- Ba: Κανονικό αλάτι, υψηλή θερμοκρασία ωρίμασης
- Bb: Κανονικό αλάτι, χαμηλή θερμοκρασία ωρίμασης

Η διαφοροποίηση της θερμοκρασίας ωρίμασης εφαρμόστηκε για να μελετηθεί η επίδραση των συνθηκών ωρίμασης σε τυριά με αλατοπεριεκτικότητα που διέφερε κατά 25%. Η ωρίμαση σε υψηλότερη θερμοκρασία μπορεί να επιταχύνει την ωρίμαση ενισχύοντας τον απότομο και ταχύ σχηματισμό γεύσης και αρώματος, ενώ μπορεί να προκύψουν προβλήματα ως προς την υφή/δομή του τυριού (McSweeney, 2004).

Στον Πίνακα 5.1 παρουσιάζεται η μέση φυσικοχημική σύσταση του γάλακτος που χρησιμοποιήθηκε στα πειράματα, παράλληλα με τη σύσταση του άπαχου γάλακτος που χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή του μίγματος πλήρους/άπαχου. Οι τιμές είναι οι μέσοι όροι των τριών πειραματικών τυροκομήσεων.

Πίνακας 5.1.1. Φυσικοχημική σύσταση του γάλακτος που χρησιμοποιήθηκε στις τυροκομήσεις (μέσος όρος τριών πειραμάτων \pm τυπική απόκλιση).

	Πλήρες αίγιο	Άπαχο αγελαδινό	Μίγμα ¹
Λίπος (F), %	3,11 \pm 0,07	0,26 \pm 0,18	2,20 \pm 0,13
Πρωτεΐνη (P), %	3,03 \pm 0,06	2,90 \pm 0,17	3,00 \pm 0,08
P/F	0,97 \pm 0,03	16,90 \pm 13,74	1,37 \pm 0,08
pH (προ CaCl ₂)	-	-	6,61 \pm 0,09
pH μετά τον εμβολιασμό	-	-	6,53 \pm 0,06

¹ μίγμα αίγιου με άπαχο αγελαδινό 2:1

Η ανάμιξη του πλήρους αίγιου γάλακτος με το άπαχο αγελαδινό είχε ως συνέπεια την αύξηση της αναλογίας πρωτεΐνη/λίπος (P/F) από 0,97 στο αίγιο γάλα σε 1,37 στο μίγμα του με άπαχο αγελαδινό γάλα 2:1. Ο λόγος της πρωτεΐνης (και κατ' επέκταση της καζεΐνης) προς το λίπος (P/F) του τυροκομούμενου γάλακτος έχει επίπτωση στην απόδοση σε τυρί, αλλά και την ποιότητα του παραγόμενου τυριού (Καμινारीδης & Μοάτσου, 2009). Ο λόγος αυτός είναι ο κυρίαρχος παράγοντας που επηρεάζει την ποσότητα του λίπους που θα περιέχεται στο τυρί σε αντιστοιχία με τα υπόλοιπα στερεά συστατικά του γάλακτος. Ως επακόλουθο, ο λόγος P/F επηρεάζει και το λόγο του λίπους ως προς τα στερεά συστατικά (FDM). Έτσι, ο επιθυμητός λόγος FDM χρησιμοποιείται για την εκτίμηση του λόγου P/F και την τυποποίηση του τυροκομούμενου γάλακτος στις επιθυμητές αναλογίες P/F (Hill, 2016). Ο λόγος P/F στο τυροκομούμενο γάλα είναι ο πρωταρχικός παράγοντας ο οποίος επηρεάζει το περιεχόμενο λίπος, καθώς ελέγχει τις σχετικές αναλογίες για δύο από τους τρεις κύριους παράγοντες σύστασης στο τυρί, με τον τρίτο παράγοντα να είναι η υγρασία (Guinee & McSweeney, 2006). Σε όλους τους τύπους τυριού η αύξηση της αναλογίας καζεΐνης προς λίπος έχει ως αποτέλεσμα υψηλότερη περιεκτικότητα σε υγρασία, και κατ' επέκταση υψηλότερο ποσοστό τέφρας (καθώς το υψηλότερο ποσοστό υγρασίας θα περιέχει και περισσότερα διαλυτά στερεά συστατικά). Η μείωση της αναλογίας καζεΐνης προς λίπος επιφέρει το αντίθετο αποτέλεσμα (Fox *et al.* 2000).

Στα τυριά μειωμένης λιποπεριεκτικότητας, ο λόγος P/F είναι αυξημένος σε σχέση με τα πλήρη σε λίπος τυριά. Ο υψηλός λόγος P/F προσδίδει στα τυριά υπερβολικά σφικτή και λαστιχωτή υφή (Fox *et al.* 2000).

Η υψηλή τιμή της τυπικής απόκλισης στο λόγο της πρωτεΐνης/λίπους για το άπαχο αγελαδινό γάλα προέρχεται από την αντιστοίχως υψηλή τυπική απόκλιση του λίπους του. Αυτή με τη σειρά της οφείλεται στην απόδοση της αποκορύφωσης του αγελαδινού γάλακτος κατά την πρώτη τυροκόμηση, όπου η τελική τιμή της λιποπεριεκτικότητας διαμορφώθηκε σε 0,45 %, σε αντίθεση με τις υπόλοιπες των δύο επόμενων τυροκομήσεων, οι οποίες ήταν περισσότερο αποδοτικές (0,09 % στη δεύτερη, 0,24 % στην τρίτη).

Η επέμβαση της μείωσης της λιποπεριεκτικότητας πραγματοποιήθηκε με απομάκρυνση του λίπους του αγελαδινού γάλακτος, έτσι ώστε να τονιστεί η ιδιαίτερη γεύση και άρωμα του λίπους του αίγιου γάλακτος στα τυριά.

5.1.2. Τυροκόμηση

Οι συνθήκες τυροκόμησης παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.1.2:

Πίνακας 5.1.2. Στάδια τυροκόμησης ημίκληρων τυριών από μίγμα αίγιου γάλακτος με άπαχο αγελαδινό επεξεργασμένο σε 72°C για 10 min. Ως σημείο εκκίνησης θεωρείται η προσθήκη της πτυιάς. Η οξυγαλακτική καλλιέργεια προστέθηκε 8 ± 2 min πριν την προσθήκη της πτυιάς. Οι τιμές είναι ο μέσος όρος τριών πειραμάτων ± τυπική απόκλιση.

Στάδιο	Χρόνος (min)
Προσθήκη πτυιάς, min	0
Πήξη, min μετά την πτυιά	12,00 ± 0,75
Διαίρεση, min μετά την πτυιά	40,00 ± 0,00
1 ^η ανάδευση, min	43,33 ± 1,53
Αντικατάσταση τυρογάλακτος με νερό και 2 ^η ανάδευση, min	68,00 ± 3,46
Εισαγωγή σε καλούπια, min	103,00 ± 3,46
Λίπος τυρογάλακτος, % ¹	0,30 ± 0,00
Πρωτεΐνη τυρογάλακτος, % ¹	0,30 ± 0,00
Πρωτεΐνη/Λίπος τυρογάλακτος ¹	1,00 ± 0,00
Απόδοση σε φρέσκο ανάλατο τυρί, % ²	11,54 ± 0,48

¹ πριν την αντικατάσταση μέρους του τυρογάλακτος με νερό. ² τα τυριά ζυγίσθηκαν την επόμενη ημέρα πριν από το αλάτισμα και η απόδοση εκφράζεται ως ποσοστό του βάρους του γάλακτος που τυροκομήθηκε.

Η παστερίωση του γάλακτος έγινε στους 72°C για 10 min. Η επιλογή αυτή έγινε έτσι ώστε να προκύψουν οφέλη ως προς την απόδοση σε πήγμα αλλά και τη συγκράτηση υγρασίας μέσω της μετουσίωσης των πρωτεϊνών του ορού και τη δημιουργία συμπλόκων β-λακτογλοβουλίνης/κ-καζεΐνης. Η εκμετάλλευση της αυξημένης ικανότητας συγκράτησης νερού μέσω των θερμικά συσσωματωμένων πρωτεϊνών του ορού χωρίς να επηρεαστεί αρνητικά η ικανότητα τυροκόμησης του γάλακτος ως προς την ικανότητα του πηγματος να εμφανίσει συναίρεση (Fox *et al.* 2000), τα χαρακτηριστικά της υφής και τις λειτουργικές ιδιότητες του τυριού, αποτελεί μία από τις κυριότερες προκλήσεις για τη βιομηχανία παραγωγής τυριών (Kethireddipalli & Hill, 2015).

Η θερμοκρασία αναθέρμανσης επηρεάζει τη συναίρεση του πήγματος. Στα τυριά Ολλανδικού τύπου, η αναθέρμανση γίνεται με την αφαίρεση τυρογάλακτος και την ισόποση προσθήκη θερμού νερού, έτσι ώστε το μίγμα να αποκτήσει την επιθυμητή θερμοκρασία αναθέρμανσης. Ο κύριος σκοπός της προσθήκης θερμού νερού είναι να μειωθεί η συγκέντρωση της λακτόζης και να ρυθμιστεί το pH του τυριού (Fox *et al.* 2000, van der Berg *et al.* 2004). Με τον ίδιο τρόπο επιτεύχθηκε η αναθέρμανση κατά τις πειραματικές τυροκομήσεις της παρούσας μελέτης.

Η ανάδευση κατά την αναθέρμανση λαμβάνει χώρα έτσι ώστε να διευκολυνθεί η επίτευξη της επιθυμητής θερμοκρασίας, να αποτραπεί η συσσωμάτωση των κόκκων του πήγματος και να επιταχυνθεί η συναίρεση μέσω της σύγκρουσης των τεμαχιδίων του πήγματος μεταξύ τους, αλλά και με τα τοιχώματα του τυρολέβητα. Ειδικότερα η συναίρεση αυξάνει αναλογικά με την ένταση της ανάδευσης (Fox *et al.* 2000).

Η απόδοση σε τυρί αποτελεί έναν πολύ σημαντικό παράγοντα για τη βιομηχανία παραγωγής τυροκομικών προϊόντων. Με την πρόβλεψη της απόδοσης οι μονάδες παραγωγής τυροκομικών προϊόντων μπορούν να μετρούν την αποδοτικότητά τους, να προγραμματίζουν την παραγωγή και να διαμορφώνουν μελλοντικές συνταγές ανάλογα (Fox *et al.* 2000). Η πιο διαδεδομένη εξίσωση πρόβλεψης απόδοσης σε τυρί αποτελεί η εξίσωση van Slyke, η οποία χρησιμοποιείται για την πρόβλεψη της απόδοσης για περισσότερο από μισό αιώνα (Zeng *et al.* 2005). Σύμφωνα με την εξίσωση van Slyke, η απόδοση διαμορφώνεται ως εξής:

$$\text{➤ Απόδοση σε τυρί} = (0,93 * \text{Λιποπεριεκτικότητα \%} + \text{περιεκτικότητα σε καζεΐνη \%} - 0,10) * 1,09 \div (1,00 - \text{υγρασία τυριού \%})$$

Αντικαθιστώντας τα μεγέθη για το γάλα που τυροκομήθηκε πειραματικά ως προς το λίπος και την υγρασία¹ και προχωρώντας στην παραδοχή ότι η καζεΐνη ανέρχεται στο 80% της πρωτεΐνοπεριεκτικότητας, η τιμή ανέρχεται σε **9,313%**. Εάν όμως αντικατασταθούν οι συντελεστές της αρχικής εξίσωσης, η οποία είχε δημιουργηθεί από τον van Slyke για τυρί τύπου Cheddar, με συντελεστές που προκύπτουν από τα πειραματικά μετρηθέντα μεγέθη για τη λιποπεριεκτικότητα και πρωτεΐνοπεριεκτικότητα στο τυρόγαλα της πειραματικής τυροκόμησης, η εξίσωση μετατρέπεται στην παρακάτω μορφή:

$$\text{➤ Απόδοση σε τυρί} = (0,863 * 2,2\% + 2,186\%) * 1,09 \div (0,508) = \mathbf{8,764\%}$$

Η πραγματική τιμή της απόδοσης σε τυρί, κατά την 9^η μέρα μετά την τυροκόμηση, ανέρχεται σε **9,073%**, δηλαδή πολύ κοντά στην τιμή της πρόβλεψης της εξίσωσης van Slyke. Θα πρέπει να σημειωθεί πως για την ακριβότερη πρόβλεψη απαιτείται ακριβής γνώση του ποσοστού καζεΐνης επί της συνολικής πρωτεΐνης, ενώ θα πρέπει να ληφθεί υπόψιν το γεγονός

¹ Ως ποσοστό υγρασίας χρησιμοποιήθηκε ο μέσος όρος των τιμών της υγρασίας των τυριών A9 και B9.

ότι μέρος του τυρογάλακτος αντικαταστάθηκε με νερό, όπου αναμένεται να υπήρξαν περαιτέρω απώλειες σε λίπος και πρωτεΐνη.

5.1.3. Αλάτισμα

Τα κεφάλια των τυριών αλατίστηκαν σε άλμη 20 % NaCl σε θερμοκρασία 16°C, αφού χωρίστηκαν σε δύο ομάδες. Για την ομάδα A, ο στόχος ήταν να έχουν αλάτι στην υγρή φάση (S/M) 2,80 % και για την ομάδα B 3,60 %. Η αναλογία τυριού προς άλμη ήταν 1:4. Η διάρκεια αλατίσματος για την πρώτη ομάδα τυριών ήταν περίπου 4-5 h και για τη δεύτερη 7-8 h ανάλογα με τις διαστάσεις τους. Για τον υπολογισμό του χρόνου αλατίσματος εφαρμόστηκε ο τύπος που αναφέρεται από τον Hardy (1986):

$$SM = 2 \times SB \times A/V (D^* \times t/\pi)^{1/2}$$

Όπου, SM: salt-in-moisture, αλάτι στην υγρή φάση, δηλαδή αλάτι εκφρασμένο ως % ποσοστό της υγρασίας.

$SM = 100 \times S / (S + M)$, S: salt, αλάτι, M: moisture, υγρασία

SB: συγκέντρωση της άλμης σε αλάτι, στην προκειμένη περίπτωση 20%

A: επιφάνεια του τυριού, cm²

V: όγκος του τυριού, cm³

t: διάρκεια αλατίσματος, στην προκειμένη περίπτωση σε h

$\pi=3,14$

D*: συντελεστής διάχυσης του αλατιού στη μάζα του τυριού, cm² h⁻¹ ή cm² d⁻¹

Ο συντελεστής διάχυσης του αλατιού στη μάζα του τυριού είναι χαρακτηριστικό κάθε κατηγορίας τυριού και αφορά στην παρεμπόδιση της μετακίνησης των μορίων του αλατιού που προκαλείται από τη μάζα του τυριού. Εκφράζει την ταχύτητα μετακίνησης του αλατιού από ένα διάλυμα υψηλής συγκέντρωσης προς ένα άλλο με χαμηλότερη συγκέντρωση, δηλαδή από την άλμη προς την υγρασία των τυριών. Στην περίπτωση των τυριών είναι από 3,5 έως 10 φορές χαμηλότερος σε σχέση με τα υδατικά διαλύματα. Για την υγρασία των τυριών αναφέρονται συντελεστές διάχυσης του NaCl από 0,1 έως 0,3 cm² ανά ημέρα (d) ή ~0,0042-0,0125 cm² h⁻¹, οι οποίοι εξαρτώνται από τη δομή και τη σύσταση του τυριού και τις συνθήκες αλατίσματος, π.χ. θερμοκρασία και αναλογία τυριού προς άλμη (Bintsis, 2006). Λαμβάνοντας υπόψη ευρήματα προηγούμενων πειραμάτων, στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκε συντελεστής διάχυσης 0,01 cm² h⁻¹. Μετά από τις αναλύσεις των τυριών και λαμβάνοντας υπόψη τις πειραματικές μετρήσεις του λόγου S/M, υπολογίστηκε ο πραγματικός συντελεστής διάχυσης D*, ως 0,0073 cm² h⁻¹.

Κατά τη διάρκεια του αλατίσματος τα τυριά αναστρέφονταν σε τακτά χρονικά διαστήματα, ενώ έγινε καταγραφή του pH της άλμης πριν και μετά την προσθήκη των

τυριών. Η μεταβολή του βάρους των τυριών κατά το αλάτισμα παρουσιάζεται στον Πίνακα 5.3 και η μεταβολή του pH της άλμης στον Πίνακα 5.4.

Πίνακας 5.1.3. % απώλειες του βάρους ημίσκληρων τυριών από μίγμα αίγειου γάλακτος με άπαχο αγελαδινό επεξεργασμένο σε 72°C για 10 min κατά το αλάτισμά τους σε άλμη με 20% NaCl, 0,3 % CaCl₂ β/β, στους 16°C. Τα % ποσοστά είναι μέσος όρος τριών πειραμάτων ± τυπική απόκλιση.

Ομάδα τυριών	A	B
% απώλειες	4,00 ± 0,40	4,00 ± 1,10

Πίνακας 5.1.4. Μεταβολή του pH της άλμης με 20% NaCl, 0,3 % CaCl₂ β/β κατά το αλάτισμα ημίσκληρων τυριών από μίγμα αίγειου γάλακτος με άπαχο αγελαδινό επεξεργασμένο σε 72°C για 10 min. Οι τιμές pH είναι μέσος όρος τριών πειραμάτων ± τυπική απόκλιση.

Τυρί / Άλμη	Αρχή	Τέλος
	αλατίσματος	αλατίσματος
A	7,03 ± 0,38	6,20 ± 0,19
B	7,03 ± 0,38	6,17 ± 0,13

Η μείωση του pH της άλμης υποδεικνύει την έξοδο του παραγόμενου γαλακτικού οξέος μαζί με την υγρασία που αποβάλλεται λόγω της πρόσληψης αλατιού. Η μείωση του βάρους των φρέσκων τυριών που παρουσιάζεται στον Πίνακα 5.1.3 είναι αποτέλεσμα του μηχανισμού πρόσληψης αλατιού από τη μάζα του τυριού. Η συγκέντρωση του αλατιού στο εσωτερικό του τυριού γίνεται απαγορευτική μόνο όταν έχει ήδη σταματήσει η μικροβιακή δραστηριότητα, λόγω πλήρους μεταβολισμού της λακτόζης, ή της επίτευξης αρκετά χαμηλού pH (Fox *et al.* 2000). Το pH του τυριού συνεχίζει να μειώνεται μετά το αλάτισμα, λόγω της συνεχιζόμενης δράσης της εναρκτήριας καλλιέργειας σε επίπεδα αλατιού στην υγρή φάση (S/M) <5% (McSweeney & Fox, 2004), όμως η αντικατάσταση μέρους του τυρογάλακτος με νερό απομακρύνει ένα ποσοστό της λακτόζης, με την επακόλουθη μείωση της αναλογίας της λακτόζης προς ρυθμιστικές ουσίες να οδηγεί σε έλεγχο του pH (McSweeney & Fox, 2004).

5.2. ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΗΣ ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΗΣ ΣΥΣΤΑΣΗΣ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΗΣ ΩΡΙΜΑΣΗΣ

Η βασική φυσικοχημική σύσταση των τυριών κατά την ωρίμασή τους παρουσιάζεται στον Πίνακα 5.2.1 και η εξέλιξη μερικών βασικών τεχνολογικών παραμέτρων στην Εικόνα 5.2.1. Στον Πίνακα 5.2.2. παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της ανάλυσης παραλλακτικότητας (ANOVA) για τις παραμέτρους σύστασης (μεταβλητές). Σκοπός, ήταν ο εντοπισμός των παραγόντων του πειράματος που προκαλούν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P < 0,05$) στις μεταβλητές. Στη συνέχεια έγινε έλεγχος των τιμών των μεταβλητών για τις οποίες παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές (Πίνακας 5.2.3.).

Όπως προκύπτει από τον Πίνακα 5.2.3, συχνά οι σημαντικές διαφορές (LSD, $P < 0,05$) οφείλονταν στα δείγματα των 9 ημερών. Το φαινόμενο αυτό είναι αναμενόμενο, αφού ακόμη στις 9 ημέρες δεν έχει ολοκληρωθεί η διάχυση του αλατιού στη μάζα του τυριού και η αποβολή της υγρασίας είναι σχετικά ανομοιόμορφη. Λαμβάνοντας αυτό υπόψη και επιπλέον ότι η διαφοροποίηση των συνθηκών ωρίμασης έγινε από τις 9 ημέρες και έπειτα, το ίδιο πρότυπο στατιστικής ανάλυσης εφαρμόστηκε στα αποτελέσματα από τις 28 έως τις 120 ημέρες, δηλαδή εξαιρέθηκαν οι τιμές των 9 ημερών.

Τα αποτελέσματα αυτής της ανάλυσης παρουσιάζονται στους Πίνακες 5.2.2 και 5.2.3 αντίστοιχα. Στον σχολιασμό των αποτελεσμάτων που ακολουθεί λαμβάνονται στην ουσία υπόψη μόνο οι μεταβλητές στις οποίες επέδρασαν στατιστικά σημαντικά κάποιοι από τους παράγοντες του πειράματος.

Πίνακας 5.2.1. Μεταβολές της σύστασης κατά τη διάρκεια της ωρίμασης ημίσκληρων τυριών από μίγμα αίγειου γάλακτος με άπαχο αγελαδινό επεξεργασμένο σε 72°C για 10 min. Οι τιμές είναι ο μέσος όρος (μ.ο.) τριών πειραμάτων ± τυπική απόκλιση (τ.α.). Aa: μειωμένο αλάτι + υψηλή θερμοκρασία ωρίμασης, Ab: μειωμένο αλάτι + χαμηλή θερμοκρασία ωρίμασης, Ba: κανονικό αλάτι + υψηλή θερμοκρασία ωρίμασης, Bb: κανονικό αλάτι και θερμοκρασία ωρίμασης.

Τυρί/ ηλικία		pH	α_w	Λίπος %	Πρωτεΐνη %	Υγρασία %	Αλάτι %	TS ¹ %	S/M ² %	FDM ³ %	MNFS ⁴ %	P/F ⁵
9 ημέρες												
A9	μ.ο.	5.01	0.977	19.79	25.31	50.22	1.32	50.04	2.57	39.50	62.62	1.29
	τ.α.	0.05	0.01	1.83	0.16	1.24	0.28	1.69	0.60	2.29	0.17	0.11
B9	μ.ο.	5.00	0.981	20.58	26.14	48.05	1.71	51.95	3.45	39.58	60.50	1.27
	τ.α.	0.04	0.00	1.52	0.65	0.92	0.17	0.92	0.39	2.24	0.33	0.10
28 ημέρες												
Aa28	μ.ο.	5.11	0.966	20.73	26.76	47.32	1.62	52.68	3.32	39.30	59.68	1.30
	τ.α.	0.08	0.00	1.74	0.18	1.35	0.16	1.35	0.42	2.29	0.47	0.10
Ab28	μ.ο.	5.05	0.970	20.81	26.55	47.15	1.57	52.85	3.22	39.38	59.56	1.28
	τ.α.	0.07	0.00	1.47	0.40	0.40	0.13	0.40	0.28	2.58	0.83	0.11
Ba28	μ.ο.	5.08	0.965	21.85	27.81	44.94	1.89	55.06	4.05	39.67	57.51	1.28
	τ.α.	0.13	0.00	1.71	0.39	0.73	0.28	0.73	0.65	2.57	0.34	0.10
Bb28	μ.ο.	5.05	0.963	21.99	27.58	44.80	2.05	55.20	4.38	39.83	57.44	1.26
	τ.α.	0.13	0.00	1.16	0.63	0.11	0.11	0.11	0.22	2.10	0.86	0.09
54 ημέρες												
Aa54	μ.ο.	5.02	0.966	21.37	27.12	46.49	1.69	53.51	3.51	39.90	59.12	1.27
	τ.α.	0.06	0.00	1.73	0.42	1.00	0.14	1.00	0.34	2.49	0.25	0.11

Τυρί/ ηλικία		pH	α_w	Λίπος %	Πρωτεΐνη %	Υγρασία %	Αλάτι %	TS ¹ %	S/M ² %	FDM ³ %	MNFS ⁴ %	P/F ⁵
Ab54	μ.ο.	5.02	0.970	21.28	27.05	46.59	1.53	53.41	3.18	39.81	59.19	1.28
	τ.α.	0.10	0.01	1.84	0.23	1.10	0.27	1.10	0.59	2.64	0.29	0.12
Ba54	μ.ο.	5.01	0.964	21.89	27.64	45.17	1.95	54.83	4.14	39.91	57.83	1.27
	τ.α.	0.14	0.00	1.49	0.73	0.56	0.20	0.56	0.42	2.42	0.75	0.11
Bb54	μ.ο.	5.06	0.966	21.61	27.79	45.38	1.85	54.62	3.92	39.56	57.90	1.29
	τ.α.	0.08	0.01	1.36	0.74	0.74	0.17	0.74	0.37	2.27	0.98	0.10
120 ημέρες												
Aa120	μ.ο.	4.98	0.968	21.78	27.20	46.04	1.65	53.96	3.47	40.33	58.85	1.25
	τ.α.	0.01	0.01	1.59	0.47	1.06	0.25	1.06	0.59	2.13	0.19	0.11
Ab120	μ.ο.	5.00	0.967	21.80	27.50	45.34	1.74	54.66	3.71	39.83	57.97	1.27
	τ.α.	0.03	0.01	2.07	0.28	1.75	0.23	1.75	0.61	2.52	0.76	0.13
Ba120	μ.ο.	5.01	0.964	22.47	27.88	44.43	1.96	55.57	4.23	40.42	57.31	1.25
	τ.α.	0.03	0.00	1.71	0.49	1.15	0.26	1.15	0.65	2.29	0.49	0.11
Bb120	μ.ο.	5.00	0.965	22.42	27.90	44.35	2.04	55.65	4.40	40.27	57.17	1.25
	τ.α.	0.08	0.00	1.42	0.34	0.58	0.12	0.58	0.25	2.16	0.41	0.10

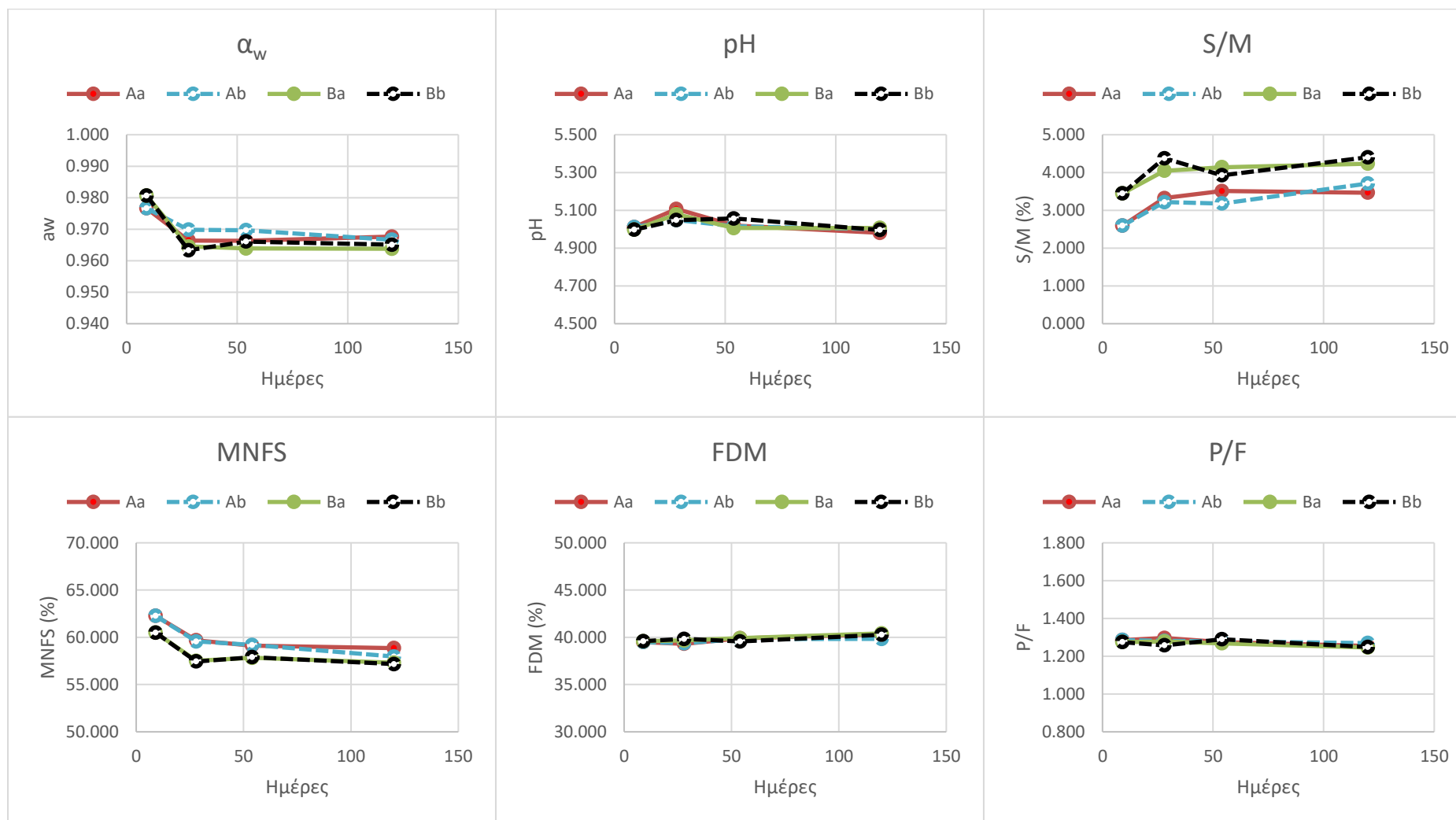
¹ total solids, ολικά στερεά ή ξηρή ουσία

² salt-in-moisture, αλάτι στην υγρή φάση του τυριού = $\text{αλάτι} \times 100 / (\text{αλάτι} + \text{υγρασία})$

³ fat on dry matter, λίπος επί ξηρού = $\text{λίπος} \times 100 / \text{ξηρή ουσία}$

⁴ moisture on non fat substances, υγρασία επί των εκτός λίπους συστατικών = $\text{υγρασία} \times 100 / (100 - \text{λίπος})$

⁵ protein/fat, πρωτεΐνη/λίπος



Εικόνα 5.2.1. Εξέλιξη του pH, της α_w , και των λόγων S/M, MNFS, FDM και P/F κατά την ωρίμαση των ημίσκληρων τυριών (μέσοι όροι τριών τυροκομήσεων). Τα σύμβολα ερμηνεύονται στον Πίνακα 5.2.1.

Πίνακας 5.2.2. Ανάλυση παραλλακτικότητας (P-values) των μεταβλητών σύστασης από τις 9 έως τις 120 ημέρες και από τις 28 έως τις 120 ημέρες των ημίσκληρων τυριών από μίγμα αίγειου γάλακτος με άπαχο αγελαδινό επεξεργασμένο σε 72°C για 10 min.

Μεταβλητές	Παράγοντες			
	9-120 d	Συνθήκες ωρίμασης	Αλάτισμα	Στάδιο ωρίμασης
pH		0.854	0.97	0.119
α_w		0.538	0.375	0
Λίπος %		0.965	0.122	0.049
Πρωτεΐνες %		0.971	0	0
Υγρασία %		0.743	0	0
Αλάτι %		0.978	0	0.003
S/M %		0.936	0	0
FDM %		0.878	0.818	0.884
NFS %		0.965	0.122	0.049
MNFS %		0.393	0	0
P/F		0.978	0.724	0.918
Υγρασία / Πρωτεΐνες		0.829	0	0
Μεταβλητές	Παράγοντες			
28-120 d	Συνθήκες ωρίμασης	Αλάτισμα	Στάδιο ωρίμασης	
pH		0.848	0.907	0.136
α_w		0.33	0.023	0.912
Λίπος %		0.959	0.183	0.49
Πρωτεΐνες %		0.967	0	0.095
Υγρασία %		0.697	0	0.038
Αλάτι %		0.974	0	0.518
S/M %		0.925	0	0.363
FDM %		0.861	0.82	0.787
NFS %		0.959	0.183	0.49
MNFS %		0.381	0	0.012
P/F		0.975	0.758	0.834
Υγρασία / Πρωτεΐνες		0.779	0	0.02

Πίνακας 5.2.3. Έλεγχος των στατιστικά σημαντικών διαφορών των μεταβλητών στους οποίους επέδρασαν οι παράγοντες του πειράματος για τα ημίκληρα τυριά 9-120 ημερών και 28-120 ημερών (Μέθοδος της ελάχιστης σημαντικής διαφοράς, Least significance difference, LSD, $P < 0,05$). Διαφορετικά γράμματα υποδεικνύουν στατιστικά σημαντικές διαφορές. Aa: μειωμένο αλάτι + υψηλή θερμοκρασία ωρίμασης, Ab: μειωμένο αλάτι + χαμηλή θερμοκρασία ωρίμασης, Ba: κανονικό αλάτι + υψηλή θερμοκρασία ωρίμασης, Bb: κανονικό αλάτι και θερμοκρασία ωρίμασης

9-120 d	Πλήθος τιμών	a_w	Λίπος %	Πρωτεΐνες %	Υγρασία %	Αλάτι %	S/M %	NFS %	MNFS %	Υγρασία / Πρωτεΐνη
Γενικός μέσος	48	0.969	21.30	26.98	46.53	1.73	3.60	78.70	59.11	1.73
Συνθήκες ωρ/σης										
a	24	0.969	21.31	26.98	46.58	1.73	3.59	78.69	59.18	1.73
b	24	0.969	21.29	26.98	46.49	1.73	3.60	78.71	59.04	1.73
Αλάτισμα										
A	24	0.970	20.92	26.60 a	47.42 b	1.56 a	3.19 a	79.08	59.95	1.79 b
B	24	0.969	21.68	27.36 b	45.64 a	1.90 b	4.00 b	78.33	58.27	1.67 a
Στάδιο ωρ/σης (ημέρες)										
9	12	0.979 b	20.19 a	25.73 a	49.14 a	1.52 a	3.01 a	79.82 c	61.56 c	1.91 c
28	12	0.966 a	21.35 b	27.18 b	46.05 b	1.78 b	3.74 b	78.66 b	58.55 b	1.70 b
54	12	0.966 a	21.54 b	27.40 c	45.90 b	1.76 b	3.69 b	78.46 b	58.51 b	1.68 b
120	12	0.966 a	22.12 c	27.62 d	45.04 c	1.85 b	3.95 b	77.88 a	57.83 a	1.63 a
28-120 d	Πλήθος τιμών	a_w	Πρωτεΐνες %	Υγρασία %	Αλάτι %	S/M %	MNFS %	Υγρασία / Πρωτεΐνη		
Γενικός μέσος	36	0.966	27.40	45.67	1.80	3.79	58.29	1.67		
Συνθήκες ωρίμασης										
a	18	0.965	27.40	45.73	1.79	3.79	58.38	1.67		
b	18	0.968	27.39	45.60	1.80	3.80	58.20	1.67		
Αλάτισμα										
A	18	0.968 b	27.03 a	46.49 b	1.63 a	3.40 a	59.06 b	1.72 b		
B	18	0.964 a	27.77 b	44.85 a	1.96 b	4.19 b	57.53 a	1.61 a		
Στάδιο ωρίμασης (ημέρες)										
28	12	0.966	27.18	46.05 b	1.78	3.74	58.55 b	1.70 b		
54	12	0.966	27.40	45.91 b	1.76	3.69	58.51 b	1.68 b		
120	12	0.966	27.62	45.04 a	1.84	3.95	57.83 a	1.63 a		

Τα χαρακτηριστικά της σύστασης των τυριών τα οποία επηρεάζουν πρωταρχικά την ποιότητα τους συνοψίζονται στα παρακάτω (Fox *et al.* 2000, Fox & McSweeney, 2004):

- pH
- S/M
- MNFS
- FDM

Τα πειραματικά τυριά εμφανίζουν παρόμοια τάση ως προς την εξέλιξη του pH τους. Οι περιπτώσεις Aa, Ab και Ba εμφανίζουν τη μέγιστη τιμή τους στο ήμισυ της ωρίμασης (28^η μέρα) με μετέπειτα πτωτική τάση, ενώ στην περίπτωση Bb (κανονικό αλάτι, χαμηλή θερμοκρασία ωρίμασης) η αύξηση συνεχίζεται μέχρι και το τέλος της ωρίμασης, και μειώνεται στη συνέχεια. Στο τελικό σημείο της 120^{ης} ημέρας τα pH των τεσσάρων περιπτώσεων εξισορροπούνται κοντά στην τιμή του αρχικού σημείου (pH 5.00), όμως οι διαφορές που απεικονίζονται στα διαγράμματα δεν ήταν ουσιαστικές, αφού η στατιστική ανάλυση δεν έδειξε σημαντική διαφορά στη μεταβολή του pH των τυριών (Πίνακας 5.2.2.).

Ο ρυθμός και η έκταση της οξίνισης έχει σημαντικό αντίκτυπο στην υφή του τυριού μέσω της αφαλάτωσης (demineralization) των καζεϊνικών μικκυλίων, καθώς και στην πρωτεόλυση μέσω της αυξημένης ευαισθησίας των αφαλατωμένων καζεϊνικών μικκυλίων στην πρωτεόλυση ή/και στην αυξημένη κατακράτηση της χυμοσίνης τις πρώτες κυρίως ώρες/ημέρες. Η εξέλιξη του pH είναι σημαντική για την επιτυχία του τυριού, αφού ο άμεσος και πλήρης μεταβολισμός της λακτόζης είναι απαραίτητος για την παραγωγή τυριού αποδεκτής ποιότητας. Υπολειμματική λακτόζη στο τυρί μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη ανεπιθύμητης μικροβιακής χλωρίδας (McSweeney & Fox, 2004).

Το γαλακτικό οξύ που προκύπτει δρα ως υπόστρωμα για σειρά αντιδράσεων (McSweeney & Fox, 2004):

- Το L-γαλακτικό οξύ ρακεμοποιείται προς D-γαλακτικό οξύ από τη μη εναρκτήρια μικροχλωρίδα. Ο σχηματισμός DL-γαλακτικού οξέος δεν είναι σημαντικός από πλευράς γεύσης, οδηγεί όμως στο σχηματισμό κρυστάλλων Ca-γαλακτικού οξέος, τα οποία αν και δεν απειλούν την υγεία του καταναλωτή, θεωρούνται ανεπιθύμητα από πλευράς ποιότητας.
- Με την παρουσία O₂, κάποια στελέχη της μη εναρκτήριας μικροχλωρίδας, ιδιαιτέρως πεδιόκοκκοι, μπορούν να οξειδώσουν το γαλακτικό οξύ προς οξικό και μυρμηκικό. Το οξικό οξύ είναι παρόν σε μεγάλες ποσότητες σε σχεδόν όλους τους τύπους τυριού, και θεωρείται πως συμμετέχει στη διαμόρφωση της γεύσης και του αρώματος.

- Το γαλακτικό οξύ μπορεί να μεταβολιστεί αναερόβια από τον *Clostridium tyrobutyricum* και να οδηγήσει σε όψιμο φούσκωμα του τυριού, ιδιαίτερα σε τυριά που αλατίζονται σε άλμη, αφού το αλάτι αργεί να φτάσει στο εσωτερικό του τυριού.
- Ο μικροοργανισμός *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* καταβολίζει το γαλακτικό οξύ, δημιουργώντας χαρακτηριστικές οπές και ιδιαίτερη γεύση στα τυριά Ελβετικού τύπου.
- Το γαλακτικό οξύ καταβολίζεται σε CO₂ και H₂O από τον *Penicillium camemberti* σε τυριά όπως τα Camembert και Brie, συμβάλλοντας στην χαρακτηριστική τους υφή.

Η a_w για το διάστημα 9-120 ημερών έδειξε σημαντική στατιστική διαφοροποίηση ($P < 0,05$) μόνο ως προς τον παράγοντα του σταδίου ωρίμασης. Συγκεκριμένα, μετά την ηλικία των 9 ημερών μειώθηκε και παρέμεινε σταθερή μέχρι τέλους. Τα τυριά της ομάδας Α έχουν ως αφετηρία χαμηλότερη τιμή a_w , παρά το γεγονός ότι έχουν χαμηλότερη αλατοπεριεκτικότητα. Η διαφορά αυτή ενδέχεται να οφείλεται στη μη επίτευξη ισορροπίας S/M σε ολόκληρη τη μάζα του τυριού, με αποτέλεσμα το δείγμα που λήφθηκε για τη μέτρηση να προερχόταν από ένα τέτοιο σημείο. Εξαιρώντας τις 9 ημέρες, στις οποίες είναι αναμενόμενο ότι δεν έχει συμβεί εξισορρόπηση στη μάζα των τυριών και λαμβάνοντας υπόψη μόνο τις ηλικίες 28-120 ημερών, στατιστικά σημαντική διαφοροποίηση ($P < 0,05$) ανιχνεύθηκε μόνο εξαιτίας του αλατίσματος, όπου μεταξύ των ομάδων Α και Β η τιμή της δεύτερης ομάδας ήταν σημαντικά χαμηλότερη, γεγονός που ήταν αναμενόμενο.

Η ενεργότητα νερού (a_w) εξαρτάται από την περιεχόμενη υγρασία και τη συγκέντρωση διαλυμένων ουσιών χαμηλής μοριακής μάζας. Η a_w στα νεαρά τυριά καθορίζεται σχεδόν εξ' ολοκλήρου από το περιεχόμενο αλάτι στην υδατική του φάση, σύμφωνα με τον τύπο:

$$a_w = 1 - 0.00565 [\text{NaCl}]$$

όπου [NaCl] είναι η συγκέντρωση επί τοις εκατό του χλωριούχου νατρίου στην υδατική φάση του τυριού (S/M). Σε ώριμα τυριά, συστατικά όπως το γαλακτικό και άλλα οξέα, αμινοξέα, πολύ μικρά πεπτίδια και φωσφορικό ασβέστιο παίζουν ρόλο στην μείωση της a_w . Στα τυριά η a_w δεν είναι αρκετά χαμηλή έτσι ώστε να αποτρέψει την ανάπτυξη ζυμών και μυκήτων, αλλά σε συνδυασμό με το χαμηλό pH είναι σε θέση να κρατήσει υπό έλεγχο τη μικροβιακή ανάπτυξη (Fox *et al.* 2000, Guinee & Fox, 2004). Με βάση τα προαναφερθέντα, η πρωτεόλυση ως μέσο παραγωγής ουσιών όπως νέων καρβοξυλικών οξέων και αμινομάδων, οι οποίες απελευθερώνονται μέσω της υδρόλυσης των πεπτιδικών δεσμών ιονίζονται στο χαμηλό pH του τυριού και δεσμεύουν νερό, το αλάτι και η απώλεια υγρασίας αποτελούν τους παράγοντες μείωσης της a_w στο τυρί (Upadhyay *et al.* 2004).

Το γάλα που τυροκομήθηκε είχε υποστεί μερική αποκορύφωση με σκοπό την παρασκευή τυριών μειωμένης λιποπεριεκτικότητας. Ο λόγος FDM (λίπος επί ξηρού) διαμορφώνεται από τη σύσταση του τυροκομούμενου γάλακτος (Fox & McSweeney, 2004). Από τον Πίνακα 5.2.2 είναι προφανές ότι οι επεμβάσεις του πειράματος δεν επέδρασαν σε αυτό το χαρακτηριστικό (FDM) των τυριών.

Το λίπος χαρακτηρίζεται από στατιστικά σημαντική διαφορά κατά την ανάλυση των τυριών 9-120 ημερών, που προκαλεί το στάδιο ωρίμασης. Η τιμή του λίπους αυξάνεται κατά την πάροδο του χρόνου, με πορεία αντίθετη από εκείνη της υγρασίας, και η οποία οφείλεται προφανώς στη χαμηλή τιμή των τυριών 9 ημερών. Το αίγιο γάλα εμφανίζει μόνο το 4% της λιπολυτικής δραστηριότητας σε σχέση με το αγελαδινό. Επίσης, λιγότερο από το 10% της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης (LPL) συνδέεται με τα καζεϊνικά μικκύλια, εν αντιθέσει με το αγελαδινό όπου η σύνδεση φτάνει το 80%. Λιγότερο από το 10 % της LPL βρίσκεται στη λιπαρή φάση του αγελαδινού γάλακτος, ενώ στο αίγιο το ποσοστό φτάνει το 45%. Η διαφορά στην κατανομή της LPL μπορεί να εξηγήσει την αυξημένη ευαισθησία του αίγιου γάλακτος στην αυθόρμητη λιπόλυση και το χαρακτηριστικό άρωμα που εμφανίζει εξ' αιτίας των λιπαρών οξέων 4-μεθυλο- και 4-αιθυλο-οκτανοϊκά οξέα (O'Mahony *et al.* 2013). Η θερμική επεξεργασία στην οποία υποβλήθηκε το γάλα των πειραμάτων της παρούσας μελέτης υποδεικνύει πως η LPL έχει απενεργοποιηθεί πλήρως στο τυρί, καθώς για την αδρανοποίηση απαιτείται θερμική επεξεργασία στους 73°C για 30 s (Καμινारीδης & Μοάτσου, 2009). Οι παράγοντες οι οποίοι μπορούν να επηρεάσουν τις τιμές του FDM είναι ο βαθμός λιπόλυσης και ο βαθμός πρωτεόλυσης. Καθώς ο λόγος FDM είναι μια έκφραση που εμμέσως εκφράζει το λόγο του λίπους προς την πρωτεΐνη (Fox & Cogan, 2004), οι μεταβολές του λόγου P/F είναι κατ' ουσίαν ο αντικατοπτρισμός εκείνων του λόγου FDM, όπως φαίνεται στην Εικόνα 5.2.1. Ο λόγος P/F έχει άμεσο αντίκτυπο στην υφή του τυριού, καθώς όσο υψηλότερος είναι σε ένα τυρί, τόσο πιο σκληρό και λαστιχωτό γίνεται αυτό (Fox *et al.* 2000).

Το ποσοστό των πρωτεϊνών εμφανίζει σημαντικά στατιστική διαφορά ($P<0,05$) ως προς το στάδιο ωρίμασης (τυριά 9-120 ημερών) αλλά και το αλάτισμα (τυριά 9-120 ημερών και 28-120 ημερών). Οι μεταβολές του ποσοστού των πρωτεϊνών μπορούν να αποδοθούν στην απώλεια υγρασίας με την πάροδο των ημερών, που προκαλεί συμπίκνωση των στερεών συστατικών. Το ίδιο φαινόμενο είναι υπεύθυνο για τη μεγαλύτερη ($P<0,05$) πρωτεϊνοπεριεκτικότητα των τυριών Β τα οποία είχαν χαμηλότερη ($P<0,05$) υγρασία.

Ο λόγος S/M διαμορφώνεται εξ' ορισμού από την αλατοπεριεκτικότητα και την υγρασία κάθε τυριού. Η πρόσληψη αλατιού από την άλμη έγινε την 1^η ημέρα και τερματίστηκε με την έξοδο των τυριών από την άλμη. Επομένως οι μεταβολές του λόγου S/M που καταγράφηκαν οφείλονται αποκλειστικά στις απώλειες υγρασίας των τυριών. Σε μεγάλο βαθμό, η μέγιστη τιμή του λόγου έχει επιτευχθεί ήδη από το ήμισυ της ωρίμασης (28^η ημέρα).

Ο Guinee (2004) απαριθμεί τους διαφορετικούς παράγοντες οι οποίοι έχουν αντίκτυπο στο ρυθμό διάχυσης του αλατιού μέσα στην υγρασία του τυριού. Μέσα σε αυτούς αναφέρεται η θερμοκρασία ωρίμασης/αλάτισμα, καθώς η θερμοκρασία επιδρά θετικά στην αύξηση του συντελεστή διάχυσης (D^*). Με βάση την παρατήρηση της εξέλιξης του λόγου S/M για τις τέσσερις ομάδες τυριών, μπορεί να παρατηρηθεί ότι τα τυριά της αυξημένης θερμοκρασίας ωρίμασης έφτασαν πιο γρήγορα στην πλήρη εξισορρόπηση του λόγου S/M σε όλη τη μάζα (28^η ημέρα), ενώ στα τυριά της υπο-ομάδας b ο λόγος συνέχισε να αυξάνεται σταθερά μέχρι και τη δειγματοληψία των 120 ημερών, ξεπερνώντας σε απόλυτες τιμές τους λόγους των τυριών της υπο-ομάδας a.

Ο λόγος της αλατοπεριεκτικότητας προς την υγρασία (S/M) έχει αντίκτυπο στα παράγωγα του μεταβολισμού της λακτόζης. Σε τυριά με χαμηλό λόγο S/M και χαμηλό πληθυσμό μη εναρκτήριων οξυγαλακτικών βακτηρίων η υπολειμματική λακτόζη μετατρέπεται κυρίως σε L-γαλακτικό οξύ από την εναρκτήρια καλλιέργεια, ενώ σε περιπτώσεις που εφαρμόζεται υψηλή θερμοκρασία ωρίμασης και τα μη εναρκτήρια οξυγαλακτικά βακτήρια είναι αυξημένα, παράγεται μεγαλύτερη ποσότητα D-γαλακτικού οξέος μέσω της ζύμωσης της υπολειμματικής λακτόζης αλλά και της ισομερίωσης του L-γαλακτικού οξέος (McSweeney & Fox, 2004).

Ο λόγος S/M εμφανίζει ανάλογη σχέση με τη λιποπεριεκτικότητα και την πρωτεϊνοπεριεκτικότητα, και αντιστρόφως ανάλογη με την περιεχόμενη υγρασία. Αυτές οι σχέσεις έχουν τη βάση τους στην απώλεια υγρασίας με την αύξηση της αλατοπεριεκτικότητας (Fox *et al.* 2000). Κατά τη στατιστική ανάλυση προέκυψαν σημαντικές διαφορές ($P < 0,05$) ως προς το στάδιο ωρίμασης (τυριά 9-120 ημερών) αλλά και ως προς το αλάτισμα (τυριά 9-120 ημερών και 28-120 ημερών) για το ποσοστό αλατιού και το λόγο S/M. Η αναμενόμενη αύξηση που παρατηρείται κατά την πάροδο των ημερών οφείλεται στην απώλεια υγρασίας, ενώ ως προς τις ομάδες αλατίσματος, η ομάδα B που έμεινε περισσότερο στην άλμη εμφανίζει την υψηλότερη τιμή.

Οι παράμετροι MNFS, a_w και υγρασίας εμφανίζουν παρόμοιες αυξομειώσεις. (Εικόνα 5.2.1, Πίνακας 5.2.3). Ο λόγος MNFS ουσιαστικά αναφέρεται στο λόγο της υγρασίας ως προς την πρωτεΐνη (Fox *et al.* 2000, Fox & Cogan, 2004) και επηρεάζεται από το βαθμό συναίρεσης (Fox & McSweeney, 2004).

Το ποσοστό της υγρασίας διαφοροποιείται στατιστικά σημαντικά ως προς το αλάτισμα και το στάδιο ωρίμασης (τυριά 9-120 ημερών και 28-120 ημερών). Οι τιμές μειώνονται με την πρόοδο της ωρίμασης με σημεία καμπής τις 28 και 120 ημέρες ($P < 0,05$). Η ίδια τάση παρατηρήθηκε και για τον λόγο Υγρασία/Πρωτεΐνη. Επίσης, η υγρασία ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερη ($P < 0,05$) στα τυριά A με μειωμένο αλάτι. Ο λόγος MNFS εμφανίζει

στατιστικά σημαντικές διαφορές ως προς το στάδιο ωρίμασης (τυριά 9-120 ημερών και 28-120 ημερών) και ως προς το αλάτισμα (μόνο για τα τυριά 28-120 ημερών) και μειώνεται αντίστοιχα με το ποσοστό της υγρασίας.

Ο έλεγχος του MNFS είναι ιδιαίτερα σημαντικός σε τυριά μειωμένης λιποπεριεκτικότητας για την επίτευξη καλύτερης ποιότητας, καθώς ακόμα και μια μικρή αύξηση του λόγου αυτού οδηγεί στην αύξηση του ελεύθερου νερού, με την επακόλουθη αύξηση της δραστηριότητας των μικροοργανισμών και ενζύμων, καθώς και στην αύξηση του βαθμού πρωτεόλυσης (Guinee & McSweeney, 2006).

Τελικά με την τεχνολογία που εφαρμόστηκε παρήχθησαν τυριά με γενικές μέσες τιμές σύστασης (Πίνακας 5.2.1. και 5.2.3.) για την ηλικία ≥ 28 ημερών:

- Υγρασία = 46,05-45,04%
- Λίπος = 21,35-22,12%
- FDM = 39,6-40,2%
- Πρωτεΐνες = 27,18-27,62%
- Αλάτι = 1,78—1,85%
- S/M = 3,69-3,95%
- a_w = 0,966
- pH = 5,0-5,1

Επομένως σύμφωνα με το άρθρο 83 του Ελληνικού Κώδικα Τροφίμων και Ποτών τα τυριά ήταν ημίσκληρα, χωρίς να μπορούν να χαρακτηρισθούν «μερικώς αποβουτυρωμένα (με FDM = 20-30%). Το αλάτι των τυριών Β ήταν κατά 25% υψηλότερο από αυτό των Α και ήταν τυπικό για τα τυριά Ολλανδικού τύπου. Σύμφωνα με τους Guinee & Fox (2004), η κατηγορία αυτή περιέχει 2% αλάτι και 4,7-4,9% S/M. Επομένως, σύμφωνα με τους επιτρεπόμενους διατροφικούς χαρακτηρισμούς (Κανονισμός ΕΚ 1924/2006) μπορούν να χαρακτηρισθούν ως «μειωμένου νατρίου». Η a_w (0,95-0,97) και το pH (5,0-5,1) ήταν εντός των ορίων που αναφέρονται (Hardy, 1986, Walstra *et al.*, 2006).

Ανακεφαλαιώνοντας την στατιστική σημαντική επίδραση των πειραματικών επεμβάσεων στη σύσταση των τυριών προέκυψαν τα παρακάτω:

Τα τυριά με μειωμένο αλάτι (S/M = 3,4%) είχαν υψηλότερη υγρασία, a_w και MNFS σε σχέση με τα αντίστοιχα τους με S/M ~ 4.2%. Δηλαδή, η μείωση του αλατιού στην υγρή φάση κατά ~ 25% επέφερε ~ 3,5% αύξηση της υγρασίας ή ~ 1,6% αύξηση όταν αυτή υπολογίζεται επί του βάρους του τυριού. Οι αντίστοιχες αυξήσεις στο MNFS ήταν ~ 2,5% και ~ 1,5% επί του βάρους του τυριού.

Οι συνθήκες ωρίμασης δεν είχαν στατιστικά σημαντική επίδραση στη σύσταση. Η διάρκεια ωρίμασης επέδρασε στις διάφορες εκφράσεις της υγρασίας μετά από τους 2 μήνες.

5.3. ΠΡΩΤΕΟΛΥΣΗ

Η πρωτεόλυση είναι ίσως η πιο σημαντική από τις τρεις κύριες βιοχημικές διεργασίες που λαμβάνουν χώρα κατά την ωρίμαση των τυριών. Η πρωτεόλυση συνεισφέρει στην ανάπτυξη της χαρακτηριστικής υφής/δομής των τυριών, μέσω (Upadhyay *et al.* 2004):

- της υδρόλυσης του καζεϊνικού δικτύου,
- της μείωσης της a_w διαμέσου αλλαγών στη δέσμευση του νερού από τις νέες ομάδες καρβοξυλικών οξέων και αμινομάδων, οι οποίες απελευθερώνονται κατά την υδρόλυση των πεπτιδικών δεσμών,
- έμμεσα μέσω της αύξησης του pH, η οποία προκαλείται από την απελευθέρωση αμμωνίας από τις αμινομάδες οι οποίες παράγονται από την πρωτεόλυση.

Επίσης, η πρωτεόλυση συμμετέχει στην ανάπτυξη της γεύσης/αρώματος των τυριών μέσω (Upadhyay *et al.* 2004):

- της παραγωγής αμινοξέων και πεπτιδίων μικρού μοριακού βάρους, κάποια από τα οποία έχουν γεύση – άρωμα,
- της απελευθέρωσης αμινοξέων τα οποία δρουν ως υπόστρωμα για μια σειρά αντιδράσεων καταβολισμού, και από τις οποίες δημιουργούνται σημαντικές πτητικές αρωματικές ουσίες,
- της διευκόλυνσης της απελευθέρωσης εύγευστων ουσιών από το πρωτεϊνικό δίκτυο κατά τη μάσηση.

Η πρωτεόλυση κατά την ωρίμαση καταλύεται από πρωτεϊνάσες και πεπτιδάσες οι οποίες μπορεί να προέρχονται από τις παρακάτω πηγές (Upadhyay *et al.* 2004):

- Τα ένζυμα πήξης του γάλακτος, τα οποία μπορεί να είναι η πυτιά ή υποκατάστατά της. Η υπολειμματική ενζυμική δραστηριότητα αυτών των ενζύμων είναι ο κύριος πρωτεολυτικός παράγοντας στα περισσότερα τυριά, πλην εκείνων που υπόκεινται σε υψηλή θερμοκρασία αναθέρμανσης.
- Το γάλα, το οποίο περιέχει ένζυμα τα οποία εμφανίζουν πρωτεολυτική δράση, με κυριότερη την πλασμίνη. Η πλασμίνη είναι ο κύριος πρωτεολυτικός παράγοντας σε τυριά που έχουν παραχθεί μέσω της τεχνολογίας pasta-filata και τυριά στα οποία το pH αυξάνεται κατά τη ωρίμαση. Πηγή πρωτεολυτικών ενζύμων μπορεί να είναι και τα σωματικά κύτταρα, τα οποία περιέχουν λυσοσώματα που με τη σειρά τους περιέχουν πρωτεϊνάσες.
- Την εναρκτήρια καλλιέργεια, μέσω της πρωτεϊνάσης PrtP, (λακτοσεπίνη – lactocerin). Το ένζυμο αυτό συμβάλλει στην ωρίμαση μέσω της υδρόλυσης πεπτιδίων μικρού και μεσαίου μεγέθους, τα οποία έχουν προέλθει από τις καζεΐνες από τη δράση της χυμοσίνης ή της πλασμίνης. Με τον τρόπο αυτό, η

εναρκτήρια καλλιέργεια είναι η κύρια πηγή πεπτιδασών στο τυρί, οι οποίες είναι υπεύθυνες για την υδρόλυση μικρών πεπτιδίων και την απελευθέρωση αμινοξέων.

- Τη μη εναρκτήρια καλλιέργεια, η οποία λειτουργεί παρόμοια με την εναρκτήρια καλλιέργεια.
- Τη δευτερεύουσα εναρκτήρια καλλιέργεια, η οποία αφορά συγκεκριμένους τύπους τυριών (π.χ. Ελβετικά τυριά, Roquefort, Camembert κ.α.), και σε πολλές περιπτώσεις απελευθερώνει πρωτεΐνες και πεπτιδάσες.
- Εξωγενείς προσθήκες πεπτιδασών–πρωτεΐναιών, οι οποίες έχουν περιορισμένη εφαρμογή σε περιπτώσεις όπου αποζητάται η επιταχυμένη ωρίμαση.

Η πορεία της πρωτεόλυσης μπορεί να συνοψιστεί στα παρακάτω στάδια (Upadhyay *et al.* 2004): I. Οι καζεΐνες υδρολύονται από την ενζυμική δραστηριότητα του αρχικού ενζύμου πήξης σε συνδυασμό με την πλασμίνη και ενδεχομένως με άλλα ένζυμα, II. Τα παραγόμενα μεγάλα–μεσαία πεπτίδια υδρολύονται περαιτέρω από πρωτεΐνες και πεπτιδάσες προερχόμενες από την εναρκτήρια και μη μικροχλωρίδα (ενδεχομένως και τη δευτερεύουσα, αν αυτή χρησιμοποιηθεί) σε μικρότερα πεπτίδια και αμινοξέα.

Η πρωτεόλυση διαφέρει ως προς την πορεία και την έκτασή της ανάλογα με την τεχνολογία παραγωγής του τυριού. Διαφοροποιήσεις στην παραγωγική διαδικασία προκαλούν διαφορές σε παραμέτρους όπως η υγρασία, το υπολειμματικό ένζυμο πήξης, η ενεργοποίηση του πλασμινογόνου και πιθανόν η παρουσία ισχυρά πρωτεολυτικής δευτερεύουσας μικροχλωρίδας και ο χρόνος ωρίμασης. Η έκταση της πρωτεόλυσης εκφράζεται από το υδατοδιαλυτό άζωτο, ενώ το βάθος της από τις συγκεντρώσεις διαφορετικών πεπτιδίων και αμινοξέων. Οι διαφορές σε υδατοδιαλυτό άζωτο προκαλούνται από τις διαφορές σε υγρασία, θερμοκρασία, pH, χρόνο ωρίμασης, θερμοκρασία αναθέρμανσης και του pH κατά τη στράγγιση, ενώ οφείλονται κυρίως στη δράση της χυμοσίνης και λιγότερο σε εκείνη της πλασμίνης (Upadhyay *et al.* 2004).

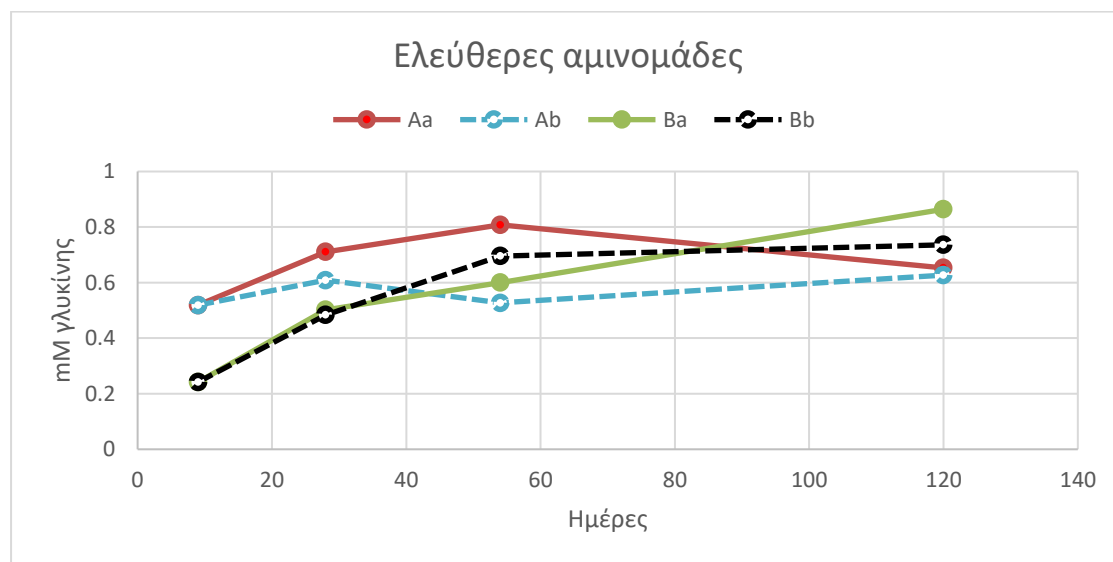
Ο καταβολισμός των ελεύθερων αμινοξέων που παράγονται κατά την πρωτεόλυση είναι σημαντικός για όλα τα τυριά. Περιλαμβάνει την αποκαρβοξυλίωση, την απαμίνωση, την τρανσαμίνωση, την αποθειώση και την υδρόλυση των πλευρικών αλυσίδων αμινοξέων που οδηγούν στην παραγωγή μιας ευρείας σειράς ενώσεων, συμπεριλαμβανομένων καρβοξυλικών οξέων, αμινών, αμμωνίας, διοξειδίου του άνθρακα, αλδευδών, αλκοολών, θειολών και άλλων θειούχων ενώσεων, φαινολών και υδρογονανθράκων (Fox *et al.* 2000, Curtin & McSweeney, 2004).

5.3.1. Εξέλιξη της συγκέντρωσης ελευθέρων αμινομάδων

Τα αποτελέσματα της φωτομετρικής μεθόδου (παράγραφος 4.3.3.1) που εφαρμόστηκε για την ποσοτική αξιολόγηση της πρωτεόλυσης παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.3.1 και στην Εικόνα 5.3.1. Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έγινε με τον τρόπο που περιγράφεται στην παράγραφο 5.2 και παρουσιάζεται στους Πίνακες 5.3.2 και 5.3.3.

Πίνακας 5.3.1. Συγκέντρωση ελεύθερων αμινομάδων με τη μέθοδο TNBS των ημίσκληρων τυριών από μίγμα αίγειου γάλακτος με άπαχο αγελαδινό επεξεργασμένο σε 72°C για 10 min. Οι τιμές είναι ο μέσος όρος τριών πειραμάτων \pm τυπική απόκλιση.

Τυρί/ Ηλικία		mM γλυκίνης	Τυρί/ Ηλικία		mM γλυκίνης
A9	<i>μ.ο.</i>	0.519	Ab54	<i>μ.ο.</i>	0.527
	<i>τ.α.</i>	0.047		<i>τ.α.</i>	0.069
B9	<i>μ.ο.</i>	0.242	Ba54	<i>μ.ο.</i>	0.601
	<i>τ.α.</i>	0.046		<i>τ.α.</i>	0.097
Aa28	<i>μ.ο.</i>	0.711	Bb54	<i>μ.ο.</i>	0.696
	<i>τ.α.</i>	0.260		<i>τ.α.</i>	0.120
Ab28	<i>μ.ο.</i>	0.609	Aa120	<i>μ.ο.</i>	0.654
	<i>τ.α.</i>	0.163		<i>τ.α.</i>	0.112
Ba28	<i>μ.ο.</i>	0.501	Ab120	<i>μ.ο.</i>	0.627
	<i>τ.α.</i>	0.172		<i>τ.α.</i>	0.011
Bb28	<i>μ.ο.</i>	0.484	Ba120	<i>μ.ο.</i>	0.864
	<i>τ.α.</i>	0.201		<i>τ.α.</i>	0.129
Aa54	<i>μ.ο.</i>	0.808	Bb120	<i>μ.ο.</i>	0.842
	<i>τ.α.</i>	0.227		<i>τ.α.</i>	0.099



Εικόνα 5.3.1. Εξέλιξη πρωτεόλυσης – μεταβολής της συγκέντρωσης ελεύθερων αμινομάδων (mM Gly) με τη μέθοδο TNBS ημίσκληρων τυριών από μίγμα αίγειου γάλακτος με άπαχο αγελαδινό επεξεργασμένο σε 72°C για 10 min. Aa: μειωμένο αλάτι + υψηλή θερμοκρασία ωρίμασης, Ab: μειωμένο αλάτι + χαμηλή θερμοκρασία ωρίμασης, Ba: κανονικό αλάτι + υψηλή θερμοκρασία ωρίμασης, Bb: κανονικό αλάτι και θερμοκρασία ωρίμασης

Πίνακας 5.3.2. Ανάλυση παραλλακτικότητας (P-values) της συγκέντρωσης ελεύθερων αμινομάδων (mM Gly) των ημίσκληρων τυριών από μίγμα αίγειου γάλακτος με άπαχο αγελαδινό επεξεργασμένο σε 72°C για 10 min.

Μεταβλητές	Παράγοντες		
	Συνθήκες ωρίμασης	Αλάτισμα	Στάδιο ωρίμασης
mMGly (9-120 d)	0.267	0.117	0
mMGly (28-120 d)	0.263	0.866	0.04

Πίνακας 5.3.3. Έλεγχος των στατιστικά σημαντικών διαφορών των μέσων της συγκέντρωσης ελεύθερων αμινομάδων (mM Gly) (Μέθοδος της ελάχιστης σημαντικής διαφοράς, LSD, P<0,05). Διαφορετικά γράμματα υποδεικνύουν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

	Πλήθος τιμών	mM γλυκίνης (9-120 d)	Πλήθος τιμών	mM γλυκίνης (28-120 d)
Γενικός μέσος	48	0.59	48	0.660
Συνθήκες ωρ/σης				
a	24	0.61	24	0.690
b	24	0.57	24	0.631
Αλάτισμα				
A	24	0.62	24	0.656
B	24	0.56	24	0.665
Στάδιο ωρ/σης (ημέρες)				
9	12	0.38 a	12	-
28	12	0.58 b	12	0.576 a
54	12	0.66 b	12	0.658 a,b
120	12	0.75 c	12	0.747 b

Όπως φαίνεται στην Εικόνα 5.3.1, οι ελεύθερες αμινομάδες αυξάνονται πολύ έντονα κατά τις πρώτες τέσσερις εβδομάδες ωρίμασης, με εξαίρεση την περίπτωση του τυριού με μειωμένο αλάτι και χαμηλή θερμοκρασία ωρίμασης (Ab). Η αύξηση των ελεύθερων αμινομάδων υποδηλώνει την αύξηση του βαθμού πρωτεόλυσης στα πειραματικά τυριά. Η υπο-ομάδα Aa περιείχε τις περισσότερες ελεύθερες αμινομάδες κατά τη διάρκεια της ωρίμασης, όμως σημαντική πτώση τους παρατηρήθηκε στο διάστημα της αποθήκευσης υπό ψύξη (54^η – 120^η ημέρα). Η πτώση αυτή μπορεί να οφείλεται στον περαιτέρω καταβολισμό μικρών πεπτιδίων και αμινοξέων, ο οποίος πιθανόν ευνοείται στη χαμηλότερη αλατοπεριεκτικότητα των τυριών αυτών.

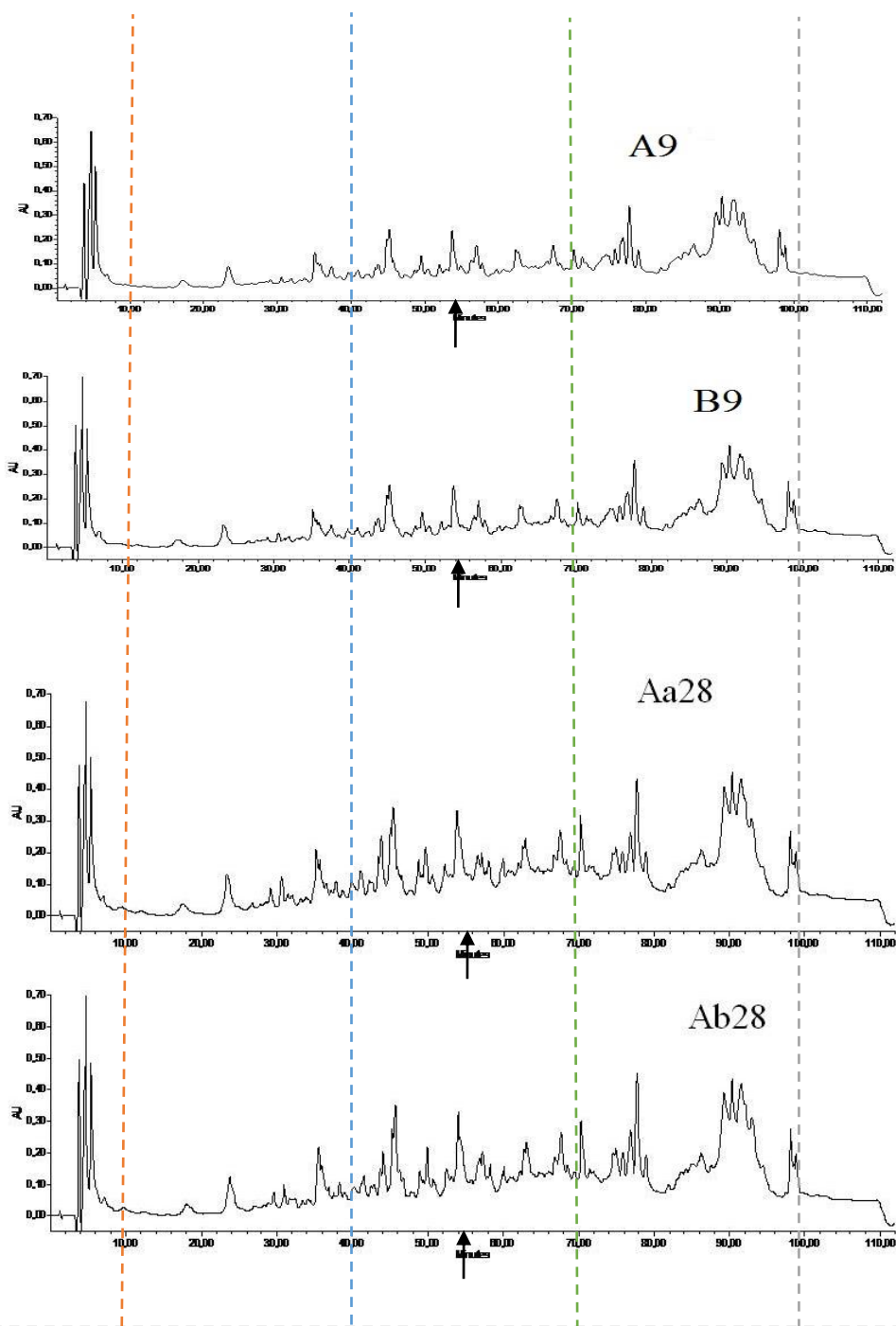
Η στατιστική ανάλυση ανίχνευσε σημαντική επίδραση του σταδίου ωρίμασης για τα τυριά 9-120 ημερών και 28-120 ημερών, υποδηλώνοντας ότι συνέβαινε στατιστικά σημαντική ($P < 0,05$) αύξηση της πρωτεόλυσης και κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης από τους 2 έως τους 4 μήνες. Μεταξύ 4 και 8 εβδομάδων δεν ανιχνεύθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση αυτής της παραμέτρου. Είναι αξιοσημείωτο ότι τελικά τόσο η θερμοκρασία ωρίμασης όσο και η συγκέντρωση αλατιού δεν προκάλεσαν στατιστικά σημαντικές διαφορές (Πίνακες 5.3.2 και 5.3.3).

5.3.2. RP-HPLC

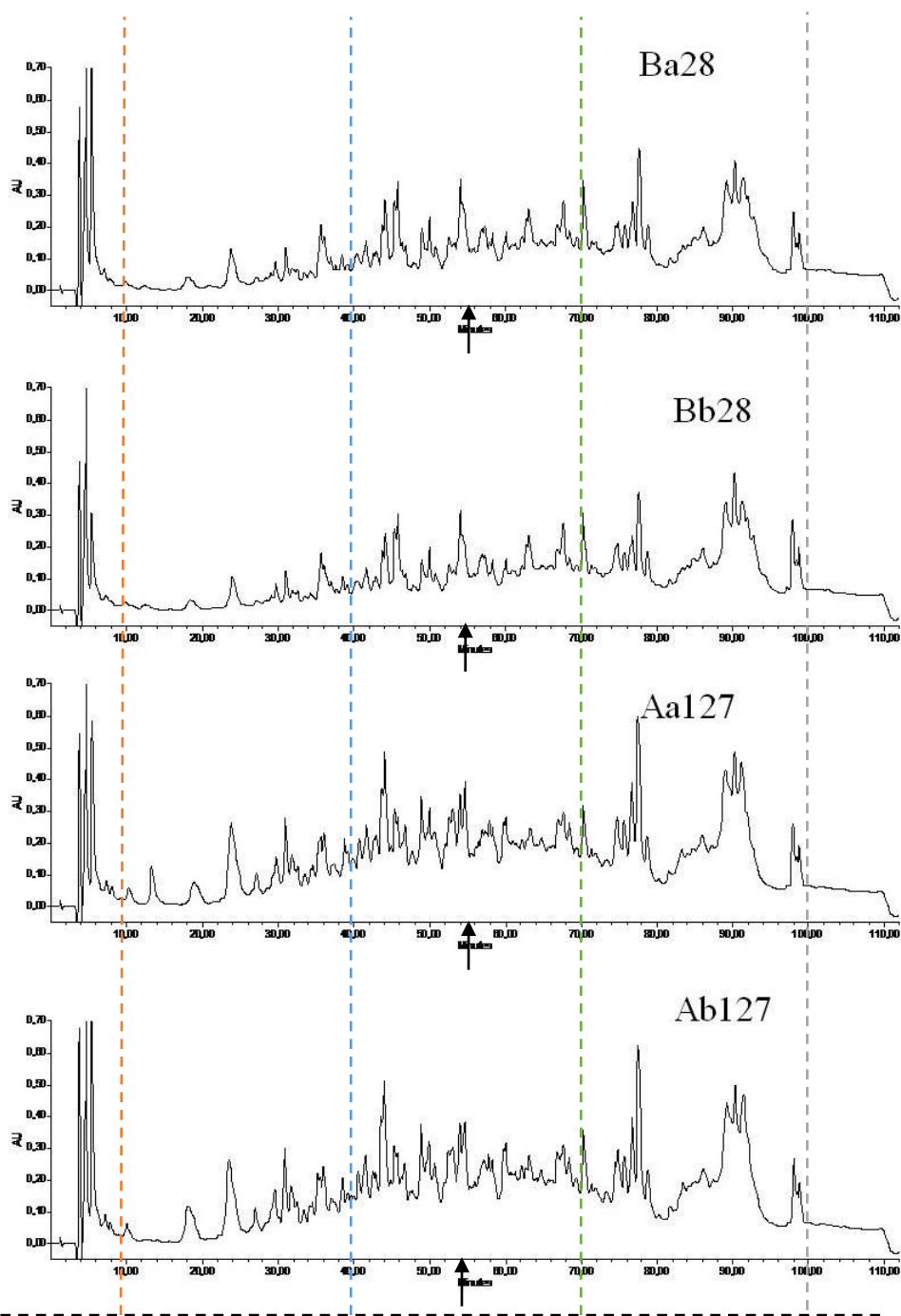
Η διερεύνηση των ποιοτικών χαρακτηριστικών της πρωτεόλυσης βασίσθηκε στις χρωματογραφικές κατατομές πεπτιδίων και άλλων αζωτούχων συστατικών που περιέχονται στο υδατοδιαλυτό εκχύλισμα των τυριών (Εικόνα 5.3.2). Για τον σκοπό αυτό, οι RP-HPLC κατατομές χωρίστηκαν σε επιμέρους περιοχές που συνδέονται με κάποια χαρακτηριστικά και την προέλευση των πεπτιδίων όπως παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.3.4. Έχει αναφερθεί ότι η σχετική επιφάνεια των περιοχών αυτών (επιφάνεια περιοχής $\times 100$ / συνολική επιφάνεια) μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την αξιολόγηση της πρωτεόλυσης διαφορετικών κατηγοριών τυριών (π.χ. Moatsou *et al.* 1999, 2001, Nega & Moatsou, 2012, Maniou *et al.* 2013, Moatsou *et al.* 2015). Τα χαρακτηριστικά τους παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.3.5.

Οι περιοχές 10-55 min και 55-100 min ονομάζονται καταχρηστικά υδρόφιλες (HL) και υδρόφοβες (HB) αντίστοιχα. Η αναλογία τους (HB/HL) έχει προταθεί από τις παραπάνω εργασίες ως χρήσιμο κριτήριο για την αξιολόγηση του βάθους της πρωτεόλυσης. Η εξέλιξή του παρουσιάζεται και στην Εικόνα 5.3.3.

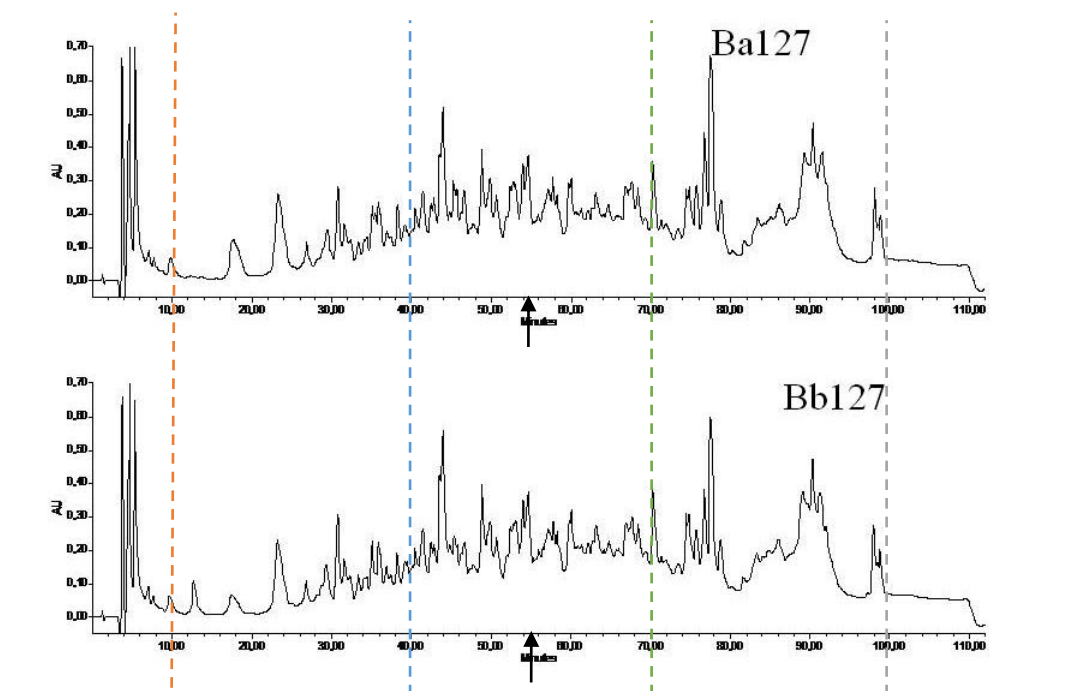
Τα αποτελέσματα αυτής της επεξεργασίας παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.3.6. και τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης που έγινε σύμφωνα με την παράγραφο 5.2 παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.3.7.



Εικόνα 5.3.2. RP-HPLC κατατομές του υδατοδιαλυτού εκχυλίσματος ημίσκληρων τυριών από μίγμα αίγειου γάλακτος με άπαχο αγελαδινό επεξεργασμένο σε 72°C για 10 min. Aa: μειωμένο αλάτι + υψηλή θερμοκρασία ωρίμασης, Ab: μειωμένο αλάτι + χαμηλή θερμοκρασία ωρίμασης, Ba: κανονικό αλάτι + υψηλή θερμοκρασία ωρίμασης, Bb: κανονικό αλάτι και θερμοκρασία ωρίμασης



Εικόνα 5.3.2. (συνέχεια) RP-HPLC κατατομές του υδατοδιαλυτού εκχυλίσματος ημίσκληρων τυριών από μίγμα αίγιου γάλακτος με άπαχο αγελαδινό επεξεργασμένο σε 72°C για 10 min. Aa: μειωμένο αλάτι + υψηλή θερμοκρασία ωρίμασης, Ab: μειωμένο αλάτι + χαμηλή θερμοκρασία ωρίμασης, Ba: κανονικό αλάτι + υψηλή θερμοκρασία ωρίμασης, Bb: κανονικό αλάτι και θερμοκρασία ωρίμασης



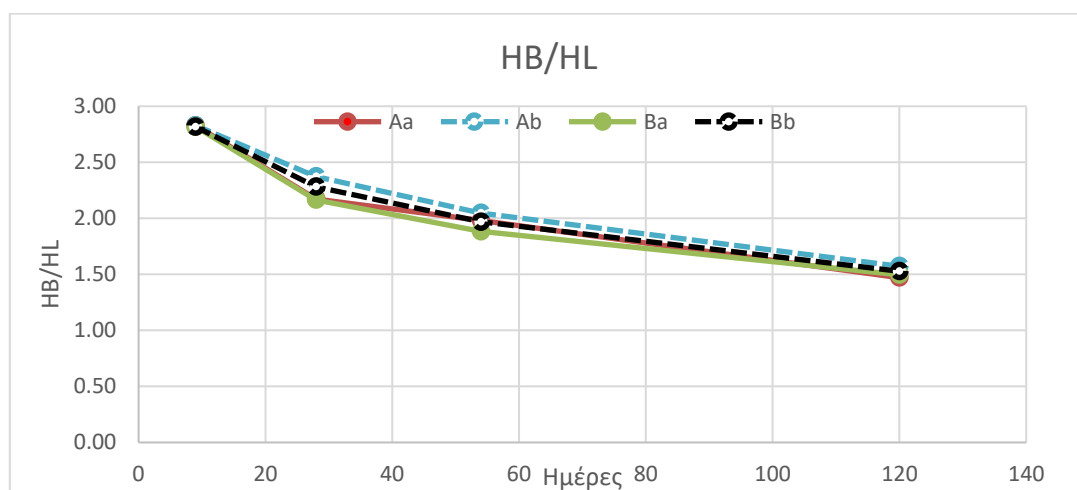
Εικόνα 5.3.2. (συνέχεια) RP-HPLC κατατομές του υδατοδιαλυτού εκχυλίσματος ημίσκληρων τυριών από μίγμα αίγιου γάλακτος με άπαχο αγελαδινό επεξεργασμένο σε 72°C για 10 min. Aa: μειωμένο αλάτι + υψηλή θερμοκρασία ωρίμασης, Ab: μειωμένο αλάτι + χαμηλή θερμοκρασία ωρίμασης, Ba: κανονικό αλάτι + υψηλή θερμοκρασία ωρίμασης, Bb: κανονικό αλάτι και θερμοκρασία ωρίμασης

Πίνακας 5.3.4. Ποσοτικά χαρακτηριστικά (επιφάνεια περιοχής × 100 / συνολική επιφάνεια) των επιμέρους περιοχών των RP-HPLC κατατομών του υδατοδιαλυτού εκχυλίσματος ημίσκληρων τυριών από μίγμα αίγιου γάλακτος με άπαχο αγελαδινό επεξεργασμένο σε 72°C για 10 min. Οι τιμές είναι ο μέσος όρος τριών πειραμάτων ± τυπική απόκλιση.

Τυρί/ Ηλικία		0-10 min	10-40 min	10-55 min	40-70 min	55-100 min	70-100 min	HB/HL
A9	<i>μ.ο.</i>	7.04	9.22	22.76	28.66	64.38	49.26	2.83
	<i>τ.α.</i>	0.78	0.25	1.33	1.19	1.27	0.94	0.21
B9	<i>μ.ο.</i>	7.10	9.32	22.90	28.87	64.51	49.23	2.82
	<i>τ.α.</i>	0.56	0.55	1.37	0.78	1.12	1.06	0.21
Aa28	<i>μ.ο.</i>	6.10	10.92	28.35	35.59	61.60	43.44	2.17
	<i>τ.α.</i>	0.31	0.85	2.52	1.72	2.12	2.12	0.26
Ab28	<i>μ.ο.</i>	6.26	10.12	26.62	33.79	63.17	45.90	2.37
	<i>τ.α.</i>	0.41	1.02	2.11	1.46	0.72	0.76	0.20
Ba28	<i>μ.ο.</i>	6.24	10.79	28.39	35.86	61.45	43.19	2.16
	<i>τ.α.</i>	0.61	0.93	1.33	1.14	0.60	1.17	0.12
Bb28	<i>μ.ο.</i>	5.80	10.50	27.29	34.88	62.28	44.20	2.28
	<i>τ.α.</i>	0.26	0.85	0.98	0.46	0.68	0.44	0.11
Aa54	<i>μ.ο.</i>	5.39	11.58	30.54	38.09	60.45	41.31	1.98
	<i>τ.α.</i>	0.58	0.78	0.97	0.47	1.20	0.57	0.10
Ab54	<i>μ.ο.</i>	5.20	11.20	29.81	37.61	61.03	42.04	2.05
	<i>τ.α.</i>	0.58	0.28	0.82	1.36	0.50	1.22	0.07
Ba54	<i>μ.ο.</i>	5.57	12.02	31.50	38.83	59.29	39.93	1.88
	<i>τ.α.</i>	0.41	0.74	1.15	0.43	1.16	0.49	0.11
Bb54	<i>μ.ο.</i>	5.33	11.51	30.31	38.28	59.667	41.34	1.97
	<i>τ.α.</i>	0.36	0.55	0.87	0.11	3.28	1.02	0.15
Aa120	<i>μ.ο.</i>	5.28	15.53	36.99	39.37	54.37	36.46	1.47
	<i>τ.α.</i>	0.45	1.07	1.25	1.05	1.55	0.74	0.09
Ab120	<i>μ.ο.</i>	5.44	15.09	35.44	38.93	55.72	37.15	1.57
	<i>τ.α.</i>	0.27	0.86	0.15	2.01	0.61	1.73	0.01
Ba120	<i>μ.ο.</i>	5.61	15.03	36.56	40.02	54.68	36.18	1.50
	<i>τ.α.</i>	0.02	0.81	0.84	1.19	0.88	1.43	0.05
Bb120	<i>μ.ο.</i>	5.24	14.70	36.13	40.38	55.19	36.24	1.53
	<i>τ.α.</i>	0.14	1.13	1.45	0.76	0.86	1.07	0.08

Πίνακας 5.3.5. Επιμέρους περιοχές των RP-HPLC κατατομών (από τις Nega & Moatsou, 2012)

Περιοχή	Συγκέντρωση ακετονιτριλίου (%)	Έκλουσμα	Εύρος μοριακού βάρους εκλούσματος (g.mol ⁻¹)
0-10 min	0	Υδατοδιαλυτές ουσίες (ελεύθερα αμινοξέα και μη αζωτούχα διαλυτά συστατικά)	
10-40 min	0-16	Υδρόφιλα πεπτίδια και ελεύθερα αμινοξέα	388-1435
40-70 min	16-32	Κυρίως υδρόφοβα πεπτίδια, πολλά από τα οποία προέρχονται από τη δράση της πλασμίνης στη β-καζεΐνη	658-3133
70-100 min	32-48	Υδρόφοβα πεπτίδια, πρωτεΐνες ορού και μη υδρολυμένες καζεΐνες	770-3479



Εικόνα 5.3.3. Εξέλιξη του λόγου υδρόφοβα/υδρόφιλα πεπτίδια (HB/HL) του υδατοδιαλυτού εκχυλίσματος τυριών από μίγμα αίγειου γάλακτος με άπαχο αγελαδινό επεξεργασμένο σε 72°C για 10 min. Aa: μειωμένο αλάτι + υψηλή θερμοκρασία ωρίμασης, Ab: μειωμένο αλάτι + χαμηλή θερμοκρασία ωρίμασης, Ba: κανονικό αλάτι + υψηλή θερμοκρασία ωρίμασης, Bb: κανονικό αλάτι και θερμοκρασία ωρίμασης

Πίνακας 5.3.6. Ανάλυση παραλλακτικότητας (P-values) των μεταβλητών των RP-HPLC κατατομών των υδατοδιαλυτών εκχυλισμάτων ημίσκληρων τυριών από μίγμα αίγειου γάλακτος με άπαχο αγελαδινό επεξεργασμένο σε 72°C για 10 min.

Μεταβλητές	Παράγοντες		
	Συνθήκες ωρίμασης	Αλάτισμα	Στάδιο ωρίμασης
9-120 d			
RP-HPLC 0-10 min	0.42	0.832	0
RP-HPLC 10-40 min	0.129	0.865	0
RP-HPLC 40-70 min	0.14	0.049	0
RP-HPLC 70-100 min	0.021	0.052	0
RP-HPLC 10-55 min (HL)	0.038	0.39	0
RP-HPLC 55-100 min (HB)	0.021	0.376	0
HB/HL	0.076	0.402	0

Μεταβλητές	Παράγοντες		
	Συνθήκες ωρίμασης	Αλάτισμα	Στάδιο ωρίμασης
28-120 d			
RP-HPLC 0-10 min	0.268	0.884	0
RP-HPLC 10-40 min	0.118	0.949	0
RP-HPLC 40-70 min	0.104	0.045	0
RP-HPLC 70-100 min	0.012	0.036	0
RP-HPLC 10-55 min (HL)	0.02	0.374	0
RP-HPLC 55-100 min (HB)	0.008	0.251	0
HB/HL	0.018	0.282	0

Πίνακας 5.3.7. Έλεγχος των στατιστικά σημαντικών διαφορών των μεταβλητών των RP-HPLC κατατομών των υδατοδιαλυτών εκχυλισμάτων των ημίκληρων τυριών. (Μέθοδος της ελάχιστης σημαντικής διαφοράς, Least significance difference, LSD, $P < 0,05$). Διαφορετικά γράμματα υποδεικνύουν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

9-120 d	Πλήθος τιμών	RP-HPLC 0-10 min	RP-HPLC 10-40 min	RP-HPLC 40-70 min	RP-HPLC 70-100 min	RP-HPLC 10-55 min	RP-HPLC 55-100 min	HB/HL
Γενικός μέσος	48	5.98	11.63	35.42	42.77	29.33	60.49	21.5
Συνθήκες ωρίμασης								
a	24	6.04	11.80	35.66	42.38 a	29.75	60.09 a	2.11
b	24	5.93	11.46	35.18	43.17 b	28.91	60.89 b	2.19
Αλάτισμα								
A	24	5.97	11.61	35.09 a	43.10	29.16 b	60.64	2.17
B	24	6.00	11.65	35.75 b	42.44	29.50 a	60.34	2.13
Στάδιο ωρίμασης (ημέρες)								
9	12	7.07 c	9.27 a	28.77 a	49.24 a	22.83 a	64.45 a	2.83 d
28	12	6.10 b	10.58 b	35.03 b	44.18 b	27.67 b	62.13 b	2.26 c
54	12	5.38 a	11.58 c	38.21 c	41.16 c	30.54 c	60.40 c	1.98 b
120	12	5.39 a	15.09 d	39.68 d	36.50 d	36.28 d	54.99 d	1.52 a

28-120 d	Πλήθος τιμών	RP-HPLC 40-70 min	RP-HPLC 70-100 min	RP-HPLC 10-55 min	RP-HPLC 55-100 min	HB/HL
Γενικός μέσος	36	37.64	40.62	31.49	11.53	1.92
Συνθήκες ωρίμασης						
a	18	37.96	40.09 a	32.05 b	11.43	1.87 a
b	18	37.31	41.14 b	30.93 a	11.63	1.97 b
Αλάτισμα						
A	18	37.23 a	41.05 b	31.29	10.25 a	1.94
B	18	38.04 b	40.18 a	31.70	12.81 b	1.90
Στάδιο ωρίμασης (ημέρες)						
28	12	35.03 a	44.18 c	27.67 a	11.74	2.26 c
54	12	38.21 b	41.16 b	30.54 b	10.26	1.98 b
120	12	39.68 c	36.51 a	36.27 c	12.59	1.52 a

Οι κατατομές της Εικόνας 5.3.2 περιέχουν πολλές κορυφές και είναι ιδιαίτερα εμπλουτισμένες στην περιοχή 55-100 min. Στην περιοχή αυτή όπως προαναφέρθηκε εκκλύονται τα προϊόντα της δράσης της πλασμίνης καθώς και οι πρωτεΐνες του ορού, οι οποίες δεν επηρεάζονται από την πρωτεόλυση. Η στατιστική ανάλυση έδειξε ότι οι περιοχές 40-70 min και 70-100 min μεταβάλλονται στατιστικά σημαντικά ($P < 0,05$) σε όλα τα σημεία ωρίμασης που μελετήθηκαν. Η δεύτερη μειώνεται εμπλουτίζοντας με πεπτίδια την πρώτη που αυξάνεται. Το ίδιο παρατηρείται και για τις περιοχές 10-55 min και 55-100 min. Ενώ στα μέχρι τώρα αποτελέσματα η επίδραση του αλατίσματος και των συνθηκών ωρίμασης ήταν σποραδική, στην περίπτωση των RP-HPLC κατατομών παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές επιδράσεις ($P < 0,05$). Οι επιδράσεις αυτές απεικονίζονται πιο συνοπτικά στο λόγο HB/HL. Είναι προφανές ότι η υψηλή θερμοκρασία ωρίμασης (τυριά υπο-ομάδων α) ενίσχυσε την πρωτεόλυση, αφού ο HB/HL (1,87) ήταν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερος, όπως και η «υδρόφοβη» περιοχή με μεγάλου μεγέθους πεπτίδια 70-100 min (Πίνακας 5.3.7). Επιπλέον, το γεγονός ότι το κανονικό αλάτι (τυριά Β) διατηρούσε τις «υδρόφοβες» περιοχές 70-100 min σε σημαντικά υψηλότερα επίπεδα ($P < 0,05$) υποδεικνύει παρεμπόδιση της πρωτεόλυσης.

Ο βαθμός πρωτεόλυσης για τα πειραματικά τυριά όπως εκφράζεται από το λόγο HB/HL διαφοροποιήθηκε κυρίως ως προς τις συνθήκες ωρίμασης, μετά τις 28 ημέρες. Οι καμπύλες του λόγου HB/HL (Εικόνα 5.3.3) ακολουθούσαν κατά κανόνα κοινή πορεία. Όμως υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ηλικιών που αναλύθηκαν.

Ειδικότερα, η στατιστική ανάλυση έδειξε σημαντικές διαφορές για τους ακόλουθους παράγοντες πρωτεόλυσης:

- 0-10 min: Η διαφοροποίηση παρατηρήθηκε ως προς το στάδιο ωρίμασης. Η μείωση που παρατηρήθηκε μπορεί να οφείλεται στη μείωση των υδατοδιαλυτών συστατικών όπως η λακτόζη και τα αμινοξέα με την πάροδο των ημερών.
- 10-40 min: Η διαφοροποίηση παρατηρήθηκε ως προς το στάδιο ωρίμασης. Οι τιμές αυξάνονται, γεγονός που είναι αναμενόμενο αφού η εξέλιξη της πρωτεόλυσης συσσωρεύει μικρά υδρόφιλα πεπτίδια και ελεύθερα αμινοξέα.
- 40-70 min: Η διαφοροποίηση παρατηρήθηκε ως προς το στάδιο ωρίμασης και το αλάτισμα. Οι τιμές κατά την εξέλιξη της ωρίμασης αυξήθηκαν, όπως είναι αναμενόμενο.
- 70-100 min: Η διαφοροποίηση παρατηρήθηκε ως προς το στάδιο και τις συνθήκες ωρίμασης για τα τυριά 9-120 ημερών, ενώ επιπροσθέτως παρατηρήθηκε διαφοροποίηση ως προς το αλάτισμα στα τυριά 28-120 ημερών. Η συμμετοχή αυτής της περιοχής στις κατατομές κατά την εξέλιξη της ωρίμασης

μειώθηκε όπως αναμένεται για αυτή την ομάδα των υδρόφοβων/μεγάλων πεπτιδίων.

- HB/HL: Η διαφοροποίηση παρατηρήθηκε ως προς το στάδιο και τις συνθήκες ωρίμασης για τα τυριά 28-120 ημερών. Οι τιμές κατά την εξέλιξη της ωρίμασης μειώνονται, κάτι που θεωρείται αναμενόμενο με την εξέλιξη της πρωτεόλυσης. Επίσης παρατηρήθηκε μείωση για τα τυριά των υπο-ομάδων α, επίσης αναμενόμενο λόγω της υψηλότερης θερμοκρασίας ωρίμασης. Σημειώνεται πως η περιοχή 55-100 min των τυριών με κανονικό αλάτι (B) είναι υψηλότερη των αντίστοιχών τους A.

Συμπερασματικά, σε όλα τα τυριά παρατηρήθηκε έντονη αύξηση των προϊόντων της πρωτεόλυσης από την 9^η ημέρα έως τις 4 εβδομάδες, η οποία επιβραδύνθηκε από τις 4 έως τις 8 εβδομάδες και συνεχίστηκε κατά την συντήρηση των τυριών έως τους 4 μήνες. Ο ρυθμός μεταβολής ήταν παρόμοιος και για τις 4 ομάδες τυριών. Η χαμηλότερη θερμοκρασία ωρίμασης επιβράδυνε στατιστικά σημαντικά την πρωτεόλυση όπως προέκυψε από την επεξεργασία των RP-HPLC κατατομών των υδατοδιαλυτών εκχυλισμάτων. Η ένταση του αλατίσματος είχε σποραδικές επιδράσεις σε ορισμένες μεταβλητές που δεν είναι αρκετές για να στοιχειοθετήσουν γενικευμένη επίδραση στην εξέλιξη της πρωτεόλυσης. Τελικά, ο λόγος υδρόφοβων/υδρόφιλων πεπτιδίων απεικόνισε με επιτυχία τη γενική τάση των μεταβολών αυτών και ήταν επιτυχημένος δείκτης για τη διερεύνηση της επίδρασης των παραγόντων του πειράματος.

5.4. ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΗΣ ΚΑΤΑΤΟΜΗΣ ΔΟΜΗΣ

Η υφή/δομή των τυριών που συχνά αναφέρεται ως «ρεολογικά χαρακτηριστικά» είναι αυτή που διαμορφώνει τη συμπεριφορά τους στις καταπονήσεις που δέχονται κατά την επεξεργασία και την κατανάλωσή τους (π.χ. τεμαχισμός, μάσηση). Αφορούν σε ενδογενή χαρακτηριστικά όπως η ελαστικότητα, το ιξώδες και η ιξωδοελαστικότητα και σχετίζονται πρωταρχικά με τη σύσταση, τη δομή και τις ελκτικές δυνάμεις μεταξύ δομικών συστατικών του τυριού. Η ρεολογία των τυριών συνδέεται με τη σύσταση, τη μικροδομή και τη μακροδομή τους, καθώς και τη φυσικοχημική κατάσταση των συστατικών τους. Η σημασία των ρεολογικών χαρακτηριστικών είναι μεγάλη, καθώς επηρεάζουν (Fox *et al.* 2000, O'Callaghan & Guinee, 2004):

- Τη συμπεριφορά τους κατά την επεξεργασία.
- Την υφή και την ποιότητά τους.
- Τη χρήση τους ως συστατικά για άλλα τρόφιμα.
- Τη δυνατότητα να διατηρούν το σχήμα τους κατά την αποθήκευση.
- Τη δυνατότητά τους να συγκρατούν αέρια και να σχηματίζουν οπές χωρίς ρωγμές και φουσκώματα.

Η υφή των τυριών μπορεί να οριστεί ως ένα σύνθετο οργανοληπτικό χαρακτηριστικό που προέρχεται από ένα συνδυασμό φυσικών ιδιοτήτων, οι οποίες γίνονται αντιληπτές από τις αισθήσεις της όρασης, της αφής και της ακοής (Fox *et al.* 2000, Foegeding & Drake, 2007). Οι ιδιότητες των τυριών που συμμετέχουν στη διαμόρφωση της υφής τους μπορούν να χωριστούν σε τρεις κύριες κατηγορίες (Fox *et al.* 2000):

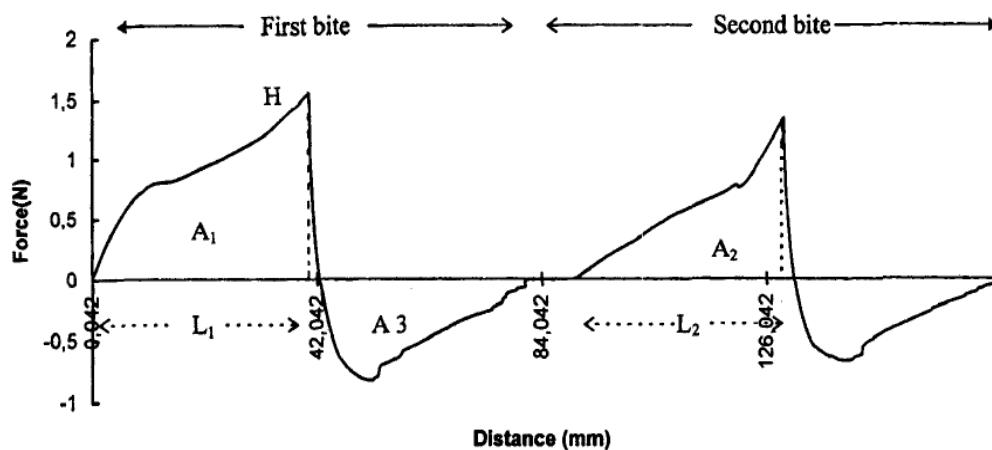
I. Μηχανικές, οι οποίες αποτελούνται από τη σκληρότητα, τη συνεκτικότητα, το ιξώδες, την ελαστικότητα, τη μασητικότητα, την ευθρυπτότητα και το κομμιώδες. Οι μηχανικές ιδιότητες αξιολογούνται οργανοληπτικά από την πίεση που ασκείται στο τυρί από τα δόντια, τη γλώσσα και τον ουρανίσκο. Με την ενόργανη ανάλυση προσδιορίζονται οι παρακάτω ιδιότητες που προσδιορίστηκαν και στην παρούσα μελέτη (Fox *et al.* 2000, O'Callaghan & Guinee, 2004) και επεξηγούνται στην Εικόνα 5.4.1:

- Hardness (Σκληρότητα) (N): Η δύναμη που απαιτείται έτσι ώστε να συμπιεστεί ένα τυρί μεταξύ των γομφίων, ή μεταξύ της γλώσσας και του ουρανίσκου, μέχρι δεδομένης παραμόρφωσης ή του σημείου όπου το έμβολο διεισδύει στη μάζα του τυριού. Είναι η απαιτούμενη δύναμη για να συμπιεστεί ένα τρόφιμο μεταξύ των γομφίων του στόματος και ορίζεται ως η μέγιστη κορυφή κατά την πρώτη συμπίεση (βύθιση του εμβόλου) του δείγματος.

- Cohesiveness (Συνεκτικότητα): Ο βαθμός παραμόρφωσης πριν τη θραύση. Είναι αποτέλεσμα της «έντασης» των δεσμών που συγκρατούν ένα τρόφιμο και ορίζεται ως ο λόγος του εμβαδού της δεύτερης συμπίεσης (βύθισης του εμβόλου) προς το εμβαδό της πρώτης συμπίεσης, A_2/A_1 .
- Adhesiveness (Προσκολλησιμότητα) ($N \times mm$): Το έργο (ή η ενέργεια) που απαιτείται για την απομάκρυνση τυριού το οποίο έχει προσκολληθεί στο στόμα, κατά τη διαδικασία της μάσησης. Ισούται με την απόλυτη τιμή της παραμέτρου A_3 , δηλαδή με το εμβαδό της πρώτης αποσυμπίεσης.
- Gumminess (Κομμιώδες) (N): Η δύναμη που απαιτείται έτσι ώστε το τυρί να καταστεί έτοιμο για κατάποση. Ισούται με το γινόμενο της σκληρότητας επί την συνεκτικότητα ($H \times (A_2/A_1)$).
- Springiness (Ελαστική ανάκτηση): Τάση του τυριού να επαναφέρει το αρχικό του σχήμα και διαστάσεις κατά την απομάκρυνση μιας καταπόνησης, δηλαδή μεταξύ των δύο δαγκωμάτων. Ισούται με τον λόγο της τιμής της παραμέτρου L_2 για τη δεύτερη βύθιση ως προς την τιμή της παραμέτρου L_1 για την πρώτη βύθιση (L_2/L_1).
- Chewiness (Μασητικότητα) (N): Είναι η δύναμη που απαιτείται για να μασηθεί ένα τρόφιμο μέχρι να είναι έτοιμο για κατάποση και συνδέεται με το χρονικό διάστημα ή τον αριθμό επαναλήψεων της μάσησης που απαιτούνται έτσι ώστε ένα τυρί να είναι έτοιμο για κατάποση. Είναι αποτέλεσμα της σκληρότητας, της συνεκτικότητας και της ελαστικής ανάκτησης. Ισούται με το γινόμενο της ελαστικής ανάκτησης επί του κομμιώδους ($H \times (A_2/A_1) \times (L_2/L_1)$).

II. Γεωμετρικές, οι οποίες περιλαμβάνουν την κατανομή μεγέθους, το σχήμα και τον προσανατολισμό των σωματιδίων μέσα σε ένα τρόφιμο. Κυρίως αφορούν στην τομή και τη γενική όψη του τυριού, ενδέχεται όμως να επηρεάσουν και τις μηχανικές ιδιότητες, σε περίπτωση που είναι πολύ έντονες.

III. Άλλες, όπως η λιπαρότητα, το ελαιώδες, το «χυμώδες» και το «σώμα». Τα χαρακτηριστικά αυτά επηρεάζονται από το λίπος και την υγρασία του τυριού.



Εικόνα 5.4.1. Τυπική καμπύλη ρεολογικής ανάλυσης δείγματος τυριού. H: σκληρότητα, A1: εμβαδό πρώτης συμπίεσης, A2: εμβαδό δεύτερης συμπίεσης, A3: συγκολλητικότητα (από τους Kaminarides & Stachtiaris, 2000).

Η υφή και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά είναι στενά συνδεδεμένα, καθώς πολλές από τις ιδιότητες της υφής των τυριών καθορίζονται από τα ρεολογικά του χαρακτηριστικά (Fox *et al.* 2000). Η μέθοδος TPA (Texture Profile Analysis, Εικόνα 5.4.1) ανήκει στις εμπειρικές μεθόδους και χρησιμοποιεί διπλή συμπίεση που προσομοιάζει το «δάγκωμα» έτσι ώστε να ποσοτικοποιήσει τις μηχανικές ιδιότητες του τυριού, και να αποτελέσει ένα συμπλήρωμα στην οργανοληπτική αξιολόγηση της δομής του τυριού (O’Callaghan & Guinee, 2004). Παρ’ όλα αυτά, λόγω της πολυπλοκότητας της μύησης μέσω της συμμετοχής της γλώσσας και της μίξης του τυριού με το σάλιο, τις διαφορές της αντίληψης της υφής μεταξύ των ατόμων – αξιολογητών, της επίδρασης της ώρας της μέρας στην αντίληψη της υφής και άλλων παραγόντων, η μέθοδος TPA δεν θεωρείται πλήρες υποκατάστατο της οργανοληπτικής αξιολόγησης της δομής (O’Callaghan & Guinee, 2004, Foegeding & Drake, 2007).

Από χημικής, βιολογικής και βιοχημικής άποψης το τυρί είναι ένα δυναμικό σύστημα στο οποίο τα δομικά συστατικά υποβάλλονται σε μεταβολές μικροδομικής αλλά και φυσικοχημικής φύσης, όπως η υδρόλυση και η ενυδάτωση των καζεϊνών, η διόγκωση του πλέγματος, η συσσωμάτωση του λίπους και σε κάποιες περιπτώσεις η υδρόλυση του λίπους (Fox *et al.* 2000).

Η ιξωδοελαστικότητα των τυριών πηγάζει από τις διαδραστικές ρεολογικές συνεισφορές των συστατικών του, δηλαδή της πρωτεΐνης, του λίπους και της υγρασίας. Κατά την εφαρμογή καταπόνησης σε ένα τυροκομικό προϊόν, το καζεϊνικό δίκτυο περιορίζει αρχικά την παραμόρφωση. Καθώς η συγκέντρωση της καζεΐνης αυξάνεται, οι δεσμοί αυξάνονται κι έτσι το δίκτυο αποκτά μεγαλύτερη ελαστικότητα και αντίσταση στην παραμόρφωση, κάτι το οποίο είναι χαρακτηριστικό των τυριών μειωμένης

λιποπεριεκτικότητας. Το αντίθετο αποτέλεσμα προκαλεί ο χρόνος ωρίμασης, γεγονός το οποίο οφείλεται στην αποδόμηση του καζεϊνικού δικτύου μέσω της υδρόλυσης και ενυδάτωσης των καζεϊνών (Fox *et al.* 2000, O'Callaghan & Guinee, 2004). Επίσης η ωρίμαση επιφέρει αύξηση του ιξώδους χαρακτήρα του τυριού έναντι του ελαστικού (Foegeding & Drake, 2007).

Το λίπος συνεισφέρει στα ρεολογικά χαρακτηριστικά του τυριού ανάλογα με τη φυσική του κατάσταση, η οποία επηρεάζεται από τη θερμοκρασία, η οποία καθορίζει την αναλογία μεταξύ στερεού/υγρού λίπους. Σε χαμηλές θερμοκρασίες, όπου το λίπος είναι στερεό, ενδυναμώνει την ελαστικότητα του καζεϊνικού δικτύου. Καθώς το ποσοστό του υγρού λίπους αυξάνεται, το λίπος συμπεριφέρεται ως ρευστό και προσδίδει ιξώδες παρά ελαστικότητα στο τυρί. Εκτός αυτού, δρα ως λιπαντικό στις επιφάνειες θραύσης του καζεϊνικού δικτύου κι έτσι μειώνει την καταπόνηση που χρειάζεται για να θρυμματιστεί το δίκτυο. Η αύξηση του λίπους επί ξηρού (FDM) επιφέρει μείωση στην πίεση θραύσης (σ_f). Σε γενικές γραμμές, η αύξηση του ποσοστού λίπους στο τυρί επιφέρει μείωση στα ποσοστά της πρωτεΐνης και της υγρασίας, μείωση της θραύσης και τη σταθερότητα/σφικτότητα (firmness), αυξημένη ελαστικότητα, μειωμένη ομοιογένεια της μάζας και «απαλότητα» στη στοματική κοιλότητα (mouth smoothness) (Fox *et al.* 2000, O'Callaghan & Guinee, 2004, Foegeding & Drake, 2007).

Η υγρασία δρα ως πλαστικοποιητής του πρωτεϊνικού δικτύου, κάνοντάς το λιγότερο ελαστικό και περισσότερο ευάλωτο στη θραύση κατά τη συμπίεση. Έτσι, η αύξηση του ποσοστού υγρασίας έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση του μέτρου ελαστικότητας (E), της πίεσης θραύσης (σ_f) και της σταθερότητας/σφικτότητας (firmness) (Fox *et al.* 2000).

Τα ρεολογικά χαρακτηριστικά επηρεάζονται και από άλλους παράγοντες, όπως (Fox *et al.* 2000):

- το pH. Σε χαμηλότερες τιμές τα τυριά γενικά αποκτούν εύθρυπτο χαρακτήρα, με χαμηλή πίεση θραύσης (σ_f) και ένταση θραύσης (ϵ_f), ενώ σε υψηλότερες τιμές παρατηρείται η αντίθετη εικόνα. Η αλλαγή που επιφέρει το pH οφείλεται στην επιρροή που έχει πάνω στο λόγο διαλυτού/κολλοειδούς ασβεστίου, το βαθμό της ενυδάτωσης της παρακαζεΐνης και στα είδη των δεσμών του καζεϊνικού δικτύου.
- η αλατοπεριεκτικότητα. Κατά την αύξησή της παρατηρείται αντίστοιχη αύξηση του μέτρου ελαστικότητας (E) και της πίεσης θραύσης (σ_f).
- οι εποχικές παραλλαγές στη σύσταση του γάλακτος και την κατάσταση των συστατικών του. Γάλα χαμηλής ποιότητας, του τέλους της γαλακτικής περιόδου, συχνά μετατρέπεται σε τυρί υψηλής υγρασίας και χαμηλής σταθερότητας/σφικτότητας (firmness).
- οι συνθήκες τυροκόμησης.

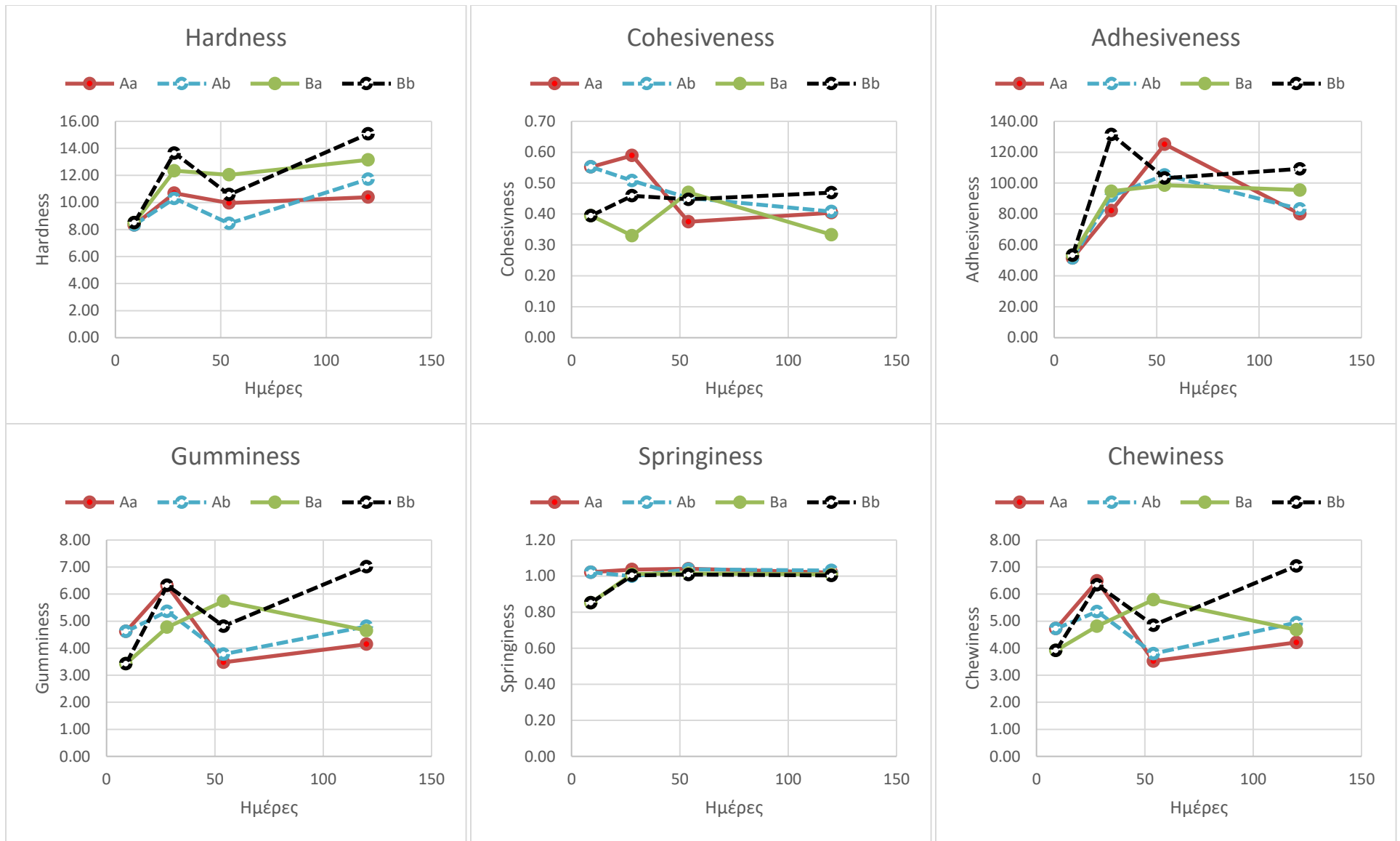
- οι γενετικές παραλλαγές των καζεϊνών.
- οι συνθήκες ωρίμασης, συγκεκριμένα της θερμοκρασίας και σχετικής υγρασίας στο θάλαμο ωρίμασης, οι οποίες επηρεάζουν το ρυθμό της αποδόμησης των καζεϊνών και/ή της απώλειας υγρασίας.

Τα χαρακτηριστικά της υφής των τυροπηγμάτων που παράγονται από αίγιο γάλα διαφέρουν από εκείνα που παράγονται από αγελαδινό (υπό τις ίδιες συνθήκες). Οι πιο αδύναμες μηχανικές ιδιότητες του τυροπήγατος από αίγιο γάλα περιορίζουν τις διαδικασίες τυροκόμησης και τους τύπους τυριών που μπορούν να παραχθούν από αυτό. Η αιτία εντοπίζεται στη σύνθεση της καζεΐνης του αίγιου γάλακτος, όπου η β-καζεΐνη κυριαρχεί έναντι των α_s , και ιδιαίτερα έναντι της α_{s1} . Επίσης διαδραματίζει ρόλο και ο πολυμορφισμός της αίγειας α_{s1} -καζεΐνης. Συγκεκριμένα, η τυροκόμηση αίγιου γάλακτος με χαμηλό περιεχόμενο σε α_{s1} -καζεΐνη έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή λιγότερο σφικτού πηγματος, χαμηλότερη πρωτεϊνική κατακράτηση και χαμηλότερη απόδοση σε τυρί, από ότι μια τυροκόμηση αίγιου γάλακτος με υψηλό περιεχόμενο σε α_{s1} -καζεΐνη (Medina & Nuñez, 2004).

Στον Πίνακα 5.4.1 και στην Εικόνα 5.4.2 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της ενόργανης ανάλυσης κατατομής των τυριών της παρούσας μελέτης σε όλα τα στάδια της ωρίμασης. Η ANOVA και ο έλεγχος των στατιστικά σημαντικών διαφορών των μέσων όρων έγινε όπως περιγράφεται στην παράγραφο 5.2 και παρουσιάζονται στους Πίνακες 5.4.2 και 5.4.3.

Πίνακας 5.4.1. Μεταβολές των ρεολογικών χαρακτηριστικών (κατατομή δομής) κατά τη διάρκεια της ωρίμασης ημίσκληρων τυριών από μίγμα αίγειου γάλακτος με άπαχο αγελαδινό επεξεργασμένο σε 72°C για 10 min. Οι τιμές είναι ο μέσος όρος τριών πειραμάτων \pm τυπική απόκλιση.

Τυρί/ Ηλικία		Σκληρότητα (Hardness)	Συνεκτικότητα (Cohesiveness)	Προσκολλησιμότητα (Adhesiveness)	Κομμιώδες (Gumminess)	Ελαστική ανάκτηση (Springiness)	Μασητικότητα (Chewiness)
A9	<i>μ.ο.</i>	8.34	0.55	51.52	4.62	1.02	4.72
	<i>τ.α.</i>	1.76	0.01	15.87	1.10	0.02	1.21
B9	<i>μ.ο.</i>	8.50	0.39	53.30	3.43	0.85	3.91
	<i>τ.α.</i>	1.99	0.24	9.22	2.55	0.29	1.84
Aa28	<i>μ.ο.</i>	10.68	0.59	82.27	6.32	1.04	6.49
	<i>τ.α.</i>	4.25	0.01	12.91	2.52	0.05	2.47
Ab28	<i>μ.ο.</i>	10.30	0.51	91.68	5.36	1.00	5.36
	<i>τ.α.</i>	4.17	0.09	19.61	2.99	0.01	2.99
Ba28	<i>μ.ο.</i>	12.34	0.33	94.76	4.77	1.01	4.81
	<i>τ.α.</i>	3.45	0.35	19.09	4.81	0.00	4.90
Bb28	<i>μ.ο.</i>	13.65	0.46	131.51	6.32	1.00	6.34
	<i>τ.α.</i>	2.56	0.05	29.97	1.88	0.01	1.85
Aa54	<i>μ.ο.</i>	9.96	0.37	125.15	3.48	1.04	3.52
	<i>τ.α.</i>	2.69	0.16	49.24	0.84	0.07	0.76
Ab54	<i>μ.ο.</i>	8.45	0.45	105.30	3.78	1.04	3.80
	<i>τ.α.</i>	1.42	0.09	37.66	0.28	0.02	0.41
Ba54	<i>μ.ο.</i>	12.04	0.47	98.68	5.74	1.01	5.79
	<i>τ.α.</i>	2.10	0.03	21.74	1.36	0.02	1.30
Bb54	<i>μ.ο.</i>	10.58	0.45	103.27	4.82	1.01	4.85
	<i>τ.α.</i>	1.31	0.12	51.46	0.99	0.01	0.96
Aa120	<i>μ.ο.</i>	10.39	0.40	80.08	4.15	1.02	4.21
	<i>τ.α.</i>	2.52	0.06	21.21	0.88	0.03	0.83
Ab120	<i>μ.ο.</i>	11.73	0.41	83.22	4.81	1.03	4.94
	<i>τ.α.</i>	2.10	0.09	34.56	1.35	0.02	1.38
Ba120	<i>μ.ο.</i>	13.15	0.33	95.53	4.65	1.01	4.68
	<i>τ.α.</i>	3.10	0.11	14.92	2.40	0.01	2.38
Bb120	<i>μ.ο.</i>	15.08	0.47	109.19	7.02	1.00	7.04
	<i>τ.α.</i>	3.92	0.06	25.53	1.68	0.01	1.72



Εικόνα 5.4.2. Ενόργανη ανάλυση κατανομής δομής κατά τη διάρκεια της ωρίμασης ημίσκληρων τυριών από μίγμα αίγειου γάλακτος με άπαχο αγελαδινό επεξεργασμένο σε 72°C για 10 min. Hardness: Σκληρότητα = *max load* κατά την πρώτη βύθιση του εμβόλου στη μάζα του τυριού, Cohesiveness: Συνεκτικότητα = *Area Inc* της δεύτερης βύθισης του εμβόλου ως προς *Area Inc* της πρώτης, Adhesiveness: Προσκολλησιμότητα = Απόλυτη τιμή *Area Dec* για την πρώτη βύθιση, Gumminess: Κομμιώδες = Σκληρότητα * Συνεκτικότητα, Springiness: Ελαστική ανάκτηση = *Length 2nd* για τη δεύτερη βύθιση / *Length 1st* για την πρώτη βύθιση, Chewiness: Μασητικότητα = ελαστική ανάκτηση × κομμιώδες (από την Εικόνα 5.4.1).

Πίνακας 5.4.2. Ανάλυση παραλλακτικότητας (P-values) των μεταβλητών των ρεολογικών χαρακτηριστικών των ημίσκληρων τυριών από μίγμα αίγειου γάλακτος με άπαχο αγελαδινό επεξεργασμένο σε 72°C για 10 min.

Μεταβλητές	Παράγοντες		
	9-120 d	Συνθήκες ωρίμασης	Αλάτισμα Στάδιο ωρίμασης
Σκληρότητα (Hardness)	0.849	0.018	0.004
Συνεκτικότητα (Cohesiveness)	0.467	0.109	0.59
Προσκολλησιμότητα (Adhesiveness)	0.456	0.284	0
Κομμιώδες (Gumminess)	0.545	0.539	0.245
Ελαστική ανάκτηση (Springiness)	0.844	0.069	0.157
Μασητικότητα (Chewiness)	0.503	0.502	0.327

Μεταβλητές	Παράγοντες		
	28-120 d	Συνθήκες ωρίμασης	Αλάτισμα Στάδιο ωρίμασης
Σκληρότητα (Hardness)	0.840	0.016	0.170
Συνεκτικότητα (Cohesiveness)	0.368	0.397	0.465
Προσκολλησιμότητα (Adhesiveness)	0.315	0.35	0.408
Κομμιώδες (Gumminess)	0.497	0.224	0.389
Ελαστική ανάκτηση (Springiness)	0.414	0.057	0.531
Μασητικότητα (Chewiness)	0.471	0.28	0.436

Πίνακας 5.4.3. Έλεγχος των στατιστικά σημαντικών διαφορών των μεταβλητών των ρεολογικών χαρακτηριστικών, στους οποίους επέδρασαν οι παράγοντες του πειράματος για τα ημίσκληρα τυριά 9-120 ημερών και 28-120 ημερών (Μέθοδος της ελάχιστης σημαντικής διαφοράς, Least significance difference, LSD, P<0,05). Διαφορετικά γράμματα υποδεικνύουν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

	Πλήθος τιμών	Σκληρότητα (Hardness) (9-120 d)	Προσκολλησιμότητα (Adhesiveness) (9-120 d)	Σκληρότητα (Hardness) (28-120 d)
Γενικός μέσος	48	10.75	88.14	11.63
Συνθήκες ωρίμασης				
a	24	10.68	85.16	11.43
b	24	10.83	91.12	11.63
Αλάτισμα				
A	24	9.77 a	83.84	10.25 a
B	24	11.73 b	92.44	12.81 b
Στάδιο ωρίμασης (ημέρες)				
9	12	8.42 a	52.41 a	-
28	12	11.74 b	100.06 b	11.74
54	12	10.26 c	108.10 b	10.26
120	12	12.59 d	92.00 b	12.59

Όπως φαίνεται από την Εικόνα 5.4.2, μέχρι τις 8 εβδομάδες παρουσιάζονται αυξομειώσεις των ρεολογικών χαρακτηριστικών που δεν μπορούν να ομαδοποιηθούν εύκολα. Φαίνεται όμως ότι η σκληρότητα όλων των τυριών αυξάνει εντυπωσιακά από τις 9 στις 28 ημέρες. Αυτό επιβεβαιώνεται και από τον Πίνακα 5.4.3, ο οποίος δείχνει ότι σε κάθε σημείο δειγματοληψίας η σκληρότητα διέφερε στατιστικά σημαντικά ($P < 0,05$). Επίσης, η διάρκεια ωρίμασης επηρέασε και την προσκολλησιμότητα μόνο στο διάστημα μεταξύ 9^{ης} και 28^{ης} ημέρας.

Επιπλέον, η στατιστική ανάλυση έδειξε σημαντική στατιστικά διαφοροποίηση ($P < 0,05$) της σκληρότητας ως προς τον παράγοντα του αλατίσματος. Η διαφοροποίηση του αλατίσματος καταδεικνύει αυξημένη σκληρότητα για τα τυριά της ομάδας B, η οποία θεωρείται αναμενόμενη λόγω της υψηλότερης αλατοπεριεκτικότητας. Η διακύμανση των τιμών με την πάροδο του χρόνου πιθανόν να οφείλεται στην απώλεια υγρασίας και τη δράση της πρωτεόλυσης.

Δεν παρατηρήθηκαν άλλες σημαντικά στατιστικά σημαντικές διαφορές, και αυτό μπορεί να εξηγηθεί λαμβάνοντας υπόψη ότι οι περισσότερες ρεολογικές μεταβλητές είναι παράγωγα της συνεκτικότητας και της σκληρότητας όπως προαναφέρθηκε και όπως συνοψίζεται και στον Πίνακα 5.4.4.

Πίνακας 5.4.4. Παράμετροι ρεολογικών χαρακτηριστικών και ο υπολογισμός τους.

Παράμετρος	Προέλευση
Σκληρότητα (Hardness)	<i>max load</i> κατά την πρώτη βύθιση του εμβόλου στη μάζα του τυριού
Συνεκτικότητα (Cohesiveness)	<i>Area Inc</i> της δεύτερης βύθισης του εμβόλου ως προς <i>Area Inc</i> της πρώτης
Προσκολλησιμότητα (Adhesiveness)	Απόλυτη τιμή <i>Area Dec</i> για την πρώτη βύθιση
Κομμιώδες (Gumminess)	Σκληρότητα × Συνεκτικότητα,
Ελαστική ανάκτηση (Springiness)	<i>Length 2nd</i> για τη δεύτερη βύθιση / <i>Length 1st</i> για την πρώτη βύθιση,
Μασητικότητα (Chewiness)	Ελαστική ανάκτηση × κομμιώδες

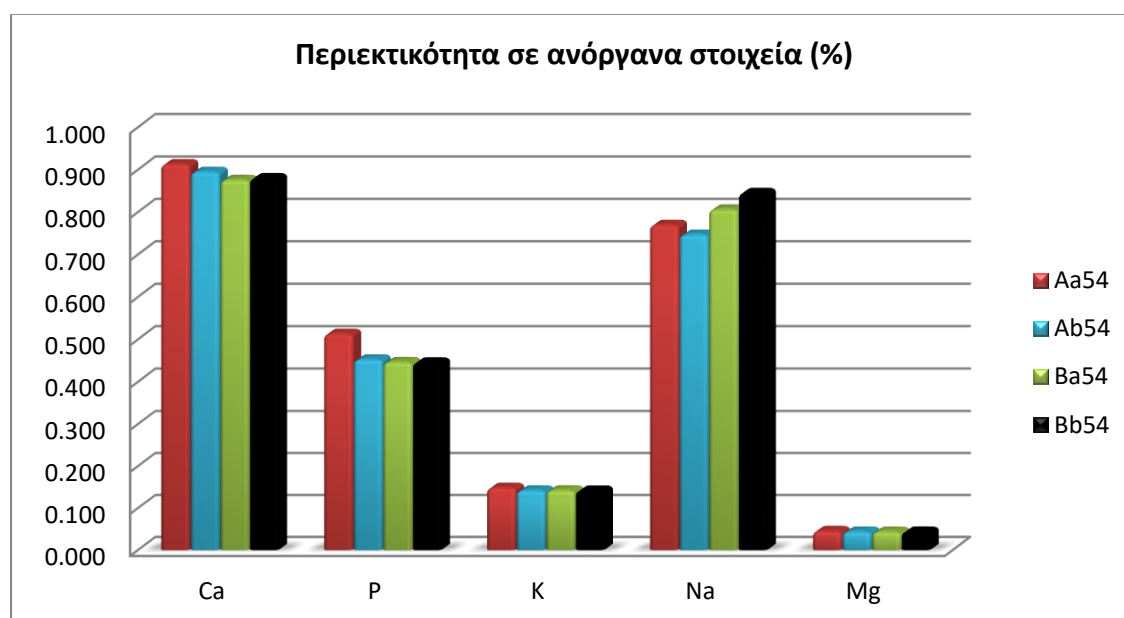
Συμπερασματικά, μόνο η σκληρότητα και η προσκολλησιμότητα μεταβλήθηκαν στατιστικά σημαντικά ($P < 0,05$) κατά την ωρίμαση των τυριών. Ειδικά η σκληρότητα μεταβαλλόταν συνεχώς και είναι και η μόνη παράμετρος που επηρεάστηκε από κάποια επέμβαση του πειράματος. Συγκεκριμένα, το κανονικό αλάτισμα (B) είχε ως αποτέλεσμα στατιστικά σημαντικά ($P < 0,05$) σκληρότερα τυριά.

5.5. ΣΥΣΤΑΣΗ ΤΟΥ ΑΝΟΡΓΑΝΟΥ ΚΛΑΣΜΑΤΟΣ ΤΩΝ ΩΡΙΜΩΝ ΤΥΡΙΩΝ

5.5.1. Σύσταση της τέφρας των ώριμων τυριών

Πίνακας 5.5.1. Περιεκτικότητα σε τέφρα και ανόργανα στοιχεία των ημίσκληρων τυριών από μίγμα αίγειου γάλακτος με άπαχο αγελαδινό επεξεργασμένο σε 72°C για 10 min στην ηλικία των 54 ημερών. Οι τιμές είναι ο μέσος όρος τριών πειραμάτων \pm τυπική απόκλιση.

Τυρί/ Ηλικία	Τέφρα %	Ca (g/100g)	P (g/100g)	K (g/100g)	Na (g/100g)	Mg (g/100g)	
Aa54	<i>μ.ο.</i>	4.839	0.913	0.513	0.148	0.770	0.046
	<i>τ.α.</i>	0.164	0.091	0.062	0.020	0.053	0.004
Ab54	<i>μ.ο.</i>	4.634	0.895	0.453	0.142	0.747	0.044
	<i>τ.α.</i>	0.335	0.068	0.054	0.017	0.076	0.004
Ba54	<i>μ.ο.</i>	4.801	0.876	0.447	0.142	0.806	0.044
	<i>τ.α.</i>	0.279	0.083	0.043	0.019	0.077	0.003
Bb54	<i>μ.ο.</i>	4.824	0.880	0.446	0.142	0.845	0.044
	<i>τ.α.</i>	0.208	0.073	0.020	0.013	0.063	0.003



Εικόνα 5.5.1. Περιεκτικότητα της τέφρας σε ανόργανα στοιχεία των ημίσκληρων τυριών από μίγμα αίγειου γάλακτος με άπαχο αγελαδινό επεξεργασμένο σε 72°C για 10 min, στις 54 ημέρες.

Πίνακας 5.5.2. Ανάλυση παραλλακτικότητας (P-values) των μεταβλητών των ανόργανων συστατικών των ημίσκληρων τυριών από μίγμα αίγειου γάλακτος με άπαχο αγελαδινό επεξεργασμένο σε 72°C για 10 min, στην ηλικία των 54 ημερών.

Μεταβλητές	Παράγοντες		
	Συνθήκες ωρίμασης	Αλάτισμα	Στάδιο ωρίμασης
Τέφρα %	0.554	0.621	-
Ca (g/100g)	0.884	0.586	-
P (g/100g)	0.295	0.217	-
K (g/100g)	0.746	0.763	-
Na (g/100g)	0.845	0.125	-
Mg (g/100g)	0.778	0.72	-

Οι τέσσερις υπο-ομάδες των πειραματικών τυριών περιείχαν σχεδόν ίσο ποσοστό τέφρας και η στατιστική ανάλυση (Πίνακας 5.5.2) δεν εντόπισε στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P < 0,05$). Το ίδιο ίσχυσε και για τα ανόργανα στοιχεία. Σχετικά με το Na, αυτό δεν ήταν αναμενόμενο, δεδομένου ότι τα τυριά της ομάδας B περιείχαν 25% περισσότερο NaCl. Όπως φαίνεται στον Πίνακα 5.5.1, το Na ήταν περισσότερο στα τυριά της ομάδας B, αν και όχι στατιστικά σημαντικά. Όμως, το Na είναι το 39,3% της μάζας του NaCl.

Σε όλους τους τύπους τυριού η αύξηση της αναλογίας καζεΐνης προς λίπος έχει ως αποτέλεσμα υψηλότερη περιεκτικότητα σε υγρασία, και κατ' επέκταση σε υψηλότερο ποσοστό τέφρας (καθώς το υψηλότερο ποσοστό υγρασίας θα περιέχει και περισσότερα διαλυτά στερεά συστατικά). Η μείωση της αναλογίας καζεΐνης προς λίπος επιφέρει το αντίθετο αποτέλεσμα (Fox *et al.* 2000). Στην περίπτωση των πειραματικών τυριών, παρατηρείται η αντίθετη σχέση, αφού η υπο-ομάδα Ab με τον υψηλότερο λόγο P/F περιέχει και το μικρότερο ποσοστό τέφρας.

Δηλαδή, η τεχνολογία που εφαρμόστηκε είχε ως αποτέλεσμα την παραγωγή ημίσκληρων τυριών με ενισχυμένη περιεκτικότητα σε Ca και P που προσομοίαζε αυτή των σκληρών τυριών όπως της Κεφαλογραβιέρας ($0,850 \pm 92\%$), ακόμη και της Γραβιέρας ($0,963 \pm 105\%$), παρά τα λιγότερα στερεά τους συστατικά και το χαμηλότερο pH (Nega *et al.* 2011). Επίσης, παρά την διαφορά του αλατιού μεταξύ των τυριών A και B, δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά για το Ca, αν και το Na του αλατιού μπορεί να αντικαταστήσει το καζεϊνικό-Ca στα τυριά (Upreti *et al.* 2009, Kindsted *et al.* 1992). Στην προκειμένη περίπτωση τα τέσσερα τυριά δεν διέφεραν ως προς το pH και φαίνεται ότι η διαφορά τους ως προς το αλάτι δεν ήταν ικανή να προκαλέσει στατιστικά σημαντικές διαφορές.

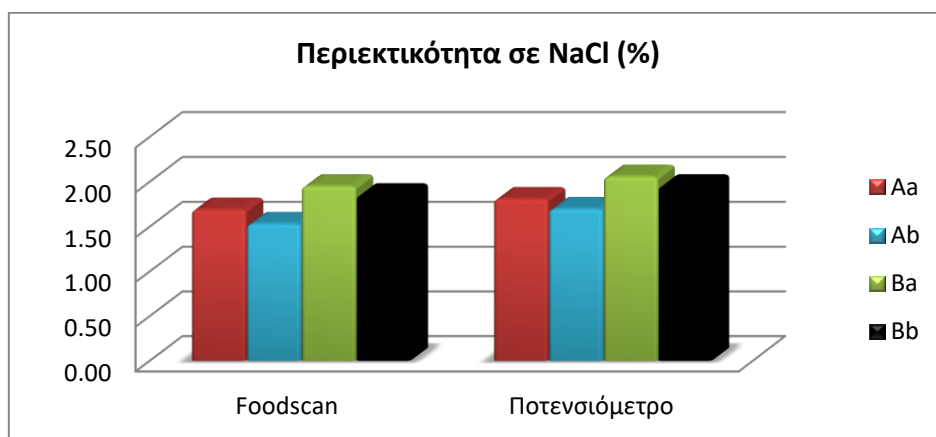
Συμπερασματικά, όλες οι επεμβάσεις που έγιναν δεν επέδρασαν στην περιεκτικότητα και τη λεπτομερή σύσταση του ανόργανου κλάσματος των ώριμων τυριών.

5.5.2. Χλωριούχο νάτριο των ώριμων τυριών

Η ανάλυση αυτή με την ποτενσιομετρική μέθοδο αναφοράς έγινε μόνο στα ώριμα τυριά με κύριο σκοπό τον έλεγχο των αυτοματοποιημένων αναλύσεων.

Πίνακας 5.5.3. Περιεκτικότητα σε NaCl των ημίσκληρων τυριών 54 ημερών από μίγμα αίγειου γάλακτος με άπαχο αγελαδινό επεξεργασμένο σε 72°C για 10 min. Οι τιμές είναι ο μέσος όρος τριών πειραμάτων.

Ομάδα	Foodscan %	Ποτενσιομετρική μέθοδος %	Διαφορά
Aa	1.69	1.81	+0.12
Ab	1.53	1.70	+0.17
Ba	1.95	2.06	+0.11
Bb	1.85	1.95	0.10



Εικόνα 5.5.2. Περιεκτικότητα σε NaCl των ημίσκληρων τυριών από μίγμα αίγειου γάλακτος με άπαχο αγελαδινό επεξεργασμένο σε 72°C για 10 min, στην ηλικία των 54 ημερών.

Η συσχέτιση μεταξύ των αναλύσεων με την ποτενσιομετρική μέθοδο και του Foodscan™ θεωρείται καλή ($R^2=0.909$) παρά το γεγονός ότι έγιναν σε χρονική απόσταση μεταξύ τους και σε διαφορετικά κομμάτια των τυριών. Είναι αξιοσημείωτη η ταύτιση των σχετικών συγκεντρώσεων που παρουσιάζονται στις Εικόνες 5.5.1 και 5.5.2.

5.6. ΧΡΩΜΑ ΚΑΙ ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΩΝ ΩΡΙΜΩΝ ΤΥΡΙΩΝ

5.6.1. Μέτρηση χρώματος

Οι παράμετροι χρώματος των τυριών 120 ημερών παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.6.1 και η στατιστική ανάλυση στον Πίνακα 5.6.2. Ο παράγοντας **L*** αναφέρεται σε φωτεινότητα και αυξάνεται από το 0 έως το 100, ο **a*** σε κόκκινο προς πράσινο (από τις θετικές προς τις αρνητικές τιμές) και ο **b*** σε κίτρινο προς κυανό (από τις θετικές προς τις αρνητικές τιμές) (Sheehan *et al.* 2005).

Η στατιστική ανάλυση δεν έδειξε στατιστικά σημαντική διαφοροποίηση ($P>0.05$) ως προς το χρώμα των πειραματικών τυριών παρά τις σποραδικές διαφορές που εμφανίζονται στον Πίνακα 5.6.1. Επομένως, οι επεμβάσεις του πειράματος (αλάτισμα, θερμοκρασία ωρίμασης) δεν επέδρασαν στο χρώμα των ώριμων τυριών.

Πίνακας 5.6.1. Τιμές χρωματομετρίας για τα ημίσκληρα τυριά ηλικίας 120 ημερών, παρασκευασμένα από μίγμα αίγειου γάλακτος με άπαχο αγελαδινό επεξεργασμένο σε 72 °C για 10 min. Οι τιμές είναι ο μέσος όρος (μ.ο.) τριών πειραμάτων \pm τυπική απόκλιση (τ.α.).

Ομάδα		L*	a*	b*
Aa	μ.ο.	86.07	-2.82	12.55
	τ.α.	0.98	0.31	0.41
Ab	μ.ο.	87.50	-2.73	12.94
	τ.α.	1.44	0.42	0.77
Ba	μ.ο.	87.17	-2.64	12.36
	τ.α.	1.91	0.32	0.48
Bb	μ.ο.	86.42	-2.79	13.11
	τ.α.	1.67	0.28	1.75

Πίνακας 5.6.2. Ανάλυση παραλλακτικότητας (P-values) των χρωματομετρικών μεταβλητών των ημίσκληρων τυριών 120 ημερών από μίγμα αίγειου γάλακτος με άπαχο αγελαδινό επεξεργασμένο σε 72 °C για 10 min.

Μεταβλητές	Παράγοντες		
	Συνθήκες ωρίμασης	Αλάτισμα	Στάδιο ωρίμασης
L*	0.716	0.993	-
a*	0.881	0.778	-
b*	0.356	0.987	-

5.6.2. Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά

Ο οργανοληπτικός έλεγχος είναι μια επιστημονική μέθοδος η οποία μετρά ανθρώπινες αντιδράσεις σε εξωτερικά ερεθίσματα (Foegeding & Drake, 2007). Η οργανοληπτική αξιολόγηση των τροφίμων έχει οριστεί από την επιτροπή E-18 της Αμερικανικής Κοινότητας Ελέγχου και Υλικών ως «ένας κλάδος της επιστήμης που χρησιμοποιείται για να προκαλέσει, να μετρήσει, να αναλύσει και να ερμηνεύσει τις αντιδράσεις με τα χαρακτηριστικά των τροφίμων όπως αυτά γίνονται αντιληπτά από τις αισθήσεις της όρασης, της γεύσης, της αφής και της ακοής» (Delahunty & Drake, 2004).

Τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των τυριών είναι ιδιότητες οι οποίες γίνονται αντιληπτές από τις ανθρώπινες αισθήσεις κατά την κατανάλωσή τους. Δηλαδή, είναι αποτέλεσμα αλληλεπιδράσεων των ανθρώπινων αισθήσεων όπως η όραση, η αφή, η όσφρηση, η γεύση και η αίσθηση στο στόμα. Τα ερεθίσματα προκύπτουν από τις ρεολογικές ιδιότητες, τα δομικά και χημικά συστατικά του τυριού. Η πλειονότητα των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών είναι περίπλοκη και για αυτό είναι δύσκολο να εκφραστεί αντιπροσωπευτικά από χημικές και εργαστηριακές αναλύσεις. Τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά τη στιγμή της κατανάλωσης ενός τυριού αντανακλούν το γάλα από το οποίο τυροκομήθηκε, την επεξεργασία που υπέστη και τις φυσικές και χημικές αλλαγές που έλαβαν χώρα κατά τη διάρκεια της ωρίμασης. Αυτές οι ιδιότητες μπορούν να περιγραφούν ως χαρακτηριστικά εμφάνισης, γεύσης-άρωματος και υφής. Η οργανοληπτική αξιολόγηση των τυριών είναι απολύτως αναγκαία έτσι ώστε να αναγνωριστούν τα σχετικά προτερήματα των διαδικασιών τυροκόμησης και η επιρροή που ασκεί η σύστασή τους. Επίσης, μέσω της οργανοληπτικής αξιολόγησης μπορούν να καθοριστούν η ποιότητα του τυριού και η αποδοχή από τον καταναλωτή (Delahunty & Drake, 2004).

Η επεξεργασία των τροφίμων στο στόμα επιτυγχάνεται σε τρία στάδια: την τοποθέτηση στο στόμα, τη μάσηση και την κατάποση. Εκ των τριών σταδίων, η μάσηση αναφέρεται ως «υποκειμενική μασητική λειτουργία», καθώς αντανακλά την ικανότητα του ατόμου να αλέθει/κονιοποιεί τη μάζα του τροφίμου, και επηρεάζεται από μασητικούς παράγοντες, τη μέγιστη δύναμη δαγκώματος, την οργανοληπτική αντίληψη, το χειρισμό του τροφίμου, την ηλικία, την έκκριση σάλιου, το κατώτατο όριο κατάποσης, την υφή και το άρωμα-γεύση του τροφίμου (Foegeding & Drake, 2007).

Οι διαφορετικές μέθοδοι για την οργανοληπτική αξιολόγηση συνοψίζονται στις παρακάτω (Fox *et al.* 2000, Delahunty & Drake, 2004):

- Βαθμολόγηση ποιότητας
- Δοκιμή διάκρισης
- Δοκιμή περιγραφής

- Δοκιμή χρόνου – έντασης
- Δοκιμή αποδοχής από τον καταναλωτή

Για την οργανοληπτική αξιολόγηση των πειραματικών τυριών χρησιμοποιήθηκε ένας συνδυασμός της βαθμολόγησης ποιότητας και της περιγραφικής ανάλυσης, η οποία χαρακτηρίζεται από τους Foegeding & Drake (2007) ως η ισχυρότερη αναλυτική δοκιμή οργανοληπτικής αξιολόγησης. Η βαθμολόγηση της ποιότητας αποτελεί την πιο παραδοσιακή και ευρέως διαδεδομένη επίσημη οργανοληπτική αξιολόγηση στη βιομηχανία παραγωγής τυροκομικών προϊόντων. Το ερωτηματολόγιο που εφαρμόστηκε στην παρούσα μελέτη περιλάμβανε και στοιχεία «ελεύθερης επιλογής» (Free-Choice Profiling, FCP). Σύμφωνα με αυτή τη μέθοδο, μη εκπαιδευμένοι δοκιμαστές περιγράφουν την κατατομή του τυριού χρησιμοποιώντας δικό τους λεξιλόγιο. Τα πλεονεκτήματα της μεθόδου FCP είναι η ακρίβεια, η ταχύτητα και το χαμηλό κόστος, αφού χρησιμοποιούνται μη-εκπαιδευμένοι δοκιμαστές. Τα μειονεκτήματα είναι η δυσκολία καταγραφής της έντασης των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών και η απουσία κοινού λεξιλογίου (Delahunty & Drake, 2004). Όμως στο παρόν ερωτηματολόγιο υπήρχε καθοδήγηση των δοκιμαστών για ορισμένους χαρακτηρισμούς των οργανοληπτικών ιδιοτήτων.

Έρευνες που έχουν γίνει πάνω στην ωρίμαση του Cheddar δείχνουν πως συνολικά, η ένταση της οσμής, της γεύσης-αρώματος και της επίγευσης καθορίζεται από τη διάρκεια και τη θερμοκρασία της ωρίμασης. Επίσης η διάρκεια και η θερμοκρασία ωρίμασης μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα την μείωση γεύσεων όπως η κρεμώδης/γαλακτώδης και η βουτυρώδης, ή την ένταση άλλων όπως η πικρή, η ξινή, η ταγγισμένη και η πικάντικη.

Κάποιες ιδιότητες της υφής όπως η συνεκτικότητα, επηρεάζονται από τη διαδικασία τυροκόμησης και τη σύσταση του τυριού, ενώ η αίσθηση «κάλυψης» της στοματικής κοιλότητας σχετίζεται με τη διάρκεια της ωρίμασης. Όσο προχωρά η ωρίμαση, η ελαστικότητα μειώνεται, ενώ η ευθρυπτότητα και η κρεμώδης αίσθηση αυξάνονται. Τυριά πλήρους λιποπεριεκτικότητας είναι πιο κρεμώδη, βουτυρώδη και με πιο έντονη τη γεύση καραμέλας σε σχέση με αντίστοιχα Cheddar μειωμένης λιποπεριεκτικότητας. Ο τύπος της εναρκτήριας καλλιέργειας μπορεί να επιφέρει διαφορές στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά μεταξύ τυριών Cheddar (Delahunty & Drake, 2004).

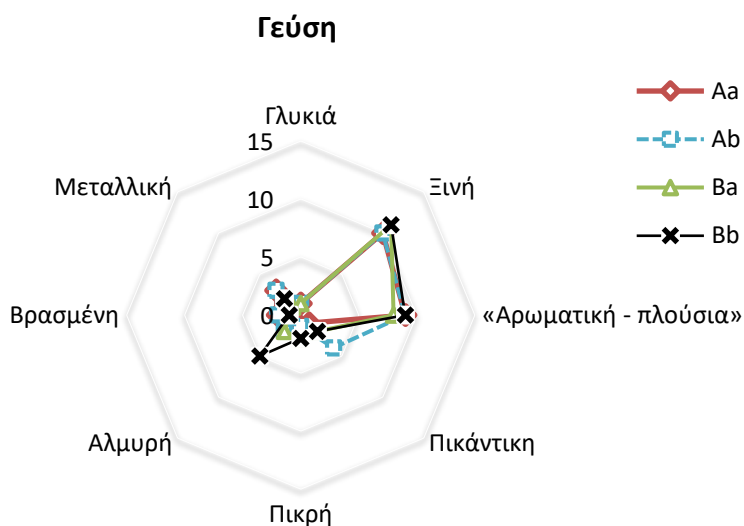
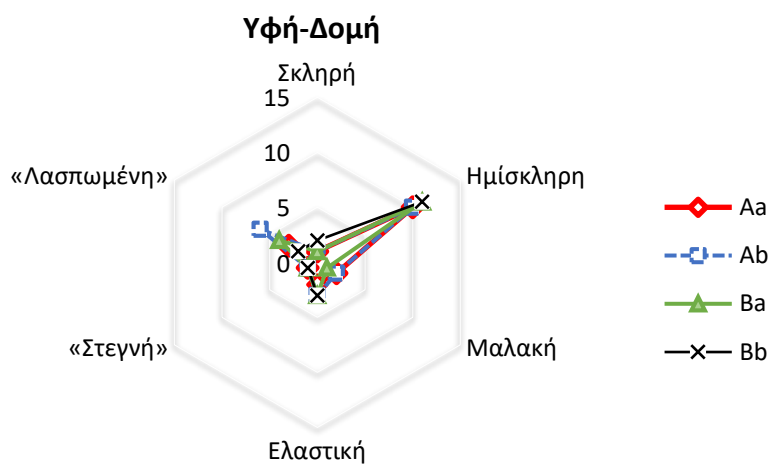
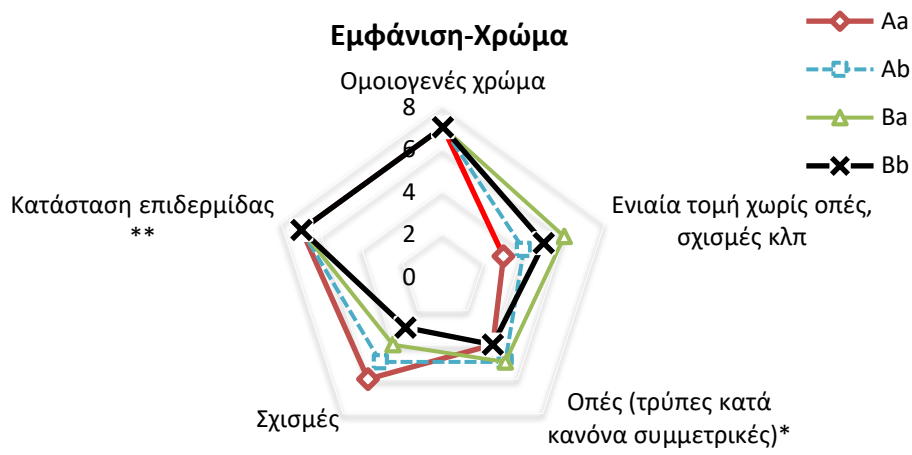
Πίνακας 5.6.3. Αποτελέσματα αξιολόγησης οργανοληπτικών χαρακτηριστικών ημίσκληρων τυριών 120 ημερών από μίγμα αίγειου γάλακτος με άπαχο αγελαδινό επεξεργασμένο σε 72°C για 10 min.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΟ	Aa	Ab	Ba	Bb
ΕΜΦΑΝΙΣΗ-ΧΡΩΜΑ (0-10 βαθμοί)	8,1	8,3	8,1	8,4
ΥΦΗ-ΔΟΜΗ (0-40 βαθμοί)	32,2	33,5	33,3	34,7
ΓΕΥΣΗ-ΟΣΜΗ (0-50 βαθμοί)	38,2	41,3	38,4	40
ΣΥΝΟΛΙΚΗ ΒΑΘΜΟΛΟΓΙΑ (0-100 βαθμοί)	78,4	83,1	79,8	83,1

Πίνακας 5.6.4. Ανάλυση παραλλακτικότητας (P-values) των μεταβλητών οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των ημίσκληρων τυριών 120 ημερών από μίγμα αίγειου γάλακτος με άπαχο αγελαδινό επεξεργασμένο σε 72°C για 10 min.

Μεταβλητές	Παράγοντες		
	Συνθήκες ωρίμασης	Αλάτισμα	Στάδιο ωρίμασης
Εμφάνιση	0.335	0.912	-
Υφή-Δομή	0.305	0.305	-
Γεύση-Αρωμα	0.276	0.801	-
Συνολική Βαθμολογία	0.261	0.819	-

Τα αριθμητικά αποτελέσματα της αξιολόγησης των οργανοληπτικών ιδιοτήτων παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.6.3. Στον Πίνακα 5.6.4 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της αντίστοιχης στατιστικής ανάλυσης. Τα τυριά b που ωρίμασαν σε χαμηλότερη θερμοκρασία, ανεξάρτητα από το επίπεδο αλατίσματος είχαν υψηλότερη συνολική βαθμολογία, η οποία όμως δεν ήταν στατιστικά σημαντική. Όπως φαίνεται από τον Πίνακα 5.6.3, η αυξημένη συνολική βαθμολογία τους διαμορφώνεται από την αυξημένη βαθμολογία και των τριών παραμέτρων που αξιολογήθηκαν.



Εικόνα 5.6.1. Αξιολόγηση εμφάνισης, υφής και γεύσης των ημίσκληρων τυριών 120 ημερών από μίγμα αίγειου γάλακτος με άπαχο αγελαδινό επεξεργασμένο σε 72°C για 10 min.

Aa: Μειωμένο αλάτι, υψηλή θερμοκρασία ωρίμασης, Ab: Μειωμένο αλάτι, χαμηλή θερμοκρασία ωρίμασης

Ba: Κανονικό αλάτι, υψηλή θερμοκρασία ωρίμασης, Bb: Κανονικό αλάτι, χαμηλή θερμοκρασία ωρίμασης

Ο άνθρωπος επιτρέπει στην όραση να κυριαρχεί έναντι των άλλων αισθήσεων. Τα χαρακτηριστικά της εμφάνισης ενός τυριού δημιουργούν προσδοκίες σε σχέση με τον οργανοληπτικό χαρακτήρα των τυριών (Delahunty & Drake, 2004). Σύμφωνα με τους δοκιμαστές, το σύνολο των πειραματικών τυριών της παρούσας μελέτης χαρακτηρίζονταν από ομοιογενές χρώμα και αποδεκτή, λεία επιφάνεια. Η υφή μπορεί να οριστεί ως το χαρακτηριστικό ενός τυριού, το οποίο προκύπτει από το συνδυασμό φυσικών ιδιοτήτων, όπως το μέγεθος, το σχήμα, ο αριθμός, η διάταξη και η φύση των δομικών σχηματισμών. Γίνεται αντιληπτή μέσω της αφής, της όρασης και της ακοής (Delahunty & Drake, 2004).

Η γεύση και το άρωμα ορίζεται ως η ολοκληρωμένη αντίληψη των ερεθισμάτων μέσω της όσφρησης, της γεύσης και της «χημικής αίσθησης» (chemesthesis). Το άρωμα είναι συνήθως η πρώτη ιδιότητα με την οποία έρχεται σε επαφή ο καταναλωτής. Τα πτητικά συστατικά που διαμορφώνουν το άρωμα εισέρχονται πριν εισαχθεί το τυρί στη στοματική κοιλότητα, αλλά και ελευθερώνονται κατά τη μάσηση. Η γεύση διαμορφώνεται από ενώσεις όπως το γαλακτικό οξύ, το χλωριούχο νάτριο, τα μεταλλικά άλατα του καλίου, του ασβεστίου και του μαγνησίου, καθώς και τα ελεύθερα αμινοξέα και πεπτίδια. Η χημική αίσθηση ως όρος περιγράφει την ανίχνευση χημικών ερεθιστικών ουσιών, για παράδειγμα την πικάντικη αίσθηση, το «γαργάλημα» και την οξύτητα ενός ώριμου τυριού όπως το Cheddar (Delahunty & Drake, 2004).

Όλα τα τυριά έχουν ομοιογενές χρώμα και άριστη κατάσταση επιδερμίδας. Όπως φαίνεται στην Εικόνα 5.6.1 τα τυριά Ba και Bb με αυξημένο αλάτι είχαν την πιο ενιαία τομή, ενώ ως προς τις οπές υπερετερούσαν τα αντίστοιχα A. Λαμβάνοντας υπόψη την ηλικία των τυριών και τον περιορισμό που ασκεί το αλάτι σε ορισμένα βακτήρια, η εικόνα αυτή μπορεί να αποδοθεί σε τυχαία παραγωγή διοξειδίου του άνθρακα από τη ζύμωση του γαλακτικού οξέος ή/και την αποκαρβοξυλίωση των αμινοξέων από τα NSLAB (McSweeney & Fox, 2004). Επίσης, είναι ενδιαφέρον ότι τα τυριά a που ωρίμασαν σε υψηλότερη θερμοκρασία είχαν λιγότερο ενιαία τομή και περισσότερες σχισμές σε σχέση με τα αντίστοιχά τους που ωρίμασαν στη χαμηλή θερμοκρασία (b). Μάλιστα τα δεύτερα πήραν υψηλότερη βαθμολογία ως προς την παράμετρο «εμφάνιση-χρώμα». Η αποτύπωση αυτή είναι σε συμφωνία με τη γενική αρχή ότι η μείωση της θερμοκρασίας περιορίζει την εξέλιξη των ζυμώσεων στο τυρί.

Ως προς τη δομή όλα τα τυριά χαρακτηρίστηκαν ως ημισκληρα. Όμως, υπερισχύει ο χαρακτηρισμός «λασπωμένη» για τα Ab (χαμηλό αλάτι, χαμηλή θερμοκρασία ωρίμασης) και «ελαστική» και «λασπωμένη» για τα Bb (κανονικό αλάτι, χαμηλή θερμοκρασία).

Όλα τα τυριά χαρακτηρίστηκαν «ξινά» σε συμφωνία με το χαμηλό pH τους (pH~5,0). Όλα είχαν «αρωματική-πλούσια» γεύση, ενώ τα Ab (χαμηλό αλάτι, χαμηλή θερμοκρασία ωρίμασης) χαρακτηρίστηκαν πιο «πικάντικα» από τα υπόλοιπα. Περισσότερο αλμυρά

χαρακτηρίστηκαν τα τυριά Bb (κανονικό αλάτι, χαμηλή θερμοκρασία ωρίμασης) που ήταν και τα πιο ελαστικά. Σε κανένα τυρί δεν ανιχνεύθηκε πικρή γεύση που είναι ένα σημαντικό ελάττωμα των τυριών Ολλανδικού τύπου.

Ως προς την αξιολόγηση του βαθμού ωριμότητας, όλες οι απαντήσεις των συμμετεχόντων στην οργανοληπτική αξιολόγηση χαρακτήρισαν ως «ώριμα» όλα τα δείγματα.

Συμπερασματικά, η υψηλότερη μη-στατιστικά σημαντική βαθμολογία των τυριών b που ωρίμασαν σε χαμηλότερη θερμοκρασία ανεξάρτητα από το αλάτισμα, συνυπήρχε με εντονότερη αποτύπωση των χαρακτηρισμών «ενιαία τομή», «ελαστική δομή», «πικάντικη», «αρωματική-πλούσια» γεύση.

5.7. ΑΝΑΛΥΣΗ ΚΥΡΙΩΝ ΣΥΝΙΣΤΩΣΩΝ (PRINCIPAL COMPONENT ANALYSIS, PCA)

Για τη διερεύνηση και αποτύπωση των τάσεων των ευρημάτων της παρούσας μελέτης εφαρμόστηκε η ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA). Σκοπός ήταν να επιτευχθεί μια πιο απλή αποτύπωση των αποτελεσμάτων «συμπυκνώνοντας» το μεγάλο αριθμό μεταβλητών που μελετήθηκαν προς νέες πολύ λιγότερες, σε αριθμό που δεν συσχετίζονται μεταξύ τους και ονομάζονται κύριες συνιστώσες (principal components). Προκειμένου να επιτευχθεί το καλύτερο αποτέλεσμα, δηλαδή να εξηγείται το μεγαλύτερο ποσοστό παραλλακτικότητας των μεταβλητών με τον μικρότερο αριθμό κύριων συνιστωσών έγιναν δύο διαφορετικές αναλύσεις.

Η πρώτη έγινε λαμβάνοντας υπόψη δώδεκα μεταβλητές των τυριών 9-120 ημερών και των 28 έως 120 ημερών:

- pH
- α_w
- Λίπος %
- Πρωτεΐνη %
- Υγρασία %
- Αλάτι %
- MNFS %
- Υγρασία / Πρωτεΐνη
- S/M %
- RP-HPLC 10-55 min
- RP-HPLC 55-100 min
- HB/HL

Για τα τυριά 9-120 ημερών αναγνωρίστηκαν τρεις κύριες συνιστώσες, οι οποίες εξηγούν το 87,185% της παραλλακτικότητας, ενώ για τα τυριά 28-120 ημερών αναγνωρίστηκαν τέσσερεις κύριες συνιστώσες, εξηγώντας το 92,905% της παραλλακτικότητας. Οι κύριες συνιστώσες που προέκυψαν παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.7.1 και οι αντίστοιχοι συντελεστές βαρύτητας στον Πίνακα 5.7.2. Στην Εικόνα 5.7.1 απεικονίζονται τα ιδιοδιανύσματα και στην Εικόνα 5.7.2 γίνεται αποτύπωση των τυριών σε σχέση με τις δύο πρώτες κύριες συνιστώσες. Στην αποτύπωση Α είναι κυρίαρχη η ομαδοποίηση των τυριών 9 ημερών, εξαιτίας του πρώιμου σταδίου ωρίμασης όπως προαναφέρθηκε νωρίτερα. Πράγματι, η αποτύπωση Β ήταν πιο επιτυχής. Σε αυτήν τα τυριά Β ανεξάρτητα συνθηκών ωρίμασης και ηλικίας βρίσκονται κατά κανόνα στην περιοχή του διαγράμματος, Από τον Πίνακα 5.7.2

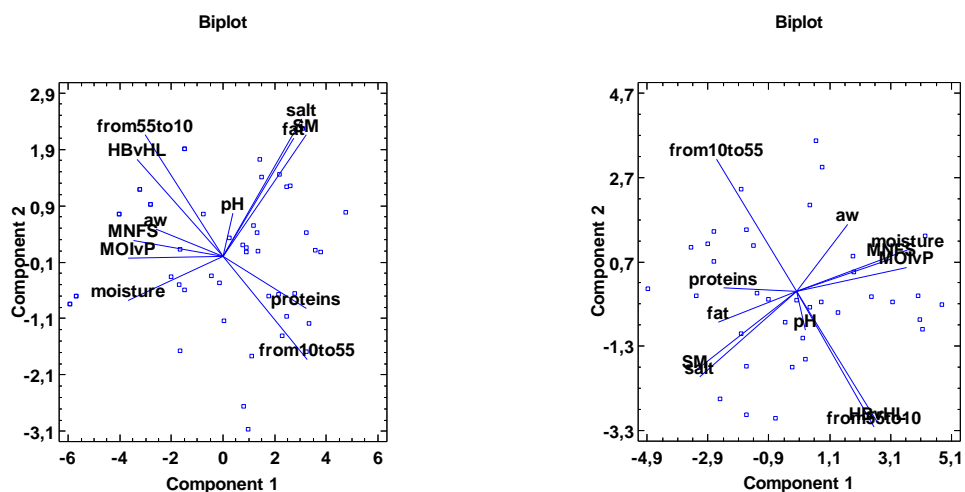
προκύπτει ότι το αλάτι και το S/M που διέφερε μεταξύ των τυριών Α και Β είχαν μεγάλη και αρνητική συμμετοχή στη διαμόρφωση των δύο κύριων συνιστωσών.

Πίνακας 5.7.1. Ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA) για ημίκληρα τυριά 9-120 ημερών και 28-120 ημερών, για 12 μεταβλητές

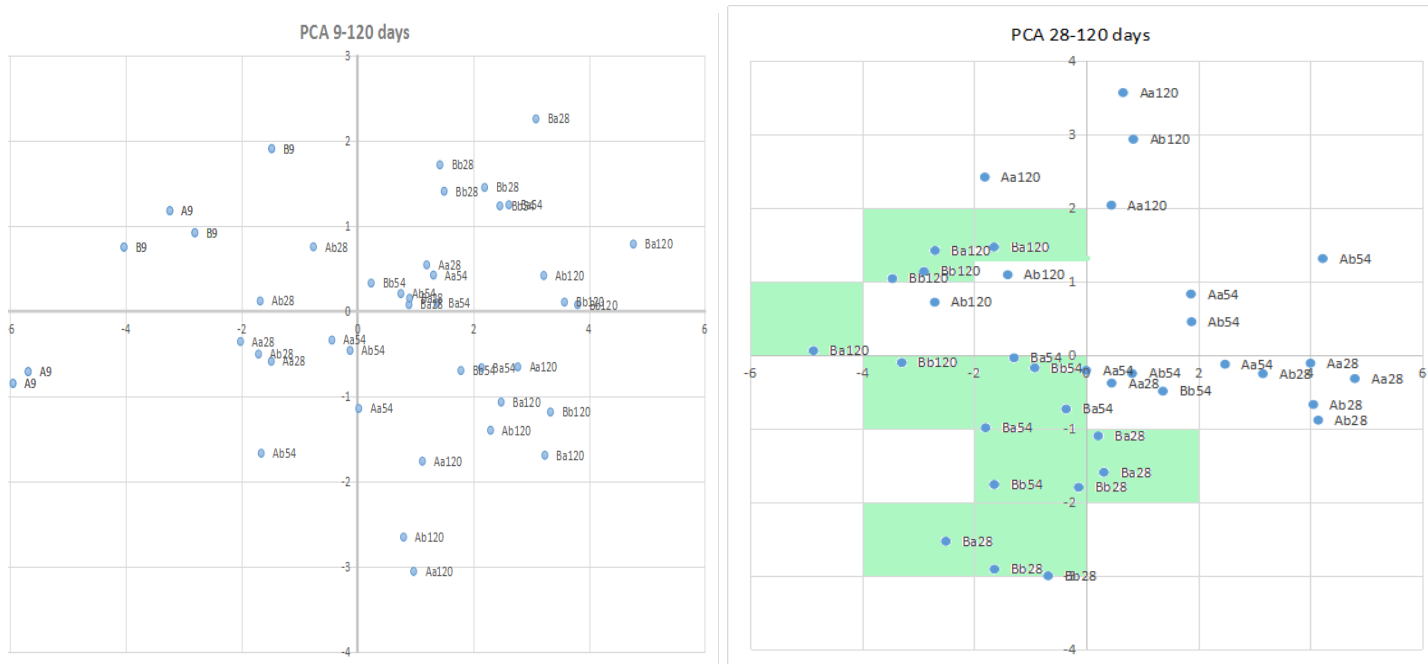
Κύρια Συνιστώσα 9-120 d	Ιδιοδιάνυσμα	Ποσοστό παραλλακτικότητας %	Αθροιστικό ποσοστό %	Κύρια Συνιστώσα 28-120 d	Ιδιοδιάνυσμα	Ποσοστό παραλλακτικότητας %	Αθροιστικό ποσοστό %
1	7,9745	66,454	66,454	1	6,09781	50,815	50,815
2	1,40751	11,729	78,183	2	2,27547	18,962	69,777
3	1,08015	9,001	87,185	3	1,607	13,392	83,169
4	0,853768	7,115	94,299	4	1,16836	9,736	92,905
5	0,493899	4,116	98,415	5	0,597827	4,982	97,887
6	0,106422	0,887	99,302	6	0,141679	1,181	99,068
7	0,0508414	0,424	99,726	7	0,0895287	0,746	99,814
8	0,0259109	0,216	99,942	8	0,0173488	0,145	99,959
9	0,00529192	0,044	99,986	9	0,00369094	0,031	99,989
10	0,00132025	0,011	99,997	10	0,00108106	0,009	99,998
11	0,00036972	0,003	100,000	11	0,00019625	0,002	100,000
12		0,000	100,000	12	0,000011579	0,000	100,000

Πίνακας 5.7.2. Συντελεστές για τη διαμόρφωση των κύριων συνιστωσών (12 μεταβλητές).

9-120 d	Component	Component	Component	28-120 d	Component	Component	Component	Component
	1	2	3		1	2	3	4
pH	0,037	0,145	0,835	pH	0,030	-0,139	0,175	0,800
α_w	-0,243	0,093	-0,232	α_w	0,175	0,241	-0,079	0,515
Λίπος	0,255	0,393	-0,188	Λίπος	-0,266	-0,111	-0,522	0,243
Πρωτεΐνες	0,302	-0,173	0,269	Πρωτεΐνες	-0,246	0,013	0,608	0,032
Υγρασία	-0,345	-0,148	-0,009	Υγρασία	0,379	0,148	0,099	-0,129
Αλάτι	0,284	0,458	-0,161	Αλάτι	-0,328	-0,308	-0,217	-0,065
MNFS	-0,324	0,052	-0,136	MNFS	0,325	0,117	-0,386	0,050
Υγρ./Πρωτ.	-0,343	-0,004	-0,124	Υγρ./Πρωτ.	0,377	0,085	-0,235	-0,096
S/M	0,303	0,407	-0,133	S/M	-0,343	-0,286	-0,203	-0,028
RP-HPLC 10-55 min	0,305	-0,343	-0,137	RP-HPLC 10-55 min	-0,272	0,476	-0,111	0,015
RP-HPLC 55-100 min	-0,281	0,406	0,191	RP-HPLC 55-100 min	0,266	-0,490	0,011	0,017
HB/HL	-0,313	0,323	0,092	HB/HL	0,275	-0,473	0,081	-0,017



Εικόνα 5.7.1. Απεικόνιση ιδιοδιανυσμάτων για ημίσκληρα τυριά 9-120 ημερών (αριστερά) και 28-120 ημερών (δεξιά), για 12 μεταβλητές.



Εικόνα 5.7.2. Διάγραμμα κύριων συνιστωσών των μεταβλητών των ημίσκληρων τυριών για τις 9-120 ημερών (αριστερά) και τις 28-120 ημερών (δεξιά), για 12 μεταβλητές.

Στη συνέχεια, επαναλήφθηκε η ίδια ανάλυση λαμβάνοντας υπόψη μόνο βασικές τεχνολογικές παραμέτρους και τις επιμέρους περιοχές των RP-HPLC κατατομών των υδατοδιαλυτών εκχυλισμάτων, που θεωρήθηκαν χρήσιμα εργαλεία αποτύπωσης της ωρίμασης σε προηγούμενα τμήματα της μελέτης. Από την περαιτέρω ανάλυση προέκυψαν δύο κύριες συνιστώσες για τα τυριά 9-120 ημερών και τα τυριά 28-120 ημερών (Πίνακες 5.7.3 και 5.7.4, Εικόνες 5.7.3 και 5.7.4).

Στην Εικόνα 5.7.4 είναι εμφανές ότι τα τυριά Β με κανονικό αλάτι χαρακτηρίζονται από θετικό PC1 και αρνητικό PC2. Η ομαδοποίηση των υπο-ομάδων ήταν και πάλι καλύτερη για τα τυριά 28-120 ημερών, εμφανίζοντας τον πιο ξεκάθαρο διαχωρισμό των ομάδων Α και Β. Η κύρια συνιστώσα 1 (PC1) συσχετίζεται θετικά με τις παραμέτρους RP-HPLC 10-40 min και RP-HPLC 10-55 min, και αρνητικά με τις RP-HPLC 70-100 min, RP-HPLC 55-100 min και HB/HL. Η κύρια συνιστώσα 2 (PC2) συσχετίζεται θετικά με τις παραμέτρους που σχετίζονται με την υγρασία (MNFS, υγρασία/πρωτεΐνη και υγρασία) και αρνητικά με την παράμετρο S/M.

Τα αποτελέσματα αυτής της δεύτερης PCA ανάλυσης πλεονεκτούσαν γιατί μικρότερος αριθμός κύριων συνιστωσών με ιδιοδιάνυσμα >1 εξηγούσε πολύ μεγάλο ποσοστό της διασποράς $>90\%$ σε σχέση με την πρώτη ανάλυση του Πίνακα 5.7.1. Μάλιστα στο PC1, το οποίο εξηγεί το μεγαλύτερο ποσοστό διασποράς ($>66\%$), πολύ μεγάλη συμμετοχή είχαν οι RP-HPLC μεταβλητές.

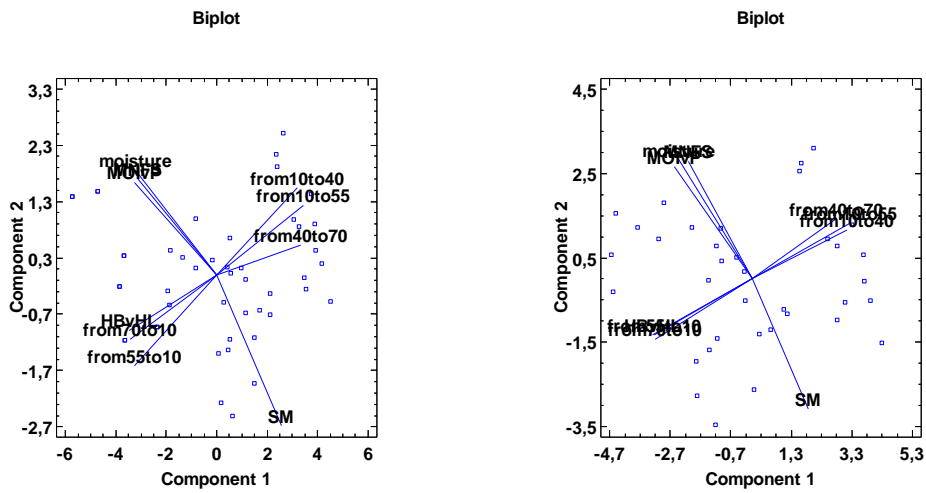
Συμπερασματικά, οι παράμετροι που σχετίζονται με τη σύσταση (υγρασία και αλατοπεριεκτικότητα) και οι παράμετροι που σχετίζονται με τα ποιοτικά χαρακτηριστικά της πρωτεόλυσης διαχωρίζουν επαρκώς τις διαφορετικές ομάδες τυριών. Λαμβάνοντας υπόψη ότι οι στατιστικά σημαντικές διαφορές που εντοπίστηκαν μεταξύ των τυριών του συγκεκριμένου πειράματος ήταν λίγες και συχνά σποραδικές, η Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών έδωσε επιτυχή αποτελέσματα.

Πίνακας 5.7.3. Ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA) για ημίσκληρα τυριά 9-120 ημερών και 28-120 ημερών, για 10 μεταβλητές.

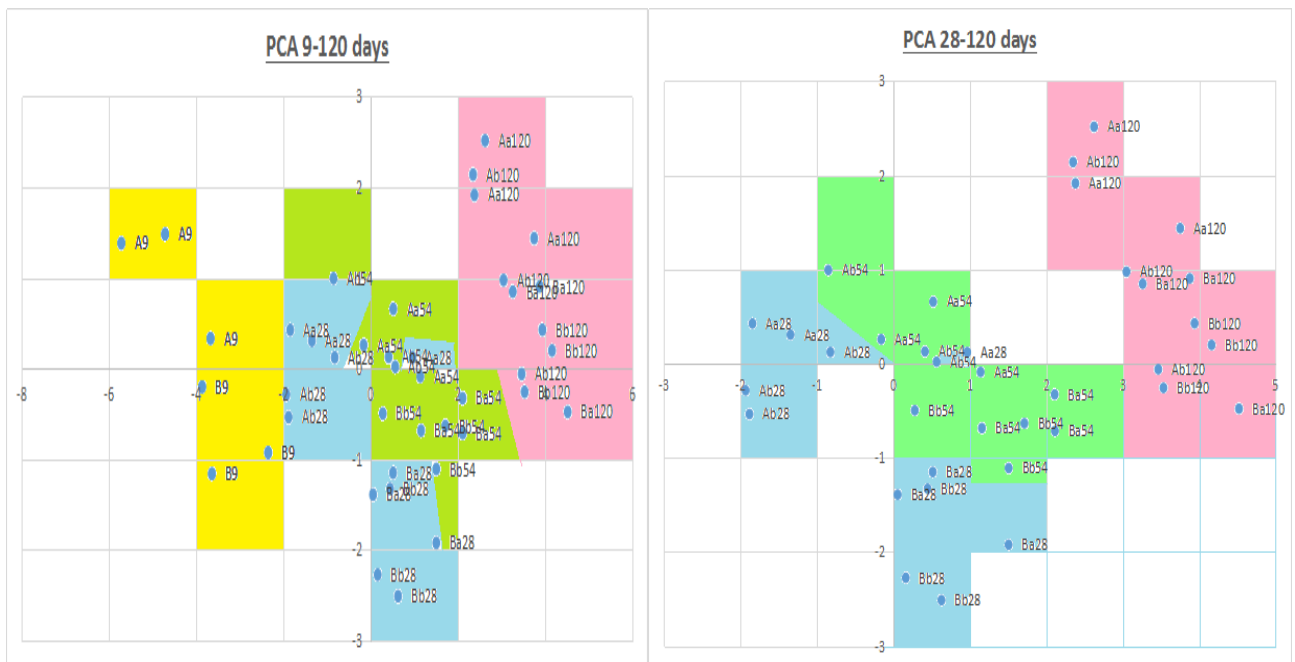
Κύρια Συνιστώσα (A) 9-120 d	Ιδιοδιάνυσμα	Ποσοστό παραλλακτικότητας %	Αθροιστικό ποσοστό %	Κύρια Συνιστώσα (B) 28-120 d	Ιδιοδιάνυσμα	Ποσοστό παραλλακτικότητας %	Αθροιστικό ποσοστό %
1	8,18224	81,822	81,822	1	6,64691	66,469	66,469
2	1,23327	12,333	94,155	2	2,36755	23,675	90,145
3	0,340363	3,404	97,559	3	0,484376	4,844	94,988
4	0,149022	1,490	99,049	4	0,359346	3,593	98,582
5	0,0496198	0,496	99,545	5	0,0723127	0,723	99,305
6	0,0250051	0,250	99,795	6	0,0344787	0,345	99,650
7	0,0124729	0,125	99,920	7	0,0258706	0,259	99,908
8	0,00588353	0,059	99,979	8	0,00681181	0,068	99,977
9	0,00212421	0,021	100,000	9	0,00234643	0,023	100,000
10	4,90763	0,000	100,000	10	8,54102	0,000	100,000

Πίνακας 5.7.4. Συντελεστές για τη διαμόρφωση των κύριων συνιστωσών για ημίσκληρα τυριά 9-120 ημερών και 28-120 ημερών, για 10 μεταβλητές.

9-120 d	Component	Component	28-120 d	Component	Component
	1	2		1	2
S/M	0,251415	-0,533468	S/M	0,207574	-0,4686
MNFS	-0,303646	0,337155	MNFS	-0,234024	0,426111
Υγρασία / Πρωτεΐνη	-0,319134	0,326084	Υγρασία / Πρωτεΐνη	-0,286359	0,404746
Υγρασία	-0,3144	0,369937	Υγρασία	-0,272169	0,429971
RP-HPLC 10-40 min	0,312565	0,30668	RP-HPLC 10-40 min	0,351169	0,177318
RP-HPLC 40-70 min	0,325135	0,103312	RP-HPLC 40-70 min	0,312325	0,218014
RP-HPLC 70-100	-0,334206	-0,228066	RP-HPLC 70-100	-0,3577	-0,219129
RP-HPLC 10-55 min	0,335161	0,243829	RP-HPLC 10-55 min	0,364225	0,203181
RP-HPLC 55-100 min	-0,318879	-0,321263	RP-HPLC 55-100 min	-0,360653	-0,203635
HB/HL	-0,338785	-0,19787	HB/HL	-0,366772	-0,201023



Εικόνα 5.7.3. Απεικόνιση ιδιοδιανυσμάτων για ημίσκληρα τυριά 9-120 ημερών (αριστερά) και 28-120 ημερών (δεξιά), για 10 μεταβλητές.



Εικόνα 5.7.4. Διάγραμμα κύριων συνιστωσών των μεταβλητών για ημίσκληρα τυριά 9-120 ημερών (αριστερά) και 28-120 ημερών (δεξιά), για 10 μεταβλητές.

5.8. ΣΥΝΟΨΗ

Στις 8 εβδομάδες που η κατανομή της υγρασίας του αλατιού και του γαλακτικού οξέος στη μάζα των τυριών είχε σταθεροποιηθεί, η σύστασή τους, οι ρεολογικές και οι πρωτεολυτικές παράμετροι παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.8.1. Οι στατιστικά σημαντικές διαφορές στην ηλικία των 8 εβδομάδων εκτός από το S/M αφορούν στα σημαντικά τεχνολογικά μεγέθη MNFS και υγρασία/πρωτεΐνη, τα οποία ήταν χαμηλότερα στα τυριά με κανονικό αλάτι.

Πίνακας 5.8.1. Μέσες τιμές των μεταβλητών των φυσικοχημικών αναλύσεων για τα ημίκληρα τυριά 54 ημερών (n=3 για κάθε περίπτωση). Διαφορετικά γράμματα υποδεικνύουν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

Τυρί	α_w	pH	Λίπος %	Πρωτεΐνη %	Υγρασία %	Αλάτι %	S/M %	FDM %	NFS %	MNFS %	P/F
Aa	0.966	5.02	21.37	27.12	46.49	1.69 a,b	3.51 a,b	39.90	78.63	59.12 b	1.28
Ab	0.970	5.02	21.28	27.05	46.59	1.53 a	3.18 a	39.81	78.72	59.19 b	1.28
Ba	0.964	5.01	21.89	27.64	45.17	1.95 b	4.14 b	39.91	78.11	57.83 a	1.27
Bb	0.966	5.06	21.61	27.79	45.38	1.85 a,b	3.93 a,b	39.56	78.39	57.90 a	1.29

Τυρί	Υγρασία / Πρωτεΐνη	mM γλυκίνη	Τέφρα %	Ca (g/100g)	P (g/100g)	K (g/100g)	Na (g/100g)	Mg (g/100g)	Σκληρότητα (Hardness)	Συνεκτικότητα (Cohesiveness)	Προσκολλησιμότητα (Adhesiveness)
Aa	1.71 b	0.81 b	4.84	0.913	0.513	0.148	0.770	0.046	9.96	0.375	125.15
Ab	1.72 b	0.53 a	4.63	0.895	0.453	0.142	0.747	0.044	8.45	0.453	105.30
Ba	1.63 a	0.60 a,b	4.80	0.876	0.447	0.142	0.806	0.044	12.04	0.470	98.68
Bb	1.63 a	0.70 a,b	4.82	0.880	0.446	0.142	0.845	0.044	10.58	0.448	103.27

Τυρί	Κομμώδες (Gumminess)	Ελαστική ανάκτηση (Springiness)	Μασητικότητα (Chewiness)	RP-HPLC 0-10 min	RP-HPLC 10-40 min	RP-HPLC 40-70 min	RP-HPLC 70-100 min	RP-HPLC 10-55 min	RP-HPLC 55-100 min	HB/HL
Aa	3.48 a	1.04	3.52 a	5.39	11.58	38.09	41.31 a,b	30.54	60.45	1.98
Ab	3.78 a	1.04	4.17 a,b	5.20	11.20	37.61	42.04 b	29.81	61.03	2.05
Ba	5.74 b	1.01	5.79 b	5.57	12.02	38.83	39.93 a	31.50	59.29	1.88
Bb	4.82 a,b	1.01	4.85 a,b	5.33	11.51	38.28	41.34 a,b	30.31	60.82	2.01

6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Από την επεξεργασία και τη συζήτηση των αποτελεσμάτων της παρούσας μελέτης προέκυψαν τα εξής συμπεράσματα:

- Υπερ-παστεριωμένο (72°C/10 min) μίγμα αίγειου γάλακτος με άπαχο αγελαδινό μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παρασκευή σταθερού τυροπήγματος εφαρμόζοντας χαμηλές θερμοκρασίες κατά την τυροκόμηση, «πλύσιμο» και μέτρια αναθέρμανση, μέτρια διαίρεση και ελάχιστη πίεση του πήγματος.
- Η ανάμιξη του πλήρους αίγειου γάλακτος με άπαχο αγελαδινό σε αναλογία 2:1 είχε ως συνέπεια την αύξηση της αναλογίας πρωτεΐνης/λίπους από 0,97 στο αίγιο γάλα σε 1,37 στο μίγμα. Η αναλογία αυτή στα τυριά που παρασκευάστηκαν παρέμεινε υψηλή και ήταν ~1,25.
- Με την τεχνολογία που εφαρμόστηκε παρήχθησαν ημίσκληρα τυριά με $a_w = 0,966$, $pH = 5,0-5,1$ και γενική μέση σύσταση για την ηλικία ≥ 28 ημερών: Υγρασία= 46,05-45,04%, Υγρασία επί μη-λιπαρών συστατικών (MNFS)= 57,83-58,55%, Λίπος= 21,35-22,12%, Λίπος επί ξηρού (FDM)= 39,6-40,2%, Πρωτεΐνες= 27,18-27,62%, Υγρασία/Πρωτεΐνες= 1,63-1,70, Αλάτι= 1,78—1,85%, Αλάτι στην υγρή φάση (S/M)= 3,69-3,95%.
- Από τις δύο επεμβάσεις του πειράματος, η διάρκεια του αλατίσματος είχε στατιστικά σημαντική επίδραση ($P < 0,05$) σε μερικές από τις παραμέτρους που μελετήθηκαν, ενώ οι συνθήκες ωρίμασης σε ελάχιστες.
- Τα τυριά με μειωμένο αλάτι (S/M= 3,4%) είχαν υψηλότερη υγρασία, a_w και MNFS σε σχέση με τα αντίστοιχα τους με S/M ~4,2%. Δηλαδή, η μείωση του αλατιού στην υγρή φάση κατά ~25% επέφερε ~1,6% αύξηση της υγρασίας και ~1,5% MNFS επί του βάρους του τυριού.
- Οι παράμετροι της σύστασης επηρεάστηκαν στατιστικά σημαντικά ($P < 0,05$) από τη διάρκεια ωρίμασης των τυριών μόνο σε πρόωρο (28 ημέρες) ή σε παρωχημένο στάδιο ωρίμασης (120 ημέρες).
- Το ίδιο παρατηρήθηκε και για την συγκέντρωση ελεύθερων αμινομάδων (mM Gly), στην οποία τόσο η θερμοκρασία ωρίμασης όσο και το επίπεδο αλατιού δεν προκάλεσαν στατιστικά σημαντικές διαφορές.
- Όμως, η επεξεργασία των χρωματογραφικών κατατομών του υδατοδιαλυτού εκχυλίσματος των τυριών έδειξε ότι η υψηλή θερμοκρασία ωρίμασης ενίσχυσε την πρωτεόλυση επηρεάζοντας το δείκτη υδρόφοβα προς υδρόφιλα πεπτίδια (HB/HL).
- Μεταξύ των ρεολογικών χαρακτηριστικών, μόνο η σκληρότητα και η προσκολλησιμότητα μεταβλήθηκαν στατιστικά σημαντικά ($P < 0,05$) κατά την ωρίμαση

των τυριών. Επιπλέον, το κανονικό αλάτισμα είχε ως αποτέλεσμα στατιστικά σημαντικά ($P < 0,05$) σκληρότερα τυριά σε σχέση με το μειωμένο αλάτισμα.

- Το αλάτισμα και οι συνθήκες ωρίμασης δεν επέδρασαν ($P > 0,05$) στην περιεκτικότητα και τη λεπτομερή σύσταση του ανόργανου κλάσματος των ώριμων τυριών. Τα ώριμα τυριά παρά το χαμηλό τους pH είχαν υψηλή περιεκτικότητα ασβεστίου και φωσφόρου, 0,876-0,913 και 0,446-0,513 g/100 g αντίστοιχα.
- Τα τυριά που ωρίμασαν σε χαμηλότερη θερμοκρασία, ανεξάρτητα από το επίπεδο αλατίσματος, είχαν υψηλότερη οργανοληπτική βαθμολογία (83%), όχι όμως στατιστικά σημαντικά υψηλότερη ($P > 0,05$), και χαρακτηρίστηκαν ως «πικάντικα», με «αρωματική-πλούσια» γεύση, με «ενιαία τομή» και «ελαστική δομή». Οι επεμβάσεις του πειράματος δεν επέδρασαν στο χρώμα των ώριμων τυριών. Σε κανένα τυρί δεν ανιχνεύθηκε πικρή γεύση.
- Η Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών έδειξε ότι ο προσδιορισμός της βασικής σύστασης και η ποσοτική αποτύπωση των κατατομών του υδατοδιαλυτού εκχυλίσματος ήταν πολύ χρήσιμα αναλυτικά εργαλεία για τη μελέτη των τυριών.

Τελικά, από μίγμα αίγειου και άπαχου αγελαδινού γάλακτος εφαρμόζοντας υπερ-παστερίωση και στοχευμένους χειρισμούς κατά την τυροκόμηση είναι δυνατή η παραγωγή ημίσκληρου τυριού με διακριτά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, υψηλή αναλογία πρωτεΐνη/λίπος και μειωμένο αλάτι, το οποίο μπορεί να ωριμάσει συσκευασμένο χωρίς να εμφανίσει ελαττώματα δομής ή γεύσης, όπως το πίκρισμα.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Almena-Aliste, M. & Mietton, B., 2014. Cheese Classification, Characterization, and Categorization: A Global Perspective. *Microbiology Spectrum*, 2(1), pp.1–29.
- Ardö, Y., 1997. Flavour and texture in low-fat cheese. In *Microbiology and Biochemistry of Cheese and Fermented Milk*. Boston, MA: Springer US, pp. 207–218.
- van den Berg, G. et al., 2004. Gouda and related cheeses. In P. F. Fox et al., eds. *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. London: Elsevier Ltd, pp. 103–140.
- Bintsis, T., 2006. Quality of the brine. In A. Y. Tamime, ed. *Brined Cheeses*. Oxford: Blackwell Publishing Inc, pp. 264–294.
- Curtin, Á.C. & McSweeney, P.L.H., 2004. Catabolism of amino acids in cheese during ripening. In P. F. Fox et al., eds. *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. London: Elsevier Ltd, pp. 435–454.
- Delahunty, C.M. & Drake, M.A., 2004. Sensory character of cheese and its evaluation. In P. F. Fox et al., eds. *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. London: Elsevier Ltd, pp. 455–487.
- Drake, M.A. & Swanson, B.G., 1995. Reduced- and low-fat cheese technology: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 6(11), pp.366–369.
- Ferrão, L.L. et al., 2016. Strategies to develop healthier processed cheeses: Reduction of sodium and fat contents and use of prebiotics. *Food Research International*, 86(1), pp.93–102.
- Foegeding, E.A. & Drake, M.A., 2007. Invited Review: sensory and mechanical properties of cheese texture. *Journal of Dairy Science*, 90(4), pp.1611–1624.
- Fox, P.F. et al., 2000. *Fundamentals of Cheese Science* 1st ed., Gaithersburg: Aspen Publishers Inc.
- Fox, P.F. & Cogan, T.M., 2004. Factors that Affect the Quality of Cheese. In P. F. Fox et al., eds. *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. London: Elsevier Ltd, pp. 583–608.
- Fox, P.F. & McSweeney, P.L.H., 2004. Cheese: An Overview. In P. F. Fox et al., eds. *Cheese Chemistry, Physics and Microbiology*. London: Elsevier Ltd, pp. 1–18.
- Guinee, T.P., 2004. Salting and the role of salt in cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 57(2/3), pp.99–109.
- Guinee, T.P. & Fox, P.F., 2004. Salt in Cheese: Physical, Chemical and Biological Aspects.

- In P. F. Fox et al., eds. *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. London: Elsevier Ltd, pp. 207–259.
- Guinee, T.P. & McSweeney, P.L.H., 2006. Significance of milk fat in cheese. In P. F. Fox, ed. *Advanced Dairy Chemistry*. New York: Springer, pp. 377–440.
- Hardy, J., 1986. Water activity and the salting of cheese. In A. Eck, ed. *Cheesemaking-Science and Technology*. New York USA: Lavoisier Publishing Inc., pp. 37–61.
- Hill, A.R., 2016. Cheese Technology. *Dairy Science and Technology Education Series*. Available at: <https://www.uoguelph.ca/foodscience/book-page/cheese-making-technology-ebook> [Accessed January 2, 2016].
- International Standard ISO 8070 / IDF 119, Milk and milk products - Determination of calcium, sodium, potassium and magnesium content - Atomic absorption spectrometric method, International Dairy Federation, Brussels, Belgium (2007).
- International Standard ISO 9847 / IDF 42, Milk - Determination of total phosphorous content - Method using molecular absorption spectrometry, International Dairy Federation. Brussels, Belgium (2006).
- International Standard ISO 5943/ IDF 88, Cheese and processed cheese products – Determination of chloride content -- Potentiometric titration method, International Dairy Federation. Brussels, Belgium (2006).
- Kaminarides, S. & Stachtiaris, S., 2000. Production of processed cheese using Kasseri cheese and processed cheese analogues incorporating whey protein concentrate and soybean oil. *International Journal of Dairy Technology*, 53, pp.69–74.
- Kethireddipalli, P. & Hill, A.R., 2015. Rennet Coagulation and Cheesemaking Properties of Thermally Processed Milk: Overview and Recent Developments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(43), pp.9389–9403.
- Kindstedt, P.S., Kiely, L.J. & Gilmore, J.A., 1992. Variation in composition and functional properties within brine salted Mozzarella cheese. *Journal of Dairy Science*, 75, pp.2913–2921.
- Maniou, D. et al., 2013. Effect of high-pressure-treated starter on ripening of Feta cheese. *Dairy Science and Technology*, 93, pp.11–20.
- McSweeney, P.L.H., 2004. Biochemistry of Cheese Ripening: Introduction and Overview. In P. . Fox et al., eds. *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. London: Elsevier Ltd, pp. 347–360.
- McSweeney, P.L.H. & Fox, P.F., 2004. Metabolism of residual lactose and of lactate and

- citrate. In P. F. Fox et al., eds. *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. London: Elsevier Ltd, pp. 361–371.
- McSweeney, P.L.H., Ottogalli, G. & Fox, P.F., 2004. Diversity of Cheese Varieties : An Overview. In P. F. Fox et al., eds. *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. London: Elsevier Ltd, pp. 1–23.
- Medina, M. & Nuñez, M., 2004. Cheeses made from ewes' and goats' milk. In P. F. Fox, ed. *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. London: Elsevier Ltd, pp. 279–299.
- Mistry, V.V., 2001. Low fat cheese technology. *International Dairy Journal*, 11(2), pp.413–422.
- Moatsou, G. et al., 2004. Casein fraction of ovine milk from indigenous Greek breeds. *Lait*, 84, pp.285–296.
- Moatsou, G. et al., 2015. Effect of natamycin-containing coating on the evolution of biochemical and microbiological parameters during the ripening and storage of ovine hard-Gruyère-type cheese. *International Dairy Journal*, 50, pp.1–8.
- Moatsou, G. et al., 1999. Effect of starters on proteolysis of Graviera Kritis cheese. *Le lait*, 79, pp.303–315.
- Moatsou, G. et al., 2001. Effect of technological parameters on the characteristics of kasseri cheese made from raw or pasteurized ewes' milk. *International Journal of Dairy Technology*, 54, pp.69–77.
- Mohamed, A.G., 2015. Low-Fat Cheese: A Modern Demand. *International Journal of Dairy Science*, 10(6), pp.249–265.
- Moller, K.K. et al., 2013. Physicochemical and sensory characterization of Cheddar cheese with variable NaCl levels and equal moisture content. *Journal of dairy science*, 96(4), pp.1953–71.
- Nega, A., Kehagias, C. & Moatsou, G., 2011. Traditional cheeses: Effect of cheesemaking technology on the physicochemical composition and mineral contents. *IDF International Symposium on Sheep, Goat and other non-Cow milk*, (Special Issue), pp.129–131.
- Nega, A. & Moatsou, G., 2012. Proteolysis and related enzymatic activities in ten Greek cheese varieties. *Dairy Science and Technology*, 92(1), pp.57–73.
- O'Callaghan, D.J. & Guinee, T.P., 2004. Rheology and Texture of Cheese. In P. F. Fox et al., eds. *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. London: Elsevier Ltd, pp. 511–540.

- O'Mahony, J.A., Fox, P.F. & Kelly, A.L., 2013. Indigenous Enzymes of Milk. In P. F. Fox & P. L. H. McSweeney, eds. *Advanced Dairy Chemistry*. New York: Springer, pp. 337–385.
- Polychroniadou, A., 1988. A simple procedure using trinitrobenzenesulphonic acid for monitoring proteolysis in cheese. *J. Dairy Res.*, 55, pp.85–96.
- Rodríguez, J. et al., 1999. Effect of different membrane separation technologies (Ultrafiltration and microfiltration) on the texture and microstructure of semihard low-fat cheeses. *Journal of agricultural and food chemistry*, 47(2), pp.558–65.
- Schreiber, R. et al., 1998. Incorporation of whey protein aggregates in semi-hard cheese. Part 1: optimizing processing methods. *Deutsche Milchwirtschaft*, 49(22), pp.958–962.
- Scott, R., Robinson, R.K. & Wilbey, R.A., 1998. *Cheesemaking Practice* 3rd ed. R. Scott, ed., Boston, MA: Springer US.
- Sheehan, J.J. et al., 2005. High pressure treatment of reduced-fat Mozzarella cheese: Effects on functional and rheological properties. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 6(1), pp.73–81.
- Singh, T.K. & Cadwallader, K.R., 2008. Cheese. In R. C. Chandan, A. Kilara, & N. P. Shah, eds. *Dairy Processing & Quality Assurance*. Ames: Wiley-Blackwell, pp. 273–308.
- Skeie, S. et al., 2013. Improvement of the quality of low-fat cheese using a two-step strategy. *International Dairy Journal*, 33(2), pp.153–162.
- Upadhyay, V.K. et al., 2004. Proteolysis in cheese during ripening. In P. F. Fox et al., eds. *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. London: Elsevier Ltd, pp. 391–433.
- Upreti, P., Bühlmann, P. & Metzger, L.E., 2009. Influence of calcium of phosphorous lactose and salt-to-moisture ratio on Cheddar cheese quality: pH buffering properties of cheese. *Journal of Dairy Science*, 89, pp.938–950.
- Walstra, P., Wouters, J.T.M. & Geurts, T.J., 2006. *Dairy Science and Technology* 2nd ed., Boca Raton: CRC Press.
- Zeng, S.S. et al., 2007. Predictive formulae for goat cheese yield based on milk composition. *Small Ruminant Research*, 69, pp.180–186.
- Zoidou, E. et al., 2015. Effect of supplementation of brine with calcium on the evolution of Feta ripening. *International Journal of Dairy Technology*, 658, pp.420–426.
- Ανώνυμος, 2009. *Κώδικας Τροφίμων και Ποτών*, Αθήνα: Ανώτατο Χημικό Συμβούλιο.
- Καμινारीδης, Σ. & Μοάτσου, Γ., 2009. *Γαλακτοκομία* 1st ed., Αθήνα: Έμβρυο.

Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 1924/2006 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου της 20 Δεκεμβρίου 2006 σχετικά με τους ισχυρισμούς διατροφής και υγείας που διατυπώνονται στα τρόφιμα. Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης, 30.12.2016, L404, 9-25.