



ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ
ΚΑΙ ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΖΩΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ
ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ

ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΟΛΟΚΛΗΡΩΜΕΝΗ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΚΑΙ
ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΚΩΝ ΠΡΟΙΟΝΤΩΝ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΘΕΡΜΙΚΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΟΥ ΠΡΟΒΕΙΟΥ
ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΕΠΙ ΤΩΝ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ ΜΑΛΑΚΟΥ ΤΥΡΙΟΥ ΜΕ ΜΕΙΩΜΕΝΗ
ΛΙΠΟΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ

ΕΥΑΓΓΕΛΟΣ Ι. ΠΑΠΑΔΕΔΕΣ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: ΣΤΕΛΙΟΣ ΚΑΜΙΝΑΡΙΔΗΣ,
ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΑΣ

ΑΘΗΝΑ 2017

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ
ΚΑΙ ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΖΩΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ
ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ

ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΟΛΟΚΛΗΡΩΜΕΝΗ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΚΑΙ
ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΚΩΝ ΠΡΟΙΟΝΤΩΝ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΘΕΡΜΙΚΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΟΥ ΠΡΟΒΕΙΟΥ
ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΕΠΙ ΤΩΝ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ ΜΑΛΑΚΟΥ ΤΥΡΙΟΥ ΜΕ ΜΕΙΩΜΕΝΗ
ΛΙΠΟΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ

ΕΥΑΓΓΕΛΟΣ Ι. ΠΑΠΑΔΕΔΕΣ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: ΣΤΕΛΙΟΣ ΚΑΜΙΝΑΡΙΔΗΣ,
ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΑΣ

ΑΘΗΝΑ 2017

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΘΕΡΜΙΚΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΟΥ ΠΡΟΒΕΙΟΥ
ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΙΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΜΑΛΑΚΟΥ ΤΥΡΙΟΥ ΜΕ ΧΑΜΗΛΑ ΛΙΠΑΡΑ**

ΕΥΑΓΓΕΛΟΣ Ι. ΠΑΠΑΔΕΔΕΣ

**ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: ΣΤΕΛΙΟΣ ΚΑΜΙΝΑΡΙΔΗΣ,
ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΑΣ**

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

Στέλιος Καμιναρίδης, Καθηγητής Εργαστηρίου Γαλακτοκομίας

Γκόλφω Μοάτσου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Εργαστηρίου Γαλακτοκομίας

Θεόφιλος Μασούρας, Αναπληρωτής Καθηγητής Εργαστηρίου Γαλακτοκομίας

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

«Επίδραση της θερμικής επεξεργασίας του πρόβειου γάλακτος επί των ιδιοτήτων μαλακού τυριού με μειωμένη λιποεριοκτικότητα»

Μελετήθηκε η επίδραση τριών θερμικών επεξεργασιών του πρόβειου γάλακτος τυροκόμησης, συγκεκριμένα: A= 70⁰C / 10 min; B= 80⁰C / 10 min; Γ= 90⁰C / 10 min, και η ωρίμανση του τυριού επί των φυσικοχημικών, ρεολογικών, αρωματικών και οργανοληπτικών ιδιοτήτων ενός μαλακού τυριού από πρόβειο γάλα με μειωμένο λίπος ~ 68%. Η υψηλή θερμική επεξεργασία Γ, είχε σαν αποτέλεσμα την αύξηση της απόδοσης, της πρωτεΐνης (μετουσίωση των πρωτεϊνών του ορού), της τέφρας, του Ca, Mg, των καρβοξυλικών οξέων, των εστέρων, της σκληρότητας, της συνεκτικότητας, της συνάφειας και τη μείωση της υγρασίας. Η ωρίμανση του τυριού επηρέασε σημαντικά ($P \leq 0.05$) την υδρόλυση των σακχάρων λακτόζης και γλυκόζης (αύξηση γαλακτικού οξέος), των πρωτεϊνών (αύξηση του WSN) και του λίπους (αύξηση C_{6:0}, C_{8:0}, C_{10:0}). Το τυρί A απέσπασε την υψηλότερη βαθμολογία κατά την οργανοληπτική αξιολόγηση. Η ανάλυση του υδατοδιαλυτού αζώτου (WSN) των τυριών σε σύστημα υγρής χρωματογραφίας αντιστρόφου φάσεως (RP-HPLC) δίνει τη δυνατότητα προσδιορισμού της υψηλής θερμικής επεξεργασίας του γάλακτος σε θερμοκρασία > 80⁰C με την ανίχνευση των μετουσιωμένων πρωτεϊνών.

Λέξεις κλειδιά: Πρόβειο γάλα, θερμική επεξεργασία γάλακτος, μαλακό τυρί, τυρί με χαμηλά λιπαρά

ABSTRACT

«Effect of heat treatment of ewe's milk on the properties of low-fat soft cheese »

In the present study the effect of heat treatment of ewes' cheese milk for 10min at 70 (A), 80 (B) and 90°C (C) on the physicochemical, rheological, volatile and organoleptic properties of the resultant soft low-fat (~68%) cheeses was investigated during ripening. The high-temperature treated milk (C) increased the yield, the protein content (denaturation of whey proteins) the levels of ash, Ca, Mg carboxylic acids esters, hardness, adhesiveness, cohesiveness and decreased the moisture content of cheese. Ripening period had significant effect ($P \leq 0.05$) on lactose and glucose hydrolysis (increase of lactic acid concentration), proteolysis (increase of WSN content) and lipolysis (increase the level of C_{6:0}, C_{8:0} and C_{10:0} fatty acids). Cheese A received higher scores ($P > 0.05$) in taste. In addition, whey cheese proteins analysis (WSN) by RP-HPLC permitted the determination of high heat treatment of milk (>80°C) via the detection of denatured proteins.

Key words: Ewe milk, heat treatment of milk, soft cheese, low fat cheese

Περιεχόμενα

ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	1
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	2
1^ο ΠΡΟΒΕΙΟ ΓΑΛΑ	
ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΠΡΟΒΕΙΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ.....	4
ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΠΡΟΒΕΙΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ.....	6
ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΑΞΙΑ ΠΡΟΒΕΙΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ.....	9
2^ο ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΤΥΡΙΩΝ	
2.1 ΓΕΝΙΚΑ.....	15
2.2 ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΤΥΡΙΩΝ.....	17
2.3 ΜΑΛΑΚΑ ΤΥΡΙΑ.....	19
3^ο ΩΡΙΜΑΣΗ	
3.1 ΓΕΝΙΚΑ.....	21
3.2 ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΛΑΚΟΤΖΗΣ.....	21
3.2.1 ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΓΑΛΑΚΤΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ.....	23
3.2.2 ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΚΙΤΡΙΚΩΝ ΑΛΑΤΩΝ.....	26
3.3 ΛΙΠΟΛΥΣΗ.....	27
3.3.1 ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ.....	29
3.4 ΠΡΩΤΕΟΛΥΣΗ.....	31
4.1 ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΑΜΙΝΟΞΕΩΝ.....	37
4^ο ΡΕΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΥΡΙΩΝ	
4.1 ΓΕΝΙΚΑ.....	39
4.2 ΥΦΗ ΤΩΝ ΤΥΡΙΩΝ.....	41

5^ο ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΤΥΡΙΩΝ ΜΕ ΧΑΜΗΛΑ ΛΙΠΑΡΑ ΚΑΙ ΘΕΡΜΙΔΕΣ

5.1 ΓΕΝΙΚΑ.....	45
5.2 ΑΠΟΔΟΣΗ ΤΥΡΙΩΝ ΜΕ ΧΑΜΗΛΑ ΛΙΠΑΡΑ.....	45
5.3 ΑΡΩΜΑΤΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΤΥΡΙΩΝ ΜΕ ΧΑΜΗΛΑ ΛΙΠΑΡΑ.....	46
5.4 ΥΦΗ ΤΥΡΙΩΝ ΜΕ ΧΑΜΗΛΑ ΛΙΠΑΡΑ.....	47
5.5 ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΕΣ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗΣ ΤΥΡΙΩΝ ΜΕ ΧΑΜΗΛΑ ΛΙΠΑΡΑ.....	48

6^ο ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

6.1 ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	51
6.2 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΚΑΙ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ.....	51
6.3 ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΤΥΡΙΩΝ.....	52
6.4 ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΕΣ ΚΑΙ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ.....	56
6.5 ΑΝΑΛΥΣΗ ΥΔΑΤΟΔΙΑΛΥΤΟΥ ΚΛΑΣΜΑΤΟΣ ΤΥΡΙΩΝ ΚΑΙ ΤΥΡΟΓΑΛΑΚΤΩΝ ΜΕ RP HPLC.....	63
6.6 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΣΑΚΧΑΡΩΝ ΚΑΙ ΟΡΓΑΝΙΚΩΝ ΟΞΕΩΝ.....	64
6.7 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΡΩΜΑΤΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ.....	65
6.8 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΔΜΟΣ ΟΜΧ.....	67
6.9 ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ.....	68
6.10 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΡΕΟΛΟΓΙΚΩΝ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ.....	69
6.11 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ.....	69

7^ο ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ

7.1 ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ ΝΩΠΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ.....	71
7.2 ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ ΤΥΡΟΓΑΛΑΚΤΟΣ.....	72
7.3 ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΕΣ ΜΕΤΑΤΡΟΠΗΣ ΚΑΙ ΑΠΟΔΟΣΗ ΣΕ ΤΥΡΙ 1 ^{ης} ΗΜΕΡΑΣ.....	73

7.4 ΦΥΣΙΟΚΟΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ ΤΥΡΙΩΝ.....	75
7.5 ΑΝΑΛΥΣΗ ΥΔΑΤΟΔΙΑΛΥΤΟΥ ΚΛΑΣΜΑΤΟΣ ΤΥΡΙΩΝ ΜΕ RP HPLC.....	80
7.6 ΣΑΚΧΑΡΑ ΚΑΙ ΟΡΓΑΝΙΚΑ ΟΞΕΑ.....	86
7.7 ΑΡΩΜΑΤΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ.....	89
7.8 ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ.....	96
7.9 ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ.....	97
7.10 ΡΕΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ.....	98
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	100
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	102

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Γαλακτοκομίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών και είχε ως κύριο αντικειμενικό σκοπό τη διερεύνηση της επίδρασης τριών θερμικών επεξεργασιών του πρόβειου γάλακτος στις ιδιότητες και την απόδοση μαλακού τυριού με χαμηλά λιπαρά.

Για την υλοποίηση του σκοπού αυτού μελετήθηκαν η απόδοση του γάλακτος σε τυρί, οι συντελεστές μετατροπής των πρωτεϊνών, του λίπους, και της ξηρής ουσίας, οι μεταβολές στα φυσικοχημικά, ρεολογικά, αρωματικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά καθώς και οι μεταβολές των συστατικών μετά την ωρίμανση των τυριών που παρασκευάστηκαν.

Ολοκληρώνοντας την μεταπτυχιακή μου μελέτη, νιώθω την ανάγκη να ευχαριστήσω τους ανθρώπους που συμβάλανε καθοριστικά. Αρχικά, ευχαριστώ τον επιβλέποντα καθηγητή μου κ. Στέλιο Καμιναρίδη, καθηγητή του Εργαστηρίου Γαλακτοκομίας, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε και για την επιστημονική του καθοδήγηση. Ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στην κ. Ευαγγελία Ζωίδου μέλος ΕΔΙΠ του Εργαστηρίου Γαλακτοκομίας, που ήταν συνέχεια στο πλευρό μου κατά την διάρκεια των πειραμάτων και των αναλύσεων, για τη βοήθειά της και κατά την συγγραφή της μελέτης. Ευχαριστώ τον αναπληρωτή καθηγητή και Β μέλος της τριμελούς επιτροπής κ.Θεόφιλο Μασούρα, για την βοήθειά του στις αναλύσεις των αρωματικών συστατικών και τις χρήσιμες οδηγίες του. Επίσης, ευχαριστώ την αναπληρώτρια καθηγήτρια και μέλος της τριμελούς επιτροπής κ.Γκόλφω Μοάτσου για την βοήθεια της στην ανάλυση του υδατοδιαλυτού αζώτου με υγρή χρωματογραφία RP HPLC και τις πολύτιμες παρατηρήσεις της. Ευχαριστώ τον κύριο Θεόδωρο Πάσχο τυροκόμο και μέλος ΕΤΕΠ του Εργαστηρίου Γαλακτοκομίας, για τη βοήθεια και για τον χρόνο που αφιέρωσε κατά την διεξαγωγή των τυροκομήσεων. Τέλος, ευχαριστώ την οικογένειά μου για την στήριξη που μου παρείχαν όλα τα χρόνια των σπουδών μου.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η Ελλάδα είναι η πρώτη χώρα με την μεγαλύτερη παραγωγή πρόβειου γάλακτος στην Ευρωπαϊκή Ένωση. Το πρόβειο γάλα συγκεντρώνει αρκετά πλεονεκτήματα και αποτελεί πηγή αρκετών θρεπτικών συστατικών. Η υψηλή περιεκτικότητα του πρόβειου γάλακτος σε λίπος και πρωτεΐνες το καθιστούν το καταλληλότερο γάλα για την παρασκευή διαφόρων τύπων τυριών.

Επιπλέον, τα λιποσφαίρια του πρόβειου γάλακτος έχουν μικρότερη διάμετρο από το αγελαδινό και παρουσιάζουν καλύτερη πεπτικότητα (Gantner et al. 2015; Balthazar et al. 2017). Ένα άλλο σημαντικό χαρακτηριστικό του πρόβειου γάλακτος είναι η παρουσία σε αυτό συστατικών με διάφορες βιολογικές δράσεις για τον οργανισμό. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το CLA το οποίο διαθέτει λιπολυτικές και αντικαρκινικές ιδιότητες (Luna et al. 2005; Park and Pariza 2007; Gomez-Cortes et al. 2008). Η ενζυμική υδρόλυση των πρωτεϊνών του γάλακτος κατά την διάρκεια της ωρίμανσης των τυριών έχουν ως αποτέλεσμα την απελευθέρωση βιοενεργών πεπτιδίων με αντιμικροβιακές, αντικαρκινικές και αντιοξειδωτικές ιδιότητες (Revilla et al. 2017)

Επίσης, είναι γνωστό ότι η κατανάλωση κορεσμένων λιπαρών οξέων στις ανεπτυγμένες χώρες ευθύνεται για την πρόκληση χρόνιων ασθενειών όπως είναι τα καρδιαγγειακά νοσήματα, το μεταβολικό σύνδρομο, ο καρκίνος κτλ., με αποτέλεσμα να επιζητούνται τρόφιμα με χαμηλά λιπαρά και θερμίδες, εκ των οποίων ένα από αυτά είναι κα το τυρί.

Όλα τα χαρακτηριστικά του πρόβειου γάλακτος που αναφέρθηκαν παραπάνω, η μεγάλη ποσότητα του πρόβειου γάλακτος που παράγεται στην Ελλάδα καθώς και η αυξημένη ζήτηση των τελευταίων δεκαετιών στην παραγωγή τυριών παραδοσιακών και μη, με μειωμένη περιεκτικότητα σε λίπος δίνουν την τάση και στη χώρα μας παραγωγής διαφόρων τύπων τυριών με χαμηλά λιπαρά.

Κατά τον Κώδικα Τροφίμων της Ελλάδας τα “μερικώς αποβουτυρωμένα” είναι τα τυριά των οποίων η λιποπεριεκτικότητα επί ξηρής ουσίας είναι περίπου η μισή από εκείνη των τυριών πλήρους λιποπεριεκτικότητας.

Η μείωση του λίπους είναι αποφασιστικής σημασίας για την υφή-δομή και τη γεύση-άρωμα των τυριών. Τα τυριά με χαμηλά λιπαρά είναι υπερβολικά σκληρά και

ελαστικά. Στην παρούσα μελέτη για την αντιμετώπιση των προβλημάτων αυτών η πήξη του γάλακτος έγινε με χρήση λιγότερης πυτιάς και μεγαλύτερης ποσότητας εμβολίου οξυγαλακτικών καλλιεργειών σε σχέση με τη συνηθισμένη ποσότητα χρήσης τους στα μαλακά τυριά. Επίσης, για να γίνει μαλακότερο το πήγμα αντί να χρησιμοποιηθούν υποκατάστατα λίπους όπως το Simplese D100, από συμπυκνωμένες πρωτεΐνες τυρογάλακτος ώστε να έχουν μορφή μικροτεμαχιδίων που προσομοιάζουν το λιποσφαίριο, έγινε χρήση υψηλών θερμικών επεξεργασιών του γάλακτος για να ενσωματωθούν οι πρωτεΐνες ορού, που το ποσοστό τους είναι σημαντικό στο πρόβειο γάλα και αυξάνουν την ικανότητα συγκράτησης νερού και έτσι θα συμβάλουν στην βελτίωση της σκληρής δομής που έχουν τα τυριά με χαμηλά λιπαρά.

Στην πράξη οι βιομηχανίες χρησιμοποιούν για λόγους εξασφάλισης της δημόσιας υγείας και τυποποίησης των τυριών την ταχεία παστερίωση ($72^{\circ}\text{C} / 15 \text{ sec}$) ή βραδεία παστερίωση ($62-65^{\circ}\text{C} / 30 \text{ min}$ ή $68-70^{\circ}\text{C} / 10 \text{ min}$). Στην παρούσα εργασία στο τυρί Α χρησιμοποιήθηκε η βραδεία παστερίωση ($68-70^{\circ}\text{C} / 10 \text{ min}$), στο τυρί Β η υψηλή παστερίωση ($80^{\circ}\text{C} / 10 \text{ min}$) και στο τυρί Γ η πιο υψηλή θερμική επεξεργασία ($90^{\circ}\text{C} / 10 \text{ min}$) με σκοπό την πλήρη μετουσίωση των πρωτεϊνών ορού.

Σκοπός αυτής της εργασίας ήταν να αποκτηθούν πειραματικά δεδομένα γύρω από τις επιδράσεις των διαφόρων θερμικών επεξεργασιών του γάλακτος και του χρόνου ωρίμανσης του μαλακού τυριού με χαμηλά λιπαρά από πρόβειο γάλα επί των φυσικοχημικών, ρεολογικών, αρωματικών και οργανοληπτικών ιδιοτήτων του τυριού.

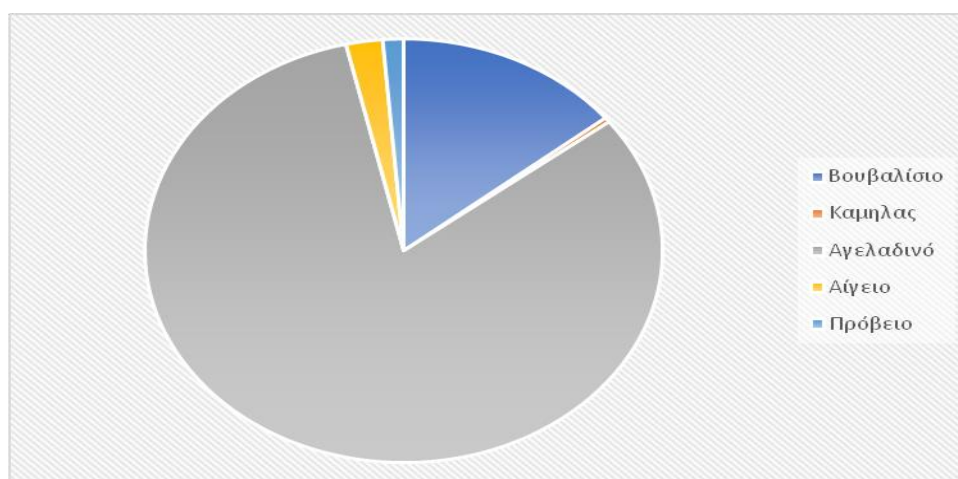
Επιπρόσθετα, στους στόχους μας ήταν να εκτιμηθεί εάν η ανάλυση του υδατοδιαλυτού κλάσματος (WSN) των τυριών σε σύστημα υγρής χρωματογραφίας αντιστρόφου φάσεως (RP-HPLC) με σκοπό να μας επιτρέψει η τεχνική αυτή την ανίχνευση των μετουσιωμένων πρωτεϊνών και επακόλουθα τον προσδιορισμό της υψηλής θερμικής επεξεργασία του γάλακτος σε θερμοκρασία $\geq 80^{\circ}\text{C}$.

1^ο ΚΕΦΑΛΑΙΟ- ΠΡΟΒΕΙΟ ΓΑΛΑ

1.1 Παραγωγή πρόβειου γάλακτος

Οι πρώτες αναφορές για το γάλα αρχίζουν από την Νεολιθική εποχή, όπου ταυτόχρονα με τη δημιουργία οργανωμένων κοινωνιών ζώα χρησιμοποιήθηκαν στις γεωργικές εργασίες. Τα ζώα που εξημερώθηκαν πρώτα ήταν το πρόβατο και η αίγα στην Μέση Ανατολή 13000 χρόνια πριν (Haenlein 2007; Yildiz 2010). Το μέγεθος, η προσαρμοστικότητά και η κοινωνική φύση αυτών των ζώων διευκόλυναν την διαχείρισή τους από τον άνθρωπο. Για μεγάλο χρονικό διάστημα οι αίγες και τα πρόβατα αποτέλεσαν πηγή τροφίμων (κρέας, γάλα) και ένδυσης (μαλλί) για τον άνθρωπο. Τους τελευταίους αιώνες με την δημιουργία ποιμνίων και με την βοήθεια της γενετικής βελτίωσης εξασφαλίστηκαν επαρκής ποσότητες γάλακτος με άριστα ποιοτικά χαρακτηριστικά (Yildiz 2010; Barkowska et al. 2011).

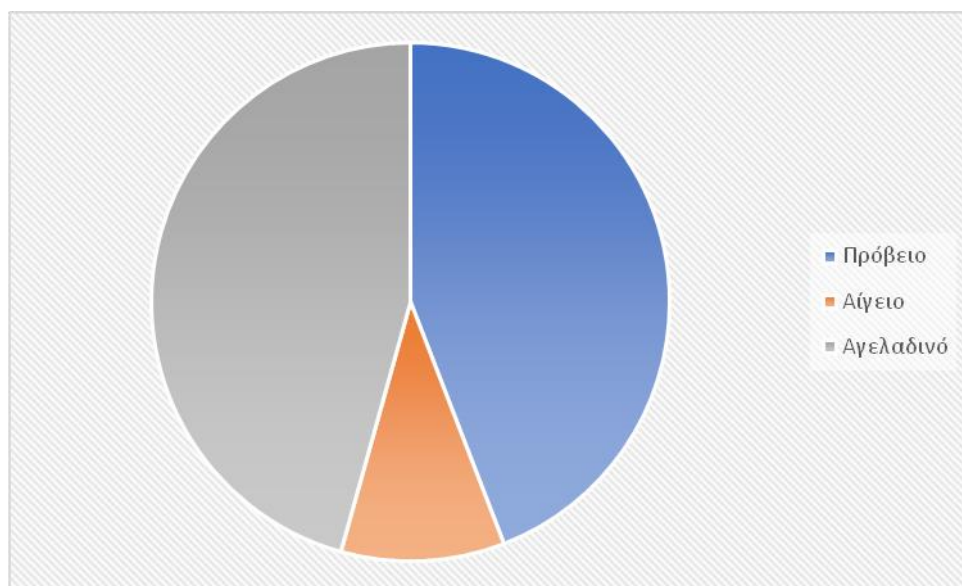
Σε παγκόσμια κλίμακα η παραγωγή αγελαδινού γάλακτος είναι μεγαλύτερη από την παραγωγή των άλλων ειδών γάλακτος. Το έτος 2014 η παγκόσμια παραγωγή γάλακτος ανήλθε σε 801 εκατομμύρια τόνους εκ των οποίων το 82% αυτής της παραγωγής προήλθε από το αγελαδινό, το 14% από το βουβαλίσιο, το 2,3% από το αίγιο, το 1,3% από το πρόβειο και το 0,2% από το γάλα της καμήλας (FAOSTA 2017).



Σχήμα 1.1: Παγκόσμια παραγωγή γάλακτος για το έτος 2014 (FAO, 2014)

Οι φάρμες που παράγουν πρόβειο γάλα αντιπροσωπεύουν ένα σημαντικό ποσοστό της αγροτικής οικονομίας αρκετών χωρών. Η μεγαλύτερη ποσότητα πρόβειου

γάλακτος παράγεται στην Κίνα (12,2%), ενώ στην Ευρώπη η κυρίαρχη χώρα παραγωγής πρόβειου γάλακτος είναι η Ελλάδα (8,7%) και ακολουθεί η Ρουμανία (7,2%) και η Ιταλία (6,1%) (Barlowska et al. 2011). Η παραγόμενη ποσότητα πρόβειου γάλακτος στην Ελλάδα όπως φαίνεται στο σχήμα 2 (ΕΛΓΟ-ΔΗΜΗΤΡΑ 2017). ανήλθε το έτος 2016σε 580 χιλιάδες τόνους περίπου. Η παραγωγή πρόβειου γάλακτος είναι επίσης σημαντική στην Νότια και Βόρεια Αφρική (7,5%) σε αντίθεση με την Νότια Ασία. (3,9%). Η παραγωγή γάλακτος από τα μικρά μηρυκαστικά έχει αυξηθεί σημαντικά τα τελευταία χρόνια και κερδίζει συνεχώς το ενδιαφέρον των καταναλωτών (Selvaggi et al. 2014).



Σχήμα 1.2: Ποσότητες γάλακτος στην Ελλάδα έτους 2016(ΕΛΓΟ ΔΗΜΗΤΡΑ, 2017)

Στην Ευρώπη, η παραγωγή πρόβειου γάλακτος ανήλθε σε 9,1 εκατομμύρια τόνους το έτος 2009 αλλά η κατανάλωση του σε υγρή μορφή παραμένει άγνωστη (Tamine et al. 2011). Σύμφωνα με τα στοιχεία του FAOSTAT η αντίστοιχη παραγόμενη ποσότητα πρόβειου γάλακτος αυξήθηκε σε 10,4 εκατομμύρια τόνους το έτος 2014 (FAOSTAT, 2017). Τα παραγόμενα γαλακτοκομικά προϊόντα που προέρχονται από πρόβειο γάλα έχουν κατακτήσει ένα σημαντικό μέρος στην αγορά λόγω της υψηλής διατροφικής τους αξίας και της υψηλής απόδοσής τους. Αυτά τα προϊόντα περιέχουν υψηλότερες συγκεντρώσεις σε πρωτεΐνες, λίπος, βιταμίνες και ανόργανα στοιχεία σε σχέση με τα προϊόντα που προέρχονται από το γάλα άλλων ειδών (Park et al. 2007; Milani and Wendorff 2011).

1.2 Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά πρόβειου γάλακτος

Το γάλα είναι η χαρακτηριστική έκκριση του μαστού των θηλαστικών ζώων. Τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του γάλακτος διαφέρουν μεταξύ των διαφόρων ειδών. Το γάλα χαρακτηρίζεται ως γαλάκτωμα και ως κolloειδές εναιώρημα και περιέχει ποικίλα συστατικά όπως λίπος, πρωτεΐνες, λακτόζη, ιχνοστοιχεία, ένζυμα και βιταμίνες. Οι πρωτεΐνες του γάλακτος κατατάσσονται σε δύο ομάδες, τις καζεΐνες και τις πρωτεΐνες του ορού. Στις καζεΐνες περιλαμβάνονται οι α_{s1} , α_{s2} , β και κ - καζεΐνες, ενώ στις πρωτεΐνες του ορού περιλαμβάνονται οι α -γαλακταλβουμίνες και οι β -γαλακτογλοβουλίνες. Άλλες δευτερεύουσες πρωτεΐνες που περιλαμβάνονται στο γάλα είναι η αλβουμίνη του ορού, οι ανοσογλοβουλίνες, η λακτοφερίνη, η τρανσφερίνη, η προλακτίνη και οι πρωτεόζες, πεπτόνες (Selvaggi *et al.* 2014b). Η χημική σύσταση των βασικών συστατικών των τριών ειδών γάλακτος (αγελαδινό, αίγιο και πρόβιο) παρουσιάζεται στον Πίνακα 1.1.

Παράμετρος	Αγελαδινό γάλα	Αίγιο γάλα	Πρόβιο γάλα
Υγρασία (g/100g)	87.9 ± 0.5	87.6 ± 0.7	82.9 ± 1.4
Λίπος (g/100g)	3.3 ± 0.2	3.8 ± 0.1	5.9 ± 0.3
Τέφρα (g/100g)	0.7 ± 0.0	0.8 ± 0.1	0.9 ± 0.1
Λακτόζη (g/100g)	4.7 ± 0.4	4.1 ± 0.4	4.8 ± 0.4
Πρωτεΐνη (g/100g)	3.4 ± 0.1	3.7 ± 0.1	5.5 ± 1.1
Καζεΐνη (g/100g)	3.0 ± 0.1	2.4 ± 0.1	4.7 ± 0.5
α_{s1} -καζεΐνη (%)*	39.7	5.6	6.7
α_{s2} -καζεΐνη (%)*	10.3	19.2	22.8
β -καζεΐνη (%)*	32.7	54.8	61.6
κ -καζεΐνη (%)*	11.6	20.4	8.9

Πίνακας 1.1: Χημική σύσταση των τριών ειδών γάλακτος (αγελαδινό, αίγιο και πρόβιο) (Park *et al.* 2007; Wijesinha- Bettoni and Burlingame 2013; Albenzio *et al.* 2010; Selvaggi *et al.* 2014a,b; Manca *et al.* 2016) (*ποσοστό επί της ολικής καζεΐνης)

Η χημική σύσταση του πρόβειου γάλακτος διαφέρει τόσο κατά την διάρκεια του έτους όσο και μεταξύ των ζώων, και εξαρτάται από πολλούς παράγοντες όπως είναι το στάδιο της γαλακτοπαραγωγής, η εποχή, η θερμοκρασία του περιβάλλοντος, η ηλικία του ζώου, η διατροφή, η φυλή του ζώου και οι ασθένειες (Tamime *et al.* 2011; Claeys *et al.* 2014). Η εποχή του έτους επηρεάζει το προφίλ των λιπαρών οξέων του

γάλακτος λόγω της διαθεσιμότητας της βοσκίσιμης ύλης στα σιτηρέσια των ζώων (Zlatanov et al. 2002; Revilla et al. 2017).

Το πρόβειο και το αίγειο γάλα περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις σε λιποσφαίρια, τα οποία έχουν μικρότερη διάμετρο από τα λιποσφαίρια του αγελαδινού γάλακτος. Η διάμετρος των λιποσφαιρίων του πρόβειου και του αίγειου γάλακτος ποικίλλει από 3 έως 3,6 μm ενώ του αγελαδινού είναι 4 μm (Gantner et al. 2015; Balthazar et al. 2017). Επιπλέον, η απουσία της αγλουτινίνης από τα λιποσφαίρια του αιγοπρόβειου γάλακτος αυξάνει την πεπτικότητά του σε σχέση με το αγελαδινό (Park et al. 2007). Το μέγεθος και η διασπορά των λιποσφαιρίων του αιγοπρόβειου γάλακτος ευθύνονται για την καλύτερη συνοχή του και για τον μη διαχωρισμό των φάσεων του γάλακτος κατά την ψύξη.

Η περιεκτικότητα του γάλακτος σε πρωτεΐνη έχει άμεση επίδραση στην διατροφική του αξία και στην τεχνολογική του συμπεριφορά. Όπως έχει ήδη αναφερθεί οι πρωτεΐνες του γάλακτος αποτελούνται από δύο ετερογενείς ομάδες οι οποίες είναι οι καζεΐνες και οι πρωτεΐνες του ορού και το πρόβειο γάλα είναι πλουσιότερο σε καζεΐνες (4.2 έως 5.2/100g) από τα άλλα είδη γάλακτος (Dario et al. 2008; Selvaggi et al. 2014a).

Το ποσοστό συμμετοχής της καζεΐνης στην ολική πρωτεΐνη του πρόβειου γάλακτος είναι 80%, στο γάλα του αλόγου 50% και στο γάλα του ανθρώπου ακόμα λιγότερο (Park et al. 2007). Η περιεκτικότητα του γάλακτος στις επιμέρους δομές των καζεϊνών διαφέρει μεταξύ των μηρυκαστικών και τα δομικά χαρακτηριστικά των μικκυλίων διαφοροποιούνται ανάλογα με το μέγεθος, την ενυδάτωση και το φορτίο τους. Τα καζεϊνικά μικκύλια του αίγειου και του πρόβειου γάλακτος έχουν υψηλότερο φορτίο και είναι λιγότερο ενυδατωμένα σε σχέση με τα καζεϊνικά μικκύλια του αγελαδινού γάλακτος (Raynal-Ljutovac et al. 2007). Τα καζεϊνικά μικκύλια του πρόβειου γάλακτος περιέχουν υψηλότερες συγκεντρώσεις ασβεστίου από τα μικκύλια του αγελαδινού γάλακτος και ως εκ τούτου δεν απαιτείται η προσθήκη χλωριούχου ασβεστίου κατά την παραγωγή τυριών από πρόβειο γάλα. Επιπλέον, απαιτείται μικρότερη ποσότητα πηκτικών ενζύμων για την παραγωγή πήγματος με ικανοποιητικά χαρακτηριστικά σε σχέση με το αίγειο και το αγελαδινό γάλα (Wendorff, 2005).

Η β-καζεΐνη του πρόβειου γάλακτος υπολογίζεται γύρω στο 60% της ολικής καζεΐνης και αντιπροσωπεύεται από δύο πολυφωσφορυλιωμένους τύπους, την β1- και

την β2-καζεΐνη που έχουν παρόμοια αλληλουχία αμινοξέων με την β-καζεΐνη του αγελαδινού γάλακτος (*Selvaggi et al. 2014a*). Η παρουσία πολυφωσφοριλιωμένων μορφών β-καζεΐνης στο γάλα επηρεάζει την σταθερότητα των καζεϊνικών μικκυλίων και την διαθεσιμότητα του ασβεστίου. Η κατανομή των καζεϊνών στα μικκύλια εξαρτάται από την βαθμό δέσμευσης τους από το ασβέστιο και από τον βαθμό φωσφορυλίωσης τους (*Amigo et al. 2000*). Σε αντίθεση με το αγελαδινό γάλα, η β-καζεΐνη του πρόβειου γάλακτος δεν συνδέεται στο εξωτερικό των μικκυλίων και σε συνθήκες ψύξης διαχέεται στο εσωτερικό τους, με αποτέλεσμα το πρόβειο γάλα που προέρχεται από ψύξη να μην παρουσιάζει διαταραχές κατά την πήξη ή να σχηματίζει πιο σταθερό πήγμα (*Wendorff 2005*).

Ερευνητές υποστηρίζουν ότι η κ-καζεΐνη του πρόβειου γάλακτος βρίσκεται στο γάλα ως μία μορφή (*Stankoova et al. 2011 και Othman et al. 2013*), ενώ άλλοι (*Abd EL-Salam and EL-Shibiny 2013*) υποστηρίζουν ότι υπάρχουν τρεις πολυφωσφοριλιωμένες μορφές της κ-καζεΐνης.

Άλλο χαρακτηριστικό των πρωτεϊνών του πρόβειου γάλακτος είναι η διαμόρφωση και η ποσότητα των καζεϊνικών υπομικκυλίων τα οποία είναι μικρότερα (193nm) σε σχέση με τα υπομικκύλια του αγελαδινού γάλακτος (260nm) και παρόμοια με τα υπομικκύλια του αίγειου γάλακτος (180nm) (*Park et al. 2007*).

Ερευνητικές μελέτες έχουν οδηγήσει στο συμπέρασμα ότι ένα ποσοστό 0,3 έως 7,5% παιδιών ηλικίας κάτω των τριών ετών εκδηλώνουν αλλεργία στις καζεΐνες του αγελαδινού γάλακτος (*Spuergin et al. 1997; Martin et al. 2004; Masoodi and Shafi 2010; Vinas et al. 2014; Gantner et al. 2015*). Σύμφωνα με τους Masoodi και Shafi (2010), οι α_{s1} - και οι α_{s2} -καζεΐνες του πρόβειου και του αίγειου γάλακτος είναι μεταξύ τους όμοιες κατά 99% και διαφέρουν σημαντικά από τις αντίστοιχες καζεΐνες του αγελαδινού γάλακτος. Στο γεγονός αυτό πιθανόν οφείλεται ότι το πρόβειο γάλα και το αίγιο γάλα προκαλούν αλλεργίες σε πολύ μικρότερο ποσοστό σε σχέση με το αγελαδινό γάλα. Πρέπει εδώ να σημειωθεί ότι και οι πρωτεΐνες του ορού του αγελαδινού γάλακτος, θεωρούνται υπεύθυνες για την εκδήλωση αλλεργικών αντιδράσεων (*Martin et al. 2004; Masoodi and Shafi 2010*), ενώ για το πρόβειο γάλα δεν υπάρχουν επιστημονικές αναφορές ότι προκαλεί αλλεργίες. Σύμφωνα με τους *Scintu και Pirreda* (2007), το πρόβειο γάλα μπορεί να θεωρηθεί ως ένα υποκατάστατο του αγελαδινού γάλακτος λόγω της υψηλής διατροφικής του αξίας και λόγω του

γεγονότος ότι δεν προκαλεί αλλεργίες. Αντισώματα της επίκτητης ανοσίας (IgE) αναγνωρίζουν σε μικρότερο βαθμό τις καζεΐνες του αιγοπρόβειου γάλακτος σε σχέση με τις καζεΐνες του αγελαδινού γάλακτος (*Ah-Leung et al. 2006*). Ωστόσο, ο πολυμορφισμός των πρωτεϊνών παίζει σημαντικό ρόλο στην εκδήλωση και στον βαθμό των αλλεργικών αντιδράσεων (*El-Agamy et al. 2007*). Επίσης σύμφωνα με άλλα επιστημονικά δεδομένα, παιδιά που έχουν αντιμετωπίσει αλλεργίες στο αγελαδινό γάλα, είναι πιθανό να τους προκληθούν αλλεργικές αντιδράσεις από την κατανάλωση και άλλων ειδών γάλακτος όπως είναι το βουβαλίσιο γάλα, το αιγοπρόβειο, το γάλα της όνου και του αλόγου (*El-Agamy et al. 2009*).

Οι πρωτεΐνες του ορού είναι η δεύτερη βασική ομάδα των πρωτεϊνών του γάλακτος και περιλαμβάνουν τρεις βασικές δομές που είναι η β-γαλακτογλοβουλίνη, η α-γαλακταλβουμίνη και η αλβουμίνη του ορού. Οι πρωτεΐνες του ορού του πρόβειου γάλακτος είναι περισσότερο ευαίσθητες στην θέρμανση από τις πρωτεΐνες του ορού του αγελαδινού γάλακτος. Η παστερίωση του πρόβειου γάλακτος στους 65°C για 30 λεπτά προκαλεί μετουσίωση περίπου 15% των πρωτεϊνών του ορού, ενώ κάτω από τις ίδιες συνθήκες στο αγελαδινό γάλα μετουσιώνονται μόνο το 2,3% (*Molik et al. 2012*). Οι πρωτεΐνες του ορού του πρόβειου γάλακτος παρουσιάζουν εντονότερο αφρισμό από τις αντίστοιχες πρωτεΐνες του αγελαδινού και αίγειου γάλακτος και δίνουν πήγμα με καλύτερες ρεολογικές ιδιότητες (*Wendorff 2005*). Τέλος, η περιεκτικότητα του πρόβειου γάλακτος σε λακτόζη είναι σχεδόν ίδια με την περιεκτικότητα του αγελαδινού (*Ramos and Juarez 2003*).

1.3 Διατροφική αξία πρόβειου γάλακτος

Η διατροφική αξία του πρόβειου γάλακτος είναι υψηλότερη από την διατροφική αξία του αγελαδινού και του αίγειου γάλακτος, περιέχοντας επίσης υψηλότερες περιεκτικότητες σε πρωτεΐνες, λιπαρά οξέα, ανόργανα στοιχεία και βιταμίνες με θερμιδική αξία που αντιστοιχεί σε 5932 kJ/kg (*Haenlein 2001; Kaminarides et al. 2007; Park et al. 2007; Barlowska et al. 2011*).

Το πρόβειο γάλα περιέχει σχεδόν διπλάσια περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη από το αίγιο και το αγελαδινό γάλα. Οι μορφές των πρωτεϊνικών μορίων και η αλληλουχία των αμινοξέων τους επηρεάζουν την διατροφική αξία και έχουν θετική επίδραση στην πεπτικότητα και στην θερμοανθεκτικότητα (*Clayes et al. 2014*). Αξίζει να σημειωθεί

ότι το πρόβειο γάλα περιέχει υψηλές συγκεντρώσεις στα αμινοξέα αλανίνη, σερίνη, ιστιδίνη, βαλίνη και λυσίνη σε αντίθεση με τα αμινοξέα κυστεΐνη και γλυκίνη που βρίσκονται σε χαμηλές συγκεντρώσεις. Η υψηλή διατροφική αξία του πρόβειου γάλακτος αποδίδεται επίσης και στο αμινοξύ προλίνη το οποίο συμμετέχει στον σχηματισμό της αιμοσφαιρίνης (Molik et al. 2012).

Λιπαρά οξέα (g/100 g)	Αγελαδινό	Αίγιο	Πρόβειο
C4:0	3.90	2.18	3.51
C6:0	2.50	2.39	2.90
C8:0	1.50	2.73	2.64
C10:0	3.20	9.97	7.82
C12:0	3.60	4.99	4.38
C13:0	0.19	0.15	0.17
C14:0	11.1	9.81	10.4
C14:1	0.80	0.18	0.28
C15:0	1.20	0.71	0.99
C16:0	27.9	28.2	25.9
C16:1	1.50	1.59	1.03
C17:0	0.60	0.72	0.63
C18:0	12.2	8.88	9.57
C18:1	21.1	19.3	21.1
C18:2	1.40	3.19	3.21
CLA	1.10	0.70	1.60
C18:3	1.00	0.42	0.80
C20:0	0.35	0.15	0.45

Πίνακας 1.2: Προφίλ λιπαρών οξέων στο αγελαδινό, αίγιο και πρόβειο γάλα (Macgibbon and Taylor 2006; Park et al. 2007; Albenzio et al. 2016)

Όσον αφορά τα λιπίδια, τα τριγλυκερίδια κυριαρχούν στο γάλα (98%) και περιέχουν ένα μεγάλο αριθμό εστεροποιημένων λιπαρών οξέων. Το προφίλ των τριγλυκεριδίων του πρόβειου και του αγελαδινού γάλακτος έχουν αρκετές ομοιότητες. Ωστόσο, το πρόβειο γάλα περιέχει υψηλότερες συγκεντρώσεις σε τριγλυκερίδια μεσαίας αλύσου (C26-C36) και χαμηλότερες συγκεντρώσεις σε τριγλυκερίδια μεγάλης αλύσου (C46-C54) σε σχέση με το αγελαδινό γάλα. Τα τριγλυκερίδια μεσαίας αλύσου

έχουν χαμηλότερο σημείο τήξης, μικρότερο μοριακό μέγεθος, είναι σε υγρή μορφή σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και έχουν χαμηλότερη ενεργειακή πυκνότητα σε σχέση με τα τριγλυκερίδια μεγάλης αλύσου (Recio et al. 2009).

Τριγλυκερίδια (g/100g)	Αγελαδινό	Αίγαιο	Πρόβειο
C26:0	0.06	0.49	0.72
C28:0	0.57	1.23	1.60
C30:0	1.13	2.47	2.52
C32:0	2.56	4.06	3.63
C34:0	5.95	6.20	6.03
C36:0	10.8	9.40	9.64
C38:0	12.5	12.1	12.8
C40:0	9.87	12.6	12.0
C42:0	6.87	12.5	9.02
C44:0	6.47	11.6	8.08
C46:0	7.32	8.10	6.77
C48:0	9.12	5.84	6.67
C50:0	11.3	5.85	7.63
C52:0	10.0	4.92	8.43
C54:0	4.99	2.01	4.48

Πίνακας 1.3: Προφίλ τριγλυκεριδίων στο αγελαδινό, αίγαιο και πρόβειο γάλα (Macgibbon and Taylor 2006; Park et al. 2007; Albenzio et al. 2016)

Στο λίπος του πρόβειου γάλακτος κυριαρχούν τα κορεσμένα λιπαρά οξέα (65 έως 75g/100g του συνολικού λίπους) και το 11% αποτελείται από μικρής και μεσαίας αλύσου λιπαρά οξέα (Revilla et al. 2017). Τα λιπαρά οξέα του πρόβειου και του αγελαδινού γάλακτος δεν διαφέρουν ως προς το βουτυρικό οξύ (C4:0), το πρόβειο όμως περιέχει περισσότερα λιπαρά οξέα όπως είναι το καπροϊκό (C6:0), το καπρυλικό (C8:0) και το καπρικό οξύ (C10:0). Το καπροϊκό, το καπρυλικό και το καπρικό οξύ αποτελούν το 13% των λιπαρών οξέων του λίπους του πρόβειου γάλακτος ενώ το ποσοστό αυτό στο αγελαδινό ανέρχεται σε μόλις 6% (Park et al. 2007). Έτσι το πρόβειο γάλα θεωρείται ποιο εύπεπτο δεδομένου ότι οι εστερικοί δεσμοί των λιπαρών οξέων μικρής και μεσαίας αλύσου υδρολύονται άμεσα και γρήγορα από τα πεπτικά ένζυμα. Επίσης, όλα τα παραπάνω λιπαρά οξέα έχουν τη μοναδική ικανότητα να παρέχουν

άμεσα ενέργεια στον οργανισμό και να μην εναποτίθενται στο λιπώδη ιστό. Με αυτό τον τρόπο αποτελούν ένα γρήγορο ενεργειακό συμπλήρωμα, ειδικά για άτομα που υποφέρουν από υποσιτισμό ή σύνδρομο απορρόφησης του λίπους (Recio et al. 2009) και παίζουν σημαντικό ρόλο στη μείωση του βάρους και του λίπους του σώματος (Rasmussen et al. 2010; Foglietta et al. 2014). Οι Raynal-Ljutovac et al. 2008 αναφέρουν ότι χαρακτηριστικό αυτών των λιπαρών οξέων είναι η μείωση της ολικής χοληστερόλης και της LDL.

Οι Balthazar et al (2016) αναφέρουν ότι στο πρόβειο γιαούρτι κυριαρχούν τα λιπαρά οξέα ολεϊκό (C18:1 n9), το παλμιτικό (C16:0) και το μυριστικό (C14:0). Έχει αναφερθεί ότι διαιτολόγιο πλούσιο σε ολεϊκό οξύ μειώνει τα επίπεδα της LDL χοληστερόλης αλλά δεν επηρεάζει τα επίπεδα της HDL (Molkentin 2000).

Τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα που κυριαρχούν στο πρόβειο γάλα είναι το λινολεϊκό (*cis-9, cis-12* C18:2) και το α -λινολενικό (*cis-9, cis-12, cis-15* C18:3) καθώς υπάρχουν και μικρότερες ποσότητες των ισομερών τους (Recio et al. 2009). Τα μονοακόρεστα και τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα του πρόβειου γάλακτος συμβάλουν στην πρόληψη καρδιαγγειακών παθήσεων (Balthazar et al. 2016).

Μεταξύ των μηρυκαστικών, το λίπος του πρόβειου γάλακτος περιέχει τα υψηλότερα επίπεδα συζευγμένου λινολεϊκού (1 g CLA/100 g ολικού λίπους) καθώς και υψηλά επίπεδα βασσενικού οξέος (VA) που είναι πρόδρομο συστατικό του (Revilla et al. 2017). Τα ισομερή του CLA που ανευρίσκονται σε μεγαλύτερες ποσότητες και έχουν λειτουργικές ιδιότητες είναι το *cis-9, trans-11* CLA και το *trans-10, cis-12* CLA. Έχει αναφερθεί ότι τα παραπάνω ισομερή έχουν αντικαρκινικές και λιπολυτικές ιδιότητες (Luna et al. 2005; Park and Pariza 2007; Gomez-Cortes et al. 2008).

Η μέση περιεκτικότητα του πρόβειου γάλακτος σε μονοακόρεστα (21 g/100 g λίπους) και σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (4,7 g/100 g λίπους έχει ιδιαίτερη σημασία (Revilla et al. 2017). Η αναλογία $\omega 6/\omega 3$ λιπαρών οξέων είναι 4,4 στο πρόβειο γάλα (Luruena-Martinez et al. 2010) και μικρότερη σε σχέση με την αντίστοιχη αναλογία του αίγιου γάλακτος (Nunez-Sanchez et al. 2016). Η αναλογία $\omega 6/\omega 3$ επιδιώκεται να είναι χαμηλή επειδή μειώνει τον κίνδυνο της εμφάνισης χρόνιων παθήσεων. Η επιθυμητή αναλογία $\omega 6/\omega 3$ κυμαίνεται από 1/1 /έως 4/1 (Simopoulos 2002).

Ανόργανα στοιχεία	Αγελαδινό	Αίγαιο	Πρόβειο
Ασβέστιο (mg/100g)	112.0±14.5	130±4.0	197.5±2.5
Σίδηρος(mg/100g)	0.1±0.1	0.06±0.0	0,1±0,0
Μαγνήσιο(mg/100g)	11.0±0.5	14.5±1.5	19.5±3.0
Φώσφορος(mg/100g)	91.0±5.5	109±12.0	141.0±1.7
Κάλιο(mg/100g)	14.5±11.5	185.5±4.5	138.0±2.0
Νάτριο(mg/100g)	42.0±6.5	39.5±1.5	39.0±7.0
Ψευδάργυρος(mg/100g)	0.4±0.0	0.43±0.1	0.6±0.1
Χαλκός(mg/100g)	Ίχνη	0.04±0.0	0.1±0.0
Σελήνιο(mg/100g)	1.8±1.3	1.655±0.4	1.7±1.0
Μαγγάνιο(mg/100g)	6.0±0.0	8.0±0.0	7.15±1.8
Βιταμίνες			
Ρετινόλη(mg/100g)	35±8.0	0.04±0.0	64.0±19.4
Καροτενοειδή(mg/100g)	16.0±8.0	Ίχνη	Ίχνη
Βιταμίνη Α(mg/100g)	37.0±8.0	54.32±0.0	64.0±5.5
Βιταμίνη Ε(mg/100g)	0.08±0.01	0.04±0.0	0.11±0.01
Θειαμίνη	0.04±0.01	0.059±0.0	0.07±0.01
Ριβοφλαβίνη(mg/100g)	0.2±0.01	0.175±0.0	0.3±0.02
Νιασίνη(mg/100g)	0.13±0.05	0.235±0.0	0.41±0.05
Παντοθενικό οξύ(mg/100g)	0.43±0.12	0.31±0.0	0.43±0.02
Βιταμίνη Β ₆ (mg/100g)	0.04±0.01	0.048±0.0	0.07±0.01
Φολικό οξύ(mg/100g)	8.5±1.5	1.0±0.0	6.0±0.06
Βιοτίνη(mg/100g)	2.0±0.5	1.75±0.3	2.5±0.0
Βιταμίνη Β ₁₂ (mg/100g)	0.5±0.3	0.065±0.0	0,66±0.05
Βιταμίνη C(mg/100g)	1.0±0.5	1.295±0.0	4.6±0.4
Βιταμίνη D(mg/100g)	0.2±0.1	0.15±0.1	0.2±0.0

Πίνακας 1.4: Περιεκτικότητα του αγελαδινού, αίγειου και πρόβειου γάλακτος σε βιταμίνες και ιχνοστοιχεία (Raynal-Ljutovac et al. 2008; Wijesinha-Bettoni and Burlingame 2013).

Το πρόβειο γάλα είναι μία πλούσια πηγή ανόργανων στοιχείων (πίνακας 4). Τα επίπεδα του ασβεστίου, του φωσφόρου, του μαγνησίου, του ψευδαργύρου, του μαγγανίου και του χαλκού είναι υψηλότερα από τα επίπεδα των αντίστοιχων

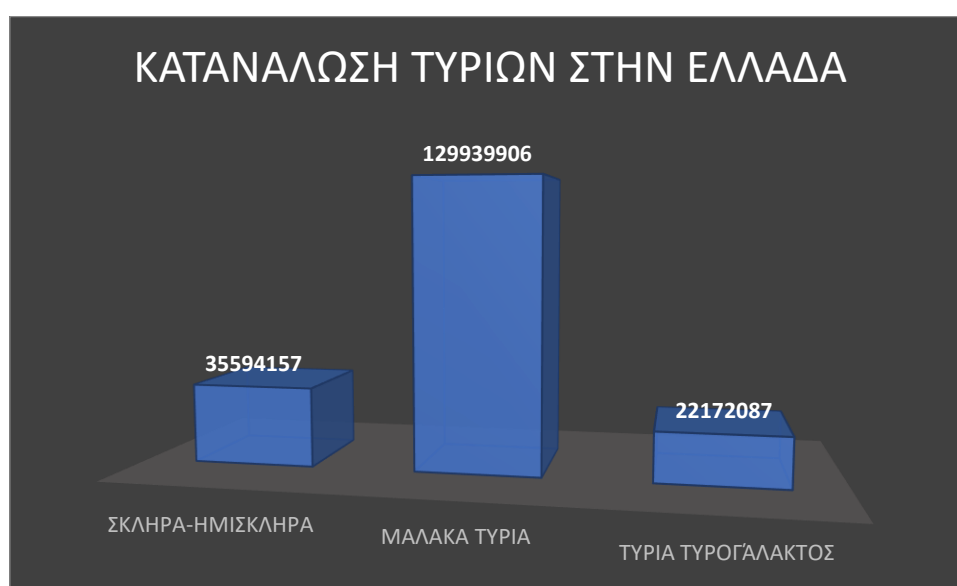
ανόργανων στοιχείων του αγελαδινού γάλακτος, ενώ το αντίθετο συμβαίνει στην περίπτωση του νατρίου και του καλίου (*Park et al. 2007; Wijesinha-Bettoni and Burlingame 2013*). Το ασβέστιο και ο φώσφορος, τα οποία βρίσκονται σε αφθονία στο πρόβειο γάλα, είναι απαραίτητα δομικά συστατικά για την ανάπτυξη και την διατήρηση των οστών και απαραίτητα για τα νεογνά (*Al-Wabel 2008*). Το ασβέστιο είναι συνδεδεμένο στις καζεΐνες τόσο στην οργανική όσο και στην ανόργανη μορφή, παρουσιάζοντας υψηλή βιοδιαθεσιμότητα κατά την πεπτικότητα του γάλακτος (*Gueguen and Pointillart 2000*). Επομένως, η βιοδιαθεσιμότητα του ασβεστίου στο πρόβειο γάλα σχετίζεται με την υψηλή περιεκτικότητά του σε καζεΐνες (*Gaucheron 2005*).

Τα επίπεδα βιταμινών του πρόβειου γάλακτος είναι υψηλότερα από τα αντίστοιχα επίπεδα του αγελαδινού γάλακτος, εκτός από τα καροτενοειδή και το φολικό που βρίσκονται σε υψηλότερες συγκεντρώσεις στο αγελαδινό γάλα και την βιταμίνη D και το παντοθενικό οξύ που βρίσκονται στα ίδια επίπεδα και στα δύο είδη γάλακτος (*Park et al. 2007; Wijesinha-Bettoni and Burlingame 2013*). Το πρόβειο γάλα είναι πλούσιο σε ριβοφλαβίνη, ενώ το αγελαδινό, το βουβαλίσιο και το αίγαιο γάλα είναι ανεπαρκής σε αυτή την βιταμίνη. Η ημερήσια συνιστώμενη ποσότητα ριβοφλαβίνης (0,5 mg/d) μπορεί να καλυφθεί από 300 ml πρόβειου γάλακτος. Το πρόβειο γάλα μπορεί να θεωρηθεί επίσης ως μία αξιόλογη πηγή βιταμίνης C (4,6 mg/100g) (*Wijesinha-Bettoni and Burlingame 2013*). Επειδή η κατανάλωση του πρόβειου γάλακτος σε νοπή μορφή δεν είναι διαδεδομένη, δύο μερίδες γιαούρτης ή 90 gr τυριού μπορούν να καλύψουν τις παραπάνω καθημερινές απαιτήσεις (*Recio et al. 2009*). Επιπλέον, το λίπος του πρόβειου γάλακτος αποτελεί μία αξιόλογη πηγή των βιταμινών A και E. Η βιταμίνη A εντοπίζεται στο γάλα μόνο ως ρετινόλη επειδή το β-καροτένιο μετατρέπεται ολοκληρωτικά σε αυτή την μορφή (*Raynal-Ljutovac et al. 2008*). Όσον αφορά την βιταμίνη E, εντοπίζονται τρεις μορφές, οι οποίες είναι α-, β-, και γ-τοκοφερόλες με τις α-τοκοφερόλες να είναι οι κυρίαρχες μορφές (*Revilla et al. 2017*).

2^ο- ΚΕΦΑΛΑΙΟ-ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΤΥΡΙΩΝ

2.1 Γενικά

Ένα μεγάλο μέρος από την παγκόσμια παραγωγή γάλακτος διατίθεται για την παραγωγή τυριού. Στην παγκόσμια αγορά κυκλοφορούν πολλά είδη τυριών, από διάφορα είδη γάλακτος, αγελαδινό, πρόβειο, αίγαιο και με διάφορες τεχνολογίες παρασκευής τους. Όπως φαίνεται στο σχήμα 2.1, στην Ελληνική αγορά κυριαρχούν τα μαλακά τυριά, ενώ τα σκληρά τυριά καταλαμβάνουν την 2^η θέση.



Σχήμα 2.1: Παραγωγή τυριών στην Ελλάδα (ΕΛΓΟ-ΔΗΜΗΤΡΑ, 2013)

Σύμφωνα με τον *Codex Alimentarius (FAO/WHO, 1973)* τυρί είναι το νωπό ή ώριμο προϊόν που προέρχεται από στράγγιση, ύστερα από πήξη του πλήρους ή μερικώς αποβουτυρωμένου γάλακτος ή άπαχου γάλακτος ή βουτυρογάλακτος ή μίγματος ορισμένων ή όλων αυτών των προϊόντων.

Σύμφωνα με τον Ελληνικό Κώδικα Τροφίμων και Ποτών (1988), τυρί ορίζεται το προϊόν που παράγεται από γάλα και αποτελεί προϊόν ωρίμανσης του πήγματος που είναι απαλλαγμένο από το τυρόγαλα στο επιθυμητό κάθε φορά βαθμό και το οποίο παρασκευάστηκε με την δράση της πυτιάς ή άλλων ενζύμων που δρουν ανάλογα σε γάλα (νωπό ή παστεριωμένο αγελάδος, προβάτου, αίγας, βουβάλου ή μίγματα αυτών)ή

σε μερικώς αποβουτυρομένο γάλα ή σε μίγματα αυτών ή και σε μίγματα αυτών με κρέμα γάλακτος.

Ο παραπάνω ορισμός αναφέρεται στα τυριά από γάλα με ωρίμανση. Όμως εκτός από τα παραπάνω τυριά υπάρχουν και τυριά από γάλα χωρίς ωρίμανση με αλλοιφώδη υφή και τυριά τυρογάλακτος με ή χωρίς ωρίμανση που ορίζονται με βάση τον Ελληνικό Κώδικα Τροφίμων και ποτών ως τα φρέσκα (νωπά) τυριά που παρασκευάζονται με την δράση των οξυγαλακτικών βακτηρίων σε παστεριωμένο γάλα ή παστεριωμένο γάλα και παστεριωμένη κρέμα γάλακτος και των οποίων η υγρασία δεν υπερβαίνει το 75%. Τυριά τυρογάλακτος είναι τα προϊόντα που λαμβάνονται με ισχυρή θέρμανση του τυρογάλακτος (με ή χωρίς οξίνιση) και με ή χωρίς προσθήκη γάλακτος (πρόσγαλα), γάλακτος και κρέμας γάλακτος και βρώσιμου χλωριούχου νατρίου, τα οποία μπορούν να διατεθούν νωπά ή μερικώς αφυδατωμένα ή κατόπιν ωρίμανσης και των οποίων η υγρασία δεν υπερβαίνει το 70%.

Στην πράξη, το τυρί προέρχεται από την ολική ή μερική πήξη του γάλακτος με την δράση της πυτιάς ή άλλων κατάλληλων πτητικών μέσων (οξίνιση, θέρμανση) και αφού γίνει μερική στράγγιση του ορού του γάλακτος που προκύπτει μετά από μία τέτοια πήξη (Fox et al. 1999).

Βασικές πρώτες ύλες για την παραγωγή τυριών είναι το γάλα, τα πηκτικά ένζυμα (πυτιά και υποκατάστατα αυτής), η οξυγαλακτική καλλιέργεια, το αλάτι και πρόσθετες ύλες, όπως είναι οι χρωστικές στην περίπτωση τυριών από αγελαδινό γάλα, οι οποίες προσδίδουν ελαφρά κιτρινωπό χρώμα στα γαλακτοκομικά προϊόντα. Η παρασκευή του τυριού περιγράφεται συντόμως στο παρακάτω σχήμα:



Η περίοδος της δημιουργίας του πρώτου πήγματος ορίζεται ως η χρονική διάρκεια των 24 πρώτων ωρών κατά τις οποίες διενεργούνται συγκεκριμένες εργασίες όπως το αλάτισμα, η στράγγιση κ.α. που αποτελούν τα βασικά βήματα μιας τυροκόμησης, ανεξάρτητα από τον τύπο του τυριού. Επομένως, σε αυτές τις εργασίες εντάσσονται η οξίνιση, η δημιουργία πήγματος, η στράγγιση του πήγματος που

επιτυγχάνεται με τον τεμαχισμό του σε κύβους, την θέρμανση του, την πίεση του και την σχηματοδότησή του και το αλάτισμα (Fox et al. 1999).

2.2 Κατηγορίες τυριών

Σύμφωνα με τον Ελληνικό Κώδικα τροφίμων και ποτών τα τυριά κατατάσσονται στις παρακάτω κατηγορίες (Πίνακας 2.1)

ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΤΥΡΙΩΝ	ΠΟΙΟΤΗΤΕΣ	ΥΓΡΑΣΙΑ(%) ΜΕΓΙΣΤΗ	ΛΙΠΟΣ(%) ΕΛΑΧΙΣΤΟ
ΤΥΡΙΑ ΦΡΕΣΚΑ ΧΩΡΙΣ ΩΡΙΜΑΣΗ	ΕΞΑΙΡΕΤΙΚΗ	58%	70%
	ΠΡΩΤΗ	62%	60%
	ΔΕΥΤΕΡΗ	75%	60%
	ΜΕΡΙΚΩΣ ΑΠΟΒΟΥΤΥΡΟΜΕΝΟ	75%	50%
ΤΥΡΙΑ ΠΟΥ ΩΡΙΜΑΖΟΥΝ			
ΠΟΛΥ ΣΚΗΡΑ	ΕΞΑΙΡΕΤΙΚΗ	30%	50%
	ΠΡΩΤΗ	32%	45%
	ΔΕΥΤΕΡΗ	32%	32%
	ΜΕΡΙΚΩΣ ΑΠΟΒΟΥΤΥΡΟΜΕΝΟ	32%	20-32%
ΣΚΛΗΡΑ	ΕΞΑΙΡΕΤΙΚΗ	45%	47%
	ΠΡΩΤΗ	38%	40%
	ΔΕΥΤΕΡΗ	38%	32%
	ΜΕΡΙΚΩΣ ΑΠΟΒΟΥΤΥΡΟΜΕΝΟ	38%	20-32%
ΗΜΙΣΚΛΗΡΑ	ΕΞΑΙΡΕΤΙΚΗ	40%	50%

	ΠΡΩΤΗ	40%	40%
	ΔΕΥΤΕΡΗ	46%	30%
	ΜΕΡΙΚΩΣ ΑΠΟΒΟΥΤΥΡΟΜΕΝΟ	46%	20-30%
ΜΑΛΑΚΑ	ΕΞΑΙΡΕΤΙΚΗ	54%	46%
	ΠΡΩΤΗ	56%	43%
	ΔΕΥΤΕΡΗ	58%	35%
	ΜΕΡΙΚΩΣ ΑΠΟΒΟΥΤΥΡΟΜΕΝΟ	58%	23,8-35%
ΤΥΡΙΑ ΤΥΡΟΓΑΛΑΚΤΟΣ	ΕΞΑΙΡΕΤΙΚΗ	60%	70%
	ΠΡΩΤΗ	65%	65%
	ΔΕΥΤΕΡΗ	70%	50%
	ΜΕΡΙΚΩΣ ΑΠΟΒΟΥΤΥΡΟΜΕΝΟ	70%	33,3-50%

Πίνακας 2.1: Κατάταξη τυριών σύμφωνα με τον ΚΤΠ

Έτσι σύμφωνα με τον Ελληνικό Κώδικα Τροφίμων και ποτών, απαγορεύεται να ονομάζεται τυρί και να διατίθεται στον καταναλωτή οποιοδήποτε τυροκομικό προϊόν, με υγρασία μεγαλύτερη από τις τιμές που αναγράφονται στον παραπάνω πίνακα και με λίπος μικρότερο από τις τιμές που αναγράφονται στην κατηγορία μερικώς αποβουτυρωμένο του κάθε είδους τυριού.

Εκτός από την Ελληνική νομοθεσία πάνω στα τυριά, υπάρχουν και Διεθνείς κανονισμοί και συγκεκριμένα ένας Κώδικας που έχει διαμορφωθεί από τον FAO και την παγκόσμια οργάνωση υγείας (WHO) σχετικά με τον έλεγχο τροφίμων μεταξύ των οποίων συμπεριλαμβάνεται και το γάλα.

Ο FAO σε συνεργασία με τον WHO το 2002, δημοσίευσαν την ταξινόμηση των τυριών με βάση κάποιους συντελεστές. Η ταξινόμηση έγινε με βάση το ποσοστό της

υγρασίας στο άνευ λίπους τυρί (MFFB) και το ποσοστό της λιποπεριεκτικότητας στην ξηρά ουσία του τυριού (FDM) και τον τρόπο ωρίμανσή τους.

ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΚΑΤΑΞΗΣ				ΤΡΟΠΟΣ ΩΡΙΜΑΝΣΗΣ
ΣΥΝΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ		ΛΙΠΟΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ		
MFFB	ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ	FDM	ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ	ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ
<51%	ΠΟΛΥ ΣΚΛΗΡΟ	>60%	ΥΨΗΛΗΣ ΛΙΠΟΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ	ΩΡΙΜΑΣΜΕΝΟ
49-56%	ΣΚΛΗΡΟ	45-60%	ΠΛΗΡΕΣ	ΩΡΙΜΑΣΜΕΝΟ ΜΕ ΜΥΚΗΤΕΣ
54-69%	ΗΜΙΣΚΛΗΡΟ	25-45%	ΜΕΣΗΣ ΛΙΠΟΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ	ΣΕ ΑΛΜΗ
>67%	ΜΑΛΑΚΟ	10-25%	ΧΑΜΗΛΗΣ ΛΙΠΟΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ	
		<10%	ΑΠΑΧΟ	

Πίνακας 2.2: Κατάταξη τυριών (FAO, WHO 2002)

2.3 Μαλακά τυριά

Στα μαλακά τυριά περιλαμβάνονται τυριά που ωριμάζουν με βακτήρια σε όλη τους την μάζα και των οποίων η υγρασία δεν υπερβαίνει το 58%. Χαρακτηριστικά τυριά είναι η Φέτα, ο Τελεμές, η Κοπανιστή καθώς και άλλα παρόμοιων τύπων με αυτά και η *Mozzarella* που είναι τύπου *pasta filata*. Στην ίδια ομάδα υπάγονται και τα τυριά που ωριμάζουν με επιφανειακή ανάπτυξη μυκήτων, όπως είναι τα τυριά *Camembert* και *Brie*. Όπως έχει ήδη αναφερθεί, σύμφωνα με την Ελληνική νομοθεσία η υγρασία στα μαλακά τυριά δεν πρέπει να υπερβαίνει στα προϊόντα εξαιρετικής ποιότητας το 54%, στα προϊόντα πρώτης ποιότητας το 65% (π.χ. Φέτα) και στα προϊόντα δεύτερης ποιότητας το 58%. Τα μαλακά τυριά συνήθως έχουν υγρασία 46-58% (Μάντης 2015).

Χαρακτηριστικό παράδειγμα μαλακών τυριών που ωριμάζουν με βακτήρια είναι τα Ελληνικά τυριά άλμης Φέτα και Καλαθάκι Λήμνου που είναι και προϊόντα ΠΟΠ, και άλλα λευκά τυριά άλμης όπως είναι ο Τελεμές.

Όσον αφορά τα μαλακά τυριά που ωριμάζουν με επιφανειακή ανάπτυξη μυκήτων, πρόκειται για τυριά που ωριμάζουν με τα είδη *Penicillium camemberti* και *P. candidum*. Οι μύκητες αυτοί αναπτύσσονται επιφανειακά και σχηματίζουν ένα λεπτό λευκό ή καστανό επίστρωμα. Σε ορισμένα είδη τυριών αναπτύσσεται συγχρόνως στην επιφάνειά τους και το *Brev. linens*. Η γαλακτική ζύμωση γίνεται με είδη λακτόκοκκων (*Lc. lactis subsp. lactis*, *Lc. lactis subsp. cremoris*). Η πορεία της ωρίμανσης των τυριών αυτών είναι σύντομη λόγω της σημαντικής μείωσης του pH στο 4,8 από τους λακτόκοκκους τις πρώτες ημέρες και την σημαντική άνοδο του στο 6.5-6,8 από την ανάπτυξη των μυκήτων επιφανειακά σε 20-30 ημέρες (Μάντης 2015).

3^ο ΚΕΦΑΛΑΙΟ-ΩΡΙΜΑΣΗ

3.1 Γενικά

Η ωρίμαση των τυριών συνήθως διαρκεί δύο εβδομάδες (π.χ. *Mozarella*) έως 2 περίπου χρόνια (π.χ. *Parmigiano-Regianno*). Η διαδικασία της ωρίμασης είναι μία πολύπλοκη διαδικασία η οποία περιλαμβάνει μικροβιολογικές και βιοχημικές μεταβολές στο πήγμα συμβάλλοντας στην διαμόρφωση των οργανοληπτικών και ρεολογικών χαρακτηριστικών των τυριών. Οι μικροβιολογικές μεταβολές κατά την διάρκεια της ωρίμασης περιλαμβάνουν τον θάνατο και την λύση των κυττάρων των καλλιιεργειών εκκινητών, την ανάπτυξη της δευτερεύουσας μικροχλωρίδας του γάλατος, σε ορισμένες περιπτώσεις την ανάπτυξη μιας δευτερεύουσας χλωρίδας π.χ. *Propionibacterium freudenreichii* στα τυριά Ελβετικού τύπου, μύκητες που συμβάλλουν στην ωρίμανση, και μιας σύνθετης χλωρίδας που περιλαμβάνει κυρίως *Gram*⁺ βακτήρια, τα οποία αναπτύσσονται στην επιφάνεια ορισμένων ειδών τυριών συμβάλλοντας στο άρωμά τους και στην υφή τους. Κατά την διάρκεια της ωρίμασης η υφή των τυριών υφίσταται μεταβολές που οφείλονται στην υδρόλυση των καζεϊνικών μικκυλίων, στην ικανότητα συγκράτησης νερού του πήγματος και στις αλλαγές των τιμών του pH.

Οι βιοχημικές μεταβολές που συμβαίνουν κατά την ωρίμαση περιλαμβάνουν τον μεταβολισμό της υπολειμματικής λακτόζης, του γαλακτικού και των κιτρικών αλάτων (που σε ορισμένες περιπτώσεις αναφέρεται λανθασμένα ως γλυκόλυση), την λιπόλυση και την πρωτεόλυση. Στη συνέχεια πραγματοποιούνται δευτερεύουσες βιοχημικές αντιδράσεις (μεταβολισμός ελεύθερων λιπαρών οξέων και αμινοξέων) οι οποίες είναι απαραίτητες για την διαμόρφωση του αρώματος των τυριών (*Paul L H Mcsweeney. 2004*).

3.2 Μεταβολισμός της λακτόζης

Το τυρί έχει χαρακτηριστεί ως ένα προϊόν ζύμωσης, λόγω του μεταβολισμού της υπολειμματικής λακτόζης σε γαλακτικό οξύ από συγκεκριμένες οξυγαλακτικές καλλιέργειες, γνωστές ως καλλιέργειες εκκινητές. Ο βαθμός και η ένταση της οξίνισης επηρεάζει την υφή του πήγματος, ελέγχοντας τον βαθμό της αφαλάτωσης των καζεϊνικών μικκυλίων (*McSweeney and Fox, 2004*). Σύμφωνα με τους *O'Keeffe et al.*

(1975) η αφαλάτωση αυξάνει την ευαισθησία των καζεϊνικών μικκυλίων στην πρωτεόλυση. Το pH του τυροπήγματος εξαρτάται από τον βαθμό της οξίνισης κατά την παρασκευή του τυριού, από την ρυθμιστική ικανότητα του τυροπήγματος, και σε ορισμένες περιπτώσεις από την μείωση της οξύτητας κατά την ωρίμανση. Το pH του τυριού επηρεάζει την υφή του και το άρωμα του, είτε άμεσα επηρεάζοντας την διαλυτότητα των καζεϊνών, είτε έμμεσα επηρεάζοντας την δραστηριότητα των ενζύμων που δρουν κατά την ωρίμανση και την δράση των πηκτικών ενζύμων που χρησιμοποιούνται κατά την παρασκευή των τυριών (Holmes et al. 1977; Stadhouders et al. 1977; Visser 1977; Creamer et al. 1985; Garnot et al. 1987).

Η μεγαλύτερη ποσότητα της λακτόζης του γάλακτος απομακρύνεται με το τυρόγαλα κατά την τυροκόμηση. Ωστόσο, παραμένει μια μικρή ποσότητα λακτόζης στο τυρόπηγμα στο τέλος της τυροκόμησης (π.χ. 0,8-1% για το τυρί *Cheddar*; (Huffman and Kristofer 1984). Η ολοκληρωτική ζύμωση της λακτόζης είναι απαραίτητη για τα τυριά ώστε να αποφευχθεί η ανάπτυξη ανεπιθύμητης μικροβιακής χλωρίδας. Η υπολειμματική λακτόζη μεταβολίζεται ταχέως σε L-γαλακτικό οξύ στα πρώιμα στάδια της ωρίμασης σε βαθμό που εξαρτάται από την θερμοκρασία και από το αλάτι που περιέχεται στην υγρή φάση (Turner and Thomas 1980; Parente and Cogan 2004). Όσο αυξάνεται το αλάτι στην υγρή φάση μειώνεται η δραστηριότητα των οξυγαλακτικών βακτηρίων. Η λακτόζη που δεν ζυμώνεται από τις καλλιεργείς εκκινητές, ζυμώνεται από τα οξυγαλακτικά βακτήρια των μη καλλιεργειών εκκινητών (McSweeney and Fox 2004).

Ο μεταβολισμός της λακτόζης στα Ελβετικού τύπου τυριά είναι πολύπλοκη (Turner et al. 1983; Fox et al., 1990; McSweeney and Fox 2004). Η υπολειμματική λακτόζη που παγιδεύεται στο πήγμα μεταβολίζεται ταχέως από τον *Streptococcus Thermophilus* σε L-γαλακτικό οξύ. Η γαλακτόζη που συσσωρεύεται αρχικά από την διάσπαση της λακτόζης και η λακτόζη που παραμένει μεταβολίζονται από τους γαλακτοβάκιλλους σε DL-γαλακτικό οξύ (Turner et al. 1983; Fox et al., 1990; McSweeney and Fox 2004). Στα τυριά Ελβετικού τύπου το γαλακτικό οξύ μεταβολίζεται κατά τα μεταγενέστερα στάδια της ωρίμανσης από τα προπιονικά βακτήρια σε προπιονικό οξύ, οξικό, CO₂ και H₂O.

3.2.1 Μεταβολισμός του γαλακτικού οξέος

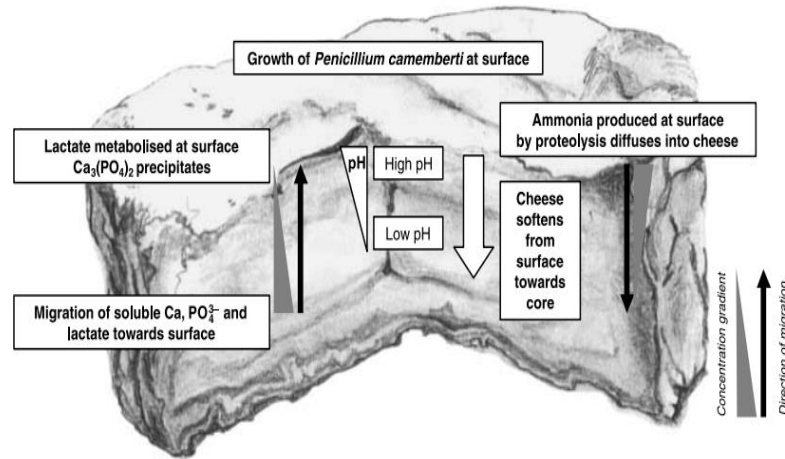
Το γαλακτικό οξύ που παράγεται από την ανάπτυξη των καλλιεργειών εκκινητών είναι ένας σημαντικός παράγοντας για μια σειρά βιοχημικών αντιδράσεων που συμβαίνουν κατά την διάρκεια της ωρίμασης των τυριών. Το D-γαλακτικό οξύ είτε παράγεται από τους λακτοβάκιλλους των καλλιεργειών εκκινητών, από τα οξυγαλακτικά βακτήρια των μη καλλιεργειών εκκινητών (δευτερεύουσα χλωρίδα) (Fox et al. 2000), είτε από την ρακεμοποίηση του L-γαλακτικού οξέος. Ο βαθμός ρακεμοποίησης του L-γαλακτικού οξέος εξαρτάται από την σύνθεση της δευτερεύουσας μικροβιακής χλωρίδας του γάλακτος. Για παράδειγμα, οι πεδιόκοκκοι ρακεμοποιούν το γαλακτικό οξύ ταχύτερα από τους λακτοβάκιλλους (Thomas and Crow 1983). Επιπλέον, η ρακεμοποίηση είναι γρηγορότερη στα τυριά που παρασκευάζονται από νωπό γάλα σε σχέση με τα τυριά που παρασκευάζονται από παστεριωμένο (McSweeney and Fox 2004). Το βιοχημικό μονοπάτι που οδηγεί στην ρακεμοποίηση περιλαμβάνει την οξειδωση του L-γαλακτικού οξέος προς πυροσταφυλικό οξύ και την μετατροπή του πυροσταφυλικού οξέος σε D-γαλακτικό οξύ. Η ρακεμοποίηση του γαλακτικού οξέος έχει ιδιαίτερη σημασία επειδή η διαλυτότητα του συμπλόκου Ca-DL-γαλακτικού οξέος είναι χαμηλότερη σε σχέση με την διαλυτότητα του συμπλόκου Ca-L-γαλακτικού οξέος, με αποτέλεσμα να δημιουργούνται κρύσταλλοι Ca-DL-γαλακτικού οξέος με την μορφή άσπρων κηλίδων στην εσωτερική επιφάνεια των τυριών (Thomas and Crow 1983; Dybing et al. 1988). Αυτοί οι κρύσταλλοι δίνουν την εντύπωση στους καταναλωτές ότι τα συγκεκριμένα τυριά περιέχουν ξένα σωματίδια με αποτέλεσμα να απορρίπτουν τα συγκεκριμένα προϊόντα (Dybing et al. 1988). Η αύξηση των επιπέδων της λακτόζης ευνοεί την ανάπτυξη των οξυγαλακτικών βακτηρίων των μη καλλιεργειών εκκινητών και κατά συνέπεια την δημιουργία αυτών των κρυστάλλων, καθώς και οι παράγοντες που ευνοούν την αποσύνδεση του Ca από τις καζεΐνες (π.χ. χαμηλό pH, υψηλή αλατοπεριεκτικότητα) ή την μείωση της διαλυτότητας του γαλακτικού ασβεστίου (χαμηλή θερμοκρασία ωρίμανσης) (Pearce et al. 1973; Sutherland and Jameson 1981; McSweeney and Fox 2004).

Το γαλακτικό οξύ οξειδώνεται από τα οξυγαλακτικά βακτήρια σε οξικό, αιθανόλη, μυρμηκικό οξύ και CO₂ (Fox et al. 2000). Ωστόσο, αυτή η βιοχημική αντίδραση εξαρτάται από τον πληθυσμό των οξυγαλακτικών βακτηρίων των μη εκκινητών καλλιεργειών και από την διαθεσιμότητα του O₂. Η διαπερατότητα των

υλικών συσκευασίας των τυριών επηρεάζει την οξείδωση του γαλακτικού οξέος (Thomas 1987). Στα συσκευασμένα τυριά η οξείδωση του γαλακτικού οξέος είναι περιορισμένη επειδή δεν υπάρχει επαρκή διαθέσιμο οξυγόνο (McSweeney and Fox 2004).

Ο αναερόβιος μεταβολισμός του γαλακτικού οξέος από το *Clostridium tyrobutyricum* σε βουτυρικό οξύ και σε H₂ δημιουργεί στα τυριά ένα ελάττωμα γνωστό ως όψιμο φούσκωμα, το οποίο προκαλεί μηχανικές ρωγμές κατά την ωρίμαση με ταυτόχρονη παραγωγή ανεπιθύμητου αρώματος (Fox et al. 1990; McSweeney and Fox 2004). Το όψιμο φούσκωμα των τυριών αποτελεί κύριο πρόβλημα για τα τυριά που ωριμάζουν σε υγρή άλμη λόγω του χρόνου που απαιτείται για να φτάσει η αλατοπεριεκτικότητα σε απαγορευτικά επίπεδα (Kleter et al 1984). Στα τυριά όπου εφαρμόζεται ξηρό αλάτισμα, δεν υπάρχει κίνδυνος όψιμου φουσκώματος επειδή η αλατοπεριεκτικότητα αυξάνεται ταχέως στην αρχή της ωρίμανσης. Το όψιμο φούσκωμα των τυριών μπορεί να αποφευχθεί εμποδίζοντας την ανάπτυξη спорίων στο γάλα με διάφορους τρόπους όπως είναι η εφαρμογή υγειονομικών μέτρων και η απομάκρυνσή τους με φυγοκεντρικό διαχωριστήρα ή με μικροδιήθηση του γάλακτος (McSweeney and Fox 2004).

Στα τυριά τύπου *Emmental* το γαλακτικό οξύ ευθύνεται για τον σχηματισμό χαρακτηριστικών οπών. Μικρός αριθμός του *Pr. Freudenreichii* προστίθεται στο γάλα της τυροκόμησης ή γίνεται επιμόλυνση του γάλακτος από το περιβάλλον του θαλάμου ωρίμασης. Ο *Pr. Freudenreichii* μεταβολίζει το γαλακτικό οξύ σε προπιονικό οξύ, σε οξικό οξύ, CO₂ και H₂O (Piveteau 1999). Τα δύο πρώτα συστατικά συμβάλλουν στο άρωμα του τυριού ενώ το CO₂ μετακινείται από το εσωτερικό της τυρομάζας προς την περιφέρεια και συσσωρεύεται. Εάν η πίεση που ασκεί το CO₂ είναι επαρκή δημιουργούνται οι χαρακτηριστικές οπές. Ο σχηματισμός των οπών στα τυριά Ελβετικού τύπου εξαρτάται από την ποσότητα CO₂ που θα παραχθεί, από την υφή των τυριών, από την πίεση που ασκεί το CO₂, από την θερμοκρασία του περιβάλλοντος και από τον αριθμό και από το μέγεθος των κατάλληλων θέσεων για τον σχηματισμό των οπών (Steffen et al. 1993). Το *Pr. Freudenreichii* συνήθως μεταβολίζει την L- μορφή του γαλακτικού οξέος. Το D-γαλακτικό οξύ συσσωρεύεται και μεταβολίζεται κατά το τέλος της ωρίμασης (Crow 1986).



Εικόνα 3.1: Σχηματική απεικόνιση των αλλαγών που συμβαίνουν στο τυρί *Camembert* κατά την διάρκεια της ωρίμανσης (McSweeney and Fox 2004)

Ο μεταβολισμός του γαλακτικού οξέος θεωρείται περισσότερο σημαντικός για την ωρίμανση των τυριών με επιφανειακή ανάπτυξη μυκήτων (π.χ. *Camembert*, *Brie*). Αμέσως μετά την παρασκευή αυτών των τυριών, γίνεται εγκατάσταση στην επιφάνειά τους από δευτερεύουσα χλωρίδα μικροοργανισμών. Αρχικά γίνεται εγκατάσταση του μύκητα *Geotrichum candidum* και ζυμών, στην συνέχεια του μύκητα *Penicillium camemberti* και τέλος μικρού αριθμού *Gram*⁺ βακτηρίων (McSweeney and Fox 2004). Ο *Geotrichum candidum* και ο *Penicillium camemberti* μεταβολίζουν ταχέως το γαλακτικό οξύ σε CO_2 και O_2 προκαλώντας εξουδετέρωση της οξύτητας στην επιφάνεια των τυριών. Η εξουδετέρωση της οξύτητας προκαλεί αύξηση του pH από το κέντρο του τυριού προς την επιφάνεια, με ταυτόχρονη διάχυση γαλακτικού οξέος από το κέντρο προς την επιφάνεια του. Στα πολύ ώριμα τυριά, παράγεται αμμωνία στην επιφάνεια των τυριών και διαχέεται προς το κέντρο τους. Καθώς το pH της επιφάνειας του τυριού αυξάνεται, το διαλυτό φωσφορικό ασβέστιο που βρίσκεται στο κέντρο των τυριών βαθμιαία μετατρέπεται σε ίζημα και μετακινείται προς την επιφάνεια. Η μείωση της συγκέντρωσης του φωσφορικού ασβεστίου, η αύξηση του pH και η πρωτεόλυση έχουν ως αποτέλεσμα η επιφάνεια των τυριών να γίνεται πιο μαλακή, χαρακτηριστικό των ώριμων τύπου *Camembert* τυριών (McSweeney and Fox 2004). Επιπλέον, αλλαγές στην μάζα των τυριών έχουν ως αποτέλεσμα την απελευθέρωση αρωματικών συστατικών (Engel et al. 2001). Ο μεταβολισμός του γαλακτικού οξέος και η αύξηση του pH στην επιφάνεια αυτών των τυριών έχουν έμμεση επίδραση στην πρωτεόλυση αυξάνοντας την δράση της πλασμίνης. Η πλασμίνη, η υπολειμματική πυτιά και τα

πρωτεολυτικά ένζυμα που παράγονται από τον *P. Camemberti* είναι υπεύθυνα για την πρωτεόλυση κατά την διάρκεια της ωρίμασης αυτών των τυριών (McSweeney and Fox 2004).

3.2.2 Μεταβολισμός των κιτρικών αλάτων

Το γάλα περιέχει περίπου 1750 mg κιτρικών αλάτων ανά λίτρο, εκ των οποίων το περισσότερο απομακρύνεται με το τυρόγαλα κατά την τυροκόμηση (Fox et al. 1993). Η συγκέντρωση κιτρικών αλάτων στο τυρόπηγμα είναι περίπου τρεις φορές μεγαλύτερη από την συγκέντρωση του τυρογάλακτος (Fryer et al. 1970), πιθανών λόγω της συγκέντρωσης των κιτρικών αλάτων στην κολλοειδή φάση. Το τυρί *Cheddar* περιέχει περίπου 0,2-0,5% κιτρικών αλάτων (McSweeney and Fox 2004). Τα κιτρικά άλατα αποτελούν μία σημαντική πρόδρομη ουσία για την παραγωγή αρωματικών ουσιών (Fox et al. 1990; Cogan and Hill 1993; Parente and Cogan 2004; McSweeney and Fox 2004).

Τα κιτρικά άλατα μεταβολίζονται από (*Cit*⁺) καλλιέργειες λκτόκκοκων όπως είναι ο *Streptococcus diacetylactis* ή ο *Lactococcus lactis ssp. Lactis biovar diacetylactis*, οι οποίοι περιέχουν ένα πλασμίδιο για την μεταφορά των κιτρικών αλάτων. Επιπλέον, οι *Leuconostoc mesenteroides spp. Creomirs* και ο *Ln. lactis* μεταβολίζουν κιτρικά άλατα. Τα κιτρικά άλατα δεν μεταβολίζονται από άλλα οξυγαλακτικά βακτήρια που χρησιμοποιούνται ως καλλιέργειες εκκινητές, όπως είναι οι θερμόφιλοι λακτοβάκιλλοι, ο *Sc. Thermophilus* και οι περισσότερες καλλιέργειες λακτόκκοκων. Τα προϊόντα μεταβολισμού των κιτρικών αλάτων είναι CO₂, το οποίο είναι υπεύθυνο για τον σχηματισμό των μικρών οπών στα γερμανικά τυριά, και άλλες αρωματικές ενώσεις όπως είναι το διακετύλιο.

Τα κιτρικά άλατα μεταβολίζονται επίσης από ορισμένες καλλιέργειες των μη εκκινητών σε ακετοΐνη, οξικό οξύ και σε διακετύλιο (Palles et al. 1998). Η συγκέντρωση των κιτρικών αλάτων στο τυρί *Cheddar* μειώνεται δραματικά τους πρώτους έξι μήνες της ωρίμασης λόγω της δράσης των μη καλλιεργείων εκκινητών (Thomas 1987).

3.3 Λιπόλυση

Τα λιπίδια των τροφίμων υφίστανται υδρολυτικές ή οξειδωτικές διεργασίες. Ωστόσο, στα τυριά, οι οξειδωτικές διεργασίες είναι περιορισμένες λόγω του χαμηλού οξειδωτικού δυναμικού (περίπου -250 m V) (Fox and Wallace 1997; McSweeney and Sousa 2000; Collins et al. 2003b).

Τα τριγλυκερίδια όλων των ειδών τυριών υδρολύονται από ενδογενής λιπάσες του γάλακτος ή από εξωγενείς λιπάσες, και το αποτέλεσμα αυτών των υδρολύσεων είναι η απελευθέρωση ελεύθερων λιπαρών οξέων κατά την διάρκεια της ωρίμασης. Τα τριγλυκερίδια του γάλακτος των μηρυκαστικών είναι πλούσιο σε μικρής αλύσου λιπαρά οξέα, τα οποία όταν απελευθερώνονται συμβάλουν στην ανάπτυξη αρώματος σε ορισμένα είδη τυριών. Παρόλο που η λιπόλυση πραγματοποιείται σε όλα τα είδη τυριών, είναι πιο έντονη σε ορισμένα σκληρά Ιταλικά τυριά και σε τυριά που ωριμάζουν με μύκητες. Η λιπόλυση που πραγματοποιείται σε χαμηλά επίπεδα, συμβάλλει σε ικανοποιητικό βαθμό στην ωρίμανση των τυριών *Cheddar*, *Gouda* και στα τυριά Ελβετικού τύπου. Αντιθέτως, εκτεταμένη λιπόλυση είναι ανεπιθύμητη και οδηγεί σε τάγγιση (McSweeney and Sousa 2000; Collins et al. 2003b).

Οι λιπολυτικοί παράγοντες στα τυριά προέρχονται κυρίως από το γάλα, από τις πάστες παραδοσιακών τυριών και από την μικροχλωρίδα των τυριών. Το γάλα περιέχει μία λιποπρωτεϊνική λιπάση (LPL) με μοριακό βάρος 55 kDa. Ο φυσιολογικός ρόλος αυτού του ενζύμου είναι ο μεταβολισμός των τριγλυκεριδίων του γάλακτος και η μεταφορά τους στο γάλα (Olivecrona et al. 2003). Κάτω από άριστες συνθήκες, τα επίπεδα της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης στο γάλα είναι αρκετά για να προκαλέσουν αντιληπτή τάγγιση (Walstra and Jenness 1984). Σε φυσιολογικές συνθήκες όμως, τα τριγλυκερίδια του γάλακτος προστατεύονται από την μεμβράνη των λιποσφαιρίων και περίπου το 90% της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης βρίσκεται στα καζεϊνικά μικκύλια. Ωστόσο, εάν οι μεμβράνες των λιποσφαιρίων καταστραφούν (π.χ. ομογενοποίηση, ανακίνηση ή αφρισμός του γάλακτος) αναπτύσσεται ανεπιθύμητο άρωμα λόγω της δράσης της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης (Fox et al. 2000). Η λιποπρωτεϊνική λιπάση δρα στα τριγλυκερίδια που περιέχουν μεσαίας αλύσου (C₆-C₁₂) λιπαρά οξέα και προτιμά την πρώτη και την τρίτη θέση των τριγλυκεριδίων (Olivecrona et al. 2003; Collins et al. 2003b). Η λιποπρωτεϊνική λιπάση δρα καλύτερα στα τυριά που παρασκευάζονται

από νοπό γάλα καθώς αυτό το ένζυμο αδρανοποιείται κατά την παστερίωση, 78°C για 10 δευτερόλεπτα αρκούν για να αδρανοποιηθεί το ένζυμο πλήρως (Driessen 1989).

Οι εμπορικές τυτιές που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή των περισσότερων ειδών τυριών είναι απαλλαγμένες από λιπάσες. Ωστόσο, οι πάστες παραδοσιακών τυτιών που χρησιμοποιούνται για ορισμένα Ιταλικά τυριά όπως είναι το Προβολόνε, και η παραδοσιακή Ελληνική φέτα, περιέχουν αρκετές λιπάσες. Οι παραδοσιακές πάστες τυτιών παρασκευάζονται από το περιεχόμενο του 4^{ου} στομάχου των θηλαζόντων μηρυκαστικών και περιέχουν το πηκτικό ένζυμο χυμοσίνη, υψηλά επίπεδα προγαστρικών εστερασών, ένζυμα που παράγονται από αδένες στην βάση της γλώσσας και καταλήγουν στο στόμαχο με τον θηλασμό. Οι προγαστρικές εστεράσες δρουν μόνο σε υδατικά υποστρώματα και έχουν βέλτιστη δραστηριότητα στους 32-42°C, σε pH 4,8-5,2 και παρουσία αλατιού 0,5 M (Collins et al. 2003b). Οι προγαστρικές εστεράσες δρουν στην 3^η θέση των τριγλυκεριδίων και θεωρούνται υπεύθυνες για τα υψηλά επίπεδα λιπόλυσης σε ορισμένα σκληρά Ιταλικά τυριά.

Τα περισσότερα τυριά που ωριμάζουν με εσωτερική ανάπτυξη βακτηρίων όπως είναι το τυριά *Gouda* και *Cheddar* παρασκευάζονται από παστεριωμένο γάλα και έχουν μειωμένη λιπολυτική δραστηριότητα παρόλο που η λιπόλυση κατά την διάρκεια της ωρίμασης είναι αποτέλεσμα των ενζύμων των καλλιιεργειών εκκινητών και των μη εκκινητών καλλιιεργειών της δευτερεύουσας χλωρίδας του γάλακτος. Στα τυριά που γίνεται οξίνιση χρησιμοποιώντας γλουκονικό οξύ παράγουν χαμηλά επίπεδα ελεύθερων λιπαρών οξέων κατά την διάρκεια της ωρίμασης (Reiter et al. 1967). Στοιχεία για την συσχέτιση της λιπόλυσης στο τυρί *Cheddar* και των καλλιιεργειών εκκινητών έχουν δοθεί από τους Collins et al. (2003a), οι οποίοι παρατήρησαν ότι η λιπόλυση ήταν εντονότερη σε τυριά που χρησιμοποιήθηκαν καλλιέργειες εκκινητές με έντονη λιπολυτική δραστηριότητα. Παρόλο που οι καλλιέργειες αυτές έχουν χαρακτηριστεί ως ασθενώς λιπολυτικές, σε σύγκριση με άλλα τυριά που ωριμάζουν με άλλα είδη μικροοργανισμών (π.χ. *Penicillium*), τα κύτταρα τους κατέχουν ενδοκυτταρικές λιπάσες και εστεράσες με ικανοποιητική δραστηριότητα. Επίσης, στα τυριά μακράς ωρίμασης, τα ένζυμα των εκκινητών καλλιιεργειών και των μη εκκινητών είναι υπεύθυνα για την απελευθέρωση σημαντικής ποσότητας ελεύθερων λιπαρών οξέων (Collins et al. 2003b, 2004). Τα λιπολυτικά ένζυμα των οξυγαλακτικών βακτηρίων είναι ενδοκυτταρικά και ως εκ τούτου απελευθερώνονται μετά την λύση των κυττάρων (Fernandez et al. 2000). Τα συγκεκριμένα ένζυμα έχουν βέλτιστη

δραστηριότητα σε pH 7-8,5, σε θερμοκρασία γύρω στους 35 °C και δρουν περισσότερο σε μικρής αλύσου λιπαρά οξέα (Kamaly et al. 1990; Gobbetti et al. 1996; Chich et al. 1997; Collins et al.; 2003b, 2004).

Τα τυριά που ωριμάζουν με επιφανειακή ανάπτυξη μικροχλωρίδας χαρακτηρίζονται από έντονη λιπολυτική δραστηριότητα. Παρόλο που δεν έχει μελετηθεί με λεπτομέρεια, φάνηκε ότι ορισμένα βακτήρια που αναπτύσσονται στις επιφάνειες των τυριών (*Brevibacterium linens*) είναι αρκετά λιπολυτικά (Sorhaug and Ordal 1974). Λιπάσες του μύκητα *G. candidum* έχουν επίσης μελετηθεί και βρέθηκε ότι έχουν βέλτιστη δραστηριότητα σε pH 7 και θερμοκρασία 37 °C (Baillargeon et al. 1989; Jacobsen and Pousen 1995). Το βακτήριο *Propionibacterium freudenreichii* είναι περισσότερο λιπολυτικό από τα οξυγαλακτικά βακτήρια και περιέχει ενδοκυτταρικές λιπάσες με βέλτιστο pH 7,2 και θερμοκρασία 47°C και δρα στα μικρής αλύσου λιπαρά οξέα (Dupuis 1994; Oterholm et al. 1970). Επιπλέον, έχει αναφερθεί ότι οι περισσότερο λιπολυτικοί μικροοργανισμοί έχουν συσχετιστεί με τα τυριά στα οποία αναπτύσσονται οι μύκητες *Penicillium spp* στην επιφάνειά τους. Ο *Penicillium roqueforti*, ο οποίος προκαλεί εκτεταμένη λιπόλυση στα μπλε τυριά, περιέχει δύο λιπάσες με βέλτιστο pH 7,5-8 και 9-9,5 αντίστοιχα (Morris and Jezeski 1953; Kman et al. 1966; Niki et al. 1966). Ο *Penicillium camemberti* παράγει μία εξωκυτταρική λιπάση, η οποία έχει βέλτιστο pH 9 και θερμοκρασία 35°C (Lamberet and Lenoir 1976).

3.3.1 Μεταβολισμός ελεύθερων λιπαρών οξέων

Παρόλο που τα λιπαρά οξέα μικράς αλύσου συμβάλλουν άμεσα στο άρωμα των τυριών, τα ελεύθερα λιπαρά οξέα συμβάλλουν έμμεσα στο άρωμα των τυριών, ενεργώντας ως πρόδρομα συστατικά των αρωματικών συστατικών μέσω μίας σειράς αντιδράσεων γνωστές ως μεταβολισμός των λιπαρών οξέων.

Οι εστέρες, οι οποίοι ανευρίσκονται σε ορισμένα είδη τυριών, παράγονται από την αντίδραση ενός ελεύθερου λιπαρού οξέος και μιας αλκοόλης (Meinhart and Schreier 1986). Η πιο κοινή αλκοόλη η οποία είναι διαθέσιμη για αυτή την αντίδραση είναι η αιθανόλη και ως εκ τούτου οι αιθυλοεστέρες είναι οι κυρίαρχοι εστέρες στα τυριά. Η αιθανόλη προέρχεται από την ζύμωση της λακτόζης και από τον καταβολισμό των ελεύθερων αμινοξέων. Οι Holland et al. (1992) ανέφεραν ότι οι εστέρες σχηματίζονται κατά την διάρκεια της ωρίμασης από την μεστεροποίηση των

ελεύθερων λιπαρών οξέων από γλυκερίδια σε αιθανόλη. Οι θειοεστέρες είναι συστατικά τα οποία προέρχονται από την αντίδραση ελεύθερων λιπαρών οξέων με σουλφυδρυλικές ενώσεις όπως είναι η μεθανθειόλη (CH₃SH) (McSweeney and Sousa 2000; Collins et al. 2003b, 2004).

Οι λακτόνες είναι κυκλικές ενώσεις οι οποίες σχηματίζονται από υδροξυοξέα έπειτα από ενδοκυτταρικές εστεροποιήσεις. Οι γ- και δ- λακτόνες (με πέντε και έξι δακτύλιους) έχουν βρεθεί στα τυριά. Η παραγωγή λακτονών κατά την διάρκεια της ωρίμανσης εξαρτάται από τα επίπεδα των υδροξυοξέων. Έχει αναφερθεί ότι στον μαστό ίσως πραγματοποιείται μία δ-οξείδωση για τα λιπαρά οξέα ή τα υδροξυοξέα από την μείωση των κετονών (Collins et al. 2003b, 2004). Η παρουσία υψηλών επιπέδων λακτονών με μεγάλο μοριακό βάρος σε ταγγισμένα Cheddar τυριά οδήγησε στο συμπέρασμα ότι οι λακτόνες ίσως προέρχονται επίσης και από άλλες βιοχημικές αντιδράσεις διαφορετικών από την απελευθέρωση υδροξυοξέων από τα τριγλυκερίδια (Wong et al. 1975). Η δωδεκαλακτόνη ίσως παράγεται από μακράς αλύσου ακόρεστα λιπαρά οξέα από τον *P. roqueforti* ενώ τα υδροξυοξέα ίσως προέρχονται από την δράση των λιποξυγενασών και άλλων ενζύμων της μικροβιακής χλωρίδας της μεγάλης κοιλίας των μηρυκαστικών (Collins et al. 2003b, 2004).

Ο μεταβολισμός των ελεύθερων λιπαρών οξέων έχει ιδιαίτερη σημασία στα μπλε τυριά, στα οποία τα ελεύθερα λιπαρά οξέα μετατρέπονται σε 2-μεθυλοκετόνες κατά τα πρώτα στάδια της β-οξείδωσης, που προκαλούνται από τα σπόρια ή τις βλαστικές μορφές μικκυλίων του *P. roqueforti* και άλλων μυκήτων (*P. camemberti* ή *G. candidum*) (Urbach 1997; Challier and Crouzet 1998; Collins et al. 2003b, 2004; Lamberet et al. 1982; Cerning et al. 1987; Molimard and Spinnler 1996). Η παραγωγή μεθυλοκετονών εξαρτάται από μία σειρά παραγόντων όπως είναι η θερμοκρασία, το φυσιολογικό στάδιο των μυκήτων και η συγκέντρωση των ελεύθερων λιπαρών οξέων. Ο βαθμός παραγωγής είναι μέγιστος σε pH μεταξύ 5 και 7, τιμές οι οποίες είναι πιο κοινές για τα μπλε τυριά (Gripou 1993). Παρόλο που οι 11 μεθυλοκετόνες έχουν ανιχνευτεί στα τυριά (Collins et al. 1993), οι πιο κοινές μεθυλοκετόνες είναι οι πεντανο-2-όνη, επτα-2-όνη και εννεα-2-όνη (Collins et al. 2004). Οι μεθυλοκετόνες μεταβολίζονται στις αντίστοιχες δευτερεύουσες αλκοόλες (πεντανο-2-όλη, επτανο-2-όλη και εννα-2-όλη) από την δράση των ενζύμων του μύκητα *P. roqueforti* (Martelli 1989; Engels et al. 1997).

3.4 Πρωτεόλυση

Η πρωτεόλυση είναι η πιο πολύπλοκη και η πιο σημαντική βιοχημική διεργασία που συμβαίνει σε όλα τα τυριά κατά την διάρκεια της ωρίμασης. Η πρωτεόλυση επίσης συμβάλλει στην διαμόρφωση της υφής των τυριών μέσω της υδρόλυσης των καζεϊνών του πηγματος και μέσω της μείωσης της ενεργότητας νερού, λόγω των αλλαγών που συμβαίνουν στην δέσμευση νερού από τα καρβοξυλικά οξέα και από τις αμινομάδες που σχηματίζονται. Η πρωτεόλυση έχει άμεση επίδραση στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των τυριών μέσω της παραγωγής μικρών πεπτιδίων και ελεύθερων αμινοξέων, τα οποία προσδίδουν πικρή γεύση, μέσω της απελευθέρωσης συστατικών που προσδίδουν ευχάριστη γεύση και τέλος από την απελευθέρωση αμινοξέων, τα οποία συμμετέχουν σε μία σειρά καταβολικών αντιδράσεων. Οι πρωτεϊνάσες και οι πεπτιδάσες που καταλύουν την πρωτεόλυση προέρχονται από την υπολειμματική πυτιά, από το γάλα, από τα οξυγαλακτικά βακτήρια των καλλιιεργειών εκκινητών, από τα οξυγαλακτικά βακτήρια που επιζούν της παστερίωσης, από τις δευτερεύουσες καλλιέργειες (π.χ. *P. roqueforti*, *P. camemberti*, *Pr. freudenreichii*), από μία σύνθετη χλωρίδα *Gram*⁺ βακτηρίων που αναπτύσσονται στην επιφάνεια ορισμένων ειδών τυριών και από εξωγενείς πρωτεϊνάσες και πετιδάσες που προστίθενται στο τυρόπηγμα.

Η σημαντικότερη πηγή πρωτεολυτικών ενζύμων σε ορισμένα τυριά είναι η υπολειμματική (χυμοσίνη) πυτιά που παραμένει παγιδευμένη στο τυρόπηγμα. Περίπου το 30% της υπολειμματικής πυτιάς που προστίθεται στο γάλα, παραμένει ενεργή στο τυρόπηγμα και αυτή η ενεργότητα εξαρτάται από παράγοντες όπως είναι ο τύπος του ενζύμου η θερμοκρασία αναθέρμανσης και το pH του τυρογάλακτος (*Upadhyay et al. 2004*). Η χυμοσίνη διασπά την β-καζεΐνη σε επτά σημεία, εκ των οποίων μερικά βρίσκονται στο υδροφοβικό C-τελικό άκρο της β-καζεΐνης (π.χ. Leu₁₉₂-Tyr₁₉₃) με αποτέλεσμα την παραγωγή μικρών υδρόφοβων πεπτιδίων τα οποία προσδίδουν πικρή γεύση (*Visser and Slangen 1977*). Η κύρια επίδραση της χυμοσίνης στην α_{s1}-καζεΐνη είναι η διάσπαση του πεπτιδικού δεσμού Phe₂₃-Phe₂₄ και η παραγωγή ενός μικρού πεπτιδίου (α_{s1}-CN f1-23 το οποίο υδrolύεται ταχέως από τις πρωτεϊνάσες των καλλιιεργειών εκκινητών) (*McSweeney et al. 1993*). Η χυμοσίνη διασπά επίσης την α_{s1} καζεΐνη και σε άλλα σημεία όπως είναι ο δεσμός Leu₁₀₁-Lys₁₀₂. Η χυμοσίνη επιδρά λιγότερο στην α_{s2}-καζεΐνη σε σχέση με την α_{s1}-καζεΐνη και η δράση αυτού του ενζύμου περιορίζεται στις υδροφοβικές περιοχές αυτού του μορίου (*McSweeney et al. 1994*). Παρόλο που η παρα-κ-καζεΐνη περιέχει αρκετά σημεία όπου θα μπορούσε να δράσει

η χυμοσίνη, δεν φαίνεται να υδρολύεται περισσότερο κατά την ωρίμαση (*Green and Foster 1974*).

Το κυριότερο ενδογενές πρωτεολυτικό ένζυμο του γάλακτος είναι η πλασμίνη, η οποία είναι μία τρυψίνη παρόμοια με την σερίνη. Η πλασμίνη προέρχεται από το αίμα και έχει βέλτιστη δραστηριότητα σε pH 7,5 και θερμοκρασία 37°C. Ο φυσιολογικός ρόλος της πλασμίνης στο αίμα είναι η διάσπαση του ινοδωγόνου κατά την πήξη του αίματος. Η δραστηριότητα της πλασμίνης στην κυκλοφορία του αίματος βρίσκεται υπό στενό έλεγχο και εξαρτάται από μία ανενεργή πρόδρομη ουσία που είναι το πλασμινογόνο και από τον ενεργοποιητή του πλασμινογόνου. Στο γάλα, η πλασμίνη, το πλασμινογόνο και ο ενεργοποιητής του πλασμινογόνου βρίσκονται στα καζεϊνικά μικκύλια ενώ οι αναστολείς της πλασμίνης και του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου βρίσκονται στον ορό του γάλακτος. Ο ρόλος της πλασμίνης στο γάλα είναι η διάσπαση πεπτιδικών δεσμών του τύπου Lys-X, σε μία μικρότερη επέκταση Arg-X. Η πλασμίνη δρα περισσότερο στην β-καζεΐνη και στην α_{s2}-καζεΐνη, έχει μικρή επίδραση στην α_{s1}-καζεΐνη και σχεδόν καμία επίδραση στην κ-καζεΐνη. Στα τυριά η β-καζεΐνη αποτελεί το σημαντικότερο υπόστρωμα για την πλασμίνη, όπου την υδρολύει σε τρία διαφορετικά σημεία (Lys₂₈-Lys₂₉, Lys₁₀₅-His₁₀₆, Lys₁₀₇-Glu₁₀₈), παράγοντας τις γ₁, γ₂ και γ₃-καζεΐνες και τις πρωτεόζες πεπτόνες (*Fox and McSweeney 1996b; Upadhyay et al. 2004*). Η α_{s2}-καζεΐνη είναι επίσης ευαίσθητη στην δράση της πλασμίνης και το γεγονός ότι απουσιάζει από τα τυριά οφείλεται στην δράση της πλασμίνης (*Fox and McSweeney 1996b*). Η δραστηριότητα της πλασμίνης έχει ιδιαίτερη σημασία στα τυριά όπου αναθερμαίνονται σε υψηλές θερμοκρασίες όπως είναι τα Ελβετικού τύπου τυριά. Σε αυτά τυριά η πλασμίνη, η οποία έχει χαρακτηριστεί ως θερμοανθεκτική, επιζεί σε αυτές τις θερμοκρασίες αναθέρμανσης (~55°C) ενώ η περισσότερη χυμοσίνη καταστρέφεται. Έχει παρατηρηθεί επίσης μερική ενεργοποίηση του πλασμινογόνου στις υψηλές θερμοκρασίες αναθέρμανσης λόγω της καταστροφής των αναστολέων του ενεργοποιητή και της πλασμίνης (*Farkey and Fox 1990*). Επιπλέον, η πλασμίνη έχει ιδιαίτερη σημασία στα τυριά που ωριμάζουν με μύκητες λόγω της αύξησης του pH, το οποίο απομακρύνεται από την βέλτιστη τιμή της χυμοσίνης και προσεγγίζει την βέλτιστη τιμή για την δράση της πλασμίνης (*Upadhyay et al. 2004*).

Το γάλα περιέχει επίσης κάποιες άλλες πρωτεάσες οι οποίες προέρχονται από τα σωματικά κύτταρα. Αυτές οι πρωτεάσες είναι οι καθεψίνες B, D, G, H και L (*Kelly and McSweeney 2003*). Ωστόσο, μόνο η παρουσία των καθεψινών B και D έχουν

επιβεβαιωθεί στο γάλα. Έχει αναφερθεί επίσης ότι η επίδραση της καθεψίνης Β στην πρωτεόλυση είναι άγνωστη παρόλο που αυτή η καθεψίνη έχει ευρεία ειδικότητα στις καζεΐνες (Considine et al. 2004). Τα τελευταία χρόνια έχει επικεντρωθεί το ενδιαφέρον στην καθεψίνη D (Hurley et al. 2000a, Kelly and McSweeney 2003). Αυτό το ένζυμο είναι μία πρωτεάση με βέλτιστη θερμοκρασία 37°C και pH 4. Η ειδικότητα της καθεψίνης D στις καζεΐνες και ιδιαιτέρως στην α_{s1} -καζεΐνη είναι όμοια με εκείνης της χυμοσίνης παρόλο που η καθεψίνη D περιέχεται σε χαμηλά επίπεδα στα τυριά ενζυμικής πήξης. Η δράση της καθεψίνης D στα όξινα πήγματα τα οποία παρασκευάζονται χωρίς πυτιά έχει αποδειχθεί (Wium et al. 1998; Hurley et al. 2000b). Ωστόσο η συμβολή αυτού του ενζύμου στην ωρίμαση διαφόρων τυριών από παστεριωμένο γάλα είναι περιορισμένη. Η καθεψίνη D βρίσκεται στην υδατική φάση του γάλακτος με αποτέλεσμα ένα μεγάλο μέρος της να χάνεται με το τυρόγαλα και ένα μεγάλο ποσοστό της γύρω στο 92% να καταστρέφεται με την παστερίωση (Hayes et al. 2001).

Τα οξυγαλακτικά βακτήρια διαθέτουν ένα πολύπλοκο πρωτεολυτικό σύστημα για να καλύψουν τις ανάγκες τους. Το κύριο πρωτεολυτικό ένζυμο των λακτόκοκκων είναι η λακτοσεπίνη, η οποία είναι συνδεδεμένη με Ca^{2+} στην κυτταρική μεμβράνη των οξυγαλακτικών βακτηρίων. Η λακτοσεπίνη είναι μία σερίνη (~140kDa και με βέλτιστο PH 5,5-6,5) της οποίας το γονίδιο έχει κωδικοποιηθεί σε ένα πλασμίδιο. Η λακτοσεπίνη έχει διαχωριστεί σε 2 ομάδες, τον P_I και τον P_{III} τύπο πρωτεασών (Fox and McSweeney 1996b). Ο τύπος P_I δρα ταχύτερα στις β-καζεΐνες και με πιο αργό ρυθμό στις κ-καζεΐνες και στις α_{s1} -καζεΐνες, ενώ ο τύπος P_{III} υδρολύει τις β-καζεΐνες με διαφορετικό τρόπο και δρα ταχύτερα στις κ-καζεΐνες και στις α_{s1} -καζεΐνες. Ωστόσο, τα ένζυμα από όλες τις καλλιέργειες λακτόκοκκων είναι όμοια γενετικά και οι διαφοροποίηση των ενζύμων σε δύο ομάδες είναι ανεπαρκής (Exterkate et al. 1993). Ο κύριος ρόλος της λακτοσεπίνης είναι η πρωτεόλυση των καζεϊνών, παρέχοντας στα κύτταρα των λακτόκοκκων μικρά πεπτίδια που είναι απαραίτητα για την ανάπτυξή τους. Επιπλέον στα τυριά δρα αρχικά η χυμοσίνη ή η πλασμίνη, οι οποίες διασπούν τις καζεΐνες σε μεσαίου μεγέθους πεπτίδια. Οι λακτόκοκκοι διαθέτουν επίσης ενδοκυτταρικές πρωτεάσες, εκ των οποίων ο ρόλος τους κατά την διάρκεια της ωρίμασης των τυριών δεν είναι τόσο ξεκάθαρος (Upadhyay et al. 2004).

Τα οξυγαλακτικά βακτήρια διαθέτουν επίσης ενδοκυτταρικές πεπτιδάσες, οι οποίες είναι σημαντικές κατά τα τελευταία στάδια της πρωτεόλυσης όπου

απελευθερώνουν αμινοξέα, τα οποία χρησιμοποιούνται ως υποστρώματα σε καταβολικές αντιδράσεις. Τα οξυγαλακτικά βακτήρια παράγουν τρεις τύπους ολιγοενδοπεπτιδασών (Kunji et al. 1996; Upadhyay et al. 2004), τις PepO και PepF, οι οποίες είναι μονομερής μεταλλοενδοπεπτιδάσες με μοριακό βάρος 70 kDa περίπου και με διαφορετικές δράσεις στα διάφορα πεπτίδια. Η PepE είναι μία θειόλη ενδοπεπτιδάση χωρίς να έχει μελετηθεί εκτενώς (Fenster et al. 1997). Οι τριπεπτιδάσες των οξυγαλακτικών βακτηρίων είναι διμερή ή τριμερή μεταλλοένζυμα με ευρεία ειδικότητα. Τα οξυγαλακτικά βακτήρια παράγουν επίσης μεγάλη ποικιλία αμινοπεπτιδασών (Kunji et al. 1996; Law and Haandrikman 1997; Christensen et al. 1999; Upadhyay et al. 2004). Η PepN είναι μία μονομερής μεταλλοαμινοπεπτιδάση με μοριακό βάρος 85-95 kDa, ενώ η PepC είναι μία πολυμερής θειόλη αμινοπεπτιδάση με ευρεία ειδικότητα και μοριακό βάρος περίπου 40-50 kDa. Η αμινοπεπτιδάση PepG είναι ένα ένζυμο που ειδικεύεται στο αμινοξύ κυστεΐνη, δομικά μοιάζει με την αμινοπεπτιδάση PepC αλλά έχουν διαφορετική ειδικότητα ως προς την δράση τους (Klein et al. 1997). Άλλες αμινοπεπτιδάσες που παράγονται από τα οξυγαλακτικά βακτήρια είναι η PepA, η οποία είναι μία πολυμερής αμινοπεπτιδάση, ειδική για τα αμινοξέα γλουταμίνη και ασπαριγγίνη και τέλος η αμινοπεπτιδάση PepL, η οποία είναι μία καρβοξυλική αμινοπεπτιδάση και η ειδικότητά της είναι η απομάκρυνση πυρογλουταμινικού οξέος από το N-άκρο των πεπτιδίων (Upadhyay et al. 2004).

Οι καζεΐνες είναι πλούσιες στο αμινοξύ προλίνη. Εξαιτίας της κυκλικής δομής αυτού του αμινοξέος, απαιτούνται ειδικές πεπτιδάσες για την υδρόλυση πεπτιδίων που περιέχουν το συγκεκριμένο αμινοξύ. Τα οξυγαλακτικά βακτήρια περιέχουν σε αφθονία τέτοια ένζυμα και ως εκ τούτου μπορούν να χρησιμοποιήσουν τις καζεΐνες για την ανάπτυξή τους. Η πεπτιδάση PepX απελευθερώνει διπεπίδια που περιέχουν το αμινοξύ προλίνη από το N-τελικό άκρο πεπτιδίων και γι' αυτό τον λόγο έχει χαρακτηριστεί ως ειδική πεπτιδάση της προλίνης των οξυγαλακτικών βακτηρίων (Kunji et al. 1996; Upadhyay et al. 2004). Οι πεπτιδάσες PepX των περισσότερων καλλιιεργειών είναι διμερής διπεπτιδυλ-αμινοπεπτιδάσες σερίνης με μοριακό βάρος 117-200 kDa. Η πεπτιδάση PepL καταλύει την απελευθέρωση προλίνης από το N-τελικό άκρο πεπτιδίων. Η PepL πεπτιδάση του *Lc. Lactis ssp. lactis* είναι μία διμερής μεταλλοαμινοπεπτιδάση με μοριακό βάρος 110 kDa (Baankreis and Exterkate 1991). Η πεπτιδάση PepP είναι μία μονομερής μεταλλοαμινοπεπτιδάση που αφαιρεί από το N-τελικό άκρο πεπτίδια με την σειρά X-Pro-Pro-(X)_n ή X-Pro-(X)_n. Τα οξυγαλακτικά

βακτήρια διαθέτουν επίσης και άλλες δύο ειδικές διπεπτιδάσες, οι οποίες διασπούν διπεπτίδια που περιέχουν προλίνη. Η προλινάση PepR διασπά πεπτίδια του τύπου Pro-X, ενώ η προλινάση PepQ υδρολύει διπεπτίδια του τύπου X-Pro.

Παρόλο που τα ένζυμα των καλλιιεργειών των οξυγαλακτικών βακτηρίων συμβάλουν στην ωρίμαση σχεδόν όλων των τυριών, η πρωτεόλυση σε ορισμένα τυριά όπου αναπτύσσεται δευτερεύουσα χλωρίδα έχει ιδιαίτερο ενδιαφέρον. Τα προπιονικά βακτήρια που χρησιμοποιούνται στα τυριά Ελβετικού τύπου ως δευτερεύουσες καλλιέργειες, είναι ασθενών πρωτεολυτικά αλλά ισχυρώς πεπτιδολυτικά (*Gagnaire et al. 1999*). Τα πρωτεολυτικά συστήματα των *P. camemberti* και *P. roqueforti* είναι σε γενικές γραμμές παρόμοια και παράγουν μεταλλοπρωτεάσες. Σε ορισμένα τυριά αναπτύσσεται στην επιφάνεια τους μία πολύπλοκη βακτηριακή χλωρίδα που από *Gram*⁺ βακτήρια συμπεριλαμβανομένων των *Brevibacterium*, *Arthrobacter*, *Micrococcus*, *Staphylococcus* και *Corynebacterium*. Ο *Br. linens* παράγει εξωκυτταρικές πρωτεάσες και αμινοπεπτιδάσες καθώς και μία μεγάλη ποικιλία ενδοκυτταρικών ενζύμων (*Rattray and Fox 1999*).

Συνοψίζοντας, οι καζεΐνες υδρολύονται αρχικά από την υπολειμματική πυτιά που παραμένει στο πήγμα και από την πλασμίνη σε μεσαίου και μεγάλου μήκους πεπίδια, τα οποία υδρολύονται στην συνέχεια σε αμινοξέα και μικρότερου μήκους πεπίδια από τις πρωτεάσες και πεπτιδάσες των οξυγαλακτικών βακτηρίων και των δευτερευουσών καλλιιεργειών.

Ωστόσο, η διαδικασία και ο βαθμός της πρωτεόλυσης διαφέρουν σε ορισμένα τυριά εξαιτίας των πρακτικών που εφαρμόζονται κατά την τυροκόμηση (π.χ. θερμοκρασία αναθέρμανσης), του πρωτόκολλου ωρίμασης, το οποίο δημιουργεί διαφορές στον χρόνο ωρίμανσης, στην υγρασία των τυριών, στην δραστηριότητα της υπολειμματικής πυτιάς, στην ενεργοποίηση του πλασμινογόνου και πιθανών στην ανάπτυξη δευτερεύουσας μικροβιακής χλωρίδας. Η διαδικασία της πρωτεολυσης ποικίλλει σε ευρεία όρια στα διάφορα είδη τυριών. Οι διαφορές στο pH 4,6 - του υδατοδιαλυτού κλάσματος N οφείλονται στις διαφορές που εντοπίζονται στην υγρασία των τυριών, στην θερμοκρασία και το pH, στην διάρκεια της ωρίμασης, στην θερμοκρασία αναθέρμανσης και στο pH του τυρογάλακτος. Τα πεπίδια σε αυτό το κλάσμα προέρχονται από την δραστηριότητα της χυμοσίνης και λιγότερο από την δραστηριότητα της πλασμίνης (*Fox and McSweeney 1996b*). Μία μικρή διάρκεια

ωρίμασης (τρεις εβδομάδες) και εκτεταμένη αδρανοποίηση της χυμοσίνης από την υψηλή θερμοκρασία αναθέρμανσης στο τυρί *Mozzarella* εξηγεί τα χαμηλά επίπεδα υδατοδιαλυτού N, ενώ εκτεταμένη πρωτεόλυση παρατηρείται στα μπλε τυριά και στα τυριά με επιφανειακή ανάπτυξη μικροβιακής χλωρίδας, όπου προκαλείται από την δράση της χυμοσίνης, της πλασμίνης και από τις πρωτεάσες από την χαρακτηριστική δευτερεύουσα χλωρίδα. Επιπροσθέτως, διαφορές σε αυτούς τους πρωτεολυτικούς παράγοντες προκαλούν διαφορές στο πεπτιδικό προφίλ των διαφόρων τυριών.

Σύμφωνα με τους *Upadhyay et al.* (2004), τα αρχικά στάδια της πρωτεόλυσης κατά την διάρκεια της ωρίμασης είναι παρόμοια στα περισσότερα τυριά. Όπως έχει ειδη αναφερθεί, η χυμοσίνη υδρολύει τον δεσμό Phe₂₃-Phe₂₄ της α_{s1}-καζεΐνης εκτός των τυριών που έχει γίνει αναθέρμανση σε υψηλές θερμοκρασίες (~55°C). Σε αυτά τα τυριά η υδρόλυση των τυριών είναι βραδύτερη και το κύριο πρωτεολυτικό ένζυμο είναι η πλασμίνη. Τα ένζυμα του μύκητα *P. roqueforti* υδρολύει την α_{s1}-καζεΐνη και άλλα πεπτίδια στα μπλε τυριά αλλάζοντας το πεπτιδικό τους προφίλ (*Gripou 1993*). Σε ορισμένα τυριά η α_{s1}-καζεΐνη υδρολύεται ταχύτερα από την β-καζεΐνη (*Sousa et al. 2001*). Στα μπλε τυριά και οι δύο καζεΐνες υδρολύονται πλήρως στο τέλος της ωρίμανσης. Στα Ελβετικού τύπου τυριά η β-καζεΐνη υδρολύεται ταχύτερα από την α_{s1}-καζεΐνη, με ταυτόχρονη αύξηση των γ-καζεϊνών, γεγονός που αποδεικνύει τον δράση της πλασμίνης και την αδρανοποίηση της χυμοσίνης κατά την αναθέρμανση. Ωστόσο, στα Ελβετικού τύπου τυριά παρατηρείται μία μικρή υδρόλυση της α_{s1}-καζεΐνης από την χυμοσίνη που δεν καταστράφηκε από την αναθέρμανση, ή από την δράση της καθεψίνης D. Κατά την διάρκεια της ωρίμασης του τυριού *Mozzarella*, η α_{s1}-καζεΐνη υδρολύεται αργά και οι γ-καζεΐνες παράγονται με ταχύτερο ρυθμό αποδεικνύοντας ασθενή δραστηριότητα της χυμοσίνης και υψηλή δραστηριότητα της πλασμίνης (*Kindstedt 1993*). Η πλασμίνη και οι πρωτεάσες του *Lactobacillus* είναι υπεύθυνες για την εκτεταμένη πρωτεόλυση του τυριού *Parmigiano-Reggiano*, το οποίο ωριμάζει για μεγάλο χρονικό διάστημα (24 μήνες) σε θερμοκρασία (18-20°C) (*Battistotti and Corradini 1993*). Η υψηλή θερμοκρασία αναθέρμανσης που εφαρμόζεται σε αυτό το τυρί αδρανοποιεί το μεγαλύτερο μέρος της χυμοσίνης. Τέλος, αρκετά πεπτίδια από τα τυριά *Cheddar*, *Parmigiano-Reggiano*, μπλε, Ελβετικού τύπου και Φέτα έχουν αξιολογηθεί. Από αυτά τα τυριά, το πεπτιδικό προφίλ του τυριού *Cheddar* χαρακτηρίστηκε ως καλύτερο (*Upadhyay et al. 2004*).

3.4.1 Μεταβολισμός ελεύθερων αμινοξέων

Είναι γνωστό ότι η κύρια συμβολή της πρωτεόλυσης στην ανάπτυξη αρώματος των τυριών οφείλεται στην απελευθέρωση αμινοξέων και στην συμμετοχή τους σε καταβολικές διεργασίες.

Ο καταβολισμός των αμινοξέων αρχίζει με την δράση μίας αμινοτρανσφεράσης (PLP), η οποία μετατρέπει τα αμινοξέα στα αντίστοιχα α-κετοξέα (μεταφέροντας την αμινομάδα του αμινοξέος σε ένα μόριο υποδοχέα α-κετογλουταμικού εξέος, παράγοντας έτσι ένα νέο αμινοξύ συνήθως το γλουταμινικό οξύ). Τα α-κετοξέα που παράγονται από την δράση των αμινοτρανσφερασών, μεταβολίζονται περαιτέρω από την μικροβιακή μικροχλωρίδα των τυριών σε αρωματικά συστατικά μέσω τεσσάρων βιοχημικών μονοπατιών (Curtin and McSweeney 2004). Εν συνεχεία, τα α-κετοξέα μετατρέπονται σε υδροξυοξέα με την δράση αφυδρογονασών (Yvon and Rijnen 2001). Αυτά τα συστατικά δεν αποτελούν σημαντικά αρωματικά συστατικά για τα τυριά με αποτέλεσμα αυτή η βιοχημική διεργασία να είναι ανεπιθύμητη για τα τυριά. Τα α-κετοξέα που προέρχονται από αρωματικά αμινοξέα, αποκαρβοξυλιώνονται σε αλδεΐδες ή οξειδώνονται σε καρβοξυλικά οξέα (Yvon and Rijnen 2001).

Τα θειούχα πτητικά συστατικά ευθύνονται για την ανάπτυξη αρώματος σε αρκετά είδη τυριών (Fox and McSweeney 1996a,b; McSweeney and Sousa 2000; Curtin and McSweeney 2004). Καθώς οι καζεΐνες στερούνται του αμινοξέος κυστεΐνη, τα θειούχα αρωματικά συστατικά των τυριών προέρχονται από τον καταβολισμό του αμινοξέος μεθειονίνη. Τα πτητικά συστατικά που προέρχονται από το αμινοξύ μεθειονίνη είναι η μεθανθειόλη, το διμέθυλοδισουλφίδιο, το διμέθυλοτρισουλφίδιο, η μεθειονάλη και οι θειοστέρες που σχηματίζονται από την αντίδραση μίας θειόλης, συνήθως της μεθανθειόλης και ενός καρβοξυλικού οξέος (Yvon and Rijnen 2001; Curtin and McSweeney 2004). Ένα από τα ένζυμα που καταλύουν τις παραπάνω αντιδράσεις είναι η μεθειονίνη-γ-λυάση που μετατρέπει το αμινοξύ μεθειονίνη σε α-κετοβουτυρικό οξύ, μεθανθειόλη και αμμωνία (Curtin and McSweeney 2004). Τα αμινοξέα τριπτοφάνη, τυροσίνη και φαινυλαλαλίνη καταβολίζονται στα αντίστοιχα α-κετοξέα ινδολ-πυρουβικό οξύ, p-υδροξυφαινυλ-πυρουβικό οξύ και φαινυλ-πυρουβικό οξύ αντίστοιχα.

Τα αμινοξέα μπορούν επίσης να υποστούν απαμίνωση από την δράση αφυδρογονασών ή οξειδασών. Η αμμωνία που παράγεται από την απαμίνωση των

αμινοξέων συμβάλλει στην ανάπτυξη αρώματος ορισμένων ειδών τυριών όπως είναι τα τυριά Ελβετικού τύπου και τα τυριά με επιφανειακή ανάπτυξη μυκήτων ή βακτηριών. Στα ώριμα τυριά τύπου *Camembert* η παραγωγή αμμωνίας έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση του pH κατά την διάρκεια της ωρίμανσης (*McSweeney and Sousa 2000*).

Τέλος, η αποκαρβοξυλίωση των αμινοξέων έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή ανεπιθύμητου αρώματος και στην παραγωγή ορισμένων βιογενών αμινών οι οποίες δημιουργούν σοβαρά προβλήματα στην υγεία των καταναλωτών. Η αποκαρβοξυλίωση γίνεται σε pH 5,5 και συνήθως απαιτείται η συνέργεια μιας αμινοτρανσφεράσης (PLP) (*Hemme et al. 1982*). Η παραγωγή των αμινών στα τυριά εξαρτάται από την συγκέντρωση αμινοξέων και από την μικροβιακή μικροχλωρίδα των τυριών η οποία με την σειρά της εξαρτάται από την θερμοκρασία ωρίμανσης, το pH και την περιεκτικότητα άλατος (*Joosten 1988; Curtin and McSweeney 2004*). Η παραγωγή αμινών προκαλείται από τα οξυγαλακτικά βακτήρια των μη καλλιεργειών εκκινητών και συγκεκριμένα από γαλακτοβάκιλλους και εντερόκοκους (*Joosten and Northolt 1987; Broome et al. 1990; Gardini et al 2001; Roig-Sagues et al. 2002*), ενώ ορισμένες καλλιέργειες του *Br. Linens* μειώνουν τα επίπεδα των βιογενών αμινών στα τυριά που ωριμάζουν με επιφανειακή ανάπτυξη μικροοργανισμών (*Leuschner and Hammes 1998*).

4^ο ΚΕΦΑΛΑΙΟ-ΡΕΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΥΡΙΩΝ

4.1 Γενικά

Ο όρος ρεολογία επινοήθηκε αρχικά από τον καθηγητή Bingham για να περιγράψει μια σειρά από μηχανικές ιδιότητες που αφορούν την παραμόρφωση και την ροή της ύλης. Η ρεολογία έχει στόχο την μέτρηση εκείνων των ιδιοτήτων της ύλης που έχουν σχέση με την παραμόρφωσή της και την ροή της, όταν υπόκειται σε διάφορες εξωτερικές δυνάμεις και κυρίως σχετίζεται με την τάση (stress) και την παραμόρφωση (strain) με τον χρόνο. Όταν τα υλικά που υπόκεινται σε εξωτερικές δυνάμεις είναι στερεά (ελαστικά υλικά), αυτά παραμορφώνονται, ενώ όταν είναι υγρά (ιξώδη) τότε προκαλείται η ροή τους. Η σύγχρονη ρεολογία εστιάζει σε υλικά με ενδιάμεση συμπεριφορά του υγρού και του στερεού. Τα υλικά αυτά ονομάζονται ιξωδοελαστικά.

Το τυρί είναι ένα προϊόν που συμπεριφέρεται ως ιξωδοελαστικό προϊόν. Η ιξωδοελαστική συμπεριφορά είναι η συμπεριφορά όπου η απόκριση του υλικού σε συγκεκριμένη διέγερση είναι χρονικά εξαρτώμενη. Η ιξωδοελαστικότητα μπορεί να είναι γραμμική, όταν υπάρχει γραμμική σχέση μεταξύ επιβαλλόμενης τάσης και της προκαλούμενης παραμόρφωσης, και μη γραμμική όταν δεν υπάρχει γραμμική σχέση μεταξύ τάσης και παραμόρφωσης. Μηχανικές διεργασίες όπως η μάσηση και η κατάποση, προκαλούν μη γραμμική ιξωδοελαστικότητα.

Για τη μέτρηση των ρεολογικών ιδιοτήτων χρησιμοποιούνται οι παρακάτω μέθοδοι:

Μονοαξονική συμπίεση

Μονοαξονικός εφελκισμός (η δύναμη απομακρύνεται από το υλικό)

Δοκιμές κάμψης σε υλικά με ορθογώνια διατομή ή κυκλική διατομή

Δοκιμές συστροφής

Μέθοδοι χρησιμοποίησης ελικοειδών μηχανισμών για την περιστροφή υλικών

Μέθοδοι βαθμιαίας μείωσης της τάσης (χαλάρωση) όπου αναλύεται η συμπεριφορά χαλάρωσης του υλικού

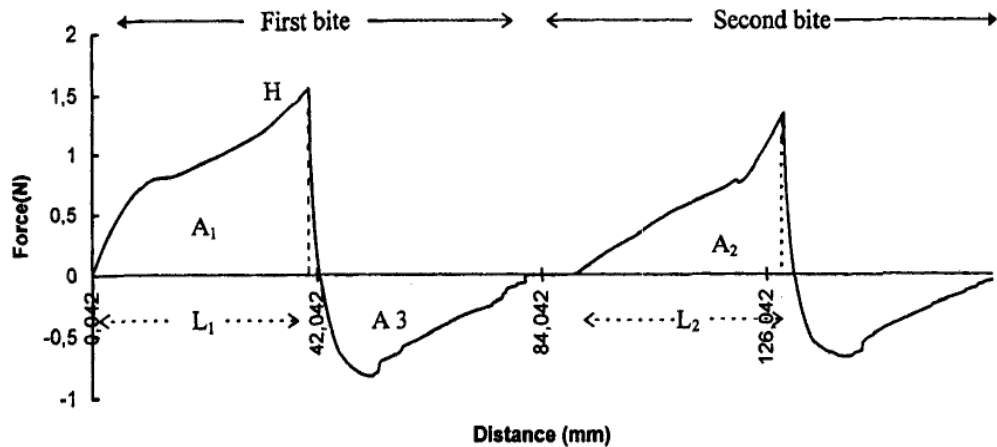
Δοκιμές ερπυσμού (Creep) δηλαδή δοκιμές στις οποίες εφαρμόζεται σταθερή τάση, η οποία μεταβάλλεται βήμα προς βήμα, (συνήθως εφαρμόζεται συμπίεση τα τυριά) και καταγράφεται η παραμόρφωση σε σχέση με τον χρόνο

Διάτμηση

Διαξονική τάνυση (δύναμη επιμήκυνσης) στην οποία το υλικό είναι μεταξύ δύο πλακών, η τάση εφαρμόζεται στην μία πλάκα και το υλικό μεταξύ των πλακών

ολισθαίνει.

Η μέθοδος που χρησιμοποιείται συνήθως είναι η μονοαξονική συμπίεση, γνωστή και σαν «ενόργανη ανάλυση της κατατομής της δομής» (instrumental texture profile analysis). Με τα όργανα αυτά (texturometers) το τρόφιμο πιέζεται διαδοχικά με ένα έμβολο, κατ' απομίμηση της μάσησης της τροφής, σε δύο κύκλους (δαγκωματιές). Η δύναμη που ασκείται από το έμβολο στο δείγμα προκαλεί το τυπικό διάγραμμα συμπίεσης (compression curve) (σχήμα 4.1, Kaminarides & Stachtiaris, 2000).



Σχήμα 4.1 : Τυπική καμπύλη ρεολογικής ανάλυσης δείγματος τυριού (H: σκληρότητα, A1: εμβαδόν πρώτης συμπίεσης, A2: εμβαδόν δεύτερης συμπίεσης, A3: εμβαδόν αποσυμπίεσης)

Μέσω αυτού του διαγράμματος υπολογίζονται μια σειρά ρεολογικών χαρακτηριστικών με συγκεκριμένη φυσική σημασία (Ρεολογία Τροφίμων- Ταούκης Π., 2007) όπως:

Σκληρότητα (Hardness) (N) : ορίζεται ως η μέγιστη κορυφή (H) που διαγράφεται κατά την πρώτη συμπίεση του δείγματος από το έμβολο και αντιστοιχεί στην δύναμη που απαιτείται για να συμπιεστεί ένα τρόφιμο μεταξύ των γομφίων του στόματος

Ελαστικότητα (Elasticity) (mm) : ορίζεται ως ο λόγος L_2/L_1 και αντιστοιχεί στην ικανότητα που έχει ένα συμπιεσμένο τρόφιμο να επανέλθει στην αρχική του κατάσταση, όταν πάψει να υφίσταται το φορτίο.

Συνάφεια ή Προσκολλησιμότητα (Adhesiveness) (N·mm) : ορίζεται ως το εμβαδόν της πρώτης αποσυμπίεσης (A₃) είναι ανάλογο της διαδικασίας που απαιτείται για να ξεπεραστούν οι ελκτικές δυνάμεις μεταξύ τυριού και εμβόλου κατά την έξοδο του εμβόλου από το τυρί κατά την πρώτη δαγκωματιά και αντιστοιχεί ενέργεια που απαιτείται για να αποκολληθεί ένα τρόφιμο από μια επιφάνεια.

Συνεκτικότητα (Cohesiveness) (N mm): ορίζεται ως λόγος του εμβαδού της δεύτερης συμπίεσης προς το εμβαδόν της πρώτης συμπίεσης (A_2/A_1) και αντιστοιχεί στη δύναμη των δεσμών που συγκρατούν ένα τρόφιμο

Κομμιώδες (Gumminess) (N): ορίζεται ως το γινόμενο της σκληρότητας επί την συνεκτικότητα [$=H \cdot (A_2/A_1)$] και αντιστοιχεί στην ενέργεια που απαιτείται για να διασπαστεί – αποσυντεθεί ένα τρόφιμο, μέχρι να είναι έτοιμο για κατάποση

Μασητικότητα (Chewiness) (N): ορίζεται ως το γινόμενο της ελαστικότητας επί το κομμιώδες [$H \cdot (A_2/A_1) \cdot (L_2/L_1)$] και αντιστοιχεί στην ενέργεια που απαιτείται για να μασηθεί ένα τρόφιμο, μέχρι να είναι έτοιμο για κατάποση

4.2 Η υφή των τυριών

Η υφή ή δομή (texture) είναι κυρίαρχο χαρακτηριστικό ποιότητας στα τυριά. Η συνολική εμφάνισή τους καθώς και η αίσθηση στο στόμα είναι δύο χαρακτηριστικά που εκτιμώνται πριν την οσμή και την γεύση τους. Υπάρχουν εκατοντάδες ορολογίες για να περιγράψουν την υφή στα τρόφιμα. Πολλές από αυτές χρησιμοποιούνται για να περιγράψουν και την υφή των τυριών. Κατά ISO 1992 προσδιορίζεται η υφή στα τρόφιμα ως όλα τα ρεολογικά και δομικά χαρακτηριστικά των προϊόντων που γίνονται αισθητά με μηχανικά και απτά μέσα και όπου είναι απαραίτητο με οπτικούς αισθητήρες και αισθητήρες όσφρησης.

Αυτά τα χαρακτηριστικά σχετίζονται με τη σύνθεση, τη μικροδομή, τη φυσικοχημική κατάσταση των συστατικών του και τη μακροδομή του τυριού, που αντικατοπτρίζει την παρουσία ανομοιογένειας, όπως ρωγμές, σχισμές κλπ. Σε γενικές γραμμές, τα ρεολογικά χαρακτηριστικά διαφέρουν σημαντικά, ανάλογα με το είδος του τυριού και την ηλικία του. Οι αλλαγές που συμβαίνουν στα δομικά συστατικά της μάζας ενός τυριού, μετριάζονται από την υπολειμματική πυτιά, τους μικροοργανισμούς και τα ένζυμά τους, και αλλαγές στην ισορροπία των ανόργανων στοιχείων ανάμεσα στον ορό και τη μάζα του τυροπήγματος (*Marzia Albenzio, Antonella Santillo, 2011*). Η δομή στα τυριά εξαρτάται από τους ακόλουθους παράγοντες, με σειρά σημαντικότητας περιεκτικότητα πρωτεϊνών > περιεκτικότητα σε άλατα > περιεκτικότητα σε νερό > pH > λιποπεριεκτικότητα. Επίσης, η θερμοκρασία έχει αξιόλογη επίδραση στα ρεολογικές ιδιότητες των τυριών.

Κυρίαρχο συστατικό της δομής στα τυριά είναι η πρωτεϊνική μήτρα. Μέσα σε αυτήν είναι παγιδευμένα τα λιποσφαίρια. Επίσης, υπάρχουν το νερό και ο ορός που καλύπτουν τα κενά που υπάρχουν. Η δομή αυτού του δικτύου εξαρτάται από την σχετική συγκέντρωση των πρωτεϊνών, του λίπους, της υγρασίας καθώς επίσης και των

βιοχημικών διεργασιών που κατά την ωρίμαση. Κατά την διαδικασία της τυροκόμησης πολλοί παράγοντες επηρεάζουν την υφή των τυριών, όπως η υγρασία του πήγματος, η οξύτητα και το pH. Υψηλές θερμοκρασίες κατά την παρασκευή του πήγματος οδηγούν σε τυρί ελαστικό. Το χαμηλό pH του γάλακτος ή η πτώση του pH με την προσθήκη ενζύμων οδηγεί σε σκληρότερο πήγμα. Χαμηλή οξύτητα οδηγεί σε χαλάρωση των δεσμών μεταξύ των πρωτεϊνών, γιατί αυξάνει το αρνητικό τους φορτίο ως αποτέλεσμα του υψηλού pH με αποτέλεσμα την αύξηση των δυνάμεων απόθησης μεταξύ τους. Οι υδροφοβικές αλληλεπιδράσεις οι οποίες είναι απαραίτητες για την σταθερότητα της καζεϊνικής μήτρας εξασθενούν καθώς οι καζεΐνες απορροφούν μόρια νερού για να εξουδετερώσουν το αρνητικό τους φορτίο. Στα τυριά με υψηλό pH η απορρόφηση νερού από τις καζεΐνες περιορίζει την ποσότητα του νερού στα διάκενα που έχει η πρωτεϊνική μήτρα. Οι *Creamer* και *OLLson* (1982) πρότειναν για τα τυριά με υψηλό pH να θεωρούνται ως συμπυκνωμένα πρωτεϊνικά γαλακτώματα και τα τυριά με χαμηλό pH ως μία πορώδη μάζα από κομμάτια πρωτεΐνης και λίπους. Τα τυριά με χαμηλό pH έχουν την τάση να θρυμματίζονται ενώ τα τυριά με υψηλό pH είναι λιγότερο κολλώδη.

Η υγρασία, το αλάτι και το ασβέστιο επηρεάζουν το pH. Τα τυριά με υψηλή υγρασία, με συγκεκριμένο pH και αλάτι είναι λιγότερο σφιχτά. Αυτό συμβαίνει επειδή τα υπομυκίλια των καζεϊνών διογκώνονται. Ακόμα και μικρές διακυμάνσεις στην υγρασία έχουν σημαντική επίδραση στην υφή του τυριού.

Η επίδραση του λίπους στην μικροδομή των τυριών είναι σημαντική. Η υφή των τυριών με υψηλή λιποπεριεκτικότητα είναι πιο αποδεκτή. Τα τυριά με μειωμένα λιπαρά έχουν πιο σκληρή δομή γιατί η καζεϊνική μήτρα είναι πιο συμπαγής με λιγότερα κενά ενδιάμεσα, τα οποία στα κανονικά τυριά καταλαμβάνονται από τα λιποσφαίρια. Τυριά που περιέχουν μεγαλύτερο ποσοστό σε ακόρεστα λιπαρά οξέα έχουν πιο μαλακή υφή. Τα τυριά με μειωμένα λιπαρά έχουν την τάση να είναι πιο ελαστικά και πιο κολλώδη. Η υψηλή περιεκτικότητα σε λίπος και υγρασία οδηγεί σε πιο αδύνατη καζεϊνική μήτρα με αποτέλεσμα τα τυριά να είναι πιο μαλακά. Η συνεκτικότητα των τυριών μειώνεται με την αύξηση του λίπος. Αύξηση του επιπέδου των πρωτεϊνών οδηγεί σε σφιχτό πήγμα. Τα τυριά με μειωμένα λιπαρά είναι πιο ελαστικά γιατί παραμορφώνεται περισσότερο ποσοστό πρωτεΐνης ανά μονάδα υπό την άσκηση πίεσης. Επίσης τα τυριά με μειωμένα λιπαρά, αντιστέκονται περισσότερο στην παραμόρφωση και η θραύση του πήγματος συμβαίνει δυσκολότερα με αποτέλεσμα να εμφανίζονται πιο συνεκτικά. Γενικά η αύξηση της υγρασίας σε αυτά τα τυριά βελτιώνει

την υφή τους. Η επίδραση της υγρασίας στην ελαστικότητα δεν είναι σαφής. Θεωρείται όμως ότι μεγαλύτερο ρόλο στην υφή του τυριού παίζει η φύση της πρωτεϊνικής μήτρας παρά η υγρασία στην διαμόρφωση της τελικής υφής του τυριού.

Κατά την ωρίμαση των τυριών, η υφή τους αλλάζει συνεχώς λόγω της πρωτεολυτικής δράσης των ενζύμων. Η πιο σημαντική αλλαγή με την ωρίμανση είναι η μείωση της τάσης θραύσης του πήγματος, η μείωση της ελαστικότητας και η αύξηση της κρεμώδους υφής λόγω της διάσπασης της καζεϊνικής μήτρας από την δράση των ενζύμων. Οι Lawrence *et al.* (1987) προσδιόρισαν τρεις παράγοντες που επιδρούν στην υφή των τυριών κατά την διάρκεια της ωρίμανσης οι οποίοι είναι το pH κατά την διάρκεια της στράγγισης το οποίο προσδιορίζει και τις ποσότητες της χυμοσίνης και της πλασμίνης που παραμένουν τελικά στο πήγμα, η αναλογία άλατος προς υγρασία που επιδρά εκτός από την θερμοκρασία στην ενεργότητα των ενζύμων που έχουν απομείνει στο τυρί και τέλος από το pH του τυριού μετά το αλάτισμα.

Άλλοι παράγοντες που επιδρούν στην υφή των τυριών κατά την ωρίμαση είναι η υγρασία και η θερμοκρασία. Στα τυριά με μειωμένα λιπαρά επειδή η υγρασία είναι υψηλότερη, η πρωτεόλυση κατά την ωρίμανση οδηγεί σε τυριά πιο κολλώδη αν και μερικές έρευνες οδηγούν σε αντίθετα συμπεράσματα.

Οι αλλαγές που συμβαίνουν στα τυριά κατά την διάρκεια της ωρίμασης μπορούν να διακριθούν σε δύο φάσεις. Στην πρώτη φάση που διαρκεί συνήθως δύο εβδομάδες μετά την παρασκευή του πήγματος συμβαίνει μια γρήγορη αλλαγή στην υφή, κατά την οποία το καζεϊνικό δίκτυο γίνεται πιο αδύναμο, όταν το 20% της α_{s1} -καζεΐνης υδρολύεται. Το πεπτίδιο α_{s1} -I που απομένει προκαλεί μαλακότερη υφή τυροπήγματος. Αυτό το πεπτίδιο υπάρχει σε όλους τους τύπους τυριών στα πρώτα στάδια της ωρίμασης. Στην δεύτερη φάση οι αλλαγές λόγω πρωτεόλυσης βαθμιαία μειώνονται. Η έκταση των αλλαγών βασίζεται στον βαθμό της πρωτεόλυσης και την αύξηση του pH. Καθώς τα πεπτίδια διασπώνται, το ελεύθερο νερό μειώνεται με την δέσμευσή του στις πρωτεϊνικές αλυσίδες. Αυτό οδηγεί σε τυρί σκληρότερο και η πρωτεϊνική μήτρα γίνεται λιγότερο συνεκτική.

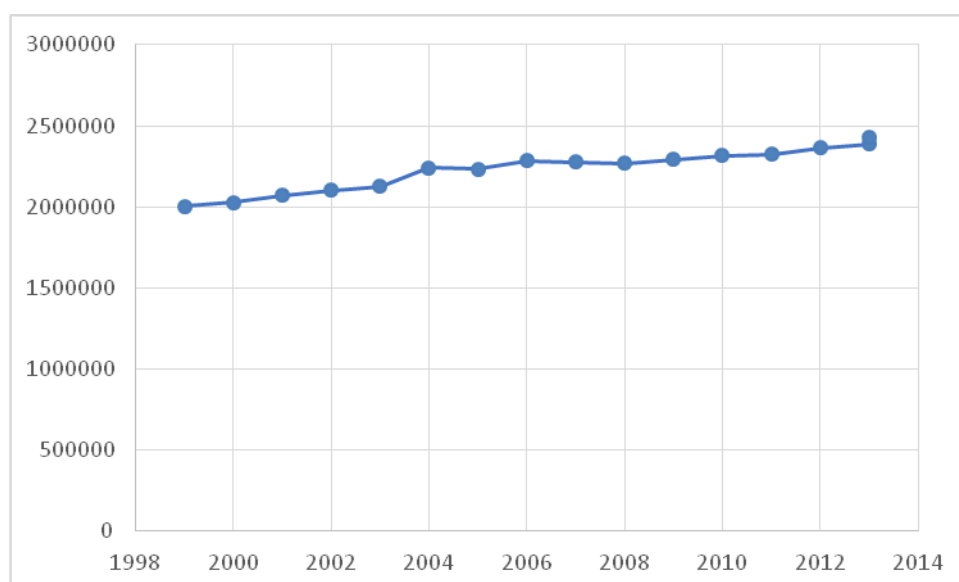
Κατά την διάρκεια παραγωγής της φέτας, χρησιμοποιείται σχετικά μεγάλη ποσότητα πυτιάς. Αυτό οδηγεί σε υψηλού βαθμού συσσωμάτωση και τραχύ καζεϊνικό δίκτυο που είναι υπεύθυνο για παραγωγή σφιχτού πήγματος. Στην Φέτα βραχείας ωρίμανσης, αυτή η δημιουργία σφιχτού πήγματος είναι μεγαλύτερη από ότι η μαλακή

υφή που προκαλείται από την πρωτεόλυση. Όμως, όσο η διάρκεια αποθήκευσης αυξάνεται, η πρωτεολυτική δράση αυξάνεται και το τυρί γίνεται μαλακότερο (*Wium et al. 1998*) (*Sundaram- Gunasekaran and Mehmet 2003*).

5^ο ΚΕΦΑΛΑΙΟ-ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΤΥΡΙΩΝ ΜΕ ΜΕΙΩΜΕΝΑ ΛΙΠΑΡΑ ΚΑΙ ΘΕΡΜΙΔΕΣ

5.1 Γενικά

Τα τελευταία χρόνια παρατηρήθηκε μία αύξηση στην κατανάλωση τυριών από αγελαδινό γάλα με χαμηλά λιπαρά στην παγκόσμια παραγωγή (Σχήμα 5.1). Γενικά, υπάρχει η γενική πεποίθηση ότι η κατανάλωση γαλακτοκομικών προϊόντων σχετίζεται με τον αυξημένο κίνδυνο καρδιαγγειακών παθήσεων λόγω της περιεκτικότητας σε κορεσμένα λιπαρά οξέα. Οι διατροφικές συστάσεις προτείνουν την περιορισμένη πρόληψη κορεσμένων λιπαρών οξέων ή την πρόσληψη γαλακτοκομικών προϊόντων με μειωμένα λιπαρά, στοχεύοντας σε δίαιτες χαμηλών λιπαρών λόγω του ότι υπάρχει θετική γραμμική συσχέτιση των κορεσμένων λιπαρών, της κακής χοληστερόλης και του κινδύνου για καρδιαγγειακές παθήσεις (Hu et al. 2002).



Σχήμα 5.1: παραγωγή τυριών από αποβουτυρωμένο αγελαδινό γάλα

5.2 Απόδοση τυριών με χαμηλά λιπαρά

Η σύσταση του γάλακτος που χρησιμοποιείται για την παραγωγή τυριών με χαμηλά λιπαρά διαφέρει σημαντικά από την σύσταση εκείνου που χρησιμοποιείται για την παραγωγή τυριών με πλήρη λιπαρά. Η συνολική λιποπεριεκτικότητα του γάλακτος για τα τυριά με χαμηλά λιπαρά είναι χαμηλότερη με αποτέλεσμα η συνολική περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη υψηλότερη και τα ολικά στερεά σε χαμηλότερα επίπεδα.

Η αναλογία καζεΐνης προς λίπος είναι επίσης αρκετά υψηλότερη στο γάλα που προορίζεται για τυριά με χαμηλά λιπαρά.

Είναι γνωστό, ότι στα τυριά με χαμηλά λιπαρά το λίπος αντικαθίσταται από την υγρασία. Όμως, η συνολική απόδοση αυτών των τυριών είναι χαμηλότερη από τα αντίστοιχα τυριά με πλήρη λιπαρά επειδή η ποσότητα του λίπους που αφαιρείται από το γάλα δεν αντιστοιχεί στην υγρασία που προστίθεται. Οι *Rudan et al.* (1999) ανέφεραν ότι η απόδοση του τυριού *Mozzarella* με λιποπεριεκτικότητα 5% ήταν 30% χαμηλότερη από την απόδοση του ίδιου τυριού με λιποπεριεκτικότητα 25%.

Η ανάκτηση του λίπους στα τυριά είναι ιδιαίτερα σημαντική για την απόδοσή τους. Η αναμενόμενη ανάκτηση του λίπους εξαρτάται από το είδος του τυριού και από παράγοντες που καθορίζονται από την τεχνολογία παρασκευής τους. Για την *Mozzarella* η ανάκτηση λίπους υπολογίζεται γύρω στο 85% (*Rudan et al.* 1999) και για το *Cheddar* 93% (*Kosikowski and Mistry* 1997). Επιπλέον, όσο μειωμένο είναι το λίπος των τυριών τόσο μειώνεται και το ποσοστό ανάκτησής του. Αυτή η μείωση μπορεί να αποφευχθεί με την βελτίωση της αναλογίας καζεΐνης προς λίπος (*Mohamed* 2015).

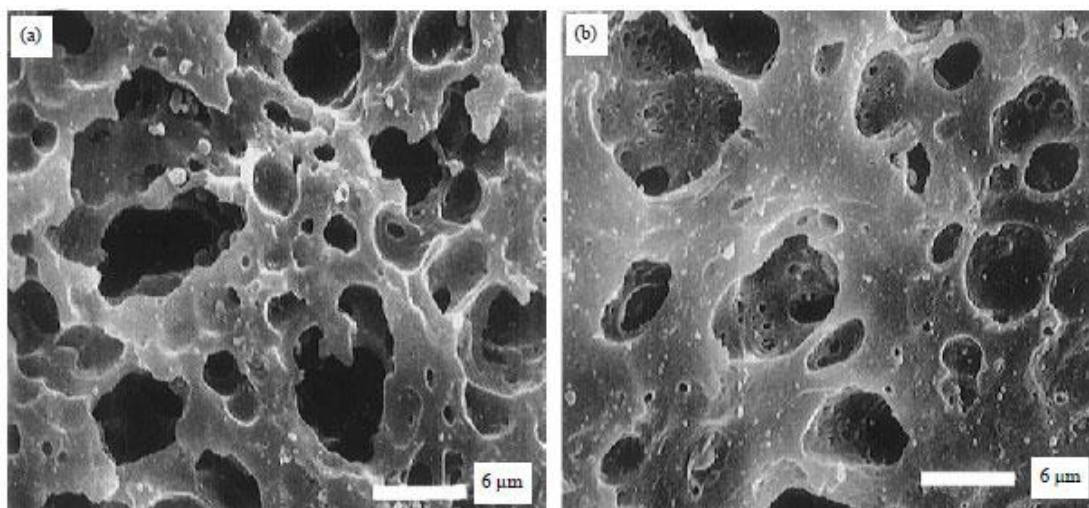
5.3 Αρωματικά συστατικά τυριών με μειωμένα λιπαρά

Η μειωμένη παραγωγή αρώματος στα τυριά με μειωμένα λιπαρά οφείλεται στην έλλειψη πρόδρομων συστατικών που προέρχονται από το λίπος (*Urbach* 1997). Τα λιπαρά οξέα των τυριών προέρχονται από την λιπόλυση του λίπους του γάλακτος. Αρκετές μελέτες αποδεικνύουν την έλλειψη βουτανοϊκού και εξανοϊκού οξέος στα τυριά με μειωμένα λιπαρά (*Banks et al.* 1998; *Dimos et al.* 1996). Οι *Dimos et al.* (1996) σε μία συγκριτική μελέτη τους ανάμεσα σε τυρί *Cheddar* με πλήρη λιπαρά και σε τυρί *Cheddar* με μειωμένα λιπαρά, ανέφεραν ότι η συγκέντρωση μεθανθειόλης στα τυριά είναι ισχυρά συνδεδεμένη με την παραγωγή αρώματος και η έλλειψη αρώματος στα τυριά με μειωμένα λιπαρά οφείλεται στην έλλειψη μεθανθειόλης.

Επίσης έχει αναφερθεί ότι σε τυρί *Cheddar* με 50% μειωμένα λιπαρά κυριαρχούν τα καρβοξυλικά οξέα μεσαίας αλύσου, οι μεθυλοκετόνες και οι 8 και 9 λακτόνες τα οποία σχετίζονται με την μειωμένη ανάπτυξη αρώματος (*Wijesounda and Watkins*, 2000).

Τα πεπτίδια που προσδίδουν πικρή γεύση προέρχονται από την δράση πρωτεασών στις καζεΐνες. Η πικρή γεύση αποδίδεται στα τυριά όταν τα πεπτίδια συσσωρεύονται σε μεγάλο βαθμό ως αποτέλεσμα της υπερπαραγωγή τους ή της μειωμένης δράσης των μικροβιακών πεπτιδασών. Αυτά τα πεπτίδια προέρχονται από την δράση της χυμοσίνης στις καζεΐνες ή/και από πρωτεάσες των λακτόκκοκων στο υδροφοβικό C-τελικό άκρο της β-καζεΐνης (McSweeney 1997). Η μείωση των υδροφοβικών πεπτιδίων στην λιπαρή φάση των τυριών με χαμηλά λιπαρά αποτελεί κύριο παράγοντα για την ανάπτυξη πικρής γένυσης (McSweeney 1997).

Η ανάπτυξη της πικρής γένυσης μπορεί να περιοριστεί με την αύξηση του αλατιού στην υγρή φάση των τυριών, (Banks et al. 1993; Mistry and Kasperson 1998). Παρόλο που είναι αποδεκτό ότι η πικρή γεύση προέρχεται από την συσσώρευση των υδροφοβικών πεπτιδίων, άλλα συστατικά όπως είναι ορισμένα αμινοξέα, αμίδια και κετόνες μακράς αλύσου μπορούν να συμβάλλουν το ίδιο (McSweeney et al. 1997).



Εικόνα 5.1: Μικρογράφημα ηλεκτρονικού μικροσκοπίου. (a) τυρί με πλήρη λιπαρά, (b) τυρί με χαμηλά λιπαρά.

5.4 Υφή τυριών με χαμηλά λιπαρά

Η υφή των τυριών διαμορφώνεται από την διάσπαση της α_{s1} -καζεΐνης κατά την ωρίμαση (Lawrence et al. 1987). Στα τυριά με πλήρη λιπαρά, το λίπος διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην υφή τους, ενώ στα τυριά με χαμηλά λιπαρά οι καζεΐνες. Στα περισσότερα είδη τυριών με χαμηλά λιπαρά η ανεπαρκής αποικοδόμηση των καζεΐνων προκαλεί σταθερότερη δομή. Ο βαθμός της υδρόλυσης των καζεϊνών εξαρτάται από την υγρασία και την αλατοπεριεκτικότητα των τυριών (Mistry and Kasperson, 1998).

Επίσης, υψηλό pH κατά την αποβολή του ορού και η χαμηλή θερμοκρασία αναθέρμανσης που συμβαίνουν κατά την παρασκευή των τυριών με χαμηλά λιπαρά, έχουν ως αποτέλεσμα την μειωμένη κατακράτηση χυμοσίνης στο τυρόπηγμα και την μειωμένη δραστηριότητα της πλασμίνης. Άλλο ένα άμεσο αποτέλεσμα αυτών των συνθηκών κατά την παρασκευή αυτών των τυριών είναι η αύξηση κατακράτησης των επιπέδων ασβεστίου στο τυρόπηγμα, με αποτέλεσμα να γίνονται πιο σκληρά (*Nauth and Ruffie 1995*).

5.5 Τεχνολογίες παραγωγής τυριών με χαμηλά λιπαρά

Οι συχνότερες και αποτελεσματικότερες πρακτικές που εφαρμόζονται για την παραγωγή τυριών με χαμηλά λιπαρά είναι οι τεχνικές επεξεργασίας, η επιλογή καλλιεργειών εκκινητών, η αντικατάσταση του λίπους του γάλακτος με άλλα συστατικά και η αφαίρεση του λίπους από το τυρί μετά την ωρίμαση (*Ashraf Gaber Mohamed 2015*).

Γενικός στόχος είναι η αντικατάσταση του λίπους του τυριού με υγρασία χωρίς να επηρεαστεί η απόδοσή του και η ποιότητά του. Αυτός ο στόχος επιτυγχάνεται με την μείωση της θερμοκρασίας αναθέρμανσης. Σε τυριά Cheddar με χαμηλά λιπαρά η θερμοκρασία αναθέρμανσης εξαρτάται από την επιθυμητή υγρασία του τυριού και γίνεται στους 30-35°C (*Banks et al. 1989*). Επιπλέον, η κατακράτηση υγρασίας στα τυριά επιτυγχάνεται με την αύξηση του pH κατά την διαίρεση του πήγματος (*Kosikowski and Mistry 1997*). Για το τυρί Cheddar με χαμηλά λιπαρά αυτό το pH κυμαίνεται από 5,6-5,8. Η έκπλυση του πήγματος με κρύο νερό βοηθάει επίσης στην συγκράτηση υγρασίας, απομακρύνει την υπερβολική λακτόζη και διαλυτοποιεί το ασβέστιο δημιουργώντας έτσι πιο μαλακή υφή στα τυριά.

Οι *Rodriguez et al.* (1999) ανέφεραν ότι ένας άλλος αποτελεσματικός τρόπος να αυξηθεί η απόδοση των ημίσκληρων τυριών με χαμηλά λιπαρά είναι η συμπύκνωση του γάλακτος με υπερδιήθηση. Με αυτόν τον τρόπο τα τυριά που προκύπτουν έχουν παρόμοιες ιδιότητες με τα αντίστοιχα που περιέχουν πλήρη λιπαρά επειδή η υπερδιήθηση κατακρατεί γύρω στο 35% των πρωτεϊνών του ορού στο πήγμα.

Άλλοι μέθοδοι για την συγκράτηση υγρασίας στο πήγμα είναι η μετουσίωση των πρωτεϊνών του ορού, η προσθήκη βουτυρογάλακτος στο γάλα και η

ομογενοποίηση του γάλακτος. Οι πρωτεΐνες του ορού κατακρυσμίζονται στο τυρόπηγμα στις πολύ υψηλές θερμοκρασίες θέρμανσης του γάλακτος συμπαρασύροντας νερό (*Lo and Bastian; 1998; Schreiber et al. 1998*). Η προσθήκη βουτυρογάλακτος στο γάλα που προορίζεται για τυριά με χαμηλά λιπαρά αυξάνει επίσης την υγρασία (*Mayes et al. 1994*). Αυτή η τεχνική προϋποθέτει την προσθήκη μεγάλης ποσότητας βουτυρογάλακτος έως 30% (*Madsen et al. 1966*). Μία εναλλακτική προσέγγιση είναι να χρησιμοποιηθεί βουτυρόγαλα το οποίο έχει συμπυκνωθεί με υπερδιήθηση. Αυτή η τεχνική έχει το πλεονέκτημα ότι χρησιμοποιείται μικρότερη ποσότητα βουτυρογάλακτος έως 5% και επιπλέον βελτιώνει την υφή των τυριών. Σύμφωνα με τους *Tunick et al. (1993)*, η ομογενοποίηση του γάλακτος στις 17,200kPa βελτίωσε την υφή τυριού *Cheddar* με χαμηλά λιπαρά.

Η επιλογή καλλιεργειών εκκινητών δεν συμβάλλει μόνο στην ανάπτυξη αρώματος στα τυριά, αλλά έχει και ως αποτέλεσμα την βελτίωση της υφής τους. Για παράδειγμα, η πρωτεολυτική δραστηριότητα του *Lactobacillus casei subsp casei* είναι απαραίτητη στην διαμόρφωση των ρεολογικών ιδιοτήτων του τυριού *Mozzarella* με χαμηλά λιπαρά (*Merill et al. 1996*).

Τα αντικατάστατα του λίπους χωρίζονται σε δύο κατηγορίες, στα υποκατάστατα και στα μιμητικά. Τα υποκατάστατα λίπους έχουν παρόμοια χημική δομή με το λίπος του γάλακτος και παρόμοιες φυσιολογικές ιδιότητες (*Lipp and Anklam 1998; Kosmark 1996; Peters et al. 1997*). Τα μιμητικά λίπους είναι υδατάνθρακες ή πρωτεΐνες ορού και ως εκ τούτου έχουν διαφορετική χημική δομή από το λίπος του γάλακτος. Επίσης, τα μιμητικά λίπους έχουν διάφορες λειτουργικές ιδιότητες και μερικά από αυτά βελτιώνουν την δομή και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των τυριών (*Johnson 2002; Dufлот 1996*).

Οι *Wetstine et al. (2006)* δήλωσαν ότι το άρωμα που απελευθερώνεται κατά την μάσηση από τα τυριά με χαμηλά λιπαρά είναι διαφορετικό από το άρωμα που προέρχεται από τα τυριά με πλήρη λιπαρά, επειδή τα υδρόφοβα αρωματικά συστατικά αποδίδονται καλύτερα στην λιπαρή φάση από ότι στην υγρή. Όταν το λίπος του γάλακτος αφαιρείται πριν την τυροκόμηση, δεν υπάρχουν αρκετά πρόδρομα πτητικά συστατικά, προκαλώντας μειωμένη παραγωγή αρώματος στα τυριά με χαμηλά λιπαρά. Οι *Nelson and Barbano (2004)* παρουσίασαν μία μέθοδο για την αφαίρεση του λίπους από ώριμο τυρί *Cheddar* με πλήρη λιπαρά. Οι ερευνητές θεώρησαν ότι το ώριμο τυρί

Cheddar με πλήρη λιπαρά περιέχει όλα τα αρωματικά συστατικά και από την αφαίρεση του λίπους του, αυτά τα συστατικά παραμένουν στο τυρί. Έτσι, δημιουργήθηκε ένα τυρί με μειωμένα λιπαρά που περιέχει την αυθεντική γεύση του αντίστοιχου με τα πλήρη λιπαρά.

B. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

6^ο-ΚΕΦΑΛΑΙΟ-ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

6.1 Σκοπός της μελέτης

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η παρασκευή τριών τυριών με χαμηλά λιπαρά από πρόβειο γάλα, και η διερεύνηση της επίδρασης της θερμικής επεξεργασίας του γάλακτος στις ιδιότητες αυτών των τυριών.

6.2 Πειραματικός σχεδιασμός-δειγματοληψία

Το πείραμα έλαβε χώρα την περίοδο: Μάιος – Ιούνιος 2016. Πραγματοποιήθηκαν συνολικά τρεις τυροκομήσεις και σε κάθε μία από αυτές παρασκευάζονταν τρία τυριά Α, Β και Γ. Το γάλα της τυροκόμησης θερμαινόταν για 10min στους 70 °C για την παρασκευή του τυριού Α, στους 80 °C για την παρασκευή του τυριού Β και στους 90 °C για την παρασκευή του τυριού Γ.

Το γάλα που χρησιμοποιήθηκε ήταν πρόβειο γάλα πρωινής άμελης από το προβατοστάσιο του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών (Το συγκεκριμένο κοπάδι αποτελείται από πρόβατα των φυλών Χίου, Καραγκούνικο και Ορεινό Ηλείου).

Δειγματοληψία έγινε από το γάλα της τυροκόμησης και από το τυρόγαλα που απέβαλαν τα τυριά της 1^{ης} ημέρας για ανάλυση της φυσικοχημικής σύστασης. Τα τυριά που παρασκευάστηκαν τοποθετήθηκαν για ωρίμαση σε θάλαμο στους 20 °C για 15 ημέρες. Αναλύσεις έγιναν την 1η ημέρα και μετά από 15 ημέρες. Εξετάστηκαν τα φυσικοχημικά και τα αρωματικά χαρακτηριστικά τους, μετρήθηκε η ολική μικροβιακή χλωρίδα, ο βαθμός πρωτεόλυσης και η περιεκτικότητα σε σάκχαρα και οργανικά οξέα. Προσδιορισμός των ρεολογικών ιδιοτήτων έγινε στα τυριά 1^{ης} ημέρας και οργανοληπτική αξιολόγηση στα τυριά 15 ημερών. Η κωδικοποίηση των δειγμάτων αναφέρεται στους ακόλουθους πίνακες 6.1, 6.2 και 6.3

Πίνακας 6.1: Κωδικοποίηση δειγμάτων γάλακτος τυροκόμησης

Γάλα	1 ^η Τυροκόμηση	2 ^η Τυροκόμηση	3 ^η Τυροκόμηση
70°C	1Α	2Α	3Α
80°C	1Β	2Β	3Β
90°C	1Γ	2Γ	3Γ

Πίνακας 6.2: Κωδικοποίηση δειγμάτων τυρογαλακτος

Τυρόγαλα	1 ^η Τυροκόμηση	2 ^η Τυροκόμηση	3 ^η Τυροκόμηση
70°C	1ΟΑ	2ΟΑ	3ΟΑ
80°C	1ΟΒ	2ΟΒ	3ΟΒ
90°C	1ΟΓ	2ΟΓ	3ΟΓ

Πίνακας 6.3:Κωδικοποίηση δειγμάτων τυριών

Είδος τυριού	Τυριά 1 ^{ης} ημέρας			Τυριά 2 ^{ης} ημέρας		
	1 ^η Τυροκόμηση	2 ^η Τυροκόμηση	3 ^η Τυροκόμηση	1 ^η Τυροκόμηση	2 ^η Τυροκόμηση	3 ^η Τυροκόμηση
70°C	1ΠΑ	2ΠΑ	3ΠΑ	1ΤΑ	2ΤΑ	3ΤΑ
80°C	1ΠΒ	2ΠΒ	3ΠΒ	1ΤΒ	2ΤΒ	3ΤΒ
90°C	1ΠΓ	2ΠΓ	3ΠΓ	1ΤΓ	2ΤΓ	3ΤΓ

6.3 Παρασκευή τυριών

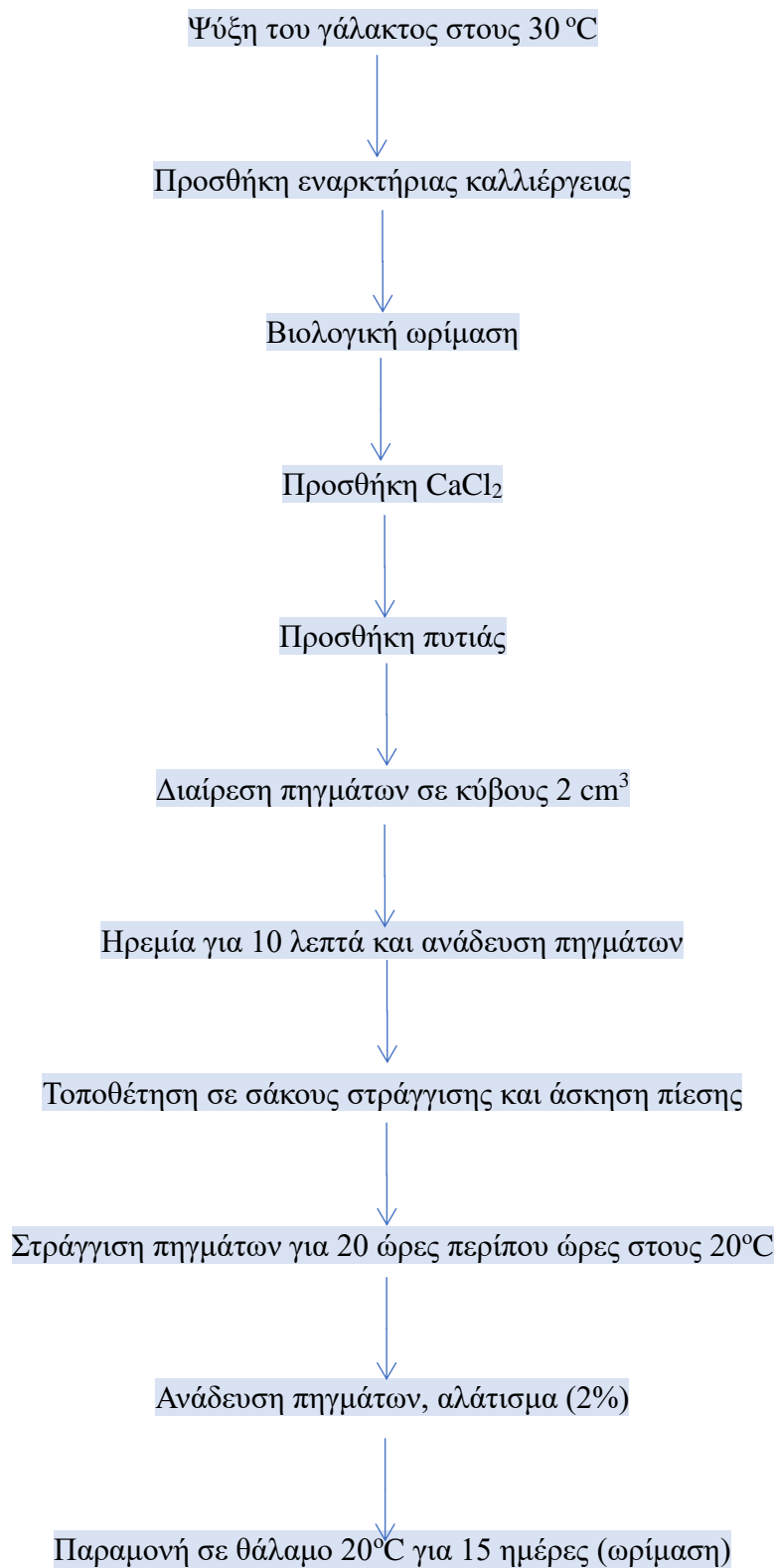
Η διαδικασία παρασκευής των τυριών του πειράματος παρουσιάζεται στο παρακάτω διάγραμμα.

Τυποποίηση του λίπους του γάλακτος σε λιποπεριεκτικότητα 1,5%



Παστερίωση του γάλακτος στους 70, 80, 90°C για 10min





Τεχνολογικές παρεμβάσεις που εφαρμόστηκαν κατά την τυροκόμηση.

Το ένα μέρος παστεριώθηκε στους 70°C/10 min και χρησιμοποιήθηκε σαν μάρτυρας (Α). Το δεύτερο υπέστη μεγαλύτερη θερμική επεξεργασία στους 80°C/10 min (Β) και το τρίτο υπερθερμάνθηκε στους 90°C/10 min (Γ). Για να αποφευχθεί η σκληρότητα στα τρία τυριά με μειωμένο λίπος, επιδιώχθηκε όξινο πήγμα που δημιουργήθηκε κατά κύριο λόγο με την γαλακτική ζύμωση και λιγότερο με την επίδραση της πυτιάς.

Για να γίνει η μείωση του λίπους και η τυποποίηση, ποσότητα γάλακτος αποκορυφώθηκε και στη συνέχεια άπαχο γάλα προστέθηκε σε πλήρες, έτσι ώστε να προκύψει γάλα με λιπαρά ~1,5%. Στη συνέχεια το γάλα με μειωμένο λίπος κατά 68% μοιράστηκε σε τρία μέρη.

Η βασικότερη τεχνολογική παρέμβαση, όπως αναφέρθηκε, ήταν η θέρμανση του γάλακτος για 10min σε θερμοκρασίες 70, 80 και 90°C. Με την θέρμανση του γάλακτος σε αυτές τις θερμοκρασίες, οι καζεΐνες συνδέονται με τις πρωτεΐνες του ορού (κυρίως με τη β-γαλακτογλοβουλίνη). Η σύνδεση αυτή δυσχεραίνει την υδρόλυση της κ-καζεΐνης με πυτιά, καθυστερεί την πήξη και το πήγμα που δημιουργείται είναι πιο εύθραυστο και συναιρείται δύσκολα (*Καμναρίδης και Μοάτσου, 2009*). Επίσης αυξάνει την ανάκτηση πρωτεϊνών ορού γάλακτος και διαλυτών στερεών στο πήγμα. Ως εκ τούτου αναμένεται αύξηση της απόδοσης σε τυρί. Ωστόσο για τον συγκεκριμένο τύπο τυριού (μαλακό αλοιφώδες τυρί με μειωμένο λίπος) που θέλαμε να παρασκευάσουμε θεωρήθηκε ότι η υπερθέρμανση του γάλακτος θα ήταν ασφαλής και αποτελεσματική. Παρόμοια επεξεργασία του γάλακτος σε προηγούμενο πείραμα μας (*Skordobeki et al., 2015*) με αίγιο γάλα είχε δώσει θετικά αποτελέσματα.

Μετά την προσθήκη υψηλής ποσότητας καλλιέργειας το γάλα αφέθηκε για 2 ώρες περίπου (βιολογική ωρίμαση), και μετά προστέθηκε πολύ λίγη πυτιά. Στόχος ήταν να συγκρατηθεί η υγρασία και επομένως η λακτόζη μέσα στο τυρόπηγμα, να προχωρήσει η γαλακτική ζύμωση έτσι ώστε να προστατευθεί το πήγμα από τυχόν επιμολύνσεις μέχρι την επομένη. Επίσης χάρη στην περιορισμένη δυνατότητας συστολής των μικκυλίων, συγκρατείται μεγαλύτερο ποσοστό υγρασίας και το πήγμα γίνεται πιο μαλακό. Κατά την οξίνιση του γάλακτος προς γαλακτικό οξύ, το ασβέστιο των μικκυλίων αντικαθίσταται σταδιακά από τα ιόντα υδρογόνου και έτσι λαμβάνει χώρα η αφαλάτωση του τυροπήγματος. (*Ανυφαντάκης, 2004*).

Τυποποίηση λιποπεριεκτικότητας γάλακτος

Αρχικά, για την παρασκευή των τυριών, έγινε τυποποίηση της λιποπεριεκτικότητας του γάλακτος στο 1,5%. Πλήρες πρόβειο γάλα αποκορυφώθηκε με κορυφολόγο και στη συνέχεια έγινε η τυποποίηση του. Για την παρασκευή γάλακτος ποσότητας 8 kg με λιποπεριεκτικότητα 1,5% έγινε ανάμιξη κατάλληλης ποσότητας νωπού γάλακτος με αποβουτυρωμένο γάλα.

Θερμική επεξεργασία γάλακτος

Το γάλα μοιράστηκε σε περιέκτες των 8Kg και θερμάνθηκε στους 70, 80 και 90°C για 10 min .

Προσθήκη οξυγαλακτικής καλλιέργειας, γλωριούχου ασβεστίου και πυτιάς

Μετά την ψύξη του γάλακτος στους 30°C, έγινε προσθήκη μεσόφιλης εναρκτήριας οξυγαλακτικής καλλιέργειας αποτελούμενης από τους *Lactococcus lactis subsp lactis* και *Lactococcus lactis ssp. cremoris* (του οίκου Hansen MO-10). Το γάλα στη συνέχεια παρέμενε περίπου 2 ώρες μέχρι να αυξηθεί η οξύτητα του κατά 0,02% σε γαλακτικό οξύ (βιολογική ωρίμαση) και στη συνέχεια έγινε προσθήκη διαλύματος γλωριούχου ασβεστίου σε ποσότητα 2,4 ml/8 kg γάλακτος και πυτιάς (Naturen Extra 1030 NB, του οίκου Hansen) 2,5 ml υδατικού διαλύματος (1%)/ 8 kg γάλακτος. Ο συνολικός χρόνος πήξης διήρκεσε περίπου 2 h.

Διαίρεση, στράγγιση και αλάτισμα

Μετά από 2 ώρες τα πήγματα διαιρέθηκαν σε κύβους όγκου 2cm³, μεταφέρθηκαν με τη βοήθεια διάτρητης μεταλλικής κουτάλας σε τυρόπανα -μέσα σε καλούπια- για στράγγισμα. Μετά από 30min περίπου τοποθετήθηκε βάρος ίσο με το μισό βάρος των πηγμάτων (~2Kg). Τα πήγματα στη συνέχεια στράγγισαν υπό πίεση, σε θάλαμο 20°C για περίπου 20h. Την επόμενη ημέρα τα τυριά ζυγίστηκαν και μετρήθηκε το βάρος του ορού που αποβλήθηκε. Τα πήγματα αλατίστηκαν με 2% λεπτόκοκκο αλάτι. Στη

συνέχεια, τα τυριά μεταφέρθηκαν για ωρίμανση σε θάλαμο στους 20°C. Κατά την διάρκεια της ωρίμανσης γινόταν ανά 2 ημέρες ανάδευση της τυρομάζας.



Εικόνα 6.1: Αποκορύφωση



Εικόνα 6.2: Έλεγχος πρόπησης



Εικόνα 6.3: πήγμα μετά τη διαίρεση



Εικόνα 6.4: Ανάδευση τυριού

6.4 Φυσικοχημικές και μικροβιολογικές αναλύσεις

Στα δείγματα γάλακτος, τυρογάλακτος και τυριών έγιναν φυσικοχημικές και μικροβιολογικές αναλύσεις

Κύρια συστατικά γάλακτος

Η περιεκτικότητα σε κύρια συστατικά (λίπος, πρωτεΐνη, λακτόζη και ολικά στερεά) του γάλακτος καθώς και η περιεκτικότητα σε λίπος και λακτόζη του τυρογάλακτος μετρήθηκαν με χρήση του Milkoscan 133 (Foss Electric, Denmark).

Προσδιορισμός της οξύτητας του γάλακτος

Η οξύτητα του γάλακτος προσδιορίστηκε με την ογκομετρική μέθοδο *Dornic*. Κατά τη μέθοδο αυτή σε ποτήρι ζέσεως των 100 mL μεταφέρονται με σιφόνιο 10 mL γάλακτος και 2-3 σταγόνες δείκτη φαινολοφθαλεΐνης. Με προχοΐδα προστίθεται διάλυμα καυστικού νατρίου N/9, ενώ γίνεται συνεχής ανάδευση. Το τέλος της τιτλοδότησης διαπιστώνεται με τη μεταβολή του χρώματος του γάλακτος από λευκό σε ελαφρά ρόδινο. Η οξύτητα υπολογίστηκε σε γαλακτικό οξύ %, διαιρώντας τα mL καυστικού νατρίου N/9 που καταναλώθηκαν, δια του 10. Η ανάλυση έγινε εις διπλούν.

Προσδιορισμός της λιποπεριεκτικότητας

Το λίπος προσδιορίστηκε σύμφωνα με τη μέθοδο Gerber-van Gulik (IDF 222, 2008). Η μέθοδος στηρίζεται στην παρακάτω αρχή: όταν θεικό οξύ ειδικού βάρους 1,82 (15°C) προστεθεί σε τυρί τότε όλα τα συστατικά του τυριού, εκτός του λίπους, διαλύονται και εκλύεται θερμότητα. Η θερμότητα ρευστοποιεί το λίπος που παραμένει αιωρούμενο μέσα στο οξύ, από το οποίο διαχωρίζεται με φυγοκέντρηση. Ο διαχωρισμός του λίπους διευκολύνεται με την προσθήκη μικρής ποσότητας ισοαμλικής αλκοόλης (ειδικού βάρους 0,815 στους 15°C). Ο υπολογισμός της λιποπεριεκτικότητας του τυριού έγινε με ανάγνωση στην ειδικά βαθμολογημένη κλίμακα του βουτυρομέτρου και εκφράστηκε ως επί τοις εκατό (%) κατά βάρος. Η ανάλυση έγινε εις τριπλούν.

Προσδιορισμός της ξηρής ουσίας - υγρασίας

Η ξηρή ουσία (ΞΟ) προσδιορίστηκε σύμφωνα με τη μέθοδο της IDF (4A, 1982). Δείγμα τυριού και τυρογάλακτος ξηράνθηκε σε κλίβανο στους 102°C μέχρι σταθερού βάρους. Η περιεκτικότητα σε υγρασία% υπολογίστηκε ως 100-ΞΟ%. Η ανάλυση έγινε εις τριπλούν.

Προσδιορισμός της τέφρας

Κατά την καύση του τυριού καταστρέφεται η οργανική ουσία και λαμβάνεται το καθαρά ανόργανο μέρος του, η τέφρα, που κατά κύριο λόγο περιέχει οξείδια καλίου, νατρίου, ασβεστίου, μαγνησίου, χλωρίου, φωσφόρου, θείου και άνθρακα. Τα δείγματα σύμφωνα με τη μέθοδο IDF 119, 2007, τοποθετήθηκαν σε κλίβανο 50°C, και η θερμοκρασία αυξανόταν σταδιακά 50°C/1h μέχρι τους 550°C, όπου παρέμεναν για 6 ώρες. Μετά το τέλος της αποτέφρωσης ζυγίστηκε το υπόλειμμα και η τέφρα συλλέχθηκε σε φιαλίδια για τον προσδιορισμό των ανόργανων στοιχείων Ca, K, Na, Mg με φασματοσκοπία ατομικής απορρόφησης. Η ανάλυση έγινε εις τριπλούν.

Προσδιορισμός των ολικών πρωτεϊνών

Το ολικό άζωτο (Total Nitrogen, TN) προσδιορίστηκε όπως περιγράφεται από την μέθοδο IDF 20B, 1993. Υπολογίστηκε η περιεκτικότητα σε ολικό άζωτο με τη μέθοδο Kjeldahl και έγινε μετατροπή του αζώτου σε πρωτεΐνη, πολλαπλασιάζοντας το άζωτο με το συντελεστή 6,38. Η ανάλυση έγινε εις τριπλούν.

Η μέθοδος Kjeldahl περιλαμβάνει τρία στάδια: την καύση του δείγματος, την απόσταξη και την τιτλοδότηση και πραγματοποιήθηκε ως ακολούθως:

1^ο στάδιο: Καύση (στη συσκευή καύσης Kjeldahl)

Σε σωλήνες Kjeldahl προστέθηκαν

2 ταμπλέτες (η κάθε ταμπλέτα περιέχει 3,5 g K₂SO₄, 0,1 g CuSO₄ x5H₂O και 0,105 g TiO₂ x5H₂O)

0,8 g δείγματος τυριού 1^{ης} ημέρας ή 0,7 g δείγματος τυριού 15^{ης} ημέρας και 10g τυρογάλακτος.

2) Σε απαγωγό εστία προστέθηκαν

20 mL πυκνό H₂SO₄

3-4 σταγόνες αντιαφριστικού παράγοντα (υδατικό διάλυμα σιλικόνης 30%)

(Οι σωλήνες περιστράφηκαν για να αναμιχθεί το περιεχόμενο και παρέμειναν σε ηρεμία για 5 min)

5 mL διαλύματος H₂O₂ 30% (w/v)

(Οι σωλήνες περιστράφηκαν για να αναμιχθεί το περιεχόμενο και παρέμειναν σε ηρεμία για 10-15 min)

Οι σωλήνες τοποθετήθηκαν για καύση του δείγματος στη συσκευή καύσης (Tecator 2020, Digestor).

Το πρόγραμμα καύσης που ακολουθήθηκε παρουσιάζεται στον πίνακα 6.5.

Θερμοκρασία (°C)	Χρόνος (min)
200	30
220	15
250	15
280	15
300	15
380	15
410	60-90 (έως ότου αποκτήσουν χρώμα διαυγές πράσινο)

Πίνακας 6.4: Πρόγραμμα συσκευής καύσης Kjeldahl

Κατά το 1^ο στάδιο της μεθόδου, σκοπός είναι η καύση των οργανικών ουσιών του δείγματος και η μετατροπή του οργανικού αζώτου σε θειικό αμμώνιο και του άνθρακα και του υδρογόνου σε CO₂ και H₂O. Η αντίδραση που πραγματοποιείται στο στάδιο αυτό είναι:

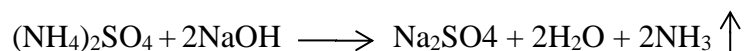


2^ο στάδιο: Απόσταξη (στη συσκευή απόσταξης Kjeldahl)

Ο σωλήνας Kjeldahl τοποθετήθηκε στην ειδική θέση της συσκευής απόσταξης UDK 142, Automatic Distillation Unit, Velp Scientifica.

Κωνική φιάλη με 0,2 mL δείκτη (0,15 g πράσινο της βρωμοκρεζόλης και 0,01 g ερυθρό του μεθυλίου σε 100 mL αιθανόλης 70%) τοποθετήθηκε στο κάτω άκρο του ψυκτήρα της μονάδας απόσταξης.

Κατά την απόσταξη προστίθενται αυτόματα απεσταγμένο νερό, διάλυμα NaOH (1 k pellets NaOH διαλυμένο σε 2 L απεσταγμένο νερό) και διάλυμα βορικού οξέος (H₃BO₃) 4% w/v. προς απελευθέρωση της αμμωνίας. Ακολουθεί απόσταξη της αμμωνίας στη μονάδα απόσταξης.



Η αμμωνία υγροποιείται στον ψυκτήρα, δεσμεύεται μέσα στην κωνική φιάλη από περίσσεια διαλύματος βορικού οξέος και συλλέγεται ως βορικό αμμώνιο.



3^ο στάδιο: Τιτλοδότηση

Το βορικό αμμώνιο τιτλοδοτήθηκε με διάλυμα HCL 0,2N (για τα τυριά) και 0,1N (για τα τυρογάλακτα) (μετατροπή του χρώματος από γαλάζιο σε ελαφρά πορτοκαλόχρουν) και σημειώθηκαν τα mL που καταναλώθηκαν.

Λευκός προσδιορισμός: Ακολουθήθηκε η ίδια διαδικασία, όπου αντί τυριού προστέθηκαν 5 mL νερό και 0,85 g σακχαρόζης.

Υπολογισμός

Το % ολικό άζωτο των δειγμάτων υπολογίστηκε σύμφωνα με την εξίσωση 1

$$\text{No}_l = \frac{1,4 \times N \times (V_s - V_b)}{W} \text{ (εξίσωση 1)}$$

όπου

V_s= Η κατανάλωση σε mL του διαλύματος HCl για την τιτλοδότηση του δείγματος.

V_b = Η κατανάλωση σε mL του διαλύματος HCl για την τιτλοδότηση του λευκού.

N = Η κανονικότητα του διαλύματος HCl που χρησιμοποιήθηκε για την τιτλοδότηση.

W = Το βάρος σε g του δείγματος

Το ποσοστό του ολικού αζώτου μετατράπηκε σε πρωτεΐνη πολλαπλασιάζοντας με το συντελεστή 6,38. Επομένως: Ολικές πρωτεΐνες % = $N_{ολ\%} \times 6,38$.

Προσδιορισμός υδατοδιαλυτού αζώτου (Water Soluble Nitrogen, WSN)

Προετοιμασία δειγμάτων

Η παραλαβή του υδατοδιαλυτού κλάσματος των πρωτεϊνών των τυριών έγινε όπως περιγράφεται στη συνέχεια

Έγινε διάλυση 20g δείγματος σε 100 mL νερό θερμοκρασίας 40 °C.

Ομογενοποίηση στο Ultra turrax στις 9500 rpm για 2 min.

Παραμονή στο υδατόλουτρο στους 40 °C για 1 h.

Φυγοκέντρηση 3000g για 30 min στους 4 °C σε φυγόκεντρο της εταιρείας Thermo Sorvall scientific RC 6

Διήθηση σε φίλτρο Whatman 40.

Διαδικασία προσδιορισμού υδατοδιαλυτού αζώτου

Ο προσδιορισμός του υδατοδιαλυτού κλάσματος που παραλήφθηκε έγινε με τη μέθοδο Kjeldahl. 10 g δείγματος ζυγίστηκαν και υπολογίστηκε το % υδατοδιαλυτό άζωτο (WSN) σύμφωνα με την εξίσωση 1. Η τιτλοδότηση έγινε με διάλυμα HCl 0,1N. Η ανάλυση έγινε εις τριπλούν.

Προσδιορισμός του pH

Το pH του γάλακτος προσδιορίστηκε με χρήση του πεχαμέτρου 632, Metrohm.

Προσδιορισμός περιεκτικότητας σε αλάτι

Ο προσδιορισμός της περιεκτικότητας σε αλάτι έγινε με τη συσκευή Foodscan (Foss Electric, Denmark). Οι αναλύσεις έγιναν εις διπλούν.

Προσδιορισμός των ανόργανων στοιχείων Ca, K, Na, Mg

Ο προσδιορισμός των ανόργανων στοιχείων Ca, K, Na, Mg έγινε με Φασματοσκοπία Ατομικής Απορρόφησης σύμφωνα με τη μέθοδο IDF 119, 2007. Οι αναλύσεις έγιναν εις διπλούν. Η προετοιμασία των δειγμάτων των δειγμάτων έγινε ως εξής:

Προετοιμασία των δειγμάτων

Τα δείγματα αποτεφρώθηκαν και στη συνέχεια παρασκευάστηκαν διαλύματα εργασίας ως εξής :

Μητρικό διάλυμα: Σε ποτήρι ζέσεως ζυγίστηκαν 0,04 g τέφρα τυριών 15^{ης} ημέρας και προστέθηκε 1 mL HNO₃ 25%. Ακολούθησε καλή ανάδευση. Τέλος, μεταφέρθηκε σε ογκομετρική φιάλη 100 mL και προστέθηκε δις απεσταγμένο νερό έως τη χαραγή.

Διάλυμα για μέτρηση Ca και Mg: 4 mL μητρικού διαλύματος μεταφέρθηκαν σε ογκομετρική φιάλη 100 mL, προστέθηκαν διάλυμα LaCl₃ σε αναλογία 10% (10 mL) και δις απεσταγμένο νερό έως τη χαραγή.

Διάλυμα για μέτρηση Na: 5 mL διαλύματος Ca μεταφέρθηκαν σε ογκομετρική φιάλη 100 mL, προστέθηκαν διάλυμα LaCl₃ σε αναλογία 10% (10 mL) και δις απεσταγμένο νερό έως τη χαραγή.

Διάλυμα για μέτρηση K: 1 mL μητρικού διαλύματος μεταφέρθηκαν σε ογκομετρική φιάλη 50 mL, προστέθηκαν διάλυμα LaCl₃ σε αναλογία 10% (10 mL) και δις απεσταγμένο νερό έως τη χαραγή.

Διαδικασία προσδιορισμού ανόργανων στοιχείων

Ο προσδιορισμός των ανόργανων στοιχείων έγινε σε φασματοφωτόμετρο ατομικής απορρόφησης Shimadzu, AA-6800, σε μήκη κύματος : Ca 422,77 nm , Mg 285,2 nm , Na 589,08 nm και K 766,5 nm. Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης κάθε στοιχείου στο διάλυμα έγινε με βάση τις καμπύλες αναφοράς.

$$\text{Ca: } Abs = 0,0356 \times C_{\text{οργ}} + 0,0014, \text{ Mg: } Abs = 0,822 \times C_{\text{οργ}} + 0,001$$

$$\text{Na: } Abs = 0,348 \times C_{\text{οργ}} + 0,007, \text{ K: } Abs = 0,136 \times C_{\text{οργ}} + 0,009$$

όπου

Abs: ο αριθμητικός μέσος όρος απορρόφησης, $C_{\text{οργ}}$: η συγκέντρωση του στοιχείου στο διάλυμα.

Ο υπολογισμός της συγκέντρωσης του κάθε στοιχείου, C, έγινε με την εξίσωση 3.

$$C = \frac{C_{\text{οργ}} \times V}{m \times 10} \times f_1 \times f_2 \quad (\text{εξίσωση 3})$$

όπου

C: η συγκέντρωση του στοιχείου στο τυρί σε mg/100g τυριού, $C_{\text{οργ}}$: η συγκέντρωση του στοιχείου στο διάλυμα, V: 100, m: το βάρος σε g, της τέφρας, f_1 : συντελεστής αραίωσης, f_2 : ποσοστό τέφρας προς την ολική μάζα δείγματος που ζυγίστηκε.

6.5 Ανάλυση υδατοδιαλυτού κλάσματος τυριών και τυρογάλακτος με RP-HPLC

Η ανάλυση του υδατοδιαλυτού κλάσματος (WSN) των τυριών και του τυρογάλακτος έγινε σε σύστημα υγρής χρωματογραφίας RP-HPLC (Waters, Milford, MA 01757, USA) εφοδιασμένο με αυτόματο δειγματολήπτη και ανιχνευτή Photodiode Array (WATERS 996), όπως περιγράφεται από τους *Moatsou et al.* (2004).

100μl δείγματος ενέθηκαν σε στήλη RP C18 Nucleosil (5 μm, 30nm, 250 X 4.0 mm). Η μέτρηση της απορρόφησης έγινε στα 220 nm. Ως κινητή φάση χρησιμοποιήθηκαν οι διαλύτες A (0,1% TFA) σε υπερκάθαρο νερό) και B (0,1% TFA σε διάλυμα 60% ACN σε υπερκάθαρο νερό). Πραγματοποιήθηκε βαθμιδωτή έκλυση με ταχύτητα ροής 0,75 mL/min, σύμφωνα με το ακόλουθο πρόγραμμα 100% διαλύτης A για 10 min, 20% A και 80% B για 80 min, 100% A για 11 min και 100% B για 11 min. (**Πίνακας 6.5**). Οι αναλύσεις έγιναν εις διπλούν.

Χρόνος (min)	Ροή (mL/min)	%A	%B
	0.75	100	0
1	0.75	100	0
10	0.75	100	0
90	0.75	20	80
91	0.75	0	100
101	0.75	0	100
102	0.75	100	0
112	0.75	100	0

Πίνακας 6.5: Πρόγραμμα έκλουσης στην RP-HPLC

Η προετοιμασία των δειγμάτων έγινε όπως περιγράφεται παρακάτω.

Προετοιμασία δειγμάτων

Το υδατοδιαλυτό κλάσμα (WSN) (όπως προετοιμάστηκε για προσδιορισμό του αζώτου με τη μέθοδο Kjeldhal), φυγοκεντρήθηκε σε φυγόκεντρο Heraus (Sepatech, Biofuge 22R) για 10min σε 3000g.

0,8 ml διαλύματος (WSN) αραιώθηκαν με 0,8 ml από τον διαλύτη A σε eppendorf.

Ακολούθησε ανάδευση και παραμονή σε ηρεμία για 10-15 min.

Έγινε διήθηση με φίλτρο σύριγγος 0,20 μm (PVDF, Whatman) και ανάλυση στην HPLC .

6.6 Προσδιορισμός σακχάρων και οργανικών οξέων

Ο προσδιορισμός των οργανικών οξέων και των σακχάρων των δειγμάτων των τυριών πραγματοποιήθηκε σε σύστημα HPLC (Flexar, Perkin Elmer) εφοδιασμένο με αυτόματο δειγματολήπτη και ανιχνευτή δείκτη διάθλασης (RI). 20μl από το δείγμα ενέθηκαν σε στήλη Aminex HPX-87H, 300mm x 7,8mm (Bio-Rad, Hercules, CA,

USA). Η έκλουση έγινε ισοκρατικά με κινητή φάση 5mM H₂SO₄ υπό σταθερή θερμοκρασία 35°C και με ταχύτητα ροής 0,5ml/min. Ο χρόνος ανάλυσης ήταν 30min. Ο ποσοτικός προσδιορισμός για κάθε συστατικό πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια της καμπύλης αναφοράς. Οι αναλύσεις έγιναν εις διπλούν. Η προετοιμασία των δειγμάτων έγινε όπως περιγράφεται από τους *Kaminarides et al.*, 2007.

Προετοιμασία δειγμάτων

Ζυγίστηκαν 10g τυριού, διαλύθηκαν με νερό (~40°C) και μεταφέρθηκαν σε ογκομετρική φιάλη των 100ml.

Στη φιάλη προστέθηκαν 40 ml βολφραμικού οξέος και συμπληρώθηκε ο όγκος με νερό μέχρι τα 100ml. Η φιάλη ανακινήθηκε και αφέθηκε για λίγο σε ηρεμία. Ακολούθησε διήθηση με φίλτρο Whatman No 40.

Στο διήθημα (1ml) προστέθηκε 70% HClO₄ (υπερχλωρικό οξύ) (100μl) και το διάλυμα παρέμεινε για 24h στο ψυγείο.

Ακολούθησε φυγοκέντρηση στις 12500rpm για 60min στους 4°C σε φυγόκεντρο Heraus Sepatech, Biofuge 22R.

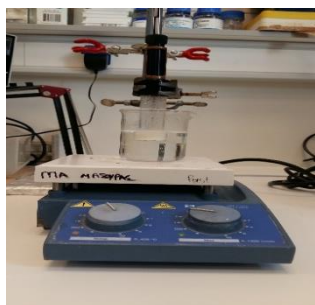
Η υπερκείμενη φάση διηθήθηκε από φίλτρο πορώδους 0,22μm.

Η ανάλυση με HPLC έγινε στο διήθημα.

6.7 Προσδιορισμός αρωματικών συστατικών

Ο προσδιορισμός των αρωματικών συστατικών έγινε με την χρήση αέριου χρωματογράφου συνδεδεμένου με φασματογράφο μαζών (GC/MS-QP5050, Shimadzu Colombia, USA). Η παραλαβή των αρωματικών συστατικών από το κάθε δείγμα πριν την εισαγωγή στον αέριο χρωματογράφο έγινε με την τεχνική της στερεάς μικροεκχύλισης (SPME). Η ίνα που χρησιμοποιήθηκε ήταν η 50/30 DVD/Carboxen/PDMS της εταιρείας Supelco. Οι αναλύσεις έγιναν εις διπλούν.

Η προετοιμασία των δειγμάτων έγινε ως εξής.



Εικόνα 6.5: Παραλαβή αρωματικών συστατικών με την μέθοδο SPME

Προετοιμασία δειγμάτων

Ανάμειξη 15g δείγματος τυριού, 10g νερού.

Καλή ανάδευση σε συσκευή σε συσκευή Stomacher.

Τοποθέτηση 2 g αλατιού και 100μl πρότυπου διαλύματος κυκλοεξανόνης. Ανάδευση.

Τοποθέτηση 3 g διαλύματος σε ειδικό φιαλίδιο

Εισαγωγή της βελόνας μέσω του ελαστικού πώματος και παραμονή για 50 λεπτά σε $\theta \sim 70^{\circ}\text{C}$ (εκτίθεται στον υπερκείμενο χώρο για 30min).

Εξαγωγή της βελόνας και τοποθέτησή της στον υποδοχέα του χρωματογράφου.

Ο χρόνος έγχυσης ήταν 5min στους 250°C . Ο διαχωρισμός των αρωματικών ουσιών έγινε με την βοήθεια της στήλης HP INNOVAX μήκους 60 μέτρων, εσωτερικής διαμέτρου και πάχους φιλμ $0,25 \mu\text{m}$. Η ταχύτητα ροής του φέροντος αερίου ήταν $0,8 \text{ ml/min}$. Η θερμοκρασία του εγχυτή ήταν 250°C .

Το πρόγραμμα των θερμοκρασιών που εφαρμόστηκε ήταν το έξης: 40°C για 3min, αύξηση της θερμοκρασίας με ρυθμό ανύψωσης $7^{\circ}\text{C}/3\text{min}$ έως τους 150°C και παραμονή για 20min, αύξηση της θερμοκρασίας με ρυθμό 10°C στους 220°C και παραμονή για 35min.

Η ταυτοποίηση των αρωματικών συστατικών έγινε από το φάσμα μαζών σε συνδυασμό με τις βιβλιοθήκες φασμάτων μαζών WILLEY7 & NIST08s μέσω του προγράμματος GCMS v.2,71.

Ο ποσοτικός προσδιορισμός των πτητικών συστατικών έγινε με βάση το εμβαδόν του εσωτερικού προτύπου ως εξής: εμβαδόν κορυφής του προτύπου/συγκέντρωση του προτύπου = εμβαδόν κορυφής άγνωστης ουσίας/συγκέντρωση ουσίας.

6.8 Προσδιορισμός ολικής μεσόφιλης χλωρίδας

Ο προσδιορισμός της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας έγινε σύμφωνα με το πρότυπο IDF Standard 100B, 1991. 10 g τυριού και 90 g διαλύματος κιτρικού νατρίου 2% σε PH 7,4 (Sodium citate, Merck) τοποθετήθηκαν σε σακούλα stomacher και ακολούθησε ομογενοποίηση του δείγματος σε συσκευή Stomacher 400. Το διάλυμα αυτό αποτέλεσε την αραιώση (-1). Ακολούθησαν δεκαδικές αραιώσεις σε 9ml αραιωτικού υγρού Ringer (Biokar Diagnostics). Στη συνέχεια στα τριβλία εφαρμόστηκε η τεχνική της ενσωμάτωσης σε θρεπτικό υπόστρωμα PCA (Biokar Diagnostics). Η επώαση έγινε στους 32 °C και ο υπολογισμός σε cfu/g σύμφωνα με την εξίσωση 4. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε δεκαδικό λογάριθμο. Οι αναλύσεις έγιναν εις διπλούν.

$$N = \frac{\Sigma c}{(n_1 + n_2) \times d} \quad (\text{Εξίσωση 4})$$

Όπου

Σc : Το άθροισμα των αποικιών που καταμετρήθηκαν στα τριβλία δύο διαδοχικών αραιώσεων

n_1 : Ο αριθμός των τρυβλίων που μετρήθηκαν στην 1^η αραιώση.

n_2 : Ο αριθμός των τρυβλίων που μετρήθηκαν στην 2^η αραιώση.

d : Η δεκαδική αραιώση της 1^{ης} αραιώσης.

6.9 Οργανοληπτική αξιολόγηση

Τα τυριά βαθμολογήθηκαν από ομάδα 6 έμπειρων δοκιμαστών, μελών του εργαστηρίου Γαλακτοκομίας του ΓΠΑ. Η οργανοληπτική αξιολόγηση των τυριών έγινε σύμφωνα με τη μέθοδο IDF (99C, 1997). Τα δείγματα παρέμεναν πριν την εξέταση περίπου για μισή ώρα σε θερμοκρασία δωματίου. Οι δοκιμαστές αξιολόγησαν τα τυριά ως προς την υφή, τη γεύση και το χρώμα και τα βαθμολόγησαν με μια κλίμακα από 1 έως 10. Στο τέλος υπολογίστηκε η συνολική βαθμολογία των τυριών, σύμφωνα με το δελτίο οργανοληπτικής αξιολόγησης (Πίνακας 6.7). Ιδιαίτερη σημασία δόθηκε στη γεύση και την υφή και για το λόγο αυτό η βαθμολογία πολλαπλασιάστηκε επί 5 και 4 αντίστοιχα.

ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ	Κωδικός δείγματος		
	A	B	Γ
ΥΦΗ			
Εξαιρετική 9-10			
Πολύ καλή 7-8			
Καλή 5-6			
Μη ικανοποιητική 3-4			
Κακή 0-2			
ΓΕΥΣΗ			
Εξαιρετική 9-10			
Πολύ καλή 7-8			
Καλή 5-6			
Μη ικανοποιητική 3-4			
Κακή 0-2			
ΧΡΩΜΑ			
Εξαιρετική 9-10			
Πολύ καλή 7-8			
Καλή 5-6			
Μη ικανοποιητική 3-4			

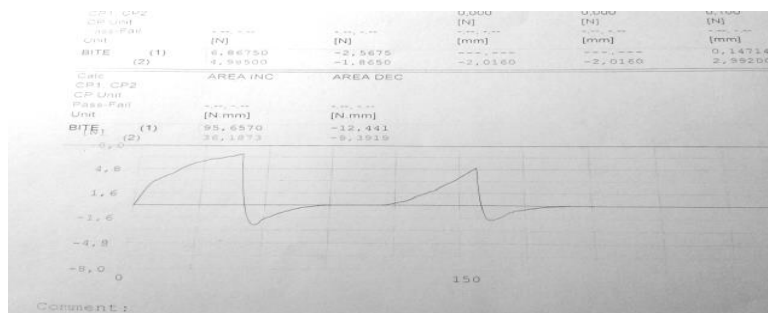
Κακή	0-2			
ΣΥΝΟΛΙΚΗ ΒΑΘΜΟΛΟΓΙΑ				

Πίνακας 6.6: Δελτίο οργανοληπτικής αξιολόγησης

6.10 Προσδιορισμός ρεολογικών ιδιοτήτων

Προσδιορίστηκαν οι ρεολογικές ιδιότητες των τυριών 1^{ης} ημέρας με τη συσκευή Shimadzu texture analyser AGS-500 NG (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan). Η τεχνική που χρησιμοποιήθηκε στηρίζεται στη συμπίεση του δείγματος του τυριού με ένα έμβολο, σε δύο κύκλους (δαγκωματιές).

Η δύναμη που ασκείται από το έμβολο στο δείγμα προκαλεί το τυπικό διάγραμμα συμπίεσης (compression curve). Ο υπολογισμός των ρεολογικών ιδιοτήτων έγινε με βάση την ανάλυση του διαγράμματος. Οι συνθήκες κατά την ανάλυση ήταν: θερμοκρασία δείγματος ~20°C, ταχύτητα κεφαλής 25mm/min, διάμετρος εμβόλου 6x6mm. Οι ρεολογικές αναλύσεις έγιναν εις διπλούν.



Σχήμα 6.1: Αντιπροσωπευτικό διάγραμμα συμπίεσης πειραματικού τυριού

6.11 Στατιστική επεξεργασία

Η στατιστική επεξεργασία έγινε με χρήση του λογισμικού Statgraphics

(Centurion v, xv, Manugintics, Inc., Rockville, Maryland 20852, USA). Εξετάστηκε η επίδραση της θερμικής επεξεργασίας στα χαρακτηριστικά του τυριού με χαμηλά λιπαρά κατά τη διάρκεια της ωρίμασης με τη μέθοδο ανάλυσης της παραλλακτικότητας (Analysis of Variance, ANOVA). Οι διαφορές θεωρήθηκαν στατιστικά σημαντικές όταν η τιμή του P του F-test ήταν $<0,05$ ($P<0,05$). Οι διαφορές μεταξύ των μέσων όρων εξετάστηκαν με τη μέθοδο LSD σε επίπεδο σημαντικότητας 95%.

7^ο ΚΕΦΑΛΑΙΟ – ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ

Στόχος της παρούσας μελέτης ήταν η παρασκευή τριών τύπων τυριών με χαμηλά λιπαρά από πρόβειο γάλα και η διερεύνηση της επίδρασης της θερμικής επεξεργασίας του γάλακτος στις ιδιότητες τους. Με την εφαρμογή των υψηλών θερμοκρασιών παστερίωσης στο γάλα βασικός στόχος ήταν η ενσωμάτωση πρωτεϊνών του όρου στο τυρόπηγμα και κατ' επέκταση η αύξηση της απόδοσης σε τυρί.

7.1 Φυσικοχημική σύσταση νωπού γάλακτος

Η μέση σύσταση του πλήρους νωπού πρόβειου γάλακτος ήταν λίπος 4,59 %, πρωτεΐνες 5,13% ,λακτόζη 5,33% και το pH 6,76. Το γάλα αποκορυφώθηκε και τυποποιήθηκε σε λίπος 1,5%. Η φυσικοχημική του νωπού γάλακτος μετά την τυποποίηση παρουσιάζεται στον πίνακα 7.1. οι τιμές των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών στα τρία είδη γάλακτος δεν διαφέρουν σημαντικά ($P>0,05$).

Πίνακας 7.1: Φυσικοχημική σύσταση του γάλακτος της τυροκόμησης

Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά	Είδος γάλακτος		
	A	B	Γ
Λίπος %	1,55 ^a ±0,04	1,57 ^a ±0,03	1,59 ^a ±0,03
Πρωτεΐνη %	5,23 ^a ±0,06	5,24 ^a ±0,05	5,26 ^a ±0,09
Λακτόζη %	5,40 ^a ±0,20	5,52 ^a ±0,12	5,63 ^a ±0,09
Οξύτητα (% γαλακτικό οξύ)	0,20 ^a ±0,01	0,20 ^a ±0,01	0,21 ^a ±0,00
Ολικά στερεά %	13,22 ^a ±0,23	13,32 ^a ±0,18	13,44 ^a ±0,25
ΣΥΑΛ%	11,68 ^a ±0,16	11,75 ^a ±0,13	11,84±0,21

pH

6,62^a ±0,08 6,60^a ±0,02 6,57^a ±0,01

Οι τιμές στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι ±το τυπικό σφάλμα του μέσου.

^{a,b}: Μέσοι όροι στην ίδια σειρά με κοινό εκθέτη δε διαφέρουν σημαντικά ως προς την τεχνολογία (P>0,05, LSD test).

^{**} Τυρί Α, Β, Γ: μαλακό τυρί χαμηλών λιπαρών που παρασκευάστηκε από πρόβειο γάλα που θερμάνθηκε για 10min στους 70 °C, 80 °C και 90 °C αντίστοιχα

7.2 Φυσικοχημική σύσταση τυρογάλακτος

Μετά την πήξη έγινε διαίρεση και στράγγιση του τυροπήγματος μέχρι την επομένη. Το τυρόγαλα που απέβαλαν τα τυροπήγματα Α, Β και Γ μετά από ~20h ήταν ~ 6kg. Αξίζει να σημειωθεί κατά την πρώτη ώρα της στράγγισης, τα τυροπήγματα έχασαν περίπου το 50% του συνολικού ορού που απέβαλαν συνολικά και ότι ο ορός που απέβαλε το πήγμα Γ ήταν ο πιο διαυγής ενώ ο ορός του Α θολερός (εικόνα). Το βάρος των τυροπηγμάτων μετά από ~20h (τυριών 1^{ης} ημέρας) ήταν ~1,5kg. Η φυσικοχημική σύσταση του τυρογάλακτος παρουσιάζεται στον πίνακα 7.2.

Πίνακας 7.2: Φυσικοχημική σύσταση τυρογάλακτος

Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά	Είδος τυρογάλακτος		
	ΟΑ ^{**}	ΟΒ ^{**}	ΟΓ ^{**}
Λίπος %	0,21 ^a ±0,05	0,16 ^a ±0,08	0,14 ^a ±0,05
Πρωτεΐνη %	1,31 ^b ±0,10	0,72 ^a ±0,10	0,57 ^a ±0,03
Λακτόζη %	5,05 ^a ±0,19	5,29 ^a ±0,17	5,40 ^a ±0,15
pH	4,64 ^b ±0,04	4,55 ^a ±0,03	4,54 ^a ±0,03
Ολικά στερεά %	7,48±0,90	6,82±0,37	6,74±0,18

Τέφρα %

0,77^a ±0,26 0,71^a ±0,19 0,67^a ±0,14

*Οι τιμές στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι ±το τυπικό σφάλμα του μέσου.

^{a,b}: Μέσοι όροι στην ίδια σειρά με κοινό εκθέτη δε διαφέρουν σημαντικά ως προς την τεχνολογία ($P > 0,05$, LSD test).

** OA, OB, OG: τυρόγαλα που απέβαλαν τα τυροπήγματα A, B και Γ



Εικόνα 7.1: Απεικόνιση επίδρασης της θερμικής επεξεργασίας του γάλακτος στην διάλυση του τυρογάλακτος

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του πίνακα 7.2, η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη μειώθηκε σημαντικά με την αύξηση της θερμικής επεξεργασίας του γάλακτος από τους 70 στους 90 °C. Η μείωση αυτή οφείλεται στην μετουσίωση και ενσωμάτωση των πρωτεϊνών του ορού στο τυρόπηγμα σε ποσοστό ανάλογα με τον βαθμό της θερμικής επεξεργασίας (Lo and Bastian, 1998). Επίσης, παρατηρήθηκε μία μικρή αριθμητική μείωση των ολικών στερεών από το τυρόγαλα A στο τυρόγαλα Γ, όχι όμως στατιστικά σημαντική, η οποία οφείλεται στην συγκράτηση ανόργανων στοιχείων (ασβεστίου κυρίως) στα πήγματα.

7.3 Συντελεστές μετατροπής και απόδοση σε τυρί 1^{ης} ημέρας

Η διερεύνηση της απόδοσης% έχει ιδιαίτερο ενδιαφέρον κατά την πειραματική παρασκευή ενός τυριού γιατί σχετίζεται με το οικονομικό αποτέλεσμα. Ο παράγοντας που επηρεάζει περισσότερο την απόδοση σε τυρί είναι η χημική σύσταση του γάλακτος

της τυροκόμησης και ιδιαίτερα η περιεκτικότητά του σε πρωτεΐνες και λίπος, καθώς αυτά αντιπροσωπεύουν περισσότερο από το 90% των στερεών του συστατικών. Προκειμένου να ελεγχθεί η αποτελεσματικότητα της τυροκόμησης υπολογίστηκαν οι συντελεστές μετατροπής (ΣΜ) σε τυρί του λίπους, των πρωτεϊνών και της ξηρής ουσίας του γάλακτος (πίνακας 7.3) και έγινε και εκτίμηση της απόδοσης του γάλακτος σε τυρί. Σημειώνεται ότι οι ΣΜ αφορούν το τυρί 1^{ης} ημέρας. Δεν έγινε ο υπολογισμός τους στο ώριμο τυρί δεδομένου ότι για την παρασκευή των πειραματικών τυριών χρησιμοποιήθηκαν μικρές ποσότητες γάλακτος και οι απώλειες κατά τους χειρισμούς (δειγματοληψίες κλπ) θα επηρέαζαν τα τελικά αποτελέσματα.

Πίνακας 7.3: Συντελεστές μετατροπής (ΣΜ) και απόδοση* σε τυρί 1^{ης} ημέρας

Δείκτης απόδοσης (%)	Τυρί Α**	Τυρί Β**	Τυρί Γ**
Απόδοση	19,50 ^a ±0,45	20,96 ^b ±0,82	20,17 ^b ±1,21
ΣΜ λίπους	89,81 ^a ±4,21	89,05 ^a ±3,79	86,80 ^a ±2,08
ΣΜ πρωτεϊνών	76,41 ^a ±2,05	86,36 ^b ±2,76	88,28 ^b ±3,32
ΣΜ ξηρής ουσίας	54,38 ^a ±1,50	57,40 ^b ±1,38	57,79 ^b ±0,49

*Οι τιμές στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι ±το τυπικό σφάλμα του μέσου.

^{a,b}: Μέσοι όροι στην ίδια σειρά με κοινό εκθέτη δε διαφέρουν σημαντικά ως προς την τεχνολογία (P> 0,05, LSD test).

** Τυρί Α, Β, Γ: μαλακό τυρί χαμηλών λιπαρών που παρασκευάστηκε από πρόβειο γάλα που θερμάνθηκε για 10min στους 70 °C, 80 °C και 90 °C αντίστοιχα

Όπως φαίνεται από τον πίνακα, η απόδοση σε τυρί 1^{ης} ημέρας ήταν ικανοποιητική, και για τα τρία τυριά αν και είχαν χαμηλά λιπαρά. Η μέση απόδοση στα τυριά Β και Γ ήταν μεγαλύτερη από το Α, και αυτό μπορεί να αποδοθεί στη μεγαλύτερη συγκράτηση στο τυρόπηγμα πρωτεϊνών του ορού. Οι *Frau et al.* (2014) μελέτησαν την επίδραση της θερμικής επεξεργασίας στην απόδοση αλειφόμενου τύπου τυριού από αίγιο γάλα. Οι ερευνητές επισήμαναν ότι η θερμική επεξεργασία του γάλακτος πάνω από τους 65°C προκαλεί μετουσίωση των πρωτεϊνών του ορού και απέδωσαν την αύξηση της απόδοσης σε τυρί στην υγρασία που αυτές μπορεί να συμπαρασύρουν.

Οι ΣΜ λίπους, πρωτεϊνών και ξηρής ουσίας του γάλακτος σε τυρί ήταν ικανοποιητικοί και υψηλότεροι από αυτούς που έχουν αναφερθεί σε μαλακά τυριά, όπως Κοπανιστή από αγελαδινό γάλα (88,73, 77,3 και 54,7 % αντίστοιχα), ή Φέτα από πρόβειο γάλα (ΣΜ λίπους 88,3 %), που σημαίνει ότι οι απώλειες σε συστατικά στο τυρόγαλα δεν ήταν μεγάλες και στα τρία τυριά (*Καμιναρίδης, 1987*). Ο ΣΜ των

πρωτεϊνών και της ξηρής ουσίας ήταν μεγαλύτεροι στα τυριά Β και Γ.

7.4 Φυσικοχημική σύσταση τυριών

Στον πίνακα 7.4 παρουσιάζονται τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των πειραματικών τυριών 1^{ης} ημέρας και 15 ημερών ωρίμασης.

Πίνακας 7.4: Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των τριών τύπων τυριών 1^{ης} ημέρας και 15 ημερών*

Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά	Ημέρες	Τυρί Α**	Τυρί Β**	Τυρί Γ*
pH	1	4,47 ^{ae} ± 0,03	4,49 ^{be} ±0,00	4,54 ^{be} ±0,02
	15	4,57 ^{af} ±0,15	4,85 ^{bf} ±0,03	4,87 ^{bf} ±0,16
Ξηρή ουσία%	1	36,87 ^{ae} ±1,09	36,50 ^{ae} ±1,25	38,46 ^{be} ±0,72
	15	37,34 ^{ae} ±0,43	37,21 ^{ae} ±0,04	38,96 ^{be} ±1,14
Υγρασία%	1	63,13 ^{be} ±1,09	63,50 ^{be} ±1,25	61,54 ^{ae} ±0,72
	15	62,66 ^{be} ±0,43	62,79 ^{be} ±0,04	61,04 ^{ae} ±1,14
Υγρασία στα άνευ λίπους συστατικά%	1	67,98 ^{be} ±1,30	68,23 ^{be} ±1,40	66,06 ^{ae} ±0,45
	15	68,11 ^{be} ±0,84	67,78 ^{be} ±0,91	66,05 ^{ae} ±1,36
Λίπος%	1	7,14 ^{ae} ±0,18	6,93 ^{ae} ±0,36	6,85 ^{ae} ±0,31

	15	8,00 ^{af} ±0,5	7,37 ^{af} ±0,55	7,59 ^{af} ±0,52
Ολικές πρωτεΐνες%	1	20,44 ^{ae} ±1,06	21,31 ^{ae} ±0,40	23,03 ^{be} ±0,95
	15	22,54 ^{ae} ±1,22	22,75 ^{ae} ±1,62	24,18 ^{be} ±1,02
Υδατοδιαλυτές πρωτεΐνες %	1	1,04 ^{ae} ±0,03	0,72 ^{ae} ±0,13	0,69 ^{ae} ±0,07
	15	1,95 ^{af} ±0,17	2,52 ^{af} ±0,72	3,33 ^{af} ±0,96
Αλάτι%	1	2,41 ^{ae} ±0,19	2,48 ^{ae} ±0,26	2,53 ^{ae} ±0,40
	15	2,23 ^{ae} ±0,27	2,22 ^{ae} ±0,02	2,37 ^{ae} ±0,38
Αλάτι στην υγρή φάση%	1	3,67±0,29 ^{ae}	3,75±0,30 ^{ae}	3,94 ^{ae} ±0,62
	15	3,44±0,42 ^{ae}	3,41 ^{ae} ±0,03	3,74 ^{ae} ±0,62
Συντελεστής ωρίμανσης%	1	5,10 ^{ae} ±0,25	3,39 ^{ae} ±0,53	2,98 ^{ae} ±0,20
	15	8,67 ^{af} ±0,80	11,16 ^{af} ±3,55	13,80 ^{af} ±4,04

*Οι τιμές στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι ±το τυπικό σφάλμα του μέσου.

^{a,b}: Μέσοι όροι στην ίδια σειρά με κοινό εκθέτη δε διαφέρουν σημαντικά ως προς την τεχνολογία (P> 0,05, LSD test).

^{e,f}: Μέσοι όροι στην ίδια στήλη με κοινό εκθέτη δε διαφέρουν σημαντικά ως προς την ηλικία (P> 0,05, LSD test).

** Τυρί Α, Β, Γ: μαλακό τυρί χαμηλών λιπαρών που παρασκευάστηκε από πρόβειο γάλα που θερμάνθηκε για 10min στους 70°C, 80 °C και 90 °C αντίστοιχα

7.4.1 Υγρασία-Λίπος- πρωτεΐνη-υδατοδιαλυτό άζωτο

Το ποσοστό της υγρασίας του τυριού Γ που θερμάνθηκε στους 90 °C διέφερε σημαντικά σε σχέση με τα άλλα δύο τυριά Α και Β. Το τυρί Α (1^{ης} ημέρας) είχε υγρασία 63,13% ενώ το τυρί Γ 61,54%. Αυτή η διαφορά πιθανόν οφείλεται σε απώλεια υγρασίας που υπέστη το τυρί Γ λόγω της υψηλότερης θερμικής επεξεργασίας του γάλακτος. Η περιορισμένη μείωση της υγρασίας κατά τη διάρκεια της ωρίμασης που παρατηρείται (στατιστικά μη σημαντική) οφείλεται σε εξάτμιση και επηρεάζει ελάχιστα και την περιεκτικότητα των επιμέρους συστατικών των τυριών. Η υγρασία στα άνευ λίπους συστατικά (MNFS) ήταν μειωμένη στο τυρί Γ σε σχέση με τα άλλα δύο τυριά και σχετίζεται άμεσα με την αυξημένη περιεκτικότητα του τυριού σε πρωτεΐνες.

Μεταξύ των τυριών δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ως προς την λιποπεριεκτικότητα. Το τυρί Α (15 ημερών) είχε μέση λιποπεριεκτικότητα 8,0% το Β 7,37% και το Γ 7,59%. Οι αντίστοιχες τιμές εκφρασμένες επί ξηρού ήταν 20,64%, 19,80% και 18,93% αντίστοιχα. Σύμφωνα με το άρθρο 83 του Ελληνικού Κώδικα Τροφίμων και Ποτών τα πειραματικά τυριά κατατάσσονται στα μαλακά αλοιφώδη τυριά, και μπορούν να χαρακτηρισθούν «μερικώς αποβουτυρωμένα» (με λιπαρά <10%). Σύμφωνα με τους επιτρεπόμενους διατροφικούς χαρακτηρισμούς (Κανονισμός ΕΚ 1924/2006) ένα προϊόν μπορεί να χαρακτηριστεί ως "μειωμένων λιπαρών" όταν η λιποπεριεκτικότητα του έχει μειωθεί τουλάχιστον κατά 30% σε σύγκριση με το παρόμοιο προϊόν με πλήρη λιπαρά. Σύμφωνα με τον Codex Alimentarius (CAC/CCFL, 1997) για να χαρακτηριστεί ως "μειωμένων λιπαρών" το λίπος πρέπει να έχει μειωθεί τουλάχιστον κατά 25%, ενώ όταν το λίπος επί ξηρού είναι 10-25% μπορεί να χαρακτηριστεί προϊόν "χαμηλών λιπαρών". Στα τρία τυριά το λίπος μειώθηκε ~68% επομένως μπορούν να χαρακτηριστούν ως "τυριά μειωμένων λιπαρών" εάν συγκριθούν με παρόμοιο τύπου τυριού, όπως είναι η κοπανιστή, που έχει ελάχιστη λιποπεριεκτικότητα επί ξηρού 43% (ΚΤΠ, άρθρο 83). Επίσης, μπορούν να χαρακτηριστούν και ως τυριά «χαμηλών λιπαρών» δεδομένου ότι το λίπος επί ξηρού είναι <25%.

Η περιεκτικότητα των τριών τυριών σε πρωτεΐνες διέφερε σημαντικά στο τυρί Γ (15 ημερών) το οποίο είχε υψηλότερο ποσοστό πρωτεϊνών (24,8%) σε σχέση με τα τυριά Α και Β, με 22,54 και 22,75% αντίστοιχα. Η αυξημένη τιμή σε πρωτεΐνες αποδίδεται σε ενσωμάτωση πρωτεϊνών του ορού στο πήγμα, λόγω της εντονότερης μετουσίωσης τους κατά την εφαρμογή των υψηλότερων θερμοκρασιών. Σε γάλα που θερμαίνεται σε θερμοκρασίες 70-90 °C, η β-γαλακτογλοβουλίνη συνδέεται ισχυρά με S-S δεσμούς κυρίως με την κ- και δευτερευόντως με την α₂-καζεΐνη και συνδέεται με τα καζεϊνικά μικκύλια. (Καμιναρίδης και Μοάτσου, 2009). Σύμφωνα με τους Nuala et al. (2004), το ποσοστό συμμετοχής των πρωτεϊνών του ορού στα τυριά εξαρτάται από τον βαθμό της θερμικής επεξεργασίας του γάλακτος. Από την πρώτη έως την 15^η ημέρα δεν υπήρξε στατιστικώς σημαντική διαφορά στην περιεκτικότητα των τυριών σε πρωτεΐνη.

Οι υδατοδιαλυτές πρωτεΐνες στα τυριά 1^{ης} ημέρας ήταν 1,04% στο τυρί Α, 0,72% στο τυρί Β και 0,69% στο τυρί Γ. Μετά από 15 ημέρες ωρίμανσης το ποσοστό του υδατοδιαλυτού αζώτου αυξήθηκε σημαντικά και στα τρία τυριά (P<0,05), λόγω της πρωτεόλυσης, ενώ παρατηρήθηκαν υψηλότερες τιμές (P>0,05) κατά σειρά στα τυριά Γ και Β.

Το υδατοδιαλυτό άζωτο εκφρασμένο ως %ποσοστό του ολικού αζώτου (WSN/TN %) ορίζεται ως συντελεστής ωρίμανσης και εκφράζει το κλάσμα των πρωτεϊνών που έχει υδρολυθεί σε μικρότερες πρωτεΐνες, πεπτόνες, πεπτίδια και αμινοξέα. Ο συντελεστής ωρίμανσης των τριών τυριών (15 ημερών) ήταν μεγαλύτερος (P<0,05) σε σχέση με της 1^{ης} ημέρας. Μεταξύ των τριών τύπων τυριών, το τυρί Α (15 ημερών) είχε το χαμηλότερο συντελεστή ωρίμανσης (8,67%), σε σχέση με τα τυριά Β και Γ (11,60% και 13,80% αντίστοιχα) και γι' αυτό το λόγο θεωρείται ότι παρουσίασαν εκτεταμένη πρωτεόλυση. Σύμφωνα με τους (Upadhyay et al., 2004) στην Mozzarella η πρωτεόλυση είναι περιορισμένη (4-5%), ενώ στο Blue cheese και γενικά σε τυριά που ωριμάζουν με μύκητες είναι εκτεταμένη (9-20%). Οι Gonzalez et al.(1995), αναφέρουν ότι τυριά που ωρίμασαν κυρίως με τον μύκητα *Penicillium* sp. υπέστησαν μεγαλύτερη πρωτεόλυση σε σύγκριση με τυριά που ωρίμασαν με οξυγαλακτικά βακτήρια. Σύμφωνα με τον Καμιναρίδη (1987), η Κοπανιστή (με 32 ημέρες ωρίμανσης), η οποία έχει παρόμοια τεχνολογία με τα πειραματικά τυριά, σε σχέση με άλλα Ελληνικά τυριά εμφανίζει τον υψηλότερο συντελεστή ωρίμανσης (24,2%) και μάλιστα σε μικρότερη

ηλικία, που σημαίνει ότι ωριμάζει με ταχύτερο ρυθμό. Οι *Benfeldt et al. (2001)*, αντίθετα αναφέρουν, ότι όσο αυξάνεται η θερμική επεξεργασία του πρόβειου γάλακτος κατά την παρασκευή των τυριών, η πρωτεόλυση κατά την ωρίμανση μειώνεται, λόγω της μείωσης της δράσης της πλασμίνης.

7.4.2 Τέφρα

Η τέφρα υπολογίστηκε στα τυριά 15 ημερών. Δεν βρέθηκε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των τιμών. Οι μέσες τιμές ήταν 3,26%, 3,33% και 3,24% για τα τυριά Α, Β και Γ αντίστοιχα.

7.4.3 Μεταβολή του pH

Το pH είχε σημαντική πτώση από την επόμενη (1^η ημέρα) της τυροκόμησης. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του πίνακα 7.4, την 1^η ημέρα τα τυριά Β και Γ που παρασκευάστηκαν από γάλα υψηλότερης θερμικής επεξεργασίας είχαν μεγαλύτερο pH σε σχέση με το τυρί Α. Το pH παρουσιάζεται αυξημένο και στα τρία τυριά μετά από 15 ημέρες. Η άνοδος του pH αποδίδεται σε καταβολισμό του γαλακτικού οξέος από τη δευτερεύουσα μικροχλωρίδα (ζύμες και μύκητες) που αναπτύχθηκε επιφανειακά είτε σε παραγωγή αμμωνίας από την απαμίνωση των ελεύθερων αμινοξέων (*McSweeney and Fox, 2004, Beresford and Williams, 2004*). Σε τυριά Κοπανιστή εμπορίου, παρουσιάστηκε μεγάλος εύρος στις τιμές του pH (3,8 - 5,5), το οποίο σχετίζεται με τον ιδιαίτερο τρόπο παρασκευής του κάθε τυριού (προσθήκη εναρκτήριας καλλιέργειας, ανάδευση του τυριού κατά την ωρίμανση, κα) και με την ανάπτυξη των ζυμών και μυκήτων κατά περίπτωση (*Karali et al., 2012*).

7.4.4 Αλάτι

Διαφορές δεν βρέθηκαν μεταξύ των τυριών ούτε οσον αφορά στην περιεκτικότητά τους σε αλάτι, ούτε στο αλάτι εκφρασμένο στην υγρή φάση του τυριού. Η περιεκτικότητα σε αλάτι δεν μεταβλήθηκε κατά την ωρίμανση.

7.4.5 Ανόργανα στοιχεία

Η περιεκτικότητα των τυριών 15 ημερών σε ασβέστιο, μαγνήσιο, νάτριο και κάλιο υπολογισμένη σε mg/100g νωπού βάρους και σε mg/100g ξηρού βάρους εμφανίζεται στον πίνακα 7.5. Όπως βλέπουμε, αν και δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές, το τυριά Γ και Β είχαν μεγαλύτερη (αριθμητική) περιεκτικότητα σε ασβέστιο και μαγνήσιο από το τυρί Α και αυτό αποδίδεται στην εφαρμογή της υψηλής παστερίωσης στο γάλα της τυροκόμησης. Η αύξηση της θερμοκρασίας μειώνει τη διαλυτότητα του φωσφορικού ασβεστίου στον ορό και προκαλεί μεταφορά ενός μέρους του στην κολλοειδή φάση. Οι αλλαγές αυτές ξεκινούν σε θερμοκρασία >70 °C (Καμιναρίδης, Μοάτσου, 2004) και συμβάλλουν στην διαμόρφωση της δομής του τυριού.

Πίνακας 7.5: Περιεκτικότητα σε ανόργανα στοιχεία * (mg/100g) των τριών τύπων τυριών 15 ημερών

Ανόργανα στοιχεία (mg/100g)	Τυρί Α	Τυρί Β	Τυρί Γ
Ca	385,37 ^a ±87,44	447,82 ^a ±51,07	539,98 ^a ±64,06
Mg	60,89 ^a ±9,52	66,94 ^a ±6,11	77,87 ^a ±2,96
Na	2876,12 ^a ±545,01	2844,57 ^a ±267,50	2890,33 ^a ±221,15
K	446,64 ^a ±76,43	439,96 ^a ±55,43	377,48 ^a ±26,17
Ανόργανα άλατα (mg/100g ξηρού βάρους)			
Ca	1031,55 ^a ±231,62	1203,48 ^a ±138,5	1383,44 ^a ±126,12
Mg	163,01 ^a ±24,89	179,88 ^a ±16,55	199,87 ^a ±5,33

*Οι τιμές στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι ±το τυπικό σφάλμα του μέσου.

^{a,b} Μέσοι στη ίδια σειρά με κοινό εκθέτη για τυριά ίδιας ηλικίας υποδηλώνουν μη σημαντική διαφορά μεταξύ των τιμών (P> 0,05, LSD test).

** Τυρί Α, Β, Γ: μαλακό τυρί χαμηλών λιπαρών που παρασκευάστηκε από πρόβειο γάλα που θερμάνθηκε για 10min στους 70°C, 80 °C και 90 °C αντίστοιχα

7.5 Ανάλυση του υδατοδιαλυτού κλάσματος των τυριών

Η πρωτεόλυση εκτιμήθηκε επίσης και με ανάλυση του υδατοδιαλυτού

κλάσματος (WSN) των τυριών με υγρή χρωματογραφία RP HPLC. Στην εικόνα 7.1 φαίνεται το προφίλ του WSN των δειγμάτων των πειραματικών τυριών. Στις κορυφές που εκκλούνται από 0-10 min περιλαμβάνονται τα περισσότερα ελεύθερα αμινοξέα, στην περιοχή 10-80 min εκκλούνται τα πεπτίδια (Gonzalez *et al.*, 1995). Η περιοχή από 0-55 min περιλαμβάνει όλα τα υδρόφιλα πεπτίδια, ενώ οι κορυφές μεταξύ 38-50 min αντιστοιχούν σε μικρού και μεσαίου μοριακού βάρους πεπτίδια, που προέρχονται κυρίως από την αποικοδόμηση των α_{s1} - και β - καζεϊνών (Trujillo *et al.*, 2002). Η περιοχή από 55-100 min αντιστοιχεί στα υδρόφοβα πεπτίδια. Στο τέλος των χρωματογραφημάτων (90-100 min) εκκλούνται οι α -La και β -Lg (Moatsou *et al.*, 2003; Moatsou *et al.*, 2005, Mallatou *et al.*, 2004, Michaelidou *et al.*, 1998).

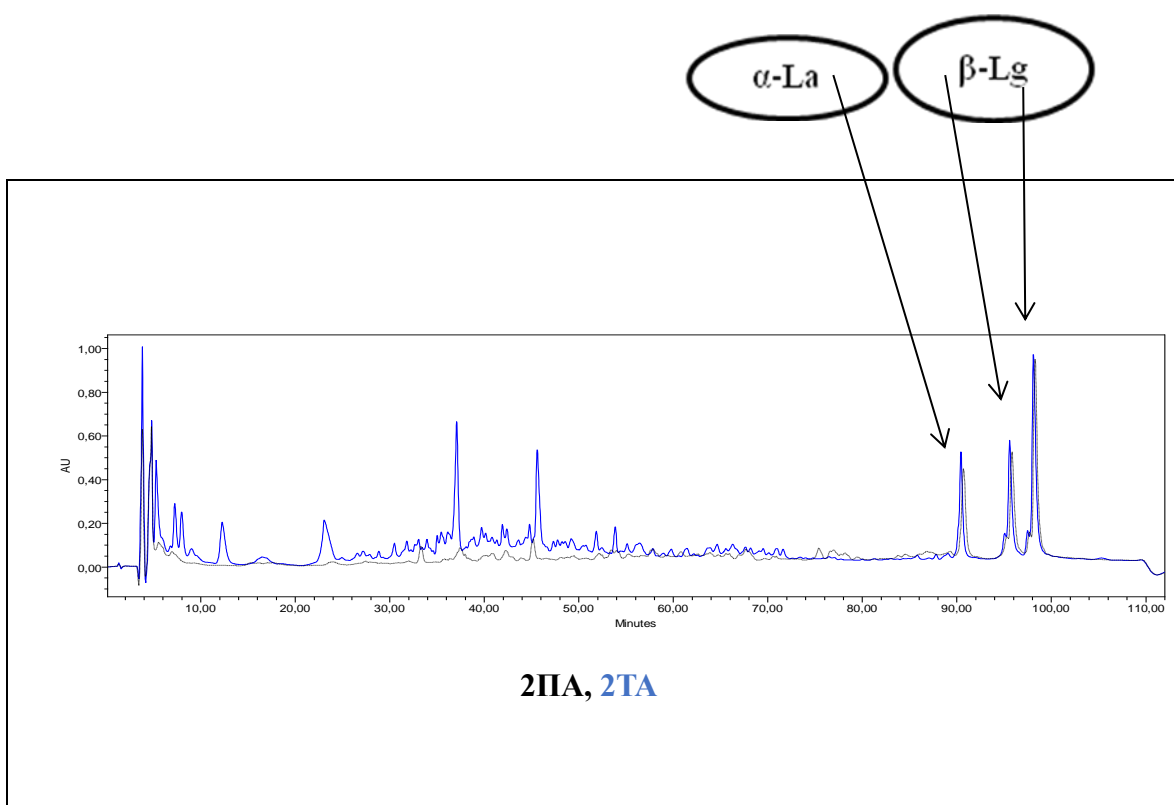
Με βάση τις κατατομές των χρωματογραφημάτων στο τυρί Α (1^{ης} ημέρας και 15 ημερών) όπου το γάλα της τυροκόμησης παστεριώθηκε στους 70 °C φαίνονται στην περιοχή προς το τέλος του χρωματογραφήματος τρεις κορυφές. Οι 2 τελευταίες κορυφές αντιστοιχούν στις 2 μορφές της β -Lg (Moatsou *et al.*, 2002), ενώ η πρώτη κατά σειρά κορυφή στην α -La. Στα τυριά Β και Γ οι κορυφές αυτές είναι πολύ μικρότερες, λόγω της μετουσίωσης που υπέστησαν οι πρωτεΐνες ορού κατά την υψηλή θερμική επεξεργασία του γάλακτος. Παρόμοιο προφίλ για το υδατοδιαλυτό κλάσμα, δίνουν και οι κατατομές των χρωματογραφημάτων του τυρογάλακτος (ΟΑ, ΟΒ και ΟΓ), που απέβαλαν τα τυροπήγματα Α, Β και Γ αντίστοιχα (εικόνα 7.2).

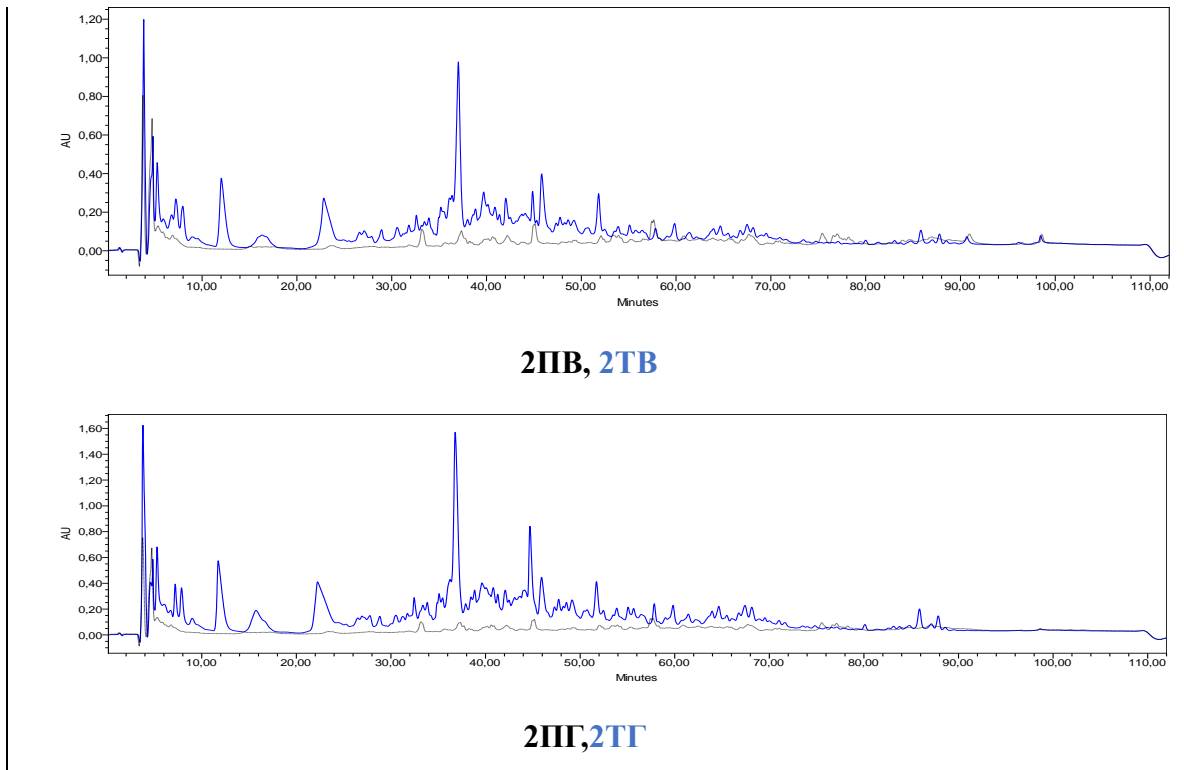
Μετά από 15 ημέρες, και στα τρία τυριά παρατηρούνται νέες κορυφές. Επίσης από τις κορυφές που υπήρχαν στα τυριά 1^{ης} ημέρας, κάποιες έχουν αυξηθεί ή έχουν μειωθεί σε μέγεθος. Στην περιοχή μεταξύ 0-55 min διακρίνουμε ότι το τυρί Γ των 15 ημερών και στη συνέχεια το Β έχουν πολύ περισσότερα υδρόφιλα πεπτίδια σε σχέση με το τυρί Α, γεγονός που καταδεικνύει την πιο εκτεταμένη πρωτεόλυση που υπέστησαν αυτά τα τυριά.

Για την επεξεργασία των αποτελεσμάτων, τα χρωματογραφήματα χωρίστηκαν σε περιοχές και υπολογίστηκε ανά περιοχή το συνολικό εμβαδό των κορυφών. Επίσης, για τη μελέτη της πρωτεόλυσης των τυριών, έγινε και ο υπολογισμός του λόγου υδρόφοβα/υδρόφιλα πεπτίδια διαιρώντας τη συνολική περιοχή των υδρόφοβων πεπτιδίων με τη συνολική περιοχή των υδρόφιλων πεπτιδίων. Στα σχήματα 7.1 και 7.2 παρουσιάζεται το εμβαδόν των κορυφών ανά περιοχή χρωματογραφήματος. Το σχήμα 7.1 αναφέρεται στα τυριά 1^{ης} ημέρας, ενώ το σχήμα 7.2 στα τυριά 15 ημερών. Στον πίνακα 7.6 παρουσιάζεται ο λόγος υδρόφοβα προς υδρόφιλα πεπτίδια του WSN των δειγμάτων.

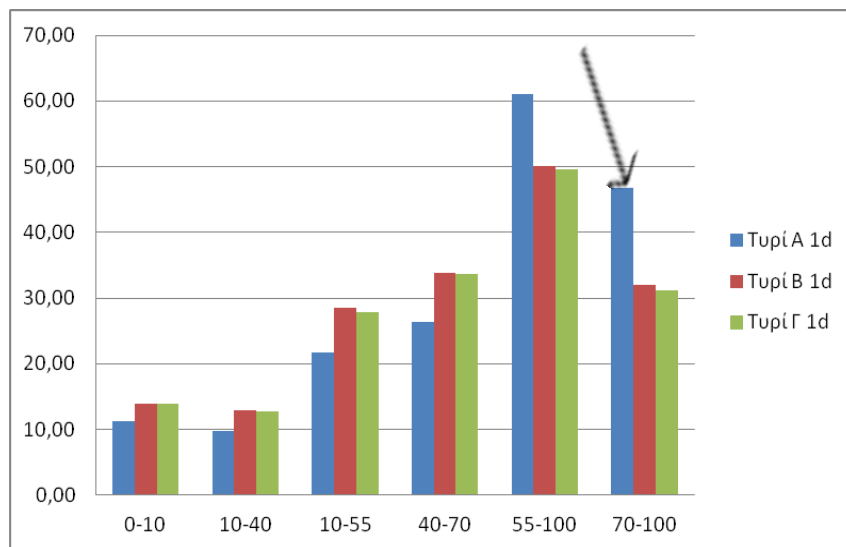
Η περιοχή 70 – 100, περιλαμβάνει τις πρωτεΐνες του ορού. Από το σχήμα 7.1 διαπιστώνεται ότι στο τυρί Γ και Β (1^ης ημέρας) το συνολικό εμβαδόν των κορυφών αυτών είναι μικρότερο από τι στο τυρί Α και αυτό οφείλεται στην μετουσίωση που υπέστησαν οι πρωτεΐνες του ορού στα τυριά αυτά κατά την υψηλή θερμική επεξεργασία. Η μετουσίωση αυτή στο Β μεγαλύτερη σε σχέση με το Α κατά 31,55% και στο Γ μεγαλύτερη από το Β κατά 2,78%. Μετά από 15 ημέρες ωρίμασης στην ίδια περιοχή (70-100) (σχήμα 7.2), παρατηρείται μείωση του εμβαδού των κορυφών και στα τρία τυριά, λόγω της υδρόλυσης των πρωτεϊνών ορού από την επιφανειακή ανάπτυξη άγριας χλωρίδας ζυμομυκήτων.

Η περιοχή 0-55, όπως αναφέραμε, περιλαμβάνει όλα τα υδρόφιλα πεπτιδία. Μετά από 15 ημέρες ωρίμασης στην περιοχή αυτή (σχήμα 7.2), παρατηρείται αύξηση του εμβαδού των κορυφών και στα τρία τυριά. Το γεγονός ότι στα τυριά Γ και Β η αύξηση αυτή είναι μεγαλύτερη, ενώ ο λόγος υδρόφοβα/υδρόφιλα πεπτιδία είναι μικρότερος (στα τυριά Γ και Β ήταν 0,51 και 0,72 αντίστοιχα, ενώ στο τυρί Α ήταν 0,97) αποδεικνύει ότι τα τυριά Γ και Β είχαν εντονότερη πρωτεόλυση σε σχέση με το Α.

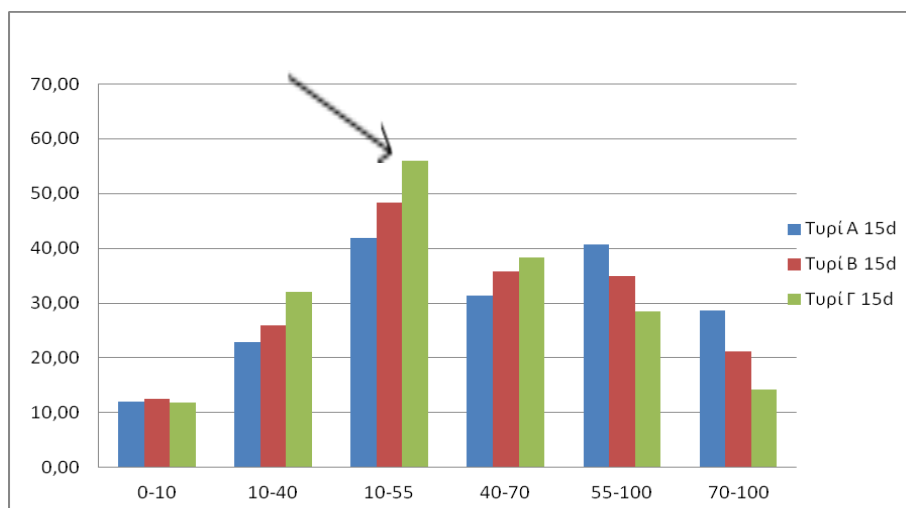




Εικόνα 7.1: Κατατομές χρωματογραφημάτων του υδατοδιαλυτού κλάσματος τυριών 1ης ημέρας και 15 ημερών Α, Β και Γ (ΠΑ,ΠΒ,ΠΓ και ΤΑ,ΤΒ,ΤΓ)



Σχήμα 7.1: Εμβαδόν κορυφών ανά περιοχή χρωματογραφήματος του WSN κλάσματος των τυριών 1ης ημέρας



Σχήμα 7.2: Εμβαδόν κορυφών ανά περιοχή χρωματογραφήματος του WSN κλάσματος των τυριών 15 ημερών

Πίνακας 7.6: Πηλίκο εμβαδού υδρόφοβα προς υδρόφιλα πεπτίδια του WSN κλάσματος των τυριών 1^{ης} ημέρας και 15 ημερών (περιοχές 55-100min και 0-55min)

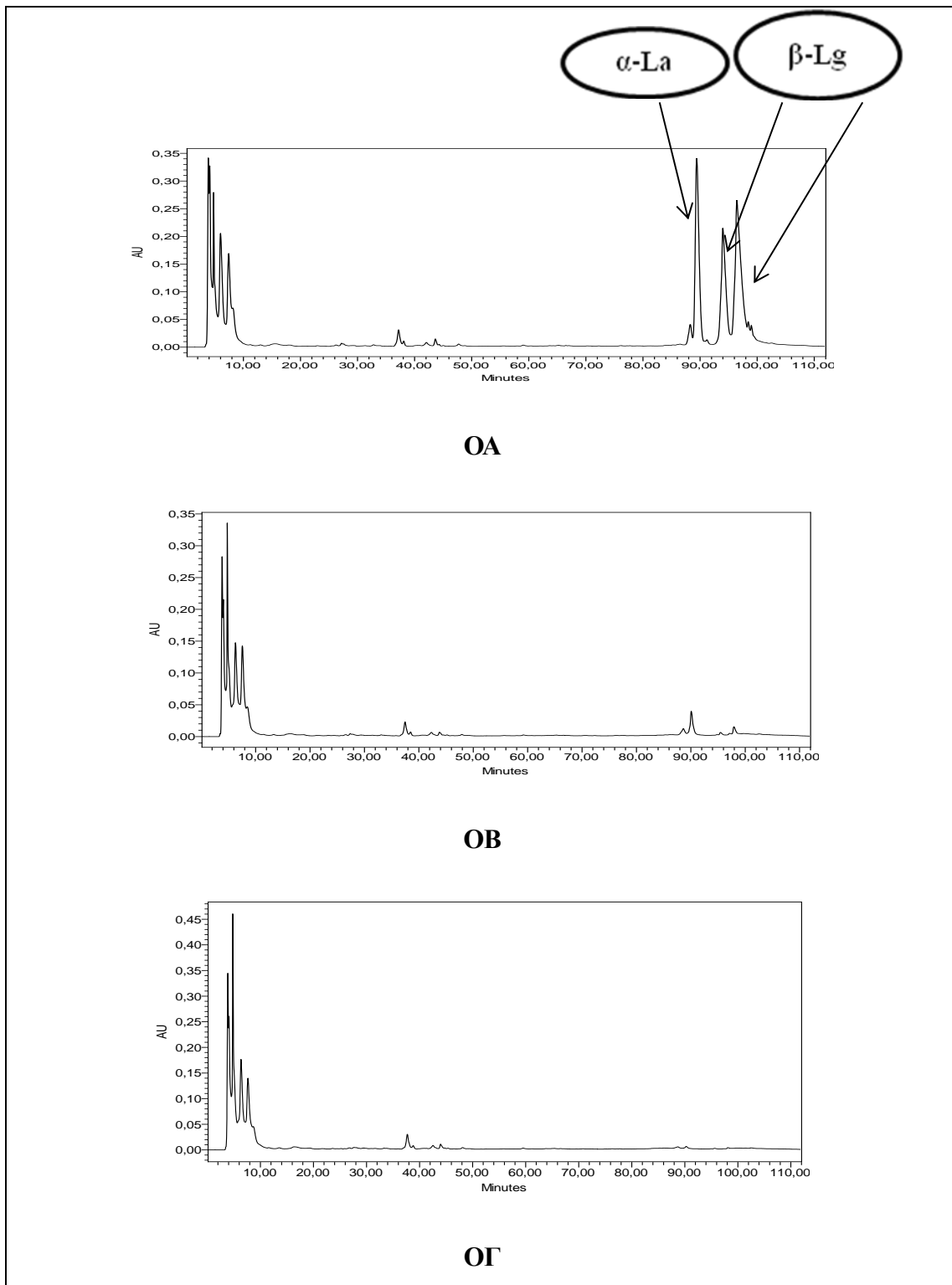
Υδρόφοβα/Υδρόφιλα πεπτίδια			
Ημέρες	Τυρί Α**	Τυρί Β**	Τυρί Γ**
1	2,80 ^{bc}	1,76 ^{ac}	1,78 ^{ac}
15	0,97 ^{bf}	0,72 ^{af}	0,51 ^{af}

*Οι τιμές στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι ±το τυπικό σφάλμα του μέσου.

^{a,b}: Μέσοι όροι στην ίδια σειρά με κοινό εκθέτη δε διαφέρουν σημαντικά ως προς την τεχνολογία ($P > 0,05$, LSD test).

^{e,f}: Μέσοι όροι στην ίδια στήλη με κοινό εκθέτη δε διαφέρουν σημαντικά ως προς την ηλικία ($P > 0,05$, LSD test).

** Τυρί Α, Β, Γ: μαλακό τυρί χαμηλών λιπαρών που παρασκευάστηκε από πρόβειο γάλα που θερμάνθηκε για 10min στους 70°C, 80 °C και 90 °C αντίστοιχα

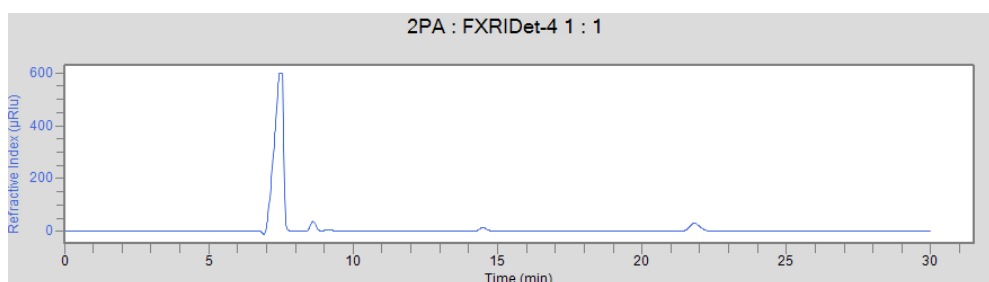


Εικόνα 7.2: Κατατομές χρωματογραφημάτων του υδατοδιαλυτού κλάσματος του τυρογάλακτος των τυριών Α, Β και Γ (ΟΑ, ΟΒ, ΟΓ)

7.6 Σάκχαρα και οργανικά οξέα

Κατά την τυροκόμηση σχεδόν το 96% - 98% της λακτόζης του γάλακτος λόγω της γρήγορης συναίρεσης αποβάλλεται στο τυρόγαλα. Το ποσό της λακτόζης που κατακρατείται στο τυρόπηγμα (υπολειμματική λακτόζη) ζυμώνεται γρήγορα από την εναρκτήρια οξυγαλακτική καλλιέργεια σε γλυκόζη και γαλακτόζη και οδηγεί στην παραγωγή κυρίως γαλακτικού οξέος. Η μετατροπή είναι ταχεία ώστε να θεωρείται ότι μέσα σε 24 ώρες από την παρασκευή του τυριού έχει ζυμωθεί το μεγαλύτερο μέρος της. Λίγες ημέρες μετά την τυροκόμηση η λακτόζη έχει εξαντληθεί ή βρίσκεται σε ελάχιστη ποσότητα στα τυριά (Anifantakis, 1991). Ο άμεσος και πλήρης μεταβολισμός της λακτόζης είναι απαραίτητος για την παραγωγή τυριού αποδεκτής ποιότητας (Fox et al., 1990). Υπολειμματική λακτόζη στο τυρί μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη ανεπιθύμητης μικροβιακής χλωρίδας (McSweeney, 2004).

Για τη μελέτη της ζύμωσης της λακτόζης στα τυριά που παρασκευάστηκαν την 1^η ημέρα και μετά από 15 ημέρες ωρίμασης, προσδιορίστηκαν με HPLC η λακτόζη, η γαλακτόζη, η γλυκόζη, το γαλακτικό οξύ, το κιτρικό οξύ (πίνακας 7.7). Οι χρόνοι έκλουσης για την λακτόζη, κιτρικό οξύ, γλυκόζη και γαλακτικό οξύ ήταν 8,63, 9,16, 10,05 και 14,52 min και η γραμμική εξίσωση παλινδρόμησης ήταν αντίστοιχα; ($Y=123,93X, R^2=0,9999$), ($Y=58,202X, R^2=0,9999$) ($Y=67,829X, R^2=1$) και ($Y=17,823X, R^2=0,9999$).



Εικόνα 7.3: Αντιπροσωπευτικό HPLC χρωματογράφημα σακχάρων και οργανικών οξέων σε τυρί 1^{ης} ημέρας.

Πίνακας 7.7: Περιεκτικότητα σε λακτόζη, γλυκόζη, γαλακτικό οξύ και κιτρικό οξύ (g/100g τυριού) των τυριών 1^{ης} και 15^{ης} ημέρας

Ημέρες	Τυρί Α	Τυρί Β	Τυρί Γ
--------	--------	--------	--------

Λακτόζη	1	1,93 ^{ae} ±0,33	1,76 ^{ae} ±0,14	1,60 ^{be} ±0,05
	15	0,53 ^{af} ±0,20	0,41 ^{af} ±0,10	0,14 ^{bf} ±0,03
Γαλακτικό οξύ	1	1,65 ^{ae} ±0,11	1,72 ^{ae} ±0,09	1,77 ^{ae} ±0,06
	15	1,66 ^{ae} ±0,07	1,76 ^{ae} ±0,12	1,73 ^{ae} ±0,28
Γλυκόζη	1	0,06 ^{ae} ±0,00	0,07 ^{be} ±0,00	0,06 ^{ae} ±0,00
	15	0,01 ^{af} ±0,01	0,01 ^{bf} ±0,00	0,01 ^{af} ±0,00
Κιτρικό οξύ	1	0,53 ^{ae} ±0,01	0,59 ^{be} ±0,03	0,66 ^{ce} ±0,03
	15	0,52 ^{ae} ±0,06	0,58 ^{be} ±0,03	0,68 ^{ce} ±0,04

*Οι τιμές στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι ±το τυπικό σφάλμα του μέσου.

^{a,b}: Μέσοι όροι στην ίδια σειρά με κοινό εκθέτη δε διαφέρουν σημαντικά ως προς την τεχνολογία ($P > 0,05$, LSD test).

^{e,f}: Μέσοι όροι στην ίδια στήλη με κοινό εκθέτη δε διαφέρουν σημαντικά ως προς την ηλικία ($P > 0,05$, LSD test).

** Τυρί Α, Β, Γ: μαλακό τυρί χαμηλών λιπαρών που παρασκευάστηκε από πρόβειο γάλα που θερμάνθηκε για 10min στους 70°C, 80 °C και 90 °C αντίστοιχα

Στα τυριά του πειράματος με βάση την περιεκτικότητα σε λακτόζη του νωπού γάλακτος και του τυρογάλακτος καθώς και την απόδοση του γάλακτος σε τυρί (πίνακες 7.1, 7.2 και 7.3), υπολογίζεται ότι η περιεκτικότητα σε λακτόζη θεωρητικά του φρέσκου (0h) τυροπήγματος Α θα ήταν 4,97g/100g τυριού, του Β 6,39g/100g τυριού και του Γ 6,54g/100g τυριού. Με βάση τις πραγματικές τιμές της λακτόζης που βρέθηκαν στο τυρί 1ης ημέρας (πίνακας 7.7), φαίνεται ότι μετά από 24 ώρες έχει μειωθεί λόγω ζύμωσης και αποστράγγισης το 61,17, 72,46 και 75,54% της λακτόζης που συγκρατήθηκε στο τυρόπηγμα των τυριών.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα (πίνακας 7.7), το τυρί Γ 1^{ης} ημέρας έχει λιγότερη υπολειμματική λακτόζη, σε σχέση με τα τυριά Β και Α. Το αποτέλεσμα συνδυάζεται και με τη μεγαλύτερη περιεκτικότητά του Γ σε γαλακτικό οξύ ($P > 0,05$) και άλλα οργανικά οξέα. Το γεγονός αυτό θα μπορούσε πιθανόν να συσχετιστεί με μεταβολές που συνέβησαν στη σύσταση του γάλακτος, λόγω της υψηλής θερμοκρασίας (90 °C), οι οποίες διέγειραν την ανάπτυξη της καλλιέργειας λόγω της παραγωγής των αυξητικών παραγόντων προτεοζών-πεπτονών και μυρμηκικού οξέος. Σε πολύ έντονες θερμικές επεξεργασίες, συμβαίνει υδρόλυση πρωτεϊνών με αποτέλεσμα την αύξηση του κλάσματος των πρωτεοζών, πεπτονών κατά 30% ή την αύξηση των μη πρωτεϊνικών αζωτούχων κλασμάτων, κυρίως λόγω της απελευθέρωσης αμμωνίας από τα αμινοξέα γλουταμίνη και ασπαραγίνη των πρωτεϊνών (Καμιναρίδης, Μοάτσου, 2009).

Η περιεκτικότητα σε λακτόζη εμφάνισε σημαντική μείωση μετά από 15 ημέρες. Στα τυριά Α, Β και Γ της 1^{ης} ημέρας οι μέσες τιμές της λακτόζης ήταν 1,93, 1,76 και 1,60% (g/100g τυριού). Στα ίδια τυριά Α, Β και Γ μετά από 15 ημέρες ωρίμανσης οι αντίστοιχες τιμές ήταν 0,53, 0,41 και 0,14%. Όπως φαίνεται κατά τη διάρκεια της παραμονής των τυριών Α, Β και Γ στους 20 °C, ζυμώθηκε το 72,5%, 76,7% και 91,25% της λακτόζης αντίστοιχα. Το τυρί Γ των 15 ημερών είχε το χαμηλότερο ποσοστό λακτόζης ($P < 0,05$) από τα άλλα τυριά. Σύμφωνα με τους *Bouzas et al. (1991)*, η συγκέντρωση της λακτόζης στο τυρί *Cheddar* μειώθηκε από 7,25 σε 3,85 mg/g μετά από 12 ημέρες, ενώ καμία ποσότητα δεν ανιχνεύτηκε μετά από 45 ημέρες ωρίμανσης.

Η γαλακτόζη και η γλυκόζη προέρχονται από την υδρόλυση της λακτόζης. Και τα δυο σάκχαρα είχαν μεταβολιστεί πλήρως από την εναρκτήρια καλλιέργεια στα τυριά της 1^{ης} ημέρας. Η γλυκόζη, ανιχνεύτηκε σε ελάχιστη ποσότητα μια ημέρα μετά την παρασκευή των τυριών και η ποσότητα της ήταν σχεδόν μηδενική μετά από 15 ημέρες σε όλα τα τυριά, που σημαίνει ότι μεταβολίστηκε πλήρως από την μικροχλωρίδα των τυριών. Γαλακτόζη δεν ανιχνεύτηκε σε κανένα τυρί. Η γλυκόζη ως γνωστό είναι σάκχαρο εύκολα αφομοιώσιμο από όλους τους μικροοργανισμούς, και η γαλακτόζη μεταβολίζεται επίσης από πολλές ομάδες μικροοργανισμών που απαντώνται στα τυριά, που ανήκουν είτε στις εναρκτήριες μεσόφιλες καλλιέργειες είτε στη δευτερεύουσα οξυγαλακτική χλωρίδα (NSLAB).

Το γαλακτικό οξύ είναι το κύριο προϊόν από τη ζύμωση της λακτόζης. Κατά την ωρίμανση το γαλακτικό οξύ είναι δυνατόν να μεταβολιστεί μέσω διαφόρων μεταβολικών οδών, ανάλογα με το είδος του τυριού και τους μικροοργανισμούς που κυριαρχούν σε αυτό σε άλλα προϊόντα που επιδρούν στο άρωμα και τη γεύση του τυριού. Η περιεκτικότητα σε γαλακτικό οξύ ήταν παρόμοια (~1,7%) και στα τρία τυριά 1^{ης} ημέρας. Στο τυρί Γ παρατηρείται μια υπεροχή σε σχέση με τα άλλα τυριά, μη στατιστικά σημαντική. Η ποσότητα του γαλακτικού οξέος μετά από 15 ημέρες παρέμεινε στα ίδια επίπεδα και δεν φαίνεται να καταναλώθηκε από την επιφανειακή δευτερεύουσα χλωρίδα που αναπτύχθηκε στα τυριά. Η συγκέντρωσή του γαλακτικού οξέος σε τυριά μακράς ωρίμανσης ποικίλλει από 1,94 έως 17,4mg/g τυριού (*Bevilacqua and Califano, 1989*). Σε τυριά *Parmigiano-Regiano*, *Emmental* Ελβετίας, *Emmental* Γαλλίας, *Fontina*, *Sbrinz*, *Beaufort* βρέθηκε γαλακτικό οξύ 16,8, 6,4, 4,3, 6,8, 13,5 και 6,6mg/g τυριού (*Panari et al., 1986*) και σε τυρί Φέτα 14mg/g (*Manolaki et al, 2006*). Σε τυριά *Cheddar*, *Gouda* και *Ossolano* η συγκέντρωση του γαλακτικού οξέος

αυξήθηκε κατά την διάρκεια της ωρίμανσης (*Bouzas et al. 1991; Mullin and Emmons 1997; Zeppa et al. 2001*). Σε τυριά με επιφανειακή ανάπτυξη όπως *Camembert, Brie* κ.α το γαλακτικό οξύ είναι δυνατόν να μεταβολιστεί από τη δευτερεύουσα χλωρίδα (ζύμες, μύκητες και βακτήρια) σε CO₂ και H₂O. Πράγματι οι *Marsilli et al., (1981)*, σε τυρί Blue cheese βρήκαν συγκέντρωση 0,3g/100g, και οι *Mullin και Emmons (1997)* οι οποίοι μελέτησαν την περιεκτικότητα σε οργανικά οξέα σε τυριά του εμπορίου με ζυμομύκητες, βρήκαν στα *Camembert και Blue cheese* χαμηλή περιεκτικότητα σε γαλακτικό οξύ (7,63 και 6,18 mg/g τυριού αντίστοιχα), ενώ σε *Brie και Brick* η περιεκτικότητα ήταν κοντά στις τιμές που βρέθηκαν στα τυριά του πειράματος (18,5 και 11,97 mg/g τυριού αντίστοιχα).

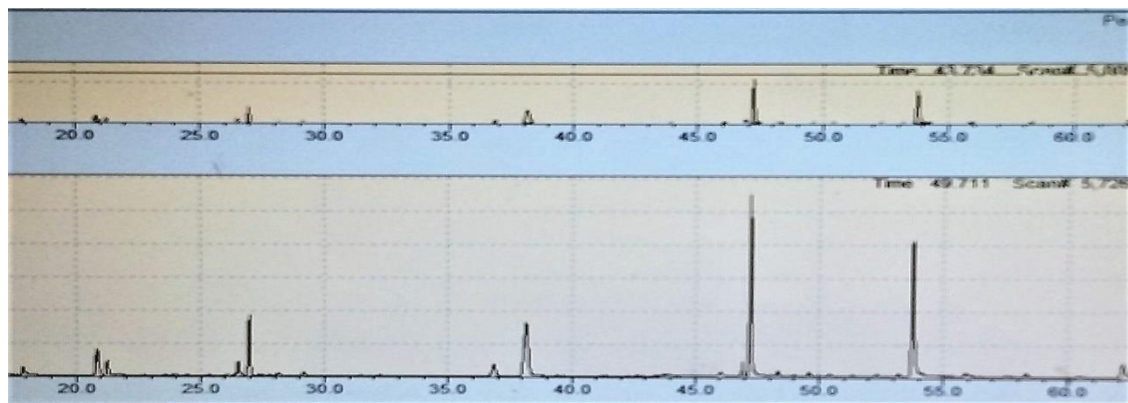
Τέλος, η συγκέντρωση του κιτρικού οξέος ήταν περίπου 0,6% στα τυριά 1^{ης} ημέρας. Μεγαλύτερη ποσότητα κιτρικού οξέος είχαν τα τυριά από γάλα υψηλότερης θερμικής επεξεργασίας (P<0,05) (κατά σειρά το Γ και το Β). Η ποσότητα παρέμεινε σταθερή στο διάστημα των 15 ημερών. Οι *Mullin και Emmons (1997)* αναφέρουν ότι η περιεκτικότητα των τυριών *Brie, Camembert, Blue Cottage* και *Brick* σε κιτρικό οξύ ανήλθε περίπου σε 0,07, 0,18, 0,26 και 0,5 mg/g τυριού αντίστοιχα. Οι *Kaminarides et al. (2005)* αναφέρουν ότι στο τυρί Χαλούμι δεν ανιχνεύτηκε καθόλου κιτρικό οξύ και η απουσία του αποδόθηκε σε απώλεια του κυρίως κατά την στράγγιση, δεδομένου ότι το 94% του κιτρικού οξέος βρίσκεται στην υδατική φάση του γάλακτος, καθώς επίσης και στην μετατροπή της ποσότητας που απέμεινε στο τυρόπηγμα σε αρωματικά συστατικά, όπως οξικό οξύ, διακετύλιο, ακετοΐνη και 2,3 βουτανεδιόλη.

7.7 Αρωματικά συστατικά

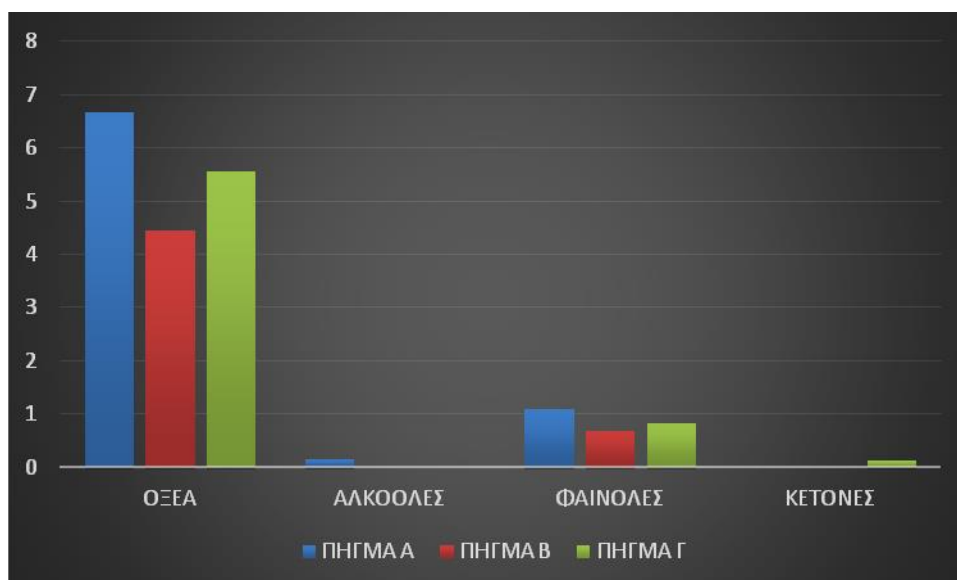
Όπως αναφέρθηκε η ανάπτυξη του αρώματος του τυριού είναι μια πολύπλοκη διαδικασία. Τα φρέσκα τυριά που δεν ωριμάζουν, οφείλουν τα γευστικά χαρακτηριστικά τους σε μεγάλο βαθμό στα προϊόντα της γαλακτικής ζύμωσης, όπως το γαλακτικό οξύ, οξικό οξύ, ακεταλδεΰδη, ακετοΐνη και διακετύλιο. Κατά την διάρκεια του χρόνου λαμβάνουν χώρα μία σειρά από πολύπλοκες βιοχημικές διεργασίες, εκτός από τον μεταβολισμό της λακτόζης όπως η πρωτεόλυση και η λιπόλυση, και παράγονται αρωματικές ουσίες χαρακτηριστικές για κάθε τύπο τυριού. Κύρια προϊόντα της ωρίμανσης αποτελούν τα πτητικά λιπαρά οξέα, εστέρες, κετόνες,

λακτόνες, υδρογονάνθρακες κλπ. Τα προϊόντα αυτά είναι κυρίως αποτέλεσμα της δράσης των οξυγαλακτικών καλλιεργειών αλλά και δευτερεύουσας μικροχλωρίδας από βακτήρια, ζύμες μύκητες.

Στον πίνακα 7.8 παρουσιάζονται τα πτητικά οξέα που βρέθηκαν στα τυριά της 1^{ης} ημέρας. Στον πίνακα 7.9 παρουσιάζεται το προφίλ των αρωματικών συστατικών των τυριών μετά από 15 ημέρες ωρίμασης.



Εικόνα 7.2: Αντιπροσωπευτικό χρωματογράφημα αρωματικών συστατικών σε τυρί 15 ημερών



Σχήμα 7.4: Αρωματικά συστατικά τυριών (κατά ομάδες ενώσεων) 1^{ης} ημέρας

Πίνακας 7.8: Περιεκτικότητα σε πτητικά οξέα (mg/kg)* των τριών τύπων τυριών 1^{ης} ημέρας και 15 ημερών

Αρωματικά συστατικά	Ημέρες	Τυρί Α**	Τυρί Β**	Τυρί Γ*
Οξικό οξύ	1	1,65 ^{ae} ±1,13	1,04 ^{ae} ±0,20	1,10 ^{ae} ±0,33
	15	3,69 ^{af} ± 1,07	5,23 ^{af} ±1,80	5,32 ^{af} ±1,46
Καπροϊκό οξύ	1	0,97 ^{ae} ±0,35	0,62 ^{ae} ±0,35	0,77 ^{ae} ±0,55
	15	31,81 ^{af} ±26,81	91,28 ^{af} ±69,87	168,11 ^{af} ±92,66
Καρυλικό οξύ	1	2,45 ^{ae} ±0,79	1,87 ^{ae} ±0,88	2,23 ^{ae} ±1,39
	15	71,54 ^{af} ±57,67	170,35 ^{af} ±129,36	274,03 ^{af} ±159,27
Καπρικό οξύ	1	1,60 ^{ae} ±0,79	0,91 ^{ae} ±0,67	1,05 ^{ae} ±0,91
	15	82,44 ^{af} ±63,20	221,46 ^{af} ±196,68	385,28 ^{af} ±254,59

*Οι τιμές στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι ±το τυπικό σφάλμα του μέσου.

^{a,b}: Μέσοι όροι στην ίδια σειρά με κοινό εκθέτη δε διαφέρουν σημαντικά ως προς την τεχνολογία (P> 0,05, LSD test).

^{e,f}: Μέσοι όροι στην ίδια στήλη με κοινό εκθέτη δε διαφέρουν σημαντικά ως προς την ηλικία (P> 0,05, LSD test).

** Τυρί Α, Β, Γ: μαλακό τυρί χαμηλών λιπαρών που παρασκευάστηκε από πρόβειο γάλα που θερμάνθηκε για 10min στους 70°C, 80 °C και 90 °C αντίστοιχα

Πίνακας 7.9: Αρωματικό προφίλ (mg/kg) των τριών τύπων τυριών 15 ημερών

ΚΑΡΒΟΞΥΛΙΚΑ ΟΞΕΑ	Τυρί Α**	Τυρί Β**	Τυρί Γ**
Οξικό οξύ (C2:0)	3,69 ^a ± 1,07	5,23 ^a ±1,80	5,32 ^a ±1,46
Βουτυρικό οξύ(C4:0)	4,30 ^a ±2,85	14,97 ^a ±14,00	28,65 ^a ±17,24

Καπροϊκό οξύ (C6:0)	31,81 ^a ±26,81	91,28 ^a ±69,87	168,11 ^a ±92,66
Καπρυλικό οξύ (C8:0)	71,54 ^a ±57,67	170,35 ^a ±129,36	274,03 ^a ±159,27
Καπρικό οξύ (C10:0)	82,44 ^a ±63,20	221,46 ^a ±196,68	385,28 ^a ±254,59
Λαυρικό οξύ(C12:0)	19,01 ^a ±14,81	57,13 ^a ±57,79	108,97 ^a ±71,11
Παλμιτικό οξύ (C16:0)	8,40 ^a ±5,13	28,11 ^a ±31,58	56,24 ^a ±38,06
Ισοβαλερικό οξύ	0,68 ^a ±0,21	1,01 ^a ±0,40	-
Σύνολο	221,88 ±171,74	589,53 ±501,48	1026,60 ±634,39
ΕΣΤΕΡΕΣ	A	B	Γ
Εξανοϊκός αιθυλεστέρας	2,71 ^a ±1,64	5,04 ^a ±2,95	6,57 ^a ±2,61
Δεκανοϊκός αιθυλεστέρας	14,46 ^a ±14,76	46,53 ^a ±37,01	82,69 ^a ±49,09
Οξικός 2-φαινυλαιθυλεστέρας	5,21 ±4,60	-	-
Δεκαεννάνοϊκός αιθυλεστέρας	4,26 ^a ±4,05	13,20 ^a ±12,13	28,83 ^a ±17,42
Βαλερικός 4-πενταδέκυλοεστέρας	5,26 ^a ±2,08	6,65 ^a ±4,95	8,91 ^a ±5,40
Δεκαεξανοϊκός αιθυλεστέρας	3,05 ^a ±1,64	3,41 ^a ±3,06	14,04 ^a ±7,62

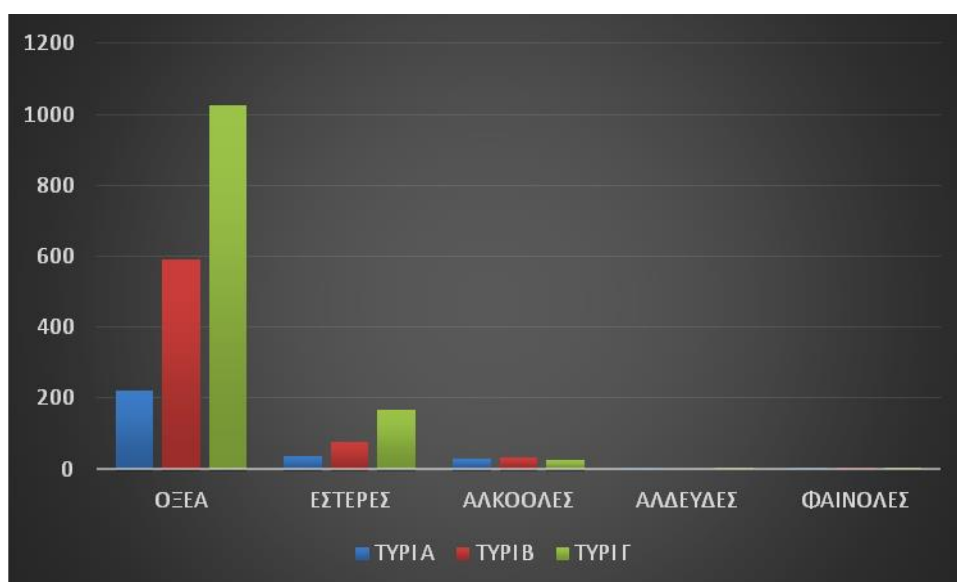
Οκτανοϊκός αιθυλεστέρας	-	-	26,45±14,34
Σύνολο	34,95±28,78	74,83±60,10	167,48±96,48
ΑΛΚΟΟΛΕΣ	A	B	Γ
Αιθανόλη	24,16 ^a ±9,02	30,85 ^a ±9,19	25,19 ^a ±4,55
3-μέθυλο-1-βουτανόλη	3,09±1,18	-	-
Βενζενεαιθανόλη	0,91±0,18	1,43±0,80	-
Σύνολο	28,15±10,38	32,28±9,98	25,19±4,55
ΑΛΔΕΥΔΕΣ	A	B	Γ
Δωδεκανάλη	3,00^a ±0,61	-	3,18^a ±1,27
ΦΑΙΝΟΛΕΣ	A	B	Γ
2-μέθυλ-5-φαινόλη	0,74±0,15	-	-
4-μέθυλ-p-κρεσόλη	-	2,94^a ±0,91	2,06^a ±1,05

*Οι τιμές στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι ±το τυπικό σφάλμα του μέσου.

^{a,b}: Μέσοι όροι στην ίδια σειρά με κοινό εκθέτη δε διαφέρουν σημαντικά ως προς την τεχνολογία (P>0,05, LSD test).

** Τυρί Α, Β, Γ: μαλακό τυρί χαμηλών λιπαρών που παρασκευάστηκε από πρόβειο γάλα που θερμάνθηκε για 10min στους 70°C, 80 °C και 90 °C αντίστοιχα

Σύμφωνα με τον πίνακα 7.9, δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στα αρωματικά συστατικά των τυριών 15 ημερών ($P>0,05$). Οι ομάδες αρωματικών συστατικών που ταυτοποιήθηκαν ήταν καρβοξυλικά οξέα, εστέρες, αλκοόλες, μία αλδεΰδη στα τυριά Α και Γ και μία φαινόλη και στα τρία τυριά. Οι εστέρες και τα καρβοξυλικά οξέα κατέχουν το μεγαλύτερο ποσοστό στο σύνολο των αρωματικών ουσιών και στα τρία τυριά. Μεταξύ των τριών τυριών 15 ημερών, το τυρί Γ περιείχε τις μεγαλύτερες ποσότητες εστέρων και καρβοξυλικών οξέων, ακολούθησε το Β και τέλος το Α, χωρίς αυτές οι διαφορές να είναι στατιστικά σημαντικές. Οι αυξημένες συγκεντρώσεις που παρατηρούνται στα τυριά Γ σε σχέση με τα τυριά Α και Β, μπορεί να αποδοθούν στην μεγαλύτερη αποβολή υγρασίας από τα τυριά αυτά (πίνακας 7.4).



Σχήμα 7.5: Αρωματικά συστατικά (κατά ομάδες ενώσεων) των τυριών 15^{ης} ημέρας

7.7.1 Αλκοόλες

Η αιθανόλη ήταν η αλκοόλη που παρήχθη σε μεγαλύτερες ποσότητες από την ομάδα των αλκοολών και στα τρία τυριά. Η αιθανόλη μπορεί να προέλθει από την ζύμωση της λακτόζης από ετεροζυμωτικά οξυγαλακτικά βακτήρια ή ζυμομύκητες, ή από την ακεταλδεΰδη (Urbach 1995). Σύμφωνα με τους Karali *et al.* (2012), η υψηλή συγκέντρωση αιθανόλης στο τυρί Κοπανιστή, οφείλεται στην παρουσία ζυμομυκήτων και ετεροζυμωτικών βακτηρίων που κυριαρχούν σε αυτό το τυρί. Η παρουσία της

αιθανόλης σε υψηλές συγκεντρώσεις σε ορισμένα είδη τυριών έχει μηδαμινή επίδραση στην ανάπτυξη αρώματος, οδηγεί όμως στην σύνθεση εστέρων.

7.7.2 Καρβοξυλικά οξέα

Τα οργανικά οξέα που παράγονται στο τυρί κατά τον μεταβολισμό των σακχάρων του λίπους και των αμινοξέων έχουν σημαντικό ρόλο στη διαμόρφωση των γευστικών χαρακτηριστικών και μερικά από αυτά είναι υπεύθυνα για τη δημιουργία της τυπικής γεύσης σε κάποια είδη τυριών. Στην παρούσα μελέτη, εκτός από το γαλακτικό και το κιτρικό οξύ που αποτελούν προϊόντα της γαλακτικής ζύμωσης ταυτοποιήθηκαν με την αέρια χρωματογραφία και άλλα οξέα. Όπως φαίνεται στον πίνακα 7.8 στα τυριά 1^{ης} ημέρας κυριαρχούσαν το οξικό οξύ και επίσης λιπαρά οξέα χαμηλού μοριακού βάρους, όπως καπροϊκό, καπρυλικό και καπρικό. Η περιεκτικότητά τους στα τρία τυριά δεν επηρεάστηκε σημαντικά από την θερμική επεξεργασία ($P > 0.05$). Οι ελάχιστες χαμηλότερες περιεκτικότητες που φαίνεται να έχουν τα τυριά Β και Γ μιας ημέρας σε σχέση με τα Α, πιθανόν οφείλονται σε απώλειες λόγω της θέρμανσης του γάλακτος σε υψηλότερες θερμοκρασίες. Τα επίπεδα των παραπάνω συστατικών μετά από 15 ημέρες αυξήθηκαν σημαντικά ($P < 0.05$) σε όλα τα τυριά, όπως ήταν αναμενόμενο.

Μετά από 15 ημέρες προσδιορίστηκαν και άλλα οξέα (στο σύνολο 8 καρβοξυλικά οξέα στα τυριά Α και Β, και 7 στο τυρί Γ) (πίνακας 7.9). Οι διαφορές στην περιεκτικότητα αυτών των συστατικών στους τρεις τύπους τυριών δεν ήταν στατιστικά σημαντικές. Τα οξέα που ήταν ωστόσο σε μεγαλύτερες ποσότητες ήταν το καπροϊκό, καπρυλικό και καπρικό. Κατά την ωρίμαση το λίπος διασπάται σε ελεύθερα λιπαρά οξέα και κυρίως σε λιπαρά οξέα μεσαίας και μικρής αλύσου οξέα (Collins et al. 2003; Urbach 1993), τα οποία συμβάλλουν άμεσα στο χαρακτηριστικό άρωμα των τυριών είτε τα ίδια ή ως πρόδρομες ουσίες άλλων αρωματικών συστατικών. Σύμφωνα με τους Woo et al. 1984 τα λιπαρά οξέα μικρής αλύσου συμβάλλουν στην ανάπτυξη πιπερώδους γεύσης στα μπλε τυριά. Η χρήση του πρόβειου γάλακτος ενισχύει την παραγωγή των λιπαρών οξέων μικρής αλύσου (Abd El Salam, 1987). Τα αρωματικά συστατικά που προέρχονται από τα ελεύθερα λιπαρά οξέα είναι μεθυλο-κετόνες, δευτεροταγείς αλκοόλες, υδροξυοξέα, λακτόνες, εστέρες και θειοεστέρες (Guinee & McSweeney, 2006).

Η ποσότητα του οξικού οξέος δεν διέφερε σημαντικά μεταξύ των τριών τυριών. Το οξικό οξύ, το οποίο προέρχεται από τον μεταβολισμό των κιτρικών αλάτων ή του γαλακτικού οξέος, είναι χαρακτηριστικό αρωματικό συστατικό των λευκών τυριών άλμης. Παρόλο που το οξικό οξύ δεν προέρχεται από την λιπόλυση, συμβάλλει στην ανάπτυξη πικάντικης γεύσης στα τυριά Φέτα και Τελεμέ (*Abd EL- Salam et al. 1993; Alichanides et al. 1984; Efthymiou 1967*). Σύμφωνα με τους *Karali et al. (2012)* για την πικάντικη γεύση του τυριού Κοπανιστή ευθύνονται το βουτυρικό και το καπροϊκό οξύ.

7.3.3 Εστέρες

Στο τυρί Α ταυτοποιήθηκαν επτά εστέρες, στο τυρί Β πέντε και στο τυρί Γ έξι. Οι εστέρες προκύπτουν από την εστεροποίηση των αλκοολών με καρβοξυλικά οξέα, (*Munoz et al. 2003*). Είναι γνωστό ότι οι αιθυλοεστέρες συμβάλλουν στην ανάπτυξη φρουτώδους αρώματος στα τυριά (*Lowlor et al. 2003*). Επίσης, στην περίπτωση των μπλε τυριών, οι εστέρες συμβάλλουν στην εξουδετέρωση της οξύτητας και της πικρής γεύσης που προέρχονται από τα ελεύθερα λιπαρά οξέα και τις αμίνες.

Οι *Karali et al. (2012)*, αναφέρουν ότι η υψηλή περιεκτικότητα του τυριού Κοπανιστή σε αιθανόλη συμβάλλει στην σύνθεση αιθυλοεστέρων από τις ζύμες και τους μύκητες που αναπτύσσονται φυσιολογικά σε αυτό το τυρί.

7.8 Μικροβιολογικά χαρακτηριστικά

Τα αποτελέσματα από την μέτρηση της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας (OMX) των τυριών 1^{ης} και 15^{ης} ημέρας παρουσιάζονται στον πίνακα 7.10

Πίνακας 7.10: Ολική μεσόφιλη χλωρίδα* (log10 cfu/g) των τυριών 1ης και 15 ημερών

OMX			
Ημέρες	Τυρί Α**	Τυρί Β **	Τυρί Γ**
1	9,34 ^{ae} ±0,15	9,84 ^{ae} ±1,43	8,74 ^{ae} ±0,26
15	9,27 ^{ae} ±0,44	9,05 ^{ae} ±0,23	8,94 ^{ae} ±0,55

*Οι τιμές στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι ±το τυπικό σφάλμα του μέσου.

^{a,b}: Μέσοι όροι στην ίδια σειρά με κοινό εκθέτη δε διαφέρουν σημαντικά ως προς την τεχνολογία (P> 0,05, LSD test).

^{e,f}: Μέσοι όροι στην ίδια στήλη με κοινό εκθέτη δε διαφέρουν σημαντικά ως προς την ηλικία (P> 0,05, LSD test).

** Τυρί Α, Β, Γ: μαλακό τυρί χαμηλών λιπαρών που παρασκευάστηκε από πρόβειο γάλα που θερμάνθηκε για 10min στους 70°C, 80°C και 90°C αντίστοιχα

Οι πληθυσμοί της OMX των τριών τύπων τυριών ήταν υψηλοί της τάξης 10⁸ - 10⁹ cfu/g, δεν επηρεάστηκαν από την ένταση της θερμικής επεξεργασίας του γάλακτος της τυροκόμησης, και παρέμειναν σχεδόν σταθεροί μέχρι τις 15ημέρες.

Παρόμοιοι πληθυσμοί OMX (10⁷ – 10⁹ cfu/g) βρέθηκαν και σε τυρί Κοπανιστή το οποίο παρασκευάστηκε με την προσθήκη μεσόφιλης εναρκτήριας καλλιέργειας, οι οποίοι στη συνέχεια και κατά τις πρώτες ημέρες της ωρίμανσης μειώθηκαν (Kaminarides and Anyfantakis 1989).

7.9 Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά

Πίνακας 7.11: Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά* των τυριών 15 ημερών

Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά	Τυρί Α**	Τυρί Β**	Τυρί Γ**
---------------------------------	----------	----------	----------

Υφή (0-40)	31,68 ^a ±0,83	31,64 ^a ±1,09	28,68 ^a ±1,09
Γεύση (0-50)	35,35 ^a ±1,00	33,65 ^a ±1,22	31,65 ^a ±0,88
Χρώμα (0-10)	8,27 ^a ±0,68	8,83 ^a ±0,29	8,19 ^a ±0,46
Σύνολο(0-100)	75,3 ^a ±1,03	74,12 ^a ±1,57	68,52 ^a ±1,52

*Οι τιμές στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι ±το τυπικό σφάλμα του μέσου.

^{a,b}: Μέσοι όροι στην ίδια σειρά με κοινό εκθέτη δε διαφέρουν σημαντικά ως προς την τεχνολογία (P>0,05, LSD test).

** Τυρί Α, Β, Γ: μαλακό τυρί χαμηλών λιπαρών που παρασκευάστηκε από πρόβειο γάλα που θερμάνθηκε για 10min στους 70°C, 80 °C και 90 °C αντίστοιχα

Κατά την οργανοληπτική αξιολόγηση τα τυριά Α, Β και Γ δεν διαφοροποιήθηκαν σημαντικά (P>0.05) (πίνακας 7.11). Και τα τρία τυριά ήταν οργανοληπτικά αποδεκτά. Όλα τα τυριά είχαν αλοιφώδη υφή, πικάντικη γεύση και πλούσιο άρωμα. Το τυρί Α απέσπασε την υψηλότερη συνολική βαθμολογία (~75%) σε σχέση με τα άλλα δύο τυριά και υπερτερούσε κυρίως γευστικά (P>0,05). Ως προς την υφή το τυρί Γ απέσπασε την μικρότερη βαθμολογία, πιθανόν λόγω της πιο συμπαγούς υφής του, η οποία οφειλόταν στη μεγαλύτερη απώλεια υγρασίας που υπέστη. Τέλος, το τυρί Β προτιμήθηκε λόγω του ελαφρά κιτρινωπού του χρώματος.

7.10 Ρεολογικά χαρακτηριστικά

Πίνακας 7.12: Ρεολογικά χαρακτηριστικά των τυριών 1^{ης} ημέρας

Ρεολογικά χαρακτηριστικά	Τυρί Α**	Τυρί Β**	Τυρί Γ**
Σκληρότητα	3,69 ^a ±1,42	5,11 ^a ±1,71	8,98 ^a ±3,92
Συνεκτικότητα	0,31 ^a ±0,08	0,37 ^a ±0,01	0,41 ^a ±0,04
Συνάφεια(προσ κολλησιμότητα)	4,73 ^a ±1,97	9,88 ^a ±2,24	10,07 ^a ±3,09
Κομμιώδες	1,12 ^a ±0,33	3,34 ^a ±1,08	3,73 ^a ±1,99

*Οι τιμές στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι ±το τυπικό σφάλμα του μέσου.

^{a,b}: Μέσοι όροι στην ίδια σειρά με κοινό εκθέτη δε διαφέρουν σημαντικά ως προς την τεχνολογία (P>0,05, LSD test).

** Τυρί Α, Β, Γ: μαλακό τυρί χαμηλών λιπαρών που παρασκευάστηκε από πρόβειο γάλα που θερμάνθηκε για 10min στους 70°C, 80 °C και 90 °C αντίστοιχα

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του πίνακα 7.10, δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στα ρεολογικά χαρακτηριστικά των τυριών 1^{ης} ημέρας ($P>0,05$).

Η σκληρότητα των τριών τυριών κυμάνθηκε από 3,69 έως 8,98 N. Σε ανακατεργασμένο πλήρες μαλακό τυρί οι *Kaminarides et al.*, (2000) βρήκαν πολύ χαμηλότερες τιμές σκληρότητας (1,56 N), ενώ σε παρόμοιο τυρί χαμηλών λιπαρών από αίγαιο γάλα ήταν ~1,04 N (*Επιτροπάκη, 2014*). Αντίθετα, σε τυρί Φέτα 60 ημερών με πλήρη λιπαρά οι αντίστοιχες τιμές ήταν από 4,08-4,83 N (*Pappas et al., 1996_a*), και σε Φέτα ίδιας ηλικίας που παρασκευάστηκε με διαφορετική τεχνολογία οι τιμές κυμάνθηκαν από 4,38-6,55 N (*Pappas et al., 1996_b*). Η υψηλή συνάφεια μάλλον σχετίζεται με την αλοιφώδη και μαλακή υφή που απέκτησαν και τα τρία τυριά, τα οποία είχαν καλή ικανότητα επάλειψης.

Οι τιμές της σκληρότητας, της συνάφειας και του κομμωδούς ήταν αυξημένες, κατά σειρά στα τυριά Γ και Β σε σχέση με το Α, χωρίς όμως οι διαφορές να είναι στατιστικά σημαντικές. Η διαφορά στη σκληρότητα οφείλεται ίσως στο αυξημένο ποσοστό ενσωμάτωσης των πρωτεϊνών του ορού στην καζεϊνική μήτρα. Με την αυξημένη θερμική επεξεργασία του γάλακτος (>80 C) η βλακτογλοβουλίνη με την κ-καζεΐνη δημιουργεί σύμπλοκα (*Kaminarides et al., 2015, Skordombeki et al., 2015*) αυξάνει την πυκνότητα της καζεϊνικής μήτρας και έτσι η δομή γίνεται πιο ισχυρή και σταθερή και το τυρί πιο «σκληρό» (*Gunasekaran & Mehmet, 2003*). Η συγκράτηση επίσης περισσότερου ασβεστίου στο πλέγμα προσδίδει επιπλέον σκληρότητα στο προϊόν (*Guinee & McSweeney, 2006*). Την αύξηση της συνάφειας πιθανόν βοήθησε η αυξημένη πρωτεόλυση που είχαν τα τυριά Γ και Β. Όσον αφορά στις αυξημένες τιμές του κομμωδούς αυτές σχετίζονται μάλλον με την «δυσκολότερη» κατάποση του τυριού Γ κυρίως, σε σχέση με τα άλλα τυριά.

Οι *Gupta & Reuter*, (1993) διαπίστωσαν ότι η μερική αντικατάσταση στερεών σε ανακατεργασμένο τυρί με συμπύκνωμα πρωτεϊνών τυρογάλακτος (WPC) έδωσε σκληρότερο τυρί. Σε παρόμοια συμπεράσματα κατέληξαν και οι *Thapa & Gupta*, (1992) με τη προσθήκη WPC σε ανακατεργασμένο τυρί.

8^ο ΚΕΦΑΛΑΙΟ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Από την ανάλυση των αποτελεσμάτων που παρατέθηκαν, προκύπτουν συνοπτικά τα παρακάτω συμπεράσματα:

- Η θερμική επεξεργασία του γάλακτος προκάλεσε διαφορές στην απόδοση των τυριών που παρασκευάστηκαν. Υψηλότερες αποδόσεις είχαν τα τυριά που παρασκευάστηκαν από γάλα με υψηλότερη θερμική επεξεργασία.
- Τα τυριά που παρασκευάστηκαν με υψηλότερη θερμική επεξεργασία είχαν υψηλότερο συντελεστή μετατροπής των πρωτεϊνών του γάλακτος σε τυρί λόγω της μετουσίωσης και της ενσωμάτωσης των πρωτεϊνών του ορού στο τυρόπηγμα.
- Τα τυριά που παρασκευάστηκαν από γάλα που θερμάνθηκε στους 80°C και στους 90 °C για 10 min υπέστησαν μεγαλύτερη πρωτεόλυση.
- Τα τυριά που παρασκευάστηκαν από γάλα παστεριωμένο στους 70°C/10 min, απέσπασαν την υψηλότερη βαθμολογία έναντι των άλλων τυριών που θερμάνθηκαν σε υψηλότερες βαθμολογίες.
- Στα τυριά που χρησιμοποιήθηκε γάλα υψηλής θερμικής επεξεργασίας στους 80 °C και στους 90 °C για 10 min, είχαν μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε Ca και Mg, με συνέπεια την υψηλότερη σκληρότητα, συνεκτικότητα και συνάφεια.
- Η ωρίμαση των τυριών προκάλεσε περισσότερες σημαντικές μεταβολές στα συστατικά του τυριού από ότι οι διάφορες θερμικές επεξεργασίες. Υπήρξε σημαντική παραγωγή προϊόντων πρωτεόλυσης (υδατοδιαλυτό άζωτο, υδρόφιλα πεπτίδια), γλυκόλυσης (γαλακτικό οξύ) και λιπόλυσης (C_{6:0}, C_{8:0}, C_{10:0}).
- Στα φρέσκα τυριά τα κύρια αρωματικά συστατικά ήταν το οξικό οξύ και τα λιπαρά οξέα χαμηλού μοριακού βάρους. Τα τυριά των 15 ημερών ήταν πιο πλούσια σε αρωματικά συστατικά (καρβοξυλικά οξέα, αλκοόλες, εστέρες, αλδεΰδες και φαινόλες) και κυριαρχούσαν τα καρβοξυλικά οξέα και οι εστέρες.
- Κατά την ωρίμαση των τυριών μειώθηκε η υγρασία, με αντίστοιχη αύξηση των πρωτεϊνών και του λίπους των τυριών, λόγω απώλειας νερού από το τυρί με ταυτόχρονη συμπύκνωση των ανώτερων συστατικών.

- Η ανάλυση του υδατοδιαλυτού αζώτου των τυριών με υγρή χρωματογραφία αντιστρόφου φάσεως, μας επιτρέπει να διαπιστώσουμε το βαθμό θέρμανσης του γάλακτος, δεδομένου ότι όταν το γάλα θερμανθεί σε θερμοκρασία υψηλότερη των 80 °C οι πρωτεΐνες του ορού αλλοδομούνται και δεν ανευρίσκονται στο τέλος της χρωματογραφίας.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ελληνική βιβλιογραφία

- ΕΛΓΟ ΔΗΜΗΤΡΑ (2017). Στατιστικά στοιχεία για την παραγωγή γάλακτος. Επικαιροποίηση 2017, Φεβρουάριος 10. [website:www.elog.gr](http://www.elog.gr).
- ΕΛΓΟ ΔΗΜΗΤΡΑ (2017). Στατιστικά στοιχεία για την παραγωγή τυριών για το έτος 2013. Φεβρουάριος 10. [website:www.elog.gr](http://www.elog.gr).
- Επιτροπάκη, Σ. (2014). Μεταπτυχιακή μελέτη. Αρωματικά ρεολογικά και οργανοληπτικά συστατικά ενός γίδινου τυριού μειωμένης λιποπεριεκτικότητας. ΔΠΜΣ, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.
- Καμινारीδης, Σ. (1987). Διδακτορική Διατριβή: Μελέτη των φυσικοχημικών ιδιοτήτων και της μικροβιακής χλωρίδας του τυριού κοπανιστή-χρησιμοποίηση καθαρών μικροβιακών καλλιιεργειών. Ανωτάτη Γεωπονική Σχολή Αθηνών.
- Καμινारीδης, Σ., & Μοάτσου, Γ. (2009). Γαλακτοκομία . Εκδόσεις Έμβρυο, Αθήνα.
- Μάντης, Α. (2015): Υγιεινή και Τεχνολογία του γάλακτος και των προϊόντων του. (Εκδόσεις Κυριακίδη).
- Υπουργείο Οικονομίας & Οικονομικών, (2014). Κώδικας Τροφίμων, Ποτών και Αντικειμένων Κοινής Χρήσης, άρθρο 83, σελ. 83.2-83.6. Γενικό Χημείο Κράτους. Αθήνα.
- Χατζιωάννου, Θ.Π., & Κουμπάρη, Μ.Α. (2010). Ενόργανη Ανάλυση. Αθήνα.
- Ταούκης, Π. (2007). Ρεολογία Τροφίμων, Από: Επιστήμη και Μηχανική Τροφίμων: Συστατικά-Ιδιότητες-Ρεολογία-Μικροβιολογία-Ποιότητα-Συσκευασία (Σημειώσεις από τις παραδόσεις Ε.Μ.Π.)

Ξένη βιβλιογραφία

- Abd El-Salam, M. H., Alichanidis, E., and Zerfiridis, G. K. (1993), Domiati and feta typecheeses,inCheese:Chemistry,PhysicsandMicrobiology,ed.byFoxPF.ChapmanandHall,London,pp.301–335.
- Abd El-Salam, M. H., El-Shibiny, S. (2013). Bioactive peptides of buffalo, camel, goat, sheep, mare, and yak milks and milk products. *Food Rev Int* 29:1–23.
- Ah-Leung, S., Bernard, H., Bidat, E., Paty, E., Rance, F., Scheinmann, P., Wal, J. M. (2006). Allergy to goat and sheep milk without allergy to cow’s milk. *Allergy* 61:1358–65.
- Albenzio, M., Santillo, A., Caroprese, M., Marino, R., Trani, A., Faccia, M. (2010). Biochemical patterns in ovine cheese: influence of probiotic strains. *J Dairy Sci* 93:3487–96.
- Albenzio M., Santillo, A., Avondo, M., Nudda, A., Chessa, S., Pirisi, A., Banni, S. (2016). Nutritional properties of small ruminant food products and their role on human health. *Small Ruminant Res* 135:3–12.
- Alichanidis, E., Anifantakis E. M., Polychroniadou, A. and Nanou, M. (1984). Suitability of some microbial coagulants for Feta cheese manufacture. *J Dairy Res* 51:141–147.
- Al-Wabel, N. A. (2008). Mineral contents of milk of cattle, camels, goats, and sheep in the central region of Saudi Arabia. *Asian J Biochem* 3:373–5.
- Amigo, L., Recio, I., Ramos, M. (2000). Genetic polymorphism of ovine milk proteins: its influence on technological properties of milk – a review. *Int Dairy J* 10:135–49.
- Anifantakis, E.M., (1991). Greek cheeses, a tradition of centuries. National Dairy Committee of Greece, Athens 1991.
- Ashraf G., M. (2015). Low-Fat Cheese: A Modern Demand. *International Journal of Dairy Science* 10 (6): 249-265, 2015 ISSN 1811-9743 / DOI: 10.3923/ijds.2015.249.265.

- Atilas, M., V, Dudley, E., G, and Steele, J. L. (2000). Gene cloning, sequencing and inactivation of the branched chain aminotransferase of *Lactococcus lactis* LM0230. *Applied and Environmental Microbiology* 66 2325–2329.
- Baankreis, R., and Exterkate, F. A. (1991). Characterization of a peptidase from *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* HP that hydrolyses di- and tripeptides containing proline or hydrophobic residues as the aminoterminal amino acid. *Systematic and Applied Microbiology* 14 317–323.
- Baillargeon, M. W., Bistline, R. G. Jr., and Sonnet, P. E. (1989). Evaluation of strains of *Geotrichum candidum* for lipase production and fatty acid specificity. *Applied Microbiology and Biotechnology* 30 92–96.
- Balthazar C. F., Silva HLA., Vieira, A. H., Neto, R.P.C., Cappato, L. P., Coimbra P. T., Moraes, J., Andrade, M. M., Calado, V.M.A., Granato, D., Freitas, M. Q., Tavares, MIB., Raices, RSL., Silva, M. C., Cruz, A. G. (2017). Assessing the effects of different prebiotic dietary oligosaccharides in sheep milk ice cream. *Food Res Int* 91:38–46.
- Balthazar, C. F., Conte-Junior, C. A., Moraes, J., Costa, M. P., Raices, RSL., Franco R. M., Cruz, A. G., Silva, A. C. O. (2016). Physicochemical evaluation of sheep milk yogurts containing different levels of inulin. *J Dairy Sci* 99:4160–8.
- Banks, J.M., I. Roa and D.D. Muir. (1998). Manipulation of the texture of low-fat cheddar using a plant protease extracted from *Cynara cardunculus*. *Aust. J. Dairy Technol.*, 53: 105-105.
- Banks, J.M., E.Y. Brechany and W.W. Christie. (1989). The production of low fat Cheddar-type cheese. *Int. J. Dairy Technol.*, 42: 6-9.
- Banks, J. M., Yvon, M., Gripon, J. C., de la Fuente, M., A, Brechany, E., Y, Williams, A. G., and Muir, D. D. (2001). Enhancement of amino acid catabolism in Cheddar cheese using α -ketoglutarate: amino acid degradation in relation to volatile compounds and aroma character. *International Dairy Journal* 11 215–243.
- Banks, J.M., E.A. Hunter and D.D. Muir, (1993). Sensory properties of low fat cheddar cheese: effect of salt content and adjunct culture. *J. Soc. Dairy Technol.*, 46: 119-123.

- Barłowska, J., Sz wajkowska, M., Litwinczuk, Z., Krol, J. (2011). Nutritional value and technological suitability of milk from various animal species used for dairy production. *Compr Rev Food Sci Food Safety* 10:291–302.
- Bastian, E. D., and Brown, R. J. (1996). Plasmin in milk and dairy products. *International Dairy Journal* 6 435–457. Battistotti B and Corradini C (1993) Italian cheese. In *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology, Vol 2: Major Cheese Groups*, 2nd edn, pp 221–243.
- Benfeldt, C., John, Sorensen (2001). Heat treatment of cheese milk: effect on proteolysis during cheese ripening. *International Dairy Journal* 567–574.
- Bevilacqua, A. E., & Califiano, A. N. (1989). Determination of organic acids in dairy products by high-performance liquid chromatography. *Journal of food Science* 54, 1076-1079.
- Bouzas, J., Kantt, C.A., Bodyfelt, F., and Torres, J.A. (1991). Simultaneous determination of sugars and organic acids in Cheddar cheese by high-performance liquid chromatography. *Journal of food science*, 56, 276-278.
- Cerning, J., Gripon, J. C., Lamberet, G., and Lenoir, J. (1987). Les activités biochimiques des *Penicillium* utilisés en fromagerie. *Le Lait* 67 3–39.
- Chalier, P., and Crouzet, J. (1998). Methyl ketone production from copra oil by *Penicillium roqueforti* spores. *Food Chemistry* 63 447–451.
- Chich, J. F., Marchesseau, K., and Gripon, J. C. (1997), Intracellular esterase from *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* NCDO 763: purification and characterization. *International Dairy Journal* 7 169–174.
- Christensen, J. E., Dudley, E. G., Pederson, J. A., and Steele, J. L. (1999). Peptidases and amino acid catabolism in lactic acid bacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek* 76 217–246.
- Claeys, W. L., Verraes, C., Cardoen, S., De Block, J., Huyghebaert, A., Raes, K., Dewettinck, K., Herman, L. (2014). Consumption of raw or heated milk from different species: an evaluation of the nutritional and potential health benefits. *Food Contr* 42:188–201.
- Cogan, T. M., and Hill, C. (1993). Cheese starter cultures. In *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology, Vol 1: General Aspects*, 2nd edn, pp 193–256.

- Codex Alimentarius Commission/Codex Committee on Food Labelling (CAC/CCFL), 1997 (Last modified: 2013). Guidelines for use of nutrition and health claims. CAC/GL 23-1997.
- Collins, Y. F., McSweeney, P. L., H., and Wilkinson, M. G. (2003b). Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: a review of current knowledge. *International Dairy Journal* 13 841–866.
- Collins, Y. F., McSweeney, P. L. H., and Wilkinson M. G. (2004). Lipolysis and catabolism of fatty acids in cheese. In *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, Vol 1: General Aspects,, 3rd edn, pp 373–389.
- Collins, Y. F., McSweeney, P. L. H., and Wilkinson, M. G. (2003). Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: a review of current knowledge. *IntDairy J* 13:841–866.
- Creamer, L, K., Lawrence, R, C., and Gilles, J. (1985). Effect of acidification of cheese milk on the resultant Cheddar cheese. *New Zealand Journal of Dairy Science and Technology* 20 185–203.
- Creamer and Olson (1982). Rheological evaluation of maturing Cheddar cheese. *Journal of food science*, 47(2): 631-636,646.
- Crow, V. L. (1986). Utilization of lactate isomers by *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii*: regulatory role for intracellular pyruvate. *Applied and Environmental Microbiology* 52 352–358.
- Curtin, A. C., and McSweeney, P. L. H. (2004). Catabolism of amino acids in cheese during ripening. In *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, Vol 1: General Aspects, 3rd edn, pp 435–454.
- Dario, C., Carnicella, D., Dario. M., Bufano, G. (2008). Genetic polymorphism of β -lactoglobulin gene and effect on milk composition in Leccese sheep. *Small Ruminant Res* 74:270–3.
- Dimos, A. G.E., Urbach, and A.J. Miller, (1996). Changes in flavour and volatiles of full fat and low fat cheeses during maturation. *Int. Dairy J.*, 6: 981-995.
- Driessen, F. M. (1989). Inactivation of lipases and proteinases (indigenous and bacterial). In *Heat-induced Changes in Milk*. IDF Bulletin No. 238, pp 71–93. Brussels: International Dairy Federation.

- Duflot, P., (1996). Starches and sugars Glucose polymers as sugar/fat substitutes: Duflot, P. (Roquette Freres SA, France) French patent application FR 2 712 891 1A [in French]. Trends Food Sci. Technol., 7: 206-206
- Dupuis, C. (1994). Activites Proteolytiques et Lipolytiques des Bacteries Propioniques Laitieres. Thesis, ENSA, Rennes.
- Dybing, S. T., Wiegand, J. A., Brudvig, S. A., Huang, E. A., and Chandan, R. C. (1988). Effect of processing variables on the formation of calcium lactate crystals on Cheddar cheese. Journal of Dairy Science 71 1701–1710.
- Efthymiou, C. (1967). Major free fatty acids of Feta cheese .J Dairy Sci 50:20–24.
- El-Agamy, E. I., Nawar, M., Shamsia, S. M., Awad, S., Haenlein, G. F. W. (2009). Are camel milk proteins convenient to the nutrition of cow milk allergic children? Small Ruminant Res 82:1–6.
- Engel, E., Tournier, C., Salles, C., and Le Quere, J. L. (2001), Evolution of the composition of a selected bitter Camembert cheese during ripening: release and migration of tasteactive compounds. Journal of Agricultural and Food Chemistry 49 2940–2947.
- Engels, W. J. M. (1997). Flavour Formation in Cheese-like Systems: Role of Methionine-degrading Enzymes from Lactococci. PhD Thesis, University of Wageningen.
- Engels, W. J. M., Dekker, R., de Jong, C., Neeter, R., and Visser, S. (1997)., A comparative study of volatile compounds in the water-soluble fraction of various types of ripened cheese. International Dairy Journal 7 255–263.
- Exterkate, F. A., Alting, A., C, and Bruinenberg, P. G. (1993). Diversity of cell envelope proteinase specificity among strains of Lactococcus lactis and its relationship to charge characteristics of the substrate-binding region. Applied and Environmental Microbiology 59 3640–3647.
- FAO. Statistics division. food and agriculture organization of the United Nations (2014). Available from: <http://faostat.fao.org/> Accessed 2017 February 15.
- Farkye, N. Y., and Fox, P. F. (1990). Observations on plasmin activity in cheese. Journal of Dairy Research 57 412–418.

- Fenster, K. M., Parkin, K. L., and Steele, J. (1997). Characterization of a thiol-dependent endopeptidase from *Lactobacillus helveticus* CNRZ32. *Journal of Bacteriology* 179 2529–2533.
- Fernandez, L., Beerthuyzen, M. M., Brown, J., Siezen, R. J., Coolbear, T., Holland, R., and Kuipers, O. P. (2000). Cloning, characterization, controlled overexpression, and inactivation of the major tributyrin esterase gene of *Lactococcus lactis*. *Applied and Environmental Microbiology* 66 1360–1368.
- Foglietta, F., Serpe, L., Canaparo, R., Vivenza, N., Riccio, G., Imbalzano, E., Gasco, P., Zara, G. P. (2014). Modulation of butyrate anticancer activity by solid lipid nanoparticle delivery: an in vitro investigation on human breast cancer and leukemia cell lines. *J Pharm Pharm Sci* 17:231–47.
- Fox, P. F, ed. London: Chapman, & Hall., Sutherland, B. J., and Jameson, G. W. (1981). Composition of hard cheese manufactured by ultrafiltration. *Australian Journal of Dairy Technology* 36 136–143.
- Fox, P. F, McSweeney, P. L. H., Cogan, T. M., and Guinee, T. P. eds. London: Elsevier. Broome, M. C. Krause, D. A., and Hickey, M. W. (1990). The use of non-starter lactobacilli in Cheddar cheese manufacture. *Australian Journal of Dairy Technology* 45 67–73.
- Fox, P. F. (1989). Proteolysis during cheese manufacture and ripening. *Journal of Dairy Science* 72 1379–1400. Fox P F and Law J (1991) Enzymology of cheese ripening. *Food Biotechnology* 5 239–262.
- Fox, P. F., Law, J., McSweeney, P. L. H., and Wallace, J. (1993). Biochemistry of cheese ripening. In *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, Vol 1: General Aspects, 2nd edn, pp 389–438.
- Fox, P. F., McSweeney, P. L. H., Cogan, T. M., and Guinee, T. P. eds. London: Elsevier. de la Fuente, M, A., Fontecha, J., and Juárez, M. (1993). Fatty acid composition of the triglyceride and free fatty acid fractions in different cows-, ewes- and goats-milk cheeses.
- Fox, P. F., McSweeney, P. L. H., Cogan, T., M, and Guinee, T. P., eds. London: Elsevier. Pearce, K., N, Creamer, L., K, and Gilles, J. (1973). Calcium lactate deposits on

rindless Cheddar cheese. *New Zealand Journal of Dairy Science and Technology* 8 3–7.

Fox, P. F., ed. London: Chapman & Hall. Fox, P. F., Singh, T. K., and McSweeney P. L. H. (1994). Proteolysis in cheese during ripening. In *Biochemistry of Milk Products*, pp 1–31. Andrews A T and Varley J, eds. Cambridge: Royal Society of Chemistry.

Fox, P. F., Singh, T. K., and McSweeney, P. L. H. (1995). Biogenesis of flavour compounds in cheese. In *Chemistry of Structure– Function Relationships in Cheese*, pp 59–98.

Fox, P. F., and McSweeney, P. L. H. (1996a). Chemistry, biochemistry and control of cheese flavour. In *Proceedings of the 4th Cheese Symposium*, pp 135–159. Moorepark: Teagasc.

Fox, P. F., and McSweeney, P. L. H. (1996b). Proteolysis in cheese during ripening. *Food Reviews International* 12 457– 509.

Fox, P. F., and McSweeney, P. L. H. (1997). Rennets: their role in milk coagulation and cheese ripening. In *Microbiology and Biochemistry of Cheese and Fermented Milk*, 2nd edn, pp 1–49.

Fox, P.F. (1999). *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, Vol.1, Chapter 1: An overview (Aspen Publication).

Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., and McSweeney, P. L. H. (2000). *Fundamentals of Cheese Science*. Gaithersburg, MD: Aspen. Fryer T F, Sharpe M E and Reiter B (1970) Utilization of milk citrate by lactic acid bacteria and ‘blowing’ of filmwrapped cheese. *Journal of Dairy Research* 37 17–28.

Fox, P. F., McSweeney, P. L. H., Cogan, T. M., and Guinee, T. P. eds. London: Elsevier. McSweeney, P. L. H., and Sousa, M. J. (2000) Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheese during ripening. *Le Lait* 80 293–324.

Fox, P. F., and McSweeney, P. L. H. eds. New York: Kluwer. Kilcawley. K. N., Wilkinson, M. G., and Fox, P. F. (2001). A survey of lipolytic and glycolytic end-products in commercial Cheddar enzyme-modified cheese. *Journal of Dairy Science* 84 66–73.

- Fox, P. F. (2001). ed. London: Chapman & Hall. Gummalla, S., and Broadbent, J. R., Tryptophan and phenylalanine catabolism by lactobacillus cheese flavor adjuncts. *Journal of Dairy Science* 84 1011–1019.
- Fox, P. F. ed. London: Chapman & Hall. Collins, Y. F., McSweeney, P. L. H., and Wilkinson, M. G. (2003a). Evidence for a relationship between autolysis of starter bacteria and lipolysis in Cheddar cheese. *Journal of Dairy Research* 70 105–113.
- Fox, P. F. ed. London: Chapman & Hall. Beresford T and Williams A (2004) The microbiology of cheese ripening. In *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, Vol 1: General Aspects, 3rd edn, pp 287–318.
- Frau, F., Graciela, FontdeValdez., and Nora, Pece. (2014). Effect of Pasteurization Temperature, Starter Culture, and Incubation Temperature on the Physicochemical Properties, Yield, Rheology, and Sensory Characteristics of Spreadable Goat Cheese. *Hindawi Publishing Corporation Journal of Food Processing* Volume 2014. Article ID 705746, 8 pages.
- Gagnaire, V., Mollé, D., Sørhaug, T., and Léonil, J. (1999). Peptidases of dairy propionic acid bacteria. *Le Lait* 79 43–57.
- Gantner, V., Mijic, P., Baban, M., Zoran, S., Alka T.. (2015). The overall and fat composition of milk of various species. *Mljekarstvo* 65:223–31.
- Gao, S., and Steele, J. L. (1998). Purification and characterisation of oligomeric species of an aromatic amino acid transferase from *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* S3. *Journal of Food Biochemistry* 22 197–211.
- Gao, S., Oh, D. H., Broadbent, J., R, Johnson, M., E, Weimer, B. C., and Steele, J. C. (1997). Aromatic amino acid catabolism by lactococci. *Le Lait* 77 371–381.
- Gardini, F., Martuscelli, M., Caruso, M., C, Galgano, F., Crudele, M. A., Favati, F., Guerzoni, M. E., and Suzzi, G. (2001). Effects of pH, temperature and NaCl on the growth kinetics, proteolytic activity and biogenic amine production of *Enterococcus faecalis*. *International Journal of Food Microbiology* 64 105–117.
- Garnot, P., Molle, D., and Piot, M. (1987). Influence of pH, type of enzyme and ultrafiltration on the retention of milk clotting enzymes in Camembert cheese. *Journal of Dairy Research* 54 315–320.
- Gaucheron, F. (2005). The minerals of milk. *Reprod Nutr Dev* 45:473–83.

- Gobbetti, M., Fox P. F., Smacchi, E., Stepaniak, L., and Damiani, P. (1996). Purification and characterization of a lipase from *Lactobacillus plantarum* 2739. *Journal of Food Biochemistry* 20 227–246.
- Gomez-Cortes, P., Hervas, G., Mantecon, A. R., Juarez, M., de la Fuente, M. A., Frutos, P. (2008). Milk production, CLA content, and in vitro ruminal fermentation in response to high levels of soybean oil in dairy ewe diet. *J Dairy Sci* 91:1560–9.
- Gonzalez de Llano, D., Polo, M. C., & Ramos, M. (1995). Study of proteolysis in artisanal cheeses: High performance liquid chromatography of peptides. *Journal of Dairy Science* 78, 1018–1024.
- Gripon, J. C. (1993). Mould-ripened cheeses. In *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, Vol 2: Major Cheese Groups, 2nd edn, pp 111–136.
- Gueguen, L., Pointillart, A. (2000). The bioavailability of dietary calcium. *J Am Coll Nutr* 19:119S–136S.
- 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.
- Gunasekaran, S., Mehmet, Ak. M. (2003). “Cheese Rheology and Texture”. CRC Press, New York, pp 300, 303-304, 312-313, 399.
- Gupta, V. K., Reuter H. (1993). “Firmness and melting quality of processed cheese foods with added whey protein concentrates”. *Lait*, 73: 381-388.
- Haenlein, G. F. W. (2001). Past, present and future perspectives of small ruminant dairy research. *J Dairy Sci* 84:2097–115.
- Haenlein, G. F. W. (2007). About evolution of goat and sheep milk production. *Small Ruminant Res* 68:3–6.
- Hansen, B. V., Houlberg, U., and Ardo, Y. (2001). Transamination of branched-chain amino acids by a cheese related *Lactobacillus paracasei* strain. *International Dairy Journal* 11 225–233.
- 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.
- Hayashi, H., Inoue, K., Nagata, T., Kuramitsu, S., and Kagamiyama, H.. (1993). *Escherichia coli* aromatic amino acid aminotransferase: characterisation and comparison with aspartate aminotransferase. *Biochemistry* 32 12229–12239.

- Hayes, M. G., Hurley, M. J., Larsen, L. B., Heegaard, C. W., Magboul, A., Oliveira, J. C., McSweeney, P. L. H., and Kelly, A. L. (2001). Thermal inactivation kinetics of bovine cathepsin D. *Journal of Dairy Research* 68 267–276.
- Hemme, D., Bouillane, C., Metro, F., and Desmazeaud, M. J. (1982). Microbial catabolism of amino acids during cheese ripening. *Sciences des Aliments* 2 113–123.
- Holland, R., Liu, S.Q., Wang, T., Bennett, M., Norris, G., Delabre, M. L., Lubbers, M. L., Dekker, J. W., and Crow, V. L. (2002). Esterases of lactic acid bacteria. *Australian Journal of Dairy Technology* 57 116 (Abstract).
- Holmes, D. G., Duersch, J. W., and Ernstrom, C. A. (1977). Distribution of milk clotting enzymes between curd and whey and their survival during Cheddar cheese making. *Journal of Dairy Science* 60 862–869.
- Huffman, L. M., and Kristoffersen, T. (1984). Role of lactose in Cheddar cheese manufacture and ripening. *New Zealand Journal of Dairy Science and Technology* 19 151–162.
- Hurley, M. J., Larsen, L. B., Kelly, A. L., and McSweeney, P. L. H. (2000a). The milk acid proteinase cathepsin D: a review. *International Dairy Journal* 10 673–681.
- Hurley, M. J., Larsen, L. B., Kelly, A. L., and McSweeney, P. L. H. (2000b). Cathepsin D activity in quarg. *International Dairy Journal* 10 453–458.
- Hu, F., and Willet, W. (2002). Optimal diets for prevention of coronary heart disease. *JAMA* 288:2569-78.
- IDF, (1964) 27. Determination of the ash content of processed cheese products. *Standard 27*. Brussels, Belgium: International Dairy Federation.
- IDF, (1982) 4A. Cheese and Processed Cheese - Determination of the Total Solids Content. *Standard 4A* (Reference Method). Brussels, Belgium: International Dairy Federation.
- IDF, (1993) 20B. Milk - Determination of Nitrogen Content. *Standard 20B*. Brussels, Belgium: International Dairy Federation.
- IDF, (1997) 99C. Sensory evaluation of dairy products by scoring. *Standard 99C*. Brussels, Belgium: International Dairy Federation.

- IDF, (2007) 119/ ISO 8070. Milk and milk products - Determination of calcium, sodium, potassium and magnesium contents. Atomic absorption spectrometric method. *Standard 119*. Brussels, Belgium: International Dairy Federation.
- IDF, (2008) 222. Cheese - Determination of fat content - Van Gulik method. *Standard 222*. Brussels, Belgium: International Dairy Federation.
- International Organization for Standardization, (1975). Cheese – Determination of fat content – van Gulik method. International Organization for Standardization Standard 3433, International Organization for Standardization, Leusden, Netherlands.
- Jacobsen, T., and Poulsen, O. M. (1995). Comparison of lipases from different strains of the fungus *Geotrichum candidum*. *Biochimica et Biophysica Acta* 1257 96–102.
- Johnson, B. R. (2002). Whey protein concentrates in low-fat applications. U.S. Dairy Export Council, American Dairy Products Institute, Arlington, VA.
- Joosten, H. M. L. J. (1988). Conditions allowing the formation of biogenic amines in cheese. 3. Factors influencing the amounts formed. *Netherlands Milk and Dairy Journal* 41 329–357.
- Joosten, H. M. L. J., and Northolt, M. D. (1987). Conditions allowing the formation of biogenic amines in cheese. 2 Decarboxylative properties of some non-starter bacteria. *Netherlands Milk and Dairy Journal* 40 259–280.
- Kamaly, K. M., Takayama, K., and Marth, E. H. (1990). Acylglycerol acyl hydrolase (lipase) activities of *Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremoris*, and their mutants. *Journal of Dairy Science* 73 280–290.
- Kaminarides, S., Stachriaris S. (2000). “Production of processed cheese using; kasseri cheese and processed analogues incorporatin whey protein concentrate and soybean oil”. *International Journal of Dairy Technology*, 53: 69-74.
- Kaminarides, S.E., Anifantakis, E. M. (1989). Evolution of the microflora of Kopanisti cheese.
- Kaminarides, S., Stamou, P., Massouras T. (2007). Comparison of the characteristics of set-type yoghurt made from ovine milk of different fat contents. *Int J Food Sci Tech* 42:1019–28.

- Kaminarides, S., Stamou P., Massouras T. (2005). Chances of organic acids, volatile aroma compounds and sensory characteristics of Haloumi cheese kept in brine. *Journal of Food Chemistry* 100, 219-225.
- Kaminarides, S., Ilias-Dimopoulos, E., Zoidou, E., Moatsou, G. (2015). The effect of addition of skimmed milk on the characteristics of Myzithra cheeses. *Food Chemistry*, 180, 164-170.
- Karali, F., Aikaterini, G., Massouras T., and Kaminarides, S. (2012). Volatile compounds and lipolysis level of Kopanisti, a traditional Greek raw milk cheese. (wileyonlinelibrary.com) DOI 10.1002/jsfa.5978.
- Kelly, A. L., and McSweeney, P. L. H. (2003). Indigenous proteolytic enzymes in milk. In *Advanced Dairy Chemistry. I. Proteins*, 3rd edn, pp 495–521.
- Kindstedt, P. S. (1993). Mozzarella and pizza cheese. In *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, Vol 2: Major Cheese Groups, pp 337–362.
- Kleter, G., Lammers, W. L., and Vos, E. A. (1984). The influence of pH and concentration of lactic acid and NaCl on the growth of *Clostridium trybutyricum* in whey and
- Kman, I. M., Chandan, R. C., and Shahani, K. M. (1966). Hydrolysis of milk fat by microbial lipases. *Journal of Dairy Science* 49 700.cheese. 2. Experiments in cheese. *Netherlands Milk and Dairy Journal* 38 31–41.
- Kosikowski, F., V. and Mistry V.V. (1997). *Cheese and Fermented Milk Foods*. Vol. 1, F.V. Kosikowski, Westport, CT., ISBN: 9780965645607, Pages: 1058.
- Kosikowski, F.V., and Mistry V.V. (1997). *Cheese and Fermented Milk Foods*. Vol. 1, F.V. Kosikowski, Westport, CT., ISBN: 9780965645607, Pages: 1058.
- Kosmark, R. (1996). Salatrim: Properties and applications. *Food Technol.*, 50: 98-101.
- Kunji, E. R. S., Mierau, I., Hagting, A., Poolman, B., and Konings, W. N. (1996). The proteolytic system of lactic acid bacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek* 70 187–221.
- Lamberet, G., and Lenoir, J. (1976). Les caractères du système lipolytique de l'espèce *Penicillium caseicolum*. *Nature du système*. *Le Lait* 56 119–134.

- Lamberet, G., Auberger, B., Canteri, C., and Lenoir, J. (1982). L'aptitude de *Penicillium caseicolum* à la dégradation oxydative des acides gras. *Revue Laitiere Française* 406 13–19.
- Law, J., and Haandrikman, A. (1997). Proteolytic enzymes of lactic acid bacteria. *International Dairy Journal* 7 1–11.
- Law, B. A., ed. London: Chapman & Hall. Fox, P. F., and Wallace, J. M., (1997). Formation of flavour compounds in cheese. *Advances in Applied Microbiology* 45 17–85.
- Lawrence, R.C., L. K. Creamer, and J. Gilles, (1987). Texture development during cheese ripening. *J. Dairy Sci.*, 70: 1748-1760.
- Lee, C. W., and Desmazeaud, M. J. (1985). Utilisation of aromatic amino acids as nitrogen sources in *Brevibacterium linens*: an inducible aromatic amino acid aminotransferase. *Archives of Microbiology* 140 331–337.
- Lesage, L., Voilley, A., Lorient, D., and Bézard, J. (1993). Sodium chloride and magnesium chloride affected by ripening of Camembert cheese. *Journal of Food Science* 58 1303– 1307.
- Leuschner, R. G. K., and Hammes, W. P. (1998). Degradation of histamine and tyramine by *Brevibacterium linens* during surface ripening of Munster cheese. *Journal of Food Protection* 61 874–878.
- Lipp, M., and E. Anklam, (1998). Review of cocoa butter and alternative fats for use in chocolate-part A. Compositional data. *Food Chem.*, 62: 73-97.
- Lowlor, J. B., Delahunty, C. M., Wilkinson, M. G., and Sheehan, J. (2003). Relations between sensory attributes and the volatile compounds, nonvolatile and gross compositional constituents of six blue-type cheeses. *IntDairyJ* 13:481–494.
- Lo, C. G., and E.D. Bastian, (1998). Incorporation of native and denatured whey proteins into cheese curd for manufacture of reduced fat, Havarti-type cheese. *J. Dairy Sci.*, 81: 16-24.
- Luna, P., Fontecha, J., Juarez, M., de al Fuente, M. A. (2005). Changes in the milk and cheese fat composition of ewes fed commercial supplements containing linseed with special reference to the CLA content and isomer composition. *Lipids* 40:445–54.

- Luna, P., Fontecha, J., Juarez, M., de al Fuente, M. A. (2005). Changes in the milk and cheese fat composition of ewes fed commercial supplements containing linseed with special reference to the CLA content and isomer composition. *Lipids* 40:445–54.
- MacGibbon, A. K. H., Taylor, M. W. (2006). Composition and structure of bovine milk lipids. In: Fox PF, McSweeney PLH, editors. *Advanced Dairy Chemistry*. Vol. 2, 3rd ed. N.Y., U.S.A.: Springer. p 1–42.
- Madsen, F.M., G. W., Reinbold, and W.S.H. Clark, (1966). Low fat cheese. *Manufactured Milk Prod. J.*, 57: 18-22.
- Magboul, A. A. A., Larsen, L. B., McSweeney, P. L. H., and Kelly, A. L. (2001). Cysteine protease activity in bovine milk. *International Dairy Journal* 11 865–872.
- Mallatou, H., Pappa, E.C., & Boumba, V.A. (2004). Proteolysis in Teleme cheese made from ewes', goats' or a mixture of ewes' and goats' milk. *International Dairy Journal* 14, 977–987.
- Malin, E. L., and Tunick, M. H. eds. London: Plenum Press. Fox, P. F., Wallace, J. M., Morgan, S., Lynch, C. M., Niland, E. J., and Tobin, J. (1996). Acceleration of cheese ripening. *Antonie Van Leeuwenhoek* 70 271–297.
- Manca, M. G., Serdino, J., Gaspa, G., Urgeghe, P., Ibba, I., Contu, M., Fresi, P., Macciotta, N. P. P. (2016). Derivation of multivariate indices of milk composition, coagulation properties, and individual cheese yield in dairy sheep. *J Dairy Sci* 99:4547–57.
- Manolaki P, Katsiari MC, & Alichanidis E.(2006). Effect of commercial adjunct culture on organic acid contents of low-fat feta-type cheese. *Food Chem* 98, 658-663
- Martín TM, Caballer BH, Lizana FM, Mendiola RG, Montaño PP, Cano MS. (2004). Selective allergy to sheep's and goat's milk proteins. *Allergol et Immunopathol* 32:39–42.
- Masoodi TA, Shafi G. (2010). Analysis of casein alpha S1 & S2 proteins from different mammalian species. *Bioinformation* 4:430–5.
- Martelli A (1989) Volatiles in the flavour of Gorgonzola cheese. *Rivista Società Italiana Scienze Alimentari* 18 251–262.

- Mayes, J.J., G. Urbach and B.J. Sutherland, (1994). Does addition of buttermilk affect the organoleptic properties of low-fat Cheddar cheese? *Aust. J. Dairy Technol.*, 49: 39-41.
- McSweeney P L H (2004) Biochemistry of cheese ripening: introduction and overview. In *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology, Vol 1: General Aspects*, 3rd edn, pp 347–360.
- McSweeney P L H and Fox P F (2004) Metabolism of residual lactose and of lactate and citrate. In *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology, Vol 1: General Aspects*, 3rd edn, pp 361–372.
- McSweeney P L H, Olson N F, Fox P F, Healy A and Højrup P (1993) Proteolytic specificity of chymosin on bovine α 1casein. *Journal of Dairy Research* 60 401–412.
- McSweeney P L H, Olson N F, Fox P F and Healy A (1994) Proteolysis of bovine α 2-casein by chymosin. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung* 119 429–432.
- McSweeney P L H, Fox P F and Olson N F (1995) Proteolysis of bovine caseins by cathepsin D: preliminary observations and comparison with chymosin. *International Dairy Journal* 5 321–336.
- McSweeney, P.L.H., (1997). The flavour of milk and dairy products: III. Cheese: Taste. *Int. J. Dairy Technol.*, 50: 123-128.
- Meinhart E and Schreier P (1986) Study of flavour compounds from Parmigiano Reggiano cheese. *Milchwissenschaft* 41 689–691.
- Merrill, R.K., C.J. Oberg, W.R. McManus, M. Kalab and D.J. McMahon, (1996). Microstructure and physical properties of a reduced fat mozzarella cheese made using *Lactobacillus casei*ssp. *casei* Adjunct culture. *LWT-Food Sci. Technol.*, 29: 721-728.
- Michaelidou, A., Alichanidis, E., Urlaub, H., Polychroniadou, A. & Zerfiridis, G.K., (1998). Isolation and identification of some major water-soluble peptides in Feta cheese. *Journal of Dairy Science* 81, 3109–3116.
- Milani, F. X., Wendorff, W. L. (2011). Goat and sheep production in the United States (USA). *Small Ruminant Res* 101:134–9.

- Mistry, V. V., and K.M. Kasperson, (1998). Influence of salt on the quality of reduced fat Cheddar cheese. *J. Dairy Sci.*, 81: 1214-1221.
- Moatsou, G., Hatzinaki A., Kandarakis I., Anifantakis E. (2002). Nitrogenous fractions during the manufacture of whey protein concentrates from Feta cheese whey. *Food Chemistry* 81 (2003) 209–217
- Moatsou, G., Hatzinaki A., Kandarakis I. & Anifantakis E. (2003). “Nitrogenous fractions during the manufacture of whey protein concentrates from Feta cheese whey”. *Food Chemistry*, 81: 209-217.
- Moatsou, G., Hatzinaki A., Samolada M., Anifantakis E. (2005). “Major whey proteins in ovine and caprine acid wheys from indigenous Greek breeds”. *International Dairy*.
- Molik, E., Bonczar, G., Misztal T, Zebrowska A, Zieba D. (2012). The effect of the photoperiod and exogenous melatonin on the protein content in sheep milk. In: Hurley WL, editor. *Milk protein*. 1st ed. Rijeka: Intech.Journal, 15: 123-131.
- Molimard, P., and Spinnler. H. E. (1996). Compounds involved in the flavor of surface mould-ripened cheeses: origins and properties. *Journal of Dairy Science* 79 69–184.
- Molkentin, J. (2000). Occurrence and biochemical characteristics of natural bioactive substances in bovine milk lipids. *British J Nutr* 84:47–53.
- Morris, H. A., and Jezeski, J. J. (1953) The action of microorganisms on fats. II. Some characteristics of the lipase system of *Penicillium roqueforti*. *Journal of Dairy Science* 36 1285–1298.
- Munoz, N., Ortigosa, M., Torre, P., and Izco, J. M. (2003). Free amino acids and volatile compounds in ewe’s milk cheese as affected by seasonal and cheese-making plant variations. *Food Chem*83:329–338(2003).
- Mullin, W. J., & Emmons, D. B. (1997). Determination of organic acids and sugars in cheese, milk and whey by high performance liquid chromatography. *Food research international*, 30, 147-151.
- Nauth, K .R., and D. Ruffie, (1995). *Microbiology and Biochemistry of Reduced-Fat Cheese*. In: *Chemistry of Structure-Function Relationships in Cheese*, Malin, E.L. and M.H. Tunick (Eds.). Plenum Press, New York, pp: 345-358.

- Nelson, B. K., and D.M. Barbano, (2004). Reduced-fat cheddar cheese manufactured using a novel fat removal process. *J. Dairy Sci.*, 87: 841-853.
- Nierop Groot, M. N., and de Bont, J. A. M. (1998). Conversion of phenylalanine to benzaldehyde initiated by an aminotransferase in *Lactobacillus plantarum*. *Applied and Environmental Microbiology* 64 3009–3013.
- Niki, T., Yoshioka, Y., and Ahiko, K. (1966). Proteolytic and lipolytic activities of *Penicillium roqueforti* isolated from blue cheese. Proceedings of the 17th International Dairy Congress, Munich, pp 531–537, Brussels: International Dairy Federation.
- Nunez-Sanchez, N., Martinez-Marín, A. L., Polvillo, O., Fernandez-Cabanas, V. M., Carrizosa, J., Urrutia, B., Serradilla, J. M. (2016). Near Infrared Spectroscopy (NIRS) for the determination of the milk fat fatty acid profile of goats. *Food Chem* 190:244–52.
- O’Driscoll, B. M., Rattray, F. P., McSweeney P. L. H., and Kelly, A. L. (1999). Protease activities in raw milk determined using a synthetic heptapeptide substrate. *Journal of Food Science* 64 606–611.
- O’Keeffe, R. B., Fox, P. F., and Daly, C. (1975). Proteolysis in Cheddar cheese: influence of the rate of acid production during cheese manufacture. *Journal of Dairy Research* 42 111–122.
- Olivecrona, T., Vilaro, S., and Olivecrona, G. (2003). Lipases in milk. In *Advanced Dairy Chemistry. I. Proteins*, 3rd edn, pp 473–488. Fox P F and McSweeney P L H, eds. New York: Kluwer.
- Oterholm, A., Ordal, Z. J., and Witter, L. D. (1970). Purification and properties of glycerol ester hydrolase (lipase) from *Propionibacterium shermanii*. *Applied Microbiology* 20 16–22.
- Othman, O. E., El Fiky, S. A., Hassan, N. A., Mahfouz, E. R., Balabel, E. A. (2013). Genetic variations of β and κ -casein genes in Egyptian sheep breeds. *J Appl Biosci* 64:4858–66.
- Palles, T., Beresford, T., Condon, S., and Cogan, T. M. (1998). Citrate metabolism in *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus plantarum*. *Journal of Applied Microbiology* 85 147–154.

- Panari, G. (1986) HPLC of organic acids: an approach to cheese analysis. *Μιλψηρισσενσφηαφτ*, 41, 214-216.
- Pappas, C., Voutsinas L., (1988). “Effect of acidification of sheep’s cheese whey with organic acids on the retention of protein and on the quality of Myzithra cheese”. *Journal of Dairy Research*, 55: 247-254.
- Pappas, C.P., Kondyli E., Voutsinas L.P., Mallatou H. (1996a). “Effects of salting method and storage time on composition and quality of feta cheese”. *Journal of the Society of Dairy Technology*, 49: 113-118.
- Parente, E., and Cogan, T. M. (2004). Starter cultures: general aspects. In *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, Vol 1: General Aspects, 3rd edn, pp 123–148.
- Park, Y. W., Juarez, M., Ramos, M., Haenlein, G. F. W. (2007). Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminants Res* 68:88–113.
- Park, Y. W., Pariza, M. W. (2007). Mechanisms of body fat modulation by conjugated linoleic acid (CLA). *Food Res Int* 40:311–23.
- Peters, J.C., K.D. Lawson, S.J. Middleton and K.C. Triebwasser, (1997). Assessment of the nutritional effects of olestra, a nonabsorbed fat replacement: Introduction and overview. *J. Nutr.*, 127: 1539S-1546S.
- Piveteau, P. (1999) Metabolism of lactate and sugars by dairy propionibacteria; a review. *Le Lait* 79 23–41.
- Pritchard, G., and Coolbear, T. (1993). The physiology and biochemistry of the proteolytic system in lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Reviews* 12 179–206.
- Ramos, M., Juarez, M. (2003). Sheep milk. In: Roginski H, Fuquay JW, Fox PF, editors. *Encyclopedia of dairy sciences*. Vol. 4. Amsterdam, The Netherlands: Academic Press. p 2539–45.
- Rasmussen, N., Andersen, J. H., Jespersen, H., Mouritsen, O. G., Ditzel, H. J. (2010). Effect of free fatty acids and lysolipids on cellular uptake of doxorubicin in human breast cancer cell lines. *Anticancer Drugs* 21:674–7.

- Ratray, F. P., and Fox, P. F. (1999). Aspects of enzymology and biochemical properties of *Brevibacterium linens* relevant to cheese ripening: a review. *Journal of Dairy Science* 82 891–909.
- Raynal-Ljutovac, K., Lagriffoul, G., Paccard, P., Guillet, I., Chilliard Y. (2008). Composition of goat and sheep milk products: an update. *Small Rum Res* 79:57–72.
- Raynal-Ljutovac, K., Park, Y. W., Gaucheron, F., Bouhallab, S. (2007). Heat stability and enzymatic modifications of goat and sheep milk. *Small Ruminant Res* 68:207–20.
- Raynal-Ljutovac, K., Lagriffoul, G., Paccard, P., Guillet, I., Chilliard, Y. (2008). Composition of goat and sheep milk products: an update. *Small Rum Res* 79:57–72.
- Revilla, I., Escuredo, O., Gonzalez-Martín, M. I., Palacios C. (2017). Fatty acids and fat-soluble vitamins in ewe's milk predicted by near infrared reflectance spectroscopy. Determination of seasonality. *Food Chem* 214:468-77.
- Recio, I., de la Fuente A., Juárez, M., Ramos, M. (2009). Bioactive compounds in sheep milk. In: Park YW, editor. *Bioactive compounds in milk and dairy products*. Iowa: Wiley-Blackwell, p 83–104, Chapter 4.
- Reiter, B., Fryer, T. F., Pickering, A., Chapman, H. R., Lawrence, R. C., and Sharpe, M. E. (1967). The effect of the microbial flora on the flavour and free fatty acid composition of Cheddar cheese. *Journal of Dairy Research* 34 257–271.
- Rijnen, L., Courtin, P., Gripon, J. C., and Yvon, M. (2000). Expression of a heterologous glutamate dehydrogenase gene in *Lactococcus lactis* highly improves the conversion of amino acids to aroma compounds. *Applied and Environmental Microbiology* 66 1354–1359.
- Rodriguez, J., T. Requena, J. Fontecha, H. Goudedranche and M. Juárez, (1999). Effect of different membrane separation technologies (ultrafiltration and microfiltration) on the texture and microstructure of semihard low-fat cheeses. *J. Agric. Food Chem.*, 47: 558-565.

- Roig-Sagues A. X., Molina, A. P., and Hernandez-Herrerok, M. M. (2002). Histamine- and tyramine-forming microorganisms in Spanish traditional cheeses. *European Food Research and Technology* 215 96–100.
- Romeih, E.A., Michaelidou, A., Biliaderis, C.G. & Zerfiridis, G.K., (2002). Low-fat white-brined cheese made from bovine milk and two commercial fat mimetics: chemical, physical and sensory attributes. *International Dairy Journal* 12, 525–540.
- Rudan, M.A., D.M. Barbano, J.J., Yun and P.S. Kindstedt, (1999). Effect of fat reduction on chemical composition, proteolysis, functionality and yield of Mozzarella cheese. *J. Dairy Sci.*, 82: 661-672.
- Rudan, M.A., Barbano, D.M. & Kindstedt, P.S. (1998). Effect of Fat Replacer (Salatrim) on Chemical Composition, Proteolysis, Functionality, Appearance, and Yield of Reduced Fat Mozzarella Cheese. *Journal of Dairy Science* 81, 2077–2088.
- Schreiber, R., S. Neuhauser, S. Schindler and H.G. Kessler, (1998). Incorporation of whey protein aggregates in semi-hard cheese. Part 1: Optimizing processing parameters. *Detsch. Milchwirtschaft*, 49: 958-962.
- Scintu, M. F., Piredda, G. (2007). Typicity and biodiversity of goat and sheep milk products. *Small Ruminant Res* 68:221–31.
- Skordobeki Anastasia, Zoidou Evangelia, Moatsou Gkolfo and Kaminarides Stelios. (2015). Physicochemical characteristics of a new reduced-fat mold ripened cheese from goat milk. 7th IDF International Symposium on sheep, goat and other non-cow milk, Limassol, Cyprus, 23-25 March.
- Selvaggi, M., Laudadio, V., Dario, C., Tufarelli, V. (2014a). Investigating the genetic polymorphism of sheep milk proteins: an useful tool for dairy production. *J Sci Food Agric* 94:3090–9.
- Selvaggi, M., Laudadio, V., Dario, C., Tufarelli, V. (2014b). Major proteins in goat milk: an updated overview on genetic variability. *Mol Biol Rep* 41:1035–48.
- Simopoulos, A. P. (2002). The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomed Pharmacother* 56:365–79.

- Shakeel-Ur-Rehman and Fox, P. F. (2002). Effect of added α ketoglutaric acid, pyruvic acid or pyridoxal phosphate on proteolysis and quality of Cheddar cheese. *Food Chemistry* 76 21–26.
- Smit, G., van Hylckama Vlieg, J. E. T., Smit, B. A., Ayad, E. H. E., and Engels, W. J. M. (2002). Fermentative formation of flavour compounds by lactic acid bacteria. *Australian Journal of Dairy Technology* 7 61–68.
- Sørhaug, T., and Ordal, Z. J. (1974). Cell-bound lipase and esterase of *Brevibacterium linens*. *Applied Microbiology* 27 607–608.
- Sousa, M. J., Ardo, Y., and McSweeney, P. L. H. (2001), Advances in the study of proteolysis in cheese during ripening. *International Dairy Journal* 11 327–345.
- Spuergin, P., Walter, M., Schiltz, E., Deichtmann, K., Forster, J., Mueller, H. (1997). Allergenicity of alfa-caseins from cow, sheep, and goat. *Allergy* 52:293–8.
- Stadhouders, J., Hup, G., and van der Waals, C. B. (1977). Determination of calf rennet in cheese. *Netherlands Milk and Dairy Journal* 31 3–15.
- Steffen, C., Eberhard, E., Bosset, J. O., and Ruegg, M. (1993). Swiss-type varieties. In *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, Vol 2: Major Cheese Groups, 2nd edn, pp 83–110.
- Sundaram Gunasearan and Ak, M.M (2003). Cheese rheology and texture.
- Swaisgood, H. E. (1992). Chemistry of the caseins. In *Advanced Dairy Chemistry. I. Proteins*, 2nd edn, pp 63–110.
- Sztankoova, Z., Kyselova, J., Rychtarova, J., Czernekova V. (2011). Technical note: a novel method for routine genotyping of the G allele of β -casein (CSN2) and T allele of κ -casein (CSN3) in a sheep population using LightCycler. *J Anim Sci* 89:3843–5.
- Tamime, A. Y., Wszolek, M., Bozanic, R., Ozer, B. (2011). Popular ovine and caprine fermented milks. *Small Ruminant Res* 101:2–16.
- Thapa, T.B., Gupta V. K. (1992). “Changes in sensoric and rheological characteristics during storage of processed cheese foods prepared with added whey protein concentrates”. *Indian J. Dairy Sci.*, 45:140-145.

- Thomas, T. D. (1987). Acetate production from lactate and citrate by non-starter bacteria in Cheddar cheese. *New Zealand Journal of Dairy Science and Technology* 22 25– 38. Thomas T D and Crow V L (1983) Mechanism of d(-)-lactic acid formation in Cheddar cheese. *New Zealand Journal of Dairy Science and Technology* 18 131–141.
- Trujillo, A.J., Buffa, M., Casals, I., Fernandez, P. & Guamis, B. (2002). Proteolysis in goat cheese made from raw, pasteurized or pressure-treated milk. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 3, 309–319.
- Tunick, M.H., E.L. Malin, P.W., Smith, J.J., Shieh, B.C., Sullivan, K.L., Mackey and V.H. Holsinger, (1993). Proteolysis and rheology of low fat and full fat Mozzarella cheeses prepared from homogenized milk. *J. Dairy Sci.*, 76: 3621-3628.
- Turner, K. W., and Thomas, T. D. (1980). Lactose fermentation in Cheddar cheese and the effect of salt. *New Zealand Journal of Dairy Science and Technology* 15 265– 276.
- Turner, K. W., Morris, H. A., and Martley, F. G. (1983). Swiss-type cheese. II. The role of thermophilic lactobacilli in sugar fermentation. *New Zealand Journal of Dairy Science and Technology* 18 117–124.
- Upadhyay, V. K., McSweeney, P. L. H., Magboul, A. A. A., and Fox, P. F. (2004). Proteolysis in cheese during ripening. In *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, Vol 1: General Aspects, 3rd edn, pp 391–434. Fox P F, McSweeney P L H, Cogan T M and Guinee T P, eds. London: Elsevier.
- Upadhyay, V.K., McSweeney, P.L.H., Magboul, A.A.A. & Fox, P.F. (2004). *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, Volume 1, 2004, Pages 391-433, VIII.
- Urbach, G. (1997). The flavour of milk and dairy products: II. Cheese: Contribution of volatile compounds. *Int. J. Dairy Technol.*, 50: 79-89.
- Urbach, G. (1995). Contribution of lactic acid bacteria to flavor compound formation in dairy products. *Int Dairy J* 5:877-903.
- Urbach, G. (1993). Relations between cheese flavor and chemical lcomposition. *Int Dairy J* 3:389–422(1993).

- Vinas, M., Carnes, J., Lopez-Matas, M. A., Hernandez, N., Castillo, M. J., Ibero, M. (2014). Allergy to goat and sheep cheese with tolerance to cow's milk and its derivatives. *Allergol Immunopathol* 42:186–90.
- Visser, F. M. W. (1977). Contribution of enzymes from rennet, starter bacteria and milk to proteolysis and flavour development in Gouda cheese. 1. Description of cheese and aseptic cheesemaking technique. *Netherlands Milk and Dairy Journal* 31 120–133.
- Visser, S., and Slangen, K. J. (1977). On the specificity of chymosin (rennin) in its action on bovine β -casein. *Netherlands Milk and Dairy Journal* 31 16–30.
- Wendorff, W. L. (2005). Sheep milk and milk products: composition. In: Pond WG, Bell AW, editors. *Encyclopedia of animal science*. New York: Marcel Dekker.
- Wijesinha-Bettoni, R., Burlingame, B. (2013). Milk and dairy product composition. In: Muehlhoff E, Bennett A, McMahon D, editors. *Milk and dairy products in human nutrition*. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Walstra, P., and Jenness, R. (1984). *Dairy Chemistry and Physics*. New York: Wiley.
- Whetstone, M.E.C., M.A. Drake, B.K. Nelson and D.M. Barbano, (2006). Flavor profiles of full-fat and reduced-fat cheese and cheese fat made from aged cheddar with the fat removed using a novel process. *J. Dairy Sci.*, 89: 505-517.
- Wijesunda, C., and P. Watkins, (2000). Milkfat is essential for the development of cheddar cheese flavour. *Aust. J. Dairy Technol.*, 55: 86-91.
- Wium, H., Kristiansen, K. R., and Qvist, K. B. (1998). Proteolysis and its role in relation to texture of Feta cheese made from ultrafiltered milk with different amounts of rennet. *Journal of Dairy Research* 65 665–674.
- Wium, H., Kristiansen, K., and Qvist, k. (1998). Proteolysis and its role in relation of texture of Feta cheese made from ultrafiltrated milk with different amounts of rennet. *Journal of dairy research*, 65:665-674.
- Wong, N. P, Ellis, R., and La Croix, D. E. (1975). Quantitative determination of lactones in Cheddar cheese. *Journal of Dairy Science* 58 1437–1441.
- Woo, A. H., Kollodge, S., and Lindsay, R. C. (1984). Concentration of major free fatty acids and flavor development in Italian cheese varieties. *J DairySci* 67:960–968.

- Woo, A. H., and Lindsay, R. C. (1984). Concentrations of major free fatty acids and flavor development in Italian cheese varieties. *Journal of Dairy Science* 67 960–968.
- Woo, A. H., Kollodge, S., and Lindsay, R. C. (1984). Quantification of major free fatty acids in several cheese varieties. *Journal of Dairy Science* 67 874–878.
- Yildiz, F. (2010). *Advances in Food Biochemistry*. New York: CRC Press.
- Yvon, M., and Rijnen, L. (2001). Cheese flavour formation by amino acid catabolism. *International Dairy Journal* 11 185–201.
- Yvon, M., Thirouin, S., Rijnen, L., Fromentier, D., and Gripon, J. C. (1997). An aminotransferase from *Lactococcus lactis* initiates conversion of amino acids to cheese flavor compounds. *Applied and Environmental Microbiology* 63 414–419.
- Yvon, M., Berthelot, S., and Gripon, J. C. (1998). Adding α ketoglutarate to semi-hard cheese curd highly enhances the conversion of amino acids to aroma compounds. *International Dairy Journal* 8 889–898.
- Yvon, M., Chambellon, E., Bolotin, A., and Roudot-Algaron, F. (2000). Characterisation and role of the branched chain aminotransferase (BcatT) isolated from *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* NCDO763. *Applied and Environmental Microbiology* 66 571–577.
- Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung 196 155–158 de Leon-Gonzalez, L. P., Wendorff, W. L., Ingham, B. H., Jaeggi, J. J., and Houck, K. B. (2000). Influence of salting procedure on the composition of Muenster-type cheese. *Journal of Dairy Science* 83 1396–1401.
- Zeppa, G., Conterno, L., & Gebri, V. (2001). Determination of organic acids, sugars, diacetyl and acetoin in cheese by high-performance liquid chromatography. *Journal of Agricultural and food chemistry*, 49, 2722-2726.
- Zlatanov, S., Laskaridis, K., Feist, C., Sagredos, A. (2002). CLA content and fatty acid composition of Greek Feta and hard cheeses. *Food Chem* 78: 471–7.