

**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**  
**ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**  
**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ**  
**ΕΠΙΣΤΗΜΗ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ**

---

**Μελέτη της τεχνολογίας παρασκευής και φυσικοχημικών,  
μικροβιολογικών και οργανοληπτικών χαρακτηριστικών φρέσκου  
μαλακού τυριού από νωπό, παστεριωμένο και μικροδιηθημένο  
αγελαδινό γάλα.**



**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ: ΖΩΤΟΥ ΑΝΑΣΤΑΣΙΑ**

---

**ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:**

**Ι. Κανδαράκης, Αναπληρωτής Καθηγητής ΓΠΑ(επιβλέπων)**

Ε. Τσακαλίδου, Καθηγήτρια ΓΠΑ

Σ. Καμινारीδης, Αναπληρωτής Καθηγητής ΓΠΑ

Γ. Μοάτσου, Λέκτορας ΓΠΑ

Ε. Δροσινός, Επίκουρος Καθηγητής ΓΠΑ

ΑΘΗΝΑ  
ΙΟΥΝΙΟΣ 2009



## Ευχαριστίες.....

Πριν ξεκινήσω την παρουσίαση του κομματιού της έρευνας με την οποία ασχολήθηκα πάνω στον τομέα της Γαλακτοκομείας/ Τυροκομείας, θα ήθελα να ευχαριστήσω ορισμένους ανθρώπους για την αμέριστη βοήθειά που μου προσέφεραν όλο αυτό το χρονικό διάστημα.

Πρωτίστως, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Διευθυντή του Εργαστηρίου Γαλακτοκομείας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών και επιβλέπων καθηγητή της συγκεκριμένης μελέτης, κος Κανδαράκη, για την εμπιστοσύνη που έδειξε προς το πρόσωπό μου καθ' όλη τη διάρκεια της συνεργασίας μας και για τη σημαντική βοήθειά του κατά τη συγγραφή. Επίσης, θερμές ευχαριστίες θα ήθελα να απευθύνω στους λέκτορες, κα Μοσχοπούλου και κος Ακτύπη για την καθοδήγηση και βοήθειά τους στον τομέα των εργαστηριακών δοκιμών, καθώς και στο μέλος του Τυροκομείου του Γ.Π.Α., κος Πάσχο για τη βασική συμμετοχή του κατά τη διεξαγωγή των τυροκομήσεων. Ακόμη, ένα μεγάλο ευχαριστώ θα ήθελα να πω και στον προπτυχιακό φοιτητή του Τομέα της Ζωικής Παραγωγής Γ.Π.Α., Νίκα Βαγγέλη για τη βοήθειά του σε επίπεδο διεξαγωγής ορισμένων πειραμάτων καθώς και στο Εργαστήριο Ανατομίας και Φυσιολογίας Αγροτικών Ζώων στον τομέα της Ζωικής Παραγωγής, για την προσφορά επιστημονικού υλικού απαραίτητο για την εξαγωγή ορισμένων αποτελεσμάτων της μελέτης.

Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερος τους γονείς μου για την ηθική και ψυχολογική υποστήριξη καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της μεταπτυχιακής μου μελέτης καθώς και τα αδέρφια μου Παντελή και Μιχάλη για τη βοήθειά τους στην εύρεση ορισμένων επιστημονικών πηγών. Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά όλα τα φιλικά μου πρόσωπα και ιδιαίτερος τις Μαριλίνα Κορρού και Φωτεινή Καραλή για τη συμπαράστασή τους, καθώς και τον Πάνο Μάργαρη για την συνολική υποστήριξή του και τη βοήθειά του στην ορθογραφική και συντακτική διόρθωση της συγκεκριμένης μελέτης.

Τέλος, ευχαριστώ όλα τα μέλη της Πενταμελούς Επιτροπής και γενικά όλους τους αναγνώστες της συγκεκριμένης μελέτης, η οποία ελπίζω να αποβεί χρήσιμη για την εξέλιξη και βελτίωση του τομέα της Γαλακτοκομείας/Τυροκομείας.

## **ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ:**

ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	4
---------------	---

### **ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

1.ΓΑΛΑ: ΣΥΣΤΑΣΗ ΚΑΙ ΠΑΓΚΟΣΜΙΑ ΠΑΡΑΓΩΓΗ.....	6
2.ΤΥΡΙ: ΤΡΟΠΟΣ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗΣ ΚΑΙ ΠΑΡΑΓΩΓΗ.....	10
3.ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΤΥΡΙΩΝ-Π.Ο.Π. ΤΥΡΙΑ.....	16
4.ΦΡΕΣΚΑ ΤΥΡΙΑ.....	27
5.ΠΡΟΔΙΑΓΡΑΦΕΣ ΚΑΙ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΕΣ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΤΥΡΟΚΟΜΗΣΗΣ.....	32
5.1.1.Χημική σύσταση γάλακτος τυροκόμησης.....	32
5.1.2.Μικροβιολογική σύσταση γαλακτο τυροκόμησης.....	34
5.1.3.Επεξεργασίες γάλακτος τυροκόμησης.....	57
6.ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	66

### **ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

7.ΥΛΙΚΑ ΚΑ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	67
7.1 Επεξεργασία του γάλακτος.....	67
7.2 Τυροκόμηση.....	69
7.3 Δειγματοληψία.....	70
7.4 Αναλύσεις γάλακτος.....	70
7.5 Χημικές αναλύσεις τυριού.....	74
7.5.1.1.Προσδιορισμός Ξηρής Ουσίας/Υγρασίας στο τυρί.....	74
7.5.1.2.Προσδιορισμός Τέφρας στο τυρί.....	75
7.5.1.3.Προσδιορισμός Λιποπεριεκτικότητας τυριού.....	75
7.5.1.4.Προσδιορισμός Αλατιού στο τυρί.....	76
7.5.1.5 Προσδιορισμός Πρωτεϊνών στο τυρί.....	77
7.5.1.6.Προσδιορισμός Ανόργανων Αλάτων στο τυρί.....	80
7.5.2.Μικροβιολογικές αναλύσεις τυριού.....	83
7.5.2.1.Προσδιορισμός μη παθογόνων μικροοργανισμών στο τυρί.....	83

7.5.2.2.Προσδιορισμός παθογόνων μικροοργανισμών στο τυρί.....	84
7.5.3.Οργανοληπτική εξέταση τυριών.....	88
7.6.Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων.....	88
<b>8.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....</b>	<b>89</b>
8.1. Σύσταση γάλακτος.....	89
8.1.1.Φυσικοχημική σύσταση του γάλακτος.....	89
8.1.2.Μικροβιολογική σύσταση του γάλακτος.....	89
8.2.Αποδόσεις σε τυρί.....	95
8.3.Σύσταση τυριών.....	96
8.3.1.Φυσικοχημική σύσταση τυριών.....	96
8.3.1.1.Περιεκτικότητα τυριών σε υγρασία, λίπος, αλάτ και πρωτεΐνες.....	96
8.3.1.2.Περιεκτικότητα τυριών σε ανόργανα άλατα.....	106
8.3.2 Μικροβιολογική σύσταση τυριών.....	112
8.3.2.1.Προσδιορισμός <i>O.M.X</i> .....	112
8.3.2.2.Προσδιορισμός Γαλακτοβακίλων.....	114
8.3.2.3.Προσδιορισμός <i>Οξυγαλακτικών κόκκων</i> .....	116
8.3.2.4.Προσδιορισμός <i>N.S.-L.A.B</i> .....	119
8.3.2.5.Προσδιορισμός <i>Ζυμών/Μυκήτων</i> .....	121
8.3.2.6.Προσδιορισμός <i>Μικροκόκκων</i> .....	123
8.3.2.7.Προσδιορισμός <i>Εντεροβακτηριοειδών</i> .....	125
8.3.2.8.Προσδιορισμός <i>Σταφυλοκόκκων</i> .....	127
8.3.2.9.Προσδιορισμός <i>Λιστέριας και Σαλμονέλλας</i> .....	130
8.4.Οργανοληπτική αξιολόγηση τυριών.....	131
<b>9.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....</b>	<b>136</b>
<b>ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....</b>	<b>139</b>
<b>SUMMARY.....</b>	<b>140</b>
<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....</b>	<b>141</b>

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Από αρχαιοτάτων χρόνων, το γάλα αποτελούσε εξαιρετική τροφή για τον άνθρωπο, αφού περιέχει ένα ευρύ φάσμα θρεπτικών ουσιών τα οποία λειτουργούν ως πηγές ενέργειας ή δομικά συστατικά για τον οργανισμό. Εκτός, από το γάλα μεγάλης θρεπτικής αξίας τροφή για τον άνθρωπο αποτελεί και το τυρί, του οποίου η πρώτη του δημιουργία χρονολογείται περίπου 8.000 χρόνια πριν, στην εύφορη κοιλάδα μεταξύ του Τίγρη και του Ευφράτη. Πολλές εκδοχές έχουν αναφερθεί για τη δημιουργία του πρώτου τυριού, οι κυριότερες είναι δύο. Η πρώτη αναφέρει την τυχαία παρασκευή του τυριού, κατά τη μεταφορά γάλακτος μέσα σε ένα ασκό από στομάχι προβάτου, κατά τη διάρκεια ταξιδιού του στην έρημο. Ενώ, η άλλη αναφέρει ότι η πρώτη παρασκευή γάλακτος δεν ήταν τυχαία αλλά αποτέλεσμα προσπάθειας του ανθρώπου να ανακαλύψει τρόπους διατήρησης των συστατικών του γάλακτος, όπως η ξήρανσή του σε αβαθή πήλινα ή ξύλινα δοχεία στον ήλιο. Και στις δύο περιπτώσεις πάντως υπήρξε η δημιουργία πήγματος, είτε λόγω της δράσης των ενζύμων του στομάχου του προβάτου είτε λόγω της ανάπτυξης βακτηρίων (Ανυφαντάκης, 2004).

Από εκείνη την περίοδο μέχρι σήμερα, έχουν παρασκευαστεί πολλά είδη τυριών και με διαφορετικούς τρόπους. Το τυρί εξακολουθεί να αποτελεί ένα πολύ θρεπτικό προϊόν διατροφής το οποίο εφοδιάζει τον άνθρωπο με ενέργεια και με πολλά απαραίτητα δομικά συστατικά. Η κυριότερη πηγή ενεργείας του τυριού είναι η λακτόζη, η οποία διασπάται σε γλυκόζη και γαλακτόζη και εφοδιάζει τον οργανισμό με ενέργεια μέσα από τη διαδικασία της γλυκογονόλυσης. Επίσης, τα λιπαρά του τυριού αποτελούν σημαντική πηγή ενέργεια του οργανισμού, τα οποία όμως μπορεί έχουν και αρνητικές επιδράσεις στην υγεία του ανθρώπου. Τα λιπαρά οξέα του εκάστωτε τυριού μπορούν να επηρεάσουν τα επίπεδα χοληστερίνης του αίματος του ανθρώπου, ανάλογα αν πρόκειται για κορεσμένα ή ακόρεστα λιπαρά οξέα. Ακόμη, βασικό δομικό συστατικό του οργανισμού αποτελούν οι πρωτεΐνες, οι οποίες υπάρχουν στα τυριά σε ποσοστά 10-35%. Τέλος, κάποια άλατα, όπως το ασβέστιο αποτελεί βασικό δομικό συστατικό των οστών, των δοντιών και η έλλειψή του μπορεί να οδηγήσει σε παθολογικές καταστάσεις, όπως η οστεοπόρωση, οστεομαλάκυνση κ.α. Σημαντικό ρόλο για τον οργανισμό παίζει και η ισορροπία μεταξύ αυτών των αλάτων, π.χ. ισορροπία μεταξύ αλάτων ασβεστίου και φωσφόρου.

Το γάλα μπορεί να υποστεί διάφορες επεξεργασίες μέχρι να μετατραπεί σε τυρί και ανάλογα με την τεχνολογία παρασκευής προκύπτουν τυριά με διαφορετική σύσταση, εμφάνιση, γεύση και μικροβιακή χλωρίδα. Η μικροβιακή χλωρίδα του κάθε τυριού παίζει σημαντικό ρόλο στη διαμόρφωση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών αυτού, αφού αυτά καθορίζονται κυρίως από τα προϊόντα ζυμώσεων αυτής.

Στη συγκεκριμένη μελέτη, θα εξετάσουμε τα χημικά, μικροβιολογικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά ενός τύπου αλοφώδους τυριού, που παρασκευάστηκε από αγελαδινό γάλα το οποίο είχε επεξεργαστεί με τρεις

διαφορετικούς τρόπους. Το γάλα που χρησιμοποιήθηκε για τυροκόμηση χωρίστηκε σε 3 είδη: α) σε Νωπό Γάλα, το οποίο δεν είχε υποστεί καμία επεξεργασία πλὴν της φυγοκεντρήσῃ του και την ανασύστασή του με παστεριωμένη κρέμα, β) σε Παστεριωμένο Γάλα, το οποίο αφού φυγοκεντρήθηκε παστεριώθηκε η κρέμα αλλά και το άπαχο γάλα και έγινε ανασύσταση, γ) σε Μικροδιηθημένο Γάλα, το οποίο φυγοκεντρήθηκε, παστεριώθηκε η κρέμα, το άπαχο γάλα πέρασε από συσκευή μικροδιήθησης, παστεριώθηκε και το κατακράτημα και έγινε ανασύσταση αυτού με την προσθήκη και των τριών παραπάνω συστατικών (κρέμα, διήθημα και κατακράτημα). Σκοπός αυτής της μελέτης ήταν να συγκρίνουμε τα προϊόντα που παρασκευάστηκαν από τα τρία παραπάνω γάλατα καθώς και να μελετήσουμε την πιθανότητα εφαρμογής της τεχνολογίας των μεμβρανών, ιδίως της μικροδιήθησης, στο τομέα της τυροκόμησης φρέσκων τυριών.

Η μελέτη χωρίζεται σε Γενικό και Ειδικό μέρος. Στο πρώτο παραθέτονται κάποιες γενικές πληροφορίες για το γάλα, το τυρί και τις διάφορες προδιαγραφές που ορίζονται για αυτά από Εθνική και Ευρωπαϊκή Νομοθεσία. Ενώ, στο δεύτερο αναπτύσσεται ο τρόπος εκτέλεσης του πειράματος που αναφέρθηκε παραπάνω.

## ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### 1.ΓΑΛΑ:ΣΥΣΤΑΣΗ ΚΑΙ ΠΑΓΚΟΣΜΙΑ ΠΑΡΑΓΩΓΗ

Από αρχαιοτάτων χρόνων τα γαλακτοκομικά προϊόντα θεωρούνταν εξαιρετικά τρόφιμα γι' αυτό και στα κείμενα πολλών αρχαίων Ελλήνων συγγραφέων γίνεται λόγος για αυτά. Το γάλα είναι το έκκριμα του μαστικού αδένου των θηλαστικών ζώων που προορίζεται για τη διατροφή του νεογέννητου και για το οποίο αποτελεί τη μοναδική τροφή μέχρι μια ορισμένη ηλικία. Για τον άνθρωπο, όμως, το γάλα εξακολουθεί να αποτελεί μέρος της διαίτας του είτε αυτούσιο είτε με τη μορφή γαλακτοκομικών προϊόντων (τυρί, βούτυρο, γιαούρτι) για όλη τη διάρκεια της ζωής του (Μάντης, 2000).

Το γάλα σχηματίζεται στο αδενικό επιθήλιο του μαστικού αδένου και πιο συγκεκριμένα στις αδενοκυψελίδες αυτού (περίπου 50.000κυψελίδες /cm<sup>3</sup> του κάθε μαστού). Το αίμα μεταφέρει στο μαστό τις απαραίτητες δομικές ουσίες από τις οποίες τα επιθηλιακά κύτταρα (γαλακτικά κύτταρα) του μαστού συνθέτουν τα κυριότερα συστατικά του γάλακτος(λίπος, πρωτεΐνες, λακτόζη), ενώ ορισμένα από αυτά περνούν στο γάλα όπως υπάρχουν στο αίμα, χωρίς να υποστούν κανένα μετασχηματισμό στο μαστικό αδένου. (Ανυφαντάκης, 2004).

Το γάλα που παράγεται από τα γαλακτικά κύτταρα αποβάλλεται στην κοιλότητα που υπάρχει στο εσωτερικό της κάθε κυψελίδας και απομακρύνεται από αυτή με τους εκφορητικούς πόρους . Ομάδες 150-200 κυψελίδων ενώνονται με τους εκφορητικούς τους πόρους σε ένα κοινό τριχοειδή αγωγό και δίνουν την εικόνα ενός 'τσαμπιού σταφυλιού', το οποίο περιβάλλεται από συνδετικό ιστό και ονομάζεται λοβίο. Πολλά λοβία περιβάλλονται επίσης από συνδετικό ιστό και συνδέονται μεταξύ τους με ένα ευρύτερο αγωγό και σχηματίζουν το λοβό. Οι λοβοί εκβάλλουν σε ένα διευρυμένο σύστημα αγωγών, τους γαλακτικούς πόρους, οι οποίοι με τη σειρά τους ενώνονται και εκβάλλουν στο γαλακτικό κόλπο που βρίσκεται ακριβώς πάνω από τη γαλακτική θηλή. Στο γαλακτικό κόλπο εκβάλλουν 8-12 γαλακτικοί πόροι, ενώ ο κόλπος προεκτείνεται στη θηλή και διακρίνεται σε μαστικό και θηλαίο κόλπο. (Ανυφαντάκης, 2004).



Η κάθοδος του γάλακτος ξεκινάει αμέσως μετά τον τοκετό και συνεχίζεται καθ' όλη τη διάρκεια της γαλακτικής περιόδου.(Ανυφαντάκης, 2004). Κατά τις πρώτες 5-6 μέρες μετά τον τοκετό, παράγεται ένα κιτρινωπό έκκριμα από το μαστό των γαλακτοπαραγωγών αγελάδων που ονομάζεται πρωτόγαλα και χαρακτηρίζεται από μεγάλο ιξώδες και μοριακό βάρος, υψηλή οξύτητα και υπόπικρη και υφάλμυρη γεύση. Τα έκκριμα αυτό περιέχει μεγάλο αριθμό σωματικών κυττάρων και η χημική του σύσταση διαφέρει από αυτή του γάλακτος, όσο αφορά κυρίως την αναλογία των στερεών συστατικών και κυρίως αυτή των πρωτεϊνών. Όσον αφορά τις πρωτεΐνες, οι καζεΐνες βρίσκονται σε διπλάσια αναλογία από αυτή του φυσιολογικού γάλακτος και οι πρωτεΐνες του ορού σε δεκαπλάσια, το 60-70% των οποίων είναι οι ανοσοσφαιρίνες. Ο κύριος σκοπός της παραγωγής πρωτογάλακτος από την αγελάδα είναι ο εφοδιασμός του νεογέννητού με ανοσοσφαιρίνες (Μάντης, 2000). Η έκκριση του συνδέεται με την παραγωγή ορισμένων ορμονών (κυρίως ωκυτοκίνης), η οποία προκαλείται από διάφορα εξωτερικά ερεθίσματα (π.χ. μάλαξη μαστού, θέα και θόρυβο αμελκτικών σκευών κ.α.). Η ωκυτοκίνη παράγεται από τον οπίσθιο λοβό της υπόφυσης, μετά τη δράση του εξωτερικού ερεθίσματος, και μεταφέρεται με το αίμα (κυκλοφορικό σύστημα) στο μαστό, προκαλεί σύσπαση του μυοεπιθηλιακού πλέγματος των κυψελίδων και συντελεί στην κάθοδο του γάλακτος (Ανυφαντάκης, 2004).

Σύμφωνα με τον Ελληνικό Κώδικα Τροφίμων και Ποτών (Κ.Τ.Π. 1998), υπάρχει ο παρακάτω ορισμός για το γάλα:

*‘Γάλα είναι το απαλλαγμένο από πρωτόγαλα προϊόν του ολοσχερούς , χωρίς διακοπή αρμέγματος υγιούς γαλακτοφόρου ζώου, που ζει και τρέφεται υπό υγιεινούς όρους και που δεν βρίσκεται σε κατάσταση υπερκόπωσης’*

Σύμφωνα με το FAO/WHO(1973) :

*‘Γάλα είναι το φυσιολογικό έκκριμα του μαστού που παίρνεται μετά από μία ή δύο αμέλξεις χωρίς να προστεθεί ή να αφαιρεθεί τίποτε και προορίζεται για κατανάλωση σε υγρή μορφή ή για περαιτέρω επεξεργασία’*

Σύμφωνα με τον Κώδικα Γάλακτος των Η.Π.Α.(USDEW, 1953) :

*‘Γάλα είναι το έκκριμα του μαστού το οποίο είναι απαλλαγμένο από πρωτόγαλα, παίρνεται με άμελξη μίας ή περισσότερων υγιών αγελάδων και το οποίο περιέχει τουλάχιστον 3,15% λίπος και 8,25% στερεά συστατικά άνευ λίπους’*

Γενικά με τον όρο γάλα απλά χωρίς να συνδέεται με κάποιο επίθετο νοείται αποκλειστικά και μόνο το γάλα το οποίο προέρχεται από αγελάδα, είναι νωπό, πλήρες, δεν έχει υποστεί αφυδάτωση ή συμπύκνωση και δεν περιέχει άλλες ουσίες που έχουν προστεθεί απ’ έξω (Μάντης, 2000). Τα διάφορα είδη γάλακτος διαφέρουν στη σύσταση του. Τα κυριότερα συστατικά του γάλακτος είναι το νερό, το λίπος, οι πρωτεΐνες, η λακτόζη, τα διάφορα άλατα κ.α. (Ανυφαντάκης & Καλατζόπουλος, 1993). Το γάλα εκτός από αγελάδα μπορεί να προέρχεται και από προβατίνα, κατσίκια κ.α. θηλαστικά (Μαντής, 2000). Στον παρακάτω Πίνακα 1.1 φαίνεται η μέση σύσταση των διαφόρων ειδών γάλακτος

**Πίνακας 1. 1Μέση σύσταση του γάλακτος διαφόρων θηλαστικών (g/100g)  
(Mantis 2001)**

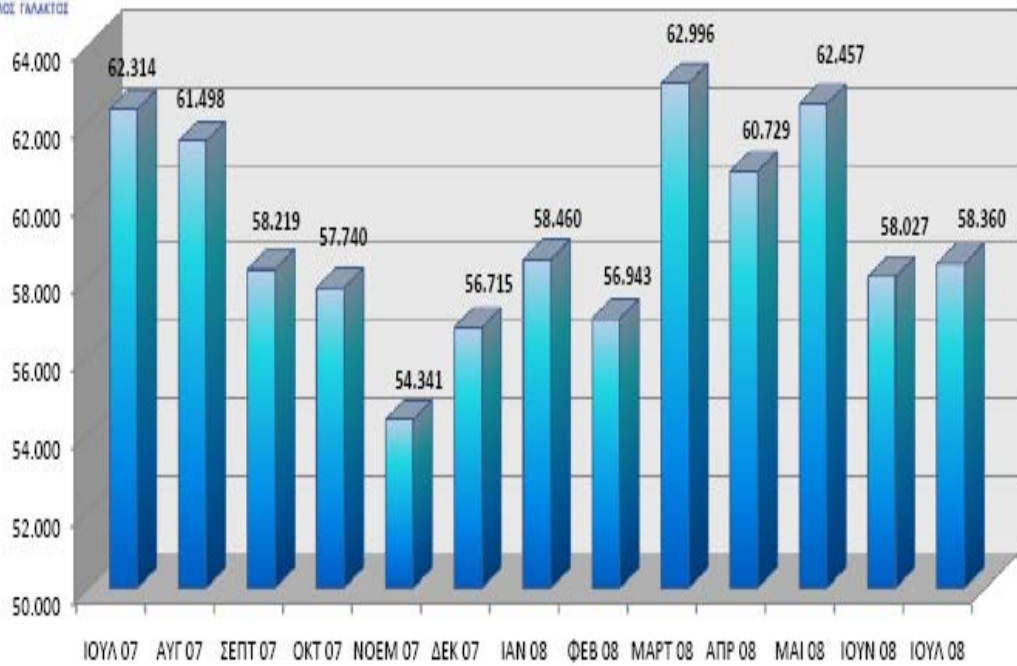
Είδος γάλακτος	Νερό	Λίπος	Πρωτεΐνες	Λακτόζη	Τέφρα	ΣΥΑΛ	Ολικά στερεά
Γίδινο	87,00	4,25	3,52	4,27	0,86	8,75	13,00
Αγελαδινό	87,2	3,70	3,50	4,90	0,70	9,10	12,80
Πρόβειο	80,71	7,90	5,23	4,81	0,90	11,39	19,29
Ανθρώπινο	87,43	3,75	1,63	6,98	0,21	8,82	12,57

Σε παγκόσμιο επίπεδο, το είδος του γάλακτος που παράγεται και καταναλώνεται περισσότερο είναι το αγελαδινό. Η παγκόσμια παραγωγή γάλακτος για το 2002 ανερχόταν σε 598.686.000 τόνους εκ των οποίων το αγελαδινό γάλα αντιστοιχεί σε ποσοστό 84%, το βουβαλίσιο σε 12%, και το αιγοπρόβειο σε 3% (1,98% κατσικίσιο και 1,3% πρόβειο) (Ανυφαντάκης, 2004). Σε κάθε ήπειρο, τα ποσοστά των διαφόρων ειδών γάλακτος αλλάζουν, π.χ. στην Ευρώπη κυριαρχεί το

αγελαδινό γάλα σε ποσοστό 42,3% σε σχέση με τα υπόλοιπες ηπείρους όπου αυτό το είδος γάλακτος βρίσκεται σε μικρότερα ποσοστά (Αμερική 28,8%, Ασία 19,7%, Αφρική 1,4% και Ωκεανία 5,1%) (FAOSTAT, 2002). Αξιοσημείωτη είναι η παραγωγή του βουβαλίσσιου γάλακτος στην Ασία η οποία καταλαμβάνει το 97,1% της παγκόσμιας παραγωγής, ενώ στην Ευρώπη και στην Αφρική η παραγωγή περιορίζεται στο 0,2% και 2,7% αντίστοιχα (FAOSTAT, 2002). Όσο αφορά το γίδινο γάλα, το 53% της παγκόσμιας παραγωγής προέρχεται από την Ασία ενώ το 20,9% από την Ευρώπη, το 23,1% από την Αφρική και το 3% από την Αμερική (FAOSTAT, 2002). Τέλος, σχετικά με το πρόβειο γάλα, το 43,6% της παγκόσμιας παραγωγής ανήκει στην Ασία, το 35,3% στην Ευρώπη και το 20,7% στην Ωκεανία, ενώ η Αμερική περιορίζεται στο 0,5% μόνο (FAOSTAT, 2002). Η παγκόσμια γαλακτοπαραγωγή αυξάνεται χρόνο με το χρόνο με αρκετά υψηλούς ρυθμούς, έτσι ώστε η παγκόσμια παραγωγή για το 2007 να ανέρχεται σε 612.000.000 τόνους.(FAOSTAT,2008).

Όσο αφορά την ελληνική γαλακτοπαραγωγή αυτή ανέρχεται στους 800.000 τόνους αγελαδινού γάλακτος (0,7% της ευρωπαϊκής παραγωγής), 700.000 τόνους πρόβειου γάλακτος (31,6% της ευρωπαϊκής παραγωγής) και 458.700 τόνους πρόβειου γάλακτος (31,1% της ευρωπαϊκής παραγωγής) (FAOSTAT, 2002). Σύμφωνα με τα έγκυρα στοιχεία του ΕΛ.Ο.Γ. η ελληνική παραγωγή αγελαδινού γάλακτος για το έτος 2007-2008 απεικονίζεται στο παρακάτω διάγραμμα:

**ΠΟΣΟΤΗΤΑ ΑΓΕΛΑΔΙΝΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΑΝΑ ΜΗΝΑ ΕΤΟΥΣ 2007-2008**



**Διάγραμμα 1.1: Ποσότητες αγελαδινού γάλακτος ανά μήνα το έτος 2007-2008.**

## **2.ΤΥΡΙ:ΤΡΟΠΟΣ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗΣ ΚΑΙ ΠΑΡΑΓΩΓΗ**

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, γίδινο και με διάφορες τεχνολογίες παρασκευής τους.

Σύμφωνα με τον Codex Alimentarius (FAO/WHO, 1973),έχουμε τον παρακάτω ορισμό για το τυρί:

*‘Τυρί είναι το νωπό ή ώριμο προϊόν που προέρχεται από στράγγιση, ύστερα από πήξη του πλήρους ή μερικώς αποβουτυρωμένου ή άπαχου γάλακτος ή βουτυρογάλακτος ή μίγματος ορισμένων ή όλων αυτών των προϊόντων.’*

Σύμφωνα με τον Ελληνικό Κώδικα Τροφίμων και Ποτών (1988), έχουμε τον παρακάτω ορισμό:

*‘ Ως τυρί ορίζεται το προϊόν που παράγεται από γάλα και αποτελεί προϊόν ωρίμανσης του πήγματος (στάλπης) που είναι απαλλαγμένο από το τυρόγαλα στον επιθυμητό κάθε φορά βαθμό και τα οποία παρασκευάστηκαν με την επενέργεια της πυτιάς ή άλλων ενζύμων που δρουν ανάλογα σε γάλα (νωπό ή παστεριωμένο αγελάδος, προβάτου, κατσίκας, βουβάλου ή μίγματα αυτών) ή σε μερικώς αποβουτυρωμένο γάλα ή σε μίγματα αυτών ή και σε μίγματα αυτών με κρέμα γάλακτος (αφρόγαλα)’.*

Ο παραπάνω ορισμός αναφέρεται στα τυριά από γάλα με ωρίμανση. Όμως εκτός από τα παραπάνω τυριά υπάρχουν και τα τυριά από γάλα χωρίς ωρίμανση με αλοιφώδη υφή και τυριά τυρογάλακτος με ή χωρίς ωρίμανση που ορίζονται με βάση τον Ελληνικό Κώδικα Τροφίμων και Ποτών ως εξής:

*‘Τα φρέσκα (νωπά) τυριά που παρασκευάζονται με την επενέργεια οξυγαλακτικών καλλιιεργειών βακτηρίων σε παστεριωμένο γάλα ή παστεριωμένο γάλα και παστεριωμένη κρέμα γάλακτος (αφρόγαλα) και των οποίων η υγρασία δεν υπερβαίνει το 75%’.*

*‘Τα τυριά τα οποία λαμβάνονται με ισχυρή θέρμανση τυρογάλακτος (με ή χωρίς οξίνιση) και με ή χωρίς προσθήκη γάλακτος (πρόσγαλα), γάλακτος και κρέμας γάλακτος (αφρόγαλα) και βρώσιμου χλωριούχου νατρίου (κοινώς αλάτι), τα οποία μπορούν να διατεθούν νωπά (φρέσκα)[μερικά από αυτά μπορούν να διατεθούν και με*

μερική αφυδάτωση (ξερά) και άλλα 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 επένεργεια της πυτιάς ή άλλων κατάλληλων πηκτικών μέσων (οξίνιση, θέρμανση) και αφού γίνει μερική στράγγιση του ορού του γάλακτος που προκύπτει μετά από μια τέτοια πήξη. Στην παρασκευή του τυριού εκτός από τις παραδοσιακές τεχνικές πήξης του γάλακτος (πυτιά, θερμοκρασία, οξίνιση) μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε και πιο εξελιγμένες τεχνικές επεξεργασίας που περιλαμβάνουν πήξη του γάλακτος ή/και προϊόντων που λαμβάνονται από γάλα και δίνουν ένα τελικό προϊόν παρόμοιο με παρόμοια χαρακτηριστικά με αυτό το οποίο έχει προκύψει με τις παραδοσιακές τεχνικές (Fox et al., 1999).

Βασικές πρώτες ύλες για την παραγωγή τυριών είναι: το γάλα, τα πηκτικά ένζυμα (πυτιά και υποκατάστατα αυτής), οξυγαλακτική καλλιέργεια, αλάτι, πρόσθετες ύλες (χρωστικές, προσθετικά, συντηρητικά). Η παρασκευή τυριού περιγράφεται συντόμως στο παρακάτω σχήμα:

**ΓΑΛΑ** → **ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ** → **1<sup>ο</sup> ΠΗΓΜΑ ΤΥΡΙΟΥ** → **ΩΡΙΜΑΝΣΗ** → **ΩΡΙΜΟ ΤΥΡΙ**

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 αφυδάτωση κ.α. που αποτελούν τα βασικά βήματα μιας τυροκόμησης, ανεξάρτητα από τον τύπο τυριού που θέλουμε να παρασκευάσουμε. Επομένως, σε αυτές τις εργασίες συνήθως εντάσσονται: η οξίνιση, η δημιουργία πήγματος, η αφυδάτωση αυτού (αυτή επιτυγχάνεται με τον τεμαχισμό του πήγματος σε κύβους, την πίεση αυτού, την ανάπλαση αυτού, τη θέρμανσή του, το αλάτισμα αυτού καθώς και άλλους τρόπους που διευκολύνουν τη συναίρεση του πήγματος), τη σχηματοποίηση του τυριού (με πίεση ή σε εκμαγείο) και τέλος το αλάτισμα του τελικού πήγματος (Fox et al., 1999).

Με άλλα λόγια, η δημιουργία του πρώτου πήγματος του τυριού είναι μια διαδικασία αφυδάτωσης κατά την οποία το λίπος και η καζεΐνη συμπυκνώνονται από 6 ως 12 φορές, ανάλογα με το είδος του τυριού. Η δημιουργία αυτού του πρώτου πήγματος συμβαίνει μετά την διάσπαση της κ-καζεΐνης από τα πρωτεολυτικά ένζυμα

της πυτιάς, κυρίως τη χυμοσίνη ή την πεψίνη ή άλλες μικροβιακής φύσεως πρωτεΐνες (Fox et al., 1999).

Για να καταλάβουμε καλύτερα αυτή τη διαδικασία της πήξης θα πρέπει να προσδιορίσουμε τη μονάδα του 'καζεϊνικού μικκυλίου' που αποτελεί τη βάση του πήγματος. Η μονάδα λοιπόν αυτού του καζεϊνικού μικκυλίου μπορεί να προσδιοριστεί ως μια σφαιροειδής κατασκευή που αποτελείται και από τους τέσσερις τύπους καζεϊνών ( $\alpha_{s1}$ ,  $\alpha_{s2}$ ,  $\beta$ ,  $\kappa$ ) και περιέχει και φωσφορικό ασβέστιο στην κολλοειδή μορφή του (Μάντη, 2000). Οι κ-καζεΐνες (υδρόφιλες) μαζί με τις  $\alpha_s$ -καζεΐνες (υδρόφοβες) φαίνεται να είναι τοποθετημένες στην επιφάνεια της παραπάνω σφαίρας έτσι ώστε να αποφεύγεται η συγκόλληση των ομοιοπολικών μορίων. Ενώ στο κέντρο της σφαίρας είναι τοποθετημένες οι  $\alpha_s$  και  $\beta$  καζεΐνες, οι οποίες είναι υδρόφοβα μόρια. Η σταθερότητα αυτών των μικκυλίων βασίζεται κυρίως στην διπολικότητα του μορίου της κ-καζεΐνης η οποία αποτελείται από ένα υδρόφοβο μόριο, την παρά-κα-καζεΐνη που συνδέεται με το υδροφοβικό εσωτερικό του μορίου του μικκυλίου) και από ένα υδρόφιλο μόριο, το μακροπεπτίδιο ή γλυκομακροπεπτίδιο (CMP ή GMP) το οποίο αντιδρά με το περιβάλλον διάλυμα ώστε να σταθεροποιεί το μικκύλιο σε αυτό. Συνήθως λοιπόν για να πετύχουμε την πήξη του γάλακτος σε τυρί αρκεί να σπάσουμε το μόριο της κ-καζεΐνης στο σημείο σύνδεσης μεταξύ της παρά-κ-καζεΐνης και του μακροπεπτιδίου. Στο αγελαδινό γάλα αυτό το σημείο βρίσκεται στο σημείο Phe<sub>105</sub>-Met<sub>106</sub>. Έτσι, όταν σπάσει αυτός ο δεσμός το μακροπεπτίδιο απελευθερώνεται στον όρο του γάλακτος και χάνεται η ιδιότητα του ως ισορροπιστής του διαλύματος με αποτέλεσμα να έχουμε το σχηματισμό πηγμάτων μεταξύ των μικκυλίων (Walstra et al., 1984).

Η παραπάνω διαδικασία στηρίζεται στην υδρόλυση του μορίου της κ-καζεΐνης η οποία επιτυγχάνεται συνήθως με τη βοήθεια των πηκτικών ενζύμων. Το κυριότερο από τα πηκτικά ένζυμα είναι η χυμοσίνη ή ρεννίνη, η οποία είναι μια ενδοπεπτιδάση με ισοηλεκτρικό σημείο σε pH=4,6-4,7 και υδατοδιαλυτή. Προέρχεται από το τέταρτο στόμαχο(ήνυστρο) των μικρών σε ηλικία μηρυκαστικών, πριν ξεκινήσει ο μηρυκασμός. Πιο συγκεκριμένα, στο ήνυστρο παράγεται το προ-ένζυμο, προ-ρεννίνη (ή προχυμοσίνη), το οποίο ενεργοποιείται στο όξινο περιβάλλον του στομάχου και με μια αυτοκαταλύτική αντίδραση μετατρέπεται στο ένζυμο χυμοσίνη. Όσο μεγαλώνει το μοσχάρι, μειώνεται η παραγωγή χυμοσίνης και αυξάνεται η παραγωγή πεψίνης, η οποία σε αντίθεση με τη χυμοσίνη δεν μπορεί να μεταβολίσει τις ανοσογλοβουλίνες

του πρωτογάλακτος (Ανυφαντάκης, 2004). Η χυμοσίνη λοιπόν υδρολύει τα μόρια των πρωτεϊνών του γάλακτος πεπτιδία (μικρά ή μεγάλα) τα οποία προσδίδουν τα διάφορα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά στο κάθε τυρί (ιδιαίτερη γεύση και άρωμα). Η ενεργότητα της χυμοσίνης μειώνεται με την αύξηση του pH, με το καλύτερη τιμή pH για την πλήρης πρωτεόλυση να είναι το 3,8. Όμως στο τυρί το optimum pH δράσης της χυμοσίνης είναι μεγαλύτερο από ότι θα ήταν όταν το ένζυμο βρισκόταν σε ένα υδατικό περιβάλλον (διάλυμα). Επίσης, σημαντικό ρόλο στην ενεργότητα του ενζύμου παίζει η θερμοκρασία, αφού σε θερμοκρασία πάνω από τους 40°C η χυμοσίνη αδρανοποιείται. Ακόμη, τα άλατα προστατεύουν την χυμοσίνη από το να αδρανοποιηθεί, γι' αυτό και οι τυτιές του εμπορίου περιλαμβάνουν μεγάλη αναλογία αλάτων (Walstra et al, 1984). Εκτός από την κ-καζεΐνη που περιγράψαμε παραπάνω το ρόλο της στη δημιουργία του πήγματος), η καθεμία από τις υπόλοιπες καζεΐνες διασπώνται σε διαφορετικούς χρόνους, σύμφωνα με την παρακάτω σειρά:  $\alpha_{s1} > \beta > \alpha_{s2}$ . Το αλάτι παρεμποδίζει την πρωτεολυτική δράση του ενζύμου, ιδίως πάνω στη β-καζεΐνη (Walstra et al., 1984).

Όπως καταλαβαίνουμε η πρωτεολυτική δράση της χυμοσίνης παίζει πολύ σημαντικό ρόλο στην ωρίμανση του τυριού, αφού είναι αυτή που ουσιαστικά δημιουργεί το πρώτο πήγμα, το οποίο αποτελεί τη βάση για το τελικό ώριμο προϊόν που αποτελεί το τυρί. Στο στάδιο της ωρίμανσης του τυριού, συμβαίνουν διάφορες βιοχημικές αντιδράσεις οι οποίες εξαρτώνται από το πήγμα το οποίο έχει ήδη δημιουργηθεί από τη δράση της χυμοσίνης, τα ενδογενή ένζυμα του γάλακτος, κυρίως πρωτεϊνάσες και λιπάσες, από τα L.A.B.-starters και τα ένζυμά τους και τέλος από τη φυσιολογική γλωρίδα και τα ένζυμα αυτών (Walstra et al., 1984). Οι κυριότερες λοιπόν βιοχημικές αντιδράσεις που συμβαίνουν κατά την ωρίμανση των τυριών είναι η πρωτεόλυση, λιπόλυση και η γλυκόλυση. Η πρωτεόλυση είναι ο κυριότερος δείκτης ωρίμανσης του τυριού και είναι ενδεικτικός της ποιότητας του τυριού. Για αυτό και υπάρχουν πολλοί τρόποι με τους οποίους μπορεί να προσδιοριστεί ο βαθμός πρωτεόλυσης ενός τυριού. Οι μέθοδοι προσδιορισμού της πρωτεόλυσης διακρίνονται σε ειδικές και μη ειδικές. Οι μη ειδικές μέθοδοι προσδιορισμού των πρωτεϊνών στηρίζονται στη μέτρηση του υδατοδιαλυτού αζώτου σε σχέση με το ολικό άζωτο του τυριού. Οι μέθοδοι αυτοί προσδιορισμού είναι ποσοτικές και στηρίζονται στη μέτρηση των υδατοδιαλυτών αζωτούχων στοιχείων (π.χ. Kjeldahl, Lowry, Hull) είτε στη μέτρηση των α-αμινοομάδων οι οποίες προκύπτουν από τις αντιδράσεις με



διάφορα αντιοδραστήρια (π.χ: TNBS(TriNitroBenzene Sulphonic Acid), fluorescamine, κ.α.). Αυτές οι μη ειδικές μέθοδοι είναι αρκετά εύκολες και ενδεικτικές της ωρίμανσης του τυριού, αφού το υδατοδιαλυτό άζωτο σχετίζεται περισσότερο με την ωρίμανση του τυριού παρά με την ποιότητά του. Εκτός όμως από τις μη ειδικές μεθόδους υπάρχουν και οι ειδικές μέθοδοι οι οποίες επιτρέπουν την παρακολούθηση του βαθμού πρωτεόλυσης ορισμένων συγκεκριμένων καζεϊνών και την αναγνώριση ορισμένων πεπτιδίων που σχηματίζονται. Οι κυριότερες τεχνικές που χρησιμοποιούνται για την αναγνώριση ορισμένων πρωτεϊνών είναι η χρωματογραφία και η ηλεκτροφόρηση. Όσο αφορά την χρωματογραφία χρησιμοποιούνται πολλά είδη, όπως π.χ. λεπτής στοιβάδας (thin layer), ανταλλαγής ιόντων (ion exchange), προσρόφησης σε gel (gel permeation), H.P.L.C. Ενώ όσο αφορά την ηλεκτροφόρηση, κυρίως χρησιμοποιούνται οι alkaline-urea P.A.G.E., SDS-PAGE και είναι ενδεικτική της κύριας πρωτεόλυσης στα τυριά( κατά την ωρίμανση τους) (Fox et al.,2000).

Οι παραπάνω αντιδράσεις που συμβαίνουν κατά την περίοδο της ωρίμανσης στο τυρί έτσι ώστε να προσδίδουν τα διάφορα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (άρωμα, γεύση, υφή) σε αυτό εξαρτώνται από το ποσοστό υγρασίας, την ποσότητα του αλατιού, το pH καθώς και η μικροβιακή χλωρίδα του τυριού. Τέλος, η δημιουργία του κάθε είδους τυριού εξαρτάται και από το είδος του γάλακτος ( αγελαδινό, γιδινό, πρόβειο), τη χημική σύσταση αυτού, την ατομικότητα του ζώου από το οποίο προέρχεται, τον τρόπο και το είδος διατροφής αυτού, τον τρόπο και τις συνθήκες συλλογής του γάλακτος (Ανυφαντάκης, 2004).

Από την παγκόσμια παραγωγή γάλακτος το 76% παραδίδεται στις γαλακτοβιομηχανίες και μεταποιείται στα διάφορα προϊόντα, ενώ το υπόλοιπο 24% αξιοποιείται από τις κτηνοτροφικές εκμεταλλεύσεις. Από το γάλα που επεξεργάζονται οι γαλακτοβιομηχανίες το 26% περίπου χρησιμοποιείται για την παραγωγή γάλακτος κατανάλωσης και φρέσκων προϊόντων, ενώ το υπόλοιπο χρησιμοποιείται για την παραγωγή συμπυκνωμένου γάλακτος, γάλακτος σκόνης, τυριού, βουτύρου και προϊόντων τυρογάλακτος. Όσο αφορά τα ελληνικά δεδομένα, το πρόβειο και το γίδινο γάλα χρησιμοποιείται σε ποσοστό 85% και 70% αντίστοιχα, για τυροκόμηση, ενώ το αγελαδινό γάλα σε ποσοστό 65%. Συγκεκριμένα, για το 2001,στην Ελλάδα παράχθηκαν 229.491 τόνοι τυριών από τους οποίους το 90% προέρχονταν από αιγοπρόβειο γάλα και μόνο το 10% από αγελαδινό (Ανυφαντάκης, 2004).

### **3.ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΤΥΡΙΩΝ- Π.Ο.Π. ΤΥΡΙΑ**

Η κατηγοριοποίηση των τυριών είναι ένα αρκετά δύσκολο εγχείρημα, λόγω της ύπαρξης ενός μεγάλου αριθμού τυριών που έχουν κατασκευαστεί με διαφορετικές τεχνολογίες και από διαφορετικές πρώτες ύλες. Στο παρελθόν, πολλοί ερευνητές προσπάθησαν να κατατάξουν τα περίπου 2000 είδη τυριών σε κάποιες κατηγορίες σύμφωνα με κάποια κοινά χαρακτηριστικά τους.

Από τις πρώτες προσπάθειες κατάταξης των τυριών είναι αυτή του Schulz, ο οποίος διαφοροποιήθηκε από τις μέχρι τότε προσπάθειες κατάταξης σύμφωνα μόνο με τις τεχνολογίες παρασκευής των τυριών. Αυτός λοιπόν πρότεινε ένα διαφορετικό τρόπο διαχωρισμού των τυριών, σύμφωνα με το ποσοστό υγρασίας( υγρασία σε άπαχο(fat-free) τυρί) σε αυτά. Έτσι, έχουμε τις πέντε παρακάτω κατηγορίες: α) Ξηρά Τυριά (Dried, με ποσοστό υγρασίας <40%), β) Τυριά για τρίψιμο (Grated, με ποσοστό υγρασίας 40-49,9%), γ) Σκληρά τυριά (Hard, με ποσοστό υγρασίας 50-59,9%), δ) Μαλακά τυριά (Soft, με ποσοστό υγρασίας 60-69%) και ε) Φρέσκα τυριά ( Fresh, με ποσοστό υγρασίας 70-82%). Η καθεμία από τις παραπάνω τέσσερις κατηγορίες( τυριά για τρίψιμο, σκληρά, μαλακά, φρέσκα) υποδιαιρούνται σε 2 υποκατηγορίες ανάλογα με το αν έχουν υποστεί κάποιες επεξεργασίες όπως συμπίεση, θερμική επεξεργασία. Ακόμη, οι παραπάνω 8 κατηγορίες διαιρούνται ακόμη περισσότερο σε 6 με βάση τη συγκέντρωση του ασβεστίου στο σύνολο των στερεών συστατικών ελεύθερων από λίπος και χλωριούχο νάτριο. Έτσι έχουμε τις εξής κατηγορίες ανάλογα με το ρυθμό και επίπεδο οξύτητας των τυριών: α)>2,5%, β)2,1-2,5%, γ)1,6-2%, δ)1,1-1,5%, ε)0,6-1%, στ)<0,6%.

Επίσης, ο Davis στην προσπάθεια του να κατατάξει τα τυριά, προτείνει διάφορα κριτήρια διαχωρισμού τους. Ένα από τα βασικά κριτήριά του είναι το ποσοστό υγρασία σε συνδυασμό με τις ρεολογικές ιδιότητες και γενικά τις τεχνολογία παρασκευής αυτών. Έτσι έχουμε τις παρακάτω κατηγορίες:

1. Μαλακά τυριά (Quarg, Cottage, Cream): Καταναλίσκονται σε λίγες μέρες μετά την παρασκευή τους, αν δεν ωριμάσουν ή σε λίγες εβδομάδες αν υποστούν ωρίμανση. Κατακρατούν στη μάζα τους σημαντική ποσότητα τυρογάλακτος και η τελική υγρασία τους κυμαίνεται από 40% και πάνω. Τα κύρια χαρακτηριστικά της τεχνολογία παρασκευής τους είναι:
  - Πήξη του γάλακτος με λίγη ή χωρίς καθόλου πυτιά.

- Χαμηλή θερμοκρασία πήξης.
  - Ατελής ή καθόλου διαίρεση του τυροπήγματος.
  - Ελάχιστη ή καθόλου αναθέρμανση του τυροπήγματος.
  - Στράγγιση με τη βαρύτητα, που διαρκεί συνήθως 1-2 μέρες.
  - Καμία εφαρμογή πίεση κατά την δημιουργία τους.
  - Ανάπτυξη αρώματος γαλακτικής ζύμωσης.
  - Περιορισμένη πρωτεόλυση ή/και λιπόλυση.
  - Ανάπτυξη υψηλής οξύτητας ως συνέπεια της διατήρησης στο τυρόπηγμα αξιόλογης ποσότητας τυρογάλακτος. (Αυτό δεν ισχύει για τα τυριά αυτού του τύπου, των οποίων το τυρόπηγμα υφίστανται έκπλυση, π.χ. Cottage).
2. Ημίκληρα τυριά (Taleggio, Limburg, Romadur): Καταναλώνονται μέσα σε 2-3 μήνες από την παρασκευή τους. Η υγρασία τους κυμαίνεται συνήθως μεταξύ 36-40%. Τα κύρια χαρακτηριστικά αυτών είναι :
- Πήξη του γάλακτος με πυτιά.
  - Μέτρια θερμοκρασία πήξης.
  - Μέτρια διαίρεση του πήγματος.
  - Αναθέρμανση του πήγματος για βραχύ χρονικό διάστημα σε μέτριες θερμοκρασίες.
  - Εφαρμογή μέτριας πίεσης στα τυριά κατά την παρασκευή τους.
  - Ταχεία ωρίμανση.
  - Πλούσιο και μερικές φορές πολύ έντονο άρωμα.
3. Σκληρά τυριά (Cheddar, Cheshire, Cantal, Emmental): Είναι η πιο διαδεδομένη κατηγορία στην παγκόσμια παραγωγή τυριών. Η υγρασία τους κυμαίνεται μεταξύ 25-36%. Τα κύρια χαρακτηριστικά αυτών είναι:
- Πήξη του γάλακτος με πυτιά.
  - Μέτρια θερμοκρασία πήξης.
  - Διαίρεση του πήγματος σε μικρούς κόκκους.
  - Αναθέρμανση του τυροπήγματος σε υψηλή θερμοκρασία με παρατεταμένη και έντονη ανάδευση του στο τυρόγαλα.
  - Χρήση γάλακτος με ορισμένο βαθμό οξίνισης.
  - Εφαρμογή υψηλής πίεσης στα νωπά τυριά για 1-3 μέρες.

4. Πολύ σκληρά τυριά (Grana, Parmesan): Ωριμάζουν πολύ πιο αργά όλες τις προηγούμενες κατηγορίες και διατηρούνται περισσότερο. Με την πάροδο του χρόνου δεν επηρεάζονται άμεσα, απλώς θα πρέπει να σημειωθεί ότι γίνονται πιο σκληρά, πιο ξηρά και με σκοτεινότερη απόχρωση. Το ποσοστό υγρασίας τους κυμαίνεται περίπου στο 25% και χαμηλότερα. Τα κύρια χαρακτηριστικά της παρασκευής τους είναι:

- Διαίρεση του τυροπήγματος σε πολύ μικρούς κόκκους.
- Αναθέρμανση σε πολύ υψηλή θερμοκρασία( $\theta=52-58^{\circ}\text{C}$ ).
- Παρατεταμένη ανάδευση του τυροπήγματος μετά την αναθέρμανση.
- Χρησιμοποίηση συνήθως ειδικών ενζυμικών παρασκευασμάτων.

Εκτός από τον Davis, και ο Kosikowski διαχώρισε τα τυριά στις παραπάνω 4 κατηγορίες, δίνοντας όμως διαφορετικά όρια των ποσοστών υγρασίας για τη καθεμία. Έτσι έχουμε: α) Μαλακά: Τυριά με πολύ υψηλό ποσοστό υγρασίας(55-80%), β) Ημίσκληρα: Τυριά με υψηλή υγρασία(45-55%), γ) Σκληρά: Τυριά με μέση υγρασία(34-45%) και δ) Πολύ σκληρά: Τυριά με χαμηλή υγρασία(31-34%).

Ακόμη, στις παραπάνω κατατάξεις τυριών μπορεί να προστεθεί και αυτή των Walter και Hagrove, σύμφωνα με την οποία έχουμε:

- i. ΠΟΛΥ ΣΚΛΗΡΑ ΤΥΡΙΑ: τα τυριά που ωριμάζουν με βακτήρια, όπως *Parmesan, Romano κ.α*)
- ii. ΣΚΛΗΡΑ ΤΥΡΙΑ: τα τυριά που ωριμάζουν με βακτήρια, τα οποία μπορούν να σχηματίζουν στη μάζα του οπέζ(π.χ. *Emmental, Gryere*) ή όχι(π.χ. *Cheddar, Granular*).
- iii. ΗΜΙ-ΜΑΛΑΚΑ: τα τυριά που ωριμάζουν κυρίως με βακτήρια(*Brick, Munster*) ή με βακτήρια και μικροοργανισμούς που αναπτύσσονται στην επιφάνεια των τυριών(*Limburger, Trappist*).
- iv. ΜΑΛΑΚΑ: τα τυριά που ωριμάζουν(*Bel Paese, Brie, Camembert*) και αυτά που δεν ωριμάζουν(*Cottage, Pot, Cream, Ricotta*).

Εκτός από τις παραπάνω ταξινομήσεις τυριών υπάρχουν και πολλές άλλες ακόμη από διάφορους ερευνητές. Η κατάταξη όμως που ίσως μας ενδιαφέρει περισσότερο είναι αυτή που έχει θεσπιστεί από την ευρωπαϊκή

Νομοθεσία και τον Κώδικα Τροφίμων και Ποτών του κάθε κράτους. Πιο συγκεκριμένα, σύμφωνα με τον Ελληνικό Κώδικα Τροφίμων και Ποτών, έχουμε την παρακάτω κατάταξη τυριών (Πίνακας 1.2):

**Πίνακας 1.2: Κατηγορίες τυριών και χαρακτηριστικά τους.**

ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΤΥΡΙΩΝ	ΠΟΙΟΤΗΤΕΣ	ΥΓΡΑΣΙΑ(%) ΜΕΓΙΣΤΗ	ΛΙΠΟΣ(%)Ξ.Ο ΕΛΑΧΙΣΤΟ
1)ΤΥΡΙΑ ΦΡΕΣΚΑ(χωρίς ωρίμανση με αλοιφώδης υφή)	ΕΞΑΙΡΕΤΙΚΗ	58%	70%
	ΠΡΩΤΗ	62%	60%
	ΔΕΥΤΕΡΗ	75%	60%
	ΜΕΡΙΚΩΣ ΑΠΟΒΟΥΤΥ ΡΩΜ.	75%	50%
2)ΤΥΡΙΑ ΠΟΥ ΩΡΙΜΑΖΟΥΝ			
ΠΟΛΥ ΣΚΛΗΡΑ	ΕΞΑΙΡΕΤΙΚΗ	30%	50%
	ΠΡΩΤΗ	32%	45%
	ΔΕΥΤΕΡΗ	32%	32%
	ΜΕΡΙΚΩΣ ΑΠΟΒΟΥΤΥ ΡΩΜ.	32%	20-32%
ΣΚΛΗΡΑ	ΕΞΑΙΡΕΤΙΚΗ	35%	47%
	ΠΡΩΤΗ	38%	40%
ΣΚΛΗΡΑ	ΔΕΥΤΕΡΗ	38%	32%
	ΜΕΡΙΚΩΣ ΑΠΟΒΟΥΤΗ ΡΩΜ.	38%	20-32%

ΗΜΙΣΚΛΗΡΑ	ΕΞΑΙΡΕΤΙΚΗ	40%	50%
	ΠΡΩΤΗ	40%	40%
	ΔΕΥΤΕΡΗ	46%	30%
	ΜΕΡΙΚΩΣ ΑΠΟΒΟΥΤΗ ΡΩΜ.	46%	20-30%
ΜΑΛΑΚΑ (Τελεμές, ΕΚΤΟΣ των Λευκών τυριών Άλμης)	ΕΞΑΙΡΕΤΙΚΗ	54%	46%
	ΠΡΩΤΗ	56%	43%
	ΔΕΥΤΕΡΗ	58%	35%
	ΜΕΡΙΚΩΣ ΑΠΟΒΟΥΤΗ ΡΩΜ.	58%	23,8-35%
3) ΤΥΡΙΑ ΤΥΡΟΓΑΛΑΚΤ ΟΣ	ΕΞΑΙΡΕΤΙΚΗ	60%	70%
	ΠΡΩΤΗ	65%	65%
	ΔΕΥΤΕΡΗ	70%	50%
	ΜΕΡΙΚΩΣ ΑΠΟΒΟΥΤΥ ΡΩΜ.	70%	33,3-50%

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 είδος τυριού. Ο χαρακτηρισμός ‘Εξαιρετική’ ποιότητα δεν φαίνεται να είναι αντικειμενικός, αφού ουσιαστικά συμπίπτει με το μεγαλύτερο ποσοστό λίπους της ξηρής ουσίας και με το μικρότερο ποσοστό υγρασίας στο εκάστοτε είδος τυριού. Αυτή επομένως κατάταξη των τυριών σε ποιότητες δεν

είναι αποδεκτοί ούτε από τους καταναλωτές, ούτε και από τους διαιτολόγους. Μπορούμε να πούμε, λοιπόν, ότι στην πράξη έχει καταργηθεί ο παραπάνω διαχωρισμός, αφού η ποιότητα ενός τυριού εξαρτάται και από άλλους παράγοντες εκτός από την υγρασία και το λίπος.

Εκτός από την Ελληνική Νομοθεσία πάνω στα τυριά υπάρχουν και Διεθνείς Κανονισμοί και πιο συγκεκριμένα ένας Κώδικας Αρχών που έχει διαμορφωθεί από τον Οργανισμό Τροφίμων και Γεωργίας (F.A.O.) και τον την Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας (W.H.O.) σχετικά με τον έλεγχο τροφίμων, μεταξύ των οποίων συμπεριλαμβάνεται και το γάλα. Ο Κώδικας αναμορφώνεται και εκσυγχρονίζεται συνεχώς και αποτελεί το θεμέλιο για την νομοθεσία κάθε κράτους πάνω στα τρόφιμα και συγκεκριμένα στα γαλακτοκομικά προϊόντα. Τα τελευταία χρόνια η Ευρωπαϊκή Ένωση προσπαθεί να βελτιώσει τις προδιαγραφές του γάλακτος που προορίζεται για κατανάλωση καθώς και αυτού που προορίζεται για τυροκόμηση και κατά συνέπεια να βελτιωθεί και οι ποιότητα των τυροκομικών προϊόντων που προέρχονται από αυτό.

Ο F.A.O. λοιπόν σε συνεργασία με τον W.H.O., το 2002, εκδώσαν την παρακάτω 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 ωρίμανσής τους. Οι συντελεστές που αφορούν την υγρασία και το λίπος είναι οι παρακάτω:

$$\text{MFFB} = \frac{\text{ΒΑΡΟΣ ΥΓΡΑΣΙΑΣ ΣΤΟ ΤΥΡΙ}}{\text{ΣΥΝΟΛΙΚΟ ΒΑΡΟΣ ΤΥΡΙΟΥ} - \text{ΒΑΡΟΣ ΛΙΠΟΥΣ ΣΤΟ ΤΥΡΙ}} * 100$$

$$\text{FDM} = \frac{\text{ΛΙΠΟΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΣΤΟ ΤΥΡΙ}}{\text{ΣΥΝΟΛΙΚΟΣ ΒΑΡΟΣ ΤΥΡΙΟΥ} - \text{ΒΑΡΟΣ ΥΓΡΑΣΙΑΣ ΣΤΟ ΤΥΡΙ}} * 100$$

Επομένως με βάση τους παραπάνω συντελεστές υγρασίας και λίπους και τον τρόπο ωρίμανσης έχουμε την παρακάτω κατάταξη, στον Πίνακα 1.3:

**Πίνακας 1.3: Κριτήρια κατάταξης τυριών και τρόπος ωρίμανσης αυτών**

ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΚΑΤΑΤΑΞΗΣ				ΤΡΟΠΟΣ ΩΡΙΜΑΝΣΗΣ
ΣΥΝΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ		ΛΙΠΟΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ		
MFFB	ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ	FDB	ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ	ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ
<51%	ΠΟΛΥ ΣΚΛΗΡΟ	>60%	ΥΨΗΛΗΣ ΛΙΠΟΠ.	ΩΡΙΜΑΣΜΕΝΟ
49- 56%	ΣΚΛΗΡΟ	45- 60%	ΠΛΗΡΕΣ	ΩΡΙΜΑΣΜΕΝΟ ΜΕ ΜΥΚΗΤΕΣ
54- 69%	ΗΜΙΣΚΛΗΡΟ	25- 45%	ΜΕΣΗΣ ΛΙΠΟΠΕΡ.	ΣΕ ΑΛΜΗ
>67%	ΜΑΛΑΚΟ	10- 25%	ΧΑΜΗΛΗΣ ΛΙΠ.	
		<10%	ΑΠΑΧΟ	

Σήμερα, η παγκοσμίως αποδεκτή κατάταξη των τυριών είναι αυτή του F.A.O./W.H.O. Τα τυριά όμως που περιλαμβάνονται σε αυτές τις κατηγορίες, προέρχονται από διαφορετικά κράτη, και είναι παρασκευασμένα με διαφορετικές τεχνολογίες και από διαφορετικές πρώτες ύλες. Η απαίτηση του κάθε κράτους, λοιπόν, να διαφυλάξει την τυροκομική του παράδοσή και ιστορία με τέτοιο τρόπο ώστε να αποφευχθούν οι τυχόν απομιμήσεις των προϊόντων του οδήγησε την Ευρωπαϊκή Ένωση στη θέσπιση ενός Κανονισμού για τα τυριά Προστατευμένης Ονομασία Προέλευσης (Π.Ο.Π.). Σύμφωνα με τον Κανονισμό E.O.K. 2081/92, ορίζεται το νομικό πλαίσιο για την προστασία των γεωγραφικών ενδείξεων και ονομασιών προέλευσης των γεωργικών προϊόντων και τροφίμων που παρουσιάζουν ορισμένα πρωτότυπα χαρακτηριστικά. Σε επίπεδο γεωγραφικής αναφοράς, έχουμε 2 διαφορετικές περιοχές, οι Προστατευόμενες Ονομασίες Προέλευσης (Π.Ο.Π.) και οι Προστατευόμενες Γεωγραφικές Ενδείξεις (Π.Γ.Ε.). Ως Π.Ο.Π. θεωρούνται ορισμένες παραδοσιακές γεωγραφικές ή μη ονομασίες μιας περιοχής ή ενός συγκεκριμένου τόπου, οι οποίες πληρούν ορισμένες προϋποθέσεις που καθορίζονται. Για να δικαιούται ένα γεωργικό προϊόν ή τρόφιμο την ονομασία Π.Ο.Π. ή Π.Γ.Ε. θα πρέπει



να έχει πρωτότυπα χαρακτηριστικά , να ανταποκρίνεται σε ορισμένες προδιαγραφές και να έχει εγγραφεί ύστερα από αίτηση των ενδιαφερομένων σε ειδικά μητρώα που τηρεί μια Επιτροπή της Ευρωπαϊκής Ένωσης με τίτλο ‘Μητρώο Προστατευόμενων Ονομασιών Προέλευσης και Προστατευόμενων Γεωγραφικών Ενδείξεων’.

Η Ελλάδα αξιοποίησε αυτό τον Κανονισμό σε ικανοποιητικό επίπεδο αφού υπέβαλε αίτηση για διάφορα προϊόντα μεταξύ των οποίων και 25 τυριά από τα οποία κατοχυρώθηκαν τα 20. Τα τυριά αυτά θα πρέπει να καλύπτουν ορισμένες προϋποθέσεις σχετικά με το είδος του γάλακτος από το οποίο παρασκευάζονται, τη μέγιστη υγρασία τους και την ελάχιστη λιποπεριεκτικότητάς τους επί ξηρού. Τα Π.Ο.Π τυριά της Ελλάδας φαίνονται στον παρακάτω Πίνακα 1.4:

**Πίνακας 1.4: Ελληνικά τυριά(Π.Ο.Π.)**

ΟΝΟΜΑ ΤΥΡΙΟΥ	ΕΙΔΟΣ ΓΑΛΑΚΤΟΣ	ΜΕΓΙΣΤΗ ΥΓΡΑΣΙΑ(%)	ΕΛΑΧΙΣΤΟ ΛΙΠΟΣ Ξ.Ο.(%)
<b>ΤΥΡΙΑ ΑΛΜΗΣ</b>			
ΦΕΤΑ	Πρόβειο-Γίδινο	56%	43%
ΚΑΛΑΘΑΚΙ ΛΗΜΝΟΥ	Πρόβειο-Γίδινο	56%	43%
ΣΦΕΛΛΑ	Πρόβειο-Γίδινο	45%	40%
ΜΠΙΑΤΖΟΣ	Πρόβειο-Γίδινο	45%	25%
<b>ΜΑΛΑΚΑ ΤΥΡΙΑ</b>			
ΓΑΛΟΤΥΡΙ	Πρόβειο-Γίδινο	75%	40%
ΚΑΤΙΚΙ ΔΟΜΟΚΟΥ	Πρόβειο-Γίδινο	75%	40%
ΠΗΧΤΟΓΑΛΟ ΧΑΝΙΩΝ	Πρόβειο-Γίδινο	65%	50%
ΑΝΕΒΑΤΟ	Πρόβειο-Γίδινο	60%	45%

ΚΟΠΑΝΙΣΤΗ	Πρόβειο- Γίδινο – Αγελαδινό	56%	43%
<b>ΗΜΙΣΚΛΗΡΑ ΤΥΡΙΑ</b>			
ΚΑΣΕΡΙ	Πρόβειο-Γίδινο	40%	40%
<b>ΣΚΛΗΡΑ ΤΥΡΙΑ</b>			
ΚΕΦΑΛΟΓΡΑΒΙΕΡΑ	Πρόβειο-Γίδινο	40%	40%
ΓΡΑΒΙΕΡΑ ΑΓΡΑΦΩΝ	Πρόβειο-Γίδινο	38%	40%
ΓΡΑΒΙΕΡΑ ΚΡΗΤΗΣ	Πρόβειο-Γίδινο	38%	40%
ΓΡΑΒΙΕΡΑ ΝΑΞΟΥ	Αγελαδινό	38%	40%
ΛΑΔΟΤΥΡΙ ΜΥΤΗΛΗΝΗΣ	Πρόβειο-Γίδινο	38%	40%
ΜΕΤΣΟΒΟΝΕ	Αγελαδινό ή Αγελαδινό- Πρόβειο-Γίδινο	38%	40%
ΣΑΝ ΜΙΧΑΛΗ	Αγελαδινό	40%	36%
ΦΟΡΜΑΕΛΛΑ ΠΑΡΝΑΣΣΟΥ	Πρόβειο-Γίδινο	50%	40%
<b>ΤΥΡΙΑ ΤΥΡΟΓΑΛΑΚΤΟΣ</b>			
ΜΑΝΟΥΡΙ	Πρόβειο-Γίδινο	60%	70%
ΕΙΝΟΜΥΖΗΘΡΑ ΚΡΗΤΗΣ	Πρόβειο-Γίδινο	55%	45%

Όπως παρατηρούμε από τον παραπάνω πίνακα, τα περισσότερα Π.Ο.Π. τυριά της Ελλάδας παρασκευάζονται από αιγοπρόβειο γάλα. Αυτό το γεγονός δικαιολογείται

από την υψηλή παραγωγή που έχει η χώρα μας σε παγκόσμιο επίπεδο σε αυτό το είδος γάλακτος. Εξάλλου, οι εδαφοκλιματικές συνθήκες της χώρας μας ευνοούσαν την εκτροφή μικρών μηρυκαστικών σε σχέση με τα βοοειδή (Ανυφαντάκης, 2004). Επομένως, η πρωτοτυπία των ελληνικών Π.Ο.Π. τυριών συνδέεται άμεσα με τον τόπο καταγωγής τους και προσδίδει στη χώρα μας το δικαίωμα να έχει το μονοπώλιο της παραγωγής τους. Τέλος σημειώνεται ότι ο παραπάνω Κανονισμός είναι ανοιχτός και μπορούν συνεχώς διάφοροι συνεταιρισμοί ή και ιδιώτες να υποβάλλουν αίτηση για την κατοχύρωση της ονομασίας ενός προϊόντος αρκεί να ακολουθεί κάποια παραδοσιακά και πρωτότυπα χαρακτηριστικά κατά την παρασκευή του και να προέρχεται από πρώτες ύλες που παράγονται σε ορισμένη οριοθετημένη περιοχή (Ανυφαντάκης, 2004).

Όσο αφορά την οριοθετημένη περιοχή, μπορούμε να δώσουμε ορισμένα παραδείγματα Π.Ο.Π. τυριών, π.χ. η κεφαλογραβιέρα μπορεί να παρασκευαστεί από πρόβειο, γίδινο γάλα ή μίγμα αυτών με το ποσοστό του γίδινου να μην ξεπερνάει το 10%, που προέρχονται από τις περιοχές της Δυτικής Μακεδονίας, της Ηπείρου, του νομού Αιτωλοακαρνανίας και του νομού Ευρυτανίας. Ακόμη, το κασέρι θα πρέπει να παρασκευάζεται από γάλα πρόβειο ή μίγμα του με γίδινο μέχρι ποσοστό 20% το οποίο παράγεται από τις περιοχές της Μακεδονίας, της Θεσσαλίας και των νομών Ξάνθης και Λέσβου, η Σφέλα παράγεται από πρόβειο, γίδινο γάλα ή μίγμα τους των περιοχών της Μεσσηνίας και Λακωνίας. Επίσης, το Σαν Μιχάλη παράγεται με παραδοσιακό τρόπο από αγελαδινό γάλα της Σύρου, του Νομού Κυκλάδων. Ο παραδοσιακός τρόπος παρασκευής αυτού του τυριού περιλαμβάνει την πήξη του γάλακτος σε θερμοκρασία 32-34°C και στη συνέχεια την αναθέρμανσή του τυροπήγματος στους 48-50°C, το αλάτισμά του, την τοποθέτησή του σε καλούπια όπου ασκείται ισχυρή πίεση. Έπειτα τα κεφάλια τοποθετούνται σε άλμη ( $\theta=10-14^{\circ}\text{C}$ , 18-20Be) για 12 μέρες και στη συνέχεια μεταφέρονται σε θαλάμους με θερμοκρασία 14-16°C και σχετική υγρασία 85%, όπου ωριμάζει για 4 μήνες τουλάχιστον. Ένα ακόμη Π.Ο.Π. τυρί άλμης που παρασκευάζεται με παραδοσιακό τρόπο είναι ο Μπάτζος. Το τυρί αυτό παρασκευάζεται από γάλα πρόβειο, γίδινο ή μίγμα αυτών των περιοχών της Δυτικής και Κεντρικής Μακεδονίας και Θεσσαλίας, το οποίο αφού αποκορυφωθεί μερικώς πήζεται με πυτιά στους 32°C και στη συνέχεια διαιρείται σε πολύ μικρά τεμάχια το τηρόπηγμα και αφήνεται να κατακαθίσει σε λέβητα για 30 λεπτά περίπου. Ακολουθεί ανάδευση και αναθέρμανση του τυροπήγματος στους

45°C, το οποίο εξάγεται με τη χρήση τυρόπανων και στραγγίζεται. Την επόμενη μέρα το τυρόπηγμα κόβεται σε φέτες αλατίζεται επιφανειακά με χονδρόκοκκο αλάτι και μετά από πέντε περίπου μέρες τοποθετείται σε λευκοσιδηρά δοχεία με άλμη 12% όπου και παραμένει σε ψυγεία μέχρι και 3 μήνες για ωρίμανση. Τέλος, το πιο διάσημο από τα Π.Ο.Π. τυριά άλμης της Ελλάδας είναι η Φέτα , η οποία παράγεται από πρόβειο ή γίδινο γάλα ή μίγμα αυτών που προέρχεται από όλο τον κορμό της Ηπειρωτικής Ελλάδας και το νησί της Λεσβου (Μάντης,2000).

Όπως καταλαβαίνουμε το καθένα τυρί Π.Ο.Π. έχει διαφορετική τεχνολογία παρασκευής, οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και προέρχεται από ξεχωριστή γεωγραφική περιοχή της Ελλάδας. Αντίστοιχα Π.Ο.Π. τυριά υπάρχουν και σε άλλες χώρες, π.χ. στη Γαλλία τα Roquefort, Camembert και στην Ιταλία Gorgonzola, Mozzarella di Bufala Campana.

#### **4.ΦΡΕΣΚΑ ΤΥΡΙΑ**

Στη συγκεκριμένη μελέτη, θα ασχοληθούμε με τα φρέσκα τυριά τα οποία έχουν πολύ μικρό χρόνο ωρίμανσης και καταναλώνονται σε σχετικά σύντομο χρονικό διάστημα μετά την παρασκευή τους. Με τον όρο ‘φρέσκα τυριά’ ή ‘τυριά που δεν έχουν ωριμάσει’ εννοούμε τα προϊόντα πήξης του γάλακτος(με οξίνιση ή με θέρμανση) τα οποία μπορούν να καταναλωθούν αμέσως μετά την παρασκευή τους και τα οποία υφίστανται ελάχιστα ως καθόλου τη διαδικασία της ωρίμανσης(πρωτεόλυση, λιπόλυση κ.α.). Η μόνη από τις βιοχημικές αντιδράσεις της ωρίμανσης η οποία συμβαίνει κατά την παρασκευή αυτών των τυριών είναι η ζύμωση της λακτόζης (Walstra et al, 2005).

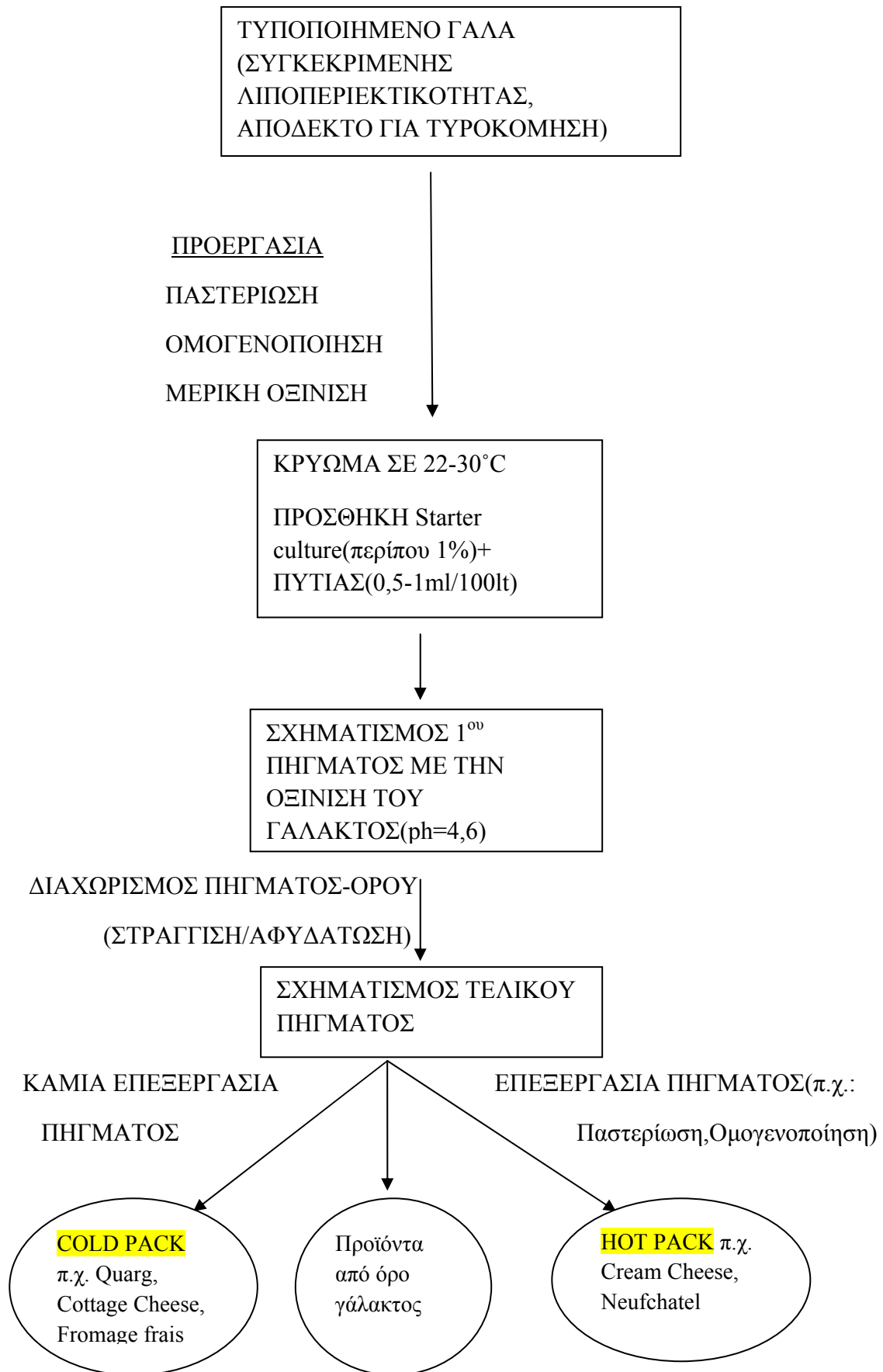
Γενικά η τεχνολογία παρασκευής αυτών των τυριών στηρίζεται στην κατάλληλη προεργασία του γάλακτος και στη συνέχεια στην αργή σχετικά οξίνισή του , κατά την οποία μετατρέπεται η λακτόζη του γάλακτος σε γαλακτικό οξύ με την προσθήκη των εκκινητών-καλλιεργειών(starter-LABs), και τέλος την δημιουργία πήγματος, τη στράγγιση αυτού και την περαιτέρω επεξεργασία του.

Στη διαμόρφωση του τελικού προϊόντος παίζουν ρόλο πολλοί παράγοντες, όπως η θερμική προεργασία του γάλακτος και ιδίως ο συνδυασμός χρόνου-θερμοκρασίας επηρεάζει την οξίνιση και συνεπώς τη δημιουργία του πήγματος των πρωτεϊνών. Ανάλογα με το πρόγραμμα παστερίωσης ή γενικά θερμικής επεξεργασίας που εφαρμόζουμε μπορούμε να φτιάξουμε ένα πιο ισχυρό ή πιο ασθενές πρώτο πήγμα. Η σταθερότητα του αρχικού πήγματος εκτός από τη θερμική επεξεργασία του γάλακτος τυροκόμησης εξαρτάται και από το pH στο οποίο αυτό βρίσκεται μετά την προσθήκη των αρχικών καλλιεργειών και της πυτιάς. Η σταθερότητα αυτού του πήγματος επηρεάζει τη δομή και τις ρεολογικές και φυσικοχημικές ιδιότητες του τελικού προϊόντος, ιδίως στα προϊόντα τα οποία καταναλώνονται άμεσα, χωρίς καμία περαιτέρω επεξεργασία του τελικού πήγματος(cold pack).

Από την άλλη, τα προϊόντα τα οποία παρασκευάζονται μετά από περαιτέρω επεξεργασία του τελικού πήγματος(π.χ. παστερίωση αυτού, ομογενοποίηση και προσθήκη υδροκolloειδών) παρουσιάζουν ενισχυμένη σταθερότητα και ρεολογικές ιδιότητες. Από τα Cold Pack φρέσκα τυριά το πιο διαδεδομένο είναι το Quark και το Cottage Cheese, ενώ από τα Hot Pack διάσημη είναι η ιταλική Ricotta. (T.P.Guinee et al., 1997).

Η υφή αυτών των τυριών συνήθως κυμαίνεται από πολύ μαλακά, αλοιφώδη ή με μικρά κοκκία. Η πήξη τους γίνεται συνήθως μέσα σε τυρόπανα (τουλπάνια) τα οποία βοηθάνε στη στράγγιση και την αποβολή του ορού. Καθένα από τα παραπάνω τυριά έχει μια διαφορετική τεχνολογία παρασκευής, αλλά η γενική πορεία παρασκευής των φρέσκων τυριών φαίνεται στο παρακάτω διάγραμμα 2.

Όσο αφορά τα ελληνικά φρέσκα τυριά, αυτά τα οποία αναγνωρίζονται και ως Π.Ο.Π., με τον Κανονισμό 1107/1996 της Ευρωπαϊκής Ένωσης, είναι το γαλοτύρι, η κοπανιστή, το πηχτόγαλο Χανίων και το Κατίκι Δομοκού. Το γαλοτύρι παράγεται παραδοσιακά στην Ήπειρο και τη Θεσσαλία από πρόβειο ή γίδινο γάλα ή μίγμα τους. Θα πούμε λίγα λόγια σχετικά με την τεχνολογία παραγωγής του: το γάλα που προορίζεται για τυροκόμηση το θερμαίνουμε μέχρι το σημείο βρασμού του, το τοποθετούμε σε δοχεία κατά προτίμηση πήλινα για 24 ώρες σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, στη συνέχεια προσθέτουμε αλάτι 3-4% και εξακολουθούμε να το έχουμε σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 2 μέρες κατά τις οποίες το αναδεύουμε σταδιακά για να αναπτύξει την απαιτούμενη οξύτητα. Έπειτα, το αλατισμένο και οξιτισμένο γάλα με ή χωρίς την προσθήκη πυτιάς τοποθετείται σε υφασμάτινους ή δερμάτινους σάκκους(τουλούμια) ή ξύλινα βαρέλια. Όταν γεμίσουμε τα τουλούμια τα κλείνουμε αεροστεγώς(ή με τέτοιο τρόπο ώστε να εγκλωβίσουμε το λιγότερο δυνατό αέρα σε αυτά) και τα μεταφέρουμε σε ψυχρές, ξηρές αποθήκες με θερμοκρασία 8°C για τουλάχιστον 2 μήνες. Κατά τη διάρκεια αυτών των 2 μηνών το τυρί αποβάλλει υγρασία βραδέως και αποκτά ιδιαίτερα ευχάριστα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (Μάντης, 2000).



Διάγραμμα 2: Διαδικασία παρασκευής μαλακών, φρέσκων τυριών.

Τα υπόλοιπα Π.Ο.Π. τυριά αυτής της κατηγορίας παρασκευάζονται επίσης από πρόβειο ή γίδινο γάλα ή μίγμα αυτών και από συγκεκριμένες γεωγραφικές περιοχές. Πιο συγκεκριμένα, η Κοπανιστή παράγεται στο νομό Κυκλάδων, το Κατίκι προέρχεται από το δημοτικό διαμέρισμα του Δομοκού και 20 κοινοτήτων της περιοχής, το Ανεβατό παράγεται στο νομό Γρεβενών, την επαρχία Βοιου και στο νομό Κοζάνης και τέλος το πηχτόγαλα παράγεται στο νομό Χανίων της Κρήτης.

Η κοπανιστή μπορεί να περιέχει και ένα ποσοστό αγελαδινού γάλακτος(εκτός από το αιγοπρόβειο) το οποίο παραλαμβάνουμε και το πήζουμε στους 28-30°C προσθέτοντας ανάλογη ποσότητα πυτιάς, έτσι ώστε να ολοκληρωθεί η πήξη σε 2 ώρες. Το τυρόπηγμα παραμένει στον τυρολέβητα για 20-24 ώρες στη συνέχεια διαιρείται , στραγγίζεται σε σάκους και αναμιγνύεται με ξηρό αλάτι σε αναλογία 4-5% και τοποθετείται σε ευρύστομο δοχείου όπου αφήνεται για να αναπτυχθεί άφθονη μικροβιακή χλωρίδα στη επιφάνειά του. Έπειτα, η τυρόμαζα αναμιγνύεται σταδιακά 3-4 φορές σε διάστημα 30-40 ημερών και μετά μπορεί να καταναλωθεί. Η γεύση του είναι πιο πικάντικη και το άρωμά του πιο έντονο σε σχέση με αυτή του γαλοτυριού, εξ' αιτίας των επαναλαμβανόμενων ζυμώσεων.

Όσον αφορά το κατίκι το γάλα το θερμαίνουμε στους 75°C για 30sec και στη συνέχεια το ψύχουμε στους 27-28°C και το τοποθετούμε σε χώρο με θερμοκρασία 20-22°C με ή χωρίς προσθήκη πυτιάς το αφήνουμε να σχηματίσει το πήγμα. Ενώ για το ανεβατό και το πηχτόγαλο αφήνουμε το γάλα σε θερμοκρασία 18-25°C μέχρι να αποκτήσει την απαιτούμενη οξύτητα και να σχηματιστεί το πήγμα. Στη συνέχεια, το πήγμα διαιρείται για την παρασκευή του Κατικιού, ενώ για την παρασκευή του Πηχτόγαλου όχι. Και στις δύο περιπτώσεις όμως το πήγμα τοποθετείται σε υφασμάτινους σάκους όπου στραγγίζεται, αλατίζεται και διατηρείται στο ψυγείο μέχρι την κατανάλωσή του. Και τα δύο τυριά έχουν ευχάριστη, υπόξινη , αρωματική γεύση.

Τέλος, το ανεβατό όταν το γάλα αποκτήσει οξύτητα 35°D(στους 18-25°C) το τοποθετούμε σε ψυγείο θερμοκρασίας 2-4°C για 24 ώρες και στη συνέχεια το θερμαίνουμε στους 12-14°C και προσθέτουμε την πυτιά ώστε να δημιουργηθεί πήγμα. Έπειτα, διαιρούμε το πήγμα και το αφήνουμε στον τυρολέβητα για 12 περίπου ώρες μέχρι να στραγγίσει, το αλατίζουμε επιφανειακά και το αφήνουμε να ωριμάσει για 2 μήνες περίπου. Το ανεβατό, σε αντίθεση με όλα τα άλλα είδη αυτής της



κατηγορίας που έχουν αλοιφώδη υφή, αποτελείται από μικρούς κόκκους (κοκκώδης υφή) ( Μάντης, 2000).

Όπως βλέπουμε τα τυριά αυτής της κατηγορία έχουν πολύ μικρό χρόνο ωρίμανσης και συνήθως δε χρησιμοποιούμε πολύ ισχυρούς τύπους εναρκτηρίων καλλιιεργειών, απλά χρησιμοποιούμε περισσότερο την πυτιά και την εναλλαγή θερμοκρασιών για να προκαλέσουμε την πήξη του γάλακτος που θα οδηγήσει στην παραγωγή αυτών των τυριών. Επίσης, η διάρκεια ζωής αυτών των τυριών είναι μικρή σε σχέση με τα σκληρά, ημίσκληρα και μαλακά τυριά, ανάλογα και με τον τρόπο συσκευασία τους. Σε αεροστεγώς κλεισμένη συσκευασία μπορούν να αντέξουν μέχρι και 2 μήνες σε συνθήκες ψύξης, αλλά από τη στιγμή που θα ανοιχτεί η συσκευασία αυτή και θα είναι εκτεθειμένα στον αέρα θα πρέπει να καταναλωθούν σε χρονικό διάστημα 2-3 εβδομάδων.

## **5.ΠΡΟΔΙΑΓΡΑΦΕΣ ΚΑΙ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΤΥΡΟΚΟΜΗΣΗΣ**

Κατά τη σύνθεσή του στο μαστό το γάλα αποτελεί ένα στείρο προϊόν, όμως δε διατηρείται πολύ σε αυτή την κατάσταση, αφού η υποβάθμιση της ποιότητάς του ξεκινάει από τη στιγμή που εξέρχεται από τη θηλή του μαστού. Με τον όρο ποιότητα του γάλακτος αναφερόμαστε στα φυσικοχημικά και μικροβιολογικά χαρακτηριστικά του γάλακτος. Η χημική του σύσταση και οι φυσικοχημικές του ιδιότητες καθορίζουν σε ένα μεγάλο βαθμό την απόδοση του γάλακτος σε τυρί και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του. Ενώ, το μικροβιακό φορτίο του γάλακτος είναι ενδεικτικό της υγιεινής και ασφάλειάς του προϊόντος(τυρί) το οποίο παράγεται. Η ασφάλεια του τυριού προς τον καταναλωτή καθορίζεται από την ύπαρξη ή όχι παθογόνων μικροοργανισμών. Σε γενικές γραμμές όμως, μπορούμε να πούμε ότι καλής ποιότητας είναι το γάλα που είναι καθαρό, έχει κανονική χημική σύσταση, χρώμα και γεύση, προέρχεται από υγιή ζώα, έχει περιορισμένο αριθμό μικροβίων και δεν περιέχει παθογόνους μικροοργανισμούς και αντιβιοτικά. Το γάλα αυτό ανταποκρίνεται στις απαιτήσεις της νομοθεσίας, έχει χαμηλό κόστος επεξεργασίας, διατηρείται περισσότερο μετά την παστερίωση και είναι κατάλληλο για την παραγωγή τυριών υψηλής ποιότητας ( Ανυφαντάκης, 2004).

### **5.1 Χημική σύσταση γάλακτος τυροκόμησης**

Η χημική σύσταση του γάλακτος καθορίζεται από πολλούς παράγοντες, κυριότερος από τους οποίους είναι το είδος του ζώου και οι γενετικές καταβολές τους. Επίσης, σημαντικό ρόλο παίζει η φυλή, η διατροφή του, οι συνθήκες της εκτροφής, η γαλακτική περίοδο, η εποχή του έτους, κυφορία και αρκετοί άλλοι που καθορίζουν το άμεσο μικροπεριβάλλον του ζώου. Από τη στιγμή που θα εξέλθει βέβαια το γάλα από το μαστό σημαντικό ρόλο στη χημική σύσταση του παίζει και η επεξεργασία που θα δεχθεί από τον άνθρωπο. Οι χειρισμοί αυτοί μπορεί να οδηγήσουν στην υποβάθμιση του γάλακτος αν δε γίνουν με την απαραίτητη προσοχή( π.χ. μεταφορά υπό συνθήκες ψύξης, καθαρά σκεύη κ.α.) . Στη συγκεκριμένη πειραματική εργασία θα ασχοληθούμε αποκλειστικά με αγελαδινό γάλα, το οποίο είναι διαθέσιμο για τυροκόμηση καθ' όλη τη διάρκεια του χρόνου και η μέση σύστασή του αποτελείται από: Νερό(88%), Πρωτεΐνες(3,2%), Υδατάνθρακες(4,7%), Ανόργανα άλατα(0,75%)

ως κύρια συστατικά και από Αέρια, Άλλα λιπίδια έκτος από το λίπος και λιποδιαλυτές βιταμίνες(Φωσφολιπίδια, Στερόλες, Καροτενοειδή, Βιταμίνες A, D, E, K), Ένζυμα,(Καταλάση, Υπεροξειδάση, Φωσφατάση, Λιπάσες, Πρωτεάσες κ.α.) Υδατοδιαλυτές βιταμίνες(Βιταμίνες A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub>, C, Νιασίνη, Χολίνη ) Μη πρωτεϊνικές αζωτούχες ουσίες(Αμμωνία, Αμινοξέα, Ουρικό Οξύ, Κρεατινίνη κ.α.) Ίχνη μετάλλων(Zn, Fe, I, Co, Li κ.α.) Ορμόνες, Αντιβακτηριδιακές ουσίες, Σωματικά κύτταρα, Βακτήρια.( Ε.Ανυφαντάκης, Γ. Καλαντζόπουλος, 1993).

**Πίνακας 1.5: Μέση Σύσταση γάλακτος τυροκόμησης.**

ΝΕΡΟ	87,00%
ΛΑΚΤΟΖΗ	4,90%
ΛΙΠΟΣ	3,70%
TRUE PROTEIN	3,00%
CRUDE PROTEIN	3,10%
ΚΑΖΕΙΝΕΣ	2,60%
ΤΕΦΡΑ	0,80%
ΙΧΝΟΣΤΟΙΧΕΙΑ	0,50%
ΕΙΔΙΚΟ ΒΑΡΟΣ	1,032

Η παραπάνω σύσταση είναι η μέση σύσταση του γάλακτος που προορίζεται για τυροκόμηση, όπως αναφέρεται από τη νομοθεσία. Το crude proteins (N\*6,23) προέρχεται από το ολικό ποσό του αζώτου που υπάρχει στο γάλα, πρωτεϊνικό και μη πρωτεϊνικό. Συνήθως, όμως μας ενδιαφέρει μόνο η ‘Καθαρή Πρωτεΐνη’ (‘True Protein’), η οποία αντιστοιχεί στο ποσοστό του αζώτου προέρχεται μόνο από τις πρωτεΐνες και συνεπώς είναι αυτό στο οποίο οφείλεται η διατροφική αξία του γάλακτος. Τυπικά, το True Protein αντιστοιχεί σε ποσοστό 95-97% του Crude Protein. Η διαφορά μεταξύ των Crude και True Protein αποτελεί το Μη-Πρωτεϊνικό Άζωτο (Non-Protein Nitrogen), ενώ η Καζεΐνες αντιστοιχούν στο 75-85% του crude ή 85-90% του true protein. Οι οροπρωτεΐνες υπολογίζονται από τη διαφορά μεταξύ των καζεϊνών και του True Protein. Η μέθοδος Kjeldahl μαζί με τις διάφορες

τροποποιήσεις της που έχουν γίνει κατά καιρούς αποτελεί την επίσημη μέθοδος προσδιορισμού πρωτεϊνών της IDF και του ISO17837:2008. (Ανυφαντάκης, 1992)

Επίσης, όσο αφορά το λίπος, η Μέθοδος Gerber θεωρείται η επίσημη μέθοδος προσδιορισμού των λιπαρών οξέων στο γάλα, σύμφωνα με το ISO488:2008 και την IDF. Ενώ, ως επίσημη μέθοδος προσδιορισμού των λιπαρών οξέων στο τυρί θεωρείται η Μέθοδος Van Gulik , σύμφωνα με το ISO3433:2008. Ακόμη, ορισμένες χρωματογραφικές μέθοδοι έχουν αναπτυχθεί , όπως Gas Liquid Chromatography (G.L.C.), High Performance Liquid Chromatography (H.P.L.C.), Thin Layer Chromatography (T.L.C.) για τον προσδιορισμό του λίπους του γάλακτος καθώς και για το διαχωρισμό στα επιμέρους συστατικά του, τριγλυκερίδια, λιπαρά οξέα (Ανυφαντάκης, 1992).

Τέλος, για τον προσδιορισμό των σακχάρων και ιδιαίτερα της λακτόζης, τα τελευταία χρόνια χρησιμοποιούνται οι μέθοδοι χρωματογραφίας H.P.L.C. και G.L.C. για το διαχωρισμό των σακχάρων του γάλακτος ανάλογα με το χρόνο έκλουσής τους στην αντίστοιχη στήλη. Ακόμη εκτός από τις παραπάνω τεχνικές υπάρχουν και οι διάφορες αντιδράσεις με ορισμένα ένζυμα καθώς και οι μέθοδοι που στηρίζονται στον προσδιορισμό του ειδικού βάρους των σακχάρων. Για τη λακτόζη μπορούμε επίσης να την προσδιορίσουμε με την τεχνική της Near Infrared Spectroscopy. Για τον προσδιορισμό των διαφόρων ιχνοστοιχείων χρησιμοποιούμε την τέφρα που παίρνουμε από το γάλα ή τα διάφορα γαλακτοκομικά προϊόντα και με τη βοήθεια κάποιων μηχανημάτων όπως φωτόμετρο καταφέρνουμε να τα ποσοτικοποιήσουμε (Ανυφαντάκης, 1992).

## **5.2 Μικροβιολογικά χαρακτηριστικά γάλακτος τυροκόμησης**

Όσο αφορά τη μικροβιακή χλωρίδα του γάλακτος που προορίζεται για τυροκόμηση θα πρέπει να περιορίζεται στα 100.000 μικροοργανισμούς ανά ml αγελαδινού γάλακτος. Σύμφωνα με την Οδηγία 92/46 Ε.Ο.Κ. ο αριθμός των μικροβίων στο νωπό γάλα αγελάδας θα πρέπει να είναι κάτω από 100.000/ml σε θερμοκρασία 30°C και ο αριθμός των σωματικών κυττάρων θα πρέπει να περιορίζεται στις 400.000/ml. Ακόμη σύμφωνα με την Κοινοτική Νομοθεσία 853/2004, 1662/2006, το νωπό γάλα αγελάδας το οποίο χρησιμοποιείται για την παρασκευή γαλακτοκομικών προϊόντων πρέπει να έχει περιεκτικότητα σε μικρόβια κάτω από 300.000/ml και η θερμοκρασία στην οποία πρέπει να παραλαμβάνεται το

γάλα από την εγκατάσταση μεταποίησης του γάλακτος καθορίζεται στους 6°C. Η θερμοκρασία αυτή μπορεί να είναι μεγαλύτερη αν η μεταποίηση του γάλακτος γίνει μέσα σε 4 ώρες από τη στιγμή της άμελξής του.

Ακόμη σύμφωνα με την Κοινοτική Νομοθεσία το Νωπό γάλα αγελάδος πριν υποστεί οποιαδήποτε θερμική ή άλλου είδους επεξεργασία θα πρέπει να πληρεί κάποια κριτήρια, όπως αναφέρονται παρακάτω. Κατ' αρχάς θα πρέπει να προέρχεται από ζώα τα οποία :

- ✓ Είναι απαλλαγμένα από λοιμώδη νοσήματα, τα οποία θα μπορούσαν μέσω του γάλακτος να μεταδοθούν στον άνθρωπο.
- ✓ Είναι υγιή και δεν παρουσιάζουν κανένα σύμπτωμα νόσου το οποίο μπορεί να προκαλέσει μόλυνση του γάλακτος και πιο συγκεκριμένα δεν παρουσιάζουν καμία λοίμωξη της ουρογεννητικής οδού με απέκκριμα, εντερίτιδα με εμπύρετη διάρροια ή από φλεγμονή του μαστού.
- ✓ Δεν παρουσιάζουν πληγές στους μαστούς που θα μπορούσαν να προκαλέσουν αλλοιώσεις στο γάλα.
- ✓ Δεν έχουν λάβει μη επιτρεπόμενες ουσίες ή προϊόντα.
- ✓ Δεν έχουν υποβληθεί σε παράνομες φαρμακευτικές αγωγές σύμφωνα με την Οδηγία 96/23/ΕΟΚ, 97/747/ΕΟΚ, 2002/657.

Πιο συγκεκριμένα, όσο αφορά τις ασθένειες της βρουκέλλωσης και της φυματίωσης θα πρέπει η εκτροφή από την οποία συλλέγεται το γάλα προς κατανάλωση να είναι επίσημα απαλλαγμένη από τις δύο παραπάνω ασθένειες. Σύμφωνα με την Οδηγία 64/432/ΕΟΚ μια εκτροφή βοοειδών θεωρείται απαλλαγμένη από τη βρουκέλλα όταν δεν έχουμε κλινική ένδειξη που να υποδηλώνει την ύπαρξη αυτής της ασθένειας και στη δοκιμή των οροσυγκολλητινών στην οποία υποβάλλονται τα ζώα παρουσιάζουν τίτλο κάτω από 30 Διεθνείς Μονάδες οροσυγκολλητινογόνων/χιλιοστό. Σύμφωνα με την ίδια Οδηγία μια εκτροφή θεωρείται 'επίσημα απαλλαγμένη' όταν:

1. Δεν βρίσκονται βοοειδή εμβολιασμένα κατά της βρουκέλλωσης με ζωντανό εμβόλιο.

2. Όλα τα βοοειδή είναι απαλλαγμένα από κλινικά συμπτώματα της νόσου πριν 6 μήνες τουλάχιστον.
3. Όλα τα βοοειδή πάνω από 12 μήνες:
  - ✓ Έχουν παρουσιάσει με την ευκαιρία 2 οροσυγκολλητικών δοκιμών τίτλο κάτω από 30 Δ.Μ. συγκολλητινογόνων/χιλιοστόλιτρο σε διάστημα 6 μηνών. Η πρώτη δοκιμή οροσυγκόλλησης μπορεί να αντικαθίσταται από 3 δοκιμές δακτυλίου(ring-test), οι οποίες διενεργούνται σε διάστημα 3 μηνών, ενώ σε αυτή την περίπτωση η δεύτερη δοκιμή οροσυγκόλλησης θα πρέπει να διενεργείται 6 εβδομάδες μετά την το τελευταίο ring-test.
  - ✓ Ελέγχονται ετησίως με 3 δοκιμές δακτυλίου που διενεργούνται σε διάστημα τουλάχιστον 3 μηνών ή 2 δοκιμές δακτυλίου και 1 δοκιμή οροσυγκόλλησης σε διάστημα τουλάχιστον 3 μηνών.
4. Κανένα βοοειδές δεν εισήχθει άνευ βεβαιώσεως επίσημου κτηνιάτρου που να πιστοποιεί ότι αυτό 30 μέρες πριν την εισαγωγή του στον απαλλαγμένο βόειο πληθυσμό παρουσίαζε βρουκελλικό τίτλο κάτω από 30 Δ.Μ. συγκολλητινογόνων/χιλιοστόλιτρο και επιπλέον προέρχεται από ζωικό κεφάλαιο επίσημα απαλλαγμένο από βρουκέλλα.

Όσο αφορά το βόειο ζωικό κεφάλαιο ηλικίας 5-8 μηνών εμβολιάζονται αποκλειστικά με ζωντανό εμβόλιο Buck 19. Ενώ το βόειο ζωικό κεφάλαιο με ηλικία μικρότερη των 30 μηνών είναι δυνατόν να παρουσιάζουν βρουκελλικό τίτλο πάνω από 30 Δ.Μ. συγκολλητινών/χιλιοστόλιτρο αλλά πάντα θα πρέπει να είναι πάντα κατώτερο των 80 Δ.Μ.

Σχετικά με τη φυματίωση, βόειο ζωικό κεφάλαιο θεωρείται απαλλαγμένο φυματίωσης όταν δεν παρουσιάζει κλινικά συμπτώματα φυματίωσης, ούτε αντιδρά στον ενδοδερμικό φυματινισμό 30 μέρες πριν τη φόρτωση των ζώων ή αν ανήκει σε εκτροφή που θεωρείται επίσημα απαλλαγμένη από φυματίωση. 'Επίσημα Απαλλαγμένη' από φυματίωση εκτροφή θεωρείται αυτή στην οποία:

- 1) Όλα τα βοοειδή είναι απαλλαγμένα κλινικών ενδείξεων φυματίωσης

- 2) Όλα τα βοοειδή με ηλικία άνω των 6 εβδομάδων που έχουν αντίδραση αρνητικά σε 2 τουλάχιστον ενδοδερμικούς επίσημους φυματινισμούς , σύμφωνα με τους σχετικούς Κανονισμούς, και ο πρώτος έχει πραγματοποιηθεί 6 μήνες μετά τις διαδικασίες εξυγίανσης του πληθυσμού και ο δεύτερος 6 μήνες μετά τον πρώτο. Οι επόμενοι φυματινισμοί μπορούν να γίνουν σε διάστημα 1 έτους ή 2 ετών για τα Κράτη Μέλη της Ευρωπαϊκής Ένωσης που το σύνολο του βόειου κεφαλαίου βρίσκεται υπό επίσημο κτηνιατρικό έλεγχο και δεν παρουσιάζει ποσοστό μολύνσεως από φυματίωση μεγαλύτερο του 1%.
- 3) Κανένα βοοειδές δεν εισήχθη στην εκτροφή χωρίς βεβαίωση επίσημου κτηνιάτρου ότι το ζώο αυτό είχε αρνητική αντίδραση στον ενδοδερμικό φυματινισμό ή ότι προέρχεται από εκτροφή ‘επίσημα απαλλαγμένη’ από φυματίωση.

Εκτός από τα παραπάνω όρια μικροβιακού φορτίου και την απουσία βρουκέλλας και φυματίωσης στα ζώα της εκτροφής από την οποία προμηθευόμαστε το γάλα για τυροκόμηση υπάρχουν και κάποιοι παθογόνοι μικροοργανισμοί οι οποίοι θα πρέπει να απουσιάζουν από το γάλα που προορίζεται για τυροκόμηση αφού η παρουσία τους μπορεί να απειλήσει την υγεία του καταναλωτή. Επομένως, ορισμένοι μικροοργανισμοί όπως οι ομάδες των *Enterobacteriaceae*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmomella* κ.α αποτελούν βασικό παράγοντα υποβάθμισης των γαλακτοκομικών προϊόντων και τα καθιστούν ανασφαλή. Έτσι, σύμφωνα με τον Κανονισμό της Ευρωπαϊκής Ένωσης 2073/2005 καθορίζονται ορισμένα όρια ύπαρξης των παραπάνω επιβλαβών μικροοργανισμών στο γάλα και τα διάφορα γαλακτοκομικά προϊόντα. Επίσης, καθορίζει και τις μεθόδους προσδιορισμού αυτών των μικροοργανισμών σύμφωνα με το ISO. Πιο συγκεκριμένα έχουμε τον παρακάτω πίνακα 1.6:

Πίνακας 1.6: Όρια μικροοργανισμών στο γάλα και γαλακτοκομικά προϊόντα.

ΠΡΟΙΟΝ	Μ.Ο.	ΜΕΓΙΣΤΟ ΟΡΙΟ(Μ)	ΕΛΑΧΙΣΤΟ ΟΡΙΟ(m)	ΑΝΑΛΥ ΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔ ΟΣ ΑΝΑΦΟ ΡΑΣ	ΣΤΑΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗ Σ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ
ΠΑΣΤΕΡΙΩΜΕΝΟ ΓΑΛΛΑ & ΥΓΡΑ ΓΑΛΑΚ/ΚΑ ΠΡΟΙΝΤΑ	<i>Entero- Bacteriaceae</i>	5 cfu/ml	<1 cfu/ml	ISO 21528 -1	Τέλος διαδικασίας παρασκευής
ΤΥΡΙΑ ΑΠΟ ΟΡΟ ΓΑΛΑΚΤΟΣ Η ΓΑΛΑ ΠΟΥ ΕΧΕΙ ΥΠΟΣΤΕΙ ΘΕΡΜΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ	<i>E.coli</i>	1000 cfu/gr	100 cfu/gr	ISO 16649-1 ή 2	Κατά τη διάρκεια της διαδικασίας παρασκευής τη στιγμή που αναμένεται ο μέγιστος αριθμός <i>E.coli</i>
ΤΥΡΙΑ ΑΠΟ ΝΩΠΙΟ ΓΑΛΑ	Σταφυλόκοκκοι θετικοί σε πηκτάση	10 <sup>5</sup> cfu.gr	10 <sup>4</sup> cfu/gr	EN/ISO 6888-2	Κατά τη διάρκεια διαδικασία παρασκευής τη στιγμή που αναμένεται ο μέγιστος αριθμός Σταφυλόκοκκ



<p>ΤΥΡΙ ΑΠΟ ΓΑΛΛΑ ΠΟΥ ΕΧΕΙ ΥΠΟΣΤΕΙ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΣΕΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΜΙΚΡΟΤΕΡΗ ΑΠΟ ΑΥΤΗ ΤΗΣ ΠΑΣΤΕΡΙΩΣΗΣ &amp; ΤΥΡΙΑ ΑΠΟ ΓΑΛΛΑ Ή ΟΡΟ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΠΟΥ ΕΧΕΙ ΥΠΟΣΤΕΙ ΠΑΣΤΡΙΩΣΗ Ή ΙΣΧΥΡΟΤΕΡΗ ΘΕΡΜΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ</p>	<p>Σταφυλόκοκκοι θετικοί στην πηκτάση</p>	<p>1000 cfu/gr</p>	<p>100 cfu/gr</p>	<p>EN/ISO 6888-1 ή -2</p>	<p>Κατά τη διάρκεια της διαδικασίας παρασκευής τη στιγμή που αναμένεται ο μεγαλύτερος αριθμός Σταφυλόκοκκ ων</p>
<p>ΜΗ ΩΡΙΜΑΣΜΕΝΑ ΜΑΛΑΚΑ ΤΥΡΙΑ(ΝΩΠΑ ΤΥΡΙΑ) ΑΠΟ ΓΑΛΛΑ Ή ΟΡΟ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΠΟΥ ΕΧΕΙ ΥΠΟΣΤΕΙ ΠΑΣΤΕΡΙΩΣΗ Ή ΙΣΧΥΡΟΤΕΡΗ ΘΕΡΜΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ</p>	<p>Σταφυλόκοκκοι θετικοί σε πηκτάση</p>	<p>100 cfu/gr</p>	<p>10 cfu/gr</p>	<p>EN/ISO 6888-1 ή -2</p>	<p>Τέλος της διαδικασίας παρασκευής</p>
<p>ΤΡΟΦΙΜΑ ΙΚΑΝΑ ΝΑ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΟΥΝ ΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΗΣ <i>Listria</i></p>	<p><i>Listeria</i> <i>monocytogenes</i></p>	<p>100 cfu/gr</p>	<p>Απουσία σε 25 gr</p>	<p>EN/ISO 11290 -2 , -1</p>	<p>Το m θα πρέπει να ισχύει πριν το τρόφιμο αποδεσμευτεί</p>

<p><i>monocytogenes</i> (ΓΑΛΛΑ,ΓΑΛΛ/ΚΑ) ΕΚΤΟΣ ΑΠΟ ΑΥΤΑ ΠΟΥ ΠΡΟΟΡΙΖΟΝΤΑΙ ΓΙΑ ΒΡΕΦΗ</p>					<p>από τον άμεσο έλεγχο του υπεύθυνου της επιχείρησης που το παρήγαγε.</p> <p>Το Μ θα πρέπει να ισχύει για τα προϊόντα που διατίθενται στην αγορά κατά τη διάρκεια της συντήρησης τους.</p>
<p>ΤΥΡΙ, ΒΟΥΤΥΡΟ,ΚΡΕΜΑ ΑΠΟ ΝΩΠΟ ΓΑΛΛΑ Ή ΓΑΛΛΑ ΠΟΥ ΕΧΕΙ ΥΠΟΣΤΕΙ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΣΕ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΧΑΜΗΛΟΤΕΡΗ ΤΗΣ ΠΑΣΤΕΡΙΩΣΗΣ</p>	<p><i>Salmonella</i></p>	<p>Απουσία σε 25 gr</p>	<p>Απουσία σε 25 gr</p>	<p>EN/ISO 6579</p>	<p>Σε προϊόντα που διατίθενται στην αγορά κατά τη διάρκεια της διατήρησης τους</p>

Όσο αφορά τους παθογόνους μικροοργανισμούς *Listeria monocytogenes* και *Salmonella*, στους 5 αριθμούς δειγματοληψιών θα πρέπει κανένας να μην βρίσκεται μεταξύ του μέγιστου και ελάχιστου ορίου(M και m).Ενώ για τα κολοβακτηρίδια και το σταφυλόκοκκο θα πρέπει από 5 μονάδες δειγματοληψίας που αποτελούν το

δείγμα οι 2 μονάδες δειγματοληψίας να βρίσκονται μεταξύ του μέγιστου και ελάχιστου ορίου (M και m). Σε περίπτωση που το όριο αυτό ξεπεραστεί και έχουμε βρει μονάδες δειγματοληψίας οι οποίες έχουν ξεπεράσει το μέγιστο όριο ύπαρξης μικροοργανισμών, τότε θα χρειαστεί να λάβουμε κάποια μέτρα για την αντιμετώπιση αυτού του γεγονότος.

Στην πρώτη περίπτωση του Παστεριωμένου γάλακτος θα πρέπει να ελέγχουμε την αποτελεσματικότητα της θερμικής επεξεργασίας, την πρόληψη της επιμόλυνσης καθώς και την ποιότητα των πρώτων υλών. Ενώ στις περιπτώσεις παρασκευής τυριών θα πρέπει να ελέγχεται η υγιεινή των γραμμών παραγωγής τους και στις περιπτώσεις που έχουμε τιμές σταφυλόκοκκων μεγαλύτερες από  $10^5$  cfu/gr θα πρέπει να γίνει έλεγχος της πατρίδας για την ύπαρξη σταφυλοκοκκικών τοξινών.

Έτσι ως κριτήρια ασφάλειας των γαλακτοκομικών προϊόντων θεωρούνται τα μικροβιολογικά κριτήρια που αναφέρονται στη σαλμονέλα, στις σταφυλοκοκκικές εντεροτοξίνες(οι οποίες πρέπει να απουσιάζουν από το δείγμα) και στη λιστέρια, ενώ ως κριτήρια υγιεινής θεωρούνται τα μικροβιολογικά κριτήρια που αναφέρονται στα εντεροβακτηριοειδή, στο *E.coli* και τους σταφυλόκοκκους τους θετικούς στην πηκτάση. Συγκεκριμένα για τη λιστέρια το όριο 100 cfu/gr εφαρμόζεται όταν ο υπεύθυνος της επιχείρησης μπορεί να αποδείξει στις αρμόδιες αρχές ότι το παραγόμενο προϊόν(π.χ. τυρί) δε θα υπερβεί το όριο αυτό καθ' ολή τη διάρκεια της συντήρησής του. Για να καταλάβουμε καλύτερα το γεγονός της απουσίας αυτών των μικροοργανισμών από το γάλα και τα γαλακτοκομικά προϊόντα θα αναλύσουμε με λίγα λόγια τον καθένα από τους παραπάνω παθογόνους μικροοργανισμούς.

Τα *Enterobacteriaceae* με κυριότερο εκπρόσωπό τους την *Escherichia coli* είναι ευθεία, χοντρά με στρογγυλεμένα άκρα Gram (-) Προαιρετικά Αναερόβια βακτήρια. Όταν βρίσκονται σε δυσμενείς συνθήκες ανάπτυξης σχηματίζουν μακριές νηματοειδείς μορφές. Μερικά στελέχη περιβάλλονται από έλυτρο(κάψα) βλεννοπολυσακχαριτών, στο οποίο οφείλεται η βλενώδης υφή των αποικιών, τα περισσότερα όμως διαθέτουν περίτριχες βλεφαρίδες και είναι κινητά. Ακόμη μερικά στελέχη, μπορεί να διαθέτουν συζευτικά ινίδια  $F^+$  και  $F^-$  μέσω των οποίων φαίνεται να γίνεται η σύζευξη των κυττάρων και μεταφέρεται γενετικό υλικό. Το *E.coli* βρίσκεται φυσιολογικά στο έντερο του ανθρώπου και των ζώων και αποβάλλεται με τα κόπρανα, διασπείρεται στο περιβάλλον και μολύνει τα τρόφιμα. Αποτελεί δείκτη

υγιεινής των τροφίμων και του νερού. Τα περισσότερα στελέχη καταστρέφονται στους 60°C για 15 λεπτά και παρουσιάζουν ευαισθησία στα συνήθη απολυμαντικά. Βέβαια τα τελευταία χρόνια, λόγω της αλόγιστης χρήσης των αντιβιοτικών και χημειοθεραπευτικών στην πρόληψη και θεραπεία των διαφόρων ασθενειών απέκτησαν αντοχή στις διάφορες θεραπευτικές ουσίες. Τα περισσότερα στελέχη διαθέτουν τουλάχιστον τις 3 πρώτες ομάδες αντιγόνων:

A) Τα σωματικά αντιγόνα (O)

B) Τα βλεφαριδικά αντιγόνα (H)

Γ) Τα αντιγόνα της κάψας (K)

Δ) Τα αντιγόνα της βλέννας (M)

E) Τα αντιγόνα των ινιδίων (F)

Τα αντιγόνα της ομάδας K εμποδίζουν την ανίχνευση των αντιγόνων της ομάδας O και μπορεί να είναι θερμοάντοχα ή θερμοευαίσθητα. Τα εντεροπαθογόνα στελέχη διαθέτουν 'παράγοντες αποικισμού' ή 'παράγοντες προσκόλλησης', οι οποίοι είναι υπεύθυνοι για την προσκόλληση των βακτηριδίων στα επιθηλιακά κύτταρα του λεπτού εντέρου(αποτελούν προεκβολές του κυτταρικού τοιχώματος.

Για τα μηρυκαστικά τα παθογόνα αυτά ινίδια ονομάστηκαν K88. Ακόμη, ορισμένα στελέχη μπορεί να παράγουν ενδοτοξίνες, οι οποίες είναι λιποπολυσακχαρίτες που προέρχονται από το τοίχωμα του βακτηριδιακού κυττάρου και απελευθερώνονται με τη λύση του. Τα εντεροπαθογόνα στελέχη παράγουν εντεροτοξίνες οι οποίες χαρακτηρίζονται ως εξωτοξίνες και μπορεί να είναι:α) θερμοευαίσθητη τοξίνη( LT), που είναι πρωτεϊνικής φύσεως ουσία με μοριακό βάρος 102.000 Daltons και με αντιγονικές ιδιότητες ή β) θερμοάντοχη τοξίνη(ST), που είναι πολυπεπτιδικής φύσεως ουσία με μοριακό βάρος 1.000-10.000 Daltons, χωρίς αντιγονικές ιδιότητες. Ο μικροοργανισμός αυτός είναι ευκαιριακά παθογόνος και μπορεί να προκαλέσει σε διάφορα όργανα του ανθρώπου και των ζώων φλεγμονές, διαπυήσεις, μαστίτιδες, φλεγμονές του ουροποιητικού συστήματος, αρθρίτιδες, κ.α. Απαραίτητη προϋπόθεση για την πρόκληση διάρροιας είναι ο πολλαπλασιασμός της παθογόνου *E.coli* στο λεπτό έντερο όπου φυσιολογικά υπάρχει σε περιορισμένο

αριθμό. Στα νεογέννητα μπορεί να προκαλέσει σηψαιμία και εντερίτιδες. Στα μοσχάρια συγκεκριμένα μπορεί να προκαλέσει: α) Κολοβακτηριδιακή σηψαιμία: παρατηρείται σε μοσχάρια μιας εβδομάδας και εμφανίζεται ως βαριάς μορφής βλάβη σε διάφορους ιστούς β) Εντερική Κολοβακτηριδίαση: παρατηρείται σε μοσχάρια ηλικίας μέχρι και 2 εβδομάδων και κύρια συμπτώματα είναι η έντονη διάρροια με ατροφία των λαχνών του εντέρου και το αδυνάτισμα, γ) Εντερική κολοβακτηριδίαση: διάρροια που προκαλείται από τα εντεροτοξινογόνα στελέχη και προκαλεί υπερέκκριση του υγρού από το επιθηλιακό ιστό στον αυλό του εντέρου, χωρίς να προκαλείται αλλοίωση των εντερικών λαχνών (Σαρρής et al.,1999).

Στις αγελάδες γαλακτοπαραγωγής το κολοβακτηρίδιο μπορεί να προκαλέσει οξείας ή υπεροξείας κλινικής μορφής μαστίτιδας ή και υποκλινική. Οι μαστίτιδες από κολιβάκιλους συνδέονται συνήθως με τον τοκετό (τα περισσότερα κρούσματα συμβαίνουν 2 εβδομάδες πριν ή 2 μήνες μετά τον τοκετό) και η συχνότητά τους εξαρτάται από διάφορους παράγοντες, όπως καιρικά φαινόμενα (βροχοπτώσεις αυξάνουν τη συχνότητά τους), συνθήκες υγιεινής του στάβλου και διατροφή(εμπλουτισμός της διατροφής τους σε βιταμίνη E και Se μειώνει τη συχνότητά τους). Τα γενικά κλινικά συμπτώματα που εμφανίζει το ζώο είναι πυρετός, απώλεια όρεξης, ατονία μεγάλης κοιλίας, μυικός τρόμος, διάρροια, αφυδάτωση, αδυναμία έγερσης και όσο αφορά το μαστό αυτός διογκώνεται, εμφανίζει θερμότητα και πόνο και παράγει έκκριμα υδαρές ή αιματηρό με σχηματισμό πηγμάτων ινικής. Αποτέλεσμα όλων αυτών των συμπτωμάτων είναι ο αιφνίδιος θάνατος του ζώου ακόμη και μέσα σε λίγες ώρες. Σε περίπτωση που η αγελάδα επιβιώσει μπορεί να χάσει ένα ή περισσότερα τεταρτημόρια του μαστού. Όλα τα παραπάνω συμπτώματα οφείλονται κυρίως στις τοξίνες που παράγουν τα βακτήρια και μεταφέρονται με το αίμα και τη λέμφο σε όλα τα όργανα του ζώου στα οποία προκαλούν βλάβες (Μπόσκος & Κιόσης,2005.).

Από τα εντεροτοξινογόνα στελέχη αυτό το οποίο αποτελεί τον κυριότερο διατροφικό κίνδυνο είναι το *E.coli* O157:H7, το οποίο μπορεί να προκαλέσει αιμορραγική διάρροια στον άνθρωπο. Στο παρελθόν έχουν παρατηρηθεί ορισμένες επιδημίες: στις Η.Π.Α το 1982 από κατανάλωση μολυσμένων με το στέλεχος *E.coli* O157:H7 hamburger σε αλυσίδα εστιατορίων γρήγορου φαγητού(fast-food) και στην Ιαπωνία πάνω από 7000 άτομα είχαν νοσήσει χωρίς να είναι ξεκάθαρη η πηγή

μόλυνσης αυτού του στελέχους. Στον άνθρωπο η προσβολή από το συγκεκριμένο μικροοργανισμό μπορεί να είναι ασυμπτωματική ή μπορεί να εμφανιστεί ως μια απλή διάρροια που να εξελιχθεί σε αιμορραγική. Μια σπάνια αλλά πολύ σοβαρή επιπλοκή είναι το Αιμολυτικό και Ουραιμικό Σύνδρομο, το οποίο παρατηρείται σε παιδιά κυρίως κάτω των 15 ετών καθώς και σε ηλικιωμένα άτομα και μπορεί να προκαλέσει νεφρική ανεπάρκεια. Το στέλεχος αυτό και η αιμορραγική διάρροια που προκαλεί παρατηρείται σε μεγαλύτερο βαθμό στην Αμερική παρά στην Ευρώπη.

Οι πιο πιθανές πηγές μόλυνσης είναι το ωμό βοδινό κρέας και το νωπό γάλα καθώς και τα μη καλά πλυμένα λαχανικά. Το χειρότερο είναι ότι αυτό ο ορότυπος δεν προκαλεί συνήθως κανένα σύμπτωμα στα βοοειδή αν και μπορεί να υπάρχει μέσα στο γαστρεντερικό τους σωλήνα και να αποβάλλεται στο περιβάλλον. Η εξάπλωση της μόλυνσης από το συγκεκριμένο στέλεχος μπορεί να γίνει εκτός από τα μολυσμένα ζώα και με το νερό και το μολυσμένο περιβάλλον της εκτροφής. Για την αντιμετώπιση της νόσου στον άνθρωπο δεν υπάρχει συγκεκριμένη θεραπεία, παρά μόνο συμπτωματική (Loirat et al., 1999; Nataro & Kaper, 1998). Το στέλεχος *E.coli* O157:H7 αναπτύσσεται ακόμη και σε θερμοκρασίες ψυγείου (4-8°C) και βαθιάς κατάψυξης (-80°C). Η ανάπτυξή του έχει παρατηρηθεί ότι είναι πιο αργή στο νωπό γάλα από ότι στον παστεριωμένο, αφού στο πρώτο υπάρχει ο ανταγωνισμός από τη φυσιολογική χλωρίδα αυτού. Όμως, με τη διαδικασία της παστερίωσης (72°C για 15 sec) το *E.coli* O157:H7 καταστρέφεται, επομένως η ύπαρξή του σε παστεριωμένα προϊόντα (τυριά, γάλατα κ.α.) οφείλεται κυρίως στη μετά-παστεριωτική επεξεργασία του προϊόντος (C.Magras, 2006).

Το γένος *Staphylococcus* περιλαμβάνει Gram (+) ακίνητους κόκκους που σχηματίζουν ακανόνιστα αθροίσματα, 'σαν τσαμπιά σταφυλιού'. Πρόκειται για υποχρεωτικά αναερόβια βακτήρια τα οποία εμφανίζουν θετική αντίδραση στην καταλάση και αρνητική στην οξειδάση (Adams & Moss, 2003). Βιοχημικά χαρακτηρίζονται από την ικανότητά τους να διασπούν τη γλυκόζη αερόβια και αναερόβια. Όλη η ομάδα των σταφυλόκοκκων ταξινομείται σε 2 είδη, τους παθογόνους και μη παθογόνους. Οι παθογόνοι παράγουν το ένζυμο πηκτάση και ταξινομούνται στο είδος *Staphylococcus aureus*. Ακόμη, αυτοί χαρακτηρίζονται και ως 'χρυσίζοντες' έστω και αν δεν παράγουν 'χρυσίζουσα χρωστική'. Ένας παθογόνος σταφυλόκοκκος που δεν παράγει χρυσίζουσα χρωστική χαρακτηρίζεται ως

‘χρυσίζων’ σταφυλόκοκκος, ποικιλία λευκός. Όλοι οι σταφυλόκοκκοι που δεν παράγουν πηκτάση χαρακτηρίζονται ως ‘λευκοί’ (Σαρρής et al., 1999).

Ο πιο συχνά διαδεδομένος στη φύση είναι ο *Staphylococcus aureus*, ο οποίος είναι κόκκος σφαιρικός, ακίνητος, Gram(+) και διατάσσεται σε ακανόνιστα ‘τσαμπιά’. Βρίσκεται στο δέρμα, στους βλεννογόνους, αποτελεί μέρος της φυσιολογικής μικροβιακής χλωρίδας που αποβάλλεται στο περιβάλλον με το ρινικό έκκριμα, το σίελο, τα κόπρανα, το γάλα και βρίσκονται και στο νερό, τον αέρα, το έδαφος. Αποτελεί ένα από τα πιο ανθεκτικά, μη σπορογόνα βακτήρια τόσο στη θερμότητα όσο και στην ξηρασία., αφού τα περισσότερα στελέχη καταστρέφονται στους 60°C για 30 λεπτά ενώ τα πιο ανθεκτικά καταστρέφονται στο 70°C για 15 λεπτά. Διατηρείται επίσης, για μεγάλο χρονικό διάστημα σε σκόνη και διάφορα αντικείμενα, αρκεί να μην είναι εκτεθειμένος σε ηλιακή ακτινοβολία. Χαρακτηρίζεται από μεγάλη ανθεκτικότητα σε υψηλές συγκεντρώσεις αλατιού (αναπτύσσεται μέχρι και σε συγκεντρώσεις NaCl 15%). Καταστρέφεται εύκολα με τα συνήθη απολυμαντικά και αν και ήταν το πρώτο βακτήριο που παρουσίασε ευαισθησία στην πενικιλίνη, σήμερα είναι το πλέον ανθεκτικό (Sarris et al., 1999).

Ο *Staphylococcus aureus* παράγει διάφορες ουσίες, οι κυριότερες από τις οποίες αναφέρονται παρακάτω (Sarris et al. 1999):,

- i. Πηκτάση: είναι ένα ένζυμο που προκαλεί πήξη του πλάσματος του ανθρώπου και του κουνελιού αλλά όχι του προβάτου. Η πηκτάση δημιουργεί 1 κάψα από ινική γύρω από το βακτήριο και το προστατεύει από τη φαγοκυττάρωση ή την καταστροφή τους από άλλα κύτταρα. Η παραγωγή πηκτάσης είναι συνώνυμη με την παθογένεια του σταφυλόκοκκου, αφού αποτελεί αντιγονική ουσία.
- ii. Εξωτοξίνη ή Σταφυλοκοκκική Τοξίνη: Πρόκειται για ένα μείγμα θερμοευαίσθητων ουσιών που έχουν ιδιότητες θανατηφόρες και νεκρωτικές για τα πειραματόζωα. Ενδοφλέβια έγχυση τοξίνης προκαλεί θάνατο του πειραματόζωου, ενώ ενδοδερμική προκαλεί νεκρώσεις του δέρματος. Στο παραπάνω σύμπλεγμα τοξινών ανήκουν και διάφορες αιμολυσίνες, οι σπουδαιότερες από τις οποίες είναι οι εξής:

- ✓ ΑΙΜΟΛΥΣΙΝΗ-Α: Παράγεται από στελέχη σταφυλοκόκκων που προσβάλλουν ζώα αλλά κυρίως ανθρώπου και προκαλεί λύση των ερυθρών αιμοσφαιρίων του κουνελιού, του προβάτου, των βοοειδών, αλλά δεν έχει καμία επίδραση στα ερυθρά αιμοσφαίρια του ίππου και του ανθρώπου. Δίνει πλήρης (διαυγής) ζώνη αιμολύσεως, είναι αντιγονική και με τη φορμόλη μετατρέπεται σε ατοξική.
- ✓ ΑΙΜΟΛΥΣΙΝΗ-Β: Παράγεται από στελέχη σταφυλόκοκκων διαφόρου προελεύσεως και προκαλεί λύση των ερυθρών αιμοσφαιρίων του προβάτου και του ανθρώπου, όχι όμως του κουνελιού. Η αιμολυτική της ικανότητα είναι πιο εμφανής όταν η επώαση συνεχιστεί σε θερμοκρασία-δωματίου (ψυχρή-θερμή αιμόλυση). Είναι ουσία αντιγονική και εξουδετερώνεται από ειδικά αντισώματα διαφορετικά από αυτά της αιμολυσίνης-α.
- ✓ ΑΙΜΟΛΥΣΙΝΗ-Δ: Προκαλεί αιμόλυση των ερυθρών αιμοσφαιρίων πολλών ειδών και κυρίως του ανθρώπου και του ίππου. Δίνει ψυχρή αιμόλυση και είναι αντιγονική και δερμονεκρωτική για το κουνέλι.

Τα παθογόνα στελέχη που απομονώνονται από τα ζώα παράγουν συνδυασμό α,β,δ ή β,δ ή α,δ, ενώ τα πηκτάση θετικά παράγουν συνήθως α, β μαζί ή σε συνδυασμό και με τη δ.

- iii. Εντεροτοξίνη: Παράγεται από ορισμένα στελέχη σταφυλόκοκκων ιδίως όταν αυτά επωάζονται σε τρόφιμα πλούσια σε υδατάνθρακες και πρωτεΐνες, συσκευασμένα σε ατμόσφαιρα με CO<sub>2</sub>. Είναι πρωτεϊνικής φύσεως εξωτοξίνη, θερμοάντοχη που αντέχει στους 100°C για 15-30 λεπτά και δεν καταστρέφεται από το ένζυμο θρυψίνη. Στον άνθρωπο προκαλεί έντονη γαστρεντερίτιδα.

Ο *Staphylococcus aureus* προκαλεί τη σταφυλοκοκκική μαστίτιδα στις γαλακτοπαραγωγικές αγελάδες μιας εκτροφής. Η μόλυνση του ζώου είναι ανιούσα, ξεκινάει από τη θηλή του μαστού, πολλαπλασιάζεται στο παρέγχυμα και παράγει ένζυμα και τοξίνες. Επομένως, όπως καταλαβαίνουμε η σταφυλοκοκκική μαστίτιδα συνδέεται άμεσα με τις συνθήκες υγιεινής του αρμέγματος και του στάβλου γενικά. Η



μαστίτιδα μπορεί να είναι υπεροξεία (προκαλεί τοξιναιμία και σηψαιμία και το ζώο μπορεί να καταλήξει στο θάνατο ή στη νέκρωση του μαστού του), οξεία, υποξεία και ή υποκλινική (απουσία εμφανών συμπτωμάτων, απλά μείωση της γαλακτοπαραγωγής). Η βοτρυομύκωση είναι μια χρόνια μορφή σταφυλικοκικής μαστίτιδας που χαρακτηρίζεται από κοκκιοματώδεις αλλοιώσεις και είναι σπάνια στις μέρες μας (Ο.Α.Παπαδόπουλος, 2003). Οι περισσότερες από αυτές τις μολύνσεις συμβαίνουν κατά τη διάρκεια της Ξηράς Περιόδου και προκαλούν τις μαστίτιδες στην έναρξη της γαλακτικής περιόδου. Οι νεαρές αγελάδες της 1<sup>ης</sup> γαλακτικής περιόδου μολύνονται συχνότερα σε σύγκριση με τις παλαιότερες, αλλά η μετάδοση από ζώο σε ζώο δεν αποτελεί σημαντικό πρόβλημα της εκτροφής. Η πρόληψη αυτών των μαστίτιδων μπορεί να γίνει με την εμφάνιση των θηλών μετά το άρμεγμα σε ένα μικροβιοκτόνο διάλυμα (DIPPING), με τα αντιβιοτικά ξηρής περιόδου, τη διατήρηση της καθαρότητας των θηλών και τη σωστή τεχνική του αρμέγματος (Κιόσης & Μπόσκος, 2005).

Όσο αφορά τον άνθρωπο, συνήθως νοσεί εξ' αιτίας της παραγωγής σταφυλοκοκικής τοξίνης, την οποία λαμβάνει από διάφορα κακώς συντηρημένα τρόφιμα. Στο παρελθόν έχουν αναφερθεί διατροφικές τοξικώσεις από γαλακτοκομικά προϊόντα που προέρχονται κυρίως από διάφορους χειρισμούς του γάλακτος μετά τη άμελξη και τη συλλογή του, κατά τους οποίους δε λαμβάνονται τα απαραίτητα μέτρα υγιεινής. Αλλά και οι σταφυλοκοκικές μαστίτιδες είναι ένας τρόπος μόλυνσης του γάλακτος με το σταφυλόκοκκο, οποίος βρίσκει τις κατάλληλες συνθήκες και παράγει τις διάφορες τοξίνες του. Σε μια οξεία μαστίτιδα, ο *Staphylococcus aureus* αποβάλλεται με το γάλα από το ένα τεταρτημόριο του μαστού σε ποσότητες της τάξης 10<sup>8</sup> βακτηριακά κύτταρα/ml, ενώ σε περίπτωση υποκλινικής μαστίτιδας ο αριθμός τους ανέρχεται στα 10<sup>4</sup>-10<sup>5</sup> κύτταρα/ml. Στην πρώτη περίπτωση της οξείας μαστίτιδας υπάρχουν μακροσκοπικές αλλοιώσεις στο γάλα ενώ στη δεύτερη της υποκλινικής όχι. Ο πολλαπλασιασμός του βακτηρίου μέσα στο γάλα θα πρέπει να ευνοείται και από τις περιβαλλοντικές συνθήκες(θερμοκρασία, pH) (C.Magras,2006).

Το γένος *Listeria* αποτελείται από μικρά Gram (+) βακτηρία, υποχρεωτικά αναερόβια, μη σπορογόνα, κινητά με περίτριχες βλεφαρίδες σε σχήμα ραβδωτού κόκκου, διαστάσεων 0,4-0,5μm\*0,5-2μm, τα οποία δίνουν θετικό αποτέλεσμα στην αντίδραση της καταλάσης και αρνητικό στην αντίδραση της οξειδάσης (Adams &

Moss, 2003). Από το γένος *Listeria*, το πλέον παθογόνο βακτήριο είναι η *Listeria monocytogenes*. Η *Listeria monocytogenes* είναι ένα βακτήριο ή κοκκοβακτήριο ευθύ ή κυρτό που διατάσσεται σε μικρά αθροίσματα ή σε ζεύγη (V ή L) ή με τη μορφή πασσάλων φράκτη. Έχει παγκόσμια εξάπλωση και προσβάλλει πολλά είδη ζώων, κυρίως τα μηρυκαστικά και τον άνθρωπο. Πηγές μόλυνσης και διασποράς της Λιστέρια στο περιβάλλον αποτελούν τόσο τα κλινικώς μολυσμένα ζώα όσο και οι υγιείς φορείς, οι οποίοι την απεκκρίνουν στο περιβάλλον (έδαφος, νερό, φυτά) με το ρινικό έκκριμα, το γάλα, τα κόπρανα και τα λόχεια των μολυσμένων ζώων (Sarris et, 1999).

Σπουδαίο ρόλο στη διάδοση της λιστέριας παίζουν τα τροφικά που αποτελούν τη φυσική δεξαμενή του μικροοργανισμού καθώς και τα εξωπαράσιτα, τα άγρια ζώα και πτηνά. Η λιστέρια είναι από τα πιο ανθεκτικά μη σπορογόνα βακτήρια, αφού είναι πολύ ανθεκτική σε NaCl μέχρι 10%, αναπτύσσεται σε pH=5,6-9,6 και μπορεί να διατηρηθεί στο γάλα, στο νερό, στο έδαφος, στα λαχανικά, στις ζωοτροφές και στα κόπρανα σε θερμοκρασίες 4-5°C για πολλά χρόνια. Αντιθέτως, είναι ευαίσθητη στις υψηλές θερμοκρασίες και καταστρέφεται 58-59°C για 10 λεπτά ή στους 56°C για 40 λεπτά και ο πολλαπλασιασμός της αναστέλλεται όταν το pH φτάσει το 5. Έχει σωματικά αντιγόνα (O) και σύμφωνα με αυτά διακρίνονται 4 ορότυποι και βλεφαριδικά αντιγόνα (H), σύμφωνα με τα οποία διακρίνονται 2 ορότυποι (Sarris et, 1999).

Τα στελέχη της λιστέρια γενικά δεν παράγουν τοξίνες, εκτός από τη *Listeria monocytogenes* που παράγει την αιμολυσίνη και προκαλεί β-αιμόλυση. Το παραπάνω παθογόνο στέλεχος προκαλεί τη λιστερίωση στα ζώα και των άνθρωπο, η οποία νόσος μπορεί να χαρακτηρίζεται από εγκεφαλίτιδα, σηψαιμία ή αποβολές ανάλογα με το είδος και την ηλικία του ζώου. Θύρες εισόδου του μικροβίου στον οργανισμό αποτελούν κυρίως το πεπτικό σύστημα και δευτερευόντως το αναπνευστικό, το δέρμα και οι βλεννογόνοι. Στα νεαρά μηρυκαστικά και μονογαστρικά η λιστέρια προκαλεί σηψαιμία και νεκρωτικές αλλοιώσεις στο ήπαρ. Στα ενήλικα μηρυκαστικά προκαλεί εγκεφαλίτιδα ή μηνιγγοεγκεφαλίτιδα. Η εξέλιξή στις αγελάδες είναι πιο αργή από τα μικρά μηρυκαστικά και μπορεί να ξεκινήσει με παράλυση των προσωπικών και φαρυγγικών νεύρων με αποτέλεσμα τη μη λήψη τροφής και τελικά το θάνατο του ζώου μετά από 4-14 μέρες. Ένα από τα πιο συνήθη συμπτώματα επίσης είναι η

αποβολές στο τελευταίο στάδιο της κύησης. Η έγκαιρη διάγνωση της ασθένειας είναι πολύ δύσκολη (Sarris et,1999).

Στο παρελθόν έχουν συμβεί πολλές επιδημίες λιστερίωσης σε ανθρώπινο επίπεδο οφειλόμενες σε ορισμένες τροφές, όπως: α) στη Μασσαχουσέτη (1983), όπου 49 άνθρωποι προβλήθηκαν από παστεριωμένο γάλα και το ποσοστό θνησιμότητας έφτασε το 29%, β) στην Καλιφόρνια (1985), όπου 181 άνθρωποι προσβλήθηκαν από τυρί σε μορφή 'pate molle' και υπήρχαν και 50 νεκροί, γ) στη Γαλλία (1992) είχαμε 63 θανάτους και 279 ανθρώπους που είχαν προσβληθεί από 'τζελ'(πατέ) κρέατος που προερχόταν από γλώσσα χοίρου, δ) στις Η.Π.Α. (1998) υπήρξαν 21 θάνατοι από κατανάλωση μολυσμένου hot-dog (Blenden et al. 1987; De Valk et al. 2000; Goulet et al.2001; Rocourt et al. 1989, 1993; Dossier special: Listeriose et listeria, 2001).

Πιο συγκεκριμένα για τα γαλακτοκομικά προϊόντα, έχουν αναφερθεί κρούσματα λιστερίωσης ανθρώπων από κατανάλωση απαστερίωτου γάλακτος (Kaplan 1962) καθώς επίσης έχει διαπιστωθεί η παρουσία *Listeria monocytogenes* σε αυτό σε ποσοστό 4%-15% (Liewen&Plantz 1988;Hayes 1986;Θεοδωρίδης 1990).Αν και με την παστερίωση τα διάφορα στελέχη του βακτηρίου θανατώνονται, σε περιπτώσεις αυξημένου πληθυσμού τους, το γάλα δεν απαλάσσεται παντελώς από αυτά με αποτέλεσμα να έχουν αναφερθεί στο παρελθόν κρούσματα λιστερίωσης σε ανθρώπους μετά την κατανάλωση προϊόντων παστεριωμένου γάλακτος, π.χ: ξέσπασμα επιδημίας λιστερίωσης στη Φιλανδία το 1998-1999 από κατανάλωση βουτύρου από παστεριωμένο γάλα (Lyytikäinen et al. 2000). Επίσης, πιο συχνά είναι τα κρούσματα λιστερίωσης που έχουν αναφερθεί από κατανάλωση τυροκομικών προϊόντων από απαστερίωτο γάλα. Στην Γαλλία το 1995 είχαν αναφερθεί 37 περιπτώσεις από κατανάλωση του μαλακού τυριού Brie,το οποίο κατασκευάζεται από ωμό (απαστερίωτο) γάλα (raw milk) (Goulet 1995;Rocourt 1997).Τέλος, αρκετές περιπτώσεις σε Αυστρία (37 κρούσματα) (Allerberger and Guggenbichler, 1989), Γερμανία (69 κρούσματα) (Jensen 1940) από κατανάλωση απαστερίωτου γάλακτος και προϊόντων από απαστερίωτο γάλα.

Είναι γεγονός ότι η συχνότητα εμφάνισης κρουσμάτων λιστέριας είναι εξίσου συχνή στα παστεριωμένα και νωπά προϊόντα γάλακτος (ιδίως τυριά). Αυτό υποδηλώνει ότι η μόλυνση των προϊόντων μπορεί να γίνεται κατά τη διαδικασία παρασκευής αυτών. Εκτός από τα τυριά η *Listeria monocytogenes* έχει απομονωθεί

και από άλλα γαλακτοκομικά προϊόντα όπως κρέμες, συμπυκνωμένο γάλα, γάλα μικροδηθημένο, παγωτά, γάλα σκόνη κ.α. Επομένως, η μόλυνση των γαλακτοκομικών προϊόντων με λιστέρια μπορεί να γίνει σε διάφορα στάδια της παραγωγής αυτών, όπως κατά τη μεταφορά, κατά την επεξεργασία του γάλακτος στο εργοστάσιο, κατά τη συσκευασία, κατά τη διανομή στα καταστήματα ακόμη και σε οικιακό επίπεδο. Παρ' όλα αυτά οι δύο πιο συχνοί τρόποι μόλυνσεων είναι κυρίως από : α) την αγελάδα, σε περίπτωσης μαστίτιδας η οποία συνήθως είναι υποκλινική και δεν υπάρχουν συγκεκριμένα συμπτώματα, αλλά το επίπεδο της μόλυνσης είναι αρκετά υψηλό και φτάνει τα  $10^3$ - $10^5$  κύτταρα *Listeria monocytogenes*/ml γάλακτος που προέρχεται από το ένα τεταρτημόριο του μαστού., β) το περιβάλλον, που αποτελεί συχνότερη πηγή μόλυνσης αλλά το επίπεδο της μόλυνσης είναι πιο ασθενές και χαρακτηρίζεται από μικρότερους αριθμούς κυττάρων του μικροοργανισμού στο γάλα. Η μόλυνση του γάλακτος μπορεί να γίνει και από το ενσίρωμα το οποίο δεν είναι τόσο καλά ξινισμένο (έχει  $pH > 4$ ). Η μόλυνση μπορεί να είναι άμεση, δηλαδή μολυσμένο ενσίρωμα να έρθει σε άμεση επαφή με το γάλα και να το μολύνει ή έμμεση, δηλαδή η αγελάδα να φάει από το μολυσμένο ενσίρωμα και να δώσει γάλα μολυσμένο με λιστέρια. Και στις δύο περιπτώσεις η μόλυνση οφείλεται στη μη τήρηση των απαιτούμενων κανόνων υγιεινής της εκτροφής. Τέλος, από τα φρέσκα τυριά και τα μεταποιημένα τυριά (pate) είναι τα πιο ευαίσθητα να μολυνθούν από τη λιστέρια, αφού δεν έχουν κάποια περίοδο ωρίμανσης και η ποιότητά τους εξαρτάται άμεσα από την ποιότητα του γάλακτος από το οποίο παράγονται (C.Magras,2006).

Τελευταίο από τα παθογόνα βακτήρια που ορίζει η νομοθεσία είναι το γένος *Salmonella*, τα οποία είναι Gram (-) βακτήρια, μήκους 2-3 $\mu$ m, διαθέτουν περίτριχες βλεφαρίδες και τα περισσότερα είναι κινητά. Είναι υποχρεωτικά αναερόβια, μη σπορογόνα και στα τεστ καταλάσης και οξειδάσης δίνουν θετικό και αρνητικό αποτέλεσμα αντίστοιχα (Adams & Moss 2003). Έχουν παγκόσμια εξάπλωση και βρίσκονται στο έντερο των ζώων και του ανθρώπου, στα κόπρανα, στα ούρα, στα απόβλητα των σφαγείων, στο νερό, στα τρόφιμα, στις ζωοτροφές. Η ανθεκτικότητα αυτού του βακτηρίου είναι μεγάλη, για να καταστραφεί θα πρέπει να ανεβάσουμε τη θερμοκρασία στους 80°C για 10min. Όσο αφορά τα τρόφιμα, στα κατεψυγμένα τρόφιμα μπορεί να διατηρηθεί πολύ καλά, στα λουκάνικα πιο συγκεκριμένα για να καταστραφεί θα πρέπει να υποστούν βρασμό μέχρι και 2 ώρες. Χαρακτηρίζονται ως αερόβια και προαιρετικά αναερόβια βακτήρια που αναπτύσσονται σε όλα τα κοινά

θρεπτικά υλικά, σχηματίζοντας στρογγυλού τύπου αποικίες (λείες ή ανώμαλης υφής) (Σαρρής et al., 1999).

Τα αντιγόνα τους διακρίνονται σε τρεις κατηγορίες:

- ΒΛΕΦΑΡΙΔΙΚΑ ΑΝΤΙΓΟΝΑ (Αντιγόνα-H): Πρόκειται για ουσίες πρωτεϊνικής φύσεως που είναι ευαίσθητες στη θερμοκρασία, στις αλκοόλες και τα οξέα. Οι διάφοροι ορότυποι διαφέρουν στο συνδυασμό των αντιγονικών συστατικών. Σύμφωνα με το σχήμα Kauffman-White, τα βλεφαριδικά αντιγόνα χωρίζονται σε δύο είδη: α) αυτά της ειδικής φάσης (φάση 1), που χαρακτηρίζονται από γράμματα του λατινικού αλφάβητου (a, b, c κ.α.) και β) αυτά της μη ειδικής φάσης (φάση 2), που χαρακτηρίζονται από αραβικούς αριθμούς (1,2,3 κ.τ.λ.). Ένας ορότυπος μπορεί να έχει μίας φάσης αντιγόνα (π.χ. *Salmonella enteritidis*, μόνο φάση 1) ή και των 2 φάσεων (π.χ. *Salmonella typhimurium*) ή καμίας (πρόκειται για τις ακίνητες, *Salmonella gallinarum*, *Salmonella pullorum*).
- ΣΩΜΑΤΙΚΑ ΑΝΤΙΓΟΝΑ (Αντιγόνα-O): Πρόκειται για λιποπολυσακχαρίτες, συστατικά του κυτταρικού τοιχώματος, τα οποία είναι θερμοάντοχα (αντέχουν ως 2,5 ώρες σε 100°C) και δεν καταστρέφονται από οξέα και αλκοόλες. Αποτελούνται από διάφορα αντιγονικά συστατικά που χαρακτηρίζονται από αραβικούς αριθμούς (1,2,3 κ.τ.λ.). Σαλμονέλλες με όμοια αντιγόνα-O και διαφορετικά αντιγόνα-H συμπεριλαμβάνονται στην ίδια οροομάδα, αλλά ανήκουν σε διαφορετικούς ορότυπους (π.χ. *Salmonella gallinarum* και *Salmonella enteritidis*), ενώ αν έχουν όμοια αντιγόνα H και O, τότε θεωρούνται και του ίδιου ορότυπου.
- ΑΝΤΙΓΟΝΑ ΚΑΨΑΣ (Αντιγόνα-K): Πρόκειται για αντιγόνα πολυσακχαριδικής φύσεως του βακτηριακού ελύτρου που παρατηρούνται μόνο στους παθογόνους για τον άνθρωπο ορότυπους, *Salmonella typhi* και *Salmonella paratyphi*. Εμποδίζουν τον προσδιορισμό του αντιγόνου O επειδή περιβάλλουν το κυτταρικό τοίχωμα. Το πιο γνωστό από τα αντιγόνα αυτά είναι το αντιγόνο Vi, που καταστρέφεται με οξέα και αλκοόλες και με θέρμανση στους 60°C για 1 ώρα. Οι σαλμονέλλες που διαθέτουν αυτό το αντιγόνο είναι πολύ λοιμογόνες (Vi=Virulent= λοιμογόνος).

Σήμερα, έχουν αναγνωρισθεί 65 οροομάδες και πάνω από 2400 ορότυποι σαλμονελλών. Ακόμη με τη λύση των κυττάρων των σαλμονελλών απελευθερώνονται λιποπολυσακχαρίτες που δρουν ως ενδοτοξίνες. Οι διάφοροι ορότυποι των σαλμονελλών έχουν την ιδιότητα να προσαρμόζονται σε διάφορους ξενιστές και να προκαλούν πρωτογενείς(από ήδη προσαρμοσμένα στελέχη στον ξενιστή) ή δευτερογενείς σαλμονελλώσεις(από μη προσαρμοσμένες σαλμονέλλες στον ξενιστή). Έτσι έχουμε διαφορετικές σαλμονελλώσεις στους διάφορους ξενιστές. Στον άνθρωπο, η *Salmonella typhi* προκαλεί τον τύφο και η *Salmonella paratyphi* προκαλεί τον παρατύφο. Από τους συχνότερους τύπους σαλμονελλών είναι η *Salmonella typhimurium*, η οποία προκαλεί τροφικής προελεύσεως λοιμώξεις που εμφανίζονται ως εντερίτιδες. Από την άλλη, στα βοοειδή εμφανίζονται συνήθως οι *Salmonella typhimurium*, *Salmonella Dublin*, *Salmonella enteritidis* οι οποίες προκαλούν εντερίτιδες, σηψαιμίες και αρθρίτιδες, αλλά και η *Salmonella abortus-bonis* η οποία προκαλεί αποβολές στις αγελάδες (Σαρρής et al., 1999).

Η μόλυνση γίνεται συνήθως από το στόμα με μολυσμένη τροφή ή νερό και στη συνέχεια το μικρόβιο πολλαπλασιάζεται στο έντερο και προκαλεί εντερίτιδα. Είναι δυνατό να ακολουθήσει εισβολή στο λεμφικό σύστημα και στο αίμα και να προκαλέσει σηψαιμία και αλλοιώσεις σε διάφορα όργανα, όπως εγκέφαλος, μήνιγγες, μήτρα κ.α. Συχνές εντοπίσεις είναι στη χοληδόχο κύστη και στα μεσεντέρια λεμφογάγγλια με αποτέλεσμα τα ζώα αυτά να απεκκρίνουν περιοδικά τις σαλμονέλλες με τα κόπρανα για μεγάλο χρονικό διάστημα(χρόνια μορφής εντερίτιδα).Οι σαλμονέλλες είναι ικανές να πολλαπλασιάζονται και στα μακροφάγα. Ανάλογα με την ηλικία εμφανίζονται και διαφορετικές μορφές της ασθένειας, π.χ. οι νεογέννητοι μόσχοι εμφανίζουν συνήθως τη σηψαιμική μορφή, η οποία χαρακτηρίζεται από νευρικά συμπτώματα, έντονη κατάπτωση, υψηλό πυρετό και θάνατο μέσα σε 24-48 ώρες, ενώ οι μόσχοι 3-6 εβδομάδων εμφανίζουν μια οξείας μορφής εντερίτιδας, που χαρακτηρίζεται από πυρετό, έντονη υδαρής διάρροια και μερικές φορές δυσεντερία. Τέλος, στα ενήλικα βοοειδή παρατηρείται κυρίως μια χρόνια μορφή εντερίτιδας, στην οποία παρατηρείται επίμονη διάρροια, απίσχναση, περιοδικό πυρετό, χωρίς ιδιαίτερη ανταπόκριση στη θεραπεία. Κυριότερες πηγές μόλυνσης είναι το έδαφος, τα μολυσμένα κόπρανα των ζώων, το νερό και οι τροφές. (Παπαδόπουλος, 2003).

Όσο αφορά τις μολύνσεις/ ασθένειες που μπορεί να προκαλέσει στον άνθρωπο, αυτές χωρίζονται σε τοξικώσεις (Toxi-infection, T.I.A.C.) και λοιμώξεις (Infection).

Οι τοξικώσεις προκαλούνται λόγω του αισθητού πολλαπλασιασμού των σαλμονελλών σε ένα τρόφιμο, οι οποίες είναι ιδιαίτερα λοιμογόνες ή είναι απαθογόνες αλλά βρίσκονται σε τόσους μεγάλους πληθυσμούς στο τρόφιμο που προκαλούν νόσο στον άνθρωπο. Οι τοξικώσεις είναι αποκλειστικά τροφογενείς (διάφορα τρόφιμα ζωικής προέλευσης, όπως αυγά, γάλα, κρέας είναι πολύ καλά θρεπτικά υποστρώματα που ευνοούν την ανάπτυξη της σαλμονέλλας κάτω από τις κατάλληλες συνθήκες) ή μπορεί να προκληθούν και από ελλείψεις συνθήκες υγιεινής κατά την παρασκευή των διαφόρων φαγητών. Οι τοξικώσεις εμφανίζονται ξαφνικά και συνήθως συνδέονται με την κατανάλωση κάποιου τροφίμου στο πρόσφατο παρελθόν πριν την εκδήλωση της νόσου. Τα συμπτώματα είναι γαστρεντερικές διαταραχές κυρίως, όπως κολικοί, εμετοί, διάρροιες που μερικές φορές συνοδεύονται από πυρετό. Ο χρόνος επώασης είναι συνήθως 12-24 ώρες και η διάρκεια της νόσου είναι 2-5 μέρες (Pelzer, 1989)

Από την άλλη, οι λοιμώξεις προέρχονται από μόλυνση τον πολλαπλασιασμό της σαλμονέλλας μέσα στον ανθρώπινο οργανισμό. Στις λοιμώξεις, μιλάμε μόνο για τα στελέχη που είναι παθογόνα για τον άνθρωπο. Τα υπόλοιπα στελέχη που δεν είναι παθογόνα για τον άνθρωπο μπορούν να προκαλέσουν μια μειωμένης νοσηρότητας λοίμωξη η οποία μπορεί να περάσει και απαρατήρητη. Η διαφορά με την τοξίκωση έγκειται στο γεγονός ότι ενώ στην τοξίκωση οι σαλμονέλλες έχουν ήδη πολλαπλασιαστεί μέσα στο τρόφιμο, στη μόλυνση οι σαλμονέλλες πολλαπλασιάζονται μέσα στον ανθρώπινο οργανισμό. Στην περίπτωση της λοίμωξης, η πηγή της μπορεί να είναι: α) ζωικής προέλευσης τρόφιμο, το οποίο προέρχεται από ζώο που έχει νοσήσει, έστω και υποκλινικά, από το βακτήριο, β) φυτικής προέλευσης τρόφιμο για το οποίο έχουν χρησιμοποιηθεί μολυσμένα απόβλητα ζώων (μολυσμένη κοπριά), για την ανάπτυξή του, γ) από το περιβάλλον του ανθρώπου (άνθρωποι που μένουν μαζί και νοσούν, όχι σωστές συνθήκες υγιεινής). Η εξέλιξη της νόσου σε αυτή την περίπτωση είναι πιο αργή, αφού ο χρόνος επώασης είναι 4-5 μέρες και η διάρκειά της είναι 1-3 εβδομάδες. Τα συμπτώματα στην αρχή είναι ήπια αλλά στη

συνέχεια εμφανίζονται έντονες γαστρεντερικές διαταραχές, αλλά προσβάλλονται και άλλα όργανα όπως το ήπαρ (ηπατίτιδες), η καρδιά (ενδοκαρδίτιδες) κ.α. (Pelzer, 1989 )

Τέλος, σχετικά με τα γαλακτοκομικά προϊόντα αυτό το οποίο είναι το πιο ευαίσθητο να μολυνθεί είναι το γάλα, το οποίο μπορεί να έρθει σε επαφή με κόπρανα μολυσμένων ζώων κατά τη συλλογή του (μειωμένες συνθήκες υγιεινής στάβλου/αμελκτηρίου). Πόλυ πιο σπάνια, η μόλυνση του γάλακτος με *Salmonella* μπορεί να προέρχεται από μια υποκλινικής μορφή μαστίτιδα. Το παστεριωμένο γάλα συνήθως είναι ελεύθερο σαλμονελλών αφού αυτές καταστρέφονται με τις υψηλές θερμοκρασίες. Γι' αυτό σε όλες τις περιπτώσεις η μόλυνση με σαλμονέλλα του παστεριωμένου γάλακτος έχει γίνει μετά την παστερίωση, κατά την περαιτέρω επεξεργασία και συσκευασία αυτού. Επίσης, έχει παρατηρηθεί ο πολλαπλασιασμός και η ανάπτυξη του σε γαλακτοκομικά προϊόντα, όπως το τυρί, το βούτυρο και οι κρέμες. Στη Γαλλία, κατά τη διετία 1990-1992, οι τροφογενείς τοξικώσεις από σαλμονέλλα ήταν οι δεύτερες σε συχνότητα και από αυτές το 20% των περιπτώσεων προερχόταν από γαλακτοκομικά προϊόντα. (Magras, 2006).

Εκτός, όμως από τα παραπάνω παθογόνα βακτήρια, για την παρασκευή τυριών σημαντικό ρόλο έχουν και τα Οξυγαλακτικά βακτήρια (L.A.B.). Οι κυριότερες ομάδες Οξυγαλακτικών βακτηρίων είναι οι παρακάτω: *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Propionibacterium* κ.α. Οι διάφορες ομάδες των L.A.B. βακτηρίων μπορούν να χρησιμοποιούνται ως 'εκκινήτριες καλλιέργειες' (L.A.B.-starters) ή 'μη εκκινήτριες καλλιέργειες' (Non-Starters L.A.B.) (Tamime, 2002). Το κυριότερο προϊόν του μεταβολισμού αυτών των βακτηρίων είναι τα οργανικά οξέα που παράγονται από τη ζύμωση των μεταβολισμένων υδατανθράκων. Μπορούμε να διαχωρίσουμε τα L.A.B. σε ομοζυμωτικά, τα οποία παράγουν σχεδόν μόνο γαλακτικό οξύ κατά τη ζύμωση των υδατανθράκων και σε ετεροζυμωτικά, τα οποία εκτός από γαλακτικό οξύ παράγουν και αρκετά μεγάλες ποσότητες οξικού, μυρμηγκικού, κιτρικού κ.α. οξέων. Οι κυριότερες λειτουργίες των L.A.B.-starters συνοψίζονται στις παρακάτω (Tamime, 2002) :

- Βοηθούν στη μεγαλύτερη διάρκεια συντήρηση ενός προϊόντος εξ' αιτίας των διαφόρων οργανικών οξέων που παράγουν κατά τη



διαδικασία της ζύμωσης τα οποία λειτουργούν προστατευτικά για το προϊόν. Εκτός από τα οργανικά οξέα, ορισμένες ομάδες L.A.B. παράγουν και ορισμένες βακτηριοστατικές ουσίες τις βακτηριοσίνες που βοηθούν στην ασφαλής συντήρηση του προϊόντος.

- Βελτιώνουν ορισμένα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του προϊόντος, π.χ. γεύση, άρωμα, εξ' αιτίας των διαφόρων προϊόντων του μεταβολισμού τους, π. χ. οργανικά οξέα, διακετύλιο, ακεταλδεύδη κ.α.
- Μειώνουν το pH ενός προϊόντος.
- Δρουν ανταγωνιστικά με ορισμένα παθογόνα βακτήρια με αποτέλεσμα να αναστέλλουν τον πολλαπλασιασμό του και να δημιουργούν ένα ασφαλές προϊόν.

Τα περισσότερα L.A.B. που χρησιμοποιούνται ως 'εκκινήτριες καλλιέργειες' διαχωρίζονται σε μεσόφιλα (optimum θερμοκρασία ανάπτυξης 30° C) και θερμόφιλα (optimum θερμοκρασία ανάπτυξης 42°C) (Fox et al., 2000). Συνήθως, χρησιμοποιούνται και οι δύο ομάδες των L.A.B.-starters ταυτόχρονα, για την παρασκευή των διάφορων ζυμούμενων προϊόντων και ιδίως τυριών. Το κυριότερο είδος μεσόφιλων L.A.B. που χρησιμοποιείται στις starter cultures είναι το *Lactococcus*, με κυριότερους εκπροσώπους τους *Lactococcus lactis sub. lactis* και *Lactococcus lactis sub. cremoris*. Ενώ όσα αφορά τα θερμόφιλα L.A.B τα γένη που χρησιμοποιούνται περισσότερο στις starter cultures είναι: α) το *Lactobacillus*, με κυριότερους εκπροσώπους τους *Lb. helveticus*, *Lb. delbrueckii sub. bulgaricus*, *Lb. delbrueckii sub. lactis* και β) το *Streptococcus* με κυριότερο εκπρόσωπό τον *Streptococcus thermophilus*. (Fox et al., 2000).

Το γένος *Lactococcus* αποτελείται από σφαιρικά κύτταρα με διάμετρο 0,5-1μm και μπορούν να σχηματίζουν μικρές ή μεγάλες αλυσίδες ή να υπάρχουν και σε ζεύγη. Είναι Gram (+) μικροαερόφιλα, ομοζυμωτικά γαλακτικά βακτήρια που παράγουν μόνο L (+) Γαλακτικό Οξύ από Λακτόζη, εκτός από το είδος *Lc. Lactis sub. diacetylactis* που παράγει και διακετύλιο. Δεν διαθέτουν μαστίγια και δεν παράγουν ενδοσπόρια, ορισμένα στελέχη παράγουν εξωπολυσακχαρίτες και βακτηριοσίνες, ουσίες που έχουν αντιμικροβιακή δράση. Αναστέλλεται η ανάπτυξη τους σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες από 45°C και σε συγκεντρώσεις αλατιού μεγαλύτερες από 6,5% NaCl. (Tamime, 2002; Fox et al., 2000).

Το γένος *Lactobacillus* αποτελείται από ραβδωτά κύτταρα που διαφέρουν στο μέγεθος και συνήθως ανευρίσκονται με τη μορφή αλύσεων. Έχουν αναγνωρισθεί 64 είδη αυτού του γένους. Ακόμη, τα είδη αυτού του γένους διαχωρίζονται σε 3 ομάδες: α) Υποχρεωτικά Ομοζυμωτικά βακτήρια, β) Προαιρετικά Ετεροζυμωτικά βακτήρια και γ) Υποχρεωτικά Ετεροζυμωτικά βακτήρια.. Τα βακτήρια της α) ομάδας διαθέτουν αλδολάσες αλλά όχι φωσφοκινάσες με αποτέλεσμα να μην μπορούν να ζυμώνουν τις πεντόζες αλλά μόνο τις εξόζες, μέσα από το μονοπάτι της γλυκόλυσης και να παράγουν D-, L- ή DL- Γαλακτικό οξύ. Οι μικροοργανισμοί αυτοί μπορούν να αναπτυχθούν σε θερμοκρασίες 45°C αλλά όχι σε 15°C. Οι κυριότεροι εκπρόσωποι είναι ο *Lb. helveticus*, *Lb. delbrueckii sub. bulgaricus* και *sub. lactis*. Τα βακτήρια της β) ομάδας διαθέτουν και αλδολάσες και φωσφοκινάσες με αποτέλεσμα να μπορούν να ζυμώσουν και τις εξόζες ομοζυμωτικά προς την παραγωγή γαλακτικού οξέος και τις πεντόζες ετεροζυμωτικά προς Γαλακτικό και Οξικό οξύ. Οι μικροοργανισμοί αυτοί αναπτύσσονται σε θερμοκρασίες 15°C αλλά όχι σε 45°C. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν και ορισμένα N.S.-L.A.B. καθώς και ορισμένα βακτήρια που χρησιμοποιούνται ως καλλιέργειες σε τυριά με μεγάλο χρόνο ωρίμανσης, π.χ. *Lb. casei*, *Lb. paracasei*, *Lb. plantarum*. Τα βακτήρια της γ) ομάδας διαθέτουν φωσφοκινάσες αλλά όχι αλδολάσες με αποτέλεσμα να ζυμώνουν τα σάκχαρα μόνο ετεροζυμωτικά και να παράγουν γαλακτικό οξύ, αιθανόλη και CO<sub>2</sub>, όπως το γένος *Leuconostoc*. Οι μικροοργανισμοί αυτής της κατηγορίας επίσης μπορούν να αναπτυχθούν σε θερμοκρασία 15°C και όχι σε 45°C, αν και υπάρχουν και ορισμένες εξαιρέσεις, όπως ο *Lb. fermentum*. Κυριότεροι εκπρόσωποι είναι οι *Lb. brevis* και *Lb. fermentum*, που αποτελούν N.S.-L.A.B. (Fox et al., 2000).

Τέλος από το γένος *Streptococcus* ο πιο διαδεδομένος είναι ο *Streptococcus thermophilus* που χρησιμοποιείται στην εκκινήτρια καλλιέργεια της γιαούρτης μαζί με τον *Lb. delbrueckii sub. bulgaricus*. Πρόκειται για σφαιρικά ή ωσειδή κύτταρα τα οποία έχουν διάμετρο μικρότερη από 1μm και μπορούν να ανευρίσκονται σε αλυσίδες ή ζεύγη. Τα περισσότερα στελέχη αναπτύσσονται σε θερμοκρασίες μεταξύ 10-50°C και σε περιβάλλον μέχρι 10% NaCl και έχουν άμεση ανάγκη από Βιταμίνη του συμπλέγματος Β για την καλύτερη ανάπτυξή τους. Είναι Gram (+) ομοζυμωτικά, αναερόβια βακτήρια τα οποία μπορούν να παράγουν L(+)- Γαλακτικό οξύ, ακεταλδεύδη και διακετύλιο από τη λακτόζη του γάλακτος. Μερικά στελέχη μπορούν να παράγουν εξωπολυσακχαρίτες (Tamime, 2002).

Μια τελευταία κατηγορία μικροοργανισμών που μπορούμε να βρούμε στη μικροβιακή χλωρίδα των τυριών είναι αυτή των ζυμών και μυκήτων. Στις περισσότερες περιπτώσεις οι ζύμες και μύκητες αναπτύσσονται δευτερογενώς στα τυριά, αφού δεν επηρεάζονται ιδιαίτερα από το χαμηλό pH που έχει αποκτήσει το τυρί μετά τη δράση των γαλακτικών βακτηρίων και την παραγωγή γαλακτικού οξέος, ούτε από τις υψηλές συγκεντρώσεις αλατιού, π.χ. 10% NaCl (Fox et al. 2000). Πρόκειται για ευκαρυωτικούς μονοκύτταρους, όσο αφορά τις ζύμες και πολυκύτταρους, όσο αφορά τους μύκητες οργανισμούς οι οποίοι αναπτύσσονται σε αερόβιο περιβάλλον και δεν έχουν ανάγκη από αυξημένες ποσότητες υγρασίας και θρεπτικών συστατικών (Ray,2004). Αν εξαιρέσουμε ορισμένες κατηγορίες τυριών που οι μύκητες αποτελούν μέρος της τεχνολογίας παρασκευής τους, π.χ.*Penicillium roforti*, *Penicillium camemberti* που χρησιμοποιούνται στην παραγωγή του τυριού Roquefort και Camembert αντίστοιχα, οι μύκητες υποβαθμίζουν την ποιότητα του προϊόντος (Fox et al., 2000).

Εκτός από τους μύκητες και τις ζύμες υποβάθμιση για το τυρί αποτελεί και η ομάδα του γένους *Micrococcus*. Η ομάδα αυτή μικροοργανισμών αποτελείται από Gram(+) κόκκους(διαμέτρου 0,2-2 mm) , καταλάση (+), υποχρεωτικά αερόβιους και μη κινητούς. Μπορεί να υπάρχουν σε ζεύγη, τετράδες ή μεγαλύτερες ομάδες. Μπορούν να αναπτύσσονται σε συγκέντρωση αλατιού μέχρι και 15% και τα περισσότερα είδη παράγουν κίτρινες ή κόκκινες αποικίες. Έχουν ανευρεθεί στην επιφάνειες των Blue cheese και Comte (Fox et al., 2000).

### **5.3 Επεξεργασίες γάλακτος που προορίζεται για τυροκόμηση**

Από την Ευρωπαϊκή Νομοθεσία ορίζεται πλέον ότι οποίο γάλα προορίζεται για τυροκόμηση θα πρέπει να έχει υποστεί μια θερμική επεξεργασία τύπου παστερίωσης κατά την οποία θα θανατώνεται το μεγαλύτερο μέρος των παραπάνω παθογόνων μικροοργανισμών.

Η πιο διαδεδομένη θερμική επεξεργασία του γάλακτος που προορίζεται για τυροκόμηση είναι αυτή της παστερίωσης. Η παστερίωση του γάλακτος που προορίζεται για τυροκόμηση μπορεί να γίνει ή στους 72°C για 15 sec ή στους 63°C για 30 min. Στην πρώτη περίπτωση έχουμε συνεχής ροή του γάλακτος από τον παστεριωτήρα, ενώ στη δεύτερη ασυνεχής. Παλαιότερα υπήρξε μεγάλη διαμάχη για

το αν θα πρέπει να παστεριώνεται το γάλα που προορίζεται για τυροκόμηση. Οι υπέρμαχοι της παστερίωσης υποστήριζαν ότι με αυτό τον τρόπο εξασφαλίζουμε την υγιεινή και ασφάλεια των προϊόντων (τυριών) που προέρχονται από αυτό, ενώ οι αντίπαλοι υποστηρίζουν ότι με την παστερίωση καταστρέφονται η φυσική χλωρίδα και τα φυσικά ένζυμα του γάλακτος, η αξία των οποίων δεν μπορεί να αναπληρωθεί από την προσθήκη έτοιμων οξυγαλακτικών καλλιιεργειών (Ανυφαντάκης, 2004).

Παρ' όλα αυτά η ασφάλεια ενός προϊόντος και η υγεία του καταναλωτή έχουν μεγαλύτερη σημασία από τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά ενός προϊόντος. Όλα τα παραπάνω παθογόνα βακτήρια που αναφέραμε (*Enterobacteriaceae*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*) καθώς και ο βάκιλλος της φυματίωσης και η *Brucella* καταστρέφονται με την παστερίωση. Αν οι παραπάνω μικροοργανισμοί υπάρχουν στο γάλα που θα χρησιμοποιήσουμε για τυροκόμηση και αυτό χρησιμοποιηθεί χωρίς καμία θερμική επεξεργασία, τότε αυτοί θα πολλαπλασιαστούν μέσα στη μάζα του τυριού κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης, αφού θα έχουν βρεί τις κατάλληλες συνθήκες (ρη, υγρασία και θερμοκρασία) και αρκετά θρεπτικά υλικά (λακτόζη, πρωτεΐνες, λίπος). Όμως, κατά τη διάρκεια της παστερίωσης, συμβαίνουν ορισμένες φυσικοχημικές αλλαγές στο γάλα, κυριότερες από τις οποίες είναι (Ανυφαντάκης, 2004):

- ✓ Αλλοδομή των υδατοδιαλυτών πρωτεϊνών του γάλακτος σε ποσοστό περίπου 10%.
- ✓ Καταστροφή ή αδρανοποίηση των φυσικών ενζύμων του γάλακτος που συμβάλουν στην ωρίμανση των τυριών.
- ✓ Μετατροπή μέρους, περίπου 5% του διαλυτού ασβεστίου σε αδιάλυτο.
- ✓ Δημιουργία συμπλόκου κ-καζεΐνης με β-λακτογλοβουλίνη.

Όπως είναι προφανές, οι υψηλότερες θερμοκρασίες από αυτές της παστερίωσης ή οι μεγαλύτεροι χρόνοι θέρμανσης θα μεγενθύνουν τις παραπάνω αλλαγές και πρέπει να αποφεύγονται. Εκτός από τις παραπάνω φυσικοχημικές αλλαγές θα έχουμε και τις παρακάτω τεχνολογικές δυσκολίες, λόγω της αυξημένης θέρμανσης του γάλακτος:

- ✓ Επιμήκυνση του χρόνου πήξης του γάλακτος με την πυτιά, λόγω της κατακρήμνισης του διαλυτού ασβεστίου με τη θέρμανση.

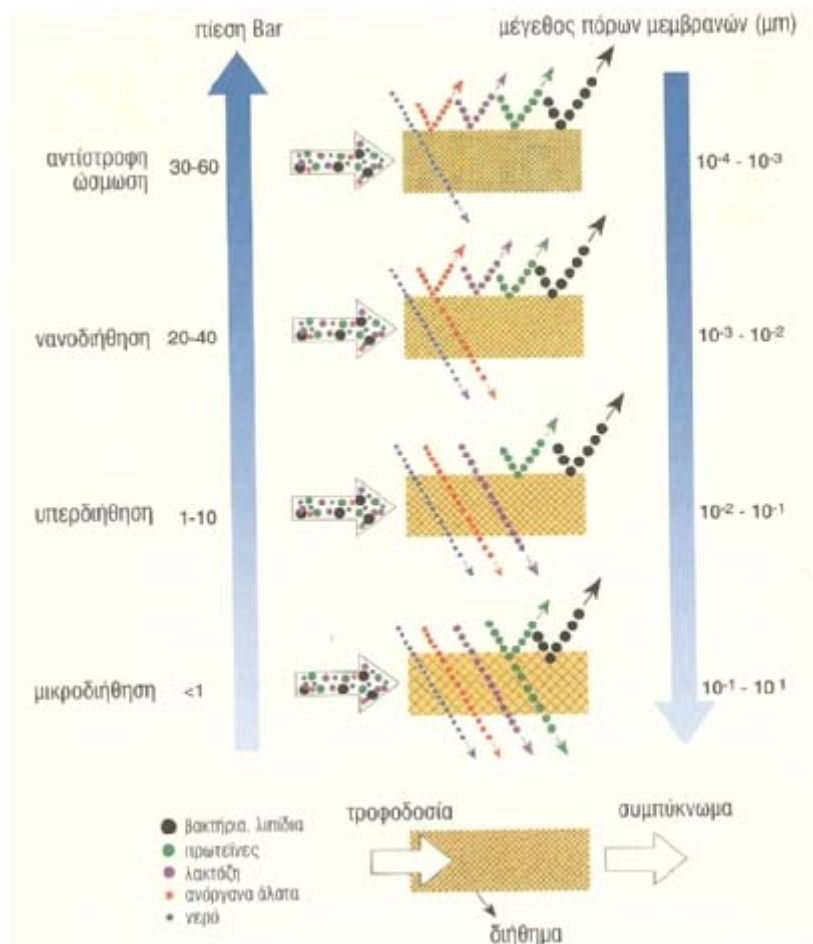
- ✓ Επιβράδυνση του ρυθμού αποβολής τυρογάλακτος από το πήγμα , λόγω της μεταφοράς στο τυρί των οροπρωτεϊνών που αλλοδομήθηκαν με τη θέρμανση.
- ✓ Δημιουργία μαλακού πήγματος, λόγω της κατακράτησης περισσότερου νερού στο τυρί.
- ✓ Μεγαλύτερη απόδοση του παστεριωμένου γάλακτος σε τυρί, λόγω της μεταφοράς των υδατοδιαλυτών πρωτεϊνών στο τυρί.
- ✓ Βραδύτερος ρυθμός ωρίμανσης, λόγω της θανάτωσης της μικροχλωρίδας του νοπού γάλακτος.
- ✓ Πιο ήπια γεύση, λόγω της καταστροφής των λιπολυτικών ενζύμων.
- ✓ Χαμηλότερο pH στο τυρί, λόγω της συγκράτησης περισσότερου τυρογάλακτος στο τυρί που συνεπάγεται τη μεταφορά περισσότερης λακτόζης στο τυρί και το χαμηλότερο pH που προκύπτει από τη ζύμωση από τα LAB-Starters.

Τα τελευταία χρόνια, στην τεχνολογία παρασκευής τυροκομικών προϊόντων έχει κάνει την είσοδό της η τεχνολογία των μεμβρανών. Η τεχνολογία των μεμβρανών τα τελευταία 30 χρόνια βρίσκει εφαρμογή στην βιομηχανία τροφίμων (Daufin et al., 2001) και αποτελεί μια συνεχώς αναπτυσσόμενη τεχνολογία που είναι αρκετά αποτελεσματική από άποψη κόστους και έχει την ιδιότητα του διαχωρισμού των συστατικών (Reif, 2006). Αρχικά, οι μεμβράνες χαρακτηρίζονταν από υψηλό κόστος και γι' αυτό έβρισκαν εφαρμογή μόνο για τον διαχωρισμό προϊόντων υψηλής ποιότητας. Η πρώτη μεμβράνη κατασκευάστηκε το 1920 με κύριο υλικό κατασκευής την οξική κυτταρίνη και η χρήση της περιορίστηκε σε εργαστηριακό επίπεδο. Οι μεμβράνες διακρίνονται σε βιολογικές ή φυσικές και σε συνθετικές. Οι φυσικές μεμβράνες προέρχονται από βιολογικές πηγές, ενώ οι συνθετικές μπορεί να είναι από πολυμερή, μεταλλικές ή κεραμικές (Reif, 2006).

Η λειτουργία του συστήματος των μεμβρανών είναι παρόμοια με την συμπεριφορά ενός διαλύματος που περιορίζεται από ένα σύστημα ημιπερατής μεμβράνης, με αποτέλεσμα ορισμένα από τα συστατικά του διαλύματος να μπορέσουν να διαπεράσουν την μεμβράνη και άλλα όχι. Η κινητήρια δύναμη για την παραπάνω λειτουργία μπορεί να είναι η εφαρμογή πίεσης, ανάλογα με το είδος των μεμβρανών που χρησιμοποιούνται και η διαφορά ηλεκτρικού δυναμικού. Στην τελευταία περίπτωση πρόκειται για την πιο πρόσφατη εφαρμογή, την

ηλεκτροδιάλυση. Το υγρό που περνά από την μεμβράνη ονομάζεται διήθημα (permeate), ενώ το υγρό που δεν την διαπερνά ονομάζεται κατακράτημα (retentate) (Walstra et al., 1999). Ανάλογα με το είδος των μεμβρανών, το μέγεθος των πόρων των μεμβρανών, την ασκούμενη πίεση και το είδος των σωματιδίων που κατακρατούν έχουμε και τις ανάλογες διηθήσεις που είναι οι εξής: μικροδιήθηση, υπερδιήθηση, νανοδιήθηση, αντίστροφη ώσμωση και η ηλεκτροδιάλυση. Όλες οι παραπάνω διηθήσεις βρίσκουν εφαρμογή στην βιομηχανία τροφίμων και στη γαλακτοκομία και φαίνονται στο παρακάτω σχήμα.

**Σχήμα 1: Τα είδη των μεμβρανών (Ανυφαντάκης, 2004).**



Στη συγκεκριμένη μελέτη θα ασχοληθούμε με την τεχνική της μικροδιήθησης. Η μικροδιήθηση είναι μια τεχνική διαχωρισμού που έχει την ιδιότητα να απομακρύνει μικρού μεγέθους σωματίδια, όπως βακτήρια, κύτταρα ζυμών, κολλοειδή σωματίδια και σωματίδια καπνού. Οι πόροι των μεμβρανών της μικροδιήθησης έχουν μέγεθος

περίπου από 0,1-10  $\mu\text{m}$  και είναι διαπερατοί στην ροή, με αποτέλεσμα να συγκρατούν τα παραπάνω σωματίδια και να προκαλούν τον διαχωρισμό τους (Huisman, 2000). Οι πιέσεις που εφαρμόζονται στην μικροδιήθηση είναι μικρότερες από αυτές της υπερδιήθησης, από 0,1-8 bar, και παρατηρείται ταυτόχρονα μεγαλύτερη ροή (Rosenberg, 1995).

Η μικροδιήθηση αποτελεί την πρώτη διαδικασία διήθησης που αναπτύχθηκε εμπορικά στην Γερμανία το 1929 από τον Sartorius-Werke. Αρχικά, είχε ερευνητική εφαρμογή, αλλά κατά τη διάρκεια του δευτέρου Παγκοσμίου Πολέμου προσαρμόστηκε για βακτηριολογική ανάλυση αποθεμάτων νερού. Μέχρι το 1963 το υλικό κατασκευής των μεμβρανών μικροδιήθησης ήταν η νιτροκυτταρίνη ή ένα μίγμα από εστέρες κυτταρίνης (Merin and Daufin, 1990). Ωστόσο, πλέον οι μεμβράνες κατασκευάζονται από γυαλί, από κεραμικά υλικά, όπως αλουμίνα, διοξείδιο του τιτανίου και οξείδιο του ζirkονίου, και μέταλλα, όπως άργυρος και ανοξείδωτο ατσάλι. Το πλεονέκτημα αυτών των ανόργανων συστατικών είναι η σταθερότητά τους έναντι ακραίων συνθηκών κατά την διάρκεια της επεξεργασίας των τροφίμων, όπως υψηλές τιμές θερμοκρασίας, ακραίες τιμές pH και η επαφή με διαλύματα που είναι διαφορετικά ως προς την σύστασή τους από το νερό. Οι περισσότερες μεταλλικές και ορισμένες κεραμικές μεμβράνες παράγονται με συμπίκνωση των υλικών χωρίς λιώσιμό τους, αν και οι υπόλοιπες κεραμικές μεμβράνες κατασκευάζονται με την τήξη ενός υγρού κολλοειδούς συστήματος ή με ανοδική οξείδωση. Επίσης, ορισμένες νέες μεμβράνες κατασκευάζονται με λιθογραφικές τεχνικές. Η μικροδιήθηση αποτελεί την μεγαλύτερη βιομηχανική αγορά στο σύνολο των μεμβρανών και είναι υπεύθυνη σε ποσοστό 40% του συνόλου των πωλήσεων σε Ευρώπη και Αμερική. Το 2002 η αγορά των μεμβρανών της μικροδιήθησης εμφάνισε σημαντικά κέρδη της τάξεως των 400 εκατομμυρίων δολαρίων και ο ετήσιος ρυθμός ανάπτυξης ήταν 6,6% (Huisman, 2000).

Η μικροδιήθηση μπορεί να εκτελεστεί με δύο διαφορετικούς τρόπους: α) με την κατά μήκος μικροδιήθηση (dead end filtration, in line filtration) και β) την εφαπτομενική μικροδιήθηση (cross-flow or tangential microfiltration). Στην κατά μήκος μικροδιήθηση η διεύθυνση της ροής είναι κάθετη στην μεμβράνη. Τα αιωρούμενα σωματίδια συνεχώς κινούνται προς την κατεύθυνση της μεμβράνης και καθιζάνουν στην επιφάνειά της ή μέσα στους πόρους της μεμβράνης. Η απόθεση των σωματιδίων στην μεμβράνη οδηγεί σε μια συνεχώς αυξανόμενη αντίσταση στη ροή

με αποτέλεσμα την συνεχή μείωση του ρυθμού ροής του διηθήματος. Η μείωση της απόθεσης ιζήματος επιτυγχάνεται με την εφαρμογή της εφαπτομενικής μικροδιήθησης κατά την οποία η κατεύθυνση ροή είναι συμπτωματική με την μεμβράνη. Η ροή με τον τρόπο αυτό απομακρύνει τα σωματίδια από την επιφάνεια της μεμβράνης και επιπλέον ελαχιστοποιεί την απόθεση σωματιδίων στην μεμβράνη (Huisman, 2000).

## Σχήμα 2: Είδη μικροδιήθησης.

### Κατά μήκος μικροδιήθηση

### Εφαπτομενική μικροδιήθηση

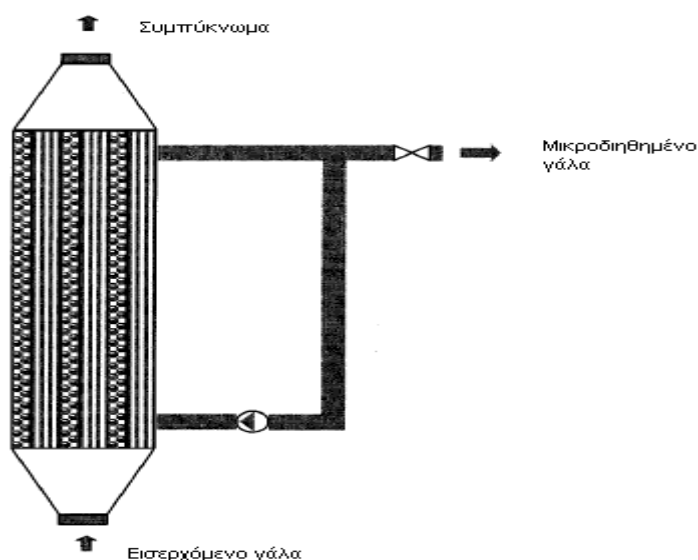


Η μεγάλη πρόοδος της μικροδιήθησης στην βιομηχανία γάλακτος παρατηρήθηκε το 1980 με την εισαγωγή των νέων κεραμικών μεμβρανών που αποτελούνταν από μεγάλο αριθμό εσωτερικών καναλιών και αυλακώσεων. Η διάμετρος των πόρων της μεμβράνης της μικροδιήθησης κυμαίνονται από 10-0,1  $\mu\text{m}$  με αποτέλεσμα να μπορεί να βρεί εφαρμογή για συγκεκριμένους διαχωρισμούς σωματιδίων που βρίσκονται σε διασπορά σε υγρά. Τα σωματίδια που περιέχονται στο γάλα με βάση το μέγεθός τους μπορούν να διαχωριστούν σχετικά εύκολα και η κατάταξή τους κατά μειωμένο μέγεθος είναι οι εξής: σωματικά κύτταρα (15-6  $\mu\text{m}$ ), λιποσφαίρια (15-0,2  $\mu\text{m}$ ), βακτήρια (6-0,2  $\mu\text{m}$ ) και μικκύλια καζεϊνών (0,3-0,03  $\mu\text{m}$ ) (Pierre et al., 1998). Η έναρξη της μικροδιήθησης του γάλακτος πρέπει να γίνεται με προσοχή με σκοπό να αποφευχθεί το γρήγορο φράξιμο των μεμβρανών. Αρχικά, η συσκευή θα πρέπει να ξεπλυθεί με ζεστό νερό (52 °C) και με τις βαλβίδες εξάτμισης να είναι ανοιχτές με σκοπό την απομάκρυνση των φυσαλίδων αέρα. Στην συνέχεια ακολουθεί θέρμιση του γάλακτος στους 50 °C για 20 λεπτά με στόχο την εξασφάλιση της φυσικοχημικής ισορροπίας του γάλακτος. Η συσκευή της μικροδιήθησης που χρησιμοποιείται στην περίπτωση του γάλακτος φαίνεται παρακάτω (Εικόνα 4.3.) (Saboya and Maubois,



2000). Η μικροδιήθηση έχει αρκετές εφαρμογές στην βιομηχανία γάλακτος οι οποίες θα αναλυθούν διεξοδικά παρακάτω και αποτελεί μια τεχνολογία που θα πρέπει να εστιαστεί το ερευνητικό ενδιαφέρον αρκετά διότι δεν υπάρχουν πολλές επιστημονικές αναφορές σε αυτήν.

**Σχήμα 3: Εφαπτομενική μικροδιήθηση του γάλακτος (Saboya and Maubois, 2000)**



Μια εναλλακτική τεχνική της μικροδιήθησης του γάλακτος είναι ο βακτηριοκαθαρισμός (bactofugation). Με την τεχνική αυτή, ειδικά σχεδιασμένοι φυγοκεντρικοί διαχωριστήρες φυγοκεντρούν το γάλα στους 73 °C οπότε τα βακτήρια που είναι λίγο πιο βαρύτερα από το γάλα απομακρύνονται μαζί με μικρή ποσότητα άπαχου γάλακτος. Με τον βακτηριοκαθαρισμό έχουμε και απομάκρυνση των σπορίων που υπάρχουν στο γάλα (Walstra et al., 1999). Το βασικό μειονέκτημα της τεχνικής αυτής είναι ότι απαιτεί υψηλά ποσά κατανάλωσης ενέργειας και πως η μείωση του συνολικού αριθμού των σπορίων κυμαίνεται σε ποσοστό 90-95% (Guerra et al., 1998).

Οι μεμβράνες της μικροδιήθησης προσφέρουν μια εναλλακτική μέθοδο που μπορεί να αντικαταστήσει την θερμική επεξεργασία. Το μικροδιηθημένο γάλα σε σύγκριση με το κανονικό περιέχει περίπου κατά 3,5 δεκαδικούς λογαρίθμους λιγότερο μικροβιακό φορτίο. Επίσης, τα σπορογόνα βακτήρια που επιβιώνουν από την παστερίωση μπορούν να κατακρατηθούν καλύτερα με την μικροδιήθηση εξαιτίας του μεγάλου κυτταρικού όγκου τους. Με την μικροδιήθηση ο αριθμός σπορίων

μειώνεται κατά 4,5 δεκαδικούς λογαρίθμους. Σε ότι αφορά την επίδραση της μικροδιήθησης σε ορισμένα παθογόνα βακτήρια όπως *Listeria monocytogenes*, *Brucella abortus*, *Salmonella typhimurium* και *Mycobacterium tuberculosis* ο αριθμός τους μειώνεται κατά 3.4, 4, 3.5 και 3.7 αντίστοιχα δεκαδικούς λογαρίθμους. Τέτοια αποτελέσματα εξασφαλίζουν ότι το μικροδιηθημένο άπαχο γάλα περιέχει λιγότερο από 1cfu/L από αυτά τα παθογόνα βακτήρια (Madec et al., 1992). Επίσης, με την μικροδιήθηση επιτυγχάνεται πλήρης απομάκρυνση των σωματικών κυττάρων με αποτέλεσμα το μικροδιηθημένο γάλα να μην περιέχει τα ανθεκτικά στην παστερίωση ένζυμά τους (Law and Goadehough, 1995).

Τέλος όσο αφορά την τυροκομία, οι καταναλωτές τυριών επιθυμούν την κατανάλωση προϊόντων υψηλής ποιότητας σε συνδιασμό με ελάχιστο κίνδυνο υγιεινής. Τέτοιες προϋποθέσεις απαιτούν πλήρη έλεγχο της διαδικασίας τυροκόμησης ξεκινώντας από το γάλα που συλλέγεται προς τυροκόμηση. Η χρήση γάλακτος που έχει αρχικά επεξεργαστεί με την εφαρμογή της μικροδιήθησης, εξασφαλίζει στους παραγωγούς τυριών πλήρη έλεγχο του παραγόμενου προϊόντος. Για την τυροκόμηση χρησιμοποιείται μείγμα άπαχου μικροδιηθημένου γάλακτος και παστεριωμένης κρέμας γάλακτος. Τα τυριά που παράγονται από μικροδιηθημένο γάλα είναι πιο ασφαλή από υγιεινής πλευράς σε σχέση με τα τυριά που παράγονται από παστεριωμένο γάλα. Επίσης, αν και με την μικροδιήθηση απομακρύνονται σπορογόνα βακτήρια όπως το *Clostridium tyrobutyricum*, εν τούτοις η προσθήκη νιτρικών αλάτων εφαρμόζεται σε πολύ λίγες χώρες, πχ. στην Ολλανδία, όπου προστίθεται 15 γραμμάρια νιτρικών ανά 100 λίτρα γάλακτος τυροκόμησης (Klantschitsch et al., 2000).

Επίσης, η παραγωγή τυριών από μικροδιηθημένο γάλα, ανοίγει νέους δρόμους για την ανίχνευση και τον προσδιορισμό του συγκεκριμένου ρόλου κάθε είδους μικροοργανισμού κατά την διάρκεια της ωρίμανσης των τυριών (πχ. Οξυγαλακτικά βακτήρια, μη εναρκτήριες οξυγαλακτικές καλλιέργειες, προπιονικά βακτήρια, ζύμες και μύκητες). Ωστόσο, η χρήση μικροδιηθημένου γάλακτος για την παραγωγή ΠΟΠ τυριών προκαλεί αρκετά ερωτήματα. Για παράδειγμα, η φυσική μικροβιακή χλωρίδα διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στα αρωματικά χαρακτηριστικά και την δομή των ΠΟΠ τυριών. Η μικροδιήθηση του γάλακτος επηρεάζει την αρχική φυσική μικροβιακή χλωρίδα γεγονός που θα επηρεάσει τα χαρακτηριστικά των ΠΟΠ τυριών. Επίσης, σύμφωνα με την παρούσα τεχνολογία η απομάκρυνση των βακτηρίων με την

μικροδιήθηση λαμβάνει χώρα στους 35 °C και η κρέμα παστεριώνεται σε υψηλές θερμοκρασίες (90-95 °C για 2-3 λεπτά) χωρίς να είναι γνωστή η επίδραση της θέρμανσης στο λίπους, στην κατάσταση της μεμβράνης των λιποσφαιρίων και στην δομή του καζεϊνικού συμπλόκου κατά την διάρκεια της ωρίμανσης των τυριών σε σχέση με τα τυριά που παράγονται από κανονικό γάλα (Maubois et al., 2000).

## ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### 6)ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

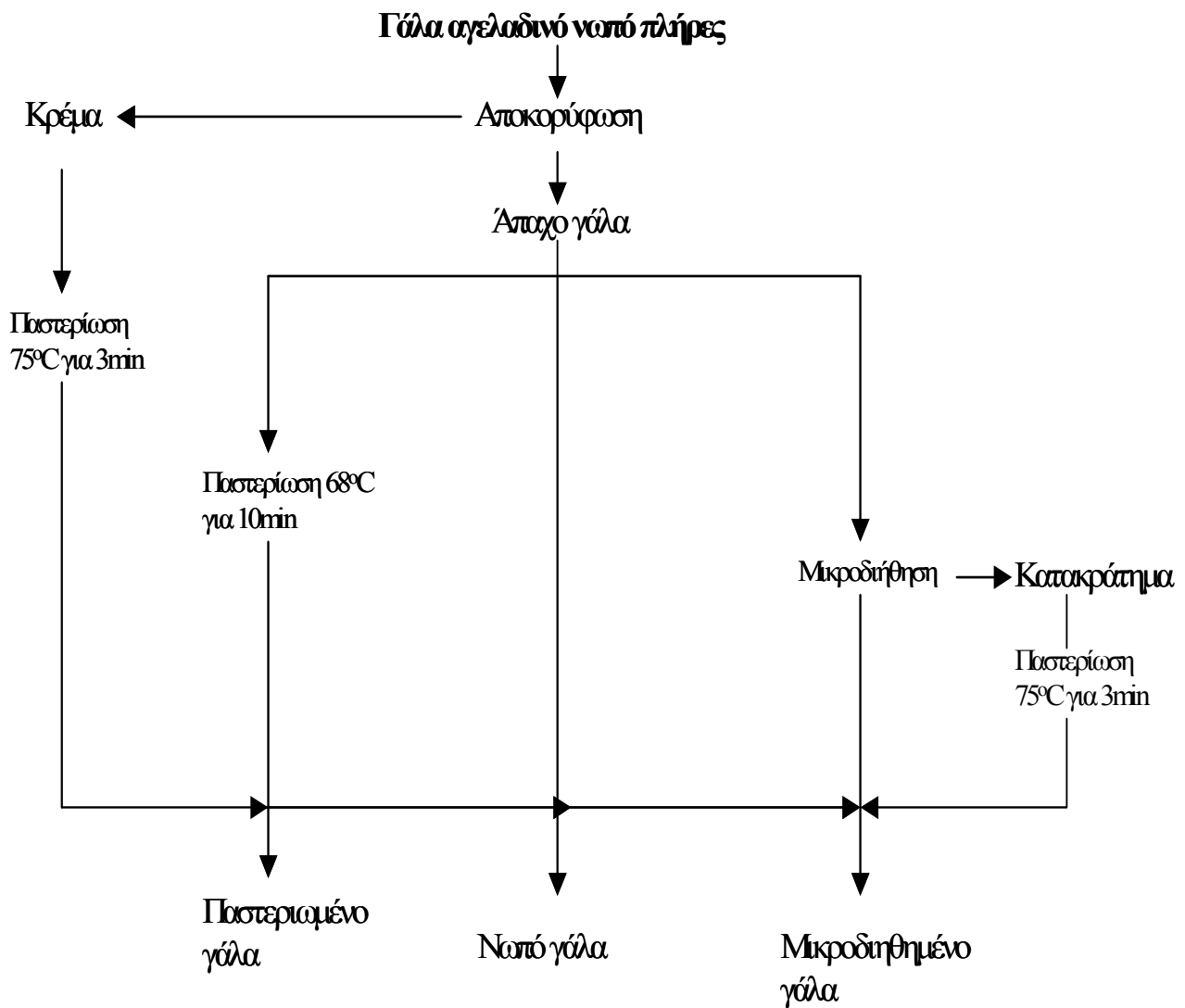
Στη συγκεκριμένη μελέτη παρασκευάστηκε ένα φρέσκο τυρί αλοιφώδους υφής με τρεις διαφορετικές τεχνολογίες. Για την παρασκευή του συγκεκριμένου αλοιφώδους τυριού χρησιμοποιήθηκε αγελαδινό γάλα, το οποίο παραλήφθηκε από τα ζώα του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών. Σκοπός της συγκεκριμένης μελέτης ήταν η σύγκριση όσο αφορά τα φυσικά, χημικά, μικροβιολογικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των μαλακών τυριών που παρασκευάστηκαν από νωπό, παστεριωμένο και μικροδιηθημένο αγελαδινό γάλα. Επίσης, σε ένα μεγάλο μέρος του πειράματος μελετήθηκε η τεχνολογία της μικροδιήθησης και τα αποτελέσματα που έχει αυτή στο συγκεκριμένο γαλακτοκομικό προϊόν που παρασκευάσαμε. Η τεχνολογία της μικροδιήθησης είναι μια νέα σχετικά τεχνολογία που δεν έχει εφαρμοστεί αρκετά στη γαλακτοβιομηχανία. Αρκετές πειραματικές μελέτες έχουν γίνει στο παρελθόν πάνω στην τεχνολογία της μικροδιήθησης, αλλά παρόλα αυτά στη βιομηχανία δεν εφαρμόζεται τόσο όσο η τεχνολογία της παστερίωσης.

Στο συγκεκριμένο πείραμα, λοιπόν, έγιναν κάποιες αναλύσεις οι οποίες ήταν ενδεικτικές της σύστασης και της ποιότητας των τυριών που παρασκευάστηκαν. Συγκρίνοντας τα αποτελέσματα των παραπάνω αναλύσεων, βγαίνουν κάποια συμπεράσματα σχετικά με τις διαφορετικές τεχνολογίες παρασκευής που χρησιμοποιήθηκαν.

## **7)ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ:**

### **7.1 Επεξεργασία γάλακτος**

Το γάλα που παραλήφθηκε από τις αγελάδες του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, επεξεργάστηκε κατάλληλα έτσι ώστε να δημιουργηθούν τα τρία διαφορετικά γάλατα τυροκόμησης. Για τη δημιουργία των 3 διαφορετικών γαλάτων τυροκόμησης έγινε αποκορύφωση του πλήρους νωπού αγελαδινού γάλακτος. Στη συνέχεια, παστεριώθηκε η κρέμα στους 75°C για 3 λεπτά και αναμείχθηκε με το νωπό άπαχο γάλα έτσι ώστε το τελικό γάλα που προορίζεται για την τυροκόμηση να έχει λιποπεριεκτικότητα 4%. Αυτό αποτέλεσε το νωπό γάλα τυροκόμησης από το οποίο θα παρασκευάσουμε το πρώτο από τα τρία τυριά μας. Το δεύτερο τυρί παρασκευάστηκε από παστεριωμένο γάλα αγελάδας και το τρίτο τυρί από μικροδιηθημένο γάλα αγελάδας τα οποία επίσης είχαν τυποποιηθεί σε 4% λιποπεριεκτικότητα. Η μέχρι τώρα πορεία του πειράματος απεικονίζεται πολύ καλά στο παρακάτω Διάγραμμα 7.1:



Διάγραμμα 7.1: Επεξεργασία γαλάτων τυροκόμησης.

Για την αποκορύφωση χρησιμοποιήθηκε εργαστηριακού κορυφολόγου (Subitas cream separator, Turkey) ακολούθησε συλλογή και ζύγιση του άπαχου γάλακτος και της κρέμας γάλακτος. Η κρέμα, όπως βλέπουμε και παραπάνω παστεριώθηκε και προστέθηκε σε νωπό, παστεριωμένο και μικροδιηθημένο γάλα έτσι ώστε στο καθένα να αποκτήσει λιποπεριεκτικότητα 4%. Το μικροδιηθημένο γάλα έχει περάσει από πιλοτική μονάδα μικροδιήθησης της εταιρίας PALL Italia s.r.l. (MILANO, Italy) με κεραμικές μεμβράνες P19-40 της Membralox® με τα εξής χαρακτηριστικά : ενεργό υλικό μεμβράνης υπερκάθαρο αλουμίνιο (>99,7%), μέγεθος πόρων 1.4 μm, κανάλια 19, διάμετρος καναλιών 4mm, μήκος 1020 mm και επιφάνεια μικροδιήθησης 0,24 m<sup>2</sup>. Η θερμοκρασία ήταν σταθερή στους 50°C, η πίεση 3 bar και η διάρκεια μικροδιήθησης ήταν 15 λεπτά. Αφού περάσουμε την απαιτούμενη ποσότητα γάλακτος από την παραπάνω συσκευή μικροδιήθησης λαμβάνουμε το

κατακράτημα το οποίο το παστεριώνουμε στους 75°C για 3 λεπτά και στη συνέχεια το αναμειγνύουμε με το μικροδιήθημα και την κρέμα. Το μείγμα αυτό (κατακράτημα, κρέμα, μικροδιήθημα) αποτελεί το τρίτο γάλα το οποίο προορίζεται για τυροκόμηση και έχει τυποποιηθεί σε λιποπεριεκτικότητα 4%.

## 7.2 Τυροκόμηση

Από καθένα από τα παραπάνω γάλατα τυροκόμησης ελήφθησαν 8 κιλά, τα οποία τυροκομήθηκαν σύμφωνα με το Διάγραμμα 7.2. Η καλλιέργεια που χρησιμοποιήθηκε ήταν του εμπορίου σε λυοφυλιωμένη μορφή (Direct high-acid MOT82DC που περιείχε *Lc lactis*, *Streptococcus thermophilus* και *Lb bulgaricus*). Επίσης, χρησιμοποιήθηκε και κλασσική πυτιά σε μορφή σκόνης (Nofuren 1100, Hansen).

8 kg γάλα θερμοκρασίας 25°C

↓

Προσθήκη εναρκτήριας καλλιέργειας εμπορίου (μείγμα μεσόφιλης και θερμόφιλης) σε ποσοστό 2.5 U/100 L.

↓

Προσθήκη πυτιάς (0.25 g/100 L)

↓

Παραμονή στους 23 °C για 20 h και μέχρι pH 4.4

↓

Μεταφορά του πήγματος χωρίς διαίρεση σε πάνινο σάκο

↓

Στράγγιση στους 18 °C για 4 h και μετά στους 6 °C για 20 h

↓

Προσθήκη αλατιού στο τυρόπηγμα σε ποσοστό 1.5 % κ.β.

↓

Συσκευασία σε πλαστικούς περιέκτες

↓

Αποθήκευση στους 4-5 °C για 15 ημέρες

Διάγραμμα 7.2: Διαδικασία Τυροκόμησης.

### **7.3 Δειγματοληψία**

Η παραπάνω διαδικασία της επεξεργασίας του γάλακτος και της τυροκόμησης έγινε τρεις φορές. Κάθε φορά γινόταν δειγματοληψία από το νωπό πλήρες γάλα της αγελάδας καθώς και από τα γάλατα της τυροκόμησης, το νωπό, το παστεριωμένο και το μικροδιηθημένο. Οι αναλύσεις που έγιναν στα γάλατα ήταν μικροβιολογικές για τον προσδιορισμό της ποιότητας τους πριν χρησιμοποιηθούν για τυροκόμηση. Ακόμη, οι αναλύσεις που έγιναν στα τυριά που παρασκευάστηκαν, εκτός από τις μικροβιολογικές, ήταν φυσικοχημικές και οργανοληπτικές. Δείγματα τυριών για τις παραπάνω αναλύσεις ελήφθησαν κατά την 1<sup>η</sup>, 7<sup>η</sup> και 15<sup>η</sup> μέρα. Οι περισσότερες αναλύσεις τυριών έγιναν εις τριπλούν, εκτός από τις μικροβιολογικές αναλύσεις που έγιναν εις διπλούν (διπλά τρυβλία) και ο προσδιορισμός του υδατοδιαλυτού αζώτου που έγινε επίσης εις διπλούν. Τα νούμερα που προκύπτουν στα αποτελέσματα είναι ο μέσος όρος των επαναλήψεων και των τριών τυροκομήσεων. Για τις μικροβιολογικές αναλύσεις των τυριών χρησιμοποιήθηκε η συσκευή του Stomacher για τη μετατροπή τους σε ομοιογενές, υγρό μείγμα.

### **7.4 Αναλύσεις γάλακτος**

Το νωπό πλήρες γάλα που παρελήφθη από την αγελάδα πέρασε από το όργανο Milkoscan FT6000 (Foss) για να προσδιοριστεί η σύστασή του (λίπος, πρωτεΐνες, λακτόζη, ολικά στερεά). Επίσης, έγινε μέτρηση του pH με πεχάμετρο Radiometer pioneer 10 και μέτρηση της οξύτητας έγινε ως εξής : 10 ml δείγματος γάλακτος προστίθενται 1-2 σταγόνες δείκτη φαινολοφθαλεΐνης και ακολουθεί τιτλοδότηση με διάλυμα NaOH N/9 (Ανυφαντάκης, 1992). Τέλος, έγινε μέτρηση του αριθμού των σωματικών κυττάρων με την χρήση του οργάνου Fossomatic (Foss) για τον πλήρη προσδιορισμό της σύστασης του γάλακτος που χρησιμοποιήσαμε ως πρώτη ύλη. Όλες οι παραπάνω αναλύσεις έγιναν και στα γάλατα τυροκόμησης (νωπό, παστεριωμένο, μικροδιηθημένο). Εκτός από τον προσδιορισμό της σύστασης, σε όλα τα γάλατα (νωπό, πλήρες της αγελάδας, νωπό τυροκόμησης, παστεριωμένο τυροκόμησης, μικροδιηθημένο τυροκόμησης) έγιναν και μικροβιολογικές εξετάσεις για τον προσδιορισμό της Ολικής Μικροβιακής Χλωρίδας και ορισμένων παθογόνων μικροοργανισμών σε αυτά, ενδεικτικά της ποιότητάς τους. Για τις μικροβιολογικές εξετάσεις χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω υλικά:



- P.C.A.(BIOKAR DIAGNOSTICS): Για τον προσδιορισμό της Ολικής Μικροβιακής Χλωρίδας με την τεχνική της ενσωμάτωσης σε διπλά τρυβλία, τα οποία επωάστηκαν στους 30°C για 72 ώρες.
- V.R.B.L. (AppliChem) : Για τον προσδιορισμό των Κολοβακτηριδίων με την τεχνική της ενσωμάτωσης με διπλό στρώμα(συνθήκες αναερόβιες) σε διπλά τρυβλία τα οποία επωάστηκαν στους 37°C για 24 ώρες.
- Y.G.C.(BIOKAR DIAGNOSTICS) :Για τον προσδιορισμό των ζυμών με την τεχνική της επίστρωσης σε διπλά τρυβλία τα οποία επωάστηκαν σε 25°C για 72 ώρες.
- M17-Agar (LAB-M) :Για τον προσδιορισμό των μεσόφιλων και θερμοφίλων γαλακτικών κόκκων με τεχνική ενσωμάτωσης σε διπλά τρυβλία τα οποία επωάστηκαν στους 22°C και 37° C αντίστοιχα για 48 ώρες.
- MRS-Agar (LAB-M) :Για τον προσδιορισμό των μεσόφιλων γαλακτικών βακίλων με την τεχνική της ενσωμάτωσης σε διπλά τρυβλία τα οποία επωάστηκαν στους 30°C για 48 ώρες, σε αναερόβιες συνθήκες(10% Διοξειδίο του άνθρακα).
- MSA (LAB-M): Για τον προσδιορισμό των μικρόκοκκων με την τεχνική της επίστρωσης σε διπλά τρυβλία, τα οποία επωάστηκαν στους 30°C για 72 ώρες.
- Baird Parker Agar(BIOLIFE) : Για τον προσδιορισμό των Σταφυλόκοκκων με την τεχνική της επίστρωσης σε διπλά τρυβλία τα οποία επωάστηκαν στους 37°C για 48 ώρες. Πρόκειται για επιλεκτικό υλικό.
- Palcam-Agar (MERCK) : Για τον προσδιορισμό της Λιστέριας με την τεχνική της επίστρωσης, αφού πρώτα έχει γίνει εμπλουτισμός στο Listeria Enrichment Broth(BIOKAR DIAGNOSTICS) για 24 ώρες στους 37°C. Η τεχνική της επίστρωσης στο Palcam γίνεται σε μονά τρυβλία τα οποία επωάζονται στους 37°C για 24 ώρες. Πρόκειται για επιλεκτικό υλικό.
- X.L.D.(OXOID) : Για τον προσδιορισμό της Σαλμονέλλας με την τεχνική της επίστρωσης, αφού πρώτα έχει γίνει εμπλουτισμός σε Mannitol Selenite Broth Base(OXOID) για 24 ώρες στους 37°C. Η τεχνική της επίστρωσης στο X.L.D.

γίνεται σε μονά τρυβλία τα οποία επωάζονται στους 37°C για 24-48 ώρες. Πρόκειται για επιλεκτικό υλικό.

Όσο αφορά τους παθογόνους μικροοργανισμούς *Listeria*, *Salmonella*, *Staphylococcus* διενεργήθηκαν και κάποια επιπλέον επιβεβαιωτικά τέστ, όπως αυτά περιγράφονται παρακάτω:

- ΤΕΣΤ ΟΞΕΙΔΑΣΗΣ: Χρησιμοποιήθηκε το Oxidase Test (Ganfyd). Σύμφωνα λοιπόν με αυτό το τέστ, λαμβάνεται μια ποσότητα από μια χαρακτηριστική αποικία, που έχει αναπτυχθεί σε τρυβλίο, με βαμβακοφόρο στυλεό και στη συνέχεια εμβαπτίζεται σε διάλυμα χρωστικής που περιέχει το αντιδραστήριο tetramethyl-*p*-phenylenediamine ή το dimethyl-*p*-phenylenediamine. Στη συνέχεια περιμένουμε 10 δευτερόλεπτα και αν δούμε το βαμβάκι να αλλάζει χρώμα και να γίνεται μπλέ τότε θεωρούμε το τέστ θετικό. Οι μικροοργανισμοί που διαθέτουν το ένζυμο του Κυτοχρώματος της Οξειδάσης έχουν την ικανότητα να λειτουργούν ως δέκτες ηλεκτρονίων. Στο συγκεκριμένο τέστ ως δότης ηλεκτρονίων λειτουργεί η ουσία της χρωστικής του τέστ η οποία περιέχει υδροχλωρικά άλατα που οξειδώνονται από τα ένζυμα της οξειδάσης του κυτοχρώματος και απελευθερώνεται η μπλέ χρωστική(θετικό αποτέλεσμα).
- ΤΕΣΤ ΚΑΤΑΛΑΣΗΣ: Γίνεται πάνω σε μια αντικειμενοφόρο πλάκα, στην οποία έχει τοποθετηθεί υλικό από την προς εξέταση αποικία του μικροοργανισμού και σε αυτή προστίθεται μια σταγόνα Υπεροξειδίου του Υδρογόνου 3%. Αν παρατηρηθεί αφρισμός, τότε το τέστ θεωρείται θετικό και ο μικροοργανισμός θεωρείται θετικός στο τεστ της καταλάσης. Αν δεν παρατηρηθεί αφρισμός τότε το τέστ θεωρείται αρνητικό.
- ΤΕΣΤ ΑΙΜΟΛΥΣΗΣ: Είναι ενδεικτικό για τον κάθε μικροοργανισμό για το αν παράγει αιμολυσίνες, ένζυμα που προκαλούν αιμόλυση. Γίνεται σε τρυβλία με αιματούχο άγαρ, πάνω στα οποία εξαπλώνεται με κρίκο(stricking) ό από την προς εξέταση αποικία και παρατηρείται η ύπαρξη αιμόλυσης ή όχι. Αν υπάρχει αιμόλυση σχηματίζεται μια διαφανής ζώνη γύρω από τη γραμμή που έχουμε χαράξει με τον κρίκο πάνω στο αιματούχο άγαρ. Ανάλογα με το πλάτος αυτής της γραμμής μπορούμε να μιλάμε για α-, β- ή γ- αιμόλυση. Η β-

αιμόλυση αντιστοιχεί στην πιο παχιά και πιο έντονα διαφανή γραμμή ενώ η γ-αιμόλυση στη μη ύπαρξη γραμμής. Η α-αιμόλυση αντιστοιχεί στην ήπια , διαφανή ζώνη.

- ΤΕΣΤ ΠΗΚΤΑΣΗΣ: Γίνεται μόνο για το είδος του *Staphylococcus* και είναι ενδεικτικό του παθογόνου *Staphylococcus aureus*. Αφού γίνει ανανέωση σε Brain Heart Infusion Broth(BHIB-Biolife) της χαρακτηριστικής αποικίας του σταφυλόκοκκου, που είχε αναπτυχθεί σε Baird Parker Agar, χρησιμοποιείται το Coagulase Plasma EDTA(Biolife). Το παραπάνω σκεύασμα αποτελείται από λυοφιλιωμένο πλάσμα κουνελιού το οποίο διαλύεται σε απεσταγμένο νερό κάτω από συνθήκες ασηψίας. Αναμειγνύονται 0,5ml από το υγρό Coagulase Plasma EDTA και 0,5ml από την ανανεωμένη καλλιέργεια σε BHI-Broth και αφήνεται το μείγμα να επωαστεί στους 37°C. Γίνεται συστηματικώς μακροσκοπικώς έλεγχος του φιαλιδίου με το μείγμα από τις 3 ώρες και μετά. Αν έχει σχηματιστεί πήγμα μέσα στις 3 ώρες τότε θεωρείται ότι το στέλεχος τους σταφυλόκοκκου διαθέτει πηκτικά ένζυμα και θεωρείται παθογόνο. Αν μετά τις 24 ώρες δεν έχει σχηματιστεί ακόμη πήγμα τότε το τεστ θεωρείται αρνητικό και ο σταφυλόκοκκός δε διαθέτει πηκτικά ένζυμα, δε θεωρείται παθογόνος.

Εκτός από τα παραπάνω τέστ, στο συγκεκριμένο πείραμα, για την ταυτοποίηση των παθογόνων μικροοργανισμών έγιναν και κάποια βιοχημικά τέστ. Πιο συγκεκριμένα τα βιοχημικά τέστ που εκτελέστηκαν ήταν το Api20 σε μια προσπάθεια ταυτοποίηση του γένους *Salmonella* και το Microgen Listeria –ID σε μια προσπάθεια ταυτοποίηση του γένους *Listeria*. Τα τεστ αυτά βασίζονται στην ικανότητα του μικροοργανισμού να ζυμώνει ορισμένα σάκχαρα και ανάλογα με τα 'βιοχημικά προφίλ' δίνεται το ποσοστό ταυτοποίησης του μικροοργανισμού.

## 7.5 Αναλύσεις τυριών

Στα παραπάνω τυριά έγιναν κάποιες κλασσικές χημικές αναλύσεις (προσδιορισμός ξηρής ουσίας, υγρασίας, τέφρας, λίπους, αλατιού) ώστε να διαπιστωθούν τυχόν διαφορές στη σύστασή τους. Ακόμη, εκτός από τις παραπάνω χημικές αναλύσεις έγιναν και ορισμένες άλλες αναλύσεις, όπως μικροβιολογικές, υψηλού τύπου αναλύσεις που θα αναφερθούν αναλυτικά παρακάτω:

### 7.5.1 Χημικές αναλύσεις τυριών

#### 7.5.1.1 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΞΗΡΗΣ ΟΥΣΙΑΣ/ ΥΓΡΑΣΙΑΣ ΤΥΡΙΟΥ

Ο προσδιορισμός της ξηρής ουσίας των τυριών που παρασκευάστηκαν από τα τρία διαφορετικά είδη γάλακτος (νωπό, παστεριωμένο, μικροδιηθημένο) έγινε σύμφωνα με το πρωτόκολλο της FIL-IDF 58:1970 και με τη μετέπειτα τροποποίησή του και περιγραφή του στο ISO 2920/IDF 058:2004. Σύμφωνα με το παραπάνω πρωτόκολλο τοποθετούνται σε μια πορσελάνινη κάψα με ένα γυάλινο ραβδάκι και περίπου 30g αλάτι στον κλίβανο ( $\theta=100^{\circ}\text{C}$ ) για 24 ώρες. Αφού περάσουν οι 24 ώρες τότε τοποθετούνται 3g από το κάθε τυρί σε κάθε κάψα και το αναμειγνύονται με το αλάτι με τη βοήθεια της γυάλινης ράβδου ώστε να γίνει ένα ομοιογενές μείγμα. Ζυγίζεται η κάθε κάψα με αναλυτικό ζυγό και όλες τοποθετούνται στον κλίβανο για 24 ώρες. Μετά τις 24 ώρες στον κλίβανο τοποθετούνται σε ξηραντήριο όπου αφήνονται μέχρι να αποκτήσουν θερμοκρασία περιβάλλοντος και στη συνέχεια ζυγίζονται σε αναλυτικό ζυγό και υπολογίζεται το ποσοστό της υγρασίας ή ξηράς ουσίας από τους παρακάτω τύπους αντίστοιχα:

$$\Xi.Ο = \frac{(\text{ΒΑΡΟΣ ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΑΠΟΣΞΗΡΑΝΣΗ - ΑΠΟΒΑΡΟ})}{(\text{ΒΑΡΟΣ ΠΡΙΝ ΤΗΝ ΑΠΟΣΞΗΡΑΝΣΗ - ΑΠΟΒΑΡΟ})} * 100$$

$$\text{ΥΓΡΑΣΙΑ} = 100 - \Xi.Ο. \%$$

Η δοκιμή αυτή έγινε 3 φορές, την 1<sup>η</sup>, 7<sup>η</sup> και 15<sup>η</sup> μέρα για τα 3 τυριά, από νωπό, παστεριωμένο και μικροδιηθημένο γάλα και από 3 επαναλήψεις για το καθένα.

### 7.5.1.2 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΕΦΡΑΣ ΤΥΡΙΟΥ

Ο προσδιορισμός της τέφρας γίνεται πάλι σύμφωνα με το πρωτόκολλο της FIL-IDF 27:1964. Σύμφωνα με το παραπάνω πρωτόκολλο, τοποθετούνται επίσης πορσελάνινες κάψες(μικρότερες σε μέγεθος από αυτές που χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό της ξηρής ουσίας) άδειες στον κλίβανο, ώστε να εξατμιστεί κάθε ίχνος υγρασίας , για 24 ώρες. Έπειτα, οι κάψες βγαίνουν από τον κλίβανο και τοποθετούνται σε ξηραντήριο και αφού αποκτήσουν θερμοκρασία δωματίου τοποθετούνται 5gr από τα δείγματα των τυρί σε καθεμία και επανατοποθετούνται στον κλίβανο για επίσης 24 ώρες. Αφού βγουν από τον κλίβανο, τοποθετούνται σε ξηραντήριο, κρυστώνουν, ζυγίζονται, καίγεται το περιεχόμενο τους σε φλόγα και στη συνέχεια τις τοποθετούνται στον αποτεφρωτήρα. Στον αποτεφρωτήρα μένουν για 5 με 6 ώρες και στη συνέχεια αφού κρυσώσουν σε ξηραντήριο ζυγίζονται και γίνεται συλλογή της τέφρας για περαιτέρω εξετάσεις. Τα ποσοστά της τέφρας( %) το υπολογίζουμε από τον παρακάτω τύπο:

$$\text{ΤΕΦΡΑ \%} = \frac{\text{ΒΑΡΟΣ ΤΗΣ ΤΕΦΡΑΣ ΤΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ}}{\text{ΑΡΧΙΚΟ ΒΑΡΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ}} * 100$$

Η δοκιμή αυτή έγινε 3 φορές, την 1<sup>η</sup>, 7<sup>η</sup> και 15<sup>η</sup> μέρα για το κάθε τυρί, από νοπό, παστεριωμένο και μικροδιηθημένο γάλα και με 3 επαναλήψεις για το κάθε τυρί.

### 7.5.1.3 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΛΙΠΟΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΥΡΙΟΥ

Ο προσδιορισμός της λιποπεριεκτικότητας των μαλακών τυριών που τυροκομήθηκαν έγινε σύμφωνα με το πρωτόκολλο της IDF/ ISO3433:2008(Μέθοδος Van Gulik). Σύμφωνα με αυτή τη μέθοδο, τοποθετούνται 3 gr από το κάθε τυρί στον υποδοχέα του βουτυρόμετρου τυριού Van Gulik και στη συνέχεια εφαρμόζεται ο υποδοχέας στο σώμα του βουτυρομέτρου και το οποίο γεμίζεται από το λαιμό με πυκνό θειικό οξύ, μέχρι να καλυφθεί όλη η μάζα του τυριού. Στη συνέχεια το βουτυρόμετρο τοποθετείται σε υδατόλουτρο, στους 62°C για 20 λεπτά περίπου μέχρι να διαλυθεί η μάζα του τυριού από το θειικό οξύ. Έπειτα, προστίθεται 1 σταγόνα αμυλικής αλκοόλης και το βουτυρόμετρο συμπληρώνεται με θειικό οξύ μέχρι τα ¾ του λαιμού του. Τέλος, τα βουτυρόμετρα τοποθετούνται σε φυγόκεντρο με θερμοκρασία 65°C και φυγοκεντρώνονται για 5 λεπτά στις 1200 στροφές/min. Αφού τα βουτυρόμετρα βγουν από τη φυγόκεντρο, τοποθετούνται σε υδατόλουτρο των 65°C για 5 λεπτά , γίνεται ανάγνωση της κατώτερης τιμής, που αντιστοιχεί στη

διαχωριστική γραμμή μεταξύ λίπους και υπόλοιπου περιεχομένου του βουτυρομέτρου, και της ανώτερης που αντιστοιχεί στο μηνίσκο που σχηματίζεται στην κορυφή της στήλης του λίπους. Υπολογίζεται το ποσοστό του λίπους που έχει το τυρί μας με αναγωγή στο ακριβές βάρος που έχει ζυγιστεί, με τη βοήθεια του παρακάτω τύπου:

$$\text{ΛΙΠΟΣ\%} = \frac{\text{ΔΙΑΦΟΡΑ ΒΟΥΤΥΡΟΜΕΤΡΟΥ} \cdot 3}{\text{ΑΚΡΙΒΕΣ ΒΑΡΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ}}$$

Η δοκιμή αυτή έγινε 3 φορές, την 1<sup>η</sup>, 7<sup>η</sup> και 15<sup>η</sup> μέρα για το κάθε τυρί, από νωπό, παστεριωμένο και μικροδιηθημένο γάλα και με 3 επαναλήψεις για το κάθε τυρί.

#### 7.5.1.4 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΛΑΤΙΟΥ ΣΤΟ ΤΥΡΙ

Για τον προσδιορισμό του ποσοστού αλατιού στο τελικό προϊόν του τυριού που παρασκευάστηκε δε χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος αναφοράς που ορίζεται από το πρωτόκολλο της IDF, FIL-IDF 17A:1972. Αλλά χρησιμοποιήθηκε η ποτενσιομετρική, όπως αυτή ορίζεται από το πρωτόκολλο IDF 88:2006/ISO 5943:2006. Σύμφωνα λοιπόν με αυτή τη μέθοδο, παρασκευάστηκε ένα διάλυμα σε ένα ποτήρι ζέσεως το οποίο αποτελείται από 3,5gr του τυριού δείγματος, 40ml απεσταγμένου νερού το οποίο έχει προηγουμένως θερμανθεί σε εστία μέχρι να φτάσει στους 50-55°C, 2,5 ml νιτρικού οξέος 4N. Το παραπάνω διάλυμα αναδεύεται μέχρι η μάζα του τυριού και να γίνει όσο το δυνατόν πιο ομογενοποιημένο μείγμα. Στη συνέχεια, τοποθετούνται τα δύο ηλεκτρόδια του Ποτενσιομέτρου (ηλεκτρόδιο αργύρου(Ag) και ηλεκτρόδιο αναφοράς) μέσα στο ποτήρι ζέσεως, ενώ το μείγμα αναδεύεται. Έπειτα, τιτλοδοτείται με πρότυπο ογκομετρικό διάλυμα νιτρικού αργύρου(0,1N) που έχει τοποθετηθεί σε προχοίδα με ταυτόχρονη ανάδευση του διαλύματος μέχρι να φτάσουμε το ισοδύναμο σημείο. Ως ισοδύναμο σημείο ορίζεται η μέγιστη διαφορά δυναμικού που παρατηρείται ανάμεσα σε δύο διαδοχικές προσθήκες γνωστής ποσότητας νιτρικού αργύρου. Χρησιμοποιείται και ένα τυφλό τέστ το οποίο αποτελείται από όλα τα αντιδραστήρια( θερμό απεσταγμένο νερό, νιτρικό οξύ) εκτός του τυριού μας. Για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας του τυριού σε χλωριούχο νάτριο χρησιμοποιείται ο παρακάτω τύπος:

$$\text{NaCl\%} = \frac{(V_1 - V_2) \cdot C \cdot f}{M} \text{ όπου,}$$

V1= τα ml από το πρότυπο ογκομετρικό διάλυμα νιτρικού αργύρου που χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό του διαλύματος του τυριού μας

V0= τα ml από το πρότυπο ογκομετρικό διάλυμα νιτρικού αργύρου που χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό του τυφλού μας

C= η πραγματική συγκέντρωση (mol/lit) του πρότυπου ογκομετρικού διαλύματος νιτρικού αργύρου, εδώ είναι 0,1

M= η ακριβής μάζα σε gr του τυριού προς εξέταση.

Η δοκιμή αυτή έγινε 3 φορές, την 1<sup>η</sup>, 7<sup>η</sup> και 15<sup>η</sup> μέρα για το κάθε τυρί, από νωπό, παστεριωμένο και μικροδιατημένο γάλα και με 3 επαναλήψεις για το κάθε τυρί.

#### 7.5.1.5 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΠΡΩΤΕΙΝΩΝ ΣΤΟ ΤΥΡΙ

Για τον προσδιορισμό των αζωτούχων ουσιών στο τυρί χρησιμοποιήθηκε η μέθοδο Kjeldahd, όπως αυτή περιγράφεται από το πρωτόκολλο IDF20\_1:2001. Με τη μέθοδο Kjeldahd μπορεί να προσδιοριστεί το ολικό και το υδατοδιαλυτό άζωτο. Στη συνέχεια με την αφαίρεση αυτών των δύο ποσοτήτων προσδιορίζεται το καζεϊνικό άζωτο. Η αρχή αυτής της μεθόδου στηρίζεται στην καύση των οργανικών ουσιών του τυριού με τη βοήθεια της θέρμανσης και του θεικού οξέος και στη μετατροπή του αζώτου του γάλακτος σε αμμωνιακό. Έπειτα, η αμμωνία ελευθερώνεται με την επίδραση Καυστικού Νατρίου, αποστάζεται, παραλαμβάνεται σε βορικό οξύ, τιτλοδοτείται με υδροχλωρικό οξύ και με βάση τον τύπο (1) υπολογίζεται το ολικό άζωτο του τυριού.

$$\text{ΟΛΙΚΟ ΑΖΩΤΟ\%} = \frac{1,40 \cdot N \cdot V_1 - V_0}{F} \quad (1) \quad \text{όπου:}$$

N= Κανονικότητα του υδροχλωρικού οξέος(εδώ χρησιμοποιήσαμε 0,1N

κανονικότητας θεικού οξέου για τιτλοδότηση).

V1= ml θεικού οξέος 0,1N που καταναλώθηκαν κατά την τιτλοδότηση του

προϊόντος της αποστάξεως του δείγματος του τυριού μας.

V0= ml θεικού οξέος 0,1N που καταναλώθηκαν κατά την τιτλοδότηση του

προϊόντος αποστάξεως του λευκού δείγματός .

P= το βάρος σε gr του δείγματος του τυριού.

Το ποσοστό του αζώτου των πρωτεϊνών προκύπτει από τον πολλαπλασιασμό του αποτελέσματος του τύπου(1) με το 6,38.

Για τον προσδιορισμό των ολικών αζωτούχων ουσιών, σε μια φιάλη Kjeldahl τοποθετούνται: α) 2,5gr από το τυρί προς εξέταση, β) 2 ταμπλέτες καταλυτών που αντιστοιχούν σε 7gr θειικού καλίου, 0,210gr ένυδρο θειικό χαλκό και 0,210gr διοξείδιο του τιτανίου, γ) 10ml πυκνό θειικό οξύ(97-98%), δ) 3-4 σταγόνες αντιαφριστικό παράγοντα (υδατικό διάλυμα σιλικόνης 30%) και ε) 5ml υπεροξείδιο του υδρογόνου 30%. Στη συνέχεια οι φιάλες τοποθετούνται στις ειδικές εστίες καύσης με σύστημα απαγωγής ατμών, όπου παραμένουν για 2,5 ώρες περίπου σύμφωνα με ένα πρόγραμμα καύσης (συνδυασμός θερμοκρασίας και χρόνου). Εκτός από τα δείγματά, έχει παρασκευαστεί και ένα λευκό δείγμα, το οποίο αποτελείται από όλα τα αντιδραστήρια, και 2,5ml διαλύματος σουκρόζης 10% αντί τυριού.

Η συσκευή καύσης που χρησιμοποιήθηκε για την καύση των δειγμάτων είναι η Tecator 2020 Digestor και απεικονίζεται παρακάτω, στην Εικόνα 7.1:



Εικόνα 7.1 :Συσκευή Καύσης που χρησιμοποιήθηκε στη δοκιμή Kjeldahl



Μετά την καύση των δειγμάτων μας ακολουθεί η απόσταξη αυτών από την ειδική συσκευή απόσταξης, η οποία απεικονίζεται παρακάτω, στην Εικόνα 7.2:



Εικόνα 7.2: Συσκευή απόσταξης που χρησιμοποιήθηκε στη δοκιμή Kjeldahd.

Όπως βλέπουμε η παραπάνω συσκευή αποτελείται από 1 υποδοχή της φιάλης Kjeldahl η οποία περιέχει το δείγμα που είναι προς απόσταξη και μια υποδοχή για κωνική φιάλη στην οποία λαμβάνεται το απόσταγμα μετά την επεξεργασία του με βορικό οξύ 4%. Στο απόσταγμα προστίθεται και ένας δείκτης-χρωστική ο οποίος βοηθά στην τιτλοδότηση του δείγματός μας με θειικό οξύ 0,1N. Τα αποτελέσματα της τιτλοδότησης χρησιμοποιούνται στον τύπο (1) για να τον υπολογισμό του ολικού άζωτου για το κάθε δείγμα τυριού. Η δοκιμή αυτή έγινε 3 φορές, την 1<sup>η</sup>, 7<sup>η</sup> και 15<sup>η</sup> μέρα για το κάθε τυρί, από νωπό, παστεριωμένο και μικροδιηθημένο γάλα και με 3 επαναλήψεις για το κάθε τυρί.

Όσο αφορά τον προσδιορισμό του υδατοδιαλυτού αζώτου, χρειάστηκε να γίνει μια προεργασία του τυριού. Έτσι, ομογενοποιήθηκε με τη βοήθεια της συσκευής Stomacher, 15gr περίπου τυριού σε 100ml απεσταγμένου νερού(θερμοκρασίας περίπου 50-60°C). Στη συνέχεια, το διήθημα από διηθητικό χαρτί Νο40, έτσι ώστε να παραληφθεί μόνο το υδατοδιαλυτό κλάσμα των πρωτεϊνών. Έπειτα, η διαδικασία για τον προσδιορισμό του υδατοδιαλύτου κλάσματος των αζωτούχων ουσιών είναι η ίδια με αυτή των ολικών πρωτεϊνών, μόνο που αντί για τυρί στα δείγματά μας χρησιμοποιούμε 30ml από το παραπάνω διήθημα. Αφού ολοκληρωθούν και για το υδατοδιαλυτό οι διαδικασίες της καύσης(ακολουθείται διαφορετικό πρόγραμμα

καύσης που διαρκεί περίπου 4 ώρες), της απόσταξης και της τιτλοδότησης χρησιμοποιούμε τον τύπο (2) για τον προσδιορισμό του ποσοστού των υδατοδιαλυτών αζωτούχων ουσιών.

$$\text{ΔΙΑΛΥΤΟ ΑΖΩΤΟ\%} = \frac{1.40 \cdot N (V1 - V0) \cdot 0.994}{\text{ΒΑΡΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ}} \quad (2) \quad \text{όπου,}$$

N= Κανονικότητα του υδροχλωρικού οξέος(εδώ χρησιμοποιήθηκε 0,1N κανονικότητας θειικό οξύ για τιτλοδότηση).

V1= ml θειικού οξέος 0,1N που καταναλώθηκαν κατά την τιτλοδότηση του προϊόντος της αποστάξεως του δείγματος του τυριού μας.

V0= ml θειικού οξέος 0,1N που καταναλώθηκαν κατά την τιτλοδότηση του προϊόντος αποστάξεως του λευκού δείγματός μας

Η δοκιμή αυτή έγινε 3 φορές, την 1<sup>η</sup>, 7<sup>η</sup> και 15<sup>η</sup> μέρα για το κάθε τυρί, από νωπό, παστεριωμένο και μικροδιηθημένο γάλα και με 2 επαναλήψεις για το κάθε τυρί.

#### 7.5.1.6 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΝΟΡΓΑΝΩΝ ΑΛΑΤΩΝ ΣΤΟ ΤΥΡΙ

Τα κυριότερα ανόργανα άλατα που προσδιορίζονται στο τυρί που παρασκευάσαμε είναι τα παρακάτω: Φώσφορος(P), Ασβέστιο(Ca), Κάλιο(K), Νάτριο(Na) και Μαγνήσιο(Mg). Ο προσδιορισμός του φωσφόρου (P) γίνεται με βάση μια φωτομετρική μέθοδος, όπως περιγράφεται στο πρωτόκολλο ISO 9874:2006/ IDF 42:2006. Το πρωτόκολλο αυτό βέβαια αναφέρεται στο γάλα αλλά στη συγκεκριμένη μελέτη έχει εφαρμοστεί και για τον προσδιορισμό του φωσφόρου και στο αλοϊψώδες τυρί το οποίο έχουμε παρασκευάσει. Για τον προσδιορισμό των υπολοίπων αλάτων χρησιμοποιούμε το πρωτόκολλο ISO 8070:2007/IDF 119:2007, το οποίο αναφέρεται σε γάλα και γενικά γαλακτοκομικά προϊόντα. Για όλες τις παραπάνω αναλύσεις χρησιμοποιήθηκε η τέφρα που έχει παραληφθεί από τη διαδικασία της αποτέφρωσης όπως περιγράφεται παραπάνω(7.5.1.2).

- ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΦΩΣΦΟΡΟΥ(ISO 9874:2006/IDF 42:2006)

Από την τέφρα ζυγίζονται 1mg και διαλύονται σε 2-3 ml υδροχλωρικού οξέος και σε 3ml απεσταγμένου νερού. Μεταφέρεται το δείγμα μας σε μια ογκομετρική φιάλη των 100ml και ξεπλένεται το ποτηράκι ζέσεως το οποίο χρησιμοποιήθηκε για τη διάλυση της τέφρας, έτσι ώστε να ληφθεί όλη την ποσότητα του δείγματός μας. Συμπληρώνεται με απεσταγμένο νερό μέχρι τα 100ml και στη συνέχεια διηθείται το περιεχόμενο της ογκομετρικής φιάλης, χρησιμοποιώντας filter medium grade. Έπειτα λαμβάνονται 10ml από το διήθημα και το μεταφέρονται σε καθαρή ογκομετρική φιάλη 100ml, η οποία επίσης συμπληρώνεται με νερό μέχρι τα 100ml. Τέλος, λαμβάνονται 2 ml από το καινούργιο διάλυμα και μεταφέρονται σε ογκομετρική φιάλη των 50ml, στην οποία προσθέτονται 25ml απεσταγμένου νερού, 2ml διαλύματος Μολυβδαινικού Ασκορβικού Οξέος και συμπληρώνονται επίσης με νερό μέχρι τη χαραγή. Ακολουθείται καλή ανάδευση των ογκομετρικών φιαλών και παραμονή του για 15 λεπτά σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 100°C. Στη συνέχεια ψύχονται οι φιάλες σε λεκάνη με κρύο νερό, έτσι ώστε να αποκτήσουν θερμοκρασία δωματίου. Μέσα σε μία ώρα από τη στιγμή που κρυώσουν τα διαλύματα θα πρέπει τα διαλύματα να εισαχθούν για μέτρηση σε φασματοφωτόμετρο HITACHI U-3200 Spectometer και να μετρηθούν οι απορροφήσεις του φωσφορού. Η απορρόφηση μετριέται σε μήκος κύματος 820nm και εκτός από τα διαλύματα του τυριού χρησιμοποιείται και ένα λευκό διάλυμα το οποίο έχει παρασκευάσει σε ογκομετρική φιάλη 50ml (με τα ίδια αντιδραστήρια όπως παραπάνω), μόνο που αντί για δείγμα έχουμε βάλει 10ml υπερκάθαρου νερού, που είναι απαλλαγμένο από φώσφορο. Ο υπολογισμός της ποσότητας του φωσφόρου που υπάρχει σε κάθε τύπου:

$$W_p = \frac{m1}{20 \cdot m0} \quad \text{όπου:}$$

$w_p$  = ποσότητα ολικού φωσφόρου που υπάρχει στο δείγμα μας εκφρασμένη ως % ποσοστό μάζας.

$m0$  = η ποσότητα μάζας του δείγματός μας, εκφρασμένη σε gr.

$m1$  = η ποσότητα μάζας του φωσφόρου που προκύπτει από την πρότυπη καμπύλη, εκφρασμένη σε mgr.

Η Πρότυπη Καμπύλη προκύπτει όπως περιγράφει το πρωτόκολλο της IDF 42:2006, στην παράγραφο 9.4 Calibration graph.

• ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΥΠΟΛΟΙΠΩΝ ΑΝΟΡΓΑΝΩΝ ΑΛΑΤΩΝ(Ca, Mg, Na,K) ΣΤΟ ΤΥΠΙ (ISO 8070:2007/IDF 199:2007)

Για τον προσδιορισμό των παραπάνω ανόργανων αλάτων, Ca, Mg, Na, K, χρησιμοποιήθηκαν 0,04gr τέφρας, τα οποία διαλύθηκαν σε 1ml Νιτρικού Οξέος 25%. Το παραπάνω διάλυμα μεταφέρθηκε σε ογκομετρική φιάλη των 100ml προσθέτουμε μέχρι τη χαραγή δις-απεσταγμένο νερό και αυτό αποτελεί το διάλυμα Α. Στη συνέχεια, κάποια ποσότητα από το διάλυμα Α, η οποία ποικίλει ανάλογα με το στοιχείο, μεταφέρθηκε σε άλλη ογκομετρική φιάλη των 100ml στην οποία προστέθηκε κάποια ποσότητα από διάλυμα Τριχλωριούχο Λανθάνιο ( $\text{LaCl}_3$ ), η οποία επίσης ποικίλει ανάλογα με το στοιχείο και συμπληρώνεται με δις-απεσταγμένο νερό μέχρι τη χαραγή. Το δεύτερο αυτό διάλυμα αποτελεί το διάλυμα Β. Για τη δημιουργία των διαλυμάτων Β, χρησιμοποιούμε τις παρακάτω ποσότητες για το κάθε στοιχείο και έτσι έχουμε:

- ✓ Για τη δημιουργία του διαλύματος Β κατά τον προσδιορισμό του Ασβεστίου(Ca) χρησιμοποιήθηκαν 8ml από το διάλυμα Α και 10ml Τριχλωριούχου Λανθανίου( $\text{LaCl}_3$ ) σε ογκομετρική φιάλη των 100ml.
- ✓ Για τη δημιουργία του διαλύματος Β κατά τον προσδιορισμό του Μαγνησίου(Mg) χρησιμοποιήθηκαν επίσης 8ml από το διάλυμα Α και 10ml Τριχλωριούχου Λανθανίου ( $\text{LaCl}_3$ ) σε ογκομετρική φιάλη των 100ml.
- ✓ Για τη δημιουργία του διαλύματος Β κατά τον προσδιορισμό του Καλίου (K) χρησιμοποιήθηκαν 1ml από το διάλυμα Α και 5ml Τριχλωριούχου Λανθανίου ( $\text{LaCl}_3$ ) σε ογκομετρική φιάλη των 50ml.
- ✓ Για τη δημιουργία του διαλύματος Β κατά τον προσδιορισμό του Νατρίου(Na) χρησιμοποιήθηκαν 1ml από το διάλυμα Α και 25ml Τριχλωριούχου Λανθανίου ( $\text{LaCl}_3$ ) σε ογκομετρική φιάλη των 250ml.

Αφού παρασκευαστούν τα παραπάνω διαλύματα, τοποθετείται ορισμένη ποσότητα από αυτά σε ειδικούς υποδοχείς οι οποίοι περνάνε αυτόματα, με τη βοήθεια του ASC Auto Sampler 6100 (SHIMADZU), από το μηχάνημα ατομικής απορρόφησης AA-6800 Atomic Absorption Spectrometer (SHIMADZU) και προσδιορίζεται η συγκέντρωση του κάθε στοιχείου στο διάλυμα. Τέλος, με τη βοήθεια των πρότυπων καμπύλων, όπως περιγράφεται η διαδικασία στις παραγράφους 9.3.3.1 Calibration, 9.3.3.2. Calibration graphs, 9.3.3.3 Measurement of test solution(για το κάθε στοιχείο

έχουμε διαφορετική Πρότυπη Καμπύλη) του IDF 119:2007 προσδιορίζεται η συγκέντρωση του κάθε στοιχείου στο τυρί.

### 7.5.2 Μικροβιολογικές αναλύσεις τυριών

#### 7.5.2.1 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΜΗ ΠΑΘΟΓΟΝΩΝ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ

Οι αναλύσεις που έγιναν στο τυρί από το νωπό, παστεριωμένο και μικροδιηθημένο γάλα, είναι οι ίδιες με αυτές που περιγράφονται παραπάνω(7.4) για τα γάλατα. Όσο αφορά τις ομάδες των μη παθογόνων μικροοργανισμών, χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω υλικά:

- PCA (BIOKAR DIAGNOSTICS): Για προσδιορισμό Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας στα τυριά από τα τρία διαφορετικά είδη γάλακτος.
- M17-Agar (LAB-M): Για τον προσδιορισμό των μεσόφιλων και θερμοφίλων γαλακτικών κόκκων(LAB-κόκκοι).
- MRS- Agar (LAB-M): Για τον προσδιορισμό των μεσόφιλων γαλακτικών βακίλων (LAB-βάκιλοι).
- YGC (BIOKAR DIAGNOSTICS): Για τον προσδιορισμό των ζυμών.
- MSA (LAB-M): Για τον προσδιορισμό των μικρόκοκκων.
- ROGOSA (BIOKAR DIAGNOSTICS): Για τον προσδιορισμό των γαλακτικών βακτηρίων που δεν ανήκουν στις εναρκτήριες καλλιέργειες (No Starter LABs). Για το υλικό αυτό χρησιμοποιείται η τεχνική της ενσωμάτωσης με διπλό στρώμα, έτσι ώστε να εξασφαλιστούν όσο το δυνατό αναερόβιες συνθήκες. Η επώαση γίνεται στους 30°C για 24-48 ώρες.

Οι συνθήκες στις οποίες έγιναν οι επώσεις των παραπάνω υλικών είναι ίδιες με αυτές που περιγράφονται στις μικροβιολογικές αναλύσεις του γάλακτος(7.4). Ακόμη, όλες οι παραπάνω αναλύσεις έγιναν σε διπλά τρυβλία σε όλα τα τυριά.

### 7.5.2.2 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΠΑΘΟΓΟΝΩΝ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ

Οι παθογόνοι μικροοργανισμοί, σύμφωνα με τον Κανονισμό 1441/2007 της Ευρωπαϊκής Ένωσης, Παράρτημα I, Κεφάλαιο 2.2, θα πρέπει να απουσιάζουν ή να βρίσκονται σε πολύ μικρούς πληθυσμούς. Τα υλικά είναι ίδια με αυτά που χρησιμοποιούνται και στις μικροβιολογικές εξετάσεις του γάλακτος, όπως αναφέρονται παρακάτω:

- VRBL (AppliChem): Για τον προσδιορισμό των Κολοβακτηριδίων.
- PALCAM (MERCCK): Για τον προσδιορισμό της Λιστέριας.
- BAIRD PARKER (BIOLIFE): Για τον προσδιορισμό των Σταφυλόκοκκων.
- XLD (OXOID): Για τον προσδιορισμό των Σαλμονελλών.

Οι συνθήκες επώασης( θερμοκρασία και χρόνος επώασης) είναι ίδιες με αυτές που αναφέρονται στις μικροβιολογικές αναλύσεις του γάλακτος. Για τα Κολοβακτηρίδια και το Σταφυλόκοκκο έγιναν διπλά τρυβλία, ενώ για τη Σαλμονέλλα και τη Λιστέρια μονά.

Για τον πλήρη προσδιορισμό των παραπάνω παθογόνων μικροοργανισμών, υπάρχουν κάποια πρωτόκολλα της IDF, τα οποία περιγράφουν αναλυτικά τα βήματα που πρέπει να ακολουθηθούν για τον πλήρη προσδιορισμό και ταυτοποίηση του είδους. Συγκεκριμένα, για την ταυτοποίηση των : Α) Λιστέριας ακολουθείται η διαδικασία που περιγράφεται στο IDF-STANDARD 143A:1995, Β) Σαλμονέλλας ακολουθείται αρχικά η διαδικασία που περιγράφεται στο National Standard Method Xylose Lysine Desoxycholate(XLD) Agar (MSOP 14) Issued by Standards Unit, Evaluations and Standards Laboratory Specialist and Reference Microbiology Division, και στη συνέχεια για περαιτέρω ταυτοποίηση ακολουθήθηκε το πρωτόκολλο της IDF 93:2001, Γ) Σταφυλόκοκκου, ακολουθείται η διαδικασία που περιγράφεται στο πρωτόκολλο της IDF 145A:1997 και τέλος, Δ) Κολοβακτηριοειδών, ακολουθείται η διαδικασία που περιγράφεται στο IDF Standard 73B:1998.

Σύμφωνα λοιπόν με τα παραπάνω πρωτόκολλα, εκτός από τη διαδικασία της χρησιμοποίησης επιλεκτικού θρεπτικού υποστρώματος για την ανάπτυξη και

ταυτοποίηση του κάθε παθογόνου μικροοργανισμού χρειάστηκε να γίνουν και κάποιες επιπλέον χαρακτηριστικές δοκιμές. Οι δοκιμές που έγιναν ήταν η δοκιμή της οξειδάσης, της πηκτάσης, της αιμόλυσης και κάποια βιοχημικά τεστ, όπως αναφέρεται στην παράγραφο 7.4 Αναλύσεις Γαλάτων, στο κομμάτι που μιλάει για τις μικροβιολογικές αναλύσεις αυτών.

### **7.5.3 Οργανοληπτικές αναλύσεις τυριών.**

Όλα τα τυριά αξιολογήθηκαν ως προς τα οργανοληπτικά τους χαρακτηριστικά την 1<sup>η</sup> ημέρα της παρασκευής τους καθώς και την 7<sup>η</sup> και 15<sup>η</sup> ημέρα διατήρησής τους στο ψυγείο. Η αξιολόγηση έγινε από μία ομάδα 8 δοκιμαστών οι οποίοι συμπλήρωναν το φύλλο αξιολόγησης που επισυνάπτεται. Τα αποτελέσματα πολλαπλασιάστηκαν με συντελεστές ως εξής: 2 για την εμφάνιση, 8 για τη συνεκτικότητα και 10 για το άρωμα-γεύση, ούτως ώστε η μέγιστη συνολική βαθμολογία να είναι 100.

### **7.6 Στατιστική Ανάλυση αποτελεσμάτων**

Τα αποτελέσματα αναλύθηκαν στατιστικά με το λογισμικό Statgraphics (Centurion v, xv, Manugintics, Inc., Rockville, Maryland 20852, USA) για Windows. Συγκεκριμένα έγινε ανάλυση της παραλλακτικότητας (one-factor ANOVA) τόσο για το είδος του τυριού όσο και για την ηλικία και εφόσον το επέτρεπε η τυπική απόκλιση των μέσων. Η σύγκριση των μέσων έγινε με τη μέθοδο Duncan σε επίπεδο σημαντικότητας 95%.

ΦΥΛΛΟ ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ ΦΡΕΣΚΟΥ ΤΥΡΙΟΥ ΜΕ ΑΛΟΙΦΩΔΗ  
ΥΦΗ

ΟΝΟΜΑ:

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ:

Παρακαλούμε να αξιολογήσετε τα παρακάτω τυριά ως προς τα οργανοληπτικά τους χαρακτηριστικά, βαθμολογώντας τα στον Πίνακα 1 με βάση την ακόλουθη κλίμακα 5 σημείων. Επίσης σημειώσετε τυχόν ελαττώματα στον Πίνακα 2.

5 = Πολύ καλό, ιδανικό

4 = Καλό

3 = Ικανοποιητικό, με λίγα ελαττώματα

2 = Λίγο ικανοποιητικό, με αρκετά ελαττώματα

1 = Καθόλου ικανοποιητικό

0 = Κακό, απορριπτέο

Πίνακας 1

<b>Χαρακτηριστικό</b>	<b>Τυρί Α</b>	<b>Τυρί Β</b>	<b>Τυρί Γ</b>
Εμφάνιση (0-5)			
Συνεκτικότητα / Δομή και υφή (0-5)			
Άρωμα και γεύση (0-5)			
Σύνολο			



Πίνακας 2

<b>Ελάττωμα</b>	<b>Τυρί Α</b>	<b>Τυρί Β</b>	<b>Τυρί Γ</b>
Μη τυπικό χρώμα			
Συναίρεση –αποβολή ορού			
Ελαττωματική γεύση (πικρό, γεύση ζύμης, γεύση πολύ ξινό, αλμυρό, κ.α)			
Ελαττωματική οσμή π.χ. στάβλου			

Ευχαριστούμε

## 8. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

### 8.1 Σύσταση του γάλακτος των τυροκομήσεων

#### 8.1.1 Φυσικοχημική σύσταση γαλάτων τυροκόμησης

Η μέση φυσικοχημική σύσταση των γαλάτων των τυροκομήσεων καθώς και του νοπού αγελαδινού γάλακτος το οποίο χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή τους, σύμφωνα με το διάγραμμα 2 (Παράγραφος.7.1), παρουσιάζεται στον Πίνακα 8.1. Παρατηρούμε ότι η σύσταση και των τριών γαλάτων (νωπό Ν, παστεριωμένο Π και μικροδιηθημένο Μ) ήταν παρόμοια, ενώ μόνο ο πληθυσμός των σωματικών κυττάρων διέφερε.

Το μικροδιηθημένο γάλα είχε λιγότερα σωματικά κύτταρα από ότι το νωπό ή το παστεριωμένο, γεγονός που αποδίδεται στην κατακράτηση μέρους των σωματικών κυττάρων πάνω στη μεμβράνη. Επίσης πρέπει να σημειωθεί ότι συγκριτικά με το αρχικό νωπό γάλα και τα τρία γάλατα τυροκόμησης (Ν, Π και Μ) είχαν λιγότερα σωματικά κύτταρα. Τα σωματικά κύτταρα στα τρία γάλατα της τυροκόμησης βρίσκονται εντός των ορίων που ορίζει η νομοθεσία, μέχρι 400.000 σωματικά κύτταρα/ml, ενώ στο αρχικό γάλα το όριο αυτό είχε ξεπεραστεί αρκετά. Αυτό ήταν αποτέλεσμα της αποκορύφωσης κατά την οποία ένα μέρος τους απομακρύνθηκε μαζί με άλλες ξένες ύλες.

Όσον αφορά το λίπος, όπως ειπώθηκε και στο προηγούμενο κεφάλαιο, έγινε τυποποίηση του λίπους των τριών γαλάτων (Ν,Π,Μ) κοντά στο 4,5 έτσι ώστε να έχουμε παρόμοιες πρώτες ύλες (γάλατα) και συγκρίσιμα αποτελέσματα. Επίσης, σχετικά με τα ολικά στερεά, τα τυριά ήταν πολύ κοντά μεταξύ τους (12,75%-12,87%) και με το ποσοστό των πρωτεϊνών να κυμαίνεται κοντά στο 3,30%. Επομένως, όπως διαπιστώνεται από τον Πίνακα 8.1, η φυσικοχημική σύσταση των 3 γαλάτων τυροκόμησης, που δημιουργήθηκαν ήταν παρόμοια. Έτσι, τα τυριά που δημιουργήθηκαν προέρχονταν από παρόμοιας σύστασης πρώτη ύλη και ισάξιας θρεπτικής αξίας.

Πίνακας 8.1 Φυσικοχημική σύσταση αρχικού νωπού (Α) και επεξεργασμένου-τυποποιημένου νωπού (Ν), παστεριωμένου (Π) και μικροδιηθημένου (Μ) αγελαδινού γάλακτος που χρησιμοποιήθηκαν στις τυροκομήσεις (μέσοι όροι 3 πειραματικών επαναλήψεων  $\pm$  τυπ.απ.)

Γάλα	pH	Οξύτητα (%)	Λίπος (%)	Πρωτεΐνη (%)	Λακτόζη (%)	Ολικά στερεά (%)	Σωματικά κύτταρα/ml
A	6.52 $\pm$ 0.02	0.14 $\pm$ 0.01	3.45 $\pm$ 0.10	3.29 $\pm$ 0.06	4.55 $\pm$ 0.11	11.90 $\pm$ 0.07	958000 $\pm$ 337000
N	6.59 $\pm$ 0.07	0.14 $\pm$ 0.01	4.34 $\pm$ 0.11	3.30 $\pm$ 0.07	4.52 $\pm$ 0.12	12.75 $\pm$ 0.18	311333 $\pm$ 91768
Π	6.55 $\pm$ 0.06	0.145 $\pm$ 0.01	4.36 $\pm$ 0.1	3.30 $\pm$ 0.09	4.56 $\pm$ 0.09	12.86 $\pm$ 0.11	360000 $\pm$ 136517
M	6.56 $\pm$ 0.03	0.14 $\pm$ 0.01	4.24 $\pm$ 0.12	3.35 $\pm$ 0.06	4.68 $\pm$ 0.13	12.87 $\pm$ 0.19	265668 119006

### **8.1.2 Μικροβιολογική σύσταση γαλάτων τυροκόμησης**

Το αρχικό γάλα της αγελάδας διαθέτει μια μικροβιακή χλωρίδα, η οποία φαίνεται στον Πίνακα 8.2. Στο ίδιο πίνακα επίσης, φαίνεται και η μικροβιακή επιβάρυνση των γαλάτων τυροκόμησης (Νωπό, Παστεριωμένο, Μικροδιηθημένο) μετά τη δημιουργία τους.

Πίνακας 8.2: Πληθυσμοί μικροβιακής χλωρίδας (log c.f.u./ml) σε κάποια είδη μικροοργανισμών στο Αρχικό (Α) γάλα που πήραμε κατευθείαν από την αγελάδα, στο Νωπό Γάλα Τυροκόμησης (Ν.),στο Παστεριωμένο Γάλα Τυροκόμησης (Π.) και στο Μικροδιηθημένο Γάλα Τυροκόμησης (Μ.).

<b>M.O.</b>	<b>O.M.X.</b>	<b>L.A.B.- κόκκοι(Θ)</b>	<b>L.A.B.- βάκιλοι(Θ)</b>	<b>Ζύμες</b>	<b>Μικρόκοκκοι</b>	<b>E.coli</b>
<b>ΓΑΛΑ</b>						
<b>A.</b>	<i>5,64</i>	<i>3,90</i>	<i>1,59</i>	<i>4,11</i>	<i>3,73</i>	<i>3,61</i>
<b>N.</b>	<i>6,04</i>	<i>4,81</i>	<i>1,27</i>	<i>4,85</i>	<i>4,01</i>	<i>4,10</i>
<b>Π.</b>	<i>3,43</i>	<i>0</i>	<i>0</i>	<i>2,77</i>	<i>1,52</i>	<i>0</i>
<b>Μ.</b>	<i>2,70</i>	<i>0</i>	<i>0</i>	<i>0</i>	<i>1,98</i>	<i>0</i>

Σύμφωνα με τη Νομοθεσία, τα όρια της Ο.Μ.Χ. στο Νωπό γάλα αγελάδας θα πρέπει να περιορίζεται κάτω από 100.000 c.f.u./ml. Παρατηρούμε ότι στο συγκεκριμένο πείραμα το Α γάλα που χρησιμοποιήθηκε είναι λίγο πάνω από το αποδεκτό όριο. Το αυξημένο αυτό όριο μεσόφιλων μικροοργανισμών μπορεί να συνδέεται με κάποια υποκλινική μαστίτιδα (Adams & Moss, 2000) ή με πλημελείς συνθήκες άμελης και διατήρησης του γάλακτος μέχρι την επεξεργασία του. Επίσης, σύμφωνα με τον Πίνακα 8.2, η Ολική Μεσόφιλης Χλωρίδα(Ο.Μ.Χ.), έχει αυξηθεί σχεδόν κατά ένα λογάριθμο στο Νωπό Γάλα Τυροκόμησης σε σχέση με τον πληθυσμό των μικροοργανισμών που υπήρχε στο Αρχικό Πλήρες Γάλα αγελάδας. Η παραπάνω αύξηση του πληθυσμού της Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας υποδηλώνει ότι κατά τις διαδικασίες της αποκορύφωσης και τυποποίησης υπήρξε επιπλέον μικροβιολογική επιβάρυνση για το Νωπό Γάλα Τυροκόμησης (Ν.) που δημιουργήθηκε. Ενώ, αντιθέτως, όσο αφορά το Παστεριωμένο Γάλα Τυροκόμησης

(Π.) και το Μικροδιηθημένο Γάλα Τυροκόμησης (Μ.) οι πληθυσμοί της Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας ήταν αισθητά πιο χαμηλοί σε σχέση με τον αρχικό πληθυσμό του Αρχικού Πλήρες Γάλακτος (Α.), με το μικροδιηθημένο γάλα να εμφανίζει τη μικρότερη μικροβιακή επιβάρυνση.

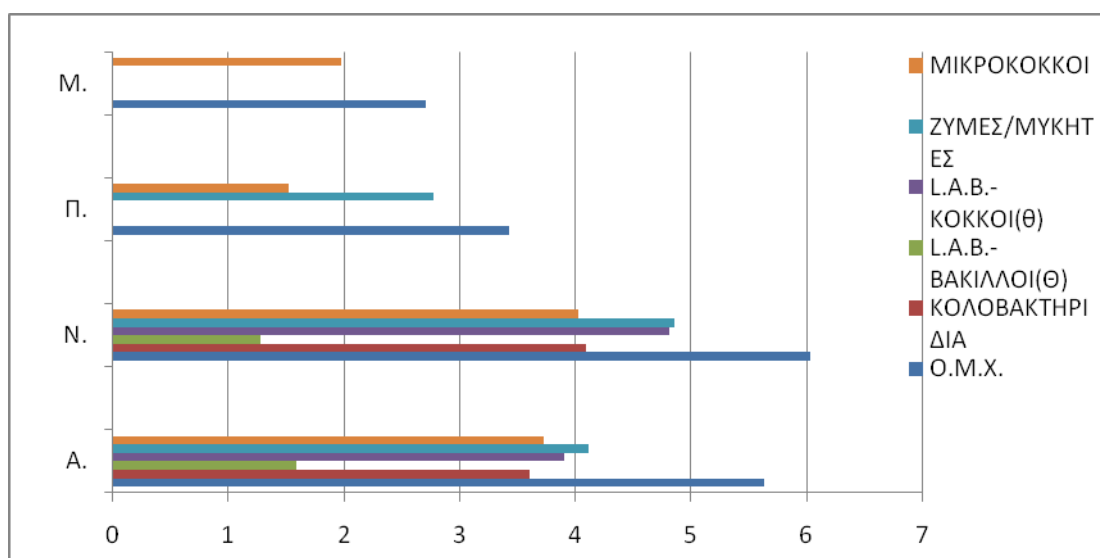
Επομένως, παρατηρούμε ότι η διαδικασία της μικροδιήθησης βελτιώνει την ποιότητα του γάλακτος, αφού κατακρατείται στις μεμβράνες της συσκευής το μεγαλύτερο μέρος των μικροοργανισμών. Σε σχέση με την παστερίωση, η μικροδιήθηση παρουσιάζει το πλεονέκτημα ότι το γάλα δεν υποβάλλεται σε έντονη θερμική επεξεργασία με αποτέλεσμα να μην υφίσταται τις διάφορες φυσικοχημικές αλλαγές που του προκαλεί συνήθως η παστερίωση. Η θερμική επεξεργασία της παστερίωσης, όπως αναφέρεται στο Κεφάλαιο 5, προκαλεί κάποιες αλλαγές στην αρχική δομή του γάλακτος που επηρεάζουν τη σύσταση και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του τυριού που προκύπτει.

Εκτός από την Ο.Μ.Χ. στα γάλατα μελετήθηκαν και κάποιες άλλες ομάδες μικροοργανισμών, όπως τα οξυγαλακτικά βακτήρια (κόκκοι και βάκιλοι), τους μικρόκοκκους, τα εντεροβακτηριοειδή και τις ζύμες. Όσο αφορά τα οξυγαλακτικά βακτήρια, απουσιάζουν από το Παστεριωμένο (Π.) και Μικροδιηθημένο (Μ.) γάλα τυροκόμησης, ενώ στο Αρχικό Γάλα (Α.) και στο Νωπό Τυροκόμησης (Ν.) εμφανίζονται σε κοντινούς πληθυσμούς. Επίσης, οι ζύμες απουσιάζουν εντελώς από το Μικροδιηθημένο(Μ.) Γάλα τυροκόμησης, αφού λόγω του μεγάλου μεγέθους( 5-30\*2-10μm) τους δεν μπορούν να διαπεράσουν τους πόρους(0,1-10μm) της μεμβράνης μικροδιήθησης και έτσι παραμένουν στο κατακράτημα, το οποίο στη συνέχεια θερμάνθηκε (75°C για 3 λεπτά) και προστέθηκε στο τελικό μείγμα του Μ..

Όσον αφορά την παστερίωση, η ύπαρξη ζυμών στο Παστεριωμένο Γάλα (Π.) τυροκόμησης υποδηλώνει είτε ότι η συγκεκριμένη θερμική επεξεργασία (68°C για 10 λεπτά) δεν ήταν επαρκής για την καταστροφή αυτού του μικροοργανισμού, είτε ότι έγινε επιμόλυνση του γάλακτος μετά τη διαδικασία της παστερίωσης. Σύμφωνα όμως με τη θεωρία της παστερίωσης, σε αυτή τη θερμοκρασία καταστρέφονται οι περισσότεροι μικροοργανισμοί, συμπεριλαμβανομένων και των ζυμών (μεσόφιλοι μικροοργανισμοί) (Ανυφαντάκης, 2004).

Ακόμη, τα εντεροβακτηριοειδή, τα οποία θεωρούνται παθογόνα και θα πρέπει να βρίσκονται σε περιορισμένους πληθυσμούς στο γάλα (Ευρωπαϊκός Κανονισμός

2073/2005)) απουσιάζουν από τα Π. και Μ., ενώ στα Α. και Ν. βρίσκονται σε παρόμοιους πληθυσμούς. Σε αυτό το σημείο, θα χρειαστεί να σημειώσουμε ότι οι πληθυσμοί αναφέρονται στο κολοβακτηρίδιο *E.coli*, το οποίο δημιουργούσε χαρακτηριστικές ρόζ αποικίες με μωβ κέντρο στο θρεπτικό υλικό V.R.B.L. και αυτές καταμετρήθηκαν. Τέλος, η ομάδα των μικροκόκκων, στους οποίους συγκαταλέγονται και ορισμένα παθογόνα βακτήρια, όπως ο *Staphylococcus aureus*, εμφάνισε μειωμένους πληθυσμούς στα Π.Τ. και Μ.Τ. σε σχέση με τα νωπά γάλατα(Ν.Π. και Ν.Τ.). Ο Πίνακας 8.2 μας δίνει το παρακάτω γράφημα:



Γράφημα 8.1: Απεικόνιση μικροβιολογικών ομάδων πίνακα 8.2 στα γάλατα Αρχικό Πλήρες γάλα αγελάδος(Α.), Νωπό Τυροκόμησης(Ν.), Παστεριωμένο Τυροκόμησης(Π.) και Μικροδητημένο Τυροκόμησης(Μ.)

Εκτός από τις παραπάνω ομάδες μικροοργανισμών μελετήσαμε επίσης, κάποια άκρως παθογόνα βακτήρια, για τα οποία η Κοινοτική Νομοθεσία είναι αρκετά αυστηρή(Ευρ. Κανονισμός 2073/2005). Έτσι, στον Πίνακα 8.3 σημειώνεται η παρουσία(+) ή η απουσία(-) των *Listeria*, *Salmonella*, *Staphylococcus* στα Α.,Ν.,Π.,Μ. Όπως έχει ειπωθεί και στο Γενικό Μέρος, τα παραπάνω βακτήρια θεωρούνται εξαιρετικά παθογόνα και μπορούν να προκαλέσουν σοβαρές παθολογίες

καταστάσης στον άνθρωπό. Για τους Σταφυλόκοκκους θετικούς στην πηκτάση Ο Ε.Κ. 2073/2005, ορίζει ως αποδεκτό όριο για το νωπό γάλα  $10^5$ /c.f.u./ml.

Πίνακας 8.3: Παρουσία(+) ή Απουσία(-) παθογόνων μικροοργανισμών σε Νωπό Πλήρες(A.) , Νωπό Τυροκόμησης(N.), Παστεριωμένο Τυροκόμησης(Π.) και Μικροδιηθημένο Τυροκόμησης(M.).

<i>M.O.</i> <i>ΓΑΛΑ</i>	<i>Listeria</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>A.</i>	+	-	+
<i>N.</i>	+	-	+
<i>Π.</i>	-	-	-
<i>M.</i>	-	-	-

Όπως βλέπουμε από τον παραπάνω πίνακα 8.3, παρουσία χαρακτηριστικών αποικιών *Listeria* και *Staphylococcus* στα εκλεκτικά υποστρώματα PALCAM και BAIRD PARKER αντίστοιχα βρήκαμε μόνο στα γάλατα: Αρχικό γάλα αγελάδος (A) και Νωπό Τυροκόμησης (N.).

Οι αποικίες της που εμφανίστηκαν στα A. και N. γάλατα στο PALCAM είχαν μαύρο χρώμα και ελαιώδη υφή, οι οποίες θεωρούνταν χαρακτηριστικές του γένους *Listeria*, σύμφωνα με το πρωτόκολλο της I.D.F. Όμως, για την επιβεβαίωση του γένους *Listeria* δεν αρκεί μόνο η ανάπτυξη αυτού στον επιλεκτικό υλικό PALCAM. Για την περαιτέρω επιβεβαίωση του μικροοργανισμού διενεργήθηκαν και τα τέστ οξειδάσης, καταλάσης και αιμόλυσης, έτσι όπως αυτά περιγράφονται στην Παράγραφο 7.4 Αναλύσεις Γάλακτος. Για τις αποικίες λοιπόν που είχαν αναπτυχθεί στο PALCAM και τις είχαμε θεωρήσει *Listeria* τα τέστ της οξειδάσης και της καταλάσης βγήκαν αρνητικά και θετικά αντίστοιχα, ενώ το MICROGEN *Listeria*-ID

ήταν αρνητικό για το γένος της *Listeria*. Ακόμη, από τις παραπάνω αποικίες έγινε λήψη υλικού για τη δοκιμή της αιμόλυσης, η οποία διενεργήθηκε σε τρυβλίο με αιματούχο άγαρ και έδειξε β-μορφής αιμόλυση. Ακόμη μετά από μικροσκοπική εξέταση και χρώση υλικού από τις χαρακτηριστικές αποικίες στο PALCAM είδαμε ότι πρόκειται για Gram(-) βακίλους, επομένως αποκλείσαμε την πιθανότητα να είναι *Listeria*.

Όσον αφορά το *Staphylococcus*, οι αποικίες που εμφανίστηκαν στο BAIRD PARKER Agar ήταν χαρακτηριστικές *Staphylococcus aureus*, μαύρες με χαρακτηριστική opaque ζώνη να περιβάλλει την καθεμία (όπως τις περιγράφει το πρωτόκολλο της εταιρίας Biolife). Για περισσότερη επιβεβαίωση, εκτελέστηκε και το τεστ της πηκτάσης, όπως αυτό περιγράφεται στην παράγραφο 7.4 Αναλύσεις τυριών, και παρατηρήθηκε δημιουργία πήγματος μέσα στις πρώτες 3 ώρες. Επομένως, μπορούμε να πούμε με βεβαιότητα ότι πρόκειται για *Staphylococcus aureus*, οι πληθυσμοί των οποίων φαίνονται στον παρακάτω Πίνακα 8.4 για το Αρχικό γάλα (A.) και το Νωπό (N) της Τυροκόμησης γάλα:

Πίνακας 8.4: Πληθυσμοί *Staphylococcus aureus* σε Νωπό Πλήρες(N.Π.) και Νωπό Τυροκόμησης(N.Τ.)

<i>ΓΑΛΑ</i>	<i>BAIRD PARKER</i>
<i>A.</i>	<i>4,67</i>
<i>N.</i>	<i>4,20</i>



## 8.2 Απόδοση σε τυρί

Σύμφωνα με την τεχνολογία που περιγράφηκε στην παράγραφο 7.1. Επεξεργασία γάλακτος, η χρήση αγελαδινού γάλακτος με διαφορετική θερμική ή μη επεξεργασία δεν φαίνεται να επηρεάζει την απόδοση σε φρέσκο τυρί η οποία κυμάνθηκε μεταξύ 23.66% και 24.65% με τη μεγαλύτερη τιμή στην περίπτωση του τυριού από μικροδιηθημένο γάλα (M) (Πίνακας 8.5). Συγκριτικά με τη βιβλιογραφία για παρόμοια τυριά η απόδοση αυτή είναι μικρότερη από ότι σε άλλα τυριά φρέσκα αλοιφώδους υφής. Σε τυρί τύπου Γαλοτύρι παρασκευασμένο από πρόβειο γάλα και με περιεκτικότητα σε υγρασία περίπου 75% έχει βρεθεί απόδοση 51.0-52.1% (Kondyli et al., 2008; Katsiari et al., 2009). Βέβαια, το γαλοτύρι προέρχεται από πρόβειο γάλα, το οποίο έχει διαφορετική σύσταση από το αγελαδινό που χρησιμοποιήθηκε στο συγκεκριμένο πείραμα. Ακόμη, οι αποδόσεις του γάλακτος σε αυτού του τύπου τα τυριά, αλοιφώδη τυριά, εξαρτώνται και από το χρόνο στράγγισης του πήγματος. Επομένως, στην περίπτωση του γαλοτυριού των Kondyli et al. (2008) η στράγγιση διήρκησε 6 ώρες, ενώ στο τυρί που παρασκευάστηκε στο συγκεκριμένο πείραμα η στράγγιση διήρκησε 24 ώρες, με αποτέλεσμα να έχουμε μεγαλύτερη απώλεια υγρασίας και ορισμένων οροδιαλυτών συστατικών, π.χ. αλάτων. Τα κύρια συστατικά του γάλακτος που επηρεάζουν την απόδοση του σε τυρί είναι το λίπος, η πρωτεΐνες και κυρίως η καζεΐνες και η υγρασία και κύριο το κλάσμα λίπους: καζεΐνες (Fox et al., 2000; Walstra et al. 2005). Ακόμη η επεξεργασία που έχει υποστεί το γάλα πριν την τυροκόμηση έχει αποδειχθεί ότι επηρεάζει τις αποδόσεις αυτού σε τυρί (Ανυφαντάκης, 2004). Η μικροδιήθηση έχει παρατηρηθεί ότι αυξάνει το περιεχόμενο των πρωτεϊνών και συγκεκριμένα καζεϊνών και κατά συνέπεια και την απόδοση του γάλακτος σε τυρί (Ανυφαντάκης, 2004). Επομένως, στη συγκεκριμένη μελέτη όπως παρατηρούμε από τον Πίνακα 8.5 η απόδοση του M σε τυρί είναι αυξημένη σε σχέση με τις αποδόσεις του N και Π. Ακόμη και μελέτες που έγιναν σε φρέσκα τυριά Cottage & Quarg παρατηρήθηκε μια διαφορά στις αποδόσεις μεταξύ τυριού που προήλθε από νωπό και παστεριωμένο γάλα της τάξης του 5% για το Cottage και 2% για το Quarg, με τις αποδόσεις του παστεριωμένου να υπερέρχουν (Zall, 1981). Στη παρούσα μελέτη βέβαια δεν παρατηρήθηκε κάποια ιδιαίτερη διαφορά στις αποδόσεις μεταξύ του τυριού που προερχόταν από νωπό και παστεριωμένο γάλα. Όμως, όπως έχει αναφερθεί, οι αυξημένες αποδόσεις σε τυρί του παστεριωμένου γάλακτος εξαρτώνται από τη μετουσίωση που υφίστανται οι πρωτεΐνες του ορού και το

σύμπλεγμα που δημιουργούν με τις καζεΐνες. Σε αυτά τα τυριά με αυξημένη υγρασία, θερμικές επεξεργασίες σε υψηλότερους βαθμούς από την παστερίωση έχει παρατηρηθεί ότι αυξάνουν τις αποδόσεις, π.χ.σε τυρί Quarg με ποσοστό 18% υγρασία, οι αποδόσεις σε τυρί από γάλα που είχε υποστεί παστερίωση (72°C\*15sec) και υψηλή θερμική επεξεργασία (95°C\*120-130sec) ήταν 18,6kg/100kg και 21,3kg/100kg, αντίστοιχα. Στο παραπάνω Quarg, παρατηρήθηκε επίσης, ότι το ποσοστό μετουσίωσης των πρωτεϊνών του ορού ανερχόταν στο 3% για το τυρί από παστεριωμένο γάλα και στο 70%, για το τυρί που προέρχεται από γάλα που έχει υποστεί υψηλή θερμική επεξεργασία (Fox et al,2000). Άρα, σε τυριά με υψηλή υγρασία η θερμική επεξεργασία της παστερίωσης στο γάλα δεν δίνει εντυπωσιακά διαφορετικά επίπεδα αποδόσεων σε τυρί.

Πίνακας 8.5 Απόδοση (kg/100kg) σε φρέσκο μαλακό τυρί από επεξεργασμένο-τυποποιημένο νωπό (N), παστεριωμένο (Π) και μικροδιηθημένο (M) αγελαδινό γάλα (μέσοι όροι 3 πειραματικών επαναλήψεων ± τυπ.απ.)

<b>Τυρί</b>	<b>N</b>	<b>Π</b>	<b>M</b>
	23.95 ± 1.11	23.66 ± 0.19	24.65 ± 0.75

### **8.3 Σύσταση των τυριών**

#### **8.3.1 Φυσικοχημική σύσταση**

##### **8.3.1.1. Περιεκτικότητα τυριών σε υγρασία, λίπος, αλάτι και πρωτεΐνες.**

Το pH καθώς και η σύσταση των τυριών την πρώτη ημέρα αλλά και μετά από διατήρησή τους για 15 ημέρες στους 5°C παρουσιάζονται στους Πίνακες 8.6, 8.7 και 8.8.

Το pH και των τριών τυριών ήταν παρόμοιο από την πρώτη ημέρα της παρασκευής τους και με εξαίρεση το νωπό τυρί N, δε φάνηκε να διαφοροποιείται σημαντικά ούτε μετά από την παραμονή τους για 15 ημέρες στην ψύξη. Το pH του

Νωπού Τυριού (N.) φαίνεται να είναι υψηλότερο σε σχέση με το pH του Παστεριωμένου (Π.) και του Μικροδιηθημένου (Μ.), αυτό υποδηλώνει ότι οι εκκινήτριες καλλιέργειες δε δούλεψαν τόσο καλά στο Νωπό Τυρί. Ας σημειωθεί σε αυτό το σημείο ότι η μικροβιολογική χλωρίδα των τριών τυριών τυροκόμησης διέφερε αρκετά όπως φαίνεται και στον Πίνακα 8.2, με το Νωπό Γάλα Τυροκόμησης (N.) να υπερέχει σε μικροοργανισμούς σε σχέση με τα άλλα δύο γάλατα, Π. και Μ. Αυτή η φυσιολογική μικροβιακή χλωρίδα του Νωπού Γάλακτος (N) μπορεί να έδρασε ανταγωνιστικά με τα Γαλακτικά Βακτήρια (L.A.B.) της εναρκτήριας καλλιέργειας και να μην είχαμε τη διατήρηση του pH σε χαμηλά επίπεδα καθ' όλη τη διάρκεια της συντήρησής του στο ψυγείο. Η φυσική μικροβιακή χλωρίδα του Νωπού Γάλακτος έχει παρατηρηθεί ότι δε ρίχνει ιδιαίτερα το pH αλλά προσδίδει στο τυρί ορισμένα επιπλέον οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, π.χ πικάντικη γεύση (Farkye,2002). Ακόμη σε χαμηλό pH αναπτύσσονται καλύτερα οι μύκητες και οι ζύμες παρά τα βακτήρια, γι' αυτό και οι ομάδες αυτών των μικροοργανισμών παίζουν σημαντικότερο ρόλο στη διαμόρφωση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του τυριού από ότι στη δημιουργία του αρχικού πήγματος (Ray,2004). Αντιθέτως, τον βασικότερο ρόλο στη διαμόρφωση του πήγματος έχουν τα Γαλακτικά Βακτήρια (LAB) τα οποία ζυμώνουν τη λακτόζη του γάλακτος προς γαλακτικό οξύ, με αποτέλεσμα να πέφτει το pH και να έχουμε τη δημιουργία του αρχικού πήγματος. Στα φρέσκα αυτά τυριά στη γρήγορη πτώση του pH βοηθά και η προσθήκη μικρής ποσότητας πυτιάς, αλλά τον κύριο ρόλο έχουν τα LAB. Το χαμηλό pH παίζει σημαντικό ρόλο στη συναίρεση του πήγματος του τυριού, αφού τυριά με χαμηλό pH εμφανίζονται με πιο σταθερή δομή (Walstra et al.,2005). Επίσης, έχει παρατηρηθεί ότι η μεγαλύτερη πτώση του pH στα φρέσκα τυριά γίνεται μέσα στις πρώτες 4-12 ώρες, όπου συμβαίνει η διαδικασία της ζύμωσης, ενώ κατά τη συντήρηση των τυριών στο ψυγείο το pH παραμένει σταθερό παρά τα μεγάλα ποσοστά λακτόζης που υπάρχουν στο τυρί (Kondyli et al.,2007).

Πίνακας 8.6 pH, υγρασία, και λίπος επί ξηρού (%) φρέσκου μαλακού τυριού από επεξεργασμένο-τυποποιημένο νωπό (N), παστεριωμένο (Π) και μικροδιηθημένο (M) αγελαδινό γάλα (μέσοι όροι 3 πειραματικών επαναλήψεων  $\pm$  τυπ.απ.)

Ηλικία	Τυρί	pH	Υγρασία	Λίπος	Λίπος επί ξηρού
<b>1 ημέρα</b>	<b>N</b>	4.34 $\pm$ 0.03 <sup>a*</sup>	68.77 $\pm$ 1.63	17.8 $\pm$ 1.65	56.93 $\pm$ 2.56
	<b>Π</b>	4.41 $\pm$ 0.04 <sup>a,b</sup>	67.81 $\pm$ 0.85	18.57 $\pm$ 0.28	57.71 $\pm$ 1.05
	<b>M</b>	4.33 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>	67.94 $\pm$ 0.53	17.93 $\pm$ 0.91	55.92 $\pm$ 2.04
<b>7 ημέρες</b>	<b>N</b>	4.41 $\pm$ 0.12 <sup>a,b</sup>	68.56 $\pm$ 1.50	18.03 $\pm$ 1.10	57.33 $\pm$ 1.47
	<b>Π</b>	4.39 $\pm$ 0.10 <sup>a,b</sup>	67.21 $\pm$ 0.04	18.64 $\pm$ 0.18	56.85 $\pm$ 0.62
	<b>M</b>	4.39 $\pm$ 0.07 <sup>a,b</sup>	67.87 $\pm$ 0.01	18.03 $\pm$ 0.47	56.13 $\pm$ 1.48
<b>15 ημέρες</b>	<b>N</b>	4.56 $\pm$ 0.12 <sup>b</sup>	68.70 $\pm$ 1.83	17.91 $\pm$ 1.24	57.20 $\pm$ 1.04
	<b>Π</b>	4.39 $\pm$ 0.08 <sup>a,b</sup>	67.11 $\pm$ 0.34	18.56 $\pm$ 1.10	56.42 $\pm$ 2.89
	<b>M</b>	4.43 $\pm$ 0.08 <sup>a,b</sup>	67.79 $\pm$ 0.51	18.20 $\pm$ 0.34	56.51 $\pm$ 0.46

\*Οι μέσοι όροι με διαφορετικά γράμματα μέσα σε κάθε στήλη διαφέρουν μεταξύ τους σημαντικά (P<0.05)

Εκτός από το pH σημαντικό ρόλο στη διαμόρφωση του αρχικού πήγματος και τελικά του τυριού παίζει και η υγρασία (Walstra et al., 2005). Η αυξημένη υγρασία βέβαια αυτών των τυριών είναι ένας επιπλέον παράγοντας που ευνοεί την ανάπτυξη παθογόνων βακτηρίων και γενικά μικροοργανισμών (ζύμες, μύκητες) που είναι επιβλαβείς για το προϊόν (Farkye, 2002). Η υγρασία των τυριών (Πίνακας 8.6) ήταν επίσης παρόμοια και κυμάνθηκε από 67.11%- 68.77% καθ' όλη τη διάρκεια της διατήρησής τους. Σύμφωνα με τον Κώδικα Τροφίμων και Ποτών (2002) τα φρέσκα τυριά αλοιοφώδους υφής πρέπει να έχουν μέγιστη υγρασία 75%. Συνεπώς και τα τρία παραγόμενα τυριά είχαν υγρασία μέσα στις προδιαγραφές του Κώδικα. Όμως, η χαμηλή σχετικά υγρασία τους, προφανώς λόγω παρατεταμένης στράγγισης,

προκάλεσε τη χαμηλή απόδοση σε τυρί όπως αναφέρθηκε παραπάνω. Για το μαλακό ΠΟΠ τυρί Ανεβατό έχει αναφερθεί υγρασία 62.34% (Xanthopoulos et al., 2000). Το λίγο ανεβασμένο ποσοστό υγρασίας του Νωπού Τυριού σε σχέση με το Παστεριωμένο και Μικροδιηθημένο Τυρί είναι ορατό και στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά αυτού, με την αποβολή ορού.

Η λιποπεριεκτικότητα επίσης δε διέφερε μεταξύ των τριών τυριών και κυμάνθηκε μεταξύ 17.8% και 18.64% ή εκφρασμένη επί ξηρού μεταξύ 55.92% και 57.71% καθόλη τη διάρκεια διατήρησης. Σύμφωνα με τον Κώδικα Τροφίμων και Ποτών (2002) τα φρέσκα τυριά αλοιφώδους υφής με μέγιστη υγρασία 75% πρέπει να έχουν ελάχιστο λίπος επί ξηρού 60%. Και τα τρία τυριά που παρασκευάστηκαν υπολείπονται ως προς αυτό το χαρακτηριστικό και αυτό οφείλεται προφανώς στην χαμηλή σχετικά περιεκτικότητα σε υγρασία. Χαμηλές όμως τιμές για το λίπος επί ξηρού έχουν αναφερθεί και από τους Xanthopoulos et al. (2000) για το Ανεβατό (46.57%) καθώς και τους Kondyli et al. (2008) και Katsiari et al. (2009) για τυρί τύπου Γαλοτύρι (40.2-44.1%).

Μελέτες που έχουν γίνει σε παρόμοια εμφάνιση (μαλακά, αλοιφώδους υφής) φρέσκα τυριά έδειξαν ότι η σύσταση τους ποικίλει ανάλογα με τον τρόπο παραγωγής του καθενός και τις πρώτες ύλες που χρησιμοποιούνται. Έτσι, τα χαρακτηριστικά της υγρασίας και του λίπους, για το Cottage κυμαίνονται στο 79-80% και 2-5% αντίστοιχα. Ενώ για το Quarg, οι τιμές της υγρασίας κυμαίνονται 73-82% και για το λίπος 12-0,5% ανάλογα αν προέρχεται από πλήρες ή άπαχο γάλα.(Fox et al.,2000). Ακόμη, τα αλοιφώδη τυριά Neufchatel, Cream Double και Cream Single περιέχουν χαμηλότερα επίπεδα υγρασίας, 65%, 60%, 70% αντίστοιχα και υψηλότερα επίπεδα λίπους 20%, 30% και 14% αντίστοιχα.(Fox et al.2000). Τέλος, το Quesco Blanco περιέχει ποσοστά υγρασίας και λίπους 51% και 15% αντίστοιχα (Fox et al.,2000). Η Mozzarella που θεωρείται φρέσκο, μαλακό περιέχει ποσοστό υγρασίας μικρότερο από 60%, κοντά στο 47% συνήθως και λίπος 23-24% (Fox et al., 1999).

Όσον αφορά τον τρόπο επεξεργασίας του κάθε γάλακτος τυροκόμησης, οι τιμές της υγρασίας και του λίπους μεταξύ των τριών τυριών του παρόντος πειράματος δεν παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές και οι τιμές αυτές διατηρούνται σχεδόν σταθερές κατά τη διάρκεια και των τριών δειγματοληψιών (1<sup>η</sup>, 7<sup>η</sup> και 15<sup>η</sup> μέρα). Επομένως, δεν παρατηρείται ιδιαίτερη απώλεια υγρασίας κατά τη διάρκεια της

συντήρησης των τυριών στο ψυγείο. Σε μια μελέτη που έγινε σε Domiati cheese, το οποίο αποτελεί εντελώς διαφορετικό τύπο τυριού (μαλακό τυρί, τύπου Φέτα) από αυτό που κατασκευάστηκε στο παρόν πείραμα, αναφέρθηκαν τιμές για την υγρασία από 59,65% (κατά την 1<sup>η</sup> μέρα παρασκευής της) και 55,90% (κατά την 120<sup>η</sup>,τελευταία μέρα ωρίμανσης της) για τυρί που παρασκευάστηκε από νωπό γάλα και 61,40% (κατά την 1<sup>η</sup> μέρα παρασκευής της) και 57,55% (κατά την 120<sup>η</sup>,τελευταία μέρα ωρίμανσής της). Για το λίπος, στην παραπάνω μελέτη αναφέρθηκαν τιμές από 18,20% (την 1<sup>η</sup> μέρα) μέχρι 20,75%(την 120<sup>η</sup> μέρα) για το τυρί από νωπό γάλα και 17,60% (1<sup>η</sup> μέρα) ως 19,05%(120<sup>η</sup> μέρα) για το τυρί που προερχόταν από παστεριωμένο γάλα (Salwa & Galal,2002). Στην παραπάνω μελέτη με το Domiati cheese παρατηρούμε ότι τα ποσοστά της υγρασίας μεταξύ του Νωπού και Παστεριωμένου τυριού δε διαφέρουν επίσης ιδιαίτερα. Απλά, το τυρί Domiati από το παστεριωμένο γάλα παρουσιάζει ένα ποσοστό 2% περίπου περισσότερη υγρασία από ότι το τυρί από το νωπό, γεγονός που εξηγείται από την πιο αργή αποβολή ορού από αυτό, λόγω των συμπλόκων β-λακτογλοβουλίνης με κ-καζείνη που δημιουργούνται και δίνουν ένα μαλακότερο πήγμα (Ανυφαντάκης, 2004). Ακόμη μια μελέτη που έχει γίνει στο μεξικάνικο, φρέσκο, ημίσκληρο τυρί Chiahoua μεταξύ τυριού που παρασκευάστηκε από νωπό και παστεριωμένο γάλα έδειξε ότι το ποσοστό υγρασίας ήταν 39,2 ( $\pm 1,4\%$ ) και 42,3 ( $\pm 1,4\%$ ) αντίστοιχα (Van Hekken et al., 2006). Συμπερασματικά, μπορεί να ειπωθεί ότι ο τρόπος επεξεργασίας του γάλακτος παίζει πολύ μικρό ρόλο στην σύσταση των τυριών όσο αφορά την υγρασία και το λίπος (σε μαλακά ή ημίσκληρα τυριά) ή κανένα απολύτως ρόλο (αλοιφώδη τυριά).

Δεν υπήρχε επίσης καμία σημαντική διαφορά μεταξύ των τριών τυριών, τόσο στην περιεκτικότητα σε τέφρα όσο και σε αλάτι (Πίνακας 8.7). Η περιεκτικότητα σε τέφρα ήταν μεταξύ 1.89% και 2.33% και ήταν παρόμοια με αυτή που έχει αναφερθεί από τους Kondyli et al. (2008) και Katsiari et al. (2009) για τυρί τύπου Γαλοτύρι. Το αλάτι στην υγρή φάση κυμάνθηκε από 2.2% έως 2.48%. Η τιμή αυτή ήταν ελαφρά υψηλότερη από αυτή που αναφέρθηκε για τυρί τύπου Γαλοτύρι (2.07%-2.20%) (Kondyli et al., 2008; Katsiari et al., 2009), αλλά χαμηλότερη από αυτή για τυρί Ανεβατό (3.19%) (Xanthopoulos et al., 2000). Όσο αφορά την τέφρα, στα παραπάνω τυριά κυμαίνεται κοντά στο 1-2%, πιο συγκεκριμένα, για το Cottage cheese 1% και για το Quarg 0,94% (Fox et al., 2000).

Πίνακας 8.7 Τέφρα, αλάτι, και αλάτι στην υγρή φάση (%) φρέσκου μαλακού τυριού από επεξεργασμένο-τυποποιημένο νοπό (N), παστεριωμένο (Π) και μικροδιηθημένο (M) αγελαδινό γάλα (μέσοι όροι 3 πειραματικών επαναλήψεων  $\pm$  τυπ.απ.)

Ηλικία	Τυρί	Τέφρα	Αλάτι	Αλάτι στην υγρή φάση
<b>1 ημέρα</b>	<b>N</b>	1.89 $\pm$ 0.04	1.55 $\pm$ 0.08	2.21 $\pm$ 0.12
	<b>Π</b>	1.96 $\pm$ 0.08	1.62 $\pm$ 0.11	2.33 $\pm$ 0.17
	<b>M</b>	1.92 $\pm$ 0.34	1.58 $\pm$ 0.06	2.27 $\pm$ 0.08
<b>7 ημέρες</b>	<b>N</b>	2.23 $\pm$ 0.37	1.68 $\pm$ 0.14	2.39 $\pm$ 0.23
	<b>Π</b>	2.18 $\pm$ 0.35	1.65 $\pm$ 0.15	2.39 $\pm$ 0.22
	<b>M</b>	2.08 $\pm$ 0.21	1.53 $\pm$ 0.04	2.20 $\pm$ 0.06
<b>15 ημέρες</b>	<b>N</b>	2.00 $\pm$ 0.30	1.63 $\pm$ 0.07	2.31 $\pm$ 0.15
	<b>Π</b>	2.33 $\pm$ 0.14	1.70 $\pm$ 0.03	2.48 $\pm$ 0.05
	<b>M</b>	2.24 $\pm$ 0.20	1.65 $\pm$ 0.12	2.38 $\pm$ 0.15

Το αλάτι εκτός από την επίδραση που έχει στη γεύση, στη δομή και στη συντήρηση του τυριού, επηρεάζει και την ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Έχει παρατηρηθεί ότι οι μεγάλες συγκεντρώσεις αλατιού στο τυρί παρεμποδίζουν την ανάπτυξη των γαλακτικών βακτηρίων (LAB). Οι περισσότερες ομάδες γαλακτικών βακτηρίων αναπτύσσονται καλά σε 2% αλάτι και 4-5% αλάτι στην υγρή φάση. (Walstra et al.,2005). Τα γαλακτικά βακτήρια ιδίως κάποια στελέχη του γένους *Lactococcus* που χρησιμοποιούνται ως starters διεγείρεται η παραγωγή τους από χαμηλές συγκεντρώσεις αλατιού, αλλά παρεμποδίζεται από συγκεντρώσεις αλατιού μεγαλύτερες από 5%. Επίσης οι υψηλές συγκεντρώσεις αλατιού στο τυρί σχετίζονται με τα αυξημένα επίπεδα του λίπους και των πρωτεϊνών εξ' αιτίας της απώλειας της υγρασίας κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης (Fox et al.,2000).

Τα ποσοστά αλατιού λοιπόν σχετίζονται έκτος από την ανάπτυξη μικροοργανισμών και με τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του κάθε τυριού, αφού σχετίζονται άμεσα με τα ποσοστά υγρασίας και το pH. Η υγρασία καθορίζει σε ένα

μεγάλο ποσοστό την υφή και τη συνεκτικότητα του τυριού, ενώ το pH και κατά συνέπεια το αλάτι, τη γεύση (O'Connor, 1971). Το αλάτι επίσης, μπορεί να ενεργοποιεί ή να απενεργοποιεί ορισμένα ένζυμα, του γάλακτος ή των μικροοργανισμών. Η πλασμίνη, μια ενδογενής πρωτεϊνάση του γάλακτος που συμβάλει αρκετά στο βαθμό πρωτεόλυσης όλων των τυριών, ενεργοποιείται σε χαμηλές συγκεντρώσεις αλατιού, περίπου 2%, αλλά αδρανοποιείται σε πολύ υψηλές, πάνω από 8%. Αντίθετα, στα ένζυμα των μικροοργανισμών έχει αποδειχθεί, σύμφωνα με τις περισσότερες μελέτες ότι δεν έχει ιδιαίτερη επίδραση (Fox et al., 2000).

Σε παρόμοια σύσταση τυριά, όπως το Cottage και το Quarg η περιεκτικότητα σε αλάτι φτάνει το 1-3% (Farkye, 2002). Ακόμη, το μεξικάνικο φρέσκο τυρί Chihuahua περιέχει αλάτι 1-1,5% (Van Hekken et al., 2006), ενώ το Neufchatel έχει 0,8-1% αλάτι στο τελικό προϊόν (Farkye, 2002). Όπως και με τα προηγούμενα χημικά χαρακτηριστικά (λίπος, υγρασία) και η περιεκτικότητα ενός φρέσκου τυριού σε αλάτι εξαρτάται κυρίως από την τεχνολογία παρασκευής του, αλλά συνήθως κυμαίνεται μεταξύ 1-2%, όπως και στο τυρί που παρασκευάσαμε.

Όσον αφορά στην περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη, αυτή κυμάνθηκε μεταξύ 10.38% και 11.42% και υπήρξε μία σημαντική διαφορά ( $P < 0.05$ ) μεταξύ των τυριών N και M την 7<sup>η</sup> ημέρα (Πίνακας 8.8). Γενικά, όμως, η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη ήταν παρόμοια με αυτήν του τυριού τύπου Γαλοτύρι (Katsiari et al., 2009). Από τις τιμές του υδατοδιαλυτού αζώτου (εκφρασμένο ως επί τοις % του ολικού) φαίνεται ότι πρωτεόλυση ήταν περιορισμένη καθόλη τη διάρκεια της διατήρησης των τυριών.

Σύμφωνα με τους Mara and Kelly (1998), στα τυριά που παρασκευάζονται από θερμασμένο γάλα με συνδυασμό οξίνισης και πυτιάς ο κύριος παράγοντας πρωτεόλυσης είναι η πυτιά και δευτερευόντως η πλασμίνη και η εναρκτήρια καλλιέργεια. Όσο αφορά το παστεριωμένο γάλα, έχει αποδειχθεί από προηγούμενες μελέτες ότι η θερμική επεξεργασία του γάλακτος (ιδιαίτερα σε θερμοκρασίες και χρονικές διάρκειες υψηλότερες της κλασσικής παστερίωσης) επιδρά στην ενεργότητα της πλασμίνης και στη δράση του πλασμινογόνου (προένζυμο από το οποίο προέρχεται η ενεργοποιημένη πλασμίνη) (Driessen and Van Der Walls, 1978; Snoeren et al 1979; Rollema & Poll 1986; Alichanidis et al. 1986). Ιδιαίτερα, έχει σημειωθεί μια αρνητική συσχέτιση μεταξύ της ενεργότητας της πλασμίνης/



πλασμινογόνου και της θερμοκρασίας θέρμανσης του γάλακτος, σε θερμοκρασίες υψηλότερες αυτές της παστερίωσης (Benfeldt et al., 1997).

Η πλασμίνη αποτελεί το κύριο ένζυμο της πρωτεόλυσης των  $\alpha_s$ - και  $\beta$ -καζεΐνη στην τεχνολογία παρασκευής του τυριού. Μελέτες που έγιναν σε τυριά που προέρχονταν από διαφορετικού τύπου θερμικής επεξεργασίας γάλατα έδειξαν ότι η δράση της πλασμίνης δεν επηρεάζεται σχεδόν καθόλου σε θερμοκρασίες παστερίωσης, όπως 72°C για 15, 30, 60sec καθώς και σε αυτή των 80°C για 15sec, αλλά η θέρμανση για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα ή/και σε υψηλότερη θερμοκρασία παρουσιάζει σημαντική μείωση της ενεργότητάς της (Benfeldt et al., 1997). Από την άλλη, υπάρχουν και μελέτες οι οποίες υποστηρίζουν ότι η ενεργότητα της πλασμίνης αυξάνεται με την επεξεργασία της παστερίωσης, αφού στη θερμοκρασία των 72°C για 30 sec αδρανοποιούνται οι αναστολείς της πλασμίνης που υπάρχουν στο γάλα και/ή έτσι αυξάνεται η δράση των ενεργοποιητών του πλασμινογόνου ( Fox and Stepaniak 1993; Farkye and Imafidon 1995). Οι κυριότεροι αναστολείς της πλασμίνης που έχουν αναφερθεί στο αγελαδινό γάλα είναι η  $\alpha_2$ -Αντιπλασμίνη, η  $\alpha_2$ -Μακρογλοβουλίνη και ο αναστολέας του πλασμινογόνου 1 (Christensen et al., 1995; Zavizon et al., 1996).

Εκτός βέβαια από την πλασμίνη, υπάρχουν και κάποια άλλα ένζυμα που έχουν πρωτεολυτική δράση και συμβάλλουν στην υδρόλυση των καζεϊνών. Σημαντικό ρόλο φαίνεται να παίζει η Καθεψίνη D, η οποία συνδέεται άμεσα με τον αριθμό των σωματικών κυττάρων στο γάλα. Η Καθεψίνη D είναι ένα πρωτεολυτικό ένζυμο που παράγεται από τα λυσοσώματα των σωματικών κυττάρων του γάλακτος και βρίσκεται και στη διαλυτή μορφή της στον ορό του γάλακτος ( Larsen et al., 1996). Η Καθεψίνη D αποτελεί την κυριότερη πρωτεϊνάση των μακροφάγων (Cohn, 1975) απομονώνεται από γάλα με χαμηλής συγκέντρωσης σωματικά κύτταρα. Το επίπεδο της Καθεψίνης D στο γάλα εμφανίζει σημαντικά θετική συσχέτιση με τον αριθμό των σωματικών κυττάρων (O'Driscoll et al., 1999; Somers et al., 2003). Επίσης, ορισμένοι ερευνητές έχουν συνδέσει και τη δράση του συστήματος πλασμίνης/πλασμινογόνου με τον αριθμό των σωματικών κυττάρων (Politis et al., 1989). Έχει εντοπιστεί όμως, μια διαφορά στη λειτουργία των 2 ενζυμικών συστημάτων (πλασμινογόνου/πλασμίνης και προκαθεψίνης D/ Καθεψίνης D) σε σχέση με τους αυξημένους αριθμούς σωματικών κυττάρων. Έτσι, ενώ στην περίπτωση του συστήματος πλασμινογόνου/πλασμίνης παρατηρείται μια μεγαλύτερη

αύξηση της ενεργής πλασμίνης σε σχέση με τα επίπεδα του πλασμινογόνου στο γάλα κατά την αύξηση του αριθμού των σωματικών κυττάρων σε αυτό ( π.χ. μαστιτικό γάλα) (Politis et al., 1998). Από την άλλη, στην περίπτωση του συστήματος Προκαθελίνης D/Καθελίνης D παρατηρείται ότι η αύξηση στη μετρούμενη δράση της Καθελίνης D με τα σωματικά κύτταρα στο γάλα προέρχεται από αυξημένο το επίπεδο Προκαθελίνης D ενώ η ενεργή μορφή της Καθελίνης D δεν ανιχνεύεται. στο γάλα (Larsen et al., 2006). Αυτό δείχνει ότι η αύξηση της Προκαθελίνης D δε σχετίζεται άμεσα με την αύξηση των σωματικών κυττάρων στο γάλα, αλλά υπάρχει συνήθως σε μεγάλες ποσότητες (δέξαμενές Προκαθελίνης D) οι οποίες αυτό-ενεργοποιούνται και μετατρέπονται σε ενεργές μορφές (Ψευδοκαθελίνη D) όταν παρατηρείται μείωση του pH (Larsen et al. 1993). Έχει παρατηρηθεί ότι τα αυξημένα επίπεδα Προκαθελίνης D στο γάλα σε συνδυασμό με τον αυξημένο αριθμό σωματικών κυττάρων σε αυτό μπορεί να προκαλέσει την παραγωγή αντιμικροβιακών πεπτιδίων, π.χ. ισρακίνης, μετά την πρωτεολυτική της δράση στην  $\alpha_{s1}$ - καζεΐνη (Lahov & Regelson, 1996).

Τέλος, έχει διαπιστωθεί ότι τα αυξημένα επίπεδα Καθελίνης D, πλασμίνης και σε ορισμένες περιπτώσεις και Καθελίνης B που συνοδεύονται από αυξημένους αριθμούς σωματικών κυττάρων στο γάλα προκαλούν αυξημένη πρωτεόλυση (Somers et al., 2003; Larsen et al., 2004). Η καθελίνη D (Larsen et al., 2000) καθώς και η πλασμίνη (Kaminogawa & Yamauchi, 1972) παραμένουν σταθερές σε δομή και μερικώς ενεργές μετά την επίδραση θέρμανσης, επιπέδου παστερίωσης στο γάλα.

Στην περίπτωση του παρόντος πειράματος, τη μεγαλύτερη πρωτεόλυση μεταξύ 1<sup>ης</sup> και 15<sup>ης</sup> ημέρας την είχε πρωτίστως το παστεριωμένο τυρί Π και ακολούθως το νωπό τυρί Ν, ενώ στο τυρί Μ από μικροδιηθημένο γάλα το υδατοδιαλυτό άζωτο δεν μεταβλήθηκε. Προφανώς στην περίπτωση των τυριών Ν και Π η πρωτεόλυση ήταν έργο κυρίως της συνολικής αρχικής χλωρίδας του γάλακτος καθώς και αυτής που επέζησε της παστερίωσης, αλλά και τη πλασμίνης. Η πλασμίνη στα Ν και Π τυριά φαίνεται να είναι πιο ενεργή από ότι στο τυρί Μ, γεγονός που μπορεί να δικαιολογηθεί από τους αυξημένους αριθμούς σωματικών κυττάρων στα Ν και Π σε σχέση με το Μ. Επιπλέον, στο Π η αυξημένη δράση της πλασμίνης φαίνεται να οφείλεται στην απενεργοποίηση των ενζύμων-αναστολέων της που υπάρχουν στο γάλα, όπως αναφέρθηκε προηγουμένως (Fox and Stepaniak 1993; Farkye and Imafidon 1995). Αν και το Μ παρουσιάζει μικρότερο ποσοστό πρωτεόλυσης σε σχέση

με ο Ν, το Μ περιέχει λίγο μεγαλύτερα ποσοστά ολικού αζώτου συνολικά. Αυτό οφείλεται κυρίως στη συμπίκνωση του κλάσματος των πρωτεϊνών που συμβαίνει με την τεχνολογία της μικροδιήθησης.

Πίνακας 8.8 Ολική πρωτεΐνη (%) και υδατοδιαλυτό άζωτο (% του ολικού) φρέσκου μαλακού τυριού από επεξεργασμένο-τυποποιημένο νωπό (Ν), παστεριωμένο (Π) και μικροδιηθημένο (Μ) αγελαδινό γάλα (μέσοι όροι 3 πειραματικών επαναλήψεων ± τυπ.απ.)

Ηλικία	Τυρί	Πρωτεΐνη	Υδατοδιαλυτό άζωτο (% του ολικού)
1 ημέρα	Ν	10.38 ± 0.54 <sup>a*</sup>	9.02 ± 0.11 <sup>a,b</sup>
	Π	11.19 ± 0.52 <sup>a,b</sup>	7.59 ± 0.32 <sup>b</sup>
	Μ	10.89 ± 0.09 <sup>a,b</sup>	8.21 ± 0.66 <sup>b</sup>
7 ημέρες	Ν	10.42 ± 0.38 <sup>a</sup>	8.99 ± 0.52 <sup>a,b</sup>
	Π	11.42 ± 0.19 <sup>b</sup>	8.94 ± 0.50 <sup>a,b</sup>
	Μ	10.91 ± 0.19 <sup>a,b</sup>	8.37 ± 1.37 <sup>a,b</sup>
15 ημέρες	Ν	10.61 ± 0.48 <sup>a,b</sup>	9.82 ± 1.23 <sup>a</sup>
	Π	11.12 ± 0.60 <sup>a,b</sup>	8.78 ± 0.40 <sup>a,b</sup>
	Μ	10.93 ± 0.76 <sup>a,b</sup>	8.13 ± 0.99 <sup>b</sup>

\*Οι μέσοι όροι με διαφορετικά γράμματα μέσα σε κάθε στήλη διαφέρουν μεταξύ τους σημαντικά (P<0.05)

Τα αποτελέσματα της μελέτης των Bonczar et al.(2002) συμβαδίζουν με τα αποτελέσματα του συγκεκριμένου πειράματος, αφού μαλακό τυρί που παρασκευάστηκε, από νωπό γάλα, περιείχε 14,85-15,01% ολικό άζωτο ποσοστό κοντά στο 10,38-10.61%, που βρέθηκαν εδώ. Ακόμη, η περιορισμένη πρωτεόλυση αυτών των τυριών έχει δείχθει και από τη μελέτη των Bonczar et al.(2002), όπου τα ποσοστά του ολικού αζώτου των μαλακών (αλοιφώδη) τυριών από πρόβειο γάλα που παρασκευάστηκαν στη παρατηρήθηκε ότι δεν μεταβλήθηκαν κατά τις 14 μέρες που συντηρήθηκαν αυτά σε θερμοκρασία ψυγείου και έγιναν 3 δειγματοληψίες (1<sup>η</sup>,7<sup>η</sup>,14<sup>η</sup> μέρα). Όλα τα τυριά αυτού του τύπου (αλοιφώδη), περιέχουν περίπου 12-13%

πρωτεΐνες και παρουσιάζουν μικρό βαθμό πρωτεόλυσης, π.χ. το Cottage περιέχει 13-14% πρωτεΐνες, το Quarg 10-13% , το Neufchatel 10-12%.κ.α (Fox et al, 2000). Τέλος σε όλα τα παραπάνω τυριά, αλοιοφώδους υφής, έχει παρατηρηθεί ιδιαίτερη δράση των Καθεψινών, σε περιπτώσεις παρασκευής τους χωρίς την προσθήκη πυτιάς (Larsen et al., 2000; Hurley et al., 2000).

### **8.3.1.2 Περιεκτικότητα τυριών σε άλατα**

Η περιεκτικότητα σε άλατα των τυριών την πρώτη ημέρα αλλά και μετά από διατήρησή τους για 15 ημέρες στους 5°C παρουσιάζονται στους Πίνακες 8.9 και 8.10 . Η περιεκτικότητα των αλάτων στο γάλα της τυροκόμησης και η ισορροπία αυτών μεταξύ κolloειδούς και διαλυτής φάσης παίζει αρκετά σημαντικό ρόλο στην παρασκευή του αρχικού πήγματος του τυριού και γενικά του τελικού προϊόντος. Κυρίαρχο ρόλο στη δημιουργία του πήγματος έχει το ασβέστιο, αφού χωρίς τα ιόντα ασβεστίου δεν μπορεί να γίνει ενζυμική πήξη του γάλακτος (Ανυφαντακης, 2004).

Όσο αφορά την περιεκτικότητα σε ασβέστιο και φώσφορο ανάμεσα στα τρία τυριά καθ' όλη τη διάρκεια της συντήρησής τους δεν υπήρξαν σημαντικές διαφορές.. Η περιεκτικότητα σε ασβέστιο ήταν μεταξύ 97.24mg/100g και 108.30 mg/100g. Για το τυρί Cottage έχουν αναφερθεί τιμές ασβεστίου 60-100 mg/100g, ενώ για το Quarg 100-120 mg/100g.(Fox et al.,2000). Ακόμη, για το Neufchatel έχουν αναφερθεί τιμές 75mg/100g, για το Ricotta 200-280mg/100gr και για τα Fromage frais 0,15mg/100g. Όπως βλέπουμε η περιεκτικότητα σε ασβέστιο για τα διάφορα αλοιοφώδη τυριά ποικίλει και εξαρτάται από την πρώτη ύλη που χρησιμοποιείται(είδος και ποιότητα γάλακτος) και την τεχνολογία παρασκευής του καθενός.(Fox et al., 2000).

Παρατηρούμε ότι και στα 3 τυριά, οι τυπικές αποκλείσεις μεταξύ των τριών επαναλήψεων είναι αρκετά μεγάλες της τάξεως του 10-20%, γεγονός στο οποίο οφείλεται και η μη εύρεση στατιστικών διαφορών όσον αφορά την περιεκτικότητα σε Ca, μεταξύ τους. Για το λόγο αυτό, θα βασιστούμε αποκλειστικά στη σύγκριση των μέσων όρων που προκύπτουν από τις 3 επαναλήψεις, για κάθε τυρί.

Σύμφωνα λοιπόν με τον πίνακα 8.9, η τιμή του Ca παρατηρείται αυξημένη στο τυρί M σε σχέση με τα άλλα 2 τυριά και κυρίως το N σε όλες τις χρονικές περιόδους της δειγματοληψίας μας(1<sup>η</sup>, 7<sup>η</sup> και 15<sup>η</sup> μέρα).Έχει παρατηρηθεί ότι με τη

συμπύκνωση του γάλακτος, μεταφέρεται φωσφορικό ασβέστιο από τον όρο στην κολλοειδή φάση, αποτέλεσμα τελικά να αυξάνεται το κολλοειδές φωσφορικό ασβέστιο (Μοιάτσου, 2008). Η τεχνική της μικροδιήθησης θεωρείται ένας τρόπος συμπύκνωσης του γάλακτος (Harjinder & Bennett, 2002) με αποτέλεσμα στο μικροδιηθημένο γάλα να θεωρηθεί ότι περιέχει αυξημένες ποσότητες κολλοειδούς φωσφορικού ασβεστίου.

Πίνακας 8.9 Περιεκτικότητα σε ασβέστιο και φώσφορο (mg/100g τυριού) φρέσκου μαλακού τυριού από επεξεργασμένο-τυποποιημένο νωπό (N), παστεριωμένο (Π) και μικροδιηθημένο (M) αγελαδινό γάλα (μέσοι όροι 3 πειραματικών επαναλήψεων  $\pm$  τυπ.απ.)

Ηλικία	Τυρί	Ca	P	P/Ca
<b>1</b> ημέρα	N	99.10 $\pm$ 2.40	116.41 $\pm$ 11.53	1.17 $\pm$ 0.11
	Π	101.09 $\pm$ 12.87	118.54 $\pm$ 12.69	1.18 $\pm$ 0.12
	M	105.65 $\pm$ 29.03	124.67 $\pm$ 19.36	1.21 $\pm$ 0.19
<b>7</b> ημέρες	N	99.53 $\pm$ 21.37	148.55 $\pm$ 33.42	1.58 $\pm$ 0.66
	Π	104.58 $\pm$ 16.56	140.17 $\pm$ 11.61	1.37 $\pm$ 0.32
	M	108.30 $\pm$ 26.20	138.35 $\pm$ 9.12	1.34 $\pm$ 0.37
<b>15</b> ημέρες	N	97.24 $\pm$ 11.53	134.00 $\pm$ 21.99	1.38 $\pm$ 0.18
	Π	105.24 $\pm$ 20.48	139.56 $\pm$ 21.56	1.34 $\pm$ 0.21
	M	105.62 $\pm$ 14.50	140.18 $\pm$ 29.11	1.33 $\pm$ 0.24

Το κολλοειδές φωσφορικό ασβέστιο είναι συνδεδεμένο με τις καζεΐνες του γάλακτος και όπως έχει παρατηρηθεί κα σε προηγούμενη μελέτη, η χρήση της τεχνολογίας των μεμβρανών αυξάνει τα ποσοστά του ασβεστίου και του φωσφόρου στο κατακράτημα (Brule et al., 1978). Στη συγκεκριμένη μελέτη, έγινε χρήση της Μικροδιήθησης, η οποία συμπυκνώνει ακόμη περισσότερο το ποσοστό των

πρωτεϊνών στο κατακράτημα, με αποτέλεσμα να αυξάνονται ακόμη περισσότερο οι συγκεντρώσεις του κolloειδούς φωσφορικού ασβεστίου και Mg, που είναι συνδεδεμένα με τις καζεΐνες. Το Ca και ο P που κατακρατούνται είναι με τη μορφή κolloειδούς φωσφορικού ασβεστίου, ενώ οι διαλυτές μορφές αυτών των αλάτων διαπερνούν τις μεμβράνες και συγκεντρώνονται στο διήθημα.(De la Fuente, 1998).

Γενικά έχει παρατηρηθεί ότι οι συγκεντρώσεις του Ca, κατά την παρασκευή του τυριού, αυξάνονται έως και πέντε φορές στα μαλακά τυριά και έως 10 φορές στα σκληρά τυριά σε σχέση με τις τιμές των αντίστοιχων αλάτων στο γάλα τυροκόμησης (Scott, 1989). Αυτό συμβαίνει επειδή κατά την παρασκευή τυριού από γάλα, πέφτει το pH και παρατηρείται μια οξίνιση του γάλακτος η οποία συνοδεύεται από διαλυτοποίηση του κolloειδούς φωσφορικού ασβεστίου και αύξηση των διαλυτών ιόντων ασβεστίου, τα οποία συμμετέχουν στην δημιουργία του αρχικού πήγματος του τυριού (De la Fuente, 1998). Τα αυξημένα ιόντα ασβεστίου, δίνουν επίσης, μια πιο σταθερή δομή στο πήγμα του τυριού,(De la Fuente, 1998) Έτσι, εδώ, η αυξημένη συγκέντρωση του κolloειδούς φωσφορικού ασβεστίου, που υπήρχε στο Μικροδιηθημένο γάλα μετατρέπεται σε διαλυτά ιόντα Ca στο τυρί και δίνει μεγαλύτερες συγκέντρωσεις αλάτων ασβεστίου στο Μικροδιηθημένο τυρί και πιο σταθερή δομή σε σχέση με το Νωπό Τυρί.

Τέλος, όσο αφορά το τυρί από το Παστεριωμένο γάλα, έχει αποδειχθεί ότι κατά την εφαρμογή υψηλών θερμοκρασιών στο γάλα παρατηρείται μια κατακρήμνιση των αλάτων Ca και P αρχικά. Η θέρμανση του γάλακτος σε θερμοκρασίες πάνω από 60°C οδηγεί στην κατακρήμνιση του 40% των αλάτων Ca και του 25% των αλάτων P (Bruler et al., 1978). Στη συνέχεια, όμως κατά την ψύξη του θερμασμένου γάλακτος έχουν παρατηρηθεί οι αντίστροφες αντιδράσεις από αυτές της κατακρήμνισης των αλάτων Ca και P, με αποτέλεσμα οι τελικές συγκεντρώσεις αυτών στο παστεριωμένο γάλα να είναι ίσες με αυτές στο νωπό (Pouliot et al., 1989). Όσο αφορά την οξίνιση του παστεριωμένου γάλακτος για τη δημιουργία μαλακού τυριού και άλλων ζυμούμενων προϊόντων (γιαούρτι) έχει παρατηρηθεί ότι προηγούμενη θερμική επεξεργασία του γάλακτος δεν επηρεάζει την απελευθέρωση των ιόντων ασβεστίου που λαμβάνουν μέρος στο σχηματισμό του πήγματος (Law(1996). Από μελέτες που έγιναν σε γάλα που είχε υποστεί θερμική επεξεργασία(De la Fuente, 1998) και σε γάλα που δεν είχε υποστεί θερμική επεξεργασία (Dalglish and Law, 1989) πριν την οξίνισή τους για την παραγωγή

τυριού διαπιστώθηκε ότι δεν υπήρχαν διαφορές σχετικά με τη διάλυση του κολλοειδούς φωσφορικού ασβεστίου προς ιόντα Ca και P. Η διάλυση του κολλοειδούς φωσφορικού ασβεστίου προς ιόντα ασβεστίου φαίνεται να εξαρτάται άμεσα μόνο από το pH του γάλακτος κατά την οξίνιση και εφόσον αυτό είναι χαμηλότερο από 5 η διάλυση αυτή συμβαίνει κανονικά. (Gastaldi et al., 1996; Le Graet & Brule, 1993). Η απομάκρυνση των ιόντων Ca, P και Mg από τα καζεϊνικά μικκύλια κατά την παρασκευή τυριού (pH<5) φαίνεται, λοιπόν, να μην επηρεάζεται ούτε από την προηγούμενη θερμική επεξεργασία του γάλακτος αλλά ούτε και από τη θερμοκρασία συντήρησης του τυριού(4-30°C). (De la Fuerta , 1998). Έχει όμως, παρατηρηθεί ότι το Ca που είναι άμεσα συνδεδεμένο με τις καζεΐνες, όχι με τη μορφή φωσφορικού ασβεστίου, μειώνεται στο τυρί σε θερμοκρασίες 4°C (Dalglish & Law, 1989). Επομένως, όπως φαίνεται και από προηγούμενες μελέτες, οι τιμές του Ca σε τυριά από νωπό και παστεριωμένο γάλα δε φαίνεται να διαφέρουν ιδιαίτερα.

Όσο αφορά το φώσφορο, οι συγκεντρώσεις αυτού δεν διαφέρουν πολύ ανάμεσα στα 3 τυριά που προήλθαν από τα νωπό, παστεριωμένο και μικροδιηθημένο γάλα. Ακόμη, οι συγκεντρώσεις αυτές φαίνονται να αυξάνονται με την πάροδο του χρόνου συντήρησης, λόγω της αυξημένης απελευθέρωσης ιόντων P από τη διάλυση του κολλοειδούς φωσφορικού ασβεστίου, όπως περιγράφηκε παραπάνω. Επίσης, το αρκετά μεγάλο ποσοστό υγρασίας που έχουν τα τυριά και η ελάχιστη απώλειά της κατά τη συντήρησή τους μπορεί να δικαιολογήσει εν μέρει τις σχεδόν ισάξιες τιμές φωσφόρου στα τυριά της 7<sup>ης</sup> και 15<sup>ης</sup> μέρας. Οι τιμές του ασβεστίου και του φωσφόρου για άλλα αλοιφώδη τυριά είναι: 100mg/100g και 180mg/100g για το Cottage cheese, 120mg/100g και 180mg/100g για το Quarg και 98mg/100g και 100mg/100g για το Cream cheese (Walstra et al. 2005; Fox et al., 2000).

Τέλος, όσον αφορά τη σχέση Ca/P ενώ στα περισσότερα σκληρά τυριά η περιεκτικότητα του Ca ξεπερνά αυτή του P π.χ. στο Cheddar οι τιμές για το Ca κυμαίνονται 720-84mg/100g και για το P κυμαίνονται 490-620mg/100g, ενώ στα αλοιφώδη τυριά οι συγκεντρώσεις του P εμφανίζονται σε υψηλότερο επίπεδο από ότι οι συγκεντρώσεις του Ca. (Fox et al., 2000). Μια υπόθεση που θα μπορούσε να εξηγήσει το παραπάνω φαινόμενο είναι ότι μια μεγάλη ποσότητα του διαλυτού στον όρο ασβεστίου διαφεύγει του πηγματος κατά τη στράγγιση και γι' αυτό αυτού του τύπου τα τυριά περιέχουν χαμηλές ποσότητες ασβεστίου.

Πίνακας 8.10 Περιεκτικότητα σε μαγνήσιο, κάλιο και νάτριο (mg/100g τυριού) φρέσκου μαλακού τυριού από επεξεργασμένο-τυποποιημένο νωπό (N), παστεριωμένο (Π) και μικροδιηθημένο (M) αγελαδινό γάλα (μέσοι όροι 3 πειραματικών επαναλήψεων  $\pm$  τυπ.απ.)

Ηλικία	Τυρί	Mg	K	Na
<b>1</b> ημέρα	<b>N</b>	12.17 $\pm$ 0.33 <sup>a*</sup>	158.39 $\pm$ 7.66	746.95 $\pm$ 51.66
	<b>Π</b>	13.25 $\pm$ 0.86 <sup>a,b</sup>	154.14 $\pm$ 15.58	797.02 $\pm$ 103.80
	<b>M</b>	13.68 $\pm$ 2.67 <sup>a,b</sup>	158.45 $\pm$ 34.76	748.05 $\pm$ 208.28
<b>7</b> ημέρες	<b>N</b>	13.72 $\pm$ 2.54 <sup>a,b</sup>	153.04 $\pm$ 32.58	897.37 $\pm$ 238.04
	<b>Π</b>	15.58 $\pm$ 1.52 <sup>a,b</sup>	148.05 $\pm$ 40.06	870.47 $\pm$ 195.56
	<b>M</b>	15.22 $\pm$ 2.43 <sup>a,b</sup>	149.67 $\pm$ 44.15	789.09 $\pm$ 73.41
<b>15</b> ημέρες	<b>N</b>	13.90 $\pm$ 1.46 <sup>a,b</sup>	140.54 $\pm$ 24.07	766.56 $\pm$ 108.20
	<b>Π</b>	15.09 $\pm$ 1.17 <sup>a,b</sup>	141.82 $\pm$ 15.46	915.85 $\pm$ 78.38
	<b>M</b>	15.97 $\pm$ 1.47 <sup>b</sup>	160.12 $\pm$ 38.17	873.04 $\pm$ 88.48

\*Οι μέσοι όροι με διαφορετικά γράμματα μέσα σε κάθε στήλη διαφέρουν μεταξύ τους σημαντικά (P<0.05)

Τα άλατα του Mg, K, Na παρουσιάζονται χωρίς μεγάλες διαφορές μεταξύ των 3 τυριών. Τα παραπάνω άλατα βρίσκονται διαλυτά στον όρο του γάλακτος σχεδόν εξ' ολοκλήρου, εκτός από το Mg από το οποίο ένα μέρος του(1/3 Mg) ανευρίσκεται στα καζεϊνικά μικκύλια.(De la Fuente et al., 2002). Τα υπόλοιπα 2 στοιχεία, K και Na βρίσκονται αποκλειστικά σε διαλυτή μορφή στο ορό και η συγκέντρωσή τους στα διάφορα τυριά εξαρτάται από το ποσοστό υγρασίας τους.(Moreno-Rojas et al.,1994). Οι συγκεντρώσεις του Mg στα μαλακά τυριά εμφανίζονται 2-3 φορές μεγαλύτερες από ότι οι συγκεντρώσεις του αντίστοιχου στοιχείου στο γάλα, ενώ για το K δεν έχουν παρατηρηθεί υψηλότερες συγκεντρώσεις στα μαλακά τυριά σε σχέση με το



γάλα. Οι τιμές του Na στα μαλακά τυριά εξαρτάται άμεσα από την ποσότητα αλατιού που προσθέτουμε κατά την παρασκευή τους (Scott,1989).

Οι συγκεντρώσεις των Na, K και Mg σε Cottage cheese είναι 380mg/100g, 89mg/100g και 9mg/100g αντίστοιχα, σε Fromage frais είναι 31mg/100g, 110mg/100g και 8mg/100g αντίστοιχα και σε Cream cheese είναι 300mg/100g, 160mg/100g και 10mg/100g (Fox et al., 2000).

Ακόμη, μελέτες επίσης σε φρέσκου τύπου γίδινο τυρί , με χρόνο συντήρησης ως 15 μέρες έχουν δείξει ότι δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ 1<sup>ης</sup> και 15<sup>ης</sup> μέρας για τα όλα παραπάνω στοιχεία, π.χ για το Mg η τιμή της 1<sup>ης</sup> μέρας ήταν 25,3mg/100g και της 15<sup>ης</sup> μέρας ήταν 25,7mg/g, για το P οι τιμές ήταν 345,5mg/100g και 353,5mg/100g αντίστοιχα. Για το Ca και το Na οι τιμές ήταν 582,3mg/100g (1<sup>η</sup> μέρα) και 607mg/100g(15<sup>η</sup> μέρα) και 242,8mg.g (1<sup>η</sup> μέρα) και 212,8mg/100g (15<sup>η</sup> μέρα) αντίστοιχα.(Martin-Hernandez & Juarez,1988).

### 8.3.2 Μικροβιολογική Σύσταση Τυριών

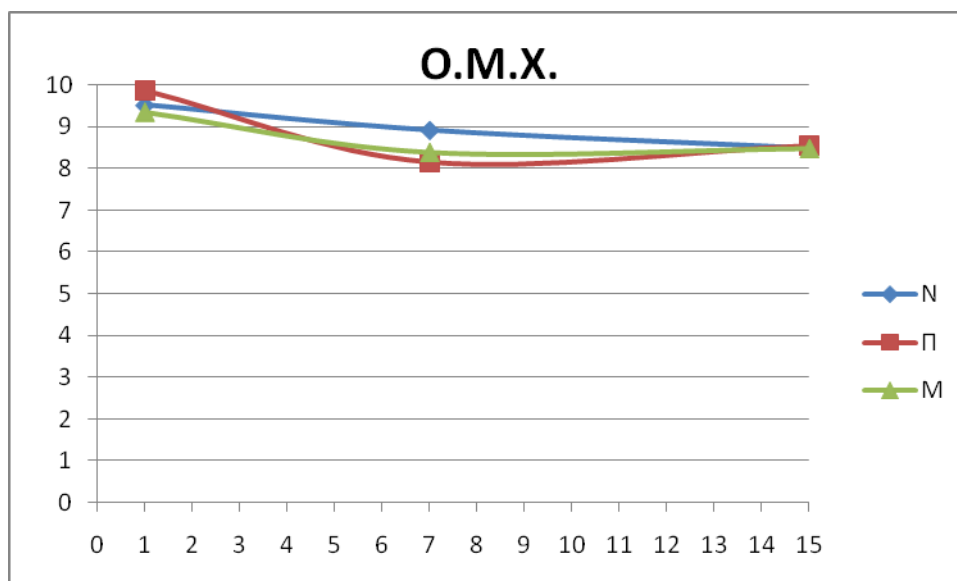
Στα τυριά που παρασκευάστηκαν από τα παραπάνω γάλατα(Κεφάλαιο 8.1) από Νοπό, Παστεριωμένο και Μικροδιηθημένο γάλα έγιναν οι παρακάτω αναλύσεις.

#### 8.3.2.1. Προσδιορισμός Ολική Μεσόφιλης Χλωρίδας(Ο.Μ.Χ.).

Τα αποτελέσματα του προσδιορισμού της Ο.Μ.Χ.φαίνονται στον Πίνακα 8.11 και απεικονίζονται με τη μορφή γραφικών παραστάσεων στο Γράφημα 8.2

Πίνακας 8.11: Προσδιορισμός Ο.Μ.Χ.(log c.f.u./gr τυριού) σε P.C.A θρεπτικό υπόστρωμα σε Νοπό(N), Παστεριωμένο(Π), Μικροδιηθημένο(M) τυρί κατά την 1<sup>η</sup>, 7<sup>η</sup> και 15<sup>η</sup> μέρα δειγματοληψίας.

Ο.Μ.Χ.			
ΜΕΡΕΣ	1	7	15
ΤΥΡΙΑ			
N	9,514813	8,909021	8,469577
Π	9,855721	8,154221	8,546666
M	9,337792	8,37236	8,464996



Γράφημα 8.2: Γραφική απεικόνιση της πορείας εξέλιξης των μικροοργανισμών της O.M.X. σε N, Π και M τυρί κατά τη διάρκεια συντήρησής του (1<sup>η</sup>, 7<sup>η</sup> και 15<sup>η</sup> μέρα).

Όπως παρατηρούμε κατά την 1<sup>η</sup> μέρα δειγματοληψίας οι πληθυσμοί της O.M.X. και στα τρία τυριά είναι της ίδιας τάξης μεγέθους, περίπου  $10^9$  c.f.u./gr τυριού. Στη συνέχεια, παρατηρούμε μια σταδιακή μείωση των πληθυσμών της O.M.X. και στα τρία γάλατα, τα οποία καταλήγουν στο τέλος και της τελευταίας δειγματοληψίας (15<sup>η</sup> μέρα) να έχουν μειωθεί περίπου κατά μια λογαριθμική μονάδα. Σε παρόμοιο τύπο φρέσκου τυριού, από νωπό αγελαδινό ορό ή μειωμένης λιποπεριεκτικότητας γάλα, το τουρκικό Civil-cheese έχουν βρεθεί πληθυσμοί της τάξεως του  $10^8$  c.f.u./gr, κατά την 1<sup>η</sup> μέρα της δειγματοληψίας. (Sengul, 2005). Επίσης, οι Sert και Kivanc (1985) στον ίδιο τύπο τυριού Civil cheese είχαν βρεί βρεί πληθυσμούς O.M.X. της τάξεως του  $10^8$  c.f.u./gr κατά μέσο όρο (με ελάχιστη τιμή  $2,1 \cdot 10^7$  c.f.u./gr και μέγιστη τιμή  $8,9 \cdot 10^9$ ), 24 ώρες μετά την παρασκευή του τυριού. Οι Bakirci & Andic (1999) ανέφεραν για το Cecil cheese (μια οπαραλλαγή του Civil) πληθυσμούς της O.M.X. να κυμαίνονται από μεταξύ  $10^6$  και  $9,8 \cdot 10^8$  c.f.u./gr. Ακόμη, μελέτες έχουν γίνει σε ένα μεξικάνικο φρέσκο, ημίσκληρο τυρί, το Chihuahua, το οποίο παρασκευάστηκε από νωπό και παστεριωμένο γάλα. Οι μικροβιακοί πληθυσμοί στο Chihuahua από νωπό γάλα κυμαίνονται από 8,5-9,6 log c.f.u./gr, ενώ από παστεριωμένο γάλα κυμαίνονται μεταξύ 6,1-8,7 log c.f.u./gr. (Tunick et al.). Οι Bricker et al. (2005) παρατήρησαν ότι οι πληθυσμοί της μεσόφιλης χλωρίδας είναι σχεδόν ισάξιοι και στο νωπό και στο παστεριωμένο τυρί Chihuahua, ενώ οι πληθυσμοί των θερμοφίλων βακτηρίων βρέθηκαν μειωμένοι κατά 1-1,5 λογάριθμο. Τέλος, στο επίσης τουρκικής προέλευσης

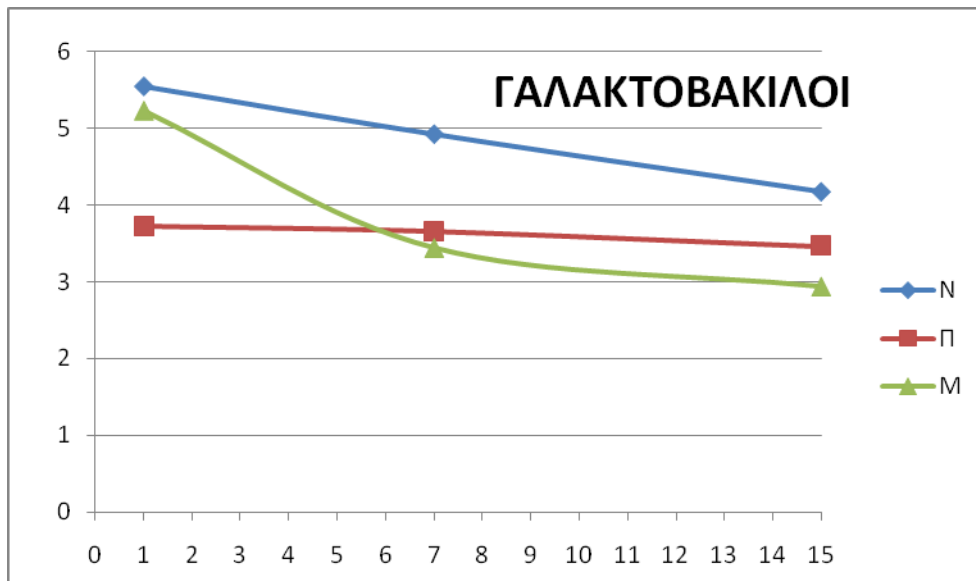
αγελαδινό, τυρί ωρίμανσης Kulek αναφέρθηκαν πληθυσμοί Ο.Μ.Χ. της τάξεως  $10^{10}$  c.f.u./gr στην αρχή της ωρίμανσης(1<sup>η</sup> μέρα) και πληθυσμοί της τάξεως  $10^7$  c.f.u./gr στο τέλος της ωρίμανσης.( Dervisoglu & Aydemir, 2006). Από τις παραπάνω αναφορές, λοιπόν, μπορούμε να πούμε ότι οι πληθυσμοί της Ο.Μ.Χ. στα φρέσκα τυριά κυμαίνονται μεταξύ  $10^7$ -  $10^9$  c.f.u./gr, γεγονός με το οποίο συμφωνούν και τα δεδομένα του συγκεκριμένου πειράματος( $10^9$ - $10^8$ ).

### **8.3.2.2.Προσδιορισμός Γαλακτοβακίλων**

Ο θερμόφιλος οξυγαλακτικός βάκιλος, *Lactobacillus bulgaricus*, αποτελεί μαζί με ορισμένους οξυγαλακτικούς κόκκους τους κύριους μικροοργανισμούς των εναρκτήριων καλλιεργειών(starter cultures) των τυριών που παρασκευάστηκαν από Νωπό(N), Παστεριωμένο(Π) και Μικροδιηθημένο (M). Τα αποτελέσματα που προέκυψαν φαίνονται στον Πίνακα 8.12 και απεικονίζονται με τη μορφή γραφικών παραστάσεων στο Γράφημα 8.3.

Πίνακας 8.12: Προσδιορισμός Γαλακτοβακίλων (log c.f.u./gr) σε M.R.S. σε Νωπό (N), Παστεριωμένο (Π), Μικροδιηθημένο (M) τυρί κατά την 1<sup>η</sup>, 7<sup>η</sup>, και 15<sup>η</sup> μέρα δειγματοληψίας.

ΓΑΛΑΚΤΟΒΑΚΙΛΟΙ(θ)			
ΜΕΡΕΣ	1	7	15
ΤΥΡΙΑ			
N	5,544150759	4,9240207	4,177055
Π	3,719607468	3,653341175	3,465135
M	5,226122821	3,444044796	2,941677



Γράφημα 8.3: Γραφική απεικόνιση της πορείας εξέλιξης των Γαλακτοβακίλων σε N, Π και Μ τυρί κατά τη διάρκεια συντήρησής του (1<sup>η</sup>, 7<sup>η</sup> και 15<sup>η</sup> μέρα).

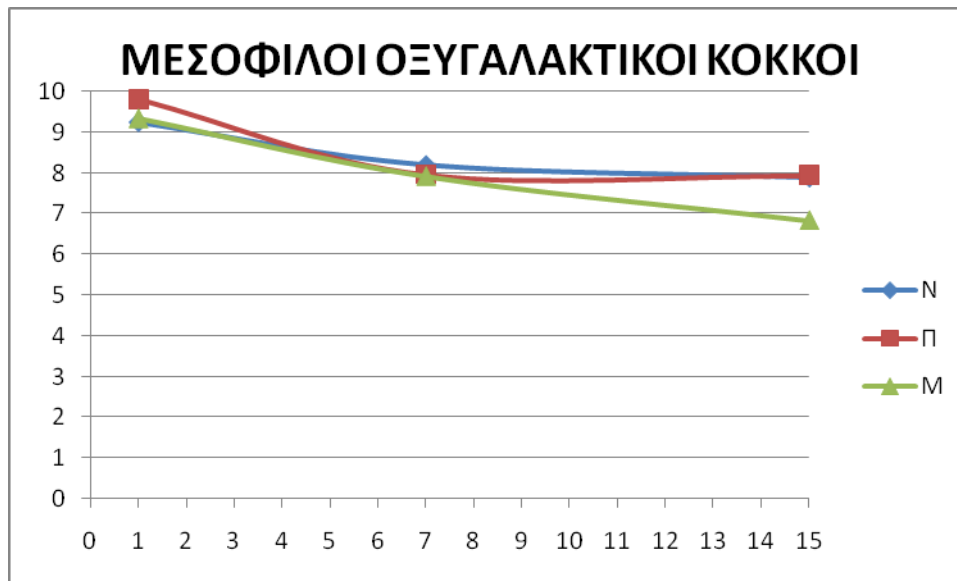
Όπως παρατηρείται από τα παραπάνω δεδομένα, οι πληθυσμοί των γαλακτοβακίλων κυμαίνονται μεταξύ  $10^3$ - $10^5$  cfu/gr τυριού. Οι περισσότεροι από αυτούς τους γαλακτοβακίλους έχουν προστεθεί με την εναρκτήρια καλλιέργεια στο τυρί, αφού οι πληθυσμοί για γαλακτοβακίλους στο Παστεριωμένο και Μικροδιηθημένο γάλα της τυροκόμησης ήταν μηδενικοί. (Πίνακας 8.2). Στο N, παρατηρείται μια πολύ μικρή μείωση, περίπου μια λογαριθμική μονάδα, των γαλακτοβακίλων, κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης. Στο Π, υπάρχει μια σχεδόν σταθερότητα στους πληθυσμούς των γαλακτοβακίλων, κατά τη διάρκεια των τριών επαναλήψεων. Τέλος, στο M παρατηρείται μια μείωση σχεδόν 2 λογαριθμικές μονάδες, μεταξύ της 1<sup>ης</sup> και 15<sup>ης</sup> μέρας. Οι πληθυσμοί των θερμοφίλων γαλακτοκόκκων σε φρέσκου τύπου τυριά, όπως το αιγυπτιακό Domiatī, που έχουν αναφερθεί είναι της τάξεως του  $10^6$  cfu/gr. (Mehaia, 1993). Ακόμη, οι πληθυσμοί των L.A.B. γενικά στο τούρκικο αγελαδινό φρέσκο τυρί Civil Cheese, έχει αναφερθεί ότι κυμαίνονται μεταξύ  $1,1 \cdot 10^4$ - $8 \cdot 10^7$  cfu/gr (Sengul, 2005). Επίσης, και άλλες μελέτες που έχουν γίνει πάνω σε τούρκικα φρέσκα τυριά από αγελαδινό γάλα έδειξαν ισοδύναμους περίπου πληθυσμούς L.A.B. Οι Segnui και Etrugay (2006) βρήκαν πληθυσμούς LAB να κυμαίνονται μεταξύ  $2,1 \cdot 10^5$  και  $2,1 \cdot 10^7$  cfu/gr στο Helva Cheese ενώ οι Ozdemir et al. (2003) βρήκαν τους πληθυσμούς των LAB, επίσης, να κυμαίνονται μεταξύ  $5,5 \cdot 10^4$  και  $9,8 \cdot 10^5$  cfu/gr στο Carzof Civil Cheese (αποτελεί μια παραλλαγή του Civil Cheese, στην οποία δεν έχουν προστεθεί starter cultures).

### 8.3.2.3. Προσδιορισμός Οξυγαλακτικών Κοκκών

Στα Νωπό(N), Παστεριωμένο(Π) και Μικροδιηθημένο(M) τυριά προσδιορίσαμε τους πληθυσμούς και των μεσόφιλων και των θερμόφιλων γαλακτικών κόκκων, στους οποίους περιλαμβάνονται και ο *Lactococcus lactis* και *Streptococcus thermophilus*, οι μικροοργανισμοί των εκκινήτριων καλλιιεργειών των τυριών που παρασκευάστηκαν. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν παρουσιάζονται στους Πίνακες 8.13 και 8.14 απεικονίζονται με τη μορφή γραφικών παραστάσεων στα Γραφήματα 8.4 και 8.5 για τους μεσόφιλους και θερμόφιλους κόκκους αντίστοιχα.

Πίνακας 8.13: Προσδιορισμός Μεσόφιλων Οξυγαλακτικών Κόκκων(log cfu/gr) σε Νωπό(N), Παστεριωμένο(Π) και Μικροδιηθημένο(M) τυρί κατά την 1<sup>η</sup>, 7<sup>η</sup> και 15<sup>η</sup> μέρα της δειγματοληψίας.

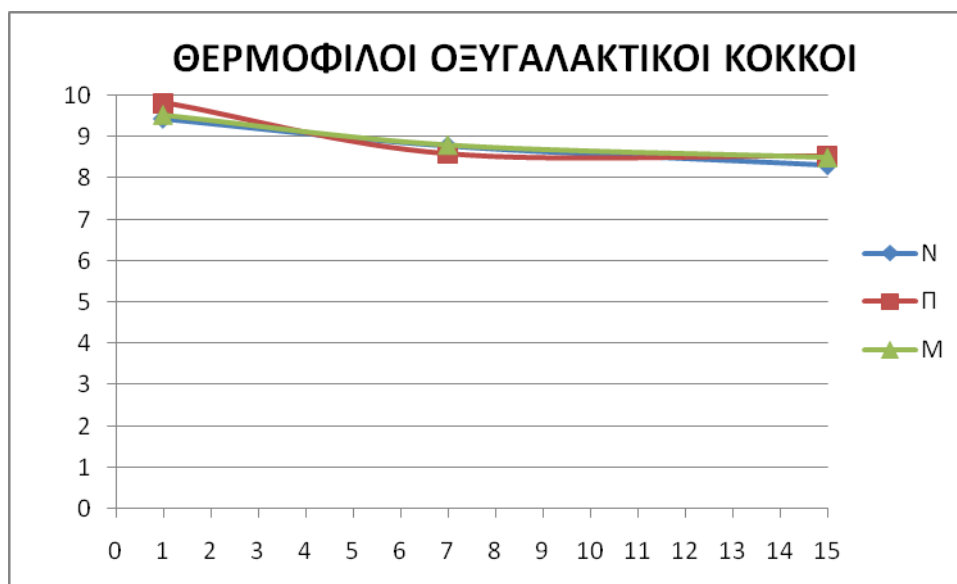
ΜΕΣΟΦΙΛΟΙ ΟΞΥΓΑΛΑΚΤΙΚΟΙ ΚΟΚΚΟΙ			
ΜΕΡΕΣ	1	7	15
ΤΥΡΙΑ			
N	9,2368982	8,199206	7,888928
Π	9,8079858	7,95077	7,929691
M	9,3393189	7,917681	6,82866



Γράφημα 8.4: Γραφική απεικόνιση της πορείας εξέλιξης των Μεσόφιλων Οξύγαλακτικών Κόκκων σε N, Π και M τυρί κατά τη διάρκεια συντήρησής του (1<sup>η</sup>, 7<sup>η</sup> και 15<sup>η</sup> μέρα).

Πίνακας 8.14: Προσδιορισμός των Θερμόφιλων Γαλακτικών Κόκκων σε M17-Agar σε Νωπό (N), Παστεριωμένο (Π) και Μικροδιηθημένο (M) τυρί κατά την 1<sup>η</sup>, 7<sup>η</sup> και 15<sup>η</sup> μέρα δειγματοληψίας.

ΘΕΡΜΟΦΙΛΟΙ ΟΞΥΓΑΛΑΚΤΙΚΟΙ ΚΟΚΚΟΙ			
ΜΕΡΕΣ	1	7	15
ΤΥΡΙΑ			
N	9,449478	8,79472	8,327699
Π	9,827154	8,594761	8,54241
M	9,522879	8,797498	8,490661



Γράφημα 8.5: Γραφική απεικόνιση της πορείας εξέλιξης των Θερμόφιλων Οξυγαλακτικών Κόκκων σε Ν, Π και Μ τυρί κατά τη διάρκεια συντήρησής του (1<sup>η</sup>, 7<sup>η</sup> και 15<sup>η</sup> μέρα).

Από τους οξυγαλακτικούς κόκκους που χρησιμοποιήσαμε ως starter cultures είναι ο *Streptococcus thermophilus* αποτελεί τον κύριο μικροοργανισμό των θερμόφιλων κόκκων και ο *Lactococcus lactis sub. lactis* αποτελεί τον κυριότερο μικροοργανισμό των μεσόφιλων κόκκων. Όπως σημειώνεται και στους παραπάνω πίνακες(8.13. 8.14) αποτελεσμάτων οι μεσόφιλοι και θερμόφιλοι κόκκοι βρίσκονται σε αρκετά υψηλά επίπεδα, κοντά στο  $10^9$  με  $10^{10}$  cfu/gr και στα 3 τυριά(N,Π,M) και καθ' όλη τη διάρκεια της ωρίμανσης του τυριού φαίνεται να μειώνονται κατά 2 λογαριθμικές μονάδες για τους μεσόφιλους και για 1 λογαριθμική μονάδα για τους θερμόφιλους. Η μείωση των πληθυσμών των starter cultures συνήθως οφείλεται στη λύση των βακτηριακών κυττάρων από ενδογενή ένζυμα, ιδίως πεπτιδάσες, οι οποίες απελευθερώνονται μαζί με τη χυμοσίνη ή ακόμη και από της πρωτεΐνάσες των ίδιων των starters (Fox et al.,2000).Η λύση αυτή των βακτηρίων μπορεί να γίνει στα αρχικά στάδια της ωρίμανσης ή και αργότερα. Έχει παρατηρηθεί ότι ο *Lc.lactis sub. cremoris* λύεται γρηγορότερα σε σχέση με το *Lc. lactis sub. Lactis* (Fox et al., 2000). Επίσης, έχει παρατηρηθεί ότι ένας μέσος όρος των πληθυσμών οξυγαλακτικών κόκκων που βρίσκουμε κατά την 1<sup>η</sup> μέρα παρασκευής διαφόρων τυπων τυριών αντιστοιχεί σε  $10^9$



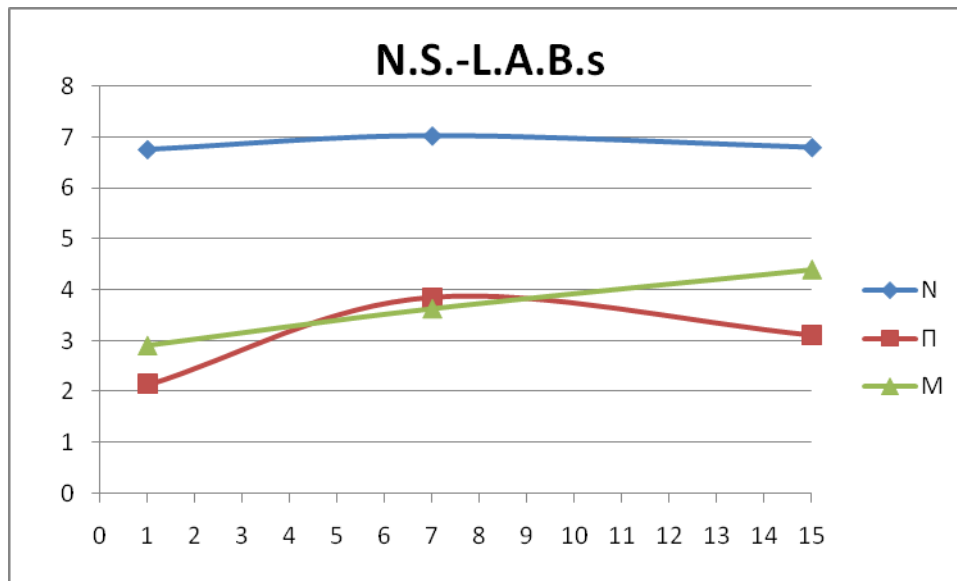
cfu/gr (Fox et al.,2000). Το είδος των κόκκων που χρησιμοποιούμε ως starters κάθε φορά εξαρτάται από το είδος του τυριού που θέλουμε να φτιάξουμε.

#### **8.3.2.4.Προσδιορισμός Μη Εκκινητριών Οξυγαλακτικών Βακτηριών (N.S.-L.A.B).**

Τα N.S.-L.A.B. αποτελούν μια ομάδα γαλακτικών βακτηρίων τα οποία δεν ανήκουν στα γαλακτικά βακτήρια των εκκινητριών καλλιιεργειών (L.A.B.-starters), αλλά αναπτύσσονται στα τυριά κατά τη διάρκεια της ωρίμανσής τους. Για τον προσδιορισμό των N.S.-L.A.B. χρησιμοποιήθηκε το θρεπτικό υλικό Rogosa, τα αποτελέσματα του οποίου φαίνονται στον Πίνακα 8.15 και η γραφική τους απεικόνιση στο Γράφημα 8.6.

Πίνακας 8.15: Προσδιορισμός των N.S.-L.A.B.s(log cfu/gr) σε Νοπό (N), Παστεριωμένο (Π) και Μικροδιηθημένο (M) τυρί κατά την 1<sup>η</sup>, 7<sup>η</sup> και 15<sup>η</sup> μέρα δειγματοληψίας.

N.S.-L.A.B.s			
ΜΕΡΕΣ	1	7	15
ΤΥΡΙΑ			
N	6,753328	7,024622	6,79588
Π	2,140927	3,848189	3,112828
M	2,90309	3,628389	4,39953



Γράφημα 8.6: Γραφική απεικόνιση της πορείας εξέλιξης των N.S.-L.A.B.s σε N, Π και M τυρί κατά τη διάρκεια συντήρησής του (1<sup>η</sup>, 7<sup>η</sup> και 15<sup>η</sup> μέρα).

Όπως παρατηρείται από τα παραπάνω αποτελέσματα, ο ομιλάς των N.S.-L.A.B.s απαντάται σε αρκετά μεγάλους πληθυσμούς, της τάξεως  $10^7$  c.f.u./gr στο τυρί που προέρχεται από νωπό γάλα (N), σε σχέση με τους πληθυσμούς που βρίσκονται στα τυριά Π και Μ. Αυτό δικαιολογείται από τους μεγάλους πληθυσμούς O.M.X. (περιλαμβανόμενα τα N.S.-L.A.B. στην O.M.X.), που βρίσκονται στο Νωπό Γάλα σε σχέση με το Παστεριωμένο και το Μικροδιηθημένο. Επίσης, στο Ν τυρί παρατηρούμε ότι οι πληθυσμοί αυτών των βακτηρίων παραμένουν σταθεροί καθ' όλη τη διάρκεια της συντήρησης του τυριού, ενώ στο Π παρατηρούμε μια αύξηση αυτών μέχρι την 7<sup>η</sup> μέρα περίπου κατά σχεδόν 2 λογαριθμικές μονάδες και μετά τη ελάχιστη πτώση και διατήρηση αυτών σε πληθυσμούς κοντά στο  $10^3$  c.f.u./gr. Σχετικά με το Μ τυρί, σε αυτό οι πληθυσμοί βρίσκονται σε επίπεδα κοντά με αυτά του παστεριωμένου ( $10^3$  c.f.u./gr) αλλά έχουν μια ανοδική πορεία μέχρι και τη 15<sup>η</sup> μέρα, κατά την οποία έχουν αυξηθεί σχεδόν κατά 2 λογαριθμικές μονάδες. Τα N.S.-L.A.Bs αναπτύσσονται συνήθως δευτερογενώς στο τυρί και του προσδίδουν ορισμένα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, για αυτό βρίσκονται σε ανοδική ή σταθερή πορεία ανάπτυξης μέχρι και τη 15<sup>η</sup> μέρα συντήρησης του τυριού.

Έχει αναφερθεί ότι τα τυριά που παρασκευάζονται από νωπό γάλα αγελάδος οι πληθυσμοί των N.S.-L.A.B. ανέρχονται σε  $10^8$  cfu/gr, ενώ για τα τυριά που προέρχονται από παστεριωμένο γάλα οι πληθυσμοί αυτών των βακτηρίων ανέρχονται

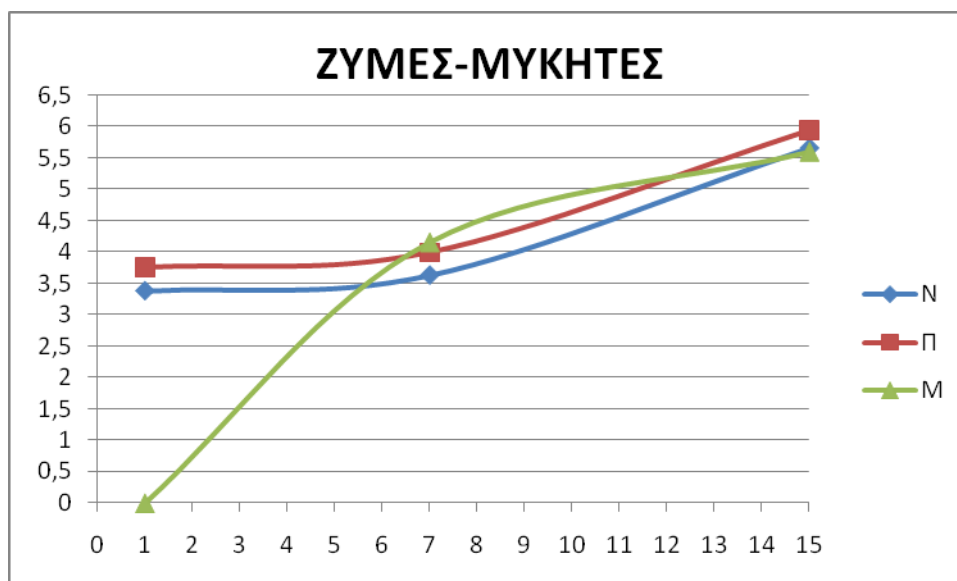
σε χαμηλότερα επίπεδα, της τάξεως των  $10^6$  cfu/gr (Cogan & Beresford, 2002). Δεν έχει διευκρινιστεί ακριβώς ο λόγος για τον οποίο παρατηρείται αυτή η μείωση στο παστεριωμένο γάλα, αλλά έχει υποστηριχθεί ότι η παστερίωση καθυστερεί την ανάπτυξη αυτών των βακτηρίων κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης των τυριών κατά κάποιο τρόπο (Cogan & Beresford, 2002). Πρόκειται για ετεροζυμωτικά βακτήρια των οποίων η πηγή ενέργειας δεν είναι η λακτόζη αλλά δεν έχει διευκρινιστεί ποια ακριβώς είναι (Fox et al., 2000) Επίσης άντεχουν σε υψηλές τιμές αλατιού και οξύτητας και οι πληθυσμοί τους διαφέρουν ανάλογα με τον τύπο του τυριού που παρασκευάζουμε και το στάδιο ωρίμανσης του, π.χ. στο Cheddar cheese ο πληθυσμός τους ισοδυναμεί στα 100cfu/gr, ενώ στο Casar de Caceres ο πληθυσμός τους ανέρχεται στα  $10^6$  cfu/gr ( Fox et al., 2000).

#### **8.3.2.5.Προσδιορισμός ζυμών/μυκήτων.**

Τα αποτελέσματα του προσδιορισμού των ζυμών/μυκήτων στο Νωπό(N), Παστεριωμένο(Π) και Μικροδιηθημένο(M) παρουσιάζονται στον Πίνακα 8.16 και απεικονίζονται με τη μορφή γραφικής παράστασης στο Γράφημα 8.7

Πίνακας 8.16: Προσδιορισμός ζυμών σε Y.G.C. σε Νωπό (N), Παστεριωμένο (Π), Μικροδιηθημένο(M) τυρί κατά την 1<sup>η</sup>, 7<sup>η</sup> και 15<sup>η</sup> μέρα της δειγματοληψίας

<b>ZYMEΣ/ΜΥΚΗΤΕΣ</b>			
<i>(log)</i>			
<i>ΜΕΡΕΣ</i>	<i>1</i>	<i>7</i>	<i>15</i>
<i>ΤΥΡΙΑ</i>			
<i>N</i>	<i>3,3802112</i>	<i>3,630428</i>	<i>5,658965</i>
<i>Π</i>	<i>3,7533277</i>	<i>3,993436</i>	<i>5,946125</i>
<i>M</i>	<i>0</i>	<i>4,159367</i>	<i>5,60206</i>



Γράφημα 8.7: Γραφική απεικόνιση της πορείας εξέλιξης των N.S.-L.A.B.s σε N, Π και M τυρί κατά τη διάρκεια συντήρησής του (1<sup>η</sup>, 7<sup>η</sup> και 15<sup>η</sup> μέρα).

Στο συγκεκριμένο πείραμα, παρατηρούμε ότι ενώ οι πληθυσμοί των ζυμών/μυκήτων κατά την 1<sup>η</sup> μέρα είναι περίπου ισοδύναμοι, κοντά στο  $10^3$  c.f.u./gr, στα τυριά που προήλθαν από Νωπό και Παστεριωμένο Γάλα στο τυρί που προήλθε από Μικροδιηθημένο Γάλα είναι μηδενικοί. Επομένως, με τη χρήση της μικροδιήθησης το γάλα που λήφθηκε ήταν καθαρότερο σε σχέση με το νωπό και με το παστεριωμένο (Πίνακας 8.2) και έδωσε και ένα καθαρότερο τυρί σε σχέση με τα άλλα δύο (Πίνακας 8.16). Στη συνέχεια, όμως στο μικροδιηθημένο τυρί εμφανίστηκαν επιμολύνσεις ζυμών και μυκήτων από το περιβάλλον, κατά τη συντήρηση του προϊόντος στο ψυγείο. Οι πληθυσμοί των ζυμών και μυκήτων, λοιπόν, αυξάνονται κατά τη συντήρηση του τυριού το ψυγείο και κατά τη 15<sup>η</sup> μέρα και στα 3 τυριά που παρασκευάσαμε έχουν φτάσει σχεδόν στο ίδιο επίπεδο ( $10^5$  c.f.u./gr).

Οι ομάδες των ζυμών και των μυκήτων αποτελούν μικροοργανισμούς οι οποίοι αναπτύσσονται δευτερογενώς στο τυρί, κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης, όταν το pH είναι χαμηλό και τα βακτήρια δεν μπορούν να ανπτυχθούν σε αυτό. (Fox et al., 2000). Ακόμη, μπορούν να ανπτυχθούν και σε πολύχαμηλές τιμές  $a_w$  και σχεδόν πάντα, όπως και στη συγκεκριμένη μελέτη, αναπτύσσονται στην επιφάνεια των τυριών, αφού έχουν αμέση ανάγκη από Οξυγόνο (υποχρεωτικά αερόβιοι μικροοργανισμοί). Αποτελούν την κυριότερη επιμολύνση των φρέσκων ιδίως τυριών και οι πληθυσμοί τους μπορούν να αυξηθούν ιδιαίτερα γρήγορα σε αυτά. (Fox et al.,

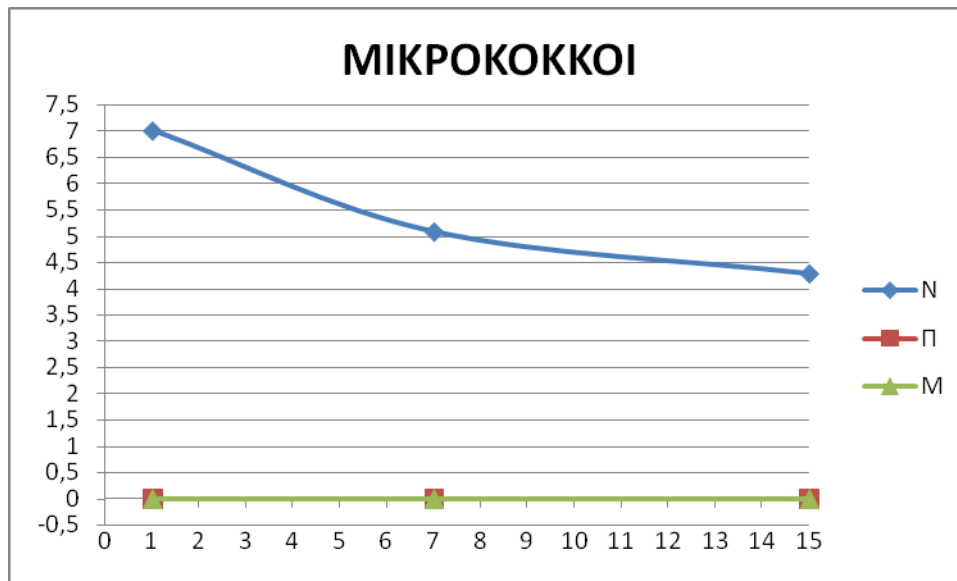
2000). Σε φρέσκο τυρί από νωπό γίδινο γάλα που παρασκευάζεται στην Τουρκία, έχουν αναφερθεί πληθυσμοί της τάξεως  $10^3$  c.f.u./gr κατά την πρώτη μέρα της παρασκευής του, οι οποίοι πολλαπλασιάζονται και κατά τη 15<sup>η</sup> μέρα έχουν φτάσει στο επίπεδο του  $10^5$  c.f.u./gr (Kilic et al., 2004). Σε ένα επίσης φρέσκο τούρκικο τυρί που φτιάχνεται από νωπό αγελαδινό γάλα, το Civil cheese, έχουν βρεθεί πληθυσμοί ζυμών και μυκήτων από  $8,1 \cdot 10^3$  c.f.u./gr ως  $6,8 \cdot 10^6$  c.f.u./gr (Sert & Kivanc, 1985), από  $8,5 \cdot 10^5$  c.f.u./gr ως  $8,5 \cdot 10^6$  c.f.u./gr (Bakirci & Andic, 1999).

### **8.3.2.6. Προσδιορισμός μικροκοκκών**

Τα αποτελέσματα των μικροκόκκων στο Νωπό (N), Παστεριωμένο (Π) και Μικροδητημένο (M) τυρί παρουσιάζονται στον Πίνακα 8.17 και απεικονίζονται με τη μορφή γραφικών παραστάσεων στο Γράφημα 8.8:

Πίνακας 8.17: Προσδιορισμός Μικροκόκκων σε M.S.A. Νωπό(N), Παστεριωμένο(Π) και Μικροδητημένο(M) τυρί κατά την 1<sup>η</sup>, 7, και 15<sup>η</sup> μέρα της δειγματοληψίας

<b>ΜΙΚΡΟΚΟΚΚΟΙ(log)</b>			
<b>ΜΕΡΕΣ</b>	<b>1</b>	<b>7</b>	<b>15</b>
<b>ΤΥΡΙΑ</b>			
<b>N</b>	<b>7,007179</b>	<b>5,078578</b>	<b>4,277991</b>
<b>Π</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
<b>M</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>



Γράφημα 8.8: Γραφική απεικόνιση της πορείας εξέλιξης των N.S.-L.A.B.s σε N, Π και M τυρί κατά τη διάρκεια συντήρησής του (1<sup>η</sup>, 7<sup>η</sup> και 15<sup>η</sup> μέρα).

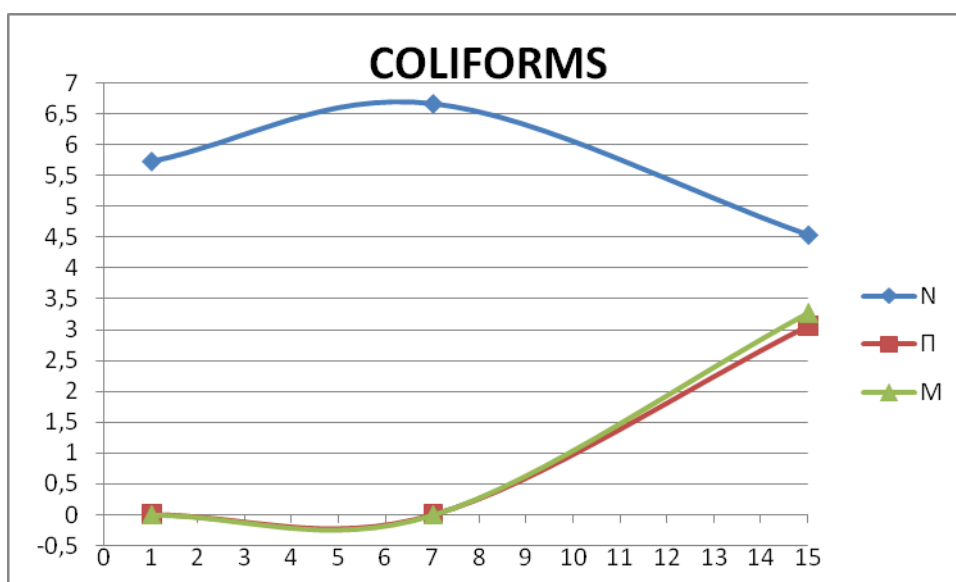
Από τα παραπάνω αποτελέσματα, διαπιστώθηκε ότι η τεχνική της παστερίωσης και της μικροδιήθησης λειτούργησαν αρκετά καλά στην περίπτωση των μικρόκοκκων, αφού στα τυριά που παρασκευάστηκαν από αυτά τα γάλατα δεν ανευρέθηκε αυτή η ομάδα μικροοργανισμών. Αντιθέτως, στο τυρί από νωπό γάλα είχαμε αρκετά μεγάλους πληθυσμούς, της τάξεως  $10^7$  c.f.u./gr, οι οποίοι μειώνονταν με την πάροδο του χρόνου συντήρησής του. Οι μικρόκοκκοι αποτελούν μέρος της φυσιολογικής χλωρίδας του ζώου και γι' αυτό βρίσκονται και σε μεγάλους πληθυσμούς στο νωπό γάλα και τυρί (Fox et al., 2000). Οι Μικρόκοκοι είναι μεσόφιλα, θερμοάντοχα υποχρεωτικά αερόβια βακτήρια που αντέχουν σε υψηλές τιμές αλατιού (Farkye, 2002). Κατά τη συντήρηση των τυριών στο ψυγείο φαίνεται ότι αναστέλλεται η ανάπτυξή τους, αφού ο πληθυσμός τους πέφτει κατά 2 σχεδόν λογαριθμικές μονάδες. Οι Tzanetakis et al.(2004) σε 50 δείγματα αλοιφώδους τυριού Κοπανιστή βρήκαν πληθυσμούς Μικροκόκκων μόνο σε 1 από τα 50 δείγματα. Η θερμοαντοχή τους δεν έχει ξεκαθαριστεί πλήρως, αφού υπάρχουν μελέτες που εμφανίζουν τους Μικρόκοκκους να επιβιώνουν της παστερίωσης και άλλες όχι (Myrth & Oslen,1952). Τέλος μικρόκοκκοι έχουν βρεθεί σε πολλά είδη μαλακών τυριών (Devoiyod, 1969) καθώς και σε τυριά που έχουν παρασκευασθεί από νωπό και από παστεριωμένο γάλα (Alford & Frazier, 1950).

### 8.3.2.7. Προσδιορισμός Εντεροβακτηριοειδών

Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται των Εντεροβακτηριοειδών στον πίνακα 8.18 και απεικονίζονται με τη μορφή γραφικής παράστασης στο Γράφημα 8.9:

Πίνακας 8.18: Προσδιορισμός Κολοβακτηριοειδών (*E.coli*) στο Νοπό (N), Παστεριωμένο (Π) και Μικροδιηθημένο (M) τυρί κατά την 1<sup>η</sup>, 7<sup>η</sup> και 15<sup>η</sup> μέρα της δειγματοληψίας.

<b>COLIFORMS(log)</b>			
<b>ΜΕΡΕΣ</b>	<b>1</b>	<b>7</b>	<b>15</b>
<b>ΤΥΡΙΑ</b>			
<b>N</b>	5,73506635	6,669727422	4,542825
<b>Π</b>	0	0	3,059437
<b>M</b>	0	0	3,281791



Γράφημα 8.9: Γραφική απεικόνιση της πορείας εξέλιξης των *Coliforms* σε N, Π και M τυρί κατά τη διάρκεια συντήρησής του (1<sup>η</sup>, 7<sup>η</sup> και 15<sup>η</sup> μέρα).

Τα εντεροβακτήρια, και συγκεκριμένα το γένος *E.coli* που αντιστοιχεί στις τιμές του παραπάνω πίνακα, είναι από τους πιο συχνούς παθογόνους μικροοργανισμούς που βρίσκουμε στο νωπό γάλα. Σύμφωνα με τη Ευρωπαϊκή Νομοθεσία (Καν.2073/2005), οι πληθυσμοί του δε θα πρέπει να ξεπερνάνε  $10^3$  c.f.u./g σε τυρί από Παστεριωμένο γάλα. Οι πληθυσμοί της *E.coli* αποτελούν δείκτη ποιότητας του γάλακτος και των γαλακτοκομικών προϊόντων.

Στο συγκεκριμένο πείραμα, παρατηρείται ένας αρκετά μεγάλος πληθυσμός *E.coli* στο τυρί που παρασκευάστηκε από νωπό γάλα, της τάξεως του  $10^5$ - $10^6$  c.f.u./g ο οποίος έχει αυξηθεί σε σχέση με αυτών που είχε το νωπό γάλα τυροκόμησης,  $10^4$  c.f.u./g (Πίνακας 8.2). Οι πληθυσμοί της *E.coli* στο τυρί από νωπό γάλα φαίνεται να ακολουθούν μια πορεία ανάπτυξης από την 1<sup>η</sup> ως την 7<sup>η</sup> μέρα και στη συνέχεια να μειώνονται οι πληθυσμοί τους. Αντιθέτως, στα τυρία που προήλθαν από παστεριωμένο και μικροδιηθημένο γάλα δεν παρατηρούνται πληθυσμοί *E.coli* κατά την 1<sup>η</sup> και 7<sup>η</sup> μέρα, αλλά εμφανίζονται τη 15<sup>η</sup> μέρα, γεγονός που το αποδίδουμε σε επιμόλυνση του προϊόντος κατά τη συντήρησή του στο ψυγείο ή στην ανάπτυξη ορισμένων ψυχρόφιλων στελεχών που ανήκουν στο γένος *Coliforms*. Έχει αναφερθεί ότι ένα ποσοστό 10-30% της συνολικής μικροβιακής χλωρίδας του νωπού γάλακτος που απομονώνονται στους 5-7 °C, ανήκει στο είδος *Coliforms* και πιο συγκεκριμένα στο *Aerobacter spp* (Thomas & Druce, 1972).

Σε προηγούμενες μελέτες, έχει παρατηρηθεί ότι η θερμική επεξεργασία του γάλακτος αναστέλλει καθώς επίσης και η προσθήκη εκκινήτριων καλλιιεργειών (starters) για την παρασκευή τυριού την ανάπτυξη των Κολοβακτηριοειδών, ιδίως της *E.coli*. Η παραπάνω παρατήρηση σημειώθηκε από τους Dervisoglou & Aydemir (2006) σε Kulek cheese καθώς και από τους Medina et al. (1991), Olarte et al. (2000) και Menendez et al. (2004) σε διάφορους τύπους τυριών. Ακόμη σε μελέτες που έγιναν σε Domiati cheese παρατηρήθηκε, ότι η θέρμανση του γάλακτος πριν την τυρικόμηση μειώνει ικανοποιητικά τον αριθμό των *E.coli* στο τυρί, από  $10^5$  c.f.u./g στο νωπό μειώνεται σε  $10^2$  c.f.u./g στο θερμισμένο γάλα, ενώ στο παστεριωμένο δεν ανιχνεύονται πληθυσμοί (Salwa & Galal, 2002). Ακόμη, σε μαλακό τυρί που παρασκευάστηκε από νωπό, γίδινο γάλα στην Τουρκία, παρατηρήθηκαν πληθυσμοί *E.coli* της τάξεως  $10^2$  c.f.u./g με τάσης μείωσης αυτών και σχεδόν μηδενικούς πληθυσμούς κατά την 30<sup>η</sup> μέρα της συντήρησης του (Kilic et al. 2004).



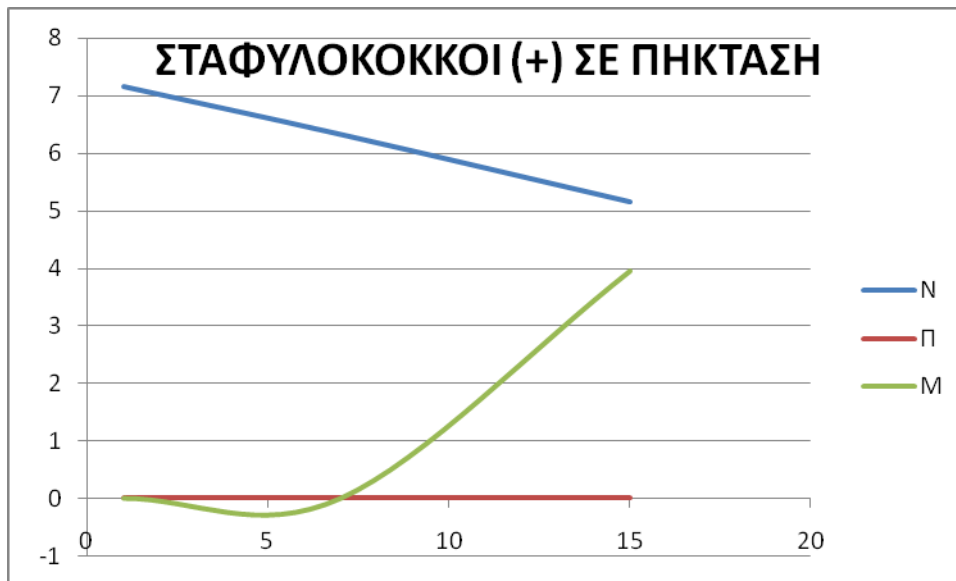
### 8.3.2.8. Προσδιορισμό Σταφυλόκοκκων

Τα αποτελέσματα των Σταφυλόκοκκων και συγκεκριμένα των *Staphylococcus* (+) στην Πηκτάση παρουσιάζονται στον Πίνακα 8.19 ενώ τα Γράφημα 8.10 τα παρουσιάζει με μορφή γραφικών παραστάσεων.

Πίνακας 8.19: Προσδιορισμός *Staphylococcus aureus* σε Νωπό(N), Παστεριωμένο(Π) και Μικροδιηθημένο(M) τυρί κατά την 1<sup>η</sup>, 7<sup>η</sup> και 15<sup>η</sup> μέρα της δειγματοληψίας.

<del>ΣΤΑΦΥΛΙΟΚΟΚΚΟΙ (+) ΣΕ ΠΗΚΤΑΣΗ (log)</del>			
ΜΕΡΕΣ ΤΙΜΕΣ	1	7	15
N	7,147676	6,319869	5,151676
Π	0	0	0
M	0	0	3,94776*

\*Η τιμή αυτή αντιστοιχεί στη μέτρηση των πληθυσμών Σταφυλοκόκκων (+) σε Πηκτάση που βρέθηκαν μόνο σε μια τυροκόμηση.



Γράφημα 8.10: Γραφική απεικόνιση της πορείας εξέλιξης των *Staphylococcus* (+) σε Πηκτάση σε Ν, Π και Μ τυρί κατά τη διάρκεια συντήρησής του (1<sup>η</sup>, 7<sup>η</sup> και 15<sup>η</sup> μέρα).

Από τον παραπάνω πίνακα, παρατηρήθηκε ότι οι πληθυσμοί των Σταφυλοκόκκων (+) σε Πηκτάση είναι αρκετά αυξημένοι στο τυρί από το Νωπό γάλα. Πληθυσμοί των σταφυλοκόκκων της τάξεως του  $10^4$  c.f.u./g υπήρχαν και στο νωπό γάλα από το οποίο παρασκευάστηκε το τυρί (Πίνακας 8.2) , αλλά όπως παρατηρήθηκε οι πληθυσμοί αυτοί αυξήθηκαν στο τυρί ( $10^7$  c.f.u./g). Οι πληθυσμοί αυτοί βέβαια μειώνονται μέχρι και 2 λογαριθμικές μονάδες κατά τη διάρκεια της συντήρησης του τυριού στο ψυγείο. Οι Ευρωπαϊκοί Κανονισμοί (2073/2005) έχουν θεσπίσει ως όριο ύπαρξης των Σταφυλοκόκκων (+) σε Πηκτάση, το  $10^5$  c.f.u./g για τα τυριά που παρασκευάζονται από νωπό γάλα και  $10^3$  c.f.u./g για τα τυριά που παρασκευάζονται από παστεριωμένο γάλα. Ακόμη, ο Κανονισμός, σημειώνει ότι για πληθυσμούς σταφυλοκόκκων μεγαλύτερους από  $10^5$  c.f.u./g θα πρέπει να ελέγχεται το προϊόν για τν τυχόν ύπαρξη σταφυλοκοκκικής τοξίνης. Εδώ, παρ'όλο που οι πληθυσμοί φτάνουν το  $10^7$  c.f.u./g, αποκλείουμε την πιθανότητα ύπαρξης σταφυλοκοκκικής τοξίνης στο τυρί , αφού το pH του είναι μικρότερο από 5 (Πίνακας 8.3) και η παραγωγή σταφυλοκοκκικής τοξίνης παρατηρείται σε όξινο περιβάλλον αλλά με τιμές pH μεγαλύτερες του 5. (Farkye, 2002). Η ύπαρξη αυξημένων ποσοστών σταφυλοκόκκων δεν προκαλεί ιδιαίτερες αλλαγές στην εμφάνιση του τυριού (Farkye, 2002). Αντιθέτως, στα τυριά από παστεριωμένο γάλα δεν εντοπίστηκαν σταφυλόκοκκοι (+) στην πηκτάση, καθ' όλη τη διάρκεια της συντηρησής τους, ενώ στα τυριά από μικροδιηθημένο γάλα παρατηρήθηκε η εμφάνιση ενός πληθυσμού

σταφυλοκόκκων της τάξεως του  $10^4$  c.f.u./g κατά τη 15<sup>η</sup> μέρα της συντήρησης, οποίος θεωρείται αποτέλεσμα επιμόλυνσης του προϊόντος κατά τη συντήρηση.

Μελέτες έχουν αναφέρει ότι ενδέχεται να υπάρχει μια ανταγωνιστική σχέση μεταξύ των L.A.B. και του *Staphylococcus aureus*, στα διάφορα προϊόντα ζύμωσης (π.χ.τυριά) ( Lamprell, 2003; Delbew et al., 2006; Meyrand et al., 1998; Charlier et al.,2009). Έχει παρατηρηθεί σε μαλακό τυρί, Camambert, μια αύξηση μέχρι και 3 λογαριθμικές μονάδες, του πληθυσμού του *Staphylococcus aureus*, από τη στιγμή του εμβολιάσαμε το γάλα με την εκκινήτρια καλλιέργεια μέχρι και την προσθήκη αλατιού στο πήγμα (Meyrand et al., 1998). Στη συνέχεια, μελέτες που έγιναν πάνω σε τυριά έδειξαν μια σταθεροποίηση των πληθυσμών των σταφυλοκόκκων, μετά την έντονη περίοδο ανάπτυξης τους και στο τέλος μια πτώση αυτών των πληθυσμών (Charlier et al., 2009). Αν και στην ανάπτυξη του σταφυλοκόκκου παίζει αρκετά σημαντικό ρόλο το pH του μέσου στο οποίο αναπτύσσεται, έχει παρατηρηθεί ότι σε ημίσκληρα τυριά που παρασκευάστηκαν από μη θερμασμένο γάλα αυξήθηκαν οι πληθυσμοί του *Staphylococcus aureus* κατά τις πρώτες 6 ώρες παρασκευής τους, ανάλογα με τους αρχικούς πληθυσμούς που υπήρχαν στο γάλα από το οποίο παρασκευάστηκαν. Στη συνέχεια μετά τις 6 ώρες, οι πληθυσμοί του *Staphylococcus aureus* έμειναν σταθεροί ή μειώθηκαν ,ανάλογα με τις τιμές pH που είχαν τα τυριά. Όσο υψηλότερες ήταν οι τιμές του pH, κοντά στο ουδέτερο pH, τόσο χαμηλότερος ήταν ο ρυθμός μείωσης των σταφυλοκόκκων (Delbes et al., 2006). Τέλος, κάποιες μελέτες που έγιναν, έδειξαν μια άμεση συσχέτιση μεταξύ της οξύτητας του μέσου ανάπτυξης, που δημιουργείται από τις διάφορες ‘εκκινήτριες καλλιέργειες’ , και του βαθμού αναστολής ανάπτυξης του *Staphylococcus aureus*. Έτσι, σύμφωνα με αυτές τις μελέτες όσο πιο δυνατή είναι η ‘εκκινήτρια καλλιέργεια’ και δημιουργεί περισσότερο όξινο περιβάλλον, τόσο περισσότερο αναστέλλεται η ανάπτυξη του *Staphylococcus aureus* ( Kao & Frazier, 1966; Barber & Deibel, 1972; Metaxopoulos et al., 1981). Επομένως, στη συγκεκριμένη μελέτη η ανάπτυξη των Σταφυλοκόκκων (+) στη πηκτάση, κυριότερος εκπρόσωπος των οποίων είναι ο *Staphylococcus aureus*, ακολουθεί μια αυξητική πορεία κατά την παρασκευή του γάλακτος, από  $10^4$ c.f.u./g(στο γάλα ) σε  $10^7$ c.f.u./g (στο τυρί της 1<sup>ης</sup> μέρας), και στη συνέχεια μια καθοδική πορεία , από  $10^7$ c.f.u./g(1<sup>η</sup> μέρα) σε  $10^5$ c.f.u./g(15<sup>η</sup> μέρα), η οποία μπορεί να σχετίζεται με την πτώση του pH, λόγω της δράσης των L.A.B.

### **8.3.2.9.Προσδιορισμός *Salmonella*, *Listeria***

Για τον προσδιορισμό των παθογόνων *Listeria* και *Salmonella* χρησιμοποιήθηκαν τα θρεπτικά υλικά PALCAM και X.L.D. αντίστοιχα, όπως και στο γάλα(Κεφάλαιο 8.1). Όμως οι τιμές και για τα δύο παθογόνα βακτήρια ήταν μηδενικές. Κάποιες χαρακτηριστικές αποικίες σε αυτά τα υλικά μετά τη διενέργεια περαιτέρω τεστ αποδείχθηκε ότι δεν αντιστοιχούσαν σε αυτούς τους μικροοργανισμούς. Πιο συγκεκριμένα, για τη *Salmonella*, μια μαύρη αποικία με κόκκινο κέντρο που θεωρείται χαρακτηριστική για τη *Salmonella* σε X.L.D., αποδείχθηκε αρνητική μετά την εκτέλεση του A.P.I.20, το οποίο έδειξε ότι πρόκειται για *Hafnia*. Όσο αφορά τη *Listeria*, κάποιες χαρακτηριστικές αποικίες (μαύρες ελαιώδεις) σε PALCAM αποδείχθηκαν αρνητικές, μετά τη μικροσκοπική παρατήρηση αυτών των αποικιών και τη χρώση τους με Gram, καθώς και μετά την εκτέλεση των τεστ οξειδάσης, καταλάσης, αιμόλυσης και Microgen-*Listeria*. Σύμφωνα λοιπόν με τα αποτελέσματα των παραπάνω τεστ πρόκειται για ένα Gram (-) βάκιλο με θετικά τα τεστ της καταλάσης και της αιμόλυσης και αρνητικά τα τεστ της οξειδάσης και το Microgen-*Listeria*. Επίσης, ο παραπάνω πιθανός μικροοργανισμός ζυμώνει την εσκουλίνη και με βάση τα παραπάνω στοιχεία πιθανολογείται ότι πρόκειται για κάποιο βακτήριο που ανήκει στο γένος *Pseudomonas*. Επομένως, θεωρούμε όλα τα τυριά , Νωπό(N), Παστεριωμένο(Π) και Μικροδιηθημένο (Μ) αρνητικά στην ύπαρξη των παθογόνων μικροοργανισμών *Listeria monocytogenes* και *Salmonella*.

#### 8.4 Οργανοληπτική αξιολόγηση των τυριών

Τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των τριών τυριών(N, Π, Μ) κατά την 1<sup>η</sup>, 7<sup>η</sup> και 15<sup>η</sup> μέρα της δειγματοληψίας παρουσιάζονται στον Πίνακα 8.20. Γενικά, τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά όλων των τυριών συνδέονται άμεσα με τα μικροβιολογικά και χημικά. Στο συγκεκριμένο πείραμα τα τυριά που παράγονται δεν χαρακτηρίζονται από έντονα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, σε σχέση με άλλους τύπους τυριών (σκληρά, ημίσκληρα, μαλακά) εξ' αιτίας και της περιορισμένης πρωτεόλυσης(Πίνακας 8.8) που παρατηρείται σε σχέση με τους άλλους τύπους τυριών. Το μεγάλο ποσοστό υγρασίας αυτού του τύπου τυριών (αλοιφώδη τυριά) είναι το κύριο χαρακτηριστικό αυτών των τυριών καθώς και ο πολύ μικρός χρόνος ωρίμανσής τους (24ώρες). Αυτός ο τύπος λοιπόν τυριών (τα φρέσκα τυριά) παρουσιάζει μια δομή όχι τόσο σταθερή και μια εμφάνιση που μοιάζει περισσότερο στη γιαούρτι παρά σε ένα μαλακό τυρί (τύπου φέτα, τελεμέ κ.α).

Όσο αφορά την εμφάνιση λοιπόν, ενώ κατά τις 2 πρώτες δειγματοληψίες (1<sup>ης</sup> και 7<sup>ης</sup> μέρας) και τα τρία τυριά (N,Π,Μ) είχαν λάβει πολύ καλή βαθμολογία (9,05-9,75) κατά την τρίτη δειγματοληψία (15<sup>η</sup> μέρα) το Ν τυρί εμφανίζεται με χαμηλότερη βαθμολογία. Σύμφωνα με τους δοκιμαστές, το χρώμα του τυριού αυτού στις 15 ημέρες ήταν κιτρινωπό. Αυτό το κιτρινωπό χρώμα στην επιφάνεια του τυριού κυρίως, μπορεί να οφείλεται στην ανάπτυξη των ζυμών, το οποίο συνοδεύεται συνήθως και από την ύπαρξη 'φρουτένιου' αρώματος ( off-flavor). Ακόμη, το κιτρινωπό αυτό χρώμα μπορεί να οφείλεται και στην ανάπτυξη ψυχρότροφων βακτηρίων, π.χ.*Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium spp.*, κατά τη διάρκεια της συντήρησής των τυριών στο ψυγείο. Αυτά τα βακτήρια εκτός από αποχρωματισμό και εναπόθεση κίτρινων χρωστικών (*Flavobacterium spp* ) στο τυρί μπορούν να προκαλέσουν πικρή γεύση , οσμή ταγγίσματος ή σήψης και βλεννώδης όψη σε αυτό (Microbiology of Soft Cheese, N.Y.Farkye,E.R.Vedamuthu). Επειδή κάτι από τα παραπάνω δεν αναφέρθηκε από τους δοκιμαστές, θεωρούμε ότι το κίτρινο χρώμα στην επιφάνεια κυρίως του Νωπού τυριού οφείλεται στην ανάπτυξη ζυμών, οι οποίες είναι αποκλειστικά αερόβιοι μικροοργανισμοί. Αναφορά έγινε επίσης από κάποιους δοκιμαστές ότι το Ν τυρί είχε αποβάλλει όρο, το οποίο θεωρήθηκε από τους δοκιμαστές μειονέκτημα ως προς την εμφάνιση. Το Ν τυρί, όπως έχει αναφερθεί και στον Πίνακα 8.6, εμφανίζει λίγο αυξημένα ποσοστά υγρασίας σε σχέση με το Π και το Μ, γεγονός που μπορεί να εκφραστεί με την αποβολή ορού. Η αποβολή ορού

συνδέεται επίσης άμεσα με τη συνεκτικότητα και τη σταθερότητα του πήγματος, που δημιουργείται με τη χρήση των Οξυγαλακτικών Καλλιεργειών και της πυτιάς ενζυμική πήξη). (Ανυφαντάκης, 2004).

Πίνακας 8.20:Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά φρέσκου μαλακού τυριού από επεξεργασμένο-τυποποιημένο νωπό (N), παστεριωμένο (Π) και μικροδιηθημένο (M) αγελαδινό γάλα (μέσοι όροι 3 πειραματικών επαναλήψεων  $\pm$  τυπ.απ.)

Ηλικία	Τυρί	Εμφάνιση (10)	Συνεκτικότητα /Δομή και υφή (40)	Αρωμα και γεύση (50)	Σύνολο (100)
<b>1 ημέρα</b>	<b>N</b>	9.05 $\pm$ 0.51 <sup>a*</sup>	32.93 $\pm$ 1.72 <sup>a</sup>	20.63 $\pm$ 0.63 <sup>a</sup>	62.60 $\pm$ 1.61 <sup>a</sup>
	<b>Π</b>	9.67 $\pm$ 0.58 <sup>a</sup>	37.00 $\pm$ 3.00 <sup>a,b</sup>	43.48 $\pm$ 1.56 <sup>b,c</sup>	90.15 $\pm$ 4.63 <sup>b</sup>
	<b>M</b>	9.75 $\pm$ 0.43 <sup>a</sup>	37.00 $\pm$ 3.61 <sup>a,b</sup>	42.56 $\pm$ 3.88 <sup>b,c</sup>	89.31 $\pm$ 6.87 <sup>b</sup>
<b>7 ημέρες</b>	<b>N</b>	9.31 $\pm$ 0.67 <sup>a</sup>	33.87 $\pm$ 2.40 <sup>a,b</sup>	22.20 $\pm$ 4.69 <sup>a</sup>	65.38 $\pm$ 5.01 <sup>a</sup>
	<b>Π</b>	9.69 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>	37.52 $\pm$ 1.77 <sup>a,b</sup>	48.06 $\pm$ 1.73 <sup>c</sup>	95.26 $\pm$ 3.48 <sup>b</sup>
	<b>M</b>	9.61 $\pm$ 0.24 <sup>a</sup>	36.59 $\pm$ 2.63 <sup>a,b</sup>	44.33 $\pm$ 3.96 <sup>b,c</sup>	90.53 $\pm$ 6.66 <sup>b</sup>
<b>15 ημέρες</b>	<b>N</b>	8.22 $\pm$ 0 <sup>b</sup>	28.44 $\pm$ 0 <sup>c</sup>	20.00 $\pm$ 0 <sup>a</sup>	56.67 $\pm$ 0 <sup>a</sup>
	<b>Π</b>	9.90 $\pm$ 0.17 <sup>a</sup>	38.73 $\pm$ 0.46 <sup>b</sup>	43.81 $\pm$ 2.14 <sup>b,c</sup>	92.44 $\pm$ 2.34 <sup>b</sup>
	<b>M</b>	9.42 $\pm$ 0.24 <sup>a</sup>	37.84 $\pm$ 1.25 <sup>a,b</sup>	40.54 $\pm$ 3.39 <sup>b</sup>	87.80 $\pm$ 2.29 <sup>b</sup>

\*Οι μέσοι όροι με διαφορετικά γράμματα μέσα σε κάθε στήλη διαφέρουν μεταξύ τους σημαντικά (P<0.05)

Όσο αφορά τη συνεκτικότητα και τη δομή και υφή των τυριών που παρασκευάστηκαν, παρατηρούμε ότι και στις 3 δειγματοληψίες το N φαίνεται να υπολείπεται σε σχέση με το Π και το Μ. Το γεγονός αυτό συνδέεται και πάλι με την αποβολή όρου και τη μη σταθερή δομή του πήγματος του N, κατά τη γνώμη ορισμένων δοκιμαστών. Η συνεκτικότητα του πήγματος εκτός από την ποσότητα και την ποιότητα της οξυγαλακτικής καλλιέργειας και της πυτιάς που προσθέτουμε εξαρτάται και από την ποιότητα του γάλακτος που χρησιμοποιούμε (Ανυφαντάκης, 2004). Η ποιότητα ταυτίζεται συνήθως με τη χημική σύσταση του γάλακτος και με τη φυσιολογική χλωρίδα αυτού. Από θέμα χημικής σύστασης, οι πρωτεΐνες είναι αυτές που μας ενδιαφέρουν περισσότερο, αφού οι υψηλές συγκεντρώσεις τους στο γάλα της τυροκόμησης δίνουν ένα πιο σταθερό, συνεκτικό και όχι πορώδες πήγμα (Fox et al., 2000). Επειδή όπως παρατηρήσαμε και στον Πίνακα 8.8, τα ποσοστά των Ολικών Πρωτεϊνών είναι παρόμοια θα χρειαστεί να συγκρίνουμε και τη μικροβιολογική σύσταση των τριών τυριών. Όπως αναφέρθηκε παραπάνω (Παράγραφος 8.1.2) λοιπόν, το N γάλα εμφανίζει αυξημένες κάποιες ομάδες ευκαιριακών παθογόνων βακτηρίων (Μικρόκοκκοι, Εντερόκοκκοι, *Staphylococcus aureus*) οι οποίες υποβαθμίζουν την ποιότητα του γάλακτος που προορίζεται για τυροκόμηση και επίσης, παρεμποδίζουν τη δράση των Οξυγαλακτικών βακτηρίων (Ανυφαντάκης 2004). Ακόμη σημαντικό ρόλο στη συνεκτικότητα του πήγματος παίζει και η θερμική επεξεργασία την οποία έχει υποστεί το γάλα πριν την τυροκόμηση. Έτσι, με την παστερίωση του γάλακτος αλλοδομούνται οι πρωτεΐνες αυτού και δημιουργούνται σύμπλοκα της β-γαλακτογλοβουλίνης με την κ-καζεΐνη, που περιορίζουν τη συναίρεση του πήγματος, μειώνουν την αποβολή τυρογάλακτος από το πήγμα και έτσι έχουμε τη δημιουργία πιο μαλακού πήγματος (Ανυφαντάκης 2004).

Από τις τελευταίες παραμέτρους που αξιολόγησαν οι δοκιμαστές στα τρία τυριά ήταν το άρωμα και η γεύση. Η γεύση συνδυάζεται άμεσα με τη δράση των οξυγαλακτικών καλλιεργειών, κυρίως αυτών που λειτουργούν ως starters, καθώς και με τη φυσική μικροβιακή χλωρίδα του κάθε γάλακτος. Έτσι, κατά τις πρώτες μέρες παρασκευής και των τριών τυριών (N,Π,Μ) παρατηρούνται αυξημένοι οι πληθυσμοί των γαλακτικών κόκκων και βακίλων(Πίνακες 8.3, 8.4, 8.5), χρησιμοποιούν το μεγαλύτερο μέρος των θρεπτικών συστατικών(λακτόζη κυρίως) για την παραγωγή οξέος(γαλακτικό οξύ) και την τελική ωρίμανση των τυριών. Με την πάροδο όμως του

χρόνου ωρίμανσης παρατηρείται μείωση των πληθυσμών αυτών των βακτηρίων (Πίνακες 8.3,8.4,8.5), λόγω προφανώς της εξάντλησης των θρεπτικών συστατικών. Αντίθετα με τα L.A.B., οι ζύμες ενώ βρίσκονταν σε μικρούς ως μηδενικούς(M) πληθυσμούς, στα αρχικά δείγματα(1<sup>η</sup> μέρα δειγματοληψίας) στα επόμενα οι πληθυσμοί τους άρχισαν να αυξάνονται(Πίνακας 8.7) και να οδηγούν στην υποβάθμιση της εμφάνισης και γεύσης των τυριών, όπως αναφέρθηκε παραπάνω. Όσον αφορά στη γεύση, το νωπό τυρί N έλαβε τη χαμηλότερη βαθμολογία από την πρώτη κιόλας ημέρα. Οι δοκιμαστές είχαν σχολιάσει ότι είχε οσμή στάβλου και 'περίεργη' γεύση, μερικοί τη χαρακτήρισαν ως 'πικρή'. Η γεύση αυτή μπορεί να συνδυαστεί με ορισμένες ομάδες, όπως αυτές των Μικρόκοκκων, Εντερόκοκκων και Σταφυλόκοκκου, των οποίων οι τιμές στο N τυρί είναι σε αρκετά υψηλότερο επίπεδο σε σχέση με τα άλλα δύο είδη Π και Μ. Οι παραπάνω ομάδες βακτηρίων θεωρούνται παθογόνα ή ευκαιριακά παθογόνα και μπορούν να προσδώσουν ανεπιθύμητες γεύσεις στα τυρί, εξ' αιτίας της έντονης πρωτεολυτικής τους ικανότητας και ικανότητας παραγωγής και ορισμένων ανεπιθύμητων ουσιών, π.χ. σταφυλοκοκκικές τοξίνες(παραγωγή της σε pH>5) (Farkye and Vedamuthu, 2002). Στο συγκεκριμένο πείραμα, βέβαια, δεν παρατηρήθηκε ούτε έντονη πρωτεολυτική ικανότητα(Πίνακας 8.8), ούτε παραγωγή σταφυλοκοκκικής τοξίνης, αφού το pH και των τριών τυριών ήταν κάτω από 5(Πίνακας 8.1) Τα άλλα δύο τυριά, το παστεριωμένο Π και το μικροδιηθημένο Μ δεν είχαν σημαντική διαφορά μεταξύ τους και έλαβαν υψηλή βαθμολογία. Το Μ συνήθως περιέχει τα μικρότερους πληθυσμούς φυσιολογικής χλωρίδας και συνεπώς λείπουν από το συγκεκριμένο τυρί οι έντονες (π.χ. Πικαντικό) ή ανεπιθύμητες (π.χ πικρή) γεύσεις και οσμές (π.χ.στάβλου)..

Γενικά η γεύση και το άρωμα αυτού του τύπου των τυριών(φρέσκα, αλοιφώδη) καθορίζονται κυρίως από την ανάπτυξη των L.A.B.-starters βακτηρίων (Spinnler et al. 1997) και από την οξύτητα που αυτά δημιουργούν στο πήγμα του τυριού. Ο 'φρέσκος' λοιπόν χαρακτήρας αυτών των τυριών οφείλεται στην Ακεταλδεΐδη που αυτή παράγεται κατά τη γαλακτική ζύμωση, ενώ η 'κρεμώδης' υφή και γεύση αυτών των τυριών οφείλεται κυρίως στο Διακετύλιο, που επίσης παράγεται κατά της βιοχημικές εργασίες στο τυρί.(E. Litopoulou-Tzanetaki). Επίσης και άλλα προϊόντα του κύκλου του κίτριου οξέος, που συμβαίνει στα βακτηριακά κύτταρα, συμβάλλουν στη δημιουργία ορισμένων γεύσεων και αρωμάτων, π.χ. το 'φρουτένιο' ή 'γαλακτικό' άρωμα μπορεί να οφείλεται στις γ- και δ- λακτόνες ή στο βουτυρικό



οξύ. Από την άλλη, το άρωμα ‘γιαούρτης’ ή ‘γρασιδιού’ μπορεί να οφείλεται στη δημιουργία ακεταλδεΐδης παρά διακετύλιου, που οφείλεται κυρίως στο μεταβολισμό των *Lactococcus* που είναι θετικά στο κιτρικό οξύ(Lindsay et al., 1965).

## **9.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ**

Συμπερασματικά, μετά το πέρας της συγκεκριμένης μελέτης, διαπιστώθηκε ότι τα τρία τυριά που παρασκευάστηκαν από τρία διαφορετικής επεξεργασίας γάλατα δεν διέφεραν τόσο πολύ όσον αφορά τη χημική τους σύσταση, αλλά αρκετά σημαντικές διαφορές παρατηρήθηκαν σε ορισμένα μικροβιολογικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά.

Ξεκινώντας από τα γάλατα, παρατηρείται ότι αυτά (γάλατα τυροκόμησης) δε διέφεραν ιδιαίτερα ως προς τις φυσικοχημικές τους ιδιότητες, αλλά σημαντικές διαφορές υπήρχαν στον τομέα των μικροβιολογικών αποτελεσμάτων και μικρές διαφορές στον αριθμό των σωματικών κυττάρων τους. Όσον αφορά , λοιπόν, τη μικροβιολογική σύσταση των γαλάτων τυροκόμησης, παρατηρείται ότι σε Παστεριωμένο και Μικροδιηθημένο γάλα οι πληθυσμοί όλων των μικροβιακών ομάδων είναι χαμηλότεροι, μέχρι και 2 λογαριθμικές μονάδες, συγκριτικά με το νωπό γάλα τυροκόμησης. Ακόμη, όσον αφορά τους παθογόνους μικροοργανισμούς, αυτοί απουσίαζαν εξ' ολοκλήρου από το Παστριωμένο και Μικροδιηθημένο γάλα, ενώ στο Νωπό βρίσκονταν σε αρκετά υψηλούς πληθυσμούς οι Σταφυλόκοκοι (+) σε Πηκτάση και απουσίαζαν οι Λιστέρια και Σαλμονέλλα.

Μεταξύ του Παστεριωμένου και Μικροδιηθημένου γάλακτος, δεν υπήρχαν σημαντικές μικροβιολογικές και φυσικοχημικές διαφορές, αν εξαιρεθούν τα σωματικά κύτταρα, τα οποία στο Μικροδιηθημένο βρίσκονταν σε μικρότερους πληθυσμούς (η διαφορά τους ήταν 100.000 κύτταρα/ ml). Παρ' όλα αυτά ο αριθμός των σωματικών κυττάρων και στα τρία γάλατα βρισκόταν εντός των ορίων που έχει θεσπίσει η Ευρωπαϊκή Ένωση (<400.000/ml).

Οι αποδόσεις των παραπάνω γαλάτων σε τυρί ήταν περίπου ίδιες, με το Π και Μ, όμως να διαφέρουν σχεδόν κατά 1%. Η διαφορά αυτή, μπορούμε να πούμε ότι οφείλεται: α) στη μετουσίωση των πρωτεϊνών του ορού, και κυρίως της β-λακτογλοβουλίνης, και τη δημιουργία συμπλόκων με την κ-καζεΐνη, στο Π τυρί, εξ' αιτίας της υψηλής θερμοκρασίας που εφαρμόζεται και β) στη συμπήκνωση που υφίσταται το κλάσμα των καζεϊνών στο κατακράτημα κατά την εφαρμογή της μικροδιήθησης.

Στη συνέχεια, συγκρίνοντας τα αλοιφώδη τυριά που παρασκευάστηκαν από το Νωπό, Παστεριωμένο και Μικροδιηθημένο γάλα παρατηρήθηκε ότι είχαν παρόμοια φυσικοχημική σύσταση, αλλά αρκετά διαφορετική μικροβιακή χλωρίδα. Σχετικά, με τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των τυριών, το Ν εμφανίζει ένα λίγο μεγαλύτερο, κατά 1 % περίπου, ποσοστό υγρασίας σε σχέση με τα άλλα δύο τυριά, Π και Μ, γεγονός που μπορεί να υποδηλώνει την όχι τόσο καλή στράγγιση του αρχικού πηγματος. Όσον αφορά το pH, στο Ν τυρί είναι χαμηλότερο σε σχέση με το Π τυρί και σχεδόν ισάξιο με το Μ τυρί, ενώ στη συνέχεια στο Ν ανεβαίνει σταδιακά σε σχέση με τα άλλα δύο τυριά στα οποία μένει σχεδόν στο ίδιο επίπεδο. Το αρχικό χαμηλό pH συνδέεται με τη γρήγορη ανάπτυξη των γαλακτικών βακτηρίων κατά την 1<sup>η</sup> μέρα παρασκευής του τυριού, λόγω της αυξημένης υγρασίας, τα οποία όμως στη συνέχεια αυτολύονται και αναπτύσσονται δευτερεύοντες μικροοργανισμοί.

Όσον αφορά την πρωτεόλυση που έχει διενεργηθεί στα συγκεκριμένα τυριά, το μεγαλύτερο ποσοστό παρατηρείται στα Ν τυριά, στοιχείο που μπορεί να δικαιολογηθεί από τον αυξημένο αριθμό μικροοργανισμών και σωματικών κυττάρων. Οι μικροοργανισμοί, και ιδίως τα οξυγαλακτικά βακτήρια των μη εκκινήτρων καλλιιεργειών, παράγουν ορισμένα ένζυμα τα οποία μπορούν να διασπάσουν τα μεγαλομοριακά συστήματα των πρωτεϊνών σε μικρότερα πεπτίδια και να προσδώσουν ορισμένα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά στο τυρί. Από την άλλη, τα σωματικά κύτταρα συνδέονται άμεσα με τις ποσότητες πλασμίνης και καθεψίνης D στο γάλα, τα οποία αποτελούν βασικά πρωτεολυτικά ένζυμα. Αν και σε αυτού του τυπού τυριά (φρέσκα) ο βαθμός πρωτεόλυσης είναι μικρός, παρατηρείται μεγαλύτερη πρωτεόλυση της τάξεως του 1-2%, στα τυριά Ν και Π που υπερέχουν σε σωματικά κύτταρα σε σχέση με Μ. Από την άλλη τα τυριά Π και Μ εμφανίζουν μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες σε σχέση με το Ν, η οποία μπορεί να δικαιολογηθεί λόγω των διαδικασιών συμπήκνωσης του γάλακτος με τη χρήση της θέρμανσης (παστερίωση) ή της τεχνολογίας των μεμβρανών (μικροδιήθηση).

Σχετικά με τα ποσοστά των αλάτων στα 3 τυριά (Ν, Π, Μ), παρατηρήθηκε ότι δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές κατά τη διάρκεια της συντηρησής τους στο ψυγείο. Το γεγονός αυτό δικαιολογείται από την μηδαμινή απώλεια υγρασίας κατά τη συντηρησή τους. Οι τιμές σχεδόν όλων των αλάτων είναι κοντινές μεταξύ τους, διαπιστώνοντας ότι η επεξεργασία των γαλάτων τυροκόμησης δεν επηρεάζει την περιεκτικότητα των παραγόμενων τυριών σε άλατα. Η μόνη κάπως σημαντική

διαφορά σε περιεκτικότητα αλάτων που μπορεί να παρατηρηθεί είναι αυτή του ασβεστίου, μεταξύ του Ν και Μ τυριού. Το ποσοστό του Ca στο Μ τυρί εμφανίζεται αυξημένο κατά 5-6% σε σχέση με το Ν, το οποίο μπορεί να δικαιολογηθεί από τις αυξημένες ποσότητες κολλοειδούς φωσφορικού ασβεστίου που επιτυγχάνονται στο Μικροδιηθημένο γάλα, λόγω της συμπύκνωσής του με τη χρήση της τεχνολογίας της μικροδιήθησης.

Τέλος, οι μεγαλύτερες διαφορές μεταξύ των 3 τυριών παρατηρούνται στα μικροβιολογικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά αυτών, τα οποία συνδέονται άμεσα. Το Ν τυρί το οποίο αποτελεί το πιο επιβαρυνμένο μικροβιολογικά (υψηλοί πληθυσμοί Ο.Μ.Χ. και παρουσία παθογόνων βακτηρίων, *Coliformes* και *Staphylococcus* (+) σε Πηκτάση ) έλαβε τις χαμηλότερες βαθμολογίες σε όλα τα επίπεδα της οργανοληπτικής εξέτασης (εμφάνιση, δομή, γεύση/άρωμα). Όσον αφορά τα άλλα 2 τυριά, Π και Μ τα μικροβιολογικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά τους ήταν παρόμοια. Επομένως, παρατηρείται ότι τα τυριά που παράγονται από γάλα που έχει επεξεργαστεί με την τεχνολογία της μικροδιήθησης είναι ισάξια σε ποιότητα και ασφάλεια με τα τυριά που παράγονται από παστεριωμένο γάλα.

Το γενικό συμπέρασμα που εξάγεται από την παρούσα μελέτη είναι ότι τα φρέσκα τυριά που παράγονται από Νωπό γάλα υστερούν σε ποιότητα και ασφάλεια σε σχέση με αυτά που προέρχονται από Παστεριωμένο και Μικροδιηθημένο γάλα, καθώς επίσης και σε γεύση και εμφάνιση. Ενώ μεταξύ των τυριών από Παστεριωμένο και Μικροδιηθημένο γάλα δεν παρατηρούνται ιδιαίτερες διαφορές και οι δυο επεξεργασίες μπορούν να θεωρηθούν ισάξιες.

## **ΠΕΡΙΛΗΨΗ:**

Στην παρούσα μελέτη παρασκευάσαμε αλοιφώδες, φρεσκό τυρί από αγελαδινό γάλα που συλλέξαμε από τις αγελάδες του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών αφού το επεξεργαστήκαμε με 3 διαφορετικούς τρόπους. Έτσι, παρασκευάσαμε 3 γάλατα τυροκόμησης, ένα Νωπό Γάλα Τυροκόμησης (N), ένα Παστεριωμένο Γάλα Τυροκόμησης (Π) και ένα Μικροδιηθημένο Γάλα Τυροκόμησης (M), τα οποία τα είχαμε τυποποίηση σε λιποπεριεκτικότητα κοντά στο 4,5%. Τα τυριά που παρασκευάστηκαν, N, Π, M, εξετάστηκαν ως προς τη χημική τους σύσταση (προσδιορισμός υγρασίας, λίπους, αλατιού, πρωτεϊνών), την περιεκτικότητά τους σε άλατα (Ca, P, K, Na, Mg) και ως την μικροβιακή χλωρίδα τους καθώς την ύπαρξη ή όχι παθογόνων μικροοργανισμών σε αυτά. Ως προς τη χημική τους σύσταση, τα αποτελέσματα που προέκυψαν από όλες τις αναλύσεις ήταν παρόμοια, με τη μόνη αξιοσημείωτη διαφορά να εντοπίζεται στην υπεροχή του N κατά 1% περίπου σε ποσοστά υγρασίας σε σχέση με το Π και M. Ακόμη, στο N παρατηρήθηκε λίγο μεγαλύτερο ποσοστό πρωτεόλυσης σε σχέση με το Π αλλά πολύ περισσότερο με το M. Όσον αφορά την περιεκτικότητά τους στα διάφορα άλατα, οι τιμές ήταν επίσης παρόμοιες και στα τρία τυριά, εκτός από τις τιμές του Ca όπου παρατηρήθηκε μια διαφορά της τάξεως του 5% μεταξύ N και M, με το M να υπρέχει. Σχετικά με τις μικροβιολογικές αναλύσεις που έγιναν στα 3 τυριά για τον προσδιορισμό των πληθυσμών της μικροβιακής τους χλωρίδας, παρατηρήθηκε ότι οι πληθυσμοί των περισσότερων μικροοργανισμών βρίσκοντας σε κοντινά επίπεδα σε M και Π τυριά και εντός των ορίων της Ευρωπαϊκής Ένωσης. Ενώ, όσο αφορά το N σε αυτό τα επίπεδα των μικροβιακών πληθυσμών βρίσκονταν σε αρκετά υψηλότερες τιμές σε σχέση με τα άλλα δύο γάλατα και για μερικές ομάδες βακτηρίων εκτός των ορίων της Ευρωπαϊκής Ένωσης. Τέλος, τα τυριά εξετάστηκαν και ως προς τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά τους από πάνελ 8 δοκιμαστών, οι οποίοι έδωσαν σχεδόν ισάξιες βαθμολογίες σε Π και M τυριά, ενώ το N εμφανιζόταν με αρκετά χαμηλότερη βαθμολογία και ορισμένα μειονεκτήματα ως προς τη γεύση και άρωμα. Συμπερασματικά, τα Π και M τυριά σε όλα τα επίπεδα των αναλύσεων που έγιναν ήταν πολύ κοντά, ενώ το N τυρί

## **SUMMARY:**

The goal of this experiment was to find the differences as well as the chemical, microbiological and sensory characteristics of (a) fresh, cow-milk cheese, which was produced by 3 different kinds of milk. The (1st)first cheese was made from raw cow milk (R) with fat concentration 4,34%, the (2nd)second cheese was made from pasteurized (P) cow-milk with fat concentration 4,36% and the (3rd)third cheese was made from microfiltrated cow-milk (M) with fat concentration 4,24%. Samples of the above kinds of cheese were taken at 1st, 7th and 15th day of storage in refrigerator (temp. 4°C).Concerning the results of chemical analysis, small differences were observed among the 3 cheeses, R., P., M., with the most important difference to be the 1% higher moisture in R cheese than P and M cheeses. An analysis of minerals and proteins was performed which deduced to 5% higher concentration of Ca in M cheese than R cheese, but also to 1% more proteolytic activity in R cheese than M cheese. Concerning the microbiological characteristics of each cheese, the micrological flora of P and M cheese was similar, which is accepted according to the European legislation. Interestingly, the microbiological flora of R cheese was apparently increased, compared to this of P and R milk, which sometimes is not accepted by the European legislation. Finally, related to the sensory analysis, P and M's score was similarly high in contrast to the much lower score of R cheese with some defaults in taste /aroma referred by panelists.

## **ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ:**

### **ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ:**

Ανυφαντάκης Ε. (2004): Τυροκομία (Εκδόσεις Σταμούλης).

Ανυφαντάκης Ε. & Καλαντζόπουλος Γ. (1993): Γαλακτοκομία, Α΄ και Β΄ Τόμοι (Εκδόσεις Σταμούλης).

Ανυφαντάκης Ε. (1992): Μέθοδοι εξέτασης του γάλακτος και των προϊόντων του (Εκδόσεις Σταμούλης).

Ευρωπαϊκός Κοινοτικός Κανονισμός 2073/2005, 853/2004, 1662/2006.

Μάντης Α. (2000): Υγιεινή και Τεχνολογία του γάλακτος και των προϊόντων του. (Εκδόσεις Κυριακίδη).

Μοάτσου Γ. (2008): Σημειώσεις Βιοχημεία Γάλακτος και Γαλακτοκομικών Προϊόντων (Π.Μ.Σ. Γαλακτοκομείας, Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, Γ.Π.Α.)

Μποσκος Κ. Μ. & Κιοσης Ε.Α.(2005): Σημειώσεις Κτηνιατρικής: Παθολογία Μαστού (Κλινική Μαιευτικής & Τεχνικής Σπερματέγχυσης, Κτηνιατρική Σχολή Α.Π.Θ.)

Παπαδόπουλος Ο. (2003): Λοιμώδη Νοσήματα των Ζώων (Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Υπηρεσία Δημοσιευμάτων

Σαρρής Κ., Ηλιάδης Ν., Μπουρτζή-Χατζοπούλου Ε., Κουμπατή-Αρτοποιού Μ. (1999) : Μαθήματα Γενικής και Ειδικής μικροβιολογίας (Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Υπηρεσία Δημοσιευμάτων).

## **ΞΕΝΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ:**

Adams M.R. & Moss M.O. (2000): Food Microbiology, Second Edition (The Royal Society of Chemistry).

Alichanidis E., Wrathall J. H.M. & Andrews A.T. (1986): Heat stability of plasmin (milk proteinase) and plasminogen (Journal of Dairy Research 53, 259-269).

Bakirci, I. & Andic, S. (1999): MuşE-Bulanik yoğurtlarında üretilen CEEcEil peyniri üzerinde bir araştırma. Y.Y. U (Veterinerlik Fakültesi Dergisi 10, 67-71).

Barber L.E. & Deibel R.H. (1972): Effects of pH and oxygen tension on staphylococcal growth and enterotoxin formation in fermented sausage (Appl. Microbiol. 24, 891-989).

Benfeldt C., Sorensen J., Ellegard K.H. & Petersen T.E. (1997): Heat treatment of cheese milk: Effect on plasmin activity and proteolysis during cheese ripening. (International Dairy Journal 7, 723-731).

Blenden D.C., Kampelmacher E.H. & Torres-Anjie (1987): Listeriosis (J.A.V.M.A. 191, 1546-1551).

Bricker, A. L., D. L. Van Hekken, V. M. Guerrero, and A. A. Gardea (2005): Microflora isolated from Mexican Mennonite-style cheeses (Food Prot. Trends 25:637-640).

Brule G., Real Del Sol E., Faquant J. & Fiaud C. (1978): Minerals salt stability in aqueous phase of milk: Influence of heat treatments (J Dairy Sci 61,1225-1232).

Charlier C., Cretent S., Even S. & Le Loir (2009): Interactions between *Staphylococcus aureus* and lactic acid bacteria: An old story with new perspectives. (I. J. Food Microbiology 131, 30-39).

Chaubeau- Dufour C. (1992): Toxi-infection alimentaires d' origine staphylococcique (Point Vet 24, 505-512).

Christensen, S., Sottrup-Jensen, L., & Christensen, U. (1995a): Stopped-flow fluorescence kinetics of bovine  $\alpha_2$ -antiplasmin inhibition of bovine midiplasmin. (Biochemical Journal, 305, 97-102)

Christensen, S., Wiegers, T., Hermansen, J., & Sottrup-Jensen, L. (1995b): Plasma-derived protease inhibitors in bovine milk (International Dairy Journal, 5, 439-449).

Cohn, Z. A. (1975): The role of proteases in macrophage physiology (In E. Reich, D. B. Rifkin, & E. Shaw (Eds.)), Proteases and biological control (pp. 483-491). New York, USA: Cold Spring Harbour Laboratory.



- Cogan T.M. & Beresford T. (2002): Dairy Microbiology Handbook (R. Robinson), Chapter 11: Microbiology of hard cheese (John Wiley and Sons Publications).
- Dalgleish D.G. (1999): Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology, Vol.1, Chapter 3: The enzymatic coagulation of milk (Aspen Publication).
- Dalgleish D.C. & Law A.J.R. (1989): pH-Induced dissociation of Bovine casein micelles II Mineral Solubilization and its relation to casein release (J Dairy Res. 56,727-735).
- Daufin G., Escudier J.L., Carrere H., Berot S., Fillaudeau L., Decloux M. (2001). Recent and emerging applications of membrane processes in the food and dairy industry (Trans. IChemE 79-C 89–101).
- De la Fuente M.A. (1998): Changes in the mineral balance of milk submitted to technological treatments (Trends in Food Science & Technology 9, 281-288).
- De la Fuente M.A., Olano A. & Juarez M. (2002): Mineral balance in milk heated using microwave energy (J. Agric. Food Chem. 50, 2274-2277).
- Delbes C., J. Alomar, P. Loubiere, S. Nouaille, M.C. Montel (2008): Effect of *Lactococcus garvieae*, *Lactococcus lactis* and *Enterococcus faecalis* on the behaviour of *Staphylococcus aureus* in microfiltered milk (Food Microbiology, Volume 25, Issue 3,502-508).
- Delbes, C., Alomar, J., Chougui, N., Martin, J.F., Montel, M.C., (2006): *Staphylococcus aureus* growth and enterotoxin production during the manufacture of uncooked, semihard cheese from cows' raw milk (J. Food Prot. 69, 2161–2167). *Lactobacillus reuteri*. Microbiology 152, 1155–1167).
- Dervisoglou M. & Aydemir A. (2007): Physicochemical and microbiological characteristics of Kulec cheese made from raw and heat-treated milk (World J Microbiol Biotechnol 23,451-460).
- De Valk et al. (2000): Boufée épidémique de listériose liée à la consommation de rillettes (B.E.H. 4, 15-17).
- Dossier special (2001): Listeriose et Listeria (Bulletin des GTV 11, 315-339).
- Driessen F.M. & Van Der Waals C.B. (1978): Inactivation of native milk proteinase by heat treatment (Netherlands Milk and Dairy Journal 32, 245-254).
- Farkye, N. Y. and Imafidon, G. I. (1995): Thermal denaturation of indigenous milk enzymes (In Heat-induced Changes in Milk, 2nd edn, pp. 331-48. International Dairy Federation, Brussels).
- Farkye N. & Vedamuthu E. (2002): Dairy Microbiology Handbook (R. Robinson), Chapter 10: Microbiology of soft cheese (John Wiley and Sons Publications).

Fox, P. F. and Stepaniak, L. (1993): Enzymes in cheese technology (International Dairy Journal 3, 509-530).

Fox P.F., Law J., Mc Sweeney P.L.H. & Wallace J. (1999): Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology, Vol. 1, Chapter 10: Biochemistry of cheese ripening (Aspen Publication).

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

Fox P.F. (1999): Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology, Vol.2, Chapter 7 : Italian cheese (Aspen Publication).

Fox P.F., Guinee T.P., Cogan T.M. & McSweeney P.L.H. (2000): Fundamentals of cheese science (Aspen publication).

Gastaldi E., Lagaude A. & Tarodo de la Fuente B. (1996): Micellar transition state in casein between pH 5,5 and 5,0 (J Food Science 61,59-64).

Guerra A., Jonsson G., Rasmussen A., Nielsen E.W., Edelsten D. (1998). Low cross flow velocity microfiltration of skim milk for removal of bacterial spores. *International Dairy Journal*, 7, 849-861.

Goulet V. et al. (2001): La surveillance de la listeriose humaine en France EN 1999 (B.E.H. 34,161-165).

Harjinder S. & Bennett R. (2002): Milk and Milk Processing (Dairy Microbiology Handbook, R.K. Robinson).

Huisman H. I. (2000). Membrane separations. II Microfiltration. pp: 1764-1777. Published by Academic Press.

Hurley, M. J., Larsen, L. B., Kelly, A. L., & McSweeney, P. L. H. (2000): The milk acid roteinase cathe sin D: A review (International Dairy Journal, 10, 673–681).

IDF, (2007). Bulletin of the International Dairy Federation. The World Dairy Situation 2007.

Kao, C.T., Frazier, W.C., (1966): Effect of lactic acid bacteria on growth of Staphylococcus aureus (Appl. Microbiol. 14, 251–255).

Kaminogawa, S., Mizobuchi, H. and Yamauchi, K. (1980): Degradation of casein components by acid protease of bovine milk (Journal of Dairy Science 63, 701-704).

Katsiari M.C, Kondyli E., Voutsinas L.P. (2009): The quality of Galotyri-type cheese made with different starter cultures (Food Control 20, 113-118).

- Kilic S., Uysal H., Kavas G., Akbulut N., Kesencas H. (2004): Manufacture and some properties of Turkish Fresh Goat cheese (Pakistan J. Biological Sci. 7 (6):1037-1039).
- Klantschitsch T., Bachmann H. P., Zdenko P. (2000). Influence of milk treatment and ripening conditions on quality of Raclette cheese. (Lait 80, 51–67).
- Kondyli E., Katsiari M.C. & Voutsinas L.P. (2008): Chemical and sensory characteristics of Galotyri-type cheese made using different procedures (Food Control 19, 301-307).
- Lahov, E., & Regelson, W. (1996): Antibacterial and immunostimulating casein-derived substances from milk: Casecidin, isracidin peptides (Food Chemistry and Toxicology, 34, 131–145).
- Lamprell H., G. Mazerolles, A. Kodjo, J.F. Chamba, Y. Noël, E. Beuvier (2006): Discrimination of Staphylococcus aureus strains from different species of Staphylococcus using Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy (International Journal of Food Microbiology, Volume 108, Issue 1, 125-129)
- Lamprell, H. (2003): La production des entérotoxines dans les fromages en fonction de la diversité phénotypique et génétique des souches de Staphylococcus aureus (University of Bourgogne. France. Ref Type: Thesis/Dissertation).
- Larsen, L. B., & Petersen, T. E. (1995): Identification of five molecular forms of cathepsin D in bovine milk. In K. Takahashi (Ed.), Aspartic proteinases: Structure, function, biology, and biomedical implications, advances in experimental medicine and biology, Vol.362 ( 279–283). New York: Plenum Press.
- Larsen, L. B., Rasmussen, M. D., Bjerring, M., & Nielsen, J. H. (2004): Proteases and protein degradation in milk from cows infected with Streptococcus uberis. (International Dairy Journal, 14, 899–907).
- Larsen, L. B., Wiim, H., Benfeldt, C., Heegaard, C. W., Ardo, Y., Qvist, K. B., & Petersen, T. E. (2000): Bovine milk procathepsin D: Presence and activity in heated milk and extracts of rennet free UF-feta (International Dairy Journal, 10, 67–73).
- Larsen, L. B., Benfeldt, C., Rasmussen, L. K., & Petersen, T. E. (1996): Bovine milk procathepsin D and cathepsin D: Coagulation and milk protein degradation (Journal of Dairy Research, 63, 119–130).
- Law A.J.R. (1996): Effects of heat treatment and acidification on the dissociation of the Bovine casein micelles (J. Dairy Res. 63, 35-48).

- Law B.A. and Goodenough P.W. (1995). Enzymes in milk and cheese production, in: Tucker G.A., Woods L.F.J. (Eds.), *Enzymes in Food Processing* (Blackie Acad. & Professional, Glasgow, UK, pp. 114–143).
- Le Graet Y. & Brule G. (1993): Les equilibres mineraux du lait: influence du pH et de la force ionique (*Lait* 73, 51-60).
- Lindsay R., Day E.A. & Sandine W.E. (1965): Green flavor defect in lactic starter cultures (*J. Dairy Sci.* 48, 863-869).
- Litopoulou-Tzanetaki E. (2007): Soft-ripened and fresh cheese: Feta, Quark, Halloumi and related varieties (*Improving the flavor of cheese*, Ed. by B.C. Weimer, CRC Press).
- Litopoulou-Tzanetaki E., N. Tzanetakis A. Vafopoulou-Mastrojiann (1994): Proteinase, Peptidase and Esterase Activity of Crude Cell-free Extracts of *Pediococcus pentosaceus* Isolated from Cheese (*Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, Volume 27, Issue 4, 342-346)
- Litopoulou-Tzanetaki E., N. Tzanetakis, A. Vafopoulou-Mastrojiannaki (1993): Effect of the type of lactic starter on microbiological\_chemical and sensory characteristics of Feta cheese (*Food Microbiology*, Volume 10, Issue 1, 31-41).
- Loirat C., Bastian S. & Andral B. (1999): *Escherichia coli* enterohemorragiques (EHEC) : quels risqué en France ? Table Ronde Entretiens de Bichat, Denis Besancon ed. Paris 250-254.
- Mehaia M. A. (1993): Fresh soft cheese (Domiaty-type) from camel milk: Composition, yield and sensory evaluation (*J. Dairy Sci* 76, 2845-2855)
- Madec M.N., Méjean S., Maubois J.-L. (1992). Retention of *Listeria* and *Salmonella* cells contaminating skim milk by tangential membrane microfiltration (Bactocach process) (*Lait* 72 327–332).
- Magras G. (2006): Notes de Securite et Qualites des Aliments, Chapitre 4: Les aliments de l'homme – La filiere lait et produits laitiers (E.N.V.N.).
- Martin-Hernaidez M.C. & Juarez M. (1989): Retention of main and traces elements in four type of goat cheese (*J. Dairy Sci* 72,1092-1097).
- Maubois J.-L., Caudron B., Daviau C., Madec M.N., Pierre A. (2000). Membrane technologies: tools for a total control of the cheesemaking process (IDF Banff Seminar).

Merin U. and Dafin G. (1990). Cross flow microfiltration in the dairy industry: state-of-the-art (*Le Lait* 70, 281-291).

Metaxopoulos, J., Genigeorgis, C., Fanelli, M.J., Franti, C., Cosma, E., (1981): Production of Italian dry salami: effect of starter culture and chemical acidulation on staphylococcal growth in salami under commercial manufacturing conditions. (*Appl. Environ. Microbiol.* 42, 863–871.)

Meyrand, A., Boutrand-Loei, S., Ray-Gueniot, S., Mazuy, C., Gaspard, C.E., Jaubert, G., Perrin, G., Lapeyre, C., Vernozzy-Rozand, C., (1998): Growth and enterotoxin production of *Staphylococcus aureus* during the manufacture and ripening of Camembert-type cheeses from raw goats' milk. (*J. Appl. Microbiol.* 85, 537–544).

Moreno-Rojas R., Amaro-Lopez A., Garcia-Gimeno R.H. & Zurera-Cosano (1995): Effects of Manchego-type cheese-making process on contents of mineral elements (*Food Chemistry* 53, 435-439).

Nataro J. et Kaper J.B. (1998): Diarrheagenic *E.coli* (*Clinical Microbiology Review*, 142-201).

O'Driscoll, B. M. O., Rattray, F. P., McSweeney, P. L. H., & Kelly, A. L. (1999): Protease activities in raw milk determined using a synthetic heptapeptides substrate (*Journal of Food Science* 64, 606–611).

Ozdemir, C., Ozdemir, S., Celik, S. & Dagdemir, E. (2003): *CEarzo*f Civil peynirinin mikrobiyolojik ve kimyasal özellikleri. *Suıt Enduıstrisinde Yeni eg\_ ilimler Sempozyumu* (Editor: Prof. Dr. Necati Akbulut). 22–23 Mayıs, Bornova- \_ Izmir, Tuırkiye, 453–457. ISBN 975-288-286-2.

Pelzer K.D. (1989): Salmonellosis (*J.A.V.M.A.* 195, 456-463).

Politis, I., Lachance, E., Block, E., & T mner, J. D. (1989a): Plasmin and plasminogen in bovine milk: A relationship with involution (*Journal of Dairy Science*, 72, 900–906).

Politis, I., Ng Kwai Hang, K. F., & Giro x, R. N. (1989b): Environmental factors affecting lasmin activity in milk (*Journal of Dairy Science*, 72, 1713–1718).

Pouliot Y., Boulet M., & Paquin P. (1989): Observations on the heat induced salt balance changes in milk I Effect of heating time between 4 and 90°C (*J. Dairy Res.* 56, 185-192).

Pouliot Y., Boulet M., & Paquin P. (1989): Experiments on the heat-induced salt balance changes in cow's milk (*J Dairy Res.* 56, 513-519).

- Pouliot Y., Boulet M., & Paquin P. (1989): Observations on the heat induced salt balance changes in milk II Reversibility on cooling (J. Dairy Res. 56,193-199).
- Ray B. (2000): Fundamental food microbiology, Third Edition (CRC Press).
- Reif, O.W. (2006). Microfiltration membranes: characteristics and manufacturing. (Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology 98, 73– 103).
- Rocourt J. (1989): Listeriose humaine: aspects cliniques et epidimiologique. Roles de l'alimentation (Le biologist 23,29-40).
- Rocourt et al. (1992): Epidemie de listeriose en France en 1992 (Med. Mal. Inf. 23, 481-484).
- Rollema H.P. & Poll J.K. (1986): The alkaline milk proteinase system:kinetics and mechanism of heat inactivation (Milchwissenschaft 41, 536-540).
- Rosenberg M. (1995). Current and future application for membrane processes in the dairy industry (Trends in Food Science and Technology, Vol 6, 12-19).
- Saboya L.V. and Maubois J.L. (2000). Current developments of microfiltration technology in the dairy industry (Lait 80, 541-553).
- Salwa A.A. & Galal E.A. (2002): Effect of milk pretreatment on the keeping quality of Domiati cheese (Pakistan Journal of Nutrition 1(3),132-136).
- Scott K.J. (1989): Micronutrients in milk products (Micronutrients in milk and milk-based food products, ed. E. Renner/Elsevier Applied Science London, U.K.)
- Sengul M. (2006): Microbiological characterization of Civil cheese, a traditional Turkish cheese: microbiological quality, isolation and identification of its indigenous Lactobacilli (World Journal of Microbiology and Biotechnology 22,613-618).
- Sengul, M. & Ertugay, M.F. (2006): The microbiological and chemical properties of cheese helva produced in Turkey (International Journal of Food Properties).
- Sert, S. & Kivanc, M. (1985): Microbiological studies on fresh Civil and Lor cheeses[in Turkish] (Food 5, 287–292).
- Snoeren T.H.M., Van Der Spek C.A., Dekker R. & Both P. (1979): Proteolysis during the storage of U.H.T-sterilized whole milk 1. Experiments with milk heated by direct system for 4s at 142°C (Netherlands Milk and Dairy Journal 33, 31-39).

Somers, J. M., O'Brien, B., Meaney, W. J., & Kelly, A. L. (2003): Heterogeneity of proteolytic enzyme activities in milk samples of different somatic cell (Journal of Dairy Research, 70, 45–50).

Spinler H.E., Guichard E. & Gripon J.C. (1997): Les saveurs des fromages (Eck A and Gillis J.-C., Le fromage 3<sup>rd</sup> edn, Paris, Lavoisier 493-505).

Tamime A.Y. (2002): Dairy Microbiology Handbook (R. Robinson), Chapter 7: Microbiology of Starter Cultures (John Wiley and Sons Publications).

Thomas S.B. & Druce R.G. (1972): Dairy Ind. 37, 593.

Tunick, M. H., D. L. Van Hekken, F. J. Molina-Corral, P. M. Tomasula, J. Call, J. Luchansky, and A. A. Gardea. Mexican Chihuahua cheese: Make procedures, composition, protein profiles, and microbiology ( Int. J. Dairy Technol.)(accepted)

Tzanetakis N., E. Litopoulou-Tzanetaki and K. Manolkidis (1987): Microbiology of Kopanisti, a traditional Greek cheese (Food Microbiology Vol.4 Issue 3, 251-256).

Urbach G. (1993): Relations between cheese flavor and chemical composition (International Dairy J. 3,485-507).

Van Hekken D.L., Tunick M.H., Park Y.W. (2005): Effect of frozen storage on the proteolytic and rheological properties of soft caprine milk cheese (J. Dairy Sci. 88, 1966-1972).

Walstra P. & Jenness R. (1984): Dairy Chemistry and Physics (John Wiley & Sons Publication).

Walstra P., Wouters J.T.M. & Geuters T.J. (2005): Dairy Science and Technology, Second Edition (CRC, Taylor & Francis Group).

Xanthopoulos V., Polychroniadou A., Litopoulou-Tzanetaki E., Tzanetakis N. (2000): Characteristics of Anevato Cheese made from raw or heat-treated goat milk inoculated with a lactic starter (Lebensm-Wiss u.-Technol. 33,483-488)

Zall Robert R. (1981): Effects of heat-treating and storing milk on farms prior to converting into cottage cheese and quarg (Marschall International Cheese Conference).





[Πληκτρολογήστε κείμενο]