

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ
ΑΝΘΡΩΠΟΥ
&
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΖΩΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ
ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ
ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΟΛΟΚΛΗΡΩΜΕΝΗ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΚΑΙ
ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ»
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΑΣ

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΚΑΙ ΜΕΛΕΤΗ ΤΥΡΙΟΥ ΑΠΟΚΛΕΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟ ΑΙΓΕΙΟ
ΓΑΛΑ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ
που εκπονήθηκε στο Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

ΜΑΛΑΓΑΡΗ ΑΛΚΜΗΝΗ-ΑΛΕΞΑΝΔΡΑ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: ΑΚΤΥΠΗΣ ΑΝΑΣΤΑΣΙΟΣ

ΑΘΗΝΑ 2017

**ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΟΛΟΚΛΗΡΩΜΕΝΗ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΚΑΙ
ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ»**

**ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΚΑΙ ΜΕΛΕΤΗ ΤΥΡΙΟΥ ΑΠΟΚΛΕΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟ ΛΙΓΕΙΟ
ΓΑΛΑ**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ
που εκπονήθηκε στο Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

ΜΑΛΑΓΑΡΗ ΑΔΚΜΗΝΗ-ΑΛΕΞΑΝΔΡΑ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: ΑΚΤΥΠΗΣ ΑΝΑΣΤΑΣΙΟΣ

Τριμελής εξεταστική επιτροπή

Α. Ακτύπης, Λέκτορας ΓΠΑ

Ε. Τσακαλίδου, Καθηγήτρια ΓΠΑ

Γ. Ζέρβας, Καθηγητής ΓΠΑ

Στη μνήμη της γιαγιάς μου Αλεξάνδρας

Ευχαριστίες

Η παρούσα μεταπτυχιακή μελέτη εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Γαλακτομίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών του Τμήματος Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, στα πλαίσια του Διατμηματικού Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών "Ολοκληρωμένη Διαχείριση Παραγωγής Γάλακτος και Γαλακτοκομικών Προϊόντων.

Στο σημείο αυτό θα ήθελα να ευχαριστήσω εκείνους που βοήθησαν στην εκπόνηση της μελέτης αυτής.

Τον λέκτορα κ. Αναστάσιο Ακτύπη για την παροχή συμβουλών και εποικοδομητικών παρατηρήσεων στο πειραματικό μέρος της μελέτης και στην ερμηνεία των ευρημάτων.

Την Καθηγήτρια κα. Έφη Τσακαλίδου, διευθύντρια του Εργαστηρίου Γαλακτοκομίας για τις πολύ σημαντικές παρατηρήσεις στο σχεδιασμό της μελέτης, την εποικοδομητική της κριτική και την ενθάρρυνσή της για την ολοκλήρωση της παρούσας μελέτης.

Τον Καθηγητή κ. Γεώργιο Ζέρβα για τη συμμετοχή του στην εξεταστική επιτροπή της παρούσας μελέτης και τις παρατηρήσεις του στο τελικό κείμενο.

Την κα. Ευγενία Μανωλοπούλου μέλος ΕΔΠΠ του Εργαστηρίου Γαλακτοκομίας γιατί η κατανόηση, η συμπαράσταση, η φιλία και η βοήθειά της ήταν καθοριστικές για την περάτωση της μελέτης από την πρώτη στιγμή.

Επίσης, θέλω να ευχαριστήσω τον κ. Θεόδωρη Πάσχο για τη βοήθειά του κατά τη διάρκεια των τυροκομήσεων.

Τέλος, ευχαριστώ τα υπόλοιπα μέλη του Εργαστηρίου Γαλακτοκομίας για την οποιανδήποτε βοήθεια.

Συντομογραφίες

ACA-DC: Agricultural College of Athens-Dairy Collection

AcNeu: N-ακετυλο-νευραμινικό οξύ

ATP: τριφωσφορική αδενοσίνη

α-La: α- γαλακτοαλβουμίνη

β-Lg: β- γαλακτοσφαιρίνη

BLF: λακτοσιδερίνη

BSA: αλβουμίνη του ορού

CLA: συζευγμένο λινολεϊκό οξύ

DHAP: φωσφορική διυδροξυακετόνη

EPSs: πολυσακχαρίτες

EE: Ευρωπαϊκή Ένωση

FDP: 1,6 διφωσφορική φρουκτόζη

FDM: Λίπος επι ξηρού

G. candidum: *Geotrichium candidum*

Gal: γαλακτόζη

GAP: γλυκεριναλδεΐδη

GalNAc: N-ακετυλο-γλυκοζαμίνη

GlcA: γλυκορουνικό οξύ

GlcNAc: N-ακετυλο-γλυκοζαμίνη

GMP: γλυκομακροπεπτίδιο

H₂O₂: υπεροξειδίο του υδρογόνου

Ig: ανοσοσφαιρίνες

KMBA: 4-μεθυλοθειο-2-υδροξυβουτυρικό οξύ

LAB: οξυγαλακτικά βακτήρια

ΛΟ: λιπαρό οξύ

MB: μοριακό βάρος

ΜΟΛΟ: μονοακόρεστο λιπαρό οξύ

ΜΠΦΝ: μη πρωτεϊνικής φύσεως άζωτο

MT: μεθανοθειόλη

NAD:

NADH: νικοτινάμιδο-αδένινο-δινουκλεοτίδιο

NSLAB: μη εναρκτήρια οξυγαλακτική καλλιέργεια

ΞΠ: ξηρά περίοδος

ΞΟ: ξηρά ουσία

OMX: ολική μεσόφιλη χλωρίδα

P-β-gal: β-φωσφο-γαλακτοζιδάση

P. candidum: *Penocillium candidum*

P. camemberti: *Penicillium camemberti*

PEP: φωσφο-ενολο-πυροσταφυλικό οξύ

PrpP: εξωκυτταρικές πρωτεΐνάσες σερίνης

PTS: σύστημα φωσφοενολοτρανσφεράσης

PP: πρωτεόζες-πεπτόνες

PUFA: πολυακόρεστα λιπαρά οξέα

TCA: τριχώρικό οξύ

TNF-a: παράγοντας νέκρωσης όγκων

ω3: λιπαρά οξέα με ένα διπλό δεσμό στη θέση 3

ω6: λιπαρά οξέα με ένα διπλό δεσμό στη θέση 6

Περιεχόμενα

Συνοτομογραφίες	2
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	5
SUMMARY.....	6
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	7
1. Γάλα.....	7
2. Τυρί.....	46
3. Οξυγαλακτικά βακτήρια.....	57
4. Τυριά με επιφανειακή ανάπτυξη μυκήτων	74
5. Σκοπός της μελέτης	89
ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	90
1. Καλλιέργειες.....	90
2. Οξυπαραγωγική ικανότητα μικροοργανισμών εκκίνησης.....	90
3. Έλεγχος ευαισθησίας των επιλεχθέντων μικροοργανισμών-στελεχών έναντι του βακτηριοσινογόνου μικροοργανισμού <i>Lc. Lactis</i> ACA-DC 1 (Well diffusion assay)	91
4. Χημική σύσταση του γάλακτος	92
5. Μικροοργανισμοί τυροκόμησης- Εναρκτήριοι- Συμπληρωματικοί-Ωρίμανσης (Starters-Adjuncts-Ripening).....	92
6. Τυροκομήσεις	92
7. Μικροβιολογικές αναλύσεις.....	96
8. Φυσικοχημικές αναλύσεις.....	97
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	103
1. Οξυπαραγωγική ικανότητα των οξυγαλακτικών βακτηρίων	103
2. Έλεγχος αντιμικροβιακής δράσης	104
3. Μικροβιολογικές αναλύσεις.....	105
4. Φυσικοχημικές αναλύσεις	111
5. Οργανοληπτικός έλεγχος.....	122
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	124
Ξένη βιβλιογραφία	125
Ελληνική Βιβλιογραφία	141
Παράρτημα Ι.....	142
Παράρτημα ΙΙ.....	144
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙΙ.....	146

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της μελέτης ήταν η παρασκευή και μελέτη τυριού αποκλειστικά από αίγιο γάλα με τη χρήση οξυγαλακτικών καλλιεργείων της συλλογής ACA-DC του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών και επιλεγμένων στελεχών μυκήτων-καλλιεργείων ωρίμανσης, *Geotrichum candidum* (*G. candidum*) και *Penicillium candidum* (*P. candidum*). Αρχικά επιλέχθηκαν τα κατάλληλα στελέχη οξυγαλακτικών βακτηρίων (*Lc. Lactis* ACA-DC 57, *Lc. Lactis* ACA-DC 156, *Lb. paracasei* ACA-DC 129 και *Lb. paracasei* ACA-DC 116) βάσει της ικανότητάς τους να αναπτύσσουν οξύτητα στο αίγιο γάλα. Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκαν 3 τυροκομήσεις όπου παρασκευάστηκαν 2 διαφορετικά τυριά με χρήση των καλλιεργείων ωρίμανσης (Α) και χωρίς καλλιέργειες ωρίμανσης (Β). Στα παρασκευασθέντα τυριά πραγματοποιήθηκαν μικροβιολογικές και φυσικοχημικές αναλύσεις την ημέρα παρασκευής (0) και την 1^η, 7^η, 19^η, 30^η ημέρα. Σχετικά με τις φυσικοχημικές αναλύσεις, μετρήθηκαν και στα δύο τυριά το pH, η % περιεκτικότητα σε υγρασία, η % περιεκτικότητα σε αλάτι, η συνολική και η υδατοδιαλυτή πρωτεΐνη.

Σχετικά με τα αποτελέσματα, ενδιαφέρον είναι το γεγονός ότι στο τυρί στο οποίο προστέθηκαν οι μύκητες δεν παρατηρήθηκε αξιοσημείωτη αύξηση του pH. Τα αποτελέσματα σχετικά με το κλάσμα της υδατοδιαλυτής πρωτεΐνης έδειξαν σημαντική διαφορά της συγκέντρωσης των υδατοδιαλυτών πρωτεϊνικών συστατικών για τα τυριά Α σε σύγκριση με τα Β. Αυτό μπορεί να αποδοθεί στην υψηλή πρωτεολυτική δραστηριότητα των μυκήτων. Επίσης, η παρουσία των μυκήτων στα τυριά Α συνέβαλε στην προστασία τους από επιμολύνσεις με είδη του γένους *Mucor* σε αντίθεση με τα τυριά Β. Τα τυριά της ομάδας Α είχαν pH=4,22, Υγρασία=47,69%, Λίπος επι ξηρού (FDM)=54,91%, Πρωτεΐνη=21,20%, Υδατοδιαλυτή πρωτεΐνη=7,24% και Αλάτι= 1,60%. Τα τυριά της ομάδας Β είχαν pH=4,03, Υγρασία=49,89%, Λίπος επι ξηρού (FDM)=51,27%, Πρωτεΐνη=20,02%, Υδατοδιαλυτή πρωτεΐνη=2,59% και Αλάτι=1,37%.

Επιστημονική περιοχή: Τυροκομία

Λέξεις-κλειδιά: αίγιο τυρί, αίγιο γάλα, παρασκευή τυριού, *G. candidum*, *P. camembertii*, μικροβιολογική ανάλυση, φυσικοχημική ανάλυση, οργανοληπτικός έλεγχος

SUMMARY

DEVELOPMENT AND STUDY OF A FRESH CHEESE MADE FROM GOAT MILK

This study aims at the production of a fresh white cheese made from goat milk with the use of selected lactic acid bacteria strains from the collection ACA-DC of Agricultural University of Athens and the addition or not of specific species of Fungi, *G. candidum* and *P. camembertii*. We simulated the growth of selected strains of lactic acid bacteria in order to choose the suitable for the cheesemaking (*Lc. Lactis ACA-DC 57*, *Lc. Lactis ACA-DC 156*, *Lb. paracasei ACA-DC 129* και *Lb. paracasei ACA-DC 116*). During the cheese making we produced two types of cheese, one with the use of the selected strains of lactic acid bacteria, *G. candidum* and *P. camembertii* (A) and one without the incubation of, *G. candidum* and *P. camembertii* (B). At the day of cheese making (0) and during the ripening of the cheese in selected days (1ⁿ, 7ⁿ, 19ⁿ, 30ⁿ) were conducted microbiological and physicochemical analyses such as pH, moisture, salt in content, total protein and soluble protein. Subsequently, based on the literature according to which *G. candidum* and *P. camembertii* induce increase in pH we didn't notice any remarkable increase in pH for the A group. However, the results showed a remarkable increase in soluble protein for the cheeses of group A when compared to cheese B. This could be attributed to the high proteolytic activity of *G. candidum* and *P. camembertii*. The growth of *G. candidum* and *P. camemberti* for the cheeses of group A contributed to the protection of the cheeses from species of genus *Mucor* in contrast with cheeses from group B which was strongly contaminated. Final values for cheese A was pH=4,22, Moisture=47,69%, Fatin Dry Matter (FDM)=54,91%, Protein=21,20%, Soluble Protein=7,24% and Salt= 1,60%. Final values for cheese B was pH=4,03, Moisture=49,89%, Fat in Dry Matter (FDM)=51,27%, Protein=20,02%, Soluble Protein=2,59% and Salt=1,37%.

Scientific area: Cheese

Keywords: goat cheese, goat milk, cheese manufacture, *G. candidum*, *P. candidum*, microbiological analysis, physicochemical analysis, organoleptic evaluation

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1. Γάλα

1.1. Παγκόσμια παραγωγή γάλακτος

Το 85% της παγκόσμιας ποσότητας του παραγόμενου γάλακτος κατέχει το αγελαδινό γάλα, δεύτερο στην κατάταξη είναι το βουβαλίσιο με 10,7% και ακολουθούν το αίγαιο, το πρόβειο και το γάλα καμήλας με 2,4% , 1,4% και 0,4% αντίστοιχα (FAOSTAT, 2013).

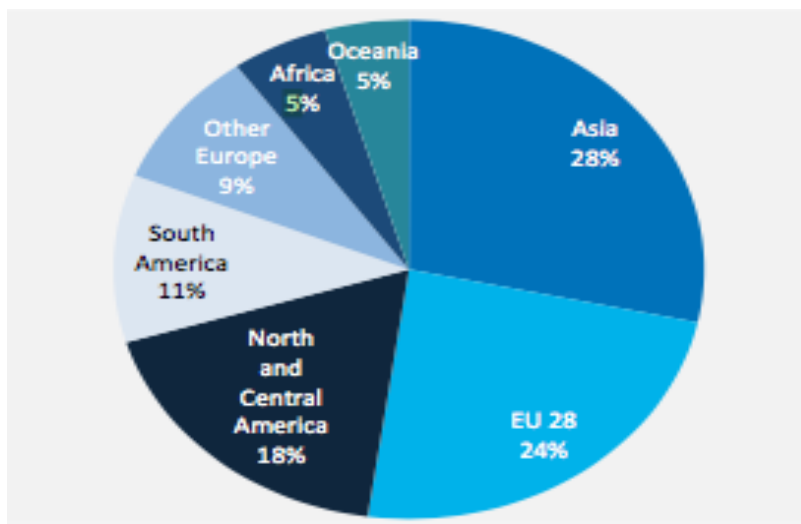
Ο σταθερά αυξανόμενος ρυθμός του πληθυσμού, η αύξηση του κατά κεφαλήν εισοδήματος και η γρήγορη και ανεξέλεγκτη αστικοποίηση που παρατηρείται κυρίως στις ανεπτυγμένες χώρες συνέβαλλαν στην αύξηση ζήτησης τροφίμων ζωικής προέλευσης (Agricultural Outlook 2015-2024).



Διάγραμμα 1: Παγκόσμια παραγωγή αγελαδινού γάλακτος (σε εκατομμύρια τόνους) για τα έτη 2000-2013 (IDF, 2014)

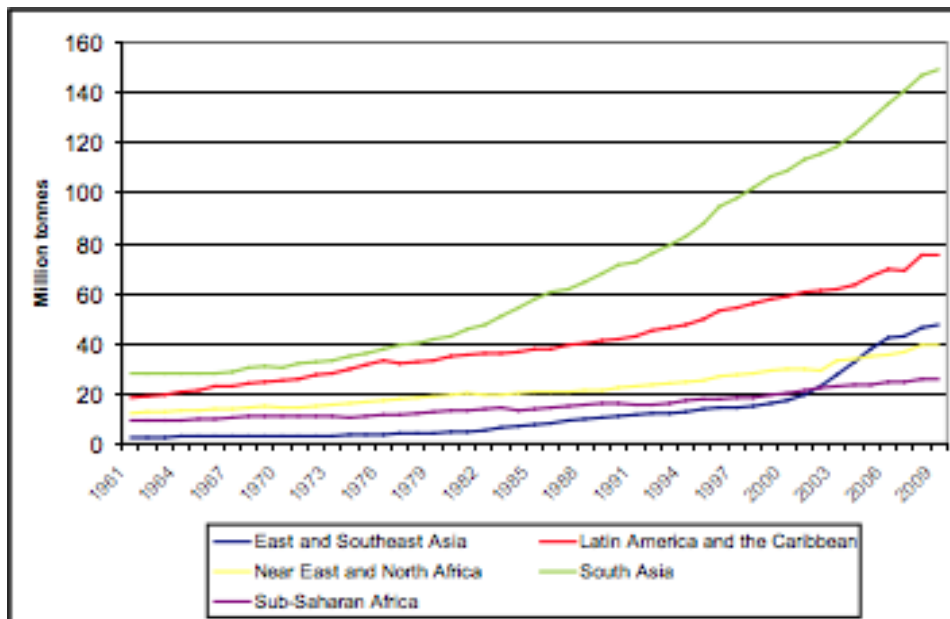
Οι ποσότητες που παρήχθησαν το 2013 όσον αφορά το αγελαδινό γάλα, κυμάνθηκαν στους 646 εκατομμύρια τόνους (**Διάγραμμα 1**) σημειώνοντας ποσοστιαία αύξηση της τάξεως

του 0,9% σε σύγκριση με το 2012. Η Ασία παράγει τις μεγαλύτερες ποσότητες γάλακτος καλύπτοντας το 28% της συνολικής γαλακτοπαραγωγής και ακολουθούν η Ευρωπαϊκή Ένωση των 28 μελών (24%), η Κεντρική και Βόρεια Αμερική (18%), η Νότια Αμερική (11%) και τέλος οι χώρες της Αφρικής και της Ωκεανίας συνεισφέρουν σε ποσοστό 5% (**Διάγραμμα 2**) στη παγκόσμια παραγωγή (IDF Report, 2014).



Διάγραμμα 2: Παγκόσμια παραγωγή γάλακτος ανά ήπειρο (IDF, 2014)

Η Ινδία παράγει το 1/3 της συνολικής ποσότητας γάλακτος των αναπτυσσόμενων χωρών και συγχρόνως το 16% της παγκόσμιας παραγωγής (**Διάγραμμα 3**). Η Λατινική Αμερική και η Καραϊβική κατέχουν τη δεύτερη θέση στη παραγωγή γάλακτος μεταξύ άλλων γαλακτοπαραγωγών χωρών της Αμερικής. Στην Ανατολική και Νοτιανατολική Ασία, ιδιαίτερα στην Κίνα, η παραγωγή γάλακτος αυξάνεται με αξιόλογο ρυθμό, χαμηλότερο όμως αυτού της Λατινικής Αμερικής και της Νότιας Ασίας (ESA Working Paper No. 12-01, February 2012).



Διάγραμμα 3: Παραγωγή γάλακτος στις αναπτυσσόμενες χώρες (ESA Working Paper No. 12-01, February 2012)

Οι συνολικές παραδόσεις γάλακτος για το 2013 σύμφωνα με επίσημα στοιχεία της IDF (The World Dairy Situation 2014, IDF 2014) σημείωσαν παγκόσμια αύξηση κατά 0,5%, χαμηλότερη του μέσου όρου της περασμένης δεκαετίας (+1,9%). Η μείωση των παραδόσεων αποδίδεται στη μειωμένη παραγωγή γάλακτος που σημειώθηκε στις κύριες χώρες παραγωγής δηλαδή της ΕΕ των 28, των ΗΠΑ και της Ωκεανίας. Οι παραδόσεις γάλακτος σε γενικές γραμμές ήταν συντηρητικές (ΗΠΑ +0,3%, ΕΕ +0,6%) και ενίοτε αρνητικές (Νέα Ζηλανδία -1,8%). Στην Κίνα, οι παραδόσεις γάλακτος ήταν χαμηλότερες (-1,7%) συγκριτικά με την αυξημένη παραγωγή των παρελθόντων ετών. Εξάιρεση στις μειωμένες παραδόσεις γάλακτος αποτέλεσε η Βραζιλία.

Στην Αφρική και πιο συγκεκριμένα στην Αίγυπτο και τη Βόρεια Αφρική η ανάπτυξη στον τομέα της γαλακτοπαραγωγής ήταν σταθερή. Στις χώρες της ΕΕ των 28 και ιδιαίτερα στις βορειοδυτικές, ο ρυθμός παραδόσεων γάλακτος ήταν αυξημένος σε σύγκριση με το μέσο όρο της ΕΕ των 28 λόγω των επενδύσεων που πραγματοποίησαν οι χώρες, όπως η Γερμανία, η Ολλανδία, η Ιρλανδία και η Δανία με αφορμή την επικείμενη κατάργηση των ποσοστώσεων το 2015.

Η παγκόσμια παραγωγή του γάλακτος και των προϊόντων του το 2013 κυμάνθηκε σε χαμηλότερα επίπεδα (+0,9%) σε σχέση με τις προηγούμενες χρονιές (+2,3%). Η παραγωγή καθορίστηκε σε σημαντικό ποσοστό από τις παγκόσμιες αγορές της Ασίας όπως είναι η Κίνα (+9%) και η Ινδία (+6%). Στις περισσότερες χώρες η παραγωγή διατηρήθηκε σε σταθερά επίπεδα με εξαίρεση το Μεξικό (-2,6%). Αξιοσημείωτη ήταν η αύξηση της

γαλακτοπαραγωγής στην Αίγυπτο από 450 χιλιάδες τόνους σε 1,6 εκατομμύρια τόνους. Η συνολικά παραγόμενη ποσότητα γάλακτος σε άλλες περιπτώσεις μειώθηκε ή αυξήθηκε σε μικρό ποσοστό με κυριότερα παραδείγματα τις ΗΠΑ (-2,5%), την ΕΕ των 28 (+0,8%) και την Ιαπωνία (-2,2%).

Το 2014, οι διαθέσιμες ποσότητες γάλακτος αυξήθηκαν περισσότερο από 10 εκατομμύρια τόνους στην ΕΕ των 28, τη Νέα Ζηλανδία και την Αυστραλία ως αποτέλεσμα των καλών καιρικών συνθηκών και των αυξημένων τιμών γάλακτος στο τέλος του 2013. Στις χώρες της ΕΕ των 28 η άρση των ποσοτώσεων τον Απρίλιο του 2015 έδωσε κίνητρο στους κτηνοτρόφους για να εντείνουν την παραγωγή γάλακτος (EU Agricultural Outlook, European Commission, December 2015).

Τα επόμενα 10 χρόνια η παγκόσμια κατανάλωση και παραγωγή γαλακτοκομικών προϊόντων αναμένεται να αυξηθεί με ρυθμό +1,9% ετησίως μικρότερο του ρυθμού αύξησης της τελευταίας δεκαετίας (+2,1%). Σημαντική αύξηση της παραγόμενης ποσότητας γάλακτος αναμένεται στην Ινδία, τη μεγαλύτερη μέχρι στιγμής παραγωγό χώρα γάλακτος παγκοσμίως. Το ποσοστό συνεισφοράς της Ινδίας στην παγκόσμια παραγωγή γάλακτος ωστόσο θα είναι περιορισμένο δεδομένου ότι η επιπλέον ποσότητα που παράγεται θα προορίζεται για την εγχώρια αγορά. Η υψηλή παραγωγή γάλακτος στην Αφρική σε συνδυασμό με την αυξανόμενη κατανάλωση γαλακτοκομικών προϊόντων θα συμβάλει σε σημαντική αύξηση των εισαγωγών σε σχέση με την τελευταία δεκαετία. Στην Κίνα η παραγωγή γάλακτος θα συνεχίζει να αυξάνεται (1,1 εκατομμύρια τόνοι ετησίως) σε συνδυασμό με την κατανάλωση του γάλακτος και των προϊόντων του και κατ'επέκταση αναμένεται αύξηση των εισαγωγών. Στις χώρες της ΕΕ των 28 λόγω της κατάργησης των ποσοτώσεων αναμένεται αύξηση της παραγωγής γάλακτος και των εξαγωγών. Οι παραδόσεις γάλακτος ωστόσο στην Ελλάδα, τη Φινλανδία και τη Σουηδία αναμένεται να σημειώσουν πτώση. Ο ρυθμός αύξησης της παραγωγής στη Νέα Ζηλανδία εκτιμάται να κυμανθεί σε χαμηλότερα επίπεδα (1,7%) σε σχέση με το παρελθόν (5,2%). Στις ΗΠΑ, τέλος, από τους 1,1 εκατομμύρια τόνους γάλακτος που θα παράγονται ετησίως αναμένεται οι 800.000 να προορίζονται για την εγχώρια αγορά και οι υπόλοιποι 300.000 να εξάγονται (EU Agricultural Outlook, European Commission, December 2015).

1.2. Παγκόσμια παραγωγή αίγειου γάλακτος

Ο συνολικός αριθμός αιγών παγκοσμίως ανέρχεται στα 921 εκατομμύρια ζώα εκ των οποίων το μεγαλύτερο ποσοστό εκτρέφεται στην Ασία (59,5%), την Αφρική (34%) και τη

Λατινική Αμερική (4,3 %) αντίστοιχα. Μικρό ποσοστό επίσης εκτρέφεται στην Ευρώπη (1,8%) και την Ωκεανία (0,4%). Συνολικά ο μεγαλύτερος αριθμός αιγών εκτρέφεται σε αναπτυσσόμενες χώρες, όπου το αίγαιο γάλα αποτελεί βασική τροφή για τους αγροτικούς πληθυσμούς (FAOSTAT 2010).

Το μεγαλύτερο ποσοστό της αιγοτροφίας κατανέμεται σε χώρες της Ασίας (Ινδία, Πακιστάν, Κίνα, Μπαγκλαντές), της Αφρικής (Νιγηρία, Αιθιοπία, Σομαλία, Σουδάν, Βόρεια Αφρική), της Ευρώπης (Ελλάδα, Ισπανία, Γαλλία), της Βόρειας Αμερικής (Μεξικό, ΗΠΑ, Καναδάς), της Κεντρικής Αμερικής (Τζαμάικα, Κούβα) και της Νότιας Αμερικής (Βραζιλία, Αργεντινή, Βενεζουέλα, Περού, Βολιβία και Κολομβία). Η εκτροφή αιγών στην Ευρώπη κατέχει την 4^η θέση μετά την Ασία, την Αφρική και τη Νότιο Αμερική. Το μεγαλύτερο ποσοστό αιγών εντοπίζεται στις χώρες της Μεσογείου και κυρίως στην Ελλάδα (37,23% του συνολικού αριθμού αιγών παγκοσμίως) (FAOSTAT, 2012).

Ο εκτρεφόμενος αριθμός αιγών αυξήθηκε σταδιακά από τα 590,1 εκατομμύρια ζώα (το 1990) στα 920,6 εκατομμύρια το 2010 (+56%). Η εκτροφή αιγών ευδοκίμει σε περιβάλλοντα που δεν ευνοείται η εκτροφή αγελάδων. Οι αίγες είναι δυνατόν να αξιοποιήσουν φτωχά εδάφη μεγάλης ποικιλομορφίας και να προσαρμοστούν σε μεγάλο εύρος κλιματικών συνθηκών.

Το 2008 η αναλογία (παγκοσμίως) αιγών/προβάτων κυμάνθηκε στο 1/1,25 και το 2010 αυξήθηκε υπερ των αιγών στο 1/1,17 υποδεικνύοντας την ανάπτυξη της αιγοτροφίας και τη μείωση των εκτροφών με πρόβατα (Aziz, M.A., 2010, Dar, A., 2012, Ng'ambi, J.W., 2012).

Το 2009 η παγκόσμια παραγωγή γάλακτος ανήλθε στα 696,5 εκατομμύρια. Η μεγαλύτερη παραγωγή αίγειου γάλακτος για το 2010 καταγράφηκε στην Ασία (58,89%), στην Αφρική (21,19%), στην Ευρώπη (16,32%) και στην Αμερική (3,59%) (FAOSTAT, 2010). Οι σημαντικότερες χώρες παραγωγής αίγειου γάλακτος είναι η Ινδία, το Μπαγκλαντές, το Πακιστάν και το Σουδάν. Στην Ευρώπη παρόλο που ο συνολικός αριθμός αιγών κυμαίνεται στα 17 εκατομμύρια (1,8% του συνολικού πληθυσμού) η συνολική γαλακτοπαραγωγή καλύπτει το 20% της παγκόσμιας (Mezza-Herrera, C.A., 2010). Η Ισπανία, η Γαλλία και η Ελλάδα κατέχουν την 5^η, την 6^η και την 7^η θέση αντίστοιχα στην παγκόσμια παραγωγή αίγειου γάλακτος συνεισφέροντας στο 10,57% της συνολικά παραγόμενης ποσότητας.

Το 2010 η ετήσια αύξηση της γαλακτοπαραγωγής παγκοσμίως κυμάνθηκε στα 41,6 kg/κεφαλή στην Αφρική, στα 178,8 kg/κεφαλή στη Βόρεια Αμερική, στα 32,1 kg/κεφαλή στη Νότια Αμερική, στα 78,2 kg/κεφαλή στην Ασία και στα 250,7 kg/κεφαλή στην Ευρώπη (Mezza-Herrera, C.A., 2010). Σημαντικό ρυθμό ανάπτυξης της γαλακτοπαραγωγού αιγοτροφίας σημείωσε η Τουρκία (+3,5%) και η Γαλλία (+6,4%) ενώ μείωση παρατηρήθηκε στην ετήσια γαλακτοπαραγωγή της Ολλανδίας (-8,6%), του Μεξικού (-1%) και της Ισπανίας

(-2,9%) (Bulletin of the International Dairy Federation, 2011). Η Κίνα αν και μία από τις σημαντικότερες γαλακτοπαραγωγές χώρες είναι 10^η στην παγκόσμια παραγωγή αίγιου γάλακτος.

Στις χώρες της ΕΕ των 28 ο αριθμός των αιγών για το έτος 2009 αντιστοιχούσε στο 1,8% του συνολικού αριθμού (920,6 εκατομμύρια) και σ'αυτές παράγεται το 16,32% της παγκόσμιας ποσότητας αίγιου γάλακτος (Ng'ambi, J.W., 2012). Η συνολική ποσότητα αίγιου γάλακτος παράγεται στην Ελλάδα, τη Γαλλία, την Ισπανία, τη Ρουμανία, τη Βουλγαρία, την Ιταλία και την Πορτογαλία (98,46% του γάλακτος της ΕΕ των 28). Οι υψηλότερες αποδόσεις γαλακτοπαραγωγής σημειώθηκαν στη Γαλλία, την Ελλάδα και την Ισπανία με ποσοστά 31,92%, 25,86% και 24,3% αντίστοιχα της συνολικά παραγόμενης ποσότητας αίγιου γάλακτος. Τη χρονική περίοδο μεταξύ 1999-2009 η παραγωγή γάλακτος σε Ευρωπαϊκό επίπεδο εξελίχθηκε ως εξής : Μάλτα (+36,7%), Γαλλία (+25%), Ρουμανία (+45,09%), Ισπανία (+17,05%) και μειώθηκε στις υπόλοιπες χώρες με σημαντικότερη μείωση στη Βουλγαρία (-68%).

1.3. Η παραγωγή γάλακτος στην Ελλάδα

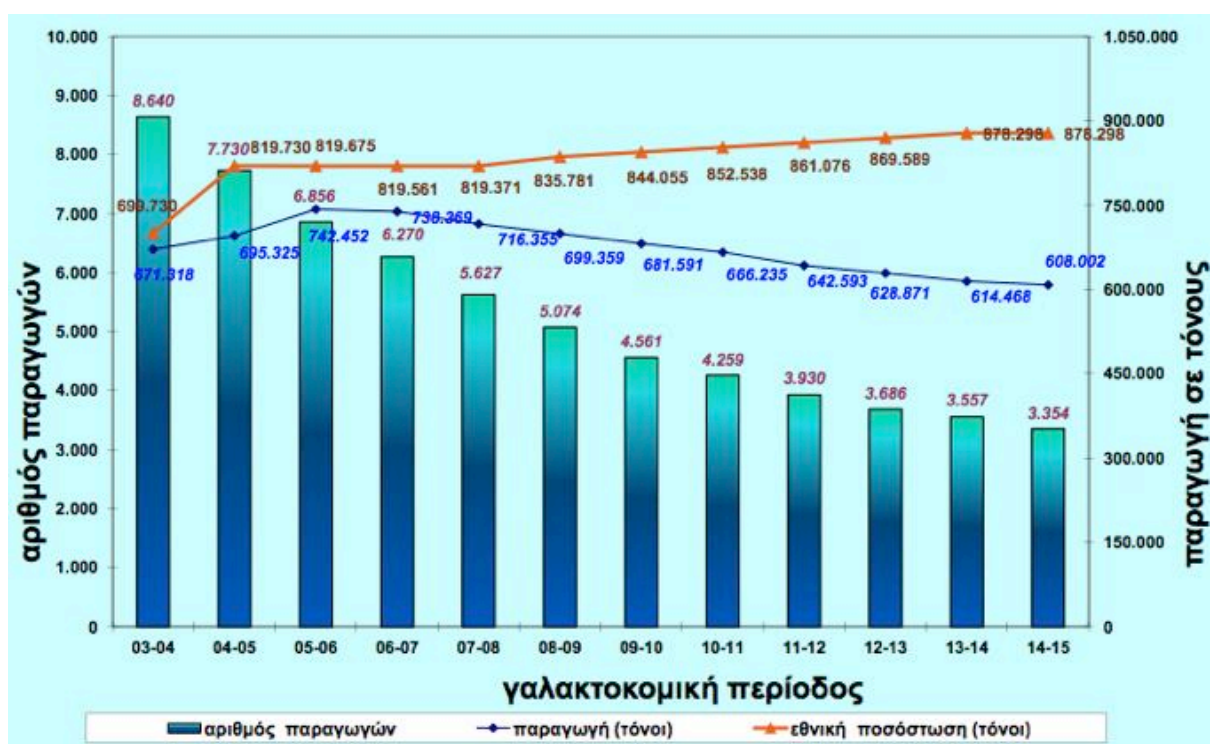
Η ανάπτυξη της αγελαδοτροφίας στη χώρα μας πραγματοποιήθηκε στην προπολεμική περίοδο με απώτερο σκοπό την αξιοποίηση των τριών παραγωγικών ιδιοτήτων της. Η εργασία ήταν βασικός παράγοντας διατήρησης της αγελαδοτροφίας, η αξιοποίηση του κρέατος ήταν δευτερευούσης σημασίας ενώ η αξιοποίηση του γάλακτος ήταν τριτεύουσα παραγωγική ανάγκη, κυρίως για την ικανοποίηση των αναγκών των αστικών κέντρων, μιας και τις ανάγκες σε γάλα τις κάλυπταν από τα αιγοπρόβατα. Η παραγωγή τυριών από αγελαδινό γάλα ήταν σχεδόν άγνωστη καθώς η διατροφή της μη αστικής οικογένειας βασιζόταν στην αξιοποίηση του αιγοπρόβειου γάλακτος.

Η Ελλάδα είναι από τις λίγες χώρες στον κόσμο που παράγει μεγαλύτερες ποσότητες αιγοπρόβειου γάλακτος σε σύγκριση με τις ποσότητες του αγελαδινού, καλύπτοντας το 59,5% της συνολικής παραγωγής. Η παραγωγή πρόβειου γάλακτος στην Ελλάδα ανέρχεται σε 550-650 χιλ.τόνους σε συνολική παγκόσμια παραγωγή 7 εκατομμυρίων τόνων και η παραγωγή αίγιου ανέρχεται σε 400-450 χιλ.τόνους σε συνολική παγκόσμια παραγωγή 13 εκατομμυρίων τόνων. Ο κλάδος της αιγοπροβατοτροφίας είναι δυνατόν να αναπτυχθεί σε ποικιλία εδαφολογικών και κλιματικών συνθηκών όπως είναι οι ξηροθερμικοί βοσκότοποι των ορεινών και λοφώδων εκτάσεων. Η εκμετάλλευση του χαμηλού παραγωγικού δυναμικού των εν λόγω βοσκοτόπων από εγχώριες φυλές χαμηλών απαιτήσεων ήταν

ανέκαθεν διέξοδος απασχόλησης μεγάλου μέρους του πληθυσμού των παραμεσογειικών χωρών. Σημαντικό πλεονέκτημα των παραγόμενων προϊόντων είναι η υψηλότερη ποιότητά τους σε σχέση με αντίστοιχα αγελαδινά (Παππάς και Καλαντζόπουλος, 2007).

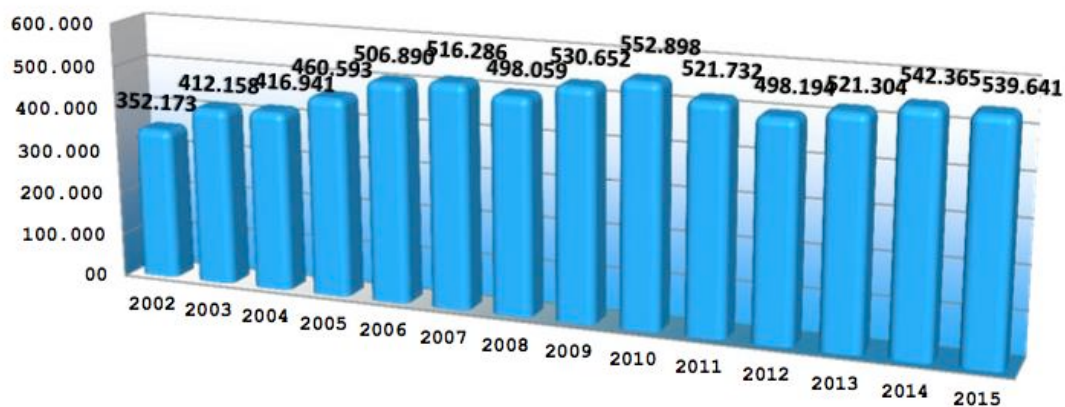
Η παραγωγή αγελαδινού και αιγοπρόβειου γάλακτος στην Ελλάδα παρουσίασε αυξητική πορεία από το 1990 έως και το 2004. Το έτος 2004 μέχρι και το 2012 η ετήσια παραγόμενη ποσότητα γάλακτος ήταν μειωμένη και συγκεκριμένα το 2012 κυμαινόταν στα επίπεδα του 1995 (ICAP, 2013).

Η ετήσια παραγωγή αγελαδινού γάλακτος στην Ελλάδα σύμφωνα με στοιχεία του ΕΛΟΓΑΚ παρουσίασε μικρή κάμψη τη χρονική περίοδο μεταξύ 2003-2006, στη συνέχεια σταθεροποιήθηκε και από το 2007 και έπειτα η πορεία της ήταν πτωτική με χαμηλό ετήσιο ρυθμό μεταβολής (Διάγραμμα 4).



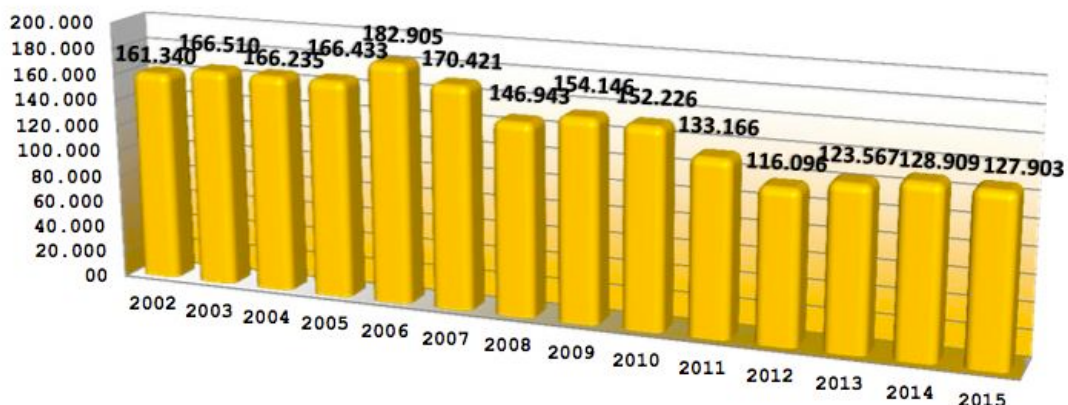
Διάγραμμα 4: Εξέλιξη του αριθμού των παραγωγών, των ποσοστώςσεων και της παραγόμενης ποσότητας γάλακτος (σε τόνους) (ΕΛΓΟ-ΔΗΜΗΤΡΑ, 2015)

Η παραγωγή πρόβειου γάλακτος σημείωσε ανοδική πορεία το χρονικό διάστημα 2002 με 2007, ανήλθε στους 516.286 τόνους και έπειτα μέχρι και το 2015 ο ετήσιος ρυθμός μεταβολής της παραγόμενης ποσότητας ήταν χαμηλός και παρουσίασε μικρές διακυμάνσεις (Διάγραμμα 5).



Διάγραμμα 5: Παραδόσεις πρόβειου γάλακτος ανά ημερολογιακό έτος (σε τόνους)
(ΕΛΟΓΑΚ, 2016)

Το πρόβειο γάλα παράγεται κατά κύριο στην περιφέρεια της Δυτικής Ελλάδας σε ποσοστό 18,6% της συνολικά παραγόμενης ποσότητας και ακολουθεί η Θεσσαλία με ποσοστό 17% (ΕΛΟΓΑΚ, 2014)



Διάγραμμα 6: Παραδόσεις αίγειου γάλακτος ανά ημερολογιακό έτος (σε τόνους)
(ΕΛΟΓΑΚ, 2016)

Οι συνολικές ποσότητες αίγειου γάλακτος που παρήχθησαν κατά τη χρονική περίοδο 2002-2015 φαίνονται στο **Διάγραμμα 6**. Στο σύνολο η παραγόμενη ποσότητα αίγειου γάλακτος ήταν χαμηλότερη του πρόβειου. Η πορεία της παραγωγής από το 2002 έως και το 2006 ήταν ανοδική αγγίζοντας τους 182.905 τόνους. Η ετήσια παραγόμενη ποσότητα αίγειου γάλακτος από το 2006 μέχρι και το 2015 παρουσίασε σταδιακή μείωση με μικρές διακυμάνσεις.

1.4. Προϊόντα αίγειου γάλακτος

Το αίγειο γάλα χρησιμοποιείται παγκοσμίως για την παραγωγή προϊόντων με κυριότερα το τυρί και το γιαούρτι. Βρίσκει εφαρμογή στην παρασκευή και άλλων γαλακτοκομικών προϊόντων όπως το παγωτό, το βούτυρο, τα γλυκά, οι πρωτεΐνες του ορού, η σκόνη γάλακτος, το συμπυκνωμένο γάλα, τα αναψυκτικά και σε ένα πλήθος άλλων εγχώριων προϊόντων (Pandya and Ghodke, 2007; Park and Haenlein, 2007; Ribeiro and Ribeiro, 2010).

1.4.1. Ζυμούμενα γαλακτοκομικά προϊόντα, γιαούρτι

Το αίγειο γάλα χάρη στην ξεχωριστή χημική του σύσταση συνίσταται ως θεραπευτικό λειτουργικό τρόφιμο και η ζύμωσή του από συγκεκριμένους μικροοργανισμούς ενισχύει την παρουσία επιθυμητών βιονεργών συστατικών. Τα ζυμούμενα γαλακτοκομικά προϊόντα παρασκευάζονται με επιλεγμένα στελέχη όπως είναι ο *Lactobacillus acidophilus* ή στελέχη του *Bifidobacterium spp.* (Ishida et al., 2005) και πολλά άλλα. Η παρουσία των οξυγαλακτικών βακτηρίων (Lactic Acid Bacteria, **LAB**) στα διάφορα ζυμούμενα γαλακτοκομικά προϊόντα σχετίζεται με ενίσχυση της ανεκτικότητας στη λακτόζη, βελτίωση της σύνθεσης της μικροχλωρίδας του εντέρου, αντιμικροβιακή δραστηριότητα, ενίσχυση του ανοσοποιητικού, αντικαρκινική και υποχοληστεραιμική δράση (Kullisaar et al., 2003).

Τα ζυμούμενα γαλακτοκομικά προϊόντα ως λειτουργικά τρόφιμα έχουν ευεργετική επίδραση στην υγεία, βελτιώνοντας κυρίως τη μικροβιακή ισορροπία του εντέρου. Οι εναρκτήριοι καλλιέργειες που επιλέγονται υποχρεωτικά για την παρασκευή του «γιαουρτιού» είναι οι *Streptococcus thermophilus* και ο *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus* που προλαμβάνουν την εμφάνιση σηπτικών καταστάσεων στο έντερο. Η διερεύνηση των ωφέλιμων ιδιοτήτων του γιαουρτιού γίνεται με επίκεντρο τις παραδοσιακές καλλιέργειές του και κάποιες δευτερεύουσες που προστίθενται με στόχο την ενίσχυση της θρεπτικής του αξίας. Τα πλεονεκτήματα του γιαουρτιού και των προβιοτικών στην υγεία είναι πολλαπλά και αυτά που τους αποδίδονται κυρίως είναι: αύξηση της απορρόφησης του ασβεστίου (**Ca**), ενίσχυση του ανοσοποιητικού, μείωση εμφάνισης καρκίνου του παχέος εντέρου, βελτίωση της πεπτικότητας και εξισορρόπηση της εντερικής μικροχλωρίδας (Pannell & Schoenfuß, 2007). Οι περισσότερες επιστημονικές μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί σχετικά με τα οφέλη των εναρκτηρίων καλλιεργειών του γιαουρτιού έχουν εστιάσει κυρίως στη βελτίωση φαινομένων δυσανεξίας στη λακτόζη. Η λακτόζη κατά τη διάρκεια της ζύμωσής της μειώνεται στο 30%

της αρχικής της συγκέντρωσης (Adolfsson et al., 2004). Το 80% των ενηλίκων στερούνται της ικανότητας διάσπασης του β-γλυκοζιτικού δεσμού της λακτόζης. Η αναγωγή της λακτόζης κατά τη ζύμωσή της και η απελευθέρωση ενεργών ενζύμων βελτιώνουν την πέψη του γάλακτος και του γιαουρτιού από άτομα δυσανεκτικά στη λακτόζη. Συμπληρωματικά με τις εναρκτήριες καλλιέργειες του γιαουρτιού (*Streptococcus thermophilus* και *Lactobacillus bulgaricus*) προστίθενται και προβιοτικοί μικροοργανισμοί (*Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium spp.*).

1.4.2. Τυρί

Τα αίγια τυριά έχουν περιγραφεί σε πλήθος βιβλίων και μεταξύ των 300 πιο γνωστών τυριών παγκοσμίως τα 60 είναι τυριά που παρασκευάζονται αποκλειστικά από αίγιο γάλα (Kaufelt & Thorpe, 2006). Τα πιο γνωστά αίγια τυριά έχουν κυρίως γαλλική προέλευση μεταξύ των οποίων και το **Bouche de Poitou**. Η ετήσια παραγωγή του συγκεκριμένου τυριού για το 2001 ανήλθε στους 4268 τόνους συνεισφέροντας σε ποσοστό 6,6% της συνολικά παραγόμενης ποσότητας τυριών της Γαλλίας (Rubino et al., 2004).

Το 2012, στον παγκόσμιο διαγωνισμό τυροκομίας στο Βισκοζίν διαγωνίστηκαν συνολικά 2504 τυριά. Ο διαχωρισμός των τυριών έγινε σε 82 κλάσεις εκ των οποίων οι 6 ήταν για τα αίγια τυριά: μαλακό, αρωματικό-μαλακό, με επιφανειακή ανάπτυξη μυκήτων, ημίσκληρο, αρωματικό-ημίσκληρο, σκληρό και αίγιο-βουτυρώδες (Archwamety, 2012).

Το πιο διάσημο Π.Ο.Π ελληνικό τυρί είναι η **Φέτα**. Η παρασκευή της γίνεται αποκλειστικά με πρόβειο και αίγιο γάλα και η δομή της, ο χρόνος ωρίμανσης, τα μικροβιολογικά και τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά διαφέρουν ανάλογα με τις παραδόσεις και τον τόπο παρασκευής (Anifantakis, 1991b). Χαρακτηριστικό της Ελληνικής κτηνοτροφίας είναι η παράλληλη βόσκηση των αιγοπροβάτων και η παρασκευή τυριών με μίξη του γάλακτος τους σε αντίθεση με την εντατική μορφή αιγοτροφίας που εφαρμόζεται στη Γαλλία.

Στην Ελλάδα, εκτός της Φέτας, παράγονται συνολικά 21 Π.Ο.Π τυριά εκ των οποίων πολλά παρασκευάζονται με τη χρήση ποσοστού αίγειου γάλακτος (**Πίνακας 1**).

Πίνακας 1: Κατάλογος Ελληνικών τυριών Π.Ο.Π

Όνομα τυριού	Είδος γάλακτος	Μέγιστη υγρασία (%)	Ελάχιστο λίπος επί ξηρού (%)
Τυριά Άλμης			
Φέτα	Πρόβειο-Αίγαιο	56%	43%
Καλαθάκι Λήμνου	Πρόβειο-Αίγαιο	56%	43%
Σφέλλα	Πρόβειο-Αίγαιο	45%	40%
Μπάτζος	Πρόβειο-Αίγαιο	45%	25%
Μαλακά τυριά			
Γαλοτύρι	Πρόβειο-Αίγαιο	75%	40%
Κατίκι Δομοκού	Πρόβειο-Αίγαιο	75%	40%
Πηχτόγαλο Χανίων	Πρόβειο-Αίγαιο	65%	50%
Ανεβατό	Πρόβειο-Αίγαιο	60%	45%
Κοπανιστή	Πρόβειο-Αίγαιο-Αγελαδινό	56%	43%
Ημίσκληρα τυριά			
Κασέρι	Πρόβειο-Αίγαιο	40%	40%
Σκληρά τυριά			
Κεφαλογραβιέρα	Πρόβειο-Αίγαιο	40%	40%
Γραβιέρα Αγράφων	Πρόβειο-Αίγαιο	38%	40%
Γραβιέρα Κρήτης	Πρόβειο-Αίγαιο	38%	40%
Λαδοτύρι Μυτιλήνης	Πρόβειο-Αίγαιο	38%	40%
Μετσοβόνη	Αγελαδινό ή Πρόβειο-Αίγαιο	Αγελαδινό- 38%	40%
Φορμαέλλα Παρνασσού	Πρόβειο-Αίγαιο	50%	40%
Τυριά Τυρογάλακτος			
Μανούρι	Πρόβειο-Αίγαιο	60%	70%
Ξινομυζήθρα Κρήτης	Πρόβειο-Αίγαιο	55%	45%

(Ανυφαντάκης 2004)

1.5. Η χημική και μικροβιολογική σύσταση του αίγειου γάλακτος

1.5.1. Χημική σύσταση αίγειου γάλακτος

Το γάλα είναι μία σύνθετη βιολογική έκκριση, στην οποία συνυπάρχουν όλες οι μορφές διαμερισμού - αδρομερής, κολλοειδής, μοριακή – (Ανυφαντάκης, Καλαντζόπουλος, 1993). Η σύστασή του είναι πλούσια με όλα τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά για την ανάπτυξη των νεογέννητων ζώων. Τα συστατικά του γάλακτος διακρίνονται σε κύρια, όπως είναι οι πρωτεΐνες, τα λιπίδια, οι υδατάνθρακες, οι βιταμίνες και τα ανόργανα συστατικά, και σε δευτερεύοντα, τα οποία βρίσκονται σε μικρότερες ποσότητες και πολλά από αυτά έχουν

μεγάλη βιολογική αξία (π.χ. αντιβακτηριακά πεπτίδια, αντιμικροβιακές πρωτεΐνες, ανοσοσφαιρίνες, ολιγοσακχαρίτες και άλλα).

Η ποσότητα και η χημική σύσταση του γάλακτος διαφέρει σε επίπεδο είδους και μεταξύ ζώων του ίδιου είδους (**Πίνακας 2**) και καθορίζεται από πολλούς παράγοντες, όπως είναι το στάδιο της γαλακτικής περιόδου, το μεσοδιάστημα μεταξύ των αμέλξεων, η ηλικία του ζώου, οι περιβαλλοντικές συνθήκες, η διάρκεια της ξηράς περιόδου (ΞΠ), η εποχή και φυσικά η παρουσία ασθενειών, όπως είναι η μαστίτιδα.

Η χημική σύσταση του γάλακτος διαμορφώνει τη θρεπτική του αξία και κατ' επέκταση την καταλληλότητά του ως πρώτη ύλη για την παρασκευή γαλακτοκομικών και άλλων προϊόντων. Το γάλα των μηρυκαστικών σε σύγκριση με αυτό των μονογαστρικών και των παμφάγων είναι πλουσιότερο σε πρωτεΐνη, λίπος, ανόργανα συστατικά και ολικά στερεά (Medhammar et al., 2012, Park et al., 2007, Potocnik et al., 2011, Salimei et al., 2004, Sheng et al., 2008, Simos et al., 1991, Zhao et al., 2015). Η σύσταση του πρόβειου και βουβαλίσιου γάλακτος έχει μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες, λίπος και ξηρά ουσία (ΞΟ) συγκριτικά με των υπόλοιπων μηρυκαστικών (Abd El-Salam and Shibiny, 2011, Anifantakis, 1986, Li et al., 2011).

Πίνακας 2: Χημική σύσταση των κυριότερων ειδών γάλακτος

Συστατικά (g/kg)	Αγελαδινό	Αίγιο	Πρόβειο
Ξηρά ουσία	127 (105-137)	132 (119-163)	178 (152-193)
Πρωτεΐνη	34 (29-50)	36 (25-51)	57(50-65)
Λίπος	38 (25-60)	43 (25-78)	74 (51-90)
Λακτόζη	48 (36-55)	44 (39-63)	48 (37-55)
Ανόργανα άλατα	7 (6-9)	8 (7-11)	9 (7-10)
Ενέργεια (kcal/kg)	590-701	580-740	930-1080

(Abd El-Salam and El-Shibiny (2011), Anifantakis (1986), Ballard and Morrow (2013), Guo et al. (2007), Jenness (1979), Li et al. (2011), Martini et al. (2014b), Medhammar et al. (2012), Park et al. (2007), Potocnik et al. (2011), Salimei et al. (2004), Shamsia (2009), Sheng et al. (2008), Simos et al. (1991), Uniake-Lowe (2011), and Zhao et al. (2015))

1.5.1.1. Πρωτεΐνες του γάλακτος

Η μέση περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη του αγελαδινού (3,3%) γάλακτος είναι μικρότερη από αυτή του πρόβειου (5,5%) και του αίγιου (4,6%). Η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη ποικίλει

μεταξύ των διαφόρων ειδών και επηρεάζεται από παράγοντες όπως είναι η φυλή του ζώου, το στάδιο της γαλακτικής περιόδου, το κλίμα, η διατροφή, οι περιβαλλοντικές συνθήκες και η υγιεινή κατάσταση του μαστού του ζώου. Οι κύριες πρωτεΐνες στο αγελαδινό, το αίγαιο και το πρόβειο γάλα είναι ίδιες διαφέρουν όμως ως προς τα ποιοτικά τους χαρακτηριστικά (Parke et al., 2007).

Οι πρωτεΐνες του γάλακτος διακρίνονται σε δυο κύρια πρωτεϊνικά κλάσματα τις καζεΐνες και τις πρωτεΐνες του ορού, που αποτελούν το 2,6% και 0,7% των συστατικών του γάλακτος αντίστοιχα (Waalstra et al., 2006).

Η οξίνιση του άπαχου γάλακτος σε pH 4,6 και θερμοκρασία 20°C έχει ως αποτέλεσμα την κατακρήμνιση σημαντικού τμήματος των πρωτεϊνών και συγκεκριμένα των καζεϊνών. Οι καζεΐνες είναι το τμήμα των πρωτεϊνών που κατακρημνίζεται κατά την οξίνιση του γάλακτος ενώ οι πρωτεΐνες του ορού παραμένουν διαλυτές (Ανυφαντάκης, Καλατζόπουλος, 1993).

1.5.1.1.1. Καζεΐνες

Οι καζεΐνες υπάρχουν στο γάλα ως πολυμερή, κατά κύριο λόγο με τη μορφή πρωτεϊνικών κοκκίων, που ονομάζονται μικκύλια και με βάση τον αριθμό και την αλληλουχία των αμινοξέων στο μορίό τους διακρίνονται σε α_{s1} -, α_{s2} -, β - και κ -καζεΐνες και ανόργανα συστατικά μεταξύ των οποίων κυριαρχούν το Ca και ο φώσφορος (P) (Walstra et al., 2004; Ng-Kwai-Hang et al., 2011; Ανυφαντάκης, 2004; Eigel et al., 1984). Στο γάλα πέρα των τεσσάρων βασικών καζεϊνών υπάρχουν και προϊόντα πρωτεόλυσης αυτών, οι γ -καζεΐνες και ορισμένες πρωτεόζες-πεπτόνες που προέρχονται από τη δράση της πλασμίνης στη β -καζεΐνη (Walstra et al., 2006).

Οι καζεΐνες είναι μικρού μεγέθους αμφίφιλα μόρια με υψηλά ποσοστά υπολλειμάτων προλίνης τα οποία έχουν άμεση επίδραση στη δομή της πρωτεΐνης καθώς διακόπτουν την α -ελικοειδή και β -πτυχωτή δομή και εμφανίζονται συνήθως στις β -στροφές (Swaisgood, 1992). Η ιδιαιτερότητα της δομής τους τις καθιστά ανθεκτικές στη μετουσίωση και ευαίσθητες στην υδρόλυση (Waalstra et al., 2006).

Τα καζεϊνικά μόρια χαρακτηρίζονται από σχετικά υψηλό φορτίο, υψηλή συγκέντρωση σε προλίνη και σχετικά χαμηλή σε κυστεΐνη με αποτέλεσμα να παρουσιάζουν ελάχιστη δευτεροταγή και τριτοταγή δομή. Το υψηλό φορτίο των καζεϊνών οφείλεται εν μέρει στην ιδιότητά τους να φωσφορυλιώνονται σε υπολείμματα θρεονίνης. Η παρουσία φωσφορικών ομάδων συμβάλλει στη δέσμευση δισθενών ιόντων, όπως είναι το Ca^{2+} γεγονός πολύ σημαντικό για τη διατροφική αξία του γάλακτος. Οι α_{s2} -, α_{s1} -, και β - καζεΐνες παρουσιάζουν μεγάλη ευαισθησία στην παρουσία Ca^{2+} σε αντίθεση με την κ - καζεΐνη. Η κ - καζεΐνη

κατανέμεται κυρίως στην εξωτερική επιφάνεια των καζεϊνικών μικκυλίων και τα υπόλοιπα κλάσματα στο εσωτερικό (Farrell et al., 2003).

Χαρακτηριστικό της κ- καζεΐνης στο οποίο οφείλεται και η μεγάλη ανομοιογένεια των πρωτεϊνών αυτής της οικογένειας είναι η γλυκοζυλίωση. Το γλυκοζυλιωμένο κλάσμα αντιστοιχεί μόλις στο 5% της κ- καζεΐνης με αποτέλεσμα η μη γλυκοζυλιωμένη περιοχή να αποτελεί το κυρίαρχο συστατικό της. Στο γάλα οι υδατάνθρακες συνίστανται από τρεις μονοσακχαρίτες: τη γαλακτόζη (Gal), το N-ακετυλ-νευραμινικό οξύ (AcNeu) και τη γαλακτοζαμίνη (GalNAc). Οι μονοσακχαρίτες σχηματίζουν τρι- ή τετρασακχαρίτες (Swaisgood, 1992) και είναι γλυκοζυλιωμένοι σε ένα τουλάχιστον από τα τέσσερα υπολείμματα θρεονίνης, κυρίως όμως στο υπόλειμμα Thr¹³⁵ (Eigel et al., 1984; Jolles et al., 1972; Mercier et al., 1973).

Ο λόγος καζεΐνες:πρωτεΐνες του ορού παρουσιάζει μεγάλες διακυμάνσεις ανάλογα με το είδος του οργανισμού. Στο ανθρώπινο γάλα η αναλογία είναι 40:60 και στο γάλα των μηρυκαστικών κυμαίνεται στο 80:20 με σημαντική επίδραση στην τυροκόμηση.

Η συγκέντρωση των καζεϊνών διαφέρει ανάλογα με το είδος του ζώου (**Πίνακας 3**). Στην αίγα η β- καζεΐνη απαντάται σε μεγαλύτερο ποσοστό σε σύγκριση με τα υπόλοιπα κλάσματα (Al haj and Al Kanhal, 2010, Kappeler et al., 2003, Moatsou et al., 2006, Selvaggi et al., 2014).

Τα κλάσματα των καζεϊνών είναι δυνατόν να βρίσκονται στο γάλα με διαφορετικές γενετικές παραλλαγές, οι οποίες οφείλονται σε διαφορές ως προς τα υπολείμματα αμινοξέων ή σε απαλοιφές τμημάτων της πεπτιδικής αλυσίδας που μπορεί να έχουν ως αποτέλεσμα διαφοροποιήσεις στο ηλεκτρικό φορτίο, το μοριακό βάρος, τη γλυκοζυλίωση και την υδροφοβία (Pirisi et al., 1999β).

Οι κύριες καζεΐνες του αίγειου γάλακτος είναι ίδιες με αυτές του πρόβειου και του αγελαδινού (Park et al., 2007). Το γάλα των Ελληνικών αυτόχθονων φυλών αιγών περιέχει περισσότερο λίπος και πρωτεΐνη (κυρίως καζεΐνη) σε σχέση με το γάλα των βελτιωμένων διεθνών φυλών. Οι αποδόσεις σε γάλα των εγχώριων φυλών αν και είναι χαμηλές, το εν λόγω γάλα φαίνεται καταλληλότερο για τυροκόμηση, ενώ το γάλα των βελτιωμένων φυλών χρησιμοποιείται κυρίως για την παρασκευή τυριών όξινης πήξης (Moatsou et al., 2008).

Οι β- και α_{s1}- καζεΐνες λόγω της γενετικής τους ποικιλομορφίας, σε ορισμένες φυλές αιγών, είναι δυνατόν να βρίσκονται στο γάλα σε μικρά ποσοστά ή και να απουσιάζουν. Το γονίδιο της α_{s1}- καζεΐνης είναι ισχυρά πολυμορφικό και τα διαφορετικά αλληλόμορφα επηρεάζουν την περιεκτικότητα του αίγειου γάλακτος σε πρωτεΐνη. Η α_{s1}- καζεΐνη κατα μέσο όρο αντιπροσωπεύει το 10% της ολικής καζεΐνης αλλά ποικίλλει από 0-25% ανάλογα με το γονότυπο του ζώου (Jordana et al., 1996). Η μελέτη του γενετικού πολυμορφισμού της α_{s1}-

καζεΐνης ανέδειξε την ύπαρξη 14 αλληλόμορφων γονιδίων τα οποία αντιστοιχούν σε 7 ηλεκτροφορητικές παραλλαγές. Οι διαφορετικοί ρυθμοί σύνθεσης της *as1*- καζεΐνης συνδέονται με της διαφορετικές παραλλαγές (Roncada et al., 2002).

Οι γενετικές παραλλαγές της *as1*- καζεΐνης είναι δυνατόν να κατηγοριοποιηθούν σε τέσσερις ομάδες: (α) τις «ισχυρές» γενετικές παραλλαγές (A, B₁, B₂, B₃, B₄, B_κ, C, H, L) οι οποίες σχετίζονται με υψηλά ποσοστά σύνθεσης της *as1*- (~3,5g/L ανά αλληλόμορφο), (β) τις «μέτριες» γενετικές παραλλαγές (~1,1-1,7/L ανά αλληλόμορφο), (γ) τις «ασθενείς» γενετικές παραλλαγές (F, G) και (δ) τις «μηδενικές» γενετικές παραλλαγές (O₁, O₂ και N) οι οποίες δεν παράγουν *as1*-καζεΐνη στο γάλα (Devold et al., 2011, Moatsou et al., 2006, Selvagi et al., 2014). Η παρουσία των «ισχυρών» και «μέτριων» γενετικών παραλλαγών στο γάλα σχετίζεται με χαμηλότερο pH και μικρότερο μέγεθος καζεϊνικών μικκυλίων σε σχέση με γάλα που περιέχει τις «ασθενείς» και «μηδενικές» γενετικές παραλλαγές. Η αυξημένη συγκέντρωση της *as1*- καζεΐνης στο γάλα συμβάλλει στη διαμόρφωση πήγματος μεγαλύτερης σταθερότητας, σε αύξηση της παραγόμενης ποσότητας τυριού και τελικά σε πιο συνεκτικής δομής τυρί (Devold et al., 2011, Skeie et al., 2014, Skeie, 2014). Στο γάλα Ευρωπαϊκών φυλών αίγας έχουν απομονωθεί σε πολύ μικρά ποσοστά «ασθενείς» και «μηδενικές» γενετικές παραλλαγές της *as1*- καζεΐνης. Εξάιρεση αποτελεί η αίγα της Νορβηγίας, στο γάλα της οποίας η συγκέντρωση της «μηδενικής» γενετικής παραλλαγής είναι υψηλή, και η αίγα της Ισπανίας (Κανάριοι Νήσοι) και η ιταλική Frisa, στις οποίες η περιεκτικότητα σε «μηδενική» γενετική παραλλαγή της *as1*- είναι 20% και 10% αντίστοιχα (Caroli et al. 2006, Jordana et al., 1996).

Πίνακας 3: Προφίλ καζεϊνών γάλακτος διαφόρων μηρυκαστικών

Καζεΐνη	Είδος γάλακτος			
	Αγελαδινό	Βουβαλίσιο	Αίγιο	Πρόβειο
Ολική καζεΐνη (g/kg)	26 (24-28)	37 (27-50)	30 (23-38)	48 (41-66)
<i>as1</i> - καζεΐνη (% της ολικής)	41 (31-58)	40 (31-52)	4,5-34	26 (7-40)
<i>as2</i> - καζεΐνη (% της ολικής)	11 (7-15)	10 (6-17)	16 (9-25)	14 (12-23)
β- καζεΐνη (% της ολικής)	33 (28-38)	38 (35-46)	56 (34-64)	42 (34-62)
κ- καζεΐνη (% της ολικής)	12 (9-20)	14 (11-16)	13 (10-19)	10 (7-23)
γ- καζεΐνη (% της ολικής)	5 (4-8)	4 (3-5)	5-6	

(Abd El Salam and El Shibiny (2011), Ahmad et al. (2013), Clayes et al. (2014), Guo et al. (2007), Hambreaws (1984), Jenness (1979), Mayer and Fiechter (2012), Moatsou et al. (2004a, b, 2008), Potocnik et al. (2011), Uniak-Lowe et al. (2010), Walstra et al. (2006) and Zhao et al. (2015))

Η β- καζεΐνη αντιστοιχεί στο κύριο κλάσμα των καζεϊνών του αίγειου γάλακτος (Jandal, 1996; Moiolli et al., 1998) . Ο πολυμορφισμός της έχει μελετηθεί και έχουν βρεθεί πολλοί αλληλόμορφοι που εκφράζουν διαφορετικά επίπεδα συγκέντρωσης στο γάλα. Η ετερογένεια της εν λόγω πρωτεΐνης εξαρτάται από την πολλαπλή φωσφορυλίωση της πεπτιδικής αλυσίδας, ωστόσο σε μερικά είδη αίγειου γάλακτος είναι δυνατόν να απουσιάζει πλήρως. Η μελέτη της ενζυμικής πήξης γαλάτων χωρίς β- καζεΐνη έδειξε ότι ο χρόνος πήξης είναι μεγαλύτερος (10-25min) σε σχέση με το κανονικό γάλα (4-7min) και παρατηρήθηκε σχηματισμός ασθενέστερου πήγματος (Chianese et al., 1993; Park et al., 2007). Συνολικά έχουν ταυτοποιηθεί 8 αλληλόμορφα τα Α(πρωτεΐνη αναφοράς), Α1 (“σιωπηλό”), Ο΄, Ο, Β, C, D και Ε. Το αλληλόμορφο Ο και Ο΄είναι τα μηδενικά αλληλόμορφα και είναι υπεύθυνα για την απουσία της β- καζεΐνης από το γάλα (Marletta et al., 2007).

1.5.1.1.2. Πρωτεΐνες του ορού

Οι κυριότερες πρωτεΐνες που βρίσκονται στον ορό του γάλακτος, μετά από την καθίζηση των καζεϊνών, είναι η α-γαλακταλβουμίνη (α-La), η β-γαλακτοσφαιρίνη (β-Lg), η αλβουμίνη του ορού (BSA), οι ανοσοσφαιρίνες (Ig) και σε μικρότερες συγκεντρώσεις η λακτοσιδερίνη (BLF) και η ομάδα των πρωτεοζών-πεπτονών (PP) (Walstra et al., 2006). Οι πρωτεΐνες του ορού περιλαμβάνουν πέρα των άλλων πρωτεϊνών του ορού και το γλυκομακροπεπίδιο (GMP) που προκύπτει μέσω της υδρόλυσης της κ- καζεΐνης από τη χυμοσίνη.

Οι πρωτεΐνες του ορού αποτελούν περίπου το 18-20% των πρωτεϊνών του γάλακτος και σε μεγαλύτερη αναλογία υπάρχουν στο γάλα των μονογαστρικών, το μητρικό και το πρωτόγαλα. Η βιοσύνθεσή τους γίνεται στο μαστό, με εξαίρεση την BSA και ορισμένες Ig που μεταφέρονται από το αίμα.

Οι πρωτεΐνες του ορού βρίσκονται στο γάλα σε μοριακή μορφή ή ως μικρά συσσωματώματα. Η κατηγορία αυτή των πρωτεϊνών έχει ανεπτυγμένη δευτεροταγή και τριτοταγή δομή σε αντίθεση με τις καζεΐνες (Walstra et al., 2006). Οι πρωτεΐνες του ορού είναι συτατικά πλούσια σε θείο (S) (1,7%) και περιέχουν κυστεΐνη ή/και κυστίνη, σε αντίθεση με τις καζεΐνες, την ανεπάρκεια των οποίων αναπληρώνουν όταν καταναλίσκονται μαζί (Ανυφαντάκης, Καλατζόπουλος, 1993).

Οι πρωτεΐνες του ορού, με εξαίρεση την ομάδα των PP, είναι σφαιρικές πρωτεΐνες και στη διαμόρφωσή τους συμμετέχει η α-έλικα και η β-πτυχωτή επιφάνεια. Η ύπαρξη τριτοταγούς δομής των πρωτεϊνών του ορού αυξάνει την ευαισθησία τους στη θέρμανση (90° C/10min) με

αποτέλεσμα τη μετουσίωσή τους και την κατακρήμνιση αυτών στην επιφάνεια των καζεϊνικών μικκυλίων.

Η συγκέντρωση των πρωτεϊνών του ορού στο γάλα των μηρυκαστικών κυμαίνεται στο 19-20%. Το πρόβειο γάλα χαρακτηρίζεται από τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε ολικές πρωτεΐνες του ορού και ακολουθούν το βουβαλίσιο, το αγελαδινό και το αίγειο (**Πίνακας 4**). Η α-La μετά τη β-Lg είναι το δεύτερο συστατικό από άποψη ποσότητας στο γάλα των μηρυκαστικών και αποτελεί το 20% του συνόλου των πρωτεϊνών και το 3,5% των πρωτεϊνών του ορού. Η περιεκτικότητα του γάλακτος σε α-La συσχετίζεται με την περιεκτικότητά του σε λακτόζη (Κεχαγιάς, 2011). Ο βιολογικός ρόλος της α-La είναι η συμμετοχή της στη σύνθεση της λακτόζης ως συνένζυμο (Ανυφαντάκης, Καλατζόπουλος, 1993). Στο εσωτερικό της προσδένονται ιόντα Ca^{2+} που σταθεροποιούν τη δομή της. Η μείωση του pH σε τιμές κοντά στο 4 αποσταθεροποιούν τη δομή της με αποτέλεσμα να παρουσιάζει ευαισθησία στη θέρμανση (Walstra et al., 2006).

Η β-Lg είναι η κύρια πρωτεΐνη του ορού του γάλακτος και η συμπεριφορά της κατά τη θερμική επεξεργασία καθορίζει και την τεχνολογική συμπεριφορά του γάλακτος. Η θέρμανσή της σε υψηλές θερμοκρασίες έχει ως συνέπεια τον σχηματισμό συμπλόκων με την κ-καζεΐνη. Η σύνθεση της πραγματοποιείται στο μαστό του ζώου και αποτελεί το 50-60% του κλάσματος των αλβουμινών.

Πίνακας 4: Προφίλ πρωτεϊνών του ορού διαφόρων μηρυκαστικών

Πρωτεΐνη	Είδος γάλακτος			
	Αγελαδινό	Βουβαλίσιο	Αίγειο	Πρόβειο
Ολικές πρωτεΐνες του ορού (g/kg)	6 (5-7)	7 (6-10)	5 (3-12)	11 (8-16)
β-γαλακτογλοβουλίνη (% της ολικής)	51 (33-67)	56 (43-63)	47 (34-77)	51 (28-72)
α-γαλακτοαλβουμίνη (% της ολικής)	20 (16-25)	24 (16,7-43,3)	27 (17-50)	25 (13-45)
Αλβουμίνη του ορού (% της ολικής)	6-7,5	4 (0,3-5)	5-22	6
Λακτοφερρίνη (g/kg)	0,02-0,5	0,02-0,3	0,02-0,3	0,7-0,9
Ανοσογλοβουλίνες (g/kg)	0,15-1,0	0,5-1,3	0,15-0,5	0,5-0,7
Καζεΐνη/Πρωτεΐνη του ορού	4,5	4,6	4	4,4
ΜΠΦΝ (% του ολικού αζώτου)	3-8	5-7	7-12	6-9

(Abd El Salam and El Shibiny (2011), Ahmad et al. (2013), Clayes et al. (2014), Guo et al. (2007), Hambraews (1984), Jennes (1979), Mayer and Fiechter (2012), Moatsou et al. (2004a,b 2008), Potocnik et al. (2011), Uniake-Lowe et al. (2010), Walstra et al. (2006), Zhao et al. (2015))

Οι Ig είναι αντισώματα τα οποία συντίθενται με σκοπό την αντιμετώπιση συγκεκριμένων αντιγόνων ιδιαίτερα στην περίπτωση των νεογνών. Η συμπεριφορά τους κατά τη θέρμανση και τη ψύξη του γάλακτος παρουσιάζει ιδιαίτερο τεχνολογικό ενδιαφέρον, κυρίως γιατί με

την ψύξη του γάλακτος συμβάλλουν στο σχηματισμό συσσωμάτων από λιποσφαίρια, ενώ κατά τη θερμική επεξεργασία του γάλακτος μετουσιώνονται επιδρώντας δυσμενώς στην αποκορυφωτική ικανότητα του γάλακτος (Κεχαγιάς, 2011). Συνολικά υπάρχουν πέντε ομάδες ανοσοσφαιρινών και στο γάλα εντοπίζονται οι τρεις (IgG, IgM, IgA).

Η BSA προέρχεται από το αίμα του γαλακτοφόρου ζώου, με την αλβουμίνη του οποίου έχουν ίδια σύσταση σε αμινοξέα, ίδιο μοριακό βάρος και ίδιες ηλεκτροφορητικές ιδιότητες. Η αλβουμίνη του γάλακτος μεταφέρει τα αδιάλυτα ΛΟ στο κυκλοφορικό σύστημα και γι' αυτό το λόγο βρίσκονται σε αυτή προσδεδεμένα ΛΟ τα οποία την προστατεύουν από τη μετουσίωση κατά τη θερμική επεξεργασία του γάλακτος (Κεχαγιάς, 2011).

Οι PP είναι το κλάσμα των πρωτεϊνών που δεν καθιζάνουν ύστερα από θέρμανση στους 95-100° C/20min και οξύνιση σε pH=4,6 αλλά καταβυθίζονται σε συγκέντρωση τριχλωρικού οξέος (TCA) 12% (Κεχαγιάς, 2011). Η θέρμανση τους σε υψηλές θερμοκρασίες, σε αντίθεση με τις υπόλοιπες πρωτεΐνες του ορού, δεν επιφέρει την αλλοδομησή τους. Στην κατηγορία αυτή υπάγονται 4 διαφορετικά κλάσματα, το «3», το «5», το «8-αργό» και το «8-γρήγορο», από αυτά τα 4 τη μεγαλύτερη συγκέντρωση σε σάκχαρα περιέχει το «3. Το κλάσμα «3» αποτελεί συστατικό της μεμβράνης των λιποσφαιρίων, ασκώντας προστατευτική δράση έναντι των λιπολυτικών ενζύμων και διακρίνεται για τις αφροποιητικές και γαλακτοματοποιητικές της ιδιότητες, Τα υπόλοιπα κλάσματα προκύπτουν από τη διάσπαση της β-καζεΐνης από την πλασμίνη (Κεχαγιάς, 2011). Στο μόριο τους περιέχουν σάκχαρα και P και μαζί με τις καζεΐνες είναι τα μοναδικά συστατικά του γάλακτος που περιέχουν σιαλικό οξύ. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν και οι λακτενίνες, ένζυμα υπεύθυνα για τη βακτηριοστατική δράση του γάλακτος τις πρώτες ώρες μετά το άρμεγμα (Ανυφαντάκης και Καλατζόπουλος, 1993).

Στην κατηγορία των πρωτεϊνών του ορού ανήκει και η λακτοφερίνη η λακτοσιδερίνη (BLF). Η BLF είναι ένα βιοδραστικό μόριο, το οποίο ασκεί βακτηριοστατική δράση μέσω της δέσμευσης και της μεταφοράς του σιδήρου. Η BLF παρεμποδίζει τη δράση ορισμένων βακτηρίων όπως του *Bacillus Steatothermophilus* και του *Bacillus Subtilis* (Walstra et al. 2006).

Στις πρωτεΐνες του ορού ανήκει επίσης και μια ομάδα μη πρωτεϊνικών αζωτούχων συστατικών. Η ομάδα αυτή αποτελείται κυρίως από ελεύθερα αμινοξέα, ουρία, οροτικό οξύ, ουρικό οξύ, αμμωνία, αμίνες, κρεατινίνη, νουκλεοτίδια, νουκλεοζίτες, νουκλεϊκές βάσεις, νουκλεϊκά οξέα κ.α. Η περιεκτικότητα σε μη πρωτεϊνικά αζωτούχα συστατικά είναι μεγαλύτερη στο αίγαιο γάλα από ότι στο αγελαδινό (Park et al., 2007, Ramos and Juarez, 2011, Tripaldi et al., 1998). Τα ελεύθερα αμινοξέα που είναι ευκολότερα αφομοιώσιμα από τα υπόλοιπα αμινοξέα αντιπροσωπεύουν το 9-10,5% των μη πρωτεϊνικών αζωτούχων

συστατικών στο αίγιο γάλα (Park et al., 2007, Tripaldi et al., 1998). Η ομάδα των ελευθέρων αμινοξέων αποτελείται κυρίως από μη απαραίτητα αμινοξέα, όπως είναι το γλουταμινικό οξύ, η γλυκίνη και η αλανίνη. Η συγκέντρωση του γάλακτος σε ελεύθερα αμινοξέα παρουσιάζει μεγάλη διακύμανση ανάλογα με το στάδιο της γαλακτικής περιόδου. Το αίγιο και πρόβιο γάλα έχουν μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε ελεύθερα αμινοξέα συγκριτικά με των βοοειδών (Agostini et al., 2000, Mehaia and Al-Kanhal, 1992, Uniake-Lowe et al., 2010). Το πρόβιο γάλα σε σύγκριση με το αίγιο έχει χαμηλότερη περιεκτικότητα σε ελεύθερα αμινοξέα (Rassin et al., 1978). Η ορνιθίνη, η κιτρουλίνη και η ταυρίνη ανήκουν επίσης στην κατηγορία των μη απαραίτητων αμινοξέων και η περιεκτικότητά τους στα διάφορα είδη γάλακτος ποικίλει (Taha and Keilwein, 1990). Ο ρόλος της ταυρίνης είναι ιδιαίτερα σημαντικός. Η συγκεντρωσή της στο πρωτόγαλα είναι αυξημένη και στην συνέχεια μειώνεται. Η ταυρίνη δρα ως μεμβρανικός σταθεροποιητής και συμμετέχει στη σύνθεση των χολικών αλάτων (Park et al., 2007). Το αίγιο γάλα έχει την υψηλότερη περιεκτικότητα σε ταυρίνη και ακολουθεί το ανθρώπινο γάλα (Csapo and Salamon, 2009).

1.5.1.2. Υδατάνθρακες

Η λακτόζη είναι ένας δισακχαρίτης και ο κύριος υδατάνθρακας του γάλακτος. Η σύνθεση της γίνεται στη συσκευή Golgi των κυττάρων του μαστού από ένα μόριο D- γλυκόζης και ένα μόριο D-γαλακτόζης. Η αντίδραση καταλύεται από το ένζυμο γαλακτοζυλο-τρανσφεράση σε συνδυασμό με την παρουσία της α -La (Waalstra et al. 2006). Η σύνθεσή της διαμορφώνει έμμεσα τον όγκο του γάλακτος κατά την έγχυση νερού στη συσκευή Golgi μέσω ωσμωτικής πίεσης (Waalstra et al., 2006).

Η περιεκτικότητα του γάλακτος (αγελαδινό) σε λακτόζη κυμαίνεται στο 4,8%, που αντιπροσωπεύει το 50-52% των στερεών συστατικών του άπαχου γάλακτος. Η συγκέντρωση της λακτόζης στα διαφορετικά είδη γάλακτος παρουσιάζει πολύ μικρότερη διακύμανση συγκριτικά με τα λίπη και πρωτεΐνες, εν ολίγοις η σύνθεση της λακτόζης είναι μια ενζυμική διεργασία παρόμοια σε εντελώς διαφορετικά είδη (Ανυφαντάκης, Καλατζόπουλος, 1993).

Η λακτόζη αξιοποιείται από έναν ζωικό οργανισμό ως βασική πηγή ενέργειας και για να απορροφηθεί πρέπει πρώτα να διασπαστεί σε γλυκόζη και γαλακτόζη. Η διάσπαση της λακτόζης γίνεται με το ένζυμο λακτάση που αφθονεί στο πεπτικό σύστημα των βρεφών. Η συγκέντρωση της λακτόζης είναι αυξημένη κατά τις πρώτες ημέρες μετά τη γέννηση (Schaafsma, 2003, Uniake-Lowe, 2011).

Η λακτόζη μαζί με τα ιόντα καλίου (K), νατρίου (Na) και χλωρίου (Cl) διαμορφώνουν την ωσμωτική πίεση του γάλακτος. Συμβάλλει σε ποσοστό 50% στη διαμόρφωση αυτής της

ιδιότητας και η συγκέντρωσή της στο γάλα μεταβάλλεται αντιστόφως ανάλογα σε σχέση με τη συγκέντρωση των ανόργανων συστατικών.

Το γάλα όλων των θηλαστικών περιέχει σε διαφορετικές συγκεντρώσεις και ολιγοσακχαρίτες οι οποίοι ενισχύουν την ανάπτυξη των bifidobacteria (παράγοντας bifidus). Ο παράγοντας bifidus, που υπάρχει μόνο στο μητρικό γάλα, ενισχύει τη φυσιολογική χλωρίδα του εντέρου, η οποία προστατεύει το νεογέννητο από παθογόνους μικροοργανισμούς (Filteau & Tomkins, 1994). Οι ολιγοσακχαρίτες του γάλακτος αποτελούνται από 3 έως 10 μονοσακχαρίτες. Στο ανάγον τους άκρο περιέχουν λακτόζη, φουκόζη, γαλακτοζαμίνη και N-ακετυλονευραμινικό οξύ. Ο ρόλος τους είναι κυρίως προστατευτικός έναντι βακτηριακών και ιικών μολύνσεων (Kunz and Rudloff, 2006) και διακρίνονται για τις πρεβιοτικές τους ιδιότητες. Τα πρεβιοτικά ως συστατικά τροφίμων δεν απορροφώνται από το ανώτερο τμήμα της γαστρεντερικής οδού δρώντας στο παχύ έντερο ως υπόστρωμα για την ανάπτυξη ενός περιορισμένου αριθμού ευεργετικών βακτηρίων (Gibson & Roberfroid, 1995) μεταξύ των οποίων είναι και τα προβιοτικά.

Το αίγιο γάλα έχει ιδιαίτερα υψηλή περιεκτικότητα σε ολιγοσακχαρίτες (0,25-0,3g/L) και ακολουθεί το βουβαλίσιο (0,1g/L), το αγελαδινό (0,03-0,09g/L) και το πρόβιο (0,02-0,04g/L) γάλα (Abd El-Salam and El-Shibiny, 2011, Martinez-Ferez et al., 2006).

1.5.1.3. Λιπίδια

Τα λιπίδια είναι εστέρες ΛΟ διαλυτά σε μη πολικούς οργανικούς διαλύτες και μη διαλυτά στο νερό. Τα λιπίδια διακρίνονται στα απλά λιπίδια που είναι εστέρες ΛΟ με αλκόολες, όπως είναι οι εστέρες γλυκερόλης ΛΟ και στα σύνθετα λιπίδια που είναι προϊόντα όμοια με τα απλά πλην όμως περιλαμβάνουν και άλλες ομάδες. Ανάλογα με τη φύση των εν λόγω ομάδων διακρίνονται σε: φωσφολιπίδια (περιέχουν φωσφορικό οξύ), γλυκολιπίδια (περιέχουν υδατάνθρακες) και λιποπρωτεΐνες (περιέχουν πρωτεΐνες). Στα λιπίδια κατατάσσονται και ενώσεις, όπως οι στερόλες. Στη λιπαρή φάση του γάλακτος διακρίνονται τρεις κατηγορίες λιπιδίων α. τα ουδέτερα λίπη (τριγλυκερίδια, μονογλυκερίδια) και αποτελούν το 98% περίπου της λιπαρής φάσης, β. τα πολικά λιπίδια (φωσφολιπίδια, γλυκολιπίδια) που αντιπροσωπεύουν το 1% της λιπαρής φάσης και γ. τα μη σαπωνοποιήσιμα συστατικά (στερόλες, λιποδιαλυτές βιταμίνες) που αποτελούν το 1% της λιπαρής φάσης (Ανυφαντάκης, Καλατζόπουλος, 1993).

Το λίπος βρίσκεται στο γάλα με τη μορφή λιποσφαιρίων, τα οποία περιβάλλονται από μία λεπτή μεμβράνη η οποία αποτελεί το ~2-6% της μάζας του λιποσφαιρίου. Η μεμβράνη των λιποσφαιρίων χρησιμεύει ως γαλακτωματοποιητής, συμβάλλοντας στη διασπορά του λίπους στο γάλα και παράλληλα προστατεύει τα λιπίδια του πυρήνα των λιποσφαιρίων από τη δράση

της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης του γάλακτος ή των λιπασών που παράγονται από μικροοργανισμούς (Walstra et al., 2006; Ανυφαντάκης, 1986). Η διάμετρος των λιποσφαιρίων διαφέρει ανάλογα με το είδος του ζώου. Μεγαλύτερη διάμετρο λιποσφαιρίων έχει το βουβαλίσιο γάλα και τη μικρότερη το αίγαιο και της καμήλας (Abd El-Salam and El-Shibiny, 2011, Ahmad et al. , 2013, Barnett et al., 2011). Τα λιποσφαίρια του αίγιου γάλακτος δε δημιουργούν συσσωματώματα κατά την ψύξη του λόγω έλλειψης αγλουτινίνης, η οποία συμβάλλει στη συσσωμάτωση των λιποσφαιρίων. Η αυξημένη διασπορά των λιποσφαιρίων του γάλακτος αυξάνει την πεπτικότητα του και τον καταβολισμό του λίπους του.

Πίνακας 5: Προφίλ λιπαρών οξέων γάλακτος διαφόρων μηρυκαστικών (*% των ΛΟ)

Λιπαρά οξέα	Είδος γάλακτος			
	Αγελαδινό	Βουβαλίσιο	Αίγαιο	Πρόβειο
Κορεσμένα ΛΟ*	72 (52-76)	70 (62-79)	72 (57-78)	69 (47-80)
Μονοακόρεστα ΛΟ*	26 (18-34)	28 (23-30)	22 (10-29)	22,3 (13-30)
Πολυακόρεστα ΛΟ*	4(2-6)	3 (2-50)	4 (0,5-8)	5 (2,4-9)
C _{18:2}	2,3 (1,4-3,1)	1,6 (0,9-2,3)	2,7 (0,15-6,0)	2,9 (1,6-4,6)
C _{18:3}	0,7 (0,3-1,5)	0,6 (0,2-1,0)	0,6 (0,25-1,0)	0,9 (0,35-2,7)
C ₄ -C ₁₀	9,2 (7,3-13,4)	9,4 (5,0-22,7)	16,6 (12,5-20,6)	16,6 (10,8-24,3)
ω-6/ω-3	3,7 (2,1-6,0)	1,5	4,5 (2,5-5,8)	2,5 (1,4-4,4)
CLA	0,7 (0,3-1,6)	0,6 (0,4-0,9)	0,7 (0,15-1,2)	0,8 (0,3-1,8)
Χοληστερόλη	12-31	6,5-16	2,5-3	14-39

(Ahmad et al. (2013), Barlowska et al. (2011), Ceballos et al. (2009), Claeys et al. (2014), De La Fuente et al. (2009), Devle et al. (2012), Fletouris et al. (1998), He et al. (2011), Hilali et al. (2011), Konuspayeva et al. (2008), Martini et al. (2014a), Mayer and Fiechter (2012), Medhammar et al. (2012), Mel'uchova et al. (2008), Nikkhah (2011), Pikul and Wójtowski (2008), Póti et al. (2015), Sheng et al. (2008), Sinanoglou et al. (2015), Smit et al. (2002), Tsiplakou et al. (2009), Wijesinha-Bettoni and Burlingame (2013), and Yuhás et al. (2006))

Αναλυτικά η σύσταση των κυριότερων ειδών γάλακτος παρουσιάζεται στον **Πίνακα 5**.

Η σύσταση του λίπους του γάλακτος διαμορφώνεται από πολλούς παράγοντες όπως το είδος του ζώου, η φυλή, η διατροφή, το στάδιο της γαλακτικής περιόδου, η υγιεινή κατάσταση κ.α. Η σύνθεση των τριγλυκεριδίων του γάλακτος γίνεται στα επιθηλιακά κύτταρα του μαστού. Τα ΛΟ που συμμετέχουν στη σύνθεση των τριγλυκεριδίων του γάλακτος μπορεί να προέρχονται ή από τα λιπίδια του αίματος ή από *de novo* σύνθεση στο μαστό. Στο μαστικό αδένα γίνεται κυρίως σύνθεση ΛΟ μικράς και μεσαίας αλύσου (C_{4:0}-C_{14:0}, το 50% των C_{16:0}) με πρόδρομες ενώσεις το οξικό και β-υδροξυβουτυρικό οξύ, τα οποία παράγονται κατά τη ζύμωση των υδατανθράκων της τροφής από τη μικροχλωρίδα του πεπτικού συστήματος. Τα λιπίδια του αίματος που παραλαμβάνονται από το μαστό μπορούν

να υποστούν μετατροπές με τη δράση του ενζύμου αποκορεσμάση (δεσατουράση), το οποίο μετατρέπει μέρος του στεατικού (C_{18:0}) σε ελαϊκό (C_{18:1}) και σε μικρότερη έκταση μέρος του παλμιτικού (C_{16:0}) σε παλμιτελαϊκό (C_{16:1}). Τα ΛΟ μακράς αλύσου (C_{18:0}, C_{18:1}, C_{18:2}, C_{16:0}) φθάνουν στο μαστό μέσω των λιπιδίων του αίματος τα οποία προέρχονται από τα λιπίδια της τροφής. Στην περίπτωση των μηρυκαστικών τα πολυακόρεστα ΛΟ (ΠΛΟ) της τροφής, λόγω του χαμηλού οξειδοαναγωγικού δυναμικού που επικρατεί στη μεγάλη κοιλία, υφίστανται βιο-υδρογόνωση με αποτέλεσμα να απορροφώνται στο έντερο ως κορεσμένα (Palmquist, 2006).

Χαρακτηριστικό του γάλακτος των μηρυκαστικών είναι η παρουσία του συζευγμένου λινολεικού οξέος (CLA, C_{18:2} cis-9, trans-11). Το CLA, είναι ένας γενικός όρος που χρησιμοποιείται για να περιγράψει ένα σύνολο από διακριτά γεωμετρικά ισομερή και ισομερή θέσης του λινολεικού οξέος (C_{18:2}) (Belury, 2002; Collomb et al., 2006; Meluchova et al., 2008). Το CLA μπορεί να παραχθεί ως ενδιάμεσο προϊόν της βιο-υδρογόνωσης των λιπιδίων (C_{18:2}) της τροφής εντός της μεγάλης κοιλίας ή ενδογενώς στο μαστό από το βασενικό οξύ (trans-11 C_{18:1}, VA). Μελέτες σε εργαστηριακό επίπεδο ύστερα από τη λήψη CLA έδειξαν: (i) αύξηση του ρυθμού ανάπτυξης σε αναπτυσσόμενα ποντίκια (Chin et al., 1994) και γουρούνια (Dugan et al., 1997; Thiel et al., 1998; O'Quinn PR, Waylan AT, Nelssen JL et al., submitted for publication), (ii) μείωση της εναπόθεσης σωματικού λίπους σε ποντίκια (Park et al., 1997) και σε γουρούνια (Dugan et al., 1997; Thied et al., 1998; O'Quinn et al., 2000a), (iii) βελτίωση της λειτουργίας του ανοσοποιητικού συστήματος σε ποντίκια και όρνιθες (Cook et al., 1993; Sugano et al., 1998) και (iv) αναστολή του σχηματισμού αθηρωματικών πλακών σε κουνέλια (Lee et al., 1994) και χάμστερ (Nicolosi et al., 1997). Μελέτες in vivo και in vitro υπέδειξαν την πιθανότητα αντικαρκινικών (Ha et al., 1990; Ip et al., 1991; Dungam and Fernandes, 1997) και αντιοξειδωτικών (Decker, 1995) ιδιοτήτων του CLA. Το CLA αυξάνει την ευαισθησία των λιποκυττάρων στην ισουλίνη (Houseknecht et al., 1998b) και έχει αποτελέσει αντικείμενο μελέτης σχετικά με την αντιμετώπιση νοσημάτων όπως είναι ο διαβήτης τύπου I (Collier et al., 1998) , ο διαβήτης τύπου II (Hendra et al., 1991; Singh et al., 1992). Στο γάλα των μηρυκαστικών μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε CLA έχει το πρόβειο και ακολουθούν το βουβαλίσιο, το αγελαδινό και τέλος το αίγαιο (Adb El-Salam and El-Shibiny, 2014; Jahreis et al., 1999; Tsiplakou et al., 2009).

Η μελέτη Lyon-Heart είναι μια κλινική μελέτη που πραγματοποιήθηκε με σκοπό τη διερεύνηση της επιδράσης της εφαρμογής διαφορετικής αναλογίας ω6:ω3 ΛΟ και πιο συγκεκριμένα του λινελαϊκού οξέος (C_{18:2}) προς το α-λινολενικό οξύ (C_{18:3}). Στη μελέτη ο πληθυσμός χωρίστηκε σε δύο ομάδες: στη μία χορηγήθηκε δίαιτα με βάση το ελαιόλαδο (8% C_{18:2}) και αναλογία ω6:ω3 λιπαρών οξέων 4/1 και στην άλλη έγινε αντικατάσταση του

ελαιολάδου με καλαμποκέλαιο (61% C_{18:2}). Η αντικατάσταση του ελαιολάδου με το καλαμποκέλαιο συνέβαλε στην αύξηση της συμμετοχής των ω6 λιπαρών οξέων (C_{18:3}) εις βάρος των ω3 (Cleland et al., 1992). Η αναλογία ω6:ω3 =4:1 οδήγησε σε μείωση της θνησιμότητας κατά 70% στο τέλος (2 χρόνια) της πειραματικής έρευνας (de Longeri et al., 1994).

Οι Singh et al. (2002) σε κλινική μελέτη που πραγματοποίησαν με αφορμή την αύξηση των περιστατικών στεφανιαίας νόσου στη Νότια Αφρική, διερεύνησαν την αποτελεσματικότητα της διατροφής μέσω της διαφοροποίησης της αναλογίας των ω6:ω3 ΛΟ. Συγκεκριμένα, από ένα δείγμα πληθυσμού 1000 ατόμων με περιστατικά στηθάγχης, εμφράγματος του μυοκαρδίου και στεφανιαίας νόσου δημιούργησαν δύο ομάδες εκ των οποίων η ομάδα της επέμβασης κατανάλωνε τροφές πλούσιες σε δημητριακούς καρπούς, φρούτα και λαχανικά (αυξημένη πρόσληψη C_{18:3}) και αναλογία ω6:ω3=9:1 και στην ομάδα του μάρτυρα χορηγήθηκε διαιτολόγιο βάσει των διατροφικών συνηθειών της τοπικής κοινωνίας. Τα περιστατικά καρδιακών προσβολών μειώθηκαν σημαντικά και οι ασθενείς με στεφανιαία νόσο έδειξαν σημαντική βελτίωση ως προς την κατάσταση της υγείας τους. Οι Singh et al. (2002) κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η υιοθέτηση διατροφής πλούσιας σε C_{18:3} όπως στην περίπτωση της ομάδας της επέμβασης, είναι δυνατόν να συμβάλει στην αποτελεσματικότερη πρόληψη της εκδήλωσης περιστατικών στεφανιαίας νόσου.

Οι Maillard et al. (2002) ύστερα από πειραματική μελέτη που πραγματοποίησαν σχετικά με την επίδραση των ω3 και ω6 ΛΟ στο λιπώδη ιστό του μαστού και τον καρκίνο του μαστού υποστήριξαν ότι τα ω3 και ω6 ΛΟ ασκούν προστατευτικό ρόλο στο μαστό και η σωστή αναλογία ω6:ω3 ΛΟ παίζει σημαντικό ρόλο στην πρόληψη περιστατικών εμφάνισης καρκίνου του μαστού.

Η εμφάνιση περιστατικών ψυχολογικού στρες προάγει την έκκριση προφλεγμονοδών ουσιών όπως είναι οι κυτταροκίνες IL-6 και IL-10, οι ιντερφερόνες γ και ο παράγοντας νέκρωσης όγκων (TNF-α). Η μη ισορροπημένη πρόσληψη αναλογίας ω6:ω3 PUFA συμβάλλει στην αυξημένη έκκριση προφλεγμονοδών κυτταροκινών στην κυκλοφορία του αίματος. Η αλλαγή του προφίλ των ΛΟ πιθανόν να σχετίζεται και με την παθοφυσιολογία της κατάθλιψης. Σύμφωνα με τις υπάρχουσες θεωρίες του νευροδιαβιβαστή και του υποδοχέα της κατάθλιψης η αλλαγή στους υποδοχείς και της λειτουργίας των υποδοχέων της σεροτονίνης σχετίζεται άμεσα με αλλαγές ως προς την πρόσληψη των PUFA (Maes et al., 1996; Maes et al., 1997; Peet et al., 1998).

Οι κλινικές μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί με αντικείμενο παθήσεις όπως είναι η στεφανιαία νόσος, η αρθρίτιδα, το άσθμα, ο καρκίνος και οι ψυχικές ασθένειες υποδεικνύουν την ανάγκη εφαρμογής μιας ισορροπής αναλογίας ω6:ω3 ΛΟ με σκοπό την πρόληψη και την

αντιμετώπιση των εν λόγω νοσημάτων. Τα αποτελέσματα των κλινικών μελετών επιβεβαιώνουν την ανάγκη μείωσης των $\omega 6$ ΛΟ και της ταυτόχρονης αύξησης των $\omega 3$ (Simopoulos και Cleland, 2003).

Στα μηρυκαστικά τα 2/3 των ΛΟ (65-75%) του λίπους του γάλακτος είναι κορεσμένα (He et al., 2011; Hilali et al., 2011; Poti et al., 2015; Wijeshina-Bettoni and Burlingame, 2013). Στο γάλα των μηρυκαστικών μεγάλο ποσοστό των κορεσμένων ΛΟ αντιπροσωπεύει το στεατικό οξύ (13-17% των ΛΟ). Στα μικρά μηρυκαστικά ιδιαίτερο χαρακτηριστικό του γάλακτος είναι η μεγάλη συγκέντρωση ΛΟ μικράς αλύσου, ειδικά του καπροϊκού ($C_{6:0}$), του καπρυλικού ($C_{8:0}$) και του καπρικού ($C_{10:0}$) στο αίγαιο γάλα (Ceballos et al., 2009).

Ιδιαίτερα σημαντικό χαρακτηριστικό του προφίλ των ΛΟ του γάλακτος είναι το κλάσμα $\omega-6/\omega-3$. Αυξημένη αναλογία $\omega-6/\omega-3$ και υψηλή συγκέντρωση $\omega-6$ PUFA προάγουν την εμφάνιση καρδιαγγειακών νοσημάτων, καρκίνου κ.α. ενώ χαμηλή αναλογία $\omega-6/\omega-3$ έχει κατασταλτική επίδραση (Simopoulos, 2008).

Τέλος, η χοληστερόλη αντιπροσωπεύει το 95% των στερολών του γάλακτος. Τα επίπεδα χοληστερόλης στο γάλα των περισσότερων μηρυκαστικών βρίσκονται στις ίδιες συγκεντρώσεις με του ανθρώπου (Ahmad et al., 2013; Fletouris et al., 1998; He et al., 2011; Konuspayeva et al., 2008; Mayer and Fiechter, 2012; Pikul and Wojtowski, 2008).

Πίνακας 6: Προφίλ λιπαρών οξέων γάλακτος Ελληνικών φυλών

ΛΟ	Μπούτσικο		Καραμάνικο		Εγχώρια αίγα	
	Άνοιξη	Καλοκαίρι	Άνοιξη	Καλοκαίρι	Άνοιξη	Καλοκαίρι
C4:0	16,2 ^{b,1}	14,93 ^{b,1}	11,16 ^{a,1}	10,47 ^{a,1}	12,12 ^{ab,1}	13,91 ^{ab,1}
C6:0	13,84	11,94	11,32	8,24	14,38	14,44
C8:0	14,65	14,58	13,37	14,71	15,64	13,07
C10:0	53,42	47,59	50,03	45,45	56,14	54,11
C12:0	32,88 ^{a,1}	27,93 ^{a,1}	31,07 ^{a,1}	34,25 ^{a,1}	39,25 ^{b,1}	43,63 ^{b,1}
C14:0	59,22 ^{b,1}	60,66 ^{b,1}	56,18 ^{ab,1}	48,44 ^{ab,1}	51,86 ^{a,1}	51,13 ^{a,1}
C14:1	14,33 ^{b,1}	11,56 ^{b,1}	10,51 ^{ab,1}	10,92 ^{ab,1}	5,87 ^{a,1}	6,70 ^{a,1}
C16:0	162,25 ^{a,1}	143,95 ^{a,2}	158,19 ^{a,1}	139,37 ^{a,2}	168,96 ^{a,1}	155,51 ^{a,2}
C16:1	16,33 ^{b,1}	13,74 ^{b,2}	12,84 ^{ab,1}	10,00 ^{ab,2}	9,96 ^{a,1}	9,38 ^{a,1}
C18:0	65,02 ^{b,1}	63,53 ^{b,1}	55,04 ^{a,1}	53,04 ^{a,1}	74,12 ^{c,1}	77,50 ^{c,1}
CLA	22,95 ^{c,1}	21,92 ^{c,1}	17,37 ^{b,1}	17,50 ^{b,1}	15,09 ^{a,1}	12,72 ^{a,1}
Σύνολο	668,93 ^{a,1}	605,48 ^{a,2}	630,74 ^{a,1}	581,51 ^{a,2}	613,73 ^{a,1}	605,52 ^{a,1}

^{a,b} : οι μέσες τιμές της ίδιας σειράς με διαφορετικό γράμμα διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά ($P < 0.05$)

^{1,2} : οι μέσες τιμές της ίδιας σειράς για την ίδια φυλή διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά ($P < 0.05$)

^c : οι τιμές είναι ο μέσος όρος 32 δειγμάτων γάλακτος

^d : Άνοιξη (Απρίλιος, Μάϊος), Καλοκαίρι (Ιούνιος, Ιούλιος) (*Kondyli et al., 2011*)

*ΛΟ= λιπαρό οξύ

Το προφίλ των ΛΟ του γάλακτος των μικρών μηρυκαστικών όπως προαναφέρθηκε διαφέρει ανάλογα με την εποχή και το είδος του ζώου. Το Μπούτσικο και το Καραμάνικο πρόβατο είναι δύο από τις βασικές φυλές που εκτρέφονται στη Βόρεια Ελλάδα και η εγχώρια φυλή αίγας εκτρέφεται εκτατικώς σχεδόν παντού. Τα κυρίαρχα ΛΟ του λίπους του γάλακτος του Μπούτσικου και Καραμάνικου προβάτου (**Πίνακας 6**) είναι το ελαϊκό οξύ (C_{18:1}) και το παλμιτικό (C_{16:0}). Το στεατικό οξύ (C_{18:0}), το μυριστικό (C_{14:0}), το καπρικό οξύ (C_{10:0}) και το λαυρικό (C_{12:0}) επίσης βρίσκονται σε υψηλή αναλογία.

Στο λίπος του γάλακτος των εγχώριων φυλών αιγών σε μεγαλύτερη αναλογία (83,5% των ολικών ΛΟ) βρέθηκε το C_{16:0}, το C_{18:1}, το C_{18:0} και το C_{14:0}. Στο γάλα των αιγών σε σύγκριση με των προβάτων εντοπίστηκαν σχετικά υψηλότερες συγκεντρώσεις του καπροϊκού (C_{6:0}), του C_{10:0} και του C_{16:0}. Η περιεκτικότητα του αίγειου γάλακτος σε CLA σύμφωνα με τα

στατιστικά στοιχεία του πίνακα ήταν υψηλότερη την άνοιξη και το καλοκαίρι σε σύγκριση με του πρόβειου.

1.5.1.4. Ενδογενή ένζυμα γάλακτος

Το αγελαδινό γάλα περιέχει περίπου 70 ενδογενή ένζυμα μερικά εκ των οποίων έχουν σημαντική επίδραση στα τεχνολογικά χαρακτηριστικά, την ποιότητα του γάλακτος και των παραγόμενων προϊόντων του (Fox and Kelly, 2006). Η δράση των ενζύμων του γάλακτος μπορεί να επιφέρει: (α) αλλοίωση (λιποπρωτεϊνική λιπάση, πλασμίνη και κάποιες άλλες πρωτεϊνάσες, ξανθίνη οξειδάση) ή και (β) υδρόλυση των συστατικών του γάλακτος και των προϊόντων του (πλασμίνη), (γ) διατήρηση των ποιοτικών χαρακτηριστικών του γάλακτος (λακτουπεροξειδάση), (δ) αντιμικροβιακή δραστηριότητα (λυσοζύμη και λακτουπεροξειδάση) ενώ άλλα ένζυμα χρησιμοποιούνται ως δείκτες θερμικής επεξεργασίας (αλκααλική φωσφατάση και λακτουπεροξειδάση) και προσβολής του γαλακτοφόρου ζώου μαστίτιδα (καταλάση και όξινη φωσφατάση).

Τα ενδογενή ένζυμα του γάλακτος είναι οργανικοί καταλύτες που συντίθενται από τα εκκριτικά κύτταρα του μαστού ή προέρχονται από το αίμα, όπως η πλασμίνη και μπορεί να βρίσκονται ή να είναι συνδεδεμένα με τα διαφορετικά δομικά στοιχεία του γάλακτος. Τα ένζυμα είναι δυνατόν να κατανέμονται σε διαφορετικές φάσεις του γάλακτος. Το μεγαλύτερο ποσοστό αυτών βρίσκεται στη μεμβράνη των λιποσφαιρίων και ένα μικρότερο στον ορό και τα καζεϊνικά μικκύλια (Walstra et al., 2006).

Η αδρανοποίηση των ενζύμων επιτυγχάνεται με διάφορες απλές θερμικές επεξεργασίες αρκετά όμως αδρανοποιούνται και με απλή παστερίωση.

1.5.1.4.1. Αλκααλική φωσφατάση

Η αλκααλική φωσφατάση έχει βέλτιστο pH (~9) δράσης και κατανέμεται στα λιποσφαίρια του γάλακτος. Η παρουσία της στο γάλα χρησιμοποιείται από τη νομοθεσία ως δείκτης κανονικής παστερίωσης.

Η δραστηριότητα της αλκααλικής φωσφατάσης έχει μελετηθεί εκτενώς και χρησιμοποιείται νομοθετικά ως δείκτης παστερίωσης. Η δοκιμή της αλκααλικής φωσφατάσης είναι εξέχουσας σημασίας για τη δημόσια υγεία καθώς οι συνθήκες αδρανοποίησής της (73°C/20sec) είναι λίγο υψηλότερες από αυτές που απαιτούνται για την αδρανοποίηση του ανθεκτικού παθογόνου *Mycobacterium tuberculosis*.

Η δραστηριότητα της αλκαλικής φωσφατάσης στο πρόβειο γάλα έχει βρεθεί 18 φορές μεγαλύτερη από το αίγαιο (Raynal-Ljutovac et al., 2007). Η θέρμανση στους 59°C σε διάφορους χρόνους μείωσε τη δραστηριότητα της αλκαλικής φωσφατάσης στο αγελαδινό γάλα με χαμηλότερο ρυθμό απ'ότι στο αίγαιο και το πρόβειο (Vamvakaki et al., 2006).

1.5.1.4.2. Πρωτεάσες

Το γάλα περιέχει μεγάλο αριθμό πρωτεΐνών με σημαντικότερη την πλασμίνη. Η πλασμίνη είναι μια πρωτεάση σερίνης και βρίσκεται στο γάλα με τη μορφή ενός ιδιαίτερου συστήματος το οποίο αποτελείται από το πλασμινογόνο, τους ενεργοποιητές του πλασμινογόνου καθώς και συστατικά που δρουν ως αναστολείς της. Το σύστημα της πλασμίνης βρίσκεται στα καζεϊνικά μικκύλια ενώ οι αναστολείς του συστήματος στον ορό (Fox and Kelly, 2006).

Βέλτιστες συνθήκες δράσης του ενζύμου παρατηρούνται σε pH=7,5 και θερμοκρασία 37°C και η αδρανοποίηση του στο γάλα γίνεται ύστερα από θερμική επεξεργασία στους 73°C/40min. Η κλασική παστερίωση δύναται να ενισχύσει την ενεργότητα της πλασμίνης ενώ η αδρανοποίηση όλων των παραγόντων του συστήματος πλασμίνης επέρχεται ύστερα από θερμική επεξεργασία στους 140°C/15sec.

Στο γάλα, η πλασμίνη υδρολύει κυρίως τη β- καζεΐνη, σε γ- καζεΐνη και πρωτεόζες-πεπτόνες και δευτερευόντως την αs2- και στη συνέχεια την αs1- καζεΐνη.

Υπολειμματική ενεργότητα πλασμίνης παραμένει στο τυρόπηγμα ύστερα από την τυροκόμηση και ασκεί πρωτεολυτική δράση κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης σε μια γκάμα τυριών, ειδικά στα Ελβετικού τύπου τυριά στα οποία το pH είναι μεγαλύτερο του 5 ενώ το μεγαλύτερο μέρος της χυμοσίνης παραμένει ανενεργό.

Η ενεργότητα της πλασμίνης κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης εξαρτάται από τη θερμική επεξεργασία που έχει εφαρμοστεί και το pH κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης.

1.5.1.4.3. Λιπάσες

Η σημαντικότερη λιπάση του γάλακτος είναι η λιποπρωτεϊνική λιπάση. Οι λιπάσες είναι δυνατόν να προσβάλουν τις μεμβράνες των λιποσφαιρίων εφόσον ενεργοποιηθούν μέσω συγκεκριμένων χειρισμών, όπως είναι η ομογενοποίηση, η έντονη ανάδευση και η ψύξη στους 5°C. Η δράση τους έγκειται στην απελευθέρωση ΛΟ από τις θέσεις 1 και 3 του τριγλυκεριδίου.

Στο αγελαδινό γάλα βρίσκεται στα καζεϊνικά μικκύλια ενώ στο αίγιο κατανέμεται κυρίως στην επιφάνεια των λιποσφαιρίων (Chilliard et al., 2003).

Η λιποπρωτεϊνική λιπάση καταλύει την υδρόλυση των τριγλυκεριδίων οδηγώντας σε ανεπιθύμητη τάγγιση του λίπους του νοπού γάλακτος. Στο παστεριωμένο γάλα αυτό δεν είναι δυνατόν καθώς αδρανοποιείται κατά τη θερμική επεξεργασία του.

Το γάλα των βοοειδών έχει την υψηλότερη περιεκτικότητα σε λιποπρωτεϊνική λιπάση (2mg/L) ακολουθεί το πρόβειο και τελευταίο είναι το αίγιο, στο οποίο η δραστηριότητα της αντιστοιχεί στο 1/3 του γάλακτος των βοοειδών (Moatsou, 2010b, Uniake-Lowe, 2011).

1.5.1.4.4. Λακτοπεροξειδάση

Η λακτοπεροξειδάση είναι μια οξειδάση που παρουσιάζει υψηλή αντιμικροβιακή δράση στο γάλα παρουσία χαμηλών συγκεντρώσεων υπεροξειδίου του υδρογόνου (H₂O₂) και θειοκυανιούχων ενώσεων (SCN) (Fox and Kelly, 2006).

Η δραστηριότητα της λακτοπεροξειδάσης επηρεάζεται από τη γαλακτική περίοδο, τη φυλή του ζώου και τα ατομικά του χαρακτηριστικά. Η πλήρης αδρανοποίηση του ενζύμου συμβαίνει σε θερμοκρασία μεγαλύτερη ή ίση των 78°C /15sec

Η λακτοπεροξειδάση επιζεί της παστερίωσης και είναι περισσότερο θερμοανθεκτική από την αλκαλική φωσφατάση για αυτό και χρησιμοποιείται από τη νομοθεσία ως δείκτης θερμικής επεξεργασίας μεγαλύτερης της παστερίωσης.

1.5.1.4.5. Λυσοζύμη

Η λυσοζύμη είναι αντιβακτηριακό ένζυμο που υδρολύει τους πολυσακχαρίτες του κυτταρικού τοιχώματος των βακτηρίων. Η δράση της λυσοζύμης περιορίζεται στα Gram+ και λιγότερο στα Gram- βακτήρια, τα οποία είναι περισσότερο ανθεκτικά λόγω του χαμηλού ποσοστού πεπτιδογλυκάνης στο κυτταρικό τους τοίχωμα (Benkerroum, 2008). Η συγκέντρωση της στο ανθρώπινο γάλα (400-500 mg/l) είναι πολύ υψηλότερη από αυτή των μηρυκαστικών (Uniaque-Lowe et al., 2010). Στο βουβαλίσιο γάλα η συγκέντρωσή της κυμαίνεται στα 120-150 μg/L, ανάλογη με του αγελαδινού (100-350 μg/L) γάλακτος (Abd El-Salam and El-Shibiny, 2011; Elagami, 2000). Τέλος, η συγκέντρωση της λυσοζύμης στο γάλα των αιγών (250 μg/L) είναι υψηλότερη από του πρόβειου (100 μg/L) γάλακτος (Chandan et al., 1968).

1.5.1.5. *Ιχνοστοιχεία*

Το κλάσμα των οργανικών και ανόργανων αλάτων αν και βρίσκονται σε μικρή συγκέντρωση στο γάλα είναι ιδιαίτερα σημαντικό. Τα μέταλλα του γάλακτος βάσει της συγκέντρωσής τους διακρίνονται σε μακροστοιχεία (Ca, P, Mg, Na, K), υπό τη μορφή κιτρικών, φωσφορικών και χλωριούχων ενώσεων του Na, K, Ca και Mg και σε μικροστοιχεία (Zn, Cu, Fe, Se, Co, Mo, κ.α.), μερικά από τα οποία δρουν ως συνένζυμα (Abd El- Salam and El-Shibiny, 2011; Bilandžić et al., 2014; Domelloef et al., 2004; Grace et al., 1999; Polychroniadou and Vaforoulou, 1985; Schryver et al., 1986; Strzalkowska et al., 2008; Sun et al., 2012).

Τα άλατα αν και βρίσκονται σε χαμηλή συγκέντρωση (7-9mg/L) στο γάλα είναι δυνατόν να επηρεάσουν τα τεχνολογικά του χαρακτηριστικά καθώς συμμετέχουν στη διαμόρφωση της ρυθμιστικής του ικανότητας, στη διατήρηση του pH του γάλακτος, στην ωσμωτική του πίεση και στην ιοντική του ισχύ. Ορισμένα στοιχεία του γάλακτος όπως είναι το Ca επηρεάζουν τη δομή και την σταθερότητα των καζεϊνικών μικκυλίων (Gaucheron, 2005) κατά την ενζυμική πήξη του γάλακτος.

Τα άλατα του γάλακτος βρίσκονται σε διαλυτή μορφή στον ορό ή σε μη διαλυτή στα καζεϊνικά μικκύλια. Μερικά ιχνοστοιχεία όπως είναι το Na, το K και το Cl βρίσκονται εξολοκλήρου διαλυτά στον ορό του γάλακτος σε αντίθεση με το Ca, P και Mg που κατανέμονται στις διάφορες φάσεις του γάλακτος (ορός, κolloειδές φωσφορικό Ca και καζεϊνικά μικκύλια). Το Ca και ο ανόργανος P για παράδειγμα είναι δυνατόν να μεταπίπτουν από τη μία φάση στην άλλη ανάλογα με τις φυσικοχημικές συνθήκες (Fuente, 1998; Gaucheron, 2011). Η οξίνιση του γάλακτος μετά την προσθήκη των LAB έχει ως συνέπεια τη διαλυτοποίηση του κolloειδούς φωσφορικού Ca και τη μεταφορά του στον ορό του γάλακτος (Gaucheron, 2011).

Το Ca και ο P είναι από τα πιο σημαντικά ιχνοστοιχεία του γάλακτος. Ο λειτουργικός τους ρόλος είναι καθοριστικός για τη δομή και τη συμπεριφορά των καζεϊνικών μικκυλίων κατά τη διάρκεια των διαφόρων επεξεργασιών (Gaucheron, 2005).

1.5.1.6. *Βιταμίνες*

Στο γάλα περιέχονται όλες οι βιταμίνες και μάλιστα σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες των ημερήσιων αναγκών του ανθρώπου. Οι βιταμίνες του γάλακτος διακρίνονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες, τις λιποδιαλυτές (A, D, E, K) που βρίσκονται στο λίπος του γάλακτος και τις

υδατοδιαλυτές (βιταμίνες συμπλέγματος Β, και η βιταμίνη C) βιταμίνες (Ανυφαντάκης, Καλατζόπουλος, 1993).

Το γάλα των μικρών μηρυκαστικών και το βουβαλίσιο έχουν μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε βιταμίνη Α συγκριτικά με το αγελαδινό (**Πίνακας 7**). Το πρόβειο γάλα χαρακτηρίζεται από υψηλή συγκέντρωση όλων των βιταμινών σε σχέση με το γάλα άλλων μηρυκαστικών ή του ανθρώπου (Abd El-Salam and El-Shibiny, 2011; Park et al., 2007).

Πίνακας 7: Ενδεικτική περιεκτικότητα σε ιχνοστοιχεία και βιταμίνες του αγελαδινού, του αίγιου και του πρόβειου γάλακτος

	Αγελαδινό		Αίγιο		Πρόβειο	
	M.O	Εύρος	M.O	Εύρος	M.O	Εύρος
Ιχνοστοιχείο						
Ασβέστιο (mg)	112	91-120	118	100-134	190	170-207
Σίδηρος (mg)	0,1	Tr-0,2	0,3	Tr-0,6	0,1	Tr-0,1
Μαγνήσιο (mg)	11	10-11	14	13-14	18	
Φώσφορος (mg)	91	84-95	100,4	90-11	144	123-158
Κάλιο (mg)	145	132-155	202	170-228	148	120-187
Νάτριο (mg)	42	38-45	44	32-50	39	20-44
Ψευδάργυρος (mg)	0,4	0,3-0,4	0,3	0,1-0,5	0,6	0,5-0,7
Χαλκός (mg)	Tr	Tr-Tr	Tr	Tr-0,1	0,1	0,1-0,1
Σελήνιο (mg)	1,8	1,0-3,7	1,1	0,7-1,4	1,7	
Μαγγάνιο (mg)	8	4-10	18	Tr-18	18	Tr-18
Βιταμίνη						
Ρετινόλη (μg)	35	29-45	45	35-56	64	44-83
Καροτένιο (μg)	16	7-23	13	Tr-18 ²	Tr	
Βιταμίνη A (μg RE)	37	30-46	48	30-74	64	
Βιταμίνη E (mg)	0,08	0,07-0,08	0,05	0,03-0,07	0,11	0,11-0,11
Θειαμίνη (mg)	0,04	0,02-0,04	0,06	0,03-0,09	0,07	0,07-0,08
Ριβοφλαβίνη (mg) (B ₂)	0,20	0,17-0,20	0,13	0,04-0,18	0,34	0,32-0,36
Νιασίνη (mg)	0,13	0,09-0,20	0,24	0,10-0,30	0,41	0,40-0,42
Παντοθενικό οξύ (mg)	0,43	0,34-0,58	0,30	0,31-0,41	0,43	0,41-0,45
Βιταμίνη B ₆ (mg)	0,04	0,03-0,06	0,05	0,05-0,06	0,07	0,06-0,08
Φυλλικό οξύ (μg)	8,5	5,0-8,0	1,0	Tr-1,0	6,0	5,0-7,0
Βιοτίνη (μg)	2,0	1,4-2,5	2,5	2,0-3,0	2,5	2,5-2,5
Βιταμίνη B ₁₂ (μg)	0,51	0,25-0,90	0,07	0,04-0,10	0,66	0,60-0,71
Βιταμίνη C (mg)	1,0	0,0-2,0	1,1	1,0-1,3	4,6	4,2-5,0
Βιταμίνη D (μg)	0,2	0,1-0,3	0,1	0,1-0,1	0,2	0,2-0,2

RE: ισοδύναμα ρετινόλης σε μg = μg ρετινόλης + 1/6 μg β-καροτένιο + 1/12 μg άλλων καροτενοειδών ; Tr: ίχνη. (FAO, 2013)

*M.O= μέσος όρος

1.5.2. Μικροβιολογική σύσταση αίγιου γάλακτος

Το γάλα θεωρείται άριστη πηγή ενέργειας και θρεπτικών συστατικών όχι μόνο για τα θηλαστικά αλλά και για πλήθος μικροοργανισμών που μπορούν να αναπτυχθούν σε αυτό

(Walstra et al., 2006). Οι μικροοργανισμοί αυτοί είναι κυρίως βακτήρια και κάποια είδη μυκήτων και ζυμών. Στο γάλα απαντώνται διάφορα είδη βακτηρίων όπως είναι τα LAB, τα ψυχρότροφα, τα παθογόνα, τα προπιονικά και τα εντερικά βακτήρια.

Το γάλα που λαμβάνεται με την εφαρμογή των κατάλληλων κανόνων υγιεινής περιέχει λιγότερο από 5000 μικροοργανισμούς/mL (Richard et al., 1976). Η μικροχλωρίδα του γάλακτος αυτού αποτελείται κυρίως από μικρόκοκκους (Thomas et al., 1976; Twomet and Crawley, 1969) και δευτερευόντως από αμελητέες συγκεντρώσεις ψυχρότροφων βακτηρίων. Η παρουσία των κολοβακτηριδίων μπορεί να είναι μικρότερη από ένα κύτταρο/mL.

Το δέρμα του μαστού θεωρείται μία από τις σοβαρότερες πηγές επιμόλυνσης του γάλακτος στο περιβάλλον της φάρμας (Piton and Richard, 1982). Ο μαστός του ζώου είναι δυνατόν να συμβάλει στην επιμόλυνση του γάλακτος με *Staphylococcus aureus* (Jorgensen, 1981), *Escherichia coli* στην περίπτωση διατροφής των ζώων με κακής ποιότητας ενσίρωμα (Bergere et al., 1969).

Ο εξοπλισμός που χρησιμοποιείται για την άμελξη των ζώων ήταν για μεγάλο χρονικό διάστημα η πρωταρχική πηγή επιμόλυνσης του γάλακτος. Η σύνθεση της μικροχλωρίδας επιμόλυνσης καθορίζεται από το μέγεθος της επιμόλυνσης και από τις τακτικές υγιεινής (Thomas et al., 1977). Η αύξηση των τιμών γάλακτος βάσει της ανάγκης των καταναλωτών για υψηλότερη ποιότητα συνέβαλε στη βελτίωση των συνθηκών υγιεινής κατά την άμελξη (Richard, 1981). Στο επιμολυσμένο γάλα από τον εξοπλισμό άμελξης ο συνολικός βακτηριακός πληθυσμός κυμένεται στα 10000 κύτταρα/mL, τα ψυχρότροφα στα 1000 κύτταρα/mL και τα κολοβακτηρίδια στα 100 κύτταρα/mL (Piton et al., 1982).

Η διατήρηση του γάλακτος αμέσως μετά την άμελξη σε θερμοκρασίες ψυγείου (4°C) δεν επιφέρει σημαντικές αλλαγές στη μικροβιακή του χλωρίδα. Η αρχική παρουσία ωστόσο συγκεκριμένων μικροοργανισμών, έστω και σε μικρό ποσοστό (κυρίως *Pseudomonas fluorescens*), είναι δυνατόν να οδηγήσει στον πολλαπλασιασμό τους (Law, 1979)

Πίνακας 8: Μικροβιολογικά κριτήρια για το γάλα και τα τυροκομικά προϊόντα

Κατηγορία τροφίμων	Μικροβίαι	Πλάνο δειγματοληψίας ⁽¹⁾		Όρια ⁽²⁾		Αναλυτική μέθοδος ⁽³⁾	Στάδιο στο οποίο εφαρμόζεται το κριτήριο	Μέτρα σε περίπτωση μη ικανοποιητικών αποτελεσμάτων
		n	c	M	M			
Παστεριωμένο γάλα και άλλα παστεριωμένα γάλα γαλακτοκομικά προϊόντα ⁽⁴⁾	Επιτοβακτηριαceae	5	2	< 1 cfu/ml	5 cfu/ml	ISO 21528-1	Τέλος της παρασκευής	Έλεγχος της αποτελεσματικότητας της θερμικής επεξεργασίας και της πρόσληψης της επανομάλωσης
Τυριά από γάλα ή από γάλακτος που έχει υποστεί θερμική επεξεργασία	E. coli ⁽⁵⁾	5	2	100 cfu/g	1000 cfu/g	ISO 16649-1 ή 2	Κατά τη διάρκεια διαδικασίας παρασκευής, τη στιγμή κατά την οποία αναμένεται ο μέγιστος αριθμός E. coli ⁽⁵⁾	Βελτιώσεις στην υγιεινή της παραγωγής και στην επιλογή των πρώτων υλών. Εάν βρεθούν τιμές > 10 ⁵ cfu/g η παρτίδα τυριού πρέπει να ελεγχθεί για σταφυλοκοκκικές εντεροτοξίνες
Τυριά από νομό γάλα	Σταφυλόκοκκοι θερμοκοί στην πικτέωση	5	2	10 ⁶ cfu/g	10 ⁵ cfu/g	EN/ISO 6888-2		
Τυριά από γάλα που έχει υποστεί επεξεργασία σε θερμοκρασία χαμηλότερη από της παστερίωσης ⁽⁷⁾ και ορμωσμένα τυριά από γάλα ή από γάλακτος που έχει υποστεί παστερίωση ή τριτογενή θερμική επεξεργασία ⁽⁷⁾	Σταφυλόκοκκοι θερμοκοί στην πικτέωση	5	2	100 cfu/g	1000 cfu/g	EN/ISO 6888-1	Κατά τη διάρκεια διαδικασίας παρασκευής, τη στιγμή κατά την οποία αναμένεται ο μέγιστος σταφυλόκοκκων	
Μη ορμωσμένα μαζακά τυριά (νομά τυριά) από γάλα ή από γάλακτος που έχει υποστεί παστερίωση ή τριτογενή θερμική επεξεργασία ⁽⁷⁾	Σταφυλόκοκκοι θερμοκοί στην πικτέωση	5	2	10 cfu/g	100 cfu/g	EN/ISO 6888-1 ή 2	Τέλος της διαδικασίας παρασκευής	Βελτιώσεις στην υγιεινή της παραγωγής. Εάν βρεθούν τιμές > 10 ⁵ cfu/g η παρτίδα τυριού πρέπει να ελεγχθεί για σταφυλοκοκκικές εντεροτοξίνες

- (1) n= αριθμός μονάδων δειγματοληψίας που αναλύουν το δείγμα c= αριθμός μονάδων δειγματοληψίας με τιμές μεταξύ m και M
- (2) Για τα σημεία 2.2.7, 2.2.9 και 2.2.10 m = M
- (3) Χρησιμοποιείται η πιο πρόσφατη έκδοση του προτύπου.
- (4) Το κριτήριο δεν εφαρμόζεται για τα προϊόντα που προορίζονται για παστερίωση επεξεργασία στη βιομηχανία τροφίμων.
- (5) Το E. coli χρησιμοποιείται όσο ως δείκτης του επιπέδου υγιεινής.
- (6) Εξαιρούνται τα τυριά, όταν ο παρασκευαστής μπορεί να αποδείξει, ικανοποιώντας τις αριθμικές αξίες, ότι το προϊόν δεν απαιτείται κανόνα σταφυλοκοκκικών εντεροτοξινών. (ΕΚ αριθ. 2073/2005)

Τα μικροβιολογικά κριτήρια για το γάλα και τα τυροκομικά προϊόντα ορισμένα βάσει των κανόνων της Ευρωπαϊκής επιτροπής παρουσιάζονται στον **Πίνακα 8**.

Η μικροβιολογική σύσταση του γάλακτος είναι δυνατόν να διαφοροποιηθεί ανάλογα με το σύστημα εκτροφής (εντατικό, εκτατικό, ημιεκτατικό) και τον τρόπο άμελξης των ζώων (μηχανική άμελξη, άμελξη με μετακινούμενο κάδο, άμελξη με τα χέρια). Πειραματική έρευνα των Kyozaire et al. (2005) σχετικά με το μικροβιακό φορτίου του γάλακτος σε διαφορετικά συστήματα εκτροφής και με διαφορετικούς τρόπους άμελξης, έδειξε ότι την επιμόλυνση του 31,1% των δειγμάτων με βακτήρια (**Πίνακας 9**). Το μικρότερο ποσοστό επιμόλυνσης του μαστού παρατηρήθηκε στην περίπτωση του εκτατικού συστήματος (13,3%) σε σύγκριση με το εντατικό (43,3%) και το ημιεκτατικό (36,7%). Τα είδη *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus epidermidis* και *Staphylococcus simulans* προερχόμενα από το μαστό ήταν η κύρια αιτία επιμόλυνσης του γάλακτος σε ποσοστό 85,7%. Το υπόλοιπο 14,3% αντιστοιχούσε στο *Staphylococcus aureus*. Το αμελγόμενο γάλα με το σύστημα των μετακινούμενων κάδων παρουσίασε το μικρότερο ποσοστό επιμόλυνσης (16.450 αποικίες) σε σύγκριση με το σύστημα μηχανικής άμελξης (36.300 αποικίες) και τη χειρωνακτική άμελξη (48000 αποικίες).

Πίνακας 9: Μικροβιακή χλωρίδα γάλακτος ανάλογα με το σύστημα εκτροφής και τη μορφή άμελξης

Είδος εκτροφής και συστήματος άμελξης	Είδος βακτηρίου spp.
Ημιεκτατικό (σύστημα άμελξης με μετακινούμενους κάδους)	<i>Aureobacterium</i> spp. <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Aureobacterium</i> spp. <i>Staphylococcus</i> spp. <i>Staphylococcus</i> spp. <i>Pseudomonas</i> spp. <i>Klebsiella oxytoca</i>
Εντατικό (μηχανική άμελξη)	<i>Chryseobacterium meningosepticum</i> <i>Acinetobacter wolffii</i> Enterobacter spp.
Εκτατικό (χειρωνακτική άμελξη)	Enterococcus spp. Non-haemolytic <i>Staphylococcus</i> spp

(Kyozaire et al., 2005)

Η επιστημονική μελέτη των Suguna et al. (2012) για τη μικροβιολογική σύνθεση του αίγειου γάλακτος από δύο διαφορετικές φάρμες (**Πίνακας 10**) έγινε με στόχο την καταμέτρηση διαφορετικών ομάδων βακτηρίων, ζυμών-μυκήτων και παθογόνων.

Η μελέτη της μικροβιολογικής σύστασης του γάλακτος από τις δύο φάρμες είχε ανάλογα αποτελέσματα όσον αφορά τις πληθυσμούς των υπό μελέτη μικροοργανισμών, εξαίρεση αποτελεί η συγκέντρωση των κολοβακτηριδίων που ήταν υψηλότερη στη δεύτερη φάρμα. Η παρουσία των κολοβακτηριδίων αποδόθηκε στην επιμόλυνση από κόπρανα σε συνδυασμό με έλλειψη συνθηκών υγιεινής. Στην περίπτωση του γάλακτος της δεύτερης φάρμας, σε αντίθεση με το γάλα της πρώτης, εντοπίστηκαν *Escherichia coli* και *Salmonella spp.* Η επιμόλυνση του γάλακτος με το παθογόνο *Salmonella spp.* και την *Escherichia coli* οφείλεται κυρίως στην έλλειψη συνθηκών υγιεινής ή στη μεταφορά του παθογόνου από τους ίδιους τους κτηνοτρόφους (Koustas et al., 2010).

Πίνακας 10: Συγκέντρωση μικροοργανισμών αίγειου γάλακτος συλλεγμένου από δύο διαφορετικές φάρμες

Μικροβιολογική ομάδα	Φάρμα 1 (log cfu/ml)	Φάρμα 2 (log cfu/ml)
Ολική Μεσοφίλη Χλωρίδα	4,5±0,0	4,2±0,0
Ζύμες-Μύκητες	4,2±0,0	4,6±0,0
Ψυχότροφα βακτήρια	4,3±0,0	3,1±0,0
<i>Staphylococcus aureus</i>	3,2±0,2	2,7±0,0
Κολοβακτηρίδια	2,2±1,9	4,0±0,0
<i>E. coli</i>	NP	4,6±0,0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4,1±0,0	4,8±0,0
<i>Salmonella spp.</i>	NP	2,9±0,0
<i>Listeria monocytogenes</i>	NP	NP

(Suguna et al., 2010)

Το αίγιο γάλα όπως το πρόβιο και το αγελαδινό είναι πιθανές πηγές ανεπιθύμητων και παθογόνων βακτηρίων. Μικροοργανισμοί όπως η *Listeria monocytogenes* (Gaya et al., 1996; Abou-Elainin et al., 2000), ο ορότυπος *Escherichia coli* που παράγει την τοξίνη shiga, ο *Staphylococcus aureus* που παράγει εντεροτοξίνη (Foschino et al., 2002; Muehlher et al., 2003), ο *Cambylobacter spp.*, η *Yersinia enterocolitica* (Roberts, 1985) και σε μικρότερο ποσοστό ο *Bacillus cereus* είναι δυνατόν να βρεθούν στο αίγιο γάλα και τυρί (Papageorgiou et al., 1998; Meena et al., 2000).

Στον **Πίνακα 11** παρουσιάζονται μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί σε διάφορες χώρες

ανά τον κόσμο με αντικείμενο τις κυριότερες μικροβιακές ομάδες που έχουν ανευρεθεί στο νωπό αίγαιο γάλα.

Πίνακας 11 : Μελέτες σχετικά με τον πληθυσμό των κυριότερων μικροβιακών ομάδων που έχουν ανιχνευθεί σε νωπό αίγαιο γάλα

Μικροβιακή ομάδα	Χώρα προέλευσης δείγματος	Μικροβιακός πληθυσμός (cfu/ml)	Μικροβιακός πληθυσμός (% του συνόλου)
Micrococci	Ισπανία, Ιταλία	3,15-5,22 ^a	
	Ελλάδα		2,6 ^a
Ψυχρότροφα	Ισπανία, Μαλαισία, Βραζιλία	3,1-5,79 ^e	
Κολοβακτηρίδια	Ισπανία, Γαλλία, Ιταλία, Πορτογαλία, Ελβετία,	0,84-7,64 ^d	
	Ινδονησία, Η.Π.Α, Μαλαισία	0,7-4,45 ^e	
<i>E. coli</i>	Μαλαισία, Ηνωμένο Βασίλειο	<2-4,6 ^f	
<i>Listeria spp.</i>	Η.Π.Α		7,8 ^g
	Ιράν, Ισπανία		4,2-6,7 ^h
	Σρι Λάνκα,		63,33 ⁱ
<i>L. monocytogenes</i>	Γαλλία, Πορτογαλία, Ιταλία, Μαλαισία,	δεν ανιχνεύθηκε ^j	
<i>Campylobacter</i>	Ισπανία, Ελβετία	δεν ανιχνεύθηκε ^k	
<i>Salmonella spp.</i>	Ελλάδα, Ισπανία, Πορτογαλία, Ελβετία, Η.Π.Α	δεν ανιχνεύθηκε ^l	
	Μαλαισία	2,9 ^m	
Ζύμες-μύκητες	Ιταλία, Γαλλία, Ισπανία, Μαλαισία	2,37-5,3 ⁿ	
Γαλακτοβάκิลλοι	Γαλλία, Βραζιλία, Ισπανία	2,72-5,65 ^o	
	Ισπανία	3,95-5,65 ^p	
Λακτόκοκκοι	Ισπανία, Ιταλία, Γαλλία	2,48-7,57 ^q	
Μεσόφιλοι	Ελλάδα, Βραζιλία	3,89-6,5 ^r	
Λακτόκοκκοι			
Θερμόφιλοι	Ιταλία, Γαλλία, Βραζιλία	3,65-7,82 ^s	
Λακτόκοκκοι			
Enterococci	Γαλλία, Ιταλία, Ισπανία, Βραζιλία	1,59-5,09 ^t	

^aAlonso-Calleja et al., 2002; Fatichenti et al., 1979; Fontecha et al., 1990; Mas Mayoral et al., 1991; Tornadizo et al., 1995; Zárate et al., 1997)

^bKalogridou-Vassiliadou, 1991

^cDelavenne et al., 2012; Mor-Mur et al., 1994; Suguna et al., 2012; Yamazi et al., 2013

^dAlonso-Calleja et al., 2002; Callon et al., 2007; Fatichenti et al., 1979; Fontecha et al., 1990; Foschino et al., 2002; Kondyli et al., 2012; Mas et al., 2002; Mas Mayoral et al., 1991; Medina et al., 1992; Mor-Mur et al., 1994; Morgan et al., 2003; Muehlherr et al., 2003; Zárate et al., 1997)

^eD'Amico and Donnelly, 2010; Suguna et al., 2012; Taufik et al., 2011

^fLittle and De Louvois, 1999; Suguna et al., 2012

^gAbou-Eleinin et al., 2000

^hRahimi et al., 2010, 2014; Gaya et al., 1996

ⁱJayamanne and Samarajeewa, 2001

^jCupáková et al., 2012; Foschino et al., 2002; Morgan et al., 2003; Suguna et al., 2012

^kCortés et al., 2006; Cupáková et al., 2012; Muehlherr et al., 2003; Verraes et al., 2014)

^lCortés et al., 2006; Cupáková et al., 2012; D'Amico and Donnelly, 2010; Foschino et al., 2002; Morgan et al., 2003; Muehlherr et al., 2003; Verraes et al., 2014

^mSuguna et al., 2012

ⁿAlonso-Calleja et al., 2002; Callon et al., 2007; Delavenne et al., 2012; Fatichenti et al., 1979; Fontecha et al., 1990; Foschino et al., 2002; Gonzalez et al., 2003; Kondyli et al., 2012; Mas et al., 2002; Mas Mayoral et al., 1991; Mor-Mur et al., 1994; Suguna et al., 2012; Tornadizo et al., 1995; Zárate et al., 1997

^oDelavenne et al., 2012; Medina et al., 1992; Mor-Mur et al., 1994; Perin and Nero, 2014

^pAlonso-Calleja et al., 2002; Mas et al., 2002; Tornadizo et al., 1995; Zárate et al., 1997)

^qAlonso-Calleja et al., 2002; Callon et al., 2007; Delavenne et al., 2012; Fontecha et al., 1990; Foschino et al., 2002; Mas et al., 2002; Mor-Mur et al., 1994; Tornadizo et al., 1995; Zárate et al., 1997

^rKondyli et al., 2012; Perin and Nero, 2014)

Fatichenti et al., 1979; Kondyli et al., 2012; Perin and Nero, 2014)

^sAlonso-Calleja et al., 2002; Delavenne et al., 2012; Fatichenti et al., 1979; Foschino et al., 2002; Gonzalez et al., 2003; Kondyli et al., 2012; Mas et al., 2002; Mas Mayoral et al., 1991; Medina et al., 1992; Perin and Nero, 2014; Tornadizo et al., 1995; Zárate et al., 1997)

Οι Kondyli et al. (2011) σε πειραματική έρευνα που έκαναν με αντικείμενο τη μελέτη της μικροβιακής χλωρίδας του γάλακτος από αυτόχθονες Ελληνικές φυλές προβάτων (Μπούτσικο και Καραμάνικο) και αιγών (ενδογενής φυλή), δύο διαφορετικές εποχές του

χρόνου, την άνοιξη και το καλοκαίρι, συμπέραναν ότι τα μεσόφιλα LAB επικρατούσαν και στα τρία είδη γάλακτος (Πίνακας 12).

Πίνακας 12: Μικροβιολογική σύσταση αίγειου και πρόβειου γάλακτος από Ελληνικές φυλές

Είδος (log cfu/mL)	Μπούτσικο		Καραμάνικο		Εγχώρια αίγα	
	A	K	A	K	A	K
Ολική χλωρίδα	5,75 ^{a,1}	5,23 ^{a,1}	5,58 ^{a,1}	5,41 ^{a,1}	6,05 ^{β,1}	6,14 ^{β,1}
Μεσόφιλοι βάκิลλοι	5,87 ^{a,1}	5,04 ^{a,2}	5,55 ^{a,1}	5,06 ^{a,2}	6,18 ^{a,1}	5,78 ^{a,2}
Μεσόφιλοι κόκκοι	5,40 ^{a,1}	4,96 ^{a,1}	5,14 ^{a,1}	5,15 ^{a,1}	6,53 ^{β,1}	5,98 ^{β,1}
Θερμόφιλοι κόκκοι	4,81	4,55	4,91	4,70	5,50	5,39
Εντερόκοκκοι	3,31	3,13	3,80	3,62	3,70	3,19
Κόκκοι θετική στην καταλάση	4,26	4,09	4,57	4,07	4,62	3,31
Pseudomonas	2,96 ^{a,1}	2,64	3,07 ^{a,1}	3,09 ^{a,1}	4,54 ^{β,1}	3,97 ^{β,1}
Enterobacteriaceae	1,18 ^{a,1}	1,92	2,19 ^{β,1}	2,95 ^{β,2}	3,60 ^{ς,1}	3,72 ^{ς,2}
Ζύμες-Μύκητες	3,09	2,59	3,18	2,57	3,20	3,06

^{a,b} : οι μέσες τιμές της ίδιας σειράς με διαφορετικό γράμμα διαφέρουν στατιστικά σημαντικά ($P < 0.05$)

^{1,2} : οι μέσες τιμές της ίδιας σειράς για την ίδια φυλή διαφέρουν στατιστικά σημαντικά ($P < 0.05$)

^c : οι τιμές είναι ο μέσος όρος 32 δειγμάτων γάλακτος

^d : A= Άνοιξη (Απρίλιος, Μάιος), K= Καλοκαίρι (Ιούνιος, Ιούλιος) (Konodyli et al., 2011)

Τα θερμόφιλα LAB βρίσκονταν σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στο αίγειο γάλα. Οι εντερόκοκκοι και οι ζύμες ήταν στα ίδια επίπεδα και στα τρία είδη γάλακτος. Οι εντερόκοκκοι είναι μια ομάδα μικροοργανισμών που προέρχονται κυρίως από το περιβάλλον και για αυτό το λόγο μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες καλής υγιεινής (Garg and Mital, 1991). Η μικροβιολογική ποιότητα του πρόβειου γάλακτος ήταν καλύτερη από του αίγειου.

1.6. Η διατροφική αξία του αίγειου γάλακτος

Η μέση σύσταση του αίγειου γάλακτος προσομοιάζει με αυτή του αγελαδινού και λιγότερο με του πρόβειου (Πίνακας 13)

Πίνακας 13: Μέση σύσταση αίγειου, αγελαδινού και πρόβειου γάλακτος

Σύστατικό	Είδος γάλακτος		
	Αίγειο	Πρόβειο	Αγελαδινό
Λίπος (%)	3,8	7,9	4,0
ΣΥΑΛ (%)	8,9	12,0	8,9
Λακτόζη (%)	4,1	4,9	6,9
Πρωτεΐνη (%)	3,4	6,2	1,2
Καζεΐνη	2,4	4,2	0,4
Τέφρα (%)	0,8	0,9	0,3
Θερμίδες/100 mL	70	105	68

(Posati and Orr (1976), Jenness (1980), Larson and Smith (1974), Haenlein and Caccese (1984), Anifantakis et al. (1980))

Η δομή των συστατικών του αίγειου γάλακτος διαφέρει σε σχέση με του αγελαδινού ως προς τη διάμετρο των καζεϊνικών μικκυλίων, το βαθμό ενυδάτωσής τους και τη συγκέντρωσή τους σε ανόργανα συστατικά. Τα καζεϊνικά μικκύλια του αίγειου γάλακτος έχουν μεγαλύτερη διάμετρο σε σχέση με αυτά του αγελαδινού, μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε Ca, P και παρουσιάζουν μεγαλύτερη ευαισθησία κατά τη θερμική επεξεργασία του γάλακτος. Τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του αίγειου γάλακτος συμβάλουν στην αύξηση της πεπτικότητάς του παράλληλα όμως δημιουργούν ασταθή δομή τυροπήγματος μειώνοντας την απόδοση σε τυρί.

Η περιεκτικότητα του αίγειου γάλακτος σε καζεΐνες παρουσιάζει μεγάλες διακυμάνσεις λόγω των διαφόρων γενετικών παραλλαγών της α_{s1} – καζεΐνης. Κύρια καζεΐνη στο αίγειο γάλα είναι η β - σε αντίθεση με το αγελαδινό που είναι η α_{s1} - καζεΐνη. Οι γενετικές παραλλαγές της α_{s1} - καζεΐνης διακρίνονται σε τέσσερις ομάδες ανάλογα με την ικανότητα σύνθεσης πρωτεΐνης. Στο γάλα των αιγών επικρατεί η γενετική παραλλαγή της α_{s1} – καζεΐνης, η οποία συντίθεται σε μέτρια ποσοστά. Αυτό έχει ως συνέπεια τη δημιουργία ασθενούς τυροπήγματος σε σχέση με το αγελαδινό γάλα, όπου υπερισχύει η συγκέντρωση της α_{s1} – καζεΐνης (Park et al., 2007; Devold et al., 2011; Moatsou et al., 2006, Selvagi et al., 2014; Devold et al., 2011; Skeie et al., 2014; Skeie, 2014). Στην αυξημένη περιεκτικότητα του αγελαδινού γάλακτος σε α_{s1} - καζεΐνη έχει αποδοθεί και η πρόκληση αλλεργιών σε πολλά βρέφη. Η κατανάλωση του αίγειου γάλακτος σε αυτήν την περίπτωση ενδείκνυται λόγω χαμηλής συγκέντρωσης σε α_{s1} - καζεΐνη (Haenlein, 2004). Ο γενετικός πολυμορφισμός των καζεϊνών οφείλεται σε αντικατάσταση ενός ή περισσότερων αμινοξέων της πεπτιδικής αλυσίδας και σε σπάνιες περιπτώσεις σε απαλοιφή ολόκληρων τμημάτων (Rystad et al., 1990).

Η σύσταση του αίγειου γάλακτος στα απαραίτητα αμινοξέα θρεονίνη, ισολευκίνη, λυσίνη, κυστεΐνη, βαλίνη και τυροσίνη είναι υψηλότερη του αγελαδινού (Posati & Orr, 1976).

Το προφίλ των ΛΟ του λίπους του αίγειου και του πρόβειου γάλακτος διαφέρει σημαντικά σε σχέση με το αγελαδινό. Στο λίπος του γάλακτος των μικρών μηρυκαστικών βρίσκονται σε μεγάλη αναλογία τα ΛΟ μικρής αλύσου (C4-C16) με κυρίαρχα το καπροϊκό (C6), το καπρυλικό (C8:0) και το καπρικό (C10:0). Στο αίγειο γάλα συγκεκριμένα το σύνολο των μονοακόρεστων ΛΟ (ΜΟΛΟ) και PUFA βρίσκεται σε μεγαλύτερη αναλογία συγκριτικά με του αγελαδινού (Posati, 1976).

Η περιεκτικότητα του αίγειου γάλακτος σε Se και βιταμίνη E είναι μεγαλύτερη στην περίπτωση του αίγειου γάλακτος σε σχέση με το αγελαδινό. Το αίγειο γάλα είναι πλούσια πηγή βιταμίνης A, νιασίνης, θειαμίνης, ριβοφλαβίνης και παντοθενικού οξέος. Το αίγειο γάλα αποτελεί ιδανική τροφή για τα βρέφη καθώς παρέχει υψηλές ποσότητες πρωτεΐνης και Ca, υψηλότερες του αγελαδινού αλλά χαμηλότερες του πρόβειου (Jenness, 1980).

Το αίγειο γάλα σε σχέση με το αγελαδινό περιέχει μικρότερες συγκεντρώσεις σε βιταμίνη B₁₂ και φυλλικό οξύ, το οποίο είναι απαραίτητο για τη σύνθεση της αιμοσφαιρίνης (Part et al., 2007).

2. Τυρί

2.1. Παγκόσμια παραγωγή τυριού

Η παγκόσμια παραγωγή τυριού για το 2013 (εκτός των επεξεργασμένων τυριών) κυμάνθηκε στους 23 εκατομμύρια τόνους. Η παραγωγή αγελαδινού τυριού από τις βιομηχανίες γάλακτος εκπροσωπεί το 80% της παγκόσμιας παραγωγής τυριού. Το υπόλοιπο ποσοστό αντιστοιχεί σε τυρί που παρασκευάζεται σε φάρμες ή στο σπίτι καθώς και σε ένα ποσοστό τυριών που παρασκευάζεται από άλλο είδος γάλακτος (αίγαιο, πρόβειο, βουβαλίσιο). Το παγκόσμιο εμπόριο τυριού αυξήθηκε κατά 1,3% το 2013 σε σύγκριση με το 2012 (Πίνακας 14). Στην ΕΕ των 28 και στις ΗΠΑ παράγεται το 70% της παγκόσμιας παραγωγής τυριού.

Πίνακας 14: Παγκόσμια παραγωγή τυριού (σε εκατομμύρια τόνους) για το έτος 2013

Χώρα/Ηπειρος	Παραγωγή για το 2013	Ετήσιος ρυθμός αύξησης 12/13
ΕΕ των 28	8,9	+1,0
Η.Π.Α	5,1	+2,3
Βραζιλία	0,7	+3,1
Αίγυπτος	0,6	+12,4
Τουρκία	0,6	+6,4
Αργεντινή	0,6	+2,1
Ρωσία	0,5	+3,1

(IDF, 2014)

Η ετήσια παραγωγή τυριού, εξαιρουμένης της Αυστραλίας (-10%) και της Νέας Ζηλανδίας (-5%), αυξήθηκε σε όλες τις κύριες χώρες παραγωγής κατά το 2013. Ο ρυθμός παραγωγής στην ΕΕ των 28 και τις ΗΠΑ παρουσίασε μικρή πτώση σε σχέση με το 2012 ωστόσο η μειωμένη παραγωγή γάλακτος κατά τους πρώτους μήνες του χρόνου δεν επηρέασε την παραγωγή τυριού.

Στην Αίγυπτο η παραγόμενη ποσότητα τυριού επανήλθε σε φυσιολογικά επίπεδα μετά από μία κάμψη το 2012 σημειώνοντας αύξηση κατά 12%. Η Βόρεια Κορέα σε παγκόσμιο επίπεδο σημείωσε τον υψηλότερο ρυθμό ανάπτυξης (+30%).

Η Ελλάδα είναι δεύτερη στην Ευρωπαϊκή Ένωση όσον αφορά την παραγωγή τυριών από αίγαιο γάλα. Η παραγωγή κυμαίνεται στους 40.000 τόνους και αντιστοιχεί στο 22% της παραγωγής αίγειων τυριών στα πλαίσια της ΕΕ των 28 και στο 9% παγκοσμίως (FAOSTAT, 2012).

Το Σουδάν με 110.750 τόνους κατατάσσεται στις πρώτες θέσεις παραγωγής αίγειου τυριού παγκοσμίως. Στην ΕΕ των 28 πρώτη είναι η Γαλλία (88.290) και τρίτη η Ισπανία (FAOSTAT, 2012).

Στον **Πίνακα 16** παρουσιάζεται το σύνολο των τυριών που παρασκευάζονται σε διάφορες χώρες παγκοσμίως με αποκλειστική ή σε κάποιο ποσοστό συμμετοχή του αίγειου γάλακτος.

Το καθεστώς για την προστασία των γεωγραφικών ενδείξεων και των ονομασιών προέλευσης των γεωργικών προϊόντων θεσπίστηκε από την Ευρωπαϊκή Ένωση το 1992 και ο αριθμός του συνόλου των προϊόντων Προστατευμένης Ονομασίας Προέλευσης (ΠΟΠ) και Προστατευμένης Γεωγραφικής Ένδειξης (ΠΓΕ) παρουσιάζεται στον **Πίνακα 15**.

Πίνακας 15: Κατάλογος τυριών ΠΟΠ και ΠΓΕ που παρασκευάζονται στις χώρες της ΕΕ28

Χώρα	Τύπος Τυριού	
	ΠΟΠ	ΠΓΕ
Αυστρία	6	-
Βέλγιο	1	-
Γαλλία	44	6
Γερμανία	4	3
Δανία	-	2
Τσεχία	-	3
Ελλάδα	21	-
Ηνωμένο Βασίλειο	10	5
Ισπανία	24	2
Ιταλία	45	1
Λιθουανία	-	1
Ολλανδία	4	2
Πολωνία	3	2
Πορτογαλία	11	1
Σλοβακία	-	6
Σλοβενία	4	-

(European Commission, Agricultural and Rural Development, DOOR)

Πίνακας 16: Κατάλογος παραδοσιακών αίγειων τυριών ανα τον κόσμο

Χώρα	Είδος τυριού	Δομή	FDM (%)	Υγρασία (%)	Είδος γάλακτος
Γαλλία	Crottin Chavignol	Ημίσκληρο	45	53 max	A
	Chabichou	Μαλακό	45	50 max	A
	La Mothe St Heray	Μαλακό	45	55 max	A
	St Maure	Μαλακό	45	55 max	A
	Valencay	Μαλακό	45	55 max	A
	Selles Sur Cher	Μαλακό	45	41 max	A
	Pouligny St	Μαλακό	45	40 max	A
	Picodon de la Rocamadour	Μαλακό	45		A
Ελλάδα	Φέτα	Μαλακό	45	53	Π, A
	Κασέρι	Ημίσκληρο	45	42 κατά μ.ο	Π+A
	Γραβιέρα Κρήτης	Σκληρό	38	40 min	Π+A
	Κοπανιστή	Μαλακό	48	60 κατά μ.ο	Αγ+Π+A
	Γαλοτύρι	Μαλακό	47	71	A και/ή Π
	Ανθότυρος	Μαλακό ή Ξηρό	65	70 και 40	A και/ή Π
	Μανούρι	Μαλακό	52	76	Ακαι/ή Π
	Μετσοβόνε	Σκληρό	44	42	A και/ή Π
	Λαδοτύρι	Σκληρό	47	34	A και/ή Π
Ελλάδα	Φορμαέλλα	Σκληρό	50	33	A και/ή Π
Ισραήλ	Goat cheese	Μαλακό	45	66	A
Νορβηγία	Gjetost	Ημίσκληρο	5		A
	Gammelost				A
Ισπανία	Valdeteja				A
	Cabrales				Αγ/Π/A
	Iberico	Σκληρό			Αγ/Π/A
	Trochon	Ημίσκληρο			Υποπροϊόν
	Majojero	Σκληρό			A
Μεξικό	Anejo Enchilado	Σκληρό			A

Αγ: Αγελαδινό; A: Αίγαιο; Π: Πρόβειο (Tziboula & Clarke, 2002)

2.2. Δομή και διάρθρωση του κλάδου της Ελληνικής τυροκομίας

Κύριο χαρακτηριστικό του κλάδου των Ελληνικών τυροκομικών προϊόντων είναι ο μεγάλος αριθμός βιομηχανιών που δραστηριοποιούνται σε αυτόν. Η διαφοροποίηση των συγκεκριμένων βιομηχανιών έγκειται ως προς το μέγεθός τους, το βαθμό στον οποίο καλύπτουν τις ανάγκες της αγοράς, τα κανάλια διανομής αλλά και ως προς τον τρόπο διανομής των προϊόντων τους.

Στον κλάδο της ελληνικής τυροκομίας δραστηριοποιείται, εξαιρουμένων των παραπάνω εταιρειών, ένας μεγάλος αριθμός μικρομεσαίων παραγωγικών επιχειρήσεων, καλύπτοντας τις ανάγκες των τοπικών αγορών, ενώ μερικές από αυτές διοχετεύουν μέρος της παραγωγής τους και σε άλλες αγορές. Επίσης, ο κλάδος περιλαμβάνει και ένα σημαντικό αριθμό μικρών οικογενειακών τυροκομείων, τα οποία απευθύνονται αποκλειστικά σε τοπικό επίπεδο. Οι περιορισμένοι πόροι, η δυσκολία στην εξεύρεση των απαιτούμενων κεφαλαίων, η παραγωγή χαμηλής δυναμικότητας και η αδυναμία υιοθέτησης της κείμενης νομοθεσίας οδηγεί πολλές φορές στην παύση της λειτουργίας τους (ICAP, 2011).

Το σύνολο των τυροκομικών επιχειρήσεων που δραστηριοποιούνται στην Ελλάδα σύμφωνα με στοιχεία της Eurostat, διαμορφώθηκε για το 2009 σε 605 επιχειρήσεις εκ των οποίων οι περισσότερες (340) είναι μικρού μεγέθους (ετήσια παραγωγή <100 τόνων), ενώ μόλις τρεις επιχειρήσεις είχαν ετήσια παραγωγή άνω των 10.000 τόνων.

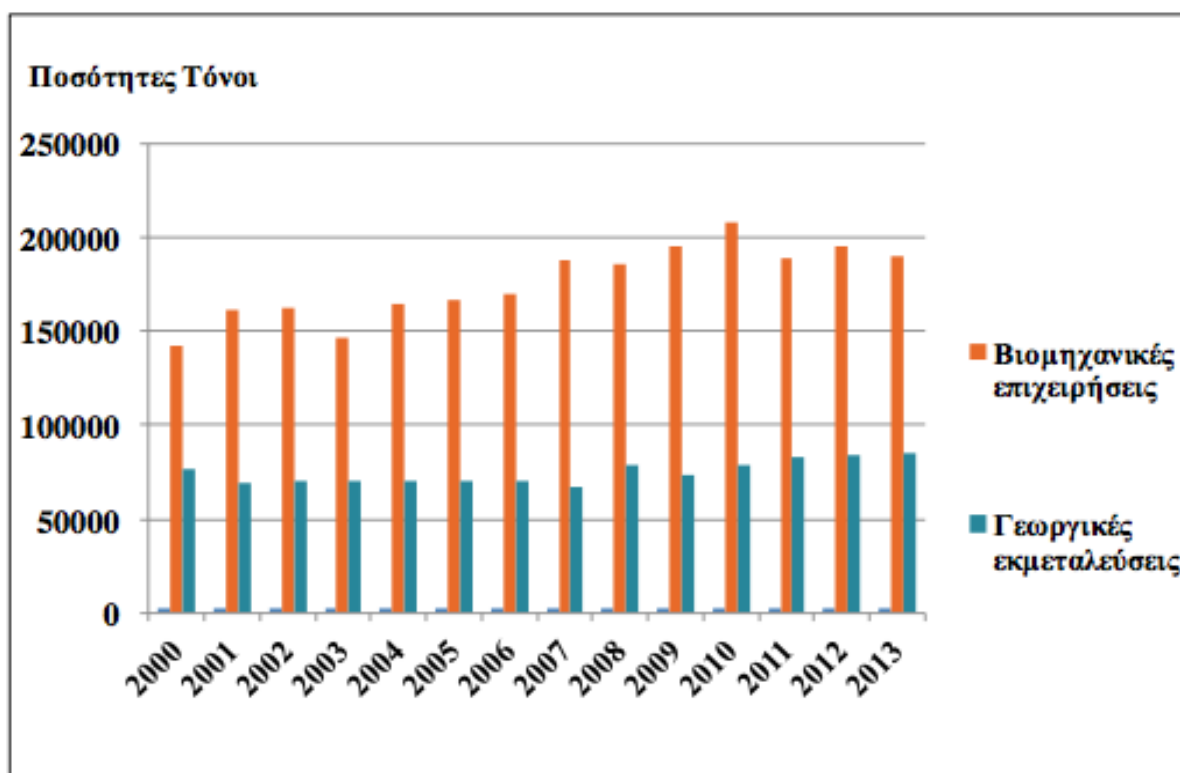
Η κατάταξη των βιομηχανιών, που δραστηριοποιούνται στον κλάδο της τυροκομίας, βάσει της ετήσιας παραγωγής τους για τα έτη 2006 και 2009 παρουσιάζεται στον **Πίνακα 17**. Δυναμικότητα παραγωγής άνω των 15.000 τόνων μέχρι το 2009 είχαν μόνο δύο βιομηχανίες, ενώ το 56% αφορούσε βιομηχανίες δυναμικότητας μέχρι 100 τόνους το χρόνο. Στοιχεία της κλαδικής μελέτης που πραγματοποιήθηκε το 2013 (ICAP, 2013) αναφέρουν ότι η εταιρεία ΤΥΡΑΣ Α.Ε. κατείχε ποσοστό 12% του συνολικού όγκου παραγωγής των 195.046 τόνων). Η ΔΩΔΩΝΗ Α.Ε. με ποσοστό 6,5%, η ΜΕΒΓΑΛ Α.Ε με ποσοστό 5,5% και η ΗΠΕΙΡΟΣ Α.Ε.Β.Ε με 4% κάλυψαν το 35% της συνολικά παραγόμενης ποσότητας. Στην κατάταξη των βιομηχανιών ακολούθησαν η LITTLE ACRE MILK FARM Α.Ε. με ποσοστό 4%, οι ΔΕΛΦΟΙ Α.Α., η ΕΞΑΡΧΟΣ Α.Ε. και η ΚΑΡΑΛΗΣ Α.Ε με ποσοστό 1,5% κάθε μία.

Πίνακας 17: Κατανομή παραγωγής τυριών από Ελληνικές βιομηχανικές επιχειρήσεις με βάση την ετήσια παραγωγή τους

Ετήσια παραγωγή	2006	2009
< 100 τόνοι	342	340
101-1.000 τόνοι	233	229
1.001-4.000 τόνοι	24	29
4.001-10.000 τόνοι	2	4
10.001-15.000 τόνοι	3	1
15.001-20.000 τόνοι	0	2
>20.000 τόνοι	0	0
Σύνολο	604	605

(Eurostat)

Η παραγωγή τυροκομικών προϊόντων από τις βιομηχανικές επιχειρήσεις τα τελευταία χρόνια παρουσιάζει συνεχή άνοδο, ενώ η παραγωγή μέσω γεωργικών εκμεταλλεύσεων εμφανίζει ετήσιες διακυμάνσεις (**Διάγραμμα 7**). Η συμμετοχή των γεωργικών εκμεταλλεύσεων στη συνολική παραγωγή τυριών μειώθηκε το 2011 στο 26,8% από 29,6% το 2006. Το μερίδιο των βιομηχανικών επιχειρήσεων εν αντιθέση αυξήθηκε σε 73,2% το 2011 από 70,8% το 2006 (ICAP,2011).



Διάγραμμα 7: Κατανομή παραγωγής τυριών από Ελληνικές (?) βιομηχανικές επιχειρήσεις και γεωργικές εκμεταλλεύσεις για τα έτη 2000-2013 (ICAP, 2013)

Το αυξημένο ποσοστό συμμετοχής των βιομηχανικών επιχειρήσεων στη συνολική παραγωγή τυροκομικών οφείλεται στην αύξηση του βαθμού βιομηχανοποίησης του κλάδου της τυροκομίας και στην αύξηση της παραγωγικής δυναμικότητας των βιομηχανιών. Αξίζει να σημειωθεί ότι, βάσει των στοιχείων της Eurostat, η συμμετοχή των γεωργικών εκμεταλλεύσεων στη συνολική παραγωγή τυροκομικών κυμαίνεται σε υψηλά επίπεδα σε σύγκριση με τις υπόλοιπες χώρες της ΕΕ των 28.

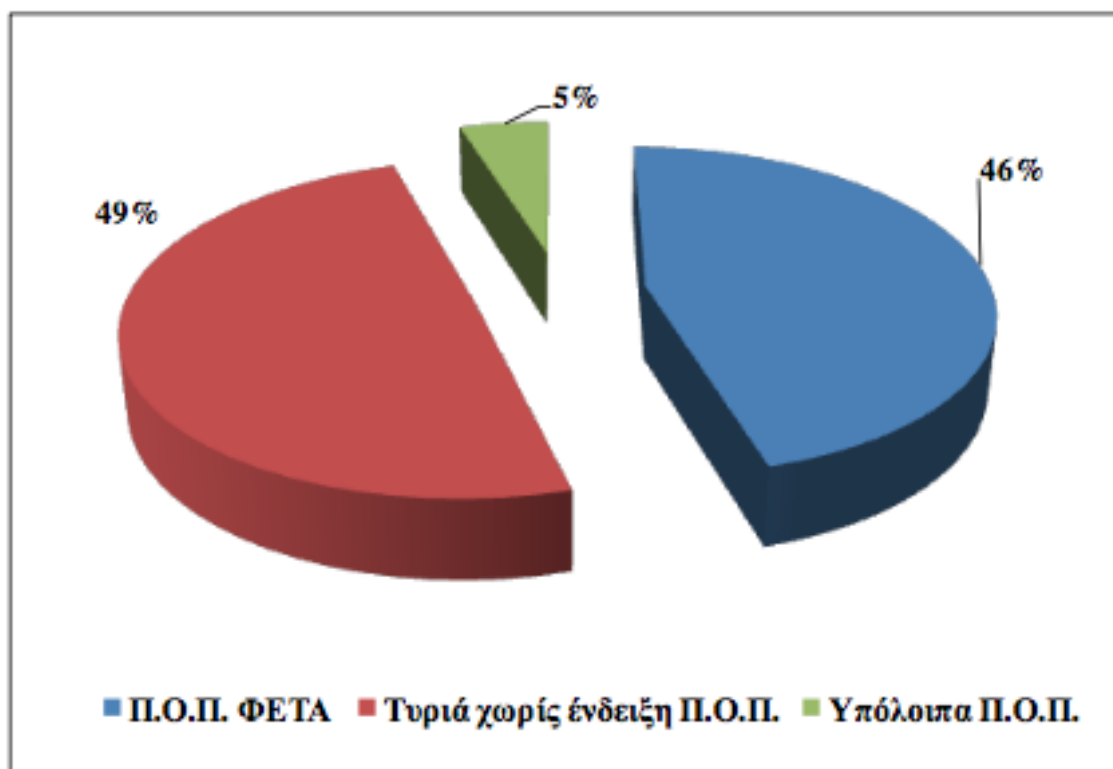
Η παραγωγή προϊόντων Π.Ο.Π από τις βιομηχανικές επιχειρήσεις καλύπτει μεγάλο μέρος της συνολικής παραγωγής. Τα προϊόντα Π.Ο.Π που παράγονται στην Ελλάδα παρουσιάζονται στον **Πίνακα 18** και αφορούν τα έτη 2008 μέχρι 2012. Η ετήσια παραγωγή των Π.Ο.Π προϊόντων μέχρι το 2010 ήταν υψηλή φθάνοντας τους 112 χιλιάδες τόνους, ενώ από το 2011 και έπειτα σημείωσαν σταδιακή μείωση, λόγω των χαμηλότερων παραδόσεων σε γάλα. Η Φέτα είναι το τυρί με τη μεγαλύτερη παραγωγή σε σχέση με τα υπόλοιπα τυριά Π.Ο.Π. Τα δεύτερα σε παραγωγή τυριά Π.Ο.Π είναι το Κασέρι και η Κεφαλογραβιέρα με ποσοστό 2,6% επί της συνολικής παραγωγής και ακολουθεί η Γραβιέρα Κρήτης με ποσοστό 1,2%.

Πίνακας 18: Παραγωγή Π.Ο.Π τυριών από τις Ελληνικές βιομηχανικές επιχειρήσεις (σε τόνους)

Προϊόν	2008	2009	2010	2011	2012	Μεταβολή(%)
Φέτα	91.734	95.367	101.175	92.484	86.211	-6,8
Κασέρι	2.516	2.633	3.964	3.134	2.552	-18,6
Κεφαλογραβιέρα	2.205	2.165	2.408	2.539	2.439	-3,9
Γραβιέρα Κρήτης	1.261	786	1.217	1.294	1.152	-10,9
Μανούρι	1.010	1.079	1.006	896	836	-6,7
Γραβιέρα Νάξου	645	819	1.003	874	821	-6,0
Κατίκι Δομοκού	271	449	388	397	382	-3,7
Γαλοτύρι	370	285	263	232	163	-29,6
Καλαθάκι Λήμνου	472	436	203	359	352	-1,9
Λαδοτύρι Μυτιλήνης	193	237	188	317	316	-0,4
Σαν Μιχάλη	48	50	101	46	8	-82,6
Σφέλα	83	54	70	92	47	-48,9
Μπάτζος	55	68	34	47	27	-42,6
Ξινομυζήθρα	10	4	31	45	38	-15,6
Κοπανιστή	31	35	31	39	24	-38,5
Πηχτόγαλο Χανίων	8	6	20	22	45	104,5
Ανεβατό	17	9	12	18	8	-55,6
Φορμαέλλα Αράχωβας	2	0	1	6	4	-33,3
Γραβιέρα Αγράφων	0	0	0	0	4	
Μετσοβόνη	0	0	0	0	5	
Σύνολο	100.931	104.482	112.115	102.841	95.434	-7,2

(ICAP, 2013)

Το ποσοστό παραγωγής της Φέτας για το έτος 2012 αντιστοιχούσε στο 49% της συνολικά παραγόμενης ποσότητας τυριών.. Το 5% αντιπροσώπευαν τα υπόλοιπα τυριά Π.Ο.Π και η παραγωγή των τυριών χωρίς ένδειξη κυμαινόταν στο 46% της συνολικά παραγόμενης ποσότητας (Διάγραμμα 8).



Διάγραμμα 8: Κατανομή της παραγωγής τυριών για το έτος 2012 αναφορικά με την ένδειξή τους (ICAP,2013)

Στο **Πίνακα 19** παρουσιάζεται η κατάταξη των 25 μεγαλύτερων ελληνικών βιομηχανιών παραγωγής τυριού βάσει της παραγωγής τους για τα έτη 2012 και 2013. Οι βιομηχανίες ΜΕΒΓΑΛ Α.Ε, ΤΥΡΑΣ Α.Ε, ΔΩΔΩΝΗ Α.Ε, LITTLE ACRE MILK FARM Α.Ε., ΗΠΕΙΡΟΣ Α.Ε.Β.Ε., ΚΑΡΑΛΗΣ Α.Ε., ΔΕΛΦΟΙ Α.Ε. και ΕΞΑΡΧΟΣ Α.Ε. σημείωσαν τις υψηλότερες πωλήσεις συνεισφέροντας στο 41,19% για το έτος 2012 και στο 43,19% για το έτος 2013 επί των συνολικών πωλήσεων.

Πίνακας 19: Κατανομή ελληνικών βιομηχανιών παραγωγής γαλακτοκομικών βάσει της κατάταξής τους (σε €)

Εταιρεία	2012	2013
ΦΑΓΕ Α.Ε.	173.156.000	171.308.000
ΜΕΒΓΑΛ Α.Ε.	172.988.000	143.334.000
ΟΛΥΜΠΟΣ Α.Ε.	151.207.266	148.656.000
ΤΥΡΑΣ Α.Ε.	128.911.338	131.540.000
ΚΟΛΙΟΣ Α.Ε.	116.853.680	78.278.000
ΔΩΔΩΝΗ Α.Ε.	83.558.043	83.066.000
ΡΟΔΟΠΗ Α.Ε.	39.525.422	42.724.000
ΣΙΜΟΣ FOOD GROUP Α.Ε.	36.202.706	Δ.Δ
LITTLE ACRE MILK FARM Α.Ε.	35.985.421	45.770.000
ΗΠΕΙΡΟΣ Α.Ε.Β.Ε.	33.632.027	31.554.000
ΒΙΓΛΑ ΟΛΥΜΠΟΥ Α.Ε.Β.Ε.	22.364.392	16.566.000
ΕΒΡΟΦΑΡΜΑ Α.Β.Ε.Ε.	24.357.000	22.843.000
ΚΑΡΑΛΗΣ Α.Ε.	19.135.254	22.510.000
ΤΡΙΚΚΗ Α.Ε.	17.330.572	18.620.000
ΡΟΥΣΣΑΣ Α.Ε.	17.236.608	23.037.000
ΝΕΟΓΑΛ Α.Ε.	16.565.147	16.826.000
ΜΠΙΖΙΟΣ Α.Ε.	16.355.089	21.931.000
ΔΕΛΦΟΙ Α.Ε.	16.215.672	15.045.000
ΜΠΕΛΛΑΣ Φ. & ΥΙΟΣ Α.Ε.	15.128.721	19.374.000
ΧΩΤΟΣ Α.Β.Ε.Ε.	14.688.915	15.765.000
ΒΙΟΤΡΟΣ Α.Ε.Β.Ε.	12.115.333	17.456.000
SHM HELLAS- ΠΗΛΙΟΝ Α.Β.Ε.Ε.Ε.	11.470.233	Δ.Δ
ΚΟΥΡΕΛΛΑΣ Α.Ε.	11.399.731	9.119.000
ΕΞΑΡΧΟΣ Α.Ε.	10.283.161	10.450.000

(ICAP,2013)

2.3. Κύριες κατηγορίες τυριών

Η διάκριση των τυριών σε κατηγορίες είναι ιδιαίτερα περίπλοκη, λόγω της ύπαρξης ενός μεγάλου αριθμού τυριών που έχουν παρασκευαστεί με διαφορετικές τεχνολογίες και από διαφορετικές πρώτες ύλες. Στο παρελθόν, πολλοί ερευνητές προσπάθησαν να κατατάξουν τα περίπου 2000 είδη τυριών σε διάφορες κατηγορίες σύμφωνα με κάποια κοινά χαρακτηριστικά του.

Μια από τις πρώτες προσπάθειες κατάταξης των τυριών είναι αυτή του Schulz (1952). Ο διαχωρισμός των τυριών, βάση του Schulz, γίνεται σύμφωνα με το ποσοστό υγρασίας και διακρίνει τις εξής κατηγορίες:

- Ξηρά τυριά (με ποσοστό υγρασίας <40%)
- Τυριά για τρίψιμο (με ποσοστό υγρασίας 40-49,9%)
- Σκληρά τυριά (με ποσοστό υγρασίας 50-59,9%)
- Μαλακά τυριά (με ποσοστό υγρασίας 60-69%)
- Φρέσκα τυριά (με ποσοστό υγρασίας 70-82%)

Ο Davis (1965) κατέταξε τα τυριά με κριτήριο τη συνεκτικότητά τους, στις παρακάτω ομάδες:

- Μαλακά τυριά (Quarg, Cottage, Cream): κατακρατούν στη μάζα τους σημαντική ποσότητα τυρογάλακτος και η τελική υγρασία κυμένεται στο 55-80%
- Ημισκληρα τυριά (Taleggio, Limburg, Romadur): τυριά που ωριμάζουν 2-3 μήνες και η τελική τους υγρασία κυμένεται στο 45-55%.
- Σκληρά τυριά (Cheddar, Cheshire, Cantal, Emmental): η υγρασία του τελικού προϊόντος κυμένεται στο 35-45%.
- Πολύ σκληρά τυριά (Grana, Parmesan): τυριά που ωριμάζουν για μεγάλο χρονικό διάστημα (>6 μήνες) και η υγρασία του τελικού προϊόντος κυμένεται στο 35% ανάλογα με την ηλικία τους.

Η κατηγοριοποίηση των τυριών σύμφωνα με τον Kosikowski (1977) σε 4 ομάδες είναι η εξής:

- Μαλακά: τυριά με πολυ υψηλό ποσοστό υγρασίας (55-80%)
- Ημισκληρα: τυριά με υψηλά ποσοστά υγρασίας (45-55%)
- Σκληρά: τυριά με μέση υγρασία (34-45%)
- Πολύ σκληρά: τυριά με χαμηλή υγρασία (31-34%)

Σύμφωνα με τους Walter και Hangrove (1972) η κατάταξη των τυριών μπορεί να γίνει στις τέσσερις ομάδες:

- Πολύ σκληρά τυριά: τυριά που ωριμάζουν με βακτήρια (Asiago, Parmesan)
- Σκληρά τυριά: τυριά που ωριμάζουν με βακτήρια, τα οποία είναι δυνατόν να σχηματίζουν στη μάζα τους οπές (Emmental, Gryere) ή όχι (Cheddar)
- Ημι-μαλακά τυριά: τυριά που ωριμάζουν κυρίως με βακτήρια (Brick, Munster) ή με βακτήρια και μικροοργανισμούς που αναπτύσσονται στην επιφάνειά τους ή με μύκητες που αναπτύσσονται στο εσωτερικό (Roquefort, Gorgonzola, Danablue)
- Μαλακά τυριά: τυριά που ωριμάζουν (Bel Paese, Brie, Camembert, Hand) και αυτά που δεν ωριμάζουν (Cottage, Pot, Ricotta)

3. Οξυγαλακτικά βακτήρια

3.1. Γενικά χαρακτηριστικά

Ο όρος οξυγαλακτικά βακτήρια (LAB) μέχρι τις αρχές του 20^{ου} αιώνα χρησιμοποιήθηκε για μικροοργανισμούς οι οποίοι είχαν την ικανότητα να προκαλούν οξίνιση του γάλακτος. Ο Joseph Lister το 1873 απομόνωσε το πρώτο LAB που σήμερα γνωρίζουμε ως *Lactococcus Lactis*. Ο συσχετισμός βακτηρίων που προκαλούσαν οξίνιση του γάλακτος με βακτήρια που παράγαν γαλακτικό οξύ από άλλες πηγές ήταν σημαντική πρόοδος για την ταξινόμηση των LAB (Henneber, 1904; Lohnis 1904).

Ο Orla-Jensen (1942) όρισε τα LAB ως μικροοργανισμούς, οι οποίοι μορφολογικά διακρίνονται σε κόκκους και ραβδία, έχουν τη δυνατότητα να ζυμώνουν τη γλυκόζη προς παραγωγή γαλακτικού οξέος και άλλων προϊόντων (ομοζυμωτικός και ετεροζυμωτικός καταβολισμός) και η αναπτυξή τους είναι δυνατόν να πραγματοποιηθεί σε συγκεκριμένες συνθήκες (π.χ. 10° – 45°C).

Τα LAB χαρακτηρίζονται ως μικροοργανισμοί θετικοί κατά Gram, μη σποριογόνοι, αρνητικοί στην καταλάση, αναερόβιοι αλλά συγχρόνως αεροανθεκτικοί . Η απαιτούμενη ενέργεια για την ανάπτυξή τους εξασφαλίζεται σε ενδαιτήματα πλούσια σε θρεπτικά συστατικά, με κύρια τα σάκχαρα, όπως είναι διάφορες κατηγορίες τροφίμων (π.χ. γάλα, κρέας, αναψυκτικά, λαχανικά), ενώ παράλληλα εντοπίζονται και στη μικροχλωρίδα του στόματος, του εντέρου και του γεννητικού συστήματος των θηλαστικών (Ingram, 1975). Τα περισσότερα LAB παίρνουν ενέργεια μόνο μέσω των σακχάρων και οι διατροφικές τους απαιτήσεις περιλαμβάνουν ουσίες, όπως είναι τα αμινοξέα, οι πυριμιδίνες και οι πουρίνες (Pfeiler, 2007).

Χαρακτηριστικό της δομής των LAB είναι η απουσία κυτοχρωμάτων, πορφυρίνης και η αδυναμία εκτέλεσης οξειδωτικής φωσφορυλίωσης με αποτέλεσμα η απαιτούμενη ενέργεια να εξασφαλίζεται μέσω φωσφορυλίωσης σε επίπεδο υποστρώματος (Law, 1997).

Τα LAB είναι ανθεκτικά στην παρουσία οξέων. Καλύτερες συνθήκες ανάπτυξης παρατηρούνται σε εύρος pH 5-7 ενώ σε αλκαλικές συνθήκες η ανάπτυξή τους επιβραδύνεται σημαντικά (Tannock, 1999).

Σημαντικό χαρακτηριστικό διάκρισης των LAB είναι ο τρόπος ζύμωσης των σακχάρων σε συνθήκες υψηλών συγκεντρώσεων γλυκόζης, θρεπτικών συστατικών (αμινοξέα, βιταμίνες,

νουκλειϊκά οξέα) και χαμηλής διαθεσιμότητας οξυγόνου. Τα LAB βάσει αυτών των χαρακτηριστικών μπορούν να διακριθούν σε ομοιοζυμωτικά και ετεροζυμωτικά. Τα ομοιοζυμωτικά οξυγαλακτικά βακτήρια ζυμώνουν σχεδόν εξ'ολοκλήρου τη λακτόζη με παραγωγή 2 mol γαλακτικού οξέος και 2 ATP/μόριο ζυμούμενης γλυκόζης. Στην περίπτωση της ετεροζυμωτικής ζύμωσης η λακτόζη ζυμώνεται προς παραγωγή 1 mol γαλακτικού οξέος, 1 mol αιθανόλης/mol οξικού οξέος και 1 mol διοξειδίου του άνθρακα (CO₂). Η παραγόμενη ενέργεια κατά τον ετεροζυμωτικό καταβολισμό είναι 1 ATP/μόριο ζυμούμενης γλυκόζης (Sharpe, 1979).

3.2. Ταξινόμηση

Τα LAB ανήκουν στην τάξη *Lactobacillales*, της κλάσης *Bacili* του φύλου Firmicutes (Garrity and Holt, 2001). Η ομάδα των LAB περιλαμβάνει 6 οικογένειες τις *Aerococcaceae*, *Enterococcaceae*, *Carnobacteriaceae*, *Lactobacillaceae*, *Leuconostoc* και *Streptococcaceae* και περίπου 40 γένη. Συγκεκριμένα, η οικογένεια *Aerococcaceae* αποτελείται από 7 γένη, η οικογένεια *Carnobacteriaceae* από 16 γένη, η οικογένεια *Enterococcaceae* από 7 γένη, η οικογένεια *Lactobacillaceae* από 3 γένη, η οικογένεια *Leuconostocaceae* από 4 γένη και τέλος η οικογένεια *Streptococcaceae* από 3 γένη.

Τα γένη των LAB που σχετίζονται με τρόφιμα είναι κυρίως τα *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Carnobacterium*, *Oenococcus*, *Weisella* και *Tetragenococcus*.

Το γένος *Bifidobacterium* αν και ανήκει στο φύλο *Actinobacteria*, συνήθως εξετάζεται σε συνδυασμό με τα LAB λόγω των ομοιοτήτων τους σε επίπεδο φυσιολογίας και παρουσίας τους στα ίδια οικοσυστήματα (Vandamme et al., 1996).

3.3. Μεταβολικά μονοπάτια

3.3.1. *Μεταβολισμός σακχάρων*

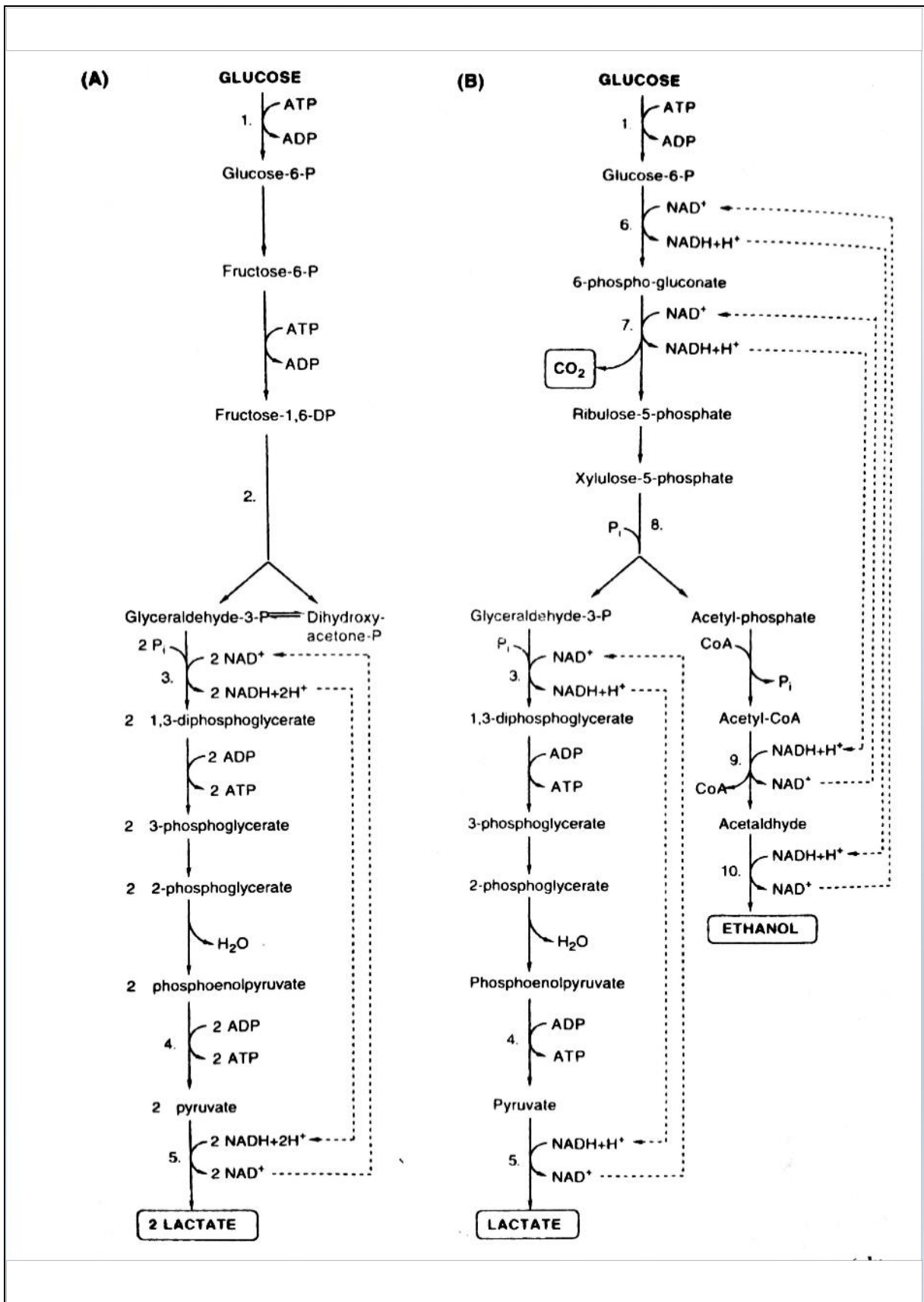
Κύριο χαρακτηριστικό των LAB είναι ο μεταβολισμός σακχάρων και συγγενικών ενώσεων, παράγοντας ως τελικό προϊόν, κατά βάση, γαλακτικό οξύ. Η εφαρμογή των εν λόγω βιοχημικών ιδιοτήτων στις ζυμώσεις των τροφίμων παρεμποδίζει την ανάπτυξη παθογόνων και αλλοιογόνων μικροοργανισμών, συμβάλλοντας στη συντήρηση των ζυμούμενων προϊόντων.

Η λακτόζη αποτελεί την κύρια πηγή άνθρακα στο γάλα. Η μεταφορά και περαιτέρω διάσπαση της λακτόζης στο εσωτερικό του κυττάρου πραγματοποιείται με δύο συστήματα ανάλογα με το είδος του μικροοργανισμού.

Το πρώτο σύστημα μεταφοράς της λακτόζης αφορά τα θερμοφιλα είδη και τα είδη του γένους *Leuconostoc*. Η μεταφορά της λακτόζης εντός του κυττάρου γίνεται με τη βοήθεια μιας ειδικής περμεάσης, της περμεάσης της λακτόζης. Η λακτόζη μεταφέρεται στη συνέχεια στο κυτταρόπλασμα και εκεί αποικοδομείται από την ενδοκυτταρική β-γαλακτοζιδάση προς γλυκόζη και γαλακτόζη (Fox et al., 1990).

Η λακτόζη είναι δυνατόν να εισέλθει στο κυτταρόπλασμα και μέσω ενός δεύτερου συστήματος, γνωστό ως σύστημα PEP/PTS, δηλαδή της φωσφοτρανσφεράσης που εξαρτάται από το φωσφο-ενολο-πυροσταφυλικό οξύ (PEP) με το PEP να είναι δότης φωσφορικής ομάδας (Postma et al., 1993). Η λακτόζη, κατά την είσοδό της στο εσωτερικό του κυττάρου φωσφορυλιώνεται προς φωσφορική λακτόζη. Η φωσφορική λακτόζη στη συνέχεια αποικοδομείται προς γλυκόζη και 6-φωσφογαλακτόζη από το ένζυμο β-φωσφο-γαλακτοζιδάση (P-β-gal). Το σύστημα PEP/PTS θεωρείται πιο πολύπλοκο σε σχέση με το σύστημα της περμεάσης της λακτόζης. Η λειτουργία του απαιτεί τη συμμετοχή ιόντων Mg^{2+} και τεσσάρων πρωτεϊνών, των ενζύμων II και III που βρίσκονται στην κυτταροπλασματική μεμβράνη και του ενζύμου I και μιας θερμοανθεκτικής πρωτεΐνης που βρίσκονται με τη μορφή διαλυτών πρωτεϊνών στο κυτταρόπλασμα.

Ανεξάρτητα από το σύστημα μεταφοράς, η γλυκόζη θα οξειδωθεί μέσω της γλυκολιτικής οδού σε πυροσταφυλικό οξύ και η γαλακτόζη θα μεταβολισθεί μέσω της οδού Leloir ή μέσω του μονοπατιού της ταγκατόζης (Mariley&Cosey, 2004). Ορισμένα οξυγαλακτικά βακτήρια, όπως ο *Streptococcus thermophilus* και ο *Lactobacillus acidophilus* δεν είναι ικανά να μεταβολίζουν τη γαλακτόζη και την εκκρίνουν στο εξωτερικό του κυττάρου.



Σχήμα 1: Μεταβολικά μονοπάτια της γλυκόζης: (A) Ομοζυμωτικό μονοπάτι (γλυκόλυση), (B) Ετεροζυμωτικό μονοπάτι (μονοπάτι φωσφορικών πεντοζών) (Salminen & Wright, 1998)

Η γλυκόζη που παράγεται κατά την αποικοδόμηση της λακτόζης ζυμώνεται ανάλογα με το ενζυμικό σύστημα των μικροοργανισμών, είτε σχεδόν αποκλειστικά σε γαλακτικό οξύ ακολουθώντας το ομοζυμωτικό μονοπάτι (γλυκόλυση ή μονοπάτι Embden-Mayerhof), είτε σε γαλακτικό οξύ και άλλα προϊόντα μέσω του ετεροζυμωτικού μονοπατιού (μονοπάτι των φωσφοπεντοζών) (Σχήμα 1).

Η γλυκόλυση χρησιμοποιείται από όλα τα LAB εκτός από μία ομάδα του γένους *Lactobacillus*, τα *Leuconostoc*, τα *Weissella* sp. και τα *Oenococcus* spp. Στον ομοζυμωτικό μεταβολισμό το 90% της γλυκόζης μετατρέπεται σε γαλακτικό οξύ και χαρακτηρίζεται από τη σύνθεση της 1,6- δισφωφορικής φρουκτόζης (FDP). Η FDP στη συνέχεια διασπάται μέσω της FDP αλδολάσης σε φωσφορική διυδροξυακετόνη (DHAP) και 3-φωσφορική γλυκεριναλδεΐδη (GAP). Η GAP ακολούθως μετατρέπεται σε πυροσταφυλικό οξύ μέσω μεταβολικών διαδικασιών συμπεριλαμβανομένου και της φωσφορυλίωσης σε επίπεδο υποστρώματος. Το πυροσταφυλικό οξύ ανάγεται σε γαλακτικό μέσω μιας NAD^+ εξαρτώμενης αφυδρογονάσης ενώ ταυτόχρονα το $NADH^+$ αναγεννιέται στην οξειδωμένη του μορφή.

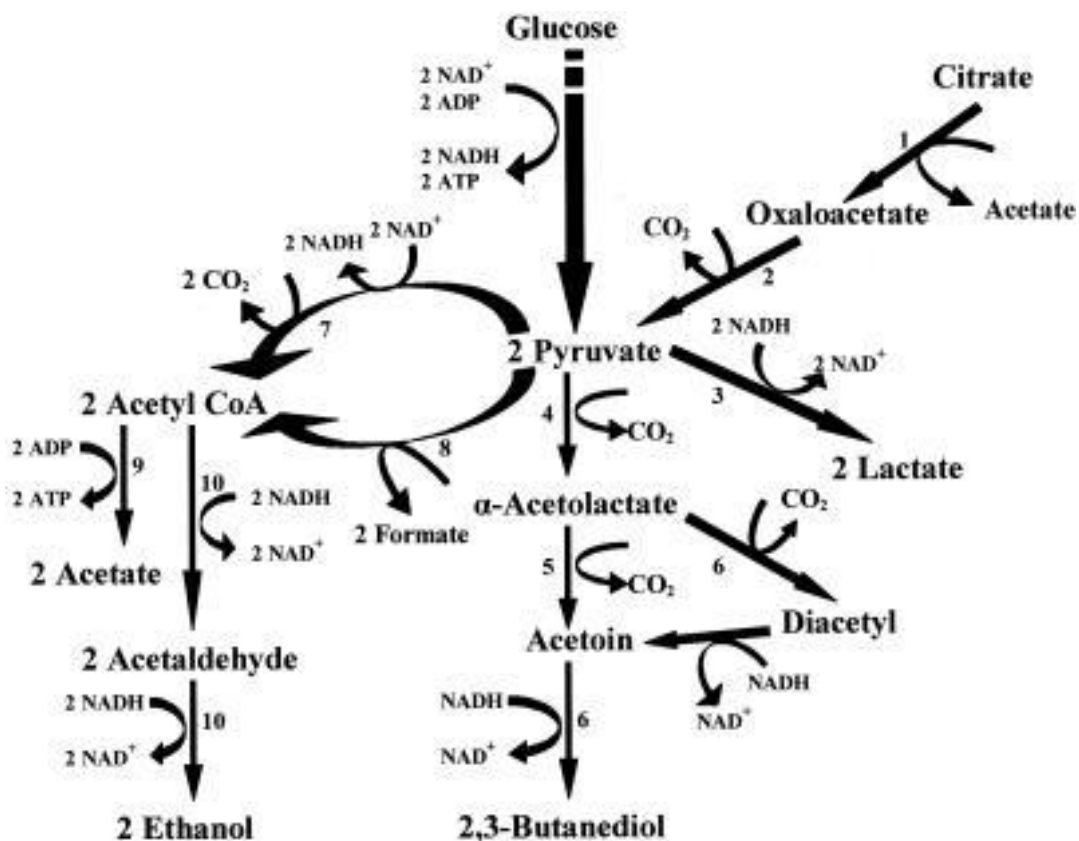
Τα ετεροζυμωτικά βακτήρια, στερούνται του ενζύμου της αλδολάσης της FDP για αυτό η αποικοδόμηση της γλυκόζης ακολουθεί το μονοπάτι των φωσφορικών πεντοζών (Kandler, 1983). Στα πρώτα στάδια πραγματοποιείται η οξείδωση της γλυκόζης, ο σχηματισμός του 6-φωσφογλυκονικού οξέος και η αποκαρβοξυλίωση αυτού. Η παραγόμενη 5-φωσφοριβουλόζη μετατρέπεται από μία επιμεράση σε 5-φωσφοξυλουλόζη και ακολουθεί η διάσπασή της 5-φωσφοξυλουλόζης μέσω της φωσφοκετολάσης σε 3-φωσφοργλυκεριναλδεΐδη και ακετυλοφωσφορικό οξύ. Η 3-φωσφοργλυκεριναλδεΐδη εισέρχεται στη γλυκολιτική οδό με αποτέλεσμα την παραγωγή γαλακτικού οξέος και το ακετυλο-φωσφορικό αποφωσφορυλιώνεται προς οξικό οξύ και τριφωσφορική αδενοσίνη (ATP) ή ενώνεται με ένα μόριο CoA και ανάγεται σε ακεταλδεΐδη η οποία στη συνέχεια ανάγεται σε αιθανόλη έτσι ώστε να αναγεννηθεί το NAD στην οξειδωμένη του μορφή (Law, 1997).

3.3.2. Μεταβολισμός κιτρικού οξέος

Τα οξυγαλακτικά βακτήρια έχουν την ικανότητα να ζυμώνουν, πέρα από τα σάκχαρα, ενώσεις όπως είναι το κιτρικό οξύ. Το κιτρικό οξύ βρίσκεται σε πλήθος υποστρωμάτων, που χρησιμοποιούνται στις ζυμώσεις τροφίμων, όπως είναι το γάλα, τα φρούτα και τα λαχανικά (Hugenholtz et al., 1993). Ο μεταβολισμός του κιτρικού οξέος, παρά τη χαμηλή του συγκέντρωση στο γάλα, είναι πολύ σημαντικός για την παραγωγή τυριών. Ο αριθμός των

LAB που είναι ικανά να μεταβολίζουν το κιτρικό οξύ είναι περιορισμένος, επιπλέον σημαντικές διαφορές μπορεί να υπάρχουν και ως προς το μεταβολισμό του κιτρικού οξέος μεταξύ στελεχών του ίδιου γένους (Kennes et al., 1991).

Η ικανότητα καταβολισμού του κιτρικού οξέος συνδέεται άμεσα με την παρουσία του πλασμιδίου που κωδικοποιεί την έκφραση της κιτρικής περμεάσης καθώς στην περίπτωση που απουσιάζει δεν παρατηρείται μεταβολισμός (Bandell et al., 1998). Το κιτρικό οξύ είναι έντονα οξειδωτικό υπόστρωμα και έτσι δεν παράγονται αναγωγικά ισοδύναμα, όπως το NADH, κατά τη διάσπασή του. Ο μεταβολισμός του κιτρικού οξέος (**Σχήμα 2**) οδηγεί στη σύνθεση προϊόντων, όπως είναι το οξικό οξύ, το μυρμηκικό οξύ, το διακετύλιο, η 2,3-βουτανодиόλη, η ακεταλδεϋδη και η ακετοΐνη με ιδιαίτερα χαρακτηριστικό άρωμα και σημαντική επίδραση στην ποιότητα των παραγόμενων προϊόντων (Hugenholtz, 1993). Ο σχηματισμός του διακετυλίου, για παράδειγμα, μπορεί να είναι επιθυμητός σε κάποια προϊόντα όπως είναι η κρέμα και το βούτυρο (De Figueroa et al., 1998) αλλά ανεπιθύμητος σε άλλα προϊόντα όπως είναι η μύρα και το κρασί (Hugenholtz et al., 2000). Ο μεταβολισμός του κιτρικού οξέος επάγει την παραγωγή διοξειδίου του άνθρακα που διαμορφώνει ιδιαίτερη δομή σε μια συγκεκριμένη κατηγορία ζυμούμενων γαλακτοκομικών προϊόντων (Kimoto et al., 1995).



Σχήμα 2: Σχηματική απεικόνιση της συσχέτισης του μεταβολισμού του κιτρικού οξέος και της γλυκόζης από τα οξυγαλακτικά βακτήρια 1, κιτρική λυάση; 2, οξαλοξική ποκαρβοξυλάση; 3, γαλακτική δεϋδρογονάση; 4, οξυγαλακτική συνθετάση; 5, οξυγαλακτική αποκαρβοξυλάση; 6, διακετυλιο/ακετοϊνη αναγωγή; 7, σύστημα πυροσταφυλικής δεϋδρογονάσης; 8, πυροσταφυλική λυάση; 9, οξική κινάση; 10, αλκοολική δεϋδρογονάση (Sarantinopoulos et al., 20010)

Το μεγαλύτερο μέρος της έρευνας, αναφορικά με το μεταβολισμό του κιτρικού οξέος, πραγματοποιήθηκε για τα γένη *Lactococcus lactis* και *Leuconostoc spp.* (Bandell et al., 1997; Cogan et al., 1987; Drinan et al., 1976; Starrenburg et al., 1991; Hugenholtz et al., 1993; Kimoto et al., 1999).

Το κιτρικό οξύ αρχικά διασπάται σε οξαλικό και οξικό οξύ μέσω του ενζύμου της κιτρικής λυάσης. Το οξαλικό οξύ στην περίπτωση των *Lactococcus lactis* και *Leuconostoc spp.* αποκαρβοξυλιώνεται προς πυροσταφυλικό οξύ. Το στάδιο αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό κατά την παρασκευή των ημίσκληρων τυριών καθώς το CO₂ που παράγεται δημιουργεί τις χαρακτηριστικές οπές στα τυριά αυτά (Starrenburg and Hugenholtz, 1991; Vaughan et al., 1995; Palles et al., 1998).

Το α-ακετογαλακτικό οξύ παράγεται από δύο μόρια πυροσταφυλικού οξέος μέσω της α-ακετογαλακτικής συνθετάσης και στη συνέχεια αποκαρβοξυλιώνεται προς ακετοΐνη μέσω της ακετογαλακτικής αποκαρβοξυλάσης (Braven and Keenan, 1972; Cogan 1981; Cogan et al., 1984). Η ακετοΐνη ακολούθως απελευθερώνεται ως τελικό προϊόν ή μετατρέπεται σε 2-3-βουτανοδιόλη μέσω της αναγωγάσης της ακετοΐνης. Το διακετύλιο μπορεί να παραχθεί ως παραπροϊόν από την αποκαρβοξυλίωση του α-ακετογαλακτικού οξέος.

Στην περίπτωση του *Lactococcus lactis* οι υδατάνθρακες και το κιτρικό οξύ διασπώνται παράλληλα και παράγουν ως ενδιάμεσο προϊόν το πυροσταφυλικό οξύ. Ο *Lactococcus lactis* αν και χαρακτηρίζεται ως ομοζυμωτικό LAB, μπορεί να σχηματίσει πολλά ενδιάμεσα προϊόντα μέσω του μεταβολισμού του πυροσταφυλικού οξέος, πλην του γαλακτικού (Cocaign-Bousquet et al., 1996). Η μετατροπή του κιτρικού οξέος (α) σε πυροσταφυλικό οξύ και μέσω της πυροσταφυλικής-μυρμηκικής λυάσης σε μυρμηκικό οξύ και οξικό οξύ ή αιθανόλη ή (β) σε οξικό οξύ και CO₂ μέσω του συμπλέγματος της πυροσταφυλικής δεϋδρογονάσης υποδεικνύει ότι μπορεί να παραχθεί ενέργεια κατά τη διάρκεια του μεταβολισμού των κιτρικών οξέων στον *Lactococcus lactis*.

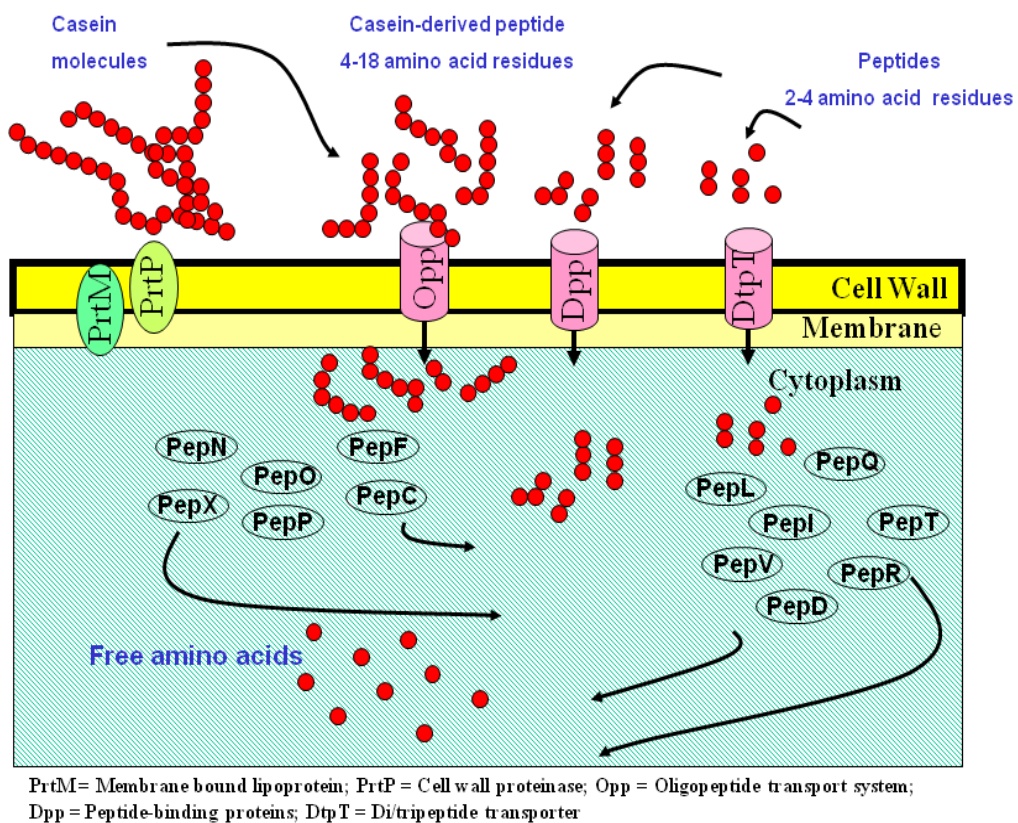
3.3.3. Μεταβολισμός πρωτεϊνών

Τα LAB είναι ελάχιστα πρωτεολυτικά και χαρακτηρίζονται από περιορισμένη ικανότητα σύνθεσης αμινοξέων από πηγές ανόργανου αζώτου (N). Η ανάπτυξή τους εν ολίγοις εξαρτάται από την παρουσία αμινοξέων και ολιγοπεπτιδίων ως πηγή N στο μέσο ανάπτυξης, τα οποία είναι κυρίως προϊόντα αποικοδόμησης πεπτιδασών και πρωτεΐναιών (Sousa et al., 2001; Mc Sweeny&Sousa, 2000; Fox, 1989). Οι ανάγκες των οξυγαλακτικών βακτηρίων σε αμινοξέα διαφέρουν ανάλογα με το γένος. Είδη όπως οι *Lactococcus lactis subsp. cremoris* και οι *Lactobacillus helveticus* απαιτούν 13-15 αμινοξέα (Chopin, 1993). Η ανάγκη των LAB για συγκεκριμένο αριθμό αμινοξέων μπορεί να είναι αποτέλεσμα κάποιας μεταλλαγής στο υπεύθυνο γονίδιο για τη βιοσύνθεση αμινοξέων (Chopin, 1993; Morishita et al., 1981).

Το πρωτεολυτικό σύστημα του *Lactococcus lactis* είναι ένα από τα πιο μελετημένα λόγω της τεχνολογικής του σημασίας κατά τη ζύμωση του γάλακτος (**Σχήμα 3**).

Το πρώτο στάδιο αποικοδόμησης των καζεϊνών πραγματοποιείται από τις εξωκυτταρικές πρωτεΐνάσες σερίνης (PrpP) που είναι προσδεδεμένες στην κυτταροπλασματική μεμβράνη και οι οποίες διασπούν τις πρωτεΐνες σε ολιγοπεπτίδια, δι- και τρι- πεπτίδια και ελεύθερα αμινοξέα.

Στη συνέχεια τα oligopeptίδια που σχηματίστηκαν από τη δράση των πρωτεϊνών μεταφέρονται εντός του κυττάρου με τη βοήθεια του συστήματος Opp. Οι πρωτεΐνες Opp ανήκουν σε μια υπεροικογένεια πρωτεϊνών συντητημένων μεταφορέων κασέτας ATP-προσδεσης (Dolven et al., 2005). Το σύστημα Opp του *Lactococcus lactis* μεταφέρει oligopeptίδια με μέγιστο αριθμό αμινοξέων 18 (Detmers et al., 1998). Άλλοι μεταφορείς oligopeptιδίων που έχουν προσδιοριστεί για τον *Lactococcus lactis* είναι οι DtpP και DtpT. Το σύστημα DtpP ειδικεύεται στη μεταφορά δι-, τρι- και τετραπεπτιδίων που περιέχουν υδρόφοβα διακλαδισμένα αμινοξέα (Sanz et al., 2003), ενώ το σύστημα DtpT δείχνει μεγαλύτερη συγγένεια προς υδρόφιλα δι- και τριπεπτίδια. Οι λακτόκοκκοι, όσον αφορά το σύστημα μεταφοράς των ελεύθερων αμινοξέων διαθέτουν τουλάχιστον δέκα τέτοια συστήματα μεταφοράς, τα οποία έχουν υψηλή εξειδίκευση προς αμινοξέα με παρόμοια δομή (Kunji et al., 1996).



Σχήμα 3: Γραφική αναπαράσταση πρωτεολυτικού συστήματος των LAB. PrtP, εξωκυτταρική πρωτεϊνάση σερίνης (προσαρτημένη στην κυτταρική μεμβράνη); Opp, σύστημα μεταφοράς oligopeptιδίων; Dpp, σύστημα μεταφοράς δι-/τριπεπτιδίων; DtpT, σύστημα μεταφοράς δι-/τριπεπτιδίων (Choudhury, 2012)

Τα σχηματιζόμενα πεπτίδια στη συνέχεια διασπώνται από τις ενδοκυτταρικές πεπτιδάσες σε μικρότερα πεπτίδια και αμινοξέα (Law, 1997). Τα αμινοξέα που προκύπτουν χρησιμοποιούνται σε διάφορες διεργασίες, όπως είναι η σύνθεση πρωτεϊνών, η παραγωγή ATP και η ανακύκλωση των NADH (Christensen et al., 1999). Οι ενδοκυτταρικές πεπτιδάσες, οι γενικές αμινοπεπτιδάσες PepN και PepC και η PepX είναι τα πρώτα ένζυμα που δρουν επί των ολιγοπεπτιδίων. Οι ενδοπεπτιδάσες δεν έχουν την ικανότητα να υδρολύουν την καζεΐνη αλλά μπορούν να υδρολύουν εσωτερικούς πεπτιδικούς δεσμούς των παραγόμενων πεπτιδίων. Άλλες αμινοπεπτιδάσες που υδρολύουν ολιγοπεπτίδια είναι οι PepN και PepC, οι οποίες έχουν απομονωθεί και χαρακτηριστεί σε πολλά οξυγαλακτικά βακτήρια (*Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*). Τα εν λόγω ένζυμα απομακρύνουν αμινοξέα από το αμινοτελικό άκρο ενός μεγάλου εύρους πεπτιδίων (Christensen et al., 1999). Τα δι- και τριπεπτίδια που σχηματίζονται ύστερα από τη δράση των πεπτιδασών, των γενικών αμινοπεπτιδασών και της PepX διασπώνται από τις διπεπτιδάσες PepV και PepD και την τριπεπτιδάση PepT. Τα εν λόγω ένζυμα προτιμούν πεπτίδια που φέρουν υδρόφοβα αμινοξέα όπως είναι η λευκίνη και η μεθειονίνη (Christensen et al., 1999; Kunji et al., 1996).

Οι συγκεντρώσεις των διαθέσιμων αμινοξέων και πεπτιδίων στο γάλα είναι μικρές και τελικά η ανάπτυξη των οξυγαλακτικών βακτηρίων εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το πρωτεολυτικό τους σύστημα που τους επιτρέπει να αποικοδομούν τις καζεΐνες (Kunji et al., 1996).

3.3.4. Μεταβολισμός λίπους

Οι λακτόκοκκοι και οι γαλακτοβάκιλλοι αν και διαθέτουν λιπολυτικά ένζυμα ικανά να υδρολύουν εστέρες ΛΟ, δι-, τρι- και μονογλυκεριδίων θεωρούνται ελάχιστα λιπολυτικά σε σύγκριση με άλλα βακτήρια, όπως αυτά του γένους *Flavobacterium* (Liu et al., 2004; Collins et al., 2003). Η παρουσία των εν λόγω ενζύμων κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης των τυριών συμβάλλει στην παραγωγή αξιόλογων ποσοτήτων ελεύθερων ΛΟ (Liu et al., 2004). Τα ελεύθερα ΛΟ διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη διαμόρφωση του αρώματος του τυριού και είναι δυνατόν να μεταβολισθούν προς άλλα αρωματικά συστατικά, όπως είναι οι μεθυλοκετόνες και οι θειοεστέρες. Τα δ-κετοξέα, τα δ-υδροξυ-οξέα και οι λακτόνες είναι προϊόντα διάσπασης των τριγλυκεριδίων συνεισφέροντας εξίσου στο άρωμα του τυριού (El Soda et al., 1995).

Τα λιπολυτικά ένζυμα των LAB διακρίνονται σε εστεράσες και λιπάσες βάσει (α) του μήκους της ανθρακικής αλυσίδας του υδρολυμένου ακυλο-εστέρα, (β) του χημικού

χαρακτήρα του υποστρώματος και (γ) της ενζυμικής κινητικής. Οι εστεράσες έχουν κλασσική μηχανική Michallis-Menten και οι λιπάσες επιφανειακή μηχανική Michalis-Menten (Collins et al., 2003). Τα λιπολυτικά ένζυμα εξειδικεύονται στους εξωτερικούς δεσμούς των δι- και τριγλυκεριδίων (θέσεις sn-1 και sn-3). Τα τριγλυκερίδια αρχικά υδρολύονται προς 1,2- και 2,3- διγλυκερίδια και στη συνέχεια προς 2 μονογυκερίδια. Το βουτυρικό οξύ, καθώς και άλλα μικρής και μεσαίας αλύσου ΛΟ, βρίσκονται στη θέση sn-3 και είναι αυτό που απελευθερώνεται κατά προτίμηση από τα λιπολυτικά ένζυμα (Collins, 2003; McSweeny&Souza, 2000).

Τα λιπολυτικά ένζυμα των LAB φαίνεται ότι είναι ενδοκυτταρικά και ενδεχομένως απαιτείται η λύση των κυττάρων για την απελευθέρωση και δράση των ενζύμων στη μάζα του τυριού. Οι υποχρεωτικά ομοζυμωτικοί γαλακτοβάκιλλοι παράγουν ενδοκυτταρικές εστεράσες ενώ οι προαιρετικά ετεροζυμωτικοί γαλακτοβάκιλλοι (*Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei*) που κυριαρχούν στους μη εναρκτήρια LAB (NSLAB) σε πολλά είδη τυριών, είναι ελάχιστα λιπολυτικοί (McSweeny&Souza, 2000).

3.4. Οξυγαλακτικά βακτήρια και βακτηριοσίνες

Τα LAB είναι ικανά να εκκρίνουν και να παράγουν διάφορες παρεμποδιστικές ουσίες. Οι εν λόγω ουσίες είναι ανταγωνιστικές έναντι πολλών μικροοργανισμών, συνεισφέροντας κατά αυτόν τον τρόπο στην αντιμικροβιακή δράση των LAB. Παραδείγματα αυτών των μεταβολιτών είναι τα οργανικά οξέα, το CO₂, το H₂O₂, το διακετύλιο, η ακετοΐνη, η 2,3 βουτανодиόλη, η αμμωνία, η αιθανόλη και οι βακτηριοσίνες (Caplice & Fitzgerald, 1999; Ross et al., 2002).

Η πρώτη επίσημη αναφορά για την παραγωγή ανταγωνιστικών ουσιών από τα LAB έγινε από τον Rogers (1928). Ο Rogers παρατήρησε την ανάπτυξη ανταγωνιστικής δραστηριότητας από ένα στέλεχος *Lactococcus lactis subsp. lactis* έναντι ενός στελέχους *Lactobacillus delbruecki subsp. bulgaricus*. Η παρεμποδιστική ουσία που παρήχθει από τον *Lactococcus lactis* ήταν ένα πολυπεπτίδιο (Whitehead, 1933) και ονομάστηκε νισίνη (Mattick and Hirsch, 1947).

Ο Klaenhammer (1993) κατέταξε τις βακτηριοσίνες σε τέσσερις ομάδες βάσει της δομής τους:

- Ομάδα I: Αποτελείται από τα **λαντιβιοτικά**, τα οποία είναι θερμοάντοχα πεπτίδια μικρού μοριακού βάρους (MB) και περιέχουν στο μορίό τους το αμινοξύ λανθειονίνη ή

τη 3-μεθυλο-λανθειονίνη. Στην κατηγορία αυτή υπάγονται και η νισίνη, η lactocin 481, η carnocin U149 και η lactocin S.

- Ομάδα II: Διαχωρίζεται σε μικρά πεπτίδια που δεν περιέχουν λανθειονίνη στο μόριο τους και είναι σχετικά θερμοανθεκτικά. Η ομάδα αυτή περιλαμβάνει την pediocin PA-1, τις lactocin A και B, τη sakasin A και P, τη curvasin A και τη lactacin F. Η εν λόγω ομάδα χωρίζεται σε τρεις υποομάδες:
 - i. Πεπτίδια με αντιλειτουργική δράση και ίδια αμινοτελική ακολουθία, όπως είναι η pediocin PA-1, η leucocin A, η sakasin A και P, η curvacin A και η lactafin F.
 - ii. Βακτηριοσίνες η δραστηριότητα των οποίων βασίζεται στην παρουσία δύο διαφορετικών πεπτιδίων, όπως είναι για παράδειγμα η lactococcin M και η lactacin F.
 - iii. Πεπτίδια των οποίων η ενεργότητα εξαρτάται από αναχθέντα παράγωγα κυστεΐνης, όπως για παράδειγμα η lactococcin B.
- Ομάδα III: Αποτελείται από πρωτεΐνες μεγάλου MW, ευαίσθητες στη θερμική επεξεργασία, όπως είναι η helveticin J και V-1829, η acidophilucin A και οι lactacin A και B.
- Ομάδα IV: σε αυτή την ομάδα κατατάσσονται βακτηριοσίνες πρωτεϊνικής φύσεως, που αποτελούνται από λιπιδιακές ή υδατανθρακικές ενώσεις, απαραίτητες για την ενεργότητα τους. Στην ομάδα αυτή ανήκουν οι lactocin 27, η leucocin S και η plantaricin S.

Οι βακτηριοσίνες των δύο πρώτων ομάδων είναι οι περισσότερες μελετημένες όσον αφορά την εφαρμογή τους στη βιομηχανία τροφίμων. Οι δύο ομάδες διαφέρουν σημαντικά ως προς τη δομή τους και τη διαδικασία βιοσύνθεσής τους. Η σημαντικότητα των βακτηριοσινών αυτών υποδεικνύεται μέσω των κοινών χαρακτηριστικών τους : (α) διαχέονται πιο άμεσα σε σχέση με τις πρωτεΐνες, (β) είναι θερμοανθεκτικές, γεγονός πολύ σημαντικό για την αποτελεσματική τους ενσωμάτωση σε επεξεργασμένα τρόφιμα, (γ) είναι σταθερές σε μεγάλο εύρος τιμών pH και είναι δυνατόν να δράν σε όξινα συνθήκες, δηλαδή σε τιμές pH που συντηρούνται τα περισσότερα τρόφιμα, (δ) παρεμποδίζουν περισσότερα είδη μικροοργανισμών σε σύγκριση με τις άλλες δύο ομάδες βακτηριοσινών και (ε) είναι θετικά φορτισμένα πεπτίδια, υψηλού ισοηλεκτρικού σημείου και έχουν την ικανότητα να έλκονται από αρνητικά φορτισμένες μεμβράνες των βακτηρίων (Klaenhammer, 1993).

Η μελέτη του τρόπου δράσης των βακτηριοσινών έχει γίνει κυρίως με έμφαση στις βακτηριοσίνες νισίνη και lactococcin A.

Η αντιμικροβιακή δράση της νισίνης αποδίδεται κυρίως στη διαταραχή της κυτταρικής μεμβράνης των κυττάρων. Η νισίνη δρά αλληλεπιδρώντας με τις φορτισμένες κυτταρικές

μεμβράνες και δημιουργώντας διαύλους διαφυγής ιόντων. Η επερχόμενη αύξηση της διαπερατότητας των μεμβρανών, διαταράσσει το δυναμικό της μεμβράβης και συμβάλλει στην εκροή ATP, αμινοξέων και ιόντων. Η παραγωγή ATP και η βιοσύνθεση παρεμποδίζεται με αποτέλεσμα να επέλθει ο κυτταρικός θάνατος (Sahl, 1991; Jack et al., 1995). Η ενεργότητα της νισίνης εξασφαλίζεται μέσω της ύπαρξης μιας ελάχιστης διαφοράς δυναμικού για το σχηματισμό των διαύλων (Piard and Desmazeaud, 1992). Η δράση της εν ολίγοις δεν προϋποθέτει την παρουσία κάποιου πρωτεϊνικού υποδοχέα στη μεμβράνη, παρά μόνο μια ενεργειακά φορτισμένη μεμβράνη, γεγονός που εξαρτάται από τη φωσφολιπιδιακή της σύνθεση (Sahl, 1991).

Η lactococcin A σε αντίθεση με τη νισίνη, συμβάλει στη διατάραξη του πρωτονιακού ηλεκτροχημικού δυναμικού και κατ'επέκταση στην αποσταθεροποίηση της λειτουργίας της κυτταρικής μεμβράνης και λιγότερο στη διαταραχή της δομικής της ακεραιότητας. Η λειτουργία των μορίων των βακτηριοσινών της ομάδας που ανήκει η lactococcin A δεν προϋποθέτει την ύπαρξη διαφοράς ηλεκτρικού δυναμικού για την αλλαγή της δομής και της οργάνωσης της κυτταρικής μεμβράνης (Abee et al., 1995; Jack et al., 1995), ωστόσο απαραίτητο είναι να διαπεράσουν το κυτταρικό τοίχωμα και να έρθουν σε επαφή με την κυτταρική μεμβράνη, προκαλώντας την αποσταθεροποίησή της.

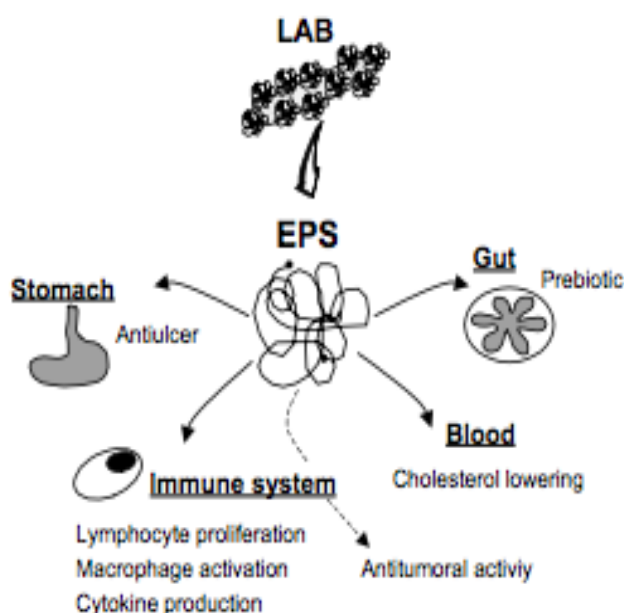
3.5. Οξυγαλακτικά βακτήρια και παραγωγή εξωπολυσακχαριτών

Η χρήση των LAB στη βιομηχανία των τροφίμων είναι ευρέως διαδεδομένη, με εφαρμογές σε θέματα συντήρησης, βελτίωσης οργανοληπτικών χαρακτηριστικών και θρεπτικής αξίας μιας γκάμας προϊόντων όπως είναι το κρέας, το γάλα και τα λαχανικά.. Ιδιαίτερα σημαντικά χαρακτηριστικά της δράσης των LAB στο γάλα είναι η δημιουργία οξύτητας και η προστασία από μικροβιακές επιμολύνσεις. Επίσης, ο συνδυασμός διαφόρων LAB και τεχνολογιών παρασκευής συμβάλλει στη δημιουργία προϊόντων με ποικιλία γεύσεων, υφής και οφέλιμων ιδιοτήτων. Η ζύμωση της λακτόζης και η παραγωγή γαλακτικού οξέος παρεμποδίζει την ανάπτυξη παθογόνων και άλλων αλλοιογόνων μικροοργανισμών. Η οξύτητα που δημιουργείται προσδίδει σε γαλακτοκομικά προϊόντα όπως είναι το γιαούρτι και το τυρί, ελάφρως όξινη γεύση. Επιπλέον, τα LAB διασπούν τα σάκχαρα, τις πρωτεΐνες και τα λίπη προς σχηματισμό χαρακτηριστικών αρωματικών ενώσεων. Πολλά στελέχη LAB χρησιμοποιούνται με στόχο τη βελτίωση τη υφής και του ιξώδους των τροφίμων μέσω της παραγωγής συγκεκριμένων ουσιών, των πολυσακχαριτών (Exopolysaccharides, EPS).

Τα LAB, όπως και άλλα είδη βακτηρίων, μπορούν και παράγουν μεγάλη ποικιλία EPS οι οποίοι διαχωρίζονται βάσει της θέσης τους στο κύτταρο. Μερικοί EPS εκκρίνονται εκτός του

κυτταρικού τοιχώματος και επάγουν τη σύνθεση ενός συνεκτικού στρώματος, ενώ κάποιοι άλλοι είναι μερικώς ή και καθόλου προσδεμένοι στο κυτταρικό τοίχωμα με αποτέλεσμα να εκκρίνονται στο εξωκυττάριο περιβάλλον (Cerning, 1994).

Οι EPS δε χρησιμοποιούνται από τους βακτηριακούς μικροοργανισμούς ως πηγή ενέργειας. Ο ρόλος τους είναι καθαρά προστατευτικός σε περιπτώσεις φαγοκυττάρωσης, επίθεσης από πρωτόζωα, οσμωτικού στρες, παρουσίας αντιβιοτικών ή και τοξικών ουσιών. Επιπλέον, συμμετέχουν στη διαδικασία αναγνώρισης κυττάρων, πρόσφυσης σε επιφάνειες, σχηματισμού βιοφίλμ και στον αποικισμό διαφόρων οικοσυστημάτων (Looijesteijn et al., 2001; Whitfield&Valvano,1993).



Σχήμα 4: Σχηματική απεικόνιση τρόπου δράσης εξωπολυσακχαριτών. LAB: οξυγαλακτικά βακτήρια, EPS: εξωπολυσακχαρίτες (P. Ruas-Madiedo et al., 2002)

Ο ρόλος των EPS που παράγονται από τα LAB δεν είναι πλήρως αποσαφηνισμένος αλλά πιθανόν σχετίζεται με την προσκόλληση αυτών στο κυτταρικό τοίχωμα και την προστασία του κυττάρου στα διάφορα περιβάλλοντα. Ο τρόπος δράσης των παραγόμενων εξωπολυσακχαριτών παρουσιάζεται στο **Σχήμα 4**.

Οι EPS που παράγονται από τον *Streptococcus salivarius* και τον *S. mutans* συμμετέχουν στον βακτηριακό αποικισμό και στο σχηματισμό της οδοντικής πλάκας (Cerning, 1990). Οι EPS του *Lactococcus lactis subsp. cremoris* NZ4010, σύμφωνα με στοιχεία της μελέτης των Looijesteijn et al. (2001), προλαμβάνουν τη λύση του κυττάρου από αντιμικροβιακούς παράγοντες όπως είναι οι βακτηριοφάγοι, η νισίνη και η λυσοζύμη.

Οι EPS των LAB πέρα από το λειτουργικό τους ρόλο διακρίνονται και για την τεχνολογική τους σημασία κατά τη συμμετοχή τους στην παρασκευή διάφορων ζυμούμενων προϊόντων. Η χρήση των *S. thermophilus* και *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ως εναρκτήριες καλλιέργειες στην παρασκευή του γιαουρτιού συμβάλλει στην ενίσχυση της υφής, στην μείωση της εμφάνισης του φαινομένου της συναίρεσης και στην αύξηση του ιξώδους. Η συνεισφορά των LAB πέρα από τη διαμόρφωση της ιδιαίτερης υφής των ζυμούμενων προϊόντων έγκειται και στη δημιουργία θετικών φυσιολογικών επιδράσεων στην ανθρώπινη υγεία μέσω των συστατικών του κυτταρικού τοιχώματος των LAB, ιδιαίτερα των EPSs (Kitazawa et al., 1998).

Οι EPS που παράγονται από τα LAB διακρίνονται σε ομοπολυσακχαρίτες και ετεροπολυσακχαρίτες. Οι ομοπολυσακχαρίτες αποτελούνται από ένα είδος μονοσακχαρίτη σε αντίθεση με τους ετεροπολυσακχαρίτες που περιλαμβάνουν επαναλαμβανόμενες δομικές μονάδες διαφόρων μεγεθών (δι- έως επτασακχαρίτες). Η κατηγοριοποίηση των ομοπολυσακχαριτών γίνεται σε τέσσερις ομάδες: τις α-D-γλυκάνια, τις β-D-γλυκάνια, τις φρουκτάνια και τις πολυγαλακτάνια. Οι διαφορές μεταξύ των στελεχών αφορούν το βαθμό διακλάδωσης και το είδος των δεσμών (De Vuyst & Degeest, 1999).

Η παραγωγή λειτουργικών τροφίμων, στα οποία έχουν ενσωματωθεί προβιοτικά βακτήρια, έχουν κερδίσει τους καταναλωτές χάρη στα οφέλη που μπορούν να προσφέρουν κατά την κατανάλωσή τους. Οι προβιοτικοί μικροοργανισμοί ορίζονται ως “ζωντανά” συστατικά των τροφίμων με ευεργετικές ιδιότητες για την υγεία του ανθρώπου (Salminen et al., 1998). Οι προβιοτικοί μικροοργανισμοί που χρησιμοποιούνται είναι κυρίως γαλακτοβάκιλλοι και bifidobacteria, μερικοί εκ των οποίων παράγουν EPSs. Τα EPSs που παράγονται από τα διάφορα στελέχη των LAB συνεισφέρουν στην βελτίωση της υγείας των καταναλωτών είτε λόγω της λειτουργίας τους ως πρεβιοτικά συστατικά είτε μέσω της αντικαρκινικής τους δραστηριότητας, της μείωσης της χοληστερόλης και της καταπολέμησης του έλκους (De Vuyst & Degeest, 1999).

Πολλές επιστημονικές μελέτες υποστηρίζουν ότι η ενσωμάτωση LAB στα ζυμούμενα γαλακτοκομικά προϊόντα συμβάλλει στη διαμόρφωση αντικαρκινικών ιδιοτήτων. Οι Kitazawa et al. (1991) σε πειραματική τους μελέτη συμπέραναν ότι η ενδοπεριτοναϊκή έγχυση λυοφυλιωμένων *L. Lactis* subsp. *cremoris* KVS 20 ανέστειλε την ανάπτυξη σαρκόματος 180 σε ποντίκια. Ο «in vitro» έλεγχος δεν οδήγησε σε εκδήλωση κυτταροτοξικότητας των LAB, γεγονός που ενισχύσε την άποψη ότι η δραστηριότητα των LAB έναντι των καρκινικών κυττάρων εκδηλώνεται μέσω του ανοσοποιητικού συστήματος του ζωικού οργανισμού. Επίσης, η εναρκτήρια καλλιέργεια *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* OLL 1073R-1 παράγει έναν EPSs που εκδηλώνει αντικαρκινική δραστηριότητα (Kitazawa et

al., 1998). Οι εξωκυτταρικοί πολυσακχαρίτες που παράγονται από τα LAB ενισχύουν επιλεκτικά ανοσολογικούς μηχανισμούς άμυνας με κυριότερα παραδείγματα τον πολλαπλασιασμό των T-λεμφοκυττάρων (Forsen et al., 1987), τη δραστηριότητα των μακροφάγων και την έκκριση των κυτταροκινών (Kitazawa et al., 1996). Οι περισσότερες πειραματικές μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί «in vitro» ή μέσω της έγχυσης EPS σε ποντίκια, ενώ ελάχιστες είναι οι μελέτες «in vivo».

3.6. Τα οξυγαλακτικά βακτήρια στην τυροκομία

Οι εναρκτήριες οξυγαλακτικές καλλιέργειες για παραγωγή τυριών και άλλων ζυμούμενων γαλακτοκομικών προϊόντων εισήχθησαν περί το 1890, αν και η κατανάλωση τροφών που έχουν υποστεί ζύμωση έχει παρατηρηθεί εδώ και 5000 χρόνια (Holzapfel 1997; Schlegel 1999).

Τα LAB σε παγκόσμιο επίπεδο συνιστούν την πλειονότητα των εμπορικών εναρκτήριων καλλιιεργειών τόσο σε ποσότητα όσο και σε αξία, με τη μέγιστη χρήση τους να αφορά τη βιομηχανία γαλακτοκομικών προϊόντων (Hansen, 2002). Για το λόγο αυτό οι μικροοργανισμοί αυτοί είναι πλέον από τους καλύτερα μελετημένους (Olson, 1990; Maragkoudakis et al., 2006). Η παρουσία των LAB στο γάλα μπορεί να είναι αποτέλεσμα είτε κάποιας επιμόλυνσης από το περιβάλλον είτε από την προσθήκη τους ως εναρκτήριες καλλιέργειες (Wouters et al, 2002; Delavenne et al., 2012). Ο μεταβολισμός των LAB στο γάλα, που αναπτύσσονται κυρίως από κάποια επιμόλυνση, αν και ανεξέλεγκτος είναι μια πρακτική που εφαρμόζεται παραδοσιακά στην τυροκόμηση εδώ και χρόνια. Επιπλέον, η προσθήκη LAB στο γάλα πραγματοποιείται κατά την παρασκευή ζυμούμενων γαλακτοκομικών για τη μαζική παραγωγή προϊόντων σε εργοστάσια μεγάλης δυναμικότητας. Στην προκειμένη περίπτωση ένα στέλεχος LAB είναι δυνατόν να περιορίσει την ανάπτυξη της αυτόχθονης μικροχλωρίδας του γάλακτος σε αντίθεση με τον παραδοσιακό τρόπο ζύμωσης.

Η διάκριση των LAB βάσει της συνεισφοράς τους στη διαδικασία της ωρίμανσης των τυριών μπορεί να γίνει σε 3 ομάδες. Η πρώτη ομάδα, περιλαμβάνει τα μεσόφιλα (*Lc. lactis subsp. cremoris* και *Lc. lactis subsp. lactis*) και τα θερμόφιλα (*Streptococcus thermophilus* και *Lactobacillus helveticus*) οξυγαλακτικά βακτήρια. Οι εναρκτήριες οξυγαλακτικές καλλιέργειες σε αρκετά είδη τυριών (π.χ. Cheddar, Colby) είναι οι μοναδικές καλλιέργειες που προστίθενται και συνήθως ο πληθυσμός τους μία ημέρα μετά την τυροκόμηση αυξάνεται κατά 4-5 λογαριθμικούς κύκλους σε σχέση με άλλα LAB που πιθανόν να υπάρχουν στο τυρί.

Επομένως, οι εναρκτήριες οξυγαλακτικές καλλιέργειες συνεισφέρουν αφενώς στην πτώση του pH και αφετέρου στην αύξηση του μικροβιακού πληθυσμού του φρέσκου τυροπήγματος. Ο αυξημένος μικροβιακός πληθυσμός από τα πρώτα κιάλας στάδια της τυροκόμησης έχει καταλυτικό ρόλο στη φάση της ωρίμανσης.

Η δεύτερη ομάδα των LAB, αφορά τις μη εναρκτήριες οξυγαλακτικές καλλιέργειες NSLAB, οι οποίες βρίσκονται σε χαμηλούς πληθυσμούς την πρώτη μέρα της τυροκόμησης ($\sim 10^2$ cfu g⁻¹ τυριού). Στη διάρκεια της ωρίμανσης ο πληθυσμός των NSLAB αυξάνεται και προσεγγίζει τους $\sim 10^7$ cfu g⁻¹ τυριού. Η ομάδα των NSLAB αποτελείται από διάφορα είδη μεσόφιλων γαλακτοβάκιλλων και πεδιόκοκκων. Οι γαλακτοβάκιλλοι περιλαμβάνουν ομοζυμωτικά (*Lactobacillus casei* και *Lb. plantarum*) και ετεροζυμωτικά (*Lb. fermentii* και *Lb. brevis*) (Martley & Crow, 1993).

Η τρίτη ομάδα, περιλαμβάνει τις δευτερεύουσες καλλιέργειες που προστίθενται μαζί με τις εναρκτήριες. Η εν λόγω μικροοργανισμοί παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον κυρίως λόγω της ικανότητάς τους να επιδρούν στη διαμόρφωση ποικίλων αρωματικών συστατικών των τυριών. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν οι leuconostoc, οι γαλακτοβάκιλλοι και ο *Lc. Lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*. Η προσθήκη τους δεν επηρεάζει την παραγωγή οξέος κατά τη διάρκεια σχηματισμού του τυροπήγματος. Την πρώτη ημέρα της τυροκόμησης ο πληθυσμός τους μπορεί να ανέλθει στα 10^6 cfu g⁻¹ τυριού.

4. Τυριά με επιφανειακή ανάπτυξη μυκήτων

4.1. GEOTRICHUM CANDIDUM

4.1.1. Γενικά χαρακτηριστικά

Από τα πιο διαδεδομένα είδη των Fungus, με ιδιαίτερη συμμετοχή στην επιφανειακή ωρίμανση τυριών, είναι ο *Geotrichum Candidum* (*G. candidum*). Η φαινοτυπική και γενετική παραλλακτικότητά του έχει σημαντική επίδραση στις συνθήκες ανάπτυξής του όπως είναι η ανεκτικότητα στο αλάτι, η παραγωγή ενζύμων, πτητικών ενώσεων κ.α.

Ο *G. candidum*, βάσει γενετικής ομοιότητας με άλλα είδη των Fungus, κατατάσσεται στις ζύμες ωστόσο ο τρόπος ανάπτυξής του σε συνθήκες εργαστηρίου και στην επιφάνεια των τυριών προσομοιάζει με αυτή των μυκήτων. Η αλληλούχηση του γονιδιώματός του υπέδειξε ότι ο εν λόγω μικροοργανισμός μορφολογικά και αναπαραγωγικά ανήκει στους μύκητες και βρίσκεται σε μεταβατικό στάδιο για να γίνει ζύμη. Η ανακάλυψη αυτή ενισχύεται από το γεγονός ότι οι ζύμες αποτελούν εξέλιξη των μυκήτων. Εξάιρεση αποτελεί η περίπτωση του *G. candidum* που συνεχίζει να παρουσιάζει αναπαραγωγικές ομοιότητες με τους μύκητες.

Ο *G. candidum* έχει απομονωθεί από ποικίλλα ενδιατήματα όπως είναι το έδαφος, τα φυτά, τα φρούτα, το ανθρώπινο σώμα καθώς και από επιφάνειες εργοστασίων (Engel, 1986b; Barnett et al., 1990). Επιπλέον, σε δείγματα νωπού γάλακτος ο *G. candidum* ανευρέθηκε σε ποσοστό 17%-40% (Engel, 1986c; Desmeasure et al., 1997) ενώ από τα 181 είδη μικροοργανισμών που απομονώθηκαν από τυριά Armada τα 60 ανήκαν στο είδος *G. candidum* (Tornadijo, 1998).

Τα στελέχη του είδους *G. candidum* αναπτύσσονται σε θερμοκρασίες μεταξύ 5-38°C με βέλτιστη τους 25°C. Είναι ανθεκτικά στα οξέα και έχουν βέλτιστη τιμή ανάπτυξης στην όξινη (pH 5.0-5.5) περιοχή (Wyder, 1998). Στην αλκαλική περιοχή ο ρυθμός ανάπτυξης τους δεν επιβραδύνεται καθώς είναι ανεκτικά σε μεγάλο εύρος pH 3-11 (Garisson and Holdar, 1961).

Εντός του είδους είναι δυνατόν να διακριθούν δύο μορφότυποι βάσει των αποικιών που σχηματίζουν (Gueguen and Schmidt, 1992; Wyder, 1998). Ο πρώτος έχει βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης 22-25°C, χαμηλή πρωτεολυτική δραστηριότητα, ικανότητα ανάπτυξης οξύτητας και χαρακτηρίζεται από τη δημιουργία αποικιών κρεμ χρώματος με τη μορφή

ζυμών οι οποίες παράγουν αρθροσπόρια (Guegen and Lenoir, 1975b; Guegen and Jacquet, 1982). Ο δεύτερος μορφότυπος παράγει λευκές αποικίες στις οποίες επικρατούν σε μεγαλύτερο ποσοστό οι μυκηλιακές υφές και σε μικρότερο τα αρθροσπόρια. Η πρωτεολυτική δραστηριότητα του είναι ιδιαίτερα υψηλή, αναπτύσσεται ταχέως σε θερμοκρασιακό εύρος 25-30°C και έχει την ικανότητα δημιουργίας αλκαλικών συνθηκών.

Ο *G. candidum* αναπτύσσεται σε μικροαερόφιλες συνθήκες και είναι ιδιαίτερα ανθεκτικός σε χαμηλές συγκεντρώσεις O₂ και αυξημένες συγκεντρώσεις CO₂. Η ανάπτυξή του επιβραδύνεται σημαντικά σε ποσοστά O₂ χαμηλότερα του 3%, εντούτοις η παραγόμενη βιομάζα είναι ίδια ή και μεγαλύτερη σε συγκεντρώσεις O₂ από 1% έως 3% σε σύγκριση με τη βιομάζα που παράγεται σε υψηλότερες συγκεντρώσεις (Wells and Spalding, 1973; Wells and Spalding, 1975). Στο εσωτερικό του τυριού επικρατούν επί το πλείστον αναερόβιες συνθήκες και έτσι ευνοείται η ανάπτυξη προαιρετικά και υποχρεωτικά αναερόβιων μικροοργανισμών, μεταξύ των οποίων και ο *G. candidum* (Beresford et al., 2001). Ο Guegen υποστήριξε ότι σε μαλακά τυριά, όπως είναι το Camembert και το Pont l'Éveque, η μεταβολή του πληθυσμού στην επιφάνεια και στο εσωτερικό του τυριού είναι παρόμοια ωστόσο ο αριθμός των επιβιωσάντων κυττάρων είναι 100 φορές μικρότερος στο εσωτερικό του τυριού συγκριτικά με την επιφάνεια.

Μια σημαντική διαφορά μεταξύ των διαφόρων κατηγοριών του *G. candidum* είναι η ανεκτικότητά τους ως προς τη συγκέντρωση του άλατος στο μέσο ανάπτυξης. Ο *G. candidum* αναπτύσσεται επαρκώς σε ποσοστά άλατος μεταξύ του 1% έως 2,5% (Wyder, 1998).

4.1.2. Ταξινόμηση

Ο Johann Heinrich Friedrich Link το 1809 ταυτοποίησε και χαρακτήρισε για πρώτη φορά το γένος *Geotrichum*, με μόλις ένα είδος το *G. candidum*. Έκτοτε, γύρω στα 100 συνώνυμα (Carmichael, 1957) έχουν αποδοθεί στο συγκεκριμένο είδος με πιο γνωστό το *Oidium Lactis* (Wouters et al., 2002).

Το είδος *G. geotrichum* χαρακτηρίζεται για τη μεγάλη του ετερογένεια. Περιλαμβάνει 4 στελέχη τα A, B, C και τον *G. geotrichum sensu stricto* (Gueho et al., 1985; de Hoog et al., 1986; Smith et al., 1995; Smith et al., 2000) με παρόμοια φαινοτυπικά χαρακτηριστικά αλλά διαφορετική εφαρμογή (Smith et al., 2000; Naumova et al., 2001). Τα υποείδη του *G. candidum* που έχουν απομονωθεί από διάφορα τυροκομικά προϊόντα ανήκουν κυρίως στην ομάδα A (Prillinger et al., 1999). Το όνομα *G. candidum* προτάθηκε να χρησιμοποιείται αποκλειστικά για τα αναμορφικά είδη ζυμών που απομονώνονται από γαλακτοκομικά προϊόντα και άλλα τρόφιμα (Smith et al., 1995).

4.1.3. Μεταβολισμός γαλακτόζης και γαλακτικού οξέος

Ο *G. candidum*, ανάλογα με το είδος του, μπορεί και αξιοποιεί το διαθέσιμο C από μια ποικιλία υποστρωμάτων, όπως είναι η γαλακτόζη, η D-γλυκόζη, η L-σορβόζη, η D-ξυλόζη, η φρουκτόζη, η μανόζη, η σακχαρόζη, η L-φουκόζη, η D-αραβιτόλη, η D-ριβόζη, η D-μανιτόλη, η D-αραβιτόλη, η ριβιτόλη, το D-γλυκονικό, το κιτρικό, το 2-κετογλυκονικό και το 5-κετογλυκονικό (Gueho and Buissie`re, 1975; Gue`guen, 1984; de Hoog et al., 1986; Barnett et al., 1990; de Hoog et al., 1998).

Τα είδη του *G. candidum* δεν αφομοιώνουν τη λακτόζη. Εν ολίγοις, κατά την ανάπτυξή τους σε υδρόλυμα καζεΐνης δεν καταναλώνουν τη διαθέσιμη λακτόζη παρά μόνο μεταβολίζουν τη γαλακτόζη και ακολούθως το παραγόμενο γαλακτικό οξύ (Soullignac, 1995). Ο μεταβολισμός της γαλακτόζης, όσον αφορά τα απομονωθέντα στελέχη του *G. candidum* από το γάλα, το τυρί και το τυρόπηγμα, χρησιμοποιείται ως πηγή C και ενέργειας με διαφορετικό τρόπο (Marcellino et al., 2001; Cosentino et al., 2001).

4.1.4. Πρωτεόλυση

Η αξιοποίηση του οργανικού N από τον *G. candidum* μπορεί να γίνει είτε από απλές πηγές N όπως είναι οι πεπτόνες και οι καζεΐνες είτε από πιο πολύπλοκες όπως είναι τα υποστρώματα με εκχύλισμα ζύμης (yeast extract) (Gueguen, 1984; Adour et al., 2002). Τα διάφορα στελέχη του *G. candidum* μπορούν να παράγουν ελεύθερα αμινοξέα από τις καζεΐνες (Gueguen, 1984; Adour et al., 2002). Η πρωτεολυτική τους δραστηριότητα αφορά κυρίως τη διάσπαση πεπτιδίων σε μικρότερα κλάσματα, χωρίς όμως να αυξάνεται ο συνολικός αριθμός των ελεύθερων αμινοξέων (Wyder, 1998).

Τα στελέχη του *G. candidum* διαθέτουν ένα πρωτεολυτικό σύστημα ικανό να καταβολίζει αμινοξέα (Hemme et al., 1982) και πεπτόνες (Adour et al., 2002a) προς παραγωγή αμμωνίας (Σχήμα 5). Η λειτουργία του στηρίζεται στην παρουσία δυο ενζυμικών συστημάτων, των πρωτεασών και των πεπτιδασών. Η δραστηριότητα των πρωτεασών διαμορφώνεται βάσει των συγκεντρώσεων του υδατοδιαλυτού N και των πεπτιδασών βάσει των συγκεντρώσεων του μη πρωτεϊνικής φύσεως άζωτο (Wyder, 1998).

Το πρώτο στάδιο για την αποικοδόμηση των πρωτεϊνών πραγματοποιείται από τις ενδοκυτταρικές πρωτεάσες σερίνης, με λειτουργία ανάλογη της χυμοθριψίνης (Litthauer et al., 1996). Η δραστηριότητα των πρωτεασών είναι δυνατόν να παρεμποδίζεται από

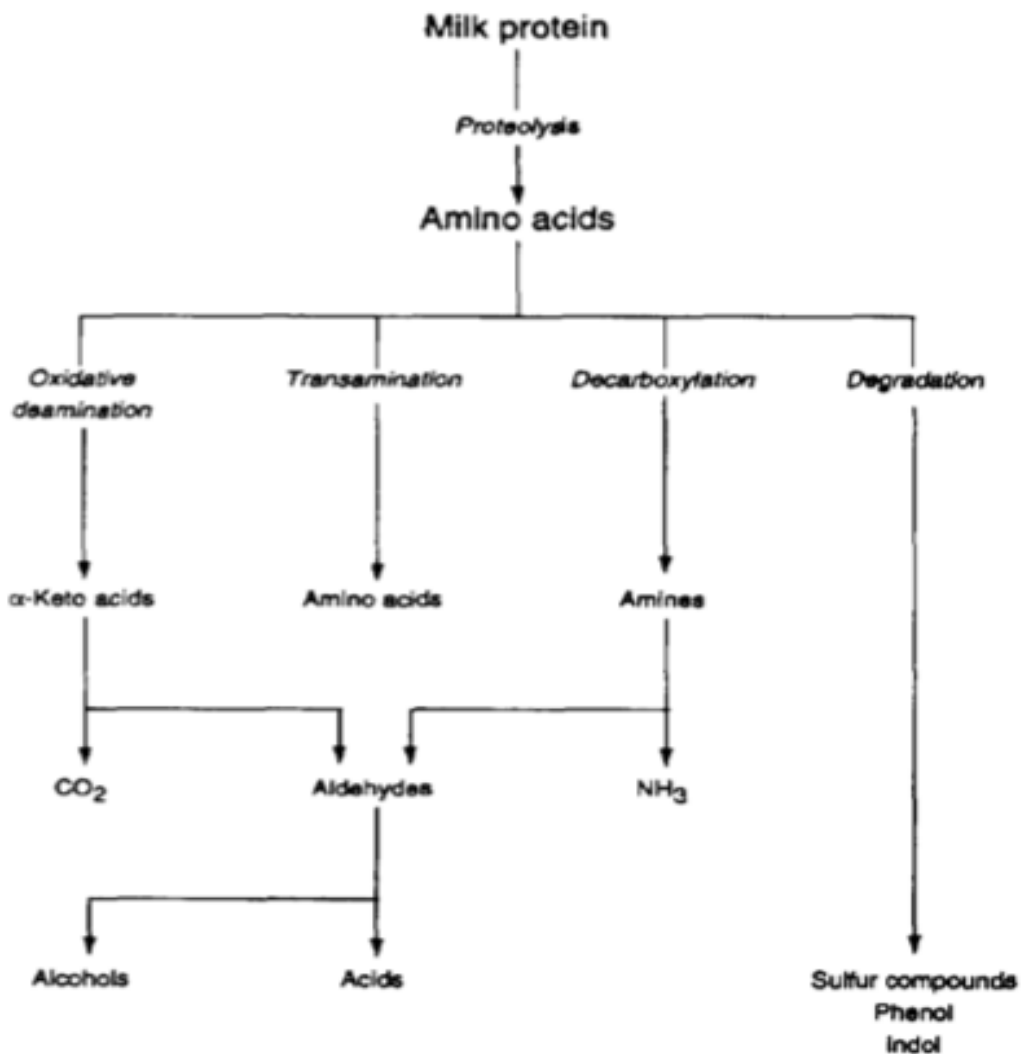
ενδοκυτταρικούς αναστολείς με σκοπό τη ρύθμιση του καταβολισμού των πρωτεϊνών σε επιθυμητά επίπεδα (Vincente-Soler and Gacto, 1991). Η δραστικότητα των πρωτεασών σχετίζεται με το στάδιο ανάπτυξης του *G. candidum*. Αυξάνεται προς το τέλος της αυξητικής φάσης και σημειώνει βέλτιστο ρυθμό δράσης κατά την στατική φάση (Hannan and Gueguen, 1985).

Η πρωτεολυτική δραστικότητα των ενζύμων του *G. candidum* ποικίλλει μεταξύ των διαφόρων στελεχών και διακρίνεται σε δύο ομάδες (α) τις εξωκυτταρικές πρωτεάσες χαμηλής πρωτεολυτικής δραστικότητας και (β) τις ενδοκυτταρικές πρωτεάσες μεγάλης πρωτεολυτικής δραστικότητας. Η σταθερότητα των δύο συστημάτων διαφέρει σημαντικά, με το εξωκυτταρικό να είναι πιο θερμοευαίσθητο και να αδρανοποιείται σε τιμές pH 4.0 (Gueguen and Lenoir, 1976). Επιπλέον, η προέλευση των διαφόρων στελεχών του *G.candidum* έχει σημαντική επίδραση στη διαμόρφωση της πρωτεολυτικής του δραστικότητας, καθώς όσα έχουν απομονωθεί από μαλακά τυριά παρουσιάζουν εντονότερη πρωτεολυτική δραστικότητα σε σύγκριση με των σκληρών τυριών (Gueguen and Lenoir, 1975b).

Η δραστικότητα των μυκηλιακών και εξωκυτταρικών αμινοπεπτιδασών σχετίζεται με δύο διαφορετικά ενζυμικά συστήματα. Το μυκηλιακό σύστημα παρουσιάζει μέγιστη σταθερότητα σε τιμές pH 5 έως 9 και είναι σχετικά θερμοανθεκτικό. Το εξωκυτταρικό σύστημα παρουσιάζει βέλτιστη δραστικότητα σε 3 τιμές pH και η θερμική του αδρανοποίηση πραγματοποιείται σε 3 διαφορετικά θερμοκρασιακά εύρη. Οι διαφορές αυτές υποδεικνύουν την παρουσία 3 ενζύμων στο εξωκυτταρικό σύστημα και ενός στο μυκηλιακό (Auberger et al., 1997).

Ο καταβολισμός των αμινοξέων από τα διάφορα στελέχη του *G. candidum* οδηγεί στην παραγωγή ποικίλων αρωματικών συστατικών (Jollivet et al., 1994). Τα αμινοξέα αρχικά καταβολίζονται σε α-κετονοξέα και κατόπιν σε αλδεΐδες μέσω μιας αποκαρβοξυλάσης. Οι αλδεΐδες στη συνέχεια ανάγονται προς αλκόολες ή οξειδώνονται προς σχηματισμό οξέων. Η οξειδωτική απαμίνωση των αμινοξέων πραγματοποιείται μέσω μιας οξειδοαναγωγής που μπορεί να είναι είτε δεϋδρογονάση είτε οξιδάση. Αυτά τα ένζυμα είναι εξειδικευμένα να διασπών το ασπαρτικό οξύ, το γλουταμινικό οξύ, τη λευκίνη, τη φαινυλανανίνη και τη μεθειονίνη (Greenberg and Ledford, 1979). Τα τελικά προϊόντα της πρωτεόλυσης είναι η αιθανόλη, η 2- μεθυλοπροπανόλη (γεύση αλκόολης), η 3- μεθυλοβουτανόλη (γεύση αλκόολης και φρούτου), η 2- μεθυλοβουτανόλη, η 3- μεθυλοπροπανόλη και η φαινυλοαιθανόλη (γεύση τριανταφύλλου και ανθέων) (Latrasse et al., 1987; Jollivet et al., 1994; Molimard and Spinnler, 1996).

Σημαντικό ρόλο στη διαμόρφωση του αρώματος και της γεύσης του τυριού παίζουν και τα προϊόντα τα οποία δεν είναι πάντα επιθυμητά. Έτσι, η αποκαρβοξυλίωση των αμινοξέων προς αμίνες (όπως η τυραμίνη, η ισταμίνη, η τρυπταμίνη), δημιουργεί δυσάρεστα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και μπορεί να προκαλέσει αλλεργικού τύπου τροφογενείς δηλητηριάσεις (Chambers and Staruszkiewicz, 1978; Joosten., 1988; Abd Alla et al., 1996; Sarkadi et al., 1996; Leuschner and Hammes, 1998; Durlu- O' zkaya et al., 2000; El-Din et al., 2001; Innocente and d'Agostin, 2002; Martuscelli et al., 2004). Τα διάφορα στελέχη του *G. candidum* πέραν από το σχηματισμό των βιογενών αμινών συμβάλλουν άμεσα ή έμμεσα και στη διάσπασή τους (Tornadijo et al., 1998).



Σχήμα 5: Καταβολισμός αμινοξέων κατά την ωρίμαση τυριών (Choisy et al., 1984)

Το τρίτο μέρος του πρωτεολυτικού συστήματος του *G. candidum* αφορά την ικανότητά του να μετατρέπειθειούχα αμινοξέα σε διάφορεςθειούχες ενώσεις με σημαντική επίδραση

στην διαμόρφωση του αρώματος συγκεκριμένων γαλακτοκομικών προϊόντων (Gripou, 1997). Συγκεκριμένα, ο *G. candidum* μπορεί και διασπά τη μεθειονίνη προς μεθανοθειόλη (MT). Η MT προκύπτει από τη διάσπαση της L- μεθειονίνης με την αντίδραση να καταλύεται από το ένζυμο γ-λυάση της μεθειονίνης, γνωστό και ως L- μεθειονίνη διμεθυλοάση. Η L- μεθειονίνη διασπάται προς σχηματισμό του 4-μεθυλοθειο-2-οξυβουτυρικού οξέος (KMBA) μέσω μίας τρανσφεράσης, η οποία προϋποθέτει την παρουσία ενός αποδέκτη αμινοξέων όπως είναι το α- κετογλουταρικό (Demarigny et al., 2000). Το σχηματιζόμενο KMBA ακολούθως διασπάται με τελικά προϊόντα τη MT, θειούχες ενώσεις και S- μεθυλοεστέρες (Arfi et al., 2003). Παραδείγματα θειούχων ενώσεων είναι τα διμεθυλοσουλφίδια, τα μεθυλοτρισουλφίδια, οι S- μεθυλο- θειοεστέρες και η 2,4- διθειοπεντάνη τα οποία προσδίδουν άρωμα σκόρδου, κουνουπιδιού και υπερωριασμένου τυριού (Demarigny et al., 2000).

Ο μεταβολισμός της μεθειονίνης από τον *G. candidum* συμβάλει και στο σχηματισμό διμεθυλοσουλφιδίων (διμεθυλοθειοαιθέρων) μέσω ενός μεταβολικού μονοπατιού που δεν περιλαμβάνει το σχηματισμό της MT (Demarigny et al., 2000).

4.1.5. Λιπόλυση

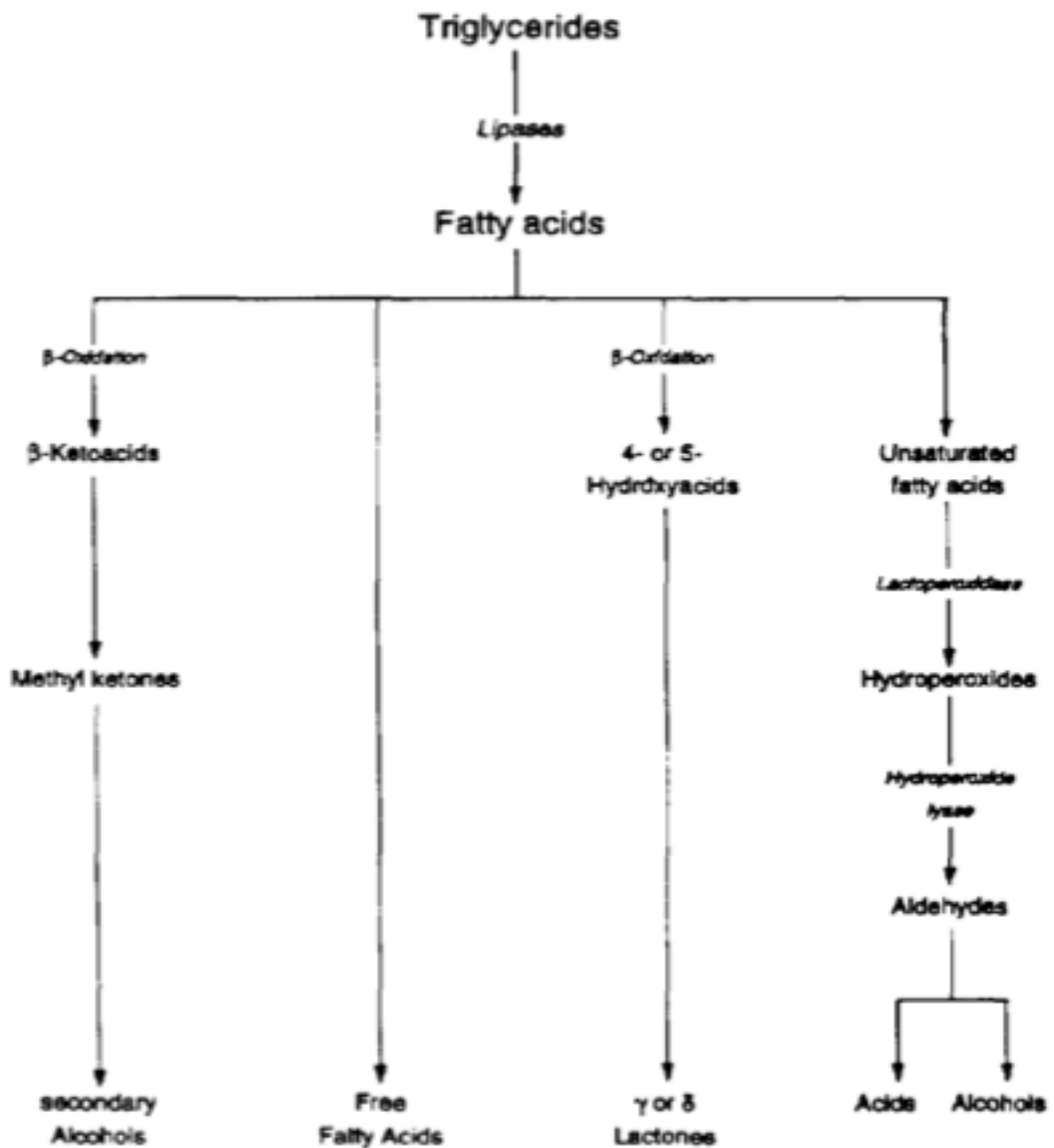
Τα λιπολυτικά ένζυμα του *G. candidum* συνεισφέρουν στη διαμόρφωση του προφίλ των ΛΟ, με αύξηση των ακόρεστων, καθ' όλη τη διάρκεια της ωρίμανσης (Kuzdal and Kuzdal-Savoie, 1966). Η δραστηριότητα των λιπασών κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης είναι ιδιαίτερα υψηλή καθώς βέλτιστη δραστηριότητα παρατηρείται σε τιμές pH μεταξύ 5,5 και 7,5.

Πειραματικές μελέτες που πραγματοποιήθηκαν με αντικείμενο τη δράση των λιπασών του *G. candidum* κατά την ωρίμανση του τυριού Armada έδειξαν ότι η δράση τους ήταν κυρίαρχη κατά τα πρώτα στάδια ωρίμανσης (Tornadijo et al., 1998). Τα αποτελέσματα του πειράματος υπέδειξαν έντονη λιπόλυση και μάλιστα πολύ υψηλότερη σε σχέση με άλλων αίγειων τυριών (Fresno et al., 1997). Συγκεκριμένα, όσον αφορά το προφίλ των ΛΟ, κατά τις πρώτες εβδομάδες της ωρίμανσης που παρατηρείται κυρίαρχη δράση του *G. candidum*, η αναλογία C16/C18:1 ήταν ιδιαίτερα χαμηλή (0,5) ενώ η συγκέντρωση του C18:1 ήταν ιδιαίτερα υψηλή. Το συμπέρασμα αυτό επιβεβαιώνει τη δραστηριότητα των λιπασών του *G. candidum*.

Οι λιπάσες του *G. candidum* (Jollivet et al., 1994) συμβάλουν, κατά προτίμηση, στο σχηματισμό του ελαϊκού οξέος (C_{18:1}) και άλλων ακόρεστων ΛΟ C₁₈ (Aneja and Hollis, 1983).

Οι μεθυλοκετόνες συντίθενται μέσω ενός μεταβολικού μονοπατιού (**Σχήμα 6**), το οποίο καταλύεται από ένα ενζυμικό σύστημα ικανό να το διαφοροποιεί από το μονοπάτι της β-

οξειδωσης (Mollimard and Spinnler, 1966). Τα διάφορα ΛΟ μέσω μίας θειολάσης διασπώνται προς σχηματισμό ενός β-κετονοξέος το οποίο αποκαρβοξυλιώνεται από μια β-ακετυλοδωδροκαρβοξυλάση σε μια μεθυλοκετόνη, με ένα λιγότερο άτομο C σε σχέση με το αρχικό ΛΟ (Mollimard and Spinnler, 1966).



Σχήμα 6: Σχηματισμός αρωματικών ενώσεων κατά το μεταβολισμό λιπαρών οξέων (Dumont and Adda, 1978)

Οι μεθυλοκετόνες, στο τυρί Camembert, είναι το συστατικό με την υψηλότερη συγκέντρωση με επικρατέστερες τις 2-νονανόνη (γεύση φρουτώδης και μπαγιάτικη) και 2-επτανόνη (γεύση μπλέ τυριού) (Mollimard et al., 1997). Επιπλέον, ο *G. candidum* παράγει τις

2-πεντανόνη (γεύση φρουτώδης, όξινη), 2-νονανόνη, 2-εντεκανόνη (γεύση βοτανώδη, λουλουδιών) (Latrasse et al., 1987; Jollivet et al., 1994) και την 3-πεντανόνη. Ο σχηματισμός της 1-οκτανο-3-όλη (γεύση μανιταριού) που προκύπτει από την οξειδωση δεσμών εντός της αλύσου μπορεί να είναι ανεπιθύμητος, ιδιαίτερα στην περίπτωση μεγάλων συγκεντρώσεων (Molimard et al., 1997).

4.1.6. Ο *G. candidum* στην τυροκομία

Το ενζυμικό σύστημα του *G. candidum* συνεισφέρει στη διάσπαση του λίπους και των πρωτεϊνών του τυριού αποδίδοντας ιδιαίτερα αρωματικά συστατικά (Jollivet et al., 1994).

Τα είδη του *G. candidum* διαφοροποιούνται ως προς την ικανότητά τους να διασπών τα διάφορα αμινοξέα προς σχηματισμό αρωματικών ουσιών (Spinnler et al., 2001).

Ο *G. candidum* αναπτύσσεται στην επιφάνεια των τυριών στα πρώτα στάδια της ωρίμανσης συνεισφέροντας στη διαμόρφωση χαρακτηριστικών γεύσεων. Η έντονη δραστηριότητα του *G. candidum* στην επιφάνεια έχει πολλές φορές δυσάρεστα αποτελέσματα, όπως είναι ο σχηματισμός επιδερμίδας που γλιστράει. Η χρήση του *G. candidum* ωστόσο παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον και εφαρμογή στην παρασκευή παστεριωμένων τυριών με οργανοληπτικά χαρακτηριστικά ανάλογα των απαστερίωτων (Mourger et al., 1983). Επιλέον, η προσθήκη του είναι ιδιαίτερα επιτυχής και σε σκληρά τυριά, όπως είναι το Saint Nectaire που σχηματίζει χαρακτηριστική λευκή επίστρωση και συμβάλλει δραστικά στην ωρίμανσή του (Gueguen and Lenoir, 1975a; Devoyd, 1990; Choisy et al., 1997).

Η συμβολή των διαφόρων στελεχών του *G. candidum* είναι ιδιαίτερα καθοριστική καθώς διαμορφώνουν τη δομή, τη συνεκτικότητα και το πάχος της επιδερμίδας (Marcellino et al., 2001). Μερικά στελέχη ωστόσο είναι λιγότερο επιθυμητά καθώς δημιουργούν σοβαρά ελαττώματα, με κυριότερο την αποσύνθεση της επιδερμίδας κατά την αναστροφή τυριών (Marcellino et al., 2001).

4.2. PENICILLIUM CANDIDUM (ή Camemberti)

4.2.1. Γενικά χαρακτηριστικά

Τα περισσότερα είδη του γένους *Penicillium* εμφανίζουν παρόμοιους τύπους κονιδιοφόρου και παρόμοια ταχύτητα ανάπτυξης στα θρεπτικά μέσα σε θερμοκρασίες από 5°C έως και 37°C και pH μεταξύ 3,5 και 8,5. Οι καρποφορίες τους εμφανίζονται ως μονές ή σε

στοιχειώδη κορέμια με κονιδιοφόρους τριών διακλαδώσεων και αμπουλοειδή φιαλίδια (Pitt, 1979). Η ανάπτυξή τους στις συνθήκες που επικρατούν στα τυριά, δηλαδή σε τιμές pH 4,7-4,9 και αλατοπεριεκτικότητα 2-4%, είναι σχετικά αργή.

Ο μύκητας αναπτύσσεται σταδιακά στην επιφάνεια του τυριού σχηματίζοντας χαρακτηριστική επιδερμίδα από λεπτές μυκηλιακές υφές. Οι μυκηλιακές υφές και τα κονιδιοσπόρια που συναθροίζονται στην επιφάνεια διαθέτουν ενζυμικό σύστημα με λιπάσες και πρωτεάσες υπεύθυνες για την ανάπτυξη χαρακτηριστικών γεύσεων και αρωμάτων.

Πειραματικές έρευνες που πραγματοποιήθηκαν με σκοπό τη μελέτη της ανάπτυξης του *P. camemberti* στο τυρί, μόνο του ή σε συνδυασμό με άλλες καλλιέργειες, υπέδειξαν έντονη πρωτεολυτική δραστικότητα αυτού (Desmazeaud et al., 1976). Οι συγκεντρώσεις του υδατοδιαλυτού N σε pH 4,6 και του μη πρωτεϊνικής φύσεως N (ΜΠΦΝ) αντιστοιχούσαν στο 50% και 30% του ολικού N. Επιπλέον, παρατηρήθηκε αυξημένη παραγωγή ελεύθερων ΑΟ και πεπτιδίων μικρού και μεγάλου ΜΒ, γεγονός που υποδεικνύει την κυρίαρχη δράση των ενδοπεπτιδασών και των εξωπεπτιδασών του *P. camemberti*.

Η λειτουργία του εξωκυτταρικού πρωτεολυτικού συστήματος του *P. camemberti* βασίζεται στη δράση μιας μεταλλοπρωτεϊνάσης (Gripon & Hermier, 1974; Lenoir & Auberger, 1977; Lenoir & Auberger, 1977; Gripon et al., 1980), μιας ασπαρτικής πρωτεϊνάσης, μιας όξινης καρβοξυπεπτιδάσης (Lenoir, 1984; Gripon, 1977; Ahiko et al., 1981) και μιας αλκαλικής αμινοπεπτιδάσης (Gripon, 1976; Auberger et al., 1982).

4.2.2. Ταξινόμηση

Το γένος *Penicillium* είναι ένα από τα πιο μελετημένα γένη και παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον τόσο λόγω των δευτερευόντων μεταβολιτών του (Frisvad et al., 2004), όσο λόγω και των ιδιαιτεροτήτων του στην ταξινόμηση των ειδών (Samson et al., 2004). Περιλαμβάνει συνολικά 4 υπογένη (*Aspergilloides*, *Furcatum*, *Penicillium* και *Biverticillium*) και περισσότερα από 225 είδη (Visagie, 2008). Το γένος *Penicillium* περιλαμβάνει και πολλά είδη με μεγάλη οικονομική σημασία λόγω της ευρείας εφαρμογής τους στη παρασκευή διαφόρων τυροκομικών προϊόντων και προϊόντων κρέατος. Τα είδη του γένους *Penicillium* χρησιμοποιούνται ως καλλιέργειες ωρίμανσης σε τυριά, όπως είναι το Roquefort (*Penicillium roqueforti*), το Camembert (*Penicillium camemberti*) και το Brie (*Penicillium camemberti*). Το καθένα από τα υπογένη αυτά έχει ιδιαίτερα μορφολογικά χαρακτηριστικά που όμως δεν είναι πάντα απόλυτα καθοριστικά για το διαχωρισμό των ειδών (Samson et al., 2011).

Συνήθως ο διαχωρισμός των ειδών γίνεται μέσω του χρώματος της αποικίας, όμως υπάρχουν και περιπτώσεις ασυνήθιστων απομονώσεων, στις οποίες η αποικία δεν εμφανίζει χαρακτηριστικό χρωματισμό. Στις περιπτώσεις αυτές, ως ικανοποιητικό χαρακτηριστικό γνώρισμα των ειδών, χρησιμοποιείται το χρώμα των κονιδίων.

4.2.3. Μεταβολισμός γαλακτικού οξέος

Ο μεταβολισμός της λακτόζης πραγματοποιείται σχεδόν αποκλειστικά από οξυγαλακτικά βακτήρια που προστίθενται στο γάλα της τυροκόμησης ως καλλιέργειες εκκίνησης και διασπούν τη λακτόζη προς παραγωγή γαλακτόζης, γαλακτικού οξέος και άλλων ουσιών. Η συγκέντρωση της υπολειμματικής λακτόζης στο τυρί μειώνεται σταδιακά μέχρι την 5^η-10^η ημέρα της ωρίμανσης, όπου και συμπίπτει με την ανάπτυξη του *P. camemberti* (Berner, 1976). Στην πορεία της ωρίμανσης η συγκέντρωσή της συνεχίζει να μειώνεται και την 20^η-30^η ημέρα είναι σχεδόν μηδενική. Συνολικά το ποσοστό της υπολειμματικής λακτόζης συγκεντρώνεται στο εσωτερικό του τυριού και λιγότερο στην εξωτερική του επιφάνεια.

Το παραγόμενο γαλακτικό οξύ από το μεταβολισμό της λακτόζης χρησιμοποιείται για την ανάπτυξη των ζυμών και των μυκήτων. Ο Berner κατά τον προσδιορισμό του παραγόμενου γαλακτικού οξέος σε τυριά Camembert παρατήρησε ότι στην αρχή της ωρίμανσης τα ποσοστά του L- γαλακτικού οξέος κυμαίνονταν στο 2-9% στην επιφάνεια και 3-6% στο εσωτερικό του τυριού (Berner, 1971). Τα ποσοστά αυτά μειώθηκαν κατά την 5^η-10^η ημέρα της ωρίμανσης παράλληλα με την ανάπτυξη του *P. camemberti* και στο τέλος ήταν σχεδόν μηδενικά (<0,02%)

Ο μεταβολισμός του γαλακτικού οξέος από το *P. camemberti* συμβάλλει στην αύξηση της τιμής του pH. Στο τέλος της ωρίμανσης παραδοσιακών τυριών Camembert έχουν αναφερθεί τιμές pH για την εξωτερική επιφάνεια και το εσωτερικό του τυριού 7,0 και 6,0 αντίστοιχα (Lenoir, 1984).

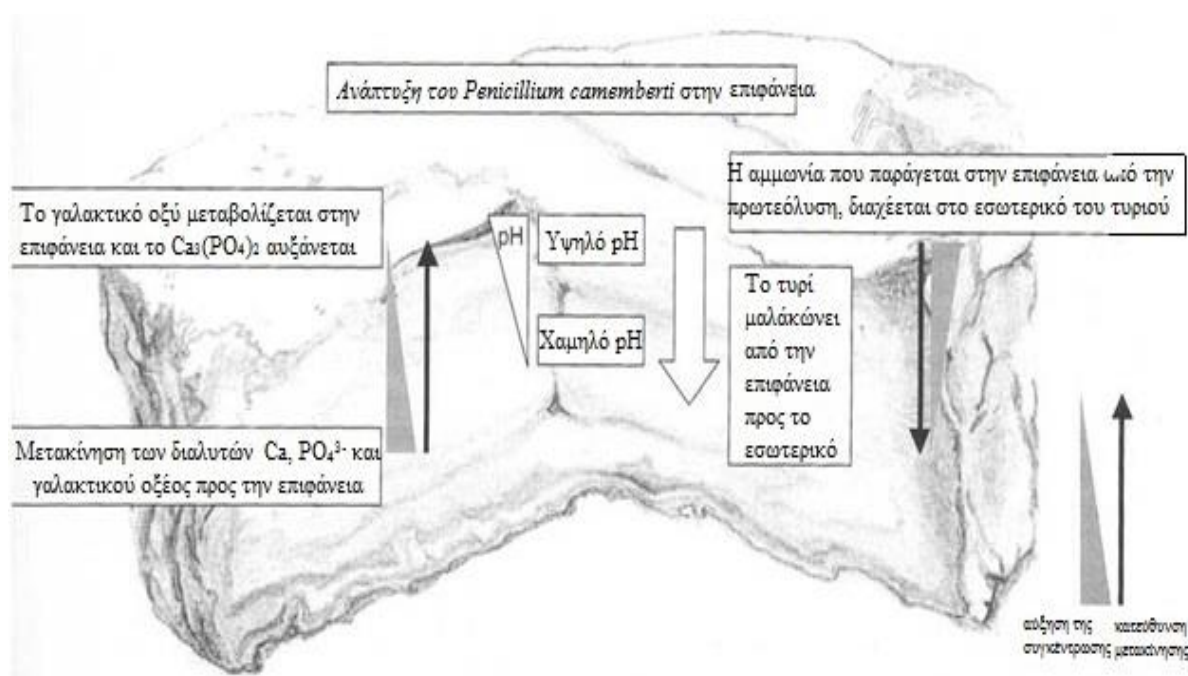
4.2.4. Πρωτεόλυση

Το πρωτεολυτικό σύστημα ενεργοποιείται στην όξινη περιοχή και παρουσιάζει σταθερή δράση σε εύρος pH από 3,5-5,5 (Lenoir & Auberger, 1977; Lenoir et al., 1979; Modler et al., 1974).

Τα πρωτεολυτικά ένζυμα του *P. camemberti* υδρολύουν κατά προτίμηση την α₁- και ακολούθως τις β- και κ- καζεΐνες (Lenoir & Auberger, 1982). Συγκεκριμένα, οι όξινες

πρωτεΐνες παρουσιάζουν υψηλή εξειδίκευση στη διάσπαση των δεσμών Lys₉₇-Val₉₈, Lys₉₉-Glu₁₀₀ και Lys₂₉-Ile₃₀ της β-καζεΐνης (Trieu-Cuot et al., 1982; Le Bars, 1981). Οι μεταλλοπρωτεΐνες έχουν βέλτιστη δράση σε τιμές pH μεταξύ 5,5 και 6,0 ενώ η δραστηριότητά τους είναι σταθερή σε τιμές pH (των ωριμασμένων με μύκητες τυριών) μεταξύ 4,5 και 8,5. Η δράση τους *in vitro*, έδειξε επιλεκτική διάσπαση τις β- έναντι της κ-καζεΐνης (Lenoir & Auberger, 1982), με υδρόλυση των Lys₂₈-Lys₂₉, Pro₉₀-Glu₉₁ και Gly₁₀₀-Ala₁₀₁ δεσμών (Trieu-Cuot et al., 1982).

Η βιβλιογραφία σχετικά με την πρωτεολυτική δράση των ενδοκυτταρικών ενδοπεπτιδασών είναι περιορισμένη. Οι Lenoir & Choisy (Lenoir & Choisy, 1970) παρατήρησαν ότι οι ενδοκυτταρικές πεπτιδάσες του *P. camemberti* δραστηριοποιούνται με βέλτιστο ρυθμό σε υδρόλυμα καζεΐνης σε τιμές pH 6,0-6,5.



Εικόνα 1: Βιοχημικές μεταβολές στα τυριά τύπου Camembert κατά τη διάρκεια ωρίμανσης με τη συμβολή του *P. camemberti* (Fox et al., 2004)

Η μελέτη της πρωτεόλυσης σε τυρί Camembert έδειξε ότι στο κέντρο του τυριού υπάρχει ελάχιστη πρωτεολυτική δραστηριότητα (**Εικόνα 1**), καθ'όλη τη διάρκεια της ωρίμανσης, σε αντίθεση με την εξωτερική επιφάνεια. Ο *P. camemberti* αρχίζει να αναπτύσσεται κατά την 6^η-7^η ημέρα της ωρίμανσης και παράλληλα συντίθενται οι μεταλλοπρωτεΐνες και οι ασπαρτικές πρωτεΐνες. Η συγκέντρωση των πρωτεολυτικών ενζύμων του *P. camemberti* αυξάνει μέχρι την 15^η ημέρα και στη συνέχεια μειώνεται (Lenoir, 1984; Lenoir & Auberger, 1982).

Οι Trieu-Cuot & Gripon (1982) μελέτησαν την πρωτεολυτική δραστηριότητα της μεταλλοπρωτεϊνάσης και της ασπαρτικής πρωτεϊνάσης δια μέσου των ηλεκτροφορητικών αλλαγών των βαρ1- και βmp1- πεπτιδίων, τα οποία αποτελούν δείκτες της δραστηριότητας των εν λόγω ενζύμων. Το πεπτιδίο βαρ1 παράγεται σε σύντομο χρονικό διάστημα μετά την ανάπτυξη του *P. camemberti* και η συγκέντρωσή του αυξάνεται κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης του μύκητα γεγονός που υποδεικνύει τη δράση της ασπαρτικής πρωτεϊνάσης. Η συγκέντρωση του πεπτιδίου βmp1 μειώνεται από τη 10^η-14^η ημέρα της ωρίμανσης είτε λόγω μείωσης της δραστηριότητας της μεταλλοπρωτεϊνάσης είτε λόγω διάσπασης του πεπτιδίου από κάποια πρωτεϊνάση.

Η πρωτεολυτική δραστηριότητα του *P. camemberti*, όπως προαναφέρθηκε, είναι εντονότερη στην επιφάνεια σε σχέση με το εσωτερικό του τυριού και αυτό πιθανόν να οφείλεται στη μειωμένη διείσδυση των πρωτεϊνών στο εσωτερικό του (Noomen, 1983; Lenoir, 1970). Το πεπτιδίο βαρ1, ωστόσο, έχει βρεθεί στο τυρί Camembert σε βάθος μεγαλύτερο των 7mm προς το τέλος της ωρίμανσης. Η παρουσία του πεπτιδίου προς το εσωτερικό του τυριού μπορεί να είναι αποτέλεσμα της μεταφοράς του ίδιου ή των πρωτεϊνών.

Ο μύκητας *P. camemberti* παράγει μεγάλο αριθμό πεπτιδίων μεταξύ των οποίων και μία καρβοξυπεπτιδάση σερίνης (Ahiko et al., 1981). Η ιδιότητα αυτού του ενζύμου αφορά στη μείωση της πικρότητας του καζεϊνικού υδρολύματος μέσω της παραγωγής υδρόφοβων αμινοξέων. Οι όξινες καρβοξυπεπτιδάσες του *P. camemberti*, χάρη στο ευρύ φάσμα δράσης τους, μπορούν και υδρολύουν πικρά πεπτιδία. Επιπλέον, το ενζυμικό σύστημα του *P. camemberti* περιλαμβάνει ενδοκυτταρικές καρβοξυπεπτιδάσες, εξωκυτταρικές και ενδοκυτταρικές αμινοπεπτιδάσες.

Οι πρωτοταγείς και δευτεροταγείς αλκόολες μαζί με τις μεθυλοκετόνες θεωρούνται από τα βασικότερα αρωματικά συστατικά των τυριών που ωριμάζουν με μύκητες. Η αλκόολη 1-οκτεν-3-ολη ως δευτερογενής μεταβολίτης (Spinnler et al., 1992) συντίθεται προς το τέλος της ωρίμανσης προσδίδοντας το χαρακτηριστικό άρωμα μανιταριού στο τυρί Camembert (Adda et al., 1973; Karahadian et al., 1985). Η αυξημένη συγκέντρωση της 1-οκτεν-3-ολη έχει ως συνέπεια τη δημιουργία ανεπιθύμητης οσμής. Επίσης, οι αλκόολες αιθανόλη, προπαν-2-ολη, βουτανο-2-ολη, οκταν-2-ολη, νοναν-2-ολη και η 2-μεθυλιζομπορνεόλη έχουν απομονωθεί από μαλακά τυριά (Adda & Dumont, 1974). Η 2-μεθυλο-μπορνεόλη αν και παράγεται από τον *P. camemberti* σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις συνεισφέρει σε μεγάλο ποσοστό στη διαμόρφωση του αρώματος του τυριού (Karahadian et al., 1985; Karahadian et al., 1985).

Η σύνθεση των αλκοολών πραγματοποιείται είτε μέσω του μεταβολισμού των αμινοξέων, σύμφωνα με το μεταβολικό μονοπάτι Ehrlich, είτε κατά τη διάσπαση των αλδεϋδων,

σύμφωνα με το μεταβολικό μονοπάτι Strecker. Στα τυριά που ωριμάζουν με μύκητες, η δράση του *P. camemberti* είναι τις περισσότερες φορές κυρίαρχη με αποτέλεσμα τη σύνθεση πεπτιδίων, τα οποία πολλές φορές προσδίδουν ιδιαίτερα πικρή γεύση (Lemieux & Simard, 1991; Lemieux & Simard, 1992; Mollimard et al., 1994).

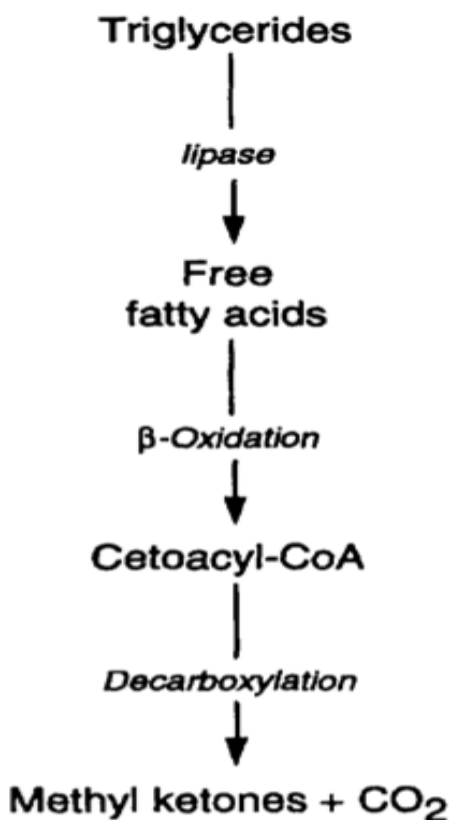
Σύμφωνα με το μεταβολικό μονοπάτι του Strecker, κατά την οξειδωτική απαμίνωση των αμινοξέων συντίθενται α-κετοξέα και στη συνέχεια μέσω μιας αποκαρβοξυλάσης παράγονται οι αλδεΐδες. Οι αλδεΐδες μπορούν να αναχθούν σε πρωτογενείς αλκώολες ή να οξειδωθούν σε άλλα οξέα. Η οξειδωτική απαμίνωση καταλύεται από τη δράση του ενζυμικού συστήματος των δευδρογονασών και οξειδασών. Ο μύκητας *P. camemberti* μπορεί και καταβολίζει τη βαλίνη σε 2-μεθυλο-προπανόλη και τη λευκίνη σε 3-μεθυλο-βουτανόλη (Karahadian et al., 1985).

Η συμβολή των θειούχων ενώσεων είναι εξίσου σημαντική στη διαμόρφωση ιδιαίτερων αρωματικών χαρακτηριστικών, όπως για παράδειγμα στο τυρί Camembert που προσδίδει την αρεστή οσμή σκόρδου. Η σύνθεσή τους προκύπτει κυρίως κατά τη διάσπαση της μεθειονίνης από τη -διμεθειολάση της μεθειονίνης (Hemme et al., 1982; Collin et al., 1989) με κύρια προϊόντα τη μεθανοθειόλη και άλλες ενώσεις όπως είναι τα διμεθυλοσουλφίδια και τα διμεθυλο-τρισουλφίδια (Grill et al., 1967; Shankaranarayana et al., 1974).

Ο *P. camemberti* όπως και ο *G. candidum* συμβάλλουν σημαντικά στην παραγωγή αμμωνίας κατά τη μεταβολική διαδικασία της απαμίνωσης. Το ποσοστό της εκλυόμενης αμμωνίας είναι βασικό χαρακτηριστικό της διαμόρφωσης του αρώματος του τυριού Camembert (Karahadian et al., 1987).

4.2.5. Λιπόλυση

Ο βαθμός λιπόλυσης, όπως και της πρωτεόλυσης, στα τυριά που ωριμάζουν με μύκητες είναι πολύ μεγαλύτερος συγκριτικά με άλλων ειδών τυριών (Kuzdzal-Savoie, 1968). Κύριος πρωτεολυτικός παράγοντας των ωριμασμένων με μύκητες τυριών είναι ο μύκητας *P. camemberti*.



Σχήμα 7: Μεταβολισμός τριγλυκεριδίων στους μύκητες. CoA= συνένζυμο A (Dummont and Adda, 1978)

Ο ρόλος των ΛΟ στη διαμόρφωση του αρώματος των ωριμασμένων με μύκητες τυριών είναι ιδιαίτερα σημαντικός. Τόσο τα ΛΟ όσο και τα προϊόντα που προέρχονται από τον καταβολισμό τους (κετόνες, αλκόολες, λακτόνες και εστέρες) έχουν ιδιαίτερα σημαντική επίδραση στο άρωμα του τυριού. Τα ΛΟ με 4 έως 20 άτομα C προέρχονται από τη λιπόλυση τριγλυκεριδίων από μύκητες.

Ο *P. camemberti* παράγει μία εξωκυτταρική λιπάση, η οποία παρουσιάζει υψηλή ειδικευση στη διάσπαση της τριβουτυρίνης (εστέρας βουτυρικού οξέος και γλυκερόλης) (Lamberet, 1976; Lamberet & Lenoir, 1976). Το ενζυμικό σύστημα του *P. camemberti* εμφανίζει βέλτιστη δράση σε τιμές pH 9,0 και θερμοκρασία 35° C ενώ η δραστηριότητά του

διαμορφώνεται βάσει του στελέχους του *P. camemberti* (Lamberet & Lenoir, 1972). Η δραστικότητα της λιπάσης σε τιμές pH 9,0 και θερμοκρασία από 0 έως 20 ° C κυμαίνεται στο 50% και ενισχύεται από την παρουσία ιόντων Ca (Lamberet, 1976).

Η παραγωγή της λιπάσης, κατά τη διάρκεια μελέτης της δράσης της σε τυρί Camembert, αυξήθηκε κατά την 10^η ημέρα της ωρίμανσης, παράλληλα με την ανάπτυξη του μυκηλίου, μέχρι και την 16^η και στη συνέχεια μειώθηκε έως και την 30^η ημέρα της ωρίμανσης όπου και άρχισε να αυξάνεται (Lamberet & Lopez, 1982).

Οι μεθυλοκετόνες και οι δευτεροταγείς αλκόολες εκπροσωπούν το μεγαλύτερο μέρος του πτητικού κλάσματος του τυριού (Pratt, 1989; Schwartz & Parks, 1963) ενισχύοντας την ανάπτυξη ιδιαίτερων αρωματικών χαρακτηριστικών.

Μία από τις σημαντικότερες βιοσυνθετικές ικανότητες των μυκήτων κατά την ωρίμανση τυριών με επιφανειακούς μύκητες είναι η σύνθεση μεθυλοκετόνων (**Σχήμα 7**). Η σύνθεση των μεθυλοκετόνων γίνεται αρχικά με την οξείδωση των ελεύθερων ΛΟ από το β-κετο-ακυλο-συνένζυμο A, στη συνέχεια αποκαρβοξυλιώνονται μέσω μιας β-κετο-ακυλο-αποκαρβοξυλάσης για να δώσουν τελικά μια μεθυλοκετόνη με έναν C λιγότερο σε σχέση με το αρχικό ΛΟ (Adda, 1984; Cerning et al., 1987; Lamberet et al., 1982; Smith & Alford, 1969).

Τα ΛΟ σε χαμηλές συγκεντρώσεις οξειδώνονται πλήρως προς παραγωγή CO₂, ενώ παράλληλα συντίθενται και πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις μεθυλοκετόνων (Margalith., 1981). Η σύνθεση των κετονών οκτα-1-εν-3-ονη και οκτα-1,5-διεν-3-ονη πιθανόν προκύπτει κατά το μεταβολισμό του λινολενικού και λινελαϊκού οξέος από τον *P. Camemberti* (Karahadian et al., 1985; Karahadian et al., 1985).

Οι οκτα-1-εν-3-ολη, οκτα-2-εν-1-ολη, οκτα-1,5-διεν-3-ολη και οκτα-1,5-διεν-1-ολη προκύπτουν ύστερα από το μεταβολισμό του λινολενικού και λινελαϊκού οξέος από τον *P. camemberti* (Karahadian et al., 1985; Karahadian et al., 1985; Chen et al., 1984; Dumont et al., 1974; Dumont et al., 1974; Dumont et al., 1974).

5. Σκοπός της μελέτης

Οι παρούσες συνθήκες που επικρατούν στην εγχώρια και παγκόσμια αγορά, η αυξημένη ζήτηση για την παραγωγή καινοτόμων προϊόντων με υψηλή προστιθέμενη αξία σε συνδυασμό με τα προαναφερθέντα στοιχεία ήταν καθοριστικοί παράγοντες για την παρασκευή ενός τυριού αμιγώς αίγειου. Η επιλογή των εναρκτήριων καλλιεργειών, των καλλιεργειών ωρίμανσης, του είδους της πυτιάς καθώς και της τεχνολογίας παρασκευής έγιναν με απώτερο σκοπό την αξιοποίηση της ιδιαίτερης φυσικοχημικής σύστασης του ελληνικού αίγειου γάλακτος και την ανάδειξη των ιδιόμορφων οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των προϊόντων του.

Το κύριο λόγο ως πρώτη ύλη είχε η χρήση αποκλειστικά αίγειου γάλακτος, το οποίο αναμφισβήτητα πλεονεκτεί ως προϊόν τυροκόμησης. Επιλέον, στην ελληνική αγορά μέχρι στιγμής διατίθενται τυριά τα οποία παρασκευάζονται κυρίως από αγελαδινό και πρόβειο γάλα, ενώ το αίγιο προστίθεται σε κάποιο μικρό ποσοστό. Τα τυριά που παρασκευάζονται από αίγιο γάλα είναι περιορισμένα με κυριότερα το Κατίκι Δομοκού, το Αρσενικού Νάξου, το κατσικίσιο τυρί Μετσόβου, τα τυριά της Φάρμας Μαλτέζου και κάποια λευκά τυριά άλμης.

Για το σκοπό αυτό πραγματοποιήθηκαν τυροκομήσεις με τη χρήση κατάλληλα επιλεγμένων πρώτων υλών, π.χ γάλα, πυτιά και εναρκτήριες καλλιέργειες, καθώς επίσης και με την εφαρμογή κατάλληλα επιλεγμένων συνθηκών, π.χ. θερμοκρασία και χρόνο πήξης και ωρίμανσης.

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

1. Καλλιέργειες

Η επιλογή των κατάλληλων οξυγαλακτικών στελεχών για την χρήση τους στην παρασκευή των αίγειων τυριών έγινε από ένα σύνολο μεσόφιλων λακτόκοκκων και γαλακτοβακίλλων της συλλογής ACA-DC, με βάση την οξυπαραγωγική τους ικανότητα στο αίγιο γάλα και τον βαθμό αλληλεπίδρασης τους, κατά την από κοινού ανάπτυξή τους στο γάλα ως ‘πολυστελεχική καλλιέργεια’.

Τα στελέχη που μελετήθηκαν στην παρούσα μελέτη ήταν:

- *Lactobacillus paracasei subsp. paracasei* ACA-DC 116, το οποίο απομονώθηκε από άλμη φέτας
- *Lactobacillus paracasei subsp. paracasei* ACA-DC 129, το οποίο απομονώθηκε από άλμη φέτας
- *Lactobacillus rennini* sp ACA-DC 565, το οποίο απομονώθηκε από Μάνα Κοπανιστή, 2 χρόνων
- *Lactococcus lactis subsp. lactis* ACA-DC 1, το οποίο απομονώθηκε από παραδοσιακό γιαούρτι
- *Lactococcus lactis subsp. lactis* ACA-DC 57, το οποίο απομονώθηκε από τυρόπηγμα γραβιέρας
- *Lactococcus lactis subsp. lactis* ACA-DC 156, το οποίο απομονώθηκε από Κασέρι
- *Penicillium camemberti* (DVS, Danisco PC 12 LYO 20D)
- *Geotrichum candidum*(DVS, Danisco Geo 13 LYO 10D)

Τα οξυγαλακτικά στελέχη της Συλλογής ACA-DC συντηρούνταν σε λυοφιλωμένη μορφή στους -80°C, ενώ οι εμπορικές τύπου DVS (Direct Vat Starters) στους -32 °C.

2. Οξυπαραγωγική ικανότητα μικροοργανισμών εκκίνησης

Οι μικροοργανισμοί *Lb. paracasei* ACA-DC 116, *Lb. paracasei* ACA-DC 129, *Lb. rennini*, *Lc. lactis* ACA-DC 1, *Lc. lactis* ACA-DC 156 και *Lc. lactis* ACA-DC 156 ανανεώθηκαν δύο διαδοχικές φορές σε άπαχο γάλα (10% w/v) . Οι μικροοργανισμοί εκτός του *Lb. rennini* ανανεώθηκαν σε άπαχο γάλα με εκχύλισμα ζύμης (RSPMYE) αλλά η τελική

ανανέωση έγινε για όλα τα στελέχη σε παστεριωμένο αίγιο γάλα (68°C/10min). Ο μικροοργανισμός *Lb. rennini* ανανεώθηκε σε MRS broth δύο φορές και μετά από φυγοκέντρηση συλλέχθηκε η βιομάζα που χρησιμοποιήθηκε στην τυροκόμηση.

Η παραγωγή οξύτητας εκφράστηκε ως η τιμή του pH μετά από 0, 3, 6, 9, 12, 24, 48, 72, και 96 ώρες επώασης.

3. Έλεγχος ευαισθησίας των επιλεγθέντων μικροοργανισμών-στελεχών έναντι του βακτηριοσινογόνου μικροοργανισμού *Lc. Lactis* ACA-DC 1 (Well diffusion assay)

Διερευνήθηκε η περίπτωση πιθανής χρήσης του βακτηριοσινογόνου μικροοργανισμού *Lc. lactis* ACA-DC 1 στην πολυστελεχική καλλιέργεια, ως προστατευτικού στελέχους. Για το λόγο αυτό έγινε έλεγχος της ευαισθησίας των μικροοργανισμών *Lc. lactis* ACA-DC 156, *Lc. lactis* ACA-DC 57, *Lb. paracasei* ACA-DC 116, *Lb. paracasei* ACA-DC 129 και *Lc. lactis* (CNRZ 117) ACA-DC 75 έναντι της παραγόμενης από τον μεσόφιλο κόκκο ACA-DC 1 βακτηριοσίνης, με τη μέθοδο διάχυσης σε τρυβλία (Well Diffusion Assay, WDA). Τα υπό έλεγχο στελέχη ανανεώθηκαν σε MRS broth οι γαλακτοβάκιλλοι & M17 broth οι λακτόκοκκοι.

Για τον έλεγχο παραγωγής βακτηριοσίνης από το στέλεχος *Lc. lactis* ACA-DC 1, το στέλεχος αναπτύχθηκε σε M17 broth, σε RSMPYE 10% και σε παστεριωμένο αίγιο γάλα και επώαστηκε στους 37°C/24h. Στη συνέχεια 2 ml από τα διάλυματα-μάρτυρες M17 broth, RSMPYE 10% και αίγιο γάλα και 2 ml από τα επωασμένα με το βακτηριοσινογόνο στέλεχος θρεπτικά υποστρώματα τοποθετήθηκαν σε Eppendorf. Ακολούθησε φυγοκέντρηση (12.000 rpm/min, για 5 min, στους 4°C) και παραλαβή του υπερκείμενου, στο οποίο έγινε ρύθμιση του pH στο 6,5 με διάλυμα NaOH 10N. Από τις υπό έλεγχο καλλιέργειες 0,1 ml εναιωρήματος προστέθηκε σε τρυβλίο και ενσωματώθηκε με MRS ή M17 agar (M17 για τους λακτόκοκκους και MRS broth για τους γαλακτοβάκιλλους) και στη συνέχεια αφού το περιεχόμενο στερεοποιήθηκε ανοίχτηκαν «βοθρία» διαμέτρου 6mm. Από τα υπερκείμενα του βακτηριοσινοπαραγωγού μικροοργανισμού τοποθετήθηκαν 50 μL σε κάθε βοθρίο και τα τρυβλία επώαστηκαν στους 30°C/48h. Η παρεμπόδιση των ευαίσθητων στελεχών προσδιορίστηκε ποιοτικά μέσω του σχηματισμού διαγούς ζώνης γύρω από κάθε βοθρίο. Η αντιμικροβιακή δράση της βακτηριοσίνης έναντι των ευαίσθητων στελεχών εκφράστηκε ποσοτικά με την μέτρηση της εμφανιζόμενης διαμέτρου της ζώνης ανασχεσης.

4. Χημική σύσταση του γάλακτος

Η χημική σύσταση του γάλακτος το οποίο χρησιμοποιήθηκε στις τυροκομήσεις προσδιορίστηκε με τη χρήση του Milkoscan 133 (A/S N. Foss Electronic, Denmark).

5. Μικροοργανισμοί τυροκόμησης- Εναρκτήριοι- Συμπληρωματικοί-Ωρίμανσης (Starters-Adjuncts-Ripening)

Η παρασκευή των αίγειων τυριών έγινε με τη χρήση δύο (2) διαφορετικών συνδυασμών πολυστελεχικών καλλιέργειών.

Για το τυρί Α έγινε χρήση πολυστελεχικής οξυγαλακτικής καλλιέργειας που περιείχε τα παρακάτω οξυγαλακτικά στελέχη. *Lc. lactis* ACA-DC 156, *Lc. lactis* 57, *Lb. paracasei* 116 και *Lb. paracasei* 129 σε ποσοστό 1% (v/v) και τις συμπληρωματικής καλλιέργειας ωρίμανσης) *Penicillium candidum*(DVS Danisco PC 12 LYO 20D και *Geotrichum candidum* (DVS, Danisco Geo 13 LYO 10D) σε ποσότητα 0,05 gr εκάστη.

Για το τυρί Β έγινε χρήση μόνο της πολυστελεχικής οξυγαλακτικής καλλιέργειας σε ποσοστό 1% (v/v) στο γάλα τυροκόμησης.

Τα στελέχη *Lc. lactis* 156, *Lc. lactis* 57, *Lb. paracasei* 116 και *Lb. paracasei* 129 συντηρήθηκαν στους -80°C, σε MRS και M17 άγαρ. Πρίν από τις τυροκομήσεις τα στελέχη ανανεώθηκαν μία φορά σε άπαχο γάλα (10%, w/v) για 30°C/24h. Η τελική ανάπτυξη έγινε σε παστεριωμένο αίγειο γάλα στους 30°C/24h.

6. Τυροκομήσεις

Πραγματοποιήθηκαν συνολικά τρεις (3) τυροκομήσεις σε διάστημα τριών (3) συνεχόμενων εβδομάδων.

Σε κάθε τυροκόμηση (επέμβαση) χρησιμοποιήθηκαν 20 kg γάλα, το οποίο μοιράστηκε ισόποσα σε δύο περιέκτες πήξης που χαρακτηρίστηκαν (Α): Δείγμα με καλλιέργειες ωρίμανσης και (Β): Δείγμα χωρίς καλλιέργειες ωρίμανσης. Αρχικά το γάλα παστεριώθηκε στους 68°C για 10 min και έπειτα ψύχθηκε στους 24±1°C. Στη συνέχεια, προστέθηκαν σε κάθε περιέκτη οι οξυγαλακτικές καλλιέργειες (1%) και μόνο στον περιέκτη Α οι

καλλιέργειες ωρίμασης: 0,05 γραμμάρια από τις καλλιέργειες GEO 13LYO 10D και PC 12 LYO 20D. Μετά από 10 λεπτά προστέθηκαν 2ml χλωριούχου ασβεστίου και 8 ml παραδοσιακής πυτιάς από στομάχια εριφίων. Οι περιέκτες μεταφέρθηκαν σε θάλαμο θερμοκρασίας 20°C και παρέμειναν για 20 ώρες. Την επόμενη μέρα (1^η ημέρα τυροκόμησης) οι περιέκτες (A) και (B) μεταφέρθηκαν σε ξεχωριστούς θαλάμους όπου έγινε αδρομερής διαίρεση του τυροπήγματος και μετά την απομάκρυνση του τυρογάλακτος, το πήγμα μεταφέρθηκε σε τυροκομικές τσαντίλες στράγγισης όπου παρέμεινε για 1 ώρα για περαιτέρω στράγγιση. Μετά το πέρας της στράγγισης τα τυροπήγματα ζυγίστηκαν και μεταφέρθηκαν σε αποστειρωμένους περιέκτες προκειμένου να αλατιστούν (1%). Ακολούθως, έγινε μεταφορά των τυροπηγμάτων σε ειδικά κυλινδρικά καλούπια τα οποία πληρώθηκαν με ίσες ποσότητες. Συνολικά από 20 kg γάλα παρασκευάστηκαν 10 τυριά: [5 από το (A) και 5 από το (B)]. Η θερμοκρασία του θαλάμου ρυθμίστηκε στους 15°C και τα καλούπια παρέμειναν πάνω σε ειδικά υποστρώματα από καλάμι-bamboo, μέχρι την επόμενη μέρα που έγινε εξαγωγή των τυριών και τοποθέτησή τους στα υποστρώματα σε οριζόντια θέση προκειμένου να στραγγίξουν και να διεκολυνθεί η επιφανειακή ανάπτυξη των μυκήτων. Η σχετική υγρασία του θαλάμου που μετρήθηκε με υγρασιόμετρο Hanna HI 98240 κυμαινόταν από 88 μέχρι 90%. Την 2^η ημέρα και μέχρι την 7^η ημέρα της ωρίμασης, για καλύτερη διαμόρφωση του σχήματος των τυριών και διευκόλυνση της ανάπτυξης των επιφανειακών μυκήτων, γινόταν προσεκτική περιστροφή των τυριών. Την 7^η ημέρα της ωρίμασης τα τυριά τυλίχτηκαν σε αντικολλητικό περγαμινό χαρτί και συντηρήθηκαν σε θερμοκρασία 4 °C μέχρι την 30^η ημέρα.

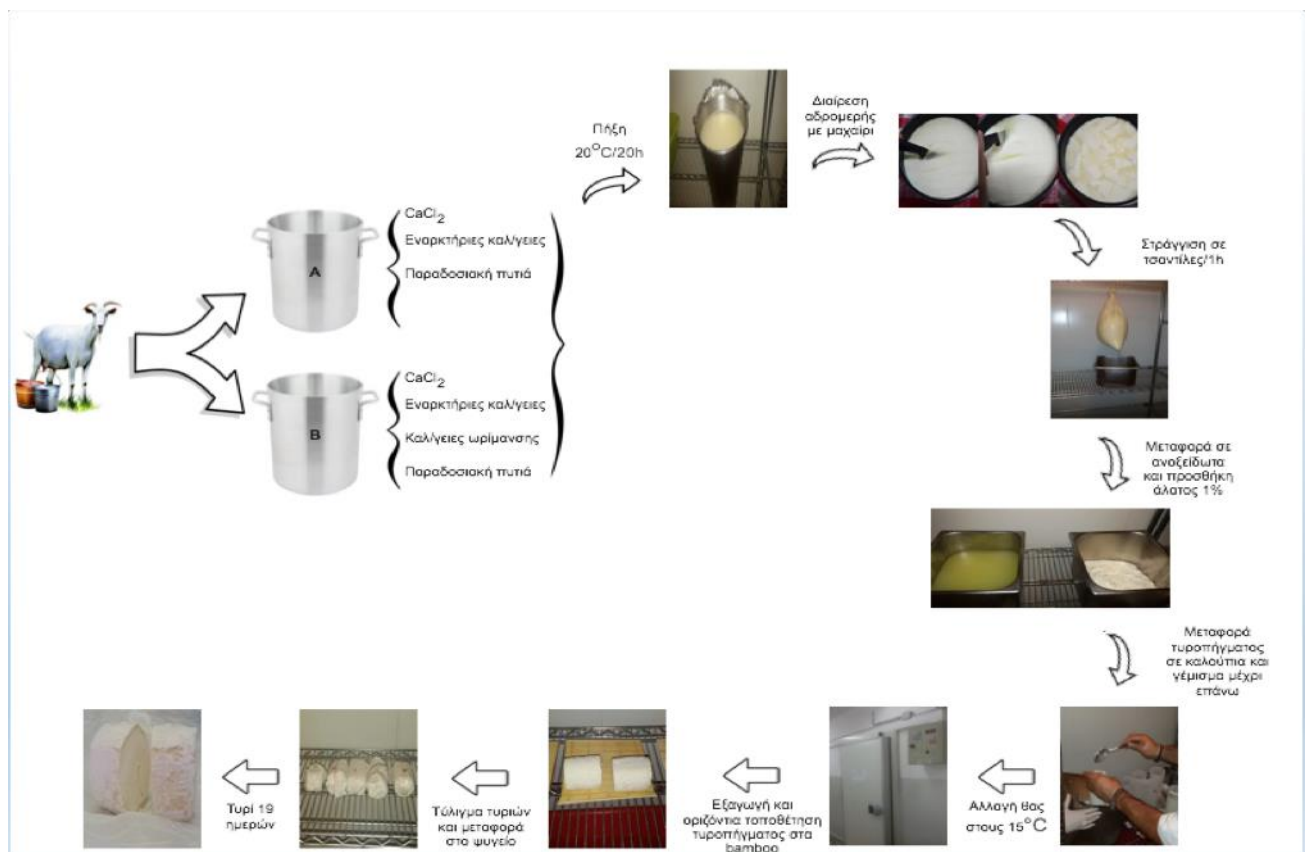
Πρίν από κάθε τυροκόμηση πραγματοποιήθηκε δειγματοληψία από το νωπό και παστεριωμένο γάλα. Οι αναλύσεις που έγιναν στα δείγματα του γάλακτος ήταν φυσικοχημικές και μικροβιολογικές για την εκτίμηση της ποιότητάς του. Επίσης κατά τη διάρκεια παρασκευής και ωρίμανσης των τυριών ελήφθησαν δείγματα κατά την ημέρα τυροκόμησης 0 και

την 1^η, 7^η, 19^η, και 30^η ημέρα ωρίμανσης προκειμένου να διενεργηθούν μικροβιολογικές και φυσικοχημικές αναλύσεις.

Η τεχνολογία παρασκευής και το διάγραμμα ροής της τυροκόμησης παρουσιάζεται στο **Σχήμα 8** και στον **Πίνακα 20**

Πίνακας 20: Πορεία τυροκόμησης

A	B
Παστερίωση (68°C/10 min)	
Ψύξη (24±1°C)	
Προσθήκη πολυστελεχικής καλλιέργειας: <i>Lc. lactis</i> ACA-DC 156, <i>Lc. lactis</i> 57, <i>Lb. paracasei</i> 116, <i>Lb. paracasei</i> 129 (1%)	
Προσθήκη καλλιέργειας GEO 13LYO 10D και PC 12 LYO 20D (0,05 gr έκαστη)	
Προσθήκη CaCl ₂ (2ml)	
Προσθήκη πυτιάς (8ml)	
Μεταφορά σε θάλαμο και παραμονή στους 20°C/20h	
Αδρομερής διαίρεση	
Μεταφορά σε τσαντίλα και στράγγιση στους 20°C/1h	
Ζύγισμα τυροπήγματος, μεταφορά σε αποστειρωμένους περιέκτες και προσθήκη άλατος (1%)	
Μεταφορά σε κυλινδρικά καλούπια και παραμονή στους 15°C/24h	
Εξαγωγή τυριού από τα καλούπια και τοποθέτηση σε οριζόντια θέση σε bamboο υποστρώματα	
Καθημερινή περιστροφή τυριών	
Συσκευασία τυριού την 7 ^η ημέρα ωρίμασης	
Διατήρηση τυριού στους 4°C μέχρι την 30 ^η ημέρα ωρίμασης	



Σχήμα 8: Σχηματική αναπαράσταση της τεχνολογίας Παρασκευής και ωρίμανσης του αίγειου τυριού

7. Μικροβιολογικές αναλύσεις

Οι μικροβιολογικές αναλύσεις για το νωπό και το παστεριωμένο γάλα, έγιναν με την μέθοδο των δεκαδικών αραιώσεων σε διάλυμα Ringer και ενσωμάτωση σε τρυβλία με θρεπτικό υπόστρωμα Plate Count Agar (PCA) σύμφωνα με το πρότυπο (IDF Standard No 131, 2004). Στην περίπτωση του δείγματος από το τυρόπηγμα και τα τυριά των 7, 19 και 30 ημερών, 10g δείγματος αναμείχθηκαν με 90ml διαλύματος Ringer, τα οποία ομογενοποιήθηκαν στη συσκευή Stomacher 400 (Seward-Laboratory Blender, BA 7021, London SE1 1PP, UK). Στη συνέχεια έγιναν διαδοχικές δεκαδικές αραιώσεις σε διάλυμα Ringer (IDF Standard No 122C, 1996). Οι πληθυσμοί των μικροοργανισμών που καταμετρήθηκαν εκφράστηκαν σε cfu/ml για το γάλα και σε cfu/gr για τα τυριά.. Για την κατηγορία των Ζυμών & Μυκήτων, των σταφυλοκόκκων, της λιστέριας και σαλμονέλας, η καταμέτρηση έγινε με την μέθοδο της επιφανειακής επίστρωσης ποσότητας 100 μl αραιωμένου δείγματος σε τρυβλία με ανάλογα επιλεκτικό θρεπτικό υπόστρωμα με άγαρ.

Στον **Πίνακα 21** αναφέρονται οι μικροβιακές ομάδες που μετρήθηκαν, όσο και τα υποστρώματα και οι συνθήκες επώασης.

Πίνακας 21: Κατηγορία μικροοργανισμών, είδος υποστρώματος και συνθήκες ανάπτυξης αυτών

Κατηγορία μικροοργανισμού	Είδος υποστρώματος	Συνθήκες ανάπτυξης
Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα	PCA agar	30°C/72h
Μεσόφιλοι κόκκοι	M17 agar	30°C/24h
Μεσόφιλοι βάκιλλοι	MRS agar	30°C/72h
Μικρόκοκκοι	Mannitol Salt Agar (MSA)	30°C/48h
Σταφυλόκοκκοι	Baird-Packer agar	37°C/2d
Κολοβακτηρίδια	Violet Red Bile Agar (VRBLA)	37°C/24h
Εντερόκοκκοι	KAA agar	37°C/24h
Ζύμες-Μύκητες	YGC	25°C/72h
<i>Listeria monocytogenes</i>	HALO	37°C/48h
<i>Salmonella spp.</i>	X.L.D	37°C/48h

8. Φυσικοχημικές αναλύσεις

8.1. Χημική σύσταση του γάλακτος

Η χημική σύσταση του γάλακτος το οποίο χρησιμοποιήθηκε στις τυροκομήσεις προσδιορίστηκε με την χρήση του Milkoscan 133 (A/S N. Foss Electronic, Denmark).

8.2. Προσδιορισμός του pH

Πραγματοποιήθηκε με τη βύθιση ηλεκτροδίου (Metrohm Herisau, 632 pH-Meter, Switzerland) σε όλα τα δείγματα.

8.3. Προσδιορισμός της υγρασίας του τυριού

Ο προσδιορισμός της ξηράς ουσίας, 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. Αρχικά 20 g αλατιού προστέθηκαν σε πορσελάνινη κάψα, μαζί με γυάλινη ράβδο ανάδευσης και στη συνέχεια προσεκτικά με την χρήση λαβίδας, τοποθετήθηκε η πορσελάνινη κάψα σε κλίβανο στους 105°C/24h. Την επόμενη μέρα με τη χρήση λαβίδας η κάψα μεταφέρθηκε σε ξηραντήριο έτσι ώστε να αποκτήσει θερμοκρασία περιβάλλοντος, χωρίς να επιτραπεί η πρόσληψη υγρασίας. Ύστερα από ένα χρονικό διάστημα περίπου 1 ώρα λήφθηκε με ακρίβεια το απόβαρο της κάψας και η μέτρηση καταγράφηκε. Στην συνέχεια, προστέθηκαν 3 g περίπου από το ομογενοποιημένο δείγμα τυριού με τη βοήθεια κουταλιού μέσα στην κάψα και λήφθηκε το μεικτό βάρος της και η μέτρηση καταγράφηκε. Ακολούθησε καλή ανάμιξη του δείγματος τυριού με το αλάτι με τη βοήθεια της γυάλινης ράβδου έτσι ώστε να πραγματοποιηθεί ομοιόμορφη κατανομή του περιεχομένου στο διαθέσιμο χώρο της κάψας. Η κάψα και το περιεχόμενό της τοποθετήθηκαν στον κλίβανο 105±1 °C για την αποξήρανση και μετά από 24 h περίπου οι κάψες εξήχθησαν από τον κλίβανο, ζυγίστηκαν και η μέτρηση καταγράφηκε. Η υγρασία των τυριών υπολογίστηκε από τον τύπο:

$$\% \text{ ξηρά ουσία} = \frac{\text{μικτό βάρος μετά την ξήρανση} - \text{απόβαρο κάψας}}{\text{μικτό βάρος πριν την ξήρανση} - \text{απόβαρο κάψας}}$$

$$\% \text{ υγρασία} = 100 - \text{ξηρά ουσία}$$

8.4. Προσδιορισμός του NaCl του τυριού

Ο προσδιορισμός του NaCl έγινε σύμφωνα με την μέθοδο της IDF, FIL-IDF 17A:1972. Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή, 2g τυριού ζυγίζονται σε ζυγό ακριβείας και στη συνέχεια προστίθενται σε κωνική φιάλη μαζί με 25ml Νιτρικού αργύρου 0,1N και 25ml πυκνού Νιτρικού οξέος. Ακολουθεί η θέρμανση του δείγματος, υπό συνεχή ανάδευση, και μόλις αρχίσει ο βρασμός του τοποθετούνται σε αυτό 10ml κορεσμένου διαλύματος υπερμαγγανικού καλίου με αποτέλεσμα το δείγμα να χρωματιστεί καστανοκόκκινο. Ενώ ο βρασμός συνεχίζει επέρχεται ο αποχρωματισμός του και τοποθετούνται τόσα ml υπερμαγγανικού καλίου, ώστε το δείγμα να μην αποχρωματίζεται ούτε ιδιαίτερα αργά αλλά ούτε και γρήγορα. Μετά τον τελικό αποχρωματισμό του δείγματος η θέρμανση του διακόπτεται και αφού έρθει σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, ακολουθεί η προσθήκη 100ml ψυχρού απεσταγμένου νερού και 5ml διαλύματος στυπτηρίας. Τέλος πραγματοποιείται η τιτλοδότηση του δείγματος με 0,1 N Θειοκυανιούχο Αμμώνιο με τη χρήση προχοίδας μέχρι να αποκτήσει καστανόχρουν (κεραμιδί) χρώμα. Για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας του τυριού σε χλωριούχο νάτριο χρησιμοποιείται ο παρακάτω τύπος:

$$NaCl \% = \frac{0,585 * (V_1 - V_2)}{P}$$

Όπου V1= Τα ml του 0,1N νιτρικού αργύρου που χρησιμοποιήθηκαν

V2= Τα ml του 0,1N θειοκυανιούχου αμμωνίου που καταναλώθηκαν για την τιτλοδότηση του νιτρικού αργύρου

P= Βάρος (σε γραμμάρια) του τυριού που χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση

8.5. Προσδιορισμός του λίπους του τυριού

Ο προσδιορισμός της λιποπεριεκτικότητας έγινε σύμφωνα με το πρωτόκολλο της IDF/ISO3433:2008 (Μέθοδος Gerber and Van Gulik). Σύμφωνα με αυτή τη μέθοδο, τοποθετούνται 3 gr τυριού στον υποδοχέα του βουτυρόμετρου τυριού Van Gulik και στη συνέχεια εφαρμόζεται ο υποδοχέας στο σώμα του βουτυρομέτρου. Ακολουθεί η προσθήκη πυκνού θειικού οξέος (ειδικού βάρους 1,53%), μέχρι να καλυφθεί όλη η μάζα του τυριού. Στη συνέχεια το βουτυρόμετρο τοποθετείται σε υδατόλουτρο, στους 65°C για 20-30 λεπτά περίπου μέχρι να διαλυθεί η μάζα του τυριού. Έπειτα, προστίθεται 1 σταγόνα αμυλικής

αλκοόλης και το βουτυρόμετρο συμπληρώνεται με θειικό οξύ μέχρι τα 3/4 του λαιμού του. Τέλος, το βουτυρόμετρο τοποθετείται σε φυγόκεντρο με θερμοκρασία 65°C και φυγοκεντρείται για 5 λεπτά στις 1200 στροφές/min. Αφού το βουτυρόμετρο βγει από τη φυγόκεντρο, τοποθετείται σε υδατόλουτρο των 65°C για 5 λεπτά και πραγματοποιείται η 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 με αναγωγή στο ακριβές βάρος που έχει ζυγιστεί, με τη βοήθεια του παρακάτω τύπου:

$$\text{Λίπος \%} = \frac{(\alpha - \beta) * 3}{P}$$

Όπου α= ανώτερη τιμή βουτυρόμετρου

β= κάτω ένδειξη βουτυρόμετρου

P= γραμμάρια (gr) τυριού

8.6. Προσδιορισμός ολικής πρωτεΐνης του τυριού

Ο προσδιορισμός του ολικού N έγινε σύμφωνα με τη μέθοδο Kjeldahd όπως περιγράφεται από τους Ardo *et al.* (1999). Η αρχή της μεθόδου στηρίζεται στην καύση των οργανικών ουσιών του τυριού υπό την επίδραση της θέρμανσης και του θειικού οξέος και στη μετατροπή του αζώτου του δείγματος σε αμμωνιακό. Η αμμωνία που ελευθερώνεται έπειτα από την προσθήκη καυστικού νατρίου, αποστάζεται, παραλαμβάνεται σε βορικό οξύ και τιτλοδοτείται με υδροχλωρικό οξύ.

Συγκριμένα για τον προσδιορισμό των ολικών αζωτούχων ουσιών, σε μια φιάλη Kjeldahd τοποθετούνται: (α) 2 ταμπλέτες καταλυτών Kjeldahl, (β) περίπου 1 gr από το τυρί προς εξέταση, (γ) 15 ml πυκνού θειικού οξέος με αυτόματη πιπέτα, (δ) 2-3 σταγόνες αντιαφριστικού παράγοντα (silicon antifoam agent) και ε) 5ml υπεροξειδίου του υδρογόνου (H₂O₂ 30%). Οι φιάλες κατόπιν αναδεύονται προσεκτικά και παραμένουν για 10 min σε ηρεμία. Στη συνέχεια τοποθετούνται στις ειδικές εστίες καύσης Kjeldahl για την καύση του δείγματος.

Μαζί με τα δείγματα, παρασκευάστηκε και ένα λευκό στο οποίο αντί για δείγμα τυριού ζυγίστηκαν 0,4 gr σουκρόζης και ακολούθησε προσθήκη 2 ml H₂O. Μετά το πέρας της καύσης ακολούθησε η απόσταξη των δειγμάτων σε ειδική συσκευή. Η συσκευή αποτελείται από μια υποδοχή της φιάλης Kjeldhal και μια υποδοχή για την κωνική φιάλη στην οποία λαμβάνεται το απόσταγμα. Στην κενή φιάλη, πριν την απόσταξη, προστέθηκαν και 0,2 ml δείκτη (0,01gr Ερυθρό του Μεθυλίου + 0,15 g Πράσινο της Βρωμοκρεζόλης σε 100 ml Αιθανόλης). Κατά τη διάρκεια της απόσταξης έγινε αυτόματη προσθήκη 70 ml NaOH (40%) και στη συνέχεια παραλήφθηκε το απόσταγμα μετά την επεξεργασία του με Βορικό οξύ. Η τιτλοδότηση των αποσταγμάτων έγινε με διάλυμα HCl 0,2N για όλα τα δείγματα πλην του λευκού στο οποίο χρησιμοποιήθηκε διάλυμα HCl 0,05N. Το πέρας της τιτλοδότησης σηματοδοτεί η χρώση του αποστάγματος σε καστανόχρουν χρώμα. Για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας του δείγματος σε πρωτεΐνη χρησιμοποιήθηκε ο παρακάτω τύπος:

$$\text{Ολικό Άζωτο \%} = \frac{[1,4 \times N \times (V_1 - V_0)]}{P}$$

Όπου

N = Κανονικότητα HCl 0,2 N

V₁ = ml HCl 0,2 N που καταναλώθηκαν κατά την τιτλοδότηση του δείγματος

V₀ = ml HCl 0,05 N που καταναλώθηκαν κατά την τιτλοδότηση του λευκού

P = gr τυριού

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

8.7. Προσδιορισμός υδατοδιαλυτής πρωτεΐνης του τυριού

Ο προσδιορισμός του υδατοδιαλυτού αζώτου έγινε σύμφωνα με τη μέθοδο που περιγράφεται παρακάτω. Σε σακούλες stomacher ζυγίστηκαν 10 gr δείγματος. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε ανάμειξη του δείγματος με 192,5 ml Κιτρικού Νατρίου (0,1 mol/l trisodium citrate), θερμοκρασίας 40°C. Οι σακούλες στη συνέχεια τοποθετήθηκαν στη συσκευή stomacher για 5 min και κατόπιν στο υδατόλουτρο για 30 λεπτά. Μετά το πέρας των

30 λεπτών έγινε μεταφορά των δειγμάτων από τις σακούλες σε duran και πραγματοποιήθηκε διόρθωση της τιμής pH στο 4,4 με 22 ml διαλύματος HCl 1N. Τα duran παρέμειναν για 30 min στο υδατόλουτρο σε θερμοκρασία 40°C και κατόπιν έγινε μεταφορά του περιεχομένου τους σε ειδικά πλαστικά μπουκάλια, τα οποία στη συνέχεια φυγοκεντρήθηκαν (χρόνος, θερμοκρασία, στροφές). Η φυγοκέντρηση συνέβαλλε στην περαιτέρω καθίζηση των στερεών και ουσιαστικά διευκόλυνε την παραλαβή του υδατοδιαλυτού αζώτου. Στη συνέχεια έγινε απομάκρυνση του στερεού υπολειμάτος και το υπόλοιπο περιεχόμενο διηθήθηκε με τη χρήση χωνιού και διηθητικού ηθμού τύπου Whatman NO 40. Το διήθημα που συλλέχθηκε χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό του υδατοδιαλυτού N με τη μέθοδο Kjeldahl. Η διαδικασία προσδιορισμού είναι ακριβώς η ίδια με του ολικού αζώτου με τη διαφορά ότι η Παρασκευή του τυφλού γίνεται απλά με την προσθήκη 20 ml απεσταγμένου νερού στο σωλήνα Kjeldahl.

Ο προσδιορισμός του υδατοδιαλυτού αζώτου έγινε με τον παρακάτω τύπο:

$$\text{Υδατοδιαλυτό άζωτο \%} = \frac{[1,40 \cdot N \cdot (V1 - V0) \cdot 0,994]}{P}$$

Όπου

N= κανονικότητα HCl

V1= ml HCl 0,2N που καταναλώθηκαν κατά την τιτλοδότηση του δείγματος

V2= ml HCl 0,05N που καταναλώθηκαν κατά την τιτλοδότηση του λευκού δείγματος

P= gr δείγματος τυριού

8.8. Στατιστική ανάλυση

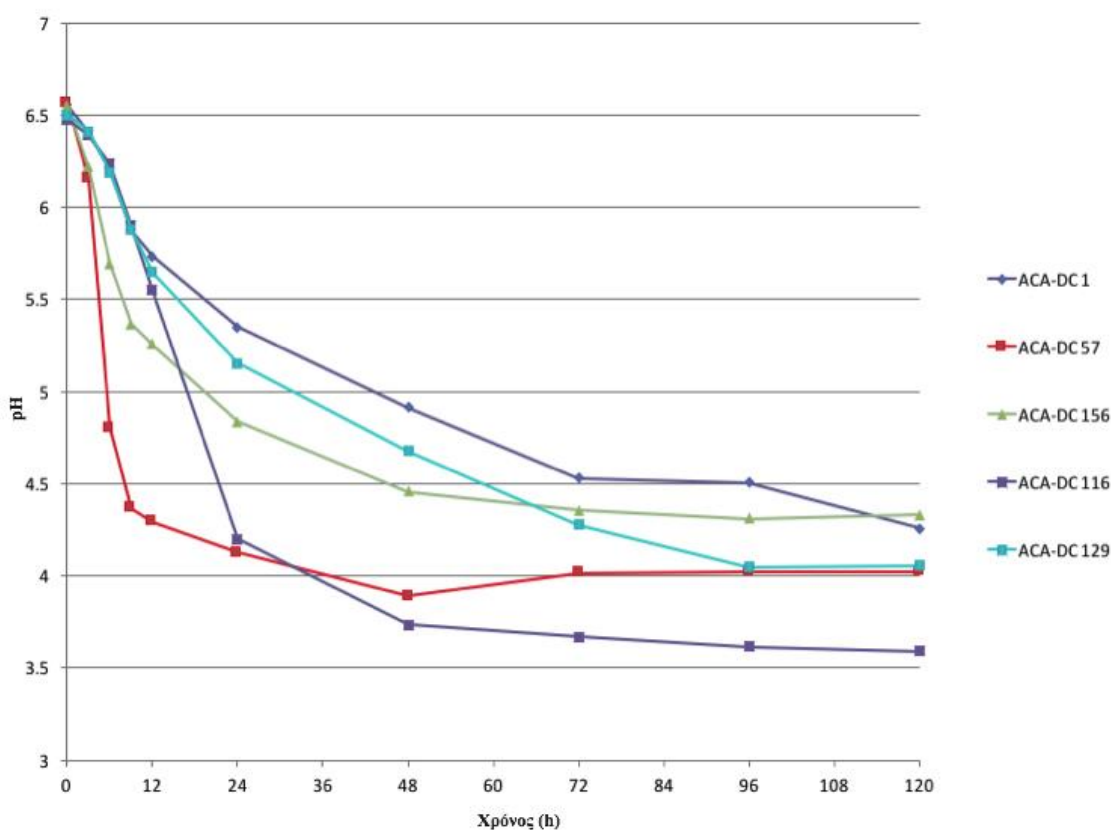
Για τη στατιστική ανάλυση χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό Statgraphics (Centurion Centurion XV.I. Manugintics, Inc., Rockville, Maryland 20852, USA). Οι μέσες τιμές των αποτελεσμάτων αξιολογήθηκαν τη μέθοδο ανάλυσης της παραλλακτικότητας (Analysis of Variance, ANOVA). Η δοκιμή που εφαρμόστηκε για να διακρίνει διαφορές, μεταξύ των μέσων, των μικροβιολογικών και φυσικοχημικών μετρήσεων, είναι η Fisher's (LSD)-Least Significance Difference. Με αυτή τη μέθοδο υπάρχει 5% κίνδυνος να αναδειχθεί ασφαλμένα στατιστικά σημαντική διαφορά, όταν πραγματικά δεν υπάρχει. Η επίδραση του υπό εξέταση παράγοντα ή της αλληλεπίδρασης των παραγόντων θεωρήθηκε στατιστικά σημαντική όταν $P < 0,05$. Όλες οι παράμετροι ελέγχθηκαν για την ισχύ της κανονικότητας και της ομοιογένειας της διασποράς. Τα δεδομένα των ομάδων Κολοβακτηρίδια, Μικρόκοκκοι, Σταφυλόκοκκοι καθώς και οι μετρήσεις που αφορούν το (%) Λίπος, Αλάτι Συνολική πρωτεΐνη και Συνολικό

άζωτο δεν ακολουθούν κανονική κατανομή άποτε δεν μπορεί να εφαρμοσθεί η παραπάνω στατιστική επεξεργασία.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

1. Οξυπαραγωγική ικανότητα των οξυγαλακτικών βακτηρίων

Η ταχεία πτώση του pH αποτελεί σημαντικό κριτήριο επιλογής μεταξύ των στελεχών, δεδομένου ότι ο ρυθμός πτώσης του pH αποτελεί ένδειξη οξύνισης του γάλακτος που συντελεί στην πήξη του, ενώ ταυτόχρονα παραμποδίζει και την ανάπτυξη παθογόνων και αλλοιογόνων μικροοργανισμών. Τα αναλυτικά αποτελέσματα της παραγωγής οξύτητας στο γάλα, μετά από 0, 12, 24, 36, 48, 72, 84, 96, 108 και 120 h παρουσιάζονται στο Παράρτημα I (Πίνακας 1), ενώ στο **Διάγραμμα 9** παρουσιάζεται η μεταβολή του pH σε αίγιο γάλα, κατά την ανάπτυξη σε αυτό διαφόρων οξυγαλακτικών βακτηρίων.



Διάγραμμα 9: Μεταβολή οξυπαραγωγικής ικανότητας οξυγαλακτικών βακτηρίων κατά την ανάπτυξή τους στο αίγιο γάλα

Το αρχικό pH του γάλακτος ήταν στο 6,5. Μετά από 12 h επώασης οι τιμές του pH κυμαίνονταν για όλα τα στελέχη από 5,5 έως 5,8 εκτός του *Lc. Lactis* ACA-DC 57 που μείωσε το pH του γάλακτος περίπου στο 4,3. Ο *Lc. lactis* ACA-DC 57 εμφανίζει την ταχύτερη πτώση pH ενώ ακολουθούν ο *Lb. paracasei* 116, ο *Lc. lactis* 156 και τέλος ο *Lb. paracasei* 129 και ο *Lc. lactis* ACA-DC 1.

2. Έλεγχος αντιμικροβιακής δράσης

Με στόχο την αποφυγή πιθανής αλληλεπίδρασης των οξυγαλακτικών στελεχών κατά την χρήση τους, μελετήθηκε η ευαισθησία τους έναντι της αντιμικροβιακής δράσης του βακτηριοσινογόνου στελέχους *Lc. lactis* ACA-DC 1.

Πίνακας 22: Ανίχνευση αντιμικροβιακής δράσης του *Lactococcus lactis* ACA-DC 1 έναντι οξυγαλακτικών στελεχών

	Θρεπτικό Υπόστρωμα Αγαρ)	Ζώνη αντιμικροβιακής δράσης		
		Διάμετρος (mm)		
		Υπόστρωμα ανάπτυξης μικροοργανισμού (ACA-DC 1)	ανάπτυξης	βακτηριοσινογόνου
Ευαίσθητο στέλεχος		10%	1-17	Αίγαιο Γάλα
<i>Lc. lactis</i> ACA-DC 57	M-17		1,7	0
<i>Lc. lactis</i> ACA-DC 156	M-17		5,8	12,2/11,8
<i>Lc. lactis</i> (ACA-DC 75	M-17		,5	9,8/8,7
<i>L. paracasei</i> ACA-DC 116	MRS			0
<i>L. paracasei</i> ACA-DC 129	MRS			0

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, που αναφέρονται στον **Πίνακα 22**, για τους γαλακτοκόκκους μόνο το στέλεχος *Lc. lactis* ACA-DC 57 έδειξε ανθεκτικότητα έναντι της βακτηριοσίνης που παράγεται από τον *Lc. lactis* ACA-DC 1, ενώ στην περίπτωση των στελεχών *Lc. lactis* ACA-DC 156 και *Lc. lactis* (CNRZ 117) ACA-DC 75 παρατηρήθηκε παρεμπόδιση της ανάπτυξής τους. Τέλος, και τα δύο στελέχη των γαλακτοβακίλλων, *Lb. paracasei* ACA-DC 116 και *Lb. paracasei* ACA-DC 129 ήταν ανθεκτικά έναντι της παραγόμενης βακτηριοσίνης.

Τελικά ο μικροοργανισμός ACA-DC 1 δεν χρησιμοποιήθηκε στην τυροκόμηση.

3. Μικροβιολογικές αναλύσεις

Η μεταβολή των μικροβιακών πληθυσμών των διαφόρων ομάδων κατά τη διάρκεια παρασκευής και ωρίμανσης των τυριών είναι ένα από τα βασικότερα χαρακτηριστικά των τυριών γιατί συνδιαμορφώνει μαζί με τις φυσικοχημικές ιδιότητες και θέματα που άπτονται των συνθηκών υγιεινής.

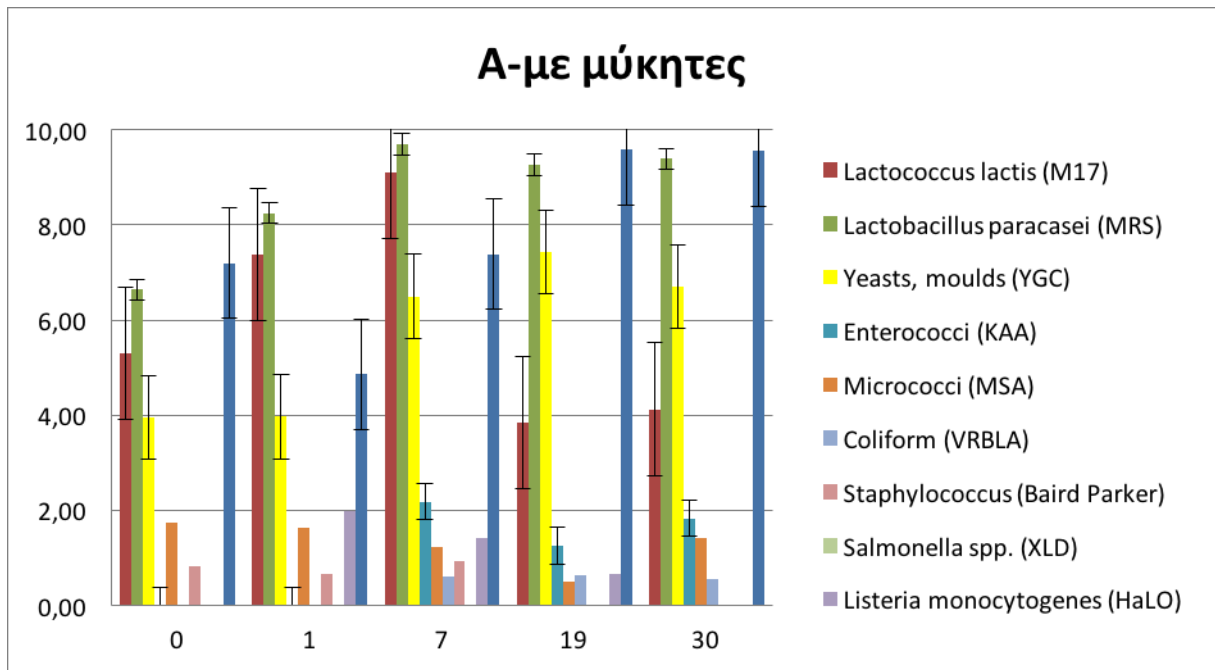
Στην παρούσα μελέτη, η εξέλιξη των μικροβιακών πληθυσμών των ομάδων που καταμετρήθηκαν τόσο στο τυρόπηγμα την χρονική στιγμή 0 (ημέρα τυροκόμησης) και την 1^η ημέρα μετά την τυροκόμηση, καθώς και στα τυριά την 7^η, 19^η και 30^η ημέρα παρουσιάζεται στα Γραφήματα.

Η **Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα (OMX)** την ημέρα της τυροκόμησης (0 ημέρα) εμφανίζεται στους 7 log cfu/ml ενώ την επομένη, μετά τη στράγγιση μειώνεται κατά δύο λογαριθμικούς κύκλους. Στις 19 ημέρες αποκτά τη μέγιστη τιμή (> 9 log cfu/g) και παραμένει στα ίδια επίπεδα μέχρι και την 30^η ημέρα. Σε παρόμοια πειραματική εργασία που αφορούσε μαλακό τυρί ωρίμανσης με μειωμένα λιπαρά (Eritropaki et al., 2014) η αντίστοιχη ομάδα προσδιορίστηκε στις 30 ημέρες, στους 8 log cfu/ml.

Πίνακας 23 : Επίδραση προσθήκης καλλιεργείων και χρόνου ωρίμανσης στη διαμόρφωση των μέσων τιμών των μελετηθέντων μικροβιακών ομάδων

A: Με χρήση καλλιεργείων ωρίμανσης								
	OMX	MK	MB	E	Z&M	Coliforms	Micro/ci	Staphy/cus
0	7,20 ^{ab}	5,3 ^{bcd}	6,64 ^a	0 ^a	3,95 ^{bc}	0	1,16	0,67
1	4,87 ^a	7,38 ^{cde}	8,25 ^{bc}	0 ^a	3,97 ^{bc}	0	2,05	0,83
7	7,40 ^{ab}	9,11 ^e	9,70 ^f	2,19 ^c	6,5 ^{de}	0,63	1,49	0,95
19	9,60 ^b	3,85 ^b	9,27 ^{def}	1,27 ^{bc}	7,43 ^e	0,65	0,66	0,00
30	9,60 ^b	4,13 ^{bc}	9,39 ^{ef}	1,84 ^c	6,70 ^{de}	0,58	1,95	0,00
P-Values/Std errors	0,0478/1,161	0,0004/1,3929	0,00/0,2196	0,0018/0,3927	0,0003/0,8818			

Method: 95,0 percent LSD, OMX=Ολική Μεσόφιλη Μικροχλωρίδα MK=Μεσόφιλοι κόκκοι, MB=Μεσόφιλοι βάκιλλοι, E= Εντερόκοκκοι, Z&M= Ζύμες και Μύκητες



Διάγραμμα 10: Επίδραση προσθήκης καλλιιεργειών και χρόνου ωρίμανσης στη διαμόρφωση των μέσων τιμών των μελετηθέντων μικροβιακών ομάδων

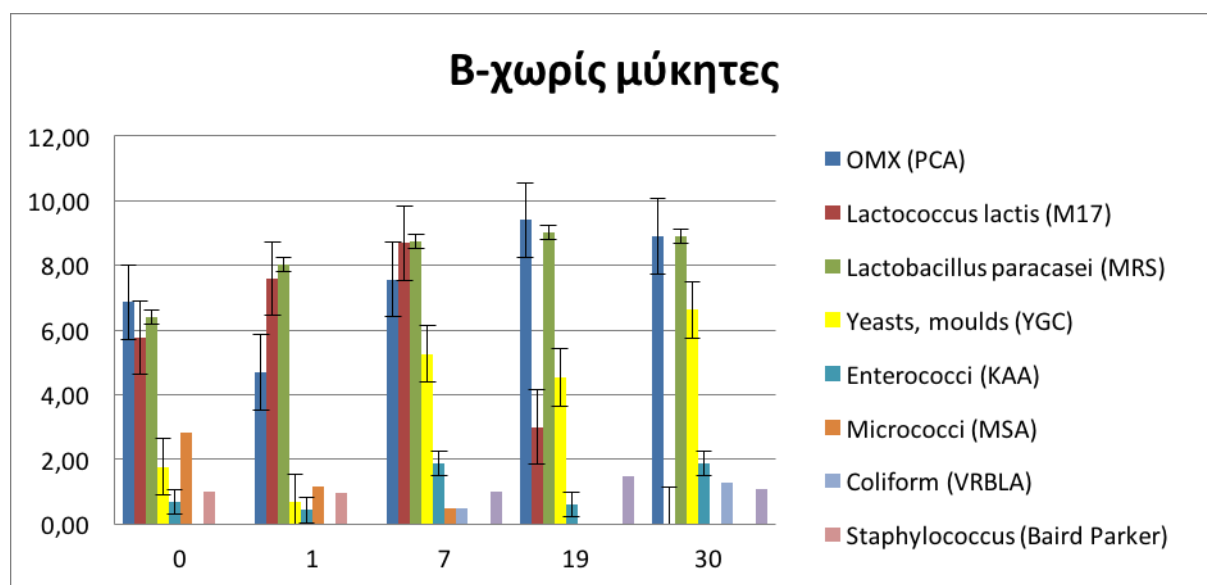
Αξιολογώντας τα στοιχεία των **Διαγραμμάτων 10** και **11** και των **Πινάκων 23** και **24** παρατηρούμε ότι στα δείγματα (Α) στα οποία είχαν προστεθεί οι καλλιέργειες ωρίμανσης, ο πληθυσμός των **μεσόφιλων κόκκων** μετρήθηκε κατά μέσο όρο στα 5,5 log cfu/ml. Την επομένη ημέρα της τυροκόμησης ο πληθυσμός τους αυξήθηκε κατά 2 log cfu/g σε όλα τα δείγματα. Η αύξηση του πληθυσμού των μεσόφιλων κόκκων συνεχίστηκε μέχρι την 7^η ημέρα και στη συνέχεια παρατηρήθηκε, σε όλα τα δείγματα, στατιστικά σημαντική μείωση κατά 5 log cfu/ml. Στην πορεία της ωρίμανσης υπήρξε διαφοροποίηση στην εξέλιξή τους αφού στα δείγματα (Α) με καλλιέργειες ωρίμανσης ο πληθυσμός παραμένει ίδιος την 30^η ημέρα σε αντίθεση με το πληθυσμό των μεσόφιλων κόκκων στα δείγματα (Β) που δεν ανιχνεύτηκε. Η μείωσή τους πιθανόν να οφείλεται σε δυσμενείς συνθήκες ωρίμανσης που διαμορφώνονται από το pH, την υγρασία και την περιεκτικότητα σε αλάτι για τα δείγματα Α (4,22-47,69%-1,32%) και Β (4,02-49,89%-1,60%) αντίστοιχα. Οι Eddis et al. (2001) σε πειραματική μελέτη που πραγματοποίησαν με σκοπό τη διερεύνηση της ανάπτυξης, των ιδιοτήτων και της αλληλεπίδρασης των ζυμών και των βακτηρίων που σχετίζονται με την ωρίμανση των τυριών Camembert και Blue Cheese, ανίχνευσαν υψηλά επίπεδα πληθυσμού για τα οξυγαλακτικά βακτήρια κατά τις πρώτες 4 ημέρες (10^9 cfu/g) της ωρίμανσης, τα οποία στη συνέχεια σημείωσαν σταδιακή μείωση (10^7 cfu/g). Οι Hatzikamari et al. (1999) σε πειραματική μελέτη

που πραγματοποιήσαν σχετικά με τα μικροβιολογικά χαρακτηριστικά ενός παραδοσιακού Ελληνικού τυριού από νωπό αίγαιο γάλα, το Ανεβατό, παρατήρησαν ότι οι μεσόφιλοι κόκκοι, εκπροσωπούμενοι από τον *Lc. lactis*, ήταν οι μικροοργανισμοί που βρέθηκαν σε αφθονία μέχρι τις 15 ημέρες σε αντίθεση με τους γαλακτοβάκιλλους που επικράτησαν μετά τις 30 ημέρες. Ανάλογα αποτελέσματα έχουν επισημανθεί και σε αντίστοιχες πειραματικές μελέτες σχετικές με την παρασκευή τυριού από νωπό αίγαιο γάλα (Psoni et al., 2013; Martin-Platero et al., 2009).

Πίνακας 24: Επίδραση προσθήκης καλλιιεργειών και χρόνου ωρίμανσης στη διαμόρφωση των μέσων τιμών των μελετηθέντων μικροβιακών ομάδων

B: Χωρίς χρήση καλλιιεργειών ωρίμανσης								
	OMX	MK	MB	E	Z&M	Coliforms	Micro/ci	Staphy/cus
0	6,86 ^{ab}	5,77 ^{bcd}	6,40 ^a	0,67 ^{ab}	1,76 ^a	0,00	1,16	1,00
1	4,69 ^a	7,6 ^{de}	8,04 ^b	0,43 ^{ab}	0,66 ^a	0,00	2,05	0,97
7	7,56 ^{ab}	8,67 ^{de}	8,73 ^{cd}	1,87 ^c	5,26 ^{cde}	0,50	1,49	0,00
19	9,40 ^b	3,0 ^{ab}	9,03 ^{de}	0,62 ^{ab}	4,53 ^{cd}	0,00	0,66	0,00
30	8,89 ^b	0 ^a	8,88 ^{cde}	1,88 ^c	6,62 ^{de}	1,26	0,00	0,00
P-Values/Std errors	0,0478/1,161	0,0004/1,3929	0,00/0,2196	0,0018/0,3927	0,0003/0,8818			

Method: 95,0 percent LSD, OMX=Ολική Μεσόφιλη Μικροχλωρίδα MK=Μεσόφιλοι κόκκοι, MB=Μεσόφιλοι βάκιλλοι, E= Εντερόκοκκοι, Z&M= Ζύμες και Μύκητες



Διάγραμμα 11: Επίδραση προσθήκης καλλιιεργειών και χρόνου ωρίμανσης στη διαμόρφωση των μέσων τιμών των μελετηθέντων μικροβιακών ομάδων

Ο πληθυσμός των μεσόφιλων κόκκων και στα δύο δείγματα, σύμφωνα με τα αποτελέσματα, αυξάνει μέχρι την 7^η ημέρα και στη συνέχεια παρατηρείται σημαντική μείωση ιδιαίτερα στα δείγματα (B) χωρίς την καλλιέργεια ωρίμανσης.

Η παρουσία των καλλιεργειών ωρίμανσης στα δείγματα (A) πιθανόν να ευνόησε την παρουσία των μεσόφιλων κόκκων, δεδομένου ότι στις 30 ημέρες μετρήθηκαν στα 4 log cfu/g σε αντίθεση με τα δείγματα (B) στα οποία δεν ανιχνεύθηκαν.

Η μεταβολή του πληθυσμού των **γαλακτοβάκιλλων** ήταν παρόμοια για τις δύο επεμβάσεις και κυμάνθηκε στα 6,5 log cfu/ml την ημέρα (0) τυροκόμησης. Στην περίπτωση των δειγμάτων της επέμβασης A ο πληθυσμός αυξήθηκε μέχρι την 7^η ημέρα της ωρίμανσης στα 9,7 log cfu/g και στα 9,03 log cfu/g για τα δείγματα (B). Την επόμενη ημέρα (1) της τυροκόμησης ο πληθυσμός τους αυξήθηκε κατά δύο log cfu/g για τα δείγματα (A) και (B). Στο χρονικό διάστημα μεταξύ της 7^η και 30^η ημέρας της ωρίμανσης ο πληθυσμός παρέμεινε σχεδόν αμετάβλητος για τα δείγματα (A) και (B). Τα αποτελέσματα σχετικά με τον πληθυσμό των μεσόφιλων γαλακτοβακίλλων βρίσκονται σε συμφωνία με αντίστοιχη πειραματική μελέτη των Asteri et al. (2010), ο αριθμός των οποίων αυξήθηκε από τα 6,94 log cfu/ml, κατά την ημέρα παστερίωσης, στα 9,26 log cfu/g την 1^η ημέρα μετά την τυροκόμηση και διατηρήθηκε σε αυτά τα επίπεδα μέχρι την 30^η ημέρα μετά την τυροκόμηση. Οι γαλακτοβάκιλλοι εμφανίστηκαν σε υψηλά επίπεδα για τα δείγματα της επέμβασης A σε σχέση με τα δείγματα (B) που παρέμειναν σε χαμηλά. Η διαφοροποίηση αυτή πιθανόν να οφείλεται στην παρουσία των μυκήτων *P. camemberti* και *G. candidum* σε συνδυασμό με τις συνθήκες που αναπτύχθηκαν στο τυρί λόγω της παρουσίας τους (αλκαλοποίηση).

Ο πληθυσμός των **ζυμών και των μυκήτων** αυξήθηκε σημαντικά μεταξύ της 1^{ης} (3,97 log cfu/g) και της 19^{ης} (7,43 log cfu/g) ημέρας για τα δείγματα της επέμβασης (A). Στην περίπτωση των δειγμάτων της επέμβασης (B) παρατηρείται σημαντική διαφορά μεταξύ της 1^{ης} (0,67 log cfu/g) και της 7^{ης} ημέρας (5,26 log cfu/g) ωρίμανσης. Ο πληθυσμός των ζυμών-μυκήτων στα δείγματα (A) είναι υψηλότερος σε σχέση με το δείγμα (B) κυρίως λόγω της ανάπτυξης του *G. candidum* από τα πρώτα στάδια ωρίμανσης. Ο πληθυσμός των μυκήτων αυξάνει σημαντικά κατά την 7^η ημέρα ωρίμανσης δεδομένης της ανάπτυξης και του *P. camemberti*. Στα δείγματα της επέμβασης B η υψηλή υγρασία σε συνδυασμό με την υψηλή οξύτητα συνέβαλλαν στην επιμόλυσή τους με ζύμες-μύκητες απ' το περιβάλλον.

Η παρουσία του *G. candidum* λειτούργησε προστατευτικά στην περίπτωση των δειγμάτων (A) καθώς είναι δυνατόν να αναστείλει την ανάπτυξη παθογόνων και αλλοιογόνων μικροοργανισμών με κυριότερα στελέχη του γένους *Mucor*, τα Gram- και Gram+ βακτήρια και τις ζύμες *D. hansenii*, *Y. lipolytica*, *Pichia jadinii* (Delespaul et al., 1973; Gueguen et al., 1974; Gueguen and Schmidt, 1992). Στην περίπτωση των δειγμάτων (B) παρατηρήθηκε

αλλοίωση αυτών πιθανόν λόγω της απουσίας του προστατευτικού ρόλου των καλλιεργειών ωρίμανσης.

Από την ανάλυση και αξιολόγηση του πληθυσμού των **μικρόκοκκων** παρατηρούμε ότι στην περίπτωση των δειγμάτων (Α) ο πληθυσμός των μικρόκοκκων ήταν σε χαμηλά επίπεδα (<2 λογ. κύκλους) καθ'όλη τη διάρκεια της ωρίμανσης. Το ίδιο ισχύει και για τα δείγματα (Β), στα οποία ο πληθυσμός των μικρόκοκκων δεν παρουσιάζει σημαντικές διαφορές. Οι μύκητες του γένους *Penicillium*, σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, κατά την 15^η-20^η ημέρα έχουν πλέον καταναλώσει όλο το γαλακτικό οξύ, έχει αυξηθεί η τιμή του pH και οι αερόφιλες συνθήκες που επικρατούν ευνοούν την ανάπτυξη των μικρόκοκκων (Lenoir, 1962; Richard & Zadi, 1983; Richard, 1984). Μερικά είδη μικρόκοκκων χρησιμοποιούν τη φωσφορική αμμωνία ως πηγή Ν για την ανάπτυξή τους και βρίσκονται συχνά στην επιφάνεια τυριών που ωριμάζουν με μύκητες (Fox et al., 2000). Στα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης για τα δείγματα της επέμβασης Α παρατηρήθηκε αυξημένος πληθυσμός των μικρόκοκκων μέχρι την 1^η ημέρα και μέχρι την 7^η ημέρα σταδιακά μειώθηκε. Η τιμή pH μέχρι την 1^η ημέρα σε συνδυασμό με την πιθανή ανάπτυξη του *G. candidum* και την αναμενόμενη παραγωγή αμμωνίας, έστω και σε μικρή ποσότητα, ενόησαν την διατήρηση του πληθυσμού των μικρόκοκκων, οι οποίοι μετά την πτώση του pH σταδιακά μειώθηκαν καθώς είναι ευαίσθητοι σε τιμές pH κοντά στην όξινη περιοχή.

Ο πληθυσμός των εντερόκοκκων, στην περίπτωση των δειγμάτων της επέμβασης (Α), παρουσίασε μια σταδιακή αύξηση από την έναρξη έως και την 7^η ημέρα, φθάνοντας τον αριθμό των 2,19 log cfu/g και στη συνέχεια ο πληθυσμός έμεινε σχεδόν σταθερός. Στα δείγματα της επέμβασης (Β), ο πληθυσμός των εντερόκοκκων αυξάνεται μέχρι και την 7^η ημέρα της ωρίμανσης (1,88 log cfu/g). Οι εντερόκοκκοι βρίσκονται στο περιβάλλον αλλά συνδέονται άμεσα με τον γαστρεντερικό σωλήνα των ζώων και γι'αυτό το λόγο η παρουσία τους σε τρόφιμα ζωικής προέλευσης είναι δείκτης κακής υγιεινής (Fox et al., 2004). Ο πληθυσμός των εντερόκοκκων και για τις δύο επεμβάσεις, αυξήθηκε σημαντικά κατά την 7^η ημέρα της ωρίμανσης. Ο μικρός πληθυσμός τους καθ'όλη τη διάρκεια της μελέτης καταδεικνύει καλές συνθήκες υγιεινής πρακτικής στη πειραματική διαδικασία.

Στην περίπτωση των **σταφυλόκοκκων**, ο πληθυσμός τους για τα δείγματα και των δύο επεμβάσεων, μεταξύ των διαφορετικών σημείων δειγματοληψίας, δεν παρουσίασε σημαντικές διαφορές και βρισκόταν σε πολύ χαμηλά επίπεδα (<1 log cfu/g) σε όλη τη διάρκεια της ωρίμανσης.

Σε ότι αφορά τη παρουσία των **κολοβακτηριδίων**, αυτά βρισκότουσαν σε πολύ χαμηλούς πληθυσμούς πιθανόν λόγω τυχαίων επιμολύνσεων. Ο πληθυσμός των κολοβακτηριδίων

αυξάνεται κυρίως κατά τα αρχικά στάδια τυροκόμησης λόγω ευνοϊκών συνθηκών θερμοκρασίας και pH (Gripou 1993).

Σε ότι αφορά τη παρουσία, *Salmonella spp.* αυτή δεν ανιχνεύθηκε, σε αντίθεση με την *Listeria spp.* που προσδιορίστηκε στις 7 ημέρες και μέχρι τις 30 ημέρες σε χαμηλό πληθυσμό. Οι Rørvik and Yndestad (1991) υποστήριξαν ότι η επιμόλυνση με *L. monocytogenes* στα τυριά πραγματοποιείται κυρίως κατά τους χειρισμούς και τις κακές περιβαλλοντικές στη διαδικασία της τυροκόμησης. Οι Bontinis et al. (2008) σε ανάλογη πειραματική μελέτη αναφέρθηκαν σε πολλά τυριά από νωπό αίγαιο γάλα, απαλλαγμένα από *Salmonella spp.* και *L. monocytogenes* στα 25 g τυριού, καταδεικνύοντάς τα σαν ασφαλή.

4. Φυσικοχημικές αναλύσεις

4.1. Χημική σύσταση του γάλακτος

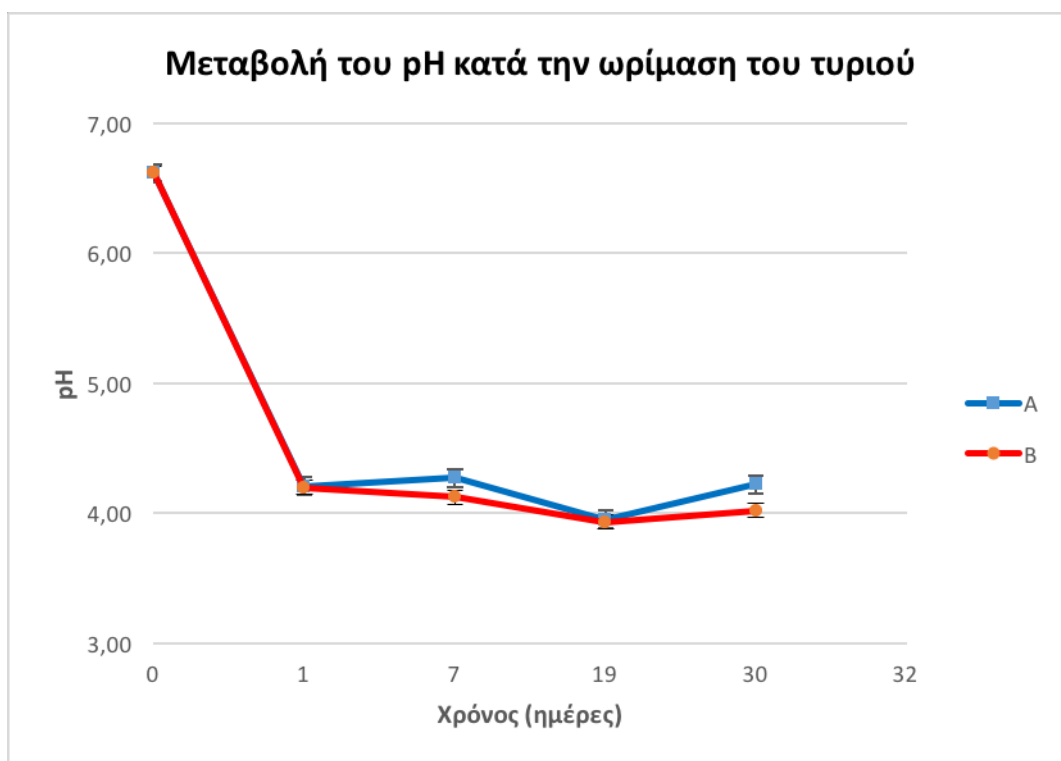
Στον Πίνακα 25, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της συγκέντρωσης (%) των συστατικών του γάλακτος το οποίο χρησιμοποιήθηκε στις τυροκομήσεις.

Πίνακας 25 : Χημική σύσταση γάλακτος (%).

Γάλα	Λίπος	Πρωτεΐνες	Λακτόζη
τυροκόμησης	2,81	2,85	4,59

4.2. Μεταβολή του pH

Η εξέλιξη των τιμών του pH στα μελετηθέντα δείγματα παρουσιάζεται στο Γράφημα. Το pH μειώθηκε γρήγορα στα δείγματα και των δύο Α,Β λόγω της ταχείας ανάπτυξης και δράσης των εναρκτήριων οξυγαλακτικών καλλιιεργειών. Την 7^η ημέρα της ωρίμανσης η τιμή του pH έφτασε στο 4,27 και 4,12 για τα δείγματα της επέμβασης Α και Β αντίστοιχα. Στο **Διάγραμμα 12** φαίνεται ότι υπάρχει διαφορά, στην τιμή του pH, μεταξύ της 1^{ης} και 7^{ης} ημέρας και μεταξύ της 19^{ης} και 30^{ης} ημέρας και για τις δύο επεμβάσεις .



Διάγραμμα 12: Ρυθμός μεταβολής pH του τυριού καθ'όλη τη διάρκεια της ωρίμανσης

Το αποτέλεσμα της παρούσας μελέτης σχετικά με το pH του τελικού προϊόντος της επέμβασης (A) (4,22) είναι αρκετά χαμηλότερα συγκριτικά με pH του τελικού προϊόντος αντίστοιχων πειραματικών μελετών (~7) (Boutrou et al., 2005; Gaborit et al. 2001; Galli et al., 2016; Vassal et al., 1986; Samble et al., 1997). Η αύξηση της τιμής του pH αποδίδεται κυρίως στην αξιοποίηση του διαθέσιμου γαλακτικού οξέος από τον μύκητα *P. camemberti* (Lenoir, 1962). Συγκεκριμένα, η αύξηση της τιμής του pH κατά την ωρίμανση τυριών τύπου Camembert αποδίδεται κυρίως στην αξιοποίηση του γαλακτικού οξέος (Fox et al., 1990; Lenoir 1984; Adour et al., 2001) και στην αμμωνία που παράγεται κατά τη διάσπαση των αμινοξέων (Karahadian et al., 1987; Lucey et al., 1993). Η παρουσία των ελεύθερων πεπτιδίων και των αμινοξέων κατά συνέπεια δε σχετίζεται άμεσα με την αύξηση της τιμής του pH (Adour et al., 2002).

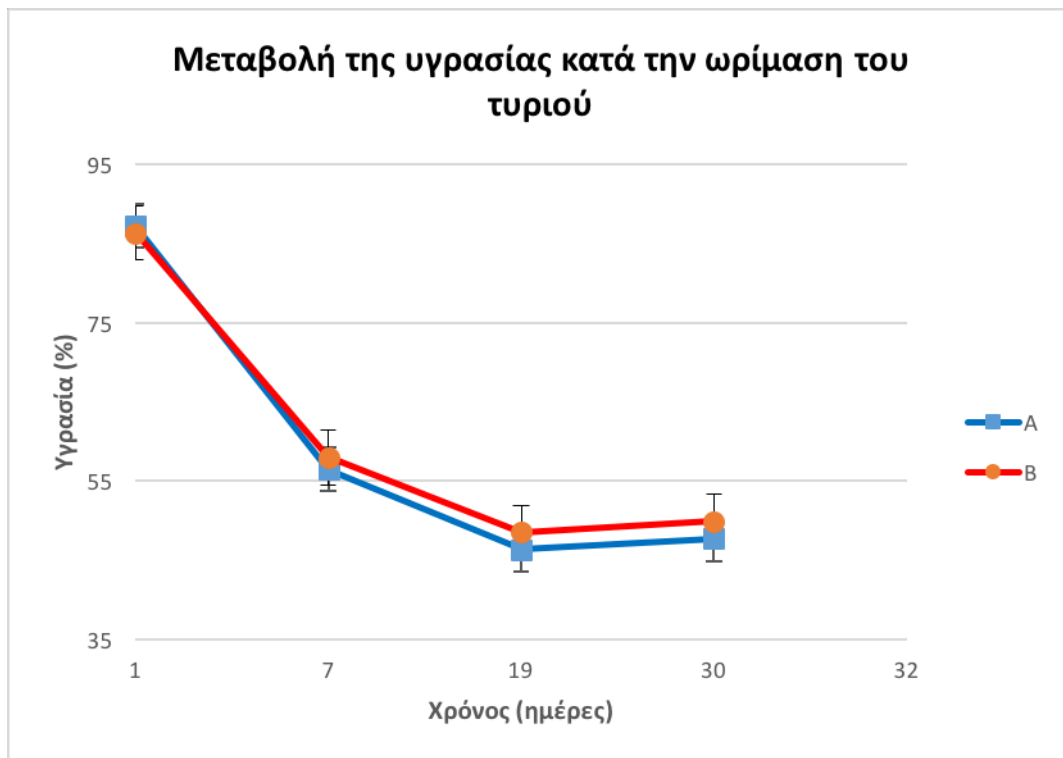
Οι Gaborit et al. (2001) σε πειραματική μελέτη που πραγματοποίησαν με σκοπό τη διερεύνηση της επίδρασης διαφόρων συνδυασμών καλλιεργειών, μεταξύ των οποίων και ο συνδυασμός του *G. candidum* με το *P. camemberti*, στη διαδικασία της ωρίμανσης παρατήρησαν ότι οι εν λόγω μικροοργανισμοί συμβάλλουν σε σταδιακή αύξηση της τιμής του pH. Σημαντικό χαρακτηριστικό της δράσης των *P. camemberti* και *G. candidum* είναι η

έντονη πρωτεολυτική δραστηριότητα που έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή αμμωνίας κατά την αντίδραση της απαμίνωσης (Deacon, 1997). Η εκλυόμενη αμμωνία συμβάλει στην αύξηση της τιμής του pH κυρίως στην επιδερμίδα του τυριού όπου παρατηρείται και εντονότερη πρωτεολυτική δραστηριότητα των μυκήτων. Η χαμηλή τιμή του pH πιθανόν να οφείλεται στην περιορισμένη απαμίνωση των αμινοξέων. Βασικό χαρακτηριστικό της συνεργιστικής δράσης των *P. camemberti* και *G. candidum* είναι η διάσπαση των α_1 - και β -καζεϊνών από τον *G. candidum* προς παραγωγή πεπτιδίων (μεγάλου και μεσαίου μεγέθους) και ελεύθερων αμινοξέων και η αξιοποίηση των πεπτιδίων, μεγαλύτερου μεγέθους κυρίως, από τον *P. camemberti* προς παραγωγή ελεύθερων αμινοξέων. Η συνεχόμενη υδρόλυση των πεπτιδίων προς σχηματισμό ελεύθερων αμινοξέων περιορίζει τα διαθέσιμα προς κατανάλωση πεπτίδια από τον *P. camemberti* με αποτέλεσμα να αξιοποιεί κυρίως τα ελεύθερα αμινοξέα με σκοπό την κάλυψη των ενεργειακών του αναγκών, ενώ παράλληλα σχηματίζεται και αμμωνία η οποία προάγει την αύξηση της τιμής του pH (Boutrou et al., 2006; Aziza, 2005; Aziza, 2006).

Οι Adour et al. (2002) σε πειραματική μελέτη που πραγματοποίησαν με σκοπό την διερεύνηση της ανάπτυξης του *G. candidum* και του *P. camemberti* σε σχέση με την κατανάλωση υδατανθρακικών και πρωτεϊνικών υποστρωμάτων και την παραγωγή αμμωνίας και CO₂, παρατήρησαν ότι τη 2^η εβδομάδα ωρίμανσης η συγκέντρωση των πεπτιδίων ήταν χαμηλότερη συγκριτικά με τη συγκέντρωση των ελεύθερων αμινοξέων. Η απαμίνωση, η παραγωγή αμμωνίας και εν ολίγοις η αύξηση του pH παρατηρείται κυρίως κατά τη 2^η εβδομάδα δεδομένου ότι ο *P. camembertii* αρχίζει και αναπτύσσεται από την 7^η ημέρα ωρίμανσης και μετά.

4.3. Μεταβολή της υγρασίας

Από την ανάλυση και αξιολόγηση του **Διάγραμμα 13** διαπιστώνουμε ότι το ποσοστό της υγρασίας μειώθηκε από την 1^η μέχρι και την 19^η ημέρα για τα δείγματα και των δύο επεμβάσεων. Καθ'όλη τη διάρκεια της ωρίμανσης και μεταξύ της 1^{ης}, 7^{ης} και 19^{ης} ημέρας δειγματοληψίας η μείωση της υγρασίας ήταν σημαντική και για τις δύο επεμβάσεις.



Διάγραμμα 13: Ρυθμός μεταβολής υγρασίας του τυριού καθ'όλη τη διάρκεια της ωρίμανσης

Το τελικό ποσοστό υγρασίας κατά την 30^η ημέρα της ωρίμανσης έφθασε το 47,69% για τα δείγματα (A) και το 49,89% για τα δείγματα (B).

Η μείωση της υγρασίας και η σταθεροποίησή της σε τιμές κοντά στο 55% είναι σύνηθες φαινόμενο για τα τυριά τύπου Camembert και γενικά για τα τυριά που ωριμάζουν με μύκητες.

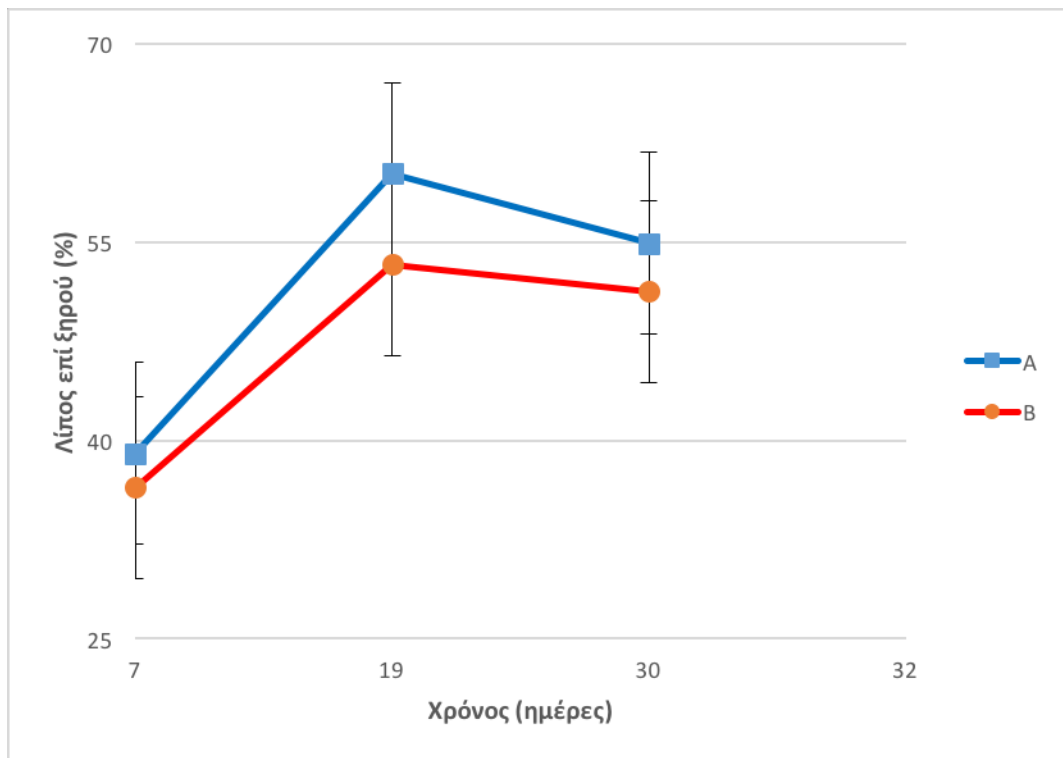
Η εξωτερική επιφάνεια των τυριών που ωριμάζουν με μύκητες υφίσταται αξιοσημείωτες αλλαγές καθ'όλη τη διάρκεια της ωρίμανσης. Στα αρχικά στάδια ωρίμανσης η επιφάνεια είναι γυαλιστερή και σφιχτή και στην πορεία το τυρί αποκτά πιο μαλακή υφή. Η υγρασία των τυριών τύπου Camembert, σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, κυμένεται στο 55%. Στην περίπτωση που το ποσοστό της υγρασίας είναι μεγαλύτερο του 55% παρατηρείται αποκόλληση της επιδερμίδας του τυριού. Οι αλλαγές αυτές οφείλονται κατά κύριο λόγο στις πρωτεολυτικές ιδιότητες του *P. camemberti* (Knoor, 1971; Knoor, 1972). Οι B. D Galli et al (2016) σε πειραματική έρευνα που πραγματοποίησαν με αντικείμενο τη μελέτη της αλληλεπίδρασης των μυκήτων *P. camemberti*, *P. candidum* με τις εναρκτήριες καλλιέργειες κατά τη διάρκεια ωρίμανσης παρατήρησαν ότι το τα ποσοστά της υγρασίας (55-57%) ήταν σύμφωνα με αυτά της βιβλιογραφίας. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, όσον αφορά το δείγμα A, ήταν χαμηλότερα σε σύγκριση με των βιβλιογραφικών αναφορών (Galli et al., 2106; Gripon and Spinnier, 2004). Η αύξηση του pH, όπως προαναφέρθηκε, συμβάλλει στην

αλλαγή του φορτίου των καζεϊνών και στις αλληλεπιδράσεις των πρωτεϊνών. Επιπλέον, παρατηρείται μια διαφοροποίηση στις αλληλεπιδράσεις μεταξύ καζεϊνών και νερού και τελικά αυξάνεται η συγκράτηση υγρασίας (Ruegg & Bland, 1976). Στην παρούσα μελέτη ωστόσο οι τιμές του pH διατηρήθηκαν σε σχετικά χαμηλά επίπεδα σε σχέση με άλλων μελετών, γεγονός που μπορεί εν μέρει να ερμηνεύσει την επίσης χαμηλή υγρασία των δειγμάτων της επέμβασης (A).

Οι συνθήκες ωρίμανσης είναι καθοριστικές στην ανάπτυξη των μυκήτων και στη διαμόρφωση των επιθυμητών οργανοληπτικών χαρακτηριστικών στα τυριά που ωριμάζουν με επιφανειακούς μύκητες. Η ενδεικτική σχετική υγρασία του θαλάμου ωρίμανσης θα πρέπει να είναι $95\pm 1\%$ (Leclercq-Perlat et al., 2013; Bonaiti et al., 2004) καθώς σε χαμηλότερο ποσοστό παρατηρείται απώλεια νερού από τη μάζα του τυριού με αποτέλεσμα το τελικό προϊόν να είναι ξηρό (Leclercq-Perlat et al., 2012, 2013). Πράγματι, η σχετική υγρασία στο θάλαμο ωρίμανσης ήταν $\sim 88\%$ και δεν ρυθμιζόταν από ειδικό μηχανισμό, αλλά με την τοποθέτηση λεκανών με νερό και με τη διαβροχή του πατώματος των θαλάμων, με αποτέλεσμα η υγρασία του τελικού προϊόντος στην περίπτωση των δειγμάτων (A) να είναι χαμηλότερη ($47,69\%$) των βιβλιογραφικών αναφορών ($\sim 55\%$) και η υφή του προϊόντος ξηρή. Η συγκράτηση μεγαλύτερης ποσότητας νερού θα μπορούσε εναλλακτικά να επιτευχθεί μέσω της διαφοροποίησης του τρόπου αλατίσματος. Στην παρούσα μελέτη εφαρμόστηκε ξηρό αλάτισμα, ενώ σε αντίστοιχες μελέτες το αλάτισμα πραγματοποιήθηκε μέσω εμβάπτισης του τυροπήγματος σε άλμη συγκεκριμένου pH, θερμοκρασίας και συγκέντρωσης NaCl (πχ. pH=5,5/ 14 °C/ 330g NaCl/L) και για συγκεκριμένου χρόνου παραμονής (πχ. 25 min) (Leclercq-Perlat et al., 2013; Galli et al., 2016; Leclercq-Perlat et al., 2012).

4.4. Μεταβολή του λίπους επι ξηρού (%)

Αξιολογώντας τα στοιχεία του **Διάγραμμα 14** παρατηρείται ότι και στα δύο δείγματα η λιποπεριεκτικότητα σταθεροποιείται κοντά στο 55% στις 30 ημέρες ωρίμανσης. Η χαμηλότερη περιεκτικότητα σε υγρασία των δειγμάτων (A) σε σύγκριση με τα δείγματα (B) αιτιολογεί την υψηλότερη λιποπεριεκτικότητα επί ξηρού των δειγμάτων (A) έναντι των (B).

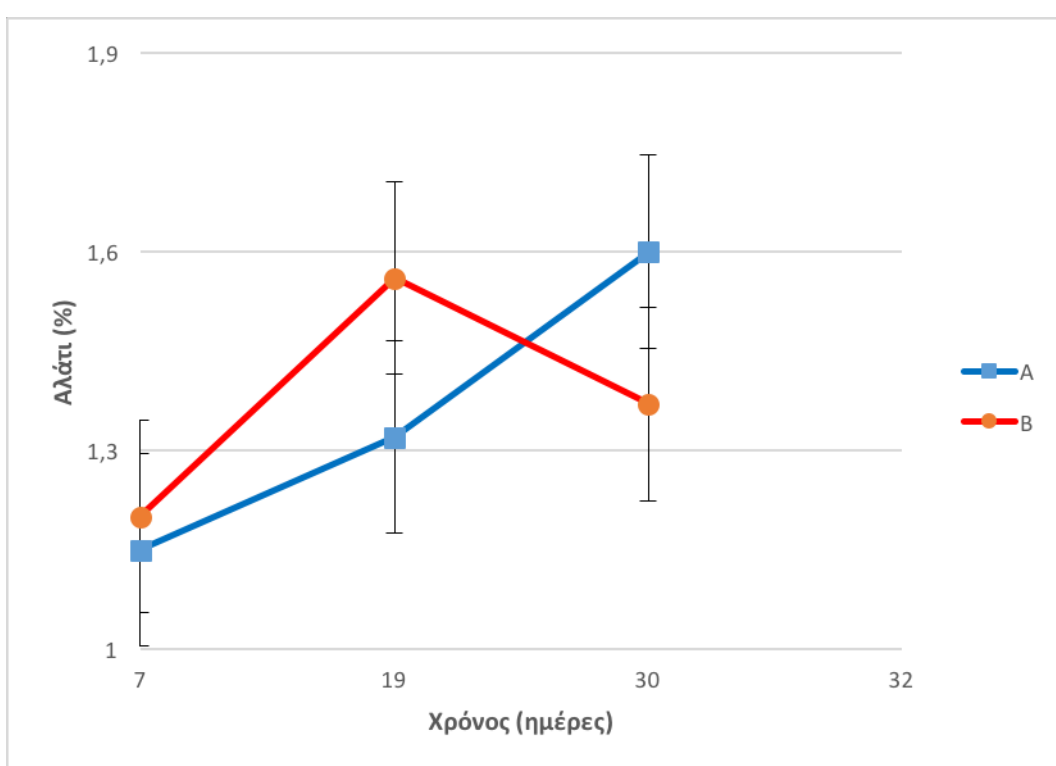


Διάγραμμα 14: Ρυθμός μεταβολής λίπους επί ξηρού του τυριού καθ' όλη τη διάρκεια της ωρίμανσης

Στα τυριά που ωριμάζουν με μύκητες κύριος λιπολυτικός παράγοντας είναι οι μύκητες του γένους *Penicillium spp.* Συγκεκριμένα, το είδος *P. camemberti* παράγει μία μόνο εξωκυτταρική λιπάση με βέλτιστη ενεργότητα σε pH 9,0 και θερμοκρασία 35°C. Η ενεργότητά της μειώνεται με την πτώση της τιμής pH και σε τιμές κοντά στο 6,0 περιορίζεται στο 50% της μέγιστης ενεργότητάς της (Lamberet & Lenoir, 1976). Η τιμή του pH του δείγματος A κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης κυμάνθηκε σε χαμηλότερα επίπεδα κατά συνέπεια η ενεργότητα των λιπολυτικών ενζύμων ήταν ακόμα πιο περιορισμένη. Η λιπολυτική δραστηριότητα των ενζύμων των περισσότερων μικροοργανισμών είναι ιδιαίτερα χαμηλή συγκριτικά με αυτή των *P. camemberti*, *P. roqueforti* και *G. candidum*. Συμπερασματικά, κύριος λιπολυτικός παράγοντας στο δείγμα A ήταν τα ένζυμα των *G. candidum* και *P. camemberti*. Τα αποτελέσματα του λίπους επί ξηρού του δείγματος (A) βρίσκονται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα των Gaborit et al. (2001). Η ανάπτυξη των *P. camemberti*, *G. candidum* στην εξωτερική επιφάνεια των τυριών συμβάλλει στην αύξηση του pH και στον περιορισμό της ανάπτυξης δευτερεύουσας μικροχλωρίδας, σε αντίθεση με τα δείγματα (B) που ουσιαστικά είναι περισσότερο ευαίσθητο

4.5. Μεταβολή της περιεκτικότητας σε αλάτι

Η επίδραση του αλατίσματος και της σχετικής υγρασίας είναι καθοριστική στη διαμόρφωση των μικροβιολογικών, βιοχημικών και οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του τυριού. Το αλάτισμα του φρέσκου τυροπήγματος συμβάλλει στη μείωση του μικροβιακού πληθυσμού, της ενεργότητας νερού (a_w), της πρωτεόλυσης, της λιπόλυσης και της μαλακιάς υφής του, ενώ η αύξηση της σχετικής υγρασίας κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης επιδρά θετικά στην αύξηση των προαναφερθέντων ιδιοτήτων (Macedo et al., 1997).



Διάγραμμα 15: Ρυθμός μεταβολής της περιεκτικότητας του τυριού σε αλάτι καθ'όλη τη διάρκεια της ωρίμανσης

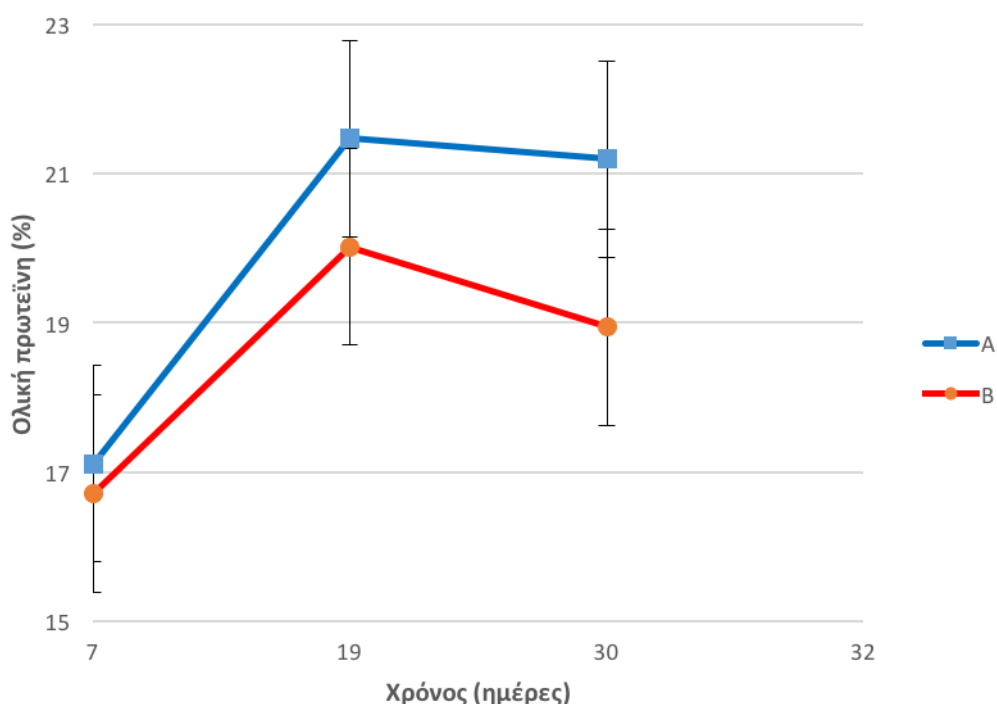
Η περιεκτικότητα σε αλάτι αυξήθηκε το χρονικό διάστημα μεταξύ της 7^{ης} και 19^{ης} ημέρας (Διάγραμμα 15) της ωρίμανσης για τα δείγματα και των δύο επεμβάσεων. Μικρότερες τιμές παρατηρήθηκαν στα δείγματα (A) σε σχέση με τα δείγματα (B). Η περιεκτικότητα σε αλάτι για τα δείγματα (A) διαμορφώθηκε στο 1,15% την 7^η ημέρα και αυξήθηκε στο 1,32% την 30^η ημέρα. Στα δείγματα (B) η περιεκτικότητα σε αλάτι κυμάνθηκε στο 1,37% την 7^η ημέρα και

αυξήθηκε στο 1,60% την 30^η ημέρα της ωρίμανσης. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης ήταν παρόμοια με αυτά των Hardy et al. (2000) και Perlat et al. (2013).

Η διάχυση του άλατος συνδέεται με τη μεταφορά του νερού από το εσωτερικό προς την εξωτερική επιφάνεια του τυριού και σχετίζεται θετικά με το pH του τυριού και τη θερμοκρασία που επικρατεί στο θάλαμο ωρίμανσης (Hardy et al., 2000; Ramet et al., 2000).

4.6. Μεταβολή της ολικής πρωτεΐνης

Η μεταβολή της συγκέντρωσης της ολικής πρωτεΐνης των δειγμάτων των δύο επεμβάσεων εμφανίετο στο **Διάγραμμα 16**. Η συγκέντρωση της ολικής πρωτεΐνης αυξήθηκε μέχρι την 30^η ημέρα για τα δείγματα (A) (21,20%) και για τα δείγματα (B) (20,02%). Αν και δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των επεμβάσεων, το ποσοστό της ολικής πρωτεΐνης ήταν σχετικά υψηλότερο στην περίπτωση των δειγμάτων (A). Η διαφορά μεταξύ των επεμβάσεων πιθανόν να οφείλεται στην πρωτεολυτική δράση των μυκήτων στην περίπτωση των δειγμάτων (A).



Διάγραμμα 16: Ρυθμός μεταβολής της περιεκτικότητας του τυριού σε ολική πρωτεΐνη καθ'όλη τη διάρκεια της ωρίμανσης

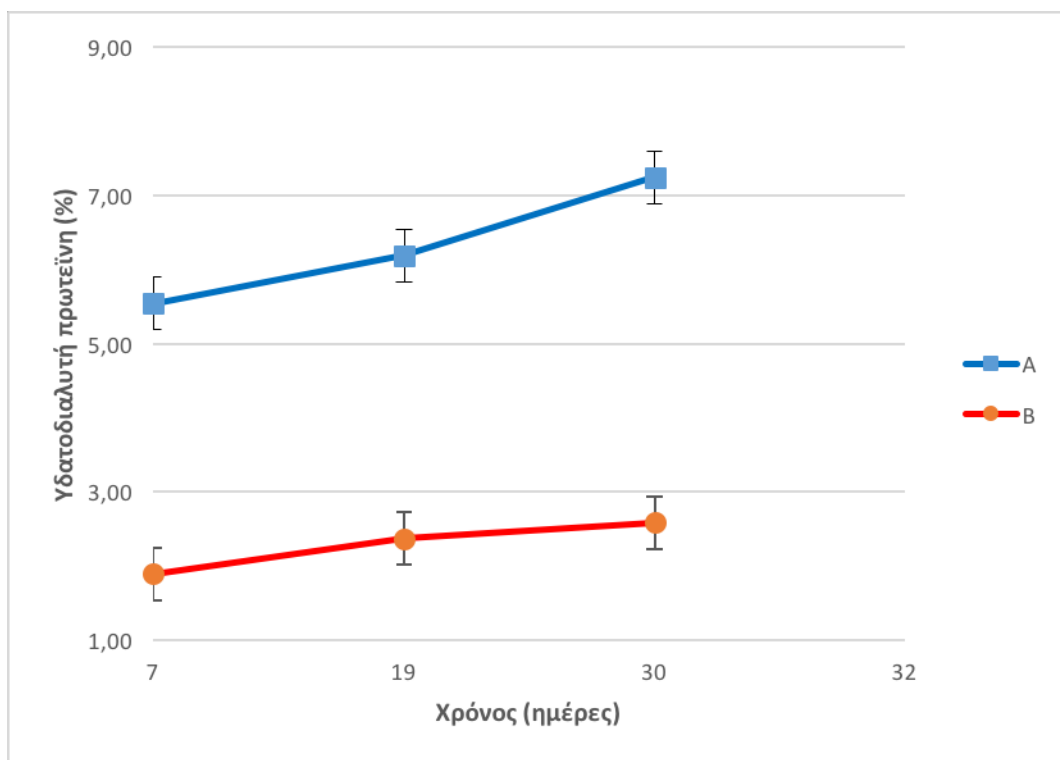
Στην περίπτωση των δειγμάτων (B) δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση στο ποσοστό της ολικής πρωτεΐνης μεταξύ των ημερών.

4.7. Μεταβολή της υδατοδιαλυτής πρωτεΐνης

Η μελέτη των στοιχείων του **Διάγραμμα 17** καταλήγει στο συμπέρασμα της σημαντικής διαφοράς των μέσων τιμών της υδατοδιαλυτής πρωτεΐνης για τα δείγματα (A) καθ'όλη τη διάρκεια της ωρίμανσης.

Η πρωτεόλυση είναι αποτέλεσμα της δραστηριότητας των ενζύμων των οξυγαλακτικών βακτηρίων και των μυκήτων. Στην περίπτωση των μυκητών η ένταση της πρωτεολυτικής δραστηριότητας είναι σαφώς μεγαλύτερη των οξυγαλακτικών.

Στα τυριά που ωριμάζουν με μύκητες η πρωτεολυτική δραστηριότητα του *P. camemberti* είναι κυρίαρχη και συμβάλει στο σχηματισμό πεπτιδίων, υπεύθυνων για τη δημιουργία χαρακτηριστικά πικρής γεύσης (Lemieux et al., 1991; Lemieux et al., 1992; Murray et al., 1988). Η διάσπαση των πεπτιδίων σε αμινοξέα πραγματοποιείται μέσω της ενζυμικής δραστηριότητας του *P. camemberti* και *G. candidum*. Η πρωτεολυτική δραστηριότητα του *G. candidum* αν και δεν είναι πλήρως αποσαφηνισμένη είναι χαμηλότερη του *P. camemberti*.



Διάγραμμα 17: Ρυθμός μεταβολής της περιεκτικότητας του τυριού σε υδατοδιαλυτή πρωτεΐνη καθ'όλη τη διάρκεια της ωρίμανσης

Τα αποτελέσματα της μέσης περιεκτικότητας σε υδατοδιαλυτή πρωτεΐνη των δειγμάτων (B) δεν είχαν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ της 7^{ης}, 19^{ης} και 30^{ης} ημέρας της ωρίμανσης.

Η πρωτεόλυση και η διάσπαση της β-καζεΐνης στα τυριά που ωριμάζουν με μύκητες πραγματοποιείται σε πολύ μεγαλύτερο βαθμό σε σύγκριση με άλλες κατηγορίες τυριών (Trieu-Cuot, 1982). Η διάσπαση της β-καζεΐνης και των λοιπών κλασμάτων είναι αποτέλεσμα της δράσης των πηκτικών ενζύμων, των ενδογενών πρωτεϊνολυτικών του γάλακτος και των μικροβιακών πρωτεϊνολυτικών, στην προκειμένη περίπτωση του *Penicillium spp.* Ο μύκητας *G. candidum* αρχίζει να αναπτύσσεται στο τυρί κατά το σχηματισμό του τυροπήγματος και εμφανίζεται στην επιφάνεια του τυριού πριν τον μύκητα *P. camemberti*. Η ανάπτυξη του *P. camemberti* πραγματοποιείται κατά την 6^η-7^η ημέρα της ωρίμανσης (Molimard et al., 1995; Gripon, 1993). Οι Aziza et al. (2005) σε πειραματική μελέτη που πραγματοποίησαν με σκοπό τη διερεύνηση της συνεργιστικής δράσης των *G. candidum* και *P. camemberti* σε «χυμό» τυριού υποστήριξαν ότι η ενζυμική δραστηριότητα του *G. candidum* συμβάλλει στην αποτελεσματικότερη απελευθέρωση πεπτιδίων και αμινοξέων τα οποία χρησιμοποιούνται ως πηγές ενέργειας κατά την ανάπτυξη του *P. camemberti*. Η πρωτεολυτική δραστηριότητα του *G. candidum* είναι πολύ χαμηλότερη του *P. camemberti* και πρακτικά η πρωτεόλυση αυξάνεται κυρίως κατά την ανάπτυξη του *P. camemberti* (Lenoir, 1970). Τα δεδομένα αυτά βρίσκονται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας καθώς η πρωτεόλυση και η αναμενόμενη αύξηση του υδατοδιαλυτού αζώτου στο δείγμα (A) σημειώθηκε κατά την 7η ημέρα της ωρίμανσης. Η αύξηση του υδατοδιαλυτού αζώτου στην περίπτωση του δείγματος της επέμβασης A είναι ένδειξη έντονης πρωτεόλυσης συγκριτικά με τα δείγματα (B) στο οποίο οι μέσες τιμές του υδατοδιαλυτού αζώτου είναι εμφανώς χαμηλότερες.

Τα αποτελέσματα της υδατοδιαλυτής πρωτεΐνης για τα δείγματα (A) των 30 ημερών ωρίμανσης ήταν υψηλότερα (7,29%) σε σύγκριση με των δειγμάτων (B) (2,59%), γεγονός που υποδεικνύει την έντονη πρωτεολυτική δραστηριότητα των μυκήτων. Ωστόσο, στο κλάσμα της υδατοδιαλυτής πρωτεΐνης υπάρχει μεγάλη πιθανότητα να ήταν σε μεγαλύτερη συγκέντρωση πεπτίδια έναντι αμινοξέων και αμμωνίας. Συμπερασματικά, απαραίτητη είναι η διερεύνηση της αναλογίας των επιμέρους συστατικών της υδατοδιαλυτής πρωτεΐνης προκειμένου να υπάρχει μια πιο σαφής εικόνα ως προς την ένταση της πρωτεολυτικής δραστηριότητας. Επίσης, δεδομένου ότι η πρωτεολυτική δραστηριότητα του *P. camemberti* είναι βέλτιστη σε τιμές pH ~6 (Lenoir, 1985; Choisy, 2000) και μεγαλύτερη του *G. candidum* (Lenoir, 1980) και λαμβάνοντας υπόψιν ότι η τιμή του pH του τυριού των 30 ημερών της

επέμβασης A κυμάνθηκε σε πολύ χαμηλότερα επίπεδα, οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η πρωτεολυτική δραστηριότητα του *P. camemberti* ήταν ιδιαίτερα χαμηλή.

Η χαμηλή πρωτεολυτική δραστηριότητα του *P. camemberti* θα μπορούσε να αποδοθεί στην επίδραση των συνθηκών ωρίμανσης και συγκεκριμένα της θερμοκρασίας στην ανάπτυξη του. Οι βιβλιογραφικές αναφορές σχετικά με την επίδραση της θερμοκρασίας και της σχετικής υγρασίας στην ωρίμανση των τυριών τύπου Camembert, δηλαδή τυριών στα οποία προστίθονται ως καλλιέργειες ωρίμανσης ο *P. camemberti* και ο *G. candidum*, αν και περιορισμένες υποδεικνύουν ως βέλτιστες συνθήκες ωρίμανσης την εφαρμογή θερμοκρασίας 13°C και σχετικής υγρασίας 94% (Leclercq-Perlat et al., 2015; Leclercq-Perlat et al., 2012). Συγκεκριμένα, βάσει βιβλιογραφίας η αλληλεπίδραση θερμοκρασίας και σχετικής υγρασίας επηρεάζουν την ανάπτυξη του *P. camemberti* (Leclercq-Perlat et al., 2012) και εν προκειμένω η αύξηση της θερμοκρασίας πέρα των 13°C επιταχύνει την ανάπτυξη του εν λόγω μύκητα και των βιοχημικών διεργασιών συμβάλλοντας στην καταστροφή του μυκηλίου (Nunez et al., 1990). Επιπλέον, βάσει βιβλιογραφίας η εφαρμογή θερμοκρασιών ωρίμανσης κοντά στους 13°C επιτρέπει την σταδιακή εξέλιξη των βιοχημικών δραστηριοτήτων σε διάστημα 14 ημερών με επακόλουθη τη συσκευασία των τυριών (Leclercq-Perlat et al., 2012). Στο στάδιο της συσκευασίας και έπειτα ο πληθυσμός των μυκήτων καθώς και η τιμή του pH σταθεροποιούνται (Leclercq-Perlat et al., 2012) οπότε προς όφελος των μικροοργανισμών, ιδιαίτερα του *P. camemberti* που εμφανίζεται στις ~7 ημέρες ωρίμανσης (Molimard et al., 1995; Leclercq-Perlat et al., 2015; Leclercq-Perlat et al., 2006), είναι η αποφυγή ελαχιστοποίησης του χρόνου ωρίμανσης κάτω των 10 ημερών (βέλτιστη 14).

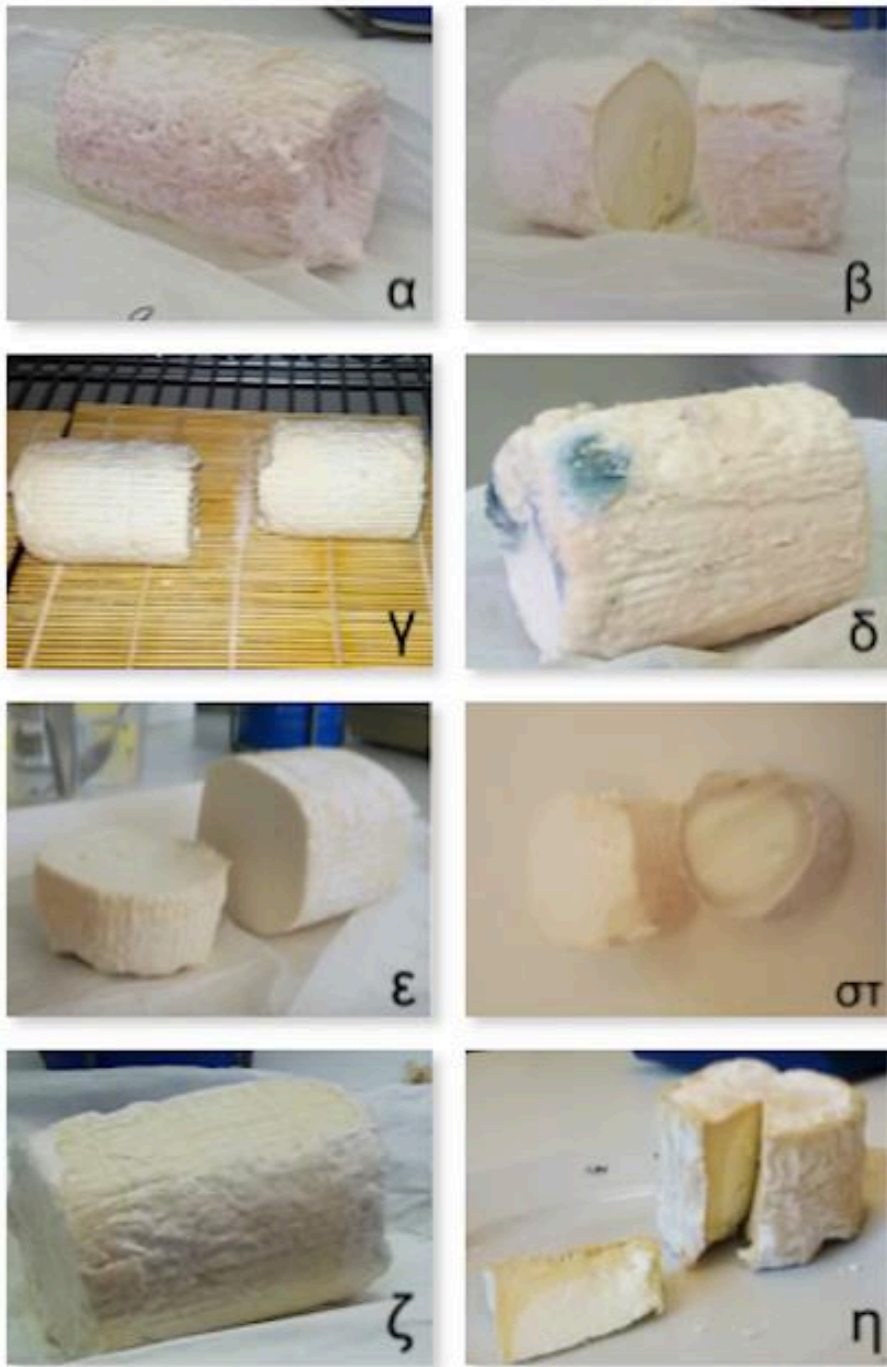
Τέλος, χαρακτηριστικό της βιοσυνθετικής δραστηριότητας των *P. camemberti* και *G. candidum* είναι η παραγωγή υψηλών ποσοτήτων CO₂ και O₂ (Adour, 2002) κατά την κατανάλωση γαλακτικού οξέος. Η συγκέντρωση CO₂ σε ποσοστό >2% έχει ως συνέπεια της αναστολή της ανάπτυξης του μυκηλίου του *P. camembertii* (Doyon, 1997; Roger 1998). Εν ολίγοις, αναγκαία είναι η ανανέωση της ατμόσφαιρας του θαλάμου ωρίμανσης, μια τακτική που έχει εφαρμοστεί σε αντίστοιχες πειραματικές μελέτες (Leclercq-Perlat et al., 2013; Leclercq-Perlat et al., 2012; Leclercq-Perlat et al., 2015).

5. Οργανοληπτικός έλεγχος

Ο οργανοληπτικός έλεγχος των τυριών αποτελεί ένα σημαντικό εργαλείο, το οποίο συμβάλλει στην εκτίμηση της πιθανής επίδρασης των εναρκτηρίων καλλιεργειών και καλλιεργειών ωρίμανσης η' και της υπολοίπης μικροχλωρίδας στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά αυτών.

Η οργανοληπτική αξιολόγηση των δύο τυριών (A και B) της παρούσας μελέτης πραγματοποιήθηκε από την πειραματική ομάδα εργασίας (5 άτομα). Ο οργανοληπτικός έλεγχος γινόταν σε κάθε δειγματοληψία μετά την 7η ημέρα ωρίμανσης, χρόνος κατά τον οποίο ήταν εμφανής η ανάπτυξη των επιφανειακών μυκηλίων ωρίμανσης στο τυρί A. Η δομή και η γεύση τόσο των δειγμάτων (B) όσο και των δειγμάτων (A) την 7^η ημέρα δειγματοληψίας ήταν παρόμοια, με υφή κρεμώδη και υπόξινη επίγευση, δεδομένου ότι δεν είχε συντελεστεί ακόμα η πλήρης πρωτεολυτική δράση των μυκήτων και εντέλει δεν είχαν διαφοροποιηθεί τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των δειγμάτων (A). Εντούτοις, στην επιδερμίδα των δειγμάτων (A) ήδη από την 4^η ημέρα ωρίμανσης είχε αρχίσει να αναπτύσσεται ο *G. candidum* σχηματίζοντας χαρακτηριστικό λευκό μυκήλιο ενώ την 7^η ημέρα η ανάπτυξη του *P. candidum* ήταν εμφανής. Την 19^η ημέρα δειγματοληψίας στη περίπτωση των δειγμάτων (A) η συνεργειστική δράση των *G. candidum* και *P. candidum* ευνόησε την παραγωγή μεταβολικών προϊόντων τα οποία προσέδωσαν ιδιαίτερα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά με κυρίαρχη τη γεύση της αμμωνίας. Η δομή των δειγμάτων (A) σε σύγκριση με των (B) διέφερε σημαντικά κυρίως ως προς τη συνεκτικότητα τους, καθώς λόγω της έντονης πρωτεόλυσης ήταν πιο μαλακά. Τα δείγματα των τυριών B παρουσίασαν εμφανή επιφανειακή αλλοίωση με ζύμες και μύκητες με αποτέλεσμα να μην δοκιμασθούν.

Συμπερασματικά, τα δείγματα (A) σε αντίθεση με τα (B) χαρακτηρίστηκαν τόσο για τα επιθυμητά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά τους με ευχάριστη πικάντικη γεύση, λόγω της εκτεταμένης πρωτεόλυσης, όσο και για τον μεγαλύτερο χρόνο διατήρησης λόγω της προστατευτικής δράσης των καλλιεργειών επιφανειακής ωρίμανσης.



Εικόνα 2: Τα δείγματα (Α) και (Β) κατά τη διάρκεια των δειγματοληψιών. α. Δείγμα (Α) τη 19^η ημέρα μετά την τυροκόμηση, β. Εσωτερικό δείγματος (Α) τη 19^η ημέρα μετά την τυροκόμηση, γ. Δείγματα (Α) την 4^η ημέρα μετά την τυροκόμηση, δ. Επιμόλυνση δείγματος (Β) τη 19^η ημέρα μετά την τυροκόμηση, ε. Δείγμα (Α) την 7^η ημέρα μετά την τυροκόμηση, στ. Σύγκριση εσωτερικού δειγμάτων (Α) και (Β) 2 μήνες μετά την τυροκόμηση, ζ. Επιδερμίδα δείγματος (Α) την 7^η ημέρα μετά την τυροκόμηση, η. Εσωτερικό δείγματος (Α) 2 μήνες μετά την τυροκόμηση.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η παρούσα μελέτη αποτέλεσε μια προσπάθεια παρασκευής αίγειου τυριού, με διαφορετικά χαρακτηριστικά από τα τυριά που κυκλοφορούν στην Ελληνική αγορά please specify the difference, αλλά και αξιοποίησης του Ελληνικού αίγειου γάλακτος.

Τα συμπεράσματα που εξήχθησαν από τη συγκεκριμένη μελέτη είναι τα εξής:

- Η χρήση των εναρκτήριων οξυγαλακτικών καλλιιεργειών είχε τα επιθυμητά αποτελέσματα ως προς την ταχεία πτώση του pH από την 1^η ημέρα της τυροκόμησης.
- Η αυξημένη συγκέντρωση της υδατοδιαλυτής πρωτεΐνης στην περίπτωση των δειγμάτων (Α) διαμόρφωσε επιθυμητά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Το γεγονός αυτό μπορεί να αποδοθεί στο συνδυασμό της δράσης των πρωτεολυτικών και λιπολυτικών ενζύμων των μυκήτων και της ιδιαίτερης χημικής σύστασης του αίγειου γάλακτος. Ωστόσο, παράμετροι όπως η χαμηλή τιμή pH και η υγρασία του τυριού δε συμφωνούν με τη μέχρι τώρα δημοσιευμένη βιβλιογραφία.

Ωστόσο, παράμετροι όπως η χαμηλή τιμή pH και υγρασία του τυριού δε συνάδουν με τη μέχρι τώρα δημοσιευμένη βιβλιογραφία. Η διερεύνηση των συστατικών του κλάσματος της υδατοδιαλυτής πρωτεΐνης, του ρυθμού ανάπτυξης/ρυθμού θανάτου των μυκήτων, της κατανάλωσης του γαλακτικού οξέος και των συνθηκών ωρίμανσης (θερμοκρασία/σχετική υγρασία) είναι δυνατόν να συμβάλει στη βελτίωση και εξέλιξη του τελικού αποτελέσματος.

Επίσης, ιδιαίτερη προσοχή απαιτείται και ως προς τον τρόπο και το είδος της συσκευασίας καθώς από την στιγμή της συσκευασίας και έπειτα μειώνεται σημαντικά ο ρυθμός ανάπτυξης των μυκήτων. Απαραίτητη είναι η χρήση συσκευασίας τύπου μικροφίλμ με μικρές οπές έτσι ώστε να εισέρχεται οξυγόνο και να ενισχύεται η ανάπτυξη των μυκήτων.

Η θερμοκρασία, η διάρκεια ωρίμανσης καθώς και ο χώρος ωρίμανσης είναι εξίσου σημαντικοί παράμετροι. Σημαντικός είναι ο σωστός συνδυασμός θερμοκρασίας και σχετικής υγρασίας στο χώρο ωρίμανσης έτσι ώστε να είναι εφικτή η ανάπτυξη των μυκήτων, χωρίς όμως αυτή να επιταχύνεται. Η διάρκεια ωρίμανσης απαραίτητα θα πρέπει να είναι τουλάχιστον 12 ημέρες έτσι ώστε να εξασφαλίζεται η επαρκής ανάπτυξη του *Penicillium candidum*. Σημαντική παράμετρος είναι και ο χώρος ωρίμανσης καθώς στην ανάπτυξη των μυκήτων βοηθάει καθοριστικά η διαμόρφωση ενός θαλάμου στον οποίο θα ωριμάζουν αποκλειστικά τυριά με επιφανειακή ανάπτυξη μυκήτων έτσι ώστε να προυπάρχουν στο περιβάλλον.

Ξένα βιβλιογραφία

- Abd Alla, E.A.M., El-Shafei, K., Ibrahim, G.A., Sharaf, G.M., 1996. Changes in microflora and biogenic amines of some market processed cheeses during storage. *Egyptian Journal of Dairy Science* 24, 217–226.
- Abou-Eleinin, A. A. M., Ryser, E. T., Donnelly, C. W., 2000: Incidence and seasonal variation of *Listeria* species in bulk tank goat's milk. *Journal of Food Protection*, 63, 9: 1208–1213. ISSN 0362-028X
- Adda, J. 1984. FormatIOn de la flaveur. Page 330 *I n Le Fromage*. 2nd ed. A. Eck. ed. Lavoisier, Paris, France.
- Adda, J., Roger, S. & Dumont, J.P., 1973. In Flavor of Food and beverages, d. G. Charalambous & G.E. Inglett. Academic Press, New York, p. 65
- Adda, J., and J. P. Dumont. 1974. Les substances responsables de l'arome des fromages a pate molle. *Lait* 54: 1.
- Adour, L., Couriol, C., Amrane, A., Prigent, Y., 2002. Growth of *Geotrichum candidum* and *Penicillium camembertii* in liquid media in relation with the consumption of carbon and nitrogen sources and the release of ammonia and carbon dioxide. *Enzyme and Microbial Technology* 31, 533–542.
- Agostini, C., Carratu, B., Boniglia, C., Riva, E., Sanzini, F., 2000. Free amino acid content in standard infant formulas: comparison with human milk. *Journal of the American College of Nutrition* 19, 434–438
- Ahiko, K., Iwasawa, S., Ueda, M. & Miyata, N., 1981. Reports of Research Laboratory, Snow Brand Milk Products Co. Ltd, Vol. 77, p. 127.
- Al haj, O.A., Al Kanhal, H.A., 2010. Compositional, technological and nutritional aspects of dromedary camel milk. *International Dairy Journal* 20, 811–821.
- Alonso-Calleja, C., Carballo, J., Capita, R., Bernardo, A., Garcia-López, M.L., 2002. Changes in the microflora of Valdeteja raw goat's milk cheese throughout manufacturing and ripening. *LWT – Food Science and Technology* 35, 222–232.
- Aneja, R. and Hollis, W.H. 1983. Substrate specificity of the lipase from *Geotrichum candidum* Link Abstr. Paper Am. Chem. Soc. 186:129. (Abstr)
- Anifantakis, E. R. (1980). Scientific work of the Technology Institut for Nutrition. Plovdiv, Bulgaria, Tom, XXVII, CB1.
- Auberger, B., Lenoir, J., Berge`re, J.L., 1997. Caractérisation partielle des exopeptidases d'une souche de *Geotrichum candidum*. *Science des Aliments* 17, 655–670.
- Auberger, B., Bontals, M. & Lenoir, J. 1982. Proc. 21st Intern. Dairy Congr., Moscow, Vol. 1(2), p. 276.
- Aziza, M., and A. Amrane. 2006. Commensalism during submerged mixed culture of *Geotrichum candidum* and *Penicillium camemberti* on glutamate and lactate. *Process Biochem.* 41:2452–2457.
- Aziza, M., C. Couriol, A. Amrane, and R. Boutrou. 2005. Evidence for synergistic effects of *Geotrichum candidum* on *Penicillium camemberti* growing in cheese juice. *Enzyme Microb. Technol.* 37:218–224.

- Aziza, M.A., 2010: Present status of the goat populations and their productivity. *Lohmann Information*, 45(2):42
- Bandell, M., M.E. Lhotte, C. Marty-Teyssset, A. Veyrat, H. Prévost, V. Dartois, C. Divières, W. N. Konings, and J. S. Lolkema. 1998. Mechanism of the citrate transporters in carbohydrate and citrate cometabolism in *Lactococcus* and *Leuconostoc* species. *Appl. Environ. Microbiol.* 64:1594–1600.
- Barnett, J., Szwajowska, M., Litwinczuk, Z., Krol, J., 2011. Nutritional value and technological suitability of milk from various animal species used for dairy production. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 10, 291–302
- Barnett, J.A., Payne, R.W., Yarrow, D., 1990. *Yeasts: Characteristics and Identification*, 2nd ed. Cambridge University Press, Cambridge.
- Beresford, T.P., Fitzsimons, N.A., Brennan, N.L., Cogan, T.M., 2001. Recent advances in cheese microbiology. *International Dairy Journal* 11, 259–274.
- Bergere, J.-L., Rousseaux, P., Ducruet, P., Mocquot, G., and Hermier, J., 1969 *Bull. Techn. Inform.*, 239, 37, p.
- Berner, G., 1970. *Milchwissenschaft*, 25, 275.
- Berner, G., 1970. *Milchwissenschaft*, 26, 685.
- Bonaïti, C., M.-N. Leclercq-Perlat, E. Latrille, and G. Corrieu. 2004. Deacidification by *Debaryomyces hansenii* of smear soft cheeses ripened under controlled conditions: Relative humidity and temperature influences. *J. Dairy Sci.* 87:3976–3988.
- Boutrou, R., Kerriou, L., Gassi, J., 2005. Contribution of *Geotrichum Candidum* to the proteolysis of soft cheese. *International Dairy Journal*, 6
- Boutrou, R., Aziza, M., Amrane, A. 2006. Enhanced proteolytic activities of *Geotrichum Candidum* and *Penicillium camembertii* in mixed culture. *Enzyme and Microbial Technology*, 325-331.
- Callon, C., Duthoit, F., Delbès, C., Ferrand, M., Le Frileux, Y., De Crémoux, R., Montel, M.C., 2007. Stability of microbial communities in goat milk during a lactation year: molecular approaches. *Systematic and Applied Microbiology* 30, 547–560.
- Carmichael, J.W., 1957. *Geotrichum candidum*. *Mycologia* 49, 820 – 830.
- Caplice E. and Fitzgerald G. F. (1999) Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation, *International Journal of Food Microbiology* 50: 131- 149
- Caroli, A., Chiatti, F., Chessa, S., Rignanese, D., Bolla, P., Pagnacco, G., 2006. Focusing on the goat casein complex. *Journal of Dairy Science* 89, 3178–3187.
- Ceballos, L.S., Morales, E.R., de la Torre Adarve, M.G., Castro, J.D., Martinez, L.P., Sampelayo, M.R.S., 2009. Composition of goat and cow milk produced under similar conditions and analyzed by identical methodology. *Journal of Food Composition and Analysis* 22, 322–329
- Cerning, J., J. C. Gripon, G. Lamberet, and J. Lenoir. 1987. Les activités biochimiques utilisées en fromagerie. *Lait* 67:3.
- Chambers, T.L., Staruszkiewicz, W.F.J., 1978. Fluorometric determination of histamine in cheese. *Journal of Association of Official Analytical Chemists* 61, 1092–1097.
- Chen, C. C., and C. M. Wu. 1984. Studies on the enzymatic reduction of l-octen-3-one in mushroom (*Agaricus bisporus*). *J. Agric. Food Chem.* 32:1342

- Chianese, L., Garro, G., Nicolai, M. A., Mauriello, R., Ferranti, P., Pizzano, R., Cappuccio, U., Laezza, P., Addeo, F., Ramunno, L., Rando, A. and Rubino, R. (1993) *The nature of β -casein heterogeneity in caprine milk*. Lait, 73, 533-547
- Chilliard, Y., Ferlay, A., Rouel, J., Lamberet, G., 2003. A review of nutritional and physiological factors affecting goat milk lipid synthesis and lipolysis. Journal of Dairy Science 86, 1751–1770.
- Chin, S. F., Storkson, J. M., Albright, K. J., Cook, M. E. and Pariza, M. W. 1994. Conjugated linoleic acid is a growth factor for rats as shown by enhanced weight gain and improved feed efficiency. J. Nutr. 124: 2344–2349.
- Chopin, A. Organization and regulation of genes for amino acid synthesis in lactic acid bacteria. FEMS Microbiol. Rev. 1993. 12. 21-38
- Christensen, J. E., Dudley, E. G., Pederson, J. A., & Steele, J. L. 1999. Peptidases and amino acid catabolism in lactic acid bacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 76(1- 4), 217-46.
- Choisy, C., M. Desmazeaud, J. C. Gripon, G. Lamberet, and J. Lenoir. 2000. The biochemistry of ripening. Pages 82–151 in Cheesemaking: From Science to Quality Assurance. A. Eck and J. C. Gillis, ed. Lavoisier Publishing, Paris, France.
- Cleland, L. G., James, M. J., Neumann, M. A., D'Angelo, M., Gibson, R. A. (1992). Linoleate inhibits EPA incorporation from dietary fish-oil supplements in human subjects. Am. J. Clin. Nutr. 55:395–399.
- Cocaign-Bousquet, M., Garrigues, C., Loubiere, P., Lindley, N.D., 1996. Physiology of pyruvate metabolism in *Lactococcus lactis*. Antoine van Leeuwenhoek. 70, 253-267.
- Collier, A., Jackson, M., Dawkes, R.M., Bell D and Clarke BF (1988). Reduced free radical activity detected by decreased diene conjugates in insulin-dependent diabetic patients. *Diabetic Medicine* 5: 747–749.
- Collins, Y.F., McSweeney, P.L.H., & Wilkinson, M.G., 2003. Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: a review of current knowledge. *International Dairy Journal*, 13, 841–866.
- Cogan, T.M., 1981. Constitutive nature of the enzymes of citrate metabolism in *Streptococcus diacetylactis*. J. Dairy Res. 48, 489-495
- Cogan, T.M., O'Dowd, M., Mellerick, D., 1981. Effect of pH and sugar on acetoin production from citrate by *Leuconostoc lactis*. Appl. Environ. Microbiol. 41, 1-8.
- Cogan, T. M. 1987. Co-metabolism of citrate and glucose by *Leuconostoc* spp.: effects on growth, substrates and products. J. Appl. Bacteriol. 63:551– 558.
- Cortés, C., de la Fuente, R., Contreras, A., Sánchez, A., Corrales, J.C., Martínez, S., Orden, J.A., 2006. A survey of *Sa monella* spp. and *Campylobacter* spp. in dairy goat faeces and bulk tank milk in the Murcia region of Spain. Irish Veterinary Journal 59, 391–393.
- Cosentino, S., Fadda, M.E., Deplano, M., Mulargia, A.F., Palmas, F., 2001. Yeasts associated with Sardinian ewe's dairy products. International Journal of Food Microbiology 69, 53–58.
- Cook ME and Pariza M (1998). The role of conjugated linoleic acid (CLA) in health. *International Dairy Journal* 8: 459–462.
- Csapó, J., Salamon, S., 2009. Composition of the mother's milk. I. Protein contents, amino acid composition, biological value. A review. Acta Universitatis Sapientiae. Alimentaria 2, 174–195.

- Cupáková, Š., Pospíšilová, M., Karpíšková, R., Janštová, B., Vorlová, L., 2012. Microbiological quality and safety of goat's milk from one farm. *Acta Universitatis Agricul- turae et Silviculturae Mendelianae Brunensis* 60, 33–38.
- D'Amico, D.J., Donnelly, C.W., 2010. Microbiological quality of raw milk used for small- scale artisan cheese produc- tion in Vermont: effect of farm characteris- tics and prac- tices. *Journal of Dairy Science* 93, 134–147
- Dar, A., Animal Husbandry Statistics, 27 June 2012, www.theopendata.com
- De Figueroa, R. M., G. Cerutti de Guglielmono, I. L. Betino de Ca'rdenas, and G. Oliver. 1998. Flavour compound production and citrate metabolism in *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469. *Milchwissenschaft* 53:617–619.
- Deacon, J.W.: *Modern Mycology*, Blackwell Science, Oxford (1997).
- de Hoog, G.S., Smith, M.T.H., Gueho, E., 1998. *Galactomyces red head* & Malloch. In: Kurtzman, C.P., Fell, J.W. (Eds.), *The Yeasts, a Taxonomic Study*. Elsevier, Amsterdam, pp. 209 – 213.
- de Hoog, G.S., Smith, M.T.H., Gueho, E., 1986. A revision of the genus *Geotrichum* and its teleomorphs. *Studies on Mycology* 29, 1–131.
- Decker EA (1995). The role of phenolics, conjugated linoleic acid, carnosine, and pyrroloquinoline quinone as nonessential dietary antioxidants. *Nutrition Reviews* 53: 49–58.
- Delespaul G, Guéguen M, Lenoir J. La flore fongique superficielle des fromages de St-Nectaire et de Tomme de Savoie. *Rev Lait Frse.* 1973;325:715–729
- Delavenne, E., Mounier, J., Déniel, F., Barbier, G., Le Blay, G., 2012. Biodiversity of antifungal lactic acid bacte- ria isolated from raw milk samples from cow, ewe and goat over one-year period. *International Journal of Food Microbiology* 155, 185–190.
- Desmazeaud, M.J., Gripon, J.C., Le Bars, D. & Bergere, J.L., 1976. *Lait*, 56, 379
- Desmazeaud, N., Bazin, F., Gue'guen, M., 1997. Microbiological composition of raw milk from selected farms in the Camem- bert region of Normandy. *Journal of Applied Microbiology* 83, 53–58.
- Detmers, F.J.M.; Kunji E.R.S.; Lanfermeijer, F.C.; Poolman, B.; Konigs, W.N. Kinetics and specificity of peptide uptake by the oligopeptide transport system of *Lactococcus lactis*. *Biochemistry* 1998, 37, 16671-16679
- Devold, T.G., Nordbo, R., Langsrud, Th, Svenning, C., Brovold, M.J., Sorensen, E.S., Christensen, B., Adnoy, T., Vegarud, G.E., 2011. Extreme frequencies of α_{S1} -casein “null” variant in milk from Norwegian dairy goats – implications for milk composition, micellar size and renneting properties. *Dairy Science and Technology* 91, 39–51.
- Drinan, D. F., S. Tobin, and T. M. Cogan. 1976. Citric acid metabolism in hetero- and homofermentative lactic acid bacteria. *Appl. Environ. Micro- biol.* 31:481–486. Dugan , MER., Aalhus , JL., Kramer, Schaefer and JKG (1997). The effect of conjugated linoleic acid on fat to lean repartitioning and feed conversion in pigs. *Canadian Journal of Animal Science* 77: 723–725.
- Dumont, J. P., S. Roger, P. Cerf, and J. Adda. 1974. Etude des composes neutres volatils presents dans le Camembert. *Lait* 54:503.
- Dumont, J. P., S. Roger, P. Cerf, and J. Adda. 1974. Etude des composes neutres volatils presents dans le Camembert. *Lait* 54:503.

- Durgam VR and Fernandes G (1997) The growth inhibitory effect of conjugated linoleic acid on MCF-7 cells is related to estrogen response system. *Cancer Letters* 116: 121–130
- Durlu-O' zkaya, F., Ayhan, K., O' zkan, G., 2000. Biogenic amine determination in Tulum cheese by high performance liquid chromatography (HPLC). *Milchwissenschaft* 55, 27–28.
- Eigel, W.N., Butler, J.E., Ersntrom, C.A., Farrell Jr., H.M., Harwalkar, V.R., Jenness, R., Whitney, R. McL., 1984. Nomenclature of proteins in cow's milk: fifth revision. *Journal of Dairy Science* 67, 1599–1631.
- El-Din, M.Z., Shady, T.S.M., Ramadan, A.H.M., 2001. Quality of Roquefort cheese in relation to its ripening state and micro- biological aspects with special reference to biogenic amines and aflotoxins. *Arab Universities Journal of Agricultural Sciences* 9, 689 – 701.
- El Soda, M., Law, J., Tsakalidou, E., & Kalantzopoulos, G. 1995. Lipolytic activity of cheese-related microorganisms and its impact on cheese flavour. In G. Charalambous (Ed.), *Food flavors: generation, analysis and process influence* (pp. 1823–1847). Amsterdam, The Netherlands: Elsevier Science.
- Engel, E., 1986b. Hefen in Silagen und Rohmilch. *Milchwissenschaft* 41, 633–637.
- Engel, E., 1986c. Yeasts and moulds in feeds, raw milk and milk products. *Deutsche Molkerei-Zeitung* 107, 1286–1292.
- Farrell Jr., H.M., Brown, E.M., Hoagland, P.D., Malin, E.L., 2003. Higher order structure of the caseins. In: Fox, P.F., McSweeney, P.L.H. (Eds.), *Advanced Dairy Chemistry, Proteins*, vol. 1. third ed. Kluwer Academic, New York, pp. 203–231.
- Faticenti, F., Deiana, P., Farris, G.A., Soggia, G., 1979. Études microbiologiques sur le lait et le fromage de chèvre en Sardaigne. Note II: streptocoques, lactobacilles et leucococci. *Lait* 59, 387–400.
- Filteau, S., & Tomkins, A. (1994). Infant feeding and infectious disease, In A.F. Walker & B. A. Rolls (Eds.), *Infant nutrition* (pp. 143-162). London: Chapman and Hall
- Fletouris, D.J., Botsoglou, N.A., Psomas, I.E., Mantis, A.I., 1998. Rapid determination of cholesterol in milk and milk products by direct saponification and capillary gas chromatography. *Journal of Dairy Science* 81, 2833–2840.
- Fontecha, J., Peláez, C., Juárez, M., Requena, T., Gómez, C., Ramos, M., 1990. Biochemical and microbiological characteristics of artisanal hard goat's cheese. *Journal of Dairy Science* 73, 1150–1157
- Foschino, R., Invernizzi, A., Barucco, R., Stradiotto, K., 2002: Microbial composition, including the incidence of pathogens, of goat milk from the Bergamo region of Italy during a lactation year. *The Journal of Dairy Research*, 69, 2: 213–225. ISSN 0022-0299.
- Fox, P.F., Kelly, A.L., 2006. Review: indigenous enzymes in milk: overview and historical aspects – Part 1 & 2. *International Dairy Journal* 16, 500–532.
- Fox, P.F., Mc Sweeny, P., M Cogan, T., P Guinee, T., 2004: *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology: General Aspects*. Third Edition, Volume 1. Elsevier Academic Press, 290
- Fox, P.F., 1990. Glycolysis and related reactions during cheese manufacture and ripening. *Crit. Rev. Food Sci. Nurt.* 237-253
- Frisvad, J., Smedsgaard, J., Larsen, T., & Samson, R. (2004). Mycotoxins, drugs and other extrolites produced by species in *Penicillium* subgenus *Penicillium*. *Studies In Mycology*(49). 201-241.

- Gaborit, P., Menard, A., Morgan, F. Impact of ripening stains on the typical flavor of goat cheeses. *International Dairy Journal* 11, 315-325
- Galli, B., Martin, J., Silva, P., Porto, E., Spoto, M. Sensory quality of Camembert-type cheese: Relationships between starter cultures and ripening molds. *International Journal of Food Microbiology* 234, 71-75
- Garg, S.K., Mital, B.K., 1991. Enterococci in milk and milk products. *Crit. Rev. Microbiol.* 18, 15–45.
- Garrison, E.R., Holdar, M.A., 1961. Variation in cultures of *G. candidum* isolated from cream. *Journal of Dairy Science* 44, 972 (Abstract).
- Garrity G. M. & Holt J. G., (2001). The road map to the manual. In: Boone DR, Castenholz RW (eds.) *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Springer Verlag, New York.
- Gaucheron, F., 2005. The minerals of milk. *Reproduction and Nutrition Development* 45, 473–483.
- Gaucheron, F., 2011. Milk and dairy products: a unique micronutrient combination. *Journal of the American College of Nutrition* 30 (Suppl. 5), 400S–409S.
- Gaya, P., Saralegui, C., Medina, M., Nunez, M., 1996: Occurrence of *Listeria monocytogens* and other *Listeria* spp. in raw caprine milk. *Journal of Dairy Science*, 79, 11: 1936-1941. ISSN 0022-0302
- Gibson, G.R. & Roberfroid, M.B. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota. Introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition*, 125, 1401-1412.
- Gonzalez, J., Mas, M., Tabla, R., Moriche, J., Roa, I., Emilio Rebollo, J., Cáceres, P., 2003. Autochthonous starter effect on the microbiological, physicochemical and sensorial characteristics of Iborea goat's milk cheese. *Lait* 83, 193–202
- Gripon, J.C & Hermier, J., 1974. *Biochime*, 56, 1323.
- Gripon, J.C, 1977. *Biochimie*, 59, 679.
- Gripon, J.C., 1977. *Ann. Biol. Anim. Biochem. Biophys.*, 17, 283.
- Gripon, J.C., Auberger, B. & Lenoir, J., 1980. *Int. J. Biochem.*, 12, 451.
- Gripon, J.C. Mould-ripening cheeses. In: Fox PF, editor. *Cheese: chemistry, physics and microbiology, major cheese groups*, vol. 2. Glasgow: Chapman & Hall; 1993. p. 111–36.
- Gripon, J.C & Spinnier, H.E. Surface mould ripened cheeses. *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. Third edition-Volume 2: Major Cheese Groups*.
- Grill, H., S. Patton, and J. F. Cone. 1967. Degradation of S-methionine to methyl mercaptan in surface-ripened cheese. *J. Agric. Food Chem.* 15:392.
- Guéguen M, Delespaul G, Lenoir J. La flore fongique superficielle des fromages de St-Nectaire et de Tomme de Savoie. *Rev Lait Frse.* 1974;325:795–816.
- Guéguen, M., Schmidt, J.L., 1992. Les levures et *Geotrichum candidum*. In: Hermier, J., Lenoir, J., Weber, F. (Eds.), *Les Groupes Microbiens d'intérêt laitier*. CEIL, Paris, pp. 165–219.
- Guéguen, M., Jacquet, J., Allain-Garnier, M., Pineau, A., Kogbo, W., 1984. Sur les interactions microbiennes de *Geotrichum candidum* link. *Microbiologie, Aliments, Nutrition* 2, 139 – 152.
- Guéguen, M., Jacquet, J., 1982. Etudes sur les caractères culturels et la morphologie de *Geotrichum candidum* link. *Le Lait* 62, 625 – 644.

- Guéguen, M., Lenoir, J., 1975b. Aptitude de l'espèce *Geotrichum candidum* à la production d'enzymes protéolytiques. *Le Lait* 543, 145–162.
- Guéguen, M., Lenoir, J., 1976. Caractères du système protéolytique de *Geotrichum candidum*. *Le Lait* 557, 439–448.
- Guého, E., Tredick, J., Phaff, H.J., 1985. DNA relatedness among species of *Geotrichum* and *Dipodascus*. *Canadian Journal of Botanic* 63, 961–966.
- Guého, E., Buissière, J., 1975. Méthode d'identification biochimique de champignons filamenteux arthrospores appartenant au genre *Geotrichum* Link ex Pers. *Annales de Microbiologie (Institut Pasteur)* 126A, 483–500.
- Haenlein, G. C. (1984). Goat milk versus cow milk. In: Haenlein, G.F.W., Ace, D.L. (Eds.), *Extension Goat Handbook*. USDA Publ., Washington, DC, p. 1, E-1.
- Ha, Y. L., J. Storkson, and M. W. Pariza. 1990. Inhibition of benzo(a)pyrene-induced forestomach neoplasia by conjugated dienoic derivatives of linoleic acid. *Cancer Res.* 50:1097-1101.
- Hammes, W.P.; Vogel, R.F. The genus *Lactobacillus*. In *The General of Lactic Acid Bacteria*; Wood, B.J.B Holzapfel, W.H., Eds.; Chapman & Hall: London, 1995: 19-54.
- Hannan, Y., Guéguen, M., 1985. Activités endopeptidasiques du levain fongique *Geotrichum candidum* en fonction de sa croissance. *Science des Aliments* 5, 147–152.
- Hardy, J., J. Scher, H. E. Spinnler, E. Guichard, and J. C. Gripon. 2000. Physical and sensory properties of cheese. Pages 447–473 in *Cheesemaking: From Science to Quality Assurance*. A. Eck and J. C. Gillis, ed. Intercept Ltd., Andover, UK.
- Hatzikamari, M., Litopoulou-Tzanetaki, E., Tzanetakis, N. 1999. Microbiological characteristics of Anevato: a traditional Greek cheese. *Journal of Applied Microbiology*, 87, 595-601.
- He, S., Ma, Y., Wang, J., Li, Q., Yang, X., Tang, S., Li, H., 2011. Milk fat chemical composition of yak breeds in China. *Journal of Food Composition and Analysis* 24, 223–230
- Hemme, D., Bouillanne, C., Metro, F., Desmazeaud, M., 1982. Microbial catabolism of amino acids during cheese ripening. *Science des Aliments* 2, 113–123.
- Hendra, T.J., Wickens, D.G., Dormandy TL and Yudkin JS (1991). Platelet function and conjugated diene concentrations in diabetic and non-diabetic survivors of acute myocardial infarction. *Cardiovascular Research* 25: 676–683.
- Henneber, W. Zur Kenntnis de Milchsäurebakterien der Brennerei-Maische, der Milch, des Bieres, des Presshefe, der Melasse, des Sauerkohls, der sauren Gurken und des Sauerteigs; sowie einige Bemerkungen über die Milchsäurebakterien des menschlichen Magens. *Zentbl. ParasitKde. Abt II* 1904, 11, 154-170
- Hilali, M., El-Mayda, E., Rischkowsky, B., 2011. Characteristics and utilization of sheep and goat milk in the Middle East. *Small Ruminant Research* 101, 92–101.
- Houseknecht, K.L., Vanden Heuvel, J.P., Moya-Camarena, S.Y., Portocarrero, C.P., Peck, L.W., Nickel KP and Belury MA (1998 b). Dietary conjugated linoleic acid normalizes impaired glucose tolerance in the Zucker diabetic fa/fa rat. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 244: 678–682.

- Hughenoltz, J., M. Kleerebezem, M. Starrenburg, J. Delcour, W. de Vos, and P. Hols. 2000. *Lactococcus lactis* as a cell factory for high-level diacetyl production. *Appl. Environ. Microbiol.* 66:4112–4114.
- Hughenoltz, J. 1993. Citrate metabolism in lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol. Rev.* 12:165–178.
- Hughenoltz, J., L. Perdon, and T. Abee. 1993. Growth and energy generation by *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis* during citrate metabolism. *Appl. Environ. Microbiol.* 59:4216–4222.
- Ingram, M., The lactic acid bacteria—a broad view. In *Lactic Acid Bacteria in Beverages and Food*; Carr, J.G, Cutting, C.V, Whiting, G.S, Eds.; Academic Press: London, 1975; 1-13.
- Innocente, N., d’Agostin, P., 2002. Formation of biogenic amines in a typical semi-hard Italian cheese. *Journal of Food Protection* 65, 1498–1501.
- Ip, C., and J. A. Scimeca. 1997b. Conjugated linoleic acid and linoleic acid are distinctive modulators of mammary carcinogenesis. *Nutr. Cancer* 27:131-135.
- Jahreis, G., Fritsche, J., Möckel, P., Schöne, F., Möller, U., Steinhart, H., 1999. The potential anticarcinogenic conjugated linoleic acid, cis-9, trans-11 C18:2, in milk of different species: cow, goat, ewe, cow, mare, women. *Nutrition Research* 19, 1541–1549.
- Jayamanne, V.S., Samarajeewa, U., 2001. Incidence and detection of *Listeria monocytogenes* in milk and milk products of Sri Lanka. *Tropical Agricultural Research* 13, 42–50.
- Jenness, R. (1980). Composition and Characteristics of Goat Milk: Review 1968-1979. *Journal of Dairy Science*, Vol. 63, No. 10.
- Jenness, R., Shipe, W., & Sherbon, J. (1979). In: Sebb, B.H., Johnson A.H., Alford, J.A. (Eds.), *Fundamentals of Dairy Chemistry*. A.V. Publishing Co., Westport, p. 402.
- Jolles, J. F., Schoentgen, F., Alais, C. and Jolles, P., (1972) *Studies on the primary structure of cow kappa-casein: the primary sequence of cow para-kappa-casein*. *Chimia*, 26, 645
- Jollivet, N., Chataud, J., Vayssier, Y., Bensoussan, M., Belin, J.M., 1994. Production of volatile compounds in model milk and cheese media by eight strains of *Geotrichum candidum* link. *Journal of Dairy Research* 61, 241–248.
- Joosten, H.M.L.J., 1988. The biogenic amine contents of Dutch cheese and their toxicological significance. *Netherland Milk Dairy Journal* 42, 25–42.
- Jordana, J., Amills, M., Diaz, E., Angulo, C., Serradilla, J.M., Sanchez, A., 1996. Gene frequencies of caprine α_{S1} -casein polymorphism in Spanish goat breeds. *Small Ruminant Research* 20, 215–221.
- Jorgensen, K., 1981. *Kieler Milchwirts. Forsh.*, 33, 289-297.
- Kandler, O. 1983. Carbohydrate metabolism in lactic acid bacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 49(3), 209-224.
- Kappeler, S.R., Farah, Z., Puhani, Z., 2003. 5’-Flanking regions of camel milk genes are highly similar to homologue regions of other species and can be divided into two distinct groups. *Journal of Dairy Science* 86, 498–508.
- Karahadian, C., D. B. Josephson, and R. C. Lindsay. 1985. Volatile compounds from *Penicillium* sp. contributing musty-earthy notes to Brie and Camembert cheese flavors. *J. Agric. Food Chem.* 33:339.
- Karahadian, C., D. B. Josephson, and R. C. Lindsay. 1985. Contribution of *Penicillium* sp. to

- the flavors of Brie and Camembert cheese. •J. Dairy Sci. 68:1865.
- Karahadian C, Lindsay RC. Integrated roles of lactate, ammonia, and calcium in texture development of mold surface-ripened cheese. J Dairy Sci 1987;70:909–18.
- Kennes, C., H. C. Dubourguier, G. Albagnac, and E.-J. Nyns. 1991. Citrate metabolism by *Lactobacillus plantarum* isolated from orange juice. J. Appl. Bacteriol. 70:380–384.
- Kimoto, H., M. Nomura, and I. Suzuki. 1999. Growth energetics of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis* in cometabolism of citrate and glucose. Int. Dairy. J. 9:857–863.
- Klaenhammer, T.R., 1993. Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. Biochimie. 70, 337-349.
- Kondyli, E., Svarnas, C., Samelis, J., Katsiari, M.C., 2012. Chemical composition and microbiological quality of ewe and goat milk of native Greek breeds. Small Ruminant Research 103, 194–199.
- Konuspayeva, G., Lemarie, E., Faye, B., Loiseau, G., Montet, D., 2008. Fatty acid and cholesterol composition of camel's (*Camelus bactrianus*, *Camelus dromedarius* and hybrids) milk in Kazakhstan. Dairy Science and Technology 88, 327–340.
- Kosikowski, F. Cheese and fermented milk foods. 1977, Ann Arbor Mich, Distributed by Edwards Bros.
- Kunji, E. R., Mierau, I., Hagting, A., Poolman, B., & Konings, W. N. 1996. The proteolytic systems of lactic acid bacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 70(2-4), 187-221.
- Kuzdzal, W., Kuzdzal-Savoie, S., 1966. Etude comparée des acides gras non volatils libres et estérifiés dans les fromages, pp. 335–342.
- Kuzdzal, W., Kuzdzal-Savoie, S., 1966. Proc. 17th Intern. Dairy Congr. , Munich, Vol. D2, p. 335.
- Kyozaire, J.K., Veary, C.M., Petzer, I-M. and Donkin, E.F. 2005 Microbiological quality of goat's milk obtained under different production system. , 69-71, Journal of the South African Veterinary Association
- Lamberet, G. & Lenoir, J., 1972. Lait, 52, 175.
- Lamberet, G. & Lenoir, J., 1976. Lait, 56, 119.
- Lamberet, G. & Lenoir, J., 1976. Lait, 56, 662.
- Lamberet, G. & Lopez, M., 1982, Proc. 21st Intern. Dairy Congr., Moscow, Vol. 1(1), p. 449
- Lamberet, G., B. Auberger, C. Canteri, and J. Lenoir. 1982. L'aptitude de *Penicillium caseicolum* à la dégradation oxydative des acides gras. Rev. Lait. Française 406:13.
- Larson, B. S. (1974). Lactation. vol. 4. Academic Press, New York, p. 1994.
- Law, B. A. (Ed), 1997. Microbiology and biochemistry of cheese and fermented milk. Second edition. Blackie academic & professional. London, UK.
- Law, B.A., 1979. J. Dairy Res., 46, 573-588
- Le Bars, D. & Gripon, J.C., 1981. J. Dairy Res., 48, 479.
- Leclercq-Perlat, M.N., Helias, A., Corrieu, G. 2013. *Short communication*: Little change takes place in Camembert-type cheese water activities throughout ripening in terms of relative humidity and salt. J. Dairy Sci. 96: 7521-7525

- Lee, KN., Kritchevsky D. and Pariza MW (1994). Conjugated linoleic acid and atherosclerosis in rabbits. *Atherosclerosis* 108: 19–25.
- Lemieux, L., and R. E. Simard. 1991. Bitter flavour in dairy products. I. A review of the factors likely to influence its development, mainly in cheese manufacture. *Lait* 71:599.
- Lemieux, L., and R. E. Simard. 1992. Bitter flavour in dairy products. II. A review of peptides from caseins: their formation, isolation and identification, structure masking and inhibition. *Lait* 72:355.
- Lenoir, J. & Choisy, C., 1970 *Lait*, 51, 138.
- Lenoir, J. & Auberger, B., 1977. *Lait*, 57, 164.
- Lenoir, J. & Auberger, B., 1977. *Lait*, 57, 471
- Lenoir, J. & Auberger, B. 1982. Proc. 21st Intern. Dairy Congr., Moscow, Vol. 1(2), p. 135.
- Lenoir, J., Auberger, B. & Gripon, J.C., 1979. *Lait*, 59, 244.
- Lenoir, J., 1984. *IDF Bulletin*, No. 171, p. 3.
- Lenoir, J. & Auberger, B., 1982. Proc. 21st Intern. Dairy Congr., Moscow, Vol. 1 (2), p. 336.
- Lenoir J. The surface flora and its role in the ripening of cheese. *Int Dairy Fed Bull* 1984; 171:3–20.
- Lenoir, J., G. Lamberet, J. L. Schmidt, and C. Tourneur. 1985. La maîtrise du bioréacteur Fromage. *Biofutur* 41:23–50.
- Lenoir J. The proteasic activity in Camembert type soft cheeses. *Rev Lait Fr* 1970;275:231–43.
- Leuschner, R.G.K., Hammes, W.P., 1998. Degradation of histamine and tyramine by *Brevibacterium linens* during surface ripening of Munster cheese. *Journal of Food Protection* 61, 874–878.
- Litthauer, D., Louw, C.H., Du Toit, P.J., 1996. *Geotrichum candidum* P-5 produces an intracellular serine protease resembling chymotrypsin. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology* 28, 1123–1130.
- Lohnis, F. Versuch einer Gruppierung der Milchsäurebakterien. *Zentbl. Bakt. ParasitKde. Abt. II* 1907, 18, 97-114
- Lucey JA, Fox PF. Importance of calcium and phosphate in cheese manufacture, a review. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1993;76:1714–
- Maes, M., Smith, R., Christophe, A., Cosyns, P., Desnyder, R., Meltzer, H. (1996). Fatty acid composition in major depression: decreased omega 3 fractions in cholesteryl esters and increased C20:4 omega 6/C20:5 omega 3 ratio in cholesteryl esters and phospholipids. *J. Affect Disord.* 38(1):35–46.
- Maes, M., Smith, R., Christophe, A., Vandoolaeghe, E., Van Gastel, A., Neels, H., Demedts, P., Wauters, A., Meltzer, H. Y. (1997). Lower serum high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) in major depression and in depressed men
- Maillard, V., Bougnoux, P., Ferrari, P., Jourdan, M.-L., Pinault, M., Lavillonniere, F. F., Body, G., Le, Floch, O., Chajes, V. (2002). n-3 and n-6 fatty acids in breast adipose tissue and relative risk of breast cancer in a case-control study in tours, France. *Int. J. Cancer* 98:78–83.

- Maragkoudakis, P. A., Miaris, C., Rojez, P., Manalis, N., Magkanari, F. Kalantzopoulos, G. and Tsakalidou, E. "Production of Traditional Greek Yoghurt Using *Lactobacillus* Strains with Probiotic Potential as Starter Adjuncts," *International Dairy Journal*, Vol. 16, No. 1, 2006, pp. 52- 60
- Marcellino, N., Beuvier, E., Grappin, R., Gue'guen, M., Benson, D.R., 2001. Diversity of *Geotrichum candidum* strains isolated from traditional cheesemaking fabrications in France. *Applied and Environmental Microbiology* 67, 4752–4759.
- Margarith, P.Z. 1981 Dairy products. Page 32 in *Flavor Microbiology*. C C Thomas, Springfield, IL.
- Martinez-Ferez, A., Rudloff, S., Guadix, A., Henkel, C.A., Pohlentz, G., Boza, J.J., Guadix, E.M., Kunz, C., 2006. Goats' milk as a natural source of lactose derived oligosaccharides: isolation by membrane technology. *International Dairy Journal* 16, 173–181.
- Martuscelli, M., Gardini, F., Mastrocola, D., Casacchia, T., Serio, A., Chaves Lopez, C., Shirone, M., Suzzi, G., 2004. Development of biogenic amines during ripening of bPecorino AbruzzeseQ cheese. Poster. In: Houdek, L., Galen, N. (Eds.), *IDF Symposium on Cheese. Ripening, Characterization and Technology*, p. 64 (Abstract).
- Mattick, A.T.R., Hirsch, A., 1947. Further observations on an inhibitory substance (nisin) from lactic streptococci. *Lancet*. 2. 5-7
- Mas, M., Tabla, R., Moriche, J., Roa, I., Gonzalez, J., Emilio Rebollo, J., Cáceres, P., 2002. Ibore goat's milk cheese: microbiological and physicochemical changes through out ripening. *Lait* 82, 579–587.
- Mas Mayoral, M., Timón Esteban, J., González Crespo, J., 1991. Queso de los ibores: Caracterization productiva, fisicoquima y micrionologica. *Archivos de Zootecnia* 40, 103–113.
- Mayer, H.K., Fiechter, G., 2012. Physicochemical characteristics of goat's milk in Austria-seasonal variations and differences between six breeds. *Dairy Science and Technology* 92, 167–177.
- Medhammar, E., Wijesmha-Bettoni, R., Stadlmayr, B., Nilsson, E., Charrondiere, U.R., Burlingame, B., 2012. Composition of milk from minor dairy animals and buffalo breeds: a biodiversity perspective. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 92, 445–474.
- McSweeney, P. L. H., & Sousa, M. J. 2000. Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheese during ripening: A review. *Lait*, 80, 293-324.
- Meena, B. S., Kapoor, K. N., Agarwal, R. K., 2000: Occurrence of multi-drug resistant *Bacillus cereus* in foods. *Journal of Food Science and Technology – Mysore*, 37, 3: 289–291. ISSN 0022-1155.
- Mehaia, M.A., Al-Kanhal, M.A., 1992. Taurine and other free amino acids in milk of camel, goat, cow and man. *Milchwissenschaft* 47, 351–353.
- Meisel, J.; Wolf, G.; Hammes, W.P. Heme-dependent cytochrome formation in *Lactobacillus maltraromicus*. *Syst. Appl. Microbiol.* 1994, 17, 20-23.
- Mercier, J. C., Brignon, G. and Ribadeau Dumas, B., (1973) *Structure primaire de la caséine κB bovine*. *Eur. J. Biochem.*, 35, 222-235
- Moatsou, G., Vamvakaki, A.-N., Molle, D., Anifantakis, E., Leonil, J., 2006. Protein composition and polymorphism in the milk of Skopelos goats. *Lait* 86, 345–357.
- Moatsou, G., Kandarakis, I. and Fournarakou, S. (2003) *Detection of bovine milk in caprine milk by Reversed-Phase HPLC of caseinomacropeptides*. *Milchwissenschaft*, 58, 274-277

- Modler, H.W., Brunner, J.R. & Stien, C.M., 1974. *J. Dairy Sci.*, 57, 523.
- Modler, H.W., Brunner, J.R. & Stien, C.M., 1974. *J. Dairy Sci.*, 57, 528
- Moioli, B., Pilla, F. and Tripaldi, C. (1998) *Detection of milk protein genetic polymorphism in order to improve dairy traits in sheep and goats: a review*. *Small Ruminant Research*, 27, 185-195
- Molimard P, Bouvier I, Vassal L, Spinnler HE. Growth of *Penicillium camemberti* and *Geotrichum candidum* in pure and mixed cultures on experimental mold ripened cheese of Camembert-type. *Lait* 1995;75:3–16.
- Molimard, P., Lesschaeve, I., Bouvier, I., Vassal, L., Schlich, P., Issanchou, S., Spinnler, H.E., 1994. Amertume des fractions azotées de fromages à pâte molle de type camembert: rôle de l'association de *Penicillium camemberti* avec *Geotrichum candidum*. *Le Lait* 74, 361–374.
- Mor-Mur, M., Carretero, C., Pla, R., Guamis, B., 1994. Microbiological changes during ripening of Cendrat del Montsec, a goat's milk cheese. *Food Microbiology* 11, 177–185
- Morgan, F., Massouras, T., Barbosa, M., Roseiro, L., Ravasco, F., Kandarakis, I., Bonnin, V., Fistakoris, M., Anifantakis, E., Jaubert, G., Raynal-Ljutovac, K., 2003. Characteristics of goat milk collected from small and medium enterprises in Greece, Portugal and France. *Small Ruminant Research* 47, 39–49
- Morishita, T.; Deguchi, Y.; Yajima, M.; Sakurai, T.; Yura, T. Multiple nutritional requirements of lactobacilli: genetic lesions affecting amino acid biosynthetic pathways. *J. Bacteriol.* 1981, 148, 64-71.
- Muehlherr, J. E., Zweifel, C., Corti, S., Blanco, J. E., Stephan, R., 2003: Microbiological quality of raw goat's and ewe's bulk-tank milk in Switzerland. *Journal of Dairy Science*, 86, 12: 3849–3856. ISSN 0022-0302.
- Naumova, E.S., Smith, M.T., Boekhout, T., de Hoog, G.S., Naumova, G.I., 2001. Molecular differentiation of sibling species in the *Galactomyces Geotrichum* complex. *Antonie van Leeuwenhoek* 80, 263–273.
- Ng'ambi, J.W., 2012: The role of goats in food supply, poverty alleviation and prosperity in Sub-Saharan Africa.
- Nicolosi, R. J., Rogers, E.J., Kretchevsky, D., Scimeca, J. A. and Huth, P. J. 1997. Dietary conjugated linoleic acid reduces plasma lipoproteins and early aortic atherosclerosis in hypercholesterolemic hamsters. *Artery* 22: 266-277.
- Noomen, A., 1983. *Neth. Milk Dairy J.*, 37, 229.
- Nunez, M., A. M. Guillen, M. A. Rodriguez-Marin, A. M. Marcilla, P. Gaya, and M. Medina. 1991. Accelerated ripening of ewes' milk Manchego cheese: The effect of neutral proteinases. *J. Dairy Sci.* 74:4108–4118.
- Olson, N. F., "The Impact of Lactic Acid Bacteria on Cheese Flavor," *FEMS Microbiology Reviews*, Vol. 87, No. 1-2, 1990, pp. 131-148.
- Orla-Jensen, S. *The Lactic Acid Bacteria*; Host and Son: Copenhagen, 1919.
- O'Quinn, PR., Nelssen, JL., Unruh, JA., Goodband, RG., Woodworth JC and Tokach MD (2000 a). Effects of feeding modified tall oil and supplemental magnesium on growth performance, carcass characteristics, and meat quality of growing-finishing gilts [abstract]. *Journal of Animal Science* 78 (Supplement 1): 157.

- Palles, T., Beresford, T., Condon, S., Cogan, T.M., 1998. Citrate metabolism in *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus plantarum*. *J. App. Microbiol.* 85, 147-154.
- Palmquist, D.L., 2006. Milk fat: origin of fatty acids and influence of nutritional factors thereon. In: Fox, P.F., McSweeney, P.L.H. (Eds.), *Advanced Dairy Chemistry, Lipids*, vol. 2. third ed. Springer, New York, pp. 43–92.
- Papageorgiou, D. K., Abraham, A., Bori M., Doundounakis, S., 1998: Chemical and bacteriological characteristics of Pichtogalo Chanion cheese and mesophilic starter cultures for its production. *Journal of Food Protection*, 61, 6: 688–692. ISSN 0362-028X.
- Park, Y., Juarez, M., Ramos, M., & Haenlein, G. (2007). Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*.
- Peet, M., Murphy, B., Shay, J., Horrobin, D. (1998). Depletion of omega-3 fatty acid levels in red blood cell membranes of depressive patients. *Biol. Psychiatry* 43(5):315–319.
- Perin, L.M., Nero, L.A., 2014. Antagonistic lactic acid bacteria isolated from goat milk and identification of a novel nisin variant *Lactococcus lactis*. *BMC Microbiology* 14, 1–9.
- Leclercq-Perlat, MN., Helias, A., Corrieu, G. (2013) *Short communication*: Little change takes place in Camembert-type cheese water activities throughout ripening in terms of relative humidity and salt. *J. Dairy Sci.* 96:7521–7525
- Leclercq-Perlat, M.-N., M. Sicard, I. C. Trelea, D. Picque, and G. Corrieu. 2012. Temperature and relative humidity influence the microbial and physicochemical characteristics of Camembert-type cheese ripening. *J. Dairy Sci.* 95:4666–4682.
- Pfeiler, E. A., & Klaenhammer, T.R., (2007). The genomics of lactic acid bacteria. *Trends Microbiol*, 15, 546-53.
- Pitt, J.I. (1979). *The genus Penicillium and its teleomorphic states Eupenicillium and Talaromyces*. Academic Press. ISBN 978-0-12-557750-2.
- Pikul, J., Wójtowski, J., 2008. Fat and cholesterol content and fatty acid composition of mare's colostrums and milk during five lactation months. *Livestock Science* 113, 285–290.
- Pirisi, A., Piredda, G., Papoff, C. M. di Salvo, R., Rintus, S., Garro, G., Ferranti, P. and Chianese, L. (1999β) *Effects of sheep alpha s-1 casein CC, CD and DD genotypes on milk composition and cheesemaking properties*, *J. Dairy Res.*, 66, 409-419
- Piton, C., and Richard, J., 1982. *Le lait*, 62, 67-74.
- Polychroniadou, A., Vafopoulou, A., 1985. Variation of major mineral constituents of ewe milk during lactation. *Journal of Dairy Science* 68, 147–150.
- Posati, L., & Orr, M. (1976.). *Composition of Foods, Dairy and Egg Products*,. Agriculture Handbook.USDA-ARS, Consumer and Food Economics Institute pp. 77–109.
- Postma, P. W., Lengeler, J. W., & Jacobson, G. R. 1993. Phosphoenolpyruvate: carbohydrate phosphotransferase systems of bacteria. *Microbiol Rev*, 57(3), 543-594.
- Potocnik, K., Gantner, V., Kuterovac, K., Cividini, A., 2011. Mare's milk: composition and protein fraction in comparison with different milk species. *Mljekarstvo* 61, 107–113
- Prillinger, H., Molnar, O., Eliskases-Lechner, F., Lopandic, K., 1999. Phenotypic and genotypic identification of yeasts from cheese. *Antonie van Leeuwenhoek* 75, 267–283.

- Raducuta, I., Custura, I., Tapaloaga, D., Marmandiu, A., 2010: Evolution of goat livestock and goat milk production in the EU in the period 1999-2009. Scientific Papers Series D, vol. LIII, Animal Science, Bucharest, 229-234.
- Rahimi, E., Ameri, M., Momtaz, H., 2010. Prevalence and antimicrobial resistance of *Listeria* species isolated from milk and dairy products in Iran. Food Control 21, 1448–1452.
- Ramos, M., Juarez, M., 2011. Sheep milk. In: Fuquay, J.W., Fox, P.F., McSweeney, P.L.H. (Eds.), Encyclopedia of Dairy Sciences, vol. 3. second ed. Academic Press, London, Amsterdam, pp. 494–502.
- Rassin, D., Sturman, J.A., Gaull, G.E., 1978. Taurine and other free amino acids in milk of man and other animals. Early Human Development 2, 1–13.
- Richard, J., 1981. J. Appl. Bacteriol., 50, 229-238.
- Richard, J. and Auclair, J., 1976. Staphylococci and their significance in foods. Elsevier Scientific Publishing Co., Amsterdam
- Richard, J., 1975. 20th Intern. Dairy Congres, Short Communications, 92-93
- Roberts, D., 1985: Microbiological aspects of goat's milk. A Public Health Laboratory Service survey. *The Journal of Hygiene*, 94, 1: 31–44. ISSN 0950-2688.
- Rogers, L.A., 1928. The inhibitory effect of *Streptococcus lactis* on *Lactobacillus bulgaricus*. J. Bacteriol. 16, 321-325.
- Ross A. and Vederas J. (2011) Fundamental functionality: recent developments in understanding the structure-activity relationships of lantibiotic peptides, *The Journal of Antibiotics* 64: 27-34
- Rystad, G. K. (1990). Effect of threonine and glycine on the acetaldehyde formation in goat's milk yoghurt. *J. Dairy Res.* 57, 401–411.
- Salimei, E., Fantuz, F., Coppola, R., Polidori, P., Varisco, G., 2004. Composition and characteristics of ass's milk. *Animal Research* 53, 67–78.
- Samson, R., Yilmaz, N., Houbraken, J., Spierenburg, H., Seifert, K., Peterson, S., et al. (2011). Phylogeny and nomenclature of the genus *Talaromyces* and taxa accommodated in *Penicillium* subgenus *Biverticillium*. *Studies in Mycology*(70). 159-183.
- Samson, R., Seifert, K., Kuijpers, A., Houbraken, J., & Frisvad, J. (2004). Phylogenetic analysis of *Penicillium* subgenus *Penicillium* using partial β -tubulin sequences. *Studies In Mycology*(49). 175-200.
- Sanz, Y., Toldrá, F., Renault, P., & Poolman, B. 2003. Specificity of the second binding protein of the peptide ABC-transporter (Dpp) of *Lactococcus lactis* IL1403. *FEMS Microbiol Lett*, 227, 33–38.
- Sarantinopoulos, P., Kalantzopoulos, G., Tsakalidou, E. 2001. Citrate metabolism by *Enterococcus faecalis* FAIR-E 229. *Appl Environ Microbiol* Dec; 67(12): 5482-7
- Sarkadi, L.S., Barath, A., Hodosi, E., 1996. Investigation of the formation of biogenic amines in cheeses. *Elelmeze si Ipar* 50, 51–55.
- Schaafsma, G., 2003. Nutritional significance of lactose and lactose derivatives. In: Roginski, H., Fuquay, J.W., Fox, P.F. (Eds.), Encyclopedia of Dairy Science. Academic Press, London, pp. 1529–1533.
- Schryver, H.F., Oftedal, O.T., Williams, J., Soderholm, L.V., Hintz, H.F., 1986. Lactation in the horse: the mineral composition of mare milk. *Journal of Nutrition* 116, 2142–2147.
- Schwartz, D.P. & Parks O.W., 1963. *J. Dairy Sci.*, 46, 1136.

- Selvaggi, M., Laudadio, V., Dario, C., Tufarelli, V., 2014. Major proteins in goat milk: an updated overview on genetic variability. *Molecular Biology Reports* 41, 1035–1048.
- Shankaranarayana, I., B. Raghavan, K.O. Abraham, and C. P. Natarajan. 1974. Volatile sulfur compounds in food flavors. *Crit. Rev. Food Technol.* 4:395.
- Sharpe, M.E. Identification of the lactic acid bacteria. In *Identification Methods for Microbiologists*. 2nd Ed.; Skinner, F.A., Lovelock, D.W., Eds.; Academic Press: London, 1979: 246-255.
- Sheng, Q., Li, J., Alam, M.S., Fang, X., Guo, M., 2008. Gross composition and nutrient profile of Chinese yak (Maiwa) milk. *International Journal of Food Science and Technology* 43, 568–572.
- Simos, E., Voutsinas, L.P., Pappas, C.P., 1991. Composition of milk of native Greek goats in the region of Metsovo. *Small Ruminant Research* 4, 47–60.
- Singh SK, Behre A, Singh MK. Diabetic retinopathy and microalbuminuria in lean type 2 diabetes mellitus. *J Assoc Physicians India*. 2001;49:439–41.
- Skeie, S.B., 2014. Quality aspects of goat milk for cheese production in Norway: a review. *Small Ruminant Research* 122, 10–17.
- Skeie, S.B., Inglingstad, R.A., Brunborg, L.J., Eknaes, M., 2014. The influence of the deletion in exon 12 of the gene encoding α_{s1} -casein (CSN1S1) in the milk of the Norwegian dairy goat breed on milk coagulation properties and cheese quality. *Small Ruminant Research* 122, 50–58.
- Skinner, F.A., Quensel, L.B., Eds.; Academic Press: London, 1978; 51-69.
- Smith, J. I., and J. A. Alford. 1969. Action of microorganisms on the peroxides and carbonyls of fresh lard. *J. Food Sci.* 34:75.
- Smith, M.T., de Cock, A.W., Poot, G.A., Steensma, H.Y., 1995. Genome comparisons in the yeastlike fungal galactomyces redhead et malloch. *International Journal of Systematic Bacteriology* 45, 826–831.
- Smith, M.T., Poot, G.A., de Cock, A.W., 2000. Re-examination of some species of the genus *Geotrichum* link. *Fr. Antonie van Leeuwenhoek* 77, 71–81.
- Soullignac, L., 1995. Propriétés des levures fromagères. Influence des sources de carbone utilisées sur leurs aptitudes à déacidifier les caillés et à former des composés d'arôme. PhD thesis INA- Paris-Grignon.
- Spinnler, H. E., O. Grosjean, and I. Bouvier. 1992. Effect of culture parameters on the production of styrene (vinyl benzene) and 1-octene-3-ol by *Penicillium caseicolum*. *J. Dairy Res.* 59:533.
- Starrenburg, M. J., and J. Hugenholtz. 1991. Citrate fermentation by *Lactococcus* and *Leuconostoc* spp. *Appl. Environ. Microbiol.* 57:3535–3540.
- Strzalkowska, N., Bagnicka, E., Jóźwik, A., Krzyżewski, J., 2008. Macro- and micro-elements' concentration in goat milk during lactation. *Züchtungskunde* 80, 404–411.
- Sun, W., Ghidini, S., Luo, Y., Zanardi, E., Ma, H., Ianieri, A., 2012. Macro and micro elements profile of yak (*Bos grunniens*) milk from Qilian of Qinghai plateau. *Italian Journal of Animal Science* 11, 180–183.
- Swaigood, H. E. (1992) *Chemistry of caseins*. In: *Advanced Dairy Chemistry-1: Proteins*. (edr P.F. Fox), Elsevier Science Publishers LTD, Essex, England, 63-110

- Sugano, M., Tsujita, A., Yamasaki, M., Noguchi M. and K Yamada (1998). Conjugated linoleic acid modulates tissue levels of chemical mediators and immunoglobulins in rats. *Lipids* 33: 521–527.
- Suguna, M., Bhat, R., Wan Nadiah, W.A., 2012. Microbiological quality evaluation of goat milk collected from small-scale dairy farms in Penang Island, Malaysia. *International Food Research Journal* 19, 1241–1245.
- Taha, N.M., Keilwein, G., 1990. Pattern of peptide-bound and free amino acids in camel, buffalo and ass milk. *Milchwissenschaft* 45, 22–25.
- Taufik, E., Hildebrandt, G., Kleer, J.N., Wirjantoro, T.I., Kreasukon, K., Zessin, K.H., Baumann, M.P.O., Pas- aribu, F.H., 2011. Microbiological quality of raw goat milk in Bogor, Indonesia. *Media Peternakan-Journal of Animal Science and Technology* 34, 105–111.
- Thiel, C.M., Huston, J.P., Schwarting, R.K., 1998. Hippocampal acetylcholine and habituation learning. *Neuroscience* 85, 1253–1262.
- Thomas, S.B., Hobson, P.M., Bird, E.R., King, K.P., Druce, R.G., and Cox, D.R., 1962. *J. Appl. Bacteriol.*, 25, 107-115.
- Twomey, A., and Crawley, W.E., 1969. *N.Z.J Dairy Technol.*, 3, 44-48.
- Thomas, S.B. and Thomas B.F., 1977. *Dairy Ind. Intern.*, 42, 19-25.
- Tripaldi, C., Martilloti, F., Terramoccia, S., 1998. Content of taurine and other free amino acids in milk of goats bred in Italy. *Small Ruminant Research* 30, 127–136.
- Tornadijo, M.E., Fresno, J.M., Sarmiento, R.M., Carballo, J., 1998. Study of the yeasts during the ripening process of Armada cheeses from raw goat's milk. *Le Lait* 78, 647–659.
- Trieu-Cuot, P., Archiere-Haze, M.J & Gripon, J.C., 1982. *J. Dairy Res.*, 49, 487
- Trieu-Cuot, P., Archiere-Haze, M.J & Gripon, J.C., 1982. *Lait*, 62, 234.
- Tsiplakou, E., Flemetakis, E., Kalloniati, Ch, Papadomichela- kis, G., Katinakis, P., Zervas, G., 2009. Sheep and goats differences in CLA and fatty acids milk fat content in relation with mRNA stearoyl-CoA desaturase and lipo- genic genes expression in their mammary gland. *Journal of Dairy Research* 76, 392–401.
- Uniake-Lowe, T., Hupertz, T., Fox, P.F., 2010. Equine milk proteins: chemistry, structure and nutritional signifi- cance. *International Dairy Journal* 20, 609–629.
- Vandamme P., Pot B., Gillis M., de Vos P., Kersters K. & Swings J., (1996). Polyphasic taxonomy, a Consensus Approach to Bacterial Systematics. Pp. 408-414. Laboratory of Microbiology, University of Gent, Gent, Belgium.
- Vamvakaki, A.-N., Zoidou, E., Moatsou, G., Bokari, M., Anifantakis, E., 2006. Residual alkaline phosphatase activity after heat treatment of ovine and caprine milk. *Small Ruminant Research* 65, 237–241
- Verraes, C., Claeys, W., Cardoen, S., Daube, G., De Zutter, L., Imberechts, H., Dierick, K., Herman, L., 2014. A review of the microbiological hazards of raw milk from animal species other than cows. *International Dairy Journal* 39, 121–130.
- Vincente-Soler, J., Gacto, M., 1991. Characterization of a neutral proteinase from *Geotrichum lactis* cells. *Microbios* 66, 157–171.

- Yamazi, A.K., Moreira, T.S., Cavicchioli, V.Q., Burin, R.C.K., Nero, L.A., 2013. Long cold storage influences the micro- biological quality of raw goat milk. *Small Ruminant Research* 113, 205–210
- Walstra, P., Wouters, J.T.M., Geurts, T.J. (Eds.), 2006. *Dairy Science and Technology*, second ed. Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL, USA.
- Wells, J.M., Spalding, D.H., 1973. Growth and infectivity of *Geotrichum candidum* in low oxygen and high carbon dioxide atmospheres. *Phytopathology* 63, 449.
- Wells, J.M., Spalding, D.H., 1975. Stimulation of *Geotrichum candidum* by low oxygen and high carbon dioxide atmospheres. *Phytopathology* 65, 1299–1302.
- Whitehead, H.R., 1933. A substanceinhibiting bacterial growth, produced by certain strains of lactic streptococci. *Biochem. J.* 27, 1793-1800.
- Wijesinha-Bettoni, R., Burlingame, B., 2013. Milk and dairy product composition. In: Muehlhoff, E., Bennett, A., McMahon, D. (Eds.), *Milk and Dairy Products in Human Nutrition*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, pp. 41–102.
- Wouters, J.T.M., Ayad, E.H.E., Hugenholtz, J., Smit, G., 2002. Microbes from raw milk for fermented dairy products. *International Dairy Journal* 12, 91–109.
- Wyder, M.T., 1998. Identification and characterisation of the yeast flora in Kefyr and smear ripened cheese. Contribution of selected yeasts to cheese ripening. PhD thesis Swiss Federal Institute of Technology, 1–152.
- Zárate, V., Belda, F., Pérez, C., Cardell, E., 1997. Changes in the microbial flora of Tenerife goats' milk cheese during ripening. *International Dairy Journal* 7, 635–641.
- Zhao, D., Bai, Y., Niu, Y., 2015. Composition and character- istics of Chinese Bactrian camel milk. *Small Ruminant Research* 127, 58–67.

Ελληνική Βιβλιογραφία

- Κυριακόπουλος, Π. Η τυροκομία στην πράξη. 1995, Αθήνα. Εκδοτικός Οίκος Τρίαινα
- Ανυφαντάκης, Ε. Τυροκομία. 1993, Αθήνα-Πειραιάς. Εκδόσεις Σταμούλη

Παράρτημα Ι

**Αποτελέσματα ικανότητας ανάπτυξης οξύτητας των στελεχών σε αίγριο
γάλα**

Πίνακας 26: Εξέλιξη της αναπτυσσόμενης οξύτητας των διαφόρων στελεχών σε αίγαιο γάλα

Χρόνος (h)	Στέλεχος μικροοργανισμού				
	<i>Lc. lactis</i> ACA-DC 1	<i>Lc. lactis</i> ACA-DC 57	<i>Lc. lactis</i> ACA-DC 156	<i>Lb. paracasei</i> 116	<i>Lb. paracasei</i> 129
0	6,555	6,565	6,545	6,475	6,5
3	6,405	6,155	6,22	6,39	6,41
6	6,2	4,805	5,695	6,235	6,19
9	5,875	4,365	5,365	5,9	5,88
12	5,735	4,295	5,255	5,55	5,65
24	5,35	4,125	4,835	4,2	5,155
48	4,915	3,89	4,455	3,735	4,675
72	4,53	4,015	4,355	3,67	4,275
96	4,505	4,025	4,31	3,615	4,05
120	4,255	4,025	4,33	3,59	4,055

Παράρτημα II

Πρόγραμμα καύσης N

Πίνακας 27: Πρόγραμμα καύσης ολικού N

Θερμότητα (°C)	Χρόνος (min)
200	20
220	20
240	20
260	20
280	20
300	20
320	20
340	20
400	45 (από την στιγμή που διαυγάσουν τα δείγματα)

Πίνακας 28: Πρόγραμμα καύσης υδατοδιαλυτού N

Θερμότητα (°C)	Χρόνος (min)
100	60
150	30
200	30
220	15
240	15
260	15
280	15
400	45 (από την στιγμή που διαυγάσουν τα δείγματα)

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙΙ

Αναλυτικά αποτελέσματα φυσικοχημικών αναλύσεων

Πίνακας 29: Μεταβολή του pH από την ημέρα της τυροκόμησης

Ημέρα	Δείγμα	
	A	B
0	6,61 ^e ±0,106	6,61 ^e ±0,106
1	4,21 ^{cd} ±0,106	4,20 ^{cd} ±0,106
7	4,27 ^d ±0,106	4,12 ^{bcd} ±0,106
19	3,95 ^{ab} ±0,106	3,93 ^a ±0,106
30	4,22 ^d ±0,106	4,03 ^{abc} ±0,106

Πίνακας 30: Μεταβολή της υγρασίας (%) κατά την ωρίμανση

Ημέρα	Δείγμα	
	A	B
1	87,23 ^d ±4,86	86,34 ^d ±4,86
7	56,47 ^{bc} ±4,86	57,95 ^c ±4,86
19	46,33 ^a ±4,86	48,89 ^{ab} ±4,86
30	47,69 ^a ±4,86	49,89 ^{abc} ±4,86

Πίνακας 31: Μεταβολή του λίπους επι ξηρού (%) κατά την ωρίμανση

Ημέρα	Δείγμα	
	A	B
7	39,04 ^{ab} ±11,91	36,45 ^a ±11,91
19	60,21 ^b ±11,91	53,31 ^{ab} ±11,91
30	54,91 ^{ab} ±11,91	51,27 ^{ab} ±11,91

Πίνακας 32: Μεταβολή της περιεκτικότητας σε αλάτι (%) κατά την ωρίμανση

Ημέρα	Δείγμα	
	A	B
7	1,15±0,25	1,20±0,25
19	1,32±0,25	1,56±0,25
30	1,60±0,25	1,37±0,25

Πίνακας 33: Μεταβολή της περιεκτικότητας σε αλάτι επι της υγρασίας (%) κατά την ωρίμανση

Ημέρα	Δείγμα	
	A	B
7	2,04 ^a ±0,751	2,08 ^a ±0,751
19	2,96 ^{ab} ±0,751	3,30 ^{ab} ±0,751
30	3,44 ^b ±0,751	2,74 ^{ab} ±0,751

Πίνακας 34: Μεταβολή της ολικής πρωτεΐνης (%) κατά την ωρίμανση

Ημέρα	Δείγμα	
	A	B
7	17,11 ^b ±2,284	16,71 ^b ±2,284
19	21,47 ^a ±2,284	18,94 ^{bc} ±2,284
30	21,20 ^c ±2,284	20,02 ^{bc} ±2,284

Πίνακας 35: Μεταβολή της υδατοδιαλυτής πρωτεΐνης (%) κατά την ωρίμανση

Ημέρα	Δείγμα	
	A	B
7	5,54 ^b ±0,614	1,90 ^a ±0,614
19	6,19 ^{bc} ±0,614	2,37 ^a ±0,614
30	7,24 ^c ±0,614	2,59 ^a ±0,614