

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΥΠΡΟΥ  
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΤΕΧΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΧΕΙΡΗΣΗΣ  
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ



## Πτυχιακή εργασία

### Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΥΤΙΑΣ ΣΥΝΖΙΜΕ ΣΕ ΣΚΛΗΡΟ ΤΥΡΙ ΩΡΙΜΑΝΣΗΣ

Αθανασία Μιχαήλ

Λεμεσός 2016



ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΥΠΡΟΥ  
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΤΕΧΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΧΕΙΡΗΣΗΣ  
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ  
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ, ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ  
ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

## **Πτυχιακή εργασία**

Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΥΤΙΑΣ CYNZIME® ΣΕ  
ΣΚΛΗΡΟ ΤΥΡΙ ΩΡΙΜΑΝΣΗΣ

Αθανασία Μιχαήλ

Σύμβουλος καθηγητής  
Δρ. Φώτης Παπαδήμας

Λεμεσός 2016

## **Πνευματικά δικαιώματα**

Copyright © Αθανασία Μιχαήλ, 2016

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All rights reserved.

Η έγκριση της πτυχιακής εργασίας από το Τμήμα Γεωπονικών Επιστημών, Βιοτεχνολογίας και Επιστήμης Τροφίμων του Τεχνολογικού Πανεπιστημίου Κύπρου δεν υποδηλώνει απαραίτητως και αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα εκ μέρους του Τμήματος.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τον επιβλέπον καθηγητή μου Δρ. Φώτη Παπαδήμα, ο οποίος μου ανέθεσε την παρούσα πτυχιακή διατριβή και με καθοδήγησε, στο να την αποδώσω με τον καλύτερο δυνατό τρόπο. Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω την κα. Μαρία Ασπρή για την βοήθεια που μου παρείχε κατά την διάρκεια της διεξαγωγής των πειραματικών διαδικασιών. Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να δώσω στον Global Marketing Manager Mr. Michael Fooker Jensen της εταιρίας CHR.Hansen ο οποίος μου έδωσε χρήσιμες πληροφορίες για την ολοκλήρωση της πτυχιακής μου διατριβής. Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τους γονείς μου, τα αδέρφια μου και τους φίλους μου που βρίσκονταν πάντα δίπλα μου και με στήριζαν αλλά και για την υπομονή και την κατανόηση που μου παρείχαν όλο αυτό το διάστημα συγγραφής της πτυχιακής μου διατριβής.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα εργασία γίνεται σύγκριση μεταξύ του τυριού από αιγινό γάλα που παρήγαμε εργαστηριακά με την πυτιά Cynzime® με το τυρί που παρήγαμε από την πυτιά CHY-MAX® Powder Plus NB και με πρότυπο σκληρό τυρί τύπου κεφαλογραβιέρας. Για να γίνει η σύγκριση αυτή εξετάστηκαν όλοι οι παράμετροι οι οποίοι μπορούν να επηρεάσουν την πήξη του γάλακτος, αλλά και πώς η ίδια η πυτιά μπορεί να την επηρεάσει. Επίσης μελετήθηκε αν η φυτική πυτιά Cynzime® μπορεί να επηρεάσει τα οργανοληπτικά, χημικά, μικροβιολογικά χαρακτηριστικά του τυριού, αλλά και την σύσταση του. Τέλος με βάση την σύγκριση που έγινε και τα αποτελέσματα που πάρθηκαν καταλήξαμε στο συμπέρασμα αν μπορεί η πυτιά αυτή να προωθηθεί στην αγορά και να παράγει σκληρά τυριά ωρίμανσης.

**Λέξεις κλειδιά:** [Cynzime®, CHY-MAX® Powder Plus NB, σκληρά τυριά ωρίμανσης, πυτιά, αιγινό γάλα, χημικά χαρακτηριστικά, οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, μικροβιολογικά χαρακτηριστικά, σύσταση, σύγκριση]

## **ABSTRACT**

In this project there's a comparison between the cheese from the goat milk, that is produced in factories with rennet Cynzime®, with the cheese that is produced with the rennet CHY-MAX® Powder plus NB used as a standard from the hard cheese of the type kefalogravieras. In order to compare them all the conditions were tested that can affect the freezing of the milk as well as the rennet that can affect them. Also, the vegetable rennet Cynzime® was studied to check if it can affect the organoleptic, chemical, microbiological characteristics of the cheese as well as the composition of it. Lastly, taking into consideration the comparison that was made and the results that were produced, we came to the conclusion to ask if that specific rennet can be promoted in the market and produce hard and mature cheeses.

**Keywords:** [Cynzime®, CHY-MAX® Powder Plus NB, hard mature cheeses, rennet, goat milk, chemical characteristics, microbiological characteristics, organoleptic characteristics, composition, compare]

# ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	iv
ABSTRACT .....	v
ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ .....	vi
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ .....	xi
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ .....	xiii
ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ.....	xiv
ΑΠΟΔΟΣΗ ΟΡΩΝ.....	xv
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	1
1.1    Αιγινό γάλα.....	1
1.1.1    Σύσταση αιγινού γάλακτος.....	1
1.1.2    Διατροφική αξία αιγινού γάλακτος .....	3
1.2    Προϊόντα γάλακτος.....	4
1.3    Πήξη του γάλακτος.....	5
1.3.1    Θερμοκρασία .....	6
1.3.2    Χρόνος.....	6
1.3.3    pH .....	6
1.3.4    Χλωριούχο ασβέστιο CaCl <sub>2</sub> .....	7
1.3.5    Πυτιά.....	7
1.3.6    Είδος γάλακτος.....	8
1.3.7    Υγιής κατάσταση ζώου.....	8
1.4    Πυτιά.....	9
1.4.1    Ζωικής προέλευσης .....	10
1.4.2    Φυτικής προέλευσης.....	10
1.4.2.1    Πυτιά αγριαγκινάρας Cynzime® .....	11



1.4.2.1.1	Ιστορικά.....	11
1.4.2.1.2	Σύσταση και ιδιότητες της πυτιάς Cynzime® .....	11
1.4.3	F.P.C.....	12
1.4.3.1	Σύσταση και ιδιότητες της πυτιάς CHY-MAX® Powder Plus NB.....	13
1.5	Καλλιέργειες.....	14
1.5.1	Οξυγαλακτικά βακτήρια.....	16
1.6	Σκληρό τυρί.....	17
1.6.1	Οργανοληπτικά/χημικά/микροβιολογικά χαρακτηριστικά .....	17
1.7	Διατροφική αξία .....	18
1.8	Ωρίμανση.....	20
1.8.1	Πρωτεόλυση .....	21
1.9	Οργανοληπτική εξέταση.....	22
1.9.1	Triangle test sensory.....	23
1.9.2	QDA test sensory ( Quantitative Descriptive Analysis).....	24
1.10	Χημικές αναλύσεις.....	25
1.10.1	Προσδιορισμός Υγρασίας.....	25
1.10.2	Μέτρηση pH.....	26
1.10.3	Μέτρηση αλατότητας .....	26
1.10.4	Προσδιορισμός λίπους.....	27
1.10.5	Ανάλυση πρωτεϊνών και εκτίμηση βαθμού πρωτεόλυση.....	27
1.11	Μικροβιολογικές αναλύσεις.....	28
2	Σκοπός.....	29
3	ΜΕΘΟΔΟΙ-ΥΛΙΚΑ .....	30
3.1	Προσδιορισμός δοσολογίας cynzime® πυτιάς σε αιγινό και αγελαδινό γάλα.....	30
3.1.1	Όργανα συσκευές-Σκεύη-Υλικά.....	30
3.1.2	Μεθοδολογία .....	30
3.1.3	Μέθοδος.....	31

3.2	Τυροκόμηση .....	34
3.2.1	Παρασκευή άλμης 20% .....	34
3.2.1.1	Όργανα συσκευές-Σκεύη-Υλικά.....	34
3.2.1.2	Μεθοδολογία .....	35
3.2.2	Παρασκευή 40% w/v CaCl <sub>2</sub> .....	35
3.2.2.1	Όργανα συσκευές-Σκεύη-Υλικά.....	35
3.2.2.2	Μεθοδολογία .....	35
3.2.3	Παρασκευή τυριού με την πυτιά CHY-MAX® Powder Plus NB.....	36
3.2.3.1	Όργανα συσκευές-Σκεύη-Υλικά.....	36
3.2.3.2	Διαδικασία παραγωγής.....	36
3.2.4	Παρασκευή τυριού με την πυτιά Cynzime® .....	37
3.2.4.1	Όργανα συσκευές-Σκεύη-Υλικά.....	37
3.2.4.2	Διαδικασία παραγωγής.....	38
3.2.5	Προσδιορισμός οξύτητα με ογκομετρική μέθοδο Dornic .....	39
3.2.5.1	Όργανα συσκευές-Σκεύη-Υλικά.....	39
3.2.5.2	Αρχή μεθόδου .....	39
3.2.5.3	Μέθοδος.....	39
3.2.6	Ηλεκτρομετρικός προσδιορισμός του pH του γάλακτος.....	40
3.2.7	Προσδιορισμός σύστασης γάλακτος με Lactostar.....	41
3.2.7.1	Αρχή μεθόδου .....	41
3.2.7.2	Πρόσθετα μήκη κύματος.....	41
3.2.7.3	Διασυνδέσεις.....	41
3.2.7.4	Χαρακτηριστικά συσκευής-Βαθμονόμηση.....	41
3.3	Υπολογισμός απόδοσης γάλακτος σε τυρί .....	41
3.4	Προσδιορισμός αλατότητας με τη μέθοδο Mohr .....	42
3.4.1	Όργανα συσκευές-Σκεύη-Υλικά.....	42
3.4.2	Αρχή μεθόδου.....	42
3.4.3	Μέθοδος.....	43
3.5	Προσδιορισμός στερεού υπολείμματος (Σταθμική μέθοδος ξήρανσης) .....	43
3.5.1	Όργανα συσκευές-Σκεύη-Υλικά.....	43
3.5.2	Αρχή μεθόδου.....	43

3.5.3	Μέθοδος.....	44
3.6	Ποσοτικός προσδιορισμός πρωτεϊνών με τη μέθοδο Bradford assay .....	44
3.6.1	Όργανα συσκευές-Σκεύη-Υλικά.....	44
3.6.2	Αρχή μεθόδου.....	45
3.6.3	Μέθοδος.....	45
3.7	Προσδιορισμός πρωτεόλυσης με την OPA-Method .....	45
3.7.1	Όργανα συσκευές-Σκεύη-Υλικά.....	45
3.7.2	Αρχή μεθόδου.....	46
3.7.3	Μέθοδος.....	46
3.8	Μέθοδος των τρυβλίων .....	47
3.8.1	Όργανα συσκευές-Σκεύη-Υλικά.....	47
3.8.2	Αρχή μεθόδου.....	47
3.8.3	Μέθοδος.....	47
3.9	QDA test.....	48
4	ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ ΡΟΗΣ ΣΚΛΗΡΟΥ ΤΥΡΙΟΥ.....	49
4.1	Διάγραμμα ροής σκληρού τυριού CHY-MAX® Powder Plus NB.....	49
4.2	Διάγραμμα ροής σκληρού τυριού με πυτιά Cynzime ®.....	50
5	Αποτελέσματα.....	54
5.1	Οξύτητα .....	54
5.2	pH.....	54
5.3	Σύσταση.....	55
5.4	Απόδοση γάλακτος σε τυρί.....	56
5.5	Αλατότητα τυριού.....	56
5.6	Υγρασία τυριού .....	57
5.7	Πρωτεΐνες .....	58
5.8	Πρωτεόλυση .....	59

5.9	Μικροβιολογία τυριού .....	61
5.10	Συνθήκες ωριμαντηρίου .....	62
5.11	Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (QDA test) .....	62
6	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ/ΣΥΖΗΤΗΣΗ .....	63
	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....	67
	ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ .....	70
	Παράρτημα Α: QDA test .....	70

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Χημική σύσταση (%) αιγινού γάλακτος (Sanz et al. 2009).....	2
Πίνακας 2: Πρωτεϊνικό κλάσμα (g/100g πρωτεΐνης) αιγινού γάλακτος (Sanz et al. 2009).....	2
Πίνακας 3:: Σύσταση μετάλλων (mg/ 100g γάλακτος) αιγινού γάλακτος (n=30) (Sanz et al. 2009).....	3
Πίνακας 4: Μέση περιεκτικότητα τυριού τύπου κεφαλογραβιέρα σε ανόργανα άλατα (Ανυφαντάκης 2004) .....	19
Πίνακας 5: οι διαφορετικές ποσότητες πυτιές cynzime® που χρησιμοποιήθηκαν (g/300ml γάλακτος) με διαφορετικό χρόνο πήξης σε αιγινό γάλα, σε θερμοκρασία 33 °C σε 4 δείγματα .....	31
Πίνακας 6: οι διαφορετικές ποσότητες πυτιές cynzime® που χρησιμοποιήθηκαν (g/300ml γάλακτος) με διαφορετικό χρόνο πήξης σε αιγινό γάλα, σε θερμοκρασία 33 °C σε 2 δείγματα .....	32
Πίνακας 7 : οι διαφορετικές ποσότητες πυτιές cynzime® που χρησιμοποιήθηκαν (g/300ml γάλακτος) με διαφορετικό χρόνο πήξης σε αγελαδινό γάλα με pH 6,8, σε θερμοκρασία 33 °C σε 8 δείγματα.....	32
Πίνακας 8: οι διαφορετικές ποσότητες πυτιές cynzime® που χρησιμοποιήθηκαν (g/300ml γάλακτος) με διαφορετικό χρόνο πήξης σε αιγινό γάλα, σε θερμοκρασία 33 °C σε 2 δείγματα με pH 6.63 και οι διαφορετικές ποσότητες πυτιάς cynzime® που χρησιμοποιήθηκαν (g/300ml γάλακτος).....	33
Πίνακας 9: Προσδιορισμός σύστασης αιγινού και αγελαδινού γάλακτος της 4ης μέρας.....	34
Πίνακας 10: Προσδιορισμός οξύτητας αιγινού γάλακτος για τα 2 τυριά επί τοις % γαλακτικού οξέος.....	54
Πίνακας 11: Μέτρηση pH νωπού αιγινού γάλακτος, του γάλακτος με την προσθήκη πυτιάς και του νορού γάλακτος, στα 2 διαφορετικά δείγματα. ....	54
Πίνακας 12: Σύσταση των 2 διαφορετικών δειγμάτων αιγινού γάλακτος με την χρήση Lacostar, σε πρωτεΐνες, λίπος, λακτόζη και ολικά στερεά άνευ λίπους (%).....	55

Πίνακας 13: Σύσταση των 2 διαφορετικών δειγμάτων νορού αιγινού γάλακτος με την χρήση Lacostar, σε πρωτεΐνες, λίπος, λακτόζη και ολικά στερεά άνευ λίπους (%).....	55
Πίνακας 14: Αρχική απόδοση γάλακτος και απόδοση γάλακτος μετά από 14 μέρες ωρίμανσης σε τυρί στα 2 δείγματα τυριών, control (CHY-MAX® Powder Plus NB και Cynzime®).....	56
Πίνακας 15: Περιεκτικότητα αλατιού (%) στο σκληρό τυρί Cynzime® και σε σκληρά τυριά τύπου κεφαλογραβιέρα.....	57
Πίνακας 16: Περιεκτικότητα υγρασίας (%) στο σκληρό τυρί Cynzime® και σε σκληρά τυριά τύπου κεφαλογραβιέρα.....	57
Πίνακας 17: Συγκέντρωση πρότυπου διαλύματος BSA (μg/ml) και η απορρόφηση του A (nm) για παρασκευή πρότυπης καμπύλης.....	58
Πίνακας 18: Περιεκτικότητα τυριού σκληρού τυριού Cynzime®, σκληρού τυριού CHY-MAX® Powder Plus NB, 30 ημερών ωρίμανσης και σκληρού τυριού τύπου κεφαλογραβιέρα σε πρωτεΐνες (mg/ 100 g τυριού).....	59
Πίνακας 19: Συγκέντρωση πρότυπου διαλύματος γλυκίνης σε γάλα (μg/ml) και η απορρόφηση του A (nm) για παρασκευή πρότυπης καμπύλης.....	59
Πίνακας 20: Περιεκτικότητα τυριού σκληρού τυριού Cynzime®, σκληρού τυριού CHY-MAX® Powder Plus NB, και σκληρού τυριού τύπου κεφαλογραβιέρα σε αμινοξέα (%) (g γλυκίνης/ 100 g τυριού).....	60
Πίνακας 21: Συγκέντρωση μικροοργανισμών μικροοργανισμών (cfu/g), ολική μικροχλωρίδα (OMX), οξυγαλακτικών βακτηρίων και μούχλα και μυκήτων σε σκληρό τυρί CHY-MAX® Powder Plus NB και σε σκληρό τυρί Cynzime®, .....	61
Πίνακας 22: Οι ημέρες ωρίμανσης, θερμοκρασία και η υγρασία χώρου, σε ιδανικές συνθήκες ωρίμανσης για παρασκευή σκληρού τυριού και στο εργαστήριο στο οποίο έγινε η ωρίμανση των πειραματικών τυριών.....	62

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ

Διάγραμμα 1 : Συμβολή τυτιάς και μικροβιακών ενζύμων στη δομή στη γεύση και στο άρωμα των τυριών, ( Με βέλος συμβολίζεται ο παράγοντας με τη μεγαλύτερη και με διακεκομένο με τη μικρότερη συμβολή στην πρωτεόλυση κατά στάδιο) (Ανυφαντάκης 2004) .....	22
Διάγραμμα 2: Ηλεκτρομετρικός προσδιορισμός του pH του γάλακτος .....	41
Διάγραμμα 3: Συσκευή Lactostar για το προσδιορισμό της σύστασης του γάλακτος Υπολογισμός απόδοσης γάλακτος σε τυρί .....	41
Διάγραμμα 4: διάγραμμα ροής σκληρού τυριού με CHY-MAX® Powder Plus NB τυτιά και τα CCP .....	49
Διάγραμμα 5: διάγραμμα ροής σκληρού τυριού με cynime® τυτιά με CCP .....	50
Διάγραμμα 6: παραγωγή τυριού .....	52
Διάγραμμα 7: Πρότυπη καμπύλη της συγκέντρωσης της πρωτεΐνης Bovine Serum Albumin (BSA) (μg/ml) σε συνάρτηση με την απορρόφηση της, A (nm).....	58
Διάγραμμα 8: Πρότυπη καμπύλη της συγκέντρωσης του αμινοξυ πρότυπου διαλύματος γλυκίνης σε γάλα (μg/ml) σε συνάρτηση με την απορρόφηση της, A (nm) .....	60
Διάγραμμα 9: Βαθμονόμηση οργανοληπτικών χαρακτηριστικών (cm) και η τυπική απόκλιση για το σκληρό τυρί Cynzime® .....	62

## ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

Π.Ο.Π: Προστατευόμενη Ονομασία Προέλευσης

ΕΚ: Ευρωπαϊκός κανονισμός



## ΑΠΟΔΟΣΗ ΟΡΩΝ

Flavour	Γεύση/Άρωμα
Cardosins	Καρδοσίνη, ένζυμο πυτιάς αγριαγκινάρας
Cyprosins	Κυπροσίνη ένζυμο πυτιάς αγριαγκινάρας
Cynarases	Κυναράσες, ένζυμο πυτιάς αγριαγκινάρας
FPC	Χυμοσίνη, παραγόμενη από γενετικά τροποποιημένους μικροοργανισμούς
SLBA	Οξυγαλακτικά βακτήρια εκκίνησης
NSLBA	Μη οξειγαλακτικά βακτήρια εκκίνησης
ISO	Διεθνής οργανισμός τυποποίησης
FAO	Διεθνής Οργάνωση Τροφίμων και Γεωργίας
QDA	Ποσοτική Περιγραφή Ανάλυσης
GRAS	Γενικά Αναγνωρισμένο Ως Ασφαλές
FDA	Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων
WHO	Διεθνής Οργανισμός Υγείας

# 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

## 1.1 Αιγινό γάλα

### 1.1.1 Σύσταση αιγινού γάλακτος

Υπάρχουν διάφορα είδη γάλακτος, μερικά και κυριότερα είναι το αγελαδινό, το πρόβειο και το αιγινό. Τα τελευταία χρόνια παρατηρείται μια παγκόσμια αύξηση παραγωγής του αιγινού γάλακτος και των προϊόντων του. Επίσης παρατηρήθηκε αύξηση παραγωγής αιγινού γάλακτος και στην Βόρεια Ευρώπη όπου αυτό αποδόθηκε στην έλλειψη εμπιστοσύνης των καταναλωτών αγελαδινού γάλακτος, μετά την διατροφική κρίση και την σπογγώδη εγκεφαλοπάθεια των βοειδών που παρουσιάστηκε. Αξίζει να αναφέρουμε ότι τα γαλακτοκομικά προϊόντα αιγινού γάλακτος αποτελούν μεγάλης σημασίας για την εθνική οικονομία πολλών χωρών, και ιδιαίτερα χωρών της Μεσογείου και Μέσης Ανατολής αλλά και άλλων χωρών. Η σύσταση του γάλακτος μπορεί να χαρακτηρίσει και το είδος του αν και υπάρχουν μεγάλες διαφορές ακόμη και σε γάλατα του ίδιου είδους. Το αιγινό γάλα μπορεί να διαφέρει η σύσταση του σημαντικά και αυτό εξαρτάται από πολλούς παράγοντες. Οι τρεις κύριοι παράγοντες, είναι η φυλή της αίγας, το στάδιο της γαλουχίας και η διατροφή του ζώου (Abbas et al. 2014). Μερικά συστατικά που αποτελούν την σύσταση του γάλακτος είναι τα χημικά συστατικά, οι πρωτεΐνες, τα λίπη και λιπαρά οξέα, τα μέταλλα, τα αμινοξέα και οι βιταμίνες. Τα χημικά συστατικά του γάλακτος αποτελούν τα ολικά στερεά, πρωτεΐνες, λίπη, τέφρα και λακτόζη. Γενικά το αιγινό γάλα, είναι ένα γάλα το οποίο παρέχει σχετικά υψηλότερο ποσοστό σε ολικά στερεά, πρωτεϊνών, λιπών και μέταλλα σε σύγκριση με το αγελαδινό, και όταν αυτές οι ουσίες εκφραστούν σε ξηρά ουσία εξακολουθεί να έχει μεγαλύτερο ποσοστό από αυτό του αγελαδινού γάλακτος (Sanz et al. 2009). Στο πίνακα 1 φαίνεται η χημική σύσταση του αιγινού γάλακτος.

**Πίνακας 1: Χημική σύσταση (%) αιγινού γάλακτος (Sanz et al. 2009)**

Χημική σύσταση	Περιεκτικότητα αιγινού γάλακτος (%)
Ολικά στερεά	13.57
Πρωτεΐνες	3.48
Λίπη	5.23
Τέφρα	0.75
Λακτόζη	4.11

Όσον αφορά τις πρωτεΐνες του αιγινού γάλακτος συγκριτικά με το αγελαδινό περιέχει μικρότερη ποσότητα από τις καζεΐνες, επομένως και το ποσοστό πρωτεΐνης ορού είναι μεγαλύτερος, γι' αυτό και έχουν μεγαλύτερη πεπτική αξιοποίηση οι πρωτεΐνες του αιγινού γάλακτος.

**Πίνακας 2: Πρωτεϊνικό κλάσμα (g/100g πρωτεΐνης) αιγινού γάλακτος (Sanz et al. 2009)**

Πρωτεΐνη	Περιεκτικότητα αιγινού γάλακτος (g/100g πρωτεΐνης)
Καζεΐνη (Cn)	82.70
$\alpha_{s1}$ -Cn	18.92
$\alpha_{s2}$ -Cn	8.52
$\beta$ + k-Cn	55.26
Πρωτεΐνες ορού γάλακτος	17.30

Αξιοσημείωτο είναι επίσης ότι η σύνθεση του γάλακτος ως προς τα λίπη και τα λιπαρά οξέα διαφέρουν ανάλογα με το είδος του γάλακτος. Τα κύρια λιπαρά οξέα του γάλακτος είναι τα κορεσμένα, βουτυρικό (C4:0), καπροϊκό (C6:0), καπρυλικό (C8:0), καπρινικό (C10:0), λαουρικό (C12:0), μυριστικό (C14:0), παλμιτικό (C16:0), στεατικό (C18:0) και τα ακόρεστα λιπαρά οξέα όπως το παλμιτελαϊκό (C16:1), ελαϊκό (C18:1), λινελαϊκό (C18:2), λινολενικό (C18:3) και άλλα πολυένια. Το αιγινό γάλα σε σχέση με το αγελαδινό περιέχει μεγαλύτερη αναλογία λιπαρών οξέων C8:0 – C14:0 (Καμινारीδης & Μοάτσου 2009) . Τα μέταλλα που περιέχονται στο αιγινό γάλα είναι το Ca, P, Mg, Fe, Cu και Zn με την αναλογία τους να φαίνεται στον πίνακα 3.

**Πίνακας 3:: Σύσταση μετάλλων (mg/ 100g γάλακτος) αιγινού γάλακτος (n=30) (Sanz et al. 2009)**

Στοιχεία	Σύσταση (mg/100g γάλα)
Ca	158.57
P	118.97
Mg	12.92
Fe	0.15
Cu	0.042
Zn	0.528

### **1.1.2 Διατροφική αξία αιγινού γάλακτος**

Το γάλα έκτοτε ήταν μεγάλης σημασίας για τον ανθρώπινο οργανισμό. Το αιγινό γάλα, είναι ένα γάλα με ειδική σύσταση, έτσι θεωρείται ως εξαιρετική πρώτη ύλη και εξαιρετικής ποιότητας για παρασκευή τροφίμων για βρέφη και ηλικιωμένους, αλλά και για πληθυσμό με ιδιαίτερες ανάγκες (Sanz et al. 2009). Από τα παλιά κιόλας χρόνια το αιγινό γάλα χρησιμοποιούταν παραδοσιακά για τις φαρμακευτικές του ιδιότητες. Το αιγινό μπορεί κάλλιστα να αντικαταστήσει το αγελαδινό γάλα και να είναι μία εναλλακτική λύση για άτομα τα οποία έχουν αλλεργίες στις πρωτεΐνες του αγελαδινού γάλακτος, αλλά και για άτομα με γαστρεντερικές διαταραχές. Όλα τα οφέλη που μπορεί να παρέχει το αιγινό γάλα στην υγεία του ανθρώπου μπορούν να αιτιολογηθούν με βάση την σύσταση του. Το αιγινό γάλα περιέχει μεγαλύτερη αναλογία λιπαρών οξέων C8:0 – C14:0 συγκριτικά με το αγελαδινό γάλα. Τα λιπαρά οξέα τα οποία περιέχονται στο αιγινό γάλα είναι τριγλυκερίδια μεσαίας αλύσου έτσι μπορεί να μειώσει την ολική χοληστερόλη επομένως και την ενδογενή χοληστερόλη και μπορεί να καθιερωθεί σε ιατρικές θεραπείες για μια σειρά κλινικών διαταραχών, όπως για παράδειγμα υποσιτισμό στα βρέφη, επιληψία, κ.ά. (Abbas et al. 2014). Γενικότερα το γάλα θεωρείται μια τροφή πλούσια σε μέταλλα, ιδιαίτερα όμως το αιγινό γάλα και σε σύγκριση με το αγελαδινό, θεωρείται ως ένα γάλα με καλύτερη θρεπτική αξία καθώς έχει μεγαλύτερες ποσότητες (mg/ g γάλακτος) Ca, P, K, Mg και Cl και μικρότερες ποσότητες Na και S, αλλά και γιατί τα μέταλλα τα οποία περιέχονται στο αιγινό γάλα μπορούν να αξιοποιηθούν

καλύτερα από τον οργανισμό (Sanz et al. 2009). Το αιγινό γάλα περιέχει σε σχέση με το αγελαδινό γάλα μικρότερο ποσοστό πρωτεϊνών. Επίσης η μέση σύνθεση των αμινοξέων στο αιγινό γάλα φαίνεται να έχει υψηλότερα επίπεδα των 6 από τα 10 απαραίτητα αμινοξέα απ' ό,τι το αγελαδινό που αυτό θα μπορούσε να δείξει τις ευεργετικές επιδράσεις του αιγινού γάλακτος στην ανθρώπινη διατροφή (Abbas et al. 2014). Όσον αφορά την σύσταση του αιγινού γάλακτος σε βιταμίνες έχει παρόμοια περιεκτικότητα με αυτή του ανθρώπινου γάλακτος, εκτός από την περιεκτικότητα του σε φολικό οξύ, βιταμίνη C και Ινοσιτόλη, που είναι σε χαμηλότερα επίπεδα. Επίσης το αιγινό γάλα έχει λιγότερη περιεκτικότητα σε Β6 και Β12 αλλά αυτό δεν παρουσιάζει διατροφικά προβλήματα και δεν παύει να είναι ένα γάλα με εξαιρετική μεγάλη θρεπτική αξία.

## 1.2 Προϊόντα γάλακτος

Η χρήση του αιγινού γάλακτος για παρασκευή διαφόρων γαλακτοκομικών προϊόντων συνεχώς αυξάνεται. Αν και η χρήση του αιγινού γάλακτος για παραγωγή γαλακτοκομικών προϊόντων είναι πολύ μικρότερη σε σύγκριση με το αγελαδινό, λόγω της σχετικά χαμηλής ημερήσιας παραγωγής του ιδιαίτερα στις χώρες τις Μεσογείου, έχει ένα πολύ σημαντικό ρόλο, λόγω της παράδοσης και της επιτυχημένης εμπορευματοποίησής των προϊόντων του. Επίσης το πλεονέκτημα που έχει ως προς την θρεπτική του αξία και την αντιαλλεργιογόνο δράση του, το καθιστά χρήσιμο αντικαθιστώντας το από το αγελαδινό γάλα, για παραγωγή προϊόντων εκτός από τυρί που είναι πιο σύνηθες να παρασκευάζεται από το αιγινό γάλα, και άλλα προϊόντα που τα έχουμε συνηθίσει να παρασκευάζονται από αγελαδινό, όπως παγωτά, γάλα ευαπορέ, κρέμα γάλακτος, βούτυρο, γάλα UHT, γάλα σε σκόνη και γιαούρτι (Pandya & Ghodke 2007). Για να μπορέσουν να ικανοποιηθούν οι προσδοκίες του καταναλωτή ως προς την ποιότητα, την θρεπτική αξία, την ασφάλεια και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του προϊόντος που θα παραχθεί, είναι απαραίτητο να εξασφαλιστεί ένα άριστης ποιότητας γάλα που να μπορεί να δεχθεί την τεχνολογική επεξεργασία. Άριστης ποιότητας γάλα συνεπάγεται με την καλή διαβίωση των ζώων, με το περιβάλλον και τις γεωργικές εκμεταλλεύσεις και τη γενική οργάνωση της παραγωγής (Ribeiro & Ribeiro 2010). Το λίπος είναι από τα πιο σημαντικά συστατικά του αιγινού γάλακτος, έτσι κάποια προϊόντα που μπορούν να παραχθούν και είναι πλούσια σε λίπος είναι η κρέμα γάλακτος, βούτυρο και το φρέσκο γάλα. Μπορεί επίσης να παραχθούν προϊόντα όπως τυρί, γιαούρτι, προϊόντα που έχουν υποστεί ζύμωση, παγωτό, συμπύκνωμα πρωτεΐνης ορού γάλακτος, συμπυκνωμένο γάλα και σκόνη γάλακτος και ροφήματα γάλακτος όπως αποστειρωμένο και UHT γάλα (Pandya & Ghodke

2007). Το τυρί είναι από τα πρώτα τρόφιμα που καταναλώθηκαν από τον άνθρωπο. Στην ιστορία καταγράφεται ότι το πρώτο τυρί κατασκευάστηκε από αιγινό γάλα χωρίς όμως κανείς να το γνωρίζει πραγματικά. Από το γάλα πρώτα παράγεται μαλακό τυρί και στη συνέχεια τυρί που ωριμάζει. Υπάρχουν αιγινά τυριά τα οποία μπορούν να παραχθούν με παστεριωμένο αλλά και τυριά με νωπό γάλα. Η παρασκευή αιγινού τυριού από νωπό αιγινό γάλα έχει απαγορευτεί για θέματα ασφάλειας, όπως για παράδειγμα λόγω βρουκέλλωσης. Η ζύμωση είναι μια διαδικασία η οποία αποτελείται από το μετασχηματισμό των απλών πρώτων υλών σε μια σειρά από προϊόντα προστιθέμενης αξίας, με την αύξηση και δράση των μικροοργανισμών. Το κεφίρ είναι ένα προϊόν ζύμωσης το οποίο είναι ένα παχύρευστο δροσιστικό ποτό, με υψηλή οξύτητα, ποικίλες ποσότητες αλκοόλ και διοξείδιο του άνθρακα. Το κεφίρ έχει πολλά ωφελεί για την υγεία, συνδέεται με την γενική ευημερία και συχνά είναι το πρώτο φαγητό για τα βρέφη μετά τον απογαλακτισμό τους στην Ανατολική Ευρώπη. Τα οφέλη που μπορεί να έχει είναι, να διεγείρει το ανοσοποιητικό σύστημα και να έχει θετικές επιδράσεις στο μεταβολισμό της χοληστερόλης. Γενικά στις αναπτυσσόμενες χώρες έχουν παραχθεί πολλά γάλατα τα οποία έχουν υποστεί ζύμωση. Το φρέσκο αιγινό γάλα είναι ένα πολύ θρεπτικό προϊόν με πολλά οφέλη. Επειδή το αιγινό γάλα είναι χαμηλό σε κάποιες βιταμίνες μπορούν να προστεθούν σε αυτό, όπως και να ενισχυθεί με κάποια μέταλλα και άλλα πρόσθετα και να μειωθεί το λίπος του. Με την μείωση του λιποπεριεκτικότητας, για παραγωγή γάλακτος με χαμηλότερα λιπαρά δίνεται η δυνατότητα συσσώρευσης του λίπους και παραγωγή άλλων προϊόντων όπως κρέμα γάλακτος, παγωτό ή άλλα προϊόντα με υψηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά (Ribeiro & Ribeiro 2010). Ο αιγινός ορός γάλακτος έχει υψηλά επίπεδα α λακταλβουμίνη σε σχέση με τον αγελαδινό ορό γάλακτος. Συνήθως απορρίπτεται και δίνεται στα ζώα ως συμπλήρωμα διατροφής, αλλά παράγονται και άλλα προϊόντα από το αιγινό ορό όπως αθλητικά συμπληρώματα κ.ά.

### **1.3 Πήξη του γάλακτος**

Η πήξη του γάλακτος είναι το αρχικό στάδιο για την παρασκευή πολλών γαλακτοκομικών προϊόντων, και είναι το χαρακτηριστικό για την παραγωγή πολλών τυριών. Με την πήξη του γάλακτος εννοούμε την πήξη της πρωτεΐνης με τον σχηματισμό ενός πλέγματος, στο οποίο εγκλωβίζεται το λίπος και τα άλλα συστατικά του γάλακτος. Η πήξη μπορεί να γίνει με διάφορους τρόπους και τεχνικές, όπως με αλκοόλες, οξέα, άλατα, θέρμανση, κατάψυξη, ακτινοβολία και ένζυμα. Η πήξη του γάλακτος στην τυροκομία μπορεί να γίνει με επιλεγμένα ένζυμα, δηλαδή με την πυτιά, που εφαρμόζεται στα περισσότερα τυριά, είτε με οξίνιση σε pH

4.6 όπου είναι το ισοηλεκτρικό σημείο της καζεΐνης και εφαρμόζεται στα φρέσκα τυριά όπως Cottage κ.ά., είτε με οξίνιση σε pH 5.2 σε συνδυασμό με θέρμανση κι αυτή η πρακτική εφαρμόζεται στα τυριά τυρογάλακτος (Μπίντσης & Παπαδήμας 2009). Η πήξη του γάλακτος και η σκληρότητα του τυροπήγματος επηρεάζονται από κάποιους παράγοντες, οι κυριότεροι παράγοντες είναι, η θερμοκρασία, ο χρόνος, το pH, το χλωριούχο ασβέστιο, η πυτιά, το είδος του γάλακτος καθώς και η υγιή κατάσταση του ζώου.

### **1.3.1 Θερμοκρασία**

Η θερμοκρασία είναι ένας πολύ σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει την πήξη του γάλακτος. Εάν το γάλα θερμανθεί σε πάρα πολύ ψηλές θερμοκρασίες, πάνω από 75 °C, τότε χάνει την ικανότητα πήξης του (Μπίντσης & Παπαδήμας 2009). Η θερμοκρασία που απαιτείται έτσι ώστε να επιτευχθεί η πήξη του γάλακτος και να σχηματιστεί το πλέγμα των πρωτεϊνών είναι μέχρι 45 °C, έχοντας όμως ως βέλτιστη θερμοκρασία πήξης 30-35 °C. Σε θερμοκρασίες κάτω από 15 °C η πήξη του γάλακτος δεν θα μπορεί να επέλθει ποτέ. Έτσι λοιπόν όπως μπορούμε να αντιληφθούμε, η θέρμανση του γάλακτος είναι καθοριστικός παράγοντας για την πήξη του (A.Law 1999).

### **1.3.2 Χρόνος**

Ο χρόνος πήξης είναι ο σημαντικότερος παράγοντας. Για την παρασκευή τυριών ο χρόνος πήξης πρέπει να είναι μεγαλύτερος από 60 λεπτά έτσι ώστε να παραχθεί ένα μαλακό τυρόπηγμα, με πολλή υγρασία, εύθραυστο και με υψηλές αποδόσεις. Όσο πιο σκληρό τυρί παραχθεί ο χρόνος πήξης γίνεται μικρότερος. Στα μαλακά τυριά άλμης, ο χρόνος πήξης κυμαίνεται γύρω στα 50 με 60 λεπτά, έτσι λοιπόν το τυρόπηγμα γίνεται συνεκτικότερο έχοντας λιγότερη υγρασία και δυνατότητα να ωριμάσει. Για τα ημίσκληρα και σκληρά τυριά, ο χρόνος πήξης είναι μικρότερος από 30 λεπτά και το τυρόπηγμα γίνεται συνεκτικό, με χαμηλή υγρασία και με χαμηλότερη όμως απόδοση (Μπίντσης & Παπαδήμας 2009).

### **1.3.3 pH**

Για να επέλθει η πήξη του γάλακτος, το pH του πρέπει να μειωθεί, όταν η τιμή του αυξηθεί έστω και ελάχιστα από την βέλτιστη, τότε ο χρόνος πήξης θα μεγαλώνει. Ενώ με pH μεγαλύτερο από 7,0 η πήξη μπορεί να μην επέλθει ποτέ, γι' αυτό άλλωστε, γάλα το οποίο επέρχεται από ζώα τα οποία υποφέρουν από μαστίτιδες, μπορεί να καθυστερήσει η πήξη του, όταν η πήξη γίνεται με την χρήση πυτιάς (Ανυφαντάκης 2004).

### 1.3.4 Χλωριούχο ασβέστιο $\text{CaCl}_2$

Το χλωριούχο ασβέστιο μπορεί να επηρεάσει την δεύτερη φάση της πήξης καθώς και την συνεκτικότητα του τυροπήγματος. Όταν η αναλογία ιόντων ασβεστίου στο γάλα είναι επαρκής τότε δεν είναι απαραίτητη η χρήση του, όταν όμως δεν υπάρχει ισορροπία των ιόντων τότε η προσθήκη του χλωριούχου ασβεστίου στο γάλα είναι απαραίτητη, ιδιαίτερα εάν γίνει παστερίωση στο γάλα, γιατί με την θέρμανση του σε πολύ ψηλές θερμοκρασίες ο χρόνος πήξης επιμηκύνεται και μειώνεται η περιεκτικότητά του σε ιόντα ασβεστίου. Έτσι λοιπόν σε τυριά τα οποία παράγονται από παστεριωμένο γάλα η προσθήκη χλωριούχου ασβεστίου μπορεί να αποφύγει τα μειονεκτήματα που μπορεί να επιφέρει η παστερίωση. Με τη παστερίωση του γάλακτος το τυρόπηγμα που παράγεται είναι πιο μαλακό και αδύνατο, και ο χρόνος δράσης της πυτιάς επεκτείνεται, καθώς επίσης, κατά το κόψιμο και διαίρεση του τυροπήγματος οι απώλειες είναι μεγαλύτερες, με αποτέλεσμα να δημιουργείται εύθρυπτο τυρόπηγμα, το φαινόμενο της συναίρεσης και η απόδοση του τυριού να είναι μειωμένη (Μπίντσης & Παπαδήμας 2009). Με την προσθήκη χλωριούχου ασβεστίου στο γάλα το pH θα μειωθεί, θα αυξηθούν τα ιόντα ασβεστίου και τα κολλοειδή φωσφορικού ασβεστίου, που συμβάλλουν στην γρηγορότερη πήξη με την πυτιά. Αν όμως οι ποσότητες χλωριούχου ασβεστίου που προστεθούν είναι πολύ μεγάλες τότε μπορεί να προκαλέσει ελαττώματα στο τυρί και του δώσει πικρή γεύση. Για κανονική πήξη η ποσότητα χλωριούχου ασβεστίου που θεωρείται επαρκής σύμφωνα με την βιβλιογραφία είναι 10-20g /100 L γάλα. Χλωριούχο ασβέστιο χρησιμοποιείται επίσης σε τυριά στα οποία κατά την παρασκευή τους προστίθεται στο γάλα νερό με αποτέλεσμα να μειώνεται το μέγεθος των μικκυλίων και να αυξάνεται η αναλογία διαλυτής καζεΐνης και να μεταφέρεται στο τυρόγαλα κατά την τυροκόμηση. Το χλωριούχο ασβέστιο σε αυτή την περίπτωση θα αυξήσει την καζεΐνη που υπάρχει στη μορφή μικκυλίων (Ανυφαντάκης 2004).

### 1.3.5 Πυτιά

Ο χρόνος πήξης όπως έχει αποδειχθεί είναι αντιστρόφως ανάλογος με την ποσότητα της πυτιάς που προστίθεται στο γάλα, όμως εάν οι ποσότητες αυτές είναι πολύ μικρές ή πολύ μεγάλες αυτό δεν ισχύει. Η σωστή ποσότητα πυτιάς στο γάλα είναι πολύ σημαντική γιατί εάν χρησιμοποιηθεί μικρότερη ποσότητα απ' όσο πρέπει είτε μεγαλύτερη τότε είναι δυνατόν να δημιουργήσει κάποια προβλήματα. Εάν λοιπόν οι ποσότητες είναι μικρότερες τότε δύναται να επιμηκυνθεί ο χρόνος πήξης, και ως αποτέλεσμα να αναπτυχθεί οξύτητα, το τυρόπηγμα να αυξηθεί σε ασβέστιο και φώσφορο και να επέλθει μερική αφαλάτωση του πήγματος. Στην



περίπτωση όμως που οι ποσότητες θα είναι μεγαλύτερες από το κανονικό τότε τα αποτελέσματα θα είναι αντίθετα. Θα επέλθουν κάποιες αλλαγές στο τυρί όπως την αλλαγή ως προς την διατροφική του αξία, και πολύ μεγάλες ποσότητες μπορούν επίσης να του δώσουν μια πικρή γεύση. Επίσης μπορεί να επηρεάσει και την στράγγιση του τυροπήγματος (Ανυφαντάκης 2004).

### **1.3.6 Είδος γάλακτος**

Το είδος γάλακτος σαφώς είναι ένας παράγοντας ο οποίος επηρεάζει την πήξη του, γάλα το οποίο παράγεται από διαφορετικά είδη ζώων ή ακόμα και φυλές έχουν διαφορετική σύσταση. Η σύσταση του γάλακτος είναι ο παράγοντας που επηρεάζει άμεσα την πήξη εφόσον χαμηλή περιεκτικότητα του γάλακτος σε καζεΐνη, άλατα ασβεστίου και φωσφόρου καθώς και μικρό μέγεθος των μικκυλίων καζεΐνης, ο χρόνος πήξης επιμηκύνεται. Όταν το γάλα έχει αυξημένη περιεκτικότητα σε καζεΐνες τότε η πήξη του γάλακτος είναι ταχύτερη εφόσον η απόσταση που έχουν να διανύσουν τα μικκύλια για να ενωθούν είναι μικρότερη (Ανυφαντάκης 2004).

### **1.3.7 Υγιής κατάσταση ζώου**

Τα ζώα είναι πολύ σημαντικό να ζουν σε έναν υγιή περιβάλλον και να τυγχάνουν ιδιαίτερη φροντίδα έτσι ώστε τα ζώα να είναι υγιή και να αποφεύγονται οι απώλειες τους τόσο σε ζώα όσο και γαλακτοπαραγωγής. Όταν ένα περιβάλλον είναι όσο το δυνατόν πιο στείρο από μικροοργανισμούς τόσο πιο δύσκολο θα είναι να ασθενήσουν τα ζώα. Η μαστίτιδα είναι μια ασθένεια που προσβάλλει τους μαστούς των ζώων και προκαλείται από διάφορους μικροοργανισμούς. Τα μικρόβια αυτά μεταδίδονται κατά το άρμεγμα ή αμέσως μετά, και με την είσοδο τους στον μαστό προκαλείται η μαστίτιδα. Οι μαστίτιδες προκαλούν μείωση της γαλακτοπαραγωγής, αλλοίωση της σύστασης του γάλακτος και αύξηση της παθογόνου μικροχλωρίδας του. Η υποκλινική μαστίτιδα στα ζώα υποβαθμίζει το γάλα τους, μειώνεται ποσοτικά και προκαλεί αλλοιώσεις στη χημική του σύσταση και στις τυροκομικές του ιδιότητες. Η συνολική περιεκτικότητα του γάλακτος σε πρωτεΐνες δεν αλλάζει, αλλά αυτό που αλλάζει είναι η αναλογία τους. Επίσης όσο αφορά τις αλλαγές στην σύσταση του γάλακτος που μπορεί να επιφέρει η μαστίτιδα είναι την μείωση αναλογίας, του λίπους (όχι πάντοτε), ασβεστίου, καλίου, ριβοφλαβίνης, καζεΐνης, α-λακταλβουμίνης και β-λακτογλοβουλίνης και αύξηση της αναλογίας καταλάσης, φωσφατάσης, χλώριου, νάτριου, οροαλβουμίνης, και ανοσογλοβουλινών. Ως συνέπεια αυτών των αλλαγών στην χημική σύσταση της αναλογίας του γάλακτος είναι η μείωση του στερεού του υπολείμματος, της απόδοσης του σε τυρί, ο ρυθμός σκλήρυνσης του τυροπήγματος και της τελικής

συνεκτικότητας του και την αύξηση του pH του, τη βραδεία ανάπτυξη των οξυγαλακτικών βακτηρίων σε αυτό, τη βραδεία πήξη του με την πυτιά, τη αργή στράγγιση του τυροπήγματος του και ως αποτέλεσμα την υποβάθμιση της ποιότητας των τυριών. Επίσης παρουσία αντιβιοτικών στο γάλα μπορεί να παρεμποδίσουν την ανάπτυξη των καλλιιεργειών με αποτέλεσμα να επηρεάσουν την πήξη, καθώς επίσης αναπαράγονται ανεπιθύμητα ζυμούμενα προϊόντα (Ανυφαντάκης 2004).

## 1.4 Πυτιά

Από πολλούς αιώνες πριν η πυτιά, χρησιμοποιούταν για την παρασκευή τυριών στις κτηνοτροφικές εκμεταλλεύσεις και παρασκευαζόταν από τους ίδιους τους κτηνοτρόφους. Η αύξηση ζήτησης πυτιάς λόγω δημιουργία πολλών τυροκομείων οδήγησε στην εμπορευματοποίηση της. Με τον όρο πυτιά εννοούμε όλα τα προϊόντα που υπάρχουν στο εμπόριο και χρησιμοποιούνται για την πήξη του γάλακτος κατά την παρασκευή τυριών. Σε διεθνές όμως επίπεδο η λέξη αυτή χρησιμοποιείται μόνο για τα προϊόντα που λαμβάνονται από την εκχύλιση από τα ήνυστρα των μη απογαλακτισμένων νεαρών μηρυκαστικών, και κυρίως μοσχαριών, και άλλα προϊόντα. Οποιαδήποτε άλλα προϊόντα τα οποία προέρχονται από άλλες πηγές και τηρούν κάποιες προϋποθέσεις από τον Οργανισμό Τροφίμων και Γεωργίας και την Διεθνή Ομοσπονδία Γάλακτος, μπορεί να χαρακτηριστεί ως υποκατάστατο της κλασσική πυτιάς. Οι προϋποθέσεις αυτές είναι οι εξής, πρέπει να είναι διαλυτό στο νερό, ώστε να εξασφαλίζεται εύκολα η ομοιόμορφη διασπορά του στο γάλα, να μην προσδίδει γεύσεις και οσμές στο τυρί και να επηρεάζονται τα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά, να μην είναι τοξικό, να μην έχει αντιβιοτική δράση, να μην έχει περιορισμένη πρωτεολυτική και λιπολυτική δράση, να μην δύναται να αλλάζει η αλληλουχία των φάσεων της τυροκόμισης όπως διαμορφώνεται με την πυτιά, να προκαλεί την πήξη υπό τα φυσικοχημικά δεδομένα του γάλακτος και τέλος οι ρεολογικές του ιδιότητες του τυροπήγματος, η πορεία της ωρίμανσης και η απόδοση σε τυρί να είναι παραπλήσιες εκείνων που λαμβάνονται με την πυτιά. Εκτός από την ενζυμική σύσταση της πυτιάς, δηλαδή την αναλογία χυμοσίνης/πεψίνης, πολύ σημαντική ιδιότητα της είναι η πηκτική της δύναμη. Η πηκτική δύναμη της πυτιάς οφείλεται κυρίως στο ένζυμο χυμοσίνη ή ρεννίνη, περιέχει όμως και άλλα ένζυμα σε πολύ μικρότερη αναλογία. Όσο μεγαλύτερη είναι η πηκτική της δύναμη και η αναλογία της χυμοσίνης, τόσο ψηλότερη είναι η ποιότητα και η αξία της. Ως πηκτική δύναμη

της τυτιάς ορίζεται από τα μέρη του γάλακτος που πήζει ένα μέρος της στους 35 °C σε 40min (Ανυφαντάκης 2004).

#### **1.4.1 Ζωικής προέλευσης**

Η τυτιά ζωικής προέλευσης μπορεί να παρασκευάζεται από διαφορετικούς ζωικούς ιστούς είτε από το ένζυμο πεψίνη των χοίρων, ορνίθων ή βοοειδών. Η πεψίνη των χοίρων εκκρίνεται από τα επιθηλιακά κύτταρα του στομάχου των χοίρων, υπό την ανενεργή μορφή του πεψινογόνου. Η πηκτική δύναμη της πεψίνης των χοίρων μειώνεται με πολύ ταχύτερο ρυθμό από αυτή της χυμοσίνης σε pH 6,3 με 6,8. Σε pH 6.8 και πάνω δεν επέρχεται πήξη στο γάλα από την πεψίνη των χοίρων, γι' αυτό κι όταν το γάλα δεν είναι πολύ καλής ποιότητας η πήξη αργεί να επέλθει, έτσι δημιουργείται ένα μαλακό τυρόπηγμα με μεγάλες απώλειες λίπους. Για να αποφευχθούν τα μειονεκτήματα τα οποία έχει η πεψίνη των χοίρων γίνεται η ανάμιξη της 50/50 με την κλασσική τυτιά. Η πεψίνη των ορνίθων προέρχεται από το στομάχι των ορνίθων, η χρήση της δεν είναι ευρέως διαδεδομένη και περιορίζεται στο Ισραήλ, αφού υποστηρίζεται μέσα από έρευνες ότι δεν είναι κατάλληλο ως υποκατάστατο της κλασσικής τυτιάς. Η πεψίνη των βοοειδών ή αλλιώς τυτιά των βοοειδών λαμβάνεται από το ήνυστρο μεγάλης ηλικίας ζώων, περιέχει κατά κύριο λόγο πεψίνη και σε μικρή αναλογία χυμοσίνη, η αναλογία τους είναι αντίστροφη από αυτή της κλασσικής τυτιάς. Η πηκτική δύναμη της πεψίνης των βοοειδών είναι παρόμοια με αυτή της πεψίνης των χοίρων, όμως διαφέρουν ως προς την συμπεριφορά τους στο pH. Σε αντίθεση με την πεψίνη των χοίρων που σε pH 6,3 καταστρέφεται πολύ γρήγορα η πεψίνη των βοοειδών δεν έχει αυτό το μειονέκτημα, ενώ είναι πιο σταθερή και μπορεί να πήξει το γάλα σε pH μέχρι και 6,9. Έτσι λοιπόν η πεψίνη βοοειδών, μπορεί να θεωρηθεί ως το καλύτερο υποκατάστατο τυτιάς (Ανυφαντάκης 2004)

#### **1.4.2 Φυτικής προέλευσης**

Οι περισσότερες εμπορικές τυτιές που χρησιμοποιούνται σήμερα είναι οι ανασυνδυασμένες και οι μικροβιολογικές τυτιές, μόνο το 20-30 % προέρχεται από φυτικές τυτιές. Η μείωση χρήσης της ζωικής τυτιάς και η σταθερή παγκόσμια αύξηση παραγωγής τυριών οδήγησε στη ζήτηση νέων υποκατάστατων τυτιάς και στην αναζήτηση νέων πηγών πρωτεασών, με τις ιδιότητες της κανονικής τυτιές. Οι πρωτεάσες είναι ένζυμα και λειτουργούν ως βοηθητικά μέσα επεξεργασίας γαλακτοκομικών προϊόντων (Mazorra-Manzano et al. 2013). Τα ένζυμα φυτικής προέλευσης έχουν δοκιμαστεί σε πειραματικό επίπεδο αλλά η εξέλιξη τους δεν ήταν θετική μιας και προκαλούν αυξημένη πρωτεόλυση και αυτό έχει ως αποτέλεσμα να έχουν χαμηλή απόδοση στα τυριά και να προσδίδει μια πικρή γεύση. Η μόνη τυτιά φυτικής

προέλευσης η οποία χρησιμοποιείται είναι αυτή που λαμβάνεται από τα άνθη του φυτού *Cynara cardunculus*. Η συγκεκριμένη πυτιά χρησιμοποιείται στην Πορτογαλία, και παρασκευάζεται από αυτή, τυριά με Προστατευόμενη Ονομασία Προέλευσης όπως και το τυρί Sierra da Estrella (Ανυφαντάκης 2004).

#### **1.4.2.1 Πυτιά αγριαγκινάρας Cynzime®**

##### ***1.4.2.1.1 Ιστορικά***

Αποξηραμένα λουλούδια αγριαγκινάρας *Cynara cardunculus L.* και *Cynara humillis L.* χρησιμοποιούνταν για αιώνες στην Ιβηρική χερσόνησο για την παρασκευή ορισμένων ποικιλιών τυριών που έχουν κρεμώδη απαλή υφή και εξαιρετική γεύση. Οι ασπαρτικές πρωτεάσες cardosins και cyprosin οι οποίες μπορούν να λέγονται και cynarases είναι οι κύριες πρωτεάσες που εκχυλίζονται από την αγριαγκινάρα και σε αυτές οφείλεται η πήξη του γάλακτος (Mazorra-Manzano et al. 2013). Η Cynzime® πυτιά είναι μια νέα πυτιά η οποία εγκρίθηκε για χρήση της από την Η.Π.Α και τον Καναδά (Enzyme Development Corporation 13AD). Τυριά από πρόβειο γάλα με Προστατευόμενη Ονομασία Προέλευσης όπως τα Πορτογαλικά Serra da Estella, Serpa και τα Ισπανικά La Serena και Manchego χρησιμοποιούν σήμερα cyprosin, το ένζυμο πήξης του γάλακτος της Cynzime® για την παραγωγή τους. Τα τυριά αυτά εκτιμώνται ιδιαίτερα για την μοναδική τους γεύση και άρωμα. Μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί η πυτιά αυτή και για παραγωγή τυριών, τυριών κρέμας, Gouda, Cheddar, Romano, και άλλα. Η Cynzime® είναι μια συμπυκνωμένη, τυποποιημένη πυτιά προέρχεται από τα άνθη *Cynara cardunculus L.*, και από σχετικές ποικιλίες των thistle που καλλιεργούνται και αναπτύσσονται σε άγριες περιοχές της Μεσογείου και χρησιμοποιούνται ως πηγή ενζύμου πήξης γάλακτος και παραγωγής τυριών από πρόβειο γάλα, κ.ά.. Η τεχνολογία που έχει αναπτυχθεί για ένα πιο ομοιόμορφο και τυποποιημένο προϊόν, το καθιστά χρήσιμο για παραγωγή μιας ευρείας ποικιλίας τυριών (FDA 2014).

##### ***1.4.2.1.2 Σύσταση και ιδιότητες της πυτιάς Cynzime®***

Η παραγωγή της cyprosin γίνεται με την βελτιωμένη διαδικασία εκχύλισης του ενζύμου από τα λουλούδια του φυτού *Cynara cardunculus L.*, Το ενζυματικό εκχύλισμα είναι ένα σκούρο καφέ υγρό ή στερεό, με μια φρέσκια μυρωδιά φυτών, και η σκόνη είναι χρώματος καφέ με μια ελαφριά μυρωδιά αγκινάρας. Στο εκχύλισμα υπάρχουν τρεις ισομορφές ασπαρτικής

πρωτεάσης cyprosin και είναι 100% φυσικό προϊόν. Το τελικό προϊόν περιέχει νερό, το ένζυμο, και NaCl 10% και βενζοϊκό νάτριο 0,1% που χρησιμοποιούνται ως σταθεροποιητές. Η πυτιά cynzyme® έχει αλλεργιογόνο δράση μέσω της πρόσληψης της από τυριά που έχουν πήξη με την συγκεκριμένη πυτιά. Κατά την παραγωγική διαδικασία εκχύλισης του ενζύμου από την αγριαγκινάρα, γίνεται καθαρισμός της με φυτοχημικές ουσίες έτσι ώστε να απομακρυνθούν οι μικρότερες σε μοριακό βάρος ουσίες. Έτσι είναι δυνατόν να μένουν υπολείμματα πολυφαινολών στο προϊόν, στην χειρότερη περίπτωση αναμένεται να μένουν μέχρι και 560ppm, μια συγκέντρωση η οποία δεν είναι ανησυχητική γιατί είναι πολύ μικρή και δεν μπορεί να επηρεάσει την ασφάλεια του προϊόντος. Όσον αφορά τις φυσικοχημικές δραστηριότητες της cyprosin, έχει βέλτιστη θερμοκρασία 42 °C, βέλτιστο pH 5,2, αναστέλλεται η δράση της με την παρουσία Pepstatin A, και σε θερμοκρασία 55 °C, και το ισοηλεκτρικό της σημείο είναι pH 5.0. Για τις βιολογικές της ιδιότητες, για το πώς δηλαδή αντιδρά το ένζυμο στο να σπάσει τους δεσμούς φαίνεται ότι η cyprosin που είναι μια ασπαρτική πρωτεάση, που υδρολύει το πεπτιδικό δεσμό Phe105- Met106, της α-, β- και κ-καζεΐνης που υπάρχουν στο αγελαδινό, πρόβειο, αιγινό, βουβαλίσιο και στο γάλα καμήλας, και προωθεί την πήξη. Το ένζυμο προστίθεται στο γάλα όταν βρίσκεται σε θερμοκρασία 32-36 °C, σε pH 6,2 με 6,5 και σε μια αναλογία ενζύμου/γάλακτος που προάγει την πήξη για την παραγωγή των τυριών. Τα υπολείμματα του ενζύμου, σε μεγάλο βαθμό απομακρύνονται στον ορό γάλακτος κατά την παραγωγή και ωρίμανση του τυριού. Η πηκτική δράση της πυτιάς Cynzyme® είναι 25-58 IMCU/mg για την υγρή πυτιά και 175-220 IMCU/mg όταν η πυτιά είναι στερεή ή σε σκόνη. Πιστεύεται ότι έχει πηκτική δύναμη 1L ένζυμο σε 3000 L γάλακτος. Επίσης έχει απώλεια δραστηριότητας λιγότερο από 10% όταν αποθηκεύεται στους 4-8 °C για έξι μήνες. Η σταθερότητα του ενζύμου με την πάροδο του χρόνου έδειξε ότι η ενζυμική του δραστηριότητα και η πρωτεολυτική του δράση παραμένει σταθερή για διάστημα αποθήκευσης ενός χρόνου και σε θερμοκρασίες 4-8 °C. Η συγκέντρωση της πρωτεΐνης είναι 8-15 mg/ml και έχει πρωτεολυτική δραστηριότητα 6,000-10,800 U/ml και προσδιορίζεται με την μέθοδο Twining. Μετά από 160 ώρες ωρίμανσης του τυριού στους 4 °C η πρωτεολυτική του δραστηριότητα χάνεται. Η ειδική του δράση είναι 1328 U/mg (FDA 2014).

### 1.4.3 F.P.C

F.P.C, Fermentation produced chymosin, είναι η παραγωγή ενζύμου χυμοσίνη που παράγεται μέσω ζύμωσης από γενετικά τροποποιημένους μικροοργανισμούς χάρη στη χρήση βιοτεχνολογίας. Στο εμπόριο υπάρχουν μέχρι στιγμής 3 ενζυμικά προϊόντα που περιέχουν

μικροβιακή χυμοσίνη τα Chymax, Maxygen και Chymogen που παράγονται από τους μικροοργανισμούς *Escherichia coli*, *Kluyveromyces lactis* και *Aspergillus niger* Var. *Awamori*, αντίστοιχα. Ένα άλλο προϊόν που κυκλοφορεί στο εμπόριο είναι η Chymosin S που είναι ανάμειξη χυμοσίνης και πεψίνης βοοειδών, η αναλογία αυτή είναι 90% μικροβιακή χυμοσίνη και 10% πεψίνη σύσταση η οποία είναι ανάλογη της κλασσικής πυτιάς. Τα προϊόντα τα οποία περιέχουν μικροβιακή χυμοσίνη έχουν το πλεονέκτημα της τυποποίησης, έχουν υψηλή καθαρότητα και ποιότητα, οι ποσότητες που παράγονται μπορούν να είναι απεριόριστες και έχουν σταθερότητα στην τιμή τους. Η μικροβιακή πυτιά δεν παρατηρήθηκε να έχει σημαντική διαφορά από την κλασσική όσον αφορά την πρωτεόλυση και την ωρίμανση των τυριών στην εφαρμογή της στην τυροκόμηση και αυτή είναι μια πολύ θετική ένδειξη για την χρήση της (Ανυφαντάκης 2004). Τα FPC προϊόντα περιέχουν χυμοσίνη όπως αυτή της ζωϊκής προέλευσης και επομένως έχουν την ίδια αλληλουχία αμινοξέων με αυτές που προέρχονται από το στομάχι των ζώων. Τα προϊόντα FPC βρίσκονται στην αγορά από το 1990. Με τη χρήση του *Aspergillus spp.* παράγεται χυμοσίνη και άλλα προϊόντα, που στην συνέχεια καθαρίζονται έτσι ώστε το τελικό προϊόν να περιέχει μόνο χυμοσίνη (Guinee & O'Callaghan 2010). Η παρασκευή χυμοζίνης με την χρήση βιοτεχνολογίας, επιβεβαιώνεται και χαρακτηρίζεται γενικά ως ασφαλή (GRAS) (Kumar et al. 2010).

#### **1.4.3.1 Σύσταση και ιδιότητες της πυτιάς CHY-MAX® Powder Plus NB**

Η CHY-MAX® Powder Plus NB είναι πυτιά από καθαρή χυμοσίνη βοειδών, η οποία παράγεται από την ζύμωση του μικροοργανισμού *Aspergillus niger* var. *awamori* σε φυτικό υπόστρωμα. Ο *Aspergillus niger* var. *awamori* δεν βρίσκεται στο τελικό προϊόν. Το ένζυμο που περιέχει η πυτιά που είναι υπεύθυνη για την πήξη του γάλακτος είναι η 100% χυμοσίνη. Το προϊόν αυτό συμμορφώνεται με JECFA- (FAO / WHO) και FCC-συνιστώμενες προδιαγραφές για τα ένζυμα τροφίμων. Με βάση την γενική νομοθεσία για τα τρόφιμα με κανονισμό (ΕΚ) 1332/2008 για την εφαρμογή ενζύμων στην επεξεργασία τροφίμων η πυτιά αυτή δεν έχει ακόμα εγκριθεί αλλά ο Chr. Hansen A/S θα εξασφαλίσει την έγκριση της ΕΕ, σε εύθετο χρόνο. Σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή νομοθεσία 2001/18/ΕΚ, η πυτιά αυτή δεν περιέχει γενετικά τροποποιημένους μικροοργανισμούς, και σύμφωνα με τον κανονισμό ΕΚ 1829/2003 ούτε γενετικά τροποποιημένες πρώτες ύλες. Είναι κατάλληλη για χορτοφάγους και πιστοποιείται ως Kosher και Halal. Η χυμοσίνη είναι η κυρίαρχη ασπαρτική πρωτεάση στην πυτιά αυτή. Το ένζυμο χυμοσίνη διασπά τον πεπτιδικό δεσμό Phe105-Met106 της αλυσίδας της κ-καζεΐνης, έτσι επέρχεται η πήξη για την παρασκευή τυριού. Η χυμοσίνη είναι

υπεύθυνη για τις αλλαγές στην υφή και για την ενίσχυση της γεύσης κατά την ωρίμανση των τυριών (Kumar et al. 2010). Η CHY-MAX® Powder Plus NB μπορεί να χρησιμοποιείται για πολλών ειδών τυριών, σκληρά, ημίσκληρα, μαλακά, τυριά που ωριμάζουν με μύκητες και σε τυριά χαμηλής λιποπεριεκτικότητας. Η πυτιά αυτή περιέχει χλωριούχο νάτριο, χυμοσίνη, καζεΐνη και πεπτόνη. Έχει δραστηριότητα περίπου 1400 IMCU/g και η προτεινόμενη δοσολογία της είναι 30 με 60 IMCU/L γάλακτος. Η σωστή δοσολογία για να επέλθει η πήξη του γάλακτος εξαρτάται όμως από το είδος του τυριού, τη θερμοκρασία και το pH του γάλακτος, τα χαρακτηριστικά των καλλιεργειών που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή του τυριού, και την ποσότητα του CaCl<sub>2</sub> και NaCl, και άλλους παράγοντες. Τα αλλεργιογόνα συστατικά που αναφέρονται είναι το γάλα, σύμφωνα με τις οδηγίες της Ευρωπαϊκής νομοθεσίας 2000/13. Το χρώμα της είναι λευκό έως ανοικτό καφέ, είναι διαλυτή στο νερό, βρίσκεται σε μορφή κόκκων και έχει χαρακτηριστική οσμή. Η βέλτιστη θερμοκρασία δράσης της πυτιά είναι 36-40 °C. Η δραστηριότητα της εξαρτάται και από το pH και το ασβέστιο. Το βέλτιστο pH δράσης της πυτιάς είναι γύρω στο 6,3 με 6,7, όσο χαμηλότερο όμως είναι το pH τόσο μεγαλύτερη δράση έχει, αλλά και από το ασβέστιο, με την προσθήκη χλωριούχου ασβεστίου το pH μειώνεται και τότε αυξάνεται η δραστηριότητα της πυτιάς, η προσθήκη όμως μεγάλης ποσότητας χλωριούχου ασβεστίου μπορεί να προκαλέσει πικράδα στο τυρί. Η πυτιά αυτή αδρανοποιείται κατά την διάρκεια της κανονικής παστερίωσης γάλακτος ( 72 °C για 15 λεπτά) σε pH 6.0 (Chr.Hansen 2013).

## 1.5 Καλλιέργειες

Καλλιέργειες είναι τα βακτήρια τα οποία χρησιμοποιούνται ως εκκινητές για την παρασκευή γαλακτοκομικών προϊόντων με ζύμες, όπως είναι και τα τυριά. Η κυριότερη κατηγορία καλλιεργειών είναι τα οξυγαλακτικά βακτήρια που παράγουν οξέα και κυρίως γαλακτικό οξύ το οποίο παίζει σημαντικό ρόλο στη συντήρηση. Παράγονται επίσης και άλλες ουσίες που συνεισφέρουν στη γεύση των προϊόντων. Τα βακτήρια που χρησιμοποιούνται θεωρούνται ως ασφαλή (Cras) και μάλιστα τα τελευταία χρόνια έχουν αποδείξει ότι πολλά από αυτά είναι ωφέλιμα για την υγεία και έχουν ευεργετικές επιδράσεις στην υγεία όπως και τα προβιοτικά. Εκτός από τα βακτήρια υπάρχουν και άλλοι μικροοργανισμοί όπως ζύμες και μύκητες που ο ρόλος τους δεν είναι να παράγουν γαλακτικό οξύ ή άλλα οξέα, αλλά να επηρεάζουν την εμφάνιση και άλλα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των προϊόντων. Οι μικροοργανισμοί που χρησιμοποιούνται έχουν διαφορετικές χαρακτηριστικές ιδιότητες. Υπάρχουν μικροοργανισμοί οι οποίοι είναι μεσόφιλοι και έχουν ως άριστη θερμοκρασίας

ανάπτυξης 20-30 °C και μικροοργανισμοί που είναι θερμοφιλοι και έχουν ως άριστη θερμοκρασία ανάπτυξης τους 40-45 °C . Επίσης υπάρχουν γαλακτικά βακτήρια τα οποία ανάλογα με την ζύμωση των σακχάρων και των προϊόντων που παράγουν χωρίζονται σε ομοζυμωτικά και ετεροζυμωτικά. Στην ομοζυμωτική ζύμωση παράγεται μόνο γαλακτικό οξύ ενώ στην ετερογαλακτική παράγεται και διοξείδιο του άνθρακα, οξικό οξύ, μηρμυκικό οξύ και αλκοόλη εκτός από το γαλακτικό οξύ. Ανάλογα με το προϊόν που θα παραχθεί και το σκοπό που επιδιώκεται με τη χρήση των μικροοργανισμών γίνεται ο ανάλογος συνδυασμός των ειδών βακτηρίων. Επίσης επιλέγονται τα είδη βακτηρίων που θα χρησιμοποιηθούν ανάλογα με την μεταξύ τους αλληλεπίδραση. Για παράδειγμα σε σκληρά τυριά οι ανώτεροι μικροοργανισμοί συνδυάζονται με κάποιο θερμοφιλο έτσι ώστε να συνεχιστεί η παραγωγή γαλακτικού οξέος, αφού κατά την αναθέρμανση του τυροπήγατος για αφυδάτωση του πήγατος για την παραγωγή των σκληρών τυριών, αδρανοποιούνται οι μεσόφιλοι μικροοργανισμοί. Οι καλλιέργειες για να επιτύχουν το σκοπό τους πρέπει να έχουν κάποια επιθυμητά χαρακτηριστικά. Πρέπει να είναι γενετικά σταθερές, δηλαδή να έχουν μόνο ένα μικρό αριθμό μεταλλακτικών ατόμων, για να διατηρούν σταθερά τα βιοχημικά τους χαρακτηριστικά, επίσης πρέπει να έχουν μικρές απαιτήσεις σ' ότι αφορά στις συνθήκες του περιβάλλοντος, για να μπορούν να αναπτυχθούν εύκολα χωρίς υψηλό κόστος. Ακόμη οι καλλιέργειες πρέπει να εκκρίνουν εύκολα τα ένζυμα που είναι υπεύθυνα για την παραγωγή των επιθυμητών προϊόντων καθώς να αναπτύσσονται και εύκολα στο υπόστρωμα και να μην έχουν ανάγκες από πολύπλοκα θρεπτικά συστατικά, που έχουν και υψηλό κόστος. Οι καλλιέργειες μπορούν να διατίθενται στο εμπόριο σε 3 διαφορετικές μορφές, σε υγρή μορφή, σε μορφή σκόνης λυοφιλιωμένης και συμπυκνωμένη κατεψυγμένη. Υπάρχουν κάποιοι παράγοντες οι οποίοι μπορούν να επιφέρουν προβλήματα στις καλλιέργειες. Με την ύπαρξη ανασταλτικών παραγόντων όπως αντιβιοτικά, απολυμαντικά, απορρυπαντικά, φυσικές αντιβιοτικές ουσίες κ.ά. παρεμποδίζεται η ανάπτυξη των καλλιεργειών. Άλλος παράγοντας που μπορεί να επηρεάσει την ανάπτυξη των μικροοργανισμών είναι με την ύπαρξη ακατάλληλου υποστρώματος, όπως για παράδειγμα τα θρεπτικά συστατικά που εμπεριέχονται και το pH. Ένας άλλος σημαντικός που μπορεί να επηρεάσει τα ζυμούμενα προϊόντα και ιδιαίτερα το τυρί και να του δημιουργήσουν σοβαρά προβλήματα είναι η προσβολή του από βακτηριοφάγους. Με την ύπαρξη τους, αρχικά αυξάνεται η οξύτητα κατά τα πρώτα στάδια, και τελικά σταματάει η αύξηση του. Έτσι το τυρί θα έχει χαμηλή οξύτητα με τον κίνδυνο ανάπτυξης ανεπιθύμητων μικροοργανισμών και υποβάθμισης της ποιότητας



του προϊόντος. Το πρόβλημα αυτό μπορεί να λυθεί με κατάλληλες ανθεκτικές, ή εναλλακτικές καλλιέργειες (Κεχαγιάς & Κουλούρης 2005).

### 1.5.1 Οξυγαλακτικά βακτήρια

Τα οξυγαλακτικά βακτήρια είναι μια ετερογενής ομάδα των γενών που μοιράζονται πολλές φυσιολογικές λειτουργίες. Το όνομα τους το οφείλουν από την ικανότητα τους να ζυμώνουν τα σάκχαρα σε γαλακτικό οξύ είτε μέσω ομοζυμωτικού ή ετεροζυμωτικού μεταβολισμού. Είναι gram (+), αρνητικά στην κατατάξη, μη σποριογόνοι και προαιρετικά αναερόβιοι μικροοργανισμοί (Settanni & Moschetti 2010). Τα οξυγαλακτικά βακτήρια είναι αυτά που συνήθως χρησιμοποιούνται για την παρασκευή ζυμούμενων προϊόντων, όπως τα τυριά, και αναφέρονται ως καλλιέργειες εκκίνησης αφού οι μικροοργανισμοί αυτοί αρχίζουν ουσιαστικά την τυροκόμηση (Ανυφαντάκης 2004). Επίσης συμβάλλουν σημαντικά στην γεύση, υφή, θρεπτική αξία, και στην μικροβιακή ασφάλεια στα τρόφιμα που έχουν υποστεί ζύμωση (Settanni & Moschetti 2010). Οι οξυγαλακτικοί μικροοργανισμοί επιλέγονται κυρίως για την ικανότητα τους να παράγουν με γρήγορο ρυθμό οξύτητα που συμβάλλει στην καλύτερη πήξη του γάλακτος με πυτιά, αλλά και για να προσδίδει την επιθυμητή υφή του τυροπήγματος (Ανυφαντάκης 2004). Τα οξυγαλακτικά βακτήρια μπορούν και παίζουν διαφορετικούς ρόλους στην τυροκομία, ορισμένα είδη συμμετέχουν στην διαδικασία ζύμωσης, ενώ κάποιοι άλλοι εμπλέκονται στην ωρίμανση των τυριών. Τα βακτήρια που συμμετέχουν στην ζύμωση ονομάζονται οξυγαλακτικά βακτήρια εκκίνησης SLAB ενώ τα βακτήρια που συμμετέχουν κυρίως στην ωρίμανση είναι NSLAB (Settanni & Moschetti 2010). Σε σκληρά τυριά τύπου Κεφαλογραβιέρα χρησιμοποιούνται θερμοφιλες καλλιέργειες (Μπίντσης & Παπαδήμας 2009). Τα τυριά αυτά ζυμώνονται και ωριμάζουν με οξυγαλακτικά βακτήρια, οι καλλιέργειες που προστίθεται, είναι η καλλιέργεια που χρησιμοποιείται για την παρασκευή γιαουρτιού YO-FLEX 812 και αποτελείται από τα βακτήρια *Str.thermophilus* και *Lb. Bulgaricus* καθώς επίσης και η καλλιέργεια LH 32 που είναι τα βακτήρια *Lb. helveticus*. Το *Str.thermophilus* και *Lb. bulgaricus* έχουν άριστη θερμοκρασία ανάπτυξης 40-45 °C, ο *Lb. Helveticus* όμως έχει άριστη θερμοκρασία 43-45 °C, και οι τρεις αυτοί όμως μικροοργανισμοί είναι ομοζυμωτικοί και έτσι ζυμώνουν την λακτόζη σε γαλακτικό οξύ (Ανυφαντάκης 2004). Τα Οξυγαλακτικά βακτήρια εκκίνησης όχι μόνο συμβάλλουν στην παραγωγή γαλακτικού οξέος αλλά και στην ανάπτυξη του αρώματος των τυριών κατά την ωρίμανση (Μπίντσης & Παπαδήμας 2009).

## 1.6 Σκληρό τυρί

Με βάση τους Οργανισμούς FAO και WHO το «τυρί» ορίζεται ως το ώριμο ή ανώριμο, μαλακό ή ημίσκληρο, σκληρό ή πολύ σκληρό προϊόν, το οποίο μπορεί να επικαλύπτεται και στο οποίο η αναλογία πρωτεϊνών του ορού/καζεϊνών δεν υπερβαίνει αυτή του γάλακτος και λαμβάνεται με α) ολική ή μερική πήξη των παρακάτω πρώτων υλών: γάλακτος και/ή συστατικών που λαμβάνονται από το γάλα με επενέργεια της πυτιάς ή άλλων κατάλληλων πηκτικών μέσω και από μερική στράγγιση ορού του γάλακτος που προκύπτει από μία τέτοια πήξη και/ ή με β) τεχνικές επεξεργασίας που περιλαμβάνουν πήξη γάλακτος και/ή προϊόντων που λαμβάνονται από γάλα, τα οποία δίνουν ένα τελικό προϊόν με όμοια φυσικά, χημικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά με εκείνα του προϊόντος της παραγράφου α). Η ταξινόμηση των τυριών είναι δύσκολη μιας και τα είδη είναι πολλά. Έτσι λοιπόν υπάρχουν διάφοροι τρόποι ταξινόμησης τους, η ταξινόμηση γίνεται με βάση κάποια κριτήρια τα οποία θέτουν. Συχνά τα τυριά κατατάσσονται με βάση τη σκληρότητα τους σε τέσσερις μεγάλες κατηγορίες, πολύ σκληρά, σκληρά, ημίσκληρα και μαλακά και αργότερα σε υποκατηγορίες ανάλογα με τα χαρακτηριστικά που τα διαφοροποιούν μεταξύ τους. Σκληρά τυριά τύπου κεφαλογραβιέρας έχουν εξωτερική κρούστα, συμπαγή μάζα, το τυρόπηγμα μπαίνει σε καλούπια αλατίζεται, στραγγίζεται και αφήνεται να ωριμάσει, με την δράση μικροοργανισμών. Στα σκληρά τυριά η θερμοκρασία του γάλακτος πρέπει να κυμαίνεται 32 με 42 °C, και το pH κατά την πήξη να είναι μεγαλύτερο από 6,55 (Ανυφαντάκης 2004).

### 1.6.1 Οργανοληπτικά/χημικά/микροβιολογικά χαρακτηριστικά

Τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά είναι ένα ιδιαίτερο κομμάτι και αποτελεί για του καταναλωτές παράγοντας επιλογής προϊόντος. Τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του τυριού είναι η γεύση, η δομή, η υφή το άρωμα και το χρώμα του. Ανάλογα με το είδος του τυριού έχει και τα συγκεκριμένα δικά του οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Ο οργανοληπτικός έλεγχος γίνεται από εξειδικευμένα άτομα. Το κάθε είδος τυριού έχει την δική του βαθμολογία με βάση την εκατονταβαθμιαία κλίμακα έτσι ώστε να ταξινομούνται σωστά. Με βάση αυτή την κλίμακα ένα σκληρό τυρί πρέπει να βαθμολογείται με 45 για τη γεύση και το άρωμα, 30 για τη δομή-υφή, 15 για την εμφάνιση και 10 για το χρώμα (Ανυφαντάκης 2004). Η κεφαλογραβιέρα είναι ένα ΠΟΠ-Προστατευόμενης Ονομασίας Προέλευσης σκληρό τυρί με τα εξής οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, επικαλύπτεται εξωτερικά από μια λεπτή ξηρή κρούστα, χρώματος κιτρινοκαστανό. Εσωτερικά πρέπει να έχει χρώμα λευκοκίτρινο και τρύπες μικρές, ακανόνιστου σχήματος και διάσπαρτες σε ολόκληρη τη μάζα του. Η υφή του

πρέπει να είναι συμπαγής και να έχει πικάντικη, ισορροπημένη γαλακτώδης, βουτυρώδης γεύση με άρωμα ξηρών καρπών (Μπίντσης & Παπαδήμας 2009). Η χημική σύσταση των τυριών διαφέρει μεταξύ τους ανάλογα με το είδος του τυριού. Κάθε χώρα έχει θεσπίσει δικούς του νομοθετικούς νόμους έτσι ώστε να τηρούνται κάποιοι κανόνες και η σύσταση ανάλογα με το είδος του τυριού να κυμαίνεται στα συγκεκριμένα νομοθετικά πλαίσια. Την χημική σύσταση του τυριού την αποτελούν το pH, η υγρασία, το λίπος, οι πρωτεΐνες και το NaCl . Τα σκληρά τυριά έχουν υγρασία μεγαλύτερη από 32% και μικρότερη από 38% (Μπίντσης & Παπαδήμας 2009). Σκληρά τυριά τύπου Κεφαλογραβιέρα έχουν χημική σύσταση με pH 5,6, υγρασία 35,4%, λίπος 31,3%, πρωτεΐνες 25,9% ενώ για NaCl 3,4 % και συνολικά στερεά 54,6% . Η μικροχλωρίδα των σκληρών τυριών επειδή είναι τυριά που ωριμάζουν αλλάζει ανάλογα με το στάδιο της ωρίμανσης τους. Επειδή στα σκληρά τυριά τύπου κεφαλογραβιέρα χρησιμοποιούνται ως καλλιέργειες εκκίνησης οξυγαλακτικά βακτήρια στα τυριά μετά από την ωρίμανση εξακολουθούν να έχουν υψηλούς αριθμούς στην επιδερμίδα τους και είναι μεγαλύτεροι από αυτές των ζυμών. Επίσης όσο ωριμάζουν τα τυριά οι αερόβιοι μικροοργανισμοί όλο και μειώνονται. Ακόμη στην επιφάνεια των τυριών αρχικά αναπτύσσονται οι ζύμες που είναι ανθεκτικές στην αλατότητα και την οξύτητα, μεταβολίζουν το γαλακτικό οξύ που παράγεται από τους μικροοργανισμούς εκκίνησης και έτσι αυξάνουν το pH. Κατά την ωρίμανση οι ζυμομύκητες μειώνονται (Settanni & Moschetti 2010). Σε γενικές γραμμές, η κυρίαρχη μικροχλωρίδα καθ' όλη την διάρκεια ωρίμανσης, αποτελείται από τις μη καλλιέργειες εκκίνησης οξυγαλακτικά βακτήρια, που πολλαπλασιάζονται και συμβάλλουν στις βιοχημικές δραστηριότητες της ωρίμανσης και ανάπτυξης οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του τυριού. Οι μικροοργανισμοί οι οποίοι είναι δείκτες επιμόλυνσης όπως Enterobacteriaceae και κολοβακτηρίδια, μειώνονται κατά την ωρίμανση και βρίσκονται συνήθως σε αμελητέα επίπεδα στο τελικό προϊόν (Subhan et al. 2016).

## **1.7 Διατροφική αξία**

Το τυρί πριν ακόμη αποδειχθεί η διατροφική του αξία μπορούσε να θεωρηθεί ως ένα εξαιρετικό τρόφιμο. Τα τελευταία χρόνια όμως αυτό έχει εξακριβωθεί και μέσω ερευνών αυξάνοντας έτσι τις πωλήσεις των τυριών. Τα τυριά είναι πλούσια σε πρωτεΐνες, ενώ φαίνεται ότι 100 g σκληρό τυρί μπορεί να καλύψει τις ημερήσιες ανάγκες των ενηλίκων σε πρωτεΐνες, 40-50%. Επίσης οι πρωτεΐνες που περιέχονται είναι υψηλής βιολογικής αξίας και αυτό καθιστά το τυρί ακόμη πιο λειτουργικό. Τα λιπαρά στα τυριά μπορούν να έχουν θετικό

ρόλο αφού προσφέρουν στον οργανισμό τα απαραίτητα λιπαρά οξέα και μπορούν να μεταφέρουν λιποδιαλυτές βιταμίνες A, D, E και K. Όσο μεγαλύτερη είναι η περιεκτικότητα του τυριού σε λίπος τόσο μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε λιποδιαλυτές βιταμίνες θα έχει. Επίσης κατά την ωρίμανση των τυριών οι λιπάσες που παράγονται από τους μικροοργανισμούς επιδρούν στο τυρί, έτσι υδρολύεται ένα μικρό μέρος της λιπαρής φάσης και παράγονται ελεύθερα λιπαρά οξέα. Τα ελεύθερα λιπαρά οξέα που περιέχονται στο τυρί εξαρτάται από το είδος των τυριών και το βαθμός ωρίμανσης του, αλλά συνήθως περιέχονται 1 μέχρι 5g ελεύθερα λιπαρά οξέα/ kg τυριού. Αυτό το οποίο θεωρείται ως αρνητικό για τα τυριά είναι η αυξημένη τιμή του λίπους τους, στα σκληρά τυριά το λίπος ξεπερνά το 20%, για παράδειγμα η κεφαλογραβιέρα έχει ποσοστό λίπους 31,3%. Η αυξημένη επίσης αναλογία κορεσμένων λιπαρών οξέων μπορούν να επιφέρουν προβλήματα. Αυξάνουν τα λιπίδια και την χοληστερόλη στο αίμα και επομένως αυξάνει τον κίνδυνο για εμφάνιση καρδιακών παθήσεων και στεφανιαίας νόσου. Επίσης άλλα στοιχεία τα οποία είναι πολύ σημαντικά για τον οργανισμό για να εκτελεί φυσιολογικές και βιοχημικές διεργασίες είναι τα άλατα. Τα σημαντικότερα είναι το ασβέστιο και ο φώσφορος αφού είναι πολύ σημαντικά για τις ανάγκες του ανθρώπου. Τα τυριά είναι πολύ καλή πηγή αυτών των στοιχείων αφού με 114g σκληρό τυρί μπορούν να καλυφθούν οι ημερήσιες ανάγκες ενός μεσήλικα σε ασβέστιο, που είναι γύρω στα 800mg/ημέρα (Ανυφαντάκης 2004).

**Πίνακας 4: Μέση περιεκτικότητα τυριού τύπου κεφαλογραβιέρα σε ανόργανα άλατα (Ανυφαντάκης 2004)**

Ανόργανα άλατα	Τιμή (mg/100g τυρί)
Ασβέστιο	756
Φώσφορος	510
Νάτριο	1499
Κάλιο	-
Μαγνήσιο	40

Τα σκληρά τυριά που ωριμάζουν περιέχουν ελάχιστη ή καθόλου λακτόζη γιατί ζυμώνεται προς γαλακτικό οξύ κατά την ωρίμανση. Αυτό είναι ένα από τα πολλά πλεονεκτήματα που έχουν γιατί το ώριμο σκληρό τυρί μπορεί να ενταχθεί στο διαιτολόγιο ατόμων με δυσανεξία σε λακτόζη αλλά και διαβητικών. Τέλος τα σκληρά τυριά τύπου κεφαλογραβιέρας

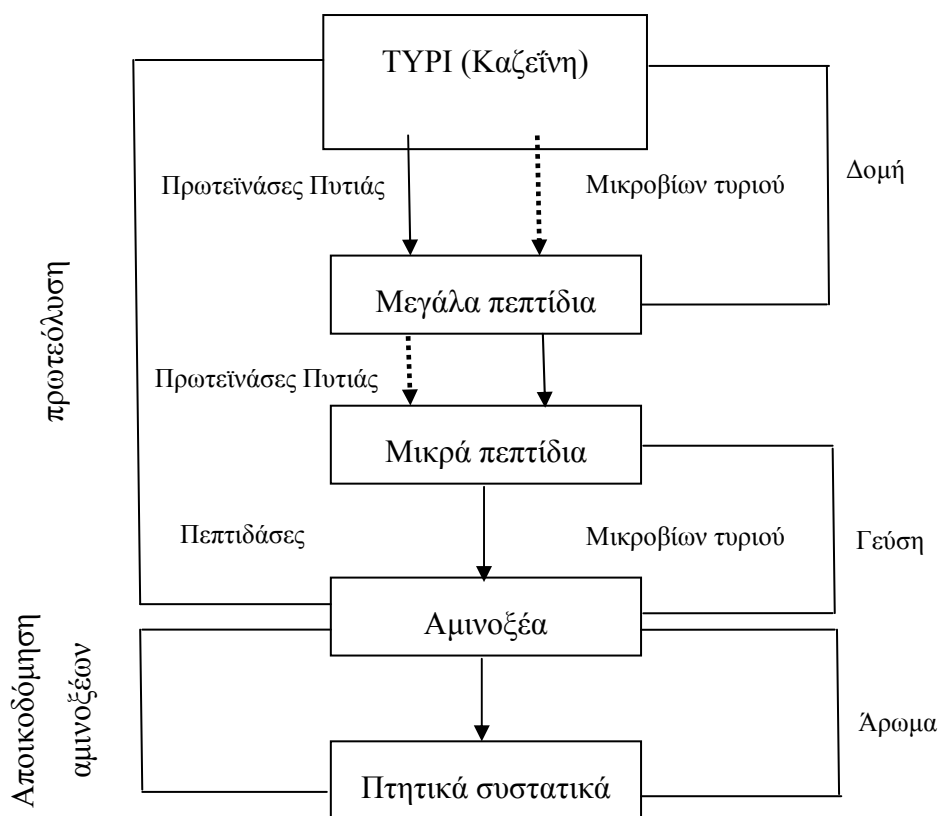
χρησιμοποιούνται ως καλλιέργειες, τα οξυγαλακτικά βακτήρια. Οι καλλιέργεια που χρησιμοποιείται και για την παρασκευή γιαουρτιού είναι προβιοτικά βακτήρια. Τα προβιοτικά βακτήρια αφού συνεχίζουν να υπάρχουν και στο τυρί μετά την ωρίμανση έχουν ευεργετική επίδραση στην υγεία των καταναλωτών (Ανυφαντάκης 2004).

## 1.8 Ωρίμανση

Τα περισσότερα είδη τυριών περνούν από την διαδικασία ωρίμανσης, για να μπορούν να διατεθούν προς πώληση και να καταναλωθούν. Ανάλογα με το είδος τυριού θα είναι και ο χρόνος ωρίμανσης τους. Ο χρόνος ωρίμανσης κυμαίνεται από λίγες βδομάδες μέχρι και 2 χρόνια (Αντωνίου I 2005). Στα σκληρά τυριά ο χρόνος ωρίμανσης τους πρέπει να κυμαίνεται από 3 με 12 μήνες. (Μπίντσης & Παπαδήμας 2009). Η ωρίμανση των τυριών είναι το σύνολο των μεταβολών ποιοτικών και ποσοτικών, των χημικών, βιοχημικών, φυσικοχημικών και μηχανικών ιδιοτήτων τους έτσι ώστε να διαμορφώσουν την δομή και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά τους (Ανυφαντάκης 2004). Οι μεταβολικές διεργασίες που υφίσταται το τυρί κατά την ωρίμανση είναι η γλυκόλυση, λιπόλυση και πρωτεόλυση και ανάλογα με το είδος του τυριού η κάθε διεργασία έχει τη δική της διαφορετική σημασία (Settanni & Moschetti 2010). Η ωρίμανση γίνεται στα τυριά για να γίνουν οι βιοχημικές αντιδράσεις και να οδηγήσουν στην ανάπτυξη του αρώματος (Marilley & Casey 2004). Η ωρίμανση γίνεται κάτω από ελεγχόμενες συνθήκες, με ελεγχόμενη θερμοκρασία και υγρασία χώρου. Οι βιοχημικές αντιδράσεις κατά την ωρίμανση γίνονται με την βοήθεια των βακτηρίων που έχουν προστεθεί στο τυρί ως καλλιέργειες. Επίσης τα ένζυμα της πυτιά εκτός από το να πήζουν το γάλα, μέρος τους, εξαρτάται και από το τυρί που παρασκευάζεται, μεταφέρεται στο τυρί και έτσι βοηθάει στην ωρίμανση και αποτελούν ισχυρό παράγοντα πρωτεόλυσης (Ανυφαντάκης 2004). Οι ενώσεις που παράγονται για το γεύση/άρωμα στο τυρί προέρχονται από τα συστατικά του γάλακτος, την λακτόζη, λιπίδια και πρωτεΐνες (Marilley & Casey 2004). Η γλυκόλυση, λιπόλυση και πρωτεόλυσης είναι οι κύριοι οδοί για των σχηματισμό ενώσεων που θα αναπτύξουν και θα δώσουν στο τυρί τη γεύση/άρωμα στο τυρί. Μετά την ωρίμανση τα τυριά πρέπει να αποθηκεύονται σε ψυχρούς χώρους, 3-4 °C και η σχετική υγρασία να είναι χαμηλή (Ανυφαντάκης 2004). Για τυριά τύπου Κεφαλογραβιέρας η ωρίμανση γίνεται στην αρχή σε θερμοκρασίες 14-15°C και σχετική υγρασία 85-90% για 50-60 μέρες, στη συνέχεια σε θερμοκρασίες 10-12 °C και 85% σχετική υγρασία για 15-20 μέρες και αργότερα σε θερμοκρασία 4 °C (Μπίντσης & Παπαδήμας 2009).

### 1.8.1 Πρωτεόλυση

Η πρωτεόλυση είναι η πιο πολύπλοκη και η πιο σημαντική από τις 3 διεργασίες που γίνονται κατά την ωρίμανση. Η πρωτεόλυση που γίνεται στο τυρί αποτελεί δείκτη ωρίμανσης και ποιότητας του τυριού. Επίσης είναι πολύ σημαντική για την αλλαγή της υφής του τυροπήγματος, λόγω διάσπασης του πλέγματος πρωτεϊνών, για την γεύση/άρωμα και το off-flavour εάν δημιουργείται, μέσω του σχηματισμό πεπτιδίων και ελεύθερων αμινοξέων, για τον καταβολισμό ελεύθερων αμινοξέων, για αλλαγές στο πλέγμα του τυριού που διευκολύνουν απελευθέρωση εύγευστων ενώσεων κατά τη διάρκεια της μάζησης. Τα ένζυμα στα οποία οφείλεται η πρωτεόλυση του τυριού είναι η πυτιά, τα ένζυμα του γάλακτος, η καλλιέργειες εκκίνησης, οι non-starter καλλιέργειες, ή οι δευτερεύον καλλιέργειες και οι εξωγενείς πρωτεϊνάσες ή πεπτιδάσες που χρησιμοποιούνται για την επιτάχυνση της ωρίμανσης (McSweeney & Sousa 2000). Η πρωτεόλυση που γίνεται στο τυρί είναι των καζεϊνών αφού είναι αυτές κυρίως που δημιουργούν το πλέγμα κατά την τυροκόμιση. Στην πρωτεόλυση αρχικά τα μόρια των καζεϊνών υδρολύονται σε μεγάλα πεπτίδια που στην συνέχεια διασπώνται σε μικρά πεπτίδια και αμινοξέα. Αυτές οι διεργασίες γίνονται ταυτόχρονα κατά την ωρίμανση αλλά όχι με την ίδια ταχύτητα. Η διάσπαση των καζεϊνών σε μεγάλα πεπτίδια οφείλεται κυρίως από τα ένζυμα της πυτιάς αλλά και από τις πρωτεϊνάσες που απελευθερώνονται από την αυτόλυση των μικροβιακών κυττάρων. Η διάσπαση των μεγάλων πεπτιδίων πεπτιδίων σε μικρά πεπτίδια και αμινοξέα οφείλεται στα μικροβιακά ένζυμα. Έτσι φαίνεται ότι η αλλαγή της δομής των τυριών γίνεται κατά τα πρώτα στάδια της ωρίμανσης ενώ οι αρωματικές ουσίες παράγονται προς το τέλος της.



**Διάγραμμα 1 :** Συμβολή πυτιάς και μικροβιακών ενζύμων στη δομή στη γεύση και στο άρωμα των τυριών, ( Με βέλος συμβολίζεται ο παράγοντας με τη μεγαλύτερη και με διακεκομένο με τη μικρότερη συμβολή στην πρωτεόλυση κατά στάδιο) (Ανυφαντάκης 2004)

## 1.9 Οργανοληπτική εξέταση

Η οργανοληπτική εξέταση είναι μια διαδικασία η οποία μπορεί να εξυπηρετήσει της ανάγκες μιας εταιρείας για να διαθέσει ένα νέο ή βελτιωμένο προϊόν στην αγορά ή για να βελτιώσει ένα προ υπάρχον προϊόν. Η διαδικασία αυτή μπορεί να περιγράψει, χαρακτηρίσει, να υπολογίσει και να ανάλυσει τα αποτελέσματα της μέτρησης των οργανοληπτικών ιδιοτήτων του προϊόντος. Η οργανοληπτική εξέταση γίνεται με δύο μεθόδους αναλόγως με το τι αποσκοπεί. Η μια μέθοδος έχει μια πιο επαγγελματική προσέγγιση μιας και αφορά εκπαιδευμένους γευσισγνώστες. Η γευσισγνωσία γίνεται με μια ομάδα των 6 με 10 ατόμων που έχουν εκπαιδευτεί ειδικά για να πάρουν βασικές γνώσεις και να μπορούν να αναγνωρίζουν τις διαφορές στις γεύσεις και τα αρώματα και να μπορούν να τα περιγράψουν αυτό που αισθάνονται κατά την εξέταση. Οι γευσισγνώστες αυτοί λειτουργούν σαν «μηχανές ανάλυσης» της υφής, γεύσης και αρώματος του τυριού και ακολούθως το περιγράφουν, και

καταγράφουν με λεπτομέρεια τις παρατηρήσεις σε ένα συγκεκριμένο ερωτηματολόγιο. Ο χώρος που γίνεται η δοκιμή, είναι εξειδικευμένοι με ελεγχόμενες θερμοκρασίες, υγρασία και φώς. Η άλλη μέθοδος αποσκοπεί στο να φανεί η άποψη του καταναλωτή και αν αποδέχεται ένα τυρί ή όχι. Έτσι η οργανοληπτική εξέταση γίνεται από μεγάλο αριθμό καταναλωτών χωρίς κάποια εκπαίδευση, καταγράφοντας τα χαρακτηριστικά γεύσης, αρώματος και υφής των τυριών με ένα πιο απλό τρόπο και άποψη (Μπίντσης & Παπαδήμας 2009). Τα τυριά κατατάσσονται σε ποιότητες ανάλογα με την σύνθεση τους και δεν λαμβάνονται υπόψη τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του αν και αυτά είναι τελικά που ενδιαφέρουν τον καταναλωτή. Τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του τυριού επηρεάζονται από την υγρασία την λιποπεριεκτικότητα αλλά και από άλλους παράγοντες. Βιομηχανίες και επαγγελματικοί φορείς σε διάφορες χώρες έχουν δικά τους κριτήρια γενικά αποδεκτά για να κατατάξουν τα τυριά με βάση τα οργανοληπτικά τους χαρακτηριστικά σε ποιότητες. Διάφορα είδη τυριών διαφέρουν αρκετά μεταξύ τους, έτσι δεν λαμβάνονται τα ίδια κριτήρια για όλα τα είδη τυριού για να γίνει η κατάταξη τους. Επίσης η βαθμολογία που δίνεται σε κάθε χαρακτηριστικό μπορεί να είναι διαφορετική για το κάθε είδος τυριού ή να διαφέρει από χώρα σε χώρα. Τα κυριότερα χαρακτηριστικά που αξιολογούνται κατά την οργανοληπτική εξέταση είναι η εμφάνιση, το χρώμα, η δομή ή υφή και η γεύση και οσμή (Κεχαγιάς & Κουλούρης 2005).

### **1.9.1 Triangle test sensory**

Το triangle test sensory βασίζεται στο ISO 4120:2004 διεθνή οργανισμό τυποποίησης και είναι μια μέθοδος οργανοληπτικής εξέτασης. Αυτό το διεθνές πρότυπο περιγράφει την διαδικασία για να προσδιοριστεί αν μεταξύ των δύο προϊόντων υπάρχουν αισθητές οργανοληπτικές διαφορές ή ομοιότητες. Με την μέθοδο αυτή υποχρεούται να γίνει επιλογή ανάμεσα στα δείγματα, για το πιο διαφέρει. Η μέθοδος πραγματοποιείται εάν υπάρχει κάποια διαφορά έστω και σε ένα διαφορετικό χαρακτηριστικό. Αυτή η μέθοδος στατιστικά είναι πιο αποτελεσματική από τη μέθοδο duo-trio αλλά το μειονέκτημα που έχει είναι ότι δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε προϊόντα που έχουν ισχυρή μεταφορά ή/και παρατεταμένης γεύσης. Η μέθοδος μπορεί να εφαρμοστεί ακόμα και αν δεν γνωρίζουμε τα αίτια που προκαλούν την διαφορά στα προϊόντα, ενώ τα δείγματα πρέπει να είναι μεταξύ τους όσο το δυνατόν πιο όμοια. Η μέθοδος αυτή είναι αποτελεσματική για να προσδιοριστεί αν είναι αισθητή η διαφορά μεταξύ των δειγμάτων, είτε αν η διαφορά μεταξύ των δειγμάτων δεν είναι αισθητή και φαίνονται να είναι όμοια, και στις δυο περιπτώσεις όμως τα δείγματα διαφέρουν μεταξύ τους, είτε σε κάποιο συστατικό, είτε προς τη επεξεργασία τους, τη συσκευασία τους, την



παράδοση ή την αποθήκευση τους, αλλά αυτή η μέθοδος είναι αποτελεσματική και για την επιλογή, κατάρτιση και έλεγχο των δοκιμαστών. Η μέθοδος αυτή πρέπει να ακολουθεί κάποιους κανόνες με συγκεκριμένα βήματα έτσι ώστε να είναι έγκυρη και να μπορούν να διεξαχθούν τα αποτελέσματα. Η ομάδα των δοκιμαστών πρέπει να αποτελείται από 24-30 άτομα οι οποίοι γνωρίζουν ότι το ένα προϊόν είναι διαφορετικό και καλούνται υποχρεωτικά να το αναγνωρίσουν ή να το μαντέψουν και να σχολιάσουν τις εντυπώσεις τους εάν αυτοί το επιθυμούν. Όσον αφορά τα δείγματα που παίρνονται πρέπει να είναι τρία όμοια μεταξύ τους ως προς την δειγματοληψία και εκ των οποίων τα 2 από τα τρία να είναι διαφορετικά από το άλλο. Επίσης τα δείγματα πρέπει να βρίσκονται υπό τις ίδιες συνθήκες όπως για παράδειγμα να έχουν την ίδια θερμοκρασία. Τα δείγματα αριθμούνται με ένα τυχαίο τριψήφιο αριθμό για το κάθε δείγμα χωρίς να γνωρίζουν οι δοκιμαστές τον αριθμό του διαφορετικού δείγματος. Τα δείγματα τοποθετούνται σε τυχαία σειρά και ο δοκιμαστής αρχίζει την δοκιμή των δειγμάτων από αριστερά προς δεξιά. Δοκιμάζοντας, οι δοκιμαστές καλούνται να καταγράψουν το κατά την άποψη τους αριθμό με το διαφορετικό προϊόν στο ερωτηματολόγιο που τους δίνεται. Στο ερωτηματολόγιο πρέπει να καταγράφεται μόνο πιο προϊόν θεωρούν ότι είναι το διαφορετικό και να αφήσουν τα δικά τους σχόλια εάν αυτοί το επιθυμούν, όμως δεν μπορεί να ερωτηθεί αν αυτό το προϊόν είναι αποδεχτό, αν το προτιμούν και τον βαθμό διαφορετικότητας του. Αργότερα όταν γίνει η δοκιμή και συμπληρωθούν όλα τα ερωτηματολόγια αυτό που έχει σειρά είναι να εντοπιστεί ο αριθμός των δοκιμαστών που αναγνώρισαν το διαφορετικό και με βάση τους στατιστικούς πίνακες που έχει το πρότυπο να διεξαχθεί το αποτέλεσμα. Τέλος πρέπει να γίνει μια αναφορά η οποία θα έχει τις απαραίτητες πληροφορίες, τον σκοπό της εξέτασης, την ταυτοποίηση του προϊόντος, τα στατιστικά στοιχεία που διεξάχθηκαν, η εμπειρία, ηλικία και φύλο των δοκιμαστών και οποιαδήποτε άλλη πληροφορία που αφορά τους δοκιμαστές και κρίνεται σημαντική. Επίσης πρέπει να καταγράφεται η ημερομηνία, η τοποθεσία και ο χώρος που έγινε η εξέταση (Afhor 2004).

### **1.9.2 QDA test sensory ( Quantitative Descriptive Analysis)**

Ανέκαθεν η διαδικασία για την ανθρώπινη αντίληψη και περιγραφή ενός προϊόντος ήταν πολύ σημαντική, αλλά οι μέθοδοι για να χαρακτηριστεί ένα προϊόν προς τα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά ήταν ανεπαρκείς και για πολλά χρόνια πολύ λίγες επίσημες προσεγγίσεις υπήρχαν για την περιγραφική ανάλυση. Οι περιγραφικές μέθοδοι, είναι αυτές οι οποίες περιγράφουν με μια λέξη ένα προϊόν ή μια σειρά προϊόντων. Η ανάγκη για ανάπτυξη μιας ποσοτικής περιγραφικής ανάλυσης ήταν δεδομένη, έτσι άρχισαν η προσπάθειες για να

εφαρμοστεί. Η περιγραφική ανάλυση του προϊόντος αντικατοπτρίζεται από το σύνολο μιας εικόνας αισθήσεων. Το QDA αναπτύχθηκε μετά από αυτή την ανάγκη για ποσοτική περιγραφική ανάλυση (Stone et al. n.d.). Το QDA είναι μια οργανοληπτική αξιολόγηση του προϊόντος όπου εξετάζει τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του, εμφάνιση, υφή, γεύση/άρωμα μέσω γευσιγνωστών που έχουν περάσει από διαδικασία εκπαίδευσης 10-15 ωρών (Murray et al. 2001). Η μέθοδος αυτή βασίζεται στη βαθμονόμηση των χαρακτηριστικών που αναγράφονται στο ερωτηματολόγιο. Οι γευσιγνώστες καλούνται εμπειρικά και με βάση την ένταση του χαρακτηριστικού που τους ζητείται να τοποθετήσουν μια κάθετη γραμμή ενδιάμεσα της κατά μήκος γραμμής με το χαρακτηριστικό που καλούνται να περιγράψουν. Η γραμμή αυτή είναι καθορισμένης κλίμακας με διάστημα 10 εκατοστών, έχει μια κάθετη γραμμή και μια συγκεκριμένη λέξη ή έκφραση περιγραφής της έντασης του προϊόντος στο κάθε άκρο της. Η κλίμακα αυτή δεν βαθμονομείται με αριθμούς έτσι ώστε να αποφευχθεί η προκατάληψη προς συγκεκριμένους αριθμούς και για να έχουν μια πιο αντικειμενική άποψη με βάση την αισθητηριακή τους αντίληψη. Αργότερα όμως μετατρέπεται σε αριθμητική βαθμολογία για να παρθούν τα αποτελέσματα και επομένως και τα συμπεράσματα. Επίσης η δοκιμασία πρέπει να γίνεται ατομικά χωρίς επικοινωνία μεταξύ των γευσιγνωστών για να μην επηρεαστούν οι απόψεις τους (Stone et al. 2004).

## **1.10 Χημικές αναλύσεις**

Οι χημικές αναλύσεις είναι πολύ σημαντικές να γίνονται στο τυρί για αναγνώριση της περιεκτικότητας του σε χημικά συστατικά. Τα χημικά συστατικά παίζουν καθοριστικό ρόλο για την ασφάλεια και ποιότητα του προϊόντος. Οι χημικές αναλύσεις που πρέπει να γίνονται είναι με βάση τον κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 273/2008. Στα τυριά και πηγμένο γάλα για τυριά με βάση τον κανονισμό αυτό, πρέπει να τηρούνται κάποιοι μέθοδοι αναφοράς του Διεθνούς Οργανισμού Τυποποίησης (ISO). Το λίπος, το στερεό υπόλειμμα, το αλάτι και η λακτόζη τηρούν τους μεθόδους αναφοράς του ISO 1735:2004, ISO 5534:2004, ISO 2920:2004, ISO 5943:2006, ISO 5765-1/2:2002 αντίστοιχα. Οι κύριες Χημικές αναλύσεις που γίνονται είναι για να προσδιοριστεί η αλατότητα του τυριού, το pH, η υγρασία, το λίπος και οι πρωτεΐνες.

### **1.10.1 Προσδιορισμός Υγρασίας**

Η υγρασία είναι ένας σημαντικός παράγοντας για το τυρί που καθορίζει την ποιότητα και ασφάλεια του, έτσι η μέτρηση του είναι πολύ σημαντική. Επίσης με βάση την περιεκτικότητα του τυριού καθορίζεται το είδος του τυριού, αν είναι πολύ σκληρό, σκληρό, ημίσκληρο ή

μαλακό. Τα επίπεδα υγρασίας στο τυρί επηρεάζουν το άρωμα/γεύση των τυριών, την υφή, την δομή και το χρώμα του (Muller 2003). Επίσης είναι ένας πολύ σημαντικός παράγοντας για την διάρκεια ζωής του τυριού (Μπίντσης & Παπαδήμας 2009). Όταν υπάρχει αυξημένη υγρασία θα υπάρξουν και οι ευνοϊκές συνθήκες για ανάπτυξη μικροοργανισμών και επομένως θα οδηγήσει στην αλλοίωση του και συνεπώς θα επηρεαστεί η διασφάλιση του προϊόντος (Viljoen 2001). Τέλος η αναλογία αλατιού και υγρασίας μπορεί να επηρεάσει την απόδοση του γάλακτος σε τυρί (Ανυφαντάκης 2004).

### **1.10.2 Μέτρηση pH**

Το pH του τυριού είναι το κυριότερο αίτιο που μπορεί να επηρεάσει την υφή του τυριού (Lawrence et al. 1987). Επίσης τυριά τα οποία έχουν υψηλό pH είναι υψηλής επικινδυνότητας και η διάρκειας ζωής του είναι περιορισμένη (Μπίντσης & Παπαδήμας 2009), λόγω ανάπτυξης μικροοργανισμών, και επομένως μπορούν να παραχθούν ανεπιθύμητα προϊόντα όπου θα επηρεάσουν τα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά (Viljoen 2001). Το λιώσιμο και το τέντωμα του τυριού επηρεάζεται σημαντικά από την τιμή του pH, όταν το pH είναι 5,2 παρατηρείται λιώσιμο ενώ στο 4,6 παρατηρείται μειωμένο λιώσιμο και καθόλου τέντωμα (Sommer & Paulus 2009).

### **1.10.3 Μέτρηση αλατότητας**

Το αλάτι στο τυρί έχει τρεις σημαντικές λειτουργίες, ενεργεί ως συντηρητικό, συμβάλλει άμεσα στην διαμόρφωση της γεύσης των τυριών και έχει σημασία για την διαιτητική ημερήσια πρόσληψη αλατιού (Guinee 2004). Το αλάτι έχει διαιτητική σημασία γιατί το νάτριο είναι ένα απαραίτητο συστατικό για τον ανθρώπινο οργανισμό, καθώς επίσης όμως η πρόσληψη του σε μεγάλες ποσότητες, μπορεί να θεωρηθεί και ως αρνητικό, αφού η υπερβολική κατανάλωση αλατιού, μπορεί να επιφέρει ανεπιθύμητες επιδράσεις στην φυσιολογία του οργανισμού (Ανυφαντάκης 2004). Το αλάτι διενεργεί ως συντηρητικό μαζί με άλλους παράγοντες όπως, το επιθυμητό pH, η ενεργότητα νερού και το δυναμικό οξειδοαναγωγής, αφού ελαχιστοποιούνται οι αλλοιώσεις και προλαμβάνεται η ανάπτυξη παθογόνων μικροοργανισμών (Guinee 2004). Επίσης μπορεί να έχει ευεργετική επίδραση διότι υποβοηθά στον ανταγωνισμό των βακτηρίων με αποτέλεσμα να επικρατεί τελικά η επιθυμητή μικροχλωρίδα. Επηρεάζει επίσης και την πρωτεόλυση κατά την ωρίμανση των τυριών.

#### **1.10.4 Προσδιορισμός λίπους**

Το λίπος είναι ένας ακόμη παράγοντας ο οποίος μπορεί να επηρεάσει τα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά (Μπίντσης & Παπαδήμας 2009). Επίσης το λίπος που βρίσκεται στο τυρί μπορεί να επηρεάσει και το λιώσιμο του (Sommer & Paulus 2009). Ο προσδιορισμός του λίπους για τα τυριά απαιτείται από τον Κώδικα Τροφίμων του FAO/WHO, και πρέπει να αναγράφεται στη σήμανση των προϊόντων η λιποπεριεκτικότητα, είτε επί τοις % του προϊόντος, είτε εκφρασμένη επί τοις % της ξηρής του ουσίας και επιτρέπει την χρησιμοποίηση των όρων υψηλής λιποπεριεκτικότητας (FDM  $\geq$  45%), πλήρους (FDM  $\geq$  25%), μερικώς αποκορυφωμένο (FDM  $\geq$  10%), και άπαχο (FDM  $<$  10%). Επίσης απαγορεύεται να ονομάζεται «τυρί» και να διατίθεται στη αγορά «σαν τυρί», οποιοδήποτε τυροκομικό προϊόν το οποίο έχει υγρασία μεγαλύτερη και λίπος, υπολογισμένο επί τοις % της ξηρής ουσίας, μικρότερο από αυτά που αναφέρονται στα μερικώς αποβουτυρωμένα τυριά (Ανυφαντάκης 2004). Επιπρόσθετα τα τυριά μπορούν ανάλογα με την λιπαρότητα τους να διαχωριστούν σε κατηγορίες, πολύ λιπαρό, πλήρους λιπαρότητας, μέσης λιπαρότητας, χαμηλής λιπαρότητας και αποβουτυρωμένο (Κεχαγιάς 2009).

#### **1.10.5 Ανάλυση πρωτεϊνών και εκτίμηση βαθμού πρωτεόλυση**

Κατά την ωρίμανση του τυριού και καθώς αυτή προχωρά γίνονται κάποιες αντιδράσεις όπως η πρωτεόλυση. Με την πρωτεόλυση οι πρωτεΐνες, καζεΐνες του τυριού υδρολύονται σε απλούστερες ουσίες αρχικά σε μεγάλα πεπτίδια, ακολούθως σε μικρά πεπτίδια και τέλος σε αμινοξέα, αμμωνία, αμίνες. Όσο η ωρίμανση προχωράει η αναλογία των μικρομοριακών ουσιών αυξάνεται. Για να εκτιμηθεί ο βαθμός πρωτεόλυσης πρέπει να χρησιμοποιηθεί ένας δείκτης όπως ο συντελεστής ωρίμανσης, που εκφράζεται από τα υδατοδιαλυτά συστατικά αζωτούχων ενώσεων του τυριού ως προς το ποσοστό % του συνόλου των αζωτούχων ενώσεων. Όσο αυξάνεται ο δείκτης αυτός δείχνει μεγαλύτερη ωρίμανση. Σε πολλά τυριά υπάρχουν κάποια όρια που πρέπει να κυμαίνεται ο συντελεστής ωρίμανσης, έτσι ώστε να επιτυγχάνονται τα καλύτερα επιθυμητά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Μεγάλος συντελεστής ωριμότητας δεν συνεπάγει πάντοτε τη διάσπαση των μεγάλων υδατοδιαλυτών κλασμάτων του τυριού σε απλούστερα, που είναι και αυτά που ευθύνονται κυρίως για την γεύση και το άρωμα του τυριού. Έτσι για να βρεθεί το βάθος ωρίμανσης πρέπει να γίνει περεταίρω κλασμάτωση του υδατοδιαλυτού αζώτου επιτυγχάνεται με τη χρήση διαλύματος 12% τριχλωροξικού οξέος TCA και έτσι το κλάσμα περιέχει το αζωτούχο κλάσμα μεσαίου και μικρά μεγέθους πεπτίδια, αμινοξέα και αζωτούχες ουσίες. Με την πρωτεόλυση εκτός από

τα αρώματα και τα αρώματα που προσδίδει στο τυρί καθορίζει και την δομή και υφή του. Σημαντικό να αναφέρουμε είναι ότι με την πρωτεόλυση του τυριού γίνεται υδρόλυση πρωτεϊνών, σε απαραίτητα αμινοξέα τα οποία είναι απαραίτητα για τον ανθρώπινο οργανισμό (Ανυφαντάκης 2004).

### **1.11 Μικροβιολογικές αναλύσεις**

Τα τυριά δεν είναι στείρα, γάλα και γαλακτοκομικά προϊόντα έχουν ενοχοποιηθεί πολλές φορές για την εμφάνιση τροφιμογενών ασθενειών, ως φορείς μικροοργανισμών ή τοξινών (Ανυφαντάκης 2004). Ο μικροβιολογικός έλεγχος των τυριών είναι απαραίτητος και πρέπει να γίνεται έτσι ώστε να διαπιστωθεί η μικροβιολογική ποιότητα του τυριού. Η μικροβιολογική ποιότητα εξαρτάται από τον αριθμό των κολοβακτηρίων και του *E.coli* καθώς και των αριθμών του *Staphylococcus aureus*. Οι προδιαγραφές για τα παθογόνα βακτήρια *Listeria monocytogenes*, τις Σαλμονέλλες και *Staphylococcus aureus* και οι μέγιστοι πληθυσμοί για τα κολοβακτηρίδια και *E.coli*, θέτονται για το τυρί με βάση τον κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 1441/2007 (Αντωνίου Ι 2005). Ο ολικός αριθμός των μικροοργανισμών δεν έχει κάποιο ιδιαίτερο νόημα στα ωριμασμένα κυρίως τυριά γιατί περιλαμβάνει και τα οξυγαλακτικά βακτήρια που συμβάλλουν στην ζύμωση των τυριών κατά την ωρίμανση (Κεχαγιάς 2009). Ανάλογα με τις συνθήκες υγιεινής που επικρατούν κατά τα διάφορα στάδια παραγωγής του τυριού μπορεί να επιμολυνθεί από διάφορους άλλους μικροοργανισμούς, βακτήρια, ζύμες και μύκητες. Μετά την παρασκευή των τυριών η μικροχλωρίδα η οποία αποτελείται το τυρί είναι τα ειδικά οξυγαλακτικά βακτήρια που προστίθενται στο τυρί για την ζύμωση και επομένως την ωρίμανση τους, τα θερμοάαντοχα βακτήρια τα οποία επιζούν κατά την παστερίωση και προϋπήρχαν στο γάλα, τα βακτήρια επιμόλυνσης που προέρχονται από το αλάτι, την πυτιά, άλλα πρόσθετα, σκέυη, περιβάλλον και μηχανήματα καθώς και ζυμομήκυτες, ευρωμήκυτες, αλλά και κάποιοι άλλοι παθογόνοι μικροοργανισμοί που υπάρχουν στο τυρί λόγω κακή υγιεινής του προσωπικού. Έτσι ο μικροβιολογικός έλεγχος είναι απαραίτητος για να εξεταστεί αν το τυρί έχει επιμολυνθεί αλλά και για τον έλεγχο των οξυγαλακτικών βακτηρίων που υπάρχουν στο τυρί και συμβάλλουν στην ζύμωση του (Αντωνίου Ι 2005)

## 2 Σκοπός

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν να εξετάσουμε την επίδραση μιας νέας φυτικής πυτιάς, την πυτιά από ένζυμα αγριαγκινάρας η οποία από χρόνια πριν χρησιμοποιούταν για παραδοσιακά τυριά της Πορτογαλίας και Ισπανίας. Στόχος ήταν να φτιάξουμε 2 πανομοιότυπα τυριά που η μόνη παράμετρος η οποία θα διέφερε ήταν η πυτιά, έτσι ώστε να μελετήσουμε την επίδραση της στο τυρί. Όλοι οι υπόλοιποι παράμετροι μένανε σταθεροί. Αυτό που θέλαμε να αποδείξουμε είναι αν η αγριαγκινάρα έχει κάποια διαφορετική επίδραση ως προς τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, γεύση, άρωμα, χρώμα και υφή, είτε προς την μικροβιακή χλωρίδα, την ωρίμανση του τυριού επομένως την πρωτεολυτική της δράση, ακόμη και στη χημική του σύσταση δηλαδή την περιεκτικότητα του σε πρωτεΐνες, λίπος, υγρασία αλατότητα και pH. Επίσης μια θετική σε αυτό αλλαγή για παράδειγμα μεγαλύτερη απόδοση του γάλακτος σε τυρί θα έδινε μια θετική ώθηση για την προώθηση του και στο να αντικαταστήσει άλλες πυτιές και να θεωρηθεί ως μια επιτυχημένη υποκατάστατη πυτιά. Επίσης λόγω του ότι υπάρχει μια συνεχής αναζήτηση για νέα υποκατάστατα πυτιάς, λόγω της ανάγκης να εξυπηρετηθούν, πιο απαιτούμενοι καταναλωτές, που μπορεί να έχουν αρνητική προκατάληψη για τις γενετικά τροποποιημένες πυτιές, καταναλωτές με θρησκευτικά θέματα, αλλά ακόμη και χορτοφάγοι που δεν επιθυμούν να καταναλώνουν πυτιές ζωικής προελεύσεως, έτσι η πυτιά αυτή μπορεί να είναι μια πολύ καλή εναλλακτική λύση

### **3 ΜΕΘΟΔΟΙ-ΥΛΙΚΑ**

#### **3.1 Προσδιορισμός δοσολογίας cynzime® τυτιάς σε αιγινό και αγελαδινό γάλα**

##### **3.1.1 Όργανα συσκευές-Σκεύη-Υλικά**

- Incubator
- Θερμόμετρο
- Υδατόλουτρο
- Πεχάμετρο
- Lactostar
- Ποτήρια ζέσεως των 500ml
- Ογκομετρικός σωλήνας
- Πυτιά cynzime®
- Αιγινό γάλα
- Αγελαδινό γάλα
- Απιονισμένο νερό
- $\text{CaCl}_2$  40% w/v (20ml/100L γάλακτος)

##### **3.1.2 Μεθοδολογία**

Ο προσδιορισμός δοσολογίας της τυτιά και χρόνου έτσι ώστε να επέλθει η επιθυμητή πήξη. Ο προσδιορισμός αυτός γίνεται αλλάζοντας την παράμετρο χρόνο και ποσότητα της τυτιάς αφήνοντας σταθερή την παράμετρο θερμοκρασία πήξης στους 33 °C. Οι ποσότητες τυτιάς που δοκιμάζονται στηρίζονται στην προτεινόμενη δοσολογία με βάση την δύναμη της τυτιάς Cynzime® που αναγράφεται στην παράγραφο 1.4.2.1.2. Οι δοκιμές έγιναν σε δυο είδη γάλακτος, αιγινού και αγελαδινού. Για την προσθήκη άλλων παραμέτρων που βοηθούν στην πήξη του γάλακτος εξετάστηκαν μετέπειτα.

### 3.1.3 Μέθοδος

Μετρίεται η ποσότητα του γάλακτος σε ογκομετρικό σωλήνα και ζεσταίνεται στο υδατόλουτρο και ελέγχεται η θερμοκρασία του γάλακτος με θερμόμετρο. Όταν φτάσει η θερμοκρασία στους 33 °C ζυγίζεται η ποσότητα της πυτιάς (g) σε ποτήρι ζέσεως, διαλύεται σε μικρή ποσότητα απιονισμένου νερό (ml) και προστίθεται στο ζεστό γάλα. Στην συνέχεια τα δείγματα τοποθετούνται στο incubator όπου η θερμοκρασία είναι σταθερή στους 33 °C. Το κάθε δείγμα αφήνεται σε διαφορετικούς χρόνους για να εξεταστεί ο κατάλληλος χρόνος που επέρχεται η πήξη. Η πήξη του γάλακτος εξεταζόταν εμπειρικά με το κόψιμο, τον διαχωρισμό του τυροπήγματος από τα τοιχώματα και την συνεκτικότητα του τυροπήγματος. Έγιναν 4 δοκιμές σε 4 μέρες έτσι ώστε να διεξαχθούν τα αποτελέσματα και να παρθεί η απόφαση για την ακριβής ποσότητα της cynzime® πυτιάς που θα χρησιμοποιηθεί στην πειραματική διαδικασία παραγωγής σκληρού τυριού αλλά για τον σωστό χρόνο πήξης του γάλακτος.

**Πίνακας 5: οι διαφορετικές ποσότητες πυτιές cynzime® που χρησιμοποιήθηκαν (g/300ml γάλακτος) με διαφορετικό χρόνο πήξης σε αγινό γάλα, σε θερμοκρασία 33 °C σε 4 δείγματα**

Μέρα 1 <sup>η</sup>					
Αρ. δείγματος	ποσότητα πυτιάς (g/300ml αγινού γάλακτος)	Χρόνος (min)			
		30	40	50	60
1	0,1	×	×	√	√
2	0,2	×	×	√	√
3	0,3	×	√	√	√√
4	0,4	√	√√	√√	√√√



**Πίνακας 6: οι διαφορετικές ποσότητες πυτιές cynzime® που χρησιμοποιήθηκαν (g/300ml γάλακτος) με διαφορετικό χρόνο πήξης σε αγινό γάλα, σε θερμοκρασία 33 °C σε 2 δείγματα**

Μέρα 2 <sup>η</sup>				
Αρ. δείγματος	ποσότητα πυτιάς (g/300ml αγινού γάλακτος)	Χρόνος (min)		
		40	50	60
1	0,4	√√	√√	√√√
2	0,5	√√√	√√√ (άρχισε συναίρεση)	√√√√ (υπερβολική συναίρεση)

**Πίνακας 7 : οι διαφορετικές ποσότητες πυτιές cynzime® που χρησιμοποιήθηκαν (g/300ml γάλακτος) με διαφορετικό χρόνο πήξης σε αγελαδινό γάλα με pH 6,8, σε θερμοκρασία 33 °C σε 8 δείγματα**

Μέρα 3 <sup>η</sup>				
Αρ. δείγματος	Ποσότητα πυτιάς (g/300ml αγελαδινού γάλακτος)	Χρόνος (min)		
		30	45	60
1	0,4	×	√	√
2	0,5	×	√	√
3	0,6	×	√	√
4	0,7	×	√	√
5	0,8	√	√	√
6	0,9	√	√	√
7	1,0	√	√√	√√
8	1,1	√	√√	√√

**Πίνακας 8: οι διαφορετικές ποσότητες πυτιάς cynzime® που χρησιμοποιήθηκαν (g/300ml γάλακτος) με διαφορετικό χρόνο πήξης σε αγινό γάλα, σε θερμοκρασία 33 °C σε 2 δείγματα με pH 6.63 και οι διαφορετικές ποσότητες πυτιάς cynzime® που χρησιμοποιήθηκαν (g/300ml γάλακτος)**

Μέρα 4 <sup>η</sup>				
Αρ. δείγματος	Ποσότητα πυτιάς (g/300ml αγινού γάλακτος)	Χρόνος (min)		
		30	45	60
1	0,4	√	√√	√√√
2	0,5	√	√√√	√√√√ (μερική συναίρεση)
Αρ. δείγματος	Ποσότητα πυτιάς (g/300ml αγελαδινού γάλακτος) με 60 μl CaCl <sub>2</sub>	Χρόνος (min)		
		30	45	60
3	0,7	√	√	√√
4	0,8	√	√√	√√
5	0,9	√	√√	√√√
6	1,0	√	√√	√√√

×: καθόλου πήξη

√: άρχισε η πήξη

√√: καλή πήξη

√√√: πολύ καλή πήξη

√√√√: κανονική-ολοκληρωμένη πήξη

**Πίνακας 9: Προσδιορισμός σύστασης αιγινού και αγελαδινού γάλακτος της 4ης μέρας**

Lactostar		
Σύστατικό	Αιγινό γάλα (%)	Αγελαδινό γάλα(%)
Λίπος	5,00	3,80
Πρωτεΐνες	3,86	3,79
Λακτόζη	5,56	5,49
Ολικά στερεά άνευ λίπους	10,25	10,09

Παρατηρήσεις:

Με βάση τους πιο πάνω πίνακες συμπεραίνεται ότι δεν μπορεί να επέλθει η επιθυμητή πήξη του αγελαδινού γάλακτος ακόμη και με την προσθήκη  $\text{CaCl}_2$ , καθώς επίσης παρατηρείται ότι από μια χρονική περίοδο και μετέπειτα δεν υπάρχει κάποια πρόοδος στην πήξη ακόμη και με την πάροδο του χρόνου. Αντιθέτως στο αιγινό γάλα η πήξη με την προσθήκη πυτιάς με ποσότητα 0,4 g/300 ml γάλακτος η πήξη ήταν αρκετά καλή και πάλι όμως όχι η βέλτιστη που θα μπορούσε να ήταν. Αφού είδαμε ότι σε ποσότητα 0,5 g/300 ml παρατηρείται να μην πολύ καλή πήξη αλλά και το φαινόμενο της συναίρεσης, αποφασίστηκε ότι μια ιδανική πήξη του αιγινού γάλακτος μπορεί να επέλθει με 0,4 g/300 ml cynzime® πυτιάς και προσθήκη 40 % w/v  $\text{CaCl}_2$  20ml/100L γάλακτος.

## **3.2 Τυροκόμηση**

### **3.2.1 Παρασκευή άλμης 20%**

#### **3.2.1.1 Όργανα συσκευές-Σκεύη-Υλικά**

- Ζυγαριά
- Δοχείο παρασκευής άλμης
- Ογκομετρικό σωλήνα 2 L
- Αλατόμετρο
- Πεχάμετρο
- Πόσιμο νερό

- Αλάτι χοντρό
- Οξικό οξύ
- CaCl 0.5%
- Επιφανειακός ψυκτήρας

### **3.2.1.2 Μεθοδολογία**

Γίνεται μέτρηση σε ογκομετρικό σωλήνα, 12 L πόσιμο νερό και προστείνεται στο δοχείο παρασκευής άλμης. Αργότερα προστίθεται στο δοχείο παρασκευής άλμης 2,4 kg αλάτι, οξικό οξύ μέχρι η τιμή του pH γίνει περίπου 5 και 0,5 % CaCl<sub>2</sub>. Μετά γίνεται, μέτρηση του pH της άλμης με πεχάμετρο, το pH ήταν 4,75 και μέτρηση και έλεγχος ποσοστού άλμης με πεχάμετρο. Τέλος θερμαίνεται η άλμη μέχρι να φτάσει στους 27 °C και διαλυτοποιηθεί και στην συνέχεια ψύχεται με επιφανειακό ψυκτήρα μέχρι να φτάσει στους 13 °C για να μπορεί να προστεθεί το τυρί.

### **3.2.2 Παρασκευή 40% w/v CaCl<sub>2</sub>**

#### **3.2.2.1 Όργανα συσκευές-Σκεύη-Υλικά**

- Ογκομετρική φιάλη 100ml
- Θερμαντική πλάκα
- Μαγνητάκι
- ζυγαριά
- CaCl<sub>2</sub>
- Απιονισμένο νερό

#### **3.2.2.2 Μεθοδολογία**

Ζυγίζονται 40g CaCl<sub>2</sub> ογκομετρική φιάλη των 100 ml και προστίθεται απεσταγμένο νερό μέχρι την χαραγή. Στην ογκομετρική φιάλη προστίθεται το μαγνητάκι και ζεσταίνεται στην θερμαντική πλάκα για να διαλυτοποιηθεί.

### **3.2.3 Παρασκευή τυριού με την πυτιά CHY-MAX® Powder Plus NB**

#### **3.2.3.1 Όργανα συσκευές-Σκεύη-Υλικά**

- Αυτόματος μετρητής θερμοκρασίας και υγρασίας χώρου
- Θερμόμετρο
- Πήχτρα
- Επιφανειακός ψυκτήρας
- Δοχείο παρασκευής άλμης
- Τυροτράπεζα
- Τυροκλέφτης
- Πλαστικά καλούπια (τελάρια)
- Κουτάλα
- Ξύλινο ράφι ωρίμανσης
- Τυροκόπτης
- Ογκομετρικός σωλήνας
- Πυτιά CHY-MAX® Powder Plus NB
- Αιγινό γάλα
- Αλάτι χοντρό
- Καλλιέργειες LH32, Yo-Flex 812
- Άλμη 20%

#### **3.2.3.2 Διαδικασία παραγωγής**

Γάλα-Καλλιέργεια: Προσθήκη θερμοφίλων καλλιεργειών 1,4g LH32 και 42g Yo-Flex 812 στο παστεριωμένο 14 L αιγινό γάλα στην πήχτρα. Το γάλα ψύχεται με επιφανειακό ψυκτήρα για να πέσει η θερμοκρασία του από τους 63 °C που γίνεται η παστερίωση για 30 λεπτά στην θερμοκρασία πήξης.

Πήξη: Η πήξη γίνεται με την προσθήκη 0.35g πυτιάς CHY-MAX® Powder Plus NB στους 34.5 °C για 37 λεπτά. Η θερμοκρασίες ελέγχονται με το θερμόμετρο.

Διαίρεση: Η διαίρεση γίνεται με τον τυροκόφτη σε μέγεθος καλαμποκιού

Αναθέρμανση: Γίνεται αναθέρμανση στους 45 °C για 15 λεπτά και αναδεύεται το τυρόπηγμα.

Εξαγωγή τυρομάζας: Γίνεται εξαγωγή τυρομάζα με την κουτάλα στα τελάρια, χωρίς πίεση και αφήνεται στην τυροτρέπεζα και το τυρί αναποδογυρίζεται 2-3 φορές στα τελάρια.

Αλάτισμα: Μετά γίνεται το αλάτισμα για 20 ώρες σε άλμη 20% στο δοχείο παρασκευής άλμης. Η επιφάνεια του τυριού που δεν καλύπτεται από την άλμη αλατίζεται ελαφρώς με χοντρό αλάτι.

Ωρίμανση: Η ωρίμανση γίνεται για 30 μέρες σε ξύλινα ράφια στο εργαστήριο. Η μέση θερμοκρασία είναι 19.4 °C και μέση υγρασία 54,3 % για το σύνολο των ημερών ωρίμανσης. Η θερμοκρασία και η υγρασία καταγράφεται από τον αυτόματο μετρητή υγρασίας και θερμοκρασίας χώρου. Καθ' όλη την διάρκεια της ωρίμανσης λαμβάνονται δείγματα με τον τυροκλέφτη από 2 διαφορετικά σημεία του τυριού, αρχικά στις 7 μέρες, 14, 21 και τέλος στις 30 μέρες.

### **3.2.4 Παρασκευή τυριού με την πυτιά Cynzime®**

#### **3.2.4.1 Όργανα συσκευές-Σκεύη-Υλικά**

- Αυτόματος μετρητής θερμοκρασίας και υγρασίας χώρου
- Θερμόμετρο
- Πήχτρα
- Επιφανειακός ψυκτήρας
- Δοχείο παρασκευής άλμης
- Τυροτρέπεζα
- Τυροκλέφτης
- Πλαστικά καλούπια (τελάρια)
- Κουτάλα
- Ξύλινο ράφι ωρίμανσης

- Τυροκόπτης
- Πυτιά Cynzime®
- Αιγινό γάλα
- Αλάτι χοντρό
- Καλλιέργειες LH32, Yo-Flex 812
- CaCl<sub>2</sub> 40% w/v
- Άλμη 20%

#### **3.2.4.2 Διαδικασία παραγωγής**

Γάλα-Καλλιέργεια: Προσθήκη θερμοφίλων καλλιεργειών 1,2g LH32 και 36g Yo-Flex 812 στο παστεριωμένο 12 L αιγινό γάλα στην πήχτρα. Το γάλα ψύχεται με επιφανειακό ψυκτήρα για να πέσει η θερμοκρασία του από τους 63 °C που γίνεται η παστερίωση για 30 λεπτά στην θερμοκρασία πήξης.

Πήξη: Η πήξη γίνεται με την προσθήκη CaCl<sub>2</sub> και προσθήκη 14.4g πυτιάς Cynzime® στους 35 °C για 45 λεπτά. Η θερμοκρασίες ελέγχονται με το θερμόμετρο.

Διείριση: Η διείριση γίνεται με τον τυροκόφτη σε μέγεθος καλαμποκιού

Αναθέρμανση: Γίνεται αναθέρμανση στους 45 °C για 15 λεπτά και αναδεύεται το τυρόπηγμα.

Εξαγωγή τυρομάζας: Γίνεται εξαγωγή τυρομάζα με την κουτάλα στα τελάρια, χωρίς πίεση και αφήνεται στην τυροτρέπεζα και το τυρί αναποδογυρίζεται 2-3 φορές στα τελάρια.

Αλάτισμα: Μετά γίνεται το αλάτισμα για 20 ώρες σε άλμη 20% στο δοχείο παρασκευής άλμης. Η επιφάνεια του τυριού που δεν καλύπτεται από την άλμη αλατίζεται ελαφρώς με χοντρό αλάτι.

Ωρίμανση: Η ωρίμανση γίνεται για 30 μέρες σε ξύλινα ράφια στο εργαστήριο. Η μέση θερμοκρασία είναι 19.4 °C και μέση υγρασία 54,3 % για το σύνολο των ημερών ωρίμανσης, Η θερμοκρασία και η υγρασία καταγράφεται από τον αυτόματο μετρητή υγρασίας και θερμοκρασίας χώρου. Καθ' όλη την διάρκεια της ωρίμανσης λαμβάνονται δείγματα με τον τυροκλέφτη από 2 διαφορετικά σημεία του τυριού, αρχικά στις 7 μέρες, 14, 21 και τέλος στις 30 μέρες.

### 3.2.5 Προσδιορισμός οξύτητα με ογκομετρική μέθοδο Dornic

#### 3.2.5.1 Όργανα συσκευές-Σκεύη-Υλικά

- Δείκτης φαινολοφθαλεΐνης 0,1%
- NaOH 0.1 M
- Προχοΐδα
- Σιφόνιο με πουάρ
- Κωνικές φιάλες
- Δείγμα αιγινού γάλακτος

#### 3.2.5.2 Αρχή μεθόδου

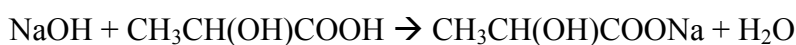
Με την προσθήκη καυστικού νατρίου, εξουδετερώνεται η οξύτητα του δείγματος και αυτό διαπιστώνεται με την μεταβολή του χρώματος, δηλαδή από λευκό γίνεται ελαφρά ρόδινο.

#### 3.2.5.3 Μέθοδος

Σε κωνική φιάλη των 100ml προσθέστε με σιφόνιο 10ml δείγμα αιγινού γάλακτος και 3 σταγόνες δείκτη φαινολοφθαλεΐνης. Με προχοΐδα, προσθέστε διάλυμα καυστικού νατρίου 0.1 M, ενώ αναδεύστε συνεχώς. Το τέλος της τιτλοδότησης διαπιστώνεται με την μεταβολή του χρώματος του γάλακτος από λευκό σε ελαφρά ρόδινο. Η εκτίμηση του χρώματος πρέπει να γίνεται άμεσα, επειδή πολύ γρήγορα συμβαίνει αποχρωματισμός εξαιτίας δευτερευουσών αντιδράσεων που συμβαίνουν μεταξύ του NaOH και των αλάτων του γάλακτος. Το αποτέλεσμα των αντιδράσεων αυτών είναι η προσθήκη  $H^+$ , τα οποία μειώνουν το pH σε τιμές μικρότερες του pH 8.3, που είναι το σημείο αλλαγής του χρώματος του δείκτη φαινολοφθαλεΐνης. Σημειώστε τα ml του καυστικού νατρίου που καταναλώθηκαν. Υπολογίστε την περιεκτικότητα του γάλακτος σε γαλακτικό οξύ % με βάση τον τύπο

$$\% \text{ γαλακτικό οξύ} = (\text{ml NaOH } 0.1 \text{ M} \times 0.01 \times 100) / \text{Βάρος δείγματος}$$

\*Κάθε ml διαλύματος καυστικού νατρίου εξουδετερώνει 0,01g γαλακτικού οξέος του γάλακτος, επειδή:



40 g καυστικού νατρίου 0.1 M εξουδετερώνουν 90 g γαλακτικού οξέος (χημικά ισοδύναμα)



1000 ml καυστικού νατρίου 0.9 M εξουδετερώνουν 90 g γαλακτικού οξέος

1000 ml καυστικού νατρίου 0.1 M εξουδετερώνουν 90 / 9 g γαλακτικού οξέος

1 ml καυστικού νατρίου 0.1 M εξουδετερώνει 0.01 g γαλακτικού οξέος

Επομένως, με την τεχνική αυτή υπολογίζουμε την οξύτητα σε γαλακτικό οξύ %, διαιρώντας τα ml καυστικού νατρίου που καταναλώθηκαν με την τιτλοδότηση, δια του 10.

### 3.2.6 Ηλεκτρομετρικός προσδιορισμός του pH του γάλακτος

Η έκφραση της οξύτητας μπορεί να εκφραστεί και με τον προσδιορισμό του pH. Υπάρχει κάποια σχέση μεταξύ του pH και της ογκομετρούμενης οξύτητας. Με το pH μπορεί να προσδιοριστεί η ένταση της οξύτητας (συγκέντρωση ιόντων υδρογόνου) ενώ με τον προσδιορισμό της οξύτητας η ποσότητα της (το σύνολο των ατόμων του υδρογόνου). Η κλίμακα του pH είναι 0 έως 14. Η ουδετερότητα του pH 7,0. Τιμές μικρότερες του 7,0 δηλώνουν οξύτητα η ένταση της οποίας αυξάνεται με τη μείωση του pH, ενώ οι μεγαλύτερες του 7,0 δηλώνουν αλκαλικότητα. Το pH του γάλακτος κυμαίνεται συνήθως 6,6 με 6,75. Όταν το pH είναι μικρότερο του 6,50, το γάλα θεωρείται επικίνδυνα όξινο και συνήθως δεν παραλαμβάνεται από τις βιομηχανίες. Η μέτρηση του pH του γάλακτος είναι δυνατό να γίνει χρωματομετρικά ή ηλεκτρομετρικά. Για τη μέτρηση του ηλεκτρομετρικού προσδιορισμού του pH γάλακτος, χρησιμοποιούνται όργανα γνωστά ως πεχάμετρα. Αυτά συνδυάζονται με το κατάλληλο κατά περίπτωση ηλεκτρόδιο και επιτρέπουν την μέτρηση του pH. Η μέθοδος αυτή χαρακτηρίζεται από μεγαλύτερη ακρίβεια απ' ότι η χρωματομετρική και προσδιορίζει το pH επίσης σε πολύ μικρό χρονικό διάστημα.



**Διάγραμμα 2:** Ηλεκτρομετρικός προσδιορισμός του pH του γάλακτος.

### **3.2.7 Προσδιορισμός σύστασης γάλακτος με Lactostar**

#### **3.2.7.1 Αρχή μεθόδου**

Το δείγμα γάλακτος αναρροφάται στις κυψελίδες μέτρησης με τη βοήθεια μιας αντλίας. Τόσο η περιεκτικότητα σε λίπος και σε ολικά στερεά άνευ λίπους (SNF), προσδιορίζονται με την χρήση θερμικής μέτρησης αποτελεσμάτων.

#### **3.2.7.2 Πρόσθετα μήκη κύματος**

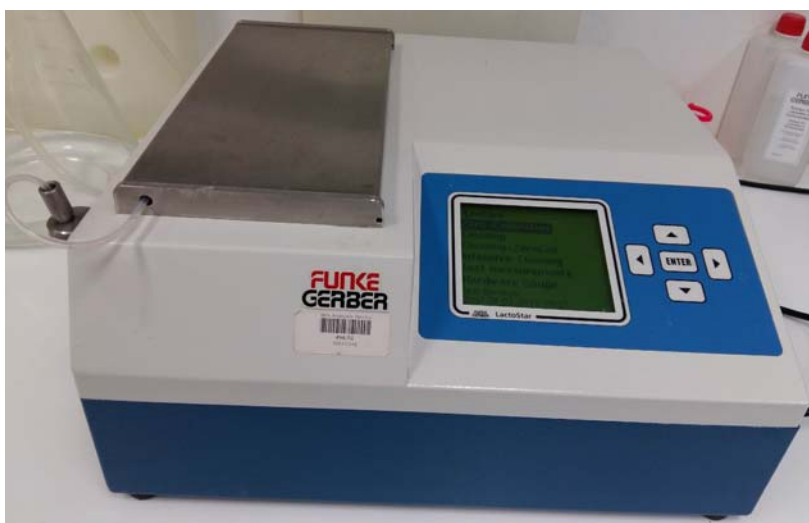
Η πρωτεΐνη, η λακτόζη, η πυκνότητα και τα μέταλλα καθορίζονται με την βοήθεια μιας δεύτερης κυψελίδας μέτρησης, η οποία είναι συνδυασμένη με έναν εξοπλισμό με 2 αισθητήρες αντίστασης και θολερότητας και χρησιμοποιούν 4 διαφορετικά οπτικά μήκη κύματος.

#### **3.2.7.3 Διασυνδέσεις**

Παράλληλη διεπαφή (σύνδεση με εκτυπωτή), σειριακή διεπαφή ( σύνδεση με ηλεκτρονικό υπολογιστή)

#### **3.2.7.4 Χαρακτηριστικά συσκευής-Βαθμονόμηση**

Οι συσκευές αποθηκεύουν μέχρι και 20 διαφορετικά στοιχεία βαθμονόμησης. Μπορούν να αποθηκεύσουν διάφορα είδη γάλακτος χωρίς να χρειάζεται νέα βαθμονόμηση.



**Διάγραμμα 3:** Συσκευή Lactostar για το προσδιορισμό της σύστασης του γάλακτοςΥπολογισμός απόδοσης γάλακτος σε τυρί

Η απόδοση του γάλακτος σε τυρί (%), υπολογίζεται από την ποσότητα του γάλακτος (L) που χρησιμοποιήθηκε για την τυροκόμηση και το τελικό βάρος του τυριού (kg). Υπολογίζεται από τη εξίσωση:

$$\text{Απόδοση \%} = (\text{τελικό βάρος τυριού} \times 100) / \text{ποσότητα αιγινού γάλακτος}$$

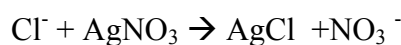
### 3.3 Προσδιορισμός αλατότητας με τη μέθοδο Mohr

#### 3.3.1 Όργανα συσκευές-Σκέυη-Υλικά

- Ποτήρι ζέσεως
- Ογκομετρικός κύλινδρος των 250 ml
- Κωνική φιάλη των 250 ml με πώμα
- Απλή κωνική φιάλη των 100 ml
- Προχοΐδα
- Διάλυμα 2% χρωμικού καλίου ( $\text{K}_2\text{CrO}_4$ )  
[2 g  $\text{K}_2\text{CrO}_4$  και συμπλήρωση με νερό μέχρι 100 ml]
- Διάλυμα νιτρικού αργύρου 0,171 N  
[14,52 g  $\text{AgNO}_3$  σε 500 ml νερό]

#### 3.3.2 Αρχή μεθόδου

Το  $\text{NaCl}$  όταν διαλύεται μέσα στο νερό, δίσταται σε :  $\text{Na}^+ + \text{Cl}^-$  Τα ιόντα χλωρίου ( $\text{Cl}^-$ ) μπορούν να προσδιοριστούν με ογκομέτρηση χρησιμοποιώντας διάλυμα  $\text{AgNO}_3$



Κατά την αντίδραση όλα τα  $\text{Cl}^-$  δεσμεύονται από τα  $\text{Ag}^+$  και σχηματίζουν λευκό ίζημα. Για να αντιληφθούμε το τέλος της αντίδρασης (δηλαδή τότε δεσμεύτηκαν όλα τα ιόντα χλωρίου) θα προστίθεται δείκτης  $\text{K}_2\text{CrO}_4$  που αρχικά θα χρωματίσει το διάλυμα κίτρινο και μόλις δεσμευτούν όλα τα  $\text{Cl}^-$  τότε το διάλυμα χρωματίζεται κεραμέρυθρο ( $\text{Ag}_2\text{CrO}_4$ ), οπότε και σταματάει τη ογκομέτρηση. Από την ποσότητα (ml) του  $\text{AgNO}_3$  που καταναλώθηκαν για να δεσμευτούν όλα τα  $\text{Cl}^-$  υπολογίζεται η ποσότητα των  $\text{Cl}^-$  και μετά την ποσότητα του  $\text{NaCl}$  του διαλύματος μας.

1 ml διαλύματος  $\text{AgNO}_3$  (0.71 N) αντιστοιχεί σε 1 % αλάτι στο δείγμα

### 3.3.3 Μέθοδος

Ζυγίζονται 10 g δείγματος σε ποτήρι ζέσεως και με την βοήθεια μίξερ ομογενοποιούνται καλά με 50 ml νερού ( $\theta=60^{\circ}\text{C}$ ). Το μείγμα μεταφέρεται σε ογκομετρικό κύλινδρο και συμπληρώνεται με ζεστό νερό μέχρι τα 250 ml, στη συνέχεια ανακινείται και αφήνεται να ηρεμήσει για περίπου 30 λεπτά. Από το υπερκείμενο υγρό λαμβάνονται 25 ml και τοποθετούνται σε κωνική φιάλη και προστίθεται 2 ml δείκτη χρωμικού καλίου (2%). Τέλος γίνεται ογκομέτρηση με διάλυμα νιτρικού αργύρου (0,171N), μέχρι ο κεραμέρυθρο χρωματισμός να παραμείνει για τουλάχιστον 10 δευτερόλεπτα.

1 ml διαλύματος  $\text{AgNO}_3$  (0.171N) αντιστοιχεί σε 1% αλάτι στο δείγμα

## 3.4 Προσδιορισμός στερεού υπολείμματος (Σταθμική μέθοδος ξήρανσης)

### 3.4.1 Όργανα συσκευές-Σκεύη-Υλικά

- Αναλυτικός ζυγός
- Κλίβανος θερμοκρασίας  $105^{\circ}\text{C}$
- Γυάλινη κάψα ή δίσκος νικελίου ή αλουμινίου
- Γυάλινη ράβδος
- Ξηραντήριο
- Άμμος
- Οξικό οξύ
- Δείγμα (τυρί)

### 3.4.2 Αρχή μεθόδου

Το δείγμα ξηραίνεται σε κλίβανο με θερμοκρασία  $105^{\circ}\text{C}$  και με την προσθήκη άμμου και οξικού οξέος ακολουθεί η εξάτμιση του εναπομείναντος νερού στο κλίβανο θερμοκρασίας  $105^{\circ}\text{C}$ , μέχρι σταθερού βάρους. Συγκεκριμένα, το στερεό υπόλειμμα του δείγματος λέγεται το στερεό που παραμένει μετά την εξάτμιση του νερού και ορισμένων πτητικών ενώσεων. Περιέχονται κυρίως λίπος, πρωτεΐνες, λακτόζη και άλατα.

### 3.4.3 Μέθοδος

Σε γυάλινη κάψα ή δίσκο αλουμινίου ή νικελίου τοποθετείται γυάλινη ράβδος και περίπου 10 g άμμος, ξηραίνεται σε κλίβανο θερμοκρασίας 105°C για 30 λεπτά, ψύχεται σε ξηραντήριο και ζυγίζεται (βάρος Α). Μετά ζυγίζονται 3 g λειοτριβμένου δείγματος (θ=20°C) μέσα στην κάψα (βάρος Β). Ακολουθεί προσθήκη 3 σταγόνων οξικού οξέος πάνω στο δείγμα. Τοποθετείται το δείγμα σε κλίβανο στους 105°C. Στα πρώτα 30 λεπτά, πρέπει να γίνεται ανακάτεμα συχνά το περιεχόμενο της κάψας, για την αποφυγή επιφανειακής ξήρανσης και σχηματισμού υμένα. Όταν περάσουν 3-4 ώρες, η κάψα αφήνεται να κρυώσει σε ξηραντήρα. Ζυγίζεται η κάψα με το περιεχόμενο (βάρος Γ). Η υγρασία του του δείγματος υπολογίζεται από τον τύπο:

$$\text{Στερεό υπόλειμμα} = 1 - \{(B - \Gamma) / (B - A)\}$$

$$\text{Υγρασία (\%)} = (1 - \text{Στερεό υπόλειμμα}) \times 100$$

## 3.5 Ποσοτικός προσδιορισμός πρωτεϊνών με τη μέθοδο Bradford assay

### 3.5.1 Όργανα συσκευές-Σκεύη-Υλικά

- Φυγόκεντρος
- Vortex mixer
- Φασματόμετρο (UV-visible)
- Eppendorf tubes
- Falcon tube
- Πιπέτες
- 12% TCA
- 1g δείγμα τυριού
- Χρωστική Bradford ( 100 mg Coomassie Brilliant Blue G-250 διαλύεται σε 50 ml)
- 95% αιθανόλη
- 85% (w/v) φωσφορικό οξύ
- Πρότυπο Bovine Serum Albumin, BSA (2mg/ml)

- Απιονισμένο νερό

### 3.5.2 Αρχή μεθόδου

Αντίδραση πρότυπων διαλυμάτων της πρωτεΐνης με το αντιδραστήριο Bradford. Μετρείται η απορροφητικότητα του συμπλόκου των διάφορων παρασκευασμάτων στα 595 nm. Από την απορροφητικότητα των γνωστών διαλυμάτων κατασκευάζεται η πρότυπη καμπύλη. Από την πρότυπη καμπύλη προσδιορίζεται η συγκέντρωση ενός άγνωστου διαλύματος.

### 3.5.3 Μέθοδος

Ζυγίζεται 1 g δείγμα τριμμένου τυριού και προστίθεται, 2,5 ml TCA και 250 μl H<sub>2</sub>O σε falcon tube tube. Μετά γίνεται vortex και αφήνεται σε ηρεμία για 15 λεπτά. Μετά παίρνεται 1 ml από το δείγμα και τοποθετείται σε erpendrof tube και γίνεται φυγοκέντρηση για 15 λεπτά. Από το υπερκείμενο παίρνεται 5 μl με την πιπέτα και τοποθετείται στα microplate wells και ακολούθως τοποθετούνται και 250 μl αντιδραστήριο Bradford Reagent. Σε ένα καθαρό well, τοποθετήθηκε το τυφλό που αποτελείται από 5 μl νερό. Αφήνονται και επωάζονται τα δείγματα που τοποθετήθηκαν στο microplate wells σε θερμοκρασία δωματίου σε σκοτεινό μέρος για 30 λεπτά. Τέλος γίνεται η μέτρηση της απορρόφησης στα 595 nm σε φασματόμετρο (UV-visible), το οποίο είναι συνδεδεμένο με τον υπολογιστή με το πρόγραμμα Protein i-control Tecan όπου εμφανίζονται τα αποτελέσματα. Με βάση τις απορροφήσεις, κατασκευάζεται η πρότυπη καμπύλη BSA, η οποία είναι γραμμική και με την εξίσωση  $y = mx + b$ , όπου  $y =$  απορρόφηση στα 595 nm και  $x =$  η συγκέντρωση της πρωτεΐνης. Έτσι, με αυτή την εξίσωση, υπολογίζεται η συγκέντρωση των δειγμάτων βάσει των μετρήσεων της απορρόφησης. Εάν οι απορροφήσεις, είναι εκτός ορίων από τα πρότυπα, τότε πρέπει να επαναληφθεί η διαδικασία, αφού γίνουν αραιώσεις στα δείγματα.

## 3.6 Προσδιορισμός πρωτεόλυσης με την OPA-Method

### 3.6.1 Όργανα συσκευές-Σκεύη-Υλικά

- Falcon tube
- Vortex mixer
- Φυγόκεντρος
- Φασματόμετρο (UV-visible)
- Eppendorf tube

- 0.75 N TCA
- Διάλυμα OPA
- 1,25 g δείγματος τυριού
- Πιπέτα
- Απιονισμένο νερό

### 3.6.2 Αρχή μεθόδου

Η πρωτεολυτική δραστηριότητα στα δείγματα των τυριών εκτιμάται με την φασματοφωτομετρική μέθοδο της ο-φθαλδιαλδεΐδης (o-PA) σύμφωνα με τους Church et al. (1983). Η ο-φθαλδιαλδεΐδη (o-PA) αντιδρά με τη β-μερκαπτοαιθανόλη και τις πρωτοταγείς αμίνες που απελευθερώνονται κατά την υδρόλυση των πρωτεϊνών και σχηματίζουν ένα σύμπλοκο (1-αλκυλθειό-2-αλκυλισοϊνδόλη), που απορροφά έντονα στα 340nm.

### 3.6.3 Μέθοδος

Ζυγίζονται 1,25 g τυριού και μεταφέρονταν σε falcon tube. Στο δείγμα, προσθέτονται 2,5ml τριχλωροξικού οξέος (TCA) 0,75N, 250 μl νερό και ακολουθεί ισχυρή ανάδευση σε vortex. Έπειτα τα δείγματα αφήνονται σε ηρεμία για 15min και ακολουθεί και πάλι ισχυρή ανάδευση. Στη συνέχεια 1ml δείγματος μεταφέρονταν με πιπέτα σε σωλήνες τύπου erpedorf και ακολουθούσε φυγοκέντρηση για 15min στις 12000 στροφές στους 40C. Μετά το τέλος της φυγοκέντρησης, το υπερκείμενο υγρό (όπου υπάρχουν τα ελεύθερα αμινοξέα) μεταφέρονταν σε άλλο καθαρό σωλήνα erpedorf. Κατά την ανάλυση, παραλαμβάνονταν 50μl του υπερκείμενου υγρού (κάτω όμως από την επιφανειακή στοιβάδα λίπους που πιθανώς να εμφανιστεί), προσθέτονταν 1 ml πρόσφατα παρασκευασμένου διαλύματος o-PA και ακολουθούσε καλή ανάδευση σε vortex. Μετά γινόνταν αραιώσεις 1:1, 1:2 και 1:5. Τα δείγματα προστίθενται στα micropate wells. Έπειτα από ακριβώς 2min παραμονής σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, προσδιορίζονταν η οπτική πυκνότητα (OD340) του δείγματος στα 340nm σε φασματοφωτόμετρο (UV-visible), το οποίο είναι συνδεδεμένο με τον υπολογιστή με το πρόγραμμα Protein i-control Tecan. Από την οπτική πυκνότητα του δείγματος αφαιρούνταν εκείνη του τυφλού. Η συγκέντρωση των αμινοξέων εκφραζόταν ως μg γλυκίνης ανά g δείγματος (ppm L-glycine) σύμφωνα με πρότυπη καμπύλη που κατασκευάστηκε με γνωστές συγκεντρώσεις γλυκίνης. Για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης, εφαρμόστηκε ακριβώς η ίδια μέθοδος για μια σειρά πρότυπων διαλυμάτων

γλυκίνης με συγκεντρώσεις 0, 40, 120, 160, 250 και 500 μl σε 4 g γάλακτος. Οι συγκεντρώσεις εκφράστηκαν σε ισοδύναμα γλυκίνης.

### **3.7 Μέθοδος των τρυβλίων**

#### **3.7.1 Όργανα συσκευές-Σκεύη-Υλικά**

- Spreader
- Eppendorf tubes
- Falcon tubes
- Τρυβλία
- Πιπέτα
- Vortex mixer
- Τρυβλία με υποστρώματα PCA, MRS, DRBC
- 1 g δείγμα τυριού
- MRD

#### **3.7.2 Αρχή μεθόδου**

Η μέθοδος αυτή βασίζεται στην αρίθμηση των ορατών με γυμνό μάτι αποικιών που δημιουργούν τα βακτήρια του γάλακτος σε θρεπτικό υπόστρωμα που βρίσκεται σε τρυβλία. Ένας καθορισμένος όγκος δείγματος τυριού μετά από κατάλληλη αραίωση προστίθεται στο τρυβλίο και ανάλογα με το θρεπτικό υπόστρωμα επωάζεται σε κατάλληλη θερμοκρασία σε κατάλληλο χρόνο. Για υπόστρωμα PCA που είναι για την μέτρηση ολικής μικροχλωρίδας επωάζεται στους 30°C για 72 ώρες, για υπόστρωμα MRS που είναι για την μέτρηση οξυγαλακτικών βακτηρίων επωάζεται στους 37°C για 48 ώρες, για υπόστρωμα DRBC που είναι για την μέτρηση μυκήτων και μούχλας επωάζεται στους 25°C για 5 μέρες. Οι αποικίες αριθμούνται και υπολογίζεται ο αριθμός των ζωντανών μικροοργανισμών ανά g τυριού, με τη συμβατική παραδοχή ότι κάθε ζωντανό κύτταρο δίδει μια ορατή αποικία.

#### **3.7.3 Μέθοδος**

Ζυγίζεται και μεταφέρεται 1 g δείγματος τυριού και 9 ml MRD σε falcon tube, οπότε είναι και η αρχική αραίωση  $10^{-1}$ , και μετά γίνεται ισχυρή ανάδευση vortex. Η δεύτερη αραίωση



γίνεται με τη μεταφορά 1ml από την αρχική αραιώση και 9 ml MRD σε eppendorf tube οπότε η αραιώση είναι  $10^{-2}$ . Με τον τρόπο αυτό γίνονται και οι επόμενες διαδοχικές αραιώσεις, μέχρι τον βαθμό που εκτιμάται ότι χρειάζεται. Οι μεταφορές γίνονται με αυτόματες πιπέτες. Αργότερα γίνεται ο εμβολιασμός των τρυβλίων, με αυτόματη πιπέτα βάζουμε 1 ml δείγμα από την αντίστοιχη αραιώση στο τρυβλίο και με την χρήση του spreader το δείγμα τοποθετούνται σε όλη την επιφάνεια του τρυβλίου. Καταγράφονται στο τρυβλίο όλα τα στοιχεία του δείγματος. Τοποθετούνται τα τρυβλία στον κλίβανο με την κατάλληλη θερμοκρασία και αφήνονται για επώαση στον κατάλληλο χρόνο. Αργότερα παίρνονται τα τρυβλία και αριθμίζονται οι αποικίες. Για την αριθμηση τους επιλέγονται οι επιθυμητές αραιώσεις όπου οι αποικίες φαίνονται ξεκάθαρες. Η μέτρηση γίνεται με την βοήθεια μετρητή αποικιών. Ο αριθμός των ζωντανών μικροοργανισμών ανά g τυριού, υπολογίζεται από την σχέση:

$$cfu/ml = \frac{\Sigma C}{n \times d}$$

Όπου,

ΣC: Το άθροισμα των αποικιών που καταμετρήθηκαν σ' όλα τα επιλεγμένα για καταμέτρηση τρυβλία

n: ποσότητα δείγματος

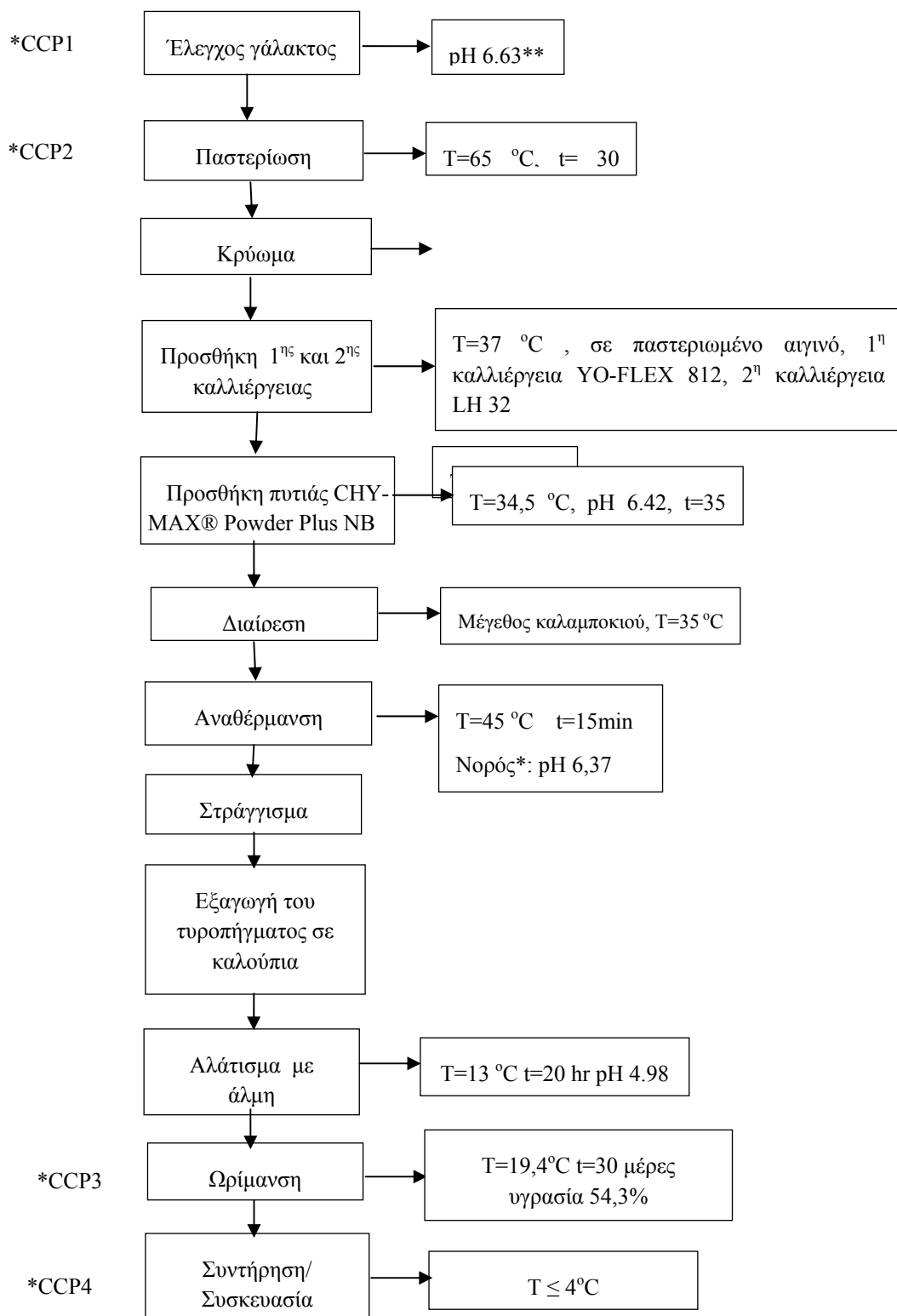
d: Η δεκαδική αραιώση που αντιστοιχεί στο τρυβλίο που μετρήθηκαν

### 3.8 QDA test

Γίνεται η μέτρηση της απόστασης στην κλίμακα των 10cm με ρίγα για το κάθε χαρακτηριστικό που ζητήθηκε από τους δοκιμαστές και καταγράφεται η απόσταση. Στη συνέχεια γίνεται ο μέσος όρος των αποτελεσμάτων και η τυπική απόκλιση για να χαρακτηριστεί το τυρί. (Βλέπε παράρτημα Α)

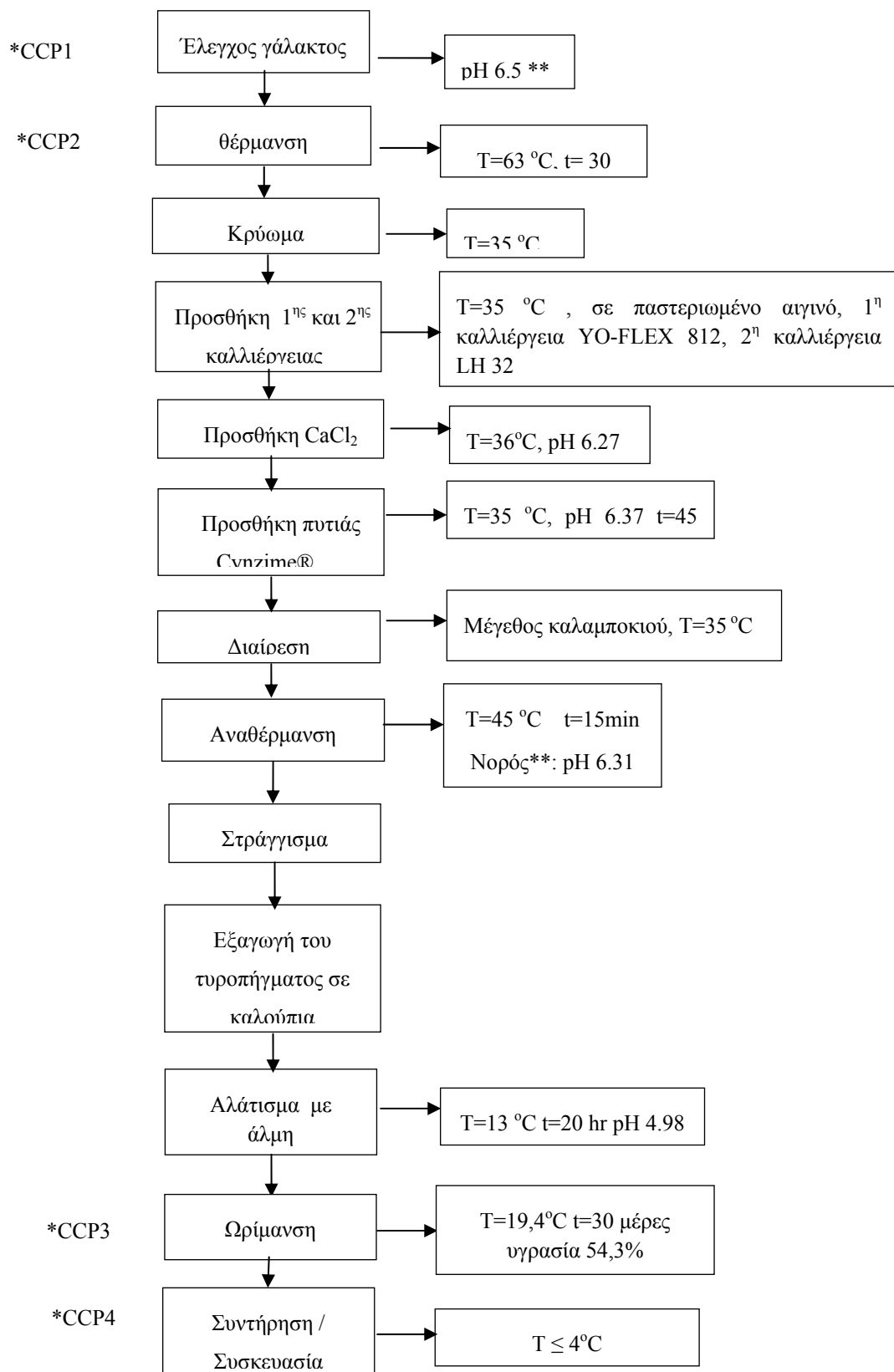
## 4 ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ ΡΟΗΣ ΣΚΛΗΡΟΥ ΤΥΡΙΟΥ

### 4.1 Διάγραμμα ροής σκληρού τυριού CHY-MAX® Powder Plus NB



Διάγραμμα 4: διάγραμμα ροής σκληρού τυριού με CHY-MAX® Powder Plus NB πυτιά και τα CCP

## 4.2 Διάγραμμα ροής σκληρού τυριού με πυτιά Cynzime®



Διάγραμμα 5: διάγραμμα ροής σκληρού τυριού με cynime® πυτιά με CCP

Κρίσιμα σημεία ελέγχου (CCP) :

\*CCP1: Κατά την παραλαβή του γάλακτος γίνεται έλεγχος της θερμοκρασίας, του pH, και για αντιβιοτικά γιατί αποτελεί ανασταλτικός παράγοντας καλλιιεργειών, βάσει με τους κανονισμούς της Ευρωπαϊκής νομοθεσίας για την ασφάλεια και υγιεινή του καταναλωτή.

\*CCP2: Η θερμοκρασία και ο χρόνος παστερίωσης αποτελεί κρίσιμο σημείο ελέγχου γιατί αν δεν γένει σωστή παστερίωση μπορεί να επιζήσουν παθογόνοι μικροοργανισμοί

\*CCP3: Η θερμοκρασία και η υγρασία πρέπει να ελέγχεται καθημερινώς και να τηρεί της απαραίτητες προϋποθέσεις. Όταν η θερμοκρασία είναι πάνω από 21°C μπορεί να αποδειχθεί καταστροφική. Χαμηλή σχετική υγρασία στο ωριμαντήριο μπορεί να επιφέρει επιφανειακή υπέρμετρη αφυδάτωση και δημιουργία ρηγμάτων στην τυρομάζα. Τα ρήγματα αυτά στη συνέχεια εύκολα μπορούν να επιμολυνθούν. Ο χώρος ωρίμανσης πρέπει να είναι στείρος, ασφαλές και απαλλαγένος από τρωκτικά, έντομα και μικροοργανισμούς, σκοτεινός και κλειστός.

\*CCP4: Στο στάδιο της συντήρησης συμπληρώνεται ο χρόνος ωρίμανσης και επέρχεται εξυγίανση του προϊόντος από ορισμένα παθογόνα μικρόβια που πιθανόν να επιβίωσαν κατά την διαδικασία της τυροκόμησης. Η θερμοκρασία ελέγχεται για να βρίσκεται  $\leq 4$  °C. Η συσκευασία πρέπει να γίνεται όταν ολοκληρωθεί η ωρίμανση σε κενό αέρος, σε χώρο με αυστηρές συνθήκες υγιεινής και το προσωπικό να τηρεί τους κανόνες ατομικής υγιεινής

\*\* : εκτός από τον έλεγχο pH του γάλακτος και του νορού έγινε και έλεγχος της σύστασης του με lactostar τα οποία αναφέρονται στα αποτελέσματα



Διάγραμμα 6: παραγωγή τυριού

Από το πιο πάνω διάγραμμα φαίνονται κάποια από τα στάδια παραγωγής των σκληρών τυριών

A) Παστερίωση γάλακτος, B) κρύωμα γάλακτος για προσθήκη πυτιά, Γ) Διαίρεση τυροπήγατος, Δ) Κόψιμο τυροπήγατος μέγεθος καλαμποκιού, E) Τυρόπηγμα σε τελάρια, ΣΤ) Παρασκευή άλμης, Θ) Έτοιμα τυριά για ωρίμανση, Η) Τυριά στο ράφι ωρίμανσης τα οποία ωριμάζουν

## 5 Αποτελέσματα

### 5.1 Οξύτητα

**Πίνακας 10: Προσδιορισμός οξύτητας αιγινού γάλακτος για τα 2 τυριά επί τοις % γαλακτικού οξέος**

Πρώτη ύλη	% γαλακτικό οξύ
αιγινό γάλα για τυρί με πυτιά CHY-MAX® Powder Plus NB	0,215
αιγινό γάλα για τυρί με πυτιά Cynzime®	0,185

Από τον πιο πάνω πίνακα φαίνεται ότι η διαφορά % γαλακτικού οξέος στα 2 γάλατα για την παραγωγή των 2 διαφορετικών τυριών είναι μικρή. Τα γάλατα αυτά είναι και τα 2 αιγινά, παράγονται από τον ίδιο παραγωγό με τις ίδιες συνθήκες, αλλά είναι γάλατα διαφορετικής ημέρας.

### 5.2 pH

**Πίνακας 11: Μέτρηση pH νοπού αιγινού γάλακτος, του γάλακτος με την προσθήκη πυτιάς και του νορού γάλακτος, στα 2 διαφορετικά δείγματα.**

Δείγμα	pH νοπού αιγινού γάλακτος	pH γάλακτος με την προσθήκη CaCl <sub>2</sub>	pH γάλακτος με την προσθήκη πυτιάς	pH νορού γάλακτος
Για την παρασκευή τυριού control (CHY-MAX® Powder Plus NB)	6,63	-	6,42	6,37
Για την παρασκευή τυριού Cynzime®	6,50	6,27	6,37	6,31

Από τον πιο πάνω πίνακα φαίνεται ότι αρχικά τα 2 γάλατα είχαν κάποια μικρή διαφορά στο pH τους ενώ μετά την προσθήκη καλλιέργειας, την στιγμή δηλαδή που προστίθεται η πυτιά και στο νορό του γάλακτος το pH μεταξύ των δύο διαφορετικών δειγμάτων είναι πολύ μικρή.

### 5.3 Σύσταση

**Πίνακας 12: Σύσταση των 2 διαφορετικών δειγμάτων αιγινού γάλακτος με την χρήση Lactostar, σε πρωτεΐνες, λίπος, λακτόζης και ολικά στερεά άνευ λίπους (%)**

Lactostar		
Σύστατικό	Νωπό αιγινό γάλα για την παρασκευή τυριού control (CHY-MAX® Powder Plus NB) (%)	Νωπό αιγινό γάλα για την παρασκευή τυριού Cynzime® (%)
Λίπος	4,10	3,76
Πρωτεΐνες	3,9	3,8
Λακτόζη	5,65	5,5
Ολικά στερεά άνευ λίπους	10,40	10,11

Όπως φαίνεται στον πιο πάνω πίνακα στη σύσταση των 2 διαφορετικών δειγμάτων νωπού αιγινού γάλακτος για την παρασκευή τυριού control (CHY-MAX® Powder Plus NB) και νωπού αιγινού γάλακτος για την παρασκευή τυριού Cynzime®, διαφέρει σημαντικά σε λιποπεριεκτικότητα καθώς και σε ολικά στερεά άνευ λίπους, ενώ όσον αφορά την λακτόζη και πρωτεΐνες η διαφορά είναι σε μικρό ποσοστό.

**Πίνακας 13: Σύσταση των 2 διαφορετικών δειγμάτων νορού αιγινού γάλακτος με την χρήση Lactostar, σε πρωτεΐνες, λίπος, λακτόζης και ολικά στερεά άνευ λίπους (%)**

Lactostar		
Σύστατικό	Νορός αιγινού γάλακτος για την παρασκευή τυριού control (CHY-MAX® Powder Plus NB) (%)	Νορός αιγινού γάλακτος για την παρασκευή τυριού Cynzime® (%)
Λίπος	0,52	0,57
Πρωτεΐνες	2,77	2,88
Λακτόζη	4,08	4,23
Ολικά στερεά άνευ λίπους	7,45	7,33

Όπως φαίνεται στον πιο πάνω πίνακα στη σύσταση των 2 διαφορετικών δειγμάτων νορού αιγινού γάλακτος για την παρασκευή τυριού control (CHY-MAX® Powder Plus NB) και νορού αιγινού γάλακτος για την παρασκευή τυριού Cynzime®, η διαφορά που παρατηρείται



είναι πολύ μικρή με εξαίρεση την σύσταση των δύο νορών στην λακτόζη που είναι μεγαλύτερη.

Η ιδανική σχέση καζεΐνη/λίπος είναι περίπου 0,7 για τα περισσότερα τυριά, ενώ για τα λευκά τυριά άλμης είναι ίση με 0,8 (ικανοποιητική). Δεδομένου πως το 80% των πρωτεϊνών αποτελείται από τις καζεΐνες υπολογίζεται από την εξής εξίσωση:

$80\% \text{ πρωτεΐνης (\% καζεΐνες) / \%λίπος} = \text{τιμή συσχέτισης καζεΐνης-λίπους}$

Τα αποτελέσματα συσχέτισης καζεΐνης προς λίπος του αιγινού γάλακτος πριν την παραγωγή σκληρού τυριού control (CHY-MAX® Powder Plus NB) και σκληρού τυριού Cynzime® είναι 0,76 και 0,81 αντίστοιχα.

## 5.4 Απόδοση γάλακτος σε τυρί

**Πίνακας 14: Αρχική απόδοση γάλακτος και απόδοση γάλακτος μετά από 14 μέρες ωρίμανσης σε τυρί στα 2 δείγματα τυριών, control (CHY-MAX® Powder Plus NB και Cynzime®**

	σκληρού τυριού control (CHY-MAX® Powder Plus NB	σκληρού τυριού Cynzime®
Ποσότητα γάλακτος (L)	14	12
Αρχικό βάρος (kg)	1,775	1,768
Βάρος μετά από 14 μέρες ωρίμανσης (kg)	1,212	1,220
Αρχική απόδοση γάλακτος σε τυρί (%)	12,68	14,73
Απόδοση γάλακτος σε τυρί 14 ημερών (%)	8,66	10,17

Από τον πιο πάνω πίνακα φαίνεται ότι η απόδοση γάλακτος σε τυρί να είναι μεγαλύτερη κατά 2,05% αρχικά και 1,55% μετά από 14 μέρες ωρίμανσης στην περίπτωση του σκληρού τυριού Cynzime®.

## 5.5 Αλατότητα τυριού

**Πίνακας 15: Περιεκτικότητα αλατιού (%) στο σκληρό τυρί Cynzime® και σε σκληρά τυριά τύπου κεφαλογραβιέρας**

Τυρί	Αλατότητα(%)
σκληρό τυρί Cynzime®	2,5
σκληρά τυριά τύπου κεφαλογραβιέρας	3,4

Επίσης, μπορεί να προσδιοριστεί ο συντελεστής άλατος (ΣΑ), αφού έχει προσδιοριστεί και η υγρασία, μπορεί να με την παρακάτω εξίσωση:

$$\Sigma A = A / (Y + A) \times 100,$$

Όπου,

A: % αλάτι τυριού

Y: % υγρασία τυριού

Έτσι συντελεστής άλατος για το τυρί Cynzime® και πρότυπο σκληρό τυρί είναι 7,25 και 8,76 αντίστοιχα. Παρατηρείται ότι ο συντελεστής άλατος μεταξύ των δύο τυριών διαφέρει αρκετά.

## 5.6 Υγρασία τυριού

**Πίνακας 16: Περιεκτικότητα υγρασίας (%) στο σκληρό τυρί Cynzime® και σε σκληρά τυριά τύπου κεφαλογραβιέρας**

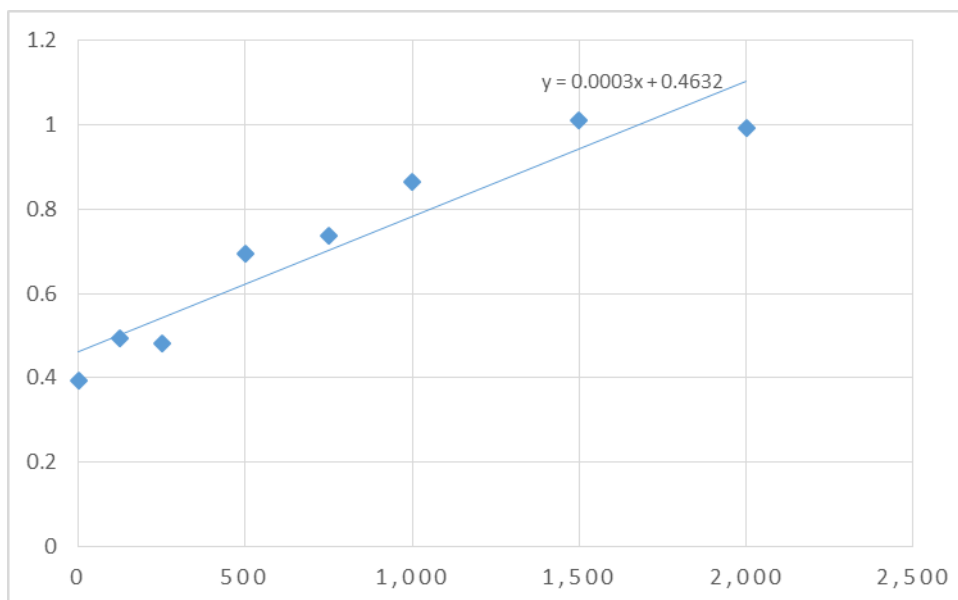
Τυρί	Υγρασία(%)
σκληρό τυρί Cynzime®	32
σκληρά τυριά τύπου κεφαλογραβιέρας	35,4
Σκληρά τυριά	32 με 38

Σκληρά τυριά πρέπει να περιέχουν 32-38% υγρασία, τα σκληρά τυριά τύπου κεφαλογραβιέρας 35,4%. Το σκληρό τυρί Cynzime® περιέχει υγρασία % μικρότερη από αυτή των τυριών τύπου κεφαλογραβιέρα αλλά βρίσκεται στα όρια υγρασίας των σκληρών τυριών.

## 5.7 Πρωτεΐνες

**Πίνακας 17:** Συγκέντρωση πρότυπου διαλύματος BSA (μg/ml) και η απορρόφηση του A (nm) για παρασκευή πρότυπης καμπύλης

Συγκέντρωση πρότυπου διαλύματος BSA (μg/ml)	A (nm)
2,000	0.993033
1,500	1.010033
1000	0.8657
750	0.7383
500	0.693967
250	0.4824
125	0.494467
0	0.393633



**Διάγραμμα 7:** Πρότυπη καμπύλη της συγκέντρωσης της πρωτεΐνης Bovine Serum Albumin (BSA) (μg/ml) σε συνάρτηση με την απορρόφηση της, A (nm)

Από τη εξίσωση  $y = 0.0003x + 0.4632$  υπολογίζεται η συγκέντρωση του δείγματος σε πρωτεΐνη

Όπου,

y: απορρόφηση δείγματος

x: η περιεκτικότητα του δείγματος σε πρωτεΐνη

**Πίνακας 18: Περιεκτικότητα τυριού σκληρού τυριού Cynzime®, σκληρού τυριού CHY-MAX® Powder Plus NB, 30 ημερών ωρίμανσης και σκληρού τυριού τύπου κεφαλογραβιέρα σε πρωτεΐνες (mg/ 100 g τυριού)**

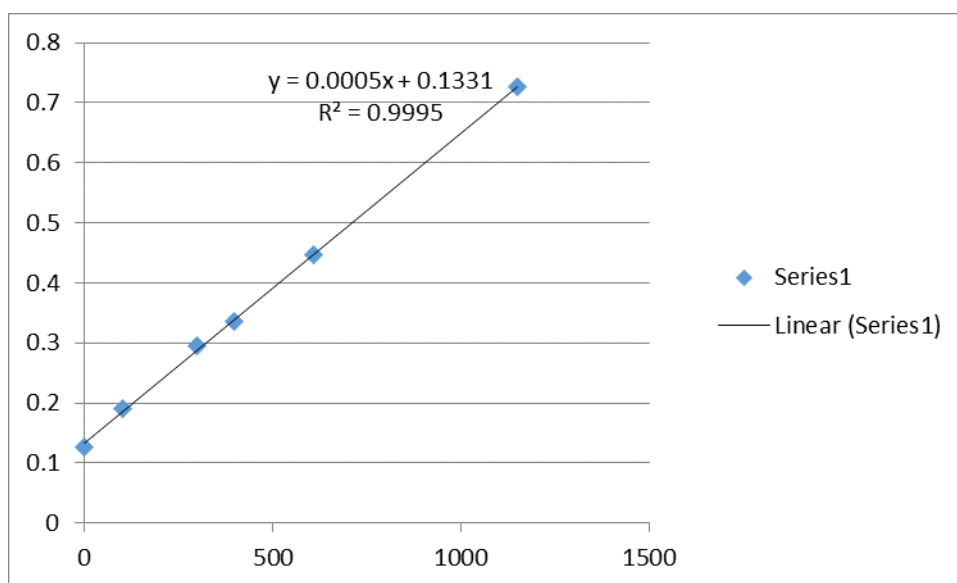
Τυρί	Πρωτεΐνη mg/ 100 g τυριού
Σκληρό τυρί Cynzime®	32,5
Σκληρό τυρί CHY-MAX® Powder Plus NB	14,63
Σκληρό τυρί τύπου κεφαλογραβιέρα	25,9

Όπως φαίνεται από τον πιο πάνω πίνακα το Σκληρό τυρί Cynzime® είναι πιο ψηλό σε περιεκτικότητα πρωτεΐνης, έχει 17,87% περισσότερη πρωτεΐνη απ' ότι το Σκληρό τυρί CHY-MAX® Powder Plus NB και 6,6% περισσότερη από το σκληρό τυρί τύπου κεφαλογραβιέρα.

## 5.8 Πρωτεόλυση

**Πίνακας 19: Συγκέντρωση πρότυπου διαλύματος γλυκίνης σε γάλα (μg/ml) και η απορρόφηση του A (nm) για παρασκευή πρότυπης καμπύλης**

Συγκέντρωση πρότυπου διαλύματος γλυκίνης σε γάλα (μg/ml)	A (nm)
0	0
102	0,1269
301	0.2945
397	0.3352
609	0.4463
1150	0.727



**Διάγραμμα 8:** Πρότυπη καμπύλη της συγκέντρωσης του αμινοξυ πρότυπου διαλύματος γλυκίνης σε γάλα (μg/ml) σε συνάρτηση με την απορρόφηση της, A (nm)

**Πίνακας 20:** Περιεκτικότητα τυριού σκληρού τυριού Cynzime®, σκληρού τυριού CHY-MAX® Powder Plus NB, και σκληρού τυριού τύπου κεφαλογραβιέρα σε αμινοξέα (%) (g γλυκίνης/ 100 g τυριού)

Ημέρες ωρίμανσης	αμινοξέα (%) (g γλυκίνης/ 100 g τυριού) σκληρού τυριού Cynzime®,	Πρωτεΐνες (%) (g γλυκίνης/ 100 g τυριού)σκληρού τυριού CHY-MAX® Powder Plus NB,
7	656,9	606,00
14	162,86	526,88
30	149,70	606,77

Στον πιο πάνω πίνακα παρατηρείται ότι η περιεκτικότητα του σκληρού τυριού Cynzime® σε αμινοξέα (%) (g γλυκίνης/ 100 g τυριού) με την πάροδο της ωρίμανσης μειώνεται, ενώ στο σκληρό τυρί CHY-MAX® Powder Plus NB παρατηρείται ότι η τιμή σε όλη την διάρκεια της ωρίμανσης δεν διαφέρει σημαντικά

## 5.9 Μικροβιολογία τυριού

**Πίνακας 21: Συγκέντρωση μικροοργανισμών μικροοργανισμών (cfu/g), ολική μικροχλωρίδα (OMX), οξυγαλακτικών βακτηρίων και μούχλα και μυκήτων σε σκληρό τυρί CHY-MAX® Powder Plus NB και σε σκληρό τυρί Cynzime®,**

Μικροοργανισμοί	Χρόνος ωρίμανσης (ημέρες)	Συγκέντρωση μικροοργανισμών (cfu/g) σε σκληρό τυρί CHY-MAX® Powder Plus NB	Συγκέντρωση μικροοργανισμών (cfu/g) σε σκληρό τυρί Cynzime®,
Ολική μικροχλωρίδα (OMX)	7	$1,29 \times 10^7$	$1,36 \times 10^7$
	14	$1,24 \times 10^7$	$1,24 \times 10^7$
	30	$2,76 \times 10^7$	$2,4 \times 10^7$
Οξυγαλακτικά βακτήρια	7	$1,93 \times 10^7$	$8,3 \times 10^6$
	14	$4,84 \times 10^7$	$6,8 \times 10^6$
	30	$1,37 \times 10^7$	$1,19 \times 10^7$
Μούχλα και μύκητες	7	$10^2$	$5,8 \times 10^3$
	14	$6 \times 10^3$	$4,5 \times 10^3$
	30	$1,08 \times 10^6$	$4,28 \times 10^5$

Από τον πιο πάνω πίνακα φαίνεται να έχουν και τα δύο τυριά μεγάλο αριθμό ολικής μικροχλωρίδας, οξυγαλακτικών βακτηρίων και μούχλας και μυκήτων. Το σκληρό τυρί Cynzime® φαίνεται να έχει λιγότερη συγκέντρωση μούχλας και μυκήτων από το σκληρό τυρί CHY-MAX® Powder Plus NB. Επίσης βλέπουμε ότι αρχικά το σκληρό τυρί Cynzime® έχει λιγότερα οξυγαλακτικά βακτήρια από το σκληρό τυρί CHY-MAX® Powder Plus NB καθώς όμως αυξάνεται ο χρόνος ωρίμανσης αυτό αντιστρέφεται. Όσον αφορά την ολική μικροχλωρίδα και φαίνεται ότι με την πάροδο του χρόνου ωρίμανσης η συγκέντρωση της αυξάνεται και στα δύο τυριά, καθώς επίσης η συγκέντρωση της ολικής μικροχλωρίδας είναι περίπου η ίδια και για τα δύο τυριά.

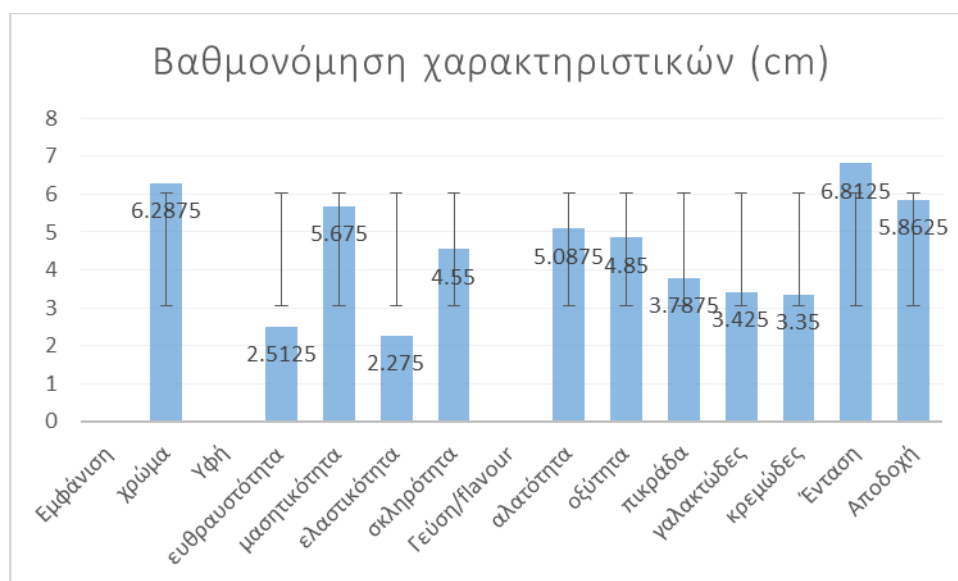
## 5.10 Συνθήκες ωριμαντηρίου

Πίνακας 22: Οι ημέρες ωρίμανσης, θερμοκρασία και η υγρασία χώρου, σε ιδανικές συνθήκες ωρίμανσης για παρασκευή σκληρού τυριού και στο εργαστήριο στο οποίο έγινε η ωρίμανση των πειραματικών τυριών

Συνθήκες/χώρος	Χρόνος ωρίμανσης (ημέρες)	Θερμοκρασία χώρου ωρίμανσης (°C)	Υγρασία χώρου ωρίμανσης (%)
Συνθήκες εργαστηρίου	30	14-15	85
Ιδανικές συνθήκες	50-60	19,4	54,3

Στο εργαστήριο η θερμοκρασία ήταν πολύ ψηλότερη ενώ η υγρασία πολύ χαμηλότερη από την επιθυμητή, ενώ οι ημέρες ωρίμανσης για πρότυπα σκληρά τυριά στις συγκεκριμένες θερμοκρασίες και υγρασία είναι πολύ μεγαλύτερες.

## 5.11 Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (QDA test)



Διάγραμμα 9: Βαθμονόμηση οργανοληπτικών χαρακτηριστικών (cm) και η τυπική απόκλιση για το σκληρό τυρί Cynzime®

Από τον πιο πάνω διάγραμμα φαίνεται ότι υπάρχει μεγάλη τυπική απόκλιση μεταξύ των τιμών για τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του τυριού Cynzime®

## 6 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ/ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Με την παρασκευή τυριών από δυο διαφορετικές πυτιές θέλαμε μέσω χημικών, μικροβιολογικών και οργανοληπτικών αναλύσεων να αποδείξουμε αν υπάρχουν διαφορές μεταξύ τους και αν ναι ποιες είναι οι διαφορές αυτές. Στην πρώτη περίπτωση το τυρί που παράχθηκε με την πυτιά CHY-MAX® Powder Plus NB Hansen χρησιμοποιήθηκε ως το control. Η σύγκριση του τυριού που παράχθηκε από την φυτική πυτιά Cynzime® συγκρίθηκε με το control έτσι ώστε να διεξαχθούν κάποια αποτελέσματα. Το σκληρό τυρί control μετά το τέλος της ωρίμανσης απορρίφθηκε και δεν μπορέσαμε να το χρησιμοποιήσουμε για τη διεξαγωγή κάποιων αποτελεσμάτων γιατί ήταν επιμολυσμένο από μούχλα και μύκητες. Έτσι λοιπόν σε κάποιες αναλύσεις η σύγκριση του Cynzime® τυριού γινόταν με ένα πρότυπο σκληρό τυρί τύπου κεφαλογραβιέρας. Για την παραγωγή των τυριών χρησιμοποιήθηκε αιγινό γάλα από τον ίδιο παραγωγό αλλά διαφορετικής μέρας για το κάθε τυρί. Με την παραλαβή του αιγινού γάλακτος για την παρασκευή των δυο διαφορετικών τυριών με τις 2 διαφορετικές πυτιές CHY-MAX® Powder Plus NB και Cynzime® έγιναν αναλύσεις για την σύσταση του, την οξύτητα και το pH του. Η σύσταση, οξύτητα και το αρχικό pH του γάλακτος παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο μετέπειτα, για την πήξη του γάλακτος. Από τα αποτελέσματα συμπεραίνουμε ότι τα δύο αυτά γάλατα έχουν περίπου την ίδια σύσταση σε πρωτεΐνες, και λακτόζη ενώ έχουν κάποια μικρή διαφορά ως προς την σύσταση τους σε λίπος και ολικά στερεά άνευ λίπους. Επίσης είναι περίπου ίδιας οξύτητας, και pH. Το pH του γάλακτος βρίσκονταν στα όρια των προτύπων του αιγινού ενώ όσο αφορά το λίπος ήταν μικρότερης λιποπεριεκτικότητας και με λιγότερα ολικά στερεά άνευ λίπους. Η λιποπεριεκτικότητα του γάλακτος είναι σημαντική γιατί επηρεάζονται τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του τυριού αλλά και η απόδοση του γάλακτος σε τυρί.. Κατά την παρασκευή των τυριών γίνονταν έλεγχοι για την θερμοκρασία του γάλακτος και το pH του. Για να επέλθει η επιθυμητή πήξη αυτές οι δύο παράμετροι πρέπει κυμαίνονται σε κάποια προκαθορισμένα όρια, τα όρια αυτά εξαρτώνται και από τον τύπο της πυτιάς που χρησιμοποιείται. Επίσης για την παραγωγή του σκληρού τυριού Cynzime® επειδή είναι ένα προϊόν το οποίο δεν είναι ευρέως διαδεδομένο, έπρεπε να καθορίσουμε την ποσότητα την οποία θα βάζαμε για την παρασκευή του έτσι ώστε να επέλθει η επιθυμητή πήξη αφού δεν υπάρχει συγκεκριμένο πρότυπο ακριβής δοσολογίας για τη παρασκευή σκληρών τυριών, μέσω της διαδικασίας που ακολουθήθηκε και περιγράφεται πιο πάνω. Με βάση τα αποτελέσματα αυτά εκτός από την ποσότητα πυτιάς που



καθορίστηκε να προστίθεται στο γάλα, αποφασίστηκε η προσθήκη χλωριούχου ασβεστίου. Το χλωριούχο ασβέστιο προστίθεται για να βοηθήσει την πήξη του γάλακτος, αλλά και για να την επιταχύνει, αφού με την προσθήκη του μειώνεται το pH, αυξάνονται τα ιόντα ασβεστίου και τα κολλοειδή φωσφορικού ασβεστίου. Η ποσότητα που προστέθηκε έπρεπε να ήταν τέτοια ώστε να μην επηρεάσει την γεύση του αφού με την υπέρ δοσολογία μπορεί να αφήσει μια πικράδα στο τελικό προϊόν. Τα σκληρά τυριά ωρίμανσης έχουν ένα προκαθορισμένο όριο ωρίμανσης το οποίο κυμαίνεται από 3-12 μήνες, ενώ στο ωριμαντήριο πρέπει να τηρούνται κάποιες ιδανικές συνθήκες και να είναι στείρο από ανεπιθύμητους μικροοργανισμούς και άλλους παράγοντες επιμόλυνσης. Οι συνθήκες οι οποίες επικρατούσαν στο εργαστηριακό ωριμαντήριο δεν ήταν κατάλληλες αφού δεν διατίθενται οι επιθυμητοί χώροι με τις κατάλληλες συνθήκες. Με την καταγραφή υγρασίας και θερμοκρασίας του χώρου διαπιστώθηκε ότι δεν ήταν οι επιθυμητές για την ωρίμανση ενός σκληρού τυριού οι συνθήκες, αφού η θερμοκρασία ήταν αρκετά ψηλή ενώ η υγρασία πολύ χαμηλή. Όταν τα δύο αυτά τυριά παρασκευάστηκαν, πριν την ωρίμανση αλλά και την 14<sup>η</sup> μέρα ωρίμανσης τους ζυγίστηκαν έτσι ώστε να βρεθεί η απόδοση του γάλακτος σε τυρί. Από τα αποτελέσματα που πάρθηκαν φαίνεται ότι στην περίπτωση του σκληρού τυριού με την πυτιά Cynzime® η απόδοση του γάλακτος σε τυρί ήταν μεγαλύτερη και πριν από την ωρίμανση αλλά και μετά από 14 μέρες ωρίμανσης του. Αυτό ίσως οφείλεται στην δράση της πυτιάς Cynzime®, αλλά αυτό που μπορεί να έχει επηρεάσει την απόδοση του γάλακτος σε τυρί να είναι και η συσχέτιση των καζεϊνών προς το λίπος αφού στη περίπτωση παραγωγής του τυριού Cynzime®, η ένδειξη απόδοσης του με βάση την συσχέτιση αυτή ήταν μεγαλύτερη και το γάλα που χρησιμοποιήθηκε ήταν μικρότερης λιποπεριεκτικότητας από αυτή του τυριού control. Ένας άλλος παράγοντας που μπορεί να επηρέασε την απόδοση σε τυρί είναι η προσθήκη χλωριούχου ασβεστίου στο Cynzime® τυρί, αφού αυξάνει την πήξη, και επομένως την απόδοση σε τυρί. Καθώς τα τυριά αφήνονταν για ωρίμανση γινόταν δειγματοληψία. Η δειγματοληψία έγινε κατά την διάρκεια των 7, 14 και 30 ημερών ωρίμανσης. Με βάση τα δείγματα που πάρθηκαν έγιναν αναλύσεις για την αλατότητα, υγρασία, την περιεκτικότητα τους σε πρωτεΐνες και για την πρωτεόλυση που γίνεται στα τυριά καθώς και για το μικροβιολογικό τους φορτίο. Στην περίπτωση προσδιορισμού αλατότητας, υγρασίας και πρωτεϊνών τα δείγματα που πάρθηκαν ήταν μόνο από το τυρί Cynzime® διάρκεια ωρίμανσης 30 ημερών, ενώ για την πρωτεόλυση πάρθηκαν αποτελέσματα και από τα δύο είδη τυριών διάρκειας ωρίμανσης 7, 14 και 30 ημερών. Το Cynzime® τυρί ήταν μικρότερης αλατότητας από τα πρότυπα σκληρά τυριά

κεφαλογραβιέρας της τάξης του 1% αυτό ίσως να οφείλεται στο ότι η ωρίμανση δεν έγινε στον καθορισμένο χρόνο ωρίμανσης τέτοιου τύπου τυριών, ή στην περιεκτικότητα αλατιού της άλμης. Επίσης η υγρασία του Cynzime® τυρί ήταν μικρότερης από τα πρότυπα σκληρά τυριά κεφαλογραβιέρας όμως ήταν στα όρια για να μπορεί να ονομάζεται και να κατηγοριοποιείται ως σκληρό τυρί. Η χαμηλή περιεκτικότητα του σε υγρασία μπορεί να οφείλεται στο ότι ο χώρος ωρίμανσης δεν είχε τις κατάλληλες συνθήκες μιας και ήταν ψηλές οι θερμοκρασίες, ενώ η υγρασία του ήταν πολύ χαμηλή. Όσον αφορά τις πρωτεΐνες το τυρί το οποίο φτιάξαμε με την πυτιά Cynzime® και συγκρίνοντας το με το control αλλά και με πρότυπο σκληρό τυρί τύπου κεφαλογραβιέρας είναι αυξημένης περιεκτικότητας. Η περιεκτικότητα του τυριού σε πρωτεΐνες οφείλεται σε παράγοντες όπως τα ένζυμα του γάλακτος, οι καλλιέργειες εκκίνησης αλλά και στην πυτιά. Στην προκειμένη περίπτωση του control αλλά και του τυριού Cynzime® οι καλλιέργειες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν οι ίδιες, επομένως ο παράγοντας ο οποίος μπορεί να επηρέασε το αποτέλεσμα ίσως να είναι η πυτιά. Επίσης ο βαθμός της πρωτεόλυσης φαίνεται από τον δείκτη συντελεστής ωρίμανσης που προσδιορίζεται από τα υδατοδιαλυτά συστατικά αζωτούχων ενώσεων προς το τοις % του συνόλου το αζωτούχων ενώσεων, και με βάση την προσδιορισμό της πρωτεόλυσης και των πρωτεϊνών ότι η πρωτεόλυση είναι αυξημένη κατά τα πρώτα στάδια της ωρίμανσης, μέχρι τις πρώτες 7 μέρες ενώ αργότερα μειώνεται στην περίπτωση του Cynzime® τυριού ενώ στην περίπτωση του control εξακολουθεί να μένει ο ίδιος ο βαθμός πρωτεόλυσης. Η πυτιά είναι ένας ισχυρός παράγοντας πρωτεόλυσης και όπως φαίνεται και εδώ μπορεί να την επηρεάσει σε μεγάλο βαθμό. Με βάση τις μικροβιολογικές αναλύσεις που έγιναν παρατηρούμε ότι στην ολική μικροχλωρίδα υπάρχει άυξηση σε μικρό βαθμό και για τα δύο τυριά καθώς το τυρί ωριμάζει. Ο αριθμό της ολικής μικροχλωρίδας δεν είναι ιδιαίτερης σημασία αφού σε αυτήν περιλαμβάνονται και τα επιθυμητά οξυγαλακτικά βακτήρια που πρέπει να υπάρχουν στο τυρί. Επίσης ο αριθμός των οξυγαλακτικών βακτηρίων αυξάνοταν και για τα 2 τυριά και η συγκέντρωσή τους στο ωριμασμένο τυρί 30 ημερών ήταν της τάξης του  $10^7$ . Αυτό οφείλεται στην προσθήκη οξυγαλακτικών βακτηρίων ως καλλιέργεια. Κατά την ωρίμανση αυτοί μικροοργανισμοί πολλαπλασιάζονται και συμβάλλουν στις βιοχημικές αντιδράσεις του τυριού. Ακόμη αυτή η συγκέντρωση είναι πολύ ικανοποιητική και μπορεί να επιφέρει θετική επίδραση για την υγεία αφού οξυγαλακτικά βακτήρια μπορεί να είναι προβιοτικά και να προάγουν την υγεία. Κατά τις μικροβιολογικές αναλύσεις έγινε και έλεγχος για ζύμες και μύκητες όπου εκεί ο αριθμός και για τα δύο τυριά ήταν πολύ μεγάλος, ενώ κατά τις μέρες ωρίμανσης ο αριθμός αυτός αυξανόταν. Η παρουσία αυτών των μικροοργανισμών οφείλεται

στην κακές υγιεινές συνθήκες, στην υγρασία, την θερμοκρασία και γενικά στην κακή υγιεινή κατάσταση του χώρου ωρίμανσης. Επίσης μπορεί να οφείλεται και στο ότι το τυρί δεν είχε την απαιτούμενη περιεκτικότητα σε αλάτι, αφού το αλάτι λειτουργεί ως συντηρητικό. Επίσης άλλος παράγοντας που μπορεί να οδήγησε στην επιμόλυνση των τυριών είναι η δειγματοληψία που γινόταν στα τυριά. Κατά την δειγματοληψία τα τυριά τρυπιόντουσαν με τον τυροκλέφτη, έτσι οι μικροοργανισμοί είχαν την δυνατότητα να εισχωρήσουν στο τυρί και να πολλαπλασιαστούν, με αποτέλεσμα την επιμόλυνση του. Τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά επίσης, διαδραματίζουν και αυτά ένα πολύ σημαντικό παράγοντα σύγκρισης των τυριών, από αυτά μπορεί να φανεί αν υπάρχει διαφορετικότητα μεταξύ του τυριού που παράχθηκε με την Cynzime® πυτιά με αυτό το πρότυπο σκληρού τυριού κεφαλογραβιέρας, αλλά και για την αποδοχή του γενικά ως τυρί έτσι ώστε να μπορέσει να προωθηθεί στην αγορά. Για την οργανοληπτική εξέταση πάρθηκαν κάποια αποτελέσματα, από τα αποτελέσματα αυτά φαίνεται ότι το τυρί αυτό βρίσκεται στα όρια αποδοχής. Επίσης φαίνεται ότι χαρακτηρίζεται, ότι είναι ένα τυρί σχετικά κίτρινο, να μην είναι πολύ εύθραυστο και ελαστικό, η μασητικότητα του και η σκληρότητα του να είναι μέτρια, να είναι επίσης μέτριας αλατότητας και οξύτητας, ενώ να έχει μια ελαφριά πικράδα, λίγο κρεμώδες και γαλακτώδες και υψηλής έντασης. Η άποψη αυτή για τον χαρακτηρισμό του τυριού είναι υποκειμενική και δεν μπορεί κάποιος να στηριχθεί απολύτως σε αυτά τα αποτελέσματα αφού η οργανοληπτική αυτή εξέταση έγινε από άπειρους δοκιμαστές. Ένα σκληρό τυρί τύπου κεφαλογραβιέρα είναι χρώματος λευκοκίτρινο, ισορροπημένο γαλακτώδες παρόμοιο με αυτό που χαρακτηρίστηκε και από την ομάδα δοκιμαστών. Συμπερασματικά τα τυριά τα οποία παρασκευάστηκαν είχαν αρκετά προβλήματα ως προς μικροβιολογικής απόψεως αφού υπήρξε επιμόλυνση κατά την ωρίμανση τους, σε τέτοιο βαθμό έτσι ώστε τα αποτελέσματα τα οποία πάρθηκαν να μην είναι όλα βέβαια, και κάποια συμπεράσματα τα οποία καταλήγουν να μην είναι απολύτως σωστά. Συμπερασματικά όμως με βάση τα στοιχεία που καταγράφηκαν, γενικά φαίνεται να αποδίδει η χρήση της πυτιάς Cynzime® στα σκληρά τυριά ωρίμανσης εφόσον έχει καλή απόδοση γάλακτος σε τυρί, μπορεί να ωριμάζει τυριά σκληρού τύπου και να αποδίδει σε οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, αφού δεν προσδίδει σε αυτό πικράδα ούτε άλλο ανεπιθύμητο χαρακτηριστικό.

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- A.Law, B., 1999. *Technology of Cheesemaking* 1st ed. S. A. Press, ed.,
- Abbas, H.M. et al., 2014. Physicochemical Characteristics of Goat's Milk. *Life Science Journal Life Sci J*, 11(111s), pp.307–317. Available at: <http://www.lifesciencesite.com> [Accessed April 21, 2016].
- Afnor, 2004. Sensory analysis - Methodology - Triangle test. *Bs Iso 4120:2004*, 2(Im), pp.4–11.
- Chr.Hansen, 2013. CHY-MAX Powder Extra NB. , 1(6), pp.1–6.
- Enzyme Development Corporation, 13AD. Cynzime. Available at: <http://www.enzymedevelopment.com/edc-today/cynzime/>.
- FDA, 2014. GRAS Notification for Cynzime® Milk Clotting Enzyme Preparation Derived From *Cynara gardunculus* Flower. , (477), pp.1–126.
- Guinee, T.P., 2004. Salting and the role of salt in cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 57(2-3), pp.99–109.
- Guinee, T.P. & O'Callaghan, D.J., 2010. *Control and Prediction of Quality Characteristics in the Manufacture and Ripening of Cheese*,
- Kumar, a et al., 2010. Chymosin and other milk coagulants: sources and biotechnological interventions. *Critical reviews in biotechnology*, 30(4), pp.243–58. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20524840>.
- Lawrence, R.C., Creamer, L.K. & Gilles, J., 1987. Texture Development During Cheese Ripening. *Journal of Dairy Science*, 70(8), pp.1748–1760. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030287802072> [Accessed April 28, 2016].
- Marilley, L. & Casey, M.G., 2004. Flavours of cheese products: Metabolic pathways, analytical tools and identification of producing strains. *International Journal of Food Microbiology*, 90(2), pp.139–159.
- Mazorra-Manzano, M.A. et al., 2013. Comparison of the milk-clotting properties of three plant extracts. *Food Chemistry*, 141(3), pp.1902–1907. Available at:

- <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.05.042>.
- McSweeney, P.L.H. & Sousa, M.J., 2000. Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: A review. *Le Lait*, 80(3), pp.293–324.
- Muller, L., 2003. Moisture in cheese.
- Murray, J., Delahunty, C. & Baxter, I., 2001. Descriptive sensory analysis: past, present and future. *Food Research International*, 34(6), pp.461–471.
- Pandya, A.J. & Ghodke, K.M., 2007. Goat and sheep milk products other than cheeses and yoghurt. *J. Food Sci. Technol.*, 68(October 2006), pp.193–206.
- Ribeiro, A.C. & Ribeiro, S.D.A., 2010. Specialty products made from goat milk. *Small Ruminant Research*, 89(2-3), pp.226–234. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2009.12.048>.
- Sanz, L. et al., 2009. Journal of Food Composition and Analysis Composition of goat and cow milk produced under similar conditions and analyzed by identical methodology. *J. Food Compos. Anal.*, 22, pp.322–329.
- Settanni, L. & Moschetti, G., 2010. Non-starter lactic acid bacteria used to improve cheese quality and provide health benefits. *Food Microbiology*, 27(6), pp.691–697. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2010.05.023>.
- Sommer, B.D. & Paulus, K., 2009. Dairy Pipeline. *English*, 21(2), pp.1–12.
- Stone, H. et al., 2004. Sensory Evaluation by Quantitative Descriptive Analysis. *Descriptive Sensory Analysis in Practice*, pp.23–34.
- Stone, H., Sidel, J.L. & Bloomquist, J., Quantitative Descriptive Analysis. In *Descriptive Sensory Analysis in Practice*. Trumbull, Connecticut, USA: Food & Nutrition Press, Inc., pp. 53–69. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1002/9780470385036.ch1f> [Accessed April 28, 2016].
- Subhan, M. et al., 2016. Conference Paper · April 2012. , (April).
- Viljoen, B.C., 2001. The interaction between yeasts and bacteria in dairy environments. *International Journal of Food Microbiology*, 69(1-2), pp.37–44.
- Αντωνίου Ι, Μ., 2005. *Υγιεινή Και Τεχνολογία Του Γάλακτος Και των Προϊόντων του* 3rd ed. Α. . Κυριακίδη, ed.,

- Ανυφαντάκης, Ε.Μ., 2004. *Τυροκομία* 2nd ed. Α. Ε. Σταμούλη, ed.,
- Καμιναρίδης, Σ. & Μοάτσου, Γ., 2009. *Γαλακτοκομία* 1st ed. ΕΜΒΡΥΟ, ed.,
- Κεχαγιάς, Χ., 2009. *Ποιότητα Γάλακτος και Γαλακτοκομικών Προϊόντων* 1st ed. Σ. Παρίκου, ed.,
- Κεχαγιάς, Χ. & Κουλούρης, Σ., 2005. *Στοιχεία Τεχνολογίας και Έλεγχοι Ποιότητας Γάλακτος και Γαλακτοκομικών Προϊόντων* 1st ed. Σ. Παρίκου & Σ. Ο.Ε, eds.,
- Μπίντσης, Θ. & Παπαδήμας, Φ., 2009. *Τυρί, τεχνολογία γάλακτος - τυροκομία παρουσίαση τυριών* Ψύχαλου, ed.,

# ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ

## Παράρτημα Α: QDA test

### QDA test για σκληρό τυρί ωρίμανσης

Στην κλίμακα με μήκος 10 cm, σημειώστε βάση με την προτίμηση σας

#### 1. ΕΜΦΑΝΙΣΗ

##### 1.1 ΧΡΩΜΑ-ΚΙΤΡΙΝΟ

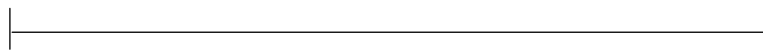


ΕΛΑΦΡΥ

ΕΝΤΟΝΟ

#### 2. ΥΦΗ

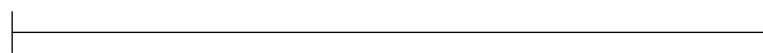
##### 2.1 ΕΥΘΡΑΥΣΤΟΤΗΤΑ



ΚΑΘΟΛΟΥ

ΠΑΡΑ ΠΟΛΥ

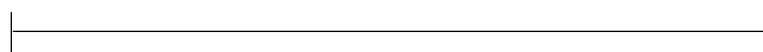
##### 2.2 ΜΑΣΗΤΙΚΟΤΗΤΑ



ΚΑΘΟΛΟΥ

ΠΑΡΑ ΠΟΛΥ

##### 2.3 ΕΛΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ:



ΚΑΘΟΛΟΥ

ΠΑΡΑ ΠΟΛΥ

### 3. ΣΚΛΗΡΟΤΗΤΑ

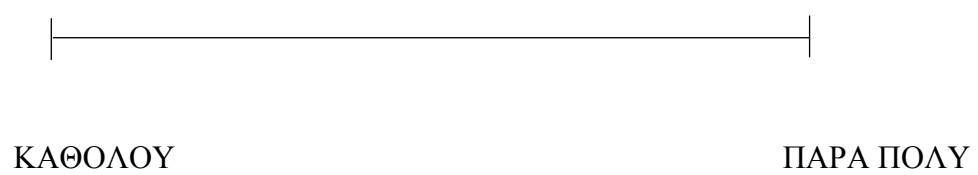


### 4. ΓΕΥΣΗ/FLAVOUR

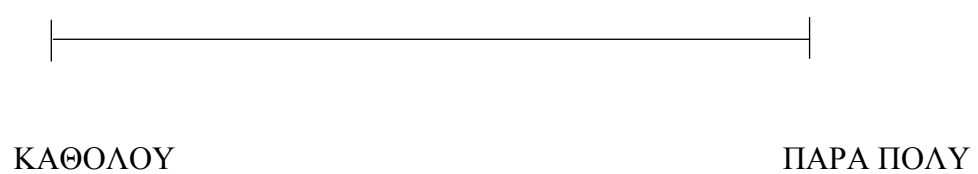
#### 4.1 ΑΛΑΤΟΤΗΤΑ



#### 4.2 ΟΞΥΤΗΤΑ



#### 4.3 ΠΙΚΡΑΔΑ





#### 4.4 ΓΑΛΑΚΤΩΔΕΣ



ΚΑΘΟΛΟΥ

ΠΑΡΑ ΠΟΛΥ

#### 4.5 ΚΡΕΜΩΔΕΣ



ΚΑΘΟΛΟΥ

ΠΑΡΑ ΠΟΛΥ

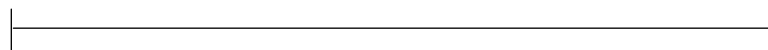
#### 4.6 ΕΝΤΑΣΗ



ΚΑΘΟΛΟΥ

ΠΑΡΑ ΠΟΛΥ

#### 5. ΑΠΟΔΟΧΗ



ΚΑΘΟΛΟΥ

ΠΑΡΑ ΠΟΛΥ

Σχόλια: