

ΜΑΡΙΑΣ - ΧΑΪΔΩΣ ΚΑΤΣΙΑΡΗ

ΓΕΩΠΟΝΟΥ

ΜΕΛΕΤΗ ΤΥΡΙΩΝ ΦΕΤΑ ΚΑΙ ΚΕΦΑΛΟΓΡΑΒΙΕΡΑ ΠΟΥ
ΠΑΡΑΣΚΕΥΑΣΤΗΚΑΝ ΜΕ ΜΕΡΙΚΗ ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗ
ΤΟΥ NaCl ΑΠΟ KCl

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 1999

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα εργασία έγινε στα εργαστήρια του Ινστιτούτου Γάλακτος του Εθνικού Ιδρύματος Αγροτικής Έρευνας (ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε.) και υποστηρίχθηκε οικονομικά από πιστώσεις του Ινστιτούτου Γάλακτος και του ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε.

Η μελέτη πραγματοποιήθηκε από το έτος 1993 έως και το 1998 με την καθοδήγηση και επίβλεψη του επίκουρου καθηγητή κ. Ιωάννη Ρούσση στον οποίο εκφράζω τις θερμές ευχαριστίες μου.

Ευχαριστώ τον καθηγητή και μέλος της συμβουλευτικής επιτροπής κ. Ευστάθιο Αληξανίδη για την αμέριστη συμπαράσταση και βοήθεια, που μου πρόσφερε κατά τη διεξαγωγή μέρους των αναλύσεων, που πραγματοποίησα στο Εργαστήριο Τεχνολογίας Γάλακτος του Τμήματος Γεωπονίας του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης, καθώς και για τις πολύτιμες διορθώσεις και υποδείξεις του στη συγγραφή της διατριβής.

Ευχαριστώ την καθηγήτρια και μέλος της συμβουλευτικής επιτροπής κ. Μαρία Σακαρέλλου για το ενδιαφέρον της κατά τη διάρκεια εκπόνησης της εργασίας μου.

Ευχαριστώ τον τακτικό ερευνητή Α΄ του Ινστιτούτου Γάλακτος κ. Λέανδρο Βουτσινά για τη βοήθεια, ενθάρρυνση και ηθική συμπαράσταση, που μου παρείχε καθ' όλη τη διάρκεια της μελέτης μου, καθώς και για τη συμβολή του στην ολοκλήρωση και πληρέστερη παρουσίαση της διατριβής.

Ευχαριστώ τον τακτικό ερευνητή Α΄ και Διευθυντή του Ινστιτούτου Γάλακτος κ. Χριστόφορο Παππά, για τις διευκολύνσεις, που μου παρείχε, ώστε παράλληλα με τα καθήκοντα και τις υποχρεώσεις μου προς το Ίδρυμα να μπορέσω να ολοκληρώσω την εργασία αυτή.

Ευχαριστώ την καθηγήτρια κ. Άννα Βαφοπούλου και την αναπληρώτρια καθηγήτρια κ. Άννα Πολυχρονιάδου για τη βοήθεια και προπαντός για την ηθική συμπαράστασή τους κατά το διάστημα της παραμονής μου στο Εργαστήριο Τεχνολογίας Γάλακτος του Α.Π.Θ. για τη διεξαγωγή μέρους των αναλύσεων.

Ευχαριστώ την ερευνήτρια Δ΄ του Ινστιτούτου Γάλακτος κ. Ευθυμία Κοινδύλη για τη βοήθειά της στη χρήση του αέριου χρωματογράφου.

Ευχαριστώ τον τυροκόμο κ. Βασίλειο Ζιώγο για τη βοήθειά του στην παρασκευή των πειραματικών τυριών.

Τέλος, θερμά ευχαριστώ την κ. Σπυριδούλα Κουτελίδα για την επιμελημένη δακτυλογράφηση και καλύτερη παρουσίαση του κειμένου της διατριβής.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	Σελίδα
ΠΡΟΛΟΓΟΣ	IV
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
1. Διαιτητικό NaCl	1
2. Φυσιολογικός ρόλος του διαιτητικού NaCl	3
3. Νάτριο	4
4. Κάλιο	6
5. Ρόλοι του νατρίου και του καλίου στην υπέρταση	7
5.1. Νάτριο και υπέρταση	7
5.2. Φυσιολογικοί μηχανισμοί της υπέρτασης	11
5.3. Κάλιο και υπέρταση	12
5.4. Σχέσεις νατρίου και καλίου (αναλογία <u>Na:K</u>)	14
5.5. Αντιϋπερτασική επίδραση του καλίου	14
6. Ρόλοι του νατρίου και του καλίου στην οστεοπόρωση	16
7. Σήμανση νατρίου και ενημέρωση του καταναλωτή	18
8. Προϊόντα με χαμηλή και μειωμένη περιεκτικότητα σε νάτριο	19
9. Υποκατάστατα αλατιού	21
10. Λειτουργίες του <u>NaCl</u> στο τυρί	22
10.1 Έλεγχος της μικροβιακής ανάπτυξης	22
10.2. Έλεγχος της ενζυμικής δραστηριότητας	24
10.2.1. Πηκτικό ένζυμο	24
10.2.2. Πρωτεϊνάσες του γάλακτος	25
10.2.3. Επίδραση του <u>NaCl</u> στα μικροβιακά ένζυμα	26
10.3. Επίδραση του NaCl στη σύσταση, ωρίμαση και ποιότητα του τυριού	26
11. Μείωση του αλατιού στα γαλακτοκομικά προϊόντα	29
11.1. Τυριά	30
11.2. Άλλα προϊόντα	38
12. Τα τυριά Φέτα και Κεφαλογραβιέρα	38
12.1. Φέτα	38
12.2. Κεφαλογραβιέρα	40
13. Σκοπός της παρούσας εργασίας	41
ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	42
14. Γάλα	42
15. Τεχνολογία παρασκευής Φέτας	42
16. Τεχνολογία παρασκευής Κεφαλογραβιέρας	44
17. Χημικές αναλύσεις γάλακτος	46
18. Αναλύσεις τυριών	47
18.1. Γενικές αναλύσεις	47

18.2. Πρωτεόλυση	48
1. Εκχύλιση και κλασμάτωση των αζωτούχων συστατικών του τυριού	<u>48</u>
2. Προσδιορισμός του συνόλου των ελεύθερων αμινοξέων	<u>49</u>
3. Ηλεκτροφόρηση	50
4. Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης - αντίστροφης φάσης (RP-HPLC)	<u>53</u>
5. Ελεύθερα αμινοξέα (FAA)	<u>54</u>
18.3. Λιπόλυση	56
19. Οργανοληπτική εξέταση των τυριών	59
20. Ρεολογική εξέταση των τυριών	60
21. Στατιστική ανάλυση	62
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ	63
22.1. Τυρί Φέτα	63
22.1.1. Σύσταση και φυσικο-χημικές ιδιότητες	63
22.1.2. Πρωτεόλυση	69
22.1.2.α. Διαλυτά αζωτούχα κλάσματα	71
22.1.2.β. Ολική συγκέντρωση ελεύθερων αμινοξέων	74
22.1.2.γ. Ηλεκτροφόρηση των πρωτεϊνών του τυριού	76
22.1.2.δ. Ανάλυση πεπτιδίων	<u>83</u>
22.1.2.ε. Ελεύθερα αμινοξέα	<u>92</u>
22.1.3. Λιπόλυση	95
22.1.4. Οργανοληπτική εξέταση των τυριών	103
22.1.5. Ρεολογική εξέταση των τυριών	106
22.1.6. Συμπεράσματα	110
22.2. Τυρί Κεφαλογραβιέρα	111
22.2.1. Σύσταση και φυσικο-χημικές ιδιότητες	111
22.2.2. Πρωτεόλυση	117
22.2.2.α. Διαλυτά αζωτούχα κλάσματα	117
22.2.2.β. Ολική συγκέντρωση ελεύθερων αμινοξέων	<u>119</u>
22.2.2.γ. Ηλεκτροφόρηση των πρωτεϊνών του τυριού	<u>119</u>
22.2.2.δ. Ανάλυση πεπτιδίων	<u>126</u>
22.2.2.ε. Ελεύθερα αμινοξέα	<u>132</u>
22.2.3. Λιπόλυση	133
22.2.4. Οργανοληπτική εξέταση των τυριών	140
22.2.5. Ρεολογική εξέταση των τυριών	143
22.2.6. Συμπεράσματα	146
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	147
SUMMARY	149
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	151

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1. Διαιτητικό NaCl

Το NaCl (χλωριούχο νάτριο), συχνότερα συναντόμενο στα τρόφιμα ως κοινό επιτραπέζιο αλάτι, είναι απαραίτητο στην ανθρώπινη διατροφή και έχει μια μοναδική θέση στην εξέλιξη του ανθρώπου (IFT)1980, Lynch 1987). Η Βίβλος το ονομάζει "η πεμπτούσια της ζωής" (Dickinson 1980). Το αλάτι υπάρχει άφθονο στη φύση και είναι τόσο ζωτικό για τις διεργασίες της ζωής ώστε να έχει οριστεί ως το πέμπτο στοιχείο, εξισούμενο με τη γη, τον αέρα, το νερό και τη φωτιά (Ball και Meneely 1957, Dickinson 1980, Sternberg και συν. 1980).

Το αλάτι υπήρξε ένα πολύτιμο συστατικό των τροφίμων από την αρχή του πολιτισμού. Η ιστορία του ως πρόσθετου ανατρέχει στα 3.000 π.Χ. (Binkerd και Kolarik 1975). Η χρήση του αλατιού ως συντηρητικού τροφίμων ήταν τόσο χρήσιμη και ευρύτατα διαδεδομένη στους Κλασσικούς και Μεσαιωνικούς χρόνους ώστε το αλάτι αποτελούσε ένα σημαντικό είδος εμπορίου και χρησιμοποιείτο ως ένα είδος νομίσματος σε αντάλλαγμα για εμπορεύματα και εργασία (Guinee και Fox 1993). Δεν είναι γνωστό αν το αλάτι χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά στην τροφή για γεύση ή για συντήρηση, όμως πιστεύεται ότι η ανθρώπινη επιθυμία για αλάτι ήταν μια εξελικτική διαδικασία (Forsythe και Miller 1980).

Σύμφωνα με ορισμένες μελέτες, η ευχάριστη γεύση του αλατιού επηρεάζεται από τα συνήθη διαιτητικά επίπεδα. Περιορισμοί στην πρόσληψη διαιτητικού αλατιού αρχικά ακολουθούνται από μικρές αλλαγές στη γεύση, τέτοιες ώστε τα αλμυρά τρόφιμα να χαρακτηρίζονται ως περισσότερο ευχάριστα. Όμως, μεγαλύτερης

διάρκειας περιορισμοί έχουν ως αποτέλεσμα τα αλμυρά τρόφιμα να έχουν λιγότερο ευχάριστη γεύση (Beauchamp 1981).

Η μεγαλύτερη ίσως δυσκολία στην παραγωγή ενός "αληθινού" υποκατάστατου του αλατιού είναι η ελλιπής κατανόηση του μηχανισμού αίσθησης του αλατιού (Lynch 1987). Υπάρχει μεγάλη διαφωνία σχετικά με το πώς η αλμυρή γεύση γίνεται πραγματικά αντιληπτή και το τι την παράγει (Lynch 1987). Αρχικά επιστεύετο ότι η αλμυρή γεύση παραγόταν από τα ανιόντα, ιδιαίτερα Cl^- (Hober και Kiesaw 1898, Dzendolet και Meiselman 1967). Εντούτοις, από νεότερες έρευνες (Bartoshuk 1980) φαίνεται ότι η αλμυρή γεύση παράγεται από τα κατιόντα. Το νάτριο (και πιθανόν το λίθιο) δεν προσδίδει άλλα χαρακτηριστικά, ενώ μία ποικιλία άλλων απλών κατιόντων (K^+ , NH_4^+) προκαλεί αλμυρή καθώς επίσης και πικρή γεύση. Τα ανιόντα εμποδίζουν τις επιδράσεις των κατιόντων στη γεύση. Είναι φανερό ότι η συμβολή των κατιόντων και ανιόντων στη γεύση του αλατιού είναι περίπλοκη.

Το αλάτι είναι το δεύτερο περισσότερο χρησιμοποιούμενο πρόσθετο, μετά την ζάχαρη, στη βιομηχανία τροφίμων (Anonymous 1981a). Το αλάτι είναι χρήσιμο σε ένα αριθμό ουσιωδών λειτουργιών στην τεχνολογία τροφίμων. Η χρήση του αλατιού ως συντηρητικού τροφίμων χρονολογείται από τους προϊστορικούς χρόνους και, μαζί με την ζύμωση και την αφυδάτωση, είναι μια από τις κλασικές μεθόδους συντήρησης των τροφίμων (Guinee και Fox 1993).

Το αλάτι ελέγχει διάφορες μικροβιακές δράσεις στα τρόφιμα. Επίσης, ελέγχει την υφή και την υγρασία σε διάφορα τρόφιμα και έχει μια άμεση συμβολή στη γεύση τους (IFT 1980). Συχνά χρησιμοποιείται για να μεταβληθεί το περιβάλλον μέσα στο τρόφιμο έτσι ώστε να επιβραδυνθεί ή να εμποδιστεί η ανάπτυξη ανεπιθύμητων

μικροοργανισμών. Η μικροβιακή σταθερότητα ενός τροφίμου ή η πιθανότητα αλλοίωσής του εξαρτάται από την τιμή της "ενεργότητας του νερού" του (IFT 1980). Για κάθε μικροοργανισμό υπάρχει μια τιμή ενεργότητας νερού πάνω από την οποία ο οργανισμός θα αναπτυχθεί και κάτω από την οποία δε θα αναπτυχθεί. Το αλάτι είναι ένας από τους πιο αποτελεσματικούς παράγοντες μείωσης της ενεργότητας του νερού.

Το αλάτι χρησιμοποιείται στην παραγωγή ορισμένων τροφίμων, όπως πίκλες, ζυμωμένα λουκάνικα και τυριά, για να αποσπάσει νερό και διάφορες θρεπτικές ουσίες από τον ιστό, προκειμένου να εξασφαλισθεί το κατάλληλο περιβάλλον για ανάπτυξη των επιθυμητών βακτηρίων. Η ανάπτυξη των μικροοργανισμών οι οποίοι θα προκαλούσαν αλλοίωση ελέγχεται βασικά από το αλάτι, τη συσσώρευση οργανικών οξέων τα οποία σχηματίζονται κατά την ζύμωση από τους επιθυμητούς μικροοργανισμούς, και διεργασίες οι οποίες αποκλείουν το οξυγόνο (IFT 1980). Χρησιμοποίηση μεγάλων συγκεντρώσεων αλατιού καθυστερεί την επιθυμητή ζύμωση, ενώ πολύ λίγο αλάτι οδηγεί σε κακή ποιότητα ή απώλεια του προϊόντος εξαιτίας ανεπιθύμητης ζύμωσης (IFT 1980).

Γενικά, η πιο σημαντική επίδραση της προσθήκης χλωριούχου νατρίου στα διάφορα τρόφιμα είναι η βελτίωση της ισορροπίας του αρώματος (Gillette 1985).

2. Φυσιολογικός ρόλος του διαιτητικού NaCl

Όταν το αλάτι διαλύεται στο νερό, δίσταται στα ιόντα νατρίου και χλωρίου. Το νάτριο είναι το κυριότερο κατιόν του εξωκυτταρικού υγρού, η δε συγκέντρωσή του είναι ισοδύναμη με διάλυμα 0,9% NaCl (Briggs και Calloway 1979). Η περιεκτικότητα του νατρίου στο σώμα και η συγκέντρωσή του στα υγρά του σώματος είναι κάτω από

ομοιοστατικό έλεγχο, και έτσι ο όγκος του εξωκυτταρικού υγρού φυσιολογικά καθορίζεται από την περιεκτικότητά του σε νάτριο (NRC 1989b). Περίπου 50 % του νατρίου στο σώμα βρίσκεται στα εξωκυτταρικά υγρά του σώματος, 10 % μέσα στα κύτταρα και 40 % στα οστά (Reddy και Marth 1991). Σε όλα τα θηλαστικά, συμπεριλαμβανομένου και του ανθρώπου, το ιόν του νατρίου χρειάζεται για να διατηρεί τον όγκο και την πίεση του αίματος. Επίσης, είναι απαραίτητο στο να ελέγχει το πέρασμα του νερού μέσα και έξω από τα κύτταρα του σώματος και τους σχετικούς όγκους των υγρών στο εσωτερικό και εξωτερικό αυτών των κυττάρων. Επιπλέον, το νάτριο χρειάζεται για τη μετάδοση των νευρικών ώσεων, καθώς και για το μεταβολισμό των υδατανθράκων και των πρωτεϊνών (IFT 1980).

Το ιόν του χλωρίου είναι, επίσης, ουσιώδες για τον οργανισμό. Χρειάζεται για να διατηρεί το οξεοβασικό ισοζύγιο στο αίμα και την οσμωτική συγκέντρωση του ιστού (το πέρασμα του νερού δια μέσου των κυτταρικών τοιχωμάτων για να διατηρήσει σωστές συγκεντρώσεις διαφόρων χημικών ουσιών). Ακόμη, για να ενεργοποιεί κάποια ουσιώδη ένζυμα και να σχηματίζει υδροχλωρικό οξύ στο στομάχι που χρειάζεται στη διαδικασία της πέψης (IFT 1980).

3. Νάτριο

Το νάτριο είναι ευρύτατα διαδεδομένο στη φύση και εισέρχεται στο ανθρώπινο σώμα με τους εξής πέντε τρόπους (Meneely 1973): (1) με το πόσιμο νερό. Εάν το νερό περιέχει 25 mg νατρίου στα 100 ml, και αν η πρόσληψη νερού μέσω της τροφής και του ποτού υπολογίζεται ότι είναι 2 λίτρα, η πρόσληψη νατρίου θα είναι 500 mg την ημέρα. Έχει υπολογισθεί ότι το νερό συμβάλλει λιγότερο από 10% στην ημερήσια

λήψη νατρίου (NRC 1989b), (2) με την κατανάλωση τροφών. Το νάτριο βρίσκεται εκ φύσεως σε όλες τις τροφές, αν και σε αρκετές η περιεκτικότητα είναι πολύ χαμηλή, (3) με την κατανάλωση επεξεργασμένων τροφίμων, κατά την παρασκευή των οποίων προσθέεται αρκετό νάτριο, συνήθως ως NaCl, (4) με την προσθήκη αλατιού κατά τη διαδικασία του μαγειρέματος στο σπίτι και (5) με την προσθήκη αλατιού στην τροφή στο τραπέζι. Πρέπει να σημειωθεί επίσης, ότι πολλά μη συνταγογραφούμενα φάρμακα περιέχουν σημαντικές ποσότητες ενώσεων νατρίου, τις οποίες ο καταναλωτής συχνά παραβλέπει (IFT 1980).

Οι Sanchez-Castillo και συν. (1987a,b) βρήκαν ότι μόνο το 10% του προσλαμβανόμενου διαιτητικού αλατιού προέρχεται από τη φυσική περιεκτικότητα των τροφίμων σε αλάτι, το 15% από το αλάτι που προσθέεται κατά το μαγείρεμα και στο τραπέζι και το 75 % από το αλάτι που προσθέεται κατά την παρασκευή και επεξεργασία των τροφίμων.

Οι υπολογισμοί των αναγκών σε νάτριο για τον ανθρώπινο οργανισμό βασίζονται σε εκτιμήσεις της ποσότητας, που χρειάζεται για ανάπτυξη και για αντικατάσταση των υποχρεωτικών απωλειών. Η ακριβής ποσότητα είναι πάρα πολύ δύσκολο να υπολογισθεί (IFT 1980) επειδή το σώμα έχει αποτελεσματικούς τρόπους για να διαφυλάττει το νάτριο, όταν αυτό είναι σπάνιο, και να απαλλάσσει το σώμα από οποιαδήποτε περίσσειά του (Briggs και Galloway 1979). Μερικές εκτιμήσεις της ημερήσιας ανάγκης ενήλικα για νάτριο είναι χαμηλές, 25-50 mg την ημέρα (0,06 - 0,12 g αλάτι, το οποίο περιέχει περίπου 39% νάτριο), υπό ιδανικές συνθήκες (Dahl, 1958). Η πλέον συνηθισμένη εκτίμηση της ελάχιστης ημερήσιας ανάγκης ενήλικα είναι 200 mg νάτριο (0,5 g αλάτι). Η μέση ολική ημερήσια πρόσληψη νατρίου

από τα περισσότερα άτομα στις ανεπτυγμένες χώρες εκτιμάται ότι είναι 4-5 g (10-12 g αλάτι) (IFT 1980, Dillon 1987). Οι ποσότητες αυτές, οι οποίες είναι 10 ως 35 φορές μεγαλύτερες από τις ελάχιστες ανάγκες του ενήλικα (NRC 1980a, Shank και συν. 1982), θεωρούνται ως υπερβολικές, ακόμη και επικίνδυνες, από πολλούς επιστήμονες που ασχολούνται με την υγεία του ανθρώπου (Dillon 1987). Πρόσληψη 1.100-3.300 mg νατρίου (2,8 - 8,3 g NaCl) την ημέρα προτάθηκε ως ασφαλής και επαρκής για ενήλικες (NRC 1980b), αν και τελευταία η Επιτροπή Τροφίμων και Διατροφής των ΗΠΑ έχει συστήσει, ότι η ημερήσια πρόσληψη νατρίου πρέπει να περιορισθεί στα 2.400 mg (6 g NaCl) ή και λιγότερο (NRC 1989a).

Υπερβολική πρόσληψη NaCl οδηγεί σε αύξηση του εξωκυτταρικού χώρου, καθώς έλκεται νερό από τα κύτταρα, για να διατηρηθεί η συγκέντρωση του νατρίου. Το τελικό αποτέλεσμα είναι οίδημα και υπέρταση. Παρόλα αυτά, τοξικότητα από διαιτητικό νάτριο δε δημιουργεί ανησυχία, εφόσον οι ανάγκες σε νερό μπορούν να ικανοποιηθούν, επειδή τα νεφρά μπορούν να αποβάλλουν την περίσσεια νατρίου (NRC 1989b).

4. Κάλιο

Το κάλιο είναι το κύριο εσωκυτταρικό κατιόν, ευρισκόμενο στο κυτταρικό νερό σε συγκέντρωση 145 mEq/L, 30 φορές μεγαλύτερη από τη συγκέντρωση στην οποία βρίσκεται στο πλάσμα και στο μεσοκυττάριο υγρό (3,8-5,0 mEq/L). Όμως, το μικρό αυτό ποσοστό του εξωκυτταρικού καλίου είναι μεγάλης φυσιολογικής σημασίας, επειδή συμβάλλει στη μετάδοση των νευρικών ώσεων, στον έλεγχο της συσταλτικότητας του σκελετικού μυός, και στη διατήρηση της φυσιολογικής πίεσης

του αίματος (NRC 1989b). Το κανονικό διαιτολόγιο περιέχει αρκετό κάλιο, εάν η πρόσληψη ενέργειας και πρωτεΐνης είναι επαρκής, επειδή το κάλιο απαντάται ευρύτατα στα τρόφιμα φυτικής και ζωικής προέλευσης. Έλλειψη καλίου παρουσιάζεται σε περιπτώσεις φτωχής διατροφής ή υπερβολικής απώλειας καλίου οφειλόμενης στις περισσότερες περιπτώσεις σε σοβαρή διάρροια (Briggs και Galloway 1979). Υπό κανονικές συνθήκες, διατροφική έλλειψη καλίου δεν παρατηρείται. Η πιο κοινή αιτία υπερβολικής νεφρικής απώλειας καλίου είναι η χρήση διουρητικών φαρμάκων, ειδικά για τη θεραπεία της υπέρτασης. Σοβαρή υποκαλιαιμία μπορεί να οδηγήσει σε καρδιακές αρρυθμίες οι οποίες μπορεί να είναι θανατηφόρες (NRC 1989b). Στις περιπτώσεις αυτές πρέπει να δίνεται συμπλήρωμα καλίου (Ζερφυρίδης, 1995). Τροφές πλούσιες σε κάλιο είναι το κρέας, τα φρούτα, οι χυμοί φρούτων και μερικά λαχανικά. Επίσης, το γάλα είναι μια καλή πηγή, αλλά όχι το τυρί, αφού το περισσότερο κάλιο (>90%) γίνεται στο τυρόναλα (Briggs και Galloway 1979, Reps και συν. 1995). Η πρόσληψη καλίου ποικίλλει σημαντικά, εξαρτώμενη από την επιλογή τροφών. Άτομα που καταναλώνουν μεγάλες ποσότητες φρούτων και λαχανικών έχουν μεγάλη πρόσληψη καλίου, της τάξης των 8 έως 11 g την ημέρα (NRC 1989a). Πρόσληψη 1.875 - 5.625 mg καλίου την ημέρα θεωρείται ασφαλής και επαρκής για ενήλικες (NRC 1980b). Υπερβολική λήψη καλίου από το διαιτολόγιο δεν εγκυμονεί κινδύνους (Ζερφυρίδης 1995).

5. Ρόλοι του νατρίου και του καλίου στην υπέρταση

5.1. Νάτριο και υπέρταση

Υπέρταση (υψηλή πίεση του αίματος) είναι ένα αυθαίρετα καθορισμένο επίπεδο πίεσης του αίματος σε χιλιοστά υδραργύρου (mm Hg), ένα επίπεδο επιλεγμένο

εμπειρικά από τους γιατρούς (White και Crocco 1980). Η Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας ορίζει ως υψηλή πίεση αίματος την πίεση που είναι μεγαλύτερη από 140 mm Hg, συστολική, και 90 mm Hg διαστολική (White και Crocco 1980). Υπάρχουν δύο κατηγορίες υπέρτασης: (1) η πρωτογενής (ιδιοπαθής) υπέρταση αγνώστου αιτίας, η οποία είναι υπεύθυνη για το 90 % των περιπτώσεων και (2) η δευτερογενής υπέρταση, η οποία προκύπτει από προϋπάρχουσα ιατρική κατάσταση, όπως ασθένεια νεύρων (Anonymous 1981b, 1982, 1984b). Η υπέρταση προσβάλλει περισσότερο από το 20% του παγκόσμιου πληθυσμού, σύμφωνα με εκτιμήσεις ειδικών (IFT 1980). Η εμφάνιση αυτής της κοινής χρόνιας ασθένειας αυξάνει με την ηλικία και είναι μεγαλύτερη στους άνδρες από τις γυναίκες και στους μαύρους (37%) από τους λευκούς (20%) (White και Crocco, 1980, Joint National Committee on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure 1993). Άτομα με υψηλή πίεση αίματος έχουν 3 έως 4 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο να αναπτύξουν στεφανιαία νόσο, και 7 φορές να υποστούν εγκεφαλική συμφόρηση σε σύγκριση με άτομα με κανονική πίεση αίματος (U.S. Department of Health and Human Services 1990). Η υψηλή πίεση αίματος συνδέεται επίσης με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης εμφράγματος, νεφρικής ανεπάρκειας και περιφερειακής αγγειοπάθειας (Kannel και Sorlie 1975, Whelton και Klag 1989). Ο έλεγχος της πίεσης του αίματος μπορεί να μειώσει τη νοσηρότητα και τη θνησιμότητα από τις παραπάνω ασθένειες (U.S. Department of Health and Human Services 1990). Όμως, δυστυχώς, περίπου οι μισοί από τους ανθρώπους με υψηλή πίεση αίματος αγνοούν την κατάστασή τους (Joint National Committee on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure 1993).

Τρεις σημαντικοί παράγοντες συμβάλλουν στην πρωτογενή υπέρταση: κληρονομικότητα, διατροφή και περιβάλλον (Anonymous 1984b). Σήμερα, κανένας παράγοντας δεν έχει προσδιορισθεί ως η αιτία της υπέρτασης (Miller και συν. 1995). Λόγω του υψηλού κόστους και των πιθανών δυσμενών παρενεργειών, που συνδέονται με τη φαρμακολογική θεραπεία αυτής της ασθένειας, οι άνθρωποι ενθαρρύνονται να υιοθετήσουν αλλαγές στον τρόπο ζωής για να θεραπεύσουν ή να μειώσουν τον κίνδυνο από την υπέρταση. Οι αλλαγές αυτές στον τρόπο ζωής περιλαμβάνουν μείωση βάρους, αν τα άτομα είναι υπέρβαρα, αυξημένη φυσική δραστηριότητα, μετριασμό της πρόσληψης νατρίου και οινοπνεύματος, και επαρκή κατανάλωση καλίου, ασβεστίου και μαγνησίου (Joint National Committee on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure 1993).

Η σειρά των γεγονότων, που οδηγούν στην υπέρταση, αρχίζει με αυξημένο όγκο του εξωκυτταρικού υγρού. Ως αποτέλεσμα, η καρδιακή λειτουργία αυξάνει και η πίεση του αίματος ανεβαίνει (Sebranek και συν. 1983). Τότε, σε ένα άτομο με κανονική πίεση μειώνεται η περιφερειακή αγγειακή αντίσταση στη ροή του αίματος για να επιτρέψει στην καρδιακή λειτουργία να μειωθεί στο κανονικό, ενώ ο όγκος του υγρού μειώνεται μέσω των νεφρών (Mark και συν. 1981, Rapp 1982). Στην πρωτογενή υπέρταση, όμως, η περιφερειακή αγγειακή αντίσταση αυξάνει και παραμένει υψηλή ακόμη και μετά από την επαναφορά της καρδιακής λειτουργίας και του όγκου του υγρού στα κανονικά επίπεδα. Έτσι, η πίεση του αίματος παραμένει υψηλή (Frohlich και Messerli 1982). Αν και φαίνεται πιθανόν να υπάρχουν πολλές αιτίες της πρωτογενούς υπέρτασης, όλες δείχνουν να καταλήγουν σε μειωμένη αναλογία της νεφρικής απεκκριτικής ικανότητας προς την πρόσληψη νερού και ηλεκτρολυτών

(Guyton 1977). Ως αποτέλεσμα, η πίεση του αίματος παραμένει υψηλή, πιθανόν για να αυξήσει την απεκκριτική ικανότητα των νεφρών (Sebranek και συν. 1983).

Η άποψη που υποστηρίζει τη θέση, ότι η υπέρταση μπορεί να προληφθεί εξαλείφοντας το αλάτι από το διαιτολόγιο, βασίζεται σε πέντε κύριες πηγές:

- (1) σε πολυάριθμες επιδημιολογικές μελέτες που δείχνουν μικρή ή καθόλου υπέρταση σε πρωτόγονες κοινωνίες, όπου χρησιμοποιείται λίγο ή καθόλου αλάτι (Oliver και συν. 1975, Freis 1976, Page 1976, Abernethy 1979, White και Crocco 1980). Επιπλέον, όταν οι πρωτόγονες αυτές κοινωνίες μύηθηκαν στο αλάτι, η εμφάνιση της υπέρτασης σχεδόν αυξήθηκε σταθερά. Συμπερασματικά, οι μελέτες αυτές δείχνουν ότι η εμφάνιση της υπέρτασης συσχετίζεται αντίστροφα με το βαθμό πρόσληψης αλατιού (Freis, 1976).
- (2) σε αιμοδυναμικές μελέτες, που δείχνουν, ότι η εμφάνιση χρόνιας πειραματικής υπέρτασης είναι μια ομοιοστατική αντίδραση στο διατηρούμενο αυξημένο όγκο του εξωκυτταρικού υγρού (Freis, 1976).
- (3) στην απόδειξη ότι ο όγκος του εξωκυτταρικού υγρού είναι μεγαλύτερος στα άτομα που καταναλώνουν πολύ αλάτι σε σύγκριση με τα άτομα που δεν καταναλώνουν αλάτι (Freis, 1976).
- (4) σε ιστορικά κλινικών περιπτώσεων υπερτασικών ασθενών, όπου θεραπευτικές δίαιτες πολύ χαμηλές σε νάτριο έχουν χρησιμοποιηθεί επιτυχώς για να μειώσουν την υψηλή πίεση του αίματος (Sebranek και συν. 1983).
- (5) σε έρευνες με πειραματόζωα (ιδιαίτερα ποντίκια), που δείχνουν υπερτασική αντίδραση στο αυξημένο διαιτητικό NaCl (Dahl, 1972).

Ο Tobian (1979) έχει βρει ότι οι άνθρωποι είναι γενετικά είτε ευαίσθητοι είτε ανθεκτικοί στην ανάπτυξη υπέρτασης. Οι Feinleib και συν. (1980), χρησιμοποιώντας δίδυμα άτομα, βρήκαν ότι η πίεση του αίματος στους ανθρώπους είναι περίπου κατά το ήμισυ γενετικά συσχετισμένη και κατά το ήμισυ περιβαλλοντική. Η γενετική προδιάθεση στην υπέρταση είναι λανθάνον χαρακτηριστικό το οποίο εκδηλώνεται ως αντίδραση στις περιβαλλοντικές συνθήκες, μία από τις οποίες φαίνεται να είναι το διαιτητικό νάτριο (Sebranek και συν 1983). Υπάρχουν πολλοί άλλοι παράγοντες, οι οποίοι πιθανόν να εμπλέκονται στην εμφάνιση της υπέρτασης, όπως διαιτητικοί (λιπαρά οξέα, κάλιο, ασβέστιο), φυσιολογικοί (λειτουργία κυτταρικής μεμβράνης, νατριοδιουρητική ορμόνη, παραθυροειδική ορμόνη) και συναισθηματικοί (συμπαθητικό σύστημα, κεντρικό νευρικό σύστημα) (Sebranek και συν. 1983).

Πρέπει να αναφερθεί ότι πρόσφατες έρευνες τείνουν να αποδείξουν ότι περιορισμένη πρόσληψη νατρίου έχει σημαντική ικανότητα μείωσης της πίεσης του αίματος σε άτομα με κανονική πίεση όπως και σε υπερτασικά (Cutler και συν. 1991, Law και συν. 1991).

5.2. Φυσιολογικοί μηχανισμοί της υπέρτασης

Η φυσιολογική αντίδραση του οργανισμού στην αυξημένη πρόσληψη διαιτητικού νατρίου προκαλείται από μηχανισμούς ελέγχου, δείχνοντας τη σημασία της ακριβούς ρύθμισης του νατρίου-καλίου στο σώμα (Sebranek και συν 1983). Όμως, είναι σαφές, ότι η αρχική αντίδραση εστιάζεται στο νεφρό. Μια αυξημένη πρόσληψη νατρίου οδηγεί σε αύξηση του όγκου του εξωκυτταρικού υγρού, για να διατηρηθεί η οσμωτική ισορροπία. Η προκύπτουσα αύξηση στην πίεση του αίματος προκαλεί

μεγαλύτερη νεφρική διήθηση (διήθηση υπό πίεση) και απομάκρυνση και του νατρίου και του νερού, μέσω των ούρων (Frohlich και Messerli 1982). Στην πρωτογενή υπέρταση, ο όγκος του εξωκυτταρικού υγρού, η καρδιακή λειτουργία και η συγκέντρωση του νατρίου μπορεί να επιστρέφουν σχεδόν στο κανονικό, όμως η αυξημένη αγγειακή αντίσταση (και πίεση αίματος) παραμένει, πιθανόν για να διατηρήσει την αναγκαία αποτελεσματικότητα της νεφρικής διήθησης (Sebranek και συν. 1983). Έχει αποδειχθεί ότι στα υπερτασικά άτομα, τα νεφρά έχουν ανάγκη μεγαλύτερης πίεσης, η οποία πρέπει να επιτευχθεί για να απομακρυνθεί επαρκώς η περίσσεια νατρίου και νερού (Freis 1976).

5.3. Κάλιο και υπέρταση

Πειραματικές μελέτες σε ζώα και επιδημιολογικές και κλινικές έρευνες σε ανθρώπους δείχνουν ότι αυξημένη πρόσληψη καλίου μπορεί να προφυλάξει από την υπέρταση που οφείλεται στο νάτριο (Meneely 1973, Fregly 1981, Lecos 1983, Haddy 1991, Linas 1991). Επίσης, γενικές διαπιστώσεις δείχνουν ότι το διαιτητικό κάλιο (π.χ. σε τρόφιμα όπως τα γαλακτοκομικά) μπορεί να έχει σημαντικό ρόλο σαν ένας μη φαρμακολογικός παράγων στον έλεγχο της υψηλής πίεσης του αίματος (Miller και συν. 1995). Οι Siani και συν. (1991) αναφέρουν, ότι αύξηση της πρόσληψης καλίου από φυσικές τροφές είναι ένα εφικτό και αποτελεσματικό μέτρο για να περιορισθεί η θεραπεία με αντιυπερτασικά φάρμακα σε ασθενείς με πρωτογενή υπέρταση. Επίσης, ότι η αύξηση της πρόσληψης καλίου είναι ασφαλής και πολύ ανεκτή.

Επιδημιολογικές έρευνες, όπως η μελέτη INTERSALT (μία μελέτη που εξέτασε τις σχέσεις μεταξύ ηλεκτρολυτών και πίεσης του αίματος σε περισσότερους

από 10.000 ενήλικες σε 52 πληθυσμιακά κέντρα σε όλο τον κόσμο) και μελέτες από διάφορες χώρες, συμπεριλαμβανομένων των ΗΠΑ, της Ιαπωνίας, Αγγλίας, Σκωτίας, Σουηδίας, Βελγίου, Κένυας, Ζαΐρ και Κίνας, έχουν καταλήξει στο συμπέρασμα, ότι υπάρχει μια αντίστροφη σχέση μεταξύ πρόσληψης διαιτητικού καλίου ή ολικού καλίου του σώματος και πίεσης του αίματος (Whelton και Klag 1987, Intersalt Cooperative Research Group 1988, Stamler 1991, National High Blood Pressure Education Program Working Group, 1993). Επίσης, έχει βρεθεί ότι η μικρότερη πρόσληψη διαιτητικού καλίου μπορεί να εξηγήσει τη μεγαλύτερη εμφάνιση υπέρτασης στους μαύρους σε σύγκριση με τους λευκούς, δεδομένου ότι οι μαύροι συνήθως προσλαμβάνουν λιγότερο κάλιο από τους λευκούς (Haddy 1991, Langford και συν. 1991). Σε φυσιολογικούς ανθρώπους η μείωση του διαιτητικού καλίου αυξάνει την πίεση του αίματος (Krishna και συν. 1989). Επίσης, προκαλεί κατακράτηση νατρίου και μειώνει την ικανότητα του σώματος να αντιμετωπίσει μία μεγάλη ποσότητα νατρίου (Krishna και συν. 1987). Από την άλλη πλευρά, κλινικές έρευνες σε άτομα με κανονική πίεση, και ιδιαίτερα σε υπερτασικά, έδειξαν ότι αυξημένη πρόσληψη καλίου έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της πίεσης του αίματος (Matlou και συν. 1986, Krishna και συν. 1989, Cappuccio και MacGregor 1991, Krishna και Kapoor 1991, Siani και συν. 1991, Whelton και συν. 1992).

Εκτός από τη χρήση του στη θεραπεία της υπέρτασης, το κάλιο έχει χρησιμοποιηθεί ως ένα απαραίτητο πρόσθετο των διουρητικών φαρμάκων στη θεραπεία της υπέρτασης για να αντισταθμίσει την υπερβολική απώλεια καλίου, που προκαλείται από τα διουρητικά (Abernethy 1979, Linas 1991).

5.4. Σχέσεις νατρίου και καλίου (αναλογία Na:K)

Η ισορροπία μεταξύ καλίου και νατρίου στο σώμα είναι πολύ σημαντική για σωστή φυσιολογική λειτουργία (IFT 1980). Μια έντονη διαταραχή της ισορροπίας νατρίου: καλίου θεωρείται επιβλαβής για άτομα επιρρεπή στην υψηλή πίεση αίματος (NRC 1980b). Συνεπώς, η διαιτητική αναλογία νατρίου:καλίου ίσως να είναι πιο σημαντική για την υπέρταση παρά η απόλυτη πρόσληψη νατρίου (Meneely και Battarbee 1976, Weaver και Evans 1986). Σε ανθρώπους, η χορήγηση 3,7 g καλίου ως KCl προφυλάσσει από αύξηση της πίεσης του αίματος που προκαλείται από μεγάλη πρόσληψη NaCl. Αν και το επίπεδο του νατρίου ήταν μεγάλο (5,75 g), η αναλογία νατρίου:καλίου μειώθηκε από 2,95 στο 1,01 με τη χορήγηση KCl (Fugita και Ando 1984). Επομένως, η αναλογία νατρίου προς κάλιο πρέπει να λαμβάνεται υπόψη στην εκτίμησή του ρόλου του νατρίου στη διατροφή (Gros και συν. 1971, Michelsen και συν. 1977). Οι Geleijnse και συν. (1990) αναφέρουν ότι επαρκής πρόσληψη καλίου, ειδικότερα με την τροφή, ή μείωση στη διαιτητική αναλογία νατρίου προς κάλιο μπορεί να είναι ευεργετική στην πρόωρη πρόληψη της υπέρτασης. Τα αποτελέσματά τους έδειξαν, επίσης, ότι στα αρχικά στάδια της υπέρτασης (δηλαδή αύξηση της πίεσης του αίματος στην παιδική ηλικία) η πίεση του αίματος αυξάνεται περισσότερο από έλλειψη καλίου παρά από περίσσεια νατρίου.

5.5. Αντιυπερτασική επίδραση του καλίου

Η ιδέα ότι η χορήγηση καλίου μπορεί να μειώσει την πίεση του αίματος υπήρξε δημοφιλής για τουλάχιστον 70 χρόνια (Addison 1928, Friddle 1931, McQuarrie και συν. 1936, Kempner 1948, Luft και συν. 1979, Treasure και Ploth 1983). Οι πιθανοί

μηχανισμοί, που έχουν προταθεί, για να εξηγήσουν την παρατηρηθείσα αντιυπερτασική επίδραση της χορήγησης καλίου είναι οι εξής (Linas 1991):

(1) Νατριοδιούρηση / διούρηση, (2) Μειώσεις στα επίπεδα υπερτασιγόνων ορμονών (ρενίνη-αγγειοτασίνη-αλδοστερόνη, νορεπινεφρίνη), (3) Αυξήσεις στις αγγειοδιασταλτικές ορμόνες, (4) Επίδραση στο τοίχωμα των αιμοφόρων αγγείων (μειωμένη αντίδραση στην υπερτασιγόνο ορμόνη, άμεση αγγειοδιαστολή) και (5) Αυξημένη ευαισθησία στον υποδοχέα πίεσης.

Η προστατευτική επίδραση της χορήγησης καλίου επιτυγχάνεται μέσω της μείωσης της αυξημένης καρδιακής λειτουργίας, που προκαλείται από την αύξηση του NaCl (Linas 1991). Τα αποτελέσματα μελετών σε άτομα με κανονική πίεση και σε υπερτασικούς ασθενείς δείχνουν καθαρά ότι μεταβολές στο διαιτητικό κάλιο μεταβάλλουν το ισοζύγιο του νατρίου. Ο περιορισμός καλίου οδηγεί σε κατακράτηση νατρίου, ενώ η χορήγηση καλίου φαίνεται να προκαλεί νατριοδιούρηση (απέκκριση νατρίου) και να εμποδίζει κατακράτηση νατρίου ως αποτέλεσμα της αυξημένης πρόσληψης NaCl (Linas 1991).

Πέραν αυτών που αναφέρθηκαν παραπάνω, υπάρχουν και άλλοι δυνατοί μηχανισμοί, που θα μπορούσαν να εξηγήσουν τις αγγειοδιασταλτικές επιδράσεις του καλίου. Για παράδειγμα, μεταβολές στο ολικό κάλιο του σώματος επηρεάζουν τα επίπεδα των αγγειοσυσταλτικών ορμονών. Αν και αυξήσεις στο ολικό κάλιο του σώματος σταθερά μειώνουν την παραγωγή ρενίνης στα ζώα (Sealey και συν.1970, Linas 1981), λίγες μελέτες έχουν αναφέρει μείωση στην παραγωγή ρενίνης στους ανθρώπους κατά τη διάρκεια χορήγησης καλίου (Karlan και συν. 1985). Η επίδραση της χορήγησης καλίου στις αγγειοδιασταλτικές ορμόνες δεν έχει αξιολογηθεί αρκετά.

Οι Tabuchi και συν. (1985) αναφέρουν ότι χορήγηση καλίου αυξάνει τη συγκέντρωση της προσταγλανδίνης E₂ (PGE₂) στο πλάσμα. Όμως, άλλες μελέτες έχουν δείξει ότι οι μεταβολές στο ολικό κάλιο του σώματος δε μεταβάλλουν την ουρική απέκκριση της PGE₂ (Dusing και συν. 1980).

Συμπερασματικά, η μείωση της πίεσης του αίματος μέσω της χορήγησης καλίου φαίνεται να επιτυγχάνεται με τη νατριοδιούρηση, που προκαλείται από το κάλιο και τη μείωση στον όγκο του εξωκυτταρικού υγρού (Weaver και Evans 1986, Linas 1991). Οι μεταβολές στους άλλους παράγοντες που επηρεάζουν την πίεση του αίματος είναι μικρές ή αντιφατικές (Linas 1991).

6. Ρόλοι του νατρίου και του καλίου στην οστεοπόρωση

Η νεφρική διακίνηση του ασβεστίου συνδέεται στενά με εκείνη του νατρίου. Ο περιορισμός του διαιτητικού αλατιού μπορεί να βελτιώσει σημαντικά την οικονομία του ασβεστίου στο σώμα, δεδομένου ότι χρειάζεται λιγότερο ασβέστιο για να διατηρηθεί το ισοζύγιο ασβεστίου σε διαιτολογία φτωχά σε αλάτι παρά σε διαιτολογία πλούσια σε αλάτι (Goulding και συν. 1993). Επίσης, υψηλή πρόσληψη χλωριούχου νατρίου μπορεί να λειτουργήσει ως ένας σημαντικός παράγοντας κινδύνου για οστεοπόρωση προκαλώντας αρνητικό ισοζύγιο ασβεστίου και προάγοντας την απώλεια οστεϊκής μάζας με τη μεσολάβηση του παραθυρεοειδή αδένου (Goulding και Campbell 1983, Goulding και συν. 1986, Goulding 1990).

Αυξημένη πρόσληψη αλατιού (νατρίου) προκαλεί μια υποχρεωτική αύξηση ασβεστίου στην ουρική απέκκριση, η οποία αυξάνει τη διαιτητική ανάγκη σε ασβέστιο (Goulding και Campbell 1983, Goulding και συν. 1986, Goulding 1990, Heany 1992,

Massey 1993, Nordin και συν.1993, Schaafsma 1996). Η απώλεια ασβεστίου μέσω των ούρων μειώνει τη συγκέντρωση ιόντων ασβεστίου στο αίμα και διεγείρει την έκκριση παραθυροειδικής ορμόνης (Breslau και συν. 1982, Goulding και Gold 1986). Τούτο, για να αποκαταστήσει την κανονική συγκέντρωση ασβεστίου αυξάνοντας την εισαγωγή ασβεστίου από το σπειραματικό διήθημα, το έντερο και τα οστά (Goulding και συν. 1993). Η μάζα των οστών δε θα επηρεαστεί δυσμενώς, εάν αυξηθεί η απορρόφηση ασβεστίου από την τροφή, για να ισορροπήσει την υποχρεωτική ουρική απώλεια ασβεστίου, που προκαλείται από το νάτριο. Όμως, υψηλές προσλήψεις αλατιού θα οδηγήσουν σε απώλεια οστεϊκής μάζας, αν η τροφική απορρόφηση ασβεστίου δεν αυξάνεται αρκετά για να αντισταθμίσει πλήρως την αύξηση της ουρικής απέκκρισης ασβεστίου, που προκαλείται από το νάτριο (Goulding και συν. 1993). Μεγάλη κατανάλωση αλμυρών τροφίμων μπορεί να είναι επιβλαβής στην επίτευξη άριστης οστεϊκής μάζας στη νεαρή ηλικία και μπορεί να επιδεινώσει την οστεοπορωτική απώλεια οστεϊκής μάζας στη μετέπειτα ζωή (Goulding και συν. 1993). Έτσι, προτείνεται ο μέτριος περιορισμός του αλατιού (<5,84 g/ημέρα) ως ένα αξιόλογο και φθινό μέτρο για να βελτιωθεί η υγεία των οστών στους ανθρώπους, επειδή θα επιτρέψει σε περισσότερα άτομα να επιτύχουν ισορροπία ασβεστίου από φυσικές τροφές, χωρίς να καταφεύγουν στη λήψη ασβεστίου (Goulding και συν. 1993, Goulding 1997).

Επίσης, έχει αναφερθεί, ότι περιορισμένη κατανάλωση νατρίου μπορεί να ελαττώσει τη δημιουργία νεφρόλιθων (Goulding, 1997), προφανώς λόγω της μειωμένης αποβολής ασβεστίου μέσω των ούρων που προκαλεί.

Αύξηση του διαιτητικού καλίου σε υγιείς ενήλικες ελαττώνει την ουρική απέκκριση ασβεστίου (Lemann και συν. 1989, 1991, Massey 1993) και έχει ως αποτέλεσμα το ισοζύγιο ασβεστίου να γίνεται θετικότερο (Lemann και συν. 1991). Η μείωση του ασβεστίου των ούρων κατά τη διάρκεια της χορήγησης καλίου πιθανόν να σχετίζεται με τις νατριοδιουρητικές επιδράσεις του καλίου, που καταλήγουν σε μείωση του όγκου του εξωκυτταρικού υγρού ή σε κατακράτηση του φωσφόρου και καταστολή της σύνθεσης της καλσιτριόλης ή και στους δυο μηχανισμούς (Lemann και συν. 1993). Οι Lemann και συν. (1993) προτείνουν ότι διαιτολόγια που περιέχουν σχετικά περισσότερο κάλιο είναι χρήσιμα για την προστασία της σκελετικής μάζας.

7. Σήμανση νατρίου και ενημέρωση του καταναλωτή

Κατά την τελευταία εικοσαετία, η πιθανολογούμενη σχέση μεταξύ πρόσληψης νατρίου και υπέρτασης έχει προκαλέσει αύξηση της ανησυχίας των καταναλωτών. Η Αμερικανική Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA), το Υπουργείο Γεωργίας των ΗΠΑ (USDA), ιατρικές οργανώσεις, όπως η Αμερικανική Ιατρική Εταιρεία (AMA), το Εθνικό Καρδιολογικό, Πνευμονολογικό και Αιματολογικό Ινστιτούτο των ΗΠΑ και άλλοι οργανισμοί, έχουν αναλάβει προγράμματα μέσω των μαζικών μέσων ενημέρωσης για να ενημερώσουν τους καταναλωτές σχετικά (NRC 1980a, Heimbach 1986, Shank και συν. 1982, Wolf και συν. 1983). Η Αμερικανική Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA) έχει ενθαρρύνει τη βιομηχανία τροφίμων να μειώσει εθελοντικά την ποσότητα του νατρίου, που προστίθεται στα επεξεργασμένα τρόφιμα, και να διαθέσει στην αγορά μια μεγαλύτερη ποικιλία τροφίμων με χαμηλότερη περιεκτικότητα σε νάτριο (Anonymous 1984a).

Κανονισμοί σήμανσης του νατρίου άρχισαν να ισχύουν στις ΗΠΑ από τον Ιούλιο του 1986, και απαιτούν η περιεκτικότητα των τροφίμων σε νάτριο να συμπεριλαμβάνεται στις πληροφορίες σήμανσης της διατροφής, είτε απαιτείται σήμανση διατροφής είτε προσφέρεται εθελοντικά (Reddy και Marth 1991). Χαρακτηρισμοί στον κανονισμό σήμανσης του νατρίου, βασισμένοι σε ιατρικές και διαιτητικές πρακτικές, είναι: "ελεύθερο νατρίου" για προϊόν που περιέχει 5 mg ή λιγότερο νάτριο ανά μερίδα, "πολύ χαμηλού νατρίου" για προϊόν που περιέχει 35 mg ή λιγότερο νάτριο ανά μερίδα, "χαμηλού νατρίου" για προϊόν που περιέχει 140 mg ή λιγότερο νάτριο ανά μερίδα και "μειωμένου νατρίου" για προϊόν που περιέχει 75% λιγότερο νάτριο από το παραδοσιακό ή κανονικό προϊόν (Anonymous 1984a). Η ενημέρωση του καταναλωτή και η κατανόηση των σχέσεων νατρίου - αλατιού - υπέρτασης έχει αυξηθεί σημαντικά (Shank και συν. 1982). Σύμφωνα με τον Heimbach (1986), από τους ερωτηθέντες καταναλωτές στις ΗΠΑ, το ποσοστό που καταφεύγει στον πίνακα των συστατικών των προϊόντων με συγκεκριμένο σκοπό την αποφυγή ή τον περιορισμό της κατανάλωσης του αλατιού ή νατρίου αυξήθηκε από 14% το 1978 στο 44% το 1986. Επίσης, έρευνες στις ΗΠΑ έδειξαν, ότι ο αριθμός των ατόμων που αγόρασαν ένα προϊόν με χαμηλό ή μειωμένο νάτριο αυξήθηκε από 49% το 1982 στο 61% το 1986 (Heimbach 1986).

8. Προϊόντα με χαμηλή και μειωμένη περιεκτικότητα σε νάτριο

Η βιομηχανία τροφίμων, συνεργαζόμενη με διάφορους οργανισμούς, έχει ανταποκριθεί στη συνεχώς αυξανόμενη απαίτηση των καταναλωτών για προϊόντα με χαμηλότερη περιεκτικότητα σε νάτριο. Πολλές βιομηχανίες τροφίμων εθελοντικά

άρχισαν να δηλώνουν την περιεκτικότητα των προϊόντων τους σε νάτριο στις ετικέτες της συσκευασίας, και έχουν αναλάβει προγράμματα ενημέρωσης των καταναλωτών (Reddy και Marth 1991). Πολλά προϊόντα έχουν εμφανισθεί στην αγορά με χαμηλή ή μειωμένη περιεκτικότητα σε νάτριο, καθώς επίσης χωρίς πρόσθετο αλάτι (Guidi 1980, Taylor 1983, Williams 1987).

Ένα δύσκολο πρόβλημα που αντιμετωπίζουν οι επιστήμονες της ακαδημαϊκής κοινότητας και της βιομηχανίας στη δημιουργία ελκυστικών τροφίμων με χαμηλό ή μειωμένο νάτριο είναι η ανεπαρκής ικανότητα των υποκατάστατων του αλατιού στο να εξασφαλίσουν τα μοναδικά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του γλωριούχου νατρίου. Αυτό αποτελεί εμπόδιο στο να επιτύχουν τα τρόφιμα αυτά σημαντική αποδοχή από τους καταναλωτές (Reddy και Marth 1991). Παρόλα αυτά, πιο πρόσφατες έρευνες δείχνουν ότι ο αριθμός των προϊόντων με μειωμένο αλάτι ή νάτριο αυξάνει. Μία έρευνα προϊόντων έδειξε την εμφάνιση στην αγορά 202 νέων προϊόντων με μειωμένο αλάτι ή νάτριο το 1988 σε σύγκριση με 182 το 1987 (Best 1989). Επίσης, το Κέντρο για την Επιστήμη στο Δημόσιο Συμφέρον των ΗΠΑ αναφέρει μείωση της περιεκτικότητας σε νάτριο 100 συνηθισμένων τροφίμων μεταξύ 1985 και 1986 (Williams 1987).

Στα τρόφιμα με λιγότερη από την κανονική ποσότητα αλατιού που διατίθενται στην αγορά περιλαμβάνονται φυσικά τυριά, παστεριωμένα ανακατεργασμένα τυριά, τυρί Cottage, βούτυρο, παγωτό, ξινόγαλο, παστωμένα προϊόντα κρέατος, λουκάνικα, προϊόντα δημητριακών, λαχανικά, σάλτσες σαλάτας, καπνιστά ψάρια, σάλτσα ψαριών και σάλτσα σόγιας (Reddy και Marth 1991).

9. Υποκατάστατα αλατιού

Οποιοδήποτε υποκατάστατο του αλατιού, προκειμένου να χρησιμοποιηθεί στα τρόφιμα, πρέπει να ικανοποιεί δύο κριτήρια (Reddy και Marth 1991): (1) να είναι λειτουργικό, τουλάχιστον, μερικώς, και (2) να μη θυσιάζει την ασφάλεια του προϊόντος. Το να ευρεθεί ένα υποκατάστατο του χλωριούχου νατρίου είναι δύσκολο εξαιτίας της μοναδικής καθαρής αλμυρής του γεύσης και της ιδιότητάς του να ενισχύει το άρωμα των προϊόντων (Reddy και Marth 1991). Διάφορα άλατα έχουν αξιολογηθεί ως υποκατάστατα του χλωριούχου νατρίου, όπως το χλωριούχο κάλιο, χλωριούχο μαγνήσιο, χλωριούχο ασβέστιο, χλωριούχο αμμώνιο και χλωριούχο λίθιο. Το καθένα από αυτά έχει τα μειονεκτήματά του (Frodey 1982, Bravieri 1983). Παρά την εγγενή πικρή γεύση του, το χλωριούχο κάλιο είναι η πιο επιτυχημένη και ευρύτερα χρησιμοποιούμενη μερική υποκατάσταση του χλωριούχου νατρίου (Reddy και Marth 1991).

Οι φυσικές ιδιότητες του χλωριούχου καλίου το καθιστούν ένα καλό υποκατάστατο του αλατιού. Όπως το χλωριούχο νάτριο, το χλωριούχο κάλιο είναι ένας άχρωμος, διαφανής κυβικός κρύσταλλος. Το χλωριούχο νάτριο και το χλωριούχο κάλιο έχουν όμοιους δείκτες διαθλάσεως και ειδικά βάρη. Οι λειτουργικές του ιδιότητες στα προϊόντα αρτοποιίας και κρέατος είναι επίσης όμοιες (Lynch 1987). Αρκετά πειράματα έχουν αξιολογήσει τη γεύση μειγμάτων χλωριούχου νατρίου και χλωριούχου καλίου. Οι Frank και Mickelsen (1970) ανέφεραν, ότι το χλωριούχο κάλιο μόνο του ήταν πολύ πικρό, αλλά όταν αναμειχθηκε με χλωριούχο νάτριο, είχε αλμυρή γεύση. Ένα μείγμα, που περιείχε περίπου 50 % χλωριούχο κάλιο, βρέθηκε ότι είναι τόσο αλμυρό όσο το χλωριούχο νάτριο. Έτσι, το χλωριούχο νάτριο μπορεί να

αναμειχθεί με χλωριούχο κάλιο σε αναλογίες μέχρι 1:1 χωρίς αισθητή μεταβολή στη γεύση για τους περισσότερους καταναλωτές (IFT 1980).

10. Λειτουργίες του NaCl στο τυρί

Το αλάτι είναι ένα απαραίτητο συστατικό κατά την παρασκευή των τυριών όπου επιτελεί διάφορες λειτουργίες, οι κυριότερες από τις οποίες είναι οι ακόλουθες (Fox 1987, Hardy 1987, Guinee και Fox, 1993):

- (1) έλεγχος της μικροβιακής ανάπτυξης (άμεσα ή μέσω της a_w).
- (2) έλεγχος της δραστηριότητας της πυτιάς, των βακτηρίων της καλλιέργειας εκκίνησης και της δευτερεύουσας μικροχλωρίδας και των ενζύμων τους, καθώς επίσης των εγγενών ενζύμων του γάλακτος.
- (3) προαγωγή της συναίρεσης του πήγματος, που οδηγεί στη μείωση της υγρασίας και της ενεργότητας του νερού στο τυρί, οι οποίες επηρεάζουν και τις δύο παραπάνω λειτουργίες.
- (4) πρόκληση φυσικών μεταβολών στις πρωτεΐνες του τυριού, οι οποίες επηρεάζουν την υφή-δομή του τυριού, τη διαλυτότητα των πρωτεϊνών και πιθανόν τη διαμόρφωση των πρωτεϊνών.
- (5) βελτίωση της γεύσης του τυριού και ενίσχυση ή απόκρυψη της οσμής ορισμένων ουσιών που εμφανίζονται κατά την ωρίμαση του τυριού.

10.1. Έλεγχος της μικροβιακής ανάπτυξης

Το αλάτι αναστέλλει την ανάπτυξη των ανεπιθύμητων και επιβραδύνει την ανάπτυξη πολλών επιθυμητών μικροοργανισμών, ενώ ευνοεί την ανάπτυξη άλλων,

ρυθμίζοντας έτσι τη σχέση της πληθυσμιακής δύναμης των διαφόρων ομάδων μικροοργανισμών και κατ' επέκταση τη δραστηριότητά τους και τα γενικά βιολογικά φαινόμενα στο τυρί (Ζερφυρίδης 1987). Η βασική επίδραση του αλατιού στο βακτηριακό κύτταρο επέρχεται από την οσμωτική πίεση, που δημιουργεί το αλάτι στο περιβάλλον όπου ζει ο μικροοργανισμός. Αν στο περιβάλλον αυτό η οσμωτική πίεση είναι μεγάλη τότε το βακτηριακό κύτταρο δεν μπορεί να προσλαμβάνει ουσίες από αυτό ούτε να αποβάλλει σ' αυτό τις άχρηστες ουσίες. Μπορεί ακόμη το βακτηριακό κύτταρο να υποστεί αφυδάτωση και να καταστραφεί. Το αλάτι επομένως ασκεί την επίδρασή του ως συγκέντρωση στην υγρή φάση του τροφίμου και όχι ως περιεκτικότητα στο τρόφιμο ως έχει (Ζερφυρίδης 1987). Γενικά για ομαλές και σωστές ζυμώσεις βακτηριακής φύσεως η συγκέντρωση αλατιού στην υγρή φάση (συντελεστής άλατος) στο ώριμο τυρί δεν πρέπει να είναι μικρότερη από 5% (Ζερφυρίδης 1987).

Η αντιμικροβιακή ιδιότητα του χλωριούχου νατρίου εξαρτάται από την ικανότητά του να επηρεάζει τη διαθεσιμότητα του νερού για μικροβιακή ανάπτυξη (Troller και Scott 1992). Η μετρούμενη διαθεσιμότητα νερού εκφράζεται ως "ενεργότητα νερού" ή "συντελεστής ενεργού νερού" (a_w) και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να εκτιμηθεί η δυνατότητα αύξησης των βακτηρίων στα τρόφιμα. Τα βακτήρια συνήθως αναπτύσσονται ικανοποιητικά σε τιμές ενεργότητας νερού που κυμαίνονται από 1,00 έως 0,90 με τον *S. aureus* να μπορεί να αναπτύσσεται σε μία ασυνήθη ενεργότητα νερού 0,86 (Spahr και Uri 1994). Στην περίπτωση των ανώριμων τυριών, ιδιαίτερα εκείνων με >40% υγρασία, η ενεργότητα του νερού καθορίζεται σχεδόν εξ' ολοκλήρου από τη συγκέντρωση του NaCl (Fox 1987). Καθώς το τυρί ωριμάζει, και άλλες μικρομοριακές ενώσεις, κυρίως πεπτίδια και αμινοξέα, επηρεάζουν την a_w

(Fox 1987). Η ανασταλτική επίδραση του NaCl στη δραστηριότητα των οξυγαλακτικών βακτηρίων οφείλεται στην επίδρασή του στη διαμόρφωση της a_w (Fox 1987).

10. 2. Έλεγχος της ενζυμικής δραστηριότητας

10. 2. 1. Πηκτικό ένζυμο

Η αρχική πρωτεόλυση στο τυρί καταλύεται από το υπολειμματικό πηκτικό ένζυμο. Έχει αποδειχθεί ότι η α_{s1} -καζεΐνη υφίσταται σημαντική υδρόλυση κατά τη διάρκεια της ωρίμασης του τυριού, ενώ η β -καζεΐνη παραμένει σχεδόν αμετάβλητη μέχρι ένα προχωρημένο στάδιο ωρίμασης (Ledford και συν. 1966, Phelan και συν. 1973, Creamer 1975, Visser και de Groot-Mostert 1977). Η υδρόλυση της α_{s1} -καζεΐνης από τα πηκτικά ένζυμα επηρεάζεται σημαντικά από τη συγκέντρωση του NaCl. Η πρωτεολυτική δραστηριότητα της χυμοσίνης, πεψίνης και μικροβιακών(πυτιών)(*Mucor miehei* και *Endothia parasitica*) αυξάνεται αυξάνοντας τη συγκέντρωση του NaCl με ένα άριστο ~6 % (Fox και Walley 1971, Gouda 1987). Αν και η δραστηριότητά τους παρεμποδίζεται σε κάπως υψηλότερα επίπεδα NaCl, υδρόλυση της α_{s1} -καζεΐνης λαμβάνει χώρα σε συγκέντρωση NaCl μέχρι και 20% (Fox και Walley 1971, Gouda 1987). Σε αντίθεση, η υδρόλυση της β -καζεΐνης από τη χυμοσίνη και τις πεψίνες αναστέλλεται έντονα από 5% και πλήρως από 10% NaCl (Fox και Walley 1971). Διάφορα άλατα (KCl, LiCl, NH₄Cl και CaCl₂) είναι τόσο αποτελεσματικά όσο και το NaCl στο να αναστέλλουν την υδρόλυση της β -καζεΐνης (O' Nulain 1986). Φαίνεται ότι το NaCl και παρόμοιες διαλυτές ουσίες προκαλούν κάποιες μεταβολές στη διαμόρφωση της β -καζεΐνης, οι οποίες καθιστούν τους ευαίσθητους στη χυμοσίνη

(πεψίνη) δεσμούς της λιγότερο προσιτούς στο ένζυμο (Barford και συν. 1988). Η αντίσταση της β-καζεΐνης του τυριού στην υδρόλυση δεν εξαρτάται αποκλειστικά από τη συγκέντρωση του αλατιού, αφού είναι επίσης πολύ ανθεκτική στην υδρόλυση σε τυριά χωρίς αλάτι (Phelan και συν. 1973), γεγονός που δείχνει ότι υψηλή συγκέντρωση πρωτεΐνης είναι αρκετή, για να προκαλέσει τις αναγκαίες μεταβολές στη διαμόρφωσή της (Guinee και Fox 1993).

10. 2. 2. Πρωτεΐνάσες του γάλακτος

Το γάλα περιέχει διάφορες ενδογενείς πρωτεΐνάσες (Humbert και Alais 1979, Fox 1981, Visser 1981, Reimerdes 1982, Grufferty και Fox 1988a), σημαντικότερη από τις οποίες είναι η αλκαλική πρωτεΐνάση του γάλακτος (πλασμίνη). Η πλασμίνη είναι σχεδόν αποκλειστικά συνδεδεμένη με τα μικκύλια της καζεΐνης στο κανονικό pH του γάλακτος (Humbert και Alais 1979, Grufferty και Fox 1988b), αλλά διαχωρίζεται από τα μικκύλια καθώς το pH μειώνεται (Richardson και Elston 1984). Ο ρόλος της πλασμίνης στην ωρίμαση του τυριού δεν έχει μελετηθεί αρκετά, αλλά η παρουσία γ-καζεϊνών στα περισσότερα τυριά δείχνει ότι λαμβάνει χώρα τουλάχιστον κάποια δράση της. Η πλασμίνη φαίνεται να έχει σημαντική συμβολή στην ωρίμαση του τυριού Gouda (Creamer 1975, Visser και de Groot-Mostert 1977). Ο Noomen (1978) βρήκε ότι η δραστηριότητα της αλκαλικής πρωτεΐνάσης του γάλακτος σε απομίμηση τυριού διεγείρεται από χαμηλές συγκεντρώσεις NaCl μέχρι ένα μέγιστο 2%, αλλά παρεμποδίζεται από μεγαλύτερες συγκεντρώσεις NaCl, αν και κάποια δραστηριότητα παραμένει σε 8 % NaCl.

Το γάλα περιέχει επίσης μια όξινη πρωτεΐνωση, η οποία προφανώς έχει μια εξειδίκευση όμοια με τα πηκτικά ένζυμα του γάλακτος (Kaminogawa και Yamauchi 1972, Kaminogawa και συν. 1980), τα οποία είναι επίσης όξινες πρωτεΐνες, και συνεπώς η σημασία της στην ωρίμαση του τυριού ίσως είναι υποτιμημένη. Η επίδραση του NaCl στην ενεργότητα της όξινης πρωτεΐνωσης του γάλακτος δεν έχει διερευνηθεί (Guinee και Fox 1993).

10. 2. 3. Επίδραση του NaCl στα μικροβιακά ένζυμα

Υπάρχουν λίγες πληροφορίες σχετικά με την επίδραση του NaCl στα μικροβιακά ένζυμα στο τυρί (Guinee και Fox 1993). Έμμεσες μελέτες, π.χ. σε σχέση με την πικρή γεύση στο τυρί (Lawrence και Gilles 1969, Sullivan και Jago 1972, Stadhouders και Hup 1975, Thomas και Pearce 1981), δείχνουν ότι η δραστηριότητα των πρωτεϊνών της καλλιέργειας εκκίνησης αναστέλλεται από μετρίως υψηλά επίπεδα NaCl. Λιπάσες και πρωτεΐνες του *Penicillium roqueforti* αναστέλλονται από συγκεντρώσεις NaCl >6 % (Morris και Jezeski 1953, Madkor 1985).

10. 3. Επίδραση του NaCl στη σύσταση, ωρίμαση και ποιότητα του τυριού

Το αλάτι παίζει σημαντικό ρόλο στον έλεγχο της υγρασίας του τυριού, μέσω της ικανότητάς του να προκαλεί αποβολή υγρασίας από το πήγμα. Η πρόσληψη αλατιού και η αποβολή υγρασίας λειτουργούν μέσω μιας διαδικασίας αμοιβαίας διάχυσης (Geurts και συν. 1974). Επειδή το αλάτι δημιουργεί υψηλή οσμωτική πίεση, μπορεί εύκολα να αφαιρεί νερό ακόμη και δεσμευμένο (Ζερφυρίδης 1987). Είναι

γενικά αποδεκτό ότι υπάρχει μια αντίστροφη σχέση μεταξύ των επιπέδων του αλατιού και της υγρασίας στο τυρί (Guinee και Fox 1993).

Ο O'Connor (1971, 1974) απέδειξε ότι υψηλότερα επίπεδα αλατιού (ιδίως >2%) στο τυρί Cheddar συσχετίζονται με αυξημένη λιποπεριεκτικότητα, η οποία οφείλεται, πιθανόν εξ' ολοκλήρου, στη μείωση του βάρους του τυριού κατά τη διάρκεια του αλατίσματος.

Η περιεκτικότητα σε λακτόζη και το pH του τυριού επηρεάζονται έντονα από το βαθμό και τη διάρκεια του αλατίσματος (Fox και συν. 1990). Οι γαλακτικές καλλιέργειες διεγείρονται από χαμηλά επίπεδα NaCl, αλλά αναστέλλονται σε μεγαλύτερο από περίπου 5% συντελεστή άλατος. Έτσι η δραστηριότητα των καλλιεργείων εκκίνησης και η ικανότητά τους να ζυμώνουν την υπολειμματική λακτόζη εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το συντελεστή άλατος (Fox 1987).

Η συγκέντρωση αλατιού και η μέθοδος αλατίσματος έχουν σημαντική επίδραση στην παραγωγή λιπάσης και στη δραστηριότητά της καθώς επίσης στο μεταβολισμό των λιπαρών ουσιών (Godinho και Fox 1981, Abo El-Ella και συν. 1988). Γενικά, μεγαλύτερες συγκεντρώσεις λιπαρών οξέων έχουν βρεθεί σε ανάλατα τυριά παρά σε αλατισμένα, και μεταξύ των αλατισμένων τυριών σε εκείνα στα οποία χρησιμοποιήθηκαν οι χαμηλότερες ποσότητες αλατιού (Thakur και συν. 1975, Lindsay και συν. 1982). Επιπλέον, ορισμένοι ερευνητές αναφέρουν ότι υπερβολικά υψηλά ή χαμηλά επίπεδα αλατιού μπορούν να προκαλέσουν σοβαρά ελαττώματα γεύσης σε διάφορους τύπους τυριών (O'Connor 1974, Thakur και συν. 1975, Lelievre και Gilles 1982, Morris και συν. 1985).

Η πρωτεόλυση στο τυρί επηρεάζεται έντονα από τη συγκέντρωση του αλατιού, με δυσμενή αποτελέσματα στη γεύση και στην υφή (Fox 1987). Μια αντίστροφη γραμμική σχέση έχει βρεθεί μεταξύ του βαθμού της διάσπασης της α_1 - και β -καζεΐνης σε ανώριμο τυρί και του συντελεστή άλατος (Fox 1987). Η επίδραση του NaCl στην πρωτεόλυση της α_1 -καζεΐνης εξηγεί την επίδρασή του στην υφή-δομή του τυριού. Έχει παρατηρηθεί μια αδύνατη, πολτώδης δομή σε χαμηλές συγκεντρώσεις αλατιού, και πάρα πολύ στερεή δομή σε υψηλά επίπεδα αλατιού (Fox 1987). Η πικρίλα είναι ένα κοινό ελάττωμα γεύσης σε τυρί χαμηλής περιεκτικότητας σε αλάτι. Η αποτελεσματικότητα του NaCl στο να εμποδίζει την εμφάνιση πικρής γεύσης είναι πολύ πιθανό να οφείλεται στην επιλεκτική αναστολή της υδρόλυσης της β -καζεΐνης (Fox 1987).

Ο O'Connor (1971) βρήκε ότι το άρωμα, η υφή-δομή και η συνολική βαθμολογία δε συσχετίζονταν με την υγρασία, αλλά συσχετίζονταν σημαντικά με την % περιεκτικότητα σε NaCl και με το pH του τυριού. Η περιεκτικότητα σε αλάτι και το pH συσχετίζονταν ισχυρά, όπως το αλάτι και η υγρασία. Το αλάτι έχει άμεση επίδραση στην υφή-δομή και στο άρωμα του τυριού (Jameson 1987). Οι μηχανισμοί γι' αυτές τις επιδράσεις είναι αποτέλεσμα της άμεσης συμβολής του αλατιού στη γεύση και της έμμεσης επίδρασής του στην πρωτεόλυση της καζεΐνης (Grappin και συν. 1985). Το κάθε τυρί πρέπει να έχει μια συγκεκριμένη συγκέντρωση αλατιού για να έχει κανονική γεύση, αφού το αλάτι έχει καθοριστική επίδραση στη γεύση όχι τόσο εξαιτίας της αλμυρότητάς του, αλλά εξαιτίας της επίδρασής του στη μικροχλωρίδα και στις ζυμώσεις του τυριού. Σε τυρί χωρίς αλάτι, ο ρυθμός πρωτεόλυσης είναι υψηλός όχι

μόνο ως αποτέλεσμα της ανεξέλεγκτης ανάπτυξης της μικροχλωρίδας αλλά και λόγω της αυξημένης υγρασίας (Ζερφυρίδης 1987).

11. Μείωση του αλατιού στα γαλακτοκομικά προϊόντα

Τα γαλακτοκομικά προϊόντα καλύπτουν περίπου το 11% του συνολικού νατρίου στο Αμερικάνικο διαιτολόγιο (Demott 1985). Το τυρί έχει σχετικά μικρή συμβολή στην πρόσληψη διαιτητικού νατρίου, αν και μπορεί να είναι μια σημαντική πηγή σε ατομικές περιπτώσεις, όπου καταναλίσκονται μεγάλες ποσότητες τυριών με υψηλή περιεκτικότητα σε αλάτι, όπως Φέτα, Domiati και Blue (Guinee και Fox 1993). Παρ' όλα αυτά, υπάρχει μεγάλο ενδιαφέρον σε πολλές δυτικές χώρες για την παραγωγή τυριών με χαμηλή περιεκτικότητα σε νάτριο, τουλάχιστον για ορισμένα τμήματα του πληθυσμού (Guinee και Fox 1993). Πολλά άτομα, που βρίσκονται σε δίαιτα περιορισμένη σε νάτριο ή που ακολουθούν υγιεινή διατροφή, περιορίζουν ή αποφεύγουν την κατανάλωση τυριών εξαιτίας της υψηλής τους περιεκτικότητας σε νάτριο (Thakur και συν. 1975, Lindsay και συν. 1982). Έτσι, η βιομηχανία γάλακτος αναζητεί τρόπους για να μειώσει την περιεκτικότητα σε αλάτι των φυσικών και επεξεργασμένων τυριών, τα οποία περιέχουν περισσότερο νάτριο απ' ότι τα άλλα γαλακτοκομικά προϊόντα (Reddy και Marth 1993). Η εξάλειψη του αλατιού από το τυρί είναι ίσως αδύνατη, λόγω των πολλαπλών λειτουργιών του στο τυρί. Έτσι ο παραγωγός τυριών με μειωμένο νάτριο έχει μόνο δύο επιλογές (Jameson 1987):

- (1) μείωση του αλατιού στο βαθμό που επιτρέπεται από τη βιοχημεία ωρίμασης ενός συγκεκριμένου είδους τυριού, και
- (2) μερική αντικατάσταση του χλωριούχου νατρίου με χλωριούχο κάλιο.

Όταν η συγκέντρωση του αλατιού στο τυρί απλώς μειώνεται, η πρωτεόλυση, η ενεργότητα του νερού, η οξύτητα και η πικρίλα αυξάνουν, ενώ η σταθερότητα και η αλμυρότητα μειώνονται (Editorial 1993). Επίσης, είναι πιθανόν να συμβούν ανώμαλες ζυμώσεις (Olson 1982, Petik 1987). Όλοι αυτοί οι παράγοντες κάνουν δύσκολη τη σημαντική μείωση του νατρίου στο τυρί χωρίς να επηρεαστεί δυσμενώς η ποιότητά του. Μερική, όμως, υποκατάσταση του NaCl με KCl βοηθάει στο να αντιμετωπισθούν μερικά από τα παραπάνω προβλήματα (Editorial 1993). Ο βαθμός στον οποίον είναι δυνατή η υποκατάσταση με κάλιο περιορίζεται από τη στυφή-πικρή γεύση του KCl (Jameson 1987). Υπάρχουν επίπεδα χλωριούχου καλίου τα οποία θα μπορούσαν να προστεθούν στα τρόφιμα χωρίς να αυξηθούν οι πικροί και μεταλλικοί τόνοι σε ένα μη αποδεκτό επίπεδο (Lynch 1987). Η βιομηχανία τροφίμων έχει τη δυνατότητα να προσδιορίσει το μέγεθος της υποκατάστασης του NaCl από το KCl (Marsh 1983). Μείγματα NaCl και KCl (1:1) είναι αποδεκτά και υπάρχουν διαθέσιμα για επιτραπέζια χρήση στην αγορά. Τέτοια μείγματα έχουν χρησιμοποιηθεί για να αντικαταστήσουν το NaCl στο αλάτισμα του τυριού (Jameson 1987).

Έχουν γίνει πολυάριθμες προσπάθειες από την επιστημονική κοινότητα και τη βιομηχανία γάλακτος για να παραχθούν γαλακτοκομικά προϊόντα με χαμηλή περιεκτικότητα σε νάτριο χρησιμοποιώντας μείγματα NaCl και KCl, με ιδιαίτερη έμφαση στο τυρί Cheddar, επειδή το τυρί αυτό καταναλώνεται σε πολύ μεγάλες ποσότητες (Reddy και Marth 1991).

11. 1. Τυριά

Πριν από 20 περίπου χρόνια, οι Martens και συν. (1976) ανέφεραν την επιτυχή παρασκευή τυριού Gouda με χαμηλή περιεκτικότητα σε νάτριο χρησιμοποιώντας

μείγματα NaCl και KCl στις διαδικασίες παρασκευής και αλατίσματος του τυροπήγματος. Οι ερευνητές αυτοί αναφέρουν, ότι ακόμη και όταν η περιεκτικότητα του νατρίου ήταν μόνον 72 mg/100 g, και η περιεκτικότητα του καλίου 283 mg/100 g, το τυρί είχε αποδεκτά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και καλή ικανότητα διατήρησης. Η περιεκτικότητα σε νάτριο στο κανονικό τυρί Gouda, που χρησιμοποιήθηκε ως μάρτυρας, ήταν 650-830 mg/100 g. Όταν η περιεκτικότητα σε νάτριο ήταν περίπου 200 mg/100 g και του καλίου 200 mg/100 g ή περισσότερο, ήταν αδύνατο να εντοπιστούν διαφορές στη γεύση και οσμή μεταξύ κανονικού και πειραματικού τυριού.

Το παραδοσιακό τυρί Cheddar τυπικά περιέχει 1,6 - 1,8 % αλάτι (Olson 1982), με μια περιεκτικότητα σε νάτριο 176 mg/28,4 g (USDA 1976). Οι Lindsay και συν. (1982) συνέκριναν τυρί Cheddar, που περιείχε 1,25 ή 1,5% μείγμα NaCl/KCl (1:1, w/w), με τυρί Cheddar, προερχόμενο από το ίδιο τυρόπηγμα, που περιείχε 1,25, 1,5 ή 1,75 % NaCl. Η οργανοληπτική εξέταση των τυριών καθ' όλη τη διάρκεια της ωρίμασης (9 μήνες στους 3° C) έδειξε ότι όλα τα τυριά ήταν αποδεκτά από τους καταναλωτές, αν και παρατηρήθηκε κάποια πικρίλα, ιδιαίτερα στο τυρί, που περιείχε 1,5% μείγμα NaCl/KCl. Οι Fitzgerald και Buckley (1985) μελέτησαν την επίδραση διαφόρων αλάτων (KCl, MgCl₂, CaCl₂) καθώς και 1:1 μειγμάτων αυτών των αλάτων με NaCl στην ποιότητα του τυριού Cheddar. Η οργανοληπτική εξέταση μετά από 4 μήνες ωρίμασης στους 4° C έδειξε ότι το τυρί που αλατίστηκε αποκλειστικά με χλωριούχο μαγνήσιο, χλωριούχο ασβέστιο ή χλωριούχο κάλιο ήταν υπερβολικά πικρό και εντελώς απαράδεκτο. Οι βαθμολογίες που έδωσε ομάδα εκπαιδευμένων δοκιμαστών για τη γεύση και την υφή του τυριού, που αλατίστηκε με μείγμα NaCl/CaCl₂ ή NaCl/MgCl₂,

ήταν σημαντικά χαμηλότερες από εκείνες του τυριού μάρτυρα, που αλατίστηκε με NaCl. Αντίθετα, οι βαθμολογίες για τη γεύση και την υφή του τυριού, που αλατίστηκε με μείγμα NaCl/KCl, δε διέφεραν σημαντικά από εκείνες του τυριού μάρτυρα. Σύμφωνα με τον Taylor (1983), η βιομηχανία Featherweight στις ΗΠΑ χρησιμοποιεί KCl ως υποκατάστατο του αλατιού σε τυρί Cheddar με χαμηλό νάτριο. Σύμφωνα με τη βιομηχανία, το τυρί είναι καθ' όλα εφάμιλλο με το κανονικό τυρί Cheddar και έχει, επίσης, ανάλογη ικανότητα διατήρησης (shelf life) και θρεπτικά στοιχεία. Οι Reddy και Marth (1994) παρασκεύασαν τυριά Cheddar, από το ίδιο τυρόπηγμα, που αλατίστηκαν με NaCl ή διάφορα μείγματα (2:1, 1:1, 1:2 και 3:4) NaCl/KCl και ωρίμασαν στους 3°C. Όσον αφορά την προτίμηση, γενικά, οι μέσες βαθμολογίες ήταν υψηλότερες για τα τυριά που αλατίστηκαν με NaCl παρά για τα τυριά που αλατίστηκαν με μείγματα NaCl/KCl. Παρόλα αυτά, η μέση βαθμολογία από 577 δοκιμαστές έδειξε ότι η αποδοχή του τυριού, που αλατίστηκε με 1,5 % μείγμα (2:1) NaCl/KCl δεν ήταν στατιστικά σημαντικά ($P > 0.05$) διαφορετική από εκείνη του τυριού μάρτυρα που παρασκευάστηκε με 1,5 % NaCl. Επιπλέον, το τυρί αυτό προτιμήθηκε σταθερά από τα τυριά που παρασκευάστηκαν με τα άλλα μείγματα και περιείχαν περισσότερο KCl.

Ο Jameson (1987) αναφέρει ότι μια προκαταρκτική μελέτη στην οποία χρησιμοποιήθηκε 1:1 μείγμα KCl/NaCl στο αλάτισμα του τυριού Swiss ήταν αρκετά επιτυχής.

Οι Karacci και συν. (1990) μελέτησαν την επίδραση της μερικής ή ολικής υποκατάστασης του NaCl με KCl στα χαρακτηριστικά του τυριού Prato και βρήκαν ότι τα τυριά που αλατίστηκαν σε άλμη παρασκευασμένη με 100% NaCl (μάρτυρας) ή 70% NaCl και 30% KCl είχαν παρόμοια φυσικοχημικά, μικροβιολογικά και οργανοληπτικά

χαρακτηριστικά. Αντίθετα, τα τυριά που αλατίστηκαν σε άλμη παρασκευασμένη με 30% NaCl και 70 % KCl ή 100 % KCl παρουσίασαν δυσάρεστη γεύση.

Ο Zorrilla (1993) μελέτησε τη χρήση KCl σε ένα ημίσκληρο τυρί (Fynbo), προκειμένου να υποκαταστήσει μερικώς το NaCl. Όπως αναφέρει, δε βρέθηκαν σημαντικές διαφορές στο άρωμα, στην υφή ή στη συνολική αποδοχή μεταξύ του τυριού Fynbo, που αλατίστηκε σε άλμη που περιείχε 10% NaCl και 10% KCl και εκείνου, που αλατίστηκε σε άλμη 20% NaCl (μάρτυρας).

Ο Ally (1995) παρασκεύασε τυρί τύπου Φέτα από υπερδηθημένο γάλα και το αλάτισε με διάφορα μείγματα (3:1, 1:1 και 1:3) χλωριούχου νατρίου και χλωριούχου καλίου. Βρήκε ότι τα τυριά, που αλατίστηκαν με 3:1 ή 1:1 μείγμα NaCl/KCl, είχαν ίδια γεύση και υφή-δομή με το τυρί που αλατίστηκε μόνο με NaCl. Αντίθετα, το τυρί που αλατίστηκε με 1:3 μείγμα NaCl/KCl είχε σημαντικά χαμηλότερες βαθμολογίες για γεύση και υφή-δομή από τα άλλα τυριά. Το τυρί αυτό ήταν λιγότερο αλμυρό και είχε πιο πικρή γεύση. Το συμπέρασμα ήταν ότι μπορεί να παρασκευαστεί τυρί τύπου Φέτα με χαμηλή περιεκτικότητα σε νάτριο (410 mg/100g) αποδεκτής ποιότητας, χωρίς ελαττώματα στη γεύση χρησιμοποιώντας 2% μείγμα (1:1) NaCl/KCl.

Ο Ramadan (1995) χρησιμοποίησε μείγματα NaCl και KCl (3:1, 2:1 και 1:1) στο αλάτισμα του γάλακτος για την παρασκευή τυριού Domiati και βρήκε ότι μείγματα NaCl και KCl 3:1 και 2:1 μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να παρασκευαστεί καλής ποιότητας τυρί Domiati με χαμηλή περιεκτικότητα σε νάτριο. Αντίθετα, το τυρί που αλατίστηκε με 1:1 μείγμα NaCl/KCl είχε πικρή, μεταλλική γεύση, λιπαρή δομή και εύθρυπτη υφή.

Οι Iwanczak και συν. (1995) παρασκεύασαν τυριά Camembert, Camping, Tilsit και τύπου Gouda, που αλατίστηκαν σε άλμη που περιείχε NaCl ή μείγμα (1:1) NaCl και KCl για διάφορα χρονικά διαστήματα (25, 50, 75 και 100% του κανονικού χρόνου αλατίσματος). Η οργανοληπτική αξιολόγηση των τυριών, που αλατίστηκαν με μείγμα NaCl/KCl, επιβεβαίωσε ότι είναι δυνατό να παρασκευαστούν υψηλής ποιότητας τυριά με αυξημένη περιεκτικότητα σε κάλιο και μειωμένη περιεκτικότητα σε νάτριο. Τα καλύτερα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά είχαν τα τυριά, που αλατίστηκαν με μείγμα NaCl/KCl για χρονικό διάστημα 50 ή 25 % του κανονικού χρόνου. Η αναλογία Na / K βελτιώθηκε και η τιμή της ήταν περίπου 1, για όλα τα τυριά που μελετήθηκαν. Σε σύγκριση με τα τυριά που αλατίστηκαν με NaCl, η περιεκτικότητα σε κάλιο στα τυριά Camembert και τύπου Gouda που αλατίστηκαν με μείγμα NaCl/KCl ήταν περίπου 3-4 φορές υψηλότερη, και στα τυριά Camping και Tilsit ήταν 10 φορές υψηλότερη, ενώ οι περιεκτικότητες του νατρίου στα τυριά μειώθηκαν κατά 20-40 %.

Οι Rampilli και συν. (1995) αναφέρουν ότι τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του τυριού Caciotta που αλατίστηκε επί 4 h σε άλμη, που είχε παρασκευαστεί με NaCl ή μείγμα (2:1) NaCl/KCl, ήταν ικανοποιητικά σε σύγκριση με το τυρί μάρτυρα, που αλατίστηκε επί 8 h σε άλμη NaCl. Στο τυρί που αλατίστηκε με μείγμα NaCl / KCl, το νάτριο μειώθηκε στο 55% της συγκέντρωσης του μάρτυρα και το κάλιο αυξήθηκε κατά τρεις φορές (323 mg/100g).

Οι Karahadian και Lindsay (1984) παρασκεύασαν αποδεκτά από τους καταναλωτές ανακατεργασμένα τυριά Αμερικανικού τύπου που περιείχαν 75% λιγότερο νάτριο από ότι τα παραδοσιακά ανακατεργασμένα τυριά, χρησιμοποιώντας τυρί Cheddar που είχε αλατισθεί με μείγμα (1:1) NaCl / KCl. Επίσης, οι Reys και συν.

(1998) μελέτησαν τη δυνατότητα αύξησης της περιεκτικότητας του καλίου σε ανακατεργασμένα τυριά, χρησιμοποιώντας KCl στο αλάτισμα, χωρίς μεταβολή στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά τους. Τα αποτελέσματά τους έδειξαν ότι τα ανακατεργασμένα τυριά, στα οποία η περιεκτικότητα του καλίου είχε αυξηθεί στο 25 ή 50 % του επιπέδου του νατρίου, δε διέφεραν από το τυρί μάρτυρα, στο οποίο η περιεκτικότητα του καλίου ήταν περίπου 10 % αυτής του νατρίου. Μεγαλύτερες περιεκτικότητες καλίου προκάλεσαν αλμυρή γεύση στα ανακατεργασμένα τυριά.

Οι Demott και συν. (1984) διερεύνησαν τη δυνατότητα μείωσης του νατρίου στο τυρί Cottage χρησιμοποιώντας ως υποκατάστατο του αλατιού ένα εμπορικό μείγμα (1:1) NaCl / KCl. Η οργανοληπτική εξέταση έδειξε ότι μείωση μέχρι και 33% στην περιεκτικότητα του τυριού Cottage σε νάτριο μπορεί να επιτευχθεί με ελάχιστη απώλεια στην αποδοχή του.

Πρέπει να αναφερθεί ότι υπάρχουν και μελέτες, που έδειξαν, ότι η μερική υποκατάσταση του NaCl με KCl είχε αρνητική επίδραση στην ποιότητα τυριών. Έτσι, οι Demott και συν. (1986) αναφέρουν ότι η χρησιμοποίηση ενός εμπορικού μείγματος NaCl / KCl σε κρεμώδες τυρί Cottage σε ποσοστό 1,1% επέφερε μείωση του επιπέδου του νατρίου πάνω από 50%, αλλά έδωσε σημαντικά χαμηλότερη βαθμολογία για το άρωμα του τυριού σε σύγκριση με το τυρί μάρτυρα με 1,4% NaCl. Οι Sieber και Schär (1993) μελέτησαν τη μερική υποκατάσταση του NaCl με KCl σε ένα ημίσκληρο τυρί τύπου Appenzell. Το τυρί αλατίστηκε με 3:1 μείγμα NaCl/KCl ή 2:1:1 μείγμα NaCl/KCl/MgCl₂ και ωρίμασε για 4 μήνες. Η οργανοληπτική εξέταση έδειξε μη ικανοποιητικά αποτελέσματα, επειδή το τυρί είχε πικρή γεύση και αδύνατη δομή.

Τέλος, ο Witting (1990) ανέφερε ότι η υποκατάσταση του NaCl με KCl ήταν ανεπιτυχής σε τυρί Edam, επειδή το τυρί είχε πικρή γεύση.

Η μικροβιολογική ασφάλεια τυριού Cheddar, που παρασκευάστηκε με 1:1 μείγμα NaCl/KCl, μελετήθηκε από τους Koenig και Marth (1982). Οι ερευνητές αυτοί παρασκεύασαν τυρί Cheddar από γάλα τεχνητά μολυσμένο με επιλεγμένα στελέχη *Staphylococcus aureus*. Το τυρόπηγμα αλατίστηκε με NaCl ή με ένα μείγμα NaCl/KCl, για να επιτευχθεί τελική συγκέντρωση αλατιού περίπου 2,4 ή 1,2 %. Βρέθηκε ότι το είδος του άλατος που χρησιμοποιήθηκε δεν ήταν σημαντικό στο να επηρεάζει την παραγωγή εντεροτοξίνης, και στην πραγματικότητα τα τυριά που αλατίστηκαν με μείγμα NaCl/KCl είχαν σημαντικά χαμηλότερο αριθμό κυττάρων *S. aureus* από τα τυριά που αλατίστηκαν με NaCl. Σε πειράματα με καλλιέργεια *Klebsiella aerogenes*, οι Hueting και συν. (1979) παρατήρησαν ότι, ενώ τα κύτταρα αναπτύσσονταν σε ένα θρεπτικό υλικό που περιείχε 1 mM K^+ , όταν στο θρεπτικό υλικό προσθέτονταν αρκετό KCl, ούτως ώστε να αυξηθεί η εξωκυτταρική συγκέντρωση του K^+ στα 20 mM, η βακτηριακή αναπνευστική ενεργότητα μειωνόταν σημαντικά. Η μείωση αυτή αποδόθηκε στη μείωση της διαμεμβρανικής βαθμίδωσης του K^+ . Αν και οι Hueting και συν. (1979) πειραματίστηκαν μόνο με *Klebsiella aerogenes*, σύμφωνα με τους Koenig και Marth (1982) φαίνεται πιθανόν, ότι μια περίσσεια ιόντων K^+ θα μπορούσε να έχει μια παρόμοια επίδραση σε άλλα γένη βακτηρίων και θα μπορούσε να είναι υπεύθυνη για την παρατηρηθείσα στα πειράματά τους ανασταλτική επίδραση του μείγματος NaCl/KCl σε σύγκριση με το NaCl.

Οι Karahadian και συν. (1985) μελέτησαν τη δυνατότητα παραγωγής τοξίνης από το *Clostridium botulinum* σε ανακατεργασμένα Αμερικάνικα τυριά και αλοιφές

τυριών με μέτρια μειωμένο (κατά περίπου 55%) και πολύ μειωμένο (κατά 75%) νάτριο. Τα προϊόντα αυτά παρασκευάστηκαν από τυρί Cheddar αλατισμένο με 2,1% μείγμα (1:1) NaCl/KCl, εμβολιάστηκαν με 1000 σπόρια του *Cl. botulinum* (τύποι 109A και 169B) ανά g και διατηρήθηκαν στους 30° C για 84 ημέρες. Τα αποτελέσματα έδειξαν, ότι τα προϊόντα αυτά ήταν ανθεκτικά στην παραγωγή τοξίνης από το *Cl. botulinum*.

Οι Mehta και Tatini (1992) μελέτησαν τη συμπεριφορά της *Listeria monocytogenes* σε τυρί Cheddar αλατισμένο με NaCl ή μείγμα NaCl και KCl, που είχε παρασκευαστεί από παστεριωμένο γάλα εμβολιασμένο με 1000 κύτταρα *L. monocytogenes* ανά ml. Κατά το στάδιο του αλατίσματος, το τυρόπηγμα διαιρέθηκε σε τρεις παρτίδες και αλατίστηκε με (α) 2,5 % NaCl, (β) 2,5 % μείγμα (1:1) NaCl και KCl ή (γ) 1,3% NaCl και ωρίμασε στους 7° C. Βρέθηκε ότι μειώνοντας το επίπεδο του NaCl στο τυρί Cheddar ή υποκαθιστώντας ένα μέρος του με KCl αυξήθηκε ο ρυθμός και ο βαθμός καταστροφής της *L. monocytogenes* κατά τη διάρκεια της ωρίμασης. Ο πληθυσμός της *L. monocytogenes* μειώθηκε γρήγορα στο τυρί (γ) από ένα αρχικό επίπεδο log 4,71 σε log 0,38 κατά τη διάρκεια ωρίμασης για 10 εβδομάδες. Κατά την ίδια περίοδο, η μείωση στο τυρί (β) ήταν από log 5,00 σε log 2,70, ενώ στο τυρί (α) ο πληθυσμός μειώθηκε ελάχιστα από log 4,83 στο log 4,45. Τα παραπάνω αποδεικνύουν ότι μειώνοντας το επίπεδο του NaCl στο τυρί Cheddar ή υποκαθιστώντας ένα μέρος του με KCl αυξάνεται η μικροβιολογική ασφάλεια του τυριού από τη *L. monocytogenes*.

Οι Reddy και Marth (1995a) μελέτησαν τη μικροχλωρίδα τυριού Cheddar που παρασκευάστηκε με NaCl, KCl ή μείγματα NaCl/ KCl (2:1, 1:1, 1:2 και 3:4, w/w) και

ωρίμασε στους 3° C επί 36 εβδομάδες. Οι πληθυσμοί των αερόβιων βακτηρίων, των γαλακτικών βακτηρίων, των αερόβιων σπορογόνων, των κολοβακτηριδίων και των ζυμών σε τυριά παρασκευασμένα με KCl ή μείγματα NaCl/KCl δεν ήταν σημαντικά διαφορετικοί από εκείνους του τυριού μάρτυρα, που παρασκευάστηκε με NaCl.

11. 2. Άλλα προϊόντα

Ο Kankare (1979) παρασκεύασε αλατισμένο βούτυρο υποκαθιστώντας το 25% του NaCl με KCl και το 10% με MgCl₂. Αν και παρατηρήθηκε μια ελαφρώς πικρή γεύση, το ελάττωμα θεωρήθηκε ασήμαντο, επειδή οι δοκιμαστές δεν μπορούσαν πάντοτε να το ανακαλύψουν.

Οι Demott και συν. (1986) αναφέρουν, ότι οργανοληπτική εξέταση με καταναλωτές που σύγκριναν ξινόγαλο που περιείχε 0,25% μείγμα (1:1) NaCl/KCl με το μάρτυρα, που περιείχε 0,25 % NaCl, έδωσε βαθμολογίες για το άρωμα που διέφεραν στατιστικά μεταξύ τους, ενώ μειώθηκε η περιεκτικότητα σε νάτριο κατά 31%.

12. Τα τυριά Φέτα και Κεφαλογραβιέρα

12. 1. Φέτα

Η Φέτα είναι το πιο φημισμένο παραδοσιακό Ελληνικό τυρί που παράγεται από την εποχή του Ομήρου. Υπάρχουν πολλές αναφορές που αποδεικνύουν την Ελληνική καταγωγή του τυριού καθώς επίσης τη συμβολή των Ελλήνων στην εξέλιξη του (Anifantakis 1991). Το τυρί Φέτα υπήρξε και ακόμη παραμένει ένα σημαντικό στοιχείο στη διαίτα των Ελλήνων και το όνομά του συχνά συνδέεται με την Ελληνική Ιστορία

και παράδοση. Η ετήσια παραγωγή Φέτας στην Ελλάδα είναι περίπου 135.000 τόνοι, ενώ η μέση ετήσια κατά κεφαλή κατανάλωση Φέτας είναι μεγαλύτερη από 12 Kg, η μεγαλύτερη στο κόσμο, γεγονός που αποδεικνύει την από μακρού χρόνου υπάρχουσα σχέση των Ελλήνων με το τυρί αυτό (Anifantakis 1991).

Η Φέτα είναι τυρί με προστατευόμενη ονομασία προέλευσης (Π.Ο.Π.) και παρασκευάζεται από πρόβειο γάλα ή μείγμα πρόβειου και γίδινου, στο οποίο το γίδινο γάλα δεν επιτρέπεται να υπερβαίνει το 30% κατά βάρος, στις περιοχές Μακεδονία, Θράκη, Ήπειρος, Θεσσαλία, Στερεά Ελλάδα, Πελοπόννησος και Λέσβος (ΦΕΚ 1994). Σήμερα, τυρί με την ίδια ονομασία παράγεται και σε άλλες χώρες, όπως Δανία, Ολλανδία, Αυστραλία, Η.Π.Α., Καναδά, κλπ. Σημειωτέο ότι η Φέτα που παράγεται στις βορειοευρωπαϊκές χώρες γίνεται από αγελαδινό γάλα με τεχνολογία Τελεμέ και μόνο κατ' ονομασία λέγεται Φέτα για καθαρά εμπορικούς λόγους (Ζερφυρίδης 1987), αφού το ώριμο αυτό τυρί δεν έχει τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά της παραδοσιακής Φέτας. Στο προς τυροκόμηση για παρασκευή Φέτας γάλα απαγορεύεται η συμπύκνωση, η προσθήκη σκόνης ή συμπυκνώματος γάλακτος, πρωτεϊνών γάλακτος, καζεϊνικών αλάτων καθώς και η προσθήκη χρωστικών και συντηρητικών ουσιών (ΦΕΚ 1994).

Τα βασικά (ποιοτικά, οργανοληπτικά, γευσιογνωστικά, κλπ) χαρακτηριστικά του τυριού Φέτα είναι (ΦΕΚ 1994): μέγιστη υγρασία 56%, ελάχιστη λιποπεριεκτικότητα επί ξηρού 43%, μάζα με συμπαγή υφή, λίγες μηχανικές σχισμές, χρώμα καθαρό λευκό και καθόλου ή λίγες ακανόνιστες οπές κατανεμημένες σε όλη τη μάζα και γεύση λιπόλυσης, ευχάριστη, ελαφρά όξινη και πλούσιο άρωμα. Ο συνολικός χρόνος ωρίμασης της Φέτας διαρκεί τουλάχιστον δύο μήνες.

Η μέση σύσταση δειγμάτων Φέτας από την Ελληνική αγορά βρέθηκε ότι είναι (Βασταρδής 1989) : υγρασία 52,9%, λίπος 26,2 %, πρωτεΐνες 16,7 % αλάτι 2,9 % και pH 4,4.

12. 2. Κεφαλογραβιέρα

Η Κεφαλογραβιέρα είναι ένα παραδοσιακό Ελληνικό σκληρό τυρί με προστατευόμενη ονομασία προέλευσης (Π.Ο.Π.), που παρασκευάστηκε για πρώτη φορά στα Ιωάννινα, το 1967. Σήμερα παράγεται αποκλειστικά στις περιοχές Δυτική Μακεδονία, Ήπειρο, Αιτωλοακαρνανία και Ευρυτανία (ΦΕΚ 1994). Όπως προκύπτει από την ονομασία του, πρόκειται για τυρί ενδιάμεσο μεταξύ Κεφαλοτυριού και Γραβιέρας και συνδυάζει τα μακροσκοπικά χαρακτηριστικά του Κεφαλοτυριού με την ευχάριστη γεύση της Γραβιέρας. Είναι ένα βελτιωμένο Κεφαλοτύρι με ορισμένα στοιχεία τεχνολογίας παρμένα από την τεχνολογία της Γραβιέρας (Ζερφυρίδης 1987). Η Κεφαλογραβιέρα παρασκευάζεται από πρόβειο γάλα ή μείγμα πρόβειου και γίδινου, στο οποίο το γίδινο γάλα δεν πρέπει να υπερβαίνει το 10 %. Τα βασικά χαρακτηριστικά του τυριού Κεφαλογραβιέρα είναι (ΦΕΚ 1994): μέγιστη υγρασία 40%, ελάχιστη λιποπεριεκτικότητα επί ξηρού 40 %, μάζα με ελαστική υφή, πολλές οπές και χρώμα υπόλευκο ως υποκίτρινο και γεύση ευχάριστη, ελαφρά αλμυρή και άρωμα πλούσιο. Ο συνολικός χρόνος ωρίμασης του τυριού διαρκεί τουλάχιστον τρεις μήνες. Η μέση σύσταση δειγμάτων Κεφαλογραβιέρας από την αγορά των Αθηνών βρέθηκε ότι είναι (Anifantakis 1991) : υγρασία 35,4 %, λίπος 31,3 %, πρωτεΐνες 25,9 %, αλάτι 3,4 % και pH 5,6.

13. Σκοπός της παρούσας εργασίας

Τα τυριά Φέτα και Κεφαλογραβιέρα είναι από τα πλέον δημοφιλή παραδοσιακά Ελληνικά τυριά. Τα τυριά Φέτα και Κεφαλογραβιέρα χαρακτηρίζονται από την υψηλή περιεκτικότητά τους σε αλάτι. Η μέση περιεκτικότητα σε αλάτι δειγμάτων Φέτας και Κεφαλογραβιέρας, που προέρχονταν από την Ελληνική ανοοά, βοήθηκε ότι είναι 2,94 και 3,40 %, αντίστοιχα (Anifantakis 1991). Οι περιεκτικότητες αυτές αντιστοιχούν σε 1,157 και 1,338 mg νατρίου/100 g τυριού.

Μέχρι σήμερα δεν έχουν διεξαχθεί έρευνες σχετικές με την παρασκευή Φέτας και Κεφαλογραβιέρας με λιγότερη από την κανονική περιεκτικότητα σε NaCl . Συνεπώς, οι κύριοι αντικειμενικοί σκοποί της παρούσας διατριβής ήταν:

1. Η διερεύνηση της δυνατότητας μείωσης της περιεκτικότητας σε NaCl (νάτριο) των τυριών Φέτα και Κεφαλογραβιέρα χρησιμοποιώντας μείγματα (3:1 ή 1:1, w/w) NaCl και KCl στη διαδικασία του αλατίσματος, χωρίς να επηρεαστεί αρνητικά η βασική τους σύσταση, τα φυσικοχημικά και τα ρεολογικά τους χαρακτηριστικά και η οργανοληπτική ποιότητά τους, και
2. Η μελέτη της πρωτεόλυσης και της λιπόλυσης των τυριών Φέτα και Κεφαλογραβιέρα, που αλατίστηκαν με τα παραπάνω μείγματα NaCl και KCl , σε σύγκριση με τα τυριά μάρτυρες, που αλατίστηκαν μόνο με NaCl .

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

14. Γάλα

Χρησιμοποιήθηκε πρόβειο γάλα ανάμεικτο, βραδινής (4°C) και πρωινής άμελξης, το οποίο προερχόταν από το κοπάδι του Γεωργικού Σταθμού Ιωαννίνων. Το γάλα τυποποιήθηκε με αφαίρεση λίπους στο 6,0 %.

15. Τεχνολογία παρασκευής Φέτας

Τυρί Φέτα παρασκευάστηκε πέντε φορές στο πιλοτικό τυροκομείο του Ινστιτούτου Γάλακτος Ιωαννίνων σε τυρολέβητα 150 L, χρησιμοποιώντας ποσότητα 120 kg γάλακτος κάθε φορά, σύμφωνα με την παραδοσιακή διαδικασία που ακολουθείται από τα τυροκομεία και όπως αναλυτικά περιγράφεται παρακάτω. Το τυποποιημένο γάλα παστεριωνόταν στους 63°C για 30 min, ψυχόταν στους 35° C, εμβολιαζόταν με 1 % (w/w) οξύγαλακτικής καλλιέργειας, αποτελούμενης από 4:1 *Streptococcus thermophilus* και *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (Visbyvac Joghurt 709, Laboratorium Wiesby GmbH & Co. KG, Niebull, Germany) και αφηνόταν να ωριμάσει για 10 min. Στη συνέχεια προσθέτονταν 30 ml διαλύματος 40% (w/v) χλωριούχου ασβεστίου και 2,75 g σκόνη πυτιάς (HA-LA, Hansen's Laboratorium, Copenhagen, Denmark) διαλυμένη σε νερό. Η πήξη γινόταν σε περίπου 45-50 min στους 35 ° C. Μετά την πήξη, το πήγμα κοβόταν σε κύβους ακμής 2 cm, αφηνόταν να ηρεμήσει για 10 min και στη συνέχεια το τεμαχισμένο πήγμα μεταφερόταν σε διάτρητα ορθογώνια καλούπια (55x11x21cm) για να στραγγίσει. Τα καλούπια αναστρέφονταν 3 φορές κατά τη διάρκεια των πρώτων 3 ωρών της στράγγισης και έπειτα αφήνονταν ακίνητα κατά τη διάρκεια της νύχτας (18 ° C), για να συμπληρωθεί το στράγγισμα. Το

επόμενο πρωί, το τυρόπηγμα των καλουπιών διαιρούνταν σε κομμάτια διαστάσεων 15x10x10cm (βάρους 1,6-1,7kg) τα οποία τοποθετούνταν σε ατομικά επικασσιτερωμένα δοχεία. Το αλάτισμα γινόταν με λεπτόκοκκο ιωδιούχο μαγειρικό NaCl (Κάλας, Αθήνα) ή με ένα μείγμα NaCl και KCl (Merck, Darmstadt, Germany) υψηλής καθαρότητας για τρόφιμα, όπως περιγράφεται παρακάτω.

Οι ακόλουθες επεμβάσεις αλατίσματος εφαρμόζονταν στα κομμάτια του τυροπήγματος, που προέρχονταν από την ίδια τυροκόμηση:

A, ξηρό αλάτισμα με 3% (w/w) NaCl για 2 ημέρες και στη συνέχεια γέμισμα των δοχείων με 7% (w/w) άλμη NaCl (τυρί μάρτυρας),

B, ξηρό αλάτισμα με 3% (w/w) μείγματος (3:1, w/w) NaCl/KCl για 2 ημέρες και στη συνέχεια γέμισμα των δοχείων με 7% (w/w) άλμη παρασκευασμένη με το ίδιο μείγμα και

Γ, ξηρό αλάτισμα με 3% (w/w) μείγματος (1:1, w/w) NaCl/KCl για 2 ημέρες και στη συνέχεια γέμισμα των δοχείων με 7% (w/w) άλμη παρασκευασμένη με το ίδιο μείγμα.

Η αναλογία όγκου άλμης προς το βάρος του τυριού ήταν 1:5. Πρέπει να σημειωθεί ότι το λεπτόκοκκο αλάτι κατά το ξηρό αλάτισμα διαλύεται πολύ γρήγορα στην επιφάνεια του τυριού με συνέπεια η επιδερμίδα του τυριού να γίνεται σκληρή και η στράγγιση να καθυστερεί (Anifantakis 1991). Έτσι στην παρούσα μελέτη η μισή ποσότητα του αλατιού σκορπιζόταν στον πυθμένα του δοχείου και η υπόλοιπη στην επιφάνεια και στις πλευρές του κομματιού. Μετά το γέμισμα των δοχείων με άλμη, τα δοχεία σφραγίζονταν και παρέμεναν στο ωριμαντήριο (18 °C) μέχρις ότου το pH και η υγρασία του τυριού έπεφταν κάτω από τις τιμές 4,6 και 56%, αντίστοιχα. Στη

συνέχεια, τα δοχεία μεταφέρονταν στο θάλαμο αποθήκευσης (2°-3° C) και παρέμεναν μέχρι τις 240 ημέρες.

Δείγματα από κάθε τυρί αναλύονταν στις 3, 20, 40, 60, 120 και 240 ημέρες από την παρασκευή του. Κάθε φορά ανοιγόταν ένα διαφορετικό δοχείο για δειγματοληψία. Τα αποτελέσματα, που παρουσιάζονται, είναι οι μέσοι όροι των πέντε δοκιμών (τυροκομήσεων), εκτός και εάν δηλώνεται διαφορετικά.

16. Τεχνολογία παρασκευής Κεφαλογραβιέρας

Τυρί Κεφαλογραβιέρα παρασκευάστηκε πέντε φορές στο πιλοτικό τυροκομείο του Ινστιτούτου Γάλακτος Ιωαννίνων σε τυρολέβητα 150 L, χρησιμοποιώντας ποσότητα 100 kg γάλακτος κάθε φορά, σύμφωνα με την παραδοσιακή διαδικασία, που ακολουθείται από τα τυροκομεία (Katsiari και Voutsinas 1994b). Το τυποποιημένο γάλα παστεριωνόταν στους 63 °C για 30 min, ψυχόταν στους 38 °C, εμβολιαζόταν με 0,5% (w/w) οξυγαλακτικής καλλιέργειας, αποτελούμενης από 4:1 *Streptococcus thermophilus* και *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (Visbyvac Joghurt 709, Laboratorium Wiesby GmbH & Co. Kg, Niebull, Germany) και αφηνόταν να ωριμάσει για 15 min. Στη συνέχεια προσθέτονταν 75 ml διαλύματος 40% (w/v) χλωριούχου ασβεστίου και 3 g σκόνη πυτιάς (HA-LA, Hansen's Laboratoriu, Copenhagen, Denmark) διαλυμένη σε νερό. Η πήξη γινόταν σε περίπου 35 min στους 38 °C. Μετά την πήξη, το τυρόπηγμα κοβόταν σε κύβους ακμής 2,5-3,0 cm και αφηνόταν να ηρεμήσει για 5 min. Στη συνέχεια το τεμαχισμένο πήγμα αναδευόταν πολύ ελαφρά και αργά για να μειωθεί το μέγεθος των τεμαχιδίων του στο μέγεθος κόκκου καλαμποκιού. Ύστερα από ανάδευση για 8 min, τα τεμαχίδια του πήγματος και το τυρόγαλα

θερμαίνονταν βαθμιαία από τους 38 στους 47 °C σε διάστημα 20 min υπό συνεχή ανάδευση. Οι ρυθμοί θέρμανσης ήταν 1°C/2,5 min και 1°C/1,5 min για θερμοκρασίες από 38-44° C και από 44-47° C, αντίστοιχα. Η ανάδευση συνεχιζόταν για 7 min μετά την επίτευξη της τελικής θερμοκρασίας (47 °C), έτσι ώστε τα τεμαχίδια του πήγματος να αποκτήσουν την επιθυμητή σταθερότητα. Μετά, τα τεμαχίδια αφήνονταν να κατακαθίσουν στον πυθμένα του τυρολέβητα. Το τυρόπηγμα διαιρούνταν σε τρία μέρη και το καθένα τυλιγόταν σε ένα τυρόπανο (τσαντίλα), τοποθετούνταν σε ένα μεταλλικό καλούπι (διαμέτρου 26 cm και ύψους 12 cm) και πιεζόταν (0,22 kg/cm²) σε πιεστήριο. Ύστερα από πίεση για 20 min, το τυρί έβγαινε από το καλούπι, γινόταν αλλαγή της τσαντίλας, το τυρί αναστρεφόταν και ξαναπιεζόταν επί 60 min (0,22 kg/cm²). Στη συνέχεια, η τσαντίλα απομακρυνόταν και το τυρί μέσα στο καλούπι μεταφερόταν στο ωριμαντήριο (15 °C και 90% ΣΥ). Το επόμενο πρωί, το τυρί ζύγιζε περίπου 6,6 kg και οι διαστάσεις του ήταν 26 cm διάμετρος και 11 cm ύψος. Στη συνέχεια, τα τυριά αλατίζονταν με λεπτόκοκκο ιωδιούχο μαγειρικό αλάτι (Κάλας, Αθήνα) ή με ένα μείγμα NaCl και KCl (Merck Darmstad, Germany) υψηλής καθαρότητας για τρόφιμα, όπως περιγράφεται παρακάτω.

Οι ακόλουθες επεμβάσεις αλατίσματος εφαρμόστηκαν στα 3 τυριά, που προέρχονταν από την ίδια τυροκόμηση:

A, τοποθέτηση του τυριού για δύο ημέρες σε 20 % (w/w) άλμη NaCl ακολουθούμενη από ξηρά αλατίσματα του τυριού με NaCl (τυρί μάρτυρας),

B, τοποθέτηση του τυριού για δύο ημέρες σε 20% (w/w) άλμη παρασκευασμένη με 3:1 (w/w) μείγματος NaCl/KCl ακολουθούμενη από ξηρά αλατίσματα του τυριού με το ίδιο μείγμα και

Γ, τοποθέτηση του τυριού για δύο ημέρες σε 20% (w/w) άλμη παρασκευασμένη με 1:1 (w/w) μείγματος NaCl/KCl ακολουθούμενη από ξηρά αλατίσματα του τυριού με το ίδιο μείγμα.

Η αναλογία βάρους τυριού προς τον όγκο της άλμης ήταν 1:2. Μετά την εξαγωγή τους από την άλμη τα τυριά μεταφέρονταν σε ένα καθαρό ξύλινο ράφι στο ωριμαντήριο και παρέμεναν για δύο ημέρες. Μετά γινόταν ξηρό αλάτισμα (20 g) με το αντίστοιχο άλας σε κάθε τυρί ανά διήμερο. Συνολικά έγιναν εννέα αλατίσματα. Κάθε φορά, το τυρί αναστρεφόταν και τριβόταν με μια τσαντίλα εμποτισμένη με την αντίστοιχη άλμη. Είκοσι πέντε ημέρες από την παρασκευή τους, τα τυριά πλένονταν με αραιή άλμη (14% NaCl ή το αντίστοιχο μείγμα NaCl/KCl), σκουπίζονταν με μια στεγνή τσαντίλα και αφήνονταν να στεγνώσουν. Τα στεγνά τυριά συσκευάζονταν σε πλαστικές σακούλες Cryovac και ωρίμαζαν μέχρι 90 ημέρες στους 10-12° C. Στη συνέχεια, τα τυριά μεταφέρονταν στο θάλαμο αποθήκευσης (2°-3°C) και παρέμεναν μέχρι τις 180 ημέρες.

Δείγματα από κάθε τυρί αναλύονταν στις 5, 25, 60, 90 και 180 ημέρες από την παρασκευή του. Τα αποτελέσματα, που παρουσιάζονται, είναι οι μέσοι όροι των πέντε τυροκομήσεων, εκτός και εάν δηλώνεται διαφορετικά.

17. Χημικές αναλύσεις γάλακτος

Δείγματα του προς τυροκόμηση γάλακτος αναλύθηκαν για λίπος με τη μέθοδο Gerber (BSI 1955), καζεΐνη [(ολικό άζωτο-μη καζεϊνικό άζωτο) x 6,38] με τη μέθοδο Kjeldahl (IDF 1964), μέτρηση του pH με πεχάμετρο Metrohm (model 605, Switzerland) και τιτλοδοτούμενη οξύτητα με τη μέθοδο Dornic.

18. Χημικές αναλύσεις τυριών

18.1. Γενικές αναλύσεις

Όλα τα τυριά αναλύθηκαν για λίπος με τη μέθοδο Gerber (BSI 1955), πρωτεΐνη με τη μέθοδο Kjeldahl (IDF 1986), υγρασία με ξήρανση στους 105°C (IDF 1958), αλάτι με την τροποποιημένη μέθοδο Volhard (Kosikowski 1978), η οποία μετράει την ποσότητα των χλωριούχων ιόντων, pH με πεχάμετρο Metrohm (model 605) και ασβέστιο με την κομπλεξομετρική μέθοδο του Pearce (1977) χρησιμοποιώντας το δείκτη Patton & Readers και τιτλοδότηση με διάλυμα 0,02 M EDTA. Για τον προσδιορισμό του Na και του K, τα δείγματα του τυριού ξηραίνονταν στους 102°C κατά τη διάρκεια της νύκτας και αποτεφρώνονταν στους 550°C για 6 ώρες. Η τέφρα διαλυόταν με νερό και συμπυκνωμένο νιτρικό οξύ, διηθούνταν με φίλτρο Whatman No 42 και αναλυόταν για Na και K, όπως περιγράφεται από τους Egan και συν. (1981), χρησιμοποιώντας φλογοφωτόμετρο Corning, (model 410, Ciba Corning Diagnostics Scientific Instruments, Essex, England). Η ενεργότητα του νερού (a_w) προσδιοριζόταν στους 25° C χρησιμοποιώντας συσκευή Novasima, (model TH-2, Thermoconstanter HUMIDAT, Novasima AG, Zurich, Switzerland), όπως περιγράφεται από τους Labuza και συν. (1976). Κορεσμένα υδατικά διαλύματα χλωριούχου βαρίου (87%) και διχρωμικού καλίου (82%) της ίδιας εταιρείας (Novasima) χρησιμοποιούνταν ως πρότυπα άλατα για τη βαθμονόμηση του οργάνου σε 90,1 και 98 % Σ.Υ. στους 25°C, αντίστοιχα. Η ανάγνωση της a_w γινόταν όταν η ένδειξη του οργάνου ισορροπούσε (~25-30 min).

18. 2. Πρωτεόλυση

Για την παρακολούθηση της πορείας και των χαρακτηριστικών της πρωτεόλυσης στα τυριά, κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και διατήρησής τους, χρησιμοποιήθηκαν οι παρακάτω μέθοδοι:

1. Εκχύλιση και κλασμάτωση των αζωτούχων συστατικών του τυριού

Ο υπολογισμός τους γινόταν ως ακολούθως:

α) το υδατοδιαλυτό εκχύλισμα λαμβανόταν σύμφωνα με τη μέθοδο των Kuchroo και Fox (1982) ως εξής: Δείγμα 20 g τυριού ομογενοποιούνταν με 100 g απεσταγμένου νερού σε ομογενοποιητή Sorvall Omni-mixer (Dupont Company, Newton, CT, USA) στη ρύθμιση 7 επί 2 min. Ύστερα, το μείγμα θερμαινόταν στους 40° C για 1 h, φυγοκεντρούνταν στις 6000 rpm επί 30 min στους 4° C, η στιβάδα του λίπους απομακρυνόταν και το υπερκείμενο διηθούνταν με ηθμό Whatman No 42. Το άζωτο του εκχυλίσματος (WSN) προσδιοριζόταν κατά Kjeldahl (IDF 1986).

β) το διαλυτό σε 12% τριγλωροξικό οξύ άζωτο (μη πρωτεϊνικό άζωτο, TCA-SN) λαμβανόταν με επεξεργασία 10 ml υδατικού εκχυλίσματος του τυριού με 10 ml διαλύματος (24% w/v) τριγλωροξικού οξέος. Το μείγμα αφηνόταν ακίνητο επί 1 h σε θερμοκρασία δωματίου και μετά διηθούνταν με ηθμό Whatman No 42. Το άζωτο του διηθήματος προσδιοριζόταν κατά Kjeldahl (IDF 1986).

γ) το διαλυτό σε 5% φωσφοροβολφραμικό οξύ άζωτο (άζωτο αμινοξέων, PTA-SN) λαμβανόταν όπως περιγράφεται από τον Stadhouders (1960): δείγμα 20 g Φέτας ή 5 g Κεφαλογραβιέρας ομογενοποιούνταν με 240 ή 60 g απεσταγμένο νερό, αντίστοιχα, σε ομογενοποιητή Sorvall Omni-mixer στη ρύθμιση 7 επί 2 min. Ύστερα, το μείγμα θερμαινόταν στους 40° C για 1 h, φυγοκεντρούνταν στις 2000 rpm επί 30 min και

διηθούνταν με ηθμό Whatman No 41. Σε 50 ml διηθήματος προστίθονταν 30 ml 9,2 % H_2SO_4 , 15 ml 33,3% PTA και 5 ml απεσταγμένο νερό. Το μείγμα αφήνόταν ακίνητο επί 24 h σε θερμοκρασία δωματίου και μετά διηθούνταν με ηθμό Whatman No 42. Το άζωτο του διηθήματος προσδιοριζόταν κατά Kjeldahl (IDF 1986).

Ο προσδιορισμός του αζώτου κατά Kjeldahl στα παραπάνω αζωτούχα κλάσματα γινόταν σε σύστημα πέψης Kjeldatherm KT 20 S και σύστημα απόσταξης Vapodest 4 titramatic (C. Gerhardt GmbH & Co KG, Bonn, Germany), συνδεδεμένο με σύστημα τελικού σημείου τιτλοδότησης ETS 822 (Radiometer Copenhagen, Denmark).

Όλα τα παραπάνω αζωτούχα κλάσματα εκφράστηκαν ως ποσοστά του ολικού αζώτου (TN).

2. Προσδιορισμός του συνόλου των ελεύθερων αμινοξέων

Οι ελεύθερες αμινοομάδες αμινοξέων (σύνολο των ελεύθερων αμινοξέων) στο υδατικό εκχύλισμα του τυριού προσδιοριζόταν σύμφωνα με τη μέθοδο καδμίου-νινυδρίνης των Folkertsma και Fox (1992), ως εξής : δείγμα (10-20 μl, ανάλογα με την αναμενόμενη συγκέντρωση των αμινοξέων) υδατικού εκχυλίσματος του τυριού αραιωνόταν με απεσταγμένο νερό στο 1 ml. Σ' αυτό προσθέτονταν 2 ml αντιδραστήριου καδμίου-νινυδρίνης (αντιδραστήριο Cd-νινυδρίνης : 0,8 g νινυδρίνης διαλυόταν σε ένα μείγμα 80 ml 99,5 % αιθανόλης και 10 ml οξικού οξέος και στη συνέχεια προσθέτονταν 1 g $CdCl_2$ διαλυμένο σε 1 ml απεσταγμένο νερό). Το μείγμα θερμαινόταν στους 84° C επί 5 min, ψυχόταν και μετριοταν η απορρόφησή του στα 507 nm με φασματοφωτόμετρο Perkin Elmer (model 55B, Oak Brook, IL, U.S.A.).

3. Ηλεκτροφόρηση

Η ηλεκτροφόρηση δειγμάτων τυριού σε πηκτή πολυακρυλαμιδίου παρουσία ουρίας και β-μερκαπτοαιθανόλης (urea -PAGE) έγινε σύμφωνα με τη μέθοδο του Andrews (1983), όπως περιγράφεται αναλυτικά παρακάτω:

Συσκευή

Χρησιμοποιήθηκε συσκευή κάθετης ηλεκτροφόρησης με πλάκες διαστάσεων 140x160x1,5 mm (2001, LKB, Bromma, Sweden).

Διαλύματα

(1) Ρυθμιστικό διάλυμα συσκευής (pH 8,3) : 72,5 g γλυκίνη και 15 g τρις-υδροξυμεθυλο-αμινομεθάνιο (Tris) διαλύονταν και συμπληρώνονταν στα 5 l με απεσταγμένο νερό.

(2) Ρυθμιστικό διάλυμα πηκτής διαχωρισμού (pH 8,9) : 46 g Tris και 4 ml πυκνό HCl (37%, d=1,19 kg/l) σε 1 l με απεσταγμένο νερό.

(3) Ρυθμιστικό διάλυμα πηκτής συσσώρευσης (pH 7,6) : 7,5 g Tris και 4 ml πυκνό HCl (37%, d=1,19 kg/l) σε 1 l με απεσταγμένο νερό.

(4) Διάλυμα χρωστικής-δείκτη μετώπου : 0,5 g μπλε της βρωμοφαινόλης διαλύονταν σε 100 ml αιθανόλης 50 % v/v.

Πηκτές

Παρασκευή πηκτής διαχωρισμού (T=9%, C=5%)

5,13 g ακρυλαμιδίου, 0,27 g N,N'-μεθυλενο-δισ-ακρυλαμιδίου (bis) και 16,15 g ουρίας διαλύονταν σε ρυθμιστικό διάλυμα πηκτής διαχωρισμού (2) συμπληρώνονταν μέχρι τα 60 ml και διηθούνταν. Πριν από τη χρήση του το διάλυμα απαερωνόταν υπό

κενό και προσθέτονταν σ' αυτό 30 μl N,N,N',N'-τετραμεθυλ-αιθυλενοδιαμίνης (TEMED) και 25 mg υπερθειϊκού αμμωνίου.

Παρασκευή πηκτής συσσώρευσης (T=5%, C=4%)

0,96 g ακρυλαμιδίου, 0,04 g bis και 4,7 g ουρίας διαλύονταν σε ρυθμιστικό διάλυμα (3), συμπληρώνονταν μέχρι τα 20 ml και διηθούνταν. Πριν από τη χρήση το διάλυμα απαερωνόταν και προσθέτονταν σ' αυτό 10 μl TEMED και 10 mg υπερθειϊκού αμμωνίου.

Προετοιμασία δείγματος τυριού

Δείγμα ενός g τυριού ομογενοποιούνταν σε ομογενοποιητή με στέλεχος στις 7000 rpm επί 3 min με 10 ml ρυθμιστικού διαλύματος πηκτής συσσώρευσης (3) που περιείχε 6 M ουρία, 0,1 M β -μερκαπτοαιθανόλη και 0,5% διάλυμα χρωστικής-δείκτη (4). Το μείγμα (αιώρημα) διατηρούνταν στους 40°C επί 15 min, ακολουθούσε φυγοκέντρηση σε 3000 x g στους 4° C επί 15 min και στη συνέχεια απομακρυνόταν η στερεοποιημένη στιβάδα του λίπους. Ποσότητα 0,5 ml του δείγματος αναμιγνυόταν με 3,5 ml του ίδιου, όπως παραπάνω, ρυθμιστικού διαλύματος πηκτής συσσώρευσης (3). Για την ηλεκτροφόρηση χρησιμοποιήθηκε ποσότητα 12 μl από κάθε δείγμα τυριού.

Δείγματα αναφοράς

Για την ταυτοποίηση και τον ποσοτικό προσδιορισμό των ζωνών του δείγματος του τυριού αναλύονταν στην ίδια πλάκα δύο δείγματα εργαστηριακής πρότυπης ολικής πρόβειας καζεΐνης [1mg καζεΐνης διαλυόταν σε 1 ml ρυθμιστικού διαλύματος (3)]. Για την ηλεκτροφόρηση χρησιμοποιήθηκε ποσότητα 10 μl .

Συνθήκες ηλεκτροφόρησης

Για την ηλεκτροφόρηση δύο πλακών (20 δείγματα) διοχετευόταν στη συσκευή ρεύμα 60 mA (με όριο 500 V) επί δύο ώρες.

Στερέωση και χρώση των πρωτεϊνών

Η στερέωση και χρώση των πρωτεϊνών μετά την ηλεκτροφόρηση έγινε με διάλυμα χρωστικής Coomassie Brilliant Blue G-250 σύμφωνα με τη μέθοδο Blakesley και Boezi (1977).

Διάλυμα χρωστικής

Υδατικό διάλυμα Coomassie Brilliant Blue G-250 (0,2% w/v) προσθέτονταν σε ίσο όγκο 1 M θειικού οξέος, το μείγμα παρέμενε 3 ώρες τουλάχιστον και στη συνέχεια διηθούνταν από ηθμό S&S No. 589/1. Στο διήθημα προσθέτονταν ποσότητα 10 M υδροξειδίου του καλίου (KOH) ίση με το 1/9 του όγκου του διηθήματος και ποσότητα τριχλωροξικού οξέος (TCA) τόση, ώστε η τελική συγκέντρωσή του να είναι 12 %.

Διαδικασία χρώσης

Μετά το τέλος της ηλεκτροφόρησης, οι πηκτές μεταφέρονταν σε λεκάνες που περιείχαν από 250 ml χρωστικής όπου παρέμεναν επί τουλάχιστον 8 ώρες. Στη συνέχεια το διάλυμα της χρωστικής απομακρυνόταν και η πηκτή βαπτιζόταν σε απεσταγμένο νερό, ώστε να απομακρυνθεί η χρωστική από τα σημεία όπου δεν υπήρχαν πρωτεΐνες.

Ποσοτικός προσδιορισμός

Ο ποσοτικός προσδιορισμός των καζεϊνών έγινε με σάρωση στα 590 nm με οπτικό πυκνόμετρο (model RTF Transidyne General Corp., Ann. Arbor., MI, U.S.A.)

συνδεδεμένο με μετατροπέα αναλογικού σήματος σε ψηφιακό (Nelson Analytical Inc., Paramus, NJ, U.S.A.).

4. Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης-αντίστροφης φάσης (RP-HPLC)

Για την ανάλυση των πεπτιδίων του υδατικού εκχυλίσματος των τυριών χρησιμοποιήθηκε ένα σύστημα RP-HPLC. Το σύστημα αποτελούνταν από δύο αντλίες, ανιχνευτή ορατού/υπεριώδους, προγραμματιστή βαθμίδωσης και μείκτη υψηλής ταχύτητας (LKB, Bromma, Sweden). Το δείγμα εισαγόταν στη στήλη μέσω μιας βαλβίδας εφοδιασμένης με ~~κωνική~~ 50 μl (Rheodyne 7125, Rheodyne Inc., Cotati, CA, U.S.A.). Χρησιμοποιήθηκε στήλη Nucleosil C₁₈ (4x250 mm, 5μm, 300 Å) και προστήλη με το ίδιο υλικό, 4x40 mm (Macherey-Nagel, Duren, Germany). Για την έκλυση του δείγματος, χρησιμοποιήθηκαν δύο ρυθμιστικά διαλύματα: A, υδατικό διάλυμα 0,1% v/v TFA (τριφθοροξικό οξύ) και B, υδατικό διάλυμα 0,09% v/v TFA και ακετονιτρίλιο (40:60). Συγκεκριμένα η έκλυση γινόταν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος σύμφωνα με το εξής πρόγραμμα: επί 10 min με 100% A, στη συνέχεια με γραμμική βαθμίδωση από 0 ως 80% B επί 80 min (δηλαδή η συγκέντρωση του B αυξανόταν με ρυθμό 1%/min) και τέλος με 100% B επί 10 min. Η ταχύτητα ροής ήταν 0,8 ml/min. Η απορρόφηση του εκλούσματος μετριοταν στα 214 nm με φασματοφωτομετρικό ανιχνευτή (LKB, Bromma, Sweden), ο οποίος ήταν συνδεδεμένος με ένα σύστημα λήψης και επεξεργασίας δεδομένων (Nelson Analytical, Inc., Paramus, NJ, U.S.A.). Τα διαλύματα και τα δείγματα διηθούνταν από ηθμούς 0,45 μm Nylon 66 ή οξικής κυτταρίνης, αντίστοιχα (Alltech Assoc., Inc., Deerfield, IL, U.S.A.).

5. Ελεύθερα αμινοξέα (FAA)

Τα FAA προσδιορίστηκαν με χρωματογραφία ιονανταλλαγής υψηλής απόδοσης, όπως περιγράφεται παρακάτω.

Προετοιμασία του δείγματος

Ένα g τυριού αναμιγνύοταν σε μαγνητικό αναδευτήρα επί 15 min, με 10 ml ρυθμιστικού διαλύματος κιτρικού νατρίου 0,2 N, pH 2,2, το οποίο περιείχε 0,1ml/l πενταχλωροφαινόλη (0,5% w/v σε 95% αιθανόλη), 0,2 g/l EDTA (υπό μορφή οξέος) και 0,8 $\mu\text{mol/ml}$ νορλευκίνη ως εσωτερικό πρότυπο. Το αιώρημα ομογενοποιούνταν σε Bio-Homogenizer (Biospec Products, Bartlesville, OK, U.S.A.) επί 5 min στις 11.000 rpm, κατεργαζόταν με υπερήχους για 5 min και στη συνέχεια διηθούνταν από ηθμό S&S No 589/1. Σε 5 ml του διηθήματος προσθέτονταν 5 ml διαλύματος σουλφοσαλικυλικού οξέος 7,5% w/v (σε ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικού νατρίου 0,2N), pH 1,75. Ακολουθούσε ανάδευση σε μαγνητικό αναδευτήρα επί 5 min, το μείγμα διηθούνταν από ηθμό S&S No. 589/3 και στη συνέχεια από μεμβράνη οξικής κυτταρίνης 0,2 μm .

Εκλουστικά διαλύματα:

Διάλυμα Α: κιτρικό νάτριο 0,2 N (Na^+), pH 3,15.

Διάλυμα Β: κιτρικό νάτριο 1,0 N (Na^+), pH 7,40.

Διάλυμα C: Για την αναγέννηση της ρητίνης χρησιμοποιούνταν διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου 0,2 N (Na^+).

Για την παρασκευή των παραπάνω διαλυμάτων χρησιμοποιούνταν δισαπασταγμένο νερό. Η ρύθμιση του pH γινόταν με 6N HCl. Όλα τα εκλουστικά διαλύματα περιείχαν 0,1 ml/l πενταχλωροφαινόλη (0,5% w/v σε 95% αιθανόλη) και

0,2 g/l EDTA υπό μορφή οξέος (όχι ως άλας νατρίου). Όλα τα διαλύματα διηθούνταν υπό κενό από μεμβράνη οξικής κυτταρίνης 0,45 μm, απαερώνονταν με He πριν από τη χρήση και διατηρούνταν σε ατμόσφαιρα He κατά τη διάρκεια της ανάλυσης.

Αντιδραστήριο για τη δημιουργία παραγώγων των αμινοξέων

Σε 500 ml διαλύματος 0,5 M βορικού οξέος pH 10,4 (η ρύθμιση του pH γινόταν με KOH) προσθέτονταν 50 mg ο-φθαλδιαλδεύδης (OPA) διαλυμένα σε 5 ml μεθανόλης, 1,5 ml 30% (w/v) διαλύματος Brij 35 (Λαυρικός αιθέρας) και 500 μl β-μερκαπτοαιθανόλης.

Συσκευή

Για τον προσδιορισμό των ελεύθερων αμινοξέων χρησιμοποιήθηκε συσκευή υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC), η οποία αποτελούνταν από μία αντλία για βαθμίδωση τριών διαλυτών, έναν προγραμματιστή για τη δημιουργία βαθμίδωσης τριών διαλυτών, ένα κλίβανο για τη διατήρηση της θερμοκρασίας της στήλης στους 50°C, ένα σύστημα δημιουργίας παραγώγων των αμινοξέων μετά την έξοδό τους από τη στήλη με το αντιδραστήριο OPA στους 40° C και ένα φθορισμομετρικό ανιχνευτή (μήκος κύματος διέγερσης 330 nm και εκπομπής 464 nm). Όλα τα παραπάνω όργανα και συσκευές προέρχονταν από τη Scientific System (State College, PA, U.S.A.). Η εισαγωγή των δειγμάτων γινόταν με τη χρησιμοποίηση βαλβίδας εισαγωγής εφοδιασμένης με ~~κωνίδα~~ κωνίδα 100 μl (model 9125, Rheodyne Inc., Cotati, CA, U.S.A.). Χρησιμοποιήθηκε ιοντοανταλλακτική στήλη (Na⁺) (3x250 mm) και προστήλη με το ίδιο υλικό (3x20 mm) (Pickering Laboratories, Mountain view, CA, U.S.A.). Για τη βαθμονόμηση της στήλης και τον ποσοτικό προσδιορισμό των αμινοξέων χρησιμοποιήθηκε μείγμα από 27 αμινοξέα σε 7 διαφορετικές

συγκεντρώσεις. Ο ποσοτικός προσδιορισμός και η ταυτοποίηση των αμινοξέων έγινε με τη χρησιμοποίηση συστήματος λήψεως και επεξεργασίας δεδομένων (Nelson Analytical, Inc., Paramus, NJ, U.S.A.).

Συνθήκες χρωματογραφίας

Ποσότητα δείγματος : 20-100 μ l. Ταχύτητα ροής: εκλουστικά υγρά 0,3 ml/min, OPA 0,3 ml/min. Διάρκεια ανάλυσης: 60 min. Η βαθμίδωση του εκλουστικού υγρού δίνεται παρακάτω:

Χρόνος (min)	Εκλουστικά διαλύματα		
	% A	% B	% C
0	100	0	0
10	100	0	0
36	0	100	0
60	0	100	0
60.1	0	0	100
62.0	0	0	100
62.1	100	0	0
76.2	100	0	0

18. 3. Λιπόλυση

Για την παρακολούθηση της λιπόλυσης στα τυριά, κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και διατήρησής τους, μετριόταν η τιμή οξύτητας του λίπους (Acid Degree Value, ADV), σύμφωνα με τη μέθοδο των Deeth και Fitz-Gerald (1976) ως εξής: δείγμα 5 g τυριού αναμιγνύονταν με 37,5 ml διαλύματος 2 % κιτρικού νατρίου σε ομογενοποιητή Sorvall Omni-mixer. 35 ml του ομογενοποιημένου μείγματος μεταφέρονταν σε ειδική φιάλη κρέμας Babcock και αναμιγνύονταν με 10 ml

αντιδραστηρίου BDI (30 g Triton X 100 και 70 g εξαμεταφωσφορικού νατρίου διαλυμένα σε 1L με απεσταγμένο νερό). Η φιάλη θερμαινόταν στους 95° C σε υδατόλουτρο για 15-20min. Ύστερα από φυγοκέντρηση της φιάλης στις 1200 rpm επί 1 min, προσθέτονταν μείγμα (1:1) μεθανόλης-νερού και η φιάλη φυγοκεντρούνταν στις 1200 rpm για 1 ακόμη min. Ποσότητα λίπους 0,2-0,4 g ζυγίζόταν σε μικρή φιάλη και προσθέτονταν 5 ml μείγματος εξανίου: n-προπανόλης (4:1) και 5 σταγόνες μεθανολικού διαλύματος φαινοφθαλεΐνης (1%). Το διάλυμα του λίπους τιτλοδοτούνταν με πρότυπο μεθανολικό διάλυμα KOH (~0,02 N).

Σε τυριά Φέτα ηλικίας 40 και 120 ημερών και Κεφαλογραβιέρα 90 και 180 ημερών γινόταν επίσης προσδιορισμός των ελεύθερων λιπαρών οξέων (FFA). Η εκχύλιση των λιπιδίων και των FFA από το τυρί, η απομόνωση των FFA από το εκχύλισμα του τυριού και ο διαχωρισμός των FFA με τριχοειδή αέριο χρωματογραφία (GLC) γινόταν σύμφωνα με τη μέθοδο των De Jong και Badings (1990) ως εξής: δείγμα 1,0 g τυριού αναμιγνυόταν με 3,0 g άνυδρου θειικού νατρίου (Na_2SO_4). Στο μείγμα προσθέτονταν 0,3 ml H_2SO_4 (2,5M) και 1,0 ml διαλύματος εσωτερικού προτύπου που περιείχε τα λιπαρά οξέα C5:0, C7:0, C13:0 και C17:0 (0,5 mg/ml εκάστου). Το μείγμα εκχυλιζόταν 3 φορές με 3 ml μείγματος διαιθυλαιθέρα-επτανίου (1:1 v/v). Μετά από κάθε εκχύλιση, το διάλυμα διαυγαζόταν με φυγοκέντρηση στις 2500 rpm επί 2 min σε θερμοκρασία δωματίου και η ανώτερη στιβάδα του διαλύτη μεταφερόταν σε ένα σωλήνα με πόμα που περιείχε 1,0 g άνυδρου Na_2SO_4 . Το μείγμα των εκχυλισμάτων περνιόταν από μία αμινοπροπυλική στήλη [Bond Elut, 2,8 ml, που περιείχε 500 mg διοξειδίου του πυριτίου τροποποιημένου με αμινοπροπυλικές ομάδες (Varian, Harbor City, CA, U.S.A.)], η οποία είχε εξισορροπηθεί με 10 ml επτανίου. Τα

ουδέτερα λιπίδια εκλούζονταν από τη στήλη με 10 ml μείγματος χλωροφορμίου και 2-προπανόλης (2:1 v/v). Τα FFA εκλούζονταν με 10 ml διαιθυλαιθέρα που περιείχε 2 % μυρμηκικό οξύ. Ένα πρότυπο (έκχυσης), 500 μg πελαργονικού οξέος (C9:0), προσθέτονταν στο διάλυμα, για να ελεγχθεί η ανάκτηση των εσωτερικών προτύπων. Δείγμα (0,5 μl) από το διάλυμα αυτό παίρνονταν για αεριοχρωματογραφικό προσδιορισμό των FFA. Δύο χρωματογραφικές ενέσεις γίνονταν από κάθε εκχύλισμα τυριού. Χρησιμοποιήθηκε συσκευή αέριας χρωματογραφίας του οίκου Shimadzu, model GC-17A (Shimadzu Scientific Instruments, Inc., Columbia, MD, U.S.A), εφοδιασμένη με εγχυτή δείγματος πάνω στη στήλη (on-column injector). Η ταυτοποίηση των διαφόρων FFA των τυριών έγινε συγκρίνοντας τους χρόνους κατακράτησης των αγνώστων FFA με εκείνους γνωστών προτύπων FFA ($\geq 99\%$ GC). Ο ποσοτικός προσδιορισμός των FFA έγινε με τη μέθοδο της εσωτερικής τιτλοδότησης (Internal Standardization) με το πελαργονικό οξύ ως εσωτερικό πρότυπο και επεξεργάζοντας τα χρωματογραφήματα με το λογισμικό *Class-VP Chromatography Data System* του ίδιου οίκου.

Συνθήκες χρωματογραφίας

Στήλη: τριχοειδής από τετηγμένο διοξειδίο του πυριτίου, μήκους 15 m και εσωτερικής διαμέτρου 0,53 mm, επενδεδυμένη με φάση FFA, OV-351 (δεσμευμένη νιτροτερεφθαλική πολυγλυκόλη, πάχος στιβάδας 1,0 μm) (Ohio Valley Specialty Chemical, Inc., Marietta, OH, U.S.A.).

Ήλιο (φέρων αέριο): ροή 8,8 ml/min.

Υδρογόνο : ροή 50 ml/min.

Αέρας : ροή 500 ml/min.

Βαθμίδωση θερμοκρασίας στήλης: 60° C για 2 min, 60-70° C με ταχύτητα 1°C/min, 70-220° C με ταχύτητα 10°C/min και παραμονή στους 220°C για 18 min.

Ανιχνευτής : Ιονισμού φλόγας, θερμοκρασία 225°C.

Θάλαμος έγχυσης δείγματος: Θερμοκρασία εισόδου του δείγματος 60°C και τελική θερμοκρασία 230°C με ταχύτητα 35°C/min και παραμονή στους 230 °C για 40 min.

Όγκος δείγματος : 0,5 μl.

19. Οργανοληπτική εξέταση των τυριών

Δείγματα τυριών μεγέθους περίπου 3x3x2 cm τοποθετούνταν σε λευκά πιάτα κωδικοποιημένα με τριψήφιους τυχαίους αριθμούς. Τα τεμάχια αφήνονταν να ισορροπήσουν στη θερμοκρασίας μέτρησης (18±2°C) και στη συνέχεια παρουσιάζονταν στους δοκιμαστές σε τυχαία σειρά για δοκιμή. Χορηγούνταν νερό για πλύσιμο του στόματος μεταξύ των δειγμάτων.

Η Φέτα εξετάστηκε οργανοληπτικά μετά από 60, 120 και 240 ημέρες από την παρασκευή της και η Κεφαλογραβιέρα μετά από 90 και 180 ημέρες. Η οργανοληπτική εξέταση γινόταν από ομάδα πέντε δοκιμαστών εξοικειωμένων με τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά της Φέτας και της Κεφαλογραβιέρας. Οι δοκιμαστές βαθμολόγησαν τα τυριά, όσον αφορά την εμφάνιση, την υφή-δομή και το άρωμα (οσμή και γεύση) χρησιμοποιώντας βαθμολογική κλίμακα 1-10, με 1 να είναι το χειρίστο και 10 το άριστο χαρακτηριστικό. Ιδιαίτερη βαρύτητα δινόταν στα χαρακτηριστικά του αρώματος και της υφής-δομής παρά στην εμφάνιση του τυριού, σύμφωνα με τις οδηγίες της Διεθνούς Ομοσπονδίας Γάλακτος (IDF 1987). Έτσι, οι βαθμολογίες που δόθηκαν από τους κριτές για τα δύο αυτά χαρακτηριστικά πολλαπλασιάστηκαν με

(7) το γινόμενο της συγκολλητικότητας και της ελαστικότητας (kg.mm), ως ένα μέτρο της *μασητικότητας* (chewiness).

Στην περίπτωση της Φέτας, επειδή το τυρί αυτό χαρακτηρίζεται από έλλειψη συνεκτικότητας (Lawrence και συν. 1987), το δείγμα συμπιεζόταν κατά 70% του αρχικού του ύψους σε ένα μόνο κύκλο συμπίεσης (κάθοδος-άνοδος του εμβόλου) και έτσι, από τα παραπάνω ρεολογικά χαρακτηριστικά υπολογίστηκαν μόνο τα υπ' αριθμόν 1,2, και 3.

21. Στατιστική ανάλυση

Τα δεδομένα επεξεργάστηκαν με ανάλυση της διακύμανσης κατά ένα παράγοντα (one-way ANOVA) χρησιμοποιώντας το πρόγραμμα Statgraphics (Statistical Graphics Corp., Rockville, MD, U.S.A.). Σε περιπτώσεις σημαντικών ($P < 0.05$) διαφορών μεταξύ των επεμβάσεων, οι μέσοι όροι διαχωρίζονταν με τη δοκιμή Tukey (Tukey's Test) (Steel and Torrie, 1960).

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

22.1. Τυρί Φέτα

22.1.1. Σύσταση και φυσικο-χημικές ιδιότητες

Η μέση σύσταση του προς τυροκόμηση γάλακτος ήταν: λίπος 6,0 %, καζεΐνη 4,8 %, καζεΐνη:λίπος 0,8, pH 6,61 και τιτλοδοτούμενη οξύτητα 24 ° D.

Οι μέσες τιμές της υγρασίας, του λίπους, της υγρασίας στην άνευ λίπους ουσία (ΥΑΛΟ) και του λίπους επί ξηρού των παρασκευασθέντων τυριών Φέτα, σε διάφορους χρόνους δειγματοληψίας, παρουσιάζονται στον Πίνακα 1. Οι τιμές της υγρασίας και του λίπους επί ξηρού όλων των τυριών ικανοποιούν τις προβλεπόμενες Ελληνικές προδιαγραφές. Αυτές είναι μέγιστη υγρασία 56% και ελάχιστο λίπος επί ξηρού 43% για τυρί Φέτα "πρώτης ποιότητας" (Υπουργείο Οικονομικών 1987). Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές ($P>0.05$) διαφορές στις τιμές υγρασίας, λίπους και λίπους επί ξηρού μεταξύ του τυριού μάρτυρα και των πειραματικών τυριών (B και Γ), σε όλα τα στάδια δειγματοληψίας. Τα αποτελέσματα αυτά βρίσκονται σε συμφωνία με εκείνα άλλων ερευνητών (Fitzgerald και Buckley 1985, Rapacci και συν. 1990, Reddy και Marth 1993a, Aly 1995, Ramadan 1995, Rampilli και συν. 1995) στις μελέτες τους για την επίδραση της μερικής υποκατάστασης του NaCl με KCl στα χαρακτηριστικά διαφόρων τυριών (Cheddar, Prato, Φέτα από υπερδιηθημένο γάλα, Caciotta, Domiati). Από τον Πίνακα 1 φαίνεται, επίσης, ότι όλα τα τυριά είχαν παρόμοιες ($P>0.05$) τιμές υγρασίας στην άνευ λίπους ουσία.

Ο Πίνακας 2 δείχνει, ότι δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές ($P>0.05$) διαφορές στην περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη και ολικό αλάτι (NaCl + KCl) μεταξύ των παρασκευασθέντων τυριών σε όλους τους χρόνους εξέτασής των. Η διαπίστωση αυτή

Πίνακας 1. Υγρασία, λίπος, υγρασία στην άνευ λίπους ουσία (ΥΑΛΟ) και λίπος επί ξηρού τυριών Φέτα^{1,2} κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και διατήρησής τους.

Ηλικία τυριού (ημέρες)	Υγρασία (%)			Λίπος (%)			ΥΑΛΟ (%)			Λίπος επί ξηρού (%)		
	Α	Β	Γ	Α	Β	Γ	Α	Β	Γ	Α	Β	Γ
3	54,96	54,87	54,95	20,58	20,83	20,67	69,21	69,31	69,25	45,69	46,15	45,87
20	54,86	54,88	55,15	21,60	21,75	21,85	69,94	70,10	70,53	47,87	48,17	48,71
40	54,68	54,62	54,85	22,08	22,25	22,08	70,17	70,26	70,39	48,71	49,00	48,89
60	54,90	55,33	55,39	22,10	21,70	22,00	70,44	70,65	71,00	48,96	48,54	49,30
120	54,47	54,87	55,25	22,50	22,10	22,25	70,27	70,41	71,05	49,38	48,92	49,74
240	55,00	55,05	55,03	22,45	22,45	22,80	70,90	70,97	71,25	49,84	49,89	50,70

¹ Μέσοι όροι κάθε παραμέτρου στην ίδια σειρά χωρίς γράμματα δε διαφέρουν σημαντικά (P>0.05).

² Μέσοι όροι πέντε δοκιμών (τυροκομήσεων).

³ Α= τυρί αλατισμένο με NaCl (μάρτυρας), Β= τυρί αλατισμένο με 3:1 (w/w) μείγμα NaCl:KCl, Γ= τυρί αλατισμένο με 1:1 (w/w) μείγμα NaCl:KCl.

Πίνακας 2. Πρωτεΐνη, ολικό αλάτι, ολικό αλάτι στην υγρή φάση (A/Y), pH και ενεργότητα νερού (a_w) τυριών Φέτα^{1,2} κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και διατήρησής τους.

Ηλικία τυριού (ημέρες)	Πρωτεΐνη (%)			Ολικό αλάτι ⁴ (%)			A/Y (%)			pH			a_w		
	A	B	Γ	A	B	Γ	A	B	Γ	A	B	Γ	A	B	Γ
3	18,27	18,48	18,35	2,18	2,05	2,29	3,96	3,73	4,16	4,81	4,83	4,87	0,957	0,956	0,955
20	17,84	17,98	17,63	2,87	2,75	2,68	5,23	5,01	4,86	4,54	4,56	4,57	0,947	0,946	0,948
40	17,95	18,18	18,06	2,86	2,82	2,76	5,24	5,17	5,03	4,46	4,51	4,48	0,945	0,946	0,947
60	17,99	17,50	17,75	2,87	2,80	2,72	5,23	5,05	4,90	4,42	4,50	4,50	0,943	0,945	0,946
120	18,22	17,44	17,61	2,82	2,70	2,69	5,18	4,91	4,86	4,44	4,49	4,50	0,940	0,943	0,943
240	17,56	17,50	17,55	2,88	2,76	2,74	5,24	5,01	4,97	4,48	4,57	4,54	0,941	0,941	0,942

¹ Μέσοι όροι κάθε παραμέτρου στην ίδια σειρά χωρίς γράμματα δε διαφέρουν σημαντικά (P>0.05).

² Μέσοι όροι πέντε δοκιμών.

³ A= τυρί αλατισμένο με NaCl (μάρτυρας), B= τυρί αλατισμένο με 3:1 (w/w) μείγμα NaCl:KCl, Γ= τυρί αλατισμένο με 1:1 (w/w) μείγμα NaCl:KCl.

⁴ Υπολογίστηκε από τη μετρηθείσα συγκέντρωση των χλωριούχων ιόντων στο τυρί.

συμφωνεί με τα αποτελέσματα άλλων ερευνητών (Fitzgerald και Buckley 1985, Aly 1995, Ramadan 1995) σε ανάλογες μελέτες μερικής υποκατάστασης του NaCl με KCl σε διάφορα τυριά.

Γενικά, τιμές αλατιού (NaCl) στην υγρή φάση του τυριού ή συντελεστή άλατος $\geq 5\%$ θεωρούνται αναγκαίες για σωστές ζυμώσεις κατά την ωρίμαση και καλά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά για το τυρί Φέτα (Manolkidis και συν. 1974). Στην παρούσα μελέτη, τα ώριμα τυριά που αλατίστηκαν με NaCl ή με μείγματα NaCl/KCl είχαν τιμές ολικού αλατιού στην υγρή φάση (A/Y) πολύ κοντά στο συνιστώμενο όριο (Πίνακας 2). Βρέθηκε, επίσης, ότι οι τιμές του A/Y των παρασκευασθέντων τυριών ήταν παρόμοιες και δεν επηρεάστηκαν ($P>0.05$) από το είδος του άλατος, που χρησιμοποιήθηκε στο αλάτισμα και στην παρασκευή της άλμης. Ανάλογα αποτελέσματα έχουν αναφερθεί από τον Ramadan (1995) για το τυρί Domiati.

Όπως φαίνεται από τον Πίνακα 2, η μερική υποκατάσταση του NaCl με KCl δεν είχε σημαντική επίδραση ($P>0.05$) στο pH τυριών, σε όλα τα στάδια ωρίμασης και διατήρησης, που μελετήθηκαν, αν και υπήρχε μια τάση για ελαφρά υψηλότερες τιμές pH στα τυριά, που αλατίστηκαν με μείγματα NaCl/KCl. Οι Lindsay και συν. (1982) και ο Aly (1995) βρήκαν ανάλογα αποτελέσματα για τυριά Cheddar και Φέτα από υπερδιηθημένο γάλα, αντίστοιχα.

Το είδος του άλατος, που χρησιμοποιήθηκε στο αλάτισμα και στην παρασκευή της άλμης, δεν επηρέασε ($P>0.05$) την ενεργότητα νερού (a_w) των τυριών, η οποία μειωνόταν συνεχώς καθ' όλη τη διάρκεια της ωρίμασης και διατήρησής τους (Πίνακας 2). Σύμφωνα με τους Malthlouthi και συν. (1981) και Fox (1987), χαμηλού μοριακού

βάρους χημικές ενώσεις, ιδιαίτερα πεπτίδια και αμινοξέα, σχηματιζόμενες κατά τη διάρκεια της ωρίμασης εμπλέκονται στη μείωση της a_w των τυριών.

Η διαπίστωση που έγινε στην παρούσα μελέτη, ότι τα τυριά που αλατίστηκαν με μείγματα χλωριούχου νατρίου και χλωριούχου καλίου είχαν σύσταση και φυσικοχημικές ιδιότητες ανάλογες με αυτές του τυριού μάρτυρα, μπορεί να αποδοθεί στο γεγονός ότι, σύμφωνα με τη γνώμη του Kosikowski (Taylor 1983), τεχνολογικά, τα ιόντα του καλίου έχουν τις ίδιες επιδράσεις με τα ιόντα του νατρίου στη διαδικασία της τυροκόμησης.

Στοιχειακά δεδομένα για το νάτριο, το κάλιο και το ασβέστιο στα τυριά δίνονται στον Πίνακα 3. Για λόγους σύγκρισης στον ίδιο Πίνακα συμπεριλαμβάνονται δεδομένα για τυρί Φέτα από πρόβειο γάλα, που προέρχονται από το εγχειρίδιο Νο 8-1 του Υπουργείου Γεωργίας των ΗΠΑ (USDA 1976). Όπως φαίνεται από τον Πίνακα 3, η περιεκτικότητα σε ασβέστιο όλων των παρασκευασθέντων τυριών ήταν παρόμοια ($P > 0.05$) και συγκρίσιμη με τη μέση τιμή των 492 mg/100g, που αναφέρεται στο παραπάνω εγχειρίδιο (USDA 1976). Επίσης, οι περιεκτικότητες σε νάτριο και κάλιο, που βρέθηκαν στην παρούσα μελέτη στο τυρί μάρτυρα, συμφωνούν με τις αντίστοιχες τιμές, που αναφέρονται για το τυρί Φέτα (USDA 1976).

Η επιθυμητή αναλογία Na:K στο διαιτολόγιο είναι 0,5 σε σταθμική βάση ή 1,0 σε μοριακή βάση (Hansen και Wyse 1980, Shank 1980). Ο Πίνακας 3 δείχνει, ότι η χρήση μειγμάτων (3:1 και 1:1) NaCl/KCl μείωσε αποτελεσματικά την αναλογία Na:K στο τυρί Φέτα στο 4,0 και 1,4, αντίστοιχα, ενώ η περιεκτικότητα του νατρίου μειώθηκε κατά 24,7 και 48,3%, αντίστοιχα, σε σύγκριση με το τυρί μάρτυρα. Επομένως, το τυρί, που αλατίστηκε με μείγμα 1:1 NaCl/KCl, είχε αποδεκτή αναλογία

Πίνακας 3. Ασβέστιο, νάτριο και κάλιο τυριών Φέτα¹ ηλικίας 60 ημερών.

Παράμετρος	Τυρί ²			Δείγμα εμπορίου ⁵
	A	B	Γ	
Ca (mg/100g)	519	522	514	492
Na (mg/100g)	1124 ^a	846 ^b	581 ^c	1116
K (mg/100g)	60 ^c	356 ^b	699 ^a	62
Na:K (σταθμική βάση)	18,7 ^a	2,4 ^b	0,8 ^b	18,0
mg Na/28,4 g	319 ^a	240 ^b	165 ^c	316
mg K /28,4 g	17 ^c	101 ^b	199 ^a	18
meq Na/28,4 g ³	13,87 ^a	10,43 ^b	7,17 ^c	13,74
meq K / 28,4 g ⁴	0,44 ^c	2,59 ^b	5,10 ^a	0,46
Na : K (μοριακή βάση)	31,5 ^a	4,0 ^b	1,4 ^b	29,9

^{a,b,c} Μέσοι όροι σε κάθε σειρά χωρίς γράμματα ή έχοντες ένα κοινό γράμμα δε διαφέρουν σημαντικά ($P>0.05$).

¹ Μέσοι όροι πέντε δοκιμών.

² A= τυρί αλατισμένο με NaCl (μάρτυρας), B= τυρί αλατισμένο με 3:1 (w/w) μείγμα NaCl:KCl, Γ= τυρί αλατισμένο με 1:1 (w/w) μείγμα NaCl:KCl .

³ meq Na = mg Na/23.

⁴ meq K = mg K/39.

⁵ USDA (1976).

Na:K. Όμως, το τυρί αυτό είχε περιεκτικότητα σε νάτριο 165 mg/28,4 g (μερίδα) και έτσι δε μπορεί να χαρακτηριστεί ως τρόφιμο με "χαμηλό νάτριο", επειδή δεν ικανοποιεί την απαίτηση, ότι η περιεκτικότητα σε νάτριο πρέπει να είναι 140 mg ή λιγότερο ανά μερίδα 28,4 g (Anonymous 1984a).

Η περιεκτικότητα σε κάλιο των τυριών, που αλατίστηκαν με μείγμα 3:1 ή 1:1 NaCl/KCl, ήταν περίπου 6 και 12 φορές υψηλότερες, αντίστοιχα, από εκείνη του τυριού μάρτυρα (Πίνακας 3).

22.1.2. Πρωτεόλυση

Η πρωτεόλυση είναι ένα αναπόσπαστο μέρος της διαδικασίας ωρίμασης του τυριού. Το NaCl επηρεάζει έντονα το σχηματισμό και τη διάσπαση πικρών πεπτιδίων από τα βακτηριακά κύτταρα (Schroeder και συν. 1988). Γι' αυτόν το λόγο, όταν το NaCl υποκαθίσταται στο τυρί με ένα άλλο άλας, είναι απαραίτητο να διερευνώνται διάφορες μεταβολές, όπως είναι π.χ. η πρωτεόλυση (Reddy και Marth 1993b, Zorrilla και συν. 1996, Zorrilla και Rubiolo 1997).

Η πρωτεόλυση είναι η κυριότερη και πιθανόν η πλέον περίπλοκη από τις τρεις βασικές διεργασίες που λαμβάνουν χώρα κατά τη διάρκεια της ωρίμασης του τυριού και είναι ίσως η σπουδαιότερη για την ανάπτυξη του αρώματος και της υφής (Fox και συν. 1993, 1995b). Η πρωτεόλυση έχει σημαντικές επιδράσεις στην υφή του τυριού, που οφείλονται στη διάσπαση του πλέγματος των πρωτεϊνών (Creamer και Olson 1982, Lawrence και συν. 1983), και στο άρωμα μέσω της παραγωγής των πρόδρομων ουσιών ενός αριθμού πτητικών αρωματικών ενώσεων και άμεσα με την απελευθέρωση αμινοξέων και ορισμένων πεπτιδίων (Fox και συν. 1995a).

Τέσσερις, και ενδεχομένως πέντε, παράγοντες εμπλέκονται στην ωρίμαση του τυριού (Fox και συν. 1993) : 1) το πηκτικό ένζυμο (πυτιά ή υποκατάστατά της), 2) τα ενδογενή ένζυμα (πρωτεϊνάσες) του γάλακτος τυροκόμησης, τα οποία δεν αδρανοποιούνται πλήρως με την παστερίωση, 3) τα γαλακτικά βακτήρια της καλλιέργειας εκκίνησης και τα ένζυμά τους, τα οποία απελευθερώνονται μετά το θάνατο και τη λύση των κυττάρων, 4) τα ένζυμα από πρόσθετες καλλιέργειες (secondary starters), π.χ. προπιονικά βακτήρια, ζύμες και μύκητες, όπως *Penicillium roqueforti* and *P. candidum*, που είναι μεγάλης σημασίας σε μερικά είδη τυριού και 5) τα βακτήρια της δευτερεύουσας μικροχλωρίδας, δηλαδή μικροοργανισμοί οι οποίοι είτε επιβιώνουν της παστερίωσης του γάλακτος τυροκόμησης είτε αποκτούν πρόσβαση στο παστεριωμένο γάλα ή στο τυρόπηγμα κατά τη διάρκεια της παρασκευής του τυριού.

Είναι γνωστό ότι, για την καλύτερη κατανόηση και ιδιαίτερα για την ποσοτική εκτίμηση της υδρόλυσης των πρωτεϊνών κατά τη διάρκεια της ωρίμασης των τυριών, είναι απαραίτητος ο συνδυασμός περισσότερων της μιας μεθόδων (McSweeney και Fox 1997, Μιχαηλίδου-Κονιόρδου 1997). Έτσι, στην παρούσα μελέτη, για να εκτιμηθούν οι βιοχημικές μεταβολές κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και διατήρησης των τυριών, χρησιμοποιήθηκαν οι εξής μέθοδοι: α) η εκχύλιση και κλασμάτωση των αζωτούχων συστατικών του τυριού με διάφορα μέσα, β) η μέτρηση των ελεύθερων αμινομάδων των αμινοξέων, γ) η ηλεκτροφόρηση των πρωτεϊνών του τυριού, δ) η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης-αντίστροφης φάσης (RP-HPLC) του υδατικού εκχυλίσματος του τυριού και ε) ο προσδιορισμός των ελεύθερων αμινοξέων στο τυρί με ιοντοανταλλακτική χρωματογραφία υψηλής απόδοσης.

22.1.2.α. Διαλυτά αζωτούχα κλάσματα

Στον Πίνακα 4 δίδονται οι μεταβολές του υδατοδιαλυτού αζώτου (WSN), του διαλυτού σε 12% τριχλωροξικό οξύ αζώτου (TCA-SN) και του διαλυτού σε 5% φωσφοροβολφραμικό οξύ αζώτου (PTA-SN) κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και διατήρησης των τυριών Φέτα. Όλα τα αζωτούχα κλάσματα αυξάνονταν καθ'όλη τη διάρκεια της μελέτης σε όλα τα τυριά. Η τάση αυτή στη μεταβολή των αζωτούχων κλασμάτων στο τυρί μάρτυρα ήταν παρόμοια με εκείνη που αναφέρουν άλλοι ερευνητές (Vaforoulou και συν. 1989, Katsiari και Voutsinas 1994a, Μιχαηλίδου-Κονιόρδου 1997) για το τυρί Φέτα. Ο ρυθμός αύξησης όλων των αζωτούχων κλασμάτων ήταν έντονος μέχρι τις 20 ημέρες, δηλαδή κατά τη διάρκεια της παραμονής των τυριών στο ωριμαντήριο και στη συνέχεια μειωνόταν, λόγω της μεταφοράς τους στο θάλαμο συντήρησης. Η διαπίστωση αυτή συμφωνεί με τα αποτελέσματα της Μιχαηλίδου-Κονιόρδου (1997) για το ίδιο τυρί.

Το υδατοδιαλυτό άζωτο (WSN) του τυριού περιέχει πρωτεΐνες του ορού, μεσαίου και μικρού μοριακού βάρους πεπτίδια από την αποικοδόμηση των καζεϊνών και ελεύθερα αμινοξέα (Christensen και συν. 1991). Οι κύριοι πρωτεολυτικοί παράγοντες που είναι υπεύθυνοι για την παραγωγή του WSN είναι το πηκτικό ένζυμο (χυμοσίνη) και, σε μικρότερο βαθμό, η πλασμίνη (Visser 1997, Fox και συν. 1995a). Η τιμή του WSN μας δίνει πληροφορίες μόνο για την έκταση της πρωτεόλυσης και όχι για το είδος και το μέγεθος των αζωτούχων ενώσεων που περιλαμβάνονται σ' αυτό το κλάσμα (Μιχαηλίδου-Κονιόρδου 1997). Τα επίπεδα του WSN στο μάρτυρα και τα πειραματικά τυριά ήταν παρόμοια ($P > 0.05$) σε όλες τις ηλικίες εξέτασης (Πίνακας 4). Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με εκείνα άλλων ερευνητών (Fitzgerald και

Πίνακας 4. Υδατοδιαλυτό άζωτο (WSN), άζωτο διαλυτό σε 12% τριγλωροξικό οξύ (TCA-SN) και άζωτο διαλυτό σε 5 % φωσφοβολοφραμικό οξύ (PTA-SN) τυριών Φέτα^{1,2} κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και διατήρησής τους.

Ηλικία τυριού (ημέρες)	WSN (% TN)			TCA-SN (% TN)			PTA-SN (% TN)		
	A	B	Γ	A	B	Γ	A	B	Γ
3	13,69	13,38	13,17	4,75	4,92	5,10	2,04	1,94	1,95
20	17,97	18,34	18,62	10,35	10,71	10,72	3,38	3,26	3,25
40	19,06	19,16	19,31	11,02	11,15	11,92	4,02	4,06	3,95
60	19,21	19,92	19,56	11,46	12,05	11,97	4,18	4,14	4,01
120	19,83	21,01	20,54	12,42	12,85	12,74	4,74	4,66	4,60
240	22,10	22,68	22,96	12,95	13,44	13,76	5,24	5,33	5,27

¹ Μέσοι όροι κάθε παραμέτρου στην ίδια σειρά χωρίς γράμματα δε διαφέρουν σημαντικά (P>0.05).

² Μέσοι όροι πέντε δοκιμών.

³ A= τυρί αλατισμένο με NaCl (μάρτυρας), B= τυρί αλατισμένο με 3:1 (w/w) μείγμα NaCl:KCl, Γ= τυρί αλατισμένο με 1:1 (w/w)μείγμα NaCl:KCl.

Buckley 1985, Aly 1995) για άλλα είδη τυριού. Οι Fitzgerald και Bukley (1985) δε βρήκαν σημαντικές διαφορές στα επίπεδα του WSN μεταξύ τυριού Cheddar μάρτυρα, που αλατίστηκε με NaCl, και πειραματικών τυριών που αλατίστηκαν με ισοδύναμες ποσότητες KCl ή μείγματος (1:1) NaCl/KCl. Επιπλέον, ο Aly (1995) αναφέρει ότι η μερική υποκατάσταση (3:1, 1:1,1:3) του NaCl με KCl στο αλάτισμα τυριού τύπου Φέτα, παρασκευασμένου από υπερδιηθημένο γάλα, δεν επηρεάζει σημαντικά ($P>0.05$) τα επίπεδα του WSN στο τυρί.

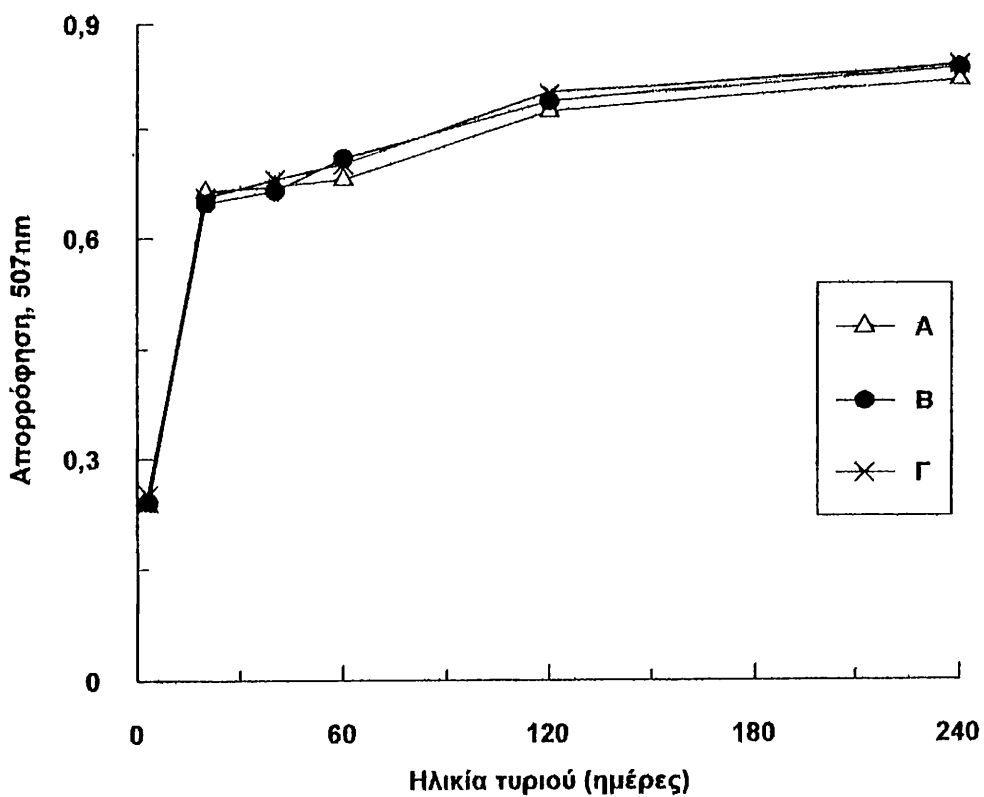
Το διαλυτό σε 12% TCA κλάσμα του τυριού περιέχει μικρά πεπτίδια με 2-20 υπολείμματα αμινοξέων και ελεύθερα αμινοξέα (Yvon και συν. 1989). Η πυτιά είναι υπεύθυνη για την παραγωγή μέρους του TCA-SN, αλλά οι πρωτεΐνες και πεπτιδάσες της καλλιέργειας εκκίνησης έχουν σημαντικότερη συμβολή στο σχηματισμό του (Reiter και συν. 1969, O'Keeffe και συν. 1976). Τα επίπεδα του TCA-SN ήταν παρόμοια ($P>0.05$) σε όλα τα τυριά, καθ' όλη τη διάρκεια της μελέτης, αν και τα πειραματικά τυριά είχαν πάντοτε ελαφρώς μεγαλύτερες τιμές (Πίνακας 4). Τα αποτελέσματα αυτά βρίσκονται σε συμφωνία με εκείνα των Reddy και Marth (1993b), οι οποίοι βρήκαν μη σημαντικές ($P>0.05$) διαφορές στις τιμές του TCA-SN, σε κάθε ηλικία δειγματοληψίας, ανάμεσα σε τυριά Cheddar που παρασκευάστηκαν με NaCl, KCl ή μείγματα των δύο αλάτων. Επίσης, οι Iwanczak και συν. (1995) αναφέρουν ότι η μερική υποκατάσταση (1:1) του NaCl με KCl στο αλάτισμα των τυριών Camembert, Camping, Tilsit και Gouda δεν επηρεάζει την πρωτεόλυσή τους και συγκεκριμένα τα επίπεδα του διαλυτού σε pH 4,6 αζώτου, του μη πρωτεϊνικού αζώτου και του αζώτου των πεπτιδίων.

Το διαλυτό σε 5% PTA κλάσμα του τυριού περιέχει μικρά πεπτίδια με μοριακό βάρος μικρότερο από 600 Daltons και ελεύθερα αμινοξέα, εκτός από λυσίνη και αργινίνη (Jarret και συν. 1982). Το PTA-SN παράγεται κυρίως από τη δράση των μικροβιακών πεπτιδασών (Fox και συν. 1995b). Ο Πίνακας 4 δείχνει ότι δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές ($P>0.05$) διαφορές στα επίπεδα του PTA-SN μεταξύ του μάρτυρα και των πειραματικών τυριών, σε όλες τις ηλικίες εξέτασης. Η διαπίστωση αυτή συμφωνεί με τα αποτελέσματα των Reddy και Marth (1993b), οι οποίοι αναφέρουν ότι τα επίπεδα του PTA-SN σε τυριά Cheddar παρασκευασμένα με KCl ή μείγματα NaCl/KCl ήταν παρόμοια ($P>0.05$), σε κάθε ηλικία δειγματοληψίας (12,24 και 36 εβδομάδες), με εκείνα του τυριού μάρτυρα που αλατίστηκε με NaCl.

22.1.2.β. Ολική συγκέντρωση ελεύθερων αμινοξέων

Η μέθοδος του καδμίου-νινυδρίνης είναι μία από τις μεθόδους που χρησιμοποιούνται για την άμεση μέτρηση της πρωτεόλυσης στο τυρί (McSweeney και Fox 1993). Το αντιδραστήριο του καδμίου-νινυδρίνης είναι πολύ περισσότερο επιλεκτικό για την αμινομάδα των ελεύθερων αμινοξέων (FAA) παρά για τις αμινομάδες των πεπτιδίων ή πρωτεϊνών (Doi και συν. 1981). Έτσι, η μέθοδος καδμίου-νινυδρίνης των Folkertsma και Fox (1992) θεωρείται σαν μια πολύ απλή και χρήσιμη μέθοδος για την εκτίμηση του συνόλου των ελεύθερων αμινοξέων που περιλαμβάνονται στο υδατικό εκχύλισμα του τυριού (McSweeney και Fox 1997).

Το Σχήμα 1 δείχνει τα επίπεδα των FAA στα τυριά Φέτα κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και διατήρησής τους. Όπως φαίνεται, η συγκέντρωση του συνόλου των FAA σε όλα τα τυριά αυξανόταν καθ' όλη τη διάρκεια της μελέτης, ιδιαίτερα κατά την



Σχήμα 1. Παραγωγή ελεύθερων αμινοξέων σε τυριά Φέτα, που αλατίστηκαν με NaCl (Α), 3:1 μείγμα NaCl:KCl (Β) ή 1:1 μείγμα NaCl:KCl (Γ) κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και διατήρησής τους. Οι τιμές που παρουσιάζονται γραφικά είναι μέσοι όροι πέντε δοκιμών.

παραμονή τους στο ωριμαντήριο. Η διαπίστωση αυτή συμφωνεί με τα αποτελέσματα των Folkertsma και Fox (1992,1996) και Lynch και συν. (1996, 1997) για τυρί Cheddar, που αλατίστηκε με NaCl. Η συγκέντρωση του συνόλου των FAA στο μάρτυρα και τα πειραματικά τυριά ήταν παρόμοια ($P>0.05$) σε όλες τις ηλικίες εξέτασης, γεγονός που δείχνει ότι το βάθος, όπως και το επίπεδο, της πρωτεόλυσης ήταν παρόμοια σε όλα τα τυριά.

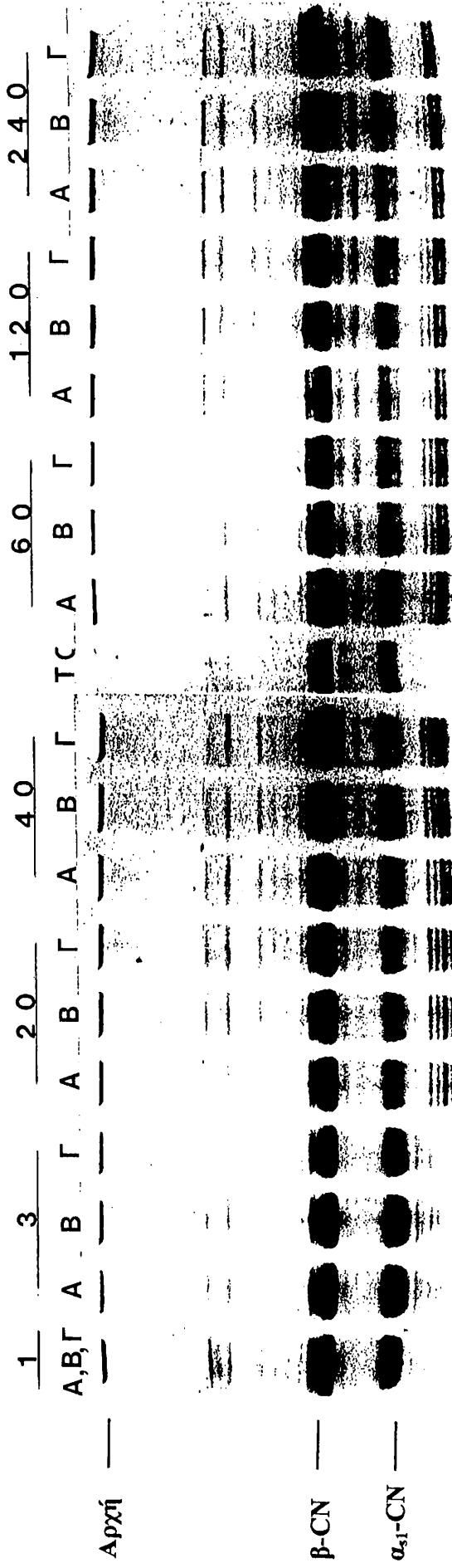
22.1.2.γ. Ηλεκτροφόρηση των πρωτεϊνών του τυριού

Η ηλεκτροφόρηση σε πηκτή πολυακρυλαμιδίου (PAGE) χρησιμοποιείται ευρύτατα στη μελέτη της υδρόλυσης των πρωτεϊνών και του τύπου της πρωτεόλυσης στα τυριά, επειδή έχει μεγάλη διακριτική ικανότητα και μπορεί να δώσει ποσοτικά αποτελέσματα (Marcos και συν. 1979). Για να διερευνηθεί η υδρόλυση των καζεϊνών, κατά την ωρίμαση και διατήρηση των τυριών, έγιναν ηλεκτροφορήσεις δειγμάτων τυριών σε πηκτή πολυακρυλαμιδίου, παρουσία ουρίας και β-μερκαπτοαιθανόλης, και στη συνέχεια έγινε σάρωση με οπτικό πυκνόμετρο των ζωνών για να εκτιμηθεί ποσοτικά η υδρόλυση των καζεϊνών. Ηλεκτροφορήματα τυριών Φέτα διαφόρων ηλικιών δίνονται στο Σχήμα 2. Οι κύριες μεταβολές που παρατηρήθηκαν αφορούσαν στη συνεχή μείωση της έντασης των ζωνών των α_{s1} - και β-καζεϊνών σε όλα τα τυριά με την αύξηση της ηλικίας τους. Σε κάθε ηλικία, τα ηλεκτροφορήματα του μάρτυρα και των πειραματικών τυριών ήταν παρόμοια, γεγονός που δείχνει ότι η υδρόλυση κάθε καζεΐνης γινόταν με την ίδια ταχύτητα και τρόπο σε όλα τα τυριά. Είναι, επίσης, φανερό ότι η ταχύτητα υδρόλυσης των δύο καζεϊνών ήταν διαφορετική. Σε όλες τις

περιπτώσεις, η α_1 -καζεΐνη υδρολυόταν πολύ γρηγορότερα και σε μεγαλύτερη έκταση απ' ότi η β -καζεΐνη.

Όπως φαίνεται από το Σχήμα 2, η ένταση των ζωνών με ηλεκτροφορητική κινητικότητα (R_f) μεγαλύτερη από εκείνη της α_1 -CN αυξανόταν μέχρι την ηλικία των 40 ημερών και στη συνέχεια μειωνόταν. Προφανώς οι ζώνες αυτές αφορούν προϊόντα υδρόλυσης της α_1 -CN από την τυτία (π.χ. α_1 -CN f 24-199). Χαρακτηριστική, επίσης, είναι η συνεχής αύξηση της έντασης δύο ζωνών με R_f ελαφρώς μεγαλύτερη από αυτήν της β -CN και οι οποίες πιθανόν να είναι τα πεπτίδια β -I και β -II, τα οποία αποτελούν προϊόντα δράσης της τυτιάς πάνω στη β -CN (Marcos και συν. 1979). Οι Samal και συν. (1993) παρατήρησαν στα ηλεκτροφορήματα τυριού Φέτα μία ζώνη στην αναμενόμενη θέση για το β -I πεπτίδιο. Επίσης, μια παρόμοια ζώνη παρατήρησε και η Μιχαηλίδου-Κονιόρδου (1997) στα τρία από τα τέσσερα πειραματικά τυριά Φέτα που μελέτησε. Έχει αναφερθεί, ότι η τυτία δρα πάνω στη β -CN και παράγει τρία N-τελικά πεπτίδια που έχουν ονομαστεί β -I, β -II και β -III κατά σειράν εμφάνισης και αυξανόμενης ηλεκτροφορητικής κινητικότητας σε πηκτές πολυακρυλαμιδίου σε αλκαλικό pH (Creamer και συν. 1971). Τρεις δεσμοί της β -CN διασπώνται από την τυτία και η υδρόλυσή τους μπορεί να οδηγήσει σε μια περιορισμένη πρωτεόλυση της β -CN κατά τη διάρκεια του πρώτου σταδίου της παρασκευής του τυριού (Pelissier και συν. 1974).

Από το Σχήμα 2 φαίνεται, επίσης, ότι η ένταση των ζωνών (γ -καζεΐνες) με R_f μικρότερη από εκείνη της β -CN αυξήθηκε μέχρι τις 40 ημέρες και στη συνέχεια παρέμεινε σχεδόν σταθερή. Είναι γνωστό ότι η αλκαλική πρωτεάση του γάλακτος, η πλασμίνη, είναι το ένζυμο που παράγει τις γ -CN από τη β -CN (Grappin και συν. 1985).



(+)

Σχήμα 2. Ηλεκτροφορήματα σε πηκτική πολυακρυλαμιδίου ολικής καζεΐνης προβάτου (TC) και τυριών Φέτα, που αλατίστηκαν με NaCl (A), 3:1 μείγμα NaCl:KCl (B) ή 1:1 μείγμα NaCl:KCl (Γ) σε διάφορες ηλικίες. 1, 3, 20, 40, 60, 120, 240 : ηλικία δείγματος (ημέρες).

Όμως, έχει αναφερθεί ότι πεπτίδια με R_f παρόμοια με αυτήν των γ -CN μπορεί να προέρχονται και από τη δράση των πρωτεϊνών των καλλιέργειών εκκίνησης πάνω στη β -CN (Fox 1993). Η παρουσία γ -καζεϊνών παρατηρείται σχεδόν σε όλα τα είδη τυριού, που δείχνει ότι η πλασμίνη παίζει σημαντικό ρόλο στην υδρόλυση της β -CN (Creamer 1979). Η συμμετοχή, όμως, της πλασμίνης στην υδρόλυση της β -CN του τυριού Φέτα είναι αμφισβητήσιμη, λόγω του χαμηλού pH (~4.6) και της υψηλής συγκέντρωσης αλατιού στο τυρί αυτό (Van den Berg και Exterkate 1993). Επειδή οι γ -CN υπάρχουν σαν ενδιάμεσα προϊόντα, δηλαδή υδρολύονται περαιτέρω σε μικρότερα πεπτίδια και αμινοξέα, η συγκέντρωσή τους στο τυρί μπορεί να παραμένει σχεδόν σταθερή κατά τη διάρκεια του περισσότερου χρόνου της ωρίμασης (Bastian και συν. 1997).

Ο Πίνακας 5 δίνει τη σχετική περιεκτικότητα των τυριών Φέτα σε υπολειμματικές α_{s1} - και β -CN κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και διατήρησής τους. Όπως φαίνεται, οι περιεκτικότητες των α_{s1} - και β -CN σε όλα τα τυριά συνεχώς μειώνονταν κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και διατήρησής τους. Δεν υπήρχαν σημαντικές ($P > 0.05$) διαφορές μεταξύ του μάρτυρα και των πειραματικών τυριών ως προς τα ποσοστά των υπολειμματικών α_{s1} - και β -CN σε όλες τις ηλικίες εξέτασης. Το Σχήμα 4 απεικονίζει το ρυθμό αποικοδόμησης των α_{s1} - και β -CN στα τυριά σε συνάρτηση με την ηλικία τους. Επειδή, όπως προαναφέρθηκε, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στα ποσοστά των υπολειμματικών α_{s1} - και β -CN μεταξύ των τυριών (Α,Β,Γ), το Σχήμα 3 σχεδιάστηκε χρησιμοποιώντας τους μέσους όρους των υπολειμματικών α_{s1} - και β -CN των τριών τυριών σε κάθε ηλικία εξέτασης. Είναι φανερό από το σχήμα αυτό, ότι η ταχύτητα αποικοδόμησης των δύο καζεϊνών στα

Πίνακας 5. Υπολειμματικές α_{s1} - και β -καζεΐνες¹ τυριών Φέτα^{2,3} κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και διατήρησής τους.

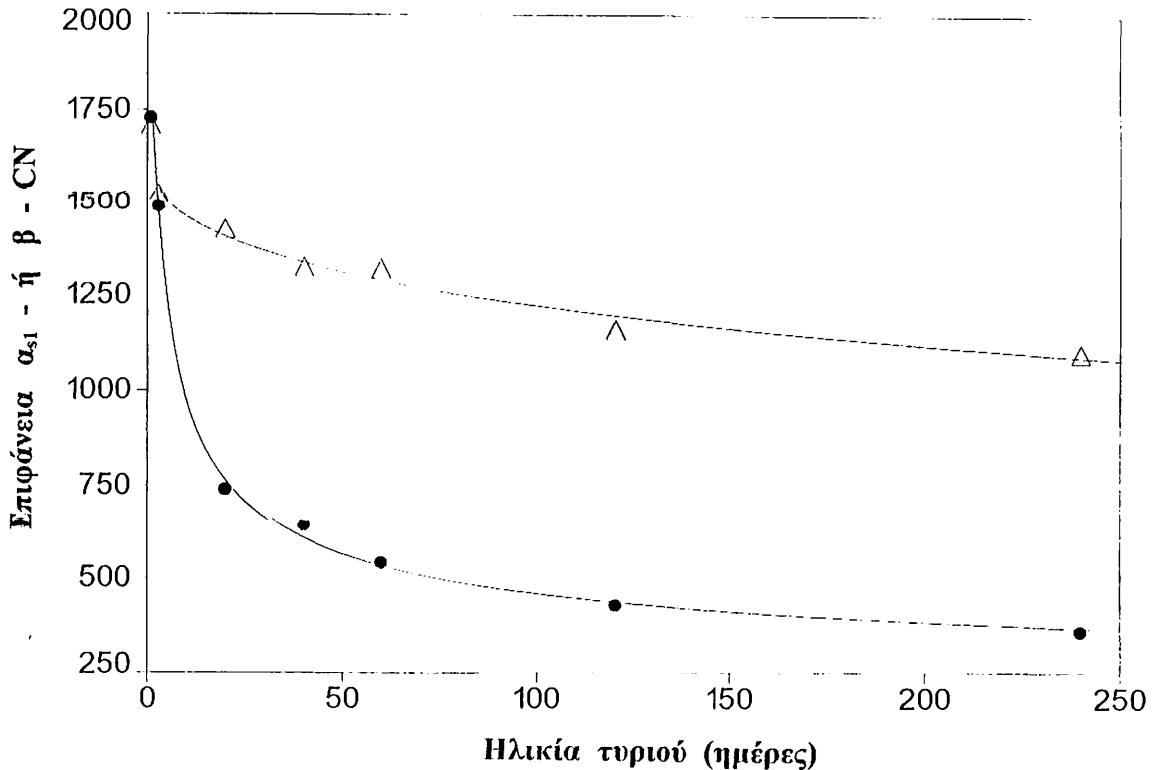
Ηλικία τυριού (ημέρες)	Υπολειμματική α_{s1} - καζεΐνη (%)			Υπολειμματική β - καζεΐνη (%)		
	A	B	Γ	A	B	Γ
3	85,00±0,69	90,53±2,94	82,03±2,21	87,11±0,17	90,59±3,03	90,36±2,12
20	47,33±1,83	42,18±4,90	38,99±1,26	81,61±2,96	86,03±0,50	82,26±0,43
40	38,76±2,93	37,42±4,50	34,93±1,73	80,50±2,78	77,37±6,02	74,42±3,24
60	30,26±1,25	33,34±6,73	30,37±1,19	74,10±0,10	78,63±0,51	78,80±0,31
120	25,61±1,84	22,59±4,36	26,02±3,27	66,96±3,19	68,92±5,90	71,13±3,94
240	20,57±1,23	18,62±0,79	23,18±0,65	66,67±2,84	64,15±5,01	62,25±2,47

¹ Εκφρασμένες ως ποσοστά της α_{s1} - ή β -καζεΐνης στο τυρί ηλικίας 1 ημέρας.

² Μέσοι όροι κάθε παραμέτρου στην ίδια σειρά χωρίς γράμματα δε διαφέρουν σημαντικά ($P>0.05$).

³ Μέσοι όροι \pm s.e. (τυπικό σφάλμα μέσου όρου) δύο δοκιμών.

⁴ A= τυρί αλατισμένο με NaCl (μάρτυρας), B= τυρί αλατισμένο με 3:1 (w/w) μείγμα NaCl:KCl, Γ= τυρί αλατισμένο με 1:1 (w/w) μείγμα NaCl:KCl.



Σχήμα 3. Αποικοδόμηση των καζεϊνών α_1 (●) και β (△) τυριών Φέτα κατά την ωρίμαση και διατήρησή τους.

τυριά ήταν διαφορετική. Η ταχύτητα αποικοδόμησης της α_1 -CN ήταν μεγάλη κατά το πρώτο στάδιο της ωρίμασης και στη συνέχεια μειωνόταν, ενώ η αποικοδόμηση της β -CN συγκριτικά ήταν πιο ομαλή.

Από τον Πίνακα 5 και το Σχήμα 3 φαίνεται, ότι ο χρόνος "ημιζωής" της α_1 -CN ήταν περίπου 20 ημέρες, ενώ μέχρι την ηλικία των 240 ημερών είχε υδρολυθεί περίπου το 80% αυτής (δηλαδή παρέμεινε άθικτο το 20%). Αντίθετα, μόνο το ~ 35% της β -CN είχε υδρολυθεί κατά την ίδια ηλικία. Τα ποσοστά υδρόλυσης των α_1 - και β -CN που βρέθηκαν στην παρούσα μελέτη ήταν μεγαλύτερα από εκείνα που αναφέρει η Μιχαηλίδου-Κονιόρδου (1997) για το ίδιο τυρί. Οι διαφορές αυτές θα μπορούσαν να

αποδοθούν στη διαφορετική τεχνολογία παρασκευής των τυριών που ακολουθήθηκε στις δύο μελέτες. Σε αυτό συνηγορεί το γεγονός, ότι η Μιχαηλίδου-Κονιόρδου (1997) βρήκε διαφορές μεταξύ των τεσσάρων πειραματικών τυριών της όσον αφορά τα ποσοστά υδρόλυσης των α_{s1} - και β -CN, τις οποίες απέδωσε στις διαφορετικές τεχνολογικές παραμέτρους (θέρμανση γάλακτος, είδος και ποσότητα καλλιέργειας, ποσότητα CaCl_2) παρασκευής των τυριών της, που συνετέλεσαν στη συγκράτηση μεγαλύτερου ή μικρότερου ποσοστού πυτιάς στο τυρόπηγμα. Οι προαναφερθείσες διαφορές οφείλονται, επίσης, στο γεγονός ότι στην παρούσα μελέτη, ως σημείο αναφοράς (100) για τον υπολογισμό των ποσοστών των υπολειμματικών α_{s1} - και β -καζεϊνών χρησιμοποιήθηκε η ένταση των ζωνών τους στην ηλικία της μιας ημέρας, ενώ η Μιχαηλίδου-Κονιόρδου (1997) χρησιμοποίησε την έντασή τους στην ηλικία των τεσσάρων ημερών, κατά την οποία οι καζεΐνες αυτές είχαν ήδη υδρολυθεί αρκετά.

Τα αποτελέσματα της παρούσης μελέτης, όσον αφορά στην υδρόλυση των α_{s1} - και β -CN, συμφωνούν σε μεγάλο βαθμό με τα αποτελέσματα άλλων ερευνητών για άλλα είδη τυριού. Για παράδειγμα, οι Basch και συν. (1989) αναφέρουν ότι ο χρόνος "ημιζωής" της α_{s1} -CN στο τυρί Cheddar ήταν 2 εβδομάδες, ενώ οι Lau και συν. (1991) βρήκαν ότι περίπου 85% των α_s -καζεϊνών στο ίδιο τυρί υδρολύθηκε εντός 6 μηνών. Επιπλέον, οι Visser και de Groot-Mostert (1977) αναφέρουν ότι ο χρόνος "ημιζωής" της β -CN στο τυρί Gouda ήταν 6 μήνες, ενώ οι Basch και συν. (1989) βρήκαν ότι η "ημιζωή" της στο τυρί Cheddar ήταν 37 εβδομάδες.

Η διαπίστωση στην παρούσα μελέτη ότι η αποικοδόμηση των α_{s1} -και β -CN ήταν παρόμοια στο μάρτυρα και τα πειραματικά τυριά, δηλαδή δεν επηρεάστηκε από το είδος του άλατος που χρησιμοποιήθηκε, βρίσκεται σε συμφωνία με τα

αποτελέσματα των Zorrilla και συν. (1996), οι οποίοι μελέτησαν την επίδραση της μερικής (1:1) υποκατάστασης του NaCl με KCl στην πρωτεόλυση του τυριού Fynbo χρησιμοποιώντας PAGE παρουσία ουρίας. Οι ερευνητές αυτοί βρήκαν παρόμοιες ηλεκτροφορητικές κατατομές για τυρί αλατισμένο με μείγμα (1:1) NaCl/KCl και για το τυρί μάρτυρα κατά τη διάρκεια της ωρίμασης, και συμπέραναν ότι η μερική υποκατάσταση του NaCl με KCl δεν επηρεάζει την κανονική πορεία της πρωτεόλυσης σ' αυτό το τυρί. Σε μία νεότερη μελέτη, οι Zorrilla και Rubiolo (1997) βρήκαν ότι η μερική (1:1) υποκατάσταση του NaCl με KCl δεν επηρεάζει τις κινητικές σταθερές της πρωτεόλυσης στο ίδιο τυρί (Fynbo). Επίσης, οι Rasmussen και Barbano (1987) μελέτησαν την επίδραση του KCl στην πρωτεόλυση του τυριού Cheddar χρησιμοποιώντας KCl αντί NaCl στο αλάτισμα του τυροπήγματος. Ηλεκτροφορητική ανάλυση των προϊόντων αποικοδόμησης των καζεϊνών των τυριών με NaCl ή KCl, έδειξε ότι δεν υπήρχαν μεγάλες διαφορές στην ποσότητα και στο είδος των προϊόντων αποικοδόμησης των καζεϊνών κατά τη διάρκεια ωρίμασης επί 4 μήνες, γεγονός που οδήγησε στο συμπέρασμα, ότι η πρωτεόλυση δεν επηρεάζεται από τη χρησιμοποίηση του KCl.

22.1.2.δ. Ανάλυση πεπτιδίων

Κλασικές τεχνικές διαχωρισμού, όπως η ηλεκτροφόρηση σε πηκτή πολυακρυλαμίδιου και η χρωματογραφία σε ανοικτές στήλες, χρησιμοποιούνται συχνά στη μελέτη της αποικοδόμησης των καζεϊνών σε πεπτίδια (Creamer 1975, 1976, de Jong 1975, Visser και de Croot-Mostert 1977, Shalabi και Fox 1987). Οι μέθοδοι αυτές, όμως, δεν είναι αποτελεσματικές στο να διαχωρίζουν πεπτίδια χαμηλού

μοριακού βάρους (Bican και Spahni 1993). Τα τελευταία χρόνια, η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης-αντίστροφης φάσης (RP-HPLC) χρησιμοποιείται ευρύτατα στο διαχωρισμό (στην ανάλυση) των πεπτιδίων, που παράγονται κατά την ωρίμαση των τυριών (Lau και συν. 1991, Bican και Spahni 1993, McSweeney και συν. 1993, Gonzalez de Llano και συν. 1995, Bastian και συν. 1997). Ο λόγος είναι ότι η μέθοδος αυτή έχει πολύ μεγαλύτερη διαχωριστική ικανότητα και είναι ακριβέστερη και ταχύτερη από τις προαναφερθείσες μεθόδους (Bican και Spahni 1993). Η ανάλυση των πεπτιδίων του υδατικού εκχυλίσματος του τυριού με RP-HPLC μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης ωρίμασης και ανάπτυξης του αρώματός του (Rank και συν. 1985, Gonzalez de Llano και συν. 1995). Στην παρούσα μελέτη η RP-HPLC χρησιμοποιήθηκε για να μελετηθεί η πεπτιδική κατατομή των τυριών.

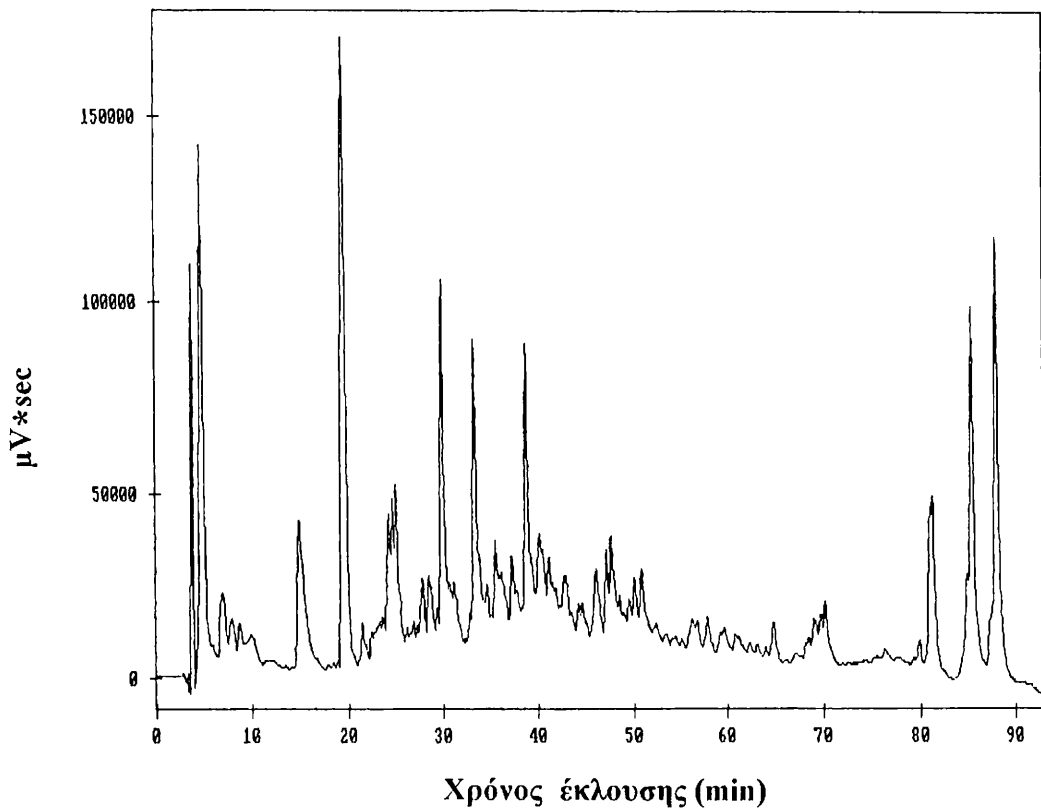
Ένα τυπικό χρωματογράφημα RP-HPLC υδατικού εκχυλίσματος ώριμου τυριού Φέτα παρουσιάζεται στο Σχήμα 4. Το χρωματογράφημα αυτό είναι παρόμοιο με εκείνο που βρήκαν οι Michaelidou και συν. (1998), οι οποίοι απομόνωσαν τα πεπτίδια από το υδατικό εκχύλισμα ώριμου τυριού Φέτα και ταυτοποίησαν τα σημαντικότερα από αυτά. Με βάση την παραπάνω εργασία, πιστεύεται ότι οι κορυφές που εκλούστηκαν στα 19,2 και 24,6 min ήταν τα αμινοξέα τυροσίνη και φαινυλαλανίνη, αντίστοιχα, ενώ οι κορυφές που εκλούστηκαν μεταξύ 30 και 50 min αντιστοιχούσαν σε πεπτίδια που προέρχονταν κυρίως από την αποικοδόμηση των α_1 - και β - καζεϊνών. Οι κορυφές που εκλούστηκαν στα ~70 min αντιστοιχούν σε προϊόντα υδρόλυσης της β -CN, ενώ οι κορυφές που εκλούστηκαν στα 81,1 και 87,7 min αντιστοιχούν στην α -La και β -Lg, αντίστοιχα. Όσον αφορά στην κορυφή που εκλούστηκε στα 85,4 min η ταυτότητά της δε διαπιστώθηκε από τους παραπάνω

ερευνητές με βεβαιότητα, αλλά από τα αποτελέσματά τους διαφάνηκε ότι μπορεί να είναι μια γενετική παραλλαγή της β-Lg του πρόβειου γάλακτος.

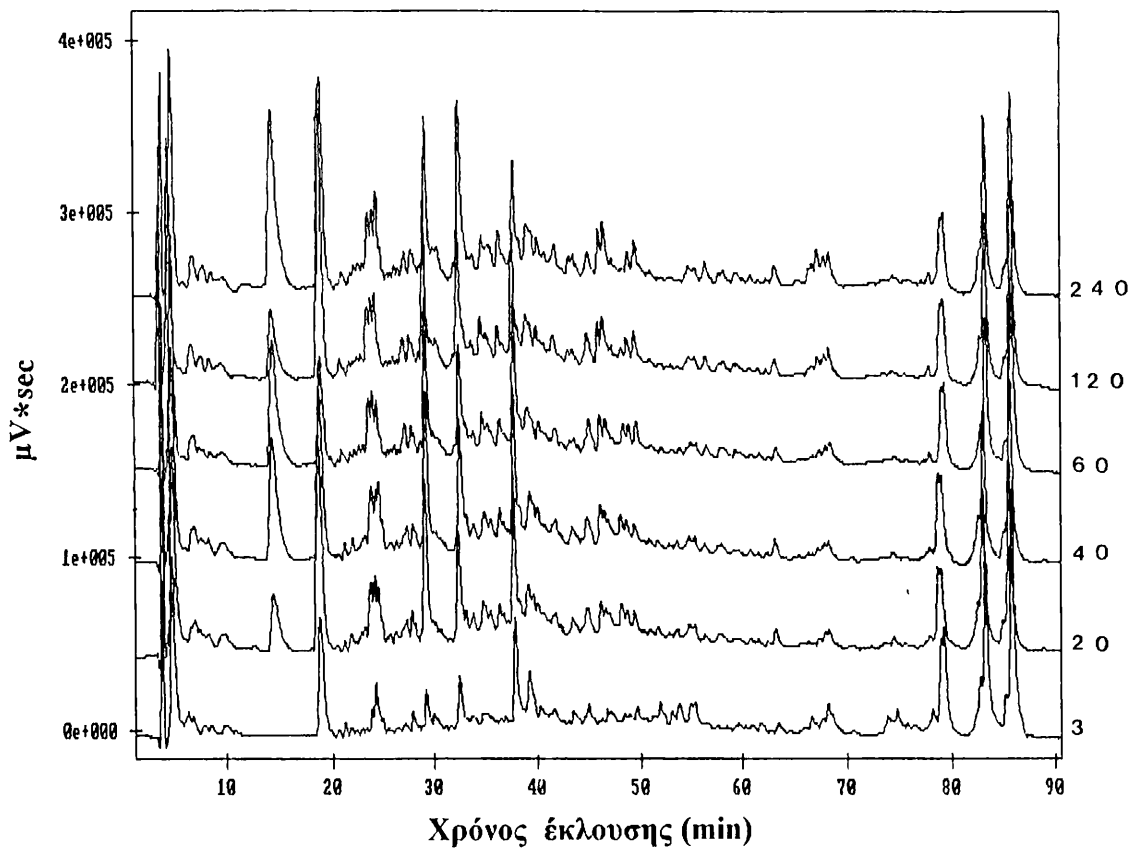
Το Σχήμα 5 απεικονίζει τις πεπτιδικές κατατομές τυριού Φέτα, που αλατίστηκε με 3:1 μείγμα NaCl/KCl, κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και διατήρησής του, χρησιμοποιώντας απορρόφηση στα 214 nm για ανίχνευση. Σ' αυτό το μήκος κύματος απορροφούν τα αρωματικά αμινοξέα και οι πεπτιδικοί δεσμοί (Lau και συν. 1991).

Όπως φαίνεται, καθώς η ηλικία του τυριού αύξανε, εμφανίστηκαν νέες κορυφές και αυξήθηκαν ή μειώθηκαν σε μέγεθος κορυφές που υπήρχαν στο αρχικό στάδιο της ωρίμασης. Έτσι, εμφανίστηκαν νέες κορυφές και αυξήθηκαν σε μέγεθος οι υπάρχουσες κορυφές που αντιστοιχούν στα αμινοξέα και στα υδρόφιλα προϊόντα αποικοδόμησης των καζεϊνών, κυρίως της α_{s1} -CN. Όσον αφορά στις κορυφές που αντιστοιχούν στις πρωτεΐνες του ορού, παρατηρήθηκε μείωση του μεγέθους τους με την αύξηση της ηλικίας του τυριού. Παρόμοια τάση αναφέρθηκε από τους Michaelidou και συν. (1998) για το ίδιο τυρί και αποδόθηκε στη διάχυση των πρωτεϊνών του ορού στην άλμη στην οποία η Φέτα ωριμάζει και διατηρείται.

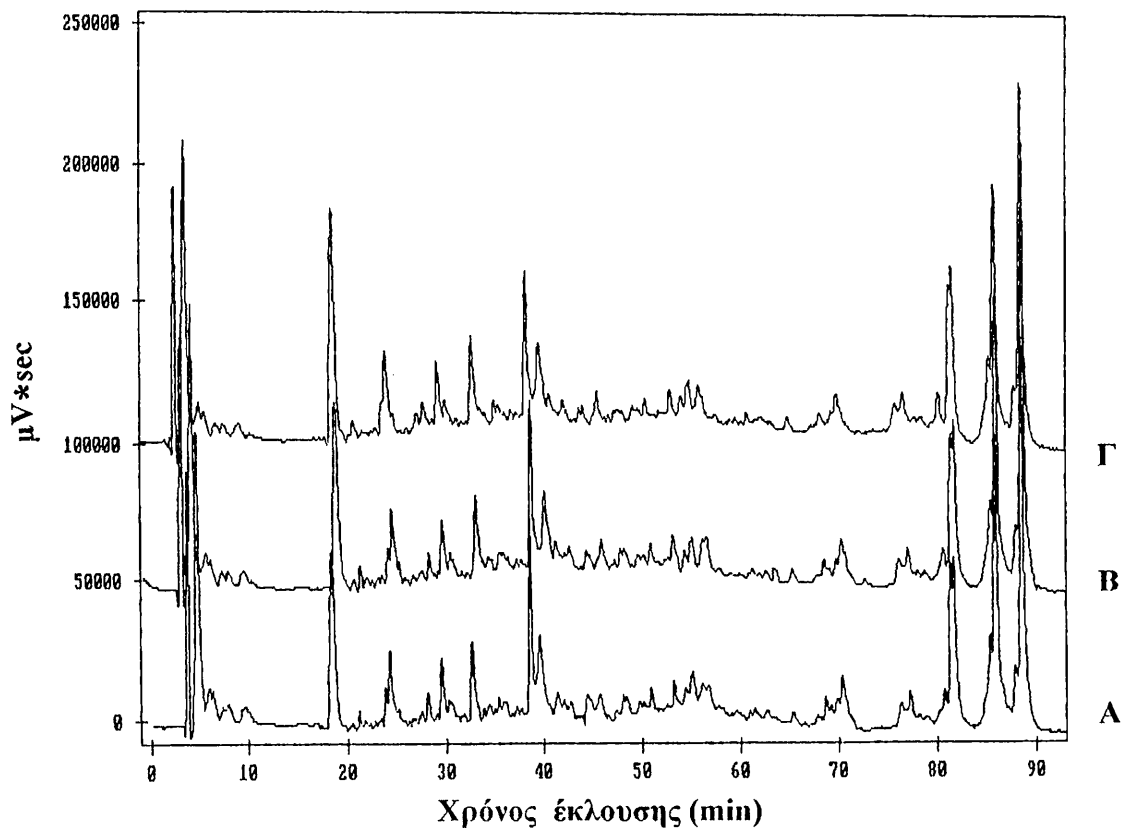
Χρωματογραφήματα RP-HPLC υδατικών εκχυλισμάτων από τυριά Φέτα, που αλατίστηκαν με NaCl ή μείγματα (3:1, 1:1) NaCl/KCl, ηλικίας 3, 60 και 240 ημερών, παρουσιάζονται στα Σχήματα 6, 7 και 8, αντίστοιχα. Όπως φαίνεται, οι πεπτιδικές κατατομές του μάρτυρα και των πειραματικών τυριών ήταν παρόμοιες και στις τρεις ηλικίες εξέτασης, γεγονός που δείχνει ότι η πεπτιδόλυση στα τυριά αυτά δεν επηρεάστηκε από το είδος του άλατος που χρησιμοποιήθηκε στην παρασκευή τους. Προκειμένου να γίνει ποσοτική σύγκριση των πεπτιδικών κατατομών των τυριών σε διάφορες ηλικίες, κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και διατήρησής τους, τα



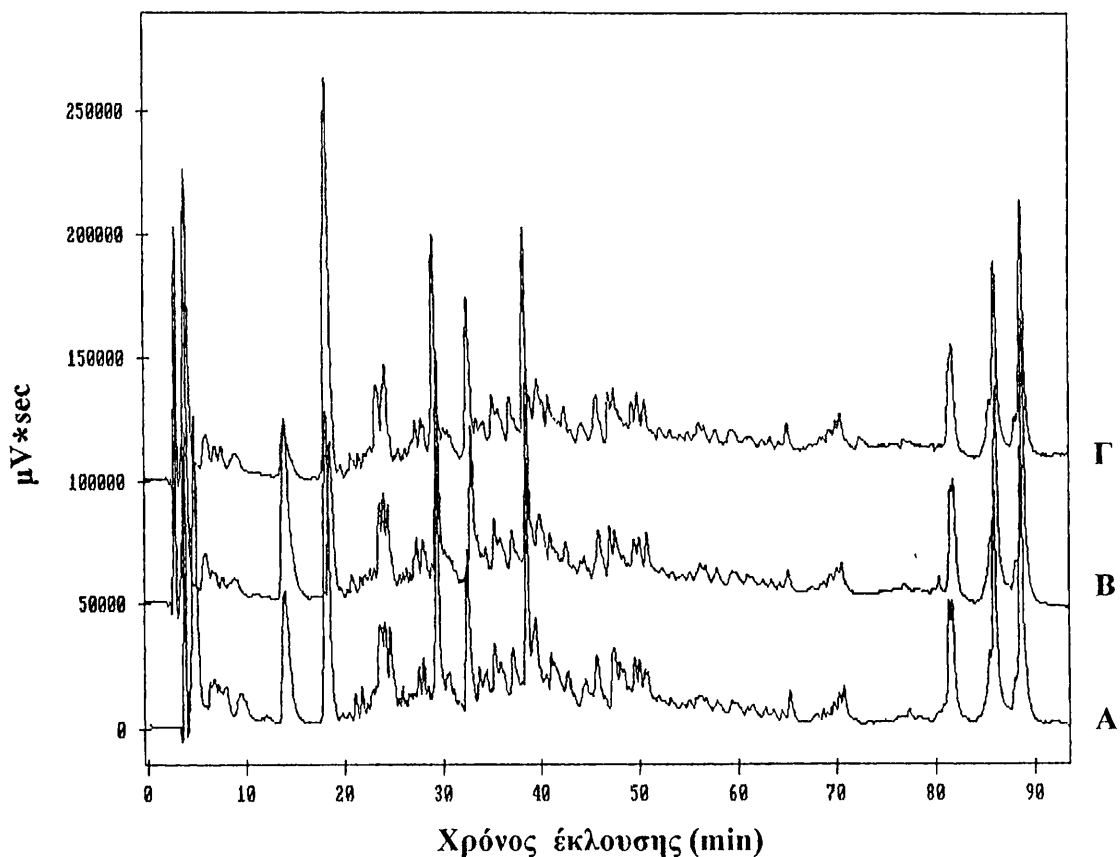
Σχήμα 4. Χρωματογράφημα RP-HPLC υδατικού εκχυλίσματος ώριμης Φέτας (ηλικίας 120 ημερών). Ανίχνευση στα 214 nm.



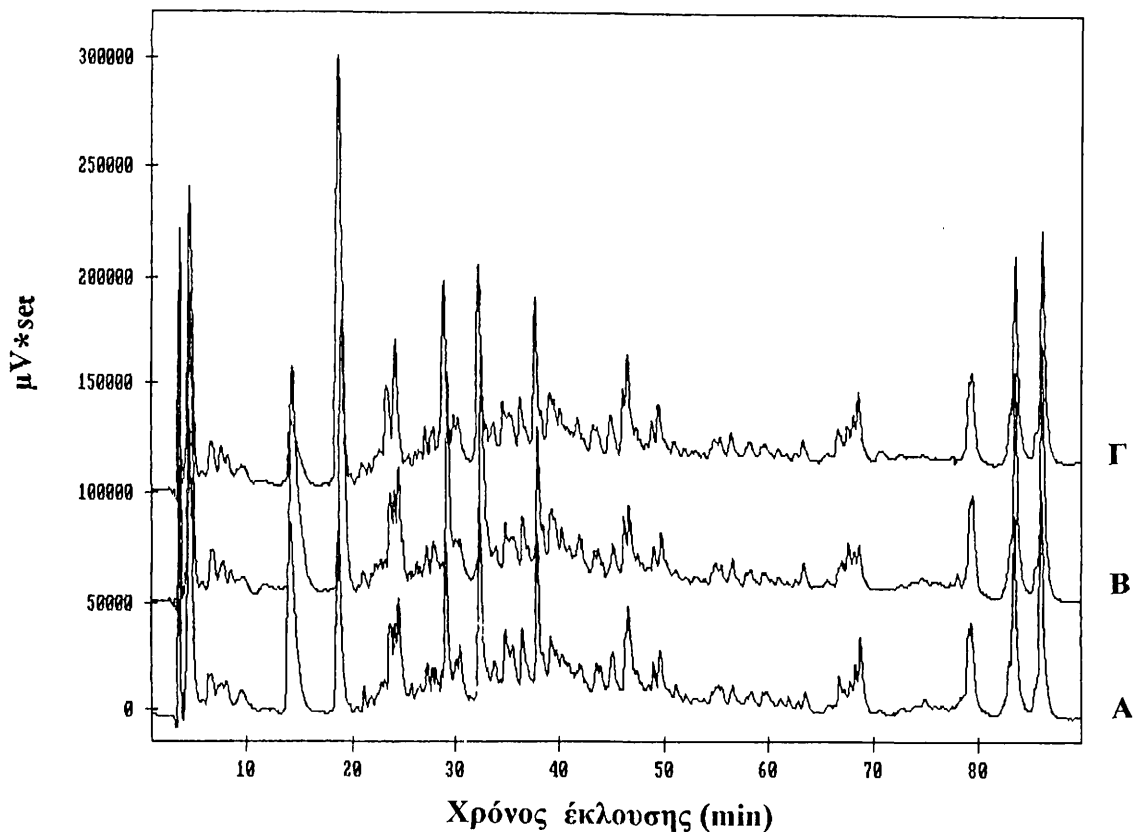
Σχήμα 5. Χρωματογραφήματα RP-HPLC υδατικού εκχυλίσματος τυριού Φέτα, που αλατίστηκε με 3:1 μείγμα NaCl:KCl, σε διάφορες ηλικίες. 3, 20, 40, 60, 120, και 240 : ηλικία δείγματος (ημέρες). Ανίχνευση στα 214 nm.



Σχήμα 6. Χρωματογραφήματα RP-HPLC υδατικών εκχυλισμάτων τυριών Φέτα, που αλατίστηκαν με NaCl (A), 3:1 μείγμα NaCl:KCl (B), ή 1:1 μείγμα NaCl:KCl (Γ), ηλικίας 3 ημερών. Ανίχνευση στα 214 nm.



Σχήμα 7. Χρωματογραφήματα RP-HPLC υδατικών εκχυλισμάτων τυριών Φέτα, που αλατίστηκαν με NaCl (A), 3:1 μείγμα NaCl:KCl (B), ή 1:1 μείγμα NaCl:KCl (Γ), ηλικίας 60 ημερών. Ανίχνευση στα 214 nm.



Σχήμα 8. Χρωματογραφήματα RP-HPLC υδατικών εκχυλισμάτων τυριών Φέτα, που αλατίστηκαν με NaCl (A), 3:1 μείγμα NaCl:KCl (B), ή 1:1 μείγμα NaCl:KCl (Γ), ηλικίας 240 ημερών. Ανίχνευση στα 214 nm.

χρωματογραφήματα των υδατικών εκχυλισμάτων τους χωρίστηκαν σε δύο περιοχές με κριτήριο το χρόνο έκλουσης των κορυφών (Σχήμα 4). Η πρώτη περιοχή των "υδρόφιλων πεπτιδίων" περιλαμβάνει τις κορυφές, που εκλούστηκαν μεταξύ 13 και 65 min. Η δεύτερη περιοχή των "υδρόφοβων πεπτιδίων" περιλαμβάνει τις κορυφές, που εκλούστηκαν μεταξύ 65 και 92 min. Πρέπει να σημειωθεί ότι η περιοχή με χρόνους έκλουσης από 0 έως 13 min περιλαμβάνει κυρίως ελεύθερα αμινοξέα και δε μελετήθηκε. Ο λόγος των υδρόφοβων προς τα υδρόφιλα πεπτίδια (HO/ΠΙ) υπολογίστηκε διαιρώντας τη συνολική επιφάνεια των κορυφών στην περιοχή των

υδρόφοβων πεπτιδίων με τη συνολική επιφάνεια των κορυφών στην περιοχή των υδρόφιλων πεπτιδίων. Οι συγκεντρώσεις των υδρόφοβων (HO) και των υδρόφιλων (HI) πεπτιδίων και οι λόγοι τους (HO/HI) στα υδατικά εκχυλίσματα τυριών Φέτα, που αλατίστηκαν με NaCl ή μείγματα NaCl/KCl, κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και διατήρησής τους, δίνονται στον Πίνακα 6. Όπως φαίνεται, καθώς η ηλικία των τυριών αυξανόταν, τα υδρόφοβα πεπτιδία στο υδατικό εκχύλισμα των τυριών μειώνονταν, ενώ τα υδρόφιλα πεπτιδία αυξάνονταν. Η μεγάλη μείωση των υδρόφοβων πεπτιδίων και η ταυτόχρονη αύξηση των υδρόφιλων πεπτιδίων που παρατηρήθηκε μεταξύ 3 και 20 ημερών θα πρέπει να αποδοθούν, κυρίως, στην αποικοδόμηση υδατοδιαλυτών υδρόφοβων πεπτιδίων και στο σχηματισμό υδρόφιλων πεπτιδίων (Cliffe και συν. 1989, Engels και Visser 1994), καθώς επίσης και πολύ υδρόφοβων πεπτιδίων, τα οποία δεν ήταν πλέον υδατοδιαλυτά (Lau και συν. 1991, Picon και συν. 1994). Μία άλλη αιτία της μείωσης της έκτασης της περιοχής των υδρόφοβων πεπτιδίων ήταν και η διαφυγή των πρωτεϊνών του ορού στην άλμη (Michaelidou και συν. 1998). Όπως φαίνεται από τον Πίνακα 6, δεν υπήρχαν σημαντικές ($P > 0.05$) διαφορές στις συγκεντρώσεις των υδρόφοβων και των υδρόφιλων πεπτιδίων και στους λόγους τους μεταξύ του μάρτυρα και των πειραματικών τυριών σε όλες τις ηλικίες εξέτασης.

Ο λόγος HO/HI στα υδατικά εκχυλίσματα των τυριών μειώθηκε απότομα μεταξύ 3 και 20 ημερών, βαθμηδόν μέχρι τις 120 ημέρες και στη συνέχεια παρέμεινε σταθερός (Πίνακας 6). Η τάση αυτή φαίνεται επίσης και στο Σχήμα 9 που απεικονίζει γραφικά τη μεταβολή του λόγου HO/HI στα τυριά Φέτα σε συνάρτηση με την ηλικία τους. Επειδή, όπως προαναφέρθηκε, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές ($P > 0.05$) διαφορές στους λόγους HO/HI μεταξύ των τυριών, το Σχήμα 9 σχεδιάστηκε

Πίνακας 6. Υδρόφοβα (HO) και υδρόφιλα (HI) πεπτιδια¹ και ο λόγος τους (HO/HI) στο υδατικό εκχύλισμα τυριών Φέτα^{2,3} κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και διατήρησής τους, προσδιορισμένα με RP-HPLC στα 214 nm.

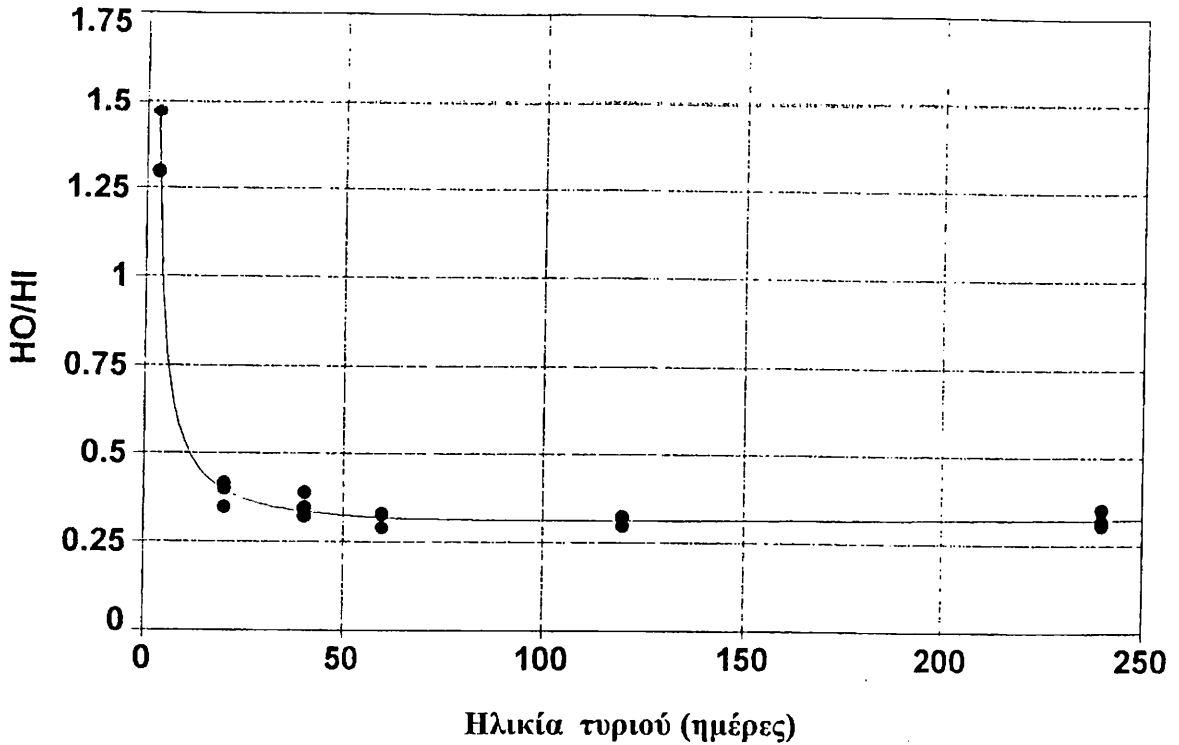
Ηλικία τυριού (ημέρες)	HO (% TA)			HI (% TA)			HO / HI		
	A	B	Γ	A	B	Γ	A	B	Γ
3	48,30	46,44	46,84	36,24	38,90	38,54	1,33	1,19	1,22
20	25,39	23,08	24,88	61,51	66,90	63,66	0,41	0,35	0,39
40	24,53	22,53	21,62	64,48	66,35	67,03	0,38	0,34	0,32
60	21,47	19,94	21,66	65,53	68,89	66,14	0,33	0,29	0,33
120	21,36	20,09	20,24	66,56	67,93	68,46	0,32	0,30	0,30
240	22,64	21,41	20,71	64,95	67,47	68,44	0,35	0,32	0,30

¹ Εκφρασμένα ως ποσοστά της συνολικής επιφάνειας (TA) των χρωματογραφημάτων.

² Μέσοι όροι σε κάθε σειρά χωρίς γράμματα δε διαφέρουν σημαντικά (P>0.05).

³ Μέσοι όροι δύο δοκιμών.

⁴ A= τυρί αλατισμένο με NaCl (μάρτυρας), B= τυρί αλατισμένο με 3:1 (w/w) μείγμα NaCl:KCl, Γ= τυρί αλατισμένο με 1:1 (w/w) μείγμα NaCl:KCl.



Σχήμα 9. Μεταβολή του λόγου "υδρόφοβη" / "υδρόφιλη" επιφάνεια (HO/HI) του χρωματογραφήματος RP-HPLC υδατικού εκχυλίσματος τυριού Φέτα κατά την ωρίμαση και διατήρησή του.

χρησιμοποιώντας το μέσο όρο των λόγων HO/HI των τριών τυριών σε κάθε ηλικία εξέτασης. Είναι φανερό από το Σχήμα 9, ότι ο λόγος HO/HI των τυριών μειωνόταν με την αύξηση της ηλικίας τους και μάλιστα πολύ έντονα στο αρχικό στάδιο. Μία συνεχής μείωση του λόγου HO/HI, κατά τη διάρκεια της ωρίμασης, στα υδατικά εκχυλίσματα τυριών Cheddar, από νωπό ή παστεριωμένο γάλα, και τυριών Afuega'l Pitu (λευκού και κόκκινου) αναφέρεται από τους Lau και συν. (1991) και Gonzalez de Llano και συν. (1995), αντίστοιχα.

Από τον Πίνακα 6 φαίνεται, ότι στην ηλικία των 3 ημερών, ο λόγος HO/HI ήταν μεγαλύτερος από 1. Αυτό σημαίνει ότι η συγκέντρωση των υδρόφοβων πεπτιδίων

που αρχικά υπήρχαν στα τυριά ήταν μεγαλύτερη από τη συγκέντρωση των υδρόφιλων πεπτιδίων. Στη συνέχεια, η παραγωγή υδρόφιλων πεπτιδίων στα τυριά αυξήθηκε, σε αντίθεση με την αυξημένη αποικοδόμηση των υδρόφοβων πεπτιδίων. Ως αποτέλεσμα, ο λόγος HO/HI ήταν μικρότερος από 1 σε όλες τις άλλες ηλικίες εξέτασης. Ο λόγος HO/HI (0,33), που βρέθηκε στο τυρί μάρτυρα ηλικίας 60 ημερών στην παρούσα μελέτη, ήταν σχετικά συγκρίσιμος με αυτούς, που βρήκαν οι Gonzalez de Llano και συν. (1995) για λευκό (0,48) και κόκκινο (0,61) τυρί Afuega'l Pitu της ίδιας ηλικίας (60 ημερών) και χαμηλότερος από εκείνους (1,41 και 1,67), που βρήκαν οι Lau και συν. (1991) για τυρί Cheddar, από νωπό ή παστεριωμένο γάλα, ηλικίας 90 ημερών.

22. 1.2.ε. Ελεύθερα αμινοξέα

Η υδρόλυση των καζεϊνών από τη συνδυασμένη δράση των πρωτεϊνολυτικών και πεπτιδολυτικών στο τυρί οδηγεί στην παραγωγή ελεύθερων αμινοξέων (FAA) τα οποία θεωρούνται ότι είναι σημαντικές ενώσεις αρώματος σε πολλά τυριά (McSweeney και Fox 1997). Επιπλέον, πτητικές ενώσεις (π.χ. αλδεΐδες, κετόνες, λιπαρά οξέα βραχείας αλυσίδας και αλκοόλες), που σχηματίζονται από τα αμινοξέα με αποκαρβοξυλίωση, απαμίνωση, τρανσαμίνωση και άλλους μετασχηματισμούς, μπορούν να έχουν σημαντική συμβολή στο άρωμα του τυριού (Urbach 1993, Fox και συν. 1995a). Η χρησιμότητα μιας ανάλυσης FAA, ως δείκτη του βαθμού πρωτεόλυσης στο τυρί ανεξάρτητα από την ηλικία του, έχει επιβεβαιωθεί από τον Innocente (1997). Έτσι, η ανάλυση των FAA χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα εργασία για να μελετηθεί το βάθος της πρωτεόλυσης των τυριών. Ο Πίνακας 7 δίνει τις συγκεντρώσεις των επιμέρους FAA σε τυριά Φέτα αλατισμένα με NaCl ή μείγματα NaCl/KCl κατά τη διάρκεια της

ωρίμασης και διατήρησής τους. Η σερίνη-γλουταμίνη-ασπαραγίνη, η λευκίνη και η βαλίνη ήταν τα σημαντικότερα FAA σε όλα τα τυριά καθ' όλη τη διάρκεια της μελέτης. Οι Alichanidis και συν. (1984) ανέφεραν ότι η λευκίνη και η βαλίνη ήταν μεταξύ των σημαντικότερων FAA σε τυρί Φέτα (μάρτυρα), που παρασκευάστηκε χρησιμοποιώντας πυτιά μοσχαριού. Κατά τη διάρκεια της ωρίμασης του τυριού, ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα αμινοξέα α- και γ- αμινοβουτυρικό οξύ, η ορνιθίνη και η κιτρουλλίνη, τα οποία δεν προέρχονται από την καζεΐνη, αλλά συσσωρεύονται ως μεταβολικά προϊόντα μικροοργανισμών (Bütikofer 1996). Το γλουταμινικό οξύ είναι η πρόδρομη ουσία για το α- και το γ-αμινοβουτυρικό οξύ και η αργινίνη για την ορνιθίνη και την κιτρουλλίνη (Bütikofer και Fuchs 1997). Το γ-αμινοβουτυρικό οξύ ήταν ποσοτικά το τέταρτο FAA σε όλα τα τυριά ηλικίας 40-240 ημερών (Πίνακας 7). Το οξύ αυτό, καθώς επίσης, και η ορνιθίνη, η οποία βρισκόταν στα τυριά σε σχετικά υψηλά επίπεδα, γενικά αυξάνονταν καθ' όλη τη διάρκεια της μελέτης. Από την άλλη πλευρά, η κιτρουλλίνη γενικά απουσίαζε από τα τυριά, ενώ το α-αμινοβουτυρικό οξύ υπήρχε σε χαμηλές συγκεντρώσεις σε όλα τα τυριά και παρέμενε σταθερό καθ' όλη τη διάρκεια της μελέτης. Όπως φαίνεται από τον Πίνακα 7, οι συγκεντρώσεις όλων των επιμέρους FAA στο μάρτυρα και τα πειραματικά τυριά ήταν παρόμοιες ($P > 0.05$) σε όλες τις ηλικίες εξέτασης.

Η ολική συγκέντρωση των FAA αυξανόταν σε όλα τα τυριά, καθ' όλη τη διάρκεια της ωρίμασης και διατήρησης, με εξαίρεση τις 60 ημέρες. Ο ρυθμός αύξησης ήταν πολύ έντονος τις πρώτες 20 ημέρες (Πίνακας 7). Παρόμοια τάση παρατηρήθηκε από τους Azarnia και συν. (1997) κατά τη διάρκεια της ωρίμασης ενός Ιρανικού τυριού άλμης (τύπου Φέτα). Οι ερευνητές αυτοί υπέθεσαν ότι η μείωση της συνολικής

Πίνακας 7. Ελεύθερα αμινοξέα (μmol/g) τυριών Φέτα^{1,2} κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και διατήρησής τους.

Αμινοξύ	Ηλικία τυριού (η μέρες)																	
	3			20			40			60			120			240		
	A	B	Γ	A	B	Γ	A	B	Γ	A	B	Γ	A	B	Γ	A	B	Γ
Ασπαρσινικό οξύ	0,19	0,22	0,22	0,45	0,51	0,51	0,53	0,43	0,48	0,44	0,56	0,54	0,64	0,59	0,57	0,57	0,76	0,91
Θρεονίνη	0,10	0,11	0,12	0,35	0,38	0,38	0,40	0,46	0,43	0,37	0,40	0,39	0,55	0,55	0,53	0,59	0,67	0,64
Σερίνη - Γλουταμίνη - Ασπαράγινη	0,67	0,76	0,79	1,97	2,13	2,18	2,61	2,92	2,79	2,47	2,67	2,54	3,24	3,10	3,10	3,41	3,62	3,63
Γλουταμινικό οξύ	0,31	0,35	0,36	1,01	1,28	1,18	0,99	1,28	1,09	1,03	1,44	0,74	1,40	1,36	1,33	1,35	1,65	2,27
Κιτρουλλίνη	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00
Γλοκίνη	0,09	0,10	0,09	0,50	0,52	0,53	0,50	0,62	0,58	0,49	0,58	0,59	0,72	0,73	0,68	0,82	0,93	0,96
Αλανίνη	0,30	0,37	0,36	0,99	1,02	1,02	1,04	1,39	1,25	1,10	1,06	1,15	1,41	1,46	1,42	1,83	1,81	1,73
α-Αμινοβοτυρικό οξύ- Κροταΐνη	0,01	0,07	0,05	0,07	0,07	0,07	0,03	0,06	0,07	0,02	0,07	0,11	0,03	0,05	0,06	0,07	0,05	0,12
Βαλίνη	0,42	0,47	0,49	1,57	1,71	1,61	1,76	2,12	2,00	1,55	1,86	1,83	2,06	2,08	1,99	2,03	2,24	2,36
Μεθειονίνη	0,07	0,08	0,08	0,35	0,41	0,39	0,32	0,44	0,35	0,35	0,40	0,43	0,52	0,51	0,50	0,70	0,75	0,79
Ισολευκίνη	0,15	0,20	0,19	0,72	0,78	0,76	0,76	0,93	0,80	0,68	0,81	0,75	0,91	0,96	0,91	0,99	1,12	1,07
Λευκίνη	0,45	0,55	0,56	1,76	1,97	1,96	2,51	2,84	2,80	2,55	2,67	2,70	2,94	3,00	2,90	3,21	3,42	3,50
Τυροσίνη -β- Αλανίνη	0,14	0,16	0,13	0,45	0,42	0,45	0,23	0,43	0,57	0,37	0,20	0,33	0,22	0,30	0,41	0,31	0,27	0,43
Φανυλαλανίνη	0,20	0,28	0,29	1,27	1,37	1,38	1,35	1,64	1,61	1,37	1,55	1,37	1,72	1,59	1,55	1,88	2,00	1,94
γ-Αμινοβοτυρικό οξύ	0,13	0,16	0,18	1,03	0,87	1,03	1,54	1,56	1,78	1,46	1,26	1,83	1,97	1,89	1,95	2,30	2,42	2,03
Ορνιθίνη	0,08	0,18	0,16	0,34	0,39	0,34	0,61	0,60	0,45	0,44	0,89	0,74	0,93	0,76	0,90	0,74	1,61	1,23
Λυσίνη	0,27	0,40	0,41	1,09	1,15	1,18	1,19	1,38	1,28	1,15	1,32	1,21	1,76	1,66	1,61	1,94	2,24	2,12
Ιστιδίνη	0,09	0,15	0,14	0,26	0,31	0,35	0,29	0,39	0,41	0,37	0,41	0,42	0,40	0,35	0,44	0,36	0,41	0,45
Θυροπροφάνη	0,00	0,02	0,02	0,03	0,05	0,06	0,02	0,01	0,02	0,03	0,01	0,05	0,00	0,03	0,05	0,02	0,08	0,13
Αργινίνη	0,25	0,31	0,33	1,11	1,05	1,03	0,86	1,10	1,23	1,03	0,58	0,70	0,89	0,97	0,85	1,18	0,34	0,71
Σύνολο	3,89	4,95	4,98	15,33	16,37	16,40	17,57	20,61	19,99	17,27	18,74	18,40	22,30	21,93	21,73	24,31	26,44	26,99

¹ Μέσοι όροι σε κάθε σειρά και στην ίδια ηλικία χωρίς γράμματα δε διαφέρουν σημαντικά (P>0,05).

² Μέσοι όροι τριών δοκιμών.

³ A=τυρί αλατισμένο με NaCl (μόρφωτος), B= τυρί αλατισμένο με 3:1 (w/w) μερίγμα NaCl:KCl, Γ= τυρί αλατισμένο με 1:1 (w/w) μερίγμα NaCl:KCl.

συγκέντρωσης των FAA θα μπορούσε να οφείλεται σε αντιδράσεις αποκαρβοξυλίωσης, απαμίνωσης και τρανσαμίνωσης, οι οποίες έχουν αναφερθεί από τους Puchades και συν. (1989). Δεν υπήρχαν σημαντικές ($P > 0.05$) διαφορές στη συνολική ποσότητα των FAA μεταξύ του μάρτυρα και των πειραματικών τυριών σε όλες τις ηλικίες εξέτασης, αν και τα πειραματικά τυριά γενικά είχαν ελαφρά μεγαλύτερες ποσότητες FAA (Πίνακας 7). Αυτό δείχνει, ότι το βάθος της πρωτεόλυσης ήταν παρόμοιο σε όλα τα τυριά. Έχει αναφερθεί, ότι οι πεπτιδάσες της καλλιέργειας εκκίνησης είναι κυρίως υπεύθυνες για το επίπεδο των FAA στο τυρί (Visser 1977, O’Keeffe και συν. 1978, Lane και Fox 1996). Επιπλέον, οι Reddy και Marth (1995a,b) αναφέρουν, ότι η μερική υποκατάσταση του NaCl με KCl δεν έχει σημαντική ($P > 0.05$) επίδραση στους πληθυσμούς και τα είδη των γαλακτικών βακτηρίων που αναπτύσσονται κατά τη διάρκεια της ωρίμασης του τυριού Cheddar. Επομένως, η διαπίστωση στην παρούσα μελέτη, ότι ο μάρτυρας και τα πειραματικά τυριά Φέτα είχαν παρόμοιες συγκεντρώσεις FAA θα μπορούσε να εξηγηθεί με βάση τα αποτελέσματα των παραπάνω μελετών.

22.1.3. Λιπόλυση

Ελεύθερα λιπαρά οξέα (FFA) συσσωρεύονται στο τυρί κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και διατήρησής του, ως αποτέλεσμα της δράσης των λιπασών, ιδιαίτερα εκείνων μικροβιακής προέλευσης και παίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη αρώματος σε πολλά είδη τυριών. Κατά τη διάρκεια της ωρίμασης του τυριού οι κύριες βιοχημικές διεργασίες που συμβάλλουν στο άρωμα, είναι η λιπόλυση, η πρωτεόλυση και η γλυκόλυση. Η λιπόλυση είναι ο κυριότερος από τους παράγοντες που

συμβάλουν στην παραγωγή FFA, σε σχέση με την υδρόλυση των πρωτεϊνών ή των υδατανθράκων (Ohren και Tuckey 1969, Dulley και Grieve 1974, Foda και συν. 1974).

Το επίπεδο της λιπόλυσης στα τυριά Φέτα, κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και διατήρησής τους, παρακολουθήθηκε με τη μέτρηση της τιμής οξύτητας του λίπους (ADV), η οποία είναι μέτρο του συνόλου των ελεύθερων λιπαρών οξέων, που υπάρχουν στο λίπος του τυριού. Επιπλέον, σε τυριά ηλικίας 40 και 120 ημερών έγινε προσδιορισμός της συγκέντρωσης ενός εκάστου των FFA.

Οι τιμές της ADV των τυριών δίνονται στον Πίνακα 8. Σε όλα τα τυριά, οι τιμές της ADV αυξάνονταν κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και διατήρησής τους. Οι τιμές της ADV στο μάρτυρα και στα πειραματικά τυριά ήταν παρόμοιες ($P>0.05$) σε όλες τις ηλικίες εξέτασης. Η διαπίστωση αυτή συμφωνεί με τα αποτελέσματα των Reddy και Marth (1993), οι οποίοι αναφέρουν μη σημαντικές ($P>0.05$) διαφορές στα επίπεδα του συνόλου των FFA (που είχαν προσδιορισθεί με τη μέθοδο copper soap) τυριών Cheddar, που παρασκευάστηκαν με NaCl, KCl ή μείγματα των δύο αυτών αλάτων. Αντίθετα, ο Aly (1995) βρήκε ότι οι συγκεντρώσεις του συνόλου των πτητικών λιπαρών οξέων (TVFA) αυξήθηκαν σημαντικά ($P<0.01$) σε τυρί τύπου Φέτα, που παρασκευάστηκε από υπερδιηθημένο γάλα, υποκαθιστώντας μερικά το NaCl με KCl.

Χρωματογραφικός διαχωρισμός των FFA (Σχήμα 10) επέτρεψε τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης όλων των κύριων FFA. Μολονότι το οξικό οξύ δεν παράγεται από τη λιπόλυση, συμπεριλήφθηκε στην παρούσα μελέτη επειδή εκχυλίζεται μαζί με τα FFA (Lesage και συν. 1993) και συμβάλλει πολύ στο τελικό άρωμα του τυριού Φέτα (Efthymiou 1967). Οι μέσες συγκεντρώσεις των επιμέρους

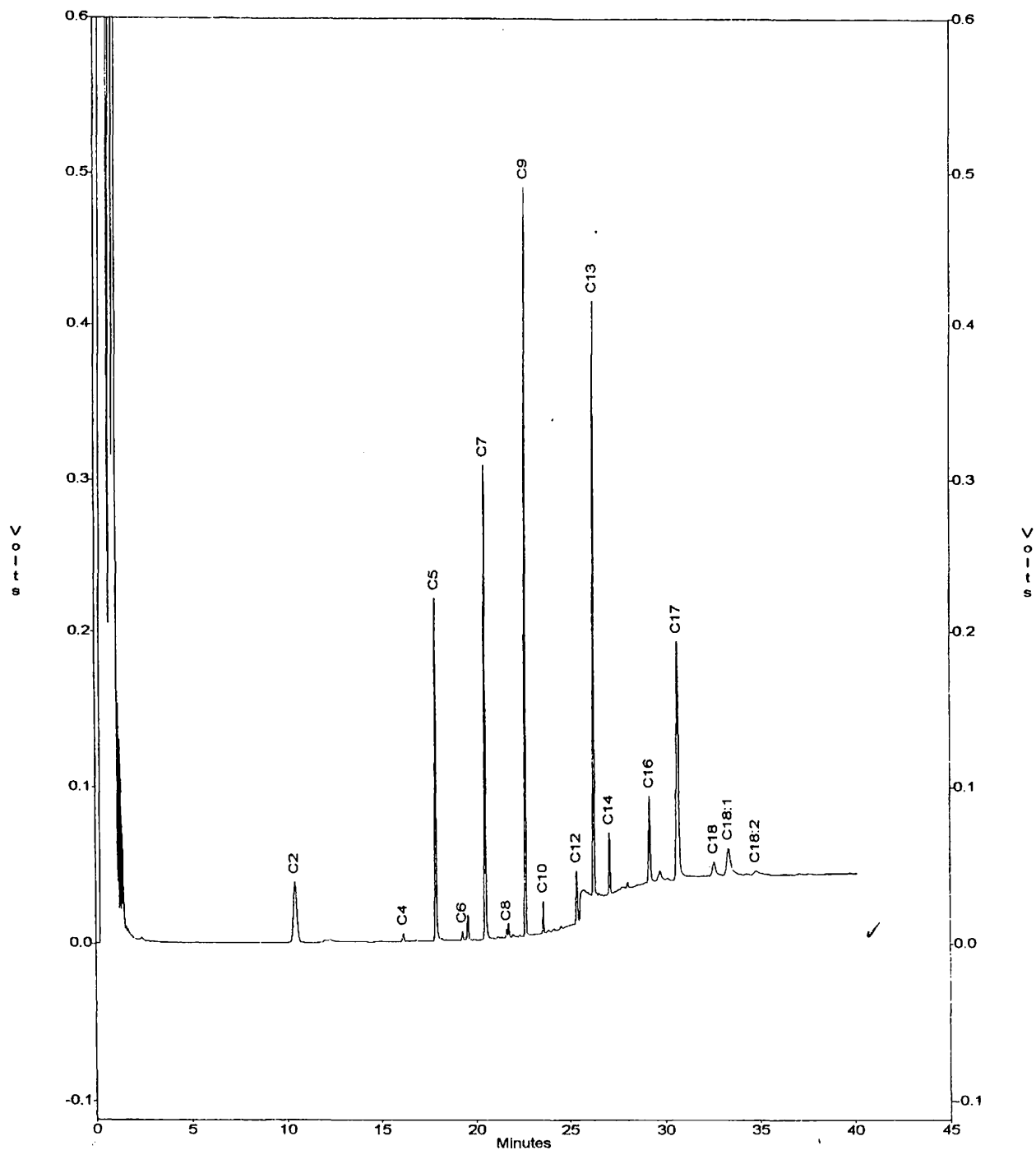
Πίνακας 8. Τιμή οξύτητας λίπους (meq KOH/100 g λίπους) τυριών Φέτα¹ κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και διατήρησής τους.

Ηλικία τυριού (ημέρες)	Τυρί ³		
	A	B	Γ
3	0,58	0,50	0,54
20	0,73	0,81	0,74
40	0,94	0,94	0,95
60	1,25	1,03	1,05
120	1,34	1,18	1,21
240	1,37	1,34	1,32

¹ Μέσοι όροι στην ίδια σειρά χωρίς γράμματα δε διαφέρουν σημαντικά (P>0.05).

² Μέσοι όροι πέντε δοκιμών.

³ A= τυρί αλατισμένο με NaCl (μάρτυρας), B= τυρί αλατισμένο με 3:1 (w/w) μείγμα NaCl:KCl, Γ= τυρί αλατισμένο με 1:1 (w/w) μείγμα NaCl:KCl.



Σχήμα 10. Αεριοχρωματογράφημα ελεύθερων λιπαρών οξέων εκχυλισθέντων από δείγμα τυριού Φέτα, που αλατίστηκε με 3:1 μείγμα NaCl: KCl, ηλικίας 120 ημερών. C5,C7,C9,C13,C17: εσωτερικά πρότυπα.

FFA στα τυριά Φέτα παρουσιάζονται στον Πίνακα 9. Το οξικό και παλμιτικό ήταν τα κυριότερα FFA, που βρέθηκαν σε όλα τα τυριά και στις δύο ηλικίες εξέτασης. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με τα αποτελέσματα των Vaforoulou και συν. (1989), που ανέφεραν ότι το οξικό και το παλμιτικό ήταν τα κυριότερα FFA βραχείας και μακράς αλυσίδας, αντίστοιχα, σε τυρί Φέτα, που αλατίστηκε με NaCl και εξετάστηκε στις ίδιες ηλικίες (40 και 120 ημέρες).

Ο Πίνακας 9 δείχνει επίσης ότι το τυρί μάρτυρας είχε μεγαλύτερη, αλλά όχι σημαντική ($P>0.05$), ποσότητα οξικού οξέος από τα πειραματικά τυριά στις 40 ημέρες, ενώ στις 120 ημέρες η τάση αυτή διατηρήθηκε, αν και οι διαφορές ελαχιστοποιήθηκαν. Πρέπει να σημειωθεί, ότι το οξικό οξύ παράγεται όχι μόνο από την ζύμωση της λακτόζης, αλλά και από τη διάσπαση των αμινοξέων αλανίνη και σερίνη (Hanspach 1981). Συνεπώς, οι μικρότερες ποσότητες οξικού οξέος στα πειραματικά τυριά σε σύγκριση με το τυρί μάρτυρα, που βρέθηκαν στην παρούσα μελέτη, θα μπορούσαν ίσως να αποδοθούν στο μικρότερο καταβολισμό της αλανίνης στα πειραματικά τυριά, όπως φαίνεται από τις ελαφρά μεγαλύτερες ποσότητες αλανίνης, που βρέθηκαν στα τυριά αυτά, ειδικότερα στις 40 ημέρες (Πίνακας 7). Το οξικό οξύ αποτελούσε το 40 - 44% του συνόλου των FFA σε όλα τα τυριά Φέτα. Το ποσοστό αυτό είναι συγκρίσιμο με εκείνα, που ανέφεραν άλλοι ερευνητές (Efthymiou 1967, Zerfiridis και Kristoffersen 1988) για το τυρί Φέτα. Ο Efthymiou (1967) βρήκε ότι το οξικό οξύ αποτελούσε το 28-43% όλων των FFA που υπήρχαν σε άγνωστης ηλικίας δείγματα τυριού Φέτα ήπιας οσμής και γεύσης, και οι Zerfiridis και Kristoffersen (1968) βρήκαν ένα ποσοστό 32% σε τυρί Φέτα ηλικίας 60 ημερών. Όμως, έχουν αναφερθεί (Alichanidis και συν. 1984, Vaforoulou και συν. 1989) και

χαμηλότερα ποσοστά (20-25%). Τα αποτελέσματα της παρούσης μελέτης, σχετικά με το ποσοστό του οξικού οξέος στο σύνολο των FFA, υποστηρίζουν τα αποτελέσματα του Efthymiou (1967) τα οποία έδειξαν τη σημασία του οξικού οξέος ως ενός σημαντικού λιπαρού οξέος και ως καθοριστικού παράγοντα της γεύσης και του αρώματος στο τυρί Φέτα. Ο ρόλος των FFA στον καθορισμό της ποιότητας και της έντασης της οσμής - γεύσης σε μη ταγγισμένο τυρί Φέτα είναι μάλλον περιορισμένος και πρόσθετοι παράγοντες, όπως η ολική οξύτητα και ο βαθμός διάσπασης της πρωτεΐνης, είναι επίσης σημαντικοί (Efthymiou 1967).

Τα επίπεδα του βουτυρικού, καπροϊκού, καπρυλικού και καπρικού οξέος ήταν χαμηλά σε όλα τα τυριά (Πίνακας 9), και αυτό είναι ένδειξη της χαμηλής λιπολυτικής ενεργότητας στα τυριά, που οφείλεται αποκλειστικά στους μικροοργανισμούς της καλλιέργειας, αφού δεν προστέθηκε λιπάση κατά τη διάρκεια της τυροκόμησης. Έτσι, δεν παρατηρήθηκε ταγγισμένη οσμή-γεύση. Οι Efthymiou και Mattiek (1964) ανέφεραν ότι η ταγγισμένη οσμή-γεύση στο τυρί Φέτα συσχετιζόταν με τα FFA από C₂ μέχρι C₁₀ και ότι απαράδεκτη ταγγισμένη οσμή-γεύση αναπτύχθηκε σε τυρί με υψηλά επίπεδα C₁₂ και ανώτερων λιπαρών οξέων.

Ο Πίνακας 9 δείχνει ότι δεν υπήρχαν ούτε ποιοτικές ούτε στατιστικά σημαντικές ($P>0.05$) ποσοτικές διαφορές στα επίπεδα ενός εκάστου FFA μεταξύ του μάρτυρα και των πειραματικών τυριών και στις δύο ηλικίες εξέτασης. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με εκείνα των Fitzgerald και Buckley (1985), οι οποίοι αναφέρουν ότι το προφίλ των FFA του τυριού Cheddar, που αλατίστηκε με 1:1 μείγμα NaCl/KCl, ήταν παρόμοιο με εκείνο του τυριού μάρτυρα που αλατίστηκε με μόνο NaCl, ενώ η ολική υποκατάσταση του NaCl με KCl αύξησε σημαντικά τη λιπόλυση.

Πίνακας 9. Ελεύθερα λιπαρά οξέα (mg/100g) τυριών Φέτα^{1,2} ηλικίας 40 και 120 ημερών.

Λιπαρό οξύ \ Τυρί ³		Ηλικία τυριού (ημέρες)					
		40			120		
		A	B	Γ	A	B	Γ
Οξικό	C ₂	67,17	58,57	56,57	69,95	65,41	66,92
Βουτυρικό	C ₄	9,09	9,09	9,09	9,60	9,60	9,09
Βαλερικό	C ₅	10,82	9,84	7,57	3,68	6,44	5,30
Καπροϊκό	C ₆	9,86	9,35	9,09	10,10	10,10	9,09
Καπρυλικό	C ₈	6,06	6,06	6,06	6,57	6,82	6,06
Καπρικό	C ₁₀	5,59	5,75	5,68	7,51	7,51	6,01
Λαυρικό	C ₁₂	8,10	7,59	7,43	9,35	8,60	9,75
Μυριστικό	C ₁₄	9,18	8,85	9,18	12,11	10,19	8,26
Παλμιτικό	C ₁₆	20,19	19,76	20,36	27,79	26,98	28,45
Στεατικό	C ₁₈	7,85	7,34	7,76	10,18	10,44	10,27
Ελαϊκό	C _{18:1}	6,50	5,13	5,38	5,13	4,50	4,88
Λινελαϊκό	C _{18:2}	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Σύνολο		160,91	147,83	144,67	172,47	167,09	164,58

¹ Μέσοι όροι σε κάθε σειρά και στην ίδια ηλικία χωρίς γράμματα δε διαφέρουν σημαντικά (P>0,05).

² Μέσοι όροι τριών δοκιμών.

³ A=τυρί αλατισμένο με NaCl (μάρτυρας), B= τυρί αλατισμένο με 3:1 (w/w) μείγμα NaCl:KCl, Γ= τυρί αλατισμένο με 1:1 (w/w) μείγμα NaCl:KCl.

Επίσης, οι Reddy και Marth (1993) ανέφεραν ότι δε βρήκαν ποιοτικές ή ποσοτικές διαφορές στα λιπαρά οξέα με άρτιο αριθμό ατόμων άνθρακα, που ελευθερώθηκαν ύστερα από ωρίμαση 36 εβδομάδων σε τυριά Cheddar αλατισμένα με NaCl, KCl ή μείγματα των δύο αυτών αλάτων. Όλα τα FFA αυξάνονταν ελαφρά μεταξύ 40 και 120 ημερών, με εξαίρεση το βαλερικό οξύ το οποίο μειωνόταν (Πίνακας 9).

Η ολική συγκέντρωση των FFA στο τυρί μάρτυρα ήταν 160,91 και 172,47 mg/100 g τυριού στις 40 και 120 ημέρες, αντίστοιχα (Πίνακας 9). Το σύνολο των FFA στα πειραματικά τυριά κυμάνθηκε από 147,83 έως 167,09 (B) και από 144,67 έως 164,58 (Γ) mg/100 g τυριού στις 40 και 120 ημέρες, αντίστοιχα. Επομένως, η συγκέντρωση του συνόλου των FFA στο τυρί μάρτυρα ήταν ελαφρά υψηλότερη από εκείνες των πειραματικών τυριών και στις δύο ηλικίες εξέτασης, και ιδιαίτερα στις 40 ημέρες. Παρόλα αυτά, οι διαφορές αυτές δεν ήταν σημαντικές ($P > 0.05$) και οφείλονταν κυρίως στη μεγαλύτερη ποσότητα οξικού οξέος που είχε το τυρί A σε σχέση με τα B και Γ. Τα αποτελέσματα αυτά βρίσκονται σε αντίθεση με εκείνα των Lindsay και συν. (1982) και Reddy και Marth (1993), οι οποίοι αναφέρουν ότι ώριμα τυριά Cheddar, που παρασκευάστηκαν με μείγματα NaCl/KCl, είχαν μεγαλύτερες ολικές συγκεντρώσεις FFA από τα τυριά που παρασκευάστηκαν με ανάλογα επίπεδα NaCl μόνο. Η συγκέντρωση του συνόλου των FFA στο τυρί μάρτυρα που βρέθηκε στην παρούσα μελέτη ήταν παραπλήσια εκείνης του τυριού Φέτα (μάρτυρα) που παρασκευάστηκε από τους Vaforoulou και συν. (1989), οι οποίοι ανέφεραν ότι το σύνολο των FFA ήταν 335,68 και 438,10 mg/100 g ξηρού τυριού στις 40 και 120 ημέρες, αντίστοιχα. Όταν οι τιμές αυτές αναχθούν σε mg/100 g τυριού (ως έχει) γίνονται 163,24 και 213,00, αντίστοιχα.

22.1.4. Οργανοληπτική εξέταση των τυριών

Τα αποτελέσματα της εκτίμησης της ποιότητας των τυριών στις 60, 120 και 240 ημέρες από την παρασκευή τους, από ομάδα εκπαιδευμένων δοκιμαστών, φαίνονται στον Πίνακα 10. Οι μέσες βαθμολογίες για την εμφάνιση, υφή-δομή, γεύση-οσμή και συνολική ποιότητα (συνολική βαθμολογία) των τυριών, που αλατίστηκαν με μείγματα NaCl/KCl, δε διαφέρουν σημαντικά ($P>0.05$) από εκείνες του τυριού μάρτυρα, σε όλες τις ηλικίες που μελετήθηκαν, αν και το τυρί μάρτυρας έλαβε ελαφρά υψηλότερες βαθμολογίες για τη γεύση απ' ό,τι τα πειραματικά τυριά. Το τυρί, που αλατίστηκε με μείγμα 3:1 NaCl/KCl, έλαβε, επίσης, λίγο υψηλότερη βαθμολογία για γεύση, από το τυρί που αλατίστηκε με μείγμα 1:1 NaCl/KCl. Μια ανάλογη τάση παρατηρήθηκε από τους Reddy και Marth (1994), Aly (1995) και Ramadan (1995) στις έρευνές τους σχετικά με την επίδραση της μερικής υποκατάστασης του NaCl με KCl στο άρωμα των τυριών Cheddar, Φέτα από υπερδηθημένο γάλα και Domiati, αντίστοιχα.

Οι Reddy και Marth (1994) αναφέρουν ότι μη εκπαιδευμένοι δοκιμαστές (καταναλωτές) δε διέκριναν αισθητές διαφορές στο άρωμα μεταξύ τυριού Cheddar, που περιείχε περίπου 1% NaCl και 0,5% KCl και του τυριού μάρτυρα, που περιείχε περίπου 1,5% NaCl. Όμως, όταν η συγκέντρωση του KCl αυξανόταν από 0,5 έως 1,0%, το τυρί βαθμιαία γινόταν λιγότερο αποδεκτό.

Ο Aly (1995) αναφέρει, ότι τυρί τύπου-Φέτα παρασκευασμένο με υπερδότηση, που περιείχε 1,5% NaCl και 0,5% KCl ή 1% NaCl και 1% KCl, είχε παρόμοιο άρωμα, δομή και ρεολογικές ιδιότητες με το τυρί μάρτυρα, που περιείχε 2% NaCl μόνο. Αντίθετα, οι βαθμολογίες για το άρωμα και την υφή-δομή των τυριών, που

Πίνακας 10. Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά τυριών Φέτα^{1,2} κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και διατήρησής τους.

Ηλικία τυριού (ημέρες)	Οργανοληπτικό χαρακτηριστικό	Τυρί ³		
		A	B	Γ
60	Εμφάνιση (10) ⁴	9,38±0,26	9,38±0,21	9,34±0,17
120		9,34±0,05	9,32±0,14	9,15±0,10
240		9,48±0,17	9,40±0,21	9,46±0,24
60	Δομή - Υφή (40) ⁴	36,76±1,07	36,32±0,90	36,88±0,74
120		36,51±0,69	36,28±0,36	36,03±0,23
240		35,92±0,27	36,64±0,47	35,84±0,95
60	Γεύση- Οσμή (50) ⁴	44,90±1,23	44,60±0,87	43,87±0,73
120		45,40±0,89	43,53±0,52	43,01±0,55
240		44,60±0,64	44,00±0,94	41,70±0,93
60	Σύνολο (100) ⁴	91,04±2,45	90,30±1,88	90,08±1,57
120		91,24±1,55	89,13±0,65	88,02±0,62
240		90,00±0,88	90,04±1,42	87,00±2,09

¹ Μέσοι όροι στην ίδια σειρά χωρίς γράμματα δε διαφέρουν σημαντικά (P>0.05).

² Μέσοι όροι ± s.e. (τυπικό σφάλμα μέσου όρου) πέντε δοκιμών.

³ A= τυρί αλατισμένο με NaCl (μάρτυρας), B= τυρί αλατισμένο με 3:1 (w/w) μείγμα NaCl:KCl, Γ= τυρί αλατισμένο με 1:1 (w/w) μείγμα NaCl:KCl.

⁴ Τιμές στις παρενθέσεις είναι οι μέγιστες δυνατές.

περιείχαν 0,5% NaCl και 1,5% KCl , ήταν σημαντικά ($P < 0.01$) χαμηλότερες από εκείνες των άλλων τυριών της μελέτης, και τούτο οφειλόταν στην ελαφρά λιγότερο αλμυρή και ελαφρά περισσότερο πικρή γεύση.

Ο Kamadan (1995) αναφέρει, ότι τυριά Domiati, που αλατίστηκαν σε ένα επίπεδο 5% με μείγμα 3:1 ή 1:1 NaCl/KCl , έλαβαν υψηλότερες βαθμολογίες για άρωμα και υφή-δομή από το τυρί μάρτυρα, ενώ σε ένα επίπεδο αλατίσματος 7,5% μόνο το τυρί, που αλατίστηκε με μείγμα 3:1 NaCl/KCl, έλαβε υψηλότερες βαθμολογίες για άρωμα και υφή-δομή από το τυρί μάρτυρα. Αντίθετα, το τυρί που αλατίστηκε με μείγμα 1:1 NaCl/KCl έλαβε σημαντικά χαμηλότερες βαθμολογίες για άρωμα και υφή-δομή από το τυρί μάρτυρα και είχε πικρή-μεταλλική γεύση, λιπαρή δομή και εύθρυπτη υφή.

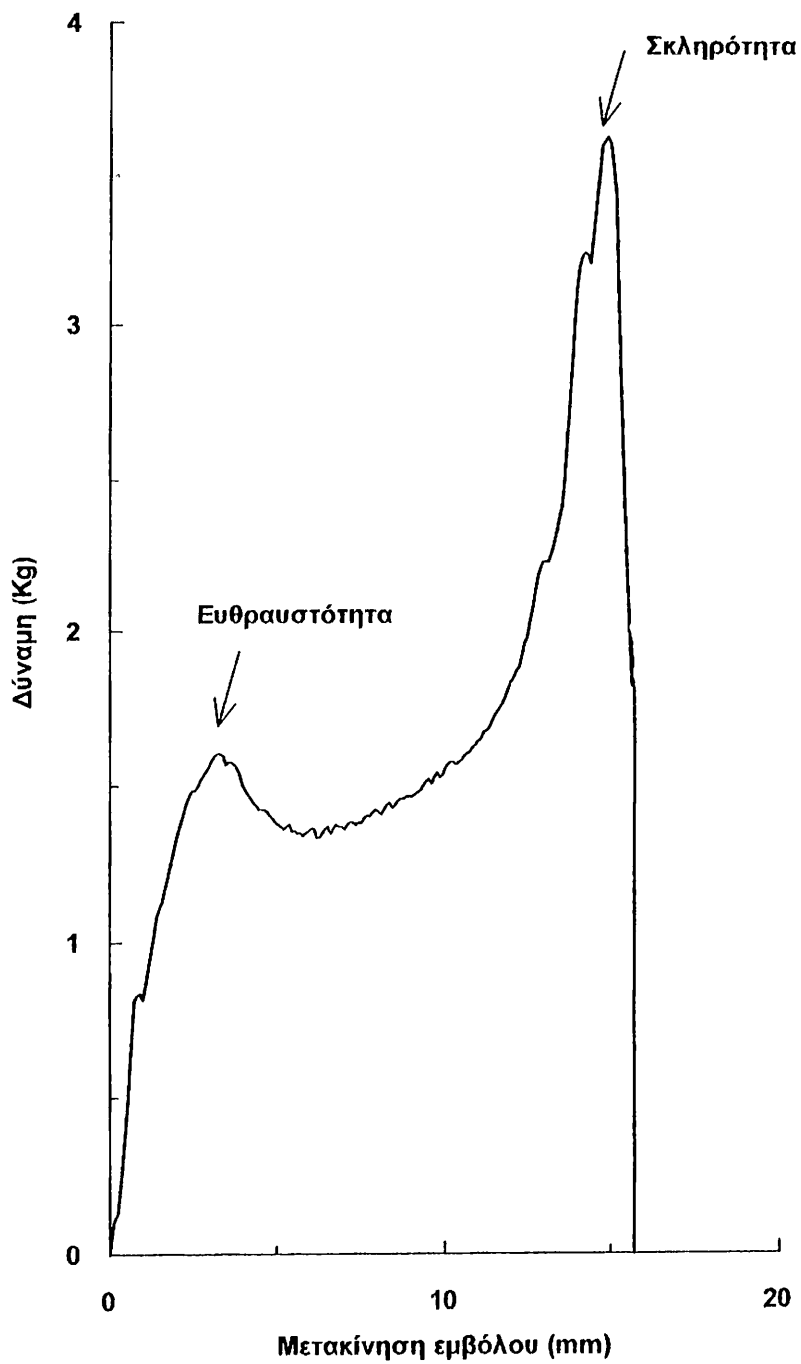
Η χαμηλότερη βαθμολογία για τη γεύση, που έλαβε το τυρί το οποίο αλατίστηκε με μείγμα 1:1 NaCl/KCl στην παρούσα μελέτη, οφειλόταν στην ελαφρά πικρή-μεταλλική μετάγευση, χαρακτηριστική του KCl, που σημειώθηκε στις τρεις από τις πέντε δοκιμές από μερικούς (1-2) δοκιμαστές-κριτές, ιδιαίτερα ύστερα από διατήρηση για 240 ημέρες. Σύμφωνα με τη Marsh (1983), η μετάγευση φαίνεται ότι είναι το μεγαλύτερο μειονέκτημα της υποκατάστασης του NaCl με KCl. Όμως, πρέπει να σημειωθεί, ότι ανεξάρτητα από αυτό το μικρό ελάττωμα γεύσης, το τυρί αυτό ήταν αποδεκτό (Πίνακας 10). Το γεγονός ότι το τυρί, που αλατίστηκε με μείγμα 3:1 NaCl/KCl, δεν παρουσίασε μεταλλική-πικρή μετάγευση θα μπορούσε να αποδοθεί στην "επικαλυπτική" επίδραση του NaCl. Σύμφωνα με τους Charteris και Keogh (1991) το NaCl μπορεί να επικαλύπτει δυσάρεστους μεταλλικούς-χημικούς τόνους γεύσης, αλλά η επίδραση αυτή εξαρτάται από τη συγκέντρωση του NaCl, που προστέθηκε και

το είδος των χημικών ενώσεων, που παράγονται κατά τη διάρκεια της διατήρησης. Τα τυριά Φέτα (ακόμη και τα Β και Γ) είχαν αρκετά υψηλή συγκέντρωση NaCl απ' ό,τι άλλα ξένα τυριά. Το ελάττωμα της πικρής γεύσης παρατήρησαν, επίσης, οι Aly (1995) και Ramadan (1995) σε τυριά Φέτα από υπερδιηθημένο γάλα και Domiati, αντίστοιχα, όπως αναφέρθηκε παραπάνω.

Τα αποτελέσματα του Πίνακα 10 αποδεικνύουν σαφώς την επιτυχή παρασκευή τυριών Φέτα με χαμηλότερη περιεκτικότητα σε νάτριο χρησιμοποιώντας μείγματα 3:1 ή 1:1 NaCl/KCl. Ανάλογα θετικά αποτελέσματα έχουν, επίσης, αναφερθεί από άλλους ερευνητές σε παρόμοιες μελέτες σε διάφορα είδη τυριών, όπως Cheddar (Lindsay και συν. 1982, Taylor 1983, Kindstedt και Kosikowski 1984, Fitzgerald και Buckley 1985, Reddy και Marth 1994), Gouda (Martens και συν. 1976, Iwanczak και συν. 1995), Prato (Rapacci και συν. 1990), ανακατεργασμένο Αμερικάνικο (Karahadian και Lindsay 1984), Swiss (Jameson 1987), Cottage (Demott και συν. 1984), UF Φέτα (Aly 1995), Caciotta (Rampilli και συν. 1995), Fynbo (Zorilla 1993), Colby (Taylor 1983), Domiati (Ramadan 1995), Camembert, Camping και Tilsit (Iwanczak και συν. 1995). Τυριά Cheddar και Colby με χαμηλή περιεκτικότητα σε νάτριο, παρασκευασμένα με KCl ως υποκατάστατο αλατιού, διατίθενται ήδη στην αγορά (Taylor 1983).

22.1.5. Ρεολογική εξέταση των τυριών

Τυπική καμπύλη συμπίεσης ενός δείγματος τυριού Φέτα με τη συσκευή INSTRON φαίνεται στο Σχήμα 11. Τα αποτελέσματα της αντικειμενικής μέτρησης των ρεολογικών χαρακτηριστικών των τυριών στις 60, 120 και 240 ημέρες από την παρασκευή τους παρουσιάζονται στον Πίνακα 11. Τα τυριά που αλατίστηκαν με τα



Σχήμα 11. Τυπική καμπύλη συμπίεσης δείγματος τυριού Φέτα με Instron Universal Testing Instrument.

μείγματα NaCl/KCl, γενικά, ήταν πιο εύθραυστα, βραχύτερα (θρυμματίζονταν με μικρότερη συμπίεση) και λιγότερο σκληρά από το τυρί μάρτυρα. Παρόλα αυτά, δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές ($P > 0.05$) διαφορές στη δύναμη και στη συμπίεση, που χρειάστηκαν για να θραυστούν τα δείγματα, και στη σκληρότητα μεταξύ των τριών τυριών, σε όλες τις ηλικίες εξέτασης. Η διαπίστωση αυτή είναι σε συμφωνία με τα αποτελέσματα των Fitzgerald και Buckley (1985), οι οποίοι αναφέρουν μη σημαντικές διαφορές στα φυσικά χαρακτηριστικά (ευθραυστότητα, βραχύτητα και σκληρότητα) τυριού Cheddar, που είχε αλατισθεί με KCl ή μείγμα (1:1) NaCl/KCl και του τυριού μάρτυρα.

Ο Πίνακας 11 δείχνει, επίσης, ότι οι τιμές όλων των ρεολογικών χαρακτηριστικών των διαφόρων τυριών Φέτα μειώνονταν με την αύξηση του χρόνου διατήρησής τους. Η διαπίστωση αυτή συμφωνεί με τα αποτελέσματα των Katsiari και Voutsinas (1994a) και Pappas και συν. (1996) για τυρί Φέτα, και των Creamer και Olson (1982), Zaki (1990) και Katsiari και Voutsinas (1994b) για τυριά Cheddar, Domiati και Κεφαλογραβιέρα, αντίστοιχα. Κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και διατήρησης πολλών τυριών, το πρωτεϊνικό πλέγμα μεταβάλλεται από μια κοκκώδη δομή σε μια πιο ομοιογενή μάζα και το τυρί γίνεται μαλακό (De Jong 1978, Creamer και Olson 1982). Οι αλλαγές αυτές οφείλονται πιθανόν στην πρωτεόλυση της α_{s1} -καζεΐνης, κυρίως από το υπολειμματικό πηκτικό ένζυμο. Η διεργασία αυτή μειώνει την ικανότητα της α_{s1} -καζεΐνης για υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις και έτσι την ικανότητα της να λειτουργεί ως ένας σύνδεσμος στο πρωτεϊνικό πλέγμα. Το γεγονός αυτό θα μπορούσε να προκαλέσει την εξασθένηση ή και τη διάσπαση του πρωτεϊνικού πλέγματος του οποίου η δομή γίνεται έτσι ασθενέστερη (Creamer και συν. 1982).

Πίνακας 11. Ρεολογικά χαρακτηριστικά τυριών Φέτα^{1,2} κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και διατήρησής τους.

Ηλικία τυριού (ημέρες)	Ρεολογικό χαρακτηριστικό	Τυρί ³		
		A	B	Γ
60	Ευθραυστότητα (kg)	1,77±0,19	1,71±0,14	1,65±0,19
120		1,75±0,23	1,70±0,30	1,60±0,24
240		1,71±0,11	1,67±0,18	1,60±0,24
60	Συμπύεση για θραύση (%)	19,61±2,43	18,82±2,47	18,87±1,85
120		16,58±2,20	16,29±1,27	17,11±0,90
240		15,50±1,29	15,60±1,07	14,81±0,87
60	Σκληρότητα (kg)	4,27±0,31	3,96±0,18	3,89±0,30
120		4,19±0,27	3,94±0,32	3,81±0,45
240		4,06±0,14	3,92±0,09	3,77±0,26

¹ Μέσοι όροι κάθε παραμέτρου στην ίδια σειρά χωρίς γράμματα δε διαφέρουν σημαντικά ($P>0.05$).

² Μέσοι όροι \pm s.e. (τυπικό σφάλμα μέσου όρου) πέντε δοκιμών.

³ A= τυρί αλατισμένο με NaCl (μάρτυρας), B= τυρί αλατισμένο με 3:1 (w/w) μείγμα NaCl:KCl, Γ= τυρί αλατισμένο με 1:1 (w/w) μείγμα NaCl:KCl.

Αυτό έχει ως αποτέλεσμα, η αντίσταση των τυριών στη θραύση και την παραμόρφωση να μειώνεται.

22.1. 6. Συμπεράσματα

Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής δείχνουν ότι τυριά Φέτα αποδεκτής ποιότητας μπορούν να παρασκευαστούν χρησιμοποιώντας μείγμα 3:1 ή 1:1 (w/w) NaCl/KCl αντί μόνο NaCl. Τα τυριά αυτά δε διαφέρουν σημαντικά ($P>0.05$) από το τυρί μάρτυρα ως προς τη σύσταση, τις φυσικο-χημικές ιδιότητες, την πρωτεόλυση, τη λιπόλυση, τα οργανοληπτικά και τα ρεολογικά χαρακτηριστικά, αλλά περιείχαν περίπου 25 και 50% λιγότερο νάτριο, αντίστοιχα. Η αναλογία Na:K (1,4) του τυριού, που αλατίστηκε με μείγμα 1:1 NaCl/KCl, είναι πολύ κοντά σε εκείνη (1,0), που συνιστάται από τους διαιτολόγους.

22. 2. Τυρί Κεφαλογραβιέρα

22. 2. 1. Σύσταση και φυσικο-χημικές ιδιότητες

Η μέση σύσταση του προς τυροκόμηση γάλακτος ήταν : λίπος 6,0 %, καζεΐνη 4,8 %, καζεΐνη:λίπος 0,8, pH 6,61 και τιτλοδοτούμενη οξύτητα 24 ° D.

Οι μέσες τιμές της υγρασίας, του λίπους, της υγρασίας στην άνευ λίπους ουσία (ΥΑΛΟ) και του λίπους επί ξηρού των παρασκευασθέντων τυριών Κεφαλογραβιέρα, σε διάφορους χρόνους δειγματοληψίας, δίνονται στον Πίνακα 12. Οι τιμές της υγρασίας και του λίπους επί ξηρού των ώριμων τυριών ικανοποιούν τις προβλεπόμενες Ελληνικές προδιαγραφές. Αυτές είναι μέγιστη υγρασία 38% και ελάχιστο λίπος επί ξηρού 43% για τυρί Κεφαλογραβιέρα "πρώτης ποιότητας" (Υπουργείο Οικονομικών 1987). Δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικές ($P>0.05$) διαφορές στην υγρασία, στο λίπος και στο λίπος επί ξηρού μεταξύ του τυριού μάρτυρα, που αλατίστηκε με NaCl, και των πειραματικών τυριών, που αλατίστηκαν με μείγματα NaCl/KCl, σε όλα τα στάδια δειγματοληψίας. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με εκείνα, που βρήκαν άλλοι ερευνητές (Fitzgerald και Buckley 1985, Rapacci και συν. 1990, Reddy και Marth 1993a, Aly 1995, Ramadan 1995, Rampilli και συν. 1995) στις μελέτες τους για την επίδραση της μερικής υποκατάστασης του NaCl με KCl στα χαρακτηριστικά διαφόρων τυριών (Cheddar, Prato, Φέτα από υπερδηθημένο γάλα, Domiati, Caciotta). Από τον Πίνακα 12 φαίνεται, επίσης, ότι όλα τα τυριά είχαν παραπλήσιες ($P>0.05$) τιμές υγρασίας στην άνευ λίπους ουσία.

Ο Πίνακας 13 δείχνει τις μέσες τιμές για την πρωτεΐνη, το ολικό αλάτι, το ολικό αλάτι στην υγρή φάση, το pH και την ενεργότητα νερού των διαφόρων τυριών Κεφαλογραβιέρα κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και διατήρησής τους. Όπως φαίνεται,

Πίνακας 12. Υγρασία, λίπος, υγρασία στην άνευ λίπους ουσία (ΥΑΛΟ) και λίπος επί ξηρού τυριών Κεφαλογραβιέρα^{1,2} κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και διατήρησής τους.

Ηλικία τυριού (ημέρες)	Υγρασία (%)			Λίπος (%)			ΥΑΛΟ (%)			Λίπος επί ξηρού (%)		
	A	B	Γ	A	B	Γ	A	B	Γ	A	B	Γ
5	42,70	42,92	42,61	26,83	26,67	27,17	58,38	58,53	58,51	46,84	46,72	47,34
25	39,19	39,27	39,31	28,83	28,50	28,83	55,06	54,92	55,39	47,41	46,93	47,51
60	37,31	37,30	37,22	29,33	29,25	29,25	52,80	52,73	52,61	46,79	46,66	46,60
90	37,81	37,94	37,66	29,45	29,35	29,45	53,59	53,70	53,39	47,36	47,29	47,24
180	37,99	37,98	37,88	29,70	29,80	29,45	54,03	54,11	53,73	47,90	48,05	47,41

¹ Μέσοι όροι κάθε παραμέτρου στην ίδια σειρά χωρίς γράμματα δε διαφέρουν σημαντικά (P>0.05).

² Μέσοι όροι πέντε δοκιμών.

³ A= τυρί αλατισμένο με NaCl (μάρτυρας), B= τυρί αλατισμένο με 3:1 (w/w) μείγμα NaCl:KCl, Γ= τυρί αλατισμένο με 1:1 (w/w) μείγμα NaCl:KCl.

δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P>0.05$) στην περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη και αλάτι μεταξύ των τυριών σε όλους τους χρόνους εξέτασής τους. Η διαπίστωση αυτή βρίσκεται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα άλλων ερευνητών (Fitzgerald και Buckley 1985, Aly 1995, Ramadan 1995) σε ανάλογες μελέτες μερικής υποκατάστασης του NaCl με KCl σε διάφορα τυριά. Επιπλέον, βρέθηκε ότι, οι τιμές ολικού αλατιού στην υγρή φάση των τυριών δεν επηρεάστηκαν ($P>0.05$) από το είδος του άλατος που χρησιμοποιήθηκε για το αλάτισμα (υγρό και ξηρό). Ανάλογα αποτελέσματα έχουν αναφερθεί από τους Fitzgerald και Buckley (1985) και Ramadan (1995) για τα τυριά Cheddar και Domiati, αντίστοιχα.

Ο Πίνακας 13 δείχνει, επίσης, ότι οι μέσες τιμές του pH όλων των τυριών ήταν παρόμοιες ($P>0.05$), αν και τα ώριμα τυριά που αλατίστηκαν με τα μείγματα NaCl/KCl είχαν σταθερά ελαφρά υψηλότερες τιμές pH από το τυρί μάρτυρα, που αλατίστηκε μόνο με NaCl. Οι Lindsay και συν. (1982) και ο Aly (1995) βρήκαν ανάλογα αποτελέσματα για τυριά Cheddar και Φέτα από υπεδιηθημένο γάλα, αντίστοιχα.

Το είδος του άλατος, που χρησιμοποιήθηκε στο αλάτισμα, δεν επηρέασε ($P>0.05$) την ενεργότητα νερού των παρασκευασθέντων τυριών, η οποία μειωνόταν συνεχώς κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και συντήρησής τους (Πίνακας 13). Είναι γνωστό, ότι εκτός από το αλάτι και άλλες χαμηλού μοριακού βάρους χημικές ενώσεις, ιδιαίτερα πεπτίδια και αμινοξέα, τα οποία σχηματίζονται κατά τη διάρκεια της ωρίμασης, εμπλέκονται στη μείωση της ενεργότητας νερού των τυριών (Malthlouthi και συν. 1981, Fox 1987).

Η διαπίστωση που έγινε στην παρούσα μελέτη, ότι τα τυριά που αλατίστηκαν με μείγματα NaCl και KCl είχαν σύσταση και φυσικο-χημικές ιδιότητες ανάλογες με

Πίνακας 13. Πρωτεΐνη, ολικό αλάτι, ολικό αλάτι στην υγρή φάση (A/Y), pH και ενεργότητα νερού (a_w) τυριών Κεφαλογραβιέρα^{1,2} κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και διατήρησής τους.

Ηλικία τυριού (ημέρες)	Πρωτεΐνη (%)			Ολικό αλάτι ⁴ (%)			A/Y (%)			pH			a_w		
	A	B	Γ	A	B	Γ	A	B	Γ	A	B	Γ	A	B	Γ
5	25,63	25,69	25,88	0,82	0,75	0,78	1,92	1,76	1,83	5,44	5,42	5,45	0,956	0,959	0,961
25	26,48	26,31	26,54	2,36	2,43	2,41	6,02	6,18	6,13	5,38	5,41	5,45	0,924	0,926	0,929
60	26,52	26,43	26,54	3,41	3,46	3,35	9,13	9,27	9,00	5,35	5,34	5,37	0,902	0,909	0,906
90	26,41	26,33	26,62	3,50	3,46	3,42	9,25	9,11	9,08	5,42	5,44	5,49	0,902	0,900	0,902
180	26,30	25,97	26,20	3,51	3,55	3,51	9,25	9,34	9,28	5,45	5,50	5,52	0,894	0,894	0,894

¹ Μέσοι όροι κάθε παραμέτρου στην ίδια σειρά χωρίς γράμματα δε διαφέρουν σημαντικά ($P>0.05$).

² Μέσοι όροι πέντε δοκιμών.

³ A= τυρί αλατισμένο με NaCl (μάρτυρας), B= τυρί αλατισμένο με 3:1 (w/w) μείγμα NaCl:KCl, Γ= τυρί αλατισμένο με 1:1 (w/w) μείγμα NaCl:KCl.

⁴ Υπολογίστηκε από τη μετρηθείσα συγκέντρωση των χλωριούχων ιόντων στο τυρί.

εκείνες του τυριού μάρτυρα μπορεί να αποδοθεί στο γεγονός ότι, σύμφωνα με τη γνώμη του Kosikowski (Taylor 1983), τεχνολογικά, τα ιόντα του καλίου έχουν τις ίδιες επιδράσεις με τα ιόντα του νατρίου στη διαδικασία της τυροκόμησης.

Στοιχειακά δεδομένα για το νάτριο, το κάλιο και το ασβέστιο δίνονται στον Πίνακα 14. Για λόγους σύγκρισης στον ίδιο Πίνακα συμπεριλαμβάνονται δεδομένα για δείγμα τυριού Κεφαλογραβιέρα από πρόβειο γάλα, που παρασκευάστηκε από Βιομηχανία Γάλακτος στα Ιωάννινα. Όπως φαίνεται από τον Πίνακα 14, η περιεκτικότητα σε ασβέστιο όλων των παρασκευασθέντων τυριών ήταν παρόμοια ($P>0.05$). Επιπλέον, οι περιεκτικότητες σε ασβέστιο, νάτριο και κάλιο που βρέθηκαν στην παρούσα μελέτη για το τυρί μάρτυρα είναι αρκετά συγκρίσιμες με τις αντίστοιχες τιμές που βρέθηκαν για το δείγμα Κεφαλογραβιέρας που πάρθηκε από τη Βιομηχανία Γάλακτος.

Η επιθυμητή αναλογία Na:K στο διαιτολόγιο είναι 0,5 σε σταθμική βάση ή 1,0 σε μοριακή βάση (Hansen και Wyse 1980, Shank 1980). Όπως φαίνεται στον Πίνακα 14, η χρήση μειγμάτων (3:1 και 1:1) NaCl/KCl μείωσε αποτελεσματικά την αναλογία Na:K στο τυρί Κεφαλογραβιέρα στο 4,2 και 1,4, αντίστοιχα, ενώ η περιεκτικότητα του νατρίου μειώθηκε κατά 23,7 και 49,4 %, αντίστοιχα, σε σύγκριση με το τυρί μάρτυρα. Επομένως, το τυρί, που αλατίστηκε με μείγμα 1:1 NaCl/KCl, είχε αποδεκτή αναλογία Na:K. Το τυρί αυτό είχε περιεκτικότητα σε νάτριο 189 mg/28,4g (μερίδα) και έτσι δεν μπορεί να χαρακτηριστεί ως τρόφιμο με "χαμηλό νάτριο", επειδή δεν ικανοποιεί την απαίτηση, ότι η περιεκτικότητα σε νάτριο πρέπει να είναι 140 mg ή λιγότερο ανά μερίδα 28,4g (Anonymous 1984a).

Πίνακας 14. Ασβέστιο, νάτριο και κάλιο τυριών Κεφαλογραβιέρα¹ ηλικίας 90 ημερών.

Παράμετρος	Τυρί ²			Δείγμα εμπορίου
	A	B	Γ	
Ca (mg/100g)	988	992	983	990
Na (mg/100g)	1312 ^a	1001 ^b	664 ^c	1340
K (mg/100g)	64 ^c	404 ^b	814 ^a	60
Na:K (σταθμική βάση)	20,5 ^a	2,5 ^b	0,8 ^c	22,3
mg Na/28,4 g	373 ^a	284 ^b	189 ^c	381
mg K /28,4 g	18 ^c	115 ^b	231 ^a	17
meq Na/28,4 g ³	16,22 ^a	12,35 ^b	8,22 ^c	16,57
meq K / 28,4 g ⁴	0,46 ^c	2,95 ^b	5,92 ^a	0,44
Na : K (μοριακή βάση)	35,3 ^a	4,2 ^b	1,4 ^c	37,7

^{a,b,c} Μέσοι όροι σε κάθε σειρά χωρίς γράμματα ή έχοντες ένα κοινό γράμμα δε διαφέρουν σημαντικά ($P>0.05$).

¹ Μέσοι όροι πέντε δοκιμών.

² A= τυρί αλατισμένο με NaCl (μάρτυρας), B= τυρί αλατισμένο με 3:1 (w/w) μείγμα NaCl:KCl, Γ= τυρί αλατισμένο με 1:1 (w/w) μείγμα NaCl:KCl .

³ meq Na = mg Na/23.

⁴ meq K = mg K/39.

Η περιεκτικότητα σε κάλιο των τυριών, που αλατίστηκαν με μείγμα 3:1 ή 1:1 NaCl/KCl ήταν περίπου 6,3 και 12,7 φορές υψηλότερες, αντίστοιχα, από εκείνη του τυριού μάρτυρα (Πίνακας 14).

22. 2. 2. Πρωτεόλυση

22. 2. 2. α. Διαλυτά αζωτούχα κλάσματα

Στον Πίνακα 15 δίδονται οι μεταβολές του WSN, του TCA-SN και του PTA-SN στα τυριά Κεφαλογραβιέρα κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και διατήρησής τους. Γενικά, τα αζωτούχα αυτά κλάσματα και στα τρία τυριά αυξάνονταν καθ' όλη τη διάρκεια της μελέτης. Η τάση αυτή στη μεταβολή των παραπάνω αζωτούχων κλασμάτων στο τυρί μάρτυρα ήταν παρόμοια με εκείνη που αναφέρουν οι Zerfiridis και συν. (1984) για Ελληνική αγελαδινή γραβιέρα.

Τα επίπεδα των παραπάνω αζωτούχων κλασμάτων στο μάρτυρα και τα πειραματικά τυριά ήταν παρόμοια ($P > 0.05$) σε όλες τις ηλικίες εξέτασης (Πίνακας 15). Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με εκείνα άλλων ερευνητών (Fitzgerald και Buckley 1985, Reddy και Marth 1993b, Aly 1995, Iwanczak και συν. 1995) για άλλα είδη τυριού. Οι Fitzgerald και Buckley (1985) δε βρήκαν σημαντικές διαφορές στα επίπεδα του WSN μεταξύ τυριού Cheddar μάρτυρα, που αλατίστηκε με NaCl, καπειραματικών τυριών, που αλατίστηκαν με ισοδύναμες ποσότητες KCl ή ενός μείγματος (1:1) NaCl/KCl. Επίσης, ο Aly (1995) αναφέρει ότι η μερική υποκατάσταση (3:1, 1:1, 1:3) του NaCl με KCl στο αλάτισμα τυριού τύπου Φέτα, παρασκευασμένου από υπερδηθημένο γάλα, δεν επηρεάζει σημαντικά ($P > 0.05$) τα επίπεδα του WSN στο τυρί. Οι Reddy και Marth (1993b) βρήκαν μη σημαντικές ($P > 0.05$) διαφορές στα

Πίνακας 15. Υδατοδιαλυτό άζωτο (WSN), άζωτο διαλυτό σε 12% τριγλωροξικό οξύ (TCA-SN) και άζωτο διαλυτό σε 5 % φωσφοβολφραμικό οξύ (PTA-SN) τυριών Κεφαλογραβιέρα^{1,2} κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και διατήρησής τους.

Ηλικία τυριού (ημέρες)	WSN (% TN)			TCA-SN (% TN)			PTA-SN (% TN)		
	A	B	Γ	A	B	Γ	A	B	Γ
5	10,24	10,12	10,04	5,01	4,92	4,93	2,67	2,61	2,46
25	17,84	17,69	17,61	9,44	9,16	9,12	5,51	5,36	5,29
60	21,16	21,50	21,85	11,91	12,79	12,36	7,81	7,56	7,53
90	21,30	21,34	21,28	12,44	12,33	12,33	7,45	7,17	7,27
180	23,09	23,04	23,79	14,02	13,87	14,06	8,11	7,76	7,87

¹ Μέσοι όροι κάθε παραμέτρου στην ίδια σειρά χωρίς γράμματα δε διαφέρουν σημαντικά (P>0.05).

² Μέσοι όροι πέντε δοκιμών.

³ A= τυρί αλατισμένο με NaCl (μάρτυρας), B= τυρί αλατισμένο με 3:1 (w/w) μείγμα NaCl:KCl, Γ= τυρί αλατισμένο με 1:1 (w/w) μείγμα NaCl:KCl.

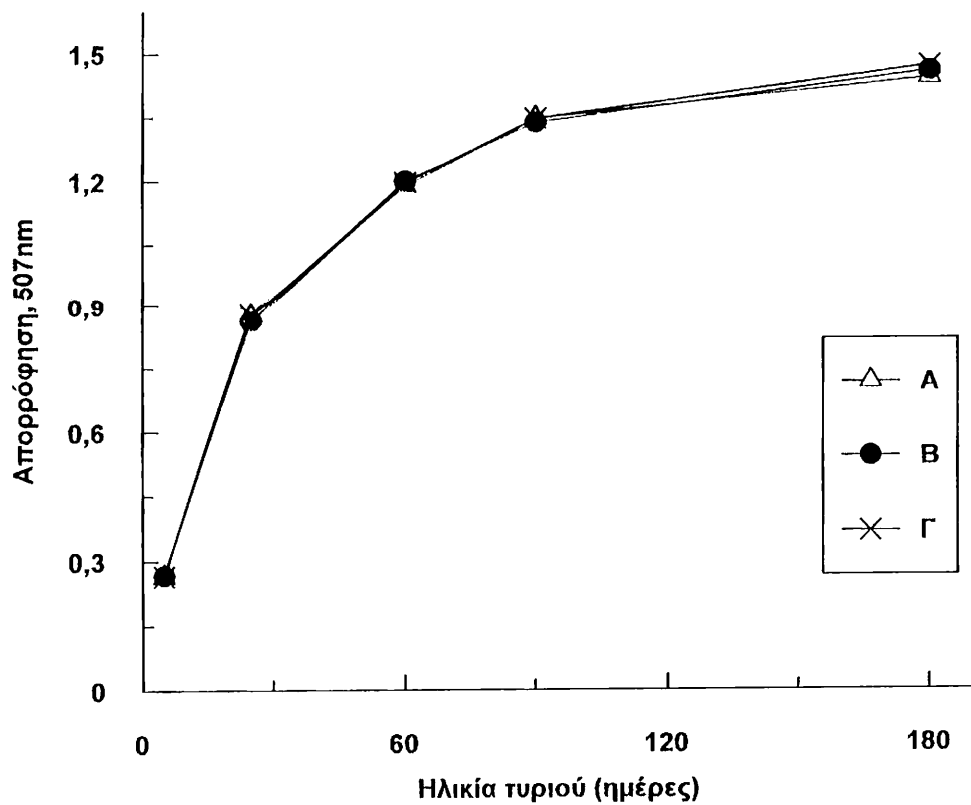
επίπεδα του TCA-SN και του PTA-SN, σε κάθε ηλικία δειγματοληψίας, ανάμεσα σε τυριά Cheddar, που παρασκευάστηκαν με NaCl, KCl ή μείγματα των δύο αλάτων. Ακόμη, οι Iwanczak και συν. (1995) ανέφεραν ότι η μερική υποκατάσταση (1:1) του NaCl με KCl στο αλάτισμα των τυριών Camembert, Camping, Tilsit και Gouda δεν επηρεάζει την πρωτεόλυσή τους και συγκεκριμένα τα επίπεδα του διαλυτού σε pH 4,6 αζώτου, του μη πρωτεϊνικού αζώτου και του αζώτου των πεπτιδίων.

22. 2. 2. β. Ολική συγκέντρωση ελεύθερων αμινοξέων

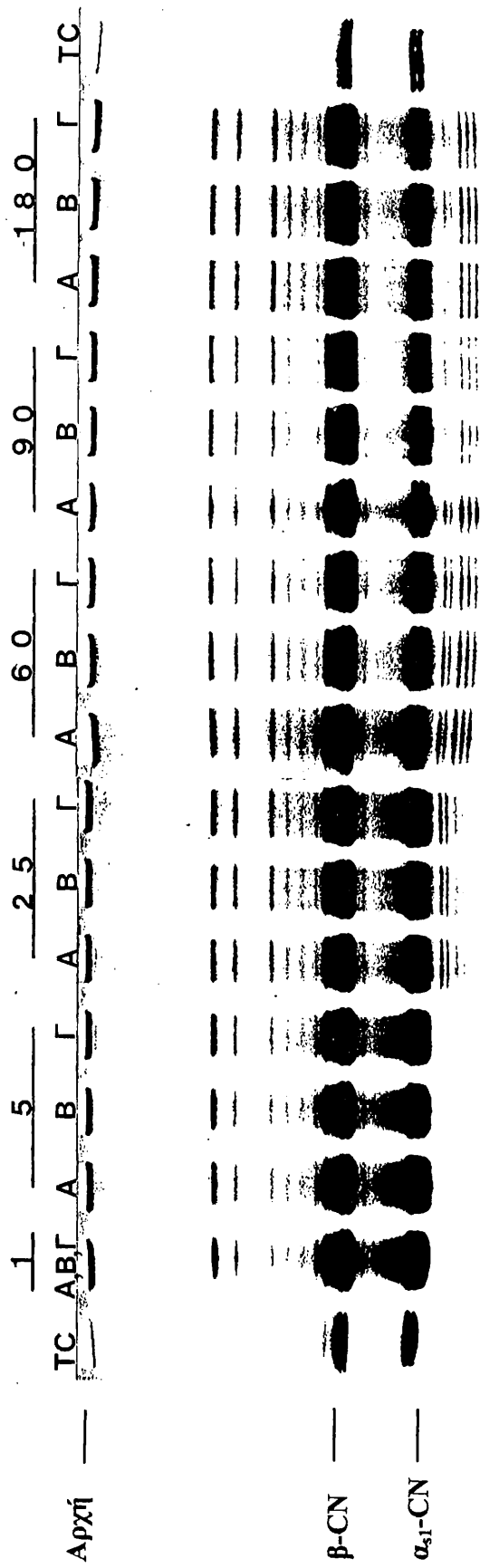
Το Σχήμα 12 δείχνει τα επίπεδα του συνόλου των FAA στα τυριά Κεφαλογραβιέρα κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και διατήρησής τους. Όπως φαίνεται, η συγκέντρωση του συνόλου των FAA σε όλα τα τυριά αυξανόταν καθ' όλη τη διάρκεια της μελέτης, ιδιαίτερα κατά την παραμονή τους στο ωριμαντήριο (90 ημέρες). Η διαπίστωση αυτή συμφωνεί με τα αποτελέσματα των Folkertsma και Fox (1992, 1996) και Lynch και συν. (1996, 1997) για τυρί Cheddar που αλατίστηκε με NaCl. Η συγκέντρωση του συνόλου των FAA στο μάρτυρα και τα πειραματικά τυριά ήταν παρόμοια ($P > 0.05$) σε όλες τις ηλικίες εξέτασης, γεγονός που υποδηλώνει ότι το βάθος και το επίπεδο της πρωτεόλυσης ήταν παρόμοια σε όλα τα τυριά.

22. 2. 2. γ. Ηλεκτροφόρηση των πρωτεϊνών του τυριού

Ηλεκτροφορήματα τυριών Κεφαλογραβιέρα διαφόρων ηλικιών δίνονται στο Σχήμα 13. Οι κύριες μεταβολές που παρατηρήθηκαν αφορούσαν στη συνεχή μείωση της έντασης των ζωνών των α_{s1} - και β -καζεϊνών σε όλα τα τυριά με την αύξηση της ηλικίας τους. Ήδη από την 5η ημέρα είναι ορατά τα προϊόντα υδρόλυσης της α_{s1} -



Σχήμα 12. Παραγωγή ελεύθερων αμινοξέων σε τυριά Κεφαλο-
γραβιέρα, που αλατίστηκαν με NaCl (Α), 3:1 μείγμα NaCl:KCl (Β)
ή 1:1 μείγμα NaCl:KCl (Γ) κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και
διατήρησής τους. Οι τιμές που παρουσιάζονται γραφικά είναι
μέσοι όροι πέντε δοκιμών.



(+)

Σχήμα 13. Ηλεκτροφορήματα σε πηκτή πολυακρυλαμιδίου ολικής καζεΐνης προβάτου (TC) και τυριών Κεφαλο-
 γραβιέρα, που αλατίστηκαν με NaCl (A), 3:1 μείγμα NaCl:KCl (B) ή 1:1 μείγμα NaCl:KCl (Γ) σε διάφορες ηλικίες.
 1, 5, 25, 60, 90, 180 : ηλικία δείγματος (ημέρες).

καζεΐνης (ζώνες με R_f μεγαλύτερη από εκείνη της α_{s1} -CN). Όπως φαίνεται, η ένταση των ζωνών των προϊόντων αυτών αυξάνει μέχρι την ηλικία των 60 ημερών και στη συνέχεια μειώνεται για μερικά, από αυτά, ενώ παραμένει σταθερή για άλλα. Όσον αφορά στις ζώνες με R_f μικρότερη από αυτή της β -καζεΐνης, είναι φανερό, ότι η ένταση μερικών παραμένει σταθερή καθ' όλη τη διάρκεια της μελέτης, ενώ άλλων αυξάνει. Σε κάθε ηλικία, τα ηλεκτροφορήματα του μάρτυρα και των πειραματικών τυριών ήταν παρόμοια, γεγονός που δείχνει ότι η υδρόλυση κάθε καζεΐνης γινόταν με την ίδια ταχύτητα σε όλα τα τυριά. Είναι, επίσης, φανερό ότι η ταχύτητα υδρόλυσης των δύο καζεϊνών ήταν διαφορετική. Σε όλες τις περιπτώσεις, η α_{s1} -καζεΐνη υδρολυόταν ταχύτερα και σε μεγαλύτερη έκταση απ' ότι η β -καζεΐνη.

Ο Πίνακας 16 δίνει τη σχετική περιεκτικότητα των τυριών Κεφαλογραβιέρα σε υπολειμματικές α_{s1} - και β -CN κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και διατήρησής τους. Όπως φαίνεται, οι περιεκτικότητες των α_{s1} - και β -CN σε όλα τα τυριά συνεχώς μειώνονταν καθ' όλη τη διάρκεια της μελέτης. Δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές ($P>0.05$) μεταξύ του μάρτυρα και των πειραματικών τυριών ως προς τα ποσοστά των υπολειμματικών α_{s1} - και β -CN σε όλες τις ηλικίες εξέτασης. Το Σχήμα 14 απεικονίζει το ρυθμό αποικοδόμησης των α_{s1} - και β -CN στα τυριά σε συνάρτηση με την ηλικία τους. Επειδή, όπως προαναφέρθηκε, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στα ποσοστά των υπολειμματικών α_{s1} - και β -CN μεταξύ των τυριών, το Σχήμα 14 σχεδιάστηκε χρησιμοποιώντας τους μέσους όρους των υπολειμματικών α_{s1} - και β -CN και των τριών τυριών δύο τυροκομήσεων σε κάθε ηλικία εξέτασης. Είναι φανερό από το Σχήμα αυτό, ότι η ταχύτητα και η έκταση της αποικοδόμησης της α_{s1} -CN ήταν μεγαλύτερες από αυτές της β -CN. Η διαπίστωση αυτή βρίσκεται σε συμφωνία με τα

Πίνακας 16. Υπολειμματικές α_{s1} - και β -καζεΐνες¹ τυριών Κεφαλογραβιέρα^{2,3} κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και διατήρησής τους.

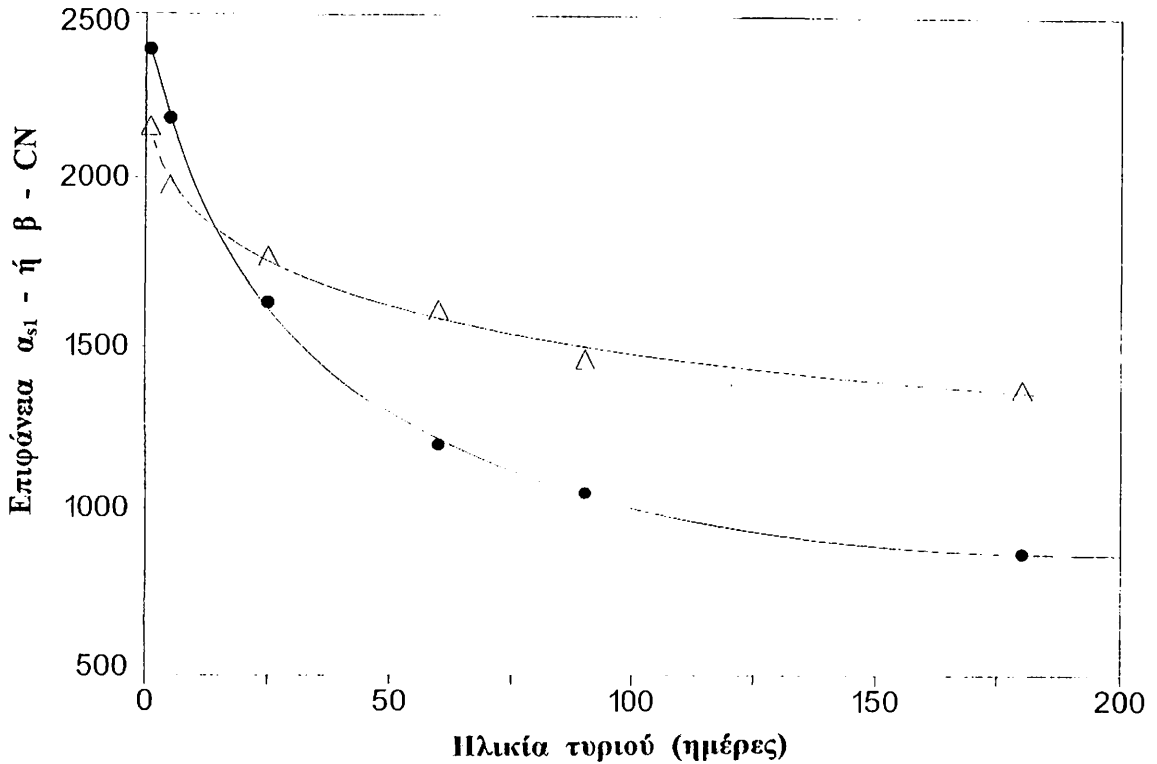
Ηλικία τυριού (ημέρες)	Υπολειμματική α_{s1} - καζεΐνη (%)			Υπολειμματική β - καζεΐνη (%)		
	A	B	Γ	A	B	Γ
5	94,99±1,40	91,06±2,56	91,30±2,17	92,49±1,42	89,57±2,71	93,45±1,05
25	70,17±2,54	68,21±1,94	66,04±2,04	83,08±3,69	82,84±3,29	80,19±1,81
60	50,21±5,21	49,17±5,40	50,09±4,43	76,23±4,80	73,70±4,80	74,89±3,70
90	46,82±2,22	43,60±1,28	40,89±1,54	69,03±2,65	67,33±3,51	67,97±2,80
180	36,45±2,17	37,84±2,67	34,16±3,16	64,58±2,66	64,33±2,69	63,19±3,89

¹ Εκφρασμένες ως ποσοστά της α_{s1} - ή β -καζεΐνης στο τυρί ηλικίας 1 ημέρας.

² Μέσοι όροι κάθε παραμέτρου στην ίδια σειρά χωρίς χωρίς γράμματα δε διαφέρουν σημαντικά ($P>0.05$).

³ Μέσοι όροι \pm s.e. (τυπικό σφάλμα μέσου όρου) δύο δοκιμών.

⁴ A= τυρί αλατισμένο με NaCl (μάρτυρας), B= τυρί αλατισμένο με 3:1 (w/w) μείγμα NaCl:KCl, Γ = τυρί αλατισμένο με 1:1 (w/w) μείγμα NaCl:KCl.



Σχήμα 14. Αποικοδόμηση των καζεϊνών α_{s1} (●) και β (Δ) τυριών Κεφαλογραβιέρα κατά την ωρίμαση και διατήρησή τους.

αποτελέσματα άλλων ερευνητών (Basch και συν. 1989, Lau και συν. 1991, Μιχαηλίδου-Κονιόρδου 1997, Mayer και συν. 1998) για διάφορα είδη τυριού.

Από τον Πίνακα 16 και το Σχήμα 14 φαίνεται, ότι ο χρόνος "ημιζωής" της α_{s1} -CN στα τυριά ήταν 60 ημέρες, ενώ μέχρι την ηλικία των 180 ημερών είχε υδρολυθεί περίπου το 64 % αυτής. Αντίθετα, μόνο το ~ 36 % της β -CN είχε υδρολυθεί κατά την ίδια ηλικία. Οι Lau και συν. (1991) βρήκαν ότι περίπου 85 % των α_s καζεϊνών στο τυρί Cheddar υδρολύθηκε εντός 6 μηνών. Επιπλέον, οι Visser και de Groot-Mostert (1977) αναφέρουν ότι ο χρόνος "ημιζωής" της β -CN στο τυρί Gouda ήταν 6 μήνες,

ενώ οι Basch και συν. (1989) βρήκαν ότι η "ημιζωή" της στο τυρί Cheddar ήταν 37 εβδομάδες.

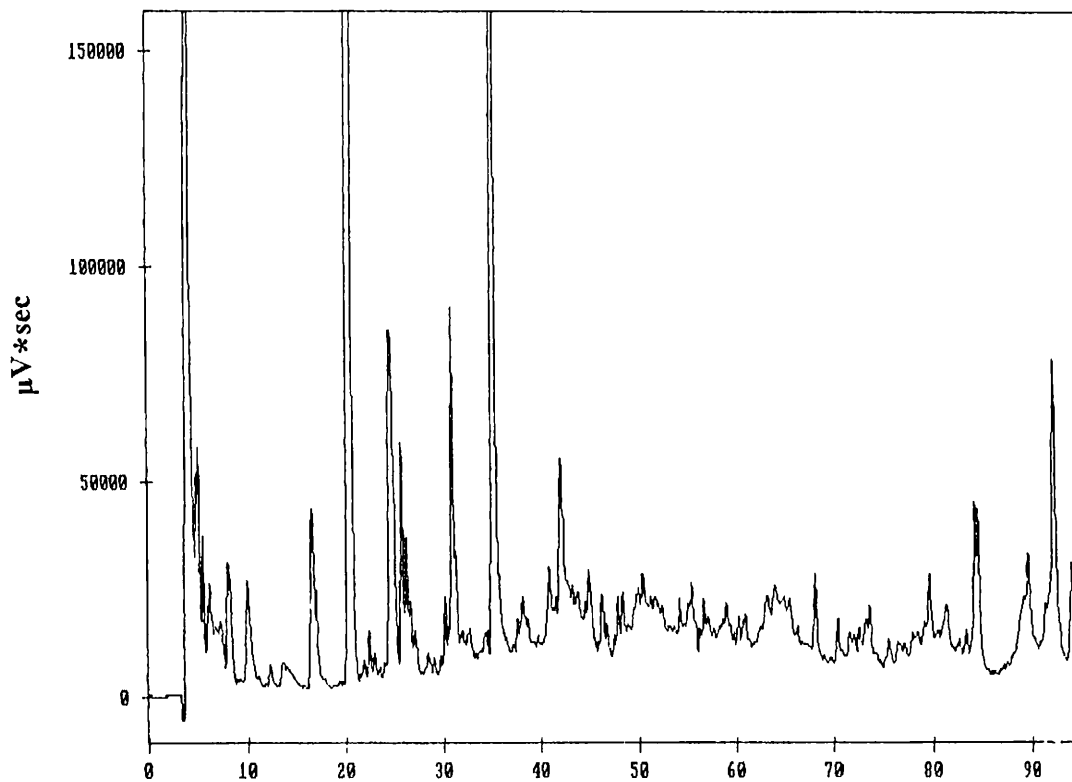
Από την παρούσα μελέτη προκύπτει ότι η αποικοδόμηση των α_1 -και β -CN ήταν παρόμοια στο μάρτυρα και τα πειραματικά τυριά, δηλαδή δεν επηρεάστηκε από το είδος του άλατος που χρησιμοποιήθηκε. Τούτο βρίσκεται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα των Zorrilla και συν. (1996), οι οποίοι μελέτησαν την επίδραση της μερικής (1:1) υποκατάστασης του NaCl με KCl στην πρωτεόλυση του τυριού Fynbo χρησιμοποιώντας PAGE παρουσία ουρίας. Οι ερευνητές αυτοί βρήκαν παρόμοιες ηλεκτροφορητικές κατατομές για τυρί αλατισμένο με μείγμα (1:1) NaCl/KCl και για το τυρί μάρτυρα κατά τη διάρκεια της ωρίμασης, και συμπέραναν ότι η μερική υποκατάσταση του NaCl με KCl δεν επηρεάζει την κανονική πορεία της πρωτεόλυσης σ' αυτό το τυρί. Σε μία νεότερη μελέτη, οι Zorrilla και Rubiolo (1997) βρήκαν ότι η μερική (1:1) υποκατάσταση του NaCl με KCl δεν επηρέασε τις κινητικές σταθερές της πρωτεόλυσης στο ίδιο τυρί (Fynbo). Επίσης, οι Rasmussen και Barbano (1987) μελέτησαν την επίδραση του KCl στην πρωτεόλυση του τυριού Cheddar χρησιμοποιώντας KCl αντί NaCl στο αλάτισμα του τυροπήγματος. Ηλεκτροφορητική ανάλυση των προϊόντων αποικοδόμησης των καζεϊνών των τυριών με NaCl ή KCl, έδειξε ότι δεν υπήρχαν μεγάλες διαφορές στην ποσότητα και / ή στο είδος των προϊόντων αποικοδόμησης των καζεϊνών κατά τη διάρκεια ωρίμασης επί 4 μήνες, γεγονός που οδήγησε στο συμπέρασμα, ότι η πρωτεόλυση δεν επηρεάζεται από τη χρησιμοποίηση του KCl.

22. 2. 2. δ. Ανάλυση πεπτιδίων

Ένα τυπικό χρωματογράφημα RP-HPLC υδατικού εκχυλίσματος ώριμου τυριού Κεφαλογραβιέρα παρουσιάζεται στο Σχήμα 15. Είναι φανερή η παρουσία μεγάλου αριθμού κορυφών στην υδρόφιλη περιοχή, μερικές από τις οποίες σε μεγάλες συγκεντρώσεις, σε αντίθεση με το μικρό αριθμό κορυφών στην υδρόφοβη περιοχή, από τις οποίες μόνο 1-2 υπήρχαν σε μέτριες συγκεντρώσεις.

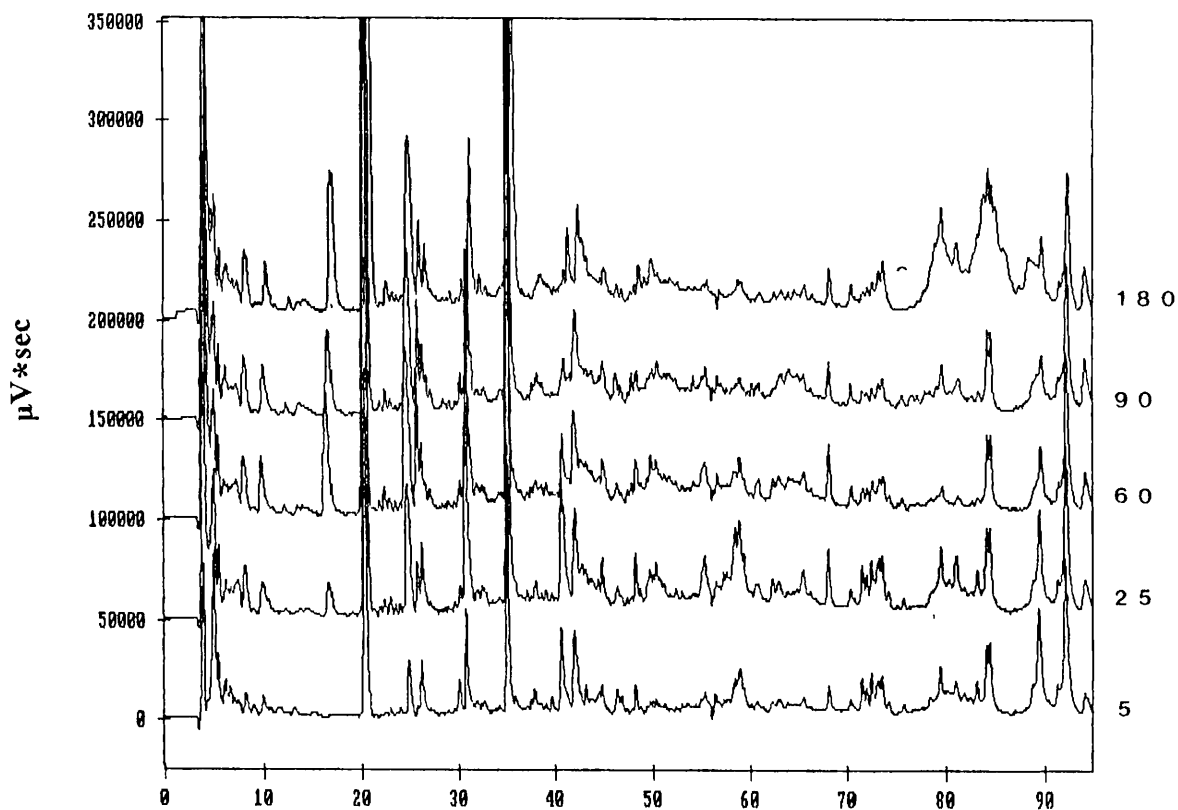
Το Σχήμα 16 απεικονίζει τις πεπτιδικές κατατομές τυριού Κεφαλογραβιέρα, που αλατίστηκε με NaCl (μάρτυρας, A), κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και διατήρησής του. Όπως φαίνεται, καθώς η ηλικία του τυριού αύξανε, εμφανίζονταν νέες κορυφές και αυξάνονταν ή μειώνονταν σε μέγεθος κορυφές που υπήρχαν στο αρχικό στάδιο ωρίμασης. Έτσι, εμφανίστηκαν νέες κορυφές και αυξήθηκαν σε μέγεθος οι υπάρχουσες κορυφές που αντιστοιχούν στα αμινοξέα και στα υδρόφιλα προϊόντα αποικοδόμησης των καζεϊνών. Στην περιοχή των υδρόφοβων πεπτιδίων, η κορυφή που εκλούστηκε στα ~ 68 min αυξανόταν σε μέγεθος μέχρι τις 60 ημέρες, μειωνόταν στις 90 ημέρες και στη συνέχεια παρέμενε σταθερή. Αντίθετα, δύο κορυφές που εκλούστηκαν στα ~ 80 και 85 min, αντίστοιχα, παρέμεναν σχεδόν σταθερές σε μέγεθος μέχρι τις 90 ημέρες και αυξάνονταν στις 180 ημέρες. Επιπλέον, η κορυφή που εκλούστηκε στα ~ 89 min μειωνόταν σε μέγεθος καθ' όλη τη διάρκεια της μελέτης.

Χρωματογραφήματα RP-HPLC υδατικών εκχυλισμάτων από τυριά Κεφαλογραβιέρα που αλατίστηκαν με NaCl ή μείγματα (3:1, 1:1) NaCl/KCl, ηλικίας 5, 90 και 180 ημερών, παρουσιάζονται στα Σχήματα 17,18 και 19, αντίστοιχα. Όπως φαίνεται, οι πεπτιδικές κατατομές του μάρτυρα και των πειραματικών τυριών ήταν παρόμοιες και στις τρεις ηλικίες εξέτασης, γεγονός που δείχνει ότι η πεπτιδόλυση στα



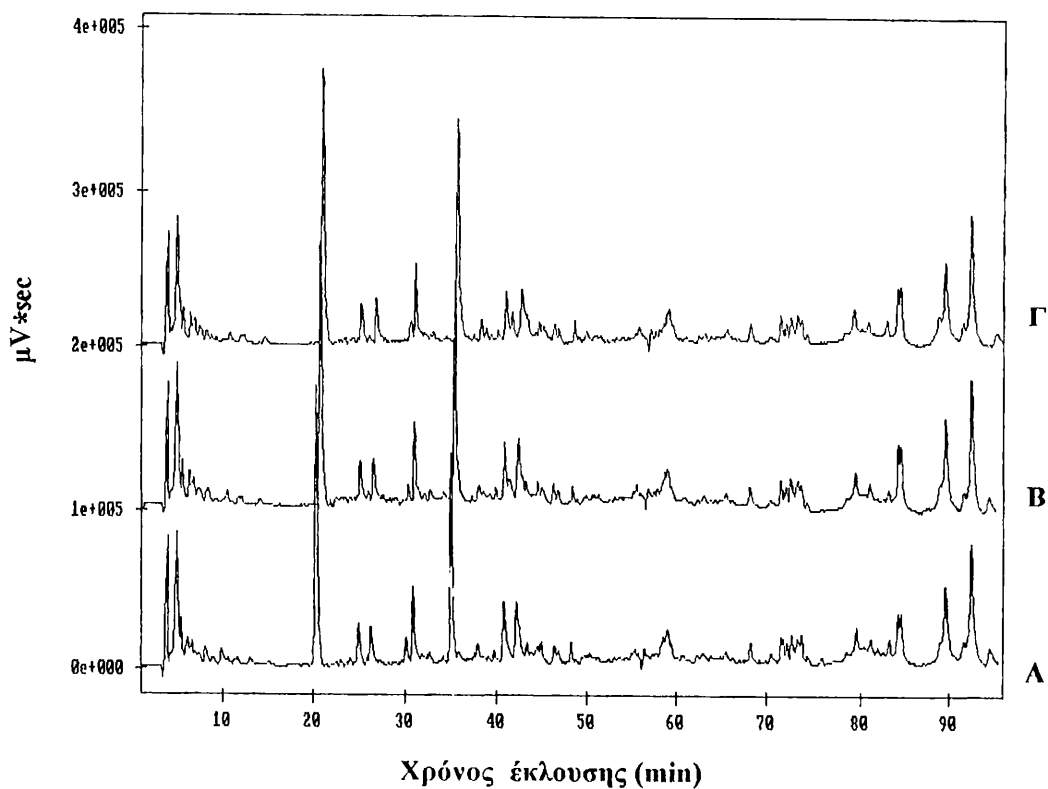
Χρόνος έκλουσης (min)

Σχήμα 15. Χρωματογράφημα RP-HPLC υδατικού εκχυλίσματος ώριμης Κεφαλογραβιέρας (ηλικίας 90 ημερών). Ανίχνευση στα 214 nm.

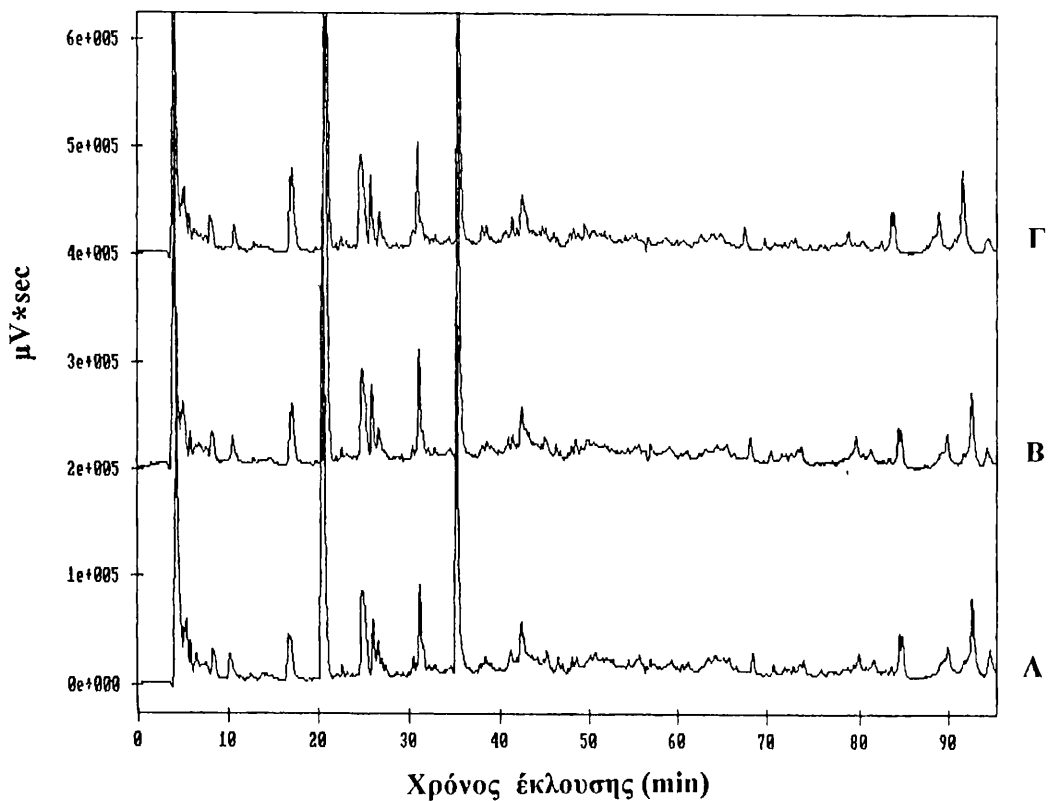


Χρόνος έκλουσης (min)

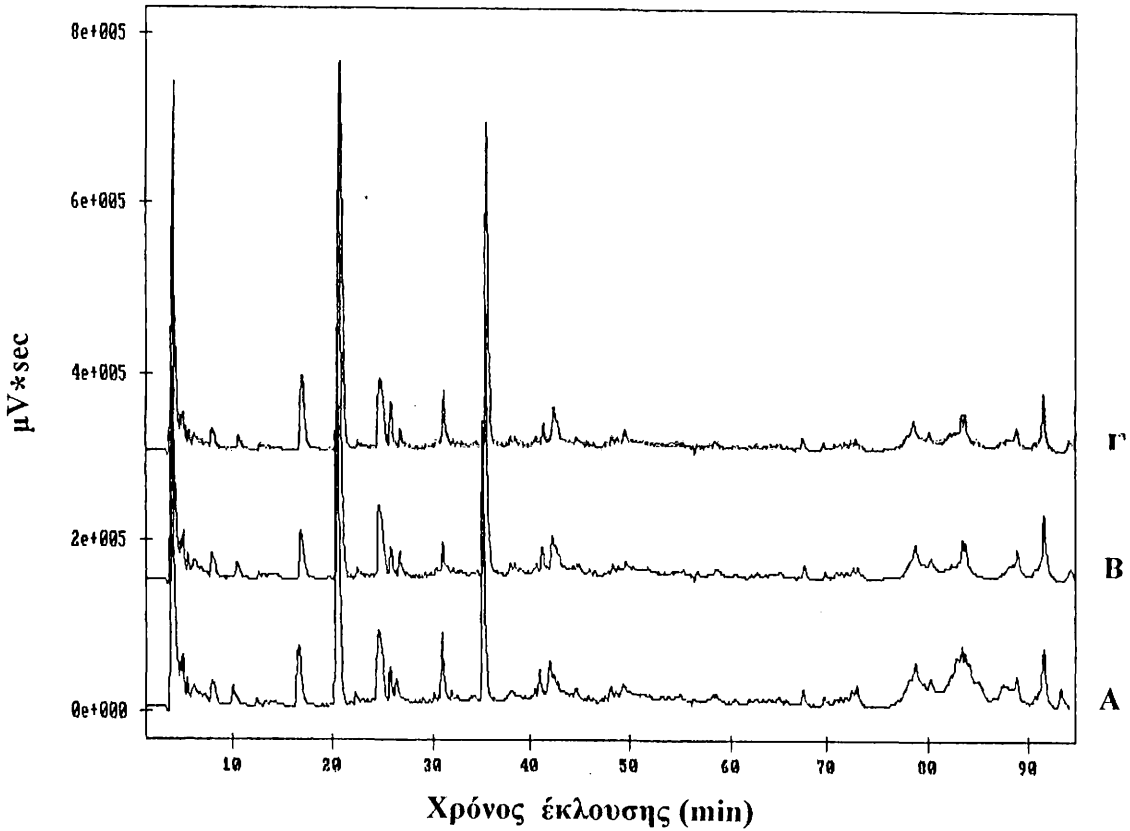
Σχήμα 16. Χρωματογράφημα RP-HPLC υδατικού εκχυλίσματος τυριού Κεφαλογραβιέρα, που αλατίστηκε με NaCl σε διάφορες ηλικίες. 5, 25, 60, 90, 180: ηλικία δείγματος (ημέρες). Ανίχνευση στα 214 nm.



Σχήμα 17. Χρωματογραφήματα RP-HPLC υδατικών εκχυλισμάτων τυριών Κεφαλογραβιέρα, που αλατίστηκαν με NaCl (Α), 3:1 μείγμα NaCl:KCl (Β), ή 1:1 μείγμα NaCl:KCl (Γ), ηλικίας 5 ημερών.



Σχήμα 18. Χρωματογραφήματα RP-HPLC υδατικών εκχυλισμάτων τυριών Κεφαλογραβιέρα, που αλατίστηκαν με NaCl (Α), 3:1 μείγμα NaCl:KCl (Β), ή 1:1 μείγμα NaCl:KCl (Γ), ηλικίας 90 ημερών.



Σχήμα 19. Χρωματογραφήματα RP-HPLC υδατικών εκχυλισμάτων τυριών Κεφαλογραβιέρα, που αλατίστηκαν με NaCl (A), 3:1 μείγμα NaCl:KCl (B), ή 1:1 μείγμα NaCl:KCl (Γ), ηλικίας 180 ημερών. Ανίχνευση 214 nm.

τυριά αυτά δεν επηρεάστηκε από το είδος του άλατος που χρησιμοποιήθηκε στην παρασκευή τους.

Οι συγκεντρώσεις των υδρόφοβων (HO) και των υδρόφιλων (HI) πεπτιδίων και οι λόγοι τους (HO/HI) στα υδατικά εκχυλίσματα τυριών Κεφαλογραβιέρα, που αλατίστηκαν με NaCl ή μείγματα NaCl/KCl, κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και διατήρησής τους, υπολογίστηκαν όπως και στην περίπτωση των τυριών Φέτα και δίνονται στον Πίνακα 17. Όπως φαίνεται, γενικά, τα υδρόφοβα πεπτιδία στα υδατικά εκχυλίσματα των τυριών μειώνονταν γρήγορα μεταξύ 5 και 25 ημερών και ελάχιστα μέχρι τις 90 ημέρες, ενώ αυξάνονταν ελαφρά στις 180 ημέρες. Αντίθετα, τα υδρόφιλα

πεπτιδία αυξάνονταν γρήγορα μεταξύ 5 και 25 ημερών και στη συνέχεια μειώνονταν σταδιακά μέχρι το τέλος της μελέτης. Η μείωση των υδρόφοβων πεπτιδίων και η αντίστοιχη αύξηση των υδρόφιλων πεπτιδίων κατά τα πρώτα στάδια της ωρίμασης των τυριών θα πρέπει να αποδοθούν στην αποικοδόμηση υδρόφοβων πεπτιδίων και στο σχηματισμό υδρόφιλων πεπτιδίων (Cliffé και συν. 1989, Engels και Visser 1994), καθώς επίσης και πολύ υδρόφοβων πεπτιδίων, τα οποία δεν ήταν πλέον υδατοδιαλυτά (Lau και συν. 1991, Picon και συν. 1994). Όπως φαίνεται από τον Πίνακα 17, δεν υπήρχαν σημαντικές ($P>0.05$) διαφορές στις συγκεντρώσεις των υδρόφοβων και των υδρόφιλων πεπτιδίων και στους λόγους τους μεταξύ του μάρτυρα και των πειραματικών τυριών σε όλες τις ηλικίες εξέτασης.

Ο λόγος HO/HI στα υδατικά εκχυλίσματα των τυριών μειώθηκε απότομα μεταξύ 5 και 25 ημερών, ελάχιστα μέχρι τις 90 ημέρες και αυξανόταν ελαφρά στις 180 ημέρες. Η τάση αυτή φαίνεται επίσης στο Σχήμα 20, που απεικονίζει γραφικά τη μεταβολή του λόγου HO/HI στα τυριά Κεφαλογραβιέρα σε συνάρτηση με την ηλικία τους. Επειδή, όπως προαναφέρθηκε, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές ($P>0.05$) διαφορές στους λόγους HO/HI μεταξύ των τυριών, το Σχήμα 20 σχεδιάστηκε χρησιμοποιώντας το μέσο όρο των λόγων HO/HI και των τριών τυριών δύο τυροκομιέσεων σε κάθε ηλικία εξέτασης. Είναι φανερό από το Σχήμα 20, ότι ο λόγος HO/HI των τυριών μειωνόταν καθ' όλη τη διάρκεια της ωρίμασης και μάλιστα έντονα στο αρχικό στάδιο, ενώ αυξανόταν ελαφρά κατά τη διατήρησή τους.

Από τον Πίνακα 17 φαίνεται, ότι ο λόγος HO/HI ήταν μικρότερος από 1 σε όλες τις ηλικίες εξέτασης των τυριών. Αυτό σημαίνει ότι η συγκέντρωση των υδρόφιλων πεπτιδίων ήταν μεγαλύτερη από αυτήν των υδρόφοβων πεπτιδίων καθ' όλη

Πίνακας 17. Υδροφοβα (HO) και υδροφύλα (HI) πεπτιδία¹ και ο λόγος τους (HO/HI) στο υδατικό εκχύλισμα τυριών Κεφαλονογιάβειρα² κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και διατήρησής τους, προσδιορισμένα με RP-HPLC στα 214nm.

Ηλικία τυριού (ημέρες)	Τυρί ⁴	HO (% TA)			HI (% TA)			HO / HI		
		A	B	Γ	A	B	Γ	A	B	Γ
5		38,63	37,55	38,09	44,92	47,48	46,46	0,86	0,79	0,82
25		24,33	26,82	27,44	59,12	59,33	58,80	0,41	0,45	0,47
60		23,14	25,50	20,85	58,76	58,29	63,07	0,39	0,44	0,33
90		24,07	23,17	20,35	57,04	58,34	59,85	0,42	0,40	0,34
180		28,36	26,55	23,68	54,11	54,73	56,51	0,52	0,49	0,42

¹ Εκφρασμένα ως ποσοστά της συνολικής επιφάνειας (TA) των χρωματογραφημάτων.

² Μέσοι όροι σε κάθε σειρά χωρίς γράμματα δε διαφέρουν σημαντικά (P>0.05).

³ Μέσοι όροι δύο δοκιμών.

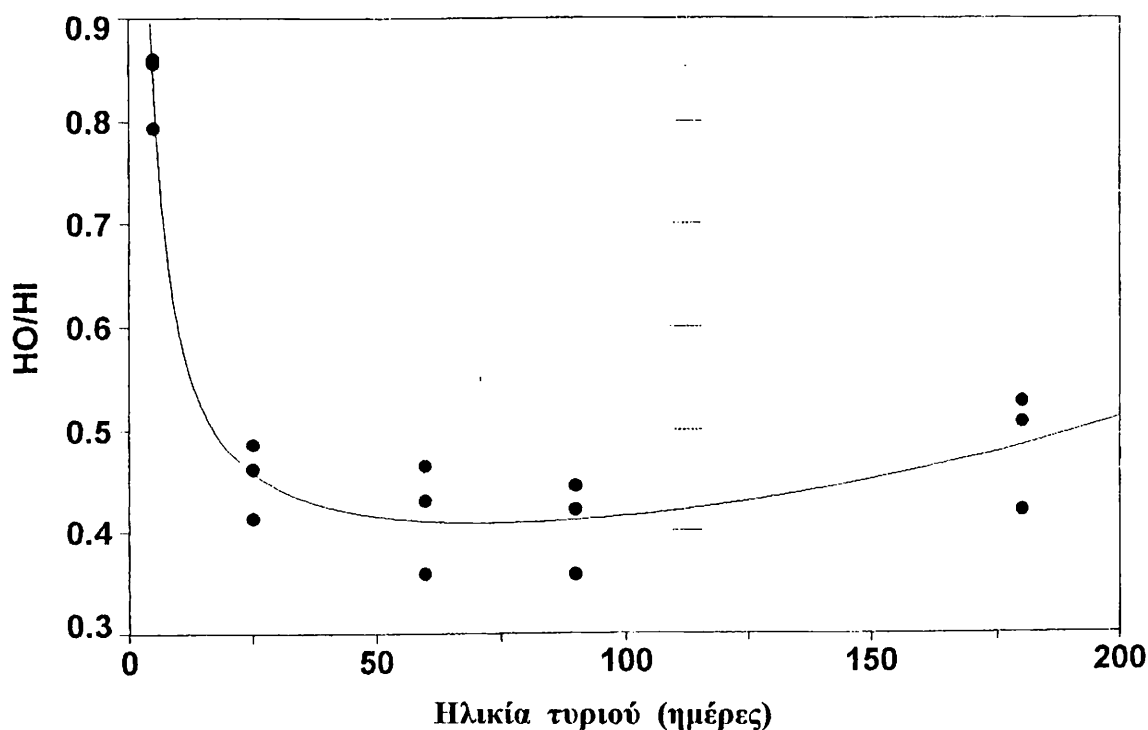
⁴ A= τυρί αλατισμένο με NaCl (μάτρυρας), B= τυρί αλατισμένο με 3:1 (w/w) μείγμα NaCl:KCl, Γ= τυρί αλατισμένο με 1:1 (w/w) μείγμα NaCl:KCl.

τη διάρκεια της ωρίμασης και διατήρησης των τυριών. Ο λόγος HO/HI (0,39), που βρέθηκε στην παρούσα μελέτη στο τυρί μάρτυρα ηλικίας 60 ημερών, ήταν σχετικά συγκρίσιμος με αυτούς που βρήκαν οι Gonzalez de Llano και συν. (1995) για λευκό (0,48) και κόκκινο (0,61) τυρί Afuega'l Pitu της ίδιας ηλικίας (60 ημερών). Επιπλέον, ο λόγος HO/HI (0,52) που βρέθηκε στο τυρί μάρτυρα στις 180 ημέρες ήταν χαμηλότερος από εκείνους (1,41 και 1,67) που βρήκαν οι Lau και συν. (1991) για τυρί Cheddar, από νωπό ή παστεριωμένο γάλα, ηλικίας 180 ημερών.

22.2.2.ε. Ελεύθερα αμινοξέα

Στον Πίνακα 18 δίνονται οι συγκεντρώσεις ενός εκάστου των FAA σε τυριά Κεφαλογραβιέρα, που αλατίστηκαν με NaCl ή μείγματα NaCl/KCl, κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και διατήρησής τους. Η σερίνη+γλουταμίνη+ασπαραγίνη, το γλουταμινικό οξύ, η λευκίνη και η βαλίνη ήταν τα σημαντικότερα FAA και στα τρία τυριά σε όλες τις ηλικίες εξέτασης. Επιπλέον, η λυσίνη, η φαινυλαλανίνη, η ισολευκίνη και η αλανίνη υπήρχαν σε σχετικά υψηλές συγκεντρώσεις σε όλα τα τυριά καθ' όλη τη διάρκεια της μελέτης. Γενικά, οι συγκεντρώσεις των FAA στα τυριά αυξάνονταν καθ' όλη τη διάρκεια της ωρίμασης και διατήρησής τους. Από τον Πίνακα 18 φαίνεται, επίσης, ότι οι συγκεντρώσεις ενός εκάστου FAA στο μάρτυρα και τα πειραματικά τυριά ήταν παρόμοιες ($P>0.05$) σε όλες τις ηλικίες εξέτασης.

Η ολική συγκέντρωση των FAA σε όλα τα τυριά αυξανόταν καθ' όλη τη διάρκεια της ωρίμασης και διατήρησής τους (Πίνακας 18). Είναι φανερό, επίσης, από τον Πίνακα 18, ότι δεν υπήρχαν σημαντικές ($P>0.05$) διαφορές στην ολική συγκέντρωση των FAA μεταξύ του μάρτυρα και των πειραματικών τυριών σε όλες τις



Σχήμα 20. Μεταβολή του λόγου "υδρόφοβη" / "υδρόφιλη" επιφάνεια (HO/HI) του χρωματογραφήματος RP-HPLC υδατικού εκχυλίσματος τυριού Κεφαλογραβιέρα κατά την ωρίμαση και διατήρησή του.

ηλικίες εξέτασης. Το γεγονός αυτό υποδηλώνει, ότι το βάθος της πρωτεόλυσης ήταν παρόμοιο σε όλα τα τυριά.

22. 2. 3. Λιπόλυση

Το επίπεδο της λιπόλυσης στα τυριά Κεφαλογραβιέρα, κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και διατήρησής τους, παρακολουθήθηκε προσδιορίζοντας την ADV. Επιπλέον, σε ώριμα τυριά ηλικίας 90 και 180 ημερών προσδιοριζόταν η συγκέντρωση ενός εκάστου των FFA. Οι τιμές της ADV των τυριών δίδονται στον Πίνακα 19. Σε

Πίνακας 18. Ελεύθερα αμινοξέα (μmol/g) τυριών Κεφαλογραβιέρα^{1,2} κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και διατήρησής τους.

Αμινοξύ	Ηλικία τυριού (ημέρες)																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
	5						25						60						90						180																																																																																																																																																																																																																																																																																					
	A		B		Γ		A		B		Γ		A		B		Γ		A		B		Γ		A		B		Γ																																																																																																																																																																																																																																																																																	
Ασπαργινικό οξύ	0,39	0,39	0,41	1,16	1,12	1,14	1,77	1,64	1,74	2,08	2,40	2,40	2,03	2,17	0,60	0,57	0,59	1,59	1,57	1,52	2,35	2,16	2,16	2,46	2,91	2,91	2,41	2,46	2,74	2,56	2,80	5,35	6,00	5,79	9,50	9,02	8,97	11,75	10,55	10,77	12,27	11,00	11,17	1,52	1,40	1,51	4,28	4,43	4,39	7,70	7,05	7,47	9,78	8,46	9,25	10,88	10,15	0,00	0,00	0,00	0,15	0,14	0,15	0,31	0,26	0,29	0,34	0,30	0,35	0,59	0,58	0,59	0,30	0,28	0,30	1,02	0,94	0,97	1,69	1,67	1,68	2,09	2,03	2,26	2,39	2,28	2,43	0,96	0,91	0,96	2,07	1,99	2,01	2,92	2,83	2,71	3,29	3,03	3,25	3,66	3,21	3,38	0,03	0,01	0,02	0,05	0,03	0,05	0,17	0,13	0,11	0,13	0,13	0,15	0,08	0,05	1,25	1,18	1,32	3,05	3,20	3,19	5,85	5,40	5,07	6,91	6,02	6,41	7,31	6,28	0,48	0,46	0,50	1,23	1,21	1,21	1,85	1,79	1,74	2,09	1,92	2,02	2,28	2,07	0,69	0,65	0,72	1,93	1,94	1,93	3,44	3,11	3,13	4,28	3,75	4,02	4,78	4,31	1,86	1,71	1,93	3,82	4,33	4,19	6,86	6,96	6,83	8,24	7,79	8,14	8,70	7,95	8,32	0,37	0,36	0,39	0,51	0,52	0,50	0,59	0,56	0,50	0,77	0,75	0,83	0,84	0,81	0,74	0,67	0,73	2,25	2,22	2,17	3,84	3,54	3,59	4,47	4,03	4,18	5,00	4,49	0,04	0,03	0,11	0,44	0,44	0,36	1,14	1,18	0,82	1,28	1,49	1,31	1,37	1,25	0,10	0,09	0,06	1,06	1,05	0,97	1,78	1,81	1,86	2,00	1,87	1,92	1,92	1,89	1,05	0,99	1,05	2,75	2,87	2,87	5,16	4,85	4,80	6,51	5,92	6,28	6,97	6,52	6,76	0,39	0,40	0,39	1,16	1,13	1,12	2,21	1,97	1,90	3,11	2,53	2,55	3,15	2,92	0,06	0,06	0,12	0,17	0,27	0,24	0,09	0,36	0,21	0,36	0,07	0,24	0,21	0,16	0,66	0,64	0,66	0,63	0,67	0,69	0,76	0,58	0,54	1,34	1,01	1,07	1,24	1,10	1,05	Σύνολο	14,24	13,35	14,59	34,65	36,04	35,45	59,96	57,04	56,11	73,66	65,94	69,47	70,21	72,69
Σύνολο	14,24	13,35	14,59	34,65	36,04	35,45	59,96	57,04	56,11	73,66	65,94	69,47	70,21	72,69																																																																																																																																																																																																																																																																																																

¹ Μέσοι όροι σε κάθε σειρά και στην ίδια ηλικία χωρίς γράμματα δε διαφέρουν σημαντικά (P>0,05).

² Μέσοι όροι τριών δοκιμών.

³ A=τυρί αλατισμένο με NaCl (μόρτυρος), B= τυρί αλατισμένο με 3:1 (w/w) μέγγμα NaCl:KCl, Γ= τυρί αλατισμένο με 1:1 (w/w) μέγγμα NaCl:KCl.

Πίνακας 19. Τιμή οξύτητας λίπους (meq KOH/100 g λίπους) τυριών Κεφαλο-
 γραβιέρα^{1,2} κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και διατήρησής τους.

Ηλικία τυριού (ημέρες)	Τυρί ³		
	A	B	Γ
5	0,58	0,58	0,58
25	0,99	1,01	0,96
60	1,43	1,42	1,40
90	1,59	1,57	1,54
180	1,84	1,74	1,86

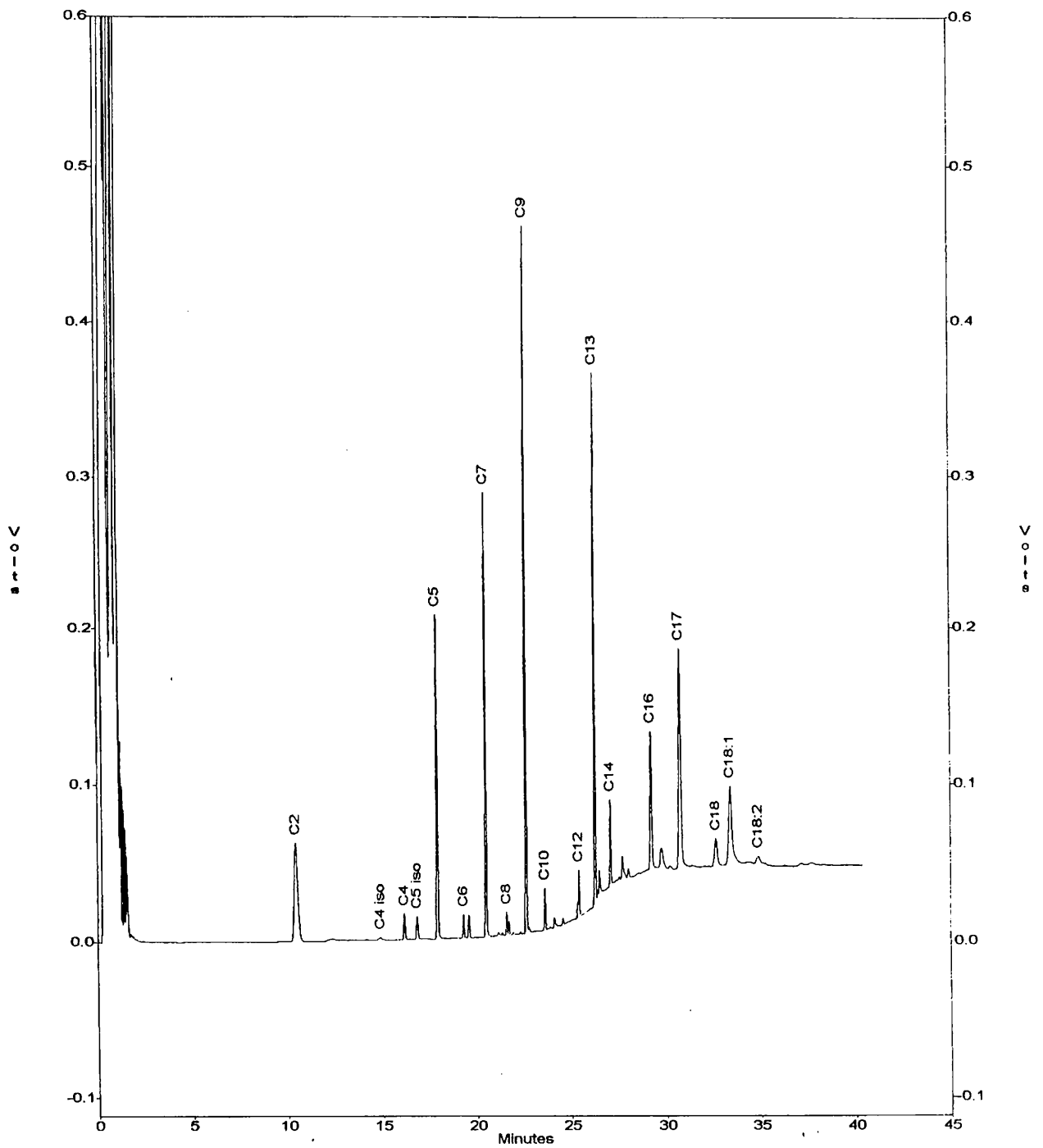
¹ Μέσοι όροι στην ίδια σειρά χωρίς γράμματα δε διαφέρουν σημαντικά (P>0.05).

² Μέσοι όροι πέντε δοκιμών.

³ A= τυρί αλατισμένο με NaCl (μάρτυρας), B= τυρί αλατισμένο με 3:1 (w/w) μείγμα NaCl:KCl, Γ= τυρί αλατισμένο με 1:1 (w/w) μείγμα NaCl:KCl:

όλα τα τυριά, οι τιμές της ADV αυξάνονταν καθ'όλη τη διάρκεια της ωρίμασης και διατήρησης. Ο ρυθμός και η έκταση της λιπόλυσης στο τυρί μάρτυρα ήταν ανάλογη εκείνης του τυριού Κεφαλογραβιέρα (μάρτυρας) που παρασκευάστηκε από τους Katsiari και Voutsinas (1994). Οι τιμές της ADV στο μάρτυρα και στα πειραματικά τυριά δε διέφεραν σημαντικά ($P>0.05$) σε όλες τις ηλικίες εξέτασης. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με εκείνα των Reddy και Marth (1993), οι οποίοι βρήκαν μη σημαντικές διαφορές ($P>0.05$) στα επίπεδα των FFA τυριών Cheddar παρασκευασμένων με NaCl, KCl ή μείγματα των δύο αυτών αλάτων. Όμως, ο Aly (1995) αναφέρει ότι οι συγκεντρώσεις του συνόλου των πτητικών λιπαρών οξέων αυξάνονται σημαντικά ($P<0.01$) σε τυρί τύπου Φέτα, από υπερδιηθημένο γάλα, αντικαθιστώντας μερικά το NaCl με KCl.

Ο χρωματογραφικός διαχωρισμός όλων των κύριων FFA φαίνεται στο Σχήμα 21, και οι μέσες συγκεντρώσεις ενός εκάστου των FFA στα τυριά Κεφαλογραβιέρα δίνονται στον Πίνακα 20. Το οξικό και το παλμιτικό ήταν τα κυριότερα FFA σε όλα τα τυριά και στις δύο ηλικίες εξέτασης. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με εκείνα που βρήκαν οι Zerfiridis και συν. (1984) σε ώριμα τυριά Γραβιέρα παρασκευασμένα από αγελαδινό γάλα και αλατισμένα με NaCl. Το οξικό και το παλμιτικό οξύ αποτελούσαν το 32 έως 38% και το 14 έως 16%, αντίστοιχα, του συνόλου των FFA σε όλα τα τυριά Κεφαλογραβιέρα. Τα πειραματικά τυριά είχαν μεγαλύτερες, αλλά όχι σημαντικά διαφορετικές ($P>0.05$), περιεκτικότητες σε οξικό οξύ και στις δύο ηλικίες εξέτασης, ιδιαίτερα στις 90 ημέρες. Πρέπει να σημειωθεί ότι τα λιπαρά οξέα βραχείας αλυσίδας δεν προέρχονται όλα από τη λιπόλυση, αλλά και από τη διάσπαση των πρωτεϊνών. Έτσι το οξικό οξύ παράγεται, εκτός από την ζύμωση της λακτόζης, κυρίως από τη



Σχήμα 21. Αεριοχρωματογράφημα ελεύθερων λιπαρών οξέων εκχυλισθέντων από δείγμα τυριού Κεφαλογραβιέρα, που αλατίστηκε με 3:1 μείγμα NaCl: KCl, ηλικίας 180 ημερών. C5,C7,C9,C13,C17: εσωτερικά πρότυπα.

διάσπαση των αμινοξέων αλανίνη και σερίνη, το ισοβουτυρικό από τη βαλίνη, το ισοβαλερικό από την ισολευκίνη και το βαλερικό από τη λευκίνη (Hanspach 1981).

Ο Πίνακας 20 δείχνει ότι δεν υπήρχαν ούτε ποιοτικές ούτε στατιστικά σημαντικές ($P>0.05$) ποσοτικές διαφορές στα επίπεδα ενός εκάστου FFA του μάρτυρα και των πειραματικών τυριών και στις δύο ηλικίες εξέτασης. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με εκείνα των Fitzgerald και Buckley (1985), οι οποίοι αναφέρουν ότι το προφίλ των FFA του τυριού Cheddar, που αλατίστηκε με 1:1 μείγμα NaCl/KCl, ήταν παρόμοιο με εκείνο του τυριού μάρτυρα. Επίσης, οι Reddy και Marth (1993) δεν βρήκαν ποιοτικές ή ποσοτικές διαφορές στα λιπαρά οξέα με άρτιο αριθμό ατόμων άνθρακα που απελευθερώθηκαν ύστερα από ωρίμαση 36 εβδομάδων σε τυριά Cheddar αλατισμένα με NaCl, KCl ή μείγματα των δύο αυτών αλάτων.

Γενικά, όλα τα FFA αυξάνονταν ελαφρά μεταξύ των 90 και 180 ημερών, με εξαίρεση το ισοβουτυρικό και καπρυλικό οξύ, που παρέμεναν σχεδόν σταθερά και το ισοβαλερικό οξύ που μειωνόταν (Πίνακας 20). Οι Zerfiridis και συν. (1984) αναφέρουν ότι, γενικά, τα λιπαρά οξέα βραχείας αλυσίδας (C_2-C_6) αυξάνονται καθ' όλη τη διάρκεια της ωρίμασης Ελληνικής Γραβιέρας, ενώ τα λιπαρά οξέα μακράς αλυσίδας από C_8 έως C_{18} αυξάνονται μέχρι τις 90 ημέρες και στη συνέχεια μειώνονται στις 180 ημέρες, εκτός του $C_{18:1}$ και των $C_{18:2+3}$ που αυξάνονται καθ' όλη τη διάρκεια της ωρίμασης.

Η ολική συγκέντρωση των FFA στο τυρί μάρτυρα ήταν 204,34 και 235,25 mg/100 g τυριού στις 90 και 180 ημέρες, αντίστοιχα (Πίνακας 20). Το σύνολο των FFA στα πειραματικά τυριά κυμάνθηκε από 216,35 έως 228,54(B) και από 215,74 έως 244,68(Γ) mg/100 g τυριού, στις 90 και 180 ημέρες, αντίστοιχα. Γενικά, η

Πίνακας 20. Ελεύθερα λιπαρά οξέα (mg/100g) τυριών Κεφαλογραβιέρα^{1,2} ηλικίας 90 και 180 ημερών.

		Ηλικία τυριού (ημέρες)					
		90			180		
		Α	Β	Γ	Α	Β	Γ
Λιπαρό οξύ	Τυρί ³						
Οξικό	C ₂	63,12	76,26	77,27	79,54	82,33	89,90
Ισοβουτυρικό	iC ₄	8,72	9,09	9,09	9,09	9,09	9,09
Βουτυρικό	C ₄	15,16	15,91	15,40	16,42	15,92	16,67
Ισοβαλερικό	iC ₅	10,11	11,37	12,14	10,36	10,61	10,86
Βαλερικό	C ₅	2,25	2,52	3,03	3,80	3,03	3,79
Καπροϊκό	C ₆	11,62	11,12	11,12	12,13	12,38	11,87
Καπρυλικό	C ₈	8,09	7,58	7,58	8,08	7,58	7,85
Καπρικό	C ₁₀	11,26	11,01	11,18	12,68	11,85	12,27
Λαυρικό	C ₁₂	8,68	9,09	8,68	9,60	8,68	9,59
Μυριστικό	C ₁₄	14,35	13,60	13,84	17,34	14,70	15,86
Παλμιτικό	C ₁₆	31,04	30,45	28,93	34,45	32,43	34,87
Στεατικό	C ₁₈	12,68	12,60	11,93	14,01	12,44	13,43
Ελαϊκό	C _{18:1}	6,63	5,25	4,88	7,00	6,75	7,88
Λινελαϊκό	C _{18:2}	0,63	0,50	0,67	0,75	0,75	0,75
Σύνολο		204,34	216,35	215,74	235,25	228,54	244,68

¹ Μέσοι όροι σε κάθε σειρά και στην ίδια ηλικία χωρίς γράμματα δε διαφέρουν σημαντικά (P>0,05).

² Μέσοι όροι τριών δοκιμών.

³ Α=τυρί αλατισμένο με NaCl (μάρτυρας), Β= τυρί αλατισμένο με 3:1 (w/w) μείγμα NaCl:KCl, Γ= τυρί αλατισμένο με 1:1 (w/w) μείγμα NaCl:KCl.

συγκέντρωση του συνόλου των FFA στα ώριμα πειραματικά τυριά ήταν ελαφρά υψηλότερη από εκείνη του τυριού μάρτυρα. Όμως, οι διαφορές αυτές δεν ήταν σημαντικές ($P>0.05$) και οφείλονταν κυρίως στη μεγαλύτερη ποσότητα οξικού οξέος, που περιείχαν τα πρώτα τυριά σε σχέση με το δεύτερο. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με τα αποτελέσματα των Lindsay και συν. (1982) και Reddy και Marth (1993), οι οποίοι αναφέρουν ότι ώριμα τυριά Cheddar, που παρασκευάστηκαν με μείγματα NaCl/KCl, περιέχουν μεγαλύτερες ολικές συγκεντρώσεις FFA από τα τυριά που παρασκευάστηκαν με ανάλογα επίπεδα NaCl μόνο.

22. 2. 4. Οργανοληπτική εξέταση των τυριών

Τα αποτελέσματα της εκτίμησης της ποιότητας των τυριών στις 90 και 180 ημέρες από την παρασκευή τους, από ομάδα εκπαιδευμένων δοκιμαστών, φαίνονται στον Πίνακα 21. Οι μέσες βαθμολογίες για την εμφάνιση, υφή-δομή, γεύση-οσμή και συνολική ποιότητα (συνολική βαθμολογία) των τυριών που αλατίστηκαν με μείγματα NaCl/KCl δε διέφεραν σημαντικά ($P>0.05$) από εκείνες του τυριού μάρτυρα και στις δύο ηλικίες που εξετάστηκαν. Όμως, το τυρί μάρτυρας έλαβε ελαφρά υψηλότερες βαθμολογίες για τη γεύση. Το τυρί που αλατίστηκε με μείγμα 3:1 NaCl/KCl, έλαβε, επίσης, λίγο υψηλότερη βαθμολογία για γεύση, από το τυρί που αλατίστηκε με μείγμα 1:1 NaCl/KCl. Μια ανάλογη τάση παρατηρήθηκε από τους Reddy και Marth (1994), Aly (1995) και Ramadan (1995) στις έρευνές τους σχετικά με την επίδραση της μερικής υποκατάστασης του NaCl με KCl στο άρωμα των τυριών Cheddar, Φέτα από υπερδηθημένο γάλα και Domiati, αντίστοιχα.

Πίνακας 21. Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά τυριών Κεφαλογραβιέρα^{1,2} κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και διατήρησής τους.

Ηλικία τυριού (ημέρες)	Οργανοληπτικό χαρακτηριστικό	Τυρί ³		
		A	B	Γ
90	Εμφάνιση (10) ⁴	9,07±0,13	8,93±0,09	8,93±0,09
180		9,32±0,26	9,25±0,21	9,32±0,15
90	Δομή - Υφή (40) ⁴	36,60±0,60	35,53±0,47	35,72±0,44
180		36,92±0,75	36,96±0,64	36,34±0,92
90	Γεύση- Οσμή (50) ⁴	44,35±0,78	44,07±1,07	43,37±0,63
180		43,33±0,87	43,05±1,12	42,65±0,67
90	Σύνολο (100) ⁴	90,02±1,15	88,53±1,48	88,03±1,03
180		89,56±1,79	89,26±1,70	88,31±1,69

¹ Μέσοι όροι στην ίδια σειρά χωρίς γράμματα δε διαφέρουν σημαντικά (P>0.05).

² Μέσοι όροι ± s.e. (τυπικό σφάλμα μέσου όρου) πέντε δοκιμών.

³ A= τυρί αλατισμένο με NaCl (μάρτυρας), B= τυρί αλατισμένο με 3:1 (w/w) μείγμα NaCl:KCl, Γ= τυρί αλατισμένο με 1:1 (w/w) μείγμα NaCl:KCl.

⁴ Τιμές στις παρενθέσεις είναι οι μέγιστες δυνατές.

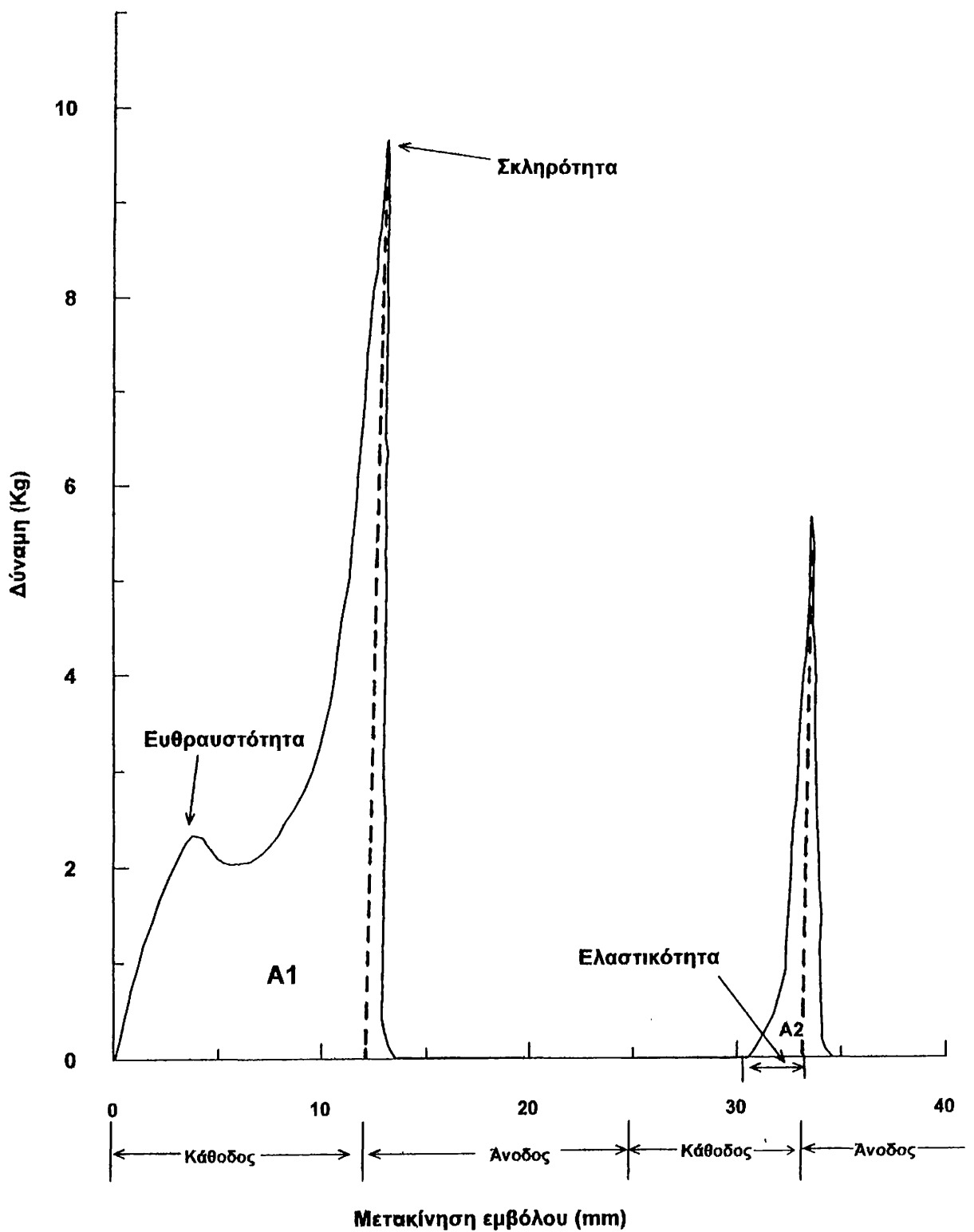
Η χαμηλότερη βαθμολογία για τη γεύση, που έλαβε το τυρί το οποίο αλατίστηκε με το μείγμα 1:1 NaCl/KCl στην παρούσα μελέτη, οφειλόταν στην ελαφρά καυστική-μεταλλική μετάγευση, χαρακτηριστική του KCl, που σημειώθηκε στις τέσσερις από τις πέντε δοκιμές από μερικούς (1-2) δοκιμαστές-κριτές, ιδιαίτερα ύστερα από ωρίμαση για 180 ημέρες. Όμως, πρέπει να σημειωθεί, ότι παρά το μικρό ελάττωμα γεύσης, το τυρί αυτό ήταν αρκετά αποδεκτό (Πίνακας 21). Το γεγονός ότι το τυρί, που αλατίστηκε με μείγμα 3:1 NaCl/KCl, δεν παρουσίασε μεταλλική-πικρή μετάγευση θα μπορούσε να αποδοθεί στην "επικαλυπτική" επίδραση του NaCl. Σύμφωνα με τους Charteris και Keogh (1991) το NaCl μπορεί να επικαλύπτει δυσάρεστους μεταλλικούς-χημικούς τόνους γεύσης, αλλά η επίδραση αυτή εξαρτάται από τη συγκέντρωση του NaCl, που προστίθεται και το είδος των χημικών ενώσεων, που παράγονται κατά τη διάρκεια της διατήρησης. Είναι αξιοσημείωτο το γεγονός, ότι σε μια δοκιμή δύο κριτές διέκριναν μια ελαφριά καυστική μετάγευση ακόμη και στο τυρί μάρτυρα.

Τα αποτελέσματα του Πίνακα 21 αποδεικνύουν σαφώς την επιτυχή παρασκευή τυριών Κεφαλογραβιέρα με χαμηλότερη περιεκτικότητα σε νάτριο χρησιμοποιώντας τα μείγματα NaCl/KCl που μελετήθηκαν. Ανάλογα θετικά αποτελέσματα έχουν, επίσης, αναφερθεί από άλλους ερευνητές για διάφορα είδη τυριών, όπως Cheddar (Lindsay και συν. 1982, Taylor 1983, Kindstedt και Kosikowski 1984, Fitzgerald και Buckley 1985, Reddy και Marth 1994), Gouda (Martens και συν. 1976, Iwanczak και συν. 1995), Prato (Rapacci και συν. 1990), ανακατεργασμένο Αμερικάνικο (Karahadian και Lindsay 1984), Swiss (Jameson 1987), Cottage (Demott και συν. 1984), UF Φέτα (Aly 1995), Caciotta (Rampilli και συν. 1995), Fynbo (Zorilla 1993),

Colby (Taylor 1983), Domiati (Ramadan 1995), Camembert, Camping και Tilsit (Iwanczak και συν. 1995). Τυριά Cheddar και Colby με χαμηλή περιεκτικότητα σε νάτριο, παρασκευασμένα με KCl ως υποκατάστατο αλατιού, διατίθενται ήδη στην αγορά (Taylor 1983). Πρέπει να αναφερθεί, όμως, ότι άλλοι ερευνητές βρήκαν αρνητικά αποτελέσματα. Έτσι οι Sieber και Schar (1993) βρήκαν ότι η μερική υποκατάσταση (3:1 ή 1:1) του NaCl με KCl είχε αρνητική επίδραση στην ποιότητα ημίσκληρου τυριού τύπου-Arpenzell, επειδή το τυρί είχε πικρή γεύση και αδύνατη δομή. Επιπλέον, οι Barth και συν. (1993) ανέφεραν ότι προσπάθειες για να υποκατασταθεί το νάτριο με κάλιο σε ημίσκληρα τυριά (Edam και Tilsit) δεν ήταν ενθαρρυντικές, επειδή η προσθήκη καλίου προκάλεσε πικρή γεύση στα τυριά.

22. 2. 5. Ρεολογική εξέταση των τυριών

Τυπικές καμπύλες δύο διαδοχικών κύκλων συμπίεσης ενός δείγματος τυριού Κεφαλογραβιέρα (ηλικίας 180 ημερών) με τη συσκευή INSTRON φαίνονται στο Σχήμα 22. Τα αποτελέσματα της αντικειμενικής μέτρησης των ρεολογικών χαρακτηριστικών των τυριών στις 90 και 180 ημέρες από την παρασκευή τους παρουσιάζονται στον Πίνακα 22. Όλα τα τυριά είχαν ανάλογες τιμές συμπίεσης, που χρειάστηκε για να θραυστούν (βραχύτητα), και συνεκτικότητας. Γενικά, τα τυριά που αλατίστηκαν με τα μείγματα NaCl/KCl, ήταν πιο εύθραυστα και πιο μαλακά, ενώ είχαν μικρότερη ελαστικότητα, συγκολλητικότητα και μασητικότητα από το τυρί μάρτυρα. Παρόλα αυτά, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές ($P>0.05$) διαφορές στις ρεολογικές ιδιότητες μεταξύ των τριών τυριών και στις δύο ηλικίες εξέτασης. Η διαπίστωση αυτή είναι σε συμφωνία με τα αποτελέσματα των Fitzgerald και Buckley



Σχήμα 22. Τυπικές καμπύλες δύο διαδοχικών κύκλων συμπίεσης δείγματος τυριού Κεφαλογραβιέρα, με Instron Universal Testing Instrument.

Πίνακας 22. Ρεολογικά χαρακτηριστικά τυριών Κεφαλογραβιέρα^{1,2} κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και διατήρησής τους.

Ηλικία τυριού (ημέρες)	Ρεολογικό χαρακτηριστικό	Τυρί ³		
		A	B	Γ
90	Ευθραυστότητα (kg)	3,07±0,43	2,79±0,33	2,72±0,27
180		2,45±0,17	2,41±0,12	2,29±0,20
90	Συμπίεση για θραύση (%)	31,22±1,91	31,30±1,93	31,28±1,92
180		26,73±1,45	27,36±1,68	26,49±1,44
90	Σκληρότητα (kg)	12,37±1,69	11,28±1,63	11,14±1,61
180		9,99±0,74	9,61±0,59	9,33±0,61
90	Συνεκτικότητα	0,13±0,01	0,13±0,01	0,13±0,01
180		0,12±0,00	0,11±0,00	0,12±0,00
90	Ελαστικότητα (mm)	3,75±0,26	3,41±0,21	3,29±0,27
180		2,86±0,12	2,82±0,19	2,74±0,16
90	Συγκολλητικότητα (kg)	1,67±0,28	1,42±0,24	1,39±0,13
180		1,23±0,09	1,08±0,11	1,10±0,09
90	Μασητικότητα (kg x mm)	6,13±0,88	4,72±0,64	4,43±0,59
180		3,50±0,26	2,99±0,20	2,99±0,17

¹ Μέσοι όροι κάθε παραμέτρου στην ίδια σειρά χωρίς γράμματα δε διαφέρουν σημαντικά ($P>0.05$).

² Μέσοι όροι \pm s.e. (τυπικό σφάλμα μέσου όρου) πέντε δοκιμών.

³ A= τυρί αλατισμένο με NaCl (μάρτυρας), B= τυρί αλατισμένο με 3:1 (w/w) μείγμα NaCl:KCl, Γ= τυρί αλατισμένο με 1:1 (w/w) μείγμα NaCl:KCl.

(1985), οι οποίοι αναφέρουν μη σημαντικές διαφορές στα φυσικά χαρακτηριστικά (ευθραυστότητα, βραχύτητα και σκληρότητα) τυριού Cheddar αλατισμένου με KCl ή μείγμα 1:1 NaCl/KCl και τυριού μάρτυρα.

Ο Πίνακας 22 δείχνει, επίσης, ότι οι τιμές όλων των ρεολογικών ιδιοτήτων των διαφόρων τυριών Κεφαλογραβιέρα μειώνονταν με την αύξηση του χρόνου διατήρησής τους. Η διαπίστωση αυτή συμφωνεί με τα αποτελέσματα των Katsiari και Voutsinas (1994b) για τυρί Κεφαλογραβιέρα και των Creamer και Olson (1982), Zaki (1990) και Katsiari και Voutsinas (1994a) για τυριά Cheddar, Domiati και Φέτα, αντίστοιχα. Κατά τη διάρκεια της διατήρησης πολλών τυριών, το πρωτεϊνικό πλέγμα μετατρέπεται σε μια ομοιογενή μάζα και το τυρί γίνεται μαλακό (Creamer και Olson 1982). Οι μεταβολές αυτές οφείλονται πιθανόν στην υδρόλυση της α_1 -καζεΐνης, κυρίως από το υπολειμματικό πηκτικό ένζυμο.

22. 2. 6. Συμπεράσματα

Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής δείχνουν ότι τυριά Κεφαλογραβιέρα αποδεκτής ποιότητας μπορούν να παρασκευαστούν χρησιμοποιώντας μείγμα 3:1 ή 1:1 (w/w) NaCl και KCl αντί μόνο NaCl. Τα τυριά αυτά δε διαφέρουν σημαντικά ($P>0.05$) από το τυρί μάρτυρα ως προς τη σύσταση, τις φυσικο-χημικές ιδιότητες, την πρωτεόλυση, τη λιπόλυση, τα οργανοληπτικά και τα ρεολογικά χαρακτηριστικά, αλλά περιείχαν περίπου 25 και 50% λιγότερο νάτριο, αντίστοιχα. Η αναλογία Na:K (1,4) του τυριού, που αλατίστηκε με μείγμα 1:1 NaCl/KCl, είναι κοντά σε εκείνη (1,0), που συνιστάται από τους διαιτολόγους.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοποί της μελέτης αυτής ήταν:

- (1) να εξετασθεί η δυνατότητα μείωσης της περιεκτικότητας σε NaCl των τυριών Φέτα και Κεφαλογραβιέρα υποκαθιστώντας μερικώς το NaCl με KCl στο αλάτισμα, χωρίς να επηρεαστεί αρνητικά η ποιότητά τους και
- (2) να προσδιοριστούν οι επιδράσεις της μερικής υποκατάστασης του NaCl με KCl στη σύσταση, φυσικο-χημικές ιδιότητες, πρωτεόλυση, λιπόλυση, οργανοληπτικά και μηχανικά χαρακτηριστικά των τυριών αυτών κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και διατήρησής τους.

Παρασκευάστηκαν τυριά Φέτα και Κεφαλογραβιέρα διαφορετικής περιεκτικότητας σε νάτριο (NaCl). Οι τυροκομήσεις επαναλήφθηκαν πέντε φορές για κάθε τυρί. Το τυρόπηγμα κάθε τυροκόμησης αλατιζόταν με NaCl (μάρτυρας) ή μείγματα (3:1 ή 1:1, w/w) NaCl και KCl. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι είναι δυνατή μέχρι και 50% μείωση της περιεκτικότητας σε νάτριο στα τυριά Φέτα και Κεφαλογραβιέρα με μερική υποκατάσταση του NaCl με KCl χωρίς αρνητική επίδραση στην ποιότητά τους. Βρέθηκε, επίσης, ότι τα τυριά που αλατίστηκαν με μείγματα NaCl και KCl δεν είχαν σημαντικές ($P > 0.05$) διαφορές στη σύσταση (υγρασία, λίπος, πρωτεΐνη, αλάτι) στις φυσικο-χημικές (pH, a_w) και ρεολογικές (δύναμη και συμπίεση που χρειάστηκαν για να θραυστούν τα δείγματα των τυριών, σκληρότητα) ιδιότητες σε σύγκριση με τα αντίστοιχα τυριά μάρτυρες.

Η μερική υποκατάσταση του NaCl με KCl στην παρασκευή των τυριών δεν επηρέασε την έκταση και τα χαρακτηριστικά της πρωτεόλυσης (όπως εκτιμήθηκε με προσδιορισμό των διαλυτών αζωτούχων κλασμάτων με τη μέθοδο Kjeldhal,

προσδιορισμό του συνόλου των ελεύθερων αμινοξέων με τη μέθοδο καδμίου-βινυδρίνης, ηλεκτροφόρηση σε πηκτή πολυακρυλαμιδίου των πρωτεϊνών και πυκνομετρική σάρωση των ζωνών των α_1 - και β -καζεϊνών, ανάλυση των υδατικών εκχυλισμάτων των τυριών με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης - αντίστροφης φάσης και ανάλυση των ελεύθερων αμινοξέων με HPLC) και τη λιπόλυση (όπως μετρήθηκε με τη μέθοδο της τιμής οξύτητας του λίπους και με αεριοχρωματογραφική ανάλυση των ελεύθερων λιπαρών οξέων) στα τυριά σε όλα τα στάδια δειγματοληψίας.

Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής οδηγούν στο συμπέρασμα, ότι τυριά Φέτα και Κεφαλογραβιέρα πολύ αποδεκτής ποιότητας, τα οποία δε διαφέρουν ($P>0.05$) ως προς τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (εμφάνιση, υφή-δομή, οσμή-γεύση και συνολική ποιότητα) από τα αντίστοιχα τυριά μάρτυρες, μπορούν να παρασκευαστούν χρησιμοποιώντας μείγματα 3:1 ή 1:1 NaCl και KCl, αντί μόνο NaCl, στο αλάτισμα τους. Η χρησιμοποίηση του μείγματος 1:1 NaCl/KCl στο αλάτισμα των τυριών Φέτα και Κεφαλογραβιέρα μείωσε σημαντικά την αναλογία Na:K στα τυριά αυτά και την έφερε κοντά σε εκείνη που προτείνεται από τους διατροφολόγους.

SUMMARY

The objectives of this study were:

- (1) to investigate the feasibility of reducing the NaCl content in Feta and Kefalograviera cheeses by partially substituting the NaCl by KCl in the salting processes, without adversely affecting their quality and
- (2) to determine the effects of the partial substitution of NaCl by KCl in these cheeses on their composition, physico-chemical properties, proteolysis, lipolysis and sensory and textural characteristics during ripening and storage.

Feta and Kefalograviera cheeses (five trials for each cheese) of different sodium (NaCl) contents were made from split lots of curd for each cheese and salted with NaCl (control) or mixtures (3:1 or 1:1, w/w basis) of NaCl and KCl. The results indicated that up to 50% reduction of sodium content in Feta and Kefalograviera cheeses is feasible, with partial replacement of NaCl by KCl, without an adverse effect on their quality. It was also found that the cheeses salted with the mixtures of NaCl/KCl did not have significant ($P>0.05$) differences in composition (moisture, fat, protein, salt) and physico-chemical (pH, a_w) and rheological (force and compression required to fracture the cheese samples, hardness) properties in comparison with the control cheeses.

The partial substitution of NaCl by KCl in the manufacture of these cheeses did not influence the extent and characteristics of proteolysis (as measured by Kjeldhal determination of soluble nitrogen fractions, determination of total free amino acids by the Cadmium-ninhydrin method, urea-polyacrylamide gel electrophoresis of proteins and densitometric scanning of the α_{s1} - and β -casein bands, reverse-phase HPLC analysis of the water soluble extracts of cheeses and HPLC analysis of free amino acids) and

lipolysis (as assessed by the ADV method and gas chromatographic analysis of individual free fatty acids) in the cheeses at all sampling ages.

The results of this study lead to the conclusion that Feta and Kefalograviera cheeses of highly acceptable quality, which do not differ ($P>0.05$) in sensory characteristics (appearance, body and texture, flavour and overall quality) from the corresponding control cheeses can be produced using a 3:1 or 1:1 mixture of NaCl and KCl instead of NaCl alone. The use of the 1:1 NaCl/KCl mixture in the salting of Feta and Kefalograviera cheeses significantly reduced their Na:K ratios and brought them close to that recommended by nutritionists.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Abernethy, J. D. 1979. Sodium and potassium in high blood pressure. *Food Technology* **33** (12), 57-59, 64.
- Abo El-Ella, W.M. Abdel Baky, A.A. and Aly, M.E. 1988. Effect of ripening temperatures on proteolysis and lipolysis in the outer and inner regions of Ras-type cheese made by various salting methods. *Food Chemistry* **28**, 1-16.
- Addison, W.L.T. 1928. The use of sodium chloride, potassium chloride, sodium bromide and potassium bromide in cases of arterial hypertension which are amenable to potassium chloride. *Canadian Medical Association Journal* **18**, 281-285.
- Alichanidis, E., Anifantakis, E.M., Polychroniadou, A. and Nanou, M. 1984. Suitability of some microbial coagulants for Feta cheese manufacture. *Journal of Dairy Research* **51**, 141-147.
- Aly, M.E. 1995. An attempt for producing low-sodium Feta-type cheese. *Food Chemistry* **52**, 295-299.
- Andrews, A.T. 1983. Proteinases in normal bovine milk and their action on caseins. *Journal of Dairy Research* **50**, 45-55.
- Anifantakis, E.M. 1991. *Greek Cheeses: A Tradition of Centuries*. National Dairy Committee of Greece, Athens.
- Anonymous. 1981a. Sodium content labeling: An issue that won't go away. *Food Engineering* **53** (8), 42-44.

- Anonymous. 1981b. Dietary factors and blood pressure. *Dairy Council Digest* **52** (5), 25-30.
- Anonymous. 1982. Perspectives in hypertension. Campbell Soup Co., Consumer Nutrition Center, Campbell Place, Camden.
- Anonymous. 1984a. Salt designations revised in final sodium labeling regulation. *Food Chemical News*, **26** (7), 3.
- Anonymous 1984b. Nutrition update: Sodium. *Dairy Council Digest* **55** (6), 33-38.
- Azarnia, S., Ehsani, M.R. and Mirhadi, S.A. 1997. Evaluation of the physico-chemical characteristics of the curd during the ripening of Iranian brine cheese. *International Dairy Journal*, **7**, 473-478.
- Ball, C.O.T. and Meneely, G.R. 1957. Observations on dietary sodium chloride. *Journal of the American Dietetic Association* **33**, 366-370.
- Barford, R.A., Kumosinski, T.F., Parris, N. and White, A.E. 1988. Salt-binding effects in hydrophobic-interaction chromatography. *Journal of Chromatography* **458**, 57-66.
- Barth, C., Krusch, U., Meisel, H., Prokoper, D., Schlimme, E. and Vrese, M. de. 1993. [Possibilities and limits of reducing salt in semi-hard cheese. Part 2]. From *Dairy Science Abstr.* **55**, No 4673.
- Bartoshuk, L.M. 1980. Sensory analysis of the taste of NaCl. In *Biological and Behavioral Aspects of Salt Intake*, eds. M.R. Kare, M.J. Fregly and R.A. Bernard, pp. 83-97, Academic Press, New York.
- Basch, J.J., Farrell, H.M.Jr., Walsh, R.A., Konstance, R.P. and Kumosinski, T.P. 1989. Developments of a quantitative model for enzyme-catalyzed, time-dependent

changes in protein composition of Cheddar cheese during storage. *Journal of Dairy Science*, **72**, 591-603.

Βασταρδής, Ι. 1989. Φυσικοχημικές ιδιότητες τυριών άλμης. Διατριβή Μ.Sc., Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα.

Bastian, E.D., Lo, C.G. and David, K.M.M. 1997. Plasminogen activation in cheese milk: Influence on Swiss cheese ripening. *Journal of Dairy Science*, **80**, 245-251.

Beauchamp, L.M. 1981. The development of taste in infancy. In *Infant and Early Childhood Feeding*, eds. J. T. Bond, L. J. Filer, G.A. Leveille, A. Thompson and W.B. Weil, pp. 413-425, Academic Press, New York.

Best, D. 1989. Compensating for sodium: The low-salt solution. *Prepared Foods* **158** (2), 97-98.

Bican, P. and Spahni, A. 1993. Proteolysis in Swiss-type cheeses: a high-performance liquid chromatography study. *International Dairy Journal*, **3**, 73-84.

Blinkerd, E.F. and Kolari, O.E. 1975. The history and use of nitrate and nitrite in the curing of meat. *Food Cosmetic and Toxicology* **13**, 655-661.

Blakesley, R.W. and Boezi, J.A. 1977. A new staining technique for proteins in polyacrylamide gels using Coomassie Brilliant Blue G 250. *Analytical Biochemistry* **82**, 580-581.

Bourne, M.C. 1978. Texture profile analysis. *Food Technology* **62** (7), 62-66, 72.

Bourne, M.C. 1982. *Food Texture and Viscosity: Concept and Measurement*, Academic Press, New York.

- Bravieri, K.E. 1983. Techniques for sodium reduction and salt substitution in commercial processing. *Activities Report of the R & D Associates* 35 (2), 79-86.
- Breslau, N.A., McGuire, J.L., Zerwekh, J.E and Park, C.Y.C. 1982. The role of dietary sodium on renal excretion and intestinal absorption of calcium and on vitamin D metabolism. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 55, 369-373.
- Briggs, G.M. and Galloway, D.H. 1979. *Bogert's Nutrition and Physical Fitness*, 10th edn, W.B. Saunders Company, Philadelphia.
- B.S.I. 1955. Gerber method for the determination of fat in milk and milk products. *British Standard 696*, British Standards Institution, London.
- Bütikofer, U. 1996. Cheese characterization with free amino acid pattern in several hard and semi-hard cheeses. *IDF Bulletin* No 317, p.22, International Dairy Federation, Brussels.
- Bütikofer, U. and Fuchs, D.1997. Development of free amino acids in Appenzeller, Emmentaler, Gruyère, Raclette, Sbrinz and Tilsiter cheese. *Lait*, 77, 91-100.
- Cappuccio, F.P. and MacGregor, G.A. 1991. Does potassium supplementation lower blood pressure? A meta-analysis of published trials. *Journal of Hypertension* 9, 465-473.
- Charteris, W.P. and Keogh, M.K. 1991. The incorporation of unhydrogenated fish oil into full fat table spreads. Confidential Report ARMIS 11809, Teagasc, National Dairy Products Research Center, Moorepark, Cork, Ireland.

- Christensen, T.M.I.E., Bech, A.-M. and Werner, H. 1991. Methods for crude fractionation (extraction and precipitation) of nitrogen components in cheese. *IDF Bulletin* No 261, pp. 4-9, International Dairy Federation, Brussels.
- Cliffe, A.J., Revell, D. and Law, B.A. 1989. A method for the reverse phase HPLC of peptides from Cheddar cheese. *Food Chemistry* 34, 147-160.
- Creamer, L.K. 1975. β -casein degradation in Gouda and Cheddar cheese. *Journal of Dairy Science* 58, 287-292.
- Creamer, L.K. 1976. A further study of the action of rennin on β -casein. *New Zealand Journal of Dairy Science and Technology* 11, 30-39.
- Creamer, L.K. 1979. Degradation of casein components during cheese ripening. *Proceedings of 5th International Congress of Food Science and Technology*, p. 57, Elsevier Publ. Corp., New York.
- Creamer, L.K. and Olson, N.F. 1982. Rheological evaluation of maturing Cheddar cheese. *Journal of Food Science* 47, 631-636, 646.
- Creamer, L.K., Mills, O.E. and Richards, E.L. 1971. The action of rennets on the caseins. I. Rennin action on β -casein-B in solution. *Journal of Dairy Research* 38, 269-280.
- Creamer, L.K., Zoerb, H.F., Olson, N.F. and Richardson, T. 1982. Surface hydrophobicity of α_{S1} -I, α_{S1} -casein A and B and its implications in cheese structure. *Journal of Dairy Science* 65, 902-906.
- Cutler, J. A., Follmann, D., Elliot, P. and Suh, I. 1991. An overview of randomized trials of sodium reduction and blood pressure. *Hypertension* 17 (Suppl. 1), 1-27.

- Dahl, L.K. 1958. Medical progress. Salt intake and salt need. *The New England Journal of Medicine* **258**, 1152 - 1205.
- Dahl, L.K. 1972. Salt and hypertension.. *American Journal of Clinical Nutrition* **25**, 231- 244.
- Deeth, H.C. and Fitz-Gerald, C.H. 1976. Lipolysis in dairy products: a review. *Australian Journal of Dairy Technology* **31**, 53-64.
- De Jong, L. 1975. A quantitative electrophoretic method of studying cheese ripening. *Netherlands Milk and Dairy Journal* **29**, 162-168.
- De Jong, L. 1978. Protein breakdown in soft cheese and its relationship to consistency. 3. The micellar structure of Meshanger cheese. *Netherlands Milk and Dairy Journal* **32**, 15-25.
- De Jong, C. and Badings, H.T. 1990. Determination of free fatty acids in milk and cheese. Procedures for extraction, clean up, and capillary gas chromatographic analysis. *Journal of High Resolution Chromatography* **13**, 94-98.
- Demott, B.J. 1985. Nutrient rations in dairy products. *Cultured Dairy Products Journal* **20**, 6-9.
- Demott, B.J., Hitchcock, J.P. and Sanders, O.G. 1984. Sodium concentration of selected dairy products and acceptability of a sodium substitute in Cottage cheese. *Journal of Dairy Science* **67**, 1539-1543.
- Demott, B.J., Hitchcock, J.P. and Davidson, P.M. 1986. Use of sodium substitutes in Cottage cheese and buttermilk. *Journal of Food Protection* **49**, 117-120.

- Dickinson, W.E. 1980. Salt sources and markets. In *Biological and Behavioral Aspects of salt intake*, eds. M.R.Kare, M.J. Fregly, and R.A. Bernard, pp. 49-52, Academic Press, New York.
- Dillon, J. C. 1987. Cheese in the diet. In *Cheesemaking: Science and Technology*, ed. A. Eck, pp. 499-512, Lavoisier Publishing Inc., New York.
- Doi, E., Shibata, D. and Matoba, T. 1981. Modified colorimetric ninhydrin methods for peptidase assay. *Analytical Biochemistry* **118**, 173-184.
- Dulley, J.R. and Grieve, P.A. 1974. Volatile fatty acid production in Cheddar cheese. *Australian Journal of Dairy Technology* **29**, 120-123.
- Dusing, R., Gill, J.R., Bartter, F.C. and Gullner, J.G. 1980. The effect of potassium depletion on urinary prostaglandins in normal man. *Advances in Prostaglandin and Thromboxane Research* **7**, 1189-1192.
- Dzendolet, E. and Meiselman, H.L. 1967. Cation and anion contributions to gustatory quality of simple salts. *Perception and Psychophysic* **2**, 601- 610.
- Editorial. 1993. KCl spells quality in low salt cheese. *Dairy Foods* **94** (3), 72.
- Efthymiou, C. 1967. Major free fatty acids of Feta cheese. *Journal of Dairy Science* **50**, 20-24.
- Efthymiou, C.C. and Mattick, J.F. 1964. Development of domestic Feta cheese. *Journal of Dairy Science* **47**, 593-598.
- Egan, H., Kirk, R.S. and Sawyer, R. 1981. *Pearson's Chemical Analysis of Foods*, Churchill Livingstone, Edinburgh.

- Engels, W.J.M. and Visser, S. 1994. Isoation and comparative characterization of components that contribute to the flavour of different types of cheese. *Netherlands Milk and Dairy Journal* **48**, 127-140.
- Fedrick, I. A. and Dulley, J.R. 1984. The effect of elevated storage temperature on the rheology of Cheddar cheese. *New Zealand Journal of Dairy Science and Technology* **19**, 141-150.
- Feinleib, M., Garrison, R. J. and Havlik, R.J. 1980. Environmental and genetic factors affecting the distribution of blood pressure in children. In *Childhood Prevention of Atherosclerosis and Hypertension*, eds. R. Shelkelle and R.M. Lauer, pp. 271 - 284, Raven Press, New York.
- Fitzgerald, E. and Buckley, J. 1985. Effect of total and partial substitution of sodium ehloride on the quality of Cheddar cheese. *Journal of Dairy Science* **68**, 3127-3134.
- Foda, E.A., Hammond, E.G., Reinbold, G.W. and Hotchkiss, D.K. 1974. Role of fat in flavor of Cheddar cheese. *Journal of Dairy Science* **57**, 1137-1142.
- Folkertsma, B. and Fox, P.F. 1992. Use of the Cd-ninhydrin reagent to assess proteolysis in cheese during ripening. *Journal of Dairy Research* **59**, 217-224.
- Folkertsma, B., Fox, P.F. and McSweeney, P.L.H. 1996. Accelerated ripening of Cheddar cheese at elevated temperatures. *International Dairy Journal* **6**, 1117-1134.
- Forsythe, R.H. and Miller, R.A. 1980. Salt in processed foods. In *Biological and Behavioral Aspects of salt intake*, eds. M.R. Kare, M.J. Fregly and R.A. Bernard, pp. 221-228, Academic Press, New York.

- Fox, P. F. 1981. Proteinases in dairy technology. *Netherlands Milk and Dairy Journal* **35**, 233-253.
- Fox, P. F. 1983. Cheese: an overview. In *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, Vol. 1, *General Aspects* 2nd edn, ed. P.F.Fox, pp. 1-36, Chapman & Hall, London.
- Fox, P. F. 1987. Significance of salt in cheese ripening. *Dairy Industries International* **52** (9), 19, 21-22.
- Fox, K.F. and Walley, B.F. 1971. Influence of sodium chloride on the proteolysis of casein by rennet and by pepsin. *Journal of Dairy Research* **38**, 165-170.
- Fox, P. F., Lucey, J. A. and Cogan, T.M. 1990. Glycolysis and related reactions during cheese manufacture and ripening. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **29** (4), 237-253.
- Fox, P. F., Law, J., McSweeney, P.L.H. and Wallace, J. 1993. Biochemistry of cheese ripening. In *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, Vol. 1, *General Aspects* 2nd edn, ed. P.F.Fox, pp. 389-438, Chapman & Hall, London.
- Fox, P. F., Singh, T. K. and McSweeney, P.L.H. 1995a. Biogenesis of flavour compounds in cheese. In *Chemistry of Structure-Function Relationships in Cheese*, eds. E.L. Malin and M.H. Tunick, pp. 59-98, Plenum Publ. Corp., New York.
- Fox, P. F., McSweeney, P.L.H. and Singh, T. K. 1995b. Methods for assessing proteolysis in cheese during maturation. In *Chemistry of Structure - Function Relationships in Cheese*, eds. E.L. Malin and M.H. Tunick, pp. 161-194, Plenum Publ. Corp., New York.

- Prank, R.L. and Mickelsen, O. 1970. Sodium-potassium chloride mixtures as table salt. In *Third Symposium on Salt*, eds. J.L. Rau and L.F. Dellwig, Vol. 2, pp. 135-141, The Northern Ohio Geological Society, Inc., Cleveland.
- Fregly, M.J. 1981. Sodium and potassium. *Annual Review of Nutrition* **1**, 69-93.
- Freis, E.D. 1976. Salt, volume and the prevention of hypertension. *Circulation* **53**, 589-595.
- Frodey, R. C. 1982. Reducing or eliminating sodium in products - what are the options? In *Ingredient Technology*, ed. R.H. Dougherty, pp. 5-1 to 5-8, Institute of Food Technologists, Chicago.
- Frohlich, E.D. and Messerli, F.H. 1982. Sodium and hypertension. In *Sodium: Its Biologic Significance*, ed. S. Papper, pp. 143-158, CRC Press, Florida.
- Fugita, T. and Ando, K. 1984. Hemodynamic and endocrine changes associated with potassium supplementation in sodium-loaded hypertensives. *Hypertension* **6**, 184-192.
- Geleijnse, J.M., Grobbee, D.E. and Hofman, A. 1990. Sodium and potassium intake and blood pressure change in childhood. *British Medical Journal* **300**, 899-910.
- Geurts, T.J., Walstra, P. and Mulder, H. 1974. Transport of salt and water during salting of cheese. 1. Analysis of the processes involved. *Netherlands Milk and Dairy Journal* **28**, 102-129.
- Gillette, M. 1985. Flavor effects of sodium chloride. *Food Technology* **39** (6), 47-56.
- Godinho, M. and Fox, P.F. 1981. Ripening of Blue cheese: Influence of salting rate on lipolysis and carbonyl formation. *Milchwissenschaft* **36**, 476-478.

- Gonzalez de Llano, D., Polo, M.C. and Ramos, M. 1995. Study of proteolysis in artisanal cheeses: high performance liquid chromatography of peptides. *Journal of Dairy Science* **78**, 1018-1024.
- Gouda, A. 1987. Degradation of casein fractions by milk clotting enzymes and the effect of sodium chloride. *Egyptian Journal of Dairy Science* **15**, 15-23.
- Goulding, A. 1990. Osteoporosis: why consuming less sodium chloride helps to conserve bone. *New Zealand Medical Journal* **103**, 120-122.
- Goulding, A. 1997. Sodium and calcium metabolism. *IDF Bulletin* No. **322**, pp. 33-36, *International Dairy Federation*, Brussels.
- Goulding, A. and Campbell, D. R. 1983. Dietary NaCl loads promote calciuria and bone loss in adult oophorectomized rats consuming a low calcium diet. *Journal of Nutrition* **113**, 1409-1414.
- Goulding, A. and Gold, E. 1986. Effects of dietary sodium chloride loading on parathyroid function, 1,25-dihydroxyvitamin D, calcium balance and bone metabolism in female rats during chronic prednisolone administration. *Endocrinology* **119**, 2148-2154.
- Goulding, A., Everitt, H.E., Cooney, J.M. and Spears, G.F.S. 1986. Sodium and osteoporosis. In *Recent Advances in Clinical Nutrition:II*, eds. K. Truswell and M. Wahlqvist, pp. 99-108, John Libbey, London.
- Goulding, A., Gold, E. and Campbell, A.J. 1993. Salty foods increase calcium requirements and are a potential risk factor for osteoporosis. *IDF Newsletter* No. **138**, pp. 16-19, *International Dairy Federation*, Brussels.

- Grappin, R., Rank, T.C. and Olson, N.F. 1985. Primary proteolysis of cheese proteins during ripening: a review. *Journal of Dairy Science* **68**, 531-540.
- Gros, G., Weller, J.M. and Hooper, S.W. 1971. Relationship of sodium and potassium intake to blood pressure. *The American Journal of Clinical Nutrition* **24**, 206-215.
- Grufferty, M.B. and Fox, P.F. 1988a. Milk alkaline proteinase. *Journal of Dairy Research* **55**, 609-630.
- Grufferty, M.B. and Fox, P.F. 1988b. Factors affecting the release of plasmin activity from casein micelles. *New Zealand Journal of Dairy Science and Technology* **23**, 153-163.
- Guidi, K. 1980. Merchandising special dietary cheeses. *Dairy Field* **163**, (8), 66A-66D.
- Guinee, T.P. and Fox, P.F. 1993. Salt in cheese: Physical, chemical and biological aspects. In *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, Vol. 1, *General Aspects* 2nd edn, ed. P.F. Fox, pp. 257-302, Chapman & Hall, London.
- Guyton, A.C. 1977. Personal reviews on mechanisms of hypertension. In *Hypertension-Physiopathology and Treatment*, eds. J. Genest, E. Koiw and O. Kuchel, pp. 566-578, McGraw-Hill, New York.
- Haddy, F. J. 1991. Roles of sodium, potassium, calcium, and natriuretic factors in hypertension. *Hypertension*. **18** (Suppl. 3), 179-183.
- Hansen, R.G. and Wyse, B.W. 1980. Potassium and sodium compositions of food interpreted by nutrient density analysis. In *Sodium and Potassium in Foods and Drugs*, Conf. Proc., eds. P.L. White & S.C. Crocco, pp. 33-44, American Medical Association, Chicago.

- Hanspach, I. 1981. Untersuchungen über freie fettsäuren als aromastoffe verschiedener kasesorten. Ph.D. Dissertation, Justus-Liebig Universität, Giessen, Germany.
- Hardy, J. 1987. Water activity and the salting of cheese. In *Cheesemaking: Science and Technology*, ed. A. Eck, pp. 37-61, Lavoisier Publishing Inc., New York.
- Heaney, R.P. 1992. Calcium in the prevention and treatment of osteoporosis. *Journal of Internal Medicine* **231**, 169-180.
- Heimbach, J. T. 1986. The growing impact of sodium labeling of foods. *Food Technology* **40** (12), 102-104, 107.
- Hober, R. and Kiesaw, F. 1889. Ueber den geschmack von salzen und laugen. *Zeitschrift Für Physicalische Chemie* **27**, 601-609.
- Huetting, S., de Lange, T. and Tempest, D.W. 1979. Energy requirement for maintenance of the transmembrane potassium gradient in *Klebsiella aerogenes* NCTC 418: A continuous study. *Archives of Microbiology* **123**, 183-188.
- Humbert, G. and Alais, C. 1979. Review of the progress of Dairy Science: The milk proteinase system. *Journal of Dairy Research* **46**, 559-571.
- IDF. 1958. Determination of dry matter in cheese and processed cheese. Standard 4, *International Dairy Federation*, Brussels.
- IDF. 1964. Determination of the casein content of milk. Standard 29, *International Dairy Federation*, Brussels.
- IDF. 1986. Milk. Determination of nitrogen content (Kjeldahl method) and calculation of crude protein content. Standard 20A, *International Dairy Federation*, Brussels.

- IDF. 1987. Sensory evaluation of dairy products. Standard 99A, *International Dairy Federation*, Brussels.
- IFT. 1980. Dietary salt - A scientific status summary by the Institute of Food Technologists' expert panel on food safety and nutrition and the committee on public information. *Food Technology* **34** (1), 85-91.
- Innocente, N. 1997. Free amino acids and water-soluble nitrogen as ripening indices in Montasio cheese. *Lait* **77**, 359-369.
- Intersalt Cooperative Research Group. 1988. INTERSALT: an international study of electrolyte excretion and blood pressure: results for 24 hour urinary sodium and potassium excretion. *British Medical Journal* **297**, 319-328.
- Iwanczak, M., Reys, A., Wisniewska, K., Jarmul, I. and Kolakowski, P. 1995. Possibility for increasing the potassium content in ripening cheeses. *Milchwissenschaft* **50**, 619-622.
- Jameson, J. W. 1987. Dietary cheeses: Low fat, low salt. *Food Technology in Australia* **39** (3), 99-101.
- Jarrett, W.D., Aston, J.W. and Dulley, J.R. 1982. A simple method for estimating free amino acids in Cheddar cheese. *The Australian Journal of Dairy Technology* **37**, 55-58.
- Joint National Committee on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. 1993. The fifth report. *Archives of Internal Medicine* **153**, 154-175.
- Kaminogawa, S. and Yamauchi, K. 1972. Acid protease of bovine milk. *Agricultural and Biological Chemistry* **36**, 2351-2356.

- Kaminogawa, S., Yamauchi, K., Miyazawa, S. and Koga, Y. 1980. Degradation of casein components by acid protease of bovine milk. *Journal of Dairy Science* **63**, 701-704.
- Kankare, V. 1979. Partial replacement of sodium by potassium and magnesium in butter salting. *Kemia-Kemi* **6**, 12.
- Kannel, W.B. and Sorlie, P. 1975. Hypertension in Framingham. In: *Epidemiology and Control of Hypertension*, ed. O. Paul, pp. 553-592, Symposia Specialists, Miami.
- Kaplan, N.M., Carneige, A., Roskin, P. Heller, J.A. and Simmons, M. 1985. Potassium supplementation in hypertensive patients with diuretic-induced hypokalemia. *New England Journal of Medicine* **312**, 746-749.
- Karahadian, C. and Lindsay, R.C. 1984. Flavor and textural properties of reduced-sodium process American cheese. *Journal of Dairy Science* **67**, 1892-1904.
- Karahadian, C. and Lindsay, R.C., Dillman, L.L. and Deibel, R.H. 1985. Evaluation of the potential for botulinal toxigenesis in reduced-sodium processed American cheese foods and spreads. *Journal of Food Protection* **48**, 63-69.
- Katsiari, M.C. and Voutsinas, L.P. 1994a. Manufacture of low-fat Feta cheese. *Food Chemistry* **49**, 53-60.
- Katsiari, M.C. and Voutsinas, L.P. 1994b. Manufacture of low-fat Kefalograviera cheese. *International Dairy Journal* **4**, 533-553.
- Kempner, W. 1948. Treatment of hypertensive vascular disease with rice diet. *The American Journal of Medicine* **4**, 545-577.

- Kindstedt, P.S. and Kosikowski, F.V. 1984. Manufacture of very low sodium chloride Cheddar cheese from direct (1.8:1) ultrafiltered milk. *Journal of Dairy Science* **67** (Supp. 1), 78.
- Koening, S. and Marth, E. 1982. Behavior of *Staphylococcus aureus* in Cheddar cheese made with sodium chloride or a mixture of sodium chloride and potassium chloride. *Journal of Food Protection* **45**, 996-1002.
- Kosikowski, F.V. 1978. *Cheeses and Fermented Milk Foods*, 2nd edn. F.V. Kosikowski, and Associates, Brooktondale, New York.
- Krishna, G.G., Chusid, P. and Hoeldtke, E.D. 1987. Mild potassium depletion provokes renal sodium retention. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine* **109**, 724-730.
- Krishna, G.G., Miller, E. and Kapoor, S. 1989. Increased blood pressure during potassium depletion in normotensive men. *The New England Journal of Medicine* **320**, 1177-1182.
- Krishna, G.G. and Kapoor, S.C. 1991. Potassium depletion exacerbates essential hypertension. *Annals of Internal Medicine* **115**, 77-86.
- Kuchroo, C.N. and Fox, P.F. 1982. Soluble nitrogen in Cheddar cheese : comparison of extraction procedures. *Milchwissenschaft* **37**, 331-335.
- Labuza, T.P., Acott, K., Tattini, S.K., Lee, R. Y., Flink, I. and McCall, W. 1976. Water activity determination: a collaborative study of different methods. *Journal of Food Science* **41**, 910-917.

- Lane, C.N. and Fox, P.F. 1996. Contribution of starter and adjunct lactobacili to proteolysis in Cheddar cheese during ripening. *International Dairy Journal* **6**, 715-728.
- Langford, H.G., Cushman, W.C. and Hsu, H. 1991. Chronic affect of KCl on black-white differences in plasma renin activity aldosterone, and urinary electrolytes. *American Journal of Hypertension* **4**, 399-408.
- Lau, K.Y., Barbano, D. M. and Rasmussen, R.R. 1991. Influence of pasteurization of milk on protein breakdown in Cheddar cheese during aging. *Journal of Dairy Science* **74**, 727-740.
- Law, M.R., Frost, C.D., Wald, N. J. 1991. By how much does dietary salt reduction lower blood pressure? 3. Analysis of data from trials of salt reduction. *British Medical Journal* **302**, 819-824.
- Lawrence, R.C. and Gilles, J. 1969. The formation of bitterness in cheese: a critical evaluation. *New Zealand Journal of Dairy Science and Technology* **4**, 189-196.
- Lawrence, R.C., Gilles, J. and Creamer, L.K. 1983. The relationship between cheese texture and flavour. *New Zealand Journal of Dairy Science and Technology* **18**, 175-190.
- Lawrence, R.C., Creamer, L.K. and Gilles, J. 1987. Texture development during cheese ripening. *Journal of Dairy Science* **70**, 1748-1760.
- Lecos, C. 1983. Potassium - Keeping a delicate balance. *FDA Consumer* **17** (1), 21-23.
- Ledford, R.A., O' Sullivan, A.C. and Nath, K.R. 1966. Residual casein fractions in ripened cheese determined by polyacrylamide-gel electrophoresis. *Journal of Dairy Science* **49**, 1098-1101.

- Lelievre, J. and Gilles, J. 1982. The relationship between the grade (product value) and composition of young commercial Cheddar cheese. *New Zealand Journal of Dairy Science and Technology* **17**, 69-75.
- Lemann, J. Jr., Gray, R. W. and Pleuss, J.A. 1989. Potassium bicarbonate, but not sodium bicarbonate, reduces urinary calcium excretion and improves calcium balance in healthy men. *Kidney International* **35**, 688-695.
- Lemann, J. Jr., Pleuss, J.A., Gray, R.W. and Hoffmann, R.G. 1991. Potassium administration reduces and potassium deprivation increases urinary calcium excretion in healthy adults. *Kidney International* **39**, 973-983.
- Lemann, J. Jr., Pleuss, J.A., Gray, R.W. and Hoffmann, R.G. 1993. Potassium causes calcium retention in healthy adults. *Journal of Nutrition* **123**, 1623-1626.
- Lesage, L., Voilley, A., Lorient, D. And Bezard, J. 1993. Sodium chloride and magnesium chloride affected by ripening of Camembert cheese. *Journal of Food Science* **58**, 1303-1306.
- Linas, S. L. 1981. Mechanism of hyperreninemia in the potassium- depleted rat. *The Journal of Clinical Investigation* **68**, 347-355.
- Linas, S. L. 1991. The role of potassium in the in the pathogenesis and treatment of hypertension. *Kidney International* **39**, 771-786.
- Lindsay, R. C., Hargett, S.M. and Bush, C.S. 1982. Effect of sodium/potassium (1:1) chloride and low sodium chloride concentrations on quality of Cheddar cheese. *Journal of Dairy Science* **65**, 360-370.

- Luft, F.C. Rankin, L.I. and Bloch, R. 1979. Cardiovascular and humoral responses to extremes of sodium intake in normal black and white men. *Circulation* **60**, 697-706.
- Lynch, N.M. 1987. In search of the salty taste. *Food Technology* **41** (11), 82-86.
- Lynch, C.M., McSweeney, P.L.H., Fox, P.F., Cogan, T.M. and Drinan, F.D. 1996. Manufacture of Cheddar with and without adjunct lactobacilli under controlled microbiological conditions. *International Dairy Journal* **6**, 851-867.
- Lynch, C.M., McSweeney, P.L.H., Fox, P.F., Cogan, T.M. and Drinan, F.D. 1997. Contribution of starter lactococci and non-starter lactobacilli to proteolysis in Cheddar cheese with a controlled microflora. *Lait* **77**, 441-459.
- Madkor, S. 1985. Ph.D. Thesis, Mania University, Egypt.
- Malthlouthi, M., Michel, J.F. and Maitenaz, P.C. 1981. Study of some factors affecting water vapor sorption of Gruyere cheese, I. Proteolysis. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie* **14**, 163-165.
- Manolkidis, K.S., Zerfiridis, G. K. And Karazanos, G. F. 1974. [Organoleptic examination and specifications of Teleme cheese]. *Geoponica* **21**, 295-300.
- Marcos, A., Esteban, M.A., Leon, F. and Fernandez-Salguero, J. 1979. Electrophoretic patterns of European cheeses: comparison and quantitation. *Journal of Dairy Science* **62**, 892-900.
- Mark, A.L., Gordon, F.J. and Takashita, A. 1981. Sodium vascular resistance and genetic hypertension. In *Hypertension*, ed. B.M. Brenner and J.H. Stein, pp. 21-35, Churchill Livingstone, New York.

- Marsh, A.C. 1983. Processes and formulations that affect the sodium content of foods. *Food Technology* **37** (7), 45-49.
- Martens, R., Vanderpoorten, R. and Naudts, M. 1976. Manufacture, composition, and properties of Gouda cheese with a reduced sodium content. *Revue de l'Agriculture* **29** (3), 681-698.
- Massey, L.K. 1993. Dietary factors influencing calcium and bone metabolism: Introduction. *Journal of Nutrition* **123**, 1609-1610.
- Matlou, S., Isles, G., Higgs, A., Milne, F.J., Murray, G. D., Schultz, E. and Stark, I.F. 1986. Potassium supplementation in blacks with mild to moderate essential hypertension. *Journal of Hypertension* **4**, 61-64.
- Mayer, H.K., Rockenbauer, C. and Mlcak, H. 1998. Evaluation of proteolysis in Parmesan cheese using electrophoresis and HPLC. *Lait* **78**, 425-438.
- McQuarrie, I., Thompson, W.H. and Anderson, J.A. 1936. Effects of excessive ingestion of sodium and potassium salts on carbohydrate metabolism and blood pressure in diabetic children. *Journal of Nutrition* **11**, 77-101.
- McSweeney, P.L.H. and Fox, P.F. 1993. Cheese: methods of chemical analysis. In *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, Vol. 1, *General Aspects* 2nd edn, ed. P.F.Fox, pp. 341-388, Chapman & Hall, London.
- McSweeney, P.L.H. and Fox, P.F. 1997. Chemical methods for the characterization of proteolysis in cheese during ripening. *Lait* **77**, 41-76.
- McSweeney, P.L.H., Fox, P.F., Lucey, J.A., Jordan, K.V. and Cogan, T.M. 1993. Contribution of the indigenous microflora to the maturation of Cheddar cheese. *International Dairy Journal* **3**, 613-634.

- Mehta, A. and Tatini, S.R. 1992. Behavior of *Listeria monocytogenes* in Cheddar cheese made with NaCl or equimolar mixture of NaCl and KCl. *Journal of Dairy Science* 75 (Suppl. 1), 93.
- Meneely, G.R. 1973. Toxic effects of dietary sodium chloride and the protective effect of potassium. In *Toxicants Occurring Naturally in Foods*, 2nd edn, pp. 26-42. Food and Nutrition Board, National Research Council, National Academy of Sciences, Washington.
- Meneely, G.R. and Battarbee, H.D. 1976. Sodium and potassium. *Nutrition Reviews* 34, 225-242.
- Michaelidou, A., Alichanidis, E., Urlaub, H., Polychroniadou, A. and Zerfiridis, G.K. 1998. Isolation and identification of some major water-soluble peptides in Peta cheese. *Journal of Dairy Science* 81, 3109-3116.
- Mickelsen, O., Makadani, D., Gill, J.L. and Frank, R.L. 1977. Sodium and potassium intakes and excretion of normal men consuming sodium chloride or 1:1 mixture of sodium and potassium chlorides. *The American Journal of Clinical Nutrition* 30, 2033-2040.
- Miller, G.D., Jarvis, J.K. and McBean, L.D. 1995. *Handbook of Dairy Foods and Nutrition*, CRC Press Inc., Florida.
- Μιχαηλίδου - Κονιόρδου, Α.Μ. 1997. Διερεύνηση της υδρόλυσης των πρωτεϊνών κατά την ωρίμανση του τυριού Φέτα. Διδακτορική Διατριβή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη.

- Morris, H.A. and Jezeski, J.J. 1953. The action of microorganisms on fat. II. Some characteristics of the lipase system of *Penicillium roqueforti*. *Journal of Dairy Science* **36**, 1285-1298.
- Morris, H.A., Guinee, T.P. and Fox, P.F. 1985. Salt diffusion in Cheddar cheese. *Journal of Dairy Science* **68**, 1851-1858.
- National High Blood Pressure Education Program Working Group. 1993. National high blood pressure education program working group report on primary prevention of hypertension. *Archives of Internal Medicine* **153**, 186-208.
- NRC. 1980a. *Toward Healthful Diets*, Food and Nutrition Board, National Academy of Sciences, National Research Council, Washington.
- NRC. 1980b. *Recommended Dietary Allowances*, 9th edn. Food and Nutrition Board, National Academy of Sciences, National Research Council, Washington.
- NRC. 1989a. *Diet and Health: Implications for Reducing Chronic Disease Risk*, Food and Nutrition Board, National Research Council, National Academy Press, Washington.
- NRC. 1989b. *Recommended Dietary Allowances*, 10th edn. Food and Nutrition Board, National Research Council, National Academy Press, Washington.
- Noomen, A. 1978. Activity of proteolytic enzymes in simulated soft cheeses (Meshanger type). I. Activity of milk protease. *Netherlands Milk and Dairy Journal* **32**, 26-48.
- Nordin, B.E.C., Need, A. G., Morris, H. A. and Horowitz, M. 1993. The nature and significance of the relationship between urinary sodium and urinary calcium in women. *Journal of Nutrition* **123**, 1615-1622.

- O' Connor, C.B. 1971. Composition and quality of some commercial Cheddar cheese. *Irish Agricultural and Creamery Review* **24** (6), 5-6.
- O' Connor, C.B. 1974. The quality and composition of Cheddar cheese. Effects of various rates of salt addition. III. *Irish Agricultural and Creamery Review* **27** (1) 11-13.
- Ohren, J.A. and Tuckey, S.L. 1969. Relation of flavor development in Cheddar cheese to chemical changes in the fat of the cheese. *Journal of Dairy Science* **52**, 598-607.
- O' Keeffe, R.B., Fox, P.F. and Daly, C. 1976. Contribution of rennet and starter proteases to proteolysis in Cheddar cheese. *Journal of Dairy Research* **43**, 97-107.
- O' Keeffe, A.M., Fox, P.F. and Daly, C. 1978. Proteolysis in Cheddar cheese: role of coagulant and starter bacteria. *Journal of Dairy Research* **45**, 465-477.
- Oliver, W. J., Cohen, E.L. and Neel, J.V. 1975. Blood pressure, sodium intake, and sodium related hormones in the Yanomano Indian, a "no-salt" culture. *Circulation* **52**, 146-151.
- Olson, N.F. 1982. Effects of sodium reduction on natural cheeses. *Dairy Field* **165**(6), 48, 50, 78.
- O' Nulain, M. 1986. MSc Thesis, National University of Ireland.
- Page, L.B. 1976. Epidemiological evidence on the etiology of human hypertension and its possible prevention. *American Heart Journal* **91**, 527-534.
- Pappas, C.P., Kondyli, E., Voutsinas, L.P. and Mallatou, H. 1996. Effect of starter level, raying time and aging on the physicochemical, organoleptio and

- rheological properties of feta cheese. *Journal of Society of Dairy Technology* **49**, 73-78.
- Pearce, K.N. 1977. The complexometric determination of calcium in dairy products. *New Zealand Journal of Dairy Science and Technology* **12**, 113-115.
- Pelissier, J-P., Mercier, J-C. and Ribadeau-Dumas, B. 1974. [Proteolysis of α_{s1} - and β -caseins by rennin. Specificity of action. Bitter peptides released]. *Annales de Biologie Animale, Biochimie, Biophysique* **14**, 343-362.
- Petik, S. 1987. Reduced sodium cultured dairy products. *Cultured Dairy Products Journal* **22** (1), 12-14,23.
- Phelan, J.A., Guiney, J. and Fox, P.F. 1973. Proteolysis of β -casein in Cheddar cheese. *Journal of Dairy Research* **40**, 105-112.
- Picon, A., Gaya, P., Medina, M. and Nunez, M. 1994. The effect of liposome encapsulation of chymosin derived by fermentation on Manchego cheese ripening. *Journal of Dairy Science* **77**, 16-23.
- Priddle, W.W. 1931. Observations on the management of hypertension. *Canadian Medical Association Journal* **25**, 5-8.
- Puchades, R., Lemieux, L. And Simard, R.E. 1989. Evolution of free amino acids during the ripening of Cheddar cheese containing added lactobacilli strains. *Journal of Food Science* **54**, 885-888, 946.
- Ramadan, F.A.M. 1995. Partial replacement of sodium by potassium in the manufacture of Domiati cheese. *Egyptian Journal of Dairy Science* **23**, 259-270.
- Rampilli, M., Contarini, G., Gatti, M. and Olivari, G. 1995. [Low-sodium Caciotta cheese: evaluation of experimental batches]. *Latte* **20** (5), 74-75.

- Rank, T.C., Grappin, R. and Olson, N. F. 1985. Sencondary proteolysis of cheese during ripening: a review. *Journal of Dairy Science* **68**, 801-805.
- Rapacci, M., Antunes, L.A. F. and Furtado, M.M. 1990. Effect of the substitution of the NaCl by KCl in the characteristics of the Prato cheese. *Journal of Dairy Science* **73** (Suppl. 1), 111.
- Rapp, J.F. 1982. Dahl salt-susceptible and salt resistant rats: A review. *Hypertension* **4**, 753-769.
- Rasmussen, R.R. and Barbano, D. M. 1987. Influence of potassium chloride on Cheddar cheese molsture, acidity and proteolysis. *Journal of Dairy Science* **70** (Suppl. 1), 78 (Abstr.).
- Reddy, K.A. and Marth, E.H. 1991. Reducing the sodium content of foods: A review. *Journal of Food Protection* **54** (2), 138-150.
- Reddy, K.A. and Marth, E.H. 1993a. Composition of Cheddar cheese made with sodium chloride and potassium chloride either singly or as mixtures. *Journal of Food Composition and Analysis* **6**, 354-363.
- Reddy, K.A. and Marth, E.H. 1993b. Proteolysis in Cheddar cheese made with sodium chloride, potassium chloride or mixtures of sodium and potassium chloride. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie* **26**, 434-442.
- Reddy, K.A. and Marth, E.H. 1993c. Lipolysis in Cheddar cheese made with sodium chloride, potassium chloride or mixtures of sodium and potassium chloride. *Milchwissenschaft* **48**, 488-493.

- Reddy, K.A. and Marth, E.H. 1994. Sensory evaluation of Cheddar cheese made with sodium or mixtures of sodium chloride and potassium chloride. *Journal of Sensory Studies* **9**, 187-204.
- Reddy, K.A. and Marth, E.H. 1995a. Microflora of Cheddar cheese made with sodium chloride, potassium chloride or mixtures of sodium and potassium chloride. *Journal of Food Protection* **58**, 54-61.
- Reddy, K.A. and Marth, E.H. 1995b. Lactic acid bacteria in Cheddar cheese made with sodium chloride, potassium chloride or mixtures of the two salts. *Journal of Food Protection* **58**, 62-69.
- Reimerdes, E.H. 1982. Changes in the proteins of raw milk during storage. In *Developments in Dairy Chemistry -1. Proteins*, ed. P.F. Fox, pp. 271-288, Elsevier Applied Science Publishers, London.
- Reiter, B., Sorokin, Y., Pickering, A. and Hall, A.J. 1969. Hydrolysis of fat and protein in small cheeses made under aseptic conditions. *Journal of Dairy Research* **36**, 65-76.
- Reps, A., Iwanczak, M., Kolakowski, P. and Kulesza, J. 1995. Diffusion of sodium and potassium from brine into cheese. *Milchwissenschaft* **50**, 263-265.
- Reps, A., Iwanczak, M., Wisniewska, K. and Dajnowiec, F. 1998. Processed cheeses with an increased potassium content. *Milchwissenschaft* **53**, 690-693.
- Richardson, B.C. and Elston, P.D. 1984. Plasmin activity in commercial caseins and caseinates. *New Zealand Journal of Dairy Science and Technology* **19**, 63-67.

- Samal, P.K., Pearce, K.N., Bennett, R.J. and Dunlop, F.P. 1993. Influence of residual rennet and proteolysis on the exudation of whey from Feta cheese during storage. *International Dairy Journal* **3**, 729-745.
- Sanchez-Castillo, C.P., Branch, W.J. and James, W.P. 1987a. A test of the validity of the lithium-marker technique for monitoring dietary sources of salt in men. *Clinical Science* **72**, 87-94.
- Sanchez-Castillo, C.P., Warrender, S., Whitehead, T.P. and James, W.P. 1987b. An assessment of the sources of dietary salt in a British population. *Clinical Science* **72**, 95-102.
- Schaafsma, G. 1996. Nutritional possibilities to prevent osteoporosis. IDF Newsletter No. 145, pp. 8-9. *International Dairy Federation*, Brussels.
- Schroeder, C.L., Bodyfelt, F.W., Wyatt, C.J. and McDaniel, M.R. 1988. Reduction of sodium chloride in Cheddar cheese: effect on sensory, microbiological and chemical properties. *Journal of Dairy Science* **71**, 2010-2020.
- Sealey, J.E., Clark, I., Bull, M.B. and Laragh, J.H. 1970. Potassium balance and the control of renin secretion. *The Journal of Clinical Investigation* **49**, 2119-2127.
- Sebranek, J.G., Olson, D.G., Whiting, R.C., Benedict, R.C., Rust, R.E., Kraft, A.A. and Woychik, J. H. 1983. Physiological role of dietary sodium in human health and implications of sodium reduction in muscle foods. *Food Technology* **37** (7), 51-59.
- Shalabi, S.I. and Fox, P.F. 1987. Electrophoretic analysis of cheese: a comparison of methods. *Irish Journal of Food Science and Technology* **11**, 135-151.

- Shank, F.R. 1980. Recent data on the amounts of sodium and potassium being consumed and future considerations for food labeling. In *Sodium and Potassium on Foods and Drugs*. Conf. Proc., eds. P.L. White & S.C. Crocco, pp. 23-32. American Medical Association, Chicago.
- Shank, F.R., Youngmee, K.P., Harland, B.F., Vanderbeen, J.E., Forbes, A.L. and Prosky, L. 1982. Perspective of Food and Drug Administration on dietary sodium. *Journal of the American Dietetic Association* **80**, 29-35.
- Siani, A., Strazzullo, P., Giacco, A., Facioni, D., Celentano, E. and Mancini, M. 1991. Increasing the dietary potassium intake reduces the need for antihypertensive medication. *Annals of Internal Medicine* **115**, 753-759.
- Sieber, R. And Schär, H. 1993. [Partial substitution of sodium chloride by potassium, calcium or magnesium chloride in semi-hard cheese]. From *Dairy Science Abstr.* **55**, No 4226.
- Spahr, U. and Url, B. 1994. Behaviour of pathogenic bacteria in cheese - A synopsis of experimental data. *IDF Bulletin* No **298**, pp. 2-16, International Dairy Federation, Brussels.
- Stadhouders, J. 1960. [The hydrolysis of protein during the ripening of Dutch cheese. The enzymes and the bacteria involved]. *Netherlands Milk and Dairy Journal* **14**, 83-110.
- Stadhouders, J. and Hup, G. 1975. Factor affecting bitter flavour in Gouda cheese. *Netherlands Milk and Dairy Journal* **29**, 335-353.
- Stamper, R. 1991. Implications of the INTERSALT study. *Hypertension* **17** (Suppl. 1), 16.

- Steel, R.G.D. and Torrie, J. H. 1960. *Principles and Procedures of Statistics with Special Reference to the Biological Sciences*, McGraw-Hill, New York.
- Sternberg, M., Cornelius, D.A., Eberts, N.J., Schwende, F.J. and Chiang, J.P.C. 1980. Clycinamide hydrochloride, a compound with common salt flavor. In *Biological and Behavioral Aspects of Salt Intake*, eds. M.R.Kare, M.J. Fregly and A. Bernard, pp. 319-329, Academic Press, New York.
- Sullivan, J.J. and Tago, G.R. 1972. The structure of bitter peptides and their formation from casein. *Australian Journal of Dairy Technology* **27**, 98-104.
- Tabuchi, Y., Ogihara, T., Gotoh, S., Masuo, K., Hashrizume, K. and Kumahara, Y. 1985. Hypotensive mechanisms of potassium supplementation in salt-loaded patients with essential hypertension. *Journal of Clinical Hypertension* **2**, 145-152.
- Taylor, D.L. 1983. New option to produce low-sodium cheese. *Food Engineering* **55** (7), 50-51.
- Thakur, M.K., Kirk, J. R. and Hedrick, T.I. 1975. Changes during ripening of unsalted Cheddar cheese. *Journal of Dairy Science* **58**, 175-180.
- Thomas, T.D. and Pearce, K.N. 1981. Influence of salt on lactose fermentation and proteolysis in Cheddar cheese. *New Zealand Journal of Dairy Science and Technology* **16**, 253-259.
- Tobian, L. 1979. The relationship of salt to hypertension. *The American Journal of Clinical Nutrition* **32**, 2739-2748.
- Treasure, J. and Ploth, D. 1983. Role of dietary potassium in the treatment of hypertension. *Hypertension* **5**, 864-872.

- Troller, J.A. and Scott, V.N. 1992. Measurement of water activity (A_w) and acidity. In *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*, 3rd edn, eds. C. Vanderzant and D.F. Splittstoesser, pp. 135-151, American Public Health Association, Washington.
- Urbach, G. 1993. Relations between cheese flavour and chemical composition. *International Dairy Journal* **3**, 389-422.
- USDA. 1976. *Composition of Foods*. Agricultural Handbook No. 8-1, Agricultural Research Service, US Government Printing Office, Washington.
- U.S. Department of Health and Human Services. 1990. Healthy people 2000, National Health Promotion and Disease Prevention Objectives, DHHS Pub. No (PHS) 91-50212, U.S. Govt. Printing Office, Washington.
- Vafopoulou, A., Alichanidis, E. and Zerfiridis, G. 1989. Accelerated ripening of Feta cheese, with heat-shocked cultures or microbial proteinases. *Journal of Dairy Research* **56**, 285-296.
- Van den Berg, G. and Exterkate, F.A. 1993. Technological parameters involved in cheese ripening. *International Dairy Journal* **3**, 485-507.
- Visser, F.M.W. 1977. Contribution of enzymes from rennet, starter bacteria and milk to proteolysis and flavour development in Gouda cheese. III. Protein breakdown: analysis of the soluble nitrogen and amino acid fractions. *Netherlands Milk and Dairy Journal* **31**, 210-239.
- Visser, F.M.W. and de Groot-Mostert, A.E.A. 1977. Contribution of enzymes from rennet, starter bacteria and milk to proteolysis and flavour development in

- Gouda cheese. IV. Protein break-down: a gel electrophoretical study. *Netherlands Milk and Dairy Journal* **31**, 247-264.
- Visser, S. 1981. Proteolytic enzymes and their action on milk proteins. A review. *Netherlands Milk and Dairy Journal* **35**, 65-88.
- Weaver, C.M. and Evans, G.H. 1986. Nutrient interactions and hypertension. *Food Technology* **40** (12), 99-101.
- Whelton, P.K. and Klag, M.J. 1987. Potassium in the homeostasis and reduction of blood pressure. *Clinical Nutrition* **6**, 76-82.
- Whelton, P.K. and Klag, M.J. 1989. Hypertension as a risk factor for renal disease: review of clinical and epidemiological evidence. *Hypertension* **13** (Suppl. 1), 1-19.
- Whelton, P.K., Appel, L.A., Seidler, A.J., Thaker, G.K. and Klag, M.J. 1992. Potassium supplementation in the treatment and prevention of hypertension. *Journal of Hypertension* **10** (Suppl. 4), 108 (Abstr.).
- White, P.L. and Crocco, S.C. 1980. Hypertension: A sodium-related problem? In *Sodium and Potassium in Foods and Drugs*. Conf. Proc., eds. P.L. White and S.C. Crocco, pp. 1-7. American Medical Association, Chicago.
- Witting, O. 1990. [Lower salt content in cheese]. From *Dairy Science Abstr.* **55**, No. 6239.
- Williams, R.J. 1987. Shedding some light on low sodium dairy products. *Dairy Field* **170** (8), 30-31.
- Wolf, I.D., Raper, N.R. and Rosenthal, J.C. 1983. USDA activities in relation to the sodium issue- 1981-83. *Food Technology* **37** (9), 59-63.

- Υπουργείο Οικονομικών. 1987. *Κώδικας τροφίμων, ποτών και αντικειμένων κοινής χρήσης*. Εφημερίς της Κυβερνήσεως της Ελληνικής Δημοκρατίας, Τόμος Β/788, Άρθρο 83, Εθνικό Τυπογραφείο, Αθήνα.
- Yvon, M., Chabanet, C. and Pelissier, J-P. 1989. Solubility of peptides in trichloroacetic acid (TCA) solutions. *International Journal of Peptide and Protein Research* **34**, 166-176.
- ΦΕΚ 1994. Υπουργικές αποφάσεις και εγκρίσεις. Εφημερίς της Κυβερνήσεως της Ελληνικής Δημοκρατίας, Τεύχος Β/8, Εθνικό Τυπογραφείο, Αθήνα.
- Zaki, N. 1990. Effect of salt ratio and starter addition on the microstructure and rheological properties of Domiati cheese. *Indian Journal of Dairy Science* **43**, 582-587.
- Ζερφυρίδης, Γ.Κ. 1987. *Τεχνολογία Προϊόντων Γάλακτος*. Ι. Τυροκομία. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη.
- Ζερφυρίδης, Γ.Κ. 1995. *Διατροφή του Ανθρώπου*. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη.
- Zerfiridis, G. and Kristoffersen, T. 1968. Feta cheese from pasteurized cow's milk. *Journal of Dairy Science* **51**, 943.
- Zerfiridis, G., Vafopoulou-Mastrogiannaki, A. and Litopoulou-Tzanetaki, E. 1984. Changes during ripening of commercial Gruyere cheese. *Journal of Dairy Science* **67**, 1397-1405.
- Zorrilla, S.E. 1993. Sodium chloride and potassium chloride diffusion in cheeses. Ph. D. Thesis, Universidad National del Litoral, Santa Fe, Republica of Argentina.

Zorrilla, S.E., Castelao, E.L., De Piante, D. and Rubiolo, A.C. 1996. Proteolysis during ripening of low-fat Fynbo cheese salted with a mixture of NaCl and KCl. *The Australian Journal of Dairy Technology* **51**, 6-7.

Zorrilla, S.E., and Rubiolo, A.C. 1997. Kinetics of casein degradation during ripening of Fynbo cheese salted with NaCl/KCl brine. *Journal of Food Science* **62**, 386-389.



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

Δ/ΝΣΗ: Πανεπιστημιούπολη
ΤΗΛΕΦΩΝΟ: 97194
ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ: Σ. Βαμβέτσου

ΘΕΜΑ: " Παρουσίαση της διδακτορικής
διατριβής της υποψήφιας
κ. Μαργ. Κατσιάρη."

Ιωάννινα, 30- 11- 99

Αριθμ. Πρωτ: 578

Προς τους κ.κ.

1. Ιωάννη Ρούσση, επίκ. καθηγητή
Τμήματος Χημείας Παν/μίου Ιωαννίνων
(ως Επιβλέποντα)
2. Στάθη Αληχανίδη, καθηγ. Γεωπονικού
Τμήματος Α.Π.Θ.
3. Μαρία Σακαρέλλου, καθηγήτρια
Τμήμ. Χημείας Παν/μίου Ιωαννίνων
4. Γεωργ. Ζερφυρίδη, καθηγητή
Γεωπονικού Τμήματος Α.Π.Θ.
5. Κων. Σεφεριάδη αναπλ. καθηγητή
Ιατρικής Σχολής Παν/μίου Ιωαννίνων
6. Κων/νο Τσίγγανο, καθηγητή
Τμημ. Χημ. Παν/μίου Πατρών
7. Ιωάννη Πλακατούρα, επίκ. καθηγητή
Τμήμ. Χημείας Παν/μίου Ιωαννίνων

Σας γνωρίζουμε ότι την Παρασκευή 17 Δεκεμβρίου 1999 και ώρα 10:30 π.μ.
στην αίθουσα σεμιναρίων Χ3-230 του τμήματος Χημείας θα γίνει η παρουσίαση της
διδακτορικής διατριβής από την υποψήφια διδάκτορα κ. Μαργ. Κατσιάρη.

Παρακαλούμε όπως παρευρεθείτε.

Κοινοποίηση:

- Σύλλογο φοιτητών
- Τομείς τμήματος Χημείας
- Σύλλογο ΕΜΥ

