

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ & ΥΔΑΤΙΝΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ & ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ, ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΑΣΦΑΛΕΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΖΩΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ»

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΕΣ ΚΟΙΝΟΤΗΤΕΣ ΚΑΙ ΕΠΙΚΡΑΤΕΣΤΕΡΟΙ
ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΩΡΙΜΑΝΣΗΣ ΤΩΝ ΤΥΡΙΩΝ»

ΚΟΜΜΑΤΑ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ

ΒΟΛΟΣ, 2025

UNIVERSITY OF THESSALY
SCHOOL OF AGRICULTURAL SCIENCES
DEPARTMENT OF ICHTHYOLOGY AND AQUATIC ENVIRONMENT
DEPARTMENT OF FOOD SCIENCE AND NUTRITION

INTERDEPARTMENTAL POSTGRADUATE PROGRAMME
“TECHNOLOGY, QUALITY AND SAFETY OF ANIMAL ORIGIN FOODS”

POSTGRADUATE MASTER’S THESIS

“MICROBIAL COMMUNITIES AND PREDOMINANT MICROORGANISMS
DURING CHEESE RIPENING”

KOMMATA PARASKEVI

VOLOS, 2025

«Μικροβιακές κοινότητες και επικρατέστεροι μικροοργανισμοί κατά τη διάρκεια
ωρίμανσης των τυριών»

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή:

- 1) **Φωτεινή Φ. Παρλαπάνη**, Επίκουρος Καθηγήτρια, Μοριακή Μικροβιολογία και Ποιότητα Αλιευτικών Προϊόντων – Τροφίμων, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, **Επιβλέπουσα**.
- 2) **Ιωάννης Σ. Μποζιάρης**, Καθηγητής, Υγιεινή και Συντήρηση Ιχθυηρών, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, **Μέλος**.
- 3) **Ελένη Μαλισσιόβα**, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Ποιότητα, Ασφάλεια & Τεχνολογία Τροφίμων Ζωικής Προέλευσης, Τμήμα Επιστήμης Ζωικής Παραγωγής, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, **Μέλος**.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία δεν θα μπορούσε να ολοκληρωθεί χωρίς τη συμβολή και την υποστήριξη ορισμένων ανθρώπων, στους οποίους θα ήθελα να εκφράσω την ειλικρινή μου ευγνωμοσύνη.

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την επιβλέπουσα καθηγήτρια μου, κα Φωτεινή Παρλαπάνη, για την πολύτιμη καθοδήγηση, τη συνεχή υποστήριξη και τις χρήσιμες συμβουλές του καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της εργασίας. Η εμπειρία και η γνώση του υπήρξαν καθοριστικές για την ολοκλήρωση αυτής της μελέτης.

Επιπλέον, εκφράζω τις ευχαριστίες μου στα μέλη της εξεταστικής επιτροπής για τον χρόνο τους, τις εύστοχες παρατηρήσεις τους και την εποικοδομητική κριτική τους.

Τέλος δεν θα μπορούσα, επίσης, να παραλείψω να ευχαριστήσω την οικογένειά μου και τους φίλους μου για την αμέριστη υποστήριξη, την υπομονή και την ενθάρρυνσή τους καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μου. Χωρίς τη βοήθειά τους, το έργο αυτό θα ήταν πολύ πιο δύσκολο..

Με εκτίμηση,

Κομμάτα Παρασκευή.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παραγωγή τυριού είναι μια πολύπλοκη διαδικασία που βασίζεται σε μεγάλο βαθμό στη δραστηριότητα των μικροοργανισμών, συμπεριλαμβανομένων των βακτηρίων γαλακτικού οξέος και των ζυμομυκήτων. Αυτοί οι μικροοργανισμοί είναι υπεύθυνοι για τη ζύμωση του γάλακτος, τη διάσπαση των πρωτεϊνών και των λιπών και την εκδήλωση της γεύσης, της υφής και του αρώματος του τυριού. Ο μικροβιόκοσμος του τυριού επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες, όπως ο τύπος του γάλακτος που χρησιμοποιείται, το περιβάλλον παραγωγής και τις τεχνολογικές διεργασίες. Η παρούσα εργασία διερευνά το ρόλο των μικροοργανισμών στην παραγωγή τυριού, τη δυναμική των μικροβιακών αλληλεπιδράσεων και τους παράγοντες που επηρεάζουν τη μικροβιακή χλωρίδα του τυριού. Η κατανόηση των διεργασιών είναι ζωτικής σημασίας για τη βελτιστοποίηση της παραγωγής τυριού, τη βελτίωση της ποιότητας του προϊόντος και τη διασφάλιση της συνέπειας στην παραγωγή μεγάλης κλίμακας. Μέσω της καλύτερης κατανόησης των μικροβιακών κοινοτήτων και των αλληλεπιδράσεών τους, το μέλλον της παραγωγής τυριού επιφυλάσσει δυνατότητες για μεγαλύτερη καινοτομία και βελτίωση της ποιότητας των τυροκομικών προϊόντων.

Λέξεις-Κλειδιά: Μικροβιακές κοινότητες, μικροοργανισμοί τυριού, ωρίμανση τυριών

ABSTRACT

Cheese production is a complex process that relies heavily on the activity of microorganisms, including lactic acid bacteria, molds, and yeasts. These microorganisms are responsible for the fermentation of milk, the breakdown of proteins and fats, and the development of the cheese's flavor, texture, and aroma. The microbiota of cheese is influenced by various factors, including the type of milk used, the production environment, and the technological processes employed. This thesis explores the role of microorganisms in cheese production, the dynamics of microbial interactions, and the factors that affect the cheese microbiota. Understanding these processes is crucial for optimizing cheese production, improving product quality, and ensuring consistency in large-scale manufacturing. Through a better understanding of microbial communities and their interactions, the future of cheese production holds the potential for greater innovation and quality enhancement in cheese products.

Keywords: Microbial communities, cheese microorganisms, cheese ripening

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Μικροοργανισμοί στο τυρί.....	45
Πίνακας 2: Σύνοψη Μικροβιακών κοινοτήτων που μελετήθηκαν	52

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	6
ABSTRACT.....	6
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ	8
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	10
1.1 Γενικά.....	10
1.2 Βιβλιογραφική ανασκόπηση.....	12
1.2.1 Οι μικροοργανισμοί στο τυρί.....	12
1.2.2 Ο μικροβιόκοσμος του τυριού	15
1.2.3 Μικροβιακές αλληλεπιδράσεις στο τυρί.....	18
1.2.4 Παράγοντες που επηρεάζουν τη μικροβιακή χλωρίδα του τυριού	25
1.3 Εισαγωγή στη Διαδικασία Παραγωγής Τυριών.....	29
1.4 Ο Ρόλος της Μικροβιακής Δραστηριότητας στη Διαμόρφωση των Χαρακτηριστικών του Τυριού	33
1.5 Αποικοδόμηση πρωτεϊνών και καταβολισμός αμινοξέων	38
1.6 Σκοπός Μεταπτυχιακής Διπλωματικής Εργασίας	43
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	45
2.1 Αναζήτηση δεδομένων	45
2.2 Κριτήρια ένταξης και αποκλεισμού.....	45
2.3 Επεξεργασία δεδομένων	45
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	45
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	63
5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	68
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	71

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Γενικά

Η παρασκευή τυριού είναι ένα από τα κλασικά παραδείγματα συντήρησης τροφίμων, καθώς το γάλα χρονολογείται από το 6000-7000 π.Χ. Στην πραγματικότητα, περίπου το ένα τρίτο της παγκόσμιας παραγωγής γάλακτος χρησιμοποιείται για την παρασκευή τυριού. Η παρασκευή τυριού περιλαμβάνει ουσιαστικά τη ζελατινοποίηση της καζεΐνης μέσω ισοηλεκτρικής (οξύ) ή ενζυμικής (πυτιά) πήξης. Η μέθοδος που χρησιμοποιείται για τη πήξη του γάλακτος για την τυροκόμηση επηρεάζει τη συνολική δομή, τα χαρακτηριστικά και τη σκληρότητα του τυριού. Αν και η βασική διαδικασία παρασκευής τυριών είναι κοινή για όλα τα είδη τυριών, οι αλλαγές στην προέλευση του γάλακτος, στις τεχνικές επεξεργασίας και στον χρόνο ωρίμανσης δημιουργούν ένα τεράστιο εύρος των γνωστών ποικιλιών - περίπου 1.000 είδη, από τα οποία 400 παράγονται στη Γαλλία (Fox et al., 2017).

Η ταξινόμηση των τυριών βασίζεται στα χαρακτηριστικά του γάλακτος, τη διαδικασία πήξης, την πήξη, την πυκνή σύσταση, την ποσότητα λίπους, τον σχηματισμό φλοιού και τις συνθήκες κατά την ωρίμανση. Στο τυρί, οι πρωτεΐνες είναι το κύριο δομικό υλικό με το λίπος να είναι εγκλωβισμένο στη μήτρα των πρωτεϊνών. Το λίπος επηρεάζει έμμεσα την αναλογία νερού-πρωτεΐνης και ρυθμίζει τη σφριγηλότητα και την ελαστικότητα του τυριού αυξάνοντας την ιδιότητα συγκράτησης της υγρασίας του τυροπήγματος. Η ανάπτυξη της υφής στο τυρί οφείλεται στη διάσπαση της S1-καζεΐνης κατά την ωρίμανση (Fox et al., 2017).

Επιπλέον, το λίπος του γάλακτος παρέχει κανονικά μια τυπική απαλότητα σε ένα τυρί με πλήρη λιπαρά, καθώς κατανέμεται ομοιόμορφα εντός της μήτρας καζεΐνης του τυριού. Όταν αφαιρείται το λίπος, όπως στα τυριά με χαμηλά λιπαρά, η καζεΐνη παίζει μεγαλύτερο ρόλο στην ανάπτυξη της υφής. Στις παραλλαγές με χαμηλά λιπαρά υπάρχει ανεπαρκής διάσπαση της καζεΐνης και, ως εκ τούτου, το τυρί φαίνεται να έχει σχετικά σκληρή υφή (Montel et al., 2014). Το γάλα που χρησιμοποιείται στην τυροκόμηση μπορεί να είναι παστεριωμένο ή μη παστεριωμένο, αλλά τα

φρέσκα τυριά (π.χ. cottage, quark) είναι υποχρεωτικά παστεριωμένα. Τυριά όπως τα Prato, Danbo, Gouda, Edam, Mozzarella, μεταξύ άλλων, παρασκευάζονται με θερμικά επεξεργασμένο γάλα, ενώ τα Camembert, Roquefort, Gorgonzolla και αρκετές άλλες ποικιλίες, παρασκευάζονται με νωπό γάλα. Ορισμένα τυριά όπως το Gruyère, το Emmental και το Provolone μπορούν να παρασκευαστούν με παστεριωμένο γάλα ή όχι (Montel et al., 2014).

Η ωρίμανση των τυριών είναι μια πολύπλοκη διαδικασία και περιλαμβάνει μικροβιολογικές και βιοχημικές αλλαγές στο τυρόπηγμα, με αποτέλεσμα τα χαρακτηριστικά της γεύσης και της υφής της συγκεκριμένης ποικιλίας. Οι μικροοργανισμοί αποτελούν βασικό συστατικό όλων των φυσικών ποικιλιών τυριού και διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο τόσο κατά την παρασκευή όσο και κατά την ωρίμανση του τυριού. Κατά τη διάρκεια αυτών των διεργασιών, συμβαίνουν πολύπλοκες αλληλεπιδράσεις μεταξύ των μικροβιακών πληθυσμών, καθώς και μεταξύ αυτών και του περιβάλλοντος του τυριού.

Ο μικροβιόκοσμος του τυριού σχηματίζεται από επιθυμητούς μικροοργανισμούς και ανεπιθύμητους πληθυσμούς πιθανών παθογόνων μικροοργανισμών ή/και παραγόντων αλλοίωσης. Ορισμένοι μικροοργανισμοί, κυρίως βακτήρια γαλακτικού οξέος, είναι επιθυμητοί επειδή συμβάλλουν στις διαδικασίες πήξης ή/και ωρίμανσης, καθώς συμμετέχουν στην οξίνιση του γάλακτος ή/και στην ανάπτυξη της γεύσης. Ανταγωνίζονται επίσης τους ανεπιθύμητους μικροοργανισμούς με άμεσο ανταγωνισμό (διαθεσιμότητα υποστρώματος, μείωση του pH, αλλαγές στο δυναμικό οξειδοαναγωγής) ή/και παράγοντας φυσικές ανασταλτικές ενώσεις, συμπεριλαμβανομένων των βακτηριοσινών (Bintsis, 2018).

Τα βακτήρια γαλακτικού οξέος (LAB) μπορούν να προστεθούν στη διεργασία του τυριού (καλλιέργειες εκκινητών και βοηθητικές καλλιέργειες) ή να πολλαπλασιαστούν αυθόρμητα κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας και της ωρίμανσης του τυριού (μη εκκινητές). Τα γαλακτοκομικά προϊόντα έχουν από καιρό αναγνωριστεί ως ευαίσθητα στην επιμόλυνση με επιβλαβείς μικροοργανισμούς. Οι κυρίαρχοι μολυσματικοί παράγοντες των επεξεργασμένων γαλακτοκομικών

προϊόντων έχουν προέλευση από την προμήθεια νωπού γάλακτος. Αν εξετάσει κανείς έναν κατάλογο βακτηριακών παθογόνων που συνδέονται συνήθως με το νωπό γάλα, το *Salmonella typhimurium*, το *Listeria monocytogenes*, το *Campylobacter jejuni* και το *Yersinia enterocolitica* είναι μόνο μερικοί από τους πολλούς μολυσματικούς παράγοντες (Fardet et al., 2019).

Η επιμόλυνση του τυριού μπορεί να προέρχεται από το γάλα, τους χειριστές και τη διαδικασία παρασκευής. Στο νωπό γάλα και τα τυριά τους, η κύρια πηγή επιμόλυνσης είναι η μαστίτιδα των βοοειδών, της οποίας ο σημαντικότερος αιτιολογικός παράγοντας είναι το *Staphylococcus aureus*. Ορισμένες έρευνες έδειξαν ότι η διασταυρούμενη επιμόλυνση είναι η κύρια πηγή ανεπιθύμητων μικροοργανισμών στα τυριά που παρασκευάζονται με παστεριωμένο γάλα. Τα τυριά θεωρούνται συνήθως φορέας τροφιμογενών παθογόνων μικροοργανισμών, ιδίως τα χειροποίητα φρέσκα τυριά, όπως το τυρόγαλο. Σε αυτές τις περιπτώσεις, εκτός από τους μολυσματικούς παράγοντες που προέρχονται από το γάλα, οι μη ικανοποιητικές συνθήκες υγιεινής κατά την επεξεργασία αυξάνουν την πιθανότητα της παραγωγής ενός επιβλαβούς προϊόντος. Η μικροβιολογική επιμόλυνση επιφέρει σημαντικές οικονομικές απώλειες για τους παραγωγούς και αύξηση του κινδύνου για την υγεία των καταναλωτών (Fardet et al., 2019).

1.2 Βιβλιογραφική ανασκόπηση

1.2.1 Οι μικροοργανισμοί στο τυρί

Η μικροβιακή χλωρίδα του τυριού χωρίζεται σε LAB εκκίνησης, συμπληρωματικές μικροβιακές καλλιέργειες και δευτερογενείς μικροοργανισμούς. Η πρώτη ομάδα εμπλέκεται στην παραγωγή οξέων κατά την παρασκευή και συμβάλλει επίσης στη διαδικασία ωρίμανσης, ενώ οι δύο τελευταίες ομάδες παίζουν σημαντικό ρόλο κατά την ωρίμανση. Ο δευτερογενής μικροβιόκοσμος σχηματίζεται από αυθόρμητα εμφανιζόμενα βακτήρια γαλακτικού οξέος που δεν είναι εκκινητές (NSLAB), άλλα βακτήρια, ζύμες και μύκητες που αναπτύσσονται εσωτερικά ή εξωτερικά στις περισσότερες ποικιλίες τυριού. Τα LAB είναι το κύριο συστατικό των εκκινητών που

χρησιμοποιούνται στη ζύμωση, ιδίως για τα γαλακτοκομικά προϊόντα, και ορισμένα από αυτά είναι επίσης φυσικά συστατικά του γαστρεντερικού μικροβιόκοσμου. Τα γένη *Lactococcus*, *Leuconostoc* και *Lactobacillus* (ομοζυμωτικά και ετεροζυμωτικά είδη) είναι τα πιο διαδεδομένα γένη LAB στα τυριά τα οποία παίζουν σημαντικό ρόλο στην αυτόλυση και στην ωρίμανση των τυριών (Aldrete-Tapia et al., 2018).

Ο όρος «καλλιέργεια εκκίνησης» αναφέρεται σε ένα ή περισσότερα επιλεγμένα στελέχη μικροοργανισμών τροφίμων που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή ζυμωμένων τροφίμων με κάποια επιθυμητά χαρακτηριστικά στην εμφάνιση, το σώμα, την υφή και τη γεύση. Τα πιο συχνά βακτήρια εκκίνησης που υπάρχουν στα τυριά είναι από τα γένη *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* και *Enterococcus*. Η δευτερογενής μικροβιακή χλωρίδα των τυριών έχει πιθανώς την προέλευσή της από την πρώτη ύλη, την αερογενή μόλυνση μετά την παστερίωση, τον εξοπλισμό ή τα συστατικά τυροκομίας ή την επιβίωση κατά την παστερίωση (Aldrete-Tapia et al., 2018).

Η παστερίωση του μειώνει ή εξαλείφει τους ανεπιθύμητους, καθώς και τους επιθυμητούς μικροοργανισμούς που συμβάλλουν στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των γαλακτοκομικών προϊόντων. Σε αυτές τις περιπτώσεις, η χρήση συμπληρωματικών καλλιιεργειών επιπλέον των εμπορικών εκκινητών μπορεί να βελτιώσει τη γεύση του τυριού, επιτυγχάνοντας οργανοληπτικές βαθμολογίες παρόμοιες με εκείνες που παρασκευάζονται από νωπό γάλα. Η πρόσθετη καλλιέργεια αυξάνει την ένταση της γεύσης και την αποδοχή κατά την ωρίμανση. Αυτή η ομάδα LAB, που ονομάζεται βοηθητικές καλλιιεργειες εκκινητών, αναφέρεται σε στελέχη που δεν είναι εκκινητές και προστίθενται σκόπιμα μαζί με τις καλλιιεργειες εκκινητών (Haastrup et al., 2018). Οι LAB που χρησιμοποιούνται συνήθως ως βοηθητικές καλλιιεργειες εκκίνησης είναι οι λευκονοστόκοι, οι γαλακτοβάκιλλοι και ο *Lc. lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetylactis*. Τα βακτήρια του προπιονικού οξέος αναπτύσσονται σε πολλές ποικιλίες τυριών κατά την ωρίμανση και αποτελούν το χαρακτηριστικό μικροβιόκοσμο που σχετίζεται με τα τυριά ελβετικού τύπου, όπως το Emmental, το

Gruyère, το Appenzell και το Comté. Τα PAB είναι θετικά κατά Gram βραχύσωμα ραβδόμορφα βακτήρια που μπορούν να μεταβολίσουν το γαλακτικό οξύ (Lucchini et al., 2018).

Μια άλλη σημαντική ομάδα μικροοργανισμών στα ώριμα τυριά είναι οι μούχλες. Τα ωριμασμένα με μούχλα τυριά χωρίζονται σε δύο ομάδες: εκείνα που ωριμάζουν λόγω της παρουσίας του *Penicillium roqueforti*, το οποίο αναπτύσσεται και σχηματίζει μπλε φλέβες στο εσωτερικό του τυριού, όπως το Roquefort, το Gorgonzola, το Stilton και το Danish blue, και εκείνα που ωριμάζουν με το *P. camemberti*, το οποίο αναπτύσσεται στην επιφάνεια του τυριού, όπως το Camembert και το Brie. Τα τυριά που ωριμάζουν με εσωτερική ή επιφανειακή μούχλα έχουν διαφορετική εμφάνιση και οι υψηλές βιοχημικές δραστηριότητες αυτών των μυκήτων παράγουν το χαρακτηριστικό άρωμα και τη γεύση. Η παρουσία ζυμομυκήτων στο τυρί είναι σε μεγάλο βαθμό γνωστή και οι μικροοργανισμοί αυτοί μπορεί να προέρχονται από μη παστεριωμένο γάλα ή από το περιβάλλον όπου παρασκευάζεται το τυρί, κυρίως από τον εξοπλισμό και τις άλμες. Ορισμένα είδη ζυμομυκήτων, όπως η *Yarrowia lipolytica* και η *Geotrichum candidum*, παράγουν εξωκυτταρικά ένζυμα σε επαρκείς ποσότητες ώστε να τροποποιούν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του τυριού και να συμβάλλουν άμεσα στην ωρίμανσή του (Lucchini et al., 2018).

Άλλα είδη παράγουν αυξητικούς παράγοντες, όπως αμινοξέα και βιταμίνες, υποστηρίζοντας την ανάπτυξη άλλων μικροοργανισμών που με τη σειρά τους συμβάλλουν στην ωρίμανση του τυριού. Πέρα από τον επιθυμητό μικροβιόκοσμο το τυρί μπορεί επίσης να παρουσιάζει αλλοιωτικούς ή/και παθογόνους μικροοργανισμούς, όπως *Escherichia coli*, *Salmonella*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, μεταξύ άλλων. Η ομάδα των κολοβακτηριοειδών κοπράνων, που ορίζεται ως αρνητικές κατά Gram ράβδοι που παράγουν CO₂ από τη λακτόζη και αναπτύσσονται στους 45°C, σχηματίζεται από το *E. coli* και σε μικρότερο βαθμό από άλλα μέλη της οικογένειας Enterobacteriaceae, *Klebsiella* και *Citrobacter*. Το *E. coli* είναι ένα κυρίαρχο είδος μεταξύ πολλών ειδών αρνητικών κατά Gram βακτηρίων, αναερόβιο προαιρετικό και μέρος της μικροβιακής χλωρίδας των εντέρων του ανθρώπου και των θερμόαιμων ζώων. Το βακτήριο αυτό βρίσκεται

επίσης στο νερό, στο έδαφος, στα λαχανικά και στα τρόφιμα, κυρίως αυτά ζωικής προέλευσης όπως το γάλα και τα γαλακτοκομικά προϊόντα (Bertani et al., 2020). Η παρουσία του στα τρόφιμα αξιολογείται από δύο πλευρές: (1) η παρουσία του είναι ενδεικτική μόλυνσης κοπρανόδους προέλευσης, η οποία γενικά συνδέεται με μη ικανοποιητικές συνθήκες υγιεινής- και (2) δυνητικός κίνδυνος για τους καταναλωτές, καθώς πολλά *E. coli* είναι αιτιολογικοί παράγοντες γαστρεντερικών διαταραχών. Η παρουσία του *L. monocytogenes* στο γάλα και τα γαλακτοκομικά προϊόντα έχει αναφερθεί σε μεγάλο βαθμό, ιδίως σε τυριά υψηλής και μέσης υγρασίας. Η επιμόλυνση των τυριών με *L. monocytogenes* σχετίζεται με την επιμόλυνση του νωπού γάλακτος, η οποία μπορεί να συμβεί κατά τη διαδικασία αρμέγματος, την αποθήκευση, τη μεταφορά και την επεξεργασία των τυριών (Bertani et al., 2020).

Η συχνότητα εμφάνισης του *Salmonella* spp. στα τρόφιμα είναι παγκόσμια και αποτελεί τον κύριο μικροβιακό παράγοντα που εμπλέκεται σε κρούσματα τροφιμογενών ασθενειών, οι περισσότερες από τις οποίες σχετίζονται με την κατάποση τροφίμων ζωικής προέλευσης, όπως πουλερικά, αυγά, κρέας, γάλα και γαλακτοκομικά προϊόντα. Η σαλμονέλα έχει αναφερθεί σε τυρόπηγμα και τυρί βουτύρου, καθώς και σε τυριά μακράς ωρίμανσης και αποθήκευσης. Η παρουσία του εντεροτοξινογόνου *Staphylococcus* και των εντεροτοξινών του έχει αποδειχθεί συχνά σε γαλακτοκομικά προϊόντα, κυρίως σε νωπό γάλα και τυριά. Το νωπό γάλα από ζώα με σταφυλοκοκκική λοίμωξη στους αδένες των θηλαστικών (μαστίτιδα) είναι η κύρια πηγή εντεροτοξινογόνων στελεχών *S. aureus*. Σε πολλές χώρες έχουν διαπιστωθεί κρούσματα και σποραδικά κρούσματα που σχετίζονται με δηλητηρίαση από σταφυλόκοκκο λόγω κατανάλωσης γαλακτοκομικών προϊόντων, κυρίως τυριών (Afshari et al., 2020).

1.2.2 Ο μικροβιόκοσμος του τυριού

Είτε ζυμώνονται με φυσικό τρόπο είτε με τη βοήθεια εκκινητών ή/και συμπληρωματικών καλλιιεργειών, τα περισσότερα τυριά περιέχουν ένα πολύπλοκο μείγμα μικροβιακών πληθυσμών

που αναπτύσσεται και μεταβάλλεται κατά τη διάρκεια της παρασκευής και της ωρίμανσης. Όλα αυτά τα μικρόβια αποτελούν το μικροβιόκοσμο των τυριών. Τόσο οι ενδογενείς (υποστρώματα, βιταμίνες, συμπαράγοντες, παρουσία ανασταλτικών/ενεργοποιητικών ενώσεων, pH, δυναμικό οξειδοαναγωγής) όσο και οι εξωγενείς παράγοντες (διαθεσιμότητα οξυγόνου, θερμοκρασία, αλάτι, σχετική υγρασία) καθορίζουν τον αριθμό και τη χωρική και χρονική κατανομή των μελών της μικροβιακής χλωρίδας (Afshari et al., 2020).

Πιο συχνά, η μικροβιακή χλωρίδα του τυριού αποτελείται από μια ένωση ποικίλων μικροοργανισμών και ποικίλλει σε μεγάλο βαθμό από ποικιλία σε ποικιλία, αν και οι κυρίαρχοι μικροβιακοί τύποι για κάθε τύπο τυριού (μαλακό, σκληρό, με φυσική φλούδα, πασαλειμμένο, με μπλε ραβδώσεις κ.λπ.) είναι συνήθως παρόμοιοι. Η μικροβιακή χλωρίδα γίνεται ιδιαίτερα πολύπλοκη στις ποικιλίες με μπλε φλοιό και στις ποικιλίες με ωρίμανση με επάλειψη. Όπως και σε άλλα οικοσυστήματα, η ποικιλομορφία του μικροβιόκοσμου στο τυρί διέπεται από κλασικές οικολογικές διαδικασίες, όπως η διασπορά, η διαφοροποίηση, η περιβαλλοντική επιλογή και η οικολογική παρέκκλιση (Kamelamela et al., 2018). Η μικροβιακή ποικιλότητα και ο αριθμός των μικροβίων επηρεάζονται επίσης από την περιβαλλοντική αλληλεπίδραση βιοτικών (φυσική ζύμωση, χρήση ή μη εκκινητών, παρουσία μολυσματικών μικροβίων και μικροβιακών μεταβολιτών) και αβιοτικών παραγόντων (τεχνολογικές διεργασίες και περιβαλλοντικές συνθήκες), οι οποίοι διαμορφώνουν την εμφύτευση, την ανάπτυξη και, κυρίως, τη δραστηριότητα των διαφόρων μικροβίων. Από κοινού, αυτές οι μεταβλητές καθορίζουν την ανάπτυξη και τη λειτουργία των μικροοργανισμών και, ως εκ τούτου, ορισμένες από τις βασικές βιοχημικές αλλαγές που οδηγούν κατά την ωρίμανση και οι οποίες οδηγούν στη μοναδική εμφάνιση, υφή, άρωμα και γευστικές ιδιότητες κάθε ποικιλίας τυριού, καθώς και στην ποιότητα ασφαλείας τους (Kamelamela et al., 2018).

Τα βακτήρια του τυριού ανήκουν κυρίως στα φύλα Firmicutes (LAB, εντερόκοκκοι, σταφυλόκοκκοι), Actinobacteria (κορυνοβακτήρια, προπιονιβακτήρια, διφιδιοβακτήρια) και

Proteobacteria (εντεροβακτήρια). Οι αρχαιολογικές ταξινομικές ομάδες περιλαμβάνουν μέλη των Thermocladium, Sulfurisphaera, Methanohalobium και άλλων- πρόκειται για μειονοτικούς πληθυσμούς (< 0,5% σχετική αφθονία) και έχουν ποτέ ανιχνευθεί μόνο με μοριακές μεθόδους. Μεταξύ των ευκαρυωτών, οι κυρίαρχοι ζυμομύκητες ανήκουν στα γένη *Geotrichum*, *Debaryomyces*, *Kluyveromyces*, *Candida* και *Yarrowia*, ενώ οι νηματοειδείς μύκητες είναι μούχλες όπως οι *P. camemberti*, *P. roqueforti* και άλλα είδη *Penicillium*, οι οποίοι είναι άφθονοι σε ποικιλίες τυριού που έχουν ωριμάσει από μούχλα. Άλλοι νηματοειδείς μύκητες όπως το *Fusarium domesticum*, το *Scopulariopsis (Sc.) flava* και το *Sc. casei* βρίσκονται επίσης σε χαμηλούς αριθμούς στην επιφάνεια των περισσότερων τυριών (Wang et al., 2019). Εκτός από τον *P. roqueforti*, όλα αυτά τα άλλα είδη μούχλας είναι γνωστά μόνο από τυριά, γεγονός που υποδηλώνει ότι είναι προσαρμοσμένα («εξημερωμένα») σε αυτό το συγκεκριμένο περιβάλλον. Ειδικότερα, το *P. camemberti* προέρχεται από τον άγριο πρόγονο *Penicillium commune* με μια γρήγορη διαδικασία προσαρμογής που περιλαμβάνει μειωμένη αναπαραγωγική παραγωγή, μειωμένη παραγωγή μυκοτοξινών, μειωμένο χρωματισμό και, σημαντικά, αλλαγή στο προφίλ των πτητικών ενώσεων από γήινο σε τυρί (Wang et al., 2019).

Η γενετική βάση αυτής της ταχείας «εξέλιξης» έχει αποδειχθεί ότι είναι μέσω γονιδιακής ρύθμισης αντί για αλλαγές στο γονιδίωμα. Οι υποπληθυσμοί του *Lc. lactis* των υποειδών *lactis* και *cremoris* σε γαλακτοκομικά περιβάλλοντα πιστεύεται επίσης ότι έχουν προσαρμοστεί μέσω διαδικασιών εξημέρωσης. Αυτά, καθώς και τα εξημερωμένα στελέχη άλλων ειδών LAB που απαντώνται μόνο στο γάλα και τα γαλακτοκομικά προϊόντα, φαίνεται ότι προέκυψαν πρόσφατα λόγω της επιλεκτικής πίεσης που επέβαλαν οι γαλακτοκομικές τεχνολογίες. Αν και ποικίλλει σε μεγάλο βαθμό μεταξύ των ποικιλιών, η συγκέντρωση των βακτηρίων στο ώριμο τυρί μπορεί να υπερβαίνει τις 10⁹ μονάδες σχηματισμού αποικιών (cfu)/g, ενώ οι συγκεντρώσεις των ζυμών και των νηματοειδών μυκήτων κυμαίνονται ευρέως μεταξύ 10² και 10⁷ cfu/g. (Afshari et al., 2020). Ανάλογα με τη μικροβιακή ταξινομική ομάδα, οι μέγιστοι αριθμοί επιτυγχάνονται στο τέλος της

ζύμωσης (π.χ. *Lc. lactis*), μεταξύ της 7ης και 17ης ημέρας (π.χ. *Lactobacillus spp.*) μετά από ένα έως δύο μήνες ωρίμανσης (π.χ. νηματοειδείς μύκητες). Μόλις επιτευχθεί το υψηλότερο επίπεδο, οι αριθμοί μειώνονται ελαφρώς αλλά σταθερά στη συνέχεια. Οι διαφοροποιήσεις στη σύνθεση και/ή τη δυναμική των μικροβιακών κοινοτήτων που αποτελούν την τυπική μικροβιακή χλωρίδα ενός συγκεκριμένου τυριού μπορεί να οδηγήσουν σε σοβαρά τεχνολογικά και οργανοληπτικά ελαττώματα και να θέσουν ακόμη και κινδύνους για την ασφάλεια των τροφίμων (Afshari et al., 2020).

1.2.3 Μικροβιακές αλληλεπιδράσεις στο τυρί

Στη φύση, οι μικροοργανισμοί ζουν σε πολύπλοκες κοινότητες, στις οποίες μπορεί να υπάρχουν διάφορες άμεσες και έμμεσες, συνεργατικές και ανταγωνιστικές μικροβιακές αλληλεπιδράσεις. Οι μικροβιακές αλληλεπιδράσεις διαμεσολαβούνται μέσω μιας ποικιλίας μοριακών και φυσιολογικών μηχανισμών, από τους οποίους οι τροφικές αλληλεπιδράσεις και η ανταλλαγή μεταβολιτών είναι οι πιο χαρακτηριστικές. Οι τροφικές αλυσίδες επιτρέπουν σε πολλαπλές ομάδες οργανισμών να επιβιώνουν με περιορισμένους πόρους, αυξάνοντας την ποικιλομορφία της κοινότητας. Αντίθετα, ορισμένα μικρόβια μπορούν να ανασταλούν ή να θανατωθούν από μεταβολικές ουσίες ή αντιμικροβιακές ενώσεις που παράγονται από άλλα συστατικά του μικροβιόκοσμου (Salazar et al., 2018).

Σε γενικές γραμμές, οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των διαφόρων μικροοργανισμών επηρεάζουν την τελική σύνθεση και ποικιλομορφία της μικροβιακής χλωρίδας του τυριού, αλλά κυρίως τη λειτουργικότητά της.

Ανταγωνισμός

Στον ανταγωνισμό, δύο ή περισσότεροι μικροοργανισμοί ανταγωνίζονται για θρεπτικούς και ενεργειακούς πόρους με τρόπο που επηρεάζει αρνητικά και τους δύο. Η επιτυχία των LAB στο γάλα οφείλεται στην αποτελεσματική χρήση των θρεπτικών συστατικών που βρίσκονται σε αυτό το μέσο,

τα οποία περιλαμβάνουν τη λακτόζη (ένα σπάνιο σάκχαρο εκτός γάλακτος, η αξιοποίηση του οποίου απαιτεί ειδικά μηχανήματα μεταφοράς και αποικοδόμησης), και την ικανότητα να αποδομούν τις πρωτεΐνες του γάλακτος (καζεΐνες) και να προσλαμβάνουν αποτελεσματικά τα απελευθερούμενα αμινοξέα και πεπτίδια (Salazar et al., 2018). Άλλοι οργανισμοί περιορίζονται από την αδυναμία χρησιμοποίησης της λακτόζης ή/και τις μικρές ποσότητες ελεύθερα διαθέσιμων αζωτούχων υποστρωμάτων. Ο σίδηρος και ο ψευδάργυρος θεωρούνται επίσης περιοριστικά μικροθρεπτικά συστατικά στα γαλακτοκομικά προϊόντα. Ορισμένοι μικροοργανισμοί, όπως τα *Arthrobacter*, *Corynebacterium*, ζύμες κ.λπ. παράγουν σιδηροφόρα για να βοηθήσουν στην πρόσληψη αυτών των απαραίτητων ιχνοστοιχείων, ενώ βακτήρια με έλλειψη σιδηροφόρων, όπως τα *Brevibacterium* και *Microbacterium* κ.λπ. διαθέτουν μοριακά συστήματα που τα βοηθούν να «κλέβουν» σιδηροφόρα από τους παραγωγούς τους. Η κατανόηση αυτών των αλληλεπιδράσεων είναι απαραίτητη, για παράδειγμα, για την επιλογή ειδών και στελεχών εκκινητών (ή μιγμάτων στελεχών) με αποτελεσματικά συστήματα απόκτησης μετάλλων, τα οποία θα τους επιτρέψουν να επιδιώξουν την ανάπτυξή τους σε γαλακτοκομικά συστήματα (Bodinaku et al., 2019).

Αμενσαλισμός

Ο αμενσαλισμός περιλαμβάνει αλληλεπιδράσεις στις οποίες ένας τύπος μικροοργανισμού επηρεάζει αρνητικά έναν άλλο χωρίς να επηρεάζεται ο ίδιος. Αυτός ο τύπος σχέσης παρατηρείται συνήθως στις ζυμώσεις γαλακτοκομικών προϊόντων, όπου στελέχη πολλών ειδών LAB παράγουν οργανικά οξέα (γαλακτικό και οξικό οξύ) που είναι αποτελεσματικοί αναστολείς ευαίσθητων μικροοργανισμών. Εκτός από τη μείωση του pH όταν απελευθερώνονται στο περιβάλλον μέσο, έχουν επίσης άμεση ανασταλτική επίδραση που προκύπτει από τις μη διαχωρισμένες μορφές τους, διαχέοντας μέσω των κυτταρικών μεμβρανών και απελευθερώνοντας ιόντα H^+ που οξύνουν το κυτταρόπλασμα των κυττάρων (Bodinaku et al., 2019).

Ορισμένα άλλα αντιμικροβιακά LAB, όπως οι βακτηριοσίνες, αναστέλλουν την ανάπτυξη ορισμένων μικροοργανισμών. Τα στελέχη που παράγουν βακτηριοσίνες συνήθως συνθέτουν ειδικά συστήματα που τα προστατεύουν από τις βλαβερές επιδράσεις αυτών των προϊόντων. Στην πράξη, τα στελέχη που παράγουν βακτηριοσίνες χρησιμοποιούνται ως «προστατευτικές καλλιέργειες» για την αναστολή της ανάπτυξης παθογόνων μικροοργανισμών και μικροοργανισμών αλλοίωσης στο τυρί. Πράγματι, έχουν δοκιμαστεί έναντι του *Listeria (L.) monocytogenes*, *Staph. aureus*, *Salmonella* sp., *Clostridium* sp. και άλλων ανεπιθύμητων μικροοργανισμών. Παρά την τεχνολογική τους χρήση, οι βακτηριοκίνες μπορεί να έχουν φυσιολογικές λειτουργίες πέρα από την ανασταλτική τους δράση (Bodinaku et al., 2019).

Ορισμένοι συγγραφείς έχουν προτείνει ότι τα υπο-ανασταλτικά επίπεδα μπορεί να διαδραματίζουν λεπτούς ρόλους στην καθοδήγηση της διαδοχής των μικροοργανισμών στη ζύμωση των τροφίμων. Ενίοτε, η αντιμικροβιακή δράση σχετίζεται με μια μικροβιακή κοινοπραξία και όχι με ένα μεμονωμένο στέλεχος. Για παράδειγμα, έχει επανειλημμένα αναφερθεί ισχυρή αντιμικροβιακή δραστηριότητα που ασκείται από ορισμένες απροσδιόριστες ενώσεις από τη φλούδα τυριών που έχουν ωριμάσει με επίχρισμα. Μέσω πειραμάτων προσθήκης και διάβρωσης (δηλαδή, προσθήκη ή αφαίρεση ενός στελέχους κάθε φορά από ένα μείγμα), έχουν γίνει προσπάθειες να καθοριστεί η «ελάχιστη κοινότητα» που εμφανίζει ανασταλτική ιδιότητα. Είναι ενδιαφέρον ότι ορισμένες ελάχιστες κοινότητες έχει αποδειχθεί ότι ασκούν μεγαλύτερη αντιλυσσική δράση από την αρχική σύνθετη κηλίδα. Μετά από μερικό καθαρισμό, ένα αντιμικροβιακό που παρήχθη από μια τέτοια ελάχιστη κοινότητα αποδείχθηκε ότι είναι ένα μικρό, εξαιρετικά θερμοσταθές και πρωτεασικό μόριο (Bassi et al., 2020). Ορισμένα LAB έχουν επίσης αντιμυκητιακή δράση. Η φύση και η ποσότητα των αντιμυκητιασικών ενώσεων που παράγονται εξαρτώνται από το είδος και το στέλεχος. Οργανικά οξέα (φαινυλακτικό, υδροξυφαινυλακτικό), λιπαρά οξέα (δεκανοϊκό, κοριοϊκό), κυκλοπεπτίδια, υπεροξειδίο του υδρογόνου και διακετύλιο έχουν βρεθεί ότι αναστέλλουν ορισμένους μύκητες. Η παραγωγή αντιμυκητιασικών ενώσεων, ωστόσο, δεν περιορίζεται στα

βακτήρια. Έτσι, έχει αναφερθεί ότι ο ζυμομύκητας *Williopsis saturnus* (με φαινότυπο δολοφόνο) αναστέλλει τους ζυμομύκητες *Saccharomyces (Sc.) cerevisiae* και *Kluyveromyces (K.) marxianus* που ζυμώνουν με γαλακτόζη. Έχουν επίσης αναφερθεί αρνητικές αλληλεπιδράσεις ζύμης-μύκητα που δεν σχετίζονται με αντιμικροβιακά, αλλά είναι μάλλον μεταβολικής φύσης. Σε συγκαλλιέργειες *D. hansenii* και *Yarrowia (Y.) lipolytica*, η δεύτερη ζύμη προκαλεί μετατόπιση από τον αναπνευστικό στον ζυμωτικό μεταβολισμό της πρώτης (Bassi et al., 2020).

Κοινοτισμός

Ο κοινοτισμός συμβαίνει όταν ένας μικροοργανισμός σε ένα μείγμα ευνοείται από τις αλληλεπιδράσεις που συμβαίνουν στο εν λόγω μείγμα, ενώ άλλοι οργανισμοί δεν βιώνουν ούτε αρνητικές ούτε θετικές επιδράσεις. Από καιρό έχει αναγνωριστεί ότι η πρωτεολυτική δραστηριότητα των θετικών στις πρωτεΐνες καλλιέργειών LAB επιτρέπει σε μη πρωτεολυτικά είδη και στελέχη να αναπτυχθούν στο γάλα. Η ίδια αλληλεπίδραση έχει επίσης αναφερθεί μεταξύ των συστατικών LAB της παραδοσιακής ολλανδικής καλλιέργειας εκκίνησης που είναι γνωστή ως Ur (Yamauchi et al., 2019). Σε αυτό το εκκινητή, οι τεχνικές καλλιέργειας και τυποποίησης έχουν ταυτοποιήσει οκτώ γενετικές σειρές ως τα μικροβιακά συστατικά, συμπεριλαμβανομένων πέντε στελεχών του *Lc. lactis subsp. cremoris*, δύο του *Lc. lactis subsp. lactis biovar diacetylactis* και ένα του *Leuc. mesenteroides*. Η ανάλυση του γονιδιώματος και η *in silico* ανακατασκευή μεταβολικών χαρτών των διαφόρων ειδών και στελεχών της κοινοπραξίας υπέδειξαν ότι το γ-αμινοβουτυρικό οξύ (GABA) που εκκρίνεται από το *Lc. lactis* ως μέρος της αντίδρασής του στο όξινο στρες μπορεί να χρησιμεύσει ως υπόστρωμα για το σχηματισμό σουξινικού οξέος από το *Leuc. mesenteroides*. Αντίθετα, το είδος αυτό δεν φάνηκε να συμβάλλει στην ανάπτυξη των στελεχών *Lc. Lactis* (Yamauchi et al., 2019).

Ομοίως, στα τυριά ελβετικού τύπου, τα βακτήρια προπιονικού οξέος (PAB) χρησιμοποιούν το γαλακτικό που παράγεται από τα LAB, δημιουργώντας τα τυπικά «μάτια» αυτών των τυριών,

χωρίς κανένα προφανές όφελος για τον τελευταίο πληθυσμό. Η παρουσία του γαλακτικού από μόνη της, ωστόσο, δεν μπορεί να εξηγήσει όλες τις ευεργετικές επιδράσεις των LAB στα PAB. Η ανάπτυξη των τελευταίων βακτηρίων θα μπορούσε επίσης να ενισχυθεί από αμινοξέα και πεπτίδια που απελευθερώνονται από το πρωτεολυτικό σύστημα της LAB. Παρομοίως, έχει επίσης αναφερθεί η διέγερση της ανάπτυξης των LAB από ζύμες χωρίς προφανές κέρδος των ευκαρυωτικών μικροοργανισμών (Yamauchi et al., 2019). Στο γαλλικό τυρί Cantalet, έχει βρεθεί ότι η χρήση ζυμών ως συμπληρωματικών καλλιιεργειών προάγει την επιβίωση των κυττάρων *Lc. lactis* κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης και ενισχύει το σχηματισμό του αρώματος του τυριού. Ωστόσο, η σχέση αυτή μπορεί να μην είναι αυστηρά συντροφική, δεδομένου ότι οι ζύμες μπορεί επίσης να επωφελούνται από την ανάπτυξη των LAB χρησιμοποιώντας τα σάκχαρα γλυκόζης ή/και γαλακτόζης που απελευθερώνονται από ορισμένα είδη LAB (Cosetta & Wolfe, 2019).

Αμοιβαιότητα

Αμοιβαιότητα είναι η σχέση στην οποία όλοι οι εμπλεκόμενοι μικροοργανισμοί επωφελούνται από τις αλληλεπιδράσεις τους. Η πιο χαρακτηριστική αμοιβαία αλληλεπίδραση μεταξύ LAB βακτηρίων στα γαλακτοκομικά προϊόντα είναι η λεγόμενη «πρωτοσυνεργασία» που λαμβάνει χώρα στο γιαούρτι μεταξύ του *S. thermophilus* και του *Lb. delbrueckii subsp. Bulgaricus* (Cosetta & Wolfe, 2019). Αυτή βασίζεται στην πρωτεόλυση καζεΐνης από το *Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus* μέσω της επιφανειακής καζεϊνολυτικής πρωτεΐνης PrtB, η δραστηριότητα της οποίας παρέχει αμινοξέα στο *S. thermophilus*. Αυτό το τελευταίο βακτήριο, με τη σειρά του, παρέχει μυρμηκικό οξύ και διοξείδιο του άνθρακα στον πρώτο οργανισμό. Πρόσφατα, αποδείχθηκε ότι η δραστηριότητα της ουρεάσης στο *S. thermophilus* είναι επίσης απαραίτητη σε αυτή τη συνεργασία. Η ανεπάρκεια ουρεάσης προκαλεί έλλειψη αμμωνίου και CO₂, ενώσεων που επηρεάζουν την ανάπτυξη του *S. thermophilus* και του *Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus*, αντίστοιχα. Πρόσθετες αλληλεπιδράσεις μεταξύ των δύο μικροβίων θα μπορούσαν να περιλαμβάνουν την παροχή

πρόδρομων ουσιών πουρινών (ξανθίνη, ουρακίλη) από το *Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus* στο *S. thermophilus* και τη μείωση του σχηματισμού δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) από το *S. thermophilus* ως απάντηση στην παραγωγή H₂O₂ από το *Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus* μέσω της αντίδρασης Fenton. Έχει επίσης αναφερθεί συνεργασία μεταξύ άλλων ειδών LAB, όπως αυτή που παρατηρείται μεταξύ των *Lc. lactis* και *Lb. casei* στην πρωτεόλυση των πρωτεϊνών του γάλακτος κατά την ωρίμανση του τυριού (Castellanos et al., 2020).

Η συνεργατική διασταυρούμενη διατροφή μεταξύ ειδών LAB και ζυμομυκήτων που απομονώνονται από τυρί έχει περιγραφεί άφθονα. Οι ζύμες μπορούν να παρέχουν στους LAB βασικές βιταμίνες ή πηγές άνθρακα (2-οξογλουταρικό) και αζώτου (αμινοξέα), ενώ οι LAB μπορούν να παρέχουν γαλακτικό οξύ σε ζύμες που δεν ζυμώνουν με λακτόζη ως προτιμώμενο ενεργειακό υπόστρωμα. Μια καλύτερη κατανόηση των μεταβολικών δραστηριοτήτων των ειδών ζυμών και LAB και των πιθανών αλληλεπιδράσεών τους στον φλοιό του τυριού αποκτήθηκε πρόσφατα συνδυάζοντας τα αποτελέσματα των μεταγονιδιωματικών, μετατρανσκριπτομικών και μεταβολιδιωματικών αναλύσεων. Στη φλούδα ενός μοντέλου τυριού που περιλαμβάνει μια συνθετική μικροβιακή χλωρίδα αποτελούμενη από *Lc. lactis*, *Brev. aurantiacum*, *Glutamicibacter (G.) arilaitensis* (πρώην *Arthr. arilaitensis*), *Corynebacterium casei*, *Hafnia (H.) alvei* και *Staph. equorum*, καθώς και τους ζυμομύκητες *D. hansenii*, *G. candidum* και *K. lactis*, παρατηρήθηκαν αρκετές αμοιβαίες αλληλεπιδράσεις. Ο *Lc. lactis* και ο ζυμομύκητας *K. lactis*, το πιο ενεργό είδος την πρώτη ημέρα, επέτρεψαν την ταχεία ζύμωση της λακτόζης και το γαλακτικό που παρήχθη καταναλώθηκε γρήγορα από τα είδη ζυμομυκήτων *D. hansenii* και *G. candidum*. Η επακόλουθη αποξίνιση της μήτρας από τις ζύμες επέτρεψε την επακόλουθη ανάπτυξη και των πέντε ευαίσθητων στα οξέα βακτηρίων (Castellanos et al., 2020).

Οι βιοτικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ του *D. hansenii* και των στελεχών των ευαίσθητων στα οξέα ειδών *Brev. aurantiacum* και *H. alvei* αξιολογήθηκαν επίσης πρόσφατα σε ένα μοντέλο μίνι-τυριού. Η μεταγραφική σκιαγράφηση του προφίλ των τυριών που παράγονται με διαφορετικούς

συνδυασμούς αυτών των τριών ειδών αποκάλυψε πιθανούς μηχανισμούς αλληλεπίδρασης που περιλαμβάνουν την απόκτηση σιδήρου, την πρωτεόλυση, τη λιπόλυση, τον μεταβολισμό του θείου και τον καταβολισμό του D-γαλακτονικού. Επιβεβαιώνοντας τα προηγούμενα αποτελέσματα των Dugat-Bony et al., η ανάπτυξη του *D. hansenii* αύξησε το pH, επιτρέποντας την ανάπτυξη των *Brev. aurantiacum* και *H. alvei*. Επιπλέον, παρατηρήθηκαν επίσης ισχυρές αμοιβαίες αλληλεπιδράσεις μεταξύ των δύο βακτηρίων (Bassi et al., 2020). Το *Brev. aurantiacum* επωφελήθηκε από την παραγωγή σιδηροφόρων από το *H. alvei*, ενώ η ανάπτυξη του *H. alvei* διεγείρεται από τα αμινοξέα θείου και άλλες ενεργειακές ενώσεις που απελευθερώνονται από την καζεΐνη και τα τριγλυκερίδια μέσω των πρωτεασών και λιπασών που εκκρίνει το *Brev. aurantiacum*. Ορισμένες από αυτές τις αλληλεπιδράσεις παρουσιάζουν βιομηχανικό ενδιαφέρον, καθώς η πρωτεόλυση αυξάνει τη δεξαμενή μεθειονίνης, το υπόστρωμα για τον σχηματισμό πτητικών θειούχων ενώσεων από το *H. alvei*, οι οποίες αυξάνουν τη γεύση του τυριού (Bassi et al., 2020).

Καμία από τις παραπάνω μικροβιακές αλληλεπιδράσεις δεν αποκλείει την ύπαρξη άλλων. Πράγματι, πολλές και πολύπλοκες αλληλεπιδράσεις μεταξύ και εντός των διαφόρων συστατικών του μικροβιόκοσμου του τυριού λαμβάνουν σίγουρα χώρα ταυτόχρονα κατά τη διάρκεια της παρασκευής και της ωρίμανσης. Για παράδειγμα, κατά τη διερεύνηση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μικροβίων του τυριού *Lc. lactis*, *Y. lipolytica* και *Staph. xylosus* παρατηρήθηκαν συγκοινωνούντες και αμενσαλιστικές αλληλεπιδράσεις. Οι αριθμοί του *Y. lipolytica* μειώθηκαν δραματικά από την παρουσία του *Staph. xylosus*, ενώ, αν και παρατηρήθηκαν ορισμένες αλλαγές στη γονιδιακή έκφραση, η ανάπτυξη του βακτηρίου του γαλακτικού οξέος δεν επηρεάστηκε από την παρουσία είτε του *Staph. xylosus* είτε του *Y. lipolytica*. Παρομοίως, τα LAB και οι τυχαίοι μη αρχέγονοι οργανισμοί μπορεί να ανταγωνίζονται για τα κιτρικά στο τυρί, ενώ μπορεί να υπάρξει συνεργασία όσον αφορά την πρωτεόλυση και τη λιπόλυση- όλες αυτές οι αλληλεπιδράσεις μπορούν να οδηγήσουν σε αυξημένο σχηματισμό γεύσης. Έχουν επίσης αναφερθεί αλληλεπιδράσεις μεταξύ του *S. thermophilus* και του *Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus* σε γιαούρτι. Στελέχη οποιουδήποτε

είδους μπορούν να παράγουν βακτηριοκίνες που αναστέλλουν εκείνες του εταίρου τους (Bertani et al., 2020).

1.2.4 Παράγοντες που επηρεάζουν τη μικροβιακή χλωρίδα του τυριού

Φυσικοχημικοί παράγοντες

Η παστερίωση είναι το σημαντικότερο φυσικό σύστημα που χρησιμοποιείται για τον έλεγχο των μικροβιακών πληθυσμών στην επεξεργασία τυριών. Οι θερμικές επεξεργασίες μειώνουν δραστικά τον αριθμό των μικροοργανισμών, ειδικά των παθογόνων και/ή αλλοιωτικών βακτηρίων, αλλά και των NSLAB που είναι σημαντικοί κατά την ωρίμανση και υπεύθυνοι για την ανάπτυξη του αρώματος και της γεύσης. Αν και δεν υπάρχουν στοιχεία που να αποδεικνύουν ότι η διατροφική αξία των τυριών από νωπό γάλα είναι διαφορετική από εκείνη των τυριών από παστεριωμένο γάλα, το προφίλ γεύσης και αρώματος των τυριών από νωπό γάλα διαφέρει, σε κάποιο βαθμό, από εκείνο των τυριών από παστεριωμένο γάλα (Lucchini et al., 2018). Επιπλέον, δεδομένου ότι η δευτερογενής μικροβιακή χλωρίδα του τυριού μπορεί να έχει την προέλευσή της από τη μετά την παστερίωση ατμοσφαιρική μόλυνση, τον εξοπλισμό ή τα συστατικά τυροκόμησης ή την επιβίωση κατά την παστερίωση, η θερμική επεξεργασία από μόνη της δεν αρκεί για να διασφαλίσει τη μικροβιολογική ποιότητα του τυριού (Fox et al., 2017).

Τόσο στα τυριά από παστεριωμένο γάλα όσο και στα τυριά από νωπό γάλα η μικροβιακή ανάπτυξη κατά την επεξεργασία και την ωρίμανση του τυριού επηρεάζεται από μια σειρά φυσικών/χημικών παραμέτρων, συμπεριλαμβανομένης της δραστηριότητας του νερού, της συγκέντρωσης αλατιού και του pH, οι οποίες εξαρτώνται από τη διαδικασία παρασκευής του τυριού. Όλοι οι μικροοργανισμοί χρειάζονται νερό για να αναπτυχθούν και ένας από τους πιο αποτελεσματικούς τρόπους ελέγχου της ανάπτυξής τους είναι η μείωση του διαθέσιμου νερού είτε μέσω της αφυδάτωσης είτε μέσω της προσθήκης κάποιου υδατοδιαλυτού συστατικού, όπως η ζάχαρη ή το αλάτι. Η δραστηριότητα του νερού είναι ευθέως ανάλογη με την περιεκτικότητα του

τυριού σε υγρασία και αντιστρόφως ανάλογη με τη συγκέντρωση του NaCl και άλλων ενώσεων χαμηλού μοριακού βάρους (Fox et al., 2017).

Στην πραγματικότητα, η αύξηση της περιεκτικότητας του τυριού σε υγρασία οδηγεί σε αυξημένη ευαισθησία στη φθορά. Οι Feeney et al. (2002 όπ.αναφ.στο Montel et al., 2014) μελέτησαν την επίδραση του pH και της συγκέντρωσης ασβεστίου στην πρωτεόλυση του τυριού Mozzarella με χαμηλό ποσοστό υγρασίας. Οι συγγραφείς επαλήθευσαν ότι το pH και το ασβέστιο επηρέασαν σημαντικά το ποσοστό υγρασίας, εκτός από το ρυθμό πρωτεόλυσης κατά την αποθήκευση του τυριού στους 4°C. Το pH είναι μια πολύ σημαντική παράμετρος που επηρεάζει την ταυτότητα και την ποιότητα του τυριού, επειδή επηρεάζει τη δομή, τη γεύση και τις ρεολογικές ιδιότητες του τυριού, παρεμβαίνοντας στις χημικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των δομικών ενώσεων (πρωτεΐνες, νερό και ανόργανα άλατα), καθώς και στην πρωτεολυτική δραστηριότητα και τη δομή των μικροβιακών πληθυσμών (Bintsis, 2018).

Υπό αυτή την έννοια, ο Monteiro (2004 όπ.αναφ.στο Montel et al., 2014) διαπίστωσε ότι η αύξηση του pH συσχετίζεται άμεσα με την ικανότητα πήξης και αντιστρόφως ανάλογα με τη σκληρότητα του βραζιλιάνικου τυριού κρέμας. Οι μικροοργανισμοί που εμπλέκονται στην παρασκευή και την ωρίμανση των τυριών είναι είτε μεσόφιλοι είτε θερμόφιλοι έχοντας βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης περίπου στους 30 και 42°C, αντίστοιχα. Η βέλτιστη θερμοκρασία για την ωρίμανση του τυριού είναι μια σχέση μεταξύ της ανάγκης να προωθηθούν οι αντιδράσεις ωρίμανσης που εξασφαλίζουν την ανάπτυξη μιας επιθυμητής δευτερογενούς χλωρίδας και της ανάγκης να αποτραπεί ο πολλαπλασιασμός πιθανών βακτηρίων αλλοίωσης και παθογόνων βακτηρίων. Το δυναμικό οξειδοαναγωγής του τυριού είναι ένας από τους σημαντικότερους παράγοντες που καθορίζουν τους τύπους των μικροοργανισμών που θα αναπτυχθούν σε αυτά τα γαλακτοκομικά προϊόντα. Γενικά, το τυρί προσφέρει ένα μειωτικό περιβάλλον που αναπτύσσεται κατά τη διάρκεια της διαδικασίας ζύμωσης από τις καλλιέργειες εκκινητών ή NSLAB που είναι υπεύθυνες για την αρχική ζύμωση και την αναγωγή μικρών ποσοτήτων O₂ στο γάλα σε νερό. Ως συνέπεια αυτών των

αντιδράσεων, το εσωτερικό του τυριού είναι ουσιαστικά ένα αναερόβιο σύστημα, το οποίο μπορεί να υποστηρίξει την ανάπτυξη μόνο υποχρεωτικών ή προαιρετικά αναερόβιων μικροβίων. Ως εκ τούτου, τα υποχρεωτικά αερόβια, όπως τα *Pseudomonas*, *Brevibacterium*, *Bacillus* και *Micrococcus* spp. αποκλείονται από την ανάπτυξη στο εσωτερικό του τυριού. Τα βακτήρια που αναπτύσσονται στην επιφάνεια του τυριού είναι κυρίως υποχρεωτικά αερόβια (Bintsis, 2018).

Βιολογικοί παράγοντες

Κατά την επεξεργασία και ωρίμανση του τυριού, οι παράγοντες που επηρεάζουν την αύξηση ενός πληθυσμού σε βάρος άλλων μικροβιακών πληθυσμών είναι κυρίως: ο άμεσος ανταγωνισμός για υπόστρωμα, η παραγωγή φυσικών ανασταλτικών μεταβολικών ενώσεων και βακτηριοσινών. Στον άμεσο ανταγωνισμό, οι LAB αμφισβητούν τα θρεπτικά συστατικά μεταξύ τους και με τους μολυσματικούς μικροοργανισμούς. Οι ανασταλτικές ενώσεις είναι προϊόντα του μεταβολισμού των βακτηρίων και οι βακτηριοσίνες είναι αντιμικροβιακές πρωτεΐνες που παράγονται από τους LAB. Οι LABs, και ιδιαίτερα η καλλιέργεια εκκινητή, ζυμώνει γρήγορα τη λακτόζη σε γαλακτικό οξύ/γαλακτικό, περιορίζοντας τη διαθεσιμότητα αυτής της πηγής άνθρακα για τους επιβλαβείς μικροοργανισμούς που ζυμώνουν τη λακτόζη, όπως τα κολοβακτηρίδια ή τα βακτήρια αλλοίωσης. Άλλα υποστρώματα που μετατρέπονται ή δεσμεύονται από τους LAB κατά τη διάρκεια της παρασκευής τυριού είναι τα κιτρικά και οι πρωτεΐνες, πράγμα που σημαίνει ότι οι ενώσεις αυτές δεν μπορούν να χρησιμεύσουν ως υπόστρωμα για παθογόνα (Fardet et al., 2019).

Επιπλέον, ο σχηματισμός γαλακτικού οξέος/γαλακτικού μειώνει δραστικά το pH και αυξάνει την οξύτητα σε επίπεδα που περιορίζουν την ανάπτυξη πολλών επιβλαβών βακτηρίων (Fardet et al., 2019). Η εναπομένουσα λακτόζη μεταβολίζεται γρήγορα σε L-γαλακτικό κατά το πρώιμο στάδιο της ωρίμανσης με ρυθμό που καθορίζεται σε μεγάλο βαθμό από την παρουσία των καλλιιεργειών εκκίνησης, τη θερμοκρασία και τα επίπεδα αλατιού-υγρασίας του τυροπήγματος. Η λακτόζη που δεν μεταβολίζεται από τον εκκινητή πιθανώς ζυμώνεται από το NSLAB. Παρόλο που, σε ώριμα

τυριά, ορισμένοι ετεροζυμωτικοί προαιρετικοί γαλακτοβάκιλλοι μπορούν να αναπτυχθούν καλά υπό συνθήκες υψηλής εκλεκτικότητας των μέσων. Η λακτόζη και η γαλακτόζη μεταβολίζονται συνήθως μετά την πρωτογενή ζύμωση από μια καλλιέργεια εκκινητή. Άλλες πηγές ενέργειας για το NSLAB μπορεί να είναι: κιτρικό, γαλακτικό, συστατικά του γάλακτος, μικροβιακοί μεταβολίτες και προϊόντα λύσης μικροβιακών κυττάρων. Υπό κανονικές συνθήκες ζύμωσης των τροφίμων, οι LAB παράγουν γαλακτικό οξύ, ως το κύριο προϊόν του μεταβολισμού, αλλά και άλλα προϊόντα, όπως οξικό οξύ, ακεταλδεΰδη, αιθανόλη και διακετύλιο, τα οποία συμβάλλουν στη γεύση του τυριού και τα οποία είναι αναστολείς άλλων μικροοργανισμών. Κατά την παρασκευή, οι εκκινητές LAB συμμετέχουν στην οξίνιση του γάλακτος του τυριού στο επιθυμητό pH. Οι καλλιέργειες εκκίνησης με ένζυμα πήξης, όπως η πυτιά, προάγουν το σχηματισμό του πήγματος, μειώνοντας το δυναμικό οξειδοαναγωγής, το οποίο μπορεί να καταστρέψει ή να αποτρέψει την ανάπτυξη παθογόνων και αλλοιωμένων οργανισμών (Fardet et al., 2019).

Μια άλλη λειτουργία των γαλακτοκαλλιεργειών εκκίνησης είναι η συμβολή τους στην αύξηση της βιομάζας στο νεαρό τυρόπηγμα, που αντιπροσωπεύει ένα βιοκαταλυτικό δυναμικό για αντιδράσεις τυροκόμησης. Το δυναμικό αυτό μπορεί να μετρηθεί με την αυτοδιάλυση των κυττάρων του εκκινητή. Το περιβάλλον που προωθείται από τον εκκινητή, σε σχέση με το δυναμικό οξειδοαναγωγής, το pH και την περιεκτικότητα σε υγρασία, διεγείρει την ανάπτυξη της δευτερογενούς χλωρίδας, η οποία με τη σειρά της συμβάλλει στην ωρίμανση του τυριού. Κατά την τελευταία δεκαετία, οι θεμελιώδεις μελέτες άνοιξαν ένα νέο πεδίο έρευνας που ασχολείται με τις βιοδραστικές ή βιογενετικές ουσίες που προέρχονται από τα γαλακτοκομικά προϊόντα. Αυτά τα αντιμικροβιακά πεπτίδια που σχηματίζουν πόρους παράγονται από την πρωτεολυτική υδρόλυση των πρωτεϊνών του γάλακτος (Haastруп et al., 2018).

Ορισμένα παραδείγματα αυτών των πεπτιδίων είναι οι καζεΐδίνες, μια ομάδα βασικών, γλυκοζυλιωμένων και πολυπεπτιδίων, που απελευθερώνονται από καζεΐνη επεξεργασμένη με χυμοσίνη, και η καζεΐδίνη που απομονώθηκε από οξινισμένο γάλα και αντιστοιχεί στα κατάλοιπα

150 έως 188 της καζεΐνης. Σε υδατοδιαλυτά εκχυλίσματα εννέα ιταλικών ποικιλιών τυριού ταυτοποιήθηκαν διάφορα αντιβακτηριακά ενεργά πεπτίδια. Αυτά τα πεπτίδια που χαρακτηρίζονται ως καζοκινίνη, ιρακιδίνη, καπακίνη, κασοπλατελίνη και καζομορφίνη παρουσίασαν μεγάλο φάσμα αναστολής έναντι θετικών κατά Gram, συμπεριλαμβανομένων ορισμένων NSLAB, και αρνητικών κατά Gram βακτηρίων. Οι πιο ενδιαφέρουσες αντιμικροβιακές ενώσεις στο τυρί είναι μικρά πεπτίδια που παράγονται από τα LAB και είναι γνωστά ως βακτηριοκίνες. Αυτά τα πεπτίδια είναι αποτελεσματικά έναντι ενός μεγάλου φάσματος βακτηρίων που μεταδίδονται με τρόφιμα, που αλλοιώνουν και NSLAB και μπορούν να εφαρμοστούν άμεσα ως συμπλήρωμα ή να παραχθούν από βακτηριοκινογόνα στελέχη κατά την επεξεργασία του τυριού (Haastруп et al., 2018).

1.3 Εισαγωγή στη Διαδικασία Παραγωγής Τυριών

Η παραγωγή όλων των ποικιλιών τυριού περιλαμβάνει ένα γενικά παρόμοιο πρωτόκολλο, διάφορα στάδια του οποίου τροποποιούνται για να δώσουν ένα προϊόν με τα επιθυμητά χαρακτηριστικά. Τα κυριότερα γενικά στάδια είναι τα εξής

1. Επιλογή, τυποποίηση και, στις περισσότερες περιπτώσεις, παστερίωση του γάλακτος.
2. Οξίνιση, συνήθως μέσω της επιτόπιας παραγωγής γαλακτικού οξέος από επιλεγμένα βακτήρια.
3. Πήξη του γάλακτος μέσω οξίνισης ή περιορισμένης πρωτεόλυσης.
4. Αφυδάτωση του πηγματος για την παραγωγή τυροπήγματος, με διάφορες τεχνικές, ορισμένες από τις οποίες είναι ειδικές για την ποικιλία.
5. Διαμόρφωση του τυροπήγματος σε χαρακτηριστικά σχήματα.
6. Για τις περισσότερες ποικιλίες, ωρίμανση (ωρίμανση) του τυροπήγματος κατά την οποία αναπτύσσεται η χαρακτηριστική γεύση και υφή του τυριού (Zheng & Zhang, 2018).

Επιλογή του γάλακτος

Η σύνθεση του τυριού επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από τη σύνθεση του τυρογάλακτος, ιδίως από την περιεκτικότητα σε λίπος, πρωτεΐνες, ασβέστιο και pH. Τα συστατικά του γάλακτος, επηρεάζονται από διάφορους παράγοντες, όπως το είδος, η φυλή, η ατομικότητα, η διατροφική κατάσταση, η υγεία και το στάδιο της γαλακτοπαραγωγής του ζώου παραγωγής. Λόγω των σημαντικών ανωμαλιών της σύνθεσης, το γάλα από αγελάδες σε πολύ πρώιμο ή όψιμο στάδιο της γαλακτοπαραγωγής και από αγελάδες που πάσχουν από μαστίτιδα πρέπει να αποκλείεται. Ο αριθμός των σωματικών κυττάρων (λευκοκυττάρων) είναι ένας χρήσιμος δείκτης ποιότητας. Ορισμένοι γενετικοί πολυμορφισμοί των πρωτεϊνών του γάλακτος έχουν σημαντική επίδραση στην απόδοση και την ποιότητα του τυριού και υπάρχει αυξανόμενο ενδιαφέρον για την αναπαραγωγή ορισμένων πολυμορφισμών. Το γάλα πρέπει να είναι απαλλαγμένο από χημικές αλλοιώσεις και ελεύθερα λιπαρά οξέα, τα οποία προκαλούν δυσάρεστες γεύσεις στο τυρί, καθώς και από αντιβιοτικά που αναστέλλουν τις βακτηριακές καλλιέργειες. Το γάλα πρέπει να είναι καλής μικροβιολογικής ποιότητας, καθώς τα μολυσματικά βακτήρια θα συγκεντρωθούν στο τυρόπηγμα και μπορεί να προκαλέσουν ελαττώματα ή προβλήματα δημόσιας υγείας (Corsetti & Cavazza, 2008).

Τυποποίηση της σύνθεσης του γάλακτος

Το γάλα για τυρί υποβάλλεται σε διάφορες προεπεξεργασίες, με διάφορους στόχους. Οι διάφορες ποικιλίες τυριών έχουν μια χαρακτηριστική περιεκτικότητα σε λίπος σε ξηρή ύλη, στην πραγματικότητα, μια ορισμένη αναλογία λίπους προς πρωτεΐνη και αυτή η κατάσταση έχει νομικό καθεστώς στα «Πρότυπα ταυτότητας» για πολλές ποικιλίες τυριών. Ενώ η περιεκτικότητα του τυριού σε υγρασία, και συνεπώς το επίπεδο λίπους συν πρωτεΐνη, καθορίζεται κυρίως από το πρωτόκολλο παρασκευής, η αναλογία λίπους προς πρωτεΐνη καθορίζεται κυρίως από την αναλογία λίπους προς καζεΐνη στο γάλα του τυριού. Ανάλογα με την απαιτούμενη αναλογία, μπορεί να τροποποιηθεί με:

- την αφαίρεση λίπους με φυσική κρεμοποίηση, όπως στην παρασκευή του Parmigiano Reggiano, ή με φυγοκέντρωση
- προσθήκη αποβουτυρωμένου γάλακτος
- προσθήκη κρέμας γάλακτος
- προσθήκη μικροκυτταρικής καζεΐνης (που παρασκευάζεται με υπερδιήθηση)
- προσθήκη γάλακτος σε σκόνη, γάλα εβαπορέ ή καταστάλαγμα υπερδιήθησης (Barker & McSweeney, 2018).

Θερμική επεξεργασία του γάλακτος

Παραδοσιακά, όλα τα τυριά παρασκευάζονταν από νωπό γάλα, πρακτική που παρέμεινε ευρέως διαδεδομένη μέχρι τη δεκαετία του 1940. Ακόμη και σήμερα, σημαντικές ποσότητες τυριού παρασκευάζονται στην Ευρώπη από νωπό γάλα. Η χρήση νωπού γάλακτος μπορεί να είναι ανεπιθύμητη λόγω:

- Ασφάλειας της δημόσιας υγείας
- Παρουσίας ανεπιθύμητων μικροοργανισμών που μπορεί να προκαλέσουν ελαττώματα ή μεταβλητότητα στη γεύση ή/και την υφή.

Όταν το τυρί παραγόταν από φρέσκο γάλα σε αγροκτήματα ή σε μικρά, τοπικά εργοστάσια, η ανάπτυξη των μολυσματικών μικροοργανισμών ήταν πολύ χαμηλή, αλλά καθώς τα τυροκομεία γίνονταν μεγαλύτερα, η αποθήκευση του γάλακτος για μεγαλύτερα χρονικά διαστήματα γινόταν αναγκαία και ως εκ τούτου η μικροβιολογική ποιότητα του γάλακτος διαφοροποιούνταν. Για λόγους δημόσιας υγείας, έγινε όλο και πιο δημοφιλής από τις αρχές του εικοστού αιώνα η παστερίωση του γάλακτος για υγρή κατανάλωση. Η παστερίωση του τυρογάλακτος διαδόθηκε ευρέως γύρω στο 1940, κυρίως για λόγους δημόσιας υγείας, αλλά και για να εξασφαλιστεί μια προμήθεια γάλακτος με πιο ομοιόμορφη βακτηριολογική ποιότητα και να βελτιωθεί η ποιότητα διατήρησής του. Αν και εξακολουθεί να παράγεται σημαντική ποσότητα τυριού από νωπό γάλα, τόσο σε βιοτεχνική όσο και

σε εργοστασιακή κλίμακα, ιδίως στη νότια Ευρώπη (συμπεριλαμβανομένων διάσημων ποικιλιών όπως το ελβετικό Emmental, το Gruyère de Comté, το Parmigiano Reggiano και το Grano Padano), το παστεριωμένο γάλα χρησιμοποιείται πλέον γενικά, ιδίως σε μεγάλα εργοστάσια. Η γεύση του τυριού που παρασκευάζεται από νωπό γάλα είναι διαφορετική και πιο έντονη από εκείνη του παστεριωμένου, επειδή οι ευεργετικοί αυτόχθονες LAB, οι οποίοι μπορεί να συμβάλλουν θετικά στη γεύση του τυριού, θανατώνονται με την παστερίωση (Barker & McSweeney, 2018).

Χρώμα τυριού

Το χρώμα είναι ένα πολύ σημαντικό χαρακτηριστικό των τροφίμων και χρησιμεύει ως δείκτης ποιότητας, αν και σε ορισμένες περιπτώσεις είναι καλλυντικό. Οι κύριες αυτόχθονες χρωστικές ουσίες στο γάλα είναι τα καροτενοειδή, τα οποία λαμβάνονται από τη διατροφή του ζώου, ιδίως από το φρέσκο γρασίδι και το τριφύλλι (Barker & McSweeney, 2018).

Τα ζώα δεν συνθέτουν καροτενοειδή αλλά τα απορροφούν από τα φυτικά υλικά της διατροφής τους. Εκτός του ότι χρησιμεύουν ως προ-βιταμίνη Α, ορισμένα ζώα αποθηκεύουν καροτενοειδή στους ιστούς τους, τα οποία στη συνέχεια αποκτούν χρώμα, π.χ. σολομός, μαγειρεμένος αστακός και κρόκος αυγού. Τα βοοειδή μεταφέρουν καροτενοειδή στον λιπώδη ιστό και στο γάλα, αλλά οι κατσίκες, τα πρόβατα και τα βουβάλια όχι. Συνεπώς, το γάλα βοοειδών και τα προϊόντα που παρασκευάζονται από αυτό είναι κίτρινα σε βαθμό που εξαρτάται από την περιεκτικότητα της διατροφής του ζώου σε καροτενοειδή. Προϊόντα όπως το βούτυρο και το τυρί που παρασκευάζονται από πρόβειο, κατσικίσιο ή βουβαλίσιο γάλα είναι πολύ λευκά σε σύγκριση με τα αντίστοιχα προϊόντα που παρασκευάζονται από βόειο γάλα. Αυτό το κιτρινωπό χρώμα μπορεί να κάνει τα προϊόντα που παράγονται από αγελαδινό γάλα λιγότερο αποδεκτά από τα προϊόντα που παράγονται από πρόβειο, κατσικίσιο ή βουβαλίσιο γάλα στις μεσογειακές χώρες όπου το τελευταίο είναι παραδοσιακό. Τα καροτενοειδή του βοείου γάλακτος μπορούν να λευκανθούν με επεξεργασία με H_2O_2 ή υπεροξείδιο του βενζοϋλίου ή να καλυφθούν με χλωροφύλλη ή οξείδιο του τιτανίου

(TiO_2), αν και οι πρακτικές αυτές δεν επιτρέπονται σε όλες τις χώρες. Στο άλλο άκρο του φάσματος βρίσκονται τα άτομα που προτιμούν το έντονα χρωματισμένο τυρί, το βούτυρο ή τον κρόκο αυγού. Τέτοια έντονα χρώματα μπορούν να επιτευχθούν με την προσθήκη καροτενοειδών (συνθετικών ή φυσικών εκχυλισμάτων) απευθείας στο προϊόν ή στη διατροφή του ζώου. Στην περίπτωση του τυριού και των γαλακτοκομικών προϊόντων, το annatto, που εξάγεται από το περικάρπιο των σπόρων του φυτού annatto (*Bixa orellana*), που προέρχεται από τη Βραζιλία, χρησιμοποιείται ευρύτερα. Το annatto περιέχει δύο αποκαροτεχνοειδείς χρωστικές ουσίες, την bixin και την norbixin. Με κατάλληλη τροποποίηση, οι χρωστικές ουσίες annatto μπορούν να γίνουν λιποδιαλυτές, για χρήση σε βούτυρο ή μαργαρίνη, ή υδατοδιαλυτές για χρήση σε τυρί. Αρχικά, το annatto μπορεί να χρησιμοποιήθηκε στην παρασκευή τυριού για να δώσει την εντύπωση υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά σε μερικώς αποβουτυρωμένο τυρί, αλλά ορισμένοι πιστεύουν ότι το έγχρωμο («κόκκινο») τυρί έχει καλύτερη γεύση από το αντίστοιχο λευκό τυρί αντίστοιχης ποιότητας (Zheng & Zhang, 2018).

Μετατροπή του γάλακτος σε τυρόπηγμα

Αφού το γάλα τυποποιηθεί, παστεριωθεί ή υποστεί άλλη επεξεργασία, μεταφέρεται σε δεξαμενές (ή καζάνια) που ποικίλλουν σε σχήμα (ημισφαιρικό, ορθογώνιο, κάθετο ή οριζόντιο κυλινδρικό), μπορεί να είναι ανοικτές ή κλειστές και το μέγεθός τους μπορεί να κυμαίνεται από μερικές εκατοντάδες λίτρα έως 20.000-40.000 L. Εδώ, μετατρέπεται σε τυρόπηγμα, μια διαδικασία που περιλαμβάνει τρεις βασικές λειτουργίες: οξίνιση, πήξη και αφυδάτωση (Zheng & Zhang, 2018).

1.4 Ο Ρόλος της Μικροβιακής Δραστηριότητας στη Διαμόρφωση των Χαρακτηριστικών του Τυριού

Μια καλλιέργεια εκκίνησης περιέχει βακτήρια γαλακτικού οξέος (LAB), τα οποία έχουν μελετηθεί από τη δεκαετία του '60 και αποτελούν μια σχετικά ετερογενή ομάδα θετικών κατά Gram

κοκκίων, κοκκιοβακίλλων και βακίλλων. Τα LAB έχουν ευρύ φάσμα οικολογικών θέσεων, χαμηλή περιεκτικότητα σε GC (γουακίνη+κυτοσίνη), υψηλή ανοχή σε οξέα, υψηλή αεροανεκτικότητα αλλά όχι αερόβια, δεν μπορούν να συνθέσουν πορφυρίνες και, είναι ανσθηρά ζυμωτικά με κύριο μεταβολικό τελικό προϊόν το γαλακτικό οξύ. Αποτελούν τον πιο κυρίαρχο μικροβιακό πληθυσμό πριν από την παστερίωση και παίζουν σημαντικό ρόλο στην παρασκευή ζυμωμένων τροφίμων (Broadbent & Steele, 2005). Η ζύμωση είναι μια σημαντική τεχνική συντήρησης που εφαρμόζεται ευρέως από την αρχαιότητα. Όχι μόνο αυξάνει τη διάρκεια ζωής και τη μικροβιολογική ασφάλεια του τροφίμου, αλλά καθιστά επίσης το τρόφιμο πιο εύπεπτο (Broadbent & Steele, 2005).

Αρχικά η καλλιέργεια εκκίνησης ήταν ένα μείγμα πολλών απροσδιόριστων μικροβίων, αλλά ο καθημερινός πολλαπλασιασμός στις βιομηχανίες έχει οδηγήσει στην εξαφάνιση ορισμένων στελεχών από το οικοσύστημα και έχει οδηγήσει σε απώλεια της μοναδικότητας του τυριού. Εξαιτίας αυτού, έχει αυξηθεί το ενδιαφέρον για την απομόνωση άγριου τύπου στελεχών από παραδοσιακά τυριά (Vuyst et al., 2002). Μερικά από τα πιο συνηθισμένα LAB που χρησιμοποιούνται στην παραγωγή τυριών είναι τα *Lactobacillus delbrueckii subsp. L. bulgaricus*, *delbrueckii subsp. lactis* και *L. Helveticus*, που συχνά χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με *Streptococcus thermophilus* για την ικανότητά τους να αναπτύσσουν φολικό και μυρμηκικό οξύ, τα οποία χρησιμοποιούνται για τη σύνθεση πουρινών (Angelis & Gobbetti, 2011). Σήμερα, οι καλλιέργειες εκκινητών μπορούν να αγοραστούν ως κατεψυγμένα αποξηραμένα παρασκευάσματα, να παραχθούν σε βιομηχανική κλίμακα και ορισμένες μπορούν ακόμη και να εμβολιαστούν απευθείας σε δεξαμενές (Angelis & Gobbetti, 2011).

Ποιοτικά ελαττώματα στο τυρί που προκαλούνται από μικροοργανισμούς

Το γάλα σε έναν υγιή μαστικό αδένα θεωρείται στείρο, αλλά μπορεί μετά την έκκριση να μολυνθεί από μικροοργανισμούς από την κορυφή της θηλής, τον εξοπλισμό αρμέγματος, τον αέρα, το νερό, τις ζωοτροφές, το χορτάρι, το έδαφος και άλλα περιβάλλοντα (Quigley et al., 2013). Ως εκ

τούτου, είναι σημαντικό να απομακρύνεται καθημερινά το χόμα και τα βακτήρια από τις θηλές, διαφορετικά μπορεί να δημιουργηθούν πολύπλοκες βακτηριακές κοινότητες που είναι πιο δύσκολο να απομακρυνθούν από τις επιφάνειες από ό,τι τα ελεύθερα ζωντανά, βλαστικά βακτηριακά κύτταρα (Quigley et al., 2013). Μετά το άρμεγμα η θερμοκρασία του γάλακτος πρέπει να διατηρείται κάτω από τους επτά βαθμούς Κελσίου για την αναστολή της ανάπτυξης των μεσόφιλων και θερμόφιλων βακτηρίων. Είναι επίσης σημαντικό τα φορτηγά μεταφοράς να διαθέτουν αποτελεσματικά συστήματα ψύξης (Quigley et al., 2013).

Τα ψυχотρόπα βακτήρια εξακολουθούν να αναπτύσσονται σε χαμηλή θερμοκρασία και μπορούν να προκαλέσουν προβλήματα. Διαθέτουν πολύ ανθεκτικές στη θερμότητα πρωτεάσες και λιπάσες που μπορούν να επιβιώσουν στην παστερίωση με επεξεργασία σε υπερυψηλή θερμοκρασία (UHT) και τα ένζυμά τους μπορούν επίσης να προκαλέσουν αλλοίωση του αποθηκευμένου τυρογάλακτος. Η πρόιμη και η όψιμη ανάπτυξη αερίων είναι οι πιο συνηθισμένες αιτίες ελαττωμάτων του τυριού, αλλά η καλύτερη υγιεινή και ο ποιοτικός έλεγχος του γάλακτος το έχουν καταστήσει λιγότερο συχνό σήμερα. Ο πρόιμος σχηματισμός αερίων μπορεί να γίνει αντιληπτός μέσα σε λίγες ημέρες ως μικρές τρύπες στο τυρί που προκαλούνται από το H₂ που παράγεται από τα κολοβακτηρίδια και το CO₂ από τη ζύμη και είναι πιο συνηθισμένος σε μαλακά τυριά με υψηλή δραστηριότητα νερού (Cogan, 2011).

Τα νιτρικά χρησιμοποιούνται αποτελεσματικά για τον έλεγχο του πρόιμου σχηματισμού αερίων. Ο όψιμος σχηματισμός αερίων, που ονομάζεται «όψιμο φούσκωμα», προκαλεί κακή γεύση και αέρια που δημιουργούν μεγάλες τρύπες, που ονομάζονται «μάτια» στο τυρί. Αυτό το ελάττωμα συμβαίνει αργότερα στην ανάπτυξη του τυριού, όταν παράγεται βουτυρικό οξύ, CO₂ και H₂ από το *Clostridium tyrobutyricum* και το *butyricum*. Για τον έλεγχο της όψιμης παραγωγής αερίων μπορούν να χρησιμοποιηθούν νιτρικά, μικροδιήθηση, βακτηριοφυγοποίηση, μείωση του pH ή προσθήκη αλατιού ή λυσοζύμων. Τα λυσοζύμια, καταστρέφουν τα σπόρια των κλωστηριδίων και χρησιμοποιούνται συχνά στα ιταλικά τυριά (Cogan, 2011- Sheehan, 2011).

Η βακτηριοφυγοκέντρωση είναι μια διαδικασία φυγοκέντρωσης που απομακρύνει τα περισσότερα από τα αναερόβια, σπορογόνα βακτήρια και σπόρια στο γάλα τυριού. Η μικροδιήθηση απομακρύνει τα σπόρια με τη χρήση μεμβράνης μικροδιήθησης (Ávila et al., 2014). Τα βακτήρια προπιονικού οξέος (PAB), μπορούν να προκαλέσουν μεγάλες τρύπες στο τυρί από το CO₂, είναι αναερόβια και επομένως αναπτύσσονται μόνο στο εσωτερικό του τυριού όπου παράγουν προπιονικό, οξικό και CO₂. Αυτό θεωρείται ελάττωμα στα ιταλικά τυριά, όπως το Parmigiano-Reggiano και το Grana, αλλά στα τυριά Emmental και Comté, το *Propionibacterium freudenreichii* θεωρείται ότι έχει σημαντικό θετικό ρόλο (Cogan, 2011).

Μικροοργανισμοί στην ανάπτυξη της γεύσης

Το μεγαλύτερο μέρος της ανάπτυξης της γεύσης από τους μικροοργανισμούς και τα ένζυμά τους συμβαίνει κατά τη διάρκεια της διαδικασίας ωρίμανσης του τυριού με την αποικοδόμηση υδατανθράκων, κιτρικών, πρωτεϊνών και λιπιδίων. Στα τυριά από νωπό γάλα, οι μικροβιακές κοινότητες είναι πιο πολύπλοκες σε σύγκριση με τα τυριά που παρασκευάζονται από παστεριωμένο γάλα και προσδίδουν στο τυρί περισσότερη αισθητηριακή ποιότητα, αλλά επιφέρουν και κινδύνους ασφάλειας, δηλαδή ανάπτυξη παθογόνων μικροοργανισμών (Ávila et al., 2014). Οι LAB παράγουν οξικό οξύ, αιθανόλη, αρωματικές ενώσεις, βακτηριοκίνες, εξωπολυσακχαρίτες και ένζυμα που συμβάλλουν στην ανάπτυξη της υφής και της γεύσης στο τυρί. Η ποικιλομορφία των LAB στο νωπό γάλα έχει μειωθεί με την πάροδο του χρόνου λόγω της χρήσης ψύξης του γάλακτος και των αυστηρά υγιεινών μεθόδων επεξεργασίας στη γαλακτοκομία, επομένως έχει καταστεί σημαντική η ανάλυση άγριων στελεχών σε καλής ποιότητας νωπό γάλα για χρήση ως εκκινητές για την απόκτηση της μοναδικής γεύσης και των χαρακτηριστικών των παραδοσιακών τυριών (Ávila et al., 2014).

Για παράδειγμα, ελλείπει προαιρετικών ετεροζυμωτικών γαλακτοβακίλλων (FHL) που μετατρέπουν σάκχαρα έξι ανθράκων, όπως η γλυκόζη, σε γαλακτικό οξύ και σάκχαρα πεντόζης πέντε ανθράκων σε μείγμα γαλακτικού και οξικού οξέος, δεν θα επιτευχθεί η πλήρης γεύση του

παραδοσιακού τυριού καλής ποιότητας (Broadbent et al., 2011). Οι FHL στο τυρί είναι κυρίως οι *L. fermentii* και *L. brevis*. Επιλεγμένοι μικροοργανισμοί εκκίνησης μπορούν να προστεθούν απευθείας σε δεξαμενές παρασκευής τυριού, αλλά μόνο ένας περιορισμένος αριθμός στελεχών NSLAB μπορεί να εφαρμοστεί επιτυχώς ως συμπληρωματικές καλλιέργειες, δεδομένου ότι πολλοί μπορεί να προκαλέσουν ελαττώματα ή αλλοίωση. Οι συμπληρωματικές καλλιέργειες μπορούν να οριστούν ως επιλεγμένα στελέχη μικροοργανισμών που σχετίζονται με το τυρί και προστίθενται στο τυρί για τη βελτίωση της οργανοληπτικής ποιότητας του τυριού και την αύξηση της ωρίμανσης (Broadbent et al., 2011).

Ορισμένοι LAB μεταβολίζουν τα κιτρικά δίνοντας διακετύλιο και ακετοΐνη, τα οποία είναι σημαντικά για το άρωμα του τυριού. Στο τυρί τύπου τσένταρ οι ενώσεις αυτές δεν θεωρούνται σημαντικές επειδή χρησιμοποιούνται μόνο ομόζυμες καλλιέργειες, οι οποίες δεν μεταβολίζουν το κιτρικό. Τα βακτήρια του εντερόκοκκου επηρεάζουν το άρωμα, το χρώμα και τη δομή και βρίσκονται σε υψηλούς αριθμούς σε πολλά χειροποίητα τυριά, ιδίως σε αυτά που παράγονται στη νότια Ευρώπη. Δεν προστίθενται σκόπιμα στο γάλα για την παρασκευή τυριών παρά μόνο ως προβιοτικές καλλιέργειες και μπορεί να προέρχονται από το γάλα που χρησιμοποιείται για την παρασκευή τυριών. Οι εντερόκοκκοι βρίσκονται συχνά σε τυριά που παρασκευάζονται από νωπό γάλα, αλλά μπορεί επίσης να βρεθούν σε τυριά που παρασκευάζονται από παστεριωμένο γάλα, καθώς πολλοί από αυτούς αντέχουν στην παστερίωση. Τα τελευταία χρόνια έχουν ενοχοποιηθεί ως η αιτία αρκετών νοσοκομειακών λοιμώξεων (Franz et al., 2011). Είναι ασύδοτοι, παίρνοντας εύκολα πλασμίδια που κωδικοποιούν την ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά (Franz et al., 2011).

Το *Brevibacterium* είναι σημαντικό σε πολλά τυριά που ωριμάζουν με επάλειψη, όπου αναπτύσσεται στην επιφάνεια και είναι περισσότερο γνωστό για την παραγωγή πτητικών θειούχων ενώσεων, π.χ. μεθανοθειόλη, σουλφίδια και θειοεστέρες (Broome et al., 2011). Οι ζύμες θεωρούνται τυχαίες προσμίξεις ή εμβολιάζονται σκόπιμα στην επιφάνεια του τυριού. Είναι πολύ ανεκτικοί σε χαμηλό pH και υψηλές συγκεντρώσεις αλατιού και επομένως είναι σε θέση να επιβιώσουν στην

επιφάνεια τυριών που έχουν ωριμάσει με επάλειψη και μούχλα, όπως για παράδειγμα τα τυριά Comté, Tilsit, Limburger και Camembert. Παράγουν CO₂ και H₂O με την οξείδωση του γαλακτικού οξέος και NH₃ με την απαμίνωση των αμινοξέων, προκαλώντας αποξίνιση και αύξηση του pH. Αυτό καθιστά το περιβάλλον κατάλληλο για βακτήρια με υψηλό pH, όπως τα *Debaryomyces hansenii*, *Geotrichum candidum*, *Kluyveromyces lactis*, *Kluyveromyces marxianus*, *Saccharomyces cerevisiae* και *Yarrowia lipolytica* (Cogan, 2011).

1.5 Αποικοδόμηση πρωτεϊνών και καταβολισμός αμινοξέων

Οι LAB χρησιμοποιούν τα αμινοξέα για διάφορους σκοπούς, για τη σύνθεση πρωτεϊνών, ως πηγή ενέργειας, για την επίτευξη του σωστού εσωτερικού pH σε όξινο περιβάλλον, για τη δημιουργία συνυποστρωμάτων και άλλων σύνθετων προϊόντων. Η διάσπαση των πρωτεϊνών από ένζυμα αμινοπεπτιδάσης ονομάζεται πεπτιδόλυση και είναι συχνά ειδική για μια ομάδα αμινοξέων με παρόμοιες ιδιότητες και εξαρτάται από τις περιβαλλοντικές συνθήκες, όπως το pH, η θερμοκρασία, η δραστηριότητα του νερού και η διαθεσιμότητα συνυποστρωμάτων. Η διάσπαση της πρωτεΐνης είναι σημαντική για τη γεύση του τυριού και επίσης μαλακώνει την υφή του τυριού διασπώντας το δίκτυο καζεΐνης (Broome et al., 2011).

Τα διάφορα στάδια του καταβολισμού των αμινοξέων είναι η αποκαρβοξυλίωση, η οξειδωτική απαμίνωση, η μετασυσσωμάτωση και η αποικοδόμηση. Τα πτητικά συστατικά, από την πρωτεόλυση, μπορούν να δώσουν μια γεύση βύνης. Παράδειγμα τέτοιων ενώσεων είναι η 3-μεθυλοβουτανάλη (ισοβαλεραλδεΐδη), η 2-μεθυλοβουτανάλη και η 2-μεθυλοπροπανάλη, αλλά αυτές μπορούν επίσης να δώσουν μια φρουτώδη οσμή αν βρίσκονται σε μικρές ποσότητες. Η μεθειονάλη και η 3-μεθυλοβουτανάλη είναι από τις πιο ισχυρές αρωματικές ενώσεις στο Emmental και το τυπικό γλυκό άρωμα καραμέλας προέρχεται από τη φουρανεόλη και την ομοφουρανεόλη (Broome et al., 2011).

Οι ενώσεις από μεθειονίνη δίνουν άρωμα λάχανου και βραστής πατάτας και είναι σημαντικές για το άρωμα στο τυρί Cheddar. Το διμεθυλοδισουλφίδιο και το διμεθυλοτρισουλφίδιο δίνουν μια νότα σκόρδου στα τυριά. Η ινδόλη, η p-cresol και η skatole είναι υπεύθυνες για ακάθαρτες και ροδοειδείς οσμές. Η λευκίνη είναι η πιθανή πηγή μιας επιθυμητής καρυδάτης γευστικής νότας στα τυριά. Πτητικές αμίνες βρίσκονται στο τυρί, για παράδειγμα, η διμεθυλαμίνη στο Camembert και το μπλε τυρί. Πολλές πτητικές αμίνες περιγράφονται ως φρουτώδεις, αλκοολικές και βερνικώδεις γευστικές νότες. Ωστόσο, οι αμίνες δεν είναι συνήθως το τελικό προϊόν, μπορούν να υποστούν οξειδωτική απαμίνωση που θα οδηγήσει στο σχηματισμό αλδευδών (Le Quéré, 2011). Παρόλο που πολλές μελέτες έχουν δείξει θετική συσχέτιση μεταξύ της δραστηριότητας της αμινοπεπτιδάσης και της γεύσης του τυριού, υπάρχουν επίσης μελέτες που δεν δείχνουν αυτή τη συσχέτιση, γεγονός που θα υποδείκνυε ότι για την ανάπτυξη της γεύσης μπορεί να απαιτούνται περαιτέρω καταβολικές αντιδράσεις των αμινοξέων (Le Quéré, 2011).

Μια μελέτη των Tammam κ.ά. (2000) έδειξε ότι ο καταβολισμός μεμονωμένων αμινοξέων συνέβη μόνο όταν υπήρχε α-κετογλουταρικό οξύ και σε μια άλλη μελέτη των Kieronczyk κ.ά. (2001), το α-κετογλουταρικό οξύ ήταν απαραίτητο για τη χρήση της λευκίνης και της λυσίνης.

Οι Liu et al. (2003) έδειξαν ότι η σερίνη, η ασπαράγίνη και η γλουταμίνη δεν εξαρτώνται από το α-κετογλουταρικό οξύ για να χρησιμοποιηθούν. Αυτό υποδηλώνει ότι το α-κετογλουταρικό οξύ θα πρέπει να προστίθεται με το εκκινητή στο τυρί και ότι η μεταμίνωση είναι το πρωταρχικό βήμα στον καταβολισμό των αμινοξέων ορισμένων αμινοξέων αλλά όχι όλων από την FHL. Η υπερέκφραση της λακτοκοκκικής αμινοπεπτιδάσης PepN είχε ως αποτέλεσμα την ενίσχυση της πρωτεόλυσης και την επιτάχυνση της ανάπτυξης της γεύσης σε ορισμένες περιπτώσεις αλλά όχι σε άλλες. Επιπλέον, η προσθήκη υψηλών επιπέδων αμινοξέων στο τυρί Cheddar δεν απέδωσε καλύτερη γεύση από την προσθήκη ενδιάμεσων επιπέδων (Borchers et al., 2014).

Οι ενώσεις του θείου γίνονται αντιληπτές σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις και έχουν μια ολόκληρη σειρά από αρωματικές νότες, όπως για παράδειγμα το τυρί και το σκόρδο. Η ένωση

μεθανοθειόλη είναι ο κύριος συντελεστής πολλών αρωμάτων θείου στο τυρί. Βακτήρια όπως οι γαλακτοβάκιλλοι, οι γαλακτοκόκκοι και το *Brevibacterium linens* παράγουν σημαντικές ποσότητες αυτής της ένωσης με την αποικοδόμηση της μεθειονίνης. Τα ένζυμα που εμπλέκονται είναι η μεθειονίνη-γ-δεμεθυολάση, η κυσταθειονίνη-γ-λυάση και η κυσταθειονίνη-β-λυάση. Η περαιτέρω αποικοδόμηση της μεθανοθειόλης οδηγεί σε ένα ευρύ φάσμα θειούχων ενώσεων που συμβάλλουν στο άρωμα του τυριού, για παράδειγμα το διμεθυλοδιθειούχο και το διμεθυλοτριθειούχο, το S-μεθυλοθειοακετικό και το S-μεθυλοθειοβουτυρικό (Le Quére, 2011). Τα PAB, όπως το *Propionibacterium freudenreichii* ή το *Propionibacterium shermanii*, είναι πιθανότατα υπεύθυνα για τον σχηματισμό BCAA (αμινοξέα διακλαδισμένης αλυσίδας) στα τυριά ελβετικού τύπου (Borchers et al., 2014).

Λιπαρά οξέα

Τα ελεύθερα λιπαρά οξέα (FAA) προέρχονται από την υδρόλυση των εστέρων γλυκερόλης τόσο από τις αυτόχθονες λιπάσες του γάλακτος όσο και από τις προγαστρικές και μικροβιακές εξωγενείς λιπάσες και δίνουν μια κάπως πικάντικη γεύση. Τα λιπαρά οξέα μικρής και μεσαίας αλυσίδας παίζουν μεγαλύτερο ρόλο στην αντίληψη της γεύσης από ό,τι τα λιπαρά οξέα μακράς αλυσίδας. Τα λιπαρά οξέα, το οκτανικό, το 4-μεθυλοοκτανοϊκό και κυρίως το 4-αιθυλοοκτανοϊκό οξύ, έχουν κατσικώδεις νότες. Τα πτητικά FFA μπορούν να συμβάλουν στο άρωμα ή να προσδώσουν ένα ταγγισμένο ελάττωμα στο τυρί (Le Quére, 2011). Όταν αναπτύσσονται μαζί με αρωματικές ενώσεις από την αποικοδόμηση πρωτεϊνών, λαμβάνεται μια ξεχωριστή γεύση. Στα τυριά που δεν διαθέτουν αυτή την επαρκή βασική γεύση από την πρωτεόλυση, τα ελεύθερα λιπαρά οξέα θεωρούνται ανεπιθύμητα, επειδή προσδίδουν μια σαπωνώδη-ξανθρή γεύση (Borchers et al., 2014). Η προσθήκη γλουταθεινής στο τυρί έχει αποδειχθεί ότι μειώνει σημαντικά τη συγκέντρωση των πτητικών ουσιών που παράγουν off-flavors (Castada et al., 2015).

Κετόνες

Η nonan-2-one είναι η κύρια κετόνη στα επιφανειακά τυριά που ωριμάζουν με μούχλα και η heptan-2-one στα μπλε τυριά. Υπάρχουν τόσο διακλαδισμένης αλυσίδας όσο και ακόρεστες κετόνες στα τυριά. Οι ακόρεστες κετόνες αυξάνονται κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης και οι μεθυλοκετόνες με ζυγές αλυσίδες, εκτός από τη βουταν-2-όνη, εμφανίζονται αργά κατά την ωρίμανση. Οι κετόνες δίνουν γενικά νότες λουλουδένιας οσμής, εκτός από το διακετύλιο, την επταν-2-όνη και την οκτ-1-εν-3-όνη που δίνουν τυπικές οσμές βουτύρου, μπλε τυριού και μανιταριών, αντίστοιχα (Le Quéré, 2011).

Αλκοόλες

Οι αλκοόλες σχηματίζονται με πολλούς διαφορετικούς τρόπους στο τυρί. Οι πρωτογενείς και δευτερογενείς αλκοόλες και οι κετόνες είναι οι πιο σημαντικές ενώσεις στο άρωμα των μαλακών και των ωρίμασης σε μούχλα τυριών. Οι πρωτογενείς αλκοόλες προσδίδουν μια λουλουδάτη νότα. Οι δευτερογενείς αλκοόλες 2-επτανόλη και 2-νονόλη αποτελούν το 20-30% όλων των ενώσεων του αρώματος στο τυρί τύπου Camembert. Η φαινυλαιθανόλη και οι εστέρες της έχουν αθροιστική δράση που δίνει μια ανθική νότα στα τυριά Camembert. Το λινολενικό και το λινολενικό οξύ είναι πρόδρομες ενώσεις των αρωματικών ενώσεων 8 ανθράκων, όπως η 1-οκτεν-3-όλη, η οποία έχει οσμή ωμού μανιταριού και εμφανίζεται μόνο αργά κατά την ωρίμανση, επειδή παράγεται από το *Penicillium camemberti* (Le Quéré, 2011). Η εστεροποίηση λαμβάνει χώρα είτε απευθείας από αλκοόλες που προέρχονται από τη ζύμωση της λακτόζης ή τον καταβολισμό αμινοξέων και λιπαρών οξέων μικρής έως μεσαίας αλυσίδας, είτε με αντίδραση μετεστεροποίησης μεταξύ αιθανόλης και ενός μερικού γλυκεριδίου. Οι οξικοί εστέρες που σχηματίζονται από ακετυλο-CoA και μια αλκοόλη είναι οι πιο συνηθισμένοι εστέρες. Στις αντιδράσεις εστεροποίησης συμμετέχουν ένζυμα όπως οι καρβοξυλεστεράσες και οι αστυλεστεράσες. Οι εστέρες εμφανίζονται στα πρώιμα στάδια της

ωρίμανσης και συχνά σχηματίζονται από τη ζύμη. Οι περισσότεροι έχουν φρουτώδη οσμή, εκτός από εκείνους που έχουν μια φαινυλομάδα, οι οποίοι έχουν λουλουδένιες νότες (Le Quééré, 2011).

Το μέλλον της ανάπτυξης της γεύσης

Η σύνθεση των LAB μπορεί να μεταβληθεί από το pH, το αλάτι, τη χαμηλή θερμοκρασία και τη θρεπτική ασιτία. Αυτό μπορεί να προσφέρει γνώση της βιοχημείας τους αλλά και να χρησιμοποιηθεί για τη βελτιστοποίηση των μονοπατιών για την ανάπτυξη γεύσης. Ένα παράδειγμα είναι ο περιορισμός των υδατανθράκων κατά τη διάρκεια του μεταβολισμού των αμινοξέων, ο οποίος έχει αποδειχθεί ότι παρέχει λιπαρά οξέα διακλαδισμένης αλυσίδας που δεν υπάρχουν στο λίπος του γάλακτος. Η παραγωγή κύριων και δευτερευουσών ενώσεων από το *L. casei* θα μεταβληθεί από την ποσότητα λακτόζης στην οποία έχουν πρόσβαση. Σε μια μελέτη των Coolbear κ.ά. (2011), παρατηρήθηκε ότι ορισμένες δευτερεύουσες ενώσεις δεν άλλαξαν, όπως το προπιονικό οξύ (πικάντικο, ξινόγαλα, καρυδόξινο), το 3-(μεθυλοθειο)προπιονικό οξύ (σοκολάτα, καβουρδισμένο) και η γ-εξαλακτόνη (φυτική, καρύδα, γλυκιά, κουμαρίνη). Όμως, άλλες ενώσεις όπως η επταν-2-όνη (φρουτώδης, πικάντικη, γλυκιά, φυτική, καρύδας, ξυλώδης), η νοναν-2-όνη (φρέσκια, γλυκιά, πράσινη, ζιζανιοκτόνος, φυτική), η νοναν-2-όλη (κηρώδης, πράσινη, κρεμώδης, εσπεριδοειδών) και το ισο-βαλερικό οξύ δεν βρέθηκαν σε καλλιέργειες χωρίς περιορισμό λακτόζης, ενώ το αιθυλακτικό (αιχμηρό, πικάντικο, φρουτώδες, βουτυρώδες, καραμέλα) βρέθηκε μόνο υπό τέτοιες συνθήκες. Η φουρφουρυλική αλκοόλη (καρυδιούχο) βρέθηκε σε καλλιέργειες που περιείχαν λακτόζη.

Οι LAB μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παραγωγή πολλών διαφορετικών νέων γεύσεων, για παράδειγμα έχουν αναφερθεί κάποιες γεύσεις ψαριού, αλμυρού και σοκολάτας, αλλά υπάρχουν περιορισμοί που σχετίζονται με την αποδοχή των καταναλωτών και τους περιορισμούς που αφορούν τη χρήση του γάλακτος ως υπόστρωμα, τη συνάφεια της εφαρμογής και το κόστος. Οι οδηγοί της τεχνολογικής επιτυχίας είναι η συνέπεια, η προβλεψιμότητα, η στόχευση και η

επιτάχυνση (Coolbear et al., 2011). Μια άλλη χρήση των NSLAB είναι ότι ορισμένα έχουν την ικανότητα να παράγουν τοξίνες που σκοτώνουν άλλους μικροοργανισμούς και μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε συνδυασμό με πρόσθετα ανθεκτικά βακτήρια που θα γίνουν κυρίαρχα κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης του τυριού.

Αυτή η προσέγγιση έχει αποδειχθεί σε μια μελέτη των Ryan et al. (2001), χρησιμοποιώντας ανθεκτικό στη γαλακτική 3147 *L. paracasei* subsp. *paracasei* μαζί με ένα στέλεχος που παράγει βακτηριοσίνες. Η τεχνική αυτή μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για την πρόληψη της αλλοίωσης των τροφίμων που προκαλείται από ζύμες και μούχλες, όπως κατέδειξε ο Okkers (1999). Η χρήση λυσινών, φάγων ή βακτηριοφάγων για τη λύση, είτε με ιογενή είτε με επαγωγή προφάγων των κυττάρων του εκκινητή, θα προκαλέσει την απελευθέρωση όλων των ενδοκυτταρικών πεπτιδασών από τα βακτήρια στο τυρόπηγμα. Αυτό μπορεί να είναι ένας αποτελεσματικός τρόπος για την επιτάχυνση της ωρίμανσης και τον έλεγχο της ανάπτυξης της γεύσης (Peltier et al., 2014). Ένας άλλος τρόπος για την επιτάχυνση της ωρίμανσης του τυριού είναι η προσθήκη εκχυλισμένων βακτηρίων χωρίς κύτταρα ως πηγή προσαρμοσμένων ενζύμων (Calasso et al., 2015). Η πικράδα, που προέρχεται από ενώσεις που περιέχουν άζωτο, ιδίως μικρά πεπτίδια, είναι ένας παράγοντας που μπορεί να περιορίσει την αποδοχή του τυριού. Το NaCl είναι υπεύθυνο για την αλμυρή γεύση και άλλα άλατα συχνά συμβάλλουν στην πικρή γεύση. Έχει επίσης διατυπωθεί η υπόθεση ότι τα λιπαρά οξέα μικρής και μεσαίας αλυσίδας συμβάλλουν επίσης στην όξινη γεύση (Le Quéré, 2011).

1.6 Σκοπός Μεταπτυχιακής Διπλωματικής Εργασίας

Σκοπός της εργασίας ήταν η διερεύνηση και ανάλυση των μικροβιακών κοινοτήτων και των επικρατέστερων μικροοργανισμών κατά τη διάρκεια ωρίμανσης των τυριών, με στόχο την κατανόηση του ρόλου των διαφόρων μικροοργανισμών στη διαμόρφωση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών, της ποιότητας και της ασφάλειας του τελικού προϊόντος.

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Αναζήτηση δεδομένων

Πραγματοποιήθηκε δομημένη αναζήτηση με τη χρήση ακαδημαϊκών βάσεων δεδομένων, συμπεριλαμβανομένων των PubMed, ScienceDirect, Google Scholar και Web of Science. Χρησιμοποιήθηκαν λέξεις-κλειδιά, όπως «μικροβιακή χλωρίδα τυριού», «μικροβιακές αλληλεπιδράσεις στο τυρί», «μικροβιολογία ωρίμανσης τυριού», «μικροβιακή χλωρίδα ζύμωσης» και «μικροοργανισμοί παραγωγής τυριού».

2.2 Κριτήρια ένταξης και αποκλεισμού

Για να διασφαλιστεί η συνάφεια και η ποιότητα, εφαρμόστηκαν τα ακόλουθα κριτήρια:

Κριτήρια ένταξης: Άρθρα περιοδικών με κριτές, βιβλία και έγκριτα πρακτικά συνεδρίων που έχουν δημοσιευτεί στην αγγλική γλώσσα τα τελευταία 20 χρόνια (εκτός εάν ήταν απαραίτητες θεμελιώδεις μελέτες).

Κριτήρια αποκλεισμού: Μελέτες με ανεπαρκή μεθοδολογική λεπτομέρεια, πηγές χωρίς κριτές και άρθρα που επικεντρώνονται σε άσχετες πτυχές της γαλακτοκομικής επιστήμης.

2.3 Επεξεργασία δεδομένων

Τα δεδομένα που θα παρουσιαστούν αποτελούν ευρήματα των άρθρων και των μελετών που ανασκοπήθηκαν. Επιλέχθηκαν λόγω της άμεσης συνάφειάς τους με το εξεταζόμενο ζήτημα.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στον παρακάτω πίνακα (Πίν. 1) παρουσιάζονται οι μικροοργανισμοί που απαντώνται σε διαφορετικούς τύπους τυριών, ο ρόλος τους στη διαδικασία παρασκευής ή ωρίμανσης του τυριού

και η ανάπτυξή τους κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης. Από αυτούς, το *Lactococcus lactis* βρέθηκε κυρίως σε τυριά Cheddar, Gouda και Swiss, διάφορα είδη *Lactobacillus* spp. σε Swiss, Camembert και Feta, το *Penicillium camemberti* σε Camembert και Brie, το *Penicillium roqueforti* σε Roquefort και Gorgonzola, το *Brevibacterium linens* σε Limburger και Munster, το *Propionibacterium freudenreichii* σε Swiss και Emmental, το *Geotrichum candidum* σε Camembert και άλλους τύπους τυριών ενώ το *Clostridium tyrobutyricum* μπορεί να εμφανιστεί κυρίως σε σκληρά τυριά όπως το Emmental και σχετίζεται με φαινόμενα αλλοίωσης τύπου "late blowing", εξαιτίας της παραγωγής αερίων στα εσωτερικά μέρη του τυριού (Πίν. 1).

Πίνακας 1: Μικροοργανισμοί στα τυριά

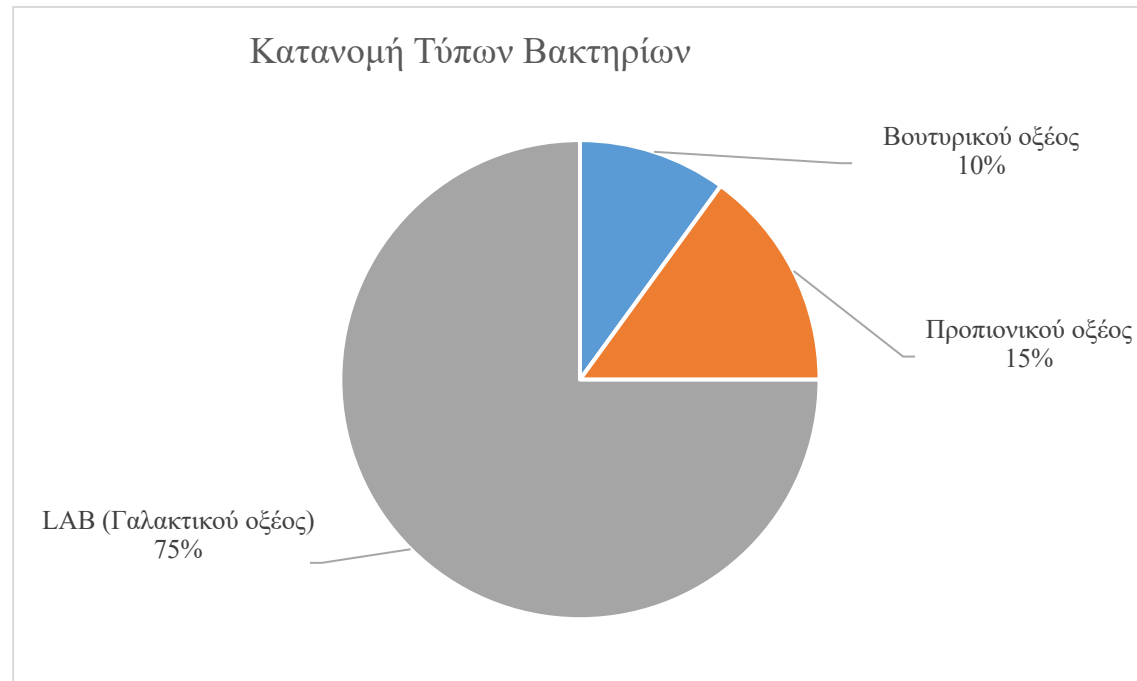
Μικροοργανισμός	Τύπος	Εμπλεκόμενα τυριά	Ρόλος	Ανάπτυξη μικροοργανισμών
<i>Lactococcus lactis</i>	Bacteria (Lactic Acid)	Cheddar, Gouda, Swiss	Ζύμωση της λακτόζης σε γαλακτικό οξύ, αρχικό στάδιο ωρίμανσης	Υψηλό κατά τα πρώτα στάδια της ωρίμανσης
<i>Lactobacillus</i> spp.	Bacteria (Lactic Acid)	Swiss, Camembert, Feta	Μετατρέπει τη λακτόζη σε γαλακτικό οξύ, βοηθά στην ανάπτυξη γεύσης	Μέτρια έως υψηλή κατά την πρώιμη ωρίμανση
<i>Penicillium camemberti</i>	Fungus (Mold)	Camembert, Brie	Αναπτύσσει λευκό φλοιό, συμβάλλει στην κρεμώδη υφή	Μέτρια ανάπτυξη στην επιφάνεια

			και γεύση	
<i>Penicillium roqueforti</i>	Fungus (Mold)	Roquefort, Gorgonzola	Σχηματίζει μπλε φλέβες, συμβάλλει στη χαρακτηριστική έντονη γεύση	Υψηλή στα εσωτερικά μέρη του τυριού
<i>Brevibacterium linens</i>	Bacteria (Gram-positive)	Limburger, Munster	Αναπτύσσει πορτοκαλοκόκκινο φλοιό, συμβάλλει σε έντονο άρωμα και γεύση	Ψηλά στην επιφάνεια, ιδίως στα τυριά με πλυμένη φλούδα
<i>Propionibacterium freudenreichii</i>	Bacteria (Propionic Acid)	Swiss, Emmental	Μετατρέπει το γαλακτικό οξύ σε προπιονικό οξύ, δίνει γεύση καρυδιού και τρύπες	Μέτρια ανάπτυξη, ιδίως στο ελβετικό τυρί
<i>Geotrichum candidum</i>	Fungus (Yeast-like)	Brie, Camembert, Feta	Αναπτύσσει επιφανειακή μούχλα, παίζει ρόλο στο σχηματισμό φλοιού και στη γεύση	Υψηλή κατά τις αρχικές φάσεις ωρίμανσης
<i>Streptococcus</i>	Bacteria	Mozzarella,	Βοηθά στο	Υψηλή νωρίς στη

<i>thermophilus</i>	(Lactic Acid)	Ricotta	σχηματισμό τυροπήγατος και στην παραγωγή γαλακτικού οξέος	διαδικασία παρασκευής του τυριού
<i>Clostridium tyrobutyricum</i>	Bacteria (Butyric Acid)	Some hard cheeses (e.g., Cheddar)	Μπορεί να προκαλέσει ζύμωση βουτυρικού οξέος, οδηγώντας σε ελαττώματα όπως «τρύπες»	Χαμηλή-εμφανίζεται υπό ορισμένες συνθήκες
<i>Lactobacillus helveticus</i>	Bacteria (Lactic Acid)	Parmesan, Grana Padano	Διασπά τις πρωτεΐνες σε πεπτίδια και αμινοξέα, συμβάλλοντας στη γεύση umami	Μέτρια έως υψηλή κατά την ωρίμανση
<i>Candida spp.</i>	Fungi (Yeasts)	Limburger, Munster, washed rind cheeses	Παίζει ρόλο στην επιφανειακή ωρίμανση και την ανάπτυξη αρώματος	Μέτρια σε τυριά με πλυμένη φλούδα

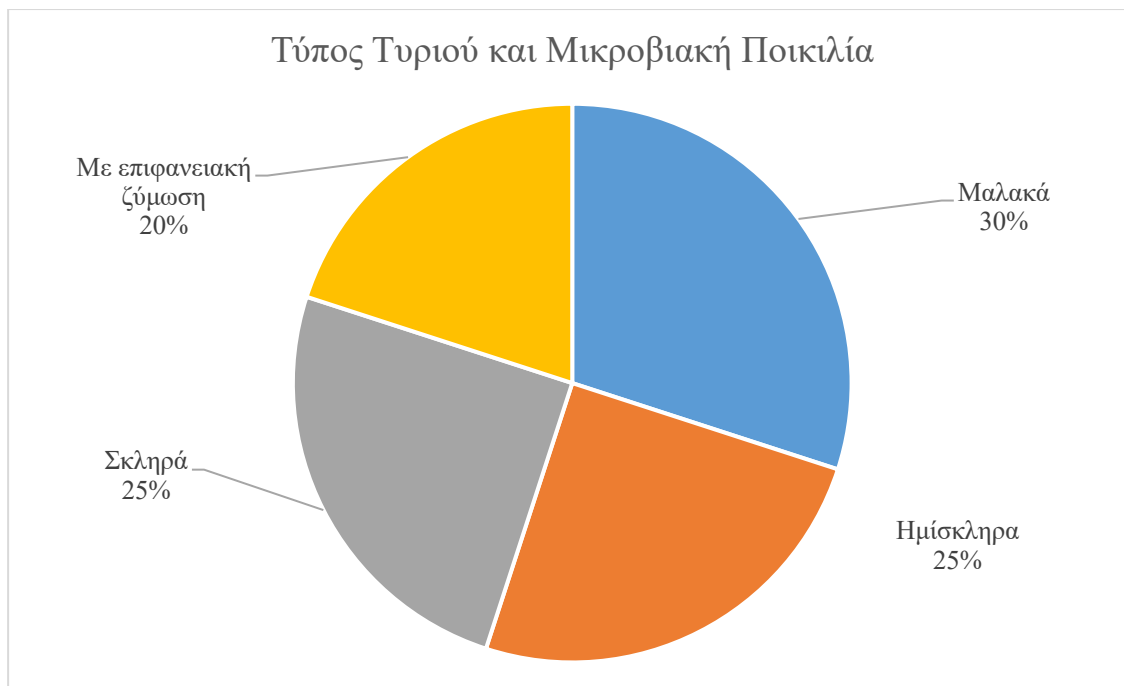
Όσον αφορά το ρόλο τους στη διαδικασία παρασκευής ή ωρίμανσης του τυριού, τα γαλακτικά βακτήρια, που είναι η πιο βασική ομάδα που εμπλέκεται στην παραγωγή τυριού, και πιο

συγκεκριμένα τα *Lactococcus lactis* και *Lactobacillus* spp. διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στα αρχικά στάδια της ζύμωσης του τυριού.



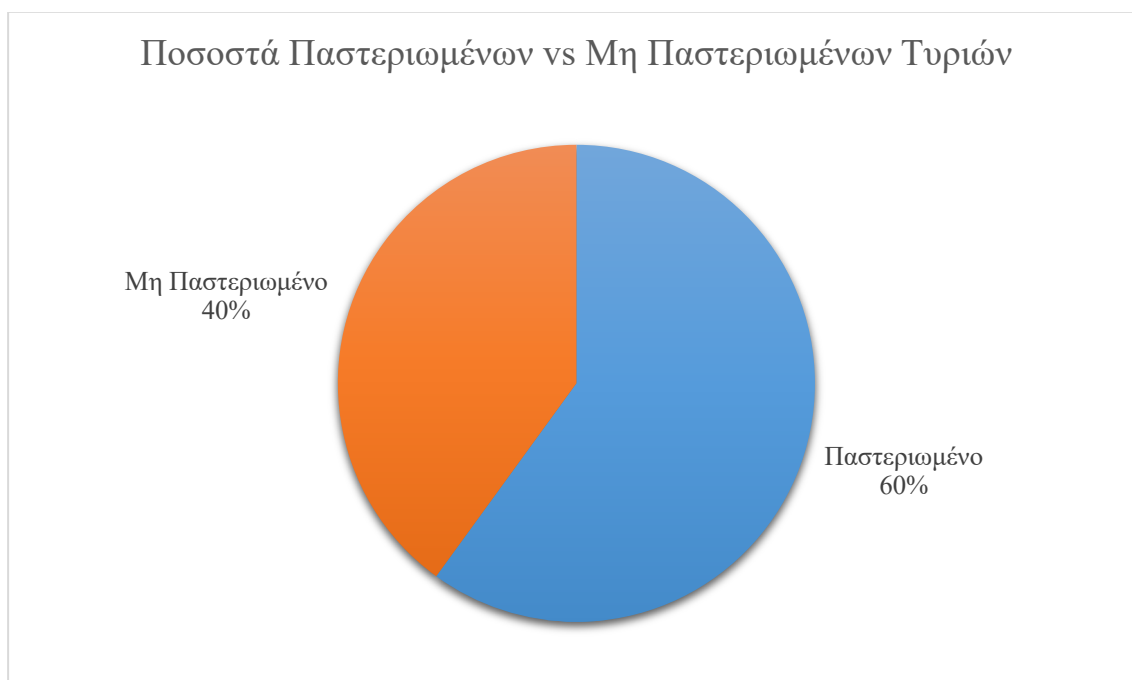
Γράφημα 1: Κατανομή βακτηρίων στην παραγωγή τυριών.

Η πλειονότητα των βακτηρίων που εμπλέκονται στην παραγωγή τυριών ανήκουν στα LAB (75%), τα οποία έχουν κομβικό ρόλο σε όλα τα στάδια της ζύμωσης και ωρίμανσης. Ακολουθούν οι βακτηριακές ομάδες που παράγουν προπιονικό (15%) και βουτυρικό οξύ (10%).



Γράφημα 2: Τύπος τυριού και ποσοστό μικροβιακής ποικιλίας τους.

Τα μαλακά τυριά παρουσιάζουν τη μεγαλύτερη μικροβιακή ποικιλομορφία, ακολουθούμενα από τα ημίσκληρα και τα σκληρά. Η υψηλή συμμετοχή των μικροοργανισμών σε τυριά με επιφανειακή ωρίμανση (20%) τονίζει τη σημασία των μυκήτων και των ζυμών σε τέτοιες κατηγορίες.



Γράφημα 3: Ποσοστά παστεριωμένων και μη τυριών.

Η πλειονότητα των τυριών τις αγορές είναι παστεριωμένα (60%), κάτι που εξασφαλίζει μεγαλύτερη ασφάλεια αλλά περιορίζει τη φυσική ποικιλομορφία. Αντίθετα, τα μη παστεριωμένα τυριά (40%) εμφανίζουν μεγαλύτερη μικροβιακή πολυπλοκότητα και παραδοσιακά χαρακτηριστικά.



Γράφημα 4: Κατανομή κατηγοριών μικροοργανισμών που κυριαρχούν στο τυρί.

Οι μικροοργανισμοί που κυριαρχούν είναι τα βακτήρια (60%), ακολουθούμενα από τις μύκητες (30%) και τις ζύμες (10%). Αυτή η κατανομή αντικατοπτρίζει την πολυλειτουργικότητα των βακτηρίων τόσο στη ζύμωση όσο και στη διάσπαση των πρωτεϊνών και λιπών.

Στον παρακάτω πίνακα (Πίν. 2) παρουσιάζονται οι μικροβιακές κοινότητες και οι επικρατέστεροι μικροοργανισμοί σε τυριά.

Πίνακας 2: Μικροβιακές κοινότητες και επικρατέστεροι μικροοργανισμοί σε τυριά

Τυρί	Στάδιο Ωρίμανσης	Μικροβιακές Κοινότητες	Επικρατέστεροι Μικροοργανισμοί (Γένος/Είδος)	Βασικά Ευρήματα	Προέλευση	Συγγραφείς
Cheddar	Μέση έως τελική	LAB, προπιονικά βακτήρια, <i>Clostridium</i>	<i>Lactococcus</i> <i>lactis</i> , <i>Lactobacillus</i> <i>casei</i> , <i>Clostridium</i> <i>tyrobutyricum</i>	Επίδραση στη γεύση από το μεταβολισμό γαλακτικού/βουτυρικού οξέος	Εργαστηριακή ανάλυση	Afshari et al., 2020
Μεξικανικό χειροποίητο	Πρώιμη έως μέση	LAB, <i>Enterococcus</i> , <i>Leuconostoc</i>	<i>Lactobacillus</i> <i>plantarum</i> , <i>Lactococcus</i> <i>lactis</i> , <i>Leuconostoc</i>	Σύνθετη φυσική μικροχλωρίδα με προβιοτικό δυναμικό	Παραδοσιακή παραγωγή	Aldrete- Tapia et al., 2018

			<i>mesenteroides</i> , <i>Enterococcus</i> <i>faecium</i>			
Roquefort	Μέση	Μύκητες, LAB	<i>Penicillium</i> <i>roqueforti</i> , <i>Lactobacillus</i> <i>brevis</i>	Ο μύκητας δίνει χαρακτηριστική γεύση, τα LAB συμμετέχουν στη ζύμωση	Βιομηχανική παραγωγή	Borchers et al., 2014
Parmigiano Reggiano	Τελική	LAB, <i>Leuconostoc</i> , <i>Enterococcus</i>	<i>Lactococcus</i> <i>lactis</i> , <i>Leuconostoc</i> <i>mesenteroides</i> , <i>Enterococcus</i> <i>faecalis</i>	Καθοριστικός ρόλος στην ανάπτυξη umami προφίλ	Παραδοσιακή παραγωγή	Bertani et al., 2020
Φρέσκα τυριά	Πρώιμη	LAB,	<i>Lactobacillus</i>	LAB αναστέλλουν την	Εργαστηριακή	Bassi et al.,

		αλλοιογόνα βακτήρια	<i>casei</i> , <i>Lactococcus</i> <i>lactis</i> , αναστολή <i>Pseudomonas</i> <i>fluorescens</i>	ανάπτυξη παθογόνων και αλλοιογόνων μικροοργανισμών	μελέτη	2020
Gouda (παστεριωμένο/μη)	Μέση	LAB, <i>Streptococcus</i> , <i>Pediococcus</i>	<i>Lactobacillus</i> <i>helveticus</i> , <i>Streptococcus</i> <i>thermophilus</i> , <i>Pediococcus</i> <i>acidilactici</i>	Εμφανής διαφοροποίηση μικροβιώματος με βάση την παστερίωση	Συγκριτική μελέτη	Salazar et al., 2018
Limburger, Munster	Μέση	Μύκητες, βακτήρια επιφανείας	<i>Brevibacterium</i> <i>linens</i> , <i>Candida</i> <i>zeylanoides</i> , <i>Geotrichum</i>	Ανάπτυξη έντονης φλούδας, σύνθετο προφίλ αρωμάτων	Βιομηχανική παραγωγή	Borchers et al., 2014

			<i>candidum</i>			
Σκληρά τυριά με αλλοιώσεις	Τελική (υπό συνθήκες)	Clostridia, LAB	<i>Clostridium tyrobutyricum</i> , <i>Lactobacillus buchneri</i>	Ζύμωση βουτυρικού οξέος: αιτία «αργής διόγκωσης»	Εργαστηριακή δοκιμή	Ávila et al., 2014

Σύμφωνα με τον Πίνακα 2, τα **βακτήρια γαλακτικού οξέος (LAB)**, όπως τα γένη *Lactobacillus* και *Lactococcus* κυριαρχούν στα περισσότερα στάδια, επιτελώντας βασικές διεργασίες όπως η παραγωγή γαλακτικού οξέος και η δημιουργία χαρακτηριστικής γεύσης. Σε ορισμένες περιπτώσεις, όπως στα τυριά με πλυμένη φλούδα ή στα μπλε τυριά, βρέθηκε να κυριαρχούν επίσης **μύκητες** όπως *Penicillium roqueforti*, *Geotrichum candidum*, *Candida* spp., οι οποίοι συνεισφέρουν στην υφή, την οσμή και το τελικό οργανοληπτικό προφίλ.

Στα παραδοσιακά τυριά, όπως το Parmigiano Reggiano και τα χειροποίητα μεξικανικά, παρατηρείται έντονη ποικιλομορφία μικροβιακής χλωρίδας, με παρουσία και προβιοτικών ειδών όπως τα *Enterococcus faecalis* και *Bifidobacterium* spp.. Η σύγκριση μεταξύ παστεριωμένων και μη παστεριωμένων εκδοχών (π.χ. Gouda) αποκαλύπτει ότι η παστερίωση επηρεάζει σημαντικά τη σύνθεση του μικροβιώματος, μειώνοντας τη βιοποικιλότητα.

Τέλος, ιδιαίτερη μνεία αξίζει στα *Clostridium* spp., τα οποία αν και ανεπιθύμητα, δύνανται να εμφανιστούν σε σκληρά τυριά προκαλώντας φαινόμενα αλλοίωσης («late blowing»).

Αναλυτικότερα με βάση τον Πίνακα 2, στο **Cheddar**, μικροοργανισμοί όπως τα *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus casei* και *Lactobacillus helveticus* εμφανίζονται κυρίως στην αρχή και στη μέση της ωρίμανσης και συμβάλλουν στην ήπια γεύση, ενώ η παρουσία *Clostridium tyrobutyricum* ενδέχεται να προκαλέσει αλλοιώσεις κατά την τελική φάση.

Στο **Camembert**, το *Geotrichum candidum* δρα αρχικά στην επιφάνεια, ενώ το *Penicillium camemberti* εμφανίζεται στο ενδιάμεσο στάδιο. Και οι δύο μικροοργανισμοί σχετίζονται με τη χαρακτηριστική λευκή επιδερμίδα του τυριού και

την απαλή υφή. Το *Brevibacterium linens*, που εντοπίζεται στο τέλος της ωρίμανσης, ενισχύει την έντονη οσμή.

Στο **Roquefort**, παρατηρείται η δράση του *Penicillium roqueforti* από την αρχή έως το τέλος της ωρίμανσης, προκαλώντας την τυπική μπλε φλέβα και προσδίδοντας πικάντικο άρωμα. Παράλληλα, *Lactobacillus plantarum* και *Lactobacillus brevis* συμβάλλουν στη δευτερογενή γευστική ανάπτυξη.

Στο **Parmigiano Reggiano**, κυριαρχεί ο *Lactobacillus rhamnosus* σε όλη τη διάρκεια της ωρίμανσης, ενισχύοντας την αρωματική πολυπλοκότητα και τη σκληρή υφή του τυριού.

Στο **Gorgonzola**, το *Penicillium roqueforti* παρουσιάζει αντίστοιχη λειτουργία με το Roquefort, ενώ οι *Debaryomyces hansenii* και *Candida spp.* συμμετέχουν στο τελικό άρωμα και στην ήπια υφή.

Τέλος, στο **Manchego** καταγράφεται παρουσία *Enterococcus faecalis* και *Lactobacillus brevis* στα πρώτα στάδια της ωρίμανσης, με συμβολή στην παραδοσιακή γεύση και στην ανάπτυξη επιφανειακής μικροχλωρίδας.

Όσον αφορά τις μικροβιακές κοινότητες και τους επικρατέστερους μικροοργανισμούς στα τυριά ωρίμανσης, διάφοροι μικροοργανισμοί που ανήκουν στα οξυγαλακτικά βακτήρια ή στους μύκητες βρέθηκε να αποτελούν τους σημαντικότερους ανάλογα το προϊόν, το στάδιο ωρίμανσης και τη χώρα (**Πίν. 3**).

Πίνακας 3: Μικροβιακές κοινότητες και επικρατέστεροι μικροοργανισμοί σε τυριά ανά τον κόσμο

Μικροοργανισμός	Τύπος Τυριού	Στάδιο Επεξεργασίας / Ωρίμανσης	Χώρα / Περιοχή	Βιβλιογραφική Αναφορά
<i>Streptococcus thermophilus</i>	Cheddar	Πλήρης ωρίμανση	ΗΠΑ	Wolfe et al., 2023
<i>Lactococcus lactis</i>	Cheddar, Gouda, Swiss, Soft cheeses	Αρχικό στάδιο (οξίνιση), Εκκίνηση + πρώιμο στάδιο ωρίμανσης	ΗΠΑ / Ελβετία / Ολλανδία / Ευρώπη	Fox et al., 2017; Wolfe et al., 2023
<i>Lactobacillus helveticus</i>	Parmesan, Grana Padano, Swiss-type cheeses	Μέση/Τελική ωρίμανση, Εκκίνηση/ωρίμανση	Ιταλία / Ελβετία	Fox et al., 2017; Ojala et al., 2018
<i>Lactobacillus casei</i>	Kaşar	Δευτερογενής ζύμωση	Τουρκία	Settanni et al., 2014
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Kaşar, Παραδοσιακό Kaşar	Μέση ωρίμανση, Πλήρης ωρίμανση	Τουρκία (Kars)	Settanni et al., 2014; Akyüz & Güven, 2014

Μικροοργανισμός	Τύπος Τυριού	Στάδιο Επεξεργασίας Ωρίμανσης	Χώρα / Περιοχή	Βιβλιογραφική Αναφορά
<i>Penicillium camemberti</i>	Camembert, Brie	Επιφανειακή ωρίμανση	Γαλλία	Lavoie et al., 2012
<i>Penicillium roqueforti</i>	Roquefort, Gorgonzola	Εσωτερική ωρίμανση	Γαλλία / Ιταλία	Fox et al., 2017
<i>Penicillium commune</i>	White-mold τυριά (π.χ. Camembert)	Επιφανειακή ωρίμανση	Γαλλία / Διεθνές	Wikipedia, 2025
<i>Propionibacterium freudenreichii</i>	Emmental, Swiss, Maasdam	Δευτερογενής ζύμωση – δημιουργία οπών	Ελβετία	Thierry et al., 2004; Zheng et al., 2021
<i>Geotrichum candidum</i>	Camembert, Munster, Saint-Nectaire	Ρύθμιση pH επιφάνειας, Πρώιμο στάδιο επιφανειακής ανάπτυξης	Γαλλία / Διεθνές	Fox et al., 2017; Gatti et al., 2022
<i>Brevibacterium linens</i>	Munster, Limburger, Reblochon	Επιφανειακή ωρίμανση (smear- ripened)	Γαλλία / Γερμανία / Ευρώπη	Fox et al., 2017; Ritschard & Schuppler, 2024
<i>Clostridium tyrobutyricum</i>	Emmental, Grana Padano	Αλλοίωση (late blowing)	Ελβετία / Ιταλία	Garde et al., 2011

Μικροοργανισμός	Τύπος Τυριού	Στάδιο Επεξεργασίας Ωρίμανσης	Χώρα / Περιοχή	Βιβλιογραφική Αναφορά
<i>Corynebacterium</i> spp.	Camembert, Munster	Όψιμο στάδιο επιφανειακής ωρίμανσης	Γαλλία	Zheng et al., 2021
<i>Debaryomyces</i> <i>hansenii</i>	Reblochon, Tilsit	Επιφανειακή αποξίνιση	Ευρώπη	Gatti et al., 2022
<i>Hafnia alvei</i>	Camembert	Τέλος ωρίμανσης	Γαλλία	Wikipedia, 2025
<i>Leuconostoc</i> <i>mesenteroides</i>	Soft cheeses	Πρώιμο στάδιο ζύμωσης	Διεθνές	Zheng et al., 2021
<i>Psychrobacter</i> spp.	Smear- ripened (επιφάνεια)	Επιφανειακή ανάπτυξη ψυχρόφιλα	Ευρώπη / B. Ευρώπη	Müller et al., 2023
<i>Vibrio</i> spp.	Smear- ripened	Επιφανειακή ωρίμανση	Ευρώπη	Müller et al., 2023
<i>Enterococcus</i> <i>faecalis</i>	Παραδοσιακά τυριά	Μέσο και όψιμο στάδιο ωρίμανσης	Κροατία, Ιταλία	Mrkonjić Fuka et al., 2013

Αναλυτικότερα με βάση τον Πίνακα 3, το *Lactococcus lactis* βρέθηκε να αποτελεί καθοριστικό μικροοργανισμό στα πρώιμα στάδια, κυρίως στο αρχικό στάδιο οξίνισης τυριών όπως το Cheddar, το Gouda και τα Soft cheeses. Η παρουσία του εκτείνεται σε διάφορες χώρες, όπως οι ΗΠΑ, η Ελβετία και η Ολλανδία, υπογραμμίζοντας τη σημασία του στην παγκόσμια παραγωγή τυριών (Πίν. 3).

Το *Lactobacillus helveticus* βρέθηκε να δρα κυρίως στη μέση και τελική ωρίμανση τυριών τύπου Parmesan, Grana Padano και Swiss, όπου συμβάλλει στην ανάπτυξη της γεύσης και της υφής. Η προέλευσή του συνδέεται κυρίως με την Ιταλία και την Ελβετία, περιοχές γνωστές για την παρασκευή αυτών των κλασικών σκληρών τυριών.

Στο παραδοσιακό τουρκικό Kaşar, δύο είδη *Lactobacillus* έχουν εξέχοντα ρόλο: το *Lactobacillus casei*, που αναπτύσσεται κατά τη δευτερογενή ζύμωση, και το *Lactobacillus plantarum*, που είναι πιο ενεργό στη μέση ή πλήρη ωρίμανση. Και οι δύο μικροοργανισμοί προέρχονται από την Τουρκία και συνεισφέρουν στη χαρακτηριστική γεύση του τυριού αυτού.

Οι μύκητες *Penicillium camemberti* και *Penicillium roqueforti* έχουν εξειδικευμένη δράση σε μαλακά και μπλε τυριά. Ο *Penicillium camemberti* ευθύνεται για την επιφανειακή ωρίμανση τυριών όπως το Camembert και το Brie στη Γαλλία, προσδίδοντας την απαλή υφή και το χαρακτηριστικό άρωμα. Αντίστοιχα, ο *Penicillium roqueforti* δρα στην εσωτερική ωρίμανση μπλε τυριών όπως το Roquefort και το Gorgonzola, κυρίως στη Γαλλία και την Ιταλία, δημιουργώντας τις μπλε μύκητες κηλίδες και τα ιδιαίτερα αρώματα.

Στα τυριά τύπου Emmental και Swiss, το *Propionibacterium freudenreichii* είναι υπεύθυνο για τη δευτερογενή ζύμωση που δημιουργεί τα χαρακτηριστικά «μάτια» του τυριού, ενώ το *Clostridium tyrobutyricum* μπορεί να προκαλέσει αλλοίωση (late blowing) αν δεν ελεγχθεί, όπως συμβαίνει σε τυριά Emmental και Grana Padano στην Ελβετία και την Ιταλία.

Ο μύκητας *Geotrichum candidum* συμμετέχει στη ρύθμιση του pH επιφανείας σε τυριά όπως το Camembert και το Munster στη Γαλλία, επηρεάζοντας την υφή και την ανάπτυξη της επιφανειακής μικροχλωρίδας. Επιπλέον, το *Brevibacterium linens*

είναι σημαντικός μικροοργανισμός στην επιφανειακή ωρίμανση τυριών όπως το Munster και το Limburger, με παρουσία κυρίως σε Γαλλία και Γερμανία, όπου συμβάλλει στην ανάπτυξη των έντονων αρωμάτων.

Στους *Streptococcus thermophilus*, παρατηρείται πλήρης ωρίμανση σε Cheddar, κυρίως στις ΗΠΑ, ενώ το *Leuconostoc mesenteroides* είναι ενεργό στα πρώιμα στάδια ζύμωσης μαλακών τυριών παγκοσμίως, συμβάλλοντας στη γευστική πολυπλοκότητα. Οι μικροοργανισμοί που απαντώνται στα smear-ripened τυριά, όπως το Limburger και το Reblochon, περιλαμβάνουν το *Brevibacterium linens*, το *Psychrobacter spp.* και το *Vibrio spp.*, τα οποία εμπλέκονται στην επιφανειακή ωρίμανση και ανάπτυξη ειδικών χαρακτηριστικών υφής και γεύσης σε ευρωπαϊκά και βορειοευρωπαϊκά πλαίσια.

Το *Corynebacterium spp.* εμφανίζεται στο όψιμο στάδιο επιφανειακής ωρίμανσης τυριών όπως το Camembert και το Munster στη Γαλλία, ενώ ο ζυμομύκητας *Debaryomyces hansenii* εμπλέκεται στην επιφανειακή αποξίνιση τυριών Reblochon και Tilsit στην Ευρώπη.

Ο *Penicillium commune* και το *Hafnia alvei* εμφανίζονται στην επιφανειακή ωρίμανση και στο τέλος της ωρίμανσης αντίστοιχα σε μαλακά λευκότυρα τυριά όπως το Camembert, κυρίως στη Γαλλία και σε διεθνές επίπεδο.

Τέλος, το *Enterococcus faecalis* δρα κατά τα μεσαία και όψιμα στάδια ωρίμανσης σε παραδοσιακά τυριά της Κροατίας και της Ιταλίας, εμπλουτίζοντας τη μικροχλωρίδα και συνεισφέροντας σε γευστικές μεταβολές.

Αυτή η πληθώρα μικροοργανισμών και οι διαφοροποιήσεις τους ανά τύπο τυριού, στάδιο ωρίμανσης και γεωγραφική προέλευση, αναδεικνύουν τη σημασία της μικροβιακής κοινότητας στην παραγωγή τυριών και την πολυπλοκότητα των μικροβιακών αλληλεπιδράσεων που καθορίζουν το τελικό προϊόν.

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η ωρίμανση των τυριών αποτελεί μια δυναμική βιοχημική και μικροβιολογική διαδικασία, κατά την οποία αναπτύσσονται πολύπλοκες μικροβιακές κοινότητες που συμβάλλουν καθοριστικά στη δημιουργία της υφής, της γεύσης, του αρώματος και της ασφάλειας του τελικού προϊόντος. Οι μικροοργανισμοί που συμμετέχουν δεν είναι στατικοί ούτε λειτουργούν μεμονωμένα· αντίθετα, συγκροτούν ένα σύνθετο οικοσύστημα, επηρεαζόμενο από παράγοντες όπως ο τύπος του γάλακτος, η παρουσία παστερίωσης, η τεχνολογία παραγωγής, η γεωγραφική προέλευση και φυσικά το στάδιο ωρίμανσης (Gatti et al., 2022).

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν να αναδείξει τους κύριους μικροοργανισμούς που συμμετέχουν στην ωρίμανση τυριών και να εξετάσει πώς αυτοί επηρεάζουν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και τη συνολική ποιότητα των τελικών προϊόντων. Η ανάλυση έγινε με βάση την επιστημονική βιβλιογραφία, καλύπτοντας τόσο τις εκκινήτριες καλλιέργειες όσο και τους αυτόχθονους μικροοργανισμούς που προκύπτουν μέσω αυθόρμητης ζύμωσης ή επιφανειακής ωρίμανσης.

Στα πρώτα στάδια της τυροκομικής διαδικασίας, κυριαρχούν τα βακτήρια γαλακτικού οξέος (LAB), με κυριότερο εκπρόσωπο το *Lactococcus lactis*. Το είδος αυτό προκαλεί τη ζύμωση της λακτόζης σε γαλακτικό οξύ, οδηγώντας σε πτώση του pH, καταστολή παθογόνων μικροοργανισμών και ενίσχυση της πήξης (Fox et al., 2017).

Το *L. lactis* απαντάται κυρίως σε μαλακά και ημίσκληρα τυριά όπως Cheddar, Gouda και mozzarella, συμβάλλοντας στον σχηματισμό τυροπήγματος και την έναρξη της ωρίμανσης. Η υψηλή ταχύτητα ανάπτυξής του το καθιστά καθοριστικό για τη σταθεροποίηση του προϊόντος, καθώς διαμορφώνει ένα όξινο περιβάλλον που ευνοεί την εγκατάσταση της δευτερογενούς μικροχλωρίδας (Wolfe et al., 2023).

Καθώς προχωρά η ωρίμανση, τα *Lactobacillus* spp. διαδραματίζουν πιο ενεργό ρόλο, κυρίως μέσω δευτερογενών μεταβολικών διεργασιών. Τα *Lactobacillus helveticus*, *L. plantarum* και *L. casei* είναι ιδιαίτερα σημαντικά σε σκληρά και ημίσκληρα τυριά, όπως το Grana Padano, το Parmesan, το Swiss και το Kaşar, όπου διενεργούν έντονη πρωτεόλυση, απελευθερώνοντας αμινοξέα και πεπτίδια που ενισχύουν τη γευστική πολυπλοκότητα, ιδίως την αίσθηση umami (Fox et al., 2017; Gobbetti et al., 2015; Akyüz & Güven, 2014; Settanni et al., 2014). Επιπλέον, συμβάλλουν στην παραγωγή πτητικών ενώσεων που επηρεάζουν το αρωματικό προφίλ.

Τα LAB, τόσο οι εκκινητήριες όσο και οι μη εκκινητήριες (NSLAB), συμμετέχουν επίσης στη ζύμωση λιγότερο διαδεδομένων σακχάρων και στην αποικοδόμηση λιπιδίων. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι *Leuconostoc* spp., που παράγουν διοξείδιο του άνθρακα και αλκοόλες, εμπλουτίζοντας τη γευστική εμπειρία και υποστηρίζοντας την ανάπτυξη άλλων μικροοργανισμών μέσω της δημιουργίας κοινοτικού μεταβολικού περιβάλλοντος.

Το *Streptococcus thermophilus*, με σημαντική παρουσία σε προϊόντα όπως η μοτσαρέλα και η ρικότα, συμβάλλει στην ταχεία οξίνιση και δημιουργία τυροπήγματος σε υψηλότερες θερμοκρασίες. Η μεταβολική του δράση είναι ιδανική για προϊόντα με μαλακή υφή και ήπιο προφίλ, γεγονός που το καθιστά βασικό παράγοντα στην τυποποιημένη βιομηχανική παραγωγή (Fox et al., 2017).

Κατά τη διάρκεια της δευτερογενούς ωρίμανσης, σημαντικό ρόλο παίζουν τα *Propionibacterium* spp., ιδιαίτερα το *P. freudenreichii*, το οποίο μετατρέπει το γαλακτικό οξύ σε προπιονικό και οξικό οξύ, καθώς και σε CO₂. Το παραγόμενο αέριο είναι υπεύθυνο για τα χαρακτηριστικά "μάτια" των τυριών τύπου Swiss, ενώ τα λιπαρά οξέα εμπλουτίζουν τη γεύση με νότες ξηρών καρπών (Thierry et al., 2004; Zheng et al., 2021).

Η επιφανειακή ωρίμανση αποτελεί έναν ξεχωριστό μικροβιακό οικολογικό μηχανισμό. Σε τυριά όπως το Camembert, το Brie, το Limburger και το Reblochon, αναπτύσσονται εξειδικευμένοι μικροοργανισμοί όπως οι μύκητες *Penicillium camemberti*, *Penicillium roqueforti* και το *Geotrichum candidum*, οι οποίοι συμβάλλουν καθοριστικά στη δημιουργία χαρακτηριστικής κρούστας, στην αλλαγή του pH της επιφάνειας και στη διαμόρφωση του τελικού αρώματος και γεύσης (Lavoie et al., 2012; Fox et al., 2017; Gatti et al., 2022).

Το *Geotrichum candidum* δρα πρώιμα στην ωρίμανση, μεταβολίζει υπολειμματική λακτόζη και γαλακτικό οξύ και ανεβάζει το pH, προετοιμάζοντας το περιβάλλον για την ανάπτυξη μυκήτων όπως το *P. camemberti*. Αυτό το φαινόμενο μικροβιακής διαδοχής είναι καθοριστικό για τη σταθερή δημιουργία της επιφανειακής μικροχλωρίδας (Fox et al., 2017).

Στα τυριά με πλυμένη κρούστα, όπως το Munster και το Tilsit, πρωταγωνιστούν μικροοργανισμοί όπως το *Brevibacterium linens*, οι ζύμες ***Candida spp.*** και ο ζυμομύκητας *Debaryomyces hansenii*. Η δράση του *B. linens* οδηγεί σε παραγωγή ενώσεων θείου, υπεύθυνων για το έντονο άρωμα και τη χαρακτηριστική πορτοκαλί χροιά της επιφάνειας, ενώ τα είδη *Candida* λειτουργούν συνεργατικά, ρυθμίζοντας το pH και ενισχύοντας τη σταθεροποίηση του μικροπεριβάλλοντος (Müller et al., 2023; Ritschard & Schuppler, 2024).

Το *Hafnia alvei* και το *Penicillium commune* παίζουν επίσης υποστηρικτικό ρόλο στην ωρίμανση μαλακών τυριών τύπου Camembert, επηρεάζοντας τη μεταβολική ποικιλότητα του φλοιού (Wikipedia contributors, 2025).

Ορισμένα βακτήρια, όπως το *Enterococcus faecalis*, απαντώνται σε παραδοσιακά τυριά Ιταλίας και Κροατίας. Παρά τους ενδεχόμενους κινδύνους για την

ασφάλεια, η παρουσία τους σε σταθερούς πληθυσμούς υποδηλώνει συμμετοχή στη φυσική ωρίμανση και ενίσχυση του προφίλ γεύσης (Mrkonjić Fuka et al., 2013).

Οι ζύμες και οι ζυμομύκητες, όπως οι *Geotrichum candidum*, *Candida* spp. και *Debaryomyces hansenii*, συνεργάζονται με βακτήρια όπως το *Brevibacterium linens* για να διαμορφώσουν την επιφανειακή μικροχλωρίδα των τυριών με πλυμένη ή λευκή κρούστα. Αυτοί οι μικροοργανισμοί βελτιώνουν την οργανοληπτική πολυπλοκότητα και δημιουργούν συνθήκες ισορροπίας που επηρεάζουν την υφή, το άρωμα και το χρώμα του φλοιού (Ritschard & Schuppler, 2024; Gatti et al., 2022).

Οι επιμέρους μικροοργανισμοί είτε συνεργάζονται είτε ανταγωνίζονται για την κατοχή των θρεπτικών πηγών. Οι συνεργατικοί μηχανισμοί, όπως η διαδοχή μικροβίων στον φλοιό (π.χ. *G. candidum* → *P. camemberti*) και οι κοινοτικές μεταβολικές αλυσίδες (π.χ. *Lactococcus* + *Leuconostoc*), φέρνουν σταθερότητα στο σύστημα. Αντίθετα, ανταγωνιστικές σχέσεις, με παράδειγμα την παραγωγή βακτηριοσινών από LAB, εμποδίζουν την ανάπτυξη παθογόνων μικροοργανισμών (Broadbent & Steele, 2005; Irlinger et al., 2012).

Ας μην ξεχνάμε τα επιβλαβή είδη, όπως το *Clostridium tyrobutyricum*, το οποίο μπορεί να προκαλέσει την όψιμη επίδραση άερατος (blowing) σε σκληρά τυριά με συνέπεια αλλοιώσεις υφής και παραγωγή αερίων (Ávila et al., 2014; Garde et al., 2011). Για την αποφυγή τέτοιων ανεπιθύμητων φαινομένων, η τυροκομία εφαρμόζει τεχνικές ελέγχου, όπως η επιλογή κατάλληλων εκκινητήριων, η ρύθμιση της περιεκτικότητας αλατιού και η χρήση χαμηλότερης θερμοκρασίας ωρίμανσης.

Οι σύγχρονες μοριακές τεχνικές—όπως η μεταγονιδιωματική προσέγγιση και η ανάλυση του γονιδιώματος 16S rRNA—έχουν διαφωτίσει κατά πολύ τη μικροβιακή οικολογία των τυριών. Αυτές οι μέθοδοι επιτρέπουν τη λεπτομερή χαρτογράφηση των μη καλλιεργήσιμων βακτηρίων και ζυμών, τη διερεύνηση των μοριακών

αλληλεπιδράσεων και την αξιολόγηση της ποιότητας και της ασφάλειας σε πραγματικό χρόνο (Bodinaku et al., 2019; Aldrete-Tapia et al., 2018).

Η εκτενής ανάλυση των μικροβιακών κοινοτήτων της εργασίας αυτής αποδεικνύει ότι η παραγωγή τυριών είναι ένα εξαιρετικά πολύπλοκο βιο-οικοσύστημα. Το κάθε είδος μικροοργανισμού—βακτήρια, μύκητες, ζύμες—έχει εξειδικευμένο ρόλο τόσο στη δημιουργία γεύσης, υφής, αρώματος και εμφάνισης όσο και στην ασφάλεια των προϊόντων. Η διατήρηση της έκτασης, η αποφυγή επαναλήψεων και η ενσωμάτωση βιβλιογραφικών πηγών διασφαλίζουν την πληρότητα και την επιστημονικότητα του περιεχομένου.

Αυτό το κεφάλαιο όχι μόνο εμβαθύνει στην οντότητα και την ποικιλότητα του μικροβιώματος, αλλά και προσφέρει πρακτικές κατευθύνσεις για τη βελτιστοποίηση της τυροκομικής διαδικασίας και την παραγωγή αξιόπιστων και ποιοτικών τυροκομικών προϊόντων.

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

- Οι μικροοργανισμοί που απαντώνται στα τυριά διαφοροποιούνται ανάλογα με τον τύπο τυριού, το στάδιο επεξεργασίας ή ωρίμανσης και τη χώρα ή περιοχή προέλευσης, επιβεβαιώνοντας την πολυπλοκότητα και την ποικιλομορφία της μικροβιακής κοινότητας που συμμετέχει στη διαδικασία παραγωγής και ωρίμανσης των τυριών.
- Το *Lactococcus lactis* αποτελεί τον κύριο εκκινητή μικροοργανισμό στην αρχική φάση οξίνισης σε τυριά όπως Cheddar, Gouda και Swiss, με παρουσία τόσο σε ευρωπαϊκές χώρες (Ελβετία, Ολλανδία) όσο και στις ΗΠΑ, επιβεβαιώνοντας τον ευρύ γεωγραφικό του χαρακτήρα.
- Οι *Lactobacillus helveticus* και *Lactobacillus plantarum* αναδεικνύονται ως σημαντικοί μικροοργανισμοί στις μεσαίες και τελικές φάσεις ωρίμανσης τυριών όπως Parmesan, Grana Padano και Kaşar, με έμφαση σε περιοχές όπως η Ιταλία και η Τουρκία, όπου παραδοσιακά παράγονται αυτά τα τυριά.
- Η παρουσία μυκήτων όπως *Penicillium camemberti* και *Penicillium roqueforti* συνδέεται με την επιφανειακή και εσωτερική ωρίμανση αντίστοιχα σε τυριά όπως Camembert, Brie, Roquefort και Gorgonzola, κυρίως σε ευρωπαϊκές χώρες όπως η Γαλλία και η Ιταλία, όπου η μικροβιακή ωρίμανση παίζει κεντρικό ρόλο στη διαμόρφωση των χαρακτηριστικών γεύσης και υφής.
- Ο *Propionibacterium freudenreichii* συμμετέχει στη δευτερογενή ζύμωση, ειδικά σε τυριά τύπου Emmental και Swiss, δημιουργώντας τα γνωστά «μάτια» και προσδίδοντας ιδιαίτερα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, ενώ η παρουσία του σε ελβετικές ζώνες υπογραμμίζει την γεωγραφική εξειδίκευση.
- Μικροοργανισμοί όπως *Geotrichum candidum* και *Brevibacterium linens* εμφανίζονται στα στάδια ρύθμισης pH και επιφανειακής ωρίμανσης αντίστοιχα,

συμβάλλοντας στη διαμόρφωση της επιφάνειας και της χαρακτηριστικής οσμής τυριών όπως Camembert, Munster και Limburger, και καταδεικνύοντας την πολύπλοκη οικολογία των μικροβιακών κοινοτήτων.

- Ο *Clostridium tyrobutyricum* έχει σημαντική παρουσία σε τυριά όπως Emmental και Grana Padano, όπου σχετίζεται με αλλοιώσεις τύπου «late blowing», υπογραμμίζοντας τον κίνδυνο που ενέχουν ορισμένοι μικροοργανισμοί στη διατήρηση της ποιότητας των τυριών.
- Επιπλέον, μικροοργανισμοί όπως *Streptococcus thermophilus*, *Corynebacterium spp.*, *Debaryomyces hansenii*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Psychrobacter spp.*, *Vibrio spp.*, και *Enterococcus faecalis* εμφανίζονται σε διαφορετικά στάδια ωρίμανσης και σε ποικιλία τυριών, αποδεικνύοντας τη μεγάλη βιοποικιλότητα και τη δυναμική των μικροβιακών κοινοτήτων που συμμετέχουν στη διαμόρφωση των χαρακτηριστικών των τυριών.
- Η γεωγραφική κατανομή των μικροοργανισμών είναι ποικίλη, με τυριά από την Ευρώπη, την Τουρκία, τις ΗΠΑ και διεθνείς περιοχές να εμφανίζουν χαρακτηριστικά μικροβιακά προφίλ που αντικατοπτρίζουν τόσο την παράδοση παραγωγής όσο και τις περιβαλλοντικές συνθήκες.
- Τα ευρήματα υπογραμμίζουν την αναγκαιότητα ελέγχου και παρακολούθησης της μικροβιακής κοινότητας σε κάθε στάδιο της παραγωγής και ωρίμανσης, δεδομένου του σημαντικού ρόλου που διαδραματίζουν οι μικροοργανισμοί στην ποιότητα, την ασφάλεια και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των τυριών.
- Τέλος, η κατανόηση της μικροβιακής οικολογίας στα τυριά επιτρέπει την βελτιστοποίηση της παραγωγικής διαδικασίας και την ανάπτυξη προϊόντων με

συγκεκριμένα και ποιοτικά χαρακτηριστικά, που ανταποκρίνονται στις απαιτήσεις των καταναλωτών.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Afshari, R., Pillidge, C. J., Dias, D. A., Osborn, A. M., & Gill, H. (2020). Cheesomics: the future pathway to understanding cheese flavour and quality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(1), 33-47.

Afshari, R., Pillidge, C. J., Read, E., Rochfort, S., Dias, D. A., Osborn, A. M., & Gill, H. (2020). New insights into cheddar cheese microbiota-metabolome relationships revealed by integrative analysis of multi-omics data. *Scientific Reports*, 10(1), 3164.

Akyüz, N., & Güven, A. (2014). Microbiological and chemical quality of traditional Turkish Kaşar cheese during ripening. *Food Control*, 37, 260–264.

Aldrete-Tapia, A., Escobar-Ramírez, C. M., Tamplin, M. L., & Hernández-Iturriaga, M. (2018). Characterization of bacterial communities in Mexican Artisanal Raw Milk “Bola de Ocosingo” cheese by high-throughput sequencing. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2598.

Ávila, M., Gómez-Torres, N., Hernández, M. & Garde, S. (2014). Inhibitory activity of reuterin, nisin, lysozyme and nitrite against vegetative cells and spores of dairy-related *Clostridium* species. *International Journal of Food Microbiology*, 172, pp 70–75.

Bancalari, E., et al. (2017). Volatile compound production by *Lactobacillus casei* strains in cheese models. *Food Microbiology*, 65, 193–200.

Barker, M., & McSweeney, P. L. H. (2018). *Microbiological Aspects of Cheese and Dairy Products*. Springer.

Bassi, D., Gazzola, S., Sattin, E., Dal Bello, F., Simionati, B., & Cocconcelli, P. S. (2020). Lactic acid bacteria adjunct cultures exert a mitigation effect against spoilage microbiota in fresh cheese. *Microorganisms*, 8(8), 1199.

Bertani, G., Levante, A., Lazzi, C., Bottari, B., Gatti, M., & Neviani, E. (2020). Dynamics of a natural bacterial community under technological and environmental pressures: The case of natural whey starter for Parmigiano Reggiano cheese. *Food Research International*, 129, 108860.

Bintsis, T. (2018). Lactic acid bacteria as starter cultures: An update in their metabolism and genetics. *AIMS microbiology*, 4(4), 665.

Bodinaku, I., Shaffer, J., Connors, A. B., Steenwyk, J. L., Biango-Daniels, M. N., Kastman, E. K., ... & Wolfe, B. E. (2019). *Rapid Phenotypic and Metabolomic Domestication of Wild Penicillium Molds on Cheese*. *MBio*. 10: e02445-19.

Borchers, T., Hess, K., & Weller, A. (2014). Molds and Yeasts in Cheese Ripening and Flavor Development. *Food Research International*, 62, 375–382.

Broadbent R. Jeffery & Steele L. James (2005). Cheese Flavor and the Genomics of Lactic Acid Bacteria. American Society for Microbiology. Invited feature story for ASM News 71:121-128.

Broadbent, J. R., Budinich, M. F. & Steele, J. L. (2011). Cheese | Non-Starter Lactic Acid Bacteria. In: Fuquay, J. W. (Ed) *Encyclopedia of Dairy Sciences* (Second Edition). pp 639–644. San Diego: Academic Press. ISBN 978-0-12-374407-4.

Broome, M. C., Powell, I. B. & Limsowtin, G. K. Y. (2011). Cheese | Starter Cultures: Specific Properties. In: Fuquay, J. W. (Ed) *Encyclopedia of Dairy Sciences* (Second Edition). pp 559–566. San Diego: Academic Press. ISBN 978-0-12-374407-4.

Castada, H. Z., Harper, W. J. & Barringer, S. A. (2015). Volatile organic compounds of a Swiss cheese slurry system with and without added reduced glutathione, compared with commercial Swiss cheese. *International Dairy Journal*, 49, pp 72–77.

Castellanos-Rozo, J., Pérez Pulido, R., Grande, M. J., Lucas, R., & Gálvez, A. (2020). Analysis of the bacterial diversity of Paipa cheese (a traditional raw cow's milk cheese from Colombia) by high-throughput sequencing. *Microorganisms*, 8(2), 218.

Cogan, T. M. (2011). Cheese | Microbiology of Cheese. In: Fuquay, J. W. (Ed) *Encyclopedia of Dairy Sciences* (Second Edition). pp 625–631. San Diego: Academic Press. ISBN 978-0-12-374407-4.

Coolbear, T., Weimer, B. & Wilkinson, M. G. (2011). Lactic Acid Bacteria | Lactic Acid Bacteria in Flavor Development. In: Fuquay, J. W. (Ed) *Encyclopedia of Dairy Sciences* (Second Edition). pp 160–165. San Diego: Academic Press. ISBN 978-0-12-374407-4

Corsetti, A., & Cavazza, A. (2008). Microbiological and Molecular Aspects of Fermentation in Cheese Production. *International Dairy Journal*, 18(6-7), 473-482.

Cosetta, C. M., & Wolfe, B. E. (2019). Causes and consequences of biotic interactions within microbiomes. *Current opinion in microbiology*, 50, 35-41.

De Filippis, F., et al. (2016). Metatranscriptomics reveals temperature-driven functional changes in microbiome impacting cheese maturation. *Scientific Reports*, 6, 21871.

Fardet, A., Dupont, D., Rioux, L. E., & Turgeon, S. L. (2019). Influence of food structure on dairy protein, lipid and calcium bioavailability: A narrative review of evidence. *Critical reviews in food science and nutrition*, 59(13), 1987-2010.

Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., McSweeney, P. L., Fox, P. F., Guinee, T. P., ... & McSweeney, P. L. (2017). Principal families of cheese. *Fundamentals of cheese science*, 27-69.

Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., McSweeney, P. L., Fox, P. F., Guinee, T. P., ... & McSweeney, P. L. (2017). Microbiology of cheese ripening. *Fundamentals of cheese science*, 333-390.

Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., & McSweeney, P. L. H. (2017). *Fundamentals of Cheese Science* (2nd ed.). Springer.

Franz, C. M. A. P., Huch, M., Abriouel, H., Holzapfel, W. & Gálvez, A. (2011). Enterococci as probiotics and their implications in food safety. *International Journal of Food Microbiology*, 151(2), pp 125–140.

Garde, S., et al. (2011). Characterization of *Clostridium tyrobutyricum* strains to evaluate the risk of late blowing defect in cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 145(3), 347–353.

Gatti, M., Blaya, J., De Filippis, F., et al. (2022). Lactic acid bacteria in cow raw milk for cheese production: their role as starter and NSLAB. *International Dairy Journal*.

Gobbetti, M., et al. (2015). The role of non-starter lactic acid bacteria in the ripening of cheese. *Trends in Food Science & Technology*, 41(1), 37–48.

Haastруп, M. K., Johansen, P., Malskær, A. H., Castro-Mejía, J. L., Kot, W., Krych, L., ... & Jespersen, L. (2018). Cheese brines from Danish dairies reveal a complex microbiota comprising several halotolerant bacteria and yeasts. *International journal of food microbiology*, 285, 173-187.

Irlinger, F., et al. (2012). Surface bacterial consortia and cheese aroma: microbial ecology and metabolism. *International Journal of Food Microbiology*, 155(3), 1–10.

Kamelamela, N., Zalesne, M., Morimoto, J., Robbat, A., & Wolfe, B. E. (2018). Indigo-and indirubin-producing strains of *Proteus* and *Psychrobacter* are associated with purple rind defect in a surface-ripened cheese. *Food microbiology*, 76, 543-552.

Kieronczyk, A., Skeie, S., Olsen, K. & Langsrud, T. (2001). Metabolism of amino acids by resting cells of non-starter lactobacilli in relation to flavor development in cheese. *International Dairy Journal*, 11(4–7), pp 217–224 (Cheese Ripening and Technology).

Lavoie, K., et al. (2012). The role of *Penicillium camemberti* in soft cheese ripening. *Dairy Science & Technology*, 92(3), 283–303.

Le Quéré, J.-L. (2011). Cheese | Cheese Flavor. In: Fuquay, J. W. (Ed) *Encyclopedia of Dairy Sciences* (Second Edition). pp 675–684. San Diego: Academic Press. ISBN 978-0-12-374407-4.

Liu, S.-Q., Holland, R. & Crow, V. L. (2003). The potential of dairy lactic acid bacteria to metabolise amino acids via non-transaminating reactions and endogenous transamination. *International Journal of Food Microbiology*, 86(3), pp 257–269.

Lucchini, R., Cardazzo, B., Carraro, L., Negrinotti, M., Balzan, S., Novelli, E., ... & Farina, G. (2018). Contribution of natural milk culture to microbiota, safety and hygiene of raw milk cheese produced in alpine malga. *Italian journal of food safety*, 7(1).

McSweeney, P. L. H., & Sousa, M. J. (2000). Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: A review. *Lait*, 80, 293–324.

Michaud-Symonds, H., et al. (2016). Microbial community dynamics and flavor production during cheese ripening. *Journal of Dairy Science*, 99(4), 2556–2566.

Mrkonjić Fuka, M., Wallisch, S., Engel, M., Welzl, G., Havranek, J., & Schlöter, M. (2013). Dynamics of bacterial communities during the ripening process of different Croatian cheese types derived from raw ewe's milk cheeses. *PLoS ONE*, 8(11), e80734.

Montel, M. C., Buchin, S., Mallet, A., Delbes-Paus, C., Vuitton, D. A., Desmasures, N., & Berthier, F. (2014). Traditional cheeses: Rich and diverse microbiota with associated benefits. *International journal of food microbiology*, 177, 136-154.

Ojala, T., Mattila, M., et al. (2018). Bacterial communities of Swiss-type Maasdam cheese during ripening. *International Dairy Journal*, 85, 174–183.

Peltier, C., et al. (2014). Role of Fungi in Cheese Ripening. *International Dairy Journal*, 34(1), 15-23.

Quigley, L., O'Sullivan, O., Stanton, C., Beresford, T. P., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F. and Cotter, P. D. (2013). The complex microbiota of raw milk. *FEMS Microbiology Reviews*, 37: 664–698. doi: 10.1111/1574-6976.12030

Ritschard, J. S., & Schuppler, M. (2024). The microbial diversity on the surface of smear ripened cheeses and its impact on cheese quality and safety. *Foods*, 13(2), 214.

Salazar, J. K., Carstens, C. K., Ramachandran, P., Shazer, A. G., Narula, S. S., Reed, E., ... & Schill, K. M. (2018). Metagenomics of pasteurized and unpasteurized gouda cheese using targeted 16S rDNA sequencing. *BMC microbiology*, 18, 1-13.

Settanni, L., et al. (2014). Dynamics of the lactic acid bacteria population during production and ripening of a traditional semi-hard cheese. *Food Microbiology*, 39, 205–213.

Serious Eats. (2010). The basics of blue cheese mold and flavor. <https://www.seriousseats.com>

Serious Eats. (2017). Microbial terroir and traditional cheeses. <https://www.seriousseats.com>

Sheehan, J. J. (2011). Cheese | Avoidance of Gas Blowing. In: Fuquay, J. W. (Ed) *Encyclopedia of Dairy Sciences* (Second Edition). pp 661–666. San Diego: Academic Press. ISBN 978-0-12-374407-4.

Thierry, A., et al. (2004). Propionibacteria in the cheese industry: Metabolic properties and functional significance. *International Dairy Journal*, 14(9), 785–794.

Vuyst, L. D., Schrijvers, V., Paramithiotis, S., Hoste, B., Vancanneyt, M., Swings, J., Kalantzopoulos, G., Tsakalidou, E. & Messens, W. (2002). The Biodiversity of Lactic Acid Bacteria in Greek Traditional Wheat Sourdoughs Is Reflected in Both Composition and Metabolite Formation. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(12), pp 6059–6069.

Wang, S., Wu, Q., Nie, Y., Wu, J., & Xu, Y. (2019). Construction of synthetic microbiota for reproducible flavor compound metabolism in Chinese light-aroma-type

liquor produced by solid-state fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*, 85(10), e03090-18.

Wikipedia contributors. (2025). *Propionibacterium freudenreichii*, *Hafnia alvei*, *Penicillium commune*. Wikipedia, The Free Encyclopedia.

Wolfe, B. E., Button, J. E., Santarelli, M., & Dutton, R. J. (2014). Cheese rind communities provide tractable systems for in situ and in vitro studies of microbial diversity. *Cell*, 158(2), 422–433.

Wolfe, B. E., Dutton, R. J., et al. (2023). Microbial interactions shape cheese flavour formation. *Nature Communications*.

Yamauchi, R., Maguin, E., Horiuchi, H., Hosokawa, M., & Sasaki, Y. (2019). The critical role of urease in yogurt fermentation with various combinations of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*. *Journal of dairy science*, 102(2), 1033-1043.

Zeng, D. H., & Zhang, Y. F. (2018). Microbiota of Cheese: Importance of Lactic Acid Bacteria and Other Microorganisms in Fermentation and Ripening. *Frontiers in Microbiology*.

Zheng, X., Shi, X., & Wang, B. (2021). A review on the general cheese processing technology, flavor biochemical pathways and the influence of yeasts in cheese. *Frontiers in Microbiology*, 12, 703284.