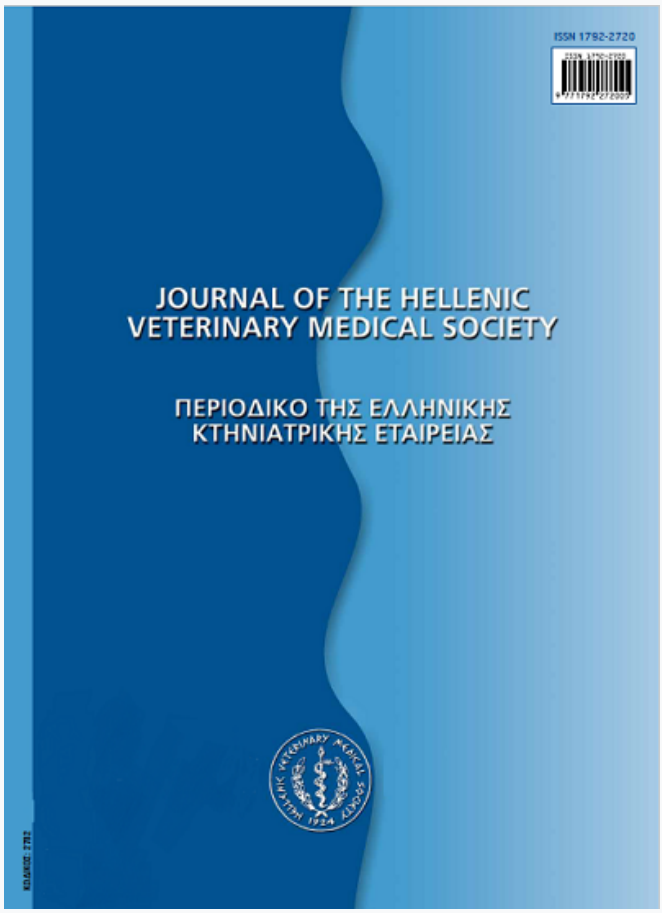
ePublishing

Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society

Vol 56, No 3 (2005)



Use of mesophilic Lactic Acid Bacteria in the manufacture of Feta cheese

S. B. KARAGEORGIS (Σ.Β. ΚΑΡΑΓΕΩΡΓΗΣ), D. K. PAPAGEORGIOU (Δ.Κ. ΠΑΠΑΓΕΩΡΓΙΟΥ), A. I. MANTIS (Α.Ι. ΜΑΝΤΗΣ), S. A. GEORGAKIS (Σ.Α ΓΕΩΡΓΑΚΗΣ)

doi: 10.12681/jhvms.15081

To cite this article:

KARAGEORGIS (Σ.Β. ΚΑΡΑΓΕΩΡΓΗΣ) S. B., PAPAGEORGIOU (Δ.Κ. ΠΑΠΑΓΕΩΡΓΙΟΥ) D. K., MANTIS (Α.Ι. ΜΑΝΤΗΣ) A. I., & GEORGAKIS (Σ.Α ΓΕΩΡΓΑΚΗΣ) S. A. (2017). Use of mesophilic Lactic Acid Bacteria in the manufacture of Feta cheese. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, *56*(3), 197–218. https://doi.org/10.12681/jhvms.15081

https://epublishing.ekt.gr | **e-Publisher:** EKT | **Downloaded at:** 25/12/2025 23:09:57

ΠΕΡΙΟΔΙΚΟ ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ 2005, 56(3): 197-218
JOURNAL OF THE HELLENIC VETERINARY MEDICAL SOCIETY 2005, 56(3): 197-218

Ερευνητική
Original article

Χρήση μεσόφιλων οξυγαλακτικών βακτηρίων στην παρασκευή του τυριού Φέτα

Σ.Β. Καραγεώργης[1], Δ.Κ. Παπαγεωργίου[2], Α.Ι. Μάντης[2], Σ.Α. Γεωργάκης[2]

ΠΕΡΙΛΗΨΗ. Μελετήθηκε η χρήση μεσόφιλων οξυγαλακτικών βακτηρίων στην παρασκευή τυριού Φέτα. Πέντε επιλεγμένα στελέχη μεσόφιλων οξυγαλακτικών βακτηρίων, που απομονώθηκαν από ώριμα τυριά άλμης Φέτας και Τελεμέ (2 στελέχη *Lactobacillus plantarum*, ένα στέλεχος *Lb. paracasei* subsp. *paracasei*, ένα στέλεχος *Lb. brevis* και ένα στέλεχος *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*), χρησιμοποιήθηκαν σε 7 διαφορετικούς συνδυασμούς για την παρασκευή τυριού Φέτα. Για καθέναν από τους συνδυασμούς έγιναν 4 τυροκομήσεις και μελετήθηκε η επίδραση των μεσόφιλων αυτών οξυγαλακτικών καλλιεργειών στα μικροβιολογικά, χημικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά της Φέτας που παρασκευάστηκε. Οι λακτοβάκιλλοι και οι λακτόκοκκοι εμφάνισαν πολύ υψηλούς πληθυσμούς (μέση λογαριθμική τιμή >7,00 $\log_{10}$cfu/g) σε όλη τη διάρκεια του πειραματισμού, σε όλους τους συνδυασμούς, πλην του συνδυασμού μάρτυρα F8 (*Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* / *Str. thermophilus*) στον οποίο η μέση λογαριθμική τιμή του πληθυσμού ήταν περίπου 6,00 $\log_{10}$cfu/g. Στις υπόλοιπες μικροβιακές ομάδες που μελετήθηκαν (κολοβακτηριοειδή, σταφυλόκοκκοι, χλωρίδα επιμόλυνσης, ζύμες και μύκητες, πρωτεολυτικά και λιπολυτικά βακτήρια) διαπιστώθηκε σταδιακή μείωση του πληθυσμού τους με την πρόοδο της ωρίμασης, πλην των ζυμών οι οποίες αυξήθηκαν. Το pH των τυριών μειώθηκε σύντομα περίπου στο 4,5 εντός 3 έως 4 ημερών. Οι λοιπές χημικές παράμετροι (υγρασία, λίπος, NaCl) σταθεροποιήθηκαν μεταξύ 15ης και 30ης ημέρας ωρίμασης. Το διαλυτό σε 12% TCA άζωτο και ο βαθμός λιπόλυσης (ADV) αυξάνονταν βαθμιαία με την πρόοδο της ωρίμασης. Ως προς τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, η ομάδα δοκιμαστών, που αξιολόγησε τα τυριά την 60η ημέρα ωρίμασης, έδωσε την υψηλότερη βαθμολογία στο τυρί που παρασκευάστηκε με το συνδυασμό *Lb. plantarum* / *Lc. lactis* subsp. *lactis* και τη χαμηλότερη βαθμολογία στο τυρί του συνδυασμού *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* / *Str. thermophilus*. Πολύ καλή βαθμολογία έλαβαν και τα τυριά με τους συνδυασμούς μεσόφιλων βακτηρίων *Lb. brevis* / *Lc. lactis* subsp. *lactis* ή *Lb. paracasei* subsp. *paracasei* / *Lc. lactis* subsp. *lactis* και τα

[1] Ινστιτούτο Υγιεινής Τροφίμων Αθηνών,
Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων,
Νεαπόλεως 25, Αγία Παρασκευή, 153 10 Αθήνα.
[2] Εργαστήριο Γαλακτοκομίας. Τομέας Υγιεινής και Τεχνολογίας Τροφίμων Ζωικής Προελεύσεως, Κτηνιατρική Σχολή Α.Π.Θ. Πανεπιστημιούπολη, 541 24 Θεσσαλονίκη

Ημερομηνία υποβολής: 27.06.2005
Ημερομηνία εγκρίσεως: 21.10.2005

Use of mesophilic Lactic Acid Bacteria in the manufacture of Feta cheese

Karageorgis S.B.[1], Papageorgiou D.K.[2], Mantis A.I.[2], Georgakis S.A.[2]

ABSTRACT. The use of mesophilic lactic acid bacteria (LAB) in the manufacture of Feta cheese was studied. Five selected mesophilic strains, confirmed as *Lactobacillus plantarum* (2 strains), *Lb. paracasei* subsp. *paracasei*, *Lb. brevis* and *Lactococcus lactis* subsp. lactis, isolated from ripened Feta and Teleme cheeses, were used in 7 different combinations, alone or in combination with *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* (the control combination) for the manufacture of Feta cheese. Each combination of strains was used to prepare four different batches of Feta cheese, keeping all the other production parameters according to the traditional technology. The cheese batches were analyzed for bacteriological, chemical and sensory characteristics. The results showed that the populations of lactobacilli and lactococci increased from the beginning of the cheese manufacture reaching a population of more than 7.0 $\log_{10}$cfu/g. This level was maintained during the whole ripening period (60 days) and during the subsequent 60-day storage period. Only in batches prepared with the control combination F8 (*Str. thermophilus* / *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*), did the population of LAB decline to 6.0 $\log_{10}$cfu/g at the end of the ripening period. Also, except for the yeast population which increased, in all other bacterial groups tested (coliforms, staphylococci, total contaminating bacteria, psychrotrophic bacteria, proteolytic and lipolytic bacteria) populations gradually decreased during the ripening period. Results of the chemical analysis showed a sharp increase in acidity (the cheese pH dropped to ca. 4.5 within 3-4 d) and, whereas the values of other chemical indices (moisture content, fat content and NaCl) were stabilized between the 15th and 30th day of ripening, proteolysis (nitrogen soluble in 12% TCA) and lipolysis (ADV) progressed throughout ripening. The assessment of the overall acceptance by the sensory panel was between "very good" and "excellent" for all cheeses. This suggests that the selected mesophilic starter cultures can be used alone or in combination with the traditional culture (*Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* / *Str. thermophilus*) in the production

[1] Institute of Food Hygiene of Athens,
Ministry of Rural Development and Food,
25 Neapoleos str., Ag. Paraskevi, 153 10 Athens.
[2] Laboratory of Milk Hygiene and Technology, Department of Food Hygiene and Technology, Faculty of Veterinary Medicine, Aristotle University of Thessaloniki, Panepistimioupolis 541 24 Thessaloniki.

Submission date: 27.06.2005
Approval date: 21.10.2005

τυριά που παρασκευάστηκαν με συνδυασμούς θερμόφιλων και μεσόφιλων στελεχών.

Λέξεις ευρετηρίασης: Μεσόφιλα οξυγαλακτικά βακτήρια, τυρί Φέτα.

of Feta cheese, as the results of this work indicate that the wild (*autochthonous*) strains of *Lb. plantarum* and *Lc. lactis* subsp. *lactis* are well adapted to the environmental conditions that prevail in Feta cheese. Batches prepared using these mesophilic starters received the highest score in the assessment of organoleptic quality of Feta cheese. Very good results were also obtained using the combination of the mesophilic starters *Lb. brevis* and *Lc. lactis* subsp. *lactis* or *Lb. paracasei* subsp. *paracasei* and *Lc. lactis* subsp. *lactis* alone or in combination with *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Str. thermophilus*.

Key words: Mesophilic lactic acid bacteria, Feta cheese

Α. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Σύμφωνα με τον ελληνικό Κώδικα Τροφίμων και Ποτών (Κ.Τ.Π. 1998), το τυρί Φέτα ορίζεται ως "το λευκό τυρί άλμης που παράγεται παραδοσιακά στην Ελλάδα και συγκεκριμένα στις περιοχές της Μακεδονίας, Θράκης, Ηπείρου, Θεσσαλίας, Στερεάς Ελλάδας, Πελοποννήσου και Λέσβου, από γάλα πρόβειο ή μίγμα αυτού με γίδινο μέχρι 30%". Το τυρί Φέτα, με βάση τον Κανονισμό 1829/2002 της Ευρωπαϊκής Ένωσης (Ε.Ε.), αναγνωρίζεται ως προϊόν Προστατευόμενης Ονομασίας Προέλευσης (Π.Ο.Π.).

Για την παρασκευή του τυριού Φέτα, το γάλα παστεριώνεται (72°C/15 sec), ψύχεται σε θερμοκρασία 32-34°C, προστίθεται οξυγαλακτική καλλιέργεια (starter) και πήζεται με πυτιά, που προέρχεται από το στομάχι μικρών μηρυκαστικών. Το τυρόπηγμα διαιρείται, στραγγίζει με φυσική στράγγιση, μορφοποιείται σε ορθογώνια τεμάχια (φέτες), αλατίζεται αρχικά με ξηρή αλάτιση και ωριμάζει, αρχικά στην άλμη που προκύπτει από τη διάλυση του αλατιού στα υγρά που στραγγίζουν από το τυρί, για 7-10 ημέρες στους 15-18°C. Στη συνέχεια, όταν το pH του έχει μειωθεί στο 4,6-4,7, τοποθετείται στο ψυγείο (3-4°C), όπου παραμένει υποχρεωτικά για 2 τουλάχιστον μήνες (Anifantakis 1991a, Anifantakis 1991b, Κ.Τ.Π. 1998, Μάντης 2000, Παπαγεωργίου 2004).

Η οξυγαλακτική καλλιέργεια που χρησιμοποιείται παραδοσιακά αποτελείται από τα βακτήρια *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* και *Streptococcus thermophilus,* τα οποία ανήκουν στην κατηγορία των θερμόφιλων (άριστη θερμοκρασία ανάπτυξης 40-42°C). Όμως, το προς παστερίωση πρόβειο γάλα περιέχει πάντοτε μικρό ή μεγαλύτερο πληθυσμό μεσόφιλων οξυγαλακτικών βακτηρίων, τα οποία και επιβιώνουν σε μικρό ποσοστό της παστερίωσης ή επιμολύνουν το γάλα και το τυρόπηγμα κατά τα πρώτα στάδια της τυροκόμησης (Law et al. 1976, Peterson and Marshall 1990). Τα βακτήρια αυτά (άριστη θερμοκρασία ανάπτυξης 22-25°C), κατά την πορεία της ωρίμασης του τυριού, πολ-

A. INTRODUCTION

According to the Greek Food and Beverages Code (F.B.C. 1998), Feta cheese is defined as "... the white brined cheese produced traditionally in Greece and only in the districts of Macedonia, Thrace, Epirus, Thessaly, Central Greece, Peloponnesos and Lesvos, from ewe's milk or from a mixture of ewe's milk with up to 30% of goat's milk". Feta cheese, according to the European Union (EU) regulation 1829/2002, is recognized as a cheese with Protected Designation of Origin (PDO).

Ewe's milk for Feta cheese production is pasteurized at 72°C/15 sec, cooled at 32-34°C, inoculated with a starter culture (usually a yogurt starter culture) and coagulated with rennet. When coagulation is completed, the curd is cut into cubes and transferred to moulds to continue to drain and to obtain rectangular shape. Initial salting is performed using granular salt. The cheese is then ripened for 7-10 d at 15-18°C in brine that results from the salt that dissolves in the liquids that drain from the cheese. When the pH drops to 4.6-4.7, the cheese is refrigerated (3-4°C) and remains under refrigeration for at least two months (Anifantakis 1991a, Anifantakis 1991b, Greek Food and Beverages Code 1998, Mantis 2000, Papageorgiou 2004).

The starter culture traditionally used in the production of Feta cheese is the same one used for yogurt production (i.e., the thermophiles *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* having an optimum growth temperature of 40-42°C). However, raw ewe's milk contains various levels of mesophilic lactic acid bacteria (LAB), mainly lactobacilli and lactococci, a small fraction of which may survive the pasteurization process. In addition, these microorganisms can enter the cheese-production chain after milk pasteurization, through handling and equipment (Law et al. 1976, Peterson and Marshall 1990). These mesophilic LAB strains, favored by the temperature during cheese ripening (15-18°C), multiply

λαπλασιάζονται και γίνονται ο κυρίαρχος πληθυσμός οξυγαλακτικής χλωρίδας, συμβάλλοντας αποφασιστικά στη διαμόρφωση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του ώριμου τυριού. Τα είδη που έχουν απομονωθεί από διάφορους ερευνητές είναι κυρίως ο *Lb. plantarum*, ο *Lc. lactis* subsp. *lactis*, είδη *Enterococcus*, καθώς και στελέχη *Lb. brevis* και *Lb. casei* (Tzanetakis and Litopoulou-Tzanetaki 1988, Cogan et al. 1997, Litopoulou-Tzanetaki and Tzanetakis 1992).

Επειδή από τα ώριμα τυριά άλμης απομονώνονται μεσόφιλα οξυγαλακτικά βακτήρια και επειδή τα τυριά αυτά θεωρούνται ως ευνοϊκό υπόστρωμα για την ανάπτυξη των βακτηρίων αυτών, στην εργασία αυτή μελετήθηκε η χρήση μεσόφιλων ειδών στην παρασκευή Φέτας, είτε ως μοναδικών οξυγαλακτικών είτε σε συνδυασμό με τα θερμόφιλα οξυγαλακτικά στελέχη *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*/*Str. thermophilus,* που χρησιμοποιούνται παραδοσιακά ως οξυγαλακτική καλλιέργεια στην παρασκευή Φέτας. Ειδικότερα, μελετήθηκε η επίδραση του συνδυασμού οξυγαλακτικών βακτηρίων στα μικροβιολογικά, χημικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του τυριού Φέτα.

Β. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

1. Απομόνωση και επιλογή μεσόφιλων οξυγαλακτικών βακτηρίων

Τα στελέχη των μεσόφιλων οξυγαλακτικών βακτηρίων, που χρησιμοποιήθηκαν για την πειραματική παρασκευή τυριού Φέτα, ήταν αυτόχθονα και απομονώθηκαν από δείγματα της αγοράς ώριμων τυριών άλμης Φέτας και Τελεμέ, για την παρασκευή των οποίων είτε δεν χρησιμοποιήθηκε οξυγαλακτική καλλιέργεια είτε χρησιμοποιήθηκε γιαούρτη. Η μεθοδολογία απομόνωσης και ταυτοποίησης των στελεχών, καθώς και τα κριτήρια επιλογής των οξυγαλακτικών βακτηρίων [α) η μέγιστη τιμή οξίνισης (V_m), β) ο χρόνος (T_m) στον οποίο παρατηρήθηκε η V_m, γ) το pH (pH_{50}) στο οποίο παρατηρήθηκε η μέγιστη τιμή οξίνισης (V_m), δ) το χρονικό διάστημα T_{50} στο οποίο παρατηρούνταν τιμές υψηλότερες από $V_m/2$ και ε) το εύρος του pH (pH_{50}) στο οποίο παρατηρούνταν τιμές υψηλότερες από $V_m/2$] περιγράφονται λεπτομερώς από τους Καραγεώργη και συν. (2006). Οι παράμετροι αυτές προσδιορίζουν αρκετά καλά τη δραστηριότητα των οξυγαλακτικών βακτηρίων. Οι τρεις τελευταίοι θεωρούνται και ανεξάρτητοι από το μέγεθος του ενοφθαλμίσματος (Spinnler and Corrieu 1989).

Με βάση τα κριτήρια που αναφέρθηκαν επιλέχθηκαν τελικά πέντε μεσόφιλα οξυγαλακτικά στελέχη, από τα οποία τέσσερα ήταν λακτοβάκιλλοι (*Lb. plantarum* στελέχη L_{24} και L_{28}, *Lb. brevis* στέλεχος L_{23} και *Lb. paracasei* subsp. *paracasei* στέλεχος L_9) και ένα ήταν λα-

and usually become the predominant LAB flora, contributing significantly to the final organoleptic properties of the ripened cheese. Previous researchers have isolated such mesophilic LAB bacteria and in particularly *Lb. plantarum*, *Lc. lactis* subsp. *lactis*, *Enterococcus* spp. and strains of *Lb. brevis* and *Lb. casei* (Tzanetakis and Litopoulou–Tzanetaki 1988, Cogan et al. 1997, Litopoulou–Tzanetaki and Tzanetakis 1992).

Because mesophilic LAB are isolated from ripened white brined cheeses and seem to play an important role in the fermentation (ripening) of Feta cheese, which is considered a favorable environment for their growth, we studied the use of selected mesophilic LAB strains alone or in combination with the thermophiles *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Str. thermophilus* in the manufacture of Feta cheese. In particular, we studied the effect of different combinations of LAB on the microbiological, chemical and sensory characteristics of Feta cheese.

B. MATERIALS AND METHODS

1. Isolation and selection of mesophilic LAB

The strains of mesophilic LAB used in the experimental manufacture of Feta cheese were indigenous strains that had been isolated from market samples of ripened Feta and Teleme cheeses that had been produced either without addition of starter culture or using the yogurt starter culture. Details on the methodology of strain isolation and identification as well as the criteria used for selection of the strains [a) the maximum value of acidification rate (V_m), b) the time at which V_m was observed (T_m), c) the pH at which V_m was observed (pH_m), d) the time interval in which values higher than $V_m/2$ were observed (T_{50}) and e) the range of pH in which values higher than Vm/2 were observed (pH_{50})] are described elsewhere (Karageorgis et al. 2006). The above parameters satisfactorily describe the activity of LAB strains and in particular pHm, T_{50} and pH_{50}, which are independent of inoculum size (Spinnler and Corrieu 1989).

Using the fore-mentioned criteria, we selected five of the most active LAB strains; two were *Lb. plantarum* (L24, L28), one was *Lb. brevis* (L23), one was *Lb. paracasei* subsp. *paracasei* (L9) and one was *Lc. lactis* subsp. *lactis* (S1). These mesophilic LAB strains were used alone or in combination with the thermophiles *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Str. thermophilus* in seven different starter culture combinations (F1-F7) for the experimental manufacture of Feta cheese. Combination F8 is the culture traditionally used in Feta cheese production and served as a control (Table 1).

Πίνακας 1. Συνδυασμοί στελεχών οξυγαλακτικών βακτηρίων που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή τυριού Φέτα.
Table 1. Combinations of LAB strains used for the manufacture of Feta cheese.

Συνδυασμός Combination	Στελέχη Strains	Αναλογία % Ratio %
F1	*Lactobacillus plantarum* **L24** *Streptococcus thermophilus*	50:50
F2	*Lactobacillus brevis* **L23** *Streptococcus thermophilus*	50:50
F3	*Lactobacillus plantarum* **L28** *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* **S1**	50:50
F4	*Lactobacillus brevis* **L23** *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* **S1**	50:50
F5	*Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* **L9** *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* **S1**	50:50
F6	*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* *Streptococcus thermophilus* *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* **S1** *Lactobacillus plantarum* **L28**	35:35:15:15
F7	*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* *Streptococcus thermophilus* *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* **S1** *Lactobacillus brevis* **L23**	35:35:15:15
F8	*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* *Streptococcus thermophilus*	50:50

κτόκοκκος (*Lc. lactis* subsp. *lactis* στέλεχος S_1). Τα στελέχη αυτά, ανά ζεύγη μεταξύ τους ή με θερμόφιλα στελέχη των *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* και *Str. thermophilus*, χρησιμοποιήθηκαν σε 7 διαφορετικούς συνδυασμούς (F1-F7) για την πειραματική παρασκευή τυριού Φέτα. Ένας όγδοος συνδυασμός (F8, μάρτυρας) αποτελείτο από τα δύο θερμόφιλα στελέχη που χρησιμοποιούνται παραδοσιακά για την παραγωγή του τυριού Φέτα (Πίνακας 1).

2. Παρασκευή τυριού Φέτα

2.1. Πρώτες ύλες

α. Γάλα: Χρησιμοποιήθηκε πρόβειο παστεριωμένο γάλα που προερχόταν από γαλακτοβιομηχανία, τυποποιημένο σε αναλογία λίπος / καζεΐνη = 0,8. Αμέσως μετά τη μεταφορά του υπό ψύξη στο εργαστήριο, το γάλα εξεταζόταν ως προς τη βασική χημική του σύσταση (λίπος, πρωτεΐνες, λακτόζη, συνολικά στερεά) με τη βοήθεια συσκευής Milko Scan 133B (Foss Electric, Denmark), καθώς και ως προς τη μικροβιολογική του ποιότητα [Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα (ΟΜΧ), κολοβακτηριοειδή, ψυχρότροφα και δοκιμή φωσφατάσης].

2. Manufacture of Feta cheese

2.1. Starting materials

a. Milk. Pasteurized ewe's milk standardized to a 0.8 fat / casein ratio was obtained from a dairy plant. Upon arrival to the laboratory under refrigeration, the milk was subjected to chemical analyses (fat, protein, lactose, total solids) using the Milko Scan 133B analyzer (Foss Electric, Denmark) and microbiological analyses (total bacterial count, coliform count, psychrotrophic count and determination of phosphatase activity).

b. Rennet. Rennet was obtained from Hansen.

c. Calcium chloride. $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ was obtained from Merck.

d. Starter culture. The five LAB strains isolated from ripened market samples of Feta and Teleme cheeses were used in different combinations either alone or in combination with laboratory strains of *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Str. thermophilus*. Each strain was regenerated separately in sterile skim milk. Combinations of regenerated strains were added to the

β. Πυτιά: Χρησιμοποιήθηκε πυτιά του οίκου Hansen.

γ. Χλωριούχο ασβέστιο: Χρησιμοποιήθηκε $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ του οίκου Merck.

δ. Οξυγαλακτική καλλιέργεια: Χρησιμοποιήθηκαν τα πέντε στελέχη αυτόχθονων μεσόφιλων οξυγαλακτικών βακτηρίων που απομονώθηκαν και δοκιμάστηκαν, όπως αναφέρεται στα προηγούμενα, σε διάφορους συνδυασμούς μεταξύ τους, αλλά και με θερμόφιλο στέλεχος του *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* και του *Str. thermophilus* (στελέχη εργαστηρίου). Τα βακτήρια αυτά αναπτύχθηκαν χωριστά σε αποστειρωμένο αποβουτυρωμένο γάλα και προστέθηκαν στο γάλα της τυροκόμησης. Χρησιμοποιήθηκαν οκτώ (8) συνδυασμοί στελεχών οξυγαλακτικών βακτηρίων, όπως αναφέρονται στον Πίνακα 1 με τα χαρακτηριστικά γράμματα F1 έως F8, με τα οποία χαρακτηρίζονται στη συνέχεια και οι αντίστοιχες παρτίδες τυριού. Για κάθε συνδυασμό οξυγαλακτικών βακτηρίων έγιναν τέσσερεις τυροκομήσεις (επαναλήψεις) και τα αποτελέσματα στη συνέχεια αναφέρονται στο μέσο όρο των τεσσάρων επαναλήψεων.

2.2. Τεχνολογία πειραματικής παρασκευής τυριού Φέτα

Για την παρασκευή του τυριού Φέτα ακολουθήθηκε η παραδοσιακή τεχνολογία που περιγράφεται από τον Anifantakis (1991b). Το παστεριωμένο γάλα θερμοκρασίας 4°C θερμαινόταν στους 32°C σε ανοξείδωτη δεξαμενή πήξεως κατάλληλη για χειρισμό 20 Kg γάλακτος, προσθέτονταν χλωριούχο ασβέστιο, σε αναλογία 0,02% και οξυγαλακτική καλλιέργεια, σε αναλογία 0,5%. Μετά από παραμονή 30 min, προσθέτονταν πυτιά σε αναλογία 0,002% για την πήξη του γάλακτος. Με την ολοκλήρωση της πήξης το τυρόπηγμα τεμαχιζόταν σε κύβους ακμής 2 cm και τοποθετείτο σε πλαστικά καλούπια διαστάσεων 22 x 11,5 x 12,5 cm. Η στράγγιση γινόταν χωρίς άσκηση πίεσης για 12 ώρες σε θερμοκρασία 20±2°C με δύο ενδιάμεσες αναστροφές των καλουπιών και παράλληλο επιφανειακό αλάτισμα με χονδρόκοκκο αλάτι. Μετά την έξοδο από τα καλούπια, οι φέτες μεταφέρονταν σε πλαστικά δοχεία και γινόταν συμπληρωματική ξηρή αλάτιση (συνολικά προσθέτονταν 3% NaCl, υπολογισμένο βάση του βάρους της τυρομάζας). Τα δοχεία παρέμεναν σε θερμοκρασία αρχικά στους 20±2°C, για 2 ώρες και μετά τοποθετούνταν σε ειδικό θάλαμο θερμοκρασίας 16,5±1°C (ωριμαντήριο), μέχρι το pH να μειωθεί σε τιμές 4,5±0,1. Στη συνέχεια, οι φέτες τυριού κόβονταν σε τρία μικρότερα τεμάχια, καθένα από τα οποία συσκευαζόταν σε δοχείο 11,5 x 11,5 x 7,0 cm, προσθέτονταν άλμη 7% (αναλογία τυριού προς άλμη 4:1) και μεταφέρονταν σε ψυγείο (3±1°C) μέχρι τη συμπλήρωση, όχι μόνο της υποχρεωτικής ωρίμασης των 60 ημερών,

cheese-milk. For each starter combination four batches (trials) of cheese were prepared and tested. The results reported throughout this manuscript for each combination are average values of the four trials. We tested eight LAB combinations designated F1 through F8 (Table 1).

2.2. Technology of experimental Feta cheese manufacture

The traditional technology was followed for the manufacture of Feta cheese (Anifantakis 1991b). The pasteurized and cooled (4°C) ewe's milk was warmed to 32°C in a stainless steel vessel capable of handling 20 Kg of milk and calcium chloride (0.02%) and starter culture (0.5%) were added. After 30 min, rennet was added (0.002%). After the milk had been completely coagulated, the coagulum was cut in 2-cm-edge cubes and transferred into moulds, for it to drain and get a rectangular shape (22x11.5x12.5 cm). Draining was allowed for 12 h at 20±2°C without pressure. During this time, granular salt was added on the surface and the moulds were inverted twice. After the removal of moulds, the cheese pieces were transferred to plastic cans, salt was added (total salt added was 3% calculated based on the weight of cheese), the cans were left for 2 h at 20±2°C and then transferred to a controlled temperature incubator (16.5±1°C) for ripening until the pH dropped to 4.5±0.1. Next, each piece of cheese was divided in three equal pieces, packaged in cans (11.5x11.5x7.0 cm) containing 7% brine (ratio of cheese volume to brine 4:1) and transferred to a refrigerated room (3±1°C) for a total of 120 d (until the end of the experiment), i.e. for a period exceeding the 2–month mandatory ripening period by 60 d.

2.3. Microbiological examinations

The following microbiological examinations were conducted on the 1st, 15th, 30th, 60th, 90th and 120th day after cheesemaking: LAB counts (lactobacilli and lactococci), coliform counts, enterococcal, lipolytic and proteolytic bacterial counts, psychrotrophic, contaminating bacterial, yeast, mould and staphylococcal counts.

a. Decimal dilutions were performed by homogenizing 11 g of cheese with 99 ml of warm (42±1°C) sterile 2% sodium citrate in a stomacher (1/10 dilution). Subsequent dilutions were prepared by transferring 1 ml of the previous dilution to 9 ml of diluent of the same composition and temperature (IDF 1996).

b. Lactobacilli and lactococci were counted on MRS and M17 agar (Oxoid), respectively, by pour-plating one ml of the proper dilution of the cheese sample and incubating at 37°C for 48 h anaerobically for lactobacilli or aerobically for lactococci (IDF 1988). Suspected

αλλά μέχρι το τέλος του πειραματισμού (120 ημέρες).

2.3. Μικροβιολογικές εξετάσεις

Οι μικροβιολογικές εξετάσεις γίνονταν κατά την 1η, 15η, 30η, 60η, 90η και 120η ημέρα μετά την τυροκόμηση και αφορούσαν στην αρίθμηση των οξυγαλακτικών βακτηρίων, των κολοβακτηριοειδών, των εντεροκόκκων, της χλωρίδας επιμόλυνσης, των πρωτεολυτικών, λιπολυτικών και ψυχρότροφων βακτηρίων, των ζυμών και μυκήτων, καθώς και των σταφυλοκόκκων.

α. Οι δεκαδικές αραιώσεις γίνονταν με ομοιογενοποίηση 11 g τυριού με 99 ml διαλύματος κιτρικού νατρίου 2%, θερμοκρασίας 42±1°C, σε σακούλα Stomacher (1/10 αραίωση). Οι περαιτέρω δεκαδικές αραιώσεις γίνονταν με μεταφορά 1 ml από την προηγούμενη αραίωση σε 9 ml του ίδιου αραιωτικού (IDF 1996).

β. Η αρίθμηση των οξυγαλακτικών βακτηρίων γινόταν σύμφωνα με τη μέθοδο IDF (1988) στα υποστρώματα MRS agar και M17 agar (Oxoid) με την τεχνική της ενσωμάτωσης, ύστερα από επώαση στους 37°C για 48 ώρες, αναεροβίως για τους λακτοβακίλλους (υπόστρωμα MRS) και αεροβίως για τους λακτοκόκκους (υπόστρωμα M17). Η επιβεβαίωση γινόταν με την επιλογή αριθμού αποικιών της μεγαλύτερης αραίωσης ίσου προς την τετραγωνική ρίζα του συνόλου τους και την εξέτασή τους με τη δοκιμή της καταλάσης και τη χρώση κατά Gram.

γ. Η αρίθμηση κολοβακτηριοειδών γινόταν με τη μέθοδο MPN και με χρήση του ζωμού Brilliant Green Lactose Bile 2% (Biocar) σε τριπλή σειρά σωλήνων, επώαση στους 30°C για 48 ώρες και εκτίμηση του αποτελέσματος, όπως περιγράφεται από την IDF (1998).

δ. Η αρίθμηση εντεροκόκκων γινόταν με ενσωμάτωση 1 ml από τις κατάλληλες αραιώσεις του δείγματος σε υπόστρωμα M-Enterococcus Agar (BBL) και επώαση στους 30°C για 48-72 ώρες (Μάντης και Καραϊωάννογλου, 1999).

ε. Η αρίθμηση λιπολυτικών και πρωτεολυτικών βακτηρίων γινόταν για μεν τα λιπολυτικά βακτήρια με ενσωμάτωση 1 ml από τις κατάλληλες αραιώσεις σε Tributyrin Agar (Oxoid), επώαση στους 30°C για 72 ώρες και αρίθμηση των αποικιών που περιβάλλονταν από διαυγή ζώνη λιπόλυσης (APHA 1992), για δε τα πρωτεολυτικά βακτήρια σε υπόστρωμα Plate Count Agar (PCA), στο οποίο είχε προστεθεί 10% γάλα που παρασκευάστηκε από γαλακτόσκονη (APHA 1992) και επώαση στους 21±1°C για 72 ώρες. Μετά την επώαση τα τρυβλία PCA κατακλύζονταν με διάλυμα HCl 1% και αριθμούνταν οι αποικίες με διαυγή ζώνη πρωτεόλυσης.

στ. Η αρίθμηση ψυχρότροφων βακτηρίων γινόταν

colonies from the highest dilution (in number equal to the square root of the total number of counted colonies) were confirmed with the catalase test and Gram staining.

c. Coliform bacteria were counted with the MPN method using 2% Brilliant Green Lactose Bile broth (Biocar) as a selective medium. Three tubes were inoculated per dilution and incubated for 48 h at 30°C (IDF 1998).

d. Enterococci were counted on M-enterococcus agar (BBL) by pour-plating 1 ml of the proper sample dilution and incubation at 30°C for 48-72 h (Mantis and Karaioannoglou 1999).

e. Lipolytic bacterial counts were obtained on Tributyrin Agar (Oxoid) after incubation of plates at 30°C for 72 h. Only colonies with a clear zone of lipolysis were counted (APHA 1992). The counting of proteolytic bacteria was done on Plate Count Agar (PCA) supplemented with 10% sterile reconstituted milk powder. After incubation at 21±1°C for 72 h the PCA plates were flooded with 1% HCl and colonies surrounded by a clear zone of proteolysis were counted (APHA 1992).

f. Psychrotrophic bacteria were counted on PCA, supplemented with 1% sterile reconstituted milk powder and incubated at 6.5°C for 10 d (IDF 1991a). Contaminating bacteria were counted on Sugar-Free Nutrient Agar (Biocar) after incubation at 30°C for 72 h (IDF 1991).

g. Yeasts and moulds were counted on Rose–Bengal Chloramphenicol Agar (Biocar) after incubation at 25°C for 5 d (APHA 1992).

h. Coagulase positive staphylococci were first isolated by surface spreading 0.2 ml of the proper sample dilution on Baird-Parker Egg Yolk Agar (Biocar), followed by confirmation of suspect colonies by the coagulase test (IDF 1997).

2.4. Chemical examinations

Along with the microbiological analyses, all cheese samples were also subjected to the following chemical examinations: pH determination, calculation of the percent moisture content, fat, protein, carbohydrates (lactose) and NaCl content. Cheeses were also examined for lipolysis [determination of the Acid Degree Value (ADV)] and proteolysis [determination of total nitrogen soluble in 12% trichloroacetic acid (TCA)].

a. The pH measurement was done with a pH meter using 10 g of cheese homogenized with an equal amount of double distilled water.

σε PCA, στο οποίο είχε προστεθεί 1% αποβουτυρωμένο γάλα (IDF 1991a), ύστερα από επώαση στους 6,5°C για 10 ημέρες, της δε χλωρίδας επιμόλυνσης σε Sugar Free Nutrient Agar (Biocar) και επώαση στους 30°C για 72 ώρες (IDF 1991).

ζ. Η αρίθμηση ζυμών και μυκήτων γινόταν με επιφανειακή εξάπλωση 0,2 ml από τις κατάλληλες αραιώσεις του δείγματος σε Rose-Bengal-Cloramphenicol Agar (Biocar) και επώαση στους 25°C για 5 ημέρες (APHA 1992).

η. Η αρίθμηση σταφυλοκόκκων γινόταν προκαταρκτικά σε Baird-Parker Egg-York Agar (Biocar) με επιφανειακή εξάπλωση 0,2 ml από κατάλληλες αραιώσεις και επιβεβαίωση των ύποπτων αποικιών με δοκιμή πηκτάσης (IDF 1997).

2.4. Χημικές εξετάσεις

Σε κάθε δείγμα και στον προκαθορισμένο χρόνο για τις μικροβιολογικές εξετάσεις γινόταν και προσδιορισμός του pH, της υγρασίας, των πρωτεϊνών, του λίπους, των υδατανθράκων (λακτόζης), του χλωριούχου νατρίου, καθώς και του βαθμού λιπόλυσης [προσδιορισμός οξύτητας του λίπους (ADV)] και πρωτεόλυσης [προσδιορισμός του διαλυτού αζώτου σε 12% τριχλωροξικό οξύ (TCA)].

α. Ο προσδιορισμός του pH γινόταν με τη βοήθεια συσκευής μέτρησης του pH σε ποσότητα 10 g τυριού, που είχε ομοιογενοποιηθεί με ίση ποσότητα δισαπεσταγμένου νερού.

β. Ο προσδιορισμός της υγρασίας γινόταν με ξήρανση ποσότητας δείγματος στους 102°C μέχρι σταθερού βάρους, όπως περιγράφεται από την APHA (1992).

γ. Ο προσδιορισμός λίπους, πρωτεϊνών και υδατανθράκων (λακτόζης) γινόταν σε συσκευή Milko-Scan 133B (N. Foss Electric, Denmark). Δείγμα τυριού βάρους 25 g (τριμμένο ή λεπτοκομμένο) ζυγιζόταν σε ποτήρι ζέσεως 200 ml. Προσθέτονταν 125 g διαλύματος NaOH 0,1N, θερμοκρασίας 60°C, και το όλο μίγμα ομογενοποιόταν σε συσκευή ultraturrax. Στη συνέχεια φερόταν σε θερμοκρασία 40°C και μετριόταν στο Milko-Scan.

δ. Ο προσδιορισμός του NaCl γινόταν με τη βοήθεια των ταινιών χάρτου Quantab (ETS Inc. Enkhart U.S.A.) και εκφραζόταν ως συντελεστής άλατος με βάση τη σχέση:

$$\text{Συντελεστής άλατος\%} = \frac{\text{NaCl\%}}{\text{NaCl\% + Υγρασία\%}} \times 100$$

ε. Ο προσδιορισμός του βαθμού υδρόλυσης του λίπους γινόταν με τη μέθοδο της APHA (1992), προσδιορίζοντας την τιμή οξύτητας λίπους εκφρασμένη ως ADV (Acid Degree Value) με την εφαρμογή της σχέ-

b. The estimation of moisture content was done by drying a certain quantity of cheese at 102°C to constant weight, according to the APHA (1992) methodology.

c. The measurement of fat, protein and carbohydrates (lactose) was done on a Milko–Scan 133B analyzer (N. Foss Electric, Denmark). A 25-g cheese sample was weighted in a 200-ml beaker and homogenized using an ultradurax homogenizer with 125 g of a 60°C 0.1 N NaOH solution. It was then cooled to 40°C and measured in the Milko–Scan 133B analyzer.

d. For the estimation of the NaCl content of the cheese the QUANTAB chloride titration test strip method was used (ETS Inc. Enkhart, USA). The final result was expressed as salt in water phase (SWP) value according to the equation:

$$\text{SWP\%} = \frac{\text{NaCl\%}}{\text{NaCl\% + Moisture\%}} \times 100$$

e. Fat hydrolysis was determined by measuring the ADV using the APHA (1992) method and the equation:

$$\text{ADV} = \frac{\text{(ml KOH of sample – ml KOH blank) x N x 100}}{\text{fat weight}}$$

Where N: the normality of KOH

f. The degree of proteolysis was estimated according to the method of Vakaleris and Price (1959) by measuring the absorbance of the 12% TCA cheese extract.

2.5. Assessment of organoleptic quality

A 16-member panel evaluated the organoleptic quality of the cheeses on the 60th day of cheese ripening. The panel evaluated color, aroma, taste, body and overall acceptance. A 0 to 5 scoring scale was used to designate the lowest (0) and highest allowable score (5) (Scott 1986, Papageorgiou et al. 1998) with 1 representing unsatisfactory quality and 5 signifying a very good/excellent product. Each sample was coded with a random three-digit number. Prior to their evaluation, the cheese samples were at room temperature for 1 h. In a testing session, 6 samples were evaluated in groups of 3 with an hourly interval in-between (Jellinek 1985, Issanchou et al. 1997).

2.6. Statistical evaluation

For parametric and non-parametric analyses the SPSS 9.0 statistical software package was used. For parametric analyses the Analysis Of Variance (ANOVA) was used with or without data transformation (Katos 1986, Giannakopoulos 1996). The uniformity of variance was checked using Lavains's test. In cases of significant differences, Duncan's test was

σης:

$$ADV = \frac{(\text{ml KOH δείγματος–ml KOH μάρτυρα}) \times N \times 100}{\text{βάρος λίπους}}$$

όπου N = κανονικότητα του διαλύματος KOH.

στ. Ο προσδιορισμός του βαθμού πρωτεόλυσης γινόταν σύμφωνα με τη μέθοδο Vakaleris and Price (1959) και τη μέτρηση της απορρόφησης του διηθήματος που λαμβανόταν από την κατεργασία του τυριού με διάλυμα 12% τριχλωροξικού οξέος.

2.5. Εκτίμηση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών

Η αξιολόγηση των τυριών έγινε από 16μελή ομάδα δοκιμαστών. Η εξέταση γινόταν την 60η ημέρα της ωρίμασης των τυριών. Η αξιολόγηση αφορούσε στο άρωμα, τη γεύση, το χρώμα, τη συνεκτικότητα και την ολική αποδοχή. Η βαθμολογική κλίμακα ήταν από 0 έως 5, με το 1 να οριοθετεί την απόρριψη του προϊόντος και το 5 το πολύ καλό – άριστο προϊόν (Scott 1986, Papageorgiou et al. 1998). Κάθε δείγμα τυριού κωδικοποιείτο με έναν τριψήφιο τυχαίο αριθμό. Πριν από την εξέτασή τους τα δείγματα παρέμεναν επί μία ώρα σε θερμοκρασία δωματίου. Κάθε φορά εξετάζονταν έξι δείγματα χωρισμένα σε δύο ομάδες των τριών δειγμάτων και η εξέταση της κάθε ομάδας γινόταν με διαφορά μιας ώρας από την προηγούμενη (Jellinek 1985, Issanchou et al. 1997).

2.6. Στατιστική επεξεργασία δεδομένων

Για τις παραμετρικές, αλλά και τις μη παραμετρικές αναλύσεις χρησιμοποιήθηκε το πακέτο SPSS 9.0. Η μεθοδολογία της ανάλυσης των διακυμάνσεων (ANOVA) με ή χωρίς μετασχηματισμό των στοιχείων, χρησιμοποιήθηκε για παραμετρικές αναλύσεις (Κάτος 1986, Γιαννακόπουλος 1996). Η ομοιογένεια των διακυμάνσεων ελέγχθηκε με τη δοκιμή Levain. Στις περιπτώσεις σημαντικότητας χρησιμοποιήθηκε ο έλεγχος του πολλαπλού εύρους του Duncan για τον εντοπισμό της ακριβούς θέσης των στατιστικών διαφορών. Σε περιπτώσεις ετερογένειας των διακυμάνσεων χρησιμοποιήθηκαν οι μη παραμετρικοί έλεγχοι των Kruskall-Wallis και Mann-Whitney (Κάτος 1986). Για όλες τις αναλύσεις ο έλεγχος για σημαντικές διαφορές έγινε σε επίπεδο σημαντικότητας α = 5%.

Γ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

1. Εξέλιξη του πληθυσμού των οξυγαλακτικών βακτηρίων κατά την ωρίμαση και συντήρηση του τυριού Φέτα

Η μεταβολή του πληθυσμού των οξυγαλακτικών βακτηρίων κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και συντήρησης, στις οκτώ παρτίδες τυριού Φέτα που παρασκευάστηκαν και χαρακτηρίστηκαν ως συνδυασμοί F1 έως F8,

used. In cases of non-uniformity of variance the non-parametric tests of Kruskal-Wallis and Mann-Whitney (Katos 1986) were used. For all analyses the 5% level of significance was used (α=0.05).

C. RESULTS

1. Changes in LAB populations during the ripening and storage of Feta cheese

The changes in the populations of LAB, during the ripening and storage of Feta in all eight batches of cheese prepared with different combinations of starter bacteria (characterized as F1 to F8, in order to designate the type of culture used) are given in Figures 1 and 2. The population of lactobacilli (Figure 1) was satisfactorily high (7.44 – 8.18 $\log_{10}$cfu/g) at the end of the first day of cheesemaking and remained at this level during the whole two-month mandatory ripening period. A statistically significant ($P<0.05$) increase was observed in the populations of lactobacilli in batches F5 and F7, while in batch F8 (yogurt culture) a decrease was noted.

Multiplication of lactococci was fast in the beginning (Figure 2) reaching high populations (7.56 - 8.51 $\log_{10}$cfu/g) by the end of the first day. After day 1, in general, most combinations of lactococci showed a decline; after the 30th day, however, certain combinations (F5 and F7) showed an increase reaching their highest population at day 90. Significant differences in populations were observed among combinations. In particular, the populations of combination F8 were always lower compared to those of all other combinations.

2. Changes in the microbiological indices of cheese

2.1. Coliforms

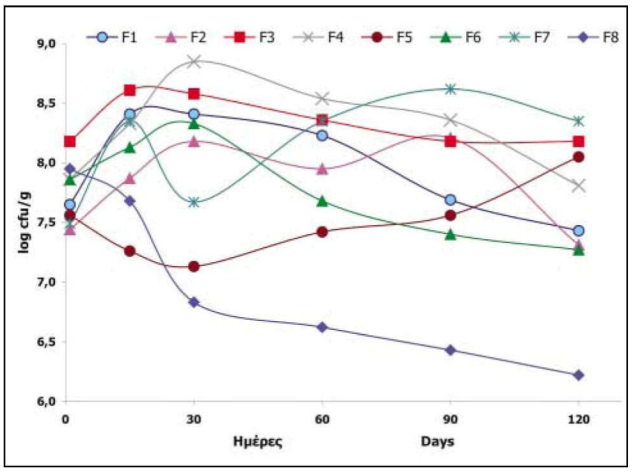
At the end of the first day, the populations of coliforms ranged between 4.62 and 5.12 $\log_{10}$MPN/g. Then, the coliform populations started to decline gradually and by the 60th day of ripening it was less than 1.77 $\log_{10}$MPN/g (Figure 3).

2.2. Enterococci

Within 24 h of cheesemaking, the populations of enterococci ranged between 4.56 and 5.28 $\log_{10}$cfu/g and remained relatively constant throughout the remaining period of the experiment in 7 cheese batches. In batches of LAB combination F6, the enterococcal populations started to decline after day 60, reaching 3.72 and 3.13 $\log_{10}$cfu/g by day 90 and 120, respectively (Figure 4).

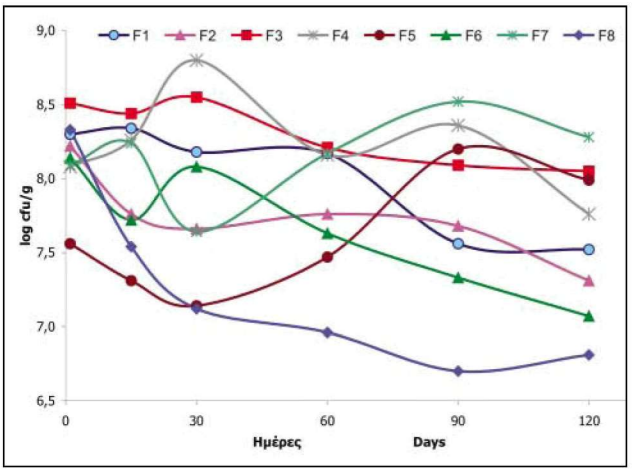
2.3. Contaminating bacteria

In all cheese batches, numbers of contaminating



Εικόνα 1. *Μεταβολή του πληθυσμού των λακτοβακίλλων κατά την ωρίμαση και συντήρηση τυριού Φέτα που παρασκευάστηκε με διαφορετικές οξυγαλακτικές καλλιέργειες (μέσοι όροι τεσσάρων επαναλήψεων).*

Figure 1. *Changes in the populations of lactobacilli during the ripening and storage of Feta cheese prepared with different starter cultures (mean values of four trials).*



Εικόνα 2. *Μεταβολή του πληθυσμού των λακτοκόκκων κατά την ωρίμαση και συντήρηση τυριού Φέτα που παρασκευάστηκε με διαφορετικές οξυγαλακτικές καλλιέργειες (μέσοι όροι τεσσάρων επαναλήψεων).*

Figure 2. *Changes in the populations of lactococci during the ripening and storage of Feta cheese prepared with different starter cultures (mean values of four trials).*

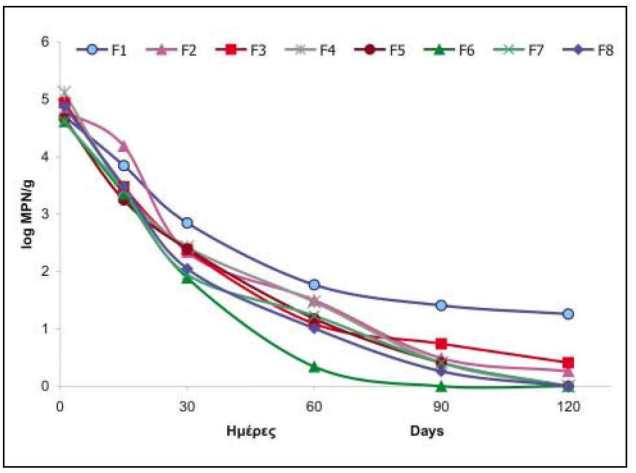
υποδηλώνοντας το συνδυασμό των στελεχών της οξυγαλακτικής καλλιέργειας που χρησιμοποιήθηκε, δίνεται στις Εικόνες 1 και 2. Από την Εικόνα 1 φαίνεται ότι ο πληθυσμός των λακτοβακίλλων ήταν υψηλός από την πρώτη ημέρα (7,44 – 8,18 $\log_{10}$cfu/g) και παρέμεινε υψηλός για όλο το διάστημα της υποχρεωτικής ωρίμασης των 60 ημερών. Σε ορισμένους συνδυασμούς (F5 και F7) παρουσιάστηκε σημαντική αύξηση ($P<0,05$), ενώ στο συνδυασμό F8 (κλασική καλλιέργεια γιαούρτης) παρουσιάστηκε μείωση του πληθυσμού.

Η μεταβολή του πληθυσμού των λακτοκόκκων δίνεται στην Εικόνα 2, από την οποία φαίνεται ότι ο πληθυσμός αυτός ήταν υψηλός την πρώτη ημέρα (7,56-8,51 $\log_{10}$cfu/g), ενώ στη συνέχεια γενικά παρατηρήθηκε μία μείωση στους περισσότερους συνδυασμούς. Μετά όμως από την 30η ημέρα, ορισμένοι συνδυασμοί παρουσίασαν αύξηση (π.χ. οι F5 και F7), φθάνοντας την υψηλότερη τιμή κατά την 90η ημέρα. Μεταξύ των συνδυασμών παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές και ιδιαίτερα στο συνδυασμό F8, όπου σε σχέση με όλους τους άλλους αριθμούνταν οι μικρότεροι πληθυσμοί λακτοκόκκων (Εικόνα 2).

2. Μεταβολή των μικροβιακών δεικτών του τυριού

2.1. Κολοβακτηριοειδή

Ο πληθυσμός των κολοβακτηριοειδών, ο οποίος την πρώτη ημέρα κυμάνθηκε σε τιμές της τάξεως 4,62 – 5,12 $\log_{10}$MPN/g, άρχισε να μειώνεται σταδιακά κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και κατά την 60η ημέρα ήταν ≤ 1,77 $\log_{10}$ MPN/g (Εικόνα 3).



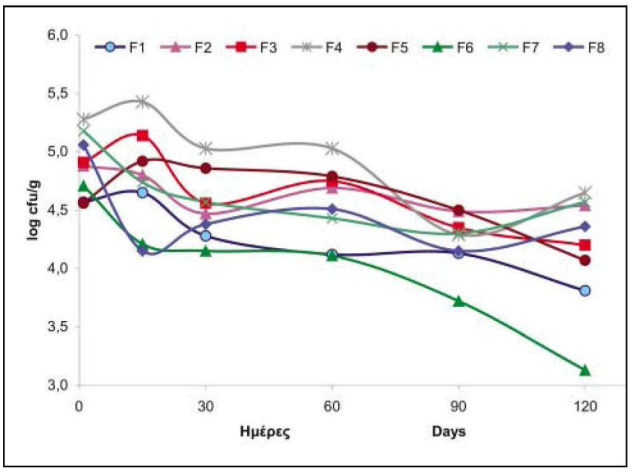
Εικόνα 3. *Μεταβολή του πληθυσμού των κολοβακτηριοειδών κατά την ωρίμαση και συντήρηση τυριού Φέτα που παρασκευάστηκε με διαφορετικές οξυγαλακτικές καλλιέργειες (μέσοι όροι τεσσάρων επαναλήψεων).*

Figure 3. *Changes in coliform populations during the ripening and storage of Feta cheese prepared with different starter cultures (mean values of four trials).*

bacteria were high at day 1 (7.74-8.43 $\log_{10}$cfu/g), but with the exception of batch F7, as ripening progressed, their numbers declined by about 2 logs by day 90. The greater decrease was noted in batches of LAB combinations F6 and F8 (Figure 5).

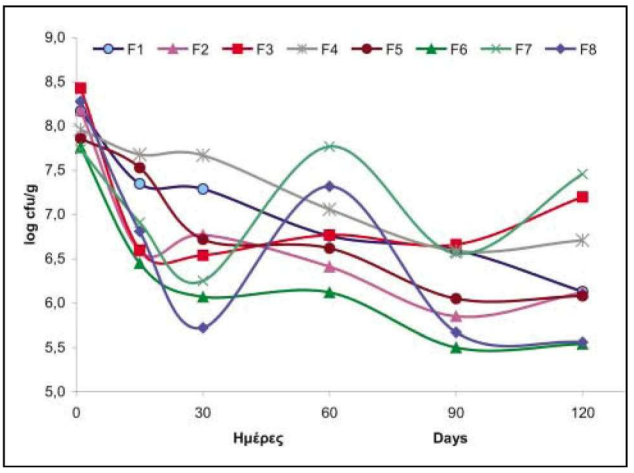
2.4. Lipolytic and proteolytic bacteria

Lipolytic bacteria remained in high numbers in all



Εικόνα 4. *Μεταβολή του πληθυσμού των εντεροκόκκων κατά την ωρίμαση και συντήρηση τυριού Φέτα που παρασκευάστηκε με διαφορετικές οξυγαλακτικές καλλιέργειες (μέσοι όροι τεσσάρων επαναλήψεων).*

Figure 4. *Changes in the populations of entrococci during the ripening and storage of Feta cheese prepared with different starter cultures (mean values of four trials).*



Εικόνα 5. *Μεταβολή του πληθυσμού της χλωρίδας επιμόλυνσης κατά την ωρίμαση και συντήρηση τυριού Φέτα που παρασκευάστηκε με διαφορετικές οξυγαλακτικές καλλιέργειες (μέσοι όροι τεσσάρων επαναλήψεων).*

Figure 5. *Changes in the populations of contaminating bacteria during the ripening and storage of Feta cheese prepared with different starter cultures (mean values of four trials).*

2.2. Εντερόκοκκοι

Ο πληθυσμός των εντεροκόκκων, με τη συμπλήρωση 24 ωρών από την πήξη, κυμάνθηκε σε τιμές 4,56 – 5,28 $\log_{10}$cfu/g και παρέμεινε στα επίπεδα αυτά στις 7 παρτίδες τυριού κατά τη διάρκεια του πειραματισμού. Στο συνδυασμό F6 ο πληθυσμός των εντεροκόκκων παρουσίασε μείωση μετά την 60η ημέρα. Έτσι, την 90η και 120η ημέρα ήταν 3,72 και 3,13 $\log_{10}$cfu/g, αντίστοιχα (Εικόνα 4).

2.3. Χλωρίδα επιμόλυνσης

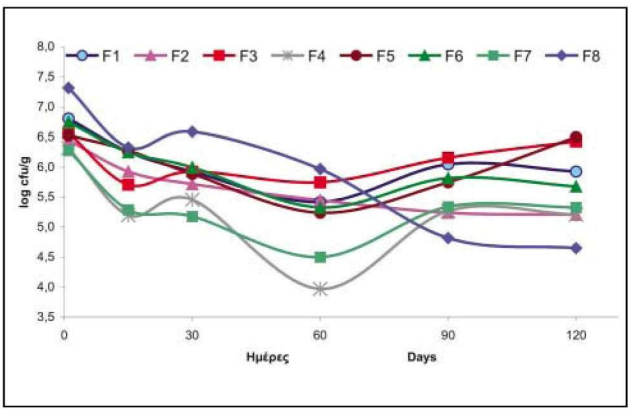
Η χλωρίδα επιμόλυνσης παρουσίασε υψηλές τιμές κατά την πρώτη ημέρα σε όλους τους πειραματισμούς, (7,74 – 8,43 $\log_{10}$cfu/g), αλλά στη συνέχεια οι πληθυσμοί μειώθηκαν σημαντικά στα τυριά των 7 συνδυασμών (με εξαίρεση το συνδυασμό F7) έως 2 λογάριθμους στις 90 ημέρες. Η μεγαλύτερη μείωση παρατηρήθηκε στα τυριά των συνδυασμών F6 και F8 (Εικόνα 5).

2.4. Λιπολυτικά και πρωτεολυτικά βακτήρια

Τα λιπολυτικά βακτήρια παρέμειναν σε υψηλούς πληθυσμούς σε όλα τα τυριά, πλην των τυριών που παρασκευάστηκαν με τους συνδυασμούς F2 και F8, στα οποία μειώθηκαν σημαντικά (Εικόνα 6). Αντίθετα, τα πρωτεολυτικά βακτήρια μειώθηκαν σημαντικά σε όλους τους πειραματισμούς έως και 2 λογαρίθμους (Εικόνα 7).

2.5. Ψυχρότροφα βακτήρια

Ο πληθυσμός των ψυχρότροφων βακτηρίων μειώθηκε σημαντικά κατά την πορεία της ωρίμασης σε όλα τα τυριά, με εξαίρεση το τυρί που παρασκευάστηκε με το συνδυασμό F8, στον οποίο διατηρήθηκε σχεδόν σταθερός μετά την 30η ημέρα (Εικόνα 8).



Εικόνα 6. *Μεταβολή του πληθυσμού των λιπολυτικών βακτηρίων κατά την ωρίμαση και συντήρηση τυριού Φέτα που παρασκευάστηκε με διαφορετικές οξυγαλακτικές καλλιέργειες (μέσοι όροι τεσσάρων επαναλήψεων).*

Figure 6. *Changes in the populations of lipolytic bacteria during the ripening and storage of Feta cheese prepared with different starter cultures (mean values of four trials).*

cheese batches, except for batches of LAB combinations F2 and F8 in which their populations decreased significantly (Figure 6). On the contrary, proteolytic bacteria decreased significantly in all batches of cheese by at least 2 logs (Figure 7).

2.5. Psychrotrophic bacteria

The populations of psychrotrophic bacteria decreased significantly during ripening in all batches of cheese, except for batches of LAB combination F8 where they remained almost unchanged after the 30th

2.6. Ζύμες – Μύκητες

Ο πληθυσμός των ζυμών ήταν της τάξεως 3,15 – 4,17 $\log_{10}$cfu/g κατά το τέλος της πρώτης ημέρας από την τυροκόμηση, σε όλους τους συνδυασμούς. Στη συνέχεια παρουσίασε σημαντική μείωση μέχρι τη 15η ημέρα (έως και 3 λογαρίθμους), οπότε άρχισε και πάλι να αυξάνει και την 60η ημέρα συντήρησης είχε πλησιάσει τους πληθυσμούς του πρώτου 24ώρου. Στη συνέχεια ο πληθυσμός των ζυμών παρέμεινε σταθερός έως την 120η ημέρα (Εικόνα 9). Οι μύκητες μετρήθηκαν αρχικά σε επίπεδα<50 cfu/g και παρέμειναν πρακτικά απόντες καθ' όλην τη διάρκεια του πειραματισμού σε όλα τα τυριά.

2.7. Σταφυλόκοκκοι πηκτάση θετικοί

Η αναζήτηση σταφυλοκόκκων πηκτάση θετικών ήταν αρνητική από την αρχή σε όλους τους πειραματισμούς. Προκαταρκτικά, θετικές αποικίες που αναπτύχθηκαν στο υπόστρωμα Baird-Parker έδωσαν πληθυσμούς της τάξεως 4,13 – 4,72 $\log_{10}$cfu/g με τη συμπλήρωση 12ώρου μετά την πήξη, αλλά στη συνέχεια για όλους τους συνδυασμούς ο πληθυσμός αυτός μειώνονταν συνεχώς, αλλά ήταν ανιχνεύσιμος (2,13 – 2,85 $\log_{10}$cfu/g) κατά την 120η ημέρα συντήρησης του τυριού.

3. Μεταβολή των χημικών παραμέτρων του τυριού

3.1. pH

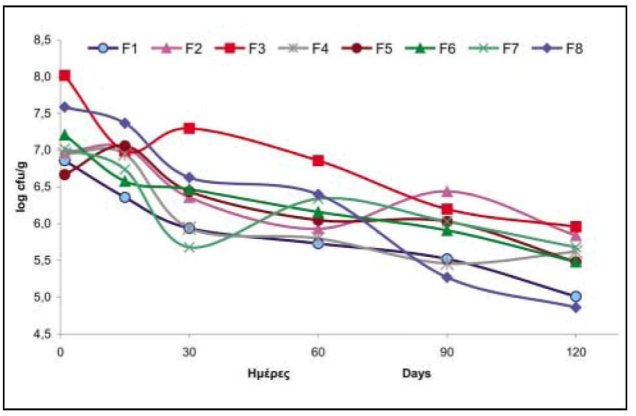
Το pH των τυριών παρουσίασε στατιστικώς σημαντική πτώση λόγω της ζύμωσης της λακτόζης σε όλους τους συνδυασμούς και με τη συμπλήρωση της δεύτερης ημέρας από την πήξη είχε μειωθεί σε τιμές ≤ 5,0. Την 3η και 4η ημέρα οι τιμές pH ήταν στο 4,5 – 4,6 και παρέμειναν σε χαμηλά επίπεδα μέχρι την 120η ημέρα, οπότε και κυμάνθηκαν σε όλους τους συνδυασμούς κατά μέσο όρο από 4,13 έως 4,45 (Εικόνα 10).

3.2. Υγρασία

Η υγρασία των τυριών σε όλους τους συνδυασμούς μειώθηκε σημαντικά μετά από 15-30 ημέρες ωρίμασης στο 54 – 56% (με εξαίρεση τις μετρήσεις στις 30 ημέρες μόνο για τους συνδυασμούς F2 και F8, με υγρασία 52,3% και 57,3%, αντίστοιχα) και στη συνέχεια με μικρές αυξομειώσεις σταθεροποιήθηκε στις τιμές αυτές για τον υπόλοιπο χρόνο συντήρησης (Πίνακας 2).

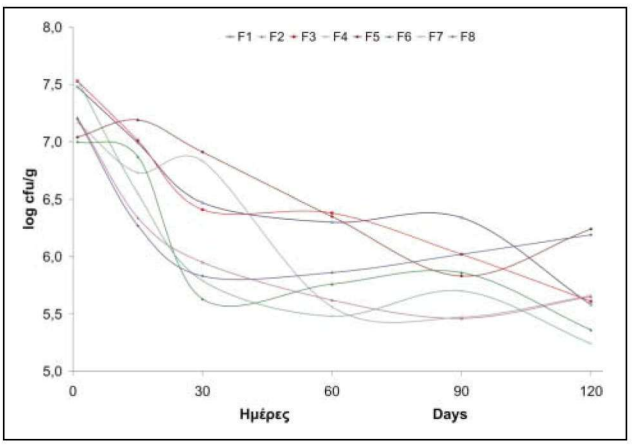
3.3. Λίπος και δείκτης λιπόλυσης

Η λιποπεριεκτικότητα του τυροπήγματος μετά από 24 ώρες κυμάνθηκε κατά μέσο όρο από 47,54 έως 50,17% επί ξηρού και με τη συμπλήρωση 60 ημερών ωρίμασης κυμάνθηκε από 44,28 έως 48,07%. Εξάλλου σε όλους τους συνδυασμούς οι τιμές ADV παρουσίασαν σημαντική αύξηση κατά τους δύο πρώτους μήνες της ωρίμασης. Η αύξηση συνεχίστηκε και μετά την 60η



Εικόνα 7. *Μεταβολή του πληθυσμού των πρωτεολυτικών βακτηρίων κατά την ωρίμαση και συντήρηση τυριού Φέτα που παρασκευάστηκε με διαφορετικές οξυγαλακτικές καλλιέργειες (μέσοι όροι τεσσάρων επαναλήψεων).*

Figure 7. *Changes in the populations of proteolytic bacteria during the ripening and storage of Feta cheese prepared with different starter cultures (mean values of four trials).*



Εικόνα 8. *Μεταβολή του πληθυσμού των ψυχρότροφων βακτηρίων κατά την ωρίμαση και συντήρηση τυριού Φέτα που παρασκευάστηκε με διαφορετικές οξυγαλακτικές καλλιέργειες (μέσοι όροι τεσσάρων επαναλήψεων).*

Figure 8. *Changes in the populations of psychrotrophic bacteria during the ripening and storage of Feta cheese prepared with different starter cultures (mean values of four trials).*

day of ripening (Figure 8).

2.6. Yeasts and moulds

The yeast populations at the end of the 1st day ranged between 3.15 and 4.17 $\log_{10}$cfu/g in all cheese batches. After that, yeast numbers declined by up to 3 logs by the end of the 15th day. Their numbers started to increase again after the 15th day, returning to 1st day levels after the 60th day of ripening. From that point on, their populations remained stable until the end of the experiment (Figure 9). In all cheese batches mould counts were always below 50 cfu/g.

ημέρα ωρίμασης, αλλά με βραδύτερο ρυθμό (Πίνακας 3). Όλα όμως τα τυριά είχαν αποδεκτή ποιότητα μέχρι το τέλος του πειραματισμού (120η ημέρα).

3.4. Περιεκτικότητα σε υδατάνθρακες (λακτόζη)

Η περιεκτικότητα σε υδατάνθρακες (λακτόζη) μειώθηκε σημαντικά στα τυριά που παρασκευάστηκαν με όλους τους συνδυασμούς οξυγαλακτικών βακτηρίων, από τιμές 4,04 – 4,42% κατά μέσο όρο την πρώτη ημέρα σε τιμές περίπου 1,80% μετά από 60 ημέρες ωρίμασης και σε τιμές 1,28 έως 1,67% με τη συμπλήρωση του πειραματισμού (120 ημέρες). Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές (P>0,05) στην περιεκτικότητα σε λακτόζη μεταξύ των τυριών που παρασκευάστηκαν με διαφορετικούς συνδυασμούς οξυγαλακτικών βακτηρίων.

3.5. Πρωτεΐνες και βαθμός πρωτεόλυσης

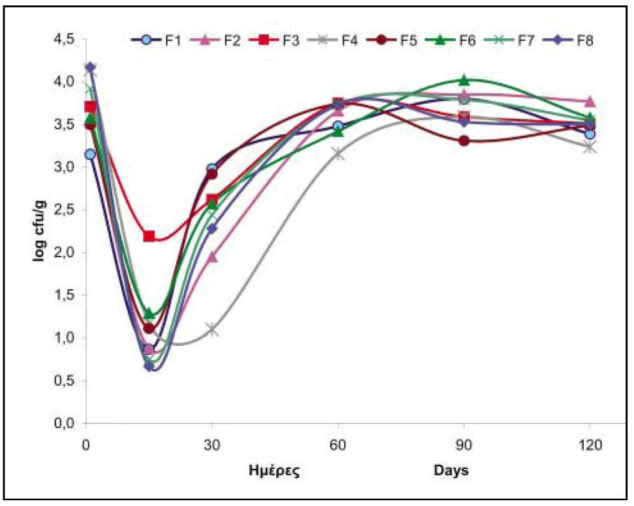
Η περιεκτικότητα των τυριών σε ολικές πρωτεΐνες αυξήθηκε (εκτός του συνδυασμού F5), κατά τις πρώτες 15 ημέρες περίπου, κατά μία μονάδα (λόγω της στράγγισης) αλλά μετά τη 15η ημέρα σημείωσε σε όλα τα τυριά μικρή μείωση με την πρόοδο της ωρίμασης. Στα ώριμα τυριά 60 ημερών κυμάνθηκε κατά μέσο όρο από 14,07 έως 15,81% σε όλους τους πειραματισμούς. Στα τυριά ηλικίας 120 ημερών οι ολικές πρωτεΐνες κυμάνθηκαν κατά μέσο όρο από 12,57 έως 14,83% (Πίνακας 4). Αντίθετα, η τιμή απορρόφησης του με 12% τριχλωροξικού οξέος λαμβανόμενου διηθήματος των τυριών, που εκφράζει την πρωτεόλυσή τους, αυξήθηκε σημαντικά σε όλα τα τυριά μέχρι την 60η ημέρα και στη συνέχεια παρέμεινε σχεδόν σταθερή (μικρές αυξομειώσεις). Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των τυριών που παρασκευάστηκαν με διαφορετικούς συνδυασμούς οξυγαλακτικών στελεχών μετά την 30η ημέρα της ωρίμασης (Πίνακας 5).

3.6. Περιεκτικότητας σε NaCl

Η περιεκτικότητα των τυριών σε NaCl, εκφρασμένη ως συντελεστής άλατος κατά τη 15η ημέρα ωρίμασης, είχε τιμές κατά μέσο όρο από 5,1 έως 6,4 και με μικρές διακυμάνσεις παρέμεινε στα επίπεδα αυτά σε όλες τις παρτίδες Φέτας χωρίς σημαντικές διακυμάνσεις για τον υπόλοιπο χρόνο συντήρησης (120 ημέρες).

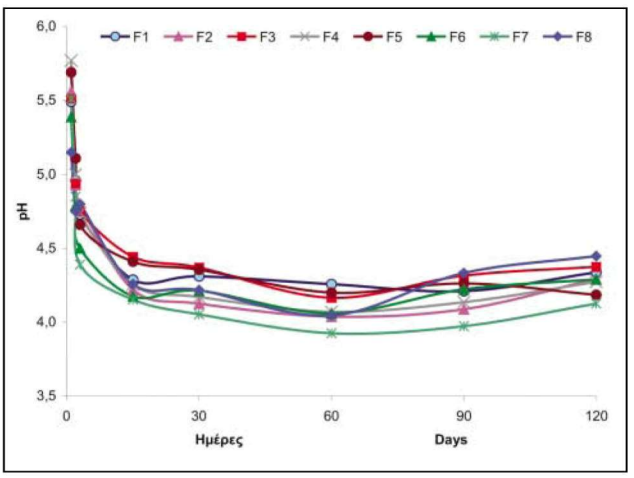
4. Αξιολόγηση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του τυριού

Τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των τυριών που παρασκευάστηκαν με τους 8 συνδυασμούς οξυγαλακτικών καλλιεργειών εκτιμήθηκαν κατά την 60η ημέρα. Οι παρτίδες τυριών από τους συνδυασμούς F3, F4, F5, F6 και F7 (ενώ δε διέφεραν σημαντικά μεταξύ τους) πήραν στατιστικώς σημαντικά υψηλότερη βαθμολογία για το άρωμα και τη γεύση σε σύγκριση με το τυρί του συνδυασμού F8, το οποίο απέσπασε τη χαμηλότερη



Εικόνα 9. *Μεταβολή του πληθυσμού των ζυμών κατά την ωρίμαση και συντήρηση τυριού Φέτα που παρασκευάστηκε με διαφορετικές οξυγαλακτικές καλλιέργειες (μέσοι όροι τεσσάρων επαναλήψεων).*

Figure 9. *Changes in the populations of yeasts during the ripening and storage of Feta cheese prepared with different starter cultures (mean values of four trials).*



Εικόνα 10. *Μεταβολή της τιμής του pH κατά την ωρίμαση και συντήρηση τυριού Φέτα που παρασκευάστηκε με διαφορετικές οξυγαλακτικές καλλιέργειες (μέσοι όροι τεσσάρων επαναλήψεων).*

Figure 10. *Changes in pH during the ripening and storage of Feta cheese prepared with different starter cultures (mean values of four trials).*

2.7. Coagulase-positive staphylococci

Coagulase-positive staphylococci were never detected. Numbers of presumptive positive staphylococci or micrococci, capable of producing black colonies on Baird-Parker agar, were monitored and their initial numbers (4.13-4.72 $\log_{10}$cfu/g) decreased in all cheese batches during ripening, but were detectable (2.13-2.85 $\log_{10}$cfu/g) even at 120 d.

Πίνακας 2. Μεταβολή της περιεκτικότητας σε υγρασία[1] (%) σε τυρί Φέτα που παρασκευάστηκε με διαφορετικές οξυγαλακτικές καλλιέργειες κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και συντήρησης.

Table 2. Changes in moisture content[1] (%) during the ripening and storage of Feta cheese prepared with different starter cultures.

Ημέρα Day	Συνδυασμός οξυγαλακτικών – LAB combination															
	F1		F2		F3		F4		F5		F6		F7		F8	
	$\overline{X}$	S.D.	$\overline{X}$	S.D.	$\overline{X}$	S.D.	$\overline{X}$	S.D.	$\overline{X}$	S.D.	$\overline{X}$	S.D.	$\overline{X}$	S.D.	$\overline{X}$	S.D.
1	59,55	2,58	60,25	2,17	58,93	2,75	60,55	2,86	59,40	4,65	60,77	2,15	61,79	1,34	59,35	3,57
15	54,79	2,74	55,19	2,38	54,03	3,34	53,83	3,86	57,00	3,43	54,72	2,57	54,42	2,05	55,60	2,18
30	$55,09^{\alpha\beta}$	1,97	$52,34^{\beta}$	3,53	$54,67^{\alpha\beta}$	3,66	$54,22^{\alpha\beta}$	2,56	$56,42^{\alpha\beta}$	3,71	$54,82^{\alpha\beta}$	3,99	$56,55^{\alpha}$	0,53	$57,38^{\alpha\beta}$	3,16
60	55,00	2,29	54,32	2,12	55,47	4,10	56,22	1,36	55,32	2,97	56,74	2,64	56,14	3,30	54,43	2,18
90	55,51	2,55	55,58	3,07	55,62	4,40	55,45	1,34	56,57	3,85	55,81	2,77	55,99	3,74	56,93	1,69
120	54,62	2,23	55,16	4,11	55,26	2,85	56,74	2,69	56,80	4,21	56,42	3,49	56,10	2,18	58,00	1,69

[1] Μέσος όρος τεσσάρων επαναλήψεων [1] Mean value of four trials

α,β: Μέσοι όροι της ίδιας σειράς με κοινό γράμμα στον εκθέτη δεν διαφέρουν στατιστικά σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

α,β: Mean values within a row with a superscript in common are not statistically different at the 5% level of significance.

Πίνακας 3. Μεταβολές στην τιμή της οξύτητας του λίπους (ADV)[1] σε τυρί Φέτα που παρασκευάστηκε με διαφορετικές οξυγαλακτικές καλλιέργειες κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και συντήρησης.

Table 3. Changes in the Acid Degree Value[1] (ADV) during the ripening and storage of Feta cheese prepared with different starter cultures.

Ημέρα Day	Συνδυασμός οξυγαλακτικών – LAB combination															
	F1		F2		F3		F4		F5		F6		F7		F8	
	$\overline{X}$	S.D.	$\overline{X}$	S.D.	$\overline{X}$	S.D.	$\overline{X}$	S.D.	$\overline{X}$	S.D.	$\overline{X}$	S.D.	$\overline{X}$	S.D.	$\overline{X}$	S.D.
1	1,07	0,43	1,08	0,62	1,18	0,56	0,78	0,23	1,12	0,38	0,94	0,19	0,71	0,16	0,83	0,18
15	1,64	0,38	1,65	0,48	2,61	1,41	2,10	1,09	2,54	1,38	1,68	0,86	1,21	0,21	1,23	0,35
30	1,65	0,34	1,57	0,36	2,74	1,38	2,36	1,51	2,62	1,42	1,55	0,56	1,19	0,24	1,31	0,45
60	$2,28^{\alpha\beta}$	0,28	$2,19^{\alpha\beta\gamma}$	0,27	$3,62^{\alpha}$	1,42	$3,12^{\alpha\beta\gamma}$	1,57	$3,45^{\alpha}$	1,01	$2,35^{\alpha\beta\gamma}$	0,87	$1,57^{\gamma}$	0,41	$1,65^{\beta\gamma}$	0,62
90	$2,86^{\alpha\beta\gamma}$	1,26	$2,19^{\alpha\beta\gamma}$	0,37	$3,82^{\alpha}$	1,63	$3,14^{\alpha}$	1,48	$3,50^{\alpha\beta}$	1,47	$2,44^{\alpha\beta\gamma}$	1,28	$1,73^{\gamma}$	0,51	$1,80^{\beta\gamma}$	0,46
120	$2,65^{\alpha\beta}$	0,89	$2,12^{\alpha\beta}$	0,72	$3,89^{\alpha\beta}$	2,17	$3,46^{\alpha\beta}$	1,89	4,23α	1,95	$2,57^{\alpha\beta}$	2,13	$1,74^{\alpha\beta}$	0,70	$1,90^{\beta}$	0,46

[1] Μέσος όρος τεσσάρων επαναλήψεων [1] Mean value of four trials

α,β,γ: Μέσοι όροι της ίδιας σειράς με κοινό γράμμα στον εκθέτη δεν διαφέρουν στατιστικά σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

α,β,γ: Mean values within a row with a superscript in common are not statistically different at the 5% level of significance.

βαθμολογία, ενώ το τυρί του συνδυασμού F3 την υψηλότερη. Ως προς τη συνεκτικότητα, την υψηλότερη βαθμολογία πήραν τα τυριά των συνδυασμών F3 και F5, ενώ τη μικρότερη το τυρί του συνδυασμού F7. Τέλος ως προς το χρώμα, τη μικρότερη βαθμολογία έλαβε το τυρί του συνδυασμού F8.

Το τυρί που παρασκευάστηκε με το συνδυασμό F3 αξιολογήθηκε ως το καλύτερο, ως προς την ολική αποδοχή, με σημαντική διαφορά από τα τυριά των συνδυασμών F1, F2, F6 και F8, τα οποία όμως χαρακτηρίστηκαν ως λίαν ικανοποιητικά με βάση τη βαθμολογία που πήραν. Το τυρί του συνδυασμού F3 δεν διέφερε σημαντικά ως προς την ολική αποδοχή από τα τυριά των συνδυασμών F4, F5 και F7. Το τυρί του συνδυασμού F8 πήρε τη μικρότερη βαθμολογία, η οποία διέφερε σημαντικά ως προς την ολική αποδοχή από τους άλλους συνδυασμούς, με εξαίρεση το τυρί του συνδυασμού F1 (Πίνακας 6).

3. Changes in chemical characteristics

3.1. pH

Regardless of the culture used, the pH of the prepared cheese decreased evenly from the beginning of the process in all batches. Thus, by the end of the 2nd day after curdling, the pH values dropped to ≤5.0 and by the 3rd and 4th day they reached 4.5-4.6 and remained around these values up to day 120, when the values ranged from 4.13 to 4.45 (Figure 10).

3.2. Moisture content

The moisture content in all cheese batches decreased significantly after 15-30 d of ripening reaching 54-56% and remained relatively constant for the remaining storage period (Table 2). An exception was the 30-day moisture content values of cheese batches F2 and F8, which were 52.3 and 57.3%, respectively.

Πίνακας 4. Μεταβολή της περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη[1] (%) σε τυρί Φέτα που παρασκευάστηκε με διαφορετικές οξυγαλακτικές καλλιέργειες κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και συντήρησης.

Table 4. Changes in protein content[1] (%) during the ripening and storage of Feta cheese prepared with different starter cultures.

Ημέρα Day	Συνδυασμός οξυγαλακτικών – LAB combination															
	F1		F2		F3		F4		F5		F6		F7		F8	
	$\bar{X}$	S.D.	$\bar{X}$	S.D.	$\bar{X}$	S.D.	$\bar{X}$	S.D.	$\bar{X}$	S.D.	$\bar{X}$	S.D.	$\bar{X}$	S.D.	$\bar{X}$	S.D.
1	15,06	1,30	14,53	0,87	15,32	2,01	14,18	1,34	15,14	1,62	14,57	1,46	13,86	1,04	14,58	0,69
15	16,12	2,69	15,56	1,73	15,92	1,91	15,78	2,24	15,18	1,42	15,99	1,16	15,25	1,36	15,61	1,07
30	16,09	1,16	16,51	1,22	15,78	1,32	16,31	0,70	15,42	0,92	15,72	0,25	16,36	1,69	15,09	1,80
60	$15,35^{\alpha\beta}$	1,14	$15,81^{\alpha}$	1,10	$15,20^{\alpha\beta}$	1,76	$15,35^{\alpha\beta}$	1,16	$14,58^{\alpha\beta}$	1,31	$15,13^{\alpha\beta}$	1,62	$15,38^{\alpha\beta}$	1,42	$14,07^{\beta}$	0,65
90	14,69	1,38	14,97	1,60	14,28	1,57	14,97	1,12	13,83	1,23	15,06	1,18	15,26	1,83	13,44	0,68
120	14,81	1,82	14,72	2,32	14,65	2,15	14,71	2,57	13,87	2,99	14,22	1,93	14,83	1,74	12,57	1,06

[1] Μέσος όρος τεσσάρων επαναλήψεων [1] Mean value of four trials
α,β: Μέσοι όροι της ίδιας σειράς με κοινό γράμμα στον εκθέτη δεν διαφέρουν στατιστικά σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.
α,β: Mean values within a row with a superscript in common are not statistically different at the 5% level of significance.

Πίνακας 5. Μεταβολή της τιμής απορρόφησης[1] του διηθήματος με 12% TCA τυριού Φέτα που παρασκευάστηκε με διαφορετικές οξυγαλακτικές καλλιέργειες κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και συντήρησης.

Table 5. Changes in the absorbance value[1] of filtrate TCA 12% during the ripening and storage of Feta cheese prepared with different starter cultures.

Ημέρα Day	Συνδυασμός οξυγαλακτικών – LAB combination															
	F1		F2		F3		F4		F5		F6		F7		F8	
	X	S.D.	X	S.D.	X	S.D.	X	S.D.	X	S.D.	X	S.D.	X	S.D.	X	S.D.
1	$0,137^{\beta}$	0,014	$0,156^{\alpha\beta}$	0,034	$0,156^{\alpha\beta}$	0,033	$0,159^{\alpha\beta}$	0,028	$0,155^{\alpha\beta}$	0,023	$0,170^{\alpha\beta}$	0,021	$0,174^{\alpha}$	0,032	$0,146^{\alpha\beta}$	0,023
15	$0,204^{\alpha\beta}$	0,038	$0,203\alpha^{\alpha\beta}$	0,047	$0,205^{\alpha\beta}$	0,048	$0,206^{\alpha\beta}$	0,045	$0,202^{\alpha\beta}$	0,031	$0,230^{\alpha}$	0,019	$0,207^{\alpha\beta}$	0,011	$0,196^{\beta}$	0,003
30	0,242	0,026	0,233	0,039	0,221	0,044	0,244	0,038	0,248	0,052	0,240	0,034	0,217	0,037	0,231	0,030
60	0,251	0,031	0,250	0,034	0,243	0,064	0,259	0,068	0,256	0,056	0,255	0,031	0,243	0,020	0,225	0,021
90	0,250	0,035	0,241	0,049	0,225	0,038	0,251	0,048	0,263	0,066	0,246	0,017	0,244	0,017	0,232	0,042
120	0,255	0,061	0,259	0,091	0,241	0,028	0,273	0,053	0,227	0,093	0,218	0,050	0,231	0,044	0,180	0,046

[1] Μέσος όρος τεσσάρων επαναλήψεων [1] Mean value of four trials
α,β: Μέσοι όροι της ίδιας σειράς με κοινό γράμμα στον εκθέτη δεν διαφέρουν στατιστικά σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.
α,β: Mean values within a row with a superscript in common are not statistically different at the 5% level of significance.

Δ. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

1. Εξέλιξη του πληθυσμού των οξυγαλακτικών στελεχών κατά την ωρίμαση και συντήρηση στο τυρί Φέτα

Σε όλα τα τυριά Φέτα που παρασκευάστηκαν με τους συνδυασμούς των οξυγαλακτικών καλλιεργειών του Πίνακα 1, τόσο οι λακτοβάκιλλοι όσο και οι λακτόκοκκοι (ή ο στρεπτόκοκκος στην περίπτωση του συνδυασμού F8) αριθμούνταν σε υψηλούς πληθυσμούς από την πρώτη ημέρα τυροκόμησης. Οι μεταβολές των λακτοβακίλλων και των λακτοκόκκων κατά την ωρίμαση και συντήρηση της Φέτας φαίνονται στις Εικόνες 1 και 2, αντίστοιχα. Η υψηλή θερμοκρασία (30 – 32°C) του τυροπήγματος κατά τις πρώτες ώρες ευνοεί τον πολλαπλασιασμό των οξυγαλακτικών βακτηρίων. Έτσι, την πρώτη ημέρα στα τυριά όλων των συνδυασμών (F1-F8) μετρήθηκαν υψηλοί πληθυσμοί λακτοβακίλλων και λακτοκόκκων χωρίς σημαντικές διαφορές μεταξύ των συν-

3.3. Fat content and ADV

In all batches the fat content, in dry matter of the cheese at the 1st day of preparation, ranged from 47.54 to 50.17% and after 60 d of ripening it ranged from 44.28 to 48.07%. The ADV increased slowly in all batches during the two-month ripening period and continued to rise, although slowly during further cheese storage (Table 3). However, all cheeses were of acceptable quality at the end of the experiment (120 d).

3.4. Carbohydrate (lactose) content

The carbohydrate (lactose) content of all cheese batches decreased significantly from 1st day initial values of 4.04-4.42% to ca. 1.80% after 60 d of ripening and to 1.28-1.67% by the end of the storage period (120 d). No significant differences ($P>0.05$) in lactose content were observed among cheese batches.

3.5. Protein content and degree of proteolysis

With the exception of batch F5, the total protein

Πίνακας 6. Βαθμολογία αρώματος/γεύσης, συνεκτικότητας, χρώματος και ολικής αποδοχής[1], σε τυρί Φέτα που παρασκευάστηκε με διαφορετικές οξυγαλακτικές καλλιέργειες μετά από ωρίμαση 60 ημερών.

Table 6. Assessment of flavour, cohesiveness, colour and overall acceptance[1], in Feta cheese prepared with different starter cultures after 60 days of ripening.

	Συνδυασμός οξυγαλακτικών – LAB combination															
	F1		F2		F3		F4		F5		F6		F7		F8	
	$\overline{X}$	S.D.	$\overline{X}$	S.D.	$\overline{X}$	S.D.	$\overline{X}$	S.D.	$\overline{X}$	S.D.	$\overline{X}$	S.D.	$\overline{X}$	S.D.	$\overline{X}$	S.D.
Άρωμα/ Γεύση Flavor	$3,77^{\beta\gamma}$	0,94	$3,77^{\beta\gamma}$	0,78	$4,12^{\alpha}$	0,78	$3,92^{\alpha\beta}$	0,76	$3,96^{\alpha\beta}$	0,82	$3,90^{\alpha\beta}$	0,81	$3,94^{\alpha\beta}$	0,73	$3,58^{\gamma}$	0,76
Συνεκτικότητα Cohesiveness	$4,22^{\alpha\beta}$	0,66	$4,26^{\alpha\beta}$	0,55	$4,28^{\alpha}$	0,63	$4,15^{\alpha\beta}$	0,63	$4,29^{\alpha}$	0,57	$4,09^{\alpha\beta}$	0,66	$4,05^{\beta}$	0,66	$4,12^{\alpha\beta}$	0,69
Χρώμα Color	$4,30^{\alpha\beta}$	0,63	$4,45^{\alpha}$	0,52	$4,32^{\alpha\beta}$	0,57	$4,48^{\alpha}$	0,57	$4,38^{\alpha}$	0,67	$4,29^{\alpha\beta}$	0,60	$4,32^{\alpha}$	0,60	$4,11^{\beta}$	0,62
Ολική Αποδοχή Overall acceptance	$3,95^{\beta\gamma}$	0,84	$3,98^{\beta}$	0,65	$4,24^{\alpha}$	0,59	$4,03^{\alpha\beta}$	0,68	$4,10^{\alpha\beta}$	0,63	$3,99^{\beta}$	0,66	$4,03^{\alpha\beta}$	0,62	$3,79^{\gamma}$	0,66

[1] Μέσος όρος τεσσάρων επαναλήψεων [1]Mean value of four trials
α,β,γ: Μέσοι όροι της ίδιας σειράς με κοινό γράμμα στον εκθέτη δεν διαφέρουν στατιστικά σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.
α,β,γ: Mean values within a row with a superscript in common are not statistically different at the 5% level of significance.

δυασμών. Οι υψηλότεροι πληθυσμοί μετρήθηκαν στα τυριά των συνδυασμών F3 (μεσόφιλα στελέχη) και F8 (θερμόφιλα στελέχη). Όταν, όμως, η θερμοκρασία του τυριού μειωνόταν στους 16.5±1°C και στη συνέχεια στους 3±1°C (θερμοκρασία ωρίμανσης - συντήρησης), ο πληθυσμός των θερμόφιλων στελεχών του συνδυασμού F8 παρουσίασε μείωση (κυρίως κατά τις πρώτες 30 ημέρες), ενώ οι πληθυσμοί των λακτοβακίλλων και λακτοκόκκων στους άλλους συνδυασμούς (μεσόφιλες καλλιέργειες) παρέμεναν σταθεροί ή και αυξάνονταν σ' αυτήν τη θερμοκρασία έως την 30η ημέρα, δίνοντας πληθυσμούς της τάξεως 10^7–10^8 cfu/g, ενώ οι πληθυσμοί του συνδυασμού F8 παρέμειναν κατά ένα λογάριθμο μικρότεροι (10^6–10^7 cfu/g) (Εικόνες 1 και 2).

Από τη στατιστική επεξεργασία δε διαπιστώθηκε σημαντική διαφορά ανάμεσα στους πληθυσμούς των λακτοκόκκων και των λακτοβακίλλων κατά την εξέλιξη της ωρίμασης του τυριού. Άλλοι ερευνητές αναφέρουν πληθυσμιακή υπεροχή των λακτοκόκκων κατά τις πρώτες ημέρες ωρίμασης, ενώ αργότερα υπεροχή των λακτοβακίλλων (Tzanetakis and Litopoulou-Tzanetaki 1992). Στα πειράματα της έρευνας αυτής δεν διαπιστώθηκε τέτοια σημαντική διαφορά, ίσως διότι τα μεσόφιλα στελέχη που χρησιμοποιήθηκαν είχαν απομονωθεί από ώριμα τυριά, στα οποία ήταν ο κυρίαρχος πληθυσμός και συνεπώς είχαν προσαρμοστεί στις δυσμενείς γι' αυτά συνθήκες ενός ώριμου τυριού Φέτα.

content of the cheeses increased during the first 15 d of ripening by ca 1%, but, from that point on, it slowly decreased in all cheeses. In the 60-day-ripened cheeses the total protein content ranged from 14.07 to 15.81% and after 60 additional days of storage, the values ranged between 12.57 and 14.83% (Table 4). On the contrary, the absorbance values of filtrate, obtained after its treatment with 12% TCA, increased significantly during ripening in all batches until day 60 and then remained relatively constant. No statistically significant differences between batches were observed after the 30th day of ripening (Table 5).

3.6. NaCl concentration

The concentration of NaCl expressed as SWP on the 15th day of ripening ranged between 5.1 and 6.4% and remained relatively constant for the rest of the storage period (120 d).

4. Evaluation of organoleptic properties of cheese

The organoleptic properties of the cheeses, prepared with the eight different mixtures of LAB bacteria, were evaluated at the end of the obligatory ripening period (60 d). No significant differences were noted among batches of LAB combinations F3, F4, F5, F6 and F7 for aroma and taste; however, cheeses from these combinations received significantly higher average scores for these attributes compared to cheese batches of combination F8, which received the lowest score. F3

2. Επίδραση των συνδυασμών οξυγαλακτικών καλλιεργειών στα μικροβιολογικά χαρακτηριστικά του τυριού

Τα κολοβακτηριοειδή, που την πρώτη ημέρα μετρήθηκαν σε πληθυσμούς της τάξεως 4,62 – 5,12 $\log_{10}$MPN/g, μειώνονταν σημαντικά σε πληθυσμό και εντός 15 ημερών βρίσκονταν σε επίπεδα αποδεκτά από τη νομοθεσία και μειώθηκαν περαιτέρω σε < 1,77 $\log_{10}$MPN/g σε χρόνο ωρίμανσης 60 ημερών. Οι πληθυσμοί κολοβακτηριοειδών μειώνονταν σε μη ανιχνεύσιμα επίπεδα στις παρτίδες ενός από τους 8 συνδυασμούς στις 90 ημέρες και στις παρτίδες 5 συνδυασμών στις 120 μέρες (Εικόνα 3). Παρόμοια αποτελέσματα αναφέρονται και από άλλους ερευνητές (Yanai et al. 1977). Η σημαντική μείωση του πληθυσμού των κολοβακτηριοειδών οφείλεται στην ταχεία πτώση του pH στο 4,5-4,6 σε όλους τους πειραματισμούς εντός 3-4 ημερών. Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές ως προς τον πληθυσμό των κολοβακτηριοειδών ανάμεσα στα τυριά όλων των συνδυασμών στη διάρκεια των πειραματισμών.

Οι εντερόκοκκοι αποδείχτηκαν ανθεκτικοί στις συνθήκες που επικρατούν κατά την ωρίμανση του τυριού Φέτα (Εικόνα 4). Αυτό δικαιολογεί και την απομόνωσή τους σε μεγάλους πληθυσμούς από ώριμα τυριά άλμης. Παρόμοια παρατήρηση έκαναν και άλλοι ερευνητές (Litopoulou-Tzanetaki and Tzanetakis 1992, Litopoulou-Tzanetaki et al. 1993). Η χλωρίδα επιμολύνσεως μειώθηκε σημαντικά κατά τη διάρκεια της ωρίμασης στα τυριά των 7 συνδυασμών. Στα τυριά του συνδυασμού F7 μετρήθηκαν υψηλοί πληθυσμοί χλωρίδας επιμόλυνσης στις 60 και 120 ημέρες (Εικόνα 5). Οι αρνητικοί στην πηκτάση σταφυλόκοκκοι και μικρόκοκκοι παρουσίασαν, επίσης, σημαντική μείωση στα τυριά όλων των συνδυασμών.

Κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και συντήρησης των τυριών, τα πρωτεολυτικά βακτήρια παρουσίασαν σημαντική μείωση (έως και 2 λογαρίθμους) σε όλους τους συνδυασμούς, ενώ τα λιπολυτικά βακτήρια παρέμεναν σε υψηλούς πληθυσμούς, με εξαίρεση τους συνδυασμούς F2 και F8 στους οποίους μειώνονταν σημαντικά προς το τέλος του πειραματισμού (Εικόνες 6 και 7). Ο βαθμός πρωτεόλυσης και ο δείκτης ADV (λιπόλυση) στα τυριά αυξάνονταν σταθερά μέχρι την 60η ημέρα και στη συνέχεια παρέμειναν σχεδόν σταθεροί με μικρές αυξομειώσεις (Πίνακας 3 και 5). Ανάλογες παρατηρήσεις έγιναν και από τους Mallatou et al. (1994). Τα ψυχρότροφα βακτήρια επηρεάστηκαν, επίσης, από το συνδυασμό στελεχών της οξυγαλακτικής καλλιέργειας. Σε όλους τους συνδυασμούς παρατηρήθηκε μείωση της ψυχρότροφης χλωρίδας, με εξαίρεση το συνδυασμό F8 στον οποίο μετά την 30η ημέρα ωρίμασης τα τυριά αυξάνονταν σημαντικά μέχρι τη λήξη του πειραματισμού (Εικόνα 8).

Τα τυριά F3 και F5 κατατάχθηκαν πρώτα ως προς τη γεύση και τη μυρωδιά, ενώ τα τυριά F7 τελευταία. Ως προς τη σύσταση (συνεκτικότητα) τα τυριά F3 και F5 κατατάχθηκαν πρώτα, ενώ τα τυριά F7 τελευταία. Τέλος, τα τυριά F8 κατατάχθηκαν τελευταία ως προς τη χρωματική εικόνα.

Τα τυριά F3 κατατάχθηκαν σημαντικά υψηλότερα ως προς τη γενική αποδοχή από τα τυριά F1, F2, F6 και F8, τα οποία θεωρήθηκαν "αρκετά ικανοποιητικά", βάσει των βαθμολογιών τους. Τα τυριά του συνδυασμού F3 δεν διαφέρουν σημαντικά από τα τυριά των συνδυασμών οξυγαλακτικών καλλιεργειών F4, F5 και F7 ως προς τη γενική αποδοχή. Τα τυριά F8 κατατάχθηκαν τελευταία, ενώ η βαθμολογία τους ήταν σημαντικά χαμηλότερη από αυτή όλων των υπόλοιπων τυριών εκτός από αυτή των τυριών F1 (Πίνακας 6).

D. DISCUSSION

1. Changes in populations of LAB in Feta cheese during ripening and storage

The changes in the populations of lactobacilli and lactococci are shown in Figures 1 and 2. In all cheese batches prepared with the eight different combinations of LAB strains (Table 1), lactobacilli as well as lactococci (*Str. thermophilus* in case of batch 8) reached high populations from the first day of cheese manufacture. This is probably due to the fact that the initial temperature of the curd (30-32°C) is favorable for the growth of LAB. Thus, in all cheeses (F1-F8) high numbers of lactobacilli and lactococci were present, with no significant differences between batches. The highest populations were noted in batches F3 (mesophilic strains) and F8 (thermophilic strains). When the cheese was placed at 16.5±1°C and later on at 3±1°C for ripening, lower populations of LAB in batches F8 were noted, while in batches of the other seven LAB combinations (mesophilic cultures or in combination with thermophilic), the populations of LAB remained the same or increased until the 30th day of ripening resulting in levels in the order of 10^7-10^8cfu/g. On the contrary, populations of batches F8 remained always 1 log lower (10^6-10^7cfu/g) (Figures 1 and 2).

No statistically significant differences were noted between numbers of lactococci and lactobacilli during cheese ripening. Other researchers mention that in the first days of ripening, lactococci are found in the cheese in higher numbers than lactobacilli, the latter predominating in later stages of ripening (Tzanetakis and Litopoulou-Tzanetaki 1992). We were unable to confirm these findings and this is probably due to the fact that the mesophilic strains used in our study had been isolated as the predominant species in the ripened market white brined cheeses and therefore must had been adapted to the unfavorable conditions of ripened Feta cheese.

μασης παρατηρήθηκε σχετική αύξηση (Εικόνα 8).

Τέλος, οι ζύμες παρέμεναν σε σχετικά μικρούς πληθυσμούς με σημαντική μείωση κατά τις 15 πρώτες ημέρες ωρίμασης, γιατί το πλύσιμο των τυριών πριν την τοποθέτησή τους σε άλμη απομάκρυνε σημαντικά τις ζύμες. Στη συνέχεια αυξήθηκαν (Εικόνα 9), πιθανόν λόγω επικράτησης οσμόφιλων ειδών, ικανών να πολλαπλασιάζονται σε υψηλή αλατότητα, χαμηλό pH και θερμοκρασίες ψύξεως. Αυτό έχει παρατηρηθεί και από άλλους ερευνητές (Kaminarides and Laskos 1992, Vivier et al. 1994). Πιστεύεται ότι οι ζύμες επηρεάζουν τη διαμόρφωση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των τυριών άλμης, αλλά σε υψηλούς πληθυσμούς προκαλούν διόγκωση των τυριών (Westall and Filtenborg, 1998). Ορισμένοι ερευνητές, όμως, έχουν διαπιστώσει μείωση του πληθυσμού των ζυμών κατά την πορεία ωρίμασης της Φέτας (Tzanetakis et al. 1995). Ο πληθυσμός των μυκήτων στα τυριά που παρασκευάστηκαν ήταν πάντα <50/g. Αυτό είναι αναμενόμενο, εφόσον τα τυριά παρέμεναν συνεχώς καλυμμένα από άλμη.

3. Επίδραση των συνδυασμών οξυγαλακτικών καλλιεργειών στα χημικά χαρακτηριστικά του τυριού Φέτα

Το είδος της οξυγαλακτικής καλλιέργειας επηρέασε σημαντικά το ρυθμό πτώσης του pH. Ο συνδυασμός F8 εμφάνισε τη μεγαλύτερη πτώση pH κατά την πρώτη ημέρα τυροκόμησης και αυτό εξηγείται από το ευνοϊκότερο, από άποψη θερμοκρασίας, περιβάλλον του τυροπήγματος για θερμόφιλα είδη (Zourari and Desmazeaud 1991, Zourari et al. 1991). Οι υπόλοιποι συνδυασμοί (με ή/και με μεσόφιλα στελέχη) έδειξαν ικανοποιητική δραστηριότητα μετά την 1η ημέρα και το pH μειώθηκε σε όλα τα δείγματα στα επιθυμητά όρια (pH 4,5 – 4,6) εντός 3 έως 4 ημερών. Ο ρυθμός πτώσης του pH ήταν μεγαλύτερος από αυτόν που παρατήρησαν άλλοι ερευνητές (Pappas et al. 1996a, Pappas et al. 1996b, Papageorgiou and Marth 1989). Αυτό οφείλεται μάλλον στο ότι στην έρευνά μας, τα μεσόφιλα στελέχη είχαν προεπιλεγεί από ένα σύνολο 109 στελεχών (Καραγεώργης και συν. 2006) και χρησιμοποιήθηκαν αυτά με το μεγαλύτερο ρυθμό οξίνισης. Η γρήγορη πτώση του pH μπορεί να οδηγήσει σε απώλεια αλάτων και εύθρυπτη τυρομάζα (Lucey and Fox 1993). Κάτι τέτοιο, όμως, δεν παρατηρήθηκε στα τυριά που παρασκευάστηκαν. Γενικά, στους πειραματισμούς μας, το pH παρέμεινε στο 4,3 έως 4,5 κατά τη διάρκεια της ωρίμασης και συντήρησης των τυριών (Εικόνα 10). Παρόμοιες παρατηρήσεις αναφέρουν και άλλοι ερευνητές (Manolkidis et al. 1970a, Tzanetakis et al. 1995, Pappas et al. 1996b). Άλλοι, όμως, ερευνητές αναφέρουν σταθεροποίηση του pH περί την 30η ημέρα

2. Effect of starter culture combination on the microbiological characteristics of Feta cheese

Coliform populations at day 1 were in the order of 4.62-5.12 $\log_{10}$MPN/g. Then they started to decrease in numbers and after 15 d of ripening, their populations dropped to legislatively acceptable levels and further decreased to <1.77 $\log_{10}$MPN/g at 60 d. One and 5 out of the 8 different LAB combination batches had undetectable levels of coliforms at 90 and 120 days, respectively (Figure 3). Similar observations have been made by other researchers (Yanai et al. 1977). The substantial decrease in coliform populations is attributed to the pH dropping to 4.5-4.6 in all cheese batches within 3-4 days. No significant differences were observed among cheese batches throughout the experiments.

Enterococci have been isolated in high numbers from ripened white brined cheeses (Litopoulou-Tzanetaki and Tzanetakis 1992, Litopoulou-Tzanetaki et al. 1993). The monitoring of enterococcal populations in our experiments showed that they were present in considerable numbers during the whole 120-d cheese-storage period, indicating their tolerance to the unfavorable conditions that prevail during ripening of Feat cheese (Figure 4). Populations of contaminating bacteria decreased during ripening in cheeses of 7 LAB combinations. In cheese batches of LAB combination F7, high numbers of contaminating bacteria were present at 60 and 120 days. Coagulase negative staphylococci and micrococci also decreased in numbers in all cheese batches.

With the exception of cheeses made with LAB combinations F2 and F8, in which lipolytic bacterial numbers showed a decline towards the end of the experiment, lipolytic bacterial counts in all other batches remained high. Numbers of proteolytic bacteria decreased in all cheese batches, up to 2 logs (Figures 6 and 7). The degree of proteolysis and the ADV value in all cheeses kept increasing until the 60th day and then remained relatively constant (Tables 3 and 5). Mallatou et al. (1994) have also reported similar observations. Psychrotrophic bacterial counts were also affected by the LAB combination used in cheesemaking. In all LAB combinations, reductions in counts were observed during ripening and storage, except for batches of LAB combination F8 where an increase in counts was observed after the 30th day of ripening (Figure 8).

The yeast populations at the 15th day of ripening were found decreased, owing to their partial mechanical removal, due to the cheese-washing step that was applied prior to placing the cheese in brine. Subsequently, their populations increased probably due to the dominance of osmophilic species, capable of proliferating under high salt, low pH and low temperature, and remained in high

(Anifantakis 1991b, Pappas et al. 1994). Η σύντομη (εντός 3-4 ημερών) πτώση του pH σε τιμές ≤ 4,5 επηρεάζει αρνητικά την επιβίωση των κολοβακτηριοειδών (Εικόνα 3), αλλά και των παθογόνων μικροοργανισμών, όπως της *Brucella melitensis* (Πανέτσος και συν. 1971), του *S. aureus* (Μάντης 1973), της *Yersinia enterocolitica* (Karaioannoglou et al. 1985), της *Listeria monocytogenes* (Papageorgiou and Marth 1989) και της *Aeromonas hydrophila* (Melas et al. 2001).

Η υγρασία των τυριών, που παρασκευάστηκαν μετά από μια αρχική τιμή περίπου 60% κατά την πρώτη ημέρα, άρχισε να μειώνεται σημαντικά και μετά από 15 έως 30 ημέρες κυμάνθηκε από 52,3 έως 57,3%. Αυξομειώσεις παρατηρήθηκαν μεταξύ 15 και 30 ημερών, αλλά με την ισορρόπηση των οσμωτικών φαινομένων η τιμή της υγρασίας σταθεροποιήθηκε στις 30 με 60 ημέρες σε επίπεδα ≤56%. Τα τυριά που παρασκευάστηκαν με τους συνδυασμούς F4, F6 και F7 είχαν υγρασία οριακά >56% στις 60 ημέρες (Πίνακας 2). Παρόμοιες παρατηρήσεις ως προς τη σταθεροποίηση της υγρασίας έκαναν και άλλοι ερευνητές (Manolkidis et al. 1970a, Alichanidis et al. 1981, Vafopoulou et al. 1989, Pappas et al. 1994, Tzanetakis et al. 1995).

Το λίπος των τυριών επί ξηρού, μετά από μια αρχική τιμή που κυμάνθηκε από 47,54 έως 50,17% την 1η ημέρα, μειώθηκε σε επίπεδα από 44,28 έως 48,07% την 60η ημέρα, χωρίς σημαντικές μεταβολές μετά το πέρας της ωρίμασης των 60 ημερών. Η περιεκτικότητα σε υδατάνθρακες (λακτόζη) μειώθηκε σημαντικά από 4,42% την πρώτη ημέρα σε τιμές περίπου 1,80% μετά από 60 ημέρες ωρίμασης και στη συνέχεια σε τιμές 1,28 έως 1,67% στις 120 ημέρες, λόγω αποβολής στο τυρόγαλα και ζύμωσης της λακτόζης από τα οξυγαλακτικά βακτήρια.

Το ολικό πρωτεϊνικό άζωτο μειώθηκε με την πρόοδο της ωρίμασης (Πίνακας 4), ενώ αυξήθηκε το διαλυτό (σε 12% TCA) άζωτο. Οι τιμές της απορρόφησης του διηθήματος σε 12% TCA, που εκφράζουν βαθμό πρωτεόλυσης, αυξήθηκαν σημαντικά κατά την ωρίμαση, δείχνοντας αύξηση στην ποσότητα των μεσαίων και μικρών πεπτιδίων και αμινοξέων, η οποία είναι ιδιαίτερα μεγάλη, εάν λάβουμε υπ' όψιν ότι ένα μέρος των πολύ μικρών πεπτιδίων και αμινοξέων διαφεύγουν στην άλμη (Polychroniadou and Vlachos, 1979). Η μεταβολή ήταν μεγαλύτερη μέχρι την 30η ημέρα (Πίνακας 5). Αυτό συμφωνεί με τα ευρήματα των Katsiari and Voutsinas (1994), οι οποίοι παρατήρησαν ότι ο ρυθμός αύξησης του κλάσματος αυτού ήταν μεγαλύτερος μέχρι την 30η ημέρα και στη συνέχεια μειωνόταν. Η συσσώρευση των αμινοξέων μεταξύ 30ης και 60ης ημέρας έχει συνδεθεί με την ανάπτυξη του χαρακτηριστικού αρώματος στον Τελεμέ (Polychroniadou and Vlachos,

numbers during the whole storage period (Figure 9). Similar observations were made by Kaminaridis and Laskos (1992) and by Vivier et al. (1994), although other researchers (Tzanetakis et al. 1995) noted a decline in the yeast population during Feta cheese ripening. However all researchers agree that yeasts affect the organoleptic properties of the white brined cheeses, but being gas-producing microorganisms they can cause gas blowing when present in high numbers (Westall and Filtenborg 1998). Finally, mould counts were always <50/g as cheeses were kept well covered with brine at all times.

3. Effect of starter culture combination on the chemical characteristics of Feta cheese

The type of starter culture used had a direct effect on the pH drop rate. Batch F8 (yogurt culture) had the fastest pH drop rate during the first hours of cheesemaking, owing to the fact that during this period the curd and cheese temperature is favorable for thermophiles (Zourari and Desmazeaud 1991, Zourari et al. 1991). After the 1st day of cheesemaking all other starter combinations had a satisfactory fermenting activity and the desired pH (4.5-4.6) was reached within 3-4 d post-coagulation. The pH drop rate was higher than that observed by other researchers (Pappas et al. 1996a, Pappas et al. 1996b, Papageorgiou and Marth 1989). This is probably due to the fact that the strains used in this study had been selected among a total of 109 strains for being fast acid producers (Karageorgis et al. 2006). Some researchers believe that a fast drop in pH may result in a friable body (Lucey and Fox 1993), but this was not the case in our experiments. In general, the pH of cheeses remained at 4.3-4.5 during the whole ripening and storage period (Figure 10). Similar observations have been made by other researchers (Manolkidis et al. 1970a, Tzanetakis et al. 1995, Pappas et al. 1996b). Other investigators report that the pH of Feta cheese is stabilized around the 30th day of ripening (Anifantakis 1991b, Pappas et al. 1994). The fast (within 3-4 d) drop in the pH (at values ≤ 4.5) is unfavorable for the survival of coliforms (Figure 3) and milk-borne pathogens, such as *Brucella melitensis* (Panetsos et al. 1971), *S. aureus* (Mantis 1973), *Yersinia enterocolitica* (Karaioannoglou et al. 1985), *Listeria monocytogenes* (Papageorgiou and Marth 1989) and *Aeromonas hydrophila* (Melas et al. 2001).

The 1st day moisture content (ca. 60%) of cheese started to decline, to reach 52.3-57.3% after 15-30 d of ripening, although there was some fluctuation between days 15 and 30. After that, the moisture content for days 30-60 was essentially kept at or below 56%. Cheese batches F4, F6 and F7 had moisture content marginally above 56% at day 60 (Table 2). Similar observations

1979). Η αύξηση του κλάσματος αυτού οφείλεται κυρίως στη δράση των πρωτεολυτικών ενζύμων των οξυγαλακτικών βακτηρίων και μάλιστα ενζύμων ενεργών σε χαμηλό pH (Manolkidis et al. 1970b, Tzanetakis et al. 1995). Παρόμοια αύξηση στο κλάσμα του διαλυτού σε 12% TCA αζώτου έχει παρατηρηθεί και από άλλους ερευνητές (Litopoulou-Tzanetaki et al. 1993, Pappas et al. 1996a).

Ο δείκτης λιπόλυσης στα τυριά αυξήθηκε χωρίς να εμφανιστούν σημεία υδρολυτικής τάγγισης μέχρι και την 120η ημέρα συντήρησης. Τη μεγαλύτερη λιπόλυση έδειξαν οι συνδυασμοί F3 και F5 που περιείχαν τα είδη *Lb. plantarum* (στέλεχος L28) και *Lb. paracasei* subsp. *paracasei* (στέλεχος L9), ενώ τη μικρότερη οι συνδυασμοί F7 και F8 (Πίνακας 3). Οι τιμές ADV που παρατηρήθηκαν στους συνδυασμούς F3, F4 και F5 ήταν μεγαλύτερες από αυτές που παρατήρησαν άλλοι ερευνητές (Katsiari and Voutsinas 1994, Pappas et al. 1996a). Ωστόσο, δεν παρατηρήθηκε ταγγή γεύση σε κανένα συνδυασμό, ακόμη και σε εκείνους που η τιμή ADV ήταν μεγαλύτερη από 3, τιμή η οποία αναφέρεται ως το όριο πάνω από το οποίο εμφανίζεται ταγγή γεύση στο τυρί Cheddar (Deeth and Fitz-Gerald 1976).

Τέλος, σχετικά με την αλατότητα των τυριών διαφορές παρατηρήθηκαν μόνο κατά τα πρώτα στάδια της ωρίμασης, ενώ με την πάροδο του χρόνου η περιεκτικότητα σε NaCl έτεινε να είναι ομοιόμορφη και σταθεροποιήθηκε περί την 3η εβδομάδα. Αυτό σημειώνεται και από άλλους ερευνητές (Tukan and Humeid 1991, Pappas et al. 1996b).

4. Επίδραση των συνδυασμών οξυγαλακτικών καλλιεργειών στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του τυριού Φέτα

Τα τυριά (F3, F4, F5, F6 και F7), που παρασκευάστηκαν με τη χρήση αποκλειστικά μεσόφιλων οξυγαλακτικών καλλιεργειών ή με συνδυασμό τους και με τα δύο θερμόφιλα είδη (*Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* / *Str. thermophilus*) που χρησιμοποιούνται παραδοσιακά στη ζύμωση του τυριού Φέτα, απέσπασαν σημαντικά υψηλότερη βαθμολογία ως προς το άρωμα και τη γεύση σε σχέση με το συνδυασμό F8 (παραδοσιακή θερμόφιλη καλλιέργεια). Τα μεσόφιλα οξυγαλακτικά στελέχη, μόνα ή σε συνδυασμό με θερμόφιλα στελέχη, έδωσαν τυριά με καλύτερα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Η συνεκτικότητα όλων των τυριών ήταν πολύ καλή, αλλά στην ολική αποδοχή βαθμολογήθηκε με τον υψηλότερο βαθμό το τυρί του συνδυασμού F3 που περιείχε *Lb. plantarum* / *Lc. lactis* subsp. *lactis*. Πολύ καλή βαθμολογία, όμως, απέσπασαν και τα τυριά των άλλων συνδυασμών. (Πίνακας 6). Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι η χρήση του ετεροζυμωτικού στελέχους *Lb. brevis* στους συνδυασμούς F2, F4 και F7

have been also made by other researchers (Manolkidis et al. 1970a, Alichanidis et al. 1981, Vafopoulou et al. 1989, Pappas et al. 1994, Tzanetakis et al. 1995).

The fat content value of the dry matter at the 1st day ranged between 47.54 and 50.17% and after 60 d of ripening it ranged between 44.28 and 48.07%, without noticeable changes thereafter. The 1st day carbohydrate (lactose) content (4.42%) dropped to ca. 1.80% at 60 d of ripening and to 1.28-1.67% at 120 d of storage, due to their release in the whey and the fermentation of lactose by LAB.

The total protein nitrogen was decreasing during ripening. Meanwhile, the value of the soluble (in 12% TCA) nitrogen was increasing. The absorbance values of filtrate in 12% TCA increased significantly during ripening, indicating an increase in the concentration of small and medium sized peptides and amino acids. This increase is considerable, given the fact that several small peptides and amino acids are released in the brine (Polychroniadou and Vlachos, 1979). The increase in soluble nitrogen was mostly pronounced until the 30th day of ripening (Table 5), a fact that is in accordance with the findings of Katsiari and Voutsinas (1994). The increase in the amino acid concentration between d 30 and 60 of ripening has been associated with the development of the characteristic aroma of Teleme cheese (Polychroniadou and Vlachos, 1979) and is mainly attributed to the action of proteolytic enzymes of LAB that are active at low pH (Manolkidis et al. 1970b, Tzanetakis et al. 1995). Similar observations regarding the increase in the 12% TCA soluble nitrogen have been made by other researchers (Litopoulou-Tzanetaki et al. 1993, Papas et al. 1996a).

The ADV value of cheeses kept increasing during ripening and storage, but no signs of rancidity were detectable even up to the 120th day. Batches F3 and F5, that contained the species *Lb. plantarum* (strain L28) and *Lb. paracasei* subsp. *paracasei* (strain L9), showed the highest, while batches F7 and F8 showed the lowest degree of lypolysis (Table 3). The observed ADV values in cheeses with starter combinations F3, F4 and F5 were higher than those previously reported by other researchers (Katsiari and Voutsinas 1994, Pappas et al. 1996a). However, no rancid taste was noted even in cheese batches with ADV values higher than 3, a value that has been reported to be the limit beyond which rancidity appears in Cheddar cheese (Deeth and Fitz-Gerald 1976).

Finally, with respect to salt content, there were some differences among batches only during early ripening, but by the 3rd week of ripening the salt content was stabilized, an observation that has been also made

δεν είχε ως αποτέλεσμα την παραγωγή ανεπιθύμητων ποσοτήτων αερίου (CO_2) και συνεπώς το στέλεχος αυτό μπορεί να χρησιμοποιηθεί στην παραγωγή Φέτας. Άλλωστε έχει απομονωθεί σε μεγάλους πληθυσμούς από ώριμο τυρί Φέτα και από τους Tzanetakis and Litopoulou-Tzanetaki (1992).

Ε. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Από την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων της έρευνας αυτής μπορούμε να συμπεράνουμε τα ακόλουθα:

1. Κατά την ωρίμαση του τυριού Φέτα ο πληθυσμός οξυγαλακτικών βακτηρίων διατηρείται σε υψηλά επίπεδα (10^7-10^8 cfu/g) τουλάχιστον μέχρι και 120 μέρες μετά την τυροκόμηση.

2. Η πορεία των άλλων μικροβιακών ομάδων, με εξαίρεση τις ζύμες, είναι γενικά πτωτική με την πρόοδο των ωρίμασης. Ο τύπος της οξυγαλακτικής καλλιέργειας δεν φαίνεται να επηρεάζει σημαντικά το ρυθμό μείωσης του πληθυσμού των μικροβιακών αυτών ομάδων.

3. Η πειραματική παραγωγή τυριού Φέτα, με χρήση αποκλειστικά μεσόφιλων οξυγαλακτικών καλλιεργειών ή σε συνδυασμό με τη θερμόφιλη καλλιέργεια που χρησιμοποιείται παραδοσιακά (*Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* / *Str. thermophilus*), έδωσε τυρί Φέτα με καλύτερα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά απ' ότι η χρήση μόνο θερμόφιλης καλλιέργειας.

4. Ο συνδυασμός των μεσόφιλων στελεχών *Lb. plantarum* και *Lc. lactis* subsp. *lactis*, τόσο ως ζεύγος όσο και σε συνδυασμό με τα θερμόφιλα στελέχη *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* / *Str. thermophilus*, έδωσε τα καλύτερα αποτελέσματα ως προς τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά.

5. Τα μεσόφιλα οξυγαλακτικά στελέχη και ιδιαίτερα τα είδη *Lb. plantarum*, *Lc. lactis* subsp. *lactis*, *Lb. brevis*, *Lb. paracasei* subsp. *paracasei*, τα οποία σήμερα δεν χρησιμοποιούνται στην τεχνολογία παραγωγής Φέτας, παρότι στην πραγματικότητα υπεισέρχονται σε σημαντικό βαθμό στη ζύμωση του τυριού ως αυτόχθονη οξυγαλακτική χλωρίδα, θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως οξυγαλακτική καλλιέργεια για τη γρήγορη πτώση του pH κατά την αρχική ωρίμαση της Φέτας στους 15-18°C.

6. Η χρήση μεσόφιλων οξυγαλακτικών βακτηρίων στην παρασκευή της Φέτας προκαλεί πτώση του pH στα επιθυμητά επίπεδα (4.5-4,6) εντός 3-4 ημερών, με συνέπεια να μειώνεται ο κίνδυνος ανάπτυξης μικροοργανισμών που θα μπορούσαν να προκαλέσουν αλλοιώσεις στο τυρί ή κίνδυνο για τη Δημόσια Υγεία. Ακόμα δίνεται η δυνατότητα για γρήγορη μεταφορά των τυριών στο ψυγείο, μειώνοντας τις απαιτήσεις ως προς το χώρο ωρίμασης στο τυροκομείο.

previously by others (Tukan and Humeid 1991, Pappas et al. 1996b).

4. Effect of starter culture combination on the organoleptic properties of Feta cheese

Cheese batches prepared using only mesophilic starter cultures or those prepared using mixtures of mesophilic and thermophilic strains (F3, F4, F5, F6 and F7), received a significantly higher score for aroma and taste compared to batch F8 (*Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Str. thermophilus*). Mesophilic starters, alone or in combination with the thermophiles, resulted in cheese of better body and texture, but among them, combination F3, containing *Lb. plantarum* and *Lc. lactis* subsp. *lactis,* received the highest average score in overall acceptance. However, with respect to overall acceptance, the other cheeses were also characterized as good or satisfactory (Table 6). It is of interest to mention that the use of the heterofermentative mesophilic strain of *Lb. brevis* in LAB combinations F2, F4 and F7 did not result in excess gas (CO_2) formation and we believe that this strain can be used for Feta cheese production. Besides, it has been isolated in high numbers from ripened Feta cheese by Tzanetakis and Litopoulou–Tzanetaki (1992).

E. CONCLUSIONS

Based on the results obtained from this study, the following conclusions may be drawn:

1. During ripening of Feta cheese, the populations of starter bacteria remain high (10^7-10^8cfu/g), even after 120 d of cheesemaking.

2. In general, with the exception of yeasts, the numbers of other bacteria present in the beginning of cheesemaking decline during ripening, irrespective of the combination of starter bacteria used.

3. The use of mesophilic starter strains, alone or in mixtures with the thermophilic strains *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Str. thermophilus* (starter culture traditionally used in Feta cheese production), resulted in the production of Feta cheese with better organoleptic properties compared to that produced, using only the thermophilic strains.

4. Judging from the organoleptic properties of the produced cheeses, the mesophilic starter combination of *Lb. plantarum* with *Lc. lactis* subsp. *lactis* alone or in mixture with the thermophilic strains (*Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*/*Str. thermophilus*) yielded the best results.

5. Mesophilic LAB and especially *Lb. plantarum*, *Lc. lactis* subsp. *lactis*, *Lb. brevis* and *Lb. paracasei* subsp. *paracasei*, are not traditionally used in the technology of

Το τυρί Φέτα αποτελεί παραδοσιακό προϊόν της χώρας μας και παρά την κατοχύρωσή του στα πλαίσια της Ε.Ε. ως προϊόν Π.Ο.Π. πρέπει να προσεχθεί περαιτέρω και να βελτιωθεί ποιοτικά. Πιστεύουμε ότι η χρήση επιλεγμένων και τυποποιημένων μεσόφιλων οξυγαλακτικών στελεχών στη ζύμωση της Φέτας μπορεί να έχει θετική συμβολή στην ποιότητα και την ασφάλειά της, χωρίς αυτό να αλλοιώνει το χαρακτηρισμό της ως προϊόν Π.Ο.Π. ❑

Feta cheese production, even though they are largely involved in Feta cheese ripening as an autochthonous LAB flora. These strains could be used as starters to ensure timely drop of pH during the early stages of ripening of Feta cheese at 15-18°C.

6. Due to the fast drop in the pH (to ca. 4.5-4.6 within 3-4 d), during the early stages of Feta cheese ripening, the use of mesophilic LAB creates an inhibitory environment for the spoilage and pathogenic microorganisms. Since cheeses can be transferred within 3-4 d in the refrigerator for completion of ripening, cheese ripening spatial requirements are reduced.

Feta cheese is a traditional Greek product and although listed as a PDO product (E.U. Regulation 1829/2002), its quality improvement and microbiological safety constitute areas of ongoing research. We propose that standardized strains of mesophilic lactococci and lactobacilli can be used for the production of Feta cheese, keeping in mind that such an addition does not interfere with the traditional character of the product. ❑

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ - REFERENCES

Alichanidis E, Polychroniadou A, Vafopoulou N (1981). Teleme cheese from deep-frozen curd. J. Dairy Sci. 64:732-739.

Anifantakis EM (1991a). Traditional Feta cheese. In: Feta and Related Cheese, eds. R. K. Robinson and A.Y. Tamine. Ellis Horwood limited, England, p. 49-69.

Anifantakis EM (1991b). Greek Cheeses a tradition of centuries, National Dairy Committee of Greece.

APHA (1992). Standard Methods for the Examination of Dairy Products 16th ed., American Public Health Association, Washington.

Cogan TM, Barbosa M, Beuvier E, Bianchisalvadori B, Cocconcelli PS, Fernandes I, Gomez J, Gomez R, Kalantzopoulos G, Ledda A, Medina M, Rea MC, Rodriquez E (1997). Characterization of the Lactic-Acid Bacteria in artisanal dairy-products. J. Dairy Res. 64:409-421.

Commission Regulation (EC) 1829/2002 of October 14 2002 amending the Annex to Regulation (EC) No 1107/96 with regard to the name "Feta".

Deeth HS, Fitz-Gerald CH (1976). Lipolysis in dairy products: A Review. Austr. J. Dairy Technol. 31:53-64.

Food and Beverage Code (F.B.C.) (1998). National Press, Athens (in Greek).

Giannakopoulos AL (1996). Analysis of data from biological experiments. Modern Education Publishing company, Thessaloniki (in Greek).

IDF (1988). Yogurt. Enumeration of characteristic microorganisms. Colony count technique at 37°C. Standard No 117A, International Dairy Federation, Brussels, Belgium.

IDF (1991). Butter, fermented milk and fresh cheese. Enumeration of contaminating microorganisms. Colony count technique at 30°C. Standard No 153, International Dairy Federation, Brussels, Belgium.

IDF (1991a). Milk. Enumeration of psychrotrophic microorganisms (colony count technique at 6.5°C). Standard No 101A, International Dairy Federation, Brussels, Belgium.

IDF (1996). Milk and milk products. Preparation of samples and dilutions for microbiological examination. Standard No 122, International Dairy Federation, Brussels, Belgium.

IDF (1997). Milk and milk based products. Enumeration of coagulate positive staphylococci. Colony count technique. Standard No 145A, International Dairy Federation, Brussels, Belgium.

IDF (1998). Milk and milked based products. Enumeration of Coliforms. Part 1. Colony count technique at 30°C without resuscitation. Part 2. Most Probable Number technique at 30°C without resuscitation. Standard No 73B, International Dairy Federation, Brussels, Belgium.

Issanchou S, Schlich P, Lesschaeve I (1997). Sensory analysis methodological aspects relevant to the study of cheese. Lait 77:5-12.

Jellinek G (1985). Sensory evaluation of food. Theory and practice, Ellis Horwood Ltd., England and VCH Verlagsgesellchaft mbH, Germany.

Kaminarides SE, Laskos NS (1992). Yeasts in factory brine of Feta cheese. Austr. J. Dairy Technol. 47:68-71.

Karageorgis SB, Papageorgiou DK, Fletouris DI, Mantis AI, Georgakis SA (2006). Isolation, identification and selection of mesophilic lactic acid bacteria from ripened traditional white brined cheese. Greek J. of Dairy Sci. and Technol., (accepted) (in Greek)

Karaioannoglou P, Koidis P, Papageorgiou D, Mantis A (1985). Survival of *Yersinia enterocolitica* during the manufacture and storage of Feta cheese. Milchwissenschaft 40:204-206.

Katos AB (1986). Biostatistics. Paratiritis publishing company, Thessaloniki (in Greek).

Katsiari MC, Voutsinas LP, (1994). Manufacture of low-fat Feta

cheese. Food Chem. 49:53-60.

Law BA, Castanon M, Shappe E (1976). The effect of non-starter bacteria on chemical composition and flavour of Cheddar cheese. J. Dairy Res. 43:117-125.

Litopoulou-Tzanetaki E, Tzanetakis N (1992). Microbiological study of white-brined cheese made from raw goat milk. Food Microbiol. 9:13-19.

Litopoulou-Tzanetaki E, Tzanetakis N, Vafopoulou-Mastrojiannaki A (1993). Effect of the type of lactic starter on microbiological chemical and sensory characteristics of Feta cheese. Food Microbiol. 10:31-41.

Lucey JA, Fox PF (1993). Importance of calcium and phosphate in cheese manufacture - A review. J. Dairy Sci. 76:1714-1724.

Mallatou H, Pappas CP, Voutsinas LP (1994). Manufacture of Feta cheese from sheep's milk, goat's milk or mixtures of these milks. Int. Dairy J. 4:641-664.

Manolkidis C, Polychroniadou A, Alichanidis E (1970a). Variation dans la composition du fromage Teleme au cours de sa maturation. Lait 50:38-48.

Manolkidis C, Polychroniadou A, Alichanidis E (1970b). Study of proteolysis during ripening of Teleme cheese. Lait 50:128-135.

Mantis AJ (1973). Production of staphylococcal enterotoxins in white-brined cheese feta. Docent-Doctoral Thesis. School of Vet. Med. Univ. Thessaloniki. (in Greek).

Mantis AJ (2000). Hygiene and technology on milk and milk products. Kyriakides brothers publishing company, Thessaloniki (in Greek).

Mantis AJ, Karaioannoglou P (1999). Laboratory Food Microbiology, 2nd ed., Thessaloniki (in Greek).

Melas DS, Papageorgiou DK, Abrahim A, Mantis A (2001). Survival of *Aeromonas hydrophila* during the manufacture and ripening of Feta cheese. Milchwissenshaft. 56: 257-261.

Panetsos A, Georgakis SA, Mantis AJ, Karaioannoglou P (1971). Survival of *Brucella melitensis* in experimentally contaminated Feta cheese. Proceedings, 4th National Symposium of Microbiology, Athens, pp. 171-179 (in Greek).

Papageorgiou DK, Abrahim A, Bori M, Doudounakis S (1998). Chemical and bacteriological characteristics of Pichtogalo Chanion cheese and mesophilic starter cultures for its production. J. Food Prot. 61:688-692.

Papageorgiou DK, Marth EH (1989). Fate of *Listeria monocytogenes* during the manufacture, ripening and storage of Feta cheese. J. Food Protect. 52:82-87.

Papageorgiou DK (2004). Application of Hazard Analysis Critical Control Points (HACCP) in the production line of Feta cheese. Proceedings, 3rd Hellenic Symposium on food hygiene and food technology, Athens. Vol. B, pp. 32-39 (in Greek).

Pappas CP, Kondyli E, Voutsinas LP, Mallatou H (1994). Effect of standardization of ewe's milk for casein/fat ration on the composition, sensory and rheological properties of Feta cheese. Int. Dairy J. 4:763-778.

Pappas CP, Kondyli E, Voutsinas LP, Mallatou H (1996a). Effects of starter level, draining time and aging on the physicochemical, organoleptic and rheological properties of Feta cheese. J. Soc. Dairy Technol. 49:73-78.

Pappas CP, Kondyli E, Voutsinas LP, Mallatou H (1996b). Effects of salting method and storage time on composition and quality of Feta cheese. J. Soc. Dairy Technol. 49:113-118.

Peterson SD, Marshall RT (1990). Non-starter Lactobacilli in Cheddar cheese: A review. J. Dairy Sci. 73:1395-1410.

Polychroniadou A, Vlachos J (1979). The free amino acids of Teleme cheese. Lait 59:234-243.

Scott R (1986). Cheesemaking practice, second ed. Elsevier Appl. Sci. publ.

Spinnler HE, Corrieu G (1989). Automatic method to quantify starter activity based on pH measurement. J. Dairy Res. 56:755-764.

Tukan SK, Humeid MA (1991). Salt and moisture relationships in brined cheese. Austr. J. Dairy Technol. 46:85-87.

Tzanetakis N, Litopoulou-Tzanetaki E (1988). Lactic acid bacteria in raw goat milk and some of their biochemical properties. Microbiol. Aliments Nutr. 7:73-80.

Tzanetakis N, Litopoulou-Tzanetaki E (1992). Changes in numbers and kinds of Lactic-Acid Bacteria in Feta and Teleme. 2 Greek cheeses from ewes milk. J. Dairy Sci. 75:1389-1393.

Tzanetakis N, Vafopoulou-Mastrojiannaki A, Litopoulou-Tzanetaki E (1995). The quality of white-brined cheese from goats milk made with different starters. Food Microbiol. 12:55-63.

Vafopoulou A, Zerfiridis G, Alichanidis E (1989). Accelerated ripening of Feta cheese, with heat-shocked cultures or microbial proteinases. J. Dairy Res. 56:285-296.

Vakaleris DG, Price WV (1959). A rapid spectrophotometric method for measuring cheese ripening. J. Dairy Sci. 42:264-276.

Vivier D, Rivemale M, Reverbel JP, Ratomahenina R, Galzy P (1994). Study of the growth of yeasts from feta cheese. Int. J. Food Microbiol. 22:207-215.

Westall S, Filtenborg O (1998). Yeast occurrence in Danish Feta cheese. Food Microbiol. 15:215-222.

Yanai Y, Rosen B, Pinoky A, Sklan D (1977). The microbiology of pickled cheese during manufacture and maturation. J. Dairy Res. 44:149-153.

Zourari A, Desmazeaud MJ (1991). Characterization of Lactic Acid Bacteria isolated from Greek yogurts. 2. Strains of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and mixed cultures with *Streptococcus salivarius* subsp *thermophilus*. Lait 71:463-482.

Zourari A, Roger S, Chabanet C, Desmazeaud MJ (1991). Characterization of Lactic Acid Bacteria isolated from Greek yogurts. 1. *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* strains. Lait 71:445-461.