

Afdeling Zuivel

1983-05-10

RAPPORT 83.39

Pr.nr. 404.6100

Onderwerp: Voorstel onderzoek ter be-
paling van de rijpheid van
kaas.

Verzendlijst: directeur, sektorhoofd (2x), direktie VKA, afd. Zuivel
(4x), afd. Normalisatie (Humme), Projektadministratie,
Projektleider (Oortwijn), Elenbaas, Haasnoot

Afdeling Zuivel

1983-05-10

RAPPORT 83.39

Pr.nr. 404.6100

Projekt: Onderzoek naar de kwaliteit van melk- en zuivelprodukten

Onderwerp: Voorstel onderzoek ter bepaling van de rijpheid van kaas

Doel:

Het vinden van geschikte analysemethoden om de rijpheid van kaas te beoordelen.

Samenvatting:

Van oudsher wordt de rijping van kaas beoordeeld door kaaskeurders. Zo kan een door zijn bewaartijd belegen genoemde kaas, door zijn organoleptische eigenschappen als te jong gekwalificeerd worden. Er bestaat behoefte aan een chemische vaststelling van de rijpingsgraad. Nagegaan zal worden welke mogelijkheden hiervoor zijn. Tevens wordt een onderzoekplan gegeven.

Conclusie:

Het onderzoek zal geconcentreerd worden op eiwitsplitsing. Het zal waarschijnlijk niet mogelijk zijn met één techniek te volstaan om de gehele rijping te volgen.

Verantwoordelijk: ir H. Oortwijn

Medewerker/Samensteller: mw D. Venema

Projektleider: ir H. Oortwijn

De eiwit- en vetsplitsende systemen:

Tijdens de rijping van de kaas worden de verschillende componenten via allerlei reacties afgebroken, voornamelijk door enzymen (1,2). Deze enzymen kunnen afkomstig zijn uit:

- a) De bacterieflora van de rauwe melk: Bij pasteurisatie worden de bacteriën gedood, maar sommige enzymen, vooral de lipases, zijn voldoende hitteresistent (3,4,5,8).
- b) Ingesloten stremsel: Stremsel is verantwoordelijk voor de primaire afbraak van α_{s1} en β caseïne tot grote en kleinere peptiden. Stremselenzymen vormen nauwelijks vrije aminozuren en vertonen geen vetsplitsende activiteit (6,7,9).
- c) Zuurselbacteriën: de eiwitsplitsende enzymen kunnen vooral de brokstukken gevormd door de stremselenzymen verder afbreken tot kleinere peptiden en aminozuren (6,10). De vetsplitsende enzymen van de zuursels kunnen mono- en diglyceriden hydrolyseren, maar slechts zeer beperkt de triglyceriden (4,9). Het aandeel van de triglyceriden is dus afhankelijk van de voorbesmetting van de melk. Immers de hitteresistente lipases, die wel gemakkelijk triglyceriden splitsen, moeten zorgen voor een geschikt substraat voor de zuursellipases.
- d) Bij rauwmelkse kaas (boerenkaas) speelt de bacterieflora van de melk een grotere rol bij de rijping. Het melklipase is niet geïnactiveerd, zodat deze kaas wat sneller rijpt dan kaas gemaakt uit gepasteuriseerde melk (6).

Bij een normaal gerijpte kaas zijn alle rijpingsprodukten met elkaar in evenwicht waarbij de vluchtige stoffen (carbonylverbindingen, vluchtige vetzuren, zwavelverbindingen) vooral de kwaliteit en de wateroplosbare stoffen (peptiden, aminozuren) de intensiteit bepalen (11,12). De hier genoemde "kwaliteit" zal per kaas te veel variëren om als maat te dienen van de rijpingsgraad. De concentratie aan "intensiteit" bepalende afbraakprodukten lijkt een per kaassoort geschiktere maatstaf voor de vaststelling van de rijpingsgraad.

In tegenstelling tot smaakafwijkingen, die vaak teruggevoerd kunnen worden op één of enkele opgehoopte verbindingen, komt bij een normale kaasrijping een grote verscheidenheid aan afbraakprodukten vrij.

Naarmate de rijping voortgaat worden de molekulgewichten van die produkten steeds kleiner (caseïne - kleinere eiwitten - peptiden - aminozuren - verdere afbraakprodukten).

De meest gebruikte analysemethoden zijn, bij gebrek aan specifieke verbindingen, gericht op het bepalen van het totaalgehalte van een groep verbindingen.

Bepaling van de eiwitafbraak:

Om de eiwitafbraak te volgen zijn de volgende methodes uit de literatuur bekend:

1. Gel-elektroforese: geeft een beeld van de primaire afbraak van de caseïnes. De hoeveelheid α_{s1} en β caseïne kan vergeleken worden met het oorspronkelijke gehalte (13). Visser (1977) (6) heeft onderzoek gedaan aan aseptische Goudse kaas van verschillende leeftijden en bereid met verschillende zuursels. De methode lijkt het meest geschikt voor jonge en belegen kaas (14).
2. Oplosbaar stikstof: er bestaan verschillende modificaties:
O'Keefe (9): waterextract aanzuren tot pH 4,6.
Gripon (15): 0,5 m citraatextract aanzuren tot pH 4,6.
Noomen (16): extract in 0,55% Ca en 4% NaCl bij pH 7,5.
In deze extrakten wordt het gehalte N bepaald volgens Kjeldahl (NEN 3198). De drie methodes geven een vergelijkbaar gel-filtratiepatroon (6) waarbij de methode Gripon wat kleinere hoeveelheden vindt dan de andere twee methodes. Bij elektroforese van deze extrakten, zijn enkele banden zichtbaar aan het begin van het gel en een zware band aan het loopfront (14). De methode lijkt het meest geschikt voor jonge en belegen kaas (14).
3. TCA en ethanolextrakten: Er bestaan methodes die uitgaan van 2%, 2,5%, 5%, 10% en 12% TCA en van 70% ethanol. In deze extrakten wordt dan weer het oplosbare stikstof bepaald volgens Kjeldahl. De extrakten bevatten een mengsel van peptides en aminozuren. Op een elektroforesegeel geven deze extrakten geen banden te zien (14). Deze methodes zijn meer geschikt voor belegen en oude kaas (14).
4. Fosforwolframaamzuur- en pikrinezuurextrakten: In het fosforwolframaamzuurextract kan het gehalte stikstof zowel volgens Kjeldahl als fotometrisch bepaald worden (17). Daar pikrinezuur stikstof bevat moet het eerst verwijderd worden.
Deze extrakten bevatten voornamelijk aminozuren en daarnaast nog enige kleinere peptiden. De methodes zijn vooral geschikt voor oude kaas (14).

Aminozuren kunnen op hun beurt weer verder afgebroken worden. In Cheddar kaas lijkt de concentratie methaanthiol (CH_3SH) toe te nemen met de smaakintensiteit (18). Bij analyse van een aantal verschillende kaassoorten vindt Manning (1979) (19) in een Goudse kaas echter een laag gehalte.

Elk van de hiervoor genoemde extrakten kan weer aan een verdere scheidingstechniek onderworpen worden:

1. Sephadex G 25, G 50 of LH 20: geeft vrij weinig extra informatie (6,16).
2. Aminozuursamenstelling: naarmate de rijping voortgaat neemt het totaal gehalte vrij aminozuur toe, maar de samenstelling verandert vrij weinig (2).
3. HPLC: een nieuwe mogelijkheid om de peptidesamenstelling te bepalen.

Voorgestelde onderzoekopzet:

- A. Oriënterende fase: een beperkt aantal kazen van uiteenlopende leeftijden (bijvoorbeeld van elke leeftijdsklasse 1 à 2) onderzoeken met behulp van de genoemde extraktiemethoden. Dit deel van het onderzoek kan afgesloten worden met een verslag met de resultaten en een discussie over de voor- en nadelen van iedere methode waarna een definitieve keuze gemaakt wordt ($\pm$ 25 mandagen).
- B. Inventarisatie: om een goede indruk te krijgen van de Nederlandse kaas zoals die op de markt is, zal een groot aantal kazen geanalyseerd moeten worden (bijvoorbeeld 100 kazen), liefst met een sensorische beoordeling ($\pm$ 70 mandagen).

Literatuur:

1. B.A. Law, Dairy Science Abstr. 1981, 43, 143-154: The formation of aroma and flavour compounds in fermented dairy products.
2. J.W. Aston, J.R. Dulley, Austr. J. of Dairy Technol. (1982) 37, 59-64: Cheddar cheese flavour.
3. J. Stadhouders, H. Mulder, Neth. Milk Dairy J. 14 (1960) 141-147: Fat hydrolysis and cheese flavour IV. Fat hydrolysis in cheese from pasteurized milk.

5. B. Reiter, T.F. Fryer, A. Pickering, H.R. Chapman, R.C. Lawrence, M.E. Sharpe, J. of Dairy Res. (1967) 34, 257-272: The effect of the microbiol flora on the flavour and free fatty acid composition in Cheddar cheese.
6. F.M.W. Visser, Proefschrift LH Wageningen(1977): Contribution of enzymes from rennet, starterbacteria and milk to proteolysis and flavour development in Gouda cheese.
7. J. Stadhouders, H. Mulder, Neth. Milk Dairy J. (1957) 11, 164-183: Fat hydrolysis and cheese flavour I. The enzymes responsible for the hydrolysis of fat in cheese.
8. B.A. Law, M.E. Sharpe, H.R. Chapman, J. Dairy Res. (1976) 43, 459-468: The effect of lipolytic Gram-negative psychrotrophs in stored milk on the development of rancidity in Cheddar cheese.
9. R.O. O'Keefe, P.F. Fox, C. Daly (1976), J. Dairy Res. 43, 97-107: Contribution of rennet and starter proteases to proteolysis in Cheddar cheese.
10. B.A. Law, M.E. Sharpe, B. Reiter (1974). J. Dairy Res. 41 137-141: The release of intracellular dipeptidase from starter Streptococci during Cheddar cheese ripening.
11. W.A. McGugan, D.B. Emmons, E. Larmond (1979). J. Dairy Science 62 398-403: Influence of volatile and nonvolatile fractions of intensity of Cheddar cheese flavour.
12. H. Mulder (1952). Neth. Milk Dairy J. 6, 157-168: Taste and flavour forming substances in cheese.
13. L. de Jong (1975). Neth. Milk Dairy J. 29, 162-168: A quantitative electroforetic method of studying cheese ripening.
14. W.J. Reville, P.F. Fox, Irish J. Fd. Sci. Technol. 2, 67-76 (1978): Soluble protein in Cheddar cheese: a comparison of analytical methods.
15. J.C. Gripon, M.J. Desmazeaud, D. Le Bars, J.L. Bergère, Lait, 548 (1975) 502: Etude du rôle des micro-organismes et des enzymes au cours de la maturation des fromages II Influence de la presure commerciale.
16. A. Noomen, Neth. Milk Dairy J. 31 (1977) 75-102: Noordhollandse Meshanger Cheese, a model for research on ripening 2. The ripening of the cheese.

17. W.D. Jarrett, J.W. Aston, J.R. Dulley, Austr. J. of Dairy Technol. (1982) 37 55-58. A simple method for estimating free aminoacids in Cheddar cheese.
18. D.J. Manning, R. Chapman, Z.D. Hosking, J. of Dairy Res. (1976) 43, 313-320: The production of sulphur compounds in Cheddar cheese and their significance in flavour development.
19. D.J. Manning, C. Moore, J. Dairy Res. (1979) 46, 539-545: Headspace analysis of hard cheeses.