

Másodlagos proteolitikus jellemzők alkalmazása hazai félkemény sajtok minősítésére, érettségi állapotának jellemzésére

*Baráné Herczegh Ottilia, Horváthné Almássy Katalin és
Örsi Ferenc**

Szegedi Tudományegyetem Élelmiszeripari Főiskolai Kar,
Élelmiszertudományi Tanszék

*Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Vegyészmérnöki Kar,
Biokémiai és Élelmiszertechnológiai Tanszék

Érkezett: 2001. június 20.

A sajtgyártás egy élelmiszertartósítási forma, mely a tej értékes tápanyagait szelektíven koncentrálna. A legtöbb sajtféleségnél a sajtgyártást két jól definiált szakaszra lehet osztani: a sajttészta készítésre és az azt követő érlelésre. A sajt minősége, a sajt jellegzetes tulajdonságainak kialakulása szempontjából a sajterés alatt lejátszódó biokémiai, kémiai és az állomány-tulajdonságokban bekövetkező változásoknak jelentős szerepe van. Az érést az oltóenzim, továbbá a pasztörözést túlélő tej eredetű enzimek és az adagolt szintenyészetek által termelt enzimek irányítják (1). A termékminőség leírása, meghatározása minőségi jellemzők segítségével történik. A sajt minősítésében a beltartalmi összetétel, a táplálkozástani szempontból értékes komponensek meghatározása mellett az érzékszervi minősítésnek döntő szerepe van. Jelentőséggel bírnak olyan analitikai módszerekkel meghatározott minőségi jellemzők, melyek kiegészítő információt adnak a sajtminősítésben (2).

A legtöbb kemény és félkemény sajtnál a proteolízis az érettség legáltalánosabban használt jellemzője. Rank Grappin és Olson (3) a proteolízist két szakaszra osztották, „elsődleges proteolízisre” mely alatt a kazein frakciók és peptidek változását értették, valamint a „másodlagos proteolízisre”, melyet azokkal a fehérjeeredetű nirogéntartalmú termékekkel jellemeztek, melyek a sajt vízdoldható frakciójában találhatóak. A másodlagos proteolízis érési indexként való alkalmazása magába foglalja a sajt nitogéntartalmú vegyületeinek (peptidek, fehérjék, aminosavak) elválasztását, mennyiségi meghatározását és jellemzését.

A vízdoldható frakcióban a szabad aminocsoportok meghatározhatók trinitro-benzolszulfonsav (TNBS) reagenssel. A fotometriás módszer egyik továbbfejlesztett változata Polychroniadou eljárása (4). A TNBS a primer amino csoportokkal lúgos körülmények között szulfid ionok jelenlétében sárga színű, N-trinitro-fenilszármazék képződése közben reagál. A

vizsgálati körülmények között az N-trinitro-fenilszármazék a szulfit ionokkal komplexet képez, az oldat $\lambda = 420$ nm-en meghatározott abszorbanciája jellemző a proteolízisre.

Célul tűztük ki hazai félkemény sajtok (Trappista és Hajdú sajt) másodlagos fehérjebomlással keletkező, proteolitikus jellemzőinek kiválasztását a szabad aminocsoportok Polychroniadou szerinti (4) meghatározása (trinitro-benzolszulfonsavas módszer) és a vízdoldható frakció gélkromatográfiás analízise (HPSEC) alapján abból a célból, hogy összefüggést keressünk a sajtok kora, érettségi állapota és a proteolitikus jellemzők értékeinek változása között. A sajtok minősítését a beltartalmi összetétel alapján, a termékszabvány szerinti pontozásos érzékszervi eljárással és az érettségi állapot jellemzésére különösen alkalmas általunk kidolgozott érzékszervi módszerrel (5) végeztük el.

Vizsgálati anyagok

A vizsgált minták kiválasztásánál szempontunk a sajt érési ideje, valamint a sajtípus kedveltsége és elterjedtsége volt. Ezért egy hosszabb érlelési idejű kemény sajtot, a tehéntejből készült kashkavál sajtípust, a Hajdú sajtot és az egyik legnépszerűbb hazai félkemény sajtípust, a Trappista sajtot választottuk.

Trappista sajt

Vizsgálatainkhoz a Trappista mintákat érlelő burkolatként is szolgáló hőre zsugorodó ötrétegű mélyhűzött poliamid-polietilén fóliába csomagolva a Tolnatej Rt. Szekszárdi Sajtüzeme bocsátott rendelkezésünkre. A nyers, korong alakú egész sajtminék kb. 1 kg-os kiserelésben érkeztek. A mintákat klímasekrényben a vizsgálóhelyen érleltük és tároltuk a gyári paraméterek szerint 7 °C-on, bár a szakirodalom 13-15 °C-os érlelési hőmérsékletet javasol a Trappista és 10 °C-os érlelési hőmérsékletet a Hajdú sajt esetén. Az érés és a minőségmegőrzési időtartam alatt bekövetkező változások követése céljából alkalmanként egy-egy mintát vizsgáltunk. A vizsgált minták kora az érlelési szakaszban: 3, 7, 14, 21 nap, a minőségmegőrzési időtartam alatt pedig: 28, 42, 56, 70 nap volt. Így az összes mintaszám 5 gyártásból származó 40 mintát tett ki.

Hajdú sajt

A Hajdú sajt mintákat érlelő burkolatként is szolgáló BK 1L/NE UT típusú Cryovac gyártmányú zsugorfóliába csomagolva a Hajdútej Rt. Hajdúböszörményi Sajtüzeme bocsátotta rendelkezésünkre. A nyers, félkorong alakú sajtminék kb. 0,5 kg-os kiserelésben érkeztek. A

mintákat klímaszekrényben a vizsgálóhelyen érleltük a gyári paramétereknek megfelelően 8 °C fokon 31 napig. A változások követésére a 6., a 10., a 17., a 24. és 31. napon vett mintát vizsgáltuk. Ezután a mintákat továbbra is 8 °C hőmérsékleten tároltuk, és a 38., a 45., az 52., az 59., és 66. napon vett minták vizsgálata alapján következtettünk a bekövetkező változásokra. A vizsgálatokhoz 5 gyártásból származó 50 mintát használtunk fel.

Vizsgálati módszerek

Sajtok vizsgálata

Beltartalmi összetétel-meghatározás

A minták beltartalmi jellemzői közül a nedvesség-, a zsír- és a sótartalom meghatározását a magyar szabvány előírásai szerint (6, 7, 8), valamint a fehérjetartalmat a Tecator módszer szerint (9) végeztük el. A beltartalmi összetételt gyártásonként egy-egy mintából (28 napos Trappista és 31 napos Hajdú sajt) határoztuk meg.

Érzékszervi minősítés

A minták érzékszervi tulajdonságainak értékelésére egyrészt az érettségre kidolgozott sajt pontrendszer (5) alapján az érlelési és a minőségmegőrzési időtartam alatt, valamint a Trappista és Hajdú sajtra kidolgozott 20 pontos súlyozófaktoros termékszabvány szerint (10, 11) a minőségmegőrzési időtartamon belül (Trappista: 21-70 nap; Hajdú: 38-66 nap) került sor. Az érett minták termékszabvány szerinti pontszámadatait a Trappista sajt esetében az üzem is rendelkezésünkre bocsátotta.

Proteolitikus jellemzők meghatározásának módszerei

Szabad aminocsoportok meghatározása trinitro-benzolszulfonsavval

A sajtok szabad aminocsoportjainak mennyiségét trinitro-benzolszulfonsavval Polychroniadou (4) módszere szerint határoztuk meg. A módszer magában foglalja a vízdoldható frakció kinyerését és az extraktum mennyiségi meghatározását is. A reakciót különböző extraktum mennyiségekkel (eredeti ajánlás és módosított kisebb mennyiség) végeztük el, hogy a teljes időintervallumban a Lambeer-Beer törvény lineáris tartományában mérjünk.

Felhasznált anyagok és eszközök

- Borát-puffer: 0,1 M $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,1 M NaOH-al pH: 9,5-re állítva.
- TNBS reagens: 1 mg/cm³ desztillált vizes oldat.

- Nátrium-szulfid reagens: 1,5 mM Na₂SO₃ 0,1 M NaH₂PO₄-ban oldva.
- Glicin törzsoldat: 2,5 mg/cm³ glicin (0,03 mM/cm³) desztillált vízben oldva.
- Spektrofotométer: PU 8745 ultraibolya/látható tartományban működő spektrofotométer (Pye Unicam).
- Homogenizáló készülék: MPW-120 (Mechanika Precyzyjna, Varsó, Lengyelország).
- Centrifuga: CR 422 (Jouan).

A módszer végrehajtása

Aprítás: mintánként 5,00 g sajt lereszelése, majd homogenizálás: MPW-120-as berendezéssel 100,00 cm³ 0,1 M borát-pufferben (pH: 9,5) 15 percig. Kevertetés, melegítés: 45 °C-on 15 percig. Centrifugálás: 3000 rpm, 20 percig. Vízdoldható frakció elválasztása, extraktum készítés: 6,00 cm³ felülúszóból 100,00 cm³-es törzsoldat készítése desztillált vízzel. Oldat készítése két koncentrációban: 0,50 cm³, ill. 0,70 cm³ borát puffer 1,00 cm³ TNBS-reagens 0,5 cm³, ill. 0,3 cm³ extraktum. Inkubálás: 37 °C-on 60 percig. A reakció leállítása 2 cm³ nátrium-szulfid reagenssel. Fotometráció: abszorbancia mérés $\lambda = 420$ nm-en.

A vízdoldható frakcióból készült extraktum koncentrációját a szabad aminocsoportokkal egyenértékű glicin koncentrációban fejeztük ki. A szabad aminocsoportok mennyiségét az eredeti (0,5 cm³) extraktum mennyiségéből és az általunk módosított (0,3 cm³) extraktum mennyiséggel határoztuk meg.

Kalibrációs vizsgálatok

A kalibrációs mérésekhez a sajt minta helyett glicin törzsoldatból megfelelő mennyiségeket (5,00; 12,50; 25,00 cm³) bemérve, majd borát pufferrel kiegészítve oldatot készítettünk, melyet a sajtextraktum készítésével analóg módon kezeltünk. A vízdoldható frakcióból készült törzsoldatban a glicin koncentrációja 0,1 mM/dm³; 0,25 mM/dm³; 0,5 mM/dm³.

A vak értékek meghatározása

A vak minta összetétele abban különbözött a meghatározandó mintától, hogy az extraktum helyett desztillált vizet adtunk a rendszerhez. Vak oldatot állítottunk össze az eredeti és a módosított receptúra alapján is.

Vízdoldható frakció analízise méretkizárásos kromatográfiával

Vízdoldható frakció kinyerése

A minta előkészítését a méretkizárásos kromatográfiához Kaminogawa (12) módszere szerint végeztük.

Felhasznált anyagok és eszközök

- 0,05 M Nátrium-citrát puffer (pH 4,0)
- Homogenizáló készülék: MPW-120 (Mechanika Precyzyjna, Varsó, Lengyelország)
- Centrifuga: CR 422 (Jouan)
- Liofilizáló: Lyovac GT 2 (Leybold)

Mintaelőkészítés

Aprítás: mintánként 10,00 g sajt. Homogenizálás MPW-120-as berendezéssel 200 cm³ 0,05 M nátrium-citrát pufferben 15 percig (pH: 4,0). Kevertetés, melegítés: 40 °C-on 60 percig. Centrifugálás: 4000 rpm 0 °C-on 30 percig. A zsír és a nem extrahálható fehérje eltávolítása felülúszó pH-értékének beállítása 4,6-ra. Centrifugálás: 7000 rpm 4 °C-on 30 percig. A felülúszó liofilizálása.

Az elválasztás körülményei

A liofilizált mintákból 20 mg/cm³ oldatot készítettünk, oldószerként a nátrium-lauril-szulfát (SDS) tartalmú eluent alkalmazva. A méretkizárásos kromatográfiát VARIAN LC STAR rendszeren végeztük. Az alkalmazott egységek: nagyteljesítményű szivattyú (9012), automata mintaadagoló (9100), diódasoros detektor (9065). Az oszlop Spherogel TSK 2000 SW (Beckmann, Japán) (7,5x300 mm, 10µm). Az eluens 0,2 M NaH₂PO₄ (pH 6,8) + 2 % SDS, a térfogatáram sebessége: 1,00 cm³/perc (Trappista) ill. 0,75 cm³/perc (Hajdú), injektált minta térfogat: 20 mm³. Az eluátum fényelnyelését: 190-367 nm-es tartományban követtük nyomon. A rendszer vezérlését és az adatok értékelését Varian Star 4.0 majd 5.3 software-rel végeztük.

A módszer teljesítményjellemzőinek meghatározása

Az oszlop hatékonyságának és szelektivitásának, valamint a frakciók átlagos móltömegének meghatározására ismert móltömegű standardokkal: Molekulatömeg marker 2500-17000 D (Fluka); Ovalbumin (Mt: 43000 D); Dextran Blue (Pharmacia) és aceton felhasználásával kalibrációs méréseket végeztünk. A móltömeg standardokból 1,0 mg/cm³ törzsoldatot készítettünk eluensben oldva. A felhasznált vegyszerek és oldószeres HPLC minőségűek voltak.

Értékelő módszerek

Az érzékszervi minősítés eredményeit a „Tej és tejtermékek érzékszervi elemző vizsgálata” szabvány alapján értékeltük (13). A HPLC kromatogramokat VARIAN LC STAR rendszer által ajánlott integrálási és

értékelési lehetőségek alapján végeztük. A vizsgálati eredményeket matematikai-statisztikai módszerekkel (variancia-, regresszió- és főkomponensanalízis) elemeztük (14, 15).

Eredmények

A sajtok minősítése

A vizsgált minták beltartalmi adatait az 1. táblázat, a minőségmegőrzési időtartam alatt meghatározott érzékszervi súlyozott összpontszámait a 2. táblázat tartalmazza. A minták beltartalmi összetétele és érzékszervi pontszámai megfeleltek a szabvány követelményeinek. Az üzemi és a saját érzékszervi minősítés adatai alapján a termékek az érési idő után „kiváló” minőségűek voltak. Az érzékszervi minősítés súlyozott összpontszám átlaga Trappista esetében, üzemi: 17,85 (szórás: 0,39) és saját: 18,06 (szórás: 0,79); Hajdú sajtnál, saját: 18,44 (szórás: 0,89).

1. táblázat: A vizsgált minták beltartalmi adatai

Gyártás	Trappista sajt			
	Százazanyag g/100 g (MSZ 2714/2)	Zsírtartalom a százazanyagban g/100 g (MSZ-2714/1)	Sótartalom g/100 g (MSZ 2714/3)	Fehérjetartalom g/100 g (Tecator módszer)
I.	57,46	45,25	1,71	24,90
II.	58,06	46,50	1,55	23,14
III.	59,32	46,36	1,60	24,85
IV.	57,46	45,25	1,81	19,89
V.	57,75	45,83	1,68	21,74
<i>Előírt érték</i>	58,0 ± 2,5	45,0 ± 2,0	1,5 ± 0,5	–

Gyártás	Hajdú sajt			
	Százazanyag g/100 g (MSZ 2714/2)	Zsírtartalom a százazanyagban g/100 g (MSZ-2714/1)	Sótartalom g/100 g (MSZ 2714/3)	Fehérjetartalom g/100 g (Tecator módszer)
I.	58,15	47,29	2,98	25,29
II.	60,24	45,65	2,11	25,46
III.	58,80	45,92	2,58	26,34
IV.	58,68	46,86	2,40	27,00
V.	56,40	46,10	2,05	26,70
<i>Előírt érték</i>	57,5 ± 2,5	48 ± 3,0	2,7 ± 0,8	–

2. táblázat: Az érzékszervi minősítés eredményei

A Trappista sajtok súlyozott összpontszámai

Gyártás	A gyártástól eltelt idő (nap)					Üzemi adatok
	21	28	42	56	70	
I.	17,9	18,8	19,3	16,6	16,9	18,04
II.	18,6	18,4	17,6	16,4	16,8	18,2
III.	-	18,6	19,0	19,2	18,4	17,2
IV.	17,1	16,9	16,3	14,2	12,3	18,0
V.	17,2	17,6	16,8	14,7	14,4	17,8
Átlag	17,70	18,06	17,80	16,22	15,76	17,85

A Hajdú sajtok súlyozott összpontszámai

Gyártás	A gyártástól eltelt idő (nap)				
	38	45	52	59	66
I.	18,4	19,1	19,2	17,1	14,2
II.	18,2	17,2	18,1	17,3	17,3
III.	18,1	17,4	15,9	14,0	13,5
IV.	18,3	18,7	18,1	17,7	15,3
V.	19,2	18,9	16,1	15,5	14,0
Átlag	18,44	18,26	17,48	16,26	14,86

A proteolitikus jellemzők értékelése

Szabad aminosóportok meghatározása trinitro-benzolszulfonsavval

A szabad aminosóportokkal egyenértékű glicin koncentrációt kalibrációs mérésorozattal határoztuk meg. Az abszorbancia (Y) és glicin koncentráció (X) közötti lineáris összefüggés az alábbi: $Y = 2,452x - 0,0147$; $SE = 0,0217$; $r = 0,999$; $n = 16$. A kalibrációs mérés alapján a fotometriás módszer érzékenysége $2,452$ abszorbancia / mM dm^{-3} glicin.

A párhuzamos mérések alapján a vak értékek abszorbancia átlagát és szórását figyelembe véve a kalibrációs mérés alapján kiszámoltuk a detektálási határt. A sajtminták esetében a párhuzamos mérések átlagos szórása a módszer pontosságát jelzi (3. táblázat).

3. táblázat: A fotometriás módszer teljesítményjellemzői

Teljesítmény jellemzők	Eredeti eljárás	Módosított eljárás
Detektálási határ	0,029923 mM/dm^3 glicin	0,028043 mM/dm^3 glicin
Pontosság	0,0037 mM/dm^3 glicin	0,0022 mM/dm^3 glicin

Vízoldható frakció analízise gélpermeációs kromatográfiával

A kromatográfiás oszlop következő jellemzőit határoztuk meg: kizárási térfogat = 5,50 cm³, áteresztési térfogat = 13,75 cm³ és a biopolimer móltömegét becslő összefüggések.

Móltömeg-becslés elúciós térfogat alapján: $\ln M_t = A + B \cdot V_e$
A = 13,463; B = -0,446; r = -0,980; SD = 0,213; n = 6; p = 0,00057.
Molekulatömeg szelektivitás = 2,242.

Móltömeg-becslés megoszlási állandó értékéből: $\ln M_t = A + B \cdot K_{(SEC)}$
A = 11,012; B = -3,1165; r = -0,980; SD = 0,213; n = 6; p = 0,00057.

A sajt kromatogramok értékelése

A Trappista sajt kromatogramokat az aromás aminosavakra jellemző hullámhosszon (278 nm) értékeltük. Ez az érték a jel érzékenységét és az elválasztás hatékonyságát tekintve megfelelő volt. Az érettségi idő növekedésével a csúcsok száma 3-tól 5-ig változott. A különböző kromatogramok összehasonlítása és az eredmények matematika-statisztikai értékelhetősége szempontjából felhasználtuk a HPLC által felajánlott egyik értékelési lehetőséget, amely a csúcsokat az általunk megadott csoportokba sorolja és az egyes csoportok területét közösen határozza meg, azaz az összeolvadó vagy elváló csúcsokat egy egységként kezeli. Ez alapján négy csoportot különböztettünk meg, amelyek átlagos móltömege a következő: 1. frakció = 29,0 kD; 2. frakció = 15,8 kD; 3. frakció = 10,6 kD; 4. frakció = 8,5 kD. A karakterisztikus csúcsok paramétereit a 4. táblázat tartalmazza. A 15,8 kD-os 2. frakció a minták egy részénél hiányzott.

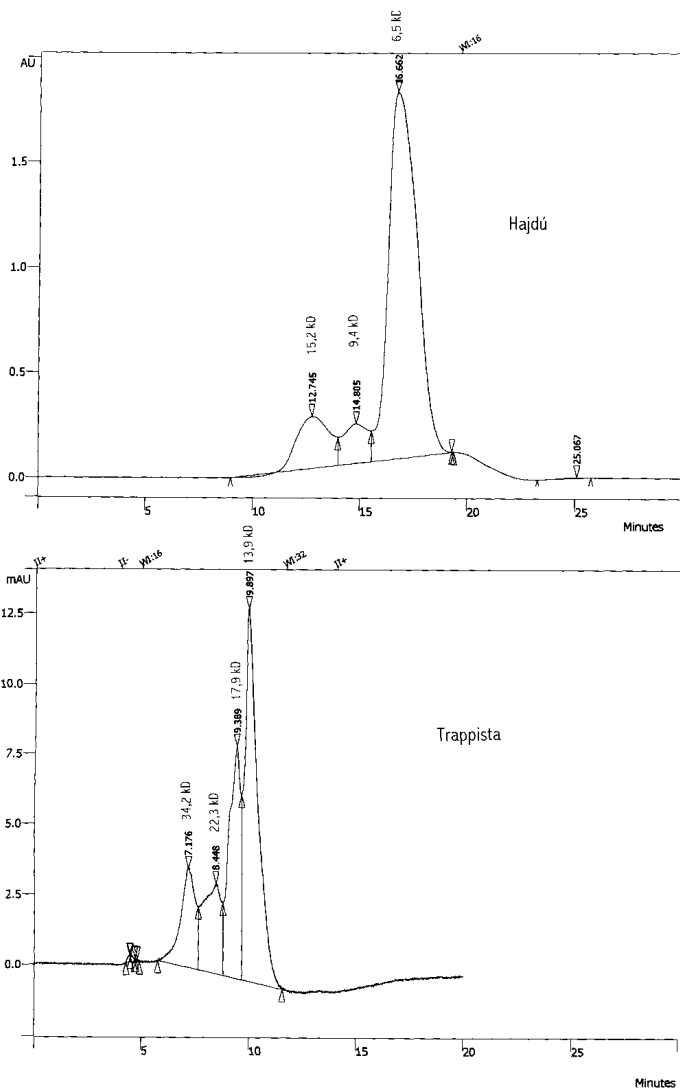
A Hajdú sajt kromatogramjait a peptid kötésre jellemző hullámhosszon (1 = 195 nm) értékeltük. Három karakterisztikus csúcsot különböztettünk meg, melyek átlagos móltömege: 1. frakció = 9,9 kD; 2. frakció = 5,0 kD; 3. frakció = 2,7 kD. A karakterisztikus csúcsok paramétereit a 4. táblázat tartalmazza, míg a Trappista és Hajdú minta egy-egy jellegzetes kromatogramja az 1. ábrán látható.

4. táblázat: Trappista és Hajdú sajt kromatogramok jellemző frakciói és móltömegük

Trappista	V _e	K(SEC)	M _t
1. frakció	7,15	0,200	29027
2. frakció	8,51	0,365	15820
3. frakció	9,41	0,474	10590
4. frakció	9,90	0,533	8512

Hajdú	V _e	K(SEC)	M _t
1. frakció	9,56	0,492	9902
2. frakció	11,10	0,679	4971
3. frakció	12,50	0,848	2671

A kromatogramokat területük, százalékos területarányuk, valamint egyes csúcsterület és százalékos terület arányok alapján hasonlítottuk össze (Trappista: 1:3, 1:4 frakció arányok; Hajdú 2:1; 3:1 frakció arányok). A százalékos területarányok felhasználása azért kedvező, mert a kiindulási minták esetleges eltérő fehérjetartalma és így a bemérésből adódó eltérések kiküszöbölhetők.



1. ábra: Trappista és Hajdú sajt kromatogram

A proteolitikus jellemzők értékelése főkomponens analízissel

A proteolitikus jellemzők felhasználásával főkomponens analízist végeztünk mindkét sajttípusnál. A Trappista sajtnál a százalékos területarányok (1. frakció, 2. frakció, 3. frakció 4. frakció, 1:3, 1:4 frakció arány) és a fotometriás adatok bevonásával végeztük el a főkomponens

analízist. A Hajdú sajtnál az összes proteolitikus jellemzőt felhasználtuk a főkomponens analízishez.

Az egyes főkomponensek saját értékeit (λ), varianciáját és kummunitását (h^2) az 5. táblázat tartalmazza.

5. táblázat: A proteolitikus adatok főkomponens analízise

Trappista sajt				Hajdú sajt			
főkomp. száma	λ	variancia %	h^2	főkomp. száma	λ	variancia %	h^2
1	5,21	65,22	65,22	1	7,12	59,37	59,37
2	1,28	16,03	81,26	2	3,14	26,17	85,55

Az első főkomponens a Trappista sajtnál az összes változó varianciáját több, mint 65%-ban, a második főkomponenssel együtt pedig több mint 81%-ban lefedti. A főkomponens súlyokból megállapítható, hogy mely eredeti jellemző határozza meg döntő mértékben az első és a második főkomponenst. Az első főkomponenst a fotometriás adatok, az 1. és 4. frakció százalékos területaránya, valamint az 1:3 és 1:4 frakció arány határozza meg közel azonos mértékben. A második főkomponenst pedig elsősorban a 3. és kisebb mértékben a 4. frakció százalékos területaránya.

A Hajdú sajt esetében a kumulált variancia-érték hasonló, azaz több, mint 85%, de a az első főkomponens csak közel 60%-ban fedi le a változók varianciáját, a második főkomponens pedig, több mint 26%-ban. Az első két főkomponens jelentőségét az egynél nagyobb saját értékek is alátámasztják (18). A főkomponens súlyok alapján megállapítható, hogy a 13 eredeti változóból az 1. főkomponenst az első frakció százalékos területaránya kivételével a maradék 12 változó közel azonos mértékben határozza meg. A 2. főkomponensben jelentős súllyal hat eredeti változó szerepel (1. frakció területe és százalékos területaránya, valamint a frakció- és a százalékos frakcióarányok (3:1 és 2:1)).

A gyártástól eltelt idő becslése proteolitikus jellemzőkkel

Becslés az első főkomponens segítségével

Az első főkomponens felhasználásával a sajtok kora becsülhető. A Trappista sajtnál a becslő egyenlet lineáris regresszióval adható meg, míg a Hajdú sajtnál az időbecslést leíró összefüggés exponenciális: $Y = e^{a+bx}$, ahol Y = a termék kora, x = az első főkomponens (PC1), a és b állandók. Az egyenletek paramétereit a 6. táblázat tartalmazza.

6. táblázat: Sajtok korának becslése a proteolitikus adatokból képzett 1. főkomponenssel

	Trappista sajt (n=158)	Hajdú sajt (n=192)
Egyenlet	$Y = a+bX$	$Y = \exp(a+bX)$
Paraméterek:	a	3,316
	b	0,149
Korrelációs koeff. ®	0,813	0,517
Regressziós egyenes körüli szórás (SE)	13,04	0,663

Becslés eredeti változókkal

A kromatográfiás adatok, a fotometriás jellemzők és a gyártástól eltelt idő összefüggéseit abból a célból határoztuk meg, hogy kiválasszuk azon jellemzőket, melyek a gyártástól eltelt idővel korrelálnak. A Trappista és a Hajdú sajt adatok és a gyártástól eltelt idő korrelációs koefficiensei a 7. táblázatban találhatóak.

A Trappista mintáknál a proteolitikus jellemzők a 4. csúcsterület és a 3. csúcs százalékos területaránya kivételével szoros szignifikáns ($p < 0,001$) korreláció szerint változott a gyártástól eltelt idővel. A Hajdú mintáknál a 3. csúcsterület szignifikáns ($p = 0,01$), a többi jellemző szoros szignifikáns ($p < 0,001$) módon korrelált a gyártástól eltelt idővel.

Becslés szabad aminosoport tartalom alapján

A szabad aminosoport-tartalom meghatározása üzemi laboratóriumban is könnyen kivitelezhető. Ezért megvizsgáltuk, hogy ezen adatok önmagukban mennyire alkalmasak a termék korának becslésére. Mind az eredeti, mind a módosított eljárással mért értékekből a gyártástól eltelt idő becsülhető lineáris regresszióval, az $Y = ax+b$ összefüggés alapján, ahol $Y = a$ termék kora, $x =$ szabad aminosoport-tartalom glicin koncentrációban kifejezve. Az egyenletek jellemző paraméterei a 8. táblázatban találhatóak.

Az eredeti és a módosított eljárásnál a becslés hibája mindkét sajt típusnál hasonló. A Trappista mintáknál a becslés hibája kisebb (6 nap), mint a Hajdú mintáknál (17 nap). A becslés pontosságában megmutatkozó különbség a sajtok gyártástechnológiájára vezethető vissza. A röglyukas Trappista sajt homogénebb összetételű, a proteolitikus folyamatok kiegyensúlyozottabbak, mint a tehéntejből, mártásos hőkezeléssel készült Hajdú sajt.

7. táblázat: Proteolitikus adatok korrelációja a gyártástól eltelt idővel

Trappista sajt (n=160)		Hajdú sajt (n=193)	
Jellemző	r	Jellemző	r
1. frakció területe	0,5665*	1. frakció területe	0,4684
2. frakció területe	-0,3560	2. frakció területe	0,4012
3. frakció területe	0,4901	3. frakció területe	0,2249**
4. frakció területe	0,0461	2:1 frakció területaránya	0,3925
1:3 frakció területaránya	0,3024	3:1 frakció területaránya	-0,3481
1:4 frakció területaránya	0,3947	1. frakció százalékos területe	0,3757
1. frakció százalékos területe	0,6826	2. frakció százalékos területe	0,4036
2. frakció százalékos területe	-0,4036	3. frakció százalékos területe	-0,5551
3. frakció százalékos területe	0,1283	2: 1 frakció százalékos területaránya	0,3925
4. frakció százalékos területe	-0,5450	3:1 frakció százalékos területaránya	-0,3496
1:3 frakció százalékos területaránya	0,6294	Fotometriás adat (módosított eljárás)	0,4597
1:4 frakció százalékos területaránya	0,7074	Fotometriás adat (eredeti eljárás)	0,4826
Fotometriás adat (módosított eljárás)	0,9630		
Fotometriás adat (eredeti)	0,9621		

* $p < 0,001$, ** $p = 0,01$

8. táblázat: Sajtok korának becslése a fotometriás adatokból

	Minta-szám (n)	Meredekség (a)	Tengely-metszet (b)	Korrelációs koefficiens ®	Regressziós egyenes körüli szórás (SE)
Trappista (eredeti)	160	173,25	-17,75	0,962*	6,12
(módosított)	160	171,47	-18,59	0,963*	6,06
Hajdú (eredeti)	200	241,79	-13,77	0,487*	17,68
(módosított)	200	205,44	-9,34	0,461*	17,96

* $p < 0,001$

Beclés többváltozó bevonásával

Lépésenkénti változó szelekcióval kiválasztottuk azokat a jellemzőket, melyekkel a gyártástól eltelt idő becsülhető.

A Trappista sajtnál a százalékos területarányok és a fotometriás adatok felhasználásával a gyártástól eltelt idő becsülhető a következő egyenlet szerint:

$$Y = -1,077x_1 - 0,2247x_2 + 12,316x_3 + 11,201x_4 + 114,029x_5$$

ahol: Y = a gyártástól eltelt idő; x_1 = az 1. frakció százalékos területaránya; x_2 = a 4. frakció százalékos területaránya; x_3 = az 1. és 3. frakció százalékos területarányának hányadosa; x_4 = az 1. és 4. frakció százalékos területarányának hányadosa; x_5 = fotometriás adatok (módosított eljárás).

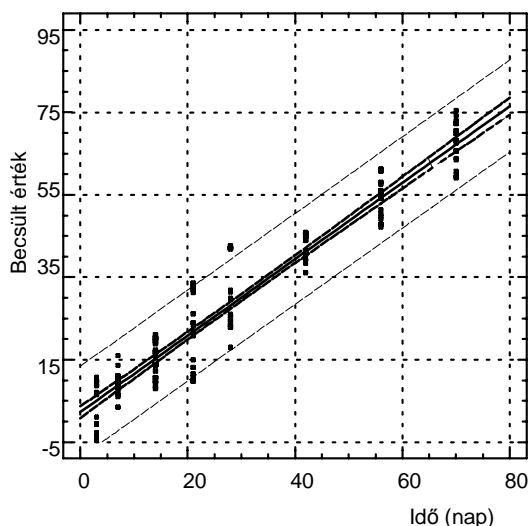
A Hajdú sajtnál a becslő egyenlet a következő:

$$Y = 49,56x_1 + 7,82 \cdot 10^{-6}x_2 - 2,46 \cdot 10^{-6}x_3 + 0,1255x_4 + 20,17x_5$$

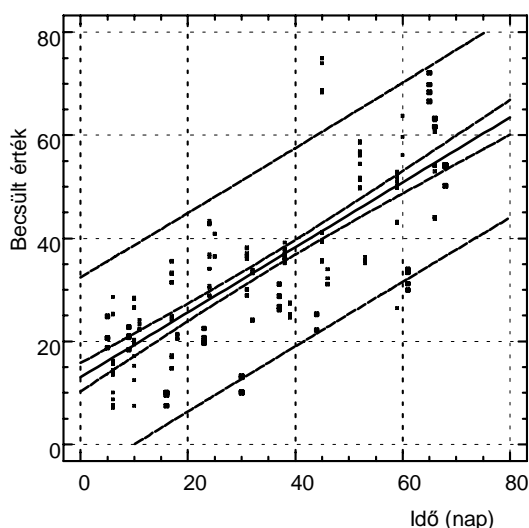
ahol: x_1 = fotometriás adatok (eredeti eljárás); x_2 = az 1. frakció területe; x_3 = a 3. frakció területe; x_4 = a 3. frakció százalékos területaránya; x_5 = a 2. és az 1. frakció százalékos területarányának hányadosa.

A becsült és a mért értékek közötti összefüggés a 2. ábrán látható.

Trappista sajt korának becslése
eredeti változókkal
($n=160$; $SE= 5,85$; $R^2=0,9764$)



Hajdú sajt korának becslése
eredeti változókkal
($n=193$; $SE= 12,37$; $R^2=0,9085$)



2. ábra: A Trappista és Hajdú sajt korának becslése proteolitikus jellemzőkkel

A Trappista sajtnál a becslés pontossága 5,9 nap, ami a teljes időintervallumra számítva kb. 8%. A Hajdú sajtnál a becslés pontossága 12,4 nap, ami 18,5%-nak felel meg.

Összefoglaló megállapítások

- A különböző gyártású érett sajtok a beltartalmi jellemzők és a szabványos érzékszervi minősítés alapján „kiváló” minőségűek voltak.
- A vízdoldható frakciók kromatogramjai sajt típusonként jellemzőek.
- A proteolitikus adatok korrelációjuk alapján két főkomponens változóvá vonhatók össze. A főkomponens súlyok értékeit figyelembe véve megállapítható, hogy túlnyomóan mely eredeti változók határozzák meg a jelentős főkomponenseket.
- Az első főkomponens értékéből levezetve a sajtok kora Trappista sajtnál lineáris, Hajdú sajtnál exponenciális összefüggés szerint becsülhető.
- A proteolitikus adatok egyik része a gyártástól eltelt idővel szoros összefüggésben változik. Léteznek olyan jellemzők is, melyek segítségével a gyártástól eltelt idő többváltozós lineáris regresszióval becsülhető. Ezek a jellemzők az érettségi állapot megállapítására felhasználhatók.
- A proteolitikus jellemzők közül a szabad aminocsoport meghatározására alkalmas trinitro-benzolszulfonsavas módszer egyszerűsége, jó reprodukálhatósága és nem túl jelentős eszközigénye miatt a Trappista sajtnál a proteolízis mértékének meghatározására, valamint az érettségi állapot jelzésére – üzemi körülmények között is – alkalmas.
- A nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia – költség-, szakember- és időigénye miatt – nem alkalmas a mindennapos gyakorlatra, emiatt elsősorban a kutató intézetekben folyó gyártmányfejlesztés során használható.

IRODALOM

- (1) FOX, P.F. in ed: FOX, P.F (1993): Cheese: An Overview, in Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology, Volume 1. Chapman and Hall London pp.: 1-35.
- (2) FARKYE, N.Y. & FOX, P.F. (1990): Objective indices of cheese ripening. Trends in Food Science and Technology, 1, 37-40.
- (3) RANK, T.C., GRAPPIN, R. & OLSON, F. (1985): Secondary Proteolysis of Cheese During Ripening: A Review. J. Dairy Sci. 68, 801-805.

- (4) POLYCHRONIADOU, A. (1988): A simple procedure using trinitrobenzene-sulphonic acid for monitoring proteolysis in cheese. *J. Dairy Res.* 55, 585-596.
- (5) BARA-HERCZEGH, O., ALMASSY, K. H. & ÖRSI, F. (2000): Development of a sensory scoring test system to evaluate the ripeness of cheeses. *Egyptian Journal of Dairy Science*, 28, 239-258.
- (6) MSZ 2714/2:1989 „Sajt ömlesztett sajt és túró kémiai és fizikai vizsgálata. A víz és szárazanyag-tartalom meghatározása”
- (7) MSZ 2714/1:1989 ”Sajt ömlesztett sajt és túró kémiai és fizikai vizsgálata. A zsírtartalom meghatározása”
- (8) MSZ 2714/3:1989 „Sajt ömlesztett sajt és túró kémiai és fizikai vizsgálata. A nátrium-klorid tartalom meghatározása”
- (9) OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS (1990): Determination of total nitrogen in cheese. *A.O.A.C.* 995. 30.
- (10) MSZ 12280-87 „Trappista sajt”
- (11) MSZ 08-1243-1989 „Hajdú sajt”
- (12) KAMINOGAWA, S., YAN. T. R., AZUMA, N. & YAMAUCHI, K. (1986): Identification of low molecular weight peptides in Gouda-type Cheese and evidence for the formation of these peptides from 23 N-terminal residues of alphas1-casein by proteinases of *Streptococcus Cremoris* H61. *J. Food Sci.* 51, 1253-1256, 1264.
- (13) MSZ 12292-87 „Tej és tejtermékek érzékszervi elemző vizsgálata”
- (14) SVÁB. J. (1979): *Többváltozós módszerek a biometriában.* Mezőgazdasági kiadó, Budapest, 23-25, 45-69, 109-123, 165-174, 180-184.
- (15) SVÁB. J. (1981): *Biometriai módszerek a kutatásban.* Mezőgazdasági kiadó, Budapest, 69, 265-417.
- (16) BUJTÁS, P. & LEISZTNER, L. (1991): *Analitikai mérési eredmények minőségbiztosítása.* GLP Kft. Budapest, 106-113.
- (17) PUNGOR, E. (1994): *A practical guide to instrumental analysis.* CRC Press Boca Raton, Fla. pp. 255-261.
- (18) JACKMAN, R. L. & YADA, R. Y. (1989): Multivariate analysis of functional and structure -related properties of whey-vegetable protein composites. *Can. Inst. Food. Sci. Technol. J* 22, 260-269.

Másodlagos proteolitikus jellemzők alkalmazása hazai félkemény sajtok minősítésére, érettségi állapotának jellemzésére

Baráné Herczegh Ottilia, Horváthné Almássy Katalin és Örsi Ferenc

Hazai félkemény sajtok (Trappista és Hajdú sajt) másodlagos fehérje-bomlással keletkező, proteolitikus jellemzőit határozták meg a gyártástól eltelt idő (érlelési és minőségmegőrzési időtartam) függvényében. Statisztikai jellemzőkkel igazolható összefüggést találtak a sajtok kora, érettségi állapota és a proteolitikus adatok változása között. A sajt kora a meghatározott paraméterekből becsülhető.

Suitability of Secondary Proteolysis for Evaluation and Characterisation of Hungarian Semi-hard Cheeses Ripening

Bara-Herczegh, O., Horváth-Almássy, K. and Örsi, F.

Hungarian semi-hard cheeses (Trappist and Hajdú) were characterised by secondary proteolytic parameters during ripening and self-life. Using statistical characteristics the age and the quality of cheeses is connected with the products of secondary proteolysis. The age can be estimated from the determined parameters.

Anwendung der sekundär-proteolytischen Kennwerte für die Bewertung und Charakterisierung des Reifungszustandes von ungarischer halbfester Käsesorten

Bara-Herczegh, O., Horváth-Almássy, K. und Örsi, F.

Es wurden die infolge des sekundären Eiweissabbaus entstehenden proteolytischen Kennwerte von ungarischen halbfesten Käsesorten (Trappista und Hajdú) während der Reifungs- und Haltbarkeitszeit untersucht. Die Ergebnisse wurden mit statistischen Methoden bewertet. Zwischen der Altersstufe, dem Reifungszustand und den proteolytischen Kennwerten der Käsesorten wurden Zusammenhänge festgestellt, wodurch das Alter des Käse geschätzt werden kann.