

## Gehalt Einiger Organischen Säuren Während Der Käsureifung

Matilda Grüner und Marija Horvatić

Originelle Wissenschaftliche Arbeit — Izvorni znanstveni rad

UDK: 637.3.05

### Zusammenfassung

*Unter Industriebedingungen gefertigter einheimische Käse wurde 6 Wochen bei 12°C und 85% relativer Luftfeuchtigkeit gereift. Mit Hilfe der enzymatischen Methoden wurden die Veränderungen im Gehalt der Lactose, der freien L- und D-Milchsäure, Citronensäure und Apfelsäure während der Reifung festgestellt. Eine signifikante ( $P > 0,05$ ) Abnahme des Lactosegehalts wurde während der ganzen Reifungszeit festgestellt, die grösste Dynamik des Abbaues zeigt sich in den ersten drei Wochen. L- und D-Milchsäuregehalt nimmt in der ersten Reifungswoche signifikant ( $P < 0,05$ ) zu und in der zweiten Woche signifikant ab. Während der restlichen Reifungszeit schreitet der L-Milchsäureabbau stetig voran, demgegenüber steigt der D-Milchsäuregehalt kontinuierlich an. Deshalb verändert sich während der Käsureifung das Verhältnis beider Isomere zu Ungunsten der L-Milchsäure. Der höchste Citronensäuregehalt wurde nach Abpressen festgestellt und sinkt im Verlauf der 2-Wochenlanger Reifung signifikant ab. Die Apfelsäure trat erst nach 1-Wochenlanger Käsureifung auf: Sie ist ständig im reifenden Käse in niedrigen Mengen vorhanden.*

*Schlüsselwörter: Käsureifung, L- und D-Milchsäure, Citronensäure, Apfelsäure*

### Einleitung

Aus der vielzahl der Literaturangaben die sich auf die Käsureifung beziehen, wird hervorgehoben, dass der zeitliche Lactoseabbau sowie die entstandenen Milchsäure-Isomere verschiedener Käsesorten ein wichtiger Qualitätsfaktor ist, der von den einzelnen Phasen des Herstellungsprozesses, beeinflusst wird wie Art der Reifung und von der Lagerung (Schrober et al., 1964; Berner, 1970; Steffen et al. 1975; Puhan und Wanner 1979; Kandler, 1982, Hegazi und Abo-Elnaga 1990; St-Gelais, 1991.). Da keine Daten über den Einfluss dieser Faktoren bei einer neuen einheimischen Käsesorte, die erstmals in industriellen Bedingungen hergestellt wurde, bestehen, hatten wir uns die Aufgabe gestellt, die Veränderungen der Lactose sowie einiger organischen Säuren während der Reifung zu beobachten.

### Material und Methoden

Die Untersuchungen wurden mit zwei Serien von Käse, einer normalen Fabrikation eines Betriebes (»Zdenka«, Veliki Zdenci)\* durchgeführt. Dieser Käse ist bekannt unter den Namen »Zdenački«. Dies ist ein halbfester, vollfettstufiger, rindloser Schnittkäse, deren industrieller Fabrikationsprozess sich auf ein Herstellungsverfahren in Manufakturbehandlung gründet.

Nach der Bearbeitung wird der Bruch durch Pressen auf die spätere Form des Produktes — ein Block der Grösse von 1 kg — gebracht und in eine plastische Folie eingepackt. Die nachfolgende 6-Wochenlanger Reifung durchläuft bei Temperatur von 12°C und 85% Luftfeuchtigkeit.

Um die Reifungsvorgänge bei diesen Produkt zu verfolgen, wurden zwei Proben von jeder Serie in regelmässigen Abständen von einer Woche gezogen und am gleichen Tage untersucht. Die Untersuchungen begannen mit den Proben sofort nach den Abpressen.

Mit Hilfe der enzymatischen Methoden (Boehringer, 1983.) wurde der Gehalt der Lactose, L- und D-Milchsäure, Citronensäure und Apfelsäure während der Käsureifung ermittelt. Die statistische Bewertung der Analyseergebnissen erfolgt mittels Varianzanalyse und Duncan-Test (Montgomery 1984.).

### Ergebnisse und Diskussion

Die analytische Angaben für die einzelnen untersuchten Komponenten in der pasteurisierten Milch vor der Säuerung zeigt die Tabelle 1. In Tabellen 2—13 sind die Experimentalergebnisse und die varianzanalytische Daten für den Käse dargestellt.

Tabelle 1. Analytische Angaben für Milch

Table 1. Analytical results for milk

Komponente	Serie 1 Series 1	Serie 2 Series 2
Lactose (g/100 ml)		
Lactose	4,68	4,68
L-Milchsäure (g/100 ml)		
L-lactic acid	0,11	0,10
D-Milchsäure		
D-lactic acid	0	0
Citronensäure (g/100 ml)		
Citric acid	0,13	0,12
Apfelsäure		
Malic acid	0	0
Säuregrad (°SH)		
Acidity	7,77	7,68

Die Trockenmasse der beiden Serien reifenden Käse weist in denselben Wochen keine signifikante ( $P > 0,05$ ) Differenzen auf, jedoch zwischen den Wochen bestehen signifikante Unterschiede. Nach den Angaben des Duncan-Testes kann man schliessen, dass die Trockenmasse während der ersten drei Reifungswochen signifikant steigt ( $P < 0,05$ ), wobei der Maximalwert erreicht wird.

In den beiden Serien der frischhergestellten Käse, sofort nach dem Pressen, lag der Lactosegehalt (Tabelle 2) im relativ hohem Bereich (9,68% bzw 10,30% bezogen auf die Trockenmasse). Unter Bedingungen der nachfolgende Käserreifung sinkt der Lactosegehalt in erster, zweiter, vierter und sechsten

**Tabelle 2. Trockenmassegehalt während der Käsereifung**

**Table 2. Dry matter during cheese ripening**

Reifungszeit Cheese ripening duration (Woche) (Weeks)	Trockenmasse (g/100 g) Dry matter (g/100 g)	
	Serie 1	Serie 2
	Series 1	Series 2
0	55,61	55,74
1	56,61	56,37
2	56,91	56,90
3	57,22	57,42
4	57,13	57,00
5	56,88	56,51
6	57,06	56,53

**Tabelle 3. Varianzanalytische Daten zum Trockenmassegehalt**

**Table 3. Analysis of Variance of dry matter**

Variationsursache The source of variation	SQ	FG	MQ	F
Zwischen Wochen Between Weeks	3,325	6	0,5542	15,97*
Zwischen Serien Between series	0,064	1	0,064	1,84
Analytischer Fehler Analytical error	0,208	6	0,0347	
Gesamt Total	3,597	13		

\*  $F_{0,05(6/6)} = 4,28$

$F_{0,05(1/6)} = 5,99$

SQ Summe der Abweichungsquadrate  
Sum of square

FG Freieitsgrad  
Degrees of freedom

MQ der Mittlere Abweichungsquadrat  
Mean square

F Fisher quotient  
Fisher ratio

**Tabelle 4. Lactosegehalt während der Käsereifung****Table 4. Lactose content of cheese in the process of ripening**

Reifungszeit Cheese ripening duration (Woche) (Weeks)	Lactose (g/100 TS) Lactose (g/100 g DM)	
	Serie 1 Series 1	Serie 2 Series 2
0	9,68	10,30
1	3,98	4,15
2	1,48	1,78
3	1,47	1,71
4	0,95	1,00
5	0,95	1,01
6	0,63	0,76

TS – Trockensubstanz

DM – Dry matter

**Tabelle 5. Varianzanalytische Daten der Lactosegehalt****Table 5. Analysis of Variance of lactose**

Variationsursache The source of variation	SQ	FG	MQ	F
Zwischen Wochen Between weeks	134,3766	6	22,3961	1160,42*
Zwischen Serien Between series	0,1761	1	0,1761	9,12*
Analytischer Fehler Analytical error	0,1159	6	0,0193	
Gesamt Total	134,6686	13		

\*  $F_{0,05(6/8)} = 4,28$  $F_{0,05(1/8)} = 5,99$ 

SQ Summe der Abweichungsquadrate

Sum of square

FG Freieitsgrad

Degrees of freedom

MQ der Mittlere Abweichungsquadrat

Mean square

F Fisher quotient

Fisher ratio

Woche signifikant ( $P < 0,05$ ) ab. Dabei war die grösste Dynamik der Lactoseabbaues bzw. deren metabolischen Produkten in Milchsäure in den ersten zwei Reifungswochen zu verzeichnen. Während dieser Reifungszeit beträgt

**Tabelle 6. L-Milchsäuregehalt während der Käsereifung**  
**Table 6. L-milk acid content of cheese in the process of ripening**

Reifungszeit Cheese ripening duration (Woche) (Weeks)	L-Milchsäure (g/100 g TS) L-milk acid (g/100 g DM)	
	Serie 1 Series 1	Serie 2 Series 2
0	1,11	1,06
1	1,24	1,47
2	0,97	1,27
3	0,82	1,15
4	0,75	0,91
5	0,72	0,78
6	0,60	0,71

TS – Trockensubstanz

DM – Dry matter

**Tabelle 7. Varianzanalytische Daten zum L-Milchsäuregehalt**  
**Table 7. Analysis of Variance of L-milk acid**

Variationsursache The source of variation	SQ	FG	MQ	F
Zwischen Wochen Between weeks	0,70277	6	0,1171	12,79*
Zwischen Serien Between series	0,09283	1	0,0928	10,13*
Analytischer Fehler Analytical error	0,05497	6	0,0092	
Gesamt Total	0,85057	13		

\*  $F_{0,05(6/6)} = 4,28$

$F_{0,05(1/6)} = 5,99$

SQ Summe der Abweichungsquadrate

Sum of square

FG Freieitsgrad

Degrees of freedom

MQ der Mittlere Abweichungsquadrat

Mean square

F Fisher quotient

Fisher ratio

die Lactoseabnahme durchschnittlich 85% bezüglich der Anfangsmenge. Die Gesamtabnahme der Lactose am Ende der Käsereifung betrug etwa 93%. Dabei zeigt sich eine Übereinstimmung mit ähnlichen Untersuchungen (St-Ge-lais et al., 1991.). Die Serien unterscheiden sich voneinander nicht signifikant hinsichtlich der Dynamik der Lactosetransformation.

**Tabelle 8. D-Milchsäuregehalt während der Käsereifung**  
**Table 8. D- milk acid content of cheese in the process of ripening**

Reifungszeit Cheese ripening duration (Woche) (Weeks)	D-Milchsäure (g/100 g TS) D- milk acid (g/100 g DM)	
	Serie 1 Series 1	Serie 2 Series 2
0	0,53	0,61
1	0,77	0,70
2	0,51	0,51
3	0,65	0,56
4	0,67	0,63
5	0,76	0,83
6	0,94	0,97

TS — Trockensubstanz

DM — Dry matter

**Tabelle 9. Varianzanalytische Daten zum D-Milchsäuregehalt**  
**Table 9. Analysis of Variance of D- milk acid**

Variationsursache The source of variation	SQ	FG	MQ	F
Zwischen Wochen Between weeks	0,27777	6	0,046295	20,77*
Zwischen Serien Between series	0,0000281	1	0,0000281	0,0126*
Analytischer Fehler Analytical error	0,01337	6	0,002228	
Gesamt Total	0,291171	13		

\*  $F_{0,05(6/6)} = 4,28$

$F_{0,05(1/6)} = 5,99$

SQ Summe der Abweichungsquadrate

Sum of square

FG Freiheitsgrad

Degrees of freedom

MQ der Mittlere Abweichungsquadrat

Mean square

F Fisher quotient

Fisher ratio

Aus varianzanalytischen Daten (Tabelle 7 und 8) für L- und D-Milchsäure sieht man, dass signifikante ( $P < 0,05$ ) Unterschiede zwischen einzelnen Reifestadien bestehen. Hier soll erklärt werden, dass die experimentellen Ergebnisse den Gehalt an freier L- und D-Milchsäure umfassen. Mittels Duncan-Test wurde festgestellt, dass der L-Milchsäuregehalt in der ersten Woche

**Tabelle 10. Citronensäuregehalt während der Käsereifung**  
**Table 10. Citric acid content of cheese in the process of ripening**

Reifungszeit Cheese ripening duration	D-Milksäure (g/100 g TS) D- milk acid (g/100 g DM)	
	Serie 1 Series 1	Serie 2 Series 2
(Woche) (Weeks)		
0	38,50	42,50
1	4,77	3,37
2	1,41	1,58
3	2,10	1,57
4	1,23	2,11
5	2,11	2,12
6	2,80	2,48

TS – Trockensubstanz

DM – Dry matter

**Tabelle 11. Varianzanalytische Daten zum Citronensäuregehalt**  
**Table 11. Analysis of Variance of citric acid**

Variationsursache The source of variation	SQ	FG	MQ	F
Zwischen Wochen Between Weeks	2510,096	6	418,3493	278,62*
Zwischen Serien Between series	0,564	1	0,564	0,38
Analytischer Fehler Analytical error	9,009	6	1,5015	
Gesamt Total	2519,669	13		

\*  $F_{0,05(6/6)} = 4,28$

$F_{0,05(1/6)} = 5,99$

SQ Summe der Abweichungsquadrate  
Sum of square

FG Freieheitsgrad  
Degrees of freedom

MQ der Mittlere Abweichungsquadrat  
Mean square

F Fisher quotient  
Fisher ratio

signifikant ( $P < 0,05$ ) zunimmt. Die Zunahme variierte zwischen den Serien; sie betrug 11,7% bei Serie 1 und 38,7% bei Serie 2. In dieser Reifungszeit findet man den maximalen L-Milchsäuregehalt. Danach folgt ein intensiver L-Milchsäureabbau, und bis zum Ende der dritten (Serie 1) bzw. vierten (Serie 2) Reifungswoche nahm der L-Milchsäuregehalt signifikant ( $P < 0,05$ ) ab. In den

**Tabelle 12. Apfelsäuregehalt während der Käsureifung**  
**Table 12. Malic acid content of cheese in the process of ripening**

Reifungszeit Cheese ripening duration (Woche) (Weeks)	Apfelsäure (mg/100 g TS) Malic acid (mg/100 g DM)	
	Serie 1 Series 1	Serie 2 Series 2
0	0	0
1	1,24	1,06
2	1,05	1,23
3	1,22	1,05
4	0,88	0,88
5	1,06	1,24
6	1,58	1,06

TS — Trockensubstanz

DM — Dry matter

**Tabelle 13. Varianzanalytische Daten zum Apfelsäuregehalt**  
**Table 13. Analysis of Variance of Malic acid content**

Variationsursache The source of variation	SQ	FG	MQ	F
Zwischen Wochen Between Weeks	0,1990	5	0,0398	1,13*
Zwischen Serien Between series	0,0217	1	0,0217	0,61
Analytischer Fehler Analytical error	0,1766	5	0,0353	
Gesamt Total	0,3973	11		

\*  $F_{0,05(5/5)} = 5,05$

$F_{0,05(1/5)} = 6,61$

SQ Summe der Abweichungsquadrate  
Sum of square

FG Freieheitsgrad  
Degrees of freedom

MQ der Mittlere Abweichungsquadrat  
Mean square

F Fisher quotient  
Fisher ratio

nachfolgenden Wochen schreitet der L-Milchsäureabbau stetig aber langsam voran. Obwohl die Dynamik des Absinkens des L-Milchsäuregehalts einen deutlichen Unterschied zwischen der beiden Serien zeigt, ist die gesamte

Verminderung in bezug auf Maximalwert (Ende erste Woche) gleichmässig und beträgt 51,6% in der Serie 1 bzw. 51,7% in der Serie 2. Die gewonnenen Ergebnisse stimmen mit denen bei manchen anderen Käsesorten überein (Schrober et al., 1964; Puhan und Wanner, 1979).

Es war interessant die Beziehung zwischen L-Milchsäuregehalt und Lactose ermitteln. Erst nach der ersten Woche, steht der L-Milchsäuregehalt während der Käsereifung in Beziehung zu Lactosegehalt. Hier wurde mit  $r = 0,945$  für Serie 1 und  $r = 0,886$  für Serie 2 zwischen diesen Komponenten eine nochsignifikante ( $P < 0,01$ ) Korrelation festgestellt.

D-Milchsäure verändert sich in der Anfangsphase ganz ähnlich der L-Milchsäure (Tabelle 8); D-Milchsäuregehalt nimmt in der ersten Reifungswoche signifikant ( $P < 0,05$ ) an (Duncan-Test) und dann bis zur Ende der zweiten Woche signifikant ab. Damit erreicht D-Milchsäure den niedrigsten Wert während der Käsereifung, der für beide Serien 0,51% beträgt. In Gegensatz zur L-Milchsäure, steigt der D-Milchsäuregehalt weiter kontinuierlich an.

Das Verhältnis beider Isomeren schwankte während der Käsereifung sehr stark. Im Anfangsstadium (erste und zweite Woche) findet man einen überwiegenden Anteil der L-Milchsäure — etwa 70%. Während zunehmender Käse reife verschiebt sich das Verhältnis der beiden Säuren bei allen Reifestufen ungefähr gleich zu Ungunsten der L-Milchsäure. Nach 5-Wochenlanger Reifung war der Anteil der D-Milchsäure etwa 51% und im Endprodukt etwa 60% der Menge der Gesamtmilchsäure.

Der Gehalt an Gesamtmilchsäure (Summe L- und D-Milchsäure) hängt während der ganzen Dauer der Käsereifung von der Menge und Veränderungen der beiden Isomere ab. Innerhalb der dritten und vierten Woche bleibt die Gesamtmilchsäure (freie) ziemlich konstant. Der auftretende Anstieg des Gesamtmilchsäuregehalts am Ende der Käsereifung beruht vor allem auf dem Anstieg des D-Milchsäuregehalts.

Von der Zeit des Absinkens des Gehalts der Gesamtmilchsäure korreliert sie positiv und hochsignifikant ( $P < 0,01$ ) mit den Lactosgehalt. Korrelationskoeffizienten betragen 0,931 bzw. 0,962 für die Serie 1 bzw. 2.

Aus einigen Literaturangaben (Hegazi und Abo-Elnaga, 1990) sieht man her for, dass die in der Milch enthaltene Citronensäure zum kleineren Teil in den Käse gelangt und während der Reifung mehr oder weniger schnell abgebaut wird. Nach den Angaben der Varianzanalyse unserer Ergebnisse ergibt sich, dass signifikante ( $P < 0,05$ ) Unterschiede des Citronensäuregehalts zwischen den einzelnen Reifungsstadien, jedoch nicht zwischen Serien bestehen. Der Anfangswert beträgt durchschnittlich 40,5 mg/100g Trockensubstanz und während der 2-Wochenlanger Käsereifung nimmt er signifikant ab (Duncan-Test).

In diesem Zeitraum wurde durchschnittlich 88,9% (in erster Woche) bzw. 96,3% (in zweiter Woche) des anfänglich vorhandenen Citronensäuregehalts metabolisiert. Er ändert sich im weiteren Verlauf der Reifung kaum noch. Die Dynamik des Citronensäureabbaues war gleichmässig in den beiden Serien.

Apfelsäure trat im Käse erst nach der 1-Wochenlanger Reifung auf. Auf Grund der Varianzanalyse (Tabelle 12) wurden keine signifikanten ( $P > 0,05$ ) Unterschiede zwieschen Reifungszeit (Wochen) und zwieschen Serien festgestellt. Sie ist ständig im reifenden Käse in niedrigen Mengen vorhanden.

### Schlussfolgerung

Die Ergebnisse der durchgeführten Untersuchungen zeigen, dass sich nach der ersten Woche der Käsereifung der L-Milchsäuregehalt vermindert, während der D-Milchsäuregehalt zunimmt. Als Folge treten die Veränderungen des Verhältnis der beider Säure zu ungunsten der L-Milchsäure auf.

Nach den Angaben der Varianzanalyse ergibt sich, dass signifikante ( $P < 0,05$ ) Unterschiede des Citronensäuregehalts zwieschen den einzelnen Reifungsstadien, jedoch nicht zwieschen den Serien bestehen.

Apfelsäure trat im Käse erst nach erst Wochenlanger Reifung auf und ist ständig in reifenden Käse in niedrigen Mengen vorhanden.

Obwohl die organischen Säuren in Käse in sehr geringer Konzentration vorhanden sind, kann man aus der Menge so wie aus dem Verhältnis der Säuren Wertvolle Rückschlüsse ziehen.

## SADRŽAJ NEKIH ORGANSKIH KISELINA TIJEKOM ZRENJA SIRA

### Sažetak

U ovom radu istraživane su promjene količine laktoze L- i D- mliječne kiseline, te limunske kiseline i jabučne kiseline tijekom zrenja »Zdenačkog sira«. To je polutvrđi punomasni sir bez kore, čije zrenje je trajalo 6 tjedana ( $12^{\circ}\text{C}$  i 85% relativne vlažnosti). Istraživani sastojci određeni su enzimnim metodama. Dobiveni rezultati statistički su obrađeni, a značajnost promjena tijekom zrenja utvrđena je analizom varijance i multiplim Duncanovim testom

Količina laktoze značajno ( $P < 0,05$ ) se smanjuje tijekom čitavog procesa zrenja, ali je najveća dinamika razgradnje u prva dva tjedna. L- mliječna kiselina se značajno ( $P < 0,05$ ) povećava u prvom tjednu, a nakon toga počinje njezina razgradnja.

Količina D- mliječne kiseline tijekom prva dva tjedna prati kretanje L- mliječne kiseline, a zatim se kontinuirano povećava do kraja zrenja. Zbog toga se mijenja odnos izomera u korist D- mliječne kiseline.

Količina limunske kiseline značajno ( $P < 0,05$ ) se smanjuje u prva dva tjedna zrenja.

Jabučna kiselina je tijekom zrenja prisutna u vrlo malim količinama.

Riječi natuknice: zrenje »Zdenačkog« sira, L- i D- mliječna kiselina, limunska kiselina, jabučna kiselina.

## CONTENTS OF SOME ORGANIC ACIDS DURING CHEESE RIPENING

## Summary

*Autochtone cheese, produced under industrial conditions, ripened for 6 weeks stored at 12°C and at 85% of relative humidity. The change of lactose, free L- and D- lactic acid, citric acid and malic acid was established by the enzyme methods. There was a significant ( $P < 0,05$ ) decrease in the amounts of lactose during the whole ripening time of cheese, but the greatest dynamic of decrease was observed in the first two weeks. Concentration of F- and D- lactic acids increased significantly ( $P < 0,05$ ) in the first week, and decreased in the second week. During the remaining time of ripening L- lactic acid decreased compared to D- lactic acid which was increasing continuously and significantly. This caused a relation in favour of D-lactic acid. The greatest amount of citric acid was found after the pressing and it decreased significantly during the two weeks of ripening. Low amount of malic acid was discovered after the first week of cheese ripening and this amount was continuously low.*

*Additional index words: repening of »Zdenački« cheese, L and D lactic acid, citric acid, malic acid*

## Literatura

- BERNER, G. (1970): *Milchwissenschaft* **25**, 275—279.
- BOEHRINGER (1983): *Methoden der enzymatischen Lebensmittelanalytik*, Mannheim, GMBH.
- HEGAZI, F.Z., ABO-ELNAGA, I. G. (1990): *Nahrung* **34**, 791—801.
- MONTGOMERY, D. C. (1984): *Design and analysis of experiments*, 2. Ed. John Wiley and Sons, New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore.
- PUHAN, Z., WANNER, E. (1979): *Deutsche Molkerei-Zeitung* **100**, 874—878.
- SCHROBER, R., PRINZ, I., CHRIST, W. (1964): *Milchwissenschaft* **19**, 25—28.
- STEFFEN, CHR., NICK, B., BLANC, B. (1975): *Schweiz. Milchw. Forsch.* **4**, 16—22.
- ST-GELAIS, D., DOJON, G., ROLLAND, J.R., GOULET, J. (1991): *Milchwissenschaft* **46**, 288—291.

## Adrese autora — Verfassers Adresse:

Prof. dr. Matilda Grüner  
Lebensmittel-biotechnologische Fakultät, Zagreb  
Doc. dr. Marija Horvatić  
Pharmazeutisch-biochemische Fakultät, Zagreb

## Angenommen — primljeno:

Den 1 September 1992