

## METODY PRZYSPIESZANIA DOJRZEWANIA SERÓW

Monika Garbowska<sup>1</sup>, Antoni Pluta<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Wacława Dąbrowskiego

<sup>2</sup> Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

**Streszczenie.** Dojrzewanie sera to powolny, a w konsekwencji kosztowny proces. Zatem korzyści ekonomiczne i gospodarcze wynikające z przyspieszenia procesu dojrzewania sera są bardzo istotne. W celu przyspieszenia dojrzewania sera wykorzystywane są enzymy takie jak proteinazy, peptydazy i lipazy, jednak ich dodatek może prowadzić do powstania niekontrolowanych reakcji biochemicznych, czego następstwem może być uzyskanie nowych cech sensorycznych sera. Od wielu lat podejmowano próby wykorzystania różnych technik do przyspieszenia dojrzewania serów. Dodatek do mleka serowarskiego enzymów mikrokapsułkowanych lub dodatek kultur bakteryjnych kwasu mlekowego o obniżonej zdolności fermentacyjnej metodami termicznymi albo modyfikowanych genetycznie starterów wydaje się być dobrym rozwiązaniem. W pracy opisano metody dotyczące przyspieszenia dojrzewania serów, do których należą: zastosowanie podwyższonej temperatury dojrzewania, stosowanie wysokich ciśnień, dodatek preparatów enzymatycznych, zastosowanie dodatkowej populacji wyselekcjonowanych drobnoustrojów, dodatek genetycznie modyfikowanych starterów, dodatek, oprócz typowego startera, osłabionych kultur bakterii kwasu mlekowego. Scharakteryzowano wpływ wybranych metod przyspieszania dojrzewania serów na cechy smakowo-zapachowe, teksturalne i skrócenie czasu dojrzewania różnych gatunków sera.

**Słowa kluczowe:** sery dojrzewające, dojrzewanie, przyspieszanie dojrzewania sera, enzymy, kultury bakteryjne o obniżonej zdolności fermentacyjnej

## WSTĘP

Od wieków sery podpuszczkowe są jednym z najczęściej spożywanych produktów mlecznych w strefie klimatu umiarkowanego. Ich roczne spożycie w Polsce wynosi około 4,5 kg na osobę, a w krajach zachodnich jest nawet 5-krotnie wyższe. Popularność

---

Adres do korespondencji – Corresponding author: Monika Garbowska, Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Wacława Dąbrowskiego, Międzyzakładowa Grupa Problemowa ds. Mleczarstwa, ul. Rakowiecka 36, 02-532 Warszawa, e-mail: monika.garbowska@ibprs.pl

serów wynika z ogromnej ich różnorodności i wysokiej wartości odżywczej. Konsumentom serów stawiają im coraz więcej wymagań dotyczących ich walorów smakowych i jakościowych.

Produkcja, a szczególnie dojrzewanie serów, to proces złożony i różnorodny. Dojrzewanie serów uwarunkowane jest wieloma czynnikami związanymi z procesami rozkładu głównie białka i tłuszczu, a zależnymi oprócz podstawowych czynników również od wielkości bloku sera, opakowania czy temperatury w czasie dystrybucji [Law 2001, Pluta i in. 2013]. Dobór odpowiednich kultur starterowych jest bardzo ważny zarówno podczas otrzymywania, jak i dojrzewania sera. Kultura starterowa dodawana do mleka głównie w celu zakwaszenia i właściwego dojrzewania nadaje w dużym stopniu charakterystyczne cechy danego gatunku sera. Przemiany białek w procesie dojrzewania decydują w zasadniczym stopniu o cechach sensorycznych sera. W pierwszym etapie dojrzewania sera rozkład białek zachodzi głównie pod wpływem enzymów podpuszczkowych (np. renniny). Bakterie fermentacji mlekowej po całkowitym przefermentowaniu laktozy zaczynają stopniowo wymierać, a ich wpływ na przemiany białek polega wtedy na działalności uwolnionych po lizie komórek enzymów proteolitycznych. Zatem o degradacji kazeiny podczas wyrobu i dojrzewania decydują wszystkie enzymy proteolityczne: podpuszczka, plazmina, proteinyazy i peptydazy syntetyzowane przez mikroflorę kultury starterowej, a także przez bakterie nie pochodzące z zakwasów i mikroflorę powierzchniową. Udział wymienionych enzymów jest odmienny w przypadku różnych rodzajów sera i został przedstawiony w tabeli 1 [Van den Berg i Exterkate 1993].

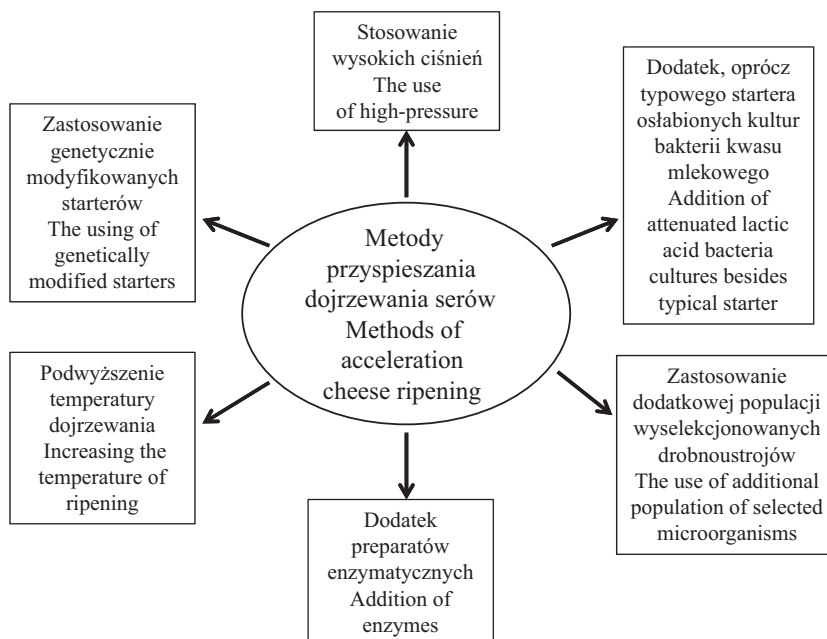
Tabela 1. Udział enzymów proteolitycznych różnego pochodzenia w dojrzewaniu serów według Van den Berg i Exterkate [1993]

Table 1. Participation of proteolytic enzymes of different origin in the maturation of cheeses according to Van den Berg and Exterkate [1993]

Rodzaj sera Type of cheese	Renina Rennin	Plazmina Plasmin	Bakterie mlekowe Lactic acid bacteria		<i>Corynebacterium</i>	Pleśnie Mould
			mezofilne mesophilic	termofilne termophilic		
Ementalski Emmental	±	+ / ++	±	++	-	-
Gruyère	±	+ / ++	±	++	+	-
Gouda	+++	±	+++	-	-	-
Camembert	+++	±	++	-	-	+++
Roquefort	++	±	++	-	-	+++
Gorgonzola	++	±	++	++	+	+++
Cheddar	+++	±	+++	-	-	-

Aktywność/Activity: - brak/none, ± nieznaczna/insignificant, + znaczna/significant, ++ duża/high, +++ bardzo duża/very high.

Czas dojrzewania serów jest dość zróżnicowany i waha się od tygodnia do nawet 2,5 roku w zależności od rodzaju sera. W przypadku serów miękkich trwa on od kilku dni do 2 miesięcy, serów twardych i półtwardych od 2 do 6 miesięcy, a serów bardzo twardych 1–2 lata. Najczęściej stosowane metody przyspieszania dojrzewania serów przedstawiono na rysunku 1.



Rys. 1. Najczęściej stosowane metody przyspieszania dojrzewania serów

Fig. 1. The most frequently used methods of acceleration cheese ripening

## PODWYŻSZONA TEMPERATURA DOJRZEWANIA

Najłatwiejszym w zastosowaniu sposobem umożliwiającym przyspieszenie procesu dojrzewania jest podwyższenie temperatury dojrzewania, jednak rozwiązanie takie przyczynia się do powstawania wielu wad sera (np. zbyt intensywne lub nieprawidłowe oczkowanie, deformacja, gorzki smak sera). Wyższa temperatura podnosi proteolityczną aktywność podpuszczki i innych enzymów obecnych w mleku i serach, ale jeśli proces wstępnej degradacji kazeiny zachodzi zbyt szybko, to następuje nadmierne nagromadzenie średnicząsteczkowych peptydów, dając najczęściej gorzki smak serów. Jednocześnie podwyższona temperatura dojrzewania (16–22°C) może przyspieszać rozwój niepożądananej mikroflory, chociaż zabieg taki po pierwszym okresie dojrzewania stosowany jest przy pobudzaniu rozwoju bakterii propionowych w produkcji serów typu szwajcarskiego. W produkcji tych serów wymagana jest szczególna higiena produkcji, aby w czasie przebywania w ciepłej dojrzewalni nie rozwijały się bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae*, drożdże czy w sprzyjających warunkach bakterie z rodzaju *Clostridium* powodujące

późne wzdęcia serów. Obecnie przy wysokiej higienie produkcji można bezpiecznie podnosić temperaturę dojrzewania serów niż w przeszłości, szczególnie w odniesieniu do serów o stosunkowo krótkim (do 6–8 tygodni) okresie dojrzewania.

Temperatura dojrzewania ma wpływ na tempo proteolizy, skład mikroflory, teksturę i jakość sera. Optymalna temperatura aktywności większości enzymów biorących udział w dojrzewaniu sera mieści się w zakresie od 25 do 45°C. W serowarstwie stosuje się temperatury poniżej tego zakresu i dlatego też podwyższanie temperatury nawet w niewielkim stopniu przyspiesza procesy biochemiczne zachodzące w czasie dojrzewania sera. Choć temperatura dojrzewania jest również jednym z ważniejszych czynników decydujących o intensywności aromatu, zostało przeprowadzonych stosunkowo niewiele badań dotyczących podwyższonej temperatury i jej wpływu na dojrzewanie sera [El Soda 1993]. Może to być spowodowane tym, iż doświadczenia badawcze w stosunkowo niewielkim stopniu sprawdzają się w skali przemysłowej, w której wysoka temperatura dojrzewania jest ryzykowna, a także świadomością, że przechowywanie serów w niskich temperaturach (< 10°C) jest zwykle korzystnym elementem w utrzymaniu stabilności i bezpieczeństwa mikrobiologicznego [Law 2001]. Obniżanie temperatury hamuje proteolizę, w mniejszym stopniu spowalnia też przemiany lipolityczne, które mogą zachodzić w temperaturze około 0°C, a nawet ujemnej –15°C [Ramet 2000a].

W celu przyspieszenia dojrzewania sera cheddar zwiększono temperaturę dojrzewania z 6–8°C do 12–16°C, co doprowadziło do 50-procentowego wzrostu zawartości związków smakowo-zapachowych [El Soda 2002]. Sery cheddar dojrzewające w 16°C były w pełni dojrzałe po 3–4 miesiącach [Rymaszewski i in. 1995]. Folkertsma i inni [1996] stwierdzili, że podwyższenie temperatury dojrzewania z 10 do 15°C wpływa na przyspieszenie dojrzewania serów cheddar. Określili również, że temperatura 12°C jest jednak bardziej odpowiednia, ponieważ tekstura serów dojrzewających w 16°C pogorszyła się po około 6 miesiącach dojrzewania. Również Law [2001] podaje, że dojrzewanie sera cheddar w 12°C było przyspieszone nawet o 60–75% bez pogorszenia tekstury, które może znacznie częściej występować w wyższej temperaturze dojrzewania. Pluta i inni [2004] stwierdzili, że podwyższenie temperatury dojrzewania sera typu holenderskiego o obniżonej zawartości tłuszczu z 12 na 18°C wpływało na nieznaczne przyspieszenie procesu dojrzewania sera, jak również powodowało niewielkie pogorszenie cech organoleptycznych.

## DODATEK PREPARATÓW ENZYMATYCZNYCH

Bardzo dobrym enzymem powodującym intensyfikację proteolizy w serach jest plazmina – rodzimy enzym mleka. Zadawalające wyniki skrócenia dojrzewania przy zachowaniu odpowiednich cech sensorycznych sera stwierdzono przy 4-krotnie większym dodatku plazminy niż wynosi jej naturalna zawartość w mleku. Jednak cena plazminy jest zbyt wysoka, aby to rozwiązanie było ekonomiczne. Alternatywą może być transformacja genu plazminy do genomu bakterii mlekowych i zwiększona synteza plazminy bakteryjnej, której uwolnienie następowaloby po lizie komórek [Fox i Stepaniak 1993].

Problemem w zastosowaniu dodatku enzymów do mleka serowarskiego w celu przyspieszenia dojrzewania oprócz często występującego gorzkiego smaku serów jest niski

stopień ich przejścia do masy serowej. Alternatywą może być zastosowanie enzymów mikro kapsułkowanych, co zapewniłoby ich stabilność w czasie obróbki skrzepu, przechodzenie do masy serowej oraz ich powolne uwalnianie w czasie dojrzewania serów. Jednak zastosowanie tych metod jest dość kosztowne. Przyspieszenie procesu dojrzewania serów można osiągnąć także poprzez zwiększanie dodatku podpuszczki. Jest to jednak ryzykowny sposób ze względu na możliwość wystąpienia już w pierwszym okresie dojrzewania wad smakowych gotowego produktu. Zbyt duży dodatek podpuszczki może bowiem powodować powstawanie gorzkiego smaku [El Soda 1993, Skeie i in. 1995a, Choisy i in. 2000].

Istnieje również możliwość intensyfikacji procesu dojrzewania serów poprzez zastosowanie enzymów o silnych właściwościach proteolitycznych otrzymanych z *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis* lub *Aspergillus oryzae*. Wynikiem ich stosowania jest znaczny wzrost stopnia degradacji białek w porównaniu do innych enzymów. Jednak odmienna specyficzność substratowa enzymów uniemożliwia standaryzację cech sensorycznych serów, przyczyniając się często do powstawania wad ich smaku [Ardö i Pettersson 1988, El Soda i Pandian 1991].

Handlowym preparatem stosowanym do przyspieszania dojrzewania serów różnego typu, także serów o obniżonej zawartości tłuszczu jest preparat Accelase<sup>®</sup> (Rhodia) [Law 2001].

Niektórzy uważają, że zastosowanie mieszaniny enzymów do przyspieszania dojrzewania serów może być dobrym rozwiązaniem, ale wymaga to przeprowadzania bardzo szczegółowych badań określających dobór odpowiednich enzymów, jak również ich dawki, tak aby nie powodowały powstawania nietypowych zmian tekstury i niekorzystnych cech smakowo-zapachowych charakterystycznych dla danego sera [Choisy i in. 2000].

## STOSOWANIE DODATKOWYCH KULTUR BAKTERII

Do najczęściej stosowanych dodatkowych kultur oprócz podstawowego, charakterystycznego dla danego gatunku sera startera należą bakterie zaliczane do rodzaju *Lactobacillus*: *Lb. casei*, *Lb. helveticus*, *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lb. planatarum*, *Lb. rhamnosus* i *Lb. curvatus*.

Wykorzystanie *Lb. rhamnosus* oraz *L. lactis* subsp. *lactis* i *L. lactis* subsp. *cremoris* jako kultur dodatkowych w produkcji owczego sera kefalograviera nie wpływało na pogorszenie cech smakowo-zapachowych serów, ale powodowało pogorszenie ich cech teksturalnych [Katsiari i in. 2002, Kondyli i in. 2003]. Dodatek do serów półtwardych *Lb. acidophilus* uwydatniał smak serów, przyspieszał ich dojrzewanie oraz zwiększał zawartość aminokwasów, głównie alaniny, lizyny i izoleucyny w porównaniu z serami kontrolnymi [Bergamini i in. 2006]. Jednak mimo korzyści wynikających z możliwości zastosowania tych drobnoustrojów w produkcji serów, niektóre szczepy *Lb. acidophilus* muszą być stosowane tylko i wyłącznie wraz ze szczepionką typu O, ponieważ zbyt wolno przekształcają laktozę do kwasu mlekowego. Niektórzy badacze uważają, że w degradacji parakazeiny do niskocząsteczkowych związków azotowych, a także w tworzeniu smaku i zapachu sera gouda, bardziej istotne od peptydaz uwalnianych po autolizie kultur startera są niestarterowe bakterie kwasu mlekowego [Cichosz i in. 2006].

Istnieją rozbieżne poglądy na temat wpływu dodatkowych kultur pałeczek mlekowych na jakość otrzymanywanych serów. Niektórzy autorzy uważają, iż dodatek bakterii z rodzaju *Lactobacillus* przyczynia się do obniżenia jakości i występowania większości wad w hiszpańskich serach armada lub cheddar [Herreros i in. 2007, Rynne i in. 2007]. Inni z kolei [Di Cagno i in. 2006] podają, że bakterie te nie wpływają na zmianę cech zapachowych i właściwości sera, a jeszcze inni, że pozytywnie wpływają na proteolizę i cechy zapachowe [Irigoyen i in. 2007]. Głównym powodem występowania tak dużych rozbieżności poglądów jest najprawdopodobniej to, że pałeczki mlekowe (gatunki, szczepy) wykazują zróżnicowane właściwości, co wpływa na wiele możliwości ich doboru jako kultur dodatkowych. Właściwości te są szczezpozależne, co może stwarzać trudności w doborze odpowiedniego składu drobnoustrojów. Nie należy jednak bezkrytycznie odnosić się do danych literaturowych, ponieważ materiałem badawczym są różne gatunki serów, często także wyroby regionalne wykorzystujące odmienne procesy produkcyjne i różne drobnoustroje jako kultury podstawowe i dodatkowe.

## GENETYCZNE MODYFIKACJE STARTERÓW

Celem modyfikacji genetycznych bakterii kwasu mlekowego jest poprawa właściwości technologicznych procesu fermentacji, wzrost stabilności i powtarzalności parametrów procesu produkcji oraz poprawa bezpieczeństwa i jakości produktów. Metabolizm komórkowy może być wykorzystywany do produkcji wybranych metabolitów, takich jak dodatki do żywności czy związki smakowo-zapachowe. Może również służyć otrzymywaniu bioaktywnych peptydów o właściwościach prozdrowotnych [Renault 2002].

Wprowadzanie genów kodujących peptydazy do *L. lactis* pochodzących od innych bakterii kwasu mlekowego (*Lb. helveticus*, *Lb. delbrueckii*) umożliwia nadanie systemowi proteolitycznemu ziarniaków nowych właściwości, a co za tym idzie, przyspieszenie procesu dojrzewania [Joutsjoki i in. 2002]. W badaniach dotyczących mechanizmu regulacji ekspresji genów *L. lactis* wyizolowano komórki, które utraciły zdolność wytwarzania kwasu mlekowego z laktozy oraz zdolność hydrolizy białek. Takie warianty genetyczne uważane są za mutanty laktozonegatywne ( $Lac^-$ ) i proteinazonegatywne ( $Prt^-$ ) [Courtin i in. 2002]. Birkeland i inni [1992] wykazali, że mutanty  $Lac^-$  i  $Prt^+$  bakterii z rodzaju *Lactococcus* wykorzystane w produkcji sera gouda powodowały skrócenie czasu dojrzewania serów. Liza ich komórek zachodziła intensywnie podczas pierwszych trzech tygodni dojrzewania, w czasie których uwalniane do sera były wewnątrzkomórkowe enzymy (prolinoiminopeptydaza, dehydrogenaza mleczanowa). Procesy proteolizy zachodziły dużo szybciej i bardziej intensywnie w serach z mutantami bakterii niż w serach kontrolnych, a jednocześnie bakterie te nie wpływały na obniżenie jakości serów.

El Soda [1993] podaje, że zastosowanie w wyrobie sera oprócz tradycyjnego startera również zakwasu  $Lac^-$  powodowało znaczne zwiększenie liczby bakterii w masie sera, a jednocześnie pozwalało uniknąć przekwaszenia gęstwy serowej. Zwiększona liczba komórek była źródłem większej ilości wewnątrzkomórkowych peptydaz. Przyspieszona autoliza komórek bakterii w masie sera powodowała uwolnienie znacznych ilości enzymów, które przyczyniają się do powstawania niskocząsteczkowych peptydów i wolnych aminokwasów decydujących o ostatecznym smaku i zapachu sera.

Dotychczas u genetycznie modyfikowanych mikroorganizmów, które mogą być wykorzystywane do przyspieszania dojrzewania serów, zmieniano głównie proteiny (laktocepina), peptydazy oraz właściwości lityczne. Być może kolejne generacje genetycznie modyfikowanych (GM) bakterii kwasu mlekowego (LAB) będą miały zupełnie zmieniony metabolizm aminokwasów. Poszerzenie wiedzy na temat systemu enzymów LAB biorących udział w rozkładzie kazeiny do peptydów i aminokwasów może doprowadzić do określenia odpowiedniej kombinacji enzymów, która może być najlepszym rozwiązaniem w kontroli i produkcji serów, a także wpływać na wytwarzanie kluczowych aminokwasów w trakcie ich dojrzewania, takich jak glutamina (uwytadnia smak), prolina (słodycz), metionina i cysteina (prekursor lotnych związków siarkowych), walina (prekursor rozgałęzionych łańcuchowych kwasów tłuszczowych), fenyloalanina (prekursor kwiatowego aromatu) bez nadmiernego tworzenia związków kształtujących gorzki smak [Law 2001]. Kultury takie mogą również być wykorzystywane do otrzymywania bioaktywnych peptydów w mlecznych produktach fermentowanych np. przez użycie silnie proteolitycznego *Lactobacillus helveticus* [FitzGerald i in. 2004, Gobbetti i in. 2004].

## DODATEK KULTUR LAB O ZMNIJSZONEJ AKTYWNOŚCI

Rola kultur starterowych w procesie produkcji serów jest dość dobrze poznana. W celu przyspieszania procesu dojrzewania nie można stosować zwiększonej ilości startera lub dodatkowych zbyt aktywnych kultur bakterii. Więcej bakterii oznacza większą i szybszą produkcję kwasu mlekowego w początkowych etapach wyrobu sera i przekwaszenie masy serowej przed dojrzewaniem. W technologii serowarstwa opracowano kilka metod osłabiania kultur bakteryjnych, które zapobiegają tworzeniu nadmiernych ilości kwasu mlekowego przed soleniem i dojrzewaniem sera [Law 2001].

Wśród metod zwiększania przepuszczalności błon komórkowych bądź lizy komórek bakteryjnych przy jednoczesnym zahamowaniu zdolności fermentacyjnych stosuje się m.in. mechaniczną obróbkę ultradźwiękami, fizyczną obróbkę poprzez działanie wysoką lub niską temperaturą oraz chemiczną obróbkę z wykorzystaniem np. n-butanolu lub alkoholu izopropylowego.

Najłatwiejszym do zastosowania przemysłowego sposobem ograniczającym przeżywalność komórek i zmniejszenie ich aktywności kwaszącej jest metoda szoku termicznego pod wpływem wysokiej temperatury bądź rozrywanie komórek poprzez mrożenie. Działanie odpowiednio wysoką temperaturą na komórki bakterii powoduje unieczynnienie  $\beta$ -galaktozydazy i całego kompleksu enzymatycznego odpowiedzialnego za fermentację laktozy przy jednoczesnym zachowaniu aktywności proteolitycznej. Zbyt wysoka temperatura powoduje również zahamowanie aktywności proteolitycznej. Kultury starterowe poddane obróbce termicznej są źródłem zarówno proteinaz ścian komórkowych, jak i wewnątrzkomórkowych peptydaz syntetyzowanych przez wszystkie szczepy stosowane w przemyśle mleczarskim.

Oslabione poprzez obróbkę termiczną startery scharakteryzowali Petterson i Sjöström w 1975 roku. Wykazali, że skuteczność stosowanych parametrów czasu i temperatury inaktywacji, zależy od gatunku mikroorganizmów. Zniszczenie komórek bakterii

mezofilnych następuje podczas ogrzewania w temperaturze 59°C przez 15 sekund, a termofilnych jak np. *Lb. helveticus* – w 69°C przez 15 sekund. Inni autorzy zalecają stosowanie dla *Lb. helveticus* obróbki w temperaturze 64°C przez 18 sekund. W przypadku bakterii z rodzaju *Lactococcus* ogrzewanie komórek w temperaturze 56,5°C przez 17 sekund powodowało zmniejszenie ilości wytwarzanego kwasu o 93–97% [Klein i Lortal 1999].

Dane literaturowe podają wiele przykładów stosowania dodatkowych osłabionych fermentacyjnie starterów (inaktywowanych poprzez obróbkę termiczną) w produkcji serów. Wykorzystywane były one głównie w celu przyspieszenia dojrzewania serów. Zwykle dodatek termizowanych kultur bakteryjnych nie wpływał na zmianę pH i skład serów. W większości opisywanych przypadków dodatek zarówno termizowanych kultur *Lb. helveticus* i *L. lactis* oraz kultur bakterii mezofilnych, jak i termofilnych wzmacłał proteolizę, wywierał pozytywny wpływ na cechy zapachowe i nie obserwowano wystąpienia goryczki w serach [Farkye i in. 1995, Skeie i in. 1995a, Fox i in. 1996, Skeie i in. 1997, Salomskiene 1998, El-Etriby i in. 1998].

Pluta [2008] i Pluta i inni [2011] stwierdzili, że zastosowanie w produkcji sera 1–2,5% dodatkowego termizowanego w temperaturze powyżej 65°C przez nawet do 30 minut startera przyspieszało proces dojrzewania i podwyższało jakość serów typu holenderskiego. Dodatkowy termizowany starter wykorzystany do wyrobu modeli serów przyspieszał również proces proteolizy [Antczak i in. 2011].

W serach cheddar otrzymanych z dodatkiem *Lb. helveticus* i *Lb. casei* o zmniejszonej aktywności fermentacyjnej uzyskanej poprzez ogrzewanie i zamrażanie otrzymano znacznie wyższe ilości uwalnianych wolnych aminokwasów w porównaniu z serami kontrolnymi. Ponadto sery te charakteryzowały się dobrym smakiem i aromatem [Madkor i in. 2000].

Di Cagno i inni [2011] wykorzystali do wyrobu włoskiego sera typu caciotta *Lb. paracasei* FC2-5, *Lb. casei* LC01 i *Lb. curvatus* 2770 jako kultury dodatkowe (AC) oraz jako kultury dodatkowe osłabione poprzez obróbkę ultradźwiękami (AAC). Stwierdzili, że obróbka ultradźwiękami stanowi dobrą metodę otrzymywania osłabionych, mezofilnych kultur dodatkowych pałeczek mlekowych. Osłabione kultury AAC nie powodowały zmiany pH sera, a zwiększały zawartość wolnych kwasów tłuszczowych oraz aminokwasów i stymulowały syntezę ketonów, drugorzędowych alkoholi i związków siarkowych w serach. Zostały one także lepiej ocenione sensorycznie niż sery kontrolne. Ponadto określili, że obróbka ultradźwiękami nie wpływała na inaktywację enzymów LAB. Według autorów opisana metoda może być dobrym rozwiązaniem osłabiania aktywności fermentacyjnej komórek pałeczek mlekowych.

## WNIOSKI

W pracy przedstawiono metody stosowane do przyspieszania dojrzewania serów, które obejmują głównie wnioski z prac badawczych prowadzonych w tym zakresie. Przyspieszanie dojrzewania sera ma przede wszystkim znaczenie ekonomiczne zarówno dla producenta, jak i konsumenta, ale wymuszane jest głównie ze strony producenta. Jednak cechy organoleptyczne sera poddanego przyspieszaniu dojrzewania narażone są na



pogorszenie. Korzyści z przyspieszania dojrzewania sera mają duże znaczenie przy serach o stosunkowo długim okresie dojrzewania (co najmniej powyżej jednego miesiąca). Bez stosowania sprawdzonych metod przyspieszania dojrzewania sera, bardzo często na rynek trafiają sery niedojrzałe lub o niewystarczającym stopniu dojrzałości. W związku z powyższym również dla konsumenta lepszym rozwiązaniem jest zastosowanie przyspieszania dojrzewania sera niż umieszczanie na rynku serów niedojrzałych. Prowadzi się ciągle wiele badań w celu przyspieszenia procesu dojrzewania przy zachowaniu lub poprawie typowych dla tradycyjnego dojrzewania cech smakowo-zapachowych sera. Przyspieszanie dojrzewania sera ma wiele kierunków i różne możliwości praktycznego zastosowania.

Spśród wielu metod przyspieszania dojrzewania serów obok stosowania gotowych preparatów enzymatycznych coraz większe znaczenie może mieć otrzymywanie odpowiednich dodatkowych starterów LAB osłabionych fermentacyjnie różnymi metodami (Lac<sup>-</sup>) przy zachowaniu kontrolowanej aktywności proteolitycznej (Prt<sup>+</sup>). Metodami tymi można zarówno przyspieszyć proces dojrzewania danego sera, jak i kreować nowe oryginalne smaki serów, stosując jako dodatkowe te same kultury bakterii jak w kulturze podstawowej tylko bez aktywności fermentacyjnej.

## LITERATURA

- Antczak M., Pluta A., Garbowska M., 2011. Ocena zakresu zmian proteolitycznych w modelu sera z udziałem dodatkowego zakwasu. ZPPNR 566, 225–232.
- Ardö Y., Pettersson H., 1988. Accelerated cheese ripening with heat treated cells of *Lactobacillus helveticus* and commercial proteolytic enzyme. J. Dairy Res. 55(2), 239–245.
- Bergamini C.V., Hynes E.R., Zalazar C.A., 2006. Influence of probiotic bacteria on the proteolysis profile of a semi-hard cheese. Int. Dairy J. 16, 856–866.
- Birkeland S., Abrahamsen R., Langsrud T., 1992. Accelerated cheese ripening: use of Lac-mutants of Lactococci. J. Dairy Res. 59(5), 889–900.
- Choisy C., Desmazeaud M., Gripon J., Lamberet G., Lenoir J., 2000. The biochemistry of ripening. W: Cheesemaking. From science to quality assurance. Red. Eck A., Gillis J.C., Lavoisier Publishing, Paris, 82–151.
- Cichosz G., Szpendowski J., Cichosz A., Kornacki M., 2006. Degradacja parakazeiny w serach Gouda otrzymanych z dodatkiem kultur *Lactobacillus*. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość. 1(46), 58–65.
- Courtin P., Nardi M., Wegmann U., Joutsjoki V., Ogier J.C., Gripon J.C., Palva A., Henrich B., Monnet V., 2002. Accelerating cheese proteolysis by enriching *Lactococcus lactis* proteolytic system with lactobacilli peptidases. Int. Dairy J. 12, 447–454.
- Di Cagno R., Quinto M., Corsetti A., Minervini F., Gobbetti M., 2006. Assessing the proteolytic and lipolytic activities of single strains of mesophilic lactobacilli as adjunct cultures using a Caciotta cheese model system. Int. Dairy J. 16, 119–130.
- Di Cagno R., De Pasquale I., De Angelis M., Buchin S., Calasso M., Fox P.F., Gobbetti M., 2011. Manufacture of Italian Caciotta-type with adjuncts and attenuated adjuncts of selected non-starter lactobacilli. Int. Dairy J. 21, 254–260.
- El-Etriby H.M., Al-Khary A.F., Zaghoul A.H., Shahein N.M., El-Sheikh M.M., 1998. Effect of heat-shocked starter on the ripening of UF Edam cheese. Egyptian J. Dairy Sci. 26, 131–138.

- El Soda M., Pandian S., 1991. Recent developments in accelerated cheese ripening. *J. Dairy Sci.* 74(7), 2317–2335.
- El Soda M., 1993. The role of lactic acid bacteria in accelerated cheese ripening. *FEMS Microbiol. Rev.* 12, 239–252.
- El Soda M., 2002. Accelerated cheese ripening. W: *Encyklopedia of Dairy Sciences*. Red. Rogiński H., Fuquay J., Fox P., Academic Press Amsterdam, 327–329.
- Farkye N., Madkor S., Atkins H., 1995. Proteolytic abilities of some lactic acid bacteria in model cheese system. *Int. Dairy J.* 5, 715–725.
- Folkertsma B., Fox P., McSweeney P., 1996. Accelerated ripening of cheddar cheese at elevated temperature. *Ind. Dairy J.* 6, 117–1134.
- Fox P., Stepaniak L., 1993. Enzymes in cheese technology. *Int. Dairy J.* 3, 509–530.
- Fox P.F., Wallance J.M., Morgan S., Lynch C.M., Niland E.J., Tobin J., 1996. Acceleration of cheese ripening. *A. Van Leeuw. J. Microb.* 70, 271–297.
- FitzGerald R.J., Murray B.A., Walsh D.J., 2004. Hypotensive peptides from milk proteins. *J. Nutr.* 134, 980–988.
- Gobbetti M., Minervini F., Rizzello C.G., 2004. Angiotensin I-converting-enzyme-inhibitory and antimicrobial bioactive peptides. *Int. J. Dairy Technol.* 57, 172–188.
- Herreros M.A., Arenas R., Sandoval M.H., Castro J.M., Fresno J.M., Tornadizo M.E., 2007. Effect of addition of native cultures on characteristic of Armada cheese manufactured with pasteurized milk: A preliminary study. *Int. Dairy J.* 17, 328–335.
- Irigoyen A., Ortigosa M., Juansaras I., Oneca M., Torre P., 2007. Influence of an adjunct culture of *Lactobacillus* on the free amino acids and volatile compounds in a Roncal-type ewe's-milk cheese. *Food Chem.* 100, 71–80.
- Joutsjoki V., Luoma S., Tamminen M., Kilpi M., Johansen E., Palva A., 2002. Recombinant *Lactococcus* starters as a potential source of additional peptidolytic activity in cheese ripening. *J. Appl. Microbiol.* 92, 1159–1166.
- Katsiari M., Voutsinas L., Kondyli E., 2002. Improvement of sensory quality of low-fat Kefalograviera-type cheese by using commercial special starter cultures. *J. Dairy Sci.* 85, 2759–2767.
- Klein N., Lortal S., 1999. Attenuated starters: an efficient means to influence cheese ripening – a review. *Int. Dairy J.* 9, 751–762.
- Kondyli E., Massouras T., Katsiari M., Voutsinas L., 2003. Free fatty acids and volatile compounds of low-fat Kefalograviera-type cheese made with commercial adjunct cultures. *Int. Dairy J.* 13, 47–54.
- Law B.A., 2001. Controlled and accelerated cheese ripening: The research base for New technology. *Int. Dairy J.* 11, 383–398.
- Madkor S., Tong P., El Soda M., 2000. Ripening of Cheddar cheese with added attenuated adjunct cultures of *Lactobacilli*. *J. Dairy Sci.* 83, 1684–1691.
- Pluta A., Berthold A., Ziarno M., Kielak J., 2004. The impact of ripening temperature of low-fat Dutch cheeses on their physicochemical and sensory features. *Materiały Międzynarodowej Konferencji Naukowej „Food innovations for an increasing Europe”*, Warsaw 26–29.10.2004, P.2.31, s. 32–33.
- Pluta A., 2008. *Badania nad otrzymywaniem serów typu holenderskiego o zmniejszonej zawartości tłuszczu*. Praca habilitacyjna. Warszawa, Wyd. SGGW, 57–70.
- Pluta A., Garbowska M., Berthold-Pluta A., 2011. Zgłoszenie patentowe nr P-397418 pt. „Sposób otrzymywania sera dojrzewającego, sposób otrzymywania zakwasu, zakwas i ser dojrzewający”.

- Pluta A., Bertold-Pluta A., Olkowski M., Kozicki M., 2013. Wpływ pakowania w modyfikowanej atmosferze (map) na cechy jakościowe plasterkowanego sera typu szwajcarskiego. ZPPNR 572, 53–64.
- Ramet J.P., 2000a. Milk transforming agent. W: *Cheesemaking. From science to quality assurance*. Red. Eck A., Gillis J.C., Lavoisier Publishing, Paris, 155–163.
- Renault P. 2002. Genetically modified lactic acid bacteria: applications to food or health and risk assessment. *Biochimie* 84, 1073–1087.
- Rymaszewski J., Cichosz G., Kujawski M., Zdral J., 1995. Możliwości przyspieszania dojrzewania sera. *Przeгляд Mleczarski* 5, 35–37.
- Rynne N.M., Beresford T.P., Kelly A.L., Guinee T.P., 2007. Effect of milk pasteurization temperature on age-related changes in lactose metabolism, pH and the growth of non-starter lactic acid bacteria in half-fat Cheddar cheese. *Food Chem.* 100, 375–382.
- Salomskiene J., 1998. Use of heat-treated starter for the intensification of cheese ripening. *Milchwissenschaft* 53, 28–30.
- Skeie S., Narvhus J., Ardö Y., Abrahamsen R.K., 1995a. Influence of liposome – encapsulated Neutrase and heat-treated lactobacilli on quality of low-fat Gouda-type cheese. *J. Dairy Res.* 62, 131–139.
- Skeie S., Narvhus J., Ardö Y., Thorvaldsen K., Abrahamsen R.K., 1997. The effect of reduced salt content on the function of liposome-encapsulated Neutrase and heat-treated lactobacilli in rindless low-fat cheese. *Lait* 77, 575–585.
- Van den Berg G., Exterkate F.A., 1993. Technological parameters involved in cheese ripening. *Int. Dairy J.* 3, 485–507.

## METHODS OF ACCELERATED CHEESE RIPENING

**Summary.** Cheese ripening has been defined as the controlled decomposition of a rennet coagulum of milk constituents. The ripening process of cheese is very complex and involves microbiological and biochemical changes to the curd resulting in the flavour and texture characteristic of the particular variety. Maturation time of cheeses are very different and ripened periods ranging from about one weeks to two or more years, depending on the type of cheese. In the case of soft cheese ripening lasts from several days to two months, of hard and semi-hard cheeses from 2 to 6 months, and very hard cheeses from 1 to more than 2 years. The ripening of cheese is a slow, and consequently an expensive process. Thus, economic benefits of accelerating the process of cheese ripening are very important. Lactic acid bacteria play a key role during ripening and can therefore be used as accelerating agents. In order to accelerate the ripening of cheese are used enzymes such as proteases, peptidases and lipases, but, their additive can lead to uncontrolled biochemical reactions which may result in values to achieve a completely new flavour of cheese. For many years, new approaches have been attempted to accelerate the cheese ripening. The addition to milk of encapsulated enzymes or lactic acid bacteria with thermal reduced ability to fermentation or genetically modified starters it seems to be a good solution. In this paper discusses methods of accelerated cheese ripening which include: the use of elevated ripening temperature, high-pressure processing, addition of enzymes, the use of selected increased microbial populations adjuncts, addition of genetically modified starters, addition of attenuated lactic acid bacteria cultures besides typical starter. Characterized the impact

of selected methods accelerating cheese ripening on the characteristics of flavour, textural and shorten the maturation of different types of cheese. Among the many methods of accelerating cheese ripening, it seems that the beside application of ready to use enzymes the increasing importance will had receive appropriate additional starters of LAB with reduced ability to fermentation by different methods, while maintaining a controlled proteolytic activity. These methods can both accelerate the maturation of the cheese and create new original flavors of cheese.

**Key words:** dutch-type cheeses, maturing, acceleration of cheese ripening, enzymes, attenuated starter cultures