

Mgr inż. Marek ALJEWICZ
 Prof. dr hab. Grażyna CICHOSZ
 Mgr inż. Marika KOWALSKA
 Katedra Mleczarstwa i Zarządzania Jakością, Wydział Nauki o Żywności
 Uniwersytet Warmińsko – Mazurski w Olsztynie

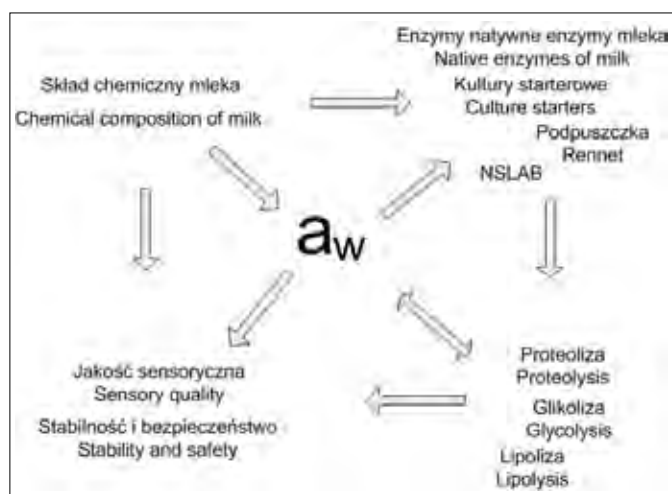
AKTYWNOŚĆ WODY – PARAMETR KSZTAŁTUJĄCY JAKOŚĆ SERÓW DOJRZEWAJĄCYCH®

Aktywność wody w serach dojrzewających kształtowana jest na etapie produkcji. Proces technologiczny prowadzi do stopniowego odwodnienia (synerезy) skrzepu powstającego pod wpływem podpuszczki oraz fermentacji mlekowej. W serach bezpośrednio po wyrobie na aktywność wody w największym stopniu wpływa proces solenia. Obserwowany podczas dojrzewania powolny spadek aktywności wody jest konsekwencją wzrostu zawartości rozpuszczalnych w wodzie produktów degradacji parakazeiny, w mniejszym stopniu produktów hydrolizy tłuszczu mlekowego. Sery różnego typu charakteryzują się zróżnicowaną aktywnością wody.

WPROWADZENIE

Obecna w produktach spożywczych woda występuje w trzech różnych formach: jako woda wolna oraz związana hydratacyjnie lub pośrednio. Proporcje pomiędzy wodą wolną, a związaną zależne są od obecności nisko- i wysokocząsteczkowych substancji rozpuszczalnych. Ilość wody pozostającej w produkcie jest ściśle powiązana z aktywnością wody – aczkolwiek zależność ta nie jest wprost proporcjonalna.

Aktywność wody definiowana jest jako stosunek prężności pary wodnej nad żywnością do prężności pary nad czystą wodą w tej samej temperaturze [2,5]. Jako pierwszy pojęcie aktywności wody (a_w) sformułował William James Scott, który w 1953 roku dowiódł, że wzrost mikroorganizmów jest ściśle powiązany z wartością tego parametru. Aktualnie powszechnie wiadomo, że nie tylko przeżywalność bakterii, ale także wszystkie przemiany fizykochemiczne oraz reakcje enzymatyczne są uzależnione od aktywności wody (rys.1).



Rys. 1. Czynniki wpływające na aktywność wody w serach dojrzewających.

Źródło: Marcos A., 1993.

Warunkiem zaistnienia większości reakcji enzymatycznych w produktach spożywczych jest obecność wody wolnej. Woda stanowi jednocześnie rozpuszczalnik i czynnik

wpływający na strukturę konformacyjną białek enzymatycznych, które determinują przemiany biochemiczne [18]. Aktywność większości enzymów (amylazy, fenolooksydazy, peroksydazy i in.) hamowana jest przy a_w poniżej 0,8.

Wyjątkiem od tej reguły są procesy hydrolizy tłuszczów. Lipazy mogą być aktywne nawet przy a_w równej 0,1. W tego typu reakcjach hydrofobowy substrat jest rozpuszczony w tłuszczu. Woda wówczas nie jest rozpuszczalnikiem, ale wpływając na strukturę przestrzenną enzymu umożliwia jego działanie.

Możliwe w produktach przemiany enzymatyczne, które przebiegają przy najniższej aktywności wody (0,1-0,3) to hydroliza oraz utlenianie tłuszczów [22].

Celem publikacji jest przedstawienie wpływu aktywności wody na przemiany mikrobiologiczne i biochemiczne podczas dojrzewania serów różnego typu.

ZMIANY AKTYWNOŚCI WODY PODCZAS WYROBU SERA

Aktywność wody w serach kształtowana jest na etapie produkcji i zależy przede wszystkim od proporcji wody i kazeiny, w mniejszym stopniu od zawartości tłuszczu [19]. Podstawowym parametrem świadczącym o prawidłowym przebiegu procesu technologicznego jest odpowiednia (typowa dla danego sera) dynamika fermentacji mlekowej. Fermentacja laktozy w serach możliwa jest przy a_w 0,95-1. Wraz ze spadkiem a_w ulega spowolnieniu. Analogiczna zależność istnieje przy wytwarzaniu diacetylu. Bakterie *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* var. *diacetylactis* wytwarzają największe ilości diacetylu przy a_w w zakresie 0,950-0,970 [14]. Jednakże fermentacja laktozy i cytrynianów zależna jest również od obecności odpowiednich substratów.

Proces technologiczny prowadzi do stopniowego odwodnienia skrzepu w wyniku synerезy. Do obkurczenia ziarna serowego w dużej mierze przyczynia się dodatek wody technologicznej oraz dogrzewanie gęstwy. Skutkuje to zwiększeniem zawartości suchej masy, a tym samym obniżeniem aktywności wody (również przez powstające produkty glikolizy). Stopień synerезy jest tym większy im bardziej

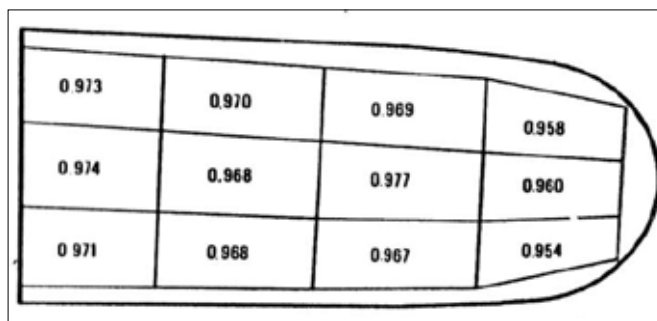
rozdrobiony skrzep, intensywniejsze i dłuższe mieszanie, wyższa temperatura dogrzewania oraz stopień ukwaszenia. W serach o mniejszym stopniu ukwaszenia straty związków mineralnych w wyniku przejścia wapnia do serwatki są znacznie mniejsze niż w serach miękkich (o większym stopniu ukwaszenia), co również wpływa na aktywność wody.

Aktywność wody podczas formowania sera wynosi ok. 0,99 i nie wywiera wpływu na dynamikę fermentacji laktozy. Również na etapie prasowania, wskutek częściowego usunięcia serwatki (ok. 3% całej masy sera), a także w związku z procesami fermentacyjnymi aktywność wody maleje.

ZMIANY AKTYWNOŚCI WODY PODCZAS SOLENIA SERA

W serach bezpośrednio po wyrobie na aktywność wody w największym stopniu wpływa proces solenia [10, 23]. Wielu autorów próbowało zdefiniować matematyczną zależność a_w od zawartości wody i zmiany stężenia chlorku sodu. Saurel i in. [21] dowiódł, że istnieje korelacja pomiędzy zawartością H_2O i $NaCl$, a poziomem aktywności wody. Wykazał, że zawartość wody wewnątrz sera ementalskiego przyjmuje prawie stałą wartość. W warstwach powierzchniowych w miarę dojrzewania zawartość H_2O i $NaCl$ sukcesywnie malała. Natomiast w środkowej warstwie sera w czasie dojrzewania stężenie $NaCl$ wzrastało średnio o $0,008 \text{ kg NaCl kg}^{-1}$ wody (Tab. 1).

Intensywność dyfuzji soli z zewnętrznych do wewnętrznych warstw sera uzależniona jest od aktywności wody i różnicy stężenia soli w poszczególnych warstwach sera oraz wilgotności powietrza w dojrzewalni. W związku z powyższym a_w w powierzchniowych wartościach sera nie jest wartością stałą i ulega ciągłej zmianie w trakcie dojrzewania [12, 19]. Nawet w długodojrzewających serach solonych w solance koncentracja $NaCl$ jest różna w poszczególnych warstwach. Dlatego też, w wewnętrznych warstwach sera aktywność wody jest wyższa niż w warstwie zewnętrznej (rys. 2) [10,15,16].



Rys. 2. Aktywność wody w różnych warstwach sera ementalskiego [20].

Źródło: Rüegg M., Blanc B., 1981.

W przypadku niewłaściwie przeprowadzonego procesu produkcyjnego największe prawdopodobieństwo wystąpienia fermentacji masłowej dotyczy wewnętrznych warstw sera [9].

Aktywność wody determinowana m.in. przez $NaCl$ wpływa także na wzrost kultur starterowych, mikroflory wtórnej oraz technologicznie szkodliwej [10,23].

ZMIANY AKTYWNOŚCI WODY PODCZAS DOJRZEWANIA SERA

W wyniku procesów mikrobiologicznych i biochemicznych, zachodzących podczas dojrzewania sera, obserwuje się powolny spadek aktywności wody. Warunkiem niezbędnym do prawidłowego wzrostu bakterii jest typowa dla danego mikroorganizmu aktywność wody, poniżej, której nie wykazują one zdolności do wzrostu [4].

Dla większości serów dojrzewających a_w mieści się w zakresie $0,92-0,98$ i jest optymalna dla wzrostu większości mikroorganizmów. Kultury starterowe (LAB) z reguły odznaczają się wyższym poziomem tolerancji na wahania a_w w przeciwieństwie do innych grup drobnoustrojów. W początkowych etapach dojrzewania sera spadek aktywności wody nie wpływa istotnie na przeżywalność kultur starterowych oraz mikroflory wtórnej. Minimalna wartość a_w dla wzrostu

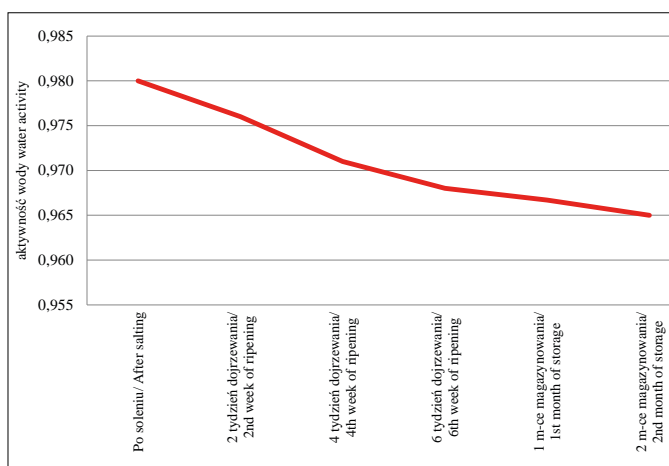
Tabela 1. Zmiany zawartości wody i $NaCl$ w serze ementalskim

Czas dojrzewania sera Time of cheese ripening (days)	Wewnętrzne warstwy sera interior layers centre		Zewnętrzna warstwa sera exterior layers	
	$X_{woda} (\text{kg}_{woda} \text{ kg}^{-1}_{dm})$	$X_{NaCl} (\text{kg}_{NaCl} \text{ kg}^{-1}_{woda})$	$X_{woda} (\text{kg}_{woda} \text{ kg}^{-1}_{dm})$	$X_{NaCl} (\text{kg}_{NaCl} \text{ kg}^{-1}_{woda})$
	$X_{water} (\text{kg}_{water} \text{ kg}^{-1}_{dm})$	$X_{NaCl} (\text{kg}_{NaCl} \text{ kg}^{-1}_{water})$	$X_{water} (\text{kg}_{water} \text{ kg}^{-1}_{dm})$	$X_{NaCl} (\text{kg}_{NaCl} \text{ kg}^{-1}_{water})$
4	0,565	0,0020	0,4370	0,0450
14		0,0020	0,4350	0,0240
25		0,0025	0,3240	0,0312
34		0,0046	0,2510	0,0314
46		0,0039	0,2060	0,0297
60		0,0069	0,3740	0,0219
74		0,0080	0,2500	0,0200

Źródło: Saurel R., Pajonk A., Andieu J., 2004.

Lactococcus lactis, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus helveticus* czy *Propionibacterium fraudenreichii* wynosi odpowiednio 0,93; 0,98; 0,96 oraz 0,96 [3,9].

W dojrzewaniu sera bardziej istotne są nie pochodzące z zakwasu pałeczki mlekowe (NSLAB) w porównaniu do kultur starterowych. W odróżnieniu od kultur zakwasu (mezofile paciorkowce mlekowe) pałeczki *Lactobacillus* syntetyzują proteiny oraz peptydazy zewnątrz- i wewnątrzkomórkowe zdolne do hydrolizy wszystkich frakcji kazeiny [13]. Wraz ze wzrostem liczebności NSLAB obserwuje się intensyfikację proteolizy. W wyniku proteolizy pod wpływem enzymów bakteryjnych (proteiny wewnątrz- i zewnątrzkomórkowe, aminopeptydazy, karboksy- dwu- i trójpeptydazy) wytwarzane są rozpuszczalne oligopeptydy, niskocząsteczkowe peptydy, wolne aminokwasy oraz produkty ich rozkładu, które wpływają na obniżenie aktywności wody [9]. Liczebność *Lactobacillus* w serach typu holenderskiego koreluje z przyrostami zawartości N-rozpuszczalnego, N- peptydowego, N- aminowego [6].



Rys. 3. Zmiany aktywności wody podczas dojrzewania i magazynowania sera typu szwajcarskiego.

Źródło: Aljewicz M., Cichosz G., Kaniewska-Trokenheim, 2009.

Lipoliza w znacznie mniejszym stopniu niż proteoliza wpływa na zmiany aktywności wody. Podczas dojrzewania w większości serów dochodzi do stopniowej (2-20%) degradacji triacylogliceroli [11]. Efektem rozkładu triacylogliceroli jest wytworzenie wolnych kwasów tłuszczowych (WKT), a także mono- i digliceroli. Powstający podczas hydrolizy tłuszczu glicerol (mimo niewielkich ilości), ze względu na dobrą rozpuszczalność w fazie wodnej, w większym stopniu przyczynia się do obniżenia a_w niż pozostałe produkty lipolizy. Zakres lipolizy jest zależny przede wszystkim od typu sera oraz jakości surowca. W największym stopniu produkty lipolizy wpływają na aktywność wody w serach typu włoskiego (a_w -0,725), w których zawartość WKT wynosi ok. 30-45%. Jest to konsekwencją aktywności enzymów lipolitycznych oraz długotrwałego dojrzewania. Podobnie w przypadku serów z porostem pleśni produkty lipolizy w znacznym stopniu determinują aktywność wody. Mimo krótkiego okresu dojrzewania, przy wysokiej zawartości wody pod wpływem kultur *Penicillium camembertii* w serach Brie i Camembert poziom WKT wzrasta do ok. 15%. W serach typu szwajcarskiego, holenderskiego oraz angielskiego zawartość WKT

wynosi poniżej 3% i w minimalnym stopniu wpływa na zmiany aktywności wody [7] (Tab. 2).

Aktywność wody w dojrzałych serach różnego typu, mieści się w granicach 0,92 – 0,98 i odgrywa znaczącą rolę w kształtowaniu jakości produktu, albowiem wszystkie przemiany mikrobiologiczne oraz biochemiczne (fermentacja mlekowa, cytrynianowa, propionowa, proteoliza, lipoliza) zachodzące podczas dojrzewania sera zależne są od aktywności wody. Od powyższych przemian zależne są także tekstura, smak i zapach oraz stabilność przechowalnicza produktu.

Tabela 2. Średnie wartości aktywności wody w serach różnego typu [20]

Źródło: Rüegg M., Blanc 1981.

Rodzaj sera	a_w
Kind of cheese	
Edam	0,96
Brie	0,98
Camembert	0,982
Cheddar	0,95
Edam	0,96
Emmentaler	0,972
Gouda	0,95
Gruyere	0,948
Limburger	0,974
Parmezan	0,717
Tilsiter	0,962

W dojrzałych serach aktywność wody nie ulega większym zmianom. Wynika to z ograniczenia aktywności mikroflory oraz syntetyzowanych przez nią enzymów, a także z wyczerpania się łatwo dostępnych substratów. Czynnikiem ograniczającym przemiany mikrobiologiczne i biochemiczne jest ponadto niska temperatura magazynowania serów. Dojrzałe sery dobrej jakości mikrobiologicznej zachowują stabilność przechowalniczą co najmniej przez 3 miesiące.

Typowa dla serów dojrzewających aktywność wody (zarówno podczas dojrzewania jak też magazynowania) nie jest wystarczająco niska, aby zabezpieczyć produkt przed wzrostem mikroflory technologicznie szkodliwej, np.: *Listeria monocytogenes* (a_w -0,920), *Clostridium perfringens* (a_w -0,930÷0,950), *Staphylococcus aureus* (a_w -0,860) i *Bacillus cereus* (a_w -0,920) [4]. Wartościami granicznymi a_w dla wzrostu drożdży *Saccharomyces* jest przedział 0,90÷0,62 [9]. Do wyrobu serów dojrzewających powinien być stosowany surowiec o najwyższych standardach mikrobiologicznych. Mikroflora technologicznie szkodliwa eliminowana jest z mleka w procesie baktofugacji i pasteryzacji, natomiast podczas wyrobu sera na jej rozwój ograniczająco działają niespecyficzne oraz specyficzne metabolity fermentacji mlekowej, cytrynianowej, propionowej [5, 17].

Ze względu na radykalną poprawę jakości surowca oraz stosowana powszechnie baktofugację, w większości serowni produkowane są sery o podwyższonej (1-2%) zawartości wody. Konsekwencją tego jest wyższa aktywność wody (Tab. 2), większa liczebność nie pochodzących z zakwasu pałeczek mlekowych oraz skrócony czas dojrzewania [1].

Przy niskiej jakości mikrobiologicznej surowca produkcja serów o wysokiej aktywności wody nie gwarantuje ani wysokiej jakości sensorycznej ani stabilności przechowalniczej.

PODSUMOWANIE

Aktywność wody, a także kwasowość czynna i temperatura są czynnikami fizycznymi, które wywierają istotny wpływ na trwałość i jakość serów dojrzewających [8]. Aktywność wody w serach świeżych kształtowana jest przede wszystkim poprzez: zawartość H₂O i NaCl, a także kwasowość.

Podczas dojrzewania sera zmiany aktywności wody determinowane są przez rozpuszczalne produkty degradacji parakazeiny powstające pod wpływem enzymów syntetyzowanych głównie przez mikroflorę wtórną (nie pochodzącą z zakwasu pałeczki mlekowe *Lactobacillus*), w mniejszym stopniu przez kultury starterowe. W miarę wzrostu zawartości związków azotowych niebiałkowych (NPN), rozpuszczalnych i aminokwasowych aktywność wody w serach maleje. Wpływ zawartości wolnych kwasów tłuszczowych na aktywność wody w serach typu holenderskiego i szwajcarskiego jest niewielki, natomiast istotny w serach pleśniowych oraz typu włoskiego.

Przestrzeganie parametrów procesu technologicznego, a zwłaszcza dynamiki fermentacji mlekowej umożliwia kontrolę wartości a_w w serach dojrzewających. Odpowiedni poziom aktywności wody wpływa na wzrost kultur starterowych i mikroflory wtórnej oraz na ograniczenie liczebności mikroflory technologicznie szkodliwej, a w konsekwencji na zakres przemian biochemicznych determinujących jakość sensoryczną i stabilność przechowalniczą serów dojrzewających.

LITERATURA

- [1] ALJEWICZ M., CICHOSZ G., ŁANIEWSKA - TROKENHEIM Ł., DANOWSKA-OZIEWICZ M., ŁUKASZUK-KĘPKA W. 2009. *Przeżywalność Lactobacillus paracasei LPC-37 w serach dojrzewających typu szwajcarskiego*. Żywność Nauka Technologia Jakość, 6(67):7-15.
- [2] ALZAMORA S.M., TAPIA M.S., LOPEZ-MALO A. WELTI-CHANES. J. 2003. *The control of water activity*. Ed: P. Zeuthen i L. Bøgh-Sørensenig, Food preservation techniques, CRC Press, Cambridge, England, 126-153.
- [3] BERESFORD T. P., FITZSIMONS N. A., BRENNAN N. L., COGAN T.M. 2001. *Recent advances in cheese microbiology*. Int. Dairy J.,11:259-274.
- [4] BEUCHAT L.R. 2002. *Water activity and microbial stability*. Fundamentals of Water Activity, IFT Continuing Education Committee, 14-15.
- [5] BISHOP, J.R., SMUKOWSKI, M. 2006. *Storage temperatures necessary to maintain cheese safety*. Food Prot. Trends., 26:714-724.
- [6] CICHOSZ G., ZALECKA A., LENKIEWICZ M. 2003. *The influence of streptococci and lactobacilli on proteolysis in Gouda cheese*. Milchwiss, 58 (5/6): 297-300.
- [7] COLLINS Y.F, MCSWEENEY P.L.H, WILKINSON M.G. 2004. *Lipolysis and Catabolism of Fatty Acids in Cheese*. Ed. P. F. Fox, P H. L. McSweeney, T. M. Cogan, and T. P. Guinee, Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology, Vol. 1: General Aspects 3rd Academic Press, San Diego, CA 2004.
- [8] ESTEBAN M. A., MARCOS A. 1990. *Equations for Calculation of Water Activity in Cheese from its Chemical Composition: A Review*. Food Chem. 35:179-186.
- [9] FOX P. F, GUINEE T.P, COGAN T. M, MCSWEENEY P.L.H. 2000. *Microbiology of Cheese Ripening, Fundamentals of Cheese Science*. Aspen Publication Maryland:206-232.
- [10] GOMES, A. M. P., VIEIRA M. M., MALCATA F. X. 1998. *Survival of probiotic microbial strains in a cheese matrix during ripening: Simulation of rates of salt diffusion and microorganism survival*. J. Food Eng., 36:281-301.
- [11] HOLLANDA R., LIUA S.Q., CROWA V.L., DELABREA M.L., LUBBERSA M., BENNETTB M., NORRIS G. 2005. *Esterases of lactic acid bacteria and cheese flavour: Milk fat hydrolysis, alcoholysis and esterification*. Int. Dairy J.,15:711-718.
- [12] KARAHADIAN C., LINDSAY R.C. 1985. *Factors controlling texture in mold surface-ripened cheeses*. J. of Dairy Science, 68:92-93.
- [13] LANE C.N., FOX. P.F. 1996. *Contribution of starter and adjunct lactobacilli to proteolysis in cheddar cheese during ripening*. Int. Dairy J., 6:715-728.
- [14] LIU S.Q., ASMUNDSON R. V., GOPAL P. K., HOLLAND R., CROW V. L. 1998. *Influence of Reduced Water Activity on Lactose Metabolism by Lactococcus lactis subsp. cremoris at Different pH Values*. Appl. Environ. Microbiol, 64: 2111-2116.
- [15] MARCOS A., ESTEBAN A., ALCALA M., MILLAN R. 1983. *Prediction of water Activity of San Simon, Cheese*. J. Dairy Sci., 66:909-911.
- [16] MARCOS A. 1993. *Water activity in cheese in relation to composition, stability and safety*. Ed, P.F. Fox, Editor, Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology T.2, Chapman & Hall, London, 439-469.
- [17] MCSWEENEY P. L. H. 2007. *Cheese problems solved*. CRC Press, New York.
- [18] PACHALA Z. 2008. *Aktywność wody ważny parametr trwałości żywności*. Przemysł Spożywczy, 4:22-26.
- [19] RIAHIA M.H., TRELEA I.C., LECLERCQ-PERLATA M.-N., PICQUEA D., CORRIEUA G. 2007. *Model for changes in weight and dry matter during the ripening of a smear soft cheese under controlled temperature and relative humidity*. Int. Dairy J., 17: 946-953.
- [20] RÜEGG M., B. BLANC. 1981. *Influence of water activity on the manufacture and aging of cheese*. Ed. Rockland L. B., Stewart G. F., Water activity: influences on food quality. Academic Press, New York, 791-811.

- [21] SAUREL R., PAJONK A., ANDRIEU J. 2004. *Modelling of French Emmental cheese water activity during salting and ripening periods*. J. Food Engin., 63:163-170.
- [22] SIKORSKI Z.E. 2006. *Chemia żywności: skład, przemiany i właściwości żywności*, Warszawa : W.N.T., 74-80.
- [23] YILMAZTEKIN M., ÖZER B.H., ATASOY F. 2004. *Survival of Lactobacillus acidophilus LA-5 and Bifidobacterium bifidum BB-02 in white-brined cheese*. Int. J. Food Sci. Nutrition, 55:53-60.

WATER ACTIVITY – SHARE PARAMETER OF RIPENING CHEES

SUMMARY

Water activity in ripening cheeses is built at the production stage. The technology process leads to the progressive dehydration (syneresis) of the curd formed under the influence of rennet and milk fermentation. Salting influences the water activity the most in the cheeses just after the production. Slow decrease of water activity observed during ripening is the consequence of the increase of content of paracasein degradation products soluble in water; in smaller extent – of the hydrolysis of milk fat products. Cheeses of different types are characterized by different water activity.