



A kép illusztráció / Picture is for illustration only

SPME technika alkalmazása a tejipari termékek minőségi mutatóinak meghatározásához

Kulcsszavak: tej, tejtermékek, szilárdfázisú mikroextrakció (SPME), zsírsav, aldehid, keton, enzimes barnulás, aminosavak oxidációja, aromák, alkohol, kéntartalmú szerves vegyületek, furánok, fenolok, terpenoidok

1. ÖSSZEFOGLALÁS

A szilárdfázisú mikroextrakció (Solid Phase Micro Extraction – SPME) egy viszonylag újkeletű extrakciós technika, amely egyesíti a keverékből vett minta kinyerését, valamint a dúsítás nélküli, eredeti állapotban lévő minta vizsgálandó komponenseinek egyszerűbb deszorpcióját az analitikai berendezésben. A szerzők a szakirodalomban jelen lévő nagyszámú közlemény alapján ismertetik a (SPME) technika felhasználhatóságának lehetőségeit tejipari termékek esetében. Bemutatja a SPME mintavételi eljárás segítségével detektálható főbb vegyületcsoportokat, szakirodalmi példákon keresztül, úgy, mint zsírsavak, aldehidek és ketonok, észterek, alkoholok, kéntartalmú szerves vegyületek, furánok, fenolok és terpenoidok. A szerzők a kézirat korlátozott terjedelme miatt csak az SPME technikával végzett mintaelőkészítés lehetőségeiről számolnak be. A szilárdfázisú mikroextrakciót követő – elsősorban gáz- és folyadékkromatográfiás – műszeres analitikai vizsgálati módszereket nem ismertetik. A műszeres elemzések részletei a hivatkozott irodalmi forrásokban rendelkezésre állnak.

2. Bevezetés

Az illókomponensek vizsgálatához alkalmazható módszerek az aktív aromakomponensek mennyiségétől és természetétől, élelmiszer minták esetében pedig még bonyolultabb a fellépő mátrixhatástól függően választhatók meg. A vizsgálat sikeressége főként attól függ, hogy a gyakran elenyésző mennyiségben jelen lévő illókomponensek hogyan reagálnak a különböző élelmiszer alkotókkal pl. zsírokkal, szénhidrátokkal.

A tejtermékek aromakomponenseinek analízise összetett feladatot jelent a mintamátrix komplexitása és a leggyakrabban alkalmazott mintaelőkészítési eljárások bonyolultsága miatt, mint amilyenek például a vákuum desztilláció és a folyadék-folyadék extrakció [20, 38, 40, 59].

Az extrakciós vizsgálatokat folyamatosan korszerűsítik és új technikákat fejlesztenek ki fel annak érdekében, hogy csökkentsék az extrakció időtartamát, oldószer- és eszközigényét, és növelni tudják a mérés érzékenységét, valamint biztosítsák a széles körű felhasználhatóságot [49].

SPME mintaelőkészítéssel meghatározható kémiai vegyületcsoportok szerepet játszanak a termékek ízének, illatának kialakításában és indikátorként viselkednek, amennyiben a termékben minőségi változás – mikrobiológiai romlás, kémiai bombás, szennyeződés – következik be.

2. Tejtermékekből SPME módszerrel detektálható főbb vegyületcsoportok

2.1. Zsírsavak

A természetes zsiradékot hidrolízisével alifás monokarbonsavak keletkeznek, amelyek a szénlánc hossza, a kettős kötések száma és helye, valamint konfigurációja és a funkciós csoportok szerint csoportosíthatók [19]. A zsírsavak egy alkiláncból és egy ehhez kapcsolódó karboxilsav funkciós csoportból tevődnek össze [50]. Az SPME technikával a 4 és 12 szénatomszám közötti zsírsavakat lehet extrahálni [2, 16, 35, 42, 73].

A zsírsavak, illetőleg a trigliceridek a tej fő energiahordozó összetevői. A trigliceridek egy glicerol molekulá-

¹ Széchenyi István Egyetem, Mezőgazdaság és Élelmiszertudományi Kar, Élelmiszertudományi Tanszék

hoz három, kovalens kötéssel kapcsolódó zsírsav molekulából állnak. [44]. Megjegyezzük, hogy a zsírsavak gyakran az élelmiszerekben megtalálható észterek, ketonok és aldehidek prekursor vegyületei [47, 48, 72].

A zsírsavak a mikrobiológiai aktivitás biomarkerei. A zsírsavak a laktóz, az aminosavak és a kazein bakteriális bomlásakor és az aminosavak átalakulásakor keletkeznek [3, 69], továbbá jelentős mértékben hozzájárulnak a sajtok illékony aromáinak kialakításához [21, 28, 71]. 12 szénatomos zsírsavakat detektáltak HS-SPME módszerrel sajtokból [8] és savófehérjékből [36].

Az SPME technika a különböző élelmiszerek zsírsav profiljának meghatározására is használható. A sajtok és a joghurtok a zsírsavak relatív koncentrációjával jellemezhetők [4, 25].

Más szerzők szerint a zsírsavak mennyiségének és egymáshoz viszonyított arányának mérése alkalmas a kecskesajt és a tehéntejből készült sajt megkülönböztetésére, a kecskesajt jellegzetes ízét és illatát adó hexánsav azonosításával [46, 58]. A zsírszegény sajtokban a domináns aromát közel állandó arányban jelen lévő 4-8 szénatomszámú zsírsavak és az ecetsav adják [13], a zsírsav-spektrum vizsgálata alkalmas a sajthamisítások kimutatására is [41].

A zsírsav-analitikát a tejtermékek eltarthatósági idejének növelésére szolgáló kezelések hatékonyságának meghatározására is használják [73], azonban a mintákban jelenlévő egyéb vegyületek a vizsgálatot zavarhatják, ezért más alkotók analízisekor célszerű a mintát zsírtalanítani [43].

2.2. Aldehidek és ketonok

Az aldehidekben és ketonokban egy-egy karbonil-csoport található, amelyhez aldehidek esetében egy alkil lánc és egy hidrogén atom, ketonok esetében pedig két alkil lánc kapcsolódik [28].

Az aldehidek primer alkoholokból keletkeznek enyhe oxidációval általános szerkezetük R-CHO. A legreakcióképesebb vegyületek közé tartoznak. Az aldehidek további oxidációja során karbonsavak keletkeznek. Az aldehidek jellemző reakciója az addíció, a polimerizáció és a kondenzáció. Az élelmiszerekben az aldehidek az aminosavak bioszintézise során, az aminosavak enzimes dezaminálásánál vagy transzaminálásánál, az aminosavak és a karbonil-származékok közti reakció során, a telítetlen zsírsavak autooxidációjánál, a linol- és linolénsav enzimes lebontásánál és a karotinoidok átalakulása során képződhetnek. Jellemző illatuk révén a különböző élelmiszerek aromaanyagainak összetevői és szerepet játszanak az élelmiszerek nem enzimes barnulási folyamataiban is. Reakcióik hasonlítanak az aldehidekéhez, de azoknál nehezebben oxidálhatók, aminek során láncszakadás következik be. Többségük jellegzetes, de nem kellemetlen illatú vegyület [19].

Az aldehidek és ketonok jelenléte az élelmiszerekben általában a zsírsavak, aminosavak oxidációjára vagy bakteriális tevékenységből származó metabolitok képződésére utal [28], de a tejtermékek gyártása során is hozzáadhatják azokat a termékekhez [70].

Az élelmiszerek minőségi mutatóinak megállapítására egyes aldehidek és ketonok mennyiségének meghatározásán keresztül is lehetőség van. A diacetil mennyiségének meghatározását a vaj minőségének ellenőrzésére használják [15], de a vegyület mennyisége a joghurtok érettségi fokát is jellemzi [25]. A 3-hidroxi-butanon olyan keton melynek segítségével megállapítható a sajtok érettségi foka [5].

A metil ketonok olyan ketonok melyekben az alkil lánc utolsó szénatomjától számítva visszafelé a második szénatomon egy karbonil funkciós csoport helyezkedik el. Ezeket a vegyületeket gyakran SPME technikával extrahálják az élelmiszerből. A metil ketonok egyes sajtokban mikrobiológiai aktivitás hatására keletkezhetnek [41, 71]. A metil keton 2-nonanon a legtöbb sajtban és a savófehérjében gyakran előforduló vegyület, melyet SPME alkalmazásával azonosítottak [28, 32, 46, 54]. Más sajtokon végzett SPME technikával végzett analízis során megállapították, hogy a sajtok növényi („zöld”) illatához nagymértékben hozzájárul a 2-undekanon [32, 69].

A metil ketonok vizsgálata a gyártási folyamatok ellenőrzésére is alkalmas, mivel zsírsavakból képződnek a tej hőkezelése során [73]. DVB-CAR (Divinylbenzene-Carboxen) SPME szálát alkalmaznak az UHT tejek előállításánál a hőbehatás ellenőrzésére [65]. Megállapították, hogy akár ötvenkétszeres 2-heptanon- és 2-nonanon koncentráció-növekedés is megfigyelhető a pasztörözött tejben a nyers tejhez viszonyítva. A metil keton 2-butanon koncentrációjának csökkenése jelzi, ha a tej elérte fogyaszthatósági, vagy minőségmegőrzési idejének végét. A 2-butanon koncentrációjának csökkenését feljegyezték még joghurt fermentációjának SPME alkalmazásával végzett analízise [60], illetve sajtgyártás során is [66].

Az aldehidek különböző osztályokba tartozó savakból keletkeznek oxidáció útján. A rövid szénláncú aldehidek, mint a 2-metilpropanal és a 3-metilbutanal az aminosavak hőhatás miatt bekövetkező bomlása során keletkeznek [65].

Az aldehidek a tejparban egyaránt javíthatják, vagy akár ronthatják is az élelmiszerek minőségét. A CAR-PDMS SPME szállal végzett mintaelőkészítés használható a tej romlását jelző komponensek azonosítására [42]. Az aldehidkoncentráció növekedése megmutatja, hogy a tej milyen közel áll fogyaszthatósági, vagy – UHT tejek esetében – minőségmegőrzési idejének lejártához. Az aldehidek koncentrációjának növekedése nemkívánatos jelenség, mivel a vegyületek erős aromával rendelkeznek, és így kellemetlen ízt eredményeznek [28]. Ezzel szemben a kis molekulatömegű aldehidek (kb. ≤ 100 g/mol) a fermentált

tejtermékek esetében kellemes érzékszervi hatást váltanak ki. Az SPME mintaelőkészítést használták már benzaldehid, acetaldehid és különböző acetonek koncentrációjának megállapítására is [66, 69]. Az acetaldehid a joghurt [60], valamint néhány sajttípusban a legnagyobb mennyiségben jelenlévő aldehidként a sajt aromájának kialakításában döntő szerepet játszik [8, 13, 41].

2.3. Észterek

Az észterek általában savak vagy aldehidek és alkohol között fellépő kondenzációs folyamatok során képződnek [30]. Az élelmiszeraromák egyik csoportját képezik, amelyek jelen vannak pl. a sajtokban és gyümölcsökben is [36, 64].

A tejtermékek vizsgálata során CAR-PDMS-SPME szálát használnak az etilacetát és a metilészterek koncentráció-növekedésének megállapítására, mivel ezek a vegyületek tej korának indikátorai [42]. A tejtermékekben az észterek egyik jelentős forrása a zsírsavak észteresedése a gyártási folyamatok során [31, 39, 70]. A tejtermékekben, különösen sajtokban a zsírsav-észterek főleg enzimes folyamatok hatására keletkeznek [8, 21, 22, 71], de a gyártási folyamatok során a tejkészítményekhez és joghurtokhoz adagolhatják őket is direkt adagolással vagy mesterséges enzimaktivitást előidézve [25, 28, 41, 60, 66, 69, 70].

Az észterek szennyezőanyagként is megjelenhetnek az élelmiszerekben. SPME mintaelőkészítéssel például tejből – vélhetően – a gyártástechnológiában alkalmazott műanyag csövekből kioldódó ftalátokat is azonosítottak [26, 73]. A ftalátok jelenléte élelmiszerekben élelmiszerbiztonsági kockázatot okoz, mert az endokrin rendszert károsító hatásuk van [62]. Ugyancsak Ftalátokat mutattak ki tehéntejből, amelyek a technológiai környezetből származtak. Közülük a di-(2-etilhexilftalát) jelenléte volt a gyakoribb, ha az üzemben PVC csövezetéseket használnak [26].

2.4. Alkoholok

Az alkoholok szénatomokhoz kapcsolódó hidroxil csoporttal rendelkező, a gyümölcsökben és zöldségekben leggyakrabban azonosított vegyületek közé tartoznak, amelyek tejtermékekből is kimutathatók, ideértve a feldolgozatlan tejet is [73].

Az alkoholok a legtöbb tejtermékben jelen vannak. Még a feldolgozatlan tejből is detektálhatók bizonyos egyenes láncú és metilézett alkoholok DVB-CAR-PDMS SPME szál alkalmazásával [73]. A joghurtokban [69] és az Olasz „Fossa” sajtban [28] az alkoholokat az észtereket követően a második leggyakrabban előforduló vegyületként azonosították. A sajtok alkoholtartalmát gyakran SPME mintaelőkészítéssel határozzák meg [5]. A sajtokban a legnagyobb mennyiségben található alkohol rendszerint az etanol [41, 69, 71], bár kecskesajtokban az 1-feniletanol [58] és a 2-butanol van jelen legnagyobb mennyiségben

[22]. Az etanolt a joghurtok és lágy sajtok fermentációjának sikerességét jelző indikátor- komponensként is használják [25, 60]. Más típusú alkoholok jelenléte általában a sajtok érleléséhez használt különböző baktériumtörzsek jelenlétének köszönhető [8, 32, 71]. Komplex alkoholok a zsírsavak és aminosavak enzimes átalakulása során is keletkeznek. A sajtok alkoholtartalma az idő előrehaladtával csökken, ahogy az alkoholok észterekké alakulnak át [21].

2.5. Kéntartalmú szerves vegyületek

A tejtermékekben előforduló illékony, kéntartalmú szerves vegyületek általában kisméretű, kellemetlen szagú és/vagy ízű molekulák, ezért jelenlétük nem kívánatos [45]. Aminosavak vagy vitaminok bomlástermékeként jelenhetnek meg [23], ennek ellenére bizonyos kéntartalmú szerves vegyületek kedvező hatást is kifejthetnek az élelmiszerekben, mint pl. sajtokban [34].

A tejtermékekben a kéntartalmú szerves vegyületek a hőkezelés során keletkeznek. A kénes vegyületek a tejben, mint a dimetil-szulfid a kéntartalmú aminosavak hőközlés miatt bekövetkező bomlásából származnak [42]. Hasonlóképpen egy másik tanulmányban savófehérjék SPME alkalmazásával végzett analízise során kéntartalmú szerves vegyületeket detektáltak, amelyek fehérjebomlás során keletkeztek [36]. Ezzel ellentétben sajtok esetében a kéntartalmú vegyületek elsősorban mikrobiális aktivitás útján keletkeznek és nem hőközlés hatására [34]. A kén tartalmú szerves vegyületek SPME használatával történő analízise lehetővé tette több jelentős illókomponens detektálását, közöttük az anetiolt, amely a Camembert sajt [32] kecskesajt [22] jellegzetes, fokhagymára emlékeztető szagát okozza.

2.6. Furánok

A furánok öttagú gyűrűt tartalmazó oxigéntartalmú aromás heterociklusos vegyületek. A furánok azóta kerültek a kutatás középpontjába mióta feltételezhetően karcinogén vegyületeket képeznek az élelmiszerek hőkezelése során [37].

A tejtermékek közül a füstölt [41] és a rántott [13] sajtokban nagy mennyiségben mutathatók ki furánvázis vegyületek PDMS-CAR-DVB SPME mintaelőkészítési módszert alkalmazva. Egy esetben egy, a tejtermékekre nem jellemző furánvázis vegyületet a 2-n-oktilfuránt azonosították savófehérjéből. Ez a vegyület jellemzően a húsban és a csontokban fordul elő [36]. Hőkezelés nélküli, pulzáló elektromos erőterrel kezelt fogyasztói tejkben DVB-CAR-PDMS SPME szállal, a kutatók 2(5H)-furanont azonosítottak a termékben [73].

2.7. Fenolok

A fenolok olyan aromás vegyületek, amelyekben egy benzolgyűrűhöz közvetlenül alkoholos hidroxilcso-

port csoport kapcsolódik. A fenolok gőztéranalízises vizsgálata bonyolult folyamat, mivel a legtöbb fenolszármazék nem illékony a mintamátrixal kialakuló erős intermolekuláris kölcsönhatás miatt [55].

A fenolok SPME mintaelőkészítéssel végzett vizsgálatáról tejtermékek esetében csak néhány közleményt találtunk. Sajtok vizsgálata során megállapították, hogy a fenolkoncentráció nő 90 napos érlelés alatt [21]. Egy kutatásban hét különböző etil- és metil-fenolt azonosítottak juh és tehéntejből készült sajtokban [41].

2.8. Terpenoidok

A terpenoidok izoprén egységekből álló vegyületek származékai. A vegyületcsalád SPME mintaelőkészítéssel vizsgálatával megállapítható, hogy az állatok milyen jellegű takarmányozásban részesültek, illetve az, hogy a takarmányozott állatok mely régiókból származnak [1, 13, 25, 27, 41]. Pouloupoulou és mtsai [52, 53] SPME mintaelőkészítéssel vizsgáltak juh- és kecsketejeket és azokból készült tejtermékeket. A vizsgálat során megállapították, hogy a kimutatott terpenoidok az elfogyasztott takarmány biomarkereiként jelenhetnek meg a tejben. Bár a terpének kiemelt fontosságú vegyületek, detektálásuk tejmintákból SPME alkalmazásával nehéz. Ennek oka a tejszír mátrixhatása és az egyes terpének jelentősen különböző gőznyomása [1].

A terpenoidok a tejipari termékekbe elsősorban az elfogyasztott növényi táplálékból kerülhetnek át. A mono- és szeszkviterpén vegyületek kétféleképpen származhatnak át a növényekből a tejbe: az emésztőrendszeren, vagy a légutakon keresztül. Az első esetben a molekulák a növényekből a bendőbe kerülnek, ahol a terpének esetenként kémiai átalakuláson mennek át. Az összes ilyen molekula a növényekből a bendőbe jut, majd a bendőből felszívódik és a vérbe kerül, onnan pedig kiválasztódik a tejbe. A növényekből átszármazó terpének csakúgy, mint a bendőben keletkezők, jól detektálhatók [57]. A második esetben a komponensek a levegőben terjedve bejutnak az állat tüdejébe onnan pedig a vérbe [68]. Az illókomponensek tejbe jutásával, megváltozhatnak annak biológiai és kémiai jellemzői, különösképpen a mikrobiológiai állapota és aromaanyag-tartalma [9, 11, 56, 68].

Az irodalomban fellelhető adatok szerint a különböző termelési területekről (felföld, alföld), évszakokból (tél, nyár) származó tejek összetételükben, érzékszervi tulajdonságaikban, eltérnek egymástól [9, 11, 56].

A tejelő állatok takarmányozása fontos faktor a sajtok karakterének kialakításában, mivel jellemzően befolyásolja a tej zsír-, fehérjetartalmát, ízét, mikroflóráját, valamint a sajt készítésben jelentős szerepet játszó tejsavbaktériumok működését is [17, 29]. Számos kutató említi, hogy a kétszikű növényekkel benőtt legelőn legeltetett állatok tejében határozottan na-

gyobb mennyiségű aromakomponens található, mint a szénával, takarmánnyal, vagy egyszikű növényekkel etetett társaik tejében [24, 67]. Ez a különbség annak tulajdonítható, hogy a zöld (friss) kétszikű növényekben nagyobb mennyiségű terpén – különösen mono- és szeszkviterpének – vegyület található, mint a szénában vagy egyéb takarmányban [40].

Több kutatócsoport talált összefüggést a sajtok érzékszervi, valamint fizikai-kémiai tulajdonságai és az előállítás helye, az állatok takarmányozása, valamint a takarmányból átszármazó vegyületek között [10, 11, 12, 18, 33, 40, 56, 67, 68].

Dumont és Adda [24] megállapították, hogy a szeszkviterpén vegyületek kizárólag nyáron készült Beaufort sajtokban jelentek meg, amikor a tejelő tehénállomány a hegyvidéki legelőkön legelt. Mariaca és mtsai [40] a hegyekben készült Gruyere és Etivaz sajtokban 42 terpén vegyületet azonosítottak, mint a β -pinén, β -mircén, linalool, limonén, α -fellandrin, α -terpinén, δ -3-karén, p -cimol, α -kopaén és α -humulén, melyek szintén jelen vannak a legelőkön fellelhető 13, legfőképpen kétszikű növényben. Bugaud és mtsai [12] terpén komponenseket vizsgáltak olyan sajtokból, melyek különböző területeken legeltetett tehének tejéből készültek. Az eredmények azt mutatták, hogy a vizsgált sajtok terpén profilja összefüggésben állt a legelők botanikai összetételével, valamint, hogy ezek a vegyületek jelentősebb mennyiségben voltak jelen a hegyvidéki, kétszikűeket nagyobb mennyiségben tartalmazó legelőkön, mint a síkvidéken, ahol túlnyomórészt az egyszikű növények teremnek.

Több sajtípusból is végeztek aromakomponens-vizsgálatokat ezek közül a legismertebbek és legnépszerűbbek az Ementáli, Cheddar, Camembert és a Parmigiano [6, 7, 51, 61, 63]. A szerves illókomponensek széles skálája felelős a sajtok aromájáért. Ezek a komponensek a különböző sajtípusokban egymáshoz hasonló vegyületek, de arányaikban eltérések mutatkozhatnak [74]. A szakirodalomban nem találtunk elegendő adatot ahhoz, hogy egyértelműen bizonyítani lehessen a mono- és szeszkviterpén vegyületek sajtok ízére gyakorolt hatását, kivéve a limonént, mely bizonyítottan citrusos aromát kölcsönöz számos sajtban [14].

2. 9. Köszönetnyilvánítás

A publikáció elkészítését az EFOP-3.6.1-16-2016-00024 számú „Intelligens szakosodást szolgáló fejlesztések az Állatorvostudományi Egyetem és a Széchenyi István Egyetem Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi Karának együttműködésében” című projekt támogatta. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósult meg.