

VÝSLEDKY VÝZKUMU

Výzkumný stav mlékárenský s.r.o. je výzkumnou organizací podle Rámce společenství /EU/. Tento subjekt byl založen jako dceřinná společnost MILCOM a.s., aby dle zákonných norem bylo možné se ucházet o financování výzkumu v mlékárenském oboru z veřejných prostředků institucionálního charakteru. Takové prostředky byly Výzkumnému ústavu mlékárenskému s.r.o. přiděleny na základě kladného posouzení přihlášky **Výzkumného záměru SM2672286101** s názvem **Mléko - významná součást zdravé a bezpečné výživy** v roce 2004 poskytovatelem - Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy ČR.

Poskytnuté prostředky na řešení výzkumného záměru mají plnit funkci podpory na udržení a rozvoj výzkumné činnosti ve vybraném oboru, v tomto případě v mlékárenství.

Schválený Výzkumný záměr je příležitostí k prohloubení teoretických i praktických znalostí v mlékárenském oboru. Jeho výsledky budou základnou pro inovace v budoucnu. Výzkumný záměr nemá mít výrazný aplikační charakter, má spíše vytvářet prostor pro studium vlastností mléka, mléčných materiálů a výzkumných a analytických metod. Cíle byly zaměřeny do čtyřech následujících výzkumných směrů:

- I) Výzkum chemických, fyzikálních a mikrobiologických vlastností
- II) Výzkum nových metod pro stanovování a hodnocení kvality mléka a mléčných výrobků
- III) Výzkum mikroorganismů vztahujících se k mléku a mléčným výrobkům jak těch, které jsou technologicky a zdravotně potřebné a užitečné, tak těch, jejichž vlastnosti jsou technologicky nežádoucí nebo jsou škodlivé pro zdraví lidí
- IV) Výzkum vztahů mléka a mléčných výrobků a jejich složek s možností ovlivňovat a podporovat zdraví člověka.

Jediný IV. Výzkumný směr Výzkumného záměru má aplikační charakter a v rámci jeho řešení byly využívány především výsledky z oblasti mikrobiologie mlékařských mikrobiálních kultur a kmenů pro výzkum vhodných receptur probiotických mléčných výrobků, z nichž již v průběhu řešení Výzkumného záměru byly některé aplikovány v praxi. Především je velmi úspěšné keřirové mléko se speciální kombinovanou mikroflórou, která zajišťuje výrobku nejen vynikající chuť, ale poskytuje i zdravotní benefit zvýšeným obsahem vitaminů B12 a kyseliny listové. Dalšími výrobky, které jsou aplikovány v praxi a jejichž technologie a receptura je produktem Výzkumného záměru jsou termizovaný tvarohově smetanový krém pro děti s obsahem probiotické mikroflóry a doplňky výživy na bázi probiotických mikroorganismů a pivovarských kvasnic s pupalkovým olejem s vysokým obsahem nenasycených mastných kyselin. Dále byly koncipovány a do výroby zavedeny ověřené technologie a receptury potravin pro zvláštní lékařské účely.

Výzkumný záměr je nyní v šestém, poslední roce, svého řešení, přičemž na základě vládního nařízení byla využita

možnost požádat poskytovatele /MŠMT/ o jeho prodloužení na obvyklých 7 let, tedy do roku 2010.

Plnění plánovaných cílů Výzkumného záměru bylo v průběhu řešení kontrolováno projednáváním ve Vědecké radě Výzkumného ústavu mlékárenského s.r.o. a oponentními projednáváním Oponentní radou za účasti zástupce poskytovatele. Výsledky byly každoročně presentovány na semináři DEN VÚM - formou Workshopu, kde s průběhem řešení a s významnými výsledky byla seznamována mlékárenská odborná komunita.

Řada výsledků byla presentována formou odborných článků v Mlékařských listech.

Řada výsledků, které mohly být inspirující pro pracovníky v mlékárenském průmyslu byla presentována v rámci Workshopů pořádaných VÚM s.r.o. pro pracovníky laboratoří, pro syraře a technology a management v mlékárenském průmyslu.

Mnoho výsledků, především receptur nových výrobků, bylo chráněno užitnými vzory.

Devět z nich bylo průmyslově využito na základě vypracovaných ověřených technologií.

Některé výsledky výzkumu, z oblasti výzkumu nových analytických metod, byly zpracovány jako ověřené metody, které jsou využívány v praxi.

Vzhledem k tomu, že řešení výzkumného záměru se blíží ke konci, využíváme širšího rozsahu tohoto čísla Mlékařských listů dosažené výsledky presentovat ve větším počtu v následujících článcích na základě objednávky a úhrady ze strany VÚM s.r.o.

Doufáme, že i tyto výsledky budou příspěvkem k rozvoji mlékárenského oboru v ČR.

STABILITA MLÉČNÝCH MATRIC PRO ÚČELY IR MĚŘENÍ

Elich O.¹, Švejcarová M.², Peroutková J.², Srkalová S.¹

¹ Milcom a.s., Praha

² Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o., Praha

Stability of milk matrixes for purpose of IR measurement

Abstrakt:

V této práci byla sledována stabilita mléčné matrice pro účely IR měření základních složek mléka. Při 6° C byly skladovány vzorky pasterovaného kravského mléka obohacené o přídavky laktózy, koncentráty mléčných bílkovin, vody a tuku. Z výsledků vyplývá, že pro celkovou stabilitu vzorků jsou určující zejména změny tukové složky, kde během skladování a přípravy vzorku dochází k porušení tukových kuliček a tím nárůstu obsahu volného tuku. Obohacení vzorků o jednotlivé složky nemá vliv na stabilitu IR měření.

Abstract

The stability of milk matrix for IR measurement of basic milk components was followed in this study. Samples of pasteurized cow milk enriched with lactose, milk protein concentrates, and water and fat were stored at 6° C. Results indicated that namely the changes of fat component, were determinant for total stability. Fat globules corrupt during the storage and preparation of sample and thus rises free fat. Enrichment of samples with individual component does not influence the stability of IR measurement.

Úvod

Metoda infračervené spektroskopie je založena na měření absorpce části spektra elektromagnetického záření o vlnových délkách 0,78 až 1000 nm. Infračervená oblast se dále dělí na blízkou (NIR), střední (MIR) a dalekou infračervenou oblast (FIR). Množství absorbované energie je dáno schopností molekuly přecházet do excitovaných vibračních a rotačních stavů. Důležitou podmínkou je přitom existence dipólového momentu molekuly. Jelikož přechody mezi těmito stavy vyžadují určité množství energie, dochází k jejímu přenosu v kvantech. Nejčastěji dochází k absorpci energie při změně energie molekuly do nejbližšího energetického stavu (tzv. fundamentální přechod). U absorpce více energetického záření v NIR oblasti se projevují i přechody na vyšší energetické hladiny (tzv. svrchní tóny) a kombinační přechody (Agné, 1998; Lefier, 1998).

Spektrum získané v MIR oblasti je tvořeno především z absorpcí záření odpovídajícímu energii fundamentálních přechodů, a proto se dají jednotlivé absorpční pásy přiřadit funkčním skupinám molekul. Toho lze využít pro identifikaci jednotlivých analytů. Při analýzách potravin vykazují v praxi MIR přístroje lepší možnosti při analýzách minoritních složek potravin a obecně vyšší přesnost měření, než NIR přístroje. Vlivem rozšíření absorpčních pásů o svrchní tóny a kombinační přechody je orientace v NIR spektru obtížnější a nelze jej využít k identifikaci látek, což má za následek obtížnější tvorbu kalibrace a nevhodnost pro analýzy minoritních látek. Výhodou NIR spektroskopie jsou nižší nároky na přípravu vzorku (Giardia, 2003; Hansen, 1999).

Moderní IR technika poskytuje široké možnosti využití při analýze mléka a mléčných produktů. Dobře zavedené jsou analýzy základních složek, jako je tuk, bílkoviny, laktóza a sušina. Dále lze měřit technologicky významné látky, jako je močovina, volné mastné kyseliny, bod mrznutí, kasein a další parametry např. fruktózu a glukózu. Vývoj v této oblasti však stále přináší nové možnosti jak analýzy minoritních složek (aceton, tetracyklin), tak analýzy komplexních analytů, jako je přítomnost bakterií nebo dokonce schopnost měření senzorických vlastností produktu. Významnou výhodou IR měření je téměř neomezená možnost při vývoji nových kalibrací pro analýzy nových složek, popřípadě rozšíření měření na nové potravinové matrice (Leifier, 2000; Kempen, 2002; Karoui, 2003).

Jelikož při použití infračervené spektroskopie dochází k absorpci záření více složkami, závisí výsledek analýzy nejen na koncentraci analytu, ale i na dalších doprovodných látkách. Proto je nutné vytvořit pro přístroj základní kalibraci vždy pro měření daných analytů v konkrétní potravine. Provedení základní kalibrace je náročný proces a většinou jej provádí výrobce.

Tím, že nejen sledovaný analyt, ale též samotná matrice mají vliv na výsledek měření, je nutné u IR přístrojů v pravidelných intervalech upravovat kalibrační parametry. To je dáno zejména sezonní změnou ve složení mléka a případným driftem přístroje (Sorensen, 2004).

V současnosti je možné kontrolovat nastavení IR přístrojů pomocí zahraničních komerčně dostupných hlubokomražených standardů. Tyto jsou vhodné zejména na jednorázovou kontrolu přístrojů. A to z důvodů nedostatečné nabídky ve variabilitě jednotlivých analytů. Pro pravidelnou úpravu kalibrace je vhodnější použít kalibrační vzorky připravené v dostatečném rozmezí jednotlivých analytů.

Jelikož se v případě mléčné matrice jedná o neudržitelný materiál, je cílem naší práce sledování stability mléčné matrice v návaznosti na ovlivnění výsledků IR měření.

Materiál a metody

Byly připraveny mléčné vzorky z pasterovaného nehomogenizovaného kravského mléka s použitím přídavku laktózy, koncentrátu mléčných bílkovin, vody a navýšení tuku použitím smetany. Konzervované vzorky (Microtabs II, D&F Control Systems Inc.) byly skladovány při 6°C a opakovaně měřeny na přístroji MilkoScan FT2 (FOSS Dánsko). Příprava vzorku před analýzami zahrnovala zahřátí na 40°C ve vodní lázni (42°C) a homogenizaci vzorku 10 krát opakovaným převrácením vzorkovnice. Sledováno bylo základní složení tj. tuk, hrubé bílkoviny, laktóza, tukuprostá a celková sušina, aktivní kyselost (pH) a volné mastné kyseliny. Stabilita tukové složky byla ověřena též mikroskopickou technikou měření velikosti tukových kuliček a hodnocení porušení jejich obalů. Tukové kuličky byly fixovány 2 % želatinou a obarveny Sudanem (M. Mergl, E. Černá, 1971). Extrakční metodou byl stanoven obsah volného tuku. (Cvak, Peterková, Černá, 1992).

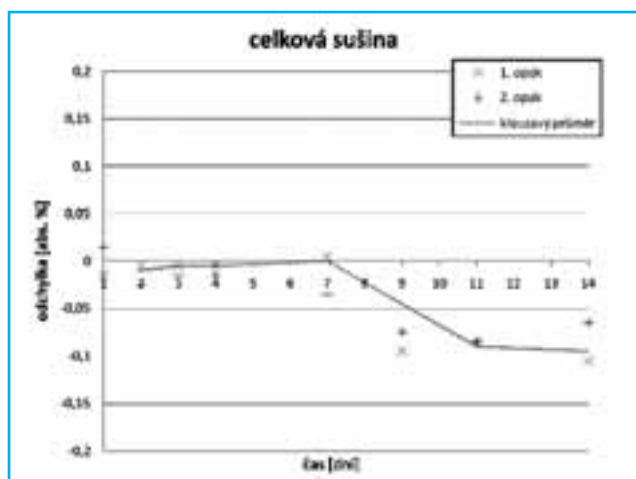
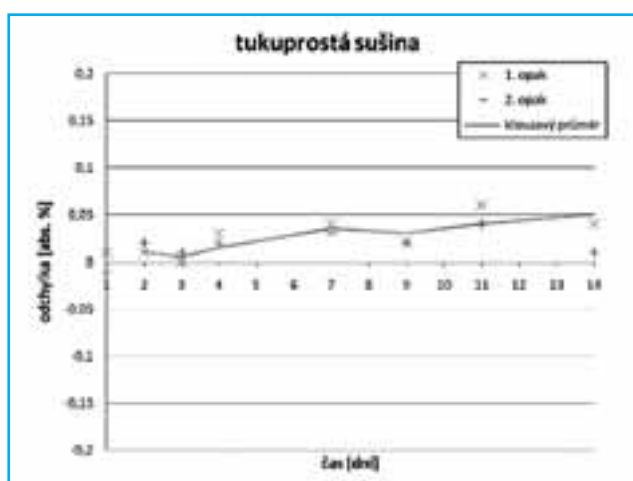
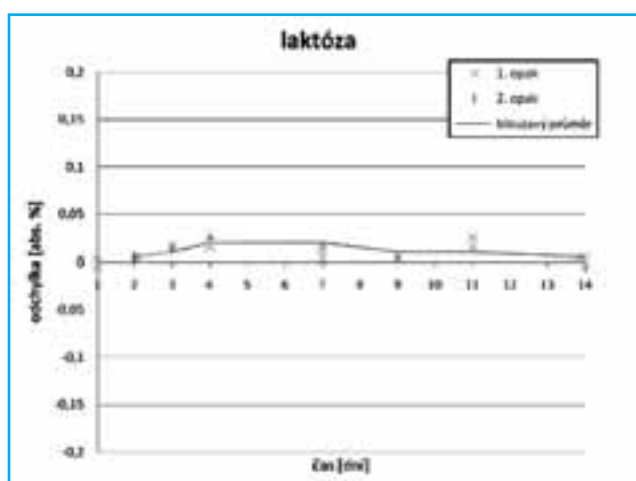
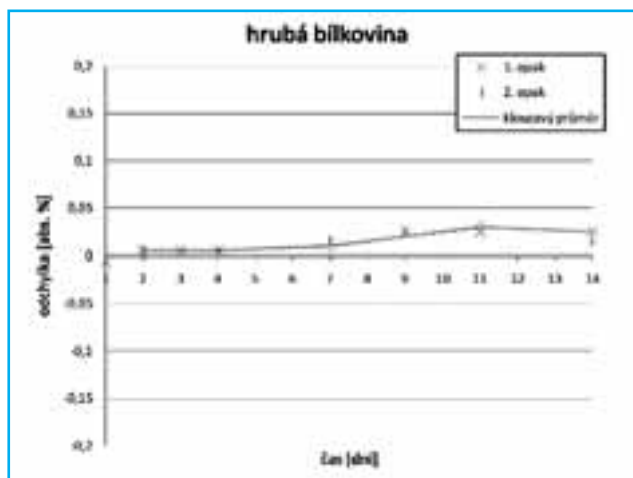
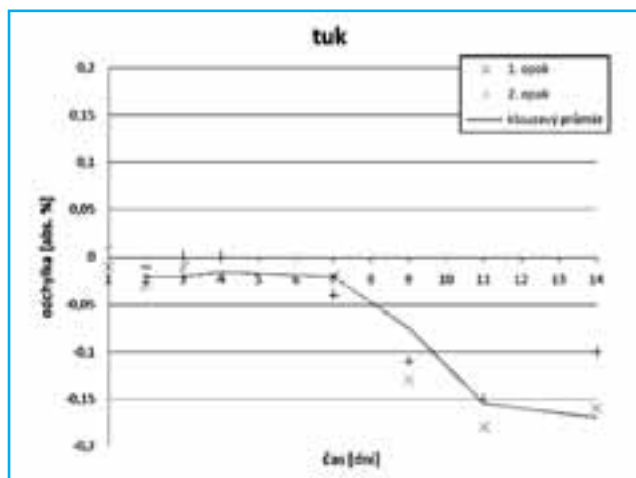
Z mikrobiologických parametrů bylo použito sledování celkového počtu mikroorganismů a stanovení koliformních organismů. (ČSN ISO 4832, ČSN EN ISO 4833, ČSN ISO 6730)

Výsledky

Stabilitu mléčné matrice (bez přídavků základních složek) pro účely měření na IR analyzátoch názorně ukazují grafy závislosti naměřené odchylky na skladovací době (Graf 1-5). Za nulovou hodnotu odchylky byl stanoven průměr hodnot z prvního až čtvrtého stanovení.

Při sledování stability jednotlivých složek je patrný rozdíl mezi naměřenými hodnotami laktózy, bílkovin a tukuprosté sušiny oproti hodnotám tuku a celkové sušiny.

Graf 1-5 Odchylky IR měření na době skladování vzorků



Pokud při hodnocení naměřených odchylek vycházíme z opakovatelnosti měření 0,02 % abs. u tuku, bílkoviny a laktózy a 0,04 % abs. u sušiny, vykazuje mléčná matrice dostatečnou stabilitu při IR měření obsahu laktózy, hrubé bílkoviny a sušiny během celé doby sledování tj. 14ti dní. Jiná situace nastává u naměřených hodnot obsahu tuku a celkové sušiny. Zde dochází k výraznému poklesu v naměřených hodnotách a to od sedmého dne skladování. U měření tuku navíc dochází k zhoršení opakovatelnosti měření, kde odchylky dvou paralelních měření dosahují hodnot 0,06 % abs. Vzorky s přísadkami bílkoviny, laktózy

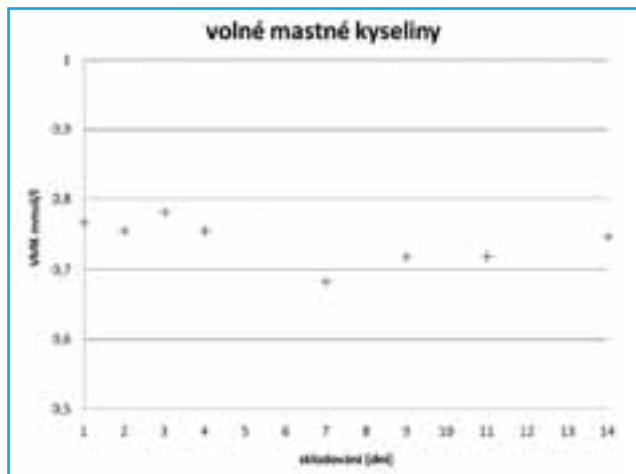
a tukové složky vykazovali obdobné odchylky při IR měření.

Nestabilita tuku při měření skladovaných vzorků byla dále hodnocena na základě mikroskopického hodnocení velikosti a poškození tukových kuliček (Tab. 1). Jedná se opět o přirozenou mléčnou matrici bez přísadky základních složek, přičemž obohacené matrice vykazovali naprosto stejné parametry poškození tukových částic.

Při mikroskopickém sledování tukových kuliček byl během pokusu zachován konstantní poměr v jejich velikostním zastoupení. V průběhu pokusu byl pozorován porušený obal tukových kuliček spolu s viditelným volným tukem. Mikroskopicky pozorovatelný nárůst volného tuku byl ověřen stanovením volného tuku extrakční metodou. Obsah volného tuku ve vzorcích připravených bez obohacení tukové složky narůstal z průměrně 2 % během 10ti

Tab. 1 Mikroskopické hodnocení tukových kuliček

Den	Mikroskopický preparát - tukové kuličky (TK)
1	obal TK neporušený, 80 % TK velikost 3 - 6 μm , 20 % velikost 6 - 8 μm
2	obal TK neporušený, 80 % TK velikost 3 - 6 μm , 20 % velikost 6 - 8 μm
6	5 % TK porušený obal, volný tuk, 80 % TK velikost 3 - 6 μm , 20 % velikost 6 - 8 μm
7	5 % TK porušený obal, volný tuk, 80 % TK velikost 3 - 6 μm , 20 % velikost 6 - 8 μm
10	5-10 % TK porušený obal, volný tuk, 80 % TK velikost 3 - 6 μm , 20 % velikost 6 - 8 μm

Graf 6 Průměrný obsah volných mastných kyselin během skladování

denního skladování až na průměrně 15 %. U vzorku obohaceného přidavkem smetany narůstal obsah volného tuku z 2 % až na 21 %. Tento rozdíl se ale v chování vzorku při IR měření neprojevil.

Na rozdíl od výrazného nárůstu volného tuku nedošlo u vzorků během skladování k nárůstu obsahu volných mastných kyselin (Graf 6). Stabilní koncentrace volných mastných kyselin ukazuje na nízkou úroveň lipolýzy v konzervovaných vzorcích pasterovaného mléka uchovávaných při 6 °C (Voort, 1986).

Pro omezení degradace vzorků činností mikroorganismů je používáno konzervační činidlo Microtabs II. Jeho účinnost byla ověřena stanovením celkového počtu mikroorganismů, koliformních MO a psychrotrofních MO. Během 10ti denního sledování nedošlo u žádné skupiny sledovaných MO k statisticky významnému zvýšení jejich density. Taktéž u sledování aktivní kyselosti vzorků nedoš-

lo k jejímu snížení. Hodnoty pH se u jednotlivých vzorků pohybovaly v rozmezí 6,58 až 6,73.

Závěr

Závěrem lze konstatovat, že vzorky mléčných matric připravených obohacením kravského pasterovaného nehomogenizovaného mléka o majoritní složky, vykazují dobrou stabilitu pro účely IR měření po dobu 7 dnů, pokud jsou skladovány při 6 °C. Hlavní příčinou degradace obohacených mléčných matric je poškození obalu tukových kuliček a tím vzniklá nehomogenita vzorku. Použité konzervační činidlo vykazuje dostatečnou účinnost.

Poděkování

Tato práce vznikla díky finanční podpoře Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky v rámci grantu 2B08072 a VZ MSM 2672286101.

Literatura:

- Agnet Y.: Bulletin of the IDF 332, 1998
 Mergl M., Černá E.: Laboratorní a kontrolní metody v mlékařství, SNTL, 1971
 Cvak Z., Peterková L., Černá E.: Chemické a fyzikálně chemické metody v kontrole jakosti mléka a mlékárenských výrobků, VÚPP SPI, 1992
 Giardina C. et al: Milchwissenschaft, 58 (7/8), 2003
 Hansen P.W. et al: J Dairy Sci, 82, 1999
 Karoui R. et al: International Dairy Journal, 13, 2003
 Kempen T.A.T.G. et al: J. Anim. Sci., 80, 2002
 Lefier D.: Bulletin of the IDF 332, 1998
 Leifler D. et al: Lait, 80, 2000
 Sorensen L.K.: Bulletin of IDF 390, 2004
 Voort F.A. et al: Journal of Dairy Science, 70, 1987
 ČSN 570533 Mléko - Stanovení látkového obsahu volných mastných kyselin

Přijato do tisku 9. 11. 2009

Lektorováno 19. 11. 2009

INFORMACE

EFSA POSOUDIL BETA-KASEIN A1-A2

V posouzení bílkovin v mléce a v mléčných výrobcích od EFSA (European Food Safety Authority) nebylo nalezeno žádné spojení mezi jejich spotřebou a zdravotními riziky. Tím mohla být uzavřena historická diskuze.

V této věci byla trvalá diskuze ohledně podobných proteinů jako beta-kasein A1 a A2, které jsou nejběžnějšími bílkovinami kravského mléka. Posudek zahrnuje hlavní mlékařské skupiny jako je Novozélandské družstvo, založené Fonterra.

Podle dostupných podkladů není beta-kasomorfín 7 vznikající štěpením beta-kaseinu A1 příčinou diabetu typu I, autismu a dalších nepřenosných onemocnění.

Během roku 2008 posuzoval úřad EFSA nezávadnost bílkovin v mléčných výrobcích vzhledem k tomu, že výsledky některých publikovaných studií poukazovaly na souvislost s autismem, schizofrenií, kardiovaskulárními chorobami, diabetem typu I a nesnášenlivostí mléka (např. prof. K. Woodford z Lincoln University). Podle těchto tvrzení je beta-kasein A1, z něhož vzniká beta-kasomorfín 7, škodlivý, zatímco s beta-kaseinem A2 již není problém.

K vyhodnocení odborníci úřadu EFSA využili dostupné literární podklady, včetně výzkumů novozélandského družstevního společenství Fonterra.

Závěr úřadu EFSA (Review of the potential health impact of β -casomorphins and related peptides - EFSA-Q-2008-379) z února 2009 zní: "neexistuje vztah příčiny a důsledku mezi beta-kasomorfínem-7 (BCM7), příbuznými peptidy a jejich bílkovinnými prekursory a nepřenosnými chorobami".

Novozélandský úřad pro bezpečnost potravin nyní po vyjádření úřadu EFSA už nepovažuje za nutné provádět vlastní šetření k vyvrácení obav spotřebitelů z konzumace mléka.

UZEI 30.6. 2009; Ing. Irena Suková
 EU Food Law, 2009, č. 395
 Dairy Ind. Intern, 74, 2009, č.4, /ben/