

Tab. IV Mikrobiologická kvalita acidofilních mlék z tržní sítě (n=1)

Výrobce	Počet dní před koncem doby spotřeby	Mezofilní mléčné koky log KTJ.g ⁻¹	Laktobacily log KTJ.g ⁻¹	Kontaminující mikroorganismy log KTJ.g ⁻¹	pH
A	19	8,0	6,9	4,7	4,2
A	12	8,0	6,0	4,4	4,1
B	3	6,7	< 6,0	2,8	4,3
C	8	7,3	7,3	5,4	4,2
C	16	8,1	7,9	7,2	4,3
D	19	< 6,0	7,3	4,6	4,2
D	19	< 6,0	6,9	4,0	4,4

mu přežívání zákysových kultur (a tím i ke splnění legislativních požadavků na fermentované mléčné výrobky) a je pro mnoho spotřebitelů senzoricky přijatelnější. Na druhou stranu umožňuje pomnožování kontaminujících mikroorganismů i ve fázi po výrobě. Při porovnání výsledků modelových vzorků a komerčních výrobků je patrné, že se českým výrobcům daří zajistit si před fermentací mikrobiologicky kvalitní surovinu a zabránit tak nadměrnému pomnožení kontaminujících mikroorganismů při vlastní fermentaci a krátce po ní.

Závěr

Zajistit dobrou mikrobiologickou kvalitu fermentovaných mléčných výrobků po celou dobu trvanlivosti je problém vyžadující optimalizaci faktorů, které mají vazbu na aktivní kyselost (tj. na mikrobiální složení a inokulum zákysových kultur), rychlost chlazení po fermentaci a teplota skladování. Příliš nízké pH vede ke snižování denzity zákysových bakterií (v některých případech až pod legislativou dané minimum), a naopak při relativně vysokém pH se mohou pomnožovat kontaminující mikroorganismy.

Prvním krokem při prevenci překysávání je výběr vhodných kmenů, kombinace s kulturami, které nepřekysávají, a optimalizace očkovací dávky. Překysávání lze významně omezit dostatečným chlazením fermentovaných výrobků, rozhodující je zejména rychlé zchlazení po fermentaci.

Přestože jsou fermentované mléčné výrobky vnímány z hlediska patogenních a technologicky nežádoucích mikroorganismů jako málo rizikové, je potřeba věnovat pozornost i kontaminující mikroflóře. Důležité je zajistit dostatečně účinné tepelné ošetření výchozí suroviny a zabránit rekontaminaci, protože i velmi nízká počáteční kontaminace se může během fermentace pomnožit na vysokou denzitu (až 10⁸ KTJ.g⁻¹) a případně i tvořit nežádoucí metabolity (např. toxiny, enzymy, apod.). V průběhu skladování finálních výrobků kontaminující mikroflóra odumírá v závislosti na míře kyselosti a její nežádoucí aktivity jsou již málo pravděpodobné.

Na českém trhu jsou k dispozici acidofilní mléka, u kterých se výrobcům daří udržet mikrobiální kontaminaci pod kontrolou. V některých případech by však mělo být zajištěno lepší přežívání zákysových kultur.

Poděkování

Tato práce vznikla s finanční podporou MŠMT při řešení výzkumného záměru MSM 2672286101 Mléko - významná součást zdravé a bezpečné výživy.

Literatura

- BIROLLO G.A., REINHEIMER J.A., VINDEROLA C.G. (2000): Viability of lactic acid microflora in different types of yogurt. *Food Research Int.*, 33, s. 799-805.
- BIROLLO G.A., REINHEIMER J.A., VINDEROLA C.G. (2001): Enterococci vs. non-lactic acid microflora as hygiene indicators for sweetened yogurt. *Food Microbiology*, 18, s.597-604.
- FRANK, J. F., HASSAN, A. N. (2003): Microorganisms associated with milk. Ve: ROGINSKI, H., FUQUAY, J. W., FOX, P. F. (Eds.): *Encyclopedia of dairy science*, s. 1786 - 1796. *Academic Press*, London, U.K.
- McPHEE, J. D., GRIFFITHS, M. W. (2003): Psychrotrophic bacteria. *Pseudomonas* spp. Ve: ROGINSKI, H., FUQUAY, J. W., FOX, P. F. (Eds.): *Encyclopedia of dairy science*, s. 2340 - 2345. *Academic Press*, London, U.K.
- MISTRY, V. V. (2001): Fermented milks and cream. Ve: MARTH, E. H., STEEL, J. L. (Eds.): *Applied Dairy Microbiology*, s. 301 - 326. *Marcel Dekker, Inc.*, New York, USA.
- RØSSLAND, E., ANDERSEN BORGE, G.I., LANGRUD, T., SØRHANG, T. (2003): Inhibition of *Bacillus cereus* by strains of *Lactobacillus* and *Lactococcus* in milk. *Int. J. Food Microbiol.*, s. 89: 205 - 212.
- RITTICH, B., ŠPANOVÁ, A., DRÁB, V., HAVLÍKOVÁ, Š. (2008): Korelace mezi fenotypovými a molekulárně genetickými metodami identifikace bakterií mléčného kvašení. *Mlékařské listy - Zpravodaj* 11 s. 34 - 37.
- SALIH, M.A., SANDINE, W.E., AYRES, J.W. (1990): Inhibitory effects of Microgard™ on yogurt and cottage cheeses spoilage organisms. *J. Dairy Sci.*, 73, s. 887 - 893.
- ČSN EN ISO 4833 (2003): Mikrobiologie potravin a krmiv - Horizontální metoda pro stanovení celkového počtu mikroorganismů - Technika počítání kolonií vykultivovaných při 30 °C, ČNI, Praha.
- ČSN ISO 13559 (2007): Mléko, kysaná smetana a čerstvé sýry - Stanovení počtu kontaminujících mikroorganismů - Technika počítání kolonií vykultivovaných při 30 °C, ČNI, Praha.
- INTERNATIONAL IDF STANDARD 149A (1997): Dairy starter cultures of lactic acid bacteria (LAB) - Standard of identity. FIL-IDF, Brusel, Belgie.

Přijato do tisku 6. 9. 2011

Lektorováno 27. 9. 2011

MOŽNOSTI PRODLOUŽENÍ STABILITY MLÉČNÉ MATRICE PRO ÚČELY IR MĚŘENÍ

Elich O.¹, Hejtmánková A.², Hejtmánková K.², Švejcárová M.³, Zikán V.¹, Mošnová R.¹.

1 - MILCOM a.s.,

2 - ČZU Praha

3- VÚM s.r.o.

Possibilities of extending milk matrix stability for IR measurements

Abstrakt

Kalibrace a kontrola MIR analyzátorů mléka je v současnosti realizována zejména pomocí vzorků konzervovaného syrového mléka s trvanlivostí v řádech dní. Cílem práce bylo ověřit možnosti využití šokově hluboko zmrazených

mléčných standardů s modifikovaným složením. Výsledky ukazují použitelnost navržených standardů s přirozeným obsahem tuku pro kontrolu kvality měření MIR přístrojů po dobu 60ti dnů při skladování za teploty $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$. Naopak přídavek smetany vede u vzorků k výrazným odchylkám v opakovatelnosti měření tuku během skladování.

Abstract

MIR milk analyzers are currently calibrated and checked using of preserved raw milk samples having shelf life in the order of days. The aim of this study was to verify possibilities of deep shock frozen milk standards with modification of composition.

The results show applicability of the proposed standards containing natural fat for quality control measuring devices MUIR for 60 days at storage temperature of approx $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$. On the contrary, the addition of cream samples causes significant deviations repeatability of fat during storage of samples.

Úvod

Přesnost stanovení základních složek mléka a mléčných produktů tj. obsahu tuku, bílkovin, laktózy a tukuprosté sušiny pomocí přístrojů pracujících v střední červené oblasti infračerveného spektra (MIR) je závislá jak na technickém stavu přístrojové techniky, tak na vlastnostech vzorků použitých pro kalibraci a kontrolu přístroje. Správnou úpravou základní kalibrace lze odchylky způsobené instrumentální technikou účinně eliminovat. V ideálním případě je možné docílit přesnosti MIR měření blížící se přesnosti použité referenční metody.

Pro kalibraci MIR přístrojů je možné využít dvou postupů. První postup využívá individuální vzorky mléka o přirozeném variabilním zastoupení složek. To přináší komplikace zejména při zajištění požadovaného rozpětí hodnot kalibračních vzorků a také nese riziko ovlivnění kalibrace nestandardními vzorky. Ty se mohou diametrálně odlišovat od běžných vzorků jak v hlavních měřených složkách, tak v ostatních minoritních látkách (PSB, močovina, ketony...), což může negativně ovlivnit výsledky, neboť IR měření je z fyzikální podstaty závislé na celkovém složení matrice. Při kalibraci přístrojové techniky určené k měření v mlékárenských provozech je výhodnější využít druhý postup a to použití směsných bazénových vzorků, které jsou podstatou matrice bližší běžně měřeným vzorkům. Zajištění variability vzorků musí být v tomto případě zajištěno modifikací kalibračních vzorků pomocí vhodných surovin jako je smetana, odstředěné mléko, retentát a permeát z ultrafiltrace, laktóza, voda a další. Vhodnost použití modifikovaných kalibračních vzorků byla ověřována v několika vědeckých pracích.

Celý proces úpravy kalibrace je poměrně komplikovaný a nákladný a to nejen vzhledem k nutnosti obstarání surovin pro zajištění dostatečné variability vzorků, ale také s ohledem na množství odborné laboratorní práce. Při kalibraci IR techniky je nutné vzít v úvahu, že úroveň provedení refe-

renčních analýz je naprosto klíčovým prvkem kalibračního procesu a přesnost IR měření je limitována a nemůže být vyšší než přesnost referenčních metod daného pracoviště. Z toho vyplývá snaha o vytvoření sady kalibračních vzorků s prodlouženou trvanlivostí, kde by se snížily náklady na laboratorní analýzy při použití na více přístrojích. Dosavadní postupy prodloužení trvanlivosti vzorků se zaměřovaly na použití konzervačních činidel jako je dichroman draselný, bronopol či azid sodný (Barbano a kol., 2010). Tím byla prodloužena použitelnost kalibračních vzorků skladovaných při $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ na 5-15 dní a v případě pasteurizovaného mléka až na 28 dní (Kaylegian a kol., 2006a). Využitím konzervace se zabrání rozkladu vzorků vlivem pomnožení mikroorganismů, avšak nezabrání se rozkladu mléčné matrice působením lipolytických a proteolytických enzymů (Santos a kol., 2003, Robertson a kol., 1981).

Metodika

Pro pokus bylo ze vstupních materiálů (syrové nehomogenizované mléko a odstředěním získaná smetana), připraveno 5 kalibračních vzorků mléka M1-M5 o různé tučnosti a dva vzorky smetany S1-S2. Obsah tuku ve vzorcích byl zvolen tak, aby odpovídal v praxi nejčastěji měřeným koncentracím. K zajištění variability ve složení bílkovin, laktózy a sušiny byly vzorky modifikovány přídavky dalších látek. Vzorek M4 byl obohacen o přídavek

TAB 1 Průměrné odchylky měření při skladování hlubokozmražených vzorků mléka

		tuk - g/100 ml mléka					
	před zmražením	M1	M2	M3	M4	M5	M6
den	1	0,00	0,02	0,07	0,01	0,04	0,02
	14	0,00	0,02	0,20	0,01	0,03	0,04
	31	0,00	0,03	0,07	0,02	0,02	0,07
	61	0,02	0,00	0,02	0,01	0,00	0,05
		bílkoviny - g/100 g mléka					
	před zmražením	M1	M2	M3	M4	M5	M6
den	1	-0,01	0,02	0,01	0,00	-0,01	0,00
	14	-0,01	0,00	-0,01	-0,01	-0,01	-0,01
	31	-0,01	-0,01	0,00	-0,02	-0,01	-0,01
	61	-0,04	-0,04	-0,03	-0,04	-0,02	-0,03
		laktóza - g/100 g mléka					
	před zmražením	M1	M2	M3	M4	M5	M6
den	1	-0,01	0,00	-0,11	0,01	0,00	0,02
	14	0,01	0,00	-0,02	-0,01	0,01	0,01
	31	-0,04	-0,01	-0,08	-0,01	0,00	0,00
	61	-0,03	-0,02	-0,04	-0,03	-0,04	-0,02
		TPS - g/100 g mléka					
	před zmražením	M1	M2	M3	M4	M5	M6
den	1	0,00	0,02	-0,09	-0,01	0,00	0,01
	14	0,03	0,02	-0,01	0,01	0,00	-0,01
	31	-0,03	-0,02	-0,06	-0,03	-0,01	-0,04
	61	-0,02	-0,03	-0,05	-0,03	-0,04	-0,03

TAB 2 Průměrné odchylky při skladování hlubokozmražených vzorků smetany

		tuk		bílkoviny		TPS	
		g/100g mléka	g/100g mléka	g/100g mléka	g/100g mléka	g/100g mléka	g/100g mléka
den	před zmražením	20,85	40,94	2,32	1,93	6,79	4,79
	1	0,49	0,26	0,00	0,02	-0,06	0,00
	14	0,21	0,02	-0,01	0,00	-0,03	0,01
	31	-0,07	-0,40	0,01	-0,01	-0,01	0,02
	61	0,16	-0,02	-0,03	0,01	-0,04	0,03

koncentrátu celkových mléčných bílkovin, vzorek M5 o přídavek laktózy a vzorek M6 naředěn vodou. Dosažené cílové hodnoty složení jednotlivých vzorků jsou shrnuty v TAB 1 a TAB 2.

Stanovení obsahu tuku, bílkovin, laktózy, tukuprosté sušiny (TPS) a volných mastných kyselin (VMK) u vzorků bylo provedeno na přístroji Milkoscan FT2 (FOSS, Dánsko). Dále následovalo šokové zmrazení vzorků ve 100 ml vzorkovnicích válcového tvaru o průměru 25 mm a to ponořením do 96% ethanolu podchlazeného na -40 °C. Zmražené vzorky byly uchovávány při teplotě -40 °C a jejich složení bylo nadále měřeno ve dvou opakovaných ihned po rozmrazení 1., 14., 31. a 61. den skladování.

Výsledky a diskuze

Při hodnocení použitelnosti hlubokozmražených standardů mléka pro účely zajištění kvality měření MIR přístrojů je nutno vycházet z účelu, pro jaký je daný standard používán.

V případě vzorků určených k úpravě kalibrační přímky přístroje jsou nároky na přesnost měření nejvyšší. Pokud tedy vycházíme z hodnot opakovatelnosti měření u jednotlivých MIR přístrojů u složek mléka pro tuk, bílkovinu a laktózu 0,02 % absolutně a pro TPS 0,04 %, lze hodnoty nestranných odchylek u časového sledování stability mražených standardů 0,04 % pro tuk, bílkoviny a laktózu a 0,08 % pro TPS považovat za použitelné s tím, že kalibrace bude provedena na dostatečném množství vzorků. V případě hodnocení vzorků smetany je v tomto případě limitní hodnota 0,5 % u tuku a TPS a 0,04 % u bílkovin.

Uvažujeme-li o využití standardů k dlouhodobé kontrole nastavení MIR přístrojů formou pilotních vzorků, můžeme akceptovat odchylku měření až dvakrát větší. To je dáno periodicitou měření a jeho statistickým vyhodnocením, kde v případě odlehleho výsledku je možnost takový výsledek ze souboru vyřadit.

V TAB 1. a TAB 2. jsou uvedeny naměřené průměrné odchylky u sledovaných hlubokozmražených vzorků mléka a smetany. Z porovnání jednotlivých odchylek je patrné, že

vzorky M3 tj. vzorky s navýšeným obsahem tuku nad 5 g/100 ml pomocí přídavku smetany vykazují výraznou nestabilitu v měření tuku a laktózy během skladování ve zmraženém stavu. Pro rozdíly v tukové fázi svědčí i vyšší obsah VMK 1,25 mmol/100 g mléčného tuku oproti 0,96 u vzorků s nižším obsahem tuku. V průběhu skladování nedocházelo u žádné skupiny k výraznému nárůstu VMK, což svědčí o potlačení činnosti lipolytických enzymů během skladování při -40°C (Kaylegian a kol., 2007). Dále vykazují nedostatečnou opakovatelnost při měření obsahu tuku vzorky upravené přídavkem vody tj. M6. Ostatní odchylky u vzorků s nenavýšeným obsahem tuku splňují stanovená kritéria pro využití hlubokozmražených standardů při kontrole kvality měření MIR přístrojů, včetně vzorků modifikovaných přídavkem laktózy a mléčné bílkoviny.

Vzorky smetany vykazují dostatečnou opakovatelnost pro všechny měřené parametry po celou dobu sledování.

Závěr

Vytvořené hlubokozmražené vzorky mléka s přirozeným obsahem tuku a smetany vykazují dostatečnou opakovatelnost měření pro kontrolu jakosti provozních MIR analyzátorů mléka. Sledovaný přídavek laktózy nebo bílkovin nevykazuje vliv na sledované chemické parametry v průběhu skladování zmražených kalibračních vzorků, zatímco výrazné změny matrice v mléce obohaceném přídavkem smetany nedovolují tyto vzorky využít.

Poděkování

Tato práce vznikla za podpory projektu MŠMT ČR 2B08072 a výzkumného záměru MŠMT ČR MSM 2672286101.

Literatura

- BARBANO D. M., WOJCIECHOWSKI K. L., AND LYNCH J. M. (2010): Effect of preservatives on the accuracy of mid-infrared milk component testing. *J. Dairy Sci.*, 93, s. 6000-6011.
- KAYLEGIAN, K. E., G. E. HOUGHTON, J. M. LYNCH, J. R. FLEMING, AND D. M. BARBANO (2006 a): Calibration of infrared milk analyzers: Modified milk versus producer milk. *J. Dairy Sci.*, 89, s. 2817-2832.
- K. E. KAYLEGIAN, J. M. LYNCH, J. R. FLEMING, D. M. BARBANO (2007): Lipolysis and Proteolysis of Modified and Producer Milks Used for Calibration of Mid-Infrared Milk Analyzers. *J. Dairy Sci.*, 90, s. 602-615.
- ROBERTSON, N. H., A. DIXON, J. H. NOWERS, D. P. S. BRINK (1981): The influence of lipolysis, pH and homogenization on infra-red readings for fat, protein and lactose. *S. Afr. J. Dairy Technol.*, 13, s. 3-7.
- SANTOS, M. V., Y. MA, D. M. BARBANO. (2003): Effect of somatic cell count on proteolysis and lipolysis in pasteurized fluid milk during shelf-life storage. *J. Dairy Sci.*, 86; s. 2491-2503.

Přijato do tisku 13. 9. 2011

Lektorováno 23. 9. 2011