

VLIV RELATIVNÍ VLHKOSTI NA ZMĚNU PRIMÁRNÍCH A SEKUNDÁRNÍCH OXIDAČNÍCH PRODUKTŮ TUKU SUŠENÉHO PLNOTUČNÉHO MLÉKA

Eva PROCHÁZKOVÁ¹, Jan HRABĚ¹, Jiří KREJČÍ²,
Natalia ONIPCHENKO¹

¹ Ústav technologie a mikrobiologie potravin, Univerzita
Tomáše Bati ve Zlíně, nám. T. G. Masaryka 275, Zlín 762 72

² Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky, Univerzita
Tomáše Bati ve Zlíně, nám. T. G. Masaryka 275, Zlín 762 72

Eva Procházková: evcaprochazkova@centrum.cz,
+420 774 821 313

The influence of relative humidity on changes of primary and secondary oxidative product of fat in whole dried milk

Abstrakt

Oxidační změny tuku sušeného plnotučného mléka byly sledovány v průběhu 63 dnů skladování při různých relativních vlhkostech. Sušené mléko mělo obsah tuku 26,47 % (w/w) a index rozpustnosti 1,85 ml. Kontrolní vzorek byl skladován při teplotě 22 °C a vzdušné relativní vlhkosti. Dva vzorky byly skladovány v exsikátoru při vlhkosti (23 % a 82 %) a teplotě 37 °C. Oxidační změny byly sledovány pomocí obsahu hydroperoxidů (primární oxidační produkty) a thiobarbiturového čísla (TBARS, sekundární oxidační produkty). Primární produkty se při relativní vlhkosti 23 % tvořily dvakrát rychleji a jejich obsah dosahoval dvojnásobných hodnot v porovnání se vzorkem skladovaným za normálních podmínek. Relativní vlhkost 82 % urychlovala oxidační procesy do té míry, že primární produkty byly vyčerpány téměř okamžitě od počátku skladování a sekundární produkty vykazovaly maximum po 16 dnech a pak došlo k jejich poklesu.

Klíčová slova: oxidační změny, mléčný tuk, skladovací podmínky, relativní vlhkost, hydroperoxydy, thiobarbiturové číslo

Abstract

The oxidative changes of whole dried milk during 63 days of storage under two relative humidities were investigated. The sample of whole dried milk had fat content 26.47 % (w/w) and insolubility index 1.85 ml. The control sample was stored at temperature 22 °C and relative humidity of air. The whole dried milk was stored in desiccator under two relative humidities (23 %, 82 %) at temperature 37 °C. Oxidative changes were investigated as the content of hydro peroxides (primary oxidative products)

and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS, secondary oxidative products). The production of primary oxidative product was twice quicker under higher relative humidity (23 %) and the content was twice higher than the values of sample stored under standard conditions. The oxidation under relative humidity 82 % was so quick that the primary oxidative products were exhausted from the beginning of storage and the secondary product had the maximum after 16 days of storage and decreased till the end of storage. Secondary oxidative product under standard conditions were gradual and the time dependence was same as those under relative humidity and no rapid decrease of TBARS content was found.

Key words: oxidative changes, milk fat, storage conditions, relative humidity, hydro peroxides, thiobarbituric number

Úvod

Mlékárenské produkty jsou důležitou skupinou potravin v lidské výživě. Jsou konzumovány v nativní podobě nebo použity jako součást mnoha jídel (Meshref, 2008). Proteiny, sacharidy a lipidy obsažené v potravinách podléhají během skladování chemickým změnám, které jsou způsobeny jejich vzájemnou interakcí (Kato, 1980). Maillardova reakce je jedním z typických příkladů probíhajících reakcí během skladování nejen sušeného mléka a podporuje oxidační reakce (Hurrell a Carpenter, 1977). Relativní vlhkost je faktor, který tyto reakce výrazně ovlivňuje a má významný vliv na fyzikálně-chemickou stabilitu mléčného prášku v průběhu skladování a distribuce (Labuza a kol., 1970, Mathlouthi, 2001). Mléčné lipidy podléhají chemickým a fyzikálním změnám již při technologickém zpracování mléka jako jsou např. autooxidace, oxidační změny a také tvorba trans mastných kyselin (Semma, 2002). Oxidace tuků je hlavním důvodem snižování kvality produktů s vysokým obsahem tuků a to jak během zpracování, tak také během skladování (Finley a Otterburn, 1993). Oxidace tuků vede ke tvorbě látek, které mění barvu, chuť, texturu, nutriční vlastnosti a také bezpečnost potravin. Oxidací tuku je tvořena řada nízkomolekulárních látek, jako jsou aldehydy, ketony a laktony, které nevhodným způsobem ovlivňují sensorické vlastnosti mlékařenských výrobků a vznikají také vysokomolekulární látky (Frankel, 1984). Nevýznamnějším produktem autooxidace je malondialdehyd, jehož obsah je indikátorem oxidace tuků (Cesa, 2004). Vysoký obsah tuku v plnotučném sušeném mléce je jedním z hlavních faktorů, které způsobují žluklou chuť, dalšími faktory jsou technologie sušení a skladovací podmínky a to zejména teplota a relativní vlhkost. Na základě studií (Hedegaard a kol., 2006, Okamoto, 1985, Stapelfeldt a kol., 1997 a Nielsen a kol., 1997) bylo jako hlavní cíl práce zvoleno sledování délky skladování a vlivu relativních vlhkostí na změny oxidačních produktů ve vzorku plnotučného válcově sušeného mléka.

Stapelfeldt a kol. (1997) sledovali vliv několika relativních vlhkostí a dvou teplot (25 a 45 °C) na rozsah oxidačních

změn. V práci bylo zjištěno, že teplota 25 °C v kombinaci s použitými relativními vlhkostmi neovlivňovala rozvoj oxidačních změn téměř vůbec, zatímco teplota 45 °C a relativní vlhkost na 31 % měla negativní vliv na všechny sledované faktory. Stapelfeldt a kol. (1997) sledovali senzoricou jakost sušeného mléka, thiobarbiturové číslo jako ukazatel sekundárních oxidačních produktů. Hedegaard a kol. (2006) sledovali oxidační změny mléka pomocí analytických metod, které byly porovnávány s výsledky senzorické analýzy. Ukázalo se, že výsledky analytických metod a senzorické analýzy se naprosto shodují. Nielsen a kol. (1997) sledovali oxidační změny sušeného mléka při teplotě 50 °C a vlhkosti 31 %. Na základě získaných dat byli Nielsen a kol. (1997) schopni pomocí lineární regrese vypočítat neoptimálnější dobu skladování. Ve všech studiích byl sledován obsah hydroperoxidů a také sekundární oxidační produkty (TBARS). Relativní vlhkost je považována za velmi významný faktor ovlivňující průběh oxidačních změn. Produkty oxidace jsou spojovány s mnoha degenerativními onemocněními jako je arteroskleróza, revmatická artritida a mnohé další (Rovnakova a kol., 2001). Frankel (1993) ve své práci uvádí důležitost sledování stupně oxidace tuku v přesně stanovených časových intervalech a to kombinací více metod, které jsou schopny zachytit celý průběh oxidačních změn.

V této práci byly sledovány hydroperoxydy, což jsou látky vznikající řetězovou radikálovou reakcí a podléhají dalším oxidačním změnám. Hydroperoxydy jsou velmi labilní a rychle se rozkládají na další látky, proto byly dále sledovány sekundární oxidační produkty (TBARS), a to především malondialdehyd. Ty jsou schopny reagovat s thiobarbiturovou kyselinou za vzniku oranžového zbarvení. Sledovaným materiálem bylo válcově sušené mléko, které se používá pro výrobu čokolády.

Materiál a metody

Příprava testovaného materiálu.

Mléko s obsahem tuku 3,5 % (w/w) bylo pasterizováno při teplotě 90 °C po dobu 5 sekund. Po pasterizaci bylo mléko zahuštěno na třístuňové odparce Wiegand na 34 % sušiny. Sušení probíhalo na dvouválcové sušárně při teplotě 120 - 130 °C za atmosférického tlaku. Válcové byly vyhřívány nasycenou párou o teplotě 150 °C a tlaku 621 MPa. Zahuštěné mléko bylo na válce nastříkáváno pomocí trysek a po usušení byl vzniklý film seškrabán nožem umístěným na válci. Pomocí šnekového dopravníku, který slouží také k rozmělnění na částice o velikosti 5 - 50 μm, byl prášek dopraven do chladicího porubí, rychle zchlazen na teplotu pod 10 °C a balen do Bigbagů. Pro testování bylo použito válcově sušené plnotučné mléko s obsahem tuku 26,47 % (w/w), indexem rozpustnosti 1,85 ml a indexem denaturovaných sérových bílkovin 3,66 mg WPN/g (syrovátkové bílkoviny). Vlhkost testovaného vzorku byla 3,52 % (w/w).

Podmínky experimentu

Válcově sušené mléko bylo skladováno při kontrolní teplotě 22 °C a vzdušné vlhkosti (vzorek č. 1) a dále v ter-

mostatu při teplotě 37 °C při relativních vlhkostech 23% (vzorek č. 2) a 82% (vzorek č. 3). Relativní vlhkosti byly vytvořeny pomocí 100 ml nasyceného roztoku těchto solí: relativní vlhkost 23 % pomocí octanu draselného a relativní vlhkost 82 % pomocí bromidu draselného. Relativní vlhkosti byly zvoleny v souladu se studií provedenou Okamotoem (1985) a záměrně byly diametrálně odlišné. Vzorky byly vytvořeny, tak, že sušené mléko o hmotnosti 22g bylo nasypáno na Petriho misku (průměr 15 cm). Vzorek č. 1 byl umístěn ve skladu potravin při průměrné teplotě 22 a bez regulace vlhkosti atmosféry. Vzorky č. 2 a 3 byly umístěny do exsikátoru s nastavenými relativními vlhkostmi a uloženy v termostatu na teplotu 37 °C. Všechny vzorky byly vystaveny testovacím podmínkám ihned po výrobě.

Obsah tuku byl stanoven gravimetricky po extrakci za studena směsí chloroformu a methanolu metodikou popsanou Davídkem a kol. (1977) v laboratorní příručce analýzy potravin. Index denaturovaných sérových bílkovin byl stanoven dle Niro method No. A 21a. Obsah vlhkosti a index rozpustnosti byly stanoveny dle České technické normy ČSN ISO 57 0105.

Vzorky pro analýzy byly odebrány po 13 dnech. Vždy bylo odebráno množství 3g, které bylo před vlastními analýzami obnoveno ve 30 ml destilované vody o teplotě 30 °C.

Stanovení primárních oxidačních produktů

Obsah hydroperoxidů byl měřen metodou dle Ostfala a kol. (2002) a je vyjádřen jako absorbance měřená při vlnové délce 500nm na spektrofotometru Libra S6 (Biochrom, Cambridge, England). Stanovení je založeno na reakci hydroperoxidů s FeSO₄·7H₂O, kdy dochází k oxidaci dvojmocného železa na trojmocné za vzniku červeného zbarvení.

Thiobarbiturové číslo (TBARS)

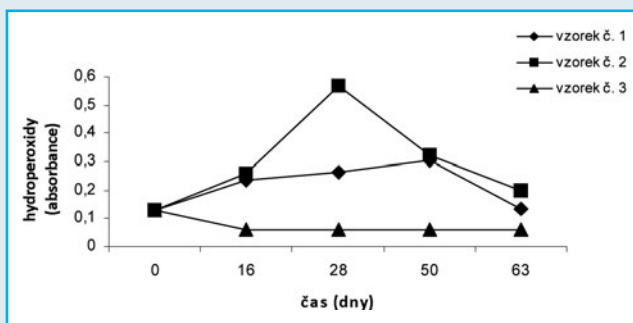
TBARS byly stanoveny metodou dle Kinga, (1962). Výsledky jsou vyjádřeny jako hodnoty absorbance měřené při vlnové délce 450 nm na spektrofotometru Libra S6 (Biochrom, Cambridge, England).

Výsledky a diskuze

Oxidační změny tuku v sušeném plnotučném mléce byly sledovány jako změny obsahu hydroperoxidů a thiobarbiturového čísla (TBARS).

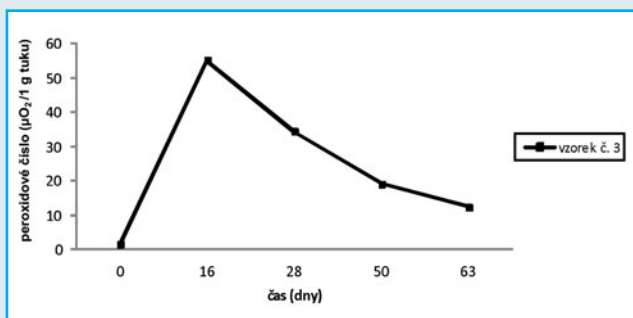
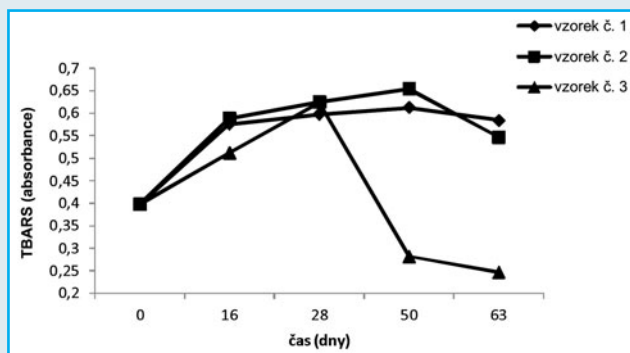
Změny primárních oxidačních produktů

Z obrázku č. 1 je patrné, že v průběhu testování docházelo v sušeném mléce k výrazným změnám obsahu hydroperoxidů. Vliv relativní vlhkosti byl zřejmý již po 16 dnech. Při relativní vlhkosti 82 % se nám nepodařilo prokázat obsah hydroperoxidů metodou dle Ostfala již po 16 dnech. Z tohoto důvodu byl u vzorku č. 3 stanoven obsah hydroperoxidů titračně jako peroxidové číslo (viz obr. 2). Stanovení peroxidového čísla bylo provedeno po 16 dnech.

Graf č. 1 Změny obsahu hydroperoxidů v průběhu testování

Stejně jako v ostatních případech bylo zaznamenáno maximum. U vzorku č. 1, který byl vystaven obvyklým podmínkám skladování sušeného mléka, byl zaznamenán maximální obsah hydroperoxidů ($A = 0,305$) po 50 dnech. Průběh tvorby hydroperoxidů byl velmi pozvolný. U vzorku č. 2 byl dosažen maximální obsah hydroperoxidů výrazně větší ($A = 0,567$) a to již dokonce po 28 dnech. Poté byl pozorován prudký pokles až na téměř počáteční hodnoty. Během testování vzorku č. 3 byla změna peroxidů po 16 dnech tak intenzivní, že došlo k jejich rozkladu. Z dosažených výsledků vyplývá, že relativní vlhkost má vliv nejen na rychlost tvorby, ale také na množství vytvořených hydroperoxidů.

Získané výsledky jsou v souladu s výsledky prezentovanými v dostupné literatuře. Celestino a kol. (1992) a Hedegaard a kol. (2006) se však zabývali pouze vlivem délky skladování na tvorbu oxidačních produktů. Výsledky této práce přináší poznatky i o vlivu relativní vlhkosti. Přestože Celestino a kol. (1992) použili ve své práci mlhově sušené mléko, mají výsledky porovnatelný průběh. V obou případech došlo k rapidnímu nárůstu obsahu hydroperoxidů, který byl v naší práci ještě umocněn vlivem relativní vlhkosti a teploty. Zatímco samotné vytvoření hydroperoxidů a jejich obsah na počátku skladování souvisí s použitým způsobem sušení, další vznik a jeho reakční rychlost jsou závislé především na délce a podmínkách skladování. Hedegaard a kol. (2006) zjistili stejnou rychlost vzniku hydroperoxidů, jako předkládá tato práce. V obou literárních studiích je jako hlavní faktor ovlivňující obsah hydroperoxidů označena délka skladování. Zjištěný obsah hydroperoxidů v pracích Celestino a kol. (1992)

Graf č. 2 Závislost peroxidového čísla na délce skladování při relativní vlhkosti 82 %**Graf č. 3** Změny obsahu TBARS v průběhu testování

a Hedegaard a kol. (2006) je nižší než v naší studii. Tato skutečnost je silně ovlivněna způsobem sušení mléka, tedy sušením válcovým proti sušení sprejovému. Počáteční hodnoty hydroperoxidů ve studii Celestina a kol. (1992) jsou udány jako peroxidové číslo a pohybují se kolem hodnoty $0,55 \mu\text{g}/\text{O}_2/\text{g tuku}$ a Hedegaard a kol. (2006) udávají obsah hydroperoxidů jako hodnotu absorbance $A = 0,088$. Zatímco počáteční hodnoty obsahu hydroperoxidů válcově sušeného mléka použitého v této práci byly $A = 0,135$ respektive $1,58 \mu\text{O}_2/\text{g tuku}$.

TBARS

TBARS byly měřeny při vlnové délce 450 nm, kterou pro lepší detekci vznikajícího barevného pigmentu doporučují ve svých pracích Patton a Kurts (1955) a Jenings a kol. (1955).

Hodnota TBARS vzrůstala v průběhu skladování. Bylo prokázáno, že hodnota TBARS je závislá na rychlosti rozpadu hydroperoxidů. Z obrázku č. 2 je patrné, že hodnoty TBARS ve všech vzorcích prudce vzrostly na hodnotu $A = 0,5$ a to již po 16 dnech. Vzorky č. 1 a 2 už do konce testování hodnotu TBARS prakticky nezměnily a neustále se pohybovaly kolem $A = 0,5$. Vzorek č. 3 po 16 dnech vykazuje pozvolný pokles sekundárních produktů až do konce testování. U vzorku č. 3 byly primární hydroperoxydy z části oxidovány na malondialdehyd a následný úbytek reaktivního malondialdehydu mohl pravděpodobně nastat vzájemnou interakcí s dalšími složkami sušeného mléka (laktóza, proteiny). Tato reakce je pravděpodobně vyvolána vysokou vlhkostí 82 %, kdy je vzduch z větší části nasycen vodní parou.

Stapelfeldt a kol. (1997) ve své práci popisují změny TBARS při různých relativních vlhkostech a zjistili, že při jimi použitých podmínkách se ze stoupající vlhkostí zvyšovala hodnota TBARS, avšak získané výsledky dosahují mnohonásobně nižších hodnot, než jsou námi zjištěné hodnoty uvedené na obrázku č. 3. Tento rozdíl mohl být pravděpodobně způsoben použitím mlhově sušeného mléka, jehož počáteční hodnoty TBARS jsou kolem $A = 0,08$, zatímco námi použité válcově sušené mléko mělo již na počátku skladování hodnotu TBARS $A = 0,398$. Nielsen a kol. (1997) prokázali, že tvorba sekundárních oxidačních produktů negativně ovlivňuje kvalitu skladovaného sušeného mléka a senzorickou jakost.

Zmíněné studie ukazují na podobnou tendenci tvorby TBARS v průběhu skladování jak je uvedeno v této práci.

Závěr

Plnotučné sušené mléko je ideálním substrátem pro tvorbu oxidačních produktů. Byly sledovány oxidační změny plnotučného sušeného mléka během 63 dnů testování při dvou relativních vlhkostech a zvýšené teplotě a dále kontrolní vzorek sušeného mléka testovaný za standardních podmínek.

Z výsledků vyplývá rozdílná dynamika tvorby primárních produktů, především u vzorků skladovaných při rozdílné vlhkosti a teplotě. U kontrolního vzorku byl nárůst hydroperoxidů pozvolný až do 50 dnů skladování, kdy bylo dosaženo maximum a následně došlo k postupnému snižování hodnoty. U vzorku č. 2 skladovanému při nižší relativní vlhkosti a vyšší teplotě (RV 23 %, T 37 °C) došlo k vysokému nárůstu hydroperoxidů po 28 dnech, následně k prudkému poklesu po 50 dnech na hodnotu kontrolního vzorku a v dalším průběhu skladování byly hodnoty srovnatelné s kontrolním vzorkem.

U vzorku č. 3 skladovanému při vysoké RV 82 % a T 37 °C byl průběh tvorby hydroperoxidů odlišný pouze z hlediska stanovení primárních oxidačních produktů spektrofotometrickou metodou. Na obr. č. 2 jsou uvedeny výsledky měření peroxidového čísla u tohoto vzorku. Z výsledků je možno vyvodit hypotézu, že při vysoké relativní vlhkosti a zvýšené teplotě skladování došlo již během krátké doby skladování k rychlé konverzi hydroperoxidů na sekundární produkty oxidace, což lze i doložit hodnotou TBARS, která vykazuje max. hodnotu po 28 dnech. Další poměrně silný pokles TBARS u tohoto vzorku přičítáme reaktivitě vzniklého malondialdehydu podpořenému vysokou RV, který je schopen reagovat s volnými aminoskupinami proteinů.

Literatura

- CELESTINO, E. L., IYER, M. AND ROGINSKI, H. (1996): The effects of refrigerated storage of raw milk on the quality of whole milk powder stored for different periods. *International Dairy Journal* 7, s. 119 - 127.
- CESA, S. (2004). Malondialdehyde contents in infant milk formulas. *J. Argic. Food Chem.*, 57, s. 2119 - 2122.
- ČSN ISO 57 0105, Metody zkoušení mléčných výrobků sušených a zahuštěných, Český normalizační institut, 1965.
- DAVÍDEK, J. A KOL. (1977): *Laboratorní příručka analýzy potravin*. SNTL, Praha.
- FINLEY, J. W., OTTERBURN, M. S. (1993). The consequences of free radicals in foods. *Toxicol Industrial Health*, 9, s. 77 - 91.
- FRANKEL, E.N. (1984): Lipid oxidation: mechanism, products and biological significance. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 61, s. 1908-1917.
- FRANKEL, E. N. (1993): In search of better methods to evaluate natural antioxidants and oxidative stability in food lipids. *Trends Food Sci. Tech.*, 4, s. 220 - 225.
- HEDEGAARD, R. V., KRISTEN, D., NIELSEN, J. H., FROST, M. B., OSTDAL, H., HEMANSEN, J. E. (2006): Comparison of descriptive sensory analysis and chemical analysis for oxidative changes in milk. *Journal of Dairy Science*, 89, s. 495 - 504.
- HURRELL, R., F., CARPENTER, K. J. (1977): Protein Crosslinking. Vol. 86 B, edited by M. Fiedman, Plenum Press, 255 s..
- JENNINGS, W. G., DUNKLEY, W. L. AND REIBER, H. G. (1955): Studies of certain red pigments formed from 2-thiobarbituric acid. *Food Research*, 20, s.13.

- KATO, H. (1980): Interactions of food constituents. edited by M. Namiki and S. Matsushita, Kodansha, Tokyo, s. 5.
- KING, R. L. (1962): Oxidation of milk fat globule membrane material. I. thiobarbituric acid reaction as a measure of oxidized flavour in milk and models systems. *Journal of Dairy Science*, 45, s. 1165 - 1171.
- LABUZA, T. P., TANNENBAUM, S. R., KAREL, M. (1970): *Food Technol.*, 24, s. 543.
- MATHLOUTHI, M. (2001): Water content, water activity, water structure and the stability of food stuffs. *Food Control*, 12, s. 395 - 400.
- MESHREF, A. AL-ROWAILY (2008): Effect of heating treatments, processing methods and refrigerated storage of milk and some dairy products of lipid oxidation. *Pakistan Journal of nutrition*, 7, s. 118-125.
- NIELSEN, B. R., STAPELFELDT, H. AND SKIBSTED, L. H. (1997): Early prediction of the shelf-life of medium-heat whole milk powders using stepwise multiple regression and principal component analysis. *International Dairy Journal*, 7, s. 341 - 348.
- NIRO METOD NUMBER A 21A - Whey Protein Nitrogen Index, GEA NIRO A/S 2007.
- OKAMOTO, M. AND HAYASHI, R. (1985): Chemical and nutritional changes of milk powder proteins under various water activities. *Agric. Biol. Chem.*, 49, s. 1683 - 1687.
- OSTDAL, H., ANDERSEN, H. J. AND NIELSEN, J. H. (2002): Antioxidative activity of urate in bovine milk. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 48, s. 5588 - 5592.
- PATTON, S. AND KURTZ, G. W. (1955): A note on the thiobarbituric acid test for milk oxidation. *Journal of Dairy Science*, 38, s. 901.
- ROVNAKOVA, D., SASINKA, M., DODRACKA, L. (2001): Free radicals and their effect in the organism. *Lékařský obzor*, 50, s.143 - 148.
- SEMMA, M. (2002). Trans fatty acids: properties, benefits and risks. *Journal of Health Science*, 48, s.7 - 13.
- STAPELFELDT, H., NIELSEN, B. R. AND SKIBSTED, L. F. (1997): Effect of heat treatment, water activity and storage temperature on the oxidative stability of whole milk powder. *International Dairy Journal*, 7, s. 331 - 339.

Přijato do tisku 21. 12. 2011
Lektorováno 17. 1. 2012

SEMINÁŘE OP VK PRO STUDENTY I ODBORNÍKY

SAMKOVÁ Eva, SMETANA Pavel

*Katedra veterinárních disciplín a kvality produktů,
Zemědělská fakulta*

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Již třetím rokem probíhá na Zemědělské fakultě Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích projekt OP Vzdělávání pro Konkurenceschopnost "Komplexní vzdělávání lidských zdrojů v mlékařství".

Jedním z důležitých úkolů projektu jsou akce zaměřené na prohlubování poznatků, které propojují témata zajímavá jak pro studenty bakalářských, magisterských a doktorandských studií, tak také pro odbornou veřejnost a další zájemce. Tento cíl naplnily na přelomu let 2011/2012 dva zajímavé semináře, které charakterizovala i vysoká účast zájemců.

V předvánočním čase, 19. prosince 2011, se konal seminář s názvem *Mléko "z pole na vidličku"*. Seminář zahájila Ing. Eva Samková, Ph.D. Přivítala přítomné a seznámila je s charakteristikou a účelem vzdělávacích projektů. Jak