

FUNKČNÍ VLASTNOSTI MLÉČNÝCH BÍLKOVIN VE STERILOVANÝCH NÁPOJÍCH Z TECHNOLOGICKÉHO A VÝŽIVOVÉHO HLEDISKA

Michael Binder¹, Jan Drbohlav¹, Eleonora Wildová²

¹ - Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o.

² - Universita Karlova v Praze, 3. lékařská fakulta
e-mail: binder@milcom-as.cz

Functional characteristics of milk proteins in sterilised milk beverages from the point of view of technology and nutrition

Abstrakt

Byly připraveny z retentátu z ultrafiltrace odtučněného pasterovaného mléka vzorky s různým obsahem syrovátkových bílkovin a záhřevem v olejové lázni sledován vliv jejich koncentrace na termostabilitu. Na základě výsledků byla navržena receptura a technologický postup sterilovaného mléčného nápoje se zvýšeným obsahem syrovátkových bílkovin a se sníženou laktózou. Ve spolupráci s průmyslovým partnerem byl připraven funkční vzorek výrobku a provedena studie vlivu podávání nápoje na nutriční stav pacientů s rizikem malnutrice.

Klíčová slova: retentát, termostabilita, sterilizace, syrovátkové bílkoviny, proteinový nápoj, podvýživa

Abstract

The aim of this study was to test the heat stability of ultrafiltration retentate from pasteurized skim milk with various whey protein contents by mean of heating in the oil bath. Formula and technological process of sterilised milk protein beverages with increased content of whey proteins and lactose-reduced were suggested on the basis of the results. In cooperation with the producer, the samples were prepared. The influence of the samples on the nutritional state of patients was tested.

Key words: retentate, heat stability, sterilization, whey proteins, protein beverage, malnutrition

Úvod

Funkční potravinou se rozumí potravina se zvýšeným fyziologickým účinkem. Při jejich výrobě se používají přísady, u nichž se prokázalo kladné působení na lidský organismus, tj. např. regulují tělesné funkce, zlepšují fyzickou výkonnost, podporují imunitu, zamezují onemocnění aj. (Kvasničková A., 2000). Synonymem jsou výrazy "nutraceutika" nebo "léčebné potraviny".

Funkční potravinou může být přirozená potrava nebo potravina, ke které je přidána určitá složka, nebo z které je naopak složka odstraněna technologickou nebo biotechnologickou cestou. Může to tedy být potravina, kde jsou vlastnosti jedné nebo druhé složky pozměněny nebo jsou tyto možnosti kombinovány (Saarela, 2007).

Vlastní bioaktivní složky syrovátkových bílkovin - bioaktivní peptidy (BP) - vznikají in vivo trávením syrovátkových bílkovin v trávicím traktu nebo in vitro působením přidávaných mikrobiálních a trávicích enzymů. Již požitím malého množství syrovátky získá organismus relativně velkou dávku BP, ve střevěch jsou pak vstřebány do krve, a to i poměrně dlouhé peptidy. Peptidy odvozené ze syrovátky mají mnoho fyziologických funkcí, např. snižují krevní tlak, mírní zánětlivé pochody, hyperglykémii a regulují systém příjmu potravy, často v synergismu s dalšími složkami syrovátky, hlavně vápníku (Luhovyy, 2007)

Významným zdrojem nutričně cenné mléčné bílkoviny jsou retentát z ultrafiltrace mléka nebo tento retentát podrobený diafiltraci, kaseinát a koncentráty syrovátkových bílkovin (WPC). Ultrafiltrát má zachován přirozený poměr kaseinu ku syrovátkovým bílkovinám v poměru 4:1. Bílkoviny syrovátky jsou v organismu rychle vstřebatelné, naopak kasein se vstřebává pomaleji, což je výhodné pro časově rovnoměrné využití bílkovin organismem. Z nutričního hlediska je žádoucí syrovátkové bílkoviny v poměru ke kaseinu zvyšovat.

WPC obsahují až 90 % bílkovin syrovátky v sušině, se zanedbatelným množstvím tuku, laktózy a minerálů. Jsou tak ideální surovinou pro receptury bez cukru a nízkotučné nebo netučné potraviny, výrobky obohacují o rozvětvené aminokyseliny leucin, isoleucin, valin, které jsou nezbytné pro růst svalových buněk a jejich obnovu. Mají i vynikající technologické vlastnosti: jsou vysoce rozpustné v širokém rozpětí pH a zlepšují emulgační, hydratační, zahušťovací, pěnotvorné, želatinizační, antioxidační a adhesní a filmotvorné vlastnosti potravin a nápojů. Mají neutrální chuť a nejsou zdrojem pachutí. Mohou být použity i do čirých nápojů, protože jsou rozpustné, záleží však na koncentraci, pH a ostatních složkách v systému.

WPC, obvykle s 60-80 % bílkoviny, se pro výše uvedené funkční vlastnosti doporučují ke zvýšení obsahu bílkovin v trvanlivých potravinách: dietetických přípravcích, v nemocniční stravě, v redukční dietě, v posilujících koncentrátech, v geriatrických přípravcích, koncentrátech pro sportovce, v nápojích, a to nejen v mlékárenské oblasti. V mléčných výrobcích působí i jako stabilizátor a stabilizační přísada (Lorenzen, 1987).

Pro vývoj funkčního výrobku se nabízejí i další, nemléčné složky - rostlinné steroly, vláknina, omega-3 MK, alkoholové cukry, globuliny z rostlinných zdrojů, oligosacharidy, pektiny, minerály, cholin, probiotické bakterie, vitaminy, prekursor vitamínů (beta-karoten), fytofenoly.

Z technologického hlediska je nutné bílkoviny ve směsi stabilizovat, aby bylo možné výrobek pasterovat, popř. i sterilovat nebo podrobit UHT ošetření a zajistit tak dlouhou trvanlivost.

Fyzikálními (tepelným záhřevem), ale i chemickými účinky dochází k denaturaci proteinů, tj. změně struktury proteinů v méně uspořádanou a zároveň ke ztrátě jejich biologické aktivity.

Změny nastávají asi od 80 °C, přičemž kasein je stabilnější - k jeho vysrážení dochází okolo 125 °C za více než 60 minutového působení, za méně intenzivního tepelného vlivu však dochází k odštěpení peptidových řetězců a zvětšování kaseinových micel (Reimerdes a kol., 1979). Termostabilita bílkovin syrovátky je nižší, rozsah denaturace v UHT mléku je 70-80 %, ve sterilovaném více, ale ani zde nenastává úplná denaturace. Tepelně koagulované mléčné bílkoviny vykazují lepší stravitelnost než přírodní forma, protože natažením řetězce je bílkovina lépe přístupná trávicím enzymům. Zároveň je denaturovaná bílkovina v žaludku jemněji vysrážena než v původní formě (Renner, 1982).

Vazba vody a tuku, v důsledku pak i viskozita roztoků syrovátkových bílkovin je ve srovnání s kaseináty malá, avšak koagulací následkem ohřevu se tyto vlastnosti zlepšují, což je způsobeno změnami globulární struktury. Některé práce (DMV bulletin) ukázaly, že emulgační kapacita syrovátkových bílkovin je pak lepší než u kaseinátů.

Cílem práce bylo zjistit tepelnou stabilitu retentátu z ultrafiltrace s přidanými mléčnými proteiny ve formě kaseináty, WPC nebo kombinací obou v poměru 1:1. K tomu účelu byl zvolen retentát z ultrafiltrace a následné diafiltrace odstředěného mléka se sníženým obsahem laktózy. Na základě výsledků stanovení tepelné stability zvolit vhodný poměr celkových bílkovin ku syrovátkovým, navrhnout složení výrobku včetně technologie, vyrobit funkční vzorek a předat 3. LFUK k testování na vybraném vzorku seniorů.

Materiál a metody

Stanovení tepelné stability proteinové báze

Stanovení tepelné stability základní proteinové báze v závislosti na zvyšující se koncentraci celkových a syrovátkových bílkovin se provádělo v olejové lázni při teplotě 120 °C a 140 °C a měřením času tepelné koagulace (ČTK). Stabilizační soli nebyly přidány.

Tab. 1 Složení použitých zdrojů bílkovin

Složka	tuk (%)	bílkoviny (%)	laktóza (%)
WPC 80	7,2	81	3,5
kaseinát sodný	1,9	91	0,5
retentát DF	0,06	6,2	<1

Materiál: retentát z ultrafiltrace odtučněného mléka se sníženým obsahem laktózy (retentát DF) z Bohušovické mlékárny a.s., obsah laktózy snížen diafiltrací, tj. udržováním konstantního objemu retentátu na vstupu doplňováním pitnou vodou stejnou rychlostí jakou odtéká permeát, zamražený; koncentrát syrovátkových bílkovin WPC 80; kaseinát sodný (KS).

Použité zařízení: Stolní autokláv PS 20A, výrobce Chirana; olejová lázeň, vyrobeno na zakázku v dílnách Chotyně, váhy KERN 440-35N, výrobce KERN & Sohn GmbH, SRN; homogénizátor ULTRA-TURRAX T18 basic s nástavcem S18N-10G, výrobce IKA, SRN; pHmetr HACH, výrobce HACH COMPANY, USA, s elektrodou Hamilton, míchací a ohřívací zařízení Thermomix, výrobce VORWERK, SRN^o; digitální stopky TM 44.

Metodika: Do šetrně rozmraženého retentátu DF se přidával WPC 80 a/nebo kaseinát sodný tak, aby celkový obsah bílkovin v koncentrační řadě se zvýšil o stejnou hodnotu a měřila se tepelná stabilita připravených vzorků. Mírou stability byl čas tepelné koagulace (ČTK) v olejové lázni při 120 °C a 140 °C. Výsledky jsou v grafech č.1 až 4 výsledkové části.

Poloprovozní pokusy ultrafiltrace se snížením laktózy a zvýšením obsahu bílkovin

Použité zařízení: UF zařízení v závodě Bohušovická mlékárna a.s., TIA, Francie, membránová kolona PALL, 9,6 m²; pro analýzy použit MilkoScan FT2, pH metr Hanna.

Byla ověřována optimalizace délky UF procesu v celkem 4 výrobcích a sestaveny grafy časových závislostí sledovaných parametrů pro retentát i permeát - laktóza, sušina a obsah bílkovin analyzovaných pomocí přístroje, dále pH, teplota a mikrobiologická jakost koncentráty. Vsádkou bylo vždy 2000 l odstředěného mléka, po dosažení koncentračního faktoru 2,0 byla zahájena diafiltrace s přidavkem vody a dalším odseparováním stejného množství permeátu. Časovou závislost obsahu laktózy a bílkovin v retentátu zobrazují grafy č. 5 a 6 výsledkové části.

Návrh sterilovaného mléčného výrobku s laktózou méně než 1 % a obsahem 30 % syrovátkových bílkovin z celkového obsahu bílkovin a technologie jeho výroby

- základem retentát z UF odstředěného mléka, se sníženou laktózou a obsahem bílkovin 5,8 - 6 %
- zvýšení obsahu syrovátkových bílkovin přidavkem koncentráty syrovátkových bílkovin WPC 80 na technologicky únosnou koncentrační mez (nebezpečí vysrážení)
- obohacení řepkovým a slunečnicovým olejem a smetanou
- přidavek minerálních látek, popř. stopových prvků podle doporučení lékařů
- přidavek vitaminů podle doporučení lékařů
- ideální rozdělení energie B: T: S = 20:35:45
- stabilizace: pomocí dihydrogenfosforečnanu sodného a/nebo fosforečnanu a citronanu v poměru 1:1 pro snížení obsahu fosforu ve výrobku
- míchání retentátu DF s práškovitými i tekutými ingrediencemi, přidavek solí, vitaminů a aromat, homogénizace při 70 °C, plnění do lahví, šaržová sterilace 118-120 °C/18-20 min, skladování, minimální trvanlivost 8 měsíců při uskladnění do 24 °C.

Příprava funkčního vzorku, mikrobiologické a skladovací zkoušky, chemické analýzy

Použité zařízení: Ultrafiltrační zařízení v závodě Bohušovická mlékárna a.s., tanky pro míchání, homogemizátor, plnička a uzavíračka lahví, šaržový sterilátor, etiketovačka.

Byla vyrobena 300 l šarže závodu Bohušovická mlékárna a.s. z retentátu připraveného podle požadavků (< 1 % laktózy) na ultrafiltračním zařízení a po sterilaci byly zjištěny základní chemické parametry výrobku - sušina, tuk, bílkoviny a dopočtem sacharidy, výpočtem pak obsah energie, vše na 100 ml. Externě se stanovily obsahy vitamínů a minerálních složek. Byla provedena termostatická zkouška při 30 °C po dobu 14 dnů za účelem simulace dlouhodobého skladování a následného stanovení obchodní sterility výrobku a zhodnocení organoleptických vlastností po skončení testu.

Výrobek - viz obr. 1 - byl skladován v temných a suchých prostorách do max. 24 °C a po 6 měsících smyslově hodnocen. Po 8 měsících bude hodnocení opakováno pro stanovení trvanlivosti a na základě výsledků vypracována technologická norma.

Obr. 1 Funkční vzorek výrobku s pracovním názvem NutriFood a jeho složení v g/100 ml, objem 200 ml

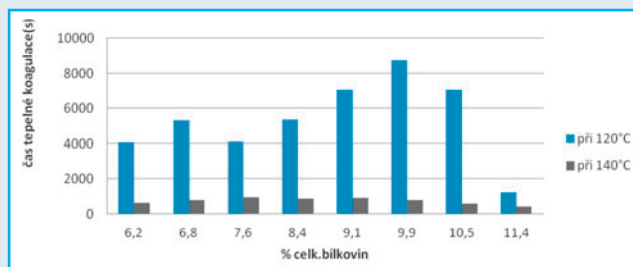


Sušina:	24,5
Bílkoviny celkové:	6,0
z toho syrovátkové:	1,8
Sacharidy:	13,0
Sacharóza:	0,5
Tuky:	5,0
Laktóza:	0,7
Rozpuštěná vláknina:	0,75
Energie:	115 kcal
Energie podle živin:	
Bílkoviny : sacharidy : tuky	21 : 42 : 36

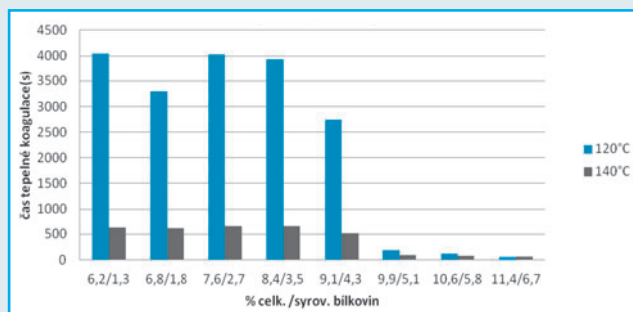
Ověřování funkčních vlastností výrobku

- organizovala 3. LFUK v květnu 2014 v zařízení pro seniory
- účastníci: osoby s rizikem malnutrice (dotazník, vyšetření)
- po dobu 6 týdnů, 2 nápoje vanilka o objemu 200 ml denně mezi jídlem (12 lidí), kontrolní skupina (12 lidí) nápoje neměla
- odběry krve před testem, uprostřed a na konci testu, stanovení biochemických a nutričních markerů (prealbumin a albumin)
- hodnocení testu (Wildová, 2014): velmi dobře přijímáno, žádné nežádoucí účinky, hodnoty prealbuminu a albuminu během testu neklesly, u téměř 2/3 testované skupiny posun z malnutrice do dobrého nutričního stavu (podrobné hodnocení bude uveřejněno v odborném lékařském tisku).

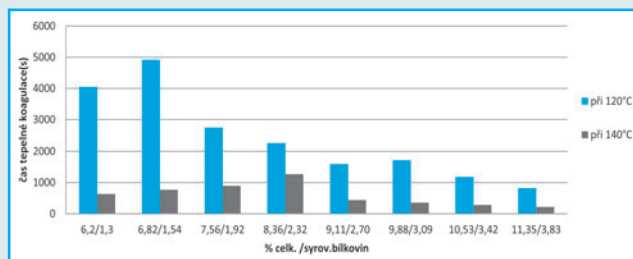
Výsledky a diskuse



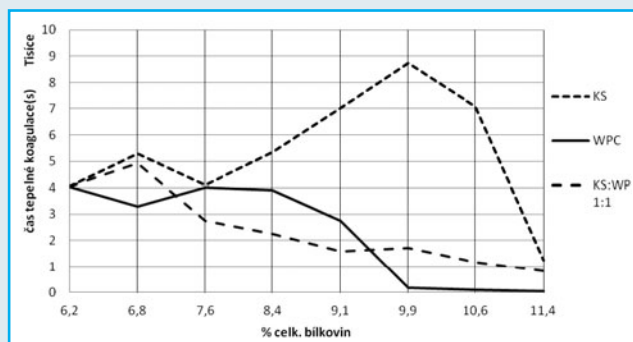
Graf č. 1 ČTK retentátu DF s přidavkem kaseinátu sodného v závislosti na koncentraci celkových bílkovin



Graf č. 2 ČTK retentátu DF s přidavkem WPC v závislosti na koncentraci celkových a syrovátkových bílkovin

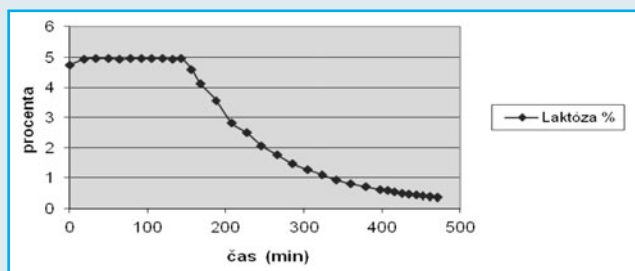


Graf č. 3 ČTK vzorků retentátu DF s přidavkem kaseinátu a WPC (1:1) v závislosti na koncentraci celkových a syrovátkových bílkovin

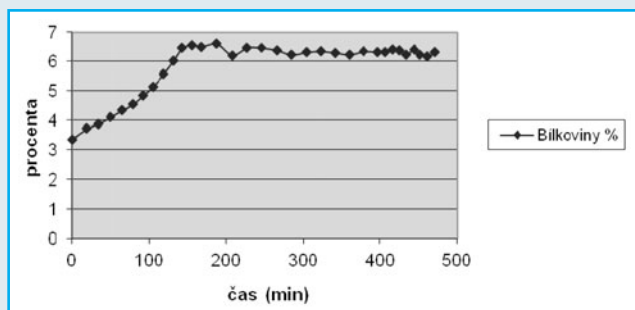


Graf č. 4 Porovnání ČTK retentátu DF s přidavkem 3 zdrojů bílkovin v závislosti na koncentraci celkových bílkovin při 120 °C

Teplota 120 °C při měření termostability (TS) byla zvolena proto, aby simulovala co nejlépe podmínky při sterilizaci v provozu. Pro srovnání bylo měřeno i při teplotě 140 °C. Mražený retentát byl použit po porovnání termostability s čerstvým, přičemž nebyly zjištěny významné rozdíly v ČTK.



Graf č. 5 Obsah laktózy v retentátu v průběhu ultrafiltrace a diafiltrace



Graf č. 6 Obsah bílkovin v retentátu v průběhu ultrafiltrace a diafiltrace

Z grafu 1 vyplývá, že retentát s kaseinátem i bez úpravy pH a bez přidavku stabilizačních látek je při 120 °C velmi stabilní a vzhledem k samotnému retentátu jako kontrolnímu vzorku (viz vzorek s 6,2 %) přispěl kaseinát ke zvýšení termostability a to až do celkového obsahu bílkovin asi 10 %. Další přidavek vedl k poklesu TS.

U přidavku WPC do retentátu DF (graf č.2) byla TS vzhledem ke kontrole zachována až do hodnoty asi 3 % syrovátkových bílkovin, s dalším přidavkem WPC byl zaznamenán prudký pokles TS. U 140 °C byla TS mnohem nižší a s menšími rozdíly mezi jednotlivými koncentracemi.

Vzorek upravený kaseinátem a WPC (1:1) - viz graf 3 - byl při koncentraci celkové bílkoviny (TP) ku syrovátkovým 7,6/1,9 nejstabilnější, další zvýšení TP vedlo ke snížení TS. Vzorek s obsahem syrovátkových bílkovin o 0,4 % vyšším měl však už téměř o polovinu kratší čas koagulace. Další pokles ČTK už nebyl se zvýšením obsahu bílkovin tak výrazný.

Z grafu č.4 je zřejmé, že obohacení retentátu DF kaseinátem vedlo ke zvýšení TS až do obsahu 10 % celkových bílkovin, vzorky s obsahem vyšším byly charakterizovány prudkým snížením TS. U řady s WPC byla termostabilita až do 8,4 % TP stabilní, přestože podíl syrovátkových bílkovin činil až 40 %. Další zvýšení TP a tím současně WP už vedlo k výraznému snížení TS. V případě přidavku kaseinátu a WPC v poměru 1:1 klesala TS s růstem obsahu celkových bílkovin od vzorku s 6,8 % a byla nižší než u vzorků s přidavkem samotného WPC.

Všechny vzorky měly pH vyšší než 6,70 a nemusely být proto upravovány alkalickými prostředky. Vzhledem k tomu, že vzorky byly připraveny tak, aby s různými ingrediencemi bylo dosaženo stejné hodnoty TP, nebylo

možné sestavit společný graf pro WP.

Výsledek testování funkčního vzorku podáváním seniorům v malnutrici byl vcelku příznivý a výrobek pacientům velmi chutnal. Podrobné zhodnocení bude obsahem článků v odborném lékařském tisku.

Skladovací zkoušky ukázaly velmi dobrou trvanlivost výrobku, která umožňuje navrženou minimální trvanlivost 8 měsíců. Výrobek měl nižší viskozitu, což vedlo k usazování tuku v hrdle lahve a k tvorbě usazenin na dně, proto bude vhodné zvýšit viskozitu výrobku. V případě použití sleeveu, který nebyl zatím použit, není tento nedostatek patrný a při doporučeném protřepání obsahu před konzumací zmizí.

Závěr

S využitím retentátu DF jako koncentrovaného zdroje bílkovin dostupného u průmyslového partnera byly připraveny vzorky obohacené kaseinátem, WPC nebo jejich kombinací 1:1 a měřeny jejich termostability vyjádřené časem potřebným ke koagulaci vzorku v olejové lázni 120 °C a 140 °C. Výsledky poskytly podklady pro návrh trvanlivého nápoje s vysokým obsahem mléčných bílkovin a s 30% zastoupením syrovátkových bílkovin z celkového obsahu bílkovin. Jsou diskutovány obtíže při sestavení receptur proteinových nápojů z hlediska termostability a případné zlepšení konzistence.

Po ověření sterilace v laboratorních podmínkách byla navržena receptura a technologie, podle níž byl vyroben v provozu funkční vzorek. Jsou uvedeny parametry a obrázek funkčního vzorku předaného spolupracujícím lékařským specialistům k testování na vybrané skupině seniorů v malnutrici. Výsledkem bylo zlepšení jejich nutričního stavu vyhodnocené jako statisticky významné.

Poděkování:

Tato práce vznikla s finanční podporou NAZV projekt QI101B090 v programu VAK a s institucionální podporou na rozvoj výzkumné organizace na základě rozhodnutí RO1414.

Literatura:

- DMV International, (1993): bulletin Outline of Milk Protein Concentrate MPC 80
 KVASNÍČKOVÁ A. (2000): Sacharidy pro funkční potraviny. *Probiotika-Prebiotika-Symbiotika*, s.2, 5, 39-40.
 LORENZEN P. (1987): *Marketing & Technology*, s. 10-13.
 LUHOVYY B., AKHAVON T., ANDERSEN H. (2007): Whey Proteins in the Regulation of Food Intake and Satiety. *Journal of the Am.College of Nutrition*, 26, (6), s. 704-712
 REIMERDES E.H., DIEKMAN F.W. (1979): *Molkereitechnik*, 43, s. 5-14,
 RENNER E. (1982): Milch und Milchprodukte in der Ernährung des Menschen, s.168
 SAARELA M. (2007): *Functional Dairy Product*, 2, 265, s.443-453
 WILDOVÁ E. (2014): klinická studie, dosud nepublikované.

Přijato do tisku: 4. 11. 2014

Lektorováno: 27.11. 2014