

ANETA BRODZIAK*, JOLANTA KRÓL, ZYGMUNT LITWIŃCZUK, BOŻENA NOWAKOWICZ-DĘBEK, TOMASZ CZERNECKI

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Effect of cold chain retention on the nutritional value of drinking milk, including content of bioactive components

Wpływ zachowania łańcucha chłodniczego na wartość odżywczą mleka spożywczego, w tym zawartość składników bioaktywnych

DOI: 10.15199/62.2017.6.33

Effect of cooling conditions and time of storage of pasteurized microfiltered and ultra-high drinking milk on its basic compn. and contents of non-denatured whey proteins and fatty acids was studied. In the pasteurized and microfiltered drinking milk, the concn. of bioactive whey proteins was decreased while the content of essential nutrients remained unchanged during 7 days long storage. The maintaining a refrigeration temp. during drinking milk distribution and storage was found necessary to preserve the product quality.

Określono wpływ warunków i czasu przechowywania mleka spożywczego na jego wartość odżywczą, ze szczególnym uwzględnieniem zawartości składników bioaktywnych. Wykazano że w wyniku przerwania ciągłości łańcucha chłodniczego w mleku spożywczym, a zwłaszcza w mleku poddanym pasteryzacji i mikrofiltracji, dochodziło do zmian jakościowych wyróżników mleka, a w szczególności zmniejszenia stężenia niezdenaturowanych białek serwatkowych.

Mleko spożywcze jest jednym z najpopularniejszych artykułów spożywczych. Na rynku występuje najczęściej w postaci mleka pasteryzowanego (poddawanego obróbce w temp. poniżej 100°C) oraz mleka UHT (*ultra high temperature*) poddanego obróbce w temp. 132–134°C. Stosunkowo nowym produktem dostępnym w Polsce jest mleko spożywcze produkowane przy zastosowaniu technologii ESL

(*extended shelf life*), polegającej na połączeniu procesu mikrofiltracji i pasteryzacji w temp. nie wyższej niż 75°C. Stosowanie obróbki cieplnej ma na celu zapewnienie bezpieczeństwa zdrowotnego produktu i zwiększenie jego trwałości. Istotnym elementem jest przy tym również zapewnienie łańcucha chłodniczego podczas obrotu. Pasteryzacja wydłuża termin przydatności mleka spożywczego o kilka dni, a technika ESL o ok. 21 dni, przy czym w przypadku zastosowania tych technologii wymagane jest przechowywanie produktu w warunkach chłodniczych. Największą trwałość wykazuje mleko UHT, które przed otwarciem można przechowywać nawet kilka miesięcy i jako jedyne nie wymaga zachowania łańcucha chłodniczego podczas obrotu¹⁻⁵).

Celem pracy było określenie wpływu warunków (z zachowaniem i bez łańcucha chłodniczego) i czasu przechowywania mleka spożywczego (pasteryzowanego, mikrofiltrowanego i UHT) na jego wartość odżywczą, ze szczególnym uwzględnieniem zawartości składników bioaktywnych, czyli niezdenaturowanych białek serwatkowych i kwasów tłuszczowych.

Część doświadczalna

Materiał badawczy

Przedmiotem badań było mleko spożywcze utralone różnymi metodami obróbki cieplnej, znajdujące się w obrocie towarowym. Ogółem badaniami objęto 42 próbki mleka spożywczego o deklarowanej zawartości tłuszczu 2%, w tym 14 próbek mleka pasteryzowanego, 14 próbek mleka mikrofiltrowanego (ESL) i 14 próbek mleka UHT.



Dr Aneta BRODZIAK w roku 2006 ukończyła studia na Wydziale Chemii Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie. Jest adiunktem w Pracowni Ekologicznej Produkcji Żywności Pochodzenia Zwierzęcego Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie. Specjalność – chemia i technologia mleka.

* Autor do korespondencji:

Wydział Biologii, Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin, tel.: (81) 445-67-04, fax: (81) 445-66-11, e-mail: aneta.brodziak@up.lublin.pl



Dr hab. inż. Jolanta KRÓL w roku 1995 ukończyła studia na Akademii Rolniczej w Lublinie (obecnie Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie). Jest adiunktem w Katedrze Towaroznawstwa i Przetwórstwa Surowców Zwierzęcych tej uczelni. Specjalność – chemia i technologia mleka.

Metodyka badań

Analizom poddano mleko w dniu rozpoczęcia badań (dzień „0”), a następnie po 2, 4 i 7 dniach przechowywania w różnych warunkach: z zachowaniem łańcucha chłodniczego (w lodówce w temp. 4–6°C) i bez (temperatura pokojowa 20–22°C). Mleko było otwierane bezpośrednio przed analizami. Badania przeprowadzano w terminie przydatności do spożycia.

Metody analityczne

Stosując metodę spektroskopii w podczerwieni, w każdej próbie mleka spożywczego oznaczano zawartość tłuszczu, białka, laktozy i suchej masy za pomocą aparatu Infrared Milk Analyzer (Bentley Instruments, USA). W celu określenia zmian w jakości mikrobiologicznej oznaczanie liczby bakterii (OLB) wykonano zgodnie z normą⁹. Zawartość niezdenaturowanych wybranych białek serwatkowych, takich jak α -laktoalbumina (α -LA), β -laktoglobulina (β -LG), krowiej albuminy serum (BSA), laktoferyny i lizozymu analizowano metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej w odwróconym układzie faz (RP-HPLC)^{7,8}. Rozdziału białek dokonywano przy użyciu chromatografu cieczowego ProStar 210 wyposażonego w detektor UV-Vis ProStar 325 (Varian, USA), z wykorzystaniem fazy ruchomej woda-acetonitryl w gradiencie i kolumny Nucleosil 300-5 C18 (Varian, USA). Przeprowadzono również analizy substancji wzorcowych (Sigma, Niemcy). Identyfikacji jakościowej poszczególnych substancji dokonywano z zastosowaniem programu Star 6.2 Chromatography Workstation (Varian, USA). Analizę ilościową wykonywano metodą wzorca zewnętrznego. W celu oznaczenia zawartości wybranych 37 kwasów tłuszczowych przygotowano estry metylowe kwasów tłuszczowych, a następnie rozdzielono i oznaczono metodą chromatografii gazowej ze spektrometrią mas GC-MS (Shimadzu). Rozdział chromatograficzny prowadzono w kolumnie kapilarnej FactorFour typ VF-5ms (firmy Varian), długości 30 m, średnicy wewnętrznej 0,25 mm, grubości filmu 0,25 μ m. Dozownik ogrzany do temp. 250°C pracował w trybie z podziałem próby (*split*) w stosunku 1:20. Spektrometr mas pracował w trybie SCAN (40–550 *m/z*) ze źródłem jonów ogrzanym do 250°C. Widma masowe wszystkich oznaczanych związków były porównane z wzorcowymi widmami masowymi (baza widm NIST 5.0), co umożliwiło wyznaczenie procentowego współczynnika podobieństwa widm. Objętość dozowanej próbki wynosiła 0,001 cm³. Analizę jakościową wykonano na podstawie wyznaczonych czasów retencji i zarejestrowanych widm masowych dla wzorców oznaczanych związków (widma własne z poprawką na bazę NIST 5.0). Analizę ilościową wykonano z wykorzystaniem wzorca standardu wewnętrznego (1-bromotetradekan). Wszystkie oznaczenia wykonano w trzech powtórzeniach.

Analiza statystyczna

Wyniki opracowano statystycznie za pomocą programu StatSoft Inc. Statistica ver. 9, wykorzystując jedno- i wieloczynnikową analizę wariancji, wyróżniając jako źródło zmienności rodzaj mleka spożywczego, warunki i czas przechowywania. Istotność różnic pomiędzy średnimi wartościami dla poszczególnych czynników wyznaczono testem NIR-Fishera, przy poziomie istotności $p \leq 0,05$.

Omówienie wyników

Ani temperatura, ani czas przechowywania mleka spożywczego nie wpływały na zawartość podstawowych składników (tłuszcz, białko, laktoza, sucha masa) niezależnie od zastosowanej technologii produkcji. W żadnym przypadku OLB nie przekroczyła maksymalnego dopuszczalnego limitu (10^5), przy czym największy wzrost liczby drobnoustrojów zanotowano w mleku przechowywanym w temperaturze pokojowej, zwłaszcza w mleku pasteryzowanym i mikrofiltrowanym.

Pod względem zawartości białek serwatkowych, pożądaných dzięki swoim właściwościom prozdrowotnym, najlepsze okazało się mleko mikrofiltrowane, a najmniej tych białek zawierało mleko UHT, co znalazło potwierdzenie w uzyskanych wartościach *p*, wskazujących na wysoko istotny wpływ obróbki cieplnej na stężenie poszczególnych białek serwatkowych (tabela 1). Mleko surowe zawiera średnio ok. 6 g/L białek serwatkowych, w tym 3 g/L β -LG, 1 g/L α -LA, 0,4 g/L BSA, 100 mg/L laktoferyny i 10 μ g/L lizozymu⁹. W przeprowadzonych badaniach (tabela 1) mleko UHT zawierało ok. 30-krotnie mniej laktoferyny (2,66 mg/L), 5-krotnie mniej β -LG (0,63 g/L) i lizozymu (1,57 μ g/L) oraz 3-krotnie mniej α -LA (0,38 g/L) w porównaniu z mlekiem surowym. Najmniejsze różnice uzyskano w stężeniu BSA, co świadczyło o większej odporności tego białka na wysoką temperaturę. Najbardziej zbliżonym składem ilościowym poszczególnych białek serwatkowych do składu surowca okazało się mleko poddane mikrofiltracji. Mleko to, w porównaniu z mlekiem pasteryzowanym i sterylizowanym, wyróżniało się istotnie wyższą zawartością β -LG (4-krotnie) i laktoferyny (ponad 10-krotnie w stosunku do mleka UHT). W badaniach własnych zanotowano, że wraz z upływem czasu przechowywania zmniejszał się udział wszystkich niezdenaturowanych białek serwatkowych, przy czym, niezależnie od rodzaju obróbki mleka, zmiany te okazały się istotne podczas przechowywania w temperaturze pokojowej (tabela 1). Najmniej stabilne okazało się mleko mikrofiltrowane, w którym w czasie siedmiodniowego przechowywania w tej temperaturze zawartość β -LG zmniejszyła się o 0,40 g/L, α -LA o 0,10 g/L, BSA o 0,10 g/L, laktoferyny o 10,78 mg/L i lizozymu o 0,93 μ g/L.

Uwzględniając zawartość krótko-, średnio- i długołańcuchowych kwasów tłuszczowych wykazano, że mleko poddane pasteryzacji zawierało ich najwięcej (tabela 2). Znalazło to potwierdzenie w uzyskanych wartościach *p* wskazujących na wysoko istotny wpływ obróbki cieplnej na stężenie kwasu masłowego ($p = 0,000$), mirystynowego ($p = 0,010$) i elaidynowego ($p = 0,041$). Stwierdzono również, że w wyniku przerwania ciągłości łańcucha chłodniczego mleko spożywcze, a w szczególności poddane procesowi pasteryzacji i mikrofiltracji, ulegało niekorzystnym zmianom. Statystycznie istotne ($p \leq 0,05$) zmiany uzyskano w przypadku kwasu pentadekanowego i elaidynowego w mleku pasteryzowanym oraz masłowego i palmitynowego w mikrofiltrowanym. Określając wpływ temperatury i czasu przechowywania mleka spożywczego na zawartość kwasów tłuszczowych, nie uzyskano statystycznie istotnych różnic. Zauważono jednak, że w każdym rodzaju analizowanego mleka zawartość tych związków nieznacznie wzrosła w czasie siedmiodniowego przechowywania w temperaturze pokojowej (tabela 2). Świadczy to prawdopodobnie o zachodzącym procesie jęlczenia tłuszczu, zwłaszcza w warunkach podwyższonej temperatury, czyli w czasie nieprzeprzestregania łańcucha chłodniczego.



Prof. dr hab. Zygmunt LITWIŃCZUK w roku 1972 ukończył studia na Akademii Rolniczej w Lublinie (obecnie Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie). Jest kierownikiem Katedry Hodowli i Ochrony Zasobów Genetycznych Bydła tej uczelni. Specjalność – hodowla zwierząt, ocena surowców zwierzęcych.



Prof. dr hab. Bożena NOWAKOWICZ-DĘBEK w roku 1995 ukończyła studia na Akademii Rolniczej w Lublinie (obecnie Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie). Jest profesorem w Katedrze Higieny Zwierząt i Środowiska tej uczelni. Specjalność – zoohigiena, ochrona środowiska.

Table 1. Content of selected non-denatured whey proteins in analyzed drinking milk with regard to conditions and time of storage ($\bar{x} \pm SD$)

Tabela 1. Zawartość wybranych niezdenaturowanych białek serwatkowych w analizowanym mleku spożywczym w zależności od warunków i czasu przechowywania ($\bar{x} \pm SD$)

Warunki przechowywania	Czas przechowywania, dzień	β -Laktoglobulina, g/L	α -Laktoalbumina, g/L	BSA, g/L	Laktoferyna, mg/L	Lizozym, μ g/L
Mleko UHT						
Punkt startowy przechowywania	0	0,63 ^b ± 0,03	0,38 ^b ± 0,01	0,27 ^b ± 0,01	2,66 ^c ± 0,04	1,57 ± 0,16
Warunki chłodnicze (lodówka)	7	0,53 ± 0,02	0,31 ± 0,01	0,24 ± 0,01	2,19 ± 0,09	1,20 ± 0,25
Temperatura pokojowa	7	0,44 ^a ± 0,02	0,26 ^a ± 0,01	0,20 ^a ± 0,02	1,78 ^a ± 0,13	1,17 ± 0,15
Mleko pasteryzowane						
Punkt startowy przechowywania	0	0,56 ^b ± 0,03	0,64 ± 0,02	0,25 ^b ± 0,01	21,88 ^{by} ± 1,04	2,69 ± 0,05
Warunki chłodnicze (lodówka)	7	0,44 ± 0,12	0,62 ± 0,02	0,22 ± 0,03	16,72 ^x ± 2,65	2,35 ± 0,53
Temperatura pokojowa	7	0,35 ^a ± 0,08	0,54 ± 0,04	0,20 ^a ± 0,02	16,37 ^a ± 3,04	2,13 ± 0,27
Mleko mikrofiltrowane						
Punkt startowy przechowywania	0	2,12 ^{by} ± 0,02	0,89 ^b ± 0,05	0,40 ^b ± 0,01	35,16 ^B ± 1,09	2,89 ^b ± 0,08
Warunki chłodnicze (lodówka)	7	1,95 ^x ± 0,15	0,84 ± 0,05	0,36 ± 0,05	29,30 ± 2,98	2,67 ^x ± 0,03
Temperatura pokojowa	7	1,72 ^x ± 0,09	0,79 ^a ± 0,07	0,30 ^a ± 0,02	24,38 ^A ± 3,14	1,96 ^a ± 0,11
Wpływ czynnika (wartość p)	rodzaj obróbki	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	dzień przechowywania	0,001	0,747	0,042	0,039	0,894
	temperatura przechowywania	0,804	0,642	0,449	0,784	0,413

A, B, X, Y (A, B – dla temperatury pokojowej; X, Y – dla warunków chłodniczych) – różnice między dniami przechowywania (w odniesieniu do punktu startowego, tj. dzień 0) w obrębie temperatury przechowywania istotne przy $p \leq 0,01$; a, b – różnice istotne przy $p \leq 0,05$

** – różnice między temperaturą przechowywania w obrębie tego samego dnia przechowywania istotne przy $p \leq 0,01$; * – różnice istotne przy $p \leq 0,05$

Table 2. Content of selected short- and medium-chain fatty acids in analysed drinking milk with regard to conditions and time of storage, in g per 100 g of fat ($\bar{x} \pm SD$)

Tabela 2. Zawartość wybranych kwasów tłuszczowych w analizowanym mleku spożywczym w zależności od warunków i czasu przechowywania, g/100 g tłuszczu ($\bar{x} \pm SD$)

Warunki przechowywania	Czas przechowywania, dzień	Kwas masłowy (C4:0)	Kwas mirystynowy (C14:0)	Kwas pentadekanowy (C15:0)	Kwas palmitynowy (C16:0)	Kwas oleinowy (C18:1n7c)	Kwas elaidynowy (C18:1n9t)
Mleko UHT							
Punkt startowy przechowywania	0	3,68 ± 0,26	13,61 ± 0,96	2,52 ± 0,18	38,70 ± 2,72	21,55 ± 1,52	15,89 ± 1,12
Warunki chłodnicze (lodówka)	7	3,73 ± 0,20	14,00 ± 0,88	2,59 ± 0,15	39,02 ± 2,42	21,90 ± 1,01	16,04 ± 2,34
Temperatura pokojowa	7	3,82 ± 0,23	14,64 ± 1,20	2,73 ± 0,18	39,60 ± 2,51	22,66 ± 1,24	16,76 ± 2,11
Mleko pasteryzowane							
Punkt startowy przechowywania	0	3,75 ± 0,22	14,28 ± 0,86	2,60 ^a ± 0,16	40,54 ± 2,43	21,94 ± 1,31	16,90 ^a ± 1,01
Warunki chłodnicze (lodówka)	7	3,89 ± 0,17	14,32 ± 0,75	2,74 ^a ± 0,20	40,88 ± 2,09	22,73 ± 1,38	17,10 ^a ± 0,96
Temperatura pokojowa	7	3,88 ± 0,24	14,93 ± 0,94	2,92 ^b ± 0,18	41,53 ± 2,62	24,34 ± 1,54	18,22 ^b ± 1,15
Mleko mikrofiltrowane							
Punkt startowy przechowywania	0	3,47 ^a ± 0,05	12,70 ± 0,51	2,56 ± 0,07	34,42 ^a ± 1,00	7,22 ± 0,25	14,37 ± 1,45
Warunki chłodnicze (lodówka)	7	3,56 ^a ± 0,11	13,19 ± 0,70	2,65 ± 0,10	36,73 ^a ± 1,56	7,59 ± 0,31	14,78 ± 1,13
Temperatura pokojowa	7	3,81 ^b ± 0,18	14,25 ± 0,68	2,70 ± 0,13	39,33 ^b ± 1,88	8,11 ± 0,39	15,54 ± 0,74
Wpływ czynnika (wartość p)	rodzaj obróbki	0,000	0,010	0,215	0,051	0,102	0,041
	dzień przechowywania	0,059	0,153	0,107	0,411	0,425	0,371
	temperatura przechowywania	0,067	0,225	0,328	0,187	0,624	0,460

a, b – różnice między dniami przechowywania (w odniesieniu do punktu startowego, tj. dzień 0) w obrębie temperatury przechowywania (a, b – dla temperatury pokojowej) istotne przy $p \leq 0,05$

Podsumowanie

W wyniku przerwania ciągłości łańcucha chłodniczego mleko spożywcze, a w szczególności poddane procesowi pasteryzacji i mikrofiltracji, ulegało zmianom jakościowym wyróżników mleka. Zwłaszcza dochodziło do zmniejszenia stężenia związków biologicznie czynnych – niezdenaturowanych białek serwatkowych, przy zachowaniu zawartości podstawo-



Dr inż. Tomasz CZERNECKI w roku 2000 ukończył studia na Akademii Rolniczej w Lublinie (obecnie Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie). Jest asystentem w Katedrze Biotechnologii, Żywności Człowieka i Towaroznawstwa Żywności tej uczelni. Specjalność – żywienie człowieka, dietetyka.

wych składników odżywczych, w tym białka ogólnego. Przeprowadzone badania wskazują na konieczność zachowania temperatur chłodniczych w czasie dystrybucji i przechowywania mleka spożywczego.

Otrzymano: 08-02-2017

LITERATURA

- [1] W. Bisig, P. Eberhard, M. Collomb, B. Rehberger, *Lait* 2007, **87**, 1.
- [2] L.I. Boitz, G. Fiechter, R.K. Seifried, H.K. Mayer, *J Chromatogr. A* 2015, **1386**, 98.
- [3] W.L. Claeys, C. Verraes, S. Cardoen, J. De Block, A. Huyghebaert, K. Raes, K. Dewettinck, L. Herman, *Food Control* 2014, **42**, 188.
- [4] W. Hoffmann, C. Kiesner, I. Clawin-Rädecker, D. Martin, K. Einhoff, P.C. Lorenzen, H. Meisel, P. Hammer, P. Suhren Gand Teufel, *Int. J. Dairy Technol.* 2006, **59**, 229.
- [5] Z. Śmietana, E. Krajewska-Kamińska, K. Bohdziewicz, K. Nalepa, *Żywn. Nauk. Technol. Jakość* 2007, **51**, 29.
- [6] PN-EN ISO 4833-2:2013-12/AC:2014-04E, *Mikrobiologia łańcucha żywnościowego. Horizontalna metoda oznaczania liczby drobnoustrojów. Cz. 2. Oznaczanie liczby metodą posiewu powierzchniowego w temperaturze 30°C*.
- [7] A. Brodziak, J. Barłowska, J. Król, Z. Litwińczuk, *Ann. Anim. Sci.* 2012, **12**, 261.
- [8] C. Romero, O. Perez-Andujar, S. Jimenes, *Chromatographia* 1996, **42**, 181.
- [9] J. Król, A. Brodziak, Z. Litwińczuk, A. Litwińczuk, *Pol. J. Vet. Sci.* 2013, **16**, 395.