



Vybrané aspekty lipolýzy a proteolýzy v syrovém kravském mléce s ohledem na jeho kvalitu ve vztahu k výskytu mastitid a ketózy

Oto Hanuš, Zdeňka Hegedúšová, Radoslava Jedelská, Jaroslav Kopecký
Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o., Praha
3.11.2016 Hustopeče (ČMSCH a.s.)

V rámci projektů: OPVK MŠMT–CZ.1.07/2.3.00/09.0081; NAZV
KUS QJ1510339. Aktivita OŽV ČAZV.



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

PROJEKT JE SPOLUFINANCOVÁN EVROPSKÝM
SOCIÁLNÍM FONDEM A STÁTNÍM ROZPOČTEM
ČESKÉ REPUBLIKY

Vzdělávací projekt MŠMT - CZ.1.07/2.3.00/09.0081

„Komplexní vzdělávání lidských zdrojů v mlékařství“

Partneři projektu:

- ❖ **Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Agronomická fakulta,**
koordinátor, nositel (řešitel) projektu
- ❖ **Výzkumný ústav mlékárenský, Praha,**
partner projektu
- ❖ **Výzkumný ústav pro chov skotu, Rapotín,**
partner projektu
- ❖ **Jihočeská univerzita, Zemědělská fakulta, České Budějovice,**
partner projektu

Obsah sdělení

(ve zpracování potravin v mlékařství roste podíl
přidané hodnoty a tím význam hygienické kvality a souvisejících

technologických vlastností syrového mléka):

– Vybrané aspekty proteolýzy mléka

- Úvod rozkladu bílkovin v mléce;
- Schéma důvodů a podstaty koagulace mléčných bílkovin;
- Experiment s proteolýzou (iniciace nekulturní proteolýzy) a ekvivalentem proteolýzy – metodika a výsledky.

– Vybrané aspekty lipolýzy mléka

- Úvod rozkladu tuku – volné mastné kyseliny (VMK) a růst lipolýzy v mléce – schéma důvodů v časové ose;
- Výsledky VMK v závislosti na různých technologických faktorech a na zdravotním stavu krav;
- Co kontrolovat pro adekvátní obsah VMK v syrovém mléce.

Kvalita mléčných potravin se významně odvíjí od kvality syrového mléka:

➤ vedle hygienických ukazatelů syrového mléka také monitoring ostatních zdravotních ukazatelů a metabolitů v mléce (ICAR) může být významný pro kvalitu a bezpečnost mléčného potravinového řetězce.

➤ sledování a vyhodnocování kvality syrového mléka pomáhá plnit důležitou společenskou zakázku (Baumgartner, 2000; předseda organizace AFEMA).

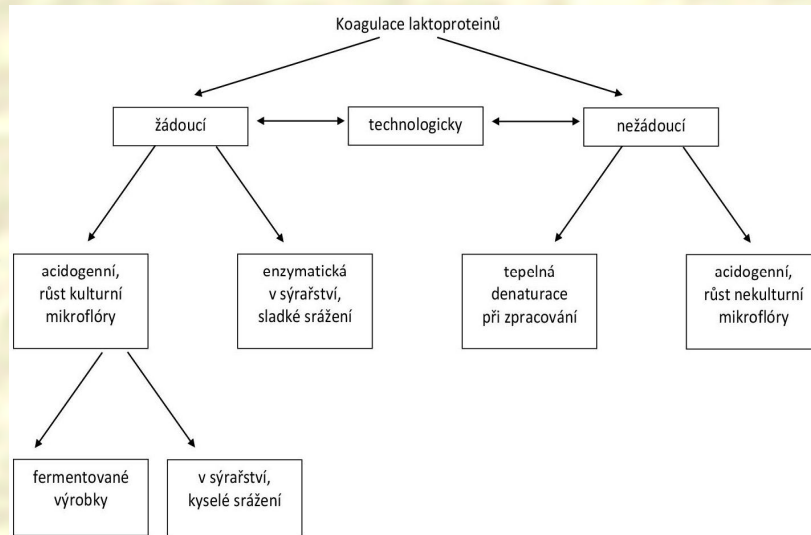


Vybrané aspekty proteolýzy mléka:



- **Počátek proteolýzy v syrovém kravském mléce souvisí také se srážením (koagulací, změnou prostorové struktury) bílkovin**, které je zapříčiněno převážně enzymaticky, nebo změnou kyselosti pH (biochemicky nebo fyzikálně-chemicky).
- **Hydrolyzující enzymy mohou být v mléce nativní** (z epitelu mléčné žlázy), **bakteriální nebo přidané** (při sýření). Pokud bakteriální, pak mohou mít průběh reakcí spontánní v důsledku nekulturní kontaminující (nežádoucí) mikroflóry nebo záměrný v důsledku přídavku kulturní (ušlechtilé) mikroflóry. Ať nekulturní nebo kulturní mikroflóra, existují dále druhové rozdíly mezi bakteriálními druhy v enzymatické výbavě a tím v usměrňování rozkladných (hydrolytických) procesů v mléce. Tyto pak probíhají mnohdy značně odlišně, přičemž se celé mléčné prostředí (mléčná matrice) průběžně, biofyzikálně a biochemicky, značně mění.
- **Celý jev proteolýzy je velmi komplexní a obtížně postižitelný v celé své dynamice.** Obvykle v mléčných mikrobiálních procesech (řízených nebo neřízených) probíhají souběžně, vedle proteolýzy, ještě spontánní nebo cílená lipolýza a acidogenní rozklad laktózy. Přesto má mlékařská technologie ambice a uchází se o řízení těchto procesů, včetně koagulace bílkovin a s ní spojené proteolýzy. Přitom jsou na mléko, jako surovinu, uplatňovány často velmi protichůdné požadavky. Někdy je požadována snadná, jasná a rychlá koagulace mléčných bílkovin (sýrařství), jindy protichůdně jejich odolnost proti denaturaci (kondenzované mléko). Srážení bílkovin i proteolýza jsou někdy vnímány negativně (vysoce tepelné postupy ošetření mléka, zhoršení kvality mléka) a jindy pozitivně (sýrařské srážecí a zrací procesy), podle situace.

Obr. Schéma srážení bílkovin syrového mléka jako vhodné nebo nevhodné mlékařské technologické vlastnosti podle typu zpracování suroviny.

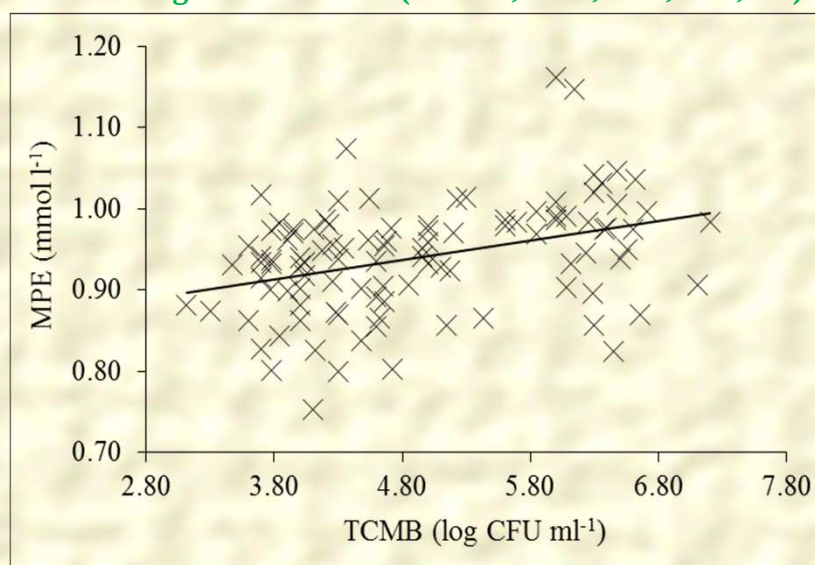


- **Proteolýza** a lipolýza v syrovém mléce jsou důležitými faktory senzorické kvality a údržnosti mléčných výrobků i bezpečnosti mléčného potravinového řetězce. Počátek proteolýzy v mléce souvisí také se srážením bílkovin, které je zapříčiněno enzymaticky, nebo změnou kyselosti.

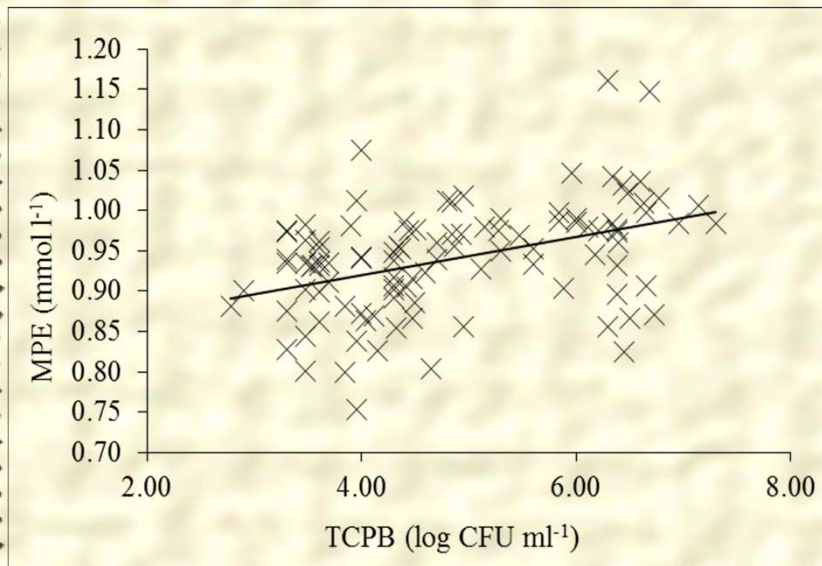
- Byly vyhodnoceny vztahy mezi ekvivalentem proteolýzy (EPM; koncentrace primárních aminoskupin) a zdravotními, hygienickými a složkovými ukazateli syrového bazénového kravského mléka. U části pokusných vzorků byla iniciována nekulturní spontánní proteolýza = uložení po 24 hod. při 10 °C.

- **Průměrná hodnota EPM** činila v nativním souboru $0,9165 \pm 0,063$ mmol l⁻¹ (vx 6,9 %). Pokusným zásahem vzrostly geometrické průměry celkového počtu mezofilních (CPM) a počtu psychrotrofních mikroorg. (PSY) z 13 713 a 10 728 na 811 927 a 830 819 CFU ml⁻¹ ($P < 0,001$). Zvýšení kontaminace bylo provázáno ($P < 0,001$) nárůstem hodnoty EPM z 0,9188 na 0,9694, o $0,0506 \pm 0,05$ mmol l⁻¹ a o 5,5 %.
- **Mezi log CPM a EPM byl korelační koeficient (r) 0,3651 ($P < 0,001$).** **Mezi log PSY a EPM byl r 0,4152 ($P < 0,001$).** Výsledky vztahů mléčných složek v nativním mléce byly: tuk × EPM, $r = 0,2236$; bílkoviny × EPM, 0,2207; laktóza × EPM, -0,0663; sušina tukuprostá × EPM, 0,1616 (všechny vztahy $P > 0,05$). Počet somatických buněk × EPM, $r = 0,0849$ ($P > 0,05$).
- **EPM limit indikující počáteční riziko proteolýzy mléka byl odhadnut v oboru od 0,9366 do 1,02 mmol l⁻¹.** První hodnota byla odhadnuta z regresních závislostí EPM na CPM a PSY, z jejich hygienických limitů (100 000 a 50 000 CFU ml⁻¹) pro mléko (REGULATION (EC) No. 853/2004) jako 0,9419 a 0,9366 mmol l⁻¹. Druhá hodnota z konvence pro 95% interval spolehlivosti při normální frekvenční distribuci hodnot jako průměr EPM + SD × 1,64 při jednostranném omezení, 1,02 mmol l⁻¹. Určení EPM se jeví být slibným ukazatelem použitelným v kontrole kvality mléka.

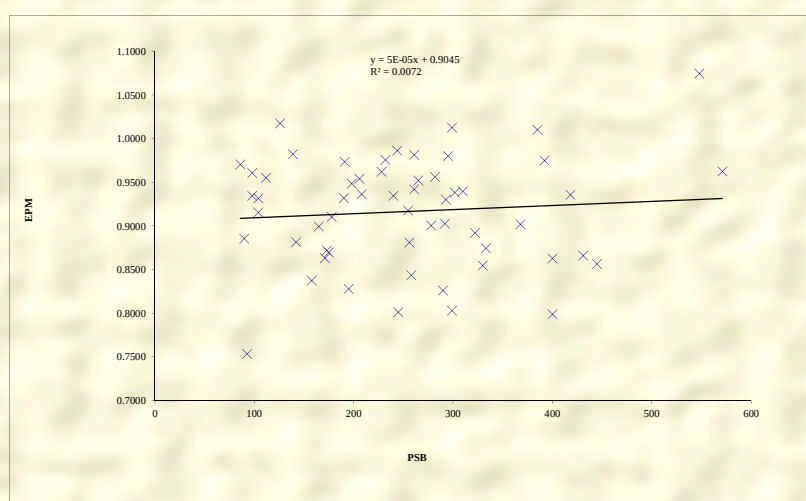
Lineární vztah mezi celkovým počtem mesofilních mikroorganismů a EPM (n = 104; r = 0,3651; $P < 0,001$).



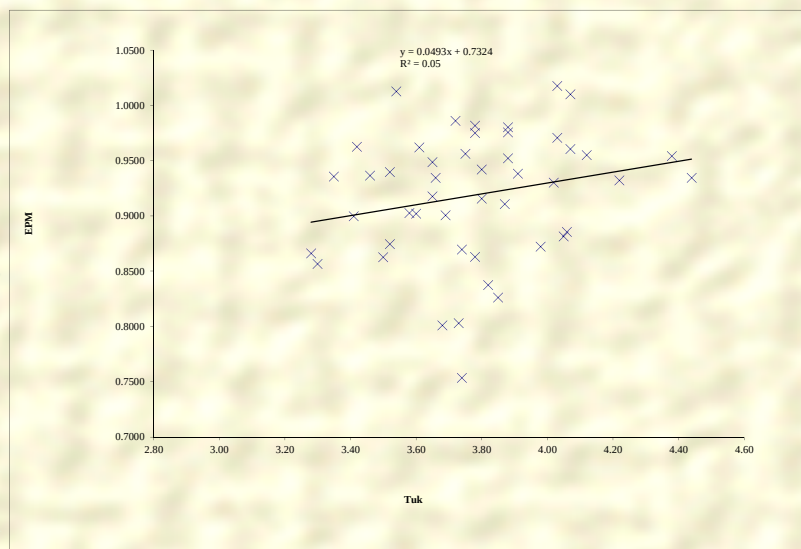
Lineární vztah mezi počtem psychotrofních mikroorganismů a EPM (n = 104; r = 0,4152; P<0,001).



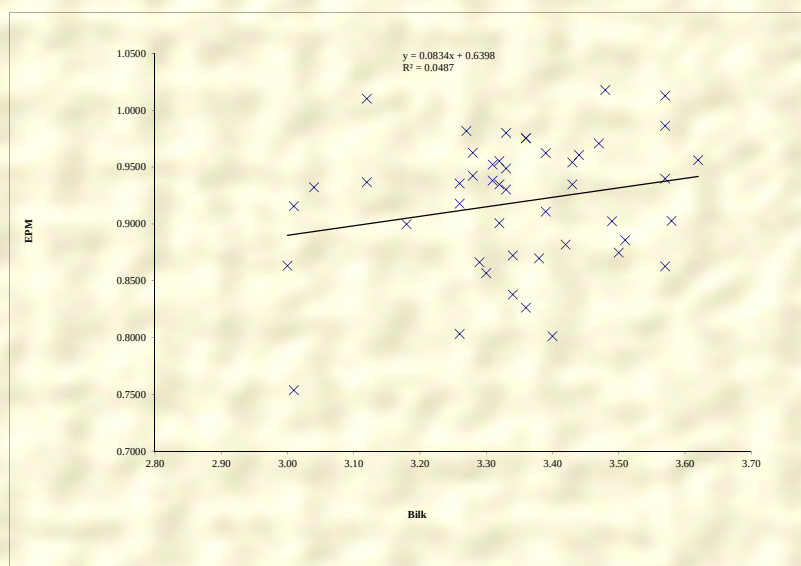
Obr. Vztah počtu somatických buněk (PSB; 10³ ml⁻¹) a EPM (mmol l⁻¹) v syrovém kravském mléce (n = 57; r = 0,0849; P > 0,05).



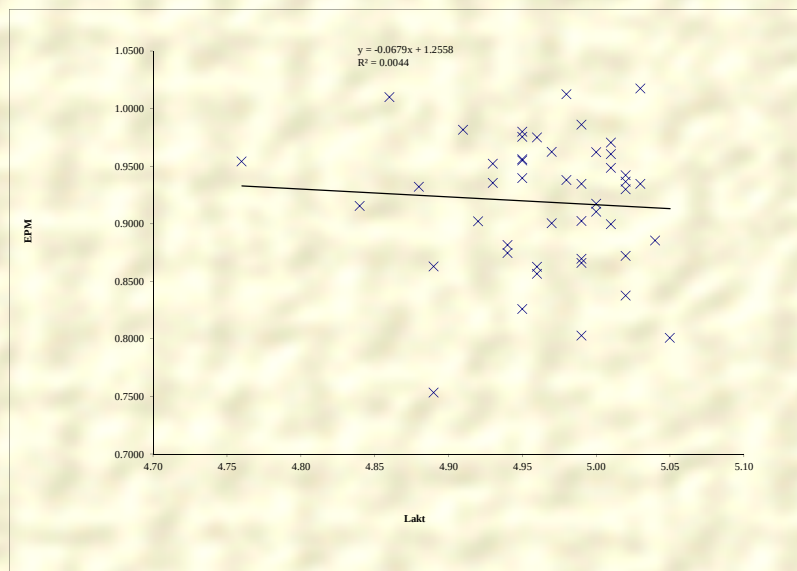
Obr. Vztah tuku (%) a EPM (mmol l⁻¹) v syrovém kravském mléce (n = 47; r = 0,2236; P > 0,05).



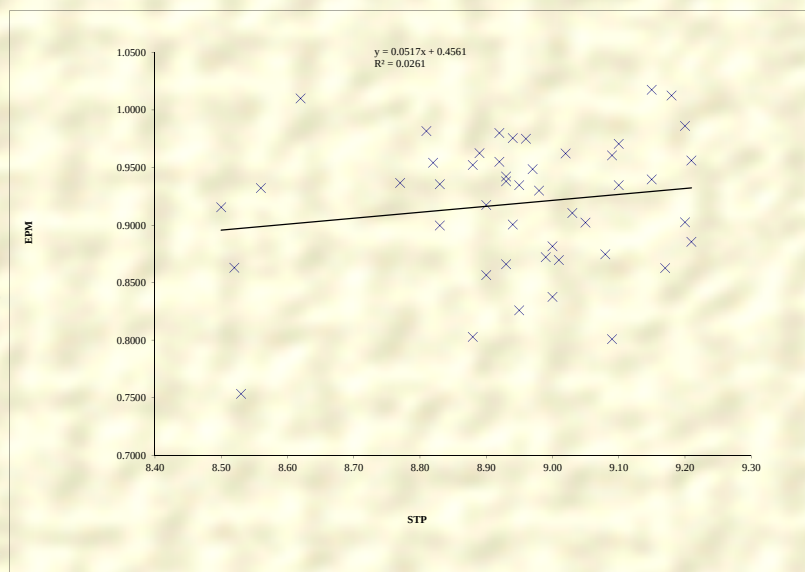
Obr. Vztah bílkovin (%) a EPM (mmol l⁻¹) v syrovém kravském mléce (n = 47; r = 0,2207; P > 0,05).



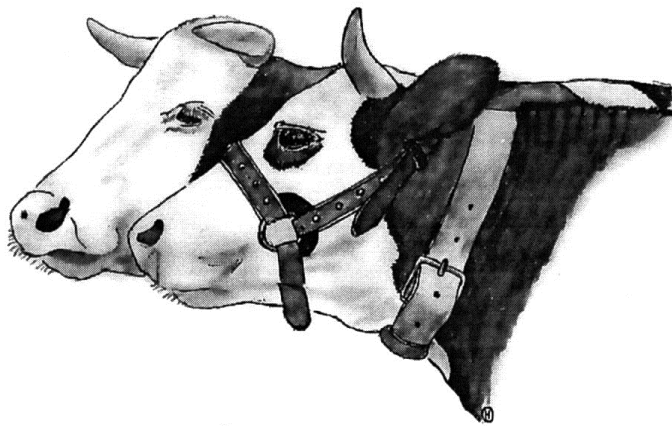
Obr. Vztah laktózy (%) a EPM (mmol l⁻¹) v syrovém kravském mléce (n = 47; r = -0,0663; P > 0,05).



Obr. Vztah sušiny tukuprosté (STP; %) a EPM (mmol l⁻¹) v syrovém kravském mléce (n = 47; r = 0,1616; P > 0,05).



Vybrané aspekty lipolýzy mléka:



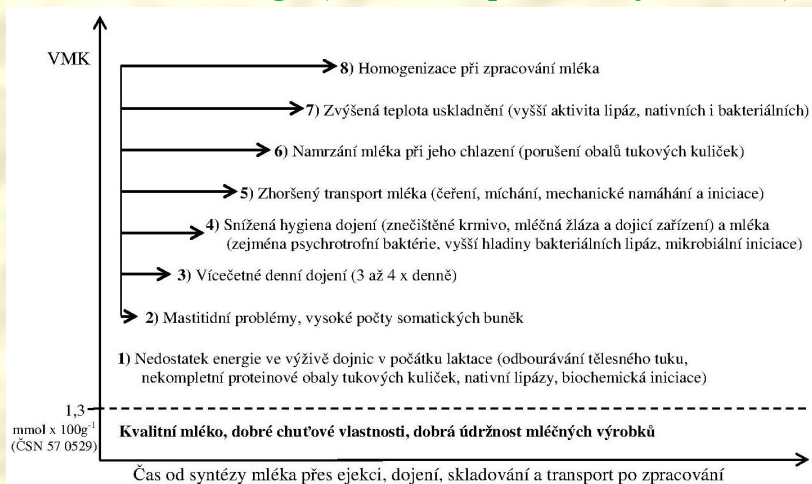
Další nový ukazatel kvality ve zpeněžování, koncentrace VMK (FFA) v mléčném tuku (nyní rutinně měřitelné MIR-FT; ČSN 57 0529, 13 (stlukem) a 32 (titračně) mmol/kg jako standardní limity), vlivné faktory:

- hygienická kontaminace mléka (lipázy);
- dojení, transport a skladování mléka (mechanické vlivy);
- přirozené lipázy v mléce, ketóza a negativní energetická bilance výživy dojnic v laktaci;

Stanovení a interpretace **volných mastných kyselin (VMK; FFA)** v mléce

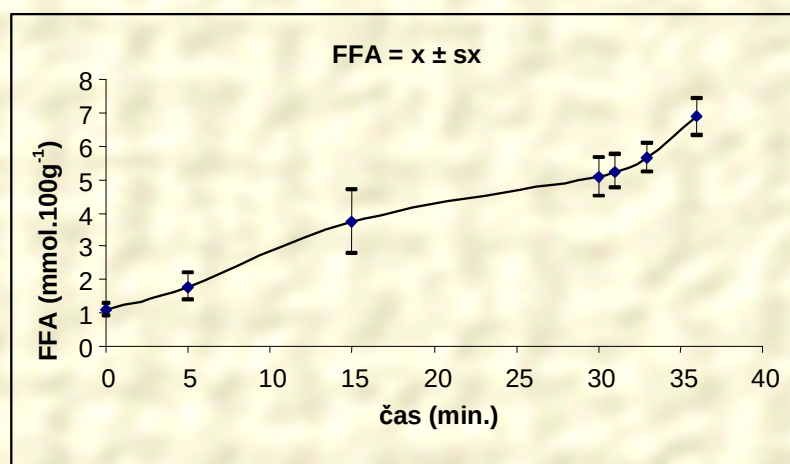
- Zvýšení VMK znamená negativní vlivy lipolýzy z důvodů metabolických problémů dojnice.
- **Zvýšená koncentrace VMK způsobuje zhoršení technologických vlastností mléka, ale hlavně smyslových (senzorických) vlastností mléka.**
- Destrukce tuku je jevem zapříčiňovaným v mléce přirozenými enzymy (lipázami) nebo lipázami dodanými bakteriální kontaminací mléka.
- Lipázy mohou být termorezistentní a projevit se tak i po tepelném ošetření mléka rozkladem mlékárenských výrobků.
- **Nešetrné zacházení s mlékem, jako časté čerpání a čerání při manipulaci a namrzání, navozuje rovněž vlastní lipolýzu.**

Vzrůst lipolýzy tuku v syrovém mléce, zvýšení obsahu volných mastných kyselin (VMK), ohrožení kvality mléka a výrobků z něho – faktory a jejich kombinace – zvíře a technologie (modifikace podle různých autorů).



- VMK v ČR:** $0,614 \pm 0,458$ a $0,835 \pm 0,491$ mmol/100g, neesterifikované v tuku, důležitý technologický ukazatel z hlediska trvanlivosti mléčných výrobků, existuje cca 10 % nevyhovujících dodávek (nad 1,3), více důvodů pro zvýšení:
- negativní vlivy typu lipolýzy a tvorby defektních tukových kapének – energetický deficit;
 - v důsledku kontaminace mléka nežádoucí psychrotrofní nebo termorezistentní mikroflórou - rozklad tuku – přirozenými enzymy nebo lipázami dodanými kontaminací;
 - důsledek nevyhovujícího skladování mléka a jeho nadměrného mechanického namáhání (proud by neměl > 1 až 1,5 m/s - laminární);
 - mastitida, pozdní laktace, zkrácení dojitího intervalu, vícečetné dojení.

Vliv intenzity a doby mechanického namáhání na liberalizaci mastných kyselin (FFA) z mléčného tuku.



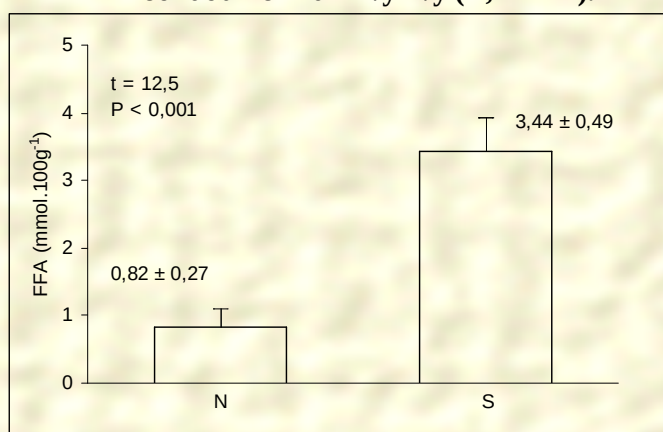
Vzorky mléka (n = 5) byly namáhány mechanicky, mícháním až třístěním v šesti krocích s různými intervaly od nativního mléka: +5, +10, +15 minut (nižší intenzita mechanického stresu); +1, +2 a +3 minuty (vysoká intenzita). FFA stanoveny na Lactoscope FTIR. (Nový Zéland – dojírny, membránová čerpadla.)

Koncentrace VMK (FFA) v mléce (mmol/100g) ve vzorcích s podezřelou dojící technologií.

(A = původní mléko; mléko před (B) a za (C) dopravním čerpadlem).

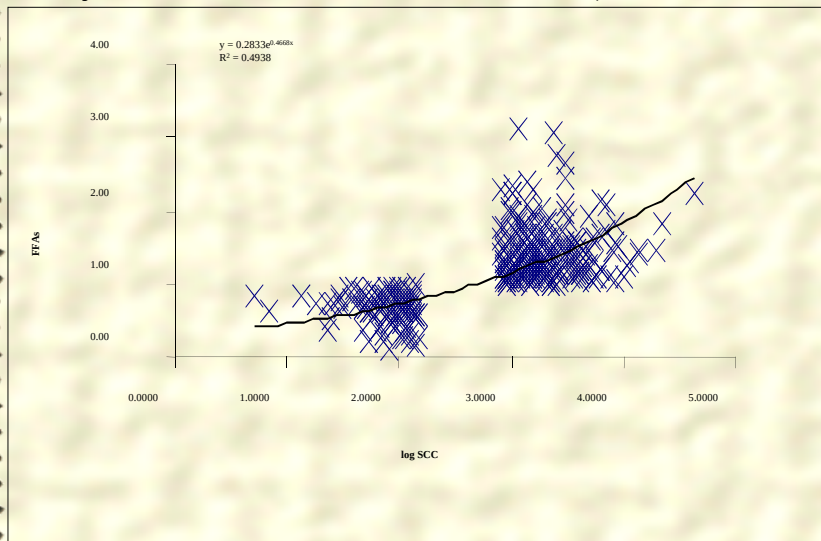
Vzorek	VMK
A	$0,93 \pm 0,11$
B	$1,48 \pm 0,34$
C	$1,46 \pm 0,33$

Vliv podezření na celkovou podvýživu (S, n = 4) dojníc (nízká močovina a bílkoviny v mléce) na FFA (mmol.100g⁻¹) ve srovnání k odhadu normální výživy (N, n = 12).

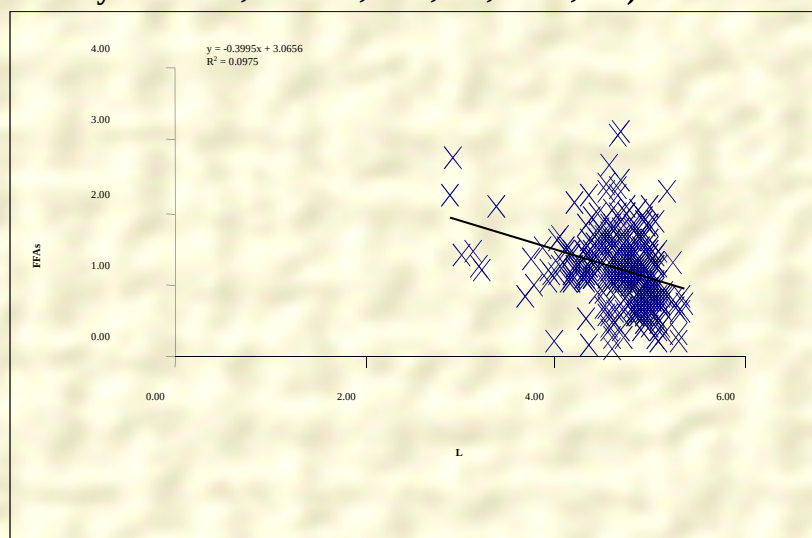


Poměr F/P byl, s ohledem na vhodnost mléka pro sýrařské zpracování, popsán k posouzení energetického zásobení dojníc. F/P nad 1,3 nebo 1,5 jsou dokladem energetické deficiencie (ketózy). Nedostatek vlákniny, F/P pod 1,1. Také M a bílkoviny (P) v mléce jsou ukazateli rovnováhy dusíkato-energetického metabolismu krav. Stádo dojníc (Holštýn, 1 rok) s F/P kolem 1,1 a s dlouhodobě nízkými U (od 12 do 16 mg.100ml⁻¹) a P (od 3,00 do 3,15), s podezřením na trvalý nedostatek vlákniny, dusíkatých látek a zejména energie, vykazovalo zvýšené FFA $3,44 \pm 0,49 > 0,82 \pm 0,27$ mmol.100g⁻¹ (F/P 1,3; U od 24 do 32 mg.100ml⁻¹; P od 3,25 do 3,50 %, stáda Holštýn a České strakaté).

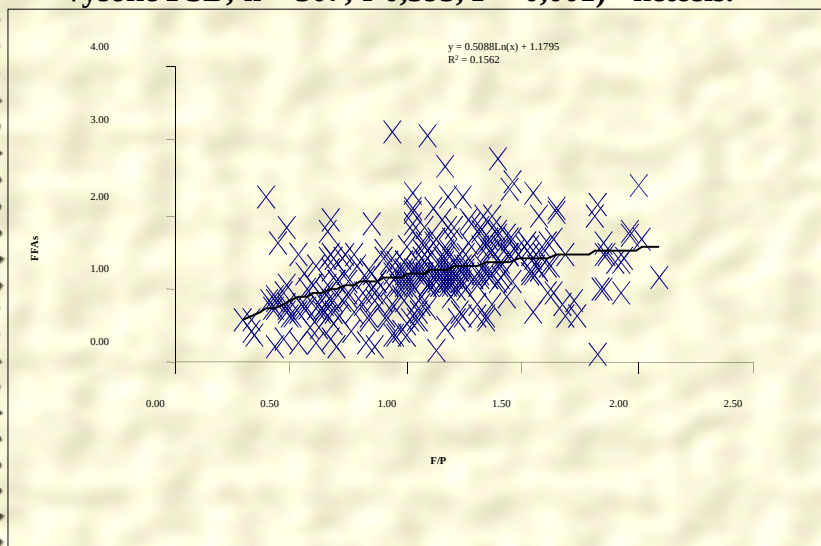
Vztah mezi PSB (log SCC) a VMK (FFAs; mmol.100g⁻¹) ve vybraných individ. vzorcích kravského mléka (nízké a vysoké PSB; n = 307; r 0,703, P < 0,001) - mastitis.



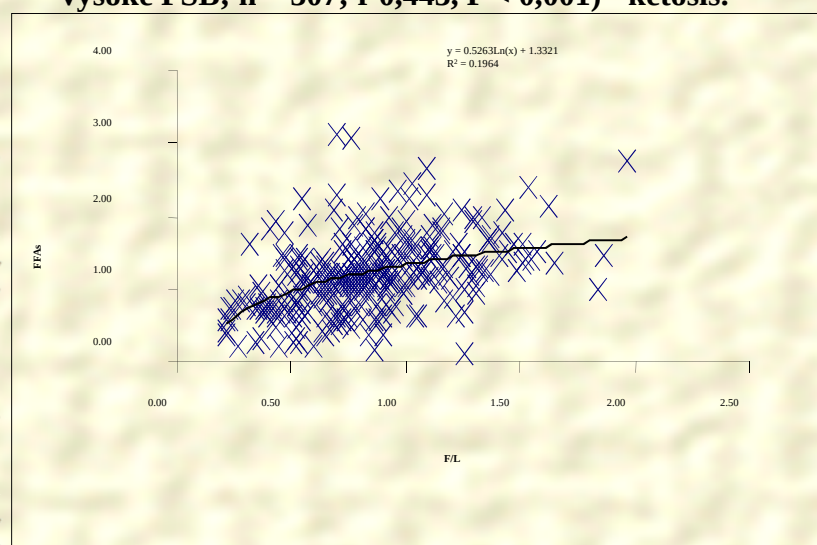
Vztah mezi laktózou (L; %) a VMK (FFAs; mmol.100g⁻¹) ve vybraných individ. vzorcích kravského mléka (nízké a vysoké PSB; n = 307; r -0,312, P < 0,001) - mastitis.



Vztah mezi T/B (F/P) a VMK (FFAs; mmol.100g⁻¹) ve vybraných individ. vzorcích kravského mléka (nízké a vysoké PSB; n = 307; r 0,395, P < 0,001) - ketosis.



Vztah mezi T/L (F/L) a VMK (FFAs; mmol.100g⁻¹) ve vybraných individ. vzorcích kravského mléka (nízké a vysoké PSB; n = 307; r 0,443, P < 0,001) - ketosis.



Co kontrolovat pro adekvátní obsah VMK:

- dobrou průtočnost mléčného potrubí a omezit, zpětné toky a rázy (kolísání podtlaku) – existují i membránová čerpadla;
- odpovídající chlazení, čisté úchovné nádrže a šetrné míchání;
- vysoký hygienický standard dojení s vlhkou až suchou toaletou vemene;
- nezkrmovat krmiva se zhoršenou kvalitou, např. se sporuláty, omezit druhotnou fermentaci krmiv;
- omezení negativní E. bilance krav – jinak neúplné obaly T kuliček - krmit preventivně energet. a hepatoprotektivní látky;
- prevenci mastitid, PSB koreluje kladně s VMK.

„Děkuji za pozornost“

