

Tvorba kyseliny mliečnej počas fermentácie mliečnych výrobkov

ELENA BUBELÍNIOVÁ — MILAN KOVÁČ

Súhrn. Predložená práca opisuje použitie vypracovanej analytickej metódy — kapilárnej izotachofórey na sledovanie obsahu kyseliny mliečnej v mlieku a mliečnych výrobkoch. Touto metódou sa analyzovali hotové mliečne výrobky na obsah kyseliny mliečnej a sledovalo sa jej zvýšenie vo vybraných mliečnych výrobkoch vplyvom skladovania pri laboratórnej teplote, ako aj počas cieľenej jogurtovej a kefírovej fermentácie mlieka. Použitie kapilárnej izotachofórey na analýzu kyseliny mliečnej v mlieku a mliečnych výrobkoch sa osvedčilo najmä pre rýchlosť, jednoduchú prípravu vzoriek, dobrú reprodukovateľnosť a vhodnosť na rutinné stanovenia v rámci kontroly technologických procesov, resp. kvality finálnych výrobkov.

Kyselina mliečna patrí medzi organické kyseliny, ktoré ovplyvňujú organoleptické a technologické vlastnosti, ako aj kvalitu výrobkov. Priaznivo pôsobí najmä na senzorické vlastnosti mliečnych výrobkov. Dodáva im jemne kyslú a osviežujúcu chuť, chráni ich a zvyšuje ich trvanlivosť a stráviteľnosť. Vzniká pôsobením bakteriálnych kultúr na laktózu, z ktorej sa pri fermentačných procesoch premení 20—30 % na kyselinu mliečnu [1]. Tvorbu kyseliny mliečnej počas fermentácie mliečnych výrobkov ovplyvňuje zmena pH, teplota, svetlo a iné faktory [2].

Na stanovenie kyseliny mliečnej, ako aj ostatných organických kyselín sa často používa elektromigračná separačná analytická technika — kapilárna izotachofórea [3—5]. Metóda umožňuje s vysokou presnosťou súčasne stanoviť makrozložky i mikrozložky. Výhodou izotachofórey je jednoduchá príprava vzorky a rýchla analýza. Niektorí autori [6—8] sa zaoberali sledovaním organických kyselín ako produktov fermentačných procesov v rôznych požívatinách kapilárnou izotachofórou, ale sledovanie tvorby organických kyselín počas fermentácie mliečnych výrobkov sa skúma iba ojedinele [9]. Málo sa

Prom. farm. Elena Bubelíniová, Ing. Milan Kováč, CSc., Výskumný ústav potravinársky, Trenčianska 53, 825 09 Bratislava.

sleduje aj obsah samej kyseliny mliečnej v mliečnych výrobkoch, ako aj dynamika zvýšenia koncentrácie kyseliny mliečnej počas fermentácie a skladovania mliečnych výrobkov.

Materiál a metódy

Analyzovali sme mliečne výrobky, ktoré sme odoberali z obchodnej siete v letnom období, a výrobky, ktoré sme pripravili v laboratórnych podmienkach podľa bežných návodov. Experimentálna práca má štyri časti:

1. modifikácia analytickej metódy na mliečne výrobky,
2. analýza hotových mliečnych výrobkov — overenie metódy,
3. analýza hotových mliečnych výrobkov — sledovanie tvorby kyseliny mliečnej vplyvom skladovania,
4. analýza mliečnych výrobkov pripravených podľa návodov — sledovanie tvorby kyseliny mliečnej počas fermentácie.

Úprava vzoriek. Vo všetkých mliečnych výrobkoch sme pred vlastnou analýzou odstránili prítomné bielkoviny vyzrážaním 10 % roztokom tanínu v pomere 1:3. Získaný filtrát sme riedili redestilovanou vodou a priamo dávkovali do izotachoforetického analyzátora.

Na overenie vypracovanej metódy na analýzu kyseliny mliečnej sme ako vzorky použili tieto hotové mliečne výrobky: acidofilné mlieko, biely jogurt, kyslú smotanu, čokoládový TERMIX a MILÁČIK. Pri 33 % sladkej smotane a polotučnom mlieku sme sledovali obsah a tvorbu kyseliny mliečnej v čerstvých výrobkoch i počas skladovania pri laboratórnej teplote počas 7 až 9 dní. Podobne sme v laboratórnych podmienkach analyzovali pripravené jogurtové a kefirové mlieko. Oba výrobky sme pripravili podľa bežných návodov [10]. Počas fermentácie sme vzorky odoberali v pravidelných intervaloch. Jogurtové mlieko sme vyrobili za 5 hodín a kefirové mlieko za 23 hodín.

Podmienky stanovenia. Pracovalo sa na izotachoforetickom analyzátore ZKI 001 vyrobenom v Spišskej Novej Vsi. Použil sa elektrolytový systém:

vodiaci elektrolyt	$1 \cdot 10^{-2}$ mol/l HCl + β -alanín, pH 3,05 + 0,1 % HEC
zаконčujúci elektrolyt	$5 \cdot 10^{-3}$ mol/l CH ₃ COOH + TRIS, pH 4,05
hnací prúd v predseparačnej kapiláre	200 μ A
hnací prúd v analytickej kapiláre	45 μ A
dávkovanie dávkovacím kohútom	30 μ l

Výsledky a diskusia

Cieľom našej práce bola aplikácia kapilárnej izotachoforézy na analýzu kyseliny mliečnej ako významného senzoričného a technologického komponentu v mlieku a mliečnych výrobkoch. Metódu sme overovali najprv na hotových výrobkoch. Obsah kyseliny mliečnej sme stanovili v acidofilnom mlieku, kyslej smotane, TERMIXE, MILÁČIKU a bielom jogurte. Výsledky sme vyhodnotili metódou kalibračnej čiary. Tabuľka 1 udáva priemerný obsah kyseliny mliečnej a interval spoľahlivosti s 95 % pravdepodobnosťou z piatich meraní. Z výsledkov vyplýva, že aplikácia kapilárnej izotachoforézy pri analýze kyseliny mliečnej v mliečnych výrobkoch dosahuje dobrú reprodukovateľnosť.

Tabuľka 1. Stanovenie kyseliny mliečnej vo vybraných mliečnych výrobkoch. Interval spoľahlivosti s 95 % pravdepodobnosťou

Table 1. Lactic acid determination in chosen milk products. Confidence interval with the probability of 95%

Vzorka ¹	Obsah kyseliny mliečnej ² [g.kg ⁻¹]
acidofilné mlieko ³	6,6 ± 0,05
kyslá smotana ⁴	7,9 ± 0,05
čokoládový TERMIX ⁵	3,5 ± 0,005
MILÁČIK ⁶	3,7 ± 0,01
biely jogurt ⁷	9,5 ± 0,07

¹Sample; ²Content of lactic acid; ³Acidophilous milk; ⁴Sour cream; ⁵Chocolate cream TERMIX (pasteurized whipped curd dessert); ⁶MILÁČIK (dessert cream for children); ⁷White yoghurt.

Po overení metódy na praktických vzorkách sme sa venovali sledovaniu zvýšenia obsahu kyseliny mliečnej počas skladovania 33 % sladkej smotany a polotučného mlieka. Vzorky sme odoberali v priebehu niekoľkých dní. Výsledky jednotlivých meraní uvádza tabuľka 2.

V nultý deň bola koncentrácia kyseliny mliečnej v oboch sledovaných výrobkoch nízka. Ako vidieť z výsledkov, došlo vplyvom skladovania k výraznému zvýšeniu jej obsahu. Pri sladkej smotane sme pozorovali skysnutie po 24 hodinách a pri plnotučnom mlieku sa obsah kyseliny mliečnej výrazne zvýšil až po 48. hodine skladovania. Dynamiku zvýšenia kyseliny mliečnej sme vyjadrili graficky (obr. 1), pričom pri oboch sledovaných výrobkoch mali krivky podobný priebeh. Z obrázku 1 vidieť, že priebeh krivky je najprv ovplyvnený výrazným zvýšením koncentrácie kyseliny mliečnej, vplyvom skladovania však dochádza k spomaľovaniu zvýšenia, čo je podmienené via-

Tabuľka 2. Dynamika zvýšenia obsahu kyseliny mliečnej počas skladovania 33 % sladkej smotany a polotučného mlieka pri laboratórnej teplote
 Table 2. Increase dynamics of lactic acid during the storage of sweet cream (with 33% of fat) and skimmed milk at laboratory temperature

Deň skladovania ¹	Obsah kyseliny mliečnej ² [g.l ⁻¹]	
	33 % sladká smotana ³	polotučné mlieko ⁴
0	0,4	0,4
1	4,4	1,5
2	5,1	3,4
3	7,4	4,1
4	—	4,7
6	9,2	—
7	—	6,2
8	9,5	

¹Day of storage; ²Content of lactic acid; ³Sweet cream (with 33% of fat); ⁴Skimmed milk.

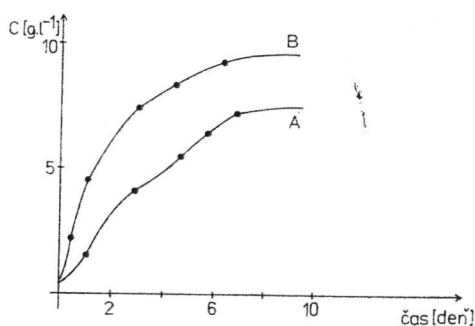
Tabuľka 3. Dynamika zvýšenia obsahu kyseliny mliečnej počas fermentácie jogurtového a kefirového mlieka pripraveného v laboratórnych podmienkach
 Table 3. Increase dynamics of lactic acid during the fermentation of yoghurt's and kefir's milk prepared under laboratory conditions

Hodina fermentácie ¹	Kyselina mliečna ² [g.l ⁻¹]	
	jogurtové mlieko ³	kefirové mlieko ⁴
1	0,3	0,2
2	0,9	0,2
3	1,2	0,3
4	2,3	0,3
4,5	5,7	—
5	7,5	—
5,5	7,8	—
6	7,9	0,5
7		0,8
8		0,9
12		1,1
13		1,4
16		1,9
19		2,9
20		3,2
22		4,5
23		7,2
24		9,1
26		9,7
27		9,8

¹Hour of fermentation; ²Lactic acid; ³Yoghurt's milk; ⁴Kefir's milk.

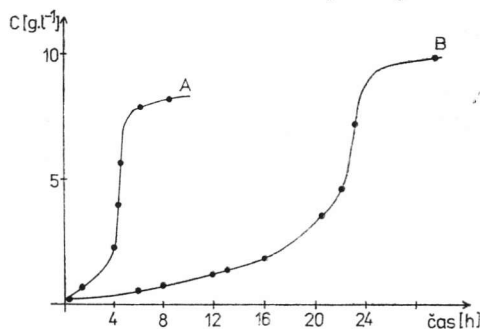
cerými faktormi určujúcimi fermentačný proces, ako napr. výrazná zmena pH, pokles koncentrácie substrátu a pod.

V ďalšej časti našej práce sme sa zamerali na sledovanie dynamiky zvýšenia obsahu kyseliny mliečnej počas fermentácie mliečnych výrobkov, ktoré sme pripravili v laboratórnych podmienkach. Jogurtové mlieko sme pripravili za 4,5 hodiny, kefírové mlieko za 23 hodín. Počas fermentácie sme od jej začiatku sledovali tvorbu kyseliny mliečnej. Výsledky uvádza tabuľka 3 a graficky znázorňuje obrázok 2, kde sme sledovali závislosť koncentrácie kyseliny mlieč-



Obr. 1. Závislosť zvýšenia obsahu kyseliny mliečnej počas skladovania polotučného mlieka (A) a 33 % sladkej smotany (B).

Fig. 1. Dependence of the lactic acid increase on the storage (time = day of storage) of skimmed milk (A) and sweet cream (B) (containing 33% of fat).



Obr. 2. Závislosť zvýšenia obsahu kyseliny mliečnej počas fermentácie jogurtového (A) a kefírového (B) mlieka. Teplota počas fermentácie: jogurtové mlieko — 40—42 °C, kefírové mlieko — 20 °C.

Fig. 2. Dependence of the lactic acid increase on the fermentation of yoghurt's (A) and kefir's milk (B) (time = hour of fermentation). Temperature during fermentation: yoghurt's milk — 40—42°C, kefir's milk — 20°C.

nej od nulte do 9. hodiny fermentácie pri jogurtovom mlieku a pri kefírovom mlieku až do 27. hodiny fermentácie. Závislosť koncentrácie kyseliny mliečnej od času fermentácie má exponenciálny charakter. Koncentrácia stúpala najprv pomaly, neskôr sa ustavične zvyšovala. Po rýchlej fáze nastalo postupné spomaľovanie, pri ktorom sa koncentrácia blížila k určitej limitnej hodnote, pri jogurtovom mlieku asi 8,5 g.kg⁻¹, pri kefírovom mlieku 10,0 g.kg⁻¹. Príčinou spomalenia fermentácie môže byť spotreba živín alebo negatívny vplyv samej kyseliny mliečnej ako produktu fermentácie, prejavujúci sa výrazným poklesom pH. Zvýšenie teploty spôsobuje značné urýchlenie fermentácie, ktoré však limitujú technologické a ekonomické činitele, ako aj vlastnosti aplikovanej kultúry. Vplyv ďalších faktorov pôsobiacich na rýchlosť fermentácie sa neskúmal.

Predložená práca informuje o vypracovanej analytickej metóde a o možnostiach sledovania tvorby kyseliny mliečnej v mliečnych výrobkoch kapilárnou izotachoforézou. Z výsledkov vyplýva, že táto presná, rýchla a spoľahlivá analytická metóda sa dá aplikovať na analýzu mlieka a mliečnych výrobkov — obsah kyseliny mliečnej, čo môže výrazne prispieť k riešeniu mliekárenskej problematiky. Ďalším rozpracovaním uvedenej metódy možno rozšíriť spektrum sledovaných organických kyselín, čo v budúcnosti pomôže pri optimalizácii mliekárenských technológií vzhľadom na kvalitu finálnych výrobkov. Podobne sledovaním obsahu organických kyselín, ako aj ďalších zložiek vo fermentovaných mliečnych výrobkoch v súčinnosti so senzorickými skúškami bude možné získať podklady pre skvalitnenie výroby, podmienky skladovania a efektívnu rýchlu kontrolu hotových výrobkov mliekárenského priemyslu.

Literatúra

1. HYLMAR, Analýza mléčných kysaných výrobků. Praha, SNTL 1986.
2. BETINA, V. — NEMEC, P., Všeobecná mikrobiológia. Bratislava, Alfa 1977.
3. FARKAŠ, J. — KOVAČ, M. — POLONSKÝ, J., Bull. PV (Bratislava), 21 (1), 1982, č. 4, s. 25.
4. PRŮŠA, K. — SMEJKAL, O., Kvasný Prům., 29, 1983, č. 1, s. 7.
5. Application Data. No. 1. Capillary Type Isotachophoretic Analyser. Shimadzu Seisakusho Ltd., Kyoto, Japan.
6. REPÁŠOVÁ, L., J. Chromatogr., 286, 1984, s. 347.
7. ŠTECHOVÁ, A.: Listy cukrovar., 101, 1985, s. 278.
8. PROCHÁZKA, L., Kvasný Prům., 32, 1986, s. 33.
9. ŽABKOVÁ, J. — FORMAN, L. — PECHÁČOVÁ, M. — OBERMAIER, O., Prům. Potravin, 12, 1986, s. 642.
10. Příprava dieteticko-léčebných zakysaných mlék v domácnosti. Výž. Lidu, 33, č. 7, 1978.

Образование молочной кислоты во время брожения молочных продуктов

Резюме

Приведенная работа описывает применение разработанного аналитического метода капиллярного изотакхофореза для наблюдения за содержанием молочной кислоты в молоке и молочных продуктах. Упомянутым методом были анализированы готовые молочные продукты на содержание молочной кислоты и исследовано ее повышение в избранных молочных продуктах под влиянием хранения при комнатной температуре, как и в течение целевого йогуртного и кефирного брожения молока. Применение метода капиллярного изотакхофореза для анализа молочной кислоты в молоке и в молочных продуктах дало хорошие результаты главным образом из-за его быстроты,

несложного приготовления проб и хорошей воспроизводимости и оказалось пригодным для рутинного определения в рамках контроля технологических процессов или же качества финальных продуктов.

The lactic acid formation during the fermentation of milk products

Summary

The use of capillary isotachophoresis for the investigation of lactic acid content in milk and milk products is described in this paper. The lactic acid content in and milk products was analysed. The influence of storage at laboratory temperature on an increase of lactic acid in selected milk products was investigated. That was determined during the yoghurt's and kefir's fermentations. The capillary isotachophoresis for the lactic acid analysis in milk and milk products was proved especially for its rate, simple sample preparation and for its good reproducibility. It is also acceptable for routine determinations in the check of technological processes, or quality of end products.