
ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN – POLONIA

VOL. XX, 46

SECTIO EE

2002

Katedra Higieny Zwierząt i Środowiska Wydziału Biologii i Hodowli Zwierząt
Akademii Rolniczej w Lublinie

WIESŁAW PODGÓRSKI, TADEUSZ MAJEWSKI

*Szybkość zmian zawartości kwasu mlekowego w mleku
w zależności od temperatury i czasu jego przetrzymywania*

Rate of Changes in the Content of Lactic Acid in Milk
Depending on Temperature and Storage Time

Skład mleka i sposób postępowania z nim po doju decydują o jego wartości odżywczej i technologicznej, dlatego interesujące są badania zmian składu chemicznego, warunkowane czynnikami środowiskowymi. Wielu autorów (Pijanowski 10, Budślawski 3, Campbell i Marschall 4, Czaplak 5, Schiffmann i Schuetz 11) uważa, że jakość surowego mleka i przydatność do przetwórstwa jest uzależniona od jego wstępnej jakości mikrobiologicznej. Warunki pozyskiwania mleka sprawiają, że jest ono zawsze mniej lub więcej zanieczyszczone mechanicznie i zakażone drobnoustrojami. Mleko świeżo udojone ma temperaturę około 35°C i pozostawione letnią porą przez kilkanaście godzin bez chłodzenia wykazuje z reguły objawy nakwaszenia i tym samym staje się nieprzydatne do dalszego przetwarzania. Świeżość mleka określa się przeważnie na podstawie jego kwasowości. Może być ona wyrażona stężeniem zawartych w mleku kwasów, wytwarzanych przez mikroorganizmy w wyniku fermentacji laktozy, które są określane nazwą bakterii mlekowych, obejmujących według De t t m a n (6) morfologicznie i biochemicznie zróżnicowane rodzaje ziarniaków *Streptococcus*, *Pedicoccus* i *Leuconostoc* oraz pałeczek *Lactobacillus*. Bakterie grupy *S. lactis*, *L. casei* i *L. delbrueckii* metabolizują cukry w glikolitycznym szlaku EMP. Powstający w wyniku tego pirogronian ulega bezpośrednio redukcji do mleczanu – jedyne go w zasadzie końcowego produktu fermentacji. Niektóre gatunki bakterii mlekowych wytwarzają z pirogronianu niewielkie ilości diacetylu, acetoiny i aldehydu octowego, które

są zasadniczymi składnikami smakowo-zapachowymi masła i fermentowanych produktów mlecznych.

Celem pracy było zweryfikowanie tezy, czy kwas mlekowy może być obiektywnym wskaźnikiem świeżości i jakości mleka. Z tych względów postanowiono przebadać zmiany jego ilości w zależności od czasu i temperatury przetrzymywania mleka.

MATERIAŁ I METODA

Materiałem badanym było mleko gruczołowe o minimalnej ilości zanieczyszczenia mikrobiologicznego. Mleko to było eksponowane na działanie temperatur: 5°C, 15°C i 25°C przez okres 8, 16, 24, 32, 40, 48, 56 godz.

Naturalnie występujący w płynach ustrojowych kwas mlekowy o konfiguracji L (+), według F u e r t e s i M o y a (7), znajduje się w mleku w niewielkich ilościach, natomiast wytwarzany w wyniku procesów fermentacji mlekowej, zachodzącej pod wpływem mikroorganizmów, występuje w formie D (-) (M a r r a z z a i wsp. 9, K a w a i 8, B e d n a r s k i 1). Dlatego realizując cel pracy oznaczano w mleku zmiany zawartości kwasu mlekowego o konfiguracji D (-). Oznaczanie kwasu mlekowego wykonano według przepisu analitycznego podanego przez B e r g m a y e r a (2). Zasadą metody oznaczania tego związku w tej metodzie jest wykorzystanie enzymatycznego utleniania mleczanu do pirogronianu przez dinukleotydynikotynoamidoadeninowy, który ulega w tej reakcji redukcji. Wskutek wysokiej wartości ekstynkcji molowej zredukowanego dinukleotydu pomiar zawartości mleczanu sprowadza się do precyzyjnego określenia wzrostu zawartości tego związku przy długości fali 340 nm, 334 nm bądź 366 nm i grubości warstwy roztworu 1 cm. Objętość próby testowej wynosiła 3 ml, a temperatura pomiaru 25°C. Analizy wykonywano w 6 powtórzeniach dla każdego zaplanowanego czasu analizy.

WYNIKI I OMÓWIENIE

Oznaczenia kwasu mlekowego dokonano według przyjętego schematu doświadczalnego. Wyniki charakteryzowano podstawowymi wartościami statystycznymi, jakimi są wartości odchylenia standardowego oraz współczynniki zmienności. Wartości tych parametrów statystycznych ujęte zostały w tabelach 1-3, w których przedstawiono uzyskane wyniki analityczne. Najniższą zmiennością cechowały się próby mleka poddanego działaniu temperatury 5°C. Przyjmując że mleko nie jest materiałem homogennym, a składa się z układów wielofazowych, zmienność stwierdzoną po 72 i 84 godz. przetrzymywania, wynoszącą 12,1% i 16,7%, należy uznać za satysfakcjonującą. Ciekawym faktem jest stwierdzenie jeszcze niższych zmienności dla prób przetrzymywanych w temp. 25°C. Najwyższą zmienność wyników uzyskano dla prób mleka przetrzymwanego w temp. 15°C.

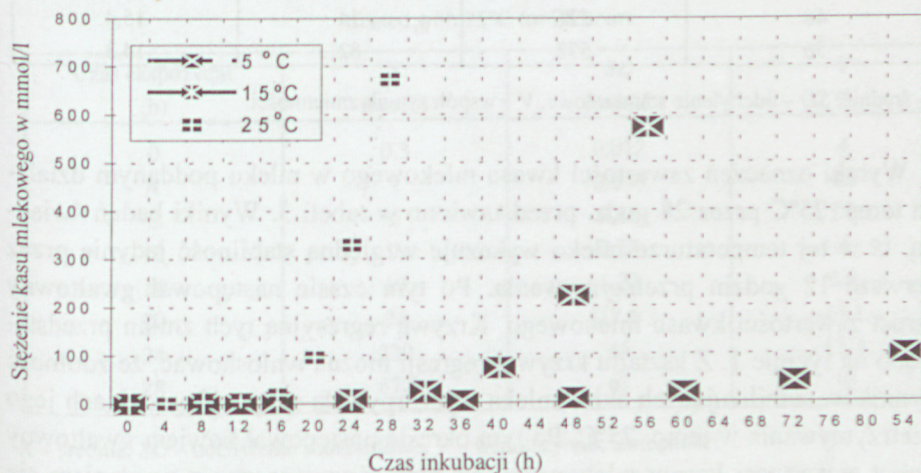
Tab. 1. Wartości podstawowych cech statystycznych charakteryzujących zmiany zawartości kwasu mlekowego w mleku poddanym działaniu temp. 5°C przez okres 84 godz.

Values of basic statistic features characterising the changes in lactic acid in the milk treated with 5°C for 84 hours

t	X	SD	V
(h)	mmol/l	mmol/l	%
0	0,3	0,012	4
12	1	0,036	3,6
24	2	0,084	4,2
36	4	0,18	4,5
48	8	0,24	3
60	19	0,9	4,7
72	43	5,2	12,1
84	99	16,5	16,7

X – średnia, SD – odchylenie standardowe, V – współczynnik zmienności.

Zmiany zawartości kwasu mlekowego w mleku poddanym działaniu temperatury 5°C przedstawiono w tabeli 1. W mleku przetrzymywanym w tej temperaturze stwierdzano zależność zmian ilościowych tego kwasu od czasu jego przetrzymywania. Zmiany te można wyrazić funkcją logarytmiczną przedstawioną w formie wykresu na rycinie 1.



Ryc. 1. Zmiany zawartości kwasu mlekowego w mleku w zależności od temperatury i czasu jego przetrzymywania

Changes in lactic acid content in milk, depending on temperature and storage time

Zgodnie z oczekiwaniami temp. 5°C zapewnia względną stabilność mleka do 48 godz. Dłuższe przetrzymywanie mleka w tej temperaturze powoduje wzrost zawartości kwasu mlekowego. Stąd też należałoby wnioskować, iż w tej temperaturze mleko nie powinno być przechowywane przez okres dłuższy niż 48 godz.

Oznaczenia zawartości kwasu mlekowego w mleku poddanym działaniu temp. 15°C przez 56 godz. przedstawiono w tabeli 2. Próby mleka poddane działaniu temp. 15°C wykazały, iż względną stabilność składu mleka można było utrzymać przez 24 godzin przetrzymywania mleka w tej temperaturze. Dłuższe przetrzymywanie mleka w temperaturze powodowało szybki wzrost zawartości kwasu mlekowego. Zmiany zawartości kwasu mlekowego w mleku poddanym działaniu temperatury 15 °C przedstawiono na rycinie 1. Krzywa obrazująca uzyskane wyniki ma podobny przebieg do krzywej regresyjnej dla temp. 5 °C.

Tab. 2. Wartości podstawowych cech statystycznych charakteryzujących zmiany zawartości kwasu mlekowego w mleku poddanym działaniu temp. 15°C przez okres 56 godz.

Values of basic statistic features characterising the changes in lactic acid content in the milk treated with 15°C for 56 hours

Czas ekspozycji (h)	$\bar{X}$ mmol/l	SD mmol/l	V %
0	0,3	0,012	4
8	1	0,036	3,6
16	3	0,045	1,5
24	8	1,24	15,5
32	24	1,8	7,5
40	72	15,6	21,7
48	221	34	15,4
56	572	82	14,3

$\bar{X}$ – średnia, SD – odchylenie standardowe, V – współczynnik zmienności.

Wyniki oznaczeń zawartości kwasu mlekowego w mleku poddanym działaniu temp. 25°C przez 28 godz. przedstawiono w tabeli 3. Wyniki badań świadczą, iż w tej temperaturze mleko wykazuje względną stabilność jedynie przez pierwsze 12 godzin przetrzymywania. Po tym czasie następował gwałtowny wzrost zawartości kwasu mlekowego. Krzywą regresyjną tych zmian przedstawiono na rycinie 1. Z kształtu krzywej regresji można wnioskować, że zdolność czynników stabilizujących skład mleka wyczerpywała się po 12 godzinach jego przetrzymywania w temp. 25°C. Po tym okresie następował bowiem gwałtowny wzrost zawartości kwasu mlekowego, co było równoznaczne z nasilaniem się procesu zakwaszenia, który można kojarzyć z szybkim rozwojem mikroflory kwaszającej. Zmiany zawartości kwasu mlekowego w mleku w zależności od czasu i temperatury jego przetrzymywania, przedstawione za pomocą wykresów na ryc. 1, można wyrazić logarytmicznymi funkcjami matematycznymi.

Wzrost zawartości kwasu mlekowego w mleku eksponowanym na działanie temperatury (5°C, 15°C, 25°C) następował w określonym tempie, proporcjonalnym do czasu jego przetrzymywania, jednakże szybkość tego wzrostu była uwa-

runkowana wartością temperatury, w której było ono przetrzymywane. W pierwszym okresie przetrzymywania bez względu na wartość temperatury zmiany zawartości kwasu mlekowego były niewielkie i proporcjonalne do czasu przetrzymywania. Jednakże po upływie określonego czasu następował w mleku dużo szybszy wzrost zawartości kwasu mlekowego. W mleku eksponowanym w temp. 5°C dokonywał się on po 48-godzinnej ekspozycji, dla mleka eksponowanego w temp. 15°C po 24 godzinach i w 25°C po 12 godzinach. Z danych eksperymentalnych niedwuznacznie wynika wniosek, że mleko przetrzymywane przez dwie doby w niskiej temperaturze praktycznie nie zmienia właściwości chemicznych. Natomiast dłuższe przetrzymywanie nawet w tak niskiej temperaturze prowadzi do wzrostu zawartości kwasu mlekowego, co przypuszczalnie można by uzasadnić wzrostem w tych warunkach flory psychotropowej. Intensywny wzrost zawartości kwasu mlekowego świadczy o szybkim tempie zakwaszenia tego produktu. Zjawisko należy kojarzyć z szybkim wzrostem mikroflory kwaszającej po wyczerpaniu się czynników stabilizujących ten produkt i potwierdza ono m.in. sugestie S c h i f f m a n n i S c h u e t z (11)

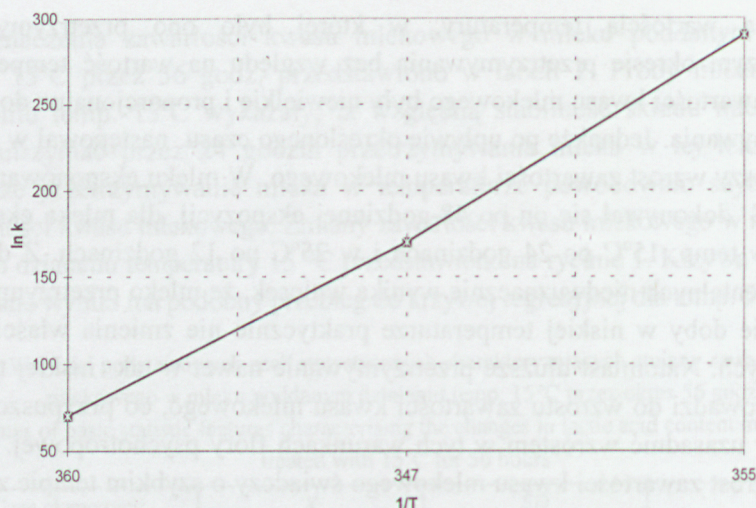
Tab. 3. Wartości podstawowych cech statystycznych charakteryzujących zmiany zawartości kwasu mlekowego w mleku poddanym działaniu temp. 25°C przez okres 28 godz.

Values of basic statistic features characterising the changes in lactic acid content in the milk treated with 25°C for 28 hours

Czas ekspozycji (h)	$\bar{X}$ mmol/l	SD mmol/l	V %
0	0,3	0,012	4
4	1	0,043	4,3
8	5	0,16	3,2
12	7	0,28	4
16	19	1,22	6,4
20	96	12,6	13,1
24	329	45	13,7
28	672	67	10

$\bar{X}$ – średnia, SD – odchylenie standardowe, V – współczynnik zmienności.

Uzyskane wyniki sugerowały poszukiwania uogólnień pozwalających na ujęcie zależności szybkości procesu zakwaszania od temperatury przy pomocy sformalizowanego zapisu matematycznego. Wykonano odpowiednie obliczenia, mające na celu przedstawienie zależności szybkości wytwarzania kwasu mlekowego w mleku od temperatury jego przetrzymywania. Wynik tych obliczeń zobrazowano na rycinie 2. Wykres ten odpowiada regule Arrheniusa, definiującej zależność stałej szybkości procesu od temperatury wyrażonej w skali



Ryc. 2. Zależność logarytmu naturalnego stałej szybkości ($\ln k$) zmian stężenia kwasu mlekowego w mleku od odwrotności temperatury bezwzględnej

Dependence of natural logarithm of constant rate of changes in milk lactic acid on the inverse of absolute temperature

Kelwina. Zależność szybkości wytwarzania kwasu mlekowego od temperatury może być istotną informacją w formułowaniu wniosków dotyczących starzenia się mleka jak i procesów zakwaszenia w zależności od temperatury.

WNIOSKI

1. Ilość kwasu mlekowego w mleku jest uwarunkowana stopniem przefermentowania laktozy.
2. Szybkość procesu zakwaszenia mleka zależy od czasu przetrzymywania tego produktu w formie surowej.
3. Ważnym czynnikiem warunkującym szybkość fermentacji laktozy jest temperatura.
4. Ekspozycja mleka na działanie zróżnicowanej temperatury wykazuje, że procesy fermentacji laktozy przebiegają zgodnie z teorią kinetyczną reakcji chemicznych.

PIŚMIENNICTWO

1. Bednarski W.: Charakterystyka enzymatyczna przemian laktozy w serze. Przegl. Mlecz., 8, 4, 1975.
2. Bergmeyer H. U.: Methoden der enzymatischen Analyse. 2 Auflage, Akademie-Verlag, Berlin 1970.

3. Budzłowski J.: Chemia i analiza mleka oraz jego przetworów. PWRiL, Warszawa 1963.
4. Campbell J. R., Marshall R.: Podstawy produkcji mleka spożywczego i jego przetworów. PWN, Warszawa 1988.
5. Czaplak T.: Czynniki wpływające na jakość mleka i produktów mleczarskich. Przegl. Hod., 6, 3, 1969.
6. Dettman J.: Dekstrarotatory Lactic Acid. Rechtsdrehende Milchsaeure. So. Molkerei-Zeitung-Welt-der Milch. 49, 161-162, 1995.
7. Fuertes J., Moya A.: Determination of Production Velocity Equation for L-lactic Acid Using Factorial Designs. So. Alimentaria, 214, 23-26, 1993.
8. Kawai Y., Saito T., Konno T.: Compositional Characteristics of Lactic Acids Produced by Lactobacillus Acidophilus Group Lactic Acid Bacteria. Animal Science and Technology, 67, 621-629, 1996.
9. Marrazza G., Cagnini A., Mascini M.: L- and D- Lactate Assay in Real Milk Samples with Immobilized Enzyme Reactors and Graphite Electrode. Talanta, 41, 1007-1014, 1994.
10. Pijanowski E.: Zarys chemii i technologii mleczarstwa. PWRiL, Warszawa 1971.
11. Schiffmann A. P., Schuetz M.: False Negative and Positive Results in Testing for Inhibitory Substances in Productions of Starter Cultures. Milch Wissenschaft, 47, 712-715, 1992.

SUMMARY

The composition of milk and the way of its treatment after the milking decide of its alimentary and technological values, therefore the examination of the changes in its chemical composition conditioned by environmental factors is of interest. A lot of authors claim that the quality of fresh milk and its usability for processing depends on its initial microbiological quality. Milk freshness is determined, among others, by the basis of its acidity. The acidity may be expressed in the concentration of acid compounds contained in milk. The objective of the study was to verify the thesis that lactic acid may be the objective indicator of milk freshness and quality. Therefore, it was decided that the changes in milk quality depending on the time and storage temperature should be examined. Milk and the amounts of microbiological contamination were exposed to 5°C, 15°C and 25°C for 8, 16, 24, 32, 40 48 and 56 hrs. The determination of lactic acid was performed by the enzymatic method.

In the milk exposed to 5°C the changes in the content of lactic acid proportionally to its storage time up to 48 hrs in this temperature was found out, for 15°C up to 24 hrs and at 25°C to 12 hrs. After having exceeded the values of those times, faster growth of lactic acid content, disproportional to the time, took place.

Wzrost energii i tych (masz. 1994, 14)

W podjętych badaniach przewidziano zaobserwowanie była mleko z sady (Sady hermiproduktu Rusby), sporządzona z surowców pochodzących z dołów (Sady). Kociana ta charakteryzuje się zaojną zawartością kwasu mlekowego o znaczącej składowej frakcji. Wynikami nie było ona przedmiotem tych badań w żywieniu ludzi (2, 13).

Celem badań było określenie stężenia kwasu z sady (Sady hermiproduktu Rusby), stosowany jako dodatek do dawki podstawowej ludzi (13).