

ERRATA:

SBORNÍK L. KONFERENCE O JAKOSTI POTRAVIN A POTRAVINOVÝCH SUROVIN

BOOK OF THE 50TH FOOD QUALITY AND SAFETY CONFERENCE

Markéta Janík Piechowiczová, Jan Slováček, Miroslav Jůzl
(Eds.)

Aktualizovaná verze sborníku se nachází na adrese:
<https://doi.org/10.11118/978-80-7509-996-9>
Aktualizováno: 21. 10. 2024

Errata:
Článek VYUŽITIE β -CYKLODEXTRÍNU PRI ODSTRAŇOVANÍ NEŽIADÚCICH ZLOŽIEK Z MLIEKA od autorů Lukáš Kolarič a Peter Šimko byl nedopatřením doplněn textem jiného článku.

Obě verze článku jsou přiloženy dále.

The updated original version of this book can be found at:
<https://doi.org/10.11118/978-80-7509-996-9>
Updated: 21. 10. 2024

Article THE APPLICATION OF β -CYCLODEXTRIN IN THE REMOVAL OF UNWANTED COMPONENTS IN MILK by Lukáš Kolarič and Peter Šimko has been mistakenly published with text from another article.

Both versions of the mentioned article follows.

OPRAVENÁ VERZE ČLÁNKU

VYUŽITIE B-CYKLODEXTRÍNU PRI
ODSTRAŇOVANÍ NEŽIADÚCICH
ZLOŽIEK Z MLIEKA

CORRECTED VERSION OF THE ARTICLE

THE APPLICATION OF B-CYCLODEXTRIN
IN THE REMOVAL OF UNWANTED
COMPONENTS IN MILK

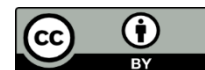
VYUŽITIE β -CYKLODEXTRÍNU PRI ODSTRAŇOVANÍ NEŽIADÚCICH ZLOŽIEK Z MLIEKA

THE APPLICATION OF β -CYCLODEXTRIN IN THE REMOVAL OF UNWANTED COMPONENTS IN MILK

Lukáš Kolarič¹ – Peter Šimko¹

¹Ústav potravinárstva a výživy, Oddelenie potravinárskej technológie
Fakulta chemickej a potravinárskej technológie STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava

<https://doi.org/10.11118/978-80-7509-996-9-0161>



ABSTRAKT

β -cyklodextrín je široko používaný v potravinárskom priemysle ako potravinárska prídavná látka vďaka svojej jedinečnej vlastnosti tvorby inklúzných komplexov s rôznymi žiaducimi alebo nežiaducimi zložkami v potravinách. V poslednej dobe sa výskum zamerával aj na elimináciu nežiaducich chutí alebo zlúčenín, ako je cholesterol alebo kontaminanty z mlieka alebo mliečnych výrobkov. Naša štúdia skúma optimálne podmienky pre odstránenie cholesterolu, ako aj aflatoxínu M_1 z mlieka aplikáciou β -cyklodextrínu. Zistilo sa, že by bolo možné vyrábať mliečne výrobky so zníženým obsahom cholesterolu až o 98 %. Druhý experiment tiež ukázal, že aflatoxín M_1 môže byť tiež viazaný v dutine cyklodextrínu, účinnosť eliminácie dosiahla približne 40 %. Okrem toho dotazník odhalil, že 67,9 % respondentov by bolo ochotných konzumovať mliečne výrobky so zníženým obsahom cholesterolu. Možno teda konštatovať, že aplikácia β -cyklodextrínu môže zohrávať dôležitú úlohu pri zvyšovaní výživových a bezpečnostných hodnôt mlieka a mliečnych výrobkov.

Kľúčové slová: β -cyklodextrín, cholesterol, aflatoxín M_1 , mlieko, eliminácia

ABSTRACT

β -cyclodextrin is widely used in the food industry as a food additive due to its unique property of forming inclusion complexes with various desirable or unwanted components in food. Recently, research has also focused on the elimination of unwanted tastes or compounds, such as cholesterol or contaminants from milk or dairy products. Our study investigates the optimal conditions for the removal of cholesterol as well as aflatoxin M_1 in milk by the application of β -cyclodextrin. It was found that it would be possible to produce dairy products with a lowered cholesterol content of up to 98%. The second experiment also showed that aflatoxin M_1 can also be bound in the cyclodextrin cavity, the elimination rate reached about 40%. Furthermore, the questionnaire revealed that 67.9% of respondents would be willing to consume dairy products with a reduced cholesterol content. So, it can be concluded that the application of β -cyclodextrin can play an important role in the increase of nutritional and safety values of milk and dairy products.

Keywords: β -cyclodextrin, cholesterol, aflatoxin M_1 , milk, elimination

ÚVOD / INTRODUCTION

Mlieko je vysoko výživné a obsahuje mnoho makro- a mikroživín, ktoré sú nevyhnutné pre rast a udržanie ľudského zdravia, najmä dojčiat, detí a starších dospelých (Šimko and Kolarič, 2022). Podľa správy Organizácie pre výživu a poľnohospodárstvo sa priemerná spotreba mlieka na obyvateľa vo svete pohybuje

približne na 100 kg/rok. V jednotlivých krajinách sa však líši (FAO, 2017). Očakáva sa, že mliekarenstvo bude v nasledujúcom desaťročí najrýchlejšie rastúcim odvetvím, pričom celosvetová produkcia mlieka by sa mala zvýšiť o 22 %. Zvýšená produkcia mlieka bude poháňaná rozširovaním výnosov v dôsledku optimalizácie systémov produkcie mlieka, zlepšeným zdravím zvierat, lepšou genetikou a zlepšenou účinnosťou kŕmenia a rozšírením zásob dojčiacich zvierat (Šimko and Kolarič, 2022). Z pohľadu spotreby potravín na Slovensku podľa Štatistického úradu Slovenskej republiky za rok 2020 je zrejmé, že spotreba mlieka a mliečnych výrobkov v hodnote mlieka bez masla bola vyššia (180,1 kg na osobu) ako spotreba mäsa (69,9 kg na osobu) a vajec (14,0 kg na osobu). V iných krajinách Európy je spotreba mliečnych výrobkov ešte vyššia, napr. v Česku 249,0 kg či v Poľsku 194,7 kg (Sitárová, 2021). Preto je kladený stále vyšší dôraz na kvalitu a bezpečnosť týchto potravinárskych komodít.

Cyklodextríny (CD) sú enzýmovo modifikované deriváty škrobu vyrábané priemyselne (Fenyvesi et al., 2016) v dôsledku transformácie škrobu určitými baktériami, ako je *Bacillus macerans* (Astray et al., 2009). Po chemickej stránke sú to oligosacharidy v tvare zrezaného kužeľa tvorené α -(1,4) glykozidickými väzbami glukopyranózových jednotiek (Matencio et al., 2020). Tri hlavné CD zahŕňajú α -, β - a γ -CD. Varianty týchto cyklických oligosacharidov pozostávajú zo 6 (α -CD), 7 (β -CD) alebo 8 (γ -CD) glukopyranózových jednotiek a líšia sa svojou veľkosťou (priemer 0,5 – 0,9 nm), čo určuje geometrické možnosti vzniku inklúzných komplexov s „host'ujúcimi“ molekulami (Fenyvesi et al., 2016). α -, β - a γ -CD sa „všeobecne považujú za bezpečné“ (GRAS) na použitie ako aditíva v potravinových výrobkoch, ale ich schválenie závisí od krajiny. Hlavnou ich vlastnosťou je, že ich hydrofóbna vnútorná dutina tvorí tzv. inklúzne komplexy so širokou škálou host'ujúcich molekúl, zatiaľ čo hydrofilný exteriér ovplyvňuje rozpustnosť vo vode (dos Santos et al., 2017). β -CD je na zozname GRAS od roku 1998 ako nosič chuťovo-vonných látok a ochranný prostriedok proti oxidácii na úrovni 2 % v mnohých potravinárskych výrobkoch (Szente and Szejtli, 2004).

Cholesterol zohráva v tele dvojitú (prospešnú aj negatívnu) úlohu. Jeho hlavnou funkciou je udržiavať integritu a priepustnosť bunkových membrán a slúžiť ako prekursor pre syntézu dôležitých látok v organizme, ako steroidných hormónov, žľových kyselín a vitamínu D. Vysoký príjem cholesterolu zo stravy je však často spájaný so zvýšeným rizikom vzniku kardiovaskulárnych ochorení (KVO) (Morzycki, 2014; Zampelas and Magriplis, 2019). Mlieko a mliečne výrobky tvoria heterogénnu skupinu, v rámci ktorej sa hladiny cholesterolu môžu významne líšiť a sú ovplyvňované rôznymi faktormi, napr. živočíšnym druhom (Bonczar et al., 2016). Podľa Manzia et al. (2013) bol obsah cholesterolu v kravskom mlieku stanovený v rozmedzí od 64 do 135 mg/kg. V ostatných mliečnych výrobkoch je obsah cholesterolu ešte väčší, napr. v smotane priemerne okolo 1370 mg/kg (Han et al., 2007), v syroch od 809 do 1248 mg/kg (Andrikopoulos et al., 2003), či v masle od 2043 do 3824 mg/kg (Derewiaka et al., 2011), v závislosti od obsahu tukov.

Aflatoxín M₁ (AFM₁) je častou úlohou vedeckej činnosti, pretože je predmetom mnohých publikovaných článkov. Napríklad 779 záznamov v zbierke Web of Science Core Collection a 883 záznamov v databázach Scopus možno nájsť z výskumu uskutočneného za posledných 10 rokov o zisteníach, hodnotení rizika a stratégií znižovania prítomnosti AFM₁ v mlieku a mliečnych výrobkoch (Šimko and Kolarič, 2022). Podľa

celosvetového systematického prehľadu a meta-analýzy (Mollayusefian et al., 2021) bola priemerná koncentrácia AFM₁ v surovom a pasterizovanom mlieku 0,057 µg/kg a 0,085 µg/kg, zatiaľ čo najnižšia a najvyššia koncentrácia AFM₁ v pasterizovanom mlieku bola u kôz a kráv. AFM₁ je príčinou akútnych aj chronických toxikóz. Následne dlhodobé štúdie na rôznych živočíšnych druhoch potvrdili hepatotoxicitu AFM₁ a preukázali jeho karcinogénny účinok (klasifikovaný ako ľudský karcinogén skupiny 2B podľa IARC) (Giovati et al., 2015). V dôsledku týchto nepriaznivých účinkov niektoré krajiny obmedzili maximálne prípustné limity AFM₁ v mlieku; limit v EÚ je 0,05 µg/kg pre potraviny pre dospelých a 0,025 µg/kg pre dojčenskú výživu (Commission Regulation (EC) No. 165/2010).

Cieľom našej práce bolo sledovať optimálne podmienky pre odstraňovanie cholesterolu a AFM₁ z mlieka pomocou β-CD. Okrem toho bol vypracovaný dotazník o akceptácii mliečnych výrobkov so zníženým obsahom cholesterolu.

MATERIÁL A METODIKA / MATERIAL AND METHODS

Odstraňovanie cholesterolu a AFM₁ z mlieka prebiehalo podľa metodiky, ktorá bola publikovaná v našich predošlých prácach (Kolarič et al., 2022; Šimko and Kolarich, 2022). Princípom je prídavok β-CD do mlieka v rôznych koncentráciách (1 – 3 %, w/w) a následné miešanie pri podmienkach 840 rpm, 25 °C, 20 min. Po miešaní sa mlieko nechalo odležať pre tvorbu inklúzneho komplexu a následne sa β-CD oddelil od mlieka centrifugáciou (130 g, 20 min). Zvyškový obsah cholesterolu a AFM₁ sa stanovil pomocou HPLC (Agilent Technologies 1260 Infinity, Santa Clara, CA, USA) s UV (pre cholesterol) resp. fluorescenčným (FLD) detektorom (pre AFM₁). HPLC-UV stanovenie cholesterolu sa uskutočnilo s použitím izokratickej elúcie pri prietokovej rýchlosti 0,5 ml/min s mobilnou fázou zloženou z acetonitrilu/metanolu 60:40 (v/v). Vstrekovací objem bol 10 µl a teplota bola nastavená na 30 °C. Stacionárna fáza sa použila Zorbax Eclipse Plus C₁₈ (2,1 × 50 mm, veľkosť častíc 5 µm, Agilent) s ochrannou kolónou Zorbax SB-C₁₈ (2,1 × 12,5 mm, veľkosť častíc 5 µm, Agilent). Na HPLC-FLD stanovenie AFM₁ v opracovanom mlieku bola použitá kolóna Zorbax Eclipse Plus C₁₈ (2,1 × 150 mm, veľkosť častíc 5 µm, Agilent, Santa Clara, CA, USA) s predkolónou Zorbax SB-C₁₈ (4,6 × 12,5 mm, veľkosť častíc 5 µm, Agilent, Santa Clara, CA, USA) a mobilná fáza zložená z vody a acetonitrilu (80:20). FLD detekcia prebiehala pri excitačnej vlnovej dĺžke 360 nm a emisnej 440 nm. Vstrekovací objem bol 50 µl. Prietok mobilnej fázy bol nastavený na 0,5 ml/min. Výsledky boli zaznamenané pomocou softvéru OpenLab CDS, ChemStation Edition pre LC a LC/MS systémov (verzia produktu A.01.08.108).

Súčasťou práce bol aj dotazník, ktorý sa skladal z 8 uzatvorených (výber z možností) otázok:

1. Pohlavie
2. Vek
3. Stupeň dosiahnutého vzdelania
4. Bola Vám alebo niekomu z Vašej rodiny diagnostikovaná zvýšená hladina cholesterolu v krvi?
5. Ktorý z týchto výrobkov obsahuje podľa Vás najvyšší obsah cholesterolu?
6. Snažíte sa obmedziť príjem cholesterolu vo svojej diéte?

7. Boli by ste ochotný/á si kúpiť mliečny výrobok, kde bude deklarovaný znížený obsah cholesterolu?
8. Čo by Vás odradilo od kúpy takýchto výrobkov?

Dotazník sa šírila prostredníctvom internetu v období november – december 2023.

VÝSLEDKY A DISKUZE / RESULTS AND DISCUSSION

Mlieko a mliečne výrobky sú dôležitým zdrojom živín, ale v posledných rokoch sa mliečne výrobky spájajú s mnohými negatívnymi účinkami na zdravie v dôsledku obsahu nasýtených mastných kyselín, čo môže viesť k zvýšeným hladinám cholesterolu v krvi a riziku rozvoja KVO (Lordan et al., 2018). Na zníženie obsahu cholesterolu v mliečnych výrobkoch bolo vyvinutých niekoľko metód, ako je enzymatická konverzia, destilácia vodnou parou, superkritická extrakcia alebo adsorpcia na rôzne sorbenty. Tieto metódy sú však väčšinou neselektívne a negatívne ovplyvňujú nutričné a mechanické vlastnosti konečných výrobkov (Kolarič and Šimko, 2021). Cholesterol môže byť tiež odstránený aplikáciou β -CD, pretože tento postup je dostatočný na selektívne odstránenie cholesterolu, zatiaľ čo obsah iných výživových a chuťových zložiek nie je významne ovplyvnený (Kolarič and Šimko, 2022). V našej práci (Kolarič et al., 2022) sa potvrdila vysoká účinnosť odstraňovania cholesterolu z mlieka pomocou β -CD. Už prídavok 1 % (w/w) β -CD zapríčinil zníženie obsahu cholesterolu o 97,3 %, pričom najvyššie zníženie (o 98,1 %) sa pozorovalo pri 2 % (w/w) β -CD. Okrem toho, textúrnou analýzou sa zistilo, že odstránením cholesterolu sa nezmenila pevnosť ani konzistencia mlieka. Stanovením farebných charakteristík sa zistilo, že zvýšené koncentrácie β -CD mierne vplývali na farbu mlieka, avšak do 2 % (w/w) β -CD boli farebné rozdiely minimálne a nepozorované ľudským okom. V práci bolo tiež preukázané, že z takto opracovaného mlieka bolo možné vyrobiť tiež mliečne výrobky s rovnako významným zníženým obsahom cholesterolu (maslo – 95,6 %, čerstvý syr – 97,7 %, tvaroh – 97,9 %). Keďže veľkosť dutiny β -CD je ideálna pre veľkosť molekuly cholesterolu, tento postup je vysoko selektívny pre cholesterol a preto sú nízko-cholesterolové výrobky veľmi podobné bežným výrobkom (Zunnurain and Baig, 2017). Výsledky sú podobné s inými štúdiami, napr. Zunnurain a Baig (2017) uviedli, že približne 90 % cholesterolu bolo odstráneného, keď bolo mlieko spracované s 1,5 % β -CD. Alonso et al. (2018) uviedli, že z ovčieho mlieka bolo možné odstrániť 97,6 % cholesterolu použitím 1 % β -CD. Z hľadiska vplyvu odstraňovania cholesterolu z mlieka pomocou β -CD na nutričné a organoleptické vlastnosti mliečnych výrobkov, niekoľko štúdií potvrdzuje dobrú selektivitu a špecifickosť procesu. Ha et al. (2010) uviedli, že množstvo laktózy zachytenej v β -CD nepresiahlo 0,03 % a obsah ďalších živín, ako sú mastné kyseliny s krátkym reťazcom, voľné aminokyseliny a vitamíny rozpustné vo vode, tiež zostal rovnaký. Z hľadiska reologických vlastností syra boli zistené len malé rozdiely medzi syrom Camembert s nízkym obsahom cholesterolu a kontrolou (Kim et al., 2008). Senzorické hodnotenie mlieka so zníženým obsahom cholesterolu ukázalo, že 77 % spotrebiteľov ho hodnotilo ako dobré alebo veľmi dobré z hľadiska akceptácie (Gianni et al., 2020).

Ohľadom možnosti viazania AFM₁ do dutiny β -CD je publikovaných iba málo štúdií a tento výskum je pomerne nový. Prvé publikácie sa zameriavali na interakcie medzi aflatoxínmi a β -CD pre zvýšenie fluorescenčnej emisie aflatoxínov. V týchto štúdiách bola dokázaná komplexná tvorba inklúzneho komplexu

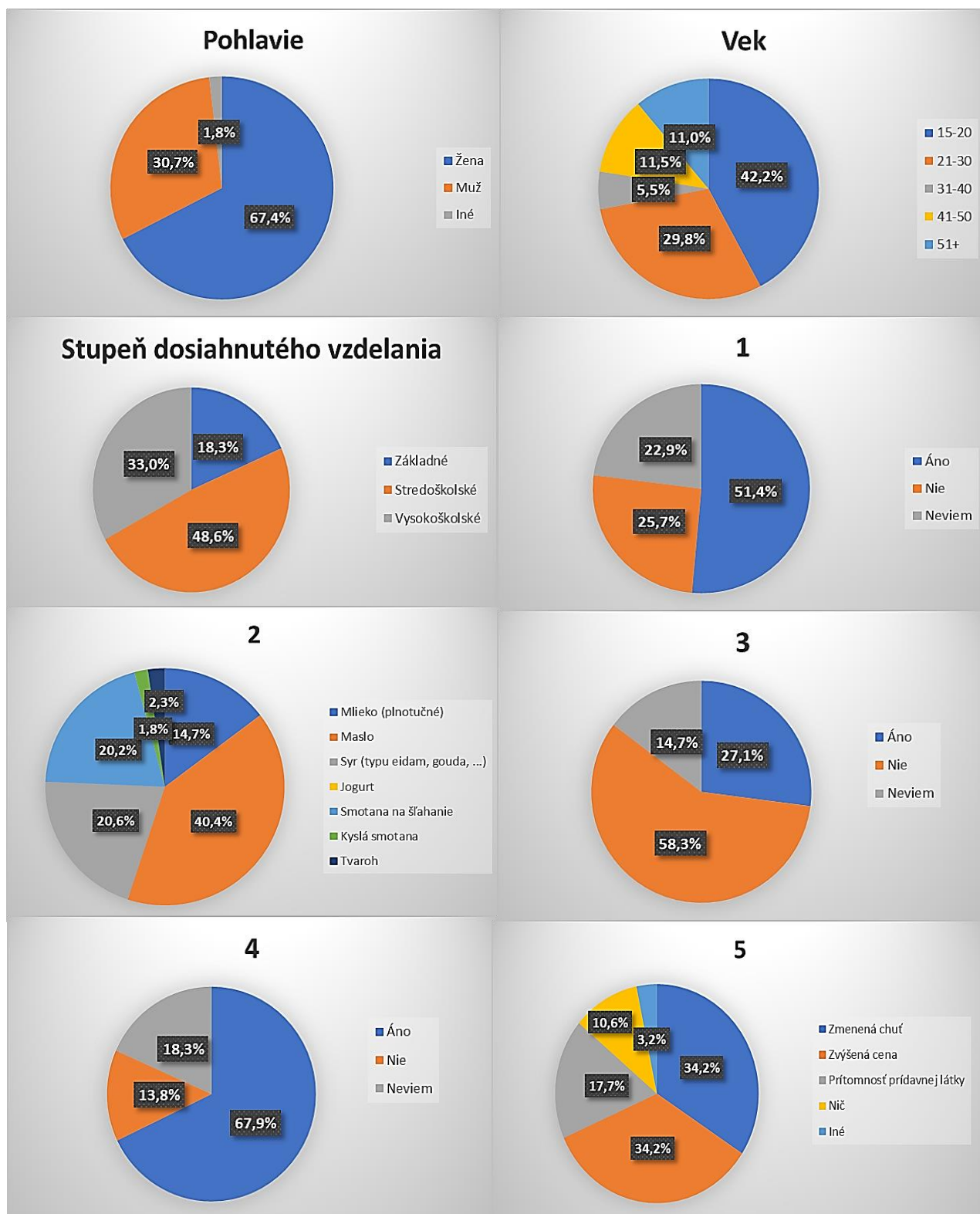
zahŕňajúca furánovú časť aflatoxínu (Galaverna et al., 2008). Mohos et al. (2022) nedávno publikovali štúdiu o extrakcii 12 mykotoxínov (vrátane AFM₁) z vodných roztokov nerozpustným β -CD polymérom. Na základe výsledkov nebol tento polymér (13,3 mg/ml) účinný pri extrakcii deoxynivalenolu a patulínu, avšak približne 28 a 35 % pokles koncentrácií AFM₁ a ochratoxínu A a viac ako 50 % AFB₁ a kyseliny cyklopiazonovej bolo odstránených rovnakým množstvom polyméru. Naše výsledky preukázali (Šimko and Kolarič, 2022), že súbežne s odstraňovaním cholesterolu sa znižoval aj obsah AFM₁ v mlieku v rozsahu od 33 do 45 % s priemernou hodnotou 39,1 %. Nakoľko sa však použili optimálne podmienky pre viazanie cholesterolu do β -CD, tak po určení optimálnych podmienok (množstvo β -CD, čas a rýchlosť miešania, doba odležania, čas a rýchlosť odstredovania) pre AFM₁ je vysoký predpoklad, že percento eliminácie AFM₁ môže byť vyššie. Niektoré ďalšie absorbenty boli tiež testované na zníženie koncentrácie AFM₁ v mlieku, napr. bentonit sodný (64,5 % účinnosť), bentonit vápenatý (31,4 % účinnosť), mykozorb (58,5 % účinnosť) a aktívne uhlie (5,4 % účinnosť) (Naeimipour et al., 2018). Použitie takýchto zlúčenín v potravinárskej technológii je však sporné a môže zmeniť organoleptickú a nutričnú hodnotu konečných výrobkov (Šimko and Kolarič, 2022). V súčasnosti najúčinnnejšou stratégiou pre elimináciu AFM₁ v mlieku je absorpcia na rôzne druhy mikroorganizmov. Napríklad Chaudhary a Patel (2022) predstavili zaujímavý prístup k odstráneniu AFM₁ z mlieka izolovanými baktériami mliečneho kvasenia. Okrem toho si Kuharić et al. (2018) všimli, že účinnosť dekontaminácie AFM₁ baktériami mliečneho kvasenia sa pohybuje od 21 do 95 % a uviedli, že tento postup by nemal ovplyvniť konečné organoleptické vlastnosti mliečnych výrobkov.

Pre zistenie akceptácie mliečnych výrobkov so zníženým obsahom cholesterolu pomocou β -CD sa vypracoval dotazník, ktorý vyplnilo 218 respondentov. Výsledky sú vyobrazené na Obr. 1. Zo všetkých respondentov, 67,4 % tvorili ženy a 30,7 % muži. Z hľadiska vekovej kategórie, najväčšie percento tvorili respondenti vo veku od 15 do 20 rokov (42,2 %) a najmenšie vo veku od 31 do 40 rokov (5,5 %), čo súvisí aj s tým, že dotazník sa šírila najmä medzi študentami strednej a vysokej školy. Respondenti mali prevažne stredoškolské (48,6 %) a vysokoškolské vzdelanie (33,0 %). Prvá otázka súvisela so zistením, či respondentom alebo ich rodinným príslušníkom už bola diagnostikovaná zvýšená hladina cholesterolu krvi. Aj napriek tomu, že väčšina respondentov boli študenti, tak až 51,4 % odpovedí bolo kladných. To môže byť aj dôsledok toho, že na Slovensku je dlhodobo prekračovaný odporúčaný denný príjem cholesterolu na úrovni 300 mg (Kukula et al., 2020). Druhá otázka sa zameriavala na znalosti obsahu cholesterolu v mliečnych výrobkoch. Väčšina respondentov (40,4 %) správne odpovedala, že najväčší obsah cholesterolu sa vyskytuje v masle. Druhý najčastejšie označovaný výrobok bol syr (20,6 %), čo je tiež pravda, nakoľko v závislosti od obsahu tuku sa môže v syroch vyskytovať až do 1034 mg/kg cholesterolu (Kolarič et al., 2022). Na štvrtom mieste sa však umiestnilo mlieko (plnotučné), čo nie je úplne pravda, nakoľko obsahuje najmenej tuku zo všetkých ponúkaných výrobkov. Pri tretej otázke sme chceli zistiť, či sa respondenti snažia obmedziť príjem cholesterolu v strave. Nadpolovičná väčšina (58,3 %) odpovedala záporne na túto otázku, čo je mierne prekvapujúce, nakoľko 51,4 % odpovedalo, že trpia na vysoký obsah cholesterolu v krvi. Posledné dve otázky už priamo súviseli s akceptáciou mliečnych výrobkov so zníženým obsahom cholesterolu. 67,9 % respondentov odpovedalo, že by boli ochotní si zakúpiť takýto výrobok. Najväčšie obavy by mali však

zo zmenenej chuti alebo vyššej kúpnej ceny. Ako už bolo spomínané, tak odstraňovanie cholesterolu pomocou β -CD je veľmi selektívny proces a iba nepatrná časť iných zložiek sa môže tiež viazať na β -CD. Preto chuť mliečnych výrobkov sa nezmení, nakoľko obsah tuku zostane približne rovnaký a tuk je hlavným nosičom chuťových látok v potravinách. Samotný β -CD je tiež bežne dostupnou látkou a proces odstraňovania cholesterolu je pomerne jednoduchý a dá sa vykonávať na bežných mliekarenských zariadeniach, preto ani cena takýchto výrobkov by nemusela byť výrazne vyššia oproti klasickým výrobkom. Niekoľko respondentov tiež uviedlo, že by mali obavy s prítomnosti cudzej prídavnej látky, ktorá by mohla zhoršiť celkové nutričné zloženie týchto výrobkov. Vo všeobecnosti má β -CD status "všeobecne považovaný za bezpečný" (GRAS) a je vhodný na použitie ako prídavná látka v potravinách (dos Santos et al., 2017). Pokiaľ ide o toxicitu β -CD, vysoká perorálne podávaná dávka β -CD môže spôsobiť hnačku a zväčšenie slepého čreva a dokonca ovplyvniť biologickú dostupnosť niektorých látok (Matencio et al., 2020). Avšak toto neplatí pre mliečne výrobky so zníženým obsahom cholesterolu, nakoľko β -CD sa spolu s cholesteronom odstráni z mlieka počas procesu odstredovania. Po odstredení mlieka opracovaného s 0,6 % β -CD zostalo v odstredenom mlieku približne 0,15 % zvyškového β -CD (Alonso et al., 2009). Podľa Alonsa et al. (2019), konečné maslo s nízkym obsahom cholesterolu obsahovalo iba 51,75 mg/100 g (0,05 %) zvyškového obsahu β -CD. Experimentálny syr s nízkym obsahom cholesterolu získaný aplikáciou 1 % β -CD obsahoval 0,31 % zvyškového β -CD (Alonso et al., 2018).

ZÁVĚR / CONCLUSIONS

Cieľom tejto práce bolo poukázať na možnosť β -CD odstraňovať dve nežiadúce látky z mlieka, cholesterol a AFM₁. Zvýšená hladina cholesterolu v krvi je často spájaná s rizikom vzniku kardiovaskulárnych ochorení a keďže mliečne výrobky sú často konzumované a tiež obsahujú pomerne vysoké množstvá cholesterolu, tak produkcia výrobkov so zníženým obsahom cholesterolu by mohla zohrávať dôležitú úlohu v modernej zdravej výžive založenej na prevencii KVO. Výsledky preukázali, že pomocou β -CD ide odstrániť z mlieka až do 98 % cholesterolu bez zmeny jeho organoleptických a textúrnych vlastností. Okrem toho sa zistilo, že počas odstraňovania cholesterolu sa na β -CD viazal aj AFM₁. Celkové zníženie obsahu AFM₁ bolo na úrovni 40 %. Táto metóda by bola preto vhodná nie len na zvýšenie nutričnej kvality mlieka ale aj jeho zdravotnej bezpečnosti. Výsledky dotazníka preukázali, že u väčšiny respondentov už bola diagnostikovaná zvýšená hladina cholesterolu v krvi, zároveň však nedodržiavajú žiadnu špeciálnu diétu na jeho zníženie. Preto by konzumácia týchto mliečnych výrobkov mohla efektívne pôsobiť na znižovanie príjmu cholesterolu v populácii, bez toho, aby si to konzumenti vôbec uvedomili.



Obrázok 1: Výsledky dotazníka ohľadne akceptácie mliečnych výrobkov so zníženým obsahom cholesterolu. Pozn.: 1 – Bola Vám alebo niekomu z Vašej rodiny diagnostikovaná zvýšená hladina cholesterolu v krvi?; 2 – Ktorý z týchto výrobkov obsahuje podľa Vás najvyšší obsah cholesterolu?; 3 – Snažíte sa obmedziť príjem cholesterolu vo svojej diéte?; 4 – Boli by ste ochotný/á si kúpiť mliečny výrobok, kde bude deklarovaný znížený obsah cholesterolu?; 5 – Čo by Vás odradilo od kúpy takýchto výrobkov?

PODĚKOVÁNÍ / ACKNOWLEDGMENTS

Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-22-0102 a APPV-18-0061.

LITERATURA/REFERENCES

- Alonso, L., Cuesta, P., Fontecha, J., Juarez, M., Gilliland, S. E. (2009): Use of β -cyclodextrin to decrease the level of cholesterol in milk fat. *Journal of Dairy Science*, 92(3): 863–869.
- Alonso, L., Fox, P. F., Calvo, M. V., Fontecha, J. (2018): Effect of beta cyclodextrin on the reduction of cholesterol in ewe's milk manchego cheese. *Molecules*, 23(7): 1789.
- Alonso, L., Calvo, M. V., Fontecha, J. (2019): A scale-up process for the manufacture of reduced-cholesterol butter using beta-cyclodextrin. *Journal of Food Process Engineering*, 42(3): 13009.
- Andrikopoulos, N. K., Kalogeropoulos, N., Zerva, A., Zerva, U., Hassapidou, M., Kapoulas, V. M. (2003): Evaluation of cholesterol and other nutrient parameters of Greek cheese varieties. *Journal of Food Composition and Analysis*, 16(2): 155–167.
- Astray, G., Gonzales-Barreiro, C., Mejuto, J.C., Rial-Otero, R., Simal-Gándara, J. (2009): A review on the use of cyclodextrins in foods. *Food Hydrocolloids*, 23(7): 1631–1640.
- Bonczar, G., Walczycka, M.B., Domagała, J., Maciejowski, K., Najgebauer-Lejko, D., Sady, M., Wszolek, M. (2016): Effect of dairy animal species and of the type of starter cultures on the cholesterol content of manufactured fermented milks. *Small Ruminant Research*, 136: 22–26.
- Commission Regulation (EC). No 165/2010 amending Regulation 1881/2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. (2010). *Official Journal of European Union*, 50: 8–12.
- Derewiaka, D., Sosińska, E., Obiedziński, M., Krogulec, A., Czaplicki, S. (2011): Determination of the adulteration of butter. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 113(8): 1005–1011.
- dos Santos, C., Buera, P., Mazzobre, F. (2017): Novel trends in cyclodextrins encapsulation. Applications in food science. *Current Opinion in Food Science*, 16: 106–113.
- FAO. (2017): Gateway to Dairy Production and Products. Milk and Milk Products. Available online: www.fao.org/dairy-productionproducts/products/en/ (accessed on 20 April 2022).
- Fenyvesi, É., Vikmon, M., Szente, L. (2016): Cyclodextrins in food technology and human nutrition: Benefits and limitations. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(12): 1981–2004.
- Galaverna, G., Dall'Asta, C., Corradini, R., Dossena, A., Marchelli, R. (2008): Cyclodextrins as selectors for mycotoxin recognition. *World Mycotoxin Journal*, 1: 397–406.
- Gianni, D. E., Jorcin, S., Lema, P., Olazabal, L., Medrano, A., Lopez-Pedemonte, T. (2020): Effect of ultra-high pressure homogenization combined with β -cyclodextrin in the development of a cholesterol-reduced whole milk. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(11): 14845.

- Giovati, L., Magliana, W., Ciociola, T., Santinoli, C., Conti, S., Polonelli, L. (2015): AFM1 in milk: Physical, biological, and prophalactic methods to mitigate contamination. *Toxins*, 7(10): 4330–4349.
- Ha, H. J., Lee, J. E., Chang, Y. H., Kwak, H.-S. (2010): Entrapment of nutrients during cholesterol removal from cream by crosslinked β -cyclodextrin. *International Journal of Dairy Technology*, 63(1): 119–126.
- Han, E. M., Kim, S. H., Ahn, J., Kwak, H. S. (2007): Optimizing cholesterol removal from cream using β -cyclodextrin crosslinked with adipic acid. *International Journal of Dairy Technology*, 60(1):31–36.
- Chaudhary, H.J., Patel, A.R. (2022): Removal of aflatoxin M1 from milk and aqueous medium by indigenously isolated strains of *W. confusa* H1 and *L. plantarum* S2. *Food Bioscience*, 45: 101468
- Kim, S.-Y., Bae, H.-Y., Kim, H.-Y., Ahn, J., Kwak, H.-S. (2008): Properties of cholesterol-reduced camembert cheese made by crosslinked β -cyclodextrin. *International Journal of Dairy Technology*, 61(4): 364–371.
- Kolarič, L., Šimko, P. (2021): The effect of treatment conditions on color characteristics and measure of cholesterol removal from milk by beta-cyclodextrin application. *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 15: 192–198.
- Kolarič, L., Šimko, P. (2022): Application of β -cyclodextrin in the production of low-cholesterol milk and dairy products. *Trends in Food Science & Technology*, 119: 13–22.
- Kolarič, L., Kántorová, P., Šimko, P. (2022): β -cyclodextrin as the key issue in production of acceptable low-cholesterol dairy products. *Molecules*, 27(9): 2919.
- Kuharič, Ž., Jakopović, Ž., Čanak, I., Frece, J., Bošnjir, J., Pavlek, Ž., Ivešić, M., Markov, K. (2018): Removing aflatoxin M1 from milk with native lactic acid bacteria, centrifugation, and filtration. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, 69(4): 334–339.
- Kukula, M., Kolarič, L., Šimko, P. (2020): Decrease of cholesterol content in milk by sorption onto β -cyclodextrin crosslinked by tartaric acid, considerations and implications. *Acta Chimica Slovaca*, 13(2): 1–6.
- Lordan, R., Tsoupras, A., Mitra, B., Zabetakis, I. (2018): Dairy Fats and Cardiovascular Disease: Do We Really Need to Be Concerned? *Foods*, 7(3): 29.
- Manzi, P., Di Costanzo, M. G., Mattera, M. (2013): Updating nutritional data and evaluation of technological parameters of Italian milk. *Foods*, 2: 254–273.
- Matencio, A., Navarro-Orcajada, S., García-Garmona, F., López-Nicolás, J. M. (2020): Applications of cyclodextrins in food science. A review. *Trends in Food Science & Technology*, 104: 132–143.
- Mohos, V., Faisal, Z., Fliszár-Nyúl, E., Szenté, L., Poór, M. (2022): Testing the extraction of 12 mycotoxins from aqueous solutions by insoluble beta-cyclodextrin bead polymer. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(1): 210–221.

Mollayusefian, I., Ranaei, V., Pilevar, Z., Cabral-Pinto, M.M., Rostami, A., Nematolahi, A., Khedher, K.M., Thai, V.N., Fakhri, Y., Khaneghah, A.M. (2021): The concentration of aflatoxin M1 in raw and pasteurized milk: A worldwide systematic review and meta-analysis. *Trends in Food Science & Technology*, 115: 22–30.

Morzycki, J.W. (2014): Recent advances in cholesterol chemistry. *Steroids*, 83: 62–79.

Naeimipour, F., Aghajani, J., Kojuri, S.A., Ayoubi, S. (2018): Useful approaches for reducing aflatoxin M1 content in milk and dairy products. *Biomedical and Biotechnology Research Journal*, 2(2): 94–99.

Sitárová, T. (2021): Spotreba potravín v SR v roku 2020. Štatistický úrad Slovenskej republiky, 30 s. ISBN 978-80-8121-827-9.

Szente, L., Szejtli, J. (2004): Cyclodextrins as food ingredients. *Trends in Food Science & Technology*, 15(3–4): 137–142.

Šimko, P., Kolarič, L. (2022): Decrease in aflatoxin M1 concentration in milk during cholesterol removal by application of β -cyclodextrin. *Toxins*, 14(6): 379.

Zampelas, A., Magriplis, E. (2019): New insights into cholesterol functions: A friend or enemy? *Nutrients*, 11: 1645.

Zunnurain, M. N., Baig, H. A. (2017): The effect of beta cyclodextrin on the removal of cholesterol from buffalo milk. *Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research*, 60(2): 87–91.

Kontaktní adresa / Contact Information: Ing. Lukáš Kolarič, PhD., Slovenská technická univerzita, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Ústav potravinárstva a výživy, Oddelenie potravinárskej technológie, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovensko, e-mail: lukas.kolaric@stuba.sk

PŮVODNÍ VERZE ČLÁNKU

VYUŽITIE B-CYKLODEXTRÍNU PRI
ODSTRAŇOVANÍ NEŽIADÚCICH
ZLOŽIEK Z MLIEKA

ORIGINAL VERSION OF THE ARTICLE

THE APPLICATION OF B-CYCLODEXTRIN
IN THE REMOVAL OF UNWANTED
COMPONENTS IN MILK

VYUŽITIE β -CYKLODEXTRÍNU PRI ODSTRÁŇOVANÍ NEŽIADÚCICH ZLOŽIEK Z MLIEKA

THE APPLICATION OF β -CYCLODEXTRIN IN THE REMOVAL OF UNWANTED COMPONENTS IN MILK

Lukáš Kolarič¹ – Peter Šimko¹

¹Ústav potravinárstva a výživy, Oddelenie potravinárskej technológie

Fakulta chemickej a potravinárskej technológie STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovensko

<https://doi.org/10.11118/978-80-7509-996-9-0161>



ABSTRAKT

β -cyklodextrín je široko používaný v potravinárskom priemysle ako potravinárska prídavná látka vďaka svojej jedinečnej vlastnosti tvorby inklúzných komplexov s rôznymi žiaducimi alebo nežiaducimi zložkami v potravinách. V poslednej dobe sa výskum zamerával aj na elimináciu nežiaducich chutí alebo zlúčenín, ako je cholesterol alebo kontaminanty z mlieka alebo mliečnych výrobkov. Naša štúdia skúma optimálne podmienky pre odstránenie cholesterolu, ako aj aflatoxínu M_1 z mlieka aplikáciou β -cyklodextrínu. Zistilo sa, že by bolo možné vyrábať mliečne výrobky so zníženým obsahom cholesterolu až o 98 %. Druhý experiment tiež ukázal, že aflatoxín M_1 môže byť tiež viazaný v dutine cyklodextrínu, účinnosť eliminácie dosiahla približne 40 %. Okrem toho dotazník odhalil, že 67,9 % respondentov by bolo ochotných konzumovať mliečne výrobky so zníženým obsahom cholesterolu. Možno teda konštatovať, že aplikácia β -cyklodextrínu môže zohrávať dôležitú úlohu pri zvyšovaní výživových a bezpečnostných hodnôt mlieka a mliečnych výrobkov.

Kľúčové slová: β -cyklodextrín, cholesterol, aflatoxín M_1 , mlieko, eliminácia

ABSTRACT

β -cyclodextrin is widely used in the food industry as a food additive due to its unique property of forming inclusion complexes with various desirable or unwanted components in food. Recently, research has also focused on the elimination of unwanted tastes or compounds, such as cholesterol or contaminants from milk or dairy products. Our study investigates the optimal conditions for the removal of cholesterol as well as aflatoxin M_1 in milk by the application of β -cyclodextrin. It was found that it would be possible to produce dairy products with a lowered cholesterol content of up to 98%. The second experiment also showed that aflatoxin M_1 can also be bound in the cyclodextrin cavity, the elimination rate reached about 40%. Furthermore, the questionnaire revealed that 67.9% of respondents would be willing to consume dairy products with a reduced cholesterol content. So, it can be concluded that the application of β -cyclodextrin can play an important role in the increase of nutritional and safety values of milk and dairy products.

Keywords: β -cyclodextrin, cholesterol, aflatoxin M_1 , milk, elimination

ÚVOD / INTRODUCTION

Konzumácia mlieka a mliečnych výrobkov zohráva dôležitú úlohu vo výžive ľudí už niekoľko rokov. Z najnovšej správy OECD-FAO Agricultural Outlook je zrejmé, že produkcia a spotreba mlieka bude každým rokom rásť, až o 1,6 % p. a. (na 997 Mt do sledovaného roku 2029), čo je rýchlejšie ako väčšina iných hlavných poľnohospodárskych komodít (OECD/FAO, 2020). Príjem mlieka a mliečnych výrobkov je vo všeobecnosti spájaný s prospešnými účinkami, ako znižovanie rizika určitých ochorení, najmä osteoporózy či cukrovky 2. typu. Na druhej strane, z dôvodu vysokého obsahu nasýtených mastných kyselín a cholesterolu je zvýšená spotreba týchto produktov tiež spájaná s vývinom srdcových ochorení, ako artériosklerózy či infarktu (Pereira, 2014). Cholesterol v surovom mlieku tvorí 0,25–0,40 % z celkových lipidov a je prítomný v membránach tukových guľčiek, tiež v jadre, ako aj v spojení s mliečnymi bielkovinami najmä v odstredenom mlieku (Shingla a Mehta, 2018). Epidemiologické štúdie potvrdili priamy vzťah medzi obsahom cholesterolu v krvi a množstvom cholesterolu prijímaného zo stravy (Chen et al., 2011). Odporúčaný denný príjem cholesterolu zo stravy je podľa WHO a FAO stanovený na 300 mg pre dospelú populáciu (Albuquerque et al., 2016).

Obsah cholesterolu v krvi môže byť znížený tiež dodržiavaním zdravej výživy napr. stredomorskej stravy, ale z dlhodobého hľadiska môže byť na priemyselnej báze významná výroba nízko-cholesterolových produktov (Kolarič a Šimko, 2022). Štatistická analýza preukázala, že nahradením mlieka a mliečnych výrobkov ich ekvivalentami so zníženým obsahom cholesterolu môže byť celkový denný príjem cholesterolu v slovenskej populácii znížený z 369,8 mg na 296,3 mg (Kukula et al., 2020). Metód pre redukciu obsahu cholesterolu v mlieku je niekoľko, avšak najviac selektívna je metóda naviazania cholesterolu do β -cyklodextrínovej (β -CD) dutiny. Okrem toho, tento postup eliminácie cholesterolu z mlieka alebo smotany je pomerne jednoduchý a nevyžaduje ďalšie nákladné zariadenia. Efektivita redukcie cholesterolu závisí najmä od koncentrácie β -CD, rýchlosti a času miešania a odstredovania či dobe odležania (Kolarič a Šimko, 2022).

Výrobky po odstránení cholesterolu pomocou β -CD si tiež zachovávajú svoju nutričnú hodnotu. Rozdiely v obsahu laktózy, krátko-reťazových mastných kyselín, voľných aminokyselín či vo vode rozpustných vitamínov boli po eliminácii cholesterolu zo smotany minimálne (Ha et al., 2010). Chuťové zlúčeniny a zrenie syrov neboli takisto ovplyvnené procesom redukcie obsahu cholesterolu v surovom mlieku (Kwak et al., 2003). Z reologického hľadiska sa pozorovali iba nepatrné zmeny v kvalite nízko-cholesterolového Camembert syra (Kim et al., 2008). Podľa autora Elwahsh (2018) boli tvrdosť, pružnosť a žuvateľnosť nízko-cholesterolového smotanového syra relatívne vyššie v porovnaní s kontrolnou vzorku.

Cieľom tohto príspevku je preto sledovanie zmien v textúrnych a farebných vlastnostiach mlieka a smotany spracovaných s β -CD pre elimináciu obsahu cholesterolu.

MATERIÁL A METODIKA / MATERIAL AND METHODS

Vzorky mlieka (3,5 % obsah tuku) a smotany (30 % obsah tuku) boli zakúpené v miestnom obchode. Pre odstraňovanie cholesterolu sa použil β -cyklodextrín z firmy Wacker Chemie AG, Burghausen, Nemecko (≥ 95.0 %, HPLC). Pre stanovenie zvyškového obsahu cholesterolu vo vzorkách sa používal chloroform p. a., n-hexán p. a., etanol p. a., bezvodý síran sodný p. a. a hydroxid draselný p. a. (Centralchem s.r.o., Bratislava, Slovensko). Pre HPLC analýzu bol použitý metanol a acetonitril HPLC triedy (Fisher Chemical, Loughborough, UK).

Cholesterol bol zo vzoriek odstraňovaný metodikou, ktorá je opísaná v predošlej štúdii (Kolarič a Šimko, 2021). Princípom postupu je miešanie vzorky mlieka resp. smotany (50 g) s β -CD v rôznych koncentráciách (0, 1, 1,5, 2, 2,5 a 3 % (w/w) pre mlieko, 3, 5, 8, 10 a 12 % (w/w) pre smotanu). Miešanie prebiehalo na magnetickom miešadle (Arex-6 Connect Pro, Velp Scientifica, Taliansko) pri rôznych rýchlostiach (480–840 rpm), časoch (5 – 30 min.) a teplotách (25, 30 a 40 °C). Nasledovalo odležanie vzoriek po dobu 30 min. pre smotanu a 120 min. pre mlieko. Potom sa usadený komplex β -CD s cholesterolom nechal odstrediť na odstredivke (Hettich Zentrifugen, Germany), kde sa opäť sledoval vplyv rôznych rýchlostí (800–2500 rpm) a časov (5–30 min.).

Stanovenie obsahu cholesterolu sa vykonávalo pomocou HPLC systému (Agilent Technologies 1260 Infinity system, USA) pri nasledovných podmienkach: mobilná fáza sa skladala z acetonitrilu a metanolu v pomere 60:40 (v/v), stacionárnu fázu tvorila nepolárna kolóna (Zorbax Eclipse Plus C₁₈ s rozmermi 2,1 x 50 mm a veľkosťou častíc 5 μ m) a predkolónka (Zorbax SB-C₁₈ s rozmermi 4,6 x 12,5 mm a veľkosťou častíc 5 μ m), objemový prietok mobilnej fázy bol nastavený na 0,5 ml/min., vstrekaný objem vzorky bol 10 μ l a celkový čas analýzy 5 min. (elučný čas cholesterolu v 2,2 min.). Pred HPLC analýzou sa cholesterol zo vzorky extrahoval do metanolu postupom, ktorý je uvedený v štúdii Kolarič a Šimko (2021).

Farba spracovaných vzoriek sa sledovala pomocou UV-VIS spektrofotometra (Cary 300, Agilent Technologies, USA). Vyhodnotenie prebiehalo na základe farebných súradníc podľa CIEL*a*b* systému, kde L* vyjadruje svetlosť vzoriek, a* červenosť a b* žltosť. Na základe týchto súradníc sa vypočítal celkový farebný rozdiel podľa rovnice:

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$$

Tvrdosť a konzistencia spracovaných vzoriek sa sledovala pomocou texturometra (TA.XT plus Texture Analyzer, Godalming, Surrey, UK). Na meranie daných parametrov sa použil test penetrácie sondy (36 mm okrúhla sonda P/36R) do vzorky, pričom vzorka spracovaného mlieka resp. smotany (25 ml) bola umiestnená v kadičke centrálne pod sondou. Rýchlosť testu bola 1,00 mm/s pri cieľovej vzdialenosti 10,0 mm.

Štatistické vyhodnotenie výsledkov sa uskutočňovalo pomocou programu Microsoft Excel 365 (version 2012, Microsoft, USA) a štatistická významnosť sa počítala pomocou jednofaktorovej ANOVA analýzy.

VÝSLEDKY A DISKUSIA / RESULTS AND DISCUSSION

Výsledky pre sledovanie zmien pevnosti a konzistencie mlieka a smotany po spracovaní s rôznymi koncentraciami β -CD sú uvedené v tabuľke 1. Podmienky odstraňovania cholesterolu boli pre mlieko nasledovné: miešanie pri 840 rpm, 10 min., a 25 °C, odležanie 120 min., a odstred'ovanie pri 1100 rpm, 20 min. Pri smotane sa použila rýchlosť miešania 480 rpm po dobu 20 min., a pri 40 °C, odležanie 30 min. a odstred'ovanie pri 2000 rpm, 20 min. Okrem toho sú v tabuľke ukázané aj konečné percentá odstránenia cholesterolu, z ktorých vyplýva, že pri použití už iba 1,5 % β -CD sa podarilo eliminovať 99,4 % cholesterolu.

Táto metodika je preto účinná na výrobu takmer úplne bez-cholesterolového mlieka. V prípade smotany sa podarilo odstrániť najviac 94,3 % cholesterolu pri použití 5 % β -CD. Tieto výsledky sú podobné resp. o niečo vyššie v porovnaní s inými štúdiami, napr. Alonso a kol. (2018) odstránili 97,6 % cholesterolu z mlieka použitím 1 % β -CD, Zunnurain a Baig (2017) pri 1,5 % β -CD odstránili 89,3 % cholesterolu a Elwahsh (2018) uvádza, že pri 10 % β -CD sa podarilo eliminovať 91,1 % cholesterolu zo smotany. Z hľadiska sledovania zmien pevnosti mlieka sa zistilo, že po spracovaní s β -CD sa hodnoty mierne zvýšili, pričom štatistické významné rozdiely pri 1 % hladine významnosti sa pozorovali pri prídavku 2 % β -CD. Pri konzistencii mlieka sa významné rozdiely nepozorovali. Podľa autorov Galante a kol. (2017) spôsobilo odstránenie cholesterolu z mlieka, že výsledný mäkký syr vyrobený zo štandardného mlieka mal vyššiu pevnosť, čo si vysvetľujú slabou tvorbou zrazeniny v dôsledku procesu homogenizácie s β -CD, ktorý spôsobuje väčšiu disperziu tukových guľôčok v tvarohu a zníženie množstva voľného kazeínu dostupného na tvorbu kazeínovej siete. Mierne rozdiely sa pozorovali aj v prípade spracovania smotany, pričom štatisticky významné rozdiely na 1 % hladine významnosti sa pozorovali v pevnosti aj konzistencii pri všetkých prídavkoch β -CD okrem 5 % β -CD. O niečo nižšie hodnoty spracovaných vzoriek smotany môžu byť spôsobené aj skutočnosťou, že sa používala vyššia teplota miešania (40 °C), pri ktorej dochádza k topeniu mliečnych lipidov. Vo všeobecnosti ide ale konštatovať, že hodnoty pevnosti aj konzistencie bez-cholesterolového mlieka a smotany neboli veľmi rozdielne od hodnôt pre štandardné vzorky. Významné rozdiely v textúrnych parametroch sa však nepozorovali v prípade rozdielných podmienok miešania či odstred'ovania (tabuľka 2). Z toho vyplýva, že podmienky spracovania mlieka či smotany s β -CD nemajú vplyv na výsledné hodnoty pevnosti a konzistencie.

Tabuľka 1: Vplyv odstraňovania cholesterolu z mlieka a smotany pomocou rôznych koncentrácií β -CD na hodnoty pevnosti a konzistencie

Mlieko			
Množstvo pridaného β -CD ^a [%]	Pevnosť [g]	Konzistencia [g.sec]	Percento odstráneného cholesterolu [%]
0,0	33,73 \pm 0,18	245,10 \pm 1,20	-
1,0	34,17 \pm 0,14	245,82 \pm 1,37	96,4 \pm 0,5
1,5	34,37 \pm 0,09	246,16 \pm 2,04	99,4 \pm 0,5
2,0	34,12 \pm 0,22*	244,63 \pm 1,32	99,3 \pm 0,5
2,5	34,06 \pm 0,27	245,06 \pm 0,88	98,0 \pm 0,4
Smotana			
Množstvo pridaného β -CD ^b [%]	Pevnosť [g]	Konzistencia [g.sec]	Percento odstráneného cholesterolu [%]
0,0	33,79 \pm 0,13	243,92 \pm 0,57	-
3,0	33,22 \pm 0,07*	240,82 \pm 0,68*	92,6 \pm 0,3
5,0	33,21 \pm 0,30	239,95 \pm 1,36	94,3 \pm 0,3
8,0	33,24 \pm 0,04*	240,82 \pm 0,68*	86,5 \pm 0,3
10,0	33,00 \pm 0,17*	238,93 \pm 0,90*	85,8 \pm 0,4

Pozn.: β -CD- β -cyklodextrín, výsledky sú uvádzané v tvare priemer \pm smerodajná odchýlka, n = 4

*štatisticky významné rozdiely pre $p > 0,01$

^a ďalšie podmienky spracovania: miešanie 840 rpm, 10 min., 25 °C, odstred'ovanie 1100 rpm, 20 min.

^b ďalšie podmienky spracovania: miešanie 480 rpm, 20 min., 40 °C, odstred'ovanie 2000 rpm, 20 min.

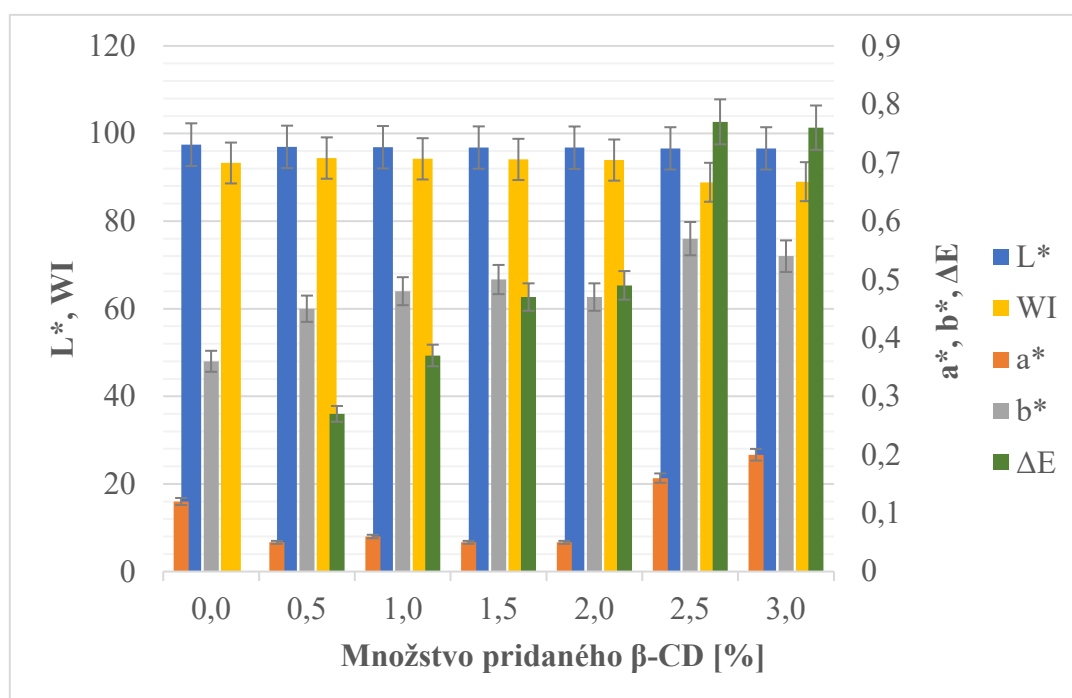
Tabuľka 2: Sledovanie vplyvu podmienok spracovania vzoriek mlieka a smotany s β -CD na hodnoty pevnosti a konzistencie

Mlieko			Smotana		
Rýchlosť miešania [rpm]	Pevnosť [g]	Konzistencia [g.sec]	Rýchlosť miešania [rpm]	Pevnosť [g]	Konzistencia [g.sec]
600	34,29 \pm 0,19	245,47 \pm 0,74	360	33,51 \pm 0,38	241,84 \pm 1,33
720	34,01 \pm 0,15	243,84 \pm 0,20	480	33,31 \pm 0,29	240,94 \pm 1,19*
840	34,12 \pm 0,22	244,63 \pm 1,32	600	33,51 \pm 0,37*	242,07 \pm 1,46*
960	34,82 \pm 1,09	248,92 \pm 2,64	720	33,65 \pm 0,40*	242,24 \pm 0,99*
Čas miešania [min.]			Čas miešania [min.]		
5	33,70 \pm 0,21*	243,30 \pm 0,37	5	33,36 \pm 0,18	240,89 \pm 0,85
10	34,12 \pm 0,22	244,63 \pm 1,32	10	33,76 \pm 0,60	243,02 \pm 3,42
20	33,83 \pm 0,40	243,03 \pm 0,44	20	33,31 \pm 0,29	240,94 \pm 1,19
30	33,75 \pm 0,37	242,60 \pm 1,51	30	34,34 \pm 0,10*	245,66 \pm 0,55*
Teplota miešania [°C]			Teplota miešania [°C]		
25	34,12 \pm 0,22	244,63 \pm 1,32	25	35,10 \pm 0,52*	246,34 \pm 2,25*
40	35,28 \pm 0,48*	248,59 \pm 0,82*	40	33,31 \pm 0,29	240,94 \pm 1,19
50	35,09 \pm 0,58*	249,72 \pm 1,32*	50	33,52 \pm 0,10	242,13 \pm 0,49
Rýchlosť odstred'ovania [rpm]			Rýchlosť odstred'ovania [rpm]		
800	34,07 \pm 0,39	244,17 \pm 1,13	1500	34,10 \pm 0,76	241,80 \pm 3,16
1100	34,12 \pm 0,22	244,63 \pm 1,32	1800	34,15 \pm 0,60*	243,79 \pm 2,90
1500	34,11 \pm 0,17	244,61 \pm 1,69	2000	33,31 \pm 0,29	240,94 \pm 1,19
2000	34,66 \pm 0,60	247,03 \pm 1,84	2500	34,17 \pm 0,10*	244,11 \pm 1,06
Čas odstred'ovania [min.]			Čas odstred'ovania [min.]		
5	34,33 \pm 0,08	244,30 \pm 1,46	5	33,19 \pm 0,17	239,37 \pm 0,75
10	34,01 \pm 0,05	244,02 \pm 0,65	10	33,04 \pm 0,10	239,85 \pm 0,58
20	34,12 \pm 0,22	244,63 \pm 1,32	20	33,31 \pm 0,29	240,94 \pm 1,19
30	34,25 \pm 0,26	246,47 \pm 0,57	30	34,72 \pm 0,31*	246,34 \pm 1,36*

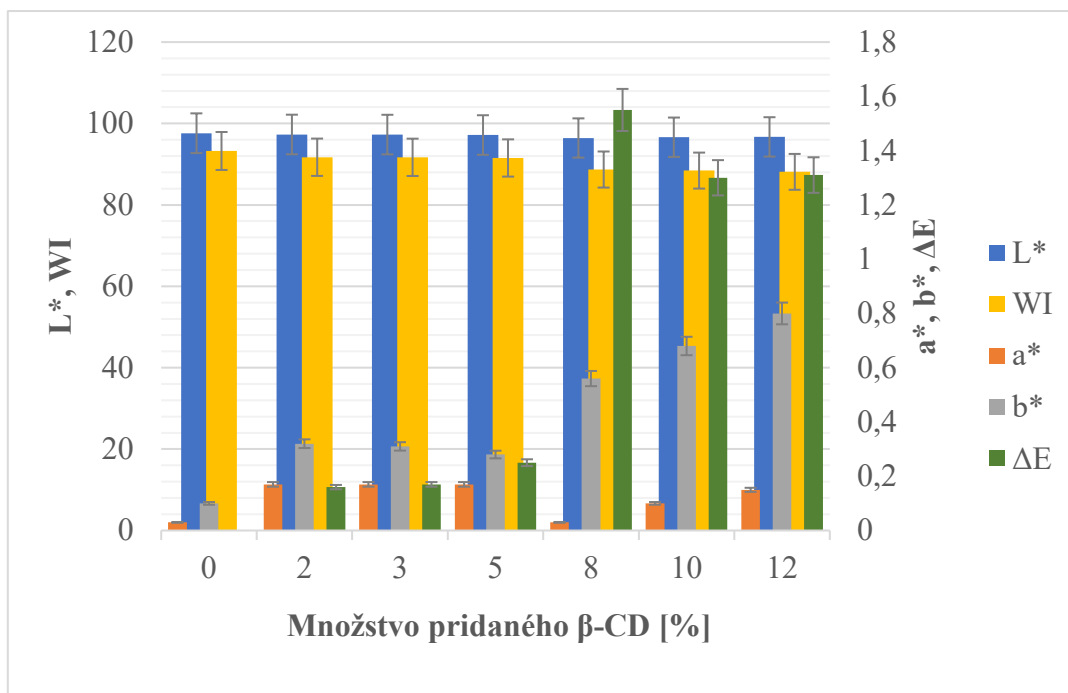
Pozn.: β -CD- β -cyklodextrín, výsledky sú uvádzané v tvare priemer \pm smerodajná odchýlka, n = 4

*štatisticky významné rozdiely pre p > 0,01 porovnávané s optimalizovanými podmienkami, pre mlieko miešanie 840 rpm, 10 min., 25 °C, odstred'ovanie 1100 rpm, 20 min., β -CD 1,5 % a pre smotanu miešanie 480 rpm, 20 min., 40 °C, odstred'ovanie 2000 rpm, 20 min., β -CD 5 %

Vplyv koncentrácie β -CD na výslednú farbu bez-cholesterolového mlieka a smotany je vyobrazený na obrázku 1 resp. 2. Farba sa sledovala pre 4 rôzne parametre, L^* ako ukazovateľ svetlosti, a^* pre červenosť, b^* pre žltosť a celkový index belosti (WI). V prípade mlieka sa ukázalo, že hodnota svetlosti klesla iba nepatrne z 97,46 (štandardné mlieka) na 96,61 (3 % β -CD), vyššie štatisticky významné rozdiely pre $p > 0,01$ sa však pozorovali pre hodnoty a^* súradnice, čo mohlo mať aj za následok pokles celkového WI z 93,27 na 89,01 (3 % β -CD). Vo všeobecnosti ale ide konštatovať, že pri prídavku, kde sa pozoruje najvyššia účinnosť odstraňovania cholesterolu (1,5 % β -CD) sa významné rozdiely nepotvrdili. Dôležitým ukazovateľom je najmä ΔE parameter, kde síce je možné vidieť, že s rastúcou koncentráciou β -CD sa zvyšujú ΔE , avšak iba na 0,76. Podľa Tazart a kol. (2016) sa vizuálne rozdiely dajú pozorovať až pri hodnotách ΔE viac ako 5, takže s výsledkov tejto práce je evidentné, že odstraňovaním cholesterolu z mlieka pomocou β -CD sa nepozorujú farebné rozdiely. Veľmi podobné výsledky sa získali aj pre smotanu, kde sa tiež pozoroval najmä pokles vo WI (z 93,25 pre štandardnú smotanu na 88,12 pri 12 % prídavku β -CD). 12 % prídavok β -CD spôsobil aj o niečo vyšší ΔE (1,31), avšak pri 5 % β -CD (kde je najvyššia účinnosť eliminácie cholesterolu) bola hodnota ΔE iba 0,25. Významný vplyv na zmenu farby mlieka nepotvrdili ani Gianni a kol. (2020). Proces odstraňovania cholesterolu zo smotany tiež neovplyvňoval typickú farbu kravského ghee masla (Bhatia a kol., 2019).



Obrázok 1: Vplyv spracovania mlieka s rozdielnym množstvom pridaného β -CD na zmenu farby



Obrázok 2: Vplyv spracovania smotany s rozdielnym množstvom pridaného β -CD na zmenu farby

ZÁVER / CONCLUSIONS

Cieľom tohto príspevku bolo sledovanie textúrnych a farebných zmien vplyvom odstraňovania cholesterolu z mlieka a smotany pomocou β -cyklodextrínu. Výsledky práce ukázali, že v prípade pevnosti a konzistencie spracovaného mlieka a smotany sa síce pozorovali isté odchýlky od štandardného mlieka a smotany v závislosti od použitého množstva β -CD, avšak rozdiely boli iba minimálne. Okrem toho, štatisticky významné rozdiely pre $p > 0,01$ sa nepotvrdili pri 1,5 % a 5 % β -CD pre mlieko a smotanu, čo sú koncentrácie, pri ktorých sa pozorujú najvyššie účinnosti eliminácie cholesterolu. Rozdielne podmienky spracovania mlieka a smotany s β -CD už neovplyvňovali výsledné hodnoty pevnosti a konzistencie. Mierne odchýlky sa pozorovali aj v prípade farebných charakteristík, avšak parametre ΔE dosahovali iba minimálne hodnoty, takže žiadne rozdiely sa nedokážu vizuálne pozorovať. Z výsledkov práce teda vyplynulo, že okrem toho, že β -CD je excelentným sorbentom pre odstraňovanie cholesterolu z mlieka a smotany, tak nedochádza k zmene dôležitých textúrnych a farebných vlastností výsledných produktov.

POĎAKOVANIE / ACKNOWLEDGEMENT

Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-22-0102 a APPV-18-0061.

LITERATURA/REFERENCES

- Albuquerque, T. G., Oliveira, M. B. P. P., Sanches-Silva, A. Costa, H. S. (2016): Cholesterol determination in foods: Comparison between high performance and ultra-high performance liquid chromatography. Food Chemistry, 193: 18–25.
- Alonso, L., Fox, P. F., Calvo, M. V., Fontecha, J. (2018): Effect of beta cyclodextrin on the reduction of cholesterol in ewe's milk manchego cheese. Molecules, 23:1789.

- Bhatia, P., Sharma, V., Arora, S., Rao, P. S. (2019): Effect of cholesterol removal on compositional and the physicochemical characteristics of anhydrous cow milk fat (cow ghee). *International Journal of Food Properties*, 22:1–8.
- Elwahsh, N. A. A. (2018): Manufacture of cholesterol-reduced double cream cheese from buffalo's milk. *Journal of Food and Dairy Sciences*, 9:395–398.
- Galante, M., Pavón, Y., Lazzaroni, S., Soazo, M., Costa, S., Boeris, V., Risso, P., Rozycki, S. (2017): Effect of cholesterol-reduced and zinc fortification treatments on physicochemical, functional, textural, microstructural and sensory properties of soft cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 70: 533–541.
- Gianni, D. E., Jorcin, S., Lema, P., Olazabal, L., Medrano, A., Lopez-Pedemonte, T. (2020): Effect of ultra-high pressure homogenization combined with β -cyclodextrin in the development of a cholesterol-reduced whole milk. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44:14845.
- Ha, H. J., Lee, J. E., Chang, Y. H., Kwak, H.-S. (2010): Entrapment of nutrients during cholesterol removal from cream by crosslinked β -cyclodextrin. *International Journal of Dairy Technology*, 63:119–126.
- Chen, Z. Y., Ma, K. Y., Liang, Y., Peng, C., Zuo, Y. (2011): Role and classification of cholesterol-lowering functional foods. *Journal of Functional Foods*, 3: 61–69.
- Kim, S. Y., Bae, H. Y., Kim, H. Y., Ahn, J., Kwak, H. S. (2008): Properties of cholesterol-reduced camembert cheese made by crosslinked β -cyclodextrin. *International Journal of Dairy Technology*, 61:364–371.
- Kolarič, L., Šimko, P. (2021): The effect of treatment conditions on color characteristics and measure of cholesterol removal from milk by beta-cyclodextrin application. *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 15:192–198.
- Kolarič, L., Šimko P. (2022): Application of β -cyclodextrin in the production of low-cholesterol milk and dairy products. *Trends in Food Science & Technology*, 119: 13-22.
- Kukula, M., Kolarič, L., Šimko, P. (2020): Decrease of cholesterol content in milk by sorption onto β -cyclodextrin crosslinked by tartaric acid, considerations and implications. *Acta Chimica Slovaca*, 13:1–6.
- Kwak, H. S., Jung, C. S., Seok, J. S., Ahn, J. (2003): Cholesterol removal and flavor development in cheddar cheese. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 16: 409–416.
- OECD-FAO (2020): OECD-FAO Agricultural Outlook 2020-2029. FAO, Rome/OECD Publishing, Paris. ISBN 978-92-64-58295-8 (pdf).
- Pereira, P. C. (2014): Milk nutritional composition and its role in human health. *Nutrition*, 30: 619–627.
- Shingla, K. M., Mehta, B. M. (2018): Cholesterol and its oxidation products: Occurrence and analysis in milk and milk products. *International Journal of Health, Animal science and Food safety*, 5: 13–39.

Tazart, K., Lamacchi, C., Zaidi, F., Haros, M. (2016): Nutrient composition and in vitro digestibility of fresh pasta enriched with Vicia faba. Journal of Food Composition and Analysis, 47:8–15.

Zunnurain, M. N., Baig, H. A. (2017): The effect of beta cyclodextrin on the removal of cholesterol from buffalo milk. Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research, 60: 87–91.

Kontaktná adresa / Contact Information: Ing. Lukáš Kolarič, PhD., Slovenská technická univerzita, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Ústav potravinárstva a výživy, Oddelenie potravinárskej technológie, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovensko, e-mail: lukas.kolaric@stuba.sk