

K problematike vhodnej metódy extrakcie mliečneho tuku

B. KRKOŠKOVÁ, H. CRKOŇOVÁ

Mliečny tuk je v mlieku a v smotane prítomný vo forme tukových gulôčok s priemerom 3—6 μm , ktoré sú obalené adsorpčnou vrstvou, pozostávajúcou z fosfolipidov a lipoproteínov, udržiavajúcou tukové gulôčky vo viac alebo menej stabilnej suspenzii. Pri zvyčajných metódach určovania tuku v mlieku a v smotane sa na deštrukciu proteínovej časti membrány tukových gulôčok, ako aj na rozrušenie ostatných bielkovín používa var vzorky s kyselinou chlorovodíkovou (Weibullova-Stoldtova metóda), rozpúšťanie v ca 25 % amoniaku (postup Roseho-Gottlieb) alebo pretrepávanie s koncentrovanou kyselinou sírovou (Gerberova, resp. Babcockova metóda). Pri všetkých týchto postupoch nastáva zahriatie vzorky, čo môže nepriaznivo ovplyvniť určenie ukazovateľov oxidatívnych zmien v takto extrahovanom tuku.

Pri štúdiu problematiky vplyvu rýchlosti zmrazovania a skladovacej teploty na oxidáciu tuku a zmeny štruktúry smotany sme zistili v niektorých vzorkách mimoriadne vysoké hodnoty peroxidových čísel. V paralelnom pokuse, keď sme na izoláciu tuku použili metódu extrakcie zmesou rozpúšťadiel chloroform-metanol za studena, zistili sme nižšie hodnoty ukazovateľov oxidatívnych zmien tuku [1]. Tento jav sme hlbšie študovali, aby sme zistili vplyv použitého spôsobu extrakcie na hodnoty ukazovateľov oxidatívnych zmien tuku. Venovali sme sa výberu vhodnej extrakčnej metódy za studena a sledovali sme účinnosť extrakcie pri jednotlivých použitých metódach.

V uvedenom pokuse sme na získanie mliečneho tuku zo smotany použili metódu extrakcie zmesou chloroform-metanol, ktorá sa bežne používa na extrahovanie lipidov mäsa a mäsových výrobkov [2]. Kuzdzal-Savoie a i. [3] sledovali metódu extrakcie tuku z mlieka, resp. sušeného mlieka a zistili, že Gerberov, Schmidov-Bodzynského-Ratzlaffov, Roseho-Gottliebov spôsob neboli vhodné. Odporúčajú Emeryho-Schwartzovu metódu alebo dlhodobú extrakciu etanolom.

V ďalšom pokuse sme na extrakciu tuku zo smotany aplikovali po úprave Emeryho-Schwartzovu metódu. Aby sme rozšírili paletu použiteľných metód, použili sme v nasledujúcich pokusoch aj metódu získavania tuku podľa Tramela a Jansena [4].

Vplyv použitej extrakčnej metódy na hodnoty ukazovateľov oxidatívnych zmien tuku sme sledovali aj na vzorkách filtrovaného mliečneho tuku z masla.

Túto časť pokusov sme robili najmä preto, aby sme mali možnosť porovnať úplnosť extrakcie mliečnych lipidov zo smotany a zistiť prípadný vplyv nedokonalnej extrakcie niektorých zložiek.

Keďže sme sa v uvedenej práci zaoberali výberom vhodného postupu analýzy, ktorou by sa zvýšila spoľahlivosť a hodnovernosť konečných výsledkov, bolo potrebné získané výsledky vyhodnotiť použitím matematicko-štatistických metód. Pri jednotlivých postupoch sme vypočítali smerodajnú odchýlku S_x a mieru presnosti metódy M . Okrem toho sme jednotlivé extrakčné postupy vzájomne porovnali metódou testovania rozdielu medzi priermi pre párové hodnoty [7].

Použitá metodika a usporiadanie pokusov

Ako materiál na určenie účinnosti extrakcie a vplyvu extrakcie pri sledovaní oxidatívnych zmien tuku sme použili čerstvú smotanu s predpokladaným obsahom tuku okolo 40 %. Na sledovanie oxidácie tuku sme čerstvú smotanu skladovali v chladničke 21 dní pri $+5^\circ\text{C}$, kontaktne zmrazenú smotanu 5 dní pri $+20^\circ\text{C}$ a 15 dní pri $+5^\circ\text{C}$. Pri sledovaní oxidatívnych zmien filtrovaného maslového tuku sme použili vzorku masla zmrazeného kvapalným dusíkom po 9-mesačnom skladovaní pri -18°C a vzorku masla zmrazeného voľne po 5-mesačnom skladovaní pri -18°C .

Na zistenie najúčinnnejšieho spôsobu izolácie tuku z použitého materiálu sme vyskúšali viaceré metódy teplej a studenej extrakcie. Zamerali sme sa najmä na extrakciu tuku za studena, ktorá vylučuje možnosť chemických zmien tuku pôsobením vyšších teplôt. Použili sme tieto metódy:

1. teplá extrakcia éterom podľa Weibulla-Stoldta [5],

2. studená extrakcia tuku,

- a) zmesou chloroform-metanol [2],

- b) zmesou hexán-metanol podľa Emeryho-Schwartza [3] (10 g smotany sme zriedili 15 ml metanolu a extrahovali 3-krát 25 ml hexánu. Hexánový extrakt sme filtrovali cez nuž S_2),

- c) zmesou éter-petroléter podľa Tramela a Jansena [4].

Pri výbere ukazovateľov oxidatívnych zmien tuku sme vychádzali z predchádzajúcich prác, v ktorých sme zistili najlepšiu zhodu organoleptického hodnotenia s chemickým pri použití feritiokyanátového-peroxidového testu a určenia tiobarbitúrového čísla. V tuku získanom teplou i studenou extrakciou zo vzoriek smotany a masla sme paralelne ako najcharakteristickejšie ukazovatele sledovali:

1. peroxidové číslo, ktoré sme určili dvoma metódami:

- a) podľa Wheelera [5] — výsledky udávame v mmol O_2/kg tuku;

- b) kolorimetricky [2] — v prítomnosti peroxidov prebieha oxidácia iónov Fe^{2+} na ióny Fe^{3+} , ktoré sa stanovia roztokom rodanidu amónneho. Červené sfarbenie vzniknutého tiokyanátu železitého sme merali pri 505 nm a z jeho intenzity sme určili množstvo peroxidov v mval O_2/g tuku;

2. tiobarbitúrové číslo sme určovali:

- a) metódou podľa Pazlara [2], t. j. v prostredí chloroformu meraním extinkcie pri 450 nm a 530 nm. Výsledky sú uvedené v prepočte na extinkciu 1 g tuku v 1 cm kyvete;

b) destilačnou metódou podľa Sedláčka [6] — výsledky udávame ako extinkciu pri 530 nm v 1 cm kyvete.

Na porovnanie použitých metód sme pomocou matematickoštatistického aparátu vypočítali pre jednotlivé postupy smerodajnú odchýlku a mieru presnosti metódy. Ako kritérium hodnotenia korelácie medzi sledovanými veličinami sme použili metódu testovania rozdielu medzi priemermi pre párové hodnoty [7].

Výsledky a diskusia

V tab. 1 sú výsledky určovania obsahu tuku v smotane klasickou metódou extrakcie éterom za tepla a metódou studenej extrakcie zmesou chloroform-metanol. Pri studenej extrakcii sme vzorky sledovali v rôznych intervaloch sušenia po odparení rozpúšťadiel a po opätovnej extrakcii zvyšku éterom. Po jedn hodinovom sušení sme použitím studenej extrakcie získali v porovnaní s teplou extrakciou o 5,7 % vyššie hodnoty. Po dvojhodinovom sušení sa tento rozdiel znížil na 1,1 %. Aj smerodajná odchýlka a miera presnosti metódy sa významne zmenili. Určenie nepatrne vyššieho obsahu tuku metódou studenej extrakcie zmesou chloroform-metanol vysvetľujeme možnosťou extrakcie membránových lipoproteínov. Tuk vyextrahovaný za studena sme po dvojhodinovom sušení znovu extrahovali éterom, aby sme zistili podiel nerozpustný v éteri. Takto zistený obsah tuku sa líšil od pôvodného o 4,5 %.

Tab. 1. Určenie obsahu tuku v smotane

Vzorka	Teplá extrakcia éterom	Studená extrakcia zmesou chloroform-metanol		
		obsah tuku [%]		
		po sušení 1 hod. pri 105 °C	po sušení 2 hod. pri 105 °C	po extrakcii zvyšku éterom
1	34,781	32,527	32,035	28,691
2	34,609	42,200	38,413	32,060
3	35,450	42,278	36,826	31,239
4	34,873	42,712	33,507	
5	35,218	43,723	39,840	34,391
\bar{x}	34,986	40,688	36,124	31,595
S_x	0,341	9,205	3,283	2,353
M	$\pm 2,924$	$\pm 67,870$	$\pm 27,264$	$\pm 22,342$

Na dokonalejšie vyskúmanie vplyvu netukových zložiek na zistené hodnoty obsahu tuku sme túto metódu extrakcie aplikovali na filtrovaný tuk z masla (výsledky sú uvedené v tab. 4). Pri porovnaní s hodnotami obsahu tuku získanými postupom teplej extrakcie sme zistili o 2 % nižší obsah tuku. Smerodajná odchýlka a miera presnosti metódy bola v prípade filtrovaného tuku veľmi dobrá a zhodovala sa so smerodajnou odchýlkou a mierou presnosti metódy extrakcie za tepla. Na základe výsledkov získaných pri tomto postupe určenia obsahu tuku v smotane a vo filtrovanom tuku možno jednoznačne povedať, že studená extrakcia zmesou chloroform-metanol je významne ovplyvnená prítomnými lipoproteínovými zložkami. Miera presnosti určenia sa výrazne zmenila podľa druhu vzorky a je pri tuku rádovo 10-krát lepšia.

V tab. 2 sú výsledky určenia obsahu tuku v smotane pri použití ďalších

Tab. 2. Určenie obsahu tuku v smotane

Vzorka	Obsah tuku [%] po sušení 1 hod. pri 105 °C		
	studená extrakcia hexán-metanol	studená extrakcia éter-petroléter	teplá extrakcia éterom
1	23,836	37,615	37,729
2	16,951	37,060	37,572
3	6,917	37,346	37,651
\bar{x}		37,343	37,651
S_x		0,278	0,111
M		$\pm 2,233$	$\pm 0,885$

Tab. 3. Výsledky určenia obsahu tuku v smotane dvoma metódami a ich vzájomné porovnanie

Vzorka	Druh extrakcie	\bar{x}	S_x	M	t_d	$t_{0,05}$
Smotana I	teplá extrakcia éterom	34,986	0,341	$\pm 2,924$	0,798	2,776
	studená extrakcia chloroform- -metanol	36,124	3,283	$\pm 27,261$		
Smotana II	teplá extrakcia éterom	37,651	0,111	$\pm 0,885$	2,701	4,303
	studená extrakcia éter-petroléter	37,343	0,278	$\pm 2,233$		

Tab. 4. Určenie obsahu tuku vo filtrovanom tuku z masla

Vzorka	Obsah tuku [%] po sušení 1 hod. pri 105 °C	
	teplá extrakcia éterom	studená extrakcia chloroform-metanol
1	99,060	96,770
2	99,845	97,770
\bar{x}	99,453	97,270
S_x	0,555	0,707
M	$\pm 1,654$	$\pm 2,181$

postupov studenej extrakcie, a to modifikovanej Emeryho-Schwartzovej metódy a metódy podľa Tramela a Jansena. Obsah tuku zistený týmito postupmi sa opäť porovnal s obsahom tuku zisteným klasickou metódou extrakcie za tepla. Pri modifikovanom postupe podľa Emeryho-Schwartzu sa vzorka po zriedení metanolom extrahuje hexánom. Táto metóda bola vypracovaná na určenie tuku v sušenom mlieku a nepodarilo sa nám napriek rôznym modifikáciám postupu prispôbiť ju vhodne pre vzorku s vysokým obsahom tuku v porovnaní s mliekom. Pri extrakcii hexánom sa utvorila hustá, mazlavá zmes, z ktorej sa jednotlivé fázy ťažko oddeľovali. Výsledky určenia obsahu tuku týmto postupom boli natoľko odlišné a obsah tuku kolísal v takých veľkých rozmedziach, že sme túto metódu štatisticky nevyhodnotili a na určenie obsahu tuku v smotane vylúčili.

Metóda podľa Tramela a Jansena sa ukázala zo všetkých použitých postupov studenej extrakcie najvhodnejšia. Výsledky sú vo veľmi dobrej zhode s výsledkami klasickej metódy určenia obsahu tuku. Aj presnosť metódy je výrazne lepšia ako pri potsupe extrakcie zmesou chloroform-metanol a je blízka presnosti určenia obsahu tuku extrakciou za tepla.

V tab. 3 je štatistické zhodnotenie použitých metód určenia obsahu tuku v smotane. Ako kritérium hodnotenia korelácie medzi sledovanými veličinami sme použili metódy testovania rozdielu medzi priemerami pre párové hodnoty. V prvej časti tabuľky sú porovnané výsledky získané extrakciou tuku éterom po hydrolýze s výsledkami studenej extrakcie zmesou chloroform-metanol. Podľa testu štatistickej významnosti rozdielu medzi priemerami je na 5 % hladine významnosti diferencia medzi týmito dvoma metódami bezvýznamná.

V druhej časti tabuľky je porovnanie metódy studenej extrakcie podľa Tramela a Jansena s metódou extrakcie tuku éterom po hydrolýze. Test štatistickej významnosti rozdielu medzi priemerami pre párové hodnoty pri určení obsahu tuku uvedenými metódami ukázal, že tento rozdiel je na 5 % hladine významnosti bezvýznamný.

Na základe výsledkov získaných jednotlivými metódami možno konštato-

vať, že vhodný postup extrakcie tuku zo smotany za studena, bez predbežnej hydrolýzy, dáva výsledky, ktoré sú v dobrej zhode s výsledkami klasickej metódy extrakcie éterom po hydrolýze. Z preskúšaných metód extrakcie za studena sa ako dobre použiteľné ukázali dve metódy, a to extrakcia zmesou chloroform-metanol a postup podľa Tramela a Jansena. Metódu podľa Tramela a Jansena možno pokladať za vhodnejšiu, lebo je presnejšia a zistené hodnoty obsahu tuku majú menšiu smerodajnú odchýlku.

V ďalšej práci sme sa zamerali na sledovanie vplyvu spôsobu extrakcie tuku na hodnoty ukazovateľov oxidatívnych zmien tuku. Ako sme už uviedli pri štúdiu vplyvu rýchlosti zmrazovania a skladovacej teploty na oxidáciu tuku, zistili sme rozdielne hodnoty ukazovateľov oxidatívnych zmien pri rozličných použitých spôsoboch extrakcie tuku. V tab. 5 sú výsledky sledovania oxidácie

Tab. 5. Výsledky určenia ukazovateľov oxidatívnych zmien tuku

Vzorka č. Určenie	Teplá extrakcia éterom			Studená extrakcia chloroform-metanol		
	1	2	3	1	2	3
P. č. podľa Wheelera [mmol O ₂ /kg tuku]	0,86	12,32	14,80	—	0,39	0,30
P. č. kolorimetricky [mval. O ₂ /g tuku]	0,026	2,517	1,966	—	0,004	0,008
TBČ podľa Pazlara 450 nm	29,63	6,95	10,52	24,55	0,83	1,16
[E _{1cm} ^{1g}] 530 nm	16,87	3,44	15,55	6,34	—	0,11
TBČ destilačne [E ₅₃₀]		0,105	0,412	0,018	0,012	0,004

Vzorky smotany: 1. nezmrazená, skladovaná v chladničke 21 dní pri +5 °C,
2. kontaktne zmrazená, skladovaná 5 dní pri +20 °C,
3. kontaktne zmrazená, skladovaná 15 dní pri +5 °C.

tuku vo vzorkách smotany po studenej extrakcii tuku zmesou chloroform-metanol a po extrakcii éterom po predchádzajúcej hydrolýze. Na sledovanie sme použili vzorky smotany skladovanej 21 dní pri +5 °C a vzorky smotany zmrazenej v kontaktnom zmrazovači a skladované 5 dní pri laboratórnej teplote, resp. 15 dní pri teplote +5 °C. Vplyv použitého spôsobu extrakcie tuku sa na hodnotách ukazovateľov oxidatívnych zmien tuku prejavil veľmi výrazne. Pri určení peroxidového čísla podľa Wheelera sa pri použití teplej extrakcie získali hodnoty rádovo 10-násobne vyššie. Pri kolorimetrickej metóde určenia peroxidového čísla, ktorá je citlivejšia, je tento vplyv ešte preukaznejší. Pri určení tiobarbitúrového čísla sa pri oboch použitých metódach zistilo približne 10-násobné zvýšenie zistených hodnôt tohto ukazovateľa. Výnimkou je vzorka nezmrazenej smotany, skladovaná pri +5 °C, kde sa hodnota tiobarbitúrového čísla v dôsledku teplej extrakcie zvýšila o 20 %, resp. o 60 %.

Vplyv extrakcie sme sledovali aj na vzorkách filtrovaného mliečneho tuku,

získaného z masla skladovaného 9 mesiacov pri -18°C po zmrazení dusíkom a z voľne zmrazeného masla skladovaného 5 mesiacov pri -18°C (výsledky sú v tab. 6). Získali sme podobné výsledky ako pri smotane. Vplyv teplej extrakcie sa výrazne prejavil pri sledovaní peroxidového čísla, a to opäť viac pri použití kolorimetrického určenia. Pri vzorke zmrazenej dusíkom sme zistili najnižšiu hodnotu peroxidového čísla i najmenší vplyv spôsobu extrakcie. Teplá extrakcia zvýšila hodnotu peroxidového čísla o 10 %. Pri určení tiobarbitúrového čísla sme pri oboch použitých metódach zistili 20-násobné zvýšenie jeho hodnoty v dôsledku teplej extrakcie. Výnimku opäť tvorí vzorka masla zmrazeného dusíkom, kde nastal 5 % vzrast tiobarbitúrového čísla.

Tab. 6. Výsledky určenia ukazovateľov oxidatívnych zmien tuku

Vzorka č. / Určenie	Teplá extrakcia éterom			Studená extrakcia chloroform-metanol		
	1	2	3	1	2	3
P. č. podľa Wheelera [mmol O_2 /kg tuku]	0,44	79,30	82,53	—	1,72	1,21
P. č. kolorimetricky [mval. O_2 /g tuku]	0,073	2,020	1,466	0,068	0,121	0,018
TBČ podľa Pazlara 450 nm	31,87	15,85	20,35	30,45	0,76	1,75
$[E_{1\text{cm}}^{1\text{g}}]$ 530 nm	13,00	5,87	6,67	16,39	0,17	0,48
TBČ destilačne $[E_{133}]$		0,245	0,258	0,013	0,007	0,016

Vzorky masla: 1. zmrazené dusíkom, skladované 9 mesiacov pri -18°C ,
 2. konvenčne zmrazené, skladované 5 mesiacov pri -18°C ,
 3. konvenčne zmrazené, skladované 5 mesiacov pri -18°C .

Pri konečnom hodnotení získaných výsledkov treba konštatovať: Z preskúšaných postupov extrakcie za studena sa ako vhodné ukázali metóda extrakcie zmesou chloroform-metanol a postup podľa Tramela a Jansena. Pri aplikácii týchto postupov sme získali výsledky, ktoré sú v dobrej zhode s výsledkami bežne používanej metódy extrakcie éterom po hydrolýze. Pri aplikácii metódy studenej extrakcie zmesou chloroform-metanol sa významne prejavil vplyv lipoproteínových zložiek vo vzorke. Miera presnosti určenia bola pri filtrovanom tuku o 10 % lepšia ako pri smotane s vysokým obsahom tuku.

Vplyv použitého spôsobu extrakcie tuku sa výrazne prejavil na hodnotách ukazovateľov oxidatívnych zmien tuku. Hodnoty týchto ukazovateľov sú výrazne nižšie v porovnaní s hodnotami získanými pri vzorkách s aplikáciou teplej extrakcie, a to tak pri vzorkách filtrovaného tuku, ako aj pri vzorkách smotany.

Súhrn

V práci sa preverila aplikácia niektorých postupov získania mliečného tuku zo smotany metódami extrakcie za studena. Zistilo sa, že:

1. z preskúšaných metód extrakcie za studena sa ako vhodné ukázali metódy:
 - a) extrakcia zmesou chloroform-metanol,
 - b) použitý spôsob extrakcie sa výrazne prejavil na hodnotách ukazovateľov oxidatívnych zmien tuku. Extrakcia za tepla zvýšila hodnoty týchto ukazovateľov pri niektorých vzorkách rádovo až 10-násobne.

Literatúra

1. KRKOŠKOVÁ, B.: Vplyv zmrazovania a mraziarenského skladovania na niektoré vlastnosti smotany. Bulletin VÚP — SPA, 9, 1972, 4.
2. PAZLAR, M.: Studium oxidačních změn lipidů při skladování masa a výrobků z masa. [Dílčí zpráva.] Praha 1967.
3. KUZDZAL—SAVOIE, S. — LEBON, F.: Obtention de la matière grasse du lait. Techq. Lait., 1971, 690, 9—13.
4. PALO, V. a kol.: Aplikácia chromatografických metód pri štúdiu tuku ovčieho mlieka. Bratislava, Zborník Prác CHTF SVŠT. 1965.
5. SCHORMÜLLER: Handbuch der Lebensmittelchemie. Band 3. Berlin, Springer Verlag 1968.
6. PRÍBELA, A.: Rozbory potravín. Bratislava, SVŠT 1969.
7. ZITKO, V.: Matematické metódy v potravinárstve. Bratislava, SVŠT 1963.

Проблематика подходящего метода для экстракции молочного жира

Выводы

Проведено на практике применение некоторых методов для извлечения молочного жира из сливок с помощью экстракции в холодном состоянии. Было установлено, что:

1. из проверенных методов по экстракции в холодном состоянии самыми подходящими оказались методы:

- a) экстракция смесью хлороформ-метанол
- б) экстракция по методу Trammel-Jansen

2. примененный способ экстракции выразительно проявился на величинах показателей окислительных изменений жира. Экстракция в горячем состоянии повысила величины этих показателей у некоторых образцов численно вплоть до 10 х.

The problem of the suitable extraction method of the milk fat

Summary

In paper the application of some processes in gaining the milk fat from cream by means of the cold way extraction method was controlled.

It was stated that:

1. from the examined cold way extraction method showed to be suitable:

- a) the extraction by chloroform-methanol mixture
- b) the method according to Trammel and Jansen

2. the used extraction method had been significantly expressed on the parameter values of the oxidative changes of fat. The heat extraction was increased the values fo these parameters in some samples in order till 10 times.