

**Organoleptička ocena maslaca u zavisnosti od sadržaja slobodnih masnih kiselina i broja lipolitičkih bakterija\*****(Sensory Score of Butter as Related to Free Fatty Acid Content and Number of Lipolytic Bacteria)**

Doc. dr. Vera KATIĆ, prof. dr. Dejan SMILJANIĆ, Veterinarski fakultet, Beograd

Izvorni znanstveni rad — Original Scientific Paper

UDK: 637.634.2.07

Prispjelo: 15. 3. 1988.

*Sažetak*

*Tokom 28-dnevnog čuvanja maslaca u mraku (4°C i 10—15°C), i na dnevnoj svetlosti (15—20°C), praćene su promene u sadržaju i sastavu slobodnih masnih kiselina (SMK), broju lipolitičkih bakterija i organoleptičkoj oceni. Rezultati sugeriraju da je lipoliza uzrokovana encimatskim i hemijskim faktorima. Za ranu fazu karakterističan je visok sadržaj niskomolekulskih SMK koje su, kao grupa, u najboljoj korelaciji s organoleptičkom ocenom. S napredovanjem lipolize raste sadržaj nezasićenih SMK, a organoleptička ocena korelira značajnije i sa sadržajem viših SMK (sa 16 i 18 C-atoma). Ocena ukusa se pokazuje objektivnijom od ocene mirisa. Najznačajniju korelaciju s vremenom i s ocenom ukusa pokazuje sadržaj decenske kiseline.*

*Summary*

*Changes in content and composition of free fatty acids (FFA), number of lipolytic bacteria and sensory score have been followed in the course of the 28-day period of storing in dark (4 °C and 10—15 °C) and also in the daylight (15—20 °C). Results suggested the presence both of chemical and enzymatic lipolysis. An early stage was characterized by the high content of low-molecular FFA which, as a group, showed the best correlation with the sensory score. With the progress of lipolysis, the content of unsaturated FFA grew up too, and sensory score correlated more significantly, also with the content of higher FFA (with 16 and 18 C-atoms). Evaluation of taste appeared to be more objective in comparison to flavour. The most significant correlation with the time of storing and with the taste score too, showed the content of the decenoic acid.*

**Uvod**

Na aromu maslaca utiče čitav niz hemijskih vrsta: kiselina, aldehida, ketona, estera, alkohola itd., koje su najčešće njegovi normalni sastojci. Među tim jedinjenjima primarnu ulogu igraju slobodne masne kiseline (SMK), čije je prisustvo u manjoj količini poželjno, jer doprinose formiranju karak-

\* Referat održan na XXV Seminaru za mljekarsku industriju. Lovran, 1987.

terističnog ukusa i mirisa. Međutim, zavisno od uslova i trajanja čuvanja, uticaja mikroorganizama, vode i drugih faktora, relativni udeo pojedinih SMK se menja, njihov ukupni sadržaj generalno raste, a pod dejstvom kiseonika i svetlosti nastaju i nova jedinjenja, što se sve povezuje s pojavom užeglosti — jednom od najčešćih mana maslaca. Fenomen je veoma kompleksan i izgleda da se ne može u opštem slučaju utvrditi onaj nivo SMK koji bi jasno razdvajao »dobar« maslac od »organoleptički izmenjenog«, naročito stoga što SMK nisu i jedini faktor arome.

Imajući to u vidu, cilj našeg rada bio je da se pri različitim uobičajenim načinima čuvanja utvrde promene sadržaja SMK u maslacu i da se taj sadržaj, ako je moguće, poveže s prisustvom lipolitičkih bakterija i organoleptičkom ocenom.

### Eksperimentalni deo

#### a) Materijal

Za istraživanje je korišćen provereno svež maslac superiornih organoleptičkih osobina, koji je istovremeno služio i kao kontrola (uzorak K). Iz unutrašnjosti uzorka K je, pod sterilnim uslovima, sondom izvučen cilindar maslaca (promera 10 mm) i sterilnim koncem podeljen na niz kolutića debljine 1—1,5 mm, koji su stavljeni po 6—8 u petri-šolje. Ovakvo pripremljeni uzorci su čuvani: pri temperaturi 10—15 °C u mraku (grupa S); pri temperaturi 4 °C u mraku (grupa F); pri temperaturi 15—20 °C na dnevnoj svetlosti (uzorak SS). Svakih 7 dana je iz svake grupe uzimana po jedna petri-šolja na analizu. Analizirana su i dva jasno užegla maslaca s tržišta (uzorci U<sub>1</sub> i U<sub>2</sub>), kao i dva veoma užegla maslaca čuvana oko godinu dana pri 4 °C (uzorci U i D).

#### b) Metode

1. Organoleptičko istraživanje vršila su tri stručnjaka, ocenjujući posebno miris, posebno ukus maslaca, s od 1 (neprihvatljiv) do 5 (superioran) bodova. Prikazane su srednje vrednosti tri stručnjaka.

2. Ukupan broj lipolitičkih bakterija određivan je metodom na tributirin agaru (Sl. list SFRJ, 25/80).

3. SMK su izdvajane sledećom procedurom: oko 0,5 g maslaca, tačno odmereno, rastvori se u 10 ml hromatografski čistog petroletra, na hladno, i propusti kroz staklenu kolonu (200 × 5 mm) pakovanu s 2 ml silikagela i 1 ml anhidrovanog natrijumsulfata na vrhu. Kolona se dodatno ispere s 10 ml dietiletra. Ukupni eluat, tako oslobođen soli, vode, proteina i fosfolipida, upari se u laganoj struji vazduha pri 30—35 °C do oko 2 ml i s oko 10 ml petroletra prebaci u cilindar od 100 ml za ekstrakciju, u kojem se nalazi 10 ml 1,5% KOH u metanolu. Posle kratke ekstrakcije i raslojavanja petroletrski sloj se odsifonira i ekstrakcija se ponovi s još 3 × 10 ml svežeg petroletra. U zaostali metanolni sloj koji sadrži soli SMK doda se još 10 ml metanola i 1 ml konc. sumporne kiseline, sve se protrese i ostavi preko noći na sobnoj temperaturi. Obrazovani metilestri masnih kiselina ekstrahuju se s 2 × 10

ml petroletra i ekstrakt se upari, kako je opisano, do zapremine od 0,5—1 ml koja se tačno izmeri pre gasno-hromatografske (GC) analize.

4. Masno-kiselinski sastav ukupne masti maslaca i frakcija SMK određivan je pomoću GC odgovarajućih metilestara na čeličnoj koloni (1,5 m × 3 mm), pakovanoj sa 16% LAC-3R-728/AW Chrom W, pri temperaturi od 150 °C, uz plamenojonizacioni detektor i protok azota od 30 ml/min, na uređaju VARIAN-AEROGRAPH 1400. Identifikacija i kvantifikacija MK vršena je poređenjem pikova sa standardnom smesom. Nije bilo moguće, pod ovim uslovima, registrovanje MK s manje od 8 C-atoma.

5. Svi rezultati su obrađivani na računaru SCHNEIDER CPC 464.

### Rezultati i diskusija

Shodno tablici 1, u kojoj su prikazani osnovni rezultati mikrobiološke, organoleptičke i GC-analize, primećuje se, nezavisno od uslova skladištenja, početna eksponencijalna faza rasta lipolitičkih bakterija, a zatim opadanje njihovog broja. Uočljivo je dejstvo temperature: pri 4 °C stacionarna faza rasta nastupa 7 dana kasnije nego pri temperaturi od 10—15 °C. Ipak, ove promene u mikroflori uzoraka se, izgleda, ne odražavaju na ukupan sadržaj SMK koji se u svim slučajevima — bez obzira na način čuvanja — kreće oko vrednosti od 1000 ppm. Kod uzoraka U, D, U<sub>1</sub> i U<sub>2</sub> još je uočljivije neslaganje između broja lipolitičkih bakterija i sadržaja SMK, što sve navodi na pretpostavku da lipoliza nije isključivo prouzrokovana bakterijskim encimima.

Tablica 1. Mikrobiološki status, sadržaj SMK i organoleptička ocena istraživanog maslaca

Table 1. Microbiological Status, FFA Content and Sensory Score of Investigated Butter

Uzorak/dan Sample/day	Broj lipolitičkih bakterija u 1 ml Nr. of Lipolytic Bacteria per 1 ml	Sadržaj SMK (ppm) FFA Content (ppm)	Organoleptička ocena Sensory Score	
			Miris Flavour	Ukus Taste
K/1	350	833	5,00	5,00
S/7	5.000	1.279	3,66	3,66
S/14	14.000	1.028	3,66	3,66
S/21	16.000	915	3,00	3,23
S/28	8.000	1.209	3,80	3,20
F/7	400	989	4,00	4,00
F/14	600	1.040	4,30	4,00
F/21	1.800	924	4,16	4,00
F/28	1.000	1.060	4,00	4,00
SS/28	4.000	1.209	3,00	2,16
U	6.000	4.277	1,66	1,33
D	10.000	1.471	1,66	1,86
U <sub>1</sub>	90.000	871	2,66	2,66
U <sub>2</sub>	600.000	1.050	3,66	3,50

Prema Mohru i Koenenu (1958), čistom hemijskom hidrolizom najlakše se odcepljuju niskomolekulske i nezasićene MK. S druge strane, lipaze mikroorganizama reaguju prvenstveno sa spoljnim (1-, 3-) položajima triglicerida, u kojima su skoncentrisane, između ostalih, niskomolekulske MK (Blank i Privett, 1964; Patton i McCarthy, 1963) i oleinska kiselina, pri čemu lipoliza niskomolekulskih MK ide oko tri puta brže od ostalih (Vereščagin, 1972). Bez navođenja tipa lipolize, ovo se potvrđuje kod mleka, masla (Gorjaev i Evdakova, 1972) i maslaca (Vera Katić Smiljanić, 1986), a i podaci Whoa i Lindsaya (1980) posredno ukazuju da s napredovanjem lipolize raste udeo niskomolekulskih SMK u frakciji ukupnih SMK. Na osnovu ovoga očekuje se da je frakcija SMK generalno bogatija niskomolekulskim i nezasićenim MK nego ukupna mast maslaca, što naši podaci iz tablice 2 i potvrđuju.

Tablica 2. Sadržaj niskomolekulskih SMK i stepen nezasićenosti ukupnih SMK  
Table 2. Low-Molecular FFA Content and Total FFA Unsaturation Degree

Uzorak/dan Sample/Day	Sadržaj SMK (ppm) FFA Content (ppm)					% (< 14) <sup>1</sup>	(n/z) <sup>2</sup>
	8:0	10:0	10:1	12:0	Sve (< 14)		
K, ukupna mast	—	—	—	—	—	8,24	0,4652
K/1	1	14	1	37	53	6,00	0,6819
S/7	0	21	5	59	85	6,67	0,7106
S/14	10	39	7	65	121	11,72	0,6069
S/21	2	26	17	45	91	9,89	0,6686
S/28	2	33	31	51	117	9,66	0,7603
F/7	0	15	3	40	57	5,68	0,7666
F/14	13	51	8	69	140	13,23	0,5780
F/21	18	34	20	49	120	12,96	0,6880
F/28	5	30	23	50	108	10,22	0,7013
SS/28	11	52	21	71	155	12,78	0,6066
U	62	204	69	141	476	11,13	1,5400
D	11	43	42	63	161	10,82	0,9142
U <sub>1</sub>	17	43	12	37	108	12,42	1,0916
U <sub>2</sub>	9	41	11	37	68	9,30	1,4851

<sup>1</sup>) Relativni sadržaj niskomolekulskih SMK u frakciji ukupnih SMK  
Relative content of Low-Molecular FFA in Fraction of Total FFA

<sup>2</sup>) Odnos nezasićenih i zasićenih SMK  
Ratio of Unsaturated vs. Saturated FFA

Vidljiv je blag porast relativnog i apsolutnog sadržaja SMK s manje od 14 atoma ugljenika, no zbirna korelacija sadržaja ovih SMK za uzorke S, F i SS, s vremenom čuvanja je, ipak, samo srednje jačine ( $r = 0,57844$ ). Odnos nezasićenih i zasićenih SMK (n/z) je već kod kontrolnog uzorka viši od odgovarajućeg odnosa u ukupnoj masti maslaca; no njegova vrednost značajno raste tek u podmaklom stadijumu užeglosti (uzorci U, D, U<sub>1</sub>, U<sub>2</sub>).

Detaljnije istraživanje promene sadržaja pojedinih SMK ukazuje da dekanska (10:0), tetradekadienska (14:2) i heptadekanska (17:0) kiselina koreliraju u približno jednakoj meri s vremenom čuvanja, kao i ukupan

sadržaj niskomolekulskih SMK. Jedina izuzetno jaka korelacija ( $r = 0,85194$ ) zapaža se kod decenske (10 : 1) kiseline, što pobuđuje nadu da se njen sadržaj može upotrebiti kao osetljiv indikator stepena lipolize maslaca. Štaviše, isti se nivo korelacije ( $r = 0,84170$ ) zapaža kada se umesto apsolutnog (ppm) korelira relativni (%) sadržaj decenske kiseline, što je sa stanovišta eksperimentalnog rada znatno povoljnije.

Paralelnost promene apsolutnog i relativnog sadržaja decenske kiseline potvrđuje se za sve uzorke ( $r = 0,88387$ ) osim za uzorak U, kod kojeg je stepen lipolize bar tri puta veći nego kod ostalih uzoraka. U ovom razmatranju treba istaći da je porast sadržaja slobodne decenske kiseline s vremenom pre eksponencijalnog nego linearnog karaktera, što, shodno Swernu (1972), govori u prilog iznetoj pretpostavci o mešanom mehanizmu encimatske i hemijske lipolize.

Veza između organoleptičke ocene uzoraka i sadržaja pojedinih grupa, odnosno pojedinih SMK, prikazana je u tablicama 3 i 4. Pri tome su posebno korelirani uzorci S, F i SS, s namerom da reprezentuju ranu fazu promena u maslacu, a posebno svi uzorci S, F, SS, U<sub>1</sub>, U<sub>2</sub> i D, kako bi se stekao uvid u opšti trend promena. Uzorak U je izuzet iz korelacije, zbog veoma velikog odstupanja.

Uočljivo je da bezmalo svi koeficijenti korelacije koji se odnose na ukus prevazilaze po apsolutnoj vrednosti one koji se odnose na miris. Ovaj karak-

Tablica 3. Koeficijenti korelacije između organoleptičke ocene i sadržaja pojedinih grupa SMK (ppm)

Table 3. Correlation Coefficients Between Sensory Score and Group FFA Content (ppm)

Grupa SMK FFA Group	Rana faza <sup>1</sup> Early Stage		Opšti trend <sup>2</sup> General Trend	
	Miris	Ukus	Miris	Ukus
	Ukupne Total	-0,38204	-0,53608	-0,49022
Sa <14 C-atoma With <14 C-atoms	-0,38685	-0,58032	-0,50230	-0,61819
Sa ≥ 14 C-atoma With ≥ 14 C-atoms	-0,30943	-0,42441	-0,42942	-0,46657
Nezasićene Unsaturated	-0,28192	-0,39441	-0,56218	-0,54903
Monozasićene Monoenic	-0,29668	-0,40438	-0,56550	-0,55118
Polinezasićene Polyenic	-0,19593	-0,33018	-0,50346	-0,49784

<sup>1)</sup> Uzorci: S, F, SS  
Samples: S, F, SS

<sup>2)</sup> Svi uzorci, osim: U  
All Samples, Except: U

Tablica 4. Koeficijenti korelacije između organoleptičke ocene i sadržaja pojedinih SMK (ppm)

Table 4. Correlation Coefficients Between Sensory Score and Individual FFA Content (ppm)

SMK FFA	Rana faza <sup>1</sup> Early Stage		Opšti trend <sup>2</sup> General Trend	
	Miris Flavour	Ukus Taste	Miris Flavour	Ukus Taste
	8:0	-0,00571	-0,14127	-0,27566
10:0	-0,32383	-0,52253	-0,42205	-0,57019
10:1	-0,37221	-0,50452	-0,58301	-0,62505
12:0	-0,37728	-0,51991	-0,22534	-0,34978
14:0	-0,37630	-0,55962	-0,27526	-0,34232
14:1	-0,12928	-0,23399	-0,38513	-0,40620
15:0	-0,05746	-0,11366	-0,01451	-0,01643
14:2	-0,02547	-0,13184	-0,40461	-0,40635
16:0	-0,35753	-0,43299	-0,09882	-0,15859
16:1	-0,30119	-0,41421	-0,53819	-0,54881
17:0	-0,03225	-0,25645	-0,46405	-0,52083
16:2	-0,05258	-0,16886	-0,57121	-0,52614
18:0	-0,33310	-0,43675	-0,10627	-0,21718
18:1	-0,21812	-0,29054	-0,49787	-0,47112
18:2	-0,22959	-0,27672	-0,25514	-0,27046
18:3	-0,06831	-0,09971	-0,40826	-0,40453

1) Uzorec: S, F, SS

Samples: S, F, SS

2) Svi uzorci, osim: U

All Samples, Except: U

terističan podatak može se tumačiti teškoćama pri organoleptičkom utvrđivanju mirisa, s obzirom da se radi o veoma isparljivim materijama čiji se sadržaj u gasnom prostoru petri-šolje tokom samog čina istraživanja menja. Uzevši ovakvo tumačenje u obzir, ocenu ukusa bi trebalo, uopšte, smatrati objektivnijom.

Opšti nivo korelacije nije visok, što se i moglo očekivati kao rezultat malog broja istraženih uzoraka (10, odnosno 13), ali relativni odnosi koeficijenata ipak dozvoljavaju određene zaključke. Tako se pokazuje da u ranoj fazi promena (tabl. 3) organoleptička ocena najviše zavisi od prisustva nisko molekulskih SMK, dok s napredovanjem lipolize relativno dobijaju u značaju i druge grupe SMK. Slična je situacija i pri analiziranju uticaja pojedinačnih SMK (tabl. 4): u ranoj fazi dominira uticaj niskomolekulskih, a s napredovanjem lipolize posebno se ističe uticaj decenske, dekanske, ali i kiselina sa 16 i 18 ugljenikovih atoma. Prisustvo viših SMK menja ukus maslaca na drugačiji način nego prisustvo niskomolekulskih SMK (Kinsella, 1975), što je, međutim, u našem istraživanju bilo obuhvaćeno jedinstvenom ocenom, bez komentara o vrsti mirisa i ukusa.

Neočekivano nizak stepen korelacije oktanske kiseline treba pripisati nesavršenosti primenjene metode izdvajanja SMK. Slika bi, verovatno, izgledala potpunija da su mogle biti analizirane i heksanska i butanska (buterna)

kiselina, s obzirom da je ova druga, za mlečnu mast karakteristična, i istovremeno s veoma niskim pragom organoleptičkog nadražaja. S ovim u vezi treba reći da je, prema našem iskustvu, kritična faza izdvajanja SMK — koncentrovanje njihovih metilestara pre GC, na što je ukazivano i ranije (Bills i sar., 1963).

Pri razmatranju opšteg nivoa korelacije organoleptičkih osobina sa sadržajem SMK, konačno treba imati u vidu i činjenicu da su SMK samo jedan od faktora arome, koji ne mora biti i najznačajniji, naročito u kasnijim fazama, kada se obrazuju i oksidacioni produkti.

### Zaključak

Na osnovu iznetih rezultata vrlo je verovatno, da je, u opštem slučaju, pri čuvanju maslaca lipoliza izazvana mikrobiološkim i čisto hemijskim faktorima, jer sadržaj SMK nije u korelaciji s brojem prisutnih lipolitičkih bakterija. Ovo je posebno upadljivo kada se porede različiti načini čuvanja maslaca.

Za ranu fazu lipolize je karakteristično stvaranje niskomolekulskih, a s porastom stepena lipolize raste i sadržaj nezasićenih SMK. Sadržaj decenske kiseline i njen relativni % u frakciji SMK uvećavaju se veoma pravilno s vremenom čuvanja, pa bi se ona, kako izgleda, mogla koristiti za procenjivanje stepena lipolize u ranoj fazi. U vezi ovoga poželjno je usavršavanje tehnika izdvajanja i kvantifikovanja SMK s 4 do 8 atoma ugljenika.

Organoleptička ocena ukusu potvrđuje se objektivnijom od ocene mirisa. Na nju u ranoj fazi najznačajniji uticaj imaju niskomolekulske SMK, a kasnije i SMK sa 16 i 18 ugljenikovih atoma. I ovde je decenska kiselina u najjačoj korelaciji s ocenom ukusa.

Konačno, iz ovog preliminarnog istraživanja proističe potreba detaljnijeg istraživanja na većem broju uzoraka, uz savršeniju metodu, pri čemu posebnu pažnju treba obratiti na standardizovanje organoleptičkog ocenjivanja.

### Literatura

- EILLS, D. D., KHATRI, L. L., DaY, E. A. (1963): *J. Dairy Sci.*, **46**, 1342—1347.  
 BLANK, M. L., PRIVETT, O. S. (1964): *J. Dairy Sci.*, **47**, 481—488.  
 GORJAEV, M. I., EVDAKOVA, N. A.: Spravočnik po gazožidknoj hromatografii organskih kislot. Nauka Kazahskoj SSR, Alma-Ata, 1977.  
 KATIĆ, V., SMILJANIĆ, D.: Aktivnost lipaza mikroorganizama u proizvodima od mleka. XXVII Naučni sastanak mikrobiologa, epidemiologa i infektologa Jugoslavije. Pula, 9—15 jun, 1986.  
 KINSELLA, J. (1975): *Fd. Technol.*, **29** (5), 82—98.  
 MOHR, W., KOENEN, K.: Die Butter. Milchwirtschaftlicher Verlag Th. Mann K. G. Hildesheim. 1958.  
 PATTON, S., McCARTHY, R. D. (1963): *J. Dairy Sci.*, **46**, 916—921.  
 Pravilnik o metodama obavljanja mikrobioloških analiza i superanaliza živežnih namirnica. Sl. list SFRJ, 25/80.  
 SWERN, D.: Industrijski proizvodi ulja i masti po Baileyju. Znanje. Zagreb. 1972.  
 VEREŠCAGIN, A. G.: Biohimiya trigliceridov. Nauka, Moskva, 1972.  
 WHO, A. H., LINDSAY, R. C. (1980): *J. Dairy Sci.*, **63**, 1058—1064.