



Konzervace vzorků mléka pro kvalitu výsledků jejich analýz

Nejeschlebová H. - Hanuš O. - Kopecký J. - Nejeschlebová L. -
Jedelská R. - Vondrušková E.

VÚM Praha

Průběžné výsledky projektu MZe NAZV Země QK 21010123, rok 2023.

Součást aktivit České akademie zemědělských věd OŽV

KONZERVACE VZORKŮ MLÉKA A JEJÍ ZMĚNA

Při změně technologického postupu v metodikách zkušební laboratoře je potřeba posoudit vliv této změny na věrohodnost výsledků analýz.

V roce 2022 LRM Brno došlo k přechodu na konzervaci mléka Azidiolem.

Bylo nutné posoudit případný vliv této konzervace na výsledky příslušných analýz.

VÝBĚR KONZERVACE MLÉKA

- **Splnění základního požadavku**
- **Další faktory k zohlednění**
 - *účinnost* konzervace podle typu a koncentrace konzervující látky,
 - *čas a teplota* uložení a transportu vzorků;
 - *šetrnost* konzervace k životnímu prostředí (také zdraví laboratorního personálu);
 - *pracnost* konzervace;
 - *snadnost aplikace* (forma roztoku, prášku, tablet) a manipulovatelnosti;
 - *náklady* na konzervaci; ...

KONZERVACE MLÉKA - PŮVODNÍ

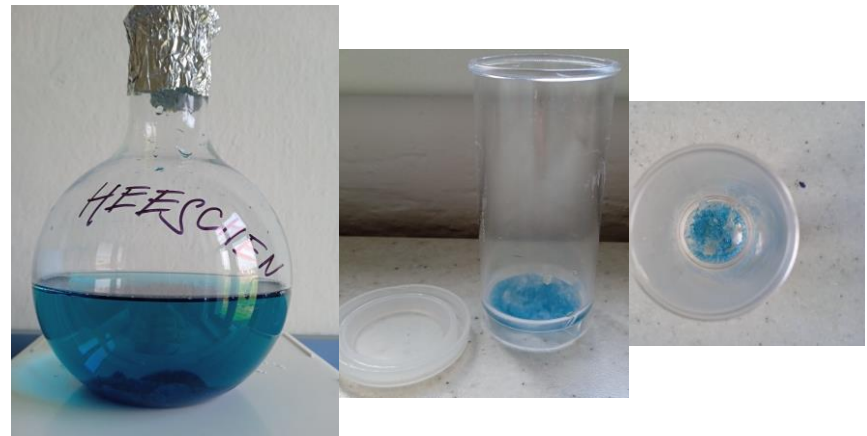
- **Nekonzervované vzorky**

- konzervace chladem
- *složení mléka (včetně ekvivalentu bodu mrznutí)*
- *počet somatických buněk (PSB)*
- *bod mrznutí mléka (BMM)*



- **Heeschenovo činidlo**

- konzervační účinek
= kyselina boritá
- *mikrobiologické analýzy*
- *stanovení reziduí ATB*



KONZERVACE MLÉKA - NOVÁ

• Azidiol

- konzervační účinek = azid sodný + chloramfenikol
- koncentrace < 300 µl na 50 ml neovlivňuje IR analýzu mléka (Benedet a kol. 2018)
- studován vliv Azidiolu i na další parametry mléka (PSB, CPM, rezidua ATB) (Cassoli a kol. 2010; Benedet a kol. 2018; Wentz a kol. 2018)



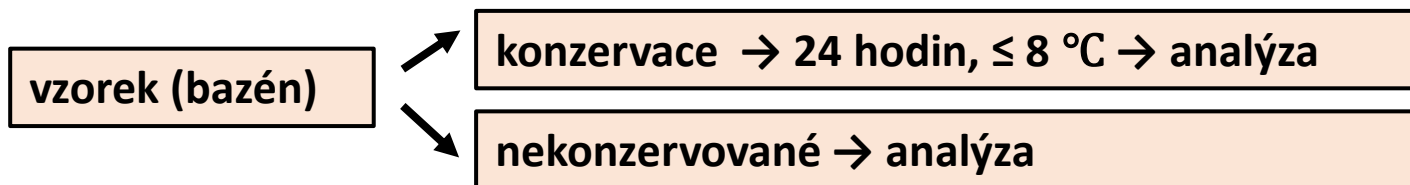
<https://www.haeberle-lab.de/media/a8/cf/7c/1626159398/1611.png>



<https://www.laborclin.com.br/wp-content/uploads/2023/03/610903-ok.jpg>



Sledování vlivu konzervace mléka Azidiolem na mléčné ukazatele - SCHÉMA KONZERVACE



Zařízení/Metoda	Ukazatel	Konzervace	
MilkoScan 7	Složení, EBM	Azidiol	Nekonzervované
KryoStar	BMM		
Fossomatic 7	PSB		
Bactoscan FC	CPM	Azidiol	Heeschen
Eclipse 50	rezidua ATB		

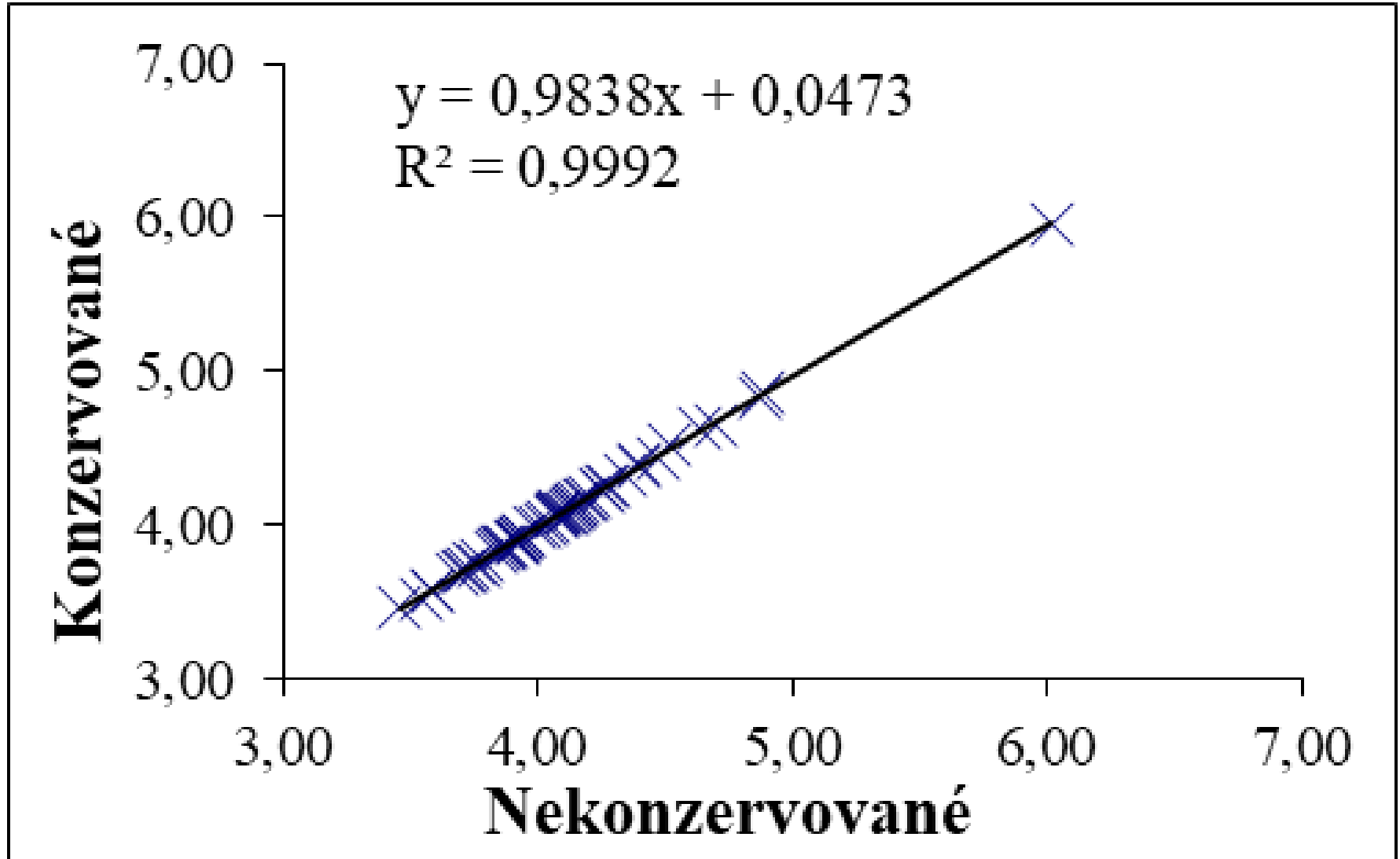
EBM = ekvivalent bodu mrznutí; BMM = bod mrznutí mléka; PSB = počet somatických buněk; CPM = celkový počet mikroorganismů.

Vliv konzervace vzorků mléka Azidiolem na výsledky mléčných ukazatelů, všechny korelační koeficienty $r = P < 0,001$.

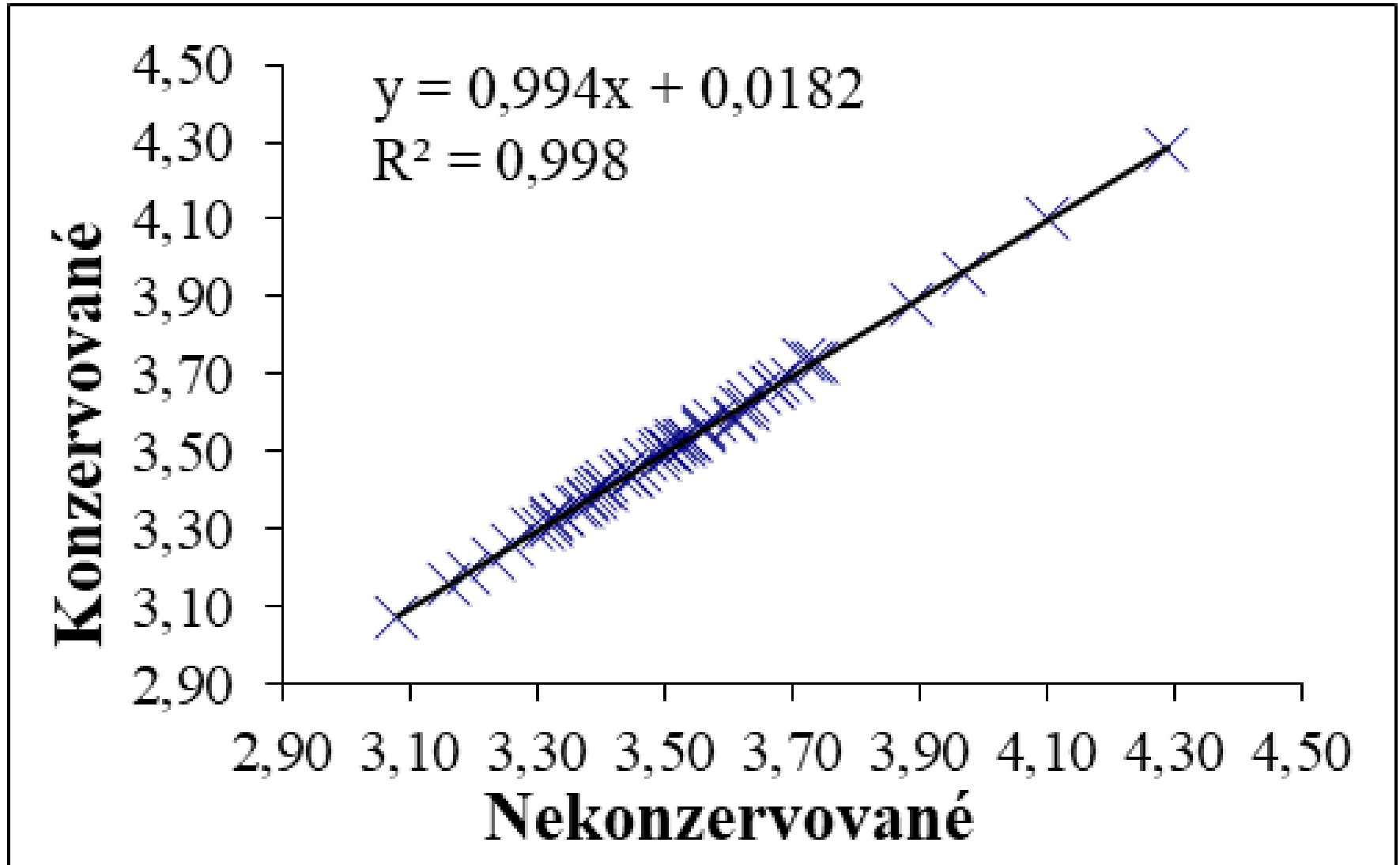
Zařízení	Test	Ref.	Ukaz.	n	$x \pm sx$	$x \pm sx$	$d \pm sd$	D %	r
					Test (y)	Ref. (x)	Test. – Ref.		
MilkoScan 7	AZ	NEK	T	60	4,07 ± 0,39	4,09 ± 0,39	-0,019 ± 0,012	0,46	1,0
			B	60	3,51 ± 0,21	3,51 ± 0,21	-0,003 ± 0,009	0,09	0,999
			KAS	60	2,75 ± 0,17	2,77 ± 0,17	-0,016 ± 0,01	0,58	0,999
			L	60	4,85 ± 0,11	4,87 ± 0,1	-0,02 ± 0,006	0,41	0,998
			STP	60	9,07 ± 0,21	9,1 ± 0,21	-0,023 ± 0,011	0,25	0,999
			M	60	25,87 ± 5,86	24,95 ± 5,73	0,927 ± 0,943	3,72	0,987
			VMK	60	1,02 ± 0,25	0,98 ± 0,25	0,04 ± 0,056	4,08	0,975
			KC	60	0,12 ± 0,009	0,111 ± 0,009	0,009 ± 0,001	8,1	0,988
			EBMM	106	527 ± 10	521 ± 10	5,83 ± 2,38	1,12	0,969
KryoStar	AZ	NEK	BMM	106	5 340 ± 101	5 269 ± 110	72 ± 40	1,37	0,931
Fossomatic 7	AZ	NEK	PSB	60	217 ± 130	220 ± 132	-3 ± 7	1,4	0,999
Bactoscan FC	AZ	HE	CPM	93	33,8 ± 44,5	33,8 ± 43,9	0,01 ± 16,34	0,03	0,932

Ref. = reference; n = počet případů; x = aritmetický průměr; sx = směrodatná odchylka průměru; d = průměrná diference; sd = směrodatná odchylka průměrné diference; D = absolutní hodnota relativní diference (100 % = Ref.); r = koeficient korelace; AZ = Azidiol; HE = Heeschenovo činidlo; NEK = nekonzervované; T = tuk (%); B = hrubé bílkoviny (%); KAS = kasein (%); L = monohydrát laktózy (%); STP = sušina tukuprostá (%); M = močovina ($\text{mg} \times 100 \text{ ml}^{-1}$); VMK = volné mastné kyseliny ($\text{mmol} \times 100 \text{ g}^{-1}$ tuku); KC = kyselina citronová (%); EBMM = ekvivalent BMM ($^{\circ}\text{C} \times -10^3$); BMM = bod mrznutí mléka ($^{\circ}\text{C} \times -10^4$); PSB = počet somatických buněk ($10^3 \times \text{ml}^{-1}$); CPM = celkový počet mikroorganismů ($10^3 \text{ CFU} \times \text{ml}^{-1}$).

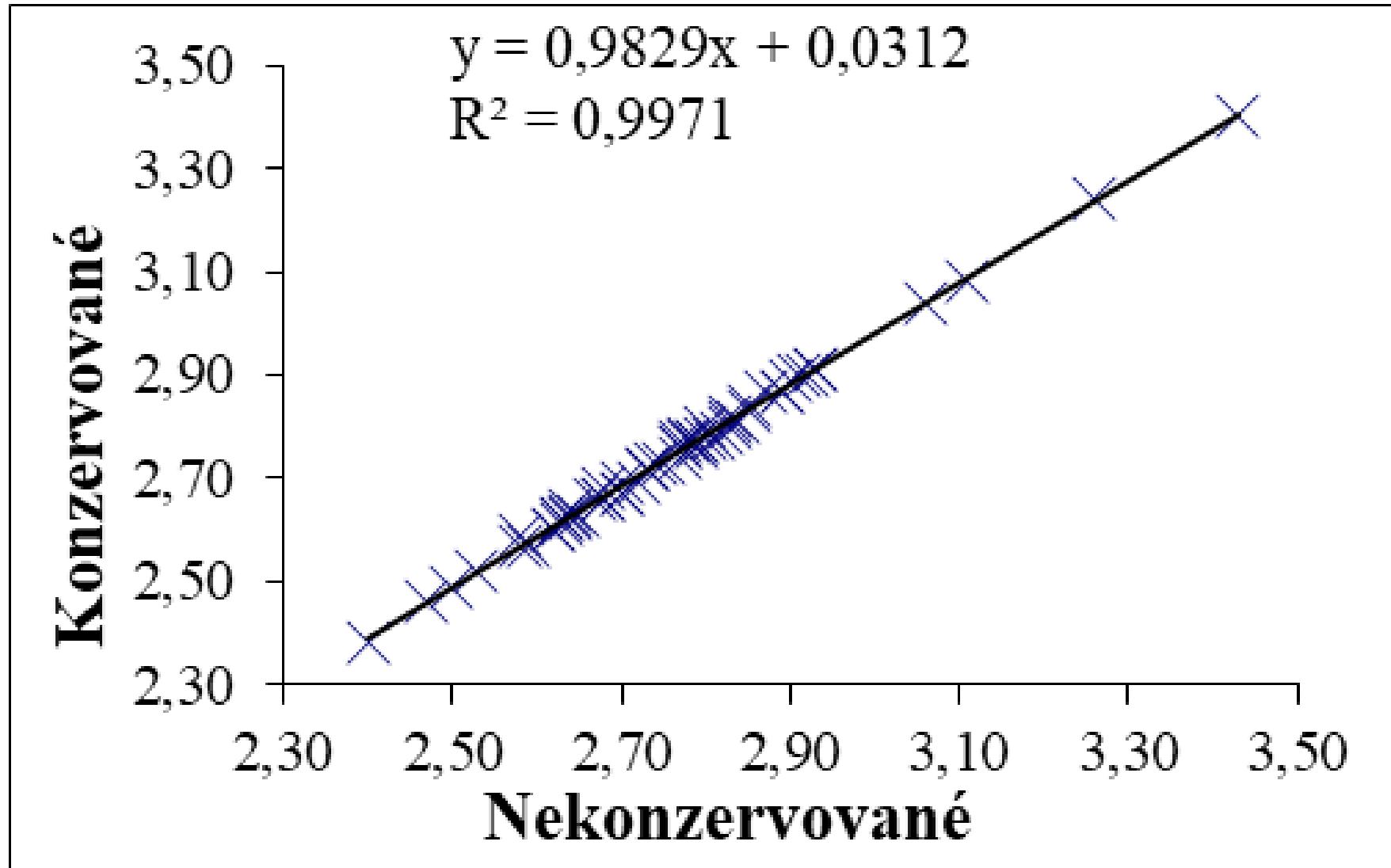
Vliv konzervace mléka Azidiolem na obsah tuku (%) podle referenčního výsledku (nekonzervované mléko) infračervenou spektroskopií MIR-FT na MilkoScan 7 (n = 60; r = 1,0 ***)



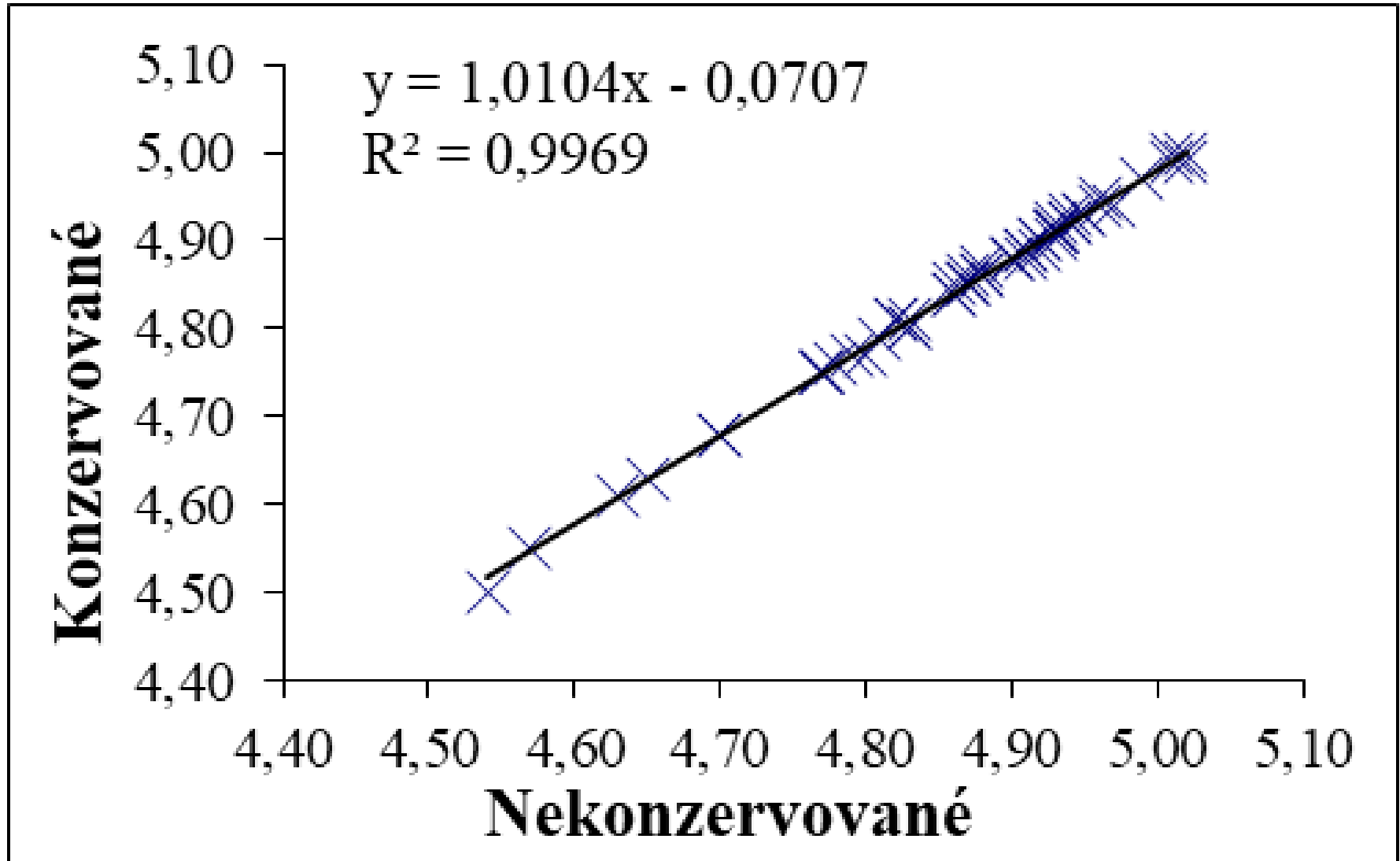
Vliv konzervace mléka Azidiolem na obsah hrubých bílkovin (%) podle referenčního výsledku (nekonzervované mléko) infračervenou spektroskopií MIR-FT na MilkoScan 7 (n = 60; r = 0,999 ***).



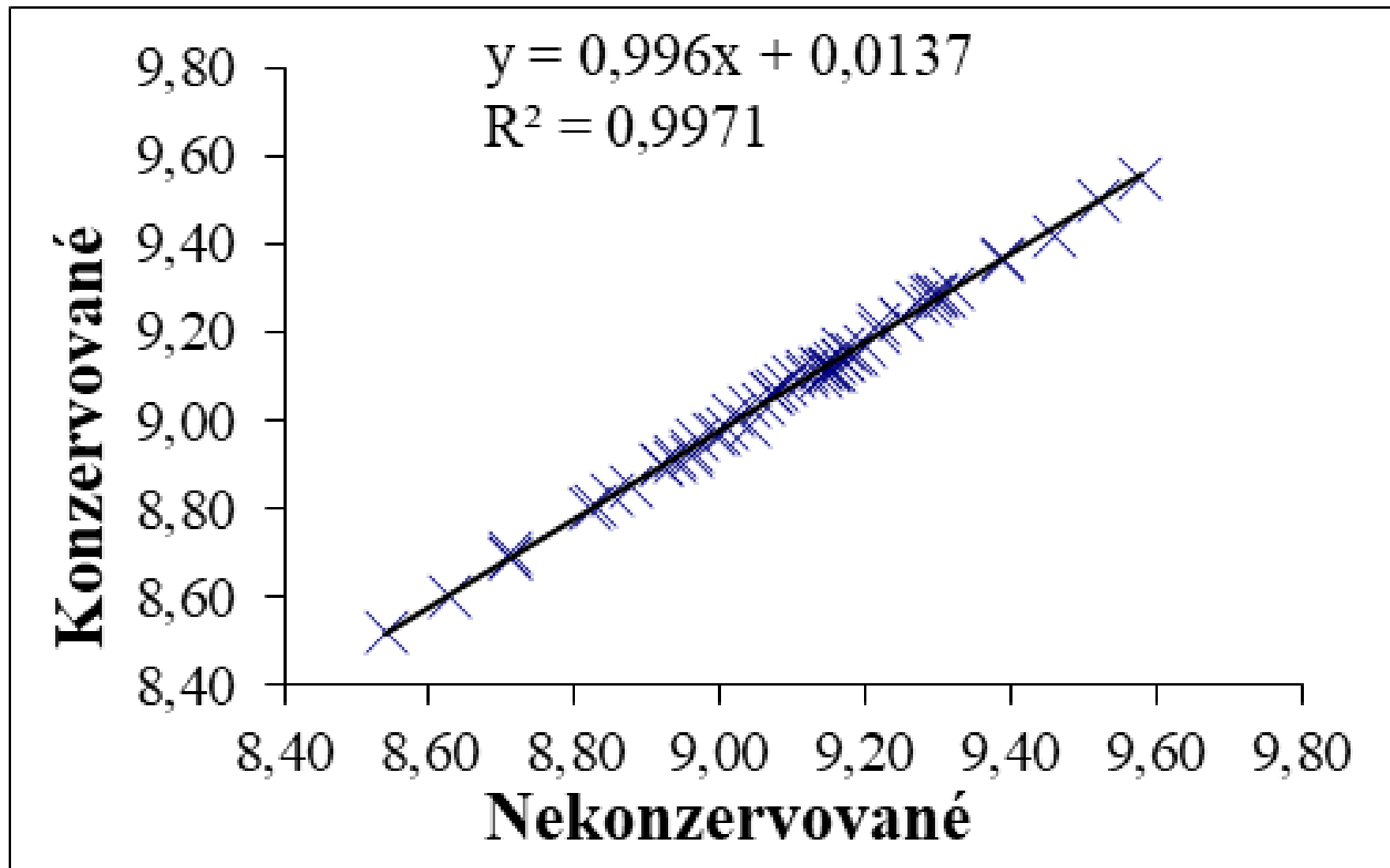
Vliv konzervace mléka Azidiolem na obsah kaseinu (%) podle referenčního výsledku (nekonzervované mléko) infračervenou spektroskopií MIR-FT na MilkoScan 7 (n = 60; r = 0,999 ***).



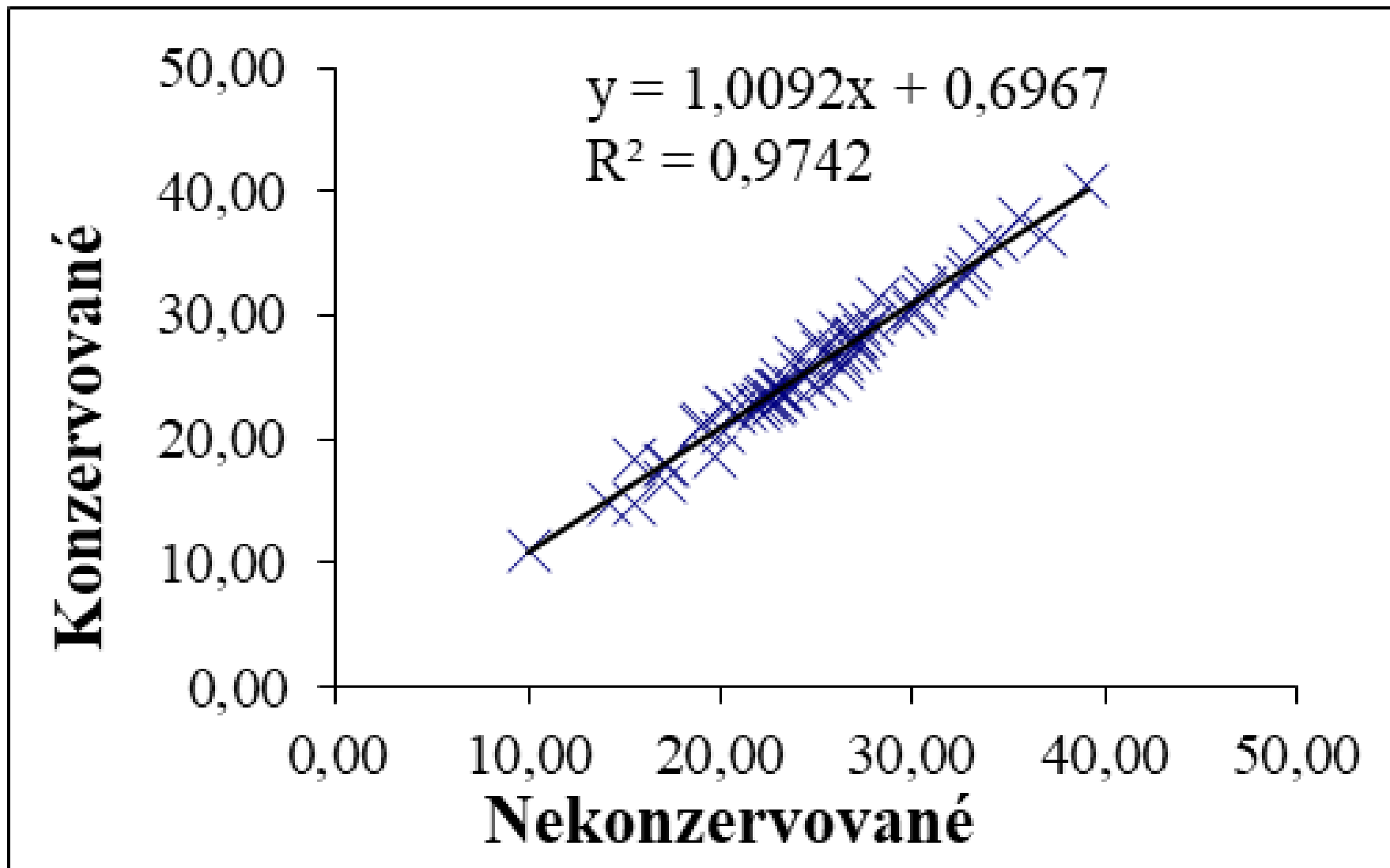
Vliv konzervace mléka Azidiolem na obsah monohydrátu laktózy (%) podle referenčního výsledku (nekonzervované mléko) infračervenou spektroskopií MIR-FT na MilkoScan 7 (n = 60; r = 0,998 ***).



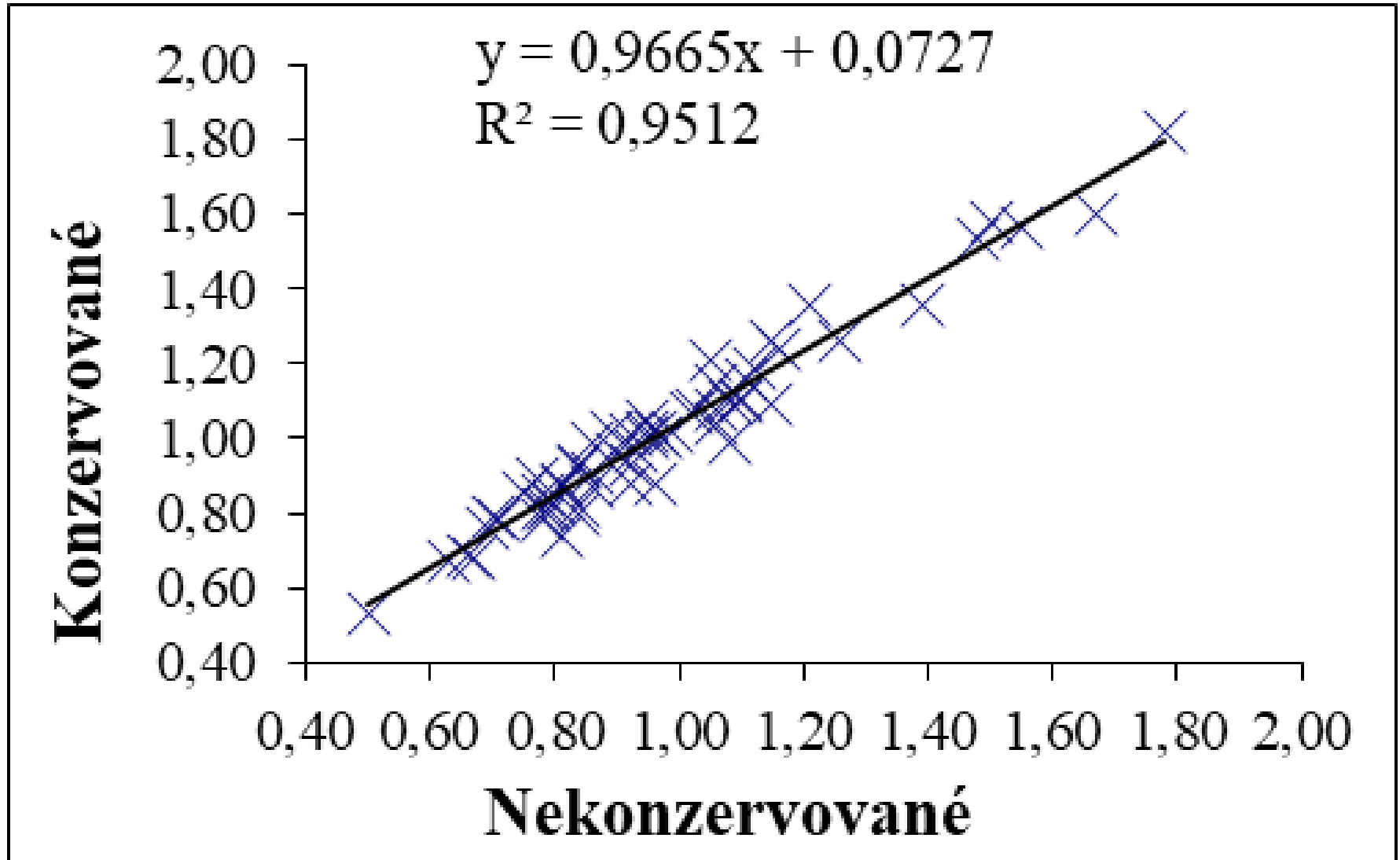
Vliv konzervace mléka Azidiolem na obsah sušiny tukuprosté (%) podle referenčního výsledku (nekonzervované mléko) infračervenou spektroskopií MIR-FT na MilkoScan 7 (n = 60; r = 0,999 ***).



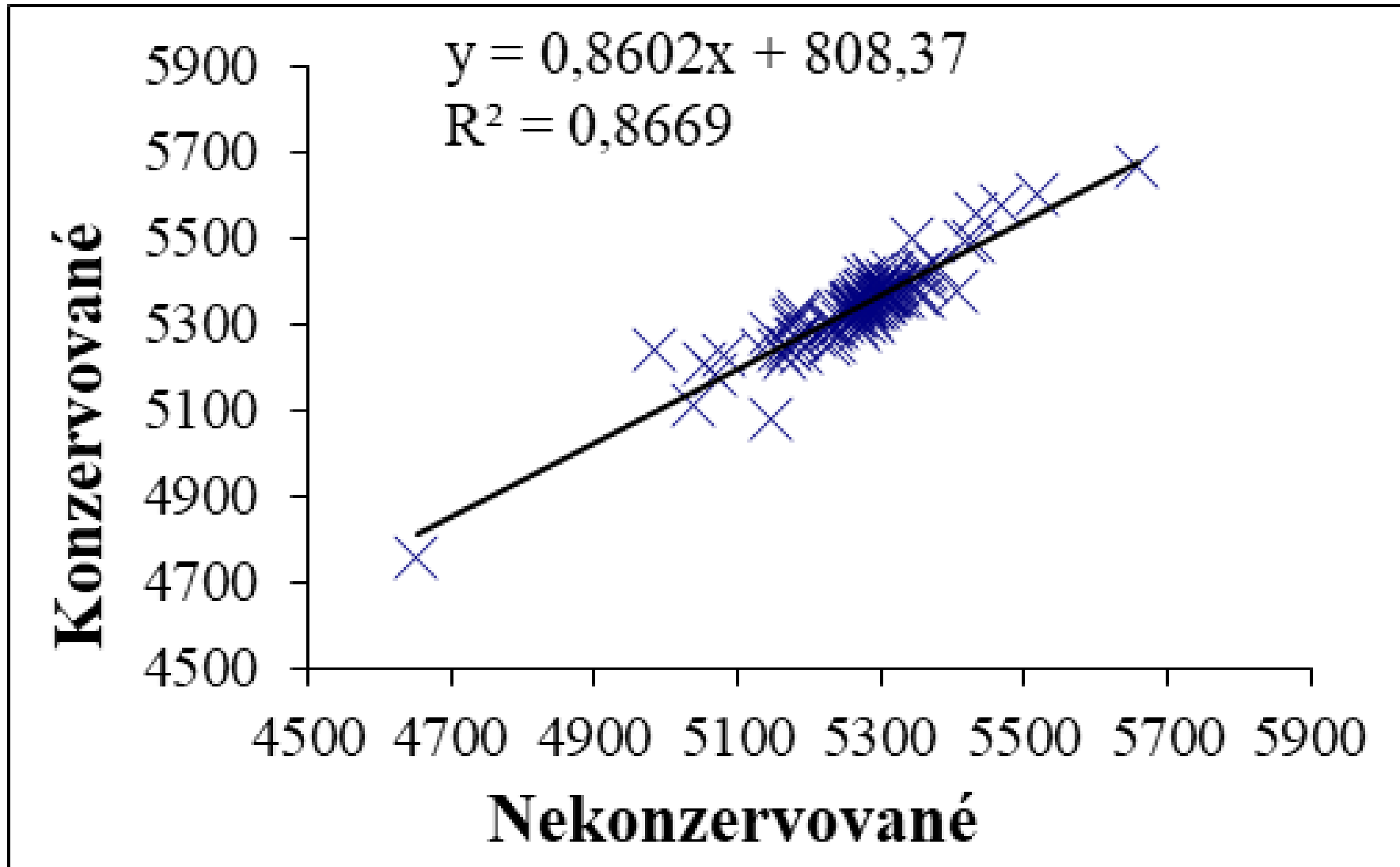
Vliv konzervace mléka Azidiolem na močovinu ($\text{mg} \times 100\text{ml}^{-1}$) podle referenčního výsledku (nekonzervované mléko) infračervenou spektroskopií MIR-FT na MilkoScan 7 ($n = 60$; $r = 0,987$ ***).



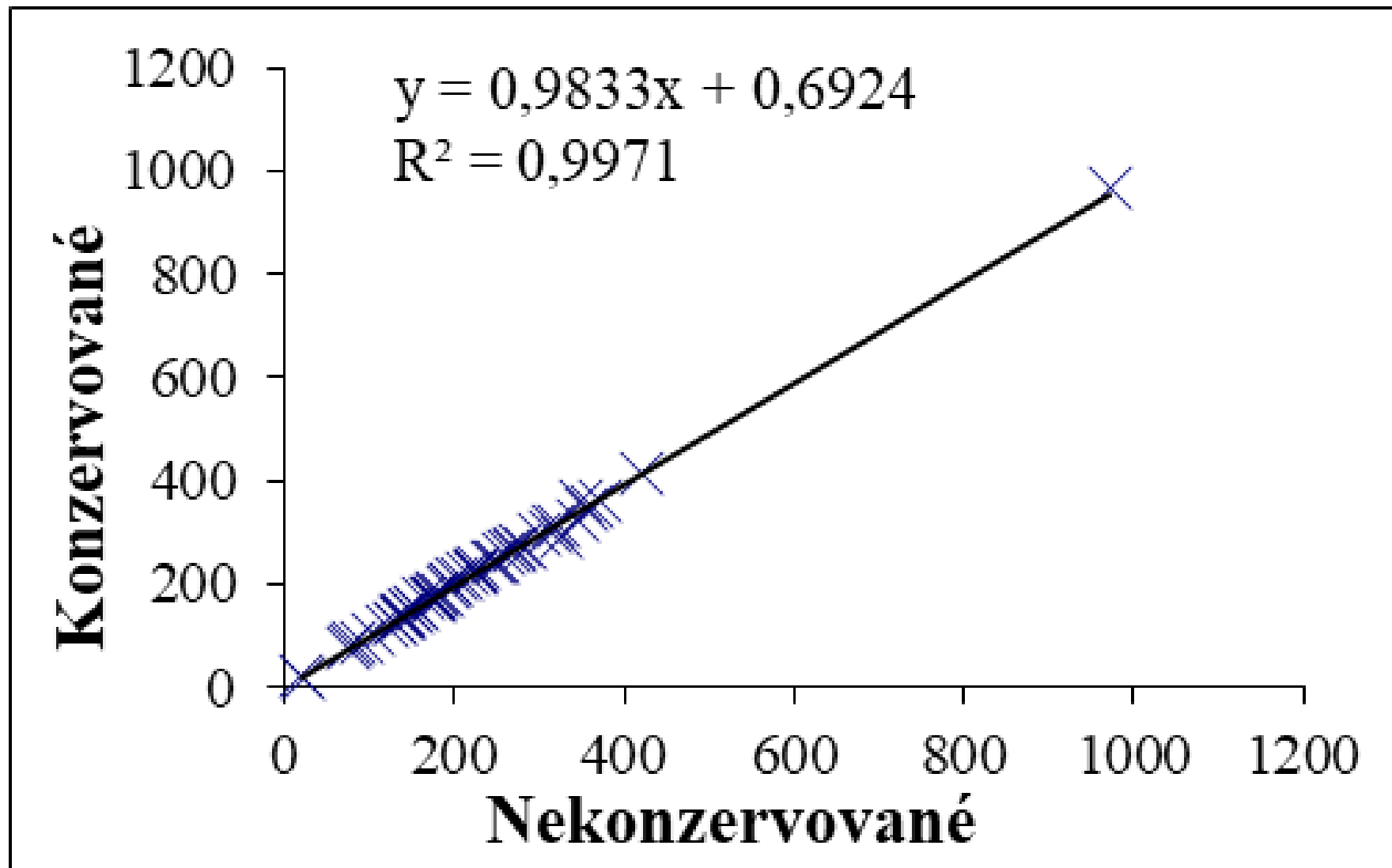
Vliv konzervace mléka Azidiolem na VMK ($\text{mmol} \times 100\text{g}^{-1}$ v tuku) podle referenčního výsledku (nekonzervované mléko) infračervenou spektroskopií MIR-FT na MilkoScan 7 ($n = 60$; $r = 0,975$ ***).



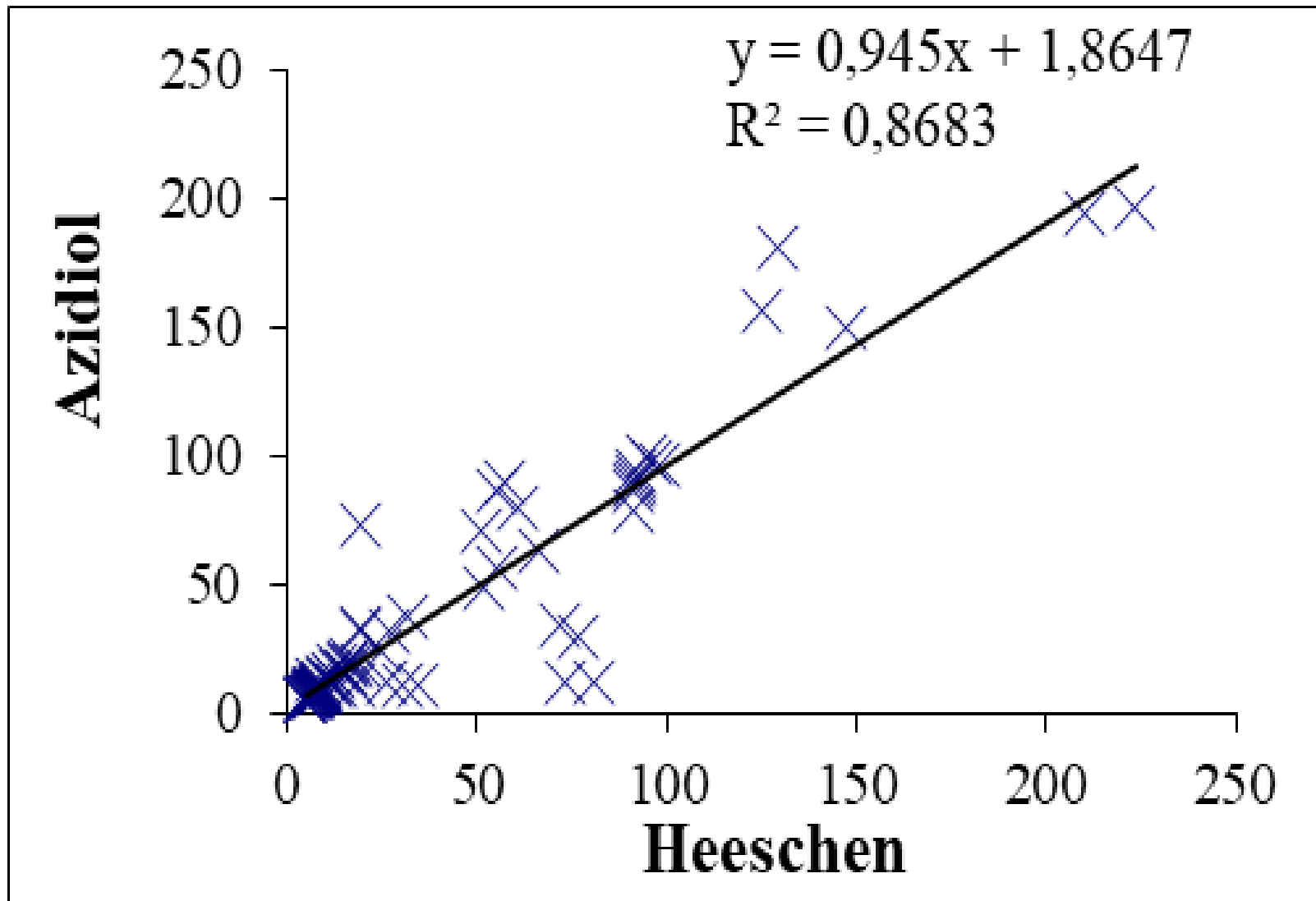
Vliv konzervace mléka Azidiolem na BMM ($^{\circ}\text{C} \times -10^4$) podle referenčního výsledku (nekonzervované mléko) pomocí kryoskopie na CryoStar I ($n = 60$; $r = 0,931$ ***).



Vliv konzervace mléka Azidiolem na PSB ($10^3 \times \text{ml}^{-1}$) podle referenčního výsledku (nekonzervované mléko) pomocí průtočné cytometrie na Fossomatic 7 ($n = 60$; $r = 0,999$ ***).



Vliv konzervace mléka Azidiolem na CPM (v 10^3 CFU \times ml⁻¹) podle referenčního výsledku (mléko konzervované Heeschenovým činidlem) pomocí průtočné cytometrie na zařízení Bactoscan FC (n = 93; r = 0,932 ***).

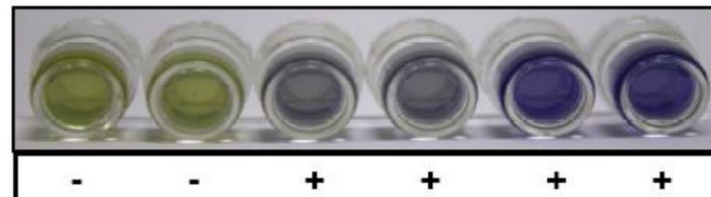


Vliv konzervace mléka Azidiolem na výsledky testů pro stanovení reziduí antibiotik

Vzorky	Test	Počet vzorků	Počet vzorků pozitivních na rezidua ATB	
			HE	AZ
Prosté reziduí ATB	Eclipse 50	100	0	0
S přidavkem penicilinu G (5 ppb)	Eclipse 50	10	10	10



Test	Senzitivita		Specifita	
	HE	AZ	HE	AZ
Eclipse 50	100 %	100 %	100 %	100 %



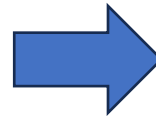
VYHODNOCENÍ VLIVU KONZERVACE VZORKŮ MLÉKA AZIDIOLEM NA VÝSLEDKY MLÉČNÝCH UKAZATELŮ

Složení mléka (včetně EBMM)

BMM kryoskopicky

PSB

CPM



Korelace

- statisticky významné

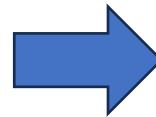
Systematické chyby

- přijatelné až zanedbatelné
- stabilní

Azidiol vhodný pro složení mléka (včetně EBMM), BMM kryoskopicky, PSB, CPM.

Rezidua ATB

(Eclipse 50)



100% senzitivita, 100% specifita

Azidiol vhodný pro Eclipse 50.

A clear glass filled with white milk, topped with a thin, yellowish, slightly textured layer. The glass is centered in the frame against a plain white background.

Děkuji za pozornost