

Tomasz Daszkiewicz, Mariusz Rymkiewicz

ZMIANY ZAWARTOŚCI 5-HYDROKSYMETYLOFURFURALU (HMF) I BARWY MLEKA UHT W TRAKCIE JEGO PRZECHOWYWANIA

Katedra Towaroznawstwa i Przetwórstwa Surowców Zwierzęcych
Wydziału Bioinżynierii Zwierząt, Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie
Kierownik: prof. dr hab. *J. Kondratowicz*

Celem badań było określenie wpływu temperatury oraz czasu przechowywania (4 miesiące) na zawartość 5-hydroksymetylofurfuralu (HMF) i barwę mleka UHT. Stwierdzono, że wraz z upływem czasu przechowywania mleka w temp. 4°C, wzrastała w nim zawartość całkowitego HMF. Stwierdzone zmiany zawartości wolnego i całkowitego HMF w mleku przetrzymywanym w temp. 20°C sugerowały zwiększone tempo dalszych przemian tych związków w kolejnych etapach reakcji Maillarda. Barwę mleka przechowywanego w temp. 20°C charakteryzowała większa dynamika zmian (wzrost) udziału w niej barwy czerwonej (a^) i żółtej (b^*) oraz indeksu żółtości (YI).*

Hasła kluczowe: mleko UHT, przechowywanie, 5-hydroksymetylofurfural, barwa.
Key words: UHT milk, storage, 5-hydroxymethylfurfural, color.

Pod wpływem ogrzewania mleka następują zmiany w strukturze molekularnej jego składników, które prowadzą do wzajemnych interakcji między nimi i tworzenia związków nietypowych dla mleka. W mleku sterylizowanym w systemie UHT również podczas jego przechowywania mogą zachodzić zmiany o charakterze chemicznym, w tym przede wszystkim w wyniku reakcji Maillarda (1).

Reakcje Maillarda zapoczątkowane podczas procesu sterylizacji UHT, w trakcie przechowywania produktu zachodzą dość wolno. Ich tempo i zakres zależą m.in. od stężenia i struktury reagentów, pH, zawartości wody, czasu i temperatury przechowywania (1). Następstwem reakcji Maillarda jest jednak zawsze zmniejszenie przyswajalności białka (2). Ponadto produkty reakcji Maillarda mogą wpływać na podwyższenie kwasowości mleka, a także pogorszenie jego cech smakowo-zapachowych i zmianę barwy w wyniku powstawania barwnych melanoidyn odpowiedzialnych za brązowienie ogrzewanego mleka (3, 4). Brunatną barwę nadaje mleku produkt pośredni reakcji Maillarda – hydroksymetylofurfural (HMF), 1-amino-1-dezoksy-2-ketoza oraz inne związki o właściwościach redukcyjnych, pojawiające się w pośrednich stadiach reakcji Maillarda. Są to związki bezbarwne lub lekko żółte i odznaczają się silną absorpcją w paśmie bliskiego ultrafioletu, co pozwala na fotometryczne oznaczanie ich zawartości w mleku (3).

Kwestia monitorowania zawartości HMF w produktach żywnościowych jest istotna zarówno ze względu na wpływ tego związku na ich jakość, jak i potencjalnie

niekorzystne oddziaływanie na zdrowie konsumentów. Wiadomo bowiem, że HMF w wysokich koncentracjach jest cytotoksyczny, powoduje podrażnienie oczu, górnego układu oddechowego, skóry i błony śluzowej jamy ustnej (5).

Celem przeprowadzonych badań było określenie wpływu temperatury oraz czasu przechowywania na zmiany zawartości HMF i barwy mleka sterylizowanego w systemie UHT.

MATERIAŁ I METODY

Material badany

Badaniami objęto mleko UHT o 2% zawartości tłuszczu, zapakowane w 24 kartony z laminatu wielowarstwowego o pojemności 1 dm³. Produkt pochodził od jednego producenta i z tej samej partii produkcyjnej. Po przewiezieniu do laboratorium, opakowania z mlekiem podzielono losowo na 8 grup (po 3 opakowania w grupie), które zakodowano literami od A do H. Mleko w opakowaniach zakodowanych literami A, B, C i D przechowywano w temp. 4°C, natomiast w opakowaniach E, F, G, H w temp. 20°C, przez okres odpowiednio 1, 2, 3 i 4 miesięcy. Każdorazowo, po upływie założonego czasu przechowywania mleka w każdej z temperatur, dokonywano analizy jakości produktu pochodzącego z trzech opakowań.

Metody analityczne

Barwę mleka charakteryzowano na podstawie wartości parametrów L* (jasność), a* (udział barwy czerwonej), b* (udział barwy żółtej), C* (nasycenie barwy), h° (kąt tonu barwy) w układzie CIELAB (6). Parametry L*, a* i b* określano metodą odbiciową za pomocą spektrokolorymetru MiniScan XE Plus firmy HunterLab (Hunter Associates Laboratory, Reston, Virginia, USA), ze źródłem światła D65, standardowym obserwatorem kolorymetrycznym o polu widzenia 10° oraz otworem pomiarowym o średnicy 2,54 cm. Za wynik końcowy przyjęto średnią arytmetyczną z trzech pomiarów próbki mleka umieszczonej w zestandaryzowanej szklanej kuwecie dostarczonej przez producenta spektrokolorymetru. Temperatura próbki mleka w czasie pomiarów wynosiła ok. 20°C (±1°C). Wartość C* obliczono ze wzoru: $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$. Ponadto obliczono wartości indeksu żółtości (YI), wykorzystując wzór: $YI = 142,86b^*/L^*$ (7).

Oznaczenie wolnego i całkowitego hydroksymetylofurfuralu (HMF) przeprowadzono metodą *Keeney'a i Bassette'a* (8). Wartość absorbancji próbek w czasie oznaczeń mierzono na spektrofotometrze Specord® 40 (Analytik Jena AG, Jena, Germany), przy długości fali 443 nm, wobec próbki kontrolnej, w której zamiast mleka użyto wody destylowanej. Zawartość wolnego i całkowitego HMF obliczano ze wzorów:

$$\begin{aligned} \text{wolny HMF } (\mu\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}) &= (A - 0,015^*) \times 81,0^{**} \\ \text{całkowity HMF } (\mu\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}) &= (A - 0,055^*) \times 87,5^{**} \end{aligned}$$

gdzie:

* – absorbancja uzyskana przy wykonywaniu oznaczenia na świeżym mleku surowym,

** – współczynnik nachylenia krzywej wzorcowej.

Za wynik końcowy oznaczenia przyjmowano średnią z dwóch równoległych oznaczeń. Oszacowano podstawowe parametry walidacyjne zastosowanej metody analitycznej. Do określenia precyzji oznaczenia wykorzystano wartość względnego odchylenia standardowego (RSD), która wyniosła 1,82%. Miarą dokładności metody był procent odzysku analitu, którego średnią wartość ustalono na poziomie 98,34%. Granicę oznaczalności analitu (LOQ) ustalono przy wartości 0,07µg/cm³. W procesie walidacyjnym wykorzystano rozcieńczenia wzorca podstawowego (5-HMF) firmy Sigma-Aldrich.

Uzyskane wyniki badań opracowano statystycznie w programie komputerowym STATISTICA (data analysis software system), wersja 7.1 (StatSoft, Tulsa, Oklahoma, USA). W celu określenia wpływu czasu i temperatury przechowywania mleka UHT na oceniane parametry jego jakości, przeprowadzono dwuczynnikową analizę wariancji. Statystyczną istotność różnic obliczono za pomocą testu Duncana.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Przeprowadzone badania wykazały brak wyraźnych zmian ($p > 0,05$) zawartości wolnego HMF w mleku przechowywanym w warunkach chłodniczych (4°C) (tab. I). Jego nieco większą zawartość stwierdzono w mleku przechowywanym najdłużej, czyli przez 4 miesiące. W mleku przechowywanym w warunkach temperatury pokojowej (20°C), największą zawartość wolnego HMF odnotowano w mleku po upływie 3 miesięcy (tab. I). Była ona większa ($p \leq 0,01$) od zawartości tego związku oznaczonej w mleku po 2 miesiącach przechowywania. Ponadto stwierdzono, że mleko po 3 miesiącach przechowywania w temperaturze pokojowej odznaczało się większą zawartością ($p \leq 0,05$) wolnego HMF w porównaniu z mlekiem przetrzymanym w temp. 4°C.

Tab e l a I. Zawartość wolnego i całkowitego HMF w mleku UHT po przechowywaniu w temp. 4 i 20°C (średnia arytmetyczna \pm SD)

Table I. Content of the free and total HMF in the UHT milk stored at temperature of 4 and 20°C (arithmetic means \pm SD)

Cecha	Temperatura	Czas przechowywania (miesiące)				Statystyczna istotność różnic między średnimi grup
		1	2	3	4	
HMF wolny	4°C	2,56 \pm 0,09	1,72 \pm 0,18	2,56 ^x \pm 0,30	3,26 \pm 0,18	ns
	20°C	3,64 \pm 2,20	1,59 \pm 0,12	5,18 ^y \pm 2,14	3,10 \pm 0,85	2 < 3 ^{**}
HMF całkowity	4°C	6,62 \pm 0,66	7,29 ^x \pm 1,31	9,80 \pm 0,38	6,27 \pm 0,72	1,2,4 < 3 ^{**}
	20°C	6,39 \pm 0,61	3,35 ^y \pm 1,19	8,43 \pm 0,49	4,93 \pm 0,74	2 < 1,3 ^{**} , 4* 4 < 3 ^{**} 1 < 3*

** – $p \leq 0,01$; * – $p \leq 0,05$; ns – $p > 0,05$

Wartości oznaczone różnymi literami w kolumnach różnią się statystycznie istotnie, XY – $p \leq 0,01$; xy – $p \leq 0,05$

Poziom całkowitego HMF w mleku przechowywanym w warunkach chłodniczych wyraźnie wzrósł po 3 miesiącu, a następnie obniżył się (tab. I). Jego średnia zawartość w tym mleku była większa ($p \leq 0,01$) od stwierdzonej w mleku po upływie pozostałych założonych okresów przechowywania. Zmiany zawartości całkowitego HMF w mleku przetrzymywanym w temperaturze pokojowej podobnie, jak w przypadku wolnego HMF, nie wykazywały jednoznacznie określonej tendencji (tab. I). Jego zawartość była największa w mleku po 3 miesiącach przechowywania, a najmniejsza w produkcie przechowywanym przez 2 miesiące (różnice między średnimi grup doświadczalnych potwierdzone statystycznie przy $p \leq 0,05$ i $p \leq 0,01$). Po drugim miesiącu przechowywania mleka stwierdzono wpływ temperatury prowadzenia tego procesu na zawartość całkowitego HMF. Na wyższym poziomie ($p \leq 0,01$) kształtowała się ona w mleku składowanym w temp. 4°C.

Uzyskane w badaniach własnych zawartości HMF w mleku UHT były większe od podawanych przez innych autorów. *Cais-Sokolińska* i *Pikul* (9), badając poziom ogólnego HMF w mleku UHT, przechowywanym w warunkach chłodniczych, stwierdzili wzrost jego zawartości o 70% po 6 tygodniach i o 300% po 12 tygodniach w stosunku do początkowej zawartości, która wynosiła $2,15 \mu\text{M}/\text{dm}^3$. W przypadku wolnego HMF wzrost jego zawartości w mleku nie był tak dynamiczny i wynosił średnio 50% po 6 tygodniach i 85% po 12 tygodniach przechowywania. Wzrost zawartości ogólnego i wolnego HMF stwierdzili również *Cais* i współpr. (10), którzy analizowali zmiany jakości mleka UHT w czasie 24-tygodniowego przechowywania w warunkach chłodniczych (4 i 8°C) oraz temp. 20°C. Należy jednocześnie zauważyć, że cytowani badacze nie stwierdzili istotnych różnic w koncentracji całkowitego HMF w mleku przechowywanym w temperaturze chłodniczej, a jego zawartość w mleku przetrzymywanym w temp. 20°C była o ok. 20% większa (niezależnie od czasu przechowywania).

Fink i *Kessler* (11) stwierdzili różnice w zawartości HMF między mlekiem UHT przechowywanym przez 32 tygodnie w warunkach chłodniczych i temp. 35°C oraz wyższej. Cytowani autorzy nie zaobserwowali natomiast zróżnicowania zawartości tego związku w mleku przechowywanym w temp. 4 i 20°C. Również *Akalin* i *Gönç* (12) stwierdzili, że przechowywanie mleka w temperaturze pokojowej nie powodowało istotnego wzrostu zawartości HMF. Dopiero podwyższenie temperatury przechowywania mleka do 30°C miało wpływ na tworzenie się większej ilości tego związku. Informacje o braku istotnego wpływu przechowywania mleka UHT w temp. poniżej 30°C na zawartość HMF można znaleźć także w innych pracach (13, 14, 15).

Jak wspomniano wcześniej, produkty reakcji Maillarda mogą wpływać na barwę mleka UHT, w wyniku powstawania barwnych melanoidyn, odpowiedzialnych za brązowienie ogrzewanego mleka. Przeprowadzone badania nie wykazały wyraźnych zmian wartości parametru L^* (jasność) barwy mleka przechowywanego w temp. 20°C (tab. II). Jedynie w mleku przechowywanym najdłużej zaobserwowano nieznacznie niższą ($p \leq 0,01$) wartość L^* w porównaniu z mlekiem przechowywanym przez 3 miesiące. W przypadku barwy mleka przechowywanego w temp. 4°C, najniższą ($p \leq 0,01$) wartość parametru L^* stwierdzono po 1 miesiącu przechowywania (tab. II). Odnotowano także tak, jak w przypadku mleka przechowywanego w temp. 20°C, spadek (potwierdzony statystycznie) wartości L^* po 4 miesiącach przechodo-

wywania produktu. Ponadto stwierdzono, że mleko przechowywane w temperaturze pokojowej odznaczało się wyższymi wartościami L^* , a statystycznej istotności różnicy między średnimi grup nie potwierdzono jedynie dla wyników pomiarów wykonanych po 2 miesiącach przechowywania produktu.

Tab e l a II. Parametry barwy mleka UHT po przechowywaniu w temp. 4 i 20°C (średnia arytmetyczna \pm SD)

Tab l e II. Color parameters of the UHT milk stored at temperature of 4 and 20°C (arithmetic means \pm SD)

Cecha	Temperatura °C	Czas przechowywania (miesiące)				Statystyczna istotność różnic między średnimi grup
		1	2	3	4	
L^*	4	84,28 ^X \pm 0,38	85,57 \pm 0,03	85,47 ^X \pm 0,22	85,04 ^X \pm 0,16	1<2,3,4** 4<3*,2**
	20	85,66 ^Y \pm 0,11	85,77 \pm 0,15	85,93 ^Y \pm 0,11	85,42 ^Y \pm 0,07	4<3**
a^*	4	-2,49 \pm 0,10	-2,33 \pm 0,005	-2,39 ^X \pm 0,08	-2,40 ^X \pm 0,03	2<1*
	20	-2,52 \pm 0,08	-2,21 \pm 0,05	-2,13 ^Y \pm 0,07	-2,21 ^Y \pm 0,05	2,3,4<1**
b^*	4	8,34 ^X \pm 0,05	8,04 ^X \pm 0,005	8,31 \pm 0,06	8,30 \pm 0,11	2<1,3,4**
	20	8,04 ^Y \pm 0,06	7,76 ^Y \pm 0,19	8,40 \pm 0,03	8,39 \pm 0,13	1,2<3,4** 2<1**
C^*	4	8,71 ^X \pm 0,06	8,37 ^X \pm 0,00	8,65 \pm 0,04	8,64 \pm 0,10	2<1,3,4**
	20	8,43 ^Y \pm 0,04	8,07 ^Y \pm 0,16	8,66 \pm 0,01	8,68 \pm 0,11	1,2<3,4** 2<1**
YI	4	14,14 ^X \pm 0,09	13,43 ^X \pm 0,00	13,90 \pm 0,07	13,94 \pm 0,17	2<1,3,4**
	20	13,41 ^Y \pm 0,08	12,92 ^Y \pm 0,30	13,96 \pm 0,04	14,03 \pm 0,22	1,2<3,4** 2<1**

** – $p \leq 0,01$; * – $p \leq 0,05$

Wartości oznaczone różnymi literami w kolumnach różnią się statystycznie istotnie, XY – $p \leq 0,01$; xy – $p \leq 0,05$

Barwa mleka po 2 oraz 3 i 4 miesiącach przechowywania w temperaturze pokojowej odznaczała się większym (odpowiednio $p > 0,05$ i $p \leq 0,01$) udziałem barwy czerwonej w porównaniu z mlekiem po analogicznym czasie przechowywania w temp. 4°C (tab. II). Mleko przetrzymywane w temp. 20°C cechował również wzrost ($p \leq 0,01$) wartości parametru a^* w stosunku do mleka po 1 miesiącu przechowywania.

Charakterystyczny dla barwy mleka po 2 miesiącach składowania w temp. 4°C i pokojowej był spadek, w stosunku do mleka przechowywanego przez 1 miesiąc, udziału barwy żółtej, a następnie jej wzrost po 3 miesiącu przechowywania (tab. II). W efekcie średnie wartości parametru b^* mleka po 2 miesiącach przechowywania były niższe ($p \leq 0,01$) od stwierdzonych dla mleka przechowywanego przez 1, 3 i 4 miesiące. Należy również zwrócić uwagę, że po pierwszych dwóch miesiącach przechowywania wartości b^* były niższe ($p \leq 0,01$) dla mleka przechowywanego w temperaturze pokojowej, natomiast po 3 i 4 miesiącu były one już zbliżone do wartości dla mleka przechowywanego w temperaturze chłodniczej. Wskazuje to tym

samym, że dynamika wzrostu udziału barwy żółtej w barwie mleka przetrzymywanego w wyższej temperaturze była większa.

Konsekwencją różnic stwierdzonych w wartościach chromatycznych wskaźników barwy mleka było zróżnicowanie nasycenia jego barwy (tab. II). Zarówno w mleku przechowywanym w temperaturze chłodniczej, jak i pokojowej, zdecydowanie najniższe wartości parametru C^* ($p \leq 0,01$) stwierdzono po 2 miesiącu przechowywania, a najwyższe po 3 i 4 miesiącu. Ponadto stwierdzono, że średnie wartości parametru C^* obliczone dla mleka po 1 i 2 miesiącu przetrzymywania w temp. 4°C były wyższe ($p \leq 0,01$) w porównaniu z mlekiem przetrzymywanym w temp. 20°C .

Francis i Clydesdale (16) zaproponowali wykorzystanie indeksu żółtości (YI), jako wskaźnika barwy mleka, którego wartość informuje o procesie brązowienia mleka. Analiza YI dla badanego mleka UHT (tab. II) wykazała, że jego wartości w mleku przechowywanym przez 3 i 4 miesiące w temperaturze pokojowej były wyższe ($p \leq 0,01$) w porównaniu z wartościami obliczonymi dla mleka z pozostałych dwóch grup. Z kolei w mleku składowanym w temp. 4°C , wartość YI po 3 i 4 miesiącach trwania eksperymentu nie przekroczyła jego wartości obliczonej dla mleka po 1 miesiącu jego przechowywania ($p > 0,05$). Najniższe wartości YI ($p \leq 0,01$) stwierdzono w mleku po 2 miesiącach przechowywania zarówno w temperaturze chłodniczej, jak i pokojowej. Ponadto analiza statystyczna wykazała, że średnie wartości tego indeksu w mleku po 1 i 2 miesiącu przechowywania w temperaturze chłodniczej były wyższe ($p \leq 0,01$) niż w mleku przetrzymywanym w temperaturze pokojowej.

Uzyskane wyniki, wskazujące na wzrost wartości b^* i C^* wraz z upływem czasu przechowywania mleka UHT oraz ich zdecydowanie większe wartości w mleku przechowywanym w wyższej temperaturze są zgodne z wynikami badań *Cais-Sokolinińskiej* i współpr. (10). Z kolei w badaniach *Popov-Raljić* i współpr. (17), pomiary barwy mleka UHT o zawartości tłuszczu 3,2 %, przechowywanego w temp. $20 \pm 5^\circ\text{C}$ przez 15, 30, 45, 60 i 90 dni, wykonane w układzie CIEL* a^*b^* , wykazały tendencje do zmniejszania się wartości L^* i b^* oraz wzrostu a^* . W mleku zawierającym 1,6% tłuszczu wartości L^* i b^* również zmniejszały się, natomiast zmiany wartości a^* nie wykazywały jednoznacznej tendencji (wzrastały i spadały w toku przechowywania produktu).

WNIOSKI

1. Wraz z upływem czasu przechowywania mleka UHT w temp. 4°C obserwowano w nim wzrost zawartości całkowitego HMF. Stwierdzone w mleku przetrzymywanym w temp. 20°C charakterystyczne zmiany zawartości wolnego i całkowitego HMF sugerowały zwiększone tempo dalszych przemian tych związków w kolejnych etapach reakcji Maillarda. Tym samym było to prawdopodobnie przyczyną braku istotnych różnic w zawartości analizowanych związków między mlekiem przechowywanym w temp. 4 i 20°C .

2. Barwę mleka przechowywanego w temp. 20°C charakteryzowała większa dynamika zmian (wzrost) udziału w niej barwy czerwonej (a^*) i żółtej (b^*) oraz indeksu żółtości (YI).

T. Daszkiewicz, M. Rymkiewicz

CHANGES IN THE HYDROXYMETHYLFURFURAL (HMF) CONTENT
AND COLOR OF UHT MILK DURING STORAGE

Summary

The aim of this study was to determine the effect of temperature and storage time (4 months) on the hydroxymethylfurfural (HMF) content and color of UHT milk. The total HMF content of milk increased during storage at 4°C. The changes noted in the content of free and total HMF in milk stored at 20°C point to a faster rate of transformations in successive stages of the Maillard reaction. The color of milk stored at 20°C was characterized by more dynamic changes, including an increase in the values of redness (a*), yellowness (b*) and the yellowness index (YI).

PIŚMIENNICTWO

1. *van Boekel M.A.J.S.*: Effect of heating on Maillard reactions in milk. *Food Chem.*, 1998; 62(4): 403-414. – 2. *Jabłoński E.*: Czynniki determinujące i modyfikujące wartość odżywczą białka. *Pediatrica Współczesna. Gastroenterologia, Hepatologia i Żywnienie Dziecka*, 2000; 2(2): 83-87. – 3. *Nursten H.*: The Maillard Reaction: Chemistry, Biochemistry and Implications, RSC Publishing, Cambridge, UK, 2005; 52-61. – 4. *van Boekel M.A.J.S.*: Formation of flavour compounds in the Maillard reaction. *Biotechnol. Adv.*, 2006; 24: 230-233. – 5. *Janowski C., Glaab V., Samimi E.*: 5-Hydroxymethylfurfural: assessment of mutagenicity, DNA-damaging potential and reactivity towards cellular glutathione. *Food Chem. Toxicol.*, 2000; 38(9): 801-809. – 6. CIE: Recommendations on uniform color spaces-color difference equations. *Psychometric Color Terms. Supplement No. 2 to CIE Publication No. 15 (E-1.3.1.)* 1978, 1971/(TC-1-3), Commission Internationale de l'E À clairage, Paris. – 7. *Rufan-Heneres J.A., Guerra-Hernandez E., Garcia-Villanova B.*: Colour measurement as indicator for controlling the manufacture and storage of enteral formulas. *Food Control*, 2006; 17: 489-493. – 8. *Keeney M., Bassette R.*: Detection of intermediate compounds in the early stages of browning reaction in milk products. *J. Dairy Sci.*, 1959; 42: 945-959. – 9. *Cais-Sokolińska D., Pikul J.*: Wpływ warunków ogrzewania i chłodniczego przechowywania na zmiany jakościowe mleka UHT. *Przegląd Mleczarski*, 1998; 9: 282-285. – 10. *Cais-Sokolińska D., Pikul J., Danków R.*: Measurement of colour parameters as an index of the Hydroksymetylfurfural content in the UHT sterilized milk during its storage. *EJPAU*, 2004; 7(2).
11. *Fink R., Kessler G.*: HMF values in heat treated and stored milk. *Milchwissenschaft*, 1986; 41(10): 638-641. – 12. *Akalin A.S., Gönç S.*: Lactulose and 5-HMF contents in market milks. *Milchwissenschaft*, 1997; 52(7): 377-380. – 13. *Fink R., Kessler G.*: Comparison of methods for distinguishing UHT treatment and sterilization of milk. *Milchwissenschaft*, 1988; 43(5): 275-279. – 14. *Jimenez-Perez S., Corzo N., Morales F.J., Delgado T., Olano A.*: Effect of storage temperature on lactulose and 5-hydroxymethyl-furfural formation in UHT milk. *J. Food Prot.*, 1992; 55: 304-306. – 15. *Ukeda H., Goto Y., Sawamura M., Kusunose H., Kamikado H., Kamei T.*: Reduction of tetrazolium salt XTT with UHT-treated milk: its relationship with the extent of heat treatment and storage conditions. *Food Sci. Technol. Int.*, 1995; 1: 52-57. – 16. *Francis F.J., Clydesdale F.M.*: Food colorimetry: theory and applications. The AVI Publishing Company Inc., Westport Connecticut, 1975; 417-423. – 17. *Popov-Raljić J.V., Lakić N.S., Laličić-Petronijević J.G., Barać M.B., Sikimić V.M.*: Color changes of UHT milk during storage. *Sensors*, 2008; 8: 5961-5974.

Adres: 10-719 Olsztyn, ul. Oczapowskiego 5