

VLIV PŘÍDAVKU TRANSGLUTAMINÁZY NA SRÁŽENÍ MLÉKA

Marcela Tomanová

Bakalářská práce
2019



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie potravin
akademický rok: 2018/2019

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Marcela Tomanová**
Osobní číslo: **T15468**
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Chemie a technologie potravin**
Forma studia: **kombinovaná**

Téma práce: **Vliv přídavku transglutaminázy na srážení mléka**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Charakterizujte základní složky mléka a způsoby tepelného ošetření mléka.
2. Zabývejte se vlivem tepelného ošetření na jednotlivé složky a vlastnosti mléka.
3. Popište kyselé a sladké srážení mléka a faktory, které na tento proces působí.

II. Praktická část

1. Provedte experimenty, ve kterých budete sledovat vliv přídavku transglutaminázy na pevnost vznikajícího mléčného gelu.
2. Pro sledování průběhu srážení využijte dynamickou oscilační reometrii.
3. Vyhodnoťte výsledky a formulujte závěry.

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

[1] BUŇKA, F., PACHLOVÁ, V., BUŇKOVÁ, L., ČERNÍKOVÁ, M. Mlékárenská technologie I. UTB ve Zlíně: 2013.

[2] MOUDRÁ, M., PACHLOVÁ, V., ČERNÍKOVÁ, M., ŠOPÍK, T., BUŇKA, F. The combined effects of fat content, calcium chloride, and coagulant concentration on the development of cheese curd structure. *International Dairy Journal*, 2017, 73, 92-97.

[3] PERREAULT, V., TURCOTTE, O., MORIN, P., POULIOT, Y., BRITEN, M. (2016). Combined effect of denatured whey protein concentrate level and fat level in milk on rennet gel properties. *International Dairy Journal*, 55, 1-9.

[4] MELLEMA, M., WALSTRA, P., van OPHEUSDEN, J. H. J., van VLIET, T. (2002). Effects of structural rearrangements on the rheology of rennet-induced casein particle gels. *Advances in Colloid and Interface Science*, 98, 25-50.

Vedoucí bakalářské práce: **prof. Ing. František Buňka, Ph.D.**
Ústav technologie potravin

Datum zadání bakalářské práce: **2. února 2019**

Termín odevzdání bakalářské práce: **15. května 2019**

Ve Zlíně dne 2. února 2019

L.S.

doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

doc. Ing. Jiří Mlček, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: Tomanová Marcela

Obor: CHTP

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 9.5.2019

.....

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRACT

Bakalářská práce se zabývá vlivem přídavku transglutaminázy na srážení mléka. Teoretická část obsahuje základní informace o složení mléka, způsobech tepelného ošetření mléka, vlastnostech mléka a následně se snaží popsat vliv tepelného ošetření mléka na jednotlivé složky mléka. Dále se zaměřuje na princip srážení mléka. Předposlední kapitola teoretické části je věnována enzymu transglutamináza. Je to enzym, který je používán v potravinářství. Praktická část je zaměřena na zjišťování vlivu přídavku transglutaminázy na vznik mléčného gelu. Jsou zde popsány experimenty zaměřené na viskoelastické vlastnosti vznikajícího gelu v procesu srážení. Jsou zde použity čtyři různé množství transglutaminázy (4, 6, 8 a 12 μg), při čtyřech teplotách (30, 32, 34 a 36°C). Z výsledků vyplynulo, že se jeví jako optimální teplota 34°C při přídavku 150-200 μg TG na kg mléka.

Klíčová slova: mléko, transglutamináza

ABSTRACT

The bachelor thesis deals with the influence of the addition of transglutaminase on the precipitation of milk. The theoretical part contains basic information about milk composition, methods of milk heat treatment, milk properties and then tries to describe the effect of milk heat treatment on individual milk components. It also focuses on the principle of milk precipitation. The penultimate chapter of the theoretical part is devoted to the enzyme transglutaminase. It is an enzyme used in the food industry. The practical part is focused on determining the effect of the addition of transglutaminase on the formation of milk gel. It describes experiments focusing on viscoelastic properties of the resulting gel in the precipitation process. There are four different amounts of transglutaminase (4, 6, 8 and 12 μg) used at four temperatures (30, 32, 34 and 36°C). The results showed that 34°C at the addition of 150-200 μg TG per kg of milk appeared to be the optimal temperature.

Keywords: milk, transglutaminase

Ráda bych poděkovala svému vedoucímu bakalářské práce prof. Ing. Františku Buňkovi, Ph.D., za odborné vedení, cenné rady, paní Ing. Ludmile Zálešákové za vstřícnost a pomoc v laboratoři a mé rodině, která se mnou měla trpělivost a podporovala mě při studiu a psaní této bakalářské práce.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD.....	7
I TEORETICKÁ ČÁST.....	8
1 CÍL PRÁCE	9
2 CHARAKTERISTIKA MLÉKA.....	10
2.1 ROZDĚLENÍ MLÉKA.....	10
2.2 SLOŽENÍ MLÉKA	11
2.2.1 Dusíkaté látky.....	11
2.2.2 Ostatní složky.....	13
2.3 ZPŮSOBY TEPELNÉHO OŠETŘENÍ MLÉKA.....	14
2.3.1 Termizace.....	15
2.3.2 Pasterace.....	15
2.3.3 Sterilace.....	16
2.4 VLASTNOSTI MLÉKA.....	16
2.4.1 Fyzikálně – chemické vlastnosti mléka.....	17
2.5 VLIV TEPELNÉHO OŠETŘENÍ NA JEDNOTLIVÉ SLOŽKY MLÉKA	18
2.5.1 Vliv na mléčné bílkoviny	18
2.5.2 Minerální látky	19
3 SRÁŽENÍ MLÉKA	21
3.1 SLADKÉ SRÁŽENÍ.....	21
3.1.1 Primární fáze	22
3.1.2 Sekundární fáze.....	22
3.1.3 Terciální fáze.....	22
3.2 KYSELÉ SRÁŽENÍ.....	23
3.3 KOMBINACE KYSELÉHO A SLADKÉHO SRÁŽENÍ	23
3.4 FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ SÝŘENÍ MLÉKA.....	23
4 TRANSGLUTAMINÁZA.....	25
4.1 VYUŽITÍ TG V POTRAVINÁŘSTVÍ.....	25
5 REOLOGIE	27
5.1 TYPY REOMETRŮ.....	27
5.1.1 válec – válec	27
5.1.2 kužel – deska	27
5.1.3 deska – deska.....	28
II PRAKTICKÁ ČÁST	29
6 MATERIÁL A METODY	30
7 VÝSLEDKY A DISKUZE.....	32
ZÁVĚR	36
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	37
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	41

SEZNAM OBRÁZKŮ	42
SEZNAM TABULEK.....	43
SEZNAM PŘÍLOH.....	44

ÚVOD

Mléko a mléčné výrobky patří k nejvýznamnějším potravinám v jídelníčku člověka.

Jsou zdrojem vápníku, bílkovin, vitamínů, ale také minerálních látek jako je jód, fosfor a další. Škála výrobků, které se z mléka vyrábí, je pestrá. Velkou skupinu tvoří sýry. Sýry jsou potravinou živočišného původu. Sýry se vyrábí se z mléka pomocí kyselého srážení (kyselinou mléčnou) anebo pomocí sladkého srážení (pomocí syřidel). Druhotným produktem při výrobě je syrovátka. Aby mohl být vyroben kvalitní sýr, je třeba dodržovat technologické postupy a vědět, které faktory, mohou kvalitu sýru ovlivňovat. Mezi faktory, které nám mohou ovlivnit kvalitu sýra, patří množství syřidla, kvalita a zpracování sýřeniny a další.

Součástí výroby sýru jsou různé druhy enzymů. V potravinách se vyskytují, buď že je tam enzymy záměrně přidám (dochází k vylepšení specifických vlastností), nebo se enzymy v potravinách vyskytují přirozeně (mikrobiální, rostlinné a živočišné). Mikrobiálním enzymem, který se v potravinářství používá je transglutamináza, která se začíná v poslední době používat, ale není o ní moc informací. Transglutamináza se využívá při výrobě sýra, kysaných mléčných výrobků, tvarohů, v pekařském a masném průmyslu. Transglutamináza zdokonaluje viskozitu, elasticitu, krémovitost, zlepšuje konzistenci a prodlužuje trvanlivost.

V teoretické části bylo cílem popsat obecnou charakteristiku mléka, enzym transglutamináza a reologii.

V praktické části bylo cílem zjistit, jakým způsobem množství transglutaminázy ovlivňuje tvorbu mléčného gelu za různých teplot a jaký má vliv na výsledné viskoelastické vlastnosti.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 CÍL PRÁCE

Cílem této bakalářské práce bylo sledovat vliv enzymu transglutaminázy v průběhu srážení mléka na pevnost mléčného gelu.

V teoretické části bylo cílem:

- popsat základní složky mléka a tepelné ošetření mléka
- zabývat se vlivem tepelného ošetření na jednotlivé složky a vlastnosti mléka
- popsat kyselé a sladké srážení mléka a faktory, které na tento proces působí

V praktické části bylo cílem:

- provést experimenty, ve kterých bude sledován vliv přídatku transglutaminázy na pevnost vznikajícího mléčného gelu
- pro sledování průběhu srážení využít dynamickou oscilační reometrii
- vyhodnotit výsledky a formulovat závěry

2 CHARAKTERISTIKA MLÉKA

2.1 Rozdělení mléka

Mléko je sekret mléčné žlázy určený pro výživu novorozenců. Kravské mléko má bílou nebo mírně nažloutlou barvu. Chuť je nasládlá.

Dle vyhlášky 397/2016 Sb. § 2 písmena a) je mlékem mléko, podle nařízení o společné organizaci trhů se zemědělskými produkty, splňující požadavky právních předpisů upravujících veterinární a hygienické požadavky na živočišné produkty a předpisů Evropské unie upravujících hygienická pravidla pro potraviny živočišného původu a ošetřené podle právních předpisů upravujících veterinární a hygienické požadavky na veterinární produkty a podle nařízení, kterým se stanoví zvláštní hygienická pravidla pro potraviny živočišného původu. [1] Dle Nařízení Evropského Parlamentu a Rady (ES) č.853/2004 Syrovým mlékem se rozumí mléko produkované sekrecí mléčné žlázy hospodářských zvířat, které nebylo podrobeno ohřevu nad 40°C a nebylo ani ošetřeno žádným způsobem s rovnocenným účinkem. [2]

Podle rozdílů ve složení mléka v období laktace rozlišujeme:

- mléko nezralé neboli mlezivo, které je vylučované několik dní po porodu (cca 3 až 5 dní). Toto mléko je bohaté na protilátky a minerální látky.
- mléko zralé, která je tvořeno v průběhu dalších fází laktace. Toto mléko je využíváno jako potravina a je zpracováváno na mlékárenské výrobky. [3]

Podle vzájemného zastoupení hlavních druhů bílkovin se mléka dělí na:

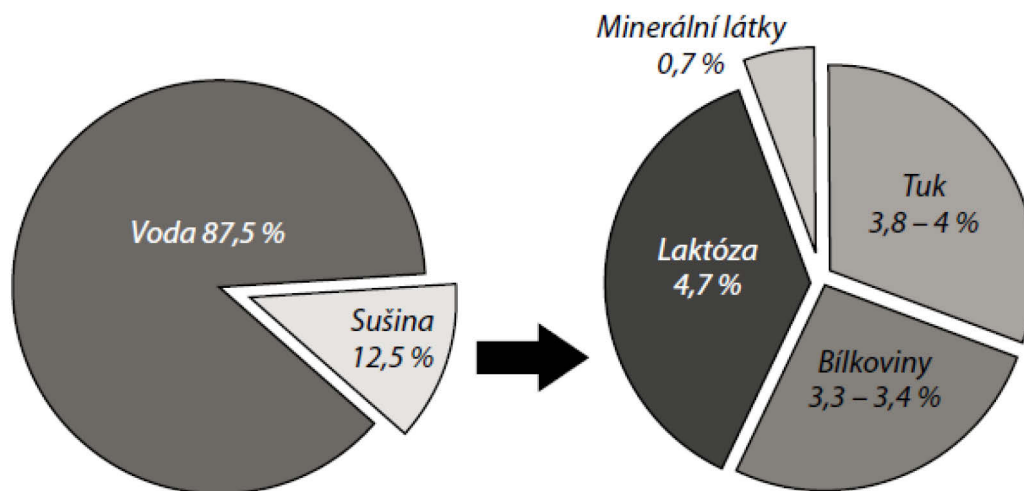
- kaseinová, která jsou produkována přežvýkavci, kasein představuje v tomto mléce minimálně 75% z celkových bílkovin.
- albuminová, která jsou produkována masožravci, všežravci a býložravci s jednoduchým žaludkem, kasein představuje v tomto mléce maximálně 75% z celkových bílkovin. [4]

Albuminová mléka jsou rozšířenější, ale větší význam pro průmyslové zpracování mají mléka kaseinová.

V ČR je nejvíce využíváno mléko kravské. Proto také pod pojmem „mléko“, se vztahuje v potravinářství na mléko kravské. Malou spotřebu má mléko kozí, ovčí, buvolí, velbloudí. [5]

2.2 Složení mléka

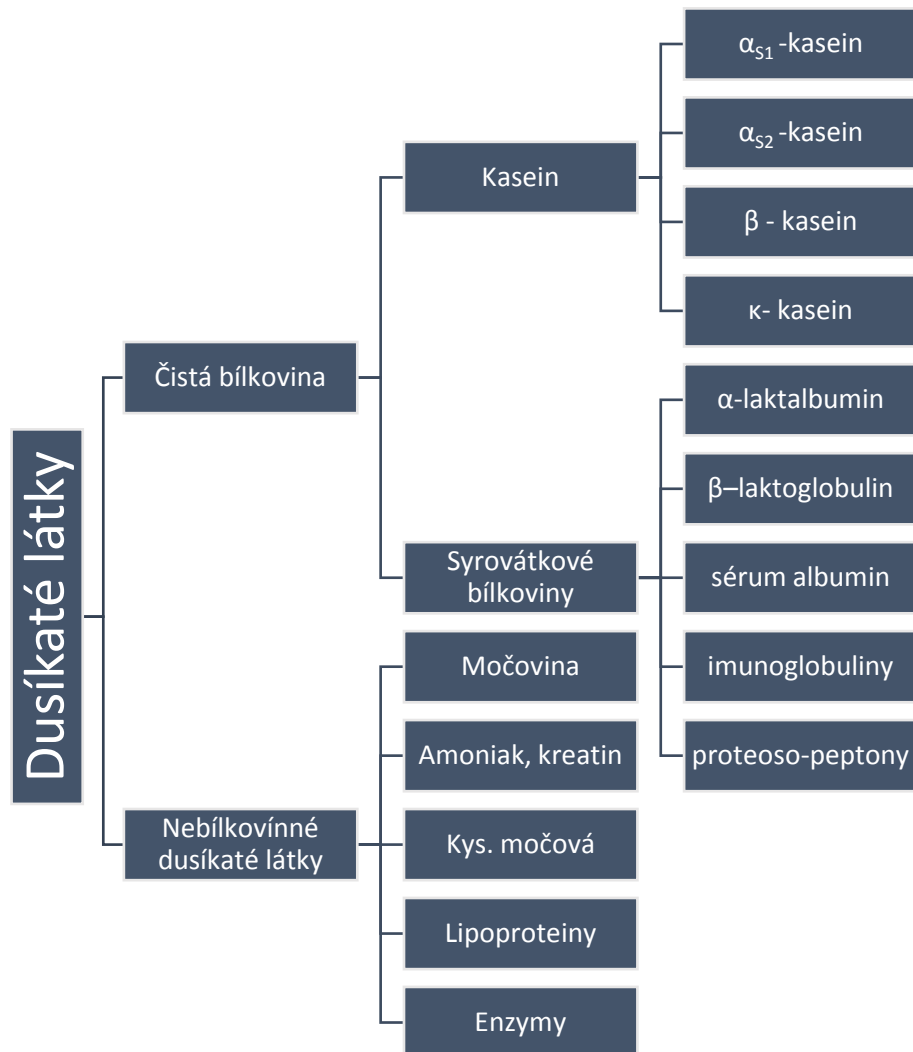
Chemické složení mléka závisí na plemenu skotu, jeho genetickém potenciálu, výživě, aktuálním zdravotním stavu atd. Mléko je složeno ze sušiny, vody a plynů viz obrázek 1. Hodnota pH se u kravského mléka pohybuje v rozmezí 6,5 - 6,7. [4]



Obrázek 1 – Podíl vody, sušiny, laktózy, tuku, bílkovin v mléce. (Zpracováno podle Gajdůšek, 1998)

2.2.1 Dusíkaté látky

Dusíkaté látky v mléce tvoří nejkompexnější složku mléka. Asi 95% dusíkatých látek v mléce jsou bílkoviny a zbytek tvoří močovina, amoniak, kreatin, kyselina močová atd. viz obrázek 2. Kravské mléko obsahuje dvě skupiny bílkovin. Je to bílkovina **kaseinového komplexu** a **syrovátková bílkovina**.



Obrázek 2 – Rámcové rozdělení dusíkatých látek kravského mléka (Zpracováno podle Janštová, 2012)

Kaseinový komplex je směsí bílkovin mléka (tabulka 1), která je syntetizována mléčnou žlázou. Je to komplex frakcí fosfoproteinů. Kaseinový komplex se sráží mléčným kysáním zředěnou kyselinou, buď přidanou, nebo vytvořenou mléčným kysáním. Působením enzymu chymozinu dochází k rozštěpení κ -kaseinu, který ztrácí svůj ochranný vliv na ostatní frakce a všechny frakce kaseinu se vysráží ve formě vápenatých solí. Těchto způsobů se používá k výrobě sýrů, buď kyselých (srážením kaseinu působením kyselin), nebo sladkých (při srážení mléka chymozinem). Převážná část kaseinových frakcí je v mléce vázána do velkých koloidních útvarů, které se nazývají kaseinová micela. V těchto micelách je také vápník, hořčík, citronany a fosforečnany. [6]

Tabulka 1 - Rozdělení kaseinu (zpracováno podle Gajdůšek, 1998)

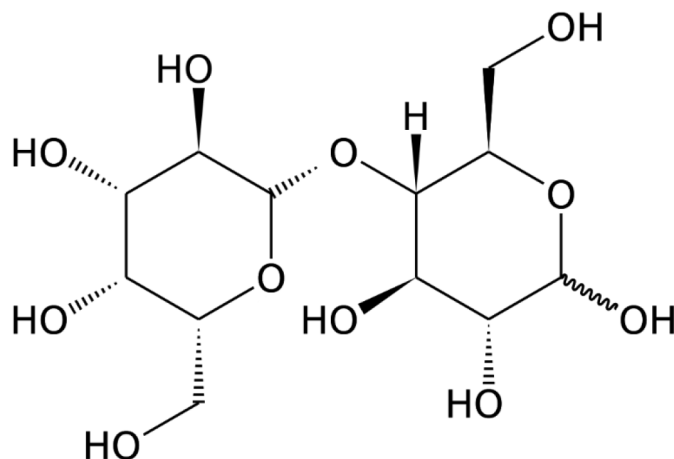
FRAKCE KASEINU	MNOŽSTVÍ KASEINOVÝCH BÍLKOVIN ((%)
α_{S1} -kasein	38 - 42
α_{S2} -kasein	9 - 11
β - kasein	32 - 35
κ- kasein	10 - 15

Syrovátkové (sérové) bílkoviny je takové bílkoviny, které zůstávají v syrovátce po vysrážení kaseinu syřidlem nebo kyselinou. V kravském mléce představují 17 až 20% z celkového množství bílkovin. Syrovátkové bílkoviny mají větší nutriční hodnotu než kasein. Mezi bílkovinami syrovátky převládá α -laktalbumin (asi 20 - 25 % sérových bílkovin) a β -laktoglobulin (obsahuje asi 50% sérových bílkovin). [6]

2.2.2 Ostatní složky

Tuk je v mléce dispergován ve formě tukových kuliček. Tukové kuličky jsou obaleny membránou. Průměr tukových kuliček v kravském mléce se pohybuje v intervalu 0,1-20,0 μm . Podílí se na sensorických a reologických vlastnostech mléka a mléčných výrobků. Mléko většiny savců je tvořeno triacylglyceroly z 97-98% z celkových tuků. V mléce se také vyskytují tzv. „minoritní lipidy“, kterými jsou diacylglyceroly, monoacylglyceroly, volné mastné kyseliny, fosfolipidy, steroly (cholesterol), vitamíny rozpustné v tucích (A, D, E, K). V kravském mléku je velké množství mastných kyselin. Z mastných kyselin vázaných ve fosfolipidech největší podíl nenasycené mastné kyseliny (olejová), nasycené mastné kyseliny (myristová, palmitová, stearová). Složení mléčného tuku ovlivňuje plemeno, roční období, krmná dávka a zdravotní stav dojnice. [5]

Základním sacharidem mléka je laktóza (obrázek 3). Laktóza je disacharid složený z D - galaktózy a D - glukózy spojených glykosidickou vazbou. Laktóza dodává mléku nasládlou chuť, podílí se na barvě, chuti, vůni výrobků, podporuje absorpci vápníku, je zdrojem energie. Sladivost laktózy je pod 1/3 sladivosti sacharózy. [7]



Obrázek 3 – Strukturní vzorec laktózy (přepřacováno podle Murray, 2012)

Minerální látky jsou do mléka přenášeny krví. Mléko obsahuje organické a anorganické soli. Minerální látky se dělí podle jejich množství na:

- majoritní prvky (makroelementy): Na, K, Mg, Ca, Cl, P, S
- minoritní minerální prvky
- stopové prvky (mikroelementy): Fe, Zn, Mn, Cu, Ni, Co, Mo, Cr, Se, I, F, B

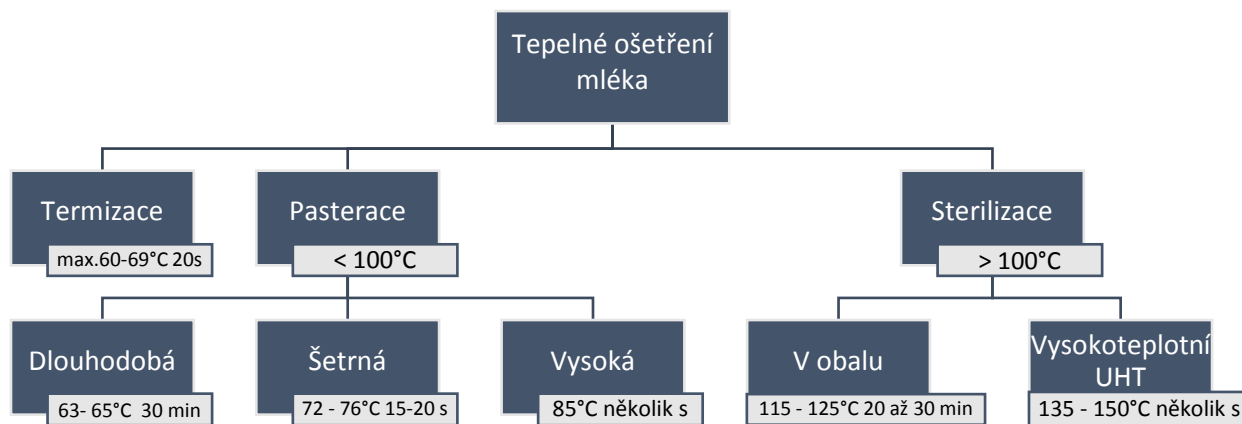
Obsah minerálních látek v mléce není konstantní, ale je ovlivněn řadou faktorů, jako je stádium laktace, výživa, genetické faktory a faktory vnějšího prostředí. [8]

Význam vitamínů v mléce spočívá zejména ve výživě sajících mláďat. Z nutričního hlediska je kravské mléko velmi dobrým zdrojem vitamínů v dietě člověka. Významný je především obsah vitamínů B₂ a B₁₂. Vitamíny E a vitamíny A jsou ovlivněny krmivem a souvisí s obsahem tuku v mléku. Vitamíny skupiny B a vitamín K jsou syntetizovány bacherovou mikroflórou. Vitamín C je syntetizován v játrech a ve střevech a ledvinách. Obsah vitamínů není stálý, ale je ovlivněn výživou, plemenem, zdravotním stavem dojnice atd. Vitamíny dělíme na rozpustné ve vodě (vitamíny skupiny B a C) a vitamíny rozpustné v tucích (A, D, E, K). [9]

2.3 Způsoby tepelného ošetření mléka

Tepelné ošetření mléka je technologický proces (obrázek 4), kdy se za různých teplot a doby působení tepelného záhřevu dochází k prodloužení trvanlivosti, zdravotní nezávadnosti a

omezuje se počet nežádoucích mikroorganismů. Tepelné ošetření musí být šetrné, aby si zachovalo svou původní biologickou a technologickou kvalitu. [10] Jsou 2 typy tepelného ošetření a kromě toho se využívá termizace, která nesplňuje parametry tepelného ošetření podle NEPR č. 853/2004.



Obrázek 4 – Tepelné ošetření mléka (zpracováno podle Gajdůšek, 1998)

2.3.1 Termizace

Je to tepelné ošetření nižší intenzity než nízká pasterace, obvykle 20 sec. Při teplotě 60-69°C. Kromě usmrcení mnoha vegetativních forem mikroorganismů, termizace nezpůsobuje žádné nevratné změny v mléce. Vzhledem k relativně nízkým teplotám a krátké době působení není tento postup dostatečný k usmrcení patogenních mikroorganismů. Zařízení na termizaci je podobné zařízením, které se používají při pasteraci. [11]

Dle vyhlášky 397/2016 Sb. o požadavcích na mléko a na mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje je termizaci tepelné ošetření mléčných výrobků po ukončení kysacího procesu a před balením a k potlačení nebo zastavení aktivity přítomné mléčné mikroflóry až do teploty 80°C. [12]

2.3.2 Pasterace

Je to proces, při kterém se mléko zahřívá do 100°C, dále tato definice platí i pro potraviny s pH nad 4. Dochází redukci počtu vegetativních forem mikroorganismů a bakteriální spory nejsou devitalizovány. [4]

U dlouhodobé pasterace je záhřev 63-65°C po dobu 30 minut. Metoda LTLT (low temperature, long time). Dochází k inaktivaci alkalické fosfatázy. Používá se spíše ve výjimečně, spíš v malých výrobnách a domácí výrobě. [7]

U šetrné pasterace je záhřev na 72-76°C po dobu 15-20 sekund. Metoda HTST (high temperature, short time). Inaktivuje alkalickou fosfatázu. Aktivní zůstává laktoperoxidáza. Minimálně inaktivují další enzymy a sensorické a technologické vlastnosti jsou ovlivněny minimálně. Denaturuje zde 15% sérových (syrovátkových) bílkovin. Využití při výrobě polotvrdých a tvrdých sýrů. [7]

U vysoké pasterace je záhřev obvykle 85°C po dobu několika sekund. Inaktivace alkalické fosfatázy a laktoperoxidázy. Je zde velká inaktivace dalších enzymů a sensorické a technologické vlastnosti jsou značně ovlivněny (vařivá příchut'). Denaturuje zde více jak 50% sérových (syrovátkových) bílkovin. V ČR se používá k pasteraci konzumních mlék a při výrobě kysané mléčných výrobků, kondenzovaných a sušených mlék. [7]

2.3.3 Sterilizace

Je to proces, kdy je ohřev nad 100°C, dále tato definice platí i pro potraviny s pH nad 4. Je to proces, kdy dochází k inaktivaci vegetativních forem mikroorganismů a také většiny bakteriálních spor. Tím se dosáhne prodloužení trvanlivosti výrobků až na několik měsíců. [7]

Sterilizace v obalu se provádí v hermeticky uzavřeném obalu při teplotě 115-125°C po dobu 20-30 minut.

Vysokotepeelné ošetření (UHT záhřev) je to kontinuální záhřev na teplotu 135-150°C po dobu několika sekund, s následným aseptickým balením do neprůsvitných obalů, aby chemické, fyzikální a smyslové změny byly minimální. [7]

2.4 Vlastnosti mléka

Mléko je polydisperzní systém a jeho charakter určují jednotlivé složky mléka. Skládá se ze dvou základních částí a to z tekutiny (plazmy), která je nazývána disperzním prostředím a z malých částic, které jsou rozptýleny v tomto prostředí a ta je nazývána dispergovanou fází. [5]

Vlastnosti mléka dále ovlivňují vnější faktory, kterými jsou teplota uchování mléka, ošetření mléka po nadojení atd. [4]

2.4.1 Fyzikálně – chemické vlastnosti mléka

Kyselost mléka hodnotí se podle titrační a aktivní kyselosti. **Titrační kyselost mléka** se definuje jako pufrační kapacita mléka mezi hodnotou pH mléka (6,6) a hodnotou bodu ekvivalence indikátoru pH fenoftaleinu (8,3). Tradičně se udává v jednotkách dle Soxhlet-Henkela (SH), která vyjadřuje počet ml NaOH o koncentraci $0,25 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ potřebných k neutralizaci 100 ml mléka na indikátor fenoftalein. U čerstvě nadojeného mléka od zdravé dojnice se má pohybovat v rozmezí 6,2-7,8 SH (dle Soxhlet- Henkela). Kyselost čerstvě nadojeného mléka závisí na kaseinových bílkovinách, aniontech fosforečnanů, na oxidu uhličitém, citronanech a sérových bílkovinách. [13] **Aktivní kyselost mléka** při teplotě 25°C je $6,6 \pm 0,1$. Se zvyšující teplotou se zvyšuje i pH mléka. Za nejdůležitější faktory ovlivňující pH mléka jsou označovány stádium laktace a zdravotní stav mléčné žlázy. [8]

Hustota mléka závisí na chemickém složení mléka. Hustota mléka se pohybuje v rozmezí $1,026-1,036 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$. Hustota mléka je závislá na obsahu hlavních složek mléka (vody, tukuprosté sušiny, tuku) teplotě a tepelném namáhání mléka. Měření hustoty se používá k přepočtu objemového měření na gravimetrické a k výpočtu fyzikálních vlastností jako je kinematická viskozita a tepelná difuzivita. Nižší hustota (pod $1,028 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$) může ukazovat na zvodnění mléka. [4]

Bod mrznutí mléka je vlastnost, kdy se dá díky této vlastnosti odhalit přídavek vody do mléka. Bod mrznutí se pohybuje od $-0,57$ až $-0,54^\circ\text{C}$. Je zde předpoklad, že když je přidáno 1% vody do mléka se zvýší bod mrznutí o $0,005-0,006^\circ\text{C}$. Snížení bodu mrznutí mléka (ve srovnání s vodou) má vliv rozpuštěná laktóza. Chloridové fosforečnanové a citronanové anionty a také bílkoviny. [14]

Mléko se v elektrickém poli chová jako slabý elektrolyt, což mají na svědomí rozpuštěné a disociované soli. Elektrická vodivost je definovaná jako opačná hodnota odporu, na který narazí elektrický proud při průchodu roztokem. **Měrná vodivost** je podmíněna i dalšími elektrolyty (neplatí pro NaCl, KCl). Dalšími elektrolyty jsou kationty vápníku, hořčíku, železa a mědi a z aniontů chloridy, fosfáty a citráty. Hodnoty měrné vodivosti se pohybují při teplotě 20°C v rozmezí $0,38-0,45 \text{ S} \cdot \text{m}^{-1}$. [15]

Povrchové napětí mléka je nižší než povrchové napětí vody. Nižší je to proto, že je vysvětlováno především přítomností povrchově aktivních látek (bílkovin a fosfolipidů) a z toho plyne: [7] [5]

- mléko tvoří snadno malé kapky, které pronikají do nerovností povrchů – zvyšuje se tedy poskytnutí média pro rozvoj kontaminující mikroflóry. [7]
- vyšší povrchové napětí vody, ve srovnání s mlékem – pro účely sanitace není potřeba přidávat do vody povrchově aktivní látky, pro dosažení dostatečné smáčivosti vody ve vztahu k částicím mléka. [7]
- při chlazení se zvyšuje pěnivost mléka a smetany. Zvýšená pěnivost mléka je spíše komplikací. [7]

2.5 Vliv tepelného ošetření na jednotlivé složky mléka

Aplikace vyšších teplot nám kromě inaktivace vybraných skupin enzymů a mikroorganismů může způsobit řadu negativních změn v systému mléka, proto se využívá více typů tepelného ošetření (kombinace teploty a doby působení), podle výroby konkrétního výrobku. Změny, které vznikají tepelným záhřevem, postihují jak bílkoviny, sacharidy, tuky, minerální látky, enzymy, vitamíny, tak i ostatní sloučeniny. Změny složek mléka narůstají s prodlužujícím záhřevem a zvyšující se teplotou. [16]

2.5.1 Vliv na mléčné bílkoviny

Jelikož je malý podíl sekundárních a terciálních struktur v molekule kaseinových bílkovin jsou odolné vůči denaturaci. Může, ale dojít v průběhu tepelného záhřevu k defosforylaci, hydrolyze nebo až k agregaci kaseinových bílkovin. V souvislosti s tepelným ošetřením mléka se mluví o tzv. vařivé příchuti, která je spojována s uvolněním thiolových skupin (-SH) při denaturaci syrovátkových bílkovin a některých lipoproteinů. Sérové bílkoviny patří k snadno denaturovaným, protože mají velké zastoupení sekundárních a terciálních struktur. Sérový albumin a β -laktoglobulin denaturují již při teplotě nad 70°C . Denaturace β -laktoglobulinu má zásadní význam pro vlastnosti mléka. Denaturovaný β -laktoglobulin může přes svou thiolovou skupinu reagovat se skupinou thiolovou κ - kaseinu, za vzniku disulfidického můstku, kterým je β -laktoglobulin navázán na κ - kasein. Vzniklý komplex má zásadní význam pro řadu funkčních vlastností mléčných bílkovin, a to zejména kaseinů. Zhorší se syřitelnost mléka, tzn. schopnost vysrážet mléko za pomoci syřidla (enzymu, který štěpí peptidovou vazbu mezi 105. a 106. aminokyselinou a to je mezi fenylalaninem a

methioninem). Navázáním β -laktoglobulinu na κ -kasein se může ovlivnit i vaznost vody sýřeniny při výrobě přírodních sýrů. Denaturace sérových bílkovin má význam ve zvýšení jejich stravitelnosti. Denaturované bílkoviny jsou přístupnější pro proteolytické enzymy trávicího traktu člověka. [3]

Imunoglobuliny denaturují při záhřevu 74°C po dobu 15 s. Naopak α -laktaalbumin patří k velmi stabilním sérovým proteinům. Denaturuje až při záhřevu kolem 100°C po dobu 5 minut. [17]

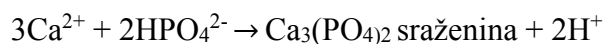
V důsledku tepelného záhřevu může být narušena tepelná stabilita mléka, která je důležitá pro např. vysokopasterovaného mléka, mléka ošetřeného UHT. Mléko s poškozenou tepelnou stabilitou snadněji podléhá agregaci přítomných bílkovin, a to již v průběhu tepelného záhřevu nebo během skladování. Obvyklým projevem narušení tepelné stability mléka je vytváření viditelných agregátů (vloček) usazených na dně výrobku. [5]

Na vliv tepelné stability mléka má vliv:

- koncentrace kationtů Ca^{2+} a Mg^{2+} , kdy větší obsah těchto iontů vede ke snížení tepelné stability mléka.
- hodnota pH mléka, kdy se se zvyšující kyselostí tepelná stabilita klesá.
- koncentrace a vzájemné poměry jednotlivých bílkovinných frakcí.
- operace, kterým bylo mléko podrobeno, jako je zahuštění, homogenizace...
- koncentrace aniontů a to zejména fosforečnanů a citronanů, kdy vyšší obsah těchto iontů vede ke zvýšení tepelné stability mléka. [18]

2.5.2 Minerální látky

Tepelné ošetření mléka má vliv na formy výskytu jednotlivých minerálních látek. K největším změnám dochází v případě rozpustnosti vápníku. Při tepelném záhřevu reaguje část vápenatých iontů za vzniku koloidního fosforečnanu vápenatého ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$). [7]



Biologicky využitelný vápník je vápník vstřebaný v trávicím traktu a následně je schopný vstoupit do fyziologických funkcí mikroorganismu, zejména je schopen zapojit se do procesu mineralizace kostí. Ke vstřebávání vápníku dochází aktivním transportem v duodenu a horních částech jejunu a pasivním transportem v celé délce tenkého střeva. Ke

ztrátám vápníku dochází stolicí, močí a potem. Proces biologické využitelnosti vápníku je ovlivňován endogenními faktory (pohlavím, věkem, těhotenstvím) a exogenními faktory.

Mléko a mléčné výrobky patří ke zdrojům vápníku s jeho vysokou biologickou využitelností.

[19]

3 SRÁŽENÍ MLÉKA

Ke srážení mléka dochází přidavkem enzymů nebo kysáním mléka. Srážení mléka je základem výroby tvarohů, sýrů a kaseinů. Srážení mléka je technologickou vlastností, která souvisí s přechodem ze stavu koloidního roztoku (solu), so stavu sraženiny (gelu). Dalším jevem srážení mléka je další postupné stahování sraženiny a uvolňování syrovátky (synereze). [14]

Mléko lze srážet : [20]

- kyselým srážením – kyselinami organickými a anorganickými [20]
- sladkým srážením – syřidlovými enzymy [20]
- kombinací kyselého a sladkého srážení [20]

3.1 Sladké srážení

Sladké srážení neboli sýření. Sladké srážení je proces, který probíhá u všech druhů přírodních sýrů. Je to nevratná a rychlá reakce, kdy dochází k destabilizaci proteinu s následnou tvorbou koagula. Jako syřidlo se používá chymosin (rennin), což je proteolytický enzym, který rozštěpí κ - kaseinovou frakci mezi 105. a 106. aminokyselinou. Chymosin se získává extrakcí a purifikací ze žaludků sajících telat. V dnešní době se využívají také jiné zdroje enzymů, jako je extrakce z mikroorganismů, které produkují enzymy přirozeně (např, *Cryphonectria parastica*, *Rhizomucor pusillus*, *Rhizomucor miehei*), nebo se jedná o GMO (kde se využívá *Escherichia coli*, *Aspergillus niger*, *Kluyveromyces lactis*). [8]

Roztoky jednotlivých izolovaných frakcí kaseinu po přidavku iontů Ca^{2+} sráží, kromě κ -kaseinu, který je vůči přítomnosti iontu Ca^{2+} necitlivý. Po přidavku κ - kaseinu k roztoku některé izolované frakce kaseinu, se pak se tato frakce nesráží působením iontu Ca^{2+} . Důvodem této stability je vytváření komplexu κ - a α_s - kaseinu. Vůči vysrážení přítomnými ionty Ca^{2+} v mléce vázané v kaseinových micelách nám stabilizuje jednotlivé frakce kaseinu κ -kasein. [21]

Srážení mléka syřidlem probíhá ve třech fázích:

- primární (enzymová) – při které dochází k rozrušení ochranného koloidu micel.
- sekundární (koagulační) – ve které je působením iontů Ca^{2+} tvořena sraženina. Tato fáze závisí na teplotě.

- terciální – kde probíhá proteolýza bílkovin. [22]

3.1.1 Primární fáze

Po přidání chymosinu je κ -kasein rozštěpen na 2 části, a tím ztrácí κ -kasein svůj stabilizační vliv na ostatní frakce kaseinu. První část κ -kaseinu má velkou afinitu k ostatním frakcím je označována jako para- κ -kasein (frakce 1. až 105. aminokyseliny, zůstává ve sraženině). Tato část se vysráží v přítomnosti iontů Ca^{2+} společně s ostatními kaseinovými frakcemi. Druhá část, kterou označujeme jako glykomakropeptid (κ -kaseinomakropeptid, frakce 106. až 169. aminokyseliny s navázanou sacharidickou složkou), který odchází do syrovátky. Odštěpením glykomakropeptidu (κ -kaseinomakropeptidu) ztrácí obal kaseinových micel svou stabilizační vrstvu, která byla kolem kaseinové micely a prostorově stabilizovala kaseinové micely před vysrážením. [23] [7]

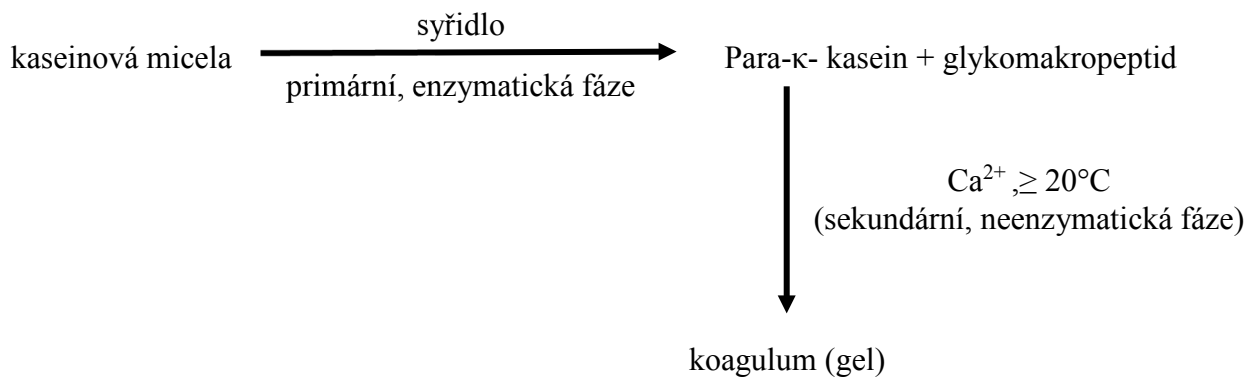
3.1.2 Sekundární fáze

V této fázi dochází po ztrátě stabilizačního jevu a po rozštěpení κ -kaseinu k vysrážení všech frakcí kaseinu v přítomnosti iontů Ca^{2+} . Koncentrace iontů Ca^{2+} má velký vliv na dosažení pevnosti koagulátu. Když odstraníme ionty Ca^{2+} z mléka neproběhne prakticky sekundární fáze, ale také když snížíme teplotu pod 20°C .

Po flokulaci (vyvločkování) se v sekundární fázi dokončí trojrozměrná struktura souvislého gelu sýřením. Vliv iontu Ca^{2+} na průběh sekundární fáze, iont Ca^{2+} snižuje negativní náboj micel, a tím se zrychluje agregace destabilizovaných micel. Pak tato fáze pokračuje synerezí, to je smršťování gelu sýřeniny za současného uvolňování syrovátky. Toto bývá podporováno teplotou mezi 20 až 53°C , snížením pH a zpracováním tvarohoviny, nebo jejím záhřevem, zpracováním sýřeniny na zrno včetně dohřívání a dosoušení. Řízením koagulace mléka syřidlem se reguluje rychlost synereze, tuhost sýřeniny obsah a vazba vody v tvarohovině nebo syrovém zrnu. Dobou sýření se rozumí celkový čas srážení až do zpracování sýřeniny na zrno. [23]

3.1.3 Terciální fáze

V této fázi využíváme chymosin, hlavně při používání tzv. syřidlových náhražek. Má být co největší koagulační aktivita a minimální proteolytická aktivita. Rychlost terciální fáze je závislá na koncentraci syřidla, na jeho substrátové specifitě proteolytické aktivitě, aktivitě vody v síru, na teplotě zrání. [22]



Obrázek 5 - Sladké srážení [24]

3.2 Kyselé srážení

Hodnotu pH mléka lze snížit z pH 6,6 na pH 4,6 a to buď přidavkem bakterií mléčného kvašení (čistých mlékařských kultur), které metabolizují laktózu a vzniká kyselina mléčná, nebo přímým přidavkem kyseliny (např. kyseliny mléčné, minerálních kyselin). Způsob pomocí bakterií mléčného kvašení se používá pro celou řadu mléčných výrobků (tvarohy, mléčné výrobky...). Způsob srážení pomocí kyselin se používá tam, kde není důležitý vznik sensoricky aktivních látek, je zde důležitá výtěžnost bílkovin (výroba kaseinu). [22]

3.3 Kombinace kyselého a sladkého srážení

Zde vedle malého množství syřidlového enzymu, působí také při srážení mléka kyselé prostředí, vzniklé prokysáním mléka pomocí bakterií čistých mlékařských kultur. Tento způsob se používá při výrobě měkkého tvarohu. [22]

3.4 Faktory ovlivňující sýření mléka

Existují různé faktory, které mohou poškodit, nebo znehodnotit sýřeninu. Proto je důležité při sýření mléka s těmito faktory počítat. [25]

Pro malé provozy je důležitý faktor množství mléka. Menší množství mléka se sýří při vyšší teplotě, protože teplota mléka během sýření rychleji klesá. Při ohřívání mléka ve vaně nebo kotli je zapotřebí, aby byl záhřev ve všech částech mléka stejnoměrný, jelikož na něm závisí stejnoměrnost sýřeniny. Je také nutná kontrola mléka, aby se mléko nepřehřálo [26]

Dalším faktorem je kyselost mléka. Optimální rozsah pH je 7,2-8,2°SH. Zvýšením kyselosti se podpoří synereze a tím žádoucí zvýšení sušiny. Mléko s vyšší kyselostí se sýří při nižší

teplotě (u měkkých sýrů nejnižší teplota 28°C). Mléko, které má kyselost vyšší než 9°SH se k sýření nehodí [27]

Optimální teplota je sýření je 30 - 33°C, výjimečně vyšší. Při vyšší teplotě kolem 35-42°C může vzniknout gumovitá sýřenina. Při nižší teplotě než 20°C vzniká vločkovitá sraženina. Při teplotě větší jak 50°C vzniká řídká kašovitá sraženina. Při teplotě vyšší než 55°C schopnost koagulace prakticky zaniká. [26] [28]

Dalším faktorem je obsah rozpustných vápenatých solí. Přídavkem CaCl₂ nebo mléčnanu vápenatého se proces sýření urychluje (cca na 100ml mléka 10-20g). Když není přidán „rozpustný“ vápník, tak zůstává sýřenina drolivá, nebo rozpadavá, když je přidána sůl, sraženina je kompaktnější. Větší množství přídavku vápníku způsobí hořkou chuť sýra. Pasterované mléko se sýří při teplotě o 1-2°C vyšší, než mléko syrové, jelikož má nižší obsah rozpustných vápenatých solí po pasteraci. [22] [29]

Také je důležitý vliv koncentrace syřidla. Málo i mnoho syřidla vede ke ztrátám bílkovin a tuku do syrovátky. Nízká dávka syřidla způsobuje měkkou sraženinu a horší oddělování syrovátky. Vysoká dávka syřidla způsobí tuhou sraženinu a vytvoří se drobné zrno (tzv. sýrový prach s rozměrem menším než 1 mm) a zvýší se vazba vody a tím se sníží výtěžnost výroby, také dochází k nadměrné proteolýze sýra a zvyšují se náklady za syřidlo. Zvýšení dávky syřidla způsobí zkrácení času sýření. [30] [31]

4 TRANSGLUTAMINÁZA

Transglutamináza (TG) je esenciální enzym široké škály organismů, jak rostlinných tak živočišných. Mikrobiální TG se získává se fermentací z bakterie *Streptoverticilium mobaraense*, její mezinárodní označení je EC 2.3.2.13. Transglutaminázy mikrobiologického původu mají nízkou molekulovou hmotnost, na rozdíl od TG izolovaných ze zvířecích tkání. Katalyzuje tvorbu amidových vazeb mezi γ -karboxylovými skupinami glutaminových zbytků a primárními amino skupinami různých aminů. TG katalyzuje reakci přenosu acylového zbytku mezi lyzinem a glutamanem, a tím se zesilují peptidické vazby a stabilizuje strukturu bílkoviny. TG váže na bílkoviny na molekulární úrovni (přispívá k vytváření příčných vazeb mezi molekulami bílkovin). Průběh reakcí katalyzovaných TG závisí také na tlaku, chemických vlastnostech a teplotě prostředí. Transglutamináza savců je aktivní pouze v přítomnosti vápenatých iontů, zatímco mnoho bakteriálních transglutamináz nevykazuje činnost závislou na vápníku. [16]

4.1 Využití TG v potravinářství

Transglutamináza je enzym, který se ve velkém rozsahu používá při výrobě potravin. TG se v potravinářství používá k zlepšení textury, konzistence, soudržnosti a tvaru výrobků, což má pozitivní vliv na jejich krajitelnost. TG se také může použít k zahuštění mléčných výrobků. [16] [32]

Transglutamináza se používá také v pekařském průmyslu ke zlepšení kvality mouky, struktury a objemu chleba a struktury těstovin po uvaření. Dřívější vědecké práce vedly k závěru, že transglutamináza snižuje alergenitu pšeničné mouky. Nyní výzkum má za to, že transglutamináza v pekařských výrobcích může ovlivňovat gliadinové proteiny v těstě a může toto mít souvislost s celiakální odezvou. [33]

TG je hojně používána v masném průmyslu. Kromě pozitivního vlivu na strukturu konečného produktu umožňuje použití TG silnou soudržnost masa, bez nutnosti tepelného zpracování anebo přídavku soli nebo fosfátů. [34]

V mlékárenském průmyslu je TG použita do výroby mnoha produktů. U jogurtů, se po přidání TG, se zabrání synerezi a jogurt bude mít pevnou, gelovitou konzistenci a hladkou smetanovou texturu. Barva a chuť se nemění, jogurt je také odolnější vůči mechanickým

otřesům při přepravě a manipulaci. V případě kysaných mléčných výrobků s nízkým obsahem tuku umožňuje transglutamináza zlepšit reologické vlastnosti. [35]

Také se používá TG při výrobě sýrů. U zrajících sýrů syrovátka lépe odkapává a nezůstává v sýřenině. Sýřenina je elastická nedrobí se a konečný produkt se dá mnohem lépe krájet. Minimalizují se také ztráty při krájení balených plátkových sýrů. Rovnoměrné odkapávání syrovátky upravuje obsah vody a snižuje se množství laktózy v sýřenině. Utlumí se mléčné kysání, což je důležité u dohřívání sušiny u tvrdých sýrů eidamského typu. [36]

U tvarohů je sraženina pevnější a elastičtější, díky provázání kaseinu a syrovátkových bílkovin pevnou kovalentní vazbou. Syrovátkové bílkoviny zůstávají ve sraženině, syrovátka je proto řidší a lépe odkapává v porovnání s rychlostí odkapu při výrobě polotvrdých sýrů. [36]

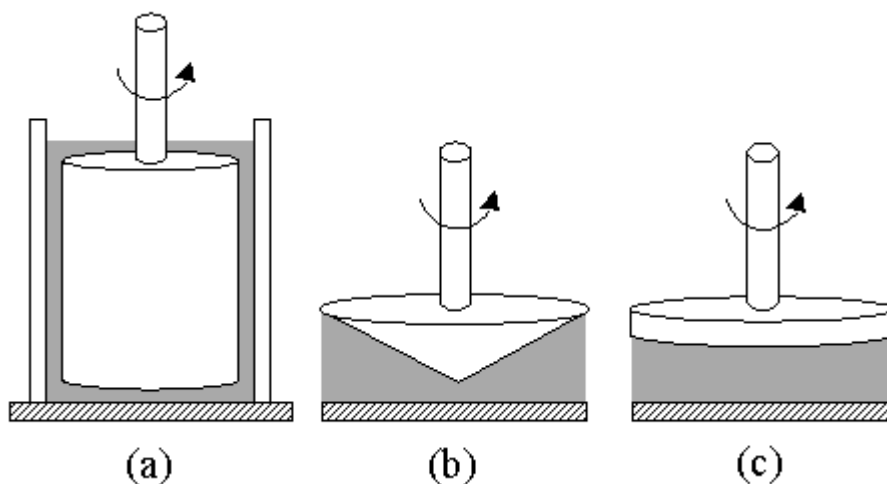
Toto téma bylo zvoleno z důvodu nedostatku relevantních informací o tom jak optimálně dávkovat TG pro výrobu sýrů v závislosti na teplotě.

5 REOLOGIE

Reologie je nauka o tečení (tokovém chování) materiálů (tekutiny) nebo jejich deformaci (tuhé látky). Reologické chování kapalin je důležité při dopravě, míchání, technologických postupech výroby apod. Reologické vlastnosti ovlivňují sensorické vlastnosti. [37]

5.1 Typy reometrů

Při rotační reometrii měřená kapalina vyplňuje štěrbinu, jeden element se otáčí a druhý je pevný. Při otáčení se kapalinou přenáší kroutící moment M_t , indikovaný úhlem zkroucení φ torzního drátu nebo torzní pružiny o známé torzní tuhosti τ . [37] [38]



Obrázek 6 – Typy reometrů (převzato od Wein, 1996)

5.1.1 válec – válec

Vnější válec slouží jako nádoba, nevyteče nízkoviskózní kapalina. Při měření suspenzí představuje geometrie dlouhou sedimentační dráhu. Rychlost smykové deformace není konstantní po šířce štěrbinu. U tohoto typu je zapotřebí většího množství vzorku. (obr. 6 a) [38]

5.1.2 kužel – deska

Snadné plnění a uzavírání geometrie. Zde stačí malé množství vzorku. Je zde konstantní rychlost smykové deformace. Nevhodná pro systémy s plnivem o velké velikosti částic. Krátká sedimentační dráha při měření suspenzí. Tento typ je nevhodný pro materiály citlivé na deformaci. (obr. 6 b) [38]

5.1.3 deska – deska

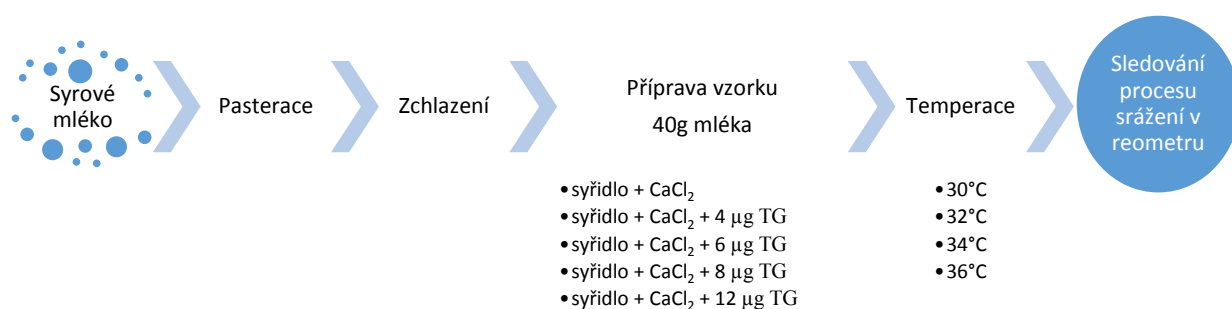
Snadné plnění a uzavírání geometrie. Zde stačí malé množství vzorku. Vhodný typ pro materiály citlivé na deformaci. Rychlost smykové deformace není konstantní. Krátká sedimentační dráha při měření suspenzí. (obr. 6 c) [38]

II. PRAKTICKÁ ČÁST

6 MATERIÁL A METODY

Čerstvé mléko, se kterým bylo pracováno, bylo ze Zlínského kraje. Každý den bylo použito mléko, které bylo ten den ráno nadojeno. Nejprve bylo syrové mléko pasterizováno teplotou 74°C po dobu 20 s. Pak ihned zchlazeno na teplotu 30±1°C, po zchlazení bylo mléko uchováváno v plastových zkumavkách, které byly skladovány v lednici (při 4±1°C) do provedení analýz v ten den.

Na výrobu kontrolních modelových vzorků mléka bylo použito 40g ±0,01 g mléka, 20 µl CaCl₂ 36% (Milcom a.s., Česká republika) a 20 µl syřidla (Chymax M 1000, Chr. Hansen, Nizozemí) ředěného 1:9 deionizovanou vodou. Kromě kontrolních modelových vzorků byly vyráběny také vzorky, do kterých byl přidán enzym transglutamináza SAPRONA TG1 L (C&P Group GmbH, Rosshaupten, Německo), a to v množství 4, 6, 8 nebo 12 µg. Na měření viskoelastických vlastností byla použita dynamická oscilační reometrie, reometr HAAKE Rheo Stres1 (Thermo Scientific TM Brémy, Německo), geometrie sousých válců (objem válce 40,1 ml, štěrbina 7,2 mm). Viskoelastické vlastnosti tvořícího se mléčného gelu byly snímány při teplotě 30 ± 0,1°C, respektive 32 ± 0,1°C, 34 ± 0,1°C a 36 ± 0,1°C, při konstantní deformaci 0,03 % a frekvenci 0,1 Hz. Tato teplota byla udržována během celého měřícího procesu. Všech 20 kombinací (syrové mléko, mléko s přidavkem transglutaminázy (TG)) bylo měřeno dle schématu uvedeného na obrázku 7. [39]



Obrázek 7 – Schéma přípravy vzorku

Nejprve byl vzorek v geometrii promíchán po dobu 60 s při gradientu rychlosti 50 s⁻¹. Pak po 1 minutě došlo ke snížení gradientu rychlosti do nulové hodnoty a vzorek byl převrstven 6 ml jedlého oleje, aby bylo zabráněno vysychání vzorku.

Byl měřen elastický modul pružnosti G' [Pa] a následně byla vyjádřena závislost elastického modulu pružnosti G' [Pa] na čase (t).

Z provedeného měření byly vypočteny následující parametry mléčného gelu:

t_{lag} – je čas, kdy hodnota G' převýšila 1 Pa (považováno za čas počátku vytváření gelu).

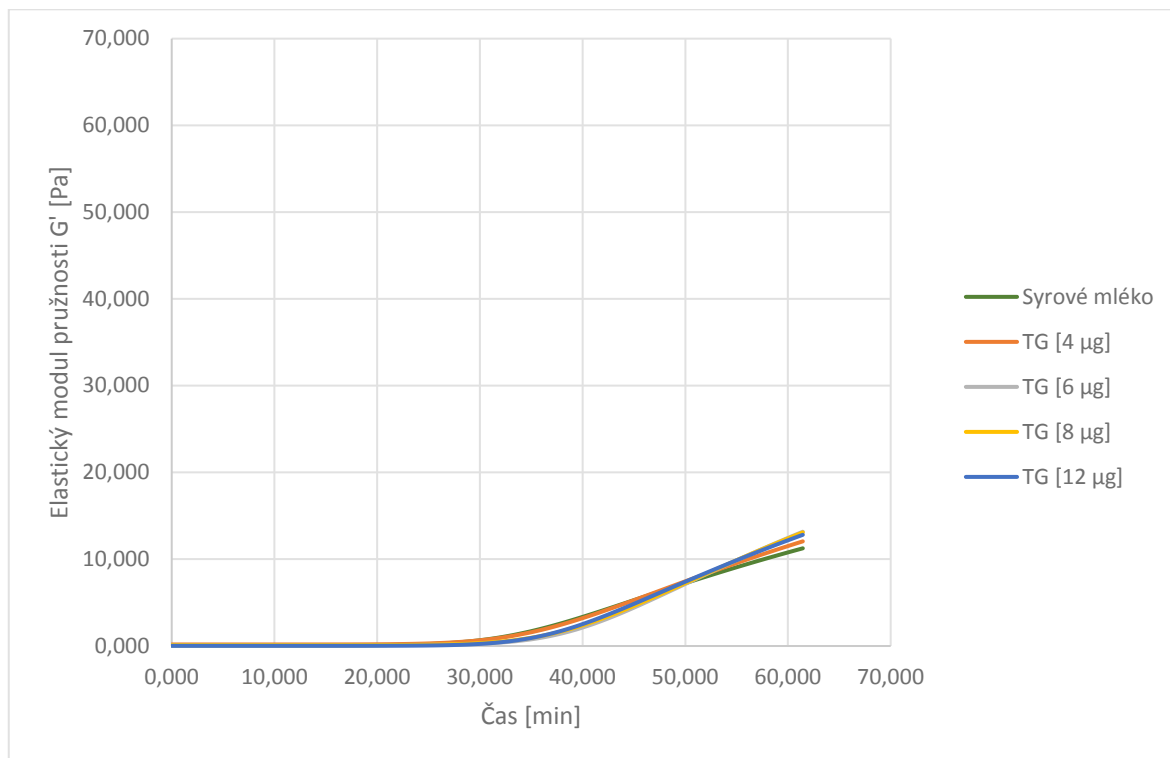
C_{max} – maximální rychlost koagulace.

t_{max} – čas, kdy srážení dosáhlo maximální rychlosti koagulace (C_{max}).

Hodnoty t_{lag} a t_{max} slouží k popisu působení syřidla. Hodnoty elastického modulu pružnosti G' po 30 a 60 minutách jsou důležité pro hodnocení pevnosti gelu v reálný čas.

7 VÝSLEDKY A DISKUZE

Při 30°C byl vliv přídavku TG na srážení mléka marginální a jak je patrné z obrázku 8 výsledný mléčný gel byl velmi měkký, vlivem nedostatečného zesítení. Tato teplota je tudíž pro použité podmínky (množství syřidla, koncentrace CaCl₂ aj.) ve výrobě nevyhovující, protože neposkytuje kvalitní koagulát pro následný výrobní proces a ani přídavek TG průběh tohoto procesu významně nevylepší.



Obrázek 8 – Vliv přídavku TG na sladké srážení při 30°C

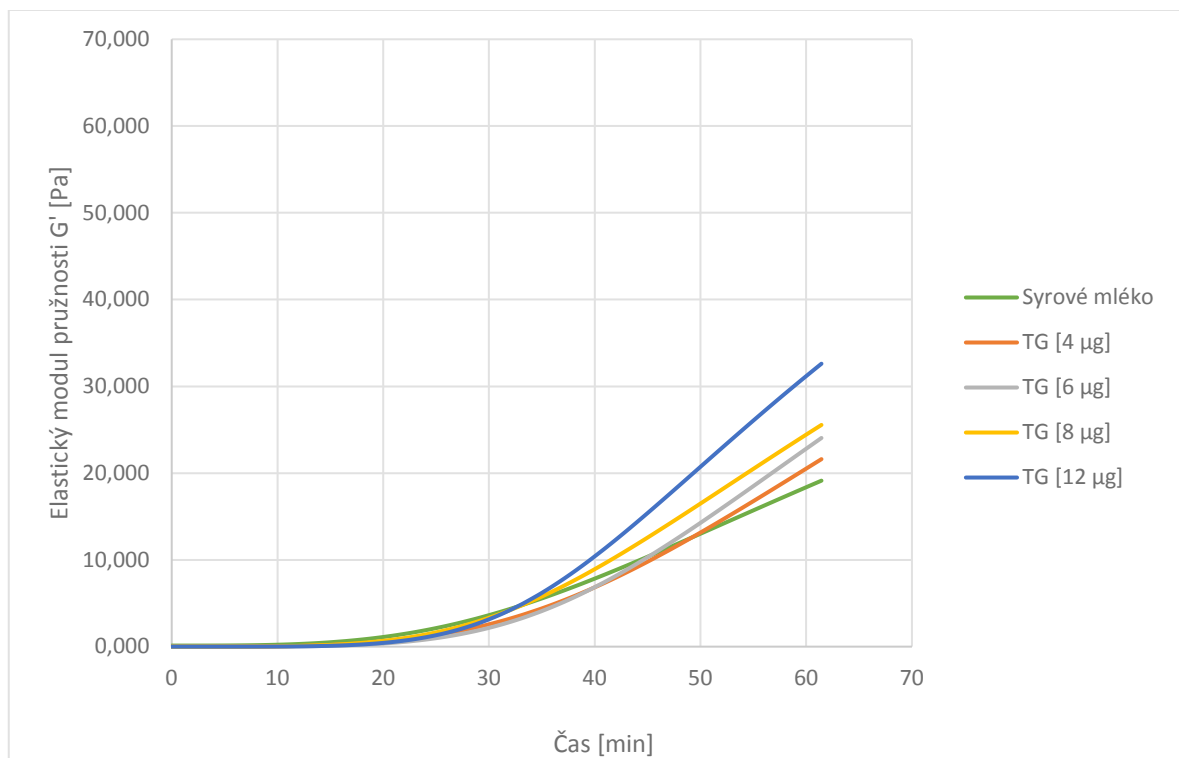
Jak je patrné z tabulky 2 započala koagulace (t_{lag}) při 30°C až po více jak 30 min u všech testovaných vzorků. Maximální rychlost koagulace (C_{max}) se sice po přidání TG nepatrně zvýšila, ale nedosahovala ekonomicky přijatelných hodnot, které by vyvážily náklady na použití TG. Ani doba, za kterou byla tato rychlost dosažena (t_{max}) není výrazně nižší než bez přídavku TG. Z grafů v příloze I. je též patrné že při 30°C je dosahováno nejnižší hodnoty G' , proto při této teplotě nemá smysl TG přidávat.

Z obrázků 9 – 11 je patrné, že přídavek TG měl zásadní vliv na výsledný modul pružnosti G' při použitých teplotách nad 30°C. Pro testované teploty 32°C a 34°C byl vždy modul pružnosti nejnižší pro syrové mléko a následně každé zvýšení koncentrace TG znamenalo zvýšení elastického modulu pružnosti G' tzn., vznikl pevnější mléčný gel. Pro teplotu 36°C

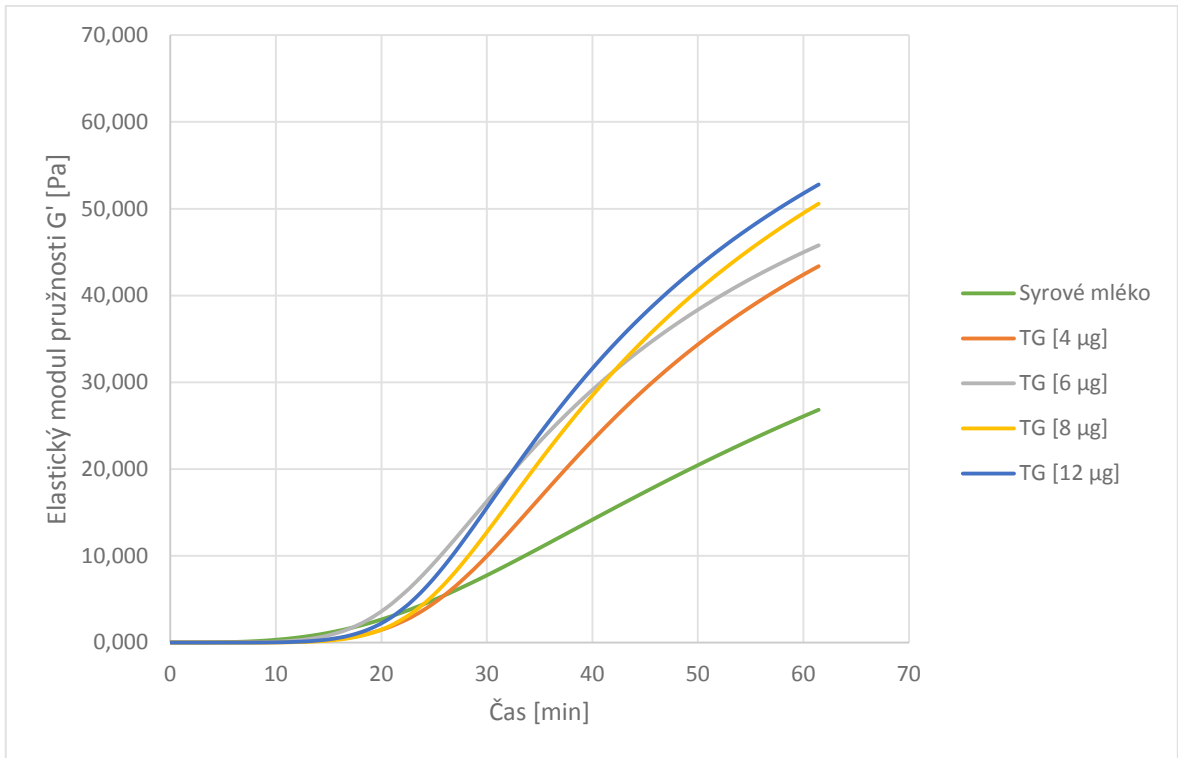
byl průběh koagulace podobný, avšak po 60 min byly hodnoty G' téměř shodné pro koncentrace TG jak pro 12 i 8 μg (~ 60 Pa), tak pro 6 i 4 μg (~ 54 Pa).

Jako nejvhodnější z pohledu pevnosti mléčného gelu se zdá teplota 34°C , která ještě není příliš vysoká na to, aby nám vznikala sýrový prach a tím vznikaly ztráty, jak již bylo uvedeno v teoretické části. [31] Z měření vyplynulo, že po 60 min při této teplotě a přídavku TG 4 μg dosahuje G' přibližně 42 Pa, přídavku TG 6 μg dosahuje G' přibližně 46 Pa, při přídavku TG 8 μg dosahuje G' přibližně 50 Pa a při přídavku TG 12 μg dosahuje G' přibližně 52 Pa.

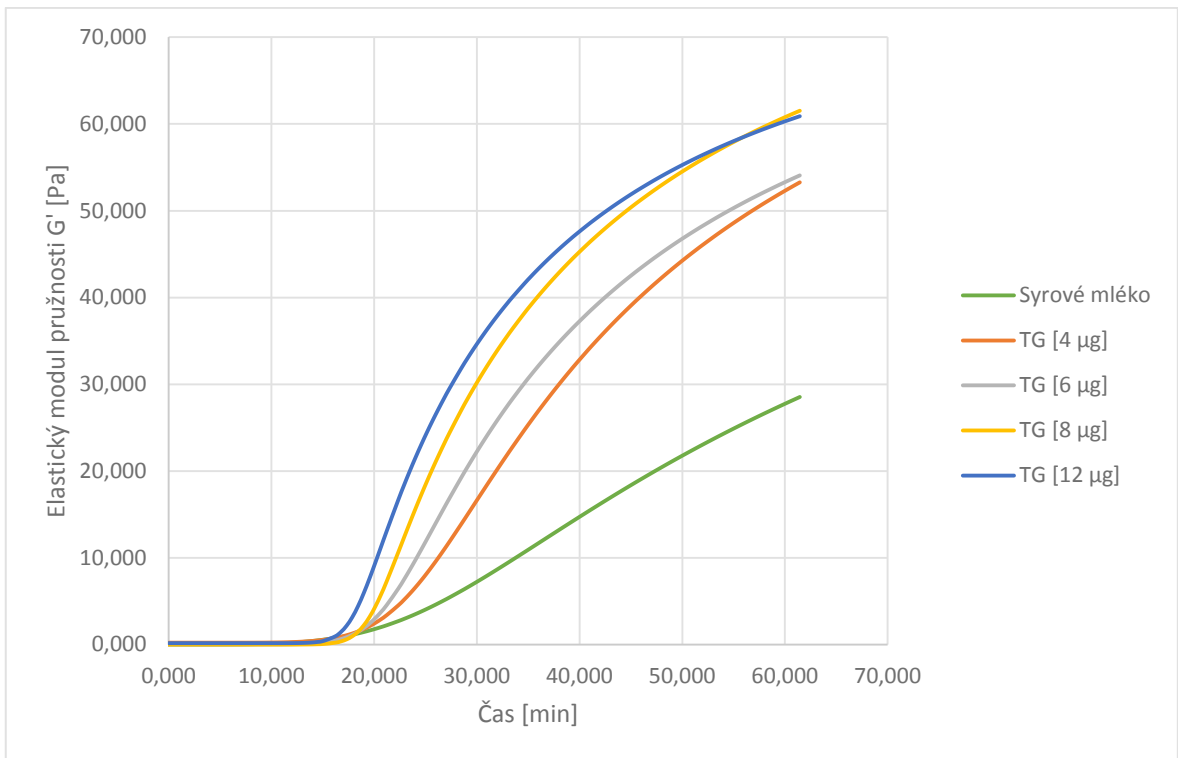
Přídavek 4 - 12 μg TG způsobí při této teplotě rozdíl G' přibližně 10 Pa, což se zdá pro technologický proces srážení mléka ve výrobě, ale je třeba vhodně volit přídavku TG tak, aby nebyly neúměrně navyšovány náklady na celý proces.



Obrázek 9 - Vliv přídavku TG na sladké srážení při 32°C



Obrázek 10 - Vliv přidavku TG na sladké srážení při 34°C



Obrázek 11 - Vliv přidavku TG na sladké srážení při 36°C

Při všech testovaných teplotách započala koagulace (t_{\min}) nejdříve u mléka bez přídavku TG (tabulka 2), významný vliv na zkracování této doby měla pouze zvyšující se teplota. Se zvyšující se koncentrací bylo dosahováno vyšších rychlostí koagulace (C_{\max}) zejména při teplotách 34°C a 36°C, viz tabulka 2, čas (t_{\max}), za který byla dosahována maximální rychlost koagulace se ze zvyšující se koncentrací TG až na několik výjimek zkracoval.

Tabulka 2 – Parametry mléčného gelu

Viskoelastické vlastnosti v průběhu sladkého srážení mléka						
	t [°C]	Syrové mléko	TG [4 µg]	TG [6 µg]	TG [8 µg]	TG [12 µg]
t_{lag} [min]	30°C	32,4 ± 1,6	33,2 ± 1,4	36,7 ± 1,9	35,7 ± 2,0	35,4 ± 2,0
	32°C	20,1 ± 1,1	23,2 ± 1,3	25,1 ± 1,3	22,1 ± 1,2	23,6 ± 1,1
	34°C	14,4 ± 0,8	18,6 ± 0,8	15,5 ± 0,9	18,8 ± 0,9	17,6 ± 0,9
	36°C	17,3 ± 0,9	17,7 ± 0,8	17,6 ± 0,9	17,9 ± 0,9	16,5 ± 0,8
C_{\max} [G'/min]	30°C	0,39 ± 0,02	0,44 ± 0,02	0,56 ± 0,02	0,53 ± 0,02	0,51 ± 0,02
	32°C	0,54 ± 0,03	0,76 ± 0,04	0,86 ± 0,04	0,80 ± 0,04	1,07 ± 0,05
	34°C	0,65 ± 0,03	1,37 ± 0,06	1,45 ± 0,08	1,65 ± 0,07	1,74 ± 0,08
	36°C	0,76 ± 0,04	1,81 ± 0,09	2,17 ± 0,12	3,04 ± 0,16	3,30 ± 0,16
t_{\max} [min]	30°C	45,0 ± 2,6	47,0 ± 1,8	49,7 ± 2,4	50,1 ± 2,8	47,6 ± 2,1
	32°C	52,7 ± 2,7	61,4 ± 3,2	57,5 ± 2,4	52,6 ± 2,5	49,7 ± 2,2
	34°C	38,0 ± 1,9	34,5 ± 1,7	28,8 ± 1,4	32,1 ± 1,7	30,6 ± 1,4
	36°C	36,3 ± 1,9	29,8 ± 1,2	25,6 ± 1,5	22,5 ± 1,2	20,6 ± 1,0

t_{lag} – je čas, kdy hodnota G' převýšila 1 Pa; C_{\max} – maximální rychlost koagulace; t_{\max} – čas, kdy srážení dosáhlo maximální rychlosti koagulace

Moje výsledky naznačují stejný trend, jako uvedli ve svých příspěvcích Landfeld a kolektiv [40], nebo Nájera a kolektiv [41], že se zvyšující teplotou se zkracuje doba koagulace. Jelikož moje testy byly provedeny pouze do teploty 36°C nemohla jsem posoudit jejich tvrzení že, koagulace se zkracuje pouze do 50°C a pokud je teplota vyšší než 50°C, doba koagulace je delší.

Na rozdíl od experimentů Vintra [42], kde byl mimo jiné zkoumán vliv koncentrace TG na prokysávání tvarohu a nebylo prokázáno, že přidáním TG došlo ke zvýšení hodnoty G' oproti kontrolnímu vzorku, moje experimenty prokázaly, že přidání TG měla výrazný vliv na zvýšení hodnoty G' při koagulaci mléka.

ZÁVĚR

V této bakalářské práci byl řešen vliv teploty a přídavku transglutaminázy na vznik mléčného gelu. Z výsledků vyplývají následující poznatky:

- doba počátku koagulace t_{lag} je minimálně závislá na koncentraci TG, ale závisí na teplotě. Se zvyšující se teplotou se tato doba zkracuje,
- dobu (t_{max}), za kterou bylo dosaženo maximální rychlosti koagulace C_{max} koncentrace TG ovlivňuje, ale výrazněji závisí na teplotě. Se zvyšující se teplotou se tato doba zkracuje.
- Rychlost koagulace C_{max} je závislá na koncentraci TG a teplotě. Čím je vyšší koncentrace TG, tím je rychlost koagulace větší. Čím je vyšší teplota, tím je rychlost koagulace větší.

Měřením elastického modulu pružnosti bylo zjištěno, je-li přidáno do mléka 8 μg nebo 12 μg TG při teplotě 36°C je pevnost koagulátu srovnatelná, stejně tak, jako je srovnatelná při přidání 4 μg nebo 6 μg při této teplotě, případně 8 μg nebo 12 μg při teplotě 34°C.

Z hlediska nákladů, tedy stačí použití nižší teploty, optimálně 34°C a menšího množství TG 6 – 8 μg .

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] „Zákony pro lidi,“ 26 8 2017. [Online]. Available: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2016-397/zneni-20170701#cast1..>
- [2] EUR-LEX, „Nařízení Evropského Parlamentu a Rady(ES) č.853/2004 ze dne 29. dubna 2004, kterým se stanoví zvláštní hygienická pravidla pro potraviny živočišného původu,“ [Online]. [Přístup získán 14 4 2019].
- [3] S. Gajdušek, Laktologie, Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2003.
- [4] B. Janštová a P. Navrátilová, Produkce mléka a technologie mléčných výrobků, Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2014.
- [5] S. Gajdušek a V. Kličník, Mlékařství, Brno: MZLU, 1985.
- [6] P. Potocnik a G. Ganther, „Mare's milk:composition and protein fraction in comparison with different milk species,“ 18 8 2017. [Online]. Available: <http://web.a.ebscohost.com.proxy.k.utb.cz/ehost/pdfviewer/pdfviewer?vid=0&sid=459761e6-fb0c-4f6d-907b-25e1fa10206d%40sessionmgr4008..>
- [7] F. Buňka a V. Pachlová, Mlékárenská technologie I, Zlín: UTB, 2013.
- [8] P. Navrátilová a M. Králová, Hygiena produkce mléka, Brno: VFU, 2012.
- [9] J. Simeonová a I. Ingr, Zpracování a zbožíznalství živočišných produktů, Brno: MZLU, 2003.
- [10] E. Vlková, V. Rada a J. Killer, Potravinářská mikrobiologie, Praha: CZU, 2009.
- [11] P. Walstra, T. Geurts, A. Noomen, A. Jellema a M. Boekel, „Principles of milk properties and processes,“ 1999.
- [12] „Státní zemědělský intervenční soud,“ 09 08 2018. [Online]. Available: https://www.szif.cz/cs/CmDocument?rid=%2Fapa_anon%2Fcs%2Fdokumenty_ke_stazeni%2Fkomodity%2Fzv%2F01%2F11%2F1489499443666%2F1489499462450%2F1489566938480%2F1489578374453.pdf.
- [13] S. E., Mléko: produkce a kvalita., České Budějovice: Jihočeská univerzita, 2012.

- [14] K. Hadašová, Domácí mlékař, Průhonice: Analfabet, 2014.
- [15] J. Hrabě, P. Březina a P. Valášek, Potravinářská technologie živočišného původu, Zlín: Univerzita Tomáše Bati, 2006.
- [16] P. Březina a J. Jelínek, Chemie a technologie mléka I. část, Praha: VŠCHT, 1990.
- [17] I. Hoza a D. Kramářová, Potravinářská biochemie, Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2005.
- [18] J. Chramostová, J. Vrzáková, I. Němečková a L. Čurda, „Heat stability of milk and factors influencing it,“ *Mlékařské listy č.146*, pp. 14-17, 2014.
- [19] P. Kadlec, Technologie potravin 2, Praha: VŠCHT, 2002.
- [20] K. Zdražil, Mlékařství, Praha: Česká zemědělská univerzita, 2002.
- [21] V. Perreault, N. Remillard, D. Chabot, P. Morin, Y. Pouliot a M. Britten, „Effect of denatured whey protein concentrate and its fractions on cheese composition and rheological properties,“ *Journal of Dairy Science*, 100, pp. 5139-5152, 2016.
- [22] H. Roginski, Encyclopedia of Dairy Science, London: Academic Press, 2003.
- [23] M. Mellema, P. Walstra, J. van Opheusden a T. van Vliet, „Effects of structural rearrangements on the rheology of rennet-induced casein particle gels,“ *Advances in Colloid and Interface Science* 98, pp. 25-50, 2002.
- [24] J. Lucey, „Rennet coagulation of milk,“ *Encyclopedia of dairy sciences*, pp. 286-293, 2003.
- [25] M. O'Sullivan, A. L. Kelly a P. F. Fox, „Effect of Transglutaminase on the Heat Stability of Milk: A Possible Mechanism,“ *Journal of Dairy Science*, 85, pp. 1-7, 2002.
- [26] H. Singh, „Heat stability of milk,“ *International Journal of Dairy Technology* 57, pp. 111-119, 2004.
- [27] N. Amalfitano, C. Cipolat-Gotet, A. Cecchinato, M. Malacarne, A. Summer a G. Bittante, „Milk protein fractions strongly affect the patterns of coagulation curd firming, and syneresis,“ *Journal of Dairy Science*, 102, pp. 1-15, 2019.

- [28] Oamen, E.E., Hansen, A.P. a Swartzel, K.R., „Effect of Ultra-High Temperature Steam Injection Processing and Aseptic Storage on Labile Water-Soluble Vitamins in Milk,“ *Journal of Dairy Science*, 72, pp. 614-619, 1989.
- [29] J. O’Connell a P. Fox, „The Two-Stage Coagulation of milk Proteins in the Minimum of the Heat Coagulation Time-pH Profile of Milk: Effect of Casein Micelle Size,“ *Journal of Dairy Science*, 83, pp. 378-386, 2000.
- [30] L. Yingchen, A. L. Kelly, J. O’Mahony a T. Guinee, „Addition of sodium caseinate to skim milk increases nonsedimentable casein and causes significant changes in rennet-induced gelation, heat stability, and ethanol stability.,“ *Journal of Dairy Science*, 100, pp. 908-918, 2017.
- [31] T. Huppertz, „Heat stability of transglutaminase-treated milk,“ *International Dairy Journal* 38, pp. 183-186, 2014.
- [32] M. Færgemand, „Transglutaminase: effect on rheological properties, microstructure and permeability of set style acid skim milk gel,“ *Food Hydrocolloids*, pp. 287-292, 1997.
- [33] J. Gerrard a K. Sutton, „Addition of transglutaminase to cereal products may generate the epitope responsible for coeliac disease,“ *Trends in Food Science & Technology*, pp. 510-512, 2005.
- [34] A. Kaufmann, „Determination of microbial transglutaminase in meat and meat products,“ *Food Additives and Contaminants: Part A*, pp. 1364-1373, 2012.
- [35] D. P. J. U. R. H. Jarosova, „Small and Large Deformation Rheology of Acid Gels from Transglutaminase Treated Milks,“ *Food Biophysics*, pp. 124-132, 2006.
- [36] S. T. I. Mohammad, „Crosslinking of milk proteins by microbial transglutaminase: Utilization in functional yo-gurt products,“ *Food Chemistry*, p. 245, 2018.
- [37] R. Holubová, *Základy reologie a reometrie kapalin*, Olomouc: Univerzita Palackého, 2014.
- [38] O. Wein, *Úvod do reologie*, Brno: Malé Centrum Chemická fakulta VUT v Brně, 1996.

- [39] M. Moudrá , V. Pachlová, M. Černíková, T. Šopík a F. Buňka, „The combined effects of fat content, calcium chloride, and coagulant concentration on the development of cheese curd structure.,“ *International Dairy Journal*,55, pp. 1-9, 2016.
- [40] A. Landfeld, P. Novotná a M. Houška, „Influence of the Amount of Rennet, Calcium Chloride Addition, Temperature, and High-Pressure Treatment on the Course of Milk Coagulation,“ č. 20, pp. 237-244, 2002.
- [41] A. I. Nájera, M. Renobales a L. J. Barron, „Effects of pH, temperature, CaCl₂ and enzyme concentrations on the rennet-clotting properties of milk: a multifactorial study,“ *Food Chemistry*, č. 80, pp. 345-352, 2003.
- [42] P. Vintř, „Využití transglutaminázy při výrobě tvarohu [online],“ 2018. [Online]. Available: <<https://theses.cz/id/3fmuop/>>. [Přístup získán 5 5 2019].

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

Tzv. takzvaný

Např. například

UHT vysokoteplotní úprava

Kys. Kyselina

GMO Geneticky modifikovaný mikroorganismus

°SH Stupně dle Soxhlet-Henkela (počet ml 0,25M NaOH potřebných k neutralizaci
100 ml vzorku mléka)

Apod. A podobně

TG Transglutamináza

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 – Podíl vody, sušiny, laktózy, tuku, bílkovin v mléce. (Zpracováno podle Gajdůšek, 1998).....	11
Obrázek 2 – Rámcové rozdělení dusíkatých látek kravského mléka (Zpracováno podle Janštová, 2012).....	12
Obrázek 3 – Strukturní vzorec laktózy (přepracováno podle Murray, 2012).....	14
Obrázek 4 – Tepelné ošetření mléka (zpracováno podle Gajdůšek, 1998)	15
Obrázek 5 - Sladké srážení [24].....	23
Obrázek 6 – Typy reometrů (převzato od Wein, 1996).....	27
Obrázek 7 – Schéma přípravy vzorku.....	30
Obrázek 8 – Vliv přídatku TG na sladké srážení při 30°C	32
Obrázek 9 - Vliv přídatku TG na sladké srážení při 32°C	33
Obrázek 10 - Vliv přídatku TG na sladké srážení při 34°C	34
Obrázek 11 - Vliv přídatku TG na sladké srážení při 36°C	34

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 - Rozdělení kaseinu (zpracováno podle Gajdůšek, 1998)	13
Tabulka 2 – Parametry mléčného gelu	35

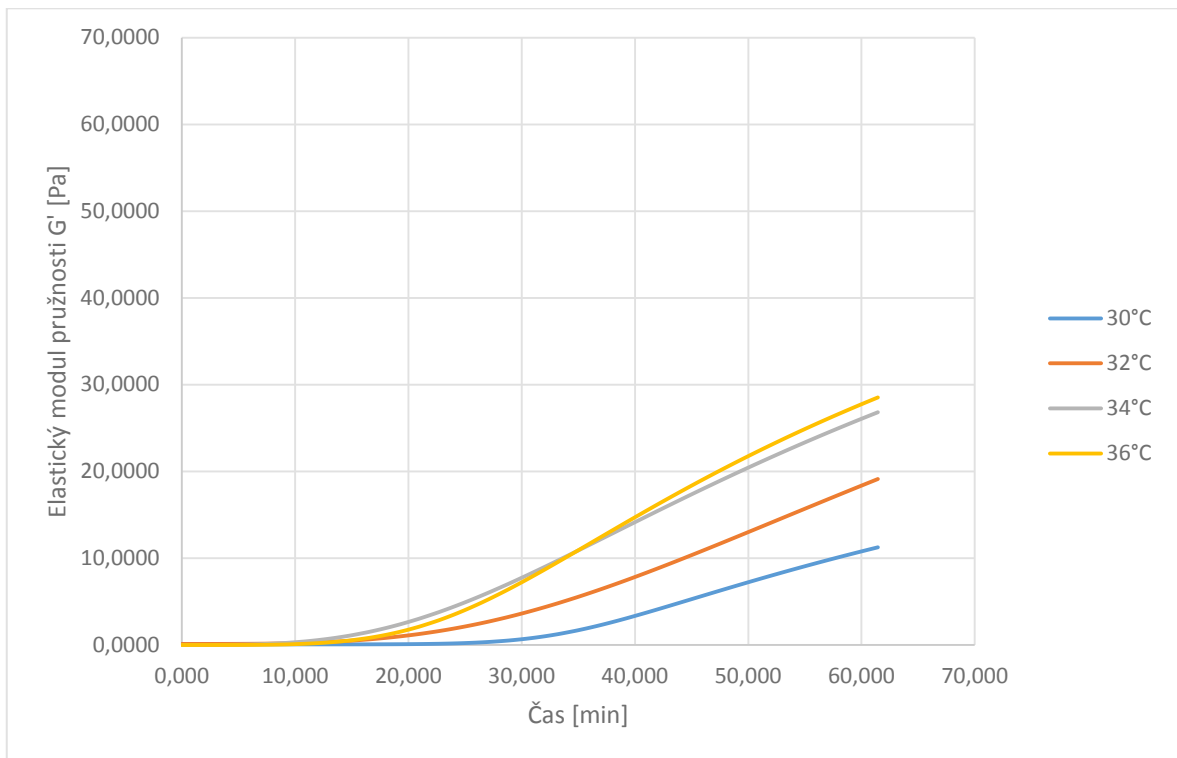
SEZNAM PŘÍLOH

PŘÍLOHA P I:

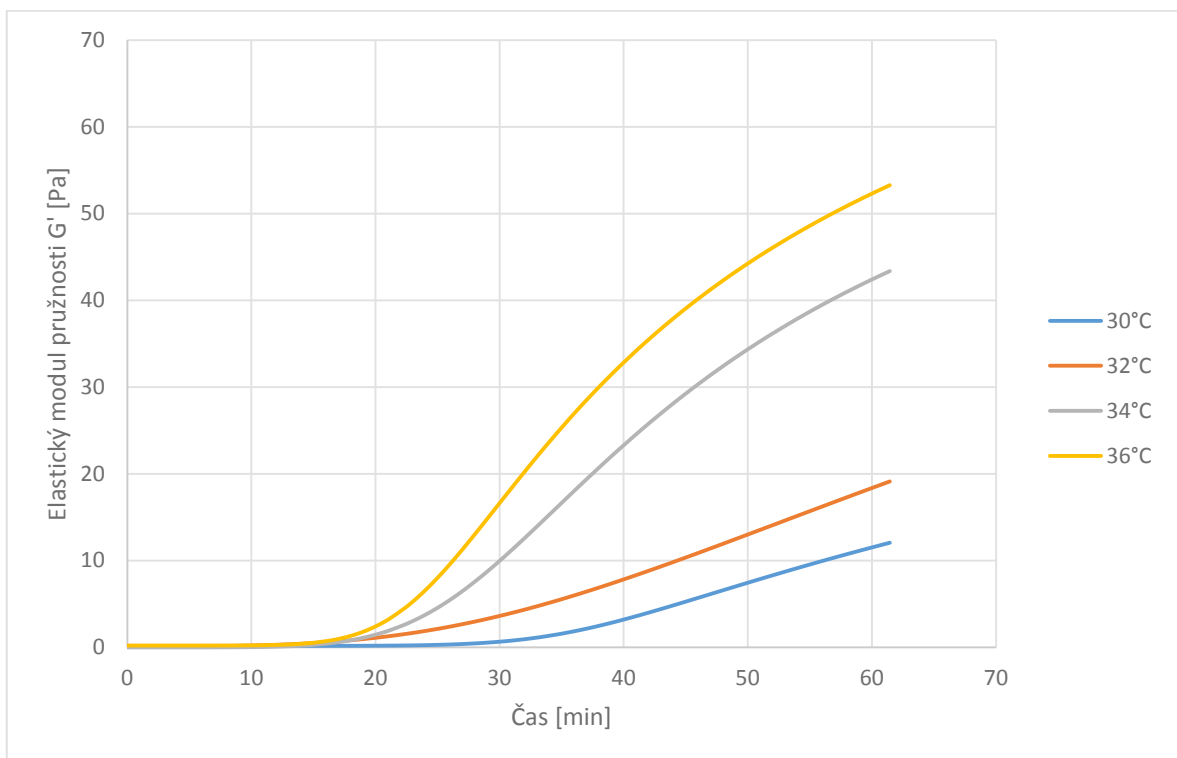
VLIV PŘÍDAVKU TRANSGLUTAMINÁZY A TEPLoty NA ELASTICKÝ MODUL PRUŽNOSTI

PŘÍLOHA P I:

VLIV PŘÍDAVKU TRANSGLUTAMINÁZY A TEPLoty NA ELASTICKÝ MODUL PRUŽNOSTI



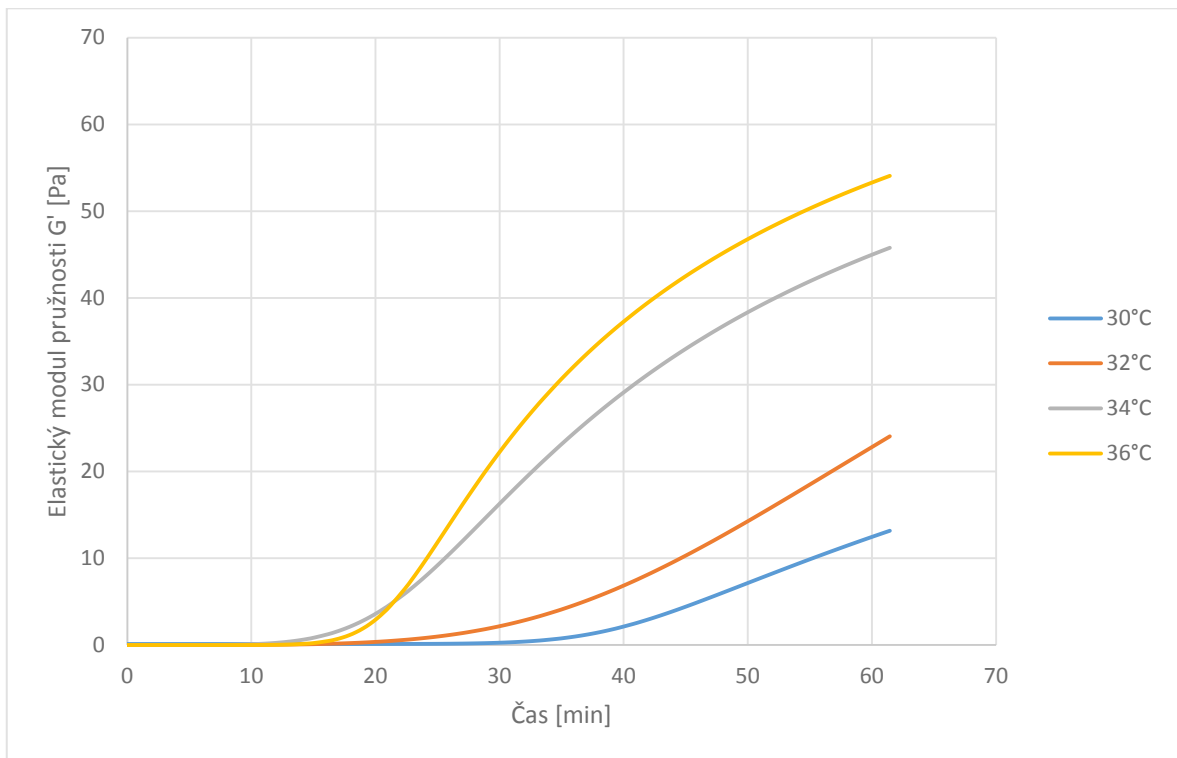
Graf 1 - Závislost elastického modulu pružnosti na čase syrového mléka bez přídavku TG



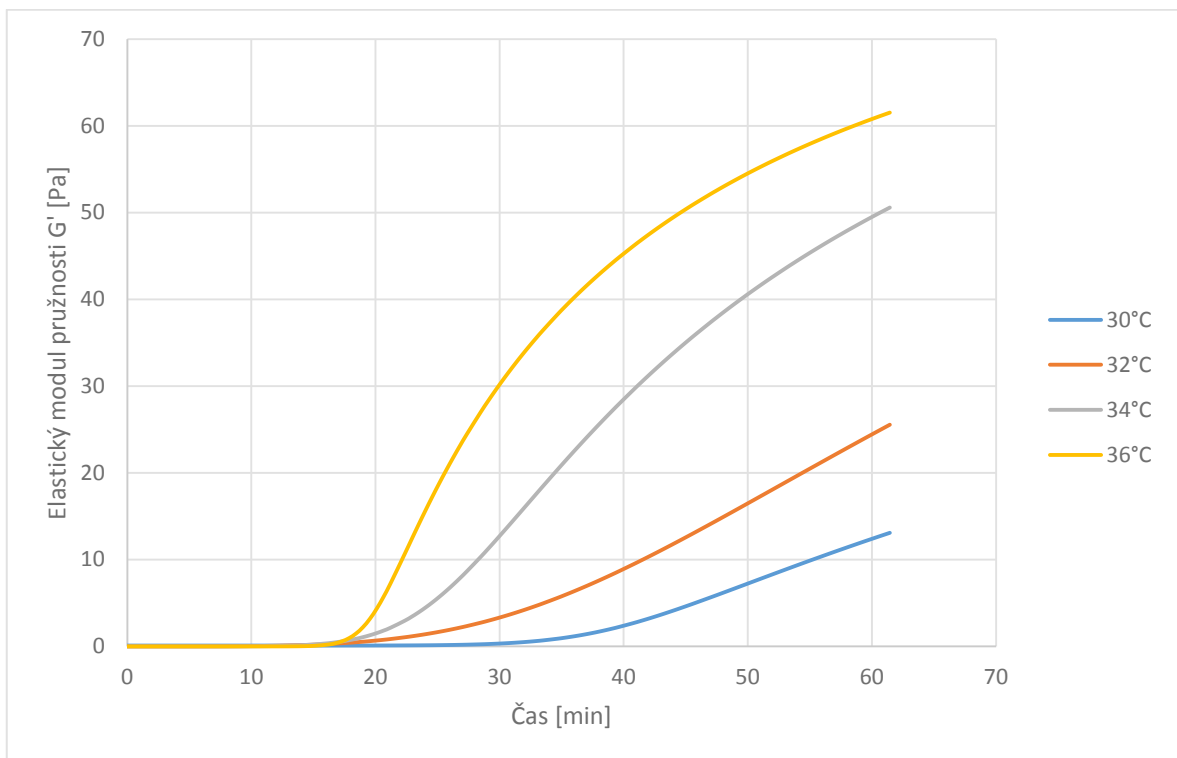
Graf 2 - Závislost elastického modulu pružnosti na čase při koncentraci TG 4 µg

PŘÍLOHA P I:

VLIV PŘÍDAVKU TRANSGLUTAMINÁZY A TEPLoty NA ELASTICKÝ MODUL PRUŽNOSTI



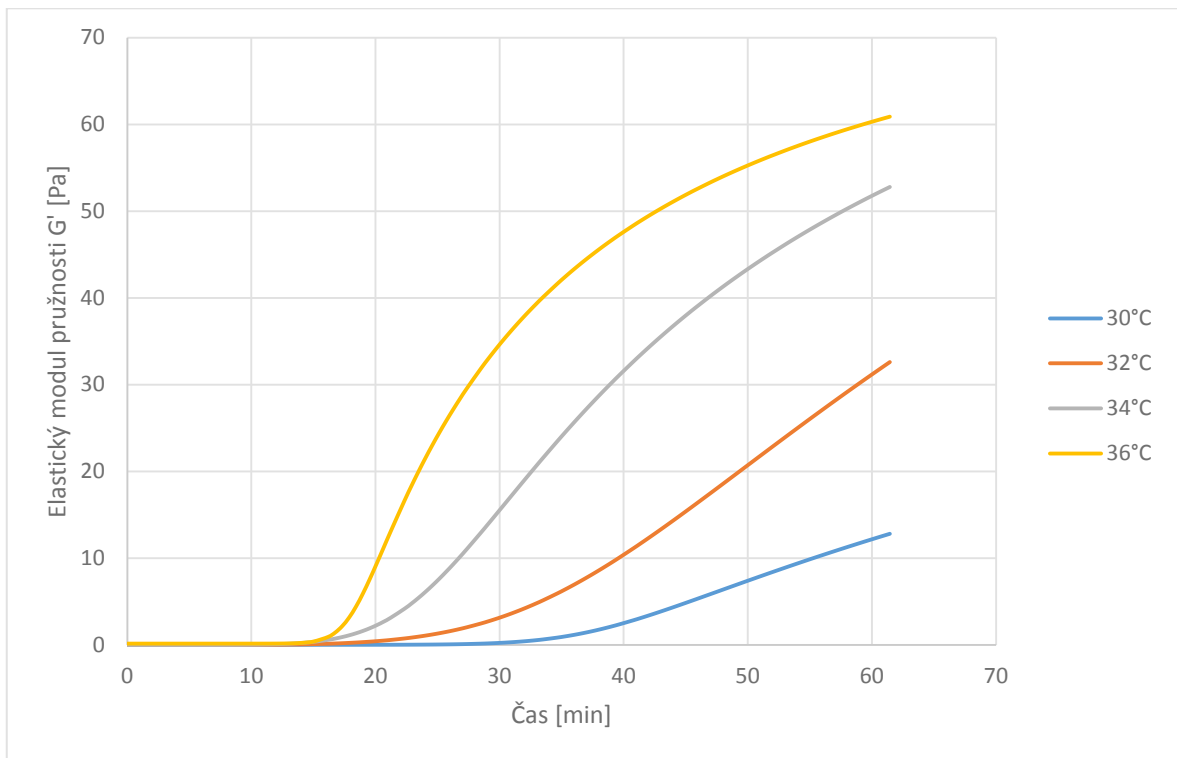
Graf 3 - Závislost elastického modulu pružnosti na čase při koncentraci TG 6 µg



Graf 4 - Závislost elastického modulu pružnosti na čase při koncentraci TG 8 µg

PŘÍLOHA P I:

VLIV PŘÍDAVKU TRANSGLUTAMINÁZY A TEPLoty NA ELASTICKÝ MODUL PRUŽNOSTI



Graf 5 – Závislost elastického modulu pružnosti na čase při koncentraci TG 12 μg