

# Vliv nepřímého UHT záhřevu na vybrané vlastnosti mléka

Jiří Štěpánek

---

Bakalářská práce  
2024



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická  
Ústav technologie potravin

Akademický rok: 2023/2024

# ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: Jiří Štěpánek  
Osobní číslo: T21246  
Studijní program: B0721A210002 Technologie a hodnocení potravin  
Specializace: Technologie potravin  
Forma studia: Prezenční  
Téma práce: Vliv nepřímého UHT záhřevu na vybrané vlastnosti mléka

## Zásady pro vypracování

I. Teoretická část  
Základní charakteristika mléka a jeho vlastnosti.  
Technologie výroby UHT mléka a jeho význam.  
Výzvy a limitace při výrobě UHT mléka.  
II. Praktická část  
Vytvořte modelové vzorky UHT mléka pomocí nepřímého záhřevu.  
Proveďte analýzy vybraných vlastností modelových vzorků.  
Výsledky jednotlivých analýz vyhodnotte a formulujte závěry.

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

Seznam doporučené literatury:

- [1] ANEMA, Skelte G., 2019. Age Gelation, Sedimentation, and Creaming in UHT Milk: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* [online]. 18(1), 140-166. ISSN 15414337. Dostupné z: doi:10.1111/1541-4337.12407
- [2] CATTANEO, Stefano, Fabio MASOTTI a Luisa PELLEGRINO, 2008. Effects of overprocessing on heat damage of UHT milk. *European Food Research and Technology* [online]. 226(5), 1099-1106. ISSN 1438-2377. Dostupné z: doi:10.1007/s00217-007-0637-5
- [3] GAUCHER, Isabelle, Daniel MOLLÉ, Valérie GAGNAIRE a Frédéric GAUCHERON, 2008. Effects of storage temperature on physico-chemical characteristics of semi-skimmed UHT milk. *Food Hydrocolloids* [online]. 22(1), 130-143. ISSN 0268005X. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodhyd.2007.04.007
- [4] KELLY, Alan L. a John FOLEY, 1997. Proteolysis and storage stability of UHT milk as influenced by milk plasmin activity, plasmin/ $\beta$ -lactoglobulin complexation, plasminogen activation and somatic cell count. *International Dairy Journal* [online]. 7(6-7), 411-420. ISSN 09586946. Dostupné z: doi:10.1016/S0958-6946(97)00038-1

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Vendula Kúrová, Ph.D.**  
Ústav technologie potravin

Datum zadání bakalářské práce: **1. ledna 2024**  
Termín odevzdání bakalářské práce: **17. května 2024**

L.S.

---

**prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.**  
děkan

---

**Ing. Robert Gál, Ph.D.**  
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 19. února 2024

## PROHLÁŠENÍ AUTORA BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

- bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji 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;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 autorského zákona mohu užít své dílo – 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);
- pokud bylo k vypracování bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považuji se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

### Prohlašuji,

- že jsem na bakalářské práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautor.
- že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně, dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....  
podpis studenta

## **ABSTRAKT**

Hlavním podmětem zkoumání bylo zjistit jaký vliv mají různé teploty nepřímého záhřevu UHT na mléko v závislosti na době výdrže. Pro výrobu vzorků bylo použito syrové mléko, které bylo následně odstředěno. V závislosti na provedeném UHT záhřevu byly sledovány vybrané vlastnosti jako titrační kyselost, aktivní kyselost, obsah tuku, obsah sušiny, reologické vlastnosti, termostabilita, thiobarbiturové číslo a obsah dusíku v závislosti na použité teplotě a doby výdrže. Stanovení prokázala, že tepelné ošetření UHT nemá výrazný vliv na aktivní a titrační kyselost, obsah amoniaku a dynamickou viskozitu ve mléce. Naopak obsah sušiny, obsah tuku, thiobarbiturové číslo a termostabilita je ovlivněna UHT ošetřením.

Klíčová slova: UHT, vysokotepeelné ošetření, trvanlivé mléko

## **ABSTRACT**

The main topic of the study was to investigate the effect of different UHT indirect heating temperatures on milk depending on the retention time. Raw milk was used for the production of the samples, which were subsequently centrifuged. Selected properties such as titratable acidity, active acidity, fat content, dry matter content, rheological properties, thermostability, thiobarbituric number and nitrogen content were monitored depending on the temperature and retention time used. Determinations showed that UHT heat treatment does not have a significant effect on active and titratable acidity, ammonia content and dynamic viscosity in milk. In contrast, dry matter content, fat content, thiobarbituric number and thermostability are affected by UHT treatment.

Keywords: UHT, ultra-high temperature treatment, long-life milk

Tímto bych rád poděkoval vedoucí mé bakalářské práce paní doc. Ing. Vendule Kůrové, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady, trpělivost a čas, který mi věnovala při zpracovávání této práce.

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

# OBSAH

|   |           |
|---|-----------|
| <b>ÚVOD.....</b>  | <b>9</b>  |
| <b>I TEORETICKÁ ČÁST .....</b>  | <b>10</b> |
| <b>1 ZÁKLADNÍ CHARAKTERISTIKA MLÉKA A JEHO VLASTNOSTI.....</b>        | <b>11</b> |
| 1.1 SLOŽENÍ MLÉKA .....   | 11        |
| 1.1.1 Proteiny .....  | 12        |
| 1.1.2 Lipidy .....  | 14        |
| 1.1.3 Sacharidy .....   | 14        |
| 1.1.4 Voda .....  | 15        |
| 1.1.5 Minerální látky a vitamíny .....                                | 15        |
| 1.2 POŽADAVKY NA MLÉKO .....  | 15        |
| <b>2 TECHNOLOGIE VÝROBY UHT MLÉKA A JEHO VÝZNAM.....</b>              | <b>17</b> |
| 2.1 PROCES NEPŘÍMÉHO UHT ZÁHŘEVU .....                                | 18        |
| 2.2 PROCES PŘÍMÉHO UHT ZÁHŘEVU .....                                  | 19        |
| <b>3 VÝZVY A LIMITACE PŘI VÝROBĚ UHT MLÉKA .....</b>                  | <b>22</b> |
| 3.1 CHEMICKÉ ZMĚNY MLÉKA BĚHEM UHT ZÁHŘEVU .....                      | 22        |
| 3.4 SENZORICKÉ VLASTNOSTI UHT MLÉKA .....                             | 23        |
| 3.5 VÝŽIVOVÁ HODNOTA UHT MLÉKA .....                                  | 24        |
| <b>II PRAKTICKÁ ČÁST .....</b>  | <b>25</b> |
| <b>4 CÍL PRÁCE .....</b>  | <b>26</b> |
| <b>5 METODIKA PRÁCE.....</b>  | <b>27</b> |
| 5.1 MATERIÁL A METODY .....   | 27        |
| 5.1.1 Suroviny pro výrobu modelových vzorků.....                      | 27        |
| 5.2 VÝROBA MODELOVÝCH VZORKŮ.....                                     | 28        |
| 5.3 METODY STANOVENÍ.....   | 29        |
| <b>6 VÝSLEDKY A DISKUZE .....</b>                                     | <b>34</b> |
| 6.1 VÝSLEDKY STANOVENÍ AKTIVNÍ KYSELOSTI .....                        | 34        |
| 6.2 VÝSLEDKY STANOVENÍ TITRAČNÍ KYSELOSTI.....                        | 35        |
| 6.3 VÝSLEDKY STANOVENÍ OBSAHU SUŠINY .....                            | 36        |
| 6.4 VÝSLEDKY STANOVENÍ OBSAHU TUKU .....                              | 37        |
| 6.5 VÝSLEDKY STANOVENÍ THIOBARBITUROVÉHO ČÍSLA .....                  | 38        |
| 6.6 VÝSLEDKY STANOVENÍ AMONIAKU CONWAYOVOU METODOU.....               | 39        |
| 6.7 VÝSLEDKY STANOVENÍ TERMOSTABILITY MLÉKA .....                     | 40        |
| 6.8 VÝSLEDKY STANOVENÍ DYNAMICKÉ VIZKOZITY (REOLOGICKÁ ANALÝZA) ..... | 41        |
| <b>ZÁVĚR .....</b>  | <b>42</b> |
| <b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY .....</b>                                | <b>43</b> |

|   |           |
|---|-----------|
| <b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK .....</b> | <b>47</b> |
| <b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>                     | <b>48</b> |



## ÚVOD

Mléko patří mezi nejvýznamnější potraviny v lidské výživě a zároveň je surovinou hojně využívanou pro další zpracování, nicméně jde o potravinu s nízkou údržností.

Za účelem dosažení delší údržnosti mléka slouží tepelný ohřev jako je například ultratepelný záhřev přímou nebo nepřímou metodou. Mléko podrobené tomuto ošetření vydrží po dobu šesti měsíců při pokojové teplotě. Technologie UHT ošetření se stále vyvíjí z důvodu zlepšení organoleptických vlastností mléka a technologie jako takové.

UHT je tepelný záhřev na teplotu nejméně 135 °C. Technologie je schopna eliminovat vegetativní formy mikroorganismů i jejich spory. Mléko se přehřívá na teplotu kolem 35 °C, následně přehřáté mléko putuje do sterilačního zařízení, kde se provádí další přehřátí na teplotu kolem 70 °C. Přehřáté mléko jde to termosekce, kde se zahřeje na minimální teplotu 135 °C po dobu několik sekund, poté se mléko chladí a asepticky balí. Mléko je možné sterilovat dvěma způsoby, a to přímou nebo nepřímou metodou. První způsob je označován jako tzv. přímý záhřev, kdy dojde ke styku zahřívacího média s mlékem či mléčným výrobkem. Přímý záhřev můžeme dále rozdělit na vstřík páry do mléka (tzv. uperizace) nebo vstřík mléka do páry (tzv. paralizace). Druhým možným způsobem UHT ošetření je tzv. nepřímý záhřev, kde nedochází ke styku zahřívacího média s mlékem či mléčným výrobkem.

Při výrobě UHT mléka dochází k chemickým změnám jako například denaturace bílkovin, které jsou v provozech nežádoucí, protože mají vliv na ekonomii podniku. Další limitací výrobku může být neenzymatické hnědnutí způsobené vysokým záhřevem. Toto hnědnutí se projevuje netypickou chutí mléka a změnou barvy.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

# 1 ZÁKLADNÍ CHARAKTERISTIKA MLÉKA A JEHO VLASTNOSTI

Mléko je sekret mléčné žlázy savců, který je tvořen za účelem komplexního zajištění výživových, obranných a některých fyziologických potřeb. Pro bezpečí novorozenců mládřat obsahuje mléko mnoho mikrosložek jako jsou oligosacharidy, imunoglobuliny, proteiny akutní fáze a enzymy, které mají ochrannou funkci (Fox, 2008).

Díky domestikaci dobytka může být kravské mléko (kterým se bude dále zabývat tato bakalářská práce) zahrnuto do lidské výživy (Damodaran et al., 2007). Z fyzikálně-chemického hlediska je mléko polydisperzní systém, který lze rozdělit do tří fází. Disperzní fáze představuje emulzi tuku (v podobě tukových kuliček) ve vodě. V koloidní fázi jsou částice (bílkoviny a nerozpustné soli) jemně rozptýleny, opticky vzniká dojem rozpustnosti. Kazeinové micely nesou elektrický náboj a jsou hydratovány, což má za následek zabránění shlukování a následnému srážení bílkovin. Poslední fází je pravý roztok (molekulární systém), ve kterém jsou obsaženy sacharidy a část minerálních látek. U mléka dále rozlišujeme mléčné plazma a mléčné sérum. Jako mléčné plazma se označují částice rozptýlené ve vodě nesoucí elektrický náboj (koloidní disperze) (Matějová, 2021; de Meneses et al., 2020).

## 1.1 Složení mléka

Základní živiny v mléce jsou dobrým zdrojem pro výživu člověka. V nativním mléce se nachází přibližně 3,2 – 3,5 % bílkovin, z nichž 80 % tvoří kazein a zbývajících 20 % tvoří sérové bílkoviny (albuminy a globuliny). Kazein lze nalézt téměř ve všech mléčných výrobcích, včetně sýrů a tvarohu. Mléčné lipidy, často označované jako "tuk", jsou také známy pod názvem triacylglyceroly, což jsou estery mastných kyselin a glycerolu. Mléko obsahuje 4,7 – 4,8 % laktózy, mléčného cukru. Při nedostatečné syntéze enzymu laktázy může laktóza u osob s absencí nebo malým množstvím syntetizovaného enzymu laktázy vést k zažívacím potížím. Neschopnost strávit laktózu na její složky se nazývá laktózová intolerance. Řešením pro některé jedince je vyhýbat se tekutému a sušenému mléku a soustředit se na sýry a jiné fermentované mléčné výrobky s nižším obsahem laktózy. Laktózovou intolerancí je možné řešit užíváním léků, kde se nachází enzym laktáza (European Food Safety Authority [EFSA]).

### 1.1.1 Proteiny

Komplex dusíkatých látek obsažených v mléce tvoří mléčné bílkoviny, minoritní bílkoviny, nebílkovinné dusíkaté látky, bílkoviny obalů tukových kuliček a enzymy. Z technologického aspektu jsou nejpodstatnějšími dusíkatými sloučeninami bílkoviny.

Důležitost mléčných bílkovin spočívá ve výživové hodnotě dále pak ve fyziologické úloze, kterou plní některé mléčné proteiny – imunoglobuliny, laktoferin, laktoperoxidáza, vitaminy vázající proteiny, biologicky aktivní peptidy aj. Z technologického hlediska mají nenahraditelnou úlohu v mlékárenské technologii například při výrobě kysaných mléčných výrobků a sýrů, kde mají pozitivní vliv na správný průběh technologických postupů, reologické vlastnosti a vaznost vody. U tepelného ošetření mléka jako je UHT (Ultra High Temperature, což v překladu znamená ultratepelné ošetření), pasterace nebo sterilace je podstatná termostabilita mléčných bílkovin (Zadražil, 2002).

Množství proteinů v mléce je ovlivněno řadou faktorů: plemenem, věkem a individualitou dojnice, stadiem laktace, pořadím laktace a výživou. Hlavní podíl mléčných bílkovin ( $\geq 75$  %) tvoří v mléce přežvýkavců specifická bílkovina kazein. Mléčné proteiny jsou kombinací dvou hlavních typů proteinů: kazeinů (80 %) a sérových proteinů (20 %). Základní rozdělení vychází z kyselého srážení mléka, kdy při pH 4,6 dochází k vysrážení kazeinů a bílkoviny syrovátky zůstávají v roztoku (Navrátilová et al., 2012).

V mléčné žláze krav se vyskytuje šest charakteristických frakcí proteinů. Jsou to kazeiny  $\alpha_{s1}$ -,  $\alpha_{s2}$ -,  $\beta$ - a  $\kappa$ -, jejich množství se udává přibližně na 38 %, 10 %, 36 % a 15 % z celkového kazeinu. Mezi sérové proteiny tvořící asi 40 % a 20 % z celkového obsahu syrovátkových bílkovin řadíme  $\alpha$ -laktalbumin a  $\beta$ -laktoglobulin (Zadražil, 2002).

Z technologického hlediska jsou nejvýznačnějšími bílkovinami mléka kazeiny. Z chemického hlediska je můžeme zařadit k fosfoproteinům. Schopnost vázat vápník mají všechny kazeiny. Obsah navázaného vápníku je přímo závislý na množství fosfoserinových zbytků v molekule. Z této příčiny kapacity vazby u kazeinových frakcí postupně klesá v tomto pořadí:  $\alpha_{s2}$ - >  $\alpha_{s1}$ - >  $\beta$ - >  $\kappa$ -kazein. Kazeiny jsou agregovány do kazeinových komplexů a micel. K agregaci molekul  $\alpha_{s1}$ -,  $\beta$ - a  $\kappa$ -kazeinů do sférických částic zvaných micely dochází při teplotách  $> 5$  °C. Kazeinová micela obsahuje asi 20 000 až 50 000 molekul kazeinů. Kazeinovou micelu tvoří z 93 % hmotnostních kazeiny, asi 3 % hmotnosti je vápenatých iontů, 3 % anorganického fosforečnanu, 2 % fosfátu vázaného jako fosfoserin, 0,4 % citrátu a 0,5 % koloidního fosforečnanu vápenatého (Kopřiva, 2011). Micely jsou

schopné vázat velké množství vody – až 2 g vody na 1 g proteinu. Kazeinová micela je složena ze submicel. Submicely mají tvar rotačního elipsoidu a obsahují 25–30 molekul  $\alpha_s$ -,  $\beta$ - a  $\kappa$ -kazeinů. Nepochární části jednotlivých molekul jsou orientovány do centra submicely, kde se uplatňují hydrofobní interakce. Polární části molekul kazeinů – fosfoserinové zbytky molekul  $\alpha_s$ -kazeinů a  $\beta$ -kazeinů a threoninový zbytek s vázanými oligosacharidy v molekule  $\kappa$ -kazeinu, reagují s vápenatými ionty a vodou. Jednotlivé submicely se vzájemně spojují do micel prostřednictvím fosfoserinových skupin  $\alpha_s$ -kazeinů a  $\beta$ -kazeinů a vápenatých iontů přímo, nebo s využitím volných fosfátů a citrátů. Submicely, které neobsahují  $\kappa$ -kazein, se nacházejí uvnitř micel a submicely bohaté na  $\kappa$ -kazein, jsou uloženy na povrchu. Na povrchu micel jsou rovněž přítomné molekuly  $\alpha_{s1}$ -,  $\alpha_{s2}$  – a  $\beta$ -kazeinů. Hydrofilní části  $\kappa$ -kazeinu vyčnívají z povrchu micely jako flexibilní „vlásky“, vytváří kolem micely vrstvu širokou 5-10 nm. Povrchová vrstva je důležitá pro stabilitu micely.

V následující části práce budou detailněji popsány jednotlivé kazeinové frakce:

#### $\alpha_s$ -kazein

Je hlavní složkou kazeinové frakce mléka. Disponují největším množstvím fosforu a jsou nejzastoupenější kazeinovou frakcí. V přítomnosti  $\text{Ca}^{2+}$  iontů za teploty nad 20 °C tvoří nerozpustnou vápenatou sůl. Díky fosfoserinovým zbytkům se molekula rozdělí na část polární a nepolární (Velíšek & Hajšlová, 2009).

#### $\beta$ -kazein

Obsahuje méně fosforu než  $\alpha_s$ -kazeiny. Druhá nejvíce zastoupená frakce kazeinu. Jedná se o vysoce hydrofobní frakci, je citlivá na vysrážení vápníkem při 35 °C. Primární struktura se skládá z 209 aminokyselinových zbytků. Působením proteolytických enzymů vznikají z  $\beta$ -kazeinů tzv.  $\gamma$ -kazeiny. V přítomnosti vápenatých iontů tvoří soli rozpustné při nízkých teplotách ( $\leq 1$  °C) (Velíšek & Hajšlová, 2009).

#### $\kappa$ -kazein

Primární struktura je tvořena 169 zbytky aminokyselin. Jedná se o jedinou frakci, která se nesráží za přítomnosti vápenatých iontů a podmiňuje tak stabilitu kazeinového komplexu. V molekule této frakce se nachází sirmé aminokyseliny. Vazba  $\kappa$ -kazeinu se rozruší působením syřidla (chymozinu), díky fosfoserinovému zbytku, kde vápník není schopen se vázat a v přítomnosti vápenatých iontů se nesráží.  $\kappa$ -kazein se rozpadá na para- $\kappa$ -kazein a na rozpustný glykomakropeptid a ztrácí tím svou ochrannou roli v kazeinové micelle (Walstra et al., 2006).

Mezi sérové bílkoviny patří  $\beta$ -laktoglobulin, který je specifickým a nejvíce zastoupeným syrovátkovým proteinem kravského mléka.  $\beta$ -laktoglobulin je z technologického hlediska významný, při zahřátí na 80 °C po dobu několik sekund dochází v důsledku tepelné denaturace bílkovin k „odkrytí“ SH– skupin cysteinu, které mají schopnost vázat stopové množství těžkých kovů. Zabraňuje se tak oxidačnímu účinku na mléčný tuk a zvyšuje se rezistence mléčných výrobků vůči oxidaci. Druhou nejvíce zastoupenou syrovátkovou bílkovinou je  $\alpha$ -laktalbumin, který je tvořen 123 aminokyselinami. Je součástí enzymu laktosynthetasy – zúčastní se syntézy laktózy v mléčné žláze (Navrátilová et al., 2012).

### 1.1.2 Lipidy

Typický obsah tuku v nativním mléce se pohybuje kolem 4 %. Jedná se převážně o estery mastných kyselin a glycerolu. Nasycené mastné kyseliny tvoří 60–70 % triacylglycerolů, zbývající část tvoří nenasycené mastné kyseliny. Tyto tuky jsou snadno stravitelné a mohou být jediným tukem, který jedinci s trávicími problémy snášejí. Kromě toho obsahuje mléčný tuk stopové množství trans-mastných kyselin, které jsou produkovány mikroby v trávicím systému dojníc. Tuk se nachází uspořádaný v tukových kuličkách, které jsou chráněny povrchovou membránou. Jsou málo rozpustné ve vodě, ale rozpustné v organických rozpouštědlech. Při konzumaci tekutého mléka je obsah tuku standardizován na 0,5 % u nízkotučného, 1,5 % u polotučného a 3,5 % u plnotučného mléka (Jenness et al., 1995; Chi Keung Cheung, 2015).

### 1.1.3 Sacharidy

Hlavním sacharidem mléka je laktóza. Dále mléko obsahuje monosacharidy glukózu a galaktózu i jejich deriváty. Laktóza je oligosacharid mléka, je tvořena galaktózou a glukózou, které jsou spojeny 1,4- $\beta$ -glykosidickou vazbou. Tvoří dva anomery  $\alpha$ - a  $\beta$ -, které se liší rozpustností a optickou otáčivostí. Při 20 °C je poměr  $\alpha$ :  $\beta$  = 1: 1,59. V krystalickém stavu se laktóza vyskytuje jako monohydrát. Méně rozpustná  $\alpha$ - forma krystalizuje z přesyceného roztoku při teplotách pod 95 °C. Z technologického hlediska je krystalizace laktózy důležitá při výrobě zahuštěných slazených mlék, kdy nesprávně vedená krystalizace je původcem vad výrobků, a při skladování sušených mlék je důvodem tvrdnutí prášku (Matějčíková, 2019).

### 1.1.4 Voda

Mléko tvoří v průměru z 87–88 % voda. Existují tři druhy vody: volná, vázaná na koloidy a chemicky vázaná. Většinu vody v mléce tvoří volná voda. Obsahuje minerální látky a rozpouštěnou laktózu (Gajdůšek, 2003). Obsah vázané vody v mléce činí 2–3 %. Ta se váže na koloidy a pokrývá povrch koloidních částic. Laktóza a chemicky vázaná voda mají velmi pevnou vazbu (Lukášová, 2001).

### 1.1.5 Minerální látky a vitamíny

Díky obsahu minerálních látek a vitamínů má mléko pozitivní vliv na základní biologické funkce člověka. Jedny z nejvýznamnějších minerálních látek v mléce jsou vápník, draslík a fosfor. Méně zastoupenými jsou sodík, hořčík, chloridy, uhličitany a sírany. Ve mléce se vyskytují ve formě rozpustné i koloidně vázané (součást některých organických látek, např. fosfor v esterech kyseliny fosforečné) (Kopřiva, 2011). Vápník je jak svým množstvím, tak svou nutriční hodnotou v mléce nejobsáhlejší a nejdůležitější pro vývoj a správné fungování lidského organismu. Přispívá k dosažení dostatečné kostní hmoty v dospělosti a je zásadní při vývoji hustoty kostí u dětí. Mléko je také poměrně dobrým zdrojem zinku. Velká část zinku v mléce je vázána na kazein. Zinek je důležitým prvkem pro imunitní systém, syntézu DNA a celou řadu enzymů a funkci některých bílkovin, které se na DNA vážou. Opomíjeným faktem v obsahu mléka je i množství jodu, který je nezbytný pro správnou funkci štítné žlázy (Horáčková, 2023). Mléko je dobrým zdrojem vitamínů jak hydrofilních, tak lipofilních. Z hydrofilních (vitamíny rozpustné ve vodě) se jedná o vitamíny ze skupiny B. Zastoupen je i vitamín C, vitamín H a kyselina listová. Z lipofilních (vitamíny rozpustné v tucích) je nejvíce zastoupen vitamín A, D, E a K (Anonym, 2024; Kopřiva, 2011).

## 1.2 Požadavky na mléko

Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004 stanovuje zvláštní pravidla pro hygienu potravin živočišného původu vztahující se na provozovatele potravinářských podniků. Těmito pravidly se doplňují pravidla stanovená nařízením Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 852/2004 o hygieně potravin. Vztahují se na nezpracované produkty i zpracované produkty živočišného původu.

Tato práce se dále zaměřuje pouze na mléko a mléčné výrobky.

"Surovým 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. Provozovatelé potravinářských podniků musí zavést postupy s cílem zajistit, aby syrové mléko splňovalo následující kritéria:

- Obsah mikroorganismů při 30 °C (na ml)  $\leq 100\ 000$
- Obsah somatických buněk (na ml)  $\leq 400\ 000$

Provozovatelé potravinářských podniků musí zajistit, aby bylo mléko po přijetí v zpracovatelském zařízení rychle zchlazeno na teplotu nepřekračující 6 °C a aby tato teplota byla udržena do doby zpracování. Provozovatelé potravinářských podniků však mohou uchovávat mléko při vyšší teplotě, pokud ke zpracování dojde ihned po nadojení nebo do 4 hodin od přijetí ve zpracovatelském zařízení, nebo příslušný orgán povolí vyšší teplotu z technologických důvodů souvisejících s výrobou určitých mléčných výrobků (Evropa, 2004).



## 2 TECHNOLOGIE VÝROBY UHT MLÉKA A JEHO VÝZNAM

Nejnámějším způsobem, jak zajistit mikrobiologickou nezávadnost mléka a mléčných výrobků po dobu jejich trvanlivosti, je tepelné ošetření. Vzhledem k velikosti většiny mlékáren se používají kontinuální postupy, zatímco diskontinuální ohřev v tancích je omezen především na malou zemědělskou výrobu, například na farmách nebo v rozvojových zemích (Eisner, 2021).

Díky dlouhodobé trvanlivosti a přijatelným sensorickým vlastnostem roste ve světě poptávka po UHT mléku. Trvanlivost výrobku je zaručena vysokým tepelným záhřevem, kdy dojde k usmrcení všech vegetativních forem mikroorganismů a jejich spor. Mezi výhody UHT mléka patří prodloužená trvanlivost, přijatelné sensorické vlastnosti a zmenšení nákladů na chlazení při skladování a distribuci (Chavan et al., 2011).

Většina zemí má zavedeny legislativní předpisy stanovující kombinace minimální doby a teploty ošetření. Povolena je kombinace, která vede k inaktivaci vegetativních forem mikroorganismů a jejich spor, což umožňuje zpracovatelům mléka optimalizovat své výrobky pro specifické potřeby (Eisner, 2021). Země Evropské unie se řídí nařízením Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004 v platném znění, kde se ošetření UHT dosahuje záhřevem, který zahrnuje stálý přítok tepla za vysoké teploty po krátkou dobu. Ošetření UHT se dosahuje ošetřením: zahrnujícím souvislý přítok tepla za vysoké teploty po krátkou dobu (nejméně 135 °C v kombinaci s přiměřenou dobou zdržení), aby v ošetřeném výrobku nebyly žádné živé mikroorganismy ani spory schopné růstu v prostředí aseptické uzavřené nádoby při pokojové teplotě, a dostačujícím k tomu, aby výrobky zůstaly mikrobiologicky stabilní po patnáctidenní inkubaci při 30 °C v uzavřených nádobách nebo po sedmidenní inkubaci při 55 °C v uzavřených nádobách nebo po jakékoliv jiné metodě prokazující, že bylo použito vhodné tepelné ošetření (Evropa, 2004).

Spotřebitelská balení musí být uzavírána ihned po naplnění v zařízení, v němž probíhá poslední tepelné ošetření tekutých mléčných výrobků a výrobků z mleziva, a to takovými zařízeními pro uzavírání, která zabraňují kontaminaci. Systém na uzavírání musí být navržen tak, aby skutečnost, že byl otevřen, byla zřetelně rozpoznatelná a snadno kontrolovatelná (Evropa, 2004).

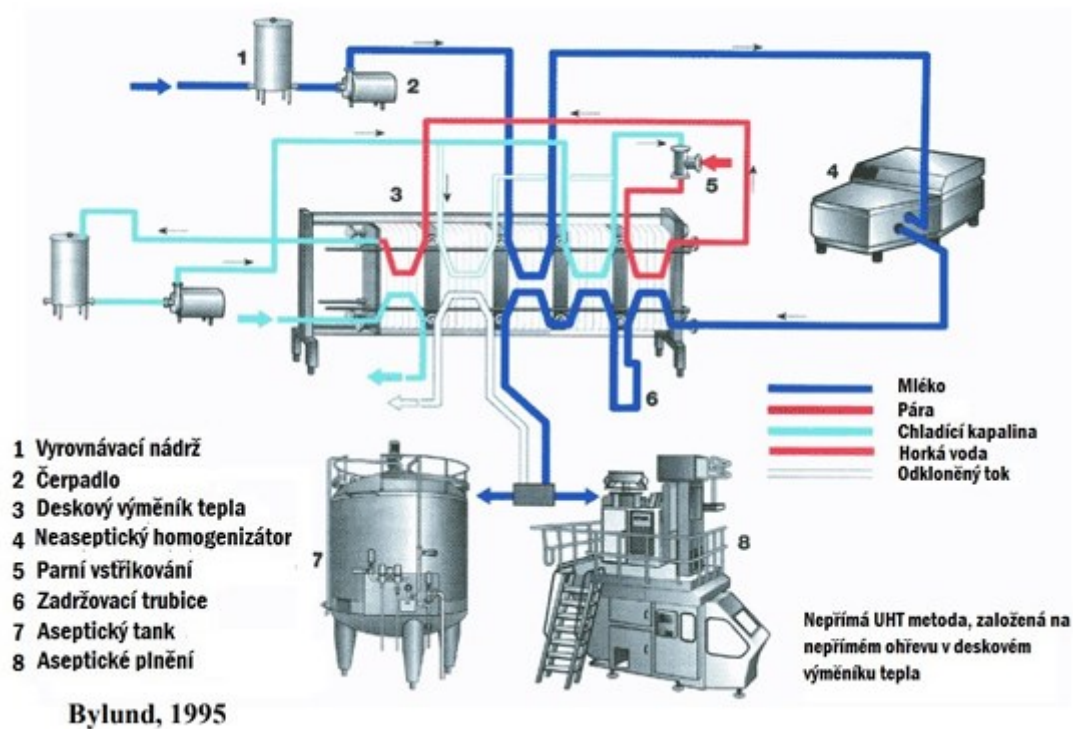
Vysokotepelné ošetření lze provádět dvěma způsoby. První způsob je označován jako tzv. přímý záhřev, kdy dojde ke styku zahřívacího média s mlékem či mléčným výrobkem. Přímý záhřev můžeme dále rozdělit na vstřík páry do mléka (tzv. uperizace) nebo vstřík mléka do

páry (tzv. paralizace). Druhým možným způsobem UHT ošetření je tzv. nepřímý záhřev, kde nedochází ke styku zahřívacího média s mlékem či mléčným výrobkem. U UHT záhřevu se využívá sterilační efekt, což vyjadřuje, o kolik řádů se sníží kontaminace mléka. Sterilační efekt vyžaduje hodnoty kolem 10–12 pro spory testovacího mikroorganismu *Bacillus subtilis* (Buňka, 2013).

## 2.1 Proces nepřímého UHT záhřevu

Při nepřímém UHT ošetření jsou topné médium a mléko odděleny pomocí kontaktních teplosměnných ploch v příslušném zařízení. Je možné použít několik typů výměníků tepla: deskové, trubkové a se stíraným povrchem. Fáze výroby se mohou lišit podle různých typů výrobních zařízení, zde popsaný postup se týká nepřímého záhřevu UHT v deskovém výměníku tepla.

Nejprve se mléko čerpá ze zásobního tanku do regenerační sekce, kde se předeřeje přibližně na teplotu 75 °C, již UHT ošetřeným mlékem. V dalším kroku proudí mléko do homogenizátoru, který nemusí být díky umístění před termosekcí aseptický. Homogenizace probíhá obvykle za tlaku 18-25 MPa při jednostupňové homogenizaci nebo 20 MPa, respektive 5 MPa při dvojestupňové homogenizaci. Mléko následně směřuje do termosekce, kde se provádí samotný vysokoteplotní záhřev mléka. Ohřívacím médiem je pára, která se tvoří mimo výměník. Tlak ve výměníku se udržuje v hodnotách 0,4-0,5 MPa. Poté mléko putuje do výdržníku, kde probíhá prodloužení doby působení dosažené teploty. Následně se mléko chladí, roli chladícího roztoku plní voda nebo mléko, které je na začátku celého procesu. Jedná se o výměnu tepla, kdy mléko po termosekci předá teplo mléku na začátku procesu a obráceně. Po ochlazení se mléko transportuje do aseptické plničky nebo aseptického tanku. Pokud by neproběhlo dokonalé vysokotepečné ošetření mléka je v systému zabudován zpětný ventil, který mléko vrátí na začátek procesu nebo pustí mléko do aseptické baličky či tanku (Buňka, 2013; Gedam et al., 2007).



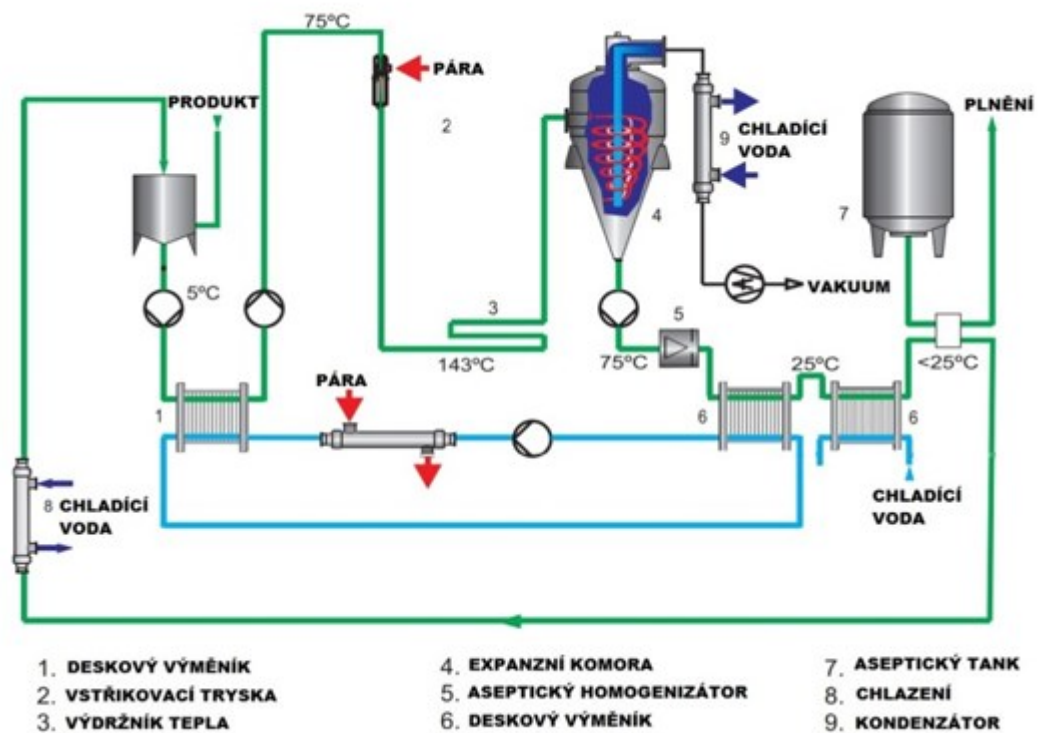
Obrázek 1.: Schéma nepřímého UHT záhřevu (Bylund, 2003)

## 2.2 Proces přímého UHT záhřevu

Při přímé sterilaci je mléko ve zlomku sekundy zahřáto na ultra-vysoké teploty 135-150 °C, po tepelné výdrži 2 až 8 sekund je vychlazeno na 80 °C. Přímé UHT ošetření lze rozdělit na 2 způsoby. První způsob je vstřík páry do mléka tzv. uperizace. Druhý způsob je vstřikování mléka do páry tzv. polarizace (Fan et al., 2024).

### Technologický postup uperizace:

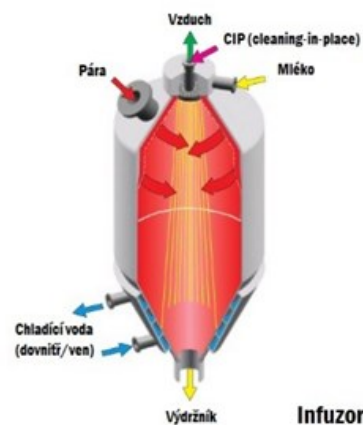
Vybrané mléko se čerpá z vyrovnávací nádrže do deskového předehříváče, kde se ohřívá vodou na 75 °C. Vysokotlaké čerpadlo přivádí předehřáté mléko do uperizační komory, kde se smísí s párou. Pára vstupuje do protékajícího mléka hustou sítí otvůrků, které zaručují dokonalé prohřátí mléka v celé jeho hmotě (135 až 150 °C). V procesech přímého ohřevu UHT, kde se pára vstřikuje do mléka nebo naopak, je třeba kondenzovanou páru odstranit. Toho se dosáhne při vakuovém chlazení mléka jeho vháněním do expanzní nádoby ve vakuu. Kromě vlhkosti se odstraní také větší část aromatických složek, thiolové skupiny (SH) a kyslík. Pára musí být nezávadná, zbavena mechanických nečistot a pachů. Po sterilaci se mléko zchladí na 75 °C. Dále se mléko homogenizuje a plní v aseptické plničce (Buňka, 2013; Battersby et al., 2012; Mehta, 1980).



Obrázek 2.: Schéma uperizace (Bylund, 2003)

### Technologický postup paralizace:

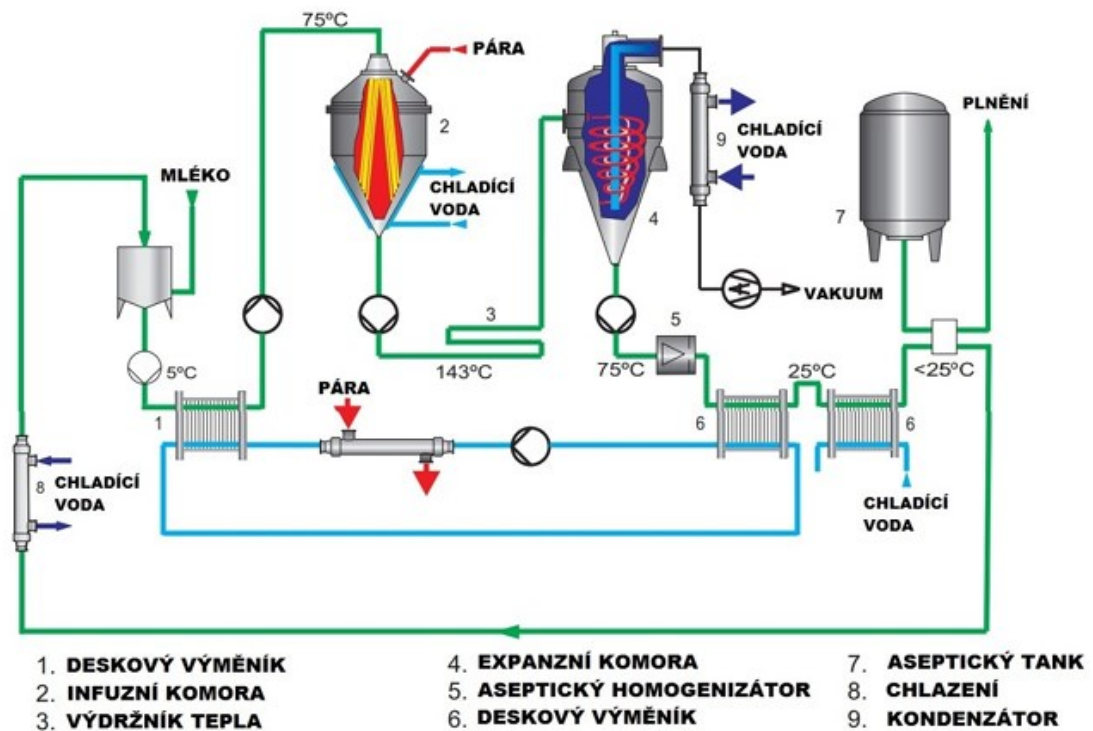
Postup je podobný uperizaci s tím rozdílem, že samotný záhřev probíhá v infuzní komoře.



Obrázek 3.: Schéma parního infuzoru (Bylund, 2003)

Mléko se čerpá z vyrovnávací nádrže a před vstupem do komory se předeřeje přibližně na teplotu 75 °C v deskovém výměníku. Infuzní komora je vybavena tryskou, která rozprašuje mléko v tenkých pramíncích ze středu komory. Ostrá pára je přiváděna ze stran malou rychlostí proti mléku, které je tak zahříváno šetrně a rychle na sterilační teplotu 143-145 °C po dobu 1 sekundy. Horní částí komory odvádí uvolněný vzduch z mléka během zahřátí.

Spodní část komory je chlazena vodou z mezistěny, což zajišťuje vytvoření tenké vrstvy kondenzační vody z produktu, který je odváděn z komory. Mléko přichází do výdržníku, kde je udržováno při sterilační teplotě 3 – 4 sekundy. Pak přechází do odlučovače páry – expanzní komory v níž se teplota mléka sníží na 75 – 73 °C. Odtud je aseptickým čerpadlem převedeno do homogenizátoru a do výměníku, kde se ochladí na teplotu plnění (25 – 22 °C) a je čerpáno do zásobních tanků (Janšová, 2012; Mehta, 1980).



Obrázek 4.: Schéma paralizace (Bylund, 2003)

### 3 VÝZVY A LIMITACE PŘI VÝROBĚ UHT MLÉKA

#### 3.1 Chemické změny mléka během UHT záhřevu

Kazeinové proteiny vykazují značnou odolnost proti denaturaci, což je dáno jejich nízkým obsahem sekundárních a terciárních struktur v molekulární kompozici. Na druhé straně, během UHT zpracování mléka jsou sérové proteiny denaturovány, což je způsobeno jejich vysokým obsahem sekundárních a terciárních struktur v molekule. Přímá metoda zahřívání vykazuje nižší míru denaturace proteinů v porovnání s nepřímou metodou. Sérový albumin a  $\beta$ -laktoglobulin začínají denaturovat při teplotách přesahujících 70 °C. Mimořádný význam pro charakteristiky mléka má zejména denaturace  $\beta$ -laktoglobulinu.  $\beta$ -laktoglobulin schopen prostřednictvím své dostupné thiolové skupiny (-SH) vstoupit do interakce s thiolovou skupinou  $\kappa$ -kazeinu, jež tvoří ochrannou vrstvu micely, což vede k vytvoření disulfidového můstku a následně komplexu, v němž je  $\beta$ -laktoglobulin spojen s  $\kappa$ -kazeinem. Tato vazba má důležitý význam pro funkční vlastnosti mléčných proteinů, především v procesu výroby sýrů – denaturace sérových proteinů byla identifikována jako jedna z hlavních příčin zhoršení srážlivosti mléka při sýření. Denaturované sérové proteiny jsou snáze stravitelné, protože jsou lépe dostupné pro proteolytické enzymy trávicího ústrojí člověka. Může také dojít k narušení tepelné stability mléka. Mléko s poškozenou tepelnou stabilitou je náchylnější k agregaci proteinů, které jsou vidět jako usazeniny na dně výrobku (Gaucher et al., 2008).

Tepelná denaturace bílkovin nebo iniciace neenzymatického hnědnutí a oxidačních reakcí může zkrátit trvanlivost produktu (Adams et al., 1984)

#### 3.2 Tvorba usazenin v průběhu UHT záhřevu

Dle studie autorů Hagsten et al., 2019 se při UHT zpracování mléka se na povrchu výměníku tepla tvoří tuhé usazeniny na bázi minerálů. Odstraňování tohoto druhu znečištění je vyhodnoceno na základě měření změn tloušťky a vizualizace strukturálních změn pomocí laserového triangulačního senzoru a kamery. Proces byl zkoušen za alkalického i kyselého čištění. Za testovaných podmínek nedošlo při alkalickém čištění k plošnému zvětšení znečištěné vrstvy. Došlo však ke znatelnému rozpadu bílkovinné sítě, což mělo vliv na efektivitu čistícího procesu a fázi čištění kyselinou. Klasické čištění výměníku probíhá v určitém intervalu a zanesení se pozná tak, že se nedosáhne potřebné teploty nebo nárůstem tlaku v termosekci (Hagsten et al., 2019).

Bell a Sanders (1944) prokázali, že předehtřívání čerstvého plnotučného mléka snižuje zanášení zařízení UHT. Bylo zjištěno, že v porovnání s jiným tepelným ošetření jako je například pasteurace způsobuje mléko znatelně větší nápek (Srichantra et al., 2018).

### 3.3 Oddělování tuku a sedimentace

Stabilitu disperze tuku v UHT mléce lze zvýšit vhodnou homogenizací. Homogenizace při 211 Pa a teplotě 71 – 77 °C s homogenizátorem umístěným za výdržníkem výrazně snižuje oddělování tuku v UHT mléce (David et al., 2022).

Intenzivní působení teploty z topného média při zpracování UHT mléka obvykle způsobuje denaturaci mléčných bílkovin nebo vysrážení solí v mléce, to způsobuje sedimentaci během skladování. Čím vyšší je sterilizační teplota, tím větší je sedimentace. K maximální sedimentaci dochází při teplotách 140, 145 a 150 °C při 4sekundové době výdrže. Obecně sedimentace v UHT mléce nepředstavuje závažný problém. Sedimentaci ovlivňuje rovnováha vápníku a přidavek solí (David et al., 2022). Homogenizace při nižších teplotách také snižuje tvorbu usazenin. Homogenizace po zpracování namísto před zpracováním rovněž snižuje tvorbu sedimentů. Během skladování se část sedimentu zřejmě vrací do roztoku při promíchání ve spotřebitelském balení, a tím se snižuje celkové množství sedimentu (Mehta, 1980).

### 3.4 Senzorické vlastnosti UHT mléka

#### Chuť

UHT mléka se od pasterovaného mléka liší jen nepatrně. Při vyšších teplotách zpracování se z mléka účinněji odstraňují aromatické látky, které způsobují zápach, jako je zápach po krmivu nebo samotném zvířeti. Spotřebitelé tak považují UHT mléko za chuťově „čistší“. Na druhou stranu někteří spotřebitelé kritizují UHT mléko také za nepříjemné příchutě, jako je vařivá a zatuchlá (Mehta, 1980). Změny chuti jsou hlavním faktorem omezujícím údržnost UHT mléka, zejména v důsledku Maillardovy reakce, ale také v důsledku oxidace lipidů nebo proteolýzy v závislosti na složení mléka a ošetření UHT (Richards et al., 2014). Maillardova reakce je složitá kaskáda reakcí mezi redukujícím cukrem a aminoskupinou. Tyto kaskády se obvykle dělí na tři fáze: počáteční, přechodnou a pozdní (Nursten, 2005). Maillardově reakci bylo přisuzováno více než 3500 různých těkavých sloučenin, včetně aldehydů, ketonů, sulfidických sloučenin a organických kyselin. Většina těchto těkavých

sloučenin vzniká v mezistupni. V závěrečné fázi Maillardovy reakce se tvoří hnědě zbarvené polymery, tzv. melanoidy, které způsobují netypickou chuť (Van Boekel, 1998).

### **Vzhled a barva mléka**

Vzhled a barva mléka závisí především na gradientu velikosti tukových kuliček a rozložení mléčných bílkovin. UHT-mléko je bělejší než odpovídající syrové mléko. Předpokládá se, že bělení je způsobeno denurací a následnou koagulací rozpustných bílkovinných složek mléka, které zvyšují množství neprůhledných částic v mléce. Čím menší jsou tukové kuličky, tím bělejší je barva mléka, protože tyto tukové kuličky pomáhají rozptylovat světlo (Burton, 1988).

### **3.5 Výživová hodnota UHT mléka**

Výživná hodnota UHT mléka se může zhoršit ve dvou fázích, a to buď během ošetření UHT, nebo během skladování. Ke ztrátě výživové hodnoty obvykle dochází v důsledku změn chemické struktury živin. Vliv podmínek zpracování UHT se u různých živin v mléce liší. Výživné hodnoty některých složek, jako jsou tuk, vitaminy rozpustné v tucích, sacharidy a minerální látky, jsou v podstatě neovlivněny, zatímco hodnoty jiných složek, jako jsou vitaminy rozpustné ve vodě a bílkoviny, jsou ovlivněny nepříznivě. Bílkoviny, zejména syrovátkové, jsou denaturovány. Během skladování jsou hlavními faktory ovlivňujícími živiny teplota, světlo a kyslík. Hlavní nutriční změny, k nimž v mléce během skladování dochází, jsou spojeny s vitamínovými složkami. Bílkoviny jsou ovlivněny, ale ne ve významném rozsahu (Bezie, 2019).



## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**

## 4 CÍL PRÁCE

Cílem předkládané bakalářské práce bylo popsat vliv různých režimů nepřímého UHT záhřevu na vybrané vlastnosti takto ošetřeného mléka.

Hlavní cíl práce lze rozdělit na cíle dílčí:

1. Připravit modelové vzorky UHT mléka za využití různých režimů vysokotepebného záhřevu (při teplotách 135, 140, 145, 150 °C po dobu 10 a 20 s).
2. Pomocí vybraných analýz (stanovení aktivní a titrační kyselosti mléka, obsah sušiny, obsah tuku, stanovení thiobarbiturového čísla, stanovení termostability a reologické stanovení) popsat změny probíhající během jednotlivých režimů záhřevu.
3. Na základě výsledků formulovat závěry.

## 5 METODIKA PRÁCE

V následující kapitole jsou uvedeny všechny přístroje a suroviny, které byly využity u výroby a vybraných analýz. Jsou zde vysvětleny jednotlivé principy a postupy použitých metod a pracovních postupů. Praktická část této práce byla provedena v laboratořích Univerzity Tomáše Bati na Ústavu technologie potravin.

### 5.1 Materiál a metody

#### 5.1.1 Suroviny pro výrobu modelových vzorků

##### Syrové kravské mléko

- AGRODELTA, s. r. o. (mléko z období měsíců leden-březen)

#### 5.1.2 Seznam přístrojů a pomůcek

- UHT jednotka: Modular Miniature Scale HTST/UHT Process System Base Unit (výrobce: armfield)
- pH meter Foodcare HI 99161 (Hanna Instruments, USA)
- Odstředivka FT15B (Armfield Inc., Velká Británie),
- Váhy Kern PFB 1200-2 (Kern & Sohn GmbH, Německo)
- Sklenice typu OMNIO o objemu 500 ml
- Nerezová konev na mléko
- Duplikátorová nádoba s nepřímým ohřevem
- Běžné laboratorní sklo a pomůcky

#### 5.1.3 Seznam chemikálií na CIP UHT jednotky

- Alkalický čisticí roztok DIVOSAN (hydroxid sodný s komplexonem)
- Kyselý čisticí roztok (kyselina dusičná)
- Dezinfekční roztok DEPTIL PA5 (kyselina octová a peroctová)

## 5.2 Výroba modelových vzorků

Celkem bylo vyrobeno 12 šarží vzorků: z toho 8 modelových vzorků UHT mléka a 4 kontrolní vzorky (které nebyly tepelně ošetřeny). Vzorky se lišily rozdílnou teplotou UHT záhřevu a dobou výdrže:

- Syrové kravské mléko (SYR1)
- Odstředěné mléko (CS1)
- UHT/135\_10 (teplota 135 °C, výdrž 10 sekund)
- UHT/140\_10 (teplota 140 °C, výdrž 10 sekund)
- UHT/145\_10 (teplota 145 °C, výdrž 10 sekund)
- UHT/150\_10 (teplota 150 °C, výdrž 10 sekund)
- Syrové kravské mléko (SYR2)
- Odstředěné mléko (CS2)
- UHT/135\_20 (teplota 135 °C, výdrž 20 sekund)
- UHT/140\_20 (teplota 140 °C, výdrž 20 sekund)
- UHT/145\_20 (teplota 145 °C, výdrž 20 sekund)
- UHT/150\_20 (teplota 150 °C, výdrž 20 sekund)

### 5.2.1 Postup výroby vzorků

Mléko bylo v duplikátorové nádobě s nepřímým ohřevem předeřáno na 35 °C. Následovalo odstředění mléka na odstředivce, kde se oddělila smetana od odstředěného mléka, které bylo dále využito pro experiment. Smetana pro experiment byla brána jako odpadní produkt. V průběhu odstředování byla zapnuta UHT jednotka, kde proběhla příprava UHT jednotky (dezinfekce pomocí čistících roztoků a důkladný proplach pitnou vodou). Po nastavení všech parametrů bylo odstředěné mléko nalito do UHT jednotky. Mezi nastavované parametry patřil zpětný tlak, kde jeho hodnota byla nastavena podle doporučení výrobce a teplota předeřevu byla nastavena na 75 °C. Dále byla upravena rychlost průtoku mléka UHT jednotkou. Výdrž byla nastavena na 10 sekund u prvního výrobního procesu a u druhého výrobního procesu na 20 sekund. Po nastavení všech parametrů byl proveden nepřímý záhřev UHT za požadované teploty vzorku (135, 140, 145, 150 °C/10 a 20 s.). Výstupní

teplota vzorků byla přibližně 10 °C, vzorky byly uchovány ve sterilních sklenicích typu OMNIO o objemu 500 ml a skladovány v lednici při teplotě  $5 \pm 2$  °C do provedení analýz.

Po dokončení výroby na UHT jednotce došlo k CIP (Clean In Place) UHT jednotky čistícími roztoky dle doporučení výrobce.

Po vlastní výrobě vzorků následovaly jednotlivé analýzy, které byly prováděny ihned po vyrobení modelových vzorků v následujících dvou dnech.

### 5.3 Metody stanovení

U modelových vzorků byly provedeny základní fyzikálně-chemické analýzy. Byla sledována aktivní a titrační kyselost mléka, obsah sušiny, obsah tuku, thiobarbiturové číslo (oxidace lipidů), obsah amoniaku. Dále byla posouzena termostabilita mléka pomocí tzv. alkoholové zkoušky. V neposlední řadě byly popsány reologické vlastnosti modelových vzorků UHT mléka.

#### 5.3.1 Stanovení aktivní kyselosti

Aktivní kyselost je dána skutečnou koncentrací oxoniových kationtů a vyjadřuje se v hodnotách pH: ( $pH = -\log c_{H_3O^+}$ ).

Měření hodnot pH u jednotlivých vzorků bylo provedeno použitím digitálního vpichového pH metru (pH meter, HI 99161, Foodcare, Hanna Instruments, USA) při laboratorní teplotě  $20 \pm 2$  °C. Měření bylo provedeno vždy po tepelném záhřevu modelových vzorků a kontrolních vzorků (nebyly tepelně ošetřeny) vytemperovaných na teplotu  $20 \pm 2$  °C. U každého vzorku bylo měření provedeno třikrát ( $n=3$ ).

#### 5.3.2 Stanovení titrační kyselosti podle Soxhleta-Henkela

Kyselost podle Soxhleta-Henkela udává spotřebu odměrného roztoku NaOH o koncentraci  $c_{NaOH} = 0,25 \text{ mol/l}$  potřebný k neutralizaci 100 ml mléka. Neutralizuje se na indikátor fenolftalein za podmínek metody. Tato metoda je rozhodčí pro stanovení titrační kyselosti mléka. U každého vzorku bylo měření provedeno třikrát ( $n=3$ ).

Do titrační baňky na 250 ml bylo odpipetováno 100 ml zkoušeného mléka a 2 ml etanolového roztoku fenolftaleinu, směs byla titrována odměrným roztokem NaOH o

$c_{NaOH} = 0,25 \text{ mol/l}$  do slabě růžového zbarvení, které bylo trvalé nejméně po dobu 30 sekund.

### 5.3.3 Stanovení tučnosti mléka Gerberovou metodou

Kyselinou sírovou se rozpustí bílkoviny a bílkovinné obaly tukových kuliček, uvolněný tuk se oddělí odstředivou silou do kalibrované části tukoměru, v níž se po vytemperování na kalibrační teplotu  $65 \text{ }^\circ\text{C}$  odečte objem tuku buď jako procenta hmotnostní, nebo objemově hmotnostní, nebo je nutné odečtenou hodnotu na procentový obsah přepočítat. Oddělení tukové fáze usnadňuje amylalkohol, který též vytváří ostré rozhraní mezi tukovou a vodnou fází. U každého vzorku bylo měření provedeno třikrát ( $n=3$ ).

Do mléčného tukoměru (butyrometru podle ČSN 25 7631) bylo odměřeno pipetou  $10 \pm 2$  ml Gerberovy  $H_2SO_4$  o hustotě  $\rho_{20} = 1\,817 \pm 2 \text{ kg/m}^3$  a mléčnou pipetou (ČSN 70 4121) 11 ml vzorku mléka vytemperovaného na teplotu  $20 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ . Potom bylo odměřeno do tukoměru sklopnou pipetou  $1 \pm 0,05$  ml amylalkoholu, tukoměr byl uzavřen pryžovou zátkou a obsah byl protřepán. Tukoměry byly po vytemperování na teplotu přibližně  $65 \text{ }^\circ\text{C}$  ve vodní lázni odstředovány po dobu 6 minut. Po odstředování byly tukoměry vloženy do vodní lázně o teplotě  $65$  až  $68 \text{ }^\circ\text{C}$ . Po uplynutí třech až pěti minut teploty byl odečten objem tuku tak, že rozhraní vodné a tukové fáze se nastavilo na nejbližší celý dílek stupnice a horní část tukového sloupce vymezoval spodní okraj menisku, který se odečítá s přesností na polovinu nejmenšího dělení stupnice. Při odečítání tuku byl sloupec na úrovni oka a teplota tuku byla  $65 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ .

### 5.3.4 Stanovení thiobarbiturového čísla

Thiobarbiturovým číslem se stanovuje obsah malondialdehydu (MDA), sekundárního produktu oxidace lipidů. Malondialdehyd má schopnost reagovat s kyselinou 2-thiobarbiturovou (TBA) za vzniku barevného komplexu (růžové zbarvení), intenzita zbarvení komplexu se proměří spektrofotometricky. Absorbance je měřena při vlnové délce 538 nm/450 nm.

Volné radikály + nenasycená mastná kyselina = MDA

MDA + TBA = barevný komplex

Bylo naváženo 5 ml vzorku do 50 ml zkumavky s přesností 0,001 g. Bylo přidáno 15 ml kyseliny chloristé  $KClO_4$  o koncentraci 3,86 %, 0,5 ml 4,2 % etanolového roztoku butylhydroxytoluenu (2,6-di-tert-butyl-4-methylphenol, BHT). Byl proveden slepý pokus

s označením pokus číslo 1.: bylo naměřeno 5 ml destilované vody, k destilované vodě bylo přidáno 15 ml kyseliny chloristé o koncentraci 3,86 % a 0,5 ml 4,2 % etanolového roztoku butylhydroxytoluenu. Následně bylo se slepým vzorkem pracováno jako s modelovými vzorky. Vzorky byly rozmíchány na vortexu, a následně odstředěny po dobu 5 minut při 6000 ot./minutu. Odstředěné vzorky byly filtrovány přes papírový filtr. Z filtrátu byla odebrána alikvotní část, což činilo 4 ml, do skleněné zkumavky, k tomuto množství byly přidány 4 ml kyseliny thiobarbiturové o koncentraci  $c = 0,02$  mol/l. V dalším kroku byl vytvořen další slepý pokus pod názvem slepý pokus číslo 2.: byly naměřeny 4 ml vzorku a 4 ml destilované vody. Následně bylo se slepým vzorkem pracováno jako s modelovými vzorky. Následovalo zahřívání na vodní lázni (100 °C) po dobu 45 minut, bylo využito skleněných kuliček kvůli utajenému varu. Po uplynutí 45 minut byly vzorky zchlazeny ve studené vodní lázni. Zchlazené vzorky byly přefiltrovány přes stříkačkový filtr (stříkačka propláchnuta destilovanou vodou, poté vzorkem). U hotových vzorků byla změřena absorbance při 450 nm.

$$TBARS = \frac{A_{vz} - A_{S1} - A_{S2}}{m} * 1000$$

TBARS...hodnota TBARS [ $A_{450}/\text{mg}$ ]

$A_{vz}$ ...absorbance vzorku [-]

$A_{S1}$ ... absorbance slepého vzorku 1 [-]

$A_{S2}$ ... absorbance slepého vzorku 2 [-]

$m$ ...navážka vzorku [g]

### 5.3.5 Stanovení amoniaku Conwayovou metodou

Amoniak se ve speciální Conwayově misce vytěsňuje ze vzorku a v jiném oddílu nádoby se absorbuje roztokem  $H_3BO_3$ . Množství absorbovaného amoniaku se stanoví titrací  $H_2SO_4$  pomocí směsi indikátorů (bromkresolová zeleň a metylčerveně).

Vzorek byl homogenizován s vodou v poměru 1:3, kde se jednalo o 5 g vzorku a 15 ml vody. Vzorek byl zahřát na teplotu 42 °C a následně dán do homogenizátoru. Po homogenizaci následovalo odstředění po dobu 5 minut při 6000 ot/min. Do vnitřního prostoru Conwayovy misky byl napipetován 1 ml 1 %  $H_3BO_3$  a byly přidány dvě kapky Conwayova indikátoru.

Přídavkem indikátoru se roztok zbarvil do červena. Na jednu stranu byl napipetován 1 ml nasyceného roztoku  $K_2CO_3$ . Na opačnou stranu byl napipetován 1 ml odstředěného homogenitu, vzorky zatím nebyly promíchány. Nádobka se rychle přikryla plastovým víčkem a obsah se opatrně promíchá, kdy nebyl promíchán vnitřní a vnější prostor. Misky se nechaly stát dvě hodiny při laboratorní teplotě. Absorbovaný amoniak (zelené zbarvení) se titroval 0,005 M  $H_2SO_4$  do růžového zbarvení.

$$NH_3 = \frac{170 * V_{H_2SO_4} * F_{H_2SO_4}}{0,25}$$

$NH_3$ ...obsah amoniaku [mg/kg]

$V_{H_2SO_4}$ ...spotřeba  $H_2SO_4$  při titraci [ml]

$F_{H_2SO_4}$ ...faktor  $H_2SO_4$  [-]

### 5.3.6 Stanovení obsahu sušiny

Navážka se vysouší v elektrické sušárně při teplotě  $102 \pm 2$  °C a dosažení konstantní hmotnosti se kontroluje vážením po dalším dosoušení v předepsaných intervalech. Výsledek se uvádí v hmotnostních procentech obsahu sušiny nebo vody.

Ke stanovení byla použita hliníková váženka s křemenným pískem (30 g) víčkem a vloženou tyčinkou. Váženka byla zvážena společně s tyčinkou a víčkem a hodnoty byly následně zapsány do laboratorního deníku. Poté bylo do váženky naměřeno množství vzorku, které činilo 5 ml. Promíchaná váženka byla vložena do sušárny předehřáté na  $102 \pm 2$  °C, kde sušení trvalo 5 hodin. Po uplynutí doby sušení se váženka uzavřela víčkem a byla vložena do exsikátoru. V exsikátoru váženka chladla na teplotu 20 °C přibližná doba chladnutí na teplotu 20 °C bylo 30 minut. Vychladnutá váženka se zvážíla a hodnota se zapsala do laboratorního deníku. Stanovení bylo provedeno u každého vzorku 3X.

$$p_s = \frac{m_s * 100}{m_n} = \frac{(m_2 - m_0) * 100}{m_1 - m_0}$$

$$p_v = \frac{m_v * 100}{m_n} = \frac{(m_1 - m_2)}{m_1 - m_0}$$

$p_s$ ...obsah sušiny [% hm.]

$p_v$ ...obsah vody [% hm.]



$m_n$ ...hmotnost navážky vzorku [g]

$m_s$ ...hmotnost vysušené navážky (sušiny) [g]

$m_v$ ...hmotnost odpařené vody (úbytek hmotnosti navážky) [g]

$m_0$ ...hmotnost prázdné váženky [g]

$m_1$ ...hmotnost váženky s navážkou vzorku [g]

$m_2$ ...hmotnost váženky s navážkou vzorku po vysušení [g]

### 5.3.7 Stanovení termostability mléka – alkoholová zkouška

Alkohol odnímá hydratační vodu a převádí koloidní roztok bílkovin v gel. Za dostatečně stabilní se považují bílkoviny mléka, které odolávají působení etanolu o koncentraci 75 %.

Do titračních baněk bylo odměřeno 5 ml vzorku, který byl titrován 96% etanolem do doby, kdy byla pozorována koagulace bílkovin. Stanovení bylo provedeno u každého vzorku 3X

### 5.3.8 Reologická analýza

Reologická analýza mléka je důležitým nástrojem pro posouzení jeho fyzikálních vlastností a chování při deformaci. Bylo prováděno stanovení dynamické viskozity při konstantní smykové rychlosti. Geometrie, která byla využita se nazývá válec – válec Dynamická viskozita ( $\eta$ ) je parametr, který se vztahuje k vnitřnímu tření kapaliny. Viskozita v mléce je ovlivněna obsahem a koncentrací tuku a bílkovin a nabývá dvakrát vyšších hodnot než u vody. Další faktory ovlivňující viskozitu mléka jsou teplota, pH a stáří mléka. Ve většině případech se mléko chová jako newtonská kapalina. To znamená, že smykové napětí je úměrné smykové rychlosti (Park et al., 2007).

Do příslušné nádoby bylo odměřeno požadované množství vzorku mléka. Poté bylo provedeno samotné reologické stanovení, kdy byl vzorek vytemperován na 20 °C. Vzorky mléka byly analyzovány při konstantní smykové rychlosti 40 s<sup>-1</sup> za teploty 20 ± 1 °C. Stanovení bylo provedeno na reometru KINEXUS.

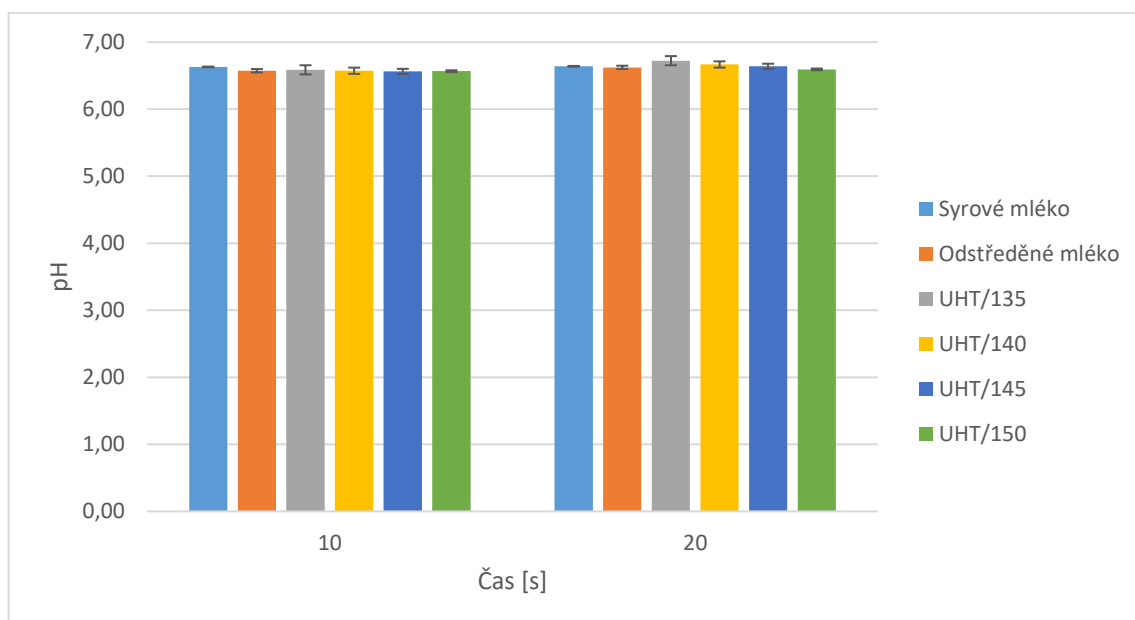
## 6 VÝSLEDKY A DISKUZE

V textu jsou popsány a uvedeny výsledky analýzy aktivní a titrační kyselosti mléka, obsahu sušiny, obsahu tuku, thiobarbiturového čísla (oxidace lipidů) a obsahu amoniaku. Dále byla posouzena termostabilita mléka pomocí tzv. alkoholové zkoušky. Výsledky ze zmíněných stanovení jsou uvedeny v grafech pro lepší přehlednost a orientaci.

### 6.1 Výsledky stanovení aktivní kyselosti

Aktivní kyselost byla měřena v den prováděného pokusu, kdy každý vzorek byl analyzován 3krát za laboratorní teploty  $20 \pm 2$  °C. Byly analyzovány vzorky mléka, které byly tepelně ošetřeny teplotami 135, 140, 145, 150 °C po dobu výdrže 10 a 20 sekund.

Jednotlivé stanovení vzorků prokázalo, že se po tepelném ošetření hodnota pH příliš neměnila a můžeme říci, že teplota nemá výrazný vliv na aktivní kyselost tepelně ošetřeného mléka. Hodnoty se lišily pouze v setinách, kde syrové mléko vykazovalo vyšší hodnoty pH oproti tepelně ošetřenému mléku. Důvodem by mohla být laktóza, která důsledkem vysoké teploty začala degradovat. Při degradaci laktózy vznikají organické kyseliny jako kyselina mravenčí, která má za následek snížení pH (Nieuwenhuijse & van Boekel, 2003; Tsioulpas et al., 2010).

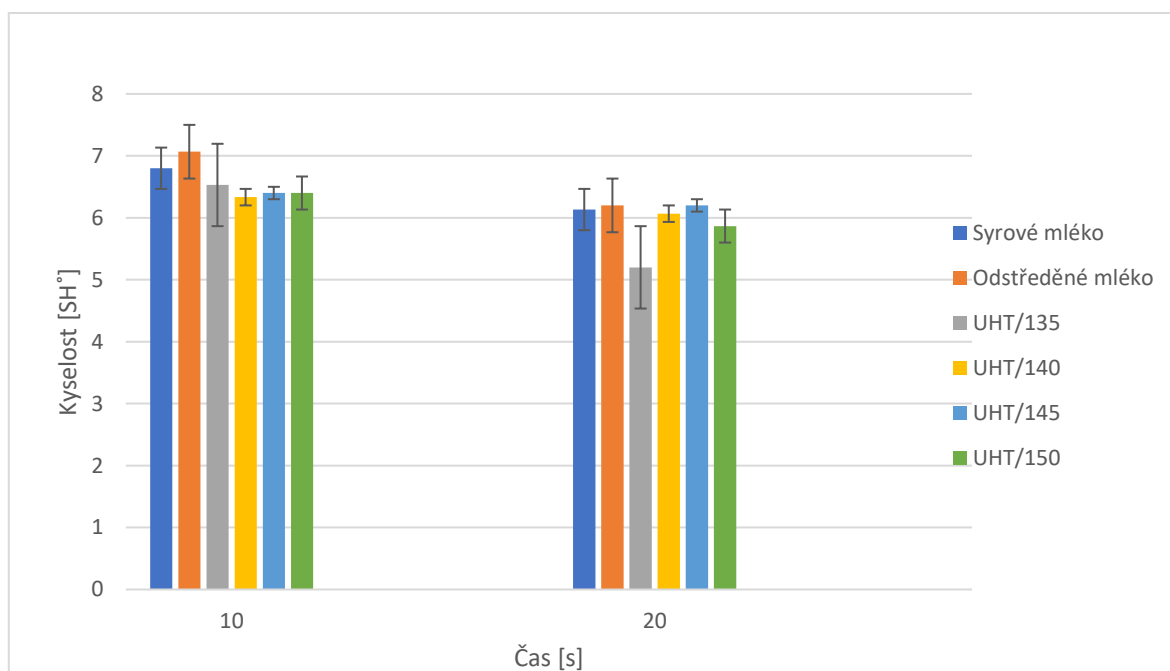


Obrázek 5.: Aktivní kyselost kontrolních a modelových vzorků mléka podrobených UHT záhřevu 135, 140, 145, 150 °C po dobu 10 a 20 sekund.

## 6.2 Výsledky stanovení titrační kyselosti

Titrační kyselost byla stanovena v den výroby vzorků, kdy každý vzorek byl analyzován 3krát za laboratorní teploty  $20 \pm 2$  °C. Byly analyzovány vzorky mléka, které byly tepelně ošetřeny teplotami 135, 140, 145, 150 °C po dobu výdrže 10 a 20 sekund.

Podle ČSN 57 0529 může být titrační kyselost syrového kravského mléka podle Soxhleta-Henkela v rozmezí 6,2 ml až 7,8 NaOH/100 ml. U kontrolního vzorku syrového mléka, ze kterého byly vyrobeny vzorky pro výdrž 10 sekund se kyselost dostala na hodnotu 6,80. Zatímco kontrolní vzorek syrového mléka pro výdrž 20 sekund se vyšplhal na hodnotu 6,13, což mohlo být způsobeno vyšším obsahem rozpuštěných solí, menším obsahem bílkovin, stářím dojnice, zdravotním stavem dojnice, tyto příklady mohou ovlivňovat kyselou reakci mléka. U vzorků s delší výdrží záhřevu pozorujeme nižší hodnoty titrační kyselosti z důvodu delšího působení tepla na mléko. Působení tepla má eliminační vliv na oxid uhličitý, který se vyskytuje ve mléce (Navrátilová et al., 2012; Tsioulpas et al., 2010).

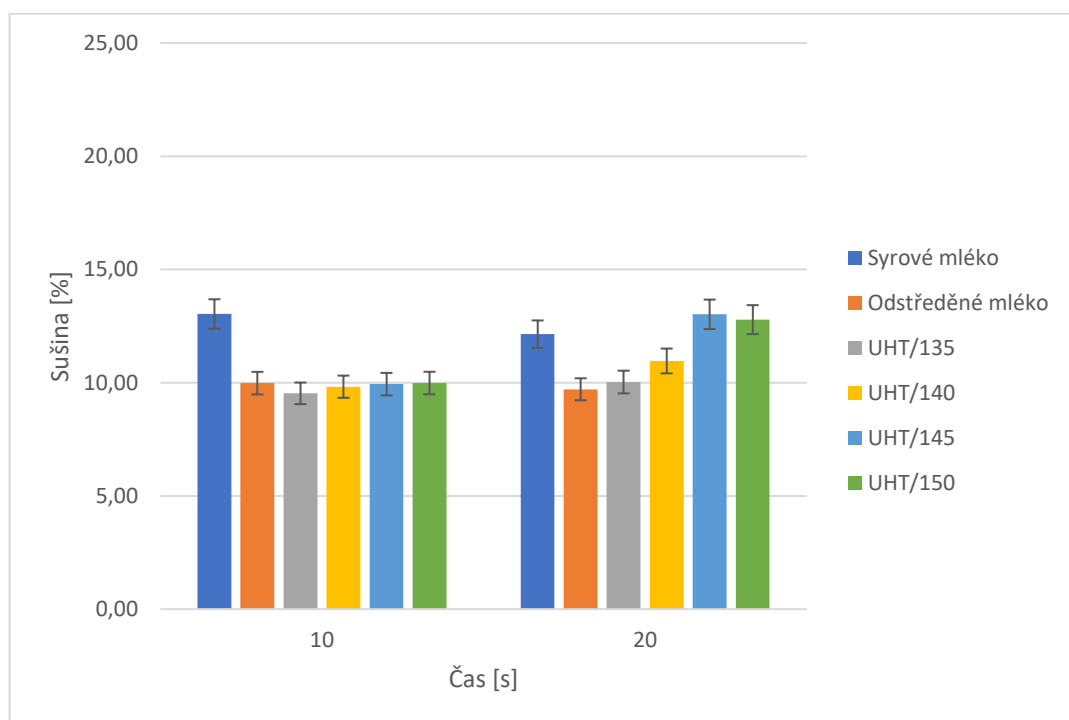


Obrázek 6.: Titrační kyselost kontrolních a modelových vzorků mléka podrobených UHT záhřevu 135, 140, 145, 150 °C po dobu 10 a 20 sekund

### 6.3 Výsledky stanovení obsahu sušiny

Stanovení obsahu sušiny bylo provedeno v den po provedení pokusu, kdy každý vzorek byl analyzován 3krát. Byly analyzovány vzorky mléka, které byly tepelně ošetřeny teplotami 135, 140, 145, 150 °C po dobu výdrže 10 a 20 sekund.

Je známo, že syrové mléko obsahuje 12 – 14 % sušiny a 86 – 88 % vody (Navrátilová et al., 2012). Z grafu je pozorován větší obsah sušiny u vzorků, které prošly tepelným ošetřením s výdrží 20 sekund. Největší rozdíl v obsahu sušiny je mezi vzorky UHT/145\_10 a UHT/145\_20, kde se průměr hodnot ze tří stanovení vyšplhal na 9,94 % obsahu sušiny u UHT/145\_10 a u UHT/145\_20 se hodnota dostala na 13,02 % obsahu sušiny. U vzorků s výdrží 10 sekund se obsah sušiny v závislosti na teplotě významně nelišil. Zatímco u vzorků s výdrží 20 sekund pozorujeme největší nárůst obsahu sušiny u vzorků UHT/145\_20 a UHT/150\_20.

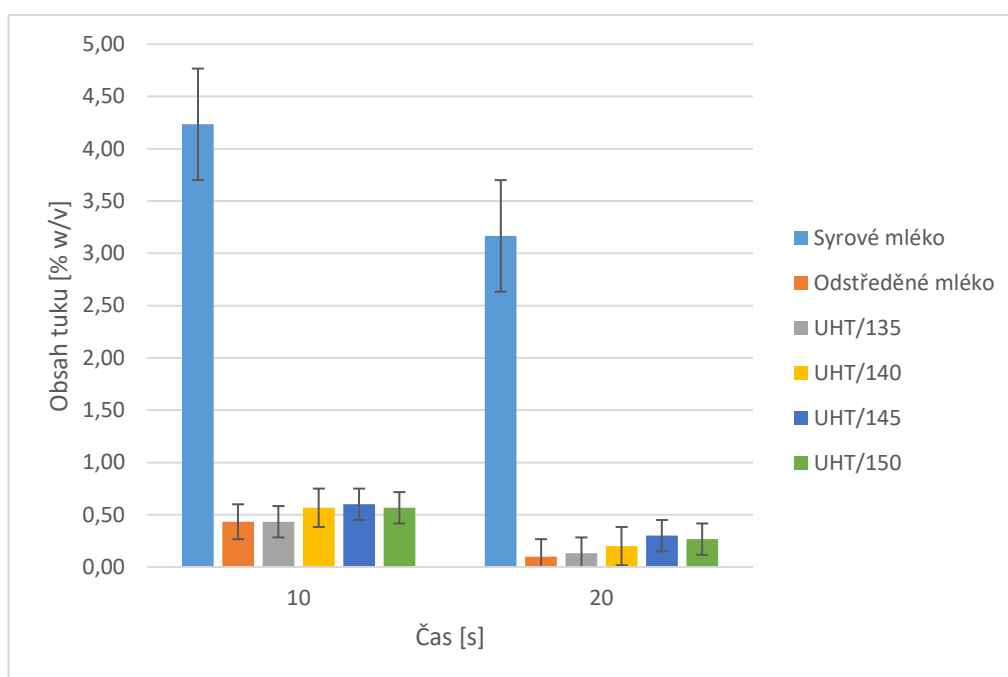


Obrázek 7.: Graf stanovení obsahu sušiny kontrolních a modelových vzorků mléka podrobených UHT záhřevu 135, 140, 145, 150 °C po dobu 10 a 20 sekund

## 6.4 Výsledky stanovení obsahu tuku

Stanovení tučnosti mléka bylo provedeno v den výroby vzorků, kdy každý vzorek byl analyzován 3krát za laboratorní teploty  $20 \pm 2$  °C. Byly analyzovány vzorky mléka, které byly tepelně ošetřeno teplotami 135, 140, 145, 150 °C po dobu výdrže 10 a 20 sekund.

Vzorky syrového mléka dosahovaly hodnoty tučnosti 3 až 4 % w/v obsahu tuku. Po odstředění mléko dosahovalo hodnot 0,43 % w/v a 0,1 % w/v obsahu tuku. Z grafu vyplívají velké rozdíly v obsahu tučnosti mezi vzorky, což by mohlo být odůvodněno preciznějším odstředěním vzorků mléka, které se připravovaly na záhřev po dobu 20 sekund.

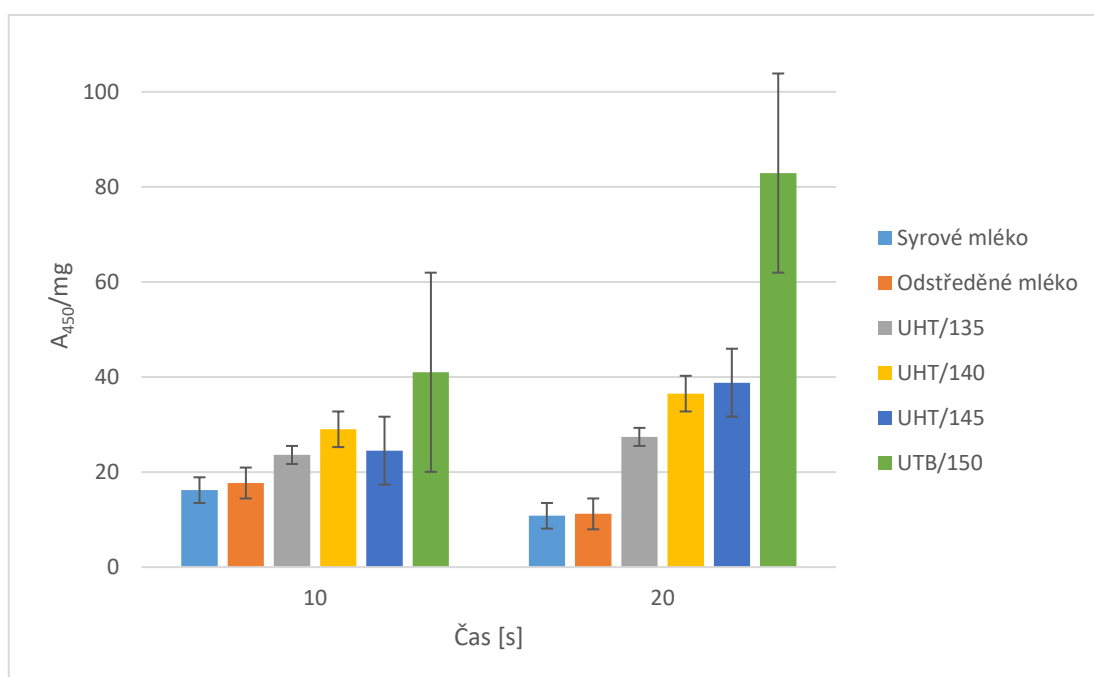


Obrázek 8.: Graf stanovení obsahu tuku kontrolních a modelových vzorků mléka podrobených UHT záhřevu 135, 140, 145, 150 °C po dobu 10 a 20 sekund

## 6.5 Výsledky stanovení thiobarbiturového čísla

Stanovení thiobarbiturového čísla bylo stanoveno čtrnáct dní po výrobě vzorků, kdy stanovení absorbance bylo provedeno 6krát za laboratorní teploty  $20 \pm 2$  °C. Byly analyzovány vzorky mléka, které byly tepelně ošetřeny teplotami 135, 140, 145, 150 °C po dobu výdrže 10 a 20 sekund.

Z grafu můžeme vyčíst, že největší nárůst hodnot pozorujeme u vzorků UHT/150\_10 a UHT/150\_20. U výdrže mléka 10 sekund nepozorujeme markantní rozdíly. Naopak u výdrže 20 sekund pozorujeme vzestupný nárůst hodnoty TBARS se vzrůstající teplotou. Získané hodnoty TBARS představují nejen vzniklé aldehydy a ketony, ale také degradační produkty Maillardovy reakce. Můžeme říci, že čím vyšší teplota, tím intenzivnější oxidační reakce lipidů (Martínez-Montegudo et al., 2015). Morales & Jiménez-Pérez (2001) uvedli vysoké koncentrace furfuralu a hydroxymethylfurfuralu v UHT mléce (140 °C po dobu 10 sekund), které mohou reagovat s kyselinou thiobarbiturovou.

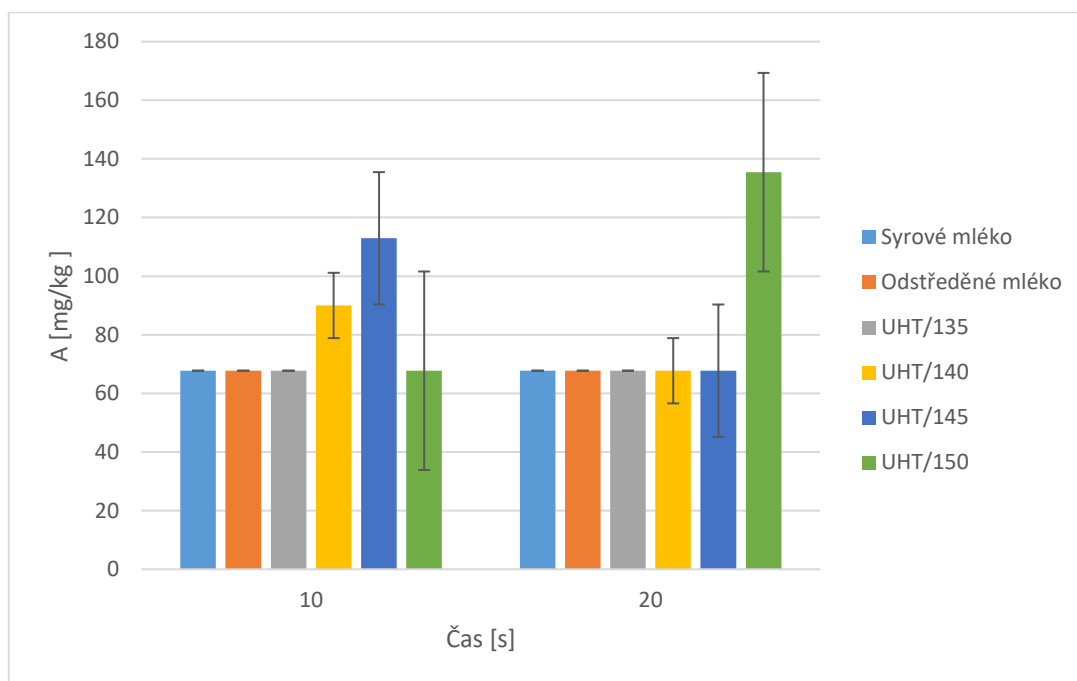


Obrázek 9.: Graf stanovení hodnoty TBARS kontrolních a modelových vzorků mléka podrobených UHT zahřevu 135, 140, 145, 150 °C po dobu 10 a 20 sekund

## 6.6 Výsledky stanovení amoniaku Conwayovou metodou

Stanovení obsahu amoniaku bylo provedeno čtrnáct dní po provedení pokusu, kdy každý vzorek byl analyzován 3krát. Byly analyzovány vzorky mléka, které byly tepelně ošetřeny teplotami 135, 140, 145, 150 °C po dobu výdrže 10 a 20 sekund.

Hodnoty amoniaku v grafu jsou poměrně stejné u obou výdrží až na vzorky UHT/140\_10, UHT/145\_10 a UHT/150\_20. Z grafu můžeme vyhodnotit, že tepelné ošetření nemá velký vliv na množství amoniaku v mléce. Pouze u vzorku UHT/150\_20 je možná diskuze, jestli delší výdrž mléka má vliv na množství amoniaku. V odborné literatuře nebyly nalezena žádná data. Z výsledků lze usoudit, že delší výdrž při vysoké teplotě může mít vliv na obsah amoniaku.



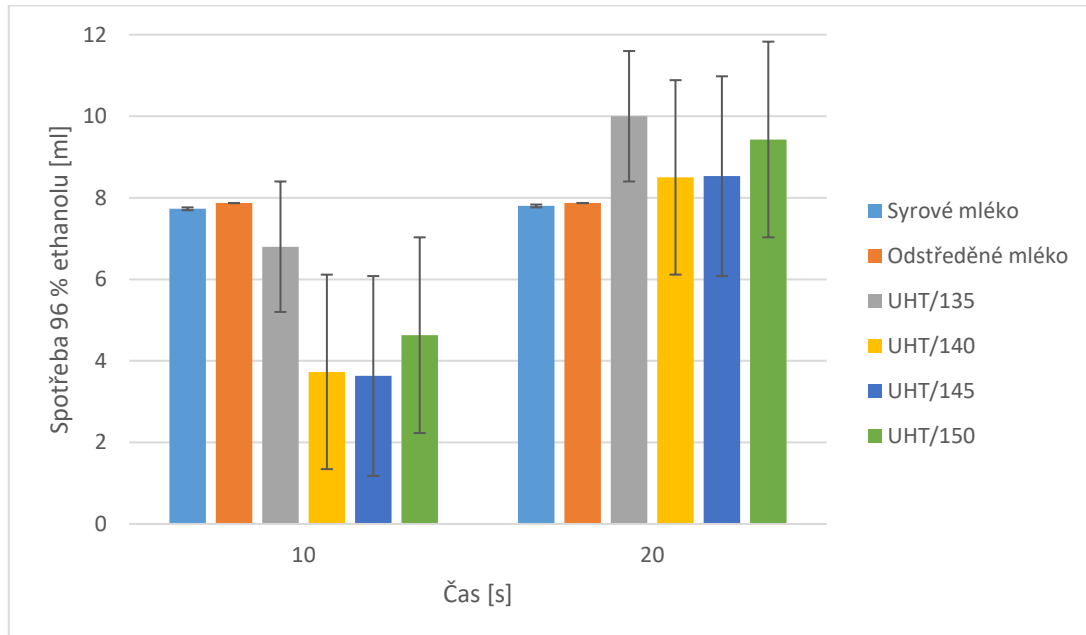
Obrázek 10.: Graf stanovení amoniaku kontrolních a modelových vzorků mléka podrobených UHT záhřevu 135, 140, 145, 150 °C po dobu 10 a 20 sekund

## 6.7 Výsledky stanovení termostability mléka

Stanovení termostability bylo provedeno v den výroby vzorků, kdy každý vzorek byl analyzován 3krát. Byly analyzovány vzorky mléka, které byly tepelně ošetřeny teplotami 135, 140, 145, 150 °C po dobu výdrže 10 a 20 sekund.

Graf číslo 11 nám ukazuje vyhodnocené výsledky termostability mléka, kdy z grafu je zřejmé, že delší výdrž mléka má vliv na termostabilitu mléka. U výdrže 10 sekund pozorujeme mnohem menší hodnoty než u vzorků, které prošly delší výdrží, a to 20 sekund.

Při ošetření UHT se používají teploty v rozmezí 135 až 150 °C po dobu několika sekund a vzhledem k jejich intenzitě mohou vyvolat fyzikální a chemické změny ve struktuře bílkovin a následně změnit jejich stabilitu během zpracování nebo skladování. Tyto změny struktury bílkovin obvykle souvisejí se zanášením, které zkracuje dobu provozu zařízení, sedimentací, která způsobuje oddělování fází a gelovatěním, které vede ke změnám struktury během skladování (Anema, 2017; Datta & Deeth, 2001). Vyšší intenzita ohřevu spojená s nepřímým ohřevem souvisí se zlepšením stability kaseinových micel a zpomalením tvorby kaseinových micel ochuzených o  $\kappa$ -kasein (Datta & Deeth, 2001).



Obrázek 11.: Graf stanovení termostability kontrolních a modelových vzorků mléka podrobených UHT záhřevu 135, 140, 145, 150 °C po dobu 10 a 20 sekund

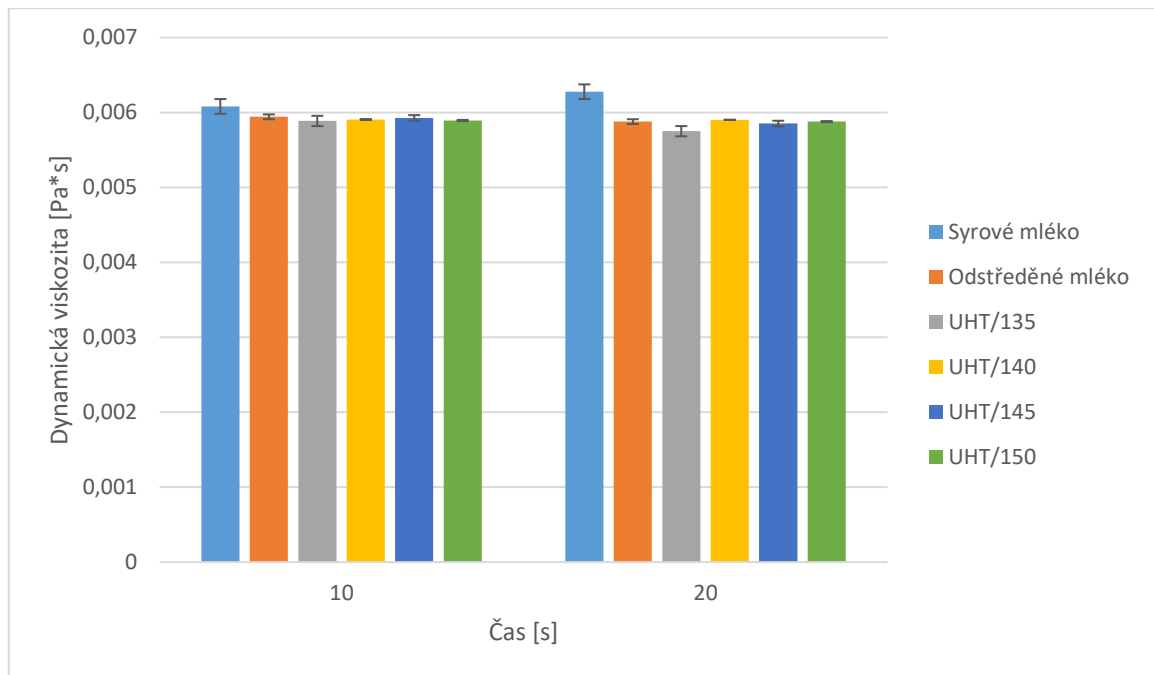


## 6.8 Výsledky stanovení dynamické viskozity (reologická analýza)

Stanovení dynamické viskozity bylo provedeno na druhý den po výrobě vzorků, kdy každý vzorek byl analyzován 3krát. Byly analyzovány vzorky mléka, které byly tepelně ošetřeny teplotami 135, 140, 145, 150 °C po dobu výdrže 10 a 20 sekund.

Graf nám ukazuje hodnoty dynamické viskozity vzorků při výdrži 10 a 20 sekund. Hodnoty u obou výdrží se liší zanedbatelně, tudíž vyplývá, že tepelné ošetření nemá vliv na viskozitu mléka. Mléko bylo analyzováno při konstantní smykové rychlosti  $40 \text{ s}^{-1}$  za teploty  $20 \pm 1 \text{ °C}$ .

Podle Oguntunde & Akintoye, 1991 dynamická viskozita mléka klesala se zvyšujícím se obsahem mléčného tuku. Velmi mírný pokles můžeme sledovat i v této bakalářské práci v závislosti na obsahu tuku.



Obrázek 12.: Graf stanovení dynamické viskozity kontrolních a modelových vzorků mléka podrobených UHT záhřevu 135, 140, 145, 150 °C po dobu 10 a 20 sekund

## ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo zjistit, zda má vliv změna teploty a doba výdrže na aktivní a titrační kyselost mléka, obsah sušiny, obsah tuku, thiobarbiturového čísla (oxidace lipidů), obsah amoniaku a termostabilitu mléka. Práce popisuje procesy změn před a po provedení tepelného ošetření UHT.

Při stanovení aktivní kyselosti jednotlivých vzorků bylo prokázáno, že se po tepelném ošetření hodnota pH příliš neměnila a můžeme říci, že teplota nemá výrazný vliv na aktivní kyselost tepelně ošetřeného mléka. Stanovení titrační kyselosti ukázalo, že u vzorků s delší výdrží záhřevu pozorujeme nižší hodnoty titrační kyselosti z důvodu delšího působení tepla na mléko. U stanovení obsahu sušiny byl prokázán větší obsah sušiny u vzorků, které prošly tepelným ošetřením s výdrží 20 sekund, kde proběhly rozsáhlejší fyzikální změny mléka. Bylo zjištěno, že obsah tuku mléka ovlivňuje dobu a teplotu zahřátí. Výsledky stanovení thiobarbiturového čísla ukazují na fakt, že vyšší teplota má vliv na oxidační reakce lipidů. Bylo vyhodnoceno, že tepelné ošetření mléka nemá vliv na obsah amoniaku po UHT záhřevu. Stanovení prokázalo, že čím delší je výdrž mléka, tím má lepší termostabilitu. Naopak u dynamické viskozity nebylo prokázáno, že by UHT ošetření mělo vliv na viskozitu.

Závěrem by bylo záhodno ve výzkumu UHT ošetření pokračovat v pokročilé chemické a reologické analýze. Případně by bylo záhodno porovnat nepřímý a přímý záhřev UHT. Vzhledem k dosaženým výsledkům v této práci a jeho pozitivnímu užítku v mlékárenství a delší době skladovatelnosti mléka a mléčných výrobků.

**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

Fox, P. F. (2008). Milk: an overview. In *Milk Proteins* (pp. 1-54). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374039-7.00001-5>

Damodaran, S., Parkin, K. L., & Fennema, O. (Eds.). (2007). *Fennema's Food Chemistry, Fourth Edition (Food Science And Technology) 4th Edition* (13.9.2007). CRC Press; 4th edition (September 13, 2007).

Anonym, 2024. Mléko. Retrieved April 21, 2024, from <https://bezpecnostpotravin.cz/termin/mleko/>

Jenness, R., Wong, N. P., Jenness, R., Keeney, M., & Marth, E. H. (1995). Composition of Milk. In *Fundamentals of Dairy Chemistry* (pp. 1-38). Springer US. [https://doi.org/10.1007/978-1-4615-7050-9\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-7050-9_1)

Chi Keung Cheung, P. C. K. C. (2015). *Handbook of Food Chemistry*. Springer-Verlag Berlin and Heidelberg GmbH & Co. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-36605-5>

Matějčíková, R. Technologie mléka. *Inovace VOV*. Retrieved February 14, 2024, from <https://www.vovcr.cz/odz/tech/315/page04.html#heading7>

Eisner, M. D. (2021). Direct and indirect heating of milk - A technological perspective beyond time-temperature profiles. *International Dairy Journal*. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0958694621001734>

Chavan, R. S., Chavan, S. R., Khedkar, C. D., & Jana, A. H. (2011). UHT Milk Processing and Effect of Plasmin Activity on Shelf Life: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 10(5), 251-268. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105145>

Buňka, F. (2013). *Mlékárenská technologie I*. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně.

Hagsten, C., Innings, F., Trägårdh, C., Hamberg, L., Paulsson, M., & Nylander, T. (2019). Removal of UHT dairy fouling — An efficient cleaning process by optimizing the rate controlling alkaline cleaning step. *Food and Bioproducts Processing*, 113, 101-107. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2018.11.010>

Srichantra, A., Newstead, D. F., Paterson, A. H. J., & McCarthy, O. J. (2018). Effect of homogenisation and preheat treatment of fresh, recombined and reconstituted whole milk on subsequent fouling of UHT sterilisation plant. *International Dairy Journal*, 87, 16-25. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2018.07.009>

Matějová, H. (Ed.). (2021). Mléko a mléčné výrobky: rozdíly a souvislosti s výrobky rostlinnými. Potravinářská komora České republiky.

Zadrazil, K. (2002). Mlékařství: (přednášky). ISV.

de Meneses, R. B., Maciel, L. F., da Rocha-Leão, M. H. M., & Conte-junior, C. A. (2020). Physicochemical Characteristics of Milk By-Products. *CET Journal - Chemical Engineering Transactions*, 79, 37-42. <https://doi.org/10.3303/CET2079007>

Navrátilová, P., Králová (Dračková), M., Janštová, B., Přidalová, H., Cupáková, Š., & Vorlová, L. (2012). Hygiena produkce mléka. Pavlína Navrátilová.

Lukášová, J. (2001). Hygiena a technologie mléčných výrobků. Veterinární a farmaceutická univerzita.

Gajdůšek, S. (2003). Laktologie. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita.

Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004 ze dne 29. dubna 2004, kterým se stanoví zvláštní hygienická pravidla pro potraviny živočišného původu, v platném znění. Úřední věstník Evropské unie.

Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 852/2004 ze dne 29. dubna 2004 o hygieně potravin, v platném znění. Úřední věstník Evropské unie.

Gedam, K., Prasad, R., & Vijay, V. kumar. (2007). The Study on UHT Processing of Milk: A Versatile Option for Rural Sector. © IDOSI Publications. [http://www.idosi.org/wjdfs/wjdfs2\(2\)/2.pdf](http://www.idosi.org/wjdfs/wjdfs2(2)/2.pdf)

Walstra, P., Wouters, J. T. M., & Geurts, T. J. (2006). Dairy Science and Technology (Second Edition). Taylor & Francis Group. [chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcgclefindmkaj/http://repository.ottimmo.ac.id/38/1/Dairy%20Science%20and%20Technology%20%28CRC%202005%29.pdf](http://repository.ottimmo.ac.id/38/1/Dairy%20Science%20and%20Technology%20%28CRC%202005%29.pdf)

ADAMS, J. P., SIMUNOVIC, J., & SMITH, K. L. (1984). Temperature Histories in a UHT Indirect Heat Exchanger. *Journal of Food Science*, 1-315. <https://doi.org/10.1111>

Browning, E. B., Lewis, M., & Macdougall, D. (2001). Predicting safety and quality parameters for UHT-processed milks. *International Journal of Dairy Technology*, 81-120. <https://doi.org/10.1046>

Velíšek, J., & Hajšlová, J. (2009). Chemie potravin (Rozš. a přeprac. 3. vyd). OSSIS.

- Kopřiva, V. (2011). Mléko a mlezivo: Hlavní rozdíly a nutriční význam mléka ve výživě. VETUNI. Retrieved April 21, 2024, from chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcgiclfefindmkaj/https://cit.vfu.cz/ivbp/wp-content/uploads/2011/07/VY\_04\_03.pdf
- Gaucher, I., Mollé, D., Gagnaire, V., & Gaucheron, F. (2008). Effects of storage temperature on physico-chemical characteristics of semi-skimmed UHT milk. *Food Hydrocolloids*, 22(1), 130–143. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2007.04.007>
- Fan, K., Wu, P., Guo, M., Wang, Y., Cao, Y., Wang, P., Renb, F., & Luo, J. (2024). Destabilization of ultra-instantaneous UHT sterilization milk stored at different temperatures. *Journal of Dairy Science*, 1-13. <https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.2024-24705>
- Battersby, S., Battersby, S., & Bassett, W. H. (Eds.). (2012). *Clay's Handbook of Environmental Health* (18 ed.). Routledge. <https://doi.org/10.4324/9780203016312>
- Mehta, R. S. (1980). Milk Processed at Ultra-High-Temperatures – A Review 1. *Journal of Food Protection*, 3(43), 212-225. <https://doi.org/https://doi.org/10.4315/0362-028X-43.3.212>
- David, J. R. D., Coronel, P. M., & Simunovic, J. (Eds.). (2022). *Handbook of Aseptic Processing and Packaging 3rd Edition* (3rd Edition). CRC Press.
- Burton, H. (1988). *Ultra-high-temperature Processing of Milk and Milk Products* (1st ed.). Elsevier Applied Science.
- Bezie, A. (2019). The Effect of Different Heat Treatment on the Nutritional Value of Milk and Milk Products and Shelf-Life of Milk Products. A Review. *Journal of Dairy & Veterinary Sciences*, 11(5). <https://doi.org/10.19080>
- Nieuwenhuijse, J. A., & van Boekel, M. (2003). *Protein Stability in Sterilised Milk and Milk Products* (3rd Edition). Springer.
- Tsioulpas, A., Koliandris, A., Grandison, A. S., & Lewis, M. J. (2010). Effects of stabiliser addition and in-container sterilisation on selected properties of milk related to casein micelle stability. *Food Chemistry*, 122(4), 1027-1034. <https://doi.org/doi:10.1016/j.foodchem.2010.03.063>
- Richards, M., L. De Kock, H., & Buys, E. M. (2014). Multivariate accelerated shelf-life test of low fat UHT milk. *International Dairy Journal*, 36, 38-45.

Nursten, H. (2005). *The Maillard Reaction: Chemistry, Biochemistry and Implications*. Royal Society of Chemistry.

Van Boekel, M. A. J. S. (1998). Food Chemistry. *International Dairy Journal*, 62(4), 403-414.

Český normalizační institut. (1993). *Syrové kravské mléko pro mlékárenské ošetření a zpracování*.

Český normalizační institut. (nezn). *Skleněné butyrometry na mléko. Rozměry a technické požadavky*.

Bylund, G. (2003). *Dairy Processing Handbook*. Tetra Pak Processing Systems AB.

Morales, F. J., & Jiménez-Pérez, S. (2001). Free radical scavenging capacity of Maillard reaction products as related to colour and fluorescence. *Food Chemistry*, 72(1), 119-125.

Martínez-Montegudo, S. I., Leal-Dávila, M., Curtis, J. M., & Saldaña, M. D. A. (2015). Oxidative stability of ultra high temperature milk enriched in conjugated linoleic acid and trans-vaccenic acid. *International Dairy Journal*, 43, 70-77.

Anema, S. G. (2017). Storage stability and age gelation of reconstituted ultra-high temperature skim milk. *International Dairy Journal*, 75, 56-67.

Datta, N., & Deeth, H. C. (2001). Age Gelation of UHT Milk—A Review. *Food and Bioproducts Processing*, 79(4), 197-210.

Oguntunde, A. O., & Akintoye, O. A. (1991). Measurement and comparison of density, specific heat and viscosity of cow's milk and soymilk. *Journal of Food Engineering*, 13(3), 221-230.

## SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

UHT Ultra High Temperature

DNA Deoxyribonukleová kyselina

CIP Clean In Place

MDA Malondialdehyd

TBA Kyselina 2-thiobarbiturová

**SEZNAM OBRÁZKŮ**

|  |    |
|--|----|
| <i>Obrázek 1.: Schéma nepřímého UHT záhřevu (Bylund, 2003) .....</i>   | 19 |
| <i>Obrázek 2.: Schéma uperizace (Bylund, 2003).....</i>  | 20 |
| <i>Obrázek 3.: Schéma parního infuzoru (Bylund, 2003) .....</i>  | 20 |
| <i>Obrázek 4.: Schéma polarizace (Bylund, 2003) .....</i>  | 21 |
| <i>Obrázek 5.: Aktivní kyselost kontrolních a modelových vzorků mléka podrobených UHT záhřevu 135, 140, 145, 150 °C po dobu 10 a 20 sekund.....</i>                    | 34 |
| <i>Obrázek 6.: Titrační kyselost kontrolních a modelových vzorků mléka podrobených UHT záhřevu 135, 140, 145, 150 °C po dobu 10 a 20 sekund.....</i>                   | 35 |
| <i>Obrázek 7.: Graf stanovení obsahu sušiny kontrolních a modelových vzorků mléka podrobených UHT záhřevu 135, 140, 145, 150 °C po dobu 10 a 20 sekund.....</i>        | 36 |
| <i>Obrázek 8.: Graf stanovení obsahu tuku kontrolních a modelových vzorků mléka podrobených UHT záhřevu 135, 140, 145, 150 °C po dobu 10 a 20 sekund.....</i>          | 37 |
| <i>Obrázek 9.: Graf stanovení hodnoty TBARS kontrolních a modelových vzorků mléka podrobených UHT záhřevu 135, 140, 145, 150 °C po dobu 10 a 20 sekund.....</i>        | 38 |
| <i>Obrázek 10.: Graf stanovení amoniaku kontrolních a modelových vzorků mléka podrobených UHT záhřevu 135, 140, 145, 150 °C po dobu 10 a 20 sekund.....</i>            | 39 |
| <i>Obrázek 11.: Graf stanovení termostability kontrolních a modelových vzorků mléka podrobených UHT záhřevu 135, 140, 145, 150 °C po dobu 10 a 20 sekund.....</i>      | 40 |
| <i>Obrázek 12.: Graf stanovení dynamické viskozity kontrolních a modelových vzorků mléka podrobených UHT záhřevu 135, 140, 145, 150 °C po dobu 10 a 20 sekund.....</i> | 41 |



