



EESTI MAAÜLIKOOL
Veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut

Edgar Lepman

**KOORE KUUMUTAMISE MÕJU VÕI OMADUSTELE
SÄILITAMISE AJAL**

**EFFECT OF HEAT TREATMENT OF SWEET CREAM ON BUTTER
PROPERTIES DURING STORAGE**

Magistritöö

Liha- ja piimatehnoloogia õppeakava

Juhendajad: Dotsent, Ivi Jõudu, PhD

Lektor, Katrin Laikoja, MSc

Tartu 2017

Eesti Maaülikool		Magistritöö lühikokkuvõte	
Kreutzwaldi 1, Tartu 51014			
Autor: Edgar Lepman		Õppekava: Liha- ja piimatehnoloogia	
Pealkiri: Koore kuumutamise mõju või omadustele säilitamise ajal			
Lehekülgi: 56	Jooniseid: 11	Tabeleid: 8	Lisasid: 3
Osakond: Toiduteaduse ja toiduainete tehnoloogia osakond			
Uurimisvaldkond (ja mag. töö puhul valdkonna kood): Toiduainete ja jookide tehnoloogia T430			
Juhendaja(d): Dotsent Ivi Jõudu, PhD; lektor Katrin Laikoja, MSc			
Kaitsmiskoht ja -aasta: Tartu, 2017			
<p>Või kvaliteet on tihedalt seotud tootmistehnoloogiaga ja säilitamistingimustega. Magistritöö eesmärk oli uurida erineva kestvusega kuumutatud koore kokkulöömisel saadud või kvaliteedinäitajaid kindla ajaperioodi jooksul kahel erineval säilitusrežiimil ja leida seoseid koore kuumutamiskestvuse ning või organoleptiliste ja keemiliste kvaliteedinäitajate vahel. Lisaks oli eesmärgiks leida ja kohandada Eesti Maaülikooli (EMÜ) laborite tingimustele sobiv meetod tiolsete rühmade määramiseks. Eesmärgi saavutamiseks valmistati kaks partiid rõõsakoorevõid. Koore kuumtöötlemise mõju uurimiseks kuumutati separeerimisel saadud koort 97 ± 1 °C hoideaegadega 10, 20 ja 40 min. Võid säilitati kahel erineval temperatuuril: 5 °C (analüüsiti igal teisel nädalal) 10 nädala vältel ja -20 °C (analüüsiti igal 4. nädalal) 20 nädala vältel. Kõigil võidel määrati happearv, peroksiidarv, tiolsete rühmade kontsentratsioon (Ellman'i reagentiga) ning organoleptilised näitajad. Koore kuumutamise kestvus ei avaldanud kindlasuunalist mõju või vabade rasvhapete sisaldusele ja peroksiidaruvele kindlasuunalist mõju ning töö raames ei leitud, et pikem kuumutamisaeg tooks kaasa kõrgema tiolsete rühmade kontsentratsiooni võis. Või sensoorsel hindamisel saadud või summarset hinnangut ei olnud seotud koore kuumutamise kestvusest, säilitamistemperatuurist ega -kestvusest. Vologda või valmistamisel ei ole majanduslikult otstarbekas koort kuumutada üle 20 minuti, kuna kuumutamiskestvus ei mõjutanud organoleptilisi ega kvaliteedi näitajaid.</p>			
Märksõnad: Vologda või, või keemilised näitajad, tiolised rühmad, Ellman'i reagent, või organoleptiline hindamine, koore kuumutamine			

Estonian University of Life Sciences		Abstract of Master's Thesis	
Kreutzwaldi 1, Tartu 51014			
Author: Edgar Lepman		Speciality: Meat and Dairy Technology	
Title: Effect of heat treatment of sweet cream on butter properties during storage			
Pages: 56	Figures: 11	Tables: 8	Appendixes: 3
Department: Department of Food Science and Technology Field of research (and for Master's Thesis add research field code): Food and drink technology T430 Supervisors: Associate professor Ivi Jõudu, PhD; Lecturer Katrin Laikoja, MSc Place and date of defence: Tartu, 2017			
<p>The quality of butter is closely related to production technology and storage conditions. The aim of this Master Thesis was to study the butter, obtained by churning sweet cream heat treated at different durations, at a certain period of time at two different storage temperatures and duration, and to find a link between heating duration and organoleptic properties. In addition, the objective was to find and adjust a thiolic group determination method for the laboratories of Eesti Maaülikool (EMÜ), the Estonian University of Life Sciences. In order to fulfil the aim, two series of sweet cream butter were prepared. In order to study the effect of heat treatment, cream was pasteurised at 97 ± 1 °C with durations of 10, 20 and 40 minutes. Butter was stored at two different temperatures: 5 °C (analysed on every second week) over 10 weeks and -20 °C (analysed on every fourth week) over 20 weeks. Acid value, peroxide value, thiolic group concentration (using Ellman's reagent) and organoleptic properties were determined in each butter. The duration of the heating of the cream did not have any significant effect on free fatty acid contents or peroxide contents, and it was not found, within this work, whether longer heating duration increases thiolic group concentration in butter. The total score for butter sensory evaluation was related to neither cream heating duration, storage temperature nor storage duration. While producing Vologda butter it is not economically efficient to heat cream for more than 20 minutes, since heating duration had no influence either on organoleptic or quality indicators.</p>			
Keywords: Vologda butter, chemical composition of butter, thiolic groups, Ellman's reagent, sensory evaluation of butter, heat treatment of cream			

SISUKORD

SISSEJUHATUS	5
1. KIRJANDUSE ÜLEVAADE	6
1.1. Piimas toimuvad muutused kuumtöötlemisel	6
1.1.1. Maillardi reaktsioon	7
1.1.2. Maitse ja lõhna moodustumine	8
1.2. Tiolsete rühmade määramismetoodika	9
1.3. Vologda või tootmistehnoloogia	11
1.3.1. Nõuded toorpiimale	12
1.3.2. Piima separeerimine	14
1.3.3. Koore kuumtöötlemine	15
1.3.4. Koore valmimine	16
1.3.5. Koore võiks kokkulöömine	16
1.3.6. Või pakendamine, pakkimine ja säilitamine	18
1.4. Nõuded võile	18
2. EKSPERIMENTAALNE OSA	20
2.1. Töö eesmärgid	20
2.2. Materjal ja metoodika	20
2.2.1. Katsematerjal	20
2.2.2. Koore töötlemine	21
2.2.3. Või säilitamine, analüüsimisgraafik	21
2.2.4. Laboratoorsed analüüsid	22
2.2.5. Andmete statistiline analüüs	25
3. TULEMUSED JA ARUTELU	26
3.1. Toorpiim, koor, lõss ja pett – koostis ja kuivaine	26
3.2. Või kvaliteedi näitajad	28
3.2.1. Happearv	28
3.2.2. Peroksiidarv	31
3.2.3. Tiolsete rühmade sisaldus	33
3.2.4. Sensoorne hindamine	35
3.2.5. Korrelatiivsed seosed või keemiliste ja organoleptiliste näitajate vahel	39
4. KOKKUVÕTE	40
KASUTATUD KIRJANDUS	43
SUMMARY	47
LISAD	50
Lisa 1. Tiolsete rühmade määramismetoodika	51
Lisa 2. Vologda või organoleptilised näitajad– proovide hindamisalus	53
Lisa 3. Või hindamisleht	55

SISSEJUHATUS

Vastavalt määrustele (EL määrusele nr 1308/2013 ja 1272/2009) defineeritakse võid kui vesi-õlis-tüüpi tahket emulsiooni, mis on saadud ainult piimast ja mille piimarasvasisaldus on 80–90%, maksimaalne veesisaldus 16% ja rasvata kuivainesisaldus 2%. Eesti Põllumajandus-Kaubanduskoja piimaturu ülevaade andmetel (2016) on või tootmine viimastel aastatel (2013-2016) pidevalt kasvanud. Nii Eestis, kui maailmas on suurenenud nõudlus maitsestatud võile. Tänapäeval võib leida magusat võid kaneeli või meega ja soolast võid küüslaugu, karulaugu, päikesekuivatatud tomatite ning erinevate ürtidega. Kõik need võid nõuavad maitse- ja lisaainete kasutamist, mis võivad mõjutada või struktuuri, organoleptilisi näitajaid ja ohutust. Selleks, et minimeerida maitse-, lisaainete kasutamisest tingitud täiendavaid hügieeniriske on võimalus kasutada organoleptiliste omaduste loomiseks loomulike protsesse, mida võib esile kutsuda erinevate töötlemisviisidega. Üheks selliseks viisiks on kuumutamine. Venemaal on välja töötatud spetsiifilise „pähklise“ maitsega Vologda või. Selle või erilised organoleptilised omadused tekivad koore pika kestvusajaga ja kõrgema temperatuuriga pastöriseerimisel, mille tagajärjel piima valkudega toimunud biokeemilised muutused põhjustavadki spetsiifilise maitse tekke.

Antud magistritöö eesmärk on uurida erineva kestvusega kuumutatud koore kokkulöömisel saadud või kvaliteedinäitajaid kindla ajaperioodi jooksul kahel erineval säilitusrežiimil ja leida seoseid kuumutamiskestvuse ning organoleptiliste ja keemiliste kvaliteedinäitajate vahel. Lisaks püstitati eesmärgiks leida ja kohandada Eesti Maaülikooli laborite tingimustele sobiv meetod tiolsete rühmade määramiseks.

Magistritöö kirjanduse ülevaates käsitletakse piimas toimuvaid muudatusi kuumtöötlemisel maitse ja lõhna moodustumise ning Maillard'i reaktsiooni kulgemise näitel. Magistritöö eesmärgi täitmiseks on esitatud tiolsete rühmade määramismetoodikad ja Vologda või tootmistehnoloogiad. Eksperimentaalses osas kirjeldatakse tiolsete rühmade määramismetoodikaid ning võrreldakse erineva kestvusega kuumutatud koore kokkulöömise tagajärjel saadud või keemilisi ja organoleptilisi kvaliteedinäitajaid kahel erineval säilitusrežiimil.

1. KIRJANDUSE ÜLEVAADE

1.1. Piimas toimuvad muutused kuumtöötlemisel

Piima kuumtöötlemist viiakse üldiselt läbi patogeense mikrofloora hävitamiseks, kuid töötlemisega kaasnevad erinevad muutused, mille ulatus sõltub kuumutamise režiimist (temperatuur, kestvus). Madalal pastöriseerimisrežiimil (nt 15 s, 74 °C) hävineb enamik mikroorganismidest ja inaktiveeruvad mõned ensüümid (aluseline fosfataas, lipoproteiinne lipaas), muutused koostises on minimaalsed. Kõrgpastöriseerimisrežiimi rakendamisel (nt 15 s, 90 °C) hävivad kõik mikroorganismide vegetatiivsed rakud, inaktiveeruvad enamik ensüümidest (ksantiin oksüdaas, laktopeeroksüdaas, superoksiid dismutaas, katalaas ja plasmiin) ning osa vadakuvalkudest denatureeruvad (Walstra *et al.* 2006). Denatureerimisega kaasneb valguahelate hargnemine ja „suletud“ funktsionaalsete rühmade vabanemine (–OH, –SH jm). Seejärel denatureeritud valgud moodustavad tiolsetest (–SH) rühmadest disulfiidseid (–S–S–) sidemeid ning agregeeruvad osalise või täieliku lahustuvuse kaotamisega. Vadakuvalkudest on kõige tundlikumad kuumutamisele immunoglobuliin, vadakualbumiin ja β–laktoglobuliin. α–laktalbumiin on termostabiilne ja kaotab oma lahustuvuse 96 °C juures (hoideajaga 30 min). Kuumutamisega kaasneva vadakuvalkude denaturatsiooniga ja –SH rühmade vabastamisega omandab piim spetsiifilise keedu– või pastöriseerimismaitse (Gorbatova, Gunkova 2012). Kaseiinivalgud on vadakuvalkudest termostabiilsemad, need ei koaguleeru 130–150 °C juures, kuid termilisel töötlusel muutub kaseiinimitselli (Ca²⁺ ja valgu kompleks) struktuur. Kompleksist eralduvad orgaanilised fosfor ja kaltsium ning muutub nende vahetõrje süsteemis, mis mõjutab piima kalgenduvust. Pastöriseerimistemperatuuri tõstmisega suureneb kaseiiniosakeste suurus (kaseiin agregeerub denatureeritud β–laktoglobuliiniga) ja sellega kaasneb piima viskoossuse suurenemine ning laapuvuse halvenemine (Tverdohleb *et al.* 2002, Gorbatova, Gunkova 2012).

Piimarasv on kõige termostabiilsem piima koostisosa, kuid töötlemine üle 61 °C mõjutab rasvakuulike struktuuri: kilevalgud denatureeruvad ja koos fosfolipiididega liiguvad piimaplasmasse. Vaatamata sellele võivad rasvakuulike kilevalgud taastuda adsorbeerides kaseiini ja vadakuvalke. Selle tõttu rasvakuulike destabiliseerimist ei

toimu, kuid nad kaotavad oma võime kleepuda ja koore kerkimine pinnale aeglustub. Piima steriliseerimisel (nt 20 min, 118 °C juures), mida kasutatakse kõikide mikroorganismide (sh spooride) hävitamiseks ja kõigi ensüümide inaktiveerimiseks (Walstra *et al.* 2006), toimub kilevalkude denaturatsioon ja rasvakuulikeste kile rebenemine, mille käigus osa rasvakuulikestest ühinevad ja eraldub vaba rasv (Gorbatova, Gunkova 2012). Siiski on katsed kõrgrasvase koore (82,5%) steriliseerimisega (120 °C, 40 min) näidanud, et vaba rasva ei eraldu, mis viitab kilevalkude kõrgele stabiilsusele (Tverdohleb *et al.* 2002).

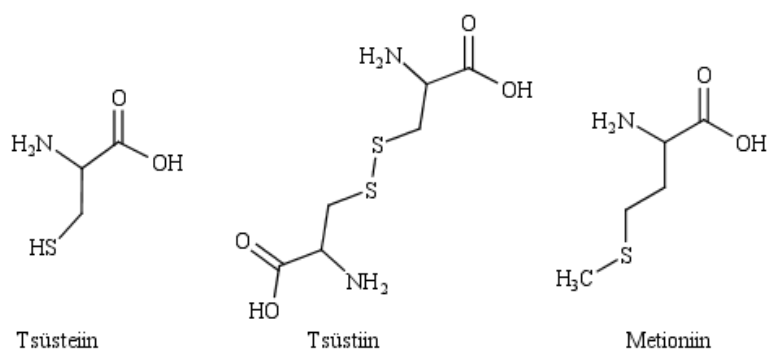
Laktoos reageerib kuumutamisel valkudega ja vabade aminohapetega (peamiselt lüsiiniga), mille käigus moodustuvad erinevad ühendid– toimub Maillardi reaktsioon (Gorbatova, Gunkova 2012).

1.1.1. Maillardi reaktsioon

Maillardi reaktsioon on reaktsioon aldehüüdide (tavaliselt redutseeritud suhkrute) ja amiinide vahel (tavaliselt aminohape, valk) (Nursten 2011). Reaktsiooni kulg jaotakse kolmeks etapiks: 1) algetapp: reaktsiooni produktid on värvitud, ei neela värvust UV– lähedases alas; 2) kesketapp: produktid on värvitud või kollased, tugevalt neelavad värvust UV– lähedases alas; 3) lõppetapp: produktid on värvilised, sõltuvalt tekkinud produktidest (Hodge 1953). Lihtsamate lähteainete (glükoos ja ammoniaak) reageerimise tulemusel moodustuvad rohkem kui 24 ühendit, piimasüsteemis veelgi rohkem. Kuid iga süsteemi lõpus moodustuvad ühendid, mille koondnimeks on melanoidiinid, mis muudavad süsteemi värvuse ja aroomi (Nursten 2011, Gorbatova, Gunkova 2012). Maillardi reaktsiooni olemuse, selle etappide ja reaktsiooni käigus moodustuvate produktide pikem ning täpsem ülevaade on esitatud Edgar Lepmani bakalaureusetöös (2014).

1.1.2. Maitse ja lõhna moodustumine

Vologda või spetsiifiline maitse ja aroom on tingitud erinevate ühendite moodustumisest kuumutamise ajal. Nende hulka kuuluvad laktoonid, metüülketoonid, lenduvad rasvhapped, melanoidiinid, aminohapped, laktoos, glükoos ja teised ühendid (Tverdohleb *et al.* 2002). Peamisteks lähtekomponentideks võile erilise aroomi ja maitse andmisel on erinevad väävlit sisaldavad aminohapped ja nende funktsionaalsed rühmad, mis ise ei ole aroomi kandjad, kuid nad osalevad keerulistes reaktsioonides aroomi- ja maitseühendite moodustamisel (Tverdohleb *et al.* 1991). Nende hulka kuuluvad tsüsteiin (tioolse funktsionaalse rühmaga –SH), tsüstiin (disulfiidse funktsionaalse rühmaga –S–S–) ja metioniin (joonis 1) (Dias, Weimer 1998, Brosnan, Brosnan 2006, Arsenjeva 2013).



Joonis 1. Väävlit sisaldavad aminohapped (Brosnan, Brosnan 2006)

Põhiliseks tioolsete rühmade allikaks piimas ja kooses peetakse vadakuvalku, β -laktoglobuliini (Tverdohleb *et al.* 2002, Arsenjeva 2013). Seda tõestavad ka Hutton ja Patton (1952) uurimused, kus näidati tioolsete rühmade erinevat sisaldust erinevates piimafraktsioonides (lõss, kaseiin, vadakuvalgud) kasutades selliseid meetodeid nagu pH alandamine, valkude sadestamine ammoonium sulfaadiga ((NH₄)₂SO₄), dialüüsiga, ja järgneva proovi tiitrimisega hõbe nitraadiga (AgNO₃). Esimesed katsed lõssiga ja vadakuga näitasid, et tioolseid rühmi sisaldas lõss ja dialüüsitud lõss ning vadak. Järgnev vadaku fraktsioneerimine ja uurimine näitasid, et β -laktoglobuliin on põhiline tioolsete rühmade allikas ning põhjalik β -laktoglobuliini uurimine näitas, et aminohapetest just tsüsteiin oli peamine tioolsete rühmade allikas.

Termitilisel töötlusel (näiteks 95–98 °C ja hoideajaga 5–15 min) valgud denatureeruvad, mille tulemusel tioolne rühm vabaneb ja koore maitse ja lõhn muutuvad spetsiifilisteks. Kuna tsüstiin redoksreaktsioonide käigus saab lihtsasti üle minna tsüsteiiniks ja vastupidi

(–SH rühm oksüdeerub disulfiidse (–S–S–) sidemeni), siis keedumaitse ja –lõhn aja jooksul võis nõrgenevad (Tverdohleb *et al.* 2002, Arsenjeva 2013). Selleks, et suurendada –SH rühmade säilimist, tuleb koore pastöriseerimist ja järgnevat töötlemist teostada kinnistes anumates. Intensiivse maitse ja lõhna moodustumist soodustab Maillardi reaktsioon (reaktsioon vaba amino–rühma sisaldava ühendi ja redutseeritava suhkru vahel (van Boekel 1998, Gorbatova, Gunkova 2012)), mille tagajärjel toimub laktoosi hüdroolüüs ja tekkivad melanoidiinid. Melanoidiinid omavad antioksidatiivseid omadusi, mis võivad takistada –S–S– sidemete moodustumist ja anda liiga intensiivset maitset, mida peetakse ebameeldivaks (Tverdohleb *et al.* 2002).

Kõige rohkem tiolseid rühmi koguneb vähese rasvasusega koorest (25–30%), mida võib seletada kõrge vadakuvalkude sisaldusega. Sellepärast eelistatakse Vologda võid teha madala rasvasusega koorest. Kõrgema rasvasusega koorest (30–35%) on samuti võimalik saada tiolsete rühmade rikast koort, sest vaatamata väiksemale vadakuvalkude kogusele sisaldab see suuremas koguses rasvakuulikeste kilematerjali, mis samuti sisaldavad tiolseid rühmi (Arsenjeva 2013).

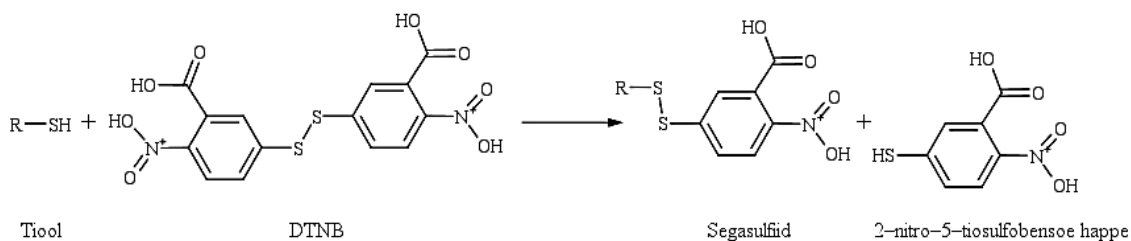
1.2. Tiolsete rühmade määramismetoodika

Tioolide (tiolseid rühmi sisaldavad ühendid) määramismetoodikaid on mitu ja iga neist nõuab erilist lähenemist. Fluorestsents jt spektromeetriselised meetodid nõuavad uuritava lahuse töötlemist reagentidega tundlikkuse tõstmiseks, amperomeetriselise tiitrimine nõuab spetsiaalse elektroodi kasutamist ning osadel meetoditel puudub kvantifitseerimise võimalus.

Tiiole ei ole võimalik registreerida optiliste detektoritega, mida kasutatakse näiteks fluorestsents, spektrofotomeetriselises meetodis või UV neelduvuse põhimõttel töötavate seadmetega sellepärast, et tioolide struktuur ei võimalda seda. Selle parandamiseks tuleks kasutada reagente, mis tõstaksid määramise tundlikkust ja tioolide stabiilsust, näiteks propiioolhapet. Lisades tioolidele propiioolhapet (vesilahusena, toatemperatuuril) tekivad tioakrülaadid (millel on lai ultravioletne neelduvusspekter võrreldes läbipaistvate propiolaatidega), mis tõstavad tundlikkust UV neelduvuse määramiseks (Samara *et al.* 2015). Oma töös vaatlesid Samara jt (2015) kõrgsurvevedelik-kromatograafilist meetodit tioolide määramiseks puuviljades. Reagentina kasutati

metüülpropiolaati ja uuritavateks tioolideks olid tsüsteiin, glutatioon ja N-atsetüültsüsteiin, mida mõõdeti lainepikkusel 285 nm. Kasutatud meetodil leiti olevat mitu positiivset külge: metüülpropiolaat on odav; proovide ettevalmistamine on keskkonnasõbralik ega hõlma orgaaniliste lahuste kasutamist; mõõtmisel tekkinud tioakrülaate eemaldamine süsteemist on lihtsalt teostatav minimaalsete jäägikogustega; kirjeldatud meetod võimaldab määrata kolme põhilist tiolseid rühmi sisaldavaid ühendeid isegi mikromolaarsetes kogustes; ilma eriliste nõudmisteta seadmetele ja kõrgete kuludeta saab meetodit kasutada tiolide tähtsuse uurimiseks toiduainete valdkonnas (Samara *et al.* 2015).

Teise võimaluse tiolide määramiseks on pakkunud Guingamp jt (1993). Uurides võimalust tiolsete rühmade määramiseks toor- ja kuumutatud piimas, kasutades Ellman'i reagenti, 5,5'-ditio-bis(2-nitrobensoehapet) (DTNB)) ning Linden jt (1987) poolt patenteeritud selitavat reagenti (ingl. k. *Clarifying Reagent*[®]), leiti, et selline meetod on väga lihtne, kiire ja lihtsasti kohandatav rutiinsetele analüüsidele. Tiolid, reageerides DTNB-ga, moodustavad 2-nitro-5-tiosulfobensoe happe (joonis 2), mille neelduvus registreeritakse spektrofotomeetriliselt lainepikkusel 412 nm.



Joonis 2. DTNB reaktsioon tiooliga (Instruction Ellman's Reagent)

Amperomeetrilist tiitrimist, mida esimesena kirjeldati Kolthoffi ja Harrise uurimuses aastal 1946, on hilisemalt uuritud/täiendatud mitmete autorite poolt (Hutton, Patton 1952, Chebotarjov 1970). On mitu erinevat viisi meetodi läbiviimiseks ja proovide ettevalmistamiseks, kuid põhimõte jääb samaks. Tiolseid rühmi sisaldava lahuse tiitrimisel hõbenitraadiga (AgNO_3) tekkiv lahustumatu hõbetiosulfaat ($\text{Ag}_2\text{S}_2\text{O}_3$) põhjustab lahuse elektrijuhtivuse muutumist. Muutumine registreeritakse mikroampermeetriga (Kolthoff, Harris 1946, Hutton, Patton 1952, Chebotarjov 1970). Chebotarjov (1970) võrdles oma töös röösaakoore- ja Vologda või tiolsete rühmade sisaldust ja leidis, et amperomeetrilise tiitrimisega ei olnud võimalik eristada üht võid teisest. Tulemuste alusel pandi kahtluse alla tiolsete rühmade spetsiifiliste omaduste avaldumine Vologda või

(Chebotarjov 1970). Vastuolulist tulemust võib samuti seletada ka meetodi või aparatuuri ebatäpsusega ja vähese tundlikkusega.

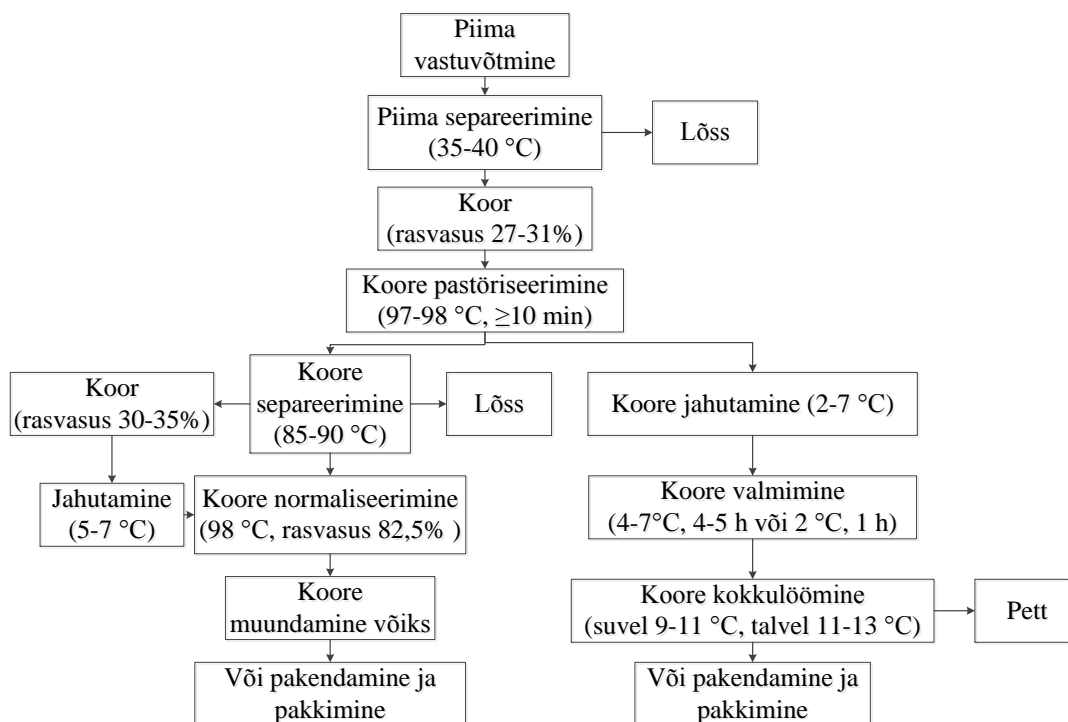
Tioolsete rühmade (peamiselt tsüsteiini) määramiseks erinevates süsteemides võib kasutada ka nitroprussiidset proovi (Walker 1925, Chebotarjov 1970). Meetod seisneb uuritava proovi aluseliseks viimisel ja naatriumnitroprussiidi lisamisel ning värvuse registreerimisel. Tioolsete rühmade olemasolul muutub proov roosaks. Chebotarjov (1970) leidis, et selle intensiivsust oli raske mõõta kuna värvus kadus kiiresti. Samuti varieerus kuumutatud piimaproovide värvus heleroosast – erkroosani, sõltuvalt kuumutamise temperatuurist, kuid mitte kestvusest. Walker (1925) täheldas samuti, et värvus on intensiivsem kõrge tioolide sisaldusega proovis, kuid lisas, et madala tioolisisaldusega proovis värvus ilmnes kohe pärast naatriumnitroprussiidi lisamist ja kõrge tioolide sisaldusega proovis toimus värvuse muutus paariminutilise viivitusega. Seega võib antud meetodi puudusteks pidada ebapiisavat stabiilsust ning kvantifitseerimise puudulikkust.

Väävlit sisaldavate aminohapete kvalitatiivseks määramiseks proovis võib kasutada pliiatsetaati. Proovi töödeldakse järgmiselt: katseklaasi võetakse 1–2 ml pliiatsetaati ja lisatakse ettevaatlikult tilkhaaval NaOH kuni tekkinud pliihüdrosiidi sade lahustub, saadud lahusesse lisatakse 0,5 ml uuritavat valguproovi ning katseklaasi kuumutakse. Kui valk sisaldab tsüsteiini või metioniini hakkab lahus järk-järgult tumenema. Valgulahus tumeneb keetmisel leelises keskkonnas pliiisoola juuresolekul. Reaktsiooni põhjustavad väävlisisaldavad aminohapped tsüsteiin, metioniin, mis lagunevad kuumutamisel leeliselises keskkonnas. Eralduva sulfiidiooni tõttu moodustub must pliiisulfiidi sade (Saitov 2001). Meetodi puudus seisneb aga selles, et seda ei saa kasutada kvantitatiivseks analüüsiks.

1.3. Vologda või tootmistehnoloogia

Vologda või tootmine erineb rõõsakoore või tootmisest peamiselt selle poolest, et koore pastöriseerimine toimub tunduvalt kõrgematel temperatuuridel ja pikema aja jooksul. (Vishnjakov 1961). Vologda või tootmisel tera ei pesta (spetsiifiliste organoleptiliste omaduste säilitamiseks) või pestakse äärmisel juhul veesisalduse reguleerimiseks kuumutatud koore kokkulöömisel eraldunud petiga. Pikema pastöriseerimise tõttu toimuvad koores erinevad biokeemilised protsessid, mis annavad võile „pähklike“ maitse.

Vologda võid saab toota kahel viisil: koore kokkulöömisel võiks (joonis 3 paremal) või koore rasvasuse tõstmisel (joonis 3 vasakul).



Joonis 3. Vologda või tootmistehnoloogiline skeem. Vasak haru – kõrgrasvase koore muundamine võiks, parem haru – kokkulöömise meetod (Vishnjakov 1961, Tverdohleb *et al.* 2002, Gorbatova 2004, Arsenjeva 2013)

1.3.1. Nõuded toorpiimale

Kuna Vologda või on Venemaal väljatootatud või liik, siis toorainele ja valmistootele kehtestatud nõuded pärinevad Venemaalt. Kõrge kvaliteediga või valmistamiseks vastuvõetav piim peab vastama Tehniliste Reguleerimise ja Metroloogia Föderaalsete Agentuuri (Rosstandart) poolt sätestatud standardile GOST R 52054–2003 (Lehmapiim — tooraine. Tehnilised nõuded.) ning sanitaar-epidemioloogilistele reeglitele ja normatiividele (SanPiN 2.3.2.1078–01). Standardi järgi jaotatakse piim sõltuvalt mikrobioloogilistest, organoleptilistest ja füüsikalise-keemilistest parameetritest sortidesse: kõrgem, esimene, teine, sorditu (tabel 1).

Tabel 1. Venemaa nõuded toorpiimale (GOST R 52054–2003, SanPiN 2.3.2.1078–01)

Näitaja	Piima sordid			
	kõrgem	esimene	teine	sorditu
Happesus, °Th	16-18	16-18	16-20,99	alla 15,99 või üle 21
Puhtuseklass(mitte vähem kui)	I	II	II	III
Tihedus, kg/m ³ (mitte vähem kui)	1028	1027	1027	alla 1026,9
Külmumistäpp, °C*	mitte kõrgem kui -0,520			üle -0,520
Konsistents	homogeenne vedelik ilma sademe ja helvesteta. Külmumine ei ole lubatud.			valguhelveste, mehhaaniliste lisandite olemasolu
Maitse ja lõhn	puhas, kõrvalmaitseta, -lõhnata			väljendunud söödane
Värvus	valgest helekreemjani			kreemjas, helehallist hallini
Mikroorganismide arv** (mitte rohkem kui)	3×10 ⁵	5×10 ⁵	4×10 ⁶	p.a
Toote mass, g, milles pole lubatud patogeene (kaasarvatud salmonellad)	25	25	25	p.a
Somaatiliste rakkude arv/cm ³ (mitte üle)	5×10 ⁵	1×10 ⁶	1×10 ⁶	p.a

*võib kasutada tiheduse määramise asemel; ** mesofiilsete aeroobsete ja fakultatiivselt aeroobsete mikroorganismide arv, PMÜ/ml (g); p.a– pole antud

Eestis on piima klassifitseerimise aluseks ainult mikroorganismide arv ml-s ja soomaatiliste rakkude arv ml, mida reguleerib PõM (põllumajandusministri) 30. juuli 2008. a määrus nr 79 (tabel 2). Kui toorpiim sisaldab antibiootilisi jääkaineid, mille kogus ületab komisjoni määruse (EL) nr 37/2010 (farmakoloogilised toimeained ja nende liigitus loomsetes toiduainetes sisalduvate jääkide piinormide järgi), lisas osutatud koguseid, siis toorpiimaproov (proovi võtmise päeval) ei vasta ühegi kvaliteediklassi nõuetele ega kuulu ühessegi kvaliteediklassi (PõM 30. juuli 2008. a määrus nr 79). Lisaks kehtivale määrusele on tööstustel õigus kehtestada täiendavaid nõudeid ja võtta neid piima eest maksmisel arvesse.

Tabel 2. Toorpiima näitajad ja jaotus klassidesse (PõM 30. juuli 2008. a määrus nr 79)

Kvaliteediklass	Kirjeldus	Mikroorganismide arv ml–s	Somaatiliste rakkude arv ml–s
Eliit	Väga hea kvaliteet	≤ 50 000	≤ 300 000
Kõrgem	Hea kvaliteet	≤ 100 000	≤ 400 000
I	Rahuldav kvaliteet	≤ 200 000	≤ 600 000
II	Mitterahuldav kvaliteet	>200 000	> 600 000

Piima konsistentsi mõjutajateks võivad olla võõrvesi ja happesus. Maitse- ja lõhnavigu võivad kutsuda esile Cl⁻ ioonid (NaCl lisamisest), vabad rasvhapped, looma füsioloogiline seisund (mastiit võib piimale anda mõru või soolast maitset). Maitse- ja lõhnavead võivad tekkida ka pärast lüpsmist: lipolüüs (mehhaanilise mõjuga transportimise ajal soodustatud rasvakuulikeste vigastamise tõttu, geneetiline iseärasus, mikrobiaalne saastatus), kõrvallõhnade imendumine ebahermeetiliste või halvasti pestud, desinfitseeritud taara, ruumide tõttu. Üldiselt võivad piima organoleptilisi näitajaid mõjutada looma tervis, tõug, pidamis- ja söetmistingimused, esmane piima töötlus ja säilitamine (Gorbatova 2004). Selleks, et pidurdada loomulikke füüsikalisi, keemilisi ja füüsikalisi-keemilisi protsesse piimas ning pikendada säilivusaega, tuleb piim filtreerida ja jahutada mitte hiljem kui kaks tundi pärast lüpsmist temperatuurini 4±2 °C (GOST R 52054–2003). Euroopa Parlamendi ja Nõukogu määrus 853/2004 nõuab aga piimakäitlejatelt piima viivitamatut jahutamist temperatuurini kaheksa kraadi, igapäevase kogumise puhul, või kuue kraadini, kui piima ei koguta iga päev. Kuid neid nõudeid ei pea täitma, kui piim töödeldakse kahe tunni jooksul pärast lüpsmist või kõrgem temperatuur on vajalik teatavate piimatoodete valmistamiseks.

1.3.2. Piima separeerimine

Vologda või valmistamiseks separeeritakse piim temperatuuril 35–40 °C, et vältida rasvakuulikeste pihustamist survepumbas. Sõltuvalt või tootmismeetodist saadakse separeerimise tulemusena 27–31% rasvasusega koor, mis kohe suunatakse pastöriseerimisele, kuna värskest separeeritud koor on heaks kasvukeskkonnaks mikroorganismide jaoks ning allub kergesti lipolüüsile (Stepanova 2003, Tverdohleb *et al.* 2006). Saadud koore kvaliteet peab vastama standardile GOST R 53435–2009 (tabelid 3 ja 4). Eestis separeeritakse piim röösaakoorevi tegemisel 32–45% rasvasusega kooreks (Mandel 2001).

Tabel 3. Koore organoleptilised näitajad (GOST R 53435–2009)

Näitaja	Koore sordid		
	kõrgem	esimene	teine
Konsistents	homogeenne, ühtlane	ühtlane, homogeenne või üksikute vabade rasvatilkadega, rasvakuulikestega	
Maitse ja lõhn	väljendunud koorene, puhas, magus	koorene, magus, nõrk söödamaitse, -lõhn	iseloomulik koorene, magus maitse nõrgalt väljendunud, nõrgalt kõrval- ja/või söödamaitsega, -lõhnaga
Värv	valge, kreemika varjundiga, ühtlane		

Tabel 4. Koore tiitritav happesus (°Th) sõltuvalt rasvasisaldusest ja sordist (GOST R 53435–2009)

Rasvasus, %	Kõikidele sortidele, mitte alla	Vastavalt sordile, mitte üle		
		kõrgem	esimene	teine
9–20	14	17	19	21
20–30	13	16	17	19
30–40	12	15	16	18
40–50	11	14	15	17
50–58	10	13	14	15

1.3.3. Koore kuumtöötlemine

Koore kuumtöötlemine on kõige tähtsam etapp Vologda või valmistamisel. Kuumtöötlemist viiakse läbi mitte ainult võõrmikrofloora hävitamiseks vaid ka kvaliteedi tõstmiseks, säilivuse pikendamiseks (mikrobiaalse lipaasi inaktiveerimiseks on vaja tõsta temperatuuri üle 85 °C) ja uute omaduste loomiseks. Kuumtöötlemisele võetakse vastu koort, mis vastab järgmistele tingimustele: koore sort mitte alla esimese, ilma kõrvalmaitseta, -lõhnata, happesusega mitte üle 15–16 °Th (rasvasus 25–27%) ja 14 °Th (rasvasus 31–35%). On täheldatud, et hea maitse ja lõhna omadused väljenduvad paremini pH 6,53–6,71 juures, madalam pH pidurdab maitse ja lõhna moodustumist (Vishnjakov 1961).

Kõrge tioolsete rühmade sisaldus võis saavutatakse kuumutades 27–31% rasvasusega koort temperatuuril 97–98 °C 10–15 min, sõltumatu aastaajast, seejärel jahutatades 85–90 °C kinnises anumal ning seejärel suunates valmimisele. Erinevad autorid (Vishnjakov 1961, Tverdohleb *et al* 2002, Arsenjeva 2013) rõhutavad, et pastöriseerimist ei tohi teostada

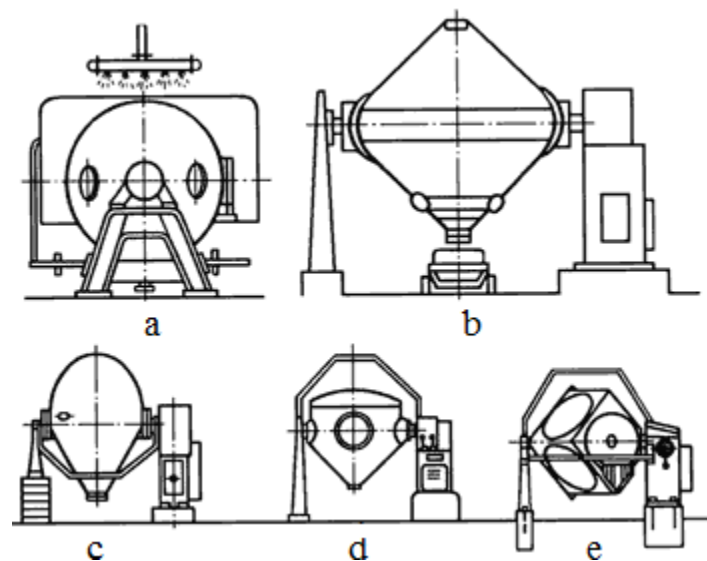
soovitatud temperatuuridest kõrgemal, vältida tuleks kahekordset pastöriseerimist ning koore hoidmist kinnises süsteemis üle 20 min, kuna see vähendab märkimisväärselt tiolsete rühmade ja teiste maitse-, lõhnaühendite sisaldust koores, ning või spetsiifilised organoleptilised omadused ei avaldu piisavalt. Võrreldes Vologda või tehnoloogiaga pastöriseeritakse Eestis rõõsakoorevõi valmistamiseks koort lühema perioodi jooksul 10–30 s, kuid kuumutamistemperatuur on sarnane (90–110 °C) (Mandel 2001).

1.3.4. Koore valmimine

Kokkulöömise meetodil või valmistamisel suunatakse pastöriseeritud koort valmimisele, mille eesmärk on rasva osaline kristalliseerimine ja rasvakuulikeste füüsikalise-kolloidsete omaduste muutmine (Tverdohleb *et al.* 2002). Kiire jahutamine enne valmimist tagab spetsiifiliste organoleptiliste omaduste säilitamise, rasva tahkumise valmimisel, jääkmikrofloora arengu pidurdumise. Valmimiseks jahutatakse koort 4–7 °C ja hoitakse sellel temperatuuril 4–5 h. Häid tulemusi saavutatakse ka siis, kui koort valmitatakse 2 °C juures hoideajaga üks tund, mille järel suunatakse koort kokkulöömisele (Tverdohleb *et al.* 2002, Arsenjeva 2013). Eestis rõõsakoorevõid valmitakse kahel viisil: pikaajaliselt, 15–17 h ja lühiajaliselt, 1,5–2 h, mõlemal juhul kasutatakse temperatuuri 4–6 °C (Mandel 2001).

1.3.5. Koore võiks kokkulöömine

Kokkulöömist saab teostada kas pidev- või tsüklivõimasinas. Valtsideta tsüklitoimelised masinad (joonis 4) on seest karestatud pinnaga, mis välistab või kleepumise masina seinale; nurgad ja servad on ümarjad. Masina kohale on paigutatud dušš, mis võimaldab vajadusel kokkulöömistemperatuuri reguleerida (soojendades või jahutades võimasina tünni). Silindrilises võimasinas on tünnis valtside asemel radiaalselt paigutatult lööklaud või neli laba. Võitünnis lüüakse koore kokku, ning vajadusel pestakse ja soolatakse võitera. (Tverdohleb *et al.* 2002).



Joonis 4. Valtsideta tsükkeltoimelised võimasinad: a – silindriline; b – kooniline; c – pirnikujuline; d – mahalõigatud; e – kuubkujuline (Tverdohleb *et al.* 2002)

Õige kokkulöömisprotsessi tagamiseks tuleb valida optimaalne tünni täiteaste. Kuni 38% rasvasusega koore kokkulöömisel on optimaalne tünni täiteaste 40%, rasvasema koore puhul 35%. Minimaalne täiteaste on 25% ja maksimaalne 50%. Minimaalsest väiksem täiteaste lõpeb liiga kiire võitera moodustumisega ja märkimisväärne kogus rasva ei jõua võiteraga liituda ja läheb üle petti. Maksimaalsest suurem täiteaste ei võimalda koort kokku lüüa, kuna pärast vahtu löömist ei jää võitera moodustumiseks ruumi. Kokkulöömistemperatuur mängib samuti suurt rolli. Suviseks koore optimaalseks kokkulöömistemperatuuriks on 9–11 °C, kuna suvine koor sisaldab rohkem madalamal temperatuuril sulavaid küllastunud rasvhappeid, talvisel perioodil tõstetakse kokkulöömise temperatuuri 11–13 °C-ni, kuna talvine koor sisaldab rohkem raskemini sulavaid küllastumata rasvhappeid. Antud temperatuuri režiim on vajalik võitera moodustamiseks sobiva tahke–vedela rasva vahekorra saavutamiseks. Kokkulöömine lõpetatakse, kui võitera suurus on 3–4 mm tsükkeltoimelises masinas ja 1–3 mm pidevtoimelises (Tverdohleb *et al.* 2002, Arsenjeva 2013).

1.3.6. Või pakendamine, pakkimine ja säilitamine

Võimasinast väljumisel on või temperatuur 11-14 °C, mis võib suurenda mõne kraadi võrra sõltuvalt aastaajast. Antud temperatuuril on või konsistents paks, kuid voolav. Seadmest väljunud võimass suunatakse kohe pakendamisele, kus see kiiresti tahkub tänu olemasolevate rasvakristallidele (Tverdohleb *et al.* 2002).

Vastavalt standardile GOST 37–91 pakendatakse või brikettidena pärgament–paberisse või alumiiniumpaberisse massiga 15, 20, 30, 100, 200 või 250 g. Samuti pakendatakse Vologda võid väikestesse, seestpoolt pärgament– või alumiiniumpaberiga kaetud vineerist vaaticesse toote kogusega kuni 1000 g. Temperatuur ei tohi pärast tootmist ületada 10 °C (pakendtaaras), 5 °C (jaepakend), tööstuses tohib võid hoida temperatuurivahemikus -2...-6 °C. Võid säilitakse 5 °C juures tootmisprotsessi lõpust mitte üle 30 ööpäeva, kuna seda võid klassifitseeritakse kui mittesoolast rõõsakoorevõid. Mikrobioloogilistest näitajatest ei tohi Vologda või sisaldada üle 1×10^4 PMÜ/g mesofiilseid aeroobseid mikroorganisme ning ei tohi sisaldada patogeene 25 g tootes (GOST 37–91, SanPiN 2.3.2.1078–01). Euroopa Komisjoni määruse nr 2073/2005 (toiduainete mikrobioloogiliste kriteeriumide kohta) järgi ei tohi või kui valmistoit sisaldada 25 g *Listeria monocytogenes*'t.

1.4. Nõuded võile

Vologda või peab olema puhta, hästi väljendunud kõrgpastöriseeritud koorele iseloomuliku lõhna ja maitsega, ilma kõrvalmaitse ja –lõhnata. Konsistents on Vologda võil plastiline, tihe. Lõikepind on läikiv, välimuselt kuiv. Värvus varieerub valgest kollaseni, ühtlaselt kogu massis. Rasvasisaldus peab olema mitte vähem kui 82,5%, veesisaldus 16,0%, soola – 0%. Võiplasma pH mitte alla 6,31, tiitritav happesus mitte üle 22 °Th. Antud nõuded on võetud vananenud GOST'ist 37–91 (Lehmapiima või. Tehnilised tingimused), mis on asendatud praeguseks tehniliste tingimustega TU 9221-001-54002969-2009 („Vologda“ rõõsakoorevõi). Kahjuks ei ole antud dokumendile vaba juurdepääsu ja seda antakse välja ainult Vologda piirkonnas tegelevatele piimatööstustele, kuna Vologda või on kaitstud päritolunimetusega toode ja on kajastatud vastavas Vene Föderatsiooni registris (Tööstusliku Omandi Föderaalne Instituut (vene k. *Федеральный институт промышленной собственности*, ingl. k. *Federal Institute of Industrial Property*)).

Seisuga 31.12.2016 „Vologda“ või tootmisluba (toode nr 0027, taotluse nr 96716041) (RU 27, 96716041) on saanud üheksa ettevõtet (Avatud registrid, 2017). EL nõuded võile on kajastatud Komisjoni määruses (EL) nr 1272/2009, millega kehtestati nõukogu määruse (EÜ) nr 1234/2007 ühised üksikasjalikud rakenduseeskirjad seoses põllumajandustoodete kokkuostu ja müügiga riikliku sekkumise puhul, mis on nüüdseks asendatud EL määrusega nr 1308/2013. Selle järgi või peab vastama tabelis 5 esitatud nõuetele.

Tabel 5. Või koostisele esitatavad nõuded, kvaliteedinäitajad (määrus EL nr 1272/2009)

Parameetrid	Sisaldus ja kvaliteediomadused
Rasv	Vähemalt 82%
Vesi	Kuni 16%
Rasvata kuivained	Kuni 2%
Vabad rasvhapped	Kuni 1,2 mmol 100 g rasva kohta
Peroksiidarv	Kuni 0,3 meq hapnikku 1000 g rasva kohta
Kolibakterid	Ei ole kindlaks tehtavad 1 g proovis
Mittepiimarasv	Ei ole kindlaks tehtavad triglütseriidide analüüsiga
Organoleptilised omadused	Välimuse, maitse ja lõhna konsistentsi eest vähemalt 4 punkti 5st
Vee dispersioon	Vähemalt 4 punkti

2. EKSPERIMENTAALNE OSA

2.1. Töö eesmärgid

Antud töö eesmärgiks oli uurida koore kuumutamise kestvuse mõju või keemilistele ja organoleptilistele kvaliteedinäitajatele kahel erineval säilitusrežiimil. Kvaliteeti hinnati peroksiid-, happearvu ning sensoorse hindamise tulemuste alusel. Samuti oli töö eesmärgiks leida ja kohaldada EMÜ laborite tingimustele sobiv meetod tiolsete rühmade määramiseks.

2.2. Materjal ja metoodika

2.2.1. Katsematerjal

Esimese katseseeria jaoks kasutati ühe Eesti väikekäitleja toodetud toorpiima ning nii piima töötlemine, kui või valmistamine toimus sama väikekäitleja meiereis. Teise katseseeria jaoks kasutati Eerika Farm OÜ toodud toorpiima ja või valmistamine toimus EMÜ VLI toiduteaduse ja toiduainete tehnoloogia osakonna mikromeiereis. Igast toorpiimast võeti vahetult enne edasist töötlemist proov selle koostise määramiseks. Enne separeerimist toorpiima soojendati ette 45°C-ni. Esimese katseseeria toorpiima separeeriti väikekäitleja talumeiereis Franz Janschitz FJ 350 (Franz Janschitz Ges.m.b.H, Austria) separaatoriga, teise katseseeria piima separeeriti Eesti Maaülikooli mikromeiereis separaatoriga Armfield FT 15 (Armfield Limited, Inglismaa). Saadud koort kuumutati vastavalt joonisel 3 toodud skeemile. Nii kuumtöötlemata ja kuumtöödeldud koortest kui ka lõssist võeti proovid edasisteks analüüsideks. Proovid jahutati 4–6 °C-ni ning transporditi ja säilitati jahedas, kuni nende analüüsimiseni järgmisel päeval.

2.2.2. Koore töötlemine

Koore kuumtöötlemise mõju uurimiseks kuumutati separeerimisel saadud koort 97 ± 1 °C hoideaegadega 10, 20 ja 40 min. Töös on edaspidi antud koortest saadud võisid tähistatud vastavalt „või 10“, „või 20“ ja „või 40“. Esimese katseseeria termilist töötlust viidi läbi Metos Culino Combi 150E SGL (Metos Kitchen Intelligence, Soome) kombineeritud katlaga suletud kaanega, kus teostati hilisemalt ka koore kokkulöömist. Teise katseseeria termilist töötlust viidi läbi kaanega suletud potis otse pliidi peal, kuna vesivanni kasutamine ei andnud soovivat efekti, st ei suudetud saavutada soovitud temperatuuri. Pärast kuumutamist koort jahutati 4 °C-ni ja valmitati samal temperatuuril ~19 h jooksul (järgmise päevani). Valmitamisele järgnes koore kokkulöömine võiks, mida teostati esimesel katseseerial Metos Culino Combi 150E SGL katlas ja teisel katseseerial kasutati EMÜ mikromeierei tsükeltoimelist võimasinat mahtuvusega viis liitrit.

Kokkulöömine kestis võitera tekkimiseni, mis varieerus kümnest minutist tunnini, kuna oli raske reguleerida võitera temperatuuri, kuid lõpptulemust see ei mõjutanud – või veesisaldus oli sarnane (v.a esimese katseseeria kümme minutit kuumutatud koorel, kuna masina täiteaste oli alla soovivat ja kokkulöömine kestis kauem). Kokkulöömisele järgnes peti eemaldamine ja veesisalduse reguleerimine peti käsitsi väljapressimisega võist. Pärast või saamist see pakendati: esimesel katseseerial pakendati plastikkarpi, teisel katseseerial toidukilesse ja alumiiniumpaberisse. Iga või tegemisel võeti proovid nii petist kui võist, mida säilitati 4 °C juures kuni analüüsimiseni järgmisel päeval.

2.2.3. Või säilitamine, analüüsimisgraafik

Mõlema katseseeria võid säilitati kahel erineval temperatuuril kindla ajaperioodi jooksul (tabel 6). Võid hoiti +5 °C, et jälgida külmpakitemperatuuril toimuvaid muutusi, ning –20 °C, et jälgida külmutamise mõju või kvaliteedile ja teistele parameetritele. Iga kord määrati võist järgmised näitajad: peroksiid arv, happearv, tiolsete rühmade sisaldus ning teostati sensoorne hindamine. Kuivainesisaldust määrati värskest võist ja kordusena täiendavalt ühel korral säilitamisperioodi jooksul.

Tabel 6. Või analüüsimisskeem

Säilitamistemperatuur	+5 °C			-20 °C		
Termilise töötlemise kestvus, min	10	20	40	10	20	40
Analüüsimisaeg, nädalad	1. päev					
	2			4		
	4			8		
	6			12		
	8			16		
	10			20		

2.2.4. Laboratoorsed analüüsid

Peamiste koostiscomponentide ja kuivainesisalduse määramine

Toorpiima, lõssi ja peti valgu, rasva ja laktoosisisaldused määrati Eesti Põllumajandusloomade Jõudluskontrolli (EPJ) laboris. Koore ja või rasvasisalduste määramiseks kasutati Gerberi meetodit (EVS-ISO 2446:2011). Koore valgusisaldus määrati Kjeldahli meetodiga (ISO 8968-1:2014).

Piima, lõssi, peti ja erineva kestvusega kuumutatud koore kuivainesisaldused määrati vastavalt standardmetoodikale ISO 6731:2010. Või kuivainesisalduse määramiseks kasutati niiskuse analüsaatorit Kern DBS 60-3 (KERN & Sohn GmbH, Saksamaa). Selleks kaaluti analüsaatori alusele ~2,0 g võid ja seejärel teostati mõõtmist 140 °C juures 10 minuti jooksul (Kern DBS 2013). Pärast mõõtmist loeti seadme ekraanilt kuivainesisalduse näit. Kõik kuivainesisalduse määramised teostati vähemalt kolme paralleelmõõtmisena EMÜ söötmissosakonna piima kvaliteedi uurimise laboratooriumis.

Võiproovide ettevalmistamine keemilisteks analüüsideks

Võiproovide ettevalmistus keemilisteks analüüsideks ning happearvu, peroksiidaru ja tiolsete rühmade sisalduse määramine teostati EMÜ söötmissosakonna piima kvaliteedi uurimise laboratooriumis. Proovide ettevalmistamiseks sulatati ~20-30 grammi võid termostaadis tsentrifuugimistopsides 60±2 °C juures, seejärel tsentrifuugiti (Sigma 2-16, SIGMA Laborzentrifugen GmbH, Saksamaa) viie minuti jooksul kiirusel 3000 p/min, mille järel eemaldati pealmises kihis olev rasv pipetiga ja filtreeriti see läbi kuiva filterpaberi. Antud rasva kasutati happearvu ja peroksiidaru määramiseks. Selleks, et saada rasvavaba plasma, asetati proovi tsentrifuugimistopsid peale rasva osalist eraldamist

külmkappi, et järele jäänud rasva hanguks. Pärast rasva hangumist see eemaldati ja järele jäänud plasmat kasutati tiolsete rühmade sisalduse määramiseks.

Happearvu määramine

Happearv iseloomustab vabade rasvhapete sisaldust piimarasvas. Happearv määrati EVS-EN ISO 660:2009 standardmetoodika järgi. Selle põhimõte seisneb rasva eraldamisel, selle lahustamisel etanooli ja etüüleetri segus ning saadud lahuse tiitrimisel 0,1 molaarse leelise lahusega. Tulemused esitati millimoolides 100 g rasva kohta kasutatakse valemit:

$$\frac{100 * c * V}{m},$$

kus c – kasutatud leelise lahuse molaarne kontsentratsioon;

V – tiitrimiseks kulunud leelise kogus milliliitrites;

m – rasva kaalutis grammides.

Kuna piimarasvale annavad happesuse vabad rasvhapped, siis iseloomustab rasva neutraliseerimiseks kulunud leelise hulk vabade rasvhapete sisaldust võirasvas.

Peroksiidarvu määramine

Piimarasva oksüdatsiooni iseloomustati tekkinud peroksiidide alusel. Peroksiidarvu määrati ISO 3976:2006/IDF 74:2006 standardi järgi. Selle põhimõte seisneb rasva lahustamisel dikloormetaan (CH_2Cl_2) ja metanooli (CH_3OH) segus (vahekorras 7:3) ja saadud lahusele FeCl_2 ja ammoonium tiotsüanaadi (NH_4SCN) lisamisel. Võis tekkinud peroksiid oksüdeerib Fe^{2+} Fe^{3+} -ks, milledest viimane moodustab punase kompleksi tiotsüanaadiga, mille sisaldus määrati spektrofotomeetriliselt 500 nm juures kasutades spektrofotomeetrit Helios δ (Thermo Spectronic, USA). Meetod sobib, kui peroksiidarv jääb vahemikku 0,5–1,3 mmol. Peroksiidarvu arvutati järgmise valemi järgi:

$$PV = \frac{m_c}{55,84 * m},$$

kus PV on peroksiidarv millimooli hapnikku kilogrammi rasva kohta;

m_c – Fe^{3+} mass mikrogrammides (arvutatud vastavalt neelduvuse baasil koostatud kalibreerimisgraafiku alusel);

m – rasvaproovi kaalutis grammides;

55,84 – raua molaarmass (tulemuse millimoolides esitamiseks).

Tioolsete rühmade määramine

Eelkatsetel katsetatud amperomeetrilise tiitrimise (Kolthoff, Harris 1946, Hutton, Patton 1952, Chebotarjov 1970) meetoodika kasutamine tioolsete rühmade määramiseks võides ei õnnestunud. Seega otsustati kasutada meetoodikat, mis põhineb Ellman'i reagenti ja tioolsete rühmade vahelise reaktsiooniproducti spektromeetrilisel mõõtmisel. Hilisemates eelkatsetes leiti, et tioolseid rühmi on kõige parem määrata võiplasmast, kuna peti ja kooreproovid olid liiga rasvased ja reaktsiooni käigus jäid liiga häguseks, mis ei võimaldanud korrektset neelduvuse mõõtmist.

Tioolsete rühmade sisaldus määrati kasutades Guingamp *et al.* (1993) poolt pakutud meetoodikat, mida täiendati ©Pierce Biotechnology, Inc. (2004) poolt kirjeldatud meetoodikaga. Määramismetoodika põhimõte seisneb selles, et Ellman'i reagent (5,5'-ditio-bis-(2-nitrobensoehape), DTNB) moodustab tioolsete rühmadega kollase värvusega ühendi, mida on võimalik spektromeetriliselt mõõta (neelduvust mõõdeti 412 nm juures kasutades spektrofotomeetrit Helios δ (Thermo Spectronic, USA)). Tioolsete rühmade määramise tööjuhend on esitatud lisa 1.

Sensoorse analüüsi läbiviimine

Sensoorne analüüs viidi läbi vastavalt tabelis 6 toodud skeemile üheksa assessor'i osavõtul, kes:

- 1) hindasid võid Vologda või kvaliteedinäitajatele esitatud nõuete järgi (GOST R 52054–2003; lisa 2);
- 2) teostasid kolmnurkkatse (Tedersoo 2010), et teha kindlaks, kas erineval koore kuumutamisrežiimil on ka olulist erinevust või organoleptilistele omadustele.

Enne analüüsimist hoiti võid ~10 min toatemperatuuril. Analüüsitavateks proovikogusteks olid üldhindamisel ~5 g, kolmnurkkatsel ~3 g. Kolmnurkkatse põhimõte seisneb järgmises: kolm samaaegset proovi, millest kaks on identsed, on esitatud assessorile kodeeritud kujul. Assessor pidi leidma eristuva proovi (Tedersoo 2010). Kolmnurkkatses hinnati 20 min ja 40 min kuumutatud koorest valmistatud võid, et saada aru, kas kuumutamise režiim mõjutab äratuntavalt organoleptilisi omadusi. 10 min kuumutatud võid ei kasutatud kolmnurkkatsetes kuna esimese partii vastav või eristus teistest oma oluliselt suurema niiskusesisalduse tõttu (joonis 5). Maitse neutraliseerimiseks kasutati toatemperatuuril vett ja sepikut. Või sensoorse kvaliteedi hindamisjuhend ja hindamisprotokoll on esitatud vastavalt lisades 2 ja 3.

2.2.5. Andmete statistiline analüüs

Andmete statistilist analüüsi viidi läbi tabelarvutus- ja töötlusprogrammis Microsoft Excel 2010 (Microsoft, USA). Protseduuride läbiviimiseks juhinduti Tanel Kaart õpiobjektist (Andmeanalüüs MS Excelis (MS Excel 2010 baasil)). Esiteks teostati F-test ja sõltuvalt selle tulemusest valiti vastav t-test andmete keskmiste võrdlemiseks. Andmeid loeti statistiliselt oluliselt erinevaks kui t-testil leitud olulisuse tõenäosus oli väiksem kui 0,05. Võide sensorsete ja keemiliste näitajate vaheliste seoste leidmiseks kasutati korrelatsioonanalüüsi. Tulemused esitati jooniste ja tabelitena.

3. TULEMUSED JA ARUTELU

3.1. Toorpiim, koor, lõss ja pett – koostis ja kuivaine

Mõlemate katseseeriade toorpiima koostis oli suhteliselt sarnane. Piim sisaldas keskmiselt 4,13% rasva, 3,34% valku ja 4,72% laktoosi (tabel 7). Võrreldes 2016. aasta Eesti keskmiste piima koostisnäitajatega (rasv 4,00%, valk 3,36%) oli antud töös kasutatud I katseseeria piim mõnevõrra kõrgema rasvasisaldusega, kuid madalama valgusisaldusega ja II katseseeria piim vabariigi keskmisest mõnevõrra kõrgema valgusisaldusega (Eesti jõudluskontrolli aastaraamat 2016).

Koore rasvasus oli mõlema seeria puhul 43%. Kuna ei olnud võimalust rasvasust kohapeal täpselt määrata, siis ei normaliseeritud koort Vologda võile soovitatud 27–31% rasvasisalduseni. Vaatamata sellele, ei mõjutanud rasvasus kokkulöömist. Koorte valgusisaldus jäi esimese katseseeria puhul ~2% ja sisaldus suurenes kuumutamise kestvuse pikenedes (10 min–1,91%, 20 min–2,03% ja 40 min–2,12%). Teise katseseeria puhul koore valgusisaldus oli mõnevõrra suurem ja suurenes sarnaselt I katseseeriaga kuumutamise kestvuse pikenedes (10 min–2%, 20 min–2,1% ja 40 min–2,16%) (tabel 7). See tulenes tõenäoliselt kuumutamise käigus toimunud vee aurumisest, mida kinnitab ka kuivainesisalduse suurenemine kuumutamise kestvuse pikenedes (joonis 5).

Tabel 7. Esimese ning teise katseseeria katsematerjali koostisnäitajad

Koostisnäitaja	Rasv,%		Valk,%		Laktoos,%	
	I	II	I	II	I	II
Katseseeria						
Toorpiim	4,26	4,01	3,25	3,42	4,73	4,71
Lõss	0,06	0,16	3,33	3,53	4,94	4,93
Koor (10 min)	43	43	1,91	2,00	p.m	p.m
Koor (20 min)	43	43	2,03	2,10	p.m	p.m
Koor (40 min)	43	43	2,12	2,16	p.m	p.m
Pett (10 min)	4,17	6,25	3,59	3,38	5,20	4,95
Pett (20 min)	6,13	3,82	3,36	3,61	4,87	5,26
Pett (40 min)	*	5,37	*	3,97	*	5,81

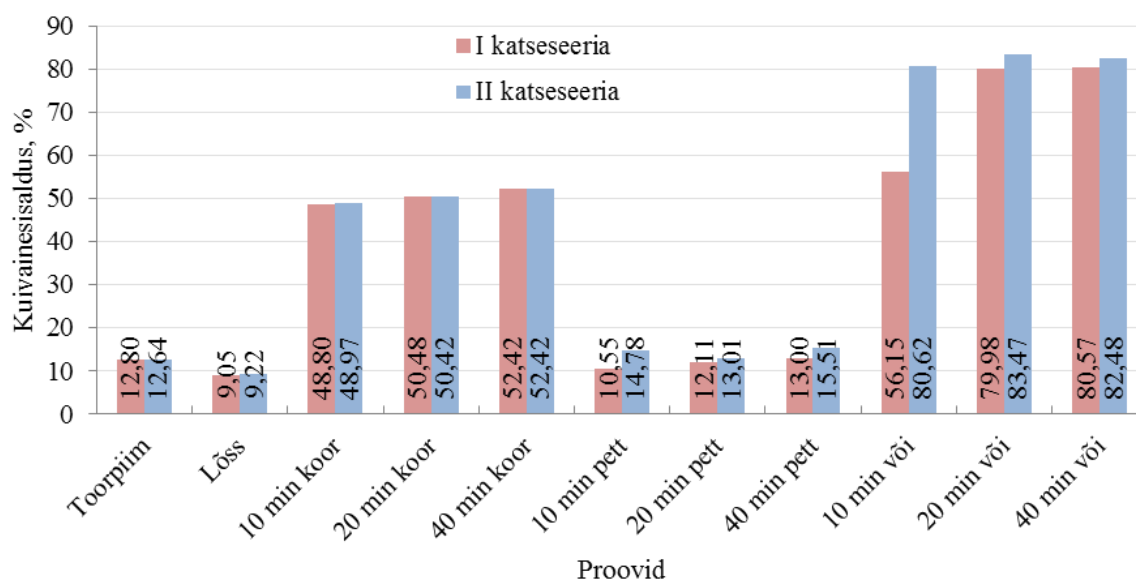
p.m– pole määratud, * antud proovi koostise määramine EPJ laboris ei õnnestunud (tulemust ei väljastatud)

Peti rasvasisaldus jäi vahemikku 3,82-6,25. Suur rasvakadu petiga võis olla tingitud antud töös kasutatud koore kõrge rasvasisaldusest (Poikalainen 2004) ning kokkulöömisrežiimi tõttu. Valgu- ja laktoosisisaldused II katseseeria korral suurenesid vastavalt koore

kuumutamise kestvuse pikenedes (tabel 7). I katseseeria korral antud tendentsi välja tuua ei saa kuna ühe petiproovi koostise määramine ei õnnestunud ning 10 min kuumutatud koore kokkulöömine kestis kaua ning või kuivainesisaldus jäi teistest oluliselt madalamaks (joonis 5), mis kindlasti mõjutas ka peti koostist.

Separerimisel saadud lõssi kuivainesisaldus oli keskmiselt 9,14%, sellist näitajat toetab ka ligikaudne arvutus koostisosade sisalduste järgi. Koore kuivainesisaldus suurenes kuumutamisaaja kestvuse tõstmisega ja 40 minutiks saavutas mõlema katseseeria puhul väärtuseks 52,42% (joonis 5). Võrreldes omavahel I ja II katseseeria koore koostisnäitajaid, leiti, et nende vahel ei ole statistiliselt olulist erinevust ($p > 0,364$). Peti kuivainesisaldus kasvas samuti kuumutamise kestvuse pikendamisel. Peti ja või kuivainesisaldus on omavahel seotud ning põhjendatav või kokkulöömiserežiimiga.

Seadme ebasobiliku täiteaste tõttu oli esimese katseseeria kümne minuti jooksul kuumutatud koore kokkulöömine märgatavalt pikema kestvusega, kui teiste koorte kokkulöömine, mis otseselt mõjutas või kuivainesisaldust (joonis 5). Võimasinat eripära tõttu oli raske reguleerida või veesisaldust, sellest tulenevad ka erinevad kuivainesisalduse näitajad kõikidel võidel, kuid kuivainesisaldus jäi vahemikku 80–83% (v.a esimese partii üks või).



Joonis 5. Tooraine ja töödeldud toorme kuivainesisaldus

3.2. Või kvaliteedi näitajad

3.2.1. Happearv

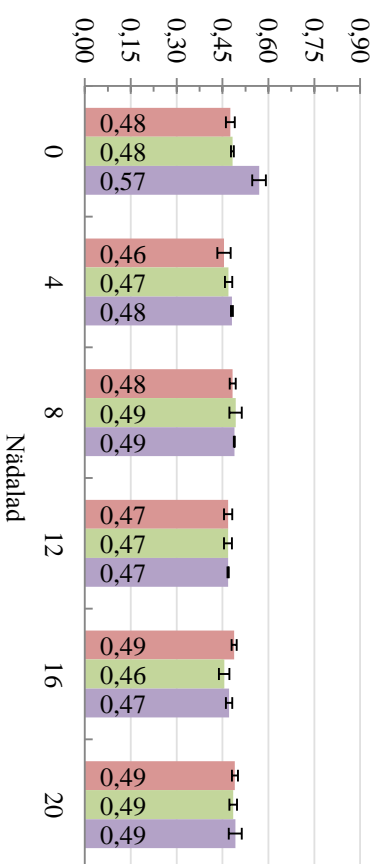
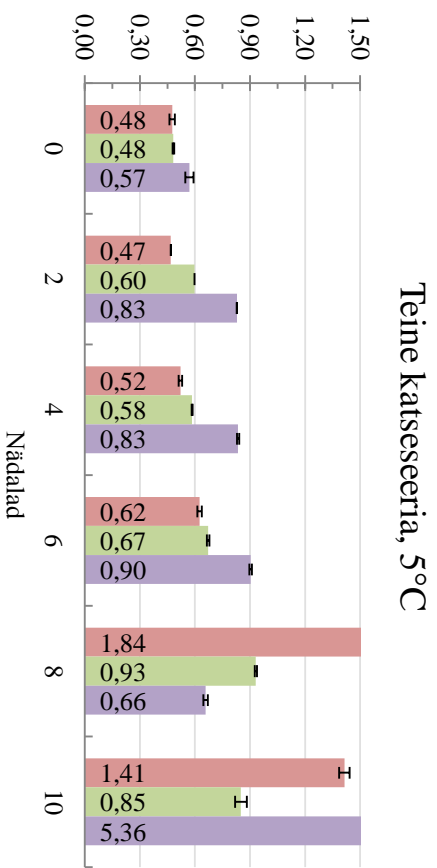
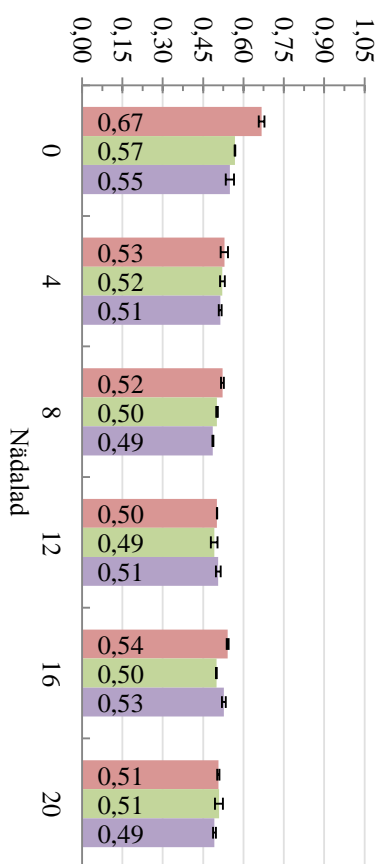
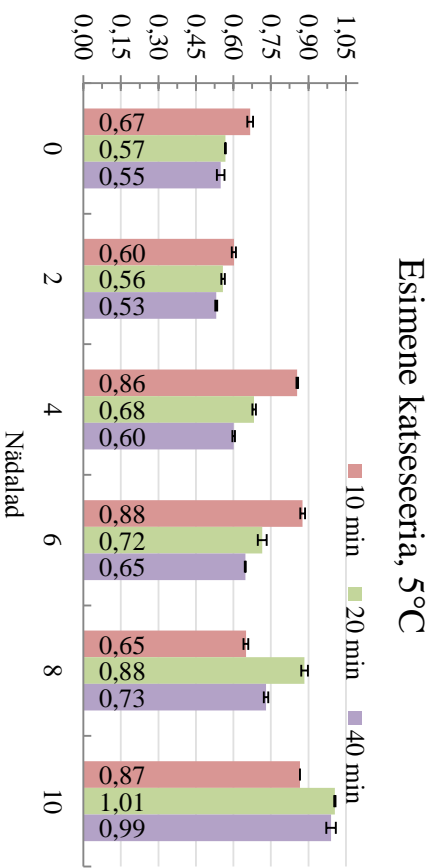
Rasvade happearv iseloomustab vabade rasvhapete sisaldust proovis. See on rasvade kvaliteedi näitaja, mille normväärtus on kuni 1,2 mmol 100 g rasva kohta (EL määrus nr 1272/2009). Nagu on näha joonisel 6, jäi esimese katseseeria kümme nädalat viie kraadi juures säilitatud võide happearv kogu säilitusaja kestel normide piiridesse ning oli vahemikus 0,53–1,01 mmol/100 g rasva kohta. Teise katseseeria viie kraadi juures säilitatud võidest jäi kogu säilitusaja jooksul normide piiresse vaid 20 min kuumutatud koorest valmistatud või (maksimaalne väärtus 0,93 mmol/100 g rasva kohta). Happearvule kehtestatud piiri ületas 10 min kuumutatud koorest valmistatud või kaheksandal nädalal (1,84 mmol/100 g rasva kohta) ning kümnendaks nädalaks tõusis „või 40“ happearv väärtuseni 5,36 mmol/100 g rasva kohta. Samas olid algsed vabade rasvhapete väärtused teise katseseeria 10 ja 20 min kuumutatud koortest valmistatud võidel madalamad kui I katseseeria vastavatel võidel. Kui esimese katseseeria korral olid kuni kuuenda säilitusnädalani lühemat aega kuumutatud koorest valmistatud võide vabade rasvhapete sisaldused oluliselt ($p < 0,05$) kõrgemad kui pikemat aega kuumutatud koorest valmistatud võidel, siis teise katseseeria korral olid tulemused vastupidised – mida lühem oli koore kuumutamise kestvus, seda madalam oli või happearv.

Üldiselt tõusis viie kraadi juures säilitatud võide vabade rasvhapete sisaldus säilitusperioodi jooksul (joonis 6). Esimese katseseeria kümne minuti jooksul kuumutatud koorest saadud või happearv tõusis hüppeliselt juba neljandal nädalal (0,86 mmol/100 g rasva kohta) ning see ei tõusnud oluliselt kõrgemaks säilitusperioodi lõpuks. Sellise, teistest võidest oluliselt varasema vabade rasvhapete sisalduse, tõusu võis põhjustada antud või kõrge niiskusesisaldus (joonis 5). Happearvu maksimaalne väärtus saavutati 20 ning 40 minutit kuumutatud koorest valmistatud võidel kümnendal nädalal (vastavalt 1,01 ja 0,99 mmol/100 g rasva kohta). Kuigi kõige madalamad vabade rasvhapete sisaldust registreeriti kõikidel võidel teisel nädalal (0,60, 0,56 ja 0,53 mmol/100 g rasva kohta), ei olnud see võrreldes algsega oluliselt ($p < 0,251$) erinev. Teise katseseeria korral saavutasid maksimaalse happearvu väärtuse 10 ja 20 minutit kuumutatud koorest valmistatud võid (vastavalt 1,84 ja 0,85 mmol/100 g rasva kohta) kaheksandal nädalal kuid „või 20“ korral

ei olnud happearvu sellele järgnev langus 10 nädalaks statistiliselt oluline ($p < 0,069$) väikese paralleelmõõtmiste arvu tõttu.

Sügavkülmas hoitud võide happearv jäi mõlema katseseeria korral kogu säilitusaja jooksul normide piiridesse, varieerudes piirides 0,46 kuni 0,67 mmol/100 g rasva kohta vahel ning kõige kõrgemad väärtused olid kõikidel võidel säilitamise alguses (joonis 6). Alates neljandast nädalast kuni säilitusaja lõpuni olulist muutust võide happearvudes ei täheldatud ($p < 0,410$). Samuti ei esinenud üldiselt olulisi erinevusi erineva kestvusega kuumutatud koortest valmistatud võide vahel. Võrreldes teise katseseeria võidega olid esimese katseseeria võide vabade rasvhapete sisaldused mõnevõrra suuremad.

Liis Tederi (2016) magistritöö, kus uuriti pidevtoimelise võimasinaga toodetud võide kvaliteedinäitajaid erinevate säilitustemperatuuride juures, tulemused mõnevõrra erinesid antud töö esimese katseseeria tulemustest ja erinesid märgatavalt teise katseseeria tulemustest. Antud töös uuritud võide algsed vabade rasvhapete sisaldused olid madalamad (I katseseeria: keskmiselt 0,59 mmol/100 g rasva kohta ja II katseseeria: 0,51 mmol/100 g rasva kohta) Tederi (2016) töö käigus saadud tulemustest (keskmiselt 77 mmol/100 g rasva kohta), kuid säilitamise käigus tulemused muutusid rohkem, kui Tederi (2016) töös. Kuigi valdavalt jäid ka viie kraadi juures säilitatud võide vabade rasvhapete sisaldused normide piiresse, siis teise katseseeria „või 10“ näitas tugevaid rasva hüdrolyüsi tunnuseid kaheksandal nädalal (1,84 mmol/100 g rasva kohta) ning „või 40“ kümnnendal nädalal (5,36 mmol/100 g rasva kohta). Antud töö ja Tederi (2016) tulemuste erinevust saab seletada erineva või tootmistehnoloogiaga. Sügavkülmas hoitud võide happearv (keskmiselt 50 mmol/100 g rasva kohta) jäi kogu säilitusaja vältel umbes 1,5 korda madalamaks kui Tederi (2016) töös (keskmiselt 74 mmol/100 g rasva kohta).



Joonis 6. Erineval temperatuuril säilitatud või keskmised happearvu väärtused (mmol/100 g rasva kohta). Tulpadele on lisatud veajooned (\pm standardhälbed)

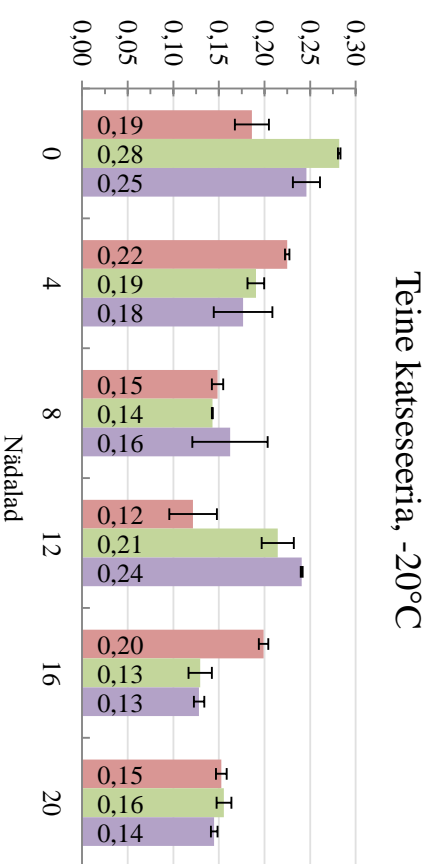
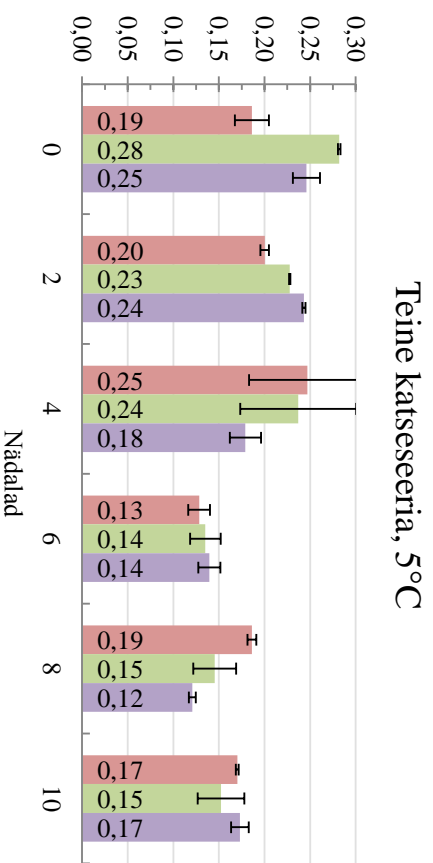
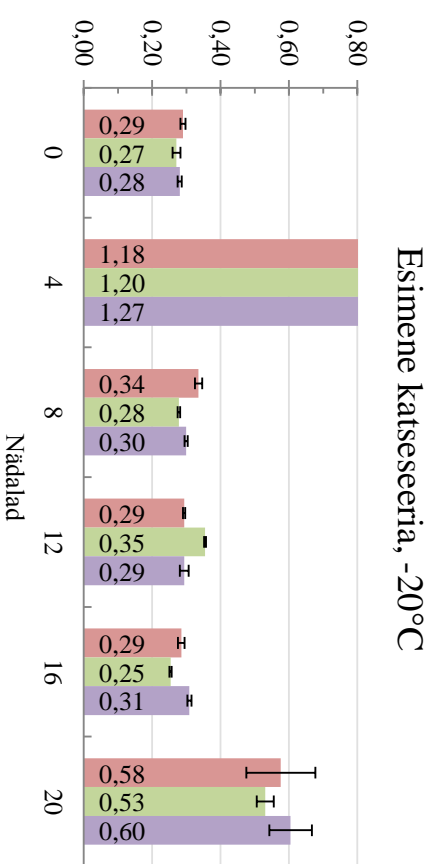
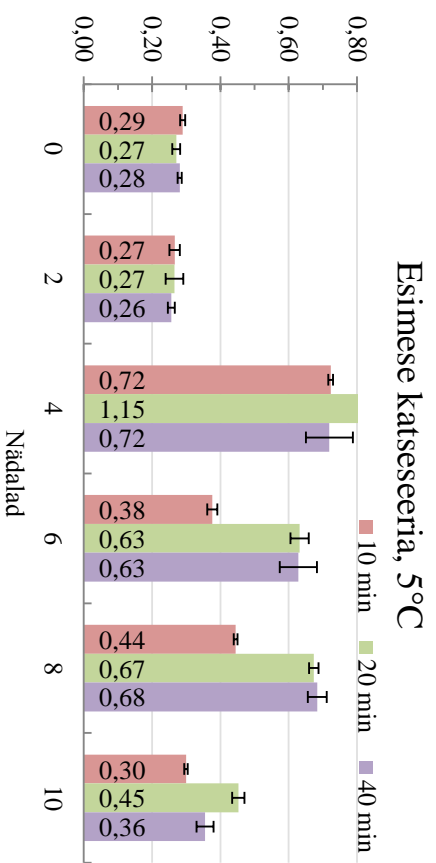
3.2.2. Peroksiidarv

Või peroksiidarv näitab oksüdeerumisprotsessi tagajärjel moodustunud peroksiidide hulka ja on samuti rasvade kvaliteedinäitaja. Selle normväärtus on kuni 0,3 meq (milliekvivalenti) hapnikku/1 kg rasva kohta (EL määrus nr 1272/2009). Esimese katseseeria või algne peroksiidaru näitaja (joonis 7) oli normide piiri lähedal (0,27–0,29 meq hapnikku/1 kg rasva kohta), sarnane tulemus oli ka teise katseseeria korral (0,19–0,28 meq hapnikku/1 kg rasva kohta). Kõrged peroksiidaru väärtused võisid tuleneda tootmistehnoloogiast, sest võrreldes pidevtoimelise võimasina kasutamisel olid peroksiidaru väärtused ligikaudu kümme korda madalamad (0,024 meq hapnikku/1 kg rasva kohta; Teder 2016).

Viie kraadi juures säilitamisel ületasid kõik esimese katseseeria võid peroksiidaruve kehtestatud piiri alates neljandast nädalast, mis olid võrreldes algsega oluliselt ($p < 0,04$) kõrgemad väärtused (joonis 7). Teise katseseeria võide peroksiidaru jäi kogu säilitusperioodi jooksul normi piiresse (maksimaalselt 0,28 meq hapnikku/1 kg rasva kohta). Oksüdatsioon oli kõige intensiivsem esimesel katseseerial neljandast kuni kaheksanda nädalani ning II katseseeria korral esimese nelja nädala jooksul. Kuumutamise kestvus ei avaldanud peroksiidaru väärtusele kindlasuunalist mõju.

Sügavkülmas säilitatud võide näitajad olid üldiselt normide piirides (joonis 7). Erandi moodustavad I katseseeria neljandal ja kahekümnendal nädalal saadud tulemused, mis olid oluliselt kõrgemad võrreldes kõigi teistega ($p < 0,016$). Neljanda nädala oluliselt kõrgemaid tulemusi ei osata objektiivselt põhjendada. Teisel katseseerial peroksiidaru väärtustes kindlat ajalast trendi ei leitud; üldiselt näitajad langesid säilitamisel.

Võrreldes Tederi (2016) töös saadud või näitajatega: maksimaalselt 0,05 meq hapnikku/1 kg rasva kohta (viie kraadi juures säilitamisel) ja saavutatud kuuendal nädalal; 0,04 meq hapnikku/1 kg rasva kohta (-20 °C juures säilitamisel), mis oli saavutatud 20. nädalal, siis antud töö väikseim peroksiidväärtuse näitaja on kaks korda suurem, kui Tederi (2016) töö suurim näitaja. Selliseid tulemusi saab arvatavasti seletada erineva toormaterjaliga ja töötlemisrežiimiga. Kui Tederi (2016) magistritöös olid 5 ja -20 °C juures säilitatud võide maksimaalsed peroksiidaru väärtused vastavalt 0,05 ja 0,04 meq hapnikku/1 kg rasva kohta, siis antud töös oli madalaim peroksiidaru väärtus üle kahe korra suurem (0,12 meq hapnikku/1 kg rasva kohta).



Joonis 7. Erineval temperatuuril säilitatud või peroksiidaru aritmeetilised keskmised väärtused (meg hapniku/ 1000 g võis). Tulpadele on lisatud veajooned (\pm standardhälbed)

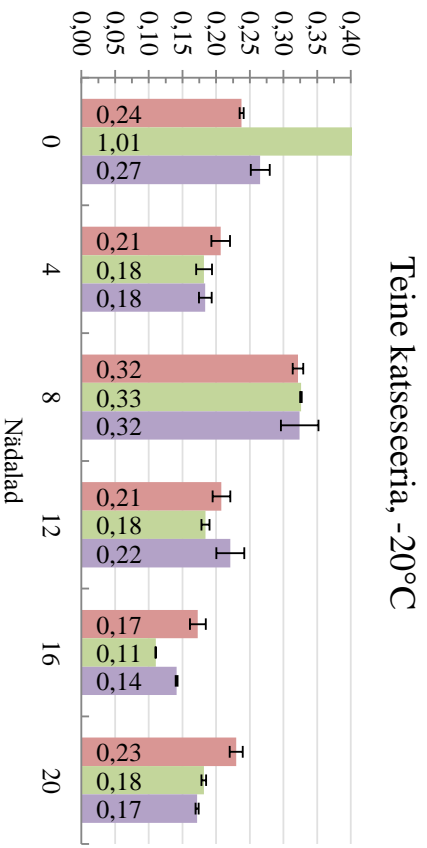
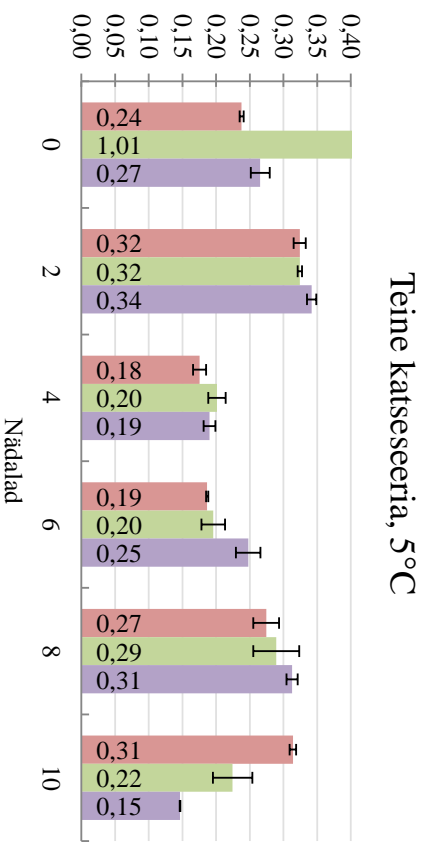
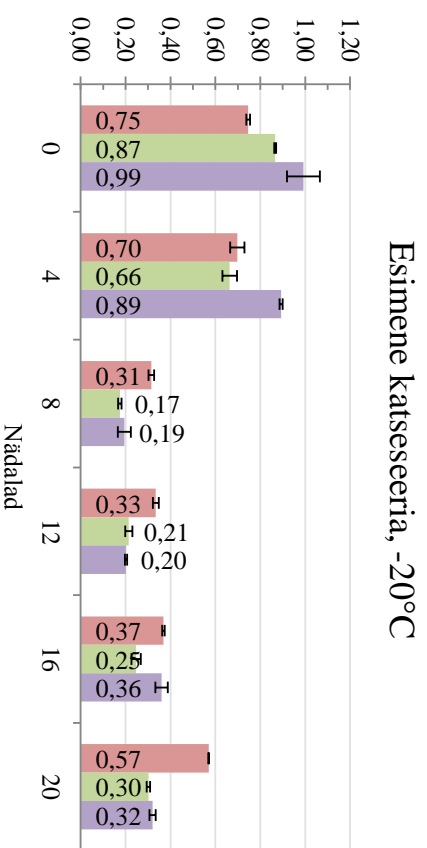
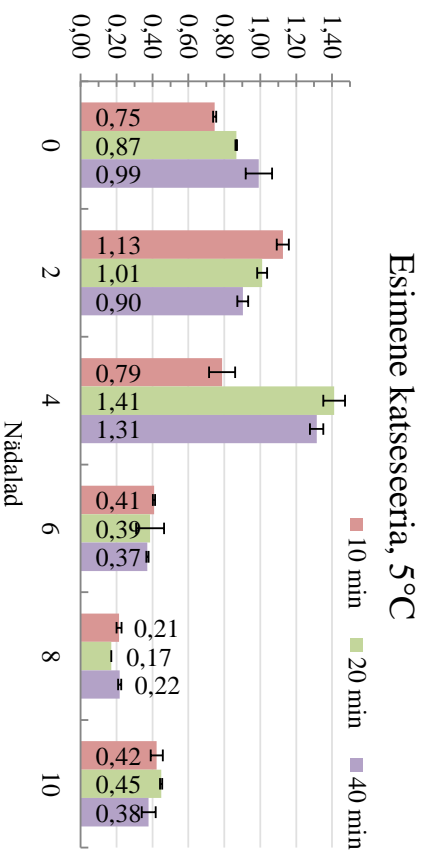
3.2.3. Tiolsete rühmade sisaldus

Kuigi tiolsete rühmad ise ei ole aroomi kandjad, on nad peamisteks lähtekomponentideks reaktsioonidele, mille käigus moodustuvad aroomi- ja maitseühendid. Tiolsete rühmad vabanevad koore kuumtöötlemisel peamiselt valkude denatureerumise tõttu.

Antud töös saadud tulemused (joonis 8) näitavad, et viie kraadi juures säilitatud I katseseeria võidel olid tiolsete rühmade sisaldus kõrgem esimesed neli nädalat, saavutades maksimumi neljandaks nädalaks „võil 20“ ja „võil 40“. Sellele järgnes oluline langus ($p < 0,022$) kuuendal nädalal ja antud väärtus püsis katse lõpuni. Teise katseseeria tulemused varieerusid vahemikus 0,15 ja 0,32 $\mu\text{mol/g}$. Erandiks oli „võil 20“ algne väärtus (1,01 $\mu\text{mol/g}$), mis oli teistest oluliselt ($p < 0,05$) kõrgem. Ülejäänud teise katseseeria võide tiolsete rühmade sisaldused olid esimese nelja nädala jooksul madalamad, kui esimesel katseseerial.

Esimese katseseeria sügavkülmas säilitatud võide tiolsete rühmade sisaldused (joonis 8) olid esimesed neli nädalat suuremad (0,66-0,99 $\mu\text{mol/g}$) kui järgneval katseperioodil (0,17-0,57 $\mu\text{mol/g}$). Sarnane tiolsete rühmade langus pärast neljandat nädalat registreeriti ka viie kraadi juures säilitatud võidel: kaheksandaks nädalaks langes see näitaja oluliselt ($p < 0,039$), saavutades maksimaalse väärtuse 0,31 $\mu\text{mol/g}$ „võil 10“. Antud tiolsete rühmade kontsentratsioon säilis neli nädalat, kuid hiljem hakkas aeglaselt kasvama. Teise katseseeria sügavkülmas säilitatud võide tiolsete rühmade kontsentratsioonid olid stabiilsemad (0,11–0,33 $\mu\text{mol/g}$) kogu v.a algne „võil 20“.

Suurem tiolsete rühmade osakaal loob eelduse intensiivsema maitse moodustumiseks (Tverdohleb *et al.* 1991). Samas ei õnnestud antud katses näidata, et pikem kuumutamisaeg tooks kaasa kõrgema tiolsete rühmade kontsentratsiooni. Kuigi algselt kaasnes koore pikema kuumutamisaajaga võis kõrgem tiolsete rühmade sisaldus (v.a II katseseeria „võil 20“), siis säilitamise kestel antud tendents ei säilinud. Selliseid tulemusi saab arvatavasti seletada tiolsete rühmade tiheda seosega redoksprotsessidega ja Maillardi reaktsiooni käigus tekkivate produktidega, mis võivad takistada tiolsete rühmade vabanemist.



Joonis 8. Erineval temperatuuril säilitatud või tooilsete rühmade kontsentratsiooni arimeetilised keskmised väärtused ($\mu\text{mol/g}$). Tulipadele on lisatud veajooned (\pm standardhälbed)

3.2.4. Sensorne hindamine

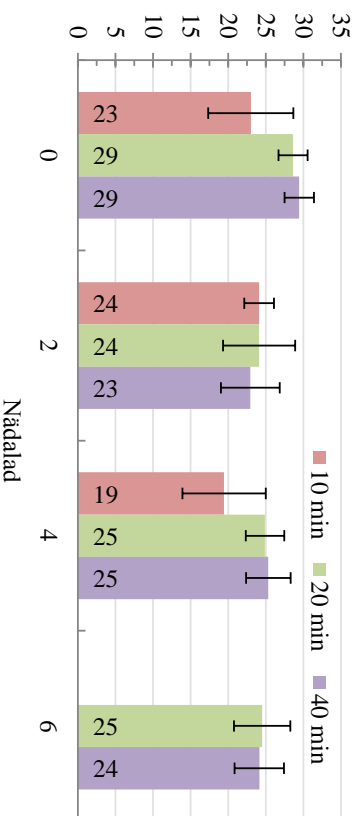
Sensorset hindamist kasutati kahel erineval temperatuuril säilitatud võide organoleptiliste näitajate ning koore kuumutamise kestvuse vaheliste seoste leidmiseks. Selleks hinnati iga katsepartii võisid vastavalt tabelis 6 esitatud katseplaanile lisas 2 toodud hindamisjuhendi järgi. Võidele antud summaarse hinnangu saamiseks summeeriti maitsele (max 10 punkti), lõhnale (max 10 punkti), konsistentsile ja välimusele (max 5 punkti), värvusele (max 2 punkti) ja spetsiifilise maitsele (max 5 punkti) antud hinded. Maksimaalselt võis või saada 32 punkti.

Viie kraadi juures säilitatud võide summaarne hinnang üldiselt ajas ei muutunud (joonis 9). Neljandaks nädalaks leidsid mõned assessorid, et „võil 10“ tekkis äratuntav rääsunud lõhn ja maitse ning andsid võile madalama hinnangu (19 punkti), mida saab arvatavasti seletada kõrge veesisaldusega, mis kiirendas riknemisprotsesse. Kuuendaks nädalaks oli sama või muutunud hindamiskõlbmatuks (hallitas). Neljandal nädalal leiti, et esimese katseseeria „võil 20“ oli kergelt rääsunud lõhn ja maitse, kuuendal nädalal oli sama partii „võil 40“ rääsunud ja metalliline maitse. Antud võid osutusid alatest kaheksandast nädalast hindamiskõlbmatuteks. Teise katseseeria viie kraadi juures säilitatud võisid oli võimalik hinnata ainult nelja nädala jooksul ja riknemistunnuseid oli tunda juba teisel nädalal, kuid neid peeti tühisteks. Teise katseseeria võid muutusid hindamiskõlbmatuks pärast neljandat nädalat.

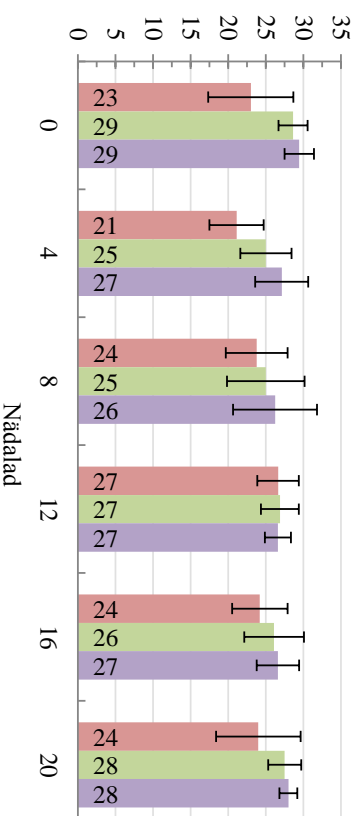
Sügavkülmas hoitud I katseseeria (joonis 9) võide summaarse hinnangu muutus säilitamise jooksul ei olnud oluline ($p > 0,05$). Esimese ja teise katseseeria vahel ei leitud olulist erinevust. Ka koore kuumutamise kestvus ei mõjutanud oluliselt sensorset hinnangut. Esimese katseseeria „võil 20“ ja „võil 40“ hinnati mõnevõrra kõrgemalt kui „võil 10“, mis võis olla põhjustatud „võil 10“ kõrgest veesisaldusest.

Sarnaselt summaarse hinnangule ei eristunud oluliselt ($p > 0,05$) spetsiifilisele maitsele antud hinded ei erineva kuumutamise kestvuse, katsepartii, säilitamistemperatuuri ega ka – kestvuse korral (joonis 10). Kuigi kuumutamiskestvuse mõju ei olnud oluline, oli eriti esimese katseseeria korral märgata tendentsi, et kauem kuumutatud koorest valmistatud võidel oli intensiivsem Vologda võile spetsiifiline maitse.

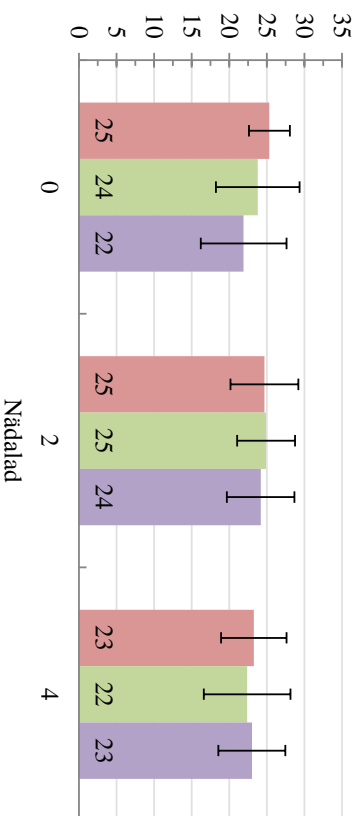
Esimene katseeria, 5 °C



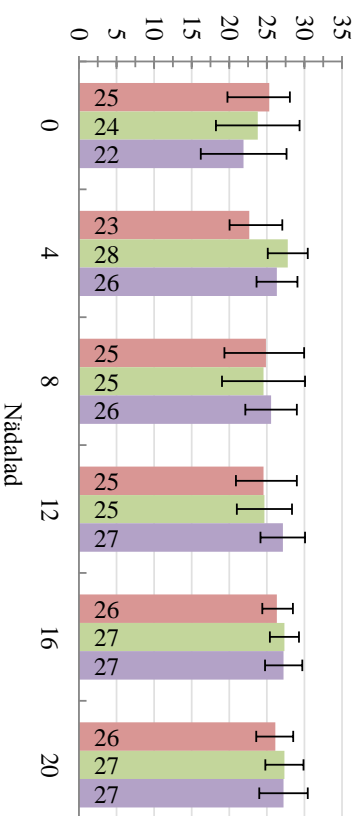
Esimene katseeria, -20 °C



Teine katseeria, 5 °C

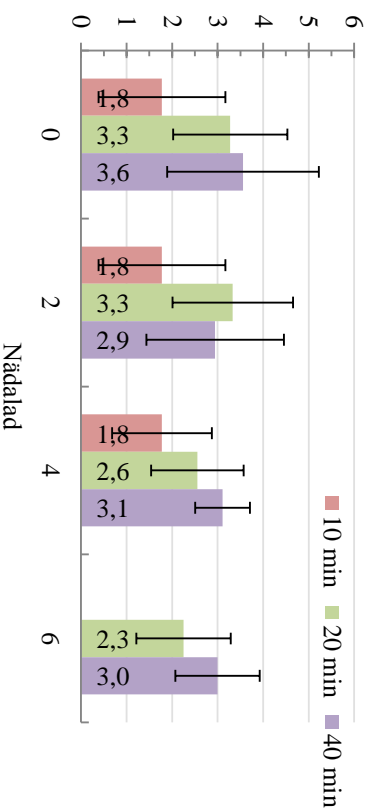


Teine katseeria, -20 °C

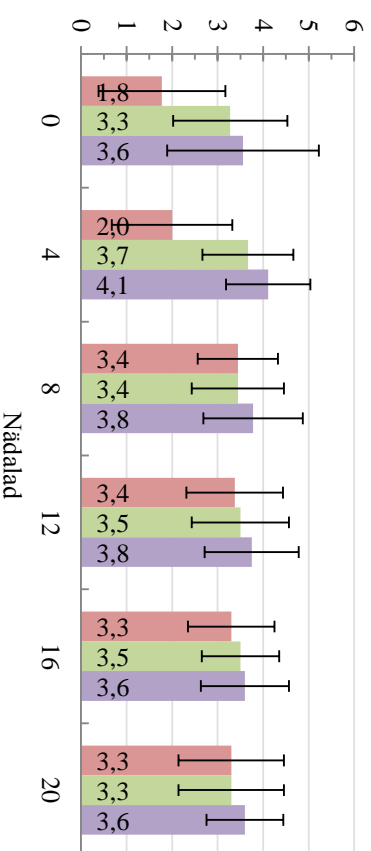


Joonis 9. Erineval temperatuuril säilitatud või organoleptilise summaarse hinnangu aritmeetilised keskmised väärtused (punktides). Tuljapdale on lisatud veajooned (\pm standardhälbed)

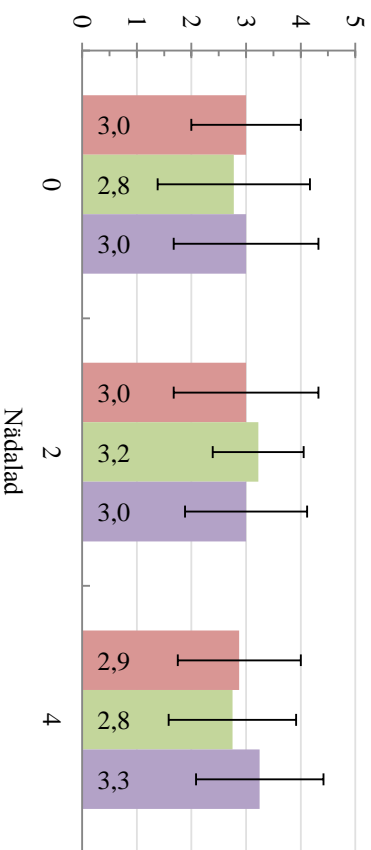
Esimene katseseeria, 5 °C



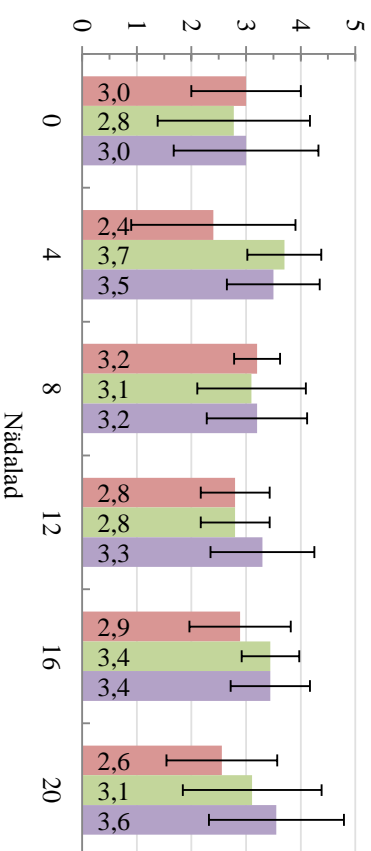
Esimene katseseeria, -20 °C



Teine katseseeria, 5 °C



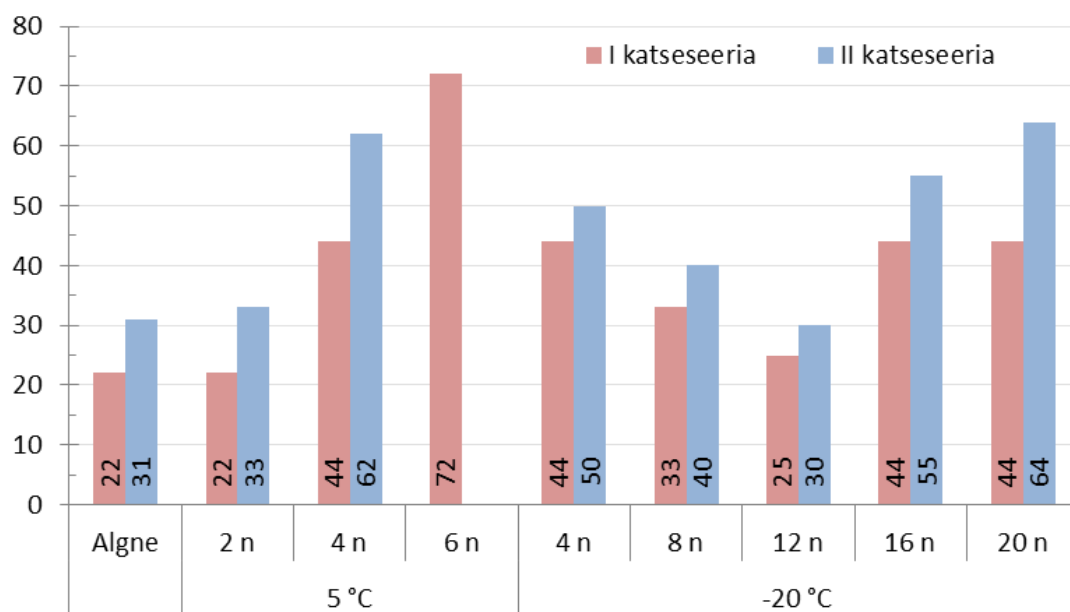
Teinekatseseeria, -20 °C



Joonis 10. Erineval temperatuuril säilitatud või Vologda võile spetsiifilise maitse hinnangu aritmeetilised keskmised väärtused (punktides).
Tulpadele on lisatud veajooned (\pm standardhälbed)

Kolmnurkkatset kasutatakse väikeste erinevuste tuvastamiseks proovide vahel (Tedersoo 2010). Antud töö raames kasutati kolmnurkkatset selleks, et selgitada kas assessorid suudavad eristada „või 20“ ja „või 40“ üksteistest.

Keskmisel suutsid assessorid eristada ainult 43% kõikidest võrreldud võidest. Algsetest 20 ja 40 minutit kuumutatud koortest valmistatud võidest suutsid esimese partii korral eristada 22% assessoritest ja teise partii korral 31% assessoritest (joonis 11). Viie kraadi juures säilitatud võide eristumine suurenes aja jooksul (vastavalt esimene partii kuues nädal 72%, ja teise partii neljas nädal 62%). Kogu säilitamisperioodi kestel eristusid sügavkülmas säilitatud võidest teise partii võid (keskmiselt 48%) mõnevõrra paremini, kui esimese partii omad (38%). Kolmnurkkatse tulemustest võib järeldada, mida kauem võid säilitatakse, seda parem on tunda erinevust erinevatel temperatuuridel kuumutatud koorest saadud võide vahel. Eristumise protsent oli üldjuhul alla 50%, mille järgi ei saa kindlalt väita, et kuumutamise pikenedes kaasnes äratuntav maitse erinevus. See, et kauem säilinud võidel oli eristuvus suurem võis tuleneda sellest, et assessorid eristasid võid mitte spetsiifilise maitse vaid paremini väljendunud rikkemistunnuste alusel. Antud tulemust kinnitavad ka olulised erinevused viie kraadi juures säilitatud „võil 20“ ja „võil 40“ happearvu väärtustes (joonis 6).



Joonis 11. Kolmnurkkatset erinevatel säilitusnädalatel (n) erinevusi tuvastanud assessorite osakaal (%)

3.2.5. Korrelatiivsed seosed või keemiliste ja organoleptiliste näitajate vahel

Keemilistest näitajatest korreleerusid omavahel kõige tugevamini tiolsete rühmade sisaldus ja peroksiidarv ($r=0,457$; $p<0,001$; tabel 8). Tugev positiivne seos ($r>0,95$; $p<0,001$) oli ka põhiliste organoleptiliste näitajate (maitse, lõhn, spetsiifiline maitse) vahel.

Peroksiidaru seos organoleptiliste näitajatega oli nõrk ($r<0,08$; $p>0,5$; tabel 8). Kuigi esimese katseseeria peroksiidaru tulemused olid piinormi lähedased või ületasid seda, siis antud tulemus ei kajastanud sensorsetes hinnetes (assessorid ei suutnud eristada oksüdatsiooniprotsessist tulenevaid maitsevigasid). Kõrgema vabade rasvhapete arvuga võis kaasnesid oluliselt ($p<0,01$) madalamad organoleptiliste näitajate hinded ($-0,357\leq r\leq -0,360$). Antud tulemust kinnitas see, et assessorid eristasid paremini neid võisid, mille happearvu väärtuste erinevus oli suurem (joonis 6, joonis 10). Võid, mis sisaldasid rohkem tiolseid rühmasid said kõrgemaid organoleptilisi hindeid (tabel 8). Tioolsete rühmade sisalduse korrelatsioon või spetsiifilise maitse hinnanguga oli mõnevõrra nõrgem ($r=0,249$; $p=0,026$) kui maitse üldhinnanguga ($r=0,306$; $p=0,006$).

Tabel 8. Korrelatsioonikordajad või keemiliste ja organoleptiliste näitajate vahel

	Peroksiidarv	Happearv	Tioolsete rühmade kontsentratsioon	Maitse	Lõhn
Happearv	-0,071				
Tioolsete rühmade kontsentratsioon	0,457***	-0,110			
Maitse	0,069	-0,360**	0,306**		
Lõhn	0,062	-0,359**	0,291**	0,990***	
Spetsiifiline maitse	0,073	-0,357**	0,249*	0,961***	0,953***

* $p<0,05$; ** $p<0,01$; *** $p<0,001$

4. KOKKUVÕTE

Piima kuumtöötlemist viiakse üldiselt läbi patogeense mikrofloora hävitamiseks, kuid töötlemisega kaasnevad erinevad muutused, mille ulatus sõltub kuumutamise režiimist (temperatuur, kestvus). Kuumutamisega kaasneva vadakuvalkude denaturatsiooniga ja tiolsete rühmade vabastamisega omandab piim spetsiifilise maitse. Seega on koore kuumutamine üheks võimaluseks kasutada organoleptiliste omaduste loomiseks loomulike protsesse. Venemaal on välja töötatud spetsiifilise „pähklike“ maitsega Vologda või tehnoloogia. Selle või erilised organoleptilised omadused tekivad koore pika kestvusajaga ja kõrgema temperatuuriga pastöriseerimisel.

Antud magistritöö eesmärk on uurida erineva kestvusega kuumutatud koore kokkulöömisel saadud või kvaliteedinäitajaid kindla ajaperioodi jooksul kahel erineval säilitusrežiimil ja leida seoseid kuumutamiskestvuse ning organoleptiliste näitajate vahel. Lisaks püstitati eesmärgiks leida ja kohandada EMÜ laborite tingimustele sobiv meetod tiolsete rühmade määramiseks.

- 1) Värskest valmistatud võide happearvud olid esimese katseseeria korral vahemikus 0,55-0,67 mmol/100 g rasva kohta ning teise katseseeria korral 0,48-0,57. Viie kraadi juures säilitatud võide happearv jäi kogu säilitusaja kestel normide piiri v.a „või 10“ kaheksandal nädalal (1,84 mmol/100 g rasva kohta) ja „või 40“ kümndandal nädalal (5,36 mmol/100 g rasva kohta).
 - a. Üldiselt tõusis viie kraadi juures säilitatud võide vabade rasvhapete sisaldus säilitusperioodi jooksul, kuid sügavkülmas hoitud võide happearv jäi mõlema katseseeria korral kogu säilitusaja jooksul algsele tasemele.
 - b. Koore kuumutamise kestvus ei avaldanud või vabade rasvhapete sisaldusele kindlasuunalist mõju. Esimese katseseeria korral olid kuni kuuenda säilitusnädalani lühemat aega kuumutatud koorest valmistatud võide vabade rasvhapete sisaldused oluliselt ($p < 0,05$) kõrgemad kui pikemat aega kuumutatud koorest valmistatud võidel, kuid teise katseseeria korral olid tulemused vastupidised – mida lühem oli koore kuumutamise kestvus, seda madalam oli või happearv.

- 2) Väi algne peroksiidarv oli normide piiri lähedal (0,19–0,29 meq hapnikku/1 kg rasva kohta). Suhteliselt kõrged peroksiidaru väärtused võisid tuleneda tootmistehnoloogiast. Võrreldes pidevtoimelise võimasina kasutamisega (0,024 meq hapnikku/1 kg rasva kohta) olid käesolevas töös mõõdetud peroksiidaru väärtused ligikaudu kümme korda kõrgemad.
 - a. Koore kuumutamise kestvus ega väi säilitamistemperatuur ei avaldanud väi peroksiidaru väärtusele kindlasuunalist mõju.
 - b. Säilitamise jooksul kindlasuunalist ajalist trendi väi peroksiidaru väärtuses ei leitud.
- 3) Värskest valmistatud väi tiolsete rühmade kontsentratsioon esimese katseseeria proovides oli vahemikus 0,75–0,99 $\mu\text{mol/g}$. Teise katseseeria korral oli see üle kolme korra väiksem v.a „väi 20“ algne väärtus (1,01 $\mu\text{mol/g}$).
 - a. Antud magistritöö raames ei leidnud kinnitust, et pikem kuumutamisaeg tooks kaasa kõrgema tiolsete rühmade kontsentratsiooni.
 - b. Kuigi algselt kaasnes koore pikema kuumutamisaajaga kõrgem tiolsete rühmade sisaldus väi (v.a II katseseeria „väi 20“), siis säilitamise kestel antud tendents ei säilinud. Selle põhjuseks väi olla tiolsete rühmade tihe seos redoksprotsessidega ja Maillardi reaktsiooni käigus tekkivate produktidega, mis väivad takistada tiolsete rühmade vabanemist.
- 4) Sensorisel hindamisel saadud väi summarset hinnangut ei mõjutanud koore kuumutamise kestvus, säilitamise temperatuur ega säilitamise kestvus.
 - a. Vologda väile spetsiifilisele maitsele antud hinded ei eristunud oluliselt ($p > 0,05$) erineva kuumutamise kestvuse, katsepartii, säilitamistemperatuuri ega ka –kestvuse korral, kuigi eriti esimese katseseeria korral oli märgata tendentsi, et kauem kuumutatud koorest valmistatud väidel oli spetsiifiline maitse intensiivsem.
 - b. Assessorid suutsid eristada keskmiselt ainult 43% kõikidest 20 ja 40 minutit kuumutatud koortest valmistatud võrreldud väidest. Mida kauem väid säilitati, seda paremini oli tunda erinevust erinevatel temperatuuridel kuumutatud koorest saadud väide vahel.
 - c. Kuna eristumise protsent oli üldjuhul alla 50%, ei saa kindlalt väita, et kuumutamise pikenedamisega kaasnes äratuntav maitse erinevus.
- 5) Peroksiidaru seos organoleptiliste näitajatega oli nõrk ($r < 0,08$; $p > 0,5$) ja assessorid ei suutnud eristada oksüdatsiooniprotsessist tulenevaid maitsevigasid.

- 6) Kõrgema vabade rasvhapete arvuga võis kaasnesid oluliselt ($p < 0,01$) madalamad organoleptiliste näitajate hinded ja assessorid eristasid paremini neid võisid, mille happearvu väärtuste erinevus oli suurem.
- 7) Võid, mis sisaldasid rohkem tiolseid rühmasid, said kõrgemaid organoleptilisi hindeid. Tioolsete rühmade sisalduse korrelatsioon või spetsiifilise maitse hinnanguga oli mõnevõrra nõrgem kui maitse üldhinnanguga.
- 8) Sobiv viis tiolsete rühmade määramiseks on kasutada Ellman'i reagenti ja katsematerjaliks võiplasmat ning tekkinud kompleksi spektromeetrilist mõõtmist.
- 9) Vologda või valmistamisel ei ole majanduslikult otstarbekas kuumutada koort üle 20 minuti, kuna kuumutamiskestvus ei mõjutanud organoleptilisi ega kvaliteedi näitajaid.

KASUTATUD KIRJANDUS

1. **Arsenjeva 2013** = Т. П. Арсеньева. Технология сливочного масла: Учеб. пособие. – Санкт Петербург: НИУ ИТМО; ИХиБТ, 2013. – 303 с.
2. **Avatud registrid, 2017** = Открытые реестры. Наименование мест происхождения товаров России. <https://tinyurl.com/j7uvwo8> (02.02.2017)
3. **Brosnan, J. T, Brosnan, M. E.** (2006). 5th Amino Acid Assessment Workshop. – *The Journal of Nutrition*. Vol. 136. No. 6. pp. 16365–16405.
4. **Chebotarjov 1970.** = А. И. Чеботарёв. Изыскание объективных методов определения степени выраженности специфического вкуса вологодского масла. Труды Вологодского молочного института. Технологический факультет. Вып. 60. Вологда. с 56–63. www.booksite.ru/butter/article25.htm. (13.04.2016)
5. **Dias B, Weimer B.** (1998). Conversion of methionine to thiols by lactococci, lactobacilli, and brevibacteria. – *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 64. No. 9. pp. 3320–3326.
6. Eesti jõudluskontrolli aastaraamat 2016 (2017). Eesti Põllumajandusloomade Jõudluskontrolli AS. 52 lk https://www.jkkeskus.ee/assets/tekstid/aastaraamatud/aastaraamat_2016.pdf (18.04.2017)
7. Eesti Põllumajandus-Kaubanduskoja piimaturu ülevaade (2016). Eesti Põllumajandus-Kaubanduskoda. 10 lk. <http://epkk.ee/wp-content/uploads/2016/03/Piimaturg-I-kv-16.pdf> (15.05.2017)
8. EL määrus nr 1272/2009. Komisjoni määrus (EÜ) nr 1272/2009, 11. detsember 2009, millega kehtestatakse nõukogu määruse (EÜ) nr 1234/2007 ühised üksikasjalikud rakenduseeskirjad seoses põllumajandustoodete kokkuostu ja müügiga riikliku sekkumise puhul. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2009:349:0001:0068:ET:PDF> (07.04.2017)
9. EL määrus nr 1308/2013. Euroopa parlamendi ja nõukogu määrus (EL) nr 1308/2013, 17. detsember 2013, millega kehtestatakse põllumajandustoodete ühine turukorraldus ning millega tunnistatakse kehtetuks nõukogu määrused (EMÜ) nr 922/72, (EMÜ) nr 234/79, (EÜ) nr 1037/2001 ja (EÜ) nr 1234/2007. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2013:347:0671:0854:ET:PDF> (16.05.2017)
10. EVS-EN ISO 660:2009. Animal and vegetable fats and oils - Determination of acid value and acidity.
11. EVS-ISO 2446:2011. Piim – Rasvasisalduse määramine.

12. EÜ määrus nr 2073/2005. Komisjoni määrus (EÜ) nr 2073/2005, 15. november 2005, toiduainete mikrobioloogiliste kriteeriumide kohta. <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/ET/TXT/PDF/?uri=CELEX:02005R2073-20170101&qid=1491678015824&from=ET> (07.04.2017)
13. EÜ määrus nr 853/2004. Euroopa parlamendi ja nõukogu määrus (EÜ) nr 853/2004, 29. aprill 2004, millega sätestatakse loomset päritolu toidu hügieeni erireeglid. <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/ET/TXT/PDF/?uri=CELEX:02004R0853-20160401&qid=1495202197154&from=ET> (07.04.2017).
14. **Gorbatova 2004** = К. К. Горбатова. Химия и физика молока. Учебник для вузов. Санкт-Петербург . Издательство «ГИОРД». 2004 – 288 с.
15. **Gorbatova, Gunkova 2012** = Горбатова, К. К., Гунькова, П. И. Физика и химия молока и молочных продуктов. Санкт Петербург. Издательство «ГИОРД». 2012 – 336 с.
16. GOST 37–91 = ГОСТ 37–91. Масло коровье. Технические условия. Москва. <http://vsegost.com/Catalog/28/2821.shtml> (21.11.2015)
17. GOST R 52054–2003 = ГОСТ Р 52054-2003. Молоко натуральное коровье–сырье. Технические условия. Москва. <http://vsegost.com/Catalog/58/5869.shtml> (20.11.2015)
18. GOST R 53435–2009 = ГОСТ Р 52054-2003. Сливки–сырьё. Технические условия. Москва. <http://vsegost.com/Catalog/48/48665.shtml> (20.11.2015)
19. **Guingamp, M-F., Humbert, G., Linden, G.** (1993). Determinación de Sulfidrilos. – *Journal of Dairy Science*. Vol. 76, No. 8, pp. 2152–2155.
20. **Hodge J. E.** (1953). Chemistry of Browning Reactions in Model Systems. – *Agricultural and Food Chemistry*. Vol 1. No. 15, pp 928–943.
21. **Hutton, J.T., Patton, S.** (1952). The Origin of Sulfhydryl Groups in Milk Proteins and their Contributions to “Cooked” Flavor. – *Journal of Dairy Science*. Vol. 35, No. 8, pp. 699–705.
22. Instruction Ellman’s Reagent
https://tools.thermofisher.com/content/sfs/manuals/MAN0011216_Ellmans_Reag_UG.pdf
(12.04.2016)
23. ISO 3976:2006/IDF 74:2006. Milk fat - Determination of peroxide value.
24. ISO 6731:2010. Milk, cream and evaporated milk -- Determination of total solids content (Reference method).
25. ISO 8968-1:2014. Milk and milk products -- Determination of nitrogen content -- Part 1: Kjeldahl principle and crude protein calculation.
26. **Kaart, T.** Õpiobjekt. Andmeanalüüs MS Excelis (MS Excel 2010 baasil). Eesti Maaülikool. http://ph.emu.ee/~ktanel/andmeanalyys_excelis/pt61.php (10.04.2017)
27. Kern DBS. (2013). Operating instructions Electronic Moisture Analyser. KERN & Sohn GmbH. 91 pp.

28. **Kolthoff, J. M., Harris, W. E.** (1946). Amperometric Titration of Mercaptans with Silver Nitrate Using the Rotating Platinum Electrode. – *Industrial & Engineering Chemistry Analytical Edition*. Vol. 18. No. 3, pp. 161–162.
29. **Lepman, E.** (2014) Kestevpastöriseeritud („hautatud“) rõõsa ja hapendatud piima tootmistehnoloogia täpsustamine ja toote koostise ning organoleptiliste ja mikrobioloogiliste omaduste uurimine. (Bakalaureusetöö). Eesti Maaülikooli veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut. Tartu. 64 lk.
30. **Linden, G., Kouomegne, R., Guingamp M-F., Humbert, G.** (1987). Reagent for rendering biological fluids transparent and its analytical applications. European patent application EP 0246978 B1. <https://patents.google.com/patent/EP0246978B1/en> (28.03.2016)
31. **Mandel, A.** (2001). Võitehnoloogia. – Piimanduse käsiraamat. /Koost. Olkonen, A. Tartu: EMPÜ Loomakasvatusinstituut lk 374-411.
32. **Nursten, H.** (2011). Maillard Reaction. – *Encyclopedia of Dairy Sciences*. /John W, Fuquay, Patrick F. Fox, Paul L. H. McSweeney. Second Edition. San Diego: Academic Press, pp. 217–235.
33. Pierce Biotechnology, Inc. = ©Pierce Biotechnology, Inc 7/2004. USA. <https://www.researchgate.net/file.PostFileLoader.html?id=557ad0606143259d318b45ea&assetKey=AS%3A273794873135104%401442289192286> (07.12.2016)
34. **Poikalainen, V.** (2004). Võitehnoloogia. Tartu: Halo. 183 lk.
35. PõM määrus nr 79 = Toorpiima kvaliteediklasside nõuded, toorpiima koostisosade ja kvaliteedi määramise meetodid ja kord ning toorpiima koostisosade ja kvaliteedi näitajate analüüsamiseks volitatud laboratooriumile esitatavad nõuded. (vastu võetud 30.07.2008, jõustunud 08.08.2008).– *Riigi Teataja* <https://www.riigiteataja.ee/akt/129082015048> (07.12.2016)
36. RU 27, 96716041 = Российская Федерация. Федеральная служба по интеллектуальной собственности, патентам и товарным знакам. Номер гос. регистрации: 27, номер заявки: 96716041. http://www1.fips.ru/fips_servl/fips_servlet?DB=RUGP&DocNumber=27&TypeFile=html (02.02.2017)
37. **Saitov 2001** = 3. Сайтов, С.В.Телешов, Б.Харитонцев, секция «Юный химик» РХО им Д.И. Менделеева (г. Тобольск). <http://him.1september.ru/article.php?ID=200104005> (05.04.2017)
38. **Samara, A., Zotou, A., Tzanavaras, P.** (2016). Use of a Core-Shell Column for the Development of a Green LC Method for Thiol Determination in Fresh Fruits Following Derivatization with Methyl Propiolate. – *Food Analytical Methods*. Vol. 9, No. 3, pp. 680–690.

39. SanPiN 2.3.2.1078–01 = САНИТАРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРАВИЛА И НОРМАТИВЫ. СанПиН 2.3.2.1078-01. Москва
<https://gosstandart.info/data/documents/sanpin2.3.2.1078-01.doc> (06.12.2016)
40. **Stepanova 2003** = Л. И. Степанова. Справочник технолога молочного производство. Технология и рецептуры. Том 2. Масло коровье и комбинированное. Санкт-Петербург. Издательство «ГИОРД». 2003. – 336 с.
41. **Teder, L.** (2016). Soolatud ja soolamata rõõsakoorevõi kvaliteedi hindamine erinevate säilitusrežiimide korral. (Magistritöö). Eesti Maaülikooli veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut. Tartu. 53 lk.
42. **Tedersoo, E.** (2010). Toidu sensoorne analüüs II. Tallinn. TTÜ kirjastus. 88 lk.
43. TU 9221-001-54002969-2009 = ТУ 9221-001-54002969-2009
<http://docs.cntd.ru/document/415924414> (02.02.2017)
44. **Tverdohleb 1991** = Г. В. Твердохлеб, З. Х. Диланян, Л. В. Чекулаева, Г. Г. Шилер. Технология молока и молочных продуктов. Москва. Издательство «Агропромиздат». 1991 – 463 с.
45. **Tverdoleb 2002** = Г. В. Твердохлеб, В. О. Шемякин, Г. Ю. Сажин, П. В. Никифоров. Вологодское Маслоделие: История развития. Санкт-Петербург. Издательство «Монография». 2002 – 245 с.
46. Tööstusliku Omandi Föderaalne Instituut = Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный институт промышленной собственности».
http://www1.fips.ru/wps/wcm/connect/content_ru/ru (02.02.2017)
47. **Van Boekel, M. A. J. S.** (1998). Effect of heating on Maillard reaction in milk. – *Food Chemistry*. Vol. 62. No. 4, pp. 403–414.
48. **Vishnjakov 1961.** = П. М. Вишняков. Вологодское масло. Вологодское Книжное издательство. <http://www.booksite.ru/butter/maslo/index.htm> (18.11.2015).
49. **Walker, E.** (1925). A Colour Reaction for Disulphides. – *Biochemical Journal*. Vol 19. No. 6, pp. 1923–1925.
50. **Walstra, P, Jan T. M. Wouters., T. J. Geurts.** (2006). Dairy Science and Technology: Second Edition. Boca Raton: Taylor & Francis Group. 763 pp.

EFFECT OF HEAT TREATMENT OF SWEET CREAM ON BUTTER PROPERTIES DURING STORAGE

Summary

Milk is heat-treated to destroy pathogenic microbiota, but various changes also take place during this treatment. The extent of the changes depends on the duration and the temperature of the heat treatment. Milk acquires specific flavours during denaturation of whey proteins and the release of thiolic groups. This is one of the ways of using natural processes to develop organoleptic properties in cream. Technology for a specific type of butter with a 'nutty' flavour– Vologda butter– has been developed in Russia. Butter's distinctive organoleptic properties are formed during prolonged heat treatment of cream at high temperatures.

The aim of this Master Thesis was to study the butter, obtained by churning sweet cream heat-treated for different durations, at specific periods of time at two different storage temperatures, and to find a link between heating duration and organoleptic properties. In addition, the objective was set to find and adjust thiolic group determination method for the laboratories of Eesti Maaülikool (EMÜ), the Estonian University of Life Sciences.

- 1) Initial acid values of butter were in the range of 0,55-0,67 mmol/100 g of fat during the first series and in the range of 0,48-0,57 mmol/100 g of fat during the second series. Butter stored at five degrees Celsius remained within the norms during storage with the exception of „butter 10“ in the eighth week (1,84 mmol/100 g of fat) and „butter 40“ in the tenth week (5,36 mmol/100 g of fat).
 - a. The free fatty acid content of butter stored at five degrees increased during storage, but the free fatty acid content of the butter stored at minus degrees (Celsius) remained at the initial level for both series.
 - b. Cream heating had no specific effect on free fatty acid contents. The free fatty acid content of butter obtained from less heated cream (duration), was significantly ($p < 0,05$) higher during the first series than obtained from the longer heated cream, up until the sixth week, and *vice versa* for the second series results– the less cream was heated the lower was the acid value.

- 2) Butter initial peroxide value was close to norms (0,19–0,29 meq of oxygen/1 kg of fat). High peroxide values could result from the production technology used, because comparing to results, which were obtained from using of a continuous butter churning device peroxide, values were ten times lower (0,024 meq of oxygen/1 kg of fat).
 - a. Neither duration of cream heating nor storage temperature had a significant effect on peroxide number value.
 - b. During storage no identified time tendency in peroxide number value was found.
- 3) Initial butter thiolic group concentration results were 0,75–0,99 $\mu\text{mol/g}$ for the first series. In the case of the second series results, concentration was three times lower, except for the initial value of „butter 20“ (1,01 $\mu\text{mol/g}$).
 - a. Indication of whether a longer heating duration increases thiolic group concentration was not found in the current work.
 - b. Although initial results for longer heated cream butter were accompanied by higher thiolic group concentrations (excluding the II series „butter 20“) this tendency did not continue during storage. These results could be explained by the close relationship between thiolic group and redox processes, and products formed during the Maillard reaction, which could have prevent the release of the thiolic groups.
- 4) Total butter sensory evaluation score had no influence on either cream heating duration, storage temperature or storage duration.
 - a. Scores given for the Vologda butter specific flavour did not differ significantly ($p>0,05$), either for different heating duration, series, storage temperature or duration. However, a tendency for more intense butter specific flavour following longer heating duration was observed during the first series.
 - b. On average, assessors could distinguish butters obtained from the 20 and 40 minutes heated creams only in 43% of cases.
 - c. The longer the butter was stored, the better it was to distinguish differences between butter obtained from cream with different heating durations.
 - d. Since the percentage of distinguishing butters was less than 50% of cases, it is not possible to tell for certain that an increase in heating duration is accompanied by a distinctive flavour difference.

- 5) The peroxide number value link with organoleptic indicators was weak ($r < 0,08$; $p > 0,5$) and assessors could not distinguish oxidation flaws in flavour.
- 6) A higher free fatty acid value in butter was accompanied by significantly ($p < 0,01$) lower organoleptic indicator score, and assessors could better distinguish those butters which had a higher difference in acid number values.
- 7) Butter that contained a higher concentration of thiolic groups were given a higher organoleptic score. The correlation between butter specific flavour score and thiolic group concentration was somewhat higher than between overall flavour score.
- 8) A suitable method for the determination of thiolic groups is to use Ellman's reagent on butter plasma and spectrometric measurement of the resulting complex.
- 9) While producing Vologda butter it is not economically efficient to heat cream for more than 20 minutes, since heating duration had no influence either on organoleptic or quality indicators.

LISAD

Lisa 1. Tioolsete rühmade määramismetoodika

Tioolsete rühmade määramine Ellman'i reagentiga

(Guingamp et al, 1993, 1999; Pierce Biotechnology, 7/2004)

Põhimõte: Ellman'i reagent (5,5'-ditio-bis-(2-nitrobensoehape); DTNB) moodustab tioolsete rühmadega kollase värvusega ühendi, mida on võimalik spektromeetriliselt mõõta.

Reagendid:

1. EDTA (2,2',2'',2'''-(etaan-1,2-diüüldinitriilo)tetraäädikhape; etüleenediamiin-tetraäädikhape) 0,2 M lahus, pH 6 \Rightarrow 25 mL-s lahustada 1,88 g EDTA; pH sätitakse 0,1 M NaOH-ga
2. Boraatpuhverlahus 0,03 M, pH 8,5 \Rightarrow 250 mL-s vees lahustada 2,86 g naatrium-tetraboraati ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$); pH sätitakse 1 M boorhappega (0,6 g boorhapet 10 mL-s vees)
3. Uurea (NH_2CONH_2) 8 M lahus boraatpuhveris pH 8,5 \Rightarrow 24 g ureat lahustada boraatpuhveris (2) kuni ruumalani 50 mL; pH sätitakse 1 M boorhappega
4. Ellman'i reagent \Rightarrow lahustada 20 mg DTNB 5 mL-s EDTA lahuses (1)
5. Clarifying reagent \Rightarrow 3osa 1:1 v/v n-butanoon ja Triton X-100 ning 1osa 1% SDS (naatriumdodetsüülsulfaat) 0,1 M NaOH-s \Rightarrow 25 mL 0,1 M NaOH-s lahustada 0,25 g SDS; lisada 75 mL 1:1 v/v n-butanoon ja Triton X-100 segu
6. Tsüsteiini standardid valmistada vastavalt alljärgnevale tabelile: kasutades tsüsteiini vesinikloriidi monohüdraati ja boraatpuhverit (2), mis sisaldab 1 mM EDTA (200 mL puhverlahuses lahustada 0,074 g EDTA) pH 8 (pH sätitakse 0,1 M NaOH-ga)

Standard	Puhverlahuse ruumala, mL	Tsüsteiini kogus	Kontsentratsioon mM
A	100	26,34 mg	1,50
5	1	5 mL standard A	1,25
4	2	4 mL standard A	1,00
3	3	3 mL standard A	0,75
2	4	2 mL standard A	0,50
1	5	1 mL standard A	0,25
0	6	0 mL	0

Töö käik:

Proovide ja kalibreerimisstandardite ning 0 proovi mõõtmiseks segada 10 mL korgiga katseklaasis:

- 0,5 mL proovi (vajadusel lahjendada veega 1:1) või standardlahust
- 1 mL urea lahust (3)
- 50 µL Ellman'i reagentilahust (4)

Loksutada ettevaatlikult segamini ja jätta toatemperatuurile 3-5 min seisma.

Lisada eelnevale segule:

- 0,5 mL EDTA lahust (1)
- 2 mL Clarifying reagent'i

Loksutada intensiivselt segamini ja inkubeerida 37 °C 3-5 min.

Mõõta neelduvus (A_S) 412 nm juures 20 minuti jooksul nullproovi vastu.

Proovi null neelduvus A_{BM} mõõdetakse segust, mis valmistatakse piimast ja kõiki teisi eelpool toodud reagente va Ellman'i reagenti.

Antud neelduvus mõõdetakse segu vastu, mis sisaldab kõiki eespool toodud reagente va Ellman'i reagenti ja piima (või standardlahuseid).

Lõplik neelduvus arvutatakse $A_F = A_S - A_{BM}$

Tioolrühmade kogus/sisaldus arvutatakse vastavalt kalibreerimiskõverale.

Lisa 2. Vologda või organoleptilised näitajad – proovide hindamisalus

Vologda või: või, mille veesisaldus ei tohi ületada 16,0% ja mis on saadud esimese klassi koorest mis olid pastöriseeritud kõrgetel temperatuuridel.

Vologda või organoleptilised näitajad peavad vastama järgmistele nõuetele:

Maitse ja lõhn: puhas, hästi väljendunud kõrgpastöriseeritud koore lõhn ja maitse, ilma kõrvallõhnata, –maitseta.

Konsistents ja välimus: ühtlane, plastiline, tihe. Või löikepind läikiv, välimuselt kuiv.

Värvus: valgest kollaseni, ühtlane kogu massis.

Vologda võid ei jaotata sortidesse. Kui see ei vasta organoleptilistele nõuetele, siis seda klassifitseeritakse kui soolamata rõösakoorevõiks.

Võide sensoorseid näitajaid hinnatakse järgneva skaala alusel:

Maitse ja lõhn (10 p)

Näitaja nimetus ja iseloomustus	Hinne, punktides
Väga hea	10
Hea	9
Puhas, kuid nõrgalt väljendunud	8
Tühi	7–6
Kerge söödamaitse	6–4
Kergelt kõrbenud	4
Sulatatud või maitse	3
Kergelt mõru	3
Kergelt rasvane	2

Konsistents ja välimus (5 p)

Väga hea	5
Hea: ühtlane, kuid ebapiisavalt plastiline ja tihe, väiksemate petitilkadega lõikepinnal	4
Rahuldav: väiksed petitilgad lõikepinnal	3
Nõrgalt väljendatud: pudenev, murenev	2 3
Nõrgalt väljendatud: kihiline, jahune, pehme	3-2
Nõrgalt rasvane	2
Suured petitilgad lõikepinnal	1
Sulanud pind	1

Värvus (2 p)

Ühtlane	2
Ebaühtlane	1

Spetsiifiline maitse (5 p)

Intensiivsus	1 (nõrk) – 5 (tugev)
--------------	----------------------

Lisa 3. Või hindamisleht

Või hindamisleht

Kuupäev.....

Näitaja	Proov 1	Proov 2	Proov 3	Proov 4	Proov 5	Proov 6
Maitse						
Lõhn						
Konsistents ja välimus						
Värvus						
Spetsiifiline maitse						
Märkused						

Kolmnurkkatse

Tehke rist eristuva proovi lahtrisse. Proovid on taldrikul järjestatud vasakult paremale

Kood	Proov 1	Proov 2	Proov 3

Märkused:

Tehke rist eristuva proovi lahtrisse. Proovid on taldrikul järjestatud vasakult paremale

Kood	Proov 1	Proov 2	Proov 3

Märkused:

**Lihtlitsents lõputöö salvestamiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks ning
juhendaja(te) kinnitus lõputöö kaitsmisele lubamise kohta**

Mina, Edgar Lepman,
(sünnipäev 20/11/92)

1. annan Eesti Maaülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud lõputöö
Rõõsakoore kuumutamise mõju või omadustele säilitamisel,

mille juhendajad on Ivi Jõudu, Katrin Laikoja

1.1. salvestamiseks säilitamise eesmärgil,

1.2. digiarhiivi DSpace lisamiseks ja

1.3. veebikeskkonnas üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;

2. olen teadlik, et punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile;

3. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega
isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Lõputöö autor

_____ *allkiri*

Tartu, 19.05.2017

Juhendaja(te) kinnitus lõputöö kaitsmisele lubamise kohta

Luban lõputöö kaitsmisele.

Ivi Jõudu _____
(juhendaja nimi ja allkiri)

_____ (kuupäev)

Katrin Laikoja _____
(juhendaja nimi ja allkiri)

_____ (kuupäev)