



EESTI MAAÜLIKOOL

Veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut  
Toiduteaduse ja toiduainete tehnoloogia osakond

**Kaisa Külaots**

**RASVAKUULIKESTE SUURUSJAOTUS  
HOMOGENISEERITUD PIIMAS  
FAT GLOBULE SIZE DISTRIBUTION IN  
HOMOGENIZED MILK**

Magistritöö

Liha- ja piimatehnoloogia õppekava

Juhendajad:

lektor Vilma Tatar  
peaspetsialist Hannes Mootse

Tartu 2015

Kaisa Külaots. Rasvakuulikeste suurusjaotus homogeniseeritud piimas.

Tartu 2015, 47 lk, 20 joonist, 10 tabelit.

Juhendajad: lektor Vilma Tatar  
peaspetsialist Hannes Mootse

Retsensent: Tiina Korjus, tootearendusspetsialist, Valio Eesti As

Käesolev töö on koostatud magistrikraadi taotlemiseks piimatehnoloogia erialal. Töö on läbi vaadanud ja heaks kiitnud EMÜ toiduteaduse ja toiduainete tehnoloogia osakonna nõukogu.

# **RASVAKUULIKESTE SUURUSJAOTUS HOMOGENISEERITUD PIIMAS**

**Kaisa Külaots**

## **LÜHIKOKKUVÕTE**

Tartu 2015, 47 lehekülge, 10 tabelit, 20 joonist, 41 viidet.

**MÄRKSONAD:** PIIMARASV, PIIMA RASVAKUULIKE, RASVAKUULIKESE LÄBIMÕÕT, RASVAKUULIKESTE SUURUSJAOTUS, RASVASISALDUS, HOMOGENISEERIMINE, TEMPERATUUR, RÕHK.

Piimarasv esineb valdavas enamuses rasvakuulikestena, mille mõõtmed on väga varieeruvad. Homogeniseerimise tulemusel väheneb rasvakuulikeste läbimõõt ja nende suurusjaotus muutub ühtlasemaks.

Magistritöö eesmärk oli uurida kas ja kuidas mõjutab piima rasvakuulikeste suurusjaotust homogeniseerimisel kasutatavad parameetrid – rõhk ja temperatuur, ning leida kõige sobilikum režiim, saavutamaks ühtlast rasvakuulikeste suurusjaotust piimas ja väiksemat rasvakuulikeste läbimõõtu kui toorpiimas. Lisaks sellele uuriti piima rasvasisalduse ja rasvakuulikeste läbimõõdu vahelist seost.

Katsed viidi läbi Eesti Maaülikooli Toiduteaduse ja toiduainete tehnoloogia osakonna mikromeiereis. Üks katseseeria viidi läbi kahel järjestikusel päeval – esimesel määrati piima rasvasisaldus ja teostati homogeniseerimine, teisel rasvakuulikeste mõõtmine. Piima rasvakuulikeste suurusjaotust uuriti 9 erineval homogeniseerimiserežiimil.

Tulemustest selgus, et kõige ühtlasema rasvakuulikeste suurusjaotusega piim saadi homogeniseerimisrežiimil  $70 \pm 2$  °C ja 120 baari. Rasvakuulikeste kõige väiksem keskmine läbimõõt saavutati homogeniseerimise temperatuuril  $70 \pm 2$  °C ja rõhul 140 baari. Katsete käigus uuritud seost piima rasvasisalduse ja rasvakuulikeste läbimõõdu vahel aga ei tuvastatud ( $r = -0,08$ ,  $p > 0,05$ ).

# **FAT GLOBULE SIZE DISTRIBUTION IN HOMOGENIZED MILK**

**Kaisa Külaots**

## **ABSTRACT**

Tartu 2015, 47 pages, 10 tables, 20 figures, 41 references.

In Estonian

**KEY WORDS:** MILK FAT, MILK FAT GLOBULE, MILK FAT GLOBULE DIAMETER, MILK FAT GLOBULE SIZE DISTRIBUTION, FAT CONTENT, HOMOGENIZATION, TEMPERATURE, PRESSURE.

The vast majority of milk fat is represented in the form of milk fat globules whose dimensions are very variable. As a result of homogenization process the diameter of milk fat globules decreases in their size and the size distribution becomes more consistent.

The purpose of the Master's thesis was to investigate whether and how the parameters – pressure and temperature – used for the homogenization process affect the size distribution of the milk fat globules, and to find the most suitable mode to achieve a more consistent size distribution for milk fat globules and a smaller diameter than in raw milk. Moreover, the effect of fat content in milk, and the relationship between the diameters from milk fat globules was investigated.

The Experiments were conducted in micro-dairies of the Food Science and Food Technology Department of the Estonian University of Life Sciences. A series of tests were performed on two consecutive days – on the first day the milk fat content was assigned and the homogenization was performed, on the second day the measurement of milk fat globules took place. The size distribution of milk fat globules was studied on nine different homogenization modes.

The results showed that the milk with the most consistent size distribution of milk fat globules was obtained on homogenization mode  $70 \pm 2$  ° C and under 120 bar. The smallest average diameter of milk fat globules was achieved in the homogenization process at a temperature of  $70 \pm 2$  ° C and a pressure of 140 bar. During the experiments the

relationship between milk fat content and the diameter of milk fat globules was investigated, however no connection was detected ( $r = -0,08$ ,  $p > 0,05$ ).

# SISUKORD

LÜHIKOKKUVÕTE .....	3
ABSTRACT .....	4
LÜHENDITE LOETELU.....	8
SISSEJUHATUS .....	9
1. KIRJANDUSE ÜLEVAADE.....	11
1.1. Rasvakuulike .....	11
1.1.1. Rasvakuulikese struktuur.....	11
1.1.2. Rasvakuulikese membraani ehitus.....	12
1.1.3. Rasvakuulikese suurus ja seda mõjutavad tegurid .....	13
1.2. Piima homogeniseerimine .....	15
1.2.1. Homogeniseerimise põhimõte .....	16
1.2.2. Homogeniseerimise mõju rasvakuulikeste suurusjaotusele .....	17
1.2.3. Homogeniseerimise mõju rasvakuulikese kile struktuurile.....	18
1.2.4. Homogeniseerimisel kasutatava rõhu mõju rasvakuulikese suurusele.....	19
1.2.5. Homogeniseerimisel kasutatava temperatuuri mõju rasvakuulikese suurusele.	20
1.2.6. Piima rasvasisalduse mõju homogeniseerimiseefektile .....	21
2. MATERJAL JA METOODIKA.....	22
2.1. Eksperimentaalosa meetodika .....	22
2.2. Katseteks vajalikud vahendid ja materjalid .....	23
2.3. Piimaproovide ettevalmistamine suurusjaotuse analüüsiks.....	24
2.4. Rasvakuulikeste suurusjaotuse määramine .....	25
3. TULEMUSED JA ARUTELU .....	27
3.1. Rasvasisaldus ja rasvakuulikeste suurusjaotus toorpiimas.....	27
3.1.1. Toorpiima rasvasisalduse muutused võrreldes piima teiste koostisosadega .....	27
3.1.2. Rasvakuulikeste suurusjaotus toorpiimas.....	29
3.1.3. Piima rasvasisalduse mõju rasvakuulikeste suurusjaotusele .....	30
3.2. Homogeniseerimisparameetrite mõju rasvakuulikeste suurusjaotusele .....	31
3.2.1. Temperatuuri mõju rasvakuulikeste suurusjaotusele homogeniseerimise rõhul 120 baari .....	31
3.2.2. Temperatuuri mõju rasvakuulikeste suurusjaotusele homogeniseerimise rõhul 130 baari .....	33

3.2.3. Temperatuuri mõju rasvakuulikeste suurusjaotusele homogeniseerimisrõhul 140 baari .....	36
3.2.4. Homogeniseerimisrõhu mõju rasvakuulikeste suurusjaotusele.....	38
KOKKUVÕTE .....	40
KASUTATUD KIRJANDUS .....	42
SUMMARY .....	45

## LÜHENDITE LOETELU

ADPH – valgu adipofiilin

BTN – valgu butürofiilin

CD36 – valgu diferentseerumisklaster 36

EPJ AS – Eesti Põllumajandusloomade Jõudluskontrolli AS

FL – fosfolipiidid

MUC1 – mutsiin 1

PASIII – perioodikhape Schiff III

PAS6/7 – perioodikhape Schiff 6/7

PP3 – valgu peptoon 3

RKM – rasvakuulikese membraan

TG – triatsüülgütseroolid

XDH – dehüdrogenaas

XO – ksantiinoksüdaas



## SISSEJUHATUS

Piim on dispersne süsteem, kus rasv on jagunenud veefaasis. Rasv on põhiline komponent, mida võib pidada piima üheks kvaliteedi indikaatoriks. Piima rasvasisaldus on oluline ka majanduslikust aspektist, mõjutades müügihinda. Rasv esineb piimas kuulikestena, mille läbimõõt on varieeruva suurusega. Rasvakuulikeste suurusel on aga väga oluline mõju piima stabiilsusele ja tehnoloogilistele omadustele. Sellest tulenevalt on piimatööstuses erinevate toodete seisukohast rasvakuulikeste suurusjaotus üsna oluline näitaja.

Toorpiima rasvakuulikeste suurus sõltub paljudest teguritest, sealhulgas lehma tõust, söödast, laktatsioonijärgust, söötmis- ja pidamistingimustest jne. Lisaks looduslikule modifikatsioonile, on võimalik rasvakuulikeste suurusjaotust muuta homogeniseerimise abil. Viimase puhul on tegemist piima rasvakuulikeste mehhaanilise mõjutusega, kus kuulikesed pihustatakse väiksemateks osakesteks. Selle tulemusel aeglustub rasva kerkimine piima pinnale.

Piimatoodete valmistamisel on väga oluline piima stabiilsus ning vähene vahu tekkimine. Just seetõttu sisaldab paljude toodete tehnoloogiline skeem piima eeltötlusfaasis homogeniseerimist. Homogeniseerimisel väheneb rasvakuulikeste keskmine läbimõõt ja nende suurusjaotus on ühtlasem, see tähendab, et rasvakuulikeste tihedus suureneb ja piim saavutab suurema stabiilsuse.

Käesoleva magistritöö eesmärk on uurida kas ja kuidas mõjutab rasvakuulikeste suurusjaotust homogeniseerimisel kasutatavate parameetrite erinev kombinatsioon ning selgitada välja, milline režiim võiks olla ühtlasema suurusjaotuse ja väiksema rasvakuulikese saavutamiseks sobivaim. Vaadeldavateks parameetriteks on siinkohal rõhk ja temperatuur. Lisaks sellele oli eesmärgiks uurida rasvasisalduse ja rasvakuulikeste läbimõõdu omavahelist seost.

Magistritöö koosneb kolmest osast, millest esimeses osas on teostatud kirjanduse ülevaade, teises osas kirjeldatakse uurimuse metoodikat ja vajaminevaid materjale ning lõpetuseks analüüsitakse uurimistöö tulemusi.

Eksperimentaalses osas läbiviidud katsed teostati Eesti Maaülikooli Toiduteaduse ja toiduainete tehnoloogia osakonna mikromeiereis, kasutades sealseid vahendeid. Rasvasisaldus määrati Eesti Põllumajandusloomade Jõudluskontrolli AS laboratooriumis.

Magistritöö autor tänab juhendajaid Vilma Tatart ja Hannes Mootset igakülgse abistamise ja suunamise eest lõputöö koostamisel. Samuti avaldatakse tänu EMÜ Toiduteaduse ja toiduainete tehnoloogia osakonna vanemlaborandile Siiri Haanile, kes aitas läbi viia homogeniseerimise katseid. Tänuavaldused retsensent Tiina Korjusele.

# 1. KIRJANDUSE ÜLEVAADE

## 1.1. Rasvakuulike

### 1.1.1. Rasvakuulikese struktuur

Enamus piimarasvast esineb väikeste kuulikestena, ainult minimaalne osa ehk 0,025% lipiididest paikneb plasmas. Seetõttu võibki piima nimetada emulsiooniks, kus rasv on jagunenud veefaasis (Walstra *et al.* 2006: 127).

Piimarasva süntees toimub näärmerakkudes. Esmalt moodustab sünteesitud rasv katteta kerakesi, mis on üsna ebastabiilsed. Liikudes apikaalse membraani suunas, liituvad kerad üksteisega, moodustades järjest suuremaid kogumikke. Kui rasvakerakesed tungivad läbi rakumembraani, haaravad nad osa sellest endaga kaasa, tekitades sellest endale kileja ümbrise. Viimane takistab oma hüdrofiilsusega liitumist teiste kuulikestega, muutes seeläbi rasvakuulikese stabiilseks. (Poikalainen 2006: 144–145)

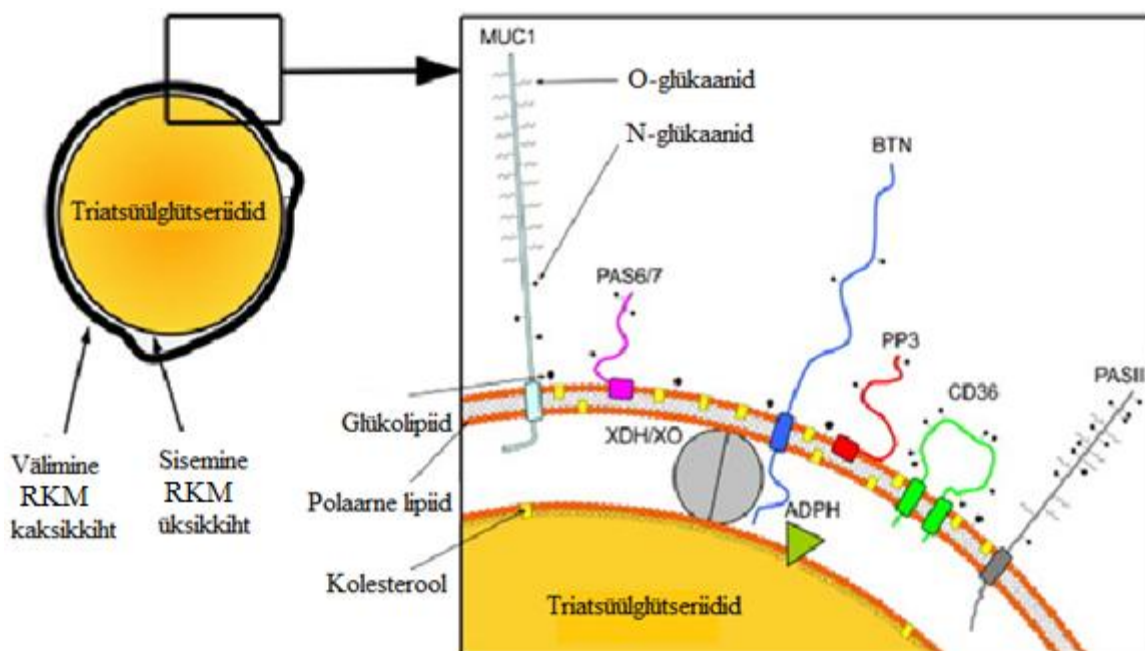
Piimarasv on rasvainete segu, mille keerukast ja mitmekesisest koostisest annab aimu selle sulamisdünaamika. Kuna piimarasv koosneb nii erineva pikkusega rasvhappeahelatest kui ka küllastunud ja mitteküllastunud rasvhapetest, siis selle sulamistemperatuur jääb vahemikku -40...+40 °C, olles ühes äärmuses täiesti tahke ja teises vedel. Vahepealsetel temperatuuridel esineb piimarasv kristallide ja vedeliku seguna. (Pilhofer *et al.* 1994: 55) Enamus piimarasvast sulab temperatuurivahemikus 15...25 °C (Poikalainen 2004: 24).

Rasvakuulike koosneb valdavas enamuses triatsüülglütseroolidest (TG), millele lisaks võib sealt leida veel ka di- ja monoatsüülglütseroole, rasvhappeid, steroole, karotenoide, rasvlahustuvaid vitamiine (A, D, E, K) ja teisi mikroelemente (Bylund 1995: 18). Rasvakuulikese on oma diameetrilt väga laia spektriga, mis omakorda tingib erineva TG ja fosfolipiidide (FL) suhte. Erinevus rasvakuulikeste TG/FL suhtarvus mõjutab nende rasvhappelist koostist. Piima rasvakuulikestel võib olla väga mitmekesine lipiidne koostis, sisaldades erineva pikkuse ja küllastatuse astmega rasvhappeid. (Argov *et al.* 2008: 620)

### 1.1.2. Rasvakuulikese membraani ehitus

Rasvakuulikeste komponendid seob ühtseks kerajaks struktuuriks neid ümbritsev bioloogiline kile ehk membraan, mis takistab ka kuulikeste omavahelist liitumist ühtseks rasvafaasiks. Rasvakuulikese membraan (RKM) kujutab endast kolmekihilist katematerjali, mille koostisosad on pärit peamiselt tsütoplasma võrgustikust (Heid, Keenan 2005: 246).

Rasvakuulikese triatsüülgütseroolidest koosnevat südamikku katab polaarsest lipiididest koosnev üksikkiht, mille peal asetseb omakorda fosfolipiidne kaksikkiht (joonis 1). Membraanspetsiifilised valgud on jagunenud piki membraanipinda. Sisemises üksikkihis paikneb valgu adipofiliin (ADPH), membraanide vahelises ruumis lokaliseerub dehüdrogenaas/ksantiinoksüdaas (XDH/XO). Ülejäänud valgud on seotud kaksikkihiga, läbides mõlemat fosfolipiidset kihti või ainult välimist kihti. (Dewettinck *et al.* 2008: 439)



**Joonis 1.** Rasvakuulikese membraani ehitus (Dewettinck *et al.* 2008: 439).

RKM on erinevate valkude kompleks, kuhu kuuluvad glükoproteiinid, ensüümid, neutraalsed ja polaarsed rasvad (Fong *et al.* 2007: 275). Kõige suuremat osakaalu omavad membraanmaterjalist valgud (70%) ja fosfolipiidid (25%) (Walstra *et al.* 2006: 129) (tabel 1).

Membraan sisaldab mitmeid potentsiaalselt bioaktiivseid komponente, mida leidub nii natiivsetes kui ka mehhaaniliselt töödeldud rasvakuulikestes. Tänu oma funktsionaalsetel ja toitumuslikele omadustele on võimalik RKM komponente kasutada funktsionaalsete toiduainete valmistamiseks. (Smoczyński *et al.* 2012: 188)

**Tabel 1.** Rasvakuulikese membraani keskmine koostis (Walstra *et al.* 2006: 129)

Komponent	mg/100 g RK kohta	mg/m <sup>2</sup> RK pinna kohta	% membraan-materjalist
Valk	1800	9,0	70
Fosfolipiidid	650	3,2	25
Tserebrosiidid	80	0,4	3
Kolesterool	40	0,2	2
Monoglütseriidid	Jäljed	Jäljed	?
Vesi	Jäljed	Jäljed	-
Larotenoidid + A vitamiin	0,04	$2 \times 10^{-4}$	0,0
Raud	0,3	$1,5 \times 10^{-3}$	0,0
Vask	0,01	$5 \times 10^{-5}$	0,0
Kokku	> 2570	> 12,8	100

Lisaks komponente siduvale funktsioonile, pakub membraan viiruste ja bakterite vastast kaitset. Membraan on barjääriks lipaasidele ning soodustab rasvakuulikeste füüsikalist stabiilsust piimas (Lopez *et al.* 2010: 22). Rasvakuulikese membraan käitub loodusliku emulgaatorina, takistades flokulatsiooni ja kuulikeste omavahelist liitumist piimas. Sellest võib järeldada, et rasvakuulikeste membraan mõjutab otseselt paljude piimatoodete mitmeid omadusi. (Singh 2006: 155)

### 1.1.3. Rasvakuulikese suurus ja seda mõjutavad tegurid

Piimatoodete tehnoloogia seisukohast on rasvakuulikeste suurus väga oluline näitaja. Suuremaid kuulikesi on separeerimisel kergem eraldada ja sellest tulenevalt jääb lõssi, vadakusse ning petti vähem rasva. (Laht, Olkonen 2001: 108)

Rasvakuulikeste suurust on uuritud juba aastakümneid, seega võib kirjandusest leida mingil määral varieeruvaid andmeid nende mõõtmete kohta (Wangdi *et al.* 2014: 13) (tabel 2). Siiski võib üldiselt öelda, et lehmapiimas jäävad rasvakuulikeste läbimõõdud vahemikku 0,1...20 µm, keskmiselt 3...4 µm (Fox 2002: 1564).

**Tabel 2.** Rasvakuulikeste variatsiooniulatus ja keskmine läbimõõt erinevates teadustöodes (Wangdi *et al.* 2014: 13)

Viide	Variatsiooniulatus (µm)	Keskmine läbimõõt (µm)
Lampert (1947)	0,1...20	3
Fleischmann (viidatud: Jenness, Patton) (1959)	0,1...22	–
Warner (1976)	0,1...10	3,3...4,0
Bath <i>et al.</i> (1978)	0,5...20	3
Wong <i>et al.</i> (1988)	< 0,2...20	–
Walstra <i>et al.</i> (1999)	< 0,2...15	–
Attaie, Richter (2000)	0,92...15,75	3,51
Mulder, Walstra (1974); Michalski <i>et al.</i> (2001)	0,1...10	4
L.L.Van Slyke'i joonise põhjal Winton, Winton (2002)	< 1...20	2,5

Piimas on väga palju väikese diameetriga rasvakuulikesi. Ligikaudu 75% kõikidest rasvakuulikestest on läbimõõdult väiksemad kui 1 µm, moodustades sealjuures ainult 2% globulaarsest rasvast ja 7% kuulikeste pinnakihist (Walstra *et al.* 2006: 127).

Tulenevalt rasvakuulikeste väikesest diameetrist, on rasva- ja veefaasi vaheline pindala üsna suur. See näitab omakorda kui suurt rolli võib kuulikese pinnakiht mängida rasvakuulikese olemuses ja käitumises. Kuulike, mis sisaldab endas 1 g rasva, on pinnalaotusega 1,2...2,5 m<sup>2</sup> ning 1 ml lehmapiima sisaldab ~ 5 x 10<sup>9</sup> rasvakuulikest. (Fox 2002: 1564)

Piimas olevate rasvakuulikeste suurus sõltub mitmetest erinevatest teguritest, sealhulgas lehma tõust, laktatsioonijärgust, tervislikust seisundist, söötmis- ja pidamistingimustest ning paljust muust (Poikalainen 2004: 27, Carroll *et al.* 2006: 451). Wangdi *et al.* 2014 uurimuses leiti, et piima rasvasisalduse ja rasvakuulikeste keskmise läbimõõdu vahel on positiivne korrelatsioon (r = 0,59). See on seletatav asjaoluga, et kui lehmad toodavad

kõrge rasvasisaldusega piima, siis rasvakuulikeste membraanmaterjali süntees on limiteeritud ja seega on rasvakuulikesed suuremad (Wiking *et al.* 2004: 911).

Lisaks eelmainitule on rasvakuulikeste suurusjaotust võimalik muuta mehhaanilise töötuse käigus, näiteks piima homogeniseerimisel (Walstra *et al.* 2006: 128).

## 1.2. Piima homogeniseerimine

Jättes toorpiima teatud ajaks seisma, hakkab koor pinnale kerkima, sest rasvakuulikesed on kõige suuremad ja samas ka kergeimad komponendid piimas (Laht, Olkonen 2001: 108). Jahutatud piimas adsorbeeruvad vadakuvalgud rasvakuulikeste pinnale ja see asjaolu kutsub esile viimaste omavahelist liitumist. Koore pinnale kerkimise kiirus on tingitud piimas olevate rasvakuulikeste läbimõõdust – mida suuremad on rasvakuulikesed, seda kiiremini need pinnale kerkivad, haarates endaga kaasa ka väiksemaid rasvakuulikesi. Selle nähtuse vältimiseks leiutas 1899. aastal prantsuse teadlane August Gaulin homogenisaatori, mille eesmärgiks piimatööstuses on saanud rasvakuulikeste peenestamine ühtlase suurusega osakesteks. (Bylund 1995: 115)

Homogeniseerimise protsess põhjustab suuri muutusi nii piima rasvakuulikeste suurusjaotuses kui ka nende struktuuris. Selle mehhaanilise töötuse käigus pihustatakse naturaalsed rasvakuulikesed väiksema läbimõõduga kuulikesteks, mille mõõtmed jäävad enamasti alla 1  $\mu\text{m}$ . Sellest tulenevalt suureneb rasvakuulikeste pindala üle 10 korra. (Sharma, Dalgleish 1993: 1407)

Tootmise seisukohast on oluline piima stabiilsus ning vähene vahu tekkimine. Homogeniseeritud piima stabiilsuse tagavad kolm peamist faktorit:

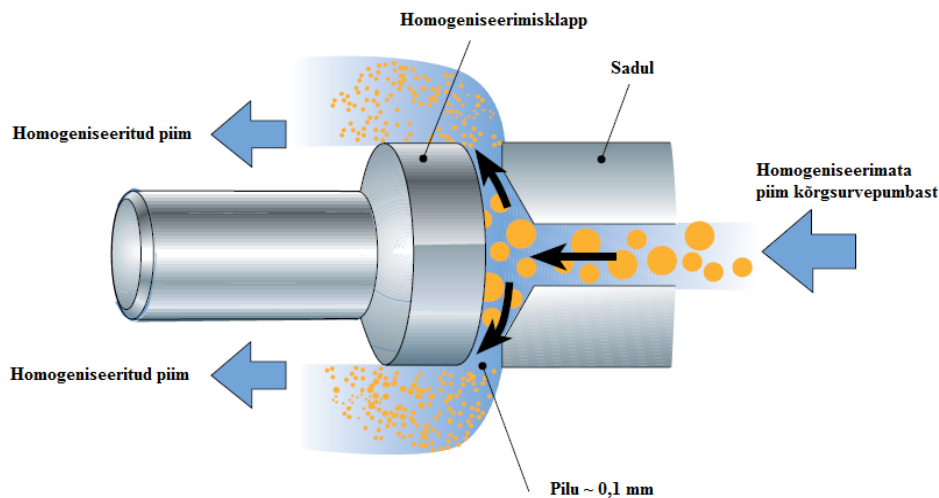
- rasvakuulikeste väiksem keskmine läbimõõt (Stokes'i seadus);
- ühtlasem suurusjaotus;
- rasvakuulikeste suurem tihedus (Dhankhar 2014: 5).

Samas ei saa ka unustada toorpiimas olevaid lipaase. Homogeniseerimine lihtsustab lipaaside juurdepääsu rasvakuulikestele, tekitades seeläbi vabu rasvhappeid ja põhjustades ebameeldivat lõhna. Lipolüüsi on võimalik vähendada piima termotöötusega enne või vahetult peale homogeniseerimist, kuna lipaas on temperatuuri suhtes labiilne. (Wilbey 2002: 1347)

### 1.2.1. Homogeniseerimise põhimõte

Vastavalt Stokes'i seadusele, tõusevad väiksema läbimõõduga rasvakuulikesed pinnale aeglasemalt kui suuremad. See asjaolu on tingitud tiheduse erinevusest rasva- ja veefaasi vahel. (Michalski, Januel 2006: 424) Mida rohkem sisaldab kuulike rasva, seda kergem see on, kuna rasva tihedus ( $890 \text{ kg/m}^3$ ) on vee tihedusest väiksem (Poikalinen 2004: 27).

Homogeniseerimisel kasutatakse kõige sagedamini klapphomogenisaatoreid. Samas võib protsessi läbiviimiseks kasutada ka näiteks pumpasid, ultraheli või klarifiksaatorit. Klapphomogenisaatori töö põhimõte seisneb vedeliku surumisel läbi kitsa pilu, kasutades selleks kõrget rõhku (joonis 2). Pilu läbimisel kasvab järsult piima voolukiirus, sellest tingituna tekib kavitatsioon ja suur turbulents. Rasvakuulike venitatakse kiires voolus piklikuks ning tänu pindpinevusjõududele pihustatakse kuulikesed väiksemateks piisakesteks. (Laikoja 2001: 266)



**Joonis 2.** Homogeniseerimise põhimõte klapphomogenisaatoris (Bylund 1995: 116)

Homogeniseerimisel mõjutavad rasvakuulike suurust mitmed faktorid:

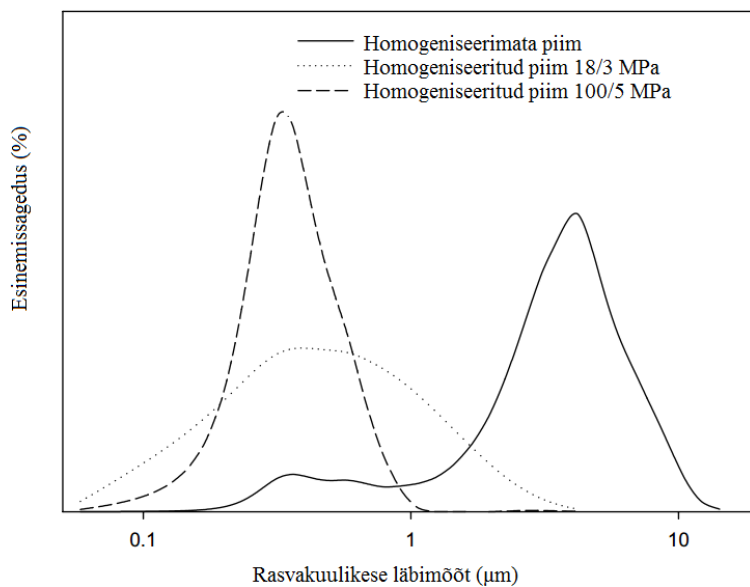
- homogenisaatori tüüp;
- homogeniseerimisel kasutatav rõhk;
- homogenisaatori astmelisus;
- temperatuur;
- rasva koguse ja kuulikese membraanvalkude suhe;



- homogenisaatori seisukord (Walstra *et al.* 2006: 285-286).

### 1.2.2. Homogeniseerimise mõju rasvakuulikeste suurusjaotusele

Toorpiimas on esindatud väga erineva suurusega rasvakuulikesed, seetõttu kirjeldatakse ka nende suurusjaotust väga laia vahemikuna. Homogeniseeritud piimas muutub rasvakuulikeste suurusjaotus märkimisväärselt (Huppertz *et al.* 2006: 13, Zamora 2007: 15) (joonis 3). Homogeniseerimisprotsess muudab rasvakuulikeste suurusjaotuse alati kitsamaks, minimaliseerides seeläbi kooreeraldust (Everett 2007: 731).



**Joonis 3.** Rasvakuulikeste suurusjaotus homogeniseerimata ja homogeniseeritud piimas. Klapphomogenisaatoris teostatud kahekordne homogeniseerimine rõhkudel 18 MPa ja 3 MPa, kõrgsurve homogenisaatoris vastavalt 100 MPa ning 5 MPa. (Huppertz *et al.* 2006: 13)

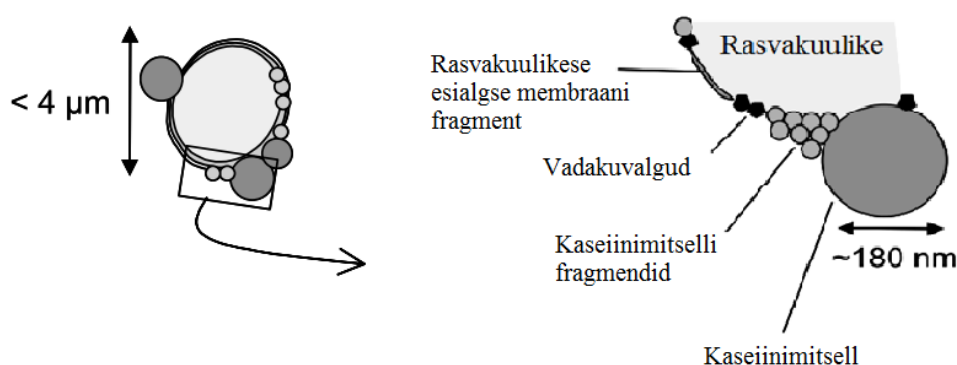
Rasvakuulikeste suurusjaotust nii homogeniseeritud kui ka toorpiimas on uuritud mitmeid meetodikaid kasutades, sealhulgas erinevad mikroskoopilised meetodid, fotomikrograafia, osakeste elektriline takistuse loendamise meetod, laservalguse hajumise meetod jne. Mikroskoopia eelis seisneb selles, et see võimaldab näha ja mõõta iga üksikut osakest. Samas on see meetod aeganõudev ning võib esineda probleeme täpsuse ja operatsiooni korratavusega. (Jhanwar 2009: 14–15)

Selleks, et mõista paremini erinevate tegurite mõju rasvakuulikese suurusele, kirjeldatakse järgnevat peatükki olulisemaid mõjutegureid detailsemalt.

### 1.2.3. Homogeniseerimise mõju rasvakuulikese kile struktuurile

Mehhaanilise töötuse käigus kaotab rasvakuulikese kile oma komponente ja seega pole selle füüsikalised-keemilised omadused peale homogeniseerimist täpselt samad. Ainult 10% jääb esialgsetest membraanvalkudest uute kuulikeste koostisse. Natiivsete valkude kogust uues membraanis ei mõjuta isegi homogeniseerimisel kasutatav rõhk. (Cano-Ruiz, Richter 1997: 2736–2737)

Rasvakuulikeste mõõtmete vähenemise ja nende pindala suurenemise käigus moodustunud uutele pindadele adsorbeeruvad nii kaseiini mitsellid kui ka vadakuvalgud (Michalski, Januel 2006: 434) (joonis 4). See, kumb valk on eelistatum, sõltub piima eelnevast kuumtöötlemisest. Kui homogeniseeritakse toorpiima, siis võib vähendatud läbimõõduga rasvakuulikese membraanist leida hulgaliselt kaseiini. Vadakuvalgud on tuvastatavad ainult siis, kui homogeniseerimine toimub koos termotöötusega. Vadakuvalkude esinemise seisukohast ei oma tähtsust asjaolu, kas termotöötlus on toimunud enne või peale homogeniseerimist. (Lee, Sherbon 2002: 555)



**Joonis 4.** Rasvakuulikese membraani komponendid peale homogeniseerimist (Michalski, Januel 2006: 425).

Homogeniseeritud piimas olevad rasvakuulikesed sisaldavad võrreldes töötlemata piimaga rohkem valku, kuid vähem lipiidest materjali – fosfolipiide ja kolesterooli (Keenan *et al.* 1983: 196).

Võrreldes toorpiima ja homogeniseeritud piima, võib näha märgatavat membraanvalkude kadu. Eriti suur on see eelnevalt termotöödeldud piima puhul. Kui esmalt toimub homogeniseerimine ja seejärel alles kuumutamine, siis jääb uutesse rasvakuulikestesse algseid membraanvalke rohkem. Põhjus võib seisneda selles, et homogeniseerimise käigus kaseiini mitsellid adsorbeeruvad rasvakuulikese pinnale, kattes ära membraanvalgud (näiteks PAS6 ja PAS7) ja pakkudes seeläbi neile kaitset järgneva termotöötuse vastu. (Lee, Sherbon 2002: 565)

Michalski *et al.* 2002 uuringus on leitud, et homogeniseeritud piimas esinevad rasvaosakesed kolmel erineval viisil:

- homogeniseeritud rasvakuulikestena (sisaldavad nii natiivset kui ka uut membraanmaterjali);
- väikeste (< 0,5 µm) rasv- Valk kompleksidena, mille membraan koosneb peamiselt kaseiinivalkudest;
- pisikeste (~ 0,1 µm) natiivsete rasvakuulikestena, mis oma väikse suuruse tõttu on jäänud homogeniseerimisest mõjutamata.

#### **1.2.4. Homogeniseerimisel kasutatava rõhu mõju rasvakuulikese suurusele**

Homogeniseerimisrõhu valikul on oluliseks kriteeriumiks toote rasvasisaldus – mida rasvasem on toode, seda madalamaid rõhkusid tuleks eelistada. (Laikoja 2001: 267) Homogeniseerides sama rasvasusega toodet erinevatel rõhkudel, saame kõrgemat rõhku kasutades rohkem väikese ruumalaga rasvakuulikesi kui madalamat rõhku kasutades (Bylund 1995: 119, Walstra *et al.* 2006: 284).

Gaulini-tüüpi klapphomogenisaatorites homogeniseeritakse piima enamjaolt rõhul 8...20 MPa. Teise võimalusena võib kasutada kõrgsurve homogenisaatorit, mille tööpõhimõte on sama, aga selles kasutatav rõhk on märksa kõrgem (50...100 MPa). (Michalski, Januel 2006: 424–425) Kõrgema rõhu kasutamine võimaldab vähendada emulsioonis olevate osakeste suurust ja seeläbi parandada toote säilivust, kuna väheneb koorekihi tekke kiirus. Liiga madal rõhk ei pruugi olla piisav, et pihustada suuri või lihtsalt üksteisega liitunud rasvakuulikesi väiksemateks osakesteks. (Floury *et al.* 2000: 127)

Piimatööstustes on eelkõige kasutatust leidnud just klapphomogenisaatorid, mis on tihtipeale kahe astmelised. Esimeses astmes on tavaliselt homogeniseerimise rõhuks 15...20 MPa ja

selle toimetel suureneb rasvakuulikeste kokkupõrkumine ning moodustuvad temperatuuristabiilsed kuulikeste klastrid. Homogeniseerimisprotsessi teises astmes toimub klastrite lõhkumine ja selle jaoks on täiesti piisav kui kasutatakse esimese astme rõhust madalamat rõhku (~ 5 MPa). (Everett 2007: 731)

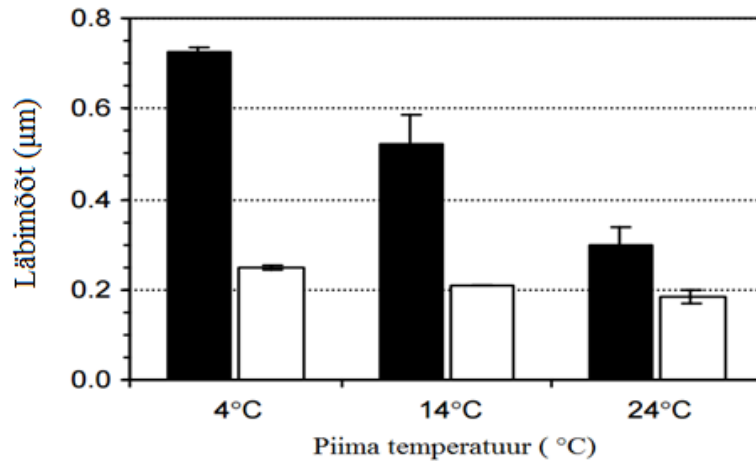
Homogeniseerimise tehnoloogias on kasutuses ka mikrofluidisatsioon. Selle kohaselt jaotatakse vedelik reaktsioonikambris suure rõhu all kahte pihustisse, mis on suunatud üksteise vastu 180 ° nurga all (Cook *et al.* 1985: 14). Kasutades kõrgsurve mikrofluidaiserit, on võimalik saada 25% väiksemaid rasvakuulikesi kui tavalise klapphomogenisaatoriga (Hardham 2000: 16).

### **1.2.5. Homogeniseerimisel kasutatava temperatuuri mõju rasvakuulikese suurusele**

Homogeniseerimise seisukohast on oluline, et piimarasv oleks vedelas olekus. Tõstes homogeniseerimise temperatuuri, saadakse väiksemad rasvakuulikesed. Põhjus seisneb arvatavasti selles, et rasvakuulikesed on kõrgema temperatuuri juures turbulentsele mõjule vastuvõtlikumad ja seetõttu purunevad kergemini. (Tunick *et al.* 2000: 538) Optimaalseks homogeniseerimistemperatuuriks loetakse siinkohal 60...70 °C (Laikoja 2001: 267, Thiebaud, *et al.* 2003: 427). Piima kuumutamine enne homogeniseerimist inaktiveerib mikroorganismid, samas on kasutatavad temperatuurid piisavalt madalad, et mitte mõjutada valkude denaturatsiooni pöördumatult. (Tamime, Robinson 2007:78)

Temperatuuril üle 70 °C võib homogeniseerimine põhjustada keerulisi füüsikalisi ja keemilisi muutusi piima põhikomponentide koostises (Tamime, Marshall 1997: 69).

Thiebaud *et al.* 2007 uuringus leiti, et temperatuuril on väga oluline mõju piima rasvakuulikese läbimõõdule ühekordsel homogeniseerimisel (joonis 5). Sama piima teistkordsel homogeniseerimisel vähenes küll rasvakuulikeste keskmine läbimõõt, aga muutus oli üsna minimaalne.



**Joonis 5.** Temperatuuri mõju rasvakuulike läbimõõdule. Ühekordne (■), kahekordne (□) homogeniseerimine. (Thiebaud *et al.* 2003: 434)

### 1.2.6. Piima rasvasisalduse mõju homogeniseerimisele

Olsen *et al.* 2004 uuringus leiti, et homogeniseerimisrõhk mõjutab oluliselt ( $p < 0,001$ ) rasvaosakeste suurust lõssis, 2%-lises ja 3,5%-lises piimas. Kasutades 50 MPa suurust rõhku, vähenes 2% ja 3,5% piima rasvakuulikeste keskmine läbimõõt võrreldes toorpiimaga peaaegu 10 korda. Piimas rasvasisaldusega 2% langes keskmine diameeter 3,65 µm-lt 0,39 µm-ni ja 3,5% piimas 4,49 µm-lt 0,46 µm-ni. Lõssis langes keskmine rasvakuulikeste läbimõõt vaevalt 2 korda, mis on ka üsna loomulik, kuna lõssis on üldse vähe rasva. Teiseks on homogeniseerimata lõssis kõige suuremad rasvakuulikesed väiksema läbimõõduga kui 2% ja 3,5% piimas kõige väiksemad kuulikesed. Hoides rõhu konstantsena, suureneb rasvasisalduse tõstmisel ka rasvakuulikeste läbimõõt. Homogeniseerimisrõhul 50 MPa on lõssis keskmine rasvakuulikeste läbimõõt 0,23 µm, 2% ja 3,5% piimas on sama näitaja vastavalt 0,39 µm ning 0,46µm.

Samuti leidis Kielczewska *et al.* (2006: 91), et homogeniseerimise mõjutab piima rasvasisaldus.

Walstra *et al.* (2006: 295) leidis, et kõrge piima rasvasisalduse korral (>10%), moodustuvad homogeniseerimise käigus rasvakogumikud ning tulemuseks on kiire kihistumine piimas.

## 2. MATERJAL JA METOODIKA

### 2.1. Eksperimentaalosa metoodika

Uurimuse käigus teostati 10 katseseeriat. Üks katseseeria sisaldas piima homogeniseerimist 3 erineval rõhul ja temperatuuril. Katsed viidi läbi Eesti Maaülikooli Toiduteaduse ja toiduainete tehnoloogia osakonna mikromeiereis ajavahemikul 06.10.2014 kuni 10.03.2015. Piimaproovide rasvasisaldus määrati Eesti Põllumajandusloomade Jõudluskontrolli AS (EPJ AS) laboratooriumis.

Homogeniseerimisrõhud (120 bar, 130 bar ja 140 bar) valiti lähtuvalt tööstuse kasutatavatest rõhkudest ja samas arvestades Eesti Maaülikooli mikromeierei võimalusi. Rõhu mõju efektiivsust uuriti kolme erineva temperatuuri juures (tabel 3).

Nagu juba eelnevalt mainitud, sooviti lähtuda tööstuses kasutatavatest rõhkudest, kuid kuna mikromeiereis oleva homogenisaatori (FT9, Armfield UK) maksimaalseks töö rõhuks oli 140 baari, siis oli see ka kõrgeim rõhk, mida katsetes kasutati. Kirjandusest lähtuvalt jääb homogeniseerimise optimaalne temperatuur 60...70 °C vahele (Laikoja 2001: 267, Thiebaud *et al.* 2003: 427), seega valiti katsete läbiviimiseks temperatuurid nimetatud vahemikus. Ühelt lüpsilt saadud segupiimast valmistati ette 9 proovi (tabel 3) suurusjaotuse analüüsimiseks.

**Tabel 3.** Proovide parameetrid homogeniseerimisel

Rõhk	1. grupp (60 ± 2 °C)	2. grupp (65 ± 2 °C)	3. grupp (70 ± 2 °C)
120 bar	I piim	IV piim	VII piim
130 bar	II piim	V piim	VIII piim
140 bar	III piim	VI piim	IX piim

Magistritöö raames tehti kokku 10 paralleelset katseseeriat. Üheks katseseeriaks varuti 5 liitrit piima (iga piimaproovi jaoks 0,5 l). Piim soojendati elektripliidil mahutis, aeg-ajalt segades. Kuna piima kogus oli üsna väike, siis toimus piima jahtumine suhteliselt kiiresti.

Selleks, et homogeniseerimisele jõuaks soovitud temperatuuriga piim, soojendati 1. temperatuuri grupi proove 65 °C-ni, 2. grupi proove 70 °C-ni ja 3. grupi proove 75 °C-ni.

Samal põhjusel vajas eelsoojendamist ka homogenisaator. Vahetult enne katse algust lasti homogenisaatorist läbi 75 °C-ni soojendatud vesi.

Homogeniseeritud piimaproovi kogumine toimus kontrollitud rõhul, jättes topsi kogumata homogeniseerimise alguse ja lõpu piima. Viimane oli oluline vältimaks ebasobival rõhul töödeldud piima edasist analüüsimist.

Kogutud piimaproovil mõõdeti temperatuuri vahetult peale väljumist homogenisaatorist. Kui temperatuur jäi soovitud vahemikku (vastavalt  $60 \pm 2$  °C,  $65 \pm 2$  °C või  $70 \pm 2$  °C), jahutati proov toatemperatuurile ja säilitati järgmise päevani külmikus +4 °C juures. Vastasel juhul korrati katset seni, kuni saavutati sobilik temperatuur.

Lisaks homogeniseeritud piimaproovidele võeti ka toorpiimast kontrollproov, mida säilitati samades tingimustes nagu teisi proove.

## **2.2. Katseteks vajalikud vahendid ja materjalid**

- Toorpiim - Homogeniseerimisel kasutati Tartu Agro AS Vorbuse farmi lehmade segupiima, mis oli lüpstud sama päeva hommikul. Katsed teostati toorpiimaga, kuna juba eelnevalt pastöriseeritud piima puhul ei ole teada selle täpne kuumtöötlemisrežiim.
- Homogenisaator FT9 (Armfield Ltd. Ringwood England) – Klapphomogenisaator S4 30A (joonis 6), mille tootlikus oli 5000 l/h. Maksimaalne lubatud temperatuur 85 °C ja maksimaalne rõhk 250 baari. Manomeetril oli kaksikmõõteskaala (bar/psi).



**Joonis 6.** Klapphomogenisaator ja selle manomeeter.

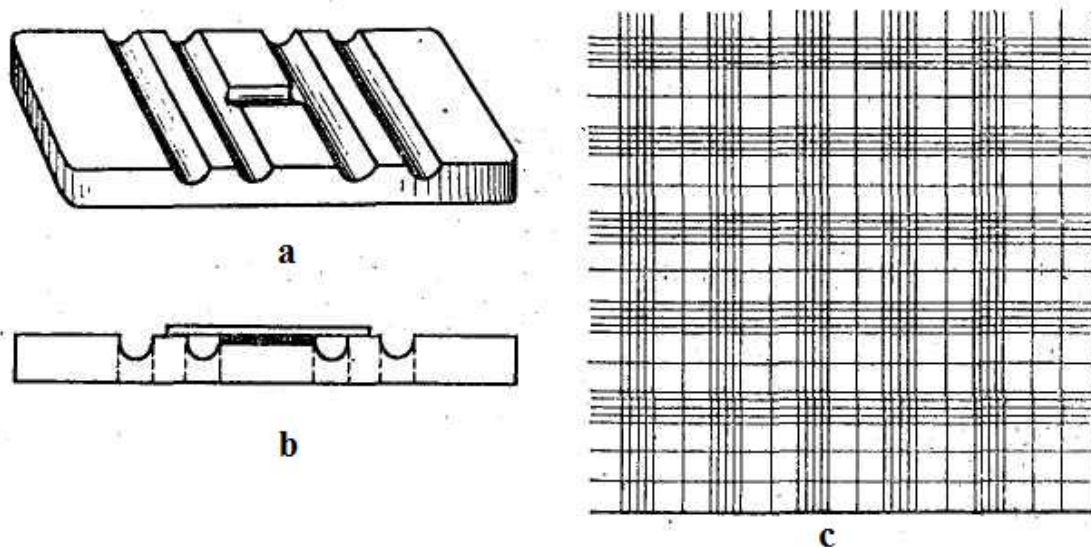
- Gorjajevi ühikmahukamber (joonis 7) – katteklaasiga kaetav kamber, sügavusega 0,1 mm. Ruudustik mõõtmatega 1/400 ja 1/25 mm<sup>2</sup>.
- Destilleeritud vesi
- Mikroskoop (Nikon Eclipse E200) – objektiiv CFI E Plan Achromat 40x suurendus
- Arvuti – programm NIS–ELEMENTS D 4, Excel
- Moodul DIGITAL SIGHT
- Termomeeter
- Mikrotuubid – 2000 µm proovi ettevalmistamiseks
- Pipetid, otsikud – 1000 µl ja 20 µl automaatpipett, ühekordsed pipetid
- Mõõtenõud
- Keetmismahuti

### **2.3. Piimaproovide ettevalmistamine suurusjaotuse analüüsiks**

Rasvakuulikeste suurusjaotuse määramiseks lahjendati piim destilleeritud veega 1:200 (10 µl piima ja 2000 µl destilleeritud vett). Kasutusel oli 1000 µl ja 20 µm automaatpipett. Piimaproov valmistati 2 ml mikrotuubi sisse, suleti kaanega ja segamiseks keerati üles-alla 2–3 korda. Loksutamine ei olnud lubatud.

Antud katsetes kasutati rasvakuulikeste suurusejaotus määramiseks Gorjajevi ühikmahukambrit (joonis 7). Puhas kamber kaeti katteklaasiga (tekkisid Newtoni rõngad) ja piimaproov tilgutati ühekordse pipeti abil Gorjajevi kambrisse.





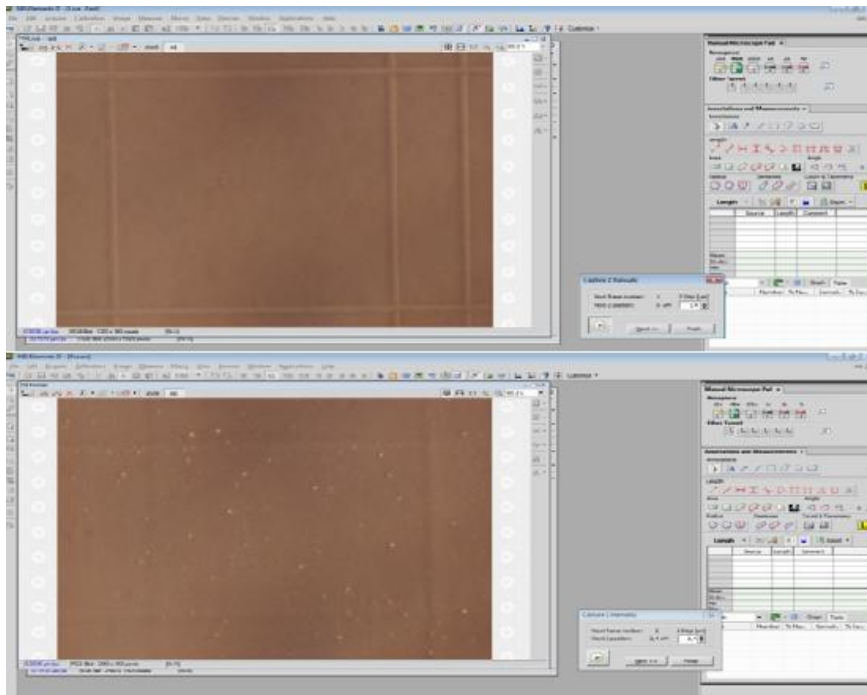
**Joonis 7.** Gorjajevi ühikmahukamer. a – ühikmahukamber, b – ühikmahukamber koos katteklaasiga külgvaates, c – kambri võrgustik. *Allikas:* (medznate.ru kodulehekülg)

Proovid valmistati ükshaaval vahetult enne rasvakuulikeste mõõtmist. Olles ühe piimaproovi rasvakuulikesed ära mõõtnud, puhastati Gorjajevi kamber ja asuti järgmist proovi ette valmistama.

## 2.4. Rasvakuulikeste suurusjaotuse määramine

Gorjajevi kamber asetati mikroskoobi töölaualle haarade vahele. Rasvakuulikeste läbimõõdu märkimiseks kasutati 400x suurendust ja faasikontrasti Ph2. Mõõtmised teostati arvutiprogrammiga NIS-ELEMENTS D 4. Esmalt otsiti Gorjajevi kambri võrgustik üles läbi okulaari, alles siis lülitati ümber pilt kaameraga arvutisse. Rasvakuulikeste diameetri mõõtmiseks fokuseeriti makro- ja mikrokruviga reguleerides üks Gorjajevi võrgustikus olev ruut pindalaga 0,04 mm<sup>2</sup>.

Pildistamiseks valiti menüü ribalt *Play* ►. Järgmisena valiti menüü ribalt *Aquire* → *Capture Z series* → *Capture manually*. Ilmuvasse aknasse tehti topelt klikk, esialgu teravustati ühikmahukambri ruut ja peale seda rasvakuulikesed (joonis 8). Pildistamiseks vajutati nuppu *Play* ►2x → *next*. Peale 2 pildi tegemist kleebiti need kokku (menüü ribalt *liblika* kujutis). Seejärel valiti menüüst rasvakuulikese läbimõõdu hindamise meetod, millega märgiti rasvakuulikese läbimõõd, klikkides kuulikese membraanile ja vedades siis hiire kursori risti üle rasvakuulikese (läbimõõd).



**Joonis 8.** Rasvakuulikeste mõõtmine programiga NIS–ELEMENTS D 4. Ülemine pilt näitab Gorjajevi võrgustiku ja alumine rasvakuulikeste teravustamist.

Katse käigus märgistati kõik nähtavad rasvakuulikesed, mis mahtusid ühele ruudule ehk  $0,04 \text{ mm}^2$  pindala peale. Andmed saadi vastavalt mõõtkavale, milleks oli  $0,242000 \text{ } \mu\text{m/px}$ .

Saadud tulemused eksporditi arvutiprogramm NIS–ELEMENTS D 4 vahendusel Excelisse. Andmeid oli võimalik ekspordida nii tabeli kui ka tulpdiagrammina.

### 3. TULEMUSED JA ARUTELU

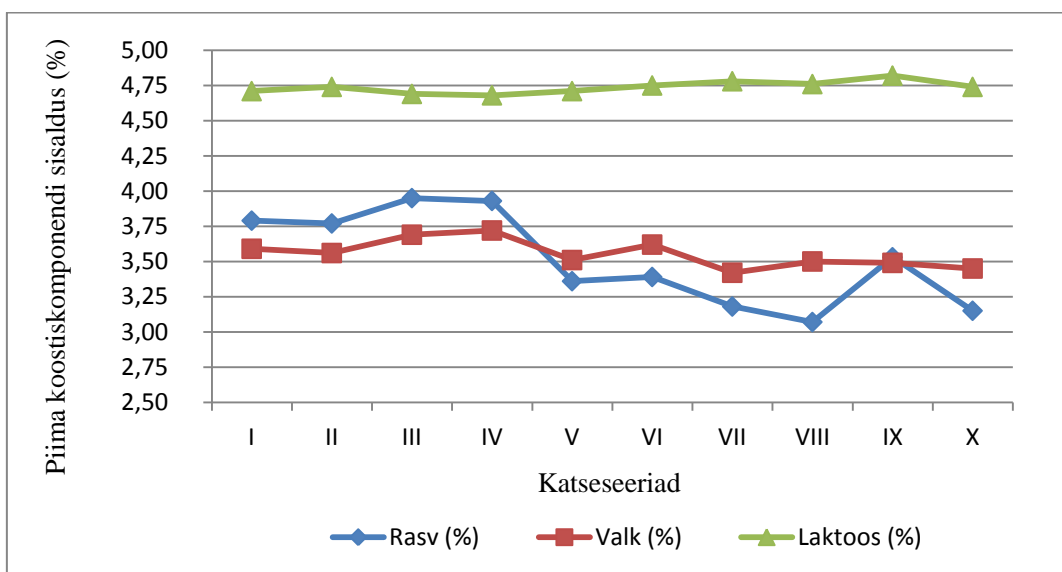
Tulemuste analüüsimiseks kasutati andmetöötlusprogrammi Microsoft Exceli erinevaid funktsioone, jooniseid ja statistikaprotseduure, nende hulgas ANOVA, T-test, korrelatsioonianalüüs, sagedustabelid ja -graafikud.

#### 3.1. Rasvasisaldus ja rasvakuulikeste suurusjaotus toorpiimas

##### 3.1.1 .Toorpiima rasvasisalduse muutused võrreldes piima teiste koostisosadega

EPJ AS väljastatud protokollid kajastavad lisaks rasvaprotsendile ka valgu- ja laktoosisisaldust, soomaatiliste rakkude arvu ning karbamiidi taset. Edaspidise uuringu käigus on kõrvale jäetud soomaatiliste rakkude ja karbamiidi taseme analüüs.

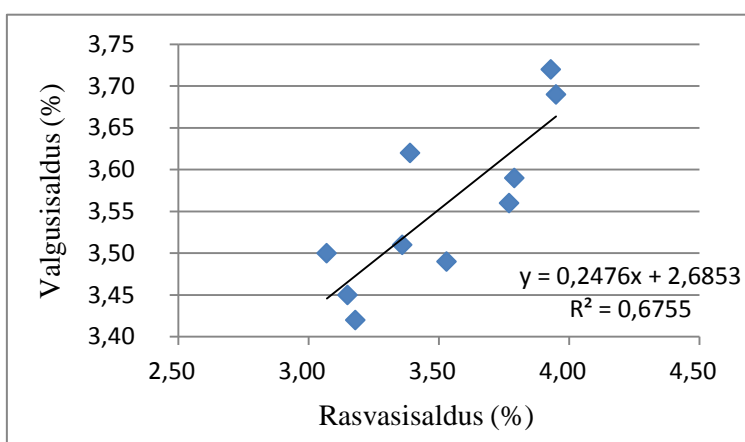
Varasemast on teada, et rasv on kõige varieeruvam piima koostisosa ja seda mõjutavad mitmed erinevad faktorid (Ozrenk, Inci 2008: 162). Samale tulemusele jõuti ka 10 katseseeria toorpiima analüüsid (joonis 9). Nimelt kui laktoosisisaldus on katsete perioodi vältel üsna stabiilne (erinevus 0,14%), siis valgu- ja rasvasisalduse kõikumine oli selgelt nähtav (erinevus vastavalt 0,30% ja 0,88%).



**Joonis 9.** EPJ AS laboratooriumis teostatud toorpiima analüüside tulemused

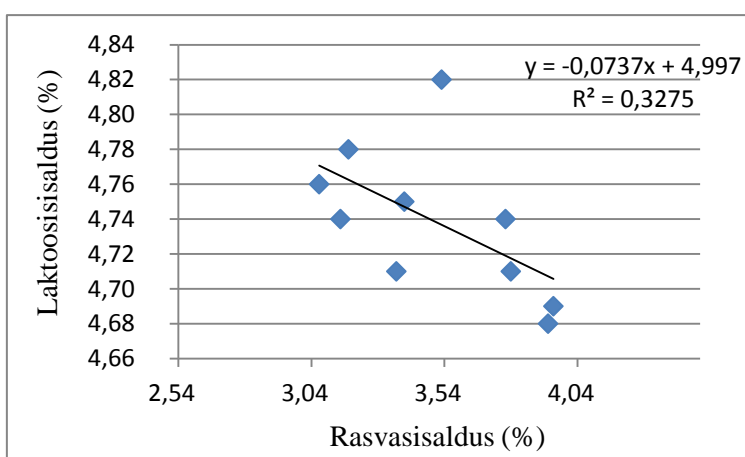
Tulemustest on näha, et katseperioodi jooksul rasvasisaldus piimas langeb. Maksimaalne rasvasisaldus oli 3,95% (oktoober) ja minimaalne 3,07% (detsember). Chen *et al.* 2014 uuringus leiti, et sügisperioodil (september-november) oli piima rasvasisaldus suurem kui teistel aastaegadel lüpsitud piimas, mis kinnitab käesoleva uuringu tulemusi.

Piima rasva- ja valgusisalduse vahel esines tugev positiivne korrelatsioon ( $r = 0,82$ ), mis oli statistiliselt oluline ( $p < 0,01$ ). Mida kõrgem on rasvasisaldus, seda kõrgem on ka valgusisaldus (joonis 10).



**Joonis 10.** Rasva- ja valgusisalduse vaheline seos

Rasva- ja laktoosisisalduse vahel leiti tugev negatiivne korrelatsioon ( $r = -0,57$ ), mis oli statistiliselt ebaoluline ( $p > 0,05$ ) (joonis 11).



**Joonis 11.** Rasva- ja laktoosisisalduse vaheline seos

### 3.1.2. Rasvakuulikeste suurusjaotus toorpiimas

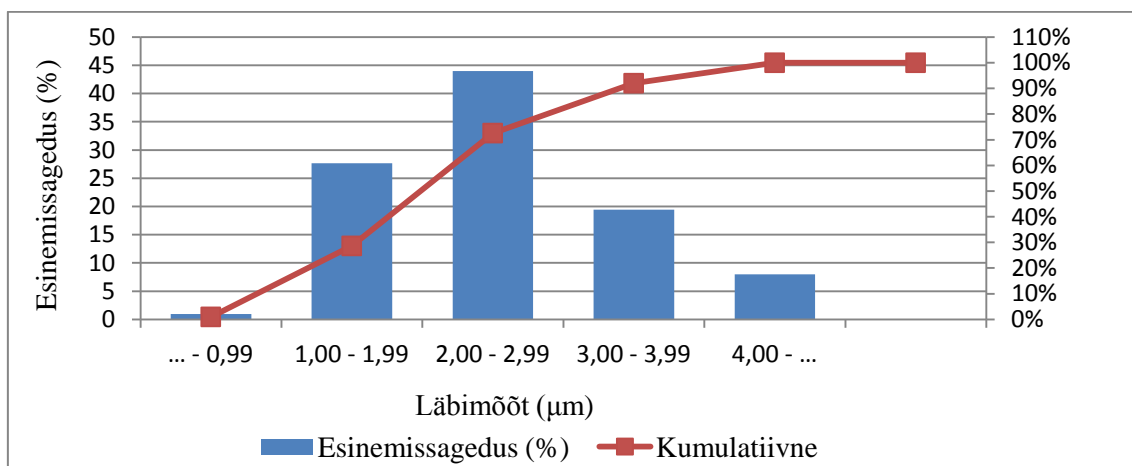
Toorpiimas mõõdetud rasvakuulikeste arvkarakteristika näitab, et kõige väiksema registreeritud rasvakuulike läbimõõt oli 0,80  $\mu\text{m}$  ja suurima 7,45  $\mu\text{m}$  (tabel 4). Erinevalt kirjanduses toodud rasvakuulikeste läbimõõdu variatsiooniulatusest (Wangdi *et al.* 2014: 13) ei tuvastatud katsete käigus ühtegi väga suure läbimõõduga (> 7,45  $\mu\text{m}$ ) rasvakuulikest.

**Tabel 4.** Rasvakuulikeste arvkarakteristika toorpiimas

Keskmine $\sigma$ ( $\mu\text{m}$ )	Mediaan ( $\mu\text{m}$ )	Min $\sigma$ ( $\mu\text{m}$ )	Max $\sigma$ ( $\mu\text{m}$ )	Standardhälve ( $\mu\text{m}$ )
2,59	2,45	0,80	7,45	0,94

Võrreldes katse käigus mõõdetud toorpiima rasvakuulikeste keskmist läbimõõtu (2,59  $\mu\text{m}$ ) kirjanduses enim mainitud keskmise läbimõõduga (3...4  $\mu\text{m}$ ) on saadud näitaja tunduvalt madalam. Kuna rasvakuulikeste suurus sõltub väga paljudest erinevatest teguritest, siis on saadud erinevusele raske ühest põhjendust leida.

Erinevalt normaaljaotusest, on saadud tulemuste põhjal koostatud diagrammil mediaan (2,45  $\mu\text{m}$ ) kallutatud väiksema läbimõõdu suunas. Jooniselt 12 nähtub, et kõige enam (43,96%) esines toorpiimas rasvakuulikesi läbimõõduga 2,00–2,99  $\mu\text{m}$ . Walstra *et al.* 2006: 127 on öeldud, et 75% kõikidest rasvakuulikestest on väiksemad kui 1  $\mu\text{m}$ . Antud katse tulemus seda aga ei kinnita, sest antud uurimustöös selgus, et alla 1  $\mu\text{m}$  läbimõõduga rasvakuulikesi esines alla 1%. Erinevus võis tuleneda mõõtmise metoodikast.

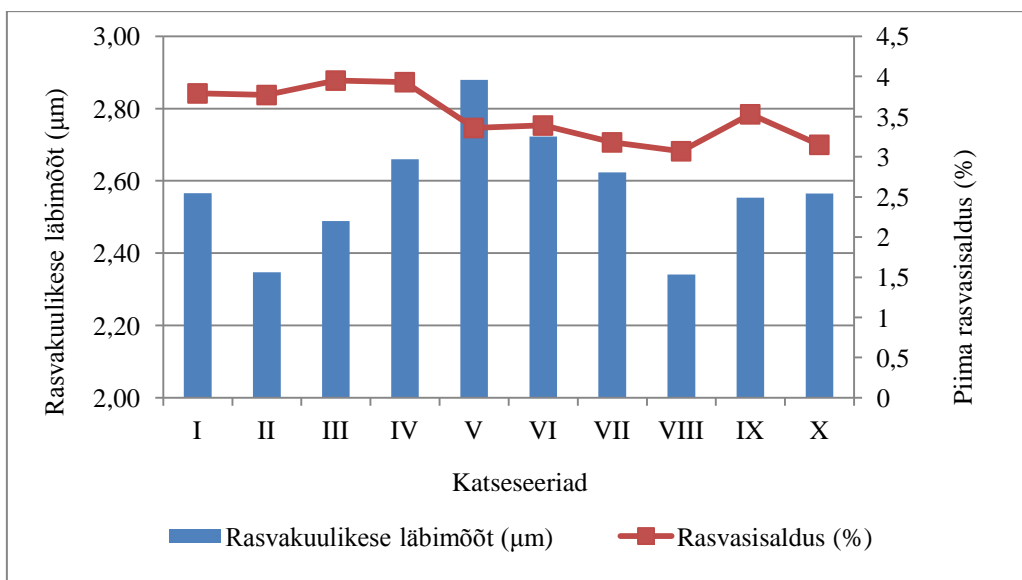


**Joonis 12.** Toorpiimas mõõdetud rasvakuulikeste esinemissagedus vastavalt läbimõõdule.

Kumulatiivne sagedus näitab kui mitu protsenti vaadeldavast rasvakuulikese läbimõõdust on väiksemad või võrdsed vastava klassi ülemise piiriga. Rasvakuulikesed läbimõõduga kuni 2 µm moodustavad valimist 28,63%, kuni 3 µm 72,59% ja kuni 4 µm 92,03%.

### 3.1.3. Piima rasvasisalduse mõju rasvakuulikeste suurusjaotusele

Lähtuvalt kirjandusest võib öelda, et piima rasvasisalduse ja rasvakuulikeste läbimõõdu vahel on positiivne seos – mida kõrgem on rasvaprotsent piimas, seda suuremad on üldjuhul rasvakuulikesed (Wangdi *et al.* 2014: 18). Katse tulemuste põhjal tehtud korrelatsioonianalüüs seda väidet aga ei kinnita ( $r = -0,08$ ,  $p > 0,05$ ). Selle kohaselt puudub piima rasvasisalduse ja keskmise läbimõõdu vahel seos (joonis 13).



**Joonis 13.** Piima rasvasisalduse seos rasvakuulikeste läbimõõduga

Põhjus, miks antud katses piima rasvasisalduse ja keskmise diameetri vahel korrelatsioon puudus, võib seisneda selles, et rasvakuulikeste valim oli liiga väike ja proovide kogumise periood ei katnud tervet laktatsiooniperioodi.

## 3.2. Homogeniseerimisparameetrite mõju rasvakuulikeste suurusjaotusele

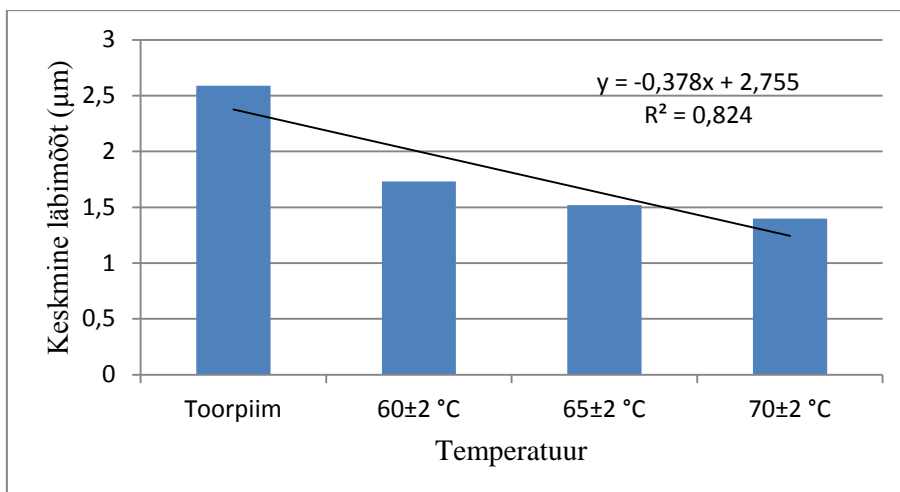
### 3.2.1. Temperatuuri mõju rasvakuulikeste suurusjaotusele homogeniseerimise rõhul 120 baari

Rõhul 120 baari homogeniseeritud piimas langevad temperatuuri tõustes rasvakuulikeste keskmine, minimaalne ja maksimaalne läbimõõt, mediaan ning standardhälve (tabel 5). Kõige väiksem rasvakuulike ( $\sigma = 0,49 \mu\text{m}$ ) mõõdeti temperatuuril  $70 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$  ja suurim ( $\sigma = 4,67 \mu\text{m}$ ) temperatuuril  $60 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ . Rasvakuulikeste läbimõõtude varieeruvusvahemik vähenes homogeniseerimise käigus võrreldes toorpiimaga vastavalt 40,3% ( $60 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ ), 51,6% ( $65 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ ) ja 55,0% ( $70 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ ).

**Tabel 5.** Rasvakuulikeste arvkarakteristika homogeniseeritud piimas ( $p = 120 \text{ bar}$ )

Temperatuur ( $^\circ\text{C}$ )	Keskmine $\sigma$ ( $\mu\text{m}$ )	Mediaan ( $\mu\text{m}$ )	Min $\sigma$ ( $\mu\text{m}$ )	Max $\sigma$ ( $\mu\text{m}$ )	Standardhälve ( $\mu\text{m}$ )
$60 \pm 2$	1,73	1,62	0,70	4,67	0,59
$65 \pm 2$	1,52	1,42	0,54	3,76	0,52
$70 \pm 2$	1,40	1,30	0,49	3,48	0,52

Homogeniseerides piima rõhul 120 baari erinevate temperatuuride juures ja hinnates seejärel temperatuuri mõju rasvakuulikeste suurusele, leiti et esines statistiliselt oluline negatiivne seos ( $p < 0,001$ ), ehk mida kõrgem on homogeniseerimise temperatuur, seda väiksem on rasvakuulikeste keskmine läbimõõt (joonis 14). Rasvakuulikeste keskmine läbimõõt võrreldes toorpiimaga langes  $60 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$  juures homogeniseerides  $2,59 \mu\text{m}$ -lt  $1,73 \mu\text{m}$ -ni ( $\downarrow 33,2\%$ ),  $65 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$  juures  $1,52 \mu\text{m}$ -ni ( $\downarrow 41,3\%$ ) ja  $70 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$  juures  $1,40 \mu\text{m}$ -ni ( $\downarrow 45,9\%$ ).



**Joonis 14.** Rasvakuulikeste keskmine läbimõõt vastavalt homogeniseerimistemperatuurile ( $p = 120$  bar).

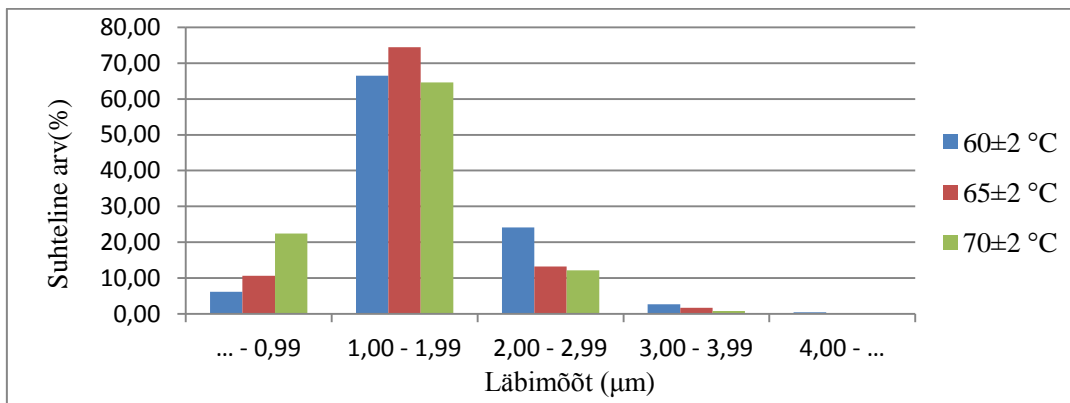
Kuna homogeniseerimisel pihustatakse suured rasvakuulikesed väiksemateks, siis ühtlustub piimas nende suurusjaotus. Kui toorpiimas esines kuni  $1 \mu\text{m}$  läbimõõduga rasvakuulikesi ligikaudu 1%, siis homogeniseerimise tulemusel 120 baari juures, on see näitaja märgatavalt tõusnud (tabel 6). Temperatuuril  $60 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$  on 6,20% kõikidest rasvakuulikestest läbimõõdult väiksemad kui  $1 \mu\text{m}$ . Temperatuuri tõus  $65 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ -lt  $70 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ -le suurendas kuni  $1 \mu\text{m}$  läbimõõduga rasvakuulikeste hulka 11,78%, erinevus temperatuuridel  $60 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$  ja  $70 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$  on lausa 16,2%.

**Tabel 6.** Homogeniseerimistemperatuuri mõju rasvakuulikeste suurusjaotusele konstantsel rõhul ( $c = 120$  bar)

Läbimõõt ( $\mu\text{m}$ )	120 bar			Toorpiim
	$60 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$	$65 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$	$70 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$	
	%	%	%	%
...–0,99	6,20	10,64	22,42	0,97
1,00–1,99	66,48	74,47	64,59	28,63
2,00–2,99	24,13	13,21	12,17	43,96
3,00–3,99	2,72	1,68	0,82	19,44
4,00-...	0,47	0	0	7,97



Sõltumata temperatuuri valikust esineb kõige rohkem rasvakuulikesi läbimõõduga 1,00–1,99  $\mu\text{m}$  (joonis 15). Ainult 0,47% kõikidest rasvakuulikestest olid läbimõõdult suuremad kui 4  $\mu\text{m}$  ja need kõik esinesid  $60 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$  juures homogeniseeritud piimas.



**Joonis 15.** Rasvakuulikeste suurusjaotus konstantsel rõhul homogeniseeritud piimas ( $c = 120 \text{ bar}$ )

Piima homogeniseerimisel rõhul 120 baari nihkub rasvakuulikeste läbimõõtude mediaan väiksemate rasvakuulikeste suunas vastavalt temperatuuri tõusule ( $60 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$  juures 1,62  $\mu\text{m}$ ,  $65 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$  juures 1,42  $\mu\text{m}$  ja  $70 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$  juures 1,30  $\mu\text{m}$ ). Lisaks mediaanile, täheldati temperatuuri tõusuga langustendentsi ka rasvakuulikeste keskmises läbimõõdus, mis kahanes 1,73  $\mu\text{m}$ -lt 1,40  $\mu\text{m}$ -ni.

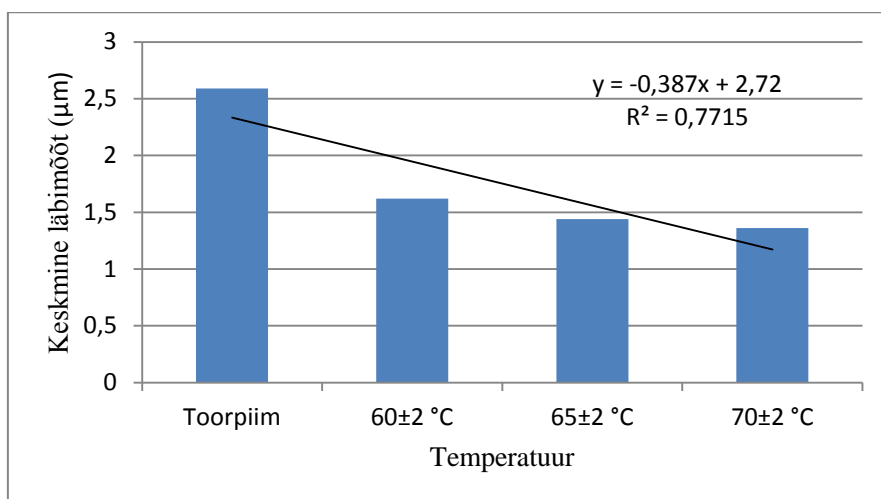
### 3.2.2. Temperatuuri mõju rasvakuulikeste suurusjaotusele homogeniseerimise rõhul 130 baari

Rõhul 130 baari homogeniseeritud piimas langevad temperatuuri tõustes rasvakuulikeste keskmine, minimaalne ja maksimaalne läbimõõt, mediaan ning standardhälve (tabel 7). Väikseim mõõdetud rasvakuulike homogeniseerimise rõhul 130 baari oli läbimõõduga 0,52  $\mu\text{m}$  ( $70 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ ) ja suurim 4,12  $\mu\text{m}$  ( $60 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ ). Rasvakuulikeste läbimõõtude varieeruvusvahemik vähenes võrreldes toorpiimaga homogeniseerimise käigus vastavalt 47,7% ( $60 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ ), 47,4% ( $65 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ ) ja 49,6% ( $70 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ ).

**Tabel 7.** Rasvakuulikeste arvkarakteristika homogeniseeritud piimas (p = 130 bar)

Temperatuur (°C)	Keskmine ø (µm)	Mediaan (µm)	Min ø (µm)	Max ø (µm)	Standardhälve (µm)
60 ± 2	1,62	1,49	0,64	4,12	0,55
65 ± 2	1,44	1,33	0,58	4,08	0,52
70 ± 2	1,36	1,24	0,52	3,87	0,49

Homogeniseerimine 130-baarise rõhu juures näitab temperatuuri tõstmise mõju statistilist olulisust ( $p < 0,001$ ). Võrreldes toorpiimaga langes homogeniseerimise tulemusel rasvakuulikeste keskmine läbimõõt 60 ± 2 °C juures 2,59 µm-lt 1,62 µm-ni (↓37,5%), 65 ± 2 °C juures 1,44 µm-ni (↓44,4%) ja 70 ± 2 °C juures 1,36 µm-ni (↓47,5%) (joonis 16).

**Joonis 16.** Rasvakuulikeste keskmine läbimõõt vastavalt homogeniseerimistemperatuurile (p = 130 bar).

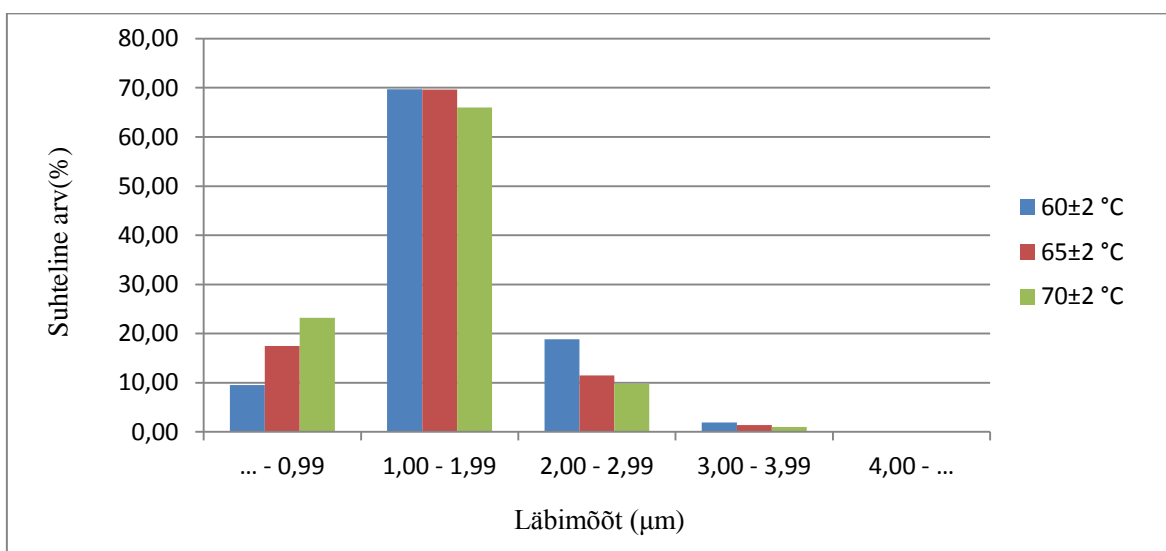
Sarnaselt 120 baari juures homogeniseeritud piima rasvakuulikeste suurusjaotusele, on ka 130 baari juures kõige rohkem rasvakuulikesi läbimõõduga 1,00–1,99 µm (tabel 8). Sellise läbimõõduga rasvakuulikeste esinemissageduse erinevus erinevate homogeniseerimise temperatuuride vahel on kõigest 3,68%.

**Tabel 8.** Homogeniseerimistemperatuuri mõju rasvakuulikeste suurusjaotusele konstantsel rõhul ( $c = 130$  bar)

Läbimõõt ( $\mu\text{m}$ )	130 bar			Toorpiim
	$60\pm 2$ °C	$65\pm 2$ °C	$70\pm 2$ °C	
	%	%	%	%
...-0,99	9,51	17,45	23,22	0,97
1,00-1,99	69,68	69,64	66,00	28,63
2,00-2,99	18,82	11,45	9,78	43,96
3,00-3,99	1,90	1,36	0,99	19,44
4,00-...	0,10	0,09	0	7,97

Temperatuuri tõus  $60 \pm 2$  °C-lt  $65 \pm 2$  °C-le suurendas kuni  $1 \mu\text{m}$  läbimõõduga rasvakuulikeste osakaalu 7,94%. Homogeniseerimistemperatuuri tõus  $60 \pm 2$  °C-lt  $70 \pm 2$  °C-le suurendas kuni  $1 \mu\text{m}$  läbimõõduga rasvakuulikeste osa 13,71% (joonis 17).

Kõige suurem läbimõõduvahemik ( $4,00\text{--}\dots \mu\text{m}$ ) koondab enda alla ainult 0,19% kõikidest rasvakuulikestest.  $70 \pm 2$  °C oli ainuke temperatuur, mille juures homogeniseerides ei esinenud ühtegi rasvakuulikest, mis oleks olnud vähemalt  $4 \mu\text{m}$  läbimõõduga.



**Joonis 17.** Rasvakuulikeste suurusjaotus konstantsel rõhul homogeniseeritud piimas ( $c = 130$  bar)

Konstantsel homogeniseerimisrõhul 130 baari nihkub rasvakuulikeste läbimõõtude mediaan väiksemate rasvakuulikeste suunas vastavalt temperatuuri tõusule ( $60 \pm 2$  °C juures on mediaan  $1,49 \mu\text{m}$ ,  $65 \pm 2$  °C juures  $1,33 \mu\text{m}$  ja  $70 \pm 2$  °C juures  $1,24 \mu\text{m}$ ).

### 3.2.3. Temperatuuri mõju rasvakuulikeste suurusjaotusele homogeniseerimisrõhul 140 baari

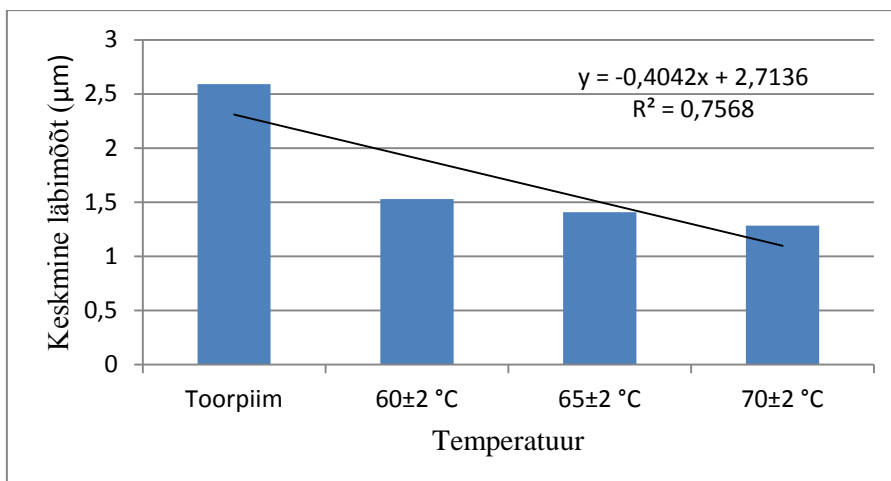
Rõhul 140 baari homogeniseeritud piimas langevad temperatuuri tõustes rasvakuulikeste keskmine ja minimaalne läbimõõt, mediaan ning standardhälve (tabel 9). Ainus karakteristik, mis langustendentsi ei näita, on maksimaalne rasvakuulikeste läbimõõt. Temperatuuril  $60 \pm 2$  °C oli suurim rasvakuulikeste läbimõõt  $5,30 \mu\text{m}$ , temperatuuril  $65 \pm 2$  °C  $3,70 \mu\text{m}$  ja temperatuuril  $70 \pm 2$  °C  $3,88 \mu\text{m}$ .

Rasvakuulikeste läbimõõtude varieeruvusvahemik vähenes homogeniseerimise käigus võrreldes toorpiimaga vastavalt 28,0% ( $60 \pm 2$  °C), 51,7% ( $65 \pm 2$  °C) ja 48,7% ( $70 \pm 2$  °C).

**Tabel 9.** Rasvakuulikeste arvkarakteristika homogeniseeritud piimas ( $p = 140$  bar)

Temperatuur (°C)	Keskmine $\bar{\phi}$ ( $\mu\text{m}$ )	Mediaan ( $\mu\text{m}$ )	Min $\phi$ ( $\mu\text{m}$ )	Max $\phi$ ( $\mu\text{m}$ )	Standardhälve ( $\mu\text{m}$ )
$60 \pm 2$	1,53	1,41	0,51	5,30	0,59
$65 \pm 2$	1,41	1,30	0,49	3,70	0,52
$70 \pm 2$	1,28	1,17	0,47	3,88	0,50

Homogeniseerides piima rõhul 140 baari, on erinevate temperatuuride mõju sarnaselt eelmistele rõhuühikutele statistiliselt oluline ( $p < 0,001$ ). Keskmise rasvakuulikeste läbimõõt võrreldes toorpiimaga alanes  $2,59 \mu\text{m}$ -lt  $60 \pm 2$  °C juures  $1,53 \mu\text{m}$ -ni ( $\downarrow 40,9\%$ ),  $65 \pm 2$  °C juures oli sama näitaja  $1,41 \mu\text{m}$  ( $\downarrow 45,6\%$ ) ja  $70 \pm 2$  °C juures kõigest  $1,28 \mu\text{m}$  ( $\downarrow 50,6\%$ ) (joonis 18).



**Joonis 18.** Rasvakuulikeste keskmine läbimõõt vastavalt homogeniseerimistemperatuurile ( $p = 140$  bar).

Rasvakuulikesi läbimõõduga vähemalt  $4 \mu\text{m}$  märgistati ainult temperatuuril  $60 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ , kõrgematel temperatuuridel puudusid need üldse (tabel 10).

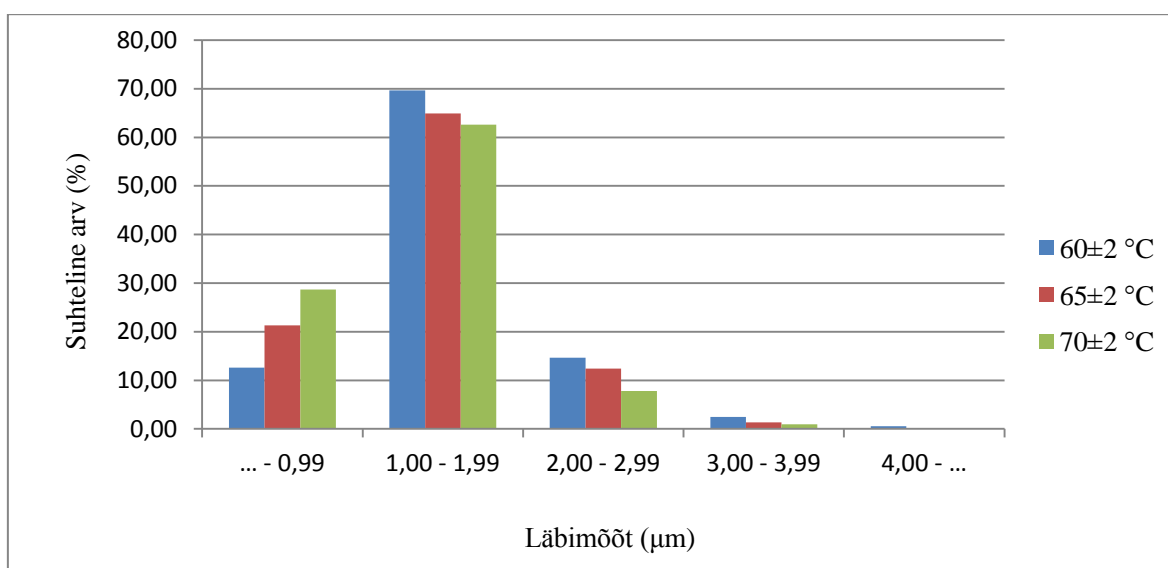
**Tabel 10.** Homogeniseerimistemperatuuri mõju rasvakuulikeste suurusjaotusele konstantsel rõhul ( $c = 140$  bar)

Läbimõõt ( $\mu\text{m}$ )	140 bar			Toorpiim
	$60 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$	$65 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$	$70 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$	
	%	%	%	%
...–0,99	12,64	21,33	28,66	0,97
1,00–1,99	69,69	64,90	62,61	28,63
2,00–2,99	14,65	12,40	7,77	43,96
3,00–3,99	2,47	1,37	0,96	19,44
4,00–...	0,55	0	0	7,97

Temperatuuril  $65 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$  homogeniseeritud piimas esineb väiksema kui  $1 \mu\text{m}$  läbimõõduga rasvakuulikesi peaaegu 2 korda rohkem kui  $60 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$  juures (joonis 19). Kõige kõrgema temperatuuri juures kasvab vähima läbimõõduga kuulikeste sagedus võrreldes madalaima temperatuuriga 16,0% ja toorpiimaga 27,69%.

Kõige väiksema läbimõõduga rasvakuulike ( $\sigma = 0,47 \mu\text{m}$ ) esines temperatuuril  $70 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$  ja kõige suurem ( $\sigma = 0,51 \mu\text{m}$ )  $60 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$  juures. Kõige arvukamalt esindatud

läbimõõduvahemik (1,00–1,99  $\mu\text{m}$ ) kahanes vastavalt temperatuuri tõusule, olles  $60 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$  juures 69,69%,  $65 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$  juures 64,90% ja  $70 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$  juures 62,61%.

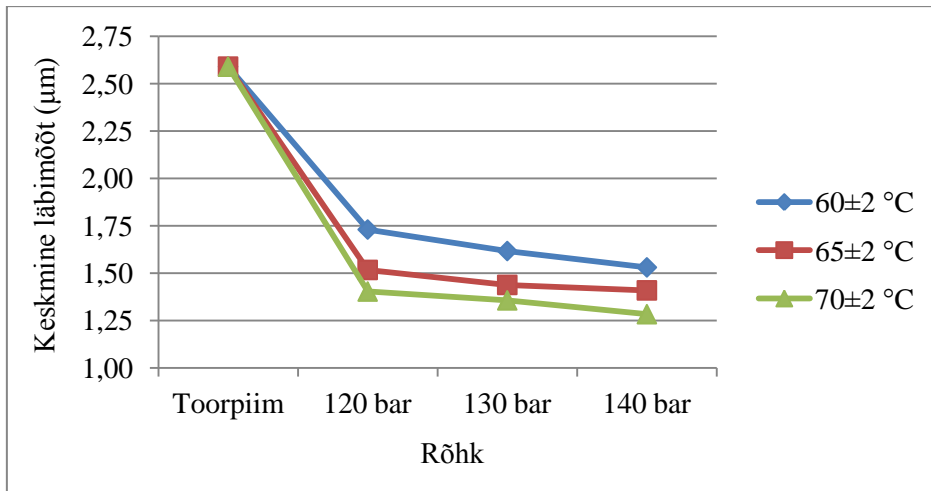


**Joonis 19.** Rasvakuulikeste suurusjaotus konstantsel rõhul homogeniseeritud piimas ( $c = 140 \text{ bar}$ )

Homogeniseerimise rõhul 140 baari on rasvakuulikeste läbimõõtude mediaan jätkuvalt languses. Rasvakuulikeste läbimõõtude mediaan nihkub väiksemate rasvakuulikeste suunas vastavalt temperatuuri tõusule ( $60 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$  juures 1,41  $\mu\text{m}$ ,  $65 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$  juures 1,30  $\mu\text{m}$  ja  $70 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$  juures 1,17  $\mu\text{m}$ ).

### 3.2.4. Homogeniseerimisrõhu mõju rasvakuulikeste suurusjaotusele

Homogeniseerimisrõhk ja rasvakuulikeste läbimõõt on omavahel negatiivses seoses – mida kõrgem on rõhk, seda väiksem on saadus rasvakuulikeste keskmine läbimõõt (joonis 20). Rõhul 120 baari näitab keskmine rasvakuulikeste läbimõõt langustendentsi, olles  $60 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$  juures 1,73  $\mu\text{m}$ ,  $65 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$  juures 1,52  $\mu\text{m}$  ja  $70 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$  juures 1,40  $\mu\text{m}$ . Temperatuuril  $65 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$  on sama näitaja vastavalt 1,62  $\mu\text{m}$ , 1,44  $\mu\text{m}$  ja 1,36  $\mu\text{m}$ . Kõige kõrgemal homogeniseerimise temperatuuril  $70 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$  on rasvakuulikeste keskmine läbimõõt vastavalt 1,53  $\mu\text{m}$ , 1,41  $\mu\text{m}$  ja 1,28  $\mu\text{m}$ .



**Joonis 20.** Homogeniseerimisrõhu mõju rasvakuulikeste keskmisele läbimõõdule erinevatel temperatuuridel

Analüüsidest erinevate homogeniseerimisrõhkude mõju, rasvakuulikeste suurusjaotusele selgus, et kõige ühtlasema läbimõõduga rasvakuulikesed tekkisid homogeniseerimise temperatuuril  $70 \pm 2$  °C. Rasvakuulikesi läbimõõduga kuni 2 µm on 120-baarisel rõhul homogeniseerides 87,01%, 130-baarisel 89,22% ja 140-baarisel 91,27%. Läbimõõduga vähemalt 4 µm ühtegi rasvakuulikeste ei tuvastatud.

Rasvakuulikeste läbimõõtude variatsioonivahemik jäi rõhu tõstmisel järjest väiksemaks. Kui 120-baarisel rõhul esines 5,69% rasvakuulikesi läbimõõduga vähemalt 3µm, siis 130 baari juures on sama näitaja 4,44%.

## KOKKUVÕTE

Piim on looduslik emulsioon, kus rasv on jagunenud veefaasis. Rasvakuulikeste mõõtmed on väga erinevad, varieerudes 0,1...20 µm vahel. On üldteada fakt, et jättes toorpiima seisma, hakkab teatud aja pärast rasv pinnale kerkima. Selle nähtuse vältimiseks kasutatakse piima homogeniseerimist, mis pihustab rasvakuulikesed sedavõrd väikesteks osakesteks, et nende liikumiskiirus pinnakihile kahaneb oluliselt. Homogeniseerimine hoiab piima stabiilsena ja vähendab liigset vahutamist.

Kirjanduse ülevaates käsitletud olulisemad teemad:

- Rasvakuulikese struktuur
- Rasvakuulikese suurus ja seda mõjutavad tegurid
- Homogeniseerimise mõju rasvakuulikeste läbimõõdule ja suurusjaotusele
- Homogeniseerimistemperatuuri mõju rasvakuulikeste läbimõõdule ja suurusjaotusele
- Homogeniseerimisrõhu mõju rasvakuulikeste läbimõõdule ja suurusjaotusele

Kirjandusest selgus, et piima optimaalne homogeniseerimise temperatuur on 60...70 °C. Piimatööstustes kasutatakse peamiselt klapphomogenisaatoreid, mis töötavad rõhul 15...20 MPa.

Tulemustest selgus, et homogeniseerimistemperatuuri ja rasvakuulikese läbimõõdu vahel esines statistiliselt oluline negatiivne seos ( $p < 0,001$ ) ehk mida kõrgem on homogeniseerimise temperatuur antud vahemikus, seda väiksem on rasvakuulikeste keskmine läbimõõt. Sarnaselt temperatuurile on homogeniseerimisrõhk ja rasvakuulikese läbimõõt omavahel statistiliselt olulises negatiivses seoses ( $p < 0,001$ ). Kõige väiksem keskmine rasvakuulikese läbimõõt saavutati homogeniseerimisrežiimil  $70 \pm 2$  °C 140 baari.

Samuti leiti, et kõige ühtlasema rasvakuulikeste suurusjaotusega piim saadakse homogeniseerimisrežiimil  $70 \pm 2$  °C ja 120 baari. Antud režiimil esines kõige väiksem rasvakuulikeste variatsioonivahemik, mis võrreldes toorpiimaga vähenes 55%. Kõige



väiksem mõõdetud rasvakuulike oli läbimõõduga 1,49  $\mu\text{m}$  ja kõige suurem 3,48  $\mu\text{m}$ . Temperatuuril  $70 \pm 2$  °C ja rõhul 120 baari homogeniseeritud piimas oli rasvakuulikesi läbimõõduga kuni 1  $\mu\text{m}$  22,42%, kuni 2  $\mu\text{m}$  64,59%, kuni 3  $\mu\text{m}$  12,17% ja kuni 4  $\mu\text{m}$  0,82%.

Lisaks sellele uuriti piima rasvasisalduse ja rasvakuulike keskmise läbimõõdu vahelist seost. Katse tulemuste põhjal tehtud korrelatsioonianalüüs näitas, et mainitud seost ei esine ( $r = -0,08$ ,  $p > 0,05$ ).

Ettepanekud teema edasiseks uurimiseks:

1. Uurida rasvakuulike pinnale kerkimise dünaamikat sõltuvalt rasvakuulike suurusest piimas.
2. Uurida kaheastmelise homogeniseerimise mõju rasvakuulike suurusele piimas.
3. Uurida rasvakuulike suuruse jaotust homogeniseeritud koostes.

## KASUTATUD KIRJANDUS

- Argov, N., Lemay, D.G., Germen, J.B.** (2008). Milk fat globule structure and function: nanoscience comes to milk production. – *Trends in Food Science & Technology*. Vol. 19, pp. 617–623.
- Bylund, G.** (1995). Dairy Processing Handbook. Lund: Tetra Pak Processing Systems AB. 436 lk.
- Cano-Ruiz, M.E., Richter, R.L.** (1997). Effect of homogenization pressure on the milkfat globule membrane proteins. – *Journal of Dairy Science*. Vol. 80, pp. 2732–2739.
- Carroll, S.M., DePeters, E.J., Taylor, S.J., Rosenberg, M., Perez-Monti, H., Capps, V.A.** (2006). Milk composition of Holstein, Jersey, and Brown Swiss cows in response to increasing levels of dietary fat. – *Animal Feed Science and Technology*. Vol. 131, No. 3, pp. 451–473.
- Chen, B., Lewis, M.J., Grandison, A.S.** (2014). Effect of seasonal variation on the composition and properties of raw milk destined for processing in the UK. – *Food Chemistry*. Vol. 158, pp. 216–223.
- Cook, E.J, Lagace, A.P.** (1985). Apparatus for forming emulsions. US Pat 4 533 254.
- Dewettinck, K., Rombaut, R., Thienpont, N., Le, T.T., Messens, K., Van Camp, J.** (2008). Nutritional and technological aspects of milk fat globule membrane material. – *International Dairy Journal*. Vol. 18, pp. 436–457.
- Dhankhar, P.** (2014). Homogenization Fundamentals. – *IOSR Journal of Engineering*. Vol. 4, No. 2, pp. 1–8.
- Everett, D.W.** (2007). Cream products. Handbook of Food Products Manufacturing. John Wiley & Sons Inc., lk 725–750.
- Floury, J., Desrumaux, A., Lardières, J.** (2000). Effect of high-pressure homogenization on droplet size distributions and rheological properties of model oil-in-water emulsions. – *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. Vol. 1, pp. 127–134.
- Fong, B.Y., Norris, C.S., MacGibbon, A.K.H.** (2007). Protein and lipid composition of bovine milk-fat-globule membrane. – *International Dairy Journal*. Vol. 17, pp. 275–288.
- Fox, P.F.** (2002). Fat globules in milk. Encyclopedia of Dairy Science. London: Academic Press, lk 1564–1568.
- Hardham, J.F., Imison, B.W., French, H.M.** (2000). Effect of homogenization and microfluidization on extent of fat separation during storage of UHT milk. – *Australian Journal of Dairy Technology*. Vol. 55, pp. 16–22.

- Heid, H.W., Keenan, T.W.** (2005). Intracellular origin and secretion of milk fat globules. – *The European Journal of Cell Biology*. Vol. 84, pp. 245–258.
- Huppertz, T., Upadhyay, V.K., Kelly, A.L, Tamime, A.Y.** (2006). Constituents and Properties of Milk from Different Species. Brined cheeses. Blackwell Publishing Ltd, pp. 1–42.
- Jhanwar, A.** (2009). Isolation and characterization of different aggregates of lipid from bovine milk. (Magistritöö). Utah State University, Logan.
- Keenan, T.W., Moon, T.-W., Dvlewski, D.P.** (1983). Lipid Globules Retain Globule Membrane Material After Homogenization. – *Journal of Dairy Science*. Vol. 66, pp. 196–203.
- Kielczewska, K., Kruk, A., Czerniewicz, M., Haponiuk, E.** (2006). Effects of high-pressure homogenization on the physicochemical properties of milk with various fat concentrations. – *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*. Vol. 15, No. 56, pp. 91–94.
- Laht, T.-M., Olkonen, A.** (2001). Piima koostis, füüsikalise-keemilised omadused. Piimanduse käsiraamat. Tartu: Greif, lk 102–130.
- Laikoja, K.** (2001). Piima mehaaniline ja kuumtöötlemine. Piimanduse käsiraamat. Tartu: Greif, lk 258–278.
- Lee, S.J., Sherbon, J.W.** (2002). Chemical changes in bovine milk fat globule membrane caused by heat treatment and homogenization of whole milk. – *Journal of Dairy Research*. Vol. 69, pp. 555–567.
- Lopez, C., Madec, M.N., Jimenez-Flores, R.** (2010). Lipid rafts in the bovine milk fat globule membrane revealed by the lateral segregation of phospholipids and heterogeneous distribution of glycoproteins. – *Food Chemistry*. Vol. 120, pp. 22–33.
- Medznate.ru veebilehekülg.** Kätesaadav: <http://medznate.ru/docs/index-32012.html> (29.04.2015)
- Michalski, M., Januel, C.** (2006). Does homogenization affect the human health properties of cow's milk. – *Trends in Food Science & Technology*. Vol. 17, pp. 423–437.
- Michalski, M.C., Michel, F., Geneste, C.** (2002). Appearance of submicronic particles in the milk fat globule size distribution upon mechanical treatments. – *Le Lait*. Vol. 82, pp. 193–208.
- Olsen, D.W., White, C.H., Richter, R.L.** (2004). Effect of Pressure and Fat Content on Particle Sizes in Microfluidized Milk. – *Journal of Dairy Science*. Vol. 87, pp. 3217–3223.
- Ozrenk, E., Inci, S.S.** (2008). The Effect of Seasonal Variation on the Composition of Cow Milk in Van Province. – *Pakistan Journal of Nutrition*. Vol. 7, pp. 161–164.
- Pilhofer, G.M., Hsing-Chi, L., Tong, P.S., German, J.B.** (1994). Functionality of milk fat in foam formation and stability. – *Journal of Dairy Science*. Vol. 77, pp. 55–63.
- Poikalainen, V.** (2004). Võitehnoloogia. Tartu: Halo Kirjastus. 183 lk.
- Poikalainen, V.** (2006). Piima tootmine. Tartu: Greif. 448 lk.
- Sharma, S. K., Dagleish, D.G.** (1993). Interactions between milk serum proteins and synthetic fat globule membrane during heating of homogenized whole milk. – *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 41, pp. 1407–1412.

- Singh, H.** (2006). The milk fat globule membrane – A biophysical system for food applications. – *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. Vol. 11, pp. 154–163.
- Smoczyński, M., Staniewski, B., Kielczewska, K.** (2012). Composition and Structure of the Bovine Milk Fat Globule Membrane – Some Nutritional and Technological Implications. – *Food Reviews International*. Vol. 28, pp.188–202.
- Tamime, A.Y., Marshall, V.M.E.** (1997). Microbiology and Technology of fermented milks. Microbiology and Biochemistry of Cheese and Fermented Milk. (2. ed). London: Blackie Academic & Professional, pp. 57–152.
- Tamime, A.Y., Robinson, R.K.** (2007). Yoghurt Science and Technology (2.ed). Cambridge: Woodhead Publishing Limited. 622 pp.
- Thiebaud, M., Dumay, E., Picart, L., Guiraud, J.P., Cheftel, J.C.** (2003). High-pressure homogenisation of rawbovine milk. Effects on fat globule size distribution and microbial inactivation. – *International Dairy Journal*. Vol. 13, No. 6, pp. 427–439.
- Tunick, M.H., Van Hekken, D.L., Cooke, P.H., Smith, P.W., Malin, E.L.** (2000). Effect of high pressure microfluidization on microstructure of mozzarella cheese. – *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*. Vol. 33, pp. 538–544.
- Walstra, P., Wouters, J.T.M., Geurts, T.J.** (2006). Dairy Science and Technology. (2. ed.). Boca Raton: Taylor and Francis Group. 763 pp.
- Wangdi, J., Vijchulata, P., Chairatanayuth, P.** (2014). Gravity Separation Characteristics of Cows' Raw Milk Fat Globules. – *International Journal of Innovative and Applied Research*. Vol. 2, No. 10, pp. 13–22.
- Wiking, L., Stagsted, J., Björck, L., Nielsen, J.H.** (2004). Milk fat globule size is affected by fat production in dairy cows. – *International Dairy Journal*. Vol. 14, pp. 909–913.
- Wilbey, R.A.** (2002). Homogenization of milk. Encyclopedia of Dairy Science. London: Academic Press, lk 1346–1349.
- Zamora, A., Ferragut, V., Jaramillo, P.D., Guamis, B., Trujillo, A.J.** (2007). Effects of Ultra-High Pressure Homogenization on the Cheese-Making Properties of Milk. – *Journal of Dairy Science*. Vol. 90, pp. 13–23.

# FAT GLOBULE SIZE DISTRIBUTION IN HOMOGENIZED MILK

## SUMMARY

Milk is a natural emulsion, where the fat is spread over the aqueous phase. The dimensions of milk fat globules are very different, they can vary between 0,1 ... 20  $\mu\text{m}$ . It is common knowledge that when leaving the milk stand for a certain period of time the fat will rise to the surface. In order to avoid this phenomenon the milk homogenization process is used, which sprays the fat globules in such small particles that their velocity to reach the surface layer decreases significantly. Homogenization of milk keeps it stable and reduces excessive foaming.

Important issues addressed in the literature review:

- Fat globule structure
- Fat globule size and factors affecting it
- Effects of Homogenization to the fat globule diameter and size distribution
- Effects of Homogenization temperature to the fat globule diameter and size distribution
- Effects of Homogenization pressure to the fat globule diameter and size distribution

From literature, it was found that the optimal temperature for homogenization of milk is 60 ... 70  $^{\circ}\text{C}$ . The most commonly used in dairy industries are the homogenizing valves which operate at a pressure from 15 to 20 MPa.

The results revealed that between the homogenization temperature and between the milk fat globule diameter there was a statistically significant negative correlation ( $p < 0,001$ ), the higher the temperature of the homogenization in the given range, the smaller the average diameter of the fat globules. Similarly to the temperature, the correlation between homogenization pressure and the milk fat globule diameter was statistically significant and negative ( $p < 0,001$ ). The lowest average of milk fat globule diameter was reached on the homogenization mode  $70 \pm 2$   $^{\circ}\text{C}$ , 140 bar.

It was also found that the milk with the most consistent distribution of fat globule size was the obtained at the homogenization mode  $70 \pm 2$  °C and 120 bar. In this mode the smallest fat globule variation range was experienced, which fell by 55% in comparison to raw milk. The smallest fat globule measured was the diameter of 1,49  $\mu\text{m}$  and the highest 3,48  $\mu\text{m}$ . At a temperature of  $70 \pm 2$  °C and a pressure of 120 bar in the homogenized milk the amount of fat globules with the diameter up to 1  $\mu\text{m}$  was 22,42%, with the diameter up to 2  $\mu\text{m}$  64,59%, with the diameter up to 3  $\mu\text{m}$  12,17% and globules with the diameter up 4  $\mu\text{m}$  0,82%.

Moreover the correlation between the milk fat consistence and the diameter of fat globules average size was examined. The Correlation Analysis based on the results of the test made showed that the relation mentioned above does not exist ( $r = -0,08$ ,  $p > 0,05$ ).

Suggestions for further investigation of the topic:

1. Investigate the rising dynamics of fat globules to the surface, depending on the size distribution of the fat globules in the milk.
2. To study the effect of a two-stage homogenization to the size distribution of fat globules in the milk.
3. Examine the size of fat globules distribution in the homogenized cream.

## **Lihtlitsents lõputöö salvestamiseks ja/või üldsusele kättesaadavaks tegemiseks**

Mina, Kaisa Külaots, sünniaeg 06.04.1987,

1. annan Eesti Maaülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud lõputöö Rasvakuulikeste suurusjaotus homogeniseeritud piimas,

mille juhendajad on Vilma Tatar ja Hannes Mootse,

1.1. salvestamiseks säilitamise eesmärgil,

1.2. digiarhiivi DSpace lisamiseks ja

1.3. veebikeskkonnas üldsusele kättesaadavaks tegemiseks pärast tähtajalise piirangu lõppemist 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, \_\_\_\_\_ (kuupäev)

### **Juhendaja(te) kinnitus lõputöö kaitsmisele lubamise kohta**

Luban lõputöö kaitsmisele.

\_\_\_\_\_  
(juhendaja nimi ja allkiri) (kuupäev)

\_\_\_\_\_  
(juhendaja nimi ja allkiri) (kuupäev)