

Ing. Eva Procházková

**STUDIUM HYDROLYTICKÝCH A OXIDAČNÍCH ZMĚN TUKU
U VÁLCOVĚ SUŠENÉHO PLNOTUČNÉHO MLÉKA**

**STUDY OF HYDROLYTIC AND OXIDATIVE CHANGES OF FAT IN
ROLLER DRIED WHOLE MILK POWDER**

DISERTAČNÍ PRÁCE

Program: P2901 Chemie a technologie potravin

Obor: 2901V013 Technologie potravin

Školitel: doc. Ing. Jan Hrabě, Ph.D.

Konzultanti: Ing. Jiří Krejčí, CSc.

Zlín, 2012

ABSTRAKT

Práce byla zaměřena na studium hydrolytických a oxidačních změn tuku válcově sušeného plnotučného mléka. V literární rešerši je uveden přehled změn mléčného tuku, vzájemné reakce s dalšími složkami mléka a jejich vliv na jakost výrobku. Dále jsou také uvedeny různé způsoby sušení mléka s důrazem na válcové a sprejové sušení. V experimentální části byla věnována pozornost stabilitě stabilita plnotučného sušeného mléka (PSM) při různých skladovacích podmínkách (standardní podmínky skladování, modifikované podmínky skladování). V průběhu skladovacích experimentů byla sledována kinetika rozvoje primárních a sekundárních oxidačních produktů. V další části byly studovány změny mastných kyselin, aminokyselin a změna proteinového profilu sušeného mléka. Dále byla hodnocena sensorická jakost skladovaného válcově sušeného plnotučného mléka. Nejvýraznější změny byly zaznamenány při teplotě skladování 45 °C a relativní vlhkosti 43 %. Bylo prokázáno, že vyšší teplota a relativní vlhkost kolem 43 % výrazně urychluje probíhající změny mléčného tuku válcově sušeného plnotučného mléka a zkracuje dobu jeho minimální trvanlivosti.

Klíčová slova: oxidační změny, mléčný tuk, sensorická jakost, mastné kyseliny, aminokyseliny

ABSTRACT

The aim of this work was to study the hydrolytic and oxidation changes of milk fats in whole dried milk powder. The Literature Review looks into changes of milk fats, their interaction with other components of milk and their effect on product quality. Various ways of milk drying are also mentioned with an emphasis on drum and spray drying. The experimental part was focused on the storability of whole dried milk powder under various storage conditions (e. g. standard storage conditions, modified storage conditions). The kinetics of the development of primary and secondary products during storage experiments were studied.

In the following part changes of fatty acids, amino acids and changes of the whole milk powder protein profile were also studied. In addition, the sensory quality of the whole milk powder was also monitored.

The most significant changes were observed at a storage temperature of 45 ° C and a relative humidity of 43%. It was shown that a higher temperature and relative humidity of about 43 % accelerates the changes of milk fats in whole dried milk powder and shortens their minimum shelf-life duration period.

Keywords: oxidative changes, milk fat, sensory quality, fatty acids, amino acids

PODĚKOVÁNÍ

Na tomto místě bych ráda poděkovala za odborné vedení a cenné rady především svému školiteli doc. Ing. Janu Hraběti, CSc. a svému konzultantovi Ing. Jiřímu Krejčímu, CSc. Dále bych ráda poděkovala doc. Ing. Františkovi Buňkovi, Ph.D. a doc. RNDr. Leoně Buňkové, Ph.D. za pomoc při analýze proteinů sušeného mléka. V neposlední řadě děkuji také prof. Ing. Milanu Marounkovi, DrSc. a celému jeho pracovišti (Výzkumný ústav živočišné výroby, Praha) a Mgr. Robertu Víchovi, Ph.D. za pomoc při analýze mastných kyselin. Nakonec také děkuji kolektivu spolupracovníků z fermentační laboratoře za to, že mě podporovali a umožnili mi doktorské studium dokončit.

OBSAH

ABSTRAKT	2
ABSTRACT	2
PODĚKOVÁNÍ.....	3
OBSAH.....	4
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	6
SEZNAM OBRÁZKŮ.....	7
SEZNAM TABULEK	10
1. SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY	11
1.1. Mléčný tuk.....	12
1.1.1. Mastné kyseliny mléčných lipidů.....	14
1.2. Reakce mléčného tuku	16
1.2.1. Hydrolytické žluknutí.....	19
1.2.2. Oxidační žluknutí	20
1.2.4. Reakce hydroperoxidů s dalšími složkami potravin.....	22
1.3. Faktory ovlivňující oxidaci lipidů	22
1.3.1. Kyslík	22
1.3.2. Světlo	23
1.3.3. Kovy	23
1.3.4. Antioxidanty	23
1.4. Autooxidace nenasycených mastných kyselin.....	25
1.4.1. Autooxidace monoenoových mastných kyselin	25
1.4.2. Autooxidace dienoových nenasycených kyselin.....	26
1.4.3. Autooxidace trienoových nenasycených kyselin.....	27
1.4.4. Autooxidace nasycených mastných kyselin	28
1.5. Sekundární produkty oxidace	29
1.5.1. Interakce proteinů s produkty oxidace	29
1.5.3. Vliv Maillardovy reakce a biochemických reakcí na vlastnosti sušeného mléka ...	31
1.6. Sušené mléko	33
1.6.1. Mléko používané k sušení	33
1.6.2. Sprejové sušení mléka	34
1.6.3. Válcové sušení mléka	36
1.6.4. Instantizace mléka	38
1.6.5. Lyofilizace mléka	39
1.7. Struktura sušeného plnotučného mléka	40
2. CÍL PRÁCE	41
3. MATERIÁL A METODY	42
3.1. Zvolené způsoby skladování	42

3.2. Příprava vzorku	42
3.3. Chemické analýzy mléka	43
3.3.1. Stanovení obsahu vody v sušeném mléce	43
3.3.2. Stanovení indexu rozpustnosti.....	43
3.3.3. Stanovení primárních oxidačních produktů.....	43
3.3.4. Stanovení sekundárních oxidačních produktů.....	44
3.3.5. Stanovení mastných kyselin plynovou chromatografií s hmotnostní spektroskopií.....	45
3.3.6. Stanovení aminokyselin.....	45
3.3.7. SDS-PAGE	46
3.2.7. Senzorická analýza	47
4. VÝSLEDKY A DISKUZE	48
4.1. Primární oxidační produkty	48
4.2. Sekundární oxidační produkty	57
4.3. Mastné kyseliny plnotučného sušeného mléka	62
4.4. Změny proteinové frakce sušeného plnotučného mléka	75
4.4.1. Změny aminokyselinového složení	75
4.4.2. Distribuce proteinů sušeného plnotučného mléka	84
4.5. Senzorické hodnocení sušeného mléka	90
PŘÍNOS PRÁCE PRO VĚDU A PRAXI	97
ZÁVĚR	98
SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	100
PUBLIKAČNÍ ČINNOST	107
CURRICULUM VITAE	109
PŘÍLOHA P1: PROTOKOL SENZORICKÉHO HODNOCENÍ SUŠENÉHO MLÉKA	110

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

PSM	plnotučné sušené mléko
MK	mastná kyselina
TAG	triacylglyceroly
MAG	monoacylglyceroly
DAG	diacylglyceroly
VMK	volná mastná kyselina
MO	mikroorganizmy
AMK	aminokyseliny
AGE/ALE	advanced glycation end products/advanced lipoxidation end products
TBARS	thiobarbituric acid reactive substances

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1.	Tuková kulička.....	14
Obr. 2.	Oxidační reakce tuků.....	22
Obr. 3.	Mechanismus působení kovů na vznik hydroperoxidů.....	23
Obr. 4.	Autooxidace kyseliny olejové.....	26
Obr. 5.	Autooxidace kyseliny linolové.....	27
Obr. 6.	Autooxidace kyseliny linoleové.....	28
Obr. 7.	Maillardova reakce.....	30
Obr. 8.	Stteckerova degradace aminokyselin.....	31
Obr. 9.	Jednostupňová a dvoustupňová sprejová sušárna.....	35
Obr. 10.	Třístupňová sprejová sušárna.....	36
Obr. 11.	Válcová sušárna.....	37
Obr. 12.	Struktura sušeného mléka a- sprejově sušené plnotučné mléko; b – sprejově sušené odtučněné mléko.....	40
Obr. 13.	Změny primárních oxidačních produktů vzorku A skladovaného při různých teplotách.....	49
Obr. 14.	Změny primárních oxidačních produktů vzorku B skladovaného při různých teplotách.....	50
Obr. 15.	Změny obsahu primárních oxidačních produktů vzorku A skladovaného při teplotě 37 °C a relativních vlhkostech 23 % a 43 %.....	52
Obr. 16.	Změny obsahu primárních oxidačních produktů vzorku B skladovaného při teplotě 37 °C a relativních vlhkostech 23 % a 43 %.....	53
Obr. 17.	Změny obsahu primárních oxidačních produktů vzorku A skladovaného při teplotě 20 °C a relativních vlhkostech 23 % a 43 %.....	54
Obr. 18.	Změny obsahu primárních oxidačních produktů vzorku B skladovaného při teplotě 20 °C a relativních vlhkostech 23 % a 43 %.....	55
Obr. 19.	Změny obsahu sekundárních oxidačních produktů vzorku A skladovaného při různých teplotách skladování.....	57
Obr. 20.	Změny obsahu sekundárních oxidačních produktů vzorku B skladovaného při různých teplotách skladování.....	58

Obr. 21.	Změny obsahu sekundárních oxidačních produktů vzorku A skladovaného při teplotě 37 °C a relativních vlhkostech 23 % a 43 %.....	58
Obr. 22.	Změny obsahu sekundárních oxidačních produktů vzorku A skladovaného při teplotě 20 °C a relativních vlhkostech 23 % a 43 %.....	59
Obr. 23.	Změny obsahu sekundárních oxidačních produktů vzorku B skladovaného při teplotě 37 °C a relativních vlhkostech 23 % a 43 %.....	60
Obr. 24.	Změny obsahu sekundárních oxidačních produktů vzorku B skladovaného při teplotě 20 °C a relativních vlhkostech 23 % a 43 %.....	60
Obr. 25.	Dendrogram I vzorku A skladovaného při různých teplotách.....	84
Obr. 26.	Dendrogram II vzorku B skladovaného při různých teplotách.....	85
Obr. 27.	Dendrogram III vzorku A skladovaného při teplotě 37 °C a relativní vlhkosti 23 % a 43 %.....	86
Obr. 28.	Dendrogram IV vzorku A skladovaného při teplotě 20 °C a relativní vlhkosti 23 % a 43 %.....	87
Obr. 29.	Dendrogram V vzorku B skladovaného při teplotě 37 °C a relativní vlhkosti 23 % a 43 %.....	88
Obr. 30.	Dendrogram VI vzorku B skladovaného při teplotě 20 °C a relativní vlhkosti 23 % a 43 %.....	88
Obr. 31.	Senzorické hodnocení vzorku A na počátku skladování.....	90
Obr. 32.	Senzorické hodnocení vzorku A skladovaného při různých teplotách na konci skladování.....	91
Obr. 33.	Senzorické hodnocení vzorku vyrobeného A skladovaného při teplotě 20 °C a relativní vlhkosti 23 % a 43 % na konci skladování.....	92
Obr. 34.	Senzorické hodnocení vzorku A skladované při teplotě 37 °C a relativní vlhkosti 23 % a 43 % na konci skladování.....	92
Obr. 35.	Senzorické hodnocení vzorku B skladovaného při různých teplotách na počátku skladování.....	93
Obr. 36.	Senzorické hodnocení vzorku B skladovaného při různých teplotách na konci skladování.....	94

Obr. 37.	Senzorické hodnocení vzorku B skladovaného při teplotě 37 °C a relativní vlhkosti 23 % a 43 % na konci skladování.....	95
Obr. 38.	Senzorické hodnocení vzorku B skladovaného při teplotě 20 °C a relativní vlhkosti 23 % a 43 % na konci skladování.....	95

SEZNAM TABULEK

Tab. 1.	Zastoupení jednotlivých složek mléčného tuku.....	13
Tab. 2.	Obsah mastných kyselin v tuku kravského mléka	17
Tab. 3.	Složení pufrů pro automatický analyzátor aminokyselin.....	46
Tab. 4.	Obsah mastných kyselin vzorku A sušeného mléka při různých teplotách skladování.....	64
Tab. 5.	Obsah mastných kyselin vzorku B sušeného mléka při různých teplotách skladování.....	66
Tab. 6.	Obsah mastných kyselin vzorku A sušeného mléka skladovaného při teplotě 37 °C a relativní vlhkosti 23 a 43 %.....	69
Tab. 7.	Obsah mastných kyselin vzorku A sušeného mléka skladovaného při teplotě 20 °C a relativní vlhkosti 23 a 43 %.....	70
Tab. 8.	Obsah mastných kyselin vzorku B sušeného mléka skladovaného při teplotě 37 °C a relativní vlhkosti 23 a 43 %.....	72
Tab. 9.	Obsah mastných kyselin vzorku B sušeného mléka skladovaného při teplotě 20 °C a relativní vlhkosti 23 a 43 %.....	73
Tab. 10.	Změny aminokyselinového složení vzorku A skladovaného při různých teplotách.....	77
Tab. 11.	Změny aminokyselinového složení vzorku B skladovaného při různých teplotách.....	78
Tab. 12.	Změny aminokyselinového složení vzorku A skladovaného při teplotě 20 °C a relativní vlhkosti 23 % a 43 %.....	79
Tab. 13.	Změny aminokyselinového složení vzorku A skladovaného při teplotě 20 °C a relativní vlhkosti 23 % a 43 %.....	80
Tab. 14.	Změny aminokyselinového složení vzorku B skladovaného při teplotě 37 °C a relativní vlhkosti 23 % a 43 %.....	81
Tab. 15.	Změny aminokyselinového složení vzorku B skladovaného při teplotě 20 °C a relativní vlhkosti 23 % a 43 %.....	82

1. SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

Sušené mléko je produkt, který je velmi dobře skladovatelný, a to zejména díky nízkému obsahu vody, který omezuje rozvoj nežádoucí mikroflóry. Sušené produkty jsou nezbytnou součástí jídla v horkých klimatech, ale také ve výbavách horolezců a expedic do extrémních podmínek. Sušené mléko je taktéž nepostradatelné v kojenecké výživě. V dnešní době se sušené produkty využívají v mnoha odvětvích především z ekonomických důvodů. Od sušených výrobků je vyžadována vysoká kvalita. V současné době se věnuje hlavní pozornost převážně skladování sušených výrobků, během kterého dochází ke změnám výrobku, které mohou vést až k jeho zdravotní závadnosti. V případě plnotučného sušeného mléka dochází ke žluknutí mléčného tuku, jehož výsledkem jsou nežádoucí látky zhoršující kvalitu a znemožňující použití.

Odborná literatura se v současné době zabývá v souvislosti s hydrolytickým a oxidačním žluknutím převážně sprejově sušeným mlékem. Plnotučné sušené mléko je vyžadováno především pro výrobu vysoce kvalitních čokolád, a proto je velmi důležité sledovat chemické změny v průběhu skladování za různých podmínek.

Sušení je proces, který ovlivňuje kvalitu sušeného produktu. Použitý způsob sušení spolu se skladovacími podmínkami má výrazný vliv na trvanlivost a kvalitu produktu. Vlivem nevhodných skladovacích podmínek dochází k nevratným změnám a to zejména u lipidické složky sušeného mléka. Produkty oxidace lipidů reagují navzájem a také s dalšími složkami sušeného mléka a to především proteiny za vzniku velkého množství sloučenin, které sušené mléko znehodnocují. Limitujícím faktorem skladování a také použití sušeného mléka jsou především karbonylové sloučeniny, které jsou nositeli tzv. žluklé chuti a vůně.

Tvorbě oxidačních produktů v plnotučném sušeném mléce nelze vzhledem k obsahu tuku úplně zabránit, nicméně vhodnými podmínkami skladování lze procesy oxidace omezovat. Optimální skladovací podmínky (tmavé místo, teplota 20 °C) jsou stanoveny výrobcem, avšak ne ve všech případech skladování jsou dodržovány a proto je nutné stanovit k jak rychlým a rozsáhlým změnám složek sušeného mléka dochází za rozličných podmínek.

1.1. Mléčný tuk

Mléčný tuk má velmi komplikované složení a strukturu. Hlavní složku představují triacylglyceroly, které tvoří 98 % z celkových lipidů mléka. V menším množství se v tuku vyskytují také fosfolipidy, steroly, estery sterolů, volné mastné kyseliny, monoacylglyceroly a diacylglyceroly. Ve stopovém množství mléčný tuk obsahuje také β -karoten, lipofilní vitamíny (A, D, E, K) a aromatické látky [1, 2, 3, 4].

Tab. 1: Zastoupení jednotlivých složek mléčného tuku [6]

SLOŽKY MLÉČNÉHO TUKU	MNOŽSTVÍ (hmot. %)
triacylglyceroly	98,3
diacylglyceroly	0,3
monoacylglyceroly	0,03
volné mastné kyseliny	0,1
fosfolipidy	0,8
steroly	0,3
karotenoidy	stopové množství
lipofilní vitamíny	stopové množství
aromatické látky	stopové množství

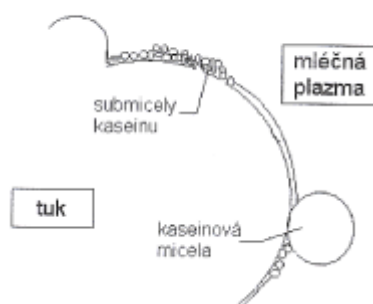
Více než 95 % mléčných lipidů se nachází ve formě tukových kuliček. Jejich velikost je v rozmezí od 0,1 až 22 μm , avšak převážná část tukových kuliček má velikost 2-3,5 μm [1, 3, 5]. Tukové kuličky jsou obaleny membránou obsahující komplex fosfolipidů a bílkovin. Membrány tukových kuliček chrání tuk před splynutím do velkých útvarů. Při delší době skladování mléka nebo při mechanických operacích může dojít k porušení membrány tukové kuličky a vzniká volný tuk. Volný tuk je náchylný k oxidačním a hydrolytickým změnám [1, 3, 5].

Lipidy se skládají z velké spousty sloučenin a jsou rozpustné v organických rozpouštědlech a špatně rozpustné ve vodě. Mléčný tuk je systém rozptýlený ve velmi jemných kapénkách. Účelem této jemné emulze je nutnost udržet tuk v systému složek mléka. v mléce je velký podíl tukových kuliček seskupen v malé útvary. Velikost tukových kuliček je různá nejen u stejného druhu mléka, ale i různých druhů mléka a je závislá na druhu savce, plemenu dojnic, laktanční době atd. [6]. Množství, složení a vlastnosti mléčného tuku ovlivňuje řada vlivů a to především výživa dojnic, zdravotní stav, stádium laktace a plemenná

příslušnost. Především skladba a jakost krmení má vliv na množství a složení mléčného tuku. Toto se odráží především na zastoupení a obsahu mastných kyselin (dále MK) [1, 7].

Více než 99 % celkového množství lipidů mléka je ve formě tukových kuliček (obr. 1), které jsou pokryty tenkou vrstvou 8-10 nm. Obalová vrstva je složena z povrchově aktivních látek a to především fosfolipidů a membránových proteinů. Membránové proteiny mají hydrofilní charakter a nachází se v přímém styku s vodní fází mléka. Membránové bílkoviny nesou negativní náboj a hydratační obal, který zabraňuje shlukování tukových kuliček a slévání mléčného tuku [8].

Lipoproteiny tvořící membránu jsou složeny z proteinů a nekovalentně asociovaných lipidů. Lipidy bývají jádrem makromolekuly a v menším množství se nacházejí také na povrchu. Proteiny v hydratované podobě tvoří obal molekuly. Interakce mezi proteinovou a lipidovou složkou je realizována pomocí nekovalentních nepolárních vazeb [8].



Obr. 1: Tuková kulička [8]

Lipidy mléka mají komplikované složení a strukturu. Základními složkami jsou:

- triacylglyceroly (dále TAG) – jedná se o estery glycerolu se třemi MK. Mechanismus biosyntézy se vyznačuje selektivitou. Charakteristické vlastnosti mléčného tuku jsou způsobeny esterifikací krátkých řetězců MK, zejména máselnou a kapronovou do pozice sn-3. Jsou to nepolární molekuly nerozpustné ve vodě a podléhají hydrolytickým a oxidačním reakcím při pokojové teplotě. Mají vliv na vlastnosti mléčného tuku, především na měrnou hmotnost a bod tání tuku [1],

- diacylglyceroly (dále DAG) – v čerstvém mléce pouze ve velmi malém množství. Převážnou část představují sn-1,2 diacylglyceroly a jsou považovány za meziprodukty biosyntézy TAG. Mají nízkou povrchovou aktivitu a jsou mírně polární,
- monoacylglyceroly (dále MAG) – jejich množství v mléce je malé. Vznikají především jako produkty hydrolýzy TAG,
- volné mastné kyseliny – dlouhé řetězce jsou povrchově aktivní, krátké jsou částečně rozpustné ve vodě. V čerstvém mléce jsou v disociované formě a mají tak zvýšenou rozpustnost ve vodě,
- fosfolipidy – jedná se lipidy obsahující esterově vázanou kyselinu fosforečnou. Všechny fosfolipidy jsou vysoce polární a povrchově aktivní, jsou součástí povrchových membrán tukových kuliček a přispívají ke stabilizaci tukové emulze,
- steroly – tvoří největší podíl doprovodných látek lipidů. Jedná se o alicyklické alkoholy, které se vyskytují buď jako volné nebo vázané na mastné kyseliny,
- karotenoidy – tvoří barevné složky mléka. Nejvýznamnějším je β -karoten. Obsah β -karotenu závisí především na stravě a plemeni krávy,
- lipofilní vitaminy – vitamin A (v mléce se nachází jako retinol, retinyl a ve formě β -karotenu), vitamin D (jeho hladina v mléce je velmi nízká a je ovlivněna množstvím slunečních paprsků), vitamin E (nachází se ve formě α -tokoferolu a chrání nenasycené MK před oxidací), vitamin K (v mléku se vyskytuje v nízké koncentraci) [1].

1.1.1. Mastné kyseliny mléčných lipidů

Mléčné lipidy obsahují velké množství mastných kyselin (MK), některé z nich se nachází ve stopovém množství (15 MK v množství do 1%). Nasycené MK tvoří 62-70 % z celkového tuku a obsahují řetězce s 4 – 18 uhlíky. Nejvíce zastoupenou nenasycenou MK je kyselina olejová (20 % z celkového tuku). MK mají velký efekt na chemické a fyzikální vlastnosti TAG a nepřímo také ovlivňují vlastnosti mléka jako je chuť a vůně [2, 9, 10].

MK v mléce pocházejí ze dvou zdrojů: syntetizované přímo a syntetizované z plasmových lipidů. MK syntetizované přímo jsou krátké až střední řetězce (4 – 14). Zatím co MK s 18 uhlíky pocházejí z plasmových lipidů. Přímá syntéza MK v mléčné žláze využívá acetátu, který vzniká fermentací karbohydrátů v bacheru. Syntéza zahrnuje karboxylaci acetyl-CoA na malonyl-CoA, který je

poté postupně využívám v elongačním procesu, což vede k systému krátkých až středních MK, které se liší o dvě CH_2 skupiny [11].

Krevní lipidy pocházejí ze stravy, ale mohou se také uvolňovat z tukové tkáně. Množství nenasycených MK ve stravě přímo ovlivňuje úroveň stearové (18:0) a olejové kyseliny (18:1) a to z toho důvodu, že nenasycené MK jsou hydrogenovány přímo mikroorganismy přímo v bachoru [7].

- Nasyčené mastné kyseliny – jsou to molekuly nerozvětvených CH_2 řetězců s počtem uhlíků 4-18. Nejvíce zastoupenou nenasycenou MK je kyselina palmitová (16:0), jejíž obsah se pohybuje v rozmezí 25-30 % z celkového množství MK obsažených v mléčném tuku, zatímco další kyseliny jako je myristová (14:0) a stearová (18:0) jsou každá zastoupeny v množství 10-12 %.
- Nenasycené mastné kyseliny – nejdůležitější z nenasycených MK je kyselina olejová (18:1), jejíž obsah se pohybuje mezi 17-25%. Další důležité MK jsou myristoolejová (14:1), palmitoolejová (16:1) a vakcenová (trans 18:1), které jsou v množství kolem 1 %. Díky biohydrogenačním procesům probíhajícím v bachoru je v mléčném tuku obsaženo pouze malé množství polynenasycených MK.
- ostatní mastné kyseliny – jsou obsaženy ve velmi nepatrném množství a jedná se převážně o kyseliny s lichým počtem uhlíků a rozvětvené MK. Ve velmi malém množství se také vyskytují izomery monoenoových kyselin a keto a hydroxy kyseliny [9, 10].

Tab. 2: Obsah mastných kyselin v tuku kravského mléka [6]

MASTNÁ KYSELINA	OBSAH (hmot. %)
C4:0	2,8 – 4,0
C6:0	1,4 – 3,0
C8:0	0,5 – 1,7
C10:0	1,7 – 3,2
C 12:0	2,2 – 4,5
C14:0	5,4 – 14,6
C16:0	26 – 41
C 18:0	6,1 – 12,1
C20:0	0,95 – 2,4
C18:1	18,7 – 33,4
<i>trans</i> -monoenoové	2 – 8
C18:2	0,9 – 3,7
<i>cis,trans</i> -dienové	0,2 – 1,2
C18:3	0,1 – 1,4
C20:4	0,8 – 3,0

1.2. Reakce mléčného tuku

Lipolýza přispívá k rozvoji žádoucích i nežádoucích vůní a chutí mléčných produktů a to hydrolýzou TAG. MK s krátkým řetězcem (C_{4:0}, C_{6:0}, C_{8:0}) způsobují štiplavou a kyselou chuť a vůni. Středně dlouhé MK (C_{10:0}, C_{12:0}) jsou původci mýdlové chuti a vůně, zatímco MK s dlouhými řetězci (C_{14:0}, C_{16:0}, C_{18:0}) nemají téměř žádný vliv na chuť a vůni [12, 13]. VMK nejsou pouze hlavními nositeli vůně a chuti v mléčných produktech, ale jsou taky prekurzory pro další sloučeniny chuti a vůně jako jsou acetáty, β-keto kyseliny, metyl ketony, estery a laktony [12, 14].

Nenasycené MK vznikající při lipolýze umožňují oxidaci a tvoří se z nich aldehydy a ketony, které přispívají k zápachu označovanému jako lojovitý nebo

oxidovaný [15]. Lipolýza nebo hydrolýza tuků je způsobena enzymatickými lipázami, které hydrolyzují TAG. Produktem hydrolýzy jsou volné mastné kyseliny, MAG, DAG, čas od času krátké kyseliny, které mají nepříjemnou chuť a vůni a to nejčastěji žluklou, hořkou, máselnou nebo také trpkou. Některé z těchto chutí a vůní mohou být způsobeny také jinak než činností lipáz. Žluklá chuť oxidací tuků, hořká proteolýzou anebo také růstem některých bakterií [16].

Při skladování a zpracování potravin podléhají lipidy četným změnám. Příčinou těchto změn mohou být jak biologické, tak i chemické pochody. Změny chemického složení tuků se projevují jak ve výživové hodnotě tuků, tak i změnou sensorických vlastností. Vzniká nepříjemný pach a chuť a často dochází ke změnám barvy a konzistence. Soubor reakcí vedoucí ke zhoršení organoleptických vlastností potravin obsahujících tuk se nazývá žluknutí. Žluknutí však není způsobeno jen oxidací mastných kyselin, ale také jinými reakcemi [16].

Rozeznáváme několik typů žluknutí:

- hydrolytické žluknutí – při hydrolýze se uvolňují mastné kyseliny, které u většiny tuků nepůsobí žluknutí, jelikož jsou smyslově nepostřehnutelné. Výjimkou jsou mastné kyseliny s kratším řetězcem,
- oxidační žluknutí – při oxidaci nemají vznikající hydroperoxydovliv nesenzorickou jakost, ale jejich oxidační produkty vyvolávají charakteristické pachuti, které jsou závislé na koncentraci sekundárních produktů a jejich složení,
- ketonové žluknutí – je typické pro máslo. Uvolněné MK s 6 – 12 uhlíky se enzymově oxidují a po odštěpení karboxylu vznikají methylketony se specifickou parfémovou příchutí [16].

Podle Velíška [17] se tvoří také aldehydy, které pozitivně ovlivňují vůni výrobku. Jedná se především o tuky o vyšším obsahu kyseliny linolové, kde jsou významnými oxidačními produkty alka-2,4-dienaly, které v malém množství dodávají smaženou příchutí a v o něco větším množství příchutí oříškovou. Dalším sensoricky aktivním produktem jsou alkan-2-ony, které mají vůni připomínající plísňové sýry [17].

Lipolýza mléčného tuku může probíhat jako spontánní nebo indukovaná. V mléce je přítomna přirozená lipáza a to lipoproteinová lipáza, která je aktivována lipoproteiny a to především z krevního séra. V mléce působí bez vazby na kofaktor. Mléčné lipázy jsou inaktivovány během pasterizace, a proto nepůsobí v pasterizovaném mléce a výrobcích z něho [18, 19, 20, 21].

Mléko může také podléhat spontánní lipolýze, která je iniciována okamžitým zchlazením mléka pod 10 °C po nadojení a pokračuje také v průběhu skladování

v lednici. Spontánní lipolýza je způsobena třemi hlavními vlivy: nerovnováha mezi aktivátory a inhibitory lipáz, přístupností membrány tukových kuliček a množstvím lipázy. Každý z těchto faktorů ovlivňuje stupeň lipolýzy tuků, avšak nejdůležitější faktorem je množství aktivátorů a inhibitorů. Důležitou podmínkou pro lipolýzu je napojení lipázy na membránu tukových kuliček. Syrové mléko obsahuje dostatečné množství lipáz, které za příznivých podmínek způsobí žluklou chuť a vůni mléka. Je-li rovnováha aktivátor-inhibitor a přístupnost membrány tukových kuliček na stejné úrovni, je stupeň lipolýzy ovlivněn množstvím lipázy. Podobná situace je v případě, že rovnováha aktivátor-inhibitor a množství lipázy jsou na stejné úrovni, potom je stupeň lipolýzy ovlivněn přístupností a vlastnostmi membrány tukových kuliček. Membrána tukových kuliček je více permeabilní v období pozdní laktace a proto je toto mléko více náchylné k lipolýze [18, 19, 20, 21].

Indukovaná lipolýza je iniciována narušením membrány tukových kuliček. Membrána může být poškozena čerpáním, mícháním nebo dalšími mechanickými zásahy do mléka. Zamíchání vzduchu do mléka je nezbytné k narušení membrány tukových kuliček. Síly povrchového napětí na rozhraní vzduch-mléko způsobují narušení tukové membrány. Dalším způsobem narušení membrány a to bez přístupu vzduchu je homogenizace syrového mléka. Narušení membrány tukových kuliček urychluje žluknutí, čemuž se dá velmi snadno vyhnout pasterizací mléka před homogenizací anebo neprodleně po ní. Dalším aktivátorem indukované lipolýzy je prudké střídání teplot [18, 19, 20, 21].

Žluknutí tuků je provázeno vyšším či nižším stupněm oxidace. Exogenní oxidační pochody jsou někdy velmi závažné a představují výrazný zdroj volných radikálů, které pak v organismu mohou zahajovat různé řetězové reakce spojené se značným rizikem zhoršení jakosti a zdravotní riziko.

V potravinách může proběhnout několik typů oxidačních reakcí lipidů:

- oxidace vzdušným kyslíkem,
- oxidace hydroperoxydů či peroxidem vodíku,
- oxidace katalyzované enzymy,
- oxidace singletovým kyslíkem [17].

Reaktivním místem lipidů jsou esterové vazby, které se hydrolyzují za vzniku volných mastných kyselin (dále VMK). Dalším reaktivním centrem jsou dvojnásobné vazby uhlíkového řetězce MK, které jsou velmi citlivé k oxidačním pochodům. S ohledem na složení tuku jsou náchylné k oxidačním změnám především polyneenasycené MK. Průběh chemických reakcí při žluknutí je neobyčejně

složitý a závisí na vlastnostech tuku, přítomnosti netukových složek a podmínkách reakce. Zásadně je možno rozlišit tři typy žluknutí, a to hydrolytické, oxidační a ketonické (β -oxidace) [22].

1.2.1. Hydrolytické žluknutí

Hydrolyza tuků je rozštěpení tuku na glycerol a MK. Uvolněné MK se poté hromadí a zvyšuje se číslo kyselosti. Hydrolyza v tukové tkáni je způsobena především činností lipáz a to jak nativních, tak mikrobiálních. Hydrolyze podléhají hlavně syrové tukové tkáně. Jejich teplem zpracováním se snižuje obsah vody a lipázy se teplem ničí [23].

Lipolýza způsobená psychrotrofními mikroorganismy je nejrozšířenější při skladování mléka při nízkých teplotách. Je to způsobeno snížením počtu mléčných bakterií a rozvojem psychrotrofní mikroflóry, která produkuje extracelulární lipázy způsobující lipolýzu [24, 25, 26, 27].

Lipolytické enzymy jsou definovány jak karboxylesterázy hydrolyzující acylglyceroly [28]. Enzymy, které hydrolyzují acylglyceroly s méně než 10 uhlíky jsou esterázy nebo karboxylázy, ty které hydrolyzují acylglyceroly s více než 10 uhlíky jsou lipázy nebo triacylglycerol hydrolázy. Esterázy jsou aktivní ve vodných směsích, zatímco právě lipázy jsou aktivní na fázovém rozhraní lipid-voda [28, 29].

Specifické vlastnosti lipolytických enzymů jsou dány třemi faktory a to molekulovými vlastnostmi enzymu, strukturou substrátu a faktory ovlivňujícími vazbu enzymu na substrát [30]. Lipolytické enzymy jsou běžně klasifikovány specifitou ke stavu substrátu jako je pozice MK, délka MK řetězce a stereospecifita [30].

Enzymy na základě specifity dělíme na tři skupiny:

1. nespecifické enzymy – tyto enzymy uvolňují VMK ze všech pozic TAG a kompletně je hydrolyzují na MK a glycerol,
2. 1,3- specifické enzymy – uvolňují MK z vnějších 1 a 3 uhlíku TAG za vzniku 1,2- DAG, 2,3- DAG, 2-MAG a VMK. Konečným produktem této skupiny enzymů mohou však také být 1,3-DAG, 1-MAG a VMK, protože 1,2- DAG, 2,3- DAG, 2-MAG jsou chemicky nestabilní a podléhají spontánnímu přesunu. Prodloužením doby působení těchto enzymů může v konečném důsledku vést až k úplné hydrolyze TAG na MK a glycerol,
3. vysoce specifické enzymy – tyto enzymy hydrolyzují pouze určité typy MK. Nejsou známy bakterie produkující tento typ enzymu. Tyto enzymy patří převážně mezi rostlinné [31, 32].

Další bakteriální lipázy byly rozděleny do osmi skupin podle biologických vlastností a jejich dochované sekvenční struktury [33]. Většina bakteriálních lipáz je produkována v pozdní logaritmické a brzké stacionární fázi růstu [34, 35, 36]. Spousta mikroorganismů (dále MO) produkuje více než jeden typ specifické lipázy, které hydrolyzují různě dlouhé MK, ale převážně s kratším řetězcem [30]. Syrové mléko obsahuje lipolytické psychrotrofní sporulující bakterie jako jsou *Bacillus cereus*, *B. polymyxa*, *B. licheniformis*, *B. circulans*, *B. subtilis*, *B. laterosporus* a *B. coagulans* [37, 38, 39]. Dalším MO produkujícím lipázy je rod *Pseudomonas* a to především druh *Pseudomonas fluorescens*, který je přítomný již v syrovém mléku. Lipázy zmíněných MO jsou termostabilní, a proto zůstávají aktivní i při tepelném opracování mléka. Bakteriální lipázy mají molekulovou hmotnost 30 – 50 kDa, optimální pH 7-9. Většina lipáz má 1,3 specifickou aktivitu a některé hydrolyzují DAG a MAG rychleji než TAG [31]. Většina lipáz je stabilní za nižší vodní aktivity než ve vodném médiu a jsou vysoce stabilní v práškových formách a udržují si svoji aktivitu v sušeném mléce i při dlouhodobém skladování [40].

Hydrolýza může probíhat i při tepelném opracování nebo zahřívání tuku s přebytkem vody. Výsledkem je vznik volných mastných kyselin, které jsou nositeli různých pachů ovlivňujících sensorickou jakost. Mezi tyto kyseliny patří převážně nižší MK (jako C_{4:0} – C_{8:0}). MAG a DAG podléhají hydrolýze snáze a rychleji než TAG [41, 42, 43].

1.2.2. Oxidační žluknutí

Jedlé tuky obsahující nenasycené mastné kyseliny jsou vhodnými substráty pro reakci s kyslíkem. Tento proces je označován jako oxidační žluknutí a vzniká při něm velké množství těkavých sloučenin. Oxidace tuků je ovlivněna řadou parametrů zahrnujících vliv světla, přítomnost kovů, množství antioxidantů a stupeň nenasycenosti tuků. Těkavé produkty oxidace ovlivňující sensorické vlastnosti. Těmito produkty jsou zejména aldehydy, ketony, alkoholy, estery, laktony a karboxylové kyseliny, které způsobují změny označované jako žluklá chuť [42, 43, 44].

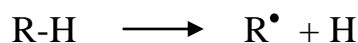
Oxidace tuků je řetězová reakce, která zahrnuje tři fáze: iniciace, propagace a terminace, jejíž schéma je na obr. 2. Oxidace nenasycených kyselin vede k formování hydroperoxidů, které jsou nestálé a podléhají degradaci za vzniku těkavých sloučenin. Inhibice oxidačních procesů je klíčovým faktorem ovlivňujícím kvalitu a možnosti skladování. Mléko je komplex biologických maticí, které obsahují mnoho antioxidantních a prooxidačních faktorů [43, 44].

Základní principy oxidace tuků byly popsány již v roce 1940. Iniciace zahrnuje odštěpení atomu vodíku od methylové skupiny sousedící s dvojnou

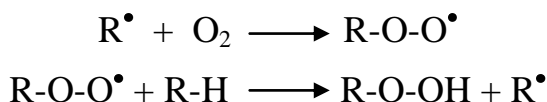
vazbou nenasycené MK a vznikne volný radikál MK. Vznik volného radikálu je ovlivňován světlem, teplem, přítomností kovů a dalšími faktory. Volný radikál je velmi reaktivní a reakcí s kyslíkem vzniká peroxidový radikál, který dále reaguje s další nenasycenou MK za vzniku hydroperoxidu a dalšího radikálu. Reakce končí v případě, že jsou vyčerpány všechny možné zdroje volných radikálů anebo pokud dojde ke vzájemné reakci dvou volných radikálů [42, 45, 46].

Primární produkty autooxidace, hydroperoxydy, nemají ještě negativní vliv na organoleptické vlastnosti, může však dojít k poklesu výživové hodnoty [42]. Významnou sekundární reakcí je vznik malondialdehydu, který je velmi sensoricky aktivní a ovlivňuje chuť, vůni nejen lipidů, ale i potravin. Některé nízkomolekulární aldehydy (hexanal, heptanal) jsou nositeli žluklého pachu tuků [16]. Pro stanovení oxidace jedlých tuků je dle Pokorného [41] většinou postačující a nejvýhodnější stanovit celkový obsah oxidačních produktů kapalinovou chromatografií.

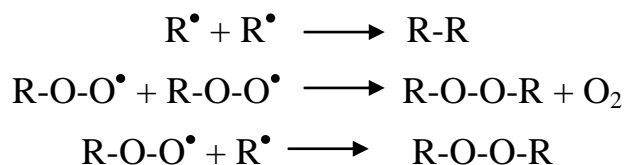
Iniciace:



Propagace:



Terminace:



Obr. 2: Oxidační reakce tuků [17]

1.2.4. Reakce hydroperoxidů s dalšími složkami potravin

Hydroperoxydy reagují během zpracování a skladování potravin s celou řadou jejich složek. Reakce často vedou ke snížení výživové hodnoty a ke zhoršení organoleptických vlastností [45, 46].

Dochází k následujícím reakcím hydroperoxidů:

- s proteiny – reakcí vznikají lipoproteiny s fyzikálními i kovalentními vazbami. Vznikají radikály a oligomery proteinů tvořící příčné vazby mezi proteinovými řetězci, některé citlivé funkční skupiny aminokyselin se oxidují. Vůči oxidaci je zvláště citlivý cystein a methionin, histidin, tryptofan, fenylalanin, asparagin a arginin. Hydroperoxydy reagují s aminokyselinami v bílkovinách za vzniku iminů. Iminy mohou vznikat také reakcí aldehydů s aminosloučeninami,
- se sacharidy – reakcí sacharidů a hydroxylových radikálů jsou α -dikarboonylové sloučeniny s původním počtem atomů uhlíku, které se dále oxidují a rozkládají. Radikály α -dikarboonylové sloučeniny dále reagují s proteiny Maillardovou reakcí,
- reakce s vitamíny – vitamíny s úlohou antioxidantů jsou snadno oxidovatelné látky, které reagují s volnými radikály a zhasíjí singletový kyslík [45, 46].

1.3. Faktory ovlivňující oxidaci lipidů

Rychlost a rozsah oxidace lipidů v mléce a mléčných produktech je ovlivňována řadou parametrů, jako jsou: kyslík, světlo, působení kovů, antioxidanty (kyselina askorbová, tokoferoly, karotenoidy, thioly, proteiny, enzymy), membrána tukových kuliček a skladovací teplota [45, 46].

1.3.1. Kyslík

Kyslík je více rozpustný v nepolárních než polárních sloučeninách, z tohoto důvodu je více rozpustný v tekutém mléčném tuku než v syrovém mléce. Značné procento celkového kyslíku i mléku je přítomno v tukové fázi. Kyslík je vylučován z pevného tuku v průběhu krystalizace. Kyslík reaguje s nenasycenými MK v tekuté fázi a fosfolipidy a membránou tukových kuliček. Molekuly kyslíku, pronikající do tuku difúzí z atmosféry reagují s přítomnými volnými radikály v tukové fázi. Odstranění kyslíku z tekutého mléka nebo jeho nahrazení inertní plynem (dusíkem) snižuje rozvoj oxidované chuti a vůně.

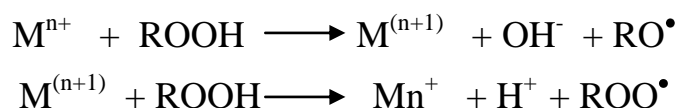
Oxidační stabilita sušeného mléka může být zvýšena zpracováním za vakua nebo záměnou za inertní plyn [43, 44].

1.3.2. Světlo

Světlo je velmi efektivním promotorem rozvoje nežádoucích chutí a vůní v mléku a mléčných produktech. Rozsah rozvoje nežádoucích chutí a vůní je funkcí vlnové délky světla, intenzity a délky expozice. Světlo proniká mlékem do značné hloubky. Reakce probíhá za katalýzy pomocí fotosenzibilátorů. V mléce je fotosenzibilizátorem riboflavin. Dochází k přenosu energie z excitovaného tripletového fotosenzibilizátoru na tripletový kyslík za vzniku singletového kyslík, jehož působením vznikají hydroperoxydy. Rychlost oxidace ovlivňované světlem může být zpomalena balením do obalů, které nepropouští světlo jako je např. hliníková fólie [45, 46].

1.3.3. Kovy

V mléce a mléčných produktech je přítomna široká škála kovů, jako je měď a železo. Vliv kovů na oxidaci tuků je známý již dlouho a za hlavní kovy, které ovlivňují oxidaci, jsou považovány měď a železo. Oba tyto kovy jsou přirozeně přítomny v mléce, avšak mohou se objevit také jako kontaminanty. Malé množství iontů kovů způsobuje široké množství reakcí při oxidaci tuku. Porovnáním redoxních potenciálů kovů je zjevné, že železo je silnějším oxidantem než měď. Ionty kovů fungují jako prooxidanty při rozkladu hydroperoxidů a vytváří nové reakční řetězce. Oxidace nebo redukce iontů kovů rozkládá hydroperoxydy mechanismem z obr. 3 [45, 46].



Obr. 3: Mechanismus působení kovů na vznik hydroperoxidů

1.3.4. Antioxidanty

Přídavek antioxidantů je často rozšířeným způsobem jak zabránit oxidaci tuků. Avšak přídavek antioxidantů do mléčných výrobků je v mnoha zemích zakázán. Nejvýznamnějšími antioxidanty v mléce jsou:

- tokoferoly – jsou přirozenou součástí mléka. Nachází se převážně v membránách tukových kuliček. Tokoferoly se označují jako neutralizátory volných radikálů, ale nejčastěji potlačují aktivitu

singletového kyslíku. Každá molekula tokoferolu inaktivuje 120 molekul singletového kyslíku,

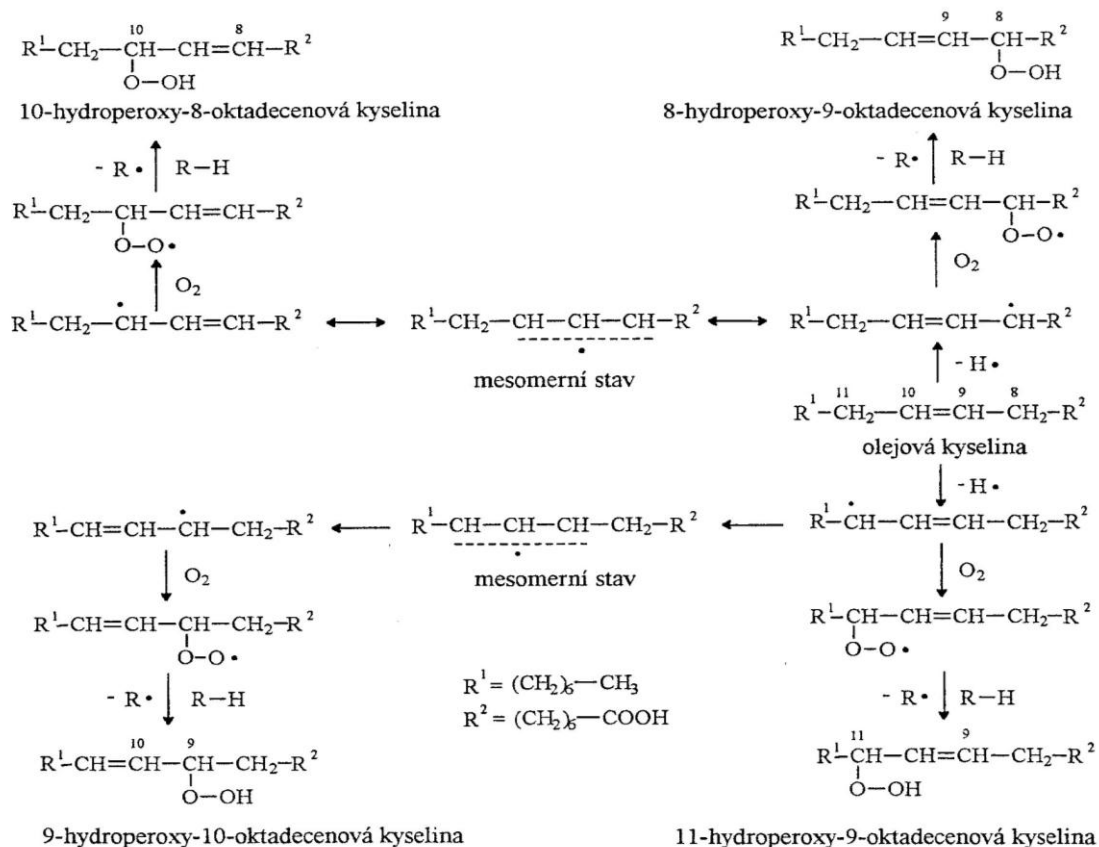
- askorbová kyselina – je velmi efektivním neutralizátorem volných radikálů. Antioxidační vlastnosti má kyselina askorbová už v koncentraci 20 mg.l^{-1} a má rozhodující vliv při rozvoji oxidované chuti a vůně,
- karotenoidy – společně s tokoferoly inaktivují účinky singletového kyslíku. Rychlost inaktivace je ovlivňována množstvím konjugovaných dvojných vazeb karotenoidů,
- thioly – jsou aktivovány zahřáním mléka, protože dojde k aktivaci thiolových skupin v membránách tukových kuliček a v sérových proteinech β -laktoglobulinů,
- proteiny a enzymy – kaseiny mají antioxidační aktivitu, která je způsobena jejich hydrofobní povahou a orientací aminoskupin, které působí jako antioxidanty [43, 44].

1.4. Autooxidace nenasycených mastných kyselin

Autooxidace mastných kyselin je nejběžnějším typem oxidace za podmínek, které přicházejí v úvahu při zpracování nebo skladování potravin. U nenasycených kyselin je odštěpení vodíku velmi snadné a to především z methylové skupiny sousedící s dvojnou vazbou. K odštěpení vodíku z methylové skupiny z dienových a trienových MK je v porovnání s mořenovými kyselinami mnohem jednodušší. Počet dvojných vazeb zůstává zachován, dvojná vazba se posune o jeden atom uhlíku směrem ke karboxylu nebo ke koncovému methyly. Velmi snadno dojde k posunu dvojných vazeb u dienových a trienových MK. Volný radikál vznikne mezi dvěma dvojnými vazbami a je stabilizován mezomerií. Při reakci s kyslíkem vznikne peroxylový radikál na jednom konci mesomerního systému. Při posunu dvojných vazeb se dvojná vazba současně přesmykne z konfigurace *cis* do stálejší konfigurace *trans* [17].

1.4.1. Autooxidace monoenových mastných kyselin

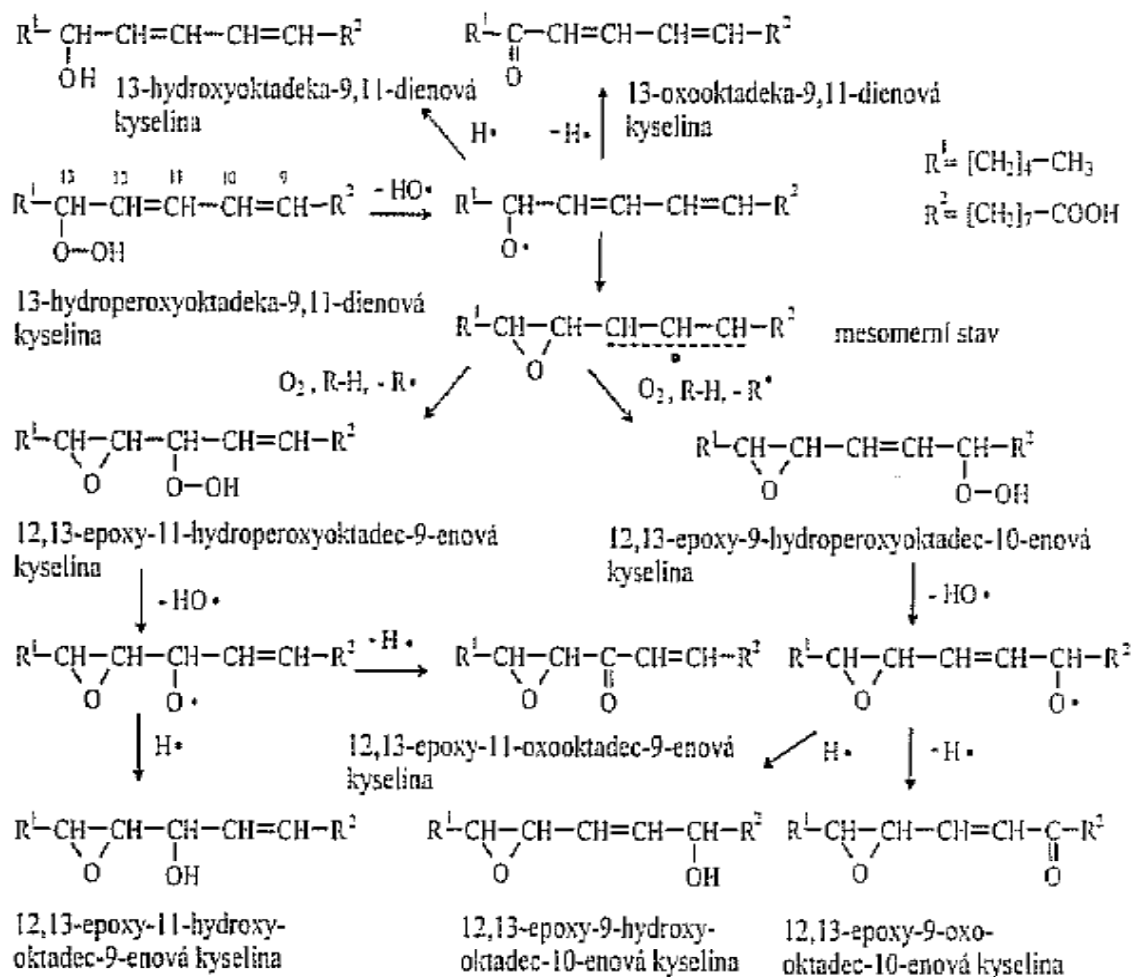
Nejvýznamnější monoenovou kyselinou je kyselina olejová. K štěpení vazby uhlík-vodík dochází na uhlíku sousedícím s dvojnou vazbou (C_8 nebo C_{11}) a disociační energie této reakce je $322 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$. Vzniklý alkylový radikál může, ale nemusí isomerovat a reakcí vzniknou čtyři hydroperoxydy. Při pokojové teplotě je jejich množství přibližně stejné, avšak převažují 8- a 11-hydroperoxydy. Tyto hydroperoxydy vznikly bez posunu dvojně vazby a jsou směsí *cis*- a *trans*-isomerů, naproti tomu hydroperoxydy vzniklé isomerací dvojně vazby jsou převážně *trans*-isomery. Autooxidace kyseliny olejové je na obrázku 4 [17].



Obr. 4: Autooxidace kyseliny olejové [17]

1.4.2. Autooxidace dienových nenasycených kyselin

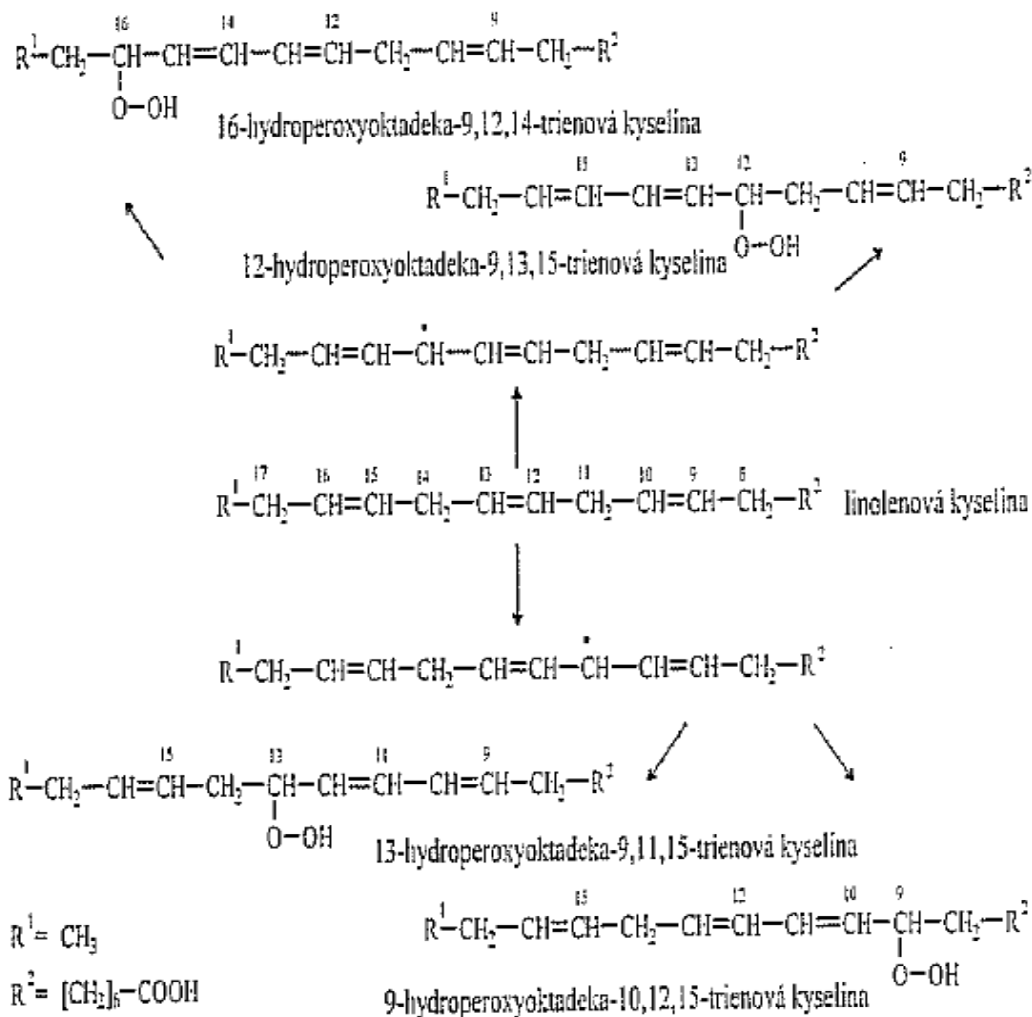
Vyšší reaktivita methylenové skupiny mezi dvěma dvojnými vazbami způsobuje, že oxidační proces probíhá výhradně na tomto místě molekuly. U kyseliny linolové jde o uhlík C11 a hlavními produkty oxidace jsou hydroperoxy s konjugovanými dvojnými vazbami. Při pokojové teplotě nebo teplotě nižší vznikají převážně cis, trans – a trans, cis- hydroperoxy, při vyšších teplotách se tvoří převážně trans, trans- hydroperoxy. V menším rozsahu se tvoří také na uhlících C8 nebo C14, které sousedí s dvojnou vazbou. Autooxidace dienových kyselin je na obrázku 5 [17].



Obr. 5: Autooxidace kyseliny linolové [17]

1.4.3. Autooxidace trienových nenasycených kyselin

Nejvýznamnější trienovou kyselinou je kyselina α -linolenová. V iniciační fázi je reakce přednostně na uhlících C₁₁ a C₁₄, tedy na uhlících nacházejících se mezi dvěma dvojnými vazbami. Jako hlavní produkty vznikají čtyři hydroperoxy C₉, C₁₂, C₁₃ a C₁₆ s konjugovaným systémem dvou dvojných vazeb a izolovanou třetí dvojnou vazbou. Jedná se tedy o směsi geometrických isomerů cis, trans- nebo trans, trans-, izolovaná dvojná vazba má konfiguraci cis. Během autooxidace vznikají další minoritní produkty a přesmykem nenasycených hydroperoxidů vznikají cyklické peroxidy, které se mohou dále oxidovat. Schéma autooxidace kyseliny α -linolenové je na obrázku 6 [17].



Obr. 6: Autooxidace kyseliny linolenové [17]

1.4.4. Autooxidace nasycených mastných kyselin

Štěpení vazby uhlík-vodík v nasyceném uhlovodíkovém řetězci vyžaduje značnou energii ($422 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$), což není při nižších teplotách možné. Za vyšších teplot, které odpovídají teplotám pečení, smažení a pražení je tato reakce možná. Kromě posledního uhlíku jsou všechny ostatní zhruba stejně náchylné k vytvoření volného radikálu. Na vzniklé volné radikály se váže kyslík, vznikají peroxylové radikály a reakce probíhá dále. Produkty reakce jsou velmi pestré vlivem toho, že volný radikál se může vytvořit na mnoha různých místech uhlíkového řetězce [17].

1.5. Sekundární produkty oxidace

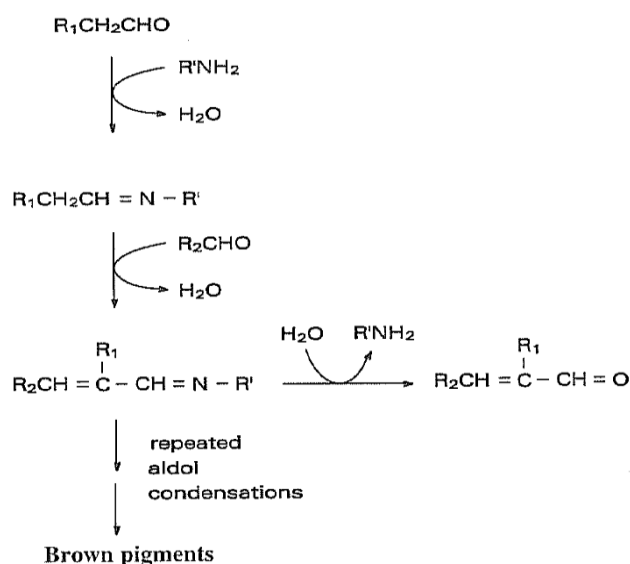
Sekundárními produkty oxidace lipidů jsou karbonylové sloučeniny. Karbonylové sloučeniny hrají hlavní roli v chuti a vůni oxidovaných mléčných produktů. Kvalitativní analýzou oxidačních produktů (sušené mléko, krémy, máslo) bylo zjištěno, že množství karbonylových látek je důležité pro celkovou chuť a vůni produktů [47]. Různorodost vznikajících sloučenin vlivem chemických reakcí závisí na stupni a intenzitě oxidace mléčného tuku, na intenzitě zahřívání mléka, podmínkách a délce skladování a intenzitě hnědnoucích reakcí [48]. Lojovitá chuť pochází z glyceridové frakce a typická oxidovaná chuť z fosfolipidové frakce mléčného tuku. Při oxidaci indukované měďnatými ionty vzniká převážně aceton, etanal a n-hexanal. Ačkoliv to není potvrzeno, předpokládá se, že většina karbonylových sloučenin má zdroj v nenasycených MK fosfolipidů [49]. Chuť a vůně potravin je závislá na karbonylových sloučeninách, které stimulují smyslová centra. Sušené potraviny jsou senzitivní k oxidaci tuků a to díky velkému povrchu, který je ve styku se vzduchem [49].

Karbonylové sloučeniny v mléce byly intenzivně studovány mnoha extrakčními technikami, které jsou časově náročné a vyžadují mnoho koncentračních kroků. Z tohoto důvodu byla vyvinuta headspeaces mikroextrakce v pevné fázi (HP-SPME), která podstatně zkracuje čas analýzy a manipulační kroky. Technologie je používána pro stanovení těkavých karbonylových sloučenin z mlékárenských produktů, jako jsou sýry, sušené mléko, mléčná čokoláda a další [49].

1.5.1. Interakce proteinů s produkty oxidace

Hnědnutí potravin je důsledkem série reakcí aminů, aminokyselin (AMK), peptidů a proteinů s redukujícími cukry, oxidovanými lipidy, vitamínem C a chinony. Maillardova reakce je neenzymatická glykosidace AMK nebo proteinů na glykoprodukty. Oxidace lipidů je jednou ze dvou nejvíce důležitých reakcí probíhajících v potravinách. Oxidace je důvodem změn chuti, vůně, barvy, textury a nutriční hodnoty potravin, může vést až ke vzniku toxických a mutagenních látek. Produkty oxidace tuků mohou iniciovat a ovlivňovat Maillardovu reakci. Reakce oxidačních produktů s aminy, AMK a proteiny souvisí s hnědnutím potravin v průběhu zpracování a skladování. Karbonylové sloučeniny reagují s volnými AMK a tím dochází k hnědnutí potravin. Při teplotách 25-50 °C dochází stykem proteinů s oxidovanými lipidy k výrazným barevným změnám a ztrátám AMK. K nejvýraznějším ztrátám dochází u AMK lysinu a argininu [50].

Interakcí mezi oxidovanými lipidy (hydroperoxydy a sekundární produkty) a AMK vznikají komplexy nebo různé typy kovalentních vazeb a také proteinové radikály. Polymerizace proteinů reakcí s peroxidovým radikálem je důvodem neenzymatického hnědnutí. Jsou-li proteiny vystaveny vlivu hydroperoxidů, vzniká obrovský komplex spojený vodíkovými můstky. Prvním sekundárním produktem, který se podílí na neenzymatickém hnědnutí je malondialdehyd a to díky tomu, že se příčně váže na AMK nebo proteiny. Vzniká tak Schiffova báze, což je komplex mezi malondialdehydem a dvěma AMK za vzniku N, N'-disubstituovaného 1-amino-3-iminopropenu [50]. Příklad mechanismu neenzymatického hnědnutí pomocí opakované aldolové kondenzace je na obrázku 7.

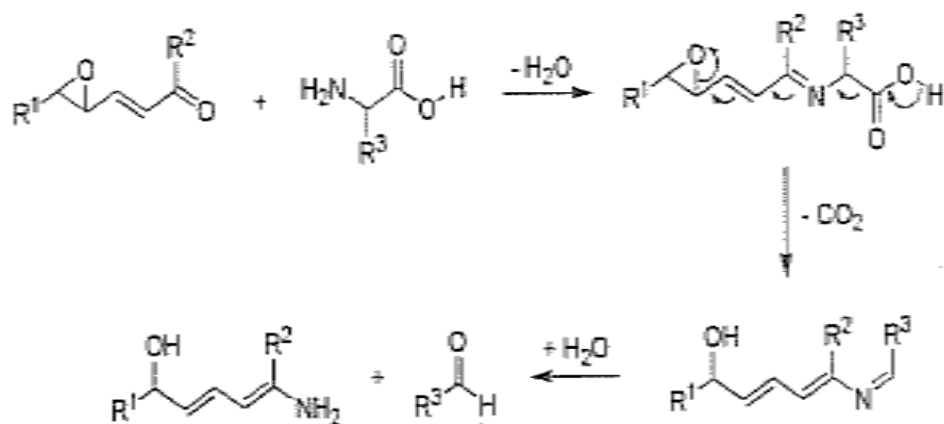


Obr. 7: Vnik hnědých pigmentů aldolovou kondenzací [51]

Interakce aromatických sloučenin s netěkavými látkami může vést k poklesu vnímavosti a snížit akceptovatelnost požívání potravin. Bylo zjištěno, že pokud relativní vlhkost stoupne z 11 na 90 % tak vzroste množství karbonylových sloučenin z 5 na 93 %. Chemická modifikace proteinů může také změnit vazebné vlastnosti [52].

Protože Maillardova reakce a oxidace tuků jsou dvě nejdůležitější chemické reakce, které se v biochemických systémech odehrávají. Peroxidy mohou modifikovat Maillardovu reakci tím, že ji podporují nebo jí zabraňují, anebo také tím, že reagují s některými meziprodukty a tím dochází k produkci sloučenin, které by bez přítomnosti lipidů nevznikly. Karbonylové sloučeniny jsou schopny modifikovat reaktivní skupiny AMK řetězce produkujících různé

sloučeniny, které se označují jako AGE/ALE (advanced glycation end products/ advanced lipoxidation end products), všechny tyto sloučeniny jsou deriváty argininových a lyzinových zbytků. Streckerova degradace AMK je jednou z nejdůležitějších reakcí, které vedou k finálním aromatickým sloučeninám Maillardových reakcí. Oxidací lipidů vznikají analogy α -dikarbonylových sloučenin např. 4,5-epoxy-2-alkenaly, které působí Streckerovu degradaci AMK, jejíž schéma je na obrázku 8[53].



Obr. 8: Streckerova degradace aminokyselin způsobená 4,5-epoxy-2-alkenaly [53]

1.5.3. Vliv Maillardovy reakce a biochemických reakcí na vlastnosti sušeného mléka

Rozpustnost sušeného mléka

Rozpustnost je označení vlastnosti sušeného mléka, které bere v úvahu složky mléčného prášku rozpustné (laktóza, nedenaturované sérové bílkoviny, soli) a dispergovatelné složky (kasein). Rozpustnost sušeného mléka není chápána v chemickém slova smyslu, ale jako rychlost rozpouštění všech složek sušeného mléka při jeho obnovování. Rozpustnost je jednou z vlastností sušeného mléka, ukazující na jeho kvalitu. Maillardova reakce a oxidace mají negativní vliv na funkční vlastnosti sušeného mléka a to především na rozpustnost. Stapelfeldt et al. [54] během skladování sušeného plnotučného mléka našli vztah mezi poklesem rozpustnosti a vzrůstem obsahu hydroxymethylfurfuralu (produkt

Maillardovy reakce) a hodnotou TBARS (produkt oxidace - malondialdehyd) [55].

Během skladování sušeného mléka mohou být sulfhydrylové skupiny na povrchu proteinů oxidovány na disulfidové formy. Výměna disulfidů za sulfhydrylové skupiny způsobuje polymerizaci proteinů nebo vazbu proteinu na produkty Maillardových reakcí a oxidovaných lipidů. Zesíťování vznikají sloučením s vysokou molekulovou hmotností, které mohou být zodpovědné za ztrátu rozpustnosti sušeného mléka v průběhu skladování [56].

Emulgační a pěnicí vlastnosti

Interakce protein-protein ovlivňuje emulgační vlastnosti proteinů sušeného mléka. Mléčné proteiny mají velmi dobré emulgační vlastnosti a to především pokud nejsou agregovány do velkých molekul. Maillardova reakce a oxidace snižují emulgační schopnosti sušeného mléka a to díky síťování proteinů [57].

Kondenzace laktózy vede ke změně struktury bílkovin. Řízená kondenzace laktózy se provádí na mléčných proteinech s cílem zlepšit jejich pružnost a mezifázové vlastnosti. Zbytky laktózy jsou zkoncentrovány na povrchu lysinu a zůstávají pružné. Řízená kondenzace laktózy umožňuje částečné rozvinutí proteinů nacházejících se na povrchu tukové fáze. Řízená kondenzace laktózy však nenastává při skladování sušeného mléka samovolně. Proteiny v sušeném stavu jsou silně glykosilovány. Samovolná kondenzace laktózy však může poškodit pružnost proteinů, pokud je přítomno velké množství zbytků laktózy a proteiny jsou velmi denaturované. Z tohoto důvodu Maillardova reakce poškozuje emulgační a pěnicí vlastnosti sušeného mléka [58].

1.6. Sušené mléko

Metodika uchovávání potravin sušením a také jejich ochrana před činností mikroorganismů, které potřebují k množení vodu je známa již několik století. Odtučněné sušené mléko má dobu trvanlivosti maximálně tři roky, zatímco plnotučné sušené mléko pouze šest měsíců. Tento fakt je způsoben tím, že tuk obsažený v mléce podléhá v průběhu skladování oxidaci, s čímž souvisí i nežádoucí změny chuti a vůně. Doba skladování však může být prodloužena různými způsoby balení jako je např. balení v atmosféře inertního plynu jako je dusík [59, 60].

Sušení minimalizuje hmotnost a objem, čímž je umožněno snadná přeprava a manipulace. Sušení taktéž umožňuje přidavek sušených produktů do různých koncentrovaných směsí (směsi na pečení, dětská výživa, nápoje) [59, 60].

K sušení mléka se používá rozličných způsobů jako válcové sušení, sprejové sušení nebo vymrazování. Způsob sušení je nutno volit dle zamýšleného způsobu použití sušeného mléka, jelikož sušené produkty mohou ve vodě tvořit nerozpustné shluky a tím může dojít k omezení použitelnosti sušeného mléka [59, 60].

Vyhláška Ministerstva zemědělství č. 77/2003 Sb. v platném znění [61]. Definiuje sušené mléko a sušenou smetanu jako mléčný výrobek v prášku, získaný sušením plnotučného, odtučněného či částečně odtučněného (polotučného) mléka nebo smetany nebo jejich směsi, s obsahem vody nevyšší 5 % (w/w).

Nejčastěji se používají tyto způsoby sušení:

- sprejové sušení,
- válcové sušení,
- instantizace,
- lyofilizace [62].

1.6.1. Mléko používané k sušení

Mléko používané k sušení musí splňovat následující parametry:

- musí pocházet od zvířat, která nevykazují žádný příznak nakažlivé choroby přenosné mlékem na člověka,
- musí pocházet od zvířat, která jsou celkově v dobrém zdravotním stavu, nevykazují známky nákazy, která by mohla mít za následek kontaminaci mléka, netrpí žádnou infekcí pohlavního ústrojí doprovázenou výtokem,

ani enteritidou s průjmem, doprovázenou horečkou nebo viditelným zánětem vemene,

- musí pocházet od zvířat, která nevykazují žádné zranění vemene, které by mohlo mít vliv na mléko,
- musí pocházet od zvířat, kterým nebyly podány nepovolené látky či přípravky a v případě podání povolených přípravků byla dodržena ochranná lhůta stanovená pro tyto přípravky,
- obsah mikroorganismů v syrovém kravském mléce při 30 °C \leq 100 000 KTJ v 1ml,
- obsah somatických buněk v 1ml kravského mléka \leq 400 000, počítáno jako klouzavý geometrický průměr [1].

Mléko používané k sušení musí mít dobrou termolabilitu, nízkou kyselost (do pH 7,2), musí být vysoce kvalitní po chemické, sensorické a mikrobiologické stránce, čehož je dosahováno standardizací mléka. Po přijetí mléka je mléko odstředěno, zchlazeno na 4 °C a při této teplotě je uchováváno. Další operací je standardizace, která se používá k úpravě obsahu tuku ve finálním produktu. V následujícím kroku je mléko zahřáno na 88 – 95 °C po dobu 15 – 30 sekund. Účelem zahřátí je zničení patogenních bakterií a většiny saprofytických mikroorganismů, inaktivace enzymů (převážně lipáz) a aktivace SH-skupin β -laktoglobulinu, které mají antioxidační efekt [62].

1.6.2. Sprejové sušení mléka

Výroba sušeného mléka sprejovým sušením je uskutečňována ve dvou fázích. V první fázi je mléko zahuštěno na sušinu 48 – 52 %. V druhé fázi je koncentrát usušen v sušící věži. Sušení je několika stupňový proces:

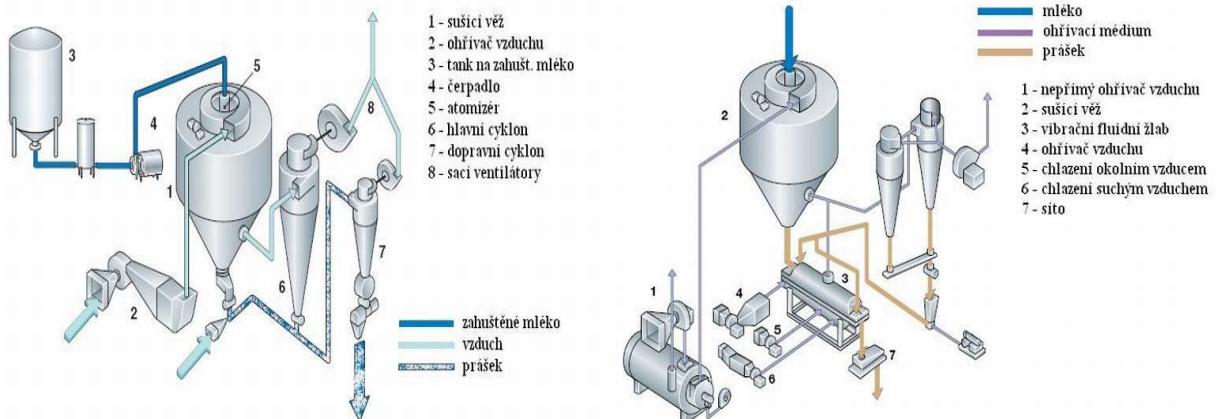
- rozprašování koncentrátu na velmi malé kapičky do proudu horkého vzduchu,
- odpařování vody,
- oddělení mléčného prášku (sušeného mléka) od sušícího vzduchu [62, 65].

Zahušťování je nutné pro výrobu vysoce kvalitního sušeného mléka. Bez zahuštění by částice sušeného mléka byly velmi malé a měly by vysoký obsah vzduchu, špatnou nasákavost a krátkou dobu použití. Proces sušení by tak byl vysoce neekonomický. K zahušťování se používají trubkové odparky s klesajícím filmem [62, 65].

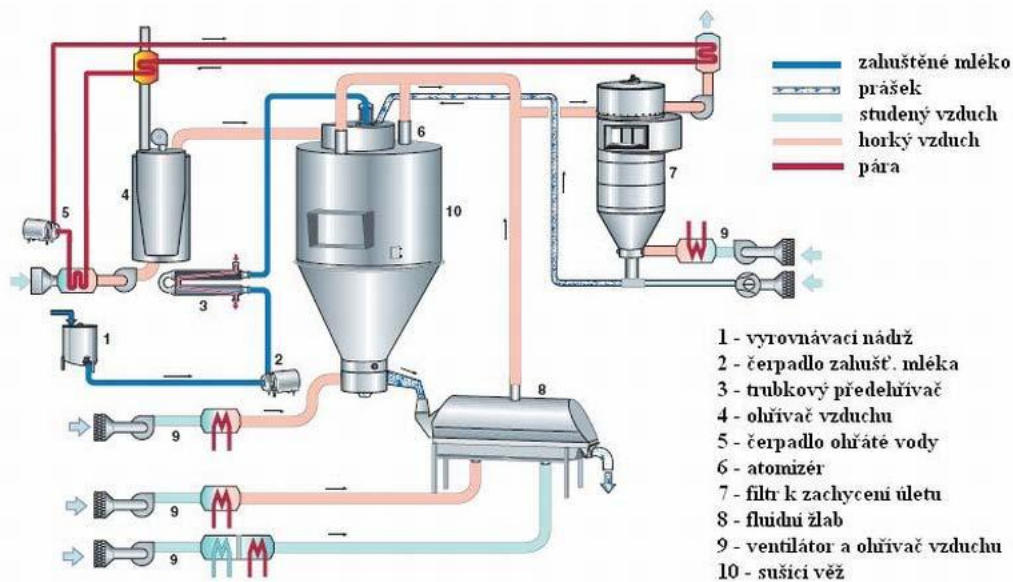
Sprejové sušení může být realizováno ve třech podobách:

- jednostupňové sušení – jedná se nejjednodušší způsob výroby sušeného mléka. Skládá se ze sušící komory s atomizérem, ohřivače vzduchu, systému pro oddělování vzduchu a sušeného mléka a ventilátoru. Vyráběné sušené mléko má malé částice. Příklad jednostupňové sprejové sušárny je na obrázku 9,
- dvoustupňové sušení – dvoustupňová sušárna obsahuje všechny součásti jako jednostupňová sušárna, ale navíc obsahuje další sušící stupeň. Sušené mléko, které opouští sušící komoru s vysokým obsahem vlhkosti je v další části sušárny dosušováno za nízké teploty. Tento způsob sušení je energeticky výhodnější, protože vzduch má nižší teplotu. Kvalita sušeného mléka může být zvýšena díky separaci jemného prášku v dalším sušícím stupni. Příklad dvoustupňové sprejové sušárny je na obrázku 9,
- třístupňové sušení – jedná se o kombinaci předcházejících dvou způsobů. Je sestrojena k dosažení větších úspor v ceně procesu sušení a k pokrytí rozličných nároků na kvalitu sušeného mléka. Na obrázku 10 je vidět třístupňová sprejová sušárna [62, 65].

Většina potřebného vzduchu pro sušení je získávána prostřednictvím ventilátoru z vnějšího okolí. Teplota vzduchu opouštějící sušárnu je různá podle zbytkové vlhkosti sušeného mléka. Vysoká teplota vzduchu opouštějícího sušárnu a také vysoká teplota sušeného mléka má negativní vliv na kvalitu sušeného mléka a to především na jeho rozpustnost [62, 65].



Obr. 9: Jednostupňová a dvoustupňová sprejová sušárna [62]



Obr. 10: Třístupňová sprejová sušárna [62]

1.6.3. Válcové sušení mléka

Válcové sušení je metoda běžně užívaná při výrobě odstředěného sušeného mléka, tak jako plnotučného sušeného mléka, s aplikacemi v jiném průmyslovém odvětví (cukrářství, výroba čokolády, krmiva), kvůli nízké rozpustnosti produktu. Přímý kontakt vrstvy koncentrovaného mléka s horkým povrchem otáčejících se válců nepříznivě ovlivňuje složky mléka a způsobuje nevratné změny většiny složek. Příkladem je karamelizace laktosy, degradace laktosy s aktivační energií, Maillardovy reakce mezi aminokyselinami a laktosou, denaturace bílkovin, atd. Produkty Maillardových reakcí mohou způsobit připálenou vůni, příchut', zatímco denaturace bílkovin způsobuje malou rozpustnost [63, 65].

Principem válcového sušení mléka je nastříkávání zahuštěného mléka v tenké vrstvě na povrch teplých rotujících válců. Odpařovací a odsávací systém jsou nad válci. Nastříknutý film je po usušení z válců seškrabován ve formě listu pomocí nožů. K sušení je používáno několik typů válcových sušáren [64, 65].

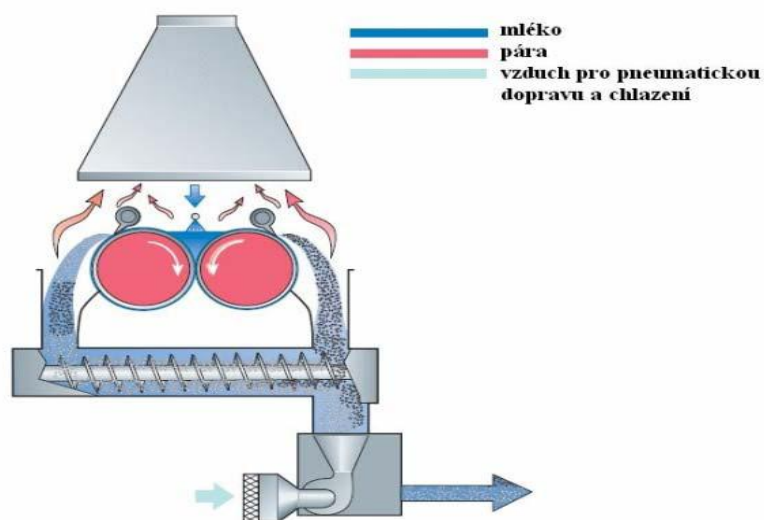
V mlékárenském průmyslu se nejčastěji užívá dvojitá bubnová sušárna (obrázek 11), která pracuje při atmosférickém tlaku. Suchá, nasycená pára o teplotě 150 °C a tlaku 621 MPa je užívána pro ohřev válce a je vhnána do osy

válce. Kondenzát páry je odstraněn čerpadlem umístěným do druhého konce osy válce. Teplota mléka dosahuje přibližně stejné hodnoty jako pára během sušení. Suchý film seškrabávaný pomocí nožů padá na dopravní otáčivé pásy umístěné podél každého válce kde je jemně rozdrcený a transportovaný na kladívkový mlýn, který slouží k rozdrcení na prášek [63, 65].

Válcové sušení za vakua při tlaku od 91 do 98 kPa pracuje s teplotami pod 100 °C a odstraňuje kyslík, poskytuje lepší vlastnosti mléčného prášku než při sušení pod atmosférickým tlakem. Sušicí zařízení je složeno z jednoho nebo ze dvou rotujících válců [63, 65].

Parametry válcového sušení jsou následující:

- vyhřívací medium - nasycená pára o tlaku 621 MPa a teplotě kolem 150°C,
- teplota nástřiku vzorku - v rozmezí 10 – 80 °C. Vyšší teplota podporuje vyšší kapacitu závodu,
- obsah sušiny – pohybuje se nejčastěji kolem 45 %,
- rychlost rotace válců - ovlivňuje tenkost filmu a vzdálenost mezi válci je menší než 100 μm [63, 65].



Obr. 11: Válcová sušárna [62]

Přestože válcové sušení poskytuje kvalitní produkt, má v porovnání se sušením sprejovým několik nevýhod. Nevýhodou může být připékání hmoty na válec, což způsobuje nižší kvalitu výrobku, dále menší měrný povrch usušeného materiálu a nižší rozpustnost sušeného mléka [64, 65]. I přes zmíněné nevýhody

je válcový způsob sušení mléka používán tam, kde jsou žádoucí speciální funkční vlastnosti. Válcové sušení se používá na výrobu různých směsí pro mléčné kaše. Výhodou válcově sušeného mléka z pohledu průmyslového zpracování, např. do vysoce kvalitních čokolád, je vysoký obsah volného tuku a také vysoká vaznost vody. Válcové sušárny se používají k sušení vysoce viskózních produktů [65].

Kvalita suroviny vzhledem k oxidačním změnám tuku ve finálním výrobku se projevuje především v obsahu lipolytických enzymů, které jsou produkovány některými mikroorganismy v syrovém mléce a patří sem především psychrofilní mikroorganismy. Enzymy produkované psychrotrofními druhy mikroorganismů jsou termostabilní a neničí se pasterizačními záhřevy ani při sušení mléka. Vyprodukované enzymy podle všeho odolávají také teplotám používaným během válcového sušení [66]. Během optimalizace výrobní technologie je nutno brát v úvahu také další ukazatel a tím je obsah volného tuku v usušeném produktu. Zmíněný faktor souvisí s válcovým sušením, během něhož je materiál zahřát na vysokou teplotu a tuk je tak v tekutém stavu. Tekutý tuk se může vylévat z tukových kuliček a při následném ochlazení nemusí být dostatek času k znovuvytvoření bílkovinného obalu, čímž tuk zůstává ve formě volného tuku. Jakost finálního výrobku je také ovlivňována dalšími faktory, mezi které patří stáří suroviny, způsoby čerpání mléka, jeho doprava, tepelné ošetření (pasterizace), chlazení a homogenizace [66].

Všechny uvedené faktory mají bezpochyby vliv na obsah volného tuku, který napomáhá rychlosti hydrolytických a oxidačních změn ve finálním výrobku.

1.6.4. Instantizace mléka

Při instantizaci se jedná o zlepšení rozpustnosti sušeného mléka. Instantizace je prováděna dvěma způsoby a to jednostupňově nebo dvoustupňově. V případě jednostupňové instantizace je aglomerační zařízení napojeno přímo na sprejovou sušárnu a regulováno tak, aby sušené mléko obsahovalo 8 – 12 % vody. Při použití dvoustupňové instantizace se sušené mléko vlhčí v aglomerační komoře. Ke zvlhčování se může použít pára, atomizovaná voda, proud vzduchu s relativní vlhkostí 60 %, odstředěné nebo zahuštěné mléko, čímž dojde k získání dostatečně velkého množství vody nutné ke krystalizaci laktózy a dochází také k aglomeraci částic [65].

Sušené mléko získané instantizací má hrubou konzistenci, poměrně nízkou sypanou hmotnost a vlhkost 3 – 5 % dle druhu vyráběného sušeného mléka. Sušené mléko se ve vodě velmi dobře rozpouští. Další výhodou instantizovaného mléka je fakt, že takto vyrobené mléko nepráší [65].

1.6.5. Lyofilizace mléka

Při lyofilizaci se jedná o odstraňování vody ze zmrazeného mléka za pomoci sublimace ve vakuu. Podstata lyofilizace je v tom, že se látka zmrazí a vytvořený led se mění přímo na vodní páry v prostředí vakua. Je realizována v hermetické komoře, kde se udržuje absolutní tlak nižší než je napětí par ledu ve zmrazené hmotě. Teplo potřebné k vypařování se však musí neustále dodávat a vznikající páry odvádět. Sublimací je v komoře odpařeno až 60 % celkové vody při teplotě 40 – 60 °C [65].

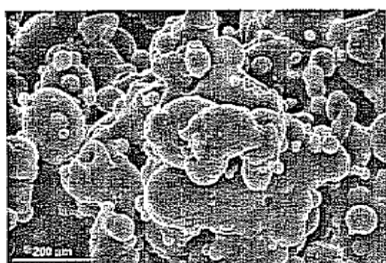
Výhodou lyofilizace je, že nedochází k žádným enzymatickým změnám a bakteriálním procesům a také nejsou patrné téměř žádné fyzikálně-chemické změny. Lyofilizované mléko tak má zachovány všechny své chuťové vlastnosti [65].

1.7. Struktura sušeného plnotučného mléka

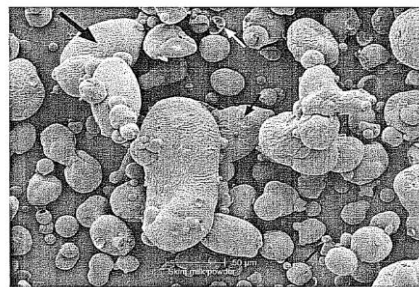
Struktura sušeného plnotučného mléka obsahuje kaseinové částice, které se objevují jako shluky globulárních částic v kaseinových micelách. Struktura částic byla zkoumána již v sedmdesátých letech minulého století s následujícím zjištěním:

- výrobní podmínky ovlivňují velikost a tvar práškových částic,
- objevují se rozdíly mezi velikostí jednotlivých částic,
- částice mají zvrásněný povrch a mohou být duté a porézní,
- homogenizace zahuštěného mléka před sušením ovlivňuje velikost pórů částic,
- zvrásnění, které se objevuje na povrchu částic je způsobeno shlukováním kaseinových micel během sušení [67].

Ke zjištění struktury se používá skenovací elektronová mikroskopie, transmisní elektronová mikroskopie, mikroskopie využívající polarizované světlo nebo mikroskopie využívající odraz interferenčního světla [67].



a



b

Obr. 12: Struktura sušeného mléka a- sprejově sušené plnotučné mléko;
b – sprejově sušené odtučněné mléko [67]

2. CÍL PRÁCE

Základním cílem práce bylo studium hydrolytických a oxidačních změn tuku sušeného plnotučného mléka. Pro dosažení tohoto základního cíle byly stanoveny následující úkoly:

- popsat změny lipidů sušeného plnotučného mléka v průběhu skladování a možné interakce proteinové složky sušeného mléka;
- vzorky sušeného plnotučného mléka skladovat za různých skladovacích podmínek (různé teploty, relativní vlhkosti);
- provést základní chemický rozbor obsahu tuku, obsahu mastných kyselin, stanovení obsahu hydroperoxidů, thiobarbiturový test v závislosti na skladování mléka, senzorní hodnocení obnoveného mléka, stanovit distribuci proteinů a změny obsahu aminokyselin;
- na základě výsledků analýz posoudit stupeň oxidace mléčného tuku válcově sušeného plnotučného mléka během skladování za různých podmínek;
- pro posouzení celkových změn probíhajících v plnotučném válcově sušeném mléku stanovit změny proteinů sušeného mléka v závislosti na skladovacích podmínkách;
- sledovat změny senzorní jakosti v průběhu skladování.

3. MATERIÁL A METODY

3.1. Zvolené způsoby skladování

Pro posouzení oxidačních a hydrolytických změn bylo zvoleno několik variant skladování. Ke skladování bylo zvoleno sušené mléko z provozu firmy YOG s. r. o. Bojkovice.

Skladování probíhalo za těchto podmínek:

1. skladování na tmavém místě za teploty 20 °C, vlhkost 50 %. Mléko bylo zabaleno v PE fólii a skladováno ve skladu potravin Ústavu technologie a mikrobiologie potravin FT UTB ve Zlíně – kontrolní vzorek,
2. relativní vlhkost 23 % (100 ml nasyceného roztoku octanu draselného) a 43 % (100 ml nasyceného roztoku uhličitanu draselného) při teplotě 37 °C,
3. relativní vlhkost 23 % (100 ml nasyceného roztoku octanu draselného) a 43 % (100 ml nasyceného roztoku uhličitanu draselného) při teplotě 20 °C,
4. skladování při teplotách 37 °C a 45 °C v termostatu ve tmě, vlhkost 50 %.

Skladování při modifikovaných relativních vlhkostech probíhalo v exsikátoru. Na Petriho misku o průměru 15 cm bylo naváženo 25 g plnotučného válcově sušeného mléka. Zvýšené teploty skladování byly simulovány v termostatu. Sušené mléko bylo skladováno po dobu 150 dní. Ke skladování byly použity vzorky odebrané v průběhu roku. Vzorky byly označeny A – datum výroby 15. 3. 2008 a B – datum výroby 23. 10. 2008.

3.2. Příprava vzorku

V této práci byly sledovány hydrolytické a oxidační změny tuku plnotučného válcově sušeného mléka. Sušené mléko pro tuto práci s obsahem tuku 26 %, obsahem vody 3,2 % w/w a indexem rozpustnosti 1,91 bylo vyrobeno sušením na válcích ve firmě YOG s. r. o. v Bojkovicích.

Mléko pro výrobu sušeného produktu obsahuje 3,6 % tuku a bylo pasterováno při teplotě 90 °C po dobu 5 – 7 sekund. Mléko bylo zahuštěno na třístupňové odparce Wiegand na 34 % sušiny. Sušení probíhalo na dvou válcích při teplotě 120 – 130 °C za atmosférického tlaku. Válce byly vyhřívány nasycenou párou o teplotě 150 °C a tlaku 621 MPa. Zahuštěné mléko bylo na válce nastříkáváno pomocí trysek a po usušení byl vzniklý film usušeného mléka seškrabován nožem umístěným na válci. Pomocí šnekového dopravníku, který slouží také k rozmělnění na částice o velikosti 5 – 50 µm, byl prášek dopravován do

chladícího porubí. K odloučení prášku od chladícího vzduchu byl v konečné fázi použit cyklón. Usušené plnotučné mléko bylo baleno do obalu o hmotnosti 850 kg (BigBag).

3.3. Chemické analýzy mléka

3.3.1. Stanovení obsahu vody v sušeném mléce

Stanovení obsahu vody bylo provedeno dle české normy ČSN ISO 57 0105 [68]. Obsah vody byl stanoven sušením při teplotě 87 ± 2 °C, při níž nedochází k porušení organických látek. Prázdňá váženka se hodinu předsoušela v sušárně při 87 ± 2 °C a po ochlazení v exsikátoru se do ní navážilo přesně 3 g vzorku. Vzorek se sušil 16 hodin a po půlhodinovém ochlazení v exsikátoru se zvažil.

Obsah vody v % se vypočítá podle vzorce:

$$x = \frac{a \cdot 100}{n}$$

a úbytek na váze sušením v [g]

n navážka vzorku [g]

3.3.2. Stanovení indexu rozpustnosti

Stanovení indexu rozpustnosti bylo provedeno dle české normy ČSN ISO 57 0105 [68]. 13 g plnotučného sušeného mléka bylo obnoveno v 90 ml destilované vody o teplotě 50 °C. Obnovené mléko bylo za občasného promíchání inkubováno 5 minut při 50 °C na vodní lázni a poté zchlazeno na 20 °C. Z takto připraveného mléka bylo odpipetováno 5 ml do Tillmans-Stroheckerovy trubičky a doplněno destilovanou vodou po rysku. Obnovené mléko bylo odstředováno 15 minut při 1200 ot/1min. V dolní části kalibrované trubičky byl usazen nerozpustný zbytek, jehož množství bylo přímo odečítáno na stupnici. Index rozpustnosti se udává jako množství nerozpuštěného podílu sušeného mléka v ml.

3.3.3. Stanovení primárních oxidačních produktů

Primární oxidační produkty byly stanoveny jako hydroperoxydy a peroxidové číslo. Hydroperoxydy byly stanoveny metodou dle Ostfala *et al.* [69] Ke 2 ml obnověného mléka byly přidány 2 ml methanolu a 4 ml chloroformu (Ing. Petr Lukeš, ČR). Směs byla promíchána a centrifugována 10 minut při 1500 x g. K 1

ml chloroformové fáze byl přidán 1 ml roztoku thiokyanatanu/železa II, který byl připraven smícháním 250 μ l roztoku I, 250 μ l roztoku II a doplněn do 25 ml objemu roztokem III. Roztok I byl připraven smícháním 0,4 g chloridu barnatého dihydrátu rozpuštěného v 50 ml destilované vody a 0,5 g síranu železnatého heptahydrátu rozpuštěného v 50 ml destilované vody. Roztok II byl 3% thiokyanatan amonný. Roztok III byla směs chloroformu a methanolu v poměru 1:1. Po přidavku reakční směsi probíhala reakce 5 minut při pokojové teplotě a následně byla měřena absorbance při 500 nm. Obsah hydroperoxidů byl vyjádřen jako hodnota absorbance při 500 nm.

Peroxidové číslo bylo stanoveno dle Lékopisu [70]. Alikvotní množství tuku získaného extrakcí za studena bylo rozpuštěno v 50 ml směsi bezvodé kyseliny octové a chloroformu (3:2). Byl přidán čerstvě připravený roztok KI, za 60 sekund 100 ml destilované vody a roztok škrobového mazu. Směs byla ihned titrována odměrným roztokem 0,01 M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ do odbarvení. Za stejných podmínek byl proveden i slepý pokus, který neobsahoval tuk. Peroxidové číslo bylo vyjádřeno jako $\mu\text{g O}_2/1 \text{ g}$.

Peroxidové číslo se vypočítá podle následujícího vzorce:

$$p = \frac{10 \cdot (b - a)}{q}$$

kde

p peroxidové číslo [$\mu\text{g O}_2/1 \text{ g}$]

a spotřeba odměrného roztoku 0,01 M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ při slepém pokusu [ml]

b spotřeba odměrného roztoku 0,01 M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ při titraci vzorku [ml]

q navážka vzorku [g]

3.3.4. Stanovení sekundárních oxidačních produktů

Sekundární oxidační produkty byly stanoveny jako thiobarbiturové číslo (TBARS) metodou dle Kinga [71]. 30 ml obnoveného mléka bylo vysráženo 1,5 ml kyseliny trichloroctové (1 g/ml, Penta, ČR) a 3 ml ethanolu. Roztok byl promíchán a po 5-ti minutách zfiltrován. Do zkumavky byly odebrány 4 ml filtrátu a byl přidán 1 ml ethanolického roztoku TBA o koncentraci 1,4 g TBA (Sigma Aldrich, ČR) ve 100 ml ethanolu. Zkumavka byla inkubována ve vodní lázni o teplotě 60°C po dobu 60 minut. Absorbance vzorku byla měřena při vlnové délce 450 nm. Obsah TBARS je vyjádřen jako hodnota absorbance při 450 nm.

3.3.5. Stanovení mastných kyselin plynovou chromatografií s hmotnostní spektroskopií

Obsah mastných kyselin byl stanoven na pracovišti Ústavu chemie, Fakulty technologické, Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně plynovou chromatografií s hmotnostní spektroskopií na přístroji GC Shimadzu GCMS-QP2010. Jednotlivé mastné kyseliny byly separovány na kapilární koloně typu SPBTM – PUFA: 30 m x 0,25 mm x 0,2 µm (délka x průměr x tloušťka filmu). Měření bylo provedeno v režimu EI (elektron impact) 70 eV. Zvolený teplotní program byl následující: teplota injektoru 220 °C, kolona 50 °C po dobu 2 minut, zvýšení 10 °C/min na teplotu 150 °C a s následným zvýšením 25 °C/min na 210 °C, jež byla udržována do konce měření vzorku cca 11 minut. Měření bylo provedeno v režimu lineární rychlosti 350 cm/sec se splitem 250. Jako nosný plyn bylo použito helium. Hmotnostní detektor byl nastaven na následující parametry: solvent time 4,5 min; rozsah měření (scanmode) 40 – 350 m/z; iontový zdroj (IS) měl teplotu 200 °C. Mastné kyseliny byly stanoveny jako methyl estery připravené dle Davídka a kol. [72] v tukovém extraktu získaném extrakcí za studena směsí chloroform:methanol (2:1) dle Davídka a kol. [72]. Výsledky byly měřeny devětkrát a byly vyjádřeny jako aritmetický průměr procentuelního plošného zastoupení jednotlivých mastných kyselin a udávány v %.

3.3.6. Stanovení aminokyselin

Vlastnímu stanovení aminokyselin předcházela hydrolýza vzorku, která byla provedena následovně: Do 200 ml vialky bylo naváženo 50 mg sušeného mléka s přesností na 0,0001 g a přidáno 15 ml 6 M HCl. Z takto připravené vialky byl vytěsněn vzduch pomocí argonu a vialka byla umístěna do termobloku (Ingos, ČR) a zahřívána na teplotu 115 °C ± 1 °C po dobu 23 hodin. Po hydrolýze byl vzorek vychlazen na teplotu 20 °C, zfiltrován a odpařen na vakuové rotační odparce (RVO 400, Ingos, ČR) při teplotě 50 °C do sirupovité konzistence. Odparek byl kvantitativně převeden do 25 ml odměrné baňky pomocí dávkovacího sodnocitrátového pufru (pH 2,2, Ingos, ČR). Pro stanovení sirných aminokyselin byla nejprve provedena oxidace za použití směsi HCOOH : H₂O₂ (85% hm. kyseliny mravenčí a 30% hm. peroxidu vodíku v poměru 9:1 v/v, Ingos, ČR) po dobu 16 hodin při teplotě 2 °C. Další postup hydrolýzy a odpařování byl již shodný s kyselou hydrolýzou. Množství 100 µl hydrolyzátu zředěného vzorkovacím pufrem bylo automaticky vstříknuto do přístroje Amino Acid Analyser AAA 400 (Ingos, ČR) vybaveného kolonou (370 mm x 3.7 mm, měnič iontů Ostion LG ANG, Ingos, ČR), postkolonovou ninhydrinovou derivatizací a spektrofotometrickou detekcí (440 nm pro prolin a 570 nm pro

ostatní aminokyseliny). Standardy aminokyselin byly získány z firmy Ingos, ČR. Aminokyseliny byly eluovány dle programu: 0 – 5 min pufr A, 5 – 32 min pufr B, 32–44 min pufr C, 44 – 75 min pufr D. Poté byla kolona regenerována 0,2 mol.l⁻¹ NaOH po dobu 10 min a stabilizována dalších 17 min pufr A. Teplota kolony byla následující: 60 °C (0 – 60 min a 90 – 102 min) a 74 °C (60 – 90 min). Systém pufrů a příprava ninhydrinového činidla (složení: ninhydrin, methylcellosolve, acetátový pufr (pH 5,5) a hydrindantine) byly doporučeny výrobcem přístroje. Pro jednotlivé pufry byla rychlost průtoku 0,3 ml.min⁻¹ a pro ninhydrinové činidlo 0,2 ml.min⁻¹. Množství jednotlivých aminokyselin v daných vzorcích bylo vyjádřeno v g/ 16 g N.

Tab. 3: Složení pufrů pro automatický analyzátor aminokyselin

	kyselina citronová (g/l)	citrát sodný g/l	NaCl (g/l)	azid sodný (g/l)	thiglykol (g/l)
vzorkovací pufr	14,00		11,50	0,10	5,00
pufr A	11,11	4,04	9,29	0,10	2,50
pufr B	10,00	5,60	8,36	0,10	2,50
pufr C	7,53	9,06	18	0,10	2,50
	citrát sodný (g/l)	NaCl (g/l)	kyselina boritá (g/l)	azid sodný (g/l)	NaOH (g/l)
pufr D	19,60	52,60	2,05	0,10	0,50

3.3.7. SDS-PAGE

Z obnoveného a centrifugovaného (3000 x g po dobu 30 minut) vzorku mléka bylo odpipetováno 250 µl do endorfkové zkumavky, přidáno 25 µl 2-merkaptetanolu, 50 µl 20% SDS a 175 µl vzorkového pufru. Promíchaný vzorek byl povařen při teplotě 100 °C po dobu 10 minut na suchém blokovém termostatu. Takto připravený vzorek byl studován metodou SDS-PAGE. Pro separaci proteinů byl aplikován 5% koncentrační gel a 15% separační gel. Protein Marker, Broad Range (212 - 2.3 kDa; NEB BioLabs, USA) byl použit jako standard. Na gel bylo naneseno 20 µl každého vzorku [72]. Po doputování čela elektroforézy ke spodní hranici separačního gelu byl proces ukončen, koncentrační gel byl odstraněn a separační gel byl fixován po dobu 20 min a pak barven roztokem dusičnanu stříbrného. Gel byl vyhodnocen požitím programu Ultra Quant 6.0 a výsledky jsou prezentovány jako dendrogramy.

3.2.7. Senzorická analýza

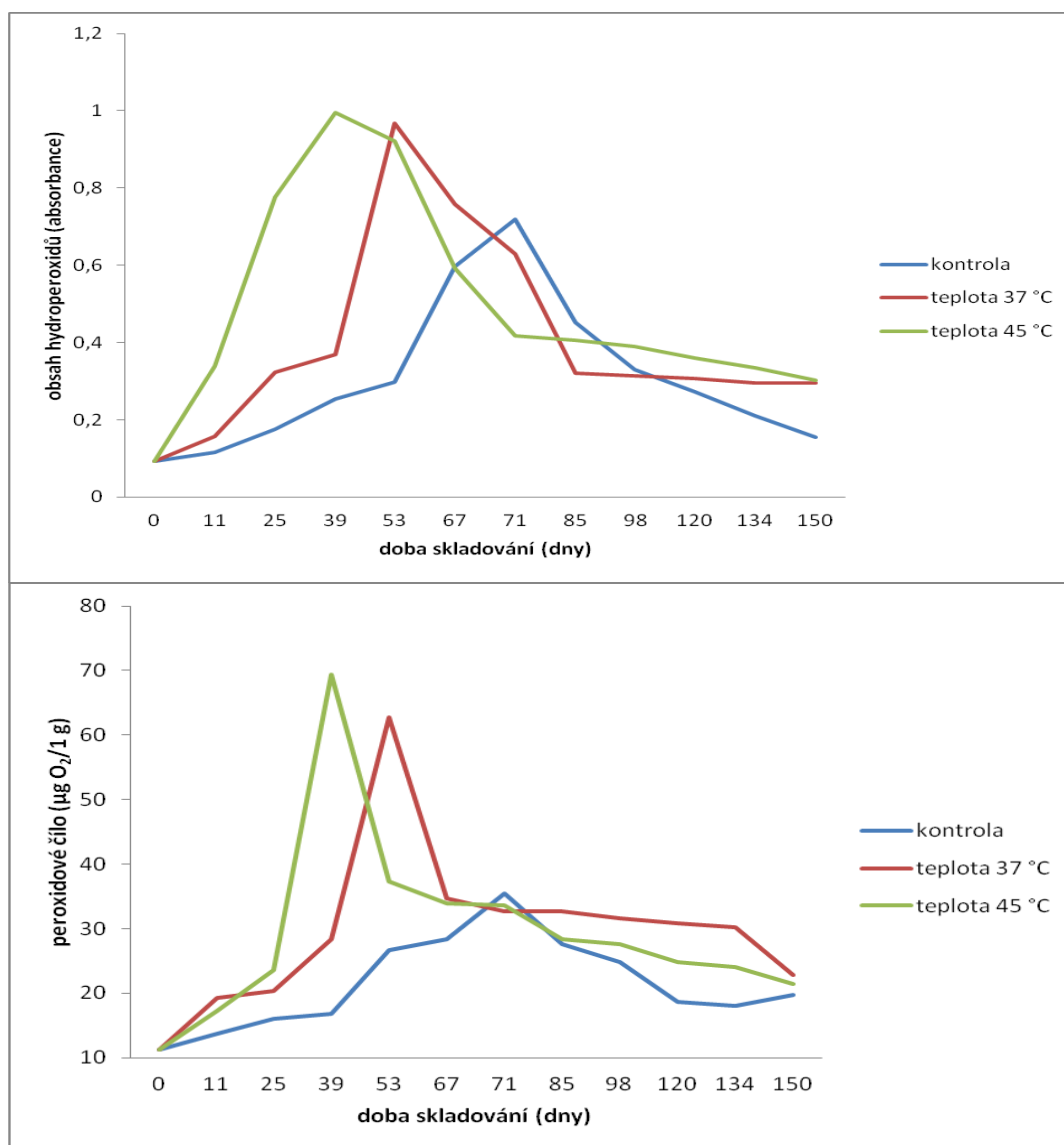
Senzorická analýza vzorku byla provedena po obnovení sušeného mléka. Panelu hodnotitelů bylo předloženo 30 ml obnoveného mléka (3g sušeného mléka a 30 ml destilované vody o teplotě 50 °C). Hodnocena byla intenzita a zastoupení deskriptorů chuti a vůně. Hodnoceny byly tyto dílčí chutě a vůně: sladká, smetanová, oříšková, vařivá, karamelová, zvětralá, oxidovaná, žluklá, trpká a zatuchlá. Výsledky sensorického hodnocení jsou vyjádřeny hvězdicovým diagramem, na který byl vynášen průměr intenzit dílčích chutí zjištěných hodnotiteli. Protokol z hodnocení je v příloze 1 (P1). Hodnocení bylo prováděno panelem 15 vybraných hodnotitelů.

4. VÝSLEDKY A DISKUZE

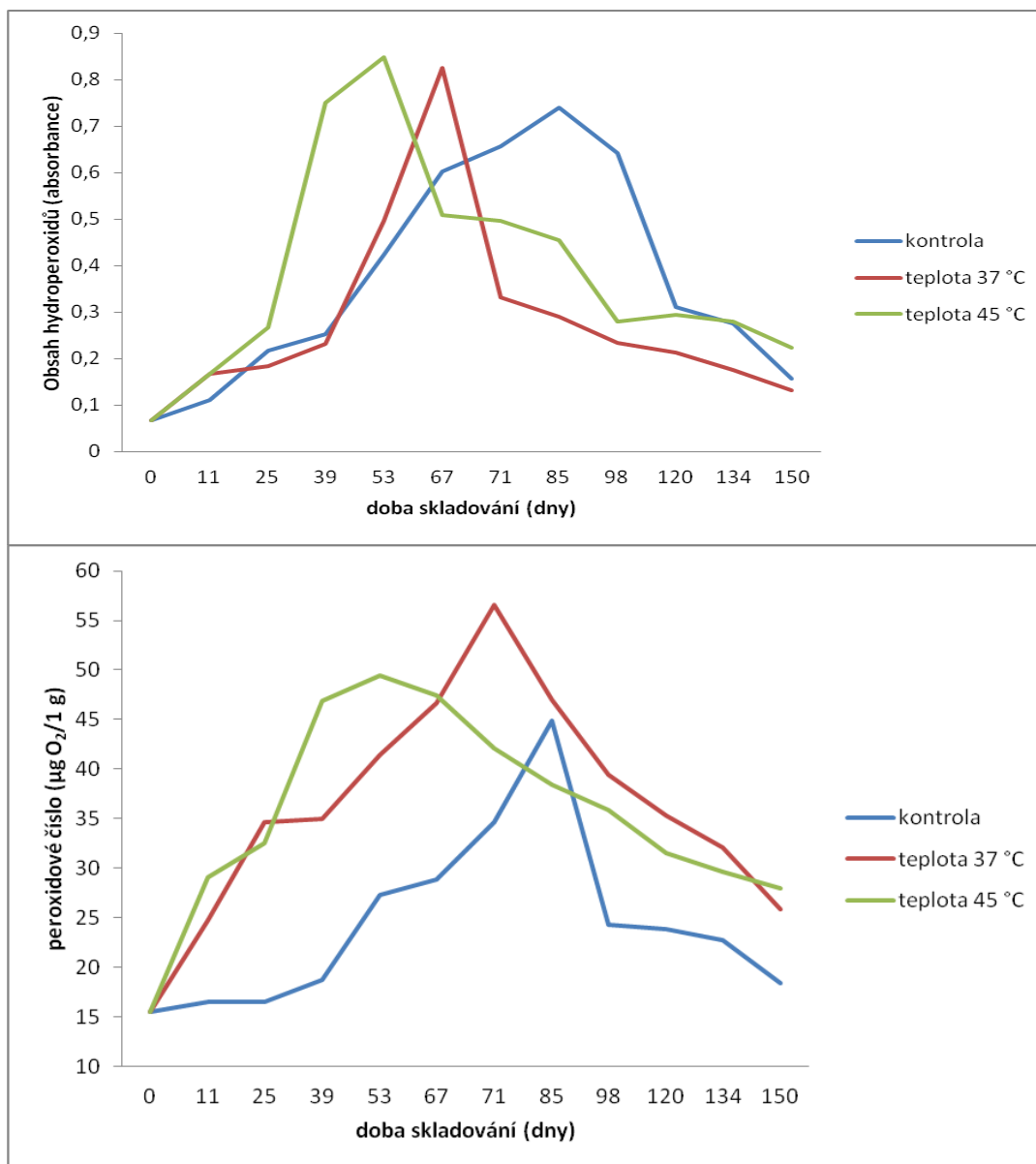
4.1. Primární oxidační produkty

Hydroperoxydy jsou látky, které jako první ukazují změnu tuků a to nejen v sušeném mléce. Jedná se o látky vznikající řetězovou radikálovou reakcí, které podléhají dalším oxidačním změnám. Jejich vznik a změny závisí nejen na způsobu výroby sušeného mléka (převážně počáteční stav tuku), ale především na podmínkách skladování. Peroxidové číslo také ukazuje obsah hydroperoxidů, avšak bylo stanoveno odlišnou metodou. Dvě metody stanovení byly zvoleny pro lepší zachycení probíhajících změn primárních oxidačních produktů

Z obrázků 12 a 13 zřejmé, že vzorek sušeného mléka A (vyrobeného 15. 3. 2008) mají vyšší počáteční hodnoty obsahu hydroperoxidů než vzorek sušeného mléka B (vyrobené 23. 10. 2008). Počáteční naoxidování tuků během výroby má vliv na rozvoj oxidačních změn v průběhu skladování. Rozdíl mezi jednotlivými vzorky je dobře patrný již při skladování za kontrolních podmínek. Vzorek A dosahuje maximálního obsahu hydroperoxidů po 71 dnech, zatímco u vzorku B je maximum opožděno o 14 dní. Obsah hydroperoxidů u kontrolních vzorků je shodný a není závislý na počátečním naoxidování vzorku. Vyšší teploty skladování se u obou vzorků projeví zrychlením tvorby primárních oxidačních produktů. Tato tvorba byla urychlena teplotou 45 °C, což je velmi dobře patrné z obrázků 12 – 13. Maximální hodnoty při teplotě 45 °C byly zaznamenány již po 39 dnech u vzorku A a po 53 dnech u vzorku B. U vzorků skladovaných při teplotě 37 °C byly maximální hodnoty obsahu primárních oxidačních produktů zachyceny o 14 dní později v porovnání s teplotou 37 °C. Použité teploty skladování neměly vliv na maximální hodnoty obsahu primárních produktů. Na základě získaných výsledků lze předpokládat, že použitá teplota skladování ovlivňuje pouze dobu, kdy dojde k maximální tvorbě primárních oxidačních produktů. Stejný trend ve vývoji oxidačních produktů byl sledován také při skladování vzorku B při teplotách 37 °C a 45 °C. U vzorku B je dobře patrný vliv počátečního naoxidování mléčného tuku, který má přímý vliv na další průběh oxidačních změn v průběhu skladování.



Obr. 13: Změny primárních oxidačních produktů vzorku A skladovaného při různých teplotách

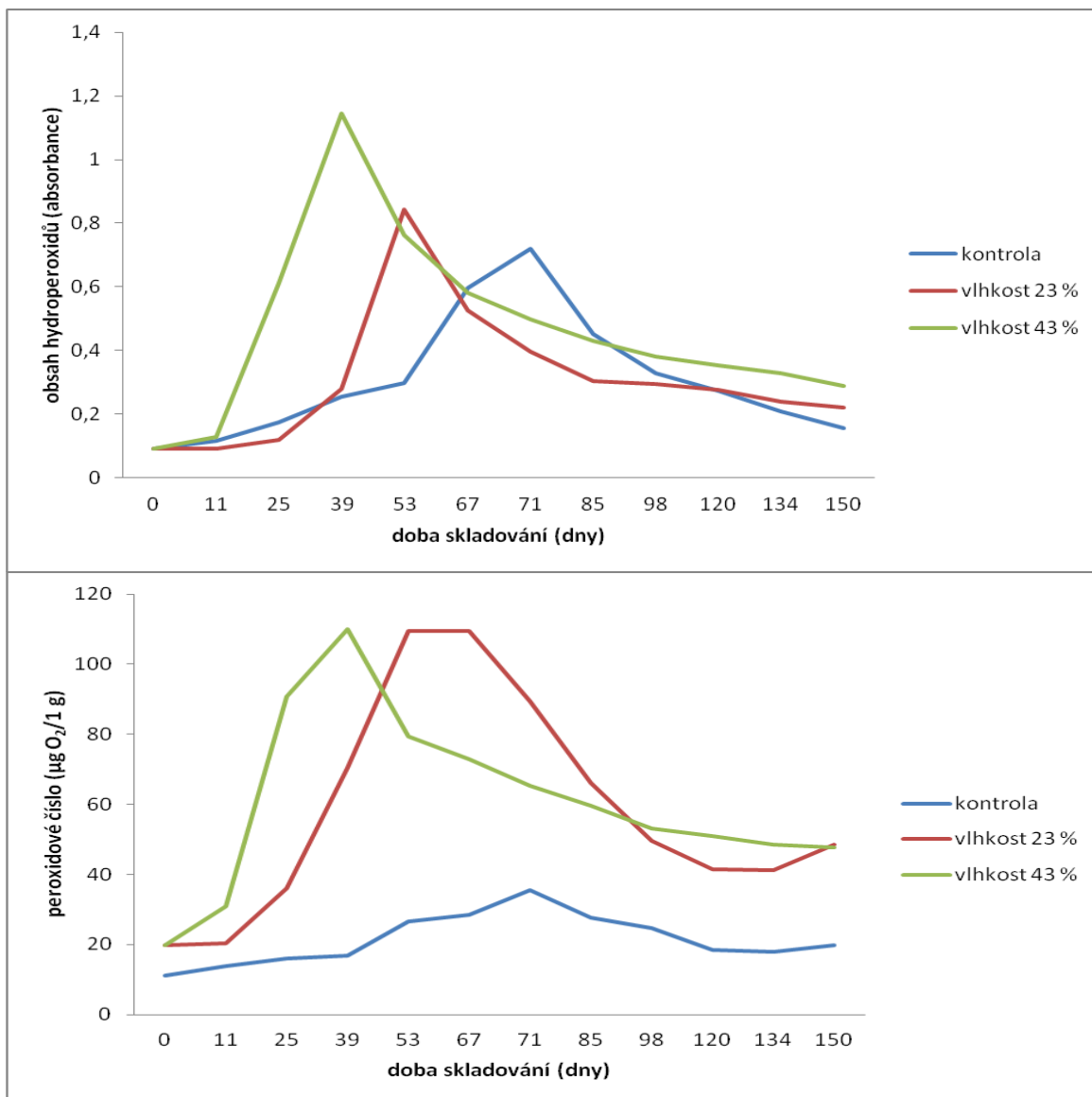


Obr. 14: Změny primárních oxidačních produktů vzorku B skladovaného při různých teplotách

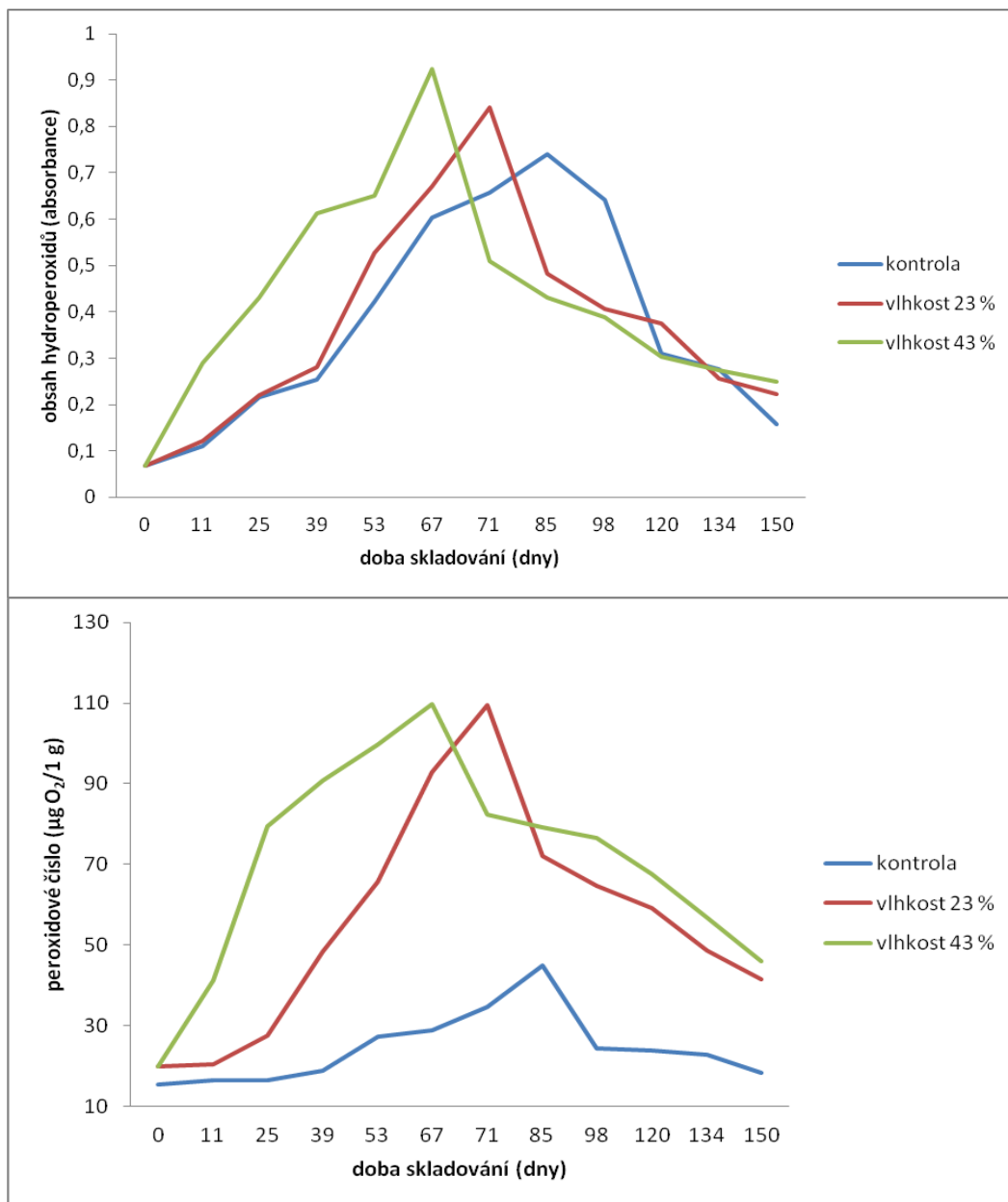
Z prezentovaných výsledků je možno vyvodit závěr, že vyšší skladovací teploty výrazně urychlují tvorbu hydroperoxidů. Jelikož teplota 45 °C v průběhu skladování je velmi nepravděpodobným jevem, byly další experimenty prováděny při nižších, ale reálných teplotách 20 a 37 °C. Z obrázků 12 – 13 je vidět, že průběh změn obsahu primárních oxidačních produktů je při použití obou metod stanovení stejný. Na základě studií Hedegaarda *et al.* [74], Stapelfeldta *et al.* [75] a Nielsena *et al.* [76] byly navíc použity modifikované relativní vlhkosti a to 23 a 43 %.

Stapelfeldt *et al.* [75] sledovali vliv několika relativních vlhkostí a dvou teplot (25 a 45°C) na rozsah oxidačních změn. V práci Stapelfeldta *et al.* [75] bylo zjištěno, že teplota 25 °C v kombinaci s relativní vlhkostí kolem 33 % neovlivňovala rozvoj oxidačních změn téměř vůbec, zatímco teplota 45 °C a relativní vlhkost nad 31 % měla negativní vliv na oxidační změny tuku sušeného mléka.

Výsledky patrné na obrázcích 14 a 15 jsou se zjištěním Stapelfeldta *et al.* [75] v souladu. Při skladování obou skupin vzorků při teplotě 37 °C a relativních vlhkostech 23 % a 43 %, došlo k rapidnímu urychlení tvorby primárních oxidačních produktů a to nejvíce vlhkostí 43 %. Vlhkost 43 % urychlovala kinetiku tvorby oxidačních produktů do té míry, že u vzorku A bylo dosaženo maximálních hodnot již po 39 dnech skladování, zatímco u vzorku B bylo maximum zaznamenáno až po 67 dnech. Další výrazný rozdíl mezi skladovanými vzorky byl zaznamenán v hodnotách maximálních obsahů, kdy vzorek A má při relativní vlhkosti 43 % vyšší obsah primárních oxidačních produktů o 24 %. Při nižší relativní vlhkosti byla tvorba maxima při opožděna o 14 dní. U vzorku A byly sledovány také značné rozdíly v hodnotách maxim, zatímco u vzorku B dosahovaly maximální obsahy srovnatelných hodnot, v případě vzorku A jsou hodnoty zjištěné při relativní vlhkosti 43% vyšší než při skladování za nižší relativní vlhkosti.



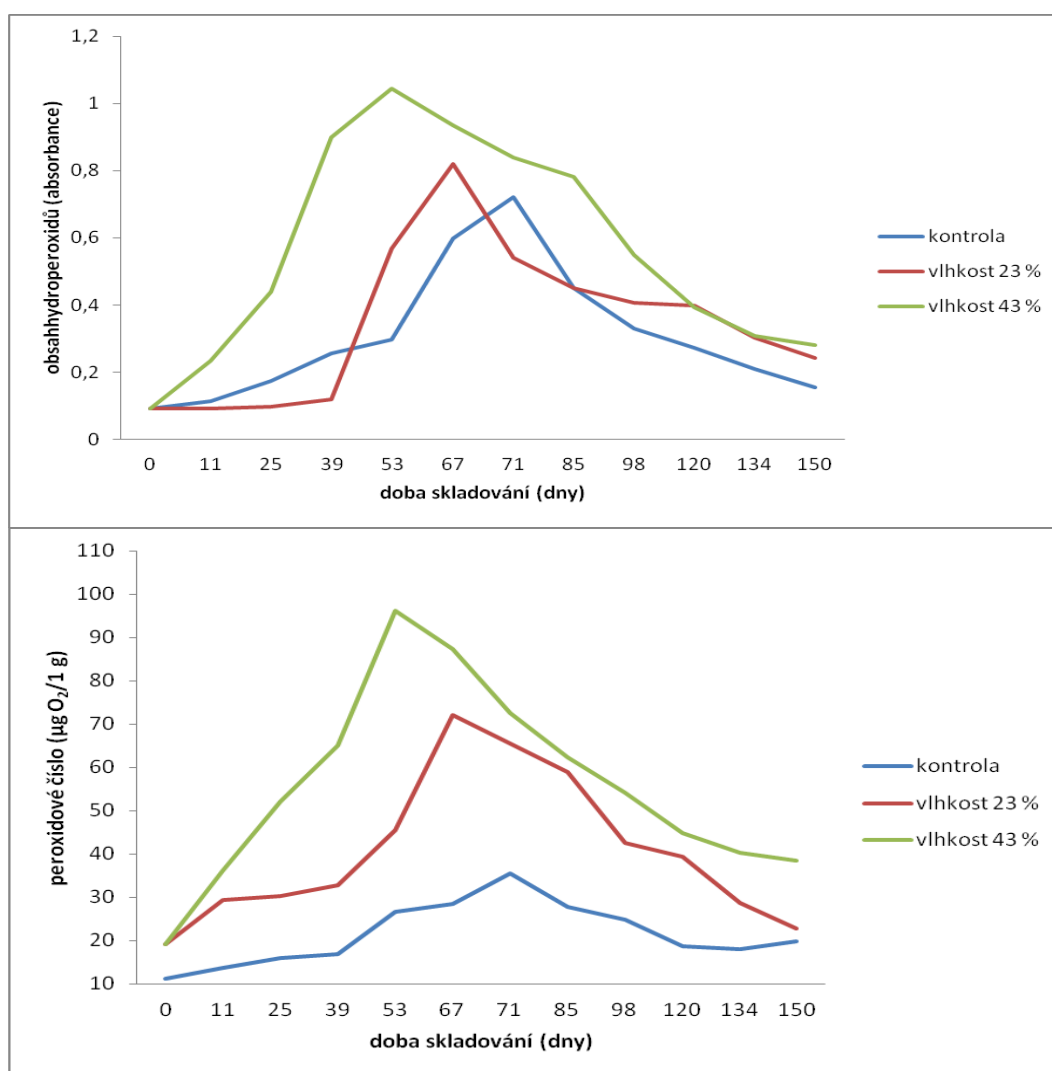
Obr. 15: Změny obsahu primárních oxidačních produktů vzorku A skladovaného při teplotě 37 °C a relativních vlhkostech 23 % a 43 %



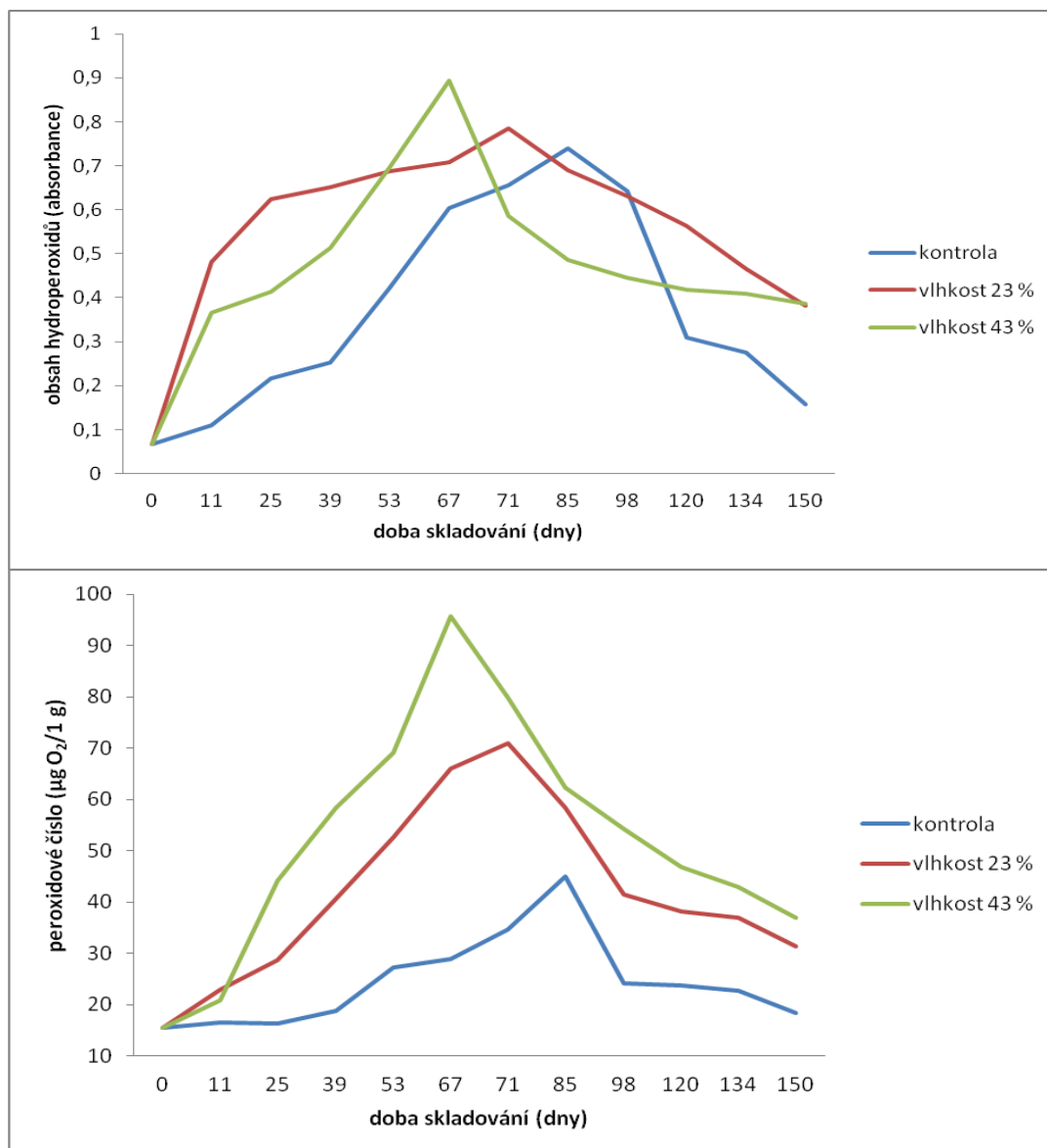
Obr. 16: Změny obsahu primárních oxidačních produktů vzorku *B* skladovaného při teplotě 37 °C a relativních vlhkostech 23 % a 43 %

Relativní vlhkost v kombinaci s nižší skladovací teplotou měla menší vliv na tvorbu hydroperoxidů a to především u vzorku A. I přesto, že dosažené maximální hodnoty jsou téměř na stejné úrovni, je z obrázků 16 a 17 patrný pomalejší tvorba hydroperoxidů. V případě vzorku B nebyl nalezen žádný vliv použité teploty skladování v kombinaci s relativními vlhkostmi. U obou sledovaných teplot byla kinetika tvorby hydroperoxidů srovnatelná. U druhé sady experimentů došlo snížením skladovací teploty k výraznému zpomalení tvorby hydroperoxidů a to o 14.

Při skladování vzorků s modifikovanými relativními vlhkostmi byl také zjištěn vliv počátečního naoxidování vzorku. Při nižším počátečním naoxidování jsou změny vzorků pozvolnější a maximální obsahy hydroperoxidů jsou značně nižší. Počáteční naoxidování vzorku může být způsobeno obdobím, kdy byly vzorky vyrobeny, avšak rozbořem použitých vzorků nelze tento fakt jednoznačně potvrdit



Obr. 17: Změny obsahu primárních oxidačních produktů vzorku A skladovaného při teplotě 20 °C a relativních vlhkostech 23 % a 43 %



Obr. 18: Změny obsahu primárních oxidačních produktů vzorku A skladovaného při teplotě 37 °C a relativních vlhkostech 23 % a 43 %

Získané výsledky peroxidového čísla se velmi dobře dají porovnat se studií Celestina *et al.* [78]. Je zde vidět podobný trend vývoje peroxidového čísla, i když hodnoty jsou mnohonásobně nižší než prezentované výsledky v této práci. Rozdíly jsou s největší pravděpodobností způsobeny tím, že Celestino *et al.* [78] vzorky skladovali sušené plnotučné mléko zabalené v polyetylenových sáčcích, zatímco sušeného mléka použité v této práci bylo v přímém styku se skladovací atmosférou.

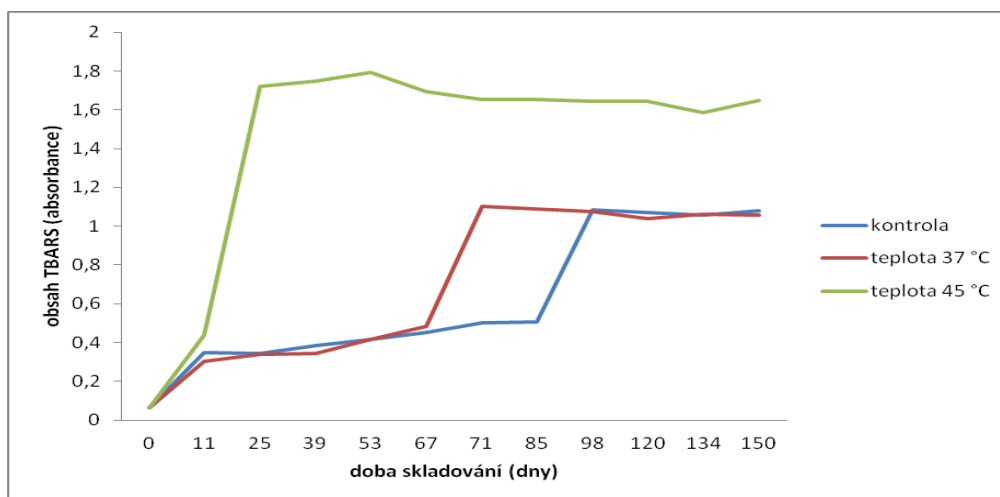
Prudký pokles obsahu hydroperoxidů souvisí s jejich vysokou reaktivitou a probíhajícími oxidačními změnami ve vzorcích sušeného mléka. Hydroperoxydy se po dosažení maximální změny na další (sekundární) produkty oxidace. Prudký nárůst jejich obsahu je následován stejně prudkým poklesem.

Při všech skladovacích pokusech byly při porovnání obou metod stanovení obsahu primárních oxidačních produktů dosaženy shodné výsledky. Lze říci, že obě metody jsou velmi spolehlivé a použitelné pro sledování změn obsahu hydroperoxidů. Jako vhodnější a zejména rychlejší je však vhodné použít spektrofotometrické stanovení, jelikož se v tomto případě nemusí extrahovat tuk ze vzorků sušeného mléka a pracuje se přímo s mlékem obnoveným.

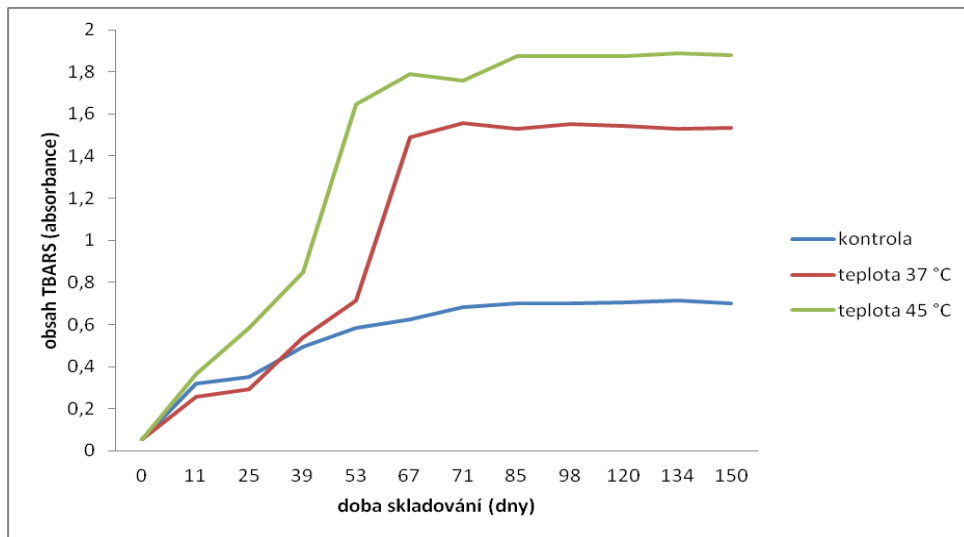
4.2. Sekundární oxidační produkty

Sekundární oxidační produkty se vyskytují v podobě uhlovodíků s krátkými řetězci. Nejčastěji vznikajícím sekundárním produktem je malondialdehyd, který je schopný reagovat s kyselinou thiobarbiturovou za vzniku červeného zbarvení, jehož intenzita se dá měřit spektrofotometricky.

Změny TBARS v průběhu skladování za různých teplot jsou zachyceny na obrázcích 18 a 19. Při skladování sušeného mléka za různých teplot je patrný nejen vliv skladovacích teplot, ale stejně jako při tvorbě primárních oxidačních produktů se projevilo počáteční naoxidování sušeného mléka. Při skladování za standardních podmínek dosahuje vzorek B maximálních hodnot obsahu TBARS po 134 dnech skladování, což je o 28 dní později než u vzorku A. Obsah TBARS u vzorku A skladovaného za standardních podmínek dosahoval o 34 % vyšších hodnot než ve vzorku B. Při zvýšení teploty skladování je patrný časový posun zaznamenání maximálního obsahu hodnot TBARS. U vzorku B byly sledovány maximální hodnoty obsahu při vyšších teplotách o měsíc později v porovnání se vzorkem A. Nejvýraznější rozvoj TBARS byl zaznamenán při teplotě 45 °C. Při skladovací teplotě 37 °C je kinetika tvorby TBARS v porovnání s kontrolními vzorky rychlejší, avšak zdaleka nedosahuje rychlosti teploty 45 °C. U všech sledovaných teplot se maximum objevuje až po odeznění maximální hodnoty obsahu hydroperoxidů, které jsou prekurzory pro tvorbu sekundárních oxidačních produktů.

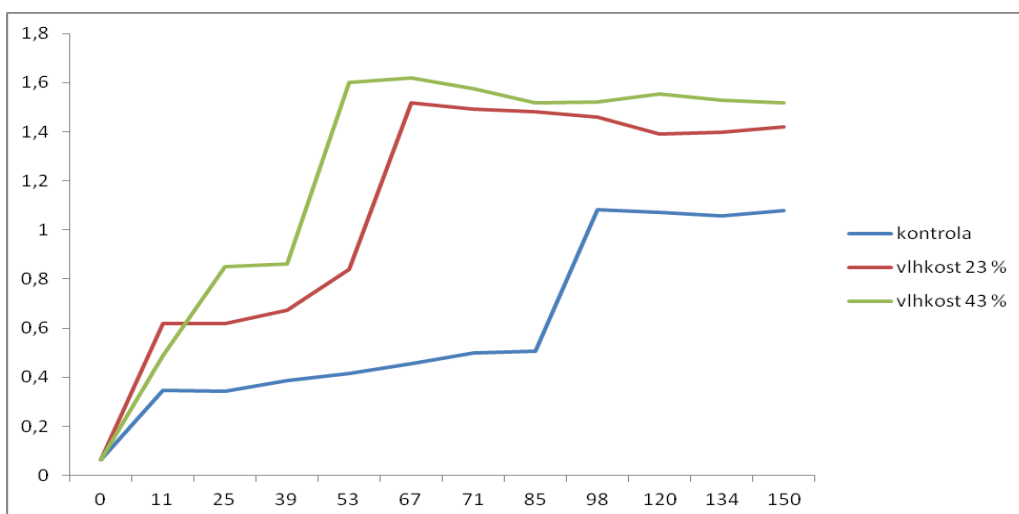


Obr. 19: Změny obsahu sekundárních oxidačních produktů vzorku A skladovaného při různých teplotách skladování



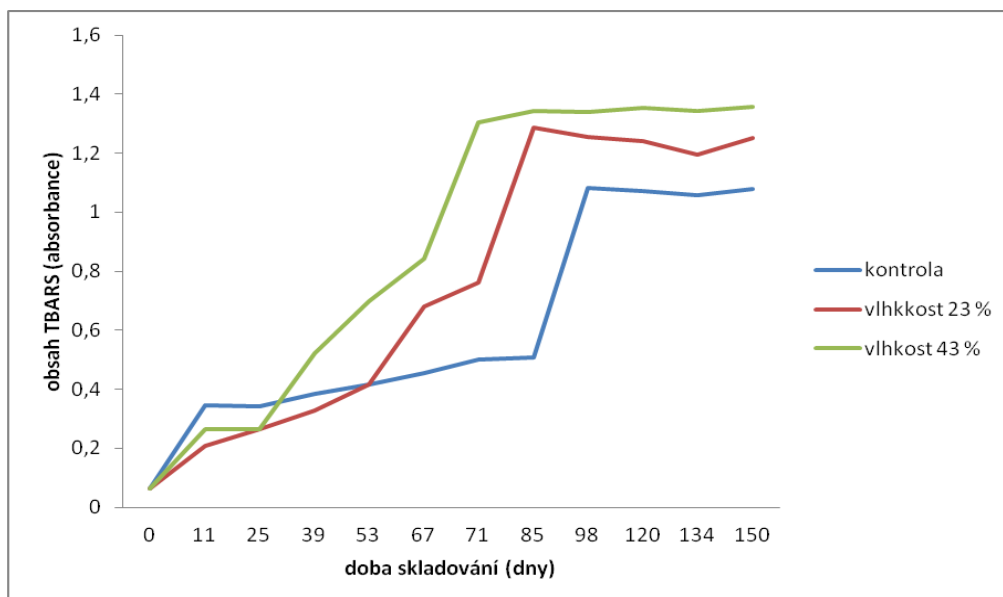
Obr. 20: Změny obsahu sekundárních oxidačních produktů vzorku A skladovaného při různých teplotách skladování

Při teplotě 37 °C byly v dalších fázi experimentu použity dvě relativní vlhkosti 23 a 43 %. Oproti skladování pouze při působení teploty bylo při použití relativních vlhkostí dosaženo maximálního obsahu TBARS o 14 respektive 28 dní dříve. Relativní vlhkosti mají také vliv na množství sekundárních produktů, avšak rozdíl mezi sledovanými relativními vlhkostmi nebyl nijak výrazný. Relativní vlhkost 23 % měla za následek zvýšení obsahu TBARS oproti kontrolnímu vzorku, avšak skladování při relativní vlhkosti 43 % již na obsah TBARS nemělo výrazný vliv. Relativní vlhkost 43 % pouze urychlila sekundární oxidaci do té míry, že se maximální obsah TBARS byl zaznamenán po 53 dnech skladování.



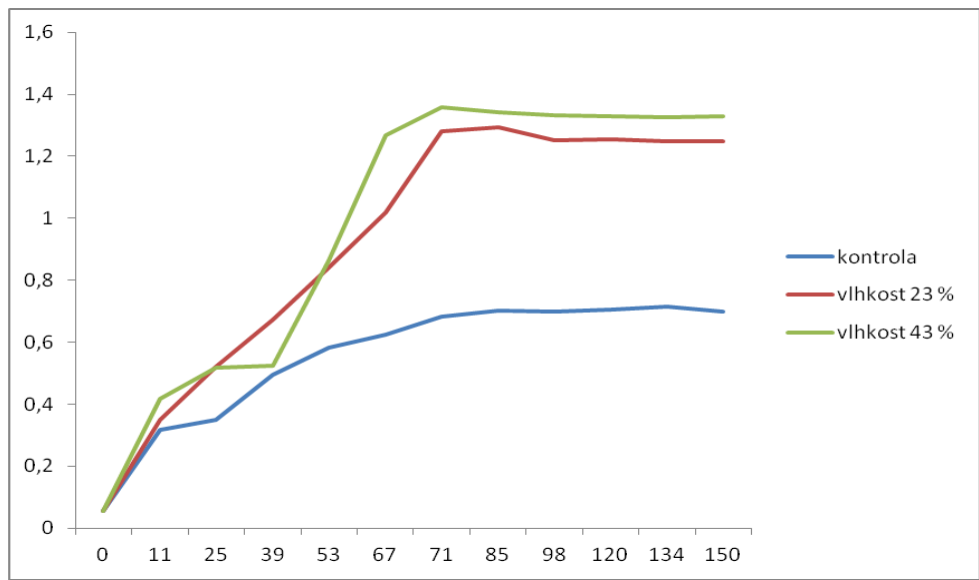
Obr. 21: Změny obsahu sekundárních oxidačních produktů vzorku A skladovaného při teplotě 37 °C a relativních vlhkostech 23 % a 43 %

Vzorky sušeného mléka byly dále skladovány při standardní teplotě (20 °C) a dvou relativních vlhkostech (23 % a 43 %). Snížení teploty skladování nemělo vliv na tvorbu sekundární oxidačních produktů (viz obrázek 20). Maximální hodnoty TBARS byly i v tomto případě dosaženy ve stejném časovém horizontu jako při skladování za teploty 37 °C s tím rozdílem, že hodnota TBARS byla nižší, což potvrzuje obecně vliv teploty na koncentraci vytvořených sekundárních produktů.



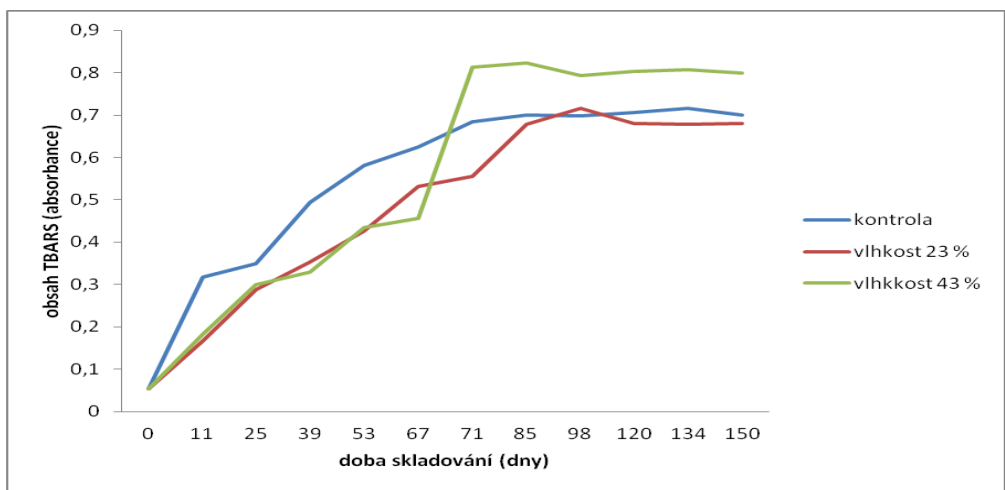
Obr. 22: Změny obsahu sekundárních oxidačních produktů vzorku A skladovaného při teplotě 20 °C a relativních vlhkostech 23 % a 43 %

Vzorek B byl také skladován při teplotě 37 °C a relativních vlhkostech 23 a 43 %. Maximální hodnoty sekundárních produktů se opět objevují až po odeznění maxim hydroperoxidů a objevily se po 71 respektive 85 dnech (obrázek 21). V porovnání se vzorkem A se nejvyšší hodnoty TBARS objevují o 28 dní později a jsou o 15 % nižší. I v tomto případě je velmi dobře patrný vliv počátečního naoxidování sušeného mléka, což se projevilo nižší hodnotou TBARS, rovněž tak zpomalením tvorby produktů oxidačního žluknutí tj. posunutím časového horizontu dosažení maximálních hodnot TBARS.



Obr. 23: Změny obsahu sekundárních oxidačních produktů vzorku A skladovaného při teplotě 37 °C a relativních vlhkostech 23 % a 43 %

Při skladování vzorku B při standardní teplotě (20 °C) a relativních vlhkostech 23 % a 43 % (obrázek 22) je rozdíl v porovnání se vzorkem A již méně výrazný, nejvyšší hodnoty se objevují pouze o 14 dní později. Výraznější vliv mezi oběma vzorky je zřetelný při porovnání absolutních hodnot obsahu TBARS, které jsou u vzorku B o 44 % nižší, čímž byl opět potvrzen výrazný vliv stavu tuku (počáteční naoxidování) na počátku skladování. Při snížení relativní vlhkosti na 23 % respektive 43 % (suchý vzduch) je výhodnější z hlediska rychlosti a množství tvorby sekundárních oxidačních produktů teplota 20 °C.



Obr. 24: Změny obsahu sekundárních oxidačních produktů vzorku A skladovaného při teplotě 20 °C a relativních vlhkostech 23 % a 43 %

I při tvorbě sekundárních oxidačních produktů se projevil počáteční stav tuku sušeného mléka stejným způsobem jako při tvorbě primárních oxidačních produktů. Časové změny sekundárních oxidačních produktů za standardních podmínek jsou v souladu se studií Hedegarda *et al.* [74], kteří sledovali rozvoj oxidačních změn u různých druhů mlék. Nielsen *et al.* [77] popisují rychlý růst hodnot TBARS v průběhu skladování, který je v souladu s dosaženými výsledky, i když Nielsen *et al.* [77] dosáhli urychlení oxidačních procesů zvýšenou teplotou 50 °C a vlhkostí 31 %. Stejně poznatky o rozvoji TBARS popisují ve své práci Stapelfeldt *et al.* [75], kteří zjistili výrazný vliv nižších relativních vlhkostí na hodnoty TBARS. Dle Stapelfeldta *et al.* [75] dochází při vyšších teplotách a nízkých vlhkostech k markantnímu rozvoji oxidačních změn, což je patrné i z výsledků této práce. Zrychlení tvorby oxidačních produktů se zvyšující se teplotou skladování prokázali ve své studii také Cluskey *et al.* [79]. Ve všech případech bylo dosaženo maximální hodnoty obsahu TBARS, na které vzorky setrvávají až do konce skladování. Tento trend může být způsoben tím, že vznikající nízkomolekulární produkty se dále nerozkládají a jejich množství odpovídá množství vzniklých primárních oxidačních produktů. Při vyčerpání zdroje (hydroperoxidů) se již nemají z čeho tvořit a proto se dále nehromadí.

4.3. Mastné kyseliny plnotučného sušeného mléka

Mléko jako polotovar pro výrobu sušeného mléka obsahuje celou řadu mastných kyselin. V průběhu skladování dochází ke změnám obsahu těchto kyselin.

Mastné kyseliny byly stanovovány vždy po uplynutí 30 dnů skladování. Nejvíce zastoupenou nasycenou kyselinou v použitých vzorcích sušeného mléka je kyselina stearová $C_{16:0}$ a z nenasycených mastných kyselin se jedná o kyselinu olejovou $C_{18:1}$. Mezi skladovanými vzorky je velmi dobře patrný rozdíl již v počátečním obsahu mastných kyselin, kdy vzorek B má vyšší obsah téměř všech detekovaných mastných kyselin. Rozdíly mezi obsahem mastných kyselin u sušeného mléka vyrobeného v různém období našli také Páez *et al.* [80]. Jejich výsledky se liší od prezentovaných, což je způsobeno tím, že Páez *et al.* [80] sledovali pouze změny volných mastných kyselin, zatímco práce se zabývá celkovým obsahem mastných kyselin. Změny mastných kyselin při různých teplotách jsou v tabulkách 4 a 5.

V průběhu skladování dochází k pozvolnému úbytku kyseliny olejové. Zvolené teploty skladování nemají na její úbytek výrazný vliv. U kyseliny α -linolenové došlo ke zvýšení jejího obsahu. Při porovnání vzorků A a B je patrný počáteční vliv složení a obsahu mastných kyselin. Vzorek sušeného mléka A a skladovaného za vyšších teplot má vyšší obsah α -linolenové kyseliny, zatímco vzorek sušeného mléka B vykazuje její obsah vyšší při standardních podmínkách skladování. Ke zvýšení obsahu došlo také u kyselin $C_{21:0}$ a $C_{13:0}$, jejichž obsah se zvýšil jak u vzorku A, tak také u vzorku B. U kyseliny arachové je patrný vliv teploty 37°C , při které bylo zaznamenáno výraznější zvýšení obsahu než při ostatních teplotách skladování, ale pouze u vzorku A. U vzorku B je výraznější vliv teploty 45°C , kdy došlo k zvýšení obsahu kyseliny arachové.

Pozvolný úbytek byl, zaznamenán u kyseliny myristové. Zde je patrný vliv skladovací teploty a také počátečního obsahu mastných kyselin. Rychlejší úbytek je dobře patrný při teplotě 45°C , který je výraznější u vzorku sušeného mléka B. Tento fakt může být způsoben změnou krmení v podzimních a zimních měsících. Přejít ze zeleného krmení na suché má vliv na složení mastných kyselin mléka a pravděpodobně také na jejich změny v průběhu skladování. Ostatní nasycené mastné kyseliny jsou téměř beze změn. U téměř všech nenasycených mastných kyselin došlo k nepatrným změnám v obsahu, který byl podpořen převážně vyššími teplotami skladování. Nelze jednoznačně potvrdit, která teplota má vyšší vliv. Stejný vliv teplot skladování byl zaznamenán jak pro vzorek A, tak pro vzorek B.

Romeu-Nadal *et al.* [77] sledovali vliv teploty na tvorbu karbonylových sloučenin (hexanal, pentanal a propanal) jako specifické markery oxidace *n*-3 a *n*-6 mastných kyselin. Ve své studii popisují rapidní nárůst především pentanalu a hexanalu při teplotě 37 °C. Toto zjištění vlivu vyšších skladovacích teplot na rozvoj karbonylových sloučenin je dobře porovnatelné se získanými výsledky, i když karbonylové sloučeniny nebyly předmětem studie. Ovšem se zvyšující se teplotou byl prokázán pokles obsahu nenasycených mastných kyselin, ze kterých se tyto sloučeniny tvoří. Ulberth and Roubicek [81] taktéž ve své práci prezentují nárůst hexanalu, heptanalu a nonanalu se zvyšující se teplotou skladování. Výsledky této práce se taktéž shodují se závěry studie Hedegaarda *et al.* [74] a Valera *et al.* [82], kteří zjistili nárůst obsahu hexanalu v průběhu skladování.

Tab. 4: Obsah mastných kyselin vzorku A plnotučného sušeného mléka při různých teplotách skladování [% z celkového obsahu MK]

Mastná kyselina	0 dní	25 dní			67 dní			98 dní			120 dní			150 dní		
		kontrolní vzorek	teplota 37 °C	teplota 45 °C	kontrolní vzorek	teplota 37 °C	teplota 45 °C	kontrolní vzorek	teplota 37 °C	teplota 45 °C	kontrolní vzorek	teplota 37 °C	teplota 45 °C	kontrolní vzorek	teplota 37 °C	teplota 45 °C
C 4:0	2,265±0,22	2,565±0,22	2,411±0,25	2,099±0,22	2,545±0,22	2,393±0,23	2,227±0,22	2,508±0,33	2,326±0,22	2,562±0,22	2,317±0,22	2,282±0,22	2,456±0,33	2,310±0,02	2,298±0,22	2,515±0,69
C 6:0	1,261±0,60	1,661±0,25	1,662±0,39	1,546±0,33	1,696±0,33	1,667±0,25	1,677±0,66	1,523±0,02	1,700±0,56	1,684±0,36	1,689±0,25	1,648±0,36	1,706±0,36	1,651±0,36	1,655±0,36	1,698±0,36
C 8:0	0,929±0,26	1,129±0,23	1,114±0,69	1,054±0,22	1,106±0,33	1,148±0,26	1,153±0,50	0,995±0,25	1,081±0,29	1,275±0,58	1,161±0,26	1,129±0,69	1,206±0,58	1,133±0,28	1,147±0,69	1,191±0,25
C 10:0	2,543±0,26	2,743±0,39	2,798±0,57	2,658±0,69	2,791±0,25	2,751±0,69	2,872±0,26	2,328±0,59	2,663±0,36	2,949±0,47	2,862±0,29	2,805±0,69	2,330±0,57	2,854±0,59	2,813±0,56	2,316±0,24
C 11:0	0,099±0,28	0,104±0,57	0,090±0,26	0,085±0,69	0,111±0,59	0,088±0,58	0,092±0,25	0,126±0,58	0,150±0,28	0,109±0,12	0,093±0,25	0,092±0,25	0,100±0,54	0,093±0,36	0,096±0,24	0,127±0,26
C 12:0	3,401±0,26	3,418±0,39	3,513±0,36	3,343±0,58	3,478±0,27	3,585±0,25	3,595±0,27	3,192±0,21	3,336±0,9	3,584±0,25	3,560±0,36	3,528±0,25	3,211±0,21	3,590±0,69	3,527±0,18	3,118±0,26
C 13:0	0,069±0,28	0,169±0,26	0,153±0,36	0,145±0,67	0,176±0,29	0,154±0,26	0,157±0,26	0,172±0,25	0,188±0,26	0,164±0,26	0,146±0,69	0,153±0,59	0,172±0,59	0,153±0,67	0,158±0,19	0,161±0,39
C 14:0	12,563±0,26	10,763±0,28	11,141±0,25	10,758±0,47	10,805±0,28	11,291±0,36	10,400±0,52	11,383±0,39	10,850±0,22	10,550±0,28	11,294±0,25	11,205±0,74	10,161±0,02	11,344±0,15	11,195±0,58	10,155±0,57
C 14:1-n5	2,034±0,39	2,634±0,28	1,347±0,36	1,204±0,57	2,629±0,29	1,172±0,39	1,190±0,52	2,306±0,59	2,978±0,66	1,673±0,69	1,069±0,54	1,033±0,59	1,000±0,99	1,071±0,25	1,046±0,59	1,026±0,41
C 15:0	1,023±0,38	1,323±0,29	1,321±0,25	1,278±0,38	1,398±0,27	1,324±0,55	1,311±0,22	1,126±0,26	1,352±0,99	1,367±0,58	1,348±0,28	1,329±0,87	1,425±0,25	1,353±0,23	1,324±0,69	1,419±0,25
C 16:0	33,252±0,29	31,252±0,28	32,163±0,25	32,051±0,68	31,306±0,29	32,258±0,32	32,067±0,22	31,803±0,39	31,618±0,58	32,159±0,27	32,536±0,29	32,1710,59±	32,219±0,36	32,724±0,57	32,202±0,67	32,209±0,41
C 16:1-n7	1,109±0,27	1,709±0,23	1,674±0,26	1,855±0,68	1,698±0,27	1,628±0,36	1,722±0,23	1,639±0,58	1,646±0,58	1,749±0,41	1,712±0,29	1,735±0,28	1,521±0,69	1,703±0,69	1,723±0,12	1,544±0,26
C 17:0	0,362±0,29	0,662±0,28	0,686±0,27	0,711±0,77	0,705±0,26	0,708±0,36	0,717±0,26	0,685±0,59	0,674±0,51	0,718±0,69	0,634±0,69	0,678±0,57	0,723±0,57	0,649±0,69	0,677±0,25	0,721±0,69
C 18:0	11,081±0,39	10,081±0,29	10,227±0,21	10,606±0,68	9,993±0,39	10,147±0,25	10,537±0,39	10,206±0,59	9,872±0,58	10,274±0,38	9,593±0,27	10,208±0,69	10,420±0,58	9,597±0,58	10,1720,26	10,473±0,57
C 18:1-n9	23,400±0,22	22,290±0,39	22,353±0,26	23,755±0,67	22,206±0,39	22,343±0,28	23,631±0,58	22,443±0,29	22,968±0,48	22,002±0,26	22,489±0,29	22,826±0,58	22,812±0,52	22,418±0,22	22,821±0,69	22,744±0,59
C 18:1-n7	0,900±0,39	1,280±0,27	1,107±0,23	1,161±0,67	1,220±0,28	1,183±0,26	1,160±0,29	1,085±0,50	1,143±0,25	1,015±0,69	0,999±0,69	0,989±0,69	0,984±0,15	1,004±0,69	0,973±0,26	1,080±0,56
C 18:2-n6 t	0,157±0,20	0,357±0,24	0,310±0,28	0,282±0,68	0,303±0,27	0,301±0,26	0,271±0,58	0,326±0,69	0,396±0,50	0,296±0,28	0,296±0,59	0,301±0,57	0,272±0,69	0,294±0,69	0,300±0,29	0,270±0,26
C 18:2-n6	1,301±0,39	2,301±0,29	2,270±0,39	2,274±0,67	2,321±0,26	2,317±0,39	2,236±0,98	2,583±0,26	2,527±0,37	2,405±0,26	2,500±0,52	2,387±0,47	2,037±0,58	2,493±0,78	2,385±0,39	2,015±0,28
C 18:3-n6	0,005±0,28	0,034±0,39	0,044±0,28	0,036±0,25	0,032±0,10	0,039±0,25	0,030±0,26	0,040±0,36	0,026±0,22	0,046±0,26	0,047±0,26	0,031±0,56	0,050±0,59	0,046±0,58	0,034±0,36	0,046±0,59

C 18:3-n3	0,270±0,29	0,367±0,27	0,397±0,26	0,378±0,98	0,351±0,25	0,373±0,21	0,357±0,39	0,460±0,58	0,409±0,25	0,375±0,26	0,393±0,26	0,405±0,69	0,326±0,69	0,398±0,24	0,397±0,25	0,326±0,69
C 18:2 (9,11)	0,254±0,29	0,454±0,25	0,440±0,39	0,437±0,63	0,460±0,36	0,436±0,25	0,420±0,58	0,509±0,56	0,447±0,36	0,450±0,98	0,451±0,36	0,454±0,25	0,438±0,57	0,450±0,57	0,451±0,56	0,427±0,58
C 20:0	0,097±0,69	0,156±0,58	0,172±0,57	0,158±0,28	0,133±0,25	0,147±0,23	0,137±0,57	0,180±0,26	0,160±0,85	0,155±0,11	0,170±0,25	0,162±0,69	0,150±0,59	0,163±0,69	0,165±0,69	0,143±0,24
C 20:1-n9	0,020±0,50	0,050±,57	0,061±0,29	0,050±0,26	0,044±0,26	0,051±0,26	0,056±0,69	0,047±0,39	0,047±0,59	0,050±0,15	0,047±0,36	0,049±0,58	0,056±0,90	0,054±0,58	0,050±0,58	0,049±0,36
C 20:2-n6	0,010±0,26	0,030±0,39	0,049±0,39	0,042±0,96	0,031±0,29	0,039±0,23	0,036±0,33	0,041±0,58	0,049±0,38	0,054±0,15	0,037±0,98	0,049±0,57	0,049±0,25	0,035±0,47	0,049±0,69	0,041±0,25
C 21:0	0,013±0,39	0,043±0,27	0,045±0,57	0,043±0,29	0,040±0,21	0,041±0,25	0,033±0,21	0,047±0,39	0,023±0,28	0,025±0,15	0,031±0,59	0,047±0,69	0,052±0,36	0,039±0,48	0,042±0,59	0,056±0,69
C 20:3-n6	0,092±0,39	0,132±0,29	0,120±0,21	0,109±0,29	0,122±0,36	0,109±0,21	0,098±0,66	0,147±0,29	0,106±0,69	0,107±0,45	0,131±0,58	0,104±0,32	0,120±0,54	0,130±0,59	0,111±0,25	0,126±0,57
C 20:4-n6	0,063±0,35	0,163±0,25	0,197±0,28	0,174±0,28	0,166±0,36	0,181±0,25	0,180±0,22	0,249±0,29	0,228±0,57	0,194±0,47	0,192±0,15	0,197±,35	0,145±0,69	0,197±0,69	0,209±0,69	0,141±0,15
C 20:3-n3	0,017±0,39	0,017±0,39	0,015±0,29	0,010±0,52	0,020±0,36	0,010±0,26	0,012±0,33	0,021±0,25	0,016±0,67	0,011±0,48	0,017±0,15	0,011±0,69	0,016±0,98	0,010±0,69	0,012±0,57	0,014±0,14
C 20:4-n3	0,065±0,27	0,065±0,59	0,056±0,67	0,060±0,99	0,055±0,35	0,056±0,36	0,056±0,99	0,066±0,36	0,072±0,39	0,062±0,15	0,050±0,17	0,070±0,58	0,057±0,48	0,054±0,21	0,062±0,24	0,050±0,69
C 22:0	0,042±0,23	0,042±0,28	0,039±0,85	0,035±0,67	0,042±0,25	0,042±0,39	0,037±0,87	0,073±0,69	0,059±0,29	0,042±0,69	0,050±0,15	0,053±0,57	0,035±0,58	0,049±0,39	0,042±0,25	0,037±0,58
C 20:5-n3	0,015±0,25	0,015±0,24	0,019±0,27	0,009±0,96	0,013±0,24	0,019±0,39	0,009±0,62	0,032±0,58	0,024±0,58	0,018±0,58	0,012±0,26	0,005±0,60	0,016±0,69	0,008±0,69	0,007±0,98	0,013±0,59
C 22:4-n6	0,011±0,24	0,011±0,21	0,013±0,57	0,010±0,58	0,015±0,26	0,014±0,25	0,010±0,65	0,014±0,28	0,019±0,29	0,014±0,58	0,011±0,69	0,012±0,69	0,009±0,528	0,012±0,32	0,009±0,98	0,009±0,99
C 24:0	0,030±0,39	0,030±0,39	0,046±0,21	0,041±0,57	0,024±0,58	0,038±0,27	0,036±0,69	0,036±0,27	0,032±0,29	0,026±0,69	0,036±0,28	0,041±0,59	0,040±0,69	0,036±0,21	0,038±0,69	0,039±0,33
C 22:5-n3	0,012±0,39	0,012±0,39	0,016±0,25	0,017±0,52	0,010±0,39	0,013±0,15	0,013±0,59	0,018±0,28	0,012±0,39	0,012±0,57	0,008±0,69	0,020±0,59	0,025±0,74	0,007±0,21	0,016±0,69	0,020±0,55
C 22:6-n3	0,004±0,25	0,004±0,54	0,006±0,26	0,006±0,29	0,005±0,39	0,005±0,26	0,007±0,21	0,003±0,26	0,008±0,28	0,005±0,69	0,007±0,98	0,005±0,69	0,012±0,78	0,010±0,9	0,008±0,55	0,012±0,99

Tab. 5: Obsah mastných kyselin vzorku B sušeného mléka při různých teplotách skladování [% z celkového obsahu MK]

Mastná kyselina	0 dní	25 dní		67 dní			98 dní			120 dní			150 dní			
	Kontrolní vzorek	kontrolní vzorek	teplota 37 °C	teplota 45 °C	kontrolní vzorek	teplota 37 °C	teplota 45 °C	kontrolní vzorek	teplota 37 °C	teplota 45 °C	kontrolní vzorek	teplota 37 °C	teplota 45 °C	kontrolní vzorek	teplota 37 °C	teplota 45 °C
C 4:0	2,545±0,22	2,265±0,22	2,578±0,22	2,057±0,22	2,585±0,22	2,512±0,22	2,108±0,22	2,568±0,22	2,464±0,22	2,612±0,12	2,431±0,25	2,134±0,11	2,412±0,22	2,404±0,22	2,176±0,22	2,480±0,39
C 6:0	1,776±0,39	1,261±0,39	1,563±0,14	1,556±0,22	1,741±0,58	1,584±0,39	1,604±0,33	1,612±0,23	1,701±0,22	1,651±0,54	1,664±0,39	1,704±0,22	1,670±0,36	1,704±0,29	1,720±0,60	1,704±0,28
C 8:0	1,198±0,28	0,929±0,59	1,090±0,59	1,054±0,39	1,137±0,59	1,055±0,58	1,184±0,29	1,28±0,55	1,115±0,33	1,126±0,69	1,134±0,28	1,111±0,33	1,141±0,39	1,153±0,28	1,145±0,68	1,144±0,29
C 10:0	2,642±0,39	2,543±0,29	2,767±0,23	2,680±0,57	2,626±0,8	2,702±0,57	2,912±0,39	2,477±0,69	2,754±0,22	2,745±0,39	2,894±0,29	2,801±0,39	2,840±0,98	2,860±0,28	2,792±0,63	2,848±0,57
C 11:0	0,101±0,59	0,099±0,36	0,092±0,29	0,088±0,29	0,104±0,57	0,093±0,29	0,089±0,39	0,176±0,59	0,123±0,39	0,167±0,28	0,092±0,90	0,099±0,98	0,135±0,29	0,092±0,29	0,105±0,26	0,134±0,29
C 12:0	3,649±0,25	3,401±0,57	3,506±0,26	3,399±0,28	3,599±0,22	3,407±0,29	3,420±0,28	3,042±0,39	3,446±0,88	3,414±0,59	3,582±0,39	3,615±0,88	3,534±0,58	3,570±0,38	3,553±0,25	3,550±0,36
C 13:0	0,161±0,39	0,069±0,21	0,153±0,39	0,149±0,54	0,169±0,39	0,155±0,29	0,153±0,98	0,176±0,29	0,173±0,97	0,173±0,29	0,148±0,28	0,154±0,87	0,168±0,39	0,159±0,39	0,156±0,39	0,166±0,58
C 14:0	11,398±0,25	12,563±0,12	11,220±0,29	11,004±0,29	11,046±0,29	11,230±0,69	11,096±0,98	11,593±0,29	10,824±0,22	10,909±0,29	11,261±0,26	11,471±0,82	10,052±0,39	11,260±0,28	11,368±0,27	10,023±0,25
C 14:1-n5	1,459±0,25	2,034±0,25	1,393±0,28	1,317±0,29	1,560±0,20	1,227±0,57	1,328±0,29	2,529±0,27	2,424±0,39	2,948±0,29	1,035±0,29	1,053±0,98	2,331±0,24	1,068±0,27	1,096±0,57	2,274±0,24
C 15:0	1,358±0,69	1,023±0,21	1,336±0,27	1,308±0,29	1,358±0,39	1,355±0,69	1,281±0,29	1,269±0,23	1,281±0,29	1,313±0,29	1,343±0,27	1,358±0,55	1,359±0,27	1,353±0,29	1,294±0,29	1,348±0,26
C 16:0	32,109±0,27	33,252±0,12	32,197±0,29	32,440±0,29	32,317±0,57	32,179±0,39	32,290±0,87	31,343±0,69	31,117±0,39	30,942±0,29	31,961±0,36	32,841±0,69	31,783±0,29	32,028±0,28	32,750±0,69	31,568±0,39
C 16:1-n7	1,739±0,29	1,109±0,39	1,646±0,28	1,755±0,21	1,689±0,69	1,597±0,58	1,706±0,26	1,691±0,59	1,658±0,39	1,863±0,29	1,790±0,51	1,704±0,39	1,615±0,29	1,787±0,29	1,693±0,27	1,693±0,68
C 17:0	0,665±0,285	0,362±0,58	0,707±0,21	0,712±0,39	0,714±0,51	0,729±0,69	0,690±0,69	0,700±0,39	0,692±0,22	0,726±0,39	0,692±0,54	0,688±0,85	0,709±0,39	0,696±0,58	0,709±0,39	0,711±0,29
C 18:0	9,346±0,39	11,081±0,69	10,511±0,39	10,487±0,55	9,459±0,25	10,616±0,57	10,248±0,28	9,972±0,65	9,833±0,21	9,981±0,32	9,939±0,28	10,036±0,69	9,446±0,57	9,808±0,29	10,004±0,28	9,461±0,58
C 18:1-n9	22,219±0,38	23,400±0,48	22,201±0,24	23,079±0,22	22,284±0,39	22,492±0,21	23,019±0,29	22,014±0,87	22,471±0,19	21,860±0,39	22,480±0,39	22,382±0,25	22,945±0,98	22,524±0,29	22,412±0,27	22,827±0,27
C 18:1-n7	1,744±0,39	0,900±0,59	1,198±0,24	1,255±0,11	1,708±0,26	1,191±0,23	1,151±0,29	1,336±0,21	1,266±0,19	1,100±0,39	0,995±0,68	1,045±0,57	1,055±0,87	1,007±0,37	1,025±0,39	0,985±0,27
C 18:2-n6 t	0,254±0,58	0,157±0,31	0,288±0,36	0,286±0,69	0,297±0,21	0,302±0,28	0,275±0,29	0,310±0,23	0,394±0,28	0,335±0,28	0,272±0,59	0,274±0,59	0,294±0,99	0,285±0,27	0,301±0,90	0,305±0,23
C 18:2-n6	2,391±0,59	1,301±0,22	2,217±0,28	2,251±0,22	2,357±0,39	2,242±0,29	2,295±0,29	2,619±0,36	2,634±0,29	2,407±0,27	2,448±0,58	2,280±0,57	2,072±0,59	2,468±0,26	2,270±0,90	2,227±0,39
C 18:3-n6	0,029±0,21	0,005±0,69	0,038±0,29	0,037±0,99	0,025±0,39	0,031±0,38	0,038±0,29	0,041±0,39	0,038±0,30	0,026±0,98	0,033±0,23	0,034±0,69	0,025±0,22	0,035±0,23	0,034±0,36	0,028±0,28
C 18:3-n3	0,374±0,39	0,270±0,22	0,371±0,60	0,393±0,58	0,359±0,57	0,350±0,39	0,370±0,27	0,402±0,36	0,387±0,39	0,362±0,29	0,420±0,39	0,367±0,87	0,353±0,69	0,412±0,39	0,382±0,52	0,349±0,25

C 18:2 (9,11)	0,464±0,36	0,254±0,26	0,442±0,26	0,438±0,22	0,427±0,54	0,450±0,29	0,461±0,47	0,486±0,25	0,456±0,87	0,494±0,22	0,495±0,29	0,545±0,95	0,403±0,69	0,547±0,27	0,525±0,29	0,3990,32
C 20:0	0,131±0,39	0,097±0,39	0,161±0,59	0,139 ±0,52	0,133±0,25	0,159±0,39	0,165±0,97	0,163±0,21	0,120±0,69	0,165±0,21	0,172±0,27	0,150±0,39	0,170±0,90	0,163±0,28	0,154±0,58	0,168±0,39
C 20:1-n9	0,055±0,59	0,020±0,27	0,050±0,28	0,059±0,58	0,050±0,26	0,057±0,21	0,048±0,87	0,053±0,25	0,048±0,29	0,062±0,15	0,059±0,29	0,054±0,29	0,047±0,29	0,062±0,29	0,052±0,29	0,052±0,37
C 20:2-n6	0,040±0,27	0,010±0,88	0,029±0,29	0,029±0,51	0,046±0,32	0,029±0,528	0,027±0,97	0,040±0,24	0,047±0,25	0,039±0,98	0,038±0,39	0,031±0,39	0,035±0,99	0,043±0,27	0,036±0,29	0,034±0,29
C 21:0	0,038±0,38	0,013±0,25	0,042±0,29	0,029±0,99	0,041±0,21	0,038±0,82	0,030±0,29	0,039±0,21	0,053±0,39	0,027±0,96	0,046±0,27	0,036±0,39	0,050±01,97	0,030±0,39	0,032±0,36	0,023±0,59
C 20:3-n6	0,120±0,59	0,092±0,69	0,120±0,28	0,108±0,58	0,135±0,21	0,108±0,29	0,101±0,27	0,104±0,23	0,096±0,29	0,112±0,21	0,118±0,39	0,118±0,59	0,115±0,26	0,122±0,29	0,126±0,57	0,101±0,39
C 20:4-n6	0,168±0,58	0,063±0,39	0,179±0,21	0,178±0,32	0,171±0,39	0,179±0,39	0,165±0,29	0,261±0,39	0,212±0,29	0,202±0,25	0,194±0,21	0,185±0,69	0,173±0,69	0,195±0,29	0,186±0,27	0,179±0,69
C 20:3-n3	0,014±0,51	0,017±0,68	0,012±0,39	0,015±0,25	0,016±0,69	0,011±0,25	0,014±0,39	0,027±0,59	0,022±0,47	0,022±0,39	0,014±0,29	0,025±0,25	0,021±0,68	0,012±0,29	0,021±0,39	0,018±0,27
C 20:4-n3	0,050±0,21	0,065±0,59	0,061±0,27	0,055±0,25	0,046±0,59	0,068±0,29	0,054±0,87	0,058±0,29	0,068±0,39	0,062±0,34	0,082±0,29	0,050±0,59	0,068±0,59	0,063±0,28	0,061±0,27	0,067±0,25
C 22:0	0,043±0,59	0,042±0,29	0,031±0,39	0,033±0,38	0,040±0,59	0,033±0,28	0,036±0,99	0,075±0,28	0,053±0,67	0,050±0,74	0,045±0,29	0,039±0,39	0,040±0,57	0,046±0,39	0,053±0,39	0,039±0,26
C 20:5-n3	0,013±0,58	0,015±0,29	0,009±0,52	0,008±0,59	0,011±0,68	0,006±0,39	0,009±0,98	0,027±0,39	0,013±0,24	0,020±0,47	0,014±0,28	0,009±0,98	0,014±0,58	0,012±0,38	0,011±0,38	0,012±0,39
C 22:4-n6	0,009±0,28	0,011±0,28	0,008±0,59	0,008±0,25	0,010±0,65	0,009±0,28	0,006±0,21	0,011±0,39	0,010±0,12	0,012±0,68	0,014±0,39	0,007±0,69	0,008±0,98	0,006±0,98	0,008±0,39	0,006±0,57
C 24:0	0,037±0,28	0,030±0,29	0,042±0,57	0,035±0,21	0,031±0,58	0,041±0,21	0,031±0,96	0,034±0,39	0,033±0,18	0,029±0,29	0,033±0,57	0,040±0,39	0,032±0,58	0,033±0,98	0,039±0,37	0,033±0,25
C 22:5-n3	0,014±0,69	0,012±0,29	0,011±0,59	0,017±0,05	0,015±0,57	0,010±0,28	0,014±0,29	0,019±0,39	0,010±0,97	0,016±0,39	0,018±0,29	0,006±0,59	0,009±0,29	0,007±0,33	0,006±0,37	0,010±0,15
C 22:6-n3	0,005±0,28	0,004±0,28	0,008±0,22	0,005±0,08	0,004±0,69	0,011±0,39	0,005±0,59	0,003±0,29	0,005±0,90	0,006±0,58	0,011±0,19	0,015±0,58	0,010±0,57	0,007±0,22	0,014±0,26	0,015±0,15

Při skladování vzorku A sušeného mléka za relativních vlhkostí 23 % a 43 % dochází k výrazným změnám obsahu mastných kyselin, které jsou v tabulkách 6 a 7. Při teplotě 37 °C se snižuje obsah nasycených MK $C_6 - C_{20}$ se stoupající relativní vlhkostí. U kyseliny $C_{6:0}$ došlo v průběhu skladování ke snížení obsahu na poloviční hodnotu. Výjimkou byla kyselina $C_{11:0}$, u níž došlo ke zvyšování obsahu, který byl přímo závislý na relativní vlhkosti. U nenasyčených mastných kyselin dochází taktéž ke snížení jejich obsahu, které je opět umocněno relativní vlhkostí 43 %. Je patrný trend snižování obsahu nenasyčených mastných kyselin se stoupající relativní vlhkostí. Při skladování sušeného mléka za teploty 20 °C dochází ke stejným změnám jako při vyšší teplotě. U kyseliny $C_{11:0}$ dochází opět oproti ostatním kyselinám ke zvýšení obsahu, který je urychlován relativní vlhkostí. Změny obsahu mastných kyselin u kontrolního vzorku mají v porovnání s relativními vlhkostmi 23 % a 43 % nižší kinetickou rychlost. U kontrolního vzorku není patrný vliv teploty skladování a změny mastných kyselin probíhají při obou teplotách srovnatelně. Teplota má výrazný vliv na změny mastných kyselin. Při nižších teplotách skladování je průběh změn pozvolnější než při teplotě kolem 37 °C.

Tab. 6: Obsah mastných kyselin vzorku A sušeného mléka skladovaného při teplotě 37 °C a relativní vlhkosti 23 a 43 % [% z celkového obsahu MK]

mastná kyselina	0 dní	27 dní		67 dní			98 dní			120 dní			150 dní			
	kontrolní vzorek	kontrolní vzorek	RV 23%	RV 43%	kontrolní vzorek	RV 23%	RV 43%	kontrolní vzorek	RV 23%	RV 43%	kontrolní vzorek	RV 23%	RV 43%	kontrolní vzorek	RV 23%	RV 43%
C6:0	1,25±0,22	1,24±0,66	1,19±0,22	1,01±0,33	1,20±0,33	1,06±0,36	0,97±0,36	1,00±0,33	1,09±0,33	1,05±0,58	1,01±0,39	1,00±0,22	0,98±0,33	0,92±0,58	0,92±0,29	0,64±0,33
C8:0	0,92±0,69	0,85±0,66	0,81±0,39	0,74±0,29	0,83±0,21	0,76±0,26	0,70±0,58	0,68±0,25	0,69±0,69	0,67±0,26	0,70±0,28	0,70±0,69	0,63±0,29	0,64±0,21	0,62±0,29	0,56±0,28
C10:0	2,50±0,69	2,36±0,39	2,26±0,28	2,14±0,58	2,21±0,85	1,89±0,58	1,93±0,59	2,06±0,21	2,24±0,21	2,11±0,39	2,06±0,54	1,98±0,58	2,03±0,28	2,07±0,39	1,96±0,58	1,82±0,29
C 11:0	0,18±0,28	0,15±0,28	0,16±0,59	0,14±0,63	0,15±0,21	0,11±0,51	0,20±0,28	0,41±0,69	0,35±0,69	0,31±0,27	0,44±0,26	0,25±0,21	0,42±0,39	0,48±0,25	0,59±0,51	0,45±0,28
C12:0	3,40±0,51	3,28±0,29	3,15±0,58	3,30±0,28	3,20±0,39	3,00±0,36	3,26±0,59	3,24±0,68	3,28±0,59	3,24±0,21	3,13±0,28	3,13±0,57	3,00±0,68	3,08±0,26	3,16±0,39	2,66±0,27
C14:0	12,52±0,28	12,42±0,28	12,54±0,18	12,55±0,59	12,23±0,67	12,45±0,39	12,54±0,59	12,50±0,59	12,95±0,58	12,50±0,59	12,42±0,58	12,12±0,58	11,623±0,59	12,09±0,28	12,03±0,28	11,61±0,29
C16:0	37,23±0,69	37,55±0,69	37,66±0,69	38,71±0,28	38,41±0,87	37,99±0,18	37,78±0,55	38,74±0,57	38,29±0,69	38,00±0,36	38,04±0,51	38,42±0,21	38,61±0,59	37,89±0,36	38,80±0,39	38,73±0,39
C 16:1-n7	1,89±0,18	1,79±0,18	1,61±0,19	1,63±0,69	1,65±0,58	1,59±0,28	1,51±0,59	1,58±0,21	1,41±0,57	1,55±0,24	1,50±0,28	1,42±0,90	1,60±0,57	1,43±0,57	1,38±0,25	1,42±0,68
C17:0	0,77±0,51	0,78±0,51	0,65±0,39	0,50±0,28	0,78±0,41	0,66±0,69	0,54±0,51	1,07±0,59	0,45±0,59	0,46±0,21	0,95±0,21	0,44±0,87	0,48±0,48	0,89±0,27	0,40±0,21	0,47±0,29
C 18:0	12,17±0,28	12,65±0,69	12,75±0,59	12,17±0,28	12,67±0,69	12,45±0,18	12,10±0,69	11,48±0,68	11,16±0,59	11,49±0,39	11,64±0,05	11,58±0,87	11,08±0,59	11,59±0,21	11,67±0,69	11,33±0,59
C 18:1-n9	29,17±0,69	28,00±0,18	28,37±0,69	28,17±0,28	28,81±0,51	27,81±0,28	26,75±0,99	24,69±0,26	24,12±0,69	24,63±0,39	24,86±0,58	24,96±0,15	23,82±0,21	24,60±0,98	24,68±0,87	24,83±0,29
C 18:2-n6	1,92±0,29	1,92±0,59	1,73±0,39	1,74±0,69	1,80±0,68	1,65±0,69	1,64±0,55	1,71±0,58	1,62±0,51	1,58±0,29	1,68±0,57	1,55±0,19	1,57±0,69	1,36±0,95	1,37±0,25	1,36±0,29
C20:0	1,45±0,29	1,50±0,48	1,49±0,69	1,45±0,57	1,51±0,18	1,45±0,51	1,64±0,66	1,45±0,67	1,41±0,57	1,32±0,39	1,34±0,21	1,38±0,27	0,96±0,69	1,38±0,29	0,88±0,91	0,86±0,69

Tab. 7: Obsah mastných kyselin vzorku A sušeného mléka skladovaného při teplotě 20 °C a relativní vlhkosti 23 a 43 % [% z celkového obsahu MK]

Mastná kyselina	0 dní	27 dní		67 dní			98 dní			120 dní			150 dní			
		kontrolní vzorek	RV 23%	RV 43%	kontrolní vzorek	RV 23%	RV 43%	kontrolní vzorek	RV 23%	RV 43%	kontrolní vzorek	RV 23%	RV 43%	kontrolní vzorek	RV 23%	RV 43%
C6:0	1,37±0,33	1,36±0,36	1,35±0,58	1,31±0,22	1,20±0,55	1,06±0,25	1,29±0,22	1,01±0,52	1,17±0,59	1,29±0,55	1,24±0,22	1,19±0,66	1,01±0,22	1,25±0,22	1,22±0,27	0,97±0,21
C8:0	0,99±0,25	0,92±0,59	0,89±0,21	0,86±0,25	0,90±0,65	0,89±0,68	0,72±0,39	0,90±0,59	0,80±0,58	0,70±0,55	0,85±0,69	0,83±0,88	0,69±0,36	0,81±0,63	0,70±0,26	0,63±0,69
C10:0	2,81±0,26	2,63±0,29	2,47±0,39	2,40±0,26	2,50±0,15	2,38±0,29	2,21±0,69	2,18±0,57	2,36±0,69	2,04±0,45	2,48±0,23	2,26±0,21	1,93±0,25	2,38±0,69	1,89±0,21	1,82±0,28
C 11:0	0,15±0,55	0,15±0,68	0,14±0,29	0,45±0,38	0,18±0,18	0,20±0,29	0,48±0,54	0,18±0,28	0,16±0,58	0,57±0,61	0,25±0,63	0,45±0,52	0,64±0,28	0,34±0,58	0,46±0,69	0,81±0,25
C12:0	3,62±0,63	3,45±0,39	3,38±0,38	3,32±0,39	3,40±0,36	3,31±0,25	3,00±0,18	3,39±0,15	3,28±0,69	3,24±0,69	3,38±0,15	3,08±0,69	3,15±0,21	3,36±0,29	3,00±0,21	2,66±0,21
C14:0	12,99±0,52	12,88±0,26	12,56±0,59	12,42±0,69	12,82±0,88	12,52±0,68	12,11±0,28	12,79±0,98	12,23±0,68	12,03±0,58	12,74±0,05	12,23±0,59	11,62±0,57	12,59±0,29	12,12±0,56	11,61±0,39
C16:0	40,33±0,69	39,74±0,54	38,71±0,69	38,16±0,25	39,05±0,28	38,41±0,28	38,03±0,18	38,98±0,59	38,41±0,59	37,66±0,33	37,23±0,59	37,99±0,69	37,55±0,59	38,72±0,98	37,7±0,59	35,79±0,59
C 16:1-n7	1,89±0,25	1,89±0,65	1,66±0,64	1,64±0,69	1,79±0,28	1,59±0,29	1,63±0,59	1,74±0,25	1,65±0,85	1,58±0,59	1,37±0,55	1,51±0,55	1,58±0,27	1,73±0,58	1,61±0,51	1,51±0,28
C17:0	0,78±0,39	0,78±0,36	0,65±0,74	0,54±0,88	0,77±0,28	0,50±0,47	0,50±0,69	0,66±0,69	0,35±0,47	0,31±0,67	0,52±0,68	0,44±0,59	0,24±0,41	0,42±0,56	0,31±0,69	0,23±0,39
C 18:0	13,07±0,51	12,75±0,25	12,50±0,47	12,45±0,41	12,67±0,27	12,46±0,56	12,39±0,18	12,65±0,48	12,17±0,69	11,48±0,25	12,60±0,59	11,58±0,69	11,35±0,58	11,74±0,26	11,42±0,58	11,29±0,58
C 18:1-n9	29,17±0,69	28,81±0,54	28,37±0,18	28,00±0,27	28,17±0,29	27,23±0,59	26,75±0,59	27,81±0,48	24,49±0,67	25,40±0,69	25,54±0,96	26,79±0,57	24,63±0,90	25,96±0,25	24,40±0,59	24,17±0,59
C 18:2-n6	1,92±0,36	1,39±0,25	1,42±0,28	1,40±0,57	1,41±0,69	1,37±0,59	1,36±0,88	0,82±0,69	0,76±0,57	0,24±0,67	0,22±0,24	0,23±0,59	0,23±0,99	0,21±0,39	0,25±0,88	0,20±0,39
C20:0	1,98±0,28	1,96±0,69	1,97±0,28	1,92±0,38	1,91±0,99	1,94±0,98	1,45±0,68	1,79±0,68	1,64±0,69	1,45±0,67	1,73±0,15	1,50±0,55	1,49±0,52	1,51±0,58	1,45±0,54	1,45±0,28

V tabulkách 8 a 9 jsou mastné kyseliny vzorku B sušeného mléka. Při skladování za teploty 37 °C a 20 °C se mění obsah nasycených mastných kyselin. Při teplotě 37 °C došlo u kyselin C_{6:0} a C_{17:0} v průběhu skladování ke snižování obsahu zejména při vyšší relativní vlhkosti. U kyselin C_{6:0} a C_{17:0} došlo při působení vlhkosti 43 % ke snížení obsahu ke konci skladování na téměř poloviční obsah oproti počátečním hodnotám. U dalších nasycených mastných kyselin dochází pouze k pozvolným změnám a jejich obsah se proti počátečním hodnotám příliš nemění. U kyseliny C_{11:0} dochází ke zvýšení jejího obsahu. U nenasycených mastných kyselin dochází taktéž ke snižování jejich obsahu, které jsou rychlejší při vyšší relativní vlhkosti tj. 43 %. Při skladování s použitím relativních vlhkostí 23 % a 43 % spolu s teplotou 20 °C dochází také ke změnám jak nasycených, tak nenasycených mastných kyselin. Tyto změny jsou však pozvolnější než při teplotě 37 °C.

Tab. 8: Obsah mastných kyselin vzorku B sušeného mléka skladovaného při teplotě 37 °C a relativní vlhkosti 23 a 43 % [% z celkového obsahu MK]

mastná kyselina	0 dní	27 dní			67 dní			98 dní			120 dní			150 dní		
		kontrolní vzorek	RV 23%	RV 43%	kontrolní vzorek	RV 23%	RV 43%	kontrolní vzorek	RV 23%	RV 43%	kontrolní vzorek	RV 23%	RV 43%	kontrolní vzorek	RV 23%	RV 43%
C6:0	1,25±0,33	1,00±0,69	1,09±0,55	1,17±0,66	1,01±0,69	1,00±0,33	1,05±0,22	0,92±0,33	0,92±0,22	1,05±0,21	1,39±0,21	1,24±0,33	0,98±0,39	1,29±0,33	1,39±0,39	0,64±0,33
C8:0	0,92±0,58	0,91±0,54	0,76±0,57	0,67±0,58	0,92±0,25	0,70±0,66	0,74±0,65	0,91±0,22	0,62±0,59	0,56±0,99	0,96±0,69	0,83±0,58	0,90±0,25	0,89±0,22	0,99±0,25	0,80±0,22
C10:0	2,50±0,14	2,06±0,25	2,24±0,21	2,11±0,69	2,06±0,29	1,98±0,66	2,14±0,69	2,07±0,59	1,96±0,58	2,03±0,25	2,65±0,55	2,39±0,57	2,38±0,25	2,48±0,69	2,63±0,58	2,37±0,25
C 11:0	0,18±0,24	0,72±0,60	0,89±0,59	0,96±0,51	0,98±0,68	0,95±0,52	0,86±0,24	0,93±0,54	0,72±0,21	0,78±0,54	0,71±0,54	0,84±0,41	0,64±0,60	0,18±0,59	0,20±0,51	0,34±0,25
C12:0	3,40±0,36	3,20±0,26	3,28±0,69	3,26±0,21	3,24±0,98	3,13±0,36	3,30±0,21	3,13±0,21	3,16±0,21	3,24±0,59	3,62±0,69	3,36±0,59	3,31±0,58	3,39±0,58	3,62±0,93	3,38±0,35
C14:0	12,52±0,25	12,50±0,28	12,95±0,57	12,50±0,39	12,42±0,95	12,45±0,69	12,84±0,69	12,09±0,39	12,54±0,52	12,75±0,59	12,85±0,25	12,68±0,24	12,11±0,51	12,88±0,58	12,99±0,21	12,56±0,25
C16:0	37,23±0,29	38,74±0,29	38,29±0,69	38,00±0,22	38,04±0,21	38,42±0,69	38,61±0,69	37,89±0,33	38,80±0,69	38,73±0,51	39,42±0,12	39,04±0,64	38,41±0,58	39,33±0,24	39,74±0,24	35,79±0,25
C 16:1-n7	1,89±0,28	1,85±0,24	1,41±0,28	1,55±0,33	1,50±0,39	1,42±0,28	1,60±0,25	1,58±0,59	1,38±0,58	1,42±0,55	1,43±0,21	1,62±0,51	1,89±0,11	1,37±0,59	1,51±0,69	1,58±0,55
C17:0	0,77±0,69	0,41±0,69	0,45±0,21	0,46±0,69	0,44±0,99	0,44±0,26	0,48±0,69	0,48±0,55	0,40±0,22	0,47±0,21	0,50±0,68	0,43±0,69	0,24±0,98	0,31±0,51	0,23±0,51	0,26±0,36
C 18:0	12,17±0,64	11,48±0,25	11,16±0,36	11,49±0,65	11,64±0,12	11,58±0,35	11,08±0,51	11,59±0,98	11,67±0,21	11,33±0,69	11,09±0,69	10,09±0,51	11,39±0,87	11,58±0,57	11,74±0,36	12,46±0,59
C 18:1-n9	29,17±0,21	28,81±0,12	28,17±0,69	28,00±0,69	28,37±0,58	24,49±0,58	24,40±0,54	27,81±0,51	23,07±0,69	23,01±0,21	26,75±0,58	22,94±0,25	22,41±0,51	25,96±0,59	22,82±0,52	21,86±0,51
C 18:2-n6	1,71±0,29	1,55±0,21	1,65±0,85	1,80±0,58	1,73±0,21	1,62±0,64	1,92±0,59	1,92±0,22	1,57±0,51	1,68±0,87	1,93±0,51	1,96±0,69	1,95±0,21	1,98±0,21	1,96±0,51	1,97±0,26
C20:0	1,45±0,69	1,42±0,58	1,42±0,69	1,43±0,21	1,44±0,78	1,40±0,15	1,41±0,21	1,46±0,21	1,36±0,77	1,41±0,69	1,45±0,69	1,37±0,51	1,39±0,69	1,42±0,98	1,36±0,33	1,38±0,69

Tab. 9: Obsah mastných kyselin vzorku B sušeného mléka skladovaného při teplotě 20 °C a relativní vlhkosti 23 a 43 % [% z celkového obsahu MK]

mastná kyselina	0 dní	27 dní			67 dní			98 dní			120 dní			150 dní		
		kontrolní vzorek	RV 23%	RV 43%	kontrolní vzorek	RV 23%	RV 43%	kontrolní vzorek	RV 23%	RV 43%	kontrolní vzorek	RV 23%	RV 43%	kontrolní vzorek	RV 23%	RV 43%
C6:0	1,70±0,12	1,67±0,33	1,25±0,22	1,24±0,66	1,65±0,66	1,22±0,59	1,19±0,36	1,65±0,28	1,20±0,33	1,06±0,15	1,60±0,33	1,01±0,32	0,98±0,33	1,55±0,69	1,01±0,22	0,97±0,33
C8:0	1,18±0,33	1,14±0,58	0,92±0,14	0,89±0,59	1,14±0,55	0,85±0,14	0,81±0,25	1,13±0,21	0,83±0,69	0,72±0,36	1,05±0,22	1,12±0,22	0,69±0,33	0,70±0,29	0,70±0,17	0,63±0,55
C10:0	2,91±0,15	2,85±0,14	2,68±0,15	2,36±0,58	2,84±0,14	2,47±0,15	2,21±0,14	2,84±0,36	2,26±0,21	1,93±0,15	2,74±0,25	2,04±0,21	1,89±0,33	2,50±0,22	2,18±0,15	1,82±0,21
C 11:0	0,09±0,25	0,13±0,26	0,14±0,5	0,16±0,14	0,13±0,15	0,18±0,26	0,23±0,26	0,15±0,36	0,21±0,25	0,24±0,36	0,16±0,26	0,23±0,36	0,46±0,25	0,18±0,18	0,22±0,69	0,48±0,69
C12:0	3,59±0,36	3,55±0,29	3,41±0,19	3,32±0,15	3,53±0,18	3,39±0,36	3,28±0,23	3,45±0,39	3,15±0,59	3,24±0,25	3,42±0,27	3,08±0,57	3,00±0,17	3,40±0,17	3,00±0,25	2,66±0,54
C14:0	12,82±0,15	12,74±0,28	12,23±0,69	11,62±0,29	12,52±0,17	12,03±0,30	11,61±0,69	12,42±0,21	11,34±0,25	11,09±0,17	12,23±0,21	11,25±0,41	11,05±0,19	12,12±0,69	11,23±0,21	11,00±0,21
C16:0	38,98±0,28	38,71±0,69	37,78±0,25	37,55±0,14	38,41±0,25	37,66±0,25	37,23±0,59	38,16±0,64	32,72±0,48	32,29±0,18	38,03±0,65	32,44±0,17	31,78±0,58	37,99±0,69	31,56±0,22	30,94±0,57
C 16:1-n7	1,89±0,26	1,86±0,57	1,70±0,039	1,69±0,69	1,79±0,29	1,66±0,29	1,65±0,24	1,75±0,69	1,63±0,17	1,61±0,19	1,73±0,14	1,61±0,19	1,51±0,25	1,70±0,25	1,59±0,69	1,37±0,24
C17:0	0,81±0,17	0,78±0,28	0,77±0,25	0,71±0,25	0,78±0,29	0,69±0,17	0,54±0,19	0,72±0,54	0,66±0,48	0,52±0,25	0,71±0,15	0,65±0,49	0,50±0,39	0,70±0,17	0,64±0,58	0,44±0,69
C 18:0	13,07±0,10	12,75±0,29	12,65±0,88	12,50±0,69	12,67±0,39	12,45±0,26	12,17±0,28	12,60±0,18	11,29±0,15	10,48±0,14	11,40±0,29	10,24±0,0,66	9,59±0,27	9,98±0,19	9,46±0,24	9,44±0,57
C 18:1-n9	26,75±0,39	26,69±0,39	24,12±0,29	24,63±0,88	26,86±0,69	24,96±0,29	24,83±0,19	26,60±0,12	24,68±0,17	24,54±0,21	26,00±0,25	26,89±0,69	24,40±0,18	26,63±0,36	24,17±0,69	23,82±0,59
C 18:2-n6	2,49±0,68	2,40±0,84	2,25±0,68	2,07±0,28	2,29±0,55	1,79±0,23	1,73±0,17	2,22±0,50	1,62±0,97	1,43±0,39	1,94±0,26	1,54±0,59	1,21±0,69	1,71±0,69	1,03±0,22	0,93±0,57
C20:0	1,64±0,26	1,51±0,69	1,49±0,69	1,45±0,69	1,50±0,25	1,45±0,59	1,45±0,58	1,46±0,54	0,16±0,85	0,16±0,21	1,30±0,93	0,16±0,17	0,17±0,28	0,25±0,69	0,16±0,66	0,13±0,69

4.4. Změny proteinové frakce sušeného plnotučného mléka

4.4.1. Změny aminokyselinového složení

Změny obsahu aminokyselin byly sledovány vždy po uplynutí doby 30 dnů skladování. Obsah aminokyselin se v průběhu skladování při teplotách 37 °C a 45 °C nemění a pohybuje se kolem počátečních hodnot. Všechny aminokyseliny ve vzorku A mají vyšší obsah, než ty ve vzorku B. Výjimku tvoří valin, izoleucin, tyrosin a histidin, u nichž je obsah u vzorku B vyšší v porovnání se vzorkem A. Vliv teploty skladování se žádným způsobem neprojevil, avšak je opět výrazně vidět vliv časového období výroby sušeného plnotučného mléka.

Při skladování vzorku A za různých relativních vlhkostí v kombinaci s teplotou 37 °C došlo téměř u všech aminokyselin k poklesu po 25 dnech a poté již další výrazné změny nebyly zaznamenány. U valinu, tyrosinu, histidinu a isoleucinu došlo naopak ke zvýšení jejich obsahu. Skladování za stejných relativních vlhkostí, avšak při nižší teplotě 20 °C mělo za následek snížení obsahu téměř všech aminokyselin. Výjimku tvoří stejně jako v předchozím případě aminokyselina tyrosin, u níž došlo ke zvýšení obsahu. Zvýšení obsahu při nižší teplotě je však mnohem nižší než u teploty 37 °C, zatímco při 37 °C došlo ke zvýšení obsahu tyrosinu o cca 27% tak při teplotě 20 °C bylo zvýšení o pouhých 6 % v porovnání s počátečními hodnotami. Další odchylku mezi teplotami a relativními vlhkostmi tvoří aminokyselin isoleucin. Obsah isoleucinu je při teplotě 37 °C vyšší o 14 % oproti počátečním hodnotám, zatímco při teplotě 20 °C je jeho obsah téměř na stejné úrovni jako na počátku skladování. Při teplotě 37 °C je vidět vliv použitých relativních vlhkostí. Rozdíl je však jen mezi relativní vlhkostí a kontrolním vzorkem, při porovnání relativních vlhkostí navzájem již žádný rozdíl nebyl pozorován.

V případě vzorku B je situace s aminokyselinami podobná jako u vzorku A. Také tady došlo ke snížení obsahu všech aminokyselin. Mezi jednotlivými relativními vlhkostmi nebyl, zaznamenám žádný rozdíl. Obsah klesl opět po 25 dnech skladování a poté se udržoval na téměř shodném obsahu. Rozdíl byl, zaznamenám při porovnání obsahu jednotlivých aminokyselin v závislosti na teplotách skladování. U threoninu došlo při skladování za teploty 37 °C a relativních vlhkostech 23 % a 43 % k poklesu jeho obsahu o 18 %, zatímco při stejných relativních vlhkostech a teplotě 20 °C se jeho obsah pohybuje na úrovni počátečních hodnot. Další výrazné změny byly zaznamenány u aminokyselin valinu a argininu, kdy při podmínkách skladování dochází k jejich poklesu, avšak při teplotě 37 °C je tento pokles o 21 % u valinu a 20 % u argininu, zatímco při nižší teplotě je tento pokles 30 % u valinu a 40 % u argininu. Další výraznější změny jsou u fenylalaninu, jehož obsah se při teplotě 37 °C a relativních vlhkostech 23 % a 43 % pohybuje kolem počátečních hodnot, avšak

nižší teplota způsobila pokles v obsahu o 14 %. U vzorku sušeného mléka B skladovaných při teplotě 37 °C a vlhkostech 23 a 43 % není tak výrazný vliv vlhkosti jako při skladování vzorku sušeného mléka A.

Tab. 10: Změny aminokyselinového složení vzorku A skladovaného při různých teplotách [g/ 16 g N]

AMK	0 dní	25 dní		67 dní			98 dní			120 dní			150 dní			
	kontrolní vzorek	kontrolní vzorek	teplota 37 °C	teplota 45 °C	kontrolní vzorek	teplota 37 °C	teplota 45 °C	kontrolní vzorek	teplota 37 °C	teplota 45 °C	kontrolní vzorek	teplota 37 °C	teplota 45 °C	kontrolní vzorek	teplota 37 °C	teplota 45 °C
Cys	3,58±0,23	3,48±0,08	3,44±0,11	3,52±0,22	3,51±0,13	3,45±0,22	3,56±0,12	3,41±0,22	3,51±0,33	3,34±0,33	3,48±0,33	3,59±0,33	3,59±0,32	3,40±0,33	3,42±0,36	3,53±0,36
Met	11,13±0,66	11,21±0,17	11,20±0,21	11,40±0,18	11,46±0,25	11,45±0,12	11,32±0,22	11,43±0,47	11,29±0,25	11,20±0,25	12,16±,25	11,34±0,25	11,19±0,25	11,29±0,25	11,29±0,37	11,34±0,39
Asp	26,19±0,42	25,81±0,90	26,06±0,22	26,42±0,25	26,74±0,29	26,33±0,39	27,52±0,33	26,33±0,28	25,96±0,24	26,56±0,12	25,81±0,27	27,23±0,14	27,12±0,69	26,64±0,90	25,84±0,58	27,15±0,22
Thr	15,34±0,24	14,97±0,47	15,55±0,11	14,79±0,36	15,26±0,24	14,79±0,25	16,16±0,22	14,79±0,39	14,92±0,21	15,44±0,69	14,83±0,55	15,21±0,69	14,98±0,14	15,56±0,32	15,63±0,54	14,89±0,58
Ser	19,12±0,29	18,43±0,61	18,38±0,15	18,30±0,27	18,85±0,36	19,38±0,14	18,57±0,99	19,38±0,24	18,68±0,58	18,70±0,35	19,19±0,77	18,36±0,15	18,38±0,25	18,42±0,12	19,55±0,65	18,81±0,25
Glu	71,89±1,39	70,41±2,46	73,15±0,75	70,82±0,59	70,66±0,27	74,12±0,69	75,70±0,25	74,12±0,21	70,89±0,25	71,40±0,22	72,15±0,55	75,52±0,39	73,99±0,39	71,60±0,58	74,46±0,25	75,69±0,28
Pro	38,29±0,54	38,67±1,17	38,14±0,25	38,69±0,27	38,87±0,58	38,78±0,74	36,65±0,14	38,78±0,36	37,76±0,36	37,01±0,69	37,67±0,24	35,41±0,24	36,74±0,57	35,51±0,47	37,03±0,69	34,12±0,47
Gly	6,14±0,12	5,98±0,25	5,86±0,07	5,02±0,39	5,83±0,36	5,73±0,58	6,08±0,36	4,73±0,57	5,79±0,24	5,47±0,35	5,62±0,14	5,25±0,88	5,49±0,47	6,14±0,69	6,19±0,22	5,86±0,69
Ala	9,85±0,20	9,79±0,44	9,70±0,11	9,88±0,54	9,60±0,27	9,44±0,41	9,58±0,24	8,94±0,69	9,78±0,58	9,21±0,27	9,27±0,14	9,70±0,96	9,09±0,48	9,69±0,25	9,74±0,14	9,83±0,254
Val	14,44±0,38	14,54±0,71	14,50±0,16	15,64±0,39	14,98±0,39	14,71±0,47	13,92±0,66	15,71±0,25	14,48±0,47	14,79±0,85	15,07±0,36	14,64±0,55	15,38±0,58	14,74±0,69	14,62±0,25	14,67±0,39
Ile	11,45±0,40	11,92±0,63	12,24±0,26	11,52±0,18	12,02±0,27	12,01±0,29	11,58±0,27	12,01±0,87	12,14±0,54	11,75±0,57	11,67±0,28	11,61±0,66	12,08±0,24	11,57±0,58	11,47±0,12	11,67±0,22
Leu	30,01±0,63	30,12±1,22	30,16±0,18	29,84±0,24	29,97±0,56	29,74±0,35	30,15±0,39	29,74±0,59	29,81±0,69	30,44±0,12	29,84±0,99	30,02±0,88	30,15±0,21	30,35±0,47	30,54±0,65	30,56±0,55
Tyr	9,44±0,23	10,09±0,53	10,06±0,11	9,42±0,29	9,91±0,47	9,71±0,24	10,20±0,27	9,71±0,67	9,75±0,66	9,47±0,25	9,18±0,69	9,21±0,57	8,93±0,39	9,26±0,32	9,82±0,22	9,73±0,67
Phe	15,03±0,32	14,54±0,65	14,99±0,53	15,19±0,69	14,69±0,59	14,39±0,22	15,54±0,17	15,39±0,35	14,82±0,84	15,00±0,39	15,28±0,58	14,32±0,69	14,90±0,25	15,21±0,21	14,64±0,47	14,75±0,87
His	5,16±0,44	5,96±0,56	6,25±0,39	5,42±0,57	6,15±0,95	5,98±0,39	6,09±0,17	6,01±0,45	6,26±0,95	6,33±0,24	6,14±0,22	6,54±0,54	6,86±0,36	5,71±0,62	6,32±0,14	6,26±0,39
Lys	25,72±0,96	25,47±1,13	25,74±0,15	24,99±0,88	25,52±0,64	24,69±0,57	25,80±0,69	24,69±0,25	24,85±0,69	25,45±0,57	24,99±0,21	24,90±0,35	24,85±0,28	25,21±0,41	24,71±0,25	24,88±0,69
Arg	12,90±0,23	12,57±0,56	12,88±0,23	13,20±0,27	12,75±0,24	12,69±0,44	13,07±0,035	12,69±0,14	13,00±0,35	13,29±0,58	12,65±0,25	13,11±0,27	12,57±0,58	12,89±0,69	13,27±0,66	12,91±0,25

Tab. 11: Změny aminokyselinového složení vzorku B skladovaného při různých teplotách [g/ 16 g N]

	0 dní		25 dní		67 dní			98 dní			120 dní			150 dní		
	kontrolní vzorek	kontrolní vzorek	teplota 37 °C	teplota 45 °C	kontrolní vzorek	teplota 37 °C	teplota 45 °C	kontrolní vzorek	teplota 37 °C	teplota 45 °C	kontrolní vzorek	teplota 37 °C	teplota 45 °C	kontrolní vzorek	teplota 37 °C	teplota 45 °C
Cys	3,18±0,33	3,08±0,22	2,75±0,33	2,77±0,55	2,93±0,69	2,70±0,55	2,91±0,55	2,97±0,55	2,85±0,55	2,77±0,66	2,93±0,25	2,98±0,33	2,89±0,66	2,80±0,36	2,84±0,39	2,86±0,02
Met	11,13±0,88	11,21±0,33	11,00±0,88	11,05±0,66	11,10±0,55	11,01±0,68	11,15±0,14	10,97±0,99	10,87±0,66	10,88±0,25	11,20±0,22	11,16±0,69	10,82±0,22	10,91±0,25	11,26±0,90	11,24±0,69
Asp	19,19±0,99	18,81±0,59	19,13±0,95	18,96±0,55	19,06±0,63	19,16±0,50	18,81±0,55	19,12±0,55	19,23±0,33	19,12±0,14	19,06±0,62	18,74±0,25	19,23±0,33	18,81±0,21	18,96±0,68	19,06±0,25
Thr	10,94±0,57	10,97±0,58	10,79±0,52	10,92±0,55	11,15±0,25	11,14±1,25	10,83±0,57	11,19±0,68	11,21±0,987	10,98±0,21	11,08±0,88	11,26±0,20	11,21±0,66	10,83±0,98	10,92±0,69	11,04±0,36
Ser	12,12±0,69	12,13±0,69	12,18±0,58	12,08±0,33	11,78±0,14	12,07±0,20	12,19±0,52	11,93±0,66	11,86±0,25	12,18±0,13	11,98±0,69	11,85±0,69	12,16±0,20	12,19±0,15	11,78±0,57	12,07±0,24
Glu	53,89±0,47	54,10±0,47	54,12±0,59	53,89±0,25	54,15±0,23	54,05±0,98	54,15±0,58	53,82±0,25	54,12±0,15	53,99±0,12	54,15±0,21	54,86±0,67	54,12±0,22	54,15±0,26	53,89±0,14	54,07±0,12
Pro	28,29±0,65	27,97±0,36	27,78±0,52	27,76±0,17	28,14±0,65	28,01±0,48	27,96±0,98	27,99±0,69	28,15±0,10	26,74±0,65	28,14±0,39	27,87±0,54	27,91±0,99	27,87±0,69	27,76±0,66	28,01±0,74
Gly	6,14±0,58	5,98±0,48	5,73±0,54	5,79±0,68	5,86±0,98	6,17±0,14	6,12±0,47	6,02±0,25	6,05±0,63	6,09±0,55	5,86±0,58	5,83±0,98	6,05±0,77	6,12±0,12	5,79±0,15	5,87±0,857
Ala	6,85±0,85	6,79±0,48	7,04±0,57	6,78±1,55	6,97±0,98	7,12±0,58	7,17±0,17	7,08±0,15	6,87±0,90	7,09±0,25	7,07±0,14	7,06±0,65	6,77±0,98	7,17±0,68	7,18±0,69	7,19±0,98
Val	20,44±0,24	20,54±0,69	20,41±0,95	20,48±1,66	20,50±0,47	20,59±0,54	20,47±0,87	20,64±0,28	20,65±0,65	20,38±0,69	20,50±0,24	20,48±0,59	20,64±0,14	20,47±0,66	20,48±0,25	20,59±0,25
Ile	15,45±0,58	15,42±0,69	15,50±0,17	15,40±1,99	15,47±0,28	15,51±0,25	15,67±0,25	15,52±0,98	15,61±0,35	15,48±0,25	15,49±0,15	15,58±0,47	15,61±0,59	15,67±0,55	15,63±0,65	15,55±0,36
Leu	23,63±0,47	23,48±0,22	23,64±0,69	23,61±0,69	23,46±0,98	23,44±0,48	23,44±0,98	23,54±0,25	23,52±0,32	23,45±0,32	23,56±0,58	23,37±0,14	23,52±0,58	23,48±0,15	23,41±0,14	23,44±0,63
Tyr	11,14±0,69	11,09±0,44	11,01±0,27	11,05±0,58	11,06±0,69	11,07±0,14	11,18±0,98	11,22±0,14	11,23±0,69	10,93±0,65	11,06±0,14	10,91±0,15	11,21±0,58	11,18±0,48	11,15±0,254	11,17±0,69
Phe	12,03±0,47	12,14±0,69	12,09±0,58	11,82±0,48	11,99±0,56	12,00±0,90	12,08±0,25	12,19±0,25	12,02±0,58	11,90±0,69	11,99±0,25	11,89±0,99	12,12±0,35	12,28±0,14	11,82±0,36	12,00±0,87
His	9,16±0,46	8,96±0,15	9,01±0,48	9,16±0,14	9,15±0,26	9,13±1,25	9,14±0,21	9,12±0,88	9,14±0,28	8,86±0,54	9,15±0,18	9,15±1,22	8,96±0,48	9,14±0,14	9,16±0,52	9,13±0,63
Lys	18,42±0,39	18,47±0,69	18,54±0,99	18,52±0,98	18,43±0,66	18,45±0,36	18,49±0,90	18,59±0,55	18,49±0,25	18,50±0,24	18,54±0,17	18,52±1,09	18,49±0,69	18,49±0,69	18,50±0,15	18,45±0,39
Arg	12,90±0,66	12,97±0,55	12,92±0,28	12,98±0,57	12,88±0,90	12,88±0,68	12,96±0,88	13,01±0,20	13,02±0,35	13,04±0,25	12,88±0,36	12,95±0,66	12,96±0,22	12,94±0,98	12,91±0,24	12,92±0,24

Tab. 12: Změny aminokyselinového složení vzorku A skladovaného při teplotě 37 °C a relativní vlhkosti 23 % a 43 % [g/ 16 g N]

	0 dní	25 dní			67 dní			98 dní			120 dní			150 dní		
		kontrolní vzorek	RV 23%	RV 43%	kontrolní vzorek	RV 23%	RV 43%	kontrolní vzorek	RV 23%	RV 43%	kontrolní vzorek	RV 23%	RV 43%	kontrolní vzorek	RV 23%	RV 43%
Cys	3,58±0,22	3,44±0,88	2,73±0,58	2,71±0,69	3,45±0,55	2,74±0,59	2,7±0,99	3,51±1,55	2,55±0,54	2,46±0,55	3,59±0,66	2,63±0,78	2,80±0,47	3,42±0,60	2,7±0,39	2,63±0,15
Met	11,13±0,15	11,20±0,40	7,25±0,90	7,30±0,14	11,45±0,9	7,29±0,55	7,21±0,41	11,29±0,55	7,26±0,77	7,25±0,77	11,34±0,77	7,29±0,69	7,24±0,66	11,29±0,02	7,24±0,54	7,29±0,98
Asp	26,19±0,18	26,06±0,68	19,48±0,36	19,43±0,25	26,33±0,54	19,49±0,78	19,45±0,15	25,96±0,87	19,41±0,77	19,44±0,99	27,23±0,14	19,52±0,10	19,41±0,58	25,84±0,58	19,53±0,25	19,52±0,58
Thr	15,34±0,58	15,55±0,54	10,91±0,25	11,18±0,36	14,79±0,66	10,43±0,40	11,37±0,25	14,92±0,06	10,61±0,58	10,99±0,56	15,21±0,25	10,70±0,58	10,90±0,59	15,63±0,58	10,81±0,17	10,70±0,15
Ser	19,12±0,17	18,38±0,58	14,13±0,24	14,25±0,87	19,38±0,51	14,11±0,15	13,83±0,87	18,68±0,65	14,20±0,55	11,77±0,50	18,36±0,58	14,42±0,15	13,75±0,47	19,55±0,69	13,94±1,68	14,42±0,17
Glu	71,89±0,57	73,15±0,48	40,27±0,18	40,5±0,48	74,12±0,21	41,1±0,48	41,07±0,66	70,89±0,54	40,79±0,44	40,59±0,66	75,52±0,58	40,66±0,69	40,72±0,15	74,46±0,17	40,64±1,66	40,66±1,5
Pro	38,29±0,97	38,14±0,48	24,52±0,65	24,54±0,74	38,78±0,65	24,4±0,98	25,27±0,15	37,76±0,98	23,74±0,17	24,25±0,87	35,41±0,65	25,19±0,17	24,68±0,24	37,03±0,25	24,27±1,26	25,19±0,58
Gly	6,14±0,57	5,86±0,69	4,77±0,2	4,61±0,90	5,73±0,17	4,5±0,77	4,31±0,47	5,79±0,36	4,37±0,47	4,35±0,47	5,25±0,15	4,24±0,85	4,27±0,41	6,19±0,19	4,74±0,24	4,24±0,69
Ala	9,85±0,57	9,70±0,25	9,27±1,66	8,92±0,15	9,44±0,15	8,62±0,98	9,38±0,48	9,78±0,69	8,86±0,58	8,88±0,89	9,70±0,15	9,18±0,98	8,85±0,48	9,74±0,25	9,15±0,25	9,18±0,24
Val	14,44±0,90	14,50±0,21	16,37±0,52	15,79±0,97	14,71±0,98	15,86±0,15	16,12±0,15	14,48±0,88	16,10±0,26	15,98±0,58	14,64±0,48	16,05±0,28	15,82±0,56	14,62±0,39	16,09±0,39	16,05±0,18
Ile	11,45±0,25	12,24±0,69	13,28±0,56	13,25±0,63	12,01±0,96	12,75±0,48	13,56±0,69	12,14±0,99	13,42±0,41	12,84±0,54	11,61±0,85	13,06±0,69	12,77±0,90	11,47±0,11	12,94±0,78	13,06±0,07
Leu	30,01±0,24	30,16±1,05	21,45±0,35	21,46±0,15	29,74±0,98	22,25±0,52	22,19±0,47	29,81±0,58	21,55±1,25	21,42±0,58	30,02±0,874	22,06±0,69	21,81±0,54	30,54±0,98	22,03±0,98	22,06±0,47
Tyr	9,44±0,59	10,06±0,69	11,87±0,69	12,53±0,18	9,71±0,98	12,2±0,65	12,18±0,18	9,75±0,98	11,61±1,26	11,68±0,58	9,21±0,97	12,53±0,41	11,90±0,15	9,82±0,55	12,21±0,57	12,53±0,58
Phe	15,03±1,57	14,99±0,25	12,42±0,07	12,41±0,28	14,39±0,60	11,75±0,99	11,7±0,17	14,82±0,58	11,71±1,28	12,14±0,69	14,32±0,23	12,13±0,48	11,85±0,18	14,64±0,36	12,27±0,48	12,13±0,84
His	5,16±0,14	6,25±0,59	7,97±0,84	7,95±0,89	5,98±0,48	7,94±0,70	8,18±0,48	6,26±0,54	8,10±1,08	8,04±0,14	6,54±0,78	7,96±0,63	8,05±0,16	6,32±0,88	8,20±0,68	7,96±0,87
Lys	25,72±0,97	25,74±0,69	19,1±0,77	19,07±0,19	24,69±0,79	19,09±0,88	18,91±0,21	24,85±0,69	18,56±2,08	18,58±0,24	24,90±0,54	19,04±0,47	19,01±0,17	24,71±0,47	19,20±0,25	19,04±0,22
Arg	12,90±0,57	12,88±0,14	11,18±0,69	10,88±0,85	12,69±0,87	10,97±0,88	10,87±0,10	13,00±0,57	11,29±0,98	10,95±0,18	13,11±0,28	11,22±0,69	11,05±0,19	13,27±0,15	11,27±0,69	11,22±0,99

Tab. 13: Změny aminokyselinového složení vzorku A skladovaného při teplotě 20 °C a relativní vlhkosti 23 % a 43 % [g/ 16 g N]

	0 dní	25 dní			67 dní			98 dní			120 dní			150 dní		
		kontrolní vzorek	RV 23%	RV 43%	kontrolní vzorek	RV 23%	RV 43%	kontrolní vzorek	RV 23%	RV 43%	kontrolní vzorek	RV 23%	RV 43%	kontrolní vzorek	RV 23%	RV 43%
Cys	3,58±0,33	2,40±0,23	2,40±0,08	2,40±0,25	2,40±0,55	2,41±0,66	2,47±0,55	3,98±0,55	4,40±0,22	3,93±0,70	3,97±0,33	4,03±0,88	3,95±0,22	4,05±0,55	3,75±0,88	4,56±0,97
Met	11,13±0,99	7,09±0,66	7,27±0,17	7,31±0,21	7,04±1,02	6,90±0,58	6,98±0,47	7,13±0,02	7,21±0,88	7,20±0,55	7,24±0,98	7,27±0,54	7,26±0,55	7,25±0,98	6,96±0,64	7,22±0,44
Asp	26,19±0,58	16,59±0,42	16,70±0,90	16,69±0,69	16,61±0,88	17,10±0,47	17,05±0,21	17,19±0,55	16,81±0,99	16,36±0,55	16,42±0,15	16,61±0,22	16,51±0,87	16,74±1,55	16,87±0,57	16,92±0,57
Thr	15,34±0,24	9,93±0,24	10,14±0,47	9,90±0,51	10,17±0,17	10,11±0,48	9,91±0,69	10,14±0,44	9,97±0,44	10,15±0,77	9,98±0,58	10,22±0,55	9,87±0,78	9,99±0,44	10,17±0,54	10,16±0,69
Ser	19,12±0,58	11,57±0,29	11,65±0,61	11,25±0,12	11,31±0,69	11,01±0,589	11,11±0,65	11,12±0,99	11,43±0,55	11,38±0,98	11,30±0,98	11,15±0,98	11,42±0,64	11,47±0,40	11,38±0,95	11,57±0,24
Glu	71,89±0,69	52,18±1,39	52,29±2,46	51,73±1,66	51,61±0,66	51,67±0,45	51,67±0,59	51,89±0,44	52,10±0,66	52,15±0,56	51,82±0,55	51,63±0,55	51,79±0,18	51,59±0,55	52,12±0,50	51,7±0,45
Pro	38,29±0,54	22,07±0,54	21,70±1,17	22,16±0,55	21,64±0,48	22,10±0,55	22,22±0,65	22,29±0,55	21,67±0,88	22,14±,55	21,69±0,41	21,61±0,47	21,74±0,18	22,25±0,66	21,78±0,56	31,65±0,12
Gly	6,14±0,14	4,12±0,12	4,02±0,25	3,93±0,17	4,13±0,45	4,07±0,71	4,01±0,50	4,14±0,47	3,98±0,89	3,86±0,14	4,02±0,78	4,14±0,88	4,17±0,55	3,75±0,87	3,73±0,68	4,08±0,97
Ala	9,85±0,26	6,76±0,20	7,10±0,44	6,81±0,45	7,15±0,47	6,96±0,15	6,95±0,55	6,85±0,48	6,79±0,55	7,17±0,17	7,18±0,77	6,85±0,44	6,86±0,78	6,88±0,87	7,14±0,77	6,958±0,44
Val	14,44±0,35	13,24±0,38	12,73±0,71	13,41±0,15	13,01±0,19	13,46±0,98	13,260,98	13,44±0,48	13,54±0,47	13,50±1,25	13,46±1,66	13,10±0,77	13,14±0,95	12,98±0,59	12,71±0,58	12,92±1,26
Ile	11,45±0,14	11,21±0,40	11,05±0,63	10,75±0,26	11,12±0,99	10,67±0,56	10,83±0,14	11,04±0,51	10,92±0,47	11,24±1,07	11,20±0,88	11,44±1,89	11,42±0,88	10,84±0,15	11,01±0,68	10,58±1,25
Leu	30,01±0,15	20,49±0,63	20,16±1,22	19,92±0,98	20,28±0,77	19,74±0,65	19,81±1,55	20,01±0,65	20,12±0,99	20,16±0,888	19,84±0,51	20,15±0,77	20,15±0,55	19,82±0,47	19,74±0,47	20,15±0,57
Tyr	9,44±0,15	10,03±0,23	10,06±0,53	9,84±0,19	10,08±0,99	10,13±0,65	9,72±0,55	10,14±1,55	10,09±0,55	10,06±0,98	10,14±0,66	10,19±0,12	10,19±1,99	10,22±0,98	9,71±0,90	10,20±0,97
Phe	15,03±0,48	10,50±0,32	10,47±0,65	10,34±0,19	10,41±0,15	10,35±0,65	10,47±0,21	10,43±0,58	10,54±0,77	10,49±0,65	10,52±0,54	10,42±0,99	10,31±0,77	10,41±0,98	10,39±0,44	10,54±0,47
His	5,16±0,25	5,787±0,44	5,97±0,56	5,89±0,98	5,85±0,65	5,77±0,48	5,85±0,78	6,16±0,78	5,96±0,58	6,25±0,47	5,82±0,11	6,07±0,64	6,10±0,22	5,73±0,95	6,01±0,80	6,09±0,97
Lys	25,72±0,25	14,661±0,96	14,48±1,13	14,51±0,65	14,41±0,89	14,58±0,77	14,31±0,47	14,59±0,79	14,47±0,90	14,4±0,97	14,39±0,54	14,53±0,55	14,56±0,44	14,58±0,87	14,69±0,24	14,51±0,90
Arg	12,90±0,58	9,169±0,23	8,95±0,56	9,18±0,88	9,17±0,99	8,73±0,98	9,14±0,48	8,90±0,987	8,77±0,88	8,88±0,98	9,20±0,55	9,19±0,77	9,29±0,58	8,95±0,48	8,69±0,85	9,07±0,87

Tab. 14: Změny aminokyselinového složení vzorku B skladovaného při teplotě 37 °C a relativní vlhkosti 23 % a 43 % [g/ 16 g N]

	0 dní	25 dní			67 dní			98 dní			120 dní			150 dní		
		kontrolní vzorek	RV 23%	RV 43%	kontrolní vzorek	RV 23%	RV 43%	kontrolní vzorek	RV 23%	RV 43%	kontrolní vzorek	RV 23%	RV 43%	kontrolní vzorek	RV 23%	RV 43%
Cys	3,18±0,33	2,75±0,23	2,59±0,36	2,63±0,39	2,70±0,45	2,44±0,58	2,46±0,09	2,85±0,58	2,61±0,15	2,43±0,55	2,98±0,58	2,53±0,59	2,46±0,58	2,84±0,48	2,56±0,77	2,54±0,99
Met	11,13±0,25	11,00±0,69	7,37±0,29	7,39±0,57	11,01±0,45	7,45±0,47	7,33±0,88	10,87±0,48	7,51±0,25	7,41±0,69	11,16±0,49	7,46±0,48	7,54±0,59	11,26±0,59	7,36±0,45	7,31±0,96
Asp	19,19±0,47	19,13±0,56	16,93±0,58	16,82±0,48	19,16±0,12	16,90±0,49	16,88±0,99	19,23±0,48	16,93±0,18	16,94±0,48	18,74±0,47	16,74±0,49	16,85±0,47	18,96±0,67	16,81±0,87	16,96±0,54
Thr	10,94±0,48	10,79±0,25	8,71±0,58	8,97±0,15	11,14±0,58	8,87±0,47	8,91±0,51	11,21±0,59	8,93±0,49	8,91±0,19	11,26±0,471	8,95±0,36	8,96±0,54	10,92±0,49	8,86±0,15	8,90±0,99
Ser	12,12±0,59	12,18±0,27	11,15±0,69	11,02±0,98	12,07±0,54	11,11±0,58	10,92±0,35	11,86±0,58	11,05±0,59	11,13±0,58	11,85±0,14	11,08±0,25	11,13±0,36	11,78±0,74	11,18±0,39	11,12±0,65
Glu	53,89±0,69	54,12±0,17	40,63±0,65	40,66±0,78	54,05±0,17	40,57±0,69	40,85±0,21	54,12±0,21	40,50±0,69	40,70±0,48	54,86±0,29	40,89±0,12	40,67±0,69	53,89±0,48	40,61±0,54	40,73±0,65
Pro	28,29±0,28	27,78±0,49	20,15±0,61	20,19±0,74	28,01±0,29	20,24±0,35	20,21±0,50	28,15±0,56	20,54±0,58	20,52±0,41	27,87±0,59	20,18±0,47	20,22±0,98	27,76±0,98	20,16±0,33	20,17±0,061
Gly	6,14±0,69	5,73±0,59	4,64±0,24	4,54±0,74	6,17±0,87	4,50±0,21	4,61±0,69	6,05±0,15	4,61±0,18	4,77±0,25	5,83±0,48	4,86±0,74	4,62±0,56	5,79±0,45	4,83±0,27	4,63±0,40
Ala	6,85±0,58	7,04±0,28	6,85±0,69	6,81±0,58	7,12±0,58	6,82±0,15	6,80±0,61	6,87±0,26	6,92±0,99	6,87±0,69	7,06±0,17	6,81±0,72	6,85±0,32	7,18±0,65	6,84±0,14	6,89±0,48
Val	20,44±0,47	20,41±0,98	16,10±0,57	16,05±0,45	20,59±0,17	16,06±0,58	16,07±0,25	20,65±0,21	13,07±0,58	16,17±0,58	20,48±0,78	16,09±0,95	16,16±0,57	20,48±0,65	16,15±0,19	16,18±0,15
Ile	15,45±0,47	15,50±0,69	10,74±0,14	10,86±0,69	15,51±0,48	10,75±0,16	10,74±0,48	15,61±0,41	10,85±0,47	10,82±0,15	15,58±0,88	10,88±0,58	10,93±0,48	15,63±0,35	10,79±0,62	10,75±0,65
Leu	23,63±0,39	23,64±0,54	20,05±0,25	20,06±0,57	23,44±0,99	20,25±0,69	19,99±0,29	23,52±0,36	20,16±0,78	20,05±0,26	23,37±0,97	20,07±0,89	20,14±0,59	23,41±0,95	20,02±0,31	19,87±0,78
Tyr	11,14±0,58	11,01±0,21	11,15±0,26	11,13±0,12	11,07±0,88	11,20±0,47	11,17±0,57	11,23±0,59	11,03±0,86	11,07±0,69	10,91±0,78	11,06±0,45	11,12±0,69	11,15±0,45	11,08±0,68	10,84±0,45
Phe	12,03±0,25	12,09±0,36	12,12±0,37	12,13±0,58	12,00±0,55	11,95±0,48	12,08±0,48	12,02±0,47	12,01±0,84	12,02±0,58	11,89±0,45	12,08±0,19	11,99±0,21	11,82±0,17	11,79±0,87	12,14±0,65
His	9,16±0,69	9,01±0,25	6,07±0,58	6,16±0,54	9,13±0,77	6,14±0,59	6,12±0,78	9,14±0,16	6,15±0,26	6,17±0,78	9,15±0,88	6,09±0,150,25	6,25±0,27	9,16±0,58	6,05±0,56	6,09±0,77
Lys	18,42±0,57	18,54±0,48	17,13±0,47	17,04±0,51	18,45±0,48	17,09±0,27	17,07±0,49	18,49±0,17	17,27±0,39	17,10±0,15	18,52±0,90	17,09±0,39	17,11±0,18	18,50±0,47	17,11±0,65	16,98±0,55
Arg	12,90±0,69	12,92±0,74	10,19±0,13	10,22±0,69	12,88±0,90	9,97±0,19	10,18±0,47	13,02±0,18	10,18±0,27	9,98±0,14	12,95±0,65	10,00±0,48	10,14±0,59	12,91±0,99	10,07±0,98	10,13±0,22

Tab. 15: Změny aminokyselinového složení vzorku B skladovaného při teplotě 20 °C a relativní vlhkosti 23 % a 43 % [g/ 16 g N]

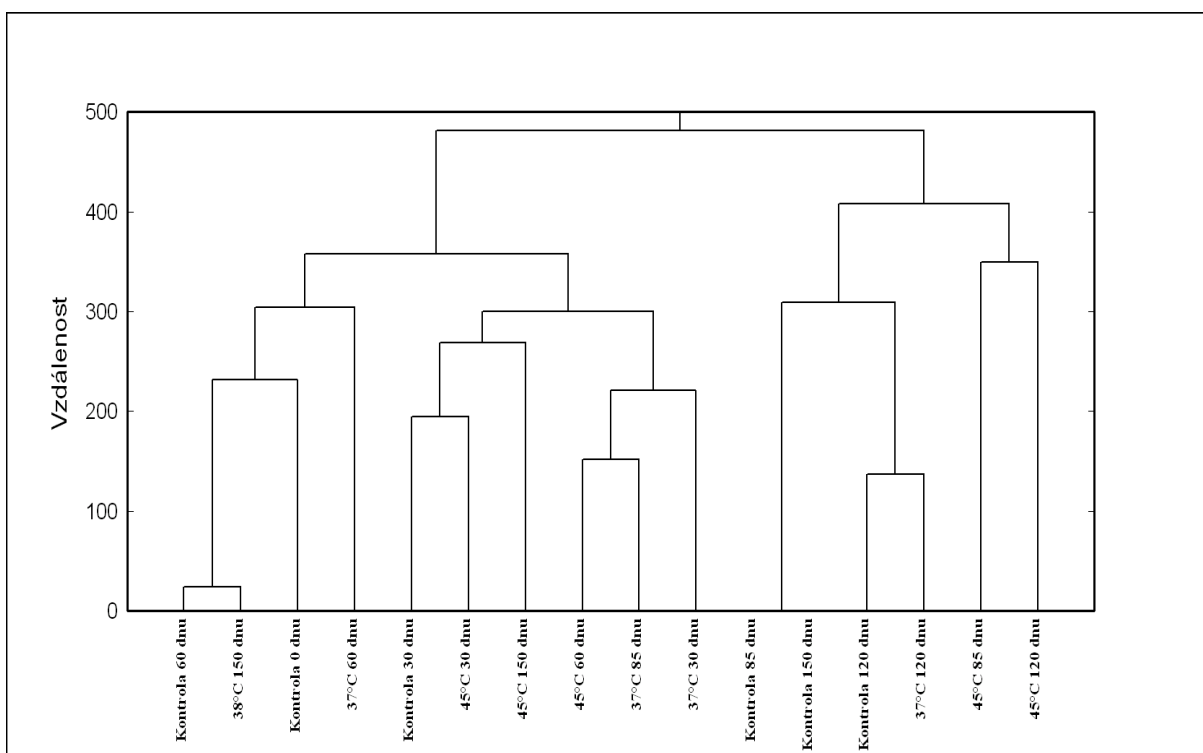
	0 dní	25 dní			67 dní			98 dní			120 dní			150 dní		
		kontrolní vzorek	RV 23%	RV 43%	kontrolní vzorek	RV 23%	RV 43%	kontrolní vzorek	RV 23%	RV 43%	kontrolní vzorek	RV 23%	RV 43%	kontrolní vzorek	RV 23%	RV 43%
Cys	3,18±0,23	2,77±0,36	2,79±0,22	2,70±0,23	2,63±0,25	2,78±0,36	2,73±0,33	2,71±0,33	2,76±0,36	2,79±0,36	2,71±0,5	2,75±0,60	2,76±0,31	2,78±0,36	2,78±0,69	2,75±0,33
Met	11,13±0,25	7,09±0,25	7,14±0,285	7,24±0,25	7,19±,25	7,27±0,25	7,15±0,66	7,17±0,57	7,05±0,58	7,16±0,25	7,18±0,25	7,16±0,25	7,12±0,57	7,13±0,57	7,21±0,57	6,96±0,84
Asp	19,19±0,40	16,19±0,28	16,01±0,98	16,13±0,27	16,12±0,14	16,10±0,69	16,08±0,57	16,03±0,59	16,12±0,69	16,23±0,58	16,11±0,39	16,03±0,41	16,12±0,24	16,19±0,14	16,18±0,41	16,03±0,58
Thr	10,94±0,25	10,78±0,25	10,87±0,57	10,81±0,14	10,97±0,15	10,99±0,98	10,91±0,25	11,18±0,54	10,98±0,24	11,21±0,14	10,93±0,87	11,09±0,74	11,16±0,14	11,04±0,51	10,97±0,69	11,09±0,17
Ser	12,12±0,69	10,87±0,12	10,80±0,14	10,94±0,47	10,92±0,69	11,15±0,36	11,13±0,14	11,05±0,14	11,08±0,69	11,06±0,26	11,19±0,17	11,18±0,59	11,07±0,41	11,12±0,24	11,03±0,67	11,08±0,19
Glu	53,89±0,24	44,18±0,36	44,17±0,24	44,14±0,78	44,06±0,58	43,93±0,21	44,27±0,15	44,05±0,25	43,99±0,64	44,02±0,39	44,15±0,25	44,12±0,41	44,07±0,28	44,09±0,58	44,10±0,57	44,12±0,28
Pro	28,29±0,12	25,41±0,25	25,47±0,15	25,47±0,59	25,40±0,69	25,53±0,25	25,52±0,17	25,54±0,39	25,44±0,55	25,41±0,25	25,47±0,29	25,48±0,69	25,50±0,58	25,49±0,27	25,47±0,15	25,48±0,19
Gly	6,14±0,36	4,73±0,21	4,76±0,24	4,74±0,396	4,74±0,35	4,78±0,26	4,77±0,58	4,71±0,57	4,79±0,58	4,75±0,14	4,72±0,58	4,73±0,21	4,78±0,17	4,74±0,48	4,78±0,27	4,73±0,17
Ala	6,85±0,98	7,06±0,58	7,00±0,17	7,15±0,25	7,18±0,24	7,15±0,36	7,27±0,58	6,92±0,26	7,09±0,87	7,08±0,78	7,27±0,69	7,14±0,69	7,18±0,29	7,05±0,57	7,09±0,15	7,14±0,16
Val	20,44±0,57	14,24±0,69	14,28±0,26	14,29±0,36	14,25±0,39	14,21±0,54	14,27±0,69	14,29±0,55	14,28±0,69	14,28±0,17	14,27±0,28	14,21±0,57	14,22±0,19	14,24±0,69	14,24±0,59	14,21±0,66
Ile	15,45±0,24	11,21±0,25	11,23±0,18	11,24±0,58	11,26±0,21	11,24±0,17	11,28±0,66	11,25±0,88	11,28±0,25	11,21±0,28	11,27±0,69	11,21±0,12	11,28±0,98	11,25±0,57	11,22±0,24	11,21±0,57
Leu	23,63±0,39	20,97±0,39	20,96±0,15	21,03±0,17	21,06±0,54	21,05±0,25	21,15±0,54	20,96±0,97	21,15±0,47	21,02±0,19	21,04±0,31	21,01±0,39	21,02±0,17	21,14±0,57	21,09±0,23	21,11±0,68
Tyr	11,14±0,27	10,637±0,36	10,74±0,36	10,71±0,59	10,73±0,69	10,75±0,98	10,87±0,47	10,73±0,78	10,93±0,48	10,81±0,99	10,92±0,87	10,78±0,26	10,82±0,45	10,86±0,45	10,76±0,36	10,88±0,14
Phe	12,03±0,28	10,35±0,35	10,39±0,24	10,37±0,68	10,33±0,28	10,32±0,57	10,42±0,11	10,41±0,49	10,39±0,15	10,32±0,88	10,38±0,68	10,39±0,27	10,34±0,74	10,33±0,69	10,34±0,87	10,39±0,15
His	9,16±0,39	5,87±0,24	5,95±0,89	5,82±0,48	5,96±0,39	5,97±0,48	5,87±0,66	5,85±0,48	5,86±0,69	5,94±0,69	5,94±0,84	5,91±0,39	5,99±0,96	5,86±0,47	5,96±0,97	5,81±0,69
Lys	18,42±0,54	15,01±0,15	15,08±0,47	15,02±0,58	15,04±0,25	15,13±0,25	15,100,32	15,17±0,59	15,05±0,34	14,9±0,57	15,09±0,78	15,19±0,54	15,08±0,48	15,02±0,59	15,07±0,59	14,89±0,74
Arg	12,90±0,58	7,69±0,12	7,77±0,19	7,72±0,26	7,68±0,60	7,79±0,69	7,78±0,21	7,78±0,67	7,77±0,24	7,71±0,54	7,70±0,99	7,69±0,24	7,74±0,47	7,79±0,69	7,77±0,11	7,69±0,69

Ze získaných výsledků je možno vyvodit závěr, že skladovací podmínky mají vliv na obsah některých aminokyselin. Prezentované výsledky jsou v rozporu se studií Okamota a Hayashiho [83], kteří zjistili pokles aminokyseliny tyrosinu při skladování za teploty 40 °C a relativní vlhkosti 80 %, zatímco výsledky získané během této studie ukazují, že obsah tyrosinu zůstává v případě různých teplot skladování na stejné úrovni anebo jeho obsah stoupá. Na druhé straně Okamoto a Hayashi [82] popisují také pokles argininu a to o 10 %, což je v souladu s prezentovanými výsledky. V předložené práci byl pokles obsahu argininu sledován při skladování za použití relativních vlhkostí 23 % a 43 %, avšak pokles nebyl ovlivněn použitými vlhkostmi a byl až o 40 %. Stejný trend poklesu byl také zaznamenán u dalších aminokyselin jako je prolin, histidin a kyselina glutamová, všechny tyto výsledky jsou shodné se zjištěnými závěry již zmíněné studie Okamota a Hayashiho [83]. Další významné změny aminokyselin jsou popsány ve studii Hernández *et al.* [84] a to především ztráty lysinu, které se zvětšují s dobou skladování. Ztráty lysinu byly zaznamenány i v prezentovaných způsobech skladování. Skladování při teplotách 37 a 45 °C nemělo na obsah lysinu vliv a hodnoty se po celou dobu pohybovaly kolem počátečních. Vliv relativních vlhkostí na aminokyselinu lysin je lépe patrný u vzorku A, kdy došlo k poklesu o 25 % při teplotě 37 °C a o 43 % při teplotě 20 °C.

4.4.2. Distribuce proteinů sušeného plnotučného mléka

Distribuce proteinů sušeného mléka byla stanovena pomocí SDS-PAGE a je vyjádřena pomocí dendrogramů. Vzorky pro SDS-PAGE byly odebírány v rozmezí 30 dnů.

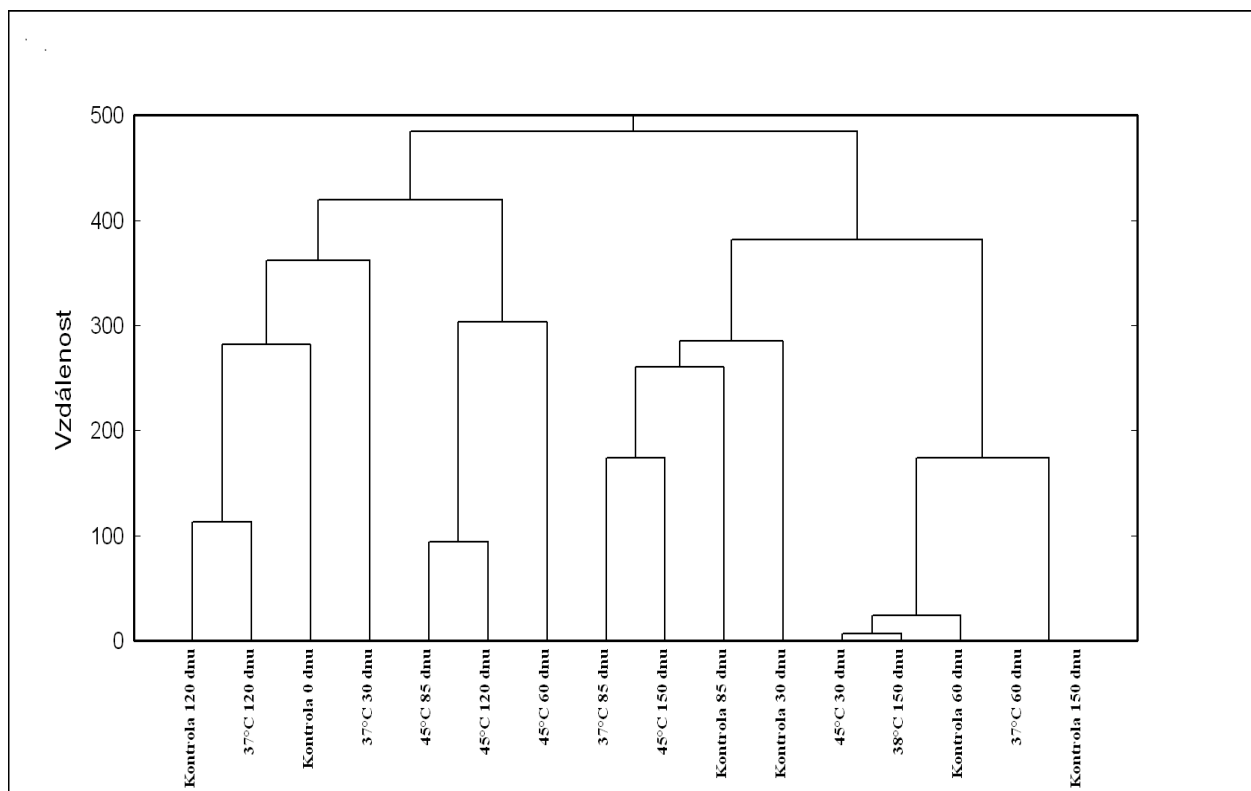
Během skladování vzorku A při různých teplotách je na dendrogramu I vidět měnící se proteinový profil. Kontrolní vzorek má ke konci skladování podobný proteinový profil. Distribuce proteinových frakcí pro kontrolu po 30 dnech, teplotu 45 °C po 30 dnech a teplotu 45 °C po 150 dnech jsou si podobné a je tomu tak i při teplotě 45 °C po 60 dnech a teplotě 37 °C po 85 a 30 dnech. Ze získaných dat nelze jednoznačně říci, která teplota skladování u vzorku A měla největší vliv na distribuci proteinů, ale lze předpokládat, že signifikantní vliv měla teplota 45 °C.



Obr. 25: Dendrogram I vzorku A skladovaného při teplotách 20 °C (kontrolní vzorek), 37 °C a 45 °C

Při skladování vzorku B za různých teplot je z dendrogramu II vidět, že distribuce proteinů ke konci skladování při teplotě 37 °C a kontrolního vzorku je podobný tomu, jaký byl zjištěn na počátku skladování. Teplota 45 °C v době skladování 60 – 120 dní v podstatě distribuci proteinů neovlivnila. Již po 30 dnech skladování došlo při teplotě 45 °C k degradaci proteinů zhruba v podobném rozsahu jako při 37 °C až po 150 dnech. Ze zaznamenaných

výsledů je možno vyvodit závěr, že vyšší teplota skladování má na degradaci proteinů negativní vliv, zatímco běžná teplota skladování nijak výrazně změny proteinů neovlivňuje.

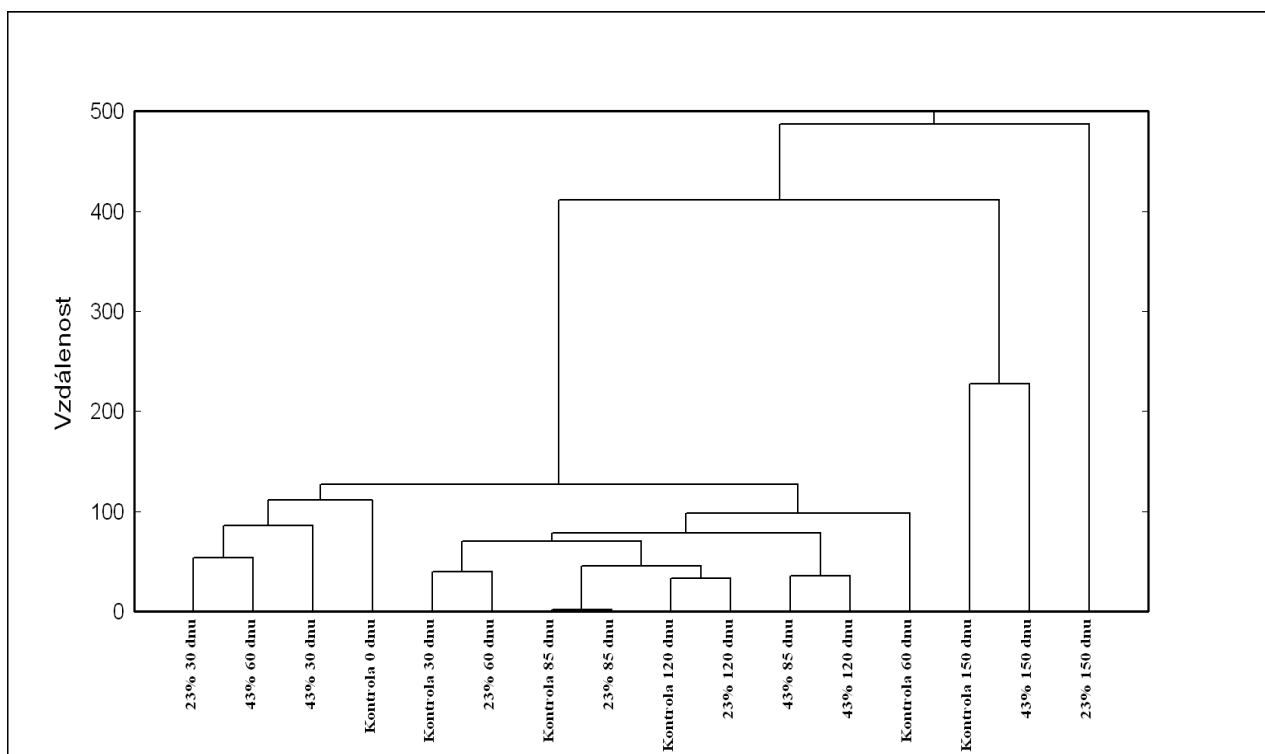


Obr. 26: Dendrogram II vzorku B skladovaného při teplotách 20 °C (kontrolní vzorek), 37 °C a 45 °C

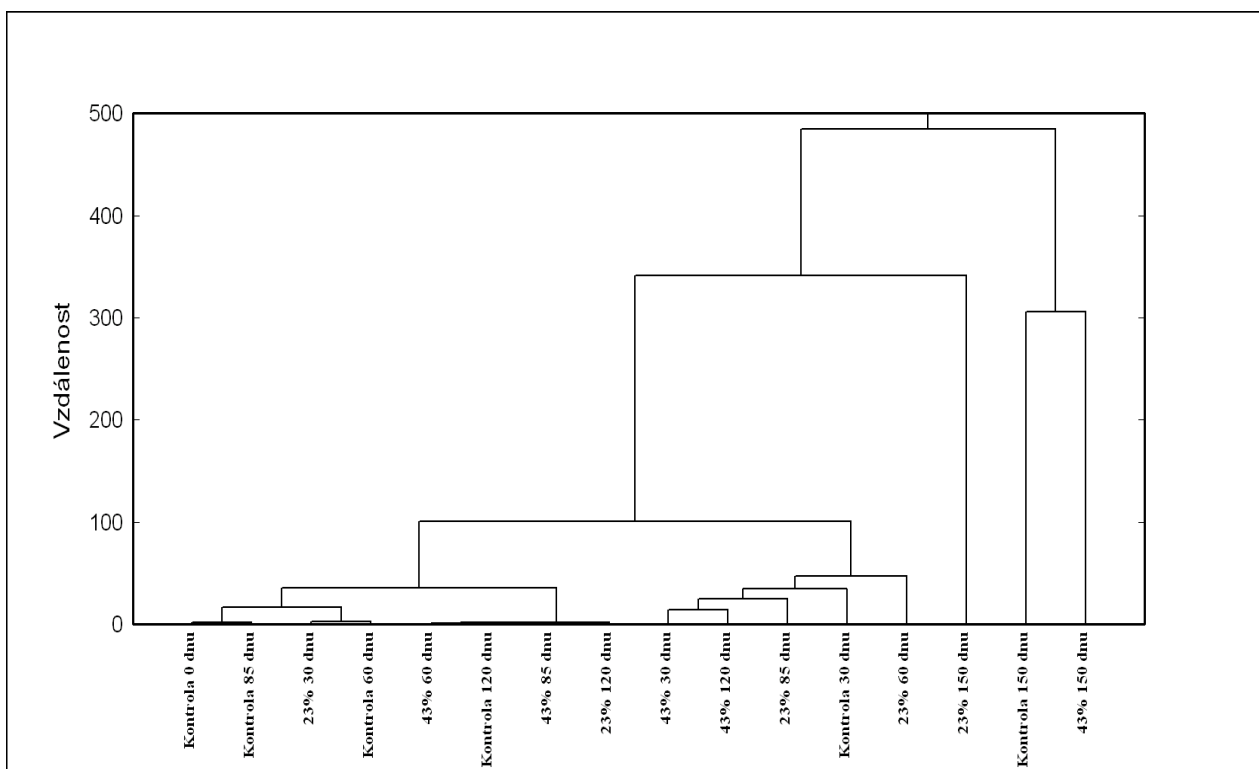
Při skladování vzorku A plnotučného sušeného mléka při teplotě 37 °C a relativních vlhkostech 23 % a 43 % je z dendrogramu III velmi dobře zřetelný vliv relativní vlhkosti. Relativní vlhkost 43 % společně s teplotou 37 °C urychluje degradaci proteinů. Shodné proteinové profily jako při vlhkosti 43 % byly nalezeny i při vlhkosti 23 %. Mezi jednotlivými vlhkostmi byl nalezen rozdíl 30 dnů. Na počátku skladování byl rozdíl 30 dnů také mezi kontrolním vzorkem a vlhkostí 23 %, avšak s postupující dobou skladování se postupně rozdíl mezi jednotlivými skladovacími podmínkami zmenšoval až do té míry, že na konci skladování (150 dnů) nebyly patrné žádné rozdíly v zastoupení proteinových frakcí.

Při skladování stejného vzorku za použití totožných relativních vlhkostí, avšak při teplotě 20 °C byly dosaženy zcela odlišné výsledky (obrázek 27). Velmi dobře se dá porovnat proteinový profil při vlhkosti 43 % mezi 60 a 85 dnem s kontrolou na vlhkostí 23 % po 120 dnech. Při skladování kontrolního

vzorku nebyly až po dobu 85 dní zaznamenány téměř žádné změny v distribuci proteinů a jsou shodné se vzorkem skladovaným při vlhkosti 23 % po 30 dnech. Stejně jako v případě vyšší teploty nebyl na konci skladování nalezen žádný výrazný rozdíl mezi jednotlivými vzorky.



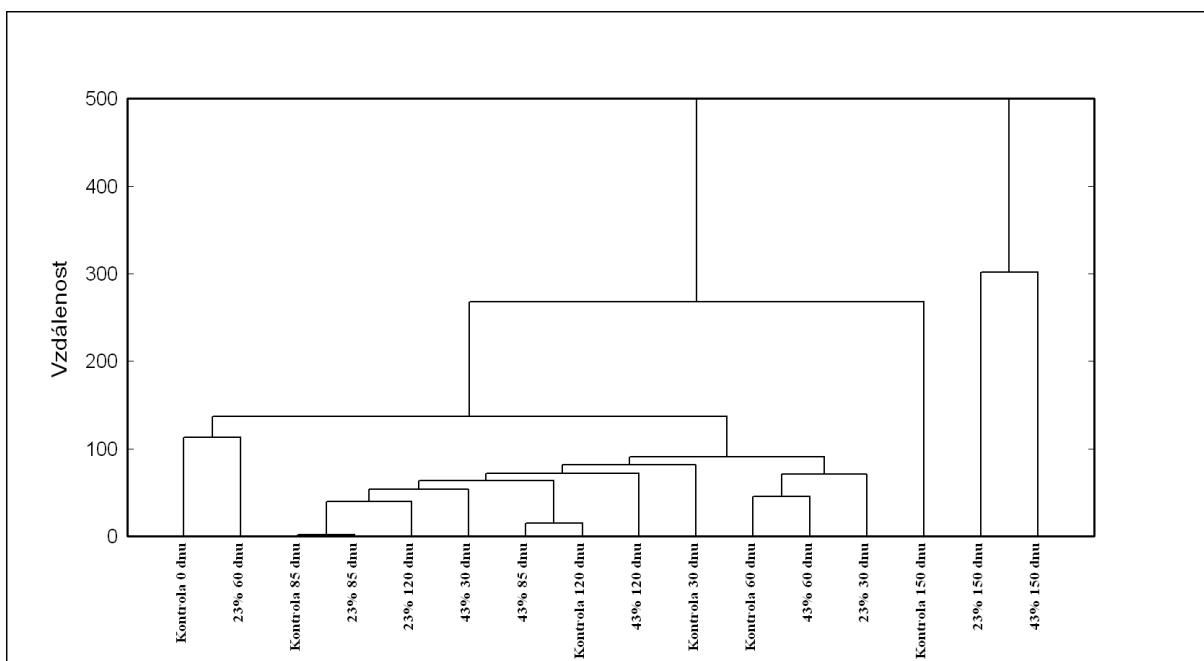
Obr. 27: Dendrogram III vzorku A skladovaného při teplotě 37 °C a relativní vlhkosti 23 % a 43 %



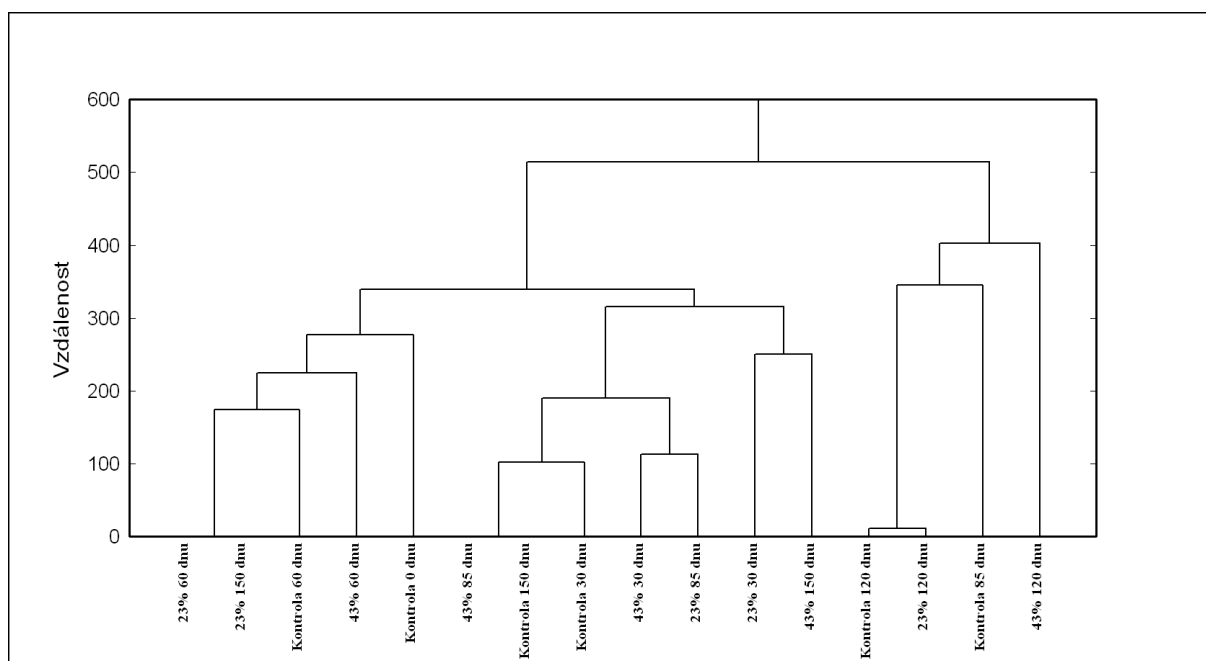
Obr. 28: Dendrogram IV vzorku A skladovaného při teplotě 20 °C a relativní vlhkosti 23 % a 43 %

Distribuce proteinových frakcí vzorku sušeného mléka B skladovaného při teplotě 37 °C a relativních vlhkostech 23 % a 43 % jsou zobrazeny na dendrogramu V. V průběhu skladování byl vidět rozdíl mezi použitými vlhkostmi. Na počátku skladování (do 60 dnů) nejsou mezi jednotlivými způsoby skladování výraznější rozdíly. Vzorek při vlhkosti 43 % po 30 dnech má obdobný profil jako vzorek při vlhkosti 23 % v rozmezí 85 – 120 dnů. Mezi 85 – 120 dnem skladování při vlhkosti 43 % nejsou téměř žádné rozdíly a jsou velmi dobře srovnatelné s kontrolním vzorkem po 120 dnech. Konec skladování má obdobný průběh jako u vzorku A, z čehož je možno usoudit, že skladování při stejných podmínkách nemá vliv na konečnou distribuci proteinů a nijak nesouvisí s historií vzorku.

Při nižší teplotě skladování 20 °C nebyly z dendrogramu VI zjištěny rozdíly mezi vzorky po 60 dnech, jelikož jejich proteinový profil je velmi podobný. Při porovnání relativních vlhkostí 23 % a 43 % je patrný rozdíl mezi 30 dny skladování, kdy při vlhkosti 23 % je degradace proteinů na úrovni 150 dnů pro vlhkost 43 % a naopak při 30 dnech skladování při 43 % je nalezena podobná distribuce proteinů jako při 23 % po 85 dnech.



Obr. 29: Dendrogram V vzorku B skladovaného při teplotě 37 °C a relativní vlhkosti 23 % a 43 %



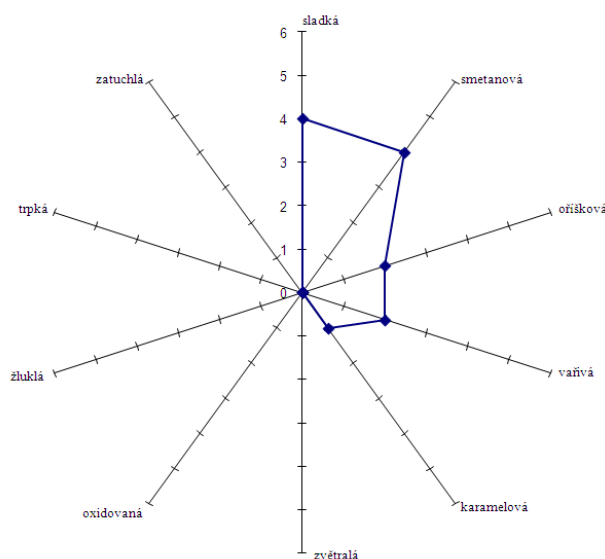
Obr. 30: Dendrogram VI vzorku B skladovaného při teplotě 20 °C a relativní vlhkosti 23 % a 43 %

Ze získaných výsledů distribuce proteinových frakcí při zvolených způsobech skladování není možno jednoznačně posoudit, které podmínky mají největší vliv na změny proteinů, jelikož se proteinové profily výrazně mění, avšak bez zřetelných závislostí na podmínkách skladování. Při skladování sušeného mléka dochází ke změnám distribuce proteinů, avšak nebyl zaznamenán výrazný vliv na vlastnosti a použití sušeného mléka. Jedním z možných důsledků degradace proteinů by mohla být zhoršující se rozpustnost sušeného mléka v průběhu skladování.

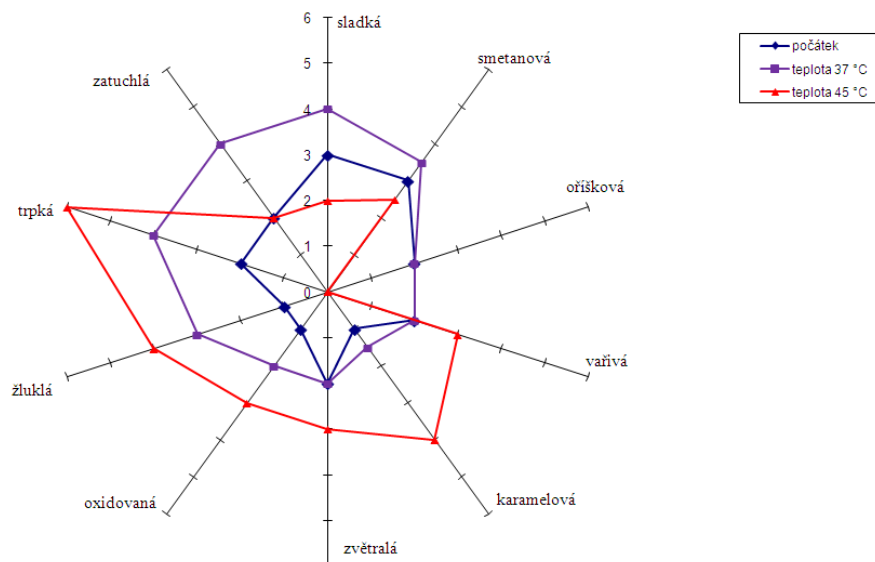
4.5. Senzorické hodnocení sušeného mléka

Senzorické hodnocení plnotučného válcově sušeného mléka bylo provedeno na počátku založení skladovacích pokusů a poté na konci skladování. Senzorické hodnocení bylo provedeno panelem hodnotitelů, který čítal 15 vybraných hodnotitelů. Sledována byla intenzita dílčí chutě a vůně. Pro jednotlivé skladovací pokusy byly vyhotoveny pavučinové diagramy.

Na počátku skladování vzorku A převažovaly v hodnocení převážně deskriptory chuti sladká a smetanová. Hodnotitelé zaznamenali také malou intenzitu vařivé příchutě, která je způsobena použitou technologií výroby sušeného mléka (obrázek 31). Na konci skladování byly zaznamenány další deskriptory chutě jako oxidovaná, žluklá, zatuchlá nebo trpká. Na konci skladování při teplotách 37 °C a 45 °C došlo k rozvoji nežádoucích chutí sušeného mléka. Nežádoucí chutě byly nejintenzivnější při teplotě 45 °C, jak je zřejmé z obrázku 32. Výsledky sensorické analýzy se shodují s daty získanými při sledování primárních a sekundárních oxidačních produktů, kde byly také nejintenzivnější změny zaznamenány při teplotě 45 °C. Vyšší skladovací teploty mají negativní vliv na rozvoj jednotlivých deskriptorů chutí sušeného mléka. Při vyšších teplotách dochází k velmi intenzivnímu rozvoji negativních chutí, které ovlivňují další použití sušeného mléka.

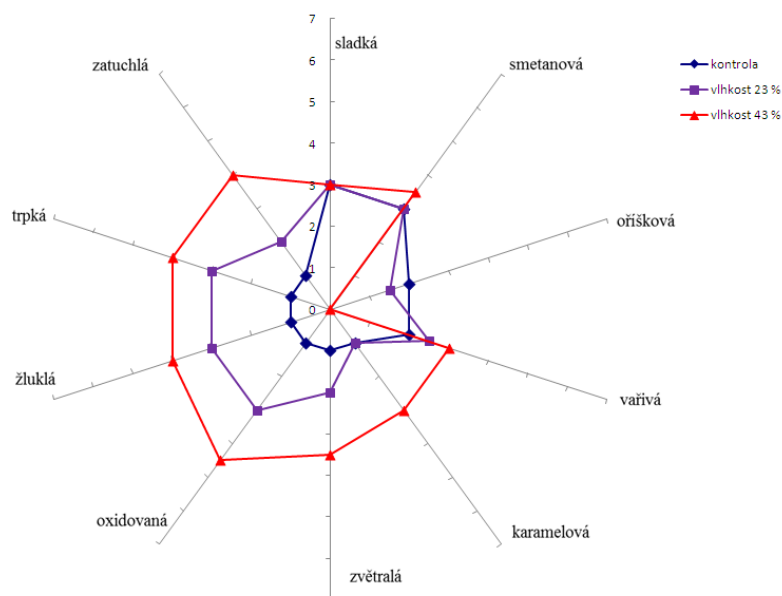


Obr. 31: Senzorické hodnocení vzorku A na počátku skladování

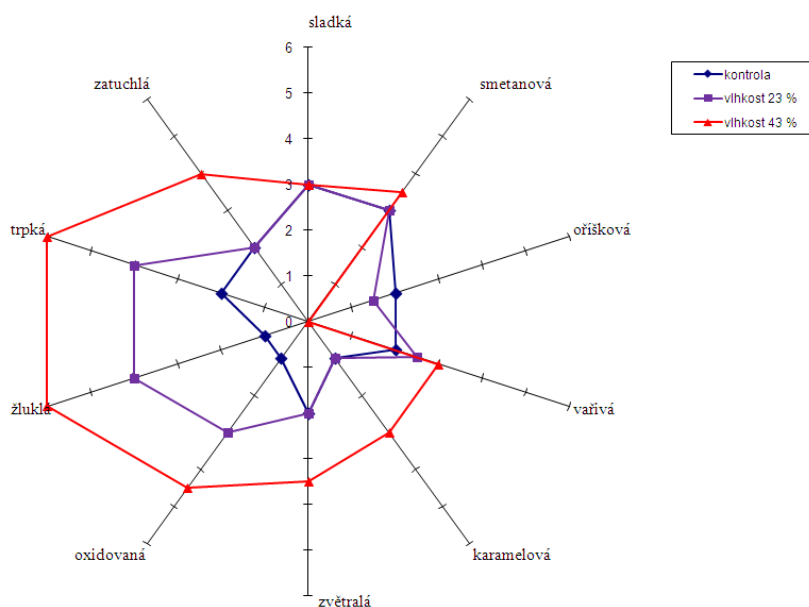


Obr. 32: Sensorické hodnocení vzorku A skladovaného při teplotách 20 °C (kontrola), 37 °C a 45 °C na konci skladování

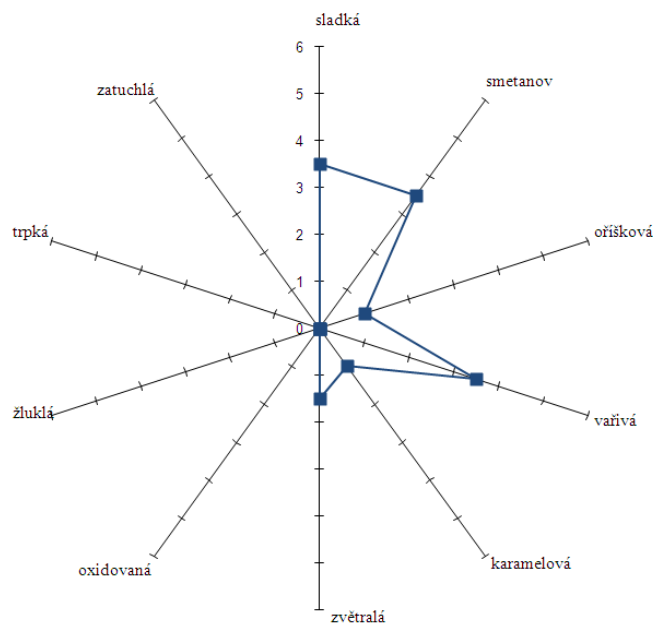
Výrazný vliv na rozvoj sensorického profilu chutí má také skladování při různých relativních vlhkostech. Sledován byl vliv vlhkosti 23 % a 43 % při teplotě 37 °C a teplotě 20 °C. Při obou skladovacích teplotách byl nejvýraznější rozvoj jednotlivých deskriptorů chutí při relativní vlhkosti 43 %. U chutí jako je žluklá a trpká bylo dosaženo maximálních hodnot intenzity a to hodnoty 6, tyto maximální hodnoty byly zaznamenány při současném působení teploty 37 °C a relativní vlhkosti 43 %. Sušené mléko vyrobené v jarních měsících podléhá při vyšší teplotě skladování a za působení relativních vlhkostí 23 % a 43 % rychleji oxidaci. Změny jednotlivých deskriptorů jsou na obrázcích 33 a 34.



Obr. 33: Sensorické hodnocení vzorku vyrobeného A skladovaného při teplotě 20 °C a relativní vlhkosti 23 % a 43 % na konci skladování

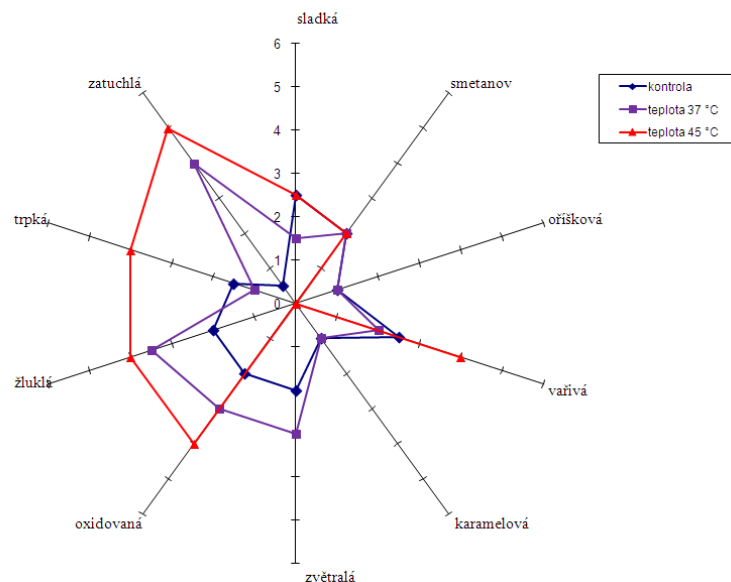


Obr. 34: Sensorické hodnocení vzorku A skladované při teplotě 37 °C a relativní vlhkosti 23 % a 43 % na konci skladování



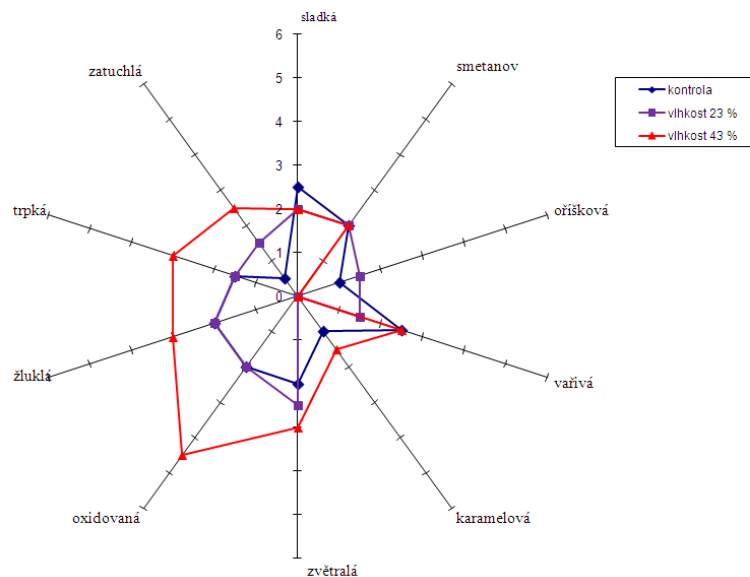
Obr. 35: *Senzorické hodnocení vzorku B na počátku skladování*

Senzorická jakost byla posuzována také u vzorku B. Z obrázku 35 je zřetelně patrné, že vzorek B má odlišný počáteční sensorický profil od vzorku A. Deskriptory smetanové a sladké chutě jsou o něco málo intenzivnější, než je tomu u vzorku A, zatímco vařivá chuť je až na hodnotě 2,5. Změny sensorického profilu válcově sušeného plnotučného mléka jsou celkem dobře porovnatelné s těmi, které probíhaly při skladování vzorku A. I v tomto případě se projevil vliv vyšších skladovacích teplot, kdy opět došlo k výraznému rozvoji negativních chutí při teplotě 45 °C (obrázek 36). Jediný významný rozdíl mezi skladovanými vzorky A a B je u kontrolního vzorku, kdy vzorek A má u deskriptorů chuti jako je oxidovaná a žluklá mnohem mírnější průběh než u vzorku B, což však může souviset již s počátečním sensorickým hodnocením.

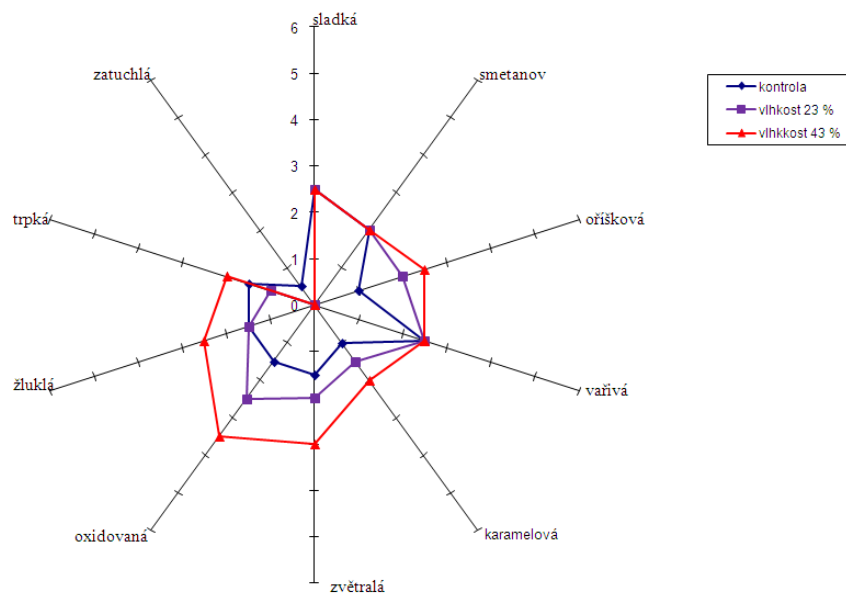


Obr. 36: *Senzorické hodnocení vzorku B skladovaného při různých teplotách 20 °C (kontrola), 37 °C a 45 °C na konci skladování*

Vzorky B byly taktéž skladovány při teplotách 37 °C a 20 °C a dvou relativních vlhkostech 23 % a 43 % (obrázky 37 a 38). Při teplotě 37 °C a vlhkosti 43 % došlo k nejvýraznějšímu rozvoji deskriptoru oxidovaná chuť. U ostatních chutí a skladovacích podmínek nebyly žádné výraznější změny sledovány. Senzorický profil vzorku skladovaného při teplotě 20 °C (obrázek 38) je téměř shodný s tím, který byl zaznamenán při teplotě 37 °C, avšak změny v intenzitě jednotlivých deskriptorů chuti jsou o něco mírnější. Stejně jako při skladování vzorku A, i zde byly nejintenzivnější změny v chuti zaznamenány při relativní vlhkosti 43 %.



Obr. 37: Sensorické hodnocení vzorku B skladovaného při teplotě 37 °C a relativní vlhkosti 23 % a 43 % na konci skladování



Obr. 38: Sensorické hodnocení vzorku B skladovaného při teplotě 20 °C a relativní vlhkosti 23 % a 43 % na konci skladování

Senzorické hodnocení skladovaných vzorků velmi dobře ve všech případech koreluje se stanovením primárních a sekundárních oxidačních produktů. Nejrychlejší změny byly zaznamenány při teplotě 45 °C a také při teplotě 37 °C za současného působení vlhkosti 43 %. Pro stanovení oxidačních změn je tedy možno zvolit buď chemické metody stanovení, nebo je se stejnou přesností možno posoudit sensorický profil intenzity jednotlivých dílčích chutí. Stanovení sensorického profilu je však mnohem náročnější a proto je s výhodou používáno chemických metod.

Hedegaard *et al.* [74] sledovali taktéž sensorickou jakost v průběhu skladování mléka. Na počátku jejich experimentů převažovala v chuti převážně sladká a oříšková chuť, což jsou stejné chutě, jako byly zjištěny u použitých vzorků v předkládané práci. Ke konci skladování Hedegaard *et al.* [74] zjistili rychlý nárůst nežádoucích chutí. Dílčí chuť u sušeného mléka byla sledována na základě studie Halla a Anderssona [85], kteří zjistili, že chuťový profil je více senzitivní než vůně. Rozvoj a intenzita jednotlivých dílčích chutí se ve studii Halla a Anderssona [85] vyvíjel podobným způsobem jako u sledovaných vzorků. Na konci skladování byly nejintenzivnější chutě jako plesnivá nebo lepenková a akceptace chuti byla téměř o polovinu nižší než na počátku skladování. Zmíněné studie popisují podobné změny sensorického profilu vzorků, jako byl zjištěný v předkládané práci.

PŘÍNOS PRÁCE PRO VĚDU A PRAXI

Válcově sušené mléko je produktem, který je díky vysokému obsahu volného tuku vyžadován a široce používán pro výroby nejkvalitnějších čokolád. Použití válcově sušeného mléka je však výrazně omezeno jeho jakostí, která je ovlivněna mírou probíhajících oxidačních a hydrolytických změn tuku. Oxidační a hydrolytické změny tuku jsou závislé na mnoha faktorech. Dominantním faktorem je obsah volného tuku (narušená stabilita emulzního stavu tuku v mléce), který je rozhodujícím faktorem pro průběh hydrolytických a oxidačních změn mléčného tuku. Dalším důležitým faktorem ovlivňujícím průběh změn mléčného tuku jsou podmínky skladování sušeného mléka. Cílem této práce bylo především ověřit rychlost a rozsah oxidace mléčného tuku v závislosti na skladovacích podmínkách a ročním období sušeného mléka. Práce byla dále zaměřena na zhodnocení sensorických změn a také změn proteinů válcově sušeného mléka v průběhu skladování.

Přínos pro vědu:

- ✓ komplexní pohled na změny mléčného tuku probíhající v závislosti na podmínkách skladování válcově sušeného mléka;
- ✓ posouzení změn proteinové frakce válcově sušeného mléka v závislosti na podmínkách skladování;
- ✓ posouzení sensorických změn válcově sušeného mléka v závislosti na podmínkách skladování.

Přínos pro praxi:

- ✓ specifikovat nejvhodnější podmínky skladování s ohledem na jakost finálního výrobku;
- ✓ doporučit podmínky skladování a na jejich základě dobu použitelnosti válcově sušeného plnotučného mléka.

ZÁVĚR

Byly studovány oxidační změny tuku válcově sušeného mléka jak v závislosti na době produkce mléka, tak v závislosti na skladovacích podmínkách. Skladovací podmínky byly modifikovány ohledem na skladování sušeného mléka přímo u výrobce a také bylo počítáno s tím, že ne vždy je možno skladovat sušené mléko ve skladech s regulovanou atmosférou.

V rámci práce byla sledována změnu obsahu primárních a sekundárních oxidačních produktů, dále změny obsahu mastných kyselin, aminokyselin, změny v proteinovém profilu a v neposlední řadě byl studován senzorický profil. Válcově sušené plnotučné mléko je substrát, který po výrobě rychle podléhá oxidačním změnám. Tyto změny jsou výraznější než je tomu u sprejově sušeného mléka a to díky používané technologii sušení, která má vliv na počáteční jakost produktu.

Nejvýraznější změny primárních a sekundárních oxidačních produktů byly zaznamenány při teplotě skladování 45 °C, která markantně urychlovala oxidaci mléčného tuku a tento trend byl shodný jak u vzorku A, tak u vzorku B. Relativní vlhkosti měly taktéž negativní vliv na rychlost oxidačních reakcí. Při relativní vlhkosti 43 % byly změny nejrychlejší a to jak při teplotě 37 °C, tak při teplotě 20 °C. Byl nalezen vztah teploty v kombinaci s relativními vlhkostmi, který má vliv na obsah mastných kyselin. Se stoupající vlhkostí se snížil obsah některých nasycených mastných kyselin, což přičítáme následným interakcím s dalšími složkami plnotučného sušeného mléka. Ve všech skladovacích pokusech došlo ke snížení obsahu nenasycených mastných kyselin, tento úbytek byl rychlejší při relativní vlhkosti 43 % a to bez jakékoliv závislosti na skladovací teplotě.

Nebyl nalezen žádný rozdíl mezi obsahem aminokyselin u vzorků sušeného plnotučného mléka skladovaných při různých teplotách. Taktéž nebyl zjištěn vliv relativních vlhkostí na obsah jednotlivých aminokyselin. Při skladování v atmosféře s upravenou relativní vlhkostí došlo k poklesu obsahu aminokyselin při obou relativních vlhkostech (23 % a 43 %). Pokles obsahu aminokyselin byl shodný i při skladování za teplot 20 °C a 37 °C. Při dalším sledování změn proteinů válcově sušeného plnotučného mléka byla věnována pozornost distribuci proteinů. Ze získaných výsledků distribuce proteinových frakcí při zvolených způsobech skladování není možno jednoznačně posoudit, které podmínky mají největší vliv na změny proteinů, jelikož se proteinové profily výrazně mění, avšak bez zřetelných závislostí na podmínkách skladování. Jedním z reálných důsledků degradace proteinů by mohla být zhoršující se rozpustnost sušeného mléka v průběhu skladování.

V rámci studie oxidačních a hydrolytických změn tuku sušeného mléka byly sledovány změny sensorické jakosti, konkrétně byly hodnoceny změny sensorického profilu chutí. V průběhu skladování došlo k výrazným změnám v dílčích chutích obnoveného sušeného mléka. Negativní vliv na sensorickou jakost plnotučného sušeného mléka měly všechny zvolené podmínky skladování mimo kontrolního vzorku. Největší rozvoj žluklé chuti byl zaznamenán při všech teplotách skladování a také obou relativních vlhkostech.

Závěrem je možno dát doporučení skladovat válcově sušené plnotučné mléko při teplotě 20 °C na tmavém místě a v obalu, který nepropouští vlhkost ani plyny. Pokud není možno skladovat sušené plnotučné mléko při vhodných podmínkách, je nutno brát v potaz probíhající oxidační změny a na jejich základě upravit dobu použitelnosti a to jejím zkrácením na 2 měsíce.

SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] GAJDŮŠEK, S. *Laktologie*. 1. vydání. Brno: Mendlova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2003, ISBN 80-7157-657-3.
- [2] CHRISTIE, W. W. *Advanced Dairy Chemistry: Volume 2: Lipids*. 2. Vydání. London: Chapman & Hall, 1995. Kapitola 1,: Composition and structure of milk lipids (s. 1-36).ISBN 0-412-60620-8.
- [3] AINSWORTH, P. *The factors determining the quality of milk and heat-treated milk products*. Department of Food and Consumer Technology, Manchestech Metropolitan University, 1996.
- [4] WALSTRA, P., JENNES, R. *Dairy Chemistry and Physics*. New York: Wiley Interscience, 1984. ISBN 0-471-09779-9.
- [5] HRABĚ, J., BŘEZINA, P., VALÁŠEK, P. *Technologie výroby potravin živočišného původu*. 1. vydání Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2006, ISBN 80-7318-405-2.
- [6] BŘEZINA, P., JELÍNEK, J. *Chemie a technologie mléka 1. část*. 1. vydání. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická Praha, 1990. ISBN 80-7080-075-5.
- [7] GRUMMER, R. R. Effect of feed on the composition of milk fat. *Journal of Dairy Science.*, 1991, **74**(9), 3244 – 3257. ISSN 0022-0302.
- [8] HOZA, I., KRAMÁŘOVÁ, D. *Potravinářská biochemie I*. 1.vydání. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2005. ISBN 80-7318-295-5.
- [9] KURTS, F. E. *Fundamentals of Dairy Chemistry*. 2. Vydání. Westport: The Avi Publishing Company, 1974. Kapitola: The lipids of milk: composition and properties (s. 125 – 219). ISBN 0870551434.
- [10] JENSEN, R. G., CLARK, R. W. *Fundamentals of Dairy Chemistry*. 3. Vydání. Maryland: Aspen Publishers, 1988. Kapitola 4: Lipid composition and properties (s. 171 – 213).ISBN 0-8342-1360-5.
- [11] BANKS, W., CLAPPERTON, J. L. GIRDLER, A. K. Effect of dietary unsaturated fatty acids in various forms on the *de novo* synthesis of fatty acids in the bovine mammary gland. *Journal of Dairy Research*, 1990, **57** (02), 179 – 185. ISSN 0022-0299.
- [12] AL-SHAHIBI, M. M., LANGER, E. H., TOBIAS, J., TUCKEY, S. L. Effect of added fatty acids on the flavor of milk. *Journal of Dairy Science*, 1964, **47**(3), 295 – 296. ISSN 0022-0302.
- [13] VULFSON, E. N. Industrial application of lipases. Cambridge University Press, 1994, s. 271 – 313.

- [14] ARNOLD, R. G., SHAHANI, K. M., DWIVEDI, B. K. Application of lipolytic enzymes to flavor development in dairy products. *Journal of Dairy Science*, 1975, **58**(8), 1127 – 1143. ISSN 0022-0302.
- [15] SHIPE, W. F. *The analysis and control of less-desirable flavors in foods and beverages*. Massachusetts: Academic Press, 1980. Kapitola: Analysis and control of milk flavor(s. 201 – 239). ISBN 0121690652.
- [16] DAVIDEK, J., JANÍČEK, G., POKORNÝ J. *Chemie potravin*. 1. Vydání. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1983.
- [17] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin I*. 1. Vydání. Praha: OSSIS Praha, 1999, ISBN 80-90239-3-7.
- [18] ANDERSON, M., HEESCHEN, W., JELLEMA, A. *Determination of free acid in milk and milk products*. International Dairy Federation Bulletin no. 265, 1991, Brussels: IDF.
- [19] IDF: *Proceedings of the lipolysis Symposium held in Cork, Ireland, March 1975*. International Dairy Federation Bulletin no. 86, 1975, Brussels: IDF.
- [20] IDF: *Flavour impairment of milk and milk products due to lipolysis*. International Dairy Federation Bulletin no. 118, 1980, Brussels: IDF.
- [21] IDF: *Significance of lipolysis in the manufacture and storage of dairy products*. International Dairy Federation Bulletin no. 144, 1987, Brussels: IDF.
- [22] TKACZOVÁ, M. *Výživa a zdravie*. 1996, ročník 41.
- [23] TUREK, B., HRUBÝ, S., ČERNÁ M. *Nutriční toxikologie*. 1. Vydání. Brno: Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví, 1994. ISBN 80-7013-177-2.
- [24] COGAN, T. M. A review of heat resistant lipases and proteinases and the quality of dairy products. *Irish Journal of Food Science and Technology*, 1995, **1** (95) - 105. ISSN: 0332-0375.
- [25] DEETH, H. C., FITZ-GERALD, C. H. *Advanced Dairy Chemistry: Volume 2: Lipids*. 2. Vydání. London: Chapman & Hall, 1995. Kapitola 15.: Lipolytic enzymes and hydrolytic rancidity(s. 481 – 530). ISBN 0-412-60620-8.
- [26] DEETH, H. C., TOUCH, V. Methods for detecting lipase activity in milk and mil products. *Australian Journal of Dairy Technology*. 2000, **55**(3), 153 – 168. ISSN 0004-9433. OLIVERCONA, T., BENGTSSON-

- [27] OLIVERCONA, G. Indigenous enzymes in milk 2: Lipases. *Food Enzymology*. 1991, vol. 1, s. 62 – 78. CHEN, L., DANIEL, R. M.,
- [28] COOLBEAR, T. Detection and impact of protease and lipase activities in milk and milk powders. *International Dairy Journal*. 2003, **13**(4), 255 - 275. ISSN 0958-6946.
- [29] JANDAL, J. M. Some factors affecting lipase activity in goat milk. *Small Ruminant Research*. 1995, **16**(1), 87 – 91. ISSN: 0921-4488.
- [30] JENSEN, R. G., DEJONG, F. A., CLARK, R. M. Determination of lipase specificity. *Lipids*, 1983, **18**(3), 239 – 252. ISBN 0024-4201.
- [31] MACRAE, A. R. *Microbial enzymes and biotechnology*. 1. Vydání. New York: Applied science Publishers, 1983. Kapitola: Extracellular microbial lipases(s. 225 – 249). ISBN 0853341850.
- [32] JAEGER, K. E., RANSAC, S., DIJKSTRA, B. W. COLSON, C., VAN HEUVEL, M., MISSET, O. Bacterial lipases. *FEMS Microbiology Reviews*, 1994, **15**(1), 29 – 63. ISSN 0168-6445.
- [33] APRINGY, J. L., JAEGER, K. E. Bacterial lipolytic enzymes\). Classification and properties. *Biochemical Journal*, 1999, **343**(1), 177 – 183. ISSN 0264-6021.
- [34] FOX, P. F., STEPANIAK, L. Isolation and some properties of extracellular heat-stable lipases from *Pseudomonas fluorescens* strains ATF 36. *Journal of Dairy Research*, 1983, **50**(1), 77 – 89. ISSN 0022-0299.
- [35] STUER, W., JAEGER, K. E., WINKLER, U. K. Purification of extracellular lipase from *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Bacteriology*, 1986, **168**(3), 1070 - 1074. ISSN 0021-9193.
- [36] SIDHU, P., SHARMA, R., SONI, S. K. GUPTA, J. K. Production of extracellular alkaline lipase by a new thermophilic *Bacillus* sp. *Folia Microbiologica*, 1998, **43**(1), 51 – 54. ISSN 0015-5632.
- [37] LAW, B. A., SHARP, M. E., CHAPMAN, H. R. The effect of lipolytic gram-negative psychrotrophs in stored milk on the development of rancidity in cheddar cheese. *Journal of Dairy Research*, 1976, **43** (03), 459 – 468. ISSN: 0022-0299.
- [38] FITZ-GERALD, C. H., DEETH, H. C., COGHILL, D. M., Low temperature inactivation of lipases from psychrotrophic bacteria. *Australian Journal of Dairy Technology*, 1982, **37** (2), 51 – 54. ISSN 0004-9433.
- [39] KOKA, R., WEINER, B. C. Production of multiple lipolytic enzymes in *Pseudomonas*. 1999, s. 181 – 182.

- [40] ANDERSON, R. E., HEDLUND, C. B., JONSSON, U. Thermal inactivation of a heat-resistant lipase produced by the psychrotrophic bacterium *Pseudomonas fluorescens*. *Journal of Dairy Science*, 1979, **62** (3), 361 – 367. ISSN 0022-0302
- [41] POKORNÝ, J., PÁNEK, J. *Základy výživy a výživová politika*. 1. vydání Praha: Vysoká škola chemicko-technologická Praha, 1996. ISBN 80-7080-260-X.
- [42] KYZLINK, V. *Teoretické základy konzervace potravin*. 1. vydání Vysoká škola chemicko-technologická Praha: SNTL Praha, 1988.
- [43] BRADLEY, D. G., MIN, D. B. Silent oxygen oxidation of foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1992, **31** (3), 211-236. ISSN 1040-8398.
- [44] HAMILTON, R. J. *Rancidity in Foods*. 3. Vydání. Maryland: Aspen Publishers, 1983. Kapitola: The chemistry of rancidity in foods (s. 1-20). ISBN 0-7514-0219-2.
- [45] KANNER, J. GERMAN, J. B., KINSELLA, J. E. Initiation of lipid peroxidation in biological systems. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1987, **35** (3), 317-364. ISSN 1040-8398.
- [46] O'CONNOR, T. P., O'BRIEN, N. M. *Advanced Dairy Chemistry: Volume 2: Lipids*. 2. Vydání. London: Chapman & Hall, 1995. Kapitola 16,: Lipid oxidation (s. 309-347). ISBN 0-412-60620-8.
- [47] PARKS, O. P., KEENEY, M., SHWARTZ, D. P. Carbonyl compounds associated with the off-flavor in spontaneously oxidized milk. *Journal of Dairy Science*, 1962, **46** (4), 295 – 301. ISSN 0022-0302
- [48] SIEK, T. J., LINDSAY, R. C. Volatile components of milk fat steam distillates identified by gas chromatography and mass spectrometry. *Journal of Dairy Science*, 1968, **51** (12), 1887 – 1896. ISSN 0022-0302.
- [49] DAY, E. A., LILLARD, D. A. Autooxidation of milk lipids. I. Identification of monocarbonyl volatile compounds from autoxidized milk fat. *Journal of Dairy Science*, 1959, **43** (5), 585 – 597. ISSN 0022-0302.
- [50] HIDALGO, F. J., ALAIZ, M., ZAMORA, R. Effect of pH and temperature on comparative nonenzymatic browning of proteins produced by oxidized lipids and carbohydrates. *Journal Agric. Food Chem.*, 1999, **47** (2), 742 – 747. ISSN 0021-856.
- [51] HIDALGO, F. J., ZAMORA, R. The role of lipids in nonenzymatic browning. *Grasas y Aceites*, 2000, **51** (1-2), 35 – 49. ISSN 0017-3495
- [52] FARES, K., LANDY, P., GUILARD, R., VOILLEY, A. Physicochemical interactions between aroma compounds and milk

- proteins: Effect of water and protein modification. *Journal of Dairy Science*. 1998, **81** (1), 82 – 91. ISSN 0022-0302.
- [53] HIDALGO, F., ZAMORA, R. Interplay between the Maillard reaction and lipid peroxidation in biochemical systems. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2005, 1043, 319 - 326. ISSN 0077-8923.
- [54] STAPELFELDT, H., NIELSEN, B. R., SKIBSTED, L. H. Effect of heat treatment, water activity and storage temperature on the oxidative stability of whole milk powder. *International Dairy Journal*. 1997, **7** (5), 331 – 339. ISSN 0958-6946.
- [55] MORGAN, F., LÉONIL, J., MOLLÉ, D., BOUHALLAB, S. Modification of bovine β -lactoglobulin by glycation in a powdered state or in aqueous solution: Effect on association behavior and protein conformation. *J. Agric. Food Chem.* 1999, **47** (1), 83 – 91. ISSN 0021-856.
- [56] MC KENNA, A. B., LLOYD, R. J., MUNRO, P. A. SINGH, H. Microstructure of whole milk powder, and of insolubles detected by powder functional testing. *Scanning*. 1999, **21** (5), 305 – 315. ISSN 0161-0457.
- [57] EUSTON, S. R., HIRST, R. L. Comparison of the concentration dependant emulsifying properties of protein products containing aggregated and non-aggregated milk proteins. *Int. Dairy Journal*. 1999, **9** (10), 693 – 701. ISSN 0958-6946.
- [58] SRINIVASAN, M., SINGH, H., MUNRO, P. A. Creaming stability of oil-in-water emulsions formed with sodium and calcium caseinates. *Journal of Food Science*. 2001, **66** (5), 441 – 446. ISSN 1996-0794.
- [59] CARÍĆ, M. *Concentrated and dried dairy products: General production*. Wiley, John and Sons, New York, 1994. ISBN 9783527895311.
- [60] PÍSECKÝ, J. *Handbook of milk powder manufacturing general production*. Copenhagen, Denmark 1994. Niro A/S. ISBN 87-986606-0-8.
- [61] ČESKO. Vyhláška ministerstva zemědělství č. 77/2003 Sb.
- [62] BYLUND, G. *Dairy processing handbook*. 1. vydání. Tetra Pak Processing Systems ABS-221 86 Lund, Sweden . Kapitola 17: Milk and whey powder (s. 375 – 387).
- [63] HUI, Y. H. *Dairy science and technology handbook*. VCH Publishers Inc New York., 1993. díl 2, kapitola 4: Concentrated and dried dairy products. ISBN 3527281622.
- [64] BELITZ, H. D., GROSCH, W., SCHIEBERLE, P. *Food Chemistry*. 4. vydání. SPRINGER, Berlin, 2009. ISBN 978-3-540-69933-0.

- [65] ROGINSKI, H., FUQUAY, J. W., FOX, P. F. *Encyclopedia of dairy science: volume 1*. Academic Press London, 2003. ISBN 0122272358.
- [66] BRENNAN, J. G. *Food processing handbook*. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany, 2006. ISBN 3-527-30719-2.
- [67] TAMIME, A. Y. *Structure of dairy products*. 1. vydání. Blackwell Publishing Ltd., 2007. Kapitola 5.: Microstructure of concentrated and dried milk product (s. 104 – 133). ISBN 978-1-4051-2975-6.
- [68] ČSN ISO 57 0105, Metody zkoušení mléčných výrobků sušených a zahuštěných, Český normalizační institut, 1965.
- [69] OSTDAL, H., ANDERSEN, H. J., NIELSEN, J. H. Antioxidative activity of urate bovine milk. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 2002. **48** (11), 5588 – 5592. ISSN 0021-856.
- [70] *Český lékopis*. Grada Publishing a. s., Praha, 2002. Kapitola 2.5.5. Číslo peroxidové (s. 313).
- [71] KING, R. L. Oxidation of milk fat globule membráně material. I. thiobarbituric acid reaction as a measure of oxidized flavor in milk and models systems. *Journal of Dairy Science*. 1962. **46** (4), 1165 – 1171. ISSN 0022-0302.
- [72] DAVÍDEK, J. a kol. *Laboratorní příručka analýzy potravin*. 2. vydání. SNTL, Praha, 1981. ISBN 04 -814-81.
- [73] SAMBROOK, J., RUSSELL, D.W. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3. vydání. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001. 999 s. ISBN 978-087969577-4 (v.1-3).
- [74] HEDEGAARD, R. V., KRISTENSEN, D., NIELSEN, J. H., FROST, M. B., OSTDAL, H., HERMANSEN, J. E., KROGER-OLSEN, M., SKIBSTED, L. H. Comparison of descriptive sensory analysis and chemici analysis for oxidative changes in milk. *Journal of Dairy Science*. 2006, **89** (2), 495 – 504. ISSN. 1525-3198.
- [75] STAPELFELDT, H., NIELSEN, B. R., SKIBSTED, L. F. Effect of heat treatment, water activity and storage temperature on the oxidative stability of whole milk powder. *Int. Dairy Journal*. 1997, **7** (5), 331 – 339. ISSN 0958-6946.
- [76] NIELSEN, B. R., STAPELFELDT, H., SKIBSTED, L. H. Early prediction of the shelf-life of medium-heat whole milk powders using stepwise multiple regression and principal component analysis. *Int. Dairy Journal*. 1997, **7** (5), s. 341 – 348. ISSN 0958-6946.

- [77] ROMEU-NADAL, M., CHÁVEZ-SERVÍN, J. L., CASTELLOTE, A. I., RIVERO, M., LÓPEZ-SABATER, M. C. Oxidation stability of the lipid fraction in milk powder formulas. *Food Chemistry*. 2007, **100** (2), 756-763. ISSN: 0308-8146.
- [78] CELESTINO, E. L., IYER, M., ROGINSKI, H. The effects of refrigerated storage of raw milk on the quality of whole milk powder stored for different periods. *Int. Dairy Journal*. 1997, **7** (2-3), 119–127. ISSN 0958-6946.
- [79] MC CLUSKEY, S., CONNOLLY, J. F., DEVERY, R., O'BRIEN, B., KELLY, J., HARRINGTON, D., STANTON C. Lipid and cholesterol oxidation in whole milk powder during processing and storage. *Journal of Food Science*. 1997, **62** (2), 331-337. ISSN 1996-0794.
- [80] PÁEZ, R., PENSEL, N., SABBAG, N., TAVERNA, M., CAUTRÍN, A. Changes of free fatty acid composition during storage of whole milk powder. *International Journal of Dairy Technology*. 2006, **59** (4), 236-241. ISSN: 1471-0307.
- [81] ULBERTH, F., ROUBICEK, D. Monitoring of oxidative deterioration of milk powder by headspace gas chromatography. *International Dairy Journal*. 1995, **5**, 523 – 531. ISSN 0958-6946.
- [82] VALERO, E., VILLAMIEL, M., MIRALLES, B., SANZ, J., MARTÍNEZ-CASTRO, I. Changes in flavor and volatile components during storage of whole and skimmed UHT milk. *Food Chemistry*. 2001, **72**, 51 – 58. ISSN: 0308-8146.
- [83] OKAMOTO, M., HAYASHI, R. Chemical and nutritional changes of milk powder proteins under various activity. *Agric. Biol. Chem.* 1985, **49** (6), 1683 – 1687. ISSN 0002-1369.
- [84] GUERRA-HERNÁNDEZ, E., LEON, C., CORZO, N., GARCÍA-VILLANOVA, B., ROMERA, J. M. Chemical changes in powdered infant formulas during storage. *International Journal of Dairy Technology*. 2002, **55** (4), 171 – 176. ISSN: 1471-0307.
- [85] HALL, G., ANDERSSON, J. Flavour changes in whole milk powder during storage III. relationship between flavor properties and volatile compounds. *Journal of Food Quality*. 1985, **7** (4), 237 – 253. ISSN 0146-9428.

PUBLIKAČNÍ ČINNOST

Příspěvek v mezinárodním časopise

OKÉNKOVA, E., KREJČÍ, J., HRABĚ, J., VÍCHA, R.: Oxidative changes of milk fat in dry milk stored under various conditions. *Ecological Chemistry and Engineering A*. 2009, **16** (12). ISSN 1898-6196.

VAŇÁTKOVÁ, Z., OKÉNKOVA, E., BUŇKOVÁ, L., DRÁB, V., HRABĚ, J. Molecular diagnostic of *Streptococcus thermophilus*. *Ecological Chemistry and Engineering A*. 2009, **16**(12), 1627-1635. ISSN 1898-6196.

Příspěvky v recenzovaném časopise bez impaktu faktoru

PROCHÁZKOVÁ, E., HRABĚ, J., KREJČÍ, J., ONIPCHENKO, N. Vliv relativní vlhkosti na změnu obsahu primárních a sekundárních oxidačních produktů tuku sušeného plnotučného mléka. *Mlékařské listy* 130. 2012, IX – XII. ISSN 1212 – 950 X.

ONIPCHENKO, N., DOLEŽALOVA, M., PROCHÁZKOVÁ, E., MARTINKOVÁ, I., HRABĚ, J. Změny mikroflóry během výroby pařených sýrů. *Mlékařské listy* – submitted.

Příspěvky ve sbornících z konferencí v českém jazyce

OKÉNKOVA, E., VALÁŠEK, P., ROP, O., ČERNÁ, M.: Vliv rafinace na kvalitativní parametry a stabilitu rostlinných olejů. In *Sborník konference: Bezpečnost a kontrola potravin*. SPU Nitra 2007, p. 402 – 406, ISBN 978-808069-861-4 (II díl).

OKÉNKOVA, E., HRABĚ, J., BUŇKA, F., KREJČÍ, J.: Vliv skladování na stabilitu proteinů v sušeném plnotučném mléku. In *Sborník konference: XXXIX Symposium o nových směrech výroby a hodnocení potravin*. VÚP Praha 2008. ISSN 1802-1433.

OKÉNKOVA, E., OTŘÍŠAL, P., ČERNÁ, M., ROP, O., HRABĚ, J.: Srovnání titrační kyselosti a obsahu cukru v plodech krajových odrůd jablek. In *sborník konference: XXXVIII. Symposium o nových směrech výroby a hodnocení potravin*. VÚP Praha 2007, p. 355 – 357, ISSN 1802-1433.

ROP, O., ČERNÁ, M., ČERNOTÍK, J., SEVEROVÁ, M., OKÉNKOVA, E., HRABĚ, J.: Vliv stupňovaných dávek molybdenu na jakostní ukazatele

bramborových hlíz. In *Sborník konference: Bezpečnost a kontrola potravin*. SPU Nitra 2007, p. 172 – 173. ISBN 978-80-8069-860-7 (I diel).

ČERNÁ, M., OKÉNKOVÁ, E., ROP, O., BUŇKA, F., KRÁČMAR, S., HORNA, A.: Vliv půdního zinku na jakostní ukazatele a chemické složení bramborových hlíz. In *Sborník konference: XXXVIII. Symposium o nových směrech výroby a hodnocení potravin*. VÚP Praha 2007, p. 111 - 114. ISSN 1802-1433.

CURRICULUM VITAE

Jméno: Ing. Eva Procházková (roz. Okénková)
Adresa: Kunčina 103, 569 24
Telefon: +420 774 821 313
E-mail: evcaprochazkova@centrum.cz
Datum narození: 13. červen 1982
Stav: vdaná

Vzdělání:

1997 – 2001 Střední průmyslová a Vyšší odborná škola
potravinářské technologie ve Bzenci
2001 – 2006 Univerzita Tomáše Bari ve Zlíně, Fakulta
technologická, Chemie a technologie potravin,
obor Technologie a ekonomika výroby tuků,
detergentů a kosmetiky
2006 – doposud Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta
technologická, doktorský studijní program
Technologie potravin, Ústav potravinářského
inženýrství (kombinovaná forma)

Pracovní zkušenosti:

1. 9. 2007 – 31. 8. 2009 Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta
technologická, Ústav potravinářského inženýrství,
asistent
1. 9. 2009 - doposud Contipro Biotech s. r. o., výzkumný pracovník

Dovednosti:

- Jazykové znalosti anglický jazyk – certifikát FCE
- Práce s PC MC Office (Word, Excel, PowerPoint, Outlook),
Internet Explorer,
- Ostatní řídičský průkaz skupiny B

PŘÍLOHA P1: PROTOKOL SENZORICKÉHO HODNOCENÍ SUŠENÉHO MLÉKA

Hodnocení sušeného mléka

Jméno a příjmení: Datum: Čas:

Rodinný stav: Zdravotní stav:

Dílčí chuti a vůně obnoveného mléka a jejich intenzita

Očichejte a ochutnejte předložené vzorky obnoveného sušeného mléka a určete, jak se na celkovém vjemu chuti a vůně podílejí různé dílčí chuti a vůně

- 0 – dílčí chuť a vůně není vůbec zastoupena
- 1 – dílčí chuť a vůně je jen nepatrně zastoupena
- 2 – dílčí chuť a vůně jen zaokrouhluje nebo doplňuje celkový vjem
- 3 – dílčí chuť a vůně je zřetelně zastoupena
- 4 – dílčí chuť a vůně patří k hlavnímu celkovému vjemu
- 5 – dílčí chuť a vůně je převažující
- 6 – dílčí chuť a vůně naprosto převažuje v celkovém vjemu

vzorek	dílčí chuť a vůně	intenzita
	sladká	
	smetanová	
	oříšková	
	vařivá	
	karamelová	
	zvětralá	
	oxidovaná	
	žluklá	
	trpká	
	zatuchlá	