

## **Maillard'i reaktsioon lõssipulbris ja niiskuse mõju selle toimumisele**

Magistritöö

Üliõpilane: Maarja Maasikmets

Juhendaja: Kärt Saarniit, MSc;  
Tallinna Tehnikaülikooli Keemia ja  
biotehnoloogia instituut,  
doktorant; AS Toidu- ja  
Fermentatsioonitehnoloogia  
Arenduskeskus, teadur

Õppekava: KATM 02/18 –  
Toidutehnoloogia ja -arendus

## Autorideklaratsioon

Kinnitan, et olen koostanud antud lõputöö iseseisvalt ning seda ei ole kellegi teise poolt varem kaitsmisele esitatud. Kõik töö koostamisel kasutatud teiste autorite tööd, olulised seisukohad, kirjandusallikatest ja mujalt pärinevad andmed on töös viidatud.

Autor: Maarja Maasikmets

[allkiri ja kuupäev]

Töö vastab magistritööle esitatavatele nõuetele.

Juhendaja: Kärt Saarniit

[allkiri ja kuupäev]

Töö on lubatud kaitsmisele.

Kaitsmiskomisjoni esimees: Toomas Paalme

[allkiri ja kuupäev]

## Sisukord

Annotatsioon.....	5
Abstract .....	6
Sissejuhatus.....	7
1. Kirjanduse ülevaade .....	8
1.1 Toidu säilivusaeg ja hoiustamistingimuste mõju sellele .....	8
1.1.1 Säilivusaeg .....	8
1.1.2 Hoiustamistingimuste mõju säilivusele .....	9
1.1.3 Pakendi valik säilivuse tagamiseks .....	10
1.1.4 Lössipulber .....	14
1.2 Maillardi reaktsioon .....	15
1.2.1 Maillardi reaktsiooni mehhanismid .....	16
1.2.2 Maillardi reaktsioon piimapulbrites .....	17
2. Töö eesmärk.....	19
3. Eksperimentaalne osa .....	20
3.1 Materjalid ja meetodid.....	20
3.1.1 Lössipulber ja pakendamine.....	20
3.1.2 Katse hoiutingimused.....	20
3.1.3 Gaasianalüüs pakkekeskkonnast ja pH-analüüs.....	21
3.1.4 Niiskussisalduse ja veeaktiivsuse analüüs.....	21
3.1.5 Kolorimeetria.....	21
3.1.6 Kirjeldav sensoorne analüüs.....	22
3.1.7 Suhkrute sisalduse analüüs HPLC meetodil.....	22
3.1.8 Aminohapete analüüs LC-MS meetodil.....	23
3.1.9 Lenduvate ühendite analüüs SPME-GC-MS meetodil.....	23
3.2 Tulemused ja arutelu.....	24
3.2.1 Gaasianalüüs pakkekeskkonnast.....	24
3.2.2 pH-analüüs .....	25
3.2.3 Niiskusesisalduse ja veeaktiivsuse analüüs.....	25
3.2.4 Kolorimeetria.....	27
3.2.5 Kirjeldav sensoorne analüüs.....	28
3.2.6 Suhkrute sisalduse analüüs .....	31
3.2.7 Aminohapete analüüs .....	32
3.2.8 Lenduvate ühendite analüüs.....	33

3.3 Järeldused .....	36
Kokkuvõte.....	37
Tänuavaldused .....	38
Kasutatud kirjandus.....	39
Lisad.....	43
Lisa 1.....	43
Lisa 2.....	44

## Annotatsioon

Toidu toodetele on määratud säilivusaeg, mille jooksul säilitab toit soovitud omadused ja funktsioonid. Säilivusajal võivad tootes toimuda aga erinevad füüsikalised, keemilised ja/või mikrobioloogilised protsessid. Toote säilivusaega saab pikendada ja seega ka kvaliteedilangust aeglustada õigete hoiustamistingimuste ja sobiva pakendi valikuga. Üheks selliseks keemiliseks protsessiks, mis võib toimuda tootes säilivusaja jooksul ja sellega põhjustada toidu toote kvaliteedilangust, on Maillardi reaktsioon.

Antud magistritöö eesmärk oli jälgida lõssipulbris toimuvat Maillardi reaktsiooni kahes eri niiskusebarjääriga pakkelahenduses, et selle kaudu hinnata niiskuse mõju protsessi toimumisele ja valida toote hoiustamiseks sobivam pakend toote kvaliteedistabiilsuse tagamiseks.

Reaktsiooni kiiremaks jälgimiseks hoiustati lõssipulbrit kontrollitud tingimustega kliimakapis temperatuuril 40°C ja 50% suhtelise õhuniiskuse juures. Katse jooksul hoiustatud kahes eri niiskusebarjääriga pakkelahenduses lõssipulbrit viidi läbi pakkekeskkonna gaasisalduse analüüs, pH-väärtuse analüüs, niiskussisalduse analüüs, veeaktiivsuse analüüs, kolorimeetriline analüüs ning kirjeldav sensoorne analüüs. Katse lõpus analüüsiti ka lõssipulbri suhkrute sisaldust, aminohappelist koostist ning määrati tootes esinevad lenduvad ühendid 0-punkti proovist ning uuritavates pakendites 63 päeva hoiustatud lõssipulbrite proovidest.

Töö eksperimentaalses osas leitud tulemustest on näha, et keskkonna suhtelise õhuniiskuse juurdepääs lõssipulbrile kiirendab oluliselt Maillardi reaktsiooni toimumist säilivuse vältel. Protsessi jälgimiseks teostatud analüüside tulemused näitasid ühtselt, et madala niiskusebarjääriga pakkelahendusse pakendatud lõssipulbri puhul esinesid Maillardi reaktsioonile omased muutused kiiremini kui niiskusele kõrgbarjäärses pakendis hoiustatud proovi puhul. Maillardi reaktsiooni toimumise tõttu oli selgelt pulbri visuaalset kvaliteedilangust näha madala niiskusebarjääriga pakendis värvuse tumenemise näol. Samuti toimusid samas pakkelahenduses ka märgatavamad sensoorsed muutused. Lisaks sellele vähenes madala niiskusebarjääriga pakendis kiiremini ka lõssipulbri toitaineline koostis.

Töö koosneb 42 leheküljest, 16 joonisest, 4 tabelist ja 2 lisast.

## **Abstract**

### **Maillard reaction in skimmed milk powder and the effect of moisture on its occurrence**

Food products have a limited shelf-life, during which they maintain their desired properties and functions. However, different physical, chemical and/or microbiological processes may occur during this period and affect the products' quality. To slow down the decline in food quality and extend its shelf-life, it is crucial to choose the optimal packaging for that exact product and keep it in the right storage conditions. One of these chemical processes that can occur in a food product during its shelf-life and thereby cause a decrease in the quality of the food product, is the Maillard reaction.

The aim of this master's thesis was to monitor Maillard reaction in skimmed milk powder in two different packaging solutions with different moisture barriers, to examine the impact of moisture on the process and to choose the most suitable packaging for product storage to ensure product quality stability during storage.

To accelerate the reaction, skimmed milk powder was stored under controlled conditions in a climate chamber at a temperature of 40°C and a relative humidity of 50%. Various analyses were conducted from the stored samples, including gas content analysis from the package, pH analysis, moisture content analysis, water activity analysis, colorimetric analysis and descriptive sensory analysis. At the end of the experiment, from the 0-point powder and from the powder what was stored for 63 days in different investigated packaging materials, analyses were carried out for the sugar content, amino acid composition and volatile compounds.

From the results found in the experimental part of this work, it can be seen that the access of the moisture from the environment to the skimmed milk powder accelerates significantly the occurrence of the Maillard reaction during storage. The analysis consistently revealed that the reaction occurred faster in the sample with low moisture barrier packaging than in the high moisture barrier packaging. The powder stored in the low moisture barrier packaging showed visible darkening and more noticeable sensory changes, along with a faster decrease in nutritional composition.

Overall, this thesis consists of 42 pages, 16 figures, 4 tables and 2 appendixes.

## Sissejuhatus

Toidu toodetele määratakse säilivusaeg, mille jooksul säilitab toit soovitud omadused ja funktsioonid. Säilivusajal võivad aga tootes toimuda mitmed füüsikalised, keemilised ja/või mikrobioloogilised protsessid, mille toimumise kiirus ja ulatuslikkus määrab, millal toode ei ole enam kas ohutu või tarbijale sensoorselt aktsepteeritav.

Toote säilivusaega saab pikendada õigete hoiustamistingimustega ning sobiva pakendi valikuga. Sealjuures on oluline tagada toote hoiustamisel sobiv temperatuurivahemik ning keskkonna suhteline õhuniiskus. Lisaks võib toidu riknemist mõjutada ka eksponeeritus valgusele ning keskkonna atmosfääri gaasikoostisele. Õige pakkelahendus on üks meetodeid, millega tagada vajalikud hoiustamistingimused. Pakend suudab luua barjääri keskkonna suhtelise õhuniiskuse vastu ning selle läbi takistada niiskuse liikumist toote ja välise keskkonna vahel. Lisaks on võimalik takistada ka hapniku ja teiste gaaside migratsiooni toote pakendi ja keskkonna vahel, valides sobiva hapniku läbilaskusega pakend. Valguse indutseeritud muutused saab ära hoida valides näiteks pakkematerjali, mis varjab toodet valguskiirte eest.

Maillardi reaktsioon on keemiliste reaktsioonide süsteem, kus valgud reageerivad suhkrutega. Need reaktsioonid põhjustavad toodetes säilivuse jooksul toidu toitainelise kvaliteedi langust, värvuse pruunistumist ning muudavad toote maitse ja lõhna omadusi. Üheks tooteks, kus Maillardi reaktsioon võib olla peamiseks riknemise põhjuseks, on lõssipulber, mis sisaldab kontsentreeritud suhkruid ning valke. Lõssipulbrit kasutatakse laialdase toorainena paljude teiste toidutoodete valmistamiseks, seega mõjutab pulbri maitse- ja lõhnaprofiil ka sellest valmistavate toodete organoleptilisi omadusi.

Töö eesmärk oli jälgida lõssipulbris toimuvat Maillardi reaktsiooni kahes eri niiskusebarjääriga pakkelahenduses, et selle kaudu hinnata niiskuse mõju protsessi toimumisele ja valida toote hoiustamiseks sobivam pakend toote kvaliteedistabiilsuse tagamiseks.

Käesoleva töö kirjanduse osa jaotub kaheks suuremaks peatükiks, kus esimeses kirjeldatakse toidu säilivusaega ja hoiustamistingimuste mõju sellele ning teises peatükis kirjeldatakse täpsemalt Maillardi reaktsiooni. Eksperimentaalses osas tutvustatakse kasutatud materjale ja meetodeid ning antakse ülevaade katse käigus saadud tulemustest.

# 1. Kirjanduse ülevaade

## 1.1 Toidu säilivusaeg ja hoiustamistingimuste mõju sellele

### 1.1.1 Säilivusaeg

Toidu säilivusaeg on ajavahemik, mille jooksul säilitab toit ohutuse, on soovitud sensoorsete, keemiliste ja mikrobioloogiliste omadustega, vastab pakendil esitatud väidetele, toitainelisele koostisele ning on aktsepteeritav tarbijale (Phimolsiripol & Suppakul, 2016).

Toidu toote säilivusaega mõjutavad neli peamist faktorit on toidu koostis, töötlemismeetod, pakkelahendus ning õiged säilitustingimused. Detailsemalt jagunevad toidu säilivusaega mõjutavad tegurid sisemisteks ja välimisteks. Sisemised tegurid on mõjutatud toote olemusest ja kvaliteedist. Nendeks on näiteks veeaktiivsus, pH-väärtus, üldine happesus, redokspotentsiaal, toitaineline koostis ja mikroorganismide profiil. Välimiste faktoritega puutub toode kokku toidukäitlemisahelas liikudes. Nendeks on näiteks toidu tootmiseks kasutatav temperatuur ja töötlemisprotsessi pikkus, suhteline õhuniiskus või kokkupuude valguse ja keskkonnas olevate mikroorganismidega tootmise/hoiustamise/turustamise vältel. Lisaks on oluline ka temperatuuri kontroll säilitamisel, gaasikoostis pakendi sees ja tarbijapoolne käitumine valmistootege (Sousa Gallagher et al., 2011).

Toidutooted jaotatakse säilivuse järgi kahte kategooriasse:

- Kiirelt riknevad tooted (piim, värske liha, värsked puuviljad ja köögiviljad) – need on lühikese säilivusajaga tooted, mille riknemise põhjustavad enamasti mikrobioloogilised või ensümaatilised protsessid.
- Pikaajaliselt stabiilsed tooted (kuivatatud, kuumtöödeldud, konserveeritud ja/või külmutatud toidud) – nende keskmise kuni pikaajalise säilivusajaga toodete puhul on kasutatud kõrgemal temperatuuril töötlemist ja kindlaid hoiustamistingimusi (Phimolsiripol & Suppakul, 2016).

Toidu säilimisaeg ja eritingimused toidu hoiustamise ning kasutamise kohta peavad olema toote märgistusel esitatud. Märget „Kõlblik kuni“ kasutatakse kiiresti riknevate toodete puhul ning sellele tähtajale peab järgnema säilitustingimuste kirjeldus. Kiiresti riknevate toodete puhul võib toode muutuda peale märgistatud kuupäeva, lühikese aja jooksul, inimese tervisele otseselt ohtlikuks ning üldiselt tuleb selliseid tooteid hoiustada külmkapis +2...+6 °C juures. Nendeks toodeteks on näiteks toores liha, värske ja suitsutatud kala, lihatooted, salatid ja hakkliha. Toidu toodete puhul, mis on keskmiselt kuni pikaajaliselt stabiilsed, kasutatakse märget „Parim enne“ ja „Parim enne .... lõppu“. Selle tähtajani säilitab toit nõuetekohase kvaliteedi ning õigete säilitustingimuste puhul on ka peale selle tähtaja möödumist endiselt ohutu toitu tarbida (Ringo & Dreyersdorff, 2021). Pika säilivusajaga toodete, nagu kuivatatud toitade, õlide ja pulbrite peamiseks säilivusaja lõppu defineerivateks protsessideks on keemilised ja füüsikalised lagunemisreaktsioonid (Calligaris & Manzocco, 2012).

Toidu lagunemisreaktsioonid saab jagada mikrobioloogilisteks, keemilisteks, ensümaatilisteks ja füüsikalisteks reaktsioonideks (Phimolsiripol & Suppakul, 2016). Sagedaseks füüsikaliste muutuste põhjustajaks on niiskuse sisalduse muutus, mis on võimeline tekitama muutusi tekstuuris, kuid võib viia ka keemiliste ja mikrobioloogiliste muutusteni. Niiskuse absorptsioon keskkonnast



tootesse võib näiteks põhjustada paakumist kuivade pulbriliste toodete puhul või pehmenemist toodete puhul, millelt eeldatakse krõbedat tekstuuri. Niiskuse desorbeerumine keskkonda võib osutuda probleemiks aga pehmete küpsetiste puhul, mis muutuvad niiskuse eemaldumise tõttu kuivemaks ja kõvemaks (Singh & Anderson, 2004).

Ensümaatilised lagunemisreaktsioonid esinevad enamasti töötlemata taimses toormes ja lihas (Erkmen & Bozoglu, 2016). Ensüümid on kompleksed valgud, mis katalüseerivad keemilisi reaktsioone ja kiirendavad nende toimumist (Singh & Anderson, 2004). Näiteks lipaasid katalüseerivad lipolüüsi, mille tulemusena lõigatakse triglütseriididelt ära vabu rasvhappeid. Vabade rasvhapete tootes esinemise tulemusena tekivad rääsunud kõrvalmaitset ja -lõhnad, näiteks toimub see protsess lihatoodetes. Kooritud banaanid või õunad omandavad pruuni värvi aga fenooloksidaasi tõttu, mis reageerivad fenoolsete ühenditega ja hapnikuga. Minimaalselt töödeldud köögiviljadelt eeldatakse tugevat ja krõmpsuvat tekstuuri, kuid ensümaatilise lagunemine viib tihti ka toote tekstuuri pehmenemiseni (Kong & Singh, 2016).

Toidu mikrobioloogilise rikkumise põhjustajateks on bakterite ning pärm- ja hallitusseente kasv ja metabolism (Blackburn, 2006). Rikkumist põhjustavate mikroorganismide kasv ja sellega kaasnev ensüümide tootmine põhjustab omakorda kõrvallõhnade ja -maitsete teket ning tekstuuri muutuseid. Selliseid muutuseid, näiteks hallitusseente kasvu, on näha ka visuaalselt. Ohtlikum on toidu toote puhul aga toidumürgitust põhjustavate mikroorganismide kasv, millega ei pruugi kaasneda välimuse, lõhna, maitse ja tekstuuri muutusi, kuid mis võivad põhjustada tõsiseid terviseprobleeme nende toodete tarbimisel (Kilcast & Subramaniam, 2000). Mikroorganismide elulevust mõjutavad paljud faktorid nagu temperatuur, pH, veeaktiivsus, säilitusainete kasutamine ja pakendi omadused. Kõige tundlikumad on mikrobioloogilise rikkumise suhtes värske liha, kala, piima, puu- ja köögivilja tooted (Singh & Anderson, 2004).

Keemilised muutused toimuvad paljudes toidutoodetes, kuid kõige levinumad kvaliteedilangust põhjustavad keemilised protsessid toidutoodetes on Maillardi reaktsioon ning rasva oksüdatsioon. Mitte-ensümaatiline pruunistumine ehk Maillardi reaktsioon toimub redutseerivate suhkrute ja aminohapete vahel ning põhjustab värvuse ja lõhna- ning maitseprofiili muutusi. Selle protsessiga kaasneb ka valkude lahustuvuse vähenemine ja tekstuuri muutused. Rasvade oksüdatsioon on aga hapniku kättesaadavusest ja temperatuurist sõltuv. See protsess toob samuti endaga kaasa kõrvallõhnade ja -maitsete tekke, aga ka potentsiaalseid värvimuutusi ja vitamiinide lagunemist tootes (Kong & Singh, 2011).

### **1.1.2 Hoiustamistingimuste mõju säilivusele**

Füüsikaliste ja keemiliste lagunemisprotsesside kiirus ja ulatuslikkus toidus säilivuse ajal sõltub mitmetest faktoritest, mis jagunevad sisemisteks ja välimisteks. Välimiste faktorite hulka kuuluvad näiteks temperatuur, suhteline õhuniiskus, valgusele eksponeeritus ja gaasikeskkond pakendis (Kong & Singh, 2011).

Temperatuur on üks olulisemaid faktoreid, mis mõjutab toitade säilivusaega. Külmutamiskahjustused võivad tekkida näiteks värskeste puuviljade ja köögiviljade puhul, jääkristallide teke külmutamisel lõhub aga toidu struktuuri. Kõrgenenud temperatuur omakorda võib muuta aga tahke rasva vedelasse vormi, destabiliseerida emulsioone ja muuta toodete kristalliseerumisvormi. Temperatuuri tõstmine kiirendab oluliselt ka keemilisi reaktsioone, põhjustades kiiret kvaliteedilangust (Kong & Singh, 2011).

Teine väline faktor, mis toitu säilivuse jooksul võib mõjutada, on õhu niiskusesisaldus. Jahedas parasvöötme kliimas on see vahemikus 45-55%, kuid võib ulatuda troopilistes regioonides kuni 80%-ni (Subramaniam, 2011). Niiskusesisalduse muutus, mis suurendab või vähendab vee hulka toidutootes, võib mõjutada toodet ja selle tekstuuri läbi pehmenemise, kõvenemise, emulsiooni lõhkumise, paisumise või kokku tõmbumise kaudu. Vee liikumine toote ja keskkonna vahel viib toidu organoleptilise kvaliteedi languseni (Roudaut & Debeaufort, 2011). Keskkonna suhteline õhuniiskus mõjutab toote veeaktiivsust juhul, kui toote pakend ei oma barjääri veeauru vastu (Robertson, 2009). Veeaktiivsuse muutus tootes võib aga kiirendada riknemisprotsesse: lipiidide oksüdeerumist, Maillardi reaktsiooni ja luua ka sobiva keskkonna mikroorganismide kasvuks (Esse & Saari, 2004). Lisaks võib niiskusesisalduse muutus tootes muuta ka tootele iseloomulikke füüsikalisi parameetreid – klaasistumistemperatuuri. Klaasistumistemperatuuriga on oluline arvestada kuivatatud toodete, sealhulgas piimapulbrite puhul, kuid ka suhkrubaasil tehtud maiustuste, tärklikerikaste toodete ja külmutatud toodete puhul. Need tooted võivad esineda amorfses klaasistunud olekus või amorfses plastilises olekus. Just klaasistumistemperatuur kirjeldab seda temperatuuri, millal faasi üleminek toimub (Kong & Singh, 2011). Niiskuse muutus tootes muudab ka tootele iseloomulikke klaasistumistemperatuuri. Niiskuse imamisel toote klaasistumistemperatuur langeb ning niiskuse kadumisel see tõuseb. Kuivad pulbrid, mis läbivad klaasistumisreaktsiooni, kleepuvad kokku ja paakuvad (Singh & Anderson, 2004).

Kolmandaks peab arvestama, et valgusele eksponeeritus kiirendab tootes toimuvaid oksüdatsiooniprotsesse, mis põhjustavad kõrvallõhnade ja -maitsete teket, värvuse tuhmumist ja vitamiinide lagunemist (Kong & Singh, 2011). Kui valgus tabab toidu pakendit, võib see tagasi peegelduda või absorbeeruda läbi materjali toitu ja indutseerida ka fotokeemilisi reaktsioone. Absorbeerunud valgus põhjustab ka toidu funktsionaalsuse kadu. See reaktsioon toimub tahketes toidutoodetes ainult välimise kihiga, mis on valgusele eksponeeritud. Suurem on aga valguse lagundav mõju vedelatele toodetele, mille puhul valgus puutub kokku terve toote maatriksiga (Passaretti et al., 2019).

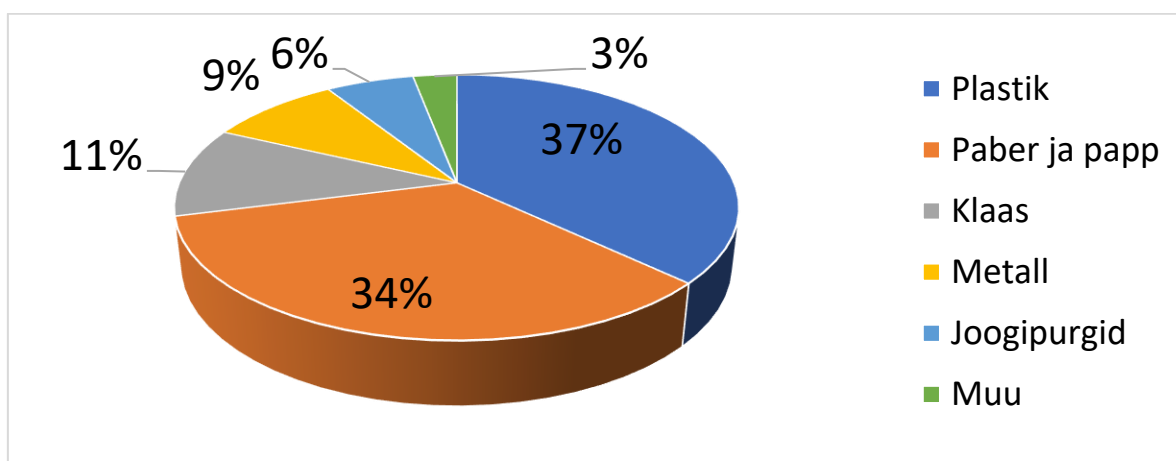
Lisaks mõjutab toitu ümbritsevate gaaside olemasolu ja kontsentratsioon märkimisväärselt toidus kasvava suutvate mikroorganismide arvukust ja kasvukiirust. Atmosfääris olev hapnik võib olla lagundava toimega toidu toitainelisele koostisele. Sellistel juhtudel proovitakse hoida toodetele juurdepääsetava hapniku hulka miinimumi juures. Kui pakendis oleva gaasikeskkonna eemaldamiseks kasutatakse näiteks vaakumpakendamist, siis gaasikeskkonna disainimiseks aga modifitseeritud atmosfääri toote pakendamist (Robertson, 2009).

### **1.1.3 Pakendi valik säilivuse tagamiseks**

Pakendi eesmärgiks on kaitsta toiduainet väliskeskkonna mõjutuste eest, hoiustada toodet ettenähtud viisil ja edastada tarbijatele infot toote kohta. Õigesti valitud pakend aitab tagada toote ohutuse ja kvaliteedi säilivuse ajal ja/või pikendada selle säilivusaega. Pakend suudab pakkuda kaitset keskkonnatingimuste poolt põhjustatud keemiliste või füüsikaliste muutuste eest, hoides ära gaasivahetust, niiskuse absorptsiooni ja desorptsiooni ning varjata toodet valguse eest. Pakendil on ka omadus pakkuda bioloogilist kaitset, hoides ära kokkupuute mikroorganismidega, näriliste ja putukatega. Füüsiline kaitse pakendi puhul esineb kaitstes toitu mehaaniliste kahjustuste eest ning leevendades transportimisel tekkiva vibratsiooni ja müra mõju tootele (Marsh & Bugusu, 2007). Pakendimaterjali valikul on oluline hinnata toote omadusi ning identifitseerida kriitilised kvaliteediparameetrid, mis seda toodet kõige rohkem mõjutavad.

Näiteks peaks teadma, kui tundlik on toode temperatuuri muutustele, niiskusele, hapnikuga kokkupuutele ja valgusele. Lisaks tuleb arvestada hoiutingimuste mõju kuni tarbijani jõudmiseni (Sousa Gallagher et al., 2011).

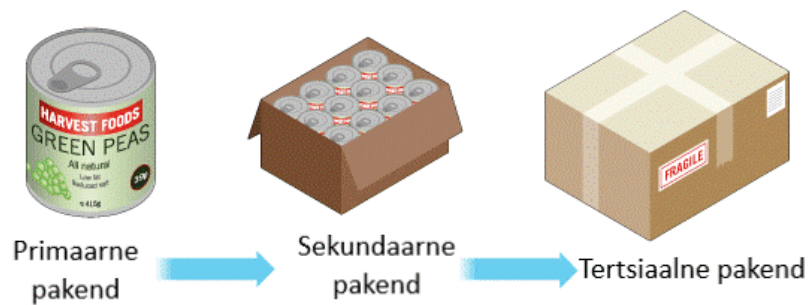
Toidu pakendamine muutus esimest korda oluliseks tööstuse arenguga, kui tekkis soov toitu säilitada pikemat aega. Peamised pakendimaterjalid, mida toidu pakendamiseks seni kasutati on klaas, paber, metall ja plastik. Tänapäevased toidupakendid koosnevad enamasti nendest ja/või nende kombinatsioonidest ning moodustavad omakorda tahketest olmejäätmetest kaks kolmandikku (Sandhya & Sanjay, 2020). Joonisel 1 on välja toodud iga materjali tootmise turuosad. On näha, et kõige suurema osa moodustab plastik, seejärel paber ja papp-pakendid. Metall ja joogipurgid moodustavad kokku 15% turuosast ja klaasi kasutatakse nendest neljast kõige vähem.



Joonis 1. Toidu pakkematerjalide jaotumus (Muncke, 2012)

Pakendi valikul peab meeles pidama, et see on süsteem, mis hõlmab mitmeid füüsilisi komponente ja tegevusi. Füüsilisteks komponentideks on toit, pakend ja keskkond ning tegevusteks tootmine, pakendamine, transportimine ja lõpuks ka pakendijäätmetega tegelemine. Toidu pakendisüsteem võib hõlmata kokku kolmel eri tasemel pakendeid (Joonis 2):

- Primaarne pakend on materjal, millega toit puutub kokku ning millele tarbija poest ostab. Näiteks piimapakk, kommikarp, jogurtitops. Primaarne pakend on vahetus kontaktis toiduga ja omab suurt rolli kaitsefunktsioonis.
- Sekundaarne pakend on järgmise taseme materjal, mis hoiustab teatud arvu primaarseid pakendeid. Selle eesmärgiks on hõlbustada kaupluses mitmete primaarsete pakendite väljastamist. Sekundaarne pakend võib olla näiteks pappkast ümber mitme koos müüdava jogurtitopsi, kuid ka kast ümber eraldi müüdavate šokolaaditahvlite.
- Tertsiaarne pakend hoiustab mitmeid sekundaarseid pakendeid. Näitena saab tuua puualusele kiletatud kaste, mille eesmärk on lihtsustada toodete transporti ja laomajandust (Lee et al., 2008).



Joonis 2. Pakendamistasemed (Thynne, 2012)

Toidu niiskussisaldus mõjutab nii keemiliste, bioloogiliste kui füüsikaliste lagunemisprotsesside kiirust. Vastavalt hoiukeskkonna suhtelisele õhuniiskusele ja pakendi veeauru läbilaskvusele võib suureneka või väheneda ka pakendatud toidu niiskussisaldus ja veeaktiivsus. Ka suletud pakendisse saab veeaur läbi materjali siseneda ning seda kirjeldab pakendi veeauru läbilaskvuskiruse näitaja. Veeauru läbilaskvuskirust (WVTR) esitatakse ühikutes  $\text{g m}^{-2} \text{ päev}^{-1}$  ning tavaliselt leitakse see katse käigus testimistingimustel  $38^{\circ}\text{C}$  95% suhtelise niiskuse juures igale materjalile. Lisaks veeauru läbilaskvusele tuleb pakendi valikul silmas pidada ka selle barjääriomadusi eri gaaside vastu. Kõige levinumalt võetakse arvesse materjali hapniku läbilaskvust, kuna hapnikusisaldus pakendis mõjutab otseselt toote omadusi säilivuse jooksul, mõjutades mikrobioloogilist arengut tootes, keemilisi- ja ensümaatilisi lagunemisreaktsioone. Hapniku läbilaskvuskirust (OTR) mõõdetakse standardsetel testimistingimustel  $23^{\circ}\text{C}$  ja 0% RH ning saadakse tulemus ühikutes  $\text{cm}^3 \text{ m}^{-2} \text{ päev}^{-1}$  (Piergiovanni & Limbo, 2012). Tabelis 1 on toodud kilematerjalide barjääriomadused ja kasutusvaldkonnad.

Tabel 1. Materjalide barjääriomadused ja kasutusvaldkonnad (Chinga Carrasco & Syverud, 2012; Kirwan et al., 2011; Robertson, 2012; Wani et al., 2017)

Kile (25 $\mu\text{m}$ paksusega)		WVTR ( $\text{g}/\text{m}^2/\text{päev}$ )	OTR ( $\text{cm}^3/\text{m}^2/\text{päev}$ )	Kasutusvaldkond
LDPE	madala tihedusega polüetüleen	10-20	6500-8500	Saia/leiva ja külmutatud toodete kotid, pigistatavad toidupudelid
HDPE	kõrge tihedusega polüetüleen	7-10	1600-2000	Piima-, mahla- ja veepudelid, kuumade toitude pakend
PP	polüpropüleen	5-8	2000-3000	Pudelid, kilekotid, prügikotid, margariinikarbid
PET	polüetüleen-tereftalaat	15-20	55-150	Pudelid, purgid, kandikud ja kilekotid
Tselluloos		1700-2900	3-4	Kile
Alumiinium		0	0	Purgid, foolium, lisatakse plastikkiledesse

Lisaks pakendi veeauru ja hapniku läbilaskvusele on toit mõjutatud ka pakendi valguse läbilaskvusest. Valguse katalüeeritud reaktsioonid on enamasti soovimatud ning põhjustavad kõrvallõhnade ja -maitsete teket, toiteväärtuse kadu ja värvuse muutusi. Õige pakendi valikuga saab aga valguse kokkupuudet tootega ära hoida, näiteks rasvarikkad tooted on seetõttu pakendatud läbipaistmatutesse kottidesse. Maitse- ja lõhnamuutused on valguse poolt indutseeritud ka õllede ja veinide puhul. Seetõttu pakendatakse need tumedatesse pudelitesse (Passaretti et al., 2019).

Pakendi abil õige keskkonna loomine on üks tähtsamaid aspekte toidu säilivuse tagamisel. Näiteks vaakumpakendamine on kõige lihtsam viis muuta pakendis olevat gaasikeskkonda. Selle käigus eemaldatakse õhk pakendist ning õhuke plastpakend võtab toote ümber toote kuju. Vaakumpakendamine ei sobi aga pulbrilistele toodetele ja õrnadele toodetele, mis õhu välja tõmbamise tõttu võivad puruneda (Jacob John, 2013).

Lisaks vaakumpakendamisele rakendatakse toote säilivusaja tagamiseks ka modifitseeritud atmosfääri pakendamist (MAP). Atmosfääris oleva õhu moodustavad mahu järgi 78,08% N<sub>2</sub>, 20,95% O<sub>2</sub>, 0,93% Ar, 0,03% CO<sub>2</sub> ja teiste gaaside jäägid. MAP puhul lisatakse tootepakendisse kas üht kindlat gaasi või segu erinevatest gaasidest. Näiteks CO<sub>2</sub> inhibeerib paljude bakterite kasvu ning on eriti efektiivne hallituste, Gram-negatiivsete ja aeroobsete bakterite suhtes, näiteks *Pseudomonas* sp., kuid vähem efektiivne pärmide ja piimhappebakterite kasvu inhibeerimises. Enamik toidu riknemist põhjustavad mikrobioloogilised ja keemilised protsessid vajavad toimumiseks hapnikku ning seetõttu üldjuhul hapnikku MAP-keskkonda ei lisata või viiakse selle kogus minimaalseks. Eranditeks on aga puu- ja köögiviljad ning värske liha, mille puhul hapniku juuresolek säilitab toodete kvaliteedi stabiilsuse. Lämmastikku kasutatakse täitegaasina, et täita pakendi ruumala ning suruda välja pakendikeskkonnas olevad teised gaasid. Gaase kasutatakse MAP pakendites ka omavahel segatuna ning see pakendisse sisendatud gaasikoostis on toote peamisest riknemise põhjusest. Aeroobse mikrobioloogilise riknemise puhul peaksid olema süsihappegaasi kontsentratsioonid võimalikult suured, kuid et vältida pakendi mõõtmete muutumist, lisatakse mõnel juhul ka lämmastikku. Üldiselt on nende gaaside omavaheline vahekord 30-60% CO<sub>2</sub> ja 40-70% N<sub>2</sub>. Oksüdatiivse rääsumise vältimiseks pakendatakse aga tooted 100% lämmastikku või lämmastiku ja süsihappegaasi segusse. Lämmastiku ja süsihappegaasi segusse pakendatakse toode siis, kui on karta ka mikrobioloogilist riknemist (Robertson, 2016).

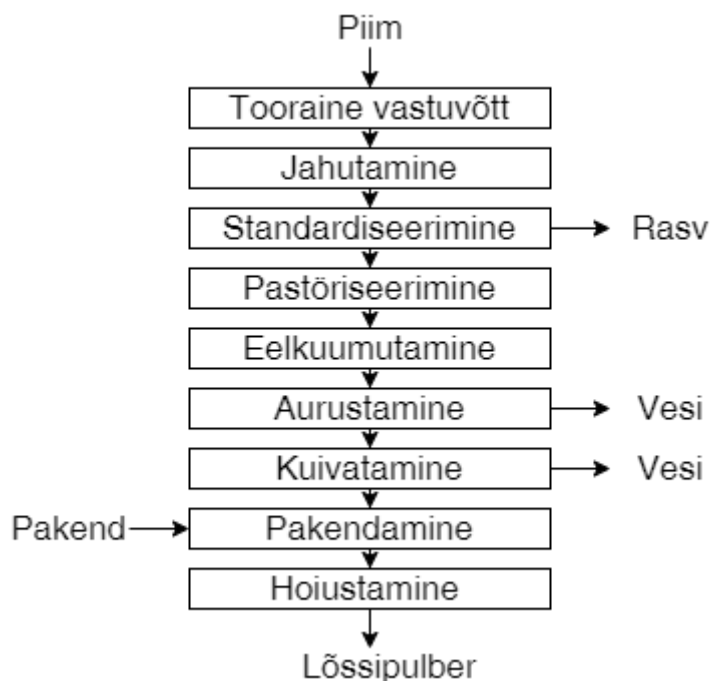
Toidu säilivusaja tagamiseks pakendiga on võimalik kasutada ka erilahendusi. Sellised targad pakendamislahendused pakuvad lisaks klassikalistele pakendi funktsioonidele ka lisafunktsioone. On olemas nii aktiivseid pakendeid kui ka intelligentseid pakendeid. Aktiivseid pakkelahendusi saab kasutada pakendist mittesoovitava komponendi eemaldamiseks või vajaliku komponendi lisamiseks, näiteks absorberite või emitterite kujul (Robertson, 2016). Absorberid on süsteemid, mis eemaldavad pakkeskkonnast mittesoovitavad ühendid nagu näiteks hapniku, süsihappegaasi, etüleeni või liigse vee. Emitterid vabastavad aga pakendi keskkonda jooksvalt ühendeid, mis on säilivusajal vajalikud, nagu näiteks süsihappegaas, antioksidandid või säilitusained (Ahvenainen, 2003). Pakendimaterjali sisse saab lisada ka aktiivseid komponente, mis inhibeerivad mikroorganismide kasvu või muudavad vastavalt temperatuurile pakendi barjääriomadusi. Aktiivne pakend võib muuta ka toote füüsikalisi omadusi. Näiteks valmistoidu või jookide puhul kasutatakse aktiivse pakendi omadust neid soovi korral soojendada või jahutada. Intelligentne pakend annab aga tarbijale informatsiooni toote seisukorra kohta ilma pakendit avamata.

Pakendile asetatud indikaator saab anda märku, kui toote säilivusaeg on lõppenud või toote hoiustamistemperatuur on muutunud tarnimisahela jooksul. Veel on võimalus visualiseerida tarbijale, millal toode on värske või valmis tarbimiseks (Robertson, 2016).

### 1.1.4 Lössipulber

Löss on koore tootmise kõrvalprodukt, milles on keskmiselt 90,7% vett ning 9,3% kuivainet, mis omakorda jaguneb: 3,4% valku, 5,1% laktoosi, 0,7% tuhka ja 0,1% kaltsiumi. Lõssi pikemaajaliseks säilitamiseks see tavapäraselt kuivatatakse ning selle tulemusena saadakse lõssipulber (Thyarla et al., 2018). Lõssist vee eemaldamisega saadakse 10 korda toitainerikkam toode - lõssipulber, mille valgusisaldus on 35,5% (mitte vähem kui 34%), laktoosisisaldus 51,5%, rasvasisaldus 1% (mitte üle 1,5%), tuhasisaldus 8% ja niiskuse sisaldus maksimaalselt 4% (Patel, 2018). Lössipulbrit kasutatakse piima ja lõssi asendamiseks riikides, kuhu vedela toote transport oleks keeruline ja kulukas. Lisaks kasutatakse lõssipulbrit näiteks šokolaadi, kommide ja pagaritoodete valmistamisel. Ka imikutele mõeldud piimapulbris on üheks koostisaineks lõssipulber. Piimatööstuses kasutatakse lõssipulbrit kuivaine osakaalu suurendamiseks jogurtis ja ka jäätise struktuurile stabiilsuse andmiseks. Lisaks kasutatakse lõssipulbrit tema vee absorbeerimise omaduse tõttu ka suitsutatud lihatoodetes ja vorstides (Osei, 2017).

Lössipulbri tootmine tööstuses on mitmeetapiline protsess, mida on visualiseeritud ka joonisel 3. Esmalt toimub tooraine ehk piima vastuvõtt ja jahutamine. Seejärel eemaldatakse standardiseerimisega piimast rasv ning saadakse madala rasvasisaldusega lõss. See pastöriseeritakse ning seejärel läheb see eelkuumutamisesse (Spreer, 2017).



Joonis 3. Lössipulbri tootmise tehnoloogiline skeem (Jameela, 2016)

Eelkuumutamiseks kasutatakse mitmeid režiime, mille valikust sõltuvad toote hilisemad maitse ja lõhna omadused. Näiteks kõrgema eelkuumutus-temperatuuriga toodetud piimapulbrites on nähtud suuremat lüsiini ja 5-metüül-furfuraalide kadu ja rohkemate Maillard'i reaktsiooni

produktide teket, kuna kõrgem töötlemistemperatuur kiirendab Maillardi reaktsiooni kiirust (Li et al., 2022).

Eelkuumutamise intensiivsuse järgi klassifitseeritakse pulbrid kategooriatesse, mis põhineb vadakuvalgu lämmastikuindeksil (WPNI). Selle järgi jaotatakse pulbrid: kõrge kuumutamismega pulber (WPNI < 1,5 mg/g), keskmise kuumutamismega pulber (WPNI 1,5-6 mg/g) ja madala kuumutamismega pulber (WPNI > 6,0 mg/g). Neid tasemeid saab saavutada erinevate aja ja temperatuuride kombinatsioonidega töötlemisel. Tüüpiliselt kuumutatakse madala kuumutusastmega pulbrit 75°C juures 20 sekundit, keskmise kuumutamismega pulbrit 85-105°C juures 1-2 minutit ja kõrge kuumutamismega pulbrit maksimaalselt 135°C juures 2-3 minutit (Stewart et al., 2018).

Peale lõssi eelkuumutamist kontsentreeritakse saadud vedelik ehk vesi aurustatakse. Pihustuskuivatuse puhul kontsentreeritakse toodet seni, kuni kuivainesisaldus saavutab 40-50% tootest. Seejärel toode kuivatatakse vastavalt pihustuskuivatusmeetodile ning saadakse lõssipulber (Muir & Banks, 2000).

Saadud toote – lõssipulbri - säilivusaaja määravad kolm faktorit: toormaterjali kvaliteet, kuivatamisprotsess ja lõpptoote hoiustamistingimused. Toormaterjali kvaliteet on eriti oluline madala kuumutusastmega pulbrite puhul, mille tootmisel ei kasutata kõrgeid temperatuure. Lisaks sellele mõjutab lõssi säilivusaega ka selle valmistamiseks kasutatud kuumutamistemperatuur, kuna kuumus indutseerib Maillardi reaktsiooni teket. Viimaseks oluliseks mõjutavaks teguriks lõssipulbri säilivuse puhul on selle hoiustamistingimused. Lagunemisprotsesside vältimiseks ei tohiks pulbri niiskussisaldus hoiustamisel ületada 2-4%. Lõssipulber, mida säilitatakse kõrgbarjäärses pakendis toatemperatuuril, omab minimaalselt 1-aasta pikkust säilivusaega ja ka teisel hoiustamise aastal toimuvad lagunemisprotsessid on minimaalsed (Muir & Banks, 2000).

## 1.2 Maillardi reaktsioon

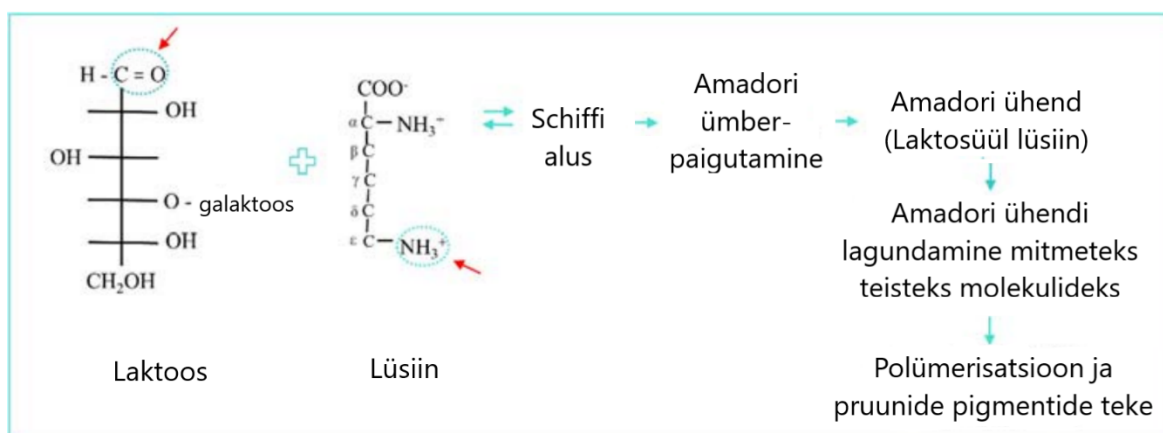
Maillardi reaktsioon on nime saanud Prantsuse füüsiku ja keemiku, Louis Camille Maillard järgi, kes seda reaktsioonide kompleksi esmakordselt kirjeldas aastal 1912 (Tamanna & Mahmood, 2015). Olenevalt toidu koostisest ja tehnoloogilisest töötlemisest võib Maillardi reaktsioon toota palju erinevaid lõpp-produkte. Reaktsioonide käigus tekkivad lenduvad ühendid mõjutavad toote lõhna ja maitse omadusi. Lisaks tekivad reaktsiooni käigus ka pruunid polümeerid, melanoidiinid, mis tekitavad toidutootele Maillardi reaktsioonile omase pruuni värvuse (Arnoldi, 2004). Maillardi reaktsiooni käigus toimuvad muutused maitse ja lõhnaprofiilis on soovitud näiteks kohviubade, röstitud liha, saia ja tumeda õlle tootmisel. Maillardi reaktsiooni nende toitade puhul tuuakse esile kõrgemal kuumusel toodete töötlemisega (Koubaa et al., 2018).

Toodete töötlemine kõrgel kuumusel on üks viis, kuidas Maillardi reaktsioon toimub. Samas ei ole kõrge temperatuur ilmingimata vajalik Maillardi reaktsiooni toimumiseks - see reaktsioon võib toimuda ka toiduaine säilivuse jooksul toatemperatuuril, põhjustades näiteks piimapulbrite puhul värvuse pruuninemist ning tuues kaasa kõrvallõhnade ja -maitsete tekke (Newton et al., 2012). Lõssipulbri puhul on Maillardi reaktsioonis peamisteks reageerivateks ühenditeks laktoos ja lüsiin, millele avalduv kahju on mõjutatud toote hoiustamise aja, keskkonna temperatuuri ja suhtelise õhuniiskuse poolt (Xiang et al., 2021).

## 1.2.1 Maillardi reaktsiooni mehhanismid

Maillardi reaktsioon on kompleksete reaktsioonide süsteem, kus aminohapped, peptiidid ja valgud reageerivad redutseerivate suhkrutega (Arnoldi, 2004). Maillardi reaktsiooni lihtsustatud skeem piimatoodetes on toodud joonisel 4. Toimuvat reaktsiooni saab jaotada kolme etappi: varajane, edasijõudnud ja lõplik.

Varajane Maillardi reaktsioon algab suhkru ja amiini kondensatsiooniga. See on pöörduv reaktsioon, mille käigus saadakse N-asendatud glükosüülamiin. Järgmiseks toimub Amadori ümberasetus (pöördumatu reaktsioon), mis viib Amadori ühendi tekkeni. Varajases Maillardi reaktsioonis ei toimu värvimuutuseid ning selle läbinud toode ei absorbeeri UV kiirgust (280nm). Edasijõudnud Maillardi reaktsioon hõlmab endas esmalt suhkrute dehüdreerimist, mis on oleneb keskkonna pH väärtusest. Happelistes tingimustes toodetakse furfuraale, neutraalsetes ja alustelistes tingimustes aga 6-karbon ja teisi reduktsioone. Edasi toimub suhkrute fragmentatsioon ja Streckeri lagunemine. Streckeri lagunemine on  $\alpha$ -aminohapete oksüdeerumine aldehüüdideks, mille käigus antakse ära  $\text{CO}_2$ . Selle tulemusena tekkivad aldehüüdid on lenduvad ning seetõttu mõjutavad otseselt toidu aroomi. Edasijõudnud Maillardi reaktsiooni läbinud tooted on värvimuutusteta või kollased ning absorbeerivad tugevalt UV-valgust. Viimases Maillardi reaktsiooni etapis toimub aldoolide ja aldehüüd-amiinide kondensatsioon, mis toob kaasa tsüklilise lämmastiku ühendite tekke. Mitte-ensümaatilise pruunistumise lõpp-produktid on melanoidiinid, mis on pruuni värvuse tekke põhjuseks. Keemiliselt on neid väga keeruline eristada melaniinidest, mis tekkivad ensümaatilise pruunistumise teel (Nursten, 2002).



Joonis 4. Lihtsustatud skeem Maillardi reaktsioonist piimatoodetes (Aalaei, 2017)

Peamised Maillardi reaktsiooni ja selle kiirust mõjutavad parameetrid on toidu aminohapete ja redutseerivate suhkrute koostis, pH-väärtus ja veeaktiivsus, aga ka hoiustamiskeskonna temperatuur ja suhteline õhuniiskus (Arnoldi, 2004).

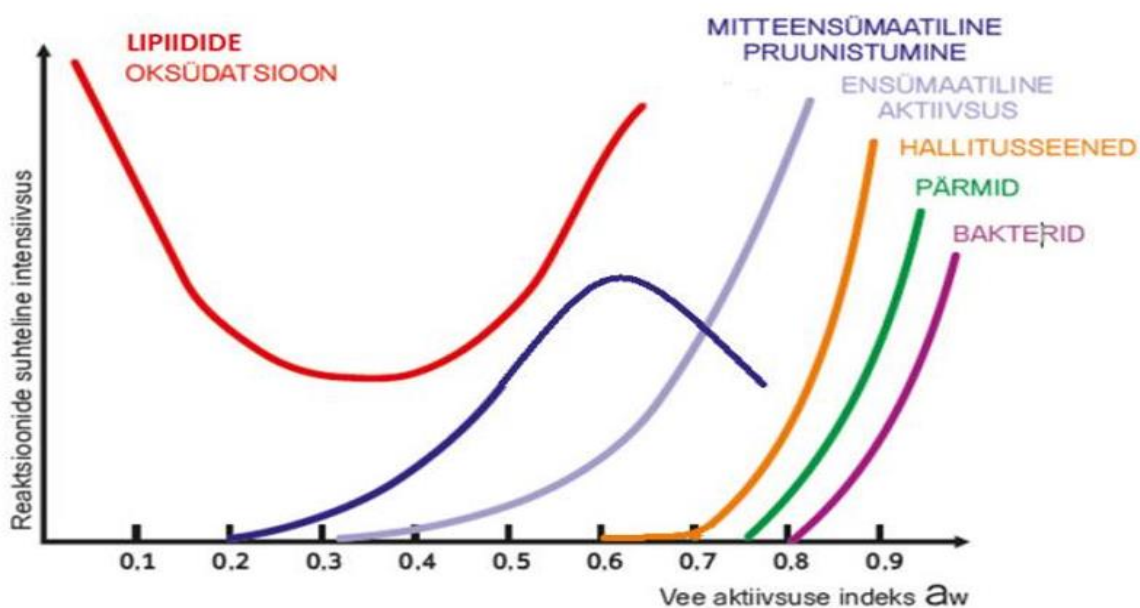
Esmalt määrab ära Maillardi reaktsiooni toimumise ja selle kiiruse toidu koostis. Suhkrute puhul reageerivad kiiremini madala molekulmassiga reagentid. Seetõttu on näiteks glükoos reaktiivsem kui laktoos. Reageeriva suhkru olemus määrab ära ka Maillardi reaktsioonist tuleneva värvuse muutuse tugevuse, see jälgib järgmist järjestust: ksüloos > arabinoos > fruktoos > glükoos > maltoos > laktoos. Aminohapete puhul on reageerimine lisaks aminohappe struktuurile ka aminorühma  $\text{pK}_a$  väärtusest ning aminorühma ja karbonüülrühma kaugusest. Valguga seotud



aminohapetest on kõige aktiivsem reageerima Maillardi reaktsioonis lüsiin. Talle järgnevad trüptofaan, histidiin ja arginiin (O'Brien, 2009).

Teine Maillardi reaktsiooni toimumist mõjutav faktor on toidu pH-väärtus. See on oluline, kui Maillardi reaktsiooni käigus on tekkinud Amadori ühend. Kõrgetel pH-väärtustel ( $\text{pH} > 7$ ) toimub 2,3-enolisatsioon ning madalatel või neutraalsetel pH-väärtustel 1,2-enolisatsioon. Sellisest enolisatsiooni raja valikust sõltuvad ka tekkivad produktid (Nursten, 2005). Näiteks kõrgetel pH-väärtustel tekib rohkem pürasiine, kuid madalamatel pH-väärtustel aga furaane (Arnoldi, 2004).

Kolmas aspekt, mis Maillardi reaktsiooni mõjutab, on toote veeaktiivsus. Veeaktiivsuse väärtused jäävad 0 ja 1 vahele, kus 0 tähistab täielikult kuiva toodet ning 1 vett (Esse & Saari, 2004). Keskmiselt jääb lõssipulbri veeaktiivsus vahemikku 0,2 – 0,3 (Pugliese et al., 2017). Jooniselt 5 on näha, et Maillardi reaktsioon toimub veeaktiivsusel 0,2 – 0,8, olles aktiivsem väärtusel 0,6.



Joonis 5. Säilivust mõjutavate protsesside sõltuvus veeaktiivsusest (Bleive, 2015)

### 1.2.2 Maillardi reaktsioon piimapulbrites

Lõssipulbris reageerivad Maillardi reaktsiooni tekkel peamiselt laktoos ja lüsiin (Xiang et al., 2021). Maillardi reaktsioon algab piimatoodete puhul laktoosi reageerimisega valkudega, moodustades laktosüül-lüsiini, mis on stabiilne Amadori ühend. Laktosüül-lüsiini teke vähendab piimatoodete toitainelist kvaliteeti, sest toimub lüsiini blokeerimine ning see ei ole enam seedimises omastatav (Pereyra et al., 2010).

Maillardi reaktsioon mõjutab oluliselt lõssipulbri kvaliteeti säilivuse ajal. Ühelt poolt on vähe läbi viidud uuringuid, mis selgitaksid muutuseid, mis toimuvad lõssipulbris, kui toote pakend on juba avatud. Samas on tegemist tootega, mille tarbimine kodus toimub pika aja jooksul ning üldiselt selleks pakend ka avatakse. Ka tootmises peab arvestama, et võivad toimuda muutused avatud pakendis oleva tootega, sest sinna tarnitakse lõssipulbrit tihti pakendatult suurtesse, 25 kg paberkottidesse, mis võivad seista avatuna pikemat aega ning imada keskkonnast niiskust oma hüdrokoopse olemuse tõttu. Arengumaades, kus tarbitakse palju piimapulbreid, võib aga näiteks toatemperatuur küündida 30-40 °C juurde, mis mõjutab oluliselt lõssipulbri kvaliteeti (Aalaei,

2017). Riikides, kus valgu igapäevane tarbimine inimese kohta on piisav, ei ole 10-20% lüsiini kadu piimatoodetes nii märkimisväärne probleem. Samas osutub see probleemiks, kui inimese tarbitud valgust olulise määra annab just piimapulber, mis peaks sisaldama kõiki üheksat asendamatu aminohapet, kuid nende sisaldus on säilivuse jooksul oluliselt vähenenud (O'Brien, 2009).

Lisaks toitainete kaole, põhjustab Maillardi reaktsioon toote värvuse muutust. Selle põhjustavad tootes tekkivad pruunika värvusega ühendid, melanoidiinid. Nende struktuurid ei ole keemiliselt siiani täielikult kirjeldatud, seetõttu kasutatakse pruuninemise hindamiseks toodetest nende värvuse muutuse vaatlemist (Le et al., 2011). Piimast toodetud pulbrite puhul on märgatud Maillardi reaktsiooni tõttu pulbri värvuse kollakamaks muutumist, mida kirjeldab CIE LAB värviruumis  $b^*$  parameetri väärtuse suurenemine skaala positiivsel poolel (Gutierrez, 2014).

Piimapulbreid kasutatakse toorainena ka teiste toodete valmistamiseks, seega pulbri sensoorne kvaliteet võib mõjutada ka valmistatavat lõpp-toodet (Cadwallader & Singh, 2009). Piimapulbrite Maillardi reaktsiooni puhul mõjutavad toote aroomi näiteks maltool ja aldehüüdid (Xiang et al., 2021). Maltool tekib disahhariididest, milleks on lõssipulbri puhul laktoos ning on ühendina oma olemuselt karamellise lõhna ja maitsega (Stewart et al., 2018). Aldehüüdid tekivad aga Streckeri lagunemise käigus. Iga aminohape toodab ka spetsiifilise Streckeri aldehüüdi, mis omab ühte süsiniku aatomit vähem, kui aminohape, millest see tekib (Clarke et al., 2021). Lisaks tekivad furaani derivaadid, furfurül-alkohol ja furfuraal Maillardi reaktsiooni käigus suhkru lagunemise ja dehüdreerumise tõttu. Neid seostatakse magusa, pähklike ja karamellise lõhnaga (Shiratsuchi et al., 1994). Väavliühendid annavad tootele aga küpsetatud piimasuse lõhna ja maitse (Hall & Andersson, 1985).

Eelnevalt mainitud lenduvad ühendid mõjutavad toote lõhna- ja maitseprofiili säilivuse vältel. Maillardi reaktsiooniga kaasnevad sensoorsed muutused muudavad piima baasil toodetud pulbrid karamellisemaks. Lisaks toovad Maillardi reaktsioonid esile ka küpsetatud piimasuse maitse ja lõhna tugevnemise (Xi et al., 2023).

## 2. Töö eesmärk

Antud magistritöö eesmärgiks oli jälgida lõssipulbris toimuvat Maillardi reaktsiooni kahes eri niiskusearjääriga pakkelahenduses, et selle kaudu hinnata niiskuse mõju protsessi toimumisele ja valida toote hoiustamiseks sobivam pakend toote kvaliteedistabiilsuse tagamiseks.

Õige pakkematerjali ja lahenduse leidmisega saab pikendada toitude kvaliteedi stabiilsust ja sellega seoses ka säilivusaega. Maillardi reaktsioon on kompleksne reaktsioon, mis põhjustab lõssipulbri säilitamisel viimase kvaliteedilangust. Samas on säilivuse jooksul toimuv Maillardi reaktsioon pikaajaline protsess. Reaktsiooni toimumise kiirendamiseks ja katse aja lühendamiseks hoiustati lõssipulbreid toatemperatuurist kõrgemal temperatuuril, 40°C juures ja 50% suhtelise õhuniiskusega keskkonnas.

### 3. Eksperimentaalne osa

#### 3.1 Materjalid ja meetodid

##### 3.1.1 Lössipulber ja pakendamine

Katses kasutati kommertsiaalselt kättesaadavat lõssipulbrit (OÜ Nutsaregood, Eesti). Pakendil oleva info kohaselt sisaldas pulber 100 g kohta: 362 kcal; <1,5 g rasva, millest 0,6 g olid küllastunud rasvhapped; 52 g süsivesikuid, millest 52 g suhkruid (sealhulgas 50 g laktoosi); 35 g valku.

Katse läbiviimiseks pakendati lõssipulber 150 g kaupa 30 cm x 18,75 cm suurustesse kottidesse. Kasutatud pakendid ja nende andmed on toodud tabelis 2.

Tabel 2. Kasutatud pakkematerjalide omadused

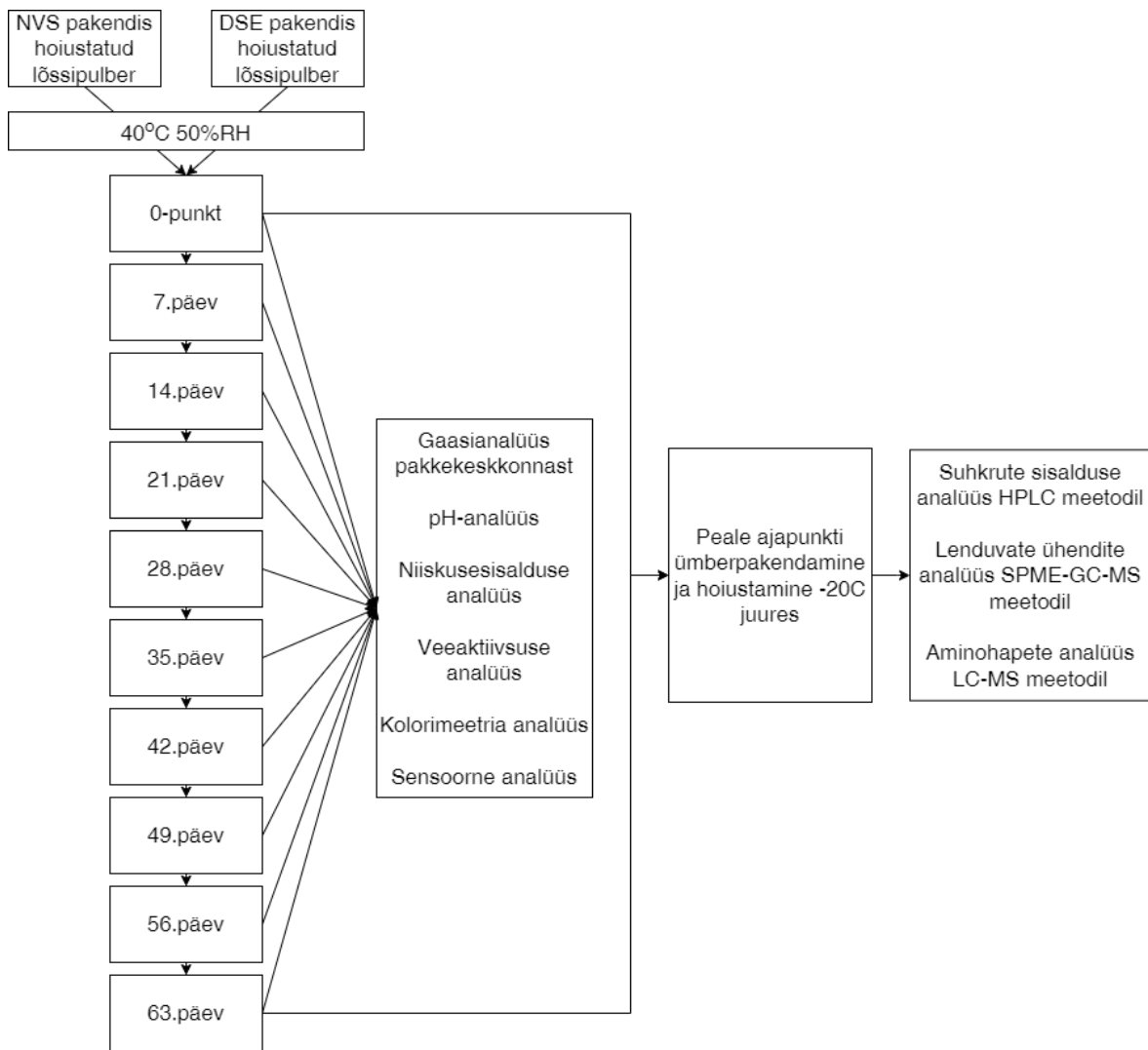
Nimetus	Edasimüüja/Tootja, Riik	Kirjeldus	OTR (cm <sup>3</sup> /m <sup>2</sup> /24h)	WVTR (g/m <sup>2</sup> /24h)
Natureflex NVS	AS Estiko-Plastar, Eesti	Läbipaistev tselluloosi kile	1	600
Laminaat DSE		Komposiitmaterjal läbipaistvast polüesterkilest (PET), metallik polüesterkilest (PETmet) ja läbipaistvast polüetüleenkilest (PE)	1,7	<2

##### 3.1.2 Katse hoiutingimused

Kõik proovid hoiustati kliimakapis 40°C ja 50% suhtelise õhuniiskuse juures (Memmert HPP410, Saksamaa). Toatemperatuurist kõrgem temperatuur valiti Maillardi reaktsiooni käigus toimuvate muutuste lineaarseks kiirendamiseks, et neid lühema katseperioodi vältel jälgida.

Katse pikkuseks oli 63 päeva ehk 9 nädalat. Iga 7 päeva järel võeti kontrollitud keskkonnaga kliimakapist välja kaks bioloogilist paralleelproovi mõlema pakendamisvariandi puhul. Katse alguses (0-punktis) ja igas ajapunktis viidi läbi veeaktiivsuse analüüs, niiskussisalduse analüüs, kolorimeetriline analüüs, gaasianalüüs pakkekeskkonnast, pH-analüüs ja kirjeldav sensoorne analüüs. Seda on visualiseeritud joonisel 6.

Analüüside teostamise järel pakendati proovid kõrgbarjäärsesse kilesse DSE ning hoiustati -20°C juures kuni edasiste analüüsideni. Peale katse lõppu analüüsiti 0-punkti proovide ja 63 päeva erinevates pakkematerjalides hoiustatud pulbrite suhkruisaldust HPLC meetodil, aminohapete sisaldust LC-MS meetodil ja lenduvate ühendite sisaldust SPME-GC-MS meetodil.



Joonis 6. Katse skeem

### 3.1.3 Gaasianalüüs pakkekeskkonnast ja pH-analüüs

Pakendi gaasikeskkonna hindamiseks analüüsiti gaasisaldust. Selleks kasutati Oxybaby 6.0 gaasianalüsaatorit (Wittgas, Saksamaa).

Pulbri pH-analüüsiks kasutati pH-meetrit SG2 (Mettler Toledo, Šveits). Pulbri pH mõõtmiseks valmistati sellest 10% vesilahus. Mõõtmisi teostati kolmes paralleelis.

### 3.1.4 Niiskussisalduse ja veeaktiivsuse analüüs

Niiskussisalduse analüüsiks kasutati Mettler Toledo HR38 halogeen niiskusanalüsaatorit (Šveits). Masina kaalutaldrikule kaaluti 1 g uuritavat pulbrit ja mõõtmised tehti kolmes paralleelis.

Veeaktiivsuse analüüsiks kasutati Rotronic HC2-AW analüsaatorit (Šveits). Kaaluti 2 g pulbrit proovitopsi ja tehti mõõtmised kolmes paralleelis.

### 3.1.5 Kolorimeetria

Kolorimeetria analüüsiks kasutati spektrofotomeetrit NS810 (3NH, Hiina), valgusallika seadetega D65 ja referentsinurgaga 2°. Proovi mõõtmiseks kaaluti 10 g uuritavat pulbrit valgele taldrikule,

kaeti toidukilega ning mõõdeti tulemus kolmes paralleelis. Värvuse hindamiseks kasutati CIE LAB värviruumi. Selles ruumis värvust väljendatakse kolme koordinaadiga: L\*, a\* ja b\*.

L\* - hindab proovi heledust skaalal 0-st 100-ni. 0 = „Täiesti must“ ning 100 = „Täiesti valge“.

a\* - hindab proovi värvust rohelisest punaseni. Skaala negatiivsed väärtused tähistavad rohelist, positiivsed väärtused punast.

b\* - hindab proovi väärtust sinisest kollaseni. Skaala negatiivsed väärtused tähistavad sinist ning positiivsed väärtused kollast (Chudy et al., 2020).

Tulemuste täpsete värvitoonide vaatlemiseks ja värvikaardi koostamiseks kasutati nixsensor veebilehekülge (Nix, 2023) kuhu sisestati mõõdetud L\*, a\* ja b\* tulemused. Arvutiprogramm andis seejärel tulemuste koordinaadid ka RGB värviruumis, mis sisestati programmi Microsoft Excel 2016 (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA) värvikaardi koostamiseks.

### **3.1.6 Kirjeldav sensoorne analüüs**

Sensoorne analüüs viidi läbi igas ajapunktis 7-10 treenitud assessori poolt ning andmete kogumiseks kasutati RedJade tarkvara (RedJade Sensory Solutions LLC, Martinez, USA). Proovi lõhna- ja maitseprofiilis hinnati üldist intensiivsust, magusust, karamellisust, kuumutatud piimasust, papisust ja muid kõrvallõhnu ja -maitseid. Hindamiseks kasutati 9 pallilist skaalat, kus 0 – “puudub”, 1 – “väga nõrk”, 5 – “keskmine” ja 9 – “väga tugev”.

Pulbri hindamiseks tehti sellest 15% vesilahus. Proovi referentsiks kasutati katse vältel -20°C juures hoiustatud samast partiist pärit lõssipulbrit, millest tehti sama kontsentratsiooniga lahendus. Assessoritele valmistati lisaks ka atribuutide referentsid. Kuumutatud piimale omase maitse ja lõhna referentsiks keedeti kolm minutit Alma täispiima 3,8-4,2% (Valio, Eesti) ning jahutati enne serveerimist (Richards et al., 2014). Karamellise maitse referentsiks oli lahus, mis valmistati 15 g karamellisiirupi (Nordic Sugar, Eesti) lahustamisel 400 ml-s lõssipiimas (Valio, Eesti) (Drake et al., 2007). Karamellise lõhna referentsiks serveeriti 12 g karamelli kondenspiima (Polven Foods OÜ, Eesti) (Pavon, 2003).

### **3.1.7 Suhkrute sisalduse analüüs HPLC meetodil**

Suhkrute sisalduse analüüsil HPLC meetodil hinnati laktoosi, galaktoosi ja glükoosi kogust proovidest. Analüüsitavateks provideks olid 2 bioloogilises paralleelis 0-punkti lõssipulber ning 63 päeva 40°C ja 50% RH juures, NVS ja DSE pakendites hoiustatud lõssipulbrid. Igast bioloogilisest paralleelist teostati mõõtmised 3 tehnilises paralleelis.

Suhkrute sisalduse analüüsi proovi ettevalmistuseks kaaluti (Mettler Toledo XP205, Šveits) 0,1 - 0,15 g proovi 50 ml tsentrifuugitopsi, lisati 30 ml MilliQ vett ning asetati rotaatorile 60 minutiks. Proovide filtreerimiseks kasutati Amicron Ultra 0,5 ml centrifugal filtreid (Merck Millipore Ltd, Iirimaa). Filtrite ettevalmistamiseks proovi jaoks oli vaja neist eelnevalt glütserool eemaldada. Selleks loputati 3x filtrid 500 µl MilliQ veega, tsentrifuugides neid vahepeal 20 minutit 10 000 rpm. Loputatud filtritest filtreeriti läbi ka proov, tsentrifuugides samadel tingimustel.

Masina viaali pipeteeriti 100 µl filtreeritud lahust. Proovi analüüsimiseks kasutati kõrgsurve-vedelikkromatograafi Waters Arc Premier HPLC Süsteem (Waters Corporation, Milford, MA, USA) automaatsampleringa. Detektoriks oli Waters 2414 refraktsioon indeks detektor (Waters

Corporation, Milford, MA, USA). Kasutusel oli HPX-87C kolonn (BioRad Hercules, CA) temperatuuril 85°C, milles kasutati eluendiks MilliQ vett 0,6 ml/min.

Sisestandarditeks kasutati: laktoosi jaoks laktoos-monohüdraati (SupelCO, Saksamaa), maksimaalse kontsentratsiooniga 3,949 g/L, glükoosi jaoks D-glükoosi (Sigma-Aldrich, Saksamaa), maksimaalse kontsentratsiooniga 3,959 g/L, galaktoosi jaoks D(+)-galaktoosi (Merck Art. 40158 11531), maksimaalse kontsentratsiooniga 4,912 g/L. Andmete analüüsimiseks kasutati Empower software (Waters Corporation, Milford, MA, USA) ja Microsoft Excel 2016 (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA).

### **3.1.8 Aminohapete analüüs LC-MS meetodil**

Analüüsitavateks proovideks olid 2 bioloogilises paralleelis 0-punkti lõssipulber ning 63 päeva 40°C ja 50% RH juures, NVS ja DSE pakendites hoiustatud lõssipulbrid. Igast bioloogilisest paralleelist teostati mõõtmised 3 tehnilises paralleelis.

Proovi ettevalmistuseks kaaluti (Mettler Toledo XP205, Šveits) 50 ml kolbi 0,1 g proovi. Pulbri lahustamiseks asetati kolvid ultrahelivanni (Elma, Elmasonic S 15 H, Saksamaa) 30°C juurde 30 min. Märgistatud hüdrolüüsivialidesse pipeteeriti 20 µl E.coli biomassi ekstrakti, 20 µl proovi või kontrollproovide jaoks 20 µl BSA lahust ning vahutamise vähendamiseks 20 µl metanooli. Proovid kuivatati 105°C juures hüdrolüsaatoril (Eldex Pico Tag HD Workstation, USA). Seejärel viidi läbi eraldi aluseline ja happeline hüdrolüüs. Kuivatatud proovidesse lisati aluseliseks hüdrolüüsiks 40 µl 4,2N NaOH ning happeliseks hüdrolüüsiks 300 µl HCl/fenooli segu. Viidi läbi vastavalt meetodile vaakum-lämmastik tsükkel hüdrolüüsi proovidele ning seejärel asetati proovid 20±2h proovid 105°C juurde hüdrolüsaatori ahju. Peale ahjus kuivatamist eemaldati happelise hüdrolüüsi proovides liigne HCl vaakumiga.

Proovi üleslahustamiseks peale aluselist hüdrolüüsi viidi sinna 40 µl 4,2 N HCl-i ja 320 µl boraatpuhvrit. Seejärel valati proovid eppendorffidesse, tsentrifugeeriti 14 000 rpm 10 min toatemperatuuril ning kasutati 0,2 µm 13 mm polüesterfiltreid polaarsetele ja mittepolaarsetele proovidele (Chromafil Xtra PET-20/13). Happelise hüdrolüüsi proovide üleslahustamiseks lisati vialidesse 200 µl boraatpuhvrit. Seejärel filtreeriti proovid eppendorffidesse kasutades 0,2 µm PTFE (Millipore) filtreid.

Proovi derivatiseerimiseks pärast aluselist hüdrolüüsi lisati viali 20 µl proovi, 60 µl boraatpuhvrit ja 20 µl derivatsioonireagenti. Pärast happelist hüdrolüüsi derivatiseerimiseks, lisati viali 10 µl proovi, 70 µl boraatpuhvrit ja 20 µl derivatsioonireagenti. Viaalid asetati 10 minutiks 55°C juurde ning seejärel süstiti masinasse. Aminohapete määramiseks kasutatakse ACQUITY UPLC süsteemi ja LCT Premier XE ESI TOF MS (Waters) koos aminohapete määramiseks mõeldud kolonniga AccQ-Tag Ultra RP 1,7 µm, 2,1 mm 100mm (Waters).

### **3.1.9 Lenduvate ühendite analüüs SPME-GC-MS meetodil**

Analüüsitavateks proovideks olid 2 bioloogilises paralleelis 0-punkti lõssipulber ning 63 päeva 40°C ja 50% RH juures, NVS ja DSE pakendites hoiustatud lõssipulbrid. Igast bioloogilisest paralleelist teostati mõõtmised 3 tehnilises paralleelis. Lenduvate ühendite analüüsimiseks kasutati tahke faasi mikroekstraktsiooni (SPME). Selleks kaaluti kaalul (Mettler Toledo XPR105DR, Šveits) magnetsegajaga SPME viali 0,5 g pulbrit ning seejärel lisati 0,5 ml MilliQ vett ning 10 µl sisestandardit (4-metüül-2-pentanol 0,02 g/L). Viali eelkuumutati 5 minutit, mille järel

absorbeeriti lenduvad ühendid SPME fiibrile 40 minuti jooksul 40°C juures. Absorbeerunud ühendid desorbeeriti GC süstimispositsioonis 5 minuti jooksul.

GC-MS analüüsiks kasutati gaas-kromatograafi süsteemi (2030; Shimadzu, Kyoto, Japan), mis oli ühendatud mass-spektromeetriga (8050NX Triple Quadrupole; Shimadzu, Kyoto, Japan) ja automaatse proovi sisestus süsteemiga AOC-6000 (Shimadzu, Kyoto, Japan). Analüüsis kasutati ZB5-MS kolonni (30m×0,25mm×1,0 µm (Phenomenex, Torrance, CA, USA)) ja kandegaasina heeliumit. Ühendite identifitseerimiseks kasutati GCMS Solution tarkvara (Shimadzu, Japan) ja kalkuleeritud retentsioonindekse. Identifitseeritud ühendid kvantifitseeriti semi-kvantitatiivselt ja tulemused esitati ppb-des sisestandardi ekvivalentidena.

## 3.2 Tulemused ja arutelu

### 3.2.1 Gaasianalüüs pakkekeskkonnast

Mõlemad katses kasutatud pakkematerjalid olid kõrge barjääriga hapniku läbilaskvuse vastu, et takistada gaasivahetust keskkonnaga ning seeläbi eelkõige takistada lipiidide oksüdatsiooni teket. NVS pakendi puhul oli hapniku läbilaskvus  $1 \text{ cm}^3/\text{m}^2/24\text{h}$  ja DSE pakendi hapniku läbilaskvuseks oli  $1,7 \text{ cm}^3/\text{m}^2/24\text{h}$ . Pakkekeskkondade gaasisalduse tulemused on toodud tabelis 3. Nagu näha, siis katse jooksul püsis mõlema pakkelahenduse puhul gaasisaldus stabiilsena. Keskmiselt oli pakendites 19,8% hapnikku, 0,4% süsihappegaasi ja 79,8% lämmastikku. Eelkõige hapnikusisalduse stabiilsus mõlema pakkekeskkonna puhul viitab sellele, et kummalgi juhul ei toimunud katse vältel lipiidide oksüdatsioon, mis võib samuti põhjustada kõrvalõhnade- ja maitsete teket. Kuna aga lõssipulbri rasvasisaldus oli piisavalt madal (1,5%) ning kasutati hapniku suhtes kõrgebarjäärseid pakendeid, saavutati soovitud tulemus võimaliku oksüdatsiooni pärssimise näol.

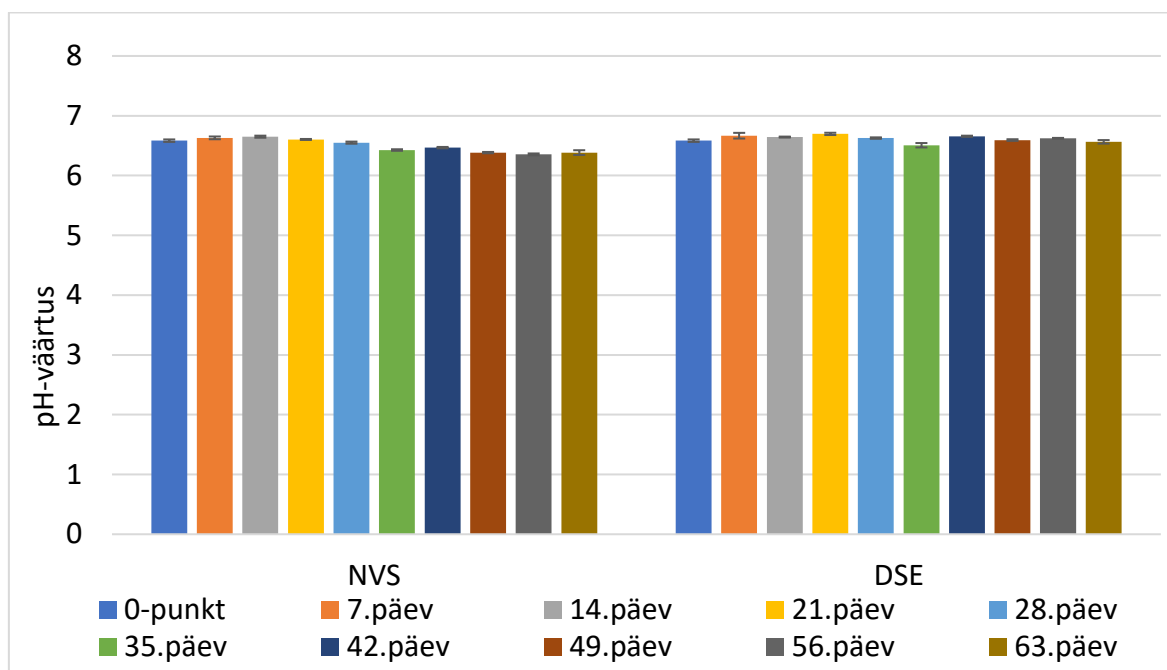
Tabel 3. Lõssipulbrite pakendite gaasisaldus katseperioodil

	NVS			DSE		
	O <sub>2</sub> (%)	CO <sub>2</sub> (%)	N <sub>2</sub> (%)	O <sub>2</sub> (%)	CO <sub>2</sub> (%)	N <sub>2</sub> (%)
<b>0-punkt</b>	20,9	0,6	78,5	20,9	0,6	78,5
<b>7.päev</b>	20,0	0,7	79,3	20,8	0,2	79,1
<b>14.päev</b>	19,0	0,8	80,3	20,6	0,3	79,2
<b>21.päev</b>	17,9	0,6	81,5	20,3	0,4	79,4
<b>28.päev</b>	19,2	0,6	80,2	20,1	0,5	79,5
<b>35.päev</b>	20,6	0,3	79,1	20,3	0,2	79,6
<b>42.päev</b>	18,4	0,2	81,4	20,2	0,3	79,6
<b>49.päev</b>	20,0	0,2	79,8	20,1	0,1	79,8
<b>56.päev</b>	19,8	0,6	79,6	19,4	0,6	80,0
<b>63.päev</b>	20,0	0,1	80,0	19,0	0,9	80,1



### 3.2.2 pH-analüüs

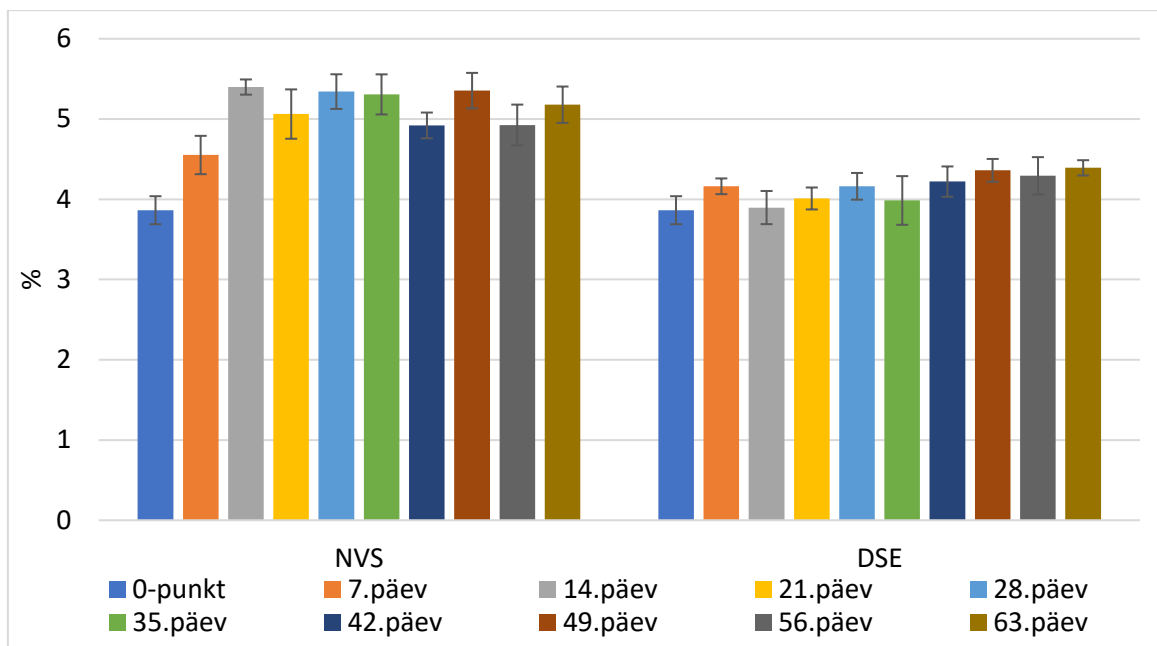
Proovide pH-väärtused katse jooksul on toodud joonisel 7. Tulemustest on näha, et lõssipulbritest mõõdetud pH-väärtus püsis mõlema pakkelahenduse puhul stabiilsena kogu katse vältel. NVS pakkelahenduses oli proovi pH-väärtuseks katse jooksul keskmiselt 6,5 ning DSE pakkelahenduse puhul oli keskmiseks väärtuseks 6,6.



Joonis 7. Lõssipulbrite pH-väärtused katseperioodil

### 3.2.3 Niiskusesisalduse ja veeaktiivsuse analüüs

Joonisel 8 on näidatud proovide niiskusesisalduse väärtused eri pakkelahendustes kogu katse jooksul. On näha, et DSE pakendis hoiustatud lõssipulbris püsis terve katse jooksul niiskusesisaldus standardhälbe piires stabiilsena. DSE-pakendi veeauru läbilaskvus oli  $<2 \text{ g/m}^2/24\text{h}$ . Selline kõrge barjäär veeauru liikumise suhtes keskkonna ja pakendi sisemuse vahel kaitseb pakendatud toodet keskkonnas oleva niiskuse eest. NVS pakendi puhul oli veeauru läbilaskvuse kiiruseks aga  $600 \text{ g/m}^2/24\text{h}$ . See pakend laseb oluliselt rohkem niiskusel liikuda välise keskkonna ja toote vahel. Kui algselt oli lõssipulbri niiskussisaldus 4%, siis NVS pakendis hoiustatud pulbri puhul toimus esimese kahe nädala jooksul pulbri niiskussisalduse 38%-ne tõus ning seejärel püsis niiskussisaldus vahemikus 4,9-5,4%.

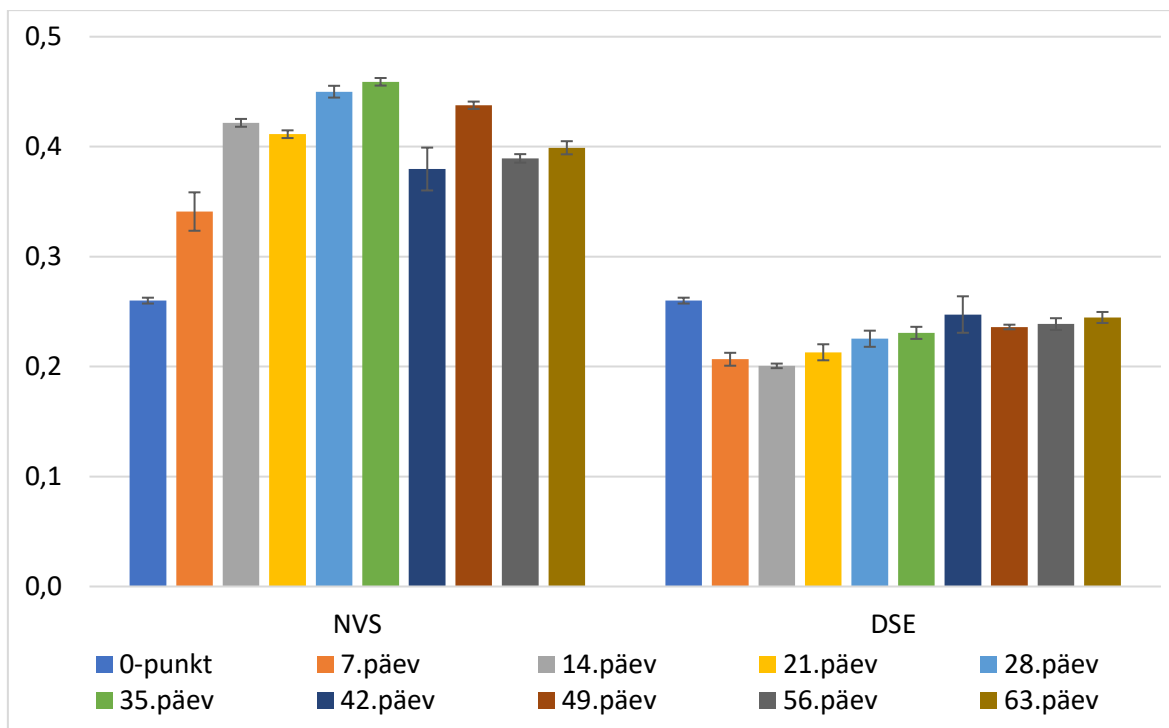


Joonis 8. Lössipulbri niiskussisalduse väärtused katseperioodil

Proovide veeaktiivsuste väärtused eri pakkelahendustes kogu katse jooksul on toodud joonisel 9. Algselt (0-punktis) oli proovi veeaktiivsus 0,26. Säilivuskatse jooksul on näha aga veeaktiivsuse väärtuste muutust eri pakkelahendustes. Madala niiskusbarjääriga (NVS) pakkelahenduses toimus stabiilne veeaktiivsuse tõus lõssipulbris 35. päeva ajapunktini. Selleks ajaks oli pulbri veeaktiivsus tõusnud 76%. Peale oma maksimaalse veeaktiivsuse saavutamist ja keskkonna niiskusega ühtlustumist see stabiliseerus ning kõikus vahemikus 0,38-0,44.

Katse jooksul on aga näha, et kõrgbarjäärses DSE pakkelahenduses pulbri veeaktiivsus ei tõusnud. Küll aga võib märgata, et kohe pärast 0-punkti langes proovi veeaktiivsus 20% ning seejärel püsis veeaktiivsuse väärtus stabiilsena katse lõpuni vahemikus 0,23-0,24. Selline veeaktiivsuse muutus tuleneb temperatuuri muutusest ning pakendi omadustest. Kõrgbarjäärne pakend ei lase pulbril niiskust keskkonnast juurde imada ning pakendis olev pulber hakkab hoopis siduma pulbris olevat vaba vee hulka. Seega langeb esialgu veeaktiivsus, kuid pulbri üldine niiskusesisaldus ei muutu.

NVS pakendi puhul tõusis katseperioodi vältel nii lõssipulbri veeaktiivsuse väärtus, kui ka niiskusesisaldus. Niiskusesisaldus, mis näitab kogu vee hulka pakendis, saavutas oma maksimumväärtuse juba teisel nädalal. Ka veeaktiivsuse väärtus tegi suurima kasvu esimese kahe nädalaga, kuid maksimumväärtuse saavutas viiendal nädalal.



Joonis 9. Lõssipulbri veeaktiivsuste väärtused katseperioodil

### 3.2.4 Kolorimeetria

Värvus on oluline aspekt, mille järgi tarbija visuaalselt hindab, kas toode on aktsepteeritava kvaliteediga või mitte. Mitte-ensümaatilise pruunistumise viimases etapis toimub värviühendite teke. Need ühendid põhjustavad lõssipulbri värvuse muutumist algsest helekollasest värvusest tumekollaseks/pruunikaks (Phosanam et al., 2020). Tabelis 4 on esitatud kolorimeetria analüüsi tulemused. On näha, et NVS pakendis hoiustatud lõssipulbri puhul toimus katse algusest saati järkjärguline värvuse pruunistumine. L\* teljel, mis kirjeldab värvuse muutust tumedast heledani, toimus madala niiskusebarjääriga pakendis lõssipulbri värvuse tumenemine katse jooksul 8 skaala punkti võrra. Rohelist ja punast värvust kirjeldaval teljel (a\*) toimusid muutused 5 skaala punkti võrra ja värvus liikus rohelisemast punasemaks. Suurim muutus toimus skaala teljel, mis kirjeldab värvust sinisest – kollaseni (b\*). Katse alguses, 0-punktis juba skaala kollasemal poolel alustanud proovi värvus muutus veel 10 palli võrra tumekollaseks.

Tabel 4. Lõssipulbrite kolorimeetria väärtused katseperioodil

	NVS			DSE		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*
<b>0-punkt</b>	99	-2	10	99	-2	10
<b>7.päev</b>	97	-1	12	98	-2	10
<b>14.päev</b>	97	-1	14	99	-2	10
<b>21.päev</b>	96	-1	16	98	-2	10
<b>28.päev</b>	96	-1	16	99	-2	10
<b>35.päev</b>	96	0	17	99	-2	10
<b>42.päev</b>	95	0	19	100	-2	10
<b>49.päev</b>	94	1	19	98	-2	10
<b>56.päev</b>	94	1	20	99	-2	10
<b>63.päev</b>	91	2	21	98	-2	10

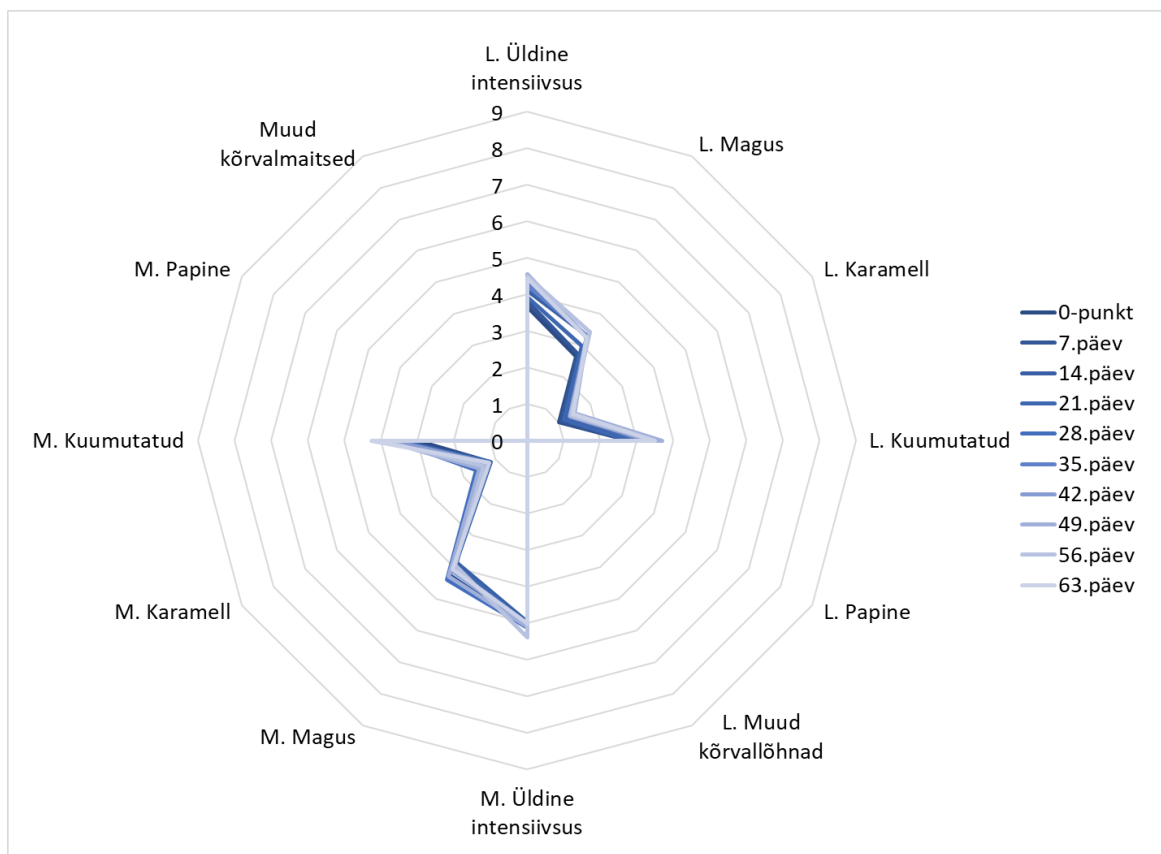
Kui kolorimeetrilise analüüsi arväärtused kanda üle värvikaardile (Joonis 10), siis on tulemustest näha, et NVS pakkelahenduses toimunud värvimuutus oli järkjärguline ning värvus muutus katseperioodil ühtlaselt pruunimaks. Värvuse muutus mitte-ensümaatilise pruunistumise käigus on sõltuvuses tootes oleva veega ning kiireneb koos veeaktiivsuse tõusuga. Alates 35. päeva ajapunktist, kus lõssipulbri veeaktiivsus NVS pakkelahenduses jõudis umbes 0,4 juurde, toimus ka toote pruunistumine intensiivsemalt. Niiskusele kõrgbarjäärses DSE pakkelahenduses on aga nii tabelis 3 kui joonisel 10 näha, et lõssipulber säilitas oma värvuse.

	NVS	DSE
0-punkt		
7.päev		
14.päev		
21.päev		
28.päev		
35.päev		
42.päev		
49.päev		
56.päev		
63.päev		

Joonis 10. Lõssipulbri värvuse muutus ajas

### 3.2.5 Kirjeldav sensoorne analüüs

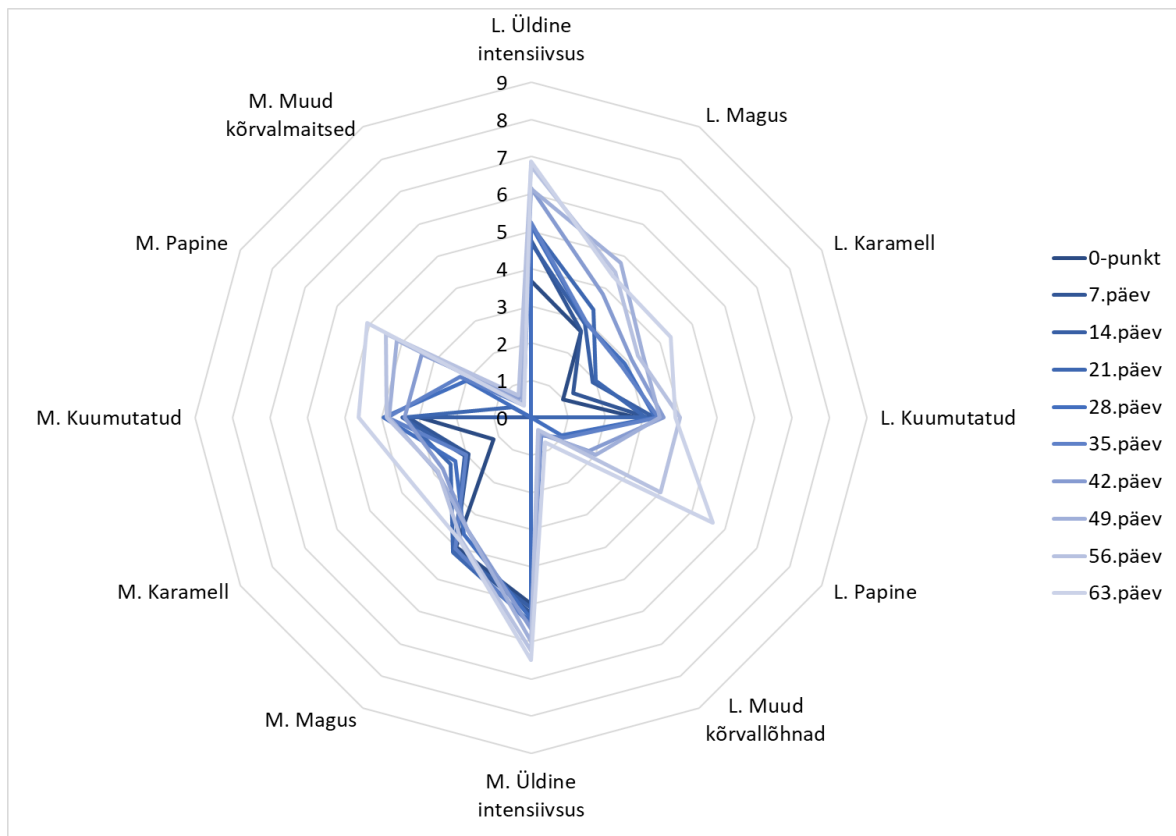
Kirjeldava sensoorse analüüsi tulemused DSE pakendis hoiustatud lõssipulbrile on esitatud joonisel 11. Tulemustest on näha, et kõrgbarjäärses pakendis püsis lõssipulbri organoleptiline kvaliteet stabiilsena. Katse jooksul tõusis vähesel määral kuumutatud maitse intensiivsus ja üldise lõhna intensiivsus. Magusa ja kuumutatud lõhna tugevus kasvas samuti ainult 0,5 skaala-punkti võrra. Sellest saab järeldada, et kui pakendil on kõrge barjäär nii hapniku kui ka veeauru läbilaskvuse vastu, püsib toote maitse ja lõhna kvaliteet stabiilsena ka kõrgematel temperatuuridel hoiustamisel ning Maillard'i reaktsioonile iseloomulikud organoleptilised atribuudid lõssipulbris ei intensiivistu.



Joonis 11. DSE pakkelahenduses hoiustatud lõssipulbri sensoorne profiil katseperioodil

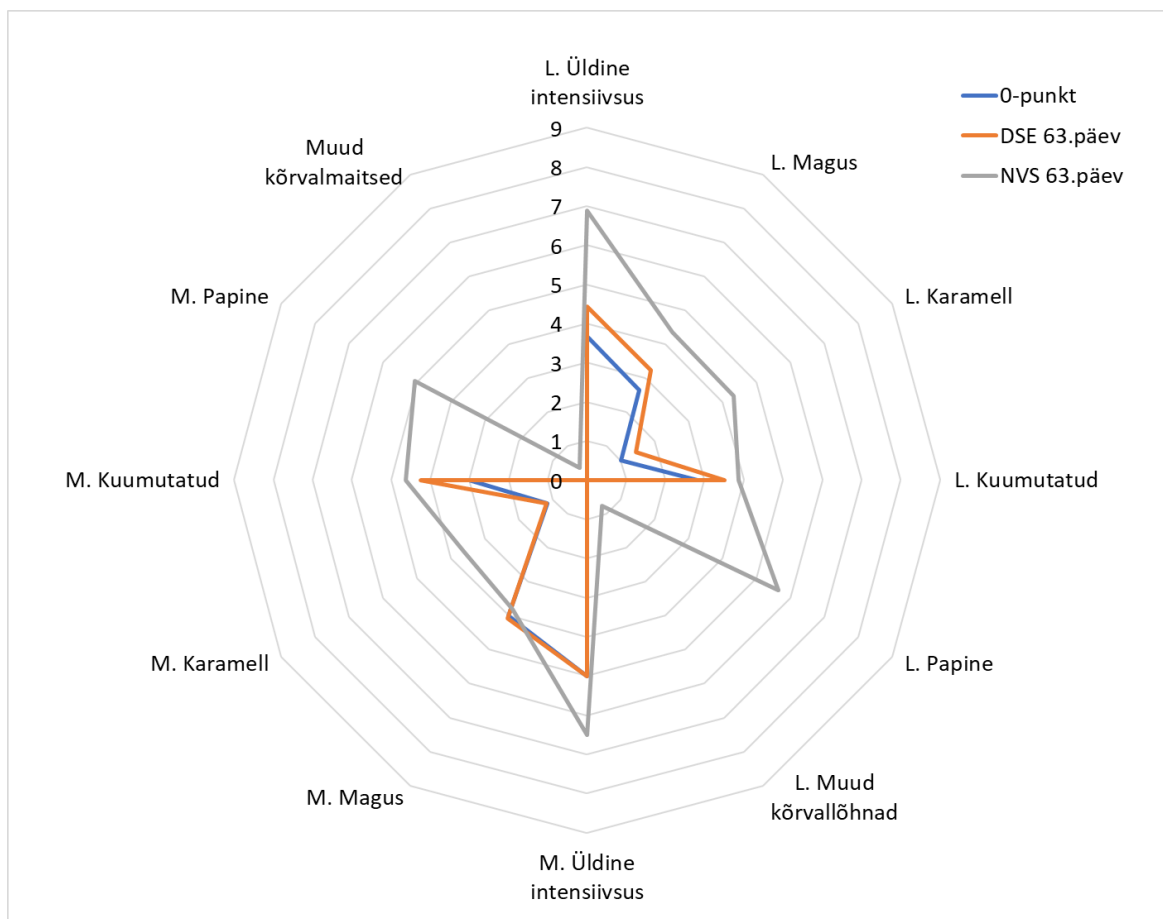
Niiskusele madalbarjäärses NVS pakendis hoiustatud lõssipulbris kirjeldati sensoorses analüüsis assessorite poolt märkimisväärseid muutusi nii lõhna kui ka maitse omadustes (Joonis 12). Antud juhul tugevnes lõssipulbri lõhna üldine intensiivsus katse jooksul 3-punkti võrra (hindelt 4 hindele 7). Üldist maitse intensiivsust hinnati assessorite poolt juba katse alguses keskmisele tasemele ning katse jooksul tõusis see lineaarselt 1,5 skaala punkti võrra. Maitstes tugevnes Maillardile omane kuumutatud piimasus ning lõhnas intensiivistus lõssipulbri karamellisus. Magusa maitse intensiivsus ei tõusnud, kuid tugevnes magus lõhn.

Säilivuse jooksul lisandus NVS pakendis hoiustatud pulbrile ka tuntav papine kõrvallõhn ja -maitse. Papisust hinnati lõssipulbri maitstes ja lõhnas üheksanda nädala ajapunktiks keskmiselt hindegga 5. Maitstes oli papisust tunda juba neljandast nädalast ning see tõusis katse lõpuni järk-järgult. Papist lõhna hakati tundma alates kuuendast nädalast, kuid see tõusis märgatavalt alles 56. päeva ajapunktiks, kui teda hinnati skaalal hindegga 4. Lisaks sellele täheldasid mõned assessorid NVS pakendis hoiustatud lõssipulbris alates viiendast nädalast ka keemilist, juurviljast ning väävlit kõrvallõhna ning keemilist, kriidist ja väävlit kõrvalmaitset. Nende atribuutide intensiivsus jäi aga katse lõpuni madalale tasemele.



Joonis 12. NVS pakkelahenduses hoiustatud lõssipulbri sensoorne profiil katseperioodil

Joonisel 13 on kujutatud üheksa nädalat erinevates pakkematerjalides hoiustatud lõssipulbrite maitse- ja lõhnaprofiili muutused võrdlusena 0-punkti prooviga. On näha, et DSE pakkematerjalis hoiustatud lõssipulbri muutused kogu katse vältel olid tagasihoidlikud, kuid NVS pakkematerjalis hoiustatud lõssipulbri lõhna- ja maitseprofiil muutus katse jooksul märkimisväärselt.



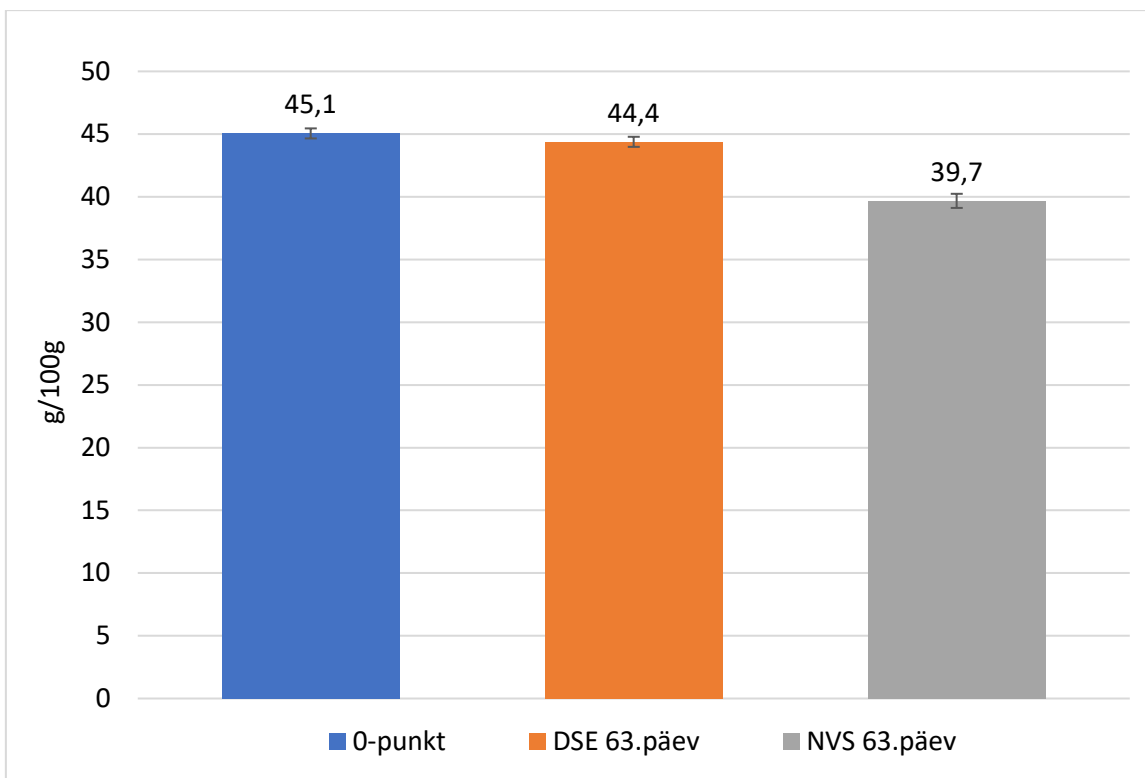
Joonis 13. Lõssipulbri sensoorse profiili 0-punkti võrdlus DSE ja NVS pakendites säilitatud lõssipulbrite viimase ajapunktiga (63 päeva)

Kirjeldava sensoorse analüüsi tulemusena võib öelda, et madala niiskusbarjääriga NVS pakendisse pakendatud lõssipulbri puhul intensiivistusid säilivuskatse jooksul eelkõige Maillardile omane karamelline lõhn ja vähesemal määral kuumutatud piimasuse lõhn ning maitse. Kõrgbarjäärses DSE-pakendis olid antud muutused katse lõpuks märkimisväärselt väiksemad.

### 3.2.6 Suhkrute sisalduse analüüs

Algselt oli lõssipulbri laktoosisisaldus 45,1 g/100 g (Joonis 14). Katse jooksul täheldati, et NVS pakkelahenduse puhul toimus katseperioodi jooksul laktoosisisalduse langus 12% võrra. DSE pakendis hoiustatud pulbri laktoosisisaldus vähenes katse jooksul aga ainult 1,5%. Kuna laktoos reageerib Maillardi reaktsiooni käigus lüsiiniga (Pereyra et al., 2010), võib katse tulemusest järeldada, et NVS pakendis hoiustatud lõssipulbris toimus Maillardi reaktsioon intensiivsemalt.

Lisaks laktoosile määrati katse käigus ka glükoosi ja galaktoosi sisaldust, mille mõlema puhul leidis lõssipulbris vaid nende jääke. See võib näidata, et laktoos ei lagunenu katse käigus oma monosahhariidideks. Samas, kui ka säilivuse jooksul võib olla lagunemine toimunud, siis võivad ka need monosahhariidid olla reageerinud aminohapetega.

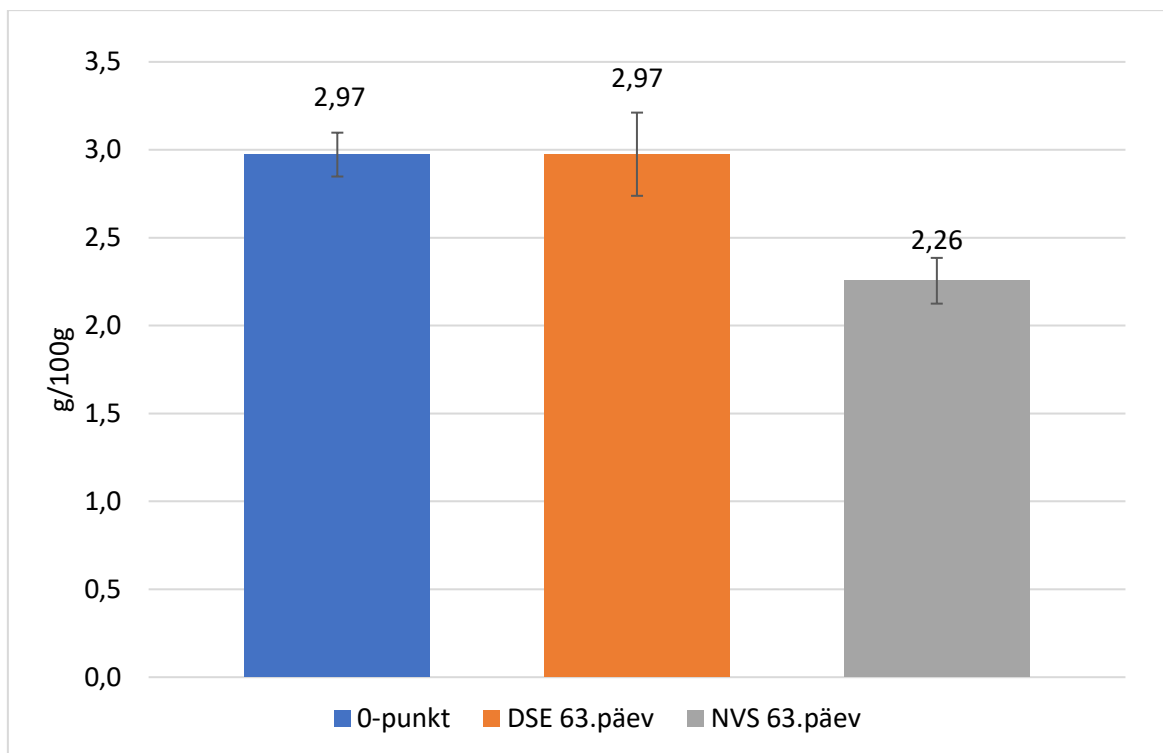


Joonis 14. Lõssipulbrite laktoosisalduse võrdlus 0-punktis ja DSE ja NVS pakendites 63 päeva hoiustatud lõssipulbrite vahel

### 3.2.7 Aminohapete analüüs

Lõssipulbri testitud aminohappeline profiil analüüsil leiti, et esines 17 aminohapet, mille seas olid kõik 9 asendamatu aminohapet (Lisa 1). Tulemustest (Joonis 15) on näha, et katse jooksul vähenes lüsiinisaldus NVS pakendis hoiustatud lõssipulbri puhul. Lüsiin on aminohape, mis reageerib Maillard'i reaktsiooni käigus lõssipulbris oleva laktoosiga (Pereyra et al., 2010), siis näitab tulemus, et antud niiskusele madalbarjäärses pakkelahenduses võis toimuda lõssipulbri Maillard'i reaktsioon. Antud muutust ei täheldatud kõrgbarjäärses DSE pakendis hoiustatud lõssipulbri puhul. Proovide muu aminohappeline profiil püsis kogu katse vältel stabiilsena mõlemas pakkelahenduses (Lisa 1).



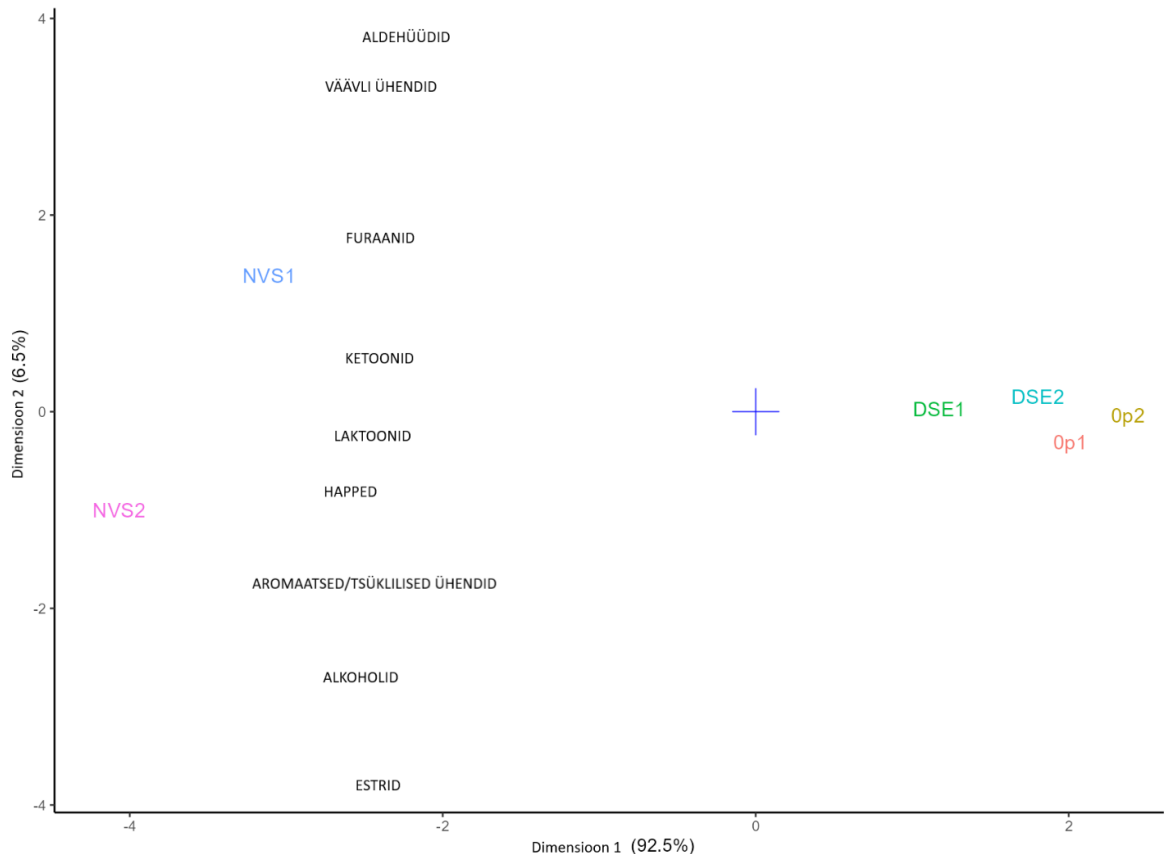


Joonis 15. Lõssipulbrite lüsiini sisalduse võrdlus 0-punktis ja DSE ja NVS pakendites 63 päeva hoiustatud lõssipulbrite vahel

### 3.2.8 Lenduvate ühendite analüüs

Lõssipulbriest teostatud lenduvate ühendite analüüsil leiti enim ketoone (14 ühendit), aldehüüde (11 ühendit) ja alkohole (10 ühendit). Leitud ühendite seas oli veel 9 hapet, 6 väevliühendit, 6 aromaatsset/tsüklilist ühendit, 4 furaani, 3 estrit ja 2 laktooni. Kõik leitud ühendid on esitatud lisas 2.

Analüüsil saadud tulemused on visualiseeritud PCA (Principal Component Analysis) joonisele (Joonis 16). On näha, et 0-punkti proovid ja 63 päeva hoiustatud DSE pakkelahenduses hoiustatud proovid moodustavad omaette grupeeringu graafiku paremale poole. 63 päeva NVS pakkelahenduses hoiustatud proovid on aga nendest mõlemast erinevad ning jäävad graafiku vasakule poole omaette grupeerunguna, kus antud proove iseloomustavad rohkem säilivuse vältel tekkinud lenduvate ühendite grupid. Seda tulemust toetavad ka sensoorse analüüsi käigus saadud tulemused, kus jooniselt 16 oli näha, et 0-punkti proovide maitse- ja lõhnaprofiil on sarnane DSE pakkelahenduses 63 päeva hoiustatud proovide maitsele ja lõhnale.



Joonis 16. Lõssipulbrites määratud lenduvate ühendite sisalduse võrdlus 0-punktis ja DSE ja NVS pakendites 63 päeva hoiustatud lõssipulbrite vahel

Maillardi reaktsioonile omaseid aromaatsed/tsüklilisi ühendeid esines kõige rohkem NVS pakkelahenduses hoiustatud lõssipulbri proovides. Nendest leitud ühenditest (Lisa 2, Tabel 1) 80% moodustas maltool, mis on Maillardi reaktsioonile iseloomulik produkt, tekkides lõssipulbri puhul laktoosist ning omades magusat, karamellilist maitset/lõhna (Stewart et al., 2018). Maltooli teke lõssipulbri võib seletada ka sensoorses analüüsis tuntud karamellilise lõhna ja maitse tugevnemist NVS pakendis hoiustatud pulbri puhul. Furaanidest leidis NVS pakendis hoiustatud pulbris enim 2-metüül-furaani ja 2-pentüül-furaani, kuid nende kontsentratsioon jäi üldiselt madalaks.

Aldehüüde esines NVS pakendis hoiustatud pulbris üle 4 korra rohkem kui DSE pakendis hoiustatud pulbris (Lisa 2, Tabel 2). NVS pakendis hoiustatud lõssipulbris moodustas kõige suurema kontsentratsiooni aldehüüdide puhul furfuraal, mis tekib Maillardi reaktsiooni käigus suhkru lagunemise käigus ning omab magusat, karamellilist, pähkilist lõhna (Newton et al., 2012). Seda ühendit ei esinenud lõssipulbris 0-punktis, seega tekkis see ilmselt säilivuse jooksul ja võis olla ka sensoorses analüüsis tuntud magusa ja karamellilise lõhna tõusu põhjustajaks. Esindatud oli ka heksanaal, mis on üks peamisi lipiidide oksüdatsiooni produkte ning tekitab lõssipulbrile kõrvallõhnu. Võrreldes 0-punkti prooviga kasvas NVS pakendi proovi puhul selle kontsentratsioon 10 korda, kuid ka DSE pakendis hoiustatud lõssipulbri proovis oli heksanaali kontsentratsioon 0-punktiga võrreldes kahekordistunud. Lisaks sellele, Streckeri lagunemisel tekkinud aldehüüdid 2-metüül-propanaal, 3-metüül-butanaal ja 2-metüül-butanaal esinesid ka mõningal määral DSE pakendis hoiustatud proovides, kuid NVS pakendis hoiustatud lõssipulbris oli

nende kontsentratsioon võrreldes esialgsena 3-5 korda kasvanud. Sellest saab järeldada, et ka DSE pakendis hoitud pulbris toimus Maillardi reaktsiooni puhul Streckeri lagunemine, kuid tunduvalt väiksemal määral.

Lenduvaid alkohole leidis 11,5 korda rohkem NVS pakendis hoitud lõssipulbris, millel oli madalam niiskusebarjäär, kui kõrgbarjäärses DSE pakendis hoitud pulbris (Lisa 2, Tabel 3). Peamine NVS pakkelahenduses hoitud lõssipulbrist tuvastatud lenduv alkoholi oli furfurüülalkohol, mis on Maillardi reaktsiooni tulemusena tekkinud lenduv ühend ning võib olla kantserogeenne (Wherry et al., 2019). Furfurüülalkohol omab keemilist lõhna, mille teket märgati ka sensoorse hindamise assessorite poolt NVS pakkelahenduses hoitud lõssipulbris alates kuuenda nädala ajapunktist.

Väävlilistest ühenditest leidis NVS pakendis hoitud lõssipulbris 70% dimetüül-disulfiidi ja 18% dimetüül-trisulfiidi (Lisa 2, Tabel 4), mis on mõlemad Maillardi reaktsiooni produktid (Stewart et al., 2018). Esimest nendest nimetatud ühenditest iseloomustab väävliline ja juurviljane lõhn. Juurviljast lõhna tundsid sensoorsel hindamisel assessorid NVS pakendis hoitud lõssipulbri puhul alates viienda nädala ajapunktist. DSE pakkelahenduse puhul moodustas suure osa väävlilistest ühenditest etaantiool, mida NVS pakkelahenduses ei esinenud. Arvatavasti jäi selle väävliline ja puuviljane lõhn alla sensoorse tuvastamise piiri, sest DSE pakendis hoitud lõssipulbril kõrvallõhnu ja maitseid ei tuvastatud.

Ketoone ja happeid esines mõlemas pakkelahenduses hoitud lõssipulbri proovides, kuid nende mõlema grupi ühendite puhul oli näha, et pakendi valik mõjutas otseselt tekkivate lenduvate ühendite hulka. NVS pakkelahenduses hoitud lõssipulbris esines kaks korda rohkem ketoone ja kolm korda rohkem happeid kui DSE pakendis hoitud lõssipulbris (Lisa 2, Tabelid 5 ja 6).

Ketoonidest esines mõlemas pakkelahenduses butanooni ja 2-heptanooni, kuid NVS pakkelahenduse puhul oli mõlemat kaks korda rohkem. Hüdroksüatsetooni esines vaid NVS pakkelahenduse puhul ning 2-pentanooni kontsentratsioon kasvas mõlemas pakkelahenduses kaks korda võrreldes 0-punkti prooviga (Lisa 2, Tabel 5). Enamik nimetatud ketoonidest omavad magusat lõhna ning ka sensoorsel hindamisel märgati mõlema pakkelahenduse puhul magusa lõhna tugevnemist.

Enamuse proovides esinenud hapetest moodustasid kolm hapet: butaanhape, heksaanhape ja oktaanhape (Lisa 2, Tabel 6). Nende puhul oli ka näha, et NVS pakendis hoitud pulbris oli nende kontsentratsioon 3 korda suurem kui DSE pakendis hoitud pulbris. Butaanhape, heksaanhape ja oktaanhape on vabad rasvhapped, mis tekivad piima rasva hüdrolyüsi käigus ning omavad juustust lõhna (Yuceer et al., 2001). Sensoorses analüüsis juustust lõhna ei kirjeldatud, seega võis jääda nende kontsentratsioon alla organoleptilise tuvastamise piiri.

Laktoone esines väga vähesel määral ning ainult NVS pakendis hoitud proovides. Estrite esinemist oli näha kõikides proovides, kuid nende kontsentratsioon oli väga madal, jäädes alla 1 ppb (Lisa 2, Tabelid 7 ja 8).

### 3.3 Järeldused

Antud magistritöö eesmärgiks oli jälgida lõssipulbris toimuvat Maillardi reaktsiooni kahes eri niiskusebarjääriga pakkelahenduses, et selle kaudu hinnata niiskuse mõju protsessi toimumisele ja valida toote hoiustamiseks sobivam pakend toote kvaliteedistabiilsuse tagamiseks.

Töö käigus leiti, et:

- Pakkematerjali kõrge niiskusebarjäär pärsib oluliselt lõssipulbris Maillardi reaktsiooni toimumist ning tagab sellega toote kvaliteedistabiilsuse säilivuse jooksul.
- Niiskusele kõrgbarjäärne pakend hoidis lõssipulbri niiskusesisalduse standardhälbe piires stabiilsena terve katseperioodi jooksul.
- Niiskust läbilaskvas pakendis hoiustatud lõssipulbri puhul tõusis katseperioodil nii niiskusesisaldus, kui ka veeaktiivsuse väärtus.
- Värvuse muutus mitte-ensümaatilise pruunistumise käigus kiireneb koos veeaktiivsuse tõusuga.
- Maillardi reaktsiooni toimumine ei muuda olulisel määral lõssipulbri pakendis olevat gaasikompositsiooni 63 päeva katseperioodi jooksul.
- Maillardi reaktsiooni toimumine lõssipulbris ei muuda pulbri pH-väärtust olulisel määral 63 päeva katseperioodi jooksul.
- Madala niiskusebarjääriga pakendisse pakendatud lõssipulbri puhul intensiivistusid hinnatud sensorsetest parameetritest säilivuskatse jooksul eelkõige Maillardile omane karamelline lõhn ja vähesemal määral kuumutatud lõhn ning maitse.
- Niiskusele kõrgbarjäärne pakend aitab tagada lõssipulbri sensoorse kvaliteedi stabiilsuse säilivuse vältel.
- Laktoosisisalduse langus toimus madala niiskusebarjääriga pakendis tunduvalt kiiremini kui kõrgbarjäärses pakendis.
- Lüsiinisaldus lõssipulbris vähenes kiiremini madala niiskusebarjääriga pakendis.
- Maillardi reaktsioonile omased lenduvad ühendid tekkisid madala niiskusebarjääriga pakendis hoiustatud lõssipulbris kiiremini kui kõrge niiskusebarjääriga pakendis hoiustatud lõssipulbris.

## Kokkuvõte

Antud magistritöö eesmärk oli jälgida lõssipulbris toimuvat Maillardi reaktsiooni kahes eri niiskusebarjääriga pakkelahenduses, et selle kaudu hinnata niiskuse mõju protsessi toimumisele ja valida toote hoiustamiseks sobivam pakend toote kvaliteedistabiilsuse tagamiseks.

Maillardi reaktsioon on üks peamised lõssipulbri kvaliteedilangust põhjustavaid protsesse, mille toimumist säilivusaja jooksul mõjutavad eelkõige toote hoiustamistingimused. Selleks, et hinnata hoiustamiskeskonna niiskuse mõju tootele läbi pakkematerjali valiku, jälgiti töö käigus 9 nädala jooksul kõrgemal temperatuuril (40°C) ja fikseeritud õhuniiskuse (50%) juures hoiustatud kahes eri niiskusebarjääriga pakkelahenduses lõssipulbri pakkekeskkonna gaasisaldust, pH-väärtust, niiskussisaldust, veeaktiivsuse väärtust, värvust ning viidi läbi kirjeldav sensoorne analüüs. Katse lõpus analüüsiti ka lõssipulbri suhkrute sisaldust, aminohappelist koostist ning määrati tootes esinevad lenduvad ühendid 0-punkti proovist ning uuritavates pakendites 63 päeva hoiustatud lõssipulbrite proovidest.

Töö tulemustest on näha, et keskkonna suhtelise õhuniiskuse juurdepääs lõssipulbrile kiirendab oluliselt Maillardi reaktsiooni toimumist säilivuse vältel. Protsessi monitoorimiseks teostatud analüüside tulemused näitasid ühtselt, et madala niiskusebarjääriga pakkelahendusse pakendatud lõssipulbri puhul esinesid Maillardi reaktsioonile omased muutused kiiremini kui niiskusele kõrgbarjäärses pakendis hoiustatud proovi puhul. Maillardi reaktsiooni toimumise tõttu oli selgelt pulbri visuaalset kvaliteedilangust näha madala niiskusbarjääriga pakendis värvuse tumenemise näol. Samuti toimusid samas pakkelahenduses ka märgatavamad sensoorsed muutused. Lisaks sellele vähenes madala niiskusbarjääriga pakendis kiiremini ka lõssipulbri toitaineline koostis. Seega saab töö järelduste põhjal öelda, et niiskusele kõrgbarjäärne pakkematerjali valik lõssipulbri hoiustamiseks on märkimisväärselt oluline, et pärssida Maillardi reaktsiooni toimumist ja seeläbi tagada toote kvaliteet säilivuse ajal.

## **Tänuavaldused**

Töö autor soovib tänada oma juhendajat Kärt Saarniitu hea koostöö, asjalike nõuannete, kommentaaride ja hooga kaasamõtlemiss eest.

Lisaks tänab autor töö valmimisele kaasa aidanud Toidu- ja Fermentatsioonitehnoloogia Arenduskeskuse sensoorse analüüsi paneeli liikmeid, kes aitasid töö praktilise osa sensorsete hindamiste läbi viimisel. Töö autor on tänulik ka Toidu- ja Fermentatsioonitehnoloogia Arenduskeskuse analüütika osakonna teaduritele, kes juhendasid analüüside teostamist ning aitasid neid läbi viia.

Autor tänab ka perekonda ja lähedasi, kes teda selle töö kirjutamisel ja teostamisel toetasid ja töö valmimisele sellega kaasa aitasid.

## Kasutatud kirjandus

- Aalaei, K. (2017). *Processing and Storage stability of Skim Milk Powder: Monitoring Early and Advanced Stages of the Maillard Reaction* [Doctoral Thesis (compilation)]. Department of Food Technology, Lund University.
- Ahvenainen, R. (2003). Active and intelligent packaging: An introduction. In R. Ahvenainen (Ed.), *Novel Food Packaging Techniques*. Woodhead Publishing.
- Arnoldi, A. (2004). Factors affecting the Maillard Reaction. In R. Steele (Ed.), *Understanding and Measuring the Shelf-life of Food*.
- Blackburn, C. de W. (2006). 6 - Managing microbial food spoilage: An overview. In C. de W. Blackburn (Ed.), *Food Spoilage Microorganisms*, 147–170. Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1533/9781845691417.2.147>
- Bleive, U. (2015). *Puuviljade ja marjade kuivatamine: Loengukonspekt*.
- Cadwallader, K. R., & Singh, T. K. (2009). Flavours and Off-Flavours in Milk and Dairy Products. In P. McSweeney & P. F. Fox (Eds.), *Advanced Dairy Chemistry: Volume 3: Lactose, Water, Salts and Minor Constituents*, 631–690. Springer. [https://doi.org/10.1007/978-0-387-84865-5\\_14](https://doi.org/10.1007/978-0-387-84865-5_14)
- Calligaris, S., & Manzocco, L. (2012). Critical Indicators in Shelf Life Assessment. In M. C. Nicoli (Ed.), *Shelf Life Assessment of Food*, 61–74.
- Chinga Carrasco, G., & Syverud, K. (2012). On the structure and oxygen transmission rate of biodegradable cellulose nanobarriers. *Nanoscale Research Letters*, 7, 192. <https://doi.org/10.1186/1556-276X-7-192>
- Chudy, S., Bilska, A., Kowalski, R., & Teichert, J. (2020). Colour of milk and milk products in CIE L\*a\*b\* space. *Medycyna Weterynaryjna*, 76, 77–81. <https://doi.org/10.21521/mw.6327>
- Clarke, H. J., McCarthy, W. P., O'Sullivan, M. G., Kerry, J. P., & Kilcawley, K. N. (2021). Oxidative Quality of Dairy Powders: Influencing Factors and Analysis. *Foods*, 10(10), 2315. <https://doi.org/10.3390/foods10102315>
- Erkmen, O., & Bozoglu, T. F. (2016). Enzymatic and Nonenzymatic Food Spoilage. In *Food Microbiology: Principles into Practice*, 401–406. John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781119237860.ch24>
- Esse, R., & Saari, A. (2004). Shelf-life and moisture management. In R. Steele (Ed.), *Understanding and Measuring the Shelf-Life of Food*. Woodhead Publishing.
- Gutierrez, A. M. (2014). *Effects of lipid oxidation initiators and antioxidants on the total antioxidant capacity of milk and oxidation products during storage*. Iowa State University.
- Hall, G., & Andersson, J. (1985). Flavor Changes in Whole Milk Powder During Storage. *Journal of Food Quality*, 7(4), 237–253. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.1985.tb01056.x>
- Jacob John, P. (2013). Classification of Packages and Packaging Materials and Techniques. In *A Handbook on Food Packaging*. Daya Publishing House.
- Jameela, S. A. (2016). *Technology of milk products Dry Milk powder presentation*. <https://www.slideshare.net/sharonabduljameela/technology-of-milk-products-dry-milk-powder-presentation>
- Kilcast, D., & Subramaniam, P. (2000). Introduction. In D. Kilcast & P. Subramaniam (Eds.), *The stability and shelf-life of food*, 1–19. CRC Press.

- Kirwan, M. J., Plant, S., & Strawbridge, J. W. (2011). Plastics in Food Packaging. In *Food and Beverage Packaging Technology*, 157–212. John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781444392180.ch7>
- Kong, F., & Singh, R. P. (2011). Chemical deterioration and physical instability of foods and beverages. In D. Kilcast & P. Subramaniam (Eds.), *Food and Beverage Stability and Shelf Life*. Woodhead Publishing.
- Kong, F., & Singh, R. P. (2016). Chemical Deterioration and Physical Instability of Foods and Beverages. In P. Subramaniam (Ed.), *The Stability and Shelf Life of Food* (2nd ed.). Woodhead Publishing.
- Koubaa, M., Roohinejad, S., Mungure, T., Bekhit, A., Greiner, R., & Mallikarjunan, P. (2018). Effect of Emerging Processing Technologies on Maillard Reactions. In *Reference Module in Food Science*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.21652-1>
- Le, T. T., Bhandari, B., Holland, J. W., & Deeth, H. C. (2011). Maillard Reaction and Protein Cross-Linking in Relation to the Solubility of Milk Powders. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(23), 12473–12479. <https://doi.org/10.1021/jf203460z>
- Lee, D. S., Yam, K. L., & Piergiovanni, L. (2008). *Food Packaging Science and Technology*. CRC Press.
- Li, Y., Jia, X., Wang, Z., He, Z., Zeng, M., & Chen, J. (2022). Characterizing changes in Maillard reaction indicators in whole milk powder and reconstituted low-temperature pasteurized milk under different preheating conditions. *Journal of Food Science*, 87(1), 193–205. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15989>
- Marsh, K., & Bugusu, B. (2007). Food Packaging—Roles, Materials, and Environmental Issues. *Journal of Food Science*, 72(3), 39–55. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00301.x>
- Muir, D. D., & Banks, J. M. (2000). Milk and milk products. In D. Kilcast & P. Subramaniam (Eds.), *The Stability and Shelf-Life of Food*, 197–218.
- Muncke, J. (2012). *Food Packaging Materials*. Food Packaging Forum. <https://www.foodpackagingforum.org/food-packaging-health/food-packaging-materials>
- Newton, A. E., Fairbanks, A. J., Golding, M., Andrewes, P., & Gerrard, J. A. (2012). The role of the Maillard reaction in the formation of flavour compounds in dairy products – not only a deleterious reaction but also a rich source of flavour compounds. *Food & Function*, 3(12), 1231. <https://doi.org/10.1039/c2fo30089c>
- Nix. (2023). *Color converter Nix sensor*. <https://www.nixsensor.com/free-color-converter/>
- Nursten, H. (2002). MAILLARD REACTIONS. In H. Roginski (Ed.), *Encyclopedia of Dairy Sciences*, 1657–1672. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B0-12-227235-8/00277-7>
- Nursten, H. (2005). *The Maillard Reaction: Chemistry, Biochemistry and Implications*. <https://www.semanticscholar.org/paper/The-Maillard-Reaction%3A-Chemistry%2C-Biochemistry-and-Nursten/b638cec3e6764043bfad8ea3fe2ebde24b4ea6e7>
- O'Brien, J. (2009). Non-Enzymatic Degradation Pathways of Lactose and Their Significance in Dairy Products. In P. McSweeney & P. F. Fox (Eds.), *Advanced Dairy Chemistry: Volume 3: Lactose, Water, Salts and Minor Constituents*, 231–294. Springer. [https://doi.org/10.1007/978-0-387-84865-5\\_7](https://doi.org/10.1007/978-0-387-84865-5_7)
- Osei, G. (2017). *Handbook of Milk and Dairy Product*. Agri Horti Press.
- Passaretti, M. G., Ninago, M. D., Villar, M. A., & Lopez, O. V. (2019). Protective Packaging for Light-sensitive Foods. In R. M. S. Cruz (Ed.), *Food Packaging: Innovations and Shelf-life*. CRC Press.

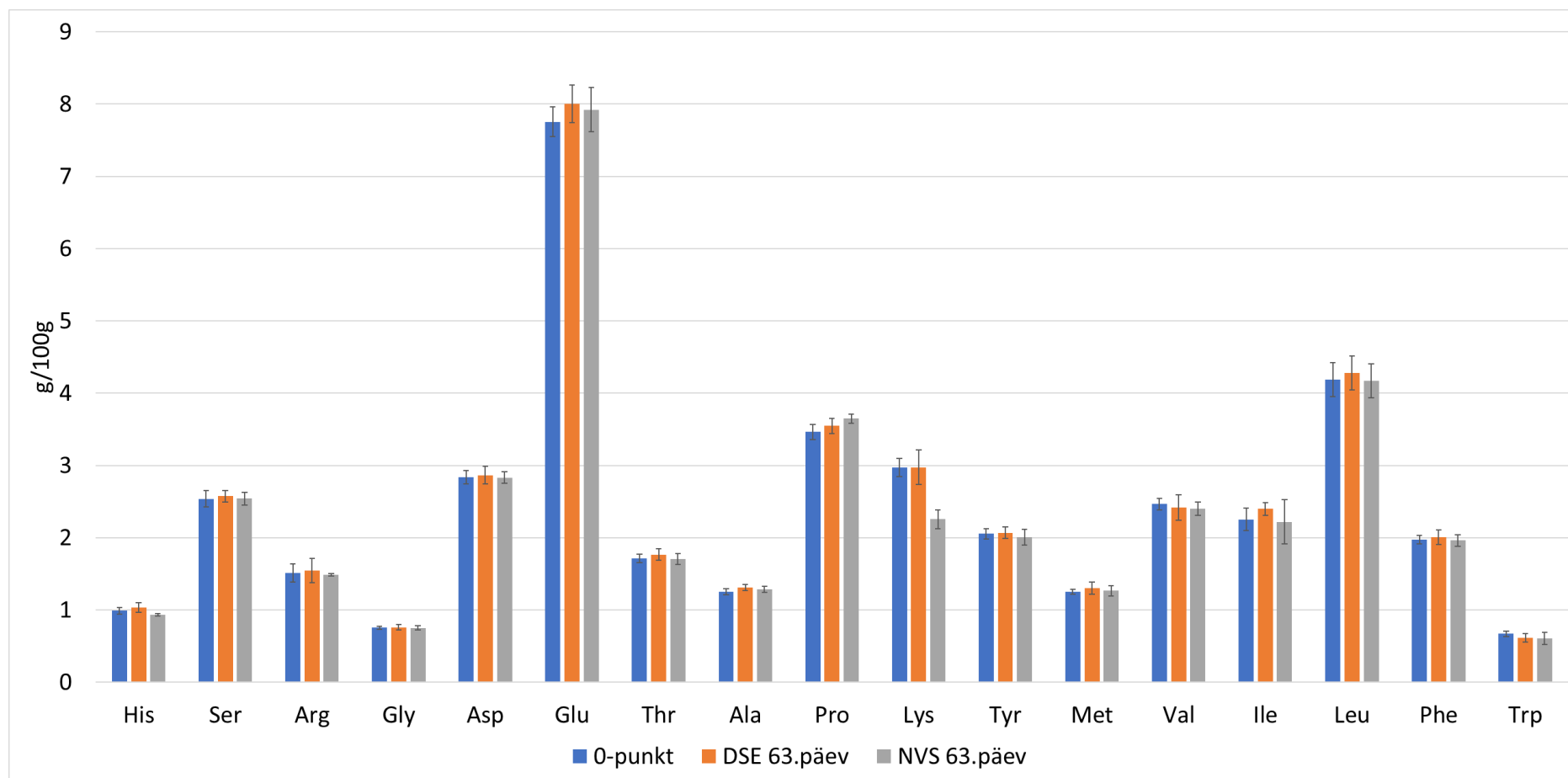


- Patel, A. (2018). Technology of Dried milk products – I: Skimmed and whole milk powders, Instant milk powders. In *Technology of Milk and Milk Products*. INFLIBNET Centre. <https://ebooks.inflibnet.ac.in/ftp04/chapter/technology-of-dried-milk-products-i-skimmed-and-whole-milk-powders-instant-milk-powders/>
- Pavon, N. (2003). *Sensory characteristics of flavored milk candies* [Master of Science, Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College]. [https://doi.org/10.31390/gradschool\\_theses.1985](https://doi.org/10.31390/gradschool_theses.1985)
- Pereyra, A., Naranjo, G. B., Leiva, G., & Malec, L. (2010). Maillard reaction kinetics in milk powder: Effect of water activity at mild temperatures. *International Dairy Journal*, 20, 40–45. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2009.07.007>
- Phimolsiripol, Y., & Suppakul, P. (2016). Techniques in Shelf Life Evaluation of Food Products. In *Reference Module in Food Science*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.03293-5>
- Phosanam, A., Chandrapala, J., Huppertz, T., Adhikari, B., & Zisu, B. (2020). Effect of storage conditions on physicochemical and microstructural properties of skim and whole milk powders. *Powder Technology*, 372, 394–403. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2020.06.020>
- Piergiovanni, L., & Limbo, S. (2012). Packaging–Food Interactions in Shelf Life Modeling. In M. C. Nicolli (Ed.), *Shelf Life Assessment of Food*, 199–241. CRC Press.
- Pugliese, A., Cabassi, G., Chiavaro, E., Paciulli, M., Carini, E., & Mucchetti, G. (2017). Physical characterization of whole and skim dried milk powders. *Journal of Food Science and Technology*, 54(11), 3433–3442. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2795-1>
- Richards, M., De Kock, H. L., & Buys, E. M. (2014). Multivariate accelerated shelf-life test of low fat UHT milk. *International Dairy Journal*, 36(1), 38–45. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2013.12.012>
- Ringo, K., & Dreyersdorff, S. (2021). *Toidu märgistamise e-käsiraamat*.
- Robertson, Gordon. L. (2009). Food Quality and Indices of Failure. In Gordon. L. Robertson (Ed.), *Food Packaging and Shelf life: A Practical Guide*, 17–31. CRC Press.
- Robertson, Gordon. L. (2012). Edible, Biobased and Biodegradable Food Packaging Materials. In *Food Packaging Principles and Practice*. CRC Press.
- Robertson, Gordon. L. (2016). *Food Packaging: Principles and Practice*. CRC Press.
- Roudaut, G., & Debeaufort, F. (2011). Moisture loss, gain and migration in foods. In D. Kilcast & P. Subramaniam (Eds.), *Food Beverage Stability and Shelf Life*. Woodhead Publishing.
- Sandhya, A. V., & Sanjay, M. R. (2020). Environmental Issues Related to Packaging Materials. In S. M. Rangappa (Ed.), *Food Packaging*. CRC Press.
- Shiratsuchi, H., Shimoda, M., Imayoshi, K., Noda, K., & Osajima, Y. (1994). Volatile Flavor Compounds in Spray-Dried Skim Milk Powder. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(4), 984–988. <https://doi.org/10.1021/jf00040a028>
- Singh, R. P., & Anderson, B. A. (2004). The major types of food spoilage: An overview. In R. Steele, *Understanding and Measuring the Shelf-Life of Food*. Woodhead publishing limited.
- Sousa Gallagher, M. J., Mahajan, P. V., & Yan, Z. (2011). 14—Modelling chemical and physical deterioration of foods and beverages. In D. Kilcast & P. Subramaniam (Eds.), *Food and Beverage Stability and Shelf Life*, 459–481. Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1533/9780857092540.2.459>
- Spreer, E. (2017). *Milk and Dairy Product Technology*.

- Stewart, A., Grandison, A., Fagan, C., Ryan, A., Festring, D., & Parker, J. K. (2018). Changes in the volatile profile of skim milk powder prepared under different processing conditions and the effect on the volatile flavor profile of model white chocolate. *Journal of Dairy Science*, *101*(10), 8822–8836. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14414>
- Subramaniam, P. (2011). The stability and shelf life of confectionery products. In D. Kilcast & P. Subramaniam (Eds.), *Food and Beverage Stability and Shelf life*. Woodhead Publishing.
- Tamanna, N., & Mahmood, N. (2015). Food Processing and Maillard Reaction Products: Effect on Human Health and Nutrition. *International Journal of Food Science*, *2015*. <https://doi.org/10.1155/2015/526762>
- Thyarla, A., Agrawal, A. K., & Sinha, G. (2018). *Physical and Engineering Characteristics of Skim Milk*. LAP LAMBERT Academic Publishing.
- Thynne, E. (2012). FMP: Food Packaging & Labelling. *FMP*. <http://e-thynne0912fmp.blogspot.com/2012/01/food-packaging-labelling.html>
- Wani, A. A., Singh, P., & Langowski, H.-C. (2017). Introduction: Food Packaging Materials. In *Food packaging materials: Testing and quality assurance*. CRC Press.
- Wherry, B. M., Jo, Y., & Drake, M. A. (2019). Concentration of furfuryl alcohol in fluid milk, dried dairy ingredients, and cultured dairy products. *Journal of Dairy Science*, *102*(5), 3868–3878. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15714>
- Xi, Y., Zhao, T., Liu, R., Song, F., Deng, J., & Ai, N. (2023). Assessing Sensory Attributes and Properties of Infant Formula Milk Powder Driving Consumers' Preference. *Foods*, *12*(5), Article 5. <https://doi.org/10.3390/foods12050997>
- Xiang, J., Liu, F., Wang, B., Chen, L., Liu, W., & Tan, S. (2021). A Literature Review on Maillard Reaction Based on Milk Proteins and Carbohydrates in Food and Pharmaceutical Products: Advantages, Disadvantages, and Avoidance Strategies. *Foods*, *10*(9), 1998. <https://doi.org/10.3390/foods10091998>
- Yuceer, Y., Drake, M., & Cadwallader, K. (2001). Aroma-Active Components of Nonfat Dry Milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *49*, 2948–2953. <https://doi.org/10.1021/jf0009854>

## Lisad

### Lisa 1



Joonis 1. Lõssipulbrist määratud aminohappeline profiil 0-punkti proovis ja 63 päeva hoostatud proovides

## Lisa 2

Tabel 1. SPME-GC-MS analüüsi tulemused – aromaatsed/tsüklilised ühendid

RT	Ühend	RI exp	RI lit	m/z	Kirjeldus	0-punkt keskmine	SD	DSE 63 päev keskmine	SD	NVS 63 päev keskmine	SD
3,65	furaan, 2-metüül-	601	604	82	Eeterlik, atsetoonine, sokolaadine	0,10	0,02	0,90	0,06	16,73	1,85
5,83	furaan, 2,5-dimetüül-	701	701	96	Keemiline, eeterlik, lihane, röstine	0,17	0,01	1,73	0,16	1,42	0,42
6,36	2-vinüülfuraan	719	724	94	Fenoolne, kohvipaksune	0,00	0,00	0,00	0,00	0,63	0,08
6,78	1H-pürrool, 1-metüül-	733	743	81	Võimas, suitsune, puitunud, ürdine	0,00	0,00	0,15	0,00	2,61	0,11
7,69	Tolueen	768	774	91	Magus	0,79	0,03	1,30	0,17	22,80	4,93
13,39	.alpha.-Pinene	941	940	93	Värske, kamper, magus, männine	0,12	0,02	0,07	0,03	0,08	0,02
15,16	Furaan, 2-pentüül-	991	996	81	Puuviljane, roheline	0,06	0,00	0,23	0,02	11,38	3,97
16,01	3-Kareen	1017	1020	93	Tsitruseline, terpeenne, taimne	0,05	0,02	0,03	0,01	0,04	0,01
17,09	Furaneool	1049	1051	43	Magus, suhkruvatine, karamelline, maasikane	0,00	0,00	0,00	0,00	0,27	0,19
19,32	Maltool	1116	1114	126	Magus, karamelline, suhkruvatine	0,00	0,00	0,00	0,00	97,74	23,50

Tabel 2. SPME-GC-MS analüüsi tulemused – aldehüüdid

RT	Ühend	RI exp	RI lit	m/z	Kirjeldus	0-punkt keskmine	SD	DSE 63 päev keskmine	SD	NVS 63 päev keskmine	SD
3,06	Propanaal, 2-metüül-	552	552	43	Lilleline, torkav	0,35	0,02	1,94	0,00	10,59	0,43
4,68	Butanaal, 3-metüül	648	650	41	Lilleline, virsikuline	0,54	0,02	3,13	0,16	9,36	1,21
4,88	Butanaal, 2-metüül	657	659	57	Kakaone, pähkline	0,41	0,04	2,69	0,13	13,06	0,50
8,61	Heksanaal	801	802	44	Värske, rohkeline	2,68	0,21	5,17	0,14	17,64	6,69
9,73	Furfuraal	837	848	96	Magus, puine, mandline, küpsetatud saiane	0,00	0,00	0,37	0,05	21,93	4,85
12,05	Heptanaal	904	901	70	Värske, aldehüüdne	0,39	0,05	0,55	0,05	1,94	1,07
15,59	Oktaan	1005	1004	43	Aldehüüdne, vahajas, tsitruseline	0,49	0,12	0,44	0,03	1,02	0,29
15,81	1H-pürrool-2-karboksaldehüüd, 1-metüül-	1011	1010	109	Röstitud, pähkline	0,00	0,00	0,18	0,02	0,45	0,02
17,35	1H-pürrool-2-karboksaldehüüd, 1-etüül-	1057	1046	123	Põletatud, röstitud, suitsune	0,00	0,00	0,09	0,02	0,24	0,00
19,00	Nonanaal	1106	1108	57	Vahajas, aldehüüdne	3,55	0,76	2,62	0,47	4,12	1,46
22,25	Dekanaal	1208	1205	43	Magus, aldehüüdne	0,22	0,02	0,19	0,05	0,26	0,01

Tabel 3. SPME-GC-MS analüüsi tulemused – alkoholid

RT	Ühend	RI exp	RI lit	m/z	Kirjeldus	0-punkt keskmine	SD	DSE 63 päev keskmine	SD	NVS 63 päev keskmine	SD
2,14	Etanool	476	477	45	Tugev, alkoholine, eeterlik	1,15	0,14	1,92	0,24	1,31	0,01
3,93	1-propanool, 2-metüül	613	622	43	Eeterlik, veinine,	0,00	0,00	0,00	0,00	0,23	0,08
5,25	1-Penteen-3-ool	674	673	57	Eeterlik, mädarõikane, roheline, rediseline	0,14	0,01	0,96	0,23	2,48	0,58
6,95	Propüleenglükool	740	758	45	Lõhnatu, kergelt alkoholne	0,00	0,00	0,00	0,00	5,93	0,63
7,98	2,3-Butanediol	780	789	45	Puuviljane, kreemjas, võine	2,89	0,82	2,41	0,09	5,29	1,59
8,33	2,3-Butanediol	789	789	45	Puuviljane, kreemjas, võine	4,30	2,52	7,82	1,79	9,42	0,33
10,32	Furfurüülalkohol	851	864	98	Alkoholne, keemiline, kopitanud, magus	0,00	0,00	0,07	0,02	133,54	47,70
10,83	1-heksanool	866	869	56	Eeterlik, õline, puuviljane, alkoholne, magus, roheline	0,00	0,00	0,03	0,00	0,49	0,15
14,73	1-okteen-3-ool	979	981	57	Seenene, maalähedane	0,11	0,01	0,45	0,07	3,46	1,44
16,39	1-heksanool, 2-etüül-	1028	1029	57	Tsitruseline, värske, lilleline	0,61	0,01	0,42	0,08	0,98	0,12

Tabel 4. SPME-GC-MS analüüsi tulemused – väävliühendid

RT	Ühend	RI exp	RI lit	m/z	Kirjeldus	0-punkt keskmine	SD	DSE 63 päev keskmine	SD	NVS 63 päev keskmine	SD
2,02	Metaantiool	464	464	47	Kapsane, küüslaugune, väävlane	0,33	0,13	0,06	0,00	2,12	0,05
2,67	Etaantiool	519	514	62	Väävlane, puuviljane	3,83	0,47	20,12	0,55	0,48	0,19
5,71	Metüültioolatsetaat	695	699	43	Väävlane, munane, juustu piimane	1,15	0,04	4,02	0,16	8,67	0,47
7,03	Disulfiid, dimetüül	747	742	94	Väävlane, juurviljane, kapsane, sibulane	0,66	0,15	3,42	0,11	72,78	9,04
14,80	Dimetüül, trisulfiid	981	978	126	Väävlane, röstitud sibulane	0,13	0,07	0,10	0,07	19,11	7,21
21,45	2-metüül-3-(metüülditio)furaan	1182	1178	113	Väävlane, lihane, juurviljane, sibulane, röstine, veiselihane	0,00	0,00	0,00	0,00	0,26	0,11

Tabel 5. SPME-GC-MS analüüsi tulemused – ketoonid

RT	Ühend	RI exp	RI lit	m/z	Kirjeldus	0-punkt keskmine	SD	DSE 63 päev keskmine	SD	NVS 63 päev keskmine	SD
3,34	2,3-butaandiooni isomeer I	575	587	86	Magus, kreemine, võine	0,00	0,00	0,00	0,00	0,38	0,17
3,45	2,3-butaandiooni isomeer II	584	587	86	Magus, kreemine, võine	0,25	0,01	0,54	0,05	0,70	0,17
3,53	Butanoon	592	598	72	Hajus, kergelt puuviljane	7,80	0,41	9,58	0,36	18,97	2,90
5,02	Hüdroksüatsetoon	663	662	43	Magus, jahutav	0,00	0,00	0,00	0,00	10,31	0,42
5,33	2-Pentanoon	687	685	43	Magus, puuviljane, eeterlik, veinine, banaanine, puidune	5,33	0,22	10,01	0,49	13,58	3,63
5,55	2,3-Pentaandioon	688	693	43	Võine, kreemjas, pähkline	0,55	0,03	1,32	0,05	1,82	0,22
5,58	3-Pentanoon	687	685	57	Eeterlik, atsetoonilik	1,07	0,02	1,88	0,36	1,54	0,31
5,97	Atsetoiin	706	706	45	Õline, magus, palsamine	2,50	0,30	4,64	0,37	5,18	0,19
10,69	2-propanoon, 1-(atsetüülloksü)-	862	862	43	Puuviljane, võine, piimane, pähkline	0,00	0,00	0,00	0,00	7,15	1,42
11,65	2-Heptanoon	890	900	43	Puuviljane, vürtsikas, magus	2,62	0,02	6,46	0,60	17,04	0,53
18,16	etanoon, 1-(1-metüül-1 H-pürrool-2-üül)-	1080	1096	108	Maalähedane	0,00	0,00	0,00	0,00	0,34	0,00
18,50	2-Nonanoon	1091	1091	58	Värske, magus, roheline, umbrohune	0,26	0,01	0,73	0,04	2,86	0,51
21,77	2-Dekanoon	1192	1190	58	Apelsinine, lilleline, rasvane, virsikuline	0,00	0,00	0,00	0,00	0,12	0,04
24,82	2-Undekanoon	1293	1291	58	Vahajas, puuviljane, kreemine, rasvane	0,04	0,00	0,21	0,04	0,72	0,03

Tabel 6. SPME-GC-MS analüüsi tulemused – happed

RT	Ühend	RI exp	RI lit	m/z	Kirjeldus	0-punkt keskmine	SD	DSE 63. päev keskmine	SD	NVS 63. päev keskmine	SD
3,47	Äädikhape	586	600	60	Äädikane, torkav	0,28	0,01	0,48	0,03	5,15	1,53
6,66	Propaanhape, 2-metüül	730	738	73	Äädikane, hapu, juustune, piimane	0,00	0,00	0,00	0,00	0,23	0,05
7,67	Butaanhape	767	773	60	Terav, äädikane, juustune, võine	2,58	1,05	6,98	1,59	21,80	1,30
9,32	Butaanhape, 3-metüül	831	827	60	Hapu, haisvad jalad, higine	0,00	0,00	0,00	0,00	0,20	0,07
9,66	Butaanhape, 2-metüül	832	846	74	Higine, juustune	0,01	0,00	0,04	0,00	0,26	0,02
14,24	Heksaanhape	963	970	60	Juustune, puuviljane	2,98	1,85	7,57	1,85	20,24	3,11
17,48	Heptaanhape	1059	1062	60	Rääsunud, hapu, juustune, higine	0,19	0,07	0,15	0,03	0,33	0,01
20,65	Oktaanhape	1157	1169	60	Rasvane, vahajas, rääsunud, õline, juustune	0,82	1,45	1,92	0,98	6,48	2,50
23,66	Nonaanhape	1254	1264	60	Rasvane, vahajas, juustune	0,70	0,27	0,93	0,58	1,72	0,58

Tabel 7. SPME-GC-MS analüüsi tulemused – laktoonid

RT	Ühend	RI exp	RI lit	m/z	Kirjeldus	0-punkt keskmine	SD	DSE 63 päev keskmine	SD	NVS 63 päev keskmine	SD
10,91	$\alpha$ -Angelica laktoon (=2(3H)-furanon, 5-metüül-)	868	869	55	Magus, lahustiline, pähkline, tubakane	0,00	0,00	0,00	0,00	1,98	0,43
12,50	$\gamma$ -butürolaktoon (=2(3H)-furanon, dihüdro-)	915	915	42	Kreemine, õline, rasvane, karamelline	0,00	0,00	0,00	0,00	2,95	0,06

Tabel 8. SPME-GC-MS analüüsi tulemused – estrid

RT	Ühend	RI exp	RI lit	m/z	Kirjeldus	0-punkt keskmine	SD	DSE 63 päev keskmine	SD	NVS 63 päev keskmine	SD
6,25	Butaanhape, metüülester	715	710	43	Puuviljane, magus	0,24	0,02	0,31	0,01	0,29	0,02
8,96	Äädikhape, butüülester	812	812	43	Eeterlik, lahustiline, puuviljane	0,00	0,00	0,00	0,00	1,12	0,52
12,76	Heksaanhape, metüülester	922	924	74	Eeterlik, puuviljane, peekoniline	0,05	0,01	0,17	0,01	0,07	0,02



## **Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks<sup>1</sup>**

Mina Maarja Maasikmets

1. Annan Tallinna Tehnikaülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose Maillard'i reaktsioon lõssipulbris ja niiskuse mõju selle toimumisele,

mille juhendaja on Kärt Saarniit

1.1 reprodutseerimiseks lõputöö säilitamise ja elektroonse avaldamise eesmärgil, sh Tallinna Tehnikaülikooli raamatukogu digikogusse lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;

1.2 üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tallinna Tehnikaülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas Tallinna Tehnikaülikooli raamatukogu digikogu kaudu kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.

2. Olen teadlik, et käesoleva lihtlitsentsi punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.

3. Kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest ning muudest õigusaktidest tulenevaid õigusi.

19.05.2023

---

<sup>1</sup> Lihtlitsents ei kehti juurdepääsupiirangu kehtivuse ajal vastavalt üliõpilase taotlusele lõputööle juurdepääsupiirangu kehtestamiseks, mis on allkirjastatud teaduskonna dekaani poolt, välja arvatud ülikooli õigus lõputööd reprodutseerida üksnes säilitamise eesmärgil. Kui lõputöö on loonud kaks või enam isikut oma ühise loomingu tegevusega ning lõputöö kaas- või ühisautor(id) ei ole andnud lõputööd kaitsvale üliõpilasele kindlaksmääratud tähtajaks nõusolekut lõputöö reprodutseerimiseks ja avalikustamiseks vastavalt lihtlitsentsi punktidele 1.1. ja 1.2, siis lihtlitsents nimetatud tähtaja jooksul ei kehti.