

VARUTAVA PIIMA VABADE RASVHAPETE SISALDUS JA LIPOLÜÜSI MÕJUTAVAD TEGURID

M. Henno, A. Leola

ABSTRACT: *The free fatty acid content of bulk milk and factors affecting lipolysis. This study concentrated on the effect of different groups of milking systems installed at Estonian dairy farms on the free fatty acid (FFA) content of farm bulk milk.*

Dairy farms supplying two Estonian dairies were included in this study. Bulk milk samples were taken from August 1999 to June 2000 from all farms (n=32) supplying Dairy I monthly and twice during the period from January 2001 to May 2001 from the largest farms (n=41) supplying Dairy II. Free fatty acid content was determined using the "copper soap" method (IDF, 1991b). Milking systems used on farms of the Dairy I were divided into eight groups to evaluate the effect on FFA content: I) new milking parlours – installed after 1994; II) old milking parlours; III) old pipeline milking systems with a long milklime – incorrectly installed systems with 1...4 vertical ascents; IV) reconstructed milking systems with a long milklime – old equipment with proper slope and removed vertical ascents; V) new pipeline milking systems installed after 1994; VI) properly installed pipeline milking systems with a short milklime; VII) bucket milking; VIII) bucket milking, milk transport from shed to tank by milklime.

The mean FFA content of the bulk milk from farms studied was 1.09 mM/100 g fat. In 46.6% of farms it exceeded 1.0 and in 11% of farms 2.0 mM/100 g fat. 3.2% of studied milk samples taken from farms of Dairy I (n=308) had an FFA content exceeding the generally accepted detection level of rancid flavour for average consumer (>2.0 mM/100 g fat) and 7.7% exceeded the level for trained experts (1.5 mM/100 g fat).

Used milking systems had a significant effect ($P < 0.001$) on the FFA content of raw milk. Bulk milk with the lowest ($P < 0.001$) FFA content ($\bar{x} = 0.33$ mM/100 g fat, $s = 0.063$) was produced on farms at which new milking parlours had been installed. The mean FFA content of milk produced with reconstructed (IV) pipeline milking systems ($\bar{x} = 0.58$ mM/100 g fat, $s = 0.099$) was significantly lower than that of milk produced with incorrectly installed systems (III) ($\bar{x} = 1.15$ mM/100 g fat, $s = 0.490$).

Keywords: *raw milk quality, free fatty acids, induced lipolysis, milking systems.*

Piima ja piimatoodete populaarsus kogu maailmas on suurel määral tingitud nende headest maitseomadustest ja toiteväärtusest. Piimal võib aga vahel olla ebameeldiv kõrvalmaitse, mida iseloomustatakse peamiselt "seebise", "ebapuhta" või "rääsunud" maitseks. Need maitsevead on enamasti seotud piimarasvaga: ebameeldiva maitse põhjustajateks võivad olla aldehüüdid või ketoonid, mis vabanevad lipiidide oksüdatsioonil, või piimarasva hüdrolyüüsil tekkinud vabad rasvhapped (*free fatty acids, FFA*). Biokeemilised protsessid, mis rikuvad piima maitseomadusi ja põhjustavad piima riknemist, käivituvad piimas kohe pärast udarast väljutamist. Piimatööstusele on oluline kontrollida ja ennetada maitsevigu, mis võivad tekkida toorpiimas ja kontsentreeruda sellisest piimast valmistatud piimatoodetes (Downey, 1980b) Kuigi peamiseks piimarasva hüdrolyüsiga seonduvaks probleemiks on organoleptilised vead, võib vabade rasvhapete sisalduse suurenemine mõjutada ka piima vahutavust, rasvasisalduse määramise täpsust, suurendada rasva kadu lõssi ja mõningal määral aeglustada piimhappebakterite kasvu fermenteeritud piimatoodete valmistamisel (IDF, 1991b). Vabade rasvhapete sisaldust kasutatakse mitmetes riikides piima kvaliteedi hindamisel. Hollandis ja Prantsusmaal mõjutab vabade rasvhapete sisaldus ka varutava piima hinda (Heeschen, 1996). Eestis puudus ülevaade varutava piima vabade rasvhapete sisaldusest ning FFA-sisaldust ei kasutata toorpiima kvaliteedi hindamisel ega ka nõustamistegevuses.

Käesoleva uurimistöö eesmärgiks oli selgitada, milline on Eestis toodetava piima vabade rasvhapete sisaldus, võrrelda saadud tulemusi erinevate piima kvaliteedi hindamiseks kasutatavate piinormidega ja selgitada peamised mõjufaktorid.

Ülevaade kirjandusest

Vabade rasvhapete kontsentratsioon piimas ja piima maitsevead. Peamise osa piimarasvast moodustavad triglütseriidid – rasvhapete ja glütserooli triestrid. Lisaks nendele esineb piimas alati väikeses koguses di- ja monoglütseriide, fosfolipiide, steroole ja teisi lipiide (tabel 1).

Tabel 1. Lehmapiima lipiidne koostis (Walstra, Jenness, 1984)
Table 1. Composition of cow's milk lipids (Walstra, Jenness, 1984)

Lipiid <i>Lipid class</i>	% lipiidide koguhulgast <i>Percentage in milk lipids</i>
Neutraalsed glütseriidid / <i>Neutral glycerides</i>	98,7
Triglütseriidid / <i>Triglycerides</i>	98,3
Diglütseriidid / <i>Diglycerides</i>	0,3
Monoglütseriidid / <i>Monoglycerides</i>	0,03
Vabad rasvhapped / <i>Free fatty acids</i>	0,1
Fosfolipiidid / <i>Phospholipids</i>	0,8
Tserebrosiidid / <i>Cerebrosides</i>	0,1
Gangliosiidid / <i>Gangliosides</i>	0,01
Steroolid / <i>Sterols</i>	0,32
Kolesterool / <i>Cholesterol</i>	0,30
Kolesteroollestrid / <i>Cholesteryl esters</i>	0,02
Karotenoidid + vitamiin A / <i>Carotenoids + vitamin A</i>	0,002

Vabade rasvhapete kontsentratsioon piimas on väga varieeruv, sõltudes triglütseriidide hüdrolyüüsi ulatusest (Olivecrona, 1980), kusjuures ka värske, udarast väljutatud piim sisaldab alati väikeses koguses (0,15...0,20 mM/100 g rasvas) vabu rasvhappeid (Needs, Anderson, 1984). Vabad rasvhapped võivad piima sattuda kolmel erineval teel: verest, kas rakusiseselt või seotuna seerumi albumiiniga; udara näärmekoost esterifitseerimata vabade rasvhapete passiivsel "lekkimisel" või piima triglütseriidide hüdrolyüüsi tagajärjel (Anderson, 1983). Piima maitseomadustega on kvantitatiivses seoses ainult piimarasva hüdrolyüüsi tekkinud vabad rasvhapped, mille kontsentratsioon piimas võib oluliselt suureneda tänu piimarasva ensümaatilisele hüdrolyüüsile – lipolüüsile. Reaktsioon leiab aset piima vee-õlifaasi piirpinnal ning selle käigus hüdrolyüüsitakse triglütseriidi molekuli välised ahelad – vabanevad rasvhapped ja 2-monoglütseriid. Hüdrolyüüsi katalüüsib ensüüm lipaas.

Värskest lüpsitud piimas on mitmeid esteraase, kuid ainult üks neist, lipoproteiini lipaas (*lipoprotein lipase* – LPL), mõjutab piimarasva lipolüüsi. LPL sünteesitakse piimanäärme sekretoorsetes rakkudes ja väljutatakse piima koos valkudega. Normaalses tingimustes on suurem osa ensüümi piima lõssi faasis (Olivecrona, 1980; Anderson, 1982a). LPL funktsioon piimas on ebaselge. Tema osalemist rasva lõhustumisel imeva vasika organismis peetakse vähe tõenäoliseks, kuna mao happelises keskkonnas kaotab ensüüm stabiilsuse (Olivecrona, 1980). Lipaasi aktiivsus kahaneb temperatuuri tõustes ning pastöriseerimisel inaktiveerub peaaegu täielikult. Üldlevinud seisukoht on, et LPL ei põhjusta maitsevigu pastöriseeritud piimas (Anderson, 1983).

Lisaks piima naturaalsele lipaasile võib piima ja piimatoodete maitsevea põhjustajaks olla mikroobse päritoluga lipaas, mille aktiivsus säilib ka pärast kõrgpastöriseerimist (Law, 1979). Mikroobse päritoluga lipaas võib põhjustada vabade rasvhapete sisalduse suurenemist, kui piima bakteriaalne saastatus ületab 5×10^6 cfu/ml (Muir *et al.*, 1978).

Piima maitsevigu, mida kirjeldatakse "rääsunud", "ebapuhta" või "seebise" maitsega, põhjustavad lühike-seahelalised, 4...12 süsiniku aatomit sisaldavad rasvhapped. Mõned neist, nagu butaan- või kapronhape, on väga kibeda maitsega ning ebameeldiva lõhnaga, rikkudes piima maitse juba väga madalatel kontsentratsioonidel (Scanlan *et al.*, 1965). Et rasvhapped vabanevad triglütseriidide mittespetsiifilise hüdrolyüüsi tulemusena, kasvab oht maitsevea tekkeks koos vabade rasvhapete üldise kontsentratsiooni suurenemisega (IDF, 1991a). Kirjandusest võib leida erinevaid vabade rasvhapete kontsentratsiooni piirväärtusi, mille juures maitsevea muutub eristatavaks. Levinuim on P. T. Tallamy ja H. E. Randolph'i (1969) poolt esitatud skaala, mille alusel treenitud eksperdid on piima lipolüüsunud kõrvalmaitse tajutav vabade rasvhapete sisaldusel 1,2–1,5 meq/100 g rasvas, keskmisele tarbijale aga FFA kontsentratsioonil 2,0–2,2 meq/100 g rasvas.

Lipolüüsi tekkepõhjused. Lüpsil ja piima lüpsijärgsel käsitsemisel võivad kujuneda tingimused, mis viivad piima LPL süsteemi aktiveerumiseni ning vabade rasvhapete akumuliseerumiseni, põhjustades ebameeldiva kõrvalmaitse tekkimist. Olenevalt lipolüütilise protsessi käivitumise viisist, saame rääkida "indutseeritud" ja "spontaanselt" lipolüüsist (Downey, 1980a).

Indutseeritud lipolüüsi korral aktiveerub piima LPL süsteem füüsikaliste või keemiliste tegurite mõjul. Neist levinuim on piima intensiivne mehaaniline mõjutamine, mis võib tekkida nii piima liikumisel lüpsisüsteemis, pumpamisel kui ka segamisel jahutustankis. Lipolüüs on eriti intensiivne, kui lüpsisüsteemi satub õhku ning moodustub vaht (Deeth, Fitz-Gerald, 1976). Lipolüüsi ulatus sõltub nii mehaanilise mõjutamise viisist, selle intensiivsusest, kestusest, piimarasva koostisest, lipaasi hulgast, rasvagloobuli membraani mõjutatavusest kui ka temperatuurist protsessi ajal. Soodsaim temperatuurivahemik lipolüüsi aktiivsuse suurendamiseks mehaanilise mõjutamise tagajärjel on 37–40 °C. Aktiivsuse suurenemine on minimaalne temperatuuril <5 °C. Mehaanilise mõjutamisele järgneval piima säilitamisel hüdrolyüüsib piimarasv kõige aeglasemalt <5 °C juures (Deeth ja Fitz-

Gerald, 1977). Vabade rasvhapete kontsentratsiooni suurenemist piimas võib põhjustada ka jahutatud piima soojendamise. Värskest lüpsitud, jahutatud ning seejärel soojendatud ja uuesti maha jahutatud piimas on lipolüüs intensiivsem piimas, mida soojendati 30 kraadini (Kon, Saito, 1997). H. Kon'i ja Z. Saito (1997) andmetel on temperatuurimuutuste poolt põhjustatud lipolüüsi intensiivistumise põhjused rasvagloobuli inhibeeriva efektiivsuse vähenemine ja lisanduva LPL aheldumine rasvagloobuliga.

Lüpsisüsteemi negatiivne mehaaniline mõju on tingitud peamiselt piima vahutamisest, mille põhjuseks on disaini, montaaži ja hoolduse vigade tõttu lüpsisüsteemi sattunud liigne õhk (Bakke *et al.*, 1983). Lüpsiseadmete suurt mõju piima FFA kontsentratsioonile rõhutavad mitmed autorid, kusjuures mida suurem on piima tõstekõrgus lüpsisüsteemis ja mida pikem piimaliin, seda suurem on FFA kontsentratsiooni suurenemise risk (Jensen, 1964; Fleming, 1979). Kankare ja Antila (1978) andmetel tekib piimatankist võetud piimaproovis sisalduvatest vabadest rasvhapetest 50–70% lüpsiprotsessil. Flemingi (1979) andmetel ei suurenda piima pumpamine kogurist tanki oluliselt vabade rasvhapete kontsentratsiooni ning kuni 73% vabadest rasvhapetest moodustub vahemikus udarast kogurini. Piima pumpamise olulist mõju vabade rasvhapete sisaldusele demonstreerisid Escobar ja Bradley (1990).

Väga intensiivne lipolüüs toimub piima homogeniseerimisel. Selgelt tajutav kõrvalmaitse võib ilmuda juba esimese 5 minuti jooksul (Deeth, Fitz-Gerald, 1976). Seepärast on lipaasi inaktiveerimiseks oluline piim enne homogeniseerimist pastöriseerida.

Lipolüütilise protsessi võivad käivitada ka piima külmutamine ja kuivatamine.

Spontaanne lipolüüs. Mõnede lehmade piimas käivitub intensiivne lipolüüs ilma mehaanilise mõjutamiseta. Sellist piima on kirjeldatud vastandina normaalsele piimale kui loomulikult aktiivset, spontaanselt lipolüütilist, spontaanset või lipolüütilist piima. Spontaanselt lipolüütilist piima võib anda enamik lehmi, kuid üheaegselt lüpsab neid karjas tavaliselt 3–35% (Downey, 1980b).

Spontaanselt lipolüütilisteks loetakse piima, kus lipolüüs käivitub piima jahutamisel alla 15 °C kohe pärast lüpsi. Mida kiiremini pärast lüpsi jahutamine toimub ning mida madalam on temperatuur, milleni piim jahutatakse, seda intensiivsem on lipolüüs (Bachman, Wilcox, 1990a). Lipolüüs pidurdub, kui spontaanselt piimale lisada normaalset piima vahekorras 1:4. Kahe spontaanse piima kokkusegamine viib tunduvalt intensiivsema lipolüüsini võrreldes nendes piimades eraldi käivituva lipolüüsiga (Deeth, Fitz-Gerald, 1977).

Kuigi lehmad erinevad üksteisest kalduvuse poolest anda spontaanselt lipolüütilist piima, võib välja tuua rida tegureid, mis seda protsessi mõjutavad. Piima spontaanselt lipolüüsi mõjutavaid faktoreid käsitletakse põhjalikult Deethi ja Fitz-Geraldi (1977) ning Downey (1980b) ülevaateartiklites. Üheks olulisemaks spontaanselt lipolüüsi mõjutavaks teguriks on laktatsioonijärk (Freedon, *et al.*, 1951; Jensen, 1959; Ortiz *et al.*, 1970; Salih, Anderson, 1979b; Ahrné, Björck, 1985). Esimesel paaril kuul pärast poegimist toodavad lipolüütilist piima vaid väga vähesed lehmad (Deeth, Fitz-Gerald, 1976). Vabade rasvhapete sisaldus tõuseb tunduvalt pärast kolmandat laktatsioonikuud (Downey, 1980a; Ahrné, Björck, 1985; Chazal, Chilliard, 1986), kuid on ka lehmi, kelle piim on lipolüütiline kogu laktatsiooniperioodi vältel (Deeth ja Fitz-Gerald, 1976). Laktatsioonijärgu mõju piima vabade rasvhapete sisaldusele kirjeldatakse tavaliselt tiinusjärgu ja piimatoodangu interaktsioonina. Üksikutes uurimustes käsitletakse nende kahe faktori mõju eraldi. Samas laktatsiooni-, kuid erinevates tiinusjärgudes lehmade piima vabade rasvhapete sisaldus on aga näidanud, et rasvhapete kontsentratsiooni kasv laktatsiooniperioodi lõpus võib olla tingitud eelkõige hilisest tiinusjärgust (Chazal, Chilliard, 1986) või tiinusjärgust koos piimatoodangu langusega (Bachman *et al.*, 1988; Chazal, Chilliard, 1986).

Teine oluline tegur, mis mõjutab spontaanselt lipolüüsi intensiivsust, on lehmade söödaratsioon. Mitteküllaldane ja halva kvaliteediga sööt soodustab maitsevea tekkimist piimas, eriti hilises laktatsioonijärgus olevatel lehmadel (Deeth, Fitz-Gerald, 1976; Astrup *et al.*, 1980). Madal vabade rasvhapete sisaldus on iseloomulik karjatamisperiodile (Chazal *et al.*, 1987). Kvaliteetne hein ei mõjuta vabade rasvhapete sisaldust, rohusilo mõjub aga lipolüüsi intensiivistavalt (Chazal, Chilliard, 1986; Chazal *et al.*, 1987). Kvaliteetse silo söötmisel võib suurenenud vabade rasvhapete sisaldus olla põhjustatud silo konserveerimise meetodist (Chazal *et al.*, 1987).

Erinevaid andmeid on esitatud aastaaja mõju kohta spontaanselt lipolüüsile. Üldiselt arvatakse, et FFA sisalduse sesoonne suurenemine ja vähenemine ei ole otseselt tingitud aastaajast, vaid kajastab pigem lehmade laktatsiooni- ja tiinusjärku ning muutusi söödaratsioonis (Deeth, Fitz-Gerald, 1976; Chazal, Chilliard, 1986).

Spontaanselt lipolüüsi taset võivad mõjutada ka piimatoodang ja lüpsiintervall. Tavaliselt sageneb maitsevea esinemine piimatoodangu alanemisel ja piima rasvasisalduse suurenemisel. Et nii piimatoodang kui ka piima rasvasisaldus on tihedalt seotud lehmade laktatsioonijärgu ja söödaratsiooniga, ei loe enamik uurijaid neid sõltumatuteks teguriteks spontaanselt lipolüüsi taseme mõjutamisel (Ahrné, Björck, 1985; Chazal, Chilliard, 1986).

Lüpsiintervalli lühendamine mõjutab oluliselt lipolüüsi taset nende lehmade piimas, kes kalduvad andma spontaanselt lipolüütilist piima. Normaalselt piima andvatel lehmadel võib maitsevea tekkimist põhjustada väga lühike, 3–4-tunnine vaheaeg kahe lüpsi vahel (Jellema, 1986).

Mastiidi mõju lipolüüsi intensiivsusele. Mastiidihaigete lehmade piimas on lipolüüs tavaliselt tunduvalt intensiivsem kui tervete lehmade piimas. Kõrgenenud on nii lüpsijärgne vabade rasvhapete sisaldus (Tallamy, Randolph, 1969; Murphy *et al.*, 1989) kui ka säilitamisel lisandunud vabade rasvhapete kogus (Salih, Anderson, 1979a). Vabade rasvhapete akumulatsioon mastiidihaigete lehmade piimas võib olla 1,5–2,0 korda kiirem kui tervete lehmade piimas (Tallamy, Randolph, 1969).

Katsetest, kus mastiit tekitati eksperimentaalselt bakterite endotoksiinidega, selgus, et vabade rasvhapete sisalduse suurenemine on tihedalt seotud somaatiliste rakkude arvuga (*somatic cell count, SCC*). SCC mõjutab piima vabade rasvhapete kontsentratsiooni kõige enam vahemikus 5×10^5 kuni 6×10^6 /ml. Veel suurema somaatiliste rakkude arvu juures võib hakata toimuma lipaasi proteolüüs (Salih, Anderson, 1979a). Mastiit ja sellega kaasnev organismi immuunreaktsioon põhjustavad lipolüüsi intensiivistumist niikaua, kuni põletik püsib. Niipea, kui somaatiliste rakkude arv langeb, pöördub ka lipolüüsi intensiivsus infektsiooneelsele tasemele (Murphy *et al.*, 1989).

Ebaselge on vabade rasvhapete kontsentratsiooni suurenemise protsess mastiidihaigete lehmade piimas. Tallamy ja Randolphi (1969) ning Azzara ja Dimicki (1985) andmetel kaasneb infektsiooniga LPL aktiivsuse suurenemine. Et mastiidihaigete lehmade piimas suureneb vereseerumi komponentide sisaldus (Deeth, Fitz-Gerald, 1976), võiks eeldada, et vabade rasvhapete sisalduse suurenemise üheks põhjuseks on ensüümi aktiveerimine vereseerumi lipoproteiinide poolt. Ometi on katsetulemused näidanud, et endotoksiiniga töödeldud udara veeranditest pärit piimaseerum ei põhjusta lipolüüsi intensiivistumist (Salih, Anderson, 1979a). LPL aktiivsus mastiidihaigete lehmade piimas kahaneb või jääb muutumatuks (Salih, Anderson, 1979a; Anderson, 1982a; Murphy *et al.*, 1989). Suurenenud somaatiliste rakkude arvu peetakse üheks teguriks, mis põhjustab lipaasi eraldumist kaseiini mitsellist, soodustades seeläbi lipolüüsi intensiivistumist mastiidihaigete lehmade piimas (Salih, Anderson, 1979a; Bachman, Wilcox, 1990a).

Lipaasi lokaliseerimine ja rasvagloobuli membraani tähtsus. Lipolüüsi mõjutavad mitmed faktorid (Downey, 1974; Olivecrona, 1980) ning potentsiaal lipolüüsiks on kõikides piimades väga suur (Downey, 1980a). Korrelatsioon lipaasi aktiivsuse ja vabanenud rasvhapete sisalduse vahel aga puudub (Ahrné, Björck, 1985; Chazal, Chilliard, 1986; Jellema, 1986; Cartier, Chilliard, 1990). Lipolüüsi intensiivsus korreleerub rasvagloobulitega seotud ensüümi kogusega (Bachman, 1982; Ahrné, Björck, 1985). Et piima rasvafraktsioonis paikneb vaid ligikaudu 2% lipaasi kogusest (Castberg *et al.*, 1975) ning enamik lipaasist on seotud kaseiini mitsellidega (Anderson, 1982a, 1982b), suurendavad ensüümi ümberjaotumist põhjustavad tingimused – jahutamine, hepariini või NaCl lisamine – tunduvalt lipolüüsi intensiivsust (Anderson, 1982a; Ahrné, Björck, 1985; Sundheim, Bengtsson-Olivecrona, 1985). Lipaasi ümberpaiknemist võib põhjustada ka piima mehaaniline mõjutamine (Deeth, Fitz-Gerald, 1977). Spontaanselt lipolüütilistes piimades põhjustab jahutamine muutusi, mille tagajärjel rasvagloobul seob endaga rohkem LPL-i (Ahrné, Björck, 1985; Sundheim, Bengtsson-Olivecrona, 1985), kuid jahutamine muudab ka normaalse piima lipolüüsile vastuvõtlikumaks (Sundheim, Bengtsson-Olivecrona, 1987).

Rasva lõhustumist ei toimu, kui ensüümile ei ole kindlustatud juurdepääs oma substraadile. Normaalsetes tingimustes kaitseb piima triglütseriidide lipaasi rünnaku eest rasvagloobuli membraan (Downey, 1980b). Indutseeritud lipolüüsi käigus membraan lõhutakse ja triglütseriidid muutuvad ensüümile kättesaadavaks. Protsessi intensiivistab tunduvalt õhu sattumine piima, kuna vedeliku-õhu piirpinnal tekkinud pinged toovad kaasa membraani eriti ulatuslikud kahjustused (Deeth, Fitz-Gerald, 1976). Homogeniseerimisel võib toimuda membraani naturaalse proteiinide asendumine piima veefaasist adsorbeeritud pindaktiivsete ainetega ning seetõttu lipolüüsuhomogeniseeritud toorpiim väga kiiresti (Anderson, 1983).

Ka spontaanselt lipolüüsi puhul on rasvagloobuli membraani tugevus oma osa. Cartier'i ja Chilliard'i (1990) andmetel on spontaanse piimade triglütseriidid ensüümile kättesaadavamad kui normaalses piimas. Sundheim ja Bengtsson-Olivecrona (1987) leidsid aga vaid väga väikesi erinevusi spontaansest ja normaalsest piimadest isoleeritud rasvagloobulite vahel.

Rasvagloobuli membraani seisund näib olevat märkimisväärse tähtsusega lehmade hilises laktatsiooni- ja tiinusjärgus, mil gloobuli keskmine suurus on väiksem ning piima rasvasisaldus suurem, nii et membraani moodustamiseks vajaminev fosfolipiidide kogus võib olla ebapiisav suurenenud pinna katmiseks (Kinsella, Houghton, 1975; Chazal, Chilliard, 1986).

Lipaasi aktivatsioon ja inhibitsioon. Piima lõssi fraktsioonis on mitmeid aineid, mis mõjutavad LPL-i, kas inhibeerivalt või aktiveerivalt (Deeth, Fitz-Gerald, 1995). Inhibeerivate faktorite esinemisega on põhjendatud ka lipolüüsi pärssimist spontaanselt lipolüütilisele piimale normaalse piima lisamisel. On kindlaks tehtud, et normaalse piima seerumis sisalduv peptiidne komponent proteoos-peptoon fraktsioon 3 (PP3) toimib kui efektiivne mittekonkurentne inhibiitor, mis pärsib lipolüüsi, takistades ensüümi-substraadi vahelist interaktsiooni (Anderson, 1981; Cartier *et al.*, 1990; Cartier, Chilliard, 1990). Peamiseks erinevuseks normaalse ja spontaanselt lipolüütilise piima vahel on PP3 väike sisaldus spontaanselt lipolüütilises piimas (Cartier, Chilliard, 1990; Cartier *et al.*, 1990).

Lipolüüsi intensiivsus *in vitro* väheneb tunduvalt koos vabade rasvhapete moodustumisega, sõltumata FFA aktseptorite (vereseerumi albumiin, Ca-ioon) olemasolust reaktsioonikeskkonnas (Downey, 1980b). Arvatakse, et moodustuvad vabad rasvhapped ja monoglütseriidid käituvad triglütseriidide hüdrolüüsi konkurentsete inhibiitoritena, akumulierudes õli- ja veefaasi piirpinnale. Tõenäoliselt moodustavad rasvhapped lipaasiga komplekse, muutes seeläbi osa ensüümi kogusest inaktiivseks ning takistavad ensüümi-aktivaatori interaktsiooni (Bengtsson, Olivecrona, 1980; Downey, 1980b).

Lipolüüsi intensiivistumist piimas on võimalik esile kutsuda vereseerumi lisamisega (Salih, Anderson, 1979b; Jellema, 1986). Arvatakse, et spontaanselt lipolüütilistes piimades on üheks lipolüüsi esilekutsuvaks teguriks vereplasmast pärit aktivaatori toime. See aktivaator on immunoloogiliselt identne apo-lipoproteiin C II-ga (apo-C II), mis sisaldub kõrge tihedusega lipoproteiinides (*high density lipoprotein*, HDL) (Clegg, 1980). Tõenäoliselt on HDL toime spontaanselt lipolüüsi algatamisel piimas seotud pigem lipaasi ümberpaiknemisega kaseiini mitsellidest rasvagoobulite pinnale kui juba rasvagoobulitega seotud ensüümimolekulide aktiveerimisega (Bachman, Wilcox, 1990b).

Hilises tiinusjärgus lehmal võib piima vabade rasvhapete sisalduse kasv olla seotud vere suurenenud östrogeenisaldusega (Bachman, 1982; Bachman *et al.*, 1988). Lehmade naha alla süstitud östradiool põhjustab lipolüüsi intensiivistumist, kuid ei suurenda lipaasi aktiivsuse suurenemist toorpiimas (Bachman, 1982). Arvatakse, et vabade rasvhapete sisalduse kasvu tingib ensüümi ümberpaiknemine rasvagoobulite pinnale (Bachman *et al.*, 1988).

Võtmesõnad: toorpiima kvaliteet, vabad rasvhapped, indutseeritud lipolüüs, lüpsisüsteemid.

Materjal ja meetodika

Toorpiima vabade rasvhapete sisalduse selgitamiseks võeti ajavahemikul 08.1999...06.2000 kord kuus piimaproovid ühe piimatöötlemisettevõtte (I) kõigi piimavarujate (n=32) lautade jahutustankidest ja ajavahemikul 01.2001...05.2001 kaks korda teise piimatöötlemisettevõtte (II) suuremate piimavarujate (n=41) lautade jahutustankidest.

Proovid toodi laboratooriumi termoskastis. Piimaproovidest määrati vabade rasvhapete sisaldus samal päeval, kasutades *copper soap* meetodit (IDF, 1991b).

Vabade rasvhapete sisaldust mõjutavate tegurite analüüsimisel (piima bakteriaalne saastatus, soomaatiliste rakkude arv) kasutati I piimatöötlemisettevõtte varumispiirkonna piima kvaliteeti käsitleva uurimuse andmebaasi (Henno, 2000).

Lüpsisüsteemide mõju selgitamiseks piima vabade rasvhapete sisaldusele jagati I piimatöötlemisettevõtte varumispiirkonna farmides kasutatavad lüpsisüsteemid kaheksasse rühma:

- I – uued lüpsiplatsid, paigaldatud pärast 1994. a.;
- II – vanad lüpsiplatsid;
- III – pika piimaliiniga (>100 m) torusselüpsiseadmed, kus lisaks esimesele tõusule lüpsiaparaadist piimatorusse (1,8 m) peab piim ületama veel ühe, kaks või isegi rohkem tõusu kohtades, kus piimaliin ületab sööda- ja sõnnikukäikusid;
- IV – nõuetekohaselt rekonstrueeritud pika piimaliiniga (pidev ja ühtlane, 0,3...0,5% langus kogurini) lüpsiseadmed;
- V – uued, pärast 1994. a. paigaldatud pika piimaliiniga torusselüpsiseadmed;
- VI – lühikese piimaliiniga nõuetekohaselt paigaldatud torusselüpsiseadmed;
- VII – kannulüps;
- VIII – kannulüps, piima transport laudast jahutustanki piimatoruga.

Indutseeritud lipolüüsi peamiseks põhjuseks on vaakumi taseme ebareeglipärane kõikumine piimaliinis. Äkiline rõhuvahetus kutsub esile vabade rasvhapete teket soodustavat piima loksumist ja õhutamist. Eelnimetatud väite kontrollimiseks uuriti vaakumi taset piimaliinis torusselüpsiseadmetel ja lüpsiplatsidel. Selleks kasutati pulsaatoritestreid Alfatronic MK IV ja Pulsotest II, juhitudes rahvusvahelisest standardist ISO 6690. Vaakumi taset mõõdeti lüpsi ajal erineva kõrguse ja kaldenurgaga tõusude eel. Võrdlusandmed saadi rekonstrueeritud piimaliiniga lautadest, kus tõusud olid kõrvaldatud või lüpsi ajaks allalastavad (Luik, 1999).

Sesoonsuse ja lüpsisüsteemi mõju olulisuse hindamiseks piima FFA-sisaldusele kasutati dispersioonanalüüsi. Erinevate lüpsisüsteemidega toodetud piima FFA-sisalduse erinevuse statistilist olulisust hinnati t-testi abil.

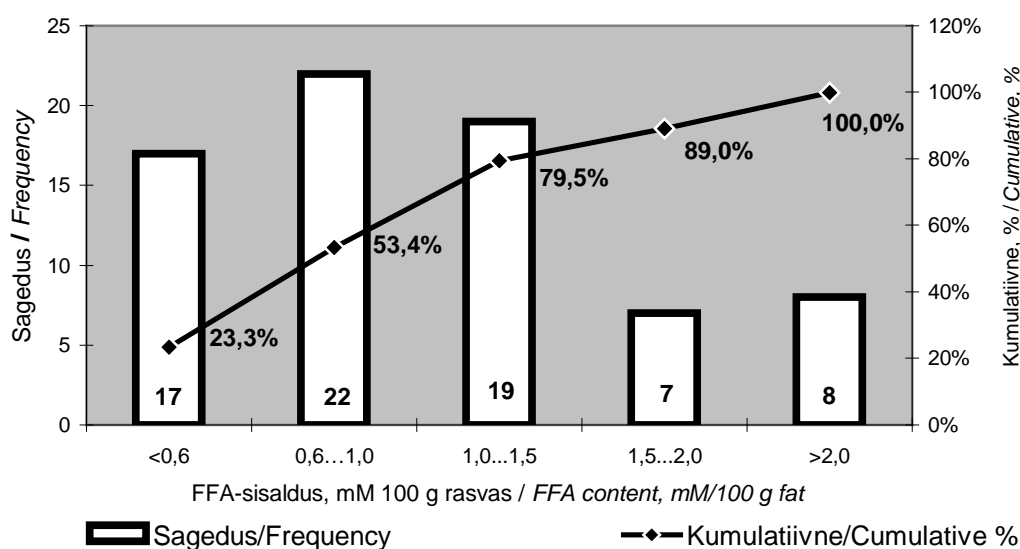
Tulemused ja arutelu

Varutava piima FFA-sisaldus. Uuritud farmides (n=73) toodetud piima vabade rasvhapete sisaldust iseloomustavad andmed on esitatud joonisel 1, kus kasutatav FFA-sisalduse skaala valiti järgmistel alustel:

- FFA-sisaldus <0,6 mM 100 g rasvas – Hollandi mõnedes piimatööstustes kasutatav piirnorm (van den Berg, 1986);

- FFA-sisaldus <1,0 mM 100 g rasvas – piinorm, mida kasutatakse piima kvaliteedi iseloomustamiseks mitmete riikide varumishinna süsteemides ja nõustamistegevuses (de Wet, 1998);
- FFA-sisaldus <1,5 mM 100 g rasvas – piinorm, millest suurem FFA-sisaldus võib põhjustada maitseviga seonduvaid probleeme (IDF, 1991a);
- FFA-sisaldus >2,0 mM 100 g rasvas – sellest alates on piima maitseviiga eristatav ka tavatarbija jaoks (Tallamy, Randolph, 1969).

Farmide lõikes oli toodetava piima keskmine FFA-sisaldus 1,09 mM 100 g rasvas ($s=0,609$), kusjuures 39 (53,4%) farmis oli FFA keskmine kontsentratsioon alla 1,0 mM 100 g rasvas ning suurem kui 1,5 viieteistkümnes (20,5%) farmis. Kaheksas farmis (11%) toodeti piima, mille keskmine FFA-sisaldus oli üle 2 mM 100 g rasvas. Toodud andmetest, mis iseloomustavad ühe piimatööstuse kogu varutava piima ja teise tööstuse suuremate piimatootjate piima FFA-sisaldust, järeldub, et 46,6% farmide piima kvaliteet ei vastanud nõustamistegevuses kasutatavale FFA-sisalduse piinormile. K. J. Boor'i jt. (1998) andmetel oli USA New Yorgi osariigis uuritud 885 farmi toorpiima keskmine FFA-sisaldus 0,93 mM 100 g rasvas ja suurem kui 1,4 (piir, millest alates piim loetakse tugevalt hüdrolüüsunuks) 12% juhtudest.



Joonis 1. Farmide jaotus segupiima keskmise FFA-sisalduse alusel

Figure 1. Distribution of studied farms according to the mean FFA content of bulk milk

Piima mikrobioloogilise saastatuse mõju FFA-sisaldusele. Mikroobse päritoluga lipaasi kogus võib olla piisav mõjutamiseks piimarasva hüdrolüüsi ja seega maitseviga teket piimas, kui piima bakteriaalne saastatus ületab $10^6 \dots 10^7$ cfu/ml (Downey, 1980b). I piimatöötlemisettevõtte varutava toorpiima mikrobioloogilise saastatuse iseloomustamiseks määrati ajavahemikul 04.97...09.99 bakterite üldarv 592 ettevõttesse laekunud piimapartiist võetud proovis (Henno, 2000). Toorpiima keskmine bakterite üldarv oli $5,1 \times 10^4$ cfu/ml, kusjuures 73,7% piimapartii bakterite üldarv oli alla 5×10^3 cfu/ml. Tulenevalt eeltoodust ei saa toorpiima kõrget FFA-sisaldust seostada psührotroofsete bakterite poolt produtseeritava mikroobse lipaasi mõjuga. W. K. Downey (1980b) andmetel mõjutab lipolüütilisi protsesse toorpiimas, mille bakteriaalne saastatus on madal (5×10^3 cfu/ml) või keskmine ($<10^5$ cfu/ml), naturaalne lipaas.

Spontaanne lipolüüs. Spontaanset lipolüüsi seostatakse peamiselt üksiklehmade piimaga ja kuigi peaaegu kõik lehmad võivad anda teatud tingimustel lipolüütilist piima, lüpsab selliseid lehmi karjas korraga vähe. Peamised tegurid, mis võivad suurendada spontaanselt lipolüütilise piima osatähtsust, on hiline laktatsiooni järk, piima suur somaatiliste rakkude arv ja alasöötmine.

Laktatsiooni ja tiinuse järk võivad suurtes karjades piima vabade rasvhapete sisaldust mõjutada ainult piimatootmise suure sesoonsuse korral. Chazali ja Chilliardi (1986) uurimuses, kus 65% ($n=57$) karjast poegis septembris-oktoobris, oli segupiima FFA-sisaldus madal talvel (0,40...0,70 mmol 100 g rasvas), langes vähe aprillis, kui lehmad läksid karjamaale, ja tõusis maksimumini (1,50 mM 100 g rasvas) juulis. Kuigi piimatootmise sesoonsus Eestis on küllaltki suur – 1999. ja 2000. aastal vastavalt 1,5 ja 1,4 (Eesti jõudluskontrolli..., 2001), ei mõjutanud sesoonsus meie uurimuses oluliselt ($P < 0,05$) piima vabade rasvhapete sisaldust. Üksikute segupiimaproovide FFA-sisaldus ületas 1,0 mM/100 g rasvas ainult III ja VIII rühma lüpsiseadmetega seadistatud lautades, kus oli kõrge ka kogu vaatlusperioodi keskmine piima FFA-sisaldus (tabel 2).

Tabel 2. Erinevate lüpsiseadmerühmadega toodetud piima FFA keskmised sisaldused ja standardhälbed
Table 2. Mean FFA content and standard deviation of raw milk produced with different groups of milking equipment

Näitaja	Lüpsisüsteem / Milking system				
Uued lüpsiplatsid (I) / New milking parlours (I)					
Arv / No	11	12			
\bar{x}	0,35 (0,20–0,44)	0,31 (0,27–0,41)			
s	0,077	0,043			
Vanad lüpsiplatsid (II) / Old milking parlours (II)					
Arv / No	10	10			
\bar{x}	0,65 (0,33–0,99)	0,70 (0,500,85)			
s	0,200	0,116			
Pika piimaliiniga vanad torusselüpsiseadmed (III) Old pipeline milking systems with long milklime (III)					
Arv / No	11	9 ^B	9 ^B	9 ^B	9 ^B
\bar{x}	2,15 (1,55–2,85)	0,89 (0,69–1,15)	0,89 (0,65–1,15)	0,99 (0,74–1,21)	0,77 (0,76–0,88)
s	0,46	0,115	0,151	0,175	0,091
Arv / No	11 ^C	11 ^C	10 ^C	9	10 ^A
\bar{x}	1,11 (0,88–1,96)	0,94 (0,61–1,44)	1,32 (1,05–1,59)	0,70 (0,43–0,90)	1,06 (0,65–1,43)
s	0,315	0,234	0,244	0,159	0,260
Arv / No	11	6	6	6	
\bar{x}	1,75 (0,99–2,51)	0,63 (0,56–0,69)	1,37 (1,20–1,69)	1,33 (1,04–1,54)	
s	0,476	0,120	0,183	0,208	
Rekonstrueeritud pika piimaliiniga torusselüpsiseadmed (IV) Reconstructed milking systems with long milklime (IV)					
Arv / No	9	10	11	10 ^B	
\bar{x}	0,56 (0,42–0,66)	0,68 (0,58–0,75)	0,54 (0,39–0,67)	0,53 (0,43–0,76)	
s	0,085	0,065	0,081	0,096	
Uued torusselüpsiseadmed (V) New pipeline milking systems (V)					
Arv / No	11 ^C	10	10	10	11 ^A
\bar{x}	0,57 (0,41–0,74)	0,68 (0,53–0,79)	0,69 (0,57–0,87)	0,80 (0,64–0,97)	0,57 (0,42–0,69)
s	0,108	0,082	0,080	0,128	0,083
Lühikese piimaliiniga nõuetekohaselt paigaldatud torusselüpsiseadmed (VI) Properly installed pipeline milking systems with short milklime (VI)					
Arv / No	9	9	9		
\bar{x}	0,58 (0,40–0,66)	0,76 (0,53–0,98)	0,69 (0,58–0,96)		
s	0,099	0,163	0,139		
Kannulüps (VII) / Bucket milking					
Arv / No	9				
\bar{x}	0,54 (0,31–0,67)				
s	0,159				
Kannulüps, piima transport laudast jahutustanki piimatoruga (VIII) Bucket milking, milk transport from shed to the tank by milklime					
Arv / No	10				
\bar{x}	1,32 (0,91–1,88)				
s	0,313				

A, B, C – ühesuguse indeksiga tähistatud farmid kuuluvad ühele omanikule / with similar indexes marked farms belonged to one owner

Mastiidist mõjutatud piima FFA-sisalduse muutused on suurimad, kui piima somaatiliste rakkude arv on vahemikus $3,0...5,0 \times 10^6 \text{ ml}^{-1}$ (Jellema, 1975). I piimatöötlemisettevõttesse laekunud piimapartiidest oli 86,9% somaatiliste rakkude arv alla $4 \times 10^5 \text{ ml}^{-1}$ (Henno, 2000) ja vabariigi jõudluskontrollis olevate lehmade kontrollpäeva keskmine somaatiliste rakkude arv 2000. aastal $4,02 \times 10^5 \text{ ml}^{-1}$ ning ei ületanud ühelgi juhul $4,5 \times 10^5 \text{ ml}^{-1}$ (Eesti jõudluskontrolli..., 2001). Eeltoodust järeldub, et nii meie poolt uuritud farmides kui ka vabariigi lüpsikarjafarmides tervikuna ei ole mastiidist põhjustatud lipolüüs oluliseks piima FFA-sisalduse suurenemise põhjuseks.

Söödaratsiooni kvaliteeti ja kvantiteeti ei saa lugeda spontaanse lipolüüsi võimalikuks käivitajaks uuritud farmides, kuna mitmel juhul kuulusid oluliselt erineva FFA-sisaldusega piima tootvad laudad ühele omanikule (vt. tabelis 2 ühesuguse tähega tähistatud lüpsikarjalaudad), millest tulenevalt oli söödaratsioon neis lautades ühesugune. Ainukeseks erinevuseks lautade vahel oli erinev lüpsisüsteem.

Lüpsisüsteemi mõju piima FFA-sisaldusele. I piimatöötlemisettevõtte varumispirkonna farmide toorpiima FFA-sisalduste dispersioonanalüüs, vastavalt lüpsisüsteemi rühmale, näitas kasutatava lüpsisüsteemi olulist ($P < 0,001$) mõju piima FFA-sisaldusele. Tulemus on kooskõlas eelnevatest uurimustest (Jensen, 1964; Bakke *et al.*, 1983) tuleneva seisukohaga, et indutseeritud lipolüüsi peamiseks põhjuseks on piima mehaaniline mõjutamine lüpsil ja esmasel käsitsemisel.

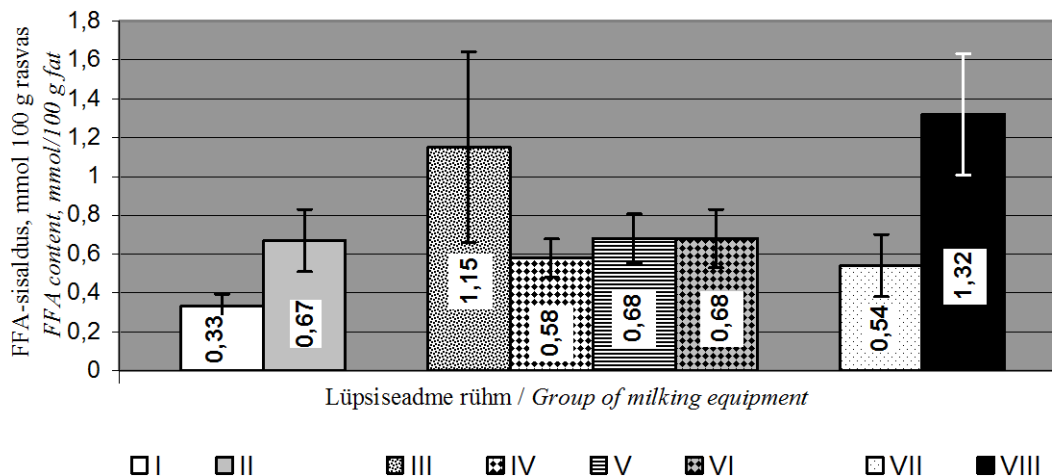
Erinevate lüpsiseadmete rühmadega toodetud piima FFA-sisaldust iseloomustavad tabelis 2 ja joonisel 2 esitatud andmed. Lüpsiseadmete rühmade lõikes FFA-sisalduse erinevuse olulisust iseloomustavad andmed on toodud tabelis 3.

Madalaima keskmise FFA kontsentratsiooniga piima ($\bar{x} = 0,33 \text{ mM}$ 100 g rasvas; $s = 0,063$) toodeti uute lüpsiplatsidega (I) farmides, kus kõigi uuritud piimapartiide FFA-sisaldus oli alla $0,6 \text{ mM}$ 100 g rasvas. Suurima ($\bar{x} = 1,32 \text{ mM}$ /100 g rasvas; $s = 0,313$) FFA-sisaldusega piima toodeti kannulüpsiga farmis, kus piima transport laudast jahutustanki toimus piimatoru kaudu. Nimetatud lüpsisüsteemiga farmis ületas 80% (tabel 4) piimapartiide FFA-sisaldus nõustamistegevuses kasutatava piinormi ($1,0 \text{ mM}$ 100 g rasvas). Tavalise kannulüpsi (VII) kasutamisel – piim kallatakse kannust jahutisse –, oli piima keskmine FFA-sisaldus ($\bar{x} = 0,54 \text{ mM}$ 100 g rasvas; $s = 0,160$) oluliselt väiksem kui kannulüpsi ja torutranspordi kasutamisel, kuid suurem ($P < 0,01$) kui platsilüpsil (I).

Torusselüpsiseadmetega (III, IV, V, VI) lautades toodetud piima võrdlusel selgus, et kõrgeima FFA-sisaldusega ja ka tulemuste suurima varieeruvusega ($\bar{x} = 1,15 \text{ mM}$ 100 g rasvas; $s = 0,489$) oli vanade, pika piimaliini ja montaaživigadega seadmetega (III) lautade piim ning madalaima FFA- ($\bar{x} = 0,58 \text{ mM}$ 100 g rasvas; $s = 0,099$) sisaldusega rekonstrueeritud pika piimaliiniga torusselüpsiseadmetega (IV) lautades toodetud piim (joonis 2, tabel 3) ($P < 0,001$). Nõustamistegevuses kasutatava piinormi ($< 1,0 \text{ mM}$ 100 g rasvas) ületas 54,0% vanade pika piimaliiniga torusselüpsiseadmetega lautades (III) toodetud piimapartiidest, kusjuures üheski teises torusselüpsisüsteemiga laudas ei ületanud ükski piimapartii eelnimetatud normi (tabelid 2, 4). Rekonstrueeritud lüpsiseadmetega lautades oli keskmine FFA kontsentratsioon kõigil juhtudel alla $0,8$ ja kolmes laudas $< 0,6$.

Uurimistulemuste võrdlemisel Tallamy ja Randolph'i (1969) piima maitsevigade ja FFA-sisalduse skaala piirväärtustega selgus, et 308 piimapartiist ületas 3,2% tavatarbijale tuntava maitsevea piiri (FFA-sisaldus $> 2,0 \text{ mM}$ 100 g rasvas) ja 7,7% piimapartiidest ekspertide poolt avastatava maitsevea piiri (FFA-sisaldus $> 1,5 \text{ mM}$ 100 g rasvas), kusjuures kõik need piimapartiid pärinesid III ja VIII lüpsisüsteemiga lautadest (tabel 3). Kolmekümne kahest laudast toodeti tavatarbijale tuntava maitseveaga piima ühes vana pika piimaliiniga (III) laudas (tabel 2).

Eeltoodust selgub, et toorpiima FFA-sisaldus oli kõrgeim ning ületas sageli piima kvaliteedi hindamisel kasutatava piinormi ($< 1,0 \text{ mM}$ 100 g rasvas) torutranspordiga kannulüpsisüsteemi (VIII) ja vanade pika piimaliiniga torusselüpsiseadmetega (III) lautades. Toorpiima FFA-sisalduse suurenemine nimetatud lüpsisüsteemide kasutamisel tuleneb ilmselt rasvagloobuli membraani mehaanilistest vigastustest ning lipaasi ümberpaiknemisest (valgu faasist \rightarrow rasva faasi) tingitud lipolüüsi intensiivistumisest. Indutseeritud lipolüüsi intensiivistumise põhjuseks torutranspordiga kannulüpsi süsteemi kasutamisel oli ilmselt suure hulga õhu sattumine süsteemi piima imemisel kannust piima transpordi torusse. Et katses oli ainult üks VIII rühma lüpsiseade, ei võimalda antud uurimus anda lõplikku hinnangut sellise lüpsisüsteemi kasutamise mõjust toorpiima FFA-sisaldusele. Indutseeritud lipolüüsi intensiivistumise põhjuseks kolmanda lüpsisüsteemi rühmaga farmides oli montaaživigadest (vertikaalsed tõusud ja lekked piimaliinis) põhjustatud liigse õhu sattumine piimaliini, mida märgitakse olulise piima FFA-sisalduse suurenemise põhjusena ka mitmetes eelnevates uurimustes (Deeth, Fitz-Gerald, 1976; Escobar, Bradley, 1990; O'Brien *et al.*, 1998).



Joonis 2. Piima FFA keskmine sisaldus ja standardhälve vastavalt lüpsiseadme rühmale
Figure 2. Mean FFA content and standard deviation of raw milk by the used milking equipment group

Tabel 3. Erinevate lüpsiseadmerühmadega toodetud piima FFA-sisalduse absoluutsed erinevused
Table 3. Absolute differences of FFA content of the raw milk produced with different groups of milking equipment

	I	II	III	IV	V	VI	VII
II	0,345***						
III	0,825***	0,480***					
IV	0,247***	0,098**	0,579***				
V	0,346***	0,001	0,479***	0,100**			
VI	0,352***	0,007	0,474***	0,105*	0,005		
VII	0,207**	0,138*	0,618***	0,040	0,139*	0,144*	
VIII	0,993***	0,648***	0,167	0,746***	0,646***	0,641***	0,785***

* P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,001

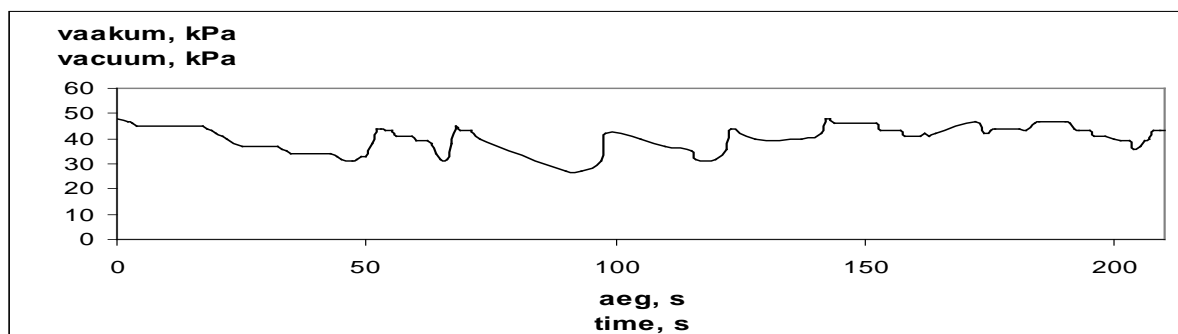
Tabel 4. Piimapartiide jaotus FFA kontsentratsiooni alusel, %
Table 4. Distribution of milk lots by the FFA content, %

FFA konts. FFA content	Lüpsiseadme grupp / Group of milking equipment								Kõik partiid All lots
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	
<0,6	100,0	35,0	4,8	60,0	28,9	40,7	66,7	0	30,3
<1,0	100,0	100,0	46,0	100,0	100,0	100,0	100,0	20,0	75,8
<1,5	100,0	100,0	82,5	100,0	100,0	100,0	100,0	70,0	92,3
<2,0	100,0	100,0	92,6	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	96,8

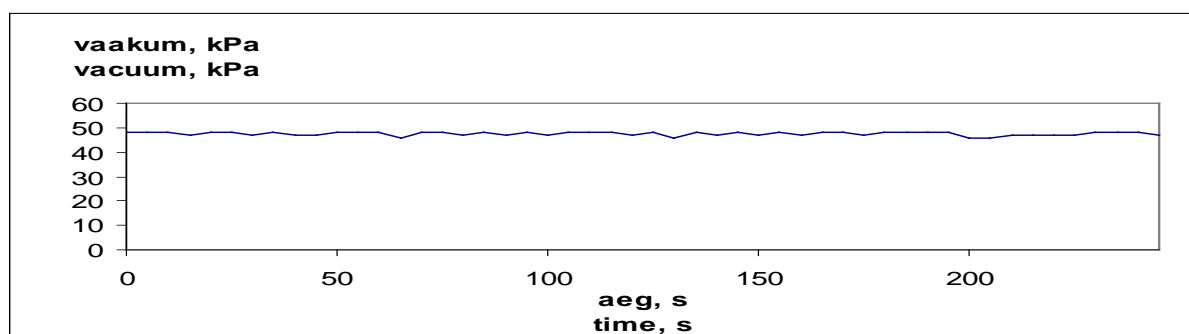
Lüpsimisel FFA teket mõjutavate vaakumi ebareeglipäraste kõikumiste uurimise hetkemaht võimaldab teha vaid esialgseid järeldusi. Kindel on see, et piimaliini tõusud ning nende tõusude ületamiseks ülemäära tugevaks reguleeritud vaakum põhjustavad piima intensiivset loksumist.

Joonisel 3 on esitatud kõige iseloomulikud konkreetsed olukorrad vaakumi taseme muutusel piimatorus: a) vana torusselüpsiseade, kaks 1,5 m kõrgust tõusu, vaakumi kõikumine ületab lubatud 1–2 kPa (ISO, 1996) piiri ligi 20 korda, maksimaalne hälve 21 kPa, FFA keskmine sisaldus 2,04 mM 100 g rasvas; b) rekonstrueeritud piimaliin, tõusud on asendatud lüpsi ajaks allalastavate “väravatega”, vaakumi taseme kõikumine jääb 1–3 kPa piiridesse, FFA keskmine sisaldus 0,68 mM 100 g rasvas. c) rekonstrueeritud piimaliin, vaakumi taseme kõikumine jääb 1–3 kPa piiridesse, ebareeglipärased lühiajalised vaakumi kõikumised on tingitud lüpsiparaadi halvast allapanekust, FFA keskmine sisaldus 0,80 mM 100 g rasvas.

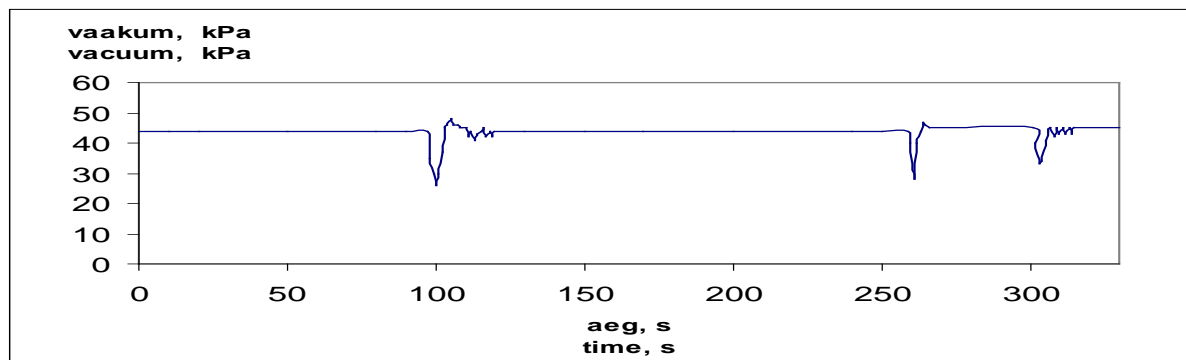
a)



b)



c)



Joonis 3. Vaakumi taseme muutus piimatorus: a) kahe 1,5 m kõrguse tõusuga piimaliin, mõõdetud esimese, vertikaalse tõusu eel; b) tõusudeta piimaliin, 250 m pikk; c) tõusudeta piimaliin, 40 m pikk

Figure 3. The variation of vacuum level in milk pipeline: a) milkline with two 1.5 m ascents, measured before the vertical ascent; b) milkline without ascents, 250 m length; c) milkline without ascents, 40 m length

Mõõtmised uutel lüpsiplatsidel näitasid stabiilset vaakumit (kõikumine 1–2 kPa). FFA madalale sisaldusele aitab kaasa ka nõrgem vaakum (38–42 kPa). Vanadel lüpsiplatsidel, kus piimatoru asub kanali kohal ülal, olid vaakumi hälbed nimiväärtusest 8–10 kPa.

Kokkuvõte

Käesolevas artiklis antakse kirjanduse põhjal ülevaade piimarasva lipolüüsi mõjutavatest teguritest ja selle protsessi tagajärjel vabade rasvhapete sisalduse suurenemise mõjust piima kvaliteedile. Katseandmete alusel kirjeldatakse varutava piima vabade rasvhapete sisaldust ja analüüsitakse toorpiima vabade rasvhapete sisalduse suurenemise põhjusi.

Uurimistulemustest võib olulisemate punktadena esile tuua järgmist.

- Uuritud farmides (n=73) ületas toorpiima keskmine vabade rasvhapete sisaldus 46,6% juhtudest piirnormi, mida kasutatakse mitmete riikide varumishinna süsteemides ja nõustamistegevuses (<1,0 mM 100 g rasvas).
- Farmi segupiima vabade rasvhapete sisalduse suurenemise peamiseks põhjuseks on indutseeritud lipolüüs. Segupiima tasandil ei ole lipolüüsi intensiivistumine seotud mikroobse lipaasi koguse suurenemise ja ka spontaanse lipolüüsiga.
- Farmis kasutatav lüpsisüsteem mõjutab oluliselt (P<0,001) toorpiima vabade rasvhapete sisaldust.
- Vaakumi taseme kõikumine piimaliinis põhjustab piima loksumist ja sellega seoses vabade rasvhapete kontsentratsiooni olulist suurenemist.
- Madalaima keskmise (\bar{x} =0,33 mM 100 g rasvas) vabade rasvhapete sisaldusega piima toodeti uute lüpsiplatsidega farmides (P<0,001). Mõõtmised uutel lüpsiplatsidel näitasid stabiilset vaakumit (kõikumine 1–2 kPa).
- Vanade, valesti paigaldatud torusselüpsiseadmetega toodetud piima FFA kontsentratsioon (\bar{x} =1,15 mM 100 g rasvas) oli oluliselt suurem kui rekonstrueeritud (\bar{x} =0,58 mM 100 g rasvas) lüpsiseadmetega lautades, ületades 54,0% lautades nõustamistegevuses ja normdokumentatsioonis kasutatava standardi <1 mM/100 g rasvas.
- Vanade, montaaživigadega torusselüpsiseadmete rekonstrueerimine ja lüpsiplatside laialdasem kasutuselevõtt võimaldab parandada toodetava piima kvaliteeti, vähendades vabade rasvhapete sisaldust piimas.
- Toorpiima vabade rasvhapete kontsentratsiooni näitaja kasutuselevõtt nõustamistegevuses – lüpsiseadmete regulaarse testimise, hoolduse ja rekonstrueerimisvajaduse selgitamisel – võimaldaks parandada piima ja piimatoodete kvaliteeti.

Tänuavaldus

Avaldame siirast tänu Eesti Teadusfondile grandid 4823 ja teaduskompetentsi nõukogule sihtfinantseerimise teema nr. 0170394s98 rahastamise eest.

Kirjandus

- Ahrné, L., Björck, L. Lipolysis and the distribution of lipase activity in bovine milk in relation to stage of lactation and time of milking. – *Journal of Dairy Research*, vol. 52, p. 55...64, 1985.
- Anderson, M. Factors affecting the distribution of lipoprotein lipase activity between serum and casein micelles in bovine milk. – *Journal of Dairy Research*, vol. 49, p. 51...59, 1982a.
- Anderson, M. Inhibition of lipolysis in bovine milk by proteose peptone. – *Journal of Dairy Research*, vol. 48, p. 247...252, 1981.
- Anderson, M. Milk lipase and off-flavour development. – *Journal of the Society of Dairy Technology*, vol. 36, p. 3...7, 1983.
- Anderson, M. Stability of lipoprotein lipase activity in bovine milk. – *Journal of Dairy Research*, vol. 49, p. 231...237, 1982b.
- Astrup, H. N., Bævre, L., Vik-Mo, L., Ekern, A. Effect on milk lipolysis of restricted feeding with and without supplementation with protected rape seed oil. – *Journal of Dairy Research*, vol. 47, p. 287...294, 1980.
- Azzara, C. D., Dimick, P. S. Lipoprotein lipase activity of milk from cows with prolonged subclinical mastitis. – *Journal of Dairy Science*, vol. 68, p. 3171...3175, 1985.
- Bachman, K. C. Effect of estradiol and progesterone upon lipase activity and spontaneous lipolysis in bovine milk. – *Journal of Dairy Science*, vol. 65, p. 907...914, 1982.
- Bachman, K. C., Hayen, M. J., Morse, D., Wilcox, C. J. Effect of pregnancy, milk yield, and somatic cell count on bovine milk fat hydrolysis. – *Journal of Dairy Science*, vol. 71, p. 925...931, 1988.
- Bachman, K. C., Wilcox, C. J. Effect of blood and high density lipoprotein preparations upon lipase distribution and spontaneous lipolysis in bovine milk. – *Journal of Dairy Science*, vol. 73, p. 3393...3401, 1990b.
- Bachman, K. C., Wilcox, C. J. Effect of time of onset of rapid cooling on bovine milk fat hydrolysis. – *Journal of Dairy Science*, vol. 73, p. 617...620, 1990a.
- Bakke, H., Ask, A., Fjeld, K. Effect of increasing air admission at the claw on lipolysis in milk. – *Meieriposten*, vol. 72, 350...352, 1983.
- Bengtsson, G., Olivecrona, T. Lipoprotein lipase. Mechanism of product inhibition. – *European Journal of Biochemistry*, vol. 106, p. 557...562, 1980.
- Boor, K. J., Brown, D. P., Murphy, S. C., Kozlowski, S. M., Bandler, D. K. Microbiological and Chemical Quality of Raw Milk in New York States. – *Journal of Dairy Science*, vol. 81, p. 1743...1748, 1998.
- Cartier, P., Chilliard, Y. Effects of different skim milk fractions on activity of cow milk purified lipoprotein lipase. – *Journal of Dairy Science*, vol. 69, p. 951...955, 1986.

- Cartier, P., Chilliard, Y. Spontaneous lipolysis in bovine milk: combined effects of nine characteristics in native milk. – *Journal of Dairy Science*, vol. 73, p. 1178...1186, 1990.
- Cartier, P., Chilliard, Y., Paquet, D. Inhibiting and activating effects of skim milks and proteose-peptone fractions on spontaneous lipolysis and purified lipoprotein lipase activity in bovine milk. – *Journal of Dairy Science*, vol. 73, 1173...1177, 1990.
- Castberg, H. B., Egelrud, P., Solberg, P., Olivecrona, T. Lipases in bovine milk and the relationship between the lipoprotein lipase and tributyrate hydrolysing activities in cream and skim milk. – *Journal of Dairy Research*, vol. 42, p. 255...266, 1975.
- Chazal, M.-P., Chilliard, Y. Effect of stage of lactation, stage of pregnancy, milk yield and herd management on seasonal variation in spontaneous lipolysis in bovine milk. – *Journal of Dairy Research*, vol. 53, p. 529...538, 1986.
- Chazal, M.-P., Chilliard, Y., Coulon, J.-B. Effect of forage on spontaneous lipolysis in milk from cows in late lactation. – *Journal of Dairy Research*, vol. 54, p. 13...18, 1987.
- Clegg, R. A. Activation of milk lipase by serum proteins: possible role in the occurrence of lipolysis in raw bovine milk. – *Journal of Dairy Research*, vol. 47, p. 61...70, 1980.
- Deeth, H. C., Fitz-Gerald, C. H. Lipolysis in Dairy Products: A review. – *The Australian Journal of Dairy Technology*, June, p. 53...64, 1976.
- Deeth, H. C., Fitz-Gerald, C. H. Lipolytic enzymes and hydrolytic rancidity in milk and milk products. – *Advanced Dairy Chemistry – 2*, Editor P.F. Fox, p. 247...308, 1995.
- Deeth, H. C., Fitz-Gerald, C. H. Some factors involved in milk lipase activation by agitation. – *Journal of Dairy Research*, vol. 44, p. 569...583, 1977.
- de Wet, H. Payment systems for ex-farm milk. – *Bulletin of the IDF*, No. 331, p. 6...26, 1998.
- Downey, W. K. Enzyme systems influencing processing and storage of milk and milk products. *Proc. 19th Int. Dairy Congr.*, New Delhi, No. 2, p. 325...357, 1974.
- Downey, W. K. Review of the progress of Dairy Science: Flavour impairment from pre- and post-manufacture lipolysis in milk and dairy products. – *Journal of Dairy Research*, vol. 47, p. 237...252, 1980b.
- Downey, W. K. Risks from pre- and post-manufacture lipolysis. – *Bulletin of IDF*, Brussels, Doc. 118, p. 4...18, 1980a.
- Eesti jõudluskontrolli aastaraamat 2000. – Jõudluskontrolli Keskus. – Tartu, 2001. – 52 lk.
- Escobar, G. J., Bradley, R. L. Effect of Mechanical Treatment on the Free Fatty Acid Content of Raw Milk. – *Journal of Dairy Science*, vol. 73, p. 2054...2060, 1990.
- Fleming, M. G. Lipolysis in bovine milk unaffected by mechanical and temperature activation. A review. – *Irish Journal of Food Science and Technology*, 3, p. 111...129, 1979.
- Freeden, H., Bowstead, J. E., Duncley, W. L., Smith, L. M. Hydrolytic rancidity in milk. II. Some management and environmental factors influencing lipolysis. – *Journal of Dairy Science*, vol. 34, p. 521...528, 1951.
- Heeschen, W. H. Bacteriological quality of raw milk: legal requirements and payment systems. – *Symposium on Bacteriological quality of Raw Milk*, Wwolfpassing, Austria, p. 1...18, 1996.
- Henno, M. Varutava piima kvaliteet võrdluses Euroopa Liidu nõuetega. – *Agraarteadus*, XI, nr. 2, lk. 132...139, 2000.
- IDF. A practical Guide to the Control of Lipolysis in the Manufacture of Dairy Products. – *Bulletin of IDF* No. 264, p. 26...28, 1991a.
- IDF. Monograph on determination of free fatty acids in milk and milk products. – *Bulletin of IDF* No. 265, p. 26...28, 1991b.
- ISO 6690. Milking machines installations – Mechanical tests. – *International Standard*. 1996.
- Jellema, A. Note on susceptibility of bovine milk to lipolysis. – *Neth. Milk Dairy Journal*, vol. 29, p. 145...152, 1975.
- Jellema, A. Some factors affecting the susceptibility of raw cow milk to lipolysis. – *Milchwissenschaft*, vol. 41, p. 553...558, 1986.
- Jensen, R. G. Lipolysis. – *Journal of Dairy Science*, vol. 47, p. 210...215, 1964.
- Jensen, R. G. Spontaneous lipolysis in milk throughout the stages of lactation of individual cow. – *Journal of Dairy Science*, vol. 42, p. 1619...1621, 1959.
- Kankare, V., Antila, V. Influence of pipeline milking machines on lipolysis in farm milk. – *Proceedings 20th International Dairy Congress*, Paris, p. 132, 1978.
- Kinsella, J. E., Houghton, G. Phospholipids and fat secretion by cows on normal and low fiber diets: lactational trends. – *Journal of Dairy Science*, vol. 58, p. 1288...1293, 1975.
- Kon, H., Saito, S. Factors causing temperature activation of lipolysis in cow's milk. – *Milchwissenschaft*, vol. 52, p. 435...440, 1997.
- Kurtz, F. E. The Lipids of milk: Composition and Properties. – *Fundamentals of Dairy Chemistry / Editor Wee B. H., Johnson A. H., Alford J. A.*, p. 125...219, 1974.

- Law, B. A. Reviews of the progress of Dairy Science: Enzymes of psychotrophic bacteria and their effects on milk and milk products. – Journal of Dairy Research, vol. 46, p. 573...588, 1979.
- Luik, A. Torusselüpsiseadmete ajakohastamine. – Bakalaureuse lõputöö. – Tartu, 1999. – 66 lk.
- Muir, D. D., Kelly, M. E., Phillips, J. D. The effect of storage temperature on bacterial growth and lipolysis in raw milk. – Journal of the Society of Dairy Technology, vol. 31, p. 203...208, 1978.
- Murphy, S. C., Cranker, K., Senyk, G. F., Barbano, D. M., Saeman, A. I., Galton, D. M. Influence of bovine mastitis on lipolysis and proteolysis in milk. – Journal of Dairy Science, vol. 72, p. 620...626, 1989.
- Needs, E. C., Anderson, M. Lipid position of milks from cows with experimentally induced mastitis. – Journal of Dairy Research, vol. 51, p. 239...249, 1984.
- O'Brien, B., O'Callaghan, E., Dillon, P. Effect of various milking machine systems and components on free fatty acid levels in milk. Journal of Dairy Research, vol. 65, p. 335...339, 1998.
- Olivecrona, T. Biochemical aspects of lipolysis in bovine milk. – Bulletin of IDF, Brussels, No. 118, p. 19...25, 1980.
- Ortiz, M. J., Kesler, E. M., Watrous, G. H., Cloninger, W. H. Effect of the cow's body condition and stage of lactation on development of milk rancidity. – Journal of Milk and Food Technology, vol. 33, p. 339...342, 1970.
- Salih, A. M. A., Anderson, M. Observation on the influence of high cell count on lipolysis in bovine milk. – Journal of Dairy Science, vol. 46, p. 453...462, 1979a.
- Salih, A. M., Anderson, M. Effect of diet and stage of lactation on bovine milk lipolysis. – Journal of Dairy Research, vol. 46, p. 623...631, 1979b.
- Scanlan, R. A., Sather, L. A., Day, E. A. Contribution of free fatty acids to flavor of rancid milk. – Journal of Dairy Science, vol. 48, p. 1582...1584, 1965.
- Sundheim, G., Bengtsson-Olivecrona, G. Isolated milk fat globules as substrate for lipoprotein lipase: Study of factors relevant to spontaneous lipolysis in milk. – Journal of Dairy Science, vol. 70, p. 499...505, 1987.
- Sundheim, G., Bengtsson-Olivecrona, G. Lipolysis in milk induced by cooling or by heparin: comparisons of amount of lipoprotein lipase in the cream fraction and degree of lipolysis. – Journal of Dairy Science, vol. 68, p. 589...593, 1985.
- Tallamy, P. T., Randolph, H. E. Influence of mastitis on properties of milk. IV. Hydrolytic rancidity. – Journal of Dairy Science, vol. 52, p. 1569...1572, 1969.
- van den Berg, M. G. Quality assurance for raw milk in the Netherlands. – Neth. Milk Dairy J., vol. 40, p. 69...84, 1986.
- Walstra, P. Jenness, R. Dairy Chemistry and Physics. – John Wiley & Sons, New York, 1984. – 459 p.

The Free Fatty Acids Content of Bulk Tank Milk and Factors Affecting Lipolysis

M. Henno, A. Leola

Summary

This study concentrated on the effect of different groups of milking systems installed at Estonian dairy farms on the free fatty acid (FFA) content of farm bulk milk.

Dairy farms supplying two dairies were included in this study. From August 1999 to June 2000 bulk milk samples were taken monthly from all farms (n=32) supplying Dairy I, and twice during the period from January 2001 to May 2001 from the largest farms (n=41) supplying Dairy II. Free fatty acid content was determined using the "copper soap" method (IDF, 1991b). In discussing the effect of microbial lipases and somatic cell count on FFA content, the data of a previous study (Henno, 2000) were used. Milking systems used on farms of the Dairy I were divided into eight groups to evaluate the effect on FFA content:

- I) *new milking parlours – installed after 1994;*
- II) *old milking parlours;*
- III) *old pipeline milking systems with a long milkline – incorrectly installed systems with 1...4 vertical ascents (Figure 1, 2);*
- IV) *reconstructed milking systems with a long milkline – old equipment with proper slope and removed vertical ascents;*
- V) *new pipeline milking systems installed after 1994;*
- VI) *properly installed pipeline milking systems with a short milkline;*
- VII) *bucket milking;*
- VIII) *bucket milking, milk transport from shed to tank by milkline.*

The mean FFA content of the bulk milk from farms studied was 1.09 mM/100 g fat. In 46.6% (n=34) of farms it exceeded 1 mM/100 g fat and in 11% (n=8) 2.0 mM/100 g (Figure 1). Used milking systems had a significant effect ($P<0.001$) on the FFA content of raw milk.

Mean FFA contents and absolute differences of FFA content of the raw milk produced using different groups of milking equipment are shown in Table 2 and Figure 2. Bulk milk with the lowest ($P<0.001$) FFA content ($\bar{x}=0.33$ mM/100 g fat; $s=0.063$) was produced on farms at which new milking parlours had been installed (I). FFA content of all samples studied were less than 0.6 (Table 3). The highest FFA content of milk ($\bar{x}=1.32$ mM/100 g fat; $s=0.313$) was in bucket milking farm where milk was transported from shed to the tank by milklime (VIII).

The mean FFA content of milk produced using reconstructed (IV) pipeline milking systems ($\bar{x}=0.58$ mM/100 g fat; $s=0.099$) was significantly lower than that of milk produced using incorrectly-installed systems (III) ($\bar{x}=1.15$ mM/100 g fat; $s=0.490$).

Of studied milk samples taken from farms of Dairy I (n=308), 3.2% had an FFA content exceeding the generally accepted flavour detection level for average consumer (>2.0) and 7.7% the level for trained experts (1.5) (Table 4).

Figure 3 illustrates the fluctuations of vacuum in milklime of concrete measurements. The measured fluctuations of vacuum level in milklimes for different groups of milking systems were as follows: group I – 1...2 kPa; group II – 8...10 kPa; group III – max 21 kPa; group IV – 1...3 kPa.

Conclusions:

- The mean FFA content of the bulk milk from farms studied (n=73) exceeded in 46.6% of cases the level 1 mM/100 g fat.
- Induced lipolysis was mainly responsible for the increased FFA content of bulk milk. In the case of farm bulk milk, spontaneous lipolysis had little effect on milk FFA content.
- Used milking systems had a significant effect ($P<0.001$) on the FFA content of raw milk.
- Reconstruction of old pipeline milking systems enables improvement of the quality of raw milk, reducing FFA content.
- Application of the FFA standard in raw milk for advisory purposes will help to explain the need for the regular testing of milking equipment and reconstruction of old equipment and lead to the improvement of raw milk quality.