

Gimnazija Franca Miklošiča Ljutomer
Prešernova ulica 34
9240 Ljutomer



**Optimizacija in preučevanje obarjenih beljakovin iz mleka,
kot trajnostna alternativa klasičnim plastičnim materialom**

Raziskovalno področje: interdisciplinarna raziskovalna naloga
(ekologija, biotehnologija, kemija)

Avtor: Iva Jaklin, Anže Škrget

Mentor: mag. Nina Žuman

Ljutomer, januar 2025

ZAHVALA

Za pomoč pri izvedbi praktičnega dela v šolskem laboratoriju se zahvaljujema laborantki Sonji Koroša. Zahvaljujema se tudi Nini Čeh, profesorici slovenščine, za slovnični pregled naloge in diplomiranemu anglistu, Žanu Strnadu, za prevod povzetka v angleški jezik. Prav tako se zahvaljujema Gimnaziji Franca Miklošiča Ljutomer za nabavo potrebnega materiala. Posebna zahvala gre mentorici, mag. Nini Žuman, profesorici kemije, za strokovno pomoč, nasvete in usmerjanje pri raziskovalnem delu.

KAZALO

KAZALO VSEBINE:

KAZALO.....	3
POVZETEK	8
ABSTRACT	9
1. NAMEN RAZISKOVALNE NALOGE	10
2. CILJI IN HIPOTEZE	11
3. TEORETIČNI DEL	12
3.1 Uvod v polimere	12
3.1.1 Opredelitev polimerov	12
3.1.2 Monomeri in polimerizacija	12
3.2. Naravni in sintetični polimeri	12
3.3. Beljakovine kot naravni polimeri	14
3.3.1. Struktura beljakovin	14
3.3.2. Kazein – naravni beljakovinski polimer	14
3.3.3. Uporaba kazeina za bioplastiko – kazeinska plastika.....	17
3.3.4. Trajnostni vidiki in razgradljivost kazeina	17
3.4. Smiselnost priprave biopolimera iz kazeina.....	18
3.4.1. Okoljski vidik	18
3.4.2. Manjša obremenitev okolja s trajnostnimi materiali	18
3.4.3. Možnost uporabe mleka z manjšo tržno vrednostjo	18
3.5. Sojino mleko in sojini protein, kot alternativa za pripravo biopolimera	19
4. METODE DELA	21
4.1. Uporabljeni material	21
4.2. Uporabljeni pripomočki.....	22
4.3. Postopek priprave vzorcev.....	22
4.4. Opis posameznih poskusov	25

4.4.1. Optimizacija poskusov	25
4.4.2. Testiranje dobljenih produktov posameznega poskusa	26
5. REZULTATI	27
5.1. Vpliv temperature trajnega mleka na tvorjenje oborine	27
5.2. Vpliv količine kisa na tvorjenje oborine v trajnem mleku	27
5.3. Vpliv koncentracije kisa na tvorjenje oborine v trajnem mleku.....	28
5.4. Sveže mleko Ljubljanske mlekarne s 3,5 % mlečne maščobe in nehomogenizirano mleko Planika Kobarid s 3,5 % mlečne maščobe.....	28
5.5. Sveže polnovredno surovo mleko s 3,8 % mlečne maščobe (kmetija in mlekomat)	29
5.6. Sojino mleko z dodanim kalcijem in vitamini (Alpro).....	29
5.7. Mleko s pretečenim rokom uporabe	30
5.8. Analiza fizikalnih lastnosti oborine	31
5.8.1. Ocena vonja nastale suhe trdne snovi.....	34
5.8.2. Test trdnosti nastale suhe trdne snovi.....	35
5.8.3. Test vzdržljivosti kvadrov iz suhe trdne snovi	36
5.8.4. Test praktičnosti nastale suhe trdne snovi	37
6. DISKUSIJA	38
6.1. Vpliv temperature mleka na maso oborine.....	38
6.2. Vpliv količine kisa na maso oborine	39
6.3. Vpliv koncentracije kisa na maso oborine.....	40
6.4. Vključitev sojinega mleka v analizo obarjanja.....	41
6.5. Vpliv pretečenega roka uporabnosti na izplen kazeina iz mlečnih vzorcev.....	42
6.6. Testiranje dobljenih produktov posameznega poskusa	43
6.6.1. Ocena vonja nastale suhe trdne snovi.....	43
6.6.2 Test trdnosti nastale suhe trdne snovi.....	43
6.6.3. Test vzdržljivosti kvadrov iz suhe trdne snovi	43
6.6.4. Primerjava – Test praktičnosti nastale suhe trdne snovi.....	44

Optimizacija in preučevanje obarjenih beljakovin iz mleka, kot trajnostna alternativa klasičnim plastičnim materialom

7. UGOTOVITVE IN ZAKLJUČEK.....	45
8. VIRI IN LITERATURA.....	47

KAZALO SLIK:

Slika 1: Enostaven prikaz povezave med monomerom in polimerom (Šprajcar, Horvat, & Kržan, 2012).....	12
Slika 2: Shematski prikaz reverzibilne reakcije nastajanja polimera (Šprajcar, Horvat, & Kržan, 2012).....	13
Slika 3: Strukture beljakovin (Microbe Notes)	14
Slika 4: Zgradba kazeina (Ledina, 2024).....	15
Slika 5: Skeletna formula kazeina	15
Slika 6: "Koordinatni sistem" plastike (Šprajcar, Horvat, & Kržan, 2012).....	17
Slika 7: Slike uporabljenih vrst mleka.....	22
Slika 8: Prikaz postopka segrevanja mleka in hlajenje mleka po dodatku kisa	23
Slika 9: Prikaz postopka filtriranja oborine	23
Slika 10: Prikaz merjenja pH vrednosti filtrata s pH lističi in tehtanja oborine na precizni tehtnici	24
Slika 11: Kvadri iz suhe trdne snovi – levo iz mleka z 1,5 % maščobe, na sredini mleko s 3,5 % maščobe in desno iz proteinskega mleka	24
Slika 12: Kroglice iz suhe trdne snovi.....	25
Slika 13: Zmes kisa in polnomastnega trajnega mleka 3,5 % pri vseh optimalnih pogojih (25 ml 9 % kisa, 80 °C).....	32
Slika 14: Zmes kisa in polmastnega trajnega mleka 1,5 % pri vseh optimalnih pogojih (25 ml 9 % kisa, 80 °C).....	32
Slika 15: Zmes kisa in proteinskega mleka pri vseh optimalnih pogojih (25 ml 9 % kisa, 80 °C).....	32
Slika 16: Zmes kisa in sojinega mleka pri vseh optimalnih pogojih (25 ml 9 % kisa, 80 °C)	32
Slika 17: Filtriranje obarjenega kazeina iz polnomastnega trajnega mleka s 3,5 % mlečne maščobe	32
Slika 18: Filtriranje obarjenega kazeina iz polposnetega trajnega mleka s 1,5 % mlečne maščobe	32
Slika 19: Filtriranje obarjenega kazeina iz proteinskega mleka	33
Slika 20: Filtriranje sojinega mleka.....	33
Slika 21: Primerjava filtrirane tekočine polnomastnega trajnega mleka 3,5 % (levo) in polposnetega trajnega mleka 1,5 % (desno)	33
Slika 22: Test trdnosti suhe trdne snovi	35

Slika 23: Stanje kvadrov iz različnih vrst mleka po testu trdnosti	36
Slika 24: Stanje kvadrov iz različnih vrst mleka po testu vzdržljivosti.....	36
Slika 25: Test praktičnosti	37

KAZALO TABEL:

Tabela 1: Primerjava lastnosti kazeinov v mleku, sirotkinih in sojinih proteinov (Baraaquio & van de Voort, 1988).....	20
Tabela 2: Vpliv temperature mleka na tvorjenje oborine	27
Tabela 3: Vpliv količine kisa na tvorjenje oborine.....	28
Tabela 4: Vpliv koncentracije kisa na tvorjenje oborine.....	28
Tabela 5: Vpliv koncentracije kisa na sveže mleko	29
Tabela 6: Vpliv temperature mleka na sveže mleko.....	29
Tabela 7: Vpliv temperature mleka	29
Tabela 8: Vpliv količine kisa.....	30
Tabela 9: Vpliv koncentracije kisa	30
Tabela 10: Zbrani podatki o oceni vonja za polnomastno trajno mleko 3,5 %	34
Tabela 11: Zbrani podatki o oceni vonja za polposneto trajno mleko 1,5 %	34
Tabela 12: Zbrani podatki o oceni vonja za proteinsko mleko	35
Tabela 13: Zbrani podatki o testu vzdržljivosti za mleko s kmetije.....	37
Tabela 14: Zbrani podatki o testu vzdržljivosti za sojino mleko.....	37

KAZALO GRAFOV:

Graf 1: Masa oborine različnim vrstam mleka s pretečenim rokom	31
Graf 2: Masa oborine v odvisnosti od količine kisa različnih vrst mleka	38
Graf 3: Masa oborine v odvisnosti od količine kisa različnih vrst mleka	39
Graf 4: Masa oborine v odvisnosti od koncentracije kisa različnih vrst mleka.....	41

POVZETEK

Raziskovalna naloga se osredotoča na preučevanje možnosti izdelave biopolimerov iz obarjenega kazeina v mleku, kot trajnostne alternative klasičnim plastičnim materialom. Plastični odpadki so svetovni okoljski problem, zato je iskanje biološko razgradljivih materialov ključnega pomena za zmanjšanje onesnaževanja. Namen naloge je preučiti vpliv različnih vrst mleka, količine in koncentracije kisa ter temperature na izkoristek kazeina in lastnosti nastale sušene trdne snovi iz obarjenega kazeina, ki je lahko osnova za izdelavo kakovostnega biomateriala.

V raziskavi smo uporabili različna polnomastna mleka (s 3,5 in 3,8 % mlečne maščobe), polposneto trajno mleko (z 1,5 % mlečne maščobe), proteinsko trajno mleko z večjo vsebnostjo beljakovin in sojino mleko kot rastlinsko alternativo. Poskusni del je potekal z merjenjem mase obarjenega kazeina in preučevanjem trdnosti, vonja, vzdržljivosti in praktičnosti nastalega biopolimera iz obarjenega kazeina pri različnih pogojih.

Rezultati so pokazali, da ima proteinsko mleko najboljši izkoristek kazeina in zagotavlja najtrdnjši naravni polimer iz obarjenega kazeina, kar je posledica večje koncentracije beljakovin, ki tvorijo gostejšo beljakovinsko mrežo. Polnomastno trajno mleko se je prav tako izkazalo kot dobra surovina za izdelavo naravnega polimera, medtem ko je bil naravni polimer iz polposnetega trajnega mleka, zaradi nižje vsebnosti beljakovin manj kompakten in vzdržljiv. Sojino mleko, ki ne vsebuje kazeina, je imelo drugačne lastnosti – nastali naravni polimer iz obarjenih sojinih beljakovin je bil bolj krhek in manj trden v primerjavi s kravjim mlekom. Pri testiranju praktičnosti biopolimera se je kravje mleko izkazalo boljše kot sojino mleko. V raziskavi smo uporabili tudi mleko s pretečenim rokom uporabe, z namenom preveriti učinkovitost izločitve kazeina. Ugotovili smo, da se kazein izloči manj učinkovito kot pri svežem mleku.

Raziskava je pokazala možnost, da je izdelava naravnega polimera iz mleka in kisa preprosta, cenovno dostopna in okolju prijazna metoda, ki bi lahko zmanjšala uporabo plastičnih materialov iz naftnih derivatov. Biopolimer, pridobljen iz naravnih virov, se razgrajuje hitreje kot običajna plastika, kar zmanjša obremenitev okolja in prispeva k reševanju problema plastičnih odpadkov. Takšni materiali bi lahko imeli v prihodnosti pomembno vlogo v industriji, zlasti pri izdelavi embalaže ter kot jedilni pribor za enkratno uporabo ali drugi izdelki za enkratno uporabo.

Zaključimo lahko, da ima proteinsko mleko največji potencial za izdelavo kakovostnega biopolimera. Nadaljnje raziskave bi lahko prispevale k dodatnemu preučevanju proteinskega mleka ter dodajanjem različnih snovi, ki bi lahko izboljšale količino in mehanske lastnosti biopolimera. Tako bi lahko stopili korak bližje k prihodnosti brez fosilnih goriv in okolju nevarnih kemikalij. Pri tem pa je potrebno omeniti, da je izdelava biopolimerov iz mleka smiselna le ob uporabi presežkov mleka ali mleka s pretečenim rokom uporabe, saj bi sicer poraba svežega mleka za neprehranske namene lahko predstavljala etično in trajnostno dilemo.

ABSTRACT

The research paper focuses on studying the potential production of biopolymers from precipitated casein in milk as a sustainable alternative to conventional plastic materials. Plastic waste is a global environmental issue, making the search for biodegradable materials essential for reducing pollution. The aim of the study is to examine the impact of different types of milk, the quantity and concentration of vinegar, and temperature on the yield of casein and the properties of the dried solid matter derived from precipitated casein, which could serve as a basis for producing a high-quality biomaterial.

In the study, we used various types of full-fat milk (with 3.5% and 3.8% milk fat), semi-skimmed UHT milk (with 1.5% milk fat), high-protein UHT milk with an increased protein content, and soy milk as a plant-based alternative. The experimental part involved measuring the mass of precipitated casein and examining the strength, odor, durability and usefulness of the resulting biopolymer from precipitated casein under different conditions.

The results showed that high-protein milk had the highest casein yield and produced the strongest biopolymer from precipitated casein. This is due to the higher protein concentration, which forms a denser protein network. Full-fat milk also proved to be a good raw material for biopolymer production, whereas the biopolymer from semi-skimmed milk was less compact and durable due to its lower protein content. Soy milk, which does not contain casein, exhibited different properties—the resulting biopolymer, formed from precipitated soy proteins, was more brittle and less firm compared to cow's milk. When testing the practicality of the biopolymer, cow's milk was better than soy milk. In the research, we also used milk that was past its expiry date to check how well casein can be removed. We found that casein does not separate as well as in fresh milk.

The research demonstrated that producing biopolymers from milk and vinegar is a simple, cost-effective, and environmentally friendly method that could reduce the use of petroleum-based plastic materials. Biopolymers derived from natural sources decompose faster than conventional plastics, reducing environmental impact and contributing to the solution of plastic waste problems. Such materials could play an important role in the future, particularly in the packaging industry, as well as in the production of disposable utensils or other single-use products.

In conclusion, high-protein milk has the greatest potential for producing high-quality biopolymers. Further research could contribute to a more in-depth study of high-protein milk and the addition of various substances to enhance the quantity and mechanical properties of the biopolymer. This could bring us one step closer to a future without fossil fuels and environmentally hazardous chemicals. However, it is important to note that producing biopolymers from milk is only meaningful when using redundant milk or milk past its expiration date, as the use of fresh milk for non-food purposes could pose ethical and sustainability concerns.

1. NAMEN RAZISKOVALNE NALOGE

V zadnjih desetletjih se je proizvodnja plastike močno povečala. Po podatkih Združenih narodov je svetovna proizvodnja plastike v letu 1950 znašala 1,5 milijona ton, v letu 2024 pa je dosegla približno 400 milijonov ton. Torej se je v 74 letih količina proizvedene plastike povečala skoraj za 267-krat. S tem je narasla tudi količina plastičnih odpadkov. V državah EU se v povprečju reciklira le 33 % plastičnih odpadkov. Na srečo smo v Sloveniji precej dobro okoljsko ozaveščeni, saj recikliramo 70 % odpadne embalaže iz plastike. Trenutno, približno 80 % vseh polimernih materialov, proizvede petrokemijska industrija, torej so proizvedeni iz fosilnih virov, ki so neobnovljivi.

Skupaj s povečano rabo plastičnih izdelkov se večja tudi obremenitev okolja. Eni izmed posledic pretirane uporabe plastičnih materialov sta onesnaževanje oceanov in pojav mikroplastike v živilih. Evropska unija je sprejela nekatere ukrepe za zmanjšanje količine plastičnih odpadkov. Do leta 2030 bo po načrtih mogoče reciklirati vso plastiko na trgu, namerna uporaba mikroplastike bo omejena, zmanjšala pa se bo tudi uporaba plastike za enkratno uporabo (Evropska komisija, 2018). Toda storiti bo potrebno veliko več. Ena izmed alternativnih rešitev je uporaba biopolimerov, ki so biološko razgradljivi, prav tako pa povzročajo manj emisij toplogrednih plinov v okolje. Z raziskovanjem biopolimerov smo našli več metod za nastanek le-teh. Ker smo v slovenski literaturi redko zasledili možnost sinteze biopolimerov iz mleka, torej tvorbe kazeinske bioplastike, smo se odločili raziskati to metodo in jo tako približati slovenski javnosti. Z raziskovalno nalogo želimo optimizirati proces izdelave, da bo masa bioplastike čim večja in njene fizikalne lastnosti tem boljše. Hkrati pa naša raziskava podpira tudi cilja trajnosti Združenih narodov (UN SDGs), in sicer cilj 12, ki se nanaša na odgovorno proizvodnjo in porabo, ter cilj 13, ki se osredotoča na ukrepe o podnebnih spremembah (United Nations, brez datuma).

2. CILJI IN HIPOTEZE

Za raziskovanje smo si zastavili naslednje cilje:

Cilj 1: Raziskati, kako različne vrste mleka vplivajo na maso nastalega obarjenega kazeina.

Cilj 2: Določiti optimalno količino kisa za največjo maso obarjenega kazeina.

Cilj 3: Analizirati vpliv koncentracije kisa na maso nastalega obarjenega kazeina in pH filtrirane tekočine.

Cilj 4: Določiti optimalno temperaturo mleka za največjo maso obarjenega kazeina.

Cilj 5: Primerjati fizikalne lastnosti in maso obarjenega kazeina iz različnih vrst mleka.

Iz zastavljenih ciljev smo izpeljali naslednje hipoteze:

Hipoteza 1: Največ obarjenega kazeina bo nastalo z najvišjo koncentracijo kisa.

Hipoteza 2: Pri temperaturi vrelišča mleka (100 °C) bo nastalo največ obarjenega kazeina.

Hipoteza 3: Največ obarjenega kazeina bo nastalo pri kisanju proteinskega mleka.

Hipoteza 4: Mleko z najboljšim rezultatom testiranja po vonju, trdnosti in vzdržljivost proti temperaturi, ki bi lahko nadomestilo plastiko, bo polnomastno trajno mleko z vsebnostjo maščob 3,5 %.

Hipoteza 5: Kazein, pridobljen iz mleka s pretečenim rokom uporabe, se izloči enako učinkovito kot iz svežega mleka.

3. TEORETIČNI DEL

3.1 Uvod v polimere

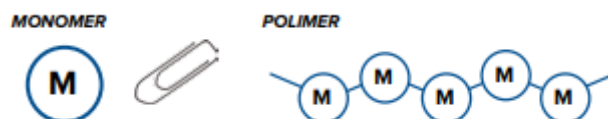
3.1.1 Opredelitev polimerov

Beseda polimer izhaja iz stare grščine (grško: poly – mnogo, meros – delec). Polimeri so organske makromolekule z visokimi molskimi masami, ki so zgrajeni iz medsebojno povezanih ponavljajočih se enakih (homopolimeri) ali različnih (heteropolimeri) osnovnih gradnikov, tako imenovanih monomerov, ki so lahko enostavni sladkorji, aminokisljine, nukleinske kisline ali ogljikovodiki (Batič, 2011).

3.1.2 Monomeri in polimerizacija

Polimerizacija je proces, kjer se manjše molekule, ki jim pravimo monomeri, povežejo v večje spojine, ki jih imenujemo polimeri.

Monomeri so povezani s kovalentno vezjo. So bodisi molekule z dvojnimi ali trojnimi vezmi bodisi molekule z dvema funkcionalnima skupinama, ki se povežeta med seboj ali s katero drugo funkcionalno skupino. Mnogi primeri polimerov so pomembni za naše življenje. Mednje lahko prištevamo na primer DNK, njen monomer je nukleotid, beljakovine so sestavljene iz aminokislin, itd.



Slika 1: Enostaven prikaz povezave med monomerom in polimerom (Šprajcar, Horvat, & Kržan, 2012)

Za nastanek polimerov so pomembne kemijske reakcije (Slika 1), s katerimi na primer združujemo več aminokislin v beljakovino.

Polimeri v svoji strukturi združujejo veliko število monomernih enot (nad deset enot do nekaj tisoč ali celo več). Umetne mase ali polimeri imajo zelo različne lastnosti, zato so tudi tako uporabni. Lastnosti pa so tako kot pri vseh snoveh odvisne od zgradbe, torej od tega, kako se monomeri povezujejo med seboj ter od molekulske mase polimerov (Šprajcar, Horvat, & Kržan, 2012).

3.2. Naravni in sintetični polimeri

Polimere glede na izvor delimo na naravne in sintetične polimere.

Naravni polimeri so polimeri, ki jih proizvajajo celice živih organizmov in so biološko razgradljivi. To so na primer beljakovine, škrob, celuloza, DNK in RNA, ... Govorimo o

bioosnovanih in biorazgradljivih polimerih. Prvi so polimeri sintetizirani iz naravnih virov, slednji pa se v celoti razgradijo v anaerobnih ali aerobnih pogojih. Na razgradljivost polimera vpliva kemična in fizikalna mikrostruktura polimera, manj pa izvor materialov, uporabljenih za izdelavo polimera (Cvelbar, 2019; Kranjc Urbanek, 2020; Krnel, 2015).

Celuloza spada med polisaharide, ki so skupina ogljikovih hidratov. Pridobljena je iz rastlinskih vlaken in sestavljena iz molekul glukoze, ki so med seboj povezane tako, da so izmenično obrnjene v eno in drugo smer. Posamezne nitaste makromolekule celuloze se povezujejo v celulozno vlakno.

Škrob prav tako spada med polisaharide. Je polimer sestavljen iz polimera amiloze in amilopektina, katerih osnovni gradnik je glukoza. Molekule glukoze se med seboj povezujejo z etrsko vezjo (-O-). V amilozi so molekule glukoze vezane v nerazvejanih verigah (preko 1,4 etrske vezi), v amilopektinu pa v razvejanih verigah (preko 1,4 in 1,6 etrske vezi).

Beljakovine so polimeri iz aminokislin. Vse so sestavljene iz 20 različnih aminokislin, ki se v različnih zaporedjih združujejo v dolge verige. Pri polimerizaciji beljakovin gre za kondenzacijo – reakcijo, pri kateri se odcepi voda. Reakcija poteče tudi v obratni smeri. Pri hidrolizi beljakovine (tj. kemijska reakcija, pri kateri spojina reagira z molekulami vode in se cepi na manjše dele) dobimo aminokislino.



Slika 2: Shematski prikaz reverzibilne reakcije nastajanja polimera (Šprajcar, Horvat, & Kržan, 2012)

Sintetični polimeri so umetno pridobljeni in biološko nerazgradljivi. Njihova osnova so naftni derivati in so proizvedeni v industriji, s kemijskimi postopki. Če je orientacija polimernih verig naključna imajo ti v tem primeru amorfnu zgradbo. Amorfnimi polimeri so žilavi in trdni. Med nje spadajo polivinil klorid (PVC), polikarbonati (PC in polistiren (PS)). Kristaliničen plastični material pa nastane če so polimerne verige urejene v gosto strukturo. Ta plastika je manj raztezna in fleksibilna kot amorfná plastika. Primeri teh so poliamidi (PA), polieten (PE), polipropen (PP), ...

Polivinil klorid (PVC) je amorfen polimer, ki je brez dodatkov trd in tog. Glede na način adicijske polimerizacije vinilklorida (emulzijsko, suspenzijsko, v masi) ločimo tri glavne vrste: E-PVC, S-PVC in M-PVC. Pri predelavi je PVC termično nestabilen, zato zahteva dodatke stabilizatorjev.

Polietilen je najpogostejši sintetičen polimer. Njegova monomerna enota je eten. Polimerizacija poteče tako, da se dvojna vez odpre, pri tem nastanejo reaktivni delci, ki se med seboj povežejo v polimerno verigo.

Je sintetični polimer, sestavljen iz poliamidov z visoko molekulsko maso. Poliamidi nastanejo pri kondenzacijski polimerizaciji, kjer se ob združevanju dveh različnih monomerov izloči majhna molekula. V primeru najlona je par monomerov poliamida sestavljen iz heksan-1,6-diamina in adipinske kisline. Sledita si izmenično. Monomerne enote so povezane z amidnimi vezmi (-CO-NH-).

3.3. Beljakovine kot naravni polimeri

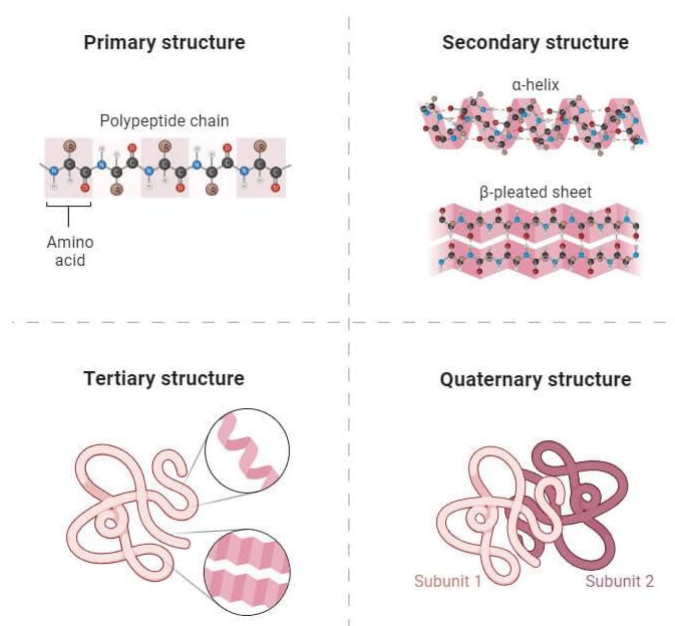
3.3.1. Struktura beljakovin

Primarno zgradbo beljakovine je zaporedje aminokislin v ponavljajočem delu molekule beljakovine. Ta del imenujemo sekvenca.

Sekundarna zgradba označuje obliko, ki je posledica vodikovih vezi znotraj verige ali med verigami aminokislin. Zaradi teh vezi se molekula beljakovine zvije v spiralo. Najpogostejši obliki sta α – vijačnica in β – plošča.

Terciarna zgradba je posledica vezi med radikali aminokislin. Nastane tridimenzionalna oblika beljakovine.

Kvartarna zgradba je organizacija več polipeptidnih verig oz. podenot v funkcionalno beljakovino. Prisotna je le pri kompleksnih beljakovinah.



Slika 3: Strukture beljakovin (Microbe Notes)

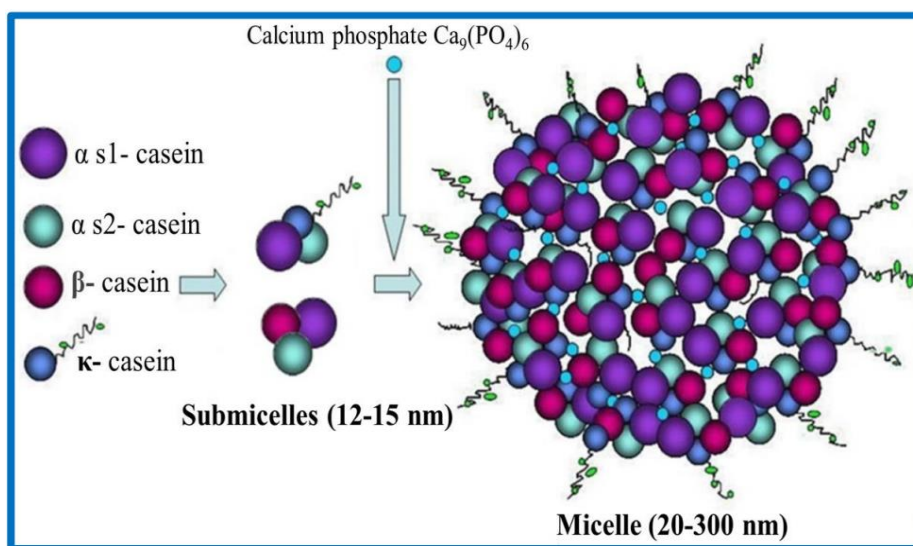
3.3.2. Kazein – naravni beljakovinski polimer

Kazein je verjetno najboljše raziskana mlečna beljakovina, iz naravnega in obnovljivega izvora, in predstavlja od 70 do 80 % skupnih beljakovin v kravjem mleku. V svojem

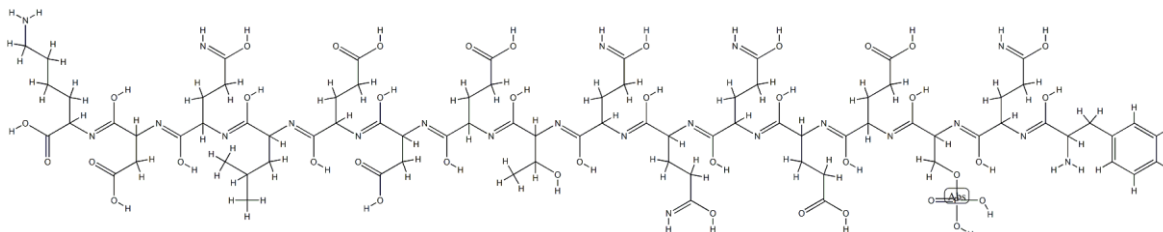
Optimizacija in preučevanje obarjenih beljakovin iz mleka, kot trajnostna alternativa klasičnim plastičnim materialom

naravnem stanju v mleku kazein obstaja kot velike makro molekularne povezave v koloidni raztopini¹.

V surovem mleku se kazeini nahajajo v obliki koloidnih delcev, ki jih imenujemo kazeinske micelle. Te imajo maso približno 10^8 Da (daltonov) in so sestavljene iz različnih vrst kazeinov: α_{S1} - kazein, α_{S2} - kazein, β - kazein in κ -kazein (Muha, 2016). Razmerje vrst kazeina se razlikuje med vrstami mleka, pri kravjem mleku je približno 3:1:3:1. Poleg osnovnih frakcij so v mleku prisotni tudi razgradni produkti, kot so γ -kazeini, ki nastanejo z delovanjem encima plazmina na β -kazein. Njihova koncentracija (3–10 %) je odvisna od faze laktacije in zdravstvenega stanja živali (Kršlin, 2014).



Slika 4: Zgradba kazeina (Ledina, 2024)



Slika 5: Skeletna formula kazeina

Kazein spada v skupino fosfoproteinov, saj vsebuje fosforjevo kislino, estrsko vezano na aminokislini serin in treonin. Vsebuje približno 0,85 % fosforja. Njegova molska masa je okoli 34 kDa. Kazeinske micelle so negativno nabite molekule, povezane s kalcijevim fosfatom. Zaradi fosforilacije je kazein občutljiv za delovanje kalcijevih ionov. Izjema je κ -kazein, ki ima samo eno fosforilirano mesto, zato ni občutljiv za Ca^{2+} ione in se nahaja predvsem na površini micel, kjer preprečuje povezovanje micel in obarjanje kazeina v

¹ Koloidna raztopina je disperzni sistem trdnega topljenca v tekočem topilu. Velikost delcev topljenca je med 10 in 1000 Å. Topljenec je običajno anorganska snov (večinoma amorfni delci), lahko pa tudi velemolekule organskih snovi. Koloidni delci imajo dovolj veliko kinetično energijo, da se gibljejo med molekulami disperznega medija. Do trkov in posledično do izoboritve ne pride, ker imajo vsi delci enak naboj in se odbijajo (Lazarini & Brenčič, 1992).

mleku. Izoelektrična točka kazeina je 4,6; njegova topnost v vodi pa je takrat zelo nizka (0,01 %).

V molekuli kazeina je zelo malo sekundarnih ali terciarnih struktur zaradi visoke vsebnosti prolinskih ostankov in odsotnosti disulfidnih vezi. To pomeni, da kazein pri segrevanju ne denaturira (Novak et al., 2015). Micele imajo premer približno 200 nm in so stabilizirane s κ -kazeinom (Foqara, Nandi, & Amdursky, 2022). Ti dve lastnosti sta pomembni tudi za uporabo kazeina v bioplastiki, saj omogočata prilagodljivo obdelavo materialov.

Najpomembnejša sprememba na beljakovinah mleka je koagulacija oziroma izguba topnosti, do katere pride zaradi:

- naraščanja kislosti mleka, pri čemer koagulirajo kazeini,
- dodajanja sirišča v mleko, pri čemer koagulirajo kazeini,
- segrevanja sirotke na temperaturo okoli 80 °C, pri čemer koagulirajo sirotkine beljakovine (Mavrin, 2012).

Ta proces je ključen za proizvodnjo mlečnih izdelkov in za nadaljnjo predelavo kazeina.

1. Znižanje pH mlečne raztopine

Micelarne strukture kazeina so stabilne pri naravnem pH mleka (pribl. 6,6). Ob znižanju pH na vrednost blizu izoelektrične točke kazeina (pH 4,6) pride do nevtralizacije negativnih nabojev na površini micel, ki izvirajo iz fosfatnih in karboksilnih skupin. Nevtralizacija zmanjša elektrostatski odboj med micelami, zato se združijo. Pri še nižjem pH prevladajo hidrofobne interakcije, kar spodbuja tvorbo netopnih oborin iz α S1-, α S2- in β -kazeina (Foqara et al., 2022).

2. Encimska hidroliza

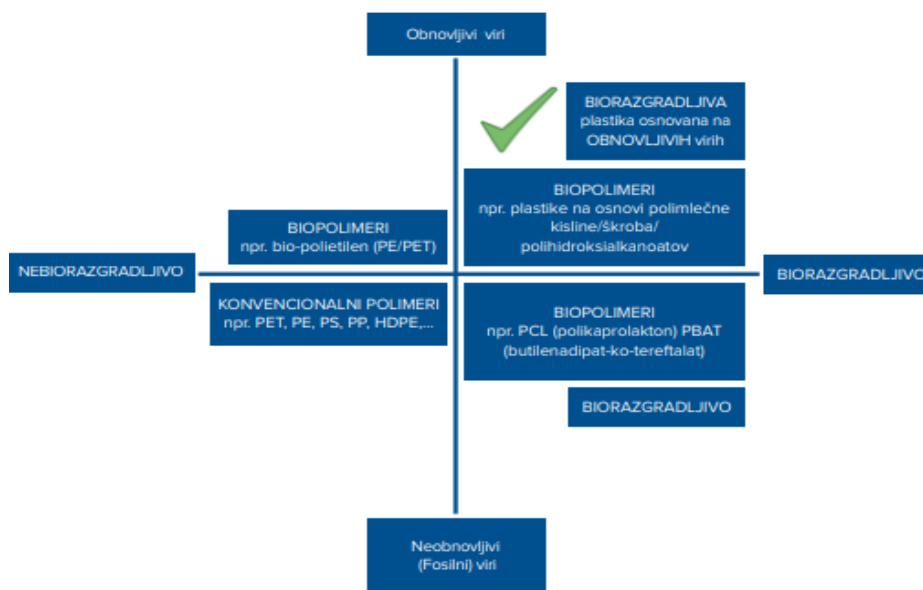
Encimi, kot je hrenin (renin), cepijo specifične peptidne vezi v κ -kazeinu, ki stabilizira micelarne strukture. Hrenin cepi peptidno vez med fenilalaninom (Phe105) in metioninom (Met106) v κ -kazeinu, kar vodi do odstranitve hidrofilnega dela molekule in destabilizacije micel. Posledica je njihovo združevanje. Proces je odvisen od temperature, koncentracije kazeina in pH (Foqara et al., 2022).

Obarjeni kazein se lahko nadalje obdeluje s kemijskimi in termičnimi postopki za prilagoditev mehanskih in strukturnih lastnosti (Chan, 2023). V čisti obliki je amorfna bela trdna snov brez okusa ali vonja, deluje amfoterno. Pod pH 4,6 tvori zmerno topne soli (npr. kazein klorid), nad pH 4,6 pa soli z bazami (Encyclopædia Britannica).

Zaradi fosforilacije na serinu in treoninu lahko kazein tvori kompleksne strukture z anorganskimi snovmi, kar mu daje mehansko stabilnost in odpornost na vlago (Foqara et al., 2022).

3.3.3. Uporaba kazeina za bioplastiko – kazeinska plastika

Bioplastika je vrsta plastike, ki je narejena iz naravnih polimerov, imenovanih biopolimeri. Pridobivamo jo iz obnovljivih virov. Najpogostejši surovini za njeno izdelavo sta škrob in celuloza.



Slika 6: "Koordinatni sistem" plastike (Šprajcar, Horvat, & Kržan, 2012)

Zaradi hidrofobnih interakcij in vodikovih vezi so kazeinski biopolimeri visoko toplotno stabilni. Poleg tega lahko prilagoditev medmolekularnih povezav s pomočjo dodatkov (npr. poliakrilatov) omogoča razvoj materialov s povečano natezno trdnostjo (Chan, Proteins in the design of sustainable plastics alternatives, 2023). Prav tako lahko kazein s ponovno prilagoditvijo pH na nevtralnost 7 in odstranitvijo kalcijevega fosfata ponovno obdelamo, kar omogoča prilagodljivo sintezo biomateriala (Foqara, Nandi, & Amdursky, 2022).

Galalit je bioplastika pridobljena s polikondenzacijo kazeina in formalaldehida. Najprej kazein izolirajo iz mleka z dodajanjem kisline. Nato ga obdelajo s formalaldehidom, ki tvori mrežno strukturo in strdi material. Galalit je trden in odporen, dober izolator ter ni topen v vodi.

3.3.4. Trajnostni vidiki in razgradljivost kazeina

Kazeinska bioplastika je v povprečju vsaj 20 % hitreje razgradljiv kot umetna plastika (Cho, 2017). V optimalnih pogojih se bioplastika razgradi v 180 dneh (Priatelj, 2012).

Prednosti kazeinske bioplastike izhajajo iz uporabe obnovljivih virov in možnosti njenega organskega recikliranja (kompostiranja), s čimer se zmanjša količina odpadkov na sežigalnicah. Z njeno uporabo se zmanjšuje poraba fosilnih virov in posledično emisij CO₂. Ima podobne fizikalne lastnosti kot umetna plastika. Ta bioplastika prav tako ne vsebuje bisfenola A (BPA), spojine, ki jo pogosto najdemo v umetni plastiki in vpliva na hormone ter poruši njihovo ravnovesje (Cho, 2017).

Višanje cen surove nafte, ki smo mu priča v zadnjem obdobju, je pomemben dejavnik za večjo razširjenost bioplastike. Z višjo ceno nafte se viša tudi cena plastike, kar bioplastiki

omogoča večjo tržno konkurenčnost. Kljub kritičnim spremembam, ki bi jih bioplastika povzročila za naftni trg, pa bi po ocenah Petersa in sod. (2010) proizvodnja bioplastike ustvarila med 2 in 10 % več delovnih mest (Cho, 2017).

3.4. Smiselnost priprave biopolimera iz kazeina

3.4.1. Okoljski vidik

Kazeinski biopolimer je biološko razgradljiv, kar pomeni, da se v naravi degradira pod vplivom biotskih (živih) dejavnikov. Proces biorazgradnje temelji na tem, da polimeri mikroorganizmom predstavljajo hrano. Polimer iz kazeina v manjši meri kot sintetični polimeri posegajo v okolje z izpusti CO₂ med proizvodnjo. Po koncu uporabe jih je lažje obdelati, najpogosteje s kompostiranjem.

3.4.2. Manjša obremenitev okolja s trajnostnimi materiali

Polimeri na osnovi kazeina se proizvajajo iz obnovljivih stranskih produktov mlečne industrije, kot je sirotka, kar zmanjšuje odvisnost od omejenih fosilnih virov. Ta uporaba ne le zmanjšuje izčrpavanje neobnovljivih surovin, temveč tudi valorizira odpadne tokove, s čimer prispeva k krožnemu gospodarstvu. Nasprotno so konvencionalne plastike večinoma pridobljene iz nafte, katere ekstrakcija in predelava sta energetsko intenzivni in okoljsko škodljivi. Študije ocene življenjskega cikla (LCA) so pokazale, da bioosnovani polimeri, vključno s kazeinom, med proizvodnjo porabijo manj neobnovljive energije (NREU) in povzročajo nižje emisije toplogrednih plinov (GHG) v primerjavi s polimeri iz fosilnih goriv. (Hottle, Bilec, & Landis, 2017)

Proizvodni procesi kazeinskih biopolimerov pogosto zahtevajo manj energije in povzročajo manj emisij. Raziskave kažejo, da proizvodnja bioplastike iz sirotkinih beljakovin zahteva približno 2900 MJ energije in povzroči 115,3 kg CO₂ na 1000 kg produkta, kar so ugodnejše vrednosti v primerjavi s konvencionalnimi plastifikati. Poleg tega imajo tovrstni biopolimeri nižji potencial globalnega segrevanja in manjšo strupenost za vodne ekosisteme. (Chalermthai, Giwa, Schmidt, & Taher, 2021)

Povprečno proizvodnja 1 kg plastike iz sintetičnih materialov povzroči med 2,3 in 5 kg CO₂ ekvivalentov, odvisno od specifične vrste plastike in uporabljenih proizvodnih metod. Na primer proizvodnja 1.000 kg polipropena zahteva približno 73,8 GJ energije in povzroči približno 1.272 kg CO₂ ekvivalentov, kar je manj kot večina plastičnih materialov, vendar veliko več kot sinteza bioplastike iz mlečnih beljakovin. (Sander, 2022), (American Chemistry Council, 2022)

3.4.3. Možnost uporabe mleka z manjšo tržno vrednostjo

Glavni izziv pri uporabi bioplastike so visoki proizvodni stroški in njene slabše mehanske lastnosti. Te težave je mogoče odpraviti z uporabo cenovno ugodnih obnovljivih virov, kot so kmetijski odpadki ali mleko s pretečenim rokom uporabe.

V letu 2022 je bilo v Sloveniji namolzenih približno 625.000 ton kravjega mleka. Od te količine je bilo 574.955 ton (92 %) odkupljenih s strani mlekarn in registriranih odkupovalcev. Preostanek, približno 50.396 ton, je bilo porabljenih kot konzumno mleko ali za predelavo na kmetijskih gospodarstvih. Slovenija je leta 2023 izvozila 297.024 ton mleka, 46.785 ton pa je uvozila. (Statistični urad Republike Slovenije, brez datuma)

Mleko s pretečenim rokom uporabe pogosto kaže znake fizikalno-kemijskih in mikrobioloških sprememb, kot so spremembe vonja, okusa in ločevanje faz. Znižanje pH zaradi aktivnosti mlečnokislinskih bakterij povzroči koagulacijo kazeina, vendar so ti pogoji običajno neenakomerni, počasni in vključujejo encimsko razgradnjo beljakovin. Zato je količina obarjenega kazeina v takem mleku lahko manjša kot pri tehnološko nadzorovanih postopkih, kjer so pogoji (pH, temperatura, encimi) natančno določeni. Poleg tega lahko pride do delne razgradnje kazeina v topne peptide, kar dodatno zmanjša izplen oborine. (Jevšnik, 2014)

3.5. Sojino mleko in sojini protein, kot alternativa za pripravo biopolimera

Precej raziskav o plastiki na osnovi soje je bilo narejenih v letu 1940. Takrat se je sojin protein največ uporabljalo kot polnilo, kar je zmanjšalo ceno plastike, osnovane na nafti. Danes se še vedno uporablja, vendar z namenom večje biološke razgradljivosti plastike. V primerjavi s plastiko iz kazeina, zeina in glicina je sojin protein tudi ekonomsko konkurenčen.

Soja je bogata z oljem in s proteini, navadno suha masa vsebuje približno 40 % proteina in 20 % olja. Sojin protein je globularen, reaktiven in pogosto vodotopen. Približno 98 % proteinov v soji je shranjenih v celičnem organelu, t.i. »proteinskem telescu«. Procesiranje sojinega proteina največkrat zavzema spremembo fizičnega stanja, včasih pa pride tudi do kemijske reakcije. Pri procesiranju polimerov so vključeni številni procesi, na primer iztiskanje, brizganje, vlivanje in oblikovanje.

Rezultati raziskav kažejo, da je sojin protein sam ali pa zmešan s škrobom primeren za proizvodnjo plastičnih produktov, kot so embalaža, igrače, športna oprema, posode ... Brizgana plastika kaže primerne mehanske in vodoodporne lastnosti. Po končani rabi se te produkte zbere in reciklira, s čimer se manjša breme na okolje.

Filmi iz sojinih proteinov kažejo dobre lastnosti kot bariere za kisik kot tudi za UV-sevanje. Tako so uporabni za embalarne materiale. Uporabni so tudi za folije v kmetijstvu, ki jih potem, ko jih ne potrebujemo več, ni potrebno odstraniti s kmetijskih površin, saj se biorazgradijo. V kolikor so pravilno procesirani, se sojini proteini lahko predelajo tudi v penaste produkte različnih gostot; kot taki se lahko predelajo v izolacijske materiale z različnimi termičnimi lastnostmi.

Biorazgradljivost, ne vnetljivost ter ne-elektrostatičnost plastike iz sojinih proteinov predstavljajo unikatne in privlačne značilnosti. Skupaj z ekonomsko konkurenčnostjo plastika iz sojinih virov predstavlja okolju prijazno in perspektivno alternativo konvencionalni plastiki (Šprajcar, Horvat, & Kržan, 2012).

Tabela 1: Primerjava lastnosti kazeinov v mleku, sirotkinih in sojinih proteinov (Baraaquio & van de Voort, 1988)

<i>Kemijske in strukturne lastnosti</i>	<i>Kazeini</i>	<i>Sirotkini proteini</i>	<i>Sojini proteini</i>
Molekulska masa	15.000–26.000 Da	18.000–350.000 Da	>100.000 Da
Strukturne značilnosti	Fosforilirani proteini, negativno nabiti	Žveplo vsebujoči proteini	Mešanica hidrofilnih in hidrofobnih proteinov
Odvisnost od disulfidnih vezi	Minimalna	Ključna za stabilnost	Pomembna pri agregaciji
Toplotna stabilnost	Stabilno	Stabilno, razen β -laktoglobulina	Odvisna od frakcije, pogosto nizka
Stabilnost pH	Stabilno	Stabilno	Nestabilno v kislem mediju

Kazeini so stabilni pri nevtralnem pH, vendar ko pH pade pod izoelektrično točko (pH 4,6), se začnejo agregirati in tvorijo kazeinske micelle. Proteini sirotke so običajno topni pri nizkih pH vrednostih in se ne koagulirajo enako kot kazeini. Pri segrevanju in nizkem pH pa β -laktoglobulin (glavni protein sirotke) tvori gelske strukture zaradi preurejanja disulfidnih vezi. Sojini proteini pa vsebujejo več komponent, kot so 7 s in 11 s globulini, ki so bolj občutljivi na pH spremembe in lahko tvorijo gelske strukture pri dodajanju kisline. Njihova agregacija je močno odvisna od ionske moči in temperature.

4. METODE DELA

Raziskavo smo izvajali v šolskem laboratoriju pri stalnem zračnem tlaku 99,7–99,8 kPa, pri 44–46 % vlagi v prostoru ter pri temperaturi prostora, ki je segala od 22 °C do 24 °C. Vsako raziskavo smo izvedli v določenem časovnem okvirju. Po pripravi vzorca smo čakali 24 ur, da se iz zmesi prefiltrira vsa tekočina tako, da na filter papirju ostane le obarjeni kazein (v nadaljevanju bomo obarjeni kazein poimenovali oborina). Na primer, v ponedeljek ob 7. uri smo mleko segreti do željene temperature, nato smo mleko umaknili z grelnika, vanj nalili kis ter premešali in počakali, da se ohladi. Tekočino smo ulili v lijak, na katerem je bil filter papir ter tako prefiltrirali celotno zmes. V torek ob 7. uri smo oborino stehali ter izmerili pH v prefiltrirani tekočini. Zavedamo se, da oborina v tem času ni bila popolnoma posušena, kar pomeni, da je vsebovala določeno količino preostale vlage. Ta pristop lahko vpliva na natančnost meritev mase suhe oborine. Kljub temu smo ves čas uporabljali enak postopek, kar pomeni, da je morebitna napaka zaradi preostale vlage sistematična in enaka pri vseh vzorcih. Zato so primerjave med posameznimi meritvami med seboj še vedno veljavne in zanesljive.

4.1. Uporabljeni material

Za izvedbo raziskave smo izbrali preproste in dostopne materiale, ki omogočajo ponovljivost eksperimenta v šolskem laboratoriju. Izbor materialov temelji na znanstveni osnovi postopka pridobivanja kazeina iz mleka s pomočjo kisline, kar omogoča oblikovanje osnovnega biopolimera.

Vrste mleka:

- sveže polnovredno surovo mleko s 3,8 % mlečne maščobe (mlekomat)
- sveže polnovredno surovo mleko s 3,8 % mlečne maščobe (kmetija)
- sveže mleko s 3,5 % mlečne maščobe (Ljubljanske mlekarne)
- sveže mleko s 3,5 % mlečne maščobe (mlekarna Planika Kobarid)
- polnomastno mleko s 3,5 % mlečne maščobe (Alpsko mleko)²
- polposneto mleko z 1,5 % mlečne maščobe (Alpsko mleko)²
- »high protein« mleko s 60 g beljakovin na liter in brez laktoze (Alpsko mleko)³
- sojino mleko z dodanim kalcijem in vitamini (Alpro)

² V nadaljevanju uporabljali ime polnomastno trajno in polposneto trajno mleko.

³ Za to mleko smo v nadaljevanju uporabljali ime proteinsko mleko.



Slika 7: Slike uporabljenih vrst mleka

Za obarjanje smo uporabili 9 % vinski kis Vegis Tuš za vlaganje.

4.2. Uporabljeni pripomočki

Pri raziskovanju smo uporabili sledeče pripomočke:

- precizna tehtnica Kern 440 – 47
- petrijevka
- filter papir
- lijak
- kovinsko stojalo
- termometer
- grelnik
- stojalo za grelnik
- pH meter
- Vernerjev vmesnik
- čaša (250 ml)
- steklena palčka
- merilni valji (5 ml, 10 ml, 15 ml, 20 ml, 25 ml, 30 ml)

4.3. Postopek priprave vzorcev

Na precizni tehtnici smo stehali 150 g mleka in filtrirni papir. Mleko smo na grelniku segreti do zelene temperature, ga umaknili z grelnika in vanj nalili določeno količino alkoholnega kisa ter premešali s stekleno palčko. Počakali smo, da se je zmes kisa in mleka ohladila. Ohlajeno zmes smo prelili v lijak s filtrirnim papirjem, ki je bil pritrjen na kovinsko stojalo. Tekoč del zmesi kisa in mleka se je prefiltriral v čašo, v lijaku je na filter papirju ostala le oborina. Zmes se je filtrirala 24 ur.

Optimizacija in preučevanje obarjenih beljakovin iz mleka, kot trajnostna alternativa klasičnim plastičnim materialom



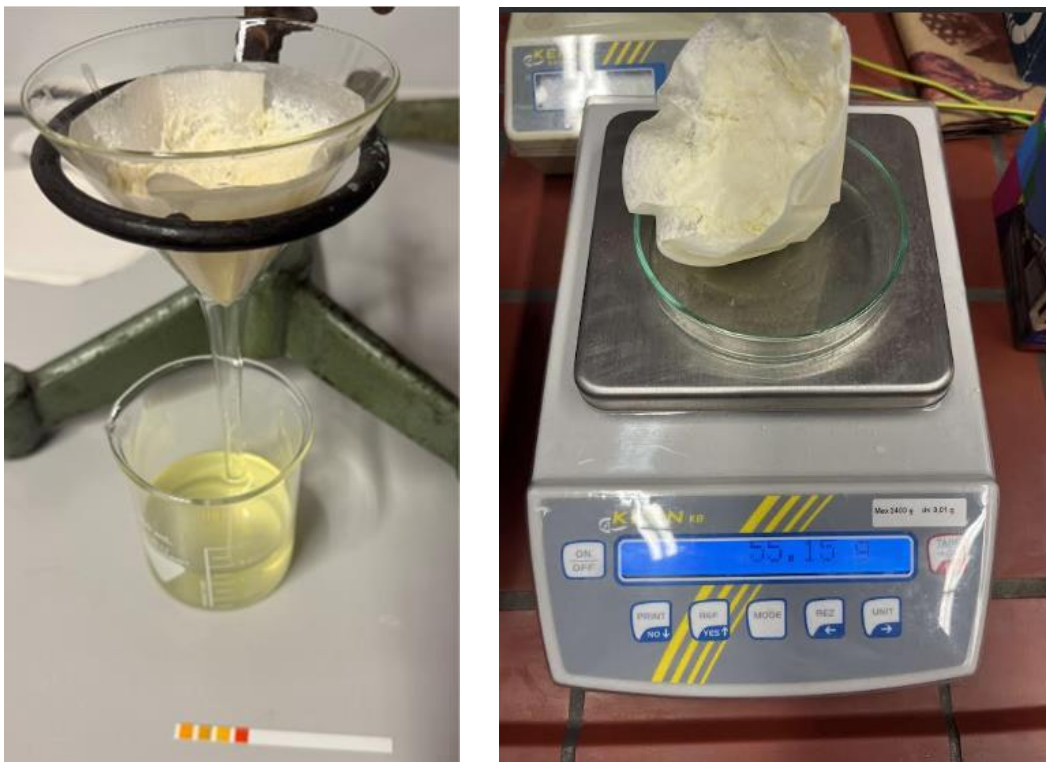
Slika 8: Prikaz postopka segrevanja mleka in hlajenje mleka po dodatku kisa



Slika 9: Prikaz postopka filtriranja oborine

Optimizacija in preučevanje obarjenih beljakovin iz mleka, kot trajnostna alternativa klasičnim plastičnim materialom

Naslednji dan smo na precizni tehtnici stehali oborino skupaj s filter papirjem ter izmerili pH filtrirane tekočine.



Slika 10: Prikaz merjenja pH vrednosti filtrata s pH lističi in tehtanja oborine na precizni tehtnici

Nato smo za vsako mleko izbrali poskus, pri katerem smo dobili največ oborine. Iz nje smo izoblikovali kvadre in preverili njihovo trdnost, vonj in vzdržljivost proti temperaturi.



Slika 11: Kvadri iz suhe trdne snovi – levo iz polposnetega trajnega mleka z 1,5 % maščobe, na sredini polnomastnega trajnega mleka s 3,5 % maščobe in desno iz proteinskega mleka

Iz nastalih oborin sojinega in svežega, polnovrednega, surovega mleka s 3,8 % mlečne maščobe, ki je bilo s kmetije, smo naredili tudi kroglice. Z njimi smo preverili trpežnost in praktično uporabo. Kroglice smo ponudili psoma, ki sta jih preizkusila.



Slika 12: Kroglice iz suhe trdne snovi

4.4. Opis posameznih poskusov

4.4.1. Optimizacija poskusov

1. Vpliv temperature mleka

V prvem poskus je preverjal odvisnost mase oborine od temperature mleka, v katerega smo dodali optimalno količino kisa, kar smo ugotavljali v prejšnjem poskusu. Mleko smo segreti na 40 °C, 60 °C, 80 °C in 100 °C.

2. Vpliv količine kisa

V drugem poskusu smo spreminjali količino kisa, dodanega mleku, in opazovali, kako različne količine vplivajo na maso nastale oborine ter pH filtrirane tekočine. Mleko smo segreti do 80 °C in uporabili različne količine 9 % alkoholnega kisa in sicer 5 ml, 10 ml, 15 ml, 20 ml, 25 ml in 30 ml.

3. Vpliv koncentracije kisa

V tretjem eksperimentu smo za spremenljivko izbrali koncentracijo kisa. Alkoholni kis (9 %) smo razredčili na 6 % in 3 % raztopino kisa.

Vse tri poskuse smo ponovili s štirimi vrstami mleka: polnomastnim, polposnetim, proteinskim in sojinim mlekom. Nato smo primerjali rezultate med mleki različnih proizvajalcev. V raziskavo smo vključili tudi sveže polnovredno surovo mleko s 3,8 % mlečne maščobe, pridobljeno neposredno s kmetije oziroma iz mlekomata. Namen je bil primerjati količino nastale oborine (obarjenega kazeina) pri različnih vrstah mleka.

Za vsako vrsto mleka smo izbrali tisti poskus, pri katerem je nastala največja količina oborine, ter iz dobljene mase oblikovali kvadre. Obarjeni kazein smo posušili, saj se s sušenjem oblikuje kompaktna trdna masa, primerna za nadaljnjo obdelavo. Tak material lahko uporabimo na primer pri izdelavi galalita ali drugih biopolimerov, kar predstavlja potencialno uporabno vrednost mlečnih beljakovin v trajnostni proizvodnji.

4.4.2. Testiranje dobljenih produktov posameznega poskusa

1. Ocena vonja nastale suhe trdne mase

V poskus za oceno vonja smo vključili 10 udeležencev, ki so primerjali vonj testnih kvadrov. Kriterij je bil od 1 do 5 (1 – kvader ima izrazit vonj, 5 – kvader nima vonja).

2. Test trdnosti nastale suhe trdne mase

Pri poskusu trdnosti smo na kvadre z višine 40 cm spustili uteži različnih mas (10 g, 20 g, 30 g, 40 g, 50 g in 100 g). Kriterij je bil od 1 do 5 (1 – kvader ni zdržal nobenega udarca, 5 – oblika kvadra se ni spremenila).

3. Test vzdržljivosti nastale suhe trdne mase

Poskus vzdržljivosti je potekal tako, da smo kvader za 1 minuto potopili v vodo, ki je imela temperaturo 80 °C. Kriterij je bil od 1 do 5 (1 – kvader je popolnoma spremenil obliko, 5 – kvader ni spremenil oblike).

4. Test praktičnosti

Kroglice smo izdelali iz sojinega mleka in iz svežega, polnovrednega, surovega mleka s 3,8 % mlečne maščobe s kmetije. Poskus praktičnosti je potekal tako, da smo kroglice ponudili psoma. Opazovali smo, kako sta se odzvala na kroglice. Kriterij je bil od 1 do 5 (1 – pes ni zadovoljen z igračo, 5 – psu je igrača všeč).

5. REZULTATI

V nadaljevanju predstavljamo rezultate raziskave v luči zastavljenih raziskovalnih vprašanj. Eksperimentalno delo je bilo izvedeno v nadzorovanih pogojih šolskega laboratorija, pri čemer smo skrbno nadzorovali ključne parametre okolja (temperatura, zračni tlak, relativna vlaga) ter dosledno izvajali enoten protokol priprave, filtracije in meritev vzorcev. Čeprav oborina ni bila popolnoma suha, kar lahko vpliva na absolutno natančnost meritev mase, je bila napaka zaradi preostale vlage sistematična in enaka pri vseh vzorcih, zato so primerjave med rezultati veljavne. Za natančnejšo določitev mase suhega kazeina bi bilo sicer potrebno sušenje do konstantne mase, vendar cilj raziskave ni bil določiti absolutne vsebnosti beljakovin v mleku, temveč primerjati relativne razlike v količini nastale oborine med posameznimi vzorci.

Z namenom ovrednotenja uporabne vrednosti dobljenega produkta – suhe mase obarjenega kazeina – smo izbrali štiri kriterije za ocenjevanje lastnosti dobljenih kvadrov: vonj, mehanska trdnost, toplotna vzdržljivost in praktičnost. Ti preskusi so bili ključni za določitev, katera kombinacija mleka in eksperimentalnih pogojev omogoča tvorbo najkakovostnejšega materiala, ki bi lahko služil kot osnova za izdelavo biopolimerov, kot je na primer galalit.

5.1. Vpliv temperature trajnega mleka na tvorjenje oborine

Za optimizacijo temperature standardiziranega mleka smo uporabili 150 g različnih vrst mleka, ki smo jih segreli na različne temperature. Izmerjen pH polnomastnega trajnega mleka s 3,5 % vsebnostjo mlečne maščobe, polposnetega trajnega mleka s 1,5 % mlečne maščobe in proteinskega mleka je bil 6,8. pH vrednost 9 % alkoholnega kisa je 2,7. Gostota mleka je bila 1,04 g/ml, torej smo imeli za vsak poskus 144,2 ml mleka.

Tabela 2: Vpliv temperature mleka na tvorjenje oborine

Temperatura mleka (°C)	Polnomastno trajno mleko		Polposneto trajno mleko		Proteinsko mleko	
	Masa oborine (g)	pH	Masa oborine (g)	pH	Masa oborine (g)	pH
40	44,72	4	35,22	5	60,15	5
60	44,77	4	36,28	5	45,85	5
80	47,13	4	39,81	5	55,49	5
100	46,92	4	37,22	5	49,46	5

5.2. Vpliv količine kisa na tvorjenje oborine v trajnem mleku

Za optimizacijo količine kisa smo uporabili 150 g različnih vrst mleka, ki smo jih segreli 80°C in dodali različne količine 9 % alkoholnega kisa.

Tabela 3: Vpliv količine kisa na tvorjenje oborine

Količina kisa (ml)	Polnomastno trajno mleko		Polposneto trajno mleko		Proteinsko mleko	
	Masa oborine (g)	pH	Masa oborine (g)	pH	Masa oborine (g)	pH
5	34,41	4	31,75	5	40,75	5
10	37,09	4	36,53	5	55,77	5
15	39,92	4	38,43	5	49,95	5
20	46,44	4	38,23	5	51,01	5
25	47,13	4	39,81	5	53,57	5
30	47,01	4	37,12	5	52,42	5

5.3. Vpliv koncentracije kisa na tvorjenje oborine v trajnem mleku

Za optimizacijo koncentracije kisa smo uporabili 150 g različnih vrst mleka, ki smo jih segreti 80°C in dodali 9 %, 6 % in 3 % raztopino alkoholnega kisa. Različne koncentracije kisa smo pripravili tako, da smo 9% kis ustrezno razredčili.

Tabela 4: Vpliv koncentracije kisa na tvorjenje oborine

Koncentracija kisa (%)	Polnomastno trajno mleko		Polposneto trajno mleko		Proteinsko mleko	
	Masa oborine (g)	pH	Masa oborine (g)	pH	Masa oborine (g)	pH
3	35,80	5	31,71	5	46,07	6
6	44,22	4	36,51	5	50,19	5,5
9	47,13	4	39,81	5	55,49	5

5.4. Sveže mleko Ljubljanske mlekarne s 3,5 % mlečne maščobe in nehomogenizirano mleko Planika Kobarid s 3,5 % mlečne maščobe

Za primerjavo smo uporabili tudi sveže mleko različnih ponudnikov z isto vrednostjo maščob, tj. 3,5 %. Želeli smo ugotoviti, ali se bo masa nastale oborine razlikovala med vrstami mleka različnih ponudnikov.

Za optimizacijo koncentracije kisa smo za posamezen poskus uporabili 150 g mleka, segretega na 80 °C.

1. Vpliv koncentracije kisa

Tabela 5: Vpliv koncentracije kisa na sveže mleko

Koncentracija kisa (%)	Sveže mleko Ljubljanske mlekarne s 3,5 %		Nehomogenizirano mleko Planika Kobarid s 3,5 %	
	Masa oborine (g)	pH	Masa oborine (g)	pH
3	32,62	5	28,37	5
6	34,58	4	32,53	4
9	39,28	4	33,38	4

5.5. Sveže polnovredno surovo mleko s 3,8 % mlečne maščobe (kmetija in mlekomat)

Za optimizacijo količine kisa smo za posamezen poskus uporabili 150 g mleka, segretega na 80 °C.

1. Vpliv količine kisa

Tabela 6: Vpliv temperature mleka na sveže mleko

Količina kisa (ml)	kmetija		mlekomat	
	Masa oborine (g)	pH	Masa oborine (g)	pH
20	35,99	4	32,68	5
25	53,79	4	35,27	4
30	40,01	4	34,74	4

5.6. Sojino mleko z dodanim kalcijem in vitamini (Alpro)

V raziskavo smo poleg različnih vrst kravjega mleka vključili tudi sojino mleko, da bi primerjali učinkovitost obarjanja rastlinskih beljakovin v primerjavi z mlečnimi (kazeinom). S tem smo želeli razširiti raziskavo na alternativne vire beljakovin, ki postajajo vse bolj prisotni v prehrani. Za optimizacijo temperature mleka ter količine in koncentracije kisa smo za posamezen poskus uporabili 150 g mleka. Izmerjen pH sojinega mleka je bil 7,3.

1. Vpliv temperature mleka

Tabela 7: Vpliv temperature mleka

Temperatura mleka (°C)	Masa oborine (g)	pH
40	40,71	4
60	44,93	4
80	48,62	4
100	47,45	4

2. Vpliv količine kisa

Tabela 8: Vpliv količine kisa

Količina kisa (ml)	Masa oborine (g)	pH
5	48,62	4
10	48,42	4
15	47,66	4
20	45,92	4
25	48,22	4
30	45,08	4

3. Vpliv koncentracije kisa

Tabela 9: Vpliv koncentracije kisa

Koncentracija kisa (%)	Masa oborine (g)	pH
3	48,10	5
6	46,94	4
9	48,62	4

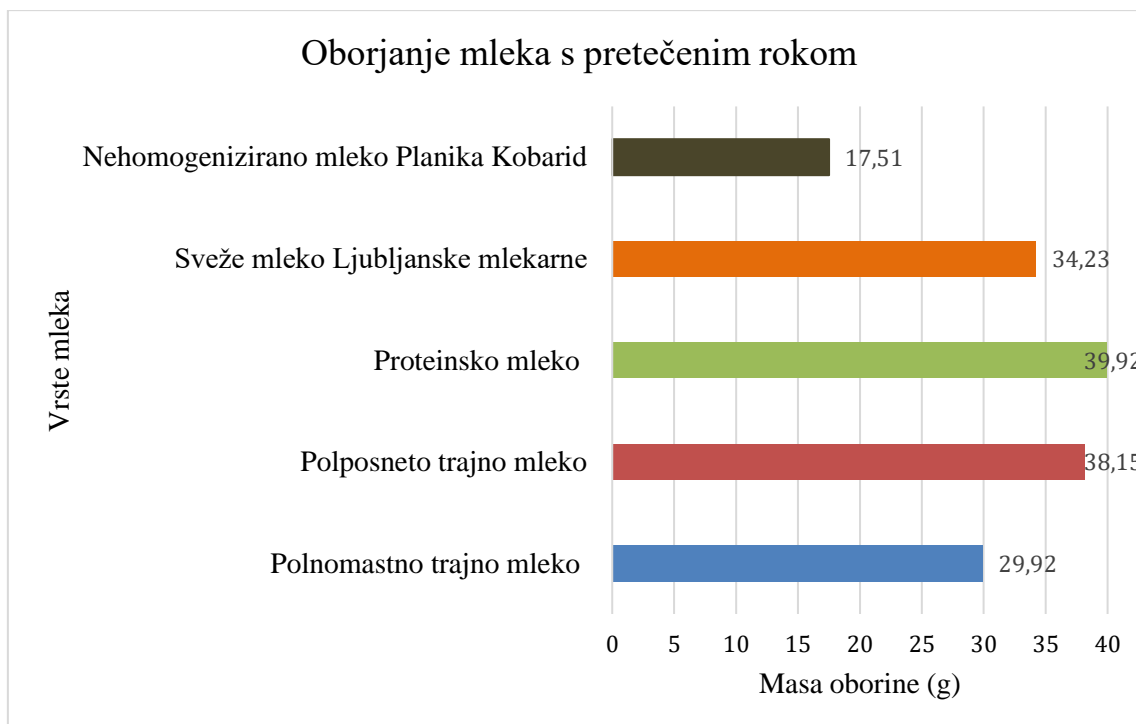
5.7. Mleko s pretečenim rokom uporabe

Mleko s pretečenim rokom uporabe se običajno zavrže, kar pomeni izgubo surovin in obremenitev okolja.

S pridobivanjem kazeina iz pokvarjenega mleka lahko:

- zmanjšamo živilske odpadke,
- ustvarimo vredne produkte iz neuporabnega materiala,
- zmanjšamo potrebo po novih surovinah za določene industrije.

Tako smo odločili nekaj mleka pustiti mesec dni in narediti proces obarjanja tudi iz mleka s pretečenim rokom uporabe in pri tem dobili rezultate prikazane v grafu 1.



Graf 1: Masa oborine različnim vrstam mleka s pretečenim rokom

5.8. Analiza fizikalnih lastnosti oborine

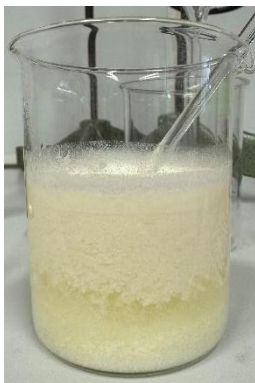
Po sušenju obarjene kazeinske mase smo pridobljene kvadre ali kroglice iz posameznih vrst mleka podvrgli analizi izbranih fizikalnih lastnosti, s ciljem oceniti njihovo primernost za nadaljnjo uporabo kot biopolimerni material. Testirali smo štiri ključne lastnosti:

- vonj suhe mase,
- mehansko trdnost (odpornost na udarce),
- toplotno vzdržljivost (obstojnost pri visokih temperaturah),
- praktičnost (odziv psov na izdelek v obliki igrače).

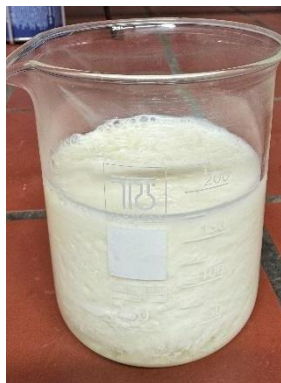
Vsak test je bil izveden po enotni metodologiji in ovrednoten z oceno na lestvici od 1 do 5, pri čemer višja ocena pomeni boljšo lastnost. Rezultati so predstavljeni ločeno po posameznih testih in omogočajo neposredno primerjavo med materiali, pridobljenimi iz različnih vrst mleka.

Spodnje slike prikazujejo ohlajeno zmes kisa in različnih vrst mleka. Pri vseh vrstah mleka.

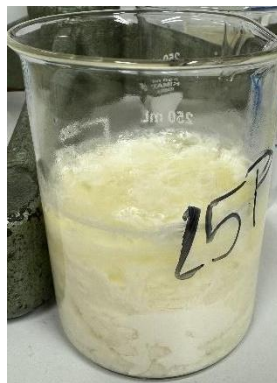
Optimizacija in preučevanje obarjenih beljakovin iz mleka, kot trajnostna alternativa klasičnim plastičnim materialom



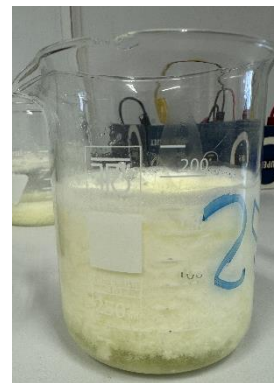
Slika 13: Zmes kisa in polnomastnega trajnega mleka 3,5 % pri vseh optimalnih pogojih (25 ml 9 % kisa, 80 °C)



Slika 14: Zmes kisa in polmastnega trajnega mleka 1,5 % pri vseh optimalnih pogojih (25 ml 9 % kisa, 80 °C)



Slika 15: Zmes kisa in proteinskega mleka pri vseh optimalnih pogojih (25 ml 9 % kisa, 80 °C)



Slika 16: Zmes kisa in sojinega mleka pri vseh optimalnih pogojih (25 ml 9 % kisa, 80 °C)

Pri opazovanju obarjenega kazeina (slike 22, 23, 24) smo ugotovili naslednje:

- polnomastno trajno mleko (3,5 % mlečne maščobe): obarjeni kazein ima kompaktno strukturo, čvrsti delci se dobro ločijo od tekočine.
- polmastno mleko (1,5 % mlečne maščobe): obarjeni kazein ima manj kompaktno strukturo, ločevanje trdnega dela od tekočine je manj učinkovito.
- proteinsko mleko: obarjeni kazein je gost in kompakten; struktura je najbolj konsistentna med vsemi vzorci.
- sojino mleko (slika 25): obarjene sojine beljakovine tvorijo homogeno in čvrsto strukturo.



Slika 17: Filtriranje obarjenega kazeina iz polnomastnega trajnega mleka s 3,5 % mlečne maščobe



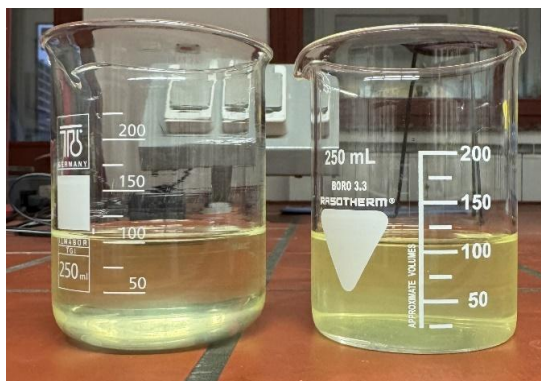
Slika 18: Filtriranje obarjenega kazeina iz polposnetega trajnega mleka s 1,5 % mlečne maščobe

Optimizacija in preučevanje obarjenih beljakovin iz mleka, kot trajnostna alternativa klasičnim plastičnim materialom



Slika 19: Filtriranje obarjenega kazeina iz proteinskega mleka *Slika 20: Filtriranje sojinega mleka*

Filtrirana tekočina mleka 3,5 % (na sliki 26 levo) ima v primerjavi s filtrirano tekočino mleka 1,5 % nižji pH (4 in 5) in je bolj motna (na sliki 26 desno). Polnomastno trajno mleko (3,5 %) vsebuje več maščob, kar pomeni večji potencial za interakcijo s kislino. Ko dodamo kis, se več kazeina koagulira, kar dodatno zniža pH filtrirane tekočine. Pri mleku 1,5 % se zaradi nižje vsebnosti mlečnih maščob obarjanje beljakovin, tj. kazeina, odvija manj učinkovito. Posledično ostane več drobnih delcev oborine v filtrirani tekočini, kar povzroči večjo motnost.



Slika 21: Primerjava filtrirane tekočine polnomastnega trajnega mleka 3,5 % (levo) in polposnetega trajnega mleka 1,5 % (desno)

5.8.1. Ocena vonja nastale suhe trdne snovi

V poskus za oceno vonja smo vključili 10 udeležencev, ki so primerjali vonj testnih kvadrov. Kriterij je bil od 1 do 5 (1 – kvader ima izrazit vonj, 5 – kvader nima vonja).

Polnomastno trajno mleko 3,5 %

Tabela 10: Zbrani podatki o oceni vonja za polnomastno trajno mleko 3,5 %

št. udeleženca	1 izrazit vonj	2	3	4	5 brez vonja
1		X			
2	X				
3	X				
4		X			
5	X				
6		X			
7		X			
8	X				
9		X			
10			X		

Pri ocenjevanju vonja je polnomastno trajno mleko s 3,5 % maščobe dobilo povprečno oceno vonja 1,8.

Polposneto trajno mleko 1,5 %

Tabela 11: Zbrani podatki o oceni vonja za polposneto trajno mleko 1,5 %

št. udeleženca	1 izrazit vonj	2	3	4	5 brez vonja
1		X			
2			X		
3		X			
4	X				
5			X		
6		X			
7			X		
8	X				
9			X		
10		X			
SKUPAJ	2	4	4		

Povprečna ocena vonja pri polposnetem trajnem mleku 1,5 % je bila 2,2.

Proteinsko mleko

Tabela 12: Zbrani podatki o oceni vonja za proteinsko mleko

št. udeleženca	1 izrazit vonj	2	3	4	5 brez vonja
1		X			
2			X		
3			X		
4		X			
5			X		
6		X			
7			X		
8	X				
9			X		
10		X			

Vonj proteinskega mleka je bil ocenjen s povprečno oceno 2,4.

5.8.2. Test trdnosti nastale suhe trdne snovi

Pri poskusu trdnosti smo na kvadre iz višine 40 cm spustili uteži različnih mas (10 g, 20 g, 30 g, 40 g, 50 g in 100 g).

Kriterij je bil od 1 do 5 (1 – kvader ni zdržal nobenega udarca, 5 – oblika kvadra se ni spremenila).



Slika 22: Test trdnosti suhe trdne snovi



Slika 23: Stanje kvadrov iz različnih vrst mleka po testu trdnosti

5.8.3. Test vzdržljivosti kvadrov iz suhe trdne snovi

Pri testu vzdržljivosti smo kvadre iz suhe trdne snovi potopili v vodo s temperaturo 80 °C. Iz vode smo jih vzeli po 60 sekundah. Kriterij je bil od 1 do 5 (1 – kvader je popolnoma spremenil obliko, 5 – kvader ni spremenil oblike).

Kvader iz proteinskega mleka (na sliki 29 najbolj desno) je zaradi visoke vsebnosti beljakovin ostal najbolj trden. Podali smo mu oceno 4. Opazimo, da je voda v čaši ostala motna.

Kvader iz polnomastnega trajnega mleka s 3,5 % vsebnostjo mlečnih maščob se je pri testu najbolj skrčil in se rahlo omehčal. Ocenili smo ga z oceno 3.

Kvader iz mleka z 1,5 % vsebnostjo mlečnih maščob se je pri poskusu najbolj omehčal, vendar se je manj skrčil kot kvader iz mleka s 3,5 % vsebnostjo mlečnih maščob. Zato smo mleko 1,5 % ocenili z 2.



Slika 24: Stanje kvadrov iz različnih vrst mleka po testu vzdržljivosti

5.8.4. Test praktičnosti nastale suhe trdne snovi

Pripravljene kroglice iz sojinega mleka in iz svežega, polnovrednega, surovega mleka s 3,8 % mlečne maščobe s kmetije smo psoma ponudili kot nadomestek za igračo.



Slika 25: Test praktičnosti

Mleko s kmetije

Tabela 13: Zbrani podatki o testu vzdržljivosti za mleko s kmetije

št. udeleženca	1 pes ni zadovoljen	2	3	4	5 psu je igrača všeč
1					X
2				X	

Povprečna ocena za kroglice iz svežega, polnovrednega, surovega mleka s 3,8 % mlečne maščobe s kmetije je 4,5.

Sojino mleko

Tabela 14: Zbrani podatki o testu vzdržljivosti za sojino mleko

št. udeleženca	1 pes ni zadovoljen	2	3	4	5 psu je igrača všeč
1				X	
2				X	

Povprečna ocena za kroglice iz sojinega mleka je 4.

V testu praktičnosti smo preizkusili uporabo kroglic iz suhe trdne mase kot igrače za pse. Dva udeleženca sta ocenila odziv psa na igračo na lestvici od 1 do 5 (1 – pes ni zadovoljen, 5 – psu je igrača všeč).

6. DISKUSIJA

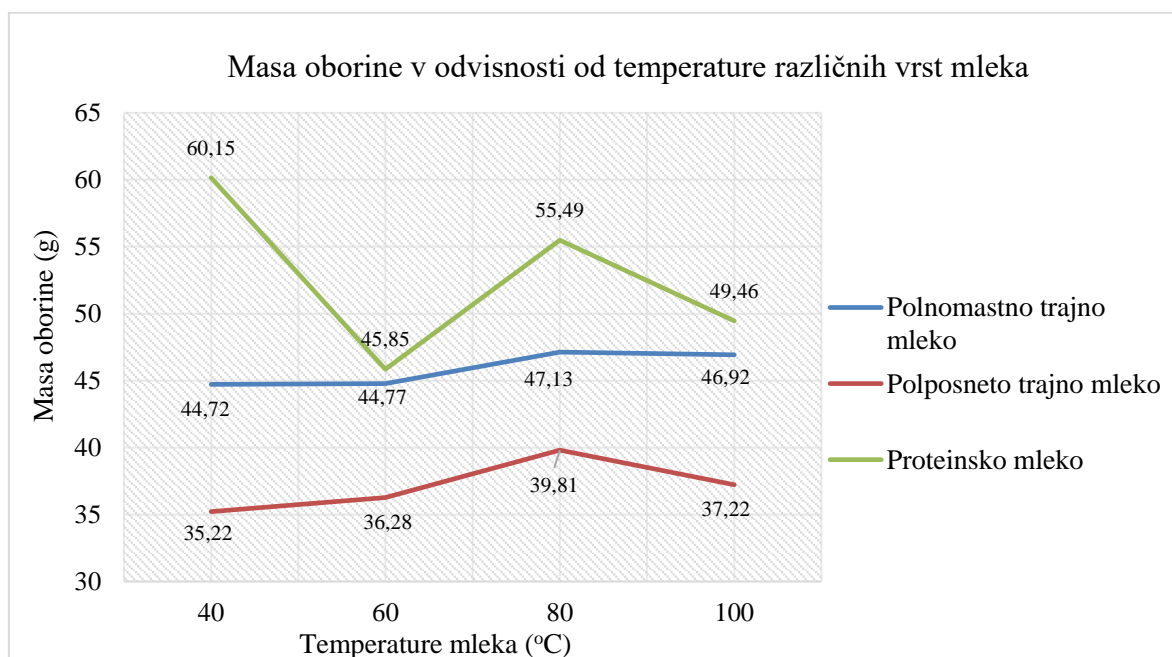
Koagulacija mlečnih beljakovin, predvsem kazeina, je kompleksen proces, na katerega vplivajo različni dejavniki. V okviru raziskovanja smo želeli ugotoviti, kako različne vrste mleka ter spremembe temperature, količine in koncentracije kisline vplivajo na učinkovitost obarjanja beljakovin. Meritve smo izvajali pri standardiziranih postopkih dodajanja kisa ter spremljali maso nastale oborine kot indikator uspešnosti koagulacije.

Ekspirimenti so omogočili primerjavo med mleki z različno vsebnostjo beljakovin, maščob, stopnjo homogenizacije in toplotne obdelave – od industrijsko predelanih trajnih mlek do svežega surovega mleka s kmetije in nehomogeniziranega mleka. S tem smo pridobili celovit vpogled v tvorbo oborine.

6.1. Vpliv temperature mleka na maso oborine

Na nastanek oborine po dodatku kisa vpliva temperatura mleka. Uporabili smo tri vrste trajnega mleka: polnomastno trajno (3,5 % mlečne maščobe), polposneto trajno (1,5 % mlečne maščobe) in proteinsko mleko z visoko vsebnostjo beljakovin (60 g/L) brez laktoze. Za vsako vrsto mleka smo izvedli postopek obarjanja pri štirih različnih temperaturah (40 °C, 60 °C, 80 °C in 100 °C) ter izmerili maso nastale oborine.

Zbrani podatki so predstavljeni v grafu ter so osnova za nadaljnjo diskusijo.



Graf 2: Masa oborine v odvisnosti od količine kisa različnih vrst mleka

Rezultati kažejo, da vrsta mleka in temperatura pomembno vplivata na količino oborine (tj. koaguliranih beljakovin, predvsem kazeina):

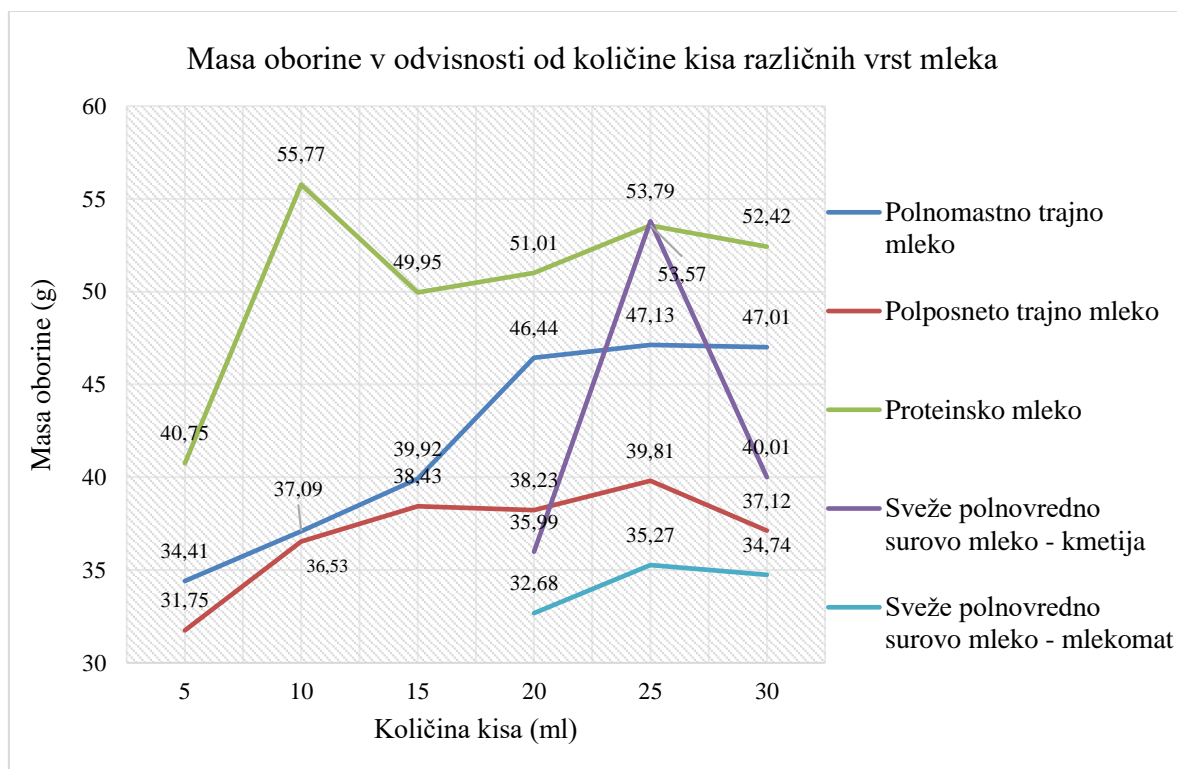
Pri vseh vzorcih mleka se je z višanjem temperature mleka povečevala masa oborine, najizraziteje pri polposnetem mleku (+13 % med 40 °C in 80 °C). Proteinsko mleko je imelo največ oborine že pri 40 °C, nato je sledil padec in ponovni porast, kar kaže na občutljivost

koncentriranih beljakovin na temperaturo. Polnomastno trajno mleko je imelo stabilno maso oborine z vrhom pri 80 °C.

Na koagulacijo mlečnih beljakovin pomembno vplivata vsebnost beljakovin in temperatura. Največ beljakovin obori proteinsko mleko, vendar njihova koagulacija ni linearno odvisna od temperature. Optimalna temperatura za obarjanje je za večino vzorcev med 80 in 100 °C.

6.2. Vpliv količine kisa na maso oborine

Preučevali smo tudi vpliv količine dodanega kisa (5–30 ml) na maso oborine (koaguliranih beljakovin) v petih različnih vrstah mleka, tako trajno mleko kot sveže mleko. Uporabili smo polnomastno, polposneto, proteinsko trajnem mleku ter sveže polnovredno surovo mleko z dveh virov (kmetija in mlekomat). Kis (ocetna kislina) povzroči znižanje pH, kar vodi v denaturacijo in koagulacijo mlečnih beljakovin, predvsem kazeina. Namen analize je ugotoviti, pri kateri količini kisline in vrsti mleka pride do največjega izkoristka oborine ter primerjati odzive različnih vrst mleka.



Graf 3: Masa oborine v odvisnosti od količine kisa različnih vrst mleka

1. Vpliv količine kisa na maso oborine

- pri polnomastnem trajnem mleku je masa oborine naraščala z večanjem količine kisa, z vrhom pri 25 ml (47,13 g), nato se pri 30 ml le minimalno zniža (47,01 g), kar nakazuje dosežen maksimum koagulacije.

- polposneto trajno mleko kaže podoben trend do 25 ml (39,81 g), nato pa ob 30 ml opazimo padec (37,12 g), kar lahko kaže na presežek kisline in destabilizacijo sistema.

Optimizacija in preučevanje obarjenih beljakovin iz mleka, kot trajnostna alternativa klasičnim plastičnim materialom

- proteinsko mleko ima najvišjo maso oborine pri 10 ml (55,77 g), nato masa nekoliko niha in rahlo upada. To potrjuje visoko vsebnost beljakovin, a tudi večjo občutljivost na količino kisline.

2. Primerjava svežega in trajnega mleka

- sveže mleko s kmetije doseže največ oborine pri 25 ml (53,79 g), kar je najvišja izmerjena vrednost med vsemi svežimi mleki in celo višja od polnomastnega trajnega mleka.

- sveže mleko iz mlekomata ima nižje vrednosti (največ 35,27 g), kar lahko kaže na nižjo vsebnost beljakovin ali maščob ali pa večjo vsebnost zaviralcev koagulacije (npr. sledi detergenta v sistemu).

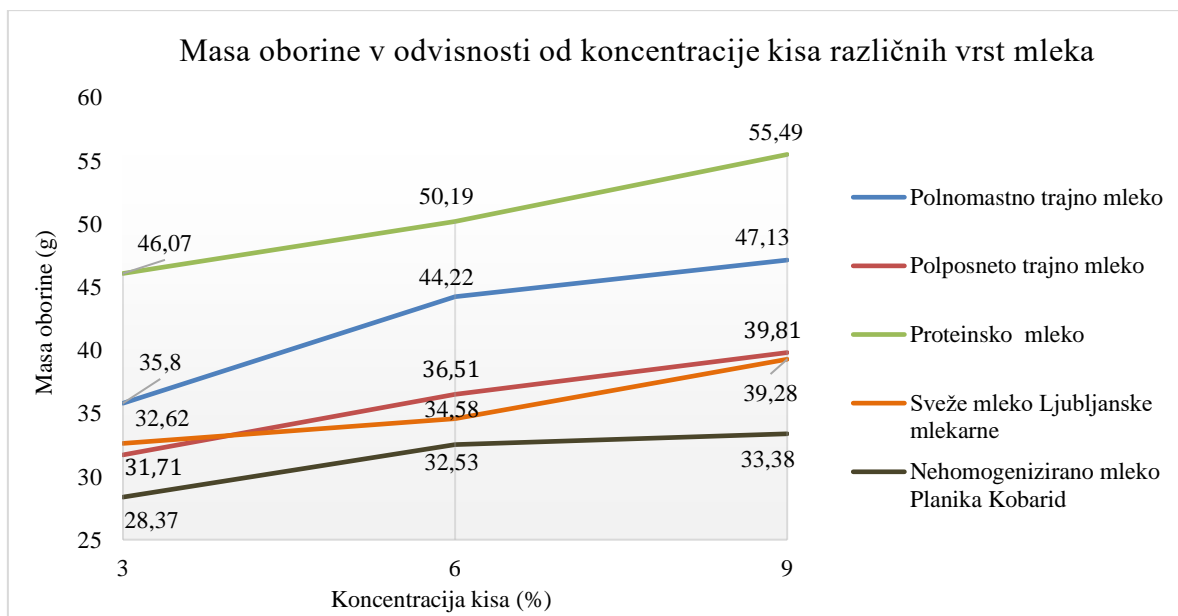
Optimalna količina kisa za večino vrst mleka je med 20 in 25 ml, saj takrat dosežemo najvišjo maso oborine.

Presežek kisline nad 25 ml pogosto ne poveča oborine, v nekaterih primerih (npr. polposneto trajno mleko) pa povzroči celo zmanjšanje, kar lahko nakazuje motnje v agregaciji. Prav tako smo pri svežem surovem mleku s kmetije in mlekomata zaznali razlike – mleko s kmetije je dalo večjo maso oborine ($\approx 53,8$ g) kot mleko iz mlekomata ($\approx 35,3$ g), kar kaže na morebitne razlike v vsebnosti beljakovin ali postopkih predelave.

Ugotovili smo, da masa oborine vseh vrst mleka narašča do količine dodanega kisa 25 ml, nato pa začne upadati ali ostaja nespremenjena.

6.3. Vpliv koncentracije kisa na maso oborine

V nadaljevanju je predstavljen vpliv koncentracije kisa (3 %, 6 % in 9 %) na količino nastale oborine pri petih vrstah mleka, tako trajno mleko kot sveže mleko. Ponovno smo uporabili polnomastno in polposneto trajno in proteinsko mleko ter dve vrsti svežega mleka – standardno pasterizirano (Ljubljanske mlekarne) in nehomogenizirano mleko Planika (Kobarid). Kako povečevanje koncentracije kisline vpliva na učinkovitost koagulacije mlečnih beljakovin je predstavljeno na grafu.



Graf 4: Masa oborine v odvisnosti od koncentracije kisa različnih vrst mleka

Povečevanje koncentracije kisa je pri vseh vrstah mleka povečalo maso oborine, pri čemer je bila optimalna 9 % koncentracija kisa. Pri nižjih koncentracijah (3 %) je bil pH filtrata višji, kar kaže na manj učinkovito obarjanje kazeina. Pri proteinskem mleku je bil ta učinek bolj izrazit, saj je zaradi višje vsebnosti beljakovin pri 9 % kisu nastalo največ oborine (55,49 g).

Pri svežem mleku Ljubljanskih mlekar in nehomogeniziranem mleku Planika smo opazili razliko v masi oborine pri 9 % kisu – Ljubljansko mleko je dalo več oborine (39,28 g) kot mleko Planika (33,38 g), kar je verjetno posledica razlik v tehnologiji predelave.

6.4. Vključitev sojinega mleka v analizo obarjanja

V raziskavo smo poleg različnih vrst kravjega mleka vključili tudi sojino mleko, da bi primerjali učinkovitost obarjanja rastlinskih beljakovin v primerjavi z mlečnimi (kazeinom). S tem smo želeli razširiti raziskavo na alternativne vire beljakovin, ki postajajo vse bolj prisotni v prehrani.

Za obarjanje sojinih beljakovin je bilo uporabljeno sojino mleko z začetnim pH 7,3. Masa oborine in pH filtrirane tekočine so bili določeni pri različnih količinah in koncentracijah kisa ter temperaturah mleka. Pri vseh obravnavanih pogojih je bila filtrirana tekočina rahlo kislja, s pH okrog 4.

1. Vpliv temperature mleka

Pri spreminjanju temperature mleka (40–100 °C) smo ob uporabi 25 ml 9 % kisa ugotovili: najvišjo maso oborine (48,62 g) pri 80 °C, pri 100 °C je bila masa nekoliko nižja (47,45 g), pri nižjih temperaturah (40–60 °C) je bila masa opazno manjša (40,71–44,93 g). Optimalna temperatura za obarjanje sojinih beljakovin je bila 80 °C.

2. Vpliv količine kisa

Pri dodajanju različnih količin alkoholnega kisa (5–30 ml) na 150 g sojinega mleka, segretega na 80 °C, smo opazili, da je masa oborine ostala visoka pri vseh količinah (45–49 g), največjo maso z dobro strukturo oborine smo dosegli pri 25 ml kisa (48,22 g), filtracija je bila pri nižjih količinah kisline manj učinkovita zaradi zadrževanja vode v oborini.

Za nadaljnje poskuse smo uporabili 25 ml kisa, saj je ta količina omogočila dobro ločljivost in največjo količino čvrste oborine.

3. Vpliv koncentracije kisa

Pri uporabi 25 ml kisline različnih koncentracij (3 %, 6 %, 9 %) smo opazili največ oborine (48,62 g) pri 9 % kisu, minimalne razlike pri 3 % in 6 %, a nekoliko nižjo maso (46,94–48,10 g), pH filtrata je pri 6 % in 9 % padel na 4, pri 3 % pa je znašal 5.

Za nadaljnje delo smo uporabili 9 % kis, saj je omogočil najvišji izkoristek obarjanja.

Najboljši pogoji za učinkovito koagulacijo sojinih beljakovin so bili 25 ml alkoholnega kisa, 9 % koncentracija kisa, temperatura mleka 80 °C.

V teh pogojih je masa oborine dosegla približno 48,62 g. Oborina je bila čvrsta in primerna za nadaljnjo obdelavo – iz nje smo oblikovali kroglice kot praktični produkt.

Sojino mleko, kljub rastlinskemu izvoru, izkazuje visok izkoristek obarjanja beljakovin, ki je po masi primerljiv ali celo višji kot pri nekaterih vrstah kravjega mleka. Ob ustreznih pogojih (9 % kis, 25 ml, 80 °C) se izloči skoraj enaka količina oborine kot pri polnomastnem ali proteinskem mleku. V sojinem mleku ni prisoten kazein, temveč rastlinske beljakovine, ki koagulirajo podobno kot mlečni kazein, pri čemer nastane homogena in čvrsta oborina, primerna za nadaljnjo obdelavo. pH filtrata po kislem obarjanju se v vseh primerih giblje okoli pH 4, kar potrjuje učinkovito denaturacijo beljakovin.

Rastlinske beljakovine se torej uspešno koagulirajo z uporabo kisline, pri čemer je struktura oborine čvrsta in uporabna za nadaljnjo obdelavo. Sojino mleko se v smislu fizikalno-kemijskega vedenja obnaša podobno kot mleko živalskega izvora, kar potrjuje njegovo potencialno uporabnost v prehranski in eksperimentalni kemiji.

6.5. Vpliv pretečenega roka uporabnosti na izplen kazeina iz mlečnih vzorcev

Primerjali smo tudi količino izločenega kazeina iz različnih vrst mleka v dveh stanjih: pred in po preteku roka uporabnosti. Namen eksperimenta je bil ugotoviti, kako pretečen rok uporabe vpliva na beljakovinsko sestavo mleka, predvsem na prisotnost kazeina – glavne mlečne beljakovine, ki predstavlja približno 80 % vseh beljakovin v kravjem mleku.

Kazein v mleku tvori micelarne strukture, ki so občutljive na pH spremembe. Pokvarjeno mleko ima zaradi bakterijske fermentacije laktoze nižji pH, kar povzroča obarjanje kazeina. Vendar pa lahko dalj časa trajajoči mikrobiološki procesi povzročijo tudi delno razgradnjo ali denaturacijo kazeina, kar lahko vpliva na izplen te beljakovine pri laboratorijskem izločanju.

V analizo smo vključili pet vrst mleka (polnomastno, polposneto, proteinsko, sveže in nehomogenizirano mleko), da bi preverili, ali se vpliv pokvarjenosti razlikuje glede na vrsto in stopnjo predelave mleka. Rezultati kažejo razlike v količini pridobljenega kazeina kot tudi v relativnih spremembah med svežimi in pokvarjenimi vzorci.

Največji upad v količini kazeina po pretečenem roku je pri nehomogeniziranem mleku (–47,6 %) in polnomastnem trajnem mleku (–36,6 %). Najmanjši upad je pri polposnetem trajnem mleku (samo –4,3 %), kar nakazuje večjo stabilnost pri skladiščenju.

Proteinsko mleko izgubi skoraj 30 % kazeina, kar pomeni, da tudi ta ni odporen na razgradnjo pri kislem pH po pretečenem roku.

Pri vseh vrstah mleka je opaziti znižanje količine izločenega kazeina, kar je verjetno posledica:

- razgradnje beljakovin s proteazami,
- denaturacije kazeina in/ali tvorbe netopnih agregatov,
- sprememb v koloidni strukturi mleka zaradi mikrobiološke aktivnosti.

6.6. Testiranje dobljenih produktov posameznega poskusa

6.6.1. Ocena vonja nastale suhe trdne snovi

Rezultati so pokazali, da so kvadri iz proteinskega mleka prejeli najvišjo povprečno oceno vonja (2,4), kar pomeni, da so imeli najmanj izrazit vonj. Polposneto trajno mleko (1,5 % maščobe) je doseglo povprečno oceno 2,2, polnomastno trajno mleko (3,5 % maščobe) pa 1,8, kar kaže na najizrazitejši vonj.

Ugotovili smo, da večja vsebnost beljakovin prispeva k manj izrazitemu vonju posušene trdne mase, kar potrjuje tudi dejstvo, da je proteinsko mleko dalo najbolj nevtralne kvadre. Polnomastno trajno mleko je imelo najbolj intenziven vonj, kar bi lahko bilo posledica večje vsebnosti maščob ali drugačne sestave kazeinske mreže.

6.6.2 Test trdnosti nastale suhe trdne snovi

Rezultati so pokazali, da je bil kvader iz proteinskega mleka najtrdnejši, saj je prejel oceno 4,5 – pri testiranju so se odkrhnili le robovi, struktura pa je ostala skoraj nepoškodovana. Kvader iz polnomastnega trajnega mleka (3,5 % maščobe) je dosegel oceno 3, kar pomeni srednjo trdnost, medtem ko je bil najmanj trden kvader iz mleka z 1,5 % maščobe, ki je prejel oceno 2. Na podlagi vizualne primerjave kvadrov po testu trdnosti lahko sklepamo, da večja vsebnost beljakovin prispeva k večji trdnosti kvadra, saj je bil kvader iz proteinskega mleka najbolj odporen proti udarcem.

6.6.3. Test vzdržljivosti kvadrov iz suhe trdne snovi

Pri testu vzdržljivosti smo kvadre iz suhe trdne snovi potopili v vodo s temperaturo 80 °C. Iz vode smo jih vzeli po 60 sekundah. Kriterij je bil od 1 do 5 (1 – kvader je popolnoma spremenil obliko, 5 – kvader ni spremenil oblike).

Kvader iz proteinskega mleka (na sliki -- najbolj desno) je zaradi visoke vsebnosti beljakovin ostal najbolj trden. Podali smo mu oceno 4. Visoka vsebnost kazeina v kvadru, ki tvori gosto mrežo, preprečuje mehčanje v vodi z visoko temperaturo. Med izvajanjem testa so iz tege kvadra izhajali majhni delci, podobni prahu. Ob visoki temperaturi so se verjetno vezi v beljakovinski mreži razkrojile, vendar le na površini. Opazimo, da je voda v čaši ostala motna.

Kvader iz polnomastnega trajnega mleka s 3,5 % vsebnostjo mlečnih maščob se je pri testu najbolj skrčil in se rahlo omehčal. Ocenili smo ga z oceno 3. Prisotnost več maščob ovira vezavo beljakovin, kar oslabi beljakovinsko mrežo. Ob segrevanju se vezi še dodatno oslabijo, kar povzroči izrazitejše krčenje mleka.

Kvader iz mleka z 1,5 % vsebnostjo mlečnih maščob se je pri poskusu najbolj omehčal, vendar se je manj skrčil kot kvader iz mleka s 3,5 % vsebnostjo mlečnih maščob. Ker ta vsebuje skupaj najmanj maščob in beljakovin v primerjavi z drugimi, je njegova beljakovinska mreža najmanj gosta, zato kvader najbolj vpija vodo, kar prispeva k izgubi njene trdnosti in posledično k topljenju pri povišani temperaturi. Zato smo mleko 1,5 % ocenili z 2.

Pri testu vzdržljivosti se je najbolje odnesel kvader iz proteinskega mleka.

6.6.4. Primerjava – Test praktičnosti nastale suhe trdne snovi

V testu praktičnosti smo preizkusili uporabo kroglic iz suhe trdne mase kot igrače za pse. Dva udeleženca sta ocenila odziv psa na igračo na lestvici od 1 do 5 (1 – pes ni zadovoljen, 5 – psu je igrača všeč).

Rezultati so pokazali, da so bile kroglice iz svežega, polnovrednega, surovega mleka s kmetije (3,8 % mlečne maščobe) najbolj sprejete, saj so prejele povprečno oceno 4,5. To kaže, da je material iz tega mleka primeren za izdelavo žvečljivih igrač za pse.

Kroglice iz sojinega mleka so prejele povprečno oceno 4, kar pomeni, da so bile prav tako dobro sprejete, vendar nekoliko manj priljubljene kot tiste iz surovega mleka.

Na podlagi teh rezultatov lahko sklepamo, da imajo suhe trdne mase, pridobljene iz mlečnih beljakovin, potencial za razvoj trajnostnih pasjih igrač, pri čemer je najbolj primerna surovina sveže surovo mleko s kmetije.

7. UGOTOVITVE IN ZAKLJUČEK

V raziskovalni nalogi smo preučevali vpliv različnih vrst mleka, količine in koncentracije kisa ter temperature na izkoristek kazeina in lastnosti nastale suhe trdne snovi. Cilj raziskave je bila optimizacija pogojev za pridobivanje kakovostne suhe trdne snovi na osnovi kazeina. Analizirali smo različne vrste mleka, vključno s polnomastnim mlekom, polposnetim mlekom, proteinskim mlekom, svežim mlekom in sojinim mlekom kot rastlinsko alternativo. Preučevali smo tudi izplen kazeina iz mlečnih vzorcev s pretečenim rokom uporabnosti. Predstavljamo ugotovitve, povezane s posameznimi hipotezami:

H1: Največ oborine bo nastalo z najvišjo koncentracijo kisa.

Hipoteza je **POTRJENA**. Pri vseh vrstah mleka višja koncentracija kisa pripomore k nastanku večje količine oborine. Optimalna koncentracija kisa je torej 9 %. Višja koncentracija kisa je povečala izkoristek kazeina zaradi intenzivnejšega koagulacijskega procesa.

H2: Pri temperaturi vrelišča mleka (100 °C) bo nastalo največ oborine.

Hipoteza je **OVRŽENA**. Za vse vrste mleka je optimalna temperatura mleka za nastanek največ oborine 80 °C.

H3: Največ oborine bo nastalo pri kisanju proteinskega mleka.

Hipoteza je **POTRJENA**. Največji izkoristek kazeina daje proteinsko Alpsko mleko, ki vsebuje več beljakovin, med drugim tudi kazeina. Masa oborine je bila pri uporabi tega mleka najvišja. Ugotovili smo tudi, da mlečne maščobe v mleku pripomorejo k boljšemu ločevanju kazeina od tekočine. Zato se je polnomastno trajno mleko z vsebnostjo mlečne maščobe 3,5 % bolje odneslo kot mleko z 1,5 % vsebnostjo mlečne maščobe.

H4: Mleko z najboljšim rezultatom testiranja po vonju, trdnosti in vzdržljivost proti temperaturi, ki bi lahko nadomestilo plastiko, bo polnomastno trajno mleko z vsebnostjo maščob 3,5 %.

Hipoteza je **OVRŽENA**. Najboljše mleko v vseh testih je proteinsko mleko, in sicer zaradi večje koncentracije beljakovin.

H5: Kazein, pridobljen iz mleka s pretečenim rokom uporabe, se izloči enako učinkovito kot iz svežega mleka.

Hipoteza je **OVRŽENA**. Pri vseh testiranih vrstah mleka je prišlo do upada količine kazeina. Mleko s pretečenim rokom uporabe pogosto kaže znake fizikalno-kemijskih in mikrobioloških sprememb, kot so spremembe vonja, okusa in ločevanje faz. Znižan pH zaradi mlečnokislinskih bakterij sproži koagulacijo kazeina, vendar so ti procesi počasni, neenakomerni in vključujejo encimsko razgradnjo. Zato je količina obarjenega kazeina

Optimizacija in preučevanje obarjenih beljakovin iz mleka, kot trajnostna alternativa klasičnim plastičnim materialom

manjša kot pri tehnološko nadzorovanih postopkih s kontroliranimi pogoji (pH, temperatura, encimi).

Rezultati so pokazali, da ima proteinsko mleko najboljši izkoristek kazeina in zagotavlja najtrdnjše kvader zaradi večje koncentracije beljakovin, ki tvorijo gostejšo beljakovinsko mrežo. Tudi polnomastno trajno in sveže mleko se je izkazalo kot dobra surovina za izdelavo suhe trdne snovi, medtem ko je bila suha trdna snov iz polposnetega trajnega mleka manj kompaktna. Sojino mleko, ki ne vsebuje kazeina, ampak sojine proteine, je dalo krhko in manj trdno suho snov v primerjavi s kravjim mlekom. Poleg tega smo ugotovili, da količina in koncentracija kisa drugače vplivata na izkoristek kazeina in fizikalne lastnosti suhe trdne snovi. Največ kazeina je nastalo pri višjih koncentracijah kisa.

Raziskava je pokazala, da je izdelava biopolimera iz mleka in kisa preprosta, cenovno dostopna in okolju prijazna metoda, ki bi lahko zmanjšala uporabo plastičnih materialov iz naftnih derivatov. Odpira se lahko le etično vprašanje glede porabe hrane za neprehrambene namene, kar lahko vpliva na prehransko varnost in ceno hrane, zato smo v raziskavo vključili tudi mleko s pretečenim rokom uporabe.

V nadaljnje raziskave želimo vključiti testiranje različnih dodatkov za izboljšanje mehanskih lastnosti biopolimerov. S tem bi lahko prispevali k razvoju trajnostnih materialov, ki bi zmanjšali obremenitev okolja s plastičnimi odpadki.

8. VIRI IN LITERATURA

Baraaquio, V., & van de Voort, F. (1988). Milk and soy proteins - Their status in review. *Can. Inst. Food Sci. Technol. Vol.*, 477-493.

Batič, F. (2011). *Botanični terminološki slovar*. Ljubljana: ZRC SAZU.

Chalermthai, B., Giwa, A., Schmidt, J. E., & Taher, H. (2021). Life cycle assessment of bioplastic production from whey protein obtained from dairy residues. *Bioresource Technology Reports*.

Chan, W. Y. (2023). *Proteins in the design of sustainable plastics alternatives*. Pittsburgh: MRS Communications.

Cho, R. (2017). The truth about bioplastics. State of the Planet: Earth Institute, Columbia University.

Cvelbar, J. (2019). Vpliv strukture na razgradljivost polimerov. Ljubljana: Univerza v Ljubljani, Fakulteta za kemijsko tehnologijo.

Encyclopædia Britannica. (brez datuma). *Casein*. Pridobljeno iz Encyclopædia Britannica: <https://www.britannica.com/science/casein>

Evropska komisija. (16. januar 2018). *Evropska komisija - Press Corner*. Pridobljeno iz Evropska komisija: https://ec.europa.eu/commission/presscorner/detail/sl/ip_18_5

Foqara, M., Nandi, R., & Amdursky, N. (2022). Casein proteins as building blocks for making ion-conductive bioplastics. *Journal of Materials Chemistry A*.

Hottle, T. A., Bilec, M. M., & Landis, A. E. (2017). Biopolymer production and end of life comparisons using life cycle assessment. *Resources, Conservation and Recycling*, 295-306.

Jevšnik, M. (2014). *Mikrobiologija živil*. Maribor: Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede, Univerza v Mariboru.

Kranjc Urbanek, J. (junij 2020). Raziskovanje biopolimernih materialov. Maribor.

Krnel, D. (pomlad 2015). Naravoslovna solnica. *Polimeri*, str. 34.

Kršlin, M. (2014). *Proteinski profili različnih vrst mleka*. Ljubljana: Univerza v Ljubljani.

Lazarini, F., & Brenčič, J. (1992). *Splošna in anorganska kemija*. Ljubljana: DZS.

Optimizacija in preučevanje obarjenih beljakovin iz mleka, kot trajnostna alternativa klasičnim plastičnim materialom

Ledina, T. (2024). *Hemijski sestav mleka: belančevine*. Katedra za higijenu i tehnologiju namirnica.

Mavrin, D. (2012). *Mleko in mlečni izdelki*. Strahinj: Biotehniški center naklo.

Microbe Notes. (brez datuma). *Protein structure*. Pridobljeno iz Microbe Notes: <https://microbenotes.com/protein-structure/>

Muha, B. (2016). *Vsebnost kazeina v mleku različnih vrst prežvekovalcev*. Pridobljeno iz Digitalna knjižnica BF: http://www.digitalna-knjiznica.bf.uni-lj.si/zootehnika/vs_muha_blazka.pdf

Novak, Z., Primožič, M., Vasić, K., & Leitgeb, M. (2015). *Procesne surovine za bio in prehrambeno industrijo (Navodila za laboratorijske vaje, zbrano gradivo)*. Pridobljeno iz Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Mariboru: https://www.fkkt.um.si/sites/default/files/PROCESNE%20SUROVINE%20ZA%20BIO%20IN%20PREHRAMBENO%20INDUSTRIJO_2015%20%28Navodila%20za%20laboratorijske%20vaje%20zbrano%20gradivo%29.pdf

Prijatelj, M. (april 2012). *Bioplastika slaba-šala ali prava rešitev?* Pridobljeno iz Delo.si: <https://www.delo.si/novice/okolje/bioplastika-slaba-sala-ali-prava-resitev.html>

Sander, H. A. (2022). Closing four remaining gaps in deploying urban vegetation to enable sustainable cities. *One Earth*, 482-484.

Statistični urad Republike Slovenije. (brez datuma). *Izvoz in uvoz mleka in mlečnih izdelkov, Slovenija, letno*. Pridobljeno iz SiStat: <https://pxweb.stat.si/SiStatData/pxweb/sl/Data/-/1514505S.px>

Šprajcar, M., Horvat, P., & Kržan, A. (2012). *Biopolimeri in bioplastika, Plastika skladna z naravo*. Ljubljana: Kemijski inštitut.

United Nations. (brez datuma). *Sustainable Development Goals*. Pridobljeno iz United Nations: <https://sdgs.un.org/goals>