

SNEŽANA T. JOVANOVIĆ
OGNJEN D. MAČEJ
MIROLJUB B. BARAĆ
TANJA R. VUČIĆ
ZORANA N. JOVANOVIĆ

Univerzitet u Beogradu,
Poljoprivredni fakultet,
Institut za prehrambenu
tehnologiju i biohemiju,
Zemun

UDK: 637.336:637.045

PROTEOLITIČKE PROMENE TOKOM ZRENJA POLUTVRDOG SIRA PROIZVEDENOG NA BAZI KOAGREGATA PROTEINA MLEKA*

Primena oštrijih termičkih tretmana mleka (na temperaturama višim od 85°C, u dužem vremenskom periodu, 10 minuta i duže), namenjenog za proizvodnju sira, u poređenju sa termičkim tretmanima koji se primenjuju po tradicionalnom načinu proizvodnje, dovodi do formiranja hemijskog kompleksa između kazeina i serum proteina, koji su u literaturi označeni kao koagregati proteina mleka. Usled toga dolazi do inkorporiranja serum proteina u grušu, a dobijeni sir se razlikuje od tradicionalnih sireva kako po tehnološkom procesu proizvodnje, tako i po senzornim karakteristikama, a pre svega po teksturi sirnog testa kao i ukusu.

U nizu promena koje se dešavaju u siru tokom zrenja, promene na proteinima i njihovim produktima razgradnje su najznačajnije, pa se u literaturi pod zrenjem sireva u užem smislu podrazumevaju promene nastale na proteinima. Obim i dubina proteolitičkih promena su u tesnoj vezi sa tehnologijom izrade sireva, uslovima zrenja i aktivnošću mikroorganizama, te su ove promene karakteristične za pojedine vrste sireva i imaju presudan uticaj na formiranje senzornih karakteristika, konzistencije i drugih reoloških karakteristika sira.

U okviru ovih istraživanja pošlo se od pretpostavke da će primenjeni režim termičke obrade mleka, kao i način obrade gruša, imati odgovarajući uticaj na karakteristike proteina kao supstrata, koji podleže hidrolizi tokom zrenja zbog prisustva serum proteina koji utiču na smanjenje sadržaja kazeina u ukupnim proteinima sira. Uticaj serum proteina na karakteristike sireva su još uvek predmet izučavanja. Faktori kao što su varijetet sira, količina serum proteina, stanje serum proteina (nativno ili denaturisano) i stepen u kom su agregirani sa kazeinom, utiču na stepen promena karakteristika sira.

Tokom zrenja oglednih sireva koje je trajalo 4 meseca praćene su promene na azotnim materijama. Uočene su značajne promene na proteinima mleka, koje se ogledaju u povećanju sadržaja rastvorljivih azotnih materija. Sadržaj rastvorljivog azota nakon proizvodnje, 15, 30, 60. i 120-og dana zrenja prosečno je iznosio: 135,48 mg/100 g, 358,72 mg/100 g, 473,52 mg/100 g, 672,32 mg/100 g i 845,13 mg/100 g. Porastom sadržaja rastvorljivog azota, povećavao se i koeficijent zrelosti, koji je u istom periodu zrenja iznosio u proseku: 4,42%, 10,14%, 12,95%, 18,21% i 23,60%.

Ključne reči: koagregati • polutvrdi sir • proteoliza

UVOD

U toku zrenja sireva najsloženijim biohemijskim promenama podležu proteini, pa se razlaganje proteina definiše kao zrenje u „užem” smislu reči. Obim i dinamika razgradnje proteina su u tesnoj vezi sa tehnologijom izrade sira, uslovima zrenja, aktivnošću starter kul-

tura, enzima sekundarnih startera i nestarterskih bakterija mlečne kiseline, koje preživljavaju pasterizaciju mleka, nestarterskih bakterija mlečne kiseline, kao dopunskih ili „adjunct” kultura koje se koriste kod ubrzanog zrenja i dr. Proteoliza u siru u širem smislu reči obuhvata praktično tri faze: proteolizu u mleku, enzimsku koagulaciju mleka i proteolizu za vreme zrenja sireva. Proteoliza u siru direktno utiče na formiranje arome i ukusa sira obrazovanjem aminokiselina i peptida, od kojih neki mogu da izazovu mane ukusa, promenu pH i promene u teksturi sira, usled promena koje nastaju na proteinskom matriksu.

Količina serum proteina u većini tradicionalnih sireva veoma je mala (npr. u Čedru približno 0,3%), te se smatra da ovi proteini imaju mali uticaj na karakteristike tradicionalnih sireva. Prisustvo serum proteina u većoj količini može da utiče na teksturu i ukus sira. Serum proteini se značajno razlikuju od kazeina, jer denaturišu pod uticajem visokih temperatura i znatno su bogatiji aminokiselinama koje sadrže sumpor. Hidroliza serum proteina u siru zavisi od toga da li su oni u nativnom ili denaturisanom obliku, pošto na ova dva oblika proteolitički enzimi prisutni u siru različito reaguju (Grufferty i Fox, 1988, Lawrence i Lelièvre, 1990).

Nativni serum proteini imaju direktan uticaj na teksturu sira s obzirom da su inkorporirani u kazeinski matriks i da imaju uticaja na efekte biohemijskih procesa tokom zrenja. Indirektan uticaj se ogleda u činjenici da serum proteini fizički ograničavaju pristupačnost kazeina enzimima koji utiču na zrenje sira, i može da dođe do maskiranja efekata proteolize, tako što imunoglobulini i PP frakcije ve-

*Rad je deo istraživanja u okviru Nacionalnog programa Biotehnologija i agroindustrija – Projekat 5.8 “Standardizacija proizvodnje polutvrdog sira na bazi koagregata proteina mleka”, Ev. broj BTN-351004B

Adresa autora:

Dr Snežana Jovanović, Poljoprivredni fakultet,
11080 Zemun–Beograd, Nemanjina 6
Tel. 011/2615-315; 011/31-68-058
e-mail: snezanaj@agrifaculty.bg.ac.yu

zuju komponente arome. Takođe, serum proteini imaju efekat "razblaživanja", jer smanjuju koncentraciju kazeina u siru, koji je izvor mnogih komponenti arome kod većine sireva (Lelièvre, 1995).

Denaturisani serum proteini su rezistentni na hidrolizu u većini varijeteta sireva. Imaju direktan uticaj na karakteristike sira kada su u kompleksu vezani za kazein, jer redukuju interakciju kazein–kazein u siru, a neki vezuju Ca^{2+} , što takođe utiče na teksturu sira. Ukoliko su u kompleksu sa kazeinom, poprečnim vezivanjem polimernih lanaca mogu ograničiti rastegljivost i topivost, što je nepoželjno kod sireva parenog testa kao što je npr. Mocarela. Denaturisani serum proteini direktno utiču na osobine sira preko biohemijskih procesa u procesu zrenja, jer β -lg inhibira plazmin i njegov prekursor plazminogen (Lelièvre, 1995, Harper i sar., 1989). Denaturisani β -lg inhibira alkalne proteinaze mleka preko tiol-disulfidne izmene između slobodnih i aktivnih –SH grupa β -lg, kao rezultat termičkog tretmana, i disulfidne grupe alkalnih proteinaza mleka (Grufferty i Fox, 1988).

Sporija proteoliza proteina tokom zrenja sira proizvedenog od mleka, izloženog oštrijim termičkim tretmanima, posledica je termičke inaktivacije i denaturacije plazmina, plazminogena i aktivatora plazminogena. Ta inaktivacija je verovatno rezultat interakcije između β -lg i komponenti sistema plazminogen aktivatora u mleku. Ipak, to ne isključuje mogućnost da termički tretman ima i efekte i na druge nativne proteolitičke enzime u mleku (npr. katepsin D) i nestarterske bakterije (Benfeldt i sar., 1997, Grufferty i Fox, 1988, Lelièvre, 1995).

MATERIJAL I METODI

Polutvrđi sir je proizveden modifikovanim tehnološkim postupkom u *Laboratoriji za tehnologiju mleka na Poljoprivrednom fakultetu u Beogradu* od standardizovanog mleka (3,25% mlečne masti). Ono je termički tretirano pri temperaturnom režimu $87^{\circ}/10$ min, koji omogućava obrazovanje koagregata proteina mleka.

Za koagulaciju mleka korišćeno je sirilo *Chymogen S* (CHR. Hansen, Denmark), kod kojeg je odnos himozina i pepsina 90: 10, deklarisanе jačine 540 CHU/g. U proizvodnji sira upotrebljena je DVS koncentrovana kultura *CH-N-11* (CHR. Hansen, Denmark).

Ogledni sirevi su u fazi zrenja zaštićeni plastificiranim premazom sa fungicidnim svojstvima *HA-LA PLAST*

(CHR. Hansen, Denmark), a nakon 15 dana zrenja sirevi su vakuumirani.

Svaki ogled je izveden u šest ponavljanja.

Za praćenje promene azotnih materija tokom zrenja sira primenjene su sledeće metode:

- ukupne azotne materije po metodi Kjeldahl-a pomoću Kjeltex sistema (IDF standard 20B: 1993)
- rastvorljive azotne materije metodom po van Slyke -u i Hart -u (Pejić i Đorđević, 1963).

Ispitivani parametri praćeni su u toku 4 meseca zrenja i to po sledećoj dinamici: nakon proizvodnje, 15, 30, 60. i 120-og dana nakon proizvodnje.

Osnovne karakteristike serija dobijenih podataka za ispitivana obeležja prikazane su preko srednjih vrednosti (\bar{x}), a dat je i interval variranja (min. i max.). Odstupanje pojedinačnih podataka u serijama od aritmetičke sredine, kao i jačina njihove grupisanosti oko srednje

vrednosti, prikazana je preko mera varijacija – standardne devijacije (Sd) i koeficijenta varijacije (Cv) (Stanković i sar., 1989).

REZULTATI I DISKUSIJA

Dinamika ukupnog azota

Poznato je da kod sireva, koji su proizvedeni na tradicionalan način, osnovu proteinskog matriksa čini kazein, koji znatno brže podleže promenama tokom zrenja za razliku od serum proteina (Grufferty i Fox 1988, Harper i sar., 1989, Lawrence i Lelièvre, 1990, Lelièvre, 1995, Visser, 1981, Walstra i sar., 1993). Pored ovoga, primena visokih temperatura u obradi mleka sigurno će imati uticaja i na smanjenje aktivnosti plazmina u siru, bez obzira na njegovu izraženu termičku stabilnost (Fox i sar., 1993, Harper i sar., 1989, Rollema i Poll, 1986).

U tabeli 1 data je dinamika azota i proteina tokom zrenja sira.

Tabela 1. DINAMIKA UKUPNOG AZOTA I PROTEINA TOKOM ZRENJA SIRA
Table 1. TOTAL NITROGEN DYNAMICS DURING CHEESE RIPENING

Izračunati pokazatelji/Calculated parameters	Ispitivani pokazatelji/ Investigated parameters				
	Ukupni azot (%) / Total nitrogen (%)				
	Period zrenja (dani) / Ripening period (days)				
	1	15	30	60	120
min,	2,9417	3,4125	3,5760	3,5986	3,3908
max,	3,1561	3,7535	3,7376	3,7721	3,6912
\bar{x} (n=6)	3,0759	3,5530	3,6589	3,6923	3,5883
Sd	0,0778	0,1192	0,0614	0,0588	0,1137
Cv (%)	2,53	3,35	1,68	1,59	3,17
Izračunati pokazatelji/Calculated parameters	Ukupni azot u SM (%) / Total nitrogen in TS (%)				
	Period zrenja (dani) / Ripening period (days)				
	1	15	30	60	120
min,	6,61	6,54	6,45	6,61	6,25
max,	6,74	6,82	6,79	6,89	6,81
\bar{x} (n=6)	6,70	6,66	6,66	6,75	6,54
Sd	0,0444	0,0973	0,1141	0,1013	0,2187
Cv (%)	0,66	1,46	1,71	1,50	3,34
Izračunati pokazatelji/Calculated parameters	Ispitivani pokazatelji/ Investigated parameters				
	Proteini (%) / Proteins (%)				
	Period zrenja (dani) / Ripening period (days)				
	1	15	30	60	120
min,	18,77	21,77	22,81	22,96	21,63
max,	20,14	23,95	23,84	24,06	23,55
\bar{x} (n=6)	19,63	22,67	23,34	23,55	22,89
Sd	0,4969	0,7614	0,3912	0,3730	0,7264
Cv (%)	2,53	3,36	1,68	1,58	3,17
Izračunati pokazatelji/Calculated parameters	Proteini u SM (%) / Proteins in TS (%)				
	Period zrenja (dani) / Ripening period (days)				
	1	15	30	60	120
min,	42,19	41,74	41,13	42,15	39,91
max,	42,98	43,50	43,33	43,94	43,46
\bar{x} (n=6)	42,73	42,50	42,47	43,05	41,74
Sd	0,2882	0,6220	0,7282	0,6419	1,3972
Cv (%)	0,67	1,46	1,71	1,49	3,35

Prvog dana zrenja sadržaj ukupnog azota iznosio 3,0759%, a sadržaj proteina 19,63%. Nakon 15 dana zrenja, sadržaj azota se srazmerno povećao sa povećanjem SM sira i u proseku je iznosio 3,5530%, a proteina 22,67%. U periodu između 30, 60. i 120-og dana zrenja, sadržaj azota se praktično nije menjao zbog načina i uslova zrenja sira. Posle 30-og dana zrenja sadržaj ukupnog azota u siru je iznosio 3,6589%, 60-og dana 3,6923% i 120-og dana 3,5883%. Sadržaj proteina je tokom zrenja od 30, 60. i 120-og dana imao sledeće vrednosti 23,34%, 23,55% i 22,89%.

Sadržaj azota u SM je malo varirao tokom celog perioda zrenja i u proseku je imao vrednosti 6,70%, 6,66%, 6,66%, 6,75% i 6,54%, za 1, 15, 30, 60. i 120-i dan, a sadržaj proteina u SM sira je u proseku imao sledeće vrednosti: 42,73%, 42,50%, 42,47%, 43,05% i 41,74%. Iz podataka se vidi da je na kraju zrenja, posle 4 meseca, došlo do smanjenja sadržaja ukupnog azota u SM i proteina u SM sira, verovatno kao posledica dublje razgradnje proteina i obrazovanja isparljivih supstanci, koje su doprinele smanjenju azota i proteina u SM sira, što je i rezultat primenjene metode za određivanje SM sira.

Dinamika rastvorljivog azota

Tokom zrenja proteini u siru se transformišu do produkata nižih molekularnih masa od kojih u velikoj meri zavise senzorne i reološke karakteristike sira. Zbog toga se kao merilo intenziteta razgradnje proteina uzima količina rastvorljivih proteina u vodi, odnosno sadržaj rastvorljivih azotnih materija u vodi koje nastaju tokom zrenja. Kao pravi pokazatelj zrenja, ili stepena zrelosti sira, najčešće se koristi odnos sadržaja rastvorljivog azota i ukupnog azota. Ovaj odnos, prema Duclaux -u (cit. Mišić, 1969) i Đorđević -u (1960) naziva se koeficijentom zrelosti. Kako se sirevi međusobno razlikuju prema načinu izrade i uslovima zrenja, to će se oni međusobno razlikovati i prema obimu proteolize i nekim drugim promenama koje se dešavaju u toku zrenja.

U domaćoj i stranoj literaturi postoji veliki broj podataka koji se odnose na količinu rastvorljivih azotnih materija za različite vrste sireva. Kada su u pitanju domaći sirevi, kod nas su najčešće proučavani beli sirevi u salamuri (Dozet i sar., 1978, 1996, 1972, Savić, 1997), kačkavalj (Đorđević, 1960, 1962, Gligorijević i Savić, 2000), somborski sir (Petrović, 1986). Od sireva izrađenih na bazi koagregata, u našoj zemlji proučeni su beli

sirevi u salamuri (Mačej, 1989), tvrdi sirevi od UF koncentrata mleka (Puđa, 1992), sirevi tipa kamamera (Mačej, 1989) i kiselokoagulišući sir tipa sirca (Jovanović, 1994).

U tabeli 2 prikazana je dinamika rastvorljivog azota i rastvorljivog azota u VF sira tokom zrenja.

Iz podataka u tabeli 2 vidi se da je prvog dana zrenja sadržaj RN iznosio prosečno 135,48 mg/100 g i kretao se u granicama 77,60–186,20 mg/100 g, dok se nakon 15 dana zrenja sadržaj RN povećao u proseku za 223,24 mg/100 g, odnosno 2,65 puta u odnosu na prvi dan zrenja i u proseku je imao vrednost 358,72 mg/100 g. Nakon 30 dana zrenja uočava se dalje povećanje sadržaj RN, koji je u proseku bio 473,52 mg/100 g i bio je 1,32 puta veći u odnosu na 15-i dan zrenja i 3,50 puta veći u odnosu na sir nakon proizvodnje. Nakon 60 dana zrenja sadržaj RN je u proseku iznosio 672,32 mg/100 g i bio veći za 198,80 mg/100 g, odnosno za 1,42 puta veći u odnosu na 30-i dan zrenja i 4,96 puta veći u odnosu na prvi dan zrenja. Nakon 120 dana zrenja sadržaj RN se u proseku povećao na 845,13 mg/100 g i u odnosu na 60-i dan bio za 172,81 mg/100 g veći, odnosno 1,26 puta veći u odnosu na 60-i dan zrenja i 6,24 puta veći u odnosu na sir nakon proizvodnje.

Da bi se dobila potpunija slika o razgradnji proteina tokom zrenja, uobičajeno je da se rastvorljive azotne materije, s obzirom da su rastvorljive u vodi izra-

žavaju kao RN u VF sira. Podaci o RN u VF sira pokazuju takođe stalnu tendenciju porasta kao i podaci za RN.

Prvog dana zrenja sadržaj RN u VF sira u proseku je bio 249,93 mg/100 g, sa granicama variranja 143,80–344,20 mg/100 g. Nakon 15 dana zrenja sadržaj RN u VF sira prosečno se povećao za 516,44 mg/100 g i bio 3,07 puta veći u odnosu na prvi dan zrenja. Nakon zrenja od 30 dana sadržaj RN u VF sira prosečno je iznosio 1052,27 mg/100 g i bio za 285,90 mg/100 g veći odnosno 1,37 puta veći u odnosu na sir nakon 15 dana zrenja i za 802,34 mg/100 g ili 4,21 puta veći u odnosu na prvi dan zrenja. Nakon 60 dana zrenja sadržaj RN u VF sira prosečno je iznosio 1483,37 mg/100 g i bio za 431,10 mg/100 g veći odnosno 1,41 puta veći u odnosu na 30-i dan. Povećanje u odnosu na 15-i i prvi dan zrenja je iznosilo 1,93 i 5,93 puta. Na kraju perioda zrenja sadržaj RN u VF sira prosečno je iznosio 1873,40 mg/100 g i bio za 390,03 mg/100 g veći, odnosno 1,26 puta veći u odnosu na 60-i dan zrenja i 7,50 puta veći u odnosu na prvi dan zrenja.

Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da se najveća količina rastvorljivih azotnih materija obrazuje u prvih 15 dana zrenja, a da se u daljem toku zrenja sadržaj rastvorljivih azotnih materija ravnomerno povećava.

Ovi podaci su u saglasnosti sa istraživanjima Mačēja (1989), koji je ustanovio da je kod belog sira u salamuri izrađenog

Tabela 2. DINAMIKA RASTVORLJIVOG AZOTA I RASTVORLJIVOG AZOTA U VF TOKOM ZRENJA SIRA
Table 2. DYNAMICS OF WATER SOLUBLE NITROGEN AND WATER SOLUBLE NITROGEN IN MOISTURE DURING CHEESE RIPENING

Izračunati pokazatelji / Calculated parameters	Ispitivani pokazatelji / Investigated parameters				
	RN (mg/100 g) / WSN (mg/100 g)				
	Period zrenja (dani) / Ripening period (days)				
	1	15	30	60	120
min.	77,60	322,10	416,20	527,40	779,80
max.	186,20	459,10	520,30	802,70	895,40
x (n=6)	135,48	358,72	473,52	672,32	845,13
Sd	38,8856	51,2955	36,8835	89,7189	45,9687
Cv (%)	28,70	14,30	7,79	13,34	5,44
Izračunati pokazatelji / Calculated parameters	RN u VF (mg/100 g) / WSN in M (mg/100 g)				
	Period zrenja (dani) / Ripening period (days)				
		1	15	30	60
min.	143,80	707,40	925,30	1167,10	1750,00
max.	344,20	932,60	1170,00	1748,40	2058,40
x (n=6)	249,93	766,37	1052,27	1483,37	1873,40
Sd	69,4122	83,9738	90,6500	188,7155	109,5286
Cv (%)	27,77	10,96	8,61	12,72	5,85

RN – rastvorljivi azot / WSN – water soluble nitrogen

RN u VF – rastvorljivi azot u vodenoj fazi / WSN in M – water soluble nitrogen in moisture

na bazi koagregata proteina mleka najintenzivniji porast rastvorljivih azotnih materija bio između 1. i 10-og dana zrenja. Porast RN bio je veći kod oglednih sireva nego kod sireva izrađenih na tradicionalan način. Ogledni sirevi su imali 1,23 puta veći sadržaj RN u odnosu na sireve proizvedene na tradicionalan način (kontrolne sireve). Prema Walstra i sar. (1993) razgradnja serum proteina u sirevima je sporija. Prema Visser-u (1981) serum proteini, koji su bili identifikovani u rastvorljivim azotnim materijama pri pH 4,6, kod Čedra nisu bili hidrolizovani čak ni nakon 5 meseci zrenja. Banks i sar. (1993) su ustanovili da je Čedar proizveden od mleka termički tretiranog pri različitim temperaturnim režimima kod kojeg su serum proteini bili inkorporirani u sir, imali „nespecifično” zrenje. Međutim, uticaj serum proteina na tok zrenja i karakteristike sireva još uvek je predmet izučavanja. Sva dosadašnja iskustva ukazuju na to da serum proteini imaju direktnog uticaja na teksturu sira i biohemijske procese tokom zrenja (Harper i sar., 1989, Lelièvre, 1995). Prema Puđi i Guinee -u (1998) visoka termička obrada mleka utiče na obrazovanje veće količine niskomolekularnih jedinjenja u početnoj fazi zrenja kod sireva izrađenih od UF mleka, pri čemu se dobija utisak da je sir zreliji nego što jeste. Prema istim autorima u kasnijoj fazi zrenja izostaje obimnija akumulacija niskomolekularnih komponenata, naročito slobodnih aminokiselina, što stvara utisak manje zrelosti sira. Walstra i sar. (1993) navode podatke za količinu RN u UN, izraženu preko peptida različitih molekularnih masa, koji nastaju delovanjem sirila, starter kultura, proteinaza mleka, kao i količinu peptida koji nastaju ukupnim delovanjem svih navedenih faktora kod Gaude tokom zrenja od 6 meseci. Učešće peptida molekularnih masa većih od 14 000 u UN, povećava se sa 1,8%, nakon jednog meseca zrenja, na 5,5% nakon 6 meseci zrenja, dok peptidi molekularne mase 14 000-1 400 imaju vrednost 2,3%, nakon 3 meseca se povećavaju na 3,3% i posle 6 meseci ponovo imaju vrednost od 2,3%. Peptidi molekularnih masa manjih od 1 400 imaju stalni trend povećanja u UN i to 6,1%, 9,1% i 10,8% nakon 1, 3 i 6 meseci zrenja. Rastvorljive azotne materije izražene preko aminokiselina takođe imaju izražen trend rasta tokom zrenja 1-3 meseca i to 2,0%, 4,8% i 7,4%. Ustanovljeno je da tokom zrenja sirilo ima najveći uticaj na stvaranje RN i to učešće se povećava sa 6,7% u prvom mesecu zrenja na čak 17,3% nakon 6 meseci zrenja. Drugi faktor po

važnosti nakon sirila su starter kulture, čije učešće u stvaranju peptida takođe raste sa 2,5% nakon jednog meseca zrenja, na 7,6% za period od 6 meseci. Učešće proteinaza u stvaranju RN materija tokom zrenja povećava se sa 2,0% u toku prvog meseca zrenja na 4,7% u periodu od 6 meseci.

Da bi se dobila potpunija slika o obimu razgradnje proteina i izbegao uticaj drugih činilaca, Duclaux (cit. Đorđević, 1960) je uveo pojam koeficijenta zrelosti (KZ), koji predstavlja učešće RN u ukupnom azotu sira.

Izražavanjem sadržaja RN materija preko KZ, eliminiše se uticaj promene sadržaja vode i SM u siru na kretanje RN materija i dobijaju se mnogo realniji podaci o obimu razgradnje proteina, tako da se mogu upoređivati sa podacima za druge vrste sireva.

U tabeli 3 dati su podaci dinamike KZ tokom zrenja oglednog sira.

Iz podataka u tabeli 3 se vidi da je prvog dana zrenja KZ u proseku iznosio samo 4,42% i kretao se u granicama 2,55–6,02%. Ovaj podatak ukazuje da je prvog dana zrenja KZ bio znatno niži u odnosu na druge sireve koji se proizvode na tradicionalan način (Dozet i sar., 1978, 1996, 1972, Mačej, 1989, Savić, 1997). Nakon 15 dana zrenja KZ se povećao za 5,72%, odnosno 2,29 puta i prosečno je iznosio 10,14%. Nakon 30 dana zrenja zapaža se dalji rast KZ za 2,81% u odnosu na 15-i dan i za 8,53% u odnosu na prvi dan zrenja. Posle zrenja od 60 dana KZ je iznosio u proseku 18,21%, a nakon 120 dana 23,60%. Na kraju perioda zrenja KZ je bio 1,29, 1,82, 2,33 i 5,34 puta veći u odnosu na 60, 30, 15. i prvi dan zrenja.

Tabela 3. DINAMIKA KZ TOKOM ZRENJA SIRA

Table 3. RIPENING COEFFICIENT DYNAMICS DURING THE RIPENING OF CHEESE

Izračunati pokazatelji / Calculated parameters	Ispitivani pokazatelji / Investigated parameters				
	KZ (%) / RC (%)				
	Period zrenja (dani) / Ripening period (days)				
	1	15	30	60	120
min.	2,55	8,58	11,14	14,39	21,43
max.	6,02	13,45	14,13	21,71	26,16
x (n=6)	4,42	10,14	12,95	18,21	23,60
Sd	1,3123	1,7354	1,1016	2,4639	1,8786
Cv (%)	29,71	17,11	8,50	13,53	7,96

KZ – koeficijent zrelosti / RC – Ripening coefficient

Tabela 4. KZ ZA RAZLIČITE VRSTE SIREVA

Table 4. RIPENING COEFFICIENT FOR DIFFERENT CHEESE VARIETIES

Vrsta sira / Cheese variety	Autor / Author	KZ (%) / RC (%)
Čedar / Cheddar	van Slyke i Price (1952)	31,50
Kačkavalj / Kashkaval (3–4 meseca / 3–4 months) (6 meseci / 6 months)	Đorđević (1960)	14,88 17,53
Somborski / Sombor cheese	Petrović (1986)	22,36
Sirac / Sirac	Jovanović (1994)	17,85
Trapist / Trapist (15 dan / 15 day, 38°C/43°C) (30 dan / 30 day, 38°C/43°C) (40 dan / 40 day, 38°C/43°C)	Stefanović i sar. (1977)	21,73/22,05 26,36/31,81 35,36/39,02
Selam (1 dan/ 1 day) (15 dan/ 15 day) (20 dan/ 20 day) (30 dan/ 30 day) (60 dan/ 60 day)	Borota (1990)	3,54 8,08 9,47 11,77 13,10
Beli meki sir / White brined cheese	Živković (1967)	9,46
Beli meki sir / White brined cheese (kontrolni / control) ¹ (ogledni/experimental) ²	Mačej (1989)	12,63 16,32

¹ – kontrolni (sir proizveden na tradicionalan način) / – control (cheese manufactured in traditional manner)

² – ogledni (sir na bazi koagregata) / – experimental (cheese based on milk protein coaggregates)

U tabeli 4 prikazane su vrednosti KZ za različite vrste sireva. Može se zapaziti da se dobijene vrednosti KZ za ogleđne sireve nisu mnogo razlikovale u odnosu na druge sireve, izuzev sireva čije se zrenje odvija u salamuri, pa je zbog različite prirode zrenja, to i razumljivo.

Iz prikazanih rezultata može se zapaziti da se dobijene vrednosti KZ za ogleđne sireve nisu mnogo razlikovale u odnosu na druge sireve, izuzev onih, čije se zrenje odvija u salamuri, pa je zbog različite prirode zrenja to i razumljivo.

ZAKLJUČAK

Generalno se može zaključiti da su promene na proteinima ogleđnog sira bile vrlo intenzivne tokom ispitivanog perioda zrenja, a najintenzivnije su bile u prvih 15 dana.

LITERATURA

- Banks, J.M., Law, A.J.R., Leaver, J. and Horne, D.S.: The inclusion of whey proteins in cheese. A overview in Cheese yield and factors affecting its control. Special issue 9402, IDF. Brussels, (1993) 387–401.
- Benfeldt, C., Sørensen, J., Ellegård, K.H. and Petersen, T.E.: Heat treatment of cheese milk: effect on plasmin activity and proteolysis during cheese ripening. *Int. Dairy J.* 7 (11) (1997) 723–731.
- Borota, M.: Uticaj primene različitog načina zaštite na tok zrenja i osobine sira Selam. Zbornik radova Poljoprivrednog fakulteta, 35, sveska 594 (1990) 151–169.
- Dozet, N., Stanišić, M. i Bijeljac, S.: Komparativna ispitivanja novih tehnoloških postupaka u proizvodnji bijelih salamurnih sireva. *Mljekarstvo* 28 (4) (1978) 78–86.
- Dozet, N., Adžić, N., Stanišić, M. i Živić, N.: Autohtoni mlječni proizvodi. Poljoprivredni institut, Podgorica i Silmir, Beograd, (1996).
- Dozet, N., Stanišić, M., Bijeljac, S. i Prica, V.: Uticaj homogenizacije mlijeka u proizvodnji bijelog mekog sira. *Mljekarstvo* 22 (3) (1972) 50–55.
- Đorđević, J.: Promene belančevina tokom zrenja kačkavalja. Doktorska disertacija. Poljoprivredni fakultet, Beograd, (1960).
- Đorđević, J.: The dynamics of monocalcium paracaseinate during the making and ripening of Kachkaval cheese. XVI Int. Dairy Congress, Kopenhagen, (1962).
- Fox, P.F., Law, J., McSweeney, P.L.H. and Wallace, J.: Biochemistry of cheese ripening in Cheese: Chemistry, physics and microbiology. Volume 1. General aspects. Second edition. Chapter 10, 389–438. Ed. by Fox, P.F., Chapman & Hall, London and New York, (1993).
- Gligorićević, Z. i Savić, Ž.: Uticaj termičke obrade grude na distribuciju azotnih materija tokom mehanizovane proizvodnje kačkavalja. *Arh. poljopr. nauke* 61, 211 (1–2) (2000) 309–318.
- Grufferty, M.B. and Fox, P.F.: Milk alkaline proteinase. Review article. *J. Dairy Res.* 55 (4) (1988) 609–630.
- Harper, J., Iyer, M., Knighton, D. and Lelièvre, J.: Effects of whey proteins on the proteolysis of Cheddar cheese slurries (A model for the maturation of cheeses made from ultrafiltered milk). *J. Dairy Sci.* 72 (2) (1989) 333–341.
- International Dairy Federation (IDF): Milk. Determination of nitrogen content (Kjeldahl method) and calculation of crude protein content. IDF Standard 20B (1993).
- Jovanović, S.: Uticaj pojedinih faktora i tehnoloških operacija u proizvodnji kiselinskih sireva. Magistarski rad, Univerzitet, Banja Luka, (1994).
- Lawrence, R.C. and Lelièvre, J.: Whey proteins in cheese. Proceedings of the XXIII International Dairy Congress "Dairying in a changing world". Volume 3, Montreal, (1990) 1880–1888.
- Lelièvre, J.: Whey proteins in cheese—an overview in Chemistry of structure-function relationships in cheese. Ed. by Malin E.L. and Tunick, M.H. Plenum Press, New York and London, (1995) 359–365.
- Mačej, O.: Proučavanje mogućnosti izrade mekih sireva na bazi koagregata belančevina mleka. Doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu, (1989).
- Mišić, D.: Uticaj dodavanja NaCl mleku pre podsiravanja na osobine belog mekog sira. Magistarski rad. Poljoprivredni fakultet, Beograd, (1969).
- Pejić, O. i Đorđević, J.: Mlekarski praktikum. Drugo, izmenjeno izdanje. Naučna knjiga, Beograd, (1963).
- Petrović, D.: Uticaj tehnološkog procesa proizvodnje na zrenje somborskog sira. Doktorska disertacija. Poljoprivredni fakultet, Beograd, (1986).
- Puđa, P.: Karakteristike tvrdih sireva izrađenih od mleka koncentrovanog ultrafiltracijom u zavisnosti od termičke obrade mleka. Doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu, (1992).
- Puđa, P.D. i Guinee, T.P.: Koagulacija mleka: značaj koncentracije kazeina i termičkog tretmana. Zbornik radova III jugoslovenskog simpozijuma prehrambene tehnologije. Sveska IV, Beograd, (1998) 66–70.
- Rollema, H.S. and Poll, J.K.: The alkaline milk proteinase system: Kinetics and mechanism of heat-inactivation. *Milchwiessenshaft* 41 (9) (1986) 536–540.
- Savić, Ž.: Komparativna istraživanja kvaliteta Sjeničkog sira proizvedenog autohtonom tehnologijom i u industrijskim uslovima. Magistarska teza, Poljoprivredni fakultet, Beograd, (1997).
- Stanković, J., Ralević, N. i Ljubanović-Ralević, I.: Statistika sa primenom u poljoprivredi. Savremena administracija, Beograd, (1989).
- Stefanović, R., Đorđević, J., Janać, P., Mišić, D., Petrović, D.: Uticaj dogrevanja zrna na tok zrenja trapista. Zbornik radova 6. jugoslovenskog mednarodnog simpozija "Sodobna proizvodnja in predelava mleka", Portorož, (1977) 637–645.
- Van Slyke, L.L. and Price, W.V.: Cheese. Orange judd publishing co. New York, (1952).
- Visser, S.: Proteolytic enzymes and their action on milk proteins. A review. *Neth. Milk Dairy J.* 35 (1981) 65–88.
- Walstra, P., Noomen, A. and Geurts, T.J.: Dutch-Type varieties in Cheese: Chemistry, physics and microbiology. Volume 2. Major cheese groups. Second edition. Chapter 2, 39–82. Ed. by Fox, P.F., Chapman & Hall, London and New York, (1993).
- Živković, Ž.: Dinamika azotnih materija za vreme zrenja belog mekog sira. Doktorska disertacija. Poljoprivredni fakultet, Beograd, (1964).

SUMMARY**PROTEOLYTICAL CHANGES DURING SEMI-HARD CHEESE RIPENING BASED ON MILK PROTEIN COAGGREGATES**

Jovanović, S., Mačej, O., Barać, M., Vučić, T., Jovanović, Z.

University of Belgrade, Faculty of Agriculture, Institute for Food Technology and Biochemistry

The severe heat treatment of milk designed for production of cheese (temperature higher than 85°C applied during the period of 10 minutes and more), results in formation of chemical complex between casein and whey proteins, signed as: milk protein coaggregates. Therefore, whey proteins are incorporated in curd, and cheese made of this milk shows some differences compared to traditionally made cheese, both by its composition and sensor characteristics, above all the texture of curd.

Changes of proteins and products of their degradation are the most significant of all the changes that appear during the ripening of cheese. Therefore the ripening of cheese usually implies changes of proteins. Size and depth of proteolitical changes are connected to technological production process, ripening conditions and microbial activity. That is the reason why these changes are not the same in different cheese varieties, and why degradation of proteins has the main influence on sensor and rheological characteristics of cheese. The assumption of this research was that both heat treatment of milk and curd processing have influence on characteristics of proteins as substrate. During ripening, proteins are hydrolyzed, and presence of whey proteins influences lower casein content in total protein content of cheese. The influence of whey proteins on cheese characteristics is still the object of research. Factors as cheese variety, amount of whey proteins, state of whey proteins (native or denaturized), and degree of their aggregation with casein, influence the degree of cheese characteristics changes.

During ripening of experimental cheeses for 4 months, nitrogen matter changes were observed. Significant changes of milk proteins, regarding increase of soluble nitrogen matter content, were observed. Soluble nitrogen content after production, 15, 30, 60 and 120 days of ripening was: 135.48 mg%, 358.72 mg%, 473.52 mg%, 672.32 mg% and 845.13 mg%, respectively. Along with soluble nitrogen content increase, coefficient of ripening increased and for the same ripening period was: 4.42%, 10.14%, 12.95%, 18.21% and 23.60%, respectively.

Key words: coaggregates • semi-hard cheese
• proteolysis