

SNEŽANA T. JOVANOVIĆ
MIROLJUB B. BARAĆ
OGNJEN D. MAČEJ

Poljoprivredni fakultet,
Univerzitet u Beogradu

637.047:577.15:637.334.2

FAKTORI ENZIMSKE KOAGULACIJE MLEKA

Na primarnu i sekundarnu fazu koagulacije mleka i reološke osobine gruša utiče veći broj faktora od kojih su najznačajniji: koncentracija kazeina, pH mleka, koncentracija enzima, koncentracija kalcijumovih jona, temperatura koagulacije, kao i režim prethodne termičke obrade mleka. Vrsta i koncentracija jona u velikoj meri utiče na brzinu koagulacije mleka pod dejstvom himozina. Pored kalcijumovih jona, i drugi joni imaju uticaja na koagulaciju mleka kojem je dodat himozin. Od ostalih faktora, koji su značajni za enzimsku fazu, ili fizičko-hemijsku fazu koagulacije mleka, od posebnog značaja je kiselost odnosno pH mleka. Snižanjem pH vrednosti mleka povećava se brzina enzimske faze koagulacije mleka sirilom i postiže maksimum pri pH 6.0.

Istraživanja su pokazala da termički tretmani, koji se koriste u tehnologiji mleka, imaju velikog uticaja na primarnu i sekundarnu fazu koagulacije mleka sirilom. Prethodni termički tretmani, koji izazivaju denaturaciju serum proteina i obrazovanje koagregata, produžavaju vreme obrazovanja gela i smanjenje brzine njegovog očvršćavanja. Kao rezultat ovoga obrazuje se finiji gel, koji karakteriše slabiji sinerezis i veća umreženost. Uticaj niskih temperatura na mleko ogleda se na različite fizičko-hemijske, biohemijske i mikrobiološke promene, koje imaju za posledicu produženje vremena koagulacije pod dejstvom sirila i manji randman si-

reva. Tehnološke operacije separiranje mlečne masti i homogenizacija utiču na povećanje brzine koagulacije u momentu kada ona počne.

Ključne reči: koagulacija • mleko • pH • sirilo • termički tretman • temperatura

UVOD

Koagulacija mleka pomoću proteolitičkih enzima predstavlja jednu od najstarijih tehnoloških operacija u sirarstvu (1, 11, 12, 14, 24, 25, 26, 29, 42, 49, 71, 81, 82, 87, 94, 104). Od davnina je poznato da mleko koagulise ako mu se doda ekstrakt četvrtog dela želuca (sirište) mladih preživara, koji se naziva sirilo. Koagulacija mleka pomoću sirila, u kojem su najznačajniji enzimi himozin i pepsin, interesantna je kako sa fiziološkog aspekta, s obzirom da je himozin najvažniji enzim u želucu teladi, tako i sa tehnološkog aspekta, s obzirom na njihov značaj u sirarstvu.

Koagulacija se može predstaviti kao dvofazni proces koji obuhvata primarnu fazu, tokom koje dolazi do hidrolize κ -kazeina, i sekundarnu fazu, u kojoj dolazi do povezivanja hidrolizovanih kazeinskih micela, odnosno para- κ -kazeina u prisustvu jona Ca^{2+} i obrazovanje gela (14,24,36,101).

Primarna ili enzimska faza koagulacije

Delovanje himozina na kazeinsku micelu uključuje određeni broj nekvalentnih interakcija između himozina i κ -kazeina, kao što su: elektrostatsko odbijanje, specifično jonsko vezivanje,

obrazovanje vodoničnih veza, hidrofobne interakcije i hidratacijsko odbijanje. Uslovi sredine utiču na jačinu interakcije između himozina i κ -kazeina, pa samim tim i na brzinu hidrolize κ -kazeina i obrazovanje para- κ -kazeina (5, 6, 11, 14, 110). U primarnoj fazi dolazi do hidrolize peptidne veze između Phe105-Met106 u κ -kazeinu, pri čemu nastaje glikomakropeptid (GMP), koji je jako hidratisan, i para- κ -kazein, koji ima izražena hidrofobna svojstva (11, 14,16,24).

U primarnoj akciji himozina hidrolizuje se samo κ -kazein. Para- κ -kazein se sastoji od 1–105-te, a glikomakropeptid od 106–169-te aminokiselinske rezidue (11,14,16,24,45).

Hidroliza κ -kazeina praćena je sledećim fizičko-hemijskim promenama:

- oslobađanjem jako naelektrisanog i hidrofилnog makropeptida C-terminalne frakcije κ -kazeina sa površine kazeinske micelle, koji obezbeđuje stabilnost kazeina preko Braunovog kretanja, elektrostatičkog, steričnog (prostornog) odbijanja i hidratacije,
- redukcijom naelektrisanja na površini micelle (18,45,86),
- smanjenjem hidratacije kazeinske micelle (10,111,113). Ove promene prouzrokuju smanjenje intenziteta odbojnih sila između micela, povećavaju intenzitet privlačnih sila između micela i smanjuju interakciju između kazeina i vode,
- povećanjem osetljivosti para- κ -kazeinskih micela ka agregaciji (45).

Adresa autora: Dr Snežana Jovanović, docent, Poljoprivredni fakultet, Nemanjina 6, 11080 Zemun. Tel: 011/2615–315 lok. 368

Hidrolizom κ -kazeina gubi se stabilnoća uloga κ -kazeina, i redukuje ζ -potencijal kazeinske micela sa -10 do -20 mV na -5 do -7 mV, a time i intermolekularne sile odbijanja i stabilnost kazeinskog koloidnog sistema (8,16,32,115). Himozin može da vrši i hidrolizu β - γ - α_{s1} -kazeina (24,38,49,82, 89). Kod α_{s1} -kazeina posebno osetljive veze su između Phe-Phe (23–24) i Phe-Val (24–25) (38,49). Pri pH 5.0–6.2 himozin može da hidrolizuje najmanje 25 peptidnih veza u α_{s1} -B kazeinu (14, 32,38). Hidroliza κ -kazeina praćena je raskidanjem peptidnih veza između aminokiselina Ser-Leu (164–165), Ala-Phe (189–190) i Leu-Tir (192–193). Sva tri peptida imaju gorak ukus (14,38). Postoje različita mišljenja o tome koja količina κ -kazeina treba da se hidrolizuje, da bi nastupila koagulacija mleka. Prema nekim autorima (9,11,45, 108) potrebno je da hidrolizuje 80–97% κ -kazeina da bi došlo do agregacije. Međutim, istraživanja su pokazala da vidljiva koagulacija mleka može da nastane pri različitom obimu hidrolize κ -kazeina, što zavisi od uslova pri kojima se odvija enzimski faza koagulacije (5,6,41). Za vreme primarne faze koagulacije, viskozitet mleka u početku opada (24,87). Prema rezultatima Green i sar. (43), pri temperaturi od 30°C viskozitet mleka, kojem je dodato sirilo, ostaje konstantan, ili se smanjuje na 96% od početne vrednosti. Nakon 65% od vremena dodavanja sirila do pojave vidljive koagulacije, viskozitet počinje da raste i smatra se da je u tom intervalu 86% enzimski faze praktično završeno. Prema istim autorima, povećanje viskoziteta mleka za vreme trajanja enzimski faze je rezultat agregacije micela u parove i kraće lance, i početak obrazovanja trodimenzionalne mreže.

Sekundarna ili fizičko-hemijska faza koagulacije

Sekundarna faza počinje pre nego što je završena primarna faza, pri čemu se parakazeinske micela, uz aktivno učešće kalcijumovih jona, međusobno agregiraju i obrazuju trodimenzionalnu mrežu gela, koji ne pokazuje pravilnost u pogledu strukture, i u koji su uklopljeni i drugi sastojci mleka (14, 16,40,71). To znači da se primarna i sekundarna faza međusobno preklapaju, pri čemu vremenski kašnjenje sekundarne faze zavisi od različitih faktora koagulacije. Prema teoriji fibrilarne

strukture, odvajanjem hidrofilnog dela κ -kazeina (filamenta) iz kazeinske micela, stvaraju se uslovi za početak agregacije parakazeinskih micela. S obzirom na polidisperznost kazeinskih micela, broj slobodnih mesta za njihovo agregiranje obrnuto je proporcionalno njihovom prečniku. Prvo se agregiraju micela sa manjim prečnikom, koje obrazuju nerazgranate lance. Prema Dalgleishu (14), u procesu agregiranja dominiraju hidrofobne veze.

Faktori koji utiču na koagulaciju mleka sirilom

Na primarnu i sekundarnu fazu koagulacije mleka i reološke osobine gruš utiče veći broj faktora od kojih su najznačajniji: koncentracija kazeina, pH mleka, koncentracija enzima, koncentracija kalcijumovih jona, temperatura koagulacije, kao i režim prethodne termičke obrade mleka (5,6,12,24,25,26, 27,29,52,53,59,65,66,69,70,71,72,73,74, 76,81,87,92,94,101,104).

a) Koncentracija enzima

Brzina enzimski faze koagulacije je direktno proporcionalna koncentraciji himozina i ova zavisnost grafički predstavlja pravu liniju (11,19,24,35,64,79, 80,100,118).

Vreme koagulacije se smanjuje povećanjem koncentracije sirila zbog povećanja brzine hidrolize κ -kazeina. Veća koncentracija sirila povećava brzinu očvršćivanja gruš i postiže se njegova veća čvrstina (37,46). McMahon i Brown (78) su ustanovili da je vreme koagulacije obrnuto proporcionalno sa koncentracijom sirila.

Na mikrostrukturu gela, osim koncentracije sirila, utiče i vrsta sirila. Koriscenjem himozinskog sirila gruš se uglavnom sastoji od isprepletenih proteinskih lanaca, dok se upotrebom mikrobiološkog sirila udeo lanaca smanjuje, a povećava udeo „grozdova“ (37).

b) Temperatura koagulacije

Temperatura mleka ima veliki uticaj na enzimski fazu koagulacije. Najveća brzina je pri optimalnoj temperaturi delovanja himozina (14,20,23,24, 33,101,103,121).

Kelly (cit. 29) je ustanovio da se sa povećanjem temperature do 40°C, vreme koagulacije skraćuje. Iznad ove temperature smanjuje se aktivnost enzima, jer dolazi do njegove inaktivacije.

Zoon i sar. (121) su zaključili da se u temperaturnom intervalu između 20°C i 35°C vreme koagulacije skraćuje. Prema istim autorima, na temperaturi od 40°C vreme koagulacije je bilo duže nego na 35°C, što se objašnjava početkom inaktivacije himozina na toj temperaturi. Prema rezultatima Scott Blair i Burnett-a (103), povećanjem temperature od 21°C na 41°C vreme koagulacije se značajno skraćuje. Povećanje temperature za 1°C vreme neenzimski faze se skraćuje za 1.3–1.6 puta (24). Ustanovljeno je da sirišni enzim ispoljava aktivnost i pri temperaturama nižim od 10°C, ali je ona mala i nije dovoljna da izazove gelifikaciju mleka (24,29,33).

c) Vrsta i koncentracija jona

Vrsta i koncentracija jona u velikoj meri utiču na brzinu koagulacije mleka pod dejstvom himozina.

Istraživanja su pokazala da koagulacija mleka može da nastane pri različitom obimu hidrolize κ -kazeina, što između ostalog zavisi i od koncentracije kalcijumovih jona u mleku (4,5,6,7, 24,33,41,102,107,109,122). Skraćivanje vremena koagulacije sa povećanjem koncentracije kalcijumovih jona, koji su dodati u mleko u obliku CaCl_2 , rezultat je i sniženja pH vrednosti mleka. Međutim, dodavanje, ili uklanjanje kalcijumovih jona, ne utiče na brzinu enzimski reakcije ukoliko se pH vrednost održava konstantnom. S druge strane, uticaj kalcijumovih jona na fizičko-hemijsku fazu koagulacije je veoma značajan, jer je potrebna minimalna koncentracija kalcijumovih jona da bi počela faza agregacije para-kazeinskih micela i obrazovanje gela. Iznad ove minimalne koncentracije kalcijumovih jona, vreme koagulacije se skraćuje, dok se pri veoma visokim koncentracijama vreme koagulacije produžava i pri uslovima održavanja konstantne pH vrednosti (122). Prema Bringe i Kinsell-i (6), male koncentracije kalcijumovih jona povećavaju brzinu hidrolize κ -kazeina, dok povećanje koncentracije CaCl_2 iznad 8 mM izaziva značajno smanjenje brzine hidrolize. CaCl_2 povećava sposobnost para-kazeinskih micela da se agregiraju. Mala agregacija para-kazeinskih micela je primećena pri koncentraciji CaCl_2 od 0–6 mM, čak i pošto je celokupna količina κ -kazeina prethodno hidrolizovana. Povećanjem koncentracije CaCl_2 od 3 mM do 60 mM, skraćuje se vreme vidljive koagulacije i smanjuje

količina κ -kazeina koja treba da se hidrolizuje, da bi nastupila koagulacija. Pri koncentraciji od 3 mM CaCl_2 , potrebno je da hidrolizuje $71 \pm 7\%$ κ -kazeina, a pri koncentraciji od 60 mM samo $26 \pm 8\%$ κ -kazeina (6).

Postoje različita objašnjenja kako dodavanje CaCl_2 utiče na brzinu hidrolize κ -kazeina. Prema Walstra i Jenness-u (116), CaCl_2 ne utiče direktno na hidrolizu κ -kazeina. Dodavanje CaCl_2 u mleko izaziva oštro sniženje pH mleka, što ima za posledicu znatno povećanje aktivnosti himozina (6). Smatra se da CaCl_2 ubrzava koagulaciju para-kazeinskih micela tako što izaziva promenu u strukturi para- κ -kazeina, pri čemu dolazi do ekspozicije hidrofobnih mesta na koja se vezuje himozin (85), i sniženje ζ -potencijala para-kazeinskih micela (13). Dalgleish (12) je ustanovio da se agregacija potpuno hidrolizovanog kazeina značajno povećava dodavanjem 2.5–5 mM CaCl_2 . Bringe i Kinsella (6) su ustanovili da se dodavanjem CaCl_2 povećava sposobnost kazeinskih micela da se agregiraju pri svakom obimu hidrolize κ -kazeina.

Pored kalcijumovih jona, i drugi joni imaju uticaja na koagulaciju mleka kojem je dodat himozin.

Istraživanja Đorđević i Carić (26) pokazala su da se vreme koagulacije mleka povećava 3.17–3.49 puta, kada se kalcijumovi joni zamene sa ekvivalentnom količinom magnezijumovih jona. Iz toga proističe zaključak da magnezijumovi joni imaju manji afinitet prema para-kazeinatu nego kalcijumovi joni. Isto tako, i soli koje sa kalcijumovim jonima obrazuju nerastvorljive, ili slabo disosovane soli, produžavaju vreme koagulacije, ili mogu da je u potpunosti spreče (dodavanje K-Na-tartarata, Na-citrata, Na-polifosfata, Na-fosfata) (24,25). Dodavanje NaCl povećava voluminoznost kazinskih micela i menja jonsku jačinu rastvora kazeina i himozina (23). Dodavanje NaCl u mleko može jako da uspori koagulaciju mleka, pri čemu se obrazuje mek i pahuljičast gruš, koji je nepodesan za dalju preradu u sir. Natrijum supstituiše deo kalcijuma iz kalcijum-para kazeinata, pri čemu on postaje jače hidratisan i ima manju sposobnost međusobnog spajanja i obrazovanja gela (114,123). Van Hooydonk i sar. (114) su ustanovili da dodavanje NaCl u mleko izaziva sniženje pH i produženje vremena gelifi-

kacije, i ima mali uticaj na brzinu očvršćavanja gruša sa povećanjem koncentracije NaCl. Isti autori su zaključili da povećanje koncentracije Zn^{2+} usporava koagulaciju, dok povećanje koncentracije jona barijuma, kalcijuma, mangana i magnezijuma skraćuje vreme koagulacije. Zoon i sar. (123) su zaključili da povećanje koncentracije NaCl zahteva i veću koncentraciju sirila da bi se postiglo isto vreme koagulacije ako nije dodat CaCl_2 . Povećanje koncentracije NaCl ima za posledicu i povećanje koncentracije kalcijumovih jona u mleku, verovatno usled supstitucije micelarno vezanog kalcijuma sa natrijumom.

d) pH mleka

Od ostalih faktora koji su značajni za enzimsku fazu, ili fizičko-hemijsku fazu koagulacije mleka, od posebnog značaja je kiselost, odnosno pH mleka (5,6,24,61,87).

Sniženjem pH vrednosti mleka povećava se brzina enzimske faze koagulacije mleka sirlom i postiže maksimum pri pH 6.0 (16,32,60,75,123). Poznato je da se sadržaj himozina u grušu povećava sa sniženjem pH mleka (51). Adsorpcija himozina na κ -kazein povećava se od 0% pri pH 7.0 do oko 90% pri pH 5.0 (61). Larsson i sar. (61) su ustanovili da se adsorpcija himozina na sintetičke (veštačke) kazeinske micelle povećava kod onih sa većim sadržajem κ -kazeina u pH intervalu 5.6–6.4. Vreme koagulacije se značajno skraćuje sa sniženjem pH vrednosti mleka (59,62,123). Puhan (cit. 26) je u svojim istraživanjima utvrdio da se sniženjem pH sa 6.7 na 6.6, aktivnost himozina povećava za 40%, pri pH 6.48 za 83.2%, a pri pH 6.35 himozin je bio za 133.9% aktivniji nego pri pH 6.7. Đorđević i sar. (28) su ustanovili da se povećanjem titracione kiselosti mleka skraćuje i vreme koagulacije mleka. Isti autori su utvrdili da i malo povećanje koncentracije kalcijumovih jona iznad one u svežem mleku, izaziva značajno skraćivanje vremena koagulacije. Sniženje pH indirektno utiče na povećanje stepena disocijacije CCP i povećanje koncentracije kalcijumovih jona, a direktno na smanjenje naelektrisanja kazeinskih micela, što sve utiče na skraćivanje vremena koagulacije (5,6,62). pH vrednost ima velikog uticaja na brzinu očvršćavanja gruša i broj agregiranih kazeinskih micela (63). Ove promene

su najviše izražene u pH intervalu 6.4–6.7, kada se postiže i najveće skraćivanje vremena koagulacije (109). Prema Storry i Ford-u (109), brzina obrazovanja gruša je najveća pri pH 6.0.

Iz svega napred iznetog može se zaključiti da svi ovi faktori, koji utiču na brzinu enzimske i neenzimske faze koagulacije, imaju direktnog uticaja na reološke osobine gruša, pre svega na njegovu čvrstinu. To znači da mleko koje koaguliše pri višim temperaturama, većoj koncentraciji kalcijumovih jona i nižem pH, brže koaguliše i obrazuje čvršći gruš, grublje strukture, sačinjen od proteinskih lanaca veće debljine, koji čine mrežu sa manjim brojem većih okaca, ili šupljina u mreži. Ovakav gruš se mnogo brže kontrahuje i brže se izdvaja surutka.

Uticaj tehnoloških operacija na enzimsku koagulaciju mleka

a) Termički tretman mleka

Termički tretmani koji se koriste u tehnologiji mleka imaju velikog uticaja na primarnu i sekundarnu fazu koagulacije mleka sirlom.

Kannan i Jenness (57) su eksperimentalno utvrdili da smeša kazeina i β -laktoglobulina, nakon zagrevanja, sporije koaguliše u odnosu na termički netretirane uzorke. Ovo može da se objasni obrazovanjem hemijskog kompleksa između serum proteina i kazeina (koagregata proteina mleka) pod dejstvom visokih temperatura. Međutim, ukoliko se mleko zagreva u prisutvu agenasa koji blokiraju -SH grupe β -laktoglobulina, vreme koagulacije se skraćuje za 75% (5,6,12,24,26,29,65,66,69,71,72). Marshall (77) i Singh i Fox (106) su izneli mišljenje da stroži režimi termičke obrade mleka više utiču na sekundarnu, nego na primarnu fazu koagulacije. Prema istraživanjima Dalgleish-a (15), pri zagrevanju mleka na 85°C i 90°C, dolazi do linearnog povećanja vremena koagulacije, dok pri blažim termičkim tretmanima (75°C i 80°C) ovo povećanje nije linearno sa dužinom zagrevanja.

Prema Guinee i sar. (48) prethodni termički tretmani, koji izazivaju denaturaciju serum proteina i obrazovanje koagregata, produžavaju vreme obrazovanja gela i smanjenje brzine njegovog očvršćavanja. Kao rezultat ovoga obrazuje se finiji gel kojeg karakteriše slabiji sinerezis i veća umreženost (93). Pod dejstvom visokih temperatura može da

dođe i do izdvajanja peptida iz kazeina, koji je sličan onom koji se oslobađa pod dejstvom himozina, što takođe ima uticaja na brzinu primarne faze koagulacije mleka. Ugljeni hidrati, koji su prisutni u κ -kazeinu (kazein-makropeptidu), izdvajaju se zajedno sa makropeptidom, što verovatno ima uticaja na konformaciju himozin-osetljivog κ -kazeinskog dela, a samim tim i na mogućnost interakcije himozina sa κ -kazeinom (14,50,105,112). Mačej (65, 66), Mačej i sar. (72) su ispitivali uticaj važnijih faktora na brzinu koagulacije mleka pri različitim temperaturama i zaključili da na brzinu koagulacije najviše utiče pH, zatim koncentracija kalcijumovih jona, a najmanji uticaj ima temperatura koagulacije. Puđa (91) i Guinee i sar. (47) su ustanovili da najveći uticaj na brzinu koagulacije kod mleka u kojem su obrazovani koagregati ima koncentracija proteina i pH mleka. Jovanović i sar. (54) su ispitivali brzinu koagulacije mleka (s) u zavisnosti od pH mleka (6.5 i 5.8), količine dodatog CaCl_2 (0, 200 mg/l i 400 mg/l), temperature koagulacije (30°C i 35°C) i režima termičke obrade mleka (65°C/30 min. i 87°C/10 min). Ustanovljeno je da uzorci mleka termički tretirani na 87°C/10 min. kojima je dodato 400 mg/l CaCl_2 , čija je temperatura koagulacije bila 35°C, a pH 5.8 koagulisali su 23.28 puta brže u odnosu na iste uzorke kod kojih nije dodat CaCl_2 , čiji je pH bio 6.5, a temperatura koagulacije 30°C. Rezultati istraživanja koji se odnose na uticaj pojedinačnih faktora koagulacije pokazali su da je uticaj Ca^{2+} , s jedne strane, i temperatura koagulacije, s druge strane, bio jače izražen kod mleka u kojem su obrazovani koagregati, pri čemu je ovaj uticaj bio naročito izražen pri pH 6.5. Pri pH 5.8 različite koncentracije Ca^{2+} i primenjene temperature koagulacije nisu imale veliki uticaj na brzinu koagulacije bez obzira na primenjeni režim termičke obrade. pH mleka imao je najveći uticaj na brzinu koagulacije mleka. Uticaj pH najviše je bio izražen kod uzoraka u kojima su prethodno obrazovani koagregati pri svim koncentracijama Ca^{2+} i primenjenih temperatura koagulacije.

Pri strožim režimima termičke obrade mleka povećava se i kiselost mleka zbog hemijskih promena na laktozi, defosforilizacije kazeina i precipitacije CCP (30,34).

U istraživanjima Singh i sar. (107) mleko je zagrevano u temperaturnom intervalu od 70–100°C/10 min. i temperaturnom intervalu 110–140°C/5 min. Nakon termičkog tretmana mleku je podešena kiselost u pH intervalu od 6.6–5.6, a vreme koagulacije je određivano na temperaturi od 30°C. Istraživanja su pokazala da su svi uzorci mleka zagrevani na temperaturi višoj od 80°C i čiji je pH bio veći od 5.8 imali produženo vreme koagulacije. Uzorci mleka zagrevani na 110–140°C u vremenu od 5 minuta nisu koagulisali pri pH 6.6. Isti autori su ustanovili da ukoliko se termički tretirano mleko nakon acidifikacije ponovo neutralizacijom dovede do pH 6.6, dolazi do obrazovanja čvršćeg gruša delovanjem himozina, nego kod nezagrevanog mleka, a vreme koagulacije je kraće. Marshall (77) i Banks i Muir (4) su utvrdili da se sniženjem pH i dodavanjem CaCl_2 anulira uticaj termičkog tretmana i dobija gruš dobrih reoloških karakteristika. Prema van Hooydonk i sar. (112), sniženjem pH termički tretiranog mleka na 6.0, skraćuje se vreme koagulacije. Dodavanjem 4 mM CaCl_2 , pri konstantnom pH, vreme koagulacije zagrevanog mleka se skraćuje, ali se nikad ne postiže vreme koagulacije nezagrevanog mleka.

Sve ovo ukazuje, da treba korigovati mišljenje prema kojem je produženo vreme koagulacije mleka u kojem su obrazovani koagregati, ili koje je termički tretirano pri blažim režimima termičke obrade, isključivo posledica smanjenja koncentracije kalcijumovih jona pod dejstvom visokih temperatura. Sa dodatkom CaCl_2 u mleko, kojim se obezbeđuje i veća koncentracija kalcijumovih jona nego u sirovom mleku, nije moguće postići vreme koagulacije sirovog (nezagrevanog) mleka. Čak, i sa povećanjem kiselosti mleka do pH 6.0, radi prevođenja jednog dela nerastvorljivog kalcijuma u rastvorljivi oblik, ne regeneriše se u potpunosti osetljivost kazeina prema sirišnom enzimu (24,72). Prema istraživanjima Mačej i sar. (71,72), Mačej i Jovanović (69) i Jovanović (52), od mleka u kojem su obrazovani koagregati dobija se gruš lošijih reoloških karakteristika u odnosu na gruš dobijen od sirovog i niskopasterizovanog. Gruš je mekan, rastresit, nepovezan, teško izdvaja vodu i nije podestan za dalju obradu i preradu. Sniženjem pH, povećavanjem koncentracije kalcijumovih jona, koncentracije proteina i temperature koagulacije, u velikoj meri se poboljšavaju reološke karakteristike gruša (66,67,68,90,91).

tracije kalcijumovih jona, koncentracije proteina i temperature koagulacije, u velikoj meri se poboljšavaju reološke karakteristike gruša (66,67,68,90,91).

b) Hlađenje mleka

Istraživanja su pokazala da uticaj niskih temperatura na mleko ne treba posmatrati samo sa stanovišta njihovog delovanja na razvoj mikroorganizama i produženje njegove trajnosti, već i sa stanovišta fizičko-hemijskih promena i tehnoloških osobina mleka.

Za vreme čuvanja ohlađenog mleka dešavaju se različite fizičko-hemijske, biohemijske i mikrobiološke promene, koje imaju za posledicu produženje vremena koagulacije pod dejstvom sirila i manji randman sireva (2,3,21,58, 95,96,98,99). Za vreme čuvanja ohlađenog mleka dešavaju se promene u sonoj ravnoteži Ca-fosfat/citrat (95,96, 98,99,117), dolazi do delimične dezagregacije kazeinskih micela (30,34,83, 84) i povećanja količine rastvorljivih azotnih materija u serumu (serum kazein) (24,97). Peters i Knoop (88) smatraju da prelazak jednog dela κ -kazeina sa površine micela u serum kod ohlađenog mleka može da bude jedan od razloga sporijeg obrazovanja gruša pod dejstvom sirila. Postoji generalno mišljenje da se koncentracija rastvorljivog kazeina povećava za vreme čuvanja mleka na temperaturi od 2–4°C, pri čemu više od 42% ukupnog kazeina disosuje u toku 48 časova na temperaturi od 4°C (2,97). Na temperaturi od 4°C, 20°C i 30°C količina κ -kazeina u serumu iznosi 8%, 15% i 20% (97). Ispitivanje disocijacije različitih elektroforetskih komponenti kazeina, pri različitim pH vrednostima (4.9–6.7) i pri istim uslovima temperature, kao u prethodnom radu, obavili su Dalglish i Law (17). Suprotno ranijim istraživanjima, autori su došli do zaključka da iz micela disosuju sve elektroforetske komponente, pri čemu je količina β -CN bila najveća. Količina elektroforetskih komponenti i njihov međusobni odnos je zavisio od pH i temperature, naročito od temperature na kojoj je mleko prethodno čuvano. Na temperaturi 4°C ustanovljena je slaba korelacija između elektroforetskih frakcija kazeina: α_{s1} , β -i κ -kazeina. Naime, disocijacija ove tri elektroforetske komponente je tekla nezavisno jedna od druge. Prema Fox-u, (31) čuvanje ohlađenog mleka negativno utiče na sposobnost koagulacije

mleka pomoću sirila, što je posledica više faktora. Jedan od njih je rastvaranje CCP-a, pri čemu je proces reverzibilan primenom HTST pasterizacije ili zagrevanjem na 40°C/10 minuta. Drugi faktor je disocijacija nekih kazeina iz kazeinskih micela, naročito β -CN, pri čemu je proces takođe reverzibilan. Sledeći razlog je proteoliza kazeina pomoću nativnih proteinaza mleka, naročito plazmina na disosovani β -CN i proteoliza kazeina izazvana enzimima psihrotrofnih mikroorganizama, koja je posebno izražena u slučaju kada je njihov broj veći od 10^6 – 10^7 cfu/ml mleka. Primenom termičkog tretmana na 60°C/30 minuta, dolazi do reasocijacije kazeinskih micela, što je od značaja za sirarstvo, jer u protivnom može da dođe do smanjenja randmana sira i preko 10% (97,99).

Sve ovo navodi na zaključak da hlađenje i vreme čuvanja ohlađenog mleka može da se odrazi na tok koagulacije mleka sirlom i reološke osobine gruš, koje će se razlikovati od onih kod svežeg mleka, koje prethodno nije bilo podvrgnuto hlađenju. Takođe je ustanovljeno da duže čuvanje mleka na niskim temperaturama može, da pogorša kvalitet sireva usled proteolitičkog delovanja psihrofilnih bakterija, koje stvaraju produkte hidrolize gorkog ukusa koji se iz mleka prenose u sir. Ovo se posebno javlja ako je proces hlađenja spor (3–6 časova).

c) Standardizacija i homogenizacija mleka

Separiranje mlečne masti i homogenizacija utiču na povećanje brzine koagulacije u momentu kada ona počne (22,102). Sadržaj masti utiče na vreme očvršćavanja gruš i njegovu čvrstinu. Prema Guineey i sar. (48), homogenizacijom se usitnjavaju masne kapljice na koje se adsorbuju kazeinske micelle, koje na taj način dobijaju pseudoproteinski karakter, i postaju sastavni deo proteinskog matriksa koji se obrazuje koagulacijom mleka pomoću sirila. Prema istim autorima, povećanje sadržaja mlečne masti utiče na skraćivanje vremena koagulacije i očvršćavanja gruš. Green i sar. (44) su ustanovili da je obim agregacije kazeinskih micela i obrazovanje gruš upola manji nego kod nehomogenizovanog mleka. Homogenizovane masne kapljice se bolje i lakše uklapaju u proteinski matriks zbog adsorpcije kazeina na po-

vršinu masnih kapljica (48,55,56,119,120). Homogenizacijom UF koncentrata značajno se usitnjavaju masne kapljice i dobija gruš uniformnije strukture nego kod nehomogenizovanog koncentrata. Homogenizovane masne kapljice su mnogo ravnomernije raspoređene unutar proteinskog matriksa, čime se objašnjava povećanje čvrstine gruš od homogenizovanog UF koncentrata (37).

I separacija i homogenizacija, pored toga što ubrzavaju koagulaciju, usporavaju izdvajanje seruma iz gruš odnosno sinerezis (102).

Na osnovu do sada iznetog može se zaključiti da se kombinacijom parametara koagulacije mleka može uticati na kvalitet gruš, a samim tim i na njegovu dalju obradu, mikrostrukturu i kvalitet sira. Struktura gruš ima direktan uticaj na strukturu, teksturu i sastav sira (39,93).

LITERATURA

- Abd El-Salam, M.H., Alichanidis, E. and Zerfiridis, G.K. (1993): *Domiat and Feta Type cheeses in Cheese: chemistry, physics and microbiology*. Volume 2. Major cheese groups. Second edition. Chapter 11, 301–355. Ed. by Fox, P. F., Chapman & Hall, London and New York.
- Ali, A.E., Andrews, A.T. and Cheeseman, G.C. (1980): *J. Dairy Res.* 47 (3), 383–391.
- Aylward, E.B., O'Leary, J. and Langlois, B.E. (1980): *J. Dairy Sci.* 63 (11), 1819–1825.
- Banks, J.M. and Muir, D.D. (1984): *Coagulum strength and cheese yield*. *Dairy Ind. Internat.* 49 (9), 17–19, cont. on pages 21, 36.
- Bringe, N.A. and Kinsella, J.E. (1986): *J. Dairy Res.* 53 (3), 359–370.
- Bringe, N.A. and Kinsella, J.E. (1986): *J. Dairy Res.* 53 (3), 371–379.
- Bringe, N.A. and Kinsella, J.E. (1987): *Forces involved in the enzymatic and acidic coagulation of casein micelles in Developments in Food proteins*. Chapter 4, 159–184. Elsevier Applied Science Publishers Ltd. Barking, UK.
- Brinkhuis J. and Payens, T.A. (1984): *Biophysical Chemistry* 19, 75–81.
- Chaplin, B. and Green, M.L. (1980): *J. Dairy Res.* 47 (3), 351–358.
- Creamer, L.K. (1985): *Milchwissenschaft* 40 (10), 589–591.
- Dalgleish, D.G. (1979): *J. Dairy Res.* 46 (4), 653–661.
- Dalgleish, D.G. (1983): *J. Dairy Res.* 50, 331–340.
- Dalgleish, D.G. (1984): *J. Dairy Res.* 51 (3), 425–438.
- Dalgleish, D.G. (1986): *The enzymatic coagulation of milk in Developments in Dairy Chemistry-1*. Chapter 5, 157–187. Ed. Fox, P. F., Elsevier Applied Science Publishers Ltd, London and New York.
- Dalgleish, D.G. (1990): *Milchwissenschaft* 45 (8), 491–494.
- Dalgleish, D.G. (1993): *The enzymatic coagulation of milk in Cheese: chemistry, physics and microbiology*. Volume 1, Chapter-3, 69–100. Edit by Fox, P. F., Chapman & Hall, London and New York.
- Dalgleish, D. G. and Law, A.J.R. (1988): *J. Dairy Res.* 55 (4), 529–538.
- Darling, D. F. and Dickson, J. (1979): *J. Dairy Res.* 46 (2), 329–332.
- Darling, D.F. and van Hooydonk, A.C.M. (1981): *J. Dairy Res.* 48 (2), 189–200.
- De Kruijff, C.G. and Roefs, S.P.F.M. (1996): *Neth. Milk Dairy J.* 50 (2), 113–120.
- Downey, W.K. and Murphy, R.F. (1970): *J. Dairy Res.* 37 (3), 361–372.
- Dozet, N., Stanišić, M., Bijeljac, S. i Prica, V. (1972): *Mljekarstvo* 22 (3), 50–55.
- Dunnewind, B., de Roos, A.L. and Geurts, T.J. (1996): *Neth. Milk Dairy J.* 50 (2), 121–133.
- Đorđević, J. (1987): *Mleko*. Naučna knjiga, Beograd.
- Đorđević, J. i Carić, M. (1970): *Zbornik radova Tehnološki fakultet Novi Sad*, br.2, 153–161.
- Đorđević, J. i Carić, M. (1974): *Zbornik radova Tehnološki fakultet Novi Sad*, br. 5, 43–51.
- Đorđević, J., Mačej, O. i Milčić, M. (1987): *Mljekarstvo* 37 (10), 305–309.
- Đorđević, J., Stefanović, R. i Tomić, J. (1971): *Zbornik radova Poljoprivrednog fakulteta Beograd*, XIX, sv. 535, 1–7.
- Ernstrom, C.A. and Wong, N.P. (1974): *Milk clotting enzymes and cheese chemistry in Fundamentals of dairy chemistry*. Chapter 12, 662–771. Ed. by Webb, B.H., Johnson, A.H. and Alford, J.A.. The AVI Publishing Co., Inc. Westport.
- Fox, P.F. (1986): *Heat-induced coagulation of milk in Developments of dairy chemistry-1*. Chapter 6, 189–228. Ed. Fox, P. F., Elsevier Applied Science Publishers Ltd, London and New York.
- Fox, P.F. (1986): *Proceedings XXII International Dairy Congress „Milk the vital force“*, Hague, 61–73.
- Fox, P.F. (1987): *Dairy Ind. Internat.* 52 (7), 11–13.
- Fox, P.F. and Cogan, T.M. (2000): *6th Cheese symposium*. Ed. by Cogan, T.M., McSweeney, P.L.H. and Guinee, T.P., Moorepark, 83–121.
- Fox, P.F. and Morrissey, P.A. (1977): *J. Dairy Res.* 44 (3), 627–646.
- Garnot, P. and Olson, N.F. (1982): *J. Food Sci.* 47 (6), 1912–1915.
- Gavarić, D. (1988): *Uticaj koncentrisanja mleka ultrafiltracijom na koagulaciju prote-*

- olitičkim enzimima*. Doktorska disertacija. Tehnološki fakultet, Novi Sad.
37. Gavarić, D.Đ., Carić, M. and Kalab, M. (1989): *Food microstructure* 8, 53–66.
 38. Green, M.L. (1977): *J. Dairy Res.* 44 (1), 159–188.
 39. Green, M.L. (1987): *J. Dairy Res.* 54 (2), 303–313.
 40. Green, M.L. and Grandison, A.S. (1993): *Secondary (non-enzymatic) phase of rennet coagulation and post-coagulation phenomena in Cheese: chemistry, physics and microbiology*. Volume 1, Chapter 4, 101–140. Second edition. Ed. by Fox, P.F., Chapman & Hall, London.
 41. Green, M.L. and Marshall, R.J. (1977): *J. Dairy Res.* 44 (3), 521–531.
 42. Green, M.L. and Morant, S.V. (1981): *J. Dairy Res.* 48 (1), 57–63.
 43. Green, M.L., Hobbs, D.G., Morant, S.V. and Hill, V.A. (1978): *J. Dairy Res.* 45 (3), 413–422.
 44. Green, M.L., Marshall, R.J. and Glover, F.A. (1983): *J. Dairy Res.* 50, 341–348.
 45. Guinee, T.P. and Wilkinson, M.G. (1992): *J. Society Dairy Tech.* 45 (4), 94–104.
 46. Guinee, T.P., Mulholland, E.O., Mullins, C. and Corcoran, M.O. (1997): 5th Cheese Symposium. Ed. by Cogan T.M., Fox, P.F. and Ross, R.P., Moorepark, 15–23.
 47. Guinee, T.P., Puda, D.P., Mulholland, E.O. and Reville, W.J. (1992): 3rd Cheese Symposium. Ed. by Cogan, T.M., Moorepark, 49–59.
 48. Guinee, T.P., Gorry, C.B., O'Callaghan, D.J., O'Kennedy, B.T., O'Brien, N. and Fennell, M.A. (1997): *Int. J. Dairy Tech.* 50 (3), 99–106.
 49. Hill, R.D., Lahav, E. and Givol, D. (1974): *J. Dairy Res.* 41 (1), 147–153.
 50. Hindle, E.J. and Wheelock, J.V. (1970): *J. Dairy Res.* 37 (3), 389–396.
 51. Holmes, D.G., Duersch, J.W. and Ernststrom, C.A. (1977): *J. Dairy Sci.* 60, 862–869.
 52. Jovanović, S. (2001): *Uticaj obrazovanja koagregata proteina mleka na veće iskorišćenje ukupnih proteina pri proizvodnji polutvrdih sireva*. Doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu.
 53. Jovanović, S. and Mačej, O. (1999): Book of abstracts 2nd Slovenian Congress „Milk and dairy products”, Portorož, 46.
 54. Jovanović, S., Mačej, O. and Denin Đurđević, J. (2002): *J. of Agricult. Sci.*, Vol. 47 (1), 57–73.
 55. Kalab, M. (1978): *Milchwissenschaft* 33 (6), 353–358.
 56. Kalab, M. (1990): *Mljekarstvo* 40 (9), 235–250.
 57. Kannan, A. and Jenness, R. (1961): *J. Dairy Sci.* 44 (5), 808–822.
 58. Knoop, A.-M., Peters, K.-H. (1976): *Milchwissenschaft* 31 (6), 338–345.
 59. Korolczuk, J. and Maubois, J.-L. (1988): *J. Dairy Res.* 55 (1), 81–88.
 60. Korolczuk, J., Maubois, J.-L., Cardenas, R. and Grosclaude, G. (1986): *Le Lait* 66 (2), 99–115.
 61. Larsson, K.I., Andrén, A., Geurts, T.J., de Roos, A.L. and Walstra, P. (1997): *Int. Dairy J.* 7 (1), 43–46.
 62. Lopez, M.B., Lomholt, S.B. and Qvist, K.B. (1998): *Int. Dairy J.* 8 (4), 289–293.
 63. Lucey, J. (1990): 2nd Cheese symposium. Ed. by Cogan, T.M., Moorepark, 45–53.
 64. Lusitano, M., Peri, C. and Donati, E. (1985): *Milchwissenschaft* 40 (10), 600–604.
 65. Mačej, O. (1983): *Prilog proučavanju koprecipitata radi potpunijeg iskorišćavanja belančevina mleka*. Magistarski rad, Univerzitet u Beogradu.
 66. Mačej, O. (1989): *Proučavanje mogućnosti izrade mekih sireva na bazi koagregata belančevina mleka*. Doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu.
 67. Mačej, O. (1992): Zbornik radova I međunarodnog simpozijuma „Savremeni trendovi u mlekarstvu”. Ur. Mačej, O., Kopaonik, 54–59.
 68. Mačej, O. (1994): Zbornik radova III međunarodnog simpozijuma „Savremeni trendovi u mlekarstvu”. Ur. Krunic, M. i Čurić, M., Kopaonik, 47–51.
 69. Mačej, O.D. i Jovanović, S.T. (2000): *Acta Periodica Technologica* 31 (A), 83–93.
 70. Mačej, O. i Jovanović, S. (2002): *Mlekcarstvo* 1 (2), 43–48.
 71. Mačej, O.D., Jovanović, S.T. i Mikuljanac, A.M. (1998): Monografija „Sirevi parenog testa”, Ur. Niketić, G., Puda, P., Milanović, S., Sekulović, N. Beograd, 63–87.
 72. Mačej, O., Mikuljanac, A. i Petrović, D. (1989): *Arhiv za polj. nauke* 50, 179 (3), 251–257.
 73. Mačej, O., Jovanović, S. and Denin Đurđević, J. (2002): *Chem. ind.* 56 (3), 123–132.
 74. Mačej, O., Jovanović, S., Mikuljanac, A. i Niketić, G. (1997): *Prehramb. ind.*, Mleko i mlečni proizvodi 8 (3–4), 35–40.
 75. Mačej, O., Mikuljanac, A., Puda, P. i Jovanović, S. (1995): Zbornik radova IV Međunarodnog simpozijuma „Savremeni trendovi u proizvodnji mleka”. Ur. Čubrilo, M., Kopaonik, 42–44.
 76. Mačej, O., Dozet, N., Jovanović, S., Mikuljanac, A. i Niketić, G. (1996): Zbornik radova V Savjetovanja hemičara i tehnologa Republike Srpske. Banja Luka, 49–50.
 77. Marshall, R.J. (1986): *J. Dairy Res.* 53, 313–322.
 78. McMahon, D.J. and Brown, R.J. (1982): *J. Dairy Sci.* 65 (8) 1639–1642.
 79. McMahon, D.J. and Brown, R.J. (1983): *J. Dairy Sci.* 66 (2), 341–344.
 80. McMahon, D.J., Brown, R.J. and Ernststrom, C.A. (1984): *J. Dairy Sci.* 67 (4), 745–748.
 81. Mehaia, M.A. and Cheryan, M. (1983): *Milchwissenschaft* 38, 137–140.
 82. Mulvihill, D.M. and Fox, P.F. (1979): *J. Dairy Res.* 46 (4), 641–651.
 83. Niki, R., Lee, H.J. and Arima, S. (1978): *Milchwissenschaft* 33 (8), 473–477.
 84. Niki, R., Kimura, T. and Arima, S. (1980): *Milchwissenschaft* 35 (4), 202–205.
 85. Ono, T., Kaminogawa, S., Odagiry, S. and Yamauchi, K. (1976): *Agricultural and Biological Chemistry* 40, 1717–1723.
 86. Pearce, K. N. (1976): *J. Dairy Res.* 43 (1), 27–36.
 87. Pejić, O. (1956): *Mlekcarstvo II deo*. Tehnologija mlečnih proizvoda. Naučna knjiga, Beograd.
 88. Peters, K.H. and Knoop, A.M. (1978): *Milchwissenschaft* 33 (2), 77–81.
 89. Petrović, D. (1986): *Uticaj tehnološkog procesa proizvodnje na zrenje somborskog sira*. Doktorska disertacija. Poljoprivredni fakultet, Beograd.
 90. Puda, P. (1989): *Proučavanje proizvodnje polutvrdih sireva primenom postupka ultrafiltracije*. Magistarski rad, Univerzitet u Beogradu.
 91. Puda, P. (1992): *Karakteristike tvrdih sireva izrađenih od mleka koncentrovanog ultrafiltracijom u zavisnosti od termičke obrade mleka*. Doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu.
 92. Puda, P. i Mikuljanac, A. (1996): Zbornik radova V međunarodnog simpozijuma „Savremeni trendovi u proizvodnji mleka”. Ur. Obrenović, S., Kopaonik, 72–78.
 93. Puda, P., Mačej, O., Jovanović, S. i Mikuljanac, A. (1996): *Biotehnologija u stočarstvu* 12 (1–2), 37–44.
 94. Puda, P., Mačej, O., Jovanović, S., Milčić, M. i Mikuljanac, A. (1995): Monografija „Osnovna istraživanja u prehrambenoj tehnologiji”, Ur. Radovanović, R. M. Beograd, 192–215.
 95. Qvist, K.B. (1979): *Milchwissenschaft* 34 (8), 467–470.
 96. Qvist, K.B. (1979): *Milchwissenschaft* 34 (10), 600–603.
 97. Reimerdes, E.-H. (1986): *Changes in the proteins of raw milk during storage in Development in Dairy Chemistry*, Chapter 8, 271–288. Ed. by Fox, P.F., Elsevier Applied Science Publisher, London.
 98. Reimerdes, E.-H., Jiménez-Pérez, S. and Ringqvist, B.M. (1977): *Milchwissenschaft* 32 (3), 154–158.
 99. Reimerdes, E.H., Jiménez-Pérez, S. and Ringqvist, B.M. (1977): *Milchwissenschaft* 32 (4), 207–210.
 100. Reuter, H., Hisserich, D. and Prokopek, D. (1981): *Milchwissenschaft* 36 (1), 13–18.
 101. Scott, R. (1986): *Cheesemaking practice*. Second edition. Elsevier Applied Science Publishers Ltd, London and New York.
 102. Scott Blair, G.W. and Burnett, J. (1958): *J. Dairy Res.* 25 (3), 457–466.
 103. Scott Blair, G.W. and Burnett, J. (1959): *J. Dairy Res.* 26 (1), 58–62.
 104. Shalabi, S. I. and Fox, P.F. (1982): *J. Dairy Res.* 49 (1), 153–157.
 105. Shalabi, S.I. and Wheelock, J.V. (1976): *J. Dairy Res.* 43 (2), 331–335.

106. Singh, H. and Fox, P.F. (1988): IDF bulletin No. 238, 24–30.
107. Singh, H., Shalabi, S.I., Fox, P.F., Flynn, A. and Barry, A. (1988): J. Dairy Res. 55 (2), 205–215.
108. Storry, J.E. and Ford, G.D. (1982): J. Dairy Res. 49 (2), 343–346.
109. Storry, J.E. and Ford, G.D. (1982): J. Dairy Res. 49 (3), 469–477.
110. Van Hooydonk, A.C.M. and Walstra, P. (1987): Neth. Milk Dairy J. 41 (1), 19–47.
111. Van Hooydonk, A.C.M., Boerrigter, I.J. and Hagedoorn, H.G. (1986): Neth. Milk Dairy J. 40, 297–313.
112. Van Hooydonk, A.C.M., de Koster, P.G. and Boerrigter, I. J. (1987): Neth. Milk Dairy J. 41 (1), 3–18.
113. Van Hooydonk, A.C.M., Hagedoorn, H.G. and Boerrigter, I.J. (1986): Neth. Milk Dairy J. 40, 281–296.
114. Van Hooydonk, A.C.M., Hagedoorn, H.G. and Boerrigter, I. J. (1986): Neth. Milk Dairy J. 40, 369–390.
115. Walstra, P. (1990): J. Dairy Sci. 73 (8), 1965–1979.
116. Walstra, P. and Jenness, P. (1984): *Dairy chemistry and physics*. Ed. by: John Willey & Sons, New York.
117. Wiechen, A. and Knoop, A.M. (1978): *Milchwissenschaft* 33 (4), 213–215.
118. Wilson, G.A. and Wheelock, J.V. (1972): J. Dairy Res. 39 (3), 413–419.
119. Xiong, Y.L. and Kinsella, J.E. (1991): *Milchwissenschaft* 46 (3), 150–152.
120. Xiong, Y.L. and Kinsella, J.E. (1991): *Milchwissenschaft* 46 (4), 207–212.
121. Zoon, P., van Vliet, T. and Walstra, P. (1988): Neth. Milk Dairy J. 42, 271–294.
122. Zoon, P., van Vliet, T. and Walstra, P. (1988): Neth. Milk Dairy J. 42, 295–312.
123. Zoon, P., van Vliet, T. and Walstra, P. (1989): Neth. Milk Dairy J. 43, 17–34.

SUMMARY

THE FACTORS OF ENZYMATIC COAGULATION OF MILK

Snežana T. Jovanović, Miroljub B. Barać and Ognjen D. Maćej

Faculty of Agriculture, University of Belgrade, Department for food technology and biochemistry

Enzyme induced coagulation of milk is one of the oldest technological operations used in cheese making. Chymosin-induced coagulation could be considered as two-stage process. The first stage is hydrolysis of κ -casein. In the second stage, in the presence of Ca^{2+} -ion hydrolysed casein micelles interact with each other and form a gel. Several factors including casein concentration, pH of milk, Ca^{2+} -ion concentration, temperature of coagulation and parameters of preliminary milk treatment, have influence on both phase of milk coagulation and rheological properties of curd. Ion species as well as their concentration have important influence on chymosin-induced coagulation of milk. Also, especially significant factor of both stages of coagulation is acidity of milk. The increase pH of milk causes velocity increase of enzymatic (first) phase of rennet – induced coagulation. Maximum values could be obtained at pH 6.0. Preliminary heat treatments of milk cause the denaturation of whey proteins and formation of aggregates. Thus, the duration of gelling is longer and decreases the velocity of hardness process. As a result, gel with better properties is formed. This gel is characterized with lower syneresis and better crosslinking. Besides the effects on microorganisms, the use of high temperatures has influence on physico-chemical and technological properties of milk. During the storage of milk several physico-chemical, biochemical and microbiological changes occur. These changes have effect on longer duration of rennet-induced coagulation and lower yield. Milk fat separation process and homogenization have influence on initial coagulation velocity.

Key words: coagulation • heat treatment • milk • pH • rennet • temperature.