

<sup>1</sup> JELENA B. MIOČINOVIĆ<sup>2</sup> THIEN TRUNG LE<sup>2</sup> EVELINE FREDRICK<sup>2</sup> KOEN DEWETTINCK<sup>1</sup> PREDRAG D. PUĐA<sup>1</sup> Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, Institut za prehrambenu tehnologiju i biohehemiju, Srbija<sup>2</sup> Gent University, Faculty of Bioscience Engineering, Department of Food Safety and Food Quality, Laboratory of Food Technology and Engineering, Belgium

PREGLEDNI RAD

UDK: 637.047:663.12

Membrane masnih globula (MMG) odlikuju se jedinstvenim sastavom i svojstvima. MMG sadrže značajnu količinu polarnih lipida, posebno fosfolipida i sfingolipida, kao i specifične proteine, koji poseduju izražena nutritivna svojstva i smatraju se bioaktivnim komponentama. Takođe, specifična svojstva lipida i proteina doprinose dobrim emulzifikujućim i stabilizujućim svojstvima MMG.

Ovaj revijalni rad daje prikaz osnove sastava i strukture MMG, potencijalne tehnike njihove izolacije kako na laboratorijskom tako i na industrijskom nivou. Sagledavanjem nutritivnih i tehnoloških svojstava MMG dat je osvrt na mogućnost njihove primene u proizvodnji mleka i mlečnih proizvoda.

**Ključne reči:** membrane masnih globula • fosfolipidi • proteini • mikrofiltracija • ultrafiltracija

## METODE IZOLACIJE I TEHNOLOŠKI ASPEKTI MEMBRANA MASNIH GLOBULA

### UVOD

Masne globule u mleku sastoje se od jezgra sačinjenog od triglicerida koje je obavijeno sa tankom membranom – membranom masnih globula (MMG), debljine 10 – 20nm. U mleku membrane masnih globula imaju protektivnu ulogu i štite masne globule od koalescencije i enzimske razgradnje. MMG se odlikuju složenom strukturom i sastavom koji pretežno čine polarni lipidi i specifični membranski proteini. Sfingolipidi čine više od trećine lipidne frakcije MMG. Komponente koje ulaze u sastav MMG, posebno sfingolipidi i specifični proteini, smatraju se bioaktivnim komponentama koje se odlikuju izraženim nutritivnim i funkcionalnim svojstvima što je tema brojnih istraživanja poslednjih nekoliko godina. Takođe, pojedine frakcije MMG, usled njihovog specifičnog porekla, odlikuju se veoma dobrim tehnološkim, posebno emulzifikujućim i stabilizujućim, svojstvima (Spitsberg, 2005; Dewettinck i sar., 2008), što pruža brojne mogućnosti u proizvodnji brojnih prehrambenih proizvoda.

U ovom radu dat je revijalni prikaz sastava i strukture MMG, različite tehnike njihove izolacije, kao i poseban osvrt na tehnološku značajnost i potencijale primene ovih visoko vrednih bioaktivnih komponenata mleka i proizvoda od mleka.

### SASTAV I STRUKTURA MMG

MMG predstavljaju složeni materijal sastavljen od specifičnih membranskih proteina, uglavnom glikoproteina, i lipidne frakcije koju pretežno čine fosfo i sfingolipidi. Različiti literaturni izvori pokazuju da se sastav MMG značajno razlikuje što je posled-

dica razlika u tehnikama njihove izolacije i prečišćavanja, kao i metodama analiziranja. Prosečan sastav MMG je prikazan u tabeli 1.

### Lipidi MMG

Najveći deo lipida MMG su polarni lipidi sa malim učešćem neutralnih lipida kao što su trigliceridi, digliceridi, monogliceridi, holesterol i njegovi estri. Polarni lipidi MMG su glicerofosfolipidi i sfingolipidi koji se sastoje od hidrofobnog dela - "repa" i hidrofilne "glave". MMG sadrže nekoliko vrsta polarnih lipida koji obuhvataju sledeće: fosfatidilholin (PC) - 35%; fosfatidiletanolamin (PE) - 30%; sfingomijelin (SM) - 25%; fosfatidilinozitol (PI) - 5%; fosfatidilserin (PS) - 3%. Glikozilkeramid (GluCer), laktosilkeramid (LacCer) i gangliozidi (Gang) su prisutni u veoma malim količinama (Danthine i sar., 2000; Deeth, 1997).

Glicerofosfolipidi sadrže glicerol sa dve esterifikovane masne kiseline, dok su na trećoj hidroksilnoj grupi najčešće vezane fosfatne rezidue sa različitim organskim grupama kao npr. holin, serin, etanolamin i dr.

Karakteristična jedinica strukture sfingolipida je sfingoidna baza – sfingozin, amin dugog lanca, koji sadrži dve ili tri hidroksilne grupe. Keramidi se sastoje od sfingozina i masnih kiselina. Sfingolipidi nastaju ukoliko se na keramidnu jedinicu veže neka od organofosfatnih grupa kao npr. fosfholin pri čemu nastaje sfingomijelin (SM) ili saharid koji formira sfingoglikolipid kao npr. glikozilkeramid (Fong i sar., 2007; Vesper i sar., 1999).

### Proteini MMG

MMG sadrže 25 - 70% specifičnih proteina koji čine 1 - 2% ukupnih pro-

Adresa autora:

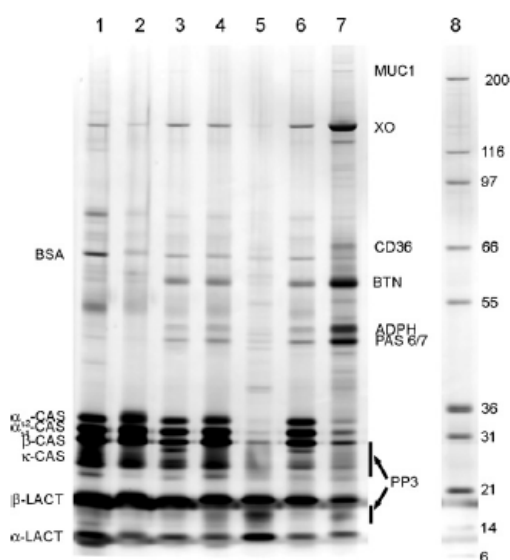
Dr Jelena B. Miočinović, Poljoprivredni fakultet Nemanjina 6, 11080 Zemun – Beograd, Srbija  
tel: +381 11 2615-315 / lok 117  
e-mail: jmiocin@agrif.bg.ac.rs

Tabela 1. PROSEČAN SASTAV MEMBRANA MASNIH GLOBULA (MMG) (Walstra i sar., 2006)

Table 1. AVERAGE COMPOSITION OF MILK FAT GLOBULE MEMBRANE (MFGM)

Komponenta	mg/100g masnih globula	g/100g SM MMG
Proteini	1800	70
Fosfolipidi	650	25
Cerebrozidi	80	3
Holesterol	40	2
Monogliceridi	*	*
Karotenoidi + Vit. A	0,04	0,0
Fe	0,3	0,0
Cu	0,01	0,0
Ukupno	> 2570	100

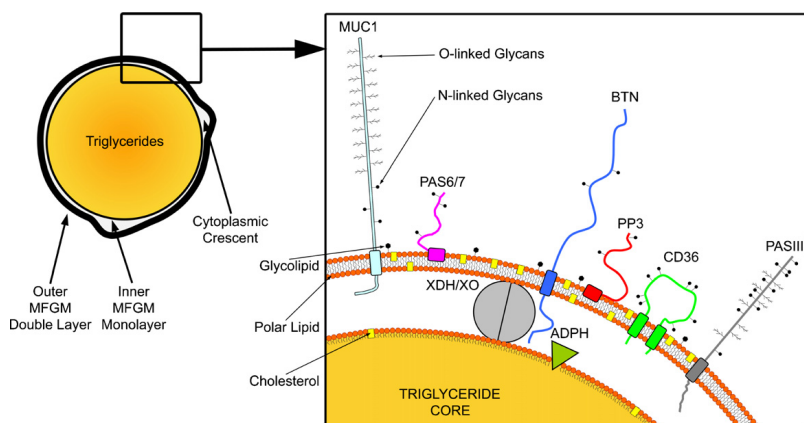
\* prisutni, ali sadržaj nije poznat



Slika 1. SDS-PAGE RAZLIČITIH MLEČNIH PROIZVODA (Rombaut, 2006)

Figure 1. SDS-PAGE OF VARIOUS DAIRY PRODUCT

Nazivi proteina MMG su prikazani na desnoj strani dok su ostali prikazani na levoj strani. (1) sirovo mleko; (2) obrano mleko; (3) kisela mlačenica; (4) serum maslaca, vodena frakcija dobijena bućkanjem pavlake; (5) surutka kisele mlačenice; (6) kvark od mlačenice; (7) MMG izolati; (8) standard molekulske masa



Slika 2. STRUKTURA MEMBRANA MASNIH GLOBULA

Figure 2. STRUCTURE OF MILK FAT GLOBULE MEMBRANE

teina mleka i u ostalim fazama mleka su prisutni u veoma malim količinama (Danthine i sar., 2000; Deeth, 1997; Fong i sar., 2007; Walstra i sar., 2006). Proteini MMG su različito vezani za membrane i s tim u vezi neki od njih čine integralni deo, dok su pojedini locirani periferno ili čak veoma slabo vezani za membrane. Sastav i vrste proteina MMG u velikoj meri zavise od tehnika njihove izolacije kao i metoda analiziranja. Primenom SDS PAGE ustanovljeno je da se proteini MMG razdvajaju u 7-8 osnovnih bendova, kao i nekoliko minoritnih komponenata koji još uvek nisu u potpunosti identifikovani (slika 1). Generalno, struktura i aminokiselinski sastav svih membranskih proteina još uvek nisu u celosti definisani. Do danas, izolovane i identifikovane vrste proteina MMG su sledeće: mucin 1 (MUC1) (Pallesen i sar., 2001), ksantin dehidrogenaza / oksidaza (XDH/XO), CD36 (Berglund i sar., 1996), PAS 6/7 (Bash i sar., 1976; Hvarregaard i sar., 1996; Kim i sar., 1992), adidofilin (ADPH) i butirofilin (BTN) (Nielsen i sar., 1999). Takođe, pojedini autori navode da proteozo peptonske frakcije, kao npr. proteozo pepton 3 (PP3) potiču upravo iz MMG (Campagna i sar., 2001; Girardet i sar., 1995; Sorensen i Petersen, 1993, Sorensen i sar., 1997).

Pored navedenih proteina, preparati MMG iz kravljeg mleka sadrže i enzime, imunoglobuline, proteine iz citoplazme i sekretornih epitelnih ćelija, leukocita. Veliki deo ovih proteina su veoma slabo vezani za MMG, ali svakako imaju značajnu biološku funkciju.

### STRUKTURA MMG

Membrane koje obavijaju jezgro masnih globula sačinjene su iz dva sloja i to: (i) unutrašnji monosloj sačinjen od polarnih lipida i proteina i (ii) dvoslojna membrana takođe sačinjena od polarnih lipida i proteina (slika 2). Između ova dva sloja nalazi se proteinski materijal koji je lociran na unutrašnjoj strani dvoslojne membrane. Takođe, citoplazmatični materijal se može nalaziti između unutrašnjeg i spoljašnjeg sloja (Danthine i sar., 2000; Evers, 2004; Michalski i sar., 2002).

Osnovni nosioci strukture MMG su fosfolipidi dvoslojnog dela membrana, na koji su slabo vezani periferni membranski proteini. Transmembranski proteini se šire kroz lipidnu dvoslojnu membranu, dok su glikolipidi i gliko-

proteini usmereni ka spoljašnjosti. Holesterol je prisutan i u unutrašnjem i spoljašnjem sloju membrana.

Proteini u membranama masnih globula su raspoređeni asimetrično. Adipofilin (ADPH), koji ima izražen afinitet prema trigliceridima, lociran je u unutrašnjem mono sloju polarnih lipida. XDH/XO nalazi se na unutrašnjoj strani monosloja, i usko je povezan sa BTN, koji predstavlja transmembranski protein spoljašnjeg sloja, kao i sa ADPH. BTN, zajedno sa ADPH i XOR/XO, igra značajnu ulogu u stabilizaciji MMG. Ostali proteini, kao što su PAS 6/7, locirani su na spoljašnjem delu membrane. Pojedini proteini MMG, kao što je npr. MUC1, su veoma glikolizovani (Mather, 2000)

Lipidi, kao i proteini, takođe su u strukturi MMG raspoređeni asimetrično. Fosfolipidi koji sadrže holin, kao što je fosfatidilholin, i sfingomijelin, glikolipidi, cerebrozidi i Gang su locirani pretežno na spoljašnjosti membrana, dok su PE, PS i PI uglavnom koncentrisani na unutrašnjoj površini membrana (Deeth, 1997).

Na strukturu, kao i sastav MMG, utiče veliki broj faktora kao što su: starost životinje, bakteriološki kvalitet mleka, stadijum laktacije, godišnje doba, a posebno procesni parametri. Skladištenje mleka na niskim temperaturama može dovesti do migriranja PL i proteina prema serumu fazi mleka, pumpanje i inkorporacija vazduha indukuje oštećenja MMG, strogi termički tretman mleka uzrokuje denaturaciju proteina (Ye i sar., 2002), dok homogenizacija mleka dovodi do formiranja "novih" membrana u čiji sastav ulaze kazein i serum proteini (Evers, 2004).

### SADRŽAJ MMG U PROIZVODIMA OD MLEKA

Sadržaj materijala MMG u mleku i proizvodima od mleka je generalno veoma teško definisati. Usled toga, s obzirom da polarni lipidi u mleku i proizvodima od mleka najvećim delom potiču od MMG (60–70%), sadržaj ovih lipidnih frakcija može se uzeti i kao parametar sadržaja MMG materijala. Sadržaj polarnih lipida u različitim proizvodima od mleka, prikazan je u tabeli 2.

U toku brojnih procesa u preradi mleka, biološke membrane se razaraju i kao takve se oslobađaju od masnih globula. MMG materijal, zajedno sa polarnim lipidima, kao osnovnim nosiocima njihovog sastava se, tokom procesa prerade mleka, pretežno dis-

Tabela 2. SADRŽAJ POLARNIH LIPIDA U RAZLIČITIM MLEČNIM PROIZVODIMA

Table 2. POLAR LIPIDS CONTENT OF VARIOUS DAIRY PRODUCTS (Rombaut i Dewetnick, 2006, Rombaut i sar., 2007)

Proizvod	g/100g proizvoda	g/100g SM proizvoda
Sirovo mleko	0,03–0,04	0,23–0,32
Obrano mleko	0,02	0,28
Pavlaka	0,19	0,40
Pasterizovana pavlaka	0,14	0,31
Maslac	0,14–0,23	0,17–0,26
Mlačenica	0,16	2,03
Serum maslaca	1,25	11,54
Kvark od kisele mlačenice	0,31	1,86
Surutka <sup>1</sup>	0,10	1,84
Čedar sir	0,15	0,25
Surutka <sup>2</sup>	0,02	0,26

<sup>1</sup> – Surutka iz proizvodnje kvarka od mlačenice; <sup>2</sup> – Surutka iz proizvodnje Čedar sira

tribuiraju u vodenu fazu posebno u toku proizvodnje maslaca. Kao što se iz podataka prikazanih u tabeli 2. uočava, proizvodi kao što su mlačenica i serum maslaca odlikuju se veoma velikim sadržajem polarnih lipida. Usled toga, ovi proizvodi predstavljaju veoma podesan materijal za izolaciju MMG materijala, što je detaljnije razmatrano u narednom poglavlju.

### METODE IZOLACIJE MMG

Proces izolacije materijala MMG može se podeliti u sledeće četiri faze (Mather, 2000): (1) separacija masnih globula, koja se može vršiti laboratorijskom centrifugom ili industrijskim separatorima; (2) ispiranje pavlake različitim rastvorima (voda, fosfatni pufer i dr.); (3) oslobađanje MMG od masnih globula koje se može vršiti bućkanjem (Diaz-Maurino i Nieto, 1976; Dowben i sar., 1967; Fong i sar., 2007), ili pak mešanjem pri niskim temperaturama (Harrison i sar., 1975) i (4) sakupljanje odnosno koncentrisanje materijala MMG, koje se najčešće vrši primenom ultracentrifugiranja (Anderson i Brooker, 1974), mikrofiltracijom (Morin i sar., 2007) ili sušenjem (Rombaut i sar., 2006). Svi navedeni metodi izolacije su prilagođeni i pretežno primenjivi u laboratorijskim uslovima i koriste se pretežno za izolaciju MMG iz termički netretiranog mleka.

Poslednjih godina, industrija prehrambenih proizvoda je u sve većoj meri fokusirana na iskorišćenje prirodnih komponenata koje mogu poboljšati nutritivnu vrednost i funkcionalna svojstva proizvoda. S tim u vezi, proizvodi industrije mleka bogati sa MMG, kao što su mlačenica i serum maslaca, još uvek se tretiraju kao pra-

teći i niskovredni proizvodi i predstavljaju dobru osnovu za izolaciju ovog visokovrednog materijala. Stoga se poslednjih godina brojna istraživanja bave ispitivanjem mogućnosti lacije MMG materijala upravo iz ovih proizvoda. Najzastupljeniji postupak izolacije MMG materijala podrazumeva primenu mikro i ultrafiltracije koja se zasniva na odstranivanju kazeina, serum proteina, laktoze i minerala iz koncentrata. Proces izolacije MMG zavise od brojnih faktora kao što su: temperatura, pH vrednost, veličina pora i vrste membrana, kao i vrsta i sastav početnog materijala (mlačenica, serum maslaca, surutka i dr.) (Morin i sar., 2004; Morin i sar., 2006; Rombaut i sar., 2007). Osnovna prepreka u procesu izolovanja MMG materijala je stepen njihovog razdvajanja od kazeinskih micela, usled veoma sličnih veličina čestica.

S tim u vezi, Sachdeva i Buchheim (1997) u svojim istraživanjima su, u cilju odstranivanja kazeina pre procesa izolacije (mikrofiltracije i ultrafiltracije) vršili sirišnu ili kiselu koagulaciju mleka. Zadržavanje fosfolipida u MMG materijalu, kao faktor uspešnosti tehnike izolacije, iznosio je 70-77% i zavisio od primenjene metode.

Corredig i sar. (2003) i Roesch i sar. (2004) su, pre kocentrisanja MMG materijala procesom mikrofiltracije, vršili dodavali citrat, kako bi omogućili disocijaciju kazeinskih micela i na taj način postigli bolju izolaciju MMG. Međutim, Rombaut i sar. (2006) navode da se pri mikrofiltraciji seruma maslaca, kao materijala bogatog MMG, i upotrebom citrata za disocijaciju kazeina, stvaraju veliki gubici, posebno u pogledu fosfolipida (oko 44%). U procesu izolacije MMG se, u cilju odstranivanja laktoze, naj-

češće primenjuje proces dijalizacije. Povećavanje broja dijalizacija tokom procesa mikro ili ultrafiltracije rezultira u smanjenju sadržaja kazeina u retentatu.

Pojedini autori smatraju da se, usled odsustva kazenskih micela, kao dobar početni materijal za izolaciju MMG, može koristiti surutka od mlaćenice (Morin i sar., 2006, Costa i sar., 2010), koja predstavlja vodenu fazu dobijenu tokom bućkanja pavlake koja je separisana od surutke, i surutku kisele mlaćenice, koja predstavlja vodenu fazu dobijenu acidifikacijom mlaćenice. Ovi materijali su veoma podesni jer omogućavaju dobijanje MMG sa velikim sadržajem fosfolipida (oko 98%).

## TEHNOLOŠKI ASPEKTI MMG

### Funkcionalna svojstva MMG

Struktura i sastav, kao i prirodna stabilizujuća uloga MMG u mleku, doprinose da se one smatraju potencijalnim efikasnim emulzifikatorom i stabilizatorom (Corredig i Dagleish, 1997, 1998c; Kanno i sar., 1991). S tim u vezi, poslednjih godina se, veliki broj istraživanja bavi ispitivanjem i dokazivanjem emulzifikujućih sposobnosti MMG u različitim vrstama emulzija.

Kanno i sar. (1991) ispitivali su emulzifikujuće sposobnosti MMG izolata dobijenih iz rekonstituisanih masnih globula kroz ispitivanja stabilnosti emulzija, sposobnost formiranja emulzija i stvaranja pene. Ustanovili su da koncentracija MMG materijala (20-80 mgMMG/g masti) značajno utiče na osobine rekonstituisanih emulzija odnosno povećanje sadržaja MMG rezultira u smanjenju prečnika masnih globula u emulzijama (Kanno, 1989; Kanno i sar., 1991). Emulzije sa 25% mlečne masti i 2% MMG se, u pogledu koalescencije i agregacije, odlikuju svojstvima sličnim svojstvima "prirodne" pavlake.

Suprotno ovim rezultatima, Wong i Kitts (2003) navode da se mlaćenica, i pored velikog sadržaja MMG, odlikuje inferiornijim emulzifikujućim sposobnostima u odnosu na obrano mleko u prahu. Takođe, prema rezultatima Corredig i Dagleish (1997) MMG izolati dobijeni centrifugiranjem pri velikoj brzini uz dodavanje citrata odlikuju se slabijim emulzifikujućim svojstvima u odnosu na mlaćenicu koja je korišćena kao početni materijal. Ipak, emulzije proizvedene sa 10% sojinog ulja i velikim sadržajem MMG izolata (>8%)

odlikuju se monomodalnom distribucijom veličina masnih globula što ukazuje na njihovu dobru stabilnost (Corredig i Dagleish, 1997). Generalno, ispitivanje tipa distribucije veličina čestica masnih globula je veoma važan parametar koji ukazuje na stabilnost emulzije, odnosno njihovu sposobnost ka agregiranju i koagulaciji.

Corredig i Dagleish (1998b) pokazuju da stabilnost emulzija ulja u vodi proizvedenih uz dodavanje MMG materijala u velikoj meri zavisi od režima termičkog tretmana pavlake. S tim u vezi, MMG izolati dobijeni iz pavlake koja nije podvrgnuta termičkom tretmanu odlikuju se veoma dobrim emulzifikujućim svojstvima. Termički tretman mleka i pavlake, posebno na temperaturama > 65°C, kao i proces bućkanja koji se koristi u industrijskoj proizvodnji mlaćenice, dovode do denaturacije membranskih proteina i njihovog vezivanja sa serum proteinima ( $\beta$  laktoglobulin). Stvaranje kompleksa serum i membranskih proteina značajno utiče na svojstva, posebno emulzifikujuće sposobnosti membrana masnih globula (Corredig i Dagleish, 1998a; Houlihan i sar., 1992; Wong i Kitts, 2003). Takođe, važno je napomenuti da denaturacija membranskih proteina kao posledica strogog režima termičke obrade može doprineti smanjenju rastvorljivosti MMG izolata što zahteva njihovu hidrataciju pre pripreme emulzija (Corredig i Dagleish, 1998b).

Sodini i sar. (2006) smatraju da slatka i kisela mlaćenica, a posebno surutka od mlaćenice poseduju bolja emulzifikujuća svojstva i manji kapacitet stvaranja pene u odnosu na mleko i slatku surutku, što je posledica značajnog učešća fosfolipida i proteina u ovom materijalu.

Roesch i sar. (2004) ispitivali su svojstva emulzija sojinog ulja (10%) uz dodavanje 0,25% komercijalnih MMG izolata, dobijenih iz mlaćenice procesom mikrofiltracije uz dodavanje citrata. Autori ukazuju na usku monomodalnu distribuciju veličina masnih globula što doprinosi veoma dobroj stabilnosti emulzija, posebno prema izdvajanju pavlake. Suprotno tome, emulzije proizvedene uz dodavanje mlaćenice pokazale su veoma izražen stepen flokulacije.

Razmatranjem navedenih literaturnih podataka možemo ustanoviti da su rezultati brojnih istraživanja o emulzifikujućim sposobnostima MMG materijala često veoma kontradiktorni. Razlog tome je što funkcionalna svoj-

stva MMG zavise od brojnih faktora kao što su vrsta početnog materijala korišćenog za izolaciju, metode njihove izolacije, režim termičke obrade mleka, pavlake i/ili maslaca u toku prerade mleka, temperatura pripreme emulzija i dr.

Poslednjih godina, MMG izolati se, usled dobrih emulzifikujućih i stabilizatorskih svojstava, koriste u različitim prehrambenim industrijama kao npr. u proizvodnji pekarskih proizvoda, kao poboljšivači disperzije masti, u proizvodnji čokolada za smanjenje viskoziteta i sprečavanje kristalizacije, u proizvodnji margarina i instant proizvoda kao stabilizatori i dr. Primena MMG, posebno u cilju izdvajanja polarnih lipida, može imati poseban značaj u farmaceutskoj industriji za stvaranje nosača lekova, a takođe i u proizvodnji kozmetičkih preparata kao materijal za proizvodnju keramida (Dewettick i sar., 2008).

### MMG i mlečni proizvodi

Osnova strukture mlečnih gelova nastaje interakcijama između masti i proteina koje se odvijaju preko membrana masnih globula. Generalno je poznato da mlečna mast odnosno masne globule imaju ulogu "punioaca" tokom formiranja matriksa različitih vrsta gelova (Michalski i sar., 2002). Procesi tokom prerade mleka kao što su termički tretman, homogenizacija i dr., mogu dovesti do značajnih promena u sastavu MMG, smanjenju veličine masnih globula kao i do njihovog oštećenja i formiranja modifikovanih membrana. Takve promene značajno utiču na interakcije odnosno promenu strukture unutar matriksa i stoga menjaju funkcionalna svojstva finalnih proizvoda (Lopez i Dufour, 2001; Lucy i sar., 1998; Michalski i sar., 2002).

Mikrostruktura masnih globula je veoma važan parametar koji determiniše teksturu sireva, posebno onih sa zrenjem. S tim u vezi, mlečna mast u proizvodu, u zavisnosti od otpornosti masnih globula prema stepenu njihovog razaranja različitim procesnim operacijama, može egzistirati kao male masne globule obavijene sa MMG, agregati masnih globula sa delimično narušenim membranama ili pak kao skupine triglicerida koje ispunjavaju praznine unutar proteinskog matriksa (Lopez i sar., 2007; Michalski i sar., 2007).

Lopez i sar. (2007) ispitivali su uticaj veličine masnih globula i struk-

ture MMG na mikrostrukturu i aromatski kompleks zrelog ementalnog sira. Ustanovili su da prisustvo masnih globula manjeg prečnika, usled veće otpornosti ka razaranju, doprinosi zadržavanju većeg sadržaja MMG u sirnoj grudici, što indirektno utiče na veći sadržaj vode u siru.

Goudéranche i sar. (2000) navode da MMG imaju izražen kapacitet vezivanja vode. Upravo ova činjenica objašnjava zašto ementaler i kamember sa većim sadržajem malih masnih globula imaju 5%, odnosno 2,2% veći sadržaj VBMS u odnosu na sir sa mlečnom masti u vidu velikih masnih globula (Michalski i sar., 2004; Michalski i sar., 2003). Formiranje kompleksa membranskih proteina sa serum proteinima, posebno  $\beta$ -laktoglobulinom, a koje nastaje usled termičkog tretmana mleka, takođe je može biti jedan od razloga povećanja randmana proizvodnje sireva (Dewettinck i sar., 2008).

Lilbæk i sar. (2006) navode da lizofosfolipidi koji se, nakon fosfolipaznog tretmana pre presovanja sirne grude oslobađaju iz MMG, deluju kao površinski aktivne materije i pomažu emulzifikaciji vode i masti, što doprinosi sveukupno manjim gubicima odnosno njihovom boljem zadržavanju u siru.

Novija istraživanja ukazuju da veći sadržaj vode u siru, kao posledica izraženog kapaciteta vezivanja vode MMG, može imati pozitivan učinak na aktivnost enzima u siru. To indirektno doprinosi formiranju intenzivnijeg ukusa i mirisa proizvoda sa većim sadržajem MMG. Takođe, hidrolizovane MMG komponente mogu biti potencijalni izvor ugljenika za pojedine bakterije mlečne kiseline (Laloy i sar., 1996; Lopez i sar., 2007; Michalski i sar., 2003). Ipak, ove tvrdnje još uvek nisu u potpunosti definisane i zahtevaju dodatna istraživanja.

Negativni efekti prisustva velikog sadržaja MMG ogledaju se u tome što su fosfolipidi, usled velikog sadržaja nezasićenih masnih kiselina, veoma osetljivi ka oksidaciji što može doprineti stvaranju sapunastog i gorkog ukusa mlečnih proizvoda (Lopez i sar., 2007).

Govindasamy-Lucey i sar. (2006) navode da dodavanje slatke mlačenice u proizvodnju pica sira rezultira u poboljšanju svojstava proizvoda koja se ogledaju u smanjenju stepena izdvajanja ulja, povećanju randmana. Ipak, važno je odrediti adekvatnu količinu dodavanja mlačenice, jer veći

sadržaj može imati i negativne efekte na teksturu, sposobnost topljenja i posebno aromatski profil ovih sireva.

Poduval and Mistry (1999) iznose rezultate da dodavanje ultrafiltrirane mlačenice u proizvodnju mocarele sa smanjenim sadržajem masti, rezultira povećanjem sadržaja vode i doprinosi smanjenju stepena izdvajanja ulja tokom homogenizacije.

Proizvodnja niskomasnog jogurta usled smanjenog sadržaja suve materije često se odlikuju lošim senzornim, posebno teksturalnim svojstvima. Pojedina istraživanja se bave ispitivanjem mogućnosti dodavanja mlačenice u prahu i ultrafiltrirane mlačenice u cilju poboljšanja ovih svojstava (Trachoo i Mistry, 1998).

Na osnovu ovih razmatranja može se zaključiti da primena MMG materijala može doprineti razvoju novih tehnologija kao i proizvoda sa različitim funkcionalnim i nutritivnim svojstvima. Takođe, važno je napomenuti da povećanje randmana kao i bolje iskorišćenje do sada manje vrednih mlečnih proizvoda, kao npr. mlačenice, može imati pozitivan ekonomski učinak na proizvodnju mlečnih proizvoda.

## ZAKLJUČAK

Saznanja o sastavu i strukturi MMG su se poslednjih nekoliko godina značajno proširila. Brojna istraživanja ukazuju da MMG komponente poseduju veoma složenu strukturu, ali i jedinstveni sastav proteina i masti koji se odlikuje specifičnim nutritivnim i tehnološkim svojstvima. Na osnovu njihovih svojstava, MMG materijal predstavlja potencijal za stvaranje novih ingredijenata podesnih za upotrebu u proizvodnji brojnih prehrambenih proizvoda, kao i drugim industrijama, ali i za razvoj tehnologija i novih proizvoda sa izraženim funkcionalnim svojstvima. Prepreke u iskorišćenju MMG ogledaju se u njihovoj osetljivosti tokom procesa izolacije i prerade. S tim u vezi osnovni cilj prilikom izolacije ovih bioaktivnih komponenata iz mleka i proizvoda od mleka je očuvanja njihovih veoma vrednih svojstava. U daljem radu neophodno je ispitivati mogućnosti poboljšanja tehnika izolacije MMG materijala, u cilju njihove bolje iskoristivosti i očuvanja svojstava, kao i metoda njihove kvantifikacije u brojnim proizvodima od mleka.

## LITERATURA

- Anderson, M., Brooker, B. E. (1974): Loss of material during the isolation of milk fat globule membrane. *Journal of Dairy Science*, 58, 1442–1448.
- Bash, J. J., Harold M. Farrell, J., Greenberg, R. (1976): Identification of the milk fat globule membrane proteins: I. Isolation and partial characterization of glycoprotein B. *Biochimica et Biophysica Acta*, 448, 589–598.
- Berglund, L., Petersen, T. E., Rasmussen, J. T. (1996): Structural characterization of bovine CD36 from the milk fat globule membrane. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1309, 63–68.
- Campagna, S., Cosette, P., Molle, G., Gaillard, J. L. (2001): Evidence for membrane affinity of the C-terminal domain of bovine milk PP3 component. *Biochimica et Biophysica Acta-Biomembranes*, 1513, 217–222.
- Corredig, M., Dalgleish, D. G. (1997): Isolates from industrial buttermilk: Emulsifying properties of materials derived from the milk fat globule membrane. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 4595–4600.
- Corredig, M., Dalgleish, D. G. (1998a): Buttermilk properties in emulsions with soybean oil as affected by fat globule membranederived proteins. *Journal of Food Science*, 63, 476–480.
- Corredig, M., Dalgleish, D. G. (1998b): Effect of heating of cream on the properties of milk fat globule membrane isolates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 2533–2540.
- Corredig, M., Dalgleish, D. G. (1998c): Characterization of the interface of an oil-in-water emulsion stabilized by milk fat globule membrane material. *Journal of Dairy Research*, 65, 465–477.
- Corredig, M., Roesch, R. R., Dalgleish, D. G. (2003): Production of a novel ingredient from buttermilk. *Journal of Dairy Science*, 86, 2744–2750.
- Costa, M., R., Elias-Argote, X., E., Jiménez-Flores, R., Gigante, M. L. (2010): Use of ultrafiltration and supercritical fluid extraction to obtain a whey buttermilk powder enriched in milk fat globule membrane phospholipids, *International Dairy Journal*, 20, 598–602.
- Danthine, S., Blecker, C., Paquot, M., Innocente, N., Deroanne, C. (2000): Progress in milk fat globule membrane research: A review. *Lait*, 80, 209–222.
- Deeth, H. C. (1997): The role of phospholipids in the stability of milk fat globules. *Australian Journal of Dairy Technology*, 52, 44–46.
- Dewettinck, K., Rombaut, K., Thienpont, N., Thien Trung Le, T., T., Messens, K., Van Camp, J. (2008): Nutritional and technological aspects of milk fat globule membrane material, *International Dairy Journal*, 18, 436–457.
- Diaz-Maurino, T., Nieto, M. (1976): Milk fat globule membranes: Inhibition by sucrose of the alkaline phosphomonoesterase. *Biochimica et Biophysica Acta*, 448, 234–244.
- Dowben, R. M., Brunner, J. R., Philpott, D. E. (1967): Studies on milk fat globule membranes. *Studies on milk fat globule membranes*, 135, 1–10.
- Evers, J. M. (2004): The milkfat globule membrane-compositional and structural changes post secretion by the mammary secretory cell. *International Dairy Journal*, 14, 661–674.
- Fong, B. Y., Norris, C. S., MacGibbon, A. K. H. (2007): Protein and lipid composition of bovine milk-fat-globule membrane. *International Dairy Journal*, 17, 275–288.

- Girardet, J. M., Coddeville, B., Plancke, Y., Strecker, G., Campagna, S., Spik, G. (1995): Structure of glycopeptides isolated from bovine milk component PP3. *European Journal of Biochemistry*, 234, 939–946.
- Girardet, J.M. Coddeville, B. Plancke, Y. Gode'dranche, H., Fauquant, J., Maubois, J. L. (2000): Fr.actionation of globular milk fat by membrane microfiltration. *Lait*, 80, 93–98.
- Govindasamy-Lucey, S., Lin, T., Jaeggi, J. J., Johnson, M. E., Lucey, J. A. (2006): Influence of condensed sweet cream buttermilk on the manufacture, yield, and functionality of Pizza cheese. *Journal of Dairy Science*, 89, 454–467.
- Harrison, R., Higginbotham, J. D., Newman, R. (1975): Sialoglycopeptides from bovine milk fat globule membrane. *Biochimica et Biophysica Acta*, 389, 449–463.
- Houlihan, A. V., Goddard, P. A., Nottingham, S. M., Kitchen, B. J., Masters, C. J. (1992): Interactions between the bovine milk fat globule membrane and skim milk components on heating whole milk. *Journal of Dairy Research*, 59, 187–195.
- Hvarregaard, J., Andersen, M. H., Berglund, L., Rasmussen, J. T., Petersen, T. E. (1996): Characterization of glycoprotein PAS-6/7 from membranes of bovine milk fat globules. *European Journal of Biochemistry*, 240, 628–636.
- Kanno, C. (1989): Emulsifying properties of bovine-milk fat globule membrane in milk-fat emulsion-conditions for the reconstitution of milk-fat globules. *Journal of Food Science*, 54, 1534–1539.
- Kanno, C., Shimomura, Y., Takano, E. (1991): Physicochemical properties of milk-fat emulsions stabilized with bovine-milk fat globule-membrane. *Journal of Food Science*, 56, 1219–1223.
- Kim, D. H., Kanno, C., Mizokami, Y. (1992): Purification and characterization of major glycoproteins, PAS-6 and PAS-7 from bovine milk fat globule membrane. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1122, 203–211.
- Laloy, E., Vuillemand, J.-C., Soda, M. E., Simard, R. E. (1996): Influence of the fat content of Cheddar cheese on retention and localization of starters. *International Dairy Journal*, 6, 729–740.
- Lilbæk, H. M., Broe, M. L., Høier, E., Fatum, T. M., Ipsen, R., Sørensen, N. K. (2006): Improving the yield of Mozzarella cheese by phospholipase treatment of milk. *Journal of Dairy Science*, 89 4114 – 4125.
- Lopez, C., Camier, B., Gassi, J.-Y. (2007): Development of the milk fat microstructure during the manufacture and ripening of Emmental cheese observed by confocal laser scanning microscopy. *International Dairy Journal*, 17, 235–247.
- Lopez, C., Dufour, E. (2001): The composition of the milk fat globule surface alters the structural characteristics of the coagulum. *Journal of Colloid and Interface Science*, 233, 241–249.
- Lucey, J. A., Munro, P. A., Singh, H. (1998): Rheological properties and microstructure of acid milk gels as affected by fat content and heat treatment. *Journal of Dairy Science*, 63, 660–664.
- Mather, I. H. (2000): A review and proposed nomenclature for major proteins of the milk-fat globule membrane. *Journal of Dairy Science*, 83, 203–247.
- Michalski, M. C., Cariou, R., Michel, F., Garnier, C. (2002): Native vs. damaged milk fat globules: Membrane properties affect the viscoelasticity of milk gels. *Journal of Dairy Science*, 85, 2451–2461.
- Michalski, M. C., Gassi, J. Y., Famelart, M. H., Leconte, N., Camier, B. (2003): The size of native milk fat globules affects physicochemical and sensory properties of Camembert cheese. *Lait*, 83, 131–143.
- Michalski, M.-C., Camier, B., Briard, V., Leconte, N., Gassi, J.-Y., Goudéranche, H. (2004): The size of native milk fat globules affects physico-chemical and functional properties of Emmental cheese. *Lait*, 84, 343–358.
- Michalski, M.-C., Camier, B., Gassi, J.-Y., Briard-Bion, V., Leconte, N., Famelart, M.-H. (2007): Functionality of smaller vs control native milk fat globules in Emmental cheeses manufactured with adapted technologies. *Food Research International*, 40, 191–202.
- Morin, P., Britten, M., Jiménez-Flores, R., Pouliot, Y. (2007): Microfiltration of buttermilk and washed cream buttermilk for concentration of milk fat globule membrane components. *Journal of Dairy Science*, 90, 2132–2140.
- Morin, P., Pouliot, Y., Jiménez-Flores, R. (2006): A comparative study of the fractionation of regular buttermilk and whey buttermilk by microfiltration. *Journal of Food Engineering*, 77, 521–528.
- Nielsen, R. L., Andersen, M. H., Mabhout, P., Berglund, L., Petersen, T. E., Rasmussen, J. T. (1999): Isolation of adipophilin and butyrophilin from bovine milk and characterization of a cDNA encoding adipophilin. *Journal of Dairy Science*, 82, 2543–2549.
- Pallesen, L. T., Andersen, M. H., Nielsen, R. L., Berglund, L., Petersen, T. E., Rasmussen, L. K. (2001): Purification of MUC1 from bovine milk-fat globules and characterization of a corresponding fulllength cDNA clone. *Journal of Dairy Science*, 84, 2591–2598.
- Poduval, V. S., Mistry, V. V. (1999): Manufacture of reduced fat Mozzarella cheese using ultrafiltered sweet buttermilk and homogenized cream. *Journal of Dairy Science*, 82, 1–9.
- Roesch, R. R., Rincon, A., Corredig, M. (2004): Emulsifying properties of fractions prepared from commercial buttermilk by microfiltration. *Journal of Dairy Science*, 87, 4080–4087.
- Rombaut, R. (2006): Enrichment of nutritionally advantageous milk fat globule membrane fragments present in dairy effluents. Ph.D. dissertation, Ghent University, Ghent, The Netherlands.
- Rombaut, R., Dejonckheere, V., Dewettinck, K. (2006): Microfiltration of butter serum upon casein micelle destabilization. *Journal of Dairy Science*, 89, 1915–1925.
- Rombaut, R., Dejonckheere, V., Dewettinck, K. (2007): Filtration of milk fat globule membrane fragments from acid buttermilk cheese whey. *Journal of Dairy Science*, 90, 1662–1673.
- Rombaut, R., Dewettinck, K. (2006): Properties, analysis and purification of milk polar lipids. *International Dairy Journal*, 16, 1362–1373.
- Rombaut, R., Dewettinck, K., Van Camp, J. (2007): Phospho- and sphingolipid content of selected dairy products as determined by HPLC coupled to an evaporative light scattering detector (HPLC-ELSD). *Journal of Food Composition and Analysis*, 20, 308–312.
- Sachdeva, S., Buchheim, W. (1997): Recovery of phospholipids from buttermilk using membrane processing. *Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte*, 49, 47–68.
- Sodini, I., Morin, P., Olabi, A., Jimenez-Flores, R. (2006): Compositional and functional properties of buttermilk: A comparison between sweet, sour, and whey buttermilk. *Journal of Dairy Science*, 89, 525–536.
- Sorensen, E. S., Petersen, T. E. (1993): Purification and characterization of 3 proteins isolated from the proteose peptone fraction of bovine milk. *Journal of Dairy Research*, 60, 189–197.
- Sorensen, E. S., Rasmussen, L. K., Moller, L., Petersen, T. E. (1997): The localization and multimeric nature of component PP3 in bovine milk: Purification and characterization of PP3 from caprine and ovine milks. *Journal of Dairy Science*, 80, 3176–3181.
- Spitsberg, V. L. (2005): Bovine milk fat globule membrane as a potential nutraceutical. *Journal of Dairy Science*, 88, 2289–2294.
- Trachoo, N., Mistry, V. V. (1998): Application of ultrafiltered sweet buttermilk and sweet buttermilk powder in the manufacture of nonfat and low fat yogurts. *Journal of Dairy Science*, 81, 3163–3171.
- Vesper, H., Schmelz, E. M., Nikolova-Karakashian, M. N., Dillehay, D. L., Lynch, D. V., Merrill, A. H. (1999): Sphingolipids in food and the emerging importance of sphingolipids to nutrition. *Journal of Nutrition*, 129, 1239–1250.
- Walstra, P., Wouters, J. T. M., Geurts, T. J. (2006): Dairy science and technology. Boca Raton, FL, USA: CRC Press.
- Wong, P. Y. Y., Kitts, D. D. (2003): A comparison of the buttermilk solids functional properties to nonfat dried milk, soy protein isolate, dried egg white, and egg yolk powders. *Journal of Dairy Science*, 86, 746–754.
- Ye, A., Singh, H., Taylor, M. W., Anema, S. (2002): Characterization of protein components of natural and heat-treated milk fat globule membranes. *International Dairy Journal*, 12, 393–402.

## SUMMARY

### METHODS OF ISOLATION AND TECHNOLOGICAL ASPECTS OF MILK FAT GLOBULE MEMBRANES

<sup>1</sup>Jelena Miočinović, <sup>2</sup>Thien Trung Le, <sup>2</sup>Eveline Fredrick, <sup>2</sup>Koen Dewwetnick, <sup>1</sup>Predrag Puđa

<sup>1</sup>University of Belgrade, Faculty of Agriculture, Serbia

<sup>2</sup>Gent University, Faculty of Bioscience Engineering, Department of Food Safety and Food Quality, Laboratory of Food Technology and Engineering, Belgium

Milk fat globule membrane (MFGM) differ with unique composition and properties. The MFGM contain a significant amount of polar lipids, especially phospholipids and sphingolipids, as well as specific proteins, that possess specific nutritional properties and belong to bioactive components group. Also, specific properties of lipids and proteins contribute to good emulsifying and stabilizing properties of MFGM.

This review paper focuses on the overview of basic composition and structure of MFGM, potential techniques of their isolation on laboratory as well as on the industrial scales. The possibilities of application MFGM in production of milk and dairy products were induced or given by consideration of their nutritional and technological properties.

**Key words:** milk fat membrane globule • phospholipids • .proteins • .microfiltration • ultrafiltration