

Polimorfizam proteina mlijeka u proizvodnji sira

Dubravka SAMARŽIJA, dipl. inž., doc. dr. Jasmina LUKAČ-HAVRANEK, Ino
ČURIK, dipl. inž. i mr. Neven ANTUNAC
Fakultet poljoprivrednih znanosti, Zavod za Mljekarstvo, Zagreb

Pregledni članak — Review
Prispjelo: 15. 12. 1991.

UDK: 637.35.045

Sažetak

U preglednom članku »Polimorfizam proteina mlijeka u proizvodnji sira« izneseni su rezultati istraživanja više autora o djelovanju polimorfizma na koagulacijska svojstva mlijeka, sinerezu sirnog gruša i randman sira.

S obzirom na koagulacijske osobine mlijeka BB varijanta β - i κ -kazeina, BC varijanti α_{s1} -kazeina i AA varijanti β -laktoglobulina pripisuje se povoljniji utjecaj.

Postoji malo radova o djelovanju proteina mlijeka na sinerezu sirnog gruša. Razlog tome vjerojatno je do danas nedovoljno objašnjen proces same sinereze. Preliminarnim radom utjecaja genetskih varijanti κ -kazeina i β -laktoglobulina na sinerezu, McLean i Schaar (1989) utvrdili su povoljniji utjecaj B varijanti.

Veći randman sira pripisuje se α_{s1} -Cn BC, β -CnA'A' i κ -Cn BB varijantama. Razlike između β -Lg genetskih varijanti na randman sira postoje, no one nisu statistički značajne (Marziali i Ng-Kwai-Hang, 1986). Bolji randman i kvalitetu sira moguće je ostvariti ako uvažavamo razlike između genetskih varijanti. Složenost samog tehnološkog procesa prerade mlijeka u sir zahtijeva daljnja istraživanja na ovom području.

Uvod

Svojstva mlijeka, važna u proizvodnji sira, nedjeljiva su od sastava mlijeka. Svaki vanjski ili genetski činilac koji djeluje na sastav mlijeka, logički pretpostavlja i njegov utjecaj na sposobnost mlijeka za sirenje, kvalitetu i randman sira.

Genetički polimorfizam proteina mlijeka, kao dio genetskih parametara koji signifikantno uzrokuju različit sastav mlijeka i činjenica da ga je relativno lako utvrditi u mlijeku, potaknuli su istraživanja utjecaja polimorfizma na proizvodnju sira.

U proizvodnji sira važna su koagulacijska svojstva (formagrafski pokazatelji), sinereza, te kvaliteta i randman sira.

Ideja o istraživanju veze između polimorfizma i proizvodnje sira usmjerena je na traženje najpovoljnijih genetskih varijanti, koje će optimalno odgovoriti zahtjevima u izradi sira.

Osnovni postupci u preradi mlijeka u sir

Iako je većini mljekarskih stručnjaka poznato djelovanje genetskog polimorfizma proteina mlijeka u tehnologiji proizvodnje sira, radi lakšeg razumijevanja ukratko ćemo je opisati.

Postoje mnoge vrste sireva, ali su osnovni postupci u preradi mlijeka u sir slični. Sastoje se od termizacije mlijeka, dodatka čiste kulture i sirila, stvaranja gruš (koaguluma), obrade gruš, sinereze, soljenja, prešanja i zrenja sira.

Koagulacija mlijeka sirilom je najuobičajeniji način koagulacije, a ovisi o enzimatskom djelovanju proteolitičkog enzima sirila (renina ili himozina) na kazein, na čijoj precipitaciji temelji proizvodnja sira.

Kompleksna struktura kazeinske micelle sastoji se od velikog broja različitih kazeinskih molekula. Cijelu kazeinsku micelu sačinjava približno 40% α -kazeina, 35% β -kazeina, 15% κ -kazeina i 10% minornih komponenti (Wauugh, 1971). Posebno važni u proizvodnji sira su kalcijevi fosfati i citrati kao dio kazeinskog kompleksa (Galloway i Crawford, 1985).

Stabilnost kazeinske micelle pripisuje se κ -kazeinu i koloidnom kalcijevom fosfatu (Banks i sur., 1985).

Hidrolitička aktivnost sirila na kazeinskom micelu može se podijeliti u tri faze. Primarnu fazu karakterizira destabilizacija κ -kazeina hidrolitičkim djelovanjem enzima na peptidnu vezu između fenilalanina i metionina (na 105. i 106. mjestu u polipeptidnom lancu), nastajanjem para- κ -kazeina i glikomakropeptida. Para- κ -kazein je netopiv i visoko hidrofoban, te u prisutnosti dvovalentnih iona (uglavnom kalcija, magnezija, fosfata ili citrata) agregira u formu koaguluma (Tamime, 1986). Kazeinske micelle postaju pahuljaste i fibrozne i formiraju mrežu koja zadržava vlagu i masne globule. Kazein se transformira u kalcijum-fosfat-parakazeinat (Galloway i Crawford, 1985). Ove promjene mogu se odvijati i u uvjetima niskih temperatura, a ovaj stadij koaguluma predstavlja integralni stadij u proizvodnji sira (Chapman i sur., 1985). Kazein-glikomakropeptidna frakcija je topiva i gubi se sirutkom nakon rezanja gruš (Tamime, 1986).

Sekundarnu fazu čini završno formiranje gruš. Ovu fazu određuje interakcija između kalcijevih iona, α_{s1} -kazeina i para- κ -kazeina u formu netopivog koaguluma. Interakcija nije posve jasna na molekularnoj razini, ali formagrafske vrijednosti mlijeka kome je dodano sirilo ili kazeina (u prisutnosti kalcijevih iona) označene su temperaturom, vrijednošću pH i nabojem aminokiselina, prisutnošću drugih dvovalentnih iona i interakcijama kazeina s drugim komponentama mlijeka (Mehia i Cheryan, 1983).

Treća, proteolitička faza odvija se u uvjetima pH 5,2—5,8 i uključuje razgradnju proteina mlijeka do peptida, djelovanje čiste kulture i bitna je za zrenje sira (Berg i sur., 1990). Sinereza ili otjecanje sirutke također je jedna od bitnih tehnoloških faza u proizvodnji sira. Stupanj sinereze utječe na količinu vlage, čvrstoću gruš i na teksturu sira. Tako količina vlage koja ostaje u grušu utječe na količinu laktoze i na taj način kiselost svježeg (mladog) sira (Chapman i sur., 1985). Istovremeno količina sirutke u grušu neposredno utječe na okus, djelujući na rast bakterija, ili na ostale komponente zrenja (Beby i sur., 1971).

Polimorfizam i koagulacijska svojstva mlijeka

Koagulacijska svojstva, a napose čvrstoća gruš u vrijeme rezanja, izravno utječu na kvalitetu, teksturu i randman sira, djelujući na zaostajanje

sastojaka mlijeka, koji određuju sastav zrelog sira (Marziali i Ng-Kwai-Hang, 1986). Vrijeme zgrušavanja i formografske vrijednosti K 10*, K 20**, A 30*** smatraju se mjerljivim vrijednostima gruš (Politis i Ng-Kwai-Hang, 1988.) za određivanje koagulacijskih svojstava mlijeka.

Mnoga ranija istraživanja koagulacijskih svojstava mlijeka koristila su skupna mlijeka. Stoga su radovi o djelovanju genetskih varijanti proteina mlijeka na koagulacijske osobine, rijetki (Marziali i Ng-Kwai-Hang, 1986). Genetske varijante κ -kazeina izrazito utječu na svojstva grušanja mlijeka siri-*lom* (Berg i sur., 1990; Corradini i sur., 1988; Marziali i Ng-Kwai-Hang, 1986; McLean i Shaar, 1989; Pagnacco i Caroli, 1987; Schaar, 1984). Učinak κ -kazeinskih varijanti na čvrstoću gruš (K 10, K 20) naglašeniji je u odnosu na vrijeme zgrušavanja. Genetska varijanta κ -kazeina BB u sva tri formografska parametra bolja je u odnosu na κ -kazeinsku AA varijantu (Schaar, 1984). Kraće koagulacijsko vrijeme i maksimalnu čvrstoću gruš za κ -Cn BB varijantu (−24% i +37%) u usporedbi sa AA varijantom utvrdili su i Rahalli i Menard (1991).

Heterozigotni κ -Cn AB genotip za vrijeme zgrušavanja i vrijednost K 10 zauzima intermedijarnu poziciju, a vrijednost A 30 za κ -Cn AB nije signifikantno različita od κ -Cn BB (Pagnacco i Caroli, 1987).

Znatno veći učinak na vrijeme koagulacije i čvrstoću gruš za genotip β -kazein BB u odnosu na AA utvrdili su Mariani i sur., (1986). Čak i u pogledu β -/ κ -Cn kombinacija, vrijeme zgrušavanja za β -Cn BB genotip, u odnosu na AA, je najkraće (Mariani i Leoni, 1985).

Pagnacco i sur. (1987.) utvrdili su da genetske varijante α_{s1} -Cn također utječu na koagulacijska svojstva mlijeka. Najkraće vrijeme zgrušavanja i najčvršći gruš utvrdili su za BC varijantu α_{s1} -kazeina. No, djelovanje α_{s1} -Cn varijanti na koagulacijske osobine mlijeka, u odnosu na β - i κ -kazeinske varijante znatno je slabije. Djelovanje α_{s1} -Cn, izgleda da je vezano na primarnu fazu koagulacije (Mariani i sur., 1988).

Nasuprot povoljnijim BB varijantama α -, β - i κ -kazeina, varijanta AA β -laktoglobulina iskazala je bolja koagulacijska svojstva u odnosu na AB i BB varijante. Osim toga, čvrstoća gruš u trenutku rezanja, bila je najbolja za AA varijantu β -Lg (Mariani i sur., 1986). Međutim, Aaltonen i Antila (1987) nisu utvrdili signifikantno djelovanje β -Lg varijanti na koagulacijske osobine mlijeka.

Odgovori, zašto određene genetske varijante α -, β -, κ -Cn odnosno β -Lg djeluju povoljnije na koagulacijske osobine mlijeka nisu u cijelosti objašnjeni.

Zna se da se fenotipovi β - i κ -kazeina povezani s količinom masti i kazeina, kazeinskim frakcijama, i količinom citronske kiseline, kao komponentama mlijeka koje mogu utjecati na koagulaciju (Mariani, 1985; Marziali i Ng-Kwai-Hang, 1986).

Utvrđeni viši postotak manjih kazeinskih micela i način njihove disperzije u mlijeku, Mariani i sur. (1988) smatraju da mogu biti uzrokom boljih koagulacijskih parametara za β -Cn BB mlijeko. Vjerojatno je značajan i utjecaj

* K 10 — Formografski pokazatelj potrebnog vremena od dodatka sirila u mlijeko do vrijednosti amplitude 10 mm.

** K 20 — Formografski pokazatelj potrebnog vremena od dodatka sirila u mlijeko do vrijednosti amplitude 20 mm.

*** A 30 — Formografski pokazatelj veličine amplitude u mm., 30 minuta nakon dodatka sirila.

β - i κ -kazeinskih varijanti na samu strukturu nativnog kazeina (Mariani i Leoni, 1985). Mlijeko BB varijanti β - i κ -kazeina signifikantno manje sudjeluje u α_{s1} -kazeinu i više u κ -kazeinu ukupnog kazeina od AA varijanti (Aaltonen i Antila, 1987; McLean i sur., 1984). Različita proporcija (učestće) kazeinskih frakcija vidljivo utječe na cijelu strukturu i svojstva kazeinskih micelija i na taj način djeluje i na koagulacijska svojstva. Signifikantno pozitivnu korelaciju između čvrstoće gruša i koncentracija α_{s1} - i κ -kazeina utvrdili su Storry i sur. (1983).

Politis i Ng-Kwai-Hang (1988) smatraju koncentraciju κ -kazeina u ukupnom kazeinu najvažnijom za čvrstoću gruša.

Signifikantna povezanost sa čvrstoćom gruša utvrđena je i za koncentraciju β -laktoglobulina, a djelomično za α -laktoglobulin, dok je vrijeme zgrušavanja mlijeka u korelaciji s koncentracijama β -kazeina i omjerom α_{s1} -/ β -kazeina (Storry i sur., 1983).

Razlika u strukturi kazeinske micelle uzrokuje različitu strukturu para- κ -kazeina (McLean i sur., 1984) koja može utjecati na intermolekularne hidrofobne međureakcije zbog razlike u naboju na vanjskoj površini micelle (Dalglish, 1983; Hill, 1970). Stabilnost kazeinske micelle ovisi i o prisutnosti kalcijevih iona. Kazeinske micelle κ -Cn B i β -Cn B, u odnosu na stabilnost micela κ -Cn A i β -Cn A mlijeka, daleko su stabilnije (El-Negoumy, 1971; McMahon i Brown, 1984). Međutim, mlijeko B varijanti β - i κ -kazeina je osjetljivije na djelovanje sirila. Veća osjetljivost sirila vjerojatno je razlog kraćem trajanju zgrušavanja (El-Negoumy, 1972).

Mlijeko različitih κ -Cn varijanti razlikuje se i u količini citrata (Mariani i sur., 1979). Otprilike 10% nižu koncentraciju citrata, u odnosu na κ -Cn A mlijeko, sadrži mlijeko B varijante κ -kazeina (Schaar i sur., 1985). Grandison i sur. (1984) i Storry i sur. (1983) utvrdili su negativnu korelaciju između čvrstoće gruša i količine citrata.

Genetske varijante s manje negativnog naboja u kazeinskoj miceli (α_{s1} -Cn A, β -Cn B, κ -Cn B) povezane su s kraćim trajanjem zgrušavanja i povećanom čvrstoćom gruša od genetskih varijanti koje u strukturi svojih molekula sadrže više negativnih grupa (El-Negoumy, 1985; Sadler i sur., 1968).

Reduciranjem pH vrijednosti i dodatkom Ca^{++} u mlijeko, neutralizirane su negativne grupe, te se gotovo u potpunosti eliminirao učinak κ -kazeinskih varijanti na trajanje zgrušavanja mlijeka. Rezultati eksperimenta indiciraju da razlike u naboju između κ -Cn varijanti mogu biti važne za početnu enzimsku fazu koagulacije (Schaar, 1984).

Prilikom definiranja najpovoljnije genetske varijante koagulacijskih svojstava, svakako su navedene činjenice, a u obzir je potrebno uzeti i vjerojatnost njihove međusobne interakcije. Naravno, pri tome se ne smije izostaviti djelovanje stadija i broja laktacija, ishrane, zdravlja životinje i broja somatskih stanica koji također signifikantno utječu na koagulacijske osobine mlijeka.

Polimorfizam i sinereza gruša

Sinereza sirnog gruša je kompleksan, nedovoljno objašnjen proces. Uključuje koncentraciju proteinskog gela koji sadrži gruš i istjecanje sirutke. Najmanje je objašnjena priroda protein-protein interakcija, odgovornih za stezanje gruša (Pearse i sur., 1984 i 1985). Pa i ne čudi tvrdnja McLeana i Schaar (1989) da su oskudne informacije o djelovanju genetskih varijanti proteina mlijeka na sinerezu sirnog gruša.

Trajanje sinereze (vrijeme koje je potrebno da se sakupi 20 ml sirutke iz gruš a od 50 ml mlijeka) u pozitivnoj je korelaciji s količinom masti, kalcija, kalija i čvrstoćom gruš a. Nasuprot, negativna korelacija je utvrđena za povećanje koncentracije laktose, ukupnog kazeina, natrija i omjera kazeina i masti (Grandison i sur., 1984). Storry i sur. (1983) navode da je sporije otjecanje sirutke povezano s povećanim koncentracijama α_{s1} -Cn, κ -Cn i α -La, ali ne i s koncentracijama β -Cn. Međutim, Pearse i sur. (1986.) navode da koncentracije β - i κ -Cn signifikantno djeluju na koagulaciju, dok sinereza ovisi jedino o koncentraciji β -Cn. Fosfatne grupe β -Cn izravno su uključene u micela-micela interakcije koje se javljaju u vrijeme sinereze.

Preliminarnim radom o utjecaju κ -kazeinskih i β -laktoglobulinskih varijanti proteina mlijeka na sinerezu, McLean i Schaar (1989) utvrdili su povoljniju sinerezu B varijanti za κ -kazein i β -laktoglobulin. Osim toga, umjetnim izjednačavanjem koncentracija β -Lg u mlijeku, zaključuju da je utjecaj genetskih varijanti β -Lg veći od same koncentracije β -Lg u mlijeku.

Polimorfizam i randman sira

Općenito autori se slažu da količina masti i kazeina determinira randman sira. Genetske varijante proteina mlijeka koje utječu na veću količinu masti u mlijeku, vjerojatno će biti poželjnije i u proizvodnji sira.

Mariani i sur. (1976) i Morini i sur. (1979) utvrdili su za 10% veći randman parmezana od mlijeka κ -Cn BB genotipa. Bolji randman pripisuju povoljnijem djelovanju κ -Cn BB varijante na zaostajanje masti u siru i njezinu djelovanje na količinu vlage. S obzirom na ekstremno niski postotak vlage u parmezanu, Schaar i sur. (1985) pokušali su utvrditi učinak κ -Cn varijanti na Svesia tipu sira, čije se zrno obrađuje u uvjetima nižih temperatura (41°C). Rezanjem gruš a određene čvrstoće učinak κ -Cn varijanti na sastav i randman sira bio je zanemariv. Tendencija većeg zaostajanja masti u siru od mlijeka κ -Cn B varijante pokazala se signifikantnom nakon 3,5 mjeseca zrenja sira. Signifikantna razlika u količini vlage nije utvrđena između AA i BB κ -Cn tipa sira, a bolji učinak κ -Cn BB varijante na količinu vlage u parmezanu, autor vidi u primjeni viših temperatura obrade gruš a, gdje je i učinak κ -Cn BB na sinerezu povoljniji.

I randman sira u kadi izračunat je na osnovi konstantne količine masti (1,8%) u mlijeku veći je za κ -Cn BB genotip (Aleandri i sur., 1990). Najviše količine suhe tvari, masti i proteina utvrđene su u κ -Cn tipu sira, odnosno njihov gubitak sa sirutkom signifikantno je manji u odnosu na AA i AB genetske varijante κ -Cn. Rezultati ukazuju na bolju inkorporaciju masti i proteina u sir (Marziali i Ng-Kwai-Hang, 1986).

U komparaciji s A^1A^2 fenotipom β -Cn, A^1A^1 je pokazao za 0,51 odnosno 0,43% veći stvarni i kalkulirani randman sira (Marziali i Ng-Kwai-Hang, 1986). Razlike u sastavu: više suhe tvari, proteina i masti inkorporiranih u β -Cn A^1A^1 u odnosu na β -Cn A^1A^2 sir, može se djelomično objasniti većim gubitkom masti i proteina sa sirutkom za sir od mlijeka iz β -Cn A^1A^2 (Marziali i Ng-Kwai-Hang, 1986). Radi povezanosti α_{s1} -Cn BC genetske varijante s višim postotkom proteina u mlijeku čini se da je ova varijanta u odnosu na druge varijante α_{s1} -Cn povoljnija što se tiče randmana sira u kadi (Ng-Kwai-Hang i sur., 1986). Veći randman sira postignut na osnovi konstantnog postotka masti (1,8%) za α_{s1} -Cn BC navode i Aleandri i sur. (1990).

Mlijeko β -Lg B bogatije je kazeinskim dušikom u odnosu na β -Lg A mlijeko ($P > i = 0,05$). Izraženo u postotku ukupnog dušika, sir β -Lg BB iz jednake količine mlijeka u odnosu na β -Lg AA daje za približno 200 g veći randman (Morini i sur., 1982).

Genetske varijante β -Lg signifikantno utječu ($P < 0,01$) na kazeinski broj ($B > AB > A$) i zaostajanje proteina u siru ($B > AB > A$) kao i ($P < 0,05$) na suhu tvar sira (Schaar i sur., 1985). Signifikantnu razliku u količini masti u siru, proizvedenog iz 100 g mlijeka, i koncentraciji proteina između AA, AB i BB varijanti β -Lg utvrdili su i Marziali i Ng-Kwai-Hang (1986), dok za količinu suhe tvari u siru takva razlika nije utvrđena.

Istraživanjem Marziali i Ng-Kwai-Hang (1986) nije utvrđeno koja je genetska varijanta β -Lg povoljnija za randman sira. S obzirom na vlastita ranija istraživanja sastava mlijeka i sira, autori smatraju da bi BB varijanta β -Lg trebala biti bolja, budući da je povezana s većom količinom kazeina u mlijeku. Aleandri i sur. (1990) smatraju genotip BB β -Lg povoljnijim za randman sira, zahvaljujući ne samo njegovoj povezanosti s većom količinom kazeina, već i s većom količinom masti.

Uz randman, kvaliteta sira je svakako najznačajniji pokazatelj dobiti. Iako nema radova o povezanosti genetskog polimorfizma i kvalitete sira za sve proteine mlijeka, Schaar i sur. (1985) kvalitetu zrelog sira uspoređuju između A i B β -Lg tipa sira. Razlika postoji, ali je zanemariva. Nešto manje bodova za tijesto i teksturu β -Lg B sira autor pripisuje boljoj proteolizi u β -Lg A siru.

Zaključak

Genotip κ -Cn BB u mnogim je istraživanjima povoljniji u odnosu na AA i AB varijante za koagulacijska svojstva mlijeka. Trajanje zgrušavanja genetske varijante κ -Cn BB je kraće, formagrafski su parametri bolji (K 10, K 20 i A 30). Signifikantno veći učinak na koagulacijske osobine, vezan je za β -Cn BB genotip. Učinak α_{s1} -Cn varijanti na koagulacijske osobine postoji, ali je znatno slabiji u usporedbi s β i κ -Cn genotipovima.

U pogledu djelovanja β -Lg varijanti na iste osobine rezultati su bitno različiti.

Preliminarnim radom McLean i Schaar (1989) utvrdili su povoljniji utjecaj B varijanti κ -Cn i β -Lg na sinerezu sira. Bolji randman sira pripisuje se κ -Cn BB, β -Cn A¹A¹ i α_{s1} -Cn BC genetskim varijantama.

Iako statistički nije utvrđena značajna razlika između β -Lg varijanti, bolji utjecaj u izradi sireva autori pripisuju BB varijanti.

Bez obzira na vrlo dobre rezultate, prije eventualnog uvrštavanja određenih genotipova u selekcijske programe, potrebno je utvrditi djelovanje genetskog polimorfizma proteina mlijeka u cijelom tehnološkom procesu prerade mlijeka u sir.

Naravno, dio znanstvenih istraživanja mora biti povezan i garancijom o nenarušavanju zdravstvenog stanja i reproduktivnih sposobnosti životinje u slučaju eventualne selekcije na određeni genotip.

Utvrđivanje polimorfizma proteina mlijeka i njihova frekvencija u populaciji simentalških krava, te njihov utjecaj na preradbene osobine mlijeka, znanstveni je projekt Zavoda za mljekarstvo.

MILK PROTEINS POLYMORPHISM IN CHEESE PRODUCTION

Summary

The main purpose of this paper is to review the findings of several authors about potential applications of genetic polymorphisms on coagulation properties of milk, syneresis and cheese yield.

Coagulation properties were influenced by α_{s1} -casein, β -casein, κ -casein and β -lactoglobulin, genotypes BC, BB i AA, respectively, showing better effects.

The gap in the knowledge about process of syneresis probably in the main reason of poor information considering the effects of milk protein genetic variants on syneresis of cheese curd. However, McLean and Schaar (1989) found κ -casein BB and β -lactoglobulin BB genetic variants show better properties in respect of syneresis process.

The highest cheese yields were estimated when α_{s1} -Cn BC as well as β -Cn A'A' and κ -Cn BB genotypes were used. The differences among β -Lg genetic variants are recorded, although not significant (Marziali and Ng-Kwai-Hang, 1986).

Results described above show that genetic variants may be of importance to better cheese quality and yield.

Technology of cheesemaking process is very complex, so there is strong task for further investigations.

Literatura

- AALTONEN, M. L., ANTILA, V. (1987): Milk renneting properties and the genetic variants of proteins. *Milchwissenschaft* **42**, 490—492.
- ALEANDRI, R., BUTTAZZONI, L. G., SCHNEIDER, J. C., CAROLI, A., DAVOLI, R. (1990): The Effects of Milk Protein Polymorphisms on Milk Components and Cheese-producing Ability. *Journal of Dairy Science* **73**, 241—255.
- BANKS, W., DALGLEISH, D. G., ROOK, J. A. F. Reprinted (1985): Dairy Microbiology, The Microbiology of Milk vol. 1 Robinson, R. K. 1—34, Elsevier Applied Science Publishers, London.
- BEEBY, R., HILL, R. D., SNOW, N. S. (1971): Milk Proteins Chemistry and Molecular Biology. McKenzie, H. A. 422—459 Academic Press, New York.
- BERG, G. VAN DEN KONING, P. J., ESCHER, J. T. M., BOVENHUIS, H. (1990): Genetische varianten van melkeiwitten en de eigenschappen van koemelk. NIZO-neuws 1990, nr. 8 *Voedingsmiddelentechnologie* **23**, 13—17.
- CHAPMAN, H. R., SHARPE, M. E. REPRINTED (1985): Dairy Microbiology, The Microbiology of Milk Products, Robinson, R. K. 157—244 Elsevier Applied Science Publishers, London.
- CORRADINI, C., VECCHIA, P., ROSSI, G. (1988): Effects of protein genetic polymorphism on renneting ability of low acidity individual milks. *Scienza e Tecnica LattieroCasearia* **39**, 423—430.
- DALGLEISH, D. G., (1983): Coagulation of renneted bovine casein micelles: dependence on temperature, calcium ion concentration and ionic strength. *Journal of Dairy Research* **50**, 331—340.
- EL-NEGOUMY, A. M. (1971): Effect of α_{s1} , β - i κ - Casein Polymorphs in the Stability of Calcium Caseinate Micelles in Model Systems. *Journal of Dairy Science* **54** 1567—1574.
- EL-NEGOUMY, A. M. (1972): Effect of polymorphic composition of calcium caseinate sols on their stability to rennin. *Journal of Dairy Research* **39**, 373—379.
- GALLOWAY, J. H., CRAWFORD, R. J. M. (1985): Microbiology of Fermented Foods, Wood, B. J. B. 111—165, Elsevier Applied Science Publishers, London.

- D. Samaržija i sur.: Polimorfizam proteina... *Mljekarstvo* 41 (12) 319—327, 1991.
- GRANDISON, A. S., FORD, G. D., OWEN, A. J., MILLARD, D. (1984): Chemical composition and coagulation properties of renneted milks from cows during early lactation. *Journal of Dairy Research* 51 407—416.
- GRANDISON, A. S., FORD, G. D., OWEN, A. J., MILLARD, D. (1984) Chemical composition and coagulation properties of renneted Frisian milk during the transition from winter rations to spring grazing. *Journal of Dairy Research* 51, 69—78.
- HILL, R. D. (1970): The effect of the modification of arginine side chains in casein in the coagulation of renninaltered casein. *Journal of Dairy Research* 37, 187—192.
- MARIANI, P. (1985): Osservazioni sull' indice di caseina del latte di vacche Frisiane. *Scienza e Technica Lattiero-Casearia* 36, 191—209.
- MARIANI, P., BONETTI, P., PECORARI, M. (1988): Renet coagulation properties of cow milk in relation to α_{s1} -casein genotypes. *Scienza e Technica Lattiero-Casearia* 39, 431—438.
- MARIANI, P., LEONI, M. (1985): Il Tempo di Coagulazione del latte in rapporto alle varianti genetiche delle caseine β e κ . *Annali Fac. Med. Veter. Univ. Parma* V: 185—195.
- MARIANI, P., LOSI, G., MORINI, D., CASTAGNETI, G. B. (1979): Il contenuto di acido citrico nel latte di vacche con genotipo diverso nel locus κ -caseina. *Scienza e Technica Lattiero-Casearia* 30, 375—384.
- MARIANI, P., MEAZZA, M., RESMINI, P., PAGANI, M. A., PECORARI, M., FOSSA, E. (1986): Osservazioni su tipi di betacaseina e caratteristiche di coagulazione del latte. *L'industria del latte* 1, 35—58.
- MARIANI, P., LOSI, RUSSO, V., CASTAGNETI, G. B., GRAZIA, L., MORINI, D., FOSSA, E. (1976): Prove di caseificazione con latte caratterizzato dalle varianti A e B nella produzione del formaggio parmigiano-reggiano. *Scienza e Technica Lattiero-Casearia* 27, 208—227.
- MARZIALI, A. S., NG-KWAI-HANG, K. F. (1986): Effects of Milk Composition and Genetic Polymorphism in Coagulation Properties of milk. *Journal of Dairy Science* 69, 1793—1798.
- MARZIALI, A. S., NG-KWAI-HANG, K. F. (1986): Effects of Milk Composition and Genetic Polymorphism on Cheese Composition. *Journal of Dairy Science* 69, 2533—2542.
- MARZIALI, A. S., NG-KWAI-HANG, K. F. (1986): Relationships Between Milk Protein Polymorphisms and Cheese Yielding Capacity. *Journal of Dairy Science* 69, 1193—1201.
- McLEAN, M. D., GRAHAM, E. R. B., PONZONI, R. W., MCKENZIE, H. A. (1984): Effects of milk protein variants in milk yield and composition. *Journal of Dairy Research* 51, 531—546.
- McLEAN, D. M., SHAAR, J. (1989): Effects of β -lactoglobulin and κ -casein genetic variants and concentrations on syneresis of gels from renneted heated milk. *Journal of Dairy Research* 56, 297—301.
- McMAHON, D. J., BROWN, R. J. (1984): Enzymic Coagulation of casein Micelles: A Review. *Journal of Dairy Science* 67, 919—929.
- MEHIA, M. A., CHERYAN, M. (1983): The secondary phase of milk coagulation. Effect of calcium, pH and temperature in clotting activity. *Milchwissenschaft* 38, 137—140.
- MORINI, D., LOSI, G., CASTAGNETTI, G. B., MARIANI, P. (1979): Prove di caseificazione con latte caratterizzato dalle varianti A e B della κ -caseina: Rilievi sul formaggio staginato. *Scienza e Technica Lattiero-Casearia* 30, 243—262.
- MORINI, P., CASTAGNETTI, G. B., CHIAVARI, C., GRAZIA, L., LOSI, G., DAVOLI, R., BOSI, P. (1982): Prova di caseificazione con latte caratterizzato dalle varianti A e B della β -lattoglobulina nella produzione del formaggio parmigiano-reggiano. *Scienza e Technica Lattiero-Casearia* 33, 475—492.
- NG-KWAI-HANG, K. F., HAYES, J. F., MOXLEY, J. E., MONARDES, H. G. (1986): Relationships Between Milk Protein Polymorphisms and Major Milk Constituents in Holstein-Friesian Cows. *Journal of Dairy Science* 69, 22—26.

D. Samaržija i sur.: Polimorfizam proteina... Mljekarstvo 41 (12) 319—327, 1991.

PAGNACCO, G., CAROLI, A. (1987): Effects of casein and β -lactoglobulin genotypes on renneting properties of milks. **Journal of Dairy Research** 54, 479—485.

PEARSE, M. J., MACKINLAY, A. G., HALL, R. J., LINKLATER, P. M. (1984): A microassay for the syneresis of cheese curd. **Journal of Dairy Research** 54, 479—485.

PEARSE, M. J., LINKLATER, P. M., HALL, R. J., MACKINLAY, A. G. (1986): Effects of casein micelle composition and casein dephosphorylation in coagulation and syneresis. **Journal of Dairy Research** 53, 381—390.

PEARSE, M. J., LINKLATER, P. M., HALL, R. J., MACKINLAY, A. G. (1985): Effects of heat induced intersection between β -lactoglobulin and κ -casein in syneresis. **Journal of Dairy Research** 52, 159—165.

POLITIS, I., NG-KWAI-HANG, K. F. (1988): Effects of Somatic Cell Counts and Milk Composition on the Coagulating Properties of Milk. **Journal of Dairy Science** 71, 1740—1746.

RAHALI, V., MENARD, J. L. (1991): Influence des variantes genetiques de la β -lactoglobuline et de la κ -caseine sur la composition du lait et son aptitude fromagere. **Lait** 71, 275—297.

SADLER, A. M., KIDDY, C. A., McCANN, R. E., MATTINGLY, W. A., (1968): Acid Production and Curd Toughness in Milk of Different α_{s1} -Casein Types. **Journal of Dairy Science** 51, 28—30.

SCHAAR, J. (1984): Effects of κ -casein genetic variants and lactation number in the renneting properties of individual milks. **Journal of Dairy Research** 51, 397—406.

SCHAAR, J., HANSSON, B., PETTERSSON, H. E. (1985): Effects of genetic variants of κ -casein and β -lactoglobulin on cheesemaking. **Journal of Dairy Research** 52, 429—437.

STORRY, J. E., GRANDISON, A. S., MILLARD, D., OWEN, A. J., FORD, G. D. (1983): Chemical composition and coagulation properties of renneted milks from different breeds and species of ruminant. **Journal of Dairy Research** 50, 215—229.

TAMIME, A. J. (1986): Modern Dairy Technology, Advances in Milk Products Vol. 2., Robinson, R. K. 35—158 Elsevier Applied Science Publishers, London.

WAUGH, D. F. (1971): Milk Proteins: Chemistry and Molecular Biology II McKenzie, H. A. 4—79 Academic Press, Inc. New York.