

## Mikrostruktura mlečnih proizvoda — Pregled\* (Microstructure of Milk Products — a Brief Review)

Miloslav KALÁB, Food Research Centre, Research Branch, Agriculture  
Canada, Ottawa, Ontario, Canada K1A 0C6

Revijalni prikaz — Brief Review

UDK: 637.053

Prispjelo: 30. 9. 1986.

### Sažetak

*Interakcije kazeinskih micela, masnih globula, bakterija mlečne kiseline i drugih konstituenata mleka ili aditiva rezultiraju strukturama koje su karakteristične za pojedine mlečne proizvode. Razvoj mikrostrukture raznih mlečnih proizvoda prikazan je uz pomoć elektronske mikroskopije.*

### Summary

*Interactions by casein micelles, fat globules, lactis acid bacterial cultures, and other milk constituents or additives result in structures which are characteristic of individual milk product. The development of microstructure in various milk products is demonstrated using electron microscopy.*

### Uvod

Mleko je istinski značajna hrana. Mnogo vrsta prehrambenih proizvoda dobiva se od mleka: jogurt, sir, sladoled, lupana pavlaka, maslac i drugi. Sveže mleko je suspenzija masnih globula i proteinskih partikula (kazeinskih micela) u rastvoru laktoze, proteina surutke, soli i drugih manjih komponenata. Optičkim mikroskopom mogu se videti samo masne globule. Ako se mleko ostavi da stoji, masne globule, koje imaju u prečniku 2 do 5  $\mu\text{m}$  (Knopp, 1972), brzo isplivaju na površinu mleka zbog manje gustine i obrazuju sloj pavlake. Da bi se održala ravnomerna raspodela masnih globula u mleku za vreme skladištenja, mleko se homogenizuje. Za vreme homogenizacije, velike masne globule se dezintegrišu u manje (približno 0,1  $\mu\text{m}$  u prečniku), koje više nisu vidljive pod optičkim mikroskopom ali se mogu učiniti vidljivim elektronskom mikroskopijom.

### Mleko

Zahvaljujući elektronskoj mikroskopiji, koja omogućuje bolje razdvajanje nego optička mikroskopija, posmatranje strukture mlečnih proizvoda je znatno unapređeno (Brooker, 1979; Kaláb, 1979, 1985). Ustanovljeno je da kazein ima oblik micela (prosečnog prečnika 100 nm) i submicelarnih partikula (oko 10 nm u prečniku (slika 1 i 2)). Ultrastruktura kazeinskih micela može

\* Ovaj autorski pregled baziran je na predavanju održanom na Tehnološkom fakultetu u Novom Sadu, 4. septembra, 1986. godine.

\* This review is based on a presentation at the Faculty of Technology in Novi Sad on September 4, 1986.

da se proučava korišćenjem specijalne tehnike kojom se kazeinske micelle lome u smrznutom stanju (freeze fractured) i prevlače platinom i ugljenikom (Buchheim, 1982; Schmidt, 1982; Heertje, et al., 1985). Pod elektronskim mikroskopom struktura inicijalnih masnih globula otkriva se sa više detalja nego što je moguće optičkim mikroskopom. Na površini globula primjećuju se membrane. Kristali masti sa visokom tačkom topljenja mogu se videti dispergovani u masnoj frakciji niske tačke topljenja u masnim globulama hlađenog mleka i nekih mlečnih proizvoda (slika 3) (Precht i Peters, 1981; Kaláb, 1985). Kazeinske micelle i globule masti najvažniji su sastojci mleka koji mogu da se posmatraju elektronskom mikroskopijom. Oni reagiraju među sobom i sa submikroskopskim sastojcima, kao na primer sa proteinima surutke ( $\beta$ -laktoglobulinom) za vreme tehnološkog procesa koji je uslovljen vrstom proizvoda. Ove interakcije utiču na određena fizička svojstva finalnih proizvoda.

### Mlečni gelovi

Sposobnost proteina mleka da formira gel osnova je tehnologije fermentisanih mlečnih proizvoda i proizvodnje sireva. Elektronska mikroskopija pokazuje da su gelovi mreže sastavljene od kazeinskih micela povezanih među sobom tako da čine lance i nakupine. Ipak, postoje razlike u načinu formiranja kiselomlečnog gela i gela dobivenog koagulacijom sa himozinom. Pomenute razlike odražavaju se i na mikrostrukturu gelova koja je u vezi i sa nekim osobinama tih gelova. Za vreme nastanka kiselomlečnih gelova kao što je jogurt, koloidni kalcijum fosfat, koji je agregirajući agens kazeinskih micela, postaje rastvoren pri opadanju pH vrednosti mleka od 5,4—5,0 (Roefs et al., 1985). Tu redukciju pH vrednosti prouzrokuje oksidacija laktoze u mlečnu kiselinu bakterijskim kulturama.

#### *Lactobacillus bulgaricus* i *Streptococcus thermophilus*

Heertje, et al. (1985) su pokazali da se kazeinske micelle dezagregiraju i ponovo agregiraju pri daljem padu pH vrednosti do 4,5.

U gelovima nastalim koagulacijom mleka sa himozinom u proizvodnji sira, proteinska matrica se formira od kazeinskih micela koje su destabilizovane zbog proteolize  $\alpha$ -kazeina. Agregacija kazeinskih micela verovatno uključuje položaje koji sadrže para- $\alpha$ -kazein, nastao kao rezultat proteolize (Green, et al., 1978).

Kod jogurta izdvajanje tečne faze (sinerezis) nije poželjno. Sinerezis se kontrolira prethodnim termičkim tretmanom mleka na temperaturi od 90 °C u toku najmanje 10 min. Kao posledica termičkog tretmana, na površini kazeinskih micela nastaje kompleks sastavljen od  $\alpha$ -kazeina (deo kazeinske micelle) i  $\beta$ -laktoglobulina (jedan od proteina surutke). Taj kompleks uzrokuje da kazeinske micelle pri koagulaciji obrazuju kratke, krute, razgranate lance (slika 4). Tako formirana mreža sadrži relativno uniformne male otvore (pore) u kojima je imobilizovana tečna faza — surutka (slika 5 i 6), čime je smanjena osetljivost na sinerezis.

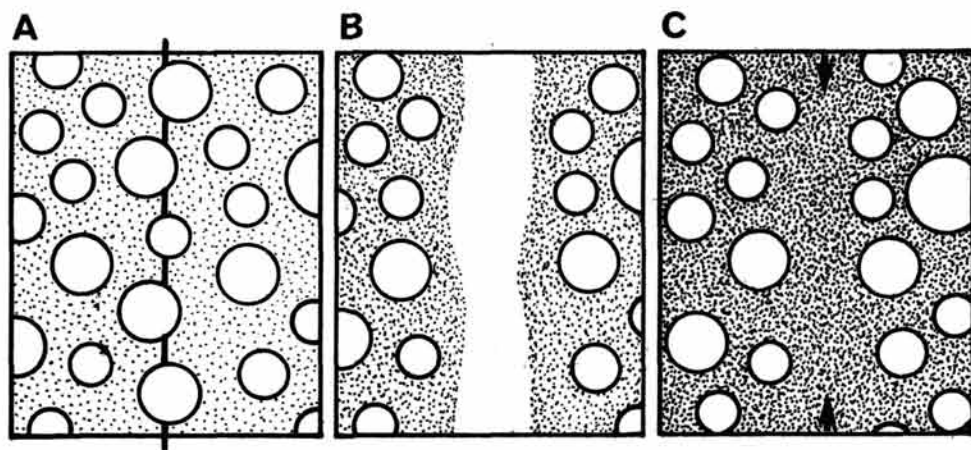
Sinereza je, međutim, poželjna u procesu proizvodnje sira, jer surutka treba da se izdvoji od gruš da bi se povećala suva materija proizvoda. Gel nastao koagulacijom mleka sa himozinom pravi se od mleka koje nije homo-

genizovano i koje je najblaže termički tretirano. Ovde kazeinske micelle formiraju grube nakupine koje se lako razbijaju (slika 7) i propadaju i tako imobilizuju surutku za kratko vreme.

### Sir

Tokom procesa proizvodnje sira umrežavanje je karakterisano postepenom fuzijom nakupina agregiranih kazeinskih micela i nastajanjem kompaktnog proteinskog matriksa. Taj proces omogućuje proteoliza prouzrokovana bakterijskim kulturama čiji je krajnji rezultat uniformna proteinska masa u kojoj su, manje ili više slučajno, dispergovane masne globule i njihove nakupine. U mladom siru membrane masnih globula su sačuvane u nakupinama masnih globula (slika 8).

Rezanje gruša u procesu proizvodnje sira takođe utiče na razvoj mikrostrukture gotovog proizvoda. Pri rezanju gruša masne globule, izložene oštrim noževima, bivaju isprane iz gruša. Tako se uklanja površinski sloj masti iz zrna gruša. Dogrevanje i presovanje gruša, koje sledi, uzrokuje fuziju dva obezmašćena površinska sloja zrna gruša koja se spajaju, kako je shematski prikazano na dijagramu 1. Taj proces dovodi do formiranja veza između zrna gruša (curd granule junctions). Odsustvo masti u tim vezama potvrđeno je



**Dijagram 1.** Shematski prikaz razvoja veza između zrna gruša. Masne globule izložene sečenju pri rezanju gruša (isprekidana linija na slici A) bivaju isprane za vreme oticanja surutke. Zrnasti proteinski matriks postaje kompaktan i površina glatka za vreme dogrevanja (B). Presovanje dovodi do spajanja dve površinske obezmašćene zone dodirujućih zrna gruša, što rezultira formiranjem veza između zrna gruša (površina između dve strelice na slici C).

**Diagram 1.** Schematic development of curd granule junctions. Fat globules exposed by cutting (dashed line in Fig. A) are washed out while curd is drained. The granule protein matrix is compacted and the surface is smoothed during cooking (B). Pressing leads to the fusion of two superficial, fat-depleted zones of adjoining curd granules resulting in the formation of a curd granule junction (area between 2 arrows in Fig. C).

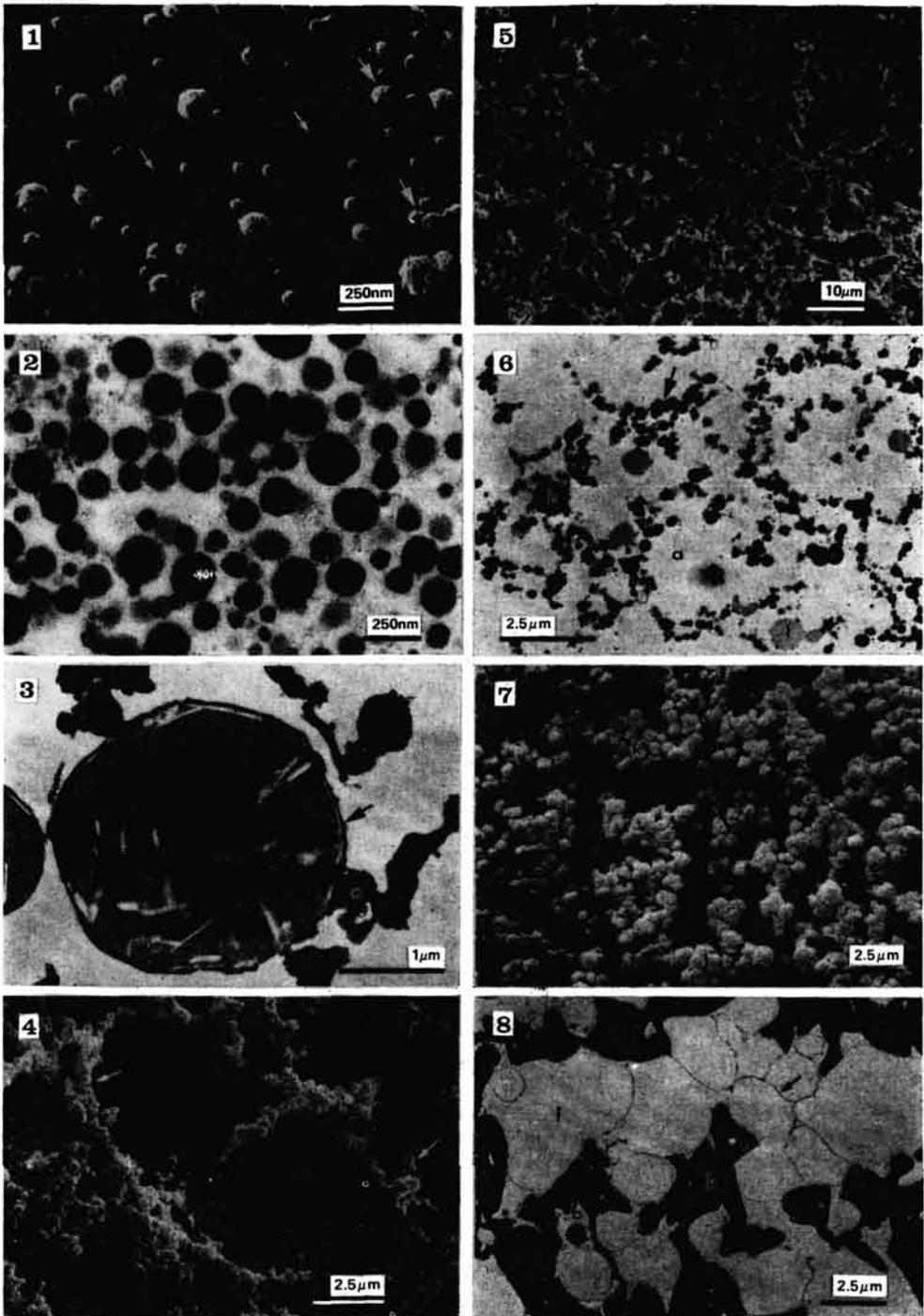
## Legenda za slike:

Primedba: Mikrografije na slikama 1—3, 6, 8, 15, 16, 20 i 21 dobivene su transmisivnom elektronskom mikroskopijom (TEM). Slika 10 dobivena je optičkom mikroskopijom, a preostale mikrografije dobivene su raster elektronskom mikroskopijom (SEM).

## Legends to figures:

Note: Micrographs in Figs. 1—3, 6, 8, 15, 16, 20, and 21 were obtained by transmission electron microscopy (TEM), Fig. 10 was obtained by light microscopy, and the remaining micrographs were obtained by scanning electron microscopy (SEM).

- Sl. 1. Kazeinske micelle (velike strelice) i submicelarne kazeinske partikule (male strelice) u kozjem mleku (micelle su senčene platinom). Sve druge slike prikazuju kaviže mleko.
- Fig. 1. Casein micelles (large arrows) and submicellar casein particles (small arrows) in gots' milk. (The micelles were shadowed with platinum). All other figures show cows' milk.
- Sl. 2. Kazeinske micelle kao loptice dobivene ultracentrifugovanjem obranog kravljeg mleka (potopljeno u smolu i sekcionirano).
- Fig. 2. Casein micelles in a pellet obtained by ultracentrifugation of skim cows' milk. (The pellet was embedded in a resin and sectioned).
- Sl. 3. Masne globule su uokvirene membranama masnih globula (velika strelica) za koje je prikazan protein (zvezdica). Kristali (male strelice) koji sadrže zasićene masne kiseline razvijaju se u masnim globulama hladnog mleka (tanka sekcija).
- Fig. 3. Fat globules are encased in fat globule membranes (large arrow) to which protein is attached (asterisk). Crystals (small arrows) which contain saturated fatty acids develop in fat globules in milk which had been cooled. (Thin section).
- Sl. 4. SEM je pokazala da kazeinske partikule stvaraju kratke lance (strelice) i male nakupine (zvezdica) u jogurtu.
- Fig. 4. Casein particles are shown by SEM to form short chains (arrows) and small clusters (asterisk) in yoghurt.
- Sl. 5. Proteinski matriks u jogurtu sadrži relativno uniformne otvore (p) u kojima je imobilizovana surutka.
- Fig. 5. Protein matrix of yoghurt contains relatively uniform pores (p) in which whey is immobilized.
- Sl. 6. TEM prikazuje tanku sekciju jogurta sličnu onoj prikazanoj na slici 5. (a = vodena faza, b = bakterija, f = mast, strelica pokazuje lance i nakupine kazeinskih partikula).
- Fig. 6. TEM shows a thin section of a yoghurt similar to that shown in Fig. 5. (a = aqueous phase, b = bacterium, f = fat, arrow points to casein particle chains and clusters).
- Sl. 7. Koagulisan himozinom gel od nezagrevanog mleka sastoji se od nakupina velikih kazeinskih partikula (k).
- Fig. 7. Renneted milk gel made from unheated milk consists of clusters of large casein particles (k).
- Sl. 8. Proteoliza u proizvodnji sira daje kao rezultat fuziju kazeinskih partikula i formira se kompaktan proteinski matriks (k) u kome su dispergovane individualne masne globule i njihove nakupine (f). Membrane masnih globula (strelica) primećuju se u mladom siru (b = bakterije).
- Fig. 8. Proteolysis in cheese results in the fusion of casein particles and the formation of a compact protein matrix (k) in which individual fat globules and their clusters (f) are dispersed. Milk fat globule membranes (arrow) are noticeable in young cheese. (b = bacterium).





raster elektronskom mikroskopijom (scanning electron microscopy) (slika 9). Izgled tih veza karakterističan je za različite sireva (Kaláb, et al., 1982; Lowrie, et al., 1982). Sirevi dobiveni uobičajenim postupkom, na primer Brick, imaju jednostavnu shemu opisanih veza u grušu, dok komplikovaniji procesi (oni koji se koriste u proizvodnji Cheddar-a) imaju komplikovaniju shemu (slika 10). Koristeći digitalnu analizu slike (digital image analysis), Rügge, et al. (1985) su utvrdili da je raspodela veličina zrna gruša slična kod švajcarskog sira raznih proizvođača: zrna su bila deformisana u blizini kore i oko šupljika u svim istraživanim sirevima.

Procesi prerade, koji menjaju teksturu gruša, takođe utiču na njegovu mikrostrukturu (Rügge, et al., 1974). Formiranje proteinskih vlakana i njihova orijentacija u jednom pravcu je ustanovljena u čedarizovanoj grudi i kod sireva Mozzarella, Provolone (Kaláb, 1977) i kačkavalja (slika 11). Ori-jentacija proteinskog matriksa nije prisutna kod drugih sireva kao što je Brick, Edam ili Gouda (slika 12). Mekí sirevi sa plesnima (Brie i Camembert) imaju karakteristične bele plesni (slika 13) na površini. Plesan utiče na zrenje sira dajući mu tipičnu teksturu, ukus i miris. Hife plesni (*Penicillium camemberti*), koje penetriraju u proteinski matriks, vide se raster elektronskom mikrosko-pijom (slika 14).

Nekoliko je osnovnih načina proizvodnje krem sira. Po tradicionalnoj me-todi prvo se uzrokuje zrenje pavlake delovanjem bakterija mlečne kiseline, nastali gruš se zagreva i zatim se odvaja surutka. Osnova strukture tog sira su nakupine masnih globula s agregatima proteina na površini (slika 15). Kon-tinuelna vodena faza pokazuje da je krem sir mek i maziv.

Proučavajući detaljnije mikrostrukturu tvrdih sireva, Brooker, et al. (1975) su našli fine kristalne inkluzije u proteinskom matriksu. Autori su identifikovali velike agregate iglastih kristala nepravilnog oblika — kalcijum laktata, i manje agregate kalcijum fosfata. Autori smatraju da je velika za-stupljenost kristala kalcijum fosfata u prostoru između masne i kazeinske faze u siru posledica kristalizacije u džepovima zaostale surutke. Jasno je da je izvor kalcijum fosfata kazeinska micela. Kristali tirozina ustanovljeni su u siru uz pomoć optičke mikroskopije (Flückiger i Schilt, 1963), a ka-snije su i identifikovani korišćenjem raster elektronske mikroskopije, mikro-analize, poliakrilamid-gel-elektroforeze i Sephadex G-50 gel hromatografije (Blanc, et al., 1979).

### Topljeni sir

Inicijalna struktura sira menja se pod uticajem topljenja, procesa koji povećava trajnost sira, a može da se koristi sir koji bi se inače teško prodao (Carić, et al., 1985). Visoka temperatura koja se primenjuje za topljenje, razara veze između zrna gruša i membrane masnih globula koje su karakte-ristične isključivo za native sireve. Ona takođe smanjuje sposobnost emulgo-vanja koju imaju proteini sira i može da prouzrokuje izdvajanje masti od pro-teinske faze. Ipak, upotreba emulgujućih agenasa na bazi natrijum citrata ili različitih fosfata tokom topljenja omogućuje reemulzifikaciju masti, zbog toga što emulgujući agensi obnavljaju emulgujuću sposobnost proteina vezivanjem

kalcijuma koji je deo kazeinske micelle. Kako se količina kalcijum fosfata u proteinu smanjuje, tako raste rastvorljivost i sposobnost emulgovanja proteina. Agensi koji imaju veliki afinitet prema kalcijumu, (natrijum heksametafosfat) dovode do emulgovanja masti u sitnije globule nego što to čine soli s manjim afinitetom prema kalcijumu (natrijum citrat ili dinatrijum fosfat). Uopšte uzevši, mast emulgovana u sitnije globule rezultira čvršćom konzistencijom topljenog sira nego mast u obliku velikih globula (Shimp, 1983). I globule masti koje podležu emulzifikaciji i kristali nastali od viška emulgjućeg agensa (slike 16 i 17) mogu se videti u topljenom siru (Rayan, et al., 1980).

### Bakterije mlečne kiseline

Bakterije mlečne kiseline prisutne su u svim fermentisanim mlečnim proizvodima i u siru. Mada se one mogu jednostavno ustanoviti optičkom mikroskopijom i fluorescentnom mikroskopijom (Yiu, 1985), elektronska mikroskopija omogućuje proučavanje bakterija mlečne kiseline sa više detalja. Brooker (1976) je upotrebio elektronsku mikroskopiju da istraži filamente kojima je starter kultura *Streptococcus cremoris* pričvršćena za proteinsku matricu sirnog gruša. Pokazalo se da su filamenti sastavljeni uglavnom od jednog kiselog polisaharida. Povezanost bakterija uz proteinsku matricu (slika 18) sprečava njihovo ispiranje iz gruša sa surutkom tokom sinereze. Elektronska mikroskopija takođe je korišćena za istraživanje nastanka nerastvornih dekstrana pod uticajem drugih kiselomlečnih bakterija, *Streptococcus mutans* i *Leuconostoc mesenteroides* (Brooker, 1979).

Simbiotska kultura *Lactobacillus bulgaricus* i *Streptococcus thermophilus* lako se razlikuje u jogurtu uz pomoć raster elektronske mikroskopije. Takozvane »sluzaste« kulture proizvode velike količine ekstracelularnih polisaharida i povećavaju viskozitet jogurta (Tamime, et al., 1984). Kada se ukupna suva materija jogurta poveća preko 15%, prazni prostori koji okružuju bakterije mlečne kiseline postaju jasno vidljivi (slika 19). Razlog nastanka praznih prostora nije do sada ustanovljen. Pretpostavlja se da uzrokom može biti lokalna proteoliza ili nastajanje mlečne kiseline (Kaláb, et al., 1983).

### Pavlaka, lupana pavlaka i sladoled

Nasuprot pomenutim mlečnim proizvodima kod kojih je osnova protein, maslac i razni oblici pavlake (kisela pavlaka, lupana pavlaka ili sladoled) kao osnovu sadrže mlečnu mast (Kaláb, 1985). Pavlaka je frakcija mleka sa visokom koncentracijom mlečne masti, dobivena centrifugovanjem. Ona sadrži sve komponente mleka: masne globule, kazein, serum proteine, i druge, ali u odnosima različitim od onih u mleku. Svojstva i sastav masnih globula detaljno su prikazani u pregledu čiji su autori Mulder i Walstra (1974).

Lupana pavlaka nastaje inkorporiranjem vazduha u pavlaku. Uz pomoć elektronske mikroskopije vidi se da su masne globule adsorbovane i gusto

Sl. 9. SEM pokazuje veze između zrna grušā (bele strelice) kao područje bez masti, kompaktnije od unutrašnjosti zrna grušā. Globule masti uklonjene su pre elektronske mikroskopije, ali prazni prostori (tamne strelice) pokazuju njihovu originalnu raspodelu.

Fig. 9. SEM shows a curd granule junction (light arrows) as an area depleted of fat which is more compact than the interior of the curd granules. Fat globules had been removed prior to electron microscopy but void spaces (dark arrows) show their original distribution.

Sl. 10. Veze između zrna grušā u sirevima Brick (levo) i Cheddar (desno). U siru Cheddar vide se i veze grušā zbog mehaničkog tretmana (velike strelice), pored veza između zrna grušā (male strelice).

Fig. 10. Curd granule junction patterns in Brick cheese (left) and in Cheddar cheese (right). In Cheddar cheese, milled curd junction patterns (large arrows) are noticeable in addition to curd granule junction patterns (small arrows).

Sl. 11. Kačkavalj ima karakterističnu strukturu koja pokazuje orijentaciju u jednom pravcu (f = prazni prostori koje su ranije zauzimala izdužene partikule masti).

Fig. 11. Kashkaval cheese has a characteristic structure which shows orientation in one direction. (f = void spaces initially occupied with elongated fat particles).

Sl. 12. U siru Gouda nije primećena orijentisanost proteina ili masti.

Fig. 12. No orientation of protein or fat is noticeable in Gouda cheese.

Sl. 13. Površina mekih sireva koji zru sa plesnima kao što su Brie i Camembert, pokrivena je belom plesni. Mikrografija je dobivena na  $-160^{\circ}\text{C}$  korišćenjem postolja sa hlađenjem u raster elektronskoj mikroskopiji.

Fig. 13. The surface of soft surface-ripened cheeses such as Brie and Camembert cheese is covered with a white mold. The micrograph was obtained at  $-160^{\circ}\text{C}$  using cold-stage scanning electron microscopy.

Sl. 14. Lomljenje u smrznutom stanju otkriva način na koji su hife *Penicillium camemberti* (strelice) penetrirale u podlogu proteinskog matriksa (k).

Fig. 14. Freeze-fracturing reveals the manner in which *Penicillium camemberti* hyphae (arrows) penetrate the underlying protein matrix (k).

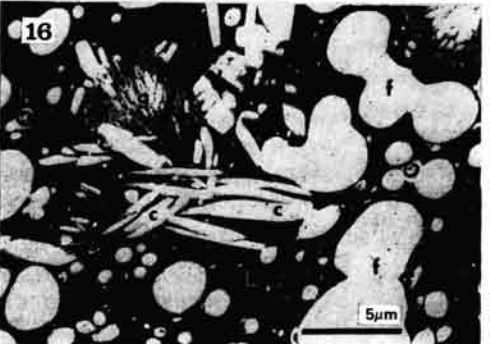
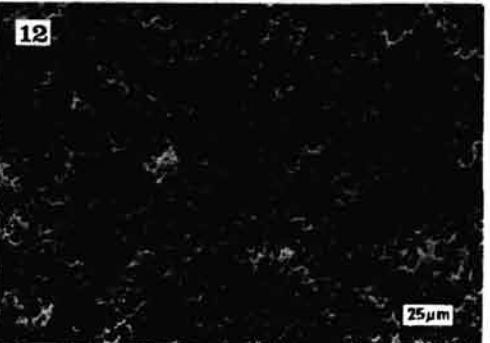
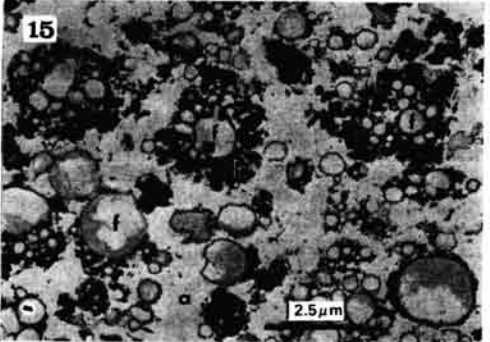
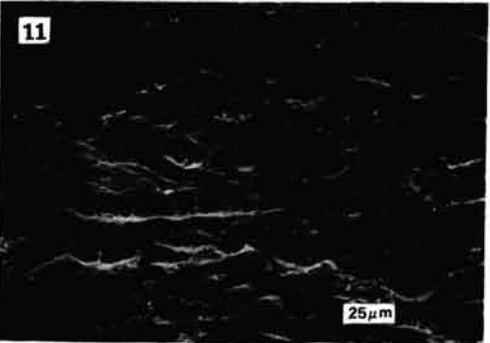
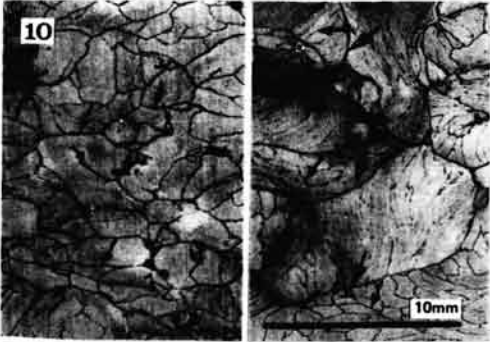
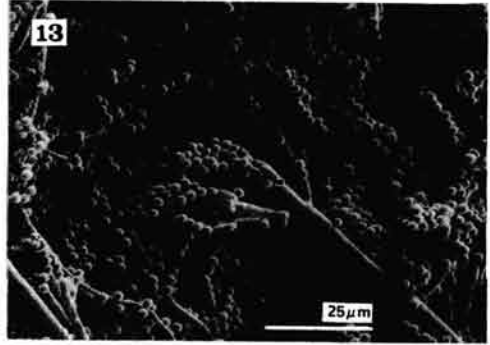
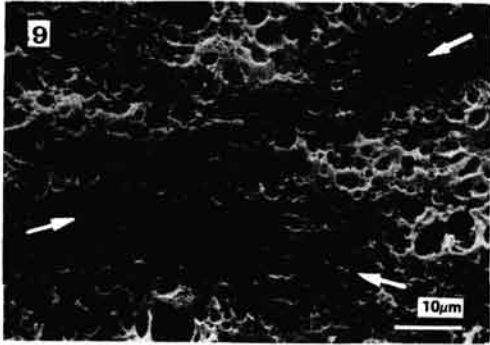
Sl. 15. Tradicionalni krem sir sastoji se od nakupina masnih globula (f) sa proteinom (k) koncentrisanim na njihovoj površini (a = vodena faza).

Fig. 15. Traditional cream cheese consists of fat globule clusters (f) with protein (k) concentrated on their surface. (a = aqueous phase).

Sl. 16. Emulzifikacija masti (f) i prisustvo kristala viška natrijum citrata (c) upotrebljenog kao emulgujući agens otkriveni su elektronskom mikroskopijom tanke sekcije topljenog sira (b = bakterija, g = kristal kalcijum fosfata koji potiče iz smeše sireva za topljenje, k = proteinski matriks).

Fig. 16. Emulsification of fat (f) and the presence of excess sodium citrate crystals (c) used as an emulsifying agent are revealed by electron microscopy of a thin section of process cheese, (b = bacterium, g = calcium phosphate crystal originating from the initial cheese blend, k = protein matrix).





Sl. 17. SEM pokazuje topljeni sir lomljen u smrznutom stanju. Mast (f) i kristali natrijum citrata (c) su ekstrahovani za vreme pripreme uzorka za mikroskopiju, a ostavili su otiske u proteinskom matriksu. Na snimku se vidi i bakterija (strelica); ona potiče iz nativnog sira korišćenog za topljenje.

Fig. 17. SEM shows a freeze-fractured particle of process cheese. Fat (f) and sodium citrate crystals (c) had been extracted during preparation of the sample for microscopy and left behind their imprints in the protein matrix. A bacterium (arrow) is also seen; it originated from natural cheese used for processing.

Sl. 18. »Sluzasti« laktobacili (strelice) u jogurtu prikačeni su za proteinski matriks (k) sa polisaharidnim vlaknima.

Fig. 18. 'Ropy' lactobacilli (arrows) in yoghurt are attached to the protein matrix (k) with polysaccharide fibres.

Sl. 19. Prazan prostor (zvezdica) oko kiselomlečnih bakterija (strelica) u jogurtu koji sadrži 20% suve materije.

Fig. 19. Void space (asterisk) around lactic acid bacteria (arrows) in a yoghurt containing 20% total solids.

Sl. 20. Replika površine sladoleda lomljenog u smrznutom stanju koja prikazuje masne globule (f) dispergovane u vodenoj fazi (w) koja odvaja pojedinačne mehure vazduha (a). Zvezdica obeležava kontaminaciju replike sladoleda reziduima. Reprodukovano sa dozvolom W. Buchheima.

Fig. 20. A replica of the freeze-fractured surface of ice cream showing fat globules (f) dispersed in the aqueous phase (w) which separates individual air cells (a). Asterisks mark contamination of the replica with adhering ice cream residues. Reproduced by courtesy of W. Buchheim.

Sl. 21. Replika pripremljena kao na slici 20. pokazuje da se maslac sastoji od slobodne masti u kojoj su dispergovane masne globule (f) i male količine kapljica vode (ne vide se). Reprodukovano sa dozvolom W. Buchheima.

Fig. 21. A replica, prepared as in Fig. 20, shows that butter consists of free fat, in which fat globules (f) and a small amount of water droplets (not shown) are dispersed. Reproduced by courtesy of W. Buchheim.

Sl. 22. Najveći broj partikula obranog mleka osušenog raspršivanjem ima karakterističnu naboranu površinu (strelice).

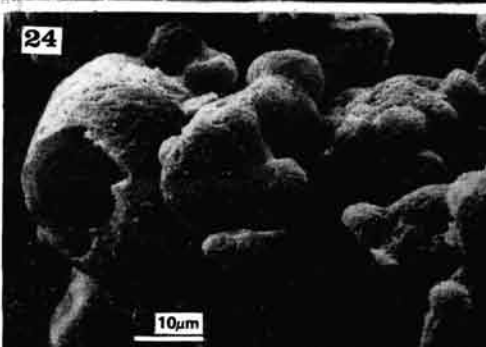
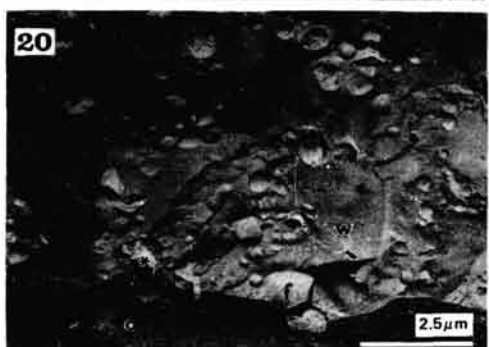
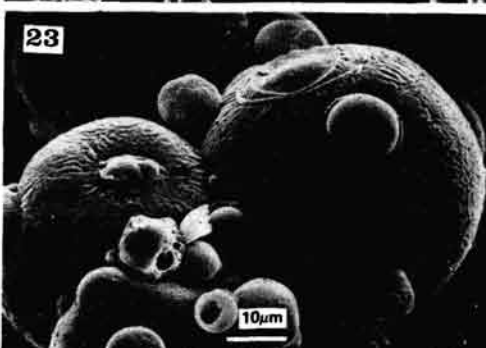
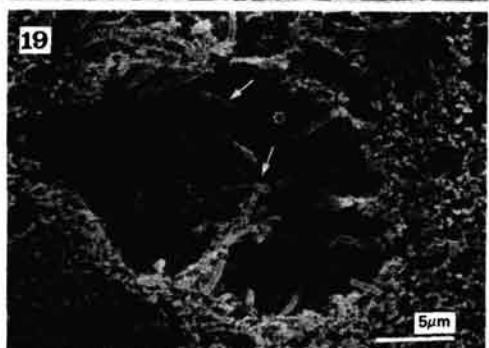
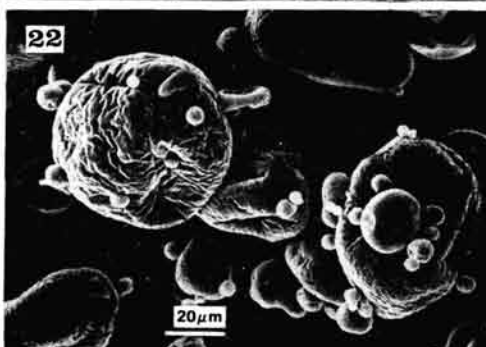
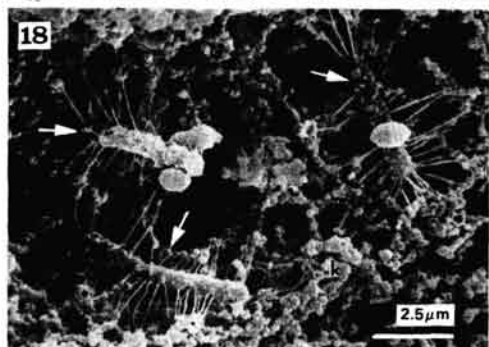
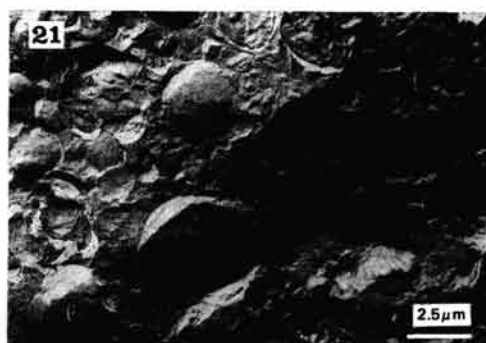
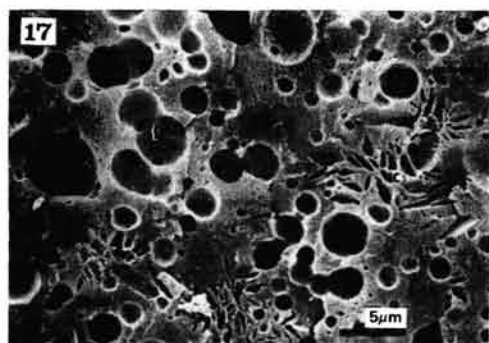
Fig. 22. Most spray-dried nonfat milk particles have their surface characteristically wrinkled (arrows).

Sl. 23. Mlačnica sušena raspršivanjem ima partikule sa plitkim naborima. Vidi se da su male globularne partikule osušene za vreme izranjanja (strelice) iz unutrašnjosti većih partikula.

Fig. 23. Spray-dried buttermilk particles have shallow wrinkles. Minute globular particles are seen to be dried while emerging (arrows) from the interior of larger particles.

Sl. 24. Partikule instant mleka u prahu dobivenog raspršivanjem su agregirane, a površina agregata pokrivena je kristalima laktoze.

Fig. 24. Spray-dried particles are aggregated in instant milk powder and the surface of the aggregates is covered with lactose crystals.



pakovane na graničnoj površini faza vazduh-serum u pavlaci koja je lupana do maksimalne čvrstoće (Schmidt i van Hooydonk, 1980). Preterano lupanje dovodi do dezintegracije vazdušnih vakuola i razrušavanja pene, i kao rezultat nastaje maslac.

Sladoled je sličan lupanoj pavlaci po tome što je velika količina vazduha inkorporirana u mlečni proizvod velikog sadržaja masti, ali su njegov sastav i mikrostruktura znatno kompleksniji, obzirom da su uključeni i šećer, stabilizatori i aromatični dodaci (slika 20) (Buchheim, 1970). Prisustvo kristala leda utiče na strukturu sladoleda. Ona je glatka ukoliko su kristali leda kraći od 20  $\mu\text{m}$ , ali postaje peskovita ako dužina kristala prelazi 50  $\mu\text{m}$ . Ako temperatura skladištenja varira, mogu nastati i kristali laktoze u sladoledu. Kristali laktoze duži od 16  $\mu\text{m}$  prouzrokuju peskovitost sladoleda. Peskovitost je ponekad problem u sladolednim proizvodima koji sadrže znatne količine surutke u prahu, zbog prisustva velike koncentracije laktoze.

### Maslac

Bučkanje pavlake razara membrane masnih globula, dovodi do koalescencije masnih globula i do nastanka maslaca. Maslac je emulzija koja se sastoji od slobodne masti, u kojoj su u obliku kapi dispergovane masne globule i mala količina vode (oko 20% ukupne zapremine maslaca) (slika 21). Za vreme bučkanja, vodena faza pavlake pretvara se u mlaćenicu koja sadrži najveći broj nemasnih komponenta pavlake, uključujući i fragmente membrana masnih globula. Promene u strukturi masnih globula za vreme proizvodnje maslaca proučavali su Precht i Buchheim (1979) i Precht i Peters (1981).

### Mleko u prahu

Sušenje raspršivanjem najčešće je korišćena tehnika sušenja mleka. Prečnik osušenih partikula varira od nekoliko mikrometara do nekoliko desetina mikrometara. One su najčešće globularne. Buma i Henstra (1971a, 1971b) smatraju da njihova naborana površina (slika 22) potiče od prisustva kazeina, jer partikule praha natrijum kazeinata imaju izgled sličan mleku u prahu sušenom raspršivanjem, dok partikule dobivene sušenjem raspršivanjem rastvora laktoze imaju glatku površinu. Bore na partikulama mlaćenice sušene raspršivanjem su plitke; osnovna karakteristika tog proizvoda je postojanje malih globularnih partikula koje izranjaju iz površine velikih partikula (slika 23). Ramovi oko malih partikula i strukture slične kraterima koje potiču od otkidanja malih globularnih partikula takođe su tipične za mlaćenicu u prahu dobivenu raspršivanjem (Kláb, 1980).

Mnoge partikule mleka i mlaćenice sušene raspršivanjem su šuplje, sa malim partikulama lociranim obično u unutrašnjosti vakuole.

Takozvano instant mleko u prahu proizvedeno je da bi se omogućilo brže rastvaranje mleka u prahu sušenog raspršivanjem. Proces instantizacije zasniva se na vlaženju površine partikule mleka osušenog raspršivanjem sa pa-

rom, sitnim kapima vode ili njihovom smešom, aglomeraciji lepljivih partikula i ponovnom sušenju toplim vazduhom (instantizacija u dve faze). Drugi proces instantizacije podrazumeva aglomeraciju u jednoj fazi (instantizacija u jednoj fazi). Kod obe tehnike suština procesa je aglomeracija. Postoji nekoliko industrijskih sistema koji rade na tom principu. Viši sadržaj vode tokom procesa prouzrokuje kristalizaciju laktoze koja je u početku u amorfnom stanju i zbog toga je površina agregiranih partikula instant mleka u prahu pokrivena kristalima  $\alpha$ -hidrata laktoze (slika 24). Njihove dimenzije zavise od načina instantizacije.

### Zaključak

Uprkos velikom broju već publikovanih radova o mikrostrukturi mlečnih proizvoda, elektronska mikroskopija je tek nedavno počela da pokazuje svoj potencijal na tom polju. U tom pogledu ona je upotpunjena fluorescentnom mikroskopijom, posebnom granom optičke mikroskopije. Najveći broj metoda fluorescentne mikroskopije upotrebljava osetljive i specifične markere koji omogućavaju dobivanje i strukturne i hemijske informacije (Y i u, 1985). Obe metode (fluorescentna i elektronska mikroskopija) pomažu razumevanju odnosa između različitih komponenata u proizvodu, kao što su masti i proteini. One takođe pokazuju prisustvo mikroorganizma, kristala soli i drugih korpuskularnih komponenata (kontaminanata). Sirovine i finalni proizvodi mogu se na taj način analizirati (L e w i s, 1986). Mikroskopija može da se upotrebljava da bi pokazala uticaj raznog sastava sirovine (na primer upotreba delaktoziranog mleka) i različitih procesa u proizvodnji (zagrevanje mleka, čedarizacija, lupanje, bućkanje i dr.) na strukturu proizvoda. Širok je dijapazon tehnike (K a l á b, 1981, 1982) pogodnih za rešavanje bilo kojeg problema strukture u oblasti nauke i tehnologije mleka.

### Zahvala

Autor zahvaljuje dr. H. W a y n e u M o d l e r u za korisne sugestije, Mrs. P a u l i A l l a n - W o j t a s za mikrografiju na slici 13 i pomoć oko rukopisa, i prof. dr. M a r i j a n i C a r i ć za prevod teksta. Mikrografije na slikama 20 i 21 napravio je dr. W o l f g a n g B u c h h e i m i dao saglasnost za njihovo reprodukovanje. Electron Microscopy Unit, Research Branch, Agriculture Canada iz Ottave obezbedio je uslove za ovaj rad, koji je publikacija broj 717 Food Research Centra.

### Acknowledgments

The author thanks Dr. H. Wayne Modler for useful suggestions, Mrs. Paula Alan-Wojtas for the micrograph in Fig. 13 and help with the manuscript, and Prof. Dr. Marijana Carić for its translation. Micrographs in Figs. 20 and 21 were provided by Dr. Wolfgang Buchheim and are reproduced with his permission. Electron Microscopy Unit, Research Branch, Agriculture Canada in Ottawa provided facilities. Contribution — from the Food Research Centre.

### Literatura

- BLANC, B., RÜEGG, M., BAER, A., CASEY, M., LUKESCH A. (1979): Essais comparatifs dans le fromage d'Emmental avec et sans fermentation secondaire. *Schweiz. Milchwirt. Forschung* **8**, 27—36.
- BROOKER, B. E. (1976): Cytochemical observations on the extracellular carbohydrate produced by *Streptococcus cremoris*. *J. Dairy Res.* **43**, 283—290.
- BROOKER, B. E. (1979): Electron microscopy of the dextrans produced by lactis acid bacteria. In: *Microbial Polysaccharides and Polysaccharidases*. R. C. W. Berkeley, G. W. Gooday, and D. C. Ellwood, eds., Acad. Press, 85—115.
- BROOKER, B. E., HOBBS, D. G., TURVEY A. (1975): Observations on the microscopic crystalline inclusions in Cheddar cheese. *J. Dairy Res.* **42**, 341—348.
- BUCHHEIM, W. (1970): Elektronenmikroskopische Darstellung der Struktur von Speiseis. *Süßwaren* **16**, 763—767.
- BUCHHEIM, W. (1982): Aspects of sample preparation for freeze-fracture/freeze-etch studies of proteins and lipids in food systems. *Food Microstruc.* **1** (2), 189—208.
- BUMA, T. J., HENSTRA, S. (1971a): Particle structure of spray-dried milk products as observed by a scanning electron microscope. *Neth. Milk Dairy J.* **25**, 75—80.
- BUMA, T. J., HENSTRA, S. (1971b): Particle structure of spray-dried caseinate and spray-dried lactose as observed by a scanning electron microscope. *Neth. Milk Dairy J.* **25**, 278—281.
- CARIĆ, M., GANTAR, M., KALAB, M. (1985): Effects of emulsifying agents on the microstructure and other characteristics of process cheese — A review. *Food Microstruc.* **4**, 297—312.
- FLÜCKIGER, E., SCHILT, P. (1963): Beitrag zur Kenntnis der Salzsteinbildung in Emmentalerkäsen. *Milchwissenschaft* **18**, 422—437.
- GREEN, L. L., HOBBS, D. G., MORANT, S. V., HILL, V. A. (1978): Intermicellar relationships in rennet-treated separated milk. II. Process of gel assembly. *J. Dairy Res.* **45**, 413—422.
- HEERTJE, I., VISSER, J., SMITS, P. (1985): Structure formation in milk gels. *Food Microstruc.* **4** (2), 267—277.



- M. Kalab: Mikrostruktura mlečnih... *Mljekarstvo* 36 (12) 355—370
- KALAB, M. (1977): Milk gel structure. VI. Cheese texture and microstructure. *Milchwissenschaft* 32 (7), 449—458.
- KALAB, M. (1979): Microstructure of dairy foods. 1. Milk products based on protein. *J. Dairy Sci.* 62, 1352—1364.
- KALAB, M. (1980): Possibilities of an electron-microscopic detection of buttermilk made from sweet cream in adulterated skim milk. *Scanning Electron Microsc.* 1980/III, 645—652.
- KALAB, M. (1981): Electron microscopy of milk products: A review of techniques. *Scanning Electron Microsc.* 1981/III, 453—472.
- KALAB, M. (1982): Electron microscopy of foods. In: *Physical Properties of Foods*. M. Peleg and E. B. Bagley (eds.), AVI Publishing Co., Inc., Westport, Connecticut, USA, 43—104.
- KALAB, M. (1985): Microstructure of dairy foods. 2. Milk products based on fat. *J. Dairy Sci.* 68, 3243—3248.
- KALAB, M., MODLER, H. W. (1985): Development of microstructure in a Cream cheese based on Queso Blanco cheese. *Food Microstruc.* 4, 89—98.
- KALAB, M., ALLAN-WOJTAS, P., PHIPPS-TODD, B. E. (1983): Development of microstructure in set-style nonfat yoghurt — A review. *Food Microstruc.* 2, 51—66.
- KALAB, M., LOWRIE, R. J., NICHOLS, D. (1982): Detection of curd granule and milled curd junctions in Cheddar cheese. *J. Dairy Sci.* 65, 1117—1121.
- KNOOP, E. (1972): Strukturaufklärungen durch elektronenmikroskopische Untersuchungen an Eiweiss und Milchfett. *Milchwissenschaft* 27 (6), 364—373.
- LEWIS, D. F. (1986): Features of food microscopy. *Food Microstruc.* 5 (1), 1—18.
- LOWRIE, R. J., KALAB, M., NICHOLS, D. (1982): Curd granule and milled curd junction patterns in Cheddar cheese made by traditional and mechanized processes. *J. Dairy Sci.* 65, 1122—1129.
- MULDER, H., WALSTRA, P. (1974): *The Milk Fat Globule*. Commonwealth Agric. Bur., Farnham Royal, Bucks., England, and PUDOC, Wageningen, the Netherlands.
- PRECHT, D., BUCHHEIM, W. (1979): Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die physikalische Struktur von Streichfetten. 1. Die Mikrostruktur der Fettkügelchen in Butter. *Milchwissenschaft* 34, 745—749.
- PRECHT, D., PETERS, K.-H. (1981): Die Konsistenz der Butter. I. Elektronenmikroskopische Untersuchungen zum Einfluss unterschiedlicher Rahmreifungstemperaturen auf die Häufigkeit bestimmter Fettkügelchentypen im Rahm. *Milchwissenschaft* 36, 616—620.
- RAYAN, A. A., KALAB, M., ERNSTROM, C. A. (1980): Microstructure and rheology of process cheese. *Scanning Electron Microsc.* 1980/III, 635—643.
- ROEFS, S. P. F. M., WALSTRA, P., DALGLEISH, D. G., HORNE, D. S. (1985): Preliminary note on the change in casein micelles caused by acidification. *Neth. Milk Dairy J.* 399, 119—122.
- RÜEGG, M., SIEBER, R., BLANC, B. (1974): Untersuchungen der Feistruktur von Käseteigen und Käserinden mit Hilfe der Raster-Elektronenmikroskopie. *Schweiz. Milchwirt. Forschung* 3, 1—5.

- RÜEGG, M., MOOR, U., SCHNIDER, J. (1985): Über die Grössenverteilung und Form der Bruchkörner im Emmentalerkäse. Schweiz. Milchwirt. **Forshung** 14 (1), 3—21.
- SCHMIDT, D. G. (1982): Electron microscopy of milk and milk products: Problems and possibilities. **Food Microstruc.** 1 (2), 151—165.
- SCHMIDT, D. G., VAN HOOYDONK, A. C. M. (1980): A scanning elektron microscopical investigation of the whipping of cream. Scanning Electron Microsc. 1980/III, 653—658, 644.
- SHIMP, L. A. (1983): Basic knowledge simplifies choice. **Dairy Field** 166 (10), 116—117.
- TAMIME, A. Y., KALAB, M., DAVIES, G. (1984): Microstructure of set-style yoghurt manufactured from cow's milk fortified by various methods. **Food Microstruc.** 3, 83—92.
- YIU, S. H. (1985): A fluorescence microscopic study of cheese. **Food Microstruc.** 4 (1), 99—108.

Prevela: prof. dr. Marijana Carić