

## VEZANA VODA U MLEKU I MLEČNIM PROIZVODIMA\*

Prof. dr Jovan Đorđević, mr Marijana Carić  
Tehnološki fakultet, Novi Sad

Mleko i mlečni proizvodi, u zavisnosti od vrste, sadrže manje ili veće količine vode. Međutim, kada se govori o vodi, njenoj ulozi, dejstvu, ponašanju u pojedinim tehnologijama prerade mleka misli se uglavnom na slobodnu vodu. U literaturi se retko sreću istraživanja koja se odnose na solvatno vezanu vodu hidrofилnim belančevinama mleka (kazeinom, albuminom).

Zapostavljanje ove problematike nema opravdanja, jer stabilnost mnogih proizvoda od mleka zavisi dobrim delom od količine vezane vode. Stepен hidratacije utiče i na osobine i ponašanje pojedinih proizvoda. Rezultati ispitivanja uticaja pojedinih faktora i agenasa na stepen hidratacije omogućili bi poboljšanje stabilnosti i kvaliteta pojedinih mlečnih proizvoda (kiselo-mlečni proizvodi, sir, sladoled itd.).

Pod solvatacijom se podrazumeva pojava da se molekuli rastvarača adsorbuju na molekule rastvorene materije. Ako je u pitanju voda kao rastvarač onda se radi o hidrataciji. Kod hidratacije se dipolni molekuli vode usled elektrostatičkog privlačenja suprotno naelektrisanih polova orijentišu i s aktivnim grupama belančevina (-COOH, -NH<sub>2</sub>, -CONH-) obrazuju hidrogenske veze. Privlačenjem dipola se zatim sekundarno vezuju novi molekuli vode. Hidratacija je egzoterman proces, jer se adsorpcijom 1 g vode oslobađa oko 75 kcal. Pošto aktivne grupe na belančevinama nisu ravnomerno raspoređene po površini čestice, to ni solvatni sloj molekula vode nije na svim mestima jednake debljine, nego se uzima srednja vrednost solvatacije.

Postoji više načina da se odredi stepen solvatacije, odnosno količina vezane vode koji se svi zasnivaju na određivanju promena osobina rastvarača. Obzirom da je deo rastvarača imobilisan usled solvatacije manje aktivan, to su izmenjene i osobine rastvarača: tačka mržnjenja, napon pare, dielektrična konstanta itd. Međutim, ispitivanja hidratacije mogu da daju rezultate manje od stvarnih vrednosti bilo zbog toga što u toku rada dođe do delimične desolvatacije ili je računski dobijena vrednost veća, pošto je izračunata prema broju polarnih grupa makromolekula, koje nisu sve na površini čestice te ne dolaze u kontakt s molekulama vode.

Veličina solvatacije može da se izrazi brojem solvatacije  $f$  koji je dat ovim izrazom (5):

\* Referat sa X Seminara za mljekarsku industriju, Tehnološki fakultet u Zagrebu, održanog 10. i 11. veljače 1972, Zagreb.

$$f = \frac{V_s}{m} \cdot \frac{\eta_r - 1}{\eta_r + 1,5} \quad (\text{cm}^3/\text{g})$$

gdje je:

$V_s$  = zapremina sola ( $\text{cm}^3$ )

$m$  = masa koloida (g)

$\eta_r$  = viskozitet sola (cp)

Broj solvatacije  $f$  je ustvari zapremina 1 g koloida u solvatisanom stanju. Oduzimanjem od ove veličine ( $f$ ) zapreminu samog koloida dobija se količina vode u  $\text{cm}^3$  koju vezuje 1 g ispitivanog koloida. Solvatacija takođe može da se prikaže i gramima vode vezane na 1 g posmatranog koloida.

Solvatacija u najvećoj meri zavisi od prirode rastvarača i liofilnosti makromolekula u odnosu na dati rastvarač, zatim od koncentracije rastvora (bolja je solvatacija kod razblaženih rastvora), temperature (kao egzoterman proces. u saglasnosti s principom Le Chatelier-a raste sa sniženjem temperature), pH sredine (minimum solvatacije je u IET), itd.

Ovaj rad tretira hidrataciono vezanu vodu u mleku i onim mlečnim proizvodima gde ona znatno utiče na njihov kvalitet i stabilnost.

### Mleko

Prema podacima koji se sreću u literaturi voda imobilisana hidratacijom čini 2—3,5% od ukupne količine vode u mleku. Najviše je vode vezano za belančevine mlečne plazme, a znatno manje za belančevine i fosfolipide adsorpcionog sloja masnih kapljica. Prema Turnbow et al. (10) vezana voda u mleku je raspoređena na ovaj način:

kazein	oko 50%
albumin	30%
adsorpcioni sloj masnih kapljica	15%
ostali sastojci	
suve materije	oko 4%

Kao što se vidi na kazein otpada približno polovina ukupne količine vezane vode u mleku. Prema podacima Jeness-a i Patton-a (4) 1 g kazeina vezuje oko 0,3 g vode, dok je Đaćenko (3) našao dvostruko veću vrednost. Najveći deo vode vezuje kazein ne zato što je najjače hidratisan, nego ga ima znatno više od ostalih proteina u mleku. Najveći kapacitet vezivanja vode kazein pokazuje pri pH 6,6 što odgovara kiselosti svežeg mleka.

Oko 30% solvatne vode je vezano za albumin. Pri tome treba imati u vidu da albumin u mleku sačinjava oko 15% ukupnih belančevina i da ga u mleku ima oko 5,2 puta manje nego kazeina. Ovako veliki procenat vode vezane na albumin pokazuje da je on znatno jače hidratisan od kazeina. Tom činjenicom se objašnjavaju razlike u ponašanju kazeina i albumina pri njihovim izoelektričnim tačkama. Naime, poznato je da se kazein zgrušava pri izoelektričnoj tački dok to nije slučaj sa albuminom. Albumin ne koagulira jer sadrži znatno više solvatno vezane vode koja se ne uklanja potpuno pri izoelektričnoj tački

tako da ne nastupa koagulacija ove belančevine. Međutim pri IET albumin postaje znatno osjetljiviji prema delovanju drugih činilaca koji izazivaju njegovu dehidraciju i koagulaciju: temperatura, alkohol, amonijum sulfat i dr.

Iz navedenog proizlazi da stabilnost belančevina u mleku kao koloidnom sistemu zavisi u velikoj meri od količine vezane vode. Naime pri većoj hidratisanosti belančevine mogu da opstanu u rastvoru bez obzira što je naboj čestica smanjen ili ravan nuli. To dolazi zbog toga što hidratisanost smanjuje površinsku energiju koloidnih čestica i verovatnoća njihovog spajanja svedena je na minimum. Svi činioci koji potenciraju solvataciju belančevina povećavaju njihovu stabilnost i obratno faktori koji utiču na smanjenje količine vezane vode (IET, Ca, Cu, Fe joni, alkohol, temperatura) dovode do smanjenja stabilnosti belančevina u mleku. Znači da ovi činioci pogoršavaju tehnološke karakteristike mleka kao sirovine za industriju. Smanjenje stepena solvatacije može biti posledica delovanja dva ili više činilaca koji deluju u istom smislu. Tako kazein u mleku s povišenom kiselooću lako koaguliraše 68—75% alkohol što predstavlja osnovu alkoholne, a delom i alizarolne probe.

Želimo da istaknemo naše gledište da je količina vezane vode u mleku znatno veća od one koja se sreće u literaturi. Pri određivanju vezane vode najčešće se koristi njena nesposobnost da rastvara u vodi rastvorljive supstance (šećer, soli). Tako se količina vezane vode određuje na osnovu razlike između ukupne i slobodne vode i izražava se kao količina neslobodne vode. Međutim, pri upotrebi ove metode javljaju se dva momenta koji umanjuju količinu solvatnog vezane vode. Prvi se sastoji u tome što dodati šećer koji se rastvara u slobodnoj vodi izaziva svojom koncentracijom pretvaranje dela vode koja je labavije vezana u slobodnu vodu. Oslobođeni molekuli vode iz solvatnog omotača imaju sposobnost rastvaranja pa je potrebno dodavati nove količine radi zasićenja rastvora. S druge strane belančevine adsorbuju male količine šećera i soli, pa to stvara utisak da je i ovaj deo rastvoren u slobodnoj vodi, što povećava količinu slobodne, a time smanjuje količinu neslobodne tj. vezane vode.

Ovim i drugim sličnim metodama određuje se uglavnom onaj deo vezane vode koji se nalazi u obliku monomolekularnog solvatnog omotača i koji je najjače vezan za čestice hidrofилnih koloida. Međutim, vezanu vodu predstavlja i niz slojeva vode koji su sve labavije vezani što su više udaljeni od monomolekularnog sloja i koji se nazivaju difuznom vodenom sferom. Na taj način vezana voda veoma postupno prelazi u slobodnu, a njena količina je znatno veća nego što to pokazuju rezultati dobiveni navedenim metodama.

Ova činjenica objašnjava zašto se u mleku ne oseća »vodenast ukus« iako ono sadrži preko 87% vode. Ako količinu slobodne vode povećamo dodavanjem 2—3% vode, vodenast ukus se ne primjećuje. Međutim, ako se izvrši desolvatacija višestrukim smrzavanjem i odmrzavanjem mleka vodenast ukus će doći do izražaja iako nije dodata voda. Ovo jasno govori u prilog činjenici da je količina vezane vode u mleku znatno veća od one koja se obično navodi u literaturi.

Prema Inihovu (3) količina vezane vode prikazana je u ovoj tabeli.

	u ‰		u g/lg koloida
mleko . . . . .	2,00—3,50	kazein . . . . .	0,60—0,69
obrano mleko . . . . .	2,13—2,59	albumin . . . . .	1,30—1,32
20‰ pavlaka . . . . .	2,50—3,42	belančevine surutke . . . . .	0,75
mlačenica . . . . .	1,75	materija adsporcionog	
kolostrum . . . . .	4,65	sloja masnih kapljica . . . . .	0,60—0,62
obrano zgusnuto		fosfolipidi mleka . . . . .	5,35—6,30
mleko . . . . .	11,62		

Adsporciona voda stoji u vezi s vodom bubrenja.

### Kiselo-mlečni proizvodi

Kod kiselo-mlečnih proizvoda količina vezane vode je od posebnog značaja. Kod pomenutih proizvoda koagulacija kazeina se vrši dejstvom povišene kiselosti što ima za posledicu smanjenje količine vezane vode pri pH vrednosti koja se približava izoelektričnoj tački ove belančevine. U takvoj situaciji postoje uslovi za jači sinerezis obrazovanog gela. Ova pojava često se dešava u praksi proizvodnje kiselog mleka i nastaje delom i kao posledica delovanja temperature pri kojoj se inkubacija mleka vrši. Znači da je visoka temperatura koordinativni činilac u istiskivanju mlečnog seruma. Da se to spreči postupa se tako da se željena kiselost dostigne tek za vreme hlađenja proizvoda. Istovremeno može se zapaziti da je kod ohlađenog kiselog mleka količina istisnutog seruma smanjena, a ako kiselost nije suviše velika, da se čak ukupna količina istisnutog seruma više uopšte ne primećuje. Znači da je sposobnost obrazovanog gela da uklopi u sebe veću količinu vode porasla sa sniženjem temperature. Kako temperatura utiče direktno i posredno na poboljšanje konzistencije kiselog mleka i drugih kiselo-mlečnih proizvoda razumljivo je zbog čega je neophodno držati ove produkte u hladnjači do upotrebe.

Poznata je činjenica da se kod proizvodnje razmućenog kiselog mleka (za koji se kod nas često koristi termin jogurt, kao da se radi o posebnom proizvodu) teži da se obrazovani gel ohladi kako bi nastupila solvatacija belančevina bez obrazovanja pahuljičaste konzistencije proizvoda. Slični rezultat može se postići povećanjem količine belančevina u proizvodu, a s tim u vezi i ukupne količine vezane vode u odnosu na slobodnu.

Poslednjih godina u proizvodnji kiselo-mlečnih proizvoda sve više se povećava upotreba tzv. hidrokoloida. Za pomenute supstance koriste se još termini kao što su »sredstva za zgušnjavanje«, »sredstva za vezivanje vode« i sl. Ove materije mogu biti biljnog (kopnenih i morskih biljaka) ili životinjskog porekla i imaju veliki kapacitet vezivanja vode, pri čemu znatno povećavaju viskozitet proizvoda. One se i koriste u cilju povećanja viskoziteta (čvrstine) gela kod proizvodnje kiselog mleka s normalnom količinom suve materije i kod proizvoda izrađenog od obranog mleka, a kod kiselog mleka s dodatkom voćnih sokova ili pekmeza da se spreči raslojavanje aditiva. Znači, težnja je da se poboljša konzistencija i da se stvori utisak da proizvod sadrži više suve

materije. (Posebno se koriste kod nekih varijeteta kiselo-mlečnih proizvoda s penastom strukturom sa ciljem stabilizovanja pene).

Ogledi koji su izvedeni sa ciljem da se ustanovi koji stabilizatori i u kojoj količini daju najveću stabilnost pene u proizvodnji kiselog mleka penaste strukture su pokazali ovo (1):

a) Od svih ispitivanih stabilizatora (želatin, agar — agar, belance jajeta, škrob, brašno, puding, puding instant) najbolje rezultate davalo je brašno u količini od 1%.

b) Stabilnost obrazovane pene u toku skladištenja raste s povećanjem suve materije mleka bez masti i s povećanjem količine stabilizatora (brašna).

c) S povećanjem količine inkorporiranog vazduha smanjuje se stabilnost pene u toku skladištenja.

Interesovanje za hidrokoloide naročito je poraslo jačanjem ideje o proizvodnji trajnog kiselog mleka. Naime, da bi se povećala trajnost kiselog mleka i sprečilo pogoršanje njegovog kvaliteta pri sobnoj temperaturi potrebno je uništiti mikrofloru termičkom obradom proizvoda. Pošto povišena temperatura potencira sineretičke pojave u gelu to bi neminovno dovelo do takvog izdvajanja mlečnog seruma koji se ne bi mogao ponovo uklopiti ni sniženjem temperature. U tom slučaju primena hidrokoloida s jako izraženim kapacitetom bubrenja treba da spreči neželjene pojave. Schulz (11) je dao klasifikaciju hidrokoloida biljnog porekla, međutim ne obrađuje hidrokoloide poreklom od životinja.

### Zgusnuto mleko

Kod proizvodnje zgusnutog mleka bez šećera često se pribegava dodavanju soli da bi se sprečila pojava koaguluma pri sterilizaciji, u toku skladištenja kao i da bi se omogućilo koncentrisanje proizvoda u nešto većem stepenu. Ove soli su gotovo iste koje se koriste kod proizvodnje topljenih sireva. Njihova uloga je da se smanji koncentracija kalcijumovih jona obrazovanjem slabo disociranih soli s ovim elementom. Na taj način se eliminiše agregirajuće i koagulišuće delovanje kalcijumovih jona koji izazivaju dehidraciju kazeina. Unošenjem jednovalentnih jona soli i blokiranjem dejstva dvovalentnih obezbeđuje se peptiziranost, a time i hidratisanost kazeina što povećava stabilnost koloidnog sistema zgusnutog mleka.

Pojava starosnog zgušnjavanja vezana je za hidratisanost belančevina.

### Sirevi

Kod proizvodnje mekih, tvrdih i topljenih sireva vezana voda ima veliki značaj, jer direktno utiče na konzistenciju proizvoda. Ispitujući probleme belančevina u toku zrenja belog mekog sira Živković (12) je ustanovio da osobine kriške zavise u velikoj meri od količine monokalcijumparakazeinata. Naime, monokalcijumparakazeinat je znatno jače nabubreo od ostalih parakazeinata svežeg sira. Usled toga monokalcijumparakazeinat daje osobine plastičnosti i kriške gube svoju krtost. To omogućava da se sa kriškama može lakše i slobodnije rukovati, one se bolje slože jer se mogu sabiti, a da se pri tome ne oštete.

Pri zrenju belog sira postoji jedan period kada se količina vode u kriškama povećava. Ispitujući uzroke ovakvog ponašanja Živković (12) je ustanovio da se u tom periodu količina monokalcijumparakazeinata povećala, što je u

vezi sa promenom pH sira. Povećana količina ove jače nabubrele belančevine je omogućila da se poveća količina vode u siru. Ova činjenica govori jasno da i na sir treba gledati kao na sistem dinamične fizičko-hemijske ravnoteže koja u zavisnosti od dominantnosti pojedinih činilaca može biti pomerena u jednom ili drugom smeru.

Količina vezane vode je veoma značajna i kod tvrdih sireva, a posebno kod kačkavalja. Posmatračemo vezanu vodu i ovde kroz dinamiku monokalci-jumparakazeinata.

U toku čedarizacije grude pri proizvodnji kačkavalja, količina monokalci-jumparakazeinata se povećava u toj meri da čini polovinu od ukupnih u vodi nerastvorljivih azotnih materija. Odnos jače nabubrenog monokalci-jumpara-kazeinata prema ostalim parakazeinatima Đorđević (2) je nazvao odno-som nabubrelosti i kod zrele grude on treba da bude približno 1. Povećanje količine ove belančevine omogućava da se obrazuje listasta struktura čedari-zovane grude, da ona poprimi u većoj meri plastične osobine, da ima osobine neophodne za termičku obradu i da voda bude ravnomerno raspoređena.

U toku termičke obrade nastaje smanjenje količine monokalci-jumpara-kezinata. To je posledica tri činioca: ispiranja, delovanja temperature i kalci-juma. Pri termičkoj obradi nastaje smanjenje kiselosti zbog ispiranja dela kiselih sastojaka. Promena kiselosti sredine omogućava da se deo rastvorljivog kalcijuma ponovo veže za monokalci-jumparakazeinat usled čega gubi osobinu da se rastvara u 5% NaCl. Ponovo vezivanje kalcijuma je pojačano dejstvom povišene temperature. Ona takođe potencira dehidraciju belančevina i ima ulogu regulatora količine vode u svežem siru. To potvrđuje i činjenica da se vlažnost zrele grude koja sadrži više vode smanjuje u većoj meri pri termičkoj obradi.

U toku zrenja kačkavalja količina monokalci-jumparakazeinata se održava na vrlo visokom nivou. 85—90% od ukupne količine u vodi nerastvorljivih belančevina kačkavalja do šestomesečne starosti nalazi se u obliku mono-kalcijumparakazeinata. Tolika količina ove belančevine se odražava direktno na niz osobina kačkavalja. Od tih osobina ovde želimo da istaknemo samo jednu, a to je ponašanje kačkavalja pri temperaturama ispod 0°C. Ogledima (6, 7, 8, 9) je utvrđeno da sveži kačkavalj (posle soljenja u slanom rastvoru) kao i zreli sir odlično podnose skladištenje pri temperaturama od —5° i —15°C. Ovo objašnjavamo velikom količinom vezane vode koja čini da sir sadrži rela-tivno manje slobodne vode. Zato je testo kačkavalja suvo i ne sadrži mesta gde se skuplja slobodna voda. Naravno da ovome u velikoj meri doprinosi i kompaktna listasta struktura sira, koja je opet u vezi sa monokalci-jumpa-rakazeinatom. Manja količina slobodne vode ravnomerno raspoređene u testu, znatna količina vezane vode i njeno drugačije ponašanje pri dejstvu niskih temperatura objašnjavaju zbog čega kačkavalj dobro podnosi skladištenje pri —5° i —15°C.

Prethodnu konstataciju potvrđuje i činjenica da zrela gruda koja sadrži znatno veću količinu monokalci-jumparakazeinata dobro podnosi držanje pri —10°C dok se sveža gruda, sa tri puta manjom količinom ovog oblika prome-njenog kazeina, ponaša pri pomenutoj temperaturi i posle odmrzavanja kao beli sir. To znači da se u svežoj grudi javljaju veliki kristali vode i nastupa dezintegracija testa pri odmrzavanju.

U toku zrenja sira količina vode vezane za belančevine se smanjuje kao posledica manjih ili većih promena koje se odigravaju na njima. Na početku zrenja, kada kao posledica mlečne fermentacije nastaje veća količina monokalcijumparakazeinata, 1 g belančevina sira sadrži 1,1 g vezane vode, a belančevine posle 2,5 meseca zrenja sadrže samo oko 0,42 g vezane vode na 1 g belančevina.

Kod proizvodnje sitnog sira količina vezane vode zavisi od dva osnovna činioca: pH vrednosti i temperature. Čak i mala odstupanja od izoelektrične tačke kazeina izazivaju znatne promene u njegovom stepenu hidratacije. Niske temperature (iznad temperature mržnjenja) povećavaju stepen hidratacije, a više ga temperature smanjuju. Otuda je jasna praksa da se svi sirevi ove vrste čuvaju pri niskim temperaturama koje im poboljšavaju organoleptička svojstva. Povećanje i smanjenje solvatacije i nabubrelosti belančevina pod dejstvom temperature je reverzibilan proces, ali se ne odigrava momentalno sa promenom temperature. Ovo se naročito odnosi na uticaj niskih temperatura. Šta više, ako se više puta povećava i ponovo snizi temperatura, sposobnost bušenja se znatno smanjuje kao posledica sineretičkih pojava, što izaziva istiskivanje tečnosti i pogoršanje kvaliteta. Treba imati u vidu da istisnuta tečnost nije identična sa surutkom s obzirom da je serum podvrgnut filtriranju kroz pore gela pa sadrži manje suve materije zbog zadržavanja dela belančevina i masti.

Sušтина proizvodnje topljenih sireva se sastoji u peptizaciji belančevina odnosno povećanju količine vode vezane za njih. Poznato je da kalcijum u prvom redu jonizovani deluje koagulišuće na parakazeinat i izaziva smanjenje vezane vode. Dodavanjem soli za topljenje (koje često nazivamo emulgatorima) kalcijum se pretvara u nerastvorljivu ili slabo jonizovanu so a njegovo mesto u sistemu zauzimaju jednovalentni joni natrijuma a katkada i kalijuma koji izazivaju peptizaciju i s tim u vezi relativno veliku hidratisanost belančevine. Supstitucija kalcijuma u parakazeinatu jednovalentnim katjonima ima za posledicu obrazovanje u vodi rastvorljivih kazeinata, i to je razlog što vodeni ekstrakt ovih sireva sadrži više azotnih materija nego sirovina iz koje su proizvedeni. Prema tome hidratacija pod dejstvom dodatnih soli se može smatrati kao prelazni stadijum na putu rastvaranja belančevina sira. Anjoni soli takođe utiču na količinu vezane vode time što se jedine ili bivaju adsorbovani na belančevine i doprinose njihovom negativnom naboju.

Ovim kratkim osvrtom želeli smo da istaknemo značaj vezane vode u mleku i mlečnim proizvodima, i da damo podstreka za izučavanje ove kod nas neispitane oblasti.

#### Literatura

- 1) Anojčić, V.: Neobjavljeni podaci
- 2) Đorđević, J.: The Dynamics of Monocalciumparacaseinate during the Making and Ripening of Kachkaval Cheese. XVI Int. Dairy Congress, Copenhagen, 1962.
- 3) Inđuhov, S. G.: Biohimiija moloka. Moskva, 1956.
- 4) Jenness, R. & Patton, S.: Principles of Dairy Chemistry. London, 1959.
- 5) Kuljman, A. G.: Fizičeskaja i koloidnaja himiija. Moskva, 1949.
- 6) Pejić, O., Stefanović, R. & Đorđević, J.: Reološke osobine svežeg i zrelog kačkavalja skladištenog na niskim temperaturama. *Arh. Polj. Nauke* 29 (1966) 64.