



Osaamista  
ja oivallusta  
tulevaisuuden  
tekemiseen

Anna Penttinen

# Maidon biokemialliset ominaisuudet pehmeän juuston valmistuksessa

Metropolia Ammattikorkeakoulu

Insinööri (AMK)

Bio- ja kemiantekniikka

Insinöörityö

25.01.2019

Tekijä Otsikko Sivumäärä Aika	Anna Pentinena Maidon biokemialliset ominaisuudet pehmeän juuston valmistuksessa 32 sivua + 4 liitettä 25.01.2019
Tutkinto	insinööri (AMK)
Tutkinto-ohjelma	Bio- ja kemiantekniikka
Ammatillinen pääaine	Bio- ja elintarviketekniikka
Ohjaajat	yliopettaja Riitta Lehtinen
<p>Insinööritöiden tavoitteena oli maidon tutkiminen juuston raaka-aineena ja pehmeän valkohomejuuston valmistusprosessien analyysi. Työ toteutettiin pääosin kirjallisuustyönä, ja sen tarkoitus oli antaa yleiskuva maidon koostumuksesta ja ominaisuuksista. Juuston tuotantovaiheet kuvattiin työkokemuksen perusteella Helsingin Meijeriliike Oy:ssä.</p> <p>Maidon biokemiallisia ominaisuuksia selvitettiin työn alkuosassa. Maidon laatu ja koostumus vaikuttavat juustojen tuotantokelpoisuuteen ja tuotantomenetelmiin. Yhdestä litrasta maitoa saadaan noin sata grammaa juustoa eli kymmenesosa.</p> <p>Juuston valmistusvaiheita tutkittiin toisessa osassa. Juuston valmistusta voidaan kuvata kuin prosessia, jossa poistetaan maidon jatkuva faasi eli vesi ja konsentroidaan dispergoitunutta faasia eli proteiineja ja rasvaa. Juuston olennaiset aineosat ovat maito, koaguloiva entsyymi, bakteeriviljelmät ja suola. Juoksute aiheuttaa maitoproteiinien koaguloitua ja maidon nestemäisen muodon muuttumista puolikiinteäksi geeliksi. Kun geeliä leikataan pieniksi kuutioiksi, hera alkaa erottua niistä pois. Bakteeriviljelmien tuottama maitohappo on välttämätöntä heran poistumisessa juustomassasta ja määrittää suurelta osin valmiin juuston kosteuden, aromin ja rakenteen.</p>	
Avainsanat	maito, hapate, juoksute, synereesi, pehmeä valkohomejuusto

Author Title	Anna Penttinen Milk's biochemical properties in the production of soft cheese
Number of Pages Date	32 pages + 4 appendices 25 January 2019
Degree	Bachelor of Engineering
Degree Programme	Biotechnology and Chemical Engineering
Professional Major	Biotechnology and Food Engineering
Instructors	Riitta Lehtinen, Principal Lecturer
<p>The aim of the thesis was to study milk as a raw material for cheese and to analyze the manufacturing processes of soft white cheese. The thesis was mainly carried out as a literature study; the purpose was to give an overview of the composition and characteristics of milk. The production phases of the cheese were described based on professional experience at the Helsinki Meijeriliike Oy.</p> <p>Biochemical properties of milk were described in the early part of the work. The quality and composition of milk affect the production capacity of the cheeses and the production methods. One liter of milk yields about 100 grams of cheese, which is one tenth of the milk.</p> <p>The manufacturing steps of the cheese were described in the second part. Cheese making can be described as a process of removing the continuous phase of milk, i.e. water, and concentrating the dispersed phase, i.e., proteins and fat. Cheese making can be described as the process of removing water, lactose and some minerals from milk to produce a concentrate of milk fat and protein. The essential ingredients of cheese are milk, coagulating enzyme, bacterial cultures and salt. Rennet causes the milk proteins to coagulation and transform fluid milk to a semi-firm gel. When this gel is cut into small cubes, the whey begins to separate from the curd. Lactic acid production by bacterial cultures is essential to aid expulsion of whey from the curd and largely determines the final cheese moisture, flavour and texture.</p>	
Keywords	milk, starter, rennet, syneresis, soft white mold cheese

# Sisällys

## Lyhenteet

1	Johdanto	1
2	Lehmän maito	2
2.1	Kemiallinen koostumus	2
2.1.1	Maidon vesi	2
2.1.2	Maidon proteiinit	2
2.1.3	Maitorasva	8
2.1.4	Maidon hiilihydraatit	11
2.1.5	Maidon entsyymit	12
2.1.6	Maidon vitamiinit	13
2.1.7	Maidon kivennäis- ja hivenaineet	14
2.2	Maidon fysikaaliset ja muut ominaisuudet	14
2.3	Maidon mikrobiologinen koostumus	15
2.3.1	Bakteerit	15
2.3.2	Somaattiset solut	15
3	Juuston tuotanto	15
3.1	Juustojen luokittelu	16
3.2	Juoksute	17
3.3	Hapate	18
3.4	Tuotantoprosessit	18
3.4.1	Raakamaito	18
3.4.2	Pastörinti	19
3.4.3	Esikypsytytys	19
3.4.4	Juoksettaminen tai koagulaatio	21
3.4.5	Synereesi	22
3.4.6	Rakeiston kokoaminen ja muotitus	24
3.4.7	Suolaus ja kypsytytys	25
4	Pienjuustolan hygienia	26
5	Yhteenveto	28

Liitteet

Liite 1. Beetakaseiini. Proteiinisekvenssi ja parametrit

Liite 2. Kappakaseiini. Proteiinisekvenssi ja parametrit

Liite 3. Alfakaseiini s1. Proteiinisekvenssi ja parametrit

Liite 4. Alfakaseiini s2. Proteiinisekvenssi ja parametrit

## Lyhenteet

AA	Amino Acid. Aminohappo. Orgaaninen molekyyli, proteiinin alayksikkö.
$a_w$	Veden aktiivisuus.
CCP	Colloidal Calcium Phosphate. Kolloidinen kalsiumfosfaatti.
CFU	Colony-forming unit. Pesäkkeitä muodostavien yksiköiden määrä.
CN	Casein. Kaseiini. Maidon proteiini.
Da	Dalton. Molekyylien massa suhteessa vetyatomien massaan $1,66 \cdot 10^{-24}$ g.
EVIRA	Elintarviketurvallisuusvirasto.
HACCP	Hazard Analysis and Critical Control Points. Vaarojen arviointi ja kriittiset hallintapisteet.
HTST	High Temperature Short Time. Lyhytaikainen pastörinti korkeassa lämpötilassa.
LAB	Lactic Acid Bacteria. Maitohappobakteeri.
pH	Oksoniumionin konsentraation kymmenkantaisen logaritmin vastaluku.
pI	Isoelektrinen piste. pH-arvo, jossa molekyylin nettovaraus on nolla.

## 1 Johdanto

Meijerituotannon raaka-aine on maito. Euroopassa raakamaitoa tuottavat lehmät, lampaat ja vuohet. Maailmassa maitoa lypsetään myös muista nisäkkäistä, kuten hevosista, kameleista, puhveleista, jakeista, seebuista, poroista ja aaseista. Eläinten maidon kemiallinen koostumus vaihtelee lajeittain (taulukko 1). Aineiden koostumus vaikuttaa maidon ja jatkossa juuston makuun, sekä tuotantoteknologiaan. Näin lampaan maitoa ei juoda spesifisen maun ja tuoksun takia (epämukavan maun aiheuttavat kapryyli- ja kapriinihappojen korkeat pitoisuudet), mutta lampaan maidosta tehtyä juustoa syödään mielellään. Puhvelin maidon biologinen ravintoarvo on hyvin korkea, juustoa siitä valmistetaan sekoittamalla lehmän maitoon. Hevosen maitoa taas juodaan eniten hapatettuna ja siitä valmistetaan juustoa. Se on muun muassa hyvin terveellistä, koska rasvapitoisuus on alhainen ja rasva on hienosti pirstoutuvaa. Poron (vaadin) maidossa on lehmän maitoon verrattuna neljä kertaa enemmän kaloria, juustoa poron maidosta ei valmisteta. [1.]

Taulukko 1. Nisäkkäiden maidon kemiallinen keskiarvoinen koostumus, % [1].

Laji	Vesi	Proteiinit	Rasvat	Laktoosi	Kuiva-aine
Lehmä	88,0	3,2	3,5	4,9	0,8
Vuohi	86,9	3,8	4,1	4,4	0,8
Lammas	83,6	5,1	6,2	4,2	0,9
Puhveli	82,9	4,6	7,5	4,2	0,8
Jakki	84,0	5,0	6,5	5,6	0,9
Hevonen	89,7	2,2	1,9	5,8	0,3
Vaadin	67,7	10,9	17,1	2,8	1,5

Kaikkien nisäkkäiden maidoissa on terveellisiä orgaanisia ja epäorgaanisia yhdisteitä omille jälkeläisille ravinnoksi. Ihmiskunta oppi hyödyntämään niitä jo tuhansia vuosia sitten. Domestikaation eli eläinten kesytyksen kotieläimiksi tuloksena saatiin arvokkaita elintarvikkeita, kuten juustoja.

Tämän insinööriyön tarkoituksena on tutkia tieteellisestä kirjallisuudesta maidon biokeemiallisia ominaisuuksia ja niiden vaikutusta juuston laatuun valmistusprosessissa. Työn

pohjaksi on otettu pehmeän juuston valmistuksen tuotantovaiheita Helsingin Meijeriliike Oy:ssä. Meijerin tuotanto alkaa lehmien maidosta. Noin tunnissa 400 litraa nestettä muuttuu geelimäiseksi. On kiinnostava ymmärtää tapahtumien ketjua ja sitä, miten maukas ja terveellinen elintarvikejuusto syntyy.

## 2 Lehmän maito

Maidon ominaisuudet vaihtelevat laktaatiokauden aikana. Lehmän genotyyppi, rotu, ruokinta, ympäristö, hoito, ikä ja sairaudet vaikuttavat maidon makuun ja laatuun, saantoon ja koostumukseen. Maito on kolloidisysteemi, emulsio, jossa jatkuvaan vesifaasiin on dispergoitunut rasva- ja proteiinimolekyylejä. [2, s. 10.]

### 2.1 Kemiallinen koostumus

#### 2.1.1 Maidon vesi

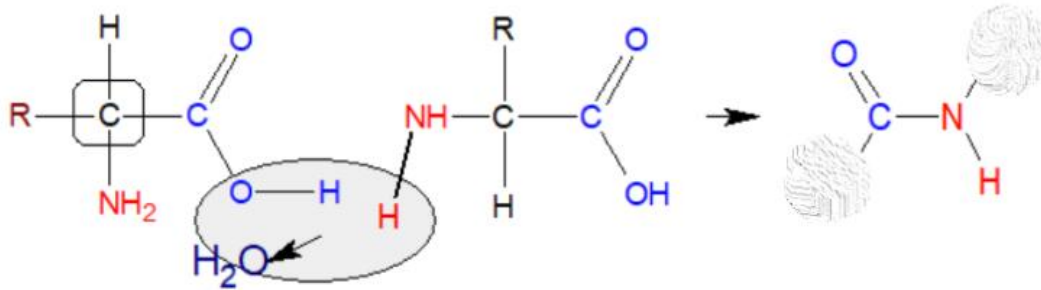
Lehmän maidossa on keskimäärin 86–89 % vettä. Noin 3 % siitä on adsorboitu misellien pinnalle ja on kemiallisesti sidottu, kuten hiilihydraateissa ( $C_{12}H_{22}O_{11} \cdot H_2O$ ). Dipoliset vesimolekyylit muodostavat kalvopeitteisiä kerroksia pallomaisien klusterien ympäri. Sellainen hydraattikuori stabiloi misellien rakennetta. Sidottu vesi on ominaisuuksiltaan erilainen kuin vapaa. Veden aktiivisuus  $a_w$  on oleellinen tekijä juuston kypsytyksessä, ja se vaikuttaa mikro-organismien toimintaan ja juuston rakenteessa tapahtuviin muutoksiin. [2, s. 18.]

#### 2.1.2 Maidon proteiinit

Proteiineja on maidossa 2,9–3,5 % ja ne voidaan jakaa seuraaviin ryhmiin:

- kaseiinit, lähes 80 %
- heraproteiinit, lähes 19 %
- rasvapallojen kalvoihin hautautuneina proteiineja eli kalvoproteiineja, lähes 1 % [2, s. 26].

Kaikki proteiinit ovat peptidisidoksilla toisiinsa yhdistyneitä aminohappoja, jotka muodostavat eripituisia ketjuja. Aminohappoja kaikkiaan on 20 ja niille yhteistä on, että karboksyyli ryhmä (COOH), aminoryhmä (NH<sub>2</sub>) ja sivuketju liittyvät α-hiiliatomiin (kuva 1).



Kuva 1. Aminohappojen väliin sidoksen muodostumismekanismi. Peptidisidos. [3.]

Sivuketjut määräävät aminohappojen ominaisuuksia. Negatiivisesti varatuissa sivuketjuissa on enemmän karboksyyli ryhmiä, positiivisesti varatuissa on enemmän aminoryhmiä. Varatut aminohapot tuovat hydrofiilisiä ominaisuuksia proteiineille. Ei-polaariset ja aromaattiset sivuketjut ovat varauksettomia ja tuovat hydrofobisia ominaisuuksia. [3, s. 53]. Taulukkoon (kuva 2) on koottu rasvattoman maidon proteiinien määrä, paino ja muita ominaisuuksia.

Protein (suggested abbreviation)	Composition in skim milk (g/L)	Genetic variants <sup>2</sup>	Molecular weight <sup>3</sup>	Isoionic point <sup>4</sup>	Isoelectric point <sup>5</sup>	A <sup>1</sup> % 1 cm <sup>5</sup>	H <sub>p</sub> Ave <sup>6</sup> (kcal/res.)
α <sub>s1</sub> -Casein (α <sub>s1</sub> -CN)	12–15	B	23,615	4.92–5.05	4.44–4.76	10.05	1170
		C	23,542	5.00–5.35	...	10.03	1170
α <sub>s2</sub> -Casein (α <sub>s2</sub> -CN)	3–4	A	25,226	...	...	...	1111
β-Casein (β-CN)	9–11	A <sup>1</sup>	24,023	5.41	...	...	1322
		A <sup>2</sup>	23,983	5.30	4.83–5.07	4.6, 4.7	1335
		B	24,092	5.53	—	4.7	1326
κ-Casein (κ-CN)	2–4	A	19,037	5.77 (5.35)	5.45–5.77	—	1205
		B	19,006	6.07 (5.37)	5.3–5.8	10.5	1224
β-Lactoglobulin (β-LG)	2–4	A	18,363	5.35	5.13	9.6	1211
		B	18,277	5.41	5.13	10.0, 9.6	1217
α-Lactalbumin (α-LA)	0.6–1.7	B	14,178	—	4.2–4.5	20.1–20.9	1120
Serum albumin (SA)	0.4	A	66,399	5.13	4.7–4.9	6.3–6.9	1120
Immunoglobulin G1 (IgG1)	0.3–0.6	...	161,000	—	5.5–6.8	13.6	...
Immunoglobulin G2 (IgG2)	0.05	...	150,000	—	7.5–8.3	13.6	...
Immunoglobulin A <sup>1</sup> (IgA)	0.01	...	385,000–417,000	...	...	12.1	...
Immunoglobulin M (IgM)	0.09	...	1,000,000	...	...	12.1	...
Secretory component (SC)	0.02–0.1	...	63,750	7.48	...	15.5	...
Lactoferrin (LF)	0.02–0.1	...	76,110	8.95	8.81	9.91	1053

<sup>1</sup>Inclusion of values in this table does not constitute endorsement by the Committee.

<sup>2</sup>Major variants.

<sup>3</sup>Calculated as formula weight (3 decimal places) from composition. All acidic groups are protonated, all basic groups are not protonated. Where known, the major disulfide linkages are taken into account; κ-CN has no disulfides, but its N-terminal pyroglutamic is included. Immunoglobulins represent a range.

<sup>4</sup>Eigel et al. (1984).

<sup>5</sup>Absorptivity of a 1% solution measured in a 1-cm light path at 280 nm, except where noted otherwise.

<sup>6</sup>Average hydrophobicity calculated using free energies of transfer of amino acid side chains from an organic environment to an aqueous environment composition of the various proteins (Bigelow, 1967).

Kuva 2. Lehmän rasvattoman maidon proteiinit ja niiden pääparametrit [4, s. 1642].

Lehmän genotyypit (A, B, C...) ovat polymorfisia, eli samanlaiset geenit koodaavat muutamalla aminohapolla erottuvia proteiineja. Siksi mitatut ja lasketut parametrit ovat jonkin verran vaihtelevia.

## Kaseiinit

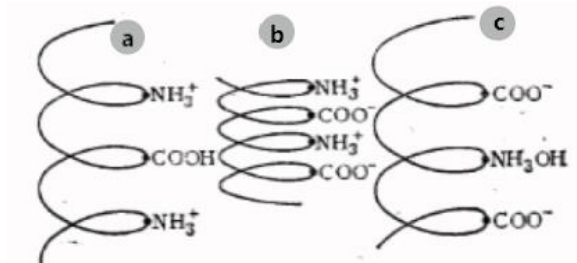
Kaseiinit ovat juustonvalmistuksessa maidosta saostuvia ja juustoon tulevia proteiineja. Jos maidossa on toivottu 3,5 g:n kokonaisproteiinimäärä per 100 g maitoa, niin 2,8 g niistä on kaseiineja [2, s. 26]. Kaseiinijoukossa ovat beetakaseiini (engl. CN beta), alfa-kaseiinit s1 ja s2 (engl. CN alpha S1, CN alpha S2) sekä kappakaseiini (engl. CN kappa) [5]. Juuston pääproteiinien parametrit on koottu taulukkoon 2.

Taulukko 2. Kaseiinisukuproteiinien parametrejä. Proteiinisekvenssit haetaan uniprot.org-tietokannasta ja parametrit lasketaan expasy.org-tietokannassa sekvenssien perusteella [6; 7; 8; 9; 10]. Laajempi kaseiinien ominaisuuskuvaus löytyy liitteistä 1–4.

Parametrit	CN beta	CN kappa	CN alpha S1	CN alpha S2
Molekyylipaino, Da	25107	21269	24529	26019
Aminohappoa, kpl	224	190	214	222
pI (teor.)	5,26	6,29	4,98	8,55
Asp+Glu, (-), kpl	23	16	32	28
Arg+Lys, (+), kpl	16	15	21	31
GRAVY	-0,154	-0,287	-0,481	-0,704
Seriini, kpl	16	14	16	17

Proteiinien parametrit taulukossa 2 kuvaavat molekyylien painoa, aminohappoketjujen pituuksia, molekyylien kokonaisvarauksia ja käyttäytymistä vesimolekyylien kanssa. Niiden GRAVY arvo (-) kertoo molekyylin hydrofiliasta, arvo (+) hydrofobiasta. Proteiinimolekyylin happamuutta tai alkalisuutta aiheuttavat varatut aminohapot. Kaseiineilla on enemmän negatiivisesti varattuja aspartaattia ja glutamaattia (taulukko 2), siksi niillä on hapan luonne ionisoidussa tilassa. Sellaisten proteiinien isoelektrinen piste sijaitsee pH:n alueella alle 7,0:ssä. Jotta päästään pI-alueelle, pitää lisätä proteiiniliuokseen happoa. Silloin karboksyyliyhmiön ionisaatiota estetään, ja rakennekierteissä on vain plusvaraukset aminoryhmissä. Samanmerkkiset varaukset venyttävät repulsiovoimalla

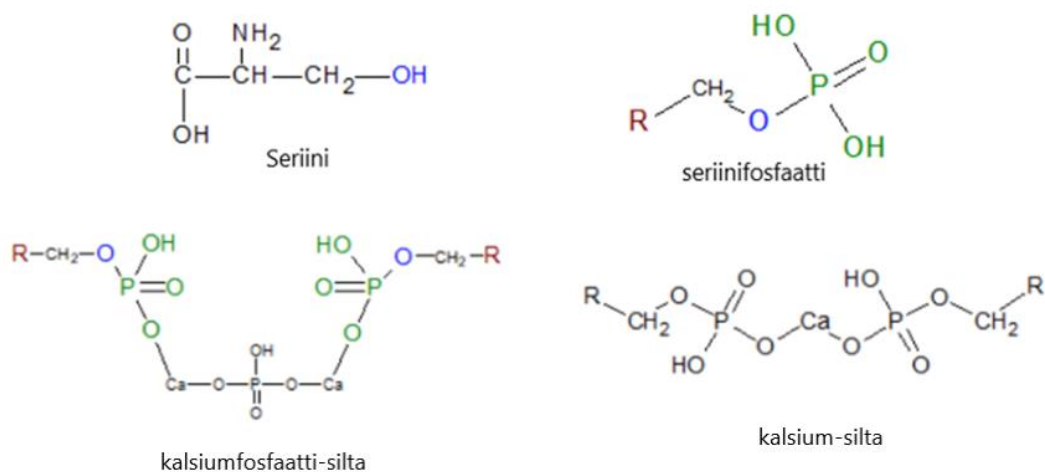
makromolekyyliä. Niiden tilavuus nesteessä ja sen seurauksena nesteen viskositeetti kasvavat. Isoelektrisessä pisteessä plussa- ja miinusvarauksia on saman verran ja siksi niiden vetovoima puristaa molekyyliä (kuva 3).



Kuva 3. Proteiinin makromolekyyli happamassa alueessa (a), pI-alueessa (b), alkalisessa alueessa (c) [11, s. 264].

Isoelektrisessä pisteessä molekyylin summavaraus on nolla, turvotusaste pienin ja liuoksen viskositeetti alhainen. pI- ja pH-alueen ymmärrys on tärkeä juuston valmistuksessa. [11, s. 263–264.]

Kaseiinit ovat globulaarisia fosforiproteiineja. Fosfaattiryhmät ja aminohappoketjussa olevat seriinit muodostavat seriinifosfaattia eetterisidoksella (R–O–R'). Fosfaatit reagoivat kalsiumin kanssa ja muodostavat siltoja makromolekyylien välissä (kuva 4). Kalsium stabiloi proteiinimolekyylien yhteenliittymää eli miselliä. [2, s. 33.]

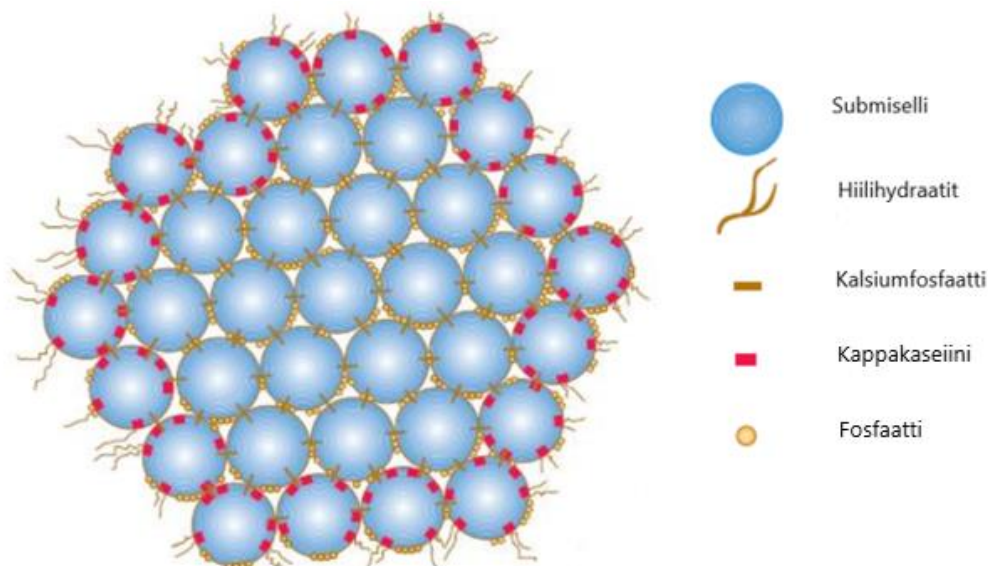


Kuva 4. Seriin ja seriinifosfaatin molekyyli rakenne. Kaksi mahdollista liittymää molekyylien välissä misellissä. [2, s. 34.]

Tuoreessa maidossa kaseiinien kolloidishiukkaset eli misellit ovat aika stabiileja. Stabiilius perustuu molekyylien sähkövaraukseen, hydrofiilisyyteen ja hydrofobisuuteen. Hydrofobiset proteiiniosaat asettuvat molekyylin keskelle vesifaasissa. Misellin pinnalla on sekä plussa- että miinusvarauksia. Kokonaisvaraus on negatiivinen, koska on enemmän karboksyyliiryhmiä ja lisäksi hydroksyyliiryhmiä fosfaateissa. Veto- ja työntövoimat pitävät systeemiä koossa. Jos hiukkasten välissä työntövoimat ovat suurempia kuin vetovoimat, misellien tila on vakaa. Jos vetovoima kasvaa, systeemin pysyvyys häiriytyy, kolloidishiukkaset lähestyvät, aggregoivat ja koaguloivat eli hyytyvät. Minimityöntövoimat ovat isoelektrisessä pisteessä. [2, s. 80–84.]

Teorian mukaan, keskikokoinen miselli on rakennettu 400–500 submisellistä, jotka sementtoivat keskenään kalsium- ja kalsiumfosfaattiyhdisteet (kuva 4). Eri submisellit koostuvat erilaisista kaseiinimolekyyleistä. Ne submiselleistä, jotka sisältävät enemmän kappa-kaseiineja, asettuvat misellin pinnalle. Kappa-kaseiinien karvamuotoiset hiilihydraatit estävät loputonta submisellien aggregaatiota työntövoimalla (kuva 5). Misellit eivät ole staattisia makromolekyyleja. Maidossa on olemassa kolme dynaamista tasapainotilaa:

- vapaat kaseiinimolekyylit ja submisellit
- vapaat submisellit ja misellit
- dissosioituneet kolloidiset fosfaatit. [2, s. 28–35; 12.]



Kuva 5. Kaseiinimisellin molekyyli rakenne [13, s. 24].

Kerrataan toistamiseen misellien stabiiliuteen vaikuttavat tekijät juuston tuotannon kannalta:

- Kalsiumin rooli. Noin 90 % on sidoksessa miselleissä, vahvistaa suurimolekyylien stabiiliutta. Kalsiumin poisto voi aiheuttaa beetakaseiinin dissosiaation vesifaasiin. Kalsiumin lisääminen johtaa proteiinien aggregoimiseen ja auttaa hyytymisprosessissa.
- Hydrofobiset yhteisvaikutukset. On oma rooli misellien muodostumisessa ja stabiiliudessa. Ovat hyvin lämpötilaherkkiä.
- Sähköstaattiset vuorovaikutukset. Yleinen miselläärinen rakenne on löysä, huokoinen ja avoin. On sisäänpääsy entsyymeille ja muille molekyyille.
- Kappakaseiinien karvamuotoiset hiilihydraatit pitävät etäisyydet misellien välissä. Estävät niiden aggregoimista ja saostusta.
- pH:n alentaminen johtaa fosfaattikalsiumin liukenemiseen ja pI-tilan saavuttukseen. Isoelektrisessä pisteessä fosfaatit liukenevat ja kaseiinit koaguloivat.
- Suolat. Vaikuttavat kalsiumin aktiivisuuteen herassa.
- Lämpökäsittely muuttaa misellien vesiadsorptiota ja reaktioiden kulkeamista. Maidon puskuriominaisuudet vaihtuvat.
- Lämpötila. Neljässä asteessa beetakaseiini liukenee pois miselleistä. Pakastetussa maidossa proteiinit saostuvat (cryo-casein). [12; 13, s. 23–25.]

### Heraproteiinit

Kaseiinien saostuksen jälkeen jää heraa eli heraproteiineja sisältävä (lähes 0,6 % maidon määrästä) nestemäinen faasi. Heraproteiinit ovat biologisesti hyvin arvokkaita ja sisältävät välttämättömiä aminohappoja enemmän kuin kaseiinit. Tiivistetyt heraproteiinit sitovat hyvin vettä ja ovat hyviä emulgointi- ja vaahtoaineita. Heraproteiineja ovat beetalaktoglobuliini, alfalaktalbumiini, immunoglobuliinit, laktoferriini ja transferrini (kuva 2). [2, s. 36.]

Beetalaktoglobuliinin rakenne on 36 kDa:n dimeeri. Maidon pastöroinnissa proteiini saostuu kalsiumfosfaatin kanssa. Proteiinilla on ominaisuus muodostaa kappakaseiinin kanssa yhdisteitä maidon lämpökäsittelyssä. Kun kaseiineja koaguloidaan, tämä yhteiliittymä häiritsee juoksetteen toimintaa ja vähentää misellien lämmönkestävyyttä. [2, s. 36.]

Alfalaktalbumiini on lämmönkestävä metalliproteiini, sitoo Ca-ioneja ja painaa 14 kDa. Proteiinia on mahdollista renaturoida natiivimuodoksi. Proteiini osallistuu laktoosisynteesiin. Beetalaktoglobuliini ja alfalaktalbumiini eivät juoksetu entsyymillä eivätkä koaguloi pI-pisteessä. [2, s. 36.]

Immunoglobuliinit ovat glykoproteiineja ja vasta-aineita. Niiden stabiilialue on alle 70 °C:ssa. [2, s. 36; 14, s. 36.]

Laktoferriini ja transferrini ovat glykoproteiineja ja painavat 76–80 kDa. Proteiinit sitovat ja kuljettavat raudan elimistössä sekä voivat tuhota bakteereita. Immunoglobuliinit, laktoferriini ja transferrini esiintyvät eniten ternimaidossa. [2, s. 37; 14, s. 37.]

Vaikka heraproteiinit jäävät pois juustosta, niillä on vaikutusta tuotantoon alkuvaiheissa. Maidon kuumennus heikentää juoksettumis- ja kalsiumsidontakykyä. Sitä voi aiheuttaa hiutaleisuutta heraproteiinien vaikutukselta. Heraan jää myös seerumin albumiineja ja yksittäisiä pieniä proteiinimolekyylejä. [2, s. 38; 14, s. 37.]

Pallomaisen rasvamolekyylin membraaniproteiineja

Membraaniproteiinit ovat kalvon rakenteellisia elementtejä ja vaikuttavat rasvapallojen stabiiliuteen maidon käsittelyn aikana. Kalvon tai membraanin glykoproteiinit painavat 45–200 kDa ja sisältävät 15–50 % hiilihydraatteja. Niiden liukoisuus veteen on erilainen, jotkut eivät liukene, kuten butyrophilin, joka säilyy rasvapallojen pinnalla maidon kuuma- ja mekaanisessa käsittelyssä. [2, s. 39.]

### 2.1.3 Maitorasva

Rasva on yhtä tärkeä juuston tuotannossa kuin kaseiinit. Se antaa juustolle pehmeää, elastista rakennetta ja hienoa makua. Rasvapitoisuus 2,8–4,5 % on riippuvainen vuodenajasta ja monesta tekijästä. Maitorasva sisältää tri-, di- ja monoglyseridien seoksia, fosfolipidejä, glykolipidejä, steroleita, rasvaliukoisia karotenoideja, vitamiineja (A, D, E) ja vapaita rasvahappoja. Jotkut niistä vaikuttavat merkittävästi maitotuotteiden ravitsemukselliseen arvoon. [14, s. 31–32.]

## Rasvahapot ja glyseridit

Rasvahappojen joukossa on enemmän tyydyttyneitä rasvahappoja, noin 65 %. Tyydyttymättömien määrää kasvaa kesän aikana. Rasvan koostumuksessa on yli sataa rasvahappoa. Rasvasta määritetyt yli 1 %:n pitoisuudella rasvahapot ja niiden ominaisuuksia on koottu taulukoon 3.

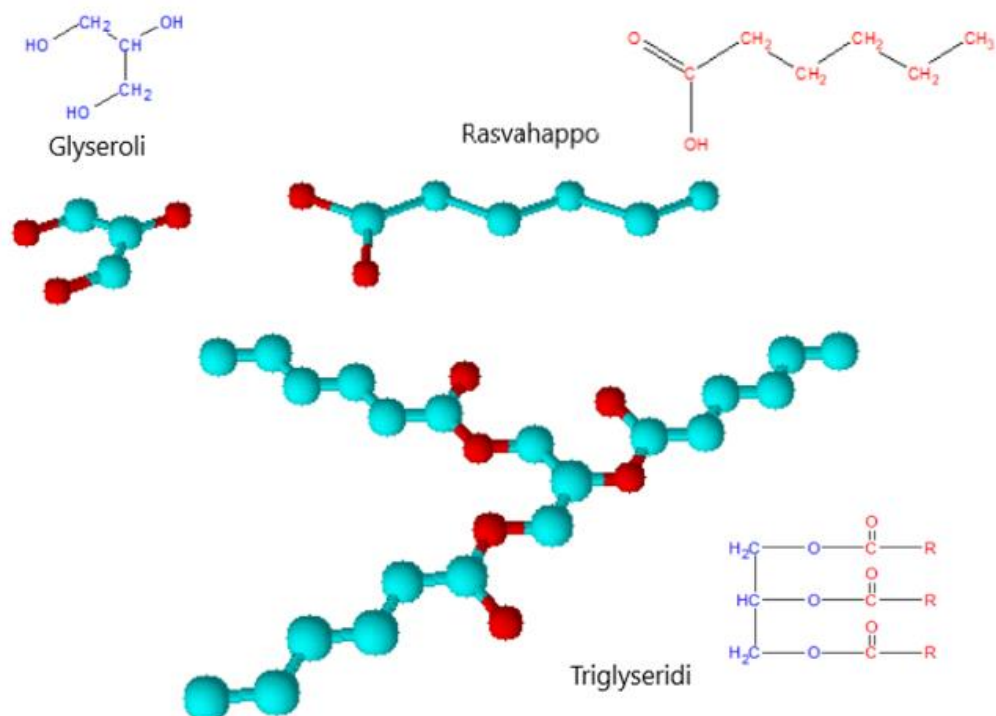
Taulukko 3. Maitorasvan rasvahappoja. Viivan alla tyydyttymättömät. [2, s. 43.]

Rasvahappo	Mol. kaava	Sulamispiste, °C	Rasvassa, %
Voihappo	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> COOH	-4	2,5–5,0
Kapronihappo	C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> COOH	-3,4	1,0–3,5
Kapryylihappo	C <sub>7</sub> H <sub>15</sub> COOH	16,7	0,4–1,7
Kapriinihappo	C <sub>9</sub> H <sub>19</sub> COOH	31,6	0,8–3,6
Lauriinihappo	C <sub>11</sub> H <sub>23</sub> COOH	44,2	1,8–4,2
Myristiinihappo	C <sub>13</sub> H <sub>27</sub> COOH	53,0	7,6–15,2
Palmitiinihappo	C <sub>15</sub> H <sub>31</sub> COOH	63,1	20,0–36,0
Steariinihappo	C <sub>17</sub> H <sub>35</sub> COOH	69,6	6,5–13,7
Myristoleiinihappo	C <sub>13</sub> H <sub>25</sub> COOH	18,5	1,5–3,5
Palmitoleiinihappo	C <sub>15</sub> H <sub>29</sub> COOH	-0,5	1,5–5,6
Oleiinihappo	C <sub>17</sub> H <sub>33</sub> COOH	13,4	16,7–37,6
Linolihappo	C <sub>17</sub> H <sub>31</sub> COOH	-8,0	2,0–5,2
Linoleenihihappo	C <sub>17</sub> H <sub>29</sub> COOH	-16,0	0,1–2,1
Arakidonihappo	C <sub>19</sub> H <sub>31</sub> COOH	-49,5	0,1–1,7

Oleiini- ja steariinihappoa on enemmän kesällä, myristiini- ja palmitiinihappoa on enemmän talvella. Maitorasva sisältää paljon lyhytketjuisia tyydyttyneitä rasvahappoja 7,4–9,5 % ja biologisesti tärkeitä tyydyttymättömiä vain 3–5 %. Niitäkin on enemmän kesällä. Tyydyttymättömien rasvahappojen hiilivetyketjussa on yksi tai useampi kaksoissidos. Rasvan kiinteys vaihtelee sen mukaan, mitä rasvahappoja se sisältää. Mitä enemmän on tyydyttyneitä, kuten palmitiini- ja steariinihappoa, sitä kovempi maitorasva on, ja sitä

korkeampi sulamispiste on. Sulamispistettä alentavat muut rasvahapot, kuten suurin joukoin oleiinihappo. Maitorasvan sulamisalue on 32–37 °C. Rasvahappokoostumukset määräävät rasvan kemiallista reaktiivisuutta, ravitsemuksellista arvoa ja fysikaalisia ominaisuuksia. [2, s. 42–44; 14, s. 33.]

Suurin osa maidon rasvasta on triglyseridimuodossa. Triglyseridin molekyyli rakentuu glyserolipäästä ja kolmesta rasvahaposta, jotka voivat olla eripituisia (kuva 6). Triglyserideille on tyypillistä, että niissä on runsaasti tyydyttyneitä ja lyhyitä rasvahappoja. Di- ja monoglyseridit syntyvät bakteerien tuottamalla lipaasientsyymillä, irrottaessa rasvahappoja triglyseridistä siis lipolyysin seurauksena. [2, s. 45; 14, s. 31–33.]



Kuva 6. Triglyseridin, glyserolin ja rasvahapon 2D- ja 3D-molekyyliarakenteet [14, s. 32].

Vapaat rasvahapot aiheuttavat maitoon virhemakuja [14, s. 33].

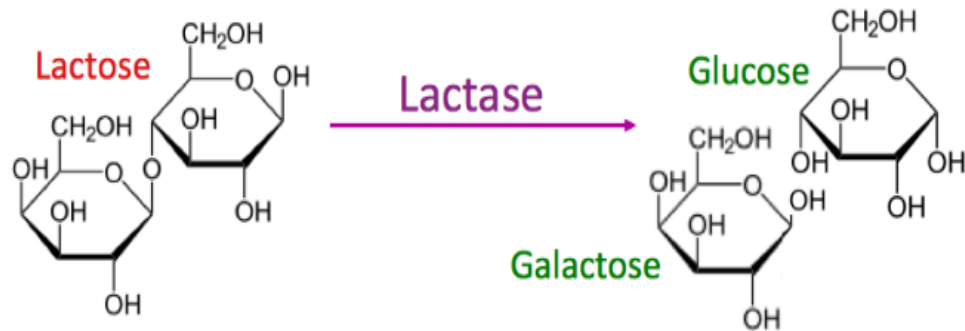
## Fosfolipidit, sterolit ja muut lipidit

Yleisimmät fosfolipidit maidossa ovat lesitiinejä ja kefaliineja, yli 60 % kaikista fosfolipideistä. Pääosa fosfolipideistä sijaitsee rasvapallojen pintakalvoissa ja osa muodostaa proteiinien kanssa kemiallisia yhdisteitä. Fosfolipideille on tyypillistä fosfaattiryhmä, jolla on hydrofiilisiä ominaisuuksia. Hydrofobiset ominaisuudet ovat ominaisia rasvahapoille. Molekyylin rakenne: kolmehiiliseen glyseroliin on kiinni esterisidoksilla kaksi rasvahappoa ja kolmanteen hiileen fosforihappo. Fosforihappoon voi lisäksi sitoutua aminoalkoholi. Vesihakuiset ja vesipakoiset päät saavat aikaan sen, että vesifaasissa molekyylit muodostavat kaksoiskalvon, jossa hydrofobiset päät ovat orientoituneet sisäpuolelle ja hydrofiiliset vesipuolelle. Rasvapallojen kalvot pitävät maitorasvan emulgoituneena maidon vesiosaan. Maitotuotteissa fosfolipidit toimivat emulgaattoreina eli auttavat vesiöljyemulsioiden syntymisessä ja pysyvyydessä. Niissä on heikkoja antioksidanttien ominaisuuksia. Fosfolipidit voivat hapettua hapen vaikutukselta ilmassa. Muodostuvat aldehydrit aiheuttavat sivumakuja. Maidon pastöroinnissa osa fosfolipideistä (5–15 %) häviää rasvapallojen kalvoista vesifaasiin. [2, s. 46; 14, s. 33–34; 15, s. 768.]

Glykolipidit ovat muodostuneet lipideistä ja sokereista, ja ne esiintyvät rasvapallojen kalvoissa. Steroleista (0,012–0,014 % maidossa ja 0,2–0,4 % rasvasta) tärkeimpiä ovat kolesteroli ja ergosteroli. Sterolit ovat rasvapallojen kalvoihin sitoutuneita rengasrakenneisiä hiiltä, vetyä ja happea sisältäviä yhdisteitä. Ne vahvistavat rasvapallojen kalvoja. Maitorasvan ja maidon kellertävä väri johtuu rasvaan liukenevista karoteeneista. Pastörointi tuhoaa osittain, noin 10–12 % karotenoideja. [2, s. 48; 14, s. 34; 15, s. 770–771.]

### 2.1.4 Maidon hiilihydraatit

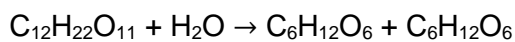
Maidon laktoosi on disakkaridi, se koostuu kahdesta monosakkaridista: D-galaktoosista ja D-glukoosista. Laktoosia maidossa on 4,5–5,2 %. Laktoosia hydrolysoi  $\beta$ -D-galaktosiidaasi (tai heikko happo) monosakkaridiksi (kuva 7). Laktoosin molekyyli on poolinen, siksi se liukenee hyvin veteen ja huonosti rasvaan. Tuotteet, jossa tapahtuu rasvan konsentraatio, sisältävät vähän laktoosia kuten juusto.



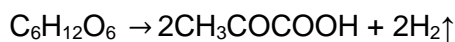
Kuva 7. Laktoosin hydrolyysi entsyymin vaikutukselta [16].

Maitohappobakteerit tuottavat maitohappoa, käyttäen laktoosia ravintona. Niiden kyky metabolisoida laktoosia antaa maitohappobakteereille kilpailuetua monien patogeenisten ja pilaavien organismien suhteen. Laktoosin lisäksi tuore maito sisältää pieniä määriä glukoosia, galaktoosia ja oligosakkaridia. [2, s. 48–49; 14, s. 38–39.]

Maitohappokäyminen on monien maitotuotteiden lähtötapahtuma. On olemassa muita käymisreaktioita, kuten propionihappokäyminen, etanolikäyminen ja haitallinen voi-happokäyminen, joka aiheuttaa virhekäymistä ja juustomassan pullistumista. Kaikki käymiset alussa ovat samanlaisia: laktoosi pilkotaan laktaasientsyymillä:



Sitten glukoosi hajoaa entsyymien vaikutukselta palorypälehapoksi:



Jatkossa eri käymiset tapahtuvat eri tavalla. Propionihappokäyminen tapahtuu juuston valmistuksessa, jossa käytetään korkeaa lämpötilaa toisessa lämmityksessä. Juuston valmistuksessa laktoosi jää heraan. [2, s. 50–51.]

### 2.1.5 Maidon entsyymit

Terveen lehmän maidosta on löydetty noin 70 entsyymiä ja niistä 20 ovat natiiveja. Ne ovat maidon luontaisia entsyymejä ja bakteeriperäisiä. Kaikki ovat substraattispesifisiä

valkuaisaineita ja katalyyttejä. Maidossa ne ovat vapaita tai sidottuja kaseiinimiselleihin ja rasvapallojen kalvoon. Entsyymit vaikuttavat maidon säilyvyyteen, makuun ja tuoksuun tai hajuun. Pastöroinnilla voidaan tehokkaasti inaktivoida osaa maitoa pilaavista entsyymeistä. Entsyymit luokitellaan reaktioiden perustella. Tärkeimpiä luontaisia entsyymejä ovat peroksidaasi, katalaasi, fosfataasi, lipaasi ja proteinaasi. [2, s. 59.]

Laktoperoksidaasi kuljettaa happea vetyperoksidista hapettuviin yhdisteisiin. Hapettumistuotteet muodostavat antibakteerisen järjestelmän, joka estää ei-toivottujen gram-negatiivisten bakteerien kasvun. Entsyymi tuhoutuu 80 °C:ssa 5 sekunnissa. [2, s. 62.]

Fosfataasi hajottaa fosforihappestereitä fosforihapoksi ja alkoholiiksi. Entsyymi tuhoutuu 72 °C:ssa eli pastöroinnissa 15–20 sekunnissa. [2, s. 63.]

Lipoproteiinilipaasi hajottaa rasvan glyseridit glyseroleiksi ja rasvahapoiksi, jotka vapaana aiheuttavat maitoon härskin maun ja laatuongelmia. Entsyymi on lämmönkestävää. [14, s. 38.]

Katalaasi hapettaa vetyperoksidia, jolloin syntyy vettä ja happea. Tuoreessa maidossa, jossa mikrobien määrä on alhainen, entsyymiä on vähän. Entsyymi tuhoutuu 75 °C:ssa 60 sekunnissa. [2, s. 64.]

Proteinaasi katalysoi peptidisidoksien hajoamista ja on hyvin substraattispesifinen. Maidossa sitä on hyvin vähän ja peräisin verestä (plasmiini). Plasmiini aiheuttaa beeta- ja alfa-kaseiinien hydrolyysia. Entsyymi tuhoutuu yli 75 °C:ssa. [12, s. 28–29; 14, s. 38.]

#### 2.1.6 Maidon vitamiinit

Maito sisältää rasvaliukoisia vitamiineja A, D, E, K ja vesiliukoisia B1, B2, B6, B12, sekä niasiinia, pantoteenihappoa ja askorbiinihappoa. Vitamiini A on peräisin retinolistasta ja  $\beta$ -karoteenista. Vitamiinia C on merkityksetön määrä, se tuhoutuu pastöroinnissa. Maidon käsittelyssä osa vitamiineista tuhoutuu, mutta juustosta löytyy niitä aika paljon. Maidon vitamiineja on riittävästi hapatebakteereille ravinnoksi. Juuston kypsytyksessä mikro-organismit muodostavat niitä edelleen. [17.]

### 2.1.7 Maidon kivennäis- ja hivenaineet

Maidon natiivit kivennäis- ja hivenaineet nostavat maidon ravitsemusarvoa. Kaikki 22 mineraalia, jotka elimistö tarvitsee, ovat maidossa. Maidon muodostumismekanismissa utareessa natrium-, kalium- ja kloridi-ionit korreloivat laktoosia negatiivisesti osmoottisen tasapainon ylläpitämiseksi maidon ja veriplasman välissä. Osa, noin 2/3 kalsiumia, 1/3 magnesiumia, 1/2 fosforia ja 1/10 sitraattia kolloidisessa muodossa, on sidoksissa kaseiinimiselleissä. Toinen osa, Ca, Mg, sitraatti  $C_3H_5O(COO)_3^{3-}$  ja fosfaatit  $PO_4^{3-}$ , pitää yllä maidon happo-emästasapainoa. Maito sisältää 0,7 % kivennäisaineita ja kalsiumia 120 mg/100 g maitoa. [17; 2, s. 57–58.]

### 2.2 Maidon fysikaaliset ja muut ominaisuudet

Maidon fysikaaliset ominaisuudet ovat vaihtelevia ja riippuvat monesta tekijästä. Taulukkoon 4 on kerätty tärkeimpiä niistä.

Taulukko 4. Maidon muut ominaisuudet [17].

Parametrit	Arvot
Tiheys, g/ml, 4,4 °C	1,035
Tiheys, g/ml, 20 °C	1,030
Tiheys, g/ml, 38,9 °C	1,023
Jäätymispiste, °C	-0.522
Kiehumispiste, °C	100,2
Valon taittokerroin	1,344–1,349
Viskositeetti, Pa*s, 20 °C	$1,8 \cdot 10^{-3}$
pH, 25 °C	6,5–6,7
SH	7

Maidon happamuutta taulukossa 4 mitataan kahdella menetelmällä: titraamalla natriumhydroksidilla, jolloin tulos saadaan SH-asteina tai mittaamalla vapaiden vetyionien

määrä pH-luvulla. SH (Soxhlet&Henkel) ilmaisee maidossa olevien vapaiden ja sidottujen vetyionien määrää. Taulukon jäätymispisteen alenemaa kertoo maitoon lisätystä vedestä. Kaasut ilmasta liukenevat maitoon 60–120 mg/1 kg. Jos maito varastoidaan pitkemmäksi ajaksi, maidossa olevat mikro-organismit lisäävät ammoniakkin määrää ja vähentävät happea. Pastörinti myös vähentää liuenutta happea. [14, s. 42–43.]

## 2.3 Maidon mikrobiologinen koostumus

### 2.3.1 Bakteerit

Bakteereja joutuu maitoon työvälineistä, ilmasta, ihmisistä jne. Lehmän utareessa niitä ei ole. Maidossa bakteerien lisääntyminen riippuu lämpötilasta, varastointiajasta ja bakteerilajeista. Lypsyä seuraavan kahden vuorokauden aikana bakteerimäärät eivät varsinaisesti muutu, jos säilytyslämpötila on alle 4 °C. Raakamaidossa on luonnollisia antimikrobisia puolustusmekanismeja eli entsyymejä. Kaikki bakteerit eivät ole haitallisia. Monia maidosta alun perin eristettyjä bakteereja hyödynnetään hapatteina. [14, s. 40.]

Saastuneessa maidossa mahdollisesti esiintyviä patogeenisia ovat *Bacillus* ja *Clostridium*-sukujen lajit, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* [17].

### 2.3.2 Somaattiset solut

Somaattiset solut ovat utareesta peräisin olevia soluja. Solujen korkea pitoisuus kertoo lehmän terveydentilasta ja hyvinvoinnista. Näin utaretulehdustilassa kasvaa valkosolujen määrä verenkierrossa, ja niitä erittyy maitoon. Terveen lehmän maidon solupitoisuus on alle 100 000 solua/ml. [14, s.41.]

## 3 Juuston tuotanto

Juuston valmistusta voidaan kuvata kuin prosessia, jossa poistetaan maidon jatkuva faasi eli vesi ja tiivistetään dispergoitunutta faasia eli proteiineja ja rasvaa. Prosessin pääaineet ovat maito, koaguloiva entsyymi eli juoksute, bakteeriviljelmät eli hapate ja

suolat. Yhdestä litrasta maitoa saadaan noin 100 grammaa juustoa. Juokсутteen lisäys aiheuttaa proteiinien aggregointia yhteen ja nesteen muuntumista geeliksi. Kun geeli leikataan pieniksi paloiksi, hera alkaa erottua niistä. Bakteerien tuottama happo vaikuttaa heran poistumiseen juustomassasta ja jatkossa juuston kosteuteen, aromiin ja rakenteeseen.

### 3.1 Juustojen luokittelu

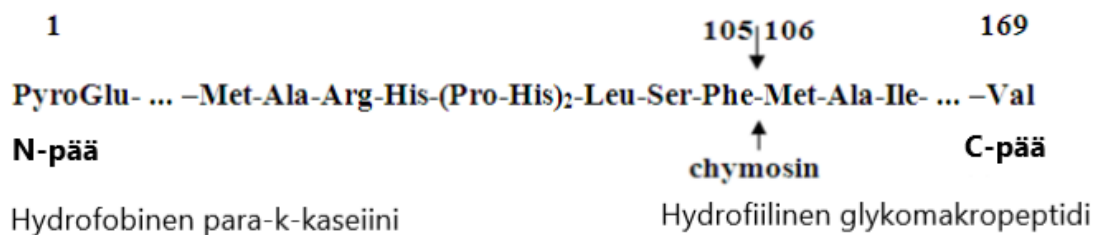
Maailmassa ei ole virallista, yhteistä juustojen luokittelua. Juustojen valikoima on suuri ja eri maissa on olemassa omat teknologiat. Seuraava on juustoperheiden luokittelu rakenne- ja tuotantomenetelmien mukaan.

- Happo-koaguloitu tuorejuusto. Maidon hyytymistä saavutetaan hapottaen pH-arvoon 4,6–4,8 maitohapolla ja lisäämällä juokсутetta. Säilöntäaika on 2–3 viikkoa.
- Juoksute-koaguloitu tuorejuusto. Koagulaatio saavutetaan vaan lisäämällä juokсутetta. Silloin juuston pH on 6,5–6,7, joskus 5,8 (lisätään hyvin vähän hapatetta). Valmiin tuotteen kosteus on 50–70 %. Säilöntäaika on 2–4 viikkoa.
- Lämmitys-happo-koagulaatio. Koagulaatiota savutetaan eri tavalla. Prosessissa on lämmitys 75–100 °C ja juokсутteen sekä hapatteen lisäys. Valmiin juuston pH on 5,2–6,0 ja kosteus 55–80 %.
- Pehmeä kypsytetty juusto. Koagulaatiota savutetaan pääosin juokсутteella, lisäksi on maitohappobakteerien inokulaatio ja pitempi kypsytysaika. Valmiin juuston pH on 5,0–5,2 ja kosteus 45–60 %. Kypsyttäminen kestää 2–8 viikkoa.
- Puolikiinteä pesty juusto. Valmistuksen tavoite on hyödyntää kokonaan laktoosia. Silloin maitohappobakteerit tuottavat riittävästi maitohappoa, että saavutetaan pH 5,0–5,2. Käytetään lämmitystä. Valmiin juuston kosteus on 40–50 %. Kypsytyks on 2 viikkoa - 9 kuukautta.
- Kova juusto ilman lämmitystä. Juuston happamuus 5,0–5,2 saavutetaan synereesi-prosessissa kolmen päivän sisällä. Kosteus on 35–39 %. Kypsyttäminen kestää 1–36 kuukautta.
- Kova juusto vahvalla lämmityksellä. Nopea synereesi, joka aiheuttaa korkeaa juokсутuslämpötilaa ja korkeaa keittolämpötilaa. Kypsytysaika on 1–36 kuukautta. [18.]

### 3.2 Juoksute

Juoksutteen pääentsyymejä ovat kymosiini ja pepsiiini. Kymosiini on nisäkkäiden mahalaukkuun erittämä hydrolaasientsyymi, joka katalysoi maidon kaseiinien pilkkoutumista ja koaguloitumista. Näin maito jää pidemmäksi ajaksi mahalaukkuun ja pepsiiini-proteasientsyymillä on enemmän aikaa hajottaa proteiineja peptideiksi ja aminohapoiksi. Nykyaikana juoksute-entsyymit voivat olla bakteeri- ja kasvipärisiä. Bioteknologian saavutusten tuloksena saadaan entsyymejä, jotka ovat puhtaampia, aktiivisempia ja stabiilimpia kuin luonnolliset. [19.]

Teorian mukaan (Shammet ym., [19]) kymosiini pystyy pilkkomaan polypeptidiketjua vain kohteessa fenyylialaniini-metioniini (kuva 8). Pepsiiini vaikuttaa laajempaan kaseiinien peptidisidosten joukkoon. Kymosiini siis aloittaa peptidimolekyylien muutoksen ja luo edellytykset maitohappobakteereista peräisin olevien proteaasien jatkotoiminnalle.



Kuva 8. Kymosiini-entsyymin pilkkomiskohde kappakaseiineissa. Pilkkomisen jälkeen aminohappoketju 1–105 on para-kappakaseiini, joka ei ole liukeneva ja Ca-ioneille herkkä proteiini. Aminohappoketju 106–169 on hydrofiilinen glykomakropeptidi. [19.]

Yleensä juuston valmistuksessa käytetään entsyymiseosta. Monen eliittijuuston valmistukseen menee 90–95 % kymosiini- ja 5–10 % pepsiniseosta. On sallittua käyttää pelkkää puhdasta pepsiniä. Kymosiini toimii pH-alueella 5,3–6,3 ja 40 °C:ssa, pepsini toimii pH-alueella 4,0–6,0. [2, s. 154–156.]

### 3.3 Hapate

Hapate on hyötymikrobiviljelmää, jolla saadaan juustolle happamuutta, rakennetta, aromia, ravitsevuksellista koostumusta ja säilyvyyttä. Hapateen bakteeriviljelämä voi sisältää yhden tai useamman bakteerikantojen seoksia tarvittavalla määrällä  $10^8$  CFU/ml. Bakteerien metaboliset reaktiot tuovat haluttuja ominaisuuksia. Laktoosin käymisreaktiot johtavat maitohapon muodostamiseen. Maitohapon hajottaminen tuo propionihappoa, tai tapahtuu muu aineenvaihdunta, joka liittyy tiettyihin tuoteominaisuuksiin. [18; 19.]

Juuston tuotannossa maitohappokäymisen aiheuttajat ovat maitohappobakteereja (LAB), ja niille on seuraavia vaatimuksia: gram-positiivisia, ei-itiömuodostavia, ei-liikkuvia, katalaasi-, nitraattireduktaasi-, sytokromioksidaasi-negatiivisia ja mikro-aerofiilisiä. Muodostettu maitohappo edistää proteiinien juoksettamista, auttaa heran erittämistä, inhiboi huonolaatuisien bakteerien kasvatusta ja tuo makua. [20.]

Hapateen bakteerit jaetaan seuraaviin ryhmiin:

- Mesofiilit (optimaalinen kasvulämpötila on 25–30 °C): *Lactococcus lactis*, alalajit *Lactis* & *Cremonis*, aromiyhdisteitä muodostavat *Leuconostoc*-lajit.
- Termofiilit (optimaalinen kasvulämpötila on 37–45 °C): *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*. [14, s. 53–62.]

Maitohappobakteerien lisäksi käytetään sekundaariviljelmiä, joilla edistetään erityistä kypsytystä, makua ja koostumusta. Bakteeri-, hiiva-, homeviljelmät ovat heikennettyjä ja tuottavat entsyymejä juuston kypsytyksessä. [20.]

### 3.4 Tuotantoprosessit

#### 3.4.1 Raakamaito

Maitoa tuotetaan lypsykarjatiloilta. Helsingin meijeriliike Oy saa raakamaitoa lähialueen tiloilta lypsytuoreena. Maidon laatu tarkistetaan Valion laboratoriossa, joka lähettää tietoja pesäke- ja somaattisten solujen määrästä ja lisäksi tiedot mahdollisista lääkeainejäämistä. Meijerissä määritetään maidosta antibiootti pistokokeina. Antibiootit ja muut lääkkeaineet estävät maitohappobakteerien kehittymistä.

Maidon tuotanto-olosuhteita säädetään maitoa koskevissa laeissa. Lakien perusteella toimittajien on täytettävä seuraavat hygieniavaatimukset:

- Vastaanotettavan maidon lämpötila saa olla korkeintaan 6 °C.
- Maidon on oltava ulkonäöltään, hajultaan ja maultaan moitteetonta.
- Bakteerien kokonaismäärä (30 °C) alle 100 000 psk/ml (vähintään kaksi näytettä/ kuukausi, kahden kuukauden liukuvana geometrisenä keskiarvona:  $g(x) = \sqrt[n]{x_1 \cdot x_2 \cdot \dots \cdot x_n}$ . Liukuva keskiarvo lasketaan vanhan kauden arvon tippuessa pois ja uuden kauden tullessa mukaan).
- Somaattisten solujen määrä alle 400 000 solua/ml (vähintään yksi näyte/kuukausi, kolmen kuukauden liukuvana geometrisenä keskiarvona).
- Ei saa olla lääke- ja kemiallisten aineiden jäämiä, mikrobien kasvunestoaineita.
- Maidon voi happobakteeri-itiöpitoisuus on oltava alle 3 100 psk/l.
- Maito tuotetaan eettisesti hyväksyttävällä tavalla. [21; 22; 23]

### 3.4.2 Pastörinti

Pastöroinnissa tuhoetaan mahdollisia taudinaiheuttavia ja maitoa pilaavia bakteereja. Pastöroinnin jälkeen maito ei ole kokonaan mikrobiota. Psykrotroofisia ja mesofiilisiä maitohappobakteereja tuhoutuu, ja termofiilisiä bakteereita ja itiöitä säilyy. Ihmisravinnoksi tarkoitetulle maidolle on tehtävä vähintään yksi lämpökäsittelyistä, jotka on määritetty EY:n asetuksessa [21]. Meijerissä käytetään lyhytaikaista pastörintia korkeassa lämpötilassa HTST (72–75 °C, 15–50 s). [20.]

Pastörinti ei merkittävästi vaikuta maidon ravintoarvoon, mutta vähentää liukoista kalsiumia, fosforia sekä B12- ja C-vitamiinia. Pastöroinnissa heikkenevät proteiinien koaguloitumisominaisuudet, siksi kalsiumia lisätään pastöroinnin jälkeen. Kuumennuskäsittelyn sääntö: sitä hellävaraisempi lämmitys, mitä suurempi juuston kuiva-aineen pitoisuus on. [2, s. 124–130; 20.]

### 3.4.3 Esikypsytyt

Pastöroitu maito ohjataan teräsvaunuihin (kuva 9).



Kuva 9. Pastöroitu maito täyttää vaunua, jossa tapahtuu juoksettuminen.

Pienentyneellä kalsiumpitoisuudella maito koaguloituu hitaasti ja muodostuu löysää, vaikeasti seurattavaa hyytymää. Prosessin parantamiseksi lisätään 5–20 g  $\text{CaCl}_2$ /100 l maitoa. [20.]

Happamuuden kehitys on välttämätön juuston valmistuksessa. Maitohappobakteerien avustuksella pH:n alentaminen nopeuttaa koagulaatiota, edistää synereesiä ja estää piilaavien bakteerien kasvamista. Siksi lisätään hapate. Maidon lämpötilan on oltava 30–32 °C. Maidon esikypsytysvaihe kestää 30–60 min. [2; 20.]

Seuraavat yleiset huomautukset ovat tärkeitä useimpien juustojen lajikkeille:

- Liika happamuus tuottaa juustolle haurasta rakennetta ja kirjavaa väriä.
- Ei-riittävä happamuus tuottaa pehmeää rakennetta, saippuamaista, hedelmäistä ja karvasta makua. [19.]

Maitohappobakteerien kehittäminen tuottaa kasvutekijät (entsyymit, ravinneet) toissijaisille mikrobeille, jotka muodostavat kaasua ja kehittävät haluttua makua ja tekstuuria juustolle kypsytysvaiheessa. [19.]

#### 3.4.4 Juoksettaminen tai koagulaatio

Koagulointi tapahtuu, kun kaseiinimisellit takertuvat toisiinsa ja pysyvät yhdessä. Maidossa yhdistämistä estetään kahdella tekijällä: ”karvaisella” kappakaseiinien pinta-aktiivisella kerroksella misellien pinnalla (kuva 5), ja misellien negatiivisella varauksella eli työntövoimalla. Jos yksi näistä eliminoidaan, misellit muodostavat geeliä. Proteiinimolekyylien negatiivinen varaus neutraloidaan happamoittamalla maitoa hapatteella (kuva 3). Juoksute-entsyymit tuhoavat ”karvaiset” misellien pintakerrokset. [19.]

Kun kappakaseiineja pilkotaan entsyymillä, kalsiumioneja liittyy kaseiineihin. Alkaa muodostua verkkomainen, kolmiulotteinen rakenne: juoksettuma, joka kaappaa veden, rasvan ja muut aineosat sisään. Happamuus lisää entsyymiaktiivisuutta ja neutraloi repulsiovoimat misellien välillä (pI-piste). Kalsium indusoi misellien aggregointia ja hyytymistä. Lämpötila vaikuttaa koagulointiin. Alle 30 °C:ssa muodostuu heikko ja vaikeasti leikatava geeli ilman saantohäviötä. [14, s.116–117; 19.]

Koagulaatiovaiheen vaikutustekijät:

- lyhyt juoksettumis aika tuottaa voimakkaampaa synereesiä myöhemmissä vaiheissa
- pitkä juoksettumis aika aiheuttaa pehmeää saostumaa
- rasvapitoisuuden noustessa on nostettava lämpötilaa, koska juoksettumis kyky alenee [20].

Tämän vaiheen toimenpide on juoksutteen lisääminen. Optimaalinen lämpötila entsyymireaktioille on 30–35 °C. Hyytyminen voi kestää 10–50 min (kuva 10). [20.]



Kuva 10. Koaguloitumisen kovuutta testataan ennen paloittelua. Jos leikkauspinnat ovat tasaiset ja hera on kirkasta, juoksettuma on riittävän hyvälaatuista.

Melkein heti muodostuttuaan juoksettuma alkaa kutistua. Juoksettuman sisältämä hera alkaa puristua ulos.

### 3.4.5 Synereesi

Synereesi kreikan kielessä tarkoittaa tiivistymistä ja puristumista. Geelimassan paloittelu aiheuttaa kiinteän ja nestemäisen faasin jakautumista. Synereesiin vaikuttavat lämpö, pH:n alentaminen, rasvapitoisuus ja rakeiston pinta-ala. [20.]

#### Juoksettuman paloittelu

Paloittelu pitää suorittaa nopeasti ja riittävän hellävaraisesti. Leikataan geeliä kahteen suuntaan (kuva 11).



Kuva 11. Juoksettuman paloittelu. Heran ja rakeiston jakautuminen.

Rakeiston koot vaikuttavat juuston vesipitoisuuteen. Mitä pienempää raetta on, sitä enemmän leikkauspintaa ja seurauksena enemmän heran erottumista. Jos juoksettuma on liian pehmeä, muodostuu pieniä juustopartikkeleita, jotka jatkokäsittelyssä katoavat heraan. Myös jos rakeisto vetäytyy liian nopeasti kasaan, tuloksena on liian vesipitoinen juusto ja pehmeät reunat. Liian kiinteä juoksettuma aiheuttaa hankalan paloittelun ja juustopölyä heraan. [20.]

#### Seisotus, heran poisto ja vesilisäys

Paloittelun jälkeen annetaan synereesi-prosessin kehittyä. Massalle annetaan vuorotellen lepoajat ja sekoitukset. Ajat merkitään käsittelyohjeeseen. Sekoituksen tavoitteena on pitää juustovaunun sisältö riittävän homogeenisena mahdollisimman pienin juustopalojen vaurioin ja hävikkein. Tehokas sekoitus vaikuttaa merkittävästi heran erottumiseen juustopaloista. [20.]

Jossain vaiheessa poistetaan 30–40 % herasta ja lisätään lämmintä 42-asteista vettä (kuva 11). Tarkoituksena on poistaa laktoosia, muita vesiliukoisia aineita ja hallita pH:ta. Vesilisäys vaikuttaa juuston ominaisuuksiin happamuutta vähentämällä ja lämpötilaa säätämällä. [20.]



Kuva 12. Juustorakeisto seisotusten ja sekoituksen jälkeen. Osittainen heran poisto.

Annetaan vielä lisää aikaa rakeiston kehittymiselle. Tämä tuotannon vaihe kestää 1,5–2 tuntia.

#### 3.4.6 Rakeiston kokoaminen ja muotitus

Kun rakeisto on valmis, aloitetaan juuston muotitus. Poistetaan hera ja siirretään rakeisto esilämmitettyihin juustomuotteihin. Muotit seisotetaan sarakkeina (kuva 13). On tärkeää saada hera erotetuksi pienin hävikein ja tuottaa tavoitekoon mukaisia juustoja. Seisotuksen aikana loppuhera erottuu, juustorakeisto puristuu ja paakkuuntuu luonnon painovoimalla. Muotteja käännellään puristumisen aikana. Juuston happaneminen jatkuu muotissakin.



Kuva 13. Juuston muotoilu. Happaneminen juustomuoteissa.

Hapatteiden toiminta ja juuston fysikaalinen käyttäytyminen muotissa riippuvat lämpötilasta. Jäähtymistä hidastetaan muovivaipalla ja kuuman veden suihkutuksella. [14, s. 120–125; 20.]

#### 3.4.7 Suolaus ja kypsytytys

Suola täydentää makua ja estää juustoa pilaantumasta. Suolaa voidaan lisätä juuston valmistuksen eri vaiheissa. Meijerissä juustot upotetaan suolaliuokseen 15 minuutiksi (kuva 14).



Kuva 14. Juuston suolaus ja kypsytytys ritilöiden päällä.

Suolan imeytymistä lisää alhainen pH, juuston vesipitoisuus ja lämpötila. Suola diffundoi-  
tuu juuston vesiosaan ja siirtyy kypsymisen aikana pinnalta keskelle päin. [20.]

Juustot nostetaan suolaliuoksesta ritilöiden päälle. Juustot kypsennetään kosteushuo-  
neessa, jossa lämpötila on 14 °C, viikon tai yli, kun valkohomeet kasvavat riittävästi juus-  
tojen pinnalla. Juustot pakataan papereihin ja varastoidaan kylmähuoneeseen. Kylmä-  
huoneessa juuston kypsytyys jatkuu.

#### 4 Pienjuustolan hygienia

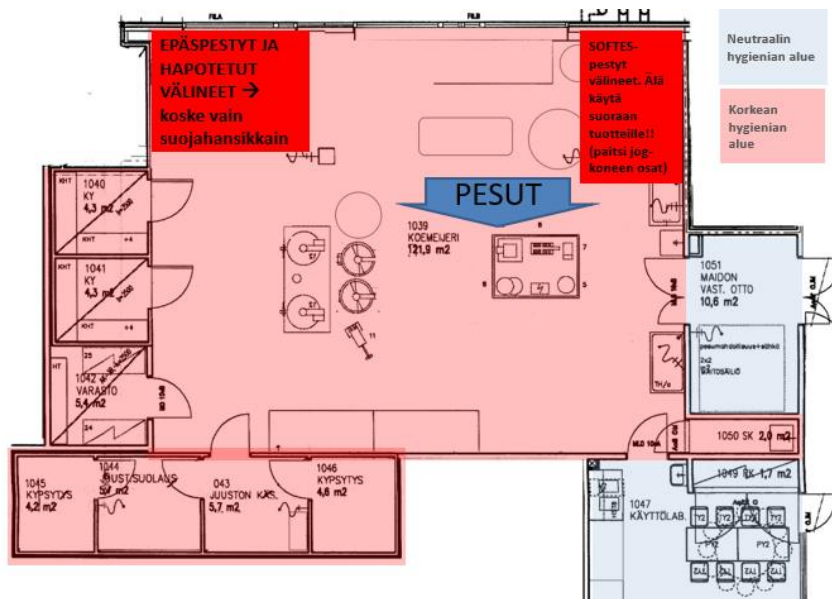
EU:n lainsäädännön mukaan elintarviketurvallisuus varmistetaan ennaltaehkäisevästi soveltamalla hyviä hygieniakäytäntöjä sekä vaara-analyysin ja kriittisten pisteiden valvontaan perustuvia menettelyjä (HACCP). Elintarvikelaissa 23/2006 säädetään toimijan omavalvontasuunnitelman laatimisesta ja pidetään sen toteutumisesta kirjaa. Toimijan on arvioitava mikrobiologiset riskit, tarvitaanko näytteenottoa, ja on tunnettava vastuunsa turvallisuusvaatimuksien toteuttamisesta. Valvontaviranomainen seuraa omavalvonta-  
näytteenoton toteutumista, tutkimusten tuloksia ja omavalvontajärjestelmän toimivuutta elintarviketurvallisuuden varmistamisessa. Jos mikrobikriteeriasetuksen vaatimus ei täyty, toimijan on ryhdyttävä toimenpiteisiin, jotka säädetään EY:n asetuksessa 2073/2005. [23; 24.]



Kuva 15. Tuotteiden laadun aistivaarainen tarkastelu ennen myyntipakkaamista.

Toimija itse määrittää rajat pintapuhtausnäytteiden tuloksille ja tarvittaessa tehostaa toimenpiteitä (siivous, ohjeistus, omavalvontasuunnitelman muutokset). Prosessihygieniaa koskevia vaatimuksia sovelletaan tuotantoprosessin aikana. Toimijan pitää tehdä säilyvyystutkimuksia turvallisen säilyvyysajan määrittelemiseksi varmistakseen elintarvikkeiden mikrobiologiset, kemialliset ja aistivaaraiset vaatimukset myyntiajan loppuun saakka (kuva 15). [23.]

Pienjuustolan tuotannossa hygieeninen toiminta on hyvin tärkeää. Omavalvonnan vaatimuksia ja kriittiset pisteet on määritetty (kuva 16).



Kuva 16. Juustolan hygienia-alueet [20].

Laitoshygienian periaatteet ovat seuraavia:

- desinfioiduin suojahansikkain kosketaan puhtaisiin työvälineisiin, muotteihin sekä pintoihin, jotka ovat kosketuksessa juustojen kanssa
- kaikki muu kuin pestyt ja hapotetut työvälineet ovat "likaisia" (vesihanat, ovenkahvat jne.) [20].

Pesun yleiset määräykset työvälineille

- huuhtelu vesisuihkulla käytön jälkeen
- kuumalipeäkeitto upoksissa 70–80 °C, 15 min

- vesihuuhtelun jälkeen hapotus happoaltaassa 15 min
- vesihuuhtelu [20].

Pesun yleiset määräykset työpinoille

- huuhtelu vesisuihkulla ja vaiheiden välissä ja lopussa
- harjaus Softsan-liuoksella
- hapotus kastelukannulla (vaikutus >10 min) [20].

Juustolan tuotantopäivät ovat viikon alkupuolella, loppupuolella suoritetaan kovatehoiset pesut kaikille astioille, välineille ja pinnalle käyttäen kemiallisia pesuaineita. Käytetyt työvälineet pestään aina samana työpäivänä. [20.]

## 5 Yhteenveto

Maito on keskeinen osa pohjoismaista ruokakulttuuria. Ravitsemuksellisesti maito on arvokas elintarvike, jonka ravinteiden koostumus on täydellisesti tasapainossa. Maito ja maitotuotteet sisältävät kaikki ihmisravinnoksi tarvittavat, elimistössä hyvin metaboloituvat aineet, kuten proteiineja, rasvoja, hiilihydraatteja, vitamiineja ja kivennäisaineita.

Maito on herkkä elintarvike ja sitä valvotaan erittäin tarkasti. Hygienialainsäädäntö edellyttää säännöllistä tutkintaa raakamaidon bakteerimäärästä, solupitoisuudesta, lääkejäämistä. Maitotuotteiden tuotannossa laatua on huomioitava tuotantoketjun jokaisessa vaiheessa alkaen maitotilalta päättyen kuluttajan ostoskoriin. Maidon laatua määritetään somaattisen solujen ja bakteerisolujen pitoisuudella. Solupitoisuus kuvaa lehmän utareen terveydentilaa. Matala bakteerimäärä merkitsee sitä, että maidon käsittelyssä noudatetaan puhtautta ja asianmukaisia jäähdytys- ja säilytysmenetelmiä. Raakamaito jäähdytetään lypsyn jälkeen. Raakamaito tulee säilyttää enintään 6 °C:ssa ja käyttää mahdollisimman nopeasti tuotannossa kuumennuskäsittelyn jälkeen. Helsingin Meijeriliike Oy käyttää HTST-pastörintia, eli 75 °C:n kuumennusta 20–50 sekuntia.

Maidon ja maitovalmisteiden laadunvalvonta perustuu meijereiden omaan laatujärjestelmään ja viranomaisten tarkastuksiin. Meijerien pitää tarkkailla maidon tuottajan hygieenisyyttä. Omavalvontajärjestelmä estää tuotantovirheitä ennakolta. Viranomainen valvoo

meijerien omavalvonnan ja näytteenoton oikeellisuutta. Kunnan elintarvikevalvontaviranomaiset tarkkailevat koko ketjua kauppaan saakka. EVIRA valvoo ja ohjaa lain toteutumista.

Maidon ominaisuudet ovat hyvin riippuvaisia vuodenajasta, ruokinnasta, lehmän rodusta, iästä, käsittelystä eli monesta tekijöistä. Siksi juuston tuotanto ei ole koskaan samanlaista, ja valmistuksen menetelmät täytyy säätää sopiviksi. Käytetyt valmistusmenetelmät vaikuttavat juuston tyyppeihin. Pehmeän valkohomejuuston valmistukseen tarvitaan pastöroitua maitoa, kalsiumsuolaa, hapatetta, juoksutetta, lämpötilan ja pH:n tarkkaa seurantaa. Tämä juusto kypsytetään *Penicillium*-suvun homeiden avulla, jolloin juustojen pinnoille kasvaa huntuinen valkea kerros. Juustolla on mieto tuoksu ja kermanen maku sekä pehmeä tekstuuri. Pilaantuneen valkohomejuuston voi tunnistaa voimakkaasta ammoniakkin tuoksusta.

Juuston ja muiden maitotuotteiden tuotanto on haastavaa. Maidon hankinta, kuljetus, laitteiden toiminta, tuotantoennuste, myyntimäärien nousu ja lasku sekä suunnittelun poikkeamiset aiheuttavat huomattavia kustannuksia. Suomessa on 57 juustolaa, joista alle 2 milj. litraa vuodessa jalostavia on 44 [25]. Maitotilojen määrä on vähentynyt viimeisten viiden vuoden aikana 35 %. Vuonna 2017 meijerit ottivat vastaan 2297 milj. litraa maitoa, juustoa valmistettiin 86 milj. kiloa. Juuston vienti on laskussa, vuonna 2017 vietiin 13 milj. kiloa. Kilpailu ulkomaisten juuston valmistajien kanssa kovenee, tuonti on korkealla tasolla ja kasvussa viimeiset vuodet. Mutta sekä Suomessa että maailmassa arvostetaan suomalaista laatua. Lisäksi juustoa syödään paljon. Vuonna 2017 Suomessa kulutettiin juustoa 143 milj. kiloa, noin 26 kg/ henkilö. Täten suomalaisille meijerille on markkinakapasiteetti. [26; 27.]

Pienjuustolat ovat elintarviketeollisuuden helmiä. Sellaiset juustolat jalostavat raakamaitoa lähialueen tiloilta lypsytuoreena. Maitoa käsitellään mahdollisemman vähän, vain pastöroidaan, jolloin maidon luontaiset terveelliset aineet säilyvät juustossa. Juuston valmistuksessa ei käytetä säilöntä- ja lisäaineita. Huolellisesti käsintehty juusto on maultaan suurenmoinen.

## Lähteet

- 1 Panfilova, N. 2011. Eri eläimien maito. Verkkoaineisto. Maito ja terveys. <<http://everyday.com.ua/greentea/milk-types.htm>>. Luettu 7.10.2018.
- 2 Gorbatova, K. & Gunkova, P. 2010. Maidon ja maitotuotteiden biokemia. Uudistettu painos 4. S.Petersburg: GIORD.
- 3 Heino, Jyrki & Vuento, Matti. 2014. Biokemian ja solubiologian perusteet. Uudistettu painos 3. Helsinki: Sanoma Pro Oy.
- 4 Farrell, H. M.; Jimenez-Flores, Jr., R.; Bleck, G. T.; Brown, E. M.; Butler, J. E.; Creamer, L. K.; Hicks, C. L.; Hollar, C. M.; Ng-Kwai-Hang, K. F. and Swaisgood, H. E. 2004. Nomenclature of the Proteins of Cows Milk- Sixth Revision. Journal of American Dairy Science Association. 87, s. 1641-1674.
- 5 Casein+cow. Verkkoaineisto. NCBI. Gene. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=casein+cow>>. Updated 27.08.2018. Luettu 4.10.2018.
- 6 Casein beta. Verkkoaineisto. UniProtKB-P02666(CASB\_BOVIN). <<https://www.uniprot.org/uniprot/P02666>>. Luettu 4.10.2018.
- 7 Kappa-casein. Verkkoaineisto. UniProtKB-P02668(CASK\_BOVIN). <<https://www.uniprot.org/uniprot/P02668>>. Luettu 4.10.2018.
- 8 Alpha-S1-casein. Verkkoaineisto. UniProtKB-P02662 (CASA1\_BOVIN). <<https://www.uniprot.org/uniprot/P02662>>. Luettu 4.10.2018.
- 9 Alpha-S2-casein. Verkkoaineisto. UniProtKB-P02663(CASA2\_BOVIN). <<https://www.uniprot.org/uniprot/P02663>>. Luettu 4.10.2018.
- 10 ExPASy. Verkkoaineisto. SIB Bioinformatics Resource Portal Scientific databases and software tools. <<https://web.expasy.org/cgi-bin/protparam/protparam>>. Luettu 4.10.2018
- 11 Lukjanov, A.B. 2008. Fysiikallinen ja kolloidien kemia. Uudistettu painos 2. Minsk: Kemia.
- 12 Casein Micelle Stability. Verkkoaineisto. Food Science. University of Guelph. <<https://www.uoguelph.ca/foodscience/book-page/casein-micelle-stability>>. Luettu 10.10.2018.

- 13 Bylund, Göstå. 1995. Dairy processing handbook. Lund, Sweden: Tetra Pak Systems AB.
- 14 Aho, Johanna & Hilden, Tiina. 2007. Maidon matkassa. Helsinki: Edita Prima Oy.
- 15 McMurry; Castellion; Ballantine; Hoeger & Peterson. 2010. Chemistry. Pearson International Edition. USA: Prentice Hall.
- 16 The Case of Lactase Persistence Evolution in Humans. Verkkoaineisto. Michigan State University. <<http://www.evo-ed.org/Pages/Lactase/cellbio.html>>. Luettu 10.10.2018.
- 17 Pr. Goff, H. Douglas. The Dairy Science and Technology. eBook. Food Science. University of Guelph.
- 18 Dr. Hill, Artur R. Cheese Making Technology. eBook. Food Science. University of Guelph.
- 19 Horne, S. David & Lusey, A. John. 2017. Rennet- Induced Coagulation of Milk. Verkkoaineisto. ScienceDirect. Journals & Books. <<https://www.sciencedirect.com/topics/food-science/kappa-casein>>. Luettu 21.10.2018.
- 20 Alavuotunki, Antti. 2017. Practical part in Pilot Dairy. Luentomoniste. Helsingin meijeriliike Oy.
- 21 Eläinperäisiä elintarvikkeita koskevista erityisistä hygieniasäännöistä EY:n asetus. 2004. 853/2004. 29.04.2004.
- 22 Asetus elintarvikkeiden alkutuotannon elintarvikehygieniasta. 2012. 1368/2011. 01.01.2012.
- 23 Elintarvikkeiden mikrobiologisista vaatimuksista EY:n asetus. 2005. 2073/2005. 15.11.2005.
- 24 Elintarvikelaki. 2006. 13.1.2006/23. 01.03.2006.
- 25 Suomen pienjuustolat 2017. Verkkoaineisto. Suomen pienjuustolan yhdistys RY. <<http://www.pienjuustolat.net/index.php?pageid=8&lang=fi>>. Luettu 29.10.2018.
- 26 Tietohaarukka kokoaa luvut pelloilta pöytään. 2018. Verkkoaineisto. Ruokatieto Yhdistys ry. <<https://www.ruokatieto.fi/ruokafakta/tietohaarukka-kokoaa-luvut-pelloilta-poytaan>>. Luettu 29.10.2018.

- 27 Tuonti & Vienti tuoteryhmittäin. Verkkoaineisto. Tulli, ETL. <<http://tilastot.etl.fi>>. Ympäristöön on päivitetty vienti- ja tuontitiedot ajalta 1/2010-7/2018. Luettu 29.10.2018.

## Beetakaseiini. Proteiinisekvenssi ja parametrit

10 20 30 40 50 60  
MKVLILACLIV ALALARELEE LNVPGEIVES LSSSEESITR INKKIEKFQS EEQQQTEDEL  
70 80 90 100 110 120  
QDKIHFFAQT QSLVYPPFGP IPNSLPQNIP PLTQTPVVVP PFLQPEVMGV SKVKEAMAPK  
130 140 150 160 170 180  
HKEMPFKYP VEPFTESQSL TLTDVENLHL PLPLQSWMH QPHQPLPPTV MFPPQSVLSL  
190 200 210 220  
SQSKVLPVPQ KAVPYPQORDM PIQAFLLYQE PVLGPVRGPF PIIIV

Number of amino acids: 224  
Molecular weight: 25107.33  
Theoretical pI: 5.26

### Amino acid composition:

Ala (A)	9	4.0%
Arg (R)	4	1.8%
Asn (N)	5	2.2%
Asp (D)	4	1.8%
Cys (C)	1	0.4%
Gln (Q)	20	8.9%
Glu (E)	19	8.5%
Gly (G)	5	2.2%
His (H)	5	2.2%
Ile (I)	11	4.9%
Leu (L)	27	12.1%
Lys (K)	12	5.4%
Met (M)	7	3.1%
Phe (F)	9	4.0%
Pro (P)	35	15.6%
Ser (S)	16	7.1%
Thr (T)	9	4.0%
Trp (W)	1	0.4%
Tyr (Y)	4	1.8%
Val (V)	21	9.4%
Pyl (O)	0	0.0%
Sec (U)	0	0.0%

Formula:  $C_{1152}H_{1822}N_{284}O_{325}S_8$   
Total number of atoms: 3591

Extinction coefficients are in units of  $M^{-1} cm^{-1}$ , at 280 nm measured in water.  
Ext. coefficient 11460  
Abs 0.1% (=1 g/l) 0.456, assuming all pairs of Cys residues form cystines

The instability index (II) is computed to be 94.12  
This classifies the protein as unstable.

Aliphatic index: 97.37  
Grand average of hydropathicity (GRAVY): -0.154

**Kappakaseiini. Proteiinisekvenssi ja parametrit**

```

      10      20      30      40      50      60
MMKSF1FLVVT ILALTLPFLG AQEQNQEQPI RCEKDERFFS DKIAKYIPIQ YVLSRYPSYG

      70      80      90      100     110     120
LNYYQQKPVA LINNQFLPYP YYAKPAAVRS PAQILQWQVL SNTVPAKSCQ AQPTTMARHP

      130     140     150     160     170     180
HPHLSFMAIP PKNQDKTEI PTINTIASGE PTSTPTTEAV ESTVATLEDS PEVIESPPEI

      190
NTVQVTSTAV

```

Number of amino acids: 190

Molecular weight: 21269.35

Theoretical pI: 6.29

**Amino acid composition:**

Ala (A)	16	8.4%
Arg (R)	5	2.6%
Asn (N)	8	4.2%
Asp (D)	4	2.1%
Cys (C)	2	1.1%
Gln (Q)	15	7.9%
Glu (E)	12	6.3%
Gly (G)	3	1.6%
His (H)	3	1.6%
Ile (I)	13	6.8%
Leu (L)	13	6.8%
Lys (K)	10	5.3%
Met (M)	4	2.1%
Phe (F)	7	3.7%
Pro (P)	21	11.1%
Ser (S)	14	7.4%
Thr (T)	17	8.9%
Trp (W)	1	0.5%
Tyr (Y)	9	4.7%
Val (V)	13	6.8%
Pyl (O)	0	0.0%
Sec (U)	0	0.0%

Formula: C<sub>962</sub>H<sub>1503</sub>N<sub>245</sub>O<sub>286</sub>S<sub>6</sub>

Total number of atoms: 3002

**Extinction coefficients:**

Extinction coefficients are in units of M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>, at 280 nm measured in water.

Ext. coefficient 19035

Abs 0.1% (=1 g/l) 0.895, assuming all pairs of Cys residues form cystines

The instability index (II) is computed to be 54.21

This classifies the protein as unstable.

Aliphatic index: 81.63

Grand average of hydropathicity (GRAVY): -0.287

**Alfakaseiini s1. Proteiinisekvenssi ja parametrit**

```

      10      20      30      40      50      60
MKLLIILTCLV AVALARPKHP IKHQGLPQEV LNENLLRFFV APFPEVFGKE KVNELSKDIG
      70      80      90     100     110     120
SESTEDQAME DIKQMEAESI SSSEEIVPNS VEQKHIQKED VPSERYLGYL EQLLRLKKYK
      130     140     150     160     170     180
VPQLEIVPNS AEERLHSMKE GIHAQQKEPM IGVNQELAYF YPELFRQFYQ LDAYPSGAWY
      190     200     210
YVPLGTQYTD APSFSDIPNP IGSENSEKTT MPLW

```

Number of amino acids: 214

Molecular weight: 24528.94

Theoretical pI: 4.98

Amino acid composition:

Ala (A)	12	5.6%
Arg (R)	6	2.8%
Asn (N)	8	3.7%
Asp (D)	7	3.3%
Cys (C)	1	0.5%
Gln (Q)	14	6.5%
Glu (E)	25	11.7%
Gly (G)	9	4.2%
His (H)	5	2.3%
Ile (I)	12	5.6%
Leu (L)	22	10.3%
Lys (K)	15	7.0%
Met (M)	6	2.8%
Phe (F)	8	3.7%
Pro (P)	17	7.9%
Ser (S)	16	7.5%
Thr (T)	6	2.8%
Trp (W)	2	0.9%
Tyr (Y)	10	4.7%
Val (V)	13	6.1%
Pyl (O)	0	0.0%
Sec (U)	0	0.0%

Formula: C<sub>1108</sub>H<sub>1719</sub>N<sub>281</sub>O<sub>333</sub>S<sub>7</sub>

Total number of atoms: 3448

Extinction coefficients are in units of M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>, at 280 nm measured in water.

Ext. coefficient 25900

Abs 0.1% (=1 g/l) 1.056, assuming all pairs of Cys residues form cystines

The instability index (II) is computed to be 56.03

This classifies the protein as unstable.

Aliphatic index: 85.19

Grand average of hydropathicity (GRAVY): -0.481

**Alfakaseiini s2. Proteiinisekvenssi ja parametrit**

```

      10      20      30      40      50      60
MKFFIFTCLL AVALAKNTME HVSSSEESII SQETYKQEKI MAINPSKENL CSTFCKEVVR

      70      80      90     100     110     120
NANEEEYSIG SSSEESAEVA TEEVKITVDD KHYQKALNEI NQFYQKFPQY LOYLYQGPIV

      130     140     150     160     170     180
LNPWDQVKRN AVPITPTLNR EQLSTSEENS KKTVDMESTE VFTKKTKLTE EEKNRLNFLK

      190     200     210     220
KISQRYQKFA LPQYLKTVYQ HQKAMKPWIQ PKTKVIPYVR YL

```

Number of amino acids: 222

Molecular weight: 26018.69

Theoretical pI: 8.55

Amino acid composition:

Ala (A)	11	5.0%
Arg (R)	6	2.7%
Asn (N)	14	6.3%
Asp (D)	4	1.8%
Cys (C)	3	1.4%
Gln (Q)	16	7.2%
Glu (E)	24	10.8%
Gly (G)	2	0.9%
His (H)	3	1.4%
Ile (I)	12	5.4%
Leu (L)	16	7.2%
Lys (K)	25	11.3%
Met (M)	5	2.3%
Phe (F)	9	4.1%
Pro (P)	10	4.5%
Ser (S)	17	7.7%
Thr (T)	16	7.2%
Trp (W)	2	0.9%
Tyr (Y)	12	5.4%
Val (V)	15	6.8%
Pyl (O)	0	0.0%
Sec (U)	0	0.0%

Formula: C<sub>1166</sub>H<sub>1835</sub>N<sub>303</sub>O<sub>354</sub>S<sub>8</sub>

Total number of atoms: 3666

Extinction coefficients:

Extinction coefficients are in units of M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>, at 280 nm measured in water.

Ext. coefficient 29005

Abs 0.1% (=1 g/l) 1.115, assuming all pairs of Cys residues form cystines

The instability index (II) is computed to be 44.68

This classifies the protein as unstable.

Aliphatic index: 73.74

Grand average of hydropathicity (GRAVY): -0.704