Kakvoća i mikrobiološka ispravnost kuhanog sira

Salopek, Leo

Master's thesis / Diplomski rad

2016

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Veterinary Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:178:122997

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Veterinary Medicine - Repository of PHD, master's thesis

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
VETERINARSKI FAKULTET

LEO SALOPEK

KAKVOĆA I MIKROBIOLOŠKA ISPRAVNOST KUHANOG SIRA

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2016.

Sveučilište u Zagrebu
Veterinarski fakultet
Zavod za higijenu, tehnologiju i sigurnost hrane

Predstojnica:
izv. prof. dr. sc. Vesna Dobranić

Mentori:
izv. prof. dr. sc. Željka Cvrtila
prof.dr.sc. Lidija Kozačinski

Članovi povjerenstva za obranu diplomskog rada:

1. prof. dr. sc. Bela Njari
2. prof.dr.sc. Lidija Kozačinski
3. izv. prof. dr. sc. Željka Cvrtila
4. doc.dr.sc. Nevijo Zdolec (zamjena)

ZAHVALA

Zahvaljujem se mentoricama izv. prof. dr. sc. Željki Cvrtili i prof. dr. sc. Lidiji Kozačinski na podršci i lijepoj suradnji tijekom izrade ovog rada, te svim djelatnicima Zavoda za higijenu, tehnologiju i sigurnost hrane Veterinarskog fakulteta, Sveučilišta u Zagrebu.

Najveću zahvalu odajem roditeljima i sestri koji su mi pružili neizmjernu ljubav i podršku tokom cijelog života i studija, te mi omogućili fakultetsko obrazovanje.

Posebnu zahvalu iskazujem svojoj curi Ivi Brezarić na strpljenju i podršci, te Antoneti Segarić na prekrasnom prijateljstvu i iznimnoj pomoći tokom studiranja.

Zahvaljujem se svim prijateljima i kolegama koji su na bilo koji način učestvovali u mojoj izgradnji i koji su me bodrili na mom dosadašnjem putu. Bez njih studiranje bi bilo pusto, a završetak studija teško moguć.

POPIS PRILOGA

Slika 1: Uzorci kuhanih sireva i mlijeka s „gospodarstva B“

Slika 2: Uzorci kuhanih sireva s „gospodarstva A“ sedmi dan izvađeni iz hladnjaka

Slika 3: Deklaracija proizvoda s „gospodarstva A“

Slika 4: Deklaracija proizvoda s „gospodarstva B“

Tablica 1: Prosječni kemijski sastav kravljeg mlijeka

Tablica 2: Vrsta sira prema udjelu vode u bezmasnoj tvari

Tablica 3: Vrsta sira prema udjelu mliječne masti u suhoj tvari

Tablica 4: Mikrobiološki kriteriji za sirovo mlijeko

Tablica 5: Mikrobiološki kriteriji za kuhani sir

Tablica 6: Analizirani mikroorganizmi s pobrojanim izolacijskim i dijagnostičkim testovima

Tablica 7: Promjer, visina i masa uzoraka kuhanih sireva

Tablica 8: Senzorička ocjena kuhanih sireva

Tablica 9: Kemijski sastav mlijeka

Tablica 10: Kemijski sastav kuhanih sireva

Tablica 11: Rezultati mikrobiološke pretrage sirovog mlijeka i kuhanih sireva

Shema 1: Opća načela tehnologije proizvodnje kuhanih sireva

Shema 2: Optimalni uvjeti proizvodnje kuhanog sira

Shema 3: Postupak izolacije bakterije *Listeria monocytogenes*

Shema 4: Postupak izolacije bakterije *Salmonella* spp.

Shema 5: Postupak izolacije koagulaza pozitivnih stafilokoka / *Staphylococcus aureus*

Shema 6: Postupak izolacije bakterije *Escherichia coli*

Shema 7: Postupak izolacije kvasaca i plijesni

Sadržaj

1. Uvod 1
2. Literaturni podatci 2
   2.1. Tipovi sira i klasifikacija kuhanog sira 4
   2.2. Kakvoća, kemijski sastav i mikrobiološka ispravnost kuhanog sira 10
3. Materijali i metode 13
   3.1. Senzorička pretraga kuhanih sireva 16
   3.2. Kemijska pretraga sirovog mlijeka i kuhanih sireva 16
   3.3. Mikrobiološka pretraga mlijeka i kuhanih sireva 20
4. Rezultati 29
   4.1. Senzorička pretraga 29
   4.2. Kemijski sastav mlijeka 30
   4.3. Kemijski sastav sira 30
   4.4. Mikrobiološka kakvoća svježeg mlijeka i kuhanih sireva 31
5. Rasprava 32
6. Zaključak 37
7. Literatura 38
8. Sažetak 40
9. Summary 41
10. Životopis 42

1. Uvod

Sir je jedan od najcjenjenijih proizvoda koji se koriste u prehrani ljudi. Njegova proizvodnja predstavlja značajnu i rastuću granu u prehrambenoj industriji. U Hrvatskoj od davnina postoji tradicija proizvodnje sira, posebno svježeg sira od kravljeg mlijeka dobivenog jednostavnom tehnologijom kiseljenja mlijeka. Proizvodnja sira je jedan od načina čuvanja hrane tijekom dužeg vremenskog razdoblja. Osnova tehnološkog procesa je stvaranje gruša pomoću mliječne kiseline ili dodatkom sirila. Kvaliteta sira ovisi o kvaliteti mlijeka te uvjetima pripravljanja.

Kuhani sir proizvodi se termičkom obradom svježeg kravljeg mlijeka koji je tradicionalno uvelike zastupljen u prehrani ljudi posebice u kontinentalnom području a proizvodi se prema različitim recepturama, može imati oblik koluta ili stošca različitih dimenzija, te može biti dodatno obrađivan dimom. Kuhani sir se proizvodi uglavnom od kravljeg mlijeka. Osim u domaćinstvima i na tržnicama, takav se sir prodaje i u pokretnim trgovinama, uz regionalne ceste prema moru. Kuhani sir proizveden u domaćinstvima sve je češće obogaćen različitim dodatcima kao što su začinsko bilje, papar ili crvena paprika, ponekad čak i orasi ili bademi ili jednostavno dimljen radi bogatijeg okusa. Kuhani sir se na obiteljskim gospodarstvima proizvodi prema ustaljenom tradicionalnom postupku. O njegovoj kakvoći i mikrobiološkoj ispravnosti nema mnogo dostupnih podataka. Kako na tržištu postoji sve veća potražnja za takvim tipom proizvoda i industrija mliječnih proizvoda započela je sa sličnom proizvodnjom.

Vezano uz sve navedeno, cilj je ovoga rada utvrditi kakvoću i mikrobiološku ispravnost sirovog mlijeka i kuhanog sira proizvedenog na dva gospodarstva.

2. Literaturni podatci

Mlijeko je biološka tekućina, vrlo složena sastava, žućkasto bijele boje, karakteristična okusa i mirisa, koju izlučuje mliječna žlijezda ženki sisavaca ili žene, određeno vrijeme nakon poroda (TRATNIK, 1998.). Dobiva se redovitom i neprekidnom mužnjom jedne ili više zdravih muznih životinja, ispravno hranjenih, ispravno držanih, kojem nije ništa dodano ni oduzeto. Mlijeko sadrži bjelančevine (aminokiseline), minerale i vitamine u količinama potrebnim za rast i razvoj organizma. Ima značajnu ulogu kao namirnica u ljudskoj prehrani (ROŠTAN, 2014).

Sastav mlijeka može biti vrlo promjenjiv a ovisi o pasmini i zdravstvenom stanju životinje, stadiju laktacije, dužini i broju laktacija, vrsti mužnje (strojna ili ručna), dobi, broju mužnje, trajanju mužnje, načinu i vrsti hranidbe, sezoni, starosti muzare, tjelesnoj masi, kretanju, mikroorganizmima u mlijeku. Svi sastavni dijelovi mlijeka u njemu su otopljeni ili dispergirani (bjelančevine, ugljikohidrati, minerali, vitamini), odnosno emulgirani (mast), tj. nalaze se u obliku koji omogućava njihovu laku probavljivost u organizmu (HAVRANEK i RUPIĆ, 2003.).

Tablica 1: Prosječni kemijski sastav kravljeg mlijeka (TRATNIK, 1998.)

Parametar	**Količina, %**
Voda	86,0 – 89,0
Suha tvar	11,0 – 14,0
• Mast	• 3,2 – 5,5
• Bjelančevine	• 2,6 – 4,2
• Laktoza	• 4,6 – 4,9
• Minerali	• 0,6 – 0,8

Prema Pravilniku (ANON., 2007.) sirovo mlijeko mora udovoljavati sljedećim zahtjevima kakvoće:

- da sadrži najmanje 3,2 % mliječne masti;
- da sadrži najmanje 3,0 % bjelančevina;
- da sadrži najmanje 8,5 % suhe tvari bez masti;
- da mu je gustoća od 1,028 do 1,034 g/cm na temperaturi od 20^{o} C;
- da mu je kiselinski stupanj od 6,6 do 6,80 SH, a pH vrijednost od 6,5 do 6,7;
- da mu točka ledišta nije viša od -0,517^{o} C;
- da mu je rezultat alkoholne probe sa 72 % etilnim alkoholom negativan.

Potrebno je napomenuti da priprema mlijeka za proizvodnju sira treba početi još kod proizvođača mlijeka, koji pravilnom hranidbom životinja, higijenom staja, mužnje, pročišćavanjem i hlađenjem mlijeka utječu na sastojke mlijeka čineći ga pogodnim za preradu u sir. Hranidba životinja vrlo je važna za dobivanje kvalitetnog mlijeka. Zdravo mlijeko koje potječe od pravilno hranjenih životinja je ugodnog mirisa (PAVIČIĆ i HADŽIOSMANOVIĆ, 1996.; HAVRANEK i RUPIĆ, 2003.). Vrlo je važna i kontinuirana edukacija proizvođača mlijeka i mliječnih proizvoda o držanju muznih krava i samom postupku prerade mlijeka u kvalitetne mliječne proizvode (LUKAČ i SAMARDŽIJA, 1990.).

Veliki značaj kod svježeg sirovog mlijeka ima primarna i sekundarna mikroflora koja u mliječnu žlijezdu dospijeva kroz sisne otvore. Od primarne mikroflore prevladavaju vrste *Micrococcus* (*M. freudenreichhii, M. flavus, M. citreus, M. albus, M. aureus, M. casei, M. varians, M. luteus, M. epidermis*), nalazimo i bakterije *Streptococcus* spp. kao i *Corynebacterium* spp. Navedeni mikroorganizmi prisutni u normalnom broju ne utječu na kakvoću i prinos mlijeka. Kako samo tkivo mliječne žlijezde i mlijeko imaju svojstva baktericidnog djelovanja, njihov broj se uz pravilno skladištenje nakon mužnje značajnije ne povećava. Mlijeko s redovitom/primarnom mikroflorom naziva se i „aseptičnim“ mlijekom (TRATNIK, 1998.). Sekundarna mikroflora predstavlja onečišćenje mlijeka tijekom ili nakon mužnje a potječe iz okoline s kojom mlijeko dolazi u doticaj. Glavni izvori onečišćenja su hrana i stelja kao izvor termostabilnih vrsta bakterija (*Bacillus* i *Clostridium*), feces stoke i nečiste ruke muzača kao izvor enteropatogenih bakterija roda *Salmonella* i *Campylobacter*, voda kao izvor bakterija roda *Aeromonas*, *Campylobacter* i *Salmonella*, te stočna hrana koja je često inficirana bakterijom *L. monocytogenes*. Hlađenje mlijeka na odgovarajućoj

temperaturi, redovita i učinkovita higijena i dezinfekcija opreme koja dolazi u kontakt s mlijekom najvažnije su mjere za sprječavanje naknadnog onečišćenja mlijeka. Sekundarna mikroflora, ukoliko je prisutna, za razliku od primarne uzrokuje metaboličke procese i promjene kemijskog sastava mlijeka. Mlijeko sa prisutnom sekundarnom mikroflorom ima loše tehnološke osobine, lošu kakvoću dobivenih proizvoda te samo mlijeko i proizvodi dobiveni od takvog mlijeka predstavljaju potencijalni izvor alimentarnih infekcija kod ljudi (ROŽIĆ, 2014.).

2.1. Tipovi sira i klasifikacija kuhanog sira

Sir se proizvodi na različite načine, ovisno o pojedinim zemljama, geografskom području, klimatskim uvjetima koji su preduvjet za pojedine vrste goveda na određenom području i za same tehnologije proizvodnji.

Sirevi su svježi proizvodi ili proizvodi s različitim stupnjem zrelosti koji se proizvode odvajanjem sirutke nakon koagulacije mlijeka (kravljeg, ovčjeg, kozjeg, bivoljeg mlijeka i/ili njihovih mješavina), obranog ili djelomično obranog mlijeka, vrhnja, sirutke, ili kombinacijom navedenih sirovina. U proizvodnji sireva dozvoljeno je upotreba starter kultura, sirila i/ili drugih odgovarajućih koagulacijskih enzima i/ili dozvoljenih kiselina za koagulaciju, natrij-klorid, pitka voda i odgovarajući neškodljivi enzimi koji doprinose razvitku okusa (ANON., 2007.).

U svijetu postoji preko 2000 naziva sireva, a danas ih je mnogo više. Sirevi imena najčešće dobivaju prema mjestu porijekla, a razlikuju se veličinom, oblikom, dodatcima, iako im je tehnologija proizvodnje slična kao i sama svojstva. Tako se u literaturi može naći izuzetno oscilirajući broj vrsta sireva, iako TRATNIK (1998.) navodi autore koji govore da zapravo postoji samo 18 sasvim različitih vrsta sireva koji se razlikuju u samoj tehnologiji proizvodnje, specifičnosti senzoričkih svojstava i svim ostalim značajnim karakteristikama. Zbog navedenih razloga dolazi do problematike kod davanja naziva sirevima istog tipa u različitim zemljama, ili čak dijelovima jedne zemlje. Samo neki izvorni sirevi imaju zaštićeno ime kao što je Parmigiano Reggiano (kravlji sir iz pokrajine oko Parme). U Hrvatskoj nazivi pojedinih sireva nisu jasno definirani.

Pravilna klasifikacija sireva je vrlo otežana, te je zaključeno da ih je najbolje klasificirati prema nekim zajedničkim karakteristikama. Kuhani sirevi u našem istraživanju pripadaju sljedećim grupama unutar klasifikacije (TRATNIK, 1998.):

- Prema vrsti proteina
  - kazeinski sirevi (proizvedeni od mlijeka)
- Prema vrsti mlijeka
  - kravlji
- Prema načinu grušanja mlijeka
  - kiseli (djelovanjem kiseline – mliječno-kiselo vrenje)
- Prema količini masti u suhoj tvari sira
  - punomasni sirevi (45-60 %)
- Prema konzistenciji sira – količini vode u masi sira bez masti
  - polumeki sirevi (61-69%)
- Prema količini vode u siru
  - velika količina vode (45-55%) – polutvrdi sir
- Prema zrenju sira
  - sirevi bez zrenja (svježi)
- Sirevi prema sličnom procesu proizvodnje
  - tipa svježi meki sir
- Autohtoni hrvatski sirevi
  - kuhani sir (Sjeverna Hrvatska, Slavonija)

Prema Pravilniku o sirevima i proizvodima od sireva (2009.) sirevi se klasificiraju na način opisan u tablicama 2. i 3.

Tablica 2: Vrsta sira prema udjelu vode u bezmasnoj tvari

Naziv sira obzirom na udio vode u bezmasnoj tvari sira	**Udio vode u bezmasnoj tvari sira (%)**
Ekstra tvrdi sir	<51
Tvrdi sir	49 – 56
Polutvrdi sir	54 – 69
Meki sir	>67
Svježi sir	69 – 85

Tablica 3: Vrsta sira prema udjelu mliječne masti u suhoj tvari

Vrsta sira obzirom na udio mliječne masti u suhoj tvari	**Udio mliječne masti u suhoj tvari (%)**
Ekstramasni	≥60
Punomasni	≥45 i <60
Masni	≥25 i <45
Polumasni	≥10 i <25
Posni	<10

Na području Bjelovarsko-bilogorske županije najčešći tip sira koji se proizvodi je svježi kravlji sir. Na tipu svježeg kravljeg sira izvedeno je nekoliko autohtonih vrsta kao što su podravske prgice, kuhani sir, sir čebričnjak i nabiti sir (KIRIN, 1980.).

DOZET i sur. (1978) smatraju da niži postotak masti u mlijeku nema utjecaja na tehnološki proces proizvodnje sira. Razlika se javlja jedino kod randmana sireva i značajna je u senzoričkoj ocjeni sira.

Tehnološki proces proizvodnje kuhanog sira

Istraživanjima se spoznala složena struktura globularnih proteina mlijeka, te se time razvijaju i nove teorije o mehanizmu zbivanja tijekom koagulacije proteina i oblikovanja gruša. Bez obzira na vrstu proteina (kazein ili proteini sirutke) ili način koagulacije (djelovanjem kiseline, enzima ili topline) osnovni je mehanizam sličan (TRATNIK, 1998.):

1) destabilizacija globula proteina (denaturacija), poremećaj prirodne strukture, koja je rezultat fizikalno-kemijskih promjena→ razgradnje proteina, zbog kojih se smanjuju sile odbijanja između promijenjenih globula;
2) zbližavanje razdvojenih globula (asocijacija) proteina;
3) povezivanje promijenjenih globula (agregacija), koja je uvjetovana daljnjom izmjenom strukture zbog međumolekularnih interakcija i dolazi do organiziranja nove stabilne strukture proteina;
4) oblikovanje trodimenzionalne mreže proteina, povezanih u gel, koja obuhvaća preostalu tekuću fazu i čini polučvrsti sustav→ koagulum ili gruš (mlijeka ili sirutke)

Mehanizam faza se razlikuje ovisno o vrsti proteina i načinu grušanja. Ovisi i o sastavu i svojstvima sirovine, prethodnoj obradi sirovine, vrsti dodataka, temperaturi, a osobito o količini i stanju proteina.

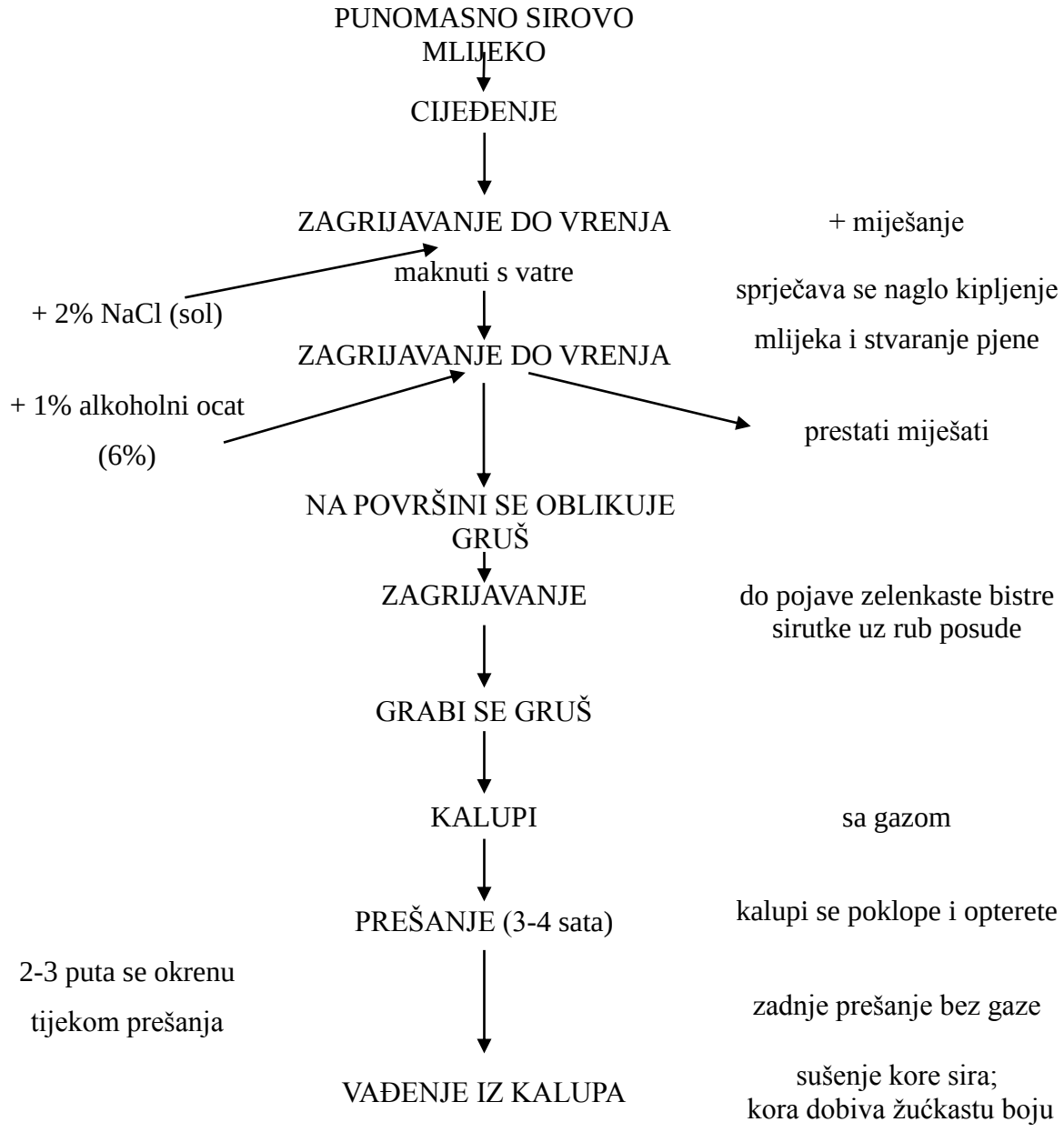
Grušanje mlijeka djelovanjem kiseline

Destabilizacija proteina i grušanje mlijeka djelovanjem kiselina može se provesti na više načina ili kombinacijom (TRATNIK, 1998.):

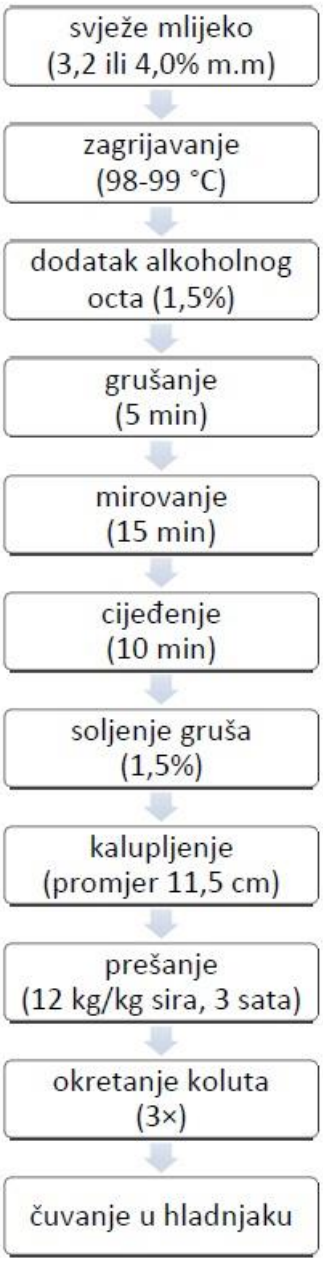
A) Izravno zakiseljavanje mlijeka
- dodatkom neke od kiselina (mliječna, octena, limunska) do određenog stupnja kiselosti mlijeka;
- s pomoć glukono-delta-laktona (GDL) koji je prirodni lakton glukonske kiseline, te se u mlijeko dodaje kao prah

B) Mliječno kiselim vrenjem
- postupno zakiseljavanje mlijeka do (4,6) pH izoelektrične točke kazeina djelovanjem mezofilne kulture bakterija mliječne kiseline. Koristi se u proizvodnji svježeg mekog sira, dok se u industrijskoj vrenje provodi u kombinaciji s enzimskim pripravcima – sirila

Izravno zakiseljavanje mlijeka koristi se rijetko kao samostalni postupak (na primjer za kuhani sir, graničar). Poglavito se koristi da bi se postigao određeni stupanj kiselosti za optimalnije sirenje mlijeka (destabilizacija kazeina). Najčešća je primjena izravnog zakiseljavanja u kombinaciji s mezofilnim kulturama ili sa enzimskim pripravcima za proizvodnju slatkog gruša, te se najčešće koristi u proizvodnji mekih i polumekih sireva.



Shema 1: Opća načela tehnologije proizvodnje kuhanih sireva



Shema 2: Optimalni uvjeti proizvodnje kuhanog sira (MARETIĆ, 2015.)

2.2. Kakvoća, kemijski sastav i mikrobiološka ispravnost kuhanog sira

Senzorička pretraga je znanstvena disciplina kojom se određuje kvaliteta namirnica uz pomoć različitih osjetila (vid, njuh, okus, dodir i sluh). Analiza obuhvaća tri osnovne karakteristike: izgled (boja, veličina, oblik), okus i miris te teksturu koja obuhvaća viskozitet i hrskavost (BOŽANIĆ i sur., 2010.).

Senzoričku analizu kuhanih sireva prikazala je MARETIĆ (2015.) koja je u tu svrhu u laboratorijskim uvjetima proizvela kuhane sireve s različitom količinom mliječne masti u mlijeku i različitom količinom kuhinjske soli. U senzoričkoj pretrazi koristila je ponderirani sustav bodovanja a ocjenjivanje su provela 3 ocjenjivača. Zaključila je da sirevi proizvedeni od mlijeka s nižim postotkom mliječne masti i dodanom većom količinom soli imaju manje poželjna senzorička svojstva. Bitno je napomenuti da je došla do zaključka kako sirevi proizvedeni od mlijeka s mliječnom masti >3,2 % do 4,0 % nemaju neke značajnije razlike u senzoričkoj ocjeni.

Kuhane sireve iz dva domaćinstva u okolici Duge Rese i njihov proces proizvodnje opisala je ĐURĐEVIĆ (2015.). Kuhani sirevi su bili ujednačenih senzoričkih svojstava, ocijenjeni visokim ocjenama u ponderiranom sustavu bodovanja senzoričkih svojstava. Svako domaćinstvo je proizvodilo sir prema recepturi koja je godinama obilježje njihove obitelji.

U istraživanju kemijskog sastava svježeg mekog sira s područja Bjelovara pretraženo je 14 uzoraka i utvrđena je prosječna količina vode u bezmasnoj suhoj tvari sira od 81,48% te masti u suhoj tvari od 25,29% (KIRIN, 2009.). Autor smatra da se nameće potreba radi neujednačenosti proizvoda donijeti propise o rasponu kretanja vrijednosti kemijskog sastava proizvoda. Kemijska analiza pokazuju izraženu varijabilnost udjela masti, odnosno masti u suhoj tvari i stupnja kiselosti. Broj kvasaca i plijesni kod navedenog tipa sira pokazuje značajnu povezanost s pH-vrijednošću sira. Kemijskom analizom, prema udjelu masti u suhoj tvari, potvrđeno je da bjelovarski svježi meki domaći sir pripada skupini polumasnih svježih sireva.

ROŠTAN (2014.) navodi rezultate kemijske pretrage domaćeg kuhanog sira. S obzirom na udio vode u suhoj tvari predmetne sireve je razvrstao u skupinu polutvrdih, osim jednog

uzorka koji je pripadao skupini mekih sireva. Po udjelu masti u suhoj tvari pregledane sireve klasificirao je u skupinu masnih sireva. Također sirevi su sadržavali različite količine kuhinjske soli.

MARETIĆ (2015.) je utvrđivala optimalne parametre u proizvodnji tradicionalnog kuhanog sira, te je za potrebe istraživanja proizvedeno 6 uzoraka kuhanog sira od kravljeg mlijeka s različitim udjelom masti (od 3,2 % do 4,0 % mm), octa, te različitim količinama soli. Rezultati analize kemijskog sastava te kiselosti i aktiviteta vode u proizvedenim uzorcima sireva pokazali su da je uzorak sira koji je proizveden iz mlijeka s 4,0 % m.m. imao i najveći sadržaj masti, dok je uzorak kuhanog sira proizveden iz mlijeka s 2,5 % m.m. imao najmanji udio masti. Također, taj je uzorak imao i najmanju količinu suhe tvari što je bilo i za očekivati s obzirom da je proizveden iz mlijeka s najnižim udjelom mliječne masti. pH uzoraka sira kretao se od 5,44 do 5,67, a aktivitet vode (a_w) bio je od 0,95 do 0.97. Autorica je prema udjelu vode, odnosno suhe tvari, uzorke sira svrstala skupini polutvrdih sireva. Na osnovi udjela masti u suhoj tvari sira, dobiveni uzorci sira pripadaju skupini masnih i punomasnih sireva.

Mikroorganizmi su izuzetno značajni u pogledu mikrobiološke ispravnosti mlijeka i mliječnih proizvoda. Nekontrolirana pojava mikroorganizama može izazvati raznovrsne poteškoće u mljekarstvu. Iz togu razloga određeni su mikrobiološki standardi za pojedine skupine mliječnih proizvoda. Osim standardom propisanih mikroorganizama mlijeko i mliječni proizvodi ne smiju sadržavati sljedeće patogene mikroorganizme *Salmonella* spp., *Escherichia coli, Clostridium perfrigens, Campylobacter jejuni/coli, Lysteria monocytogenes, Yersinia enterocolitica, Staphylococcus aureus, Bacillus cereus, Clostridium botulinum* i ostali potencijalno patogeni mikroorganizmi uključujući njihove toksine i metabolite u količini štetnoj za zdravlje ljudi (BOŽANIĆ i sur., 2010.).

Mikrobiološkom analizom kuhanih sireva KIRIN (2009.) je najčešće utvrdio nedopuštene bakterije *Escherichia coli* i *Staphylococcus aureus*. Također u svim uzorcima utvrđen je nedopušten visoki broj kvasaca i plijesni.

Na temelju rezultata mikrobiološke pretrage kuhanih sireva ĐURĐEVIĆ (2015.) je zaključila da sirevi ne zadovoljavaju u smislu mikrobioloških i higijenskih kriterija Uredbe o mikrobiološkim kriterijima za hranu (ANON., 2005.), kao ni preporuke Vodiča o mikrobiološkim kriterijima za hranu (ANON., 2011.). Rezultati analize ukazuju da svi uzorci

sadrže koagulaza pozitivne stafilokoke i u jednom uzorku kuhanog sira potvrđena je bakterija *L. monocytogenes,* te bakterije *L. grayi* i *L. ivanovii*. Autorica je zaključila kako bi sir, da je analiziran u okviru službenih kontrola, bio proglašen zdravstveno neispravnim u smislu navedenih kriterija Uredbe i Vodiča o mikrobiološkim kriterijima za hranu.

Istraživanja provedena u našoj zemlji na domaćim nepasteriziranim proizvodima svjedoče o pronalasku *L. monocytogenes* u 13,39 % pretraženih uzoraka. Od mliječnih proizvoda sirevi najčešće sadrže *L. monocytogenes*, gdje broj bakterija može iznositi i 10^7 stanica po gramu (KOZAČINSKI i HADŽIOSMANOVIĆ, 2001.). Zaključeno je da sposobnost razmnožavanja *L. monocytogenes* u sirevima ovisi o koncentraciji organskih kiselina soli te temperaturi pohrane. ROŽIĆ (2014.) u svom istraživanju dolazi do zaključka da rastu bakterije *L. monocytogenes* u kuhanom kravljem siru pogoduje temperatura hladnjaka (+4 °C) na kojoj gotovo podjednako raste kao i na temperaturi od +13 °C. Jedini postupci koji sprečavaju ulazak bakterije u proizvodni proces osiguravaju mikrobiološki čistoću gotovog proizvoda.

Cilj rada SABLJAK i sur. (2013.) je bio odrediti kvalitetu tradicionalnog svježeg sira te njegovu trajnost. Analize svježih sireva provedene su prvog, trećeg i šestog dana pohrane. Rezultati mikrobiološke, kemijske i senzoričke analize svježeg kravljeg sira su pokazali da su od ukupno 12 pretraženih sireva, 3 bila mikrobiološki neispravna već prvog dana. Niti u jednom uzorku nije bila prisutna *Salmonella* spp. Nakon trećeg dana čuvanja 55 % sireva je ostalo mikrobiološki ispravno, a nakon 6 dana 44 %. Vrijednost pH sireva s vremenom se nije značajno mijenjala kao ni senzorička svojstva sira. Autori su zaključili da je rok valjanosti svježeg kravljeg sira 1 dan.

3. Materijali i metode

Istraživanje je obuhvatilo analizu svježeg sirovog mlijeka i kuhanih sireva s dva različita gospodarstva. S oba gospodarstva uzorkovana su po 3 kuhana sira (n=6; 3 uzorka s „gospodarstva A“ i 3 uzorka s „gospodarstvo B“) koji su bili originalno zapakirani u vakuumskoj ambalaži. Također, sa svakog gospodarstva uzorkovana je po jedna litra svježeg sirovog mlijeka (n=2) u sterilnoj plastičnoj boci.

Uzorci su dopremljeni u prijenosnom hladnjaku u laboratorij Zavoda za higijenu, tehnologiju i sigurnost hrane Veterinarskog fakulteta, Sveučilišta u Zagrebu, („gospodarstvo A“ 8. lipnja 2016.; „gospodarstvo B“ 21. lipnja 2016.). U laboratoriju su obavljene kemijska i mikrobiološka analiza svježeg sirovog mlijeka, te senzorička, kemijska i mikrobiološka analiza uzoraka kuhanih sireva.

Kemijske i mikrobiološke analize svježeg sirovog mlijeka i kuhanih sireva obavljene su odmah prvi dan po dostavljanju uzoraka. Ostatak uzoraka sireva pohranjen je u hladnjaku na temperaturi od +3,8 ^{0}C. Na taj je način simuliran postupak u domaćinstvu kada se sir ne konzumira isti dan kada je i kupljen, pa se ostavlja u hladnjaku za sljedeći obrok. Pohranjeni sirevi ponovno su analizirani sedmog dana od dostave uzoraka u laboratorij, te je na taj način procijenjena mikrobiološka kakvoća sira te njegova održivost nakon sedam dana pohrane u hladnjaku.

Uzorci sireva bili su u čistoj, neoštećenoj ambalaži (vakuum pakiranje) i deklarirani slike 1-4.



Slika 1: Uzorci kuhanih sireva i mlijeka s „gospodarstva B“ (prvi dan uzorkovanja)



Slika 2: Uzorci kuhanih sireva s „gospodarstva A“ sedmi dan nakon uzorkovanja (pohrana u hladnjaku)

DEKLARACIJA

Kuhani kravlji sir od sirovog mlijeka

min. udio mliječne masti u suhoj tvari 50%

suha tvar 50%

Sastojci: mlijeko, alkoholni ocat, sol, začini u promjenljivom obliku (vlasac, paprika, češnjak, origano, mediterani, papar);

NETO količina: 600 g +/- 2%; HR P-394

Proizvođač: [redacted]

Upotrijebiti do 7.7.2016.

Najbolje čuvati u hladnjaku od 4-8 °C

Zemlja podrijetla: Hrvatska



Slika 3: Deklaracija proizvoda s „gospodarstva A“

DEKLARACIJA

Kuhani polutvrdi sir

Mliječna mast u suhoj tvari min. 51%

Suha tvar min. 51%

Sastojci: kravlje mlijeko, alkoholni ocat, kuhinjska sol

NETO količina: 432 grama; P 2335

Proizvođač: [redacted]

Upotrijebiti do 21.07.2016.

Uvjeti čuvanja: hladnjak od +4-8°C.

Zemlja podrijetla: Hrvatska



Slika 4: Deklaracija proizvoda s „gospodarstva B“

3.1. Senzorička pretraga kuhanih sireva

Senzoričku pretragu kuhanih sireva je proveo panel od 3 ocjenjivača, prvog dana pri dopremanju uzoraka. Parametri senzoričke pretrage ocjenjivani su prema BOŽANIĆ i sur. (2010.) i to vanjski izgled i kora (površina) sira maksimalnim brojem bodova 2, boja maksimalno s 1, konzistencija sirnog tijesta sa 2, prerez sa 3, miris s maksimalno 2 boda i okus sa maksimalno 10 bodova.

3.2. Kemijska pretraga sirovog mlijeka i kuhanih sireva

Kemijska pretraga na uzorku svježeg sirovog mlijeka obuhvatila je određivanje udjela vode, mliječne masti, bjelančevina i pepela.
Kemijska pretraga kuhanih sireva uključivala je određivanje udjela vode, mliječne masti, bjelančevina, pepela i natrijevog klorida, te aktiviteta vode (a_w). Mliječna mast u suhoj tvari i voda u bezmasnoj tvari sira su dobivene računski.

Određivanje udjela vode

U potpuno suhu posudicu stavi se 10-12 g potpuno suhog morskog pijeska, vagne se zajedno s poklopcem i štapićem. Zatim se u istu posudicu odvaže uzorak (2 ml mlijeka ili 1,5 – 2,5 g sira ovisno o vrsti uzorka). Uzorak se dobro promiješa s kvarcnim pijeskom, umetne štapić poklopi i brzo vagne. Potom se uzorak suši u sušioniku na temperaturi od 103°C (105°C). Nakon toga se poklopljena posudica hladi u eksikatoru i važe. Vrijeme hlađenja ovisi o broju toplih posudica koje se kod serijskih analiza stavljaju istovremeno u eksikator. Postupak sušenja se ponavlja sve do trenutka u kojem dvije uzastopne odvage nisu iste u 4-toj decimali. Prilikom provođenja analize treba biti pažljiv jer se poradi oksidacije može povećati masa sadržaja u posudici.
Izračun je sljedeći:

$$w\ (H_2O) = (m_1 - m_2) / (m_1 - m_0) \times 100$$

m_0 - masa aluminijske posude sa kvarcnim pijeskom i poklopcem (g)
m_1 – masa aluminijske posude sa pijeskom i neosušenim uzorkom i poklopcem (g)
m_2 – masa aluminijske posude sa osušenim uzorkom i poklopcem (g)

Određivanje sadržaja masti

U čep butirometra (lađicu) odvaže se točno 3 g ranije pripremljenog i dobro promiješanog uzorka sira i unese se u butirometar. U butirometar se doda 10 ml sumporne kiseline, te se zagrijava u vodenoj kupelji pri temperaturi od 65^{o}C uz povremeno miješanje. Nakon razaranja bjelančevina u butirometar se unese 1 ml amilnog alkohola i njegov sadržaj ponovno nekoliko puta promućka. Zatim se kroz gornji otvor butirometra doda onoliko sumporne kiseline koliko je potrebno da gornji menisk dostigne broj 35 na ljestvici. Sadržaj butirometra se promućka i butirometar centrifugira 10 minuta (1000 do 1200 okretaja u minuti). Zagrijavanje u vodenoj kupelji (5 min / 65 ^{0}C) i centrifugiranje butirometra ponovi se još dva puta, a zatim se direktno na skali butirometra očita postotak masti.

Određivanje količine bjelančevina

Količina bjelančevina određena je metodom kojom se određuje količina dušika (N) u uzorku metodom po KJELDAHL-u. U Kjeldahlovu tikvicu stavlja se regulatore vrenja, 15 g kalij-sulfata (K_2SO_4) i 0,5 g bakar(II)-sulfata pentahidrata ($CuSO_4 \times 5H_2O$). Odvaže se 2 g uzorka za analizu i stavi u Kjeldahlovu tikvicu u koju se doda 25 ml otopine sulfatne kiseline, promiješa i tikvicu postavi u kosi položaj na uređaj za zagrijavanje kroz 90 minuta. Nakon zagrijavanja sadržaj tikvice se ohladi na 40 ^{0}C te se doda 50 ml vode, promiješa se i ohladi.
Sadržaj Kjeldahlove tikvice dalje se obrađuje destilacijom pare i običnom destilacijom, nakon čega slijedi titracija sadržaja tikvice s HCl i bilježi se njezin utrošak uz istovremeni rad sa slijepom probom. Izračun:

$$\text{Količina dušika} = 0{,}0014 \times (V_1 - V_0) \times 100 / m$$

V_o - volumen (ml) 0,1 mol dm^{-3} kloridne kiseline potrebne za titraciju slijepe probe;
V_1 - volumen (ml) 0,1 mol dm^{-3} kloridne kiseline potrebne za titraciju uzorka;
m - masa uzorka (g).

Određivanje količine pepela

U porculansku posudu odvagne se 1,5 do 2 g pripremljenog uzorka, te suši u eksikatoru jedan sat na temperaturi od 103 ^{0}C. Nakon hlađenja u eksikatoru slijedi spaljivanje uzorka pomoću muflonske peći u vremenu od 5 do 6 sati s postupnim podizanjem temperature sve do 550 ^{0}C (±25 ^{0}C), sve dok pepeo ne postane sivo-bijele boje nakon čega se posuda sa sadržajem hladi, te važe i izračunava kao maseni postotak:

$$\text{Masa pepela, \%} = (m_2 - m_0) / (m_1 - m_0) \times 100\ \%$$

m_0 – masa (g) prazne posude;

m_1 – masa (g) posude s uzorkom za analizu;

m_2 – masa (g) posude s pepelom.

Izračunavanje vode u bezmasnoj tvari sira

Sadržaj vode u bezmasnoj tvari sira je objektivna vrijednost koja se primjenjuje u standardizaciji sireva. Sadržaj vode u bezmasnoj tvari izračunava se prema formuli:

$$V_{BTS} = 100 \times \%\ \text{vode} / (100 - m)$$

V_{BTS} - voda u bezmasnoj tvari sira;

m - % masti dobiveno čitanjem butirometra.

Izračunavanje sadržaja masti u suhoj tvari sira

Sadržaj masti u suhoj tvari sira je objektivna vrijednost koja je mjerilo kakvoće sira po masnoći, te se primjenjuje u standardizaciji i sistematizaciji sireva.

Sadržaj suhe tvari u siru izračunava se odbijanjem navedenog sadržaja vode od 100, a sadržaj masti u suhoj tvari doznaje se izračunavanjem po formuli u koju se uvrštavaju rezultati dobiveni određivanjem sadržaja vode, odnosno suhe tvari sira i sadržaja masti u mlijeku:

$$M_{stv} = (m \times 100) / S$$

$$S = (100 - \%\ \text{vode})$$

M_{STV} - % masti u suhoj tvari;

m - % masti u siru dobiveno čitanjem butirometra;

S - % suhe tvari u siru.

Određivanje količine kuhinjske soli

Odvagati 2 g homogeniziranog uzorka u odmjernu tikvicu od 100 ml uz dodatak 2-3 ml destilirane vode. Dodati destilirane H_2O do najviše ¾ tikvice i staviti u vodenu kupelj da vrije 15 minuta uz povremeno miješanje (koagulacija bjelančevina). Ohladiti pod mlazom vodovodne vode na sobnu temperaturu i nadopuniti destiliranom H_2O do oznake.

Potom sadržaj tikvice treba dobro promiješati i profiltrirati. Ispitati pH-vrijednost filtrata univerzalnim indikatorskim papirom (pH 7-10) te ako filtrat reagira kiselo potrebno ga je neutralizirati s otopinom natrijevog hidroksida. Pipetom odmjeriti 20 ml filtrata u Erlenmeyerovu tikvicu od 100 ml, dodati 2-3 kapi zasićene otopine K_2CrO_4 (indikator) te titrirati s 0,1 mol dm^{-3} $AgNO_3$ do pojave narančasto-crvene boje.

Izračun:

$$m\ (NaCl) = 4 \times c\ (AgNO_3) \times Vs\ (AgNO_3) \times M\ (NaCl)$$

$$W\ (NaCl) = m\ (NaCl) / m\ (uzorka) \times 100$$

m(NaCl) – masa soli u g;

c ($AgNO_3$) – koncentracija $AgNO_3$ u mol dm^{-3};

Vs ($AgNO_3$) – volumen $AgNO_3$ u dm^{-3};

M (NaCl) – molarna masa soli u g/mol;

m (uzorka) – masa uzorka u (g);

W (NaCl) – maseni udio NaCl u %

Određivanje aktiviteta vode (a_w)

Prethodno usitnjenim uzorkom puni se posudica za uzorak. Potom se posudica umetne u mjerni dio uređaja i pokrije sondom za mjerenje prenosnog a_w metra (Rotronic AG, Bassersdorf, Switzerland).

3.3. Mikrobiološka pretraga mlijeka i kuhanih sireva

Mikrobiološkim pretragama uzoraka sirovog mlijeka i uzoraka kuhanih sireva obuhvaćeni su sljedeći mikroorganizmi *Listeria monocytogenes*, 0/ 25 g/ml, *Samonella* spp., 0/25 g/ml, *Staphylococcus aureus*, g/ml, *Escherichia coli*, g/ml, kvasci i plijesni, g/ml g. Pri tome smo se vodili kriterijima mikrobiološke i higijenske ispravnosti sirovog mlijeka i kuhanih sireva koji su opisani u Uredbi o mikrobiološkim kriterijima za hranu (ANON., 2005.) te preporukom Vodiča o mikrobiološkim kriterijima za hranu (ANON., 2011.). Mikrobiološke kriterije za svježe sirovo mlijeko kojima smo se vodili prikazani su u tablici 4., a za kuhane sireve u tablici 5.

Tablica 4: Mikrobiološki kriteriji za sirovo mlijeko (ANON., 2005., 2011.)

UREDBA KOMISIJE (EZ) br. 2073/2005 o mikrobiološkim kriterijima za hranu				
	Hrana	Mikroorganizmi/ njihovi toksini i metaboliti	Kriteriji	Ispitna referentna metoda
		Obavezni		
1.2.	Gotova hrana koja pogoduje rastu bakterije L. monocytogenes, osim hrane za dojenčad i za posebne medicinske potrebe	*Listeria monocytogenes*	100 cfu/g	EN/ISO 11290-2
			Odsutnost u 25 g	EN/ISO 11290-1
Vodič o mikrobiološkim kriterijima za hranu- 3. izdanje 2011.				
	Hrana	Mikroorganizmi/ njihovi toksini i metaboliti	Kriteriji	
3.1.4.	Sirovo mlijeko, namijenjeno konzumaciji bez prethodne toplinske obrade	**Preporučeni**		
		Salmonella spp.	n.n. u 25 ml	
		Koagulaza pozitivni stafilokoki/ *Staphylococcus aureus*	m=10 cfu/ml $M=10^2$ cfu/ml	
		Enterobacteriaceae	m= 10 cfu/ml $M=10^2$ cfu/ml	
		Sulfitreducirajuće klostridije	m= 10 cfu/ml $M=10^2$ cfu/ml	
		Aerobne mezofilne bakterije	$m=10^4$ cfu/ml $M=10^5$ cfu/ml	

Tablica 5: Mikrobiološki kriteriji za kuhani sir (ANON., 2005., 2011.)

UREDBA KOMISIJE (EZ) br. 2073/2005 o mikrobiološkim kriterijima za hranu				
	Hrana	Mikroorganizmi/ njihovi toksini i metaboliti	Kriteriji	Ispitna referentna metoda
1.2.	Gotova hrana koja pogoduje rastu bakterije L. monocytogenes, osim hrane za dojenčad i za posebne medicinske potrebe	*Listeria monocytogenes*	100 cfu/g	EN/ISO 11290-2
			Odsutnost u 25 g	EN/ISO 11290-1
1.11.	Sirevi, maslac i vrhnje načinjeni od sirovog mlijeka ili mlijeka koje je obrađeno temperaturom nižom od temperature pasterizacije	*Salmonella* spp.	Odsutnost u 25 g	EN/ISO 6579
2.2.4.	Sirevi načinjeni od mlijeka koje je termički obrađeno na temperaturi nižoj od temperature pasterizacije, te zreli sirevi načinjeni od mlijeka ili sirutke koji su pasterizirani ili još jače termički obrađeni	Koagulaza pozitivni stafilokoki	$m=10^2$ cfu/g $M=10^3$ cfu/g	EN/ISO 6888-1 ili 2
2.2.2.	Sirevi načinjeni od mlijeka ili sirutke koji su termički obrađeni	*E. coli*	$m= 10^2$ cfu/g $M=10^3$ cfu/g	ISO 16649-1 ili 2
Vodič o mikrobiološkim kriterijima za hranu- 3. izdanje 2011.				
	Hrana	Mikroorganizmi/ njihovi toksini i metaboliti	Kriteriji	
3.5.4.	Polutvrdi sirevi	**Preporučeni**		
		Salmonella spp.	n.n. u 25g	
		Escherichia coli	m=10 cfu/g $M=10^2$ cfu/g	
		Koagulaza pozitivni stafilokoki / *Staphylococcus aureus*	m=10 cfu/g $M=10^2$ cfu/g	
		Sulfitreducirajuće klostridije	m=10 cfu/g $M=10^2$ cfu/g	

U mikrobiološkoj pretrazi koristili smo se HRN EN ISO metodama, te API u potvrdnim testovima.

Tablica 6: Analizirani mikroorganizmi s pobrojanim izolacijskim i dijagnostičkim testovima

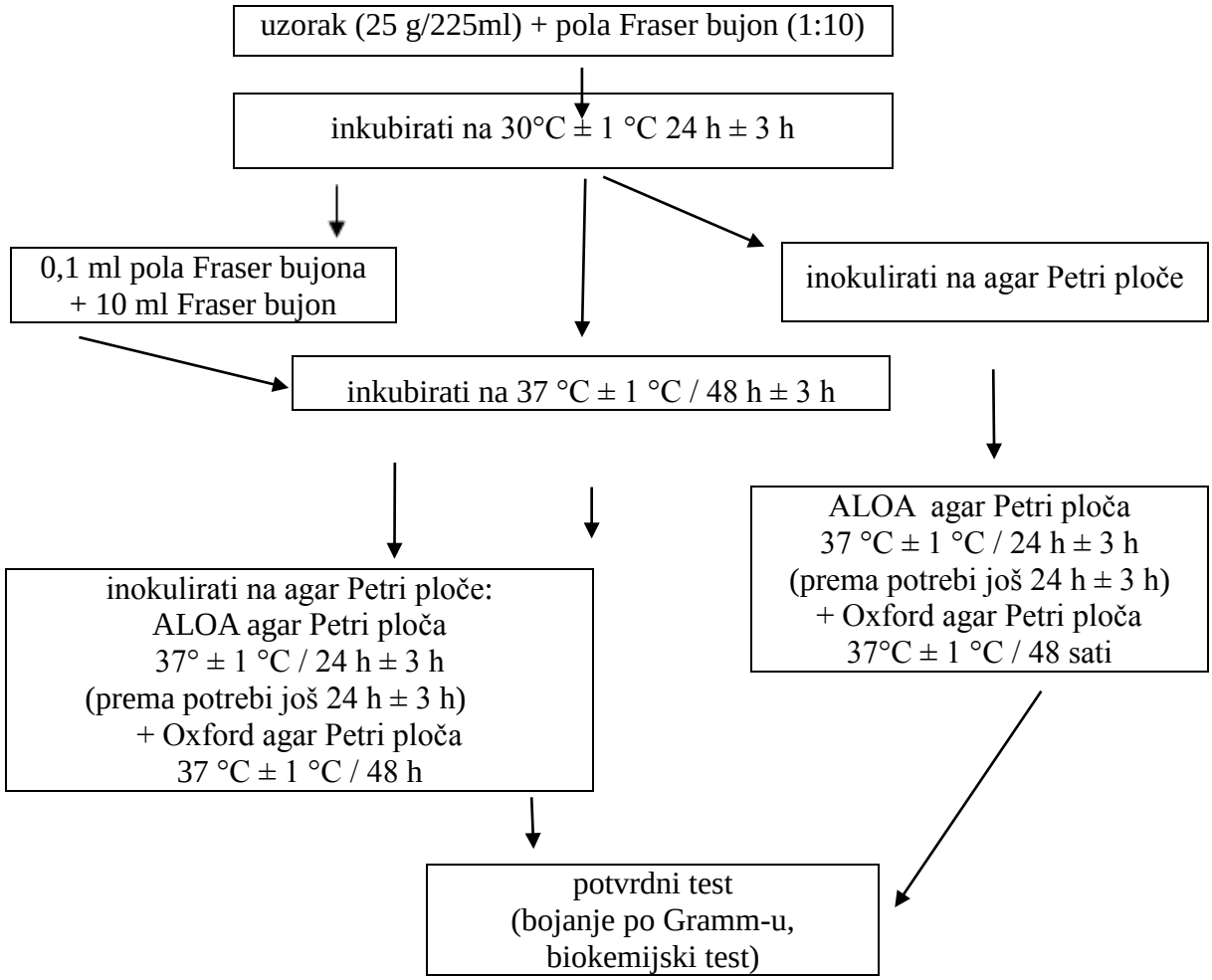
Pokazatelj	Hranjive podloge	Inkubacija	ISO norma
L. monocytogenes	Half-Fraser bujon (Merck) Fraser-bujon (Merck) Palcam (Merck) OttavianiAgosti agar (OAA) (BioMerieux)	30 ºC / 24-48 h 37 ºC / 48 h 37 ºC / 24 h 37 ºC / 24-48 h	HRN EN ISO 11290-1:1999/A1:2008 Mikrobiologija hrane i hrane za životinje – Horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti i određivanje broja Listeria monocytogenes – 1. dio: Metoda dokazivanja – Amandman 1: Modifikacija podloge za izolaciju, test hemolize i uključivanje podataka o točnosti
Salmonella spp.	Puferirana peptonska voda PPV (Merck) Rappaport-Vasiliadis bujon RVS (Merck) Muller-Kauffmanetrationat /novobiocin bujon (Merck) Briljant fenol laktoza sukroza agar (BPLS) (Merck) XLD (Merck)	37 ºC / 16 h 42 ºC / 24 h 37 ºC / 48 h 37 ºC / 24 h 37 ºC / 48 h	HRN EN ISO 6579:2003/Ispr.1:2008 Mikrobiologija hrane i hrane za životinje – Horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti Salmonella spp.
Koagulaza pozitivni stafilokoki /*S. aureus*	Baird-Parker agar (BP) (Merck)	37 ºC / 24-48 h	HRN EN ISO 6888-1:2004 Mikrobiologija hrane i stočne hrane – Vodoravni postupak brojenja koagulaza–pozitivnih stafilokoka (*S. aureus* i druge vrste)- 1. dio: Postupak primjene Baird-Parkerove hranjive podloge na agaru
Escherichia coli	TBX agar* (tryptone-bile-glucoronic agar)	44 ± 1°C/18-24 h	HRN ISO 16649-2:2001 Mikrobiologija hrane i stočne hrane - Metoda brojanja beta-glukoronidaza pozitivne Escherichia coli - 2. dio: Brojenje kolonija pri 44°C uporabom 5-bromo-4-chloro-3-indolyl beta D-glucoronide (ISO 16649-2:2001)
Kvasci i plijesni	DRBC agar* (dichloran-rose bengal chloramphenicol agar)	25 ± 1°C / 120 h	HRN ISO 21527- 1(2012) : Mikrobiologija hrane i hrane za životinje – Horizontalna metoda za brojenje kvasaca i plijesni – 1. dio: Tehnika brojanja kolonija u proizvodima s aktivitetom vode većim od 0,95 (ISO 21527-1:2008)

* umjesto TBX agara korištena je podloga Coli ID (Biomerieaux)

* umjesto DRBC agar korišten je YEC agar

Mikrobiološka pretraga sireva

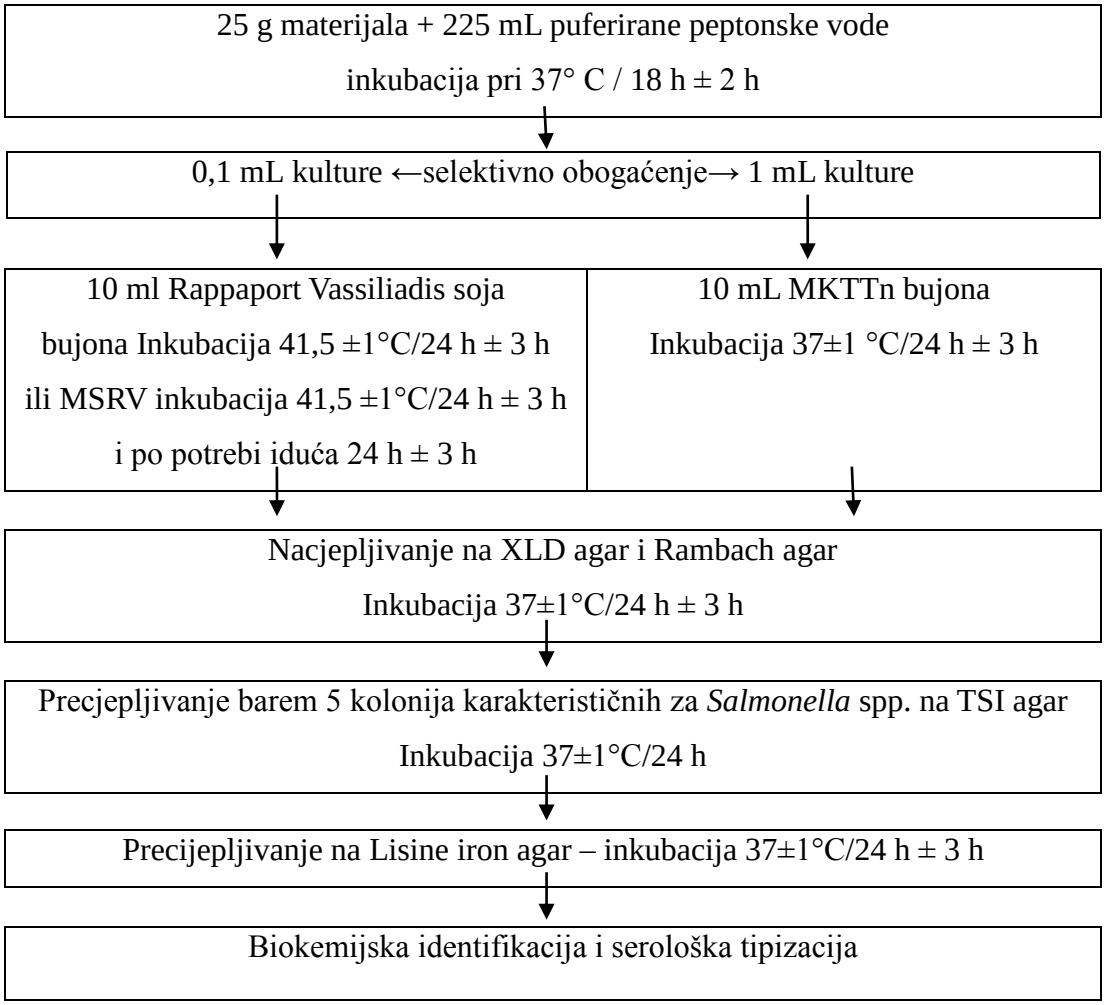
Izolacija bakterije *L. monocytogenes* prikazana je u shemi 2.



Shema 3: Postupak izolacije bakterije *Listeria monocytogenes*

Faza u kojoj se uzimaju i pretražuju uzorci za *L. monocytogenes* prema Uredbi (ANON., 2005.). Vrijedi za proizvode stavljene na tržište tijekom njihovog roka trajanja do 100 cfu/g Prije nego što hrana napusti izravnu kontrolu subjekta u poslovanju s hranom koji ju je proizveo i to kao odsutnost u 25 g.

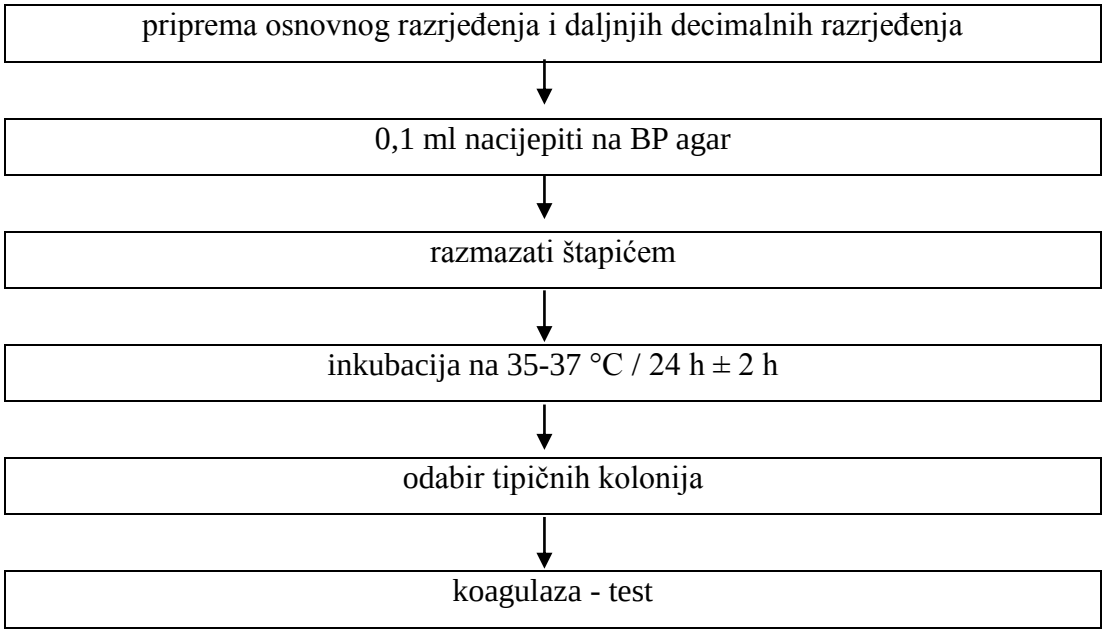
Pretraga na prisutnost *Salmonella* spp. radi se u 25 g uzorka koji je homogeniziran u 225 ml bujona za predobogaćivanje, a nakon inkubacije je inokulum (0,1 ml) prebačen u bujon za obogaćivanje te ponovne inkubacije nacijepljen na XLD agar. Nakon inkubacije sumnjive kolonije identificiraju se pomoću API testa.



Shema 4: Postupak izolacije bakterije *Salmonella* spp.

Faza u kojoj se uzimaju i pretražuju uzorci za *Salmonella* spp. vrijedi za proizvode stavljene na tržište tijekom njihovog roka trajanja prema Uredbi (ANON., 2005.).

Za pretragu uzoraka na koagulaza pozitivne stafilokoke odnosno bakteriju *S. aureus* od svake skupine sireva uzeti su reprezentativni uzorci, pomiješani su sa fiziološkom otopinom te homogenizirani. Time je dobiveno osnovno razrjeđenje te su načinjena daljnja decimalna razrjeđenja (do 10^{-3}). Na površinu Baird-Parker agara preneseno je 0,1 ml razrjeđenja, razmazan je štapićem a potom je nasađena ploča inkubirana na 35-37°C / 24 h ± 2 h. Tipične porasle kolonije, okrugle, crne boje s jasnom zonom inhibicije uzete su dalje za koagulaza test.

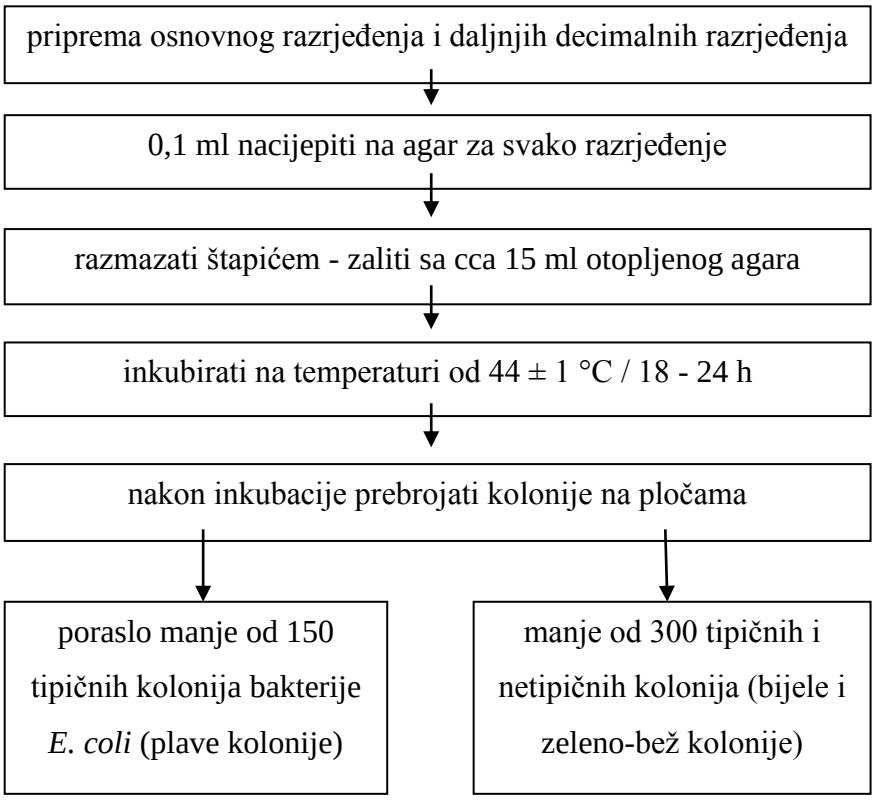


Shema 5: Postupak izolacije koagulaza pozitivnih stafilokoka / *Staphylococcus aureus*

Faza u kojoj se uzimaju i pretražuju uzorci na *S. aureus* je za vrijeme proizvodnog procesa, u vrijeme kada se očekuje da je broj kolonija stafilokoka najveći. U slučaju nezadovoljavajućih rezultata provode se mjere za poboljšanje higijene proizvodnje i izbora sirovina. Ako se otkriju vrijednosti $>10^3$ cfu/g, serija sira se mora ispitati na prisutnost stafilokoknih enterotoksina iz Uredbe (ANON., 2005.)

Za dokaz *E. coli* smo uzorak nakon pripreme osnovnog razrjeđenja i prvog decimalnog razrjeđenja (10^{-2}) presadili na Coli ID agar te poslije inkubacije pratili porast kolonija.

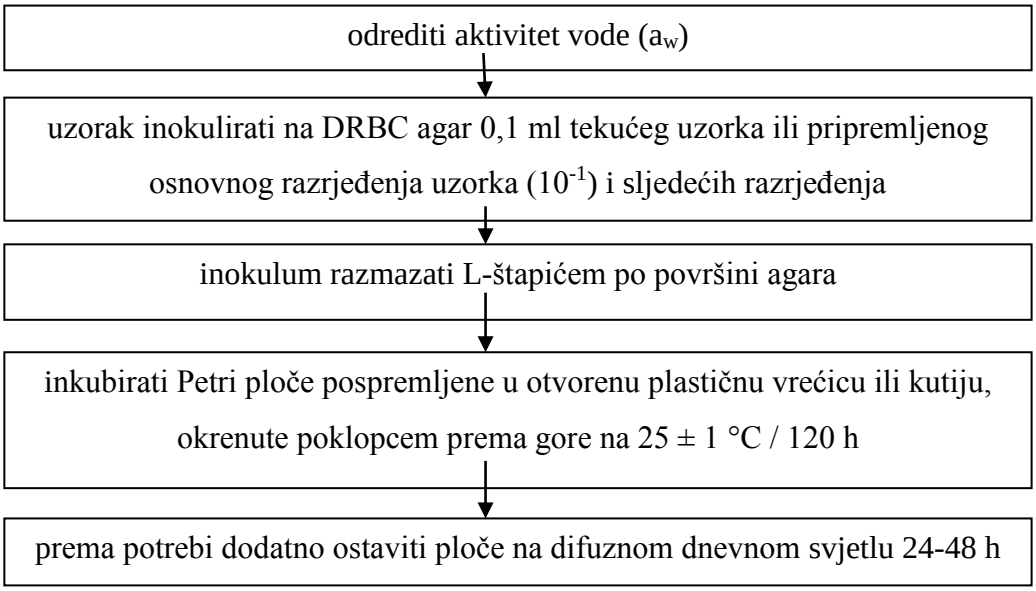
.



Shema 6: Postupak izolacije bakterije *Escherichia coli*

Faza u kojoj se uzimaju i pretražuju uzorci na *E. coli* je za vrijeme proizvodnog procesa, u vrijeme kada se očekuje da je broj kolonija *E. coli* najveći. Mjere u slučaju nezadovoljavajućih rezultata su poboljšanje higijene proizvodnje i izbora sirovina iz Uredbe (ANON., 2005.)

Za pretragu uzoraka na kvasce i plijesni koristili smo se metodom koja je opisana u shemi 7. Prije same inokulacije uzorka bilo je potrebno izmjeriti aktivitet vode u ispitivanom uzorku i ovisno o dobivenim vrijednostima inokulirati uzorak ili osnovno razrjeđenje uzorka na krutu hranjivu podlogu.



Shema 7: Postupak izolacije kvasaca i plijesni

4. Rezultati

4.1. Senzorička pretraga

Promjer, visinu i masu sireva prikazuje tablica 7. Sir je podijeljen u dva dijela te je skladišten u hladnjaku na +3,8 °C.

Tablica 7: Promjer, visina i masa uzoraka kuhanih sireva

PARAMETAR	„Gospodarstvo A“				„Gospodarstvo B“			
	SIR 1	SIR 2	SIR 3	**PROSJEK**	SIR 1	SIR 2	SIR 3	**PROSJEK**
Promjer (cm)	13,5	13,5	13,5	13,5	9,5	9,5	9,5	9,5
Visina (cm)	4,0	3,7	4,2	4,0	5,8	5,8	5,8	5,8
Masa (g)	613,0	614,0	671,0	632,7	432,0	438,0	436,0	435,3

Na svim uzorcima sira (n=6), prvi dan učinjena je senzorička pretraga. Kuhani sirevi su imali oblik krnjeg stošca i valjka. Na prerezu su blijedo žute boje, a tijesto im je povezano. Pretraženi uzorci sireva su imali većinom homogeno tijesto, koje se lako rezalo uz malo lijepljenja na oštricu noža. Uzorci sa „gospodarstva B“ imali su blago izraženu mrvičastu strukturu sirnog tijesta. Sirevi sa oba gospodarstva su imali ugodan mliječni miris po kuhanom mlijeku, sa blago kiselom notom koja odaje dojam svježine i ukusnosti. Kuhani sirevi između dva gospodarstva se nisu znatno razlikovali okusom, izuzev slanoće gdje je ona bila izraženija kod sireva iz „gospodarstva B“.

Tablica 8: Senzorička ocjena kuhanih sireva

PARAMETAR	„Gospodarstvo A“				„Gospodarstvo B“			
	SIR 1	SIR 2	SIR 3	**PROSJEK**	SIR 1	SIR 2	SIR 3	**PROSJEK**
Izgled	1,8	1,9	1,8	1,8	1,9	1,9	1,9	1,9
Boja	1	1	1	1,0	1	1	1	1
Tijesto	1,8	1,8	1,9	1,8	1,5	1,4	1,4	1,4
Prerez	2,7	2,8	2,9	2,8	2,8	2,7	2,8	2,8
Miris	2	2	2	2	2	2	2	2
Okus	10	10	10	10	10	10	10	10
Ukupno	19,3	19,5	19,6	19,5	19,2	19,0	19,1	19,1

4.2. Kemijski sastav mlijeka

Rezultati kemijskog sastava mlijeka sa oba gospodarstva predočava Tablica (6).

Tablica 9: Kemijski sastav mlijeka

PARAMETAR	„Gospodarstvo A“	„Gospodarstvo B“
Voda, %	87,70	88,00
Mliječna mast, %	4,10	3,50
Bjelančevine, %	3,90	3,20
Pepeo, %	0,65	0,70

4.3. Kemijski sastav sira

Uzorci kuhanih sireva od 1 do 3 podrijetlom su sa „gospodarstva A“, dok su uzorci od 4 do 6 sa „gospodarstva B“. Rezultate kemijske analize prikazuje tablica 10.

Tablica 10: Kemijski sastav kuhanih sireva

	„Gospodarstvo A“				„Gospodarstvo B“			
PARAMETAR	1.	2.	3.	**PROSJEK**	4.	5.	6.	**PROSJEK**
Voda, %	46,10	44,85	47,10	46,02	50,61	50,53	50,50	50,55
Mliječna mast, m.m. %	26,50	28,50	28,00	27,67	24,50	24,00	25,00	24,50
Bjelančevine, %	16,45	15,75	17,15	16,45	7,70	7,00	8,05	7,58
Pepeo, %	2,71	2,75	2,90	2,79	3,29	3,25	3,23	3,26
Mliječna mast u suhoj tvari, %	49,17	51,68	52,93	51,26	49,61	48,51	50,47	49,53
Voda u bezmasnoj tvari sira, %	62,72	62,73	65,42	63,62	67,03	66,49	67,29	66,94
Kuhinjska sol (NaCl), %	1,51	1,51	1,56	1,53	2,39	2,32	2,24	2,32
a_w	0,97	0,98	0,97	0,97	0,97	0,97	0,97	0,97

4.4. Mikrobiološka kakvoća svježeg mlijeka i kuhanih sireva

Tablica 11: Rezultati mikrobiološke pretrage sirovog mlijeka i kuhanih sireva

„Gospodarstvo A“	**uzorak 1. dan**	**1. dan**				**7. dan**			
PARAMETAR	MLIJEKO	SIR 1	SIR 2	SIR 3	PROSJEK	SIR 1	SIR 2	SIR3	PROSJEK
Listeria monocytogenes 0/ 25 g/ml	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Salmonella spp. 0/25 g/ml	0	0	0	0	0	0	0	0	0
koagulaza pozitivni stafilokoki / *Staphylococcus aureus* g/ml	$1,7 \times 10^3$	8×10^2	2×10^3	3×10^3	$1,9 \times 10^3$	$2,5 \times 10^3$	$2,1 \times 10^3$	1×10^2	$1,6 \times 10^3$
Escherichia coli g/ml	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$
kvasci i plijesni g/ml g	$<10^2$	$2,2 \times 10^3$	$<10^2$	$<10^2$	$7,3 \times 10^2$	$15,7 \times 10^3$	$14,9 \times 10^3$	$14,8 \times 10^3$	$15,1 \times 10^3$
„Gospodarstvo B“	**uzorak 1. dan**	**1. dan**				**7. dan**			
PARAMETAR	MLIJEKO	SIR 1	SIR 2	SIR 3	PROSJEK	SIR 1	SIR 2	SIR 3	PROSJEK
Listeria monocytogenes 0/ 25 g/ml	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Salmonella spp. 0/25 g/ml	0	0	0	0	0	0	0	0	0
koagulaza pozitivni stafilokoki / *Staphylococcus aureus* g/ml	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$
Escherichia coli g/ml	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$
kvasci i plijesni g/ml g	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$

5. Rasprava

„Gospodarstva A i B“ su dugogodišnji proizvođači mlijeka i mliječnih proizvoda. Baziraju se na proizvodnji svježih i kuhanih sireva. Osnovna sirovina je sirovo kravlje mlijeko dobiveno od mliječnih krava iz vlastitog uzgoja. Oba gospodarstva redovno podvrgavaju mliječne krave svim propisanim veterinarskim postupcima, vrše kontrolu mlijeka, te provode zdravstveno higijenske mjere unutar proizvodnje sirovog mlijeka i samih kuhanih sireva. Kuhani sir je proizvod od sirovog mlijeka koji spram svježeg sira ima puno duži rok trajanja zbog same tehnologije proizvodnje. Razlog proizvodnje kuhanog sira, ističu na gospodarstvima, leži u jednostavnosti njegove pripreme i dovoljno dugoj održivosti sira ukoliko se višak proizvoda ne može odmah prodati. Kuhani sir se smatra jednim od najjednostavnijih načina iskorištavanja i konzerviranja mlijeka kao sirovine. Vrlo bitni parametri koji utječu na kakvoću kuhanog sira su kvaliteta sirovog mlijeka i sama tehnologija proizvodnje.

Prije same senzoričke pretrage izmjereni su promjer, visina i masa sira. Kao što je vidljivo u rezultatima sirevi s „gospodarstva A i B“ se izrazito razlikuju u masi. Prosječna masa uzoraka kuhanih sireva na „gospodarstvu A“ iznosila je 632,7 g, dok je „Gospodarstvo B“ imalo prosječnu masu od 435,3 g. Na „gospodarstvu A“ nalazimo znatno odstupanje u masi „sir 3“ (671 g), u odnosu na deklaraciju. Sirevi s „gospodarstva B“ u potpunosti odgovaraju deklaraciji za pojedini uzorak kuhanog sira. Navedeno možemo objasniti veličinom kalupa u kojem su sirevi proizvedeni odnosno intenzitetu slijeganja sirnog tijesta prilikom prešanja. Kuhani sirevi na prerezu su blijedo žute boje, a tijesto im je povezano. Neki sirevi su imali male šupljine (oka) koje su mehaničkog podrijetla zbog razlike u pritisku prilikom prešanja. Konzistencija sireva ovisi o kemijskom sastavu, načinu proizvodnje, mehaničkoj opremi i kalupima prilikom prešanja. Analizirani uzorci sireva su imali većinom homogeno tijesto, koje se lako rezalo uz malo lijepljenja na oštricu noža prisutno kod „gospodarstva B“. Uzorci sa „gospodarstva B“ imali su blago izraženu mrvičastu strukturu sirnog tijesta. Uzrok mrvičavosti sirnog tijesta je pregrijavanje gruša u procesu proizvodnje sira. Iz tog razloga ukupna senzorička ocjena kuhanih sireva s „gospodarstva B“ je nešto niža od „gospodarstva A“, (A=19,5 i B=19,1). Sirevi s oba gospodarstva su imali ugodan mliječni miris po kuhanom mlijeku, sa blago kiselom notom koja odaje dojam svježine i ukusnosti. Kako sirevima nisu dodavani nikakvi aromatični začini, niti su bili izloženi procesu dimljenja, mliječno-blago kiselkasti mirisi su glavna odlika analiziranih sireva, kao što je to opisao i KIRIN (2009.).

Kuhani sirevi između dva gospodarstva se nisu znatno razlikovali okusom, izuzev slanoće gdje je ona bila izraženija kod sireva iz „gospodarstva B“.

Kemijskom analizom svježeg sirovog mlijeka, tablica 9., utvrdili smo da uzorci s oba gospodarstva odgovaraju prosječnom kemijskom sastavu kravljeg mlijeka (TRATNIK, 1998.). Usporedbom rezultata kemijske pretrage sira proizvedenog na „gospodarstvu „A“ i „B“ primijetili smo da je postotak mliječne masti i bjelančevina veći na „gospodarstvu A“. Tako (DOZET, 1978.) konstatira da na sastav sira, a osobito na količinu vode i masti utječe početni sastav mlijeka. Karakteristično je da kod sira se većim postotkom vode i masti proces zrenja teče intenzivnije nego kod sireva sa nižim postotkom vode i masti, a pojavljuju se i razlike kod randmana i senzoričke ocjene sira.

Rezultati kemijske pretrage sira prikazani su u tablici 10. Na „gospodarstvu A“ udio vode prosječno je iznosio 46,02 %, dok je na „gospodarstvu B“ taj udio iznosio 50,55 %. Udio vode u bezmasnoj suhoj tvari sira iznosio je prosječno na gospodarstvima (A= 63,62 %, B= 66,94 %) te prema tome svi uzorci sira, prema Pravilniku (ANON., 2009.) konzistencijom odgovaraju polutvrdim sirevima. Navedeno je u suglasju s rezultatima KIRINA (2006.) koji je domaće kuhane sireve, s obzirom na količinu vode u bezmasnoj suhoj tvari (prosječno je iznosila 65,93%) razvrstao u skupinu polutvrdih sireva. U ostalim istraživanjima kuhanih sireva možemo primijetiti da ipak postoji značajna varijabilnost u količini vode. Tako KIRIN (1980.) utvrđuje količinu vode od 52,50 %, NJARI i sur. (2002.) između 33,20- 41,20 % dok ROŠTAN (2014.) u svojim istraživanjima utvrđuje prosječne rezultate u iznosu od 50,91 %.

Količina mliječne masti u uzorcima prosječno je iznosila na gospodarstvima (A= 27,67 % i B= 24,50 %), a količina masti u suhoj tvari (A= 51,26 % i B= 49,53 %) u prosjeku. Prema udjelu mliječne masti u suhoj tvari pregledani sirevi smatraju se punomasnim sirevima, prema Pravilniku (ANON., 2009.). U domaćem kuhanom siru KIRIN (2006.) utvrđuje prosječnu količinu masti u suhoj tvari koja je iznosila 46,11 %, te predmetne sireve klasificira u skupinu masnih sireva. Također, u istraživanju KIRIN (1980.) dobiva prosječnu količinu mliječne masti u suhoj tvari u iznosu 32,60 % što je nešto niža vrijednost u odnosu na naše sireve i sireve iz drugih istraživanja istog autora. Nadalje NJARI i sur. (2002.) dobivaju raspon vrijednosti između 35,68 % i 43,55 %, dok ROŠTAN (2014.) dobiva raspon od 33,05 % do 43,26 % te navedene vrijednosti predmetne sireve svrstavaju u masne sireve.

Prosječna količina bjelančevina na „gospodarstvu A“ iznosila je 16,45 %, a na „gospodarstvu B“ 7,58 % te je vidljiva velika razlika između dobivenih rezultata dva gospodarstva. U svom istraživanju ROŠTAN (2014.) je utvrdio količinu bjelančevina u iznosu 19,42 %, a ŠTEFEKOV (1990.) analizom sira „Graničar“ količinu bjelančevina 17,89 %. Razmišljajući o udjelu rezultatu dobivenom za udio bjelančevina u „gospodarstvu B“ možemo reći kako je mlijeko koje se koristio kao sirovina za proizvodnju predmetnog sira u „gospodarstvu B“ imalo inicijalno nižu količinu bjelančevina tablica 9. U sirarstvu se rijetko primjenjuje homogenizacija mlijeka jer uzrokuje promjene kemijskog sastava posebno u strukturi bjelančevina te je moguće da su pri proizvodnji sira na „gospodarstvu B“ sirovo mlijeko homogenizirali prije grušanja što bi dovelo do gubitka bjelančevina. Tome u prilog govori i povećana količina vode u siru s istog gospodarstva o čemu govori i TRATNIK (1998.).

U našem istraživanju prosječna količina pepela u A= 2,79 %, B= 3,26 %. ROŠTAN (2014.) u svom radu utvrđuje nešto nižu količinu pepela u iznosu 2,35 %. Veću količinu pepela na „gospodarstvu B“ objašnjava veći udio kuhinjske soli u uzorcima kuhanog sira sa tog gospodarstva. Količina kuhinjske soli dodane u kuhane sireve pokazuje znatnu varijabilnost između dva gospodarstva. Prosječna količina kuhinjske soli iznosila je A= 1,53 % i B= 2,32 %. Unutar pojedinog gospodarstva razlika je bila neznačajna. Sličnu oscilaciju zastupljenosti kuhinjske soli u kuhanom siru dobiva KIRIN (2006.) kojem je prosječna količina upotrijebljene kuhinjske soli iznosila 1,23 %. Ovisno o samom gospodarstvu, okusu slanoće samih domaćica koje pripremaju kuhani sir, željama potrošača na pojedinom području dobivamo širok spektar zastupljenosti soli u krajnjem proizvodu. Time se potvrđuje činjenica da jedino unutar industrijske proizvodnje kuhanog sira možemo postići standardiziran udio kuhinjske soli (KIRIN, 2006.).

Aktivitet vode (a_w) izmjeren je na sobnoj temperaturi te je u oba gospodarstva iznosio 0,97. Za navedeni parametar (MARETIĆ, 2015.) je utvrdila slične rezultate kao u našem istraživanju (0,95 - 0,97). Ovako visok aktivitet vode direktno utječe na mogućnost razmnožavanja mikroorganizama i mogućnost kvarenja proizvoda.

Rezultati mikrobiološke pretrage su prikazani u tablici 8. U pretraženim uzorcima mlijeka i kuhanih sireva prvog i sedmog dana, na oba gospodarstva, nisu utvrđene bakterije

L. monocytogenes, Salmonella spp i *E. coli*. Prema odredbama Uredbe (ANON., 2005.) kuhani sir se smatra gotovom hranom u kojoj može doći do rasta bakterije *L. monocytogenes*, pa u tom smislu su naši uzorci zadovoljavajuće kakvoće. Mikrobiološki nalaz uzoraka s „gospodarstva B" je besprijekoran, te su svi analizirani parametri sukladni Uredbi (ANON., 2005.) i Vodiču (ANON., 2011.). Za razliku od naših rezultata, ĐURĐEVIĆ (2015.) je u svom istraživanju u jednom uzorku kuhanog sira utvrdila *L.* monocytogenes i *L. grayi* a u tri uzorka *L. ivanovii.*

Vodeći se literaturnim podatcima nailazimo na različite rezultate mikrobioloških pretraga kuhanih sireva. Možemo reći da ŠTEFEKOV (1990.) nije utvrdio bakterije *E. coli* i *S. aureus*. Za razliku od našeg istraživanja mikrobiološke ispravnosti kuhanog sira, PLAVETIĆ (2001.) je u svom istraživanju izolirao bakteriju *S. aureus* u 80 % uzoraka, te *E. coli* u 20 % uzoraka. Pozitivni nalaz bakterija *S. aureus* i *E. coli* u 10 % pretraženih uzoraka sira navodi i GRAHO (2001.). Bakteriju *E. coli* utvrdio je KIRIN (2006.) u istraživanju mikrobiološke kvalitete kuhanih sireva.

U svim uzorcima s „gospodarstva A" su utvrđeni koagulaza pozitivni stafilokoki, no biokemijskom identifikacijom *S. aureus* nije potvrđen. Broj koagulaza pozitivnih stafilokoka kretao se od 10^2/g (gospodarstvo B) do najviše 3 x 10^3/g (gospodarstvo A). Ukoliko rezultate u tablici 11 interpretiramo prema mikrobiološkim kriterijima Uredbe (ANON., 2005.) sukladni su samo uzorci sireva „gospodarstva B".

Kvasci i plijesni su utvrđeni na „gospodarstvu A" u uzorku sira 1 prvog dana analize, te potom nakon pohrane od sedam dana u svim pretraženim uzorcima sira. Uzorak mlijeka iz kojeg su sirevi proizvedeni nije sadržavao kvasce i plijesni. O pozitivnom nalazu kvasaca i plijesni u kuhanim sirevima izvijestio je također i KIRIN (2006.). Na „gospodarstvu B" nije detektirana pojava kvasaca i plijesni ni prvog ni sedmog dana pohrane, odnosno ispod su razine detektibilnosti podloge.

U našem istraživanju nismo potvrdili bakterije *S. aureus*, niti smo detektirali *E. coli*. Međutim, zbog prisutnosti koagulaza pozitivnih stafilokoka, detektiranih na „gospodarstvu A", u broju većem od 10^3 cfu/g prema odredbama Uredbe (ANONIMNO, 2005.), za sireve proizvedene od mlijeka koje je termički obrađeno na temperaturi nižoj od temperature

pasterizacije, svi su uzorci sira nezadovoljavajuće kvalitete tablica 5. Navedene kriterije zadovoljava samo uzorak sir 1 ($8x10^2$/g), prvog dana pretrage i sir 3 (1×10^2/g), sedmog dana pretrage. U uzorku sir 3 došlo je do smanjenja broja koagulaza pozitivnih stafilokoka čiji je broj prvog dana iznosio 3×10^3/g. Napominjemo da su naši uzorci uzorkovani nakon završenog proizvodnog procesa, te je u tom trenutku broj koagulaza pozitivnih stafilokoka bio veći od preporučenog ($m=10^2$ cfu/g; $M=10^3$ cfu/g). Inače, koagulaza pozitivni stafilokoki su mikroorganizmi koji se prate za vrijeme proizvodnog procesa, u vrijeme kada se očekuje da je broj kolonija stafilokoka najveći. Ukoliko je njihov broj povećan primjenjuje se mjera poboljšavanja higijene proizvodnje i izbora sirovine.

Nakon sedam dana pohrane u hladnjaku, na način kako bi to potrošači napravili u vlastitom domaćinstvu, mikrobiološka slika je ukazala na „gospodarstvu A“ neznatno povećanje broja koagulaza pozitivnih stafilokoka. U uzorku sir 3 broj se čak i smanjio u odnosu na prvi dan. Kvasci i plijesni su se znatno povećali sedmi dan pohrane u hladnjaku sa prosječnih $7,3 \times 10^2$/g prvog dana, na $15,1 \times 10^3$/g sedmog dana pohrane u hladnjaku. Pohrana kroz ovaj vremenski period nije znatno utjecala na mikrobiološku ispravnost proizvoda. Na samu pohranu je utjecao inicijalni broj mikroorganizama prvog dana analize uzoraka, jer kao što možemo primijetiti iz tablice 11. na „gospodarstvu B“ prvog dana analize mikrobiološka analiza bila je besprijekorna, a nakon pohrane od sedam dana broj mikroorganizama nije porastao.

Mikrobna populacija potječe uglavnom iz okoline gdje se mlijeko proizvodi ističu SAMARDŽIJA i sur. (2007.), od higijenski neispravne vode i nedovoljno čistih muznih uređaja, opreme za transport i pohranu mlijeka. Zbog nalaza koagulaza pozitivnih stafilokoka u svim sirevima sa „gospodarstva A“ možemo se osvrnuti i na odnose gospodarstva s veterinarskom službom i kontrolu zdravlja muznih krava (mastitisi), jednako tako kao što smo već napomenuli na čistoću muznih uređaja i pribora.

6. Zaključak

Ispitane uzorke kuhanih sireva možemo klasificirani kao punomasne sireve (45-60 %) s obzirom na količinu masti u suhoj tvari odnosno polutvrde sireve (45-55 %) s obzirom na količinu vode u siru. Uzorak mlijeka s „gospodarstva B“ bio je mikrobiološki besprijekoran, jednako kao i kuhani sirevi proizvedeni na spomenutom gospodarstvu, što nam dopušta pretpostavku da je mlijeko najvjerojatnije toplinski obrađeno prije proizvodnje sira (temperatura pasterizacije). U uzorcima sira s „gospodarstva A“ u mikrobiološkoj pretrazi utvrdili smo preveliki broj koagulaza-pozitivnih stafilokoka te kvasce i plijesni što upućuje da je sirovina ili higijena tijekom proizvodnje bila neadekvatna. Općenito gledano sirevi s „gospodarstva A“ po senzoričkim i kemijskim parametrima su postigli puno bolje rezultate u odnosu na „gospodarstvo B“. Nakon sedam dana pohrane u hladnjaku, na način uobičajen u domaćinstvima, mikrobiološka slika je pokazala da broj mikroorganizama u kuhanim sirevima ovisi o količini mikroorganizama u sirovini odnosno prvog dana istraživanja. Na koncu zaključujemo da ulazna sirovina, sirovo mlijeko, uvelike utječe na senzoričke, kemijske i mikrobiološke parametre krajnjeg proizvoda, kuhanog sira.

7. Literatura

1. ANONIMNO (2005): Uredba komisije o mikrobiološkim kriterijima za hranu ((EZ) br. 2073/2005).
2. ANONIMNO (2007): Pravilnik o mlijeku i mliječnim proizvodima. (NN 46/2007).
3. ANONIMNO (2009): Pravilnik o sirevima i proizvodima od sireva. (NN 020/2009).
4. ANONIMNO (2011): Vodič za mikrobiološke kriterije za hranu (3. izmijenjeno izdanje).
5. BOŽANČIĆ, R., I. JELIČIĆ, T. BILUŠIĆ (2010): Analiza mlijeka i mliječnih proizvoda. Priručnik. Plejada, Zagreb.
6. DOZET N., M. STANIŠIĆ, S. BIJELJAC (1978): Standardizacija mlijeka u proizvodnji sira. Mljekarstvo 28 (7), 156-162.
7. ĐURĐEVIĆ, M. (2015): Mikrobiološka kakvoća kuhanog sira iz okolice Duge Rese. Diplomski rad. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
8. GRAHO, M. (2001): Ocjena kakvoće domaćeg svježeg, suhog i dimljenog sira iz okolice Siska. Diplomski rad. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
9. HAVRANEK, J., V. RUPIĆ (2003): Mlijeko od farme do mljekare. Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb.
10. HRN EN ISO 11290-1:1999/A1:2008. Mikrobiologija hrane i hrane za životinje – Horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti i određivanje broja Listeria monocytogenes – 1. dio: Metoda dokazivanja – Amandman 1: Modifikacija podloge za izolaciju, test hemolize i uključivanje podataka o točnosti.
11. HRN EN ISO 6579:2003/Ispr.1:2008. Mikrobiologija hrane i hrane za životinje – Horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti Salmonella spp.
12. HRN EN ISO 6888-1:2004. Mikrobiologija hrane i stočne hrane – Vodoravni postupak brojenja koagulaza–pozitivnih stafilokoka (S. aureus i druge vrste)- 1. dio: Postupak primjene Baird-Parkerove hranjive podloge na agaru.
13. HRN ISO 16649-2:2001. Mikrobiologija hrane i stočne hrane - Metoda brojenja beta-glukoronidaza pozitivne Escherichia coli - 2. dio: Brojenje kolonija pri 44°C uporabom 5-bromo-4-chloro-3-indolyl beta D-glucoronide. (ISO 16649-2:2001).
14. HRN ISO 21527- 1(2012). Mikrobiologija hrane i hrane za životinje – Horizontalna metoda za brojenje kvasaca i plijesni – 1. dio: Tehnika brojenja kolonija u proizvodima s aktivitetom vode većim od 0,95 (ISO 21527-1:2008).

15. KIRIN S. (1980): Domaće vrste sireva bilogorsko-podravske regije i mogućnosti njihove industrijske proizvodnje. Mljekarstvo 30 (4), 111-116.
16. KIRIN, S. (2006): Domaći kuhani sir. Mljekarstvo 56, 45-58.
17. KIRIN, S. (2009): Bjelovarski domaći svježi meki sir, Mljekarstvo 59 (2), 148-154.
18. KOZAČINSKI, L., M. HADŽIOSMANOVIĆ (2001): The occurrence of Listeria monocytogenes in home-made dairy products. Tierarztliche Umschau 56, 11; 590-594.
19. LUKAČ, J., SAMARŽIJA, D. (1990): Kvaliteta mliječnih proizvoda individualnih proizvođača na zagrebačkim tržnicama. Mljekarstvo 40 (8), 209 – 215.
20. MARETIĆ, N. (2015): Optimizacija tehnološkog procesa proizvodnje tradicionalnog kuhanog sira u laboratorijskim uvjetima. Diplomski rad. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek.
21. MIKUŠ, T. (2008): Tehnologija proizvodnje sireva u mini mljekari „ŠIMUN-MILK“. Diplomski rad. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
22. NJARI, B., M. HADŽIOSMANOVIĆ, B. MIOKOVIĆ, L. KOZAČINSKI, Ž. CVRTILA, D. PRANJIĆ (2002): Ocjena kakvoće domaćeg kuhanog sira. Znanstveno-stručno savjetovanje s međunarodnim sudjelovanjem. Veterinarski dani 2002. Rovinj, listopad 2002. Zbornik.
23. PAVIČIĆ, Ž., M. HADŽIOSMANOVIĆ (1996): Mlijeko i prerađevine. Gospodarski list, Zagreb.
24. PLAVETIĆ, D. (2001): Ocjena kakvoće domaćeg kuhanog sira iz okolice Karlovca. Diplomski rad. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
25. ROŠTAN, N. (2014): Kemijski sastav i kakvoća kuhanog sira. Diplomski rad. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
26. ROŽIĆ, J. (2014): Utjecaj pohrane na rast bakterije *L. monocytogenes* u kuhanom kravljem siru. Diplomski rad. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
27. SABLJAK V., K. LISAK-JAKOPOVIĆ, I. BARUKČIĆ, A. PEJAKOVIĆ, R. BOŽANIĆ (2013): Određivanje trajnosti tradicionalnog svježeg sira. Croatian Journal of Food Technology, Biotechnology and Nutrition 8 (3-4), 115-122.
28. TRATNIK, LJ. (1998): Mlijeko-tehnologija, biokemija i mikrobiologija. Udžbenik Sveučilišta u Zagrebu. Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb.

8. Sažetak

KAKVOĆA I MIKROBIOLOŠKA ISPRAVNOST KUHANOG SIRA

Kuhani sir je vrlo čest proizvod koji se dobiva od sirovog mlijeka. Cilj rada je bio odrediti kemijski i mikrobiološki sastav svježeg sirovog mlijeka i njegov utjecaj na senzorička, kemijska i mikrobiološka svojstva kuhanih sireva. Istraživanjem smo dokazali razlike u senzoričkim, kemijskim i mikrobiološkim parametrima između dva gospodarstva. Kemijskom analizom smo sireve klasificirali u skupinu polutvrdih punomasnih sireva. Mikrobiološkom analizom smo ustanovili nesukladnosti na „gospodarstvu A“ gdje je utvrđen povećan broj koagulaza pozitivnih stafilokoka, te kvasaca i plijesni u pretraženim sirevima prvog dana ali i nakon sedam dana pohrane u hladnjaku. Mikrobiološka kakvoća utjecala je na održivost sireva.

KLJUČNE RIJEČI: sirovo mlijeko, kuhani sir, kakvoća, mikrobiološka ispravnost, održivost

9. Summary

QUALITY AND MICROBIOLOGICAL CORRECTNESS OF COOKED CHEESE

Cooked cheese is a frequent product obtained from raw milk. Our aim was to define chemical and microbiological structure of raw milk and his influence on sensory, chemical and microbiological performances of cooked cheese. In a research we proved the differences in sensory, chemical and microbiological parameters between two farms. We classified products in a group of semi-hard full-fat cheese by chemical analysis. We determined slight differences on “farm A” where there was increase number of coagulase-positive staphylococci and yeasts and molds in cheese searched on the first day and after seven days of sitting in a fridge. Microbiological quality influenced the sustainability of cheeses.

KEY WORDS: raw milk, cooked cheese, quality, microbiological safety, sustainability

10. Životopis

Leo Salopek je rođen 25.05.1990. u Zagrebu. Osnovnu školu završio je u Božjakovini. Također je 2009. godine završio XV. Gimnaziju u Zagrebu, prirodoslovno-matematički smjer, te upisuje Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Apsolvent je integriranog preddiplomskog i diplomskog studija Veterinarske medicine, smjer Higijena i tehnologija animalnih namirnica i veterinarsko javno zdravstvo.