Fizikalno - kemijske, mikrobiološke i promjene strukture tijekom zrenja kravljeg, ovčjeg i miješanog sira

Petrović, Denis

Undergraduate thesis / Završni rad

2015

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Karlovac University of Applied Sciences / Veleučilište u Karlovcu**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:128:200112

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

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

VELEUČILIŠTE U KARLOVCU
Karlovac University of Applied Sciences

Repository / Repozitorij:

Repository of Karlovac University of Applied Sciences - Institutional Repository

zir.nsk.hr

Image not found or type unknown

VELEUČILIŠTE U KARLOVCU

ODJEL PREHRAMBENE TEHNOLOGIJE

PRERADA MLIJEKA

Denis Petrović

FIZIKALNO – KEMIJSKE, MIKROBIOLOŠKE I PROMJENE STRUKTURE TIJEKOM ZRENJA KRAVLJEG, OVČJEG I MIJEŠANOG SIRA

ZAVRŠNI RAD

Karlovac, srpanj, 2015.

VELEUČILIŠTE U KARLOVCU

ODJEL PREHRAMBENE TEHNOLOGIJE

PRERADA MLIJEKA

Denis Petrović

FIZIKALNO – KEMIJSKE, MIKROBIOLOŠKE I PROMJENE STRUKTURE TIJEKOM ZRENJA KRAVLJEG, OVČJEG I MIJEŠANOG SIRA

ZAVRŠNI RAD

Mentor:

doc. dr. sc. Marijana Blažić

Karlovac, srpanj, 2015.

PREDGOVOR

Zahvaljujem mentorici, ***doc. dr. sc. Marijani Blažić*** *na vremenu, predloženoj temi, stručnoj pomoći i savjetima tijekom izrade ovog završnog rada.*

Hvala ***Paolu i Rafaelu*** *na bratskoj ljubavi koja me gurala naprijed i podršci koju su mi pružali svaki dan.*

Hvala mojim prijateljicama ***Nini, Mariji i Josipi*** *i svima koje sam upoznao tijekom svog studiranja i koji su mi uljepšali studentske dane.*

Osobito se zahvaljujem svome ***ocu*** *i svojoj* ***majci*** *na bezuvjetnoj ljubavi i podršci koju su mi pružali sve ove godine i bez kojih moje studiranje ne bi bilo moguće. Ovaj rad posvećujem njima!*

SAŽETAK

U radu su izložene najnovije teorijske spoznaje iz područja sirarstva te su detaljno opisani svi parametri proizvodnje sira prema dugogodišnjoj tradiciji sirane Vesna Loborika. Sirevi su proizvedeni u varijantama tvrdog i polutvrdog kravljeg, ovčjeg i miješanog sira. Od svake vrste sireva uzeti su uzorci iz različitih faza zrenja i na njima su obavljene fizikalno-kemijske, mikrobiološke i analize teksture. Fizikalno kemijske analize obuhvatile su sljedeće parametre: udio proteina, mliječne masti, vlage i soli, zatim pH-vrijednost, aktivitet vode, boju i teksturu te prisutnost patogenih mikroorganizama. U rezultatima rada opisane su i grafički prikazane promjene navedenih parametara tijekom zrenja. Mikrobiološka analiza uključuje određivanje prisutnosti bakterija koje su primarni ljudski patogeni: *Clostridie, Escherichia coli, Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus* i *Salmonella* te su u rezultatima rada tabelarno prikazani rezultati provedene mikrobiološke analize.

Sir je namirnica u kojoj je tekstura važan faktor pri ocjenjivanju kvalitete. Brojna istraživanja potvrdila su da tekstura, isto kao i okus, utječe na percepciju potrošača u smislu kvalitete i prihvatljivosti. Brojna istraživanja fokusirala su se na povezanost senzorskih teksturalnih osobina sira s instrumentalnim analizama teksturalnog profila. Od teksturalnih parametara ispitivani su tvrdoća, kohezivnost, adhezivnost, elastičnost, rastezljivost te otpor žvakanju.

Ključne riječi: analiza sira, faze zrenja, kravlji, ovčji i miješani sir, parametri proizvodnje, tekstura i boja sira

ABSTRACT

The paper presents the most recent theoretical insights pertaining to cheesemaking and gives an overview of all parameters of cheese production according to the long tradition of the Vesna Loborika cheese dairy. The cheeses are produced in the following variants: hard and semi-hard cow's milk, goat's milk and mixed cheeses. Samples were taken from each kind of cheese and from different stages of ripening, and physico-chemical, microbiological and sensory analyses were carried out. The analyses included the following parameters: protein content, milk fat content, water and salt content, the pH value, water activity, color and texture, and the presence of pathogenic microorganisms. Changes of the aforementioned parameters during ripening are described and illustrated with graphs in the results section of the paper. The microbiological analysis included determining the presence of bacteria that are primary human pathogens: *Clostridia, Escherichia coli, Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus* and *Salmonella,* and the results are presented in the form of tables in the results section of the paper.

Cheese is a food whose texture plays an important factor in evaluating its quality. Numerous studies have confirmed that texture, as well as taste, affects the perception of consumers in terms of quality and acceptability. Numerous studies have focused on the connection between sensory textural characteristics of cheese and the instrumental analyses of its textural profile. The tested textural parameters included hardness, cohesiveness, adhesiveness, resilience, elasticity and resistance to chewing.

Keywords: cheese analysis, cheese ripening phases, cheese texture and colour, cow's milk, goat's milk and mixed cheeses, production parameters

SADRŽAJ

1. UVOD 1
2. TEORIJSKI DIO 3
2.1. Mlijeko 4
2.2. Kvaliteta mlijeka za sirenje 5
2.2.1. Fizikalno-kemijska i mikrobiološka svojstva mlijeka za sirenje 7
2.3. Tehnološki proces proizvodnje sira 8
2.3.1. Odabir i čuvanje mlijeka 9
2.3.2. Standardizacija (tipizacija) udjela mliječne masti u mlijeku 10
2.3.3. Homogenizacija mlijeka 12
2.3.4. Toplinska obrada mlijeka 13
2.3.5. Baktofugacija i mikrofiltracija mlijeka 14
2.3.6. Temperiranje mlijeka za sirenje 15
2.3.7. Dodaci mlijeku za sirenje 16
2.3.7.1. Mljekarske kulture 16
2.3.7.1.1. Grušanje mlijeka djelovanjem kiseline 17
2.3.7.2. Sirilo 18
2.3.7.2.1. Koagulacija kazeina djelovanjem enzima 19
2.3.7.3. $CaCl_2$ 19
2.3.7.4. Natrijev ili kalijev nitrat 20
2.3.7.5. Lizozim 20
2.3.8. Obrada nastalog gruša 20
2.3.9. Oblikovanje i prešanje sireva 22
2.3.10. Soljenje sireva 23
2.3.11. Zrenje sireva 24
2.3.11.1. Primarno zrenje sira 25
2.3.11.2. Sekundarno zrenje sira 25
2.3.12. Zaštita i skladištenje sireva 25
2.4. Tekstura sira 27
3. EKSPERIMENTALNI DIO 28
3.1. Zadatak rada 29
3.2. Materijali i metode rada 29
3.3. Fizikalno-kemijska analiza sira 29
3.3.1. Određivanje udjela mliječne masti u siru 29
3.3.2. Određivanje udjela proteina u siru 30
3.3.3. Određivanje udjela suhe tvari u siru 31
3.3.4. Određivanje udjela soli u siru – metoda po IDF-u 31
3.3.5. Određivanje pH-vrijednosti sira 32
3.4. Mikrobiološka analiza sira 32
3.4.1. Metode određivanje bakterija roda Salmonella 33
3.4.2. Metode određivanja Lysterie monocytogenes 33
3.4.3. Metode određivanja koliformnih bakterija 34

3.4.4. Metoda određivanja bakterija roda Staphylococcus 34
3.4.5. Metoda određivanja broja bakterija roda Clostridium 35
3.5. Analiza boje sireva 35
3.6. Određivanje svojstava teksture sireva 36
3.6.2. Test proboda (Puncture test) 37
3.7. Statistička analiza 38
4. REZULTATI 39
5. RASPRAVA 49
6. ZAKLJUČCI 52
7. LITERATURA 54
8. PRILOZI 56

1. UVOD

Fermentacija mlijeka početak je razvoja sirarstva i proizvodnje fermentiranih mliječnih napitaka kao što su jogurt, kefir ili kumis. Najvažnija karakteristika prerade mlijeka u sir je otjecanje sirutke iz gruša kroz različite perforirane posude u kojima nakon odvajanja sirutke ostaje gruš koji se soljenjem pretvara u sir.

Proizvodnja sira jedan je od najstarijih postupaka koji su ljudi uveli u konzerviranje lako pokvarljive hrane kao što je mlijeko, koje se spontano kiseli i gruša.

Suvremena industrija sira razvila se od prerade mlijeka na malim obiteljskim poljoprivrednim gospodarstvima. Sirarstvo danas čini sastavni dio nacionalnih i multinacionalnih prehrambenih industrija i tržište opskrbljuje vrlo vrijednim sirevima. Proizvodnja sira u svijetu naglo je porasla potkraj 19. i početkom 20. stoljeća, a od tada se neprestano povećava. Prema statističkim podacima iz 1963. godine, svjetska proizvodnja sira iznosila je 5 934 000 tona, da bi 1993. porasla na 13 532 455 tona, a 1998. na oko $15x10^6$ tona. Prema podacima Međunarodne mljekarske federacije, u svijetu se godišnje proizvede $700x10^6$ tona raznih vrsta mlijeka.

Proizvodnja sira je vrhunac mljekarske tehnike. Ovisno o odabranom proizvodnom procesu dobivaju se visoko cijenjeni proizvodi, različitog sastava i senzorskih osobina. U proizvodnji polutvrdog/tvrdog sira uklanja se sirutka, dok se mliječna mast i mliječni proteini prevode u tvrdi, dugotrajni, nutritivno vrijedni proizvod. Bez obzira o kojem se tipu tvrdog sira radi, osnovni koraci u proizvodnji su standardni i vrlo malo se razlikuju. Moguće su varijacije u upotrijebljenoj mljekarskoj starter kulturi za zrenje, trajanju zrenja mlijeka i sira, aditivima, vrsti mlijeka i nekim drugim parametrima (Vedran Slačanac, 2008.).

U svijetu je proizvedeno ukupno 568 milijardi litara svih vrsta mlijeka, od čega kravljeg mlijeka ima najviše (85,2 %). Na drugom mjestu po proizvodnji je bivolje mlijeko (10,9 %), dok je kozjeg (2 %) i ovčjeg mlijeka (2 %) puno manje.

Mediteranske zemlje imaju dugu tradiciju ovčarstva, proizvodnje i prerade ovčjeg mlijeka. U posljednjih desetak godina je zabilježen značajan porast proizvodnje i prerade ovčjeg mlijeka. U Hrvatskoj se najviše ovčjeg mlijeka proizvodi u priobalnim područjima (Pagu, Krku, Braču, Cresu, Istri i Dalmaciji) i u kontinentalnim županijama (Požeško-slavonska, Ličko-senjska, Virovitičko-podravska te Varaždinska) (Vukašinović i sur., 2008).

Službene stranice Ministarstva poljoprivrede (www.mps.hr) navode kako u Republici Hrvatskoj, prema podacima Hrvatske poljoprivredne agencije (HPA), početkom ožujka 2015.

godine nešto više od 10.000 poljoprivrednika na mjesečnoj razini isporučuje mlijeko. Iako je broj isporučitelja u odnosu na prethodno razdoblje u blagom padu, prosječna godišnja isporuka kravljeg mlijeka po isporučitelju je u porastu. Poseban napredak u proizvodnji mlijeka u Republici Hrvatskoj vidljiv je iz podatka o povećanju isporuke mlijeka 1. klase. Naime, 2014. godine 96,1 % isporučenog mlijeka bilo je 1. klase. U proteklih 12 godina, a pogotovo nakon ulaska Hrvatske u Europsku uniju, drastično su se promijenili tržišni uvjeti kao i uvjeti stavljanja mlijeka na tržište.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. MLIJEKO

Mlijeko je biološka tekućina, vrlo složenog i promjenjivog sastava, bijele do žućkastobijele boje, karakterističnog okusa i mirisa, koju izlučuje mliječna žlijezda ženki sisavaca određeno vrijeme nakon poroda. Pod pojmom „mlijeko“ uvijek se podrazumijeva „kravlje mlijeko“, dok se ostale vrste mlijeka moraju istaknuti oznakom –„ovčje“, „kozje“, „bivolje“, „kobilje“, kao i majčino mlijeko. Pojedine vrste mlijeka uglavnom sadržavaju iste sastojke, ali udjeli i odnosi sastojaka pa i njihova struktura mogu biti vrlo različiti (Tratnik i Božanić, 2012.).

Tablica 1. Sastav mlijeka ženki raznih sisavaca (Izvor: Wikipedia)

Sastav	Čovjek	Krava	Ovca	Koza	Konj	Sob	Bivol
Voda	87,2%	87,5%	82,7%	86,6%	90,1%	66,9%	82,8%
Ugljikohidrati	7,0%	4,8%	6,3%	3,9%	5,9%	2,8%	5,5%
Mliječna mast	4,0%	<4,2%	3,7%	3,7%	1,5%	16,9%	7,4%
Bjelančevine	1,5%	3,5%	4,6%	4,2%	2,1%	16,9%	3,6%
Elementi u tragovima	0,3%	0,7%	0,9%	0,8%	0,4%	1,2%	

Prema Tratnik i Božanić (2012.), mlijeko se „stvara“ iz specifičnih sastojaka koji prelaze iz krvi u mliječnu žlijezdu, gdje se zbivaju vrlo složeni biokemijski procesi sekrecije. Neki se sastojci mlijeka sintetiziraju u mliječnoj žlijezdi od sastojaka koji potječu iz krvi. Tako u vrlo složenim procesima biosinteze nastaju mliječna mast, laktoza (mliječni šećer) i proteini (kazein, α-laktoalbumin i β-laktoglobulin). Ostali sastojci, kao mineralne tvari, vitamini, neki enzimi, albumin krvnog seruma, imunoglobulini i brojni drugi glikoproteini izravno prelaze iz krvi u mliječnu žlijezdu i postaju sastojci mlijeka. Da bi se sintetizirala 1 L mlijeka, kroz krvožilni sustav vimena treba procirkulirati od 400 do 500 L krvi.

Sastav mlijeka vrlo je promjenjiv, što ovisi o brojnim čimbenicima – pasmini, zdravstvenom stanju muznih životinja, redoslijedu i stadiju laktacije, načinu i vrsti hranidbe, sezoni, vrsti mužnje (ručna, strojna) te o samom individuumu (dob, tjelesna masa i sl.). Treba napomenuti da je u mlijeku najviše promjenjiv udio mliječne masti, a najmanje udio laktoze (Tratnik i Božanić, 2012.).

Prema Pravilniku o kakvoći svježeg sirovog mlijeka (2000.), sirovo mlijeko jest prirodni sekret mliječne žlijezde, dobiveno redovnom i neprekidnom mužnjom jedne ili više zdravih muznih životinja, pravilno hranjenih i držanih, kojem nije ništa dodano niti oduzeto i nije zagrijavano na temperaturu višu od 40 °C.

Sirovo mlijeko koje se stavlja u promet mora zadovoljavati sljedeće uvjete:

- mora potjecati od zdravih muznih životinja kod kojih je do poroda najmanje 30 dana, ili je od poroda prošlo više od 8 dana;
- mora imati svojstven izgled, boju, miris i okus;
- najkasnije dva sata nakon mužnje mora biti ohlađeno na temperaturu do 6 °C;
- ne smije sadržavati mehaničke nečistoće niti dodane količine vode;
- ne smije sadržavati rezidue iznad dozvoljene količine koje imaju farmakološko ili hormonalno djelovanje te antibiotike, deterdžente i druge štetne tvari koje mijenjaju organoleptička svojstva mlijeka.

2.2. KVALITETA MLIJEKA ZA SIRENJE

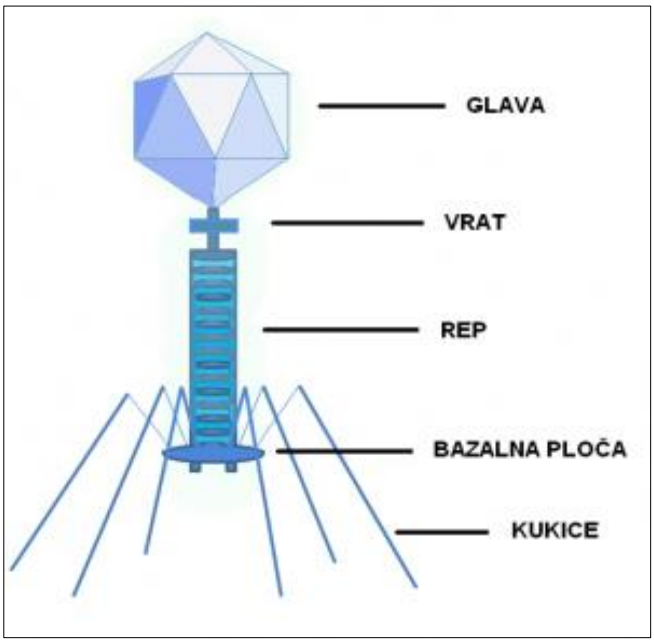
Kvalitetu mlijeka za sirenje određuju kemijski parametri, fizikalna i organoleptička svojstva te higijenska kvaliteta. Najvažniji su kemijski parametri mlijeka za sirenje: udio proteina (kazeina), udio mliječne masti i suhe tvari. Fizikalna svojstva koja izravno utječu na kvalitetu sira su kiselost i točka ledišta mlijeka. Higijenska kvaliteta mlijeka određena je ukupnim brojem mikroorganizama i brojem somatskih stanica (Havranek i sur., 2014.).

Za pravilan tijek zrenja mlijeka vrlo važnu ulogu može igrati i prisutnost inhibitornih tvari u mlijeku, koje usporavaju razvoj bakterija mliječne kiseline.

Havranek i suradnici (2014.) navode da su najčešće inhibitorne tvari mlijeka:

- Deterdženti i dezinficijensi za pranje kompletne mljekarske opreme, pribora i svega što dolazi u direktan kontakt s mlijekom budući da njihovi ostatci mogu inhibirati rast mikrobnih kultura. Kontaminacija mikrobnih kultura i mlijeka za sirenje posljedica je ljudske nepažnje ili neispravnosti uređaja za automatsko pranje u mjestu (CIP sustav).

- Antibiotici koji mogu biti prisutni u mlijeku tijekom liječenja bolesnih životinja, a inhibiraju aktivnost mikrobnih kultura. Sve bakterije mliječne kiseline osjetljive su na prisutnost antibiotika, i to već u vrlo malim koncentracijama. Takvo se mlijeko ne smije koristiti ni za potrošače jer može uzrokovati neke alergije ili može smanjiti osjetljivost organizma na doze antibiotika koji se primjenjuju u liječenju bolesti (antibiotska rezistencija).
- Bakteriofagi ili fagi su bakterijski virusi koji napadaju i uništavaju bakterijske stanice mikrobnih kultura. Bakteriofag je građen od glave (s DNA) koja može biti okrugla (izometrična) ili izdužena (elipsoidna) i repa (24 – 500 nm) koji sadrži bazalnu ploču s trnjem i/ili fibrilima. Pomoću repa lijepe se za staničnu membranu te ubrizgavaju svoj DNA u citoplazmu stanične bakterije. Tada prestaje razvoj stanične bakterije i počinje sinteza DNA bakteriofaga. U zaštiti protiv faga u prvom redu treba primijeniti osobitu higijenu i sterilnost uređaja i prostorija, zatim ultraljubičasto zračenje, a nusproizvode koji mogu sadržavati bakteriofag (sirutka, stepka, voda od ispiranja uređaja i sl.) treba što prije ukloniti.



Slika 1. Bakteriofag

(Izvor: http://www.bionet-skola.com/w/Datoteka:Bakteriofagi1.png)

2.2.1. FIZIKALNO-KEMIJSKA I MIKROBIOLOŠKA SVOJSTVA MLIJEKA ZA SIRENJE

Havranek i suradnici (2014.) navode da proizvodnja sira podrazumijeva prevođenje pojedinih sastojaka mlijeka u sir, prvenstveno proteina (kazeina) i mliječne masti. Stoga je osim udjela mliječne masti i proteina u mlijeku za sirenje važna i cjelovitost tih sastojaka koji izravno određuju količinu i kvalitetu sira. Odgovarajući odnos mliječne masti i proteina u mlijeku ima odlučujući utjecaj na kvalitetu i količinu sira. Odnos između mliječne masti i proteina u ovčjem mlijeku iznosi oko 1,42, a u kravljem 1,2 (optimalan odnos između mliječne masti i proteina u kravljem mlijeku je 1,1). U tom je odnosu masti i proteina najbolja iskoristivost tih sastojaka iz mlijeka za sir.

U proizvodnji sira najvažniji je udio proteina u mlijeku, a osobito kazeina (najvažnijeg proteina mlijeka). Proteini mlijeka sastoje se od kazeina (proteina koji se ugrađuje u sir) i sirutkinih proteina koji se gube sirutkom, a koriste se u proizvodnji albuminskog sira – skute. Mlijeko s niskim udjelom proteina (kazeina) i s oštećenim kazeinskim micelama nema dobra svojstva za sirenje, a randman je niži.

Najznačajnija fizikalna svojstva mlijeka za sirenje su pH-vrijednost, točka ledišta mlijeka te gustoća. Prema Pravilniku o kakvoći svježeg sirovog mlijeka (2000.), pH-vrijednost kravljeg mlijeka treba biti između 6,5 i 6,7, odnosno 6,6 do 6,8 °SH, gustoća mlijeka treba biti od 1,028 do 1,034 g/cm³ mjereno na 20 °C, a točka ledišta od -0,517 do -0,530 °C. Pravilnik propisuje za ovčje mlijeko pH-vrijednost od 6,5 do 6,8, odnosno 8,0 do 12,00 °SH, gustoću od 1,034 do 1,042 g/cm³ mjereno na 20 °C, a točku ledišta ne višu od -0,560 °C. Također, pH-vrijednost kozjeg mlijeka treba biti od 6,4 do 6,7, odnosno 6,5 do 8,00 °SH, gustoća mlijeka od 1,024 do 1,040 g/cm³ mjereno na 20 °C, a točka ledišta ne smije biti viša od -0,540 °C.

Ukupan broj mikroorganizama izražava se brojem aerobnih mezofilnih bakterija u ml mlijeka, koji se razvija na temperaturi od 30 °C i izražava brojem poraslih kolonija (cfu – *colony forming unit*) u 1 ml mlijeka. Pouzdana kontrola mikrobiološke kvalitete sirovog mlijeka provodi se utvrđivanjem ukupnog broja aerobnih mezofilnih bakterija u sirovom mlijeku metodom epifluorescentne protočne citometrije na instrumentu BactoScan. Jezgru bakterijske stanice oboji fluorescentnom bojom što omogućuje brojanje bakterija. Ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija može se odrediti i referentnom modificiranom metodom, nasađivanjem prethodno pripremljenih decimalnih razrjeđenja uzorka sirovog mlijeka na specifičnu hranjivu

podlogu u petrijevim posudama. Kod te metode provodi se aerobna inkubacija petrijevih posuda na 30 °C/72 h. Nakon inkubacije određuje se broj izraslih kolonija te se broj mikroorganizama u ml mlijeka izračunava iz broja kolonija izraslih na petrijevim posudicama, uzevši u obzir razinu decimalnog razrjeđenja.

Somatske stanice u mlijeku sastoje se od leukocita i epitelnih stanica alveola i kanalića mliječne žlijezde. Njihov broj određuje se fluoro-opto-elektronskom metodom, te prema Pravilniku ne smije biti veći od 400.000/ml. Povećan broj somatskih stanica u mlijeku krava najčešće je posljedica upale vimena (mastitisa), a odražava se poremećajem u sekreciji i promjenama kemijskog sastava, fizikalnih, mikrobioloških i tehnoloških svojstava mlijeka te smanjenom mliječnošću krava.

Stoga, kako bi se minimalizirala kontaminacija mlijeka, potrebno je zadovoljiti nekoliko bitnih uvjeta, što se vidi iz pregleda koji su dale Tratnik i Božanić (2012.):

- besprijekornu higijenu mužnje i daljnjeg rukovanja s mlijekom,
- mlijeko što prije iznijeti iz staje i ohladiti ga u laktofrizu na temperaturu od 4 °C,
- osigurati zatvoreni sistem manipulacije mlijekom,
- osigurati što kraće hladno skladištenje mlijeka,
- osigurati što kraći transport mlijeka uz obavezno hlađenje,
- bezuvjetnu sterilnost svih uređaja, aparature i opreme,
- mlijeko što prije toplinski obraditi (pasterizacija ili sterilizacija),
- mlijeko što prije preraditi u željeni proizvod.

2.3. TEHNOLOŠKI PROCES PROIZVODNJE SIRA

U objekt za preradu mlijeka svakodnevno se prima mlijeko određena sastava (mliječna mast, protein, suha tvar) i određenih svojstava (prisutnost poželjnih ili nepoželjnih mikroorganizama, somatskih stanica, antibiotika) na koje sirar u određenoj mjeri može utjecati.

Prema Havranek i sur. (2014.), dva su osnovna cilja tehnologije proizvodnje sira – ustanoviti parametre koji siru daju zadana i poželjna svojstva (okus, miris, aroma, tekstura, topljivost i

sposobnost razvlačenja), te izraditi protokol proizvodnje i zrenja sira, čime se osigurava ujednačena kvaliteta gotovog proizvoda.

Moderna sirarska proizvodnja tijekom svog postojanja razvila se od male farmerske do visokotehnološki razvijene industrijske proizvodnje.

2.3.1. ODABIR I ČUVANJE MLIJEKA

Neposredno nakon mužnje, prije ulijevanja u rashladni uređaj, mlijeko se filtrira kako bi se izdvojile mehaničke nečistoće. U zatvorenim sustavima mljekovoda mlijeko se filtrira prije ulaska u laktofriz pomoću filtra umetnuta u sustav mljekovoda (Havranek i sur., 2014.). Mlijeko treba biti rashlađeno na +4°C odmah nakon mužnje i treba ga održavati na toj temperaturi cijelim putem do mljekare, odnosno sirane. Laktofriz je spremnik za mlijeko sa zapremninom od 250 do 10 000 litara koji je opremljen miješalicom i rashladnim sustavom. Početni uvjet prema kojem se projektira i dimenzionira laktofriz jest da cjelokupna količina mlijeka u spremniku bude rashlađena na 4 °C unutar 2 sata nakon mužnje.

Tratnik i Božanić (2012.) ističu da se u proizvodnji sira može upotrijebiti bilo koja vrsta mlijeka. Najviše se upotrebljava kravlje mlijeko jer ga najviše ima, a u mnogim se krajevima u proizvodnji tradicijskih vrsta sira koristi i mlijeko drugih životinja. Primjerice, sir rokfor koji se prozvodi u pokrajini Roqueforti, ima zaštićeno ime Roqueforti® samo ako je proizveden od ovčjeg mlijeka, a ako se proizvodi od kravljeg mlijeka ili u drugoj pokrajini, mora se nazvati drugim imenom. Ovčje mlijeko koristi se i u proizvodnji sira feta, ricota, pekorino i sl. U Hrvatskoj se ovčje mlijeko najčešće upotrebljava u proizvodnji tradicionalnih sireva na otocima, a naš se najpoznatiji Paški sir mora proizvoditi samo od ovčjeg mlijeka paške ovce. Kozje mlijeko uglavnom se koristi za neke vrste sireva koji se proizvode u Italiji, Francuskoj i Grčkoj, dok se bivolje mlijeko obično koristi u Indiji i Egiptu.

U proizvodnji sira najvažnija je količina proteina u mlijeku, a posebno treba očuvati prirodna svojstva kazeina (bolja kvaliteta i veći randman), te osigurati dovoljnu količinu topljivog kalcija potrebnog za sirenje mlijeka djelovanjem enzima.

Ako se mlijeko ne može odmah preraditi u sir, bitno je tijekom čuvanja mlijeka zadržati njegova prirodna svojstva koja mogu biti promijenjena zbog kontaminacije mikroorganizmima. Ako se mora dulje čuvati, mlijeko je potrebno termalizirati. Termalizacija

nije standardizirana pa se može provoditi pri 57-68 °C tijekom 15-60 sekundi, te će privremeno inhibirati rast bakterija i neće inaktivirati enzime fosfataze. Stoga termalizacija ne može biti zamjena za pasterizaciju. Dvostruka pasterizacija mlijeka zakonski je zabranjena u mnogim zemljama pa se prije duljeg čuvanja mlijeka (2-3 dana) može primijeniti samo termalizacija koja ne uzrokuje ireverzibilne promjene sastojaka.



Slika 2. Laktofriz (Izvor: fotografija, D. Petrović)

2.3.2. STANDARDIZACIJA (TIPIZACIJA) UDJELA MLIJEČNE MASTI U MLIJEKU

Havranek i sur. (2014.) navode da je jedan od najvažnijih postupaka pripreme mlijeka za sirenje svakako standardizacija sadržaja mliječne masti, odnosno njegova tipizacija. Mliječna mast u mlijeku za sirenje tipizira se jer razne vrste sireva sadrže različit udio masti u suhoj tvari sira. Budući da mlijeko dopremljeno s farmi u siranu u pravilu sadrži veći udio mliječne mastiod potrebnog za sirenje, ono se obire ili se dodaje obrano mlijeko. Za izračun potrebne količine dodanog obranog mlijeka, prilikom standardizacije mliječne masti u kotlu za sirenje koristi se Pearsonov trokut.

Nije jednostavno proizvesti sir standardne kvalitete, osobito po udjelu mliječne masti. Stoga je potrebno provesti pokusnu proizvodnju sira od istog mlijeka, ali s različitim udjelom masti te prema kontroliranom siru odrediti od kojeg će se mlijeka dobiti sir željene masnoće. Ti se

pokusi moraju ponoviti u svakoj sezoni, zbog promjene sastava i svojstava mlijeka tijekom sezone, laktacije, hranidbe i sl.

U suvremenoj proizvodnji sira prakticira se u mlijeku standardizirati omjer kazein: mliječna mast kako bi se dobio proizvod željene teksture i konzistencije te kako bi se povećao randman sira.

U sirarskoj je industriji moguće standardizirati udjel proteina u mlijeku, što se može postići primjenom ultrafiltracije. Ultrafiltracija (UF) je membranski postupak koncentriranja proteina prilikom čega se povećava udio proteina u suhoj tvari. Pri ultrafiltraciji obranog mlijeka moguće je postići koncentrat s oko 80 % proteina u suhoj tvari. Tada protok permeata (filtrata, tekućine koja prolazi kroz membranu) znatno opada pa se u praksi radi ekonomičnosti procesa uglavnom provodi niži stupanj koncentriranja, a najčešće do 60 % proteina u suhoj tvari (Tratnik i Božanić, 2012.)



Slika 3. Centrifugalni separator

(Izvor: fotografija, S. Kalit)

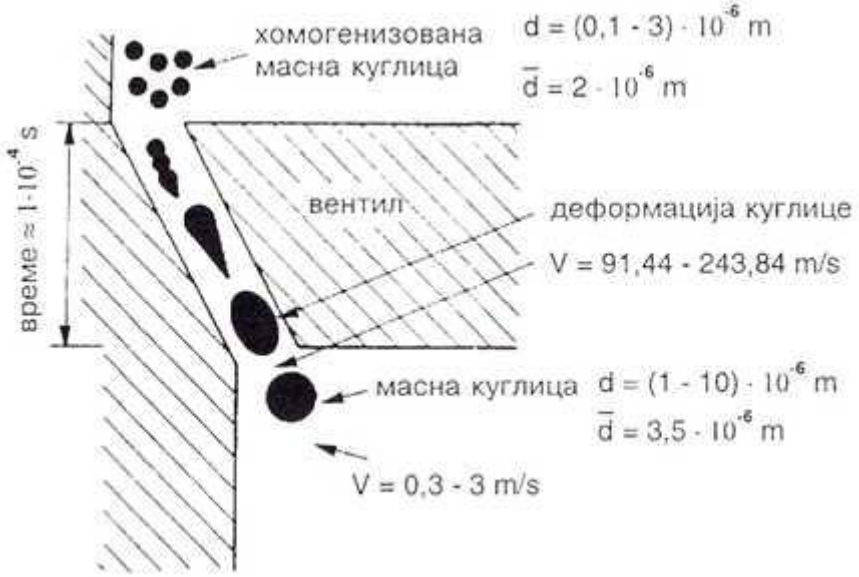


Slika 4. Centrifugalni separator

(Izvor: fotografija, D. Petrović)

2.3.3. HOMOGENIZACIJA MLIJEKA

Homogenizacija je postupak usitnjavanja i izjednačavanja veličine globula mliječne masti u mlijeku pod utjecajem visokog tlaka radi veće stabilnosti mliječne masti u mlijeku. Homogenizacija se u praksi može provoditi pod tlakom od 15 do 30 MPa (150-300 bara) i pri temperaturi od 65 °C (uvijek se provodi homogenizacija toplog mlijeka jer se u toplom mlijeku mliječna mast nalazi kao emulzija). Pri uobičajenim uvjetima tlaka nastaju uglavnom globule masti promjera manjeg od 2 μm ($2x10^{-6}$m). Ustanovljeno je da se nakon homogenizacije broj globula može povećati oko 100 puta, a ukupna površina globula 6-10 puta.



Slika 5. Shematski prikaz homogenizacije mlijeka
(Izvor: http://www.tehnologijahrane.com/enciklopedija/homogenizacija-mlijeka)

Tratnik i Božanić (2012.) iznose zaključak do kojih fizikalno – kemijskih promjena u mlijeku dovodi postupak homogenizacije:

- intenzivnija bijela boja,
- veća viskoznost,
- veća površinska napetost,
- smanjena sposobnost koagulacije kazeina,

- smanjuje se osmotski tlak i ledište mlijeka,
- smanjena sklonost oksidacije masti,
- povećana sklonost lipolize,
- smanjena stabilnost proteina,
- bolja probavljivost.

Osim u proizvodnji određenih vrsta sireva – *feta, roqueforti, gorgonzola, camambert,* itd., homogenizacija se rijetko primjenjuje jer u mlijeku uzrokuje promjene koje dovode do oblikovanja mekšeg gruša, uz smanjenu sposobnost kontrakcije i odvajanja sirutke (Havranek i sur., 2014.; Tratnik i Božanić, 2012.)

2.3.4. TOPLINSKA OBRADA MLIJEKA

Prema Havranek i sur. (2014.), sirevi se mogu proizvoditi od sirovog ili toplinski obrađenog mlijeka. Sirovo mlijeko uglavnom se koristi za proizvodnju tradicionalnih autohtonih sireva. Usporedimo li sireve od sirovog i sireve od toplinski obrađenog mlijeka, možemo zapaziti izraženiji okus, miris i aromu sireva proizvedenih od sirovog mlijeka. Međutim, ti sirevi mogu imati i određene pogreške ako je mlijeko za sirenje loše mikrobiološke kakvoće.

U industrijskom sirarstvu, pasterizacija mlijeka redovito se provodi radi uništavanja svih patogenih i većine ostalih vegetativnih mikroorganizama te osiguravanja standardne mikrobiološke kvalitete mlijeka za sirenje. Pasterizacijom se izbjegavaju fermentacijske pogreške koje se mogu pojaviti tijekom proizvodnje. Međutim, pasterizacijom se uništavaju i prirodne korisne bakterije mliječne kiseline potrebne u proizvodnji sireva. Kako bi se postignulo potrebno zakiseljavanje i zrenje sira, u pasterizirano mlijeko se moraju dodati selekcionirani mikroorganizmi mliječne fermentacije (mikrobna kultura). Mikroorganizmi se dodaju u mlijeko radi stvaranja mliječne kiseline i kako bi njihovi enzimi sudjelovali u proteolitičkim i lipolitičkim promjenama tijekom zrenja.

U proizvodnji sira nije poželjna visoka toplinska obrada mlijeka koja oštećuje svojstvo sirenja, otpuštanje sirutke te uzrokuje vrlo meki sir. Mlijeko za sirenje može se toplinski obraditi na više načina. Za manje količine mlijeka prikladna je niska pasterizacija (63 – 65/30 min), kojom se neznatno mijenjaju fizikalno-kemijska svojstva mlijeka. U velikim pogonima najčešće se primjenjuje kratkotrajna srednja pasterizacija (72 – 75/15 – 20 s).



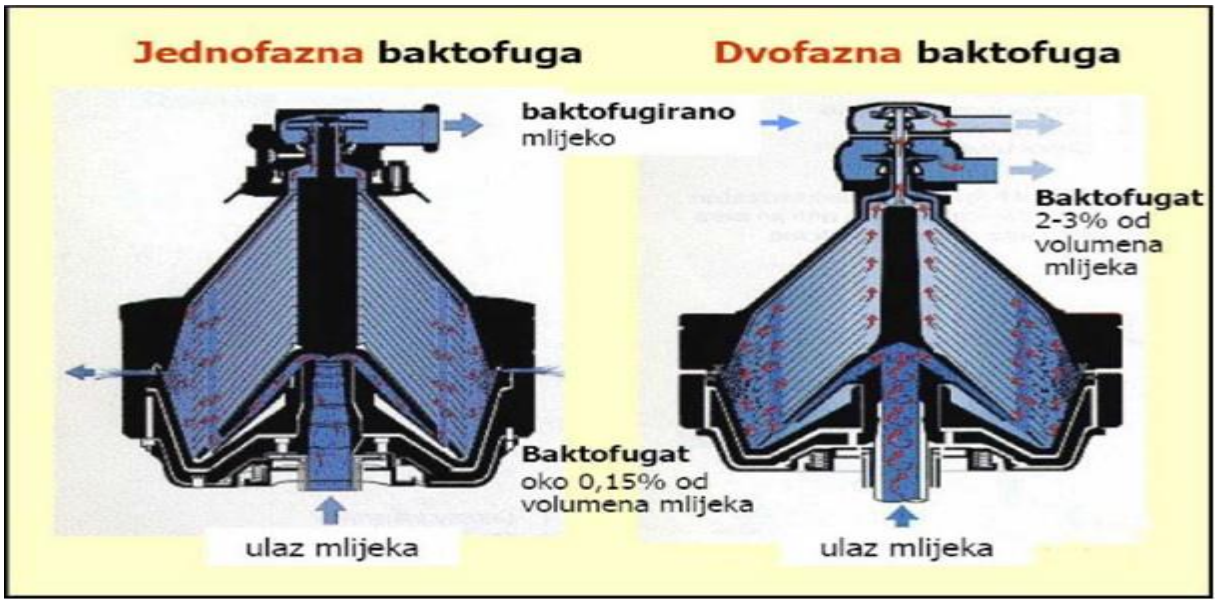
Slika 6. Duplikator (Izvor: fotografija, D. Petrović)

2.3.5. BAKTOFUGACIJA I MIKROFILTRACIJA MLIJEKA

Tratnik i Božanić (2012.) definiraju baktofugaciju kao proces separacije bakterija iz mlijeka, osobito sporogenih, modificiranom hermetičkom centrifugom – baktofugom. Tijekom baktofugacije, djelovanjem centrifugalne sile, dolazi do separacije mlijeka u dvije frakcije: baktofugirano mlijeko (oslobođeno od većeg broja bakterija i spora) i baktofugat (koncentrat bakterija i spora). Najoptimalnija temperatura baktofugacije je 55-60 °C s 16000 – 20000 okretaja u minuti. Separacija se odvija na principu različite gustoće bakterija (1,070-1,130 g/cm^3) i mlijeka (1,028-1,034 g/cm^3). Baktofugat (koncentrat bakterija) se sterilizira pri 130 °C u trajanju od nekoliko sekundi i zatim se pripaja baktofugiranom mlijeku.

Postoje dva tipa modernih baktofuga:

- dvo-fazna baktofuga sa dva izlaza, za tešku fazu s bakterijama i za baktofugirano mlijeko;
- jedno-fazna baktofuga – ima samo jedan izlaz za baktofugirano mlijeko. Baktofugat se sakuplja u prostoru sedimenta posude i izbacuje u namještenim intervalima.



Slika 7. Jednofazna i dvofazna baktofuga

(Izvor: https://www.maturski.org/Poljoprivreda/ProizvodnjaTvrdogSira.html)

Mikrofiltracija je također proces uklanjanja bakterija i njihovih spora, ali pomoću membrana (veličina pora 2 μm). Obrano mlijeko mikrofiltrira se preko odabranih membrana pri temperaturi od 50 °C. Zadržani koncentrat bakterija može se sterilizirati pri 120-130 °C/nekoliko sekunda, ohladiti i pripojiti mikrofiltriranom mlijeku (Tratnik i Božanić, 2012.).

2.3.6. TEMPERIRANJE MLIJEKA ZA SIRENJE

Havranek i sur. (2014.) navode da se temperatura mlijeka za sirenje postiže hlađenjem mlijeka nakon pasterizacije ili zagrijavanjem hladnog mlijeka u sirarskom kotlu uvođenjem ledene vode/vrele vode/pare u prostor između dvostrukih stijenki. Različite vrste sireva sire se pri različitim temperaturama, a one u pravilu iznose od 25 do 35 °C, ovisno o vrsti korištenog sirila, odnosno vrsti sira.

Najmanja je potrebna temperatura 20 °C, dok je optimalna temperatura 30 °C i više. Dakle, na temperaturama nižim od 10 °C mlijeko se ne zgrušava. Na temperaturama između 10 i 20 °C zgrušavanje mlijeka je sporo. Na temperaturama višim od 20 °C brzina zgrušavanje postupno se povećava do 42 °C. Na temperaturama višim od 65 °C zgrušavanje se ne odvija jer dolazi do deaktivacije enzima sirila.

2.3.7. DODACI MLIJEKU ZA SIRENJE

2.3.7.1. MLJEKARSKE KULTURE

Mljekarske kulture su pažljivo selekcionirani mikroorganizmi (bakterije, kvasci i plijesni) koji se dodaju u mlijeko zbog iniciranja i izvođenja poželjne fermentacije u proizvodnji različitih tipova sireva, fermentiranih mliječnih proizvoda i deserata.

Mljekarske kulture imaju višestruku funkciju:

- tvorba mliječne kiseline (snižava pH-vrijednost do 4,6 što uzrokuje denaturaciju kazeina, utječe na svježi okus sirnog gruša, uzrokuje stezanje gruša, omogućuje bolje odvajanje sirutke te potpomaže djelovanje sirila tijekom enzimskoga grušanja mlijeka),
- proizvodnja hlapljivih aromatskih komponenti (diacetila i acetoina) važnih za aromu svježih sireva i drugih mliječnih proizvoda,
- proizvodnja alkohola (kefir, kumis),
- proteolitička i lipolitička aktivnost tijekom zrenja sira,
- sprečava rast patogenih mikroorganizama i mikroorganizama kvarenja proizvoda snižavanjem pH-vrijednosti.

S obzirom na optimalnu temperaturu rasta i razmnožavanja bakterija, mljekarske kulture dijelimo na mezofilne i termofilne. Optimalna je temperatura rasta i razmnožavanja mezofilnih kultura u proizvodnji sireva od 20 do 30 °C, dok je za termofilne kulture od 37 do 45 °C.

Danas se u sirarstvu sve više koristi izravna inokulacija mlijeka za sirenje zamrznutim ili liofiliziranim mljekarskim kulturama (DVS - *Direct Vat Set*) zbog njihove jednostavnije primjene, smanjene opasnosti od kontaminacije neželjenim mikroorganizmima i duže trajnosti. Proizvode se dehidracijom tekućih kultura uz primjenu niskog tlaka i na niskim temperaturama. Trajnost im je od 6 do 18 mjeseci na temperaturi od -18 °C (Havranek i sur., 2014.).

2.3.7.1.1. GRUŠANJE MLIJEKA DJELOVANJEM KISELINE

Tratnik i Božanić (2012.) obrazlažu da se grušanje mlijeka djelovanjem kiseline može provesti na više načina ili njihovom kombinacijom:

- izravnim zakiseljavanjem mlijeka:

a. dodatkom neke kiseline (octene, limunske, mliječne) samo do određenog stupnja kiselosti mlijeka ili/i do pH-izoelektrične točke kazeina. Primjerice, za tradicionalni kuhani sir (graničar) izravno zakiseljavanje mlijeka (octenom kiselinom) provodi se u kombinaciji sa zagrijavanjem na 90-95 °C uz neprekidno miješanje mlijeka do optimalnog izdvajanja gruša od sirutke.
b. Pomoću glukono-delta-laktona (GDL), prirodnog laktona glukonske kiseline. GDL je prah topljiv u mlijeku, koji se postupno hidrolizira u glukonsku kiselinu, pa brzina zakiseljavanja mlijeka ovisi o količini dodanog praha, temperaturi, puferskom kapacitetu mlijeka, a može se prilagoditi da kiseljenje teče slično kao pri vrenju mlijeka djelovanjem kulture bakterija mliječne kiseline.

- mliječno kiselim vrenjem – postupnim zakiseljavanjem mlijeka do pH-izoelektrične točke kazeina (pH~4,6), djelovanjem mezofilne kulture bakterija mliječne kiseline.

Tijekom postupnog zakiseljavanja mlijeka odvijaju se fizikalno-kemijske promjene u strukturi micele kazeina:

- Težnja prema destabilizaciji micela kazeina (dezagregacija)
- Težnja prema povezivanju micela kazeina (agregacija) – hidrofobne veze, van der Waalsove privlačne sile i vodikove veze.

Dakle, sniženjem pH-vrijednosti do 4,6 dolazi do povezivanja raspršenih čestica agregiranih micela prilikom čega nastaje stabilan kazeinski sustav – koagulum ili gruš mlijeka (trodimenzionalna proteinska mreža, želatinozna masa). Nastali gruš obuhvaća cijeli volumen posude u kojoj se odvija sirenje.

2.3.7.2. SIRILO

Grušanje mlijeka proteolitičkim enzimima jedan je od najstarijih postupaka u sirarskoj tehnologiji, koji se provodi već nekoliko stoljeća u proizvodnji tvrdih i polutvrdih sireva. Uglavnom se za to koristio pripravak kimozina, izoliran iz četvrtog dijela želuca mladih preživača, a najviše od janjadi i teladi u dobi od 10 do 30 dana (kada se još hrane mlijekom). Bilo je također pokušaja izolacije enzima iz biljaka (papaja, ananas, fikus i ricinus), ali su suviše nespecifično proteolitički djelovali u proizvodnji sira te su uzrokovali manji prinos i mekše tijesto.

Kimozinski pripravak (Renin ili sirilo) je ekstrakt probavnih enzima životinjskog podrijetla, a sastoji se od kimozina i pepsina. Ako je pripravljen iz želuca mlade teladi sadržava 80-90 % kimozina i 10-20 % pepsina. Udio pepsina povećava se sa starošću životinja, a ovisi i o njihovoj prehrani.

Mikrobne proteinaze, bakterija ili plijesni, slične su proteinazama životinjskog podrijetla, iako njihova detaljna struktura i mehanizmi djelovanja nisu potpuno objašnjeni.

Rekombinantni kimozinski pripravci (100 % kimozin) proizvode se postupkom genetičkog inženjerstva pomoću proizvodnih mikroorganizama.

Maksiren® se najviše koristi u sirarskoj industriji pa tako i u Hrvatskoj. Posebno se ističu njegove prednosti u odnosu na klasično sirilo:

- moguća neograničena opskrba,
- potrebna manja količina (10-25 %),
- vrlo specifično djelovanje na peptidnu vezu κ-kazeina (Phe_{105} –Met_{106}),
- manja osjetljivost na uvjete sirenja,
- bolja čvrstoća gruša,
- optimalna aroma sireva nakon zrenja (Tratnik i Božanić, 2012.).

2.3.7.2.1. KOAGULACIJA KAZEINA DJELOVANJEM ENZIMA

Tratnik i Božanić (2012.) iznose da se se proces grušanja mlijeka djelovanjem proteolitičkih enzima odvija u tri faze:

- Primarna enzimska faza: djelovanjem proteolitičkih enzima dolazi do hidrolize peptidne veze između aminokiseline fenilalanina i metionina u molekuli κ-kazeina koje koje se nalaze na 105. i 106. mjestu u peptidnom lancu te molekule. Prilikom toga se odcjepljuje C-terminalni dio peptidnog lanca koji sadrži ugljikohidratne ostatke pa se naziva „glikomakropeptid“ koji čini oko 4% ukupne mase kazeina (kosa κ-kazeina). Nakon odvajanja hidrofilnog dijela κ-kazeina, hidrofobni N-terminalni dio kazeina postaje osjetljiv na prisutnost dvovalentnih kationa, osobito kalcija, pa je nazvan para-κ-kazein.
- Sekundarna neenzimska faza: odvajanjem hidrofilnog dijela κ-kazeina stvaraju se uvjeti za početak agregacije ogoljenih micela, ali u prisutnosti određene količine Ca^{2+} iona i pri temperaturi od 20 °C. Između ogoljenih micela nastaju Ca-mostovi koji stvaraju trodimenzionalnu mrežu gela.
- Tercijarna faza: vrijeme zgrušavanja, čvrstoća gela, stupanj sinereze te daljnja proteoliza kazeina, ubrajaju se u treću fazu grušanja mlijeka.

2.3.7.3. $CaCl_2$

U mlijeko za sirenje dodaje se i 33%-tna otopina kalcijevog klorida ($CaCl_2$) u količini od 25 ml na 100 L mlijeka. Dodatkom oko 0,02% $CaCl_2$ u mlijeko može se osigurati dovoljna količina ionskog kalcija, potrebna za grušanje mlijeka i postizanje očekivanog prinosa sira. Osim u mlijeko za sirenje, $CaCl_2$ se dodaje i u salamuru u obliku 33 %-tne otopine, kako salamura ne bi izvlačila kalcij iz sira tijekom njegova salamurenja (Havranek i sur., 2014.; Matijević B., 2015.).

2.3.7.4. NATRIJEV ILI KALIJEV NITRAT

U nekim je zemljama u proizvodnji tvrdih i polutvrdih sireva dopušteno dodavanje $NaNO_3$ ili KNO_3 (do najviše 0,03 %) koji mogu spriječiti rast koliformnih bakterija ili sporogenih bakterija *Clostridium i Bacillus*, a koje su uzročnici ranog ili kasnog nadimanja sireva. Veća količina nitrata može usporiti ili čak spriječiti zrenje sireva jer inhibiraju rast mikrobne kulture. Veća količina nitrata može utjecati na pojavu crvenih pruga u siru što je rezultat reakcije nitrata s tirozinom te na taj način izazvati njegov loš okus (Tratnik i Božanić, 2012.).

2.3.7.5. LIZOZIM

Lizozim, poznat i pod nazivom „antibiotik tijela“, enzim je koji uspješno kontrolira rast bakterije *Clostridium* i maslačnog vrenja. Lizozim se veže na gruš sira, gdje razlaže stanične membrane *Clostridium* spp. i drugih Gram-pozitivnih bakterija. Drugim riječima, lizozim napada peptidoglikan (murein) te uzrokuje hidrolizu veze između N-acetilglukozamina i N-acetilneuraminske kiseline (Tratnik i Božanić, 2012.).

2.3.8. OBRADA NASTALOGA GRUŠA

Svaka vrsta sira zahtjeva određenu čvrstoću gruša, koja se može provjeriti na nekoliko načina:

- dlanom – ako je čvrstoća zadovoljavajuća, gruš se neće hvatati za dlan a na grušu će ostati otisak prstiju;
- prstom – ukoliko se prstom po površini gruša napravi rez, on ne smije zaostajati na prstima, nego treba puknuti. Tada je čvrstoća gruša zadovoljavajuća;
- laganim odvajanjem gruša od stijenke duplikatora;
- ukoliko se nekoliko čestica gruša spusti u vodu, one moraju ostati plivati u toj vodi;
- pomoću mjernih instrumenata – viskozimetar, formagraf, gelograf, Plintov toksimetar;
- *Clean break* (čisti rez) – provodi se na način da se ruka ili štap urone u gruš i lagano podižu, pri čemu gruš puca.



Slika 8. *Clean break* (Izvor: fotografija, D. Petrović)

Nakon provjere čvrstoće gruša, slijedi rezanje i dogrijavanje sirnog zrna uz neprekidno miješanje. Gruš se najčešće reže metalnom ili drvenom sirarskom sabljom ili sirarskom harfom, a omogućava prvu fazu odvajanja sirutke. Zadatak dogrijavanja je odvojiti što je moguće veću količinu sirutke (toplinska sinereza) i najčešće se provodi pri temperaturi od 35-40 °C, a za neke tvrde sireve pri 40-56 °C. Bitno je napomenuti da se dogrijavanje mora provoditi postepeno (svake dvije minute se temperatura povisi za 1°C) kako bi nastala takva proteinska ovojnica (membrana) koja će omogućiti dehidrataciju gruša.



Slika 9. Dogrijavanje sirnog zrna (Izvor: fotografija, D. Petrović)

2.3.9. OBLIKOVANJE I PREŠANJE SIREVA

Kada je sušenje sirnog zrna završeno, cjelokupna smjesa iz sirarskog kotla prestaje se miješati te se pomoću cijevi prenosi na distribucijski (sirarski) stol na kojemu se nalaze perforirani kalupi. Pri tome se čestice gruša zadržavaju u kalupima dok sirutka prolazi kroz perforacije. Jedan dio sirutke ostaje u sirarskom stolu gdje se temperira na 40 °C. Gruš narednih 2,5 sata ostaje na distribucijskom stolu te se okreće svakih pola sata (sinereza). Preostala sirutka se centrifugalnom pumpom transportira u duplikator te koristi za proizvodnju albuminskog sira (skute).



Slika 10. Distribucijski stol (Izvor: fotografija, D. Petrović)

Kalit S. (2015.) navodi da je svrha prešanja sira:

- stapanje sirnih zrna u sirnu masu;
- izdvajanje suvišne sirutke;
- nastanak svojstvene kore – „peglanje kore sira“.

Bitno je napomenuti da se prilikom prešanja sireva tlak mora postepeno povećavati od 1 do 6 bara jer bi u protivnom otjecanje sirutke iz unutrašnjosti tijesta bilo otežano te uzrokovalo tzv. „sirutkina gnijezda“. Ukoliko se proizvodi sir tvrđe konzistencije, primijenit će se veći tlak, a prešanje će dulje trajati.

2.3.10. SOLJENJE SIREVA

Ciljevi soljenja su sudjelovanje pri stvaranju okusa i mirisa (arome), smanjenje udjela vode u siru, povećanje trajnosti sira (konzervirajuća uloga) te zaustavljanje aktivnosti mikrobnih kultura (zaustavlja daljnje zakiseljavanje sira).

Postupak soljenja može se provesti na nekoliko načina. Za suho soljenje sirnog zrna koristi se sitnija sol, a za suho soljenje već oblikovanog sira, krupnija sol.

Za soljenje tvrdih i polutvrdih sireva najčešće se korist salamura (otopina soli u vodi ili salamuri) koja mora udovoljavati sljedećim uvjetima:

- temperatura salamure treba biti između 10 i 15 °C,
- treba sadržavati od 17 do 22 % natrijevog klorida,
- pH-vrijednost treba biti između 4,7 i 5,2, ovisno o vrsti sira,
- količina kalcija treba biti između 0,1 i 0,2% (dodatak otopine kalcijevog klorida).

Salamura se priprema na način da se 1000 L vode pasterizira na temperaturu >70 °C te se doda 270 kg kuhinjske soli. Kada se sol potpuno otopi, otopina se hladi na 15 °C i doda se 1,5 L 33%-tne otopine kalcijevog klorida kako bi koncentracija kalcija bila 0,2 %. Zatim se postepeno dodaje pročišćena solna kiselina kako bi pH-vrijednost bila 4,7-5,2, što se provjerava pH-metrom.



Slika 11. Soljenje sira u salamuri (Izvor: fotografija, D. Petrović)

2.3.11. ZRENJE SIREVA

Zrenje sireva se odvija u posebnim prostorijama (zrionicama) u kojima vladaju određeni mikroklimatski uvjeti: temperatura (10-25 °C), relativna vlažnost (85-95%) i određeni protok zraka, te je tijekom zrenja sireve potrebno redovito kontrolirati i njegovati (Tratnik i Božanić, 2012.; Havranek i sur., 2014.).



Slika 12. Zrionica (Izvor: fotografija, D. Petrović)

Tratnik i Božanić (2012.) zaključuju da se tijekom zrenja sireva odvija čitav niz fizikalno-kemijskih, kemijskih i biokemijskih promjena u sirnoj masi čime se postižu karakteristična senzorska svojstva pojedinog sira.

Glavni biokemijski procesi tijekom zrenja su:

- glikoliza, proteoliza i lipoliza – razgradnja laktoze, proteina i masti
- propionsko vrenje – odgovorno za nastanak specifičnog okusa, teksture i sirnih rupica (ementaler i grojer)

Tijekom zrenja se odvijaju i sekundarne transformacijenastalih produkata razgradnje:

- deaminacija, dekarboksilacija, desulfurizacija, dehidrogenacija, transaminacija aminokiselina;
- β-oksidacija masnih kiselina;
- esterifikacija produkata razgradnje.

2.3.11.1. PRIMARNO ZRENJE SIRA

Ovdje se ubrajaju biokemijski procesi koji se odvijaju pri zrenju tvrdih i polutvrdih sireva. Kod tvrdih sireva procesi zrenja započinju pod utjecajem izlučenih enzima i endogenih enzima bakterija mliječne kiseline. Izuzev razgradnje laktoze, pod utjecajem mliječne kiseline, soli (NaCl) i proteolitičkih enzima, najveće promjene događaju se na proteinima. Razgradnja masti tokom primarnog zrenja zbiva se u vrlo malom opsegu, a uglavnom je nepoželjna. U tvrdim sirevima lipoliza većinom uzrokuje užeglost (Tratnik, 1998.).

2.3.11.2. SEKUNDARNO ZRENJE SIRA

Odvija se u sirevima koji imaju veći udio vode i veću kiselost, uglavnom pod utjecajem rasta i aktivnosti mikroflore jačih proteolita i lipolita. Procesi sazrijevanja sireva sa sekundarnim zrenjem počinju se odvijati od površine prema unutrašnjosti sira (proteoliza i lipoliza).

Općenito, zrenje mladog sira se odvija u posebnim prostorijama koje moraju imati povoljnu klimu, odnosno uvjete (temperaturu, relativnu vlažnost i protok zraka). Tvrđi sirevi zriju pri višim temperaturama i nešto dulje za razliku od mekših sireva. Trajanje zrenja ovisi o vrsti sira, njegovom sastavu, svojstvima mase prije zrenja i veličini sira.

Polutvrde i tvrde sireve je na početku zrenja, točnije prva dva tjedna kada sirevi otpuštaju više vode, potrebno češće okretati i brisati, svaka 2-3 dana. Od velike je važnosti osigurati ravnomjerno i pravilno zrenje i dosušivanje sira (Tratnik, 1998.).

2.3.12. ZAŠTITA I SKLADIŠTENJE SIREVA

Tvrdi sirevi se mogu nakon duljeg zrenja premazati uljem kako bi se spriječilo veće isušivanje sira tj. gubitak mase.

Tvrdi sir se može skladištiti duže vrijeme (6-9 mjeseci) pri nižim temperaturama (5-15°C). Relativna vlažnost zraka skladišnog prostora mora biti prilagođena vrsti sira kako bi se izbjeglo isušivanje ili stvaranje plijesni (oko 80%) (Tratnik, 1998.)

Tablica 2. Tehnološki parametri hrvatskih autohtonih sireva (Matutinović i sur., 2007.)

Sirevi/Paramatri	Paški	Krčki	Lećevački	Tarski
Vrsta mlijeka	ovčje	ovčje	ovčje/kravlje	ovčje
Tipizacija mlijeka (% masti)	punomasno	7,81	4,69	6,15
Temperatura sirenja [°C]	32-33	32-35	30-32	31
Vrijeme sirenja [min]	45-60	20-45	30-40	30
Prešanje sira [h]	2	24	2	12-24
Veličina sira (visina/promjer) [cm]	7-8/18-22	6/13-16	7-8/18	6-8/16-18
Vrijeme soljenja sira [h]	48	12	24	48
Vrijeme zrenja sira [dana]	100	60	75-90	60-70

2.4. TEKSTURA SIRA

Svojstvo teksture, kao odlučujući faktor identiteta i kvalitete sira, utječe i na njegova mehanička svojstva, odnosno rezanje, rastezanje, miješanje i svojstvo topljenja. Tekstura sira rezultat je kombinacije velikog broja faktora i ovisi o vrsti sira, emulgirajućim solima, vodi, temperaturi, agitaciji, trajanju obrade, dodatku mliječnih ili nemliječnih sastojaka i slično. Uvjeti čuvanja također imaju veliki utjecaj na teksturu sira, koja je odlučujući faktor izgleda i prihvatljivosti sira.

Jedan od najvažnijih učinaka na teksturu sireva ima pH-vrijednost zbog utjecaja na kazein. Još jedan važan faktor je omjer neoštećenog kazeina i vlage. Kompleksna struktura sira prouzrokuje različitosti u teksturi, čak i unutar iste vrste sira (Karlović i sur., 2009).

Smanjivanjem sadržaja masti u tvrdim sirevima ne utječemo samo na okus sira već i na njegovu strukturu. Dobro je poznato da je tekstura sireva sa smanjenim udjelom masnoće čvršća i elastičnija nego kod punomasnih sireva. Kod punomasnih sireva karakteristično je da su globule masti različitih veličina i oblika raspršene u proteinskom matriksu. Sirevi sa smanjenim udjelom masti imaju manje globule masti. Posljedica velike količine proteina kod niskomasnih sireva je u tome da sir ima čvrstu i gumastu strukturu.

Količina vode, soli i kalcija u siru može mijenjati utjecaj pH na teksturu sira. Utemeljeno je da su sirevi sa velikim sadržajem vlage , pri danom pH i količinom soli , manje čvrsti nego sirevi sa manjim udjelom vlage. Čak i male razlike u sadržaju vode imaju veliki utjecaj na teksturu sira.

Visoki udio masti i vode narušava proteinsku strukturu. Povećanjem sadržaja masti i vode dobivamo glađi i mekši sir, a povećanjem sadržaja kazeina dobivamo na čvrstoći sira. Sirevi koji imaju više nezasićenih masnih kiselina imaju mekšu teksturu (Gunasekaran, Mehmet Ak, 2003.).

Tekstura se značajno mijenja u prvom i drugog tjednu zrenja zbog hidrolize malih frakcija α_{S1}-kazeina na peptide α_{S1}-I, što rezultira slabljenju kazeinske mreže. Relativno spora promjena teksture je uvjetovana uglavnom udjelom proteolize, koja se kontrolira sadržajem preostalog sirila i plazmina u siru, sadržajem soli i udjelom vlage, te temperaturom tijekom skladištenja. Tijekom zrenja sira dolazi do porasta pH vrijednosti što je jako važno kod mnogih vrsta sireva.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK RADA

Zadatak ovog završnog rada je odrediti fizikalno-kemijske i mikrobiološke promjene koje se odvijaju tijekom zrenja kravljeg, ovčjeg i miješanog sira te na temelju provedenih analiza odrediti kakvoću finalnog proizvoda (sira). Mikrobiološka analiza provedena je na Hrvatskom veterinarskom institutu podružnici Vinkovci, a fizikalno-kemijska analiza kao i analiza teksture u laboratoriju za tehnologiju mlijeka i mliječnih proizvoda Prehrambeno – tehnološkog fakulteta u Osijeku.

3.2. MATERIJALI I METODE RADA

Za proizvodnju sira koristilo se svježe pomuženo mlijeko sakupljeno od malih proizvođača Istarske županije. Mlijeko korišteno za proizvodnju bilo je ekstra klase, određenog kemijskog sastava propisanog Pravilnikom o kakvoći svježeg sirovog mlijeka. Mlijeko se sakupljalo od jutarnje i večernje mužnje koja je provedena strojno te skladištilo 24 sata u laktofrizu na 4 °C.

3.3. FIZIKALNO-KEMIJSKA ANALIZA SIRA

3.3.1. ODREĐIVANJE UDJELA MLIJEČNE MASTI U SIRU

Za određivanje mliječne masti u siru koristi se metoda po van Guliku i Gerberu koja se zasniva na kemijskom otapanju kazeina i zaštitne opne globula mliječne masti sumpornom kiselinom. Radi lakšeg odvajanja masti dodaje se izoamilni alkohol koji snizuje površinsku napetost mlijeka. U čašicu butirometra odvagne se 3 g uzorka sira i čašica se stavi u butirometar za sir. Kroz gornji otvor butirometra se zatim doda 10 ml sumporne kiseline da ona prekrije čašicu sa sirom. Butirometar se potom stavi u vodenu kupelj i zagrijava pri 65 °C u trajanju od 20 – 30 minuta te se nekoliko puta snažno promućka. Kada se sir otopi, doda se 1 ml izoamilnog alkohola, sve se ponovno promućka i nadopuni sumpornom kiselinom tako da joj gornji meniskus doseže do polovice skale. Butirometar se potom začepi, dobro

promućka i opet ostavi 5 – 10 minuta u vodenoj kupelji. Ponovno se dobro promućka i nakon toga centrifugira 10 minuta pri 1000 – 1200 okretaja u minuti.

3.3.2. ODREĐIVANJE UDJELA PROTEINA U SIRU

Za određivanje udjela proteina u siru koristi se metoda po Kjeldahlu. Prema toj metodi, udio proteina određuje se indirektno preko udjela dušika. Postupak se provodi tako da se u Kjeldahlovu tikvicu odvagne oko 5 g uzorka sira, doda koncentrirana sumporna kiselina, bakrov sulfat (katalizator) i kalijev sulfat (sol za povišenje vrelišta). Potom se sadržaj u tikvici zagrije dok ne postane blijedo plavo-zelene boje. Tada je potrebno lagano kuhati sadržaj tikvice barem 1,5 sati prilikom čega dolazi do potpune oksidacije organske tvari, a dušik koji se pri tome oslobađa u obliku NH_3 sa H_2SO_4 daje amonijev sulfat. Zatim se u tikvicu doda 300 ml vode i 70 ml otopine natrijevog hidroksida te slijedi druga faza određivanja (destilacija) u kojoj se djelovanjem lužine na amonijev sulfat amonijak predestilira vodenom parom u tikvici s kiselinom poznatog molariteta. Višak kiseline odredi se titracijom.

Maseni udio dušika izračunava se sljedećom formulom:

$$W\,(N) = \frac{1{,}40\ x\ (V - V0) x\ c}{m}$$

Gdje je: W(N) – maseni udio dušika

V – volumen standardne volumetrijske otopine kiseline korištene pri određivanju

V_0 – volumen standardne volimetrijske otopine korištene u slijepoj probi

c – koncentracija (mol/dm^3)

Udio proteina u uzorku sira izračuna se iz sljedećeg izraza:

$$W\,(proteina) = W(N) x 6{,}38$$

3.3.3. ODREĐIVANJE UDJELA SUHE TVARI U SIRU

Metoda se temelji na isparavanju vode iz uzorka za analizu sušenjem u sušioniku pri konstantnoj temperaturi od 102 ± 2 °C do konstantne mase. U prethodno posušenu, ohlađenu i odvagnutu aluminijsku posudicu s točnošću 0,001 g odvagne se 2 – 3 g uzorka sira. Posudica se potom stavi u sušionik i suši 1 – 2 sata pri 102 ± 2 °C. Potom se posudica izvadi iz sušionika, hladi u eksikatoru i odvaže na analitičkoj vagi. Sušenje se ponavlja tako dugo dok se u dvije uzastopne odvage ne postigne razlika manja od 1 mg.

Potom se vrši izračun udjela suhe tvari prema formuli:

$$W\ (\text{suhe tvari, sir}) = \frac{zadnja\ odvaga - prazna\ \ posudica}{odvaga\ uzorka} \text{ x } 100\%$$

Maseni udio vode u uzorku sira računa se prema formuli:

$$W\ (H2O)\ =\ 100\ \%\ -\ W(suhe\ tvari, sir)$$

3.3.4. ODREĐIVANJE UDJELA SOLI U SIRU – METODA PO IDF-u

Metoda se temelji na razgradnji organskih tvari pomoću koncentrirane dušične kiseline i kalijevog permanganata pri čemu se oslobađa natrijev klorid iz sira. Koncentracija iona klora određuje se titracijom amonijevim rodanidom koji veže višak amonijevog nitrata nakon njegove reakcije s ionima klora. Postupak se provodi tako da se u Erlenmeyerovu tikvicu odvagne 2 g sira, doda 25 ml 0,1 M otopine srebrovog nitrata i 25 ml koncentrirane klorovodične kiseline. Potom se smjesu zagrijava do pojave taloga te zatim doda 10 ml otopine kalijevog permanganata. Dobivenu smjesu ostavi se nekoliko minuta da se potpuno istaloži. Sve dok se smjesa odbojava potrebno je dodavati otopinu kalijevog permanganata da se zadrži smeđa boja. Tada se u smjesu doda malo oksalne kiseline ili glukoze. Zatim se otopini doda 100 ml destilirane vode i 5 ml otopine željezo (III) amonijevog sulfata i sve se dobro promiješa. Neposredno nakon toga u otopini suvišak srebrovog nitrata titrira se 0,1 M otopinom amonijevog rodanida do nastanka tamnocrvene boje.

Udio soli u siru određuje se prema formuli:

$$\text{W (NaCl)} = \frac{0{,}585\ x\ (V1 - V2\ )}{m}$$

Gdje je: V_1 – volumen 0,1 M otopine srebro nitrata

V_2 – utošak 0,1 M otopine amonijevog rodanida

m – masa uzorka sira

Osim metodom po IDF-u, udio natrijevog klorida može se odrediti i metodom po Mohru. Postupak se provodi na način da se 2 g usitnjenog i homogeniziranog uzorka sira otopi u 2 – 3 ml tople vode i kvantitativno prenese u odmjernu tikvicu od 100 cm^3 te nadopuni vodom do oznake. Tikvicu s otopinom se 15 minuta drži u vodenoj kupelji (koagulacija bjelančevina), ohladi i filtrira te se po potrebi doda otopina natrijeva hidroksida zbog neutralizacije. Od dobivenog filtrata otpipetira se 25 cm^3 u Erlenmeyerovu tikvicu, doda 2 – 3 kapi indikatora-zasićene otopine K_2CrO_4 i titrira 0,1 M otopinom $AgNO_3$ do promjene boje iz žute u svijetlosmeđu.

3.3.5. ODREĐIVANJE pH-VRIJEDNOSTI SIRA

Kiselost sira koristi se kao orijentacijski pokazatelj stupnja zrelosti sira, a može se odrediti pomoću pH-metra ili titracijski. Postupak se provodi na način da se uzorak sira pomiješa s prokuhanom i ohlađenom destiliranom vodom u omjeru 3 : 10 i zatim se mjeri pH-vrijednost uranjanjem elektrode pH-metra u homogeniziranu smjesu sira i vode.

3.4. MIKROBIOLOŠKA ANALIZA SIRA

Mlijeko je vrlo važna namirnica animalnog podrijetla i zbog svog kemijskog sastava odlična je hranjiva podloga za razmnožavanje mikroorganizama, te je namirnica koja se najlakše i najčešće kontaminira nepatogenim i patogenim mikroorganizmima. Svježe pomuženo mlijeko

može sadržavati od nekoliko stotina do nekoliko tisuća mikroorganizama/ml. S vremenom se njihov broj povećava, i uslijed njihovog metabolizma mijenjaju se fizikalno-kemijska i senzorska svojstva.

3.4.1. METODE ODREĐIVANJA BAKTERIJA RODA *Salmonella*

Salmonella spp. su gram-negativne, pokretne, štapičaste, fakultativno anaerobne bakterije koje imaju sposobnost razgradnje glukoze (ali ne i laktoze). Bolest uzrokovana ovom bakterijom naziva se salmoneloza (bakterijska infekcija tankog i debelog crijeva). Simptomi bolesti su povraćanje, dijareja, mučnina te povećana tjelesna temperatura.

Identifikacija bakterija roda *Salmonella* provodi se na način da se 25 ml uzorka prenese u Erlenmeyerovu tikvicu, doda se 225 ml selenit bujona i inkubira 18 do 24 sata na 37 °C. Nakon perioda inkubacije, vrši se precjepljivanje na površinu *Salmonella – Shigella* (SS) i Wilson – Blair bizmut sulfidnog agara. Nakon inkubacije, na SS agaru primjećuju se bijele kolonije, dok se na Wilson – Blair podlozi uočavaju smeđe do crne s metalnim odsjajem.

3.4.2. METODE ODREĐIVANJA *Lysterie monocytogenes*

Listeria monocytogenes patogena je gram-pozitivna, fakultativno anaerobna, ubikvitarna bakterija, koja uzrokuje bolest listeriozu i ljudi i životinja. Krave, ovce i koze, iako rijetko, u mlijeko mogu izlučiti i do 10^4 mikroorganizama/ml koji su posljedica listerioznog mastitisa, encefalitisa ili *L. monocytogenes* uzrokovana abortusa. Moguća je opasnost kontaminacije mlijeka i sira tom bakterijom i njezina sposobnost rasta na temperaturama od -0.4 °C do 45 °C (optimalna je 37 °C) u rasponu pH-vrijednosti od 4.4 do 9.4 (optimalna je 7) i koncentraciji soli od 10 %.

Za izolaciju *L. monocytogenes* upotrebljava se UVM bujon za revitalizaciju i namnožavanje listerije. Sljedeći stupanj selektivnog namnožavanja uključuje upotrebu drugog selektivnog bujona – Fraser bujona. Rast prateće mikroflore inhibiran je dodatkom litijevog klorida, nalidiksične kiseline akriflavina. Svako zacrnjenje Fraserova bujona upozorava na moguću prisutnost listerije, te se precjepljuje na selektivnu podlogu PALCAM agara. Porast listerije se

očituje kao porast sitnih maslinastozelenih kolonija sa crnim halo-efektom. Identifikacija listerije uključuje pozitivne potvrdne testove – bojanje po Gram-u, kataloza test CAMP test, test iskorištenja ugljikohidrata i test pokretljivosti.

3.4.3 METODE ODREĐIVANJA KOLIFORMNIH BAKTERIJA

Koliformne bakterije su štapičaste, gram-negativne, nesporogene bakterije koje mogu biti aerobne ili fakultativno anaerobne i obično imaju sposobnost fermentacije laktoze uz tvorbu plina. U grupu koliformnih bakterija spadaju različiti rodovi enterobakterija: *Escherichia, Kluyvera, Citrobacter i Enterobacter*. Koliformne bakterije proizvode plinove te uzrokuju rano nadimanje sireva, nadimanje tvdih sireva, sluzavost mlijeka, rupičavost sirnog tijesta kod mekih sireva te izazivaju mane okusa, mirisa i konzistencije. Rod *Escherichia* sadrži samo jednu bakterijsku vrstu – *E. coli*. Oblikom je bakterija *E. coli* kratki gram-negativni pokretni ili nepokretni štapić. *E. coli* fermentira glukozu i laktozu i neke druge šećere uz stvaranje mliječne, octene i mravlje kiseline. Hidrolizom mravlje kiseline u mlijeku nastaju jednake količine plinova CO_2 i H_2.

Identifikacija *E. coli* provodi se na način da 1 ml uzorka inkubiramo na brilijant zelenom bujonu s Durhamovom epruvetom 24 do 48 sati na 44 °C prilikom čega dolazi do izdvajanja plina SO_2 i promjene boje podloge. Potvrdni test vrši se precjepljivanjem sadržaja na ljubičasto-crveni žučni agar, te se ponovno inkubira 24 do 48 sati na 44 °C. Potvrdu prisustva *E. coli* predstavlja pojava karakterističnih ljubičasto-crvenih kolonija na agaru.

3.4.4. METODA ODREĐIVANJA BAKTERIJA RODA *Staphylococcus*

Staphylococcus aureus je gram-pozitivna, katalaza pozitivna, fakultativno anaerobna bakterija koja raste na temperaturi od 7 do 48 °C (optimalna je temperatura 37 °C) i u uvjetima pH-vrijednosti sredine između 4 i 10 (optimalna je pH-vrijednost 6.7). U odnosu na sve druge bakterije, *S. aureus* podnosi najniži a_w (a_w minimalno 0,83 - 0,86) i vrlo visoke koncentracije soli (15 - 20 %).

Staphylococcus aureus je bakterija vrlo rezistentna na natrijev klorid, koji inhibira rast većine gram-negativnih i većeg broja gram-pozitivnih bakterija. Iz tog razloga selektivne podloge sadrže vrlo visoke koncentracije natrijevog klorida. Identifikacija ovog roda provodi se na

način da se uzorak nacijepi na površinu slanog bujona, te ETGP podloge po Baird-Parkeru koja usporava rast drugih bakterija, a pospješuje rast pozitivnih stafilokoka. Kolonije koje se dobiju nakon inkubacije od 24 do 48 sati na 37 °C jesu crne, sjajne i konveksne. Oko samih kolonija se nakon 48 sati pojavljuju tamni prstenovi kao posljedica lipolitičke aktivnosti.

3.4.5. METODA ODREĐIVANJA BROJA BAKTERIJA RODA *Clostridium*

Vrste roda *Clostridium* striktni su anaerobni organizmi prisutni u različitim sedimentima, kao i u intestinalnom traktu ljudi i životinja. U mlijeko najčešće dospijevaju preko silaže ili životinjskog fecesa. *Clostridium* vrste kvare mlijeko i uzrokuju gorčinu i kasno nadimanje sireva (iz laktoze stvaraju octenu i maslačnu kiselinu, etanol, butanol, aceton te CO_2 i H_2).

Clostridium perfrigens pripada skupini sulfidoreducirajućih bakterija zbog sposobnosti da natrijev sulfit reduciraju u natrijev sulfid. Zbog te osobine njihova identifikacija vrši se pomoću sulfidnog agara. Identifikacija se provodi na način da se odgovarajuće razrjeđenje pipetira u epruvetu i ostavlja 10 minuta na 80 °C. Potom se stavlja sulfidni agar i inkubira 3 do 5 dana na 37 °C. Ukoliko dođe do nastajanja crnih loptastih kolonija, slijedi bojanje po Gramu i identifikacija gram-pozitivnih štapičastih bakterija sa sporama ili bez njih.

3.5. ANALIZA BOJE SIREVA

Mjerenje boje provedeno je pomoću uređaja Hunter-Lab Mini ScanXE (A60-1010-615 Model Colorimeter, Hunter-Lab, Reston, VA, USA). Određivana su tri parametra boje: *L*, *a* i *b*. Prije svakog mjerenja instrument je standardiziran s bijelom i crnom keramičkom pločom (L^*_0 = 93.01, a^*_0 = -1.11 i b^*_0 = 1.30). Hunter-ove L, a i b vrijednosti podudaraju se sa sljedećim rasponima boja:

- a* - zeleno (-a*) ili crveno (+a*)
- b* - plavo (-b*) ili žuto (+b*)
- L* - svjetlo (L* = 100) ili tamno (L* = 0)

Određivanja svojstava boje rađeno je na sobnoj temperaturi (20 ± 2°C). Sva mjerenja rađena su u 4 ponavljanja. Boja se mjeri na presjeku sira oko središta, jer tijekom zrenja boja migrira od površine prema sredini, a intenzivnija žuta boja središta je odraz duljeg zrenja.

3.6. ODREĐIVANJE SVOJSTAVA TEKSTURE SIREVA

3.6.1. TPA (Texture Profile Analysis) ANALIZA TEKSTURE SIREVA

Razvijene su metode koje simuliraju žvakanje, tzv. analiza teksturalnog profila (engl. *Texture Profile Analysis,* TPA) ili metoda dvostrukog zagriza. Ova metoda ima dobru korelaciju sa senzorskim podacima, a obuhvaća primjenu dva kompresijska ciklusa na hranu na način da se simulira početna faza žvakanja (Muir i sur., 1997; Drake i sur., 1999).

Da bi se simulirao dvostruki zagriz, odnosno žvakanje, uzorak se stavlja na bazu analizatora teksture i podvrgava dvostrukoj kompresiji (uz određeno zadržavanje kompresijske sonde između dva ciklusa), a računalni program zapisuje krivulju promjene sile potrebne za kompresiju uzorka u vremenu podešenom prije eksperimenta. Iz dobivenih rezultata očitavaju se određeni parametri koji uglavnom vrlo dobro koreliraju sa senzorskim ispitivanjima uzorka. Tipični primarni parametri u ispitivanju teksture sira su čvrstoća, kohezivnost, elastičnost i tzv. odgođena elastičnost, a i iz njih se dalje izračunavaju sekundarni parametri kao što je npr. otpor žvakanju (Foegeding i sur., 2003).

Za određivanje teksturalnog profila uzoraka sira koristio se uređaj TA.XT2i Plus (SMS Stable Micro Systems Texture Analyzer, Surrey, England), opremljen cilindričnim probnim tijelom P/20. Dobiveni podaci analizirani su s Texture Exponent 32 softverom (verzija 3.0.5.0.). Sirevi su rezani na kockice 15x15 mm, te kao takvi postavljani na mjernu plohu instrumenta. Mjerenja su obavljena pri sobnoj temperaturi (20 ± 2°C). Uzorci se podvrgavaju dvostrukoj kompresiji cilindričnim nastavkom TA-25, 50 mm dijametra, prema sljedećim parametrima:

- kalibracija visine: 25 mm
- brzina prije mjerenja: 0,4 mm/s
- brzina mjerenja: 0,4 mm/s
- brzina nakon mjerenja: 0,4 mm/s
- kompresija 80 %
- vrijeme zadržavanja između dvije kompresije: 5 s

Računalni program zapisuje krivulju promjene sile potrebne za kompresiju uzorka u određenom vremenu prema parametrima podešenim prije eksperimenta.

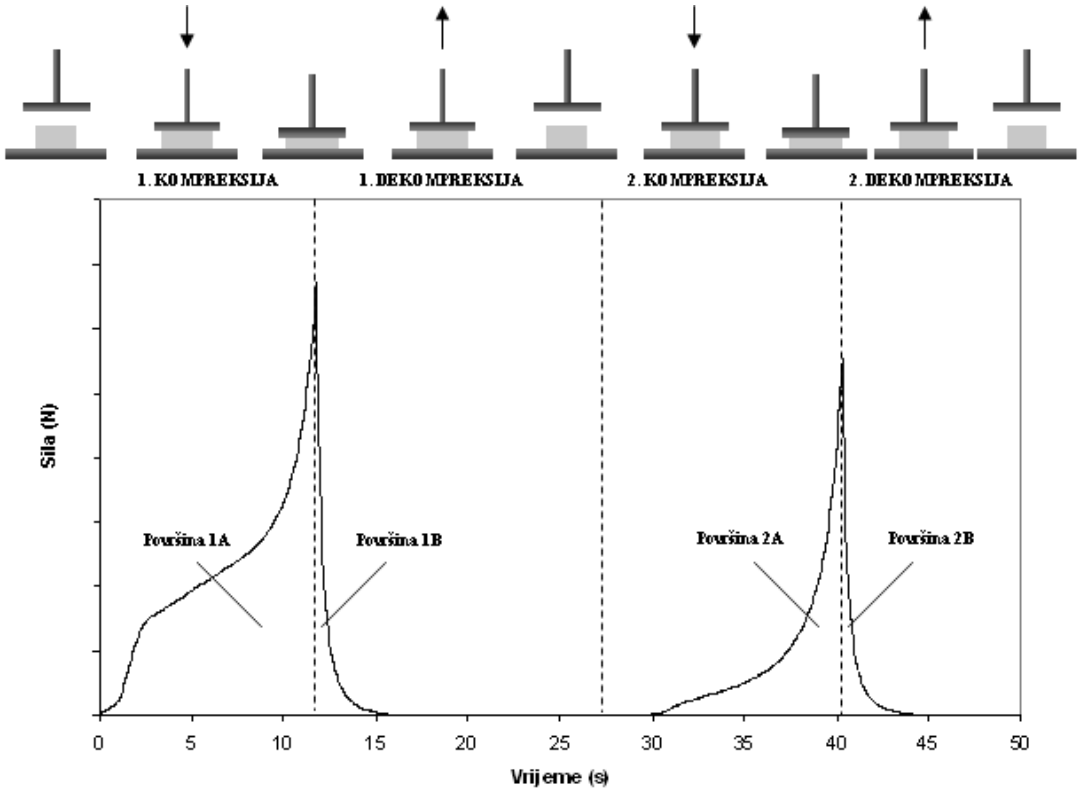
Iz dobivenih rezultata mogu se očitati:

- Čvrstoća (hardness) – visina prvog pika izražena u jedinicama sile (N) ili mase (g),
- Kohezivnost (cohesiveness) – predstavlja snagu unutrašnjih veza materijala potrebnih da zadrže uzorak koherentnim pri deformaciji, a definirana je omjerom površina ispod drugog i prvog pika (Površina 2AiB/Površina 1AiB),
- Elastičnost (resilience) – predstavlja tzv. trenutnu elastičnost, odnosno mjeru oporavka uzorka od deformacije pri prvoj kompresiji, a definirana je omjerom površine ispod krivulje tijekom prve dekompresije i površine ispod krivulje tijekom prve kompresije (Površina 1B/Površina 1A),
- Odgođena elastičnost (springiness) – omjer visina uzorka do koje se on vraća tijekom vremena koje prođe između kraja prve kompresije i početka druge kompresije i početne visine uzorka
- Otpor žvakanju (chewiness) – predstavlja energiju koju je potrebno utrošiti za žvakanje uzorka, odnosno otpor uzorka žvakanju, a izračunava se kao umnožak čvrstoće, kohezivnosti i odgođene elastičnosti i izražava u jedinicama sile (N) ili mase (g)

3.6.2. TEST PROBODA (PUNCTURE TEST)

Test proboda sira također je obavljen uređajem TA.XT2i Plus (SMS Stable Micro Systems Texture Analyzer, Surrey, England). Za probod je korištena igla TT-43, dijametra 0,64 cm. Brzina proboda je bila 2,5 cm/min, i u silaznom i u uzlaznom toku. Ovim testom mjere se dva osnovna parametra:

- Sila proboda u tijesto sira (g)
- Sila proboda kore sira (g) (Muir i sur., 1997.)



Slika 13. Tipična krivulja ispitivanja teksturalnog profila metodom dvostruke kompresije

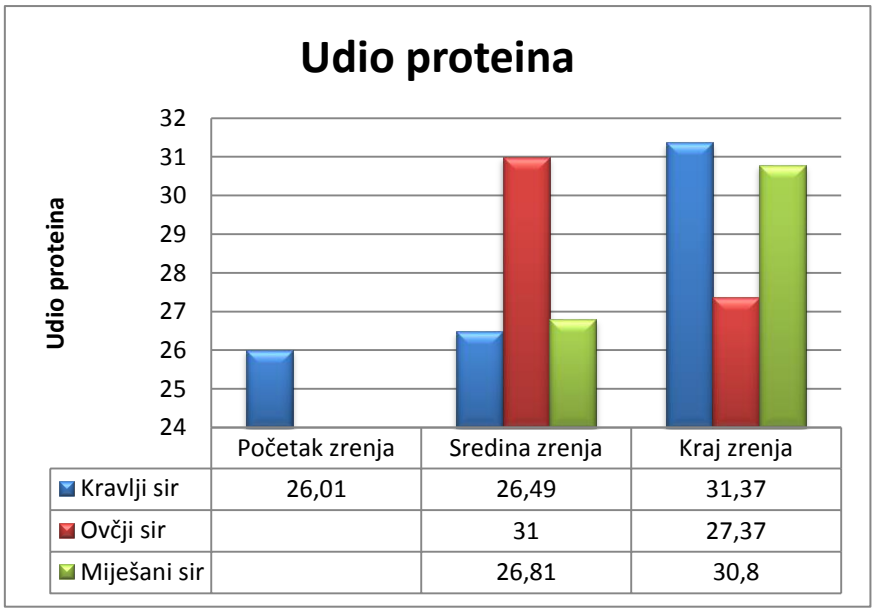
3.7. STATISTIČKA ANALIZA

Dobiveni rezultati statistički su analizirani primjenom descriptivne analize (Descriptive statistic). Međusobno su podaci uspoređeni primjenom analize varijance (ANOVA) i Fisher-ovim testom najmanjih značajnih razlika (Least Significance Differences, LSD) na nivou značajnosti $p \leq 0.05$. Izračunate su korelacijske matrice između fizikalno kemijskih svojstava sira i njihovih teksturalnih osobina. Cjelokupna statistička analiza rađena je u programu Statistica ver. 7.0 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA)

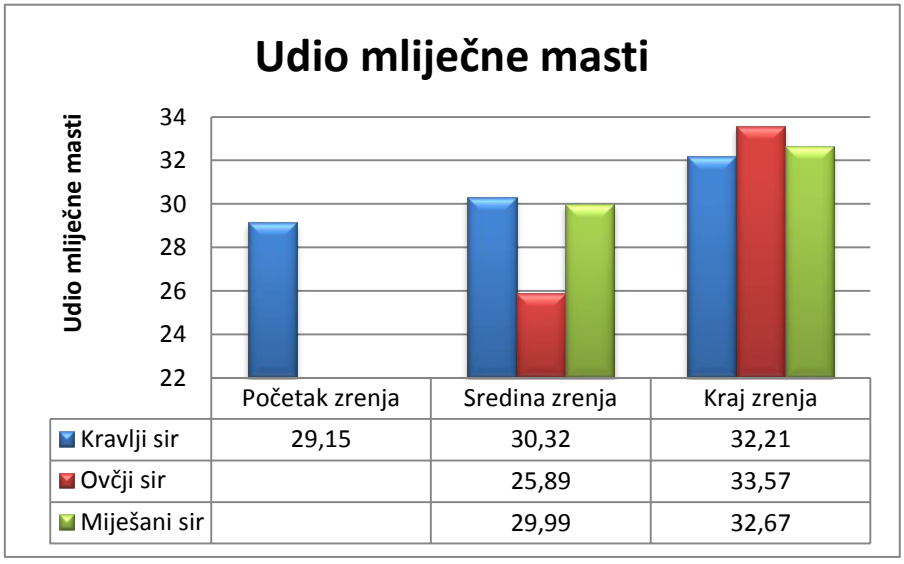
4. REZULTATI

Tablica 3. Rezultati fizikalno-kemijske analize uzoraka sireva

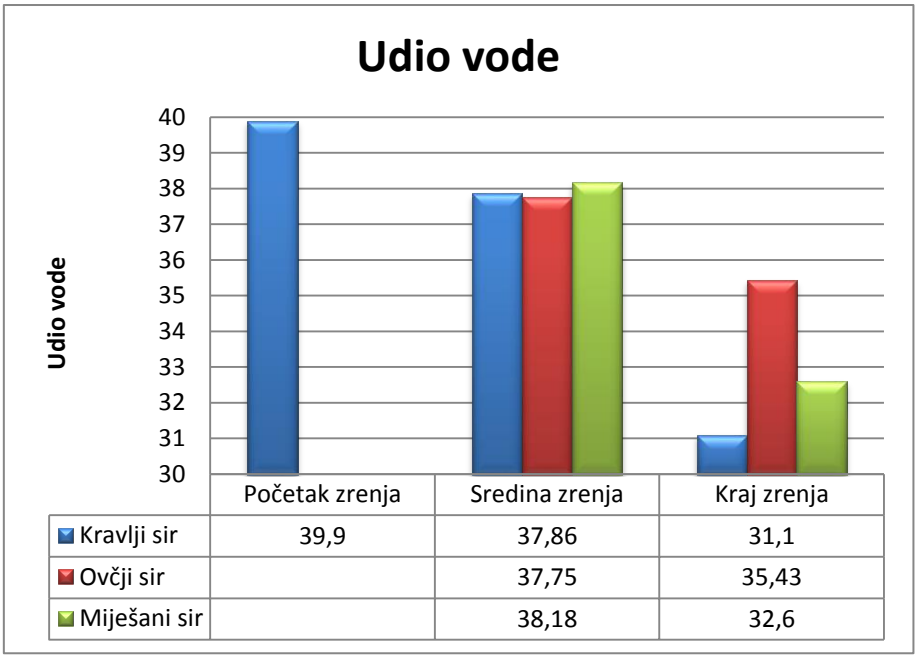
OZNAKA UZORKA	pH (ubodni pH metar)	UDIO MASTI (%)	UDIO VLAGE (%)	UDIO PROTEINA (%)	UDIO SOLI (%)	AKTIVITET VODE (aw)
1. (ISTARSKI OVČJI SIR)	5,10	25,89	37,75	31,00	1,90	0,900
2. (ISTARSKI OVČJI SIR)	5,09	33,57	35,43	27,37	1,51	0,924
3. (MJEŠANI SIR)	5,34	32,67	32,60	30,80	1,39	0,905
4. (MJEŠANI SIR)	4,97	29,99	38,18	26,81	2,06	0,922
5. (VESNIN KRAVLJI SIR)	5,14	30,32	37,86	26,49	1,51	0,931
6. (MLADI KRAVLJI SIR)	5,06	29,15	39,90	26,01	1,77	0,943
7. (EKSTRA TVRDI SIR)	5,20	32,21	31,10	31,37	1,50	0,902
8. (ISTARSKA OVČJA SKUTA	5,08	32,25	56,49	8,11	0,27	0,954
9. (ISTARSKA KRAVLJA SKUTA	4,98	13,06	73,27	9,01	0,59	0,955



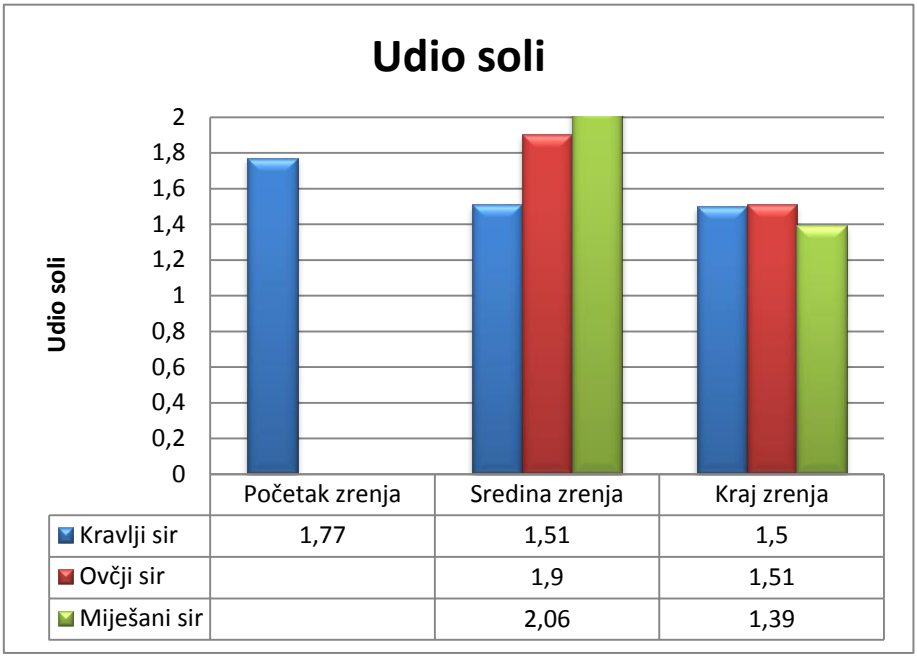
Grafikon 1. Grafički prikaz udjela proteina



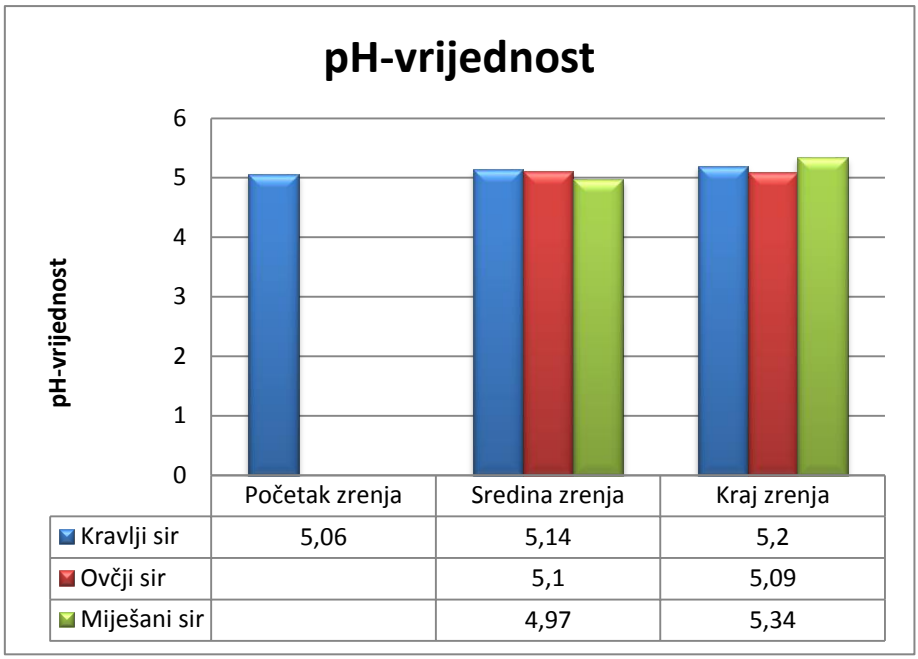
Grafikon 2. Grafički prikaz udjela mliječne masti



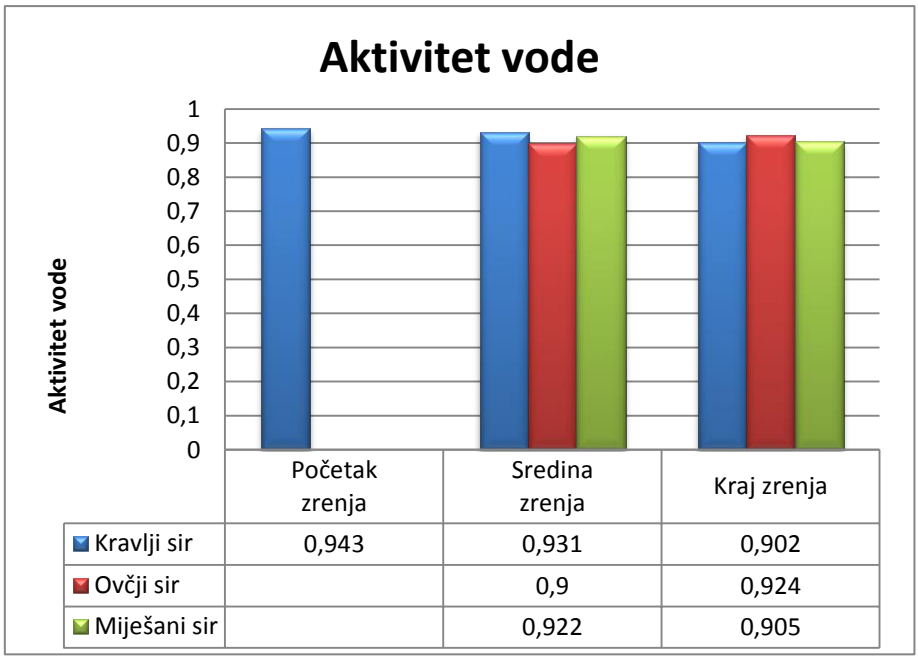
Grafikon 3. Grafički prikaz udjela vode



Grafikon 4. Grafički prikaz udjela soli



Grafikon 5. Grafički prikaz pH-vrijednosti



Grafikon 6. Grafički prikaz aktiviteta vode

Tablica 4. Rezultati mikrobiološke analize

Sirevi	*E. Coli*	*Clostridium*	*S. aureus*	*Salmonella*	*Listeria*
1	< 1	< 1	< 1	odsutno	odsutno
2	< 1	< 1	< 1	odsutno	odsutno
3	< 1	< 1	< 1	odsutno	odsutno
4	< 1	< 1	< 1	odsutno	odsutno
5	< 1	< 1	< 1	odsutno	odsutno
6	< 10	< 10	< 10	odsutno	odsutno
7	< 1	< 1	< 1	odsutno	odsutno

Tablica 5. Izmjerene vrijednosti parametara boje analiziranih sireva

OZNAKA UZORKA	L	a	b
1. (ISTARSKI OVČJI SIR)	87,85 87,04 87,23 86,86 86,45 **87,09***	0,70 0,82 0,58 0,69 0,67 **0,69***	22,22 23,18 22,52 23,32 23,45 **22,94***
2. (ISTARSKI OVČJI SIR)	83,42 83,26 82,36 84,67 84,13 **83,57***	-1,22 -1,27 -1,21 -1,33 -1,15 **-3,44***	27,04 26,62 26,48 27,72 26,84 **26,94***
3. (MJEŠANI SIR)	81,68 82,61 83,59 82,92 83,23 **82,81***	3,42 3,09 3,08 3,23 3,03 **3,17***	31,24 30,10 29,20 30,83 28,76 **30,03***
4. (MJEŠANI SIR)	87,44 88,16 87,60 88,72 87,70 **87,92***	-0,26 -0,27 -0,15 -0,55 -0,25 **-0,30***	24,23 24,51 23,96 23,61 23,21 **23,90***

5. (VESNIN KRAVLJI SIR)	86,51 87,24 86,78 85,71 86,75 **86,60***	0,20 0,03 0,17 0,25 0,02 **0,13***	23,93 23,37 23,86 24,6 22,98 **23,75***
6. (MLADI KRAVLJI SIR)	85,94 86,08 86,94 86,42 87,05 **86,49***	0,84 0,75 0,66 0,79 0,61 **0,73***	23,85 24,27 24,12 24,87 24,76 **24,37***
7. (EKSTRA TVRDI SIR)	84,74 84,36 84,28 84,48 83,98 **84,37***	3,35 3,64 3,72 3,38 3,52 **3,52***	26,44 27,10 27,32 25,94 26,15 **26,59***
8. (ISTARSKA OVČJA SKUTA)	93,98 94,20 94,08 94,31 94,85 **94,28 ***	-0,83 -0,79 -0,89 -0,95 -0,93 **-0,88***	11,55 11,85 11,83 11,68 11,89 **11,76***
9. (ISTARSKA KRAVLJA SKUTA)	93,11 93,10 93,38 93,27 93,66 **93,30***	-0,06 -0,07 -0,14 -0,13 -0,15 **-0,11***	12,53 13,04 13,09 13,13 13,34 **13,03***

Tablica 6. Rezultati analize profila teksture uzoraka sireva

uzorak 1						
	Tvrdoća (g)	**Adhezivnost(g.sec)**	**Rastezljivost**	**Kohezivnost**	**Otpor žvakanju**	**Elastičnost**
1_1	2976,993	-5,317	0,423	0,178	224,262	0,047
1_2	2855,791	-6,627	0,403	0,203	233,603	0,046
1_3	2345,553	-0,45	0,356	0,181	151,413	0,045
1_4	2917,217	-14,425	0,382	0,178	198,082	0,044
1_5	2694,298	-3,512	0,526	0,184	260,709	0,044
1_6	2423,822	-12,808	0,462	0,173	193,338	0,045
coef.var.	**0,098**	**-0,753**	**0,144**	**0,058**	**0,18**	**0,028**
S.D.	**264,608**	**5,416**	**0,061**	**0,011**	**37,904**	**0,001**
Avg.	**2702,279**	**-7,19**	**0,425**	**0,183**	**210,235**	**0,045**
uzorak 2						
2_1	2180,207	-12,798	0,382	0,234	194,755	0,059
2_2	1926,024	-4,019	0,484	0,21	195,696	0,054
2_3	2306,803	-0,547	0,691	0,265	423,056	0,078
2_4	1898,833	-16,297	0,447	0,218	184,963	0,054
2_5	2159,512	-2,018	0,481	0,266	276,212	0,066
2_6	2204,866	-9,919	0,563	0,284	352,41	0,069
2_7	2119,221	-6,442	0,55	0,233	271,159	0,057
coef.var	**0,071**	**-0,782**	**0,193**	**0,113**	**0,332**	**0,143**
S.D.	**149,188**	**5,816**	**0,099**	**0,028**	**90,057**	**0,009**
AVG	**2113,638**	**-7,434**	**0,514**	**0,244**	**271,179**	**0,062**
uzorak 3						
3_1	3781,044	-2,421	0,555	0,241	506,176	0,063
3_2	2874,065	-31,396	0,543	0,227	353,595	0,053
3_3	2881,771	-45,84	0,461	0,21	279,167	0,052
3_4	2997,248	-10,222	0,481	0,23	331,473	0,057
3_5	2501,431	-1,208	0,417	0,195	203,041	0,048
3_6	3389,036	-5,89	0,535	0,248	448,931	0,062
coef.var.	**0,146**	**-1,129**	**0,109**	**0,088**	**0,312**	**0,107**
S.D.	**449,388**	**18,254**	**0,054**	**0,02**	**110,513**	**0,006**
AVG.	**3070,766**	**-16,163**	**0,499**	**0,225**	**353,73**	**0,056**
uzorak 4						
4_1	2330,692	-46,532	0,469	0,258	281,983	0,062
4_2	2748,789	-10,002	0,579	0,278	442,939	0,07
4_3	2804,932	-4,854	0,552	0,307	475,603	0,09

4_4	2270,036	-19,206	0,479	0,281	304,998	0,067
4_5	2125,276	-15,803	0,416	0,207	183,635	0,051
coef.var	**0,123**	**-0,84**	**0,132**	**0,14**	**0,356**	**0,207**
S.D.	**302,962**	**16,194**	**0,066**	**0,037**	**120,418**	**0,014**
AVG	**2455,945**	**-19,279**	**0,499**	**0,266**	**337,832**	**0,068**
uzorak 5						
5_1	4732,167	nema	0,784	0,406	1506,005	0,147
5_2	4594,893	-27,709	0,779	0,482	1725,123	0,185
5_3	3342,801	-7,979	0,737	0,488	1203,395	0,176
5_4	2537,869	-4,443	0,728	0,382	705,428	0,134
5_5	4503,854	-18,678	0,778	0,495	1732,248	0,187
5_6	2851,277	-0,99	0,757	0,431	931,137	0,152
coef.var	**0,258**	**-0,921**	**0,031**	**0,107**	**0,328**	**0,135**
S.D.	**968,391**	**11,021**	**0,023**	**0,048**	**426,36**	**0,022**
AVG	**3760,477**	**-11,96**	**0,761**	**0,447**	**1300,556**	**0,164**
uzorak 6						
6_1	1984,258	-9,967	0,709	0,443	622,455	0,168
6_2	1816,711	-8,505	0,715	0,4	519,619	0,148
6_3	1637,495	-20,072	0,68	0,401	447,103	0,145
6_4	2070,454	-0,533	0,727	0,434	652,325	0,169
6_5	2514,201	-29,071	0,813	0,561	1145,848	0,228
6_6	2124,395	-0,816	0,717	0,334	508,797	0,111
6_7	1585,095	-3,126	0,698	0,393	434,525	0,13
coef.var	**0,163**	**-1,04**	**0,059**	**0,165**	**0,398**	**0,238**
S.D.	**319,381**	**10,708**	**0,043**	**0,07**	**246,405**	**0,037**
AVG	**1961,801**	**-10,298**	**0,723**	**0,424**	**618,667**	**0,157**
uzorak 7						
7_1	6550,199	-3,163	0,57	0,25	932,811	0,061
7_2	4601,498	nema	0,665	0,294	899,547	0,075
7_3	6040,622	-0,82	0,794	0,307	1471,938	0,083
7_4	5905,659	-3,48	0,686	0,285	1154,209	0,074
7_5	7396,082	-4,024	0,831	0,314	1931,525	0,091
7_6	4306,474	-2,263	0,57	0,322	790,405	0,097
7_7	5554,822	-1,386	0,69	0,315	1205,081	0,091

coef.var.	**0,186**	**-0,496**	**0,146**	**0,083**	**0,331**	**0,155**
S.D.	**1072,22**	**1,252**	**0,1**	**0,025**	**395,938**	**0,013**
AVG	**5765,051**	**-2,523**	**0,687**	**0,298**	**1197,931**	**0,082**
uzorak 8						
8_1	238,331	-15,014	0,699	0,4	66,661	0,102
8_2	294,144	-17,947	0,706	0,432	89,675	0,11
8_3	118,56	-25,613	0,268	0,82	26,078	0,349
8_4	263,871	-25,264	0,653	0,359	61,818	0,094
8_5	185,051	-27,726	0,378	0,74	51,778	0,286
8_6	279,172	-33,345	0,613	0,335	57,312	0,084
8_7	224,02	-11,511	0,39	0,727	63,548	0,28
coef.var	**0,266**	**-0,346**	**0,338**	**0,382**	**0,319**	**0,608**
S.D.	**60,851**	**7,742**	**0,179**	**0,208**	**18,995**	**0,113**
AVG	**229,021**	**-22,346**	**0,53**	**0,545**	**59,553**	**0,186**
uzorak 9						
9_1	546,235	-19,133	0,767	0,439	184,112	0,145
9_2	388,485	-21,153	0,687	0,489	130,584	0,168
9_3	389,586	-19,857	0,774	0,397	119,86	0,131
9_4	398,943	-20,495	0,8	0,46	146,644	0,139
9_5	327,389	-25,838	0,416	0,788	107,291	0,347
9_6	737,891	-16,712	0,786	0,465	269,537	0,136

5.RASPRAVA

U ovom radu analiziran je kravlji, ovčji i miješani sir. Sastav navedenih sireva prikazan je u Tablici 3. Iz podataka u Tablici 3. vidljivo je da niti u jednom ispitivanom siru udio vode nije prelazio 40 %. Vrlo male varijacije zabilježene su za udio mliječne masti kod kravljeg i miješanog sira. Udio mliječne masti nije se statistički značajno razlikovao, a varijacija nije bila veća od 3,1 %. Jedino veće odstupanje zabilježeno je kod ovčjeg sira, kod kojeg je varijacija iznosila 7,68 %. Nešto veće razlike zabilježene su za udio proteina u sirevima, gdje je najveća varijacija od 4,88 % zabilježena kod kravljeg sira. Na osnovi udjela vode (suhe tvari) u siru može se ocijeniti i stadij (trajanje) zrenja, jer tijekom dugotrajnog zrenja voda migrira iz sira u okolinu zrione i sir kalira (Tratnik, 1998). Iz podataka u Tablici 3. može se zaključiti da sedam ispitivanih vrsta sireva nije bilo približno jednakog stadija zrenja, jer se udio vlage među njima statistički razlikovao. Sličan zaključak može se izvesti i iz rezultata za aktivitet vode (a_w) prikazanih u Tablici 3. Aktivitet vode parametar je koji se redovito određuje tijekom zrenja sira, jer o njemu direktno ovisi i aktivnost mliječno kiselih bakterija u starter kulturi. S padom a_w tijekom dugotrajnog zrenja sira opada aktivnost starter kulture i biokemijski procesi u siru odvijaju se osjetno polaganije (Everett, 2007). Izmjerene pH-vrijednosti prikazane u Tablici 3. u rasponu su 4,97 – 5,34, dok je udio soli u granicama 1,39 - 2,06.

U Tablici 4. prikazani su rezultati mikrobiološke analize iz kojih je vidljivo da u analiziranim sirevima nije dokazana prisutnost patogenih mikroorganizama.

Boja je također važno senzorsko svojstvo sira. Posebno se cijene sirevi kojima nije dodana nikakva boja tijekom proizvodnog procesa, nego je njihova boja produkt biokemijskih procesa i pretvorbi tijekom zrenja. Sirevi dugotrajnog zrenja trebaju se odlikovati jednoličnom žutom (žućkastom) bojom po cijeloj površini svoga presjeka (Lawrence i sur., 1987.). Rezultati analize boje sireva rađene u ovom radu prikazani su u Tablici 5. Iz rezultata za *L** vrijednost vidljivo je da su svi sirevi u svjetlijem dijelu spektra, što je sasvim logično. Kao što je i logično da su svi analizirani sirevi imali su osjetno izraženu žutu nijansu, pa su i sve izmjerene vrijednosti za *b** parametar bile preko +20. Statistički, najmanje izraženu žutu nijansu boje imao je uzorak 1, a najviše izraženu žutu nijansu imao je uzorak 3.

Uz okus i miris, tekstura predstavlja najvažniji parametar kakvoće sira, bilo da se radi o tvrdom, polutvrdom, mekom ili siru za mazanje (Marshall, 1990). Stoga se vrste sira često dijele prema "tvrdoći", na osnovu koje se može procijeniti postupak proizvodnje i vrijeme trajanja zrenja sira. Unutar pojedine vrste, tekstura sira je jedan od kritičnih senzorskih činioca na osnovu koje konzumenti pojedini sir odabiru i preferiraju (Tamime & Marshall, 1997). Ukupna analiza profila teksture sireva daje nam detaljan uvid u osnovne parametre teksture sira, jednostavnija je i preciznija od senzorskih analiza, metode se lako standardiziraju, a rezultati su lakše usporedljiviji (Marshall, 1990). Iz podataka za tvrdoću prikazanih u Tablici 6., vidljivo je da je najtvrđi bio uzorak 7, a statistički je najmanju tvrdoću imao uzorak 6. Uzorak 5 imao je i najveću kohezivnost, što znači da je najbolje održao koherentnost tijekom deformacije. Međutim, iako je uzorak 6 imao osjetno manju tvrdoću, vrijednosti kohezivnosti bile su izuzetno visoke. To dokazuje kompleksnost teksture sira, koja se ne može ocijeniti iz jednog ili dva parametra, nego je potrebna dublja analiza ocjene mnogih svojstava koje utječu na kakvoću sira (Drake i sur., 1999). Vrijednosti za elastičnost

također su varirale u odnosu na tvdroću i kohezivnost, ali i međusobno. Uzorci sireva s manjom tvrdoćom (uzorak 6) imali su visoke vrijednosti elastičnosti, ali se to može reći i za sireve koji su imali visoku tvrdoću i kohezivnost (uzorak 5). To znači da su određeni uzorci sireva unatoč nešto manjoj čvrstoći i kohezivnosti spremni oporaviti teksturu (vratiti je što bliže prvobitnom stanju prije kompresije) nakon dvije uzastopne deformacije. Vrijednosti za otpor žvakanju također su se samo djelomično poklapale s vrijednostima za tvrdoću i kohezivnost. Najveća vrijednost za otpor žvakanju izmjerena je za uzorak 5, ali vrijednost za otpor žvakanja uzorka 6 bila je statistički značajno veća nego za nego za ostale uzorke sireva, iako je uzorak 6 imao osjetno manju tvrdoću i veću kohezivnost. Kako otpor žvakanju predstavlja energiju potrebnu za žvakanje uzorka, odnosno otpor žvakanju, očigledno je da postoje znatne razlike u građama proteinsko-masnih kompleksa (jer se po sastavu ti sirevi nisu značajno razlikovali), to jest do različitih postupaka tijekom proizvodnje i zrenja, čime se to može uvjetovati.

6. ZAKLJUČCI

Na osnovi rezultata istraživanja provedenih u ovom radu, mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Udio mliječne masti se u svim uzorcima tijekom zrenja povećava
2. Udio proteina se tijekom zrenja kravljeg i miješanog sira povećava, a tijekom zrenja ovčjeg sira se smanjuje
3. Udio vode i soli se u svim uzorcima tijekom zrenja smanjuje
4. pH-vrijednost kravljeg i miješanog sira se tijekom zrenja povećava, dok se tijekom zrenja ovčjeg mlijeka neznatno smanjuje
5. Aktivitet vode se tijekom zrenja kravljeg i miješanog sira smanjuje, dok se tijekom zrenja ovčjeg sira povećava
6. Na temenju rezultata dobivenih mikrobiološkom analizom, svi uzorci sireva bili su zadovoljavajuće mikrobiološke kakvoće te nije dokazana prisutnost niti jednog od patogenih mikroorganizama
7. Svi su sirevi u svjetlijem dijelu spektra i imali su osjetno izraženu žutu nijansu. Statistički, najmanje izraženu žutu nijansu boje imao je uzorak 1 (ovčji sir - sredina zrenja), a najviše izraženu žutu nijansu imao je uzorak 3 (miješani sir – kraj zrenja)
8. Najtvrđi sir bio je uzorak 7 (ekstra tvrdi sir – kraj zrenja), a statistički je najmanju tvrdoću imao uzorak 6 (mladi sir – početak zrenja) koji je ujedno imao i izuzetno visoku vrijednost kohezivnosti, elastičnosti ali i visoku vrijednost otpora žvakanja (najveća vrijednost za otpor žvakanju izmjerena je za uzorak 5 – kravlji sir, sredina zrenja)

7. LITERATURA

1. Božanić, R., Jeličić, I., Bilušić, T. (2010.): Analiza mlijeka i mliječnih proizvoda, Plejada, Zagreb

2. Drake, M. A., Gerard, P. D., Truong, V. D., Daubert, C. A. (1999): Relationship between instrumental and sensory measurements of cheese texture. J. Texture Stud., 30, 451-476.

3. Everett, D. W. (2007): Microstructure of natural cheeses. U: Structure of Dairy Products, A. Y. Tamime (ur.), Blackwell Publishing Ltd., Oxford, UK, pp. 170-201.

4. Havranek, J., Kalit, S., Antunac, N., Samaržija, D. (2014.): Sirarstvo, Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb

5. Lawrence, R. C., Gilles, J., Creamer, L. K. (1987): Symposium: Cheese rippening technology. J. Dairy Sci., 70, 1748-1760.

6. Marshall, R. J. (1990): Composition, structure, rheological properties and sensory texture of processed cheese analogues. J. Sci. Food Agricult., 50, 237-252.

7. Matijević, B., ur. (2015.): Sirarstvo u teoriji i praksi, Veleučilište u Karlovcu, Karlovac

8. Matutinović, S. i sur. (2007.): Značaj tradicijskih sireva s posebnim osvrtom na Lećevački sir. Mljekarstvo 57, 49-65.

9. Pravilnik o kakvoći svježeg sirovog mlijeka, Narodne novine, br, 102/00, 74/08.

10. Tamime A. Y. and Marshall V. M. E. (1997): Microbiology and technology of fermented milks. Ch. 2. U: Microbiology and Biochemisry of Cheese and Fermented milk, B. A. Law (ur.), Chapman & Hall, London, pp. 57 -95..

11. Tratnik, Lj. (1998.): Mlijeko – tehnologija, biokemija i mikrobiologija, Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb

12. Tratnik, Lj., Božanić, R. (2012.): Mlijeko i mliječni proizvodi, Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb

8. PRILOZI

POPIS SLIKA, GRAFIKONA I TABLICA

Slika 1. Bakteriofag **6**
Slika 2. Laktofriz **10**
Slika 3. Centrifugalni separator **11**
Slika 4. Centrifugalni separator **11**
Slika 5. Shematski prikaz homogenizacije mlijeka **12**
Slika 6. Duplikator **14**
Slika 7. Jednofazna i dvofazna baktofuga **15**
Slika 8. *Clean break* **21**
Slika 9. Dogrijavanje sirnog zrna **21**
Slika 10. Distribucijski stol **22**
Slika 11. Soljenje sira u salamuri **23**
Slika 12. Zrionica **24**
Slika 13. Tipična krivulja ispitivanja teksturalnog profila metodom dvostruke kompresije 38

Grafikon 1. Grafički prikaz udjela proteina **41**
Grafikon 2. Grafički prikaz udjela mliječne masti **41**
Grafikon 3. Grafički prikaz udjela vode **42**
Grafikon 4. Grafički prikaz udjela soli **42**
Grafikon 5. Grafički prikaz pH-vrijednosti **43**
Grafikon 6. Grafički prikaz aktiviteta vode **43**

Tablica 1. Sastav mlijeka ženki raznih sisavaca **4**
Tablica 2. Tehnološki parametri hrvatskih autohtonih sireva **26**
Tablica 3. Rezultati fizikalno-kemijske analize uzoraka sireva **40**
Tablica 4. Rezultati mikrobiološke analize **44**
Tablica 5. Izmjerene vrijednosti parametara boje analiziranih sireva **44**
Tablica 6. Rezultati analize profila teksture uzoraka sireva **46**