

Utjecaj dodataka kalcijevih soli u salamuri na proizvodnju i svojstva sira tipa feta sa smanjenim udjelom soli

Babić, Andrea

Master's thesis / Diplomski rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:691661>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-13**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, srpanj, 2019.

Andrea Babić
1107/PI

**UTJECAJ DODATAKA
KALCIJEVIH SOLI U SALAMURI
NA PROIZVODNJU I SVOJSTVA
SIRA TIPRA FETA SA SMANJENIM
UDJELOM SOLI**

Rad je izrađen u Laboratoriju za tehnologiju mlijeka i mliječnih proizvoda na Zavodu za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom dr.sc. Katarine Lisak Jakopović, docentice Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu te uz pomoć dr. sc. Irene Barukčić, docentice Prehrambeno biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i Snježane Šimunić, tehničke suradnice.

Srdačno se zahvaljujem mentorici doc. dr. sc. Katarini Lisak Jakobović na odabranoj temi, stručnim savjetima, podršci, zalaganju te vođenju kroz cjelokupni diplomski.

Veliko hvala doc. dr. sc. Ireni Barukčić i Snježani Šimunić na stručnoj pomoći i korisnim savjetima tijekom izrade diplomskog rada te na strpljenju i humoru koji su uvelike olakšale svaki trenutak proveden u laboratoriju.

Također hvala Laboratoriju za tehnološke operacije i tehničarima Darjanu Pipiću i Goranu Bosancu te Laboratoriju za tehnologiju mesa i ribe i doc.dr.sc Nives Marušić Radovčić na ustupljenim uređajima za mjerenje te pomoći prilikom izrade diplomskog rada.

Zahvaljujem se svojoj kolegici i prijateljici Klari Gelo koja je zajedno sa mnom dijelila trenutke provedene u laboratoriju, kao i ostalim prijateljima koji su mi bili velika podrška i učinili moje studentske dane lijepim i pamtljivim.

Veliko hvala bratu Vedranu i zaručniku Anti na podršci tijekom cijelog studija, ljubavi, razumijevanju i vjeri u mene.

Najveća zahvala ide mojim roditeljima koji su mi od malena usadili prave životne vrijednosti, poticali me na rad, odgovornost, upornost, stalni razvoj te svojim odricanjem i ljubavlju mi sve omogućili. Ovaj rad posvećujem njima.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo
Laboratorij za tehnologiju mlijeka i mliječnih proizvoda

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

UTJECAJ DODATAKA KALCIJEVIH SOLI U SALAMURI NA PROIZVODNJU I SVOJSTVA SIRA TIPA FETA SA SMANJENIM UDJELOM SOLI

Andrea Babić, 1107/PI

Sažetak: Prekomjerni unos natrijevog klorida, najčešće se povezuje s pretilošću, bolestima krvožilnog sustava te rizikom od pojava karcinoma probavnog sustava. Cilj ovog rada bio je istražiti mogućnost djelomične zamjene NaCl-a s kalcijevim solima u siru tipa fete te ispitati njihov utjecaj na fizikalno-kemijske karakteristike i zrenje sira. Proizvedena feta čuvana je tijekom 28 dana u salamurama različite koncentracije NaCl-a, Ca-laktata i Ca-citrata. U radu su određivani fizikalno-kemijski i mikrobiološki parametri za sve uzorke nakon sedmog, četrnaestog, dvadesetprvog odnosno dvadesetosmog dana čuvanja uzoraka sireva te je provedeno senzorsko ocjenjivanje. Na temelju provedenog istraživanja može se zaključiti kako se kalcijeve soli mogu koristiti kao djelomična zamjena za NaCl. Kombinacija u kojoj je 25 % NaCl-a zamijenjeno Ca-citratom pokazala se kao optimalna.

Ključne riječi: natrijev klorid, kalcijeve soli, feta sir, salamura

Rad sadrži: 57 stranica, 16 slika, 16 tablica, 41 literaturnih navoda.

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u: Knjižnica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb

Mentor: *doc.dr.sc. Katarina Lisak Jakopović*

Pomoć pri izradi: *doc.dr.sc. Irena Barukčić, Snježana Šimunić, teh.sur., Darjan Pipić, teh.sur.*

Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:

1. Prof.dr.sc. Rajka Božanić (*predsjednica komisije*)
2. Doc.dr.sc. Katarina Lisak Jakopović
3. Prof.dr.sc. Ksenija Marković
4. Doc.dr.sc. Sven Karlović (*zamjena*)

Datum obrane: 12. srpnja 2019.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
Department of Food Technology and Engineering
Laboratory for Technology of Milk and Milk Products

Scientific area: Biotechnical Sciences

Scientific field: Food Technology

INFLUENCE OF ADDITION OF CALCIUM SALTS IN BRINE ON PRODUCTION AND PROPERTIES IN LOW-SALT FETA CHEESE

Andrea Babić, 1107/PI

Abstract: Excessive intake of sodium chloride, usually is associated with obesity, vascular diseases, and risk of cancer of the digestive system. The aim of this master thesis was to investigate the possibility of partial replacement of NaCl with calcium salts in Feta cheese and to investigate their influence on the physico-chemical characteristics and ripening. Produced Feta is kept for 28 days in brine of various concentrations of NaCl, Ca-lactate and Ca-citrate. The physico-chemical and microbiological parameters for all samples were determined during the seven, fourteen, twenty-one and twenty-eighth days of storage and sensory evaluation were conducted. According to the obtained results can be concluded that the calcium salt can be used to partially replace NaCl. A combination in which 25 % of NaCl were replaced by Ca-citrate is proved to be optimal.

Keywords: sodium chloride, calcium salts, Feta cheese, brine

Thesis contains: 57 pages, 16 figures, 16 tables, 41 references.

Original in: Croatian

Graduate Thesis in printed and electronic (pdf format) version is deposited in: Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb.

Mentor: *Katarina Lisak Jakopović*, PhD, Assistant Professor

Technical support and assistance: *Irena Barukčić*, PhD, Assistant Professor, *Snježana Šimunić*, tech. assistant, *Darjan Pipić*, tech. assistant

Reviewers:

1. PhD. *Rajka Božanić*, Full professor
2. PhD. *Katarina Lisak Jakopović*, Assistant professor
3. PhD. *Ksenija Marković*, Full professor
4. PhD. *Sven Karlović*, Assistant professor (substitute)

Thesis defended: 12th July 2019

| | |
|--|-----------|
| 1. UVOD | 1 |
| 2. TEORIJSKI DIO..... | 3 |
| 2.1. SIR..... | 3 |
| 2.2. SIREVI U SALAMURI..... | 5 |
| 2.2.1. Feta sir | 5 |
| 2.2.2. Proizvodnja feta sira | 6 |
| 2.3. SOL U SIRARSTVU..... | 7 |
| 2.3.1. Soljenje sira uranjanjem u salamuru..... | 8 |
| 2.3.2. Utjecaj soli na zdravlje..... | 9 |
| 2.3.3. Strateški plan smanjivanja kuhinjske soli..... | 10 |
| 2.3.4. Kalcij - laktat / citrat | 12 |
| 3. EKSPERIMENTALNI DIO | 14 |
| 3.1. MATERIJALI | 14 |
| 3.1.1. Mlijeko..... | 14 |
| 3.1.2. Dodaci pri proizvodnji sira tipa feta..... | 14 |
| 3.2. METODE RADA | 14 |
| 3.2.1. Proizvodnja sira tipa feta | 14 |
| 3.2.2. Salamura | 17 |
| 3.2.3. Određivanje kiselosti pH-metrom..... | 17 |
| 3.2.4. Određivanje titracijske kiselosti mlijeka i sira metodom po Soxhlet-Henkelu | 18 |
| 3.2.5. Određivanje gustoće mlijeka | 19 |
| 3.2.6. Određivanje električne provodljivosti i ukupnih otopljenih tvari (TDS) mlijeka i salamure | 19 |
| 3.2.7. Određivanje mliječne masti u mlijeku i vrhnju butirimetrijskom metodom prema Gerberu | 19 |
| 3.2.8. Određivanje udjela suhe tvari u mlijeku i siru direktnom metodom za određivanje ukupne suhe tvari (sušenje u sušioniku) | 20 |
| 3.2.9. Određivanje pepela (udjela mineralnih tvari) u mlijeku i siru..... | 21 |
| 3.2.10. Određivanje udjela laktoze u mlijeku metodom prema Loof-Schoorlu | 21 |
| 3.2.11. Određivanje kuhinjske soli u siru | 22 |
| 3.2.12. Određivanje proteinskog dušika u siru modificiranom metodom po Kjeldahlu..... | 22 |
| 3.2.13. Određivanje boje sira i salamure | 24 |
| 3.2.14. Određivanje teksture sira | 25 |
| 3.2.15. Mikrobiološke analize | 25 |
| 3.2.16. Senzorska analiza sira..... | 27 |
| 3.2.17. Određivanje promjene mase sira i volumena salamure | 27 |
| 3.2.18. Obrada podataka..... | 27 |
| 4. REZULTATI I RASPRAVA | 28 |
| 4.1. REZULTATI ANALIZE MLIJEKA | 28 |
| 4.2. REZULTATI ANALIZE SALAMURE | 31 |
| 4.3. REZULTATI ANALIZE SIRA | 36 |
| 5. ZAKLJUČCI | 51 |
| 6. LITERATURA | 52 |

1. UVOD

Sve je više znanstvenih istraživanja koja govore o utjecaju prehrane i stila života na zdravlje čovjeka, a s ciljem smanjenja rizika koji mogu negativno utjecati na opće zdravlje populacije. Kao jedan od rizika koji se u posljednjih nekoliko desetljeća intenzivno nastoji smanjiti jest unos kuhinjske soli u organizam. Naime, brojna istraživanja su pokazala kako se upravo prekomjeren unos kuhinjske soli može povezati s pretilošću te s povećanjem rizika od kardiovaskularnih oboljenja (Đurić i sur., 2011). Također, istraživanja su pokazala kako povećani unos soli nedvojbeno utječe na pojavu karcinoma probavnog sustava (Premužić i sur., 2010). Zbog toga su na svjetskoj razini pokrenuti različiti programi koji nastoje smanjiti taj unos kroz različite edukacije građana, razvoje novih receptura u proizvodima sa velikim udjelom soli i slično. U sklopu strateškog plana za smanjenje prekomjernog unosa kuhinjske soli u Republici Hrvatskoj 2015.-2019., nastoji se poticati proizvodnja hrane sa smanjenim udjelom soli, što je već pronašlo primjenu u pekarskoj i mesnoj industriji.

Sir, kao namirnica koja se vrlo često konzumira i nalazi u velikom broju jelovnika, uz pekarske i mesne proizvode sadrži visoke udjele soli. Kao takav predstavlja novi izazov prehrambenoj industriji u pronalasku alternativa za kuhinjsku sol ili pak novih receptura, kako bi se dobio proizvod koji će biti prihvatljiv potrošačima, a ujedno neće predstavljati rizik od kardiovaskularnih bolesti, posebice pojedincima koji ga konzumiraju u većim količinama.

Od velikog broja različitih vrsta sireva, po svojoj količini soli posebno se ističe tradicionalni grčki sir feta, koji zrije u salamuri i u sebi sadrži od 3,5-7 % kuhinjske soli. Budući, da je feta vrlo česti sir u različitim salatama i ostalim gastronomskim delicijama, zbog količine prisutne soli može predstavljati problem prilikom učestale konzumacije te pridonijeti povećanom riziku oboljenja od kardiovaskularnih bolesti, a može utjecati i na povećanje rizika razvoja karcinoma probavnog sustava. Kako bi se feta sir mogao nesmetano konzumirati, nastoje se pronaći nova rješenja u njegovoj proizvodnji, kako bi se dobio slani sir, nenarušenih senzorskih karakteristika ali sa smanjenim udjelom kuhinjske soli.

Kao alternativa za natrij klorid u drugim prehrambenim industrijama već su se počele uvoditi različite zamjene kao što su kalijev klorid, magnezijev klorid, kalcijev laktat ili kalcijev citrat (Doyle i Glass, 2009; Gimeno i sur., 1999). U proizvodnji sira tipa fete, tendencija je djelomično ili u potpunosti zamijeniti kuhinjsku sol u salamuri s gore navedenim ili drugim zamjenama te pritom dobiti proizvod koji neće uzrokovati povećanje proizvodnih troškova ili mijenjanje postupka proizvodnje, ali koji će ipak zadovoljiti potrebe potrošača.

S obzirom na navedeno, cilj ovog diplomskog rada bio je ispitati mogućnost djelomične zamjene natrij klorida u salamuri s kalcijevim laktatom i kalcijevim citratom te odrediti njihov utjecaj na fizikalno-kemijske i senzorske parametre tijekom zrenja sira tipa feta.

2. TEORIJSKI DIO

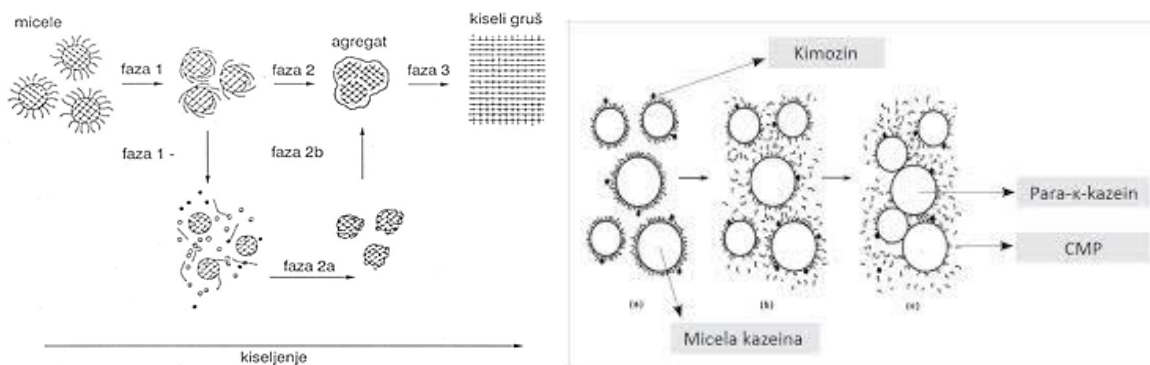
2.1. SIR

Prema općoj definiciji (Pravilnik, 2009), 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), vrhnja, sirutke, ili kombinacijom navedenih sirovina. Razlikujemo nekoliko različitih vrsta sira s obzirom na udio vode u bezmasnoj suhoj tvari sira, konzistenciji i građi: ekstra tvrdi sir, tvrdi sir, polutvrđi sir, polumeki/polutvrđi sir, sir s plemenitim plijesnima, sir parenog tijesta, sir u salamuri, svježi sir i sir od sirutke.

Bit proizvodnje sira je koagulacija proteina (kazeina), odnosno sirenje ili grušanje mlijeka te oblikovanje koaguluma ili sirnoga gruša uz izdvajanje određene količine sirutke. Kvaliteta konačnog proizvoda ovisit će o kvaliteti sirovine (mlijeko), tehnološkom procesu proizvodnje ali i zrenju gdje se javljaju specifične značajke karakteristične za pojedinu vrstu sira (Tratnik i Božanić, 2012).

Kvaliteta koaguluma ili gruša može biti vrlo različita, a ovisi o sastavu i svojstvima sirovine, prethodnoj obradi sirovine, temperaturi, vrsti mikrobne kulture ili sirila, a posebno o udjelu i stanju proteina. Sir se može proizvesti od bilo koje vrste mlijeka i može sadržavati različiti udjel masti i vode. Prethodna obrada mlijeka uključuje standardizaciju mlijeka podešavanjem količine mliječne masti i suhe tvari, pasterizaciju na 72-73 °C/15-20 sekundi, hlađenje mlijeka na temperaturu podsiravanja (30 °C) te dodavanje različitih dodataka (CaCl₂, dinatrijev hidrogenfosfat, natrijev ili kalijev nitrat, pripravci lizozima i sl.) (Miletić, 1994). Grušanje mlijeka se može provesti djelovanjem kiseline (slika 1 a)) ili djelovanjem enzima (slika 1 b)). Grušanje mlijeka djelovanjem kiseline uključuje postupke izravnog zakiseljavanja mlijeka dodatkom neke kiseline (mliječne, octene, limunske) ili glukano-delta-laktone (GDL), pri čemu dobivamo kiselu kazein ili se može primijeniti u proizvodnji kuhanog sira u kombinaciji sa zagrijavanjem na temperaturu od 90-95 °C. Osim izravnog zakiseljavanja mlijeka, razlikujemo zakiseljavanje djelovanjem mezofilne kulture bakterija mliječne kiseline koje se primjenjuje u proizvodnji svježih sireva. Grušanje mlijeka djelovanjem enzima je jedan od najstarijih metoda za proizvodnju polutvrđih i tvrdih sireva. Enzimski pripravci koji se primjenjuju za koagulaciju kazeina mogu biti životinjskog podrijetla, kao što je primjerice kimozijski pripravak Renin ili sirilo je ekstrakt probavnih enzima životinja, a sastoji se od kimozina (80-90 %) i pepsina; ili u novije vrijeme sve se češće koriste mikrobne proteinaze

koje dolaze na tržište pod raznim komercijalnim nazivima (npr. Rennilase, Milkozym i sl.) (Tratnik i Božanić, 2012).



Slika 1. a) Djelovanje kiseline na kazein i nastajanje gruša (Tratnik i Božanić, 2012); b) Djelovanje enzima na kazein (Kojić, 2017)

Cijedenje sirne mase, ili izdvajanje sirutke, posljedica je sinereze, stezanja mreže micela kazeina. Sirna masa nastala djelovanjem mliječne kiseline cijedi se spontano i brzo, dok se cijedenje sirne mase nastale koagulacijom kazeina djelovanjem enzima sirila neće provesti ukoliko se ne osigura mehanička obrada, koja ovisno o vrsti sira, a uključuje jedan ili više koraka: rezanje, miješanje, zagrijavanje sirne mase, tiještenje i soljenje (Miletić, 1994). Kod sireva, koji prethodno nisu u potpunosti prešani, provodi se završno prešanje kako bi se postiglo krajnje odvajanje sirutke te kako bismo postigli odgovarajuću teksturu sira, dobili konačni oblik sira i osigurali nastajanje svojstvene kore sira (Tratnik i Božanić, 2012). Nakon prešanja, provodi se soljenje, koje osim što doprinosi okusu sira, pridonosi cijedenju sirne mase te sprječava razvoj nekih potencijalno patogenih mikroorganizama.

Iako se sirevi nakon proizvodnje mogu razlikovati ovisno o teksturi sirnog tijesta, što je posljedica razlike u korištenom mlijeku (vrsta, udio mliječne masti, udio vode) te procesu proizvodnje, glavne prepoznatljive karakteristike pojedinih vrsta će se formirati upravo prilikom zrenja. Zrenje možemo definirati kao skup biokemijskih i fizikalno-kemijskih procesa koje se odvijaju u siru prilikom procesa zrenja u zrionici, pri čemu dolazi do razvoja boje, okusa, arome i teksture konačnog proizvoda (Fox i sur., 2017). Uvjeti i trajanje zrenja ovise prvenstveno o vrsti sira, odnosno njegovom sastavu i svojstvima sirnog tijesta prije zrenja (udio vode, masti, soli, pH-vrijednost, prisutna mikroflora, udio zaostalih enzimskih pripravaka). Sirevi koji dulje sazrijevaju imaju intenzivniji okus i miris te čvršću teksturu (Tratnik i Božanić, 2012).

2.2. SIREVI U SALAMURI

Sirevi u salamuri potječu s Mediterana i Balkana, gdje i danas uglavnom dominira njihov tradicionalni način proizvodnje. Riječ je o sirevima koji su rezani na kriške (grč. féta) te potom zaliveni salamurom u kojoj se drže i zriju (Božanić, 2015). Karakterizira ih bijela boja i kiselo-slani okus koji se razvija uslijed velike koncentracije soli prilikom soljenja. Između brojnih vrsta koje se razlikuju po načinu soljenja, izdvajaju se Feta sir (potječe iz Grčke), Domiati sirevi (Egipat), Halloumi (Cipar) kao i Turski-bijeli sir. Danas su ove vrste sireva široko rasprostranjene te je njihova proizvodnja većinom industrijska (Fox, 2017).

2.2.1. Feta sir

Feta sir (slika 2) potječe iz Grčke, odakle i naziv feta – grčki „kriška“. Tradicionalno se ovaj sir proizvodi od ovčjeg mlijeka, pa tako od 2005. nosi i oznaku zaštite izvornosti, prema kojoj se pod nazivom Feta smije proizvoditi samo grčki sir proizveden od ovčjega ili mješavine ovčjega (70%) i kozjeg (30%) mlijeka (Kirin, 2016). Sirevi tipa fete, mogu se proizvoditi od bilo koje vrste mlijeka, s različitim udjelom mliječne masti. Novi postupci proizvodnje uključuju primjenu različite prethodne obrade mlijeka, tehnološke provedbe proizvodnje, kao i uporabu različitih mikrobnih kultura i vrsta sirila (Tratnik i sur., 2000).

Fetu karakterizira blago kiseli i slan okus, a što je dulje zrenje poprima pikantniji okus, naročito ako se proizvodi od ovčjeg ili kozjeg mlijeka, što se može okarakterizirati kao puni okus sira (Božanić, 2015). Sirno tijesto je čvrsto, svojstvene bijele boje, kiselkasto-mliječnog mirisa, homogenog prereza, glatke teksture i bez ili s manjim brojem sirnih pukotina koje se mogu pojaviti kao posljedica mehaničke obrade gruša.



Slika 2. Tradicionalno proizveden feta sir (Anonymous 1, 2019)

2.2.2. Proizvodnja feta sira

2.2.2.1. Tradicionalna proizvodnja

U tradicionalnoj proizvodnji feta sira koristi se svježe ovčje mlijeko ili mješavina ovčjeg (70%) i kozjeg (30%) mlijeka. Sirenje se provodi dodatkom sirila na temperaturi od 30°C. Grušanje traje 50 minuta, nakon čega se oblikovani gruši reže na kockice veličine 2 cm² te ostavi da miruje kroz 5-10 minuta. Izrezani gruši povremeno se lagano miješa uz potresanje kako bi se omogućilo bolje izdvajanje sirutke. Tada se gruši prebacuje u sirne marame koje se povremeno stežu i objese kako bi došlo do cijeđenja sirutke prešanjem pod vlastitom masom na sobnoj temperaturi. Zbog samoprešanja ovaj sir karakterizira i veći udio vode te je zbog toga jedan od razloga zašto se feta može svrstati i u meke sireve (Kirin, 2016). Sir se potom prebacuje u perforirane kalupe koji se mogu opteretiti kamenom ili utegom. Kada sir postane dovoljno čvrst, reže se na kriške i suho soli pri čemu upija 3-4% soli. Takav se sir potom stavlja na dasku do pojave sluzi koja će nadalje biti vrlo bitna za razvoj karakterističnog okusa feta sira prilikom zrenja. Nakon toga sir se stavlja u drvene kace (slika 3) te prelje slanom sirutkom ili salamutom sa 6-8% soli te se odvija zrenje. Zrenje najčešće traje 15-25 dana, ovisno o temperaturi pri kojoj se skladišti (Drgalić i sur., 2002; Tratnik i Božanić, 2012; Tratnik, 2000). Ovako proizvedeni sirevi mogu se čuvati u salamuri i do godine dana (Kirin, 2016).



Slika 3. Drvene kace za zrenje feta sira u salamuri (Anonymous 2, 2019)

2.2.2.2. *Industrijska proizvodnja*

U ovom načinu proizvodnje, kao sirovina se koristi kravlje mlijeko koje ovisno o proizvođačkoj specifikaciji može sadržavati različite udjele mliječne masti i bezmasne suhe tvari (Šćuric, 1991). Sirovo kravlje mlijeko prvo se pasteurizira na 72°C kroz 15 sekundi, a potom homogenizira. Slijedi tipizacija na 3,05-3,15% mliječne masti, a potom hlađenje mlijeka na temperaturu između 32°C i 35°C. Tako prethodno obrađenom mlijeku dodaje se mezofilna kultura bakterija mliječne kiseline te dodaci poput kalijevog/natrijevog nitrata, kalcijevog klorida i lipaze. Osim kulture mezofilnih bakterija mliječne kiseline može se dodati i jogurtna termofilna kultura, te se u industrijskoj proizvodnji vrlo često koristi mješavina te dvije kulture. Takvo mlijeko sa dodacima ostavi se da zrije kroz 30-50 minuta kako bi se pH vrijednost spustila na odgovarajuću vrijednost od 6,0-6,50. Sirenje se provodi dodatkom sirila mikrobnog podrijetla pri temperaturi od 32-34°C, a vrijeme sirenja iznosi 30-40 minuta. Sirenje se smatra završenim kada se gruša oštro lomi i pri tome izlučuje bistru žutozelenu sirutku. Dobiveni gruša se harfom reže na kockice veličine 1-2 cm², ostavi da miruje nekoliko minuta da se otpusti dio sirutke i potom miješa 20-25 minuta. Sir se zatim prebacuje u holandsku kadu na predprešanje u trajanju od 10 minuta pri manjem tlaku (1-2,5 bar), a zatim još 10 minuta pri tlaku od 6 bara. Isprešani sir reže se na kriške od oko 1 kg te se slaže u limenke koje se nadolijevaju sa salamuricom 15-16% koncentracije soli, temperature 15°C i pH vrijednosti 4,7. Limenke se zatvaraju te sir zrije 20-30 dana, nakon čega se po potrebi reže na manje kriške, pakira i zalijeva salamuricom te plasira na tržište. Uz povremenu zamjenu salamure (16% soli) i čuvanje pri 5°C tako proizveden feta sir može se skladištiti i do godinu dana (Kirin, 2016; Šćuric, 1991).

2.3. SOL U SIRARSTVU

Kuhinjska sol se od davnina primjenjuje u prehrambenoj industriji kao konzervirajuće sredstvo zahvaljujući sposobnosti smanjenja aktiviteta vode. Poznato je da dodatak soli u namirnice, u koncentraciji od 8-9% može inhibirati patogene bakterije koje se pri toj koncentraciji prestaju razmnožavati. Na taj se način kroz dugo razdoblje može očuvati izvorna kvaliteta namirnice, odnosno spriječiti njezino kvarenje i degradacija (Herceg i sur., 2009). Upravo je to i jedna od uloga soli u siru, posebice tipa feta, u kojoj je važan čimbenik produljenja trajnosti toga sira. Osim konzervirajućeg učinka, sol u siru utječe na njegovu kvalitetu: smanjuje količinu vode u siru, pospješuje bubrenje proteina, utječe na oblikovanje njegove kore, pomaže oblikovanju plastičnosti tijesta, djeluje selektivno na mikrofloru, utječe na tijek zrenja sira, sudjeluje u stvaranju okusa i mirisa sira. Također sol može utjecati i na reološka svojstva sira (elastičnost, točka lomljenja, adhezivnost, tvrdoća) te na fizikalna svojstva kao što su usitnjavanje,

mrvljenje, rezanje (Fox, 2017; Tratnik i Božanić, 2012). Za soljenje sireva koristi se pročišćena kuhinjska sol (NaCl) koja ne smije sadržavati teške metale. Utrljavanje soli na površinu sira, uranjanje sira u salamuru i soljenje sira u kalupu kod punjenja sirnim tijestom najčešći su načini soljenja u sirarstvu (Kalit, 2015).

2.3.1. Soljenje sira uranjanjem u salamuru

Uranjanje sira u salamuru, najčešći je način soljenja polutvrdih i tvrdih sireva. Salamuru možemo definirati kao otopinu soli u vodi ili sirutki, različite koncentracije, temperature i kiselosti- ovisno o vrsti sira (tablica 1). Salamurenje sireva može se provoditi u velikim bazenima (plastični, betonski, metalni) napunjenim salamuricom u koje se sir uranja ručno, složen u posebne okvire te pomoću tekuće vrpce (Tratnik i Božanić, 2012) ili pak u manjim drvenim kacama kao što je slučaj kod proizvodnje feta sira.

Tablica 1. Temperatura, koncentracija i kiselost salamure ovisno o tipu sira (prema Tratnik i Božanić, 2012)

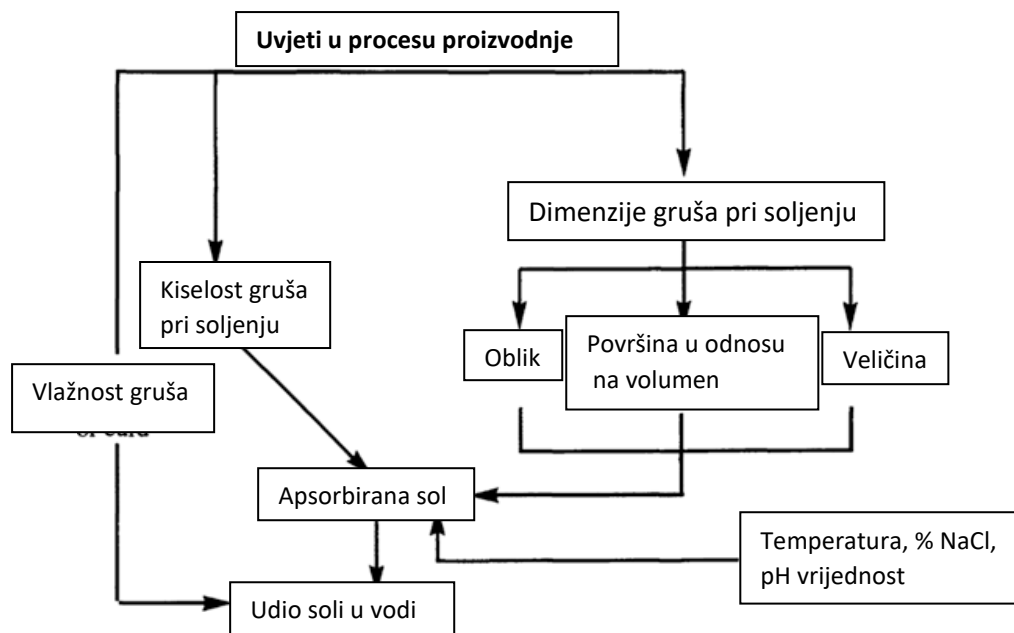
| Tip sira | Temperatura salamure °C | Koncentracija NaCl % | Kiselost salamure pH |
|-------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| Tvrđi sirevi | 10-14 | 20-22 | 5,6 |
| Polutvrđi sirevi | 12-14 | 18-20 | 5,4 |
| Meki sirevi | 15-20 | 15-16 | 5,2 |

Salamura mora imati dobru mikrobiološku kvalitetu kako ne bi uzrokovala mane sira. Određeni mikroorganizmi mogu razgraditi proteine i uzrokovati pojavu sluzi na površini sira ili neki mikroorganizmi mogu uzrokovati pigmentaciju ili diskoloraciju površine sira, osobito ako je koncentracija salamure manja od 16 %. Stoga se salamura mora povremeno pasterizirati ili mikrofiltrirati (MF), a moguć je i dodatak inhibitornih tvari rasta bakterija kao što je vodikov peroksid, Na ili K sorbat ili Delvocid (Tratnik i Božanić, 2012).

Apsorpcija i difuzija soli u sirno tijesto, kao i tekstura te senzorska svojstva sira ovisit će o nekoliko faktora: temperaturi, koncentraciji NaCl-a, pH vrijednost (kiselost) salamure, trajanju salamurenja te o obliku i veličini sira (Fox, 2017).

Temperatura utječe na stupanj apsorpcije soli u sir i gubitak vode. Pri većoj temperaturi dolazi do veće apsorpcije soli što se može odraziti na duže zrenje, a sirevi mogu poprimiti gorak okus. S druge strane, preniska temperatura može prouzročiti lako pucanje sireva koji poprimaju

kiselkast okus (veća aktivnost dodane bakterijske kulture). Količina soli koju će sir upiti ovisi o koncentraciji soli u salamuri. Što je veća količina soli u salamuri, veća je apsorpcija soli u sir te mu se smanjuje vlažnost, odnosno povećava postotak suhe tvari, proteina i masti (koje su sastavni dio suhe tvari). Tekstura sira više će ovisiti o temperaturi salamure nego li o sadržaju soli, pa tako primjerice pri temperaturi od 3 °C sir je najmekši, dok pri temperaturi salamure od 22 °C sir postaje tvrdi i ima teksturu odgovarajuću bijelim mekim sirevima (McMahon i sur., 2009). Vrlo važno je i podesiti pH vrijednost salamure jer se H⁺ ioni u salamuri zamjenjuju Na⁺ ionima iz soli. pH vrijednost također utječe na stupanj apsorpcije soli u sir te na teksturu sira. Pri višoj pH vrijednosti (većoj od 5,6) apsorbira se veća količina soli te sir postaje elastičniji, dok pri nižim pH vrijednostima (manje od 5,0), manja je apsorpcija soli u sir, a konzistencija sira postaje čvrsta i lomljiva. Veća površina sirnoga tijesta u odnosu na njegov volumen, te ravne površine sira umjesto sfernog oblika (zbog različitih smjerova penetracije soli u unutrašnjost sira) doprinose boljoj apsorpciji soli u sir (Fox, 2017; Kalit, 2015; McMahon i sur., 2009; Tratnik i Božanić 2012).



Slika 4. Utjecaj različitih faktora na apsorpciju soli u sir (prema Fox, 2017)

2.3.2. Utjecaj soli na zdravlje

Kako je već ranije navedeno, sol je neizostavan sastojak pri proizvodnji sira, posebice tipa fete koju karakterizira prepoznatljiv slan okus. Iako je kuhinjska sol neophodna za normalno funkcioniranje ljudskog organizma i ima ključnu ulogu u mnogim fiziološkim procesima,

pokazalo se kako prekomjerman unos soli u organizam može uzrokovati neke štetne posljedice po zdravlje ljudi.

Povećani unos kuhinjske soli u ljudskom organizmu uzrokuje povećani arterijski tlak kao fiziološki odgovor kojemu je cilj održati homeostazu. Rezultati jednog od istraživanja (Đurić i sur., 2011) upućuju na prekomjerman unos kuhinjske soli među populacijom koji je povezan s pretilošću i metaboličkim sindromom, te pridonosi povećanju ukupnoga kardiovaskularnog rizika. Istraživanja su pokazala kako su povećani unos kuhinjske soli i pojava moždanog udara u pozitivnoj korelaciji, odnosno što je veći unos soli, to je veća mogućnost od pojave moždanog udara, koji vrlo često može rezultirati i smrću (Li i sur., 2012). Također, istraživanje utjecaja soli na pojavu karcinoma probavnog sustava (Premužić i sur., 2010) ukazalo je na kuhinjsku sol kao jedan od glavnih čimbenika koji može značajno doprinijeti razvoju bolesti probavnog sustava. Smatra se kako natrijev klorid djeluje štetno na sluznicu organa, koja postaje podložnija štetnim agensima ili virusima koji potom dovode do razvitka karcinoma. Iako se u zadnjih nekoliko desetljeća u potrošača razvija svijest o štetnosti prekomjerne konzumacije kuhinjske soli u svojoj prehrani, pred zdravstvenim organizacijama je još puno posla u smislu educiranja građana o važnosti pravilne prehrane.

2.3.3. Strateški plan smanjivanja kuhinjske soli

Brojne države svijeta nastoje provesti različite nacionalne programe brige o zdravlju i pravilnoj prehrani. Hrvatski zavod za javno zdravstvo uz suradnju UN-a, 2014. je razvio strateški plan za smanjenje prekomjernog unosa kuhinjske soli u Republici Hrvatskoj 2015.-2019 (WHO, 2014). Cilj strateškog plana za smanjenje prekomjernog unosa kuhinjske soli u Republici Hrvatskoj jest postupno smanjivati unos kuhinjske soli u općoj populaciji za prosječno 4% godišnje, sa sadašnjih 11,6 grama dnevno na 9,3 grama 2019. godine. Osim kroz različite programe edukacije građanstva o pravilnoj prehrani, vrlo važnim faktorom se smatra i razvijanje novih receptura za proizvodnju gotove i polugotove hrane, kao i smanjenje udjela soli u svim onim prehrambenim proizvodima koji se smatraju njezinim značajnijim izvorom.

Unazad nekoliko godina, na policama brojnih trgovačkih lanaca već se mogu pronaći različiti prehrambeni proizvodi mesne industrije, kao i pekarske industrije koji na deklaracijama ističu smanjeni udio soli. Osim reduciranja NaCl-a u mesnim prerađevinama, kao vrlo dobrom metodom se pokazala i supstitucija NaCl-a s nekom drugom soli. Tako se primjerice u sušenim kobasicama uz kuhinjsku sol mogu naći KCl ili CaCl₂ (Gimeno i sur., 1999). Uz meso i mesne proizvode, mlijeko i mliječni proizvodi su najčešće namirnice konzumirane od strane potrošača. Prema podacima IDF-a (International Dairy Federation, 2015), sir je uz maslac jedan od

najčešće konzumiranih mliječnih proizvoda. Naime, 17% svjetske konzumacije otpada na mlijeko, dok se 13% mlijeka preradi u sir i kao takav prenosi kroz prehrambeni lanac. Kako je već ranije navedeno, razlikujemo različite vrste sireva koji se razlikuju po svojem izgledu, teksturi, boji, okusu ali i po količini soli. U tablici 2. su prikazane neke vrste sireva koji se razlikuju po udjelu vode, količini proteina, masti i soli. Iz tablice možemo primijetiti kako količina soli varira između vrsta sira, a najveća vrijednost je određena u siru tipa feta (3,8 %).

Tablica 2. Prosječni sastav nekih vrsta sireva (Fox i sur., 2017)

| Vrsta sira | Voda g/100 g | Proteini g/100 g | Masti g/100 g | NaCl g/100 g |
|--------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|
| Brie | 48,60 | 19,20 | 26,90 | 1,83 |
| Camembert | 50,70 | 20,90 | 23,70 | 2,10 |
| Cheddar | 37,20 | 25,40 | 33,10 | 1,80 |
| Cheshire | 38,50 | 24,20 | 31,90 | 1,80 |
| Cottage sir | 79,10 | 13,80 | 3,90 | 1,00 |
| Edamer | 43,80 | 26,00 | 25,40 | 2,00 |
| Ementaler | 35,70 | 28,70 | 29,70 | 0,70 |
| Feta | 56,50 | 15,60 | 20,20 | 3,80 |
| Gouda | 40,10 | 24,00 | 31,00 | 2,10 |
| Grojer | 33,60 | 27,30 | 34,50 | 1,20 |
| Mozzarella | 49,80 | 25,10 | 21,00 | 1,50 |
| Ricotta | 73,20 | 11,30 | 1,03 | 0,40 |

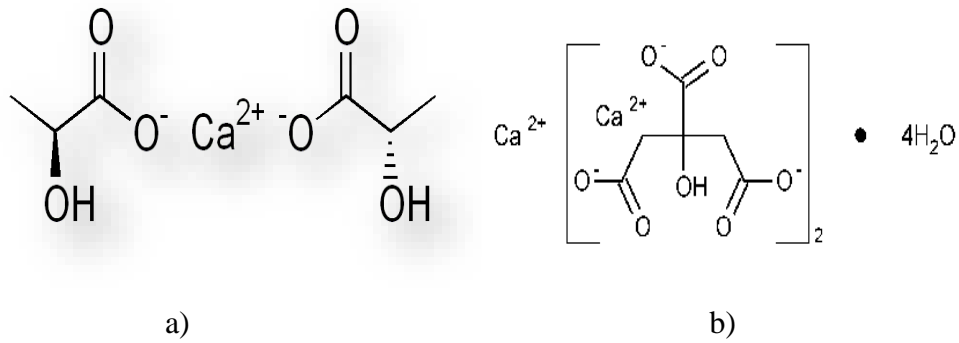
Feta sir, kao jedan od vrlo često biranih vrsta u trgovačkim lancima može predstavljati novi izazov prehrambenoj industriji u pogledu smanjenja soli. Neka istraživanja u tome pogledu su već provedena. Znanstvenici nastoje reducirati količinu NaCl-a u nekim vrstama kao što je tvrdi sir tipa Cheddar, polutvrđi sir Gauda ili svježi zrnati sir. Smatra se da smanjivanje kuhinjske soli u količini od 15-25 % neće značajno narušiti strukturu i senzorska svojstva konačnog proizvoda. Osim reduciranja dodane količine NaCl-a kako bi se smanjila količina soli, pokušalo se pristupiti i supstituciji NaCl-a sa KCl-om, koji se po svojim karakteristikama ne razlikuje značajno od kuhinjske soli, a zbog izostanka natrija se smatra zdravijim izborom. Takva metoda supstitucije NaCl-a s do 50 % KCl-a pokazala se vrlo uspješnom jer nisu primijećena značajnija odstupanja u okusu, izgledu, boji i teksturi u odnosu na izvorni sir (Cruz i sur., 2011; Prolić,

2016; Reddy i Marth, 1991). Postojeća saznanja se svakodnevno nastoje nadopuniti i donijeti neko novo tehnološko rješenje koje može doprinijeti ne samo razvoju prehrambene industrije, već i zdravlju opće populacije. Osim najviše istraženog KCl-a, pokušavaju se pronaći nove moguće zamjene za kuhinjsku sol koje će je moći jednako ili bolje nadomjestiti od već istraženih zamjena. Kao neke od mogućnosti pogodne za istraživanje pokazale su se soli kalcijev laktat i kalcijev citrat.

2.3.4. Kalcij - laktat / citrat

Opće je poznato kako kalcij ima važnu ulogu u ljudskom organizmu. Nužan je za čvrste i zdrave kosti i zube, osigurava kontrakciju mišića i održava normalan rad živčanog sustava. Važno ga je svakodnevno unositi u organizam putem prehrane jer ako se koncentracija kalcija u krvi spusti ispod normalne vrijednosti, kalcij se nadomještuje upravo iz kostiju (Pravina i sur., 2013). Kalcij se u dodacima prehrani nalazi u obliku različitih soli kao što su kalcijev laktat, kalcij citrat, kalcij karbonat i slično. Istraživanja o apsorpciji kalcija putem ovih soli i njihovim učincima na ljudski organizam (Hämäläinen, 1993) su pokazala kako je uporaba kalcijeva laktata i kalcijeva citrata u potpunosti sigurna po ljudsko zdravlje te da se mogu koristiti u dodacima prehrani ili kao sastojci prilikom proizvodnje određenih prehrambenih proizvoda.

Kalcij laktat (slika 5.a) je sol mliječne kiseline i kalcija, a nastaje djelovanjem mliječne kiseline na kalcij karbonat ili kalcij hidroksid. Nastaje i u hrani prilikom procesa fermentacije djelovanjem bakterija mliječne kiseline. Označava se kao aditiv brojem E327, a u hrani se može naći u velikom broju različitih proizvoda kao što su: keksi, kolači, konzervirano voće i povrće, prašak za pudinge i kreme, bezalkoholna osvježavajuća pića, grickalice i brojnim drugim. U proizvodima se dodaje u količini koja je potrebna za postizanje željenog učinka utemeljenom na pravilu „quantum satis“ (namirnicama se smije dodati samo onoliko aditiva koliko je nužno da se postigne željeni učinak, pod uvjetom da se time ne obmanjuje potrošača) (Šajina, 2017). Kalcij citrat (slika 5.b)) je kalcijeva sol limunske kiseline. Kao aditiv se označava brojem E333, a koristi se kao sredstvo za reguliranje kiselosti, stabilizator i antioksidans na biljnoj bazi. Može se proizvesti tehnikama genetičkog inženjerstva, a smatra se bezopasnim za uporabu. Kao i kalcij laktat, u namirnice se dodaje po pravilu „quantum satis“.



Slika 5. a) Kalcij laktat (Anonymous 3, 2018) b) Kalcij citrat (Anonymous 4, 2019)

Kada uspoređujemo soli kalcijev laktat i kalcijev citrat sa kuhinjskom soli (NaCl), možemo paralelno uočavati razlike između kationa i aniona soli. Tako primjerice, u usporedbi s natrijem, drugi kationi (K, Mg, Ca) uzrokuju manji okus slanosti, a povećanu gorčinu prehrambenih proizvoda u koje se dodaju. S druge strane, u usporedbi s kloridima, drugi anioni (fosfati, citrati, laktati) suzbijaju slanost i doprinose intenzivnom razvoju drugih okusa (Guinee i sur., 2007). Soli Ca-laktat i Ca-citrat pokazale su sličnu efikasnost u kontroli rasta bakterija kao i NaCl. Ono što se smatra ograničavajućim faktorom kod zamjene kuhinjske soli, ne samo ovim solima već i drugim kao što su CaCl_2 , KCl ili MgCl_2 u prehrambenim proizvodima je stvaranje metalnog okusa i pojačane gorčine (Doyle i Glass, 2009; Da Silva i sur., 2014). Kao rješenje ovog problema smatra se kombinacija ovih soli, samo djelomična supstitucija NaCl-a ili korištenje tvari koje bi eventualno mogle maskirati metalni i gorak okus, a to su npr. dihidroksibenzojeva kiselina i njezine soli mogu efikasno smanjiti gorčinu, a da pritom ne pojačavaju okus slatkog (Doyle i Glass, 2009).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI

3.1.1. Mlijeko

U eksperimentalnom djelu ovoga rada, za proizvodnju sira tipa feta korišteno je sirovo kravlje mlijeko sa zagrebačkog mljekomata. Za proizvodnju sira tipa fete korištena je starter kultura (CHN-22, Danisco, Francuska) i sirilo za podsiravanje (enzimski pripravak, SIRIS) prema napatku proizvođača.

3.1.2. Dodaci pri proizvodnji sira tipa feta

Pri proizvodnji sira tipa feta koristili su se dodaci CaCl_2 i KNO_3 , 9 %-tna octena kiselina za snižavanje pH vrijednosti mlijeka, NaCl te zamjenske soli Ca-citrat i Ca-laktat.

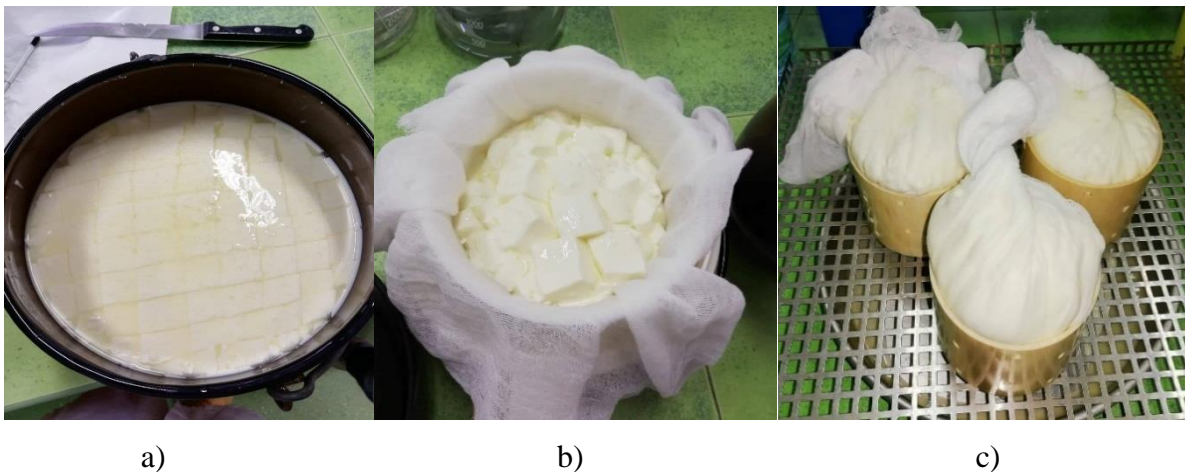
3.2. METODE RADA

Sir tipa fete proizveden je u nekoliko serija s odmakom od 14 dana. Svim uzorcima mlijeka (sirovo i pasterizirano) određena je kiselost (pH i titracijska kiselost po Soxlet Henkelu), gustoća, električna provodljivost, udio mliječne masti, suhe tvari i pepela, količina laktoze, te je napravljena mikrobiološka analiza. Analiza sira i salamure provedena je 1., 7., 14., 21. i 28. dan. Siru je određivana kiselost (pH i titracijska kiselost po Soxlet Henkelu), tvrdoća, boja, suha tvar i pepeo, proteini, količina soli, te je napravljena mikrobiološka analiza i senzorska ocjena. Analize salamure uključivale su određivanje kiselosti (pH), električne provodljivosti te boje. Nakon svake proizvodnje sira određivao se volumen iscijeđene sirutke te određivala masa sira kako bi se mogla pratiti migracija vode između sira i salamure.

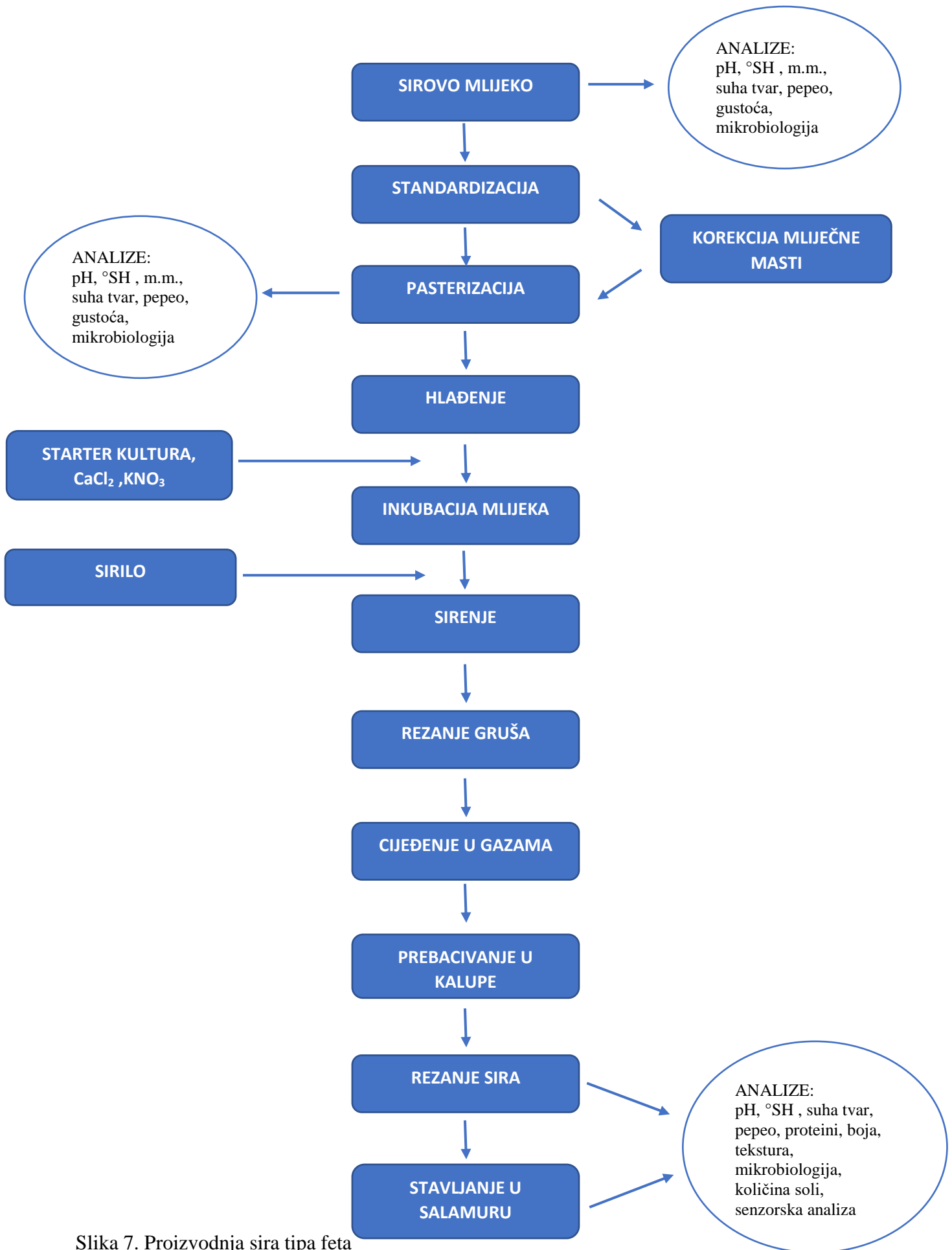
3.2.1. Proizvodnja sira tipa feta

Za proizvodnju jedne serije sira korišteno je 12 L sirovog mlijeka koje se najprije zagrijalo na 20 °C kako bi se izuzeo uzorak za provedbu analiza sirovog mlijeka. Nakon toga je mlijeko standardizirano obiranjem u separatoru (Tehtnica, Slovenija) do oko 3 % mliječne masti. Ukoliko nakon obiranja, nije postignut željeni udio mliječne masti, provela se korekcija udjela mliječne masti dodavanjem vrhnja. Nakon standardizacije uslijedila je pasterizacija na 72 °C/15 sekundi. Iz pasteriziranog mlijeka se ponovno izuzeo uzorak za provedbu analiza. Nakon pasterizacije mlijeko se ohladilo na 34-36 °C (optimalna temperatura za inkubaciju starter kulture) te se dodala starter kultura (0,5-1 %), CaCl_2 (10-20 g/100 L mlijeka) i KNO_3 (0,01 %). Inkubacija mlijeka je provedena na 34-36 °C / 45 minuta, a potom je dodana 9 %-tna octena

kiselina u količini da se postigne pH vrijednost oko 6,0 pH jedinica. Potom je uslijedilo sirenje mlijeka dodatkom sirila (prema napatku proizvođača sirila) na temperaturi 34-36 °C. Grušanje u inkubatoru je trajalo 30 minuta nakon čega se gruš rezao na kockice veličine 1-2 cm (Slika 6.a)). Uslijedilo je miješanje, mirovanje gruša 15 minuta, ponovno miješanje gruša pa mirovanje gruša još 15 minuta. Gruš je zatim prebačen u cjedila obložena gazama (Slika 6.b), a cijedenje je trajalo je 60 minuta, nakon čega se još dodatno provelo cijedenje 60 minuta u gazama pod vlastitom masom. Slijedi prebacivanje u kalupe (Slika 6.c) koji se opterećuju utezima od 5 kg, a kasnije i s utezima od 10 kg te se ukupni postupak cijedenja odvija pri na 16 °C tijekom 18-24 h uz okretanje kalupa. Oblikovani sir se vadi iz kalupa, reže na šnite debljine oko 1,5 cm (porcioniranje na oko 100 g sira) te stavlja u staklene posude i zalijeva sa salamurrom. Sir zrije 7 dana (minimalno zrenje prema Pravilniku o mlijeku i mliječnim proizvodima, 2017), te se čuva 28 dana uz praćenje fizikalno-kemijskih mikrobioloških i senzorskih karakteristika. Postupak proizvodnje prikazan je na Slici 7.



Slika 6. Prikaz proizvodnje sira: a) gruš izrezan na kockice; b) cijedenje gruša u cjedilu obloženom gazom; c) Gruš nakon prebacivanja u kalupe (vlastita fotografija)



Slika 7. Proizvodnja sira tipa feta

3.2.2. Salamura

Sve salamure su pripravljene kao 10 % otopine soli, a pH vrijednost im je podešana na 4,7 pH jedinica (pH vrijednost se podeši s 9 % octenom kiselinom). Kontrolna salamura je 10 % otopina NaCl-a. Osim kontrolne salamure pripravljene su i salamure sa zamjenskim solima (Ca-laktat, Ca-citrat), a prikazane su tablicom 4. Tako pripravljene salamure su pasteurizirane pri 72 °C/15 sekundi. Omjer salamure i sira bio je 4:1.

Tablica 3. Kombinacije salamure.

| Uzorak | NaCL | Ca-laktat | Ca-citrat |
|---------------|-------------|------------------|------------------|
| K | 100 % | 0 % | 0 % |
| SCL1 | 75 % | 25 % | 0 % |
| SCL2 | 50 % | 50 % | 0 % |
| SCC1 | 75 % | 0 % | 25 % |
| SCC2 | 50 % | 0 % | 50 % |

3.2.3. Određivanje kiselosti pH-metrom

pH mlijeka

pH vrijednost mlijeka je određena pH metrom (Technische Werkstätten GmbH pH 3110, WTW, Njemačka). Prije samog mjerenja, elektroda je kalibrirana prema uputama proizvođača, nakon čega je isprana destiliranom vodom i osušena staničevinom. Tako pripravljena elektroda uronjena je u mlijeko, a pH vrijednost je očitana na zaslonu pH-metra. Nakon uporabe elektroda se ponovno isprala s destiliranom vodom, osušila sa staničevinom i uronila u otopinu KCl-a u kojoj se i čuva.

pH sira

Sir je usitnjen u porculanskom tarioniku s tučkom te promiješan s prokuhanom i ohlađenom destiliranom vodom u omjeru 3:10. Zatim je izmjerena pH vrijednost uranjanjem elektrode pH-metra u homogeniziranu smjesu sira i vode. Postupak kalibracije se provodi kao i kod mlijeka.

pH salamure

Uzorcima salamure je pH vrijednost određena pH metrom na identičan način kao kod uzoraka mlijeka (Bajt i sur., 1998).

3.2.4. Određivanje titracijske kiselosti mlijeka i sira metodom po Soxhlet-Henkelu
Metoda po Soxhlet-Henkelu u Republici Hrvatskoj predstavlja službenu titracijsku metodu za određivanje stupnja kiselosti mlijeka i mliječnih proizvoda. Zasniva se na principu titracije 100 mL mlijeka 0,25 M natrijevom lužinom, uz fenolftalein kao indikator, a rezultati se izražavaju u stupnjevima po Soxlet-Henkelu ($^{\circ}SH$) (Sabadoš, 1998).

Određivanje titracijske kiselosti mlijeka

U dvije Erlenmeyerove tikvice otpipetirano je po 20 mL mlijeka. U prvu tikvicu je otpipetirano 0,4 mL 5 %-tne otopine kobaltova sulfata ($CoSO_4 \times 7 H_2O$) te nastala boja predstavlja standardnu boju, odnosno onu nijansu do koje se treba titrirati u drugoj tikvici. U drugu tikvicu je otpipetiran 1 mL fenolftaleina te se tako pripremljena reakcijska smjesa titrirala s 0,1 M NaOH do promjene boje u blijedo ružičastu, odnosno jednaku pripremljenoj standardnoj boji koja je bila stabilna 1 minutu. Titracijska kiselosti mlijeka preračunavala se prema formuli:

$$a * 2 * f = ^{\circ}SH \quad [1]$$

a - broj mL 0,1M NaOH utrošene za neutralizaciju 20 mL mlijeka

f - faktor otopine natrijeve lužine (NaOH) 0,1 M = 1

Određivanje titracijske kiselosti sira

5 g sira odvagalo se u tarionik i otopilo uz dodavanje malih količina destilirane vode zagrijane na 50 °C te se zatim kvantitativno prenijelo u Erlenmayerovu tikvicu, tako da ukupna količina vode bude 100 mL. Dobivenoj emulziji doda se 1 mL fenolftaleina i titrira se s 0,1 M NaOH do pojave blijedo crvene boje koja se mora zadržati dvije minute. Titracijska kiselost sira izračuna se prema formuli:

$$^{\circ}SH = a * f * 8 \quad [2]$$

- a - broj mL 0,1 M NaOH utrošene za neutralizaciju
- f - faktor otopine natrijeve lužine (NaOH) 0,1 M = 1
- 8 - razrijeđenje

3.2.5. Određivanje gustoće mlijeka

Gustoća je fizikalno svojstvo mlijeka te općenito predstavlja omjer mase i volumena, a možemo je definirati kao broj koji pokazuje razliku u masi između jednakih volumena mlijeka i destilirane vode temperature 20 °C ili masa 1 L mlijeka. Ovisi o temperaturi pa se uz mjernu jedinicu g cm^{-3} , navodi i referentna temperatura. Određivanje gustoće mlijeka laktodenzimetrom (areometrom) zasniva se na Arhimedovom zakonu.

Mjerenje gustoće se provodi tako da se menzura od 250 mL do vrha napuni s mlijekom. Potom se u menzuru uroni laktodenzimetar tako da pliva u njoj. Nakon što se laktodenzimetar stabilizira, očita se laktodenzimetarski broj odnosno relativna volumenska težina te temperatura mlijeka u °C (Bajt i sur., 1998).

3.2.6. Određivanje električne provodljivosti i ukupnih otopljenih tvari (TDS) mlijeka i salamure

Električna provodljivost se određivala pomoću konduktometra (TDS/Conductivity/°C meter with RS-232 CON 200 series, Oacton, Singapur) na način da se elektroda uronila u mlijeko/salamuru te očitavala vrijednost električne provodljivosti i TDS-a nakon što se vrijednost pri određenoj temperaturi ne ustali. Nakon upotrebe, elektroda je isprana destiliranom vodom te posušena staničevinom.

3.2.7. Određivanje mliječne masti u mlijeku i vrhnju butirimetrijskom metodom prema Gerberu

Metoda se zasniva na kemijskom otapanju proteina mlijeka (kazeina) i zaštitne opne globula mliječne masti sumpornom kiselinom. Kako bi se lakše odvojila mast dodaje se amilni alkohol koji snižava površinsku napetost mlijeka. Potom se provodi centrifugiranje pri čemu se odvaja mast čija se količina očita na skali butirometra pri temperaturi od 65 °C.

Određivanje mliječne masti u mlijeku

Trbušastom pipetom u butirometar je otpipetirano 10 mL sumporne kiseline, zatim 11 mL mlijeka te na kraju 1 mL izoamilnog alkohola. Pri tome treba voditi računa da se pipetiranje vrši uz stijenku butirometra kako ne bi došlo do miješanja faza i burne reakcije prije zatvaranja butirometra. Nakon toga je butirometar začepljen, a sadržaj je dobro promućkan kako bi se mlijeko u potpunosti otopilo. Uslijed mućkanja je došlo do razvoja topline te promijene boje u tamnosmeđu. Butirometar je zatim stavljen u prethodno zagrijanu (65 °C) centrifugu (Nova Safety, Funke-Gerber, Njemačka), a centrifugiranje je trajalo 5 minuta. Nakon centrifugiranja na skali butirometra se očitala količina mliječne masti (Sabadoš, 1998).

Određivanje mliječne masti u vrhnju

Odvagano je 20 g promiješanog vrhnja koje se razrijedilo s 80 g vode, a potom ugrijalo na 40 °C i promiješalo. Uzorak se potom se ohladio na 20 °C i dalje se postupak provodio jednako kao i pri određivanju sadržaja masti u mlijeku. U ovom slučaju koristi se butirometar za vrhnje.

3.2.8. Određivanje udjela suhe tvari u mlijeku i siru direktnom metodom za određivanje ukupne suhe tvari (sušenje u sušioniku)

Korištena metoda temelji se na isparavanju vode iz uzorka za analizu sušenjem u sušioniku pri konstantnoj temperaturi od 102 ± 2 °C do konstantne mase.

Oprane i osušene aluminijske posudice s poklopcem su napunjene do 1/3 s kvarcnim pijeskom te potom stavljene na sušenje u sušioniku pri temperaturi od 102 ± 2 °C, na način da su posudice otvorene a poklopac naslonjen na njih. Nakon 30 minuta, posudice su izvađene u eksikator kako bi se ohladile do sobne temperature. Izvagane su na analitičkoj vagi, a zatim je u njih ispipetirano 10 mL mlijeka, odnosno izvagano 3-5 g sira. Posudice s uzorcima i poklopcima stavljene su u sušionik na sušenje 2 sata na 102 ± 2 °C. Nakon sušenja posudice se izvađene u eksikator kako bi se ohladile i mogle izvagati. Postupak se ponavljao do postizanja konstantne mase ili do prvog povećanja mase (Pravilnik, 2007). Udjel suhe tvari u mlijeku i siru izračunava se prema formuli:

$$\frac{\text{zadnja odvaga} - \text{prazan lončić}}{\text{odvaga uzorka}} * 100 = \% \text{ suhe tvari} \quad [3]$$

3.2.9. Određivanje pepela (udjela mineralnih tvari) u mlijeku i siru

Mlijeko se upari i mineralizira na 550 °C. Dodatkom Mg-acetata (ili octene kiseline) olakšava se mineralizacija i vezuju hlapivi sastojci poput klora, fosfora i sumpora.

U prethodno izžarene u Mufovoj peći (650 °C) i ohlađene u eksikatoru porculanske lončice otpipetirano je 10 mL mlijeka, u koje je dodana kap octene kiseline (kako bi se zgrušao kazein). Uzorci su zatim stavljeni u sušionik na temperaturu od 158 °C dok se sasvim nisu osušili. Zatim su lončici stavljeni na žarenje u Mufovu peć na temperaturu od 550 °C dok sadržaj nije pobijelio. Lončici su potom ohlađeni u eksikatoru, izvagani te ponovno žareni dok nije postignuta konstanta masa ili prvo povećanja mase, nakon čega je izračunat postotak pepela u uzorku prema formuli:

$$\frac{\text{zadnja odvaga} - \text{prazan lončić}}{\text{odvaga uzorka}} * 100 = \% \text{ pepela} \quad [4]$$

Kod određivanja pepela u siru, u porculanske lončice odvagano je 3-5 g sira bez dodatka octene kiseline. Postupak je dalje identičan kao i kod uzoraka mlijeka (Trajković i sur., 1983).

3.2.10. Određivanje udjela laktoze u mlijeku metodom prema Loof-Schoorlu

Metoda se temelji na redukciji metala iz Luffove otopine (alkalna otopina bakra) djelovanjem laktoze zahvaljujući prisutnosti slobodne aldehidne, odnosno keto-skupine pri čemu kao posljedica te reakcije nastaje crveno-smeđi netopljivi talog Cu₂O. Titracijom suviška nereduciranih iona bakra (Cu²⁺) ili titracijom istaloženog i otopljenog Cu₂O određuje se količina laktoze.

U tikvicu s brušenim grlom otpipetiran je 1 mL uzorka mlijeka. Dodano je 24 mL destilirane vode i 25 mL Luffove otopine. Tikvica je priključena na povratno hladilo i provedeno je kuhanje uz lagano vrenje točno 10 minuta (nakon što je prva kap kapnula u tikvicu). Tada je tikvica skinuta, ohlađena pod mlazom tekuće vode te je u nju dodano 15 mL 20 %-tne otopine kalij jodida, a potom oprezno, uz miješanje, 25 mL 25 %-tne otopine sulfatne kiseline. Izlučeni jod titrirao se sa 0,1 mol L⁻¹ Na-tiosulfatom toliko dugo dok boja uzorka nije prešla u žutu, a zatim je dodano 1 mL svježe pripremljene 2 %-tne otopine škroba i titracija je nastavljena sve do prijelaza tamnoplave u putenastu boju koja se zadržala nekoliko minuta. U račun se uzeo u obzir zbroj utrošenih mililitara tiosulfata u obje titracije. Usporedno je provedena i slijepa proba

gdje je umjesto 1 mL uzorka i 24 mL destilirane vode otpipetirano 25 mL destilirane vode, a dalje je sve provedeno na isti način kao i kod uzorka (modifikacija prema Trajković i sur., 1983).

Izračun:

Slijepa proba troši x mL $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

Uzorak troši y mL $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

$$(x-y) \cdot f(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = z \text{ mL } 0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \quad [5]$$

Iz tablice se za z mL $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ očitaju mg laktoze u 1 mL uzorka

3.2.11. Određivanje kuhinjske soli u siru

U porculansku zdjelicu za žarenje odvagano je 2–3 g sira koji je zatim pažljivo zagrijavan do ugljenaste sirne mase. Ohlađena zdjelica ispirana je toplom destiliranom vodom i filtrirana. 50 mL dobivenog filtrata titrirano je otopinom srebro-nitrata uz indikator kalijev kromat do pojave boje cigle. Ispiranje se provodilo dok sva sol nije isprana iz ugljenaste mase sira.

Udio NaCl u siru računa se prema izrazu:

$$\% \text{ NaCl} = b * 0,00585a * 100 \quad [6]$$

a – odvagana količina sira

b – mL $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ otopine AgNO_3

0,00585 – empirijski koeficijent

3.2.12. Određivanje proteinskog dušika u siru modificiranom metodom po Kjeldahlu

Metoda se temelji na razgradnji organskih tvari sulfatnom kiselinom u prisutnosti katalizatora na visokoj temperaturi pri čemu se oslobađaju alkalni produkti, destilaciji i titraciji oslobođenog amonijaka.

Izvagano je 5 g uzorka sira na analitičkoj vagi, umotano u aluminijsku foliju i prebačeno u Kjeldahovu kivetu. Dodane su dvije tablete katalizatora i 25 mL koncentrirane H_2SO_4 , te je sve lagano miješano dok se uzorak u potpunosti nije navlažio kiselinom (može se ostaviti preko noći, kako bi se spriječilo pjenjenje uzorka).

Tikvice se stavljene na nosač i na njih je montirana vakuum-kapa te je otvoren maksimalan protok vode. Sve zajedno je stavljeno na blok za spaljivanje, prethodno zagrijan na 400 °C. Postupak spaljivanja zbog sigurnosnih razloga provodio se u digestoru. Prvih 10 minuta spaljivanja proveden je uz maksimalan protok vode, nakon čega je protok vode smanjen. Spaljivanje se provodilo dok otopina nije postala bistra, bez promjene boje i bez neizgorenih crnih komadića uzorka. Obično je dovoljno 40-60 minuta. Nakon toga tikvice su zajedno s nosačem maknute te ostavljene na hlađenju kroz najmanje 15-20 minuta.

U ohlađeni uzorak zatim je dodano 80 mL destilirane vode te je kiveta postavljena na svoje mjesto u sustavu za destilaciju. U Erlenmeyerovu tikvicu dodano je 50 mL 4 % borne kiseline (uz indikator bromkrezol zeleno / metilno crvenilo) te je tikvica postavljena na podignuto postolje u destilacijskom sustavu tako da je destilacijska cjevčica uronjena u otopinu. Zatim su spuštene sigurnosna vratašca i pokrenut je destilacijski sustav, koji najprije dozira 65-70 mL 40 % NaOH u kivetu s uzorkom, a potom počinje destilacija koja traje otprilike 4 minute. Pred kraj destilacije postolje za Erlenmeyerovu tikvicu je spušteno i destilacija je nastavljena još par sekundi da se ispere cjevčica. Destilat u Erlenmeyerovoj tikvici je zelene boje što ukazuje na prisutnost amonijaka. Dobiveni destilat se titirao s 0,1 M otopinom HCl-a do promjene zelene boje u nježno ružičastu boju. U svakoj seriji ispitivanja provodila se i slijepa proba, tako da su u kivetu stavljene 2 tablete katalizatora i 25 ml koncentrirane H₂SO₄. Postupak je dalje proveden na isti način kao i za uzorak.

Izračunavanje udjela dušika:

$$\% N = \frac{[(U-S)*N*1,4007]}{m} \quad [7]$$

U- volumen HCl-a utrošen za titraciju uzorka, mL

S- volumen HCl-a utrošena za titraciju slijepa probe, mL

N- molaritet kiseline (na 4 decimale)

m- masa uzorka u g

$$\% \text{ proteina } N * F \quad [8]$$

Faktor (F) za preračunavanje dušika u proteine iznosi 6,38 za kazein i kazeinate.

3.2.13. Određivanje boje sira i salamure

Određivanje boje uzorka vršilo se CM- 3500d kolorimetrom. Za određivanje boje sira korištena je maska otvora 8 mm, a mjerenja su provedena u SCE (Specular Component Excluded) modu. Uzorak je postavljen na otvor maske pri čemu je izmjerena reflektancija u vidljivom području, te L^* , a^* i b^* vrijednosti.

Određivanje boje salamure provedeno je uz masku otvora 30 mm, a mjerenja su provedena u SCE modu. Salamura je izlivena u kivetu te umetnuta u uređaj koji je potom mjerio transmitanciju u vidljivom području, te L^* , a^* i b^* vrijednosti.

Prije početka mjerenja kalibriran je uređaj za masku otvora 8 mm, odnosno 30 mm. Obrada podataka vršena je u SpectraMagicNX programu.

ΔE^* , koji pokazuje koliko neki proizvod odstupa od referentne boje (Tablica 4.), računa se po formuli:

$$\Delta E^* = \sqrt{(L^* - L_{ref}^*)^2 + (a^* - a_{ref}^*)^2 + (b^* - b_{ref}^*)^2} \quad [9]$$

L^* - svjetlina boje ispitivanog uzorka u $L^*a^*b^*$ sustavu

a^* - parametar boje ispitivanog uzorka

b^* - parametar boje ispitivanog uzorka

L_{ref}^* – svjetlina boje referentnog uzorka

a_{ref}^* – parametar boje referentnog uzorka

b_{ref}^* – parametar boje referentnog uzorka

Tablica 4. Značenje razlika između izmjerene ΔE^* vrijednosti i referentne

| ΔE^* | Značenje |
|-------------------|---------------------|
| 0,00-0,05 | Razlike u tragovima |
| 0,50-1,50 | Mala razlika |
| 1,50-3,00 | Primjetna razlika |
| 3,00-6,00 | Značajna razlika |
| 6,00-12,00 | Velika razlika |
| >12,00 | Vrlo velika razlika |

3.2.14. Određivanje teksture sira

Tekstura uzoraka sira tipa feta, određena je pomoću teksturometra (Ametek Lloyd Instruments Ltd., UK) s ćelijom od 50 kg. Uzorci sira pripremljeni su tako što su izrezani na jednake kockice veličine 2 cm³. Uzorci su komprimirani dva puta do 50 % deformacije brzinom od 1 mm s⁻¹ (vrijeme razmaka između 2 ciklusa 5 s). Rezultati su obrađeni softverom NexygenPlus, a određeni su slijedeći parametri: tvrdoća, adhezivna sila, kohezivnost, adhezivnost (Nmm), gumenost, odgođena elastičnost (mm), žvkljivost (Nmm), otpornost, lom i vlaknastost (mm).

3.2.15. Mikrobiološke analize

Mikrobiološka analiza provedena je na svim uzorcima mlijeka (sirovo i pasterizirano), sireva (1., 7., 14., 21., 28. dan), te na kontrolnoj salamuri prije stavljanja sira u nju. Svi uzorci za mikrobiološke analize izuzeti su u sterilnim uvjetima kako bi se spriječila mogućna naknadna kontaminacija. Sterilni uvjeti osigurani su suhom i mokrom sterilizacijom svog potrebnog posuđa, te pribora za uzorkovanje i pripremu uzorka. Radne površine sterilizirane su alkoholom i drugim dezinficijensima prije i tijekom mikrobioloških analiza, a kako bi aseptični uvjeti bili što bolji analize su provedene uz otvoreni plamen plamenika. Prilikom provedbe mikrobioloških analiza, obavezna je uporaba sterilnih rukavica, zaštitnih naočala i sterilne maske za usta kako ne bi došlo do eventualne kontaminacije od strane analitičara.

Kod uzoraka mlijeka (sirovo i pasterizirano) praćena je prisutnost ukupnog broja mikroorganizama, kvasaca i plijesni, enterobakterija te koagulaza pozitivnih stafilokoka. Za ostale uzorke (sir i salamura) praćena je prisutnost kvasaca i plijesni, enterobakterija te koagulaza pozitivnih stafilokoka, dok prisutnost ukupnog broja mikroorganizama nije bilo potrebno pratiti budući da se prilikom proizvodnje sira mlijeku dodaje starter kultura pa je očekivan porast ukupnog broja mikroorganizama. Za određivanje ukupnog broja mikroorganizama korištena je hranjiva podloga Tryptic Glucose Yeast Agar (Biolife, Italy), za kvasce i plijesni Sabouraud Dextrose Agar (Biolife, Italy), enterobakterije Violet Red Bile Glucose Agar (Biolife, Italy), a za određivanje koagulaza pozitivnih stafilokoka upotrijebljena je Baird Parker Agar Base (Liofilchem, Italy) hranjiva podloga (Bajt i sur., 1998).

Mikrobiološka analiza mlijeka i salamure

Mikrobiološka analiza navedenih uzoraka provedena je primjenom direktne metode naciepljivanja decimalnih razrjeđenja na odgovarajuće hranjive podloge i inkubacijom na prikladnim temperaturama. Decimalna razrjeđenja pripremljena su tako da je 1 mL uzorka mlijeka ili salamure, odnosno 1 mL homogeniziranog razrijeđenog uzorka sira sterilnim

nastavkom mikropipete prenesen u epruvetu s 9 mL fiziološke otopine. Dobiveno razrjeđenje u epruveti dobro je promiješano na rotacijskoj miješalici (MS2 Minishaker, IKA, Staufen, Njemačka). Novim sterilnim nastavkom mikropipete izuzet je 1 mL pripremljenog razrjeđenja i prenesen u slijedeću epruvetu koja sadrži 9 mL fiziološke otopine. Postupak se ponavlja dok nije dobiven željeni broj decimalnih razrjeđenja.

Za analizu sira pobilo je potrebno prethodno pripremiti uzorak tako da je izvagano 20 g sira koje se usitnilo u tarioniku uz postupno dodavanje prethodno pripremljene i na 45 °C zagrijane 2 %-tne otopine natrijeva citrata. Homogenizirana otopina sira prebačena je u steriliziranu i ohlađenu Erlenmeyerovu tikvicu sa staklenim zrcima te je korištena kao ishodišno razrjeđenje za pripremu svih ostalih.

Uzorci namijenjeni za određivanje broja enterobakterija i koagulaza pozitivnih stafilokoka naciepljeni su ravnomjernim razmazivanjem 100 µL decimalnog razrjeđenja pomoću štapića po Drigalskom po podlozi razlivenoj na Petrijevu ploču. Prilikom naciepljivanja jedan kraj poklopca Petrijeve ploče podignut je tek toliko da se između njega i donjeg dijela Petrijeve ploče može mikropipetom, držanom pod kutom od 45 ° dosegnuti do sredine dna ploče. Prilikom unošenja mikropipete u Petrijevu ploču ne smije se vrhom mikropipete dodirnuti ni poklopac ni rub ploče. Naciepljene ploče okrenute su dnom prema gore i postavljene na inkubaciju u termostat (Tip 14.02, Instrumentaria, Zagreb, Hrvatska) pri 37 °C na 3 dana.

Metoda za određivanje broja kvasaca i plijesni te ukupnog broja mikroorganizama započela je pipetiranjem 1 mL uzorka određenih decimalnih razrjeđenja na sterilnu plastičnu Petrijevu zdjelicu, pri čemu je korišten sterilni nastavak mikropipete. Uzorci su zatim preliveni s 10-12 mL prethodno pripremljene hranjive podloge (otopljena na 100 °C i ohlađena u vodenoj kupelji na temperaturi od 43 do 45 °C). Ploče su pažljivo, kružnim potezima, izmiješane te nakon što su ohlađene, okrenute su i stavljene u termostat na 30 °C u trajanju od 72 sata.

Po završetku zadane inkubacije izbrojane su narasle kolonije. Za brojenje su odabrane one podloge na kojima je naraslo od 30 do 300 kolonija. Izračuna se broj naraslih kolonija po mL odnosno CFU (colony forming unit)/mL po formuli:

$$\frac{CFU}{mL} = \frac{\text{broj kolonija}}{\text{nasađen volumen}} * \text{recipročna vrijednost decimalnog razrjeđenja} \quad [10]$$

3.2.16. Senzorska analiza sira

Senzorsko ocjenjivanje sira tipa feta provodilo se 7., 14., 21. i 28. dan čuvanja u salamuri određenog sastava. Ocjenjeni su izgled, boja, konzistencija, prerez, miris i okus prema obrascu prikazanom u Tablici 5.

Tablica 5. Maksimalan broj bodova za ocjenu senzorskih svojstava sira tipa Feta te opis pojedinog svojstva

| Svojstvo i opis svojstva | Broj bodova |
|--|--------------------|
| Izgled (snježno bijeli, homogeni sir uz mogućnost manjih pukotina u teksturi) | 2 |
| Boja (porculansko bijela, snježno bijela) | 1 |
| Konzistencija (mekana do polutvrda tekstura, kremasta) | 2 |
| Prerez (homogen, moguće manje pukotine u siru) | 3 |
| Miris (kiselkasto mliječni, blago pikantan) | 2 |
| Okus (kiseli i slani okus, lagano pikantan okus) | 10 |
| Ukupno | 20 |

3.2.17. Određivanje promjene mase sira i volumena salamure

Nakon proizvodnje, sir je izrezan na šnite (oko 100 g), stavljen u posude te zaliven salamuricom. Omjer sira i salamure iznosi 1:4. 7., 14., 21. i 28. dan analiza praćene su promjene mase sira i volumena salamure kao posljedice migracije salamure u unutrašnjost sira. Volumen salamure određivan je pomoću menzure od 500 mL, dok je sir vagan na laboratorijskoj vagi.

3.2.18. Obrada podataka

Svi pokusi su ponovljeni dva puta, a kontrolni uzorak četiri puta, pošto su bile četiri serije pokusa. Izračunate su srednje vrijednosti i standardne devijacije za sva mjerenja.

4. REZULTATI I RASPRAVA

Cilj ovog rada bio je ispitati mogućnost djelomične zamjene kuhinjske soli s kalcijevim laktatom i kalcijevim citratom, njihov utjecaj na fizikalno-kemijska i senzorska svojstva te utjecaj na rok trajanja sira tipa feta.

4.1. REZULTATI ANALIZE MLIJEKA

Tablica 6 prikazuje rezultate fizikalno-kemijskih analiza sirovog kravljeg mlijeka s mljekomata. Uspoređujući dobivene vrijednosti za gustoću, udio mliječne masti, laktoze, suhe tvari i pepela može se ustvrditi kako mlijeko zadovoljava prosječni kemijski sastav kravljeg mlijeka: gustoća $1,028-1,034 \text{ g cm}^{-3}$, udio mliječne masti 3,2-5,5 %, udio laktoze 4,6-4,9 %, udio suhe tvari 11-14 %, udio pepela 0,6-0,8 % (Tratnik i Božanić, 2012). Titracijska kiselost sirovog mlijeka, izražena u °SH najčešće je između 6,6 i 6,8. Blago povećana titracijska kiselost analiziranog sirovog mlijeka može biti rezultat većeg udjela proteina, fosfata, citrata i kalcija u mlijeku. pH vrijednost analiziranog sirovog mlijeka nalazi se unutar granica normalnih vrijednosti od pH 6,6 do pH 6,8 (Miletić, 1994).

Tablica 6. Rezultati fizikalno-kemijskih analiza sirovog kravljeg mlijeka (n=4)

| Parametar | |
|-------------------------------|------------|
| pH | 6,77±0,05 |
| °SH | 6,90±0,66 |
| Električna provodljivost (mS) | 2,99±1,62 |
| TDS (g L ⁻¹) | 1,79±0,83 |
| Gustoća (g cm ⁻³) | 1,03±0,00 |
| Udio mliječne masti (%) | 4,40±0,48 |
| Udio laktoze (%) | 4,88±0,00 |
| Udio suhe tvari (%) | 13,29±0,00 |
| Udio pepela (%) | 0,75±0,00 |

*TDS- ukupne otopljene tvari

U tablici 7 dane su vrijednosti fizikalno-kemijskih analiza mlijeka nakon standardizacije i pasterizacije. Osim smanjenja udjela mliječne masti koju smo obrali, nije došlo do bitnih promjena u kemijskom sastavu mlijeka, dok kod fizikalnih svojstava, kao što je električna provodljivost mlijeka, vrijednost raste.

Tablica 7. Rezultati fizikalno-kemijskih analiza pasteriziranog kravljeg mlijeka (n=4)

| Parametar | |
|--------------------------------------|------------|
| pH | 6,63±0,07 |
| °SH | 7,15±0,14 |
| Električna provodljivost (mS) | 3,74±1,13 |
| TDS (g L⁻¹) | 1,76±0,91 |
| Udio mliječne masti (%) | 2,90±0,00 |
| Udio laktoze (%) | 5,11±0,00 |
| Udio suhe tvari (%) | 12,03±0,00 |
| Udio pepela (%) | 0,81±0,00 |

*TDS- ukupne otopljene tvari

Rezultati mikrobiološke analize sirovog i pasteriziranog mlijeka, prikazani su u tablici 8. Ukupan broj mikroorganizama u mlijeku veći je od 10⁵ mikroorganizama mL⁻¹ koliko je dopušteno Pravilnikom o utvrđivanju sastava sirovog mlijeka (2017) te se takvo mlijeko ne smije upotrebljavati za proizvodnju sira bez prethodne pasterizacije. Pasterizacijom je smanjen broj ukupnih mikroorganizama te broj enterobakterija, koji se u sirovom mlijeku nalazio u dopuštenima granicama između 1 i 5 log CFU mL⁻¹, čime je dokazano da je pasterizacija uspješno provedena i da se mlijeko može sigurno koristiti za proizvodnju sira (Uredba (EZ), 2018). Koagulaza pozitivni stafilocoki se nisu nalazili u sirovom i pasteriziranom mlijeku.

Tablica 8. Prosječne vrijednosti ($\log \text{CFU mL}^{-1}$) parametara mikrobioloških analiza sirovog i pasteriziranog mlijeka (n=4)

| Mikroorganizam | | | | |
|----------------------------------|--------------------|-----------------------------|------------------------|--|
| Uzorak | Ukupan broj | Kvasci i pljesni | Enterobakterije | Koagulaza pozitivni stafilokoki |
| Sirovo mlijeko | 5,33±0,30 | 4,54±1,35 | 3,27±0,83 | 0,00±0,00 |
| Pasterizirano mlijeko | 4,11±2,18 | 2,98±1,24 | 0,12±0,24 | 0,00±0,00 |

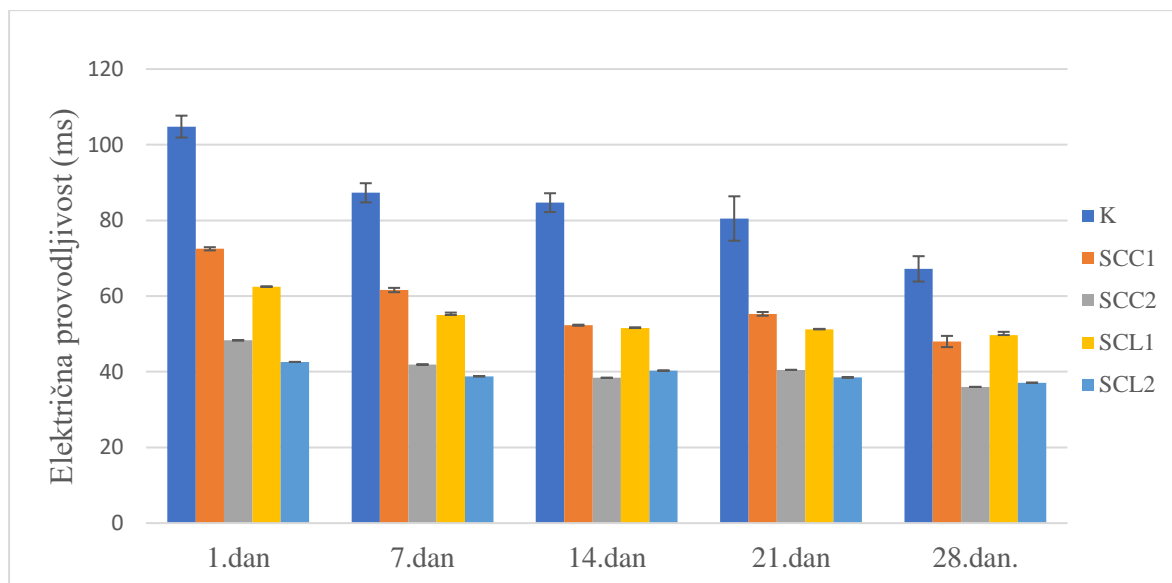
4.2. REZULTATI ANALIZE SALAMURE

Izmjerene pH vrijednosti ($-\log [H^+]$) salamura različitih koncentracija prikazane su u tablici 9. Može se uočiti kako pH vrijednost salamura K i SCC1 raste što je duže vrijeme čuvanja, dok se kod ostalih salamura (SCC2, SCL1 i SCL2) bilježi rast pH vrijednosti do 21. dana, nakon čega pH salamura počinje opadati. Najveći rast pH ($\Delta pH=0,39$) do 21. dana zabilježen je kod salamura u kojima je dio NaCl-a zamijenjen s Ca-laktatom (SCL1 i SCL2), dok je najmanji rast uočen kod kontrolne salamure (100% NaCl). pH salamure znatno ovisi o koncentraciji soli, pošto se H^+ ioni u salamuri zamjenjuju Na^+ ionima iz soli. Što je veća koncentracija NaCl-a u salamuri to je manji rast pH vrijednosti (Tratnik i Božanić, 2012).

Tablica 9. pH vrijednosti salamura K (100 % NaCl) (n=4), SCC1 (75 % NaCl i 25 % Ca-citrat), SCC2 (50 % NaCl i 50 % Ca-citrat), SCL1 (75 % NaCl i 25 % Ca-laktat), SCL2 (50 % NaCl i 50 % Ca-laktat) tijekom 28 dana čuvanja (n=2)

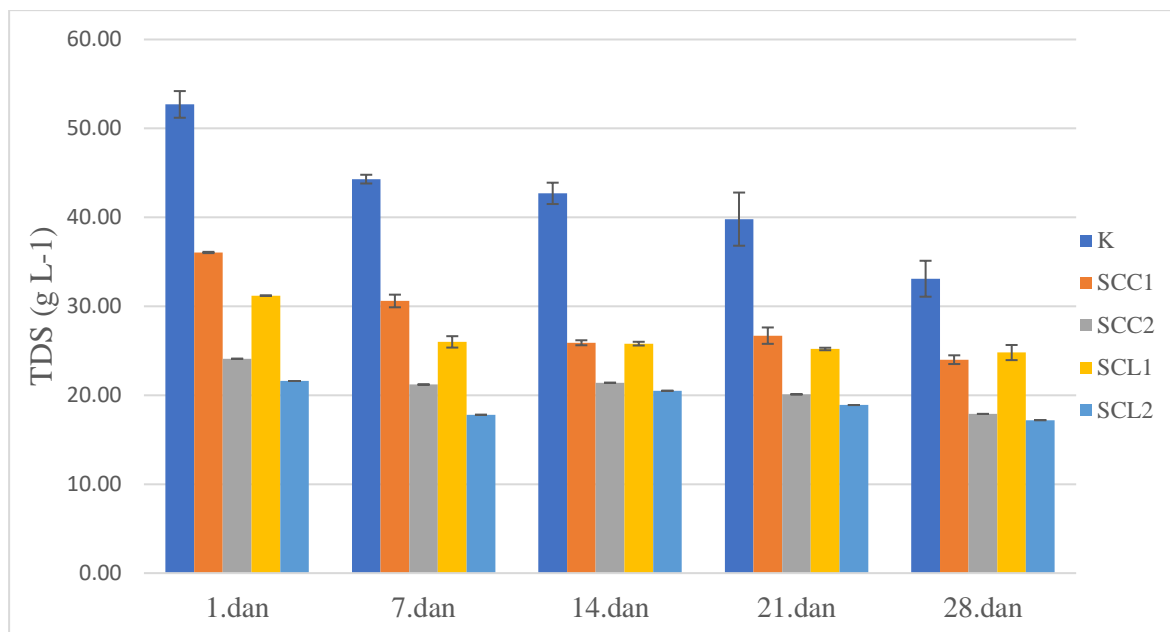
| Uzorak | pH 1. dan | pH 7. dan | pH 14. dan | pH 21. dan | pH 28. dan |
|-------------|-----------|-----------|------------|------------|------------|
| K | 4,70±0,00 | 4,77±0,02 | 4,88±0,09 | 4,91±0,06 | 4,99±0,06 |
| SCC1 | 4,70±0,00 | 4,82±0,03 | 4,98±0,03 | 4,98±0,00 | 5,19±0,11 |
| SCC2 | 4,70±0,00 | 4,90±0,00 | 4,97±0,00 | 5,08±0,00 | 4,93±0,00 |
| SCL1 | 4,70±0,00 | 4,95±0,01 | 5,02±0,01 | 5,09±0,02 | 4,97±0,02 |
| SCL2 | 4,70±0,00 | 4,96±0,00 | 4,99±0,00 | 5,08±0,00 | 4,90±0,00 |

Električna provodljivost ovisi o količini soli, odnosno količini iona (Norberg i sur., 2004). Električna provodljivost salamure mijenjat će se ovisno o njezinu sastavu. Što je manja koncentracija natrijevog klorida, to je električna provodljivost salamure manja, što se može vidjeti i iz dijagrama (slika 8) na kojem su prikazane vrijednosti električne provodljivosti (mS) salamura različitih koncentracija. Salamure SCC2 i SCL2 bilježe najmanje vrijednosti električne provodljivosti, dok su u kontrolnoj salamuri izmjerene najveće vrijednosti. Također, električna provodljivost salamure opada duljim vremenom čuvanja.



Slika 8. Električna provodljivost (mS) salamura K (100 % NaCl) (n=4), SCC1 (75 % NaCl i 25 % Ca-citrat), SCC2 (50 % NaCl i 50 % Ca-citrat), SCL1 (75 % NaCl i 25 % Ca-laktat), SCL2 (50 % NaCl i 50 % Ca-laktat) tijekom 28 dana čuvanja (n=2)

Ukupne otopljene tvari (TDS) u salamuri, prikazane na slici 9, prate vrijednosti električne provodljivosti. Kontrolni uzorak sadrži najveću količinu otopljenih soli, dok kod uzorka u kojima je 50 % NaCl-a zamijenjeno sa solima Ca-laktatom ili Ca-citratom (SCL1 i SCC2), izmjerene vrijednosti TDS-a su najmanje. Prilikom priređivanja salamura s Ca-laktatom, primijećeno je taloženje na dnu posuda što se može povezati s njihovom smanjenom topljivošću te samim time i manjim izmjerenim vrijednostima TDS-a. Vrijednosti dobivene mjerenjem ukupnih otopljenih tvari kod svih uzoraka salamure smanjuju se tijekom duljeg čuvanja.

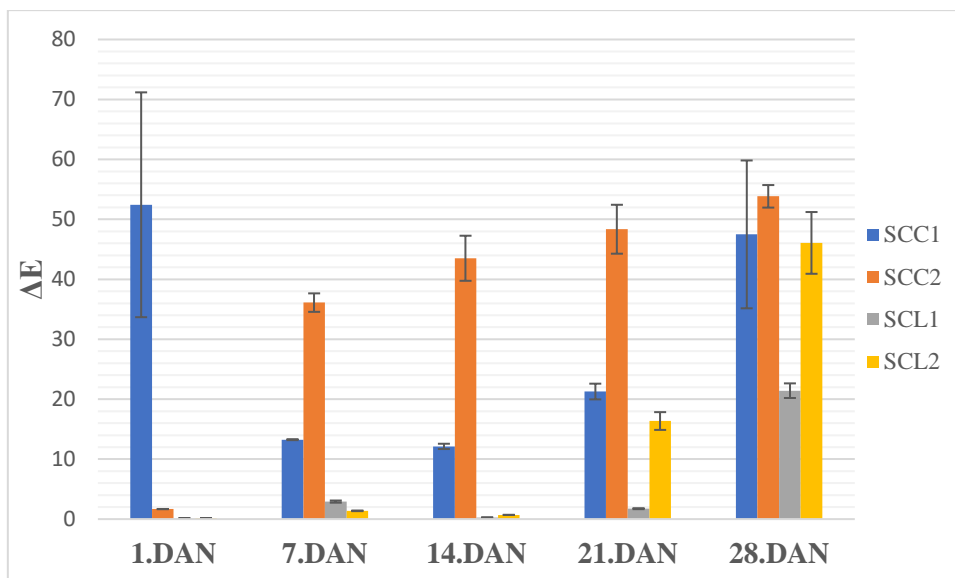


Slika 9. Ukupne otopljene tvari (TDS, g L⁻¹) salamura K (100 % NaCl) (n=4), SCC1 (75 % NaCl i 25 % Ca-citrat), SCC2 (50 % NaCl i 50 % Ca-citrat), SCL1 (75 % NaCl i 25 % Ca-laktat) i SCL2 (50 % NaCl i 50 % Ca-laktat) tijekom 28 dana čuvanja (n=2)

Tablica 10 prikazuje rezultate dobivene mjerenjem boje salamure različitih soli i koncentracija. L*, koji predstavlja svjetlinu ispitivanog uzorka (L*=100, potpuno bijelo) kod K, SCC2, SCL1 i SCL2 pada duljim čuvanjem salamure, dok su kod salamure SCC1 uočene značajne varijacije u svjetlini ovisno o danu čuvanja. Najveća svjetlina izmjerena je kod uzorka SCL2 prvog dana pripreve salamure, dok je najmanja očitana za salamuru SCC2 analiziranu 28. dan čuvanja. Parametar a* označava raspon boja zelena (-a*) ili crvena (+a*), dok parametar b* odgovara rasponu boja plavo (-b*) ili žuto (-b*) (KONICA MINOLTA, 1998). Kontrolna salamura te salamura u kojoj je dio natrijeve soli zamijenjen s Ca-citratom kroz dulji period čuvanja više naginju zelenoj boji, dok salamure s Ca-laktatom su bliže crvenoj boji. b* parametar za sve uzorke salamura se nalazi u pozitivnom rasponu. U skladu s dobivenim parametrima, na slici 10 prikazane su izračunate vrijednosti ΔE, odnosno odstupanje boje salamure s zamjenskim solima od boje kontrolne salamure. Najveće odstupanje boje od kontrolne salamure izmjereno je kod salamure SCC2, 28. dan analiza, a najmanje kod salamure SCL1, 14. dan provedbe analiza.

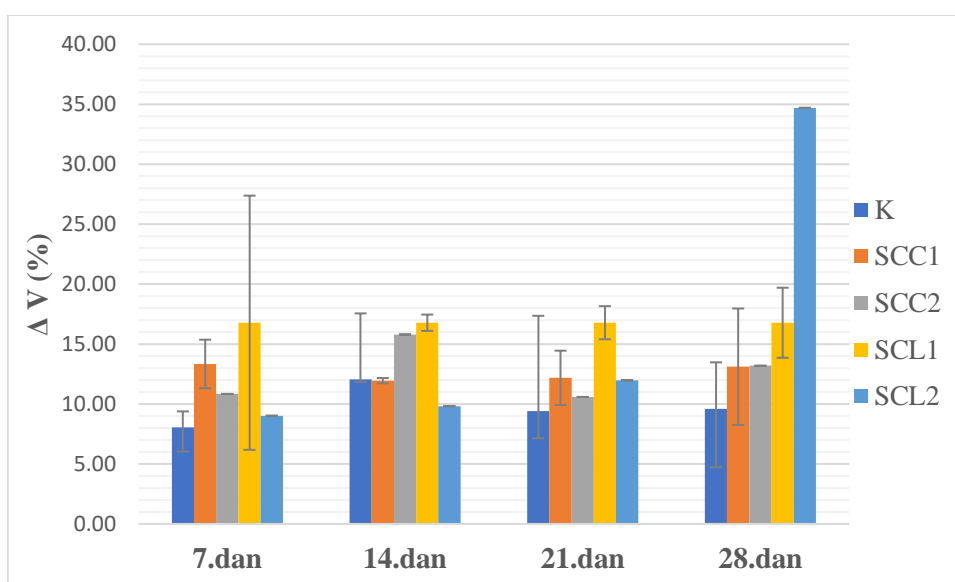
Tablica 10. L*, a* i b* vrijednosti za uzorke salamura K (100 % NaCl) (n=4), SCC1 (75 % NaCl i 25 % Ca-citrat), SCC2 (50 % NaCl i 50 % Ca-citrat), SCL1 (75 % NaCl i 25 % Ca-laktat), SCL2 (50 % NaCl i 50 % Ca-laktat) (n=2)

| Uzorak | | L* | a* | b* |
|---------------|---------------|-------------|------------|------------|
| K | 1.dan | 99,84±0,11 | 0,03±0,00 | 0,08±0,02 |
| | 7.dan | 96,77±0,13 | -0,31±0,04 | 3,77±0,12 |
| | 14.dan | 91,94±1,77 | -0,12±0,25 | 4,93±0,24 |
| | 21.dan | 92,64±0,42 | -0,24±0,07 | 5,94±0,30 |
| | 28.dan | 92,36±0,60 | -0,12±0,03 | 6,33±0,03 |
| SCC1 | 1.dan | 47,50±0,00 | 0,96±0,00 | 2,97±0,00 |
| | 7.dan | 83,89±1,05 | 0,86±0,00 | 6,65±0,16 |
| | 14.dan | 80,11±6,83 | 0,94±0,36 | 7,41±1,01 |
| | 21.dan | 71,56±4,08 | 1,29±0,06 | 8,44±0,09 |
| | 28.dan | 45,55±10,39 | -0,12±0,16 | 14,33±9,26 |
| SCC2 | 1.dan | 98,31±0,00 | 0,15±0,00 | 0,76±0,00 |
| | 7.dan | 60,82±0,00 | 1,41±0,00 | 6,75±0,00 |
| | 14.dan | 48,48±0,00 | -0,01±0,00 | 7,17±0,00 |
| | 21.dan | 44,48±0,00 | -0,42±0,00 | 10,23±0,00 |
| | 28.dan | 39,36±0,00 | -0,64±0,00 | 15,79±0,00 |
| SCL1 | 1.dan | 99,95±0,00 | 0,02±0,00 | 0,06±0,00 |
| | 7.dan | 93,89±0,54 | 0,13±0,04 | 3,97±0,11 |
| | 14.dan | 92,01±3,11 | 0,08±0,21 | 4,79±0,56 |
| | 21.dan | 91,08±4,56 | 0,10±0,31 | 5,24±0,85 |
| | 28.dan | 71,01±6,87 | 0,61±0,08 | 7,84±0,01 |
| SCL2 | 1.dan | 99,96±0,00 | 0,01±0,00 | 0,09±0,00 |
| | 7.dan | 95,42±0,00 | -0,05±0,00 | 3,66±0,00 |
| | 14.dan | 92,59±0,00 | 0,01±0,00 | 4,71±0,00 |
| | 21.dan | 76,35±0,00 | 0,65±0,00 | 7,10±0,00 |
| | 28.dan | 46,69±0,00 | 0,66±0,00 | 12,35±0,00 |



Slika 10. Razlika u boji (ΔE) vrijednosti za uzorke salamure SCC1 (75 % NaCl i 25 % Ca-citrat), SCC2 (50 % NaCl i 50 % Ca-citrat), SCL1 (75 % NaCl i 25 % Ca-laktat), SCL2 (50 % NaCl i 50 % Ca-laktat) ($n=2$) tijekom 28 dana čuvanja

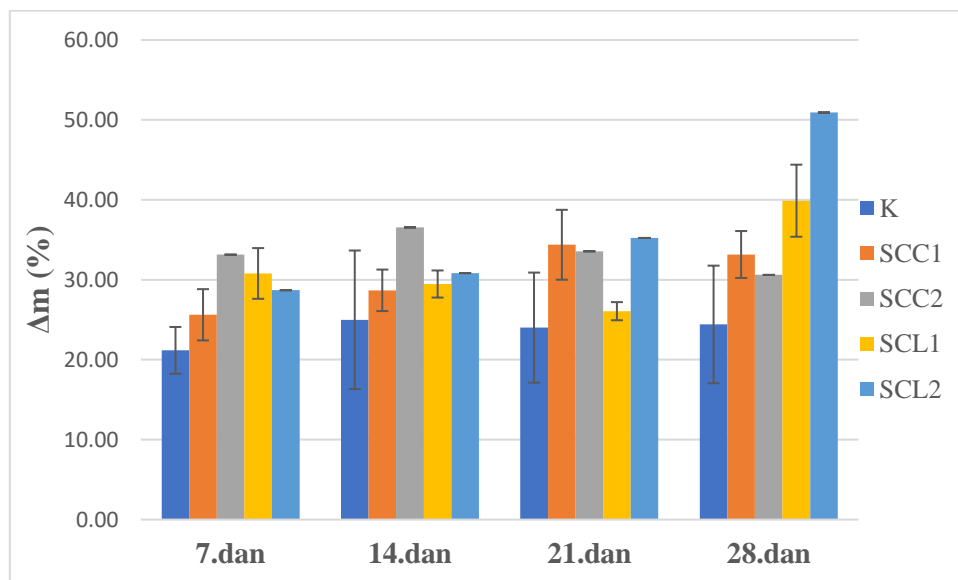
Na slici 11 prikazano je smanjenje volumena salamure tijekom čuvanja kroz 28 dana. Kod salamura K, SCC1, SCC2, SCL1 ne dolazi do značajne promijene volumena, dok je kod SCL2 salamure, 28. dan čuvanja zabilježeno najveće smanjenje volumena salamure u odnosu na 7. dan. Smanjenje volumena je očekivano, pošto uslijed dužeg čuvanja dolazi do prodiranja salamure u unutrašnjost sira.



Slika 11. Smanjenje volumena (%) salamura K (100 % NaCl) ($n=4$); SCC1 (75 % NaCl i 25 % Ca-citrat); SCC2 (50 % NaCl i 50 % Ca-citrat); SCL1 (25 % NaCl i 75 % Ca-laktat) i SCL2 (50 % NaCl i 50 % Ca-laktat) ($n=2$) tijekom 28 dana čuvanja

4.3. REZULTATI ANALIZE SIRA

Povećanje mase sira čuvanog tijekom 28 dana u salamuri različitog sastava prikazan je na slici 12. Kod sira u kojem je 25 % NaCl-a zamijenjeno s kalcijevim solima vidljiv je blagi porast mase tijekom čuvanja. Kod kontrolnog uzorka sira i sira kod kojega je NaCl zamijenjen s 50 % Ca-citrata prisutan je sličan trend, najprije porast a potom smanjenje mase sira. SCL2 sir tijekom 28 dana čuvanja dobio je najviše na masi, pa je tako za razliku od 7. dana analize, 28. dan čuvanja zabilježen porast mase za oko 44 %. Dobitak na masi možemo pripisati prodiranju salamure u unutrašnjost sireva, što je ujedno i u korelaciji s smanjenjem volumena salamure tijekom čuvanja (slika 11).



Slika 12. Povećanje mase sira (%) u salamurama; K (100 % NaCl) (n=4); SCC1 (75 % NaCl i 25% Ca-citrat); SCC2 (50 % NaCl i 50 % Ca-citrat); SCL1 (25 % NaCl i 75 % Ca-laktat) i SCL2 (50 % NaCl i 50 % Ca-laktat) (n=2) tijekom 28 dana čuvanja

U tablici 11 prikazana je kiselost sira tijekom 28 dana čuvanja u salamuri različitih koncentracija. pH vrijednost sira u kontrolnoj salamuri (100 % NaCl) raste što je dulji period čuvanja sira, dok je kod ostalih uzorka prisutan blagi rast pH do 14. dana za SCC1, odnosno 21. dana za SCC2, SCL1 i SCL2 uzorke, nakon čega se pH smanjuje. Najveći rast pH vrijednosti izmjeren je za kontrolni sir K, dok je najmanji rast pH vrijednosti zabilježen kod uzorka sira SCC2. Do sličnih rezultata došli i Katsiari i sur. (1997) koji su u svojem istraživanju ispitivali mogućnost djelomične zamjene NaCl-a s KCl-om u sirevima tipa Fete i Doimiati. Kod svih uzoraka sireva izmjereno je značajno smanjenje °SH vrijednosti. Promjene pH vrijednosti i titracijske kiselosti izražene u °SH posljedice su hidrolize proteina čime se smanjuje puferski kapacitet, odnosno °SH vrijednost, a nastali razgradni produkti utječu na povećanje pH vrijednosti u siru. Također, jače izraženu hidrolizu proteina možemo pripisati i dodatku 9 % octene kiseline prije sirenja, koja dodatno potiče proteolizu (Tratnik i Božanić, 2012).

Tablica 11. Kiselost (pH i titracijska kiselost izražena u °SH) uzoraka sira tipa feta: K (100 % NaCl) (n=4), SCC1 (75 % NaCl i 25 % Ca-citrat), SCC2 (50 % NaCl i 50 % Ca-citrat), SCL1 (75 % NaCl i 25 % Ca-laktat) i SCL2 (50 % NaCl i 50 % Ca-laktat) (n=2) tijekom 28 dana čuvanja

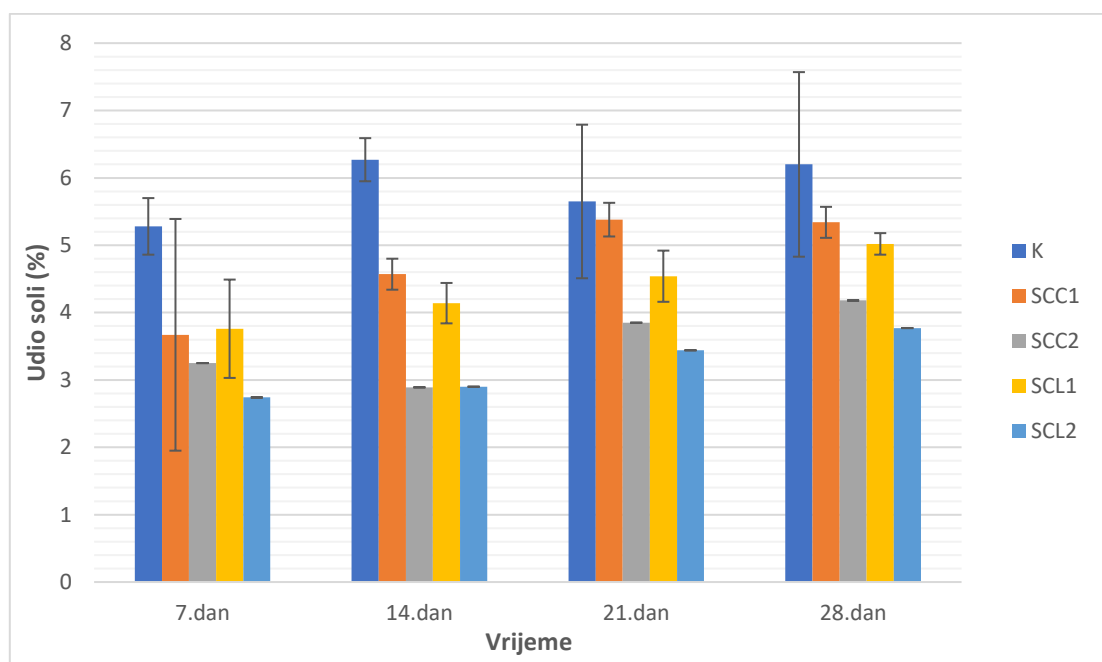
| Uzorak | K | | SCC1 | | SCC2 | | SCL1 | | SCL2 | |
|---------------|-------------|-------------|------------|-------------|------------|-------------|------------|-------------|------------|-------------|
| | pH | °SH | pH | °SH | pH | °SH | pH | °SH | pH | °SH |
| 1.dan | 4,85 ± 0,10 | 83,20± 0,00 | 5,04± 0,00 | 63,20± 0,00 | 5,13± 0,00 | 79,20± 0,00 | 5,13± 0,00 | 79,20± 0,00 | 5,13± 0,00 | 79,20± 0,00 |
| 7.dan | 4,87± 0,13 | 46,50± 7,58 | 5,13± 0,01 | 27,75± 0,78 | 4,94± 0,00 | 30,40± 0,00 | 5,05± 0,09 | 35,20± 0,00 | 5,00± 0,00 | 34,40± 0,00 |
| 14.dan | 5,00± 0,11 | 34,80± 5,41 | 5,22± 0,11 | 26,60± 0,64 | 5,10± 0,00 | 24,00± 0,00 | 5,09± 0,08 | 39,60± 0,57 | 5,08± 0,00 | 38,40± 0,00 |
| 21.dan | 5,13± 0,11 | 30,00± 4,00 | 5,14± 0,03 | 29,00± 1,41 | 5,16± 0,00 | 27,20± 0,00 | 5,19± 0,03 | 41,20± 0,57 | 5,18± 0,00 | 35,20± 0,00 |
| 28.dan | 5,23± 0,10 | 35,90± 1,44 | 5,25± 0,08 | 22,40± 5,66 | 5,06± 0,00 | 33,60± 0,00 | 5,09± 0,01 | 32,00± 1,13 | 5,08± 0,00 | 34,40± 0,00 |

Promjene udjela suhe tvari i pepela tijekom 28 dana čuvanja sira u salamuri prikazane su u tablici 12. Nakon 28 dana čuvanja u salamuri, udio suhe tvari smanjio se kod svih uzoraka sira, pri čemu je najmanji udio suhe tvari određen kod sira SCC2, a najveći kod sira SCL1. Smanjenje udjela suhe tvari možemo pripisati hidrataciji proteina prilikom zamjene Ca^+ iona u para kazeinu s Na^+ ionima. Što je veći udio NaCl-a, dolazi do veće hidratacije i smanjenja udjela suhe tvari u siru (Guinee i sur., 2007; Drgalić i sur.,2002). Udio pepela u siru povećava se smanjenjem udjela NaCl-a u salamuri. Smanjenje udjela suhe tvari i povećanje udjela pepela u siru osim o koncentraciji soli u salamuri može ovisiti i o temperaturi salamure, te pH vrijednosti (McMahon i sur., 2009).

Tablica 12. Udio suhe tvari (%) i pepela (%) u siru nakon 7. i 28. dana čuvanja za K (100 % NaCl) (n=4), SCC1 (75 % NaCl i 25 % Ca-citrat), SCC2 (50 % NaCl i 50 % Ca-citrat), SCL1 (75 % NaCl i 25 % Ca-laktat), SCL2 (50 % NaCl i 50 % Ca-laktat) (n=2)

| | Udio suhe tvari (%) | Udio pepela (%) |
|---------------|---------------------|-----------------|
| K | | |
| 1.dan | 42,73±0,00 | 1,19±0,00 |
| 28.dan | 34,19±5,84 | 5,99±0,36 |
| SCC1 | | |
| 1.dan | 42,73±0,00 | 1,91±0,00 |
| 28.dan | 31,75±1,12 | 4,20±3,40 |
| SCC2 | | |
| 1.dan | 42,73±0,00 | 1,91±0,00 |
| 28.dan | 29,36±0,00 | 3,69±0,00 |
| SCL1 | | |
| 1.dan | 42,73±0,00 | 1,91±0,00 |
| 28.dan | 50,36±17,8 | 6,10±0,08 |
| SCL2 | | |
| 1.dan | 42,73±0,00 | 1,91±0,00 |
| 28.dan | 34,45±0,00 | 4,26±0,00 |

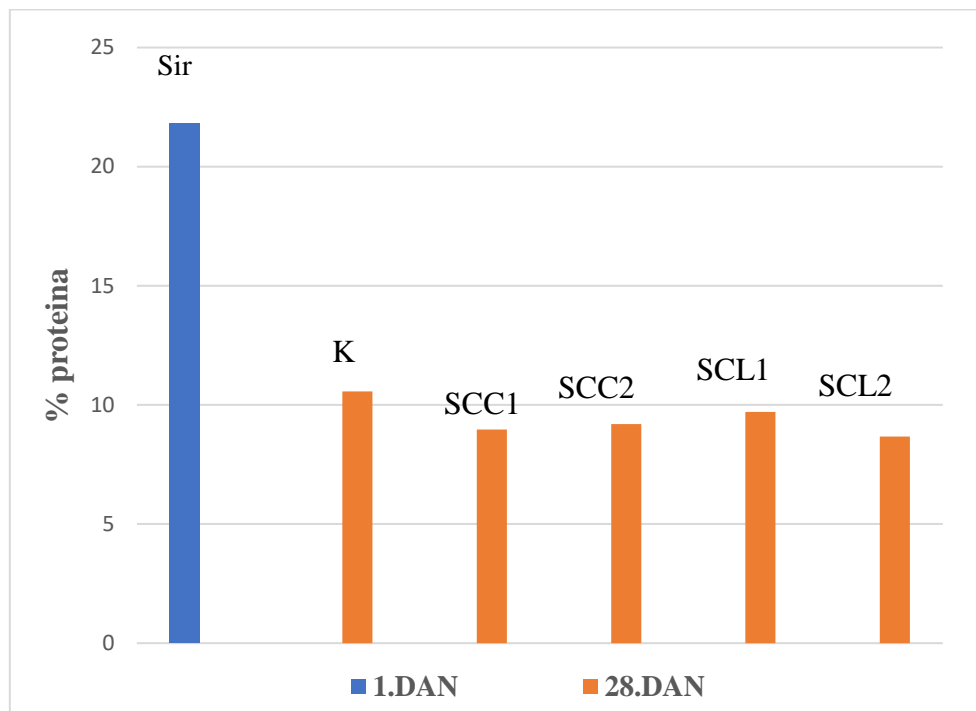
Slika 13 prikazuje promjene udjela soli kod sireva u salamuri tijekom 28 dana čuvanja. Kod svih je uzoraka zabilježen porast udjela soli prilikom provedbe analiza 28. dana čuvanja u odnosu na 7. dan, što znači da duljim čuvanjem u salamuri, veća koncentracija soli prodire u unutrašnjost sira. Kod sireva kod kojih je natrijeva sol djelomično zamijenjena Ca-citratom zapažen je linearan rast udjela soli, dok je kod ostalih vrsta prisutan rast uz varijacije vrijednosti. Iz rezultata vidljivih na slici 10 može se vidjeti kako smanjenjem udjela NaCl-a u salamuri se smanjuje i konačan udio soli u siru nakon 28 dana čuvanja, kao što je slučaj i kod nekih drugih vrsta sireva kod kojih je također NaCl djelomično zamijenjen nekim drugim solima (Guinee i sur., 2007).



Slika 13. Udio soli (%) u sirevima tipa feta: K (100 % NaCl) (n=4), SCC1 (75 % NaCl i 25 % Ca-citrat), SCC2 (50 % NaCl i 50 % Ca-citrat), SCL1 (75 % NaCl i 25 % Ca-laktat) i SCL2 (50 % NaCl i 50 % Ca-laktat) (n=2)

Udio proteina u siru određivan je prije stavljanja sira u salamuru i nakon 28 dana čuvanja sira u salamurama različitih koncentracija soli, što je prikazano na slici 14. Na svim je uzorcima sira zabilježeno značajno smanjenje udjela proteina, što je posljedica zrenja sira prilikom kojeg dolazi do biokemijskih procesa koji obuhvaćaju glikolizu, proteolizu, lipolizu te brojnih sekundarnih transformacija nastalih produkata razgradnje (aminokiselina, masnih kiselina). Prilikom sekundarnih transformacija koje se javljaju tijekom duljeg čuvanja sira dolazi do formiranja konačnog okusa i mirisa (arome) sira (Tratnik i Božanić, 2012). Najznačajnije

smanjenje udjela proteina (oko 60 %) određeno je kod uzoraka sira čuvanih 28 dana u SCL2 salamuri, dok je kod uzoraka sira čuvanih u kontrolnoj salamuri zabilježena najmanja promjena udjela proteina u siru (oko 52 %). U srodnim istraživanjima na drugim vrstama sira također je došlo do smanjenja udjela proteina kao posljedica zrenja sira (Guinee i sur., 2007, Fox i sur., 2017).



Slika 14. Udio proteina (%) u siru prije stavljanja u salamuru (Sir) i u sirevima nakon 28 dana čuvanja K (100 % NaCl) (n=4), SCC1 (75 % NaCl i 25 % Ca-citrat), SCC2 (50 % NaCl i 50 % Ca-citrat), SCL1 (75 % NaCl i 25 % Ca-laktat), SCL2 (50 % NaCl i 50 % Ca-laktat) (n=2)

Na temelju rezultata mikrobiološke analize sira provedene tijekom 28 dana čuvanja, tablicom 13 prikazane su prosječne vrijednosti broja kvasca i plijesni, enterobakterija te koagulaza pozitivnih stafilokoka. Kod većine uzoraka broj kvasaca i plijesni se povećao prilikom čuvanja duže od 7 dana. Enterobakterije nisu zabilježene kod sira SCC1, dok je njihov broj kod ostalih uzoraka sira unutar dopuštenih granica propisanih Uredbom komisije (EZ) o mikrobiološkim kriterijima za hranu (2005). Koagulaza pozitivni stafilokoki nisu pronađeni niti u jednom uzorku sira prilikom čuvanja.

Tablica 13. Prosječne vrijednosti ($\log \text{CFU mL}^{-1}$) parametara mikrobioloških analiza sira tipa feta: K (100 % NaCl) (n=4), SCC1 (75 % NaCl i 25 % Ca-citrat), SCC2 (50 % NaCl i 50 % Ca-citrat), SCL1 (75 % NaCl i 25 % Ca-laktat) i SCL2 (50 % NaCl i 50 % Ca-laktat) tijekom 28 dana (n=2)

| | 1.dan | 7.dan | 14.dan | 21.dan | 28.dan |
|---------------|--------------|--------------|---------------|---------------|---------------|
| KIP* | | | | | |
| K | 2,30±0,51 | 6,74±0,33 | 4,97±0,33 | 6,55±0,70 | 5,89±0,17 |
| SCC1 | 9,03±0,71 | 6,80±0,24 | 5,73±0,00 | 5,74±0,35 | 6,02±0,22 |
| SCC2 | 0,78±0,00 | 6,83±0,34 | 3,96±0,05 | 6,59±0,28 | 5,73±0,46 |
| SCL1 | 0,78±0,00 | 7,16±0,18 | 6,70±0,23 | 6,39±0,25 | 6,41±0,20 |
| SCL2 | 0,78±0,00 | 7,05±0,39 | 5,49±0,15 | 6,61±0,21 | 5,88±0,37 |
| E** | | | | | |
| K | 1,58±0,02 | 1,38±0,11 | 1,50±0,12 | 1,19±0,18 | 1,17±0,06 |
| SCC1 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 |
| SCC2 | 3,25±0,00 | 2,31±0,18 | 0,00±0,00 | 1,90±0,16 | 0,00±0,00 |
| SCL1 | 3,25±0,00 | 2,75±0,25 | 2,13±0,20 | 2,14±0,22 | 2,01±0,08 |
| SCL2 | 3,25±0,00 | 1,95±0,04 | 0,00±0,00 | 2,53±0,13 | 0,00±0,00 |
| KPS*** | | | | | |
| K | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 |
| SCC1 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 |
| SCC2 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 |
| SCL1 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 |
| SCL2 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 |

*KIP- kvasci i plijesni, **E- enterobakterije, ***KPS- koagulaza pozitivni stafilokoki

Rezultati dobiveni mjerenjem tvrdoće, adhezivnosti, kohezivnosti, gumenosti, žvackljivosti, otpornosti, loma i vlaknastosti različitih uzoraka sira prikazani su tablicom 14. Kod sireva čuvanog u kontrolnoj salamuri i sireva kod kojih je 25 % NaCl-a zamijenjeno s kalcijevim solima (SCC1 i SCL1), tvrdoća sireva se postupno smanjuje što je dulji period čuvanja. U sireva kod kojih je 50 % NaCl-a zamijenjeno kalcijevim solima (SCC2, SCL2) vrijednosti variraju kroz vrijeme čuvanja, pa se tako u slučaju sira SCC2 tvrdoća smanjuje do 21. dana, a zatim raste, dok je kod sira SCL1 zabilježena najveća tvrdoća 14. dana čuvanja. Vrijednosti dobivene mjerenjem tvrdoće u korelaciji su sa senzorskim ocjenama za konzistenciju sira (tablica 16). Naime, oni sirevi kod kojih su izmjerene manje vrijednosti tvrdoće opisani su kao „mekši“ ili „kremastiji“. Uspoređujući vrijednosti tvrdoće između pojedinih sireva utvrđeno je kako najveću tvrdoću ima sir čuvan 7 dana u kontrolnoj salamuri (100 % NaCl), dok je najmanja vrijednost izmjerena kod sira SCL2 nakon 28 dan čuvanja. Dobiveni rezultati u skladu su s istraživanjem Akana i Kinika (2018) u kojem je također zabilježena manja tvrdoća sira sa zamjenskim mineralnim solima u odnosu na NaCl. Mekša konzistencija sira u korelaciji je s hidrolizom kazeina djelovanjem proteolitičkih enzima i zaostalih enzima sirila tijekom čuvanja sira, odnosno zrenja. Jače izraženu proteolizu kod sireva s zamjenskim solima možemo povezati s udjelom soli u sirevima. Naime, što je manji udio soli u siru to je proteoliza jače izražena.

Kohezivnost u siru, odnosno mjera snage unutarnjih veza u proteinskom matriksu ne mijenja se značajno kroz vrijeme čuvanja. Najveća kohezivnost izmjerena je 28. dan u siru SCC2, dok je najmanja vrijednost zabilježena 14. dan u siru SCC1. Razlog tome može biti razlika u ionskoj jakosti zamjenskih soli različitih koncentracija.

Vrijednosti dobivene mjerenjem adhezivnosti, odnosno rada potrebnog da se savladaju privlačne sile između dodirne površine sira i dodirne površine sonde teksturometra također variraju ovisno o vremenu čuvanja i vrsti salamure. Kod uzoraka sira K i SCC1 adhezivnost pada, dok kod uzoraka SCC2, SCL1 i SCL2 raste do 28. dana u odnosu na mjerenja 7. dana čuvanja. Najveća vrijednost izmjerena je kod uzorka SCC1 7. dan, dok je najmanja vrijednost adhezivnosti izmjerena kod uzorka SCL2, također 7. dan čuvanja. Takve razlike u dobivenim rezultatima izravno su povezane s uporabom različitih zamjenskih soli i njihovim koncentracijama ali i s promjenom pH vrijednosti te stupnjem proteolize (Akan i Kinik, 2018). Gumenost možemo definirati kao energiju potrebnu za dezintegraciju krute i polukrute hrane do mjere pri kojoj je pogodna za gutanje. Kod uzoraka K, SCC1, SCL1 i SCL2 zabilježen je pad gumenosti 28. dan u odnosu na 7. dan čuvanja, dok je odstupanje zabilježeno kod uzoraka

SCC2, čija se vrijednost gumenosti povećala 28. dan. Najveća gumenost izmjerena je za uzorak K, 7. dan čuvanja, dok je najmanja vrijednost očitana kod uzorka SCL2, 28. dan čuvanja.

Vrijednosti žvakljivosti svih uzoraka sira padaju s čuvanjem sira, pri čemu su najmanje vrijednosti dobivene analizom uzoraka sira čuvanih 28 dana. Kao i kod gumenosti, najveća žvakljivost veže se uz uzorak čuvan 7 dana u kontrolnoj salamuri, a najmanja uz uzorak SCL2 nakon 28 dana čuvanja. Smanjenje vrijednosti gumenosti i žvakljivosti kroz dulji period čuvanja također možemo povezati s procesom zrenja sira te većim stupnjem proteolize (Guinee i sur., 2007; Akan i Kinik, 2018).

Dobivene vrijednosti otpornosti uzoraka sira ne razlikuju se značajno tijekom 28 dana čuvanja. Znatnije promijene otpornosti između 7. i 28. dana zabilježene su kod uzoraka K i SCL2, gdje se otpornost znatno smanjila. Najveća vrijednost otpornosti izmjerena je kod sira K, 21. dan čuvanja, dok je najmanja vrijednost izmjerena kod sira SCC1, 28. dan čuvanja.

Sila koja je potrebna da dođe do loma sira smanjuje se kod svih uzoraka što je dulje vrijeme čuvanja sira. Također, zabilježeno je kako se sila potrebna za lom smanjuje smanjenjem udjela NaCl-a u salamuri, odnosno povećanjem udjela zamjenske soli, što je u skladu sa istraživanjem koje su proveli Katsiari i sur. (1997). Najveću silu za lom je potrebno primijeniti na siru K, 7. dan čuvanja, dok je najmanja sila potrebna za sir SCC2, 21. dan čuvanja.

Kod svih uzoraka sira može se primijetiti povećanje vlaknastosti duljim čuvanjem, osim kod sira SCC2 kod kojeg je jedino zabilježeno smanjenje vlaknastosti nakon 28 dana čuvanja, te je ujedno to i uzorak kod kojeg je izmjerena najmanja vrijednost. Najveća vlaknastost izmjerena je za uzorak SCL2, nakon 14 dana čuvanja.

Tablica 14. Tekstura uzoraka sira tipa feta: K (100 % NaCl) (n=4), SCC1(75% NaCl i 25 % Ca-citrat), SCC2 (50 % NaCl i 50 % Ca-citrat), SCL1 (75 % NaCl i 25 % Ca-laktat) i SCL2 (50 % NaCl i 50 % Ca-laktat) (n=2) tijekom 28 dana čuvanja

| | | Tvrdoća (N) | Adhezivna sila (N) | Kohezivnost | Adhezivnost (Nmm) | Gumenost (N) | Odgodena elastičnost (mm) | Žvkljivost (Nmm) | Otpornost | Lom (N) | Vlknastost (mm) |
|-------------|---------------|------------------------|-------------------------------|--------------------|------------------------------|-------------------------|--|-----------------------------|------------------|----------------|----------------------------|
| K | 7.dan | 10,35±3,26 | -0,15±0,04 | 0,28±0,05 | 0,51±0,11 | 3,00±1,27 | -3,01±2,28 | 15,92±8,47 | 0,27±0,07 | 10,05±3,35 | 8,04±2,55 |
| | 14.dan | 8,18±3,39 | -0,11±0,05 | 0,24±0,03 | 0,44±0,45 | 1,98±0,95 | -3,70±1,02 | 7,89±5,46 | 0,24±0,07 | 7,37±2,80 | 7,43±4,40 |
| | 21.dan | 8,64±3,13 | -0,16±0,06 | 0,25±0,02 | 0,53±0,07 | 2,14±0,71 | -0,99±1,09 | 10,73±5,03 | 0,38±0,04 | 8,46±3,05 | 5,61±1,47 |
| | 28.dan | 5,21±0,80 | -0,13±0,04 | 0,22±0,02 | 0,46±0,19 | 1,17±0,27 | -5,69±0,98 | 3,00±1,08 | 0,18±0,02 | 4,58±0,57 | 8,69±3,00 |
| SCC1 | 7.dan | 6,65±0,71 | -0,17±0,02 | 0,25±0,04 | 0,76±0,33 | 1,65±0,21 | -4,99±0,51 | 5,05±1,30 | 0,21±0,04 | 6,06±0,79 | 7,99±2,95 |
| | 14.dan | 5,97±1,61 | -0,17±0,08 | 0,20±0,02 | 0,60±0,20 | 1,19±0,36 | -4,88±1,99 | 3,21±1,60 | 0,22±0,11 | 5,11±2,11 | 10,72±2,21 |
| | 21.dan | 4,04±0,43 | -0,10±0,04 | 0,27±0,01 | 0,38±0,13 | 1,09±0,09 | -4,90±0,13 | 2,07±0,37 | 0,22±0,02 | 3,16±0,27 | 7,47±3,11 |
| | 28.dan | 3,42±0,56 | -0,11±0,02 | 0,21±0,04 | 0,59±0,26 | 0,74±0,26 | -5,21±1,22 | 1,21±0,79 | 0,20±0,05 | 2,63±0,44 | 9,23±4,47 |
| SCC2 | 7.dan | 5,25±0,59 | -0,16±0,02 | 0,25±0,02 | 0,45±0,15 | 0,80±0,15 | -5,27±1,26 | 3,28±0,80 | 0,22±0,03 | 4,58±0,02 | 7,35±3,52 |
| | 14.dan | 4,15±0,60 | -0,17±0,02 | 0,22±0,05 | 0,59±0,14 | 1,26±0,16 | -4,13±0,91 | 3,10±0,06 | 0,26±0,02 | 3,28±0,57 | 6,59±3,24 |
| | 21.dan | 2,72±0,02 | -0,17±0,09 | 0,27±0,01 | 0,64±0,14 | 0,72±0,03 | -5,15±0,07 | 0,94±0,04 | 0,23±0,02 | 2,14±0,02 | 8,63±3,35 |
| | 28.dan | 4,31±2,09 | -0,47±0,50 | 0,32±0,08 | 0,53±0,41 | 1,46±1,00 | -3,02±1,82 | 1,63±1,09 | 0,25±0,05 | 2,67±0,22 | 3,63±171 |
| SCL1 | 7.dan | 5,18±1,21 | -0,13±0,10 | 0,29±0,02 | 0,30±0,25 | 1,52±0,42 | -4,13±0,99 | 3,28±0,90 | 0,23±0,03 | 4,54±0,99 | 6,36±2,48 |
| | 14.dan | 4,34±0,67 | -0,12±0,03 | 0,24±0,03 | 0,65±0,20 | 1,04±0,16 | -4,34±2,37 | 2,48±0,63 | 0,27±0,13 | 3,68±0,70 | 7,40±2,74 |
| | 21.dan | 3,41±0,14 | -0,09±0,02 | 0,21±0,00 | 0,34±0,05 | 0,71±0,02 | -4,62±1,83 | 1,02±0,11 | 0,25±0,07 | 2,99±0,62 | 5,39±0,48 |
| | 28.dan | 3,15±0,43 | -0,10±0,03 | 0,25±0,04 | 0,47±0,19 | 0,81±0,21 | -5,27±0,66 | 1,31±0,62 | 0,22±0,05 | 2,89±0,43 | 8,85±2,11 |
| SCL2 | 7.dan | 3,77±0,31 | -0,06±0,03 | 0,25±0,02 | 0,25±0,16 | 0,94±0,10 | -3,12±1,94 | 1,90±0,50 | 0,34±0,08 | 3,33±0,70 | 7,79±1,77 |
| | 14.dan | 3,93±0,76 | -0,11±0,03 | 0,28±0,05 | 0,46±0,23 | 1,14±0,39 | -4,27±0,98 | 2,07±1,04 | 0,24±0,04 | 3,04±0,98 | 12,91±1,22 |
| | 21.dan | 3,09±0,38 | -0,12±0,00 | 0,24±0,04 | 0,49±0,16 | 0,75±0,21 | -5,24±0,54 | 1,05±0,78 | 0,21±0,03 | 2,47±0,55 | 6,01±2,66 |
| | 28.dan | 2,46±0,05 | -0,10±0,00 | 0,28±0,04 | 0,31±0,07 | 0,69±0,12 | -4,49±0,10 | 0,61±0,09 | 0,25±0,04 | 2,26±0,00 | 7,17±4,12 |

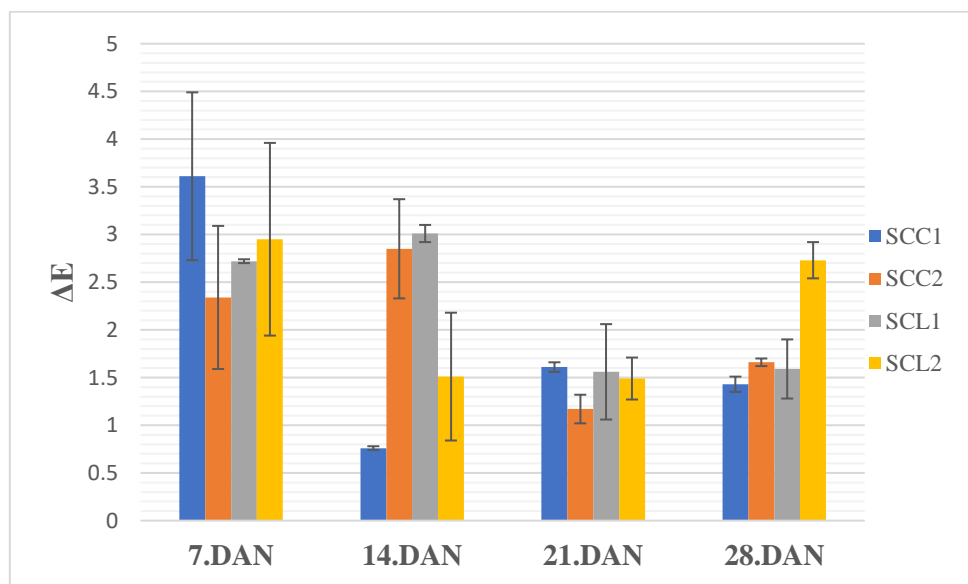
U tablici 15 prikazani su rezultati mjerenja boje sira čuvanih u salamurama različitih koncentracija tijekom 28 dana. Vrijednosti parametra L^* ne mijenjaju se značajno kroz produljenje vremena čuvanja, iako su prisutne oscilacije između uzoraka. Svi sirevi prelaze vrijednost $L^*=90$ što znači da su svijetli, kakav bi i trebao biti sir tipa feta. Parametar a^* se kod svih uzoraka sira nalazi u neznatno negativnom području, dok su vrijednosti parametra b^* pozitivne i prelaze vrijednost 10, što znači da sir ima žućkastu nijansu. Dobivene vrijednosti parametra L^* , a^* i b^* možemo potkrijepiti rezultatima senzorske analize (tablica 16), kod kojih je uočeno da boja sira nije čisto bijela, zbog čega su neki uzorci dobili niže ocjene.

Slika 15 prikazuje odstupanje boje sira SCC1, SCC2, SCL1 i SCL2 od sira čuvanog u kontrolnoj salamuri (ΔE) tijekom 28 dana. Za sireve SCC1 i SCL2 najveća vrijednost ΔE izračunata je 7. dan, odnosno za sireve SCC2 i SCL1 14. dan čuvanja u salamuri. Sir kod kojeg su zabilježene najveće promjene u boji, promatrajući ΔE je SCC1. Nakon 7 dana čuvanja kod njega je zabilježena najveća promjena ΔE , a analizom istog uzorka, samo tjedan dana kasnije (14. dan čuvanja) je izračunato najmanje odstupanje boje od kontrolnog sira. Bez obzira na dobivene ΔE vrijednosti, sir SCC1 je kod senzorskih analitičara dobio vrlo dobre ocjene.

Tablica 15. L^* , a^* i b^* vrijednosti za uzorke sira tipa feta: K (100 % NaCl) (n=4), SCC1(75 % NaCl i 25 % Ca-citrat), SCC2 (50 % NaCl i 50 % Ca-citrat), SCL1 (75 % NaCl i 25 % Ca-laktat) i SCL2 (50 % NaCl i 50 % Ca-laktat) (n=2) tijekom 28 dana čuvanja

| Uzorak | | L^* | a^* | b^* |
|-------------|---------------|------------|------------|------------|
| K | 1.dan | 93,52±0,93 | -0,49±0,40 | 13,68±1,46 |
| | 7.dan | 94,21±3,08 | -0,33±0,67 | 9,76±2,60 |
| | 14.dan | 91,57±2,55 | -0,47±0,43 | 13,11±2,18 |
| | 21.dan | 91,8±1,91 | -0,5±0,25 | 11,71±1,69 |
| | 28.dan | 92,45±0,13 | -0,93±0,43 | 10,46±0,95 |
| SCC1 | 1.dan | 93,52±0,93 | -0,49±0,40 | 13,68±1,46 |
| | 7.dan | 91,76±0,59 | -1,08±0,05 | 12,31±0,54 |
| | 14.dan | 92,31±0,07 | -0,5±0,08 | 12,95±0,76 |
| | 21.dan | 93,38±0,05 | -0,31±0,27 | 11,44±1,04 |
| | 28.dan | 93,12±0,37 | -0,1±0,05 | 11,41±0,35 |

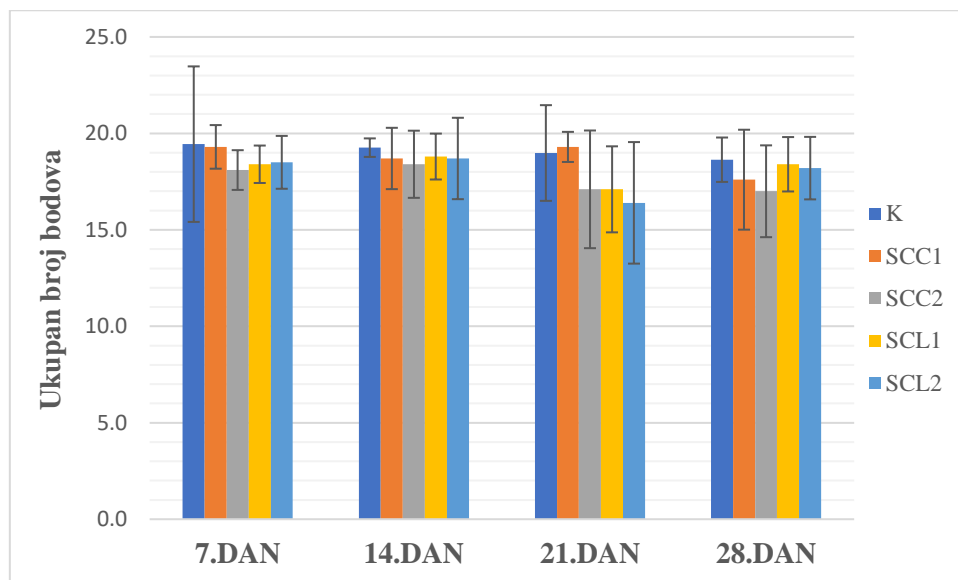
| | | | | |
|-------------|---------------|------------|------------|------------|
| SCC2 | 1.dan | 93,52±0,93 | -0,49±0,40 | 13,68±1,46 |
| | 7.dan | 93,04±0,00 | -0,9±0,00 | 11,71±0,00 |
| | 14.dan | 93,25±0,00 | -0,59±0,00 | 10,81±0,00 |
| | 21.dan | 91,48±0,00 | -1,05±0,00 | 12,69±0,00 |
| | 28.dan | 91,87±0,00 | -0,84±0,00 | 12,01±0,00 |
| SCL1 | 1.dan | 93,52±0,93 | -0,49±0,40 | 13,68±1,46 |
| | 7.dan | 92,04±0,40 | -0,55±0,35 | 11,38±1,24 |
| | 14.dan | 94,04±0,32 | -0,61±0,01 | 11,39±0,15 |
| | 21.dan | 93,36±0,34 | -0,47±0,12 | 11,64±0,43 |
| | 28.dan | 92,37±2,01 | -0,26±0,03 | 11,9±1,88 |
| SCL2 | 1.dan | 93,52±0,93 | -0,49±0,40 | 13,68±1,46 |
| | 7.dan | 93,32±0,00 | -0,79±0,00 | 12,53±0,00 |
| | 14.dan | 92,85±0,00 | -0,59±0,00 | 12,32±0,00 |
| | 21.dan | 92,99±0,00 | -1,05±0,00 | 11,01±0,00 |
| | 28.dan | 91,9±0,00 | -0,84±0,00 | 13,13±0,00 |



Slika 15. Razlika u boji (ΔE) vrijednosti za uzorke sira u salamuri sira SCC1(75 % NaCl i 25 % Ca-citrat), SCC2 (50 % NaCl i 50 % Ca-citrat), SCL1 (75 % NaCl i 25 % Ca-laktat), SCL2 (50 % NaCl i 50 % Ca-laktat) (n=2) tijekom 28 dana čuvanja

Slikom 16 prikazane su prosječne vrijednosti ukupnog broja bodova senzorskog ocjenjivanja ispitivanih uzoraka sira. Najbolje ocjene dobio je sir K, kod kojega je primijećeno smanjenje broja bodova tijekom dužeg čuvanja u salamuri. To je izravno povezano s prodiranjem veće koncentracije soli unutar sirne mase tijekom duljeg izlaganja soli, pošto su niže ocjene davane za okus sira, opisujući ga kao *preslanim*. SCC1 sir ima vrlo dobre rezultate, koji su najbližiji kontrolnom uzorku. Veće odstupanje zamijećeno je kod 28. dana analize pri čemu je smanjenju ukupnog broja bodova doprinijela mekša konzistencija koja se također povezuje s većom količinom soli u siru ali i zrenjem. Uzorci sira SCC2 dobili su veći broj bodova nakon 7 i 14 dana čuvanja u salamuri, dok su u narednim senzorskim analizama zbog konzistencije, prereza i boje koja nije bila snježno bijela bodovi sniženi. Sirevi kod kojih je natrijeva sol djelomično zamijenjena Ca-laktatom, SCL1 i SCL2, postigli su zadovoljavajući broj ukupnih bodova senzorskog ocjenjivanja 7., 14. i 28. dan čuvanja u salamuri, dok je najlošiji rezultat postigao sir SCL2 nakon 14 dana čuvanja, gdje mu je broj bodova znatno smanjen uslijed premekane konzistencije, nehomogenog prereza i slanog okusa.

U istraživanjima provedenim na siru tipa feta (Katsiari i sur., 2007) i Cottage siru (Reddy i Marth, 1991), kod djelomične zamjene NaCl-a s solima KCl i $MgCl_2$ primijećen je sličan trend smanjenja ukupnog broja bodova u odnosu na kontroli uzorak.



Slika 16. Ukupan broj bodova (max. 20) senzorskog ocjenjivanja ispitivanih uzoraka sireva tijekom 28 dana čuvanja u salamuri

Rezultati senzorske analize sira po pojedinim svojstvima prikazani su tablicom 16. Ocjene za izgled sira kod svih uzoraka neznatno su smanjene, što može biti rezultat odstupanja od snježne boje sira (neki uzorci su bili žućkasti) ili prisutnosti većeg broja pukotina na površini. Ocjene za boju su uglavnom smanjene kod uzoraka sira čuvanog u salamuri s zamjenskim solima, a glavnim razlogom se smatra odstupanje od porculansko bijele boje sira, karakteristične za fetu. Na promjenu boje može utjecati boja same salamure u kojoj je sir čuvan te ako pogledamo rezultate dobivene za boju salamure možemo primijetiti povezanost s pridruženim ocjenama kod pojedinih uzoraka sira.

Što se tiče broja bodova dodijeljenih za konzistenciju, nema jako velikih odstupanja kontrolnog od ostalih uzoraka. Kod svih je sireva primijećeno smanjenje tvrdoće i rahlija tekstura, odnosno što je veća količina soli u siru i što je dulje vrijeme čuvanja (veći stupanj proteolize), to je sir kremastiji, čemu u prilog idu i rezultati teksture, prikazani tablicom 13. Prerez sira kod svih je uzoraka zadovoljavajući, te nije primijećeno veliko odstupanje dodijeljenih ocjena u odnosu na maksimalan broj bodova (3). Kod svih uzoraka sira, miris je okarakteriziran kao svojstven za sir tipa feta, a varijacije u broju bodova odnose se na manje ili više izražen kiselkasto mliječni, odnosno blago pikantan miris.

Okus je najvažnija senzorska karakteristika sira tipa feta, te nosi najveći broj bodova (10 od ukupno 20). Za fetu je svojstven kiseli i slani, lagano pikantan okus. Uspoređujući broj bodova za ispitivane uzorke sira, najbolji okus imali su sirevi K, nakon 14 dana i SCC1 nakon 21 dan čuvanja u salamuri. Najslabije je ocjenjen sir SCL2, kojem se pripisuje prevelika slanost i blagi okus gorčine.

Tablica 16. Prosječne ocjene za pojedinačna senzorska svojstva sira tipa feta: K (100 % NaCl) (n=4), SCC1 (75 % NaCl i 25 % Ca-citrat), SCC2 (50% NaCl i 50 % Ca-citrat), SCL1 (75 % NaCl i 25 % Ca-laktat) i SCL2 (50 % NaCl i 50 % Ca-laktat) (n=2) tijekom 28 dana čuvanja

| | Izgled | Boja | Konzistencija | Prerez | Miris | Okus |
|---------------|-----------|-----------|---------------|-----------|-----------|-----------|
| K | | | | | | |
| 7.dan | 1,90±0,14 | 0,90±0,26 | 1,90±0,26 | 2,90±3,84 | 2,00±0,10 | 9,00±0,97 |
| 14.dan | 1,90±0,11 | 1,00±0,05 | 2,00±0,02 | 3,00±0,00 | 1,90±0,27 | 9,50±0,44 |
| 21.dan | 1,90±0,28 | 0,90±0,17 | 1,90±0,14 | 3,00±0,05 | 2,00±0,05 | 8,90±1,09 |
| 28.dan | 1,90±0,17 | 0,90±0,15 | 1,90±0,24 | 2,80±0,36 | 2,00±0,04 | 9,20±0,64 |
| SCC1 | | | | | | |
| 7.dan | 2,00±0,10 | 1,00±0,05 | 1,90±0,21 | 3,00±0,10 | 1,90±0,13 | 9,40±0,80 |
| 14.dan | 1,00±0,28 | 1,00±1,38 | 1,90±0,21 | 2,90±0,27 | 2,00±0,09 | 8,90±1,39 |
| 21.dan | 1,90±0,09 | 0,90±0,32 | 2,00±0,30 | 3,00±0,07 | 1,90±0,15 | 9,50±0,82 |
| 28.dan | 1,90±0,12 | 0,90±0,11 | 1,70±0,41 | 2,80±0,31 | 2,00±0,07 | 8,30±1,89 |
| SCC2 | | | | | | |
| 7.dan | 1,90±0,09 | 0,90±0,10 | 1,80±0,18 | 2,60±0,82 | 2,0±0,09 | 9,00±0,70 |
| 14.dan | 2,00±0,11 | 1,00±0,05 | 1,80±0,38 | 3,00±0,04 | 2,0±0,07 | 8,70±1,67 |
| 21.dan | 1,70±0,42 | 0,80±0,22 | 1,70±0,61 | 2,70±0,55 | 1,90±0,19 | 8,30±1,50 |
| 28.dan | 1,70±0,34 | 1,00±0,34 | 1,60±0,28 | 2,40±0,58 | 1,90±0,13 | 8,50±1,23 |
| SCL1 | | | | | | |
| 7.dan | 1,90±0,14 | 1,00±0,29 | 1,90±0,13 | 3,00±0,05 | 2,00±0,05 | 8,60±1,05 |
| 14.dan | 1,80±0,40 | 1,00±0,7 | 1,90±0,15 | 3,00±0,00 | 2,00±0,10 | 9,10±0,87 |
| 21.dan | 1,80±0,36 | 0,90±0,13 | 1,60±0,46 | 2,70±0,39 | 1,90±0,29 | 8,20±1,51 |
| 28.dan | 1,90±0,09 | 1,00±0,28 | 1,90±0,12 | 2,80±0,26 | 2,00±0,06 | 8,90±1,01 |
| SCL2 | | | | | | |
| 7.dan | 1,90±0,09 | 1,00±0,32 | 1,90±0,12 | 2,90±0,18 | 1,90±0,18 | 8,80±1,31 |
| 14.dan | 2,00±0,11 | 1,00±0,05 | 1,90±0,17 | 3,00±0,05 | 2,00±0,07 | 9,00±2,04 |
| 21.dan | 1,70±0,37 | 0,90±0,15 | 1,60±0,50 | 2,60±0,60 | 1,80±0,39 | 7,80±1,95 |
| 28.dan | 1,90±0,08 | 1,00±0,35 | 1,80±0,11 | 2,70±0,38 | 2,00±0,11 | 8,80±1,19 |

5. ZAKLJUČCI

Nakon provedenog eksperimentalnog djela istraživanja i dobivenih rezultata mogu se izvesti slijedeći zaključci:

1. Rezultati analize salamure ukazuju kako koncentracija natrijevih soli ima značajan utjecaj na pH vrijednost, električnu provodljivost te TDS salamure. Što je manji udio NaCl-a u salamuri, to pH vrijednost više raste, a električna provodljivost i vrijednosti TDS-a se smanjuju tijekom duljeg vremena čuvanja.
2. Što je dulje vrijeme čuvanja sira u salamuri povećava se količina soli koja prodire u unutrašnjost sira. Smanjenjem udjela natrijeve soli u salamuri, odnosno povećanjem udjela Ca-citrata i Ca-laktata, smanjuje se konačan udio soli u siru.
3. Kod svih uzoraka sira, bez obzira na sastav salamure, tijekom čuvanja u salamuri dolazi do značajnog smanjenja udjela proteina, što se može pripisati zrenju sira, odnosno proteolizi.
4. Korištene zamjenske soli (Ca-citrat i Ca-laktat) u kombinaciji s natrijevim kloridom uspješno inhibiraju rast enterobakterija i koagulaza pozitivnih stafilokoka te su i nakon čuvanja u trajanju od 28 dana sirevi sigurni za konzumaciju.
5. Vrijeme čuvanja sira tipa feta u salamuri značajno utječe na njegovu teksturu. Što se sir duže nalazi u salamuri dolazi do smanjenja tvrdoće, gumenosti, žvakljivosti te sile potrebne za lom sira, a sukladno tome povećava se vlaknastost. Kod sireva koji u svom sastavu sadrže manji udio soli (%) zamijećena je mekša, odnosno kremastija tekstura.
6. Svjetlina salamure opada što je dulje vrijeme čuvanja, a najmanje promjene boje događaju se kod kontrolnog uzorka (100 % NaCl). Boja svih uzoraka sira također se mijenja kroz duže vrijeme čuvanja u salamuri, pri čemu sir poprima žućkastu nijansu.
7. Prema senzorskoj analizi, sir u kojem je 25 % NaCl-a zamijenjeno s Ca-citratom pokazao se najsličniji kontrolnom uzorku koji sadrži samo natrijevu sol. Osim sira

SCC2 (50 % NaCl i 50 % Ca-citrat) svi uzorci su dobili dosta dobre ocjene te ukazuju na mogućnost prihvaćanja sireva s zamjenskim solima na tržištu. Ono što se može smatrati najvećom manom, zaslužnom za smanjenje broja bodova prilikom ocjenjivanja svakako je mekša konzistencija uslijed dužeg čuvanja.

8. Može se zaključiti da kalcijeve soli (Ca-citrat i Ca-laktat) mogu poslužiti kao zamjena za određenu količinu NaCl-a u salamuri, a da se pritom ne naruše fizikalno kemijske i senzorske karakteristike sira u odnosu na kontrolni uzorak.

6. LITERATURA

Akan, E., Kinik, O. (2018) Effect of mineral salt replacement on properties of Turkish White cheese. *Mljekarstvo* **68**, 46-56.

Anonymous 1 (2019) Tradicionalno proizveden sir feta, <<https://www.famigliagastaldello.it/en/prodotti/cheese/feta-dop-1269b1-eng.php>>.

Pristupljeno 25. ožujka 2019.

Anonymous 2 (2019) Drvene kace za zrenje feta sira u salamuri, <<https://laviogal.gr/en/feta-cheese-p-d-o-in-wooden-barrel/>>. Pristupljeno 3. lipnja 2019.

Anonymous 3 (2018) Kalcij laktat, <https://en.wikipedia.org/wiki/Calcium_lactate>.

Pristupljeno 27. ožujka 2019.

Anonymous 4 (2019) Kalcij citrat, <http://www.newdruginfo.com/pharmacopeia/usp28/v28230/usp28nf23s0_m11520.htm>.

Pristupljeno 27. ožujka 2019.

Bajt, N., Golc-Teger, S., Pirkmajer, E. (1998) *Mleko in mlečni izdelki*, Zavod Republike Slovenije za šolstvo, Ljubljana.

Božanić, R. (2015) Vrste sireva i značaj u prehrani ljudi. U: *Sirarstvo u teoriji i praksi* (Matijević, B., ured.), Veleučilište u Karlovcu, Karlovac, str. 47-59.

Cruz, A.G., Faria, J.A.F., Pollonio, M.A.R., Celeghini, R.M.S., Granato, D., Shah, N.P. (2011) Cheeses with reduced sodium content: Effects on functionality, public health benefits and sensory properties. *Trends Food Sci. Tech.* **22**, 276-291.

Da Silva, T., De Souza, V.R., Pinheiro, C.M., Nunes, C.A., Freire, T.V.M. (2014) Equivalence salting and temporal dominance of sensations analysis for different sodium chloride substitutes in cream cheese. *Int. J. Dairy Technol.* **67**, 31-38.

Doyle, M.E., Glass, K.A. (2009) Sodium reduction and its effect on food safety, food quality, and human health. *Compr. Rev. in Food Sci. and Food Saf.*, <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1541-4337.2009.00096.x>>. Pristupljeno 8. travnja 2019.

Drgalić, I., Tratnik, Lj., Božanić, R., Kozlek, D. (2002) Proizvodnja, prinos i svojstva sireva tipa Feta i Domiati od kozjeg mlijeka. *Mljekarstvo*. **52**, 137-153.

Đurić, J., Vitale, K., Paradinović, S., Jelaković, B. (2011) Unos kuhinjske soli i arterijski tlak u općoj populaciji. *Hrvatski časopis za prehrambenu tehnologiju, biotehnologiju i nutricionizam* **6**, 141-147.

Fox, P.F., Guinee T.P., Cogan, T.M., McSweeney, P.L.H. (2017) *Fundamentals of Cheese Science*, 2. izd., Springer, New York.

Gimeno, O., Astiasaran, I., Bello, J. (1999) Influence of partial replacement of NaCl with KCl and CaCl₂ on texture and color of dry fermented sausages. *J. Agric. Food. Chem.* **47**, 873-877.

Guinee, T.P., O'Kennedy, B.T. (2007) Reducing Salt in Cheese and Dairy Spreads. U: *Reducing Salt in Food* (Kilcast, D., Angus, F., ured.), Woodhead Publishing, Sawston, 316-357.

Hämäläinen, M.M. (1993) Bone Repair in Calcium-Deficient Rats: Comparison of Xylitol + Calcium Carbonate with Calcium Carbonate, Calcium Lactate and Calcium Citrate on the Repletion of Calcium. *J.Nutr.* **124**, 874-881.

Herceg, Z., Režek Jambrak, A., Rimac Brnčić, S., Krešić, G. (2009) Procesi Konzerviranja Hrane Novi postupci, Golden marketing-Tehnička knjiga, Zagreb, 22-50.

IDF (2015) Facts & Figures, International Dairy Federation, Bruxelles, < <https://www.fil-idf.org/about-dairy/facts-figures/>>. Pristupljeno 13.travnja 2019.

Kalit, S. (2015) Osnovni tehnološki postupci u proizvodnji sira. U: *Sirarstvo u teoriji i praksi* (Matijević, B., ured.), Veleučilište u Karlovcu, Karlovac, 30-47.

Katsiari, M.C., Voutsinas, L.P., Alichanidis, E., Roussis, I.G. (1997) Reduction of sodium content in Feta cheese by partial substitution of NaCl by KCl, *Int. Dairy Journal*. **7**, 465-472.

Kirin, S. (2016) *Sirarski Priručnik*, Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb, 151-153.

Kojić, N. (2017) Kiselinsko-toplinska koagulacija mlijeka pomoću različitih organskih kiselina, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, Osijek.

KONICA MINOLTA (1998) Precise Color Communication Color Control from Perception to Instrumentation, KONICA MINOLTA sensing, Inc., Japan.

Li, X.Y., Cai, X.L., Bian, P.D., Hu, L.R. (2012) High salt intake and stroke: meta-analysis of the epidemiologic evidence. *CSN Neuroscience & Therapeutics*. **18**, 691-701.

McMahon, D.J., Motawee, M.M., McManus, W.R. (2009) Influence of brine concentration and temperature on composition, microstructure, and yield of feta cheese. *J. Dairy Sci.* **92**, 4169–4179.

Miletić, S. (1994) *Mlijeko i Mliječni proizvodi*, Hrvatsko mljekarsko društvo, Zagreb.

Norberg, E., Hogeveen, H., Korsgaard, I.R., Friggens, N.C., Sloth, K. H. M. N., Løvendahl, P. (2004) Electrical Conductivity of Milk: Ability to Predict Mastitis Status. *J. Dairy Sci.* **87**, 1099–1107.

Pravilnik o metodama analiza toplinski obrađenog mlijeka za prehranu ljudi (2007) *Narodne novine* **133**, Zagreb.

Pravilnik o mlijeku i mliječnim proizvodima (2017) *Narodne novine* **64**, Zagreb.

Pravilnik o sirevima i proizvodima od sira (2009) *Narodne novine* **20**, Zagreb.

Pravilnik o utvrđivanju sastava sirovog mlijeka (2017) *Narodne novine* **27**, Zagreb.

Pravina, P., Sayaji, D., Avinash, M. (2013) Calcium and its Role in Human Body. *Int. J. Pharm. Biomed. Res.* **4**, 659-668.

Premužić, V., Reiner, Ž., Jelaković, B. (2010) Povećan unos kuhinjske soli utječe na pojavu karcinoma probavnog sustava. *Hrvatski časopis za javno zdravstvo.* **6**.

Prolić, A. (2016) Ispitivanje mogućnosti zamjene natrijevog klorida kalijevim kloridom u proizvodnji bijelog sira, Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek.

Reddy, K.A., Marth, E.H. (1991) Reducing the Sodium Content of Foods:A Review. *J. Food Protect.* **54**, 138-150.

Sabadoš, D. (1998) *Kontrola i ocjenjivanje kvalitete mlijeka i mliječnih proizvoda*, Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb.

Šajina, M. (2017, 10.ožujka) Kalcij laktat E327. Nutricionizam.com, <<https://nutricionizam.com/kalcij-laktat-e327/>>. Pristupljeno 15.travnja 2019.

Šćuric, M. (1991) Proizvodnja sira feta. *Mljekarstvo.* **41**, 329-333.

Trajković, J., Mirić, M., Baras, J., Šiler, S. (1983) *Analize životnih namirnica*, Tehnološko-metalurški fakultet Univerziteta u Beogradu, Beograd.

Tratnik, Lj., Božanić, R. (2012) *Mlijeko i Mliječni Proizvodi*, Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb.

Trantik, Lj., Božanić, R., Harjač, A., Kozlek, D. (2000) Optimiranje proizvodnje i kvakoće sireva u salamuri tipa Feta i Domiati. *Mljekarstvo.* **50**, 227-238.

Uredba komisije (EZ) o mikrobiološkim kriterijima za hranu (2005) *Službeni list europske unije*, **13**.

WHO (2014) Strateški plan za smanjenje prekomjernog unosa kuhinjske soli u Republici Hrvatskoj 2015.–2019. WHO-World Health Organization, Geneva, <<https://extranet.who.int/nutrition/gina/en/node/25715>>. Pristupljeno 8. travnja 2019.

IZJAVA O IZVORNOSTI

Izjavljujem da je ovaj diplomski rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio/la drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

Andrea Babić

Ime i prezime studenta