

# Utjecaj kalcijevih soli na tehnološki proces proizvodnje, fizikalno-kemijske, teksturalne i senzorske karakteristike kuhanog sira

---

Macut, Nina

Master's thesis / Diplomski rad

2021

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:159:107502>

Rights / Prava: [Attribution-NoDerivatives 4.0 International](#)/[Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-09-14**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

# DIPLOMSKI RAD

Zagreb, srpanj, 2021.

Nina Macut

1350/PI

**UTJECAJ KALCIJEVIH SOLI NA  
TEHNOLOŠKI PROCES  
PROIZVODNJE, FIZIKALNO-  
KEMIJSKE, TEKSTURALNE I  
SENZORSKE KARAKTERISTIKE  
KUHANOG SIRA**

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 doc.dr.sc. Katarine Lisak Jakopović, Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu te uz pomoć doc.dr.sc. Irene Barukčić, Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

*Zahvaljujem se mentorici doc. dr. sc. Katarini Lisak Jakopović na svim savjetima, podršci i pomoći tijekom izrade diplomskog rada. Također, zahvaljujem se i doc. dr. sc. Ireni Barukčić na pomoći tijekom izrade rada.*

*Hvala svim prijateljima koji su bili podrška i zajedno sa mnom dijelili lijepo, ali i one teške trenutke tijekom studiranja te ga učinili nezaboravnim.*

*Hvala mojoj obitelji, a posebno majci koja je svaki trenutak bila uz mene i omogućila da danas budem to što jesam.*

## 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 KALCIJEVIH SOLI NA TEHNOLOŠKI PROCES PROIZVODNJE, FIZIKALNO-KEMIJSKE, TEKSTURALNE I SENZORSKE KARAKTERISTIKE KUHANOG SIRA

*Nina Macut, 1350/PI*

**Sažetak:**

Kuhani sir je autohtoni hrvatski sir u kojem je jedan od najvažnijih čimbenika sol, odnosno NaCl. Prekomjerni unos natrija smatra se glavnim uzročnikom hipertenzije, kardiovaskularnih i brojnih drugih bolesti. Cilj ovog rada bio je istražiti mogućnost djelomične redukcije i zamjene natrijevog klorida kalcijevim solima u kuhanom siru te ispitati njihov utjecaj na proces proizvodnje te fizikalno-kemijske i senzorske karakteristike sira. Proizvedeni kuhani sir čuvan je tijekom 21 dan, a svakog prvog, sedmog, četrnaestog i dvadesetprvog dana čuvanja provedena su fizikalno-kemijska, mikrobiološka, teksturalna i senzorska ispitivanja. Na temelju provedenog istraživanja može se zaključiti kako se kalcijeve soli mogu koristiti kao djelomična zamjena za NaCl.

**Ključne riječi:** kuhani sir, natrijev klorid, kalcijeve soli, svojstva

**Rad sadrži:** 47 stranica, 25 slika, 13 tablica, 27 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*

**Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:**

1. Doc.dr.sc. *Irena Barukčić*
2. Doc.dr.sc. *Tibor Janči*
3. Doc.dr.sc. *Katarina Lisak Jakopović*
4. Prof.dr.sc. *Ksenija Marković* (zamjena)

**Datum obrane:** 16. srpnja 2021.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

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

Scientific area: Biotechnical Sciences

Scientific field: Food Technology

### INFLUENCE OF CALCIUM SALTS ON THE TECHNOLOGICAL PROCESS OF PRODUCTION, PHYSICO-CHEMICAL, TEXTURAL AND SENSORY CHARACTERISTICS OF COOKED CHEESE

*Nina Macut, 1350/PI*

#### Abstract:

Cooked cheese is an autochthonous Croatian cheese in which one of the most important factors is salt, ie NaCl. Excessive sodium intake is considered a major cause of hypertension, cardiovascular and a number of other diseases. The aim of this study was to investigate the possibility of partial reduction and replacement of sodium chloride with calcium salts in cooked cheese and to examine their impact on the production process and the physico-chemical and sensory characteristics of cheese. The produced cooked cheese was hermetically sealed and stored for 21 days, and physicochemical, microbiological and sensory tests were performed every first, seventh, fourteenth and twenty-first day of storage. Based on the conducted research, it can be concluded that calcium salts can be used as a partial replacement for NaCl.

**Keywords:** cooked cheese, sodium chloride, calcium salts, characteristics

**Thesis contains:** 47 pages, 25 figures, 13 tables, 27 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*

**Technical support and assistance:** *Irena Barukčić, PhD*

#### Reviewers:

1. PhD. *Irena Barukčić*, Assistant professor
2. PhD. *Tibor Janči*, Assistant professor
3. PhD. *Katarina Lisak Jakopović*, Assistant professor
4. PhD. *Ksenija Marković*, Full professor (substitute)

**Thesis defended:** 16 July 2021

<b>1. UVOD</b>	<b>1</b>
<b>2. TEORIJSKI DIO</b>	<b>2</b>
2.1. PROIZVODNJA SIRA	2
2.1.1. Sirovina za proizvodnju sira	2
2.1.2. Proizvodnja	3
2.2. VRSTE SIRA	4
2.3. KUHANI SIR	5
2.3.1. Sirutkin ili albuminski sir	6
2.3.2. Kuhani sir od mlijeka	6
2.3.3. Kuhani sir od svježeg sira	6
2.4. PROIZVODNJA KUHANOG SIRA	6
2.4.1. Tradicionalna proizvodnja kuhanog sira	7
2.4.2. Industrijska proizvodnja kuhanog sira	7
2.5. SOL U SIRARSTVU	8
2.5.1. Kuhinjska sol	8
2.5.2. Hipertenzija i kardiovaskularne bolesti	9
2.5.3. Smanjenje soli	10
2.5.4. Kalcijeve soli	10
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO</b>	<b>13</b>
3.1. MATERIJALI	13
3.2. METODE RADA	13
3.2.1. Proizvodnja sira tipa kuhani	13
3.2.2. Prinos sira	17
3.2.3. Određivanje kiselosti pH-metrom	17
3.2.3. Određivanje titracijske kiselosti mlijeka i sira metodom po Soxhlet-Henkelu	18
3.2.4. Određivanje mliječne masti u siru butirometrijskom metodom po Gerber-Siegfel-Tiechertu	19
3.2.5. Određivanje udjela suhe tvari u siru direktnom metodom za određivanje ukupne suhe tvari (sušenje u sušioniku)	20
3.2.7. Određivanje udjela kuhinjske soli u siru metodom po Mohru	20
3.2.8. Određivanje boje sira	21
3.2.9. Određivanje teksture sira	22
3.2.10. Mikrobiološke analize	22
3.2.11. Senzorska analiza sira	25
3.2.12. Obrada podataka	25
<b>4. REZULTATI I RASPRAVA</b>	<b>26</b>
4.1. REZULTATI ANALIZE MLIJEKA	26
4.2. REZULTATI ANALIZE SIRA	27
<b>5. ZAKLJUČCI</b>	<b>44</b>
<b>6. LITERATURA</b>	<b>45</b>



# 1. UVOD

Kuhani sir je svježi sir karakterističan za hrvatsko područje te pripada autohtonim sirevima. Njegova je proizvodnja najrasprostranjenija na sjeverozapadnom dijelu Hrvatske. Najčešće se proizvodi tradicionalnim načinom od kravljeg mlijeka, no u novije vrijeme se koriste i kozje ili mješavina kravljeg i kozjeg mlijeka. Sir je često korištena namirnica i kao takva sama po sebi stvara izazov za proizvođače u vidu smanjenja udjela soli. Naime, sol se od davnina koristi u ljudskoj prehrani te je kroz povijest bila prvi sastojak koji se koristio kao konzervans u prehrambenoj industriji. Ima velik utjecaj na okus i teksturu namirnice, kao i utjecaj na mikrobiološku aktivnost, no isto tako može imati negativne posljedice na ljudski organizam ukoliko se unosi u prevelikim količinama. Upravo zbog brojnih provedenih istraživanja koja povezuju hipertenziju, pretilost, brojne kardiovaskularne i druge bolesti s unosom natrijevog klorida teži se smanjenju njegove konzumacije. Pokušava se pronaći rješenje koje će biti zdravstveno prihvatljivo, koje neće utjecati na karakteristike sira, a potrošaču će i dalje biti privlačno i cjenovno prihvatljivo. Jedna od metoda kojom bi se to moglo ostvariti je djelomična zamjena natrijevog klorida nekim drugim solima kako bi se dobio kuhani sir karakterističnih svojstava i načina proizvodnje.

Cilj ovog diplomskog rada bio je ispitati mogućnost djelomične zamjene natrijevog klorida s kalcijevim laktatom i kalcijevim citratom te njihov utjecaj na tehnološki proces proizvodnje, fizikalno-kemijske, teksturalne karakteristike te senzorske parametre kuhanog sira.

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. PROIZVODNJA SIRA

Prema općoj definiciji sirevi su svježi proizvodi ili proizvodi s različitim stupnjem zrelosti koji se proizvode odvajanjem sirutke nakon koagulacije mlijeka (kravljeg, ovčjeg, kozjeg, bivoljeg i/ili njihovih mješavina), obranog ili djelomično obranog mlijeka, vrhnja, sirutke ili kombinacijom navedenih sirovina (Pravilnik, 2009). Kvaliteta sira najviše ovisi o kvaliteti sirovine, odnosno mlijeka te samom proizvodnom postupku. Također, veoma je bitno osigurati optimalne uvjete za djelovanje mikrobne kulture kako bi se postigla željena svojstva sira.

#### 2.1.1. Sirovina za proizvodnju sira

Sirovina za proizvodnju sira je mlijeko koje se definira kao biološka tekućina složena i promjenjiva sastava, bijele do žućkastobijele boje, karakteristična okusa i mirisa, koju izlučuje mliječna žlijezda ženki sisavaca određeno vrijeme nakon poroda. U današnje vrijeme pod pojmom „mlijeko“ podrazumijeva se kravlje mlijeko, a ukoliko se radi o nekoj drugoj vrsti ona mora biti posebno naznačena. (Tratnik i Božanić, 2012). Kemijski sastav mlijeka (tablica 1) ovisi o brojnim čimbenicima kao što su pasmina i zdravstveno stanje životinja, način ishrane, stadij laktacije i mnogi drugi te je zbog toga vrlo promjenjiv. Najpromjenjiviji sastojak je mliječna mast koja je važan izvor energije te različitih lipidnih tvari koje sadrže brojne biološki aktivne tvari, a osim toga utječe na okus, aromu, konzistenciju i strukturu mlijeka (Marenjak i sur., 2006).

Tablica 1. Prosječan kemijski sastav kravljeg mlijeka (Tratnik i Božanić, 2012)

<b>Sastojak</b>	<b>Udio u mlijeku (%)</b>
<b>Voda</b>	86-89
<b>Suha tvar</b>	11-14
<b>Mliječna mast</b>	3,2-5,5
<b>Laktoza</b>	4,6-4,9
<b>Proteini</b>	2,6-4,2
<b>Pepeo</b>	0,6-0,8

Voda se u mlijeku nalazi u dva oblika: slobodna i vezana. Slobodna voda je ona u kojoj se nalaze sastojci suhe tvari mlijeka, dok se vezana nalazi adsorbirana u hidratacijskom sloju pojedinih sastojaka suhe tvari (Tratnik i Božanić, 2012).

Mliječna mast je najviše promjenjiv sastojak mlijeka koji utječe na ugodan okus, aromu, konzistenciju i teksturu mliječnih proizvoda. Ima najveću energetska vrijednost te se uglavnom sastoji od triglicerida (Bosnić, 2003). Drugi važni sastojci kao što su vitamini topivi u mastima, mineralne tvari, endogeni enzimi, sastojci arome, karotenoidni pigmenti, glikoproteini, proteini iz plazme mlijeka te vezana voda nalaze se u malim koncentracijama.

Mliječni šećer (laktoza) je prirodni disaharid koji uz hranjivu energetska vrijednost ima i dijetetski učinak.

U mlijeku je identificirano više od 200 različitih proteina, a oni su u prehranbenom smislu najvažniji sastojak mlijeka. Od ukupnih dušičnih tvari mlijeko sadržava oko 95 % proteina i 5 % neproteinskih dušičnih tvari u koje se ubrajaju peptidi, slobodne aminokiseline, amonijak, aminošećeri, kreatin, kreatinin, urea, ureinska kiselina, itd. Proteini mlijeka sadrže dvije vrste različitih proteina: kazein i proteine sirutke. Kazein je najsloženiji protein mlijeka koji lako koagulira djelovanjem kiseline ili enzima, dok proteini sirutke obično zaostaju u sirutki jer nisu osjetljivi na djelovanje kiseline ili enzima, no vrlo su osjetljivi na djelovanje topline (Tratnik i Božanić, 2012).

### 2.1.2. Proizvodnja

Proizvodnja sira predstavlja niz procesa koji ukoliko su uravnoteženi i izvedeni pravilnim redoslijedom rezultirat će proizvodom poželjnih karakteristika, no ukoliko ne provode pravilnim redom rezultirat će neželjenim ishodom.

Većina različitih vrsta sira se proizvodi po nekom općenitom predlošku koji se sastoji od odabira i standardizacije te najčešće pasterizacije mlijeka, koagulacije proteina te oblikovanja sirnog gruša uz izdvajanje određene količine sirutke. Najvažniji dio proizvodnje je koagulacija proteina koja se može vršiti djelovanjem kiseline, enzima ili topline. Djelovanje topline koristi se za koagulaciju sirutkinih proteina (osim frakcije proteoza-peptona) te se provodi na temperaturi od oko 90-95 °C kroz 10-20 minuta pri čemu nastaje slatkasti gruš iz kojeg se samoprešanjem dobiva svježiji albuminski sir. Djelovanje kiseline i enzima se koristi za koagulaciju kazeina. Kiselinom koagulacijom nastaje kiseli gruš te se koristi u proizvodnji svježih sireva, dok enzimskom koagulacijom nastaje slatki gruš koji se koristi za pripremu ostalih vrsta sireva (Tratnik i Božanić, 2012).

Veoma je bitno da mlijeko bude odgovarajuće mikrobiološke kvalitete kako neželjene bakterije ne bi zaostale u siru i tako prouzročile određene nedostatke i probleme (Fox i sur., 2017).

## 2.2. VRSTE SIRA

U pojedinim zemljama i pojedinim područjima istih zemalja koriste se različiti načini proizvodnje sireva, a osim vrste proizvodnog procesa na postojanje više vrsta utječu i različite klimatske zone i pasmina mliječne stoke. Čak i male promjene tijekom proizvodnje prema nekim autorima rezultiraju novom vrstom sira pa se broj vrsta zapravo razlikuje od autora do autora. Tako npr. prema Scottu (1981.) ima više od 2000 vrste sireva, dok prema Robinsonu (1990.) postoji samo 18 potpuno različitih vrsta (Sarić, 2007).

Pravilna klasifikacija sireva je vrlo otežana, no moguće ih je grupirati prema određenim grupnim svojstvima:

- prema vrsti mlijeka:
  - kravlji
  - ovčji
  - kozji
  - bivolji
  - njihova mješavina
- prema vrsti proteina:
  - albuminski
  - kazeinski
  - mješoviti
- prema načinu grušanja:
  - kiseli
  - slatki
  - mješoviti
- prema udjelu masti u suhoj tvari:
  - posni
  - polumasni
  - masni
  - punomasni

- ekstra masni
- prema udjelu vode u bezmasnoj tvari sira:
  - svježi
  - meki
  - polutvrđi
  - tvrdi
  - ekstra tvrdi
- prema sličnom procesu proizvodnje:
  - sirevi u salamuri
  - sirevi parenog tijesta
  - sirevi s „mazom“
  - sirevi s plemenitim plijesnima
  - svježi sirevi
  - sirni namazi
  - topljeni sirevi za mazanje ili rezanje
  - svježi sirevi od sirutke
- prema načinu zrenja:
  - svježi sirevi, bez zrenja
  - sirevi sa zrenjem u zrionici ili salamuri
  - sirevi sa zrenjem sirne grude
  - sirevi uz klasično zrenje u zrionici ili zamotani u posebne folije
- prema području ili mjestu proizvodnje (izvorno podrijetlo) (Tratnik i Božanić, 2012)

### 2.3. KUHANI SIR

Kuhani sir je svježi kravljji sir koji se proizvodi na tradicionalni način, odnosno to je autohtona vrsta koja ima lokalni karakter. Uglavnom se proizvodi na području sjeverozapadne Hrvatske. Osim od kravljeg mlijeka, može se proizvoditi i od kozjeg ili njihove kombinacije, a kao sirovina izvorno se koristi sirutka, no može se koristiti i svježi sir (Kirin, 2006). Kuhani sir dijeli se na:

- sirutkin ili albuminski sir
- kuhani sir od mlijeka

- kuhani sir od svježeg sira

### 2.3.1. Sirutkin ili albuminski sir

Sirutkin ili albuminski sir proizvodi se od sirutke koja ostaje nakon proizvodnje sirišnih sireva, a u svrhu boljeg iskorištenja u nju se može dodati mlijeko, obrano mlijeko ili vrhnje. Proizvodnja se zasniva na činjenici da tijekom zagrijavanja zakiseljene sirutke, pH 4,5, od 30 min na 90-95 °C dolazi do izdvajanja i nakupljanja koloidnih čestica te taloženja na način da se sirutkine i mliječne bjelančevine oblikuju u različite vrste sirutkinog sira (Kirin, 2006).

### 2.3.2. Kuhani sir od mlijeka

Proizvodnja ovakve vrste sira temelji se na zagrijavanju sirovog mlijeka na 90-95 °C te izravnom zakiseljavanju kiselom sirutkom, mlaćenicom ili kiselinom. Tako dobiveni gruš najčešće se soli, a može se i miješati s nekim dodacima nakon čega slijedi oblikovanje u kalupima te prešanje čime se dobije konzistencija sira za rezanje. Može se konzumirati i odmah nakon proizvodnje, ali i nakon duljeg vremena čuvanja (Kirin, 2006).

### 2.3.3. Kuhani sir od svježeg sira

Jedan od glavnih predstavnika kuhanog sira od svježeg sira je Halloumi sir. Proizvodi se na način da se svježe pasterizirano mlijeko koagulira sirilom na  $33 \pm 1$  °C tijekom 40 do 60 minuta. Potom se gruš reže na kockice veličine 1 cm<sup>3</sup>, a koagulum se odmara i taloži kroz 10 min. Zatim se gruš podvrgava djelovanju tlaka od 550 Pa tijekom 1 sata kako bi se provelo prešanje, nakon čega se reže u kockice veličine 10 x 15 x 3 cm. Te kockice se stavljaju u vruću sirutku, 94-96 °C, i kuhanju oko 1 sat. Ocijeđeni i ohlađeni sir se suho soli (3 % masenog udjela) te posipa suhim listićima mente (Papademas i Robinson, 1998).

## 2.4. PROIZVODNJA KUHANOG SIRA

Kuhani sir, kao i svaka druga vrsta, može biti proizveden na tradicionalni i industrijski način.

#### 2.4.1. Tradicionalna proizvodnja kuhanog sira

Večernje i jutarnje punomasno mlijeko procijedi se te zagrijava uz miješanje do vrenja u loncu poznatog volumena. Mlijeko se zagrijava do vrenja uz konstantno miješanje kako ne bi došlo do zagaranja te mu se dodaje 1 % alkoholnog octa. Nakon vrenja i dodavanja octa miješanje se prekida te na površini počinje formiranje gruša. On se nastavlja zagrijavati do pojave bistre zelenkaste sirutke uz rub posude. Nakon formiranja gruša sijedi odvajanje od sirutke, odnosno cijedenje i soljenje gruša koji se potom grabi i prenosi u kalupe u koje je već postavljena vlažna gaza. Napunjeni kalupi se pokrivaju i opterete kako bi se moglo provesti prešanje koje traje 3-4 sata, a tijekom prešanja sireve je potrebno okrenuti 2 do 3 puta. Nakon prešanja sir se vadi iz kalupa i pusti da se kora osuši i požuti. Tako pripremljeni sir može se dimiti (jače ili slabije), a sam proces dimljenja traje 3 - 4 sata (Kirin, 2006).

#### 2.4.2. Industrijska proizvodnja kuhanog sira

Kako bi se pojeftinio i vremenski skratio proces proizvodnje okrenulo se prema mehanizaciji procesa. U tu svrhu se u ovakvom načinu proizvodnje grušanje mlijeka ne vrši samo mliječnom kiselinom, već kombinacijom mliječne kiseline i sirila.

Prije same proizvodnje sira, mlijeko se pasteurizira na 74 °C kroz 40 sekundi pri čemu se uništavaju svi štetni i patogeni mikroorganizmi. Nakon pasteurizacije mlijeko se hladi. Još jedan korak koji se odvija prije sirenja je dodavanje čiste kulture u mlijeko koja će fermentirati mliječni šećer u mliječnu kiselinu i aromatske tvari.

Kod samog procesa sirenja razlikuju se hladni i topli postupak. Kod hladnog postupka sirenje traje 14 - 16 sati jer je smanjeno djelovanje sirila, dok kod toplog postupka gdje je djelovanje sirila oko 60 %, sirenje traje 7 - 9 sati. Nakon formiranja gruša i pojave bistre sirutke na površini on je spreman za rezanje koje se vrši sirarskom harfom. Reže se u kockice dužine brida 12-15 cm nakon čega još miruje 1 - 1, 5 sat. Potom se provodi cijedenje koje može biti preko sirne marame ili nekim novim mehaniziranim sistemom za odvajanje sirutke od gruša. Završetkom cijedenja, sir se pakira te skladišti na temperaturi od 4 °C.

Unatoč ubrzanju procesa i dalje se više preferira tradicionalni način za proizvodnju kuhanog sira zbog karakteristika (organoleptičke, kemijski sastav) samog proizvoda koje se dobiju takvim načinom pripreme te zbog boljeg prinosa (Kirin, 1980).

## 2.5. SOL U SIRARSTVU

Soljenje u sirarstvu ima dvojaku ulogu, čuva sir te doprinosi kvaliteti sira tako što utječe na njegov okus i teksturu. Također, sol se dodaje kako bi spriječila rast nepoželjnih mikroba te radi kontrole rasta bakterija mliječne kiseline (Sheibani i sur., 2013). Ukoliko se ne soli, kod sira se mogu pojaviti nedostaci kao što su neslani okus, jako nadimanje sira, gorak okus, mekana konzistencija te pojava pukotina. Upravo su to neki od pokazatelja kako koncentracija soli u siru ima vrlo važnu ulogu.

Sirevi se moraju podvrgnuti soljenju nakon prešanja, a ponekad se provodi i suho soljenje zrna tijekom oblikovanja sira. Za soljenje se koristi kuhinjska sol (NaCl) koja mora biti pročišćena i ne smije sadržavati teške metale, a ovisno o načinu soljenja zahtijeva se različita veličina zrna soli. Za suho soljenje zrna koristi se sitnija sol, dok se za suho soljenje oblikovanog zrna, nakon prešanja, koristi krupnija sol. Za soljenje polutvrdih i tvrdih sireva koristi se salamura (Tratnik i Božanić, 2012).

Postoje tri glavne metode soljenja:

- suho soljenje: izravno dodavanje suhe soli na grušu nakon čega slijedi miješanje
- površinsko suho soljenje: utrljavanje suhe soli na površinu oblikovanog gruša
- soljenje salamure: namakanje ukalupljenog sira u otopini salamure

Prilikom soljenja bitno je u obzir uzeti vrstu sira, temperaturu prostorije u kojoj se sir soli, površinu sira, vlažnost sira, kiselost i neke druge (Mesner, 1962).

### 2.5.1. Kuhinjska sol

Kuhinjska sol (NaCl) je primarni izvor natrija u siru, a razina kuhinjske soli u siru varira od 0,7 do 6,0 % ovisno o vrsti sira i načinu soljenja. Sol, osim što ima utjecaj na teksturu, okus i sprječavanje razvoja štetnih mikroorganizama, u prevelikim količinama može imati nepoželjne, a u nekim slučajevima i toksične učinke te se upravo zbog toga treba poštivati preporučeni unos soli u organizam (tablica 2). Negativne pojave do kojih može dovesti su hipertenzija, moždani udar, zatajenje bubrega i preveliko izlučivanje kalcija koje može voditi prema osteoporozi (Guinee i Fox, 2004).

Sol djeluje na kontrolu aktivnosti vode na način da povećava osmotski tlak vodene faze hrane i tako uzrokuje dehidraciju bakterijskih stanica te ih time ili ubija ili sprječava njihov rast.



Zajedno sa željenim aktiviteom vode, pH vrijednosti i redoks potencijalom, sol ima ulogu inhibicije rasta patogenih mikroorganizama.

Tablica 2. Preporučeni dnevni unos soli ( $\text{mg dan}^{-1}$ ) i ekvivalentna količina soli ( $\text{g dan}^{-1}$ ) za različitu životnu dob i spol (Sheibani i sur., 2013).

Dob (godine)	Sol	NaCl		
	Preporučeno	Gornja granica	Preporučeno	Gornja granica
<b>Djeca i adolescenti</b>	$\text{mg dan}^{-1}$	$\text{g dan}^{-1}$		
<b>1-3</b>	200-400	1000	0,51-1,02	2,56 (9-17 mmol)
<b>4-8</b>	300-600	1400	0,76-1,53	3,59 (13-26 mmol)
<b>9-13</b>	400-800	2000	1,02-2,05	5,13 (17-34 mmol)
<b>14-18</b>	460-920	2300	1,18-2,36	5,89 (20-40 mmol)
<b>Odrasli (+18)</b>	$\text{mg dan}^{-1}$	$\text{g dan}^{-1}$		
<b>Muškarci</b>	460-920	2300	1,18-2,36	5,89 (20-40 mmol)
<b>Žene</b>	460-920	2300	1,18-2,36	5,89 (20-40 mmol)

### 2.5.2. Hipertenzija i kardiovaskularne bolesti

Hipertenzija se definira kao stanje visokog krvnog tlaka, dok se u kardiovaskularne bolesti ubrajaju srčani i moždani udar te zatajenje srca. U mnogim slučajevima upravo je krvni tlak uzrok kardiovaskularnih bolesti.

Normalnim krvnim tlakom smatra se tlak od 120/80 mm/Hg, stanje pri tlaku između 120/80 mm Hg<sup>-1</sup> i 140/90 mm Hg<sup>-1</sup> definira se kao pre-hipertenzija, dok se hipertenzijom smatra krvni tlak iznad 140/90 mm Hg<sup>-1</sup> (Sheibani i sur., 2013). Niz brojnih studija provedenih na temelju epidemioloških dokaza, kliničkih slika povijesti bolesti i životinjskih modela pokazao je pozitivnu korelaciju između prekomjernog unosa natrija i hipertenzije. Godine 1904. provedeno je jedno od prvih ispitivanja povezanosti soli i visokog krvnog tlaka u kojem je sudjelovalo 6 ispitanika kod kojih se pratila uzročno-posljedična veza. Dokazano je kako sol ima utjecaj na krvni tlak (Sung Kyu Ha, 2014).

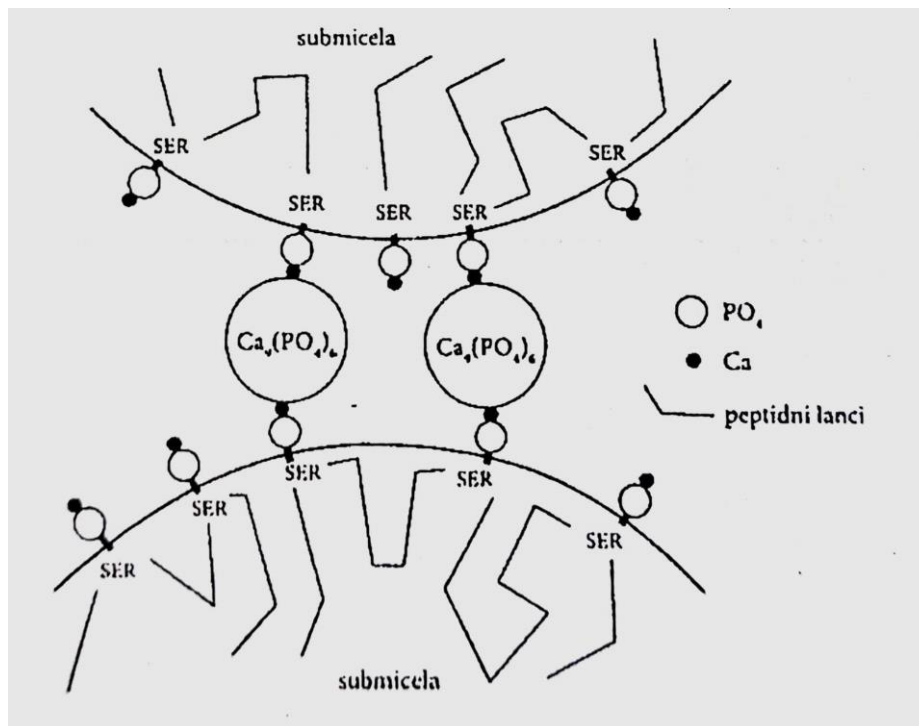
Smanjenjem udjela soli osim utjecaja na krvni tlak, a samim time i na kardiovaskularni sustav, može se smanjiti rizik od brojnih bubrežnih bolesti i demineralizacije kostiju. Brojne studije pokazale su kako postoji izravna korelacija između unosa natrija i izlučivanja kalcija urinom što potencijalno može dovesti do osteoporoze kod osoba s povećanim unosom natrija, a smanjenim unosom kalcija. Također, dokazana je i pozitivna korelacija između unosa soli i raka želuca (Sheibani i sur., 2013).

### 2.5.3. Smanjenje soli

Zbog potencijalnog štetnog učinka soli i natrija na ljudski organizam sve je veći trend i pokušaj smanjenja razine NaCl-a u siru što se može provesti na nekoliko načina: smanjenjem razine dodane soli same po sebi, djelomičnom ili potpunom supstitucijom NaCl-a drugim solima (npr. KCl, MgCl<sub>2</sub>, CaCl<sub>2</sub> i druge soli), smanjenjem razine soli u kombinaciji s tvarima za poboljšanje okusa, upotrebom mlijeka s dodatkom retentata ultrafiltracije i reverzne osmoze za promjenu razine mineralnih tvari u siru te izmjenom postupaka proizvodnje sira (Arboatti i sur., 2014). Najpoželjnijom tehnikom među proizvođačima sira smatra se smanjenje razine soli same po sebi, no javljaju se problemi kao što su povećanje gorčine tijekom skladištenja i nekontrolirani mikrobn rast u sirevima. Povoljnom tehnikom kojom se neće utjecati na teksturu sira smatra se zamjena NaCl-a s drugim solima, no treba voditi računa kako ti spojevi mogu doprinijeti slanom okusu, ali isto tako treba paziti i jer mogu pružiti i neželjene okuse u ustima kao što su gorčina te metalni i oštar okus zbog čega treba voditi računa o količini koja se dodaje (Sheibani i sur., 2013).

### 2.5.4. Kalcijeve soli

Kalcij je jedan od najznačajnijih mineralnih tvari u organizmu, a njegovo iskorištenje ovisi o topivoj količini, količini vitamina D koji poboljšava njegovu apsorpciju te količini fosfora. Prevelika količina fosfora u mlijeku može dovesti do nastanka netopljivog Ca-fosfata i prouzrokovati hipokalcemiju organizma (Tratnik i Božanić, 2012). Kalcij ima važnu ulogu u siru obzirom da zajedno s anorganskim fosfatom i malim količinama kalija, natrija, magnezija i citrata služi kao vezivna tvar u izgradnji micela proteina kazeina (slika 1).

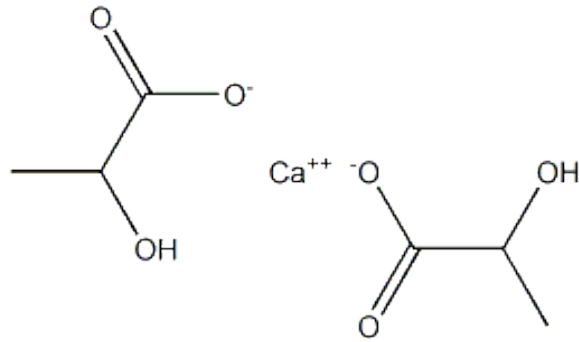


Slika 1. Povezivanje micela kazeina preko koloidnog Ca-fosfata (Tratnik i Božanić, 2012)

Kalcij je potreban ljudskom tijelu jer sudjeluje u prijenosu živčanih impulsa i zgrušavanja krvi, osigurava normalno funkcioniranje srčanog mišića, a također sudjeluje u izgradnji koštanog tkiva, noktiju, kose i zubne cakline.

#### Kalcijev laktat

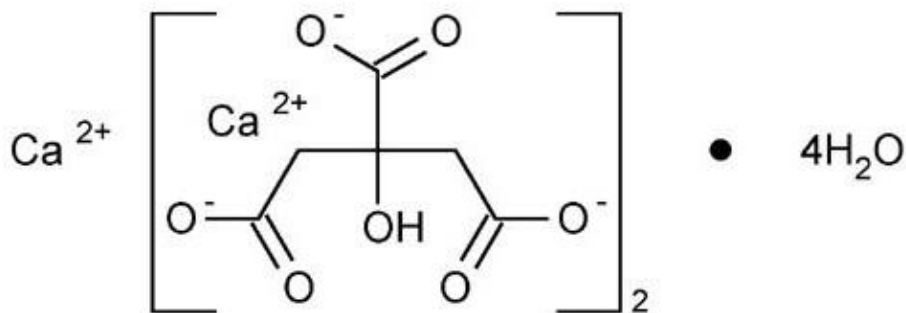
Kalcijev laktat (E327) (slika 2) je sol mliječne kiseline i natrija, a nastaje djelovanjem mliječne kiseline na kalcijev karbonat ili kalcijev hidroksid. Također, nastaje i u hrani procesom fermentacije s bakterijama mliječne kiseline. Koristi se kao bezopasan aditiv u širokom spektru hrane, odnosno kao sredstvo za regulaciju kiselosti u količini koja je tehnološki potrebna za postizanje željenog učinka; „quantum satis“ količini. „Quantum satis je količina koja nije viša od nužne za postizanje svrhe, uz uvjet da ne dovodi potrošača u zabludu“ (Pravilnik, 2010). Može se dodavati u pekarske proizvode (kao što je bijeli kruh, keksi, kolači), sterilizirano i konzervirano povrće, džemove, marmelade, pekmeze i ostale slične voćne proizvode. Nadalje, može se pronaći u proizvodima smanjene energijske vrijednosti, prašku za pudinge, kremama, desertima, bezalkoholnim osvježavajućim napitcima, juhama, koncentratima za juhe i umacima, dodacima jelima, grickalicama, začinima, senfu, dodacima prehrani, itd.



Slika 2. Kalcijev laktat, struktura (Anonymous, 2017)

### Kalcijev citrat

Kalcijev citrat (E333) (slika 3) je sol limunske kiseline, a nastaje djelovanjem hidroksida ili kalcijevog karbonata s limunskom kiselinom. Često se koristi kao dodatak prehrani u svrhu stabilizatora, konzervansa, regulatora kiselosti i fiksatora boje. Proizvodi se u obliku bijelog praha kiselkastog okusa, a osim kao bezopasan dodatak hrani koristi se i u proizvodnji lijekova. Također, može se koristiti za omekšavanje pitke vode jer je sposoban neutralizirati ione različitih nepoželjnih metala, a osim toga često se nalazi u sastavu paste za zube jer može neutralizirati fluorid koji se nalazi u vodi i tako štiti zubnu caklinu od oštećenja. Nadalje, mlijeko u koje je dodan kalcijev citrat dobiva veću otpornost na toplinu tijekom pasterizacije i sterilizacije.



Slika 3. Kalcijev citrat, struktura (Anonymous, 2019)

## 3. EKSPERIMENTALNI DIO

### 3.1. MATERIJALI

U eksperimentalnom dijelu ovog rada za proizvodnju kuhanog sira korišteno je kravlje pasterizirano mlijeko (3,2 % mliječne masti, Dukat d.d.), alkoholni ocat „Kisko“ (9 % octene kiseline, Badel d.o.o.), NaCl (morska sol – jodirana, Solana Pag d.d.), te zamjenske soli Ca-laktat i Ca-citrat.

### 3.2. METODE RADA

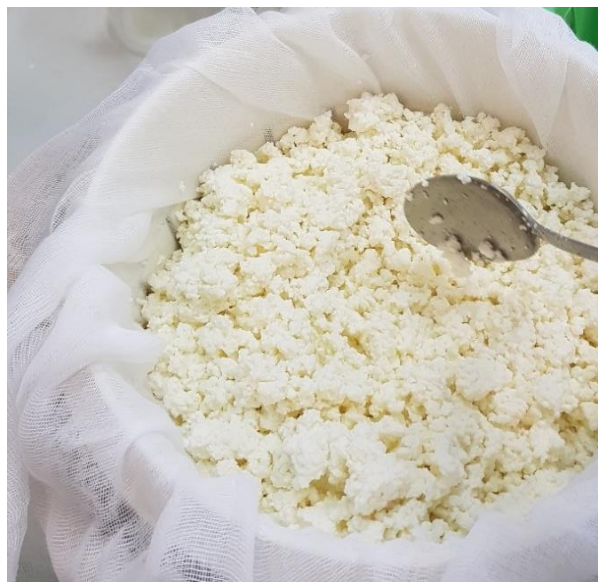
Kuhani sir je proizveden u dvije serije s odmakom od 7 dana. Na uzorku svježeg pasteriziranog mlijeka provedena je analiza kiselosti (pH vrijednost i titracijska kiselost - po Soxhlet-Henkeli). Analiza sira provedena je 1., 7., 14. i 21. dan, a čuvan je u hladnjaku na temperaturi od +4 do +8 °C pakiran u vakuum (oko 100 grama). Siru je određivana kiselost (pH i titracijska kiselost po Soxhlet-Henkeli), tvrdoća, boja, suha tvar i pepeo, mliječna mast, količina soli, senzorska ocjena, mikrobiološka slika - kvasci i plijesni te koagulaza pozitivni stafilocoki (Vodič, 2009., Uredba EZ, 2005). Nakon svake proizvodnje sira određivala se masa sira. Svi pokusi su provedeni dva puta, a rezultati su izraženi kao srednje vrijednosti.

#### 3.2.1. Proizvodnja sira tipa kuhani

Za proizvodnju kuhanog sira korištene su 4 L mlijeka. 4 L svježeg pasteriziranog mlijeka zagrijano je na temperaturu od 95 °C te je nakon toga dodano 1,5 % alkoholnog octa te je miješano idućih 5 min do koagulacije. Nakon stvaranja gruš (slika 4) uslijedilo je mirovanje od 15 min nakon čega je sirni gruš prebačen u cjedilo obloženo gazom. Nakon cijedenja pod vlastitom masom gruš je soljen (slika 5) ili mu je dodana zamjena za sol nakon čega je sir zajedno s gazom prebačen u kalup (promjer 11,5 cm) koji je opterećen utezima od 10 kg. U tablici 3. prikazan je udio NaCl-a i zamjenskih soli u uzorcima. Potom je kroz 3 sata u razmacima od sat vremena sir okretan i stavljan u novu gazu. Na taj način je provedeno prešanje (slika 6). Na kraju je sir izvađen iz kalupa (slika 7), izrezan na porcije (slika 8) od oko 100 g te pakiran u hermetički zatvorene vrećice te pohranjen u hladnjak na čuvanje pri temperaturi od +4 do +8 °C. Proizvodnja sira prikazana je na slici 9.



Slika 4. Izdvajanje sirnog gruša (vlastita fotografija)



Slika 5. Soljenje sirnog gruša nakon cijedenja (vlastita fotografija)



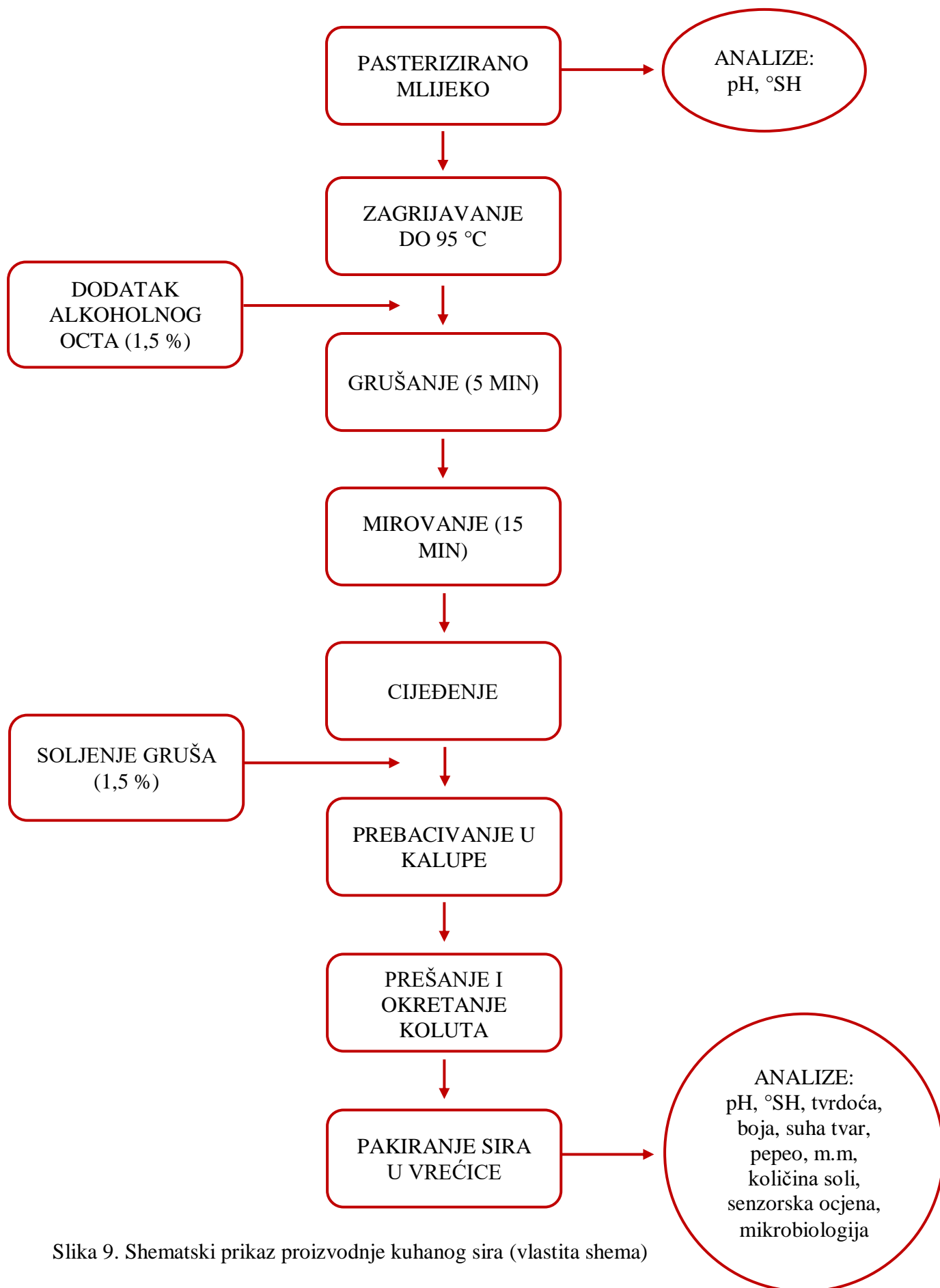
Slika 6. Prešanje sira (vlastita fotografija)



Slika 7. Vađenje sira iz kalupa (vlastita fotografija)



Slika 8. Rezanje i porcioniranje sira (vlastita fotografija)



Slika 9. Shematski prikaz proizvodnje kuhanog sira (vlastita shema)



Tablica 3. Udio NaCl-a i zamjenskih soli u uzorcima

<b>Uzorak</b>	<b>Udio soli</b>
<b>K</b>	Kontrolni uzorak – 100% NaCl
<b>KL1</b>	25 % Ca-laktat, 75 % NaCl
<b>KL2</b>	50 % Ca-laktat, 50 % NaCl
<b>KC1</b>	25 % Ca-citrat, 75 % NaCl
<b>KC2</b>	50 % Ca-citrat, 50 % NaCl

### 3.2.2. Prinos sira

Po završetku proizvodnje izračunat je stvarni prinos sira ( $R_s$ , randman) u odnosu na masu mlijeka.

$$R_s = \frac{m_s}{m_M} \times 100 (\%) \quad [1]$$

$m_M$  – masa dobivenog sira u kilogramima

$m_s$  – masa mlijeka u kilogramima dobivena množenjem volumena mlijeka s prosječnom gustoćom mlijeka:  $\rho = 1029,5 \text{ kg m}^{-3}$ )

### 3.2.3. Određivanje kiselosti pH-metrom

#### *pH mlijeka*

pH-vrijednost mlijeka određena je pH-metrom (Technische Werkstätten GmbH pH 3110, WTW, Njemačka). Prije mjerenja elektroda je kalibrirana prema uputama proizvođača, nakon čega je isprana destiliranom vodom i osušena staničevinom. Pripremljena elektroda je uronjena u mlijeko, a na zaslonu pH-metra očitana je pH-vrijednost. Nakon korištenja, elektroda je ponovno isprana destiliranom vodom, osušena staničevinom te uronjena u otopinu KCl-a u kojoj se i čuva (Bajt i sur., 1998).

#### *pH sira*

Sir je usitnjen u porculanskom tarioniku s tučkom te pomiješan s prokuhanom i ohlađenom destiliranom vodom u omjeru 3:10 (Božanić i sur., 2010). Potom je u homogeniziranu smjesu

sira i vode uronjena elektroda pH-metra kako bi se izmjerila pH-vrijednost. Postupak kalibracije provodi se kao i kod mlijeka.

### 3.2.3. Određivanje titracijske kiselosti mlijeka i sira metodom po Soxhlet-Henkelu

#### *Određivanje titracijske kiselosti mlijeka*

Po 20 mL mlijeka otpipetirano je u dvije Erlenmeyerove tikvice. U jednu tikvicu otpipetirano je 0,4 mL 5 %-tne otopine kobaltova sulfata ( $\text{CoSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$ ), a nastala boja predstavljala je standardnu boju, tj. nijansu koju je titracijom trebalo postići u drugoj tikvici. U drugu tikvicu otpipetiran je 1 mL fenolftaleina te se tako pripremljena otopina titrirala s 0,1 M NaOH. Otopina je titrirana do promjene boje u blijedo ružičastu, tj. do postizanja boje kao u prvoj tikvici. Tako dobivena boja trebala se zadržati 1 minutu. Titracijska kiselost mlijeka izračunata je prema formuli:

$$a * 2 * f = \text{°SH} \quad [2]$$

a – broj ml 0,1 M NaOH utrošen za neutralizaciju 20 mL mlijeka

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

#### *Određivanje titracijske kiselosti sira*

U tarionik je odvagano 5 g sira koji je homogeniziran uz dodavanje male količine destilirane vode zagrijane na 50 °C te je kvantitativno prenesen u Erlenmeyerovu tikvicu volumena 100 mL. Dobivenoj emulziji dodan je 1 mL fenolftaleina te je titrirana s 0,1 M NaOH do pojave blijedo crvene boje koja se mora zadržati dvije minute (Sabadoš, 1998). Titracijska kiselost sira izračunata je prema formuli:

$$\text{°SH} = a * f * 8 \quad [3]$$

a – mL 0,1 M NaOH utrošene za neutralizaciju

f – faktor otopine NaOH = 1

8 – razrjeđenje

### 3.2.4. Određivanje mliječne masti u siru butirometrijskom metodom po Gerber-Sieffeld-Tiechertu

U staklenu čašicu odvagano je 2 do 2,5 g usitnjenog sira, dodano je 10 mL sumporne kiseline te je sadržaj zagrijavan na slabom plamenu u vodenoj kupelji. Sadržaj je bilo potrebno neprekidno miješati. Nakon što se sir potpuno otopio, sadržaj je prebačen u butirometar za mlijeko, a tikvica je nekoliko puta isprana s malom količinom kiseline pazeći da ukupni volumen otopine ne prijeđe 19 mL. Potom je u butirometar dodan 1 mL izoamilnog alkohola te je nakon toga začepljen (slika 10) i mućkan 2 do 3 minute. Zatim su uzorci stavljeni u centrifugu na centrifugiranje kroz 5 minuta pri 1200 do 1300 okretaja/min (Sabadoš, 1998). Nakon centrifugiranja očitani su postotak masti, a udio u siru izračunat je prema formuli:

$$\% \text{ masti u siru} = \frac{m \cdot 11,33}{A} \quad [4]$$

m – očitani postotak masti na butirometru

A – odvaga sira u gramima

$$\% \text{ masti u suhoj tvari sira} = \frac{\% \text{ masti u siru}}{\text{suha tvar sira}} \quad [5]$$



Slika 10. Određivanje mliječne masti (vlastita fotografija)

### 3.2.5. Određivanje udjela suhe tvari u siru direktnom metodom za određivanje ukupne suhe tvari (sušenje u sušioniku)

Oprane, osušene, ohlađene i odvagane aluminijske posudice s poklopcem, napunjene kvarcnim pijeskom, odvagano je 2 – 3 g sira s točnošću 0,0001 g. Posudice su stavljene na sušenje u sušionik pri temperaturi od  $102 \pm 2$  °C do konstantne mase (Božanić i sur., 2010). U sušionik su stavljene otvorene, a poklopac je bio naslonjen na njih. Nakon 30 minuta izvađene su i stavljene u eksikator kako bi se ohladile do sobne temperature. Nakon sušenja vagane su na analitičkoj vagi, a vaganje i vraćanje u eksikator je ponavljano do prvog povećanja mase. Udjel suhe tvari u siru izračunat je prema formuli:

$$\% \text{ vode u siru} = \frac{a}{c} * 100 \quad [6]$$

a – razlika u masi aluminijske posude s uzorkom prije sušenja i nakon sušenja

c – masa odvaganutog uzorka

### 3.2.7. Određivanje udjela kuhinjske soli u siru metodom po Mohru

Metoda se temelji na izračunu masenog udjela natrijevog klorida u ispitivanom uzorku iz analitičkih podataka za titraciju utrošenog volumena otopine srebrova nitrata.

U staklenu čašu od 100 mL izvagano je oko 2 g ( $\pm 0,01$  g) dobro usitnjenog i homogeniziranog uzorka sira, dodano je 2 - 3 mL tople vode te dobro promiješano staklenim štapićem kako bi se uzorak homogenizirao. Smjesa je kvantitativno prenijeta u odmjernu tikvicu od 100 mL koja je destiliranom vodom dopunjena do oznake, zatvorena čepom te dobro promiješana. Potom je uz povremeno dizanje čepa kroz 15 minuta držana u ključaloj vodenoj kupelji. Nakon što je otopina u tikvica ohlađena, promiješana je i filtrirana preko filter papira. Na filtratu je pH-metrom ispitivana pH vrijednost koja mora biti oko 10. Ukoliko filtrat reagira kiselo potrebno ga je neutralizirati otopinom natrijevog hidroksida. Od dobivenog filtrata u Erlenmeyerovu tikvicu otpipetirano je 25 mL te su dodane 2 - 3 kapi indikatora (zasićena otopina kalijevog kromata,  $K_2CrO_4$ ). Titrirano je 0,1 M otopinom srebrova nitrata do prve promjene boje. Udio kuhinjske soli u siru izračunat je prema formuli:

$$w (NaCl) = \frac{m_1}{m_2} * 100 (\%) \quad [7]$$

$m_1 - 4 * c (AgNO_3) (mol L^{-1}) * V_s (AgNO_3) (L) * M (NaCl) (g mol^{-1})$

$m_2$  – masa uzorka

### 3.2.8. Određivanje boje sira

Određivanje boje sira vršilo se CM-3500d kolorimetrom. Za određivanje boje koristila se 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. Prije mjerenja uređaj je kalibriran za masku otvora 8 mm, a obrada podataka vršena je u SpectraMagicNX programu.

$\Delta E^*$  odnosno, odstupanje od referentne boje (tablica 4), računa se po formuli:

$$\Delta E^* = \sqrt{(L^* - L_{ref}^*)^2 + (a^* - a_{ref}^*)^2 + (b^* - b_{ref}^*)^2} \quad [8]$$

$L^*$  - 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. Razlika između izmjerene  $\Delta E^*$  vrijednosti i referentne vrijednosti

$\Delta E^*$	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

### 3.2.9. Određivanje teksture sira

Tekstura uzoraka sira određivana je teksturometrom (Ametek Lloyd Instruments Ltd., UK) (slika 11) s ćelijom od 50 kg. Uzorci su rezani na jednake kockice veličine 1 cm<sup>3</sup>. Uzorci su komprimirani dva puta do 50 % deformacije brzinom od 1 mm/s (vrijeme razmaka između ciklusa je 5 sekundi). Rezultati su obrađeni softverom NexygenPlus, a određeni su sljedeći parametri: tvrdoća, adhezivna sila, kohezivnost, adhezivnost (Nmm), gumenost, odgođena elastičnost (mm), žvakljivost (Nmm), otpornost, lom i vlaknastost (mm).



Slika 11. Teksturometar (vlastita fotografija)

### 3.2.10. Mikrobiološke analize

Mikrobiološka analiza sira provedena je na uzorcima 1., 7., 14. i 21. dan u sterilnim uvjetima kako bi se izbjegla kontaminacija. Sterilni uvjeti osigurani su na način da je provedena suha i mokra sterilizacija posuđa te pribora za uzorkovanje i pripremu. Prije i tijekom analiza površine su dezinficirane alkoholom i drugim dezinficijensima, a za osiguranje što boljih aseptičnih uvjeta analize su se provodile uz otvoreni plamen. Uslijed provođenja mikrobioloških analiza bila je potrebna upotreba sterilnih rukavica, zaštitnih naočala te sterilne maske za lice kako bi se spriječila kontaminacija uzoraka od strane analitičara.

Na uzorcima kuhanog sira praćena je prisutnost kvasaca i plijesni te koagulaza pozitivnih stafilokoka. Za praćenje kvasaca i plijesni korištena je podloga Sabouraud Dextrose Agar (Biolife, Italy), a za koagulaza pozitivne stafilokoke Baird Parker Agar Base + Egg Yolk (Liofilchem, Italy) (Bajt i sur., 1998).

Mikrobiološka analiza provedena je na način da su pripremljena razrjeđenja direktno naciyepljena na hranjive podloge te su inokulirane podloge stavljene na određenu temperaturu na inkubaciju. Razrjeđenja su pripremljena tako da je 1 mL homogeniziranog uzorka sterilnim nastavkom mikropipete prenesen u epruvetu s 9 mL fiziološke otopine te je promiješano na rotacijskoj miješalici (MS2 Minishaker, IKA, Staufen, Njemačka). Novim sterilnim nastavkom uzet je 1 mL pripremljenog razrjeđenja te prenesen u sljedeću epruvetu s 9 mL fiziološke otopine. Postupak je ponavljan dok se nije postiglo željeno razrjeđenje.

Za provođenje analize sir je pripremljen na način da je izvagano oko 20 g uzorka koji je usitnjen u tarioniku uz postupno dodavanje prethodno pripremljene i na 45 °C zagrijane 2 %-tne otopine natrijeva citrata. Na taj način pripremljena i homogenizirana otopina sira prebaćena je prethodno steriliziranu i ohlaćenu Erlenmeyerovu tikvicu te je kao takva služila kao početna otopina za pripremu razrjeđenja.

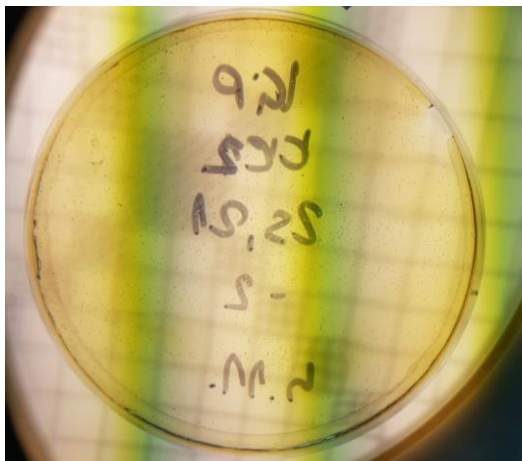
Prisutnost kvasaca i plijesni određivana je na način da je iz određenih decimalnih razrjeđenja sterilnim nastavkom mikropipete izuzet 1 mL otopine koji je ispušten u sterilnu plastičnu Petrijevu zdjelicu. Tako pripremljene Petrijeve zdjelice (slika 12) prelivene su s 10-12 mL hranjive podloge koja je prethodno otopljena na 100 °C i u vodenoj kupelji ohlaćena na otprilike 45 °C. Ploče su pažljivo, kružnim pokretima izmiješane te su ohlaćene okrenute dnom prema gore te tako stavljene u termostat na 30 °C kroz 3 dana. Po završetku inkubacije izbrojane su porasle kolonije (slike 13 i 14). Za brojanje su odabrane one podloge koje su imale od 30 do 300 kolonija. Broj kolonija (CFU) po mL izračuna se po formuli:

$$\frac{CFU}{mL} = \frac{\text{broj kolonija}}{\text{nasaden volumen}} * \text{recipročna vrijednost decimalnog razrjeđenja} \quad [9]$$

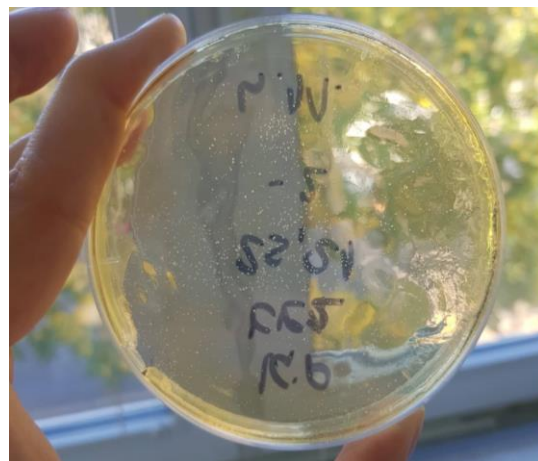
Prisutnost koagulaza pozitivnih stafilokoka određivana je na isti način, jedino što su Petrijeve zdjelice s 1 mL uzorka prelivene drugaćijom hranjivom podlogom te su stavljene u termostat na 37 °C kroz 3 dana.



Slika 12. Priprema podloga za inokulaciju (vlastita fotografija)



Slika 13.



Slika 14.

Slike 13. i 14. Određivanje broja mikroorganizama (kvasci i plijesni) (vlastita fotografija)



### 3.2.11. Senzorska analiza sira

Senzorsko ocjenjivanje kuhanog sira provedeno je 1., 7. i 14. dan čuvanja u hermetički zatvorenoj vrećici na 5 do 8 °C. Ocjenjivanje je provedeno prema Pravilniku za ocjenjivanje kakvoće mlijeka i mliječnih proizvoda, a ocjenjivali su se izgled, boja, stanje, prerez, miris i okus. Ocjenjivani su prema obrascu prikazanom u tablici 5.

Tablica 5. Maksimalan broj bodova za ocjenu organoleptičkih svojstava kuhanog sira te opis pojedinog svojstva

<b>Svojstvo i opis svojstva</b>	<b>Broj bodova</b>
Izgled (snježno bijeli, homogeni sir uz mogućnost manjih pukotina u teksturi)	2
Boja (porculansko bijela, snježno bijela)	1
Stanje (struktura) tijesta (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

### 3.2.12. Obrada podataka

Svi pokusi su ponovljeni dva puta, kao i kontrolni uzorak. 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 te njihov utjecaj na fizikalno-kemijska i senzorska svojstva kuhanog sira kako bi se dobio sir sa smanjenim udjelom soli.

### 4.1. REZULTATI ANALIZE MLIJEKA

Mlijeko koje je korišteno za proizvodnju kuhanog sira podvrgnuto je samo ispitivanju kiselosti (tablica 6) (pH i titracijska kiselost), dok su ostali podaci prepisani s deklaracije proizvoda (tablica 7).

Tablica 6. Kiselost svježeg kravljeg mlijeka korištenog za proizvodnju

Parametar	Vrijednost
pH	6,71±0,23
°SH	6,92±0,02

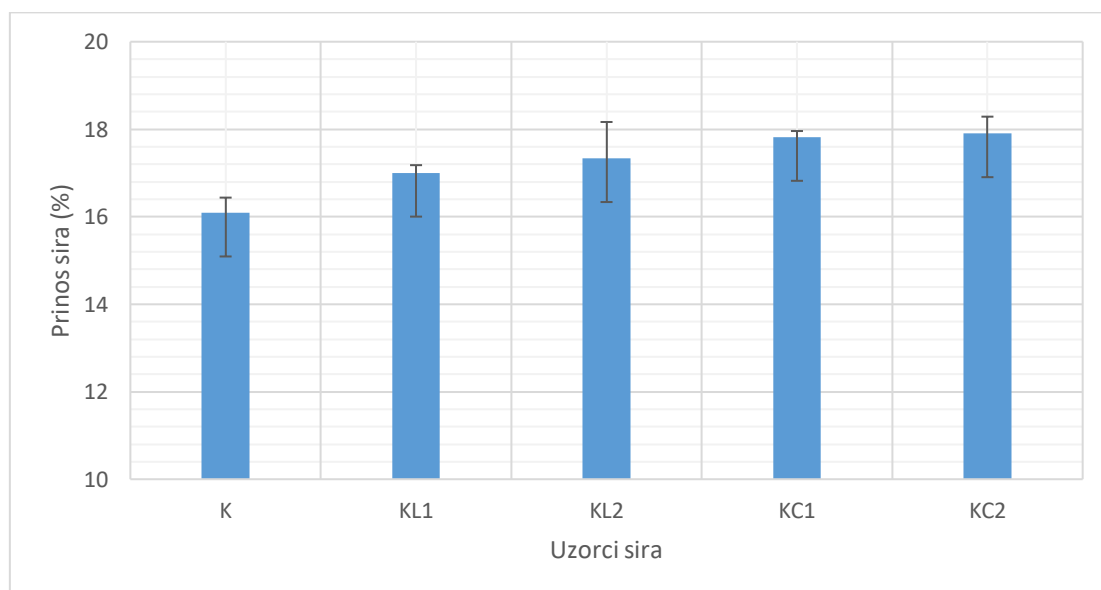
Tablica 7. Podaci s deklaracije – prosječna hranjiva vrijednost na 100 mL

Parametar	Vrijednost
Energija	253 kJ/60 kcal
Masti (od kojih zasićene masne kiseline)	3,2 g (2,4 g)
Ugljikohidrati (od kojih šećeri)	4,6 g (4,6 g)
Bjelančevine	3,3 g
Sol*	0,1 g
Kalcij	(15% PU) 120 mg

\* Od prirodno prisutnog natrija  
PU = preporučeni unos

## 4.2. REZULTATI ANALIZE SIRA

Teoretski prinos kuhanog sira kreće se u rasponu od 10 do 12 % (Štefekov, 1990), na slici 15 je vidljivo kako je u prilikom izrade ovog rada taj prinos bio veći, od 16 do 18 %. Prinos sira kod uzoraka sa zamjenskim solima bio je nešto viši u odnosu na prinos kontrolnog uzorka (100 % NaCl). Najveći prinos imao je KC2 te je iznosio 17,9 %, dok je najmanji imao K sa 16,09 %.



Slika 15. Prinos uzoraka kuhanog sira: K (100 % NaCl), KL1 (75 % NaCl, 25 % Ca-laktat), KL2 (50 % NaCl, 50 % Ca-laktat), KC1 (75 % NaCl, 25 % Ca-citrat), KC2 (50 % NaCl, 50 % Ca-citrat) (n=2)

Prinos prvenstveno ovisi o udjelu kazeina u suhoj tvari u mlijeku, a kao što je navedeno u teorijskom dijelu, kalcij služi za povezivanje submicela kazeinskih podjedinica preko koloidnog Ca-fosfata. Kalcij se tako veže u mrežu grušta i utječe na povećanje prinosa sira zbog čega su sirevi sa zamjenskim solima imali veći randman u odnosu na kontrolni uzorak.

U tablicama 8 i 9 prikazana je kiselost sira čuvanog u hladnjaku tijekom 21 dan. pH vrijednost se nije značajno mijenjala kao što je i očekivano, dok kod titracijske kiselosti dolazi do nekih promjena koje se nisu odvijale po nekom definiranom modelu. pH vrijednost predstavlja aktivnu kiselost, dok °SH kiselost ostalih sastojaka i između njih ne postoji proporcionalna veza kao što je vidljivo iz rezultata. Najmanje promjene °SH vrijednosti tijekom vremena uočene su kod kontrolnog uzorka gdje se vrijednost promijenila nakon tjedan dana i ostatak vremena je

bila približno ista. Kod uzoraka sa zamjenskim solima došlo je do povećanja titracijske kiselosti s vremenom, a što je bio veći udio zamjenskih soli, bile su i veće promjene. Takav rezultat potvrđuje teoriju da je povećana titracijska kiselost rezultat većeg udjela kalcija, dok rezultat povećanja titracijske kiselosti tijekom vremena čuvanja mogu biti i uslijed biokemijskih promjene uzrokovanih citratima i laktatima.

Tablica 8. pH vrijednost uzoraka kuhanog sira: K (100 % NaCl), KL1 (75 % NaCl, 25 % Ca-laktat), KL2 (50 % NaCl, 50 % Ca-laktat), KC1 (75 % NaCl, 25 % Ca-citrat), KC2 (50 % NaCl, 50 % Ca-citrat) (n=2) tijekom 21 dan čuvanja

<b>Uzorak</b>	<b>K</b>	<b>KL1</b>	<b>KL2</b>	<b>KC1</b>	<b>KC2</b>
<b>1. dan</b>	5,94±0,09	5,84±0,06	5,73±0,04	5,94±0,02	6,01±0,03
<b>7. dan</b>	6,04±0,13	5,85±0,04	5,77±0,03	5,95±0,01	5,99±0,01
<b>14. dan</b>	5,96±0,02	5,89±0,13	5,84±0,08	6,07±0,16	6,11±0,18
<b>21. dan</b>	5,95±0,01	5,98±0,00	5,73±0,00	6,02±0,00	6,11±0,00

Tablica 9. Titracijska kiselost uzoraka kuhanog sira: K (100 % NaCl), KL1 (75 % NaCl, 25 % Ca-laktat), KL2 (50 % NaCl, 50 % Ca-laktat), KC1 (75 % NaCl, 25 % Ca-citrat), KC2 (50 % NaCl, 50 % Ca-citrat) (n=2) tijekom 21 dan čuvanja

<b>Uzorak</b>	<b>K</b>	<b>KL1</b>	<b>KL2</b>	<b>KC1</b>	<b>KC2</b>
<b>1. dan</b>	58,80±18,67	52,00±3,39	57,60±1,13	47,20±2,26	42,80±6,22
<b>7. dan</b>	47,60±0,57	53,60±5,66	61,22±0,59	48,40±1,70	48,00±0,00
<b>14. dan</b>	49,20±3,96	66,00±5,09	70,80±1,70	54,80±14,14	52,00±7,92
<b>21. dan</b>	48,40±5,09	49,60±0,00	61,60±0,00	46,40±0,00	55,20±0,00

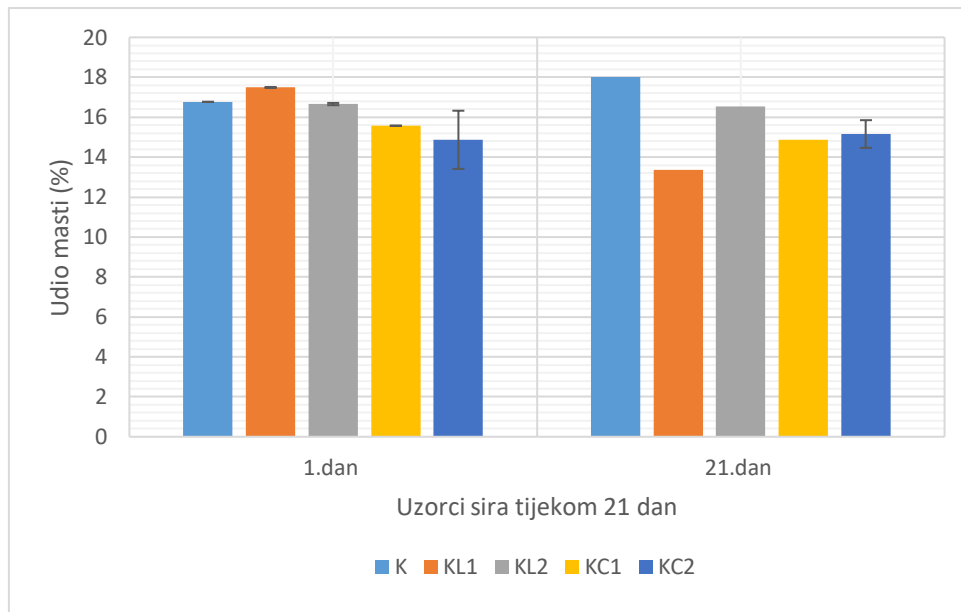
Određivanje suhe tvari, odnosno udjela vode u siru jedan je od glavnih čimbenika za određivanje kvalitete sira. Udio vode ukazuje na trajanje procesa zrenja, a nedovoljna količina vode koči proces zrenja, smeta stvaranju normalnog okusa i mirisa, a tijesto je žilavije (Gal, 1964). Udio suhe tvari u siru prikazan je tablicom 10. Kuhani sir je definiran kao svježi sir koji spada u meke sireve što se podudara s dobivenim rezultatima gdje su udjeli suhe tvari iznosili između 20 i 23 %.

Tablica 10. Udio suhe tvari u uzorcima kuhanog sira: K (100 % NaCl), KL1 (75 % NaCl, 25 % Ca-laktat), KL2 (50 % NaCl, 50 % Ca-laktat), KC1 (75 % NaCl, 25 % Ca-citrat), KC2 (50 % NaCl, 50 % Ca-citrat) (n=2) tijekom 21 dan čuvanja

<b>Uzorak</b>	<b>Udio suhe tvari (%)</b>
<b>K</b>	19,69±4,67
<b>KL1</b>	23,27±6,13
<b>KL2</b>	21,11±1,51
<b>KC1</b>	21,97±2,52
<b>KC2</b>	20,19±0,04

Najmanji udio suhe tvari imao je kontrolni uzorak, dok je KL1 imao najveći udio suhe tvari. Dobiveni rezultati slažu se s rezultatima koje su dobili Guinee i O’Kennedy (2007) iz kojih se može zaključiti kako NaCl povećava hidrataciju micela kazeina pri pH vrijednostima iznad 4,5 na način da istiskuje kalcij iz same micela tako što zamjenjuje Ca<sup>+</sup> ione s Na<sup>+</sup> ionima te tako posljedično povećava volumen sira.

Slika 16 prikazuje promjene udjela masti u siru u odnosu na prvi i zadnji dan analize (1. i 21. dan). Kao što je i očekivano, udio masti nije se pretjerano mijenjao tijekom 21 dan hladnog čuvanja uzoraka. Prisutne su varijacije među uzorcima pa se ne može zaključiti da su ove postojeće promjene slijedile neko pravilo. Udio masti smanjio se zadnji dan ispitivanja kod uzoraka s većim udjelom NaCl-a (75 %), a manjim udjelom zamjenske soli (25 % kalcijevih soli).

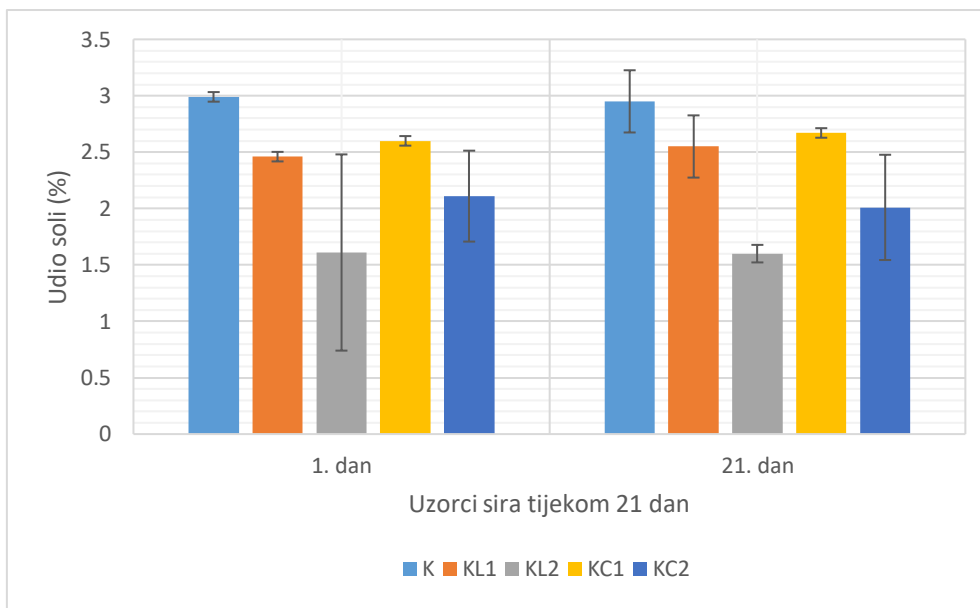


Slika 16. Udio masti (%) u siru: K (100 % NaCl), KL1 (75 % NaCl, 25 % Ca-laktat), KL2 (50 % NaCl, 50 % Ca-laktat), KC1 (75 % NaCl, 25 % Ca-citrat), KC2 (50 % NaCl, 50 % Ca-citrat) (n=2)

Slika 17 prikazuje promjene udjela soli (NaCl-a) u siru u odnosu na prvi i zadnji dan analize (1. i 21. dan). Iz rezultata je vidljivo kako se udio soli tijekom vremena nije mijenjao. Sa slike je vidljivo kako se udio soli proporcionalno smanjuje smanjivanjem količine NaCl-a, a povećavanjem količine zamjenskih soli. Najveći udio soli tijekom vremena imao je kontrolni uzorak, potom uzorci sa 75 % NaCl-a, a najmanje soli uzorci s 50 % NaCl-a. Do smanjenja udjela soli u siru smanjenjem, odnosno zamjenom NaCl-a drugim solima i u nekim drugim vrstama sira došlo je i prilikom ispitivanja McMahona i suradnika (2014).

Također, iz dobivenih rezultata je vidljivo kako su i među zamjenskim solima prisutne male razlike. Uzorci s Ca-laktatom imaju nešto manji udio soli u odnosu na uzorke s Ca-citratom.

Ovakvi rezultati su očekivani jer se težilo smanjenju udjela NaCl-a u siru.



Slika 17. Udio soli (%) u siru: K (100 % NaCl), KL1 (75 % NaCl, 25 % Ca-laktat), KL2 (50 % NaCl, 50 % Ca-laktat), KC1 (75 % NaCl, 25 % Ca-citrat), KC2 (50 % NaCl, 50 % Ca-citrat) (n=2)

U tablici 11 prikazane su prosječne vrijednosti kvasaca i plijesni te koagulaza pozitivnih stafilokoka dobivenih mikrobiološkim analizama koje su provedene tijekom 21 dan čuvanja. Broj kvasaca i plijesni se s vremenom čuvanja povećavao, što je i očekivano. Koagulaza pozitivni stafilokoki nisu pronađeni niti u jednom uzorku tijekom čuvanja. Najmanji porast kvasaca i plijesni tijekom hladnog čuvanja sira bio je prisutan u kontrolnom uzorku. Takav rezultat je bio očekivan, pošto sol ima utjecaj na redukciju nepoželjnih mikroorganizama.

Tablica 11. Prosječne vrijednosti ( $\log \text{CFU mL}^{-1}$ ) parametara mikrobioloških analiza sira tipa kuhani: K (100 % NaCl), KL1 (75 % NaCl, 25 % Ca-laktat), KL2 (50 % NaCl, 50 % Ca-laktat), KC1 (75 % NaCl, 25 % Ca-citrat), KC2 (50 % NaCl, 50 % Ca-citrat) (n=2)

	<b>1. dan</b>	<b>7. dan</b>	<b>14. dan</b>	<b>21. dan</b>
<b>Kvasci i plijesni</b>				
<b>K</b>	0,63±0,10	1,31±0,22	1,05±0,08	2,43±1,24
<b>KL1</b>	0,92±0,35	2,38±2,30	2,32±0,02	2,99±0,00
<b>KL2</b>	0,83±7,39	0,79±0,21	5,37±5,28	2,15±0,00
<b>KC1</b>	0,94±0,41	0,73±0,07	4,64±4,75	1,47±0,00
<b>KC2</b>	1,01±0,37	0,92±0,22	7,12±8,32	2,21±0,00
<b>Koagulaza pozitivni stafilocoki</b>				
<b>K</b>	Nisu prisutni			
<b>KL1</b>				
<b>KL2</b>				
<b>KC1</b>				
<b>KC2</b>				

Teksturu hrane opisuju mehanička svojstva koja se odnose na reakciju proizvoda na naprezanje pa se u glavne komponente određivanja takvih svojstava ubrajaju tvrdoća, kohezivnosti, viskoznost, elastičnost i adhezivnost. Za opisivanje teksture hrane također se koriste i svojstva poput konzistencije, sočnosti, žvkljivosti, lakoće gutanja, hrskavosti, topivosti, sipkosti i brojna druga, a sve ovisno o vrsti hrane koja se ispituje.

Tablicom 12 prikazani su rezultati analize parametara teksture kuhanog sira i to tvrdoća, adhezivnost, kohezivnost, gumenost, žvkljivost, otpornost, lom i vlaknastost.

Iz rezultata je vidljivo kako je tijekom 21 dan čuvanja tvrdoća uzoraka kod kojih je NaCl zamijenjen laktatima veća nego kod onih kod kojih je NaCl zamijenjen citratima. Najveću tvrdoću pokazao je kontrolni sir zadnji dan ispitivanja, dok je najmanju pokazao KC1 također zadnji dan ispitivanja. Ovome u prilog idu i rezultati senzorskog ispitivanja budući da je tijekom vremena čuvanja opisano kako je kod sireva sa zamjenskim solima došlo do mrvljenja i lomljenja. Do sličnog zaključka dovelo je i istraživanje o zamjeni soli u turskom bijelom siru. Tvrdoća se značajno smanjila u uzorcima sa zamjenskim solima u odnosu na kontrolni uzorak što se smatra rezultatom izraženosti proteolize zbog manjeg udjela soli (Akan i Kinik, 2018).



Kohezivnost, odnosno, mjera unutarnjih sila koje uzorak drže povezanim nije se značajnije mijenjala kroz vrijeme. Najveću kohezivnost pokazao je KL1 21. dan čuvanja. Dok je najmanju pokazao KL2 također 21. dan ispitivanja.

Adhezivnost koja se definira kao privlačna interakcija između površina dvaju tijela koja se međusobno dodiruju, u ovom slučaju površina sira i površina sonde, nije se mijenjala po nekom pravilu. Najveća je zabilježena kod uzorka KC2 prvi dan, a najmanja kod kontrolnog uzorka 14. dan.

Gumenost predstavlja energiju potrebnu za dezintegraciju krute i polukrute hrane do mjere pri kojoj je pogodna za gutanje. Najveća je zabilježena zadnji dan kod kontrolnog uzorka, a najmanja zadnji dan kod uzorka KC1.

Odgođena elastičnost predstavlja omjer visine uzorka do koje se on vraća tijekom vremena koje prođe između kraja prve kompresije i početka druge kompresije i početne visine uzorka. Najmanju odgođenu elastičnost pokazao je uzorak KC2 21. dan ispitivanja, dok je najveću pokazao kontrolni uzorak također 21. dan ispitivanja.

Žvackljivost se definira kao energija koju je potrebno utrošiti za žvakanje, najveću je pokazao uzorak KL1, najmanju uzorak KC1, oba zadnji dan ispitivanja.

Otpornost i vlaknastost nisu značajno varirali među uzorcima dok je najveću vrijednost loma pokazao kontrolni uzorak, a najmanju KC1 21. dan.

Tablica 12. Tekstura sira: K (100 % NaCl), KL1 (75 % NaCl, 25 % Ca-laktat), KL2 (50 % NaCl, 50 % Ca-laktat), KC1 (75 % NaCl, 25 % Ca-citrat), KC2 (50 % NaCl, 50 % Ca-citrat) (n=2) tijekom 21 dan čuvanja

Uzorak	Dan	Tvrdoća (N)	Adhezivna sila (N)	Kohezivnost	Adhezivnost (Nmm)	Gumenost (N)	Odgodena elastičnost (mm)	Žvkljivost (Nmm)	Otpornost	Lom (N)	Vlaknastost (mm)
K	1.	31,56±6,62	-0,34±0,28	00,36±0,08	0,44±0,34	11,48±4,86	-1,81±0,99	42,35±10,68	0,29±0,11	29,22±7,69	3,63±1,00
	7.	30,40±3,14	-0,33±0,03	0,33±0,01	0,32±0,00	9,98±1,38	-1,72±0,40	36,63±11,38	0,27±0,01	17,27±18,53	3,19±1,00
	14.	22,53±7,46	-0,06±0,04	0,27±0,01	0,09±0,16	6,12±2,30	-2,53±0,18	25,53±15,88	0,21±0,03	21,53±6,54	2,32±1,00
	21.	50,28±46,63	-0,24±0,17	0,36±0,20	0,24±0,03	22,47±26,48	-0,37±0,92	68,43±75,66	0,39±0,01	47,30±43,30	3,71±1,06
KL1	1.	32,71±20,09	-0,48±0,32	0,37 ± 0,10	0,42 ± 0,22	13,09±10,71	-2,49±1,28	39,93±19,63	0,31±0,10	30,19±18,01	2,52±1,06
	7.	27,38±1,04	-0,24±0,02	0,32±0,08	0,61±0,14	8,73±2,42	-2,40±0,84	32,93±4,10	0,26±0,06	26,11±0,58	3,00±0,17
	14.	26,16±0,70	-0,23±0,00	0,35 ± 0,03	0,63 ± 0,01	9,26 ± 0,92	-2,50±0,38	49,47±4,59	0,29±0,01	14,24±34,20	3,71±0,63
	21.	40,02±0,00	-0,12±0,00	0,39±0,00	0,43±0,00	15,56±0,00	-2,13±0,00	79,83±0,00	0,32±0,00	39,62±0,00	2,43±0,00
KL2	1.	31,28±24,02	-0,52±0,47	0,38±0,13	0,61±0,08	13,51±13,29	-2,25±1,36	32,95±22,44	0,38±0,25	30,83±24,56	4,34±3,10
	7.	29,48±13,89	-0,32±0,20	0,34±0,09	0,56±0,42	10,74±7,37	-2,43±1,16	32,03±14,57	0,31±0,13	28,91±13,99	2,58±0,07
	14.	35,20±30,72	-0,09±0,01	0,31±0,04	0,15±0,06	11,46±10,95	-3,07±1,02	55,36±59,34	0,26±0,08	34,20±29,80	2,50±0,11
	21.	24,89±0,00	-0,14±0,00	0,24 0,00	0,37±0,00	5,97±0,00	-0,97±0,00	25,60±0,00	0,30±0,00	24,54±0,00	2,38±0,00
KC1	1.	23,66±12,34	-0,24±0,30	0,38±0,10	0,43±0,69	9,52±7,04	-1,97±1,59	24,22±9,93	0,30±0,09	23,21±12,71	2,25±0,16
	7.	34,27±9,67	-0,41±0,26	0,35±0,10	0,74±0,18	12,39±6,78	-2,21±0,99	43,09±12,49	0,27±0,09	32,64±10,39	2,64±0,60
	14.	14,87±3,86	-0,21±0,02	0,25±0,00	0,54±0,53	3,68±0,98	-2,27±1,55	15,51±5,97	0,27±0,11	14,70±4,07	3,75±0,70
	21.	12,37±0,00	-0,19±0,00	0,27±0,00	0,62±0,00	3,32±0,00	-0,71±0,00	13,99±0,00	0,37±0,00	12,18±0,00	3,72±0,00
KC2	1.	34,24±28,55	-0,65±0,53	0,32±0,07	0,90±0,12	12,09±11,71	-1,88±1,39	32,99±25,00	0,28±0,08	33,91±28,25	3,34±1,28
	7.	41,74±13,82	-0,30±0,25	0,36±0,19	0,48±0,34	19,55±14,15	-1,91 ± 1,04	64,15±28,37	0,37±0,18	39,67±13,15	2,84±0,66
	14.	19,51±6,56	-0,13±0,01	0,29±0,02	0,24±0,05	5,80±2,37	-2,84 ± 0,52	24,02±5,97	0,24±0,00	19,01±6,00	2,72±0,16
	21.	14,83±6,56	-0,11±0,00	0,28±0,00	0,24±0,00	4,10±0,00	-3,59 ± 0,00	16,13±0,00	0,23±0,00	14,47±0,00	3,07±0,00

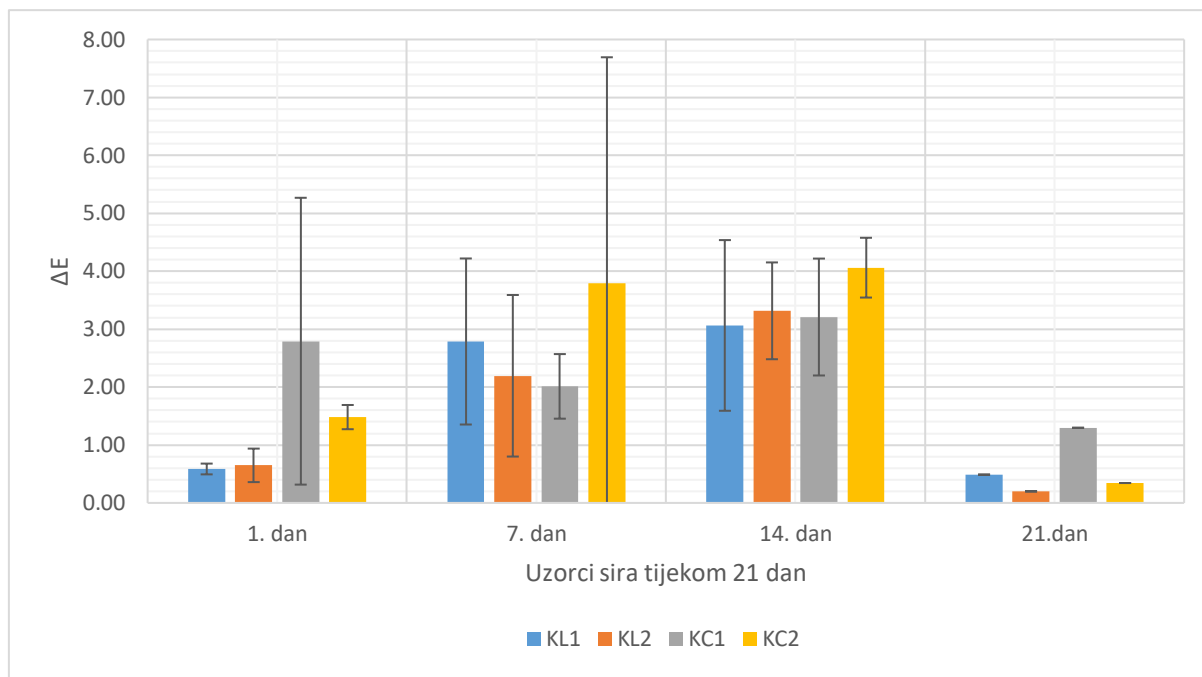
U tablici 13 prikazani su rezultati analize boje kuhanog sira čuvanog na hladnom u hermetički zatvorenim vrećicama kroz 21 dan.

Tablica 13. L\*, a\* i b\* vrijednosti za uzorke sira: K (100 % NaCl), KL1 (75 % NaCl, 25 % Ca-laktat), KL2 (50 % NaCl, 50 % Ca-laktat), KC1 (75 % NaCl, 25 % Ca-citrat), KC2 (50 % NaCl, 50 % Ca-citrat) (n=2) tijekom 21 dan čuvanja

Uzorak		L*	a*	b*
<b>K</b>	1. dan	92,58±0,54	-1,87±0,06	10,80±0,17
	7. dan	92,01±0,28	-1,99±0,11	11,17±0,35
	14. dan	90,57±1,92	-2,07±0,08	12,42±0,30
	21. dan	90,50±2,99	-1,85±0,00	11,21±0,11
<b>KL1</b>	1. dan	92,75±0,30	-1,73±0,15	10,77±0,56
	7. dan	90,91±3,49	-1,68±0,09	10,96±0,59
	14. dan	92,93±0,08	-1,68±0,13	10,67±0,21
	21. dan	92,19±0,00	-1,69±0,00	11,32±0,00
<b>KL2</b>	1. dan	92,93±0,56	-1,88±0,18	10,29±0,21
	7. dan	90,92±2,66	-1,68±0,07	10,75±0,08
	14. dan	91,47±0,46	-1,78±0,00	11,68±0,47
	21. dan	92,52±0,00	-1,74±0,00	10,99±0,00
<b>KC1</b>	1. dan	89,92±2,97	-1,91±0,12	10,42±0,99
	7. dan	91,38±2,07	-1,72±0,01	10,21±0,00
	14. dan	92,53±0,15	-1,83±0,03	10,25±0,67
	21. dan	93,56±0,00	-1,92±0,00	10,25±0,00
<b>KC2</b>	1. dan	92,33±2,26	-1,95±0,42	10,04±0,37
	7. dan	89,16±4,89	-1,73±0,05	10,66±0,23
	14. dan	91,56±2,05	-1,89±0,14	9,73±1,05
	21. dan	92,32±0,00	-1,89±0,00	11,31±0,00

Vrijednosti parametra  $L^*$  ne mijenjaju se značajno kroz vrijeme čuvanja te gotovo kod svih uzoraka prelaze vrijednost 90 što znači da su svijetli što odgovara kuhanom siru. Neznatno odstupanje uočeno je kod dva uzorka s Ca-citratom gdje je vrijednost iznosila nešto iznad 89 što se također smatra zadovoljavajućim. Takvi rezultati slažu se sa senzorskim ocjenjivanjem gdje su svi uzorci također dobili visoke ocjene za boju. Parametar  $a^*$  predstavlja raspon boje od zelene (negativne vrijednosti) do crvene (pozitivne vrijednosti), dok parametar  $b^*$  predstavlja raspon boje od plave (negativne vrijednosti) do žute (pozitivne vrijednosti). Kako se kod svih uzorka parametar  $a^*$  nalazi u negativnom području, a parametar  $b^*$  kod svih iznosi više od 10 može se zaključiti kako svi uzorci imaju zeleni ton i žućkastu nijansu.

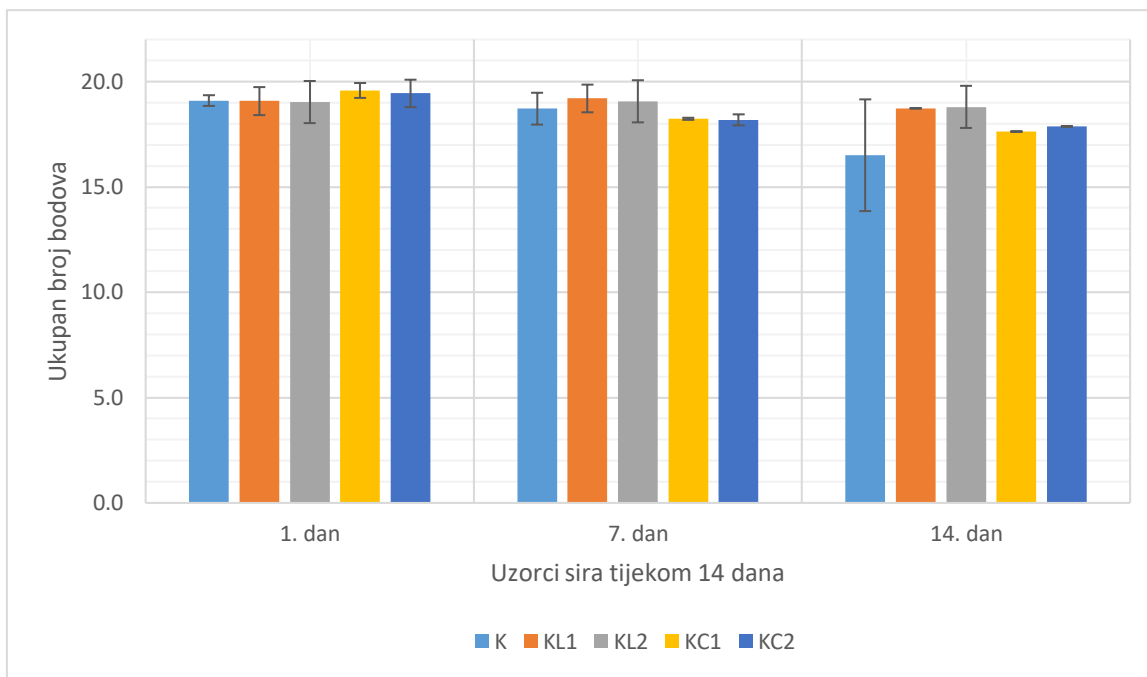
Slika 18 prikazuje odstupanje boje uzoraka sira KL1, KL2, KC1 i KC2 od kontrolnog uzorka tijekom 21 dan. Za sve uzorke najveća  $\Delta E^*$  vrijednost izračunata je 14. dan čuvanja. Najveća promjena uočena je kod uzorka KC2 budući da je on već 7. dan čuvanja imao najveću  $\Delta E^*$  vrijednost, a samim time i najveću razliku od kontrolnog uzorka ( $\Delta E^*$  7. dan: 3,79, 14. dan: 4,06; vrijednosti u rasponu od 3,00 do 6,00 predstavljaju značajnu razliku). Analizom istog uzorka 21. dan čuvanja uočeno je vrlo malo odstupanje (0,34) što se smatra razlikom u tragovima. Unatoč ovakvim  $\Delta E$  vrijednostima, uzorak KC2 dobio je dobre senzorske ocjene. Jedini uzorak kod kojeg je primjetna razlika od kontrolnog uzorka već prvi dan ispitivanja je KC1 ( $\Delta E^*$ : 2,79), no tijekom vremena ona se nije značajno mijenjala.



Slika 18 . Razlika u boji ( $\Delta E^*$ ) vrijednosti za uzorke kuhanog sira: KL1 (75 % NaCl, 25 % Ca-laktat), KL2 (50 % NaCl, 50 % Ca-laktat), KC1 (75 % NaCl, 25 % Ca-citrat), KC2 (50 % NaCl, 50 % Ca-citrat) (n=2) tijekom 21 dan čuvanja

Slikom 19 prikazane su prosječne vrijednosti ukupnog broja bodova senzorskog ispitivanja sira. Senzorska analiza nije se provodila 21. dan zbog vidljive pojave plijesni na površini uzoraka.

Najbolje ocjene dobili su uzorci s kalcijevim citratom kod kojih je primijećeno smanjivanje ukupnih bodova sa stajanjem. Tijekom vremena od strane ocjenjivača uzorak KC1 je opisan kao uzorak s najpjeskovitijom, tj. brašnastom strukturom. Kod uzorka KC2 također je vidljiv pad broja bodova zbog pojave gorčine prilikom stajanja. Najveći pad u broju bodova dogodio se kod kontrolnog uzorka koji je opisan kao preslan te se s vremenom sve više osjetila gorčina i lužnatost u ustima. Uzorci KL1 i KL2 su tijekom cijelog ispitivanja imali podjednake bodove te im kod njih nisu opažena nikakva neobična svojstva. Sirevi kod kojih je natrijeva sol djelomično zamijenjena Ca-laktatom postigli su zadovoljavajuće ocjene prilikom senzorske analize te se s ovog aspekta Ca-laktat može smatrati boljom zamjenom u odnosu na Ca-citrat budući da su kod tih uzoraka smanjeni bodovi zbog teksture i okusa.



Slika 19. Ukupan broj bodova (max 20) senzorskog ocjenjivanja ispitivanih uzoraka sira: K (100 % NaCl), KL1 (75 % NaCl, 25 % Ca-laktat), KL2 (50 % NaCl, 50 % Ca-laktat), KC1 (75 % NaCl, 25 % Ca-citrat), KC2 (50 % NaCl, 50 % Ca-citrat) (n=2) tijekom 21 dan čuvanja

Na slikama 20-25 prikazani su rezultati senzorske analize za pojedinačna svojstva sira. Svi uzorci dobili su vrlo visoke ocjene za parametre izgleda i boje što znači da su po izgledu bijeli uz mogućnost pojave manjih pukotina u teksturi.

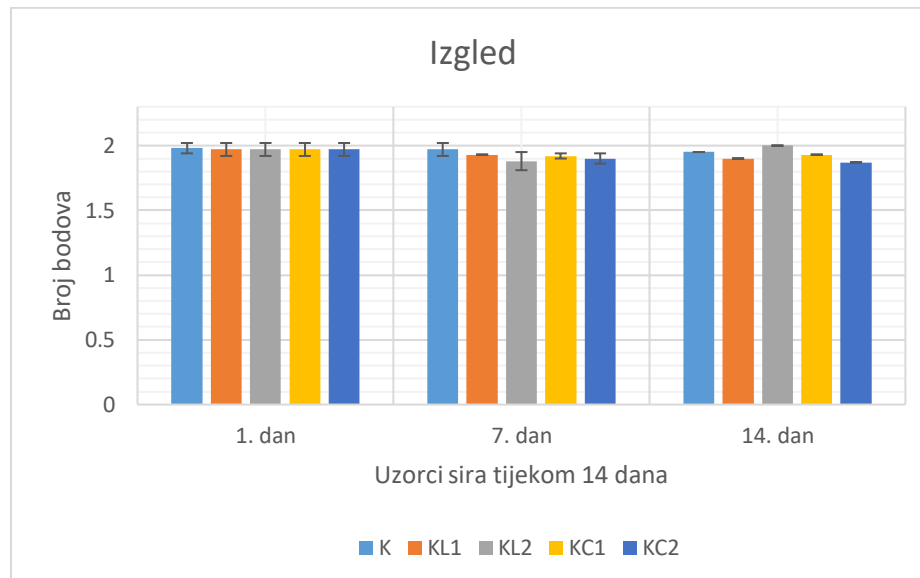
Najviše ocjene dobili su za miris. Svi uzorci dobili su sve bodove za tu komponentu što znači da imaju miris karakterističan za ovu vrstu sira, kiselkasto mliječni te blago pikantan. Neznatno odstupanje dogodilo se kod kontrolnog uzorka 7. i 14. dan, no i dalje su prisutne vrlo visoke ocjene koje su i više nego zadovoljavajuće.

Što se tiče broja bodova za strukturu, kao i kod kontrolnog, tako je i kod ostalih uzoraka primijećeno povećanje broja bodova s vremenom 7. dan analize. Odstupanje od takvog trenda uočeno je 14. dan kod uzorka gdje je NaCl zamijenjen Ca-citratom, a tome u prilog idu i rezultati ispitivanja teksture.

Presjek je postigao zadovoljavajući broj bodova s manjim odstupanjima među uzorcima.

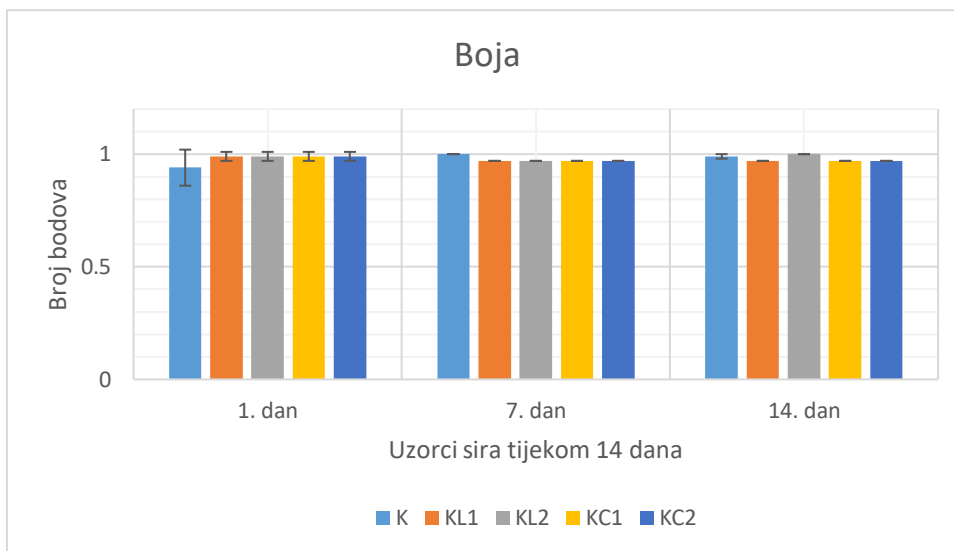
Okus je najvažnija senzorska karakteristika te od ukupnih 20 nosi 10 bodova. Kuhanom siru svojstven je kiseli i slani te lagano pikantan okus. Kod svih uzoraka vidljiv je pad broja bodova s povećanjem vremena čuvanja. Najlošije rezultate pokazao je kontrolni uzorak kojemu su bodovi

zadnji dan ispitivanja znatno smanjeni zbog pojave gorčine. Maksimalan broj bodova, a samim time i najbolji rezultat svojstven ovoj vrsti sira postigao je KC1 prvi dan ispitivanja.



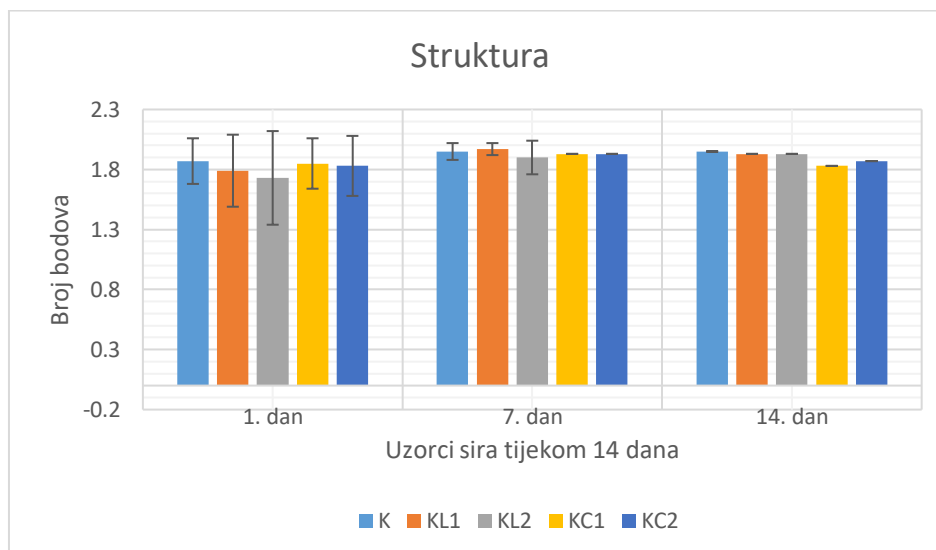
Slika 20. Broj bodova za izgled sira: K (100 % NaCl), KL1 (75 % NaCl, 25 % Ca-laktat), KL2 (50 % NaCl, 50 % Ca-laktat), KC1 (75 % NaCl, 25 % Ca-citrat), KC2 (50 % NaCl, 50 % Ca-citrat) (n=2) tijekom 14 dana čuvanja

Kroz cijelo vrijeme senzorskog ispitivanja (14 dana) najbolju ukupnu ocjenu za izgled (slika 20) dobio je kontrolni uzorak, dok su najlošiju dobili sirevi kod kojih je NaCl djelomično zamijenjen Ca-citratom. Neznatno odstupanje javlja se 14. dan ispitivanja kada je umjesto kontrolnog najveću ocjenu dobio uzorak KL2 što se može protumačiti boljim vezanjem kalcija u mrežu te samim time manjim brojem pukotina u uzorku.



Slika 21. Broj bodova za boju sira: K (100 % NaCl), KL1 (75 % NaCl, 25 % Ca-laktat), KL2 (50 % NaCl, 50 % Ca-laktat), KC1 (75 % NaCl, 25 % Ca-citrat), KC2 (50 % NaCl, 50 % Ca-citrat) (n=2) tijekom 14 dana čuvanja

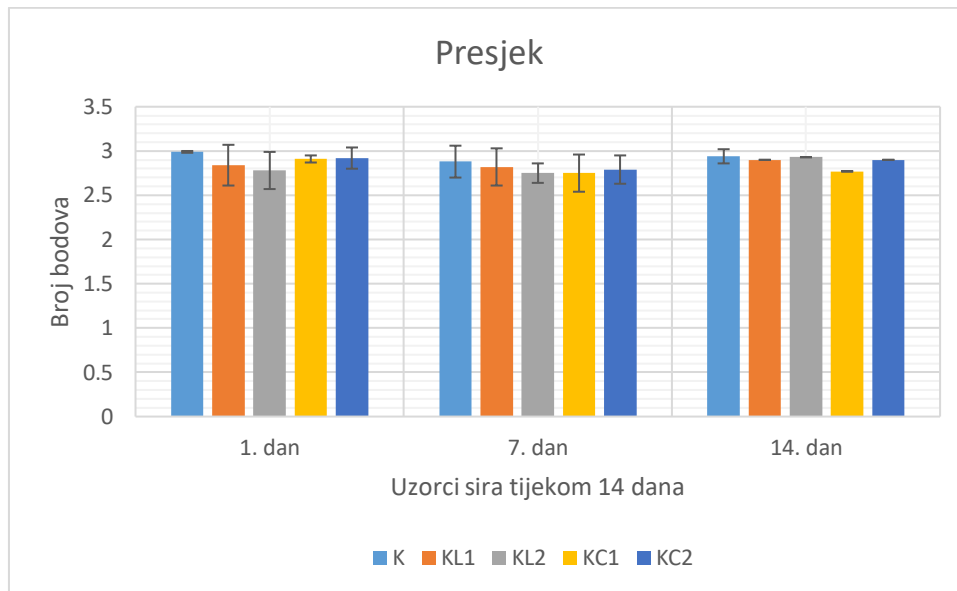
Što se tiče boje (slika 21), prilikom ispitivanja boje vidljivo je da su prvi i sedmi dan svi uzorci sa zamjenskim solima imali iste rezultate, dok su bodovi za kontrolni uzorak odskakali. 14. dan ispitivanja najvišu ocjenu za boju dobio je uzorak KL2 čija je boja opisana kao ona svojstvena kuhanom siru, odnosno porculansko do snježno bijela boja.



Slika 22. Broj bodova za strukturu sira: K (100 % NaCl), KL1 (75 % NaCl, 25 % Ca-laktat), KL2 (50 % NaCl, 50 % Ca-laktat), KC1 (75 % NaCl, 25 % Ca-citrat), KC2 (50 % NaCl, 50 % Ca-citrat) (n=2) tijekom 14 dana čuvanja

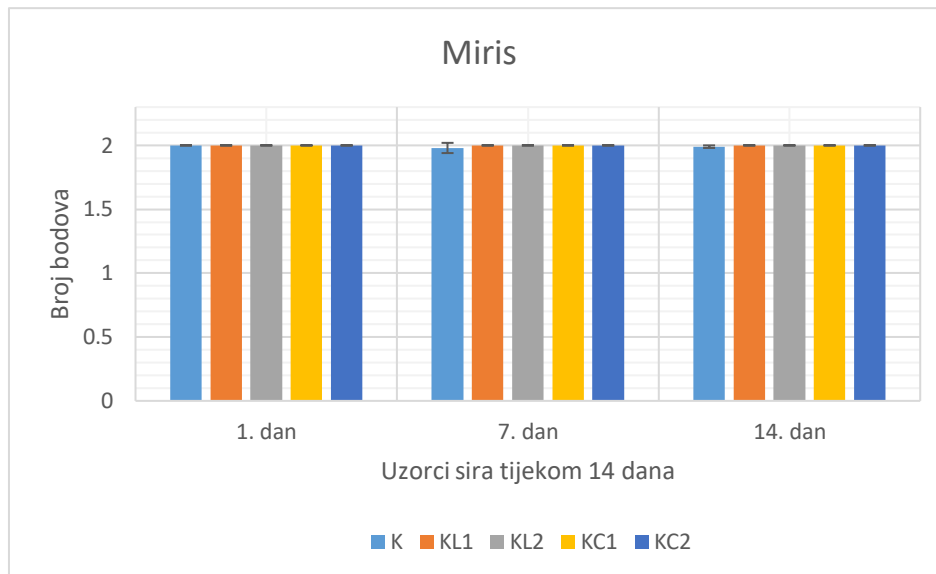


Tijekom 14 dana najbolju ukupnu ocjenu za strukturu (slika 22) dobio je kontrolni uzorak, dok je najlošiju dobio KL2.



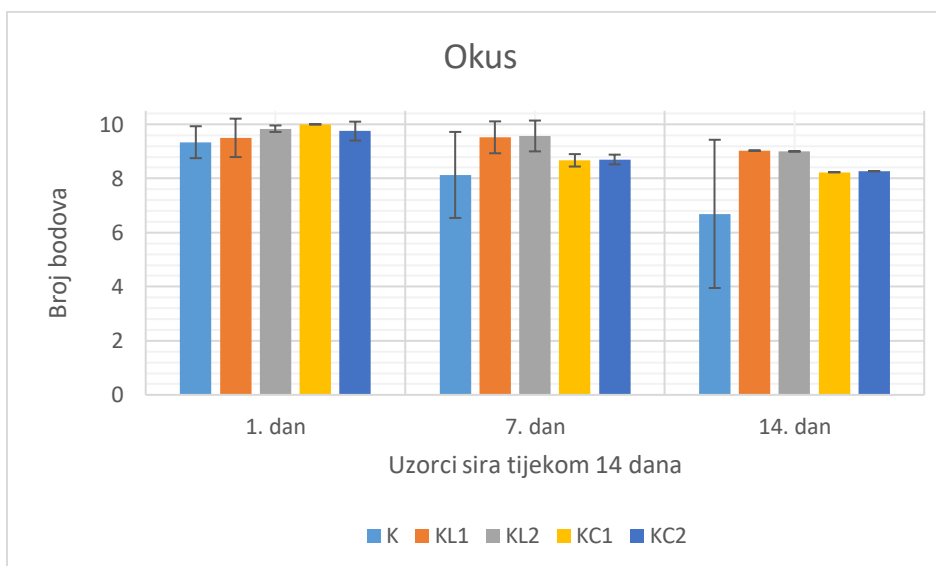
Slika 23. Broj bodova za presjek sira: K (100 % NaCl), KL1 (75 % NaCl, 25 % Ca-laktat), KL2 (50 % NaCl, 50 % Ca-laktat), KC1 (75 % NaCl, 25 % Ca-citrat), KC2 (50 % NaCl, 50 % Ca-citrat) (n=2) tijekom 14 dana čuvanja

Najbolje ocjene za presjek (slika 23) kroz 14 dana dobio je kontrolni uzorak, dok se ocjena najviše smanjila uzorku KC1 što se slaže i s komentarima koje su ostavljali ispitanici prilikom provedbe ispitivanja. Komentari su se odnosili na to da se kontrolni uzorak ima najljepši i najmanje razmravljen presjek, dok se za uzorke kod kojih je NaCl djelomično zamijenjen Ca-citratom komentiralo kako se veoma mrve i lome prilikom rezanja.



Slika 24. Broj bodova za miris sira: K (100 % NaCl), KL1 (75 % NaCl, 25 % Ca-laktat), KL2 (50 % NaCl, 50 % Ca-laktat), KC1 (75 % NaCl, 25 % Ca-citrat), KC2 (50 % NaCl, 50 % Ca-citrat) (n=2) tijekom 14 dana čuvanja

Svi uzorci, osim kontrolnog kod kojeg je primjetno neznatno odstupanje, dobili su maksimalan broj bodova za miris (slika 24) od svih ispitanika.



Slika 25. Broj bodova za okus sira: K (100 % NaCl), KL1 (75 % NaCl, 25 % Ca-laktat), KL2 (50 % NaCl, 50 % Ca-laktat), KC1 (75 % NaCl, 25 % Ca-citrat), KC2 (50 % NaCl, 50 % Ca-citrat) (n=2) tijekom 14 dana čuvanja

Najbolju ocjenu za okus (slika 25), koji se smatra najvažnijom karakteristikom, dobio je uzorak KC1 prvi dan ispitivanja (maksimalan broj bodova). Kontrolni uzorak je okarakteriziran preslanim

zbog čega je došlo do smanjenja bodova, dok su se kod uzoraka KC1 i KC2 s vremenom bodovi postupno smanjivali zbog pojave okusa gorčine. Najmanje variranje bodova za okus uočeno je kod uzoraka kod kojih je NaCl djelomično zamijenjen Ca-laktatom.

## 5. ZAKLJUČCI

Nakon provedenog eksperimentalnog dijela istraživanja i dobivenih rezultata mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Udio soli nije se mijenjao kod pojedinačnih uzoraka tijekom vremena čuvanja, a sirevi sa smanjenom količinom soli su imali i manji udio soli.
2. Kod svih uzoraka sireva nije došlo do značajnije promjene udjela masti što se smatra pozitivnim ishodom budući da mast sadrži brojne komponente koje utječu na svojstva sira.
3. Korištene zamjenske soli uspješno inhibiraju rast koagulaza pozitivnih stafilokoka te su s te strane sirevi sigurni za konzumaciju, no nakon 21 dan čuvanja na površini su vidljive plijesni. Kod kontrolnog uzorka plijesni su se pojavile nakon 28 dana, a kod sireva sa zamjenskim solima već nakon 21 dan zbog čega se može zaključiti kako sirevi s manjim udjelom NaCl-a imaju kraći rok trajanja zbog slabije inhibicije na rast mikroorganizama.
4. Nisu pronađene značajne razlike u teksturi uzoraka, osim kod uzorka KC2 kod kojeg je uočena najveća adhezivnost, odnosno privlačna interakcija između površine sira i sonde.
5. Redukcija NaCl-a i zamjena kalcijevim solima nije imala utjecaj na boju sireva i promjenu boje tijekom čuvanja.
6. Prema senzorskoj analizi svi uzorci dobili su zadovoljavajuće ocjene, no tijekom vremena je došlo do smanjenja bodova kod uzoraka gdje je NaCl zamijenjen citratima zbog pojave gorčine te se to smatra parametrom koji bi trebalo poboljšati.
7. Može se zaključiti da kalcijeve soli (Ca-laktat i Ca-citrat) mogu poslužiti kao zamjena za određenu količinu NaCl-a u kuhanom siru, a da pritom ne naruše fizikalno-kemijska i senzorska svojstva.
8. Kao najbolja zamjena za NaCl za proizvodnju kuhanog tipa sira te po svim određivanim karakteristikama sira je kalcij-laktat i to u količini od 25 %.

## 6. LITERATURA

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

Anonymous (2017) Kalcijev laktat, <[https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty\\_EN\\_CB73376817.htm](https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB73376817.htm)>. Pristupljeno 13. lipnja 2021.

Anonymous (2019) Kalcijev citrat, <<https://hr.puntomariner.com/calcium-citrate-formula-calcium-citrate/>>. Pristupljeno 14. lipnja 2021.

Arboatti, A., S., Olivares, M., L., Sabbag, N., G., Costa, S., C., Zorrilla, S., E., Sihufe, G., A. (2014) The influence of sodium chloride reduction on physicochemical, biochemical, rheological and sensory characteristics on Mozzarella cheese. *Dairy Science and Technology*. **94**, 373-386.

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

Bosnić, P. (2003) Svjetska proizvodnja i kvaliteta kravljeg mlijeka. *Mljekarstvo*. **53**, 37-50.

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

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

Gal, E. (1964) Pregled analitičkih metoda za određivanje suhe tvari u siru. *Mljekarstvo*. **14**, 248-254.

Guinee, T., P., Fox, P., F. (2004) Salt in Cheese: Physical, Chemical and Biological Aspects. *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. **1**, 207-259.

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, str. 316-357.

Kirin, S. (1980) Domaće vrste sireva bilogorsko-podravske regije i mogućnosti njihove industrijske proizvodnje. *Mljekarstvo*. **30**, 111-116.

Kirin, S. (2006) Domaći kuhani sir. *Mljekarstvo*. **56**. 45-58.

Marenjak, T., S., Poljičak-Milas, N., Delaš, I. (2006) Biološki aktivne tvari u kravljem mlijeku i njihov učinak na zdravlje. *Mljekarstvo*. **56**, 119-137.

McMahon, D. J., Oberg, C. J., Drake, M. A., Farkye, N., Moyes, L. V., Arnold, M. R., Ganesan, B., Steele, J., Broadbent, J.R. (2014) Effect of sodium, potassium, magnesium, and calcium salt cations on pH, proteolysis, organic acids, and microbial populations during storage of full-fat Cheddar cheese. *Journal of Dairy Science*. **97**, 4780-4798.

Mesner, M. (1962) Sol i soljenje sireva. *Mljekarstvo: časopis za unaprjeđenje proizvodnje i prerade mlijeka*. **12**, 167-170.

Papademas, P., Robinson, R., K. (1998) Halloumi cheese: the product and its characteristics. *International Journal of Dairy Technology*. **51**, 98-103.

Pravilnik o prehrambenim aditivima (2010) *Narodne novine*. **62**, Zagreb.

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

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

Sarić, Z. (2007) Tehnologija mlijeka i mliječnih proizvoda 2. dio. Poljoprivredni fakultet, Sarajevo.

Sheibani, A., Mishra, V., Stojanovska, L., Ayyash, M. (2013) Salt in cheese: health issues, reduction, replacement and release U: Handbook in Cheese (Castelli, H., du Vale, L., ured.), Nova Science Publishers, Melbourne, str. 397-417.

Sung Kyu Ha (2014) Dietary Salt Intake and Hypertension. *Electrolyte Blood Press.* **12**, 7-12.

Štefekov, I. (1990) Autohtoni bilogorsko-podravski „kuhani sir“ – tradicija i proizvodnja. *Mljekarstvo.* **40**, 227-234.

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

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

Vodič za mikrobiološke kriterije za hranu (2009) Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja, Zagreb.

## IZJAVA O IZVORNOSTI

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

Nina Macut

Nina Macut