

## Organske kiseline kao mogući parametri kvalitete parmezana

Dr. Bogdan PERKO, Biotehniška fakulteta, VTOZD za živinorejo, Inštitut za mlekarstvo, Ljubljana; Vanja HABJAN-PENCA, dipl. inž., Karmen GODIČ, dipl. biol.

Izvorni znanstveni rad — Original Scientific Paper  
Prispjelo: 1. 6. 1990.

UDK: 637.3.05.057

### Sažetak

*Određivanje organskih kiselina u procesu izrade i zrenja sireva je značajno, jer su to komponente okusa i mirisa, daju uvid u procese metabolizma u siru i omogućuju donošenje zaključaka o pogreškama sira i njihovim uzrocima. U određenim fazama tehnološkog procesa određene su količine: mliječne, octene, propionske, maslačne i izomaslačne kiseline. Ustanovljeni su odnosi između pojedinih kiselina i utjecaj na kvalitetu parmezana.*

### Uvod

U tehnologiji izrade sireva osnovno je pravilo da iz lošeg mlijeka nije moguće izraditi dobar sir, što napose vrijedi za tvrde sireve. Posljedica loše kemijsko-fizikalne i mikrobiološke kvalitete sirovine su nepravilni biokemijski procesi za vrijeme tehnološkog procesa proizvodnje, a napose za vrijeme zrenja sira, kad se konačno oblikuju karakteristična svojstva pojedinog tipa sira. Nastaju promjene okusa, mirisa i konzistencije, pa su nepravilnim tokom i manjkavom tehnologijom ugroženi i kvaliteta i trajnost sira. Neželjeni biokemijski procesi javljaju se zbog djelovanja različitih vrsta mikroorganizama, odnosno enzima.

Sa sličnim se problemima sreću i u zemljama s razvijenom mljekarsko-preradbenom industrijom. Istraživači nastoje otkriti načine na koje bi suvremenim analitičkim metodama već u prvim fazama proizvodnje, odnosno zrenja sira, ustanovili smjer toka zrenja i potom ocijenili konačnu kvalitetu sira.

Opsežna klasična istraživanja, utemeljena na fizikalno-kemijskim i mikrobiološkim analizama pokazala su umjesnost i opravdanost daljnje nadgradnje određivanjem organskih kiselina. Na osnovu ovih bi se mogli objasniti mnogi mikrobiološki problemi, te vanjskim faktorima utjecati na biokemijske procese kako u toku proizvodnje, tako i u toku zrenja sira, pa bi se već u početnim fazama proizvodnje moglo točno odrediti konačnu kvalitetu sira.

### Materijal i metode

Istraživanja smo postavili tako da smo dva do tri puta mjesečno uzimali uzorke u određenim fazama tehnološkog postupka izrade sira parmezana i analizirali ih. Ukupno smo izvršili 28 sirenja. Konačne smo rezultate odredili analizama parmezana koji je zrio 6 mjeseci.

Uzorke smo uzimali u ovim fazama tehnološkog procesa:

- mlijeko iz sirarskog kotla prije početka sirenja,
- svježi sir nakon izrade,
- sir nakon završenog soljenja,
- sir nakon tri mjeseca zrenja i

\* Referat održan na 9. jugoslavenskom međunarodnom simpoziju „Suvremena proizvodnja i prerada mlijeka“, Portorož, 1990.

Naslov originala na slovenskom jeziku: „Organske kiseline kot možni parametri kakovosti parmezana.“  
Prijevod sa slovenskog na hrvatski jezik: Matej Markeš, dipl. inž.

— sir nakon 6 mjeseci zrenja.

U uzorcima smo s HPLC (Pen, 1987) odredili količine: mliječne kiseline, propionske kiseline, octene kiseline, maslačne kiseline i izomaslačne kiseline. Sireve smo nakon 6-mjesečnog zrenja organoleptički ocijenili po sistemu 20 poena.

Podatke smo statistički obradili programom SPSS. Pomoću tog programa izračunali smo osnovne statističke parametre. Odnose među varijablama utvrdili smo jednostavnom i multiplom regresijom.

### Rezultati i komentar

Iz tabele 1 je vidljivo da je mlijeko sadržavalo 3,90 g/kg mliječne kiseline, 1,90 g/kg octene kiseline, 0,05 g/kg propionske, 0,08 g/kg izomaslačne i

**Tabela 1. Statistički parametri analiziranih organskih kiselina u uzorcima mlijeka (sirarski kotao) [g/kg]**

**Table 1. Statistical parameters of determined organic acids in the milk samples (cheese vat) [g/kg]**

Određivanje Determination	N N	Prosjek Average	Max. Max.	Min. Min.	KV % CV %
Mliječna kiselina Lactic acid	29	3,93	7,30	2,47	34,2
Octena kiselina Acetic acid	29	1,90	3,16	1,28	29,2
Propionska kiselina Propionic acid	29	0,05	0,10	0,04	27,5
Izomaslačna kiselina Isobutyric acid	29	0,08	0,29	0,04	67,9
Maslačna kiselina Butyric acid	29	0,01	0,06	0,01	142,3

**Tabela 2. Statistički parametri analiziranih organskih kiselina u uzorcima svježeg sira nakon izrade [g/kg]**

**Table 2. Statistical parameters of determined organic acids in samples of fresh cheese directly after manufacturing [g/kg]**

Određivanje Determination	N N	Prosjek Average	Max. Max.	Min. Min.	KV % CV %
Mliječna kiselina Lactic acid	30	4,78	14,21	2,4	51,6
Octena kiselina Acetic acid	30	1,23	1,94	0,85	22,6
Propionska kiselina Propionic acid	30	0,14	0,68	0,02	101,6
Izomaslačna kiselina Isobutyric acid	30	0,04	0,11	0,01	77,7
Maslačna kiselina Butyric acid	30	0,11	0,74	0,01	161,9

0,01 g/kg maslačne kiseline. Za maslačnu kiselinu utvrđen je izvanredno visok koeficijent varijabilnosti, koji iznosi 142,3%. Iznenađuje velika količina octene kiseline u mlijeku, što bi mogla biti posljedica relativno velike enzimatske aktivnosti nativnih enzima i enzima mikrobiološkog porijekla, naročito u mlijeku koje je slabije kvalitete, ali i zbog mehaničkih oštećenja nekih sastojaka mlijeka.

U svježem siru (Tabela 2) ustanovili smo prosječno 4,78 g/kg mliječne kiseline, 1,23 g/kg octene, 0,14 g/kg propionske, 0,04 g/kg izomaslačne i 0,11 g/kg maslačne kiseline.

Za vrijeme prešanja (Tabela 3) količina mliječne kiseline u svježem siru se povećala od 4,78 na 7,86 g/kg, koliko je ustanovljeno nakon završenog prešanja sira. U istom razdoblju se količina octene kiseline smanjila od 1,23 na 0,78 g/kg, propionske od 0,14 na 0,07 g/kg, te maslačne od 0,11 na 0,08 g/kg.

**Tabela 3. Statistički parametri analiziranih kiselina u uzorcima sira nakon prešanja (g/kg)**

**Table 3. Statistical parameters of determined organic acids in samples of cheese after pressing (g/kg)**

Određivanje Determination	N N	Prosjeak Average	Max. Max.	Min. Min.	KV % CV %
Mliječna kiselina Lactic acid	28	7,86	11,36	1,62	26,8
Octena kiselina Acetic acid	28	0,78	1,13	0,36	27,6
Propionska kiselina Propionic acid	26	0,07	0,28	0,01	125,9
Izomaslačna kiselina Isobutyric acid	27	0,06	0,26	0,01	119,8
Maslačna kiselina Butyric acid	28	0,08	0,30	0,01	110,6

**Tabela 4. Statistički parametri analiziranih organskih kiselina u uzorcima sira nakon soljenja (g/kg)**

**Table 4. Statistical parameters of determined organic acids in samples of cheese after salting (g/kg)**

Određivanje Determination	N N	Prosjeak Average	Max. Max.	Min. Min.	KV % CV %
Mliječna kiselina Lactic acid	27	11,51	14,38	7,06	17,6
Octena kiselina Acetic acid	27	1,02	1,90	0,47	39,1
Propionska kiselina Propionic acid	24	0,07	0,28	0,01	115,7
Izomaslačna kiselina Isobutyric acid	27	0,07	0,57	0,01	170,7
Maslačna kiselina Butyric acid	27	0,11	0,65	0,01	118,6

Nakon soljenja (Tabela 4) bilo je u siru 11,51 g/kg mliječne kiseline, 1,02 g/kg octene, 0,07 g/kg propionske, 0,07 g/kg izomaslačne te 0,11 g/kg maslačne kiseline.

Fermentacija laktoze se nakon tri mjeseca zrenja (Tabela 5) postupno smiruje. Zrenje se nastavlja uz djelovanje enzima. Količina mliječne kiseline se povećala samo za 1,77 g/kg, količina octene za 0,85 g/kg, propionske za 0,26 g/kg, izomaslačne za 0,07 g/kg i maslačne za 0,83 g/kg sira.

Nakon 6 mjeseci zrenja (Tabela 6) količina mliječne kiseline smanjila se na  $\bar{x}$  = 13,05 g/kg, propionske na  $\bar{x}$  = 0,71 g/kg te izomaslačne kiseline na  $\bar{x}$  = 0,26 g/kg. Nakon šestomjesečnog zrenja ustanovljeno je povećanje octene kiseline na  $\bar{x}$  = 2,37 g/kg te maslačne na  $\bar{x}$  = 1,21 g/kg sira.

**Tabela 5. Statistički parametri analiziranih organskih kiselina u uzorcima sira nakon 3 mjeseca zrenja (g/kg)**

**Table 5. Statistical parameters of determined organic acids in samples of cheese after three months of ripening (g/kg)**

Određivanje Determination	N N	Prosjek Average	Max. Max.	Min. Min.	KV % CV %
Mliječna kiselina Lactic acid	29	13,28	19,58	4,93	24,6
Octena kiselina Acetic acid	29	1,87	2,77	1,17	23,0
Propionska kiselina Propionic acid	29	0,33	1,15	0,03	99,9
Izomaslačna kiselina Isobutyric acid	29	0,14	0,58	0,03	99,6
Maslačna kiselina Butyric acid	29	0,94	3,96	0,02	98,6

**Tabela 6. Statistički parametri analiziranih organskih kiselina u uzorcima nakon šest mjeseci zrenja (g/kg)**

**Table 6. Statistical parameters of determined organic acids in samples of cheese after six months of ripening (g/kg)**

Određivanje Determination	N N	Prosjek Average	Max. Max.	Min. Min.	KV % CV %
Mliječna kiselina Lactic acid	28	13,05	24,20	5,08	39,0
Octena kiselina Acetic acid	28	2,37	3,52	1,40	26,3
Propionska kiselina Propionic acid	28	0,71	3,57	0,03	112,1
Izomaslačna kiselina Isobutyric acid	28	0,26	0,87	0,01	98,3
Maslačna kiselina Butyric acid	28	1,21	3,18	0,02	81,2

Iz Tabela 5 i 6 je vidljivo da je proces razgradnje laktoze tekao do 3 mjeseca zrenja sira, što je uočljivo iz porasta količine mliječne kiseline. Nakon tri mjeseca zrenja proces razgradnje laktoze je završen. Količina mliječne kiseline počinje opadati, a posljedica njene razgradnje je porast nekih višemolekularnih kiselina.

Količina mliječne kiseline u mlijeku (Tabela 7) (A) je u pozitivnom smislu povezana s količinom octene kiseline ( $r = 0,29$ ), propionske ( $r = 0,16$ ) izomaslačne ( $r = 0,27$ ) te maslačne kiseline ( $r = 0,29$ ), ali korelacije nisu statistički značajne. Međutim, statistički su značajne veze između količine octene kiseline i količine propionske kiseline ( $r = 0,50$ ), izomaslačne ( $r = 0,59$ ) i maslačne kiseline ( $r = 0,68$ ), zatim između propionske i izomaslačne kiseline ( $r = 0,48$ ), te između izomaslačne i maslačne kiseline ( $r = 0,48$ ).

Za rezultate analiza organskih kiselina koje smo ustanovili u uzorcima svježeg sira (Tabela 7) (B) je značajno da u toj fazi izrade nemaju signifikantnog utjecaja na kvalitetu sira. Zanimljive su zavisnosti između pojedinih kiselina.

**Tabela 7. Korelacioni koeficijenti među istraživanim parametrima uzoraka mlijeka iz sirarskog kotla (A) i uzorcima svježeg sira (B)**

**Table 7. Correlation coefficients between parameters studied in milk samples from cheese vat (A) and fresh cheese (B)**

B	A	Mliječna kiselina Lactic acid	Octena kiselina Acetic acid	Propionska kiselina Propionic acid	Izomaslačna kiselina Isobutyric acid	Maslačna kiselina Butyric acid	Ocjena Estimation
Mliječna kiselina Lactic acid			0,291	0,169	0,271	0,299	0,061
Octena kiselina Acetic acid	**	0,490		**	***	***	-0,186
Propionska kiselina Propionic acid	**	0,480	0,409		**	0,042	-0,095
Izomaslačna kiselina Isobutyric acid	**	0,487	**	0,350		**	0,002
Maslačna kiselina Butyric acid	***	0,822	0,372	0,668	*		-0,079
Ocjena Estimation		0,127	0,096	0,359	-0,061	0,237	

\*  $P(r=0) < 0,05$  \*\*  $P(r=0) < 0,01$  \*\*\*  $P(r=0) < 0,001$

Mliječna kiselina je u pozitivnoj signifikantnoj zavisnosti s octenom kiselinom ( $r = 0,49$ ), propionskom ( $r = 0,48$ ), izomaslačnom ( $r = 0,48$ ) i maslačnom kiselinom ( $r = 0,82$ ). Octena kiselina je statistički značajno povezana s izomaslačnom kiselinom ( $r = 0,52$ ).

U slučaju velike količine propionske kiseline možemo očekivati da će sir sadržavati i veliku količinu maslačne kiseline ( $r = 0,66$ ). U jednakom su odnosu izomaslačna i maslačna kiselina ( $r = 0,37$ ).

Ako u siru nakon soljenja (Tabela 8) (B) ustanovimo veliku količinu octene kiseline, možemo sa sigurnošću očekivati i veliku količinu propionske kiseline ( $r = 0,56$ ), izomaslačne ( $r = 0,66$ ) i maslačne kiseline ( $r = 0,56$ ). U našem slučaju nijedna od određenih organskih kiselina statistički ne utječe na kvalitetu sira. Korelacijski koeficijenti ne indiciraju lošiju kvalitetu sira pri povećanim količinama ovih kiselina.

Po rezultatima linearnih korelacija među organskim kiselinama u siru koji je zrio 3 mjeseca (Tabela 9) (A) od značaja je količina mliječne kiseline.

Što više mliječne kiseline sir sadrži, to će u njemu biti manje propionske kiseline ( $r = -0,60$ ), izomaslačne ( $r = -0,56$ ) i maslačne ( $r = -0,72$ ). Pri tome

**Tabela 8. Korelacioni koeficijenti među istraživanim parametrima u uzorcima sira nakon prešanja (A) i uzorcima sira nakon soljenja (B)**

**Table 8. Correlation coefficients between parameters studied in cheese samples after pressing (A) and after salting (B)**

B	A	Mliječna kiselina Lactic acid	Octena kiselina Acetic acid	Propionska kiselina Propionic acid	Izomaslačna kiselina Isobutyric acid	Maslačna kiselina Butyric acid	Ocjena Estimation
Mliječna kiselina Lactic acid			-0,074	-0,032	0,301	-0,092	-0,348
Octena kiselina Acetic acid		0,220		0,185	0,428	0,498	-0,051
Propionska kiselina Propionic acid		-0,070	0,564		0,288	0,328	-0,099
Izomaslačna kiselina Isobutyric acid		-0,045	0,666	0,518		*	0,491
Maslačna kiselina Butyric acid		0,066	0,560	0,081	0,353		-0,008
Ocjena Estimation		-0,163	-0,177	-0,053	-0,145	-0,452	

\*  $P(r=0) < 0,05$  \*\*  $P(R=0) < 0,01$  \*\*\* $P(R=0) < 0,001$

su veze između propionske kiseline i maslačne ( $r = 0,53$ ) te izomaslačne ( $r = 0,74$ ) pozitivne i signifikantne. Količina octene kiseline nije signifikantno povezana ni sa jednom od određenih kiselina. Maslačna kiselina je s izomaslačnom u tijesnoj pozitivnoj korelaciji ( $r = 0,46$ ), a ova posljednja ima s korelacijskim koeficijentom ( $r = 0,45$ ) pri  $P(r = 0) < 0,05$  utjecaj na kvalitetu sira. Količina mliječne kiseline s korelacijskim koeficijentom ( $r = 0,26$ ) pozitivno utječe na kvalitetu sira, dok, protivno tome, octena kiselina ( $r = -0,09$ ), te propionska ( $r = -0,07$ ) i maslačna ( $r = -0,22$ ) indiciraju negativan utjecaj na kvalitetu sira.

U parmezanu nakon šestomjesečnog zrenja (Tabela 9) (B) su maslačna i izomaslačna kiselina u statistički značajnoj pozitivnoj korelaciji ( $r = -0,38$ ). Količina obiju kiselina u siru – istina nesignifikantno s korelacijskim koeficijentima ( $r = -0,30$  i  $r = -0,25$ ) – utječe na ocjenu kvalitete sira. Količina mliječne kiseline signifikantno utječe na količinu propionske ( $r = -0,57$ ) i maslačne kiseline ( $r = -0,64$ ). Veza je negativna, što znači da pri većoj količini mliječne kiseline možemo očekivati male količine propionske i maslačne kiseline. Obje ove kiseline su u vrlo tijesnoj vezi ( $r = 0,62$ ) pri  $P(r = 0) < 0,001$ .

**Tabela 9. Korelacioni koeficijenti među istraživanim parametrima u uzorcima sira nakon tri mjeseca zrenja (A) i uzorcima sira nakon šest mjeseci zrenja (B)**

**Table 9. Correlation coefficients between parameters studied in cheese samples after three months of ripening (A) and after six months of ripening (B)**

A	Mliječna kiselina Lactic acid	Octena kiselina Acetic acid	Propionska kiselina Propionic acid	Izomaslačna kiselina Isobutyric acid	Maslačna kiselina Butyric acid	Ocjena Estimation
B						
Mliječna kiselina Lactic acid		0,023	*** -0,603	** -0,561	*** -0,721	0,264
Octena kiselina Acetic acid	0,033		0,336	0,329	0,029	-0,094
Propionska kiselina Propionic acid	** -0,578	0,399		** 0,543	*** 0,744	-0,076
Isomaslačna kiselina Isobutyric acid	-0,287	-0,205	0,346		* 0,466	* -0,456
Maslačna kiselina Butyric acid	*** -0,642	0,044	*** 0,624	* 0,385		-0,228
Ocjena Estimation	-0,245	0,067	-0,261	-0,300	-0,253	

\*  $P(r=0) < 0,05$     \*\*  $P(r=0) < 0,01$     \*\*\*  $P(r=0) < 0,001$



Tabela 10. Utjecaj pojedinih organskih kiselina na kvalitetu sira, izračunatih multiplom regresijom (postupak »stepwise«)

Table 10. The influence of organic acids on cheese quality, evaluated using multiple regression method (stepwise method)

Parametar Parameter	Parcijalni regresioni koeficijent Partial regression coefficient $b_i$	Konstanta Constant	$R^2$ $R^2$	Korak Step
A 257	-1,08	13,28	0,39	I
A 257	-1,62	17,88	0,54	II
A 233	-0,30			
A 257	-1,44			
A 233	-0,32	19,11	0,70	III
A 255	-7,19			

- A 257 = količina maslačne kiseline u siru nakon šest mjeseci zrenja  
 = quantity of butyric acid in cheese after six month of ripening  
 A 233 = količina mliječne kiseline u siru nakon šest mjeseci zrenja  
 = quantity of lactic acid in cheese after six months of ripening  
 A 255 = količina maslačne kiseline u siru nakon soljenja  
 = quantity of butyric acid in cheese after salting

Količina octene kiseline nema posebnog utjecaja na kvalitetu sira, a i povezanost s ostalim određivanim kiselinama je neznatna.

Statističkom obradom podataka multiplom regresijom ustanovili smo da možemo objasniti 40% varijabilnosti kvalitete sira u vezi s količinom maslačne kiseline nakon 6 mjeseci zrenja parmezana. Količina maslačne i mliječne kiseline nakon 6 mjeseci zrenja objašnjavaju 34% varijabilnosti, dok te količine maslačne kiseline, nakon završenog soljenja te količina maslačne i mliječne kiseline nakon 6 mjeseci zrenja parmezana objašnjavaju 70% varijabilnosti kvalitete parmezana.

#### ORGANIC ACIDS AS POSSIBLE PARAMETERS FOR DETERMINATION OF QUALITY FOR PARMESAN CHEESE

##### Summary

*When analyzing cheese quality, determination of organic acids is of special importance, since the content of organic acids influence the taste and flavour of cheese and also give an insight into metabolic processes occurring during cheese production. The content of organic acids permits conclusions regarding the cheese faults and gives information about their causes. At certain stages of the technological procedure the amount of lactic, acetic, propionic, isobutyric and butyric acid was determined. Correlations between individual acids were calculated and the influence of organic acids on the quality of Parmesan cheese was estimated.*

##### Literatura

- PANARI, G. (1986): HPLC of organic acids: an approach to cheese analysis. *Milchwissenschaft* 41, 4, s. 214-216.  
 PEN, A.: Določanje organskih kislin v mleku in sirih s plinsko kromatografijo. Interni zapis. Junij (1987).  
 PERKO, B., HABJAN-PENCA, V., GODIČ, K.: Ugotavljanje biokemijskih parametrov poznega napihovanja sira parmezana. Poročilo za Raziskovalno skupnost Slovenije, št. C<sub>4</sub>-0576-402-88, Rodica (Domžale), VTOZD za živilorejo, BF, 1988, s. 22-44.