

## Utjecaj sirila na kvalitetu paškog sira

doi: 10.15567/mljekarstvo.2015.0204

Fabijan Oštarić<sup>1,3</sup>, Neven Antunac<sup>1</sup>, Zvonimir Prpić<sup>2</sup>, Nataša Mikulec<sup>1\*</sup><sup>1</sup>Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Zavod za mljekarstvo, Svetošimunska 25, 10000 Zagreb, Hrvatska<sup>2</sup>Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Zavod za specijalno stočarstvo, Svetošimunska 25, 10000 Zagreb, Hrvatska<sup>3</sup>OPG Emil Oštarić, Šuprahini dvori 11, 23251 Kolan, Hrvatska

Prispjelo - Received: 03.09.2014.

Prihvaćeno - Accepted: 02.03.2015.

### Sažetak

Cilj istraživanja bio je utvrditi utjecaj vrste sirila na fizikalno-kemijske parametre, senzorsku kvalitetu i randman paškog sira, proizvedenog s domaćim (tradicionalnim) i komercijalnim sirilom. Paški sirevi proizvedeni su s domaćim sirilom, ekstrakcijom enzima iz janječeg sirišta (*abomasum*), i s komercijalnim sirilom u prahu talijanskog proizvođača "Gruppo Clerici-Sacco". Ukupno je proizvedeno 7 šarži sira, po dva sira unutar svake šarže. Tijekom 120 dana zrenja, sirevi su periodično uzorkovani 0., 45., 90. i 120. dana, u svrhu određivanja udjela suhe tvari, mliječne masti, proteina, koncentracije soli te pH vrijednosti sira. Također, određen je udio ukupnih slobodnih aminokiselina iz vodenih ekstrakata sira te je provedena analiza proteina i polipeptida gel-elektroforezom u poliakrilamidnom gelu (UREA-PAGE). Istraživanjem nije utvrđen značajan ( $P > 0,05$ ) utjecaj vrste ispitivanog sirila na istraživane parametre kvalitete sira te na randman. Predmetnim istraživanjem nije utvrđen značajan utjecaj na ispitivane fizikalno-kemijske parametre, randman te senzorsku kvalitetu paškog sira, ali su dobiveni rezultati pokazali praktične razlike koje bi mogle imati važnost u primjeni, pogotovo u postizanju boljeg randmana i veće brzine zrenja sira.

*Ključne riječi:* paški sir, sirilo, janjeće sirilo, janjeće sirište, ovčje mlijeko

### Uvod

Paški sir proizvodi se na otoku Pagu isključivo od mlijeka autohtone paške ovce. U tehnološkom procesu proizvodnje paškog sira koristi se sirovo i pasterizirano mlijeko, sa ili bez dodatka mljekarske kulture. Neovisno o načinu proizvodnje koristi se prirodno sirilo životinjskog podrijetla.

Sirilo je važan izvor proteolitčkih enzima za mnoge vrste sira. Danas se u mljekarskoj industriji u tehnološkom procesu proizvodnje sira i mliječnih proizvoda za zgrušavanje mlijeka najčešće koristi kimozin u smjesi s pepsinom (Salvadori del Prato, 2009; Mikulec, 2010). Za sireve zaštićene oznakom izvornosti (PDO - Protected Designation of

Origin), primjena takvih sirila strogo je propisana, a paški sir je trenutno u postupku zaštite navedenom oznakom. Kimozin je aspartatna peptidaza, molekulske mase 30-40 kDa, s karakteristično visokim udjelom dikarboksilnih i hidroksilnih te niskim udjelom bazičnih aminokiselina (Lucey, 2002; Mikulec, 2010). Najveća količina enzima izlučuje se u središnjem dijelu sirišta, dok gornji dio sirišta ne sadrži enzime, a donji vrlo male količine (Šabec, 1953). Prema Dukes (2004), u prva 24 sata nakon partusa, dok mliječna žlijezda luči kolostrum, ne izlučuje se sirišni enzim, a počinje se lučiti od 1. dana do 3. tjedna života, kada započinje probava mlijeka kod preživača. Lučenje enzima proporcionalno je

\*Dopisni autor/Corresponding author: Tel./Phone: +385 1 239 3904; E-mail: nmikulec@agr.hr



Slika 1. Unutrašnjost janječeg sirišta

sisanju odnosno broju sisanja, što dovodi do zaključka da se kimozin najbolje proizvodi u sirištu isključivo sisajućih jedinki (Dukes, 2004). Kod jedinki napajanih s mlijekom utvrđen je manji udio kimozina. Pavičić (2006) navodi da se iz jednog telećeg sirišta može dobiti količina enzima dostatna za podsiravanje 500 litara mlijeka, te da se danas takvo sirilo koristi u proizvodnji sira ementalca.

Mikulec (2010) navodi da u gršu nakon zgrušavanja mlijeka zaostaje 3-10 % sirila upotrijebljenog u proizvodnji sira, koje dalje nastavlja specifičnu proteolizu u procesu zrenja i doprinosi senzorskim svojstvima sira. Lawrence i sur. (1987), Fox i sur., (1999) i McSweeney (2004) utvrdili su da pri izdvajanju sirutke, ovisno o vrsti enzima, temperaturi sušenja sirnog zrna i pH vrijednosti gršu, može zaostati i do 30 % kimozina u gršu.

Cilj ovog rada bio je usporediti fizikalno-kemijske parametre te senzorsku kvalitetu i randman paškog sira proizvedenog s domaćim odnosno s komercijalnim sirilom.

## Materijal i metode

### *Proizvodnja domaćeg sirila*

Proizvodnja domaćeg sirila podijeljena je u dvije faze: pripremnu i laboratorijsku. Pripremna faza sastoji se od obrade janječeg sirišta (*abomasum*) nakon klanja janjadi i sušenja sirišta. Laboratorijska faza



Slika 2. Domaće sirilo (lijevo - sirilo dobiveno iz sirišta janjadi starosti ≈20 dana; desno - sirilo dobiveno iz sirišta janjadi starosti ≈10 dana)

obuhvaća čišćenje osušenog sirišta od nepotrebnog sadržaja te rezanja na rezance. Za ekstrakciju se koristi blago kisela otopina vode, koja pogoduje aktivaciji kimozina. Kiselost otopine dobivene dodatkom 25 % octene kiseline u 1 L destilirane vode iznosi 5,5-5,6 pH jedinica, a podešavanje pH vrijednosti postiže se dodatkom 0,1 M NaOH. Ekstrakcija traje 7 dana pri sobnoj temperaturi (20 °C), nakon čega se otopina filtrira kroz filter papir veličine pora 6 μm (br. 3, Whatman, Engleska). Dobiveno domaće sirilo u tekućem stanju čuva se u hladnjaku pri temperaturi +4 °C.

### *Određivanje jačine sirila*

Jačina sirila određena je metodom po Soxhletu (Harboe i Budtz, 1999), a prema internoj radnoj uputi Referentnog laboratorija za mlijeko i mliječne proizvode, Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Za analizu jačine sirila korišteno je ovčje mlijeko s istog obiteljskog gospodarstva na kojem su proizvedeni sirevi.

### *Mikrobiološka analiza sirila*

Mikrobiološka analiza sirila provedena je u Zavodu za higijenu, tehnologiju i sigurnost hrane, Odjela za veterinarsko javno zdravstvo i sigurnost hrane, Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Uzorak sirila ispitan je na prisutnost aerobnih mezofilnih bakterija (HRN ISO 4833:2003), *Salmonella* spp. (HRN EN ISO 6785:2001), *Enterobacteriaceae* (HRN ISO 21528-2:2008), sulfitreducirajućih klostridija (HRN ISO 15213:2004) i plijesni (HRN ISO 6611:2010).

### Proizvodnja sira

Za potrebe istraživanja proizvedene su dvije skupine sira: prva za kemijske i fizikalne analize te druga za provedbu senzorskog ocjenjivanja. U prvoj skupini proizvedeno je 6 šarži sira, a unutar svake šarže po 2 sira, proizvedena s različitim sirilima. U drugoj skupini je proizvedena jedna šarža od 2 sira, također s različitim sirilima. Za istraživanje je korišteno 24 L mlijeka jutarnje mužnje, podijeljeno u dvije posude od 12 L.

Za podsirivanje mlijeka korišteno je domaće i komercijalno sirilo proizvođača "Gruppo Clerici-Sacco" (Via Manzoni, 29/A22071 Cadorago (Co) - Italija). Sirevi su proizvedeni standardnim postupkom proizvodnje paškog sira opisanim u literaturi (Barać i sur., 2008), te su nakon salamurenja (slatnosti 20 °Be i temperature 20 °C), stavljeni na zrenje (120 dana, temperatura 19 °C i relativna vlažnost zraka 65-80 %). Sirevi su tijekom zrenja njegovani po pravilima struke.

### Uzorkovanje mlijeka i sira

Od svake proizvedene šarže uzeti su skupni uzorci mlijeka, pohranjeni u sterilne, plastične bočice, konzervirani s bronopolom i zamrznuti na -20 °C do početka izvođenja laboratorijskih analiza. Za fizikalne i kemijske analize, sirevi su periodično uzorkovani sa sirarskim svrdlom 0., 45., 90. i 120. dana zrenja. Uzorkovano je po 6 uzoraka sira proizvedenog s dvije različite vrste sirila, tijekom 4 faze zrenja, što ukupno iznosi 48 uzoraka sira. Uzorci su nakon uzimanja pohranjeni u sterilne bočice te zamrznuti na -20 °C.

### Analize mlijeka i sira

Kiselost ovčjeg mlijeka izmjerena je pH metrom "Seven Multi" (Mettler Toledo, Švicarska). Broj somatskih stanica (BSS) u mlijeku određen je instrumentom "Fossomatic 90" (Foss Electric, Danska), fluoro-opto-elektronskom metodom (HRN EN ISO 13366:-3:1999), a ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija (cfu) na instrumentu "Bactoscan FC" (Foss Electric, Danska), metodom protočne citometrije (ISO 21187:2004). Kemijski sastav ovčjeg mlijeka određen je instrumentom "Milkoscan FT 120" (Foss Electric, Danska) metodom infracrvene spektrofotometrije (HRN ISO 9622:2001). Pritom

su utvrđeni sljedeći parametri: suha tvar, mliječna mast, proteini i laktoza. Udio suhe tvari bez masti u ovčjem mlijeku određen je računski. Koncentracija uree u mlijeku određena je metodom kontinuiranog mjerenja na spektrofotometru, prema modificiranoj metodi proizvođača Herbos Diagnostica uz korištenje kita Urea Slow (RU 4.2.1-KA-10, 2006). Udio dušika (kazeina) u mlijeku određen je instrumentom "Kjeltec 2300 Tekator", modificiranom metodom blok digestije (HRN EN ISO 8968-2:2003). Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost sa standardnom devijacijom ( $\pm$ SD), za 5 skupnih uzoraka ovčjeg mlijeka uzorkovanih neposredno prije podsirivanja.

Za određivanje fizikalno-kemijskih parametara sira tijekom zrenja, korištene su standardne analitičke metode. Suha tvar određena je metodom sušenja (HRN EN ISO 5534:2008), udio mliječne masti butirometrijskom metodom *Van Gulik* (HRN EN ISO 3433:1999), udio proteina metodom *Kjeldahl* (HRN EN ISO 8968-2:2003), koncentracija soli metodom po *Volhardu* (AOAC 935.43:2000). pH vrijednost izmjerena je pH metrom "Seven Multi" (Mettler Toledo, Švicarska). Dobiveni rezultati preračunati su na udjele u suhoj tvari sira, pomoću programskog paketa "Microsoft Office Excell" (2007). Za potrebe izračuna randmana, sirevi su vagani odmah nakon prešanja.

Separacija proteina sira obavljena je elektroforezom u poliakrilamidnom gelu u prisutnosti uree (UREA-PAGE: 12 % 3,8 C; pH 8,9; 4,5 M urea) prema Andrews (1983). Gelovi su snimljeni na uređaju "GelDoc 1000/2000" (Bio-Rad, Švicarska) te obrađeni u programu "Quantity One Version 4". Vodeni ekstrakti sira pripremljeni su za analize sukladno uputama Mayer i sur., (1998) te su u istome određene slobodne amino skupine reakcijom s ninhidrinom uz kadmij prema Folkertsma i Fox (1992).

Senzorsko ocjenjivanje sireva provedeno je na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Stručno povjerenstvo sastavljeno od 6 članova provelo je ocjenjivanje zrelih sireva, sukladno Pravilniku za ocjenjivanje kakvoće mlijeka i mliječnih proizvoda (2004) i standardima propisanim u FIL-IDF (1997). Ocjenjivani parametri s maksimalnim brojem bodova (20) su: vanjski izgled (2 boda), konzistencija (2 boda), prerez (3 boda), boja (1 bod), miris (2 boda), okus (10 bodova).

Tablica 1. Srednje vrijednosti kemijskog sastava, fizikalnih svojstava i mikrobiološke kvalitete mlijeka paških ovaca (n=5)

Parametar:	( $\bar{x}$ ) $\pm$ SD
Suha tvar (%)	17,69 $\pm$ 0,20
Mliječna mast (%)	6,59 $\pm$ 0,29
Protein (%)	5,56 $\pm$ 0,09
Kazein (%)	4,11 $\pm$ 0,11
Laktoza (%)	4,46 $\pm$ 0,04
SBM (%)	11,13 $\pm$ 0,10
Urea (mg/100 mL)	52,49 $\pm$ 5,09
BSS x 10 <sup>3</sup> /mL	008 $\pm$ 362,24
UBB x 10 <sup>3</sup> /mL	103,4 $\pm$ 48,89
pH vrijednost	6,39 $\pm$ 0,03

SD - standardna devijacija, SBM - suha tvar bez masti, BSS - broj somatskih stanica, UBB - ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija

Tablica 2. Mikrobiološka kvaliteta sirila

Bakteriološki pokazatelj:	Mjera	Granica <sup>1</sup>	Utvrđene vrijednosti
Aerobne mezofilne bakterije	cfu/g	m = 10 <sup>3</sup> cfu/g M = 10 <sup>4</sup> cfu/g	2 x 10 <sup>5</sup>
<i>Salmonella</i> spp.	n.n.	n.n. /25g	n.n.
<i>Enterobacteriaceae</i>	cfu/g	m $\leq$ 1 cfu/g M = 10 cfu/g	<10
Sulfitoreducirajuće bakterije	cfu/g	m = 10 cfu/g M = 10 <sup>2</sup> cfu/g	<10
Plijesni	cfu/g	m = 10 cfu/g M = 10 <sup>2</sup> cfu/g	7 x 10 <sup>2</sup>

n.n. - nije pronađeno, m - granična vrijednost ispod koje se svi rezultati smatraju zadovoljavajućim, M - granična dopuštena vrijednost iznad koje se rezultati smatraju nezadovoljavajućim, 1 - iz Vodiča za mikrobiološke kriterije za hranu (MPRRR, ožujak 2011.)

### Statistička obrada podataka

Statistička obrada rezultata provedena je primjenom statističkog paketa SAS (1999) korištenjem General Linear Model (GLM) procedure. Međusobni utjecaj dobivenih parametara izračunat je pomoću Tukey-Kramer testa također u programu SAS (1999). Opisni statistički pokazatelji praćenih parametara utvrđeni su primjenom statističke procedure MEANS (SAS, 1999).

### Rezultati i rasprava

Prosječni udio mliječne masti u mlijeku (tablica 1) bio je niži od vrijednosti koje navodi Antunac (2004) za mlijeko paških ovaca, odnosno mlijeko krčkih ovaca (Antunac i sur., 2008). Vukašinić i sur. (2008) navode 7,81 % kao prosječan udio mliječne masti u mlijeku paških ovaca u 2003. g., odnosno 8,00 % u 2004. g. Niži udio mliječne masti posljedica je promjene u strukturi i načinu hranidbe paških ovaca, odnosno prelasku ovaca na ispašu i povećanja količine proizvedenoga mlijeka.

Udio proteina iznosio je 5,56 % (tablica 1). Vukašinić i sur. (2008) navode 6,93 % kao prosječni udio proteina u mlijeku paških ovaca u 2003. g., odnosno 7,39 % u 2004. g. Za razliku od mlijeka paških ovaca, Antunac i sur. (2008) te Mikulec (2010) su u mlijeku krčkih ovaca utvrdili osjetno viši udio proteina (5,97 % odnosno 6,21 %). Razlog nižih vrijednosti može biti posljedica naglog povećanja količine proizvedenoga mlijeka i postupnog smanjenja udjela proteina u mlijeku.

Predmetnim istraživanjem utvrđen je manji udio suhe tvari ( $17,69 \pm 0,20$ ) u mlijeku u usporedbi s vrijednostima koje za mlijeko paških ovaca navode Antunac i sur. (2011). Mlijeko krčkih ovaca sadržavalo je u prosjeku 19,49 % suhe tvari (Antunac i sur., 2008; Mikulec, 2010).

Kazein je uz mliječnu mast osnovni sastojak mlijeka, koji u velikoj mjeri utječe na količinu proizvedenoga sira (Antunac i sur., 2011). Udio kazeina u mlijeku krčkih ovaca (4,96 % i 4,77 %) navodi Mikulec (2010), odnosno 4,42 % početkom laktacije, 4,31 % sredinom i 4,72 % krajem laktacije (Antunac i sur., 2011). Utvrđena je niža pH vrijednost mlijeka (6,39) od vrijednosti propisane Pravilnikom o kakvoći svježeg sirovog mlijeka (2000).

Prijelaz ovaca sa stajskog načina držanja na slobodnu ispašu rezultirao je nepovoljnim omjerom sadržaja energije i proteina u obroku, što se može zaključiti temeljem utvrđene prosječne koncentracije uree u mlijeku (52,49 mg/100 mL). Marenjak i sur. (2004) i Bendelja i sur. (2009) navode preporučeni raspon koncentracije uree u mlijeku od 10-30 mg/100 mL.

Broj somatskih stanica u ovčjem mlijeku nije propisan Pravilnikom o kakvoći svježeg sirovog mlijeka (2000), iako većina autora predlaže vrijednosti od  $250-500 \times 10^3/\text{mL}$  (Fthenakis i sur., 1991; Pengov, 2001). Istraživanjem je utvrđen viši broj somatskih stanica u mlijeku paških ovaca ( $1008 \times 10^3/\text{mL}$ ), dok niže vrijednosti navode Antunac (2006) te Vukašinić i sur. (2008). Ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija (UBB) u mlijeku paških ovaca bio je znatno niži od ranije utvrđenih vrijednosti (Antunac i sur., 2008).

### Kvaliteta sirila

Proizvedeno sirilo bilo je tekuće, jačine 1:2.000, žute do svijetlo smeđe boje (slika 2), specifičnog mirisa po sirištu, sukladno navodima Kaštelan (1962). Prema Vodiču za mikrobiološke kriterije za hranu (2011) sirilo je bilo zadovoljavajuće kvalitete. Ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija i plijesni je bio iznad dozvoljenog, što je bilo za pretpostaviti s obzirom da se radi o domaćem sirilu (tablica 2).

Prema Pravilniku o sirevima i proizvodima od sireva (2009), paški sir s obzirom na udio vode u bezmasnoj suhoj tvari sira pripada skupini tvrdih sireva, pri čemu je sir proizveden s domaćim sirilom sadržavao 53,18 %, dok je onaj proizveden s komercijalnim sirilom sadržavao 52,65 %. S obzirom na udio masti u suhoj tvari paški sir pripada skupini punomasnih sireva, pri čemu je sir proizveden s domaćim sirilom sadržavao 47,40 %, dok je onaj proizveden s komercijalnim sirilom sadržavao 47,06 % masti u suhoj tvari sira. Rezultati su sukladni onima koje navode Barać i sur. (2008) te Antunac i Mikulec (2012). U paškim sirevima proizvedenih neovisno o vrsti sirila, udio proteina u suhoj tvari sira značajno se smanjivao tijekom zrenja (tablica 3). Prema Mikulec (2010), na smanjenje udjela proteina u suhoj tvari sira tijekom zrenja utječe izlučivanje dijela topljivih sirutkinih proteina i peptida, nastalih uslijed početnog djelovanja peptidaza u mlijeku. Smanjenje udjela proteina u suhoj tvari sira pokazatelj je tijeka zrenja i posljedica djelovanja enzima.

Tablica 3. Osnovni kemijski sastav i fizikalna svojstva paških sireva (n = 48)

Vrsta sirila	Dani zrenja	Sastojci u 100 g suhe tvari sira			
		Mast/suha tvar* (%)	Proteini/suha tvar** (%)	Sol (%)	pH vrijednost
DS	0.	44,44 ± 3,13	49,00 <sup>a</sup> ± 1,91	1,25 <sup>a</sup> ± 0,39	6,01 <sup>a</sup> ± 0,36
	45.	46,34 ± 2,28	45,40 <sup>b</sup> ± 0,83	5,02 <sup>b</sup> ± 0,26	5,04 <sup>b</sup> ± 0,08
	90.	46,13 ± 1,06	42,48 <sup>c</sup> ± 0,36	4,56 <sup>c</sup> ± 0,28	5,21 <sup>b</sup> ± 0,07
	120.	47,40 ± 3,57	42,95 <sup>c</sup> ± 0,87	4,24 <sup>c</sup> ± 0,39	5,31 <sup>b</sup> ± 0,06
KS	0.	45,12 ± 2,08	48,49 <sup>a</sup> ± 2,34	1,23 <sup>a</sup> ± 0,22	5,70 <sup>a</sup> ± 0,27
	45.	45,35 ± 1,81	45,23 <sup>b</sup> ± 0,99	5,08 <sup>b</sup> ± 0,35	5,04 <sup>c</sup> ± 0,09
	90.	45,90 ± 1,36	42,20 <sup>c</sup> ± 1,15	4,58 <sup>c</sup> ± 0,32	5,20 <sup>bc</sup> ± 0,08
	120.	47,06 ± 2,51	41,73 <sup>c</sup> ± 2,80	4,35 <sup>c</sup> ± 0,45	5,31 <sup>b</sup> ± 0,07

\*Udio mliječne masti u suhoj tvari sira

\*\*Udio proteina u suhoj tvari sira

Rezultati izražavaju srednju vrijednost sa standardnom devijacijom (±SD) od 48 uzoraka sireva u različitim fazama zrenja DS - paški sir proizveden s domaćim sirilom; KS - paški sir proizveden s komercijalnim sirilom

Tablica 4. Randman u proizvodnji pašskog sira s domaćim i komercijalnim sirilom

	Domaće sirilo	Komercijalno sirilo
n	8*	7
Randman 1 (kg)	19,60 ± 1,63	18,92 ± 1,08
Randman 2 (kg)	5,13 ± 0,42	5,30 ± 0,31

Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost sa standardnom devijacijom (±SD)

Randman 1: broj kilograma sira koji se dobije od 100 kg mlijeka

Randman 2: broj kilograma mlijeka potreban za proizvodnju 1 kg sira

\*U izračun randmana kod sireva proizvedenih s domaćim sirilom uzet je u obzir jedan dodatni sir proizveden pod istim uvjetima, koji se dalje nije koristio u predmetnom istraživanju.

Tijekom zrenja koncentracija NaCl u suhoj tvari sira povećavala se u razdoblju od 0. do 45. dana (tablica 3). Razlog naglog povećanja koncentracije soli u suhoj tvari sira, pogotovo u početnoj fazi zrenja, rezultat je njege sira budući se sir pranjem u slanoj vodenoj otopini istovremeno i dosoljava (Mikulec, 2010).

Tijekom zrenja pašskog sira, neovisno o vrsti sirila, pH vrijednost bilježi smanjenje vrijednosti koje je izraženije u sireva proizvedenih s domaćim sirilom.

Razlog smanjenja pH vrijednosti sira u početnoj fazi zrenja je razgradnja laktoze i nastanak mliječne kiseline, a povećanja prema kraju zrenja je nakupljanje alkalnih razgradnih spojeva proteolize i smanjenje udjela mliječne kiseline.

Istraživanjem nije utvrđen značajan utjecaj vrste sirila na iskoristivost u proizvodnji pašskog sira (tablica 4). Međutim, ustanovljen je praktični značaj upotrebe domaćeg sirila zbog postizanja većeg randmana, što

Tablica 5. Koncentracija slobodnih aminokiselina izražena kao g Leu u 100 g suhe tvari paškog sira u različitim fazama zrenja (n = 48)

Statistički pokazatelj	Dani zrenja	Domaće sirilo	Komercijalno sirilo
$\bar{x} \pm SD$	0.	0,09 <sup>a</sup> ± 0,09	0,07 <sup>a</sup> ± 0,13
	45.	0,91 <sup>b</sup> ± 0,28	1,04 <sup>b</sup> ± 0,35
	90.	1,17 <sup>bc</sup> ± 0,26	1,21 <sup>b</sup> ± 0,26
	120.	1,47 <sup>c</sup> ± 0,37	1,49 <sup>b</sup> ± 0,36

Rezultati izražavaju srednju vrijednost sa standardnom devijacijom ( $\pm SD$ )

<sup>a,b,c,d</sup> srednje vrijednosti u istom redu i koloni tablice s različitim oznakama značajno se razlikuju ( $P < 0,05$ )

Tablica 6. Rezultati elektroforetskog određivanja stupnja zrelosti paškog sira

Paški sir proizveden s domaćim sirilom				
Dan i zrenja	0.	45.	90.	120.
$I(\gamma/\beta)$	0,1	0,2	0,4	0,5
$I(\alpha)$	0,0	0,3	0,3	0,4
Suha tvar (%)	55,79	60,90	66,54	69,69
Paški sir proizveden s komercijalnim sirilom				
Dan i zrenja	0.	45.	90.	120.
$I(\gamma/\beta)$	0,1	0,3	0,5	0,5
$I(\alpha)$	0,0	0,3	0,4	0,4
Suha tvar (%)	53,22	60,93	65,22	67,36

Pri odabiru i analiziranju indeksa zrenja sira ( $I(\gamma/\beta)$  i  $I(\alpha)$ ) za određeni uzorak sira potrebno je uzeti u obzir određenu vrijednost suhe tvari, gdje se za: a) ekstra tvrde sireve (>66 % suhe tvari) uzima  $I(\gamma/\beta)$  b) tvrde, polutvrde i meke sireve (<66 % suhe tvari) uzima  $I(\alpha)$

zahtijeva provedbu daljnjih istraživanja na većem broju uzoraka.

Udio slobodnih aminokiselina u paškom siru 120.-og dana zrenja, proizvedenog s domaćim sirilom iznosio je 1,47 g odnosno 1,49 g u siru proizvedenom s komercijalnim sirilom, što je znatno manje od 3,28 g utvrđenih u krčkom siru (Radeljević i sur., 2013). Utvrđeno je značajno povećanje udjela slobodnih aminokiselina od 0. do 120. dana zrenja ( $P < 0,01$ ), s time da je izraženije povećanje zabilježeno u prvih 45 dana zrenja (tablica 5). Prema utvrđenim elektroforetskim indeksima zrenja (tablica 6) može se zaključiti da su

u istim uvjetima zrenja sirevi proizvedeni s komercijalnim sirilom imali kraće trajanje zrenja za 30 dana.

Poznato je da se miris i okus (aroma) sira razvija djelovanjem enzima u sirevima, njege sira te gubitka vode tijekom procesa zrenja. Na razvijanje arome u sirevima proizvedenim od sirovog mlijeka, uz mikrobnu (starter) kulturu, značajnu ulogu imaju i nestarterske bakterije kao i vrsta sirila (Kalit, 2007). U tablici 7 prikazani su rezultati ocjenjivanja senzorske kvalitete zrelih sireva koje je ocijenilo povjerenstvo prema Pravilniku za ocjenjivanje kakvoće mlijeka i mliječnih proizvoda (2004). S obzirom na rezultate

Tablica 7. Ocjena senzorske kvalitete paških sireva (n=2)

Parametar	Domaće sirilo	Komercijalno sirilo
Izgled (max.=2)	2,00	2,00
Boja (max.=1)	0,75	1,00
Konzistencija (max.=2)	2,00	2,00
Prerez (max.=3)	2,75	3,00
Miris (max.=2)	2,00	2,00
Okus (max.=10)	9,50	10,00
UKUPNO:	19,00	20,00

Ocjenjivački raspon unutar pojedinog parametra je 0,25 bodova

ocjenjivanja, može se zaključiti da postoje razlike vezane uz vrstu korištenog sirila, no za relevantne zaključke trebalo bi analizirati veći broj sireva.

#### Zaključak

Predmetnim istraživanjem utvrđeno je da vrsta sirila nije značajno utjecala na ispitivane fizikalno-kemijske parametre, randman te senzorsku kvalitetu paškog sira, ali dobiveni rezultati pokazali su praktične razlike koje bi mogle imati važnost u primjeni, osobito u pogledu utjecaja na brzinu zrenja i na veći randman paškog sira. Rezultati ovih istraživanja ukazuju na potrebu daljnjih istraživanja obuhvaćenih parametara na većem broju ponavljanja. Istraživanja je također potrebno usmjeriti na standardizaciju proizvodnje i primjenu domaćeg sirila u proizvodnji paškog sira u cilju postizanja boljih senzorskih osobina paškog sira. Proizvodnjom domaćeg sirila, ujednačenih svojstava i kvalitete, otvaraju se mogućnosti njegove primjene u većim industrijskim pogonima, što bi moglo doprinijeti i boljoj prepoznatljivosti već poznatog sira.

#### *Influence of the rennet type on the quality of Pag Island cheese (Croatian: Paški sir)*

#### Abstract

The aim of this research was to determine the influence of the type of clotting agent on the physical and chemical parameters, as well as on the sensory quality of the Pag Island cheese, which was manufactured with the home-made (traditional) and the commercial rennet. Pag Island cheeses were produced with the home-made rennet obtained by extracting the enzyme from lamb rennet (*abomasum*), and with the commercially available powdered rennet obtained from the Italian manufacturer "Gruppo Clerici-Sacco". The production included 7 batches of cheese, with two cheeses in each batch. During 120 days of ripening, the cheeses were periodically sampled after 0, 45, 90 and 120 days, in order to determine the content of dry matter, milk fat, proteins, salt concentration and the pH value of cheese. Also, the content of the total free amino acids from water extracts was determined and the analysis of proteins and polypeptides was conducted by urea polyacrylamide gel electrophoresis (UREA-PAGE). The research did not show a significant ( $P > 0.05$ ) influence of the type of tested rennet on the observed parameters of cheese quality and on its yield. However, this research determined practical significance of the home-made rennet on the higher yield and shorter ripening time in the production of Pag Island cheese.

*Key words:* Pag Island cheese, rennet, lamb rennet, lamb abomasum, ewe's milk



## Literatura

1. Andrews, A.T. (1983): Proteinases in normal bovine milk and their action on caseins, *Journal of Dairy Research* 50, 45-50.  
doi: dx.doi.org/10.1017/S0022029900032519
2. Antunac, N. (2004): Sastav i osobine ovčjeg mlijeka i njihov značaj u preradi. Šesto savjetovanje uzgajivača ovaca i koza u Republici Hrvatskoj i Peta izložba hrvatskih ovčjih i kozjih sireva. Zbornik predavanja, 50-69, Poreč.
3. Antunac, N. (2006): Završno izvješće znanstvenog projekta "Fiziološka granica broja somatskih stanica u dijagnozi mastitisa ovaca", za razdoblje 2002.-2006. g. Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet. Zagreb.
4. Antunac, N., Mikulec, N., Bendelja, D., Prpić, Z., Barać, Z. (2008): Karakterizacija i istraživanje kvalitete mlijeka u proizvodnji krčkog sira, *Mljekarstvo* 58, 203-222.
5. Antunac, N., Samaržija D., Mioč, B., Pecina, M., Bendelja, D., Barać, Z. (2011): Utjecaj paragenetskih čimbenika na proizvodnju i kemijski sastav mlijeka Paških ovaca, *Mljekarstvo* 62, 226-233.
6. Antunac, N., Mikulec, N. (2012): Atlas ovčjih sireva zemalja zapadnog Balkana. Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Zagreb.
7. AOAC (2000): Official method 935.43. Chloride (Total) in Cheese. Volhard Method. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.
8. Barać, Z., Mioč, B., Lukač Havranek, J., Samaržija, D. (2008): Paška ovca, hrvatska izvorna pasmina. Novalja, grad Novalja.
9. Bendelja, D., Antunac, N., Mikulec, N., Vnučec, I., Mašek, T., Mikulec, Ž., Havranek, J. (2009): Koncentracija ureje u ovčjem mlijeku, *Mljekarstvo* 59, 3-10.
10. Dukes, H.H. (2004): Digestion, Absorption and Metabolism, U: Duke's Physiology of domestic animals, Twelfth edition. William o. Reece (Ed.). Cornell University, Ithaca, New York, USA, 462-471.
11. FIL-IDF (1997): Sensory evaluation of dairy products by scoring. Reference method, 99C. International Dairy Federation, Brussels.
12. Folkertsma, B., Fox, P.F. (1992): Use of Cd-ninhydrin reagent to assess proteolysis in cheese during ripening, *Journal of Dairy Research* 59, 217-224.  
doi: dx.doi.org/10.1017/S0022029900030466
13. Fox, P.F., Law, J., McSweeney, P.L.H., Wallace, J. (1999): Biochemistry of cheese ripening. U: Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. P.F. Fox (Ed.), Aspen Publ., Gaithersburg, MD, USA, 389-438.
14. Fthenakis, G.C., El-Masannat, E.T.S., Booth, J.M., Jones, J.E.T. (1991): Somatic cell counts of ewes' milk, *British Veterinary Journal* 147, 575-581.  
doi: dx.doi.org/10.1016/0007-1935(91)90029-M
15. Harboe, M., Budtz, P. (1999): The production, action an application of rennet and coagulants. U: Technology of cheesemaking (Edited by Lae, B.A.). Sheffield Academic Press, CRS Press, 33-65.
16. HRN EN ISO (1999): Mlijeko - Određivanje broja somatskih stanica - 3. dio: Fluoro-opto-elektronska metoda. Broj 13366-3. Hrvatski zavod za norme, Zagreb.
17. HRN EN ISO (1999): Sir - Određivanje količine masti - Van Gulikova metoda. Broj: 3433. Hrvatski zavod za norme, Zagreb.
18. HRN EN ISO (2001): Mlijeko i mliječni proizvodi - Određivanje *Salmonella* spp. Broj 6785. Hrvatski zavod za norme, Zagreb.
19. HRN EN ISO (2003): Mlijeko - Određivanje sadržaja dušika - 2. dio: Metode blok digestije. Broj 8968-2. Hrvatski zavod za norme, Zagreb.
20. HRN EN ISO (2008): Sir i topljeni sir - Određivanje udjela suhe tvari (Referentna metoda). Broj 5534. Hrvatski zavod za norme, Zagreb.
21. HRN ISO (2001): Punomasno mlijeko - Određivanje udjela mliječne masti, bjelancevina i laktoze - Uputstva za rad mid-infrared instrumenata. Broj 9622. Hrvatski zavod za norme, Zagreb.
22. HRN ISO (2003): Mikrobiologija hrane i stočne hrane - Horizontalna metoda za brojanje mikroorganizama - Tehnika brojenja kolonija na 30 °C. Broj 4833. Hrvatski zavod za norme, Zagreb.
23. HRN ISO (2004): Mikrobiologija hrane i stočne hrane - Horizontalna metoda za brojenje sulfitreducirajućih bakterija u anaerobnim uvjetima. Broj 15213. Hrvatski zavod za norme, Zagreb.
24. HRN ISO (2008): Mikrobiologija hrane i hrane za životinje - Horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti i brojenje *Enterobacteriaceae* - 2. dio - Metoda određivanja brojenja kolonija. Broj 21528-2. Hrvatski zavod za norme, Zagreb.
25. HRN ISO (2010): Mlijeko i mliječni proizvodi - Brojanje jedinica kvasaca i/ili plijesni koji formiraju koloniju - Brojenje kolonija pri 25 °C. Broj 6611. Hrvatski zavod za norme, Zagreb.
26. ISO (2004): Milk - Quantitative determination of bacteriological quality - Guidance for establishing and verifying a conversion relationship between routine method and anchor method results. No. 21187. International Standard Organization. Geneva, Switzerland.
27. Kalit, S. (2007): Odabir i primjena sirila u tradicionalnoj proizvodnji ovčjih i kozjih sireva. Zbornik predavanja "Deveto savjetovanje uzgajivača ovaca i koza u RH", Sveti Martin, 25.-26. listopada, 62-68.
28. Kaštelan, D. (1962): Upotreba sirila i određivanje njegove jakosti i količine, *Mljekarstvo* 12 (3), 62-66.
29. Lawrence, R.C., Creamer, L.K., Gilles, J. (1987): Texture development during cheese ripening, *Journal of Dairy Science* 70, 1748-1760.  
doi: dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(87)80207-2
30. Lucey, J.A. (2002): Rennet coagulation of milk. U: Encyclopedia of Dairy Sciences. H. Roginski, J.W. Fuquay, P.F. Fox (Eds.), Vol. 1, Academic Press, London, 286-293.
31. Marenjak, T., Poljičak-Milas, N., Stojić, Z. (2004): Svrha određivanja koncentracije ureje u kraljcem mlijeku, *Praxis veterinaria* 52 (3), 233-241.

32. Mayer, H., Rockenbauer, C., Mlcak, H. (1998): Evaluation of proteolysis in Parmesan cheese using electrophoresis and HPLC, *Lait* 78, 425-438.  
doi: dx.doi.org/10.1051/lait:1998441
33. McSweeney, P.L.H. (2004): Biochemistry of cheese ripening, *International Journal of Dairy Technology* 57, 127-144.  
doi: dx.doi.org/10.1111/j.1471-0307.2004.00147.x
34. Microsoft Office Excell (2007): Microsoft, Redmond, Wa, SAD.
35. Mikulec, N. (2010): Promjene sadržaja topljivih peptida i aminokiselina tijekom zrenja Krčkog sira. Disertacija. Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Zagreb.
36. Pavičić, Ž. (2006): Mlijeko od mužnje do sira. *Gospodarski list* d.d., Zagreb.
37. Pengov, A. (2001): The role of coagulase-negative *Staphylococcus* spp. and associated somatic cell counts in the ovine mammary gland, *Journal of Dairy Science* 84, 572-574.  
doi: dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74509-2
38. Pravilnik o kakvoći svježeg sirovog mlijeka (2000): Narodne novine. Broj 102.
39. Pravilnik za ocjenjivanje kakvoće mlijeka i mliječnih proizvoda (2004): Interni pravilnik Zavoda za mljekarstvo Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.
40. Pravilnik o sirevima i proizvodima od sireva (2009): Narodne novine. Broj 20.
41. Radeljević, B., Mikulec, N., Antunac, N., Prpić, Z., Maletić, M., Havranek, J. (2013): Ukupne slobodne aminokiseline u Krčkom siru, *Mljekarstvo* 63 (1), 15-21.
42. RU 4.2.1-KA-10 (2006): Određivanje sadržaja uree u mlijeku metodom kontinuiranog mjerenja. Interna metoda Referentnog laboratorija za mlijeko i mliječne proizvode Zavoda za mljekarstvo. Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Zagreb.
43. Salvadori del Prato, O. (2009): Small dairies, Gruppo 24 ore, Italija. (na talijanskom: I mini caseifici aziendali)
44. SAS (1999): SAS Version 8. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
45. Šabec, S. (1953): O sirilu i sirenju, *Mljekarstvo* 3 (2), 32-34.
46. Vodič za mikrobiološke kriterije za hranu (2011): Ministarstvo poljoprivrede, Zagreb.
47. Vukašinović, Z., Antunac, N., Mikulec, N., Mioč, B., Barać, Z. (2008): Proizvodnja i kvaliteta mlijeka paških ovaca, *Mljekarstvo* 58 (1), 5-20.