Utjecaj udjela i sastava ovčjeg mlijeka na randman, proteolizu i teksturu lećevačkog sira

Matutinović, Siniša

Doctoral thesis / Disertacija

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:204:028725

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**



Repository / Repozitorij:

Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb





Sveučilište u Zagrebu
AGRONOMSKI FAKULTET

Siniša Matutinović

Utjecaj udjela i sastava ovčjeg mlijeka na randman, proteolizu i teksturu lećevačkog sira

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2019.

University of Zagreb
FACULTY OF AGRICULTURE

Siniša Matutinović

Influence of Ratio and Composition of Sheep Milk on Yield, Proteolysis and Texture of Lećevački Cheese

DOCTORAL THESIS

Zagreb, 2019.

Sveučilište u Zagrebu
AGRONOMSKI FAKULTET

Siniša Matutinović

Utjecaj udjela i sastava ovčjeg mlijeka na randman, proteolizu i teksturu lećevačkog sira

DOKTORSKI RAD

Mentor: prof. dr. sc. Samir Kalit, redoviti profesor

Zagreb, 2019.

University of Zagreb
FACULTY OF AGRICULTURE

Siniša Matutinović

Influence of Ratio and Composition of Sheep Milk on Yield, Proteolysis and Texture of Lećevački Cheese

DOCTORAL THESIS

Supervisor: Samir Kalit, PhD, Full Professor

Zagreb, 2019.

Bibliografska stranica

Bibliografski podaci:

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Poljoprivreda
Znanstvena grana: Mljekarstvo
Institucija: Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Zavod za mljekarstvo
Voditelj doktorskog rada: prof. dr. sc. Samir Kalit
Broj stranica: 122
Broj slika: 7
Broj tablica: 13
Broj grafikona: 19
Broj literaturnih referenci: 225
Datum obrane doktorskog rada:
Sastav povjerenstva za obranu doktorskog rada:
1. prof. dr. sc. Boro Mioč
2. prof. dr. sc. Rajka Božanić
3. prof. dr. sc. Krešimir Salajpal

Rad je pohranjen u:
Nacionalnoj i sveučilišnoj knjižnici u Zagrebu, Ulica Hrvatske bratske zajednice 4 p.p. 550, 10 000 Zagreb,
Knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Agronomskog Fakulteta, Svetošimunska cesta 25, 10 000 Zagreb.
Tema rada prihvaćena je na sjednici Fakultetskog vijeća Agronomskog Fakulteta Sveučilišta u Zagrebu održanoj dana 21. listopada 2015. godine, te odobrena na sjednici Senata Sveučilišta u Zagrebu održanoj dana 15. siječnja 2016. godine.

Ocjena doktorskog rada

Doktorski rad obranjen je na Sveučilištu u Zagrebu, Agronomskom fakultetu _____ 2019. godine pred povjerenstvom u sastavu:

1. prof. dr. sc. Boro Mioč, _____
   redoviti profesor u trajnom zvanju, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet

2. prof. dr. sc. Rajka Božanić, _____
   redovita profesorica u trajnom zvanju, Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno - biotehnološki fakultet

3. prof. dr. sc. Krešimir Salajpal, _____
   redoviti profesor u trajnom zvanju, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet

Informacije o mentoru

Samir Kalit rođen je 22. veljače 1969. godine u Zagrebu i prvih pet razreda osnovne škole završio je u Bagdadu (Irak) na arapskom jeziku, a preostalo osnovnoškolsko i srednjoškolsko obrazovanje u Zagrebu. Diplomirao je na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu 1995. godine smjer Stočarstvo. Od tada radi u Zavodu za mljekarstvo na istom fakultetu, prvo kao znanstveni novak, a danas kao izvanredni profesor. Magistrirao je 1999. godine, a doktorirao je 2003. godine obranivši doktorsku disertaciju naslova „Biokemijske promjene tijekom zrenja tounjskog sira". Koordinator je modula „Prerada mlijeka na obiteljskim poljoprivrednim gospodarstvima" na dodiplomskom studiju te modula „Biokemija i tehnologija zrenja sireva" i „Sirarstvo" na diplomskom studiju. Suradnik je na modulima „Mlijeko i mliječni proizvodi" i „Izravna prodaja i prerada na seljačkim gospodarstvima" na preddiplomskom studiju. Također je suradnik na modulu „Istraživanja u mljekarstvu" na poslijediplomskom studiju. Znanstvena i stručna usavršavanja proveo je na IPC Livestock, Oenkerk (Nizozemska), na ETH Swiss Federal Institute of Technology Zürich (Švicarska) i University of Guelph (Kanada). Bio je voditelj ili suradnik na trinaest znanstvenih i stručnih projekata. Izradio je specifikaciju za zaštitu devet hrvatskih sireva: tounjski, lećevački, istarski, preveli, turoš, graničar, kvargl, sir iz mišine i škripavac. Član je Hrvatske mljekarske udruge i uređivačkog odbora časopisa Mljekarstvo. Do sada je recenzirao više od trideset znanstvenih radova, dva sveučilišna udžbenika, dva domaća i dva europska projekta. Aktivno promovira mljekarsku znanost i struku u medijima (radio, televizija i novine). Sudjelovao je u kreiranju većeg broja pravilnika pri Ministarstvu poljoprivrede i šumarstva Republike Hrvatske. Stručni je savjetnik Saveza sirara Hrvatske „SirCro". Do sada je objavio više od stotinu znanstvenih i stručnih radova. Također je izradio više od stotinu i pedeset tehničko-tehnoloških projekata izgradnje uređenja i opremanja mljekarskih pogona u Hrvatskoj. Sudjelovao je na više od pedeset znanstvenih i stručnih skupova gdje je održao četiri pozivna predavanja (dva puta u Kini, jednom u Indiji i Hrvatskoj). Predavao je na tri vanjska sveučilišta: Sveučilište u Mostaru (Bosna i Hercegovina), University of Wisconsin, Madison (Sjedinjene Američke Države) i Mehmet Akif Ersoy University, Burdur (Turska). Član je stručnog povjerenstva za organoleptičko ocjenjivanje sireva u Hrvatskoj, Sloveniji i Bosni i Hercegovini. Bio je tri puta sudac na Svjetskom prvenstvu sireva u Madisonu, Wisconsin (Sjedinjene Američke Države). Kao koautor objavio je sveučilišni udžbenik Sirarstvo, priručnik Praktično sirarstvo, monografiju Oxford Companion to Cheese i priručnik Handbook of Milk of Non-Bovine Mammals.

Zahvala

Zahvaljujem mentoru prof. dr. sc. Samiru Kalitu na brojnim savjetima, strpljenju i velikoj potpori tijekom pisanja ovog rada. Obzirom na zahtjeve i specifičnost mog i mentorovog posla kao i prometnu udaljenost na kojima smo se nalazili potrebno je spomenuti da smo rasprave o ovom radu vodili diljem ljepe naše domovine, od Splita, Lećevice, Dugopolja, Knina, Zadra, Korenice,Velike Gorice do Zagreba. Posebno sam sretan što mi je mentor kolega s prve godine faksa i prije svega prijatelj.

Prof. dr. sc. Bori Mioču hvala na bezrezervnoj pomoći i stručnom vodstvu ne samo tijekom pisanja ovog rada nego i tijekom studiranja.

Prof. dr. sc. Rajki Božanić zahvaljujem na savjetima koji su ovaj rad učinili boljim i razumljivijim.

Prof. dr. sc. Krešimiru Salajpal na velikoj pomoći i potpori tijekom pisanja ovog rada. S Krešom sam se upoznao na prvoj godini post diplomskog studija.

Posebno bih zahvalio kolegi dr.sc. Anti Raki na bezbrojnim korisnim savjetima i genijalnim idejama koje mi je dao tijekom pisanja ovog rada.

Ovo je sigurno mjesto gdje bih zahvalio svim mojim bivšim i sadašnjim kolegama iz Mils Mljekare Split i Meggle Mljekare Bihać koji su mi svih ovih godina bili podrška i od kojih sam naučio bezbroj stvari koje sam primjenio i u ovom radu. Ovaj doktorat je njihov koliko i moj.

Veliko hvala mojim dragim roditeljima Nataši i Željku koji su uvjek bili uz mene i davali mi bezuvjetnu podršku.

Hvala mojoj supruzi Lidiji na bezuvjetnoj ljubavi, razumijevanju i nesebičnoj podršci svih ovih godina, bez tebe ne bih uspio.

A vas dvije Lara i Franka koje moj život činite neizmjerno sretnim, bez vas sve ovo ne bi imalo nikakvog smisla.

Za kraj ću se još prisjetiti dvojice ljudi koji su prilično utjecali na moje životne izbore u svemu tako i na izbor onog čime ću se u životu baviti. Miroslava Jurića i Petra Matutinovića moja dva dida koji su mi još dok sam bio djete pokazali koliko učenje i znanje može utjecati na naše živote.

SAŽETAK

Lećevački sir je sir pastirske tradicije koji pripada skupini tvrdih dalmatinskih i primorskih sireva. U prošlosti se proizvodio na gospodarstvima lećevačkog kraja od punomasnog ovčjeg, kravljeg ili miješanog ovčjeg i kravljeg mlijeka, ovisno o dobu godine i sastavu stada. Danas se proizvodi od miješanog ovčjeg i kravljeg mlijeka.

Cilj ovog rada je utvrditi utjecaj udjela i sastava ovčjeg mlijeka na randman, proteolitičke promjene i promjene teksture lećevačkog sira tijekom zrenja te utjecaj sezone, godine i stada na kemijski sastav, posebice na udio dušičnih sastojaka, fizikalna svojstva i higijensku kvalitetu mlijeka dalmatinske pramenke.

Proizvelo se 15 šarži lećevačkog sira miješanjem različitog udjela ovčjeg i kravljeg mlijeka, pri čemu je udio ovčjeg mlijeka bio kako slijedi: od 35 % do 39 %, od 40 % do 44 % i od 45 % do 50 %. Uzorci su uzimani na početku zrenja, 30., 60. i 90. dan zrenja. Uzorci ovčjeg mlijeka prikupljeni su sa šest farmi u submediteranskom području Hrvatske koje na prirodnim pašnjacima uzgajaju autohtonu pasminu ovaca – dalmatinsku pramenku. Analiza fizikalno-kemijskog sastava mlijeka i sira provedena je standardnim metodama. Proteolitičke promjene tijekom zrenja lećevačkog sira utvrđene su standardnim metodama, dok su svojstva teksture utvrđena metodom testa kompresije.

Trajanje zrenja uzrokovalo je značajno ($P<0,01$) povećanje udjela mliječne masti, proteina i suhe tvari lećevačkog sira. Također je utvrđen značajan ($P<0,01$) porast svih pokazatelja zrenja sira (indeks alfa i indeks beta, udio dušika topljivog u vodi i 12-postotnoj trikloroctenoj kiselini u odnosu na ukupni dušik). Povrh toga, trajanje zrenje uzrokovalo je značajno ($P<0,01$) povećanje napona puknuća (kPa), značajno ($P<0,01$) smanjenje deformacije do točke puknuća (%) i elastičnosti (mm).

Veći udio ovčjeg mlijeka u miješanom mlijeku (od 45 % do 50 %) uzrokovao je značajno ($P<0,01$) smanjenje udjela suhe tvari i mliječne masti te značajno ($P<0,05$) povećanje udjela proteina u lećevačkom siru. Različit udio ovčjeg mlijeka u miješanom mlijeku nije imao utjecaja na prethodno spomenute pokazatelje zrenja lećevačkog sira. Veći udio ovčjeg mlijeka u miješanom mlijeku pokazao je trend smanjenja vrijednosti stvarnog randmana ($P = 0,11$) i iskoristivost masti ($P = 0,074$) u proizvodnji lećevačkog sira. Također, veći udio ovčjeg mlijeka u miješanom mlijeku pokazao je trend ($P = 0,088$) porasta napona puknuća (kPa), značajan ($P<0,05$) porast deformacije do točke puknuća (%) i elastičnosti (mm).

Iz rezultata ovih istraživanja može se zaključiti da udio ovčjeg mlijeka u miješanom mlijeku u proizvodnji lećevačkog sira ne treba biti veći od 39 %, s obzirom na to da veći udio ovčjeg mlijeka ima nepovoljan utjecaj na stvarni randman i iskoristivost masti u proizvodnji lećevačkog sira. Povrh toga, lećevački sir s većim udjelom ovčjeg mlijeka ima manji udio suhe tvari i mliječne masti. Napon puknuća (kPa), deformacija u točki puknuća (%) i elastičnost (mm) bili su veći zbog smanjenog sadržaja masti i istodobno povećanog sadržaja proteina u lećevačkom siru.

Ključne riječi: lećevački sir, miješano mlijeko, ovčje mlijeko, zrenje, randman

Influence of Ratio and Composition of Sheep Milk on Yield, Proteolysis and Texture of Lećevački Cheese

Extended summary

Introduction

Milk and dary products produced from cows, sheep, goats and buffalos are important part of Mediterranean nutrition. However, production of cheese from mixed milk from different dairy animals is common habits in Mediterranean countries. There are examples of cheeses produced from mixed milk, which belong to the groups of fresh, soft, albumin, semi hard, hard cheeses, as well as, cheeses that belong to the group of pasta filata type. Lećevački cheese is pastoral and traditional cheese, which belong to the group of hard Dalmatian and coastal cheeses. In the past, this cheese was produced on the family farms of the area of Lećevica from full fat sheep's milk, cow's milk, or mixed milk, depending on the season and herd composition. Nowadays, it is produced from mixed sheep's and cow's milk. Milk composition of mixed milk depend on many different variability of milk, in fact on composition and physico-chemical properties of different milk types which are used in the production of the cheese.

Hypothesis and aims of the research

The hypothesis of the thesis are:

- Higher ratio of sheep's milk in mixed milk during the production of Lećevački cheese would effect:
  - Higher yield
  - More intensive proteolysis, which would change the stage of casein particles and texture of the cheese during ripening.
- Season, year and flock would effect chemical composition, particularly the ratio of nitrogen compounds, physical properties and hygienic characteristic of sheep milk of Dalmatian Pramenka.

Therefore, the aim of this thesis was to determine the influence of ratio of sheep's milk in mixed milk on cheese yield, proteolytic changes and textural properties of Lećevački cheese during ripening, as well as, influence of season, year and flock on chemical composition, especially on the ratio of nitrogen compounds, physical properties and hygienic quality of sheep's milk of Dalmatian Pramenka.

Materials and methods

It was produced 15 batches of Lećevaćki cheese with different ratio of sheep's and cow's milk. Ratio of sheep's milk was as follow: from 35 % fo 39 %, from 40 % to 44 % and from 45 % to 50 %. Sample of cheeses were taken from the begining, 30., 60. and 90. days of ripening. Sheep's milks were obtained from six family farms in sub-Mediterranean area of Croatia where Dalmatian Pramenka is reared on natural pastures. All farms included in this research breed Dalmatian Pramenka and they were located in the hilly area of Dalmatian hinterland on the altitude between 200 m and 500 m. Milk was analysed by standard methods for physical and chemical properties. Cheese was analysed by standard method for physical and chemical properties. Cheese yield of Lećevački cheese was determined by VanSkyke formula. Proteolytic changes during ripening of Lećevaćki cheese were followed by standard methods that included four indicators of ripening as follow:

- Σγ-CN/β-CN (total relative ratio of γ-CN in β-CN),
- α_{s1}I-CN/(α_{s1}I-CN + α_{s1}-CN) (relative ratio of degraded fragments of α_{s1}-I-CN in sum of α_{s1}-CN i α_{s1}I-CN).

- Percentage of water soluble nitrogen fraction in total nitrogen (WSN/TN)
- Percentage of 12 % three clorine aceticacid soluble nitrogen fraction in total nitrogen (TCASN/TN).

Textural properties were determine by the method of compression test by using textural analyser (TA Plus Lloyd Instruments, UK), which was equiped by 500 N mesearing unit, as a tool surounded probe was used with dyameter of 50 mm. Cheese samples were used through out whole cut surphace cheese zone by spetial auger.

Analysis were perfomed by software program Nexygen plus from which figures following parameters were calculated:

- Fracture stress (kPa)
- Percentage strain at fracture
- Elasticity (mm).

Statistical analysis were conducted by using statistic program SAS (2001). For description of analysed variables, method of descriptive statistics were used (PROC UNIVARIATE). The effect of different ratio of sheep's milk in mixed milk on physico-chemical compositon, proteolysis and textural properties of Lećevački cheese, as well as, the effect of season, year and flock on chemical composition, physical properties and hygienic qualty of milk of Dalmatian Pramenka were tested by analysis of variance (PROC GLM).

Results and conclusions

Higher ratio of sheep's milk (from 40 % to 44 %) increased ratio of fat, protein, casein, lactose and total solids non-fat and total solids, while decreased the ratio of non-protein nitrogen in mixed milk.

Ripening time significantly ($P<0.01$) increased the ratio of milk fat, protein and total dry metter of Lećevački cheese. Moreover, it was found that all ripening indicators (index alpha and beta, water soluble nitrogen and 12% three clorine aceticacid soluble nitrogen in total nitrogen) significantly ($P<0.01$) increased too. Simillarly, ripening time caused significantly ($P<0.01$) increasing of fracture stress (kPa), significant decreasing of percentage strain at break and elasticity (mm).

Higher percentage of sheep's milk in mixed milk (from 45 % fo 50 %) caused significant ($P<0.01$) decreasing of total dry metter and milk fat content, as well as, significant ($P<0.05$) increasing of protein content in Lećevački cheese. Different ratio of sheep's milk in mixed milk did not effect any, previously mentioned, ripening indicators. Higher ratio of sheep's milk in mixed milk decreased actual yield ($P = 0.11$) and fat recovery ($P = 0.074$) in the production of Lećevački cheese. Moreover, higher ratio of sheep's milk in mixed milk increased fracture stress (kPa; $P = 0.088$) and significanlty decreased ($P<0.05$) percentage strain at break and elasticity (mm).

Significant effects were observed for season ($P<0.001$) and flock ($P<0.05$) on all analyzed chemical components of milk. Significan effect of the year was observed on lactose, casein, non-protein nitrogen (NPN; $P<0.01$), protein ($P<0.05$) and somatic cell count (SCC) and bacterial count values (TB; $P<0.05$).

Acording to the results of this investigations it could be concluded that it is not reasonlable to produce Lećevački cheese with sheep's milk in mixed milk in ratio higher then 39 % taking into consideration that higher ratio of sheep's milk in mixed milk decreased actual yield and fat recovery in the production of Lećevački cheese. Moreover, Lećevački cheese with higher ratio fo sheep's milk contained lower total dry metter and milk fat. Fracture stress (kPa), percentage strain at break and elasticity (mm) were higher as a consequence of decreasing of fat content and simultaneously increasing of protein content in Lećevački cheese.

Key words: Lećevački cheese, mixed milk, sheep milk, ripening, yield.

Sadržaj

1. UVOD 1
1.1. Hipoteze i ciljevi istraživanja 3
2. PREGLED DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA 4
2.1. Čimbenici koji utječu na kvalitetu mlijeka 4
2.2. Proizvodnja sireva od više vrsta životinja (od miješanog mlijeka) 7
2.3. Prikladnost mlijeka za preradu u sir 8
2.4. Proizvodnja i kvaliteta sira 11
2.5. Zrenje sira 14
2.5.1. Proteoliza 15
2.5.2. Lipoliza 18
2.6. Randman sira 19
2.7. Tekstura i reologija sira 22
2.7.1. Čimbenici koji utječu na razvoj teksture sira 25
2.7.1.1. Utjecaj sastava i kvalitete mlijeka za sirenje na teksturu sira 26
2.7.1.2. Utjecaj sastava sira na teksturu sira 27
2.7.1.3. Utjecaj pH-vrijednosti i vode na teksturu sira 27
2.7.1.4. Utjecaj zrenja na teksturu sira 18
3. MATERIJAL I METODE RADA 30
3.1. Prikupljanje uzoraka mlijeka 35
3.2. Analiza sastava mlijeka 31
3.3. Tehnologija proizvodnje lećevačkog sira u pokusu 34
3.4. Prikupljanje uzoraka sira 38
3.5. Analize fizikalno-kemijskog sastava sira 39
3.6. Izračunavanje randmana sira 39
3.7. Procjena proteolitičkih promjena u siru tijekom zrenja 40
3.8. Mjerenje teksturnih promjena sira 41
3.9. Statistička obrada podataka 41
4. REZULTATI ISTRAŽIVANJA 43
4.1. Sastav miješanog ovčjeg i kravljeg mlijeka upotrijebljenog za proizvodnju lećevačkog sira 43
4.2. Utjecaj udjela ovčjeg mlijeka na fizikalno-kemijske karakteristike lećevačkog sira 44
4.3. Utjecaj udjela ovčjeg mlijeka na proteolitičke promjene lećevačkog sira 49
4.4. Utjecaj udjela ovčjeg mlijeka na randman lećevačkog sir 51
4.5. Utjecaj udjela ovčjeg mlijeka na teksturu lećevačkog sira 44
4.6. Utjecaj trajanje zrenja na sastav lećevačkog sira 45
4.7. Utjecaj trajanje zrenja na proteolizu lećevačkog sira 46
4.8. Utjecaj trajanja zrenja na teksturu lećevačkog sira 47
4.9. Utjecaj sezone na kemijski sastav, fizikalna svojstva i higijensku kvalitetu mlijeka dalmatinske pramenke 51

4.10. Utjecaj godine na kemijski sastav, fizikalna svojstva i higijensku kvalitetu mlijeka dalmatinske pramenke 60
4.11. Utjecaj stada na kemijski sastav, fizikalna svojstva i higijensku kvalitetu mlijeka dalmatinske pramenke 61
5. RASPRAVA 63
5.1. Sastav miješanog ovčjeg i kravljeg mlijeka upotrijebljenog za proizvodnju lećevačkog sira 63
5.2. Utjecaj udjela ovčjeg mlijeka na fizikalno-kemijske karakteristike lećevačkog sira 64
5.3. Utjecaj udjela ovčjeg mlijeka na proteolitičke promjene lećevačkog sira 67
5.4. Utjecaj udjela ovčjeg mlijeka na randman lećevačkog sira 69
5.5. Utjecaj udjela ovčjeg mlijeka na teksturu lećevačkog sira 71
5.6. Utjecaj trajanja zrenja na sastav lećevačkog sira 72
5.7. Utjecaj trajanje zrenja na proteolizu lećevačkog sira 75
5.8. Utjecaj trajanja zrenja na teksturu lećevačkog sira 77
5.9. Utjecaj sezone na kemijski sastav, fizikalna svojstva i higijensku kvalitetu mlijeka dalmatinske pramenke 78
5.10. Utjecaj godine na kemijski sastav, fizikalna svojstva i higijensku kvalitetu mlijeka dalmatinske pramenke 84
5.11. Utjecaj stada na kemijski sastav, fizikalna svojstva i higijensku kvalitetu mlijeka dalmatinske pramenke 86
6. ZAKLJUČCI 89
7. POPIS LITERATURE 91
Životopis autora 109

Popis kratica, tablica, grafikona i slika

Kratica	Značenje
WSN (% TN)	udio u vodi topljivih frakcija dušika u odnosu na ukupni dušik
TCA-SN (% TN)	udio frakcija dušika topljivih u 12-postotnoj trikloroctenoj kiselini u odnosu na ukupni dušik
Iα	indeks alfa
Iγ/β	indeks beta
$\overline{x}$	srednja vrijednost
sd	standardna devijacija
C.V.	koeficijent varijacije
BSS	broj somatskih stanica
UBM	ukupan broj mikroorganizama
NZ	nema statistički značajne razlike
ST	suha tvar
STBM	suha tvar bez mliječne masti
NPN	neproteinski dušik
TL	točka ledišta
BT	bezmasna tvar
mm	mliječna mast
UM	utjecaj miješanja
TZ	trajanje zrenja
OR	očekivani randman
IM	iskoristivost masti iz mlijeka
IK	iskoristivost kazeina iz mlijeka
IOST	iskoristivost ostale suhe tvari iz mlijeka
MST	mast u suhoj tvari sira

Tablica br.	Naslov tablice	str.
1.	Prosječan sastav ovčjeg, kozjeg i kravljeg mlijeka	5
2.	Testovi za mjerenje teksture hrane	24
3.	Količina oborina (mm) na području obuhvaćenom istraživanjem tijekom tri godine	31
4.	Relativna vlaga (%) na području obuhvaćenom istraživanjem tijekom tri godine	31
5.	Tehnološki proces proizvodnje lećevačkog sira	38
6.	Utjecaj udjela ovčjeg mlijeka na sastav miješanog mlijeka upotrijebljenog za proizvodnju lećevačkog sira (1. razred 35-39 % : 55-51 %; 2. razred 40-44 % : 60-56 % i 3. razred 45-50 : 55-50 %)	43
7.	Utjecaj udjela ovčjeg mlijeka u miješanome mlijeku na fizikalno-kemijski sastav lećevačkog sira	44
8.	Utjecaj udjela ovčjeg mlijeka u miješanome mlijeku na proteolitičke promjene lećevačkog sira	45
9.	Utjecaj udjela ovčjeg mlijeka u miješanome mlijeku na randman lećevačkog sira	46
10.	Utjecaj udjela ovčjeg mlijeka u miješanome mlijeku na teksturu lećevačkog sira	47
11.	Sastav mlijeka dalmatinske pramenke	52
12.	Utjecaj godine na sastav mlijeka dalmatinske pramenke	60
13.	Utjecaj stada na sastav mlijeka dalmatinske pramenke	61

Grafikon br.	Naslov grafikona	str.
1.	Utjecaj trajanja zrenja na udio suhe tvari, mliječne masti i proteina u lećevačkom siru	48
2.	Utjecaj trajanja zrenja na udio soli i mliječne kiseline u lećevačkom siru	48
3.	Utjecaj trajanja zrenja na pH-vrijednost lećevačkog sira	49
4.	Utjecaj trajanja zrenja na indekse alfa i beta	49
5.	Utjecaj trajanja zrenja na postotak u vodi topljivog dušika [WSN (%TN)] i u 12-postotnoj trikloroctenoj kiselini topljivog dušika [TCA-SN (%TN)] u odnosu na ukupni dušik	50
6.	Utjecaj trajanja zrenja na teksturu lećevačkog sira	51
7.	Utjecaj sezone na udio masti u ovčjem mlijeku	53
8.	Utjecaj sezone na udio proteina u ovčjem mlijeku	53
9.	Utjecaj sezone na udio kazeina u ovčjem mlijeku	54
10.	Utjecaj sezone na udio laktoze u ovčjem mlijeku	54
11.	Utjecaj sezone na udio suhe tvari u ovčjem mlijeku	55
12.	Utjecaj sezone na udio suhe tvari bez masti u ovčjem mlijeku	55
13.	Utjecaj sezone na udio neproteinskog dušika (NPN) u ovčjem mlijeku	56
14.	Utjecaj sezone na koncentraciju uree u ovčjem mlijeku	56
15.	Utjecaj sezone na ukupan broj mikroorganizama (UBM $\log_{10}$ cfu/ml) u ovčjem mlijeku	57
16.	Utjecaj sezone na broj somatskih stanica (BSS $\log_{10}$/ml) u ovčjem mlijeku	58
17.	Utjecaj sezone na pH-vrijednost ovčjeg mlijeka	58
18.	Utjecaj sezone na titracijsku kiselost (°SH) ovčjeg mlijeka	59
19.	Utjecaj sezone na točku ledišta (ºC)	59

Slika br.	Naslov slike	str.
1.	Izmuzište na farmi za proizvodnju ovčjeg mlijeka	32
2.	Stado ovaca dalmatinske pramenke na pašnjaku u Sinjskom polju	33
3.	Dalmatinska pramenka	34
4.	Rezanje sirnoga gruša do veličine zrna pšenice	35
5.	Ispuštanje gruša u kalupe	36
6.	Prešanje sira pneumatskom prešom	36
7.	Zrenje lećevačkog sira na drvenim daskama	37

1. UVOD

Proizvodnja autohtonih mliječnih proizvoda koja se koristi lokalnim i tradicijskim resursima važna je za održanje bioraznolikosti nekog područja. Priobalno područje mediteranskog bazena nije pogodno za razvoj intenzivne poljoprivrede jer dominiraju stjenovita tla, paša je vrlo oskudna, a obilježja klime su manje i neredovite padaline, vruća i suha ljeta te hladne zime. Unutrašnjost tih područja najčešće čine velike kontinentalne visoravni na nadmorskoj visini od 1000 m (Boyazoglu i Morand-Fehr, 2001.). U takvim ruralnim područjima autohtoni proizvodi nastali su i razvijani su u skladu s lokalnim raspoloživim resursima (Scintu i Piredda, 2007.). Posebnost autohtonih mliječnih proizvoda odlikuju izražene senzorske varijacije u kvaliteti proizvoda, zemljopisnom podrijetlu sirovina i procesu proizvodnje, a oni su izravno povezani s okolišem, socijalnim i kulturnim običajima određenog područja (Licitra, 2010.). U suvremenoj proizvodnji hrane zaštita bioraznolikosti dobiva veliku važnost. U zajedničkoj poljoprivrednoj strategiji Europske unije naglašeno je da je trajan život čovjeka u ruralnim područjima prijeko potreban kako bi se zaštitili okoliš i bioraznolikost. Rezultat primjene različitih tehnika u proizvodnji autohtonih mliječnih proizvoda, posebice sireva, velika je raznovrsnost proizvoda koji su proizvedeni od mlijeka iste vrste i pasmine životinja na nekom području (Albenzio i sur., 2006; Scintu i Piredda, 2007.). Tako je ovčje mlijeko dalmatinske pramenke sirovina za proizvodnju nekoliko poznatih autohtonih sireva, primjerice lećevačkog sira (Bubić, 1981.),- bračkog sira (Lukač Havranek, 1995.) te sira iz mišine (Tudor Kalit i sur., 2010.). Svaki od tih sireva „nosi“ drukčija obilježja izvrsnosti zbog različite interakcije biljaka, životinja i mikroorganizama u određenom mikrookolišu (Scintu i Piredda, 2007). Uz to, takve je proizvode moguće zaštititi oznakom izvornosti zbog stvaranja identiteta i prepoznatljivosti te postizanja više cjenovne kategorije.

Općina Lećevica nalazi se u zagorskom dijelu Splitsko-dalmatinske županije, čine je naselja Lećevica, Radošić, Kladnjice i Divojevići. Glavni način privređivanja stoljećima je na ovom prostoru bilo stočarstvo, a stočari su oduvijek proizvodili sir za vlastite potrebe i lokalno tržište (Bubić, 1981.). Lećevački sir je sir pastirske tradicije koji pripada skupini tvrdih dalmatinskih i primorskih sireva. U prošlosti ga se proizvodilo na gospodarstvima lećevačkog kraja od punomasnog ovčjeg, kravljeg ili miješanog ovčjeg i kravljeg mlijeka, ovisno o dobu godine i sastavu stada (tj. ovisno o broju ovaca i krava u stadu). Danas se proizvodi od miješanog ovčjeg i kravljeg mlijeka. Provedeno je više istraživanja o utjecaju različitih udjela ovčjeg i kozjeg mlijeka na fizikalno-kemijski sastav, proteolitičke promjene i promjene teksture tijekom zrenja tvrdih sireva. Međutim, sličnih istraživanja o utjecaju različitih udjela ovčjeg i kravljeg mlijeka u proizvodnji tvrdih sireva ima vrlo malo.

Istraživanja o utjecaju miješanja ovčjeg i kravljeg mlijeka provedena su na mekim sirevima i sirevima plastično-vlaknaste teksture. Iz rezultata istraživanja tih sireva može se pretpostaviti da omjer miješanja mlijeka različitih vrsta mliječnih životinja utječe na fizikalno-kemijske i proteolitičke promjene te promjene teksture, kao i na randman tvrdih sireva tijekom zrenja, ali takvih rezultata u literaturi ima malo. Povrh toga, zbog svoje vremenske zahtjevnosti, malo je višegodišnjih istraživanja praćenja utjecaja sezone, godine i stada na varijabilnost sastava ovčjeg mlijeka koje se na području Mediterana i Submediterana u pravilu koristi za proizvodnju tvrdih sireva.

1.1. Hipoteze i ciljevi istraživanja

Predmetnim istraživanjem se pretpostavlja:

- U proizvodnji lećevačkog sira veći udio ovčjega u odnosu na kravlje mlijeko utjecat će na:
  - veći randman
  - veći opseg proteolize koja mijenja stanje kazeinskih čestica, odnosno teksturu sira tijekom zrenja.
- Sezona, godina i stado utječu na kemijski sastav, posebice na udio dušičnih sastojaka, fizikalna svojstva i higijensku kvalitetu mlijeka dalmatinske pramenke.

Da bi se navedene pretpostavke provjerile, potrebno je utvrditi:

- utjecaj udjela i sastava ovčjeg mlijeka na randman, proteolitičke promjene i promjene teksture lećevačkog sira tijekom zrenja
- utjecaj sezone, godine i stada na kemijski sastav, posebice na udio dušičnih sastojaka, fizikalna svojstva i higijensku kvalitetu mlijeka dalmatinske pramenke.

2. PREGLED DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA

2.1. Čimbenici koji utječu na kvalitetu mlijeka

Poznato je da kvaliteta i prepoznatljivost različitih tipova sira izravno ovise o sastavu i karakteristikama mlijeka koje se upotrebljava u njegovoj proizvodnji (Bencini i sur., 2001.; Jaeggi i sur., 2005.; Morand-Fehr i sur., 2007.; Matutinović i sur., 2007.). Kvaliteta mlijeka može biti ocijenjena različitim kriterijima: higijenski, dijetetski, hranidbeni i tehnološki, a aspekti nakon proizvodnje sira uključuju okusne, reološke, gastronomske i hedonističke pokazatelje koji ovise o brojnim čimbenicima i njihovom međuodnosu (Morand-Fehr i sur., 2007.). Scintu i Pireddda (2007.) navode kako su karakteristike mlijeka povezane sa specifičnim sustavima stočarske proizvodnje; od vrste i pasmine životinja (Bertoni i sur., 2001.; De Marchi i sur., 2008.; Bittante i sur., 2012.; Malissiova i sur., 2015.; Wendorff i Kalit, 2017.), zemljišnih i klimatskih uvjeta (Baković, 1970.; Lucey, 1996.; Boyazoglu i Morand-Fehr, 2001.; Ferreira i sur., 2006.; Sevi, 2007.; Licitra, 2010.), sustava držanja te hranidbe životinja koje određuju botanički sastav biljaka, nadmorska visina i razina hranidbe (Bugaud i sur., 2001.; Coulon i sur., 2004.; Morand-Fehr i sur., 2007.; Martini i sur., 2008.; Grimley i sur., 2009.; Bonanno i sur., 2013.; Bergamaschi i sur., 2016.) ali i čimbenici kao što su stadij laktacije (Sevi i sur., 2004.; Jaramillo i sur., 2008.; Mikolayunas i sur., 2008.; Jonkus i Paura, 2011; Marques i sur., 2012.; Kuchtik i sur., 2017.), broj laktacije (Fuertes i sur., 1998; Sevi i sur., 2000; Vrdoljak i sur., 2012; Samkova i sur., 2018.), zatim godina (Hasan 1995.; Ploumi i sur., 1998.; Macciotta i sur., 2005.; Pešinova i sur., 2011.; Selvaggi i sur., 2017.), sezona (McDowell, 1972.; Barron i sur., 2001.; Milani i Wendorff, 2011., Nateghi i sur., 2014.; Pašić i sur., 2016.; Fretin i sur., 2017.) i zdravlje vimena (Albenzio i sur., 2002.; Othmane i sur., 2002.; Bianchi i sur., 2004.; Summer i sur., 2015.; Tančin i sur., 2017.). Fizikalno-kemijska svojstva mlijeka odnose se na njegov sastav za određenu životinjsku vrstu (Park i sur., 2007).

Tablica 1. Prosječan sastav ovčjeg, kozjeg i kravljeg mlijeka (Park i sur., 2007.; Balthazar i sur., 2017.; Tratnik i Božanić, 2012.; Maotsu i sur., 2004.; Mayer i Fiecher, 2012.)

Sastav (%)	Mlijeko		
	Ovčje	Kozje	Kravlje
Mliječna mast	7,2	3,9	3,7
Suha tvar	18,5	12,6	12,5
Laktoza	4,6	4,4	4,7
Proteini	5,8	3,5	3,4
Kazein	4,4	2,4	2,8
α_{s1} – kazein od ukupnog kazeina	36,0	5,6	39,7
α_{s2} – kazein od ukupnog kazeina	14,0	19,2	10,3
β – kazein od ukupnog kazeina	40,0	54,8	32,7
κ – kazein od ukupnog kazeina	10,0	20,4	11,6
Albumini i globulini	1,0	0,6	0,6
Pepeo	0,9	0,8	0,7

Pasmina je najvažniji genetski čimbenik koji utječe na kvalitativne i preradbene odlike mlijeka, a time i na tehnologiju proizvodnje i kvalitetu mliječnih proizvoda (Malacarne i sur, 2006.; De Marchi i sur., 2008.; Martin i sur., 2009.; Bland i sur., 2015.). Podrijetlo mlijeka osobito je važno tamo gdje je moguće povezati proizvod s pasminom, područjem i procesom proizvodnje (De Marchi i sur., 2008.), što je karakteristično za sve tradicijske sireve (Coulon i sur., 2004.). Albenzio i sur. (2006.) utvrdili su da menadžment stada i higijenski postupci tijekom mužnje znatno utječu na sastav mlijeka, a zatim i na sastav proizvedenog sira. Razlike u hranidbi utječu na količinu i sastav proizvedenoga mlijeka, ali i na druga svojstva mlijeka (Grimley i sur., 2009.). Pulina i sur. (2005.) naglašavaju izravnu povezanost između količine i sastava proizvedenog mlijeka i energije dobivene iz obroka životinja. Mikolayunas i sur. (2008.) utvrdili su da se iskoristivost proteina iz krme koju životinje unesu pašom u organizam poboljšava ako se u obrocima poveća unos energije npr. dodavanjem kukuruza. Nadalje, Schiavon i sur. (2016.) utvrdili su da se smanjivanjem sadržaja sirovih proteina u obroku mliječnih krava smanjuju udio proteina u mlijeku i prinos proizvedenoga sira, dok se dodavanjem zaštićene zasićene linolenske kiseline u obroku smanjuju udio mliječne masti u mlijeku i prinos sira. Loša kontrola hranidbe, tipična za proizvodne sustave utemeljene na hranidbi životinja pašom, može u velikoj mjeri ograničiti sposobnost proizvođača u kontroli i promjeni kvalitete

mlijeka (Pulina i sur., 2006). Klimatski ekstremi i hranidbeni disbalans mogu prouzročiti veliki energetski deficit čija će posljedica biti smanjenje udjela proteina i masti, promjena aminokiselina, masnih kiselina i profila minerala mlijeka. Takve promjene uzrokuju smanjenje nutritivnih i tehnoloških karakteristika mlijeka te manji randman sira (Sevi, 2007.). Pulina i sur. (2006.) navode kako se u muznih grla zbog loše hranidbe mogu razviti predispozicije za metaboličke i infektivne poremećaje, što povećava osjetljivost mliječne žlijezde za nastanak upale te tako utječe na povećanje broja somatskih stanica u mlijeku. Proizvodnja mlijeka ujednačenoga sezonskog sastava eliminira sezonske varijacije u proizvodnji sira, u randmanu i u funkcionalnim karakteristikama sira (Lucey, 1996.). Prema Bovenhuis i sur. (2013.), izmjena sastava mliječne masti ili sastava mliječnih bjelančevina također se može upotrijebiti za povećanje prikladnosti mlijeka za proizvodnju različitih mliječnih proizvoda. Autori navode da je povećanje količine kazeina važno za proizvodnju sira i mlijeka u prahu, dok povećanje udjela dugolančanih nezasićenih masnih kiselina poboljšava mazivost maslaca. Ove izmjene se, naravno, postižu uzgojno-selekcijskim radom kod muznih životinja. Kravlje, ovčje i kozje mlijeko imaju različite odnose četiriju glavnih vrsta kazeina, među kojima postoje velike varijacije (posebno sadržaja αs1-kazeina i αs2-kazeina s obzirom na svaku pojedinu životinju i pasminu, zbog pojave genetskih polimorfizama za sve mliječne proteine), što uvelike utječe na njihova preradbena svojstva u proizvodnji sira (Selvaggi i sur., 2014.). Dobro je poznato da su različite genetske varijante (polimorfizmi) mliječnih proteina snažno povezane s proizvodnjom i sastavom mlijeka te s njegovim preradbenim svojstvima (proces zgrušavanja mlijeka i proteolitičko djelovanje; Bovenhuis i sur., 2013.; Selvaggi i sur., 2015.), a to utječe na prinos sira i ekonomičnost njegove proizvodnje (Skeie, 2007.). Kazeini ovčjeg mlijeka imaju velik broj polimorfizama, što ovčje mlijeko čini posebno poželjnim za proizvodnju sira, budući da je isti genotip ovaca u velikoj mjeri povezan s višim sadržajem masti, bjelančevina i laktoze te većim prinosom sira (Balthazar i sur., 2017.). Sastav mlijeka i njegova tehnološka svojstva su važna za proizvodnju ovčjeg mlijeka jer se gotovo sve dobiveno mlijeko prerađuje u sir (Manca i sur., 2016.).

U rubnim, marginalnim brdskim i planinskim područjima, ovce i koze uzgajaju se proizvodnim sustavom koji se temelji na paši. U takvim uzgojnim sustavima proizvodnja mlijeka je isključivo sezonska, a na kvalitetu mlijeka pozitivno utječe hranidba koja se temelji na svježoj travi (Salari i sur., 2016.). Pašnjaci se danas smatraju područjima s nekoliko namjena, a ne jednostavnim izvorom hrane. Područja na kojima se muzne životinje ekstenzivno uzgajaju često se smatraju važnim staništima za mnoge divlje vrste biljaka i životinja, čija bi bioraznolikost trebala biti primjereno očuvana (Molle i sur., 2008.). Pašnjački sustav uzgoja već je stoljećima vrlo važan dio mediteranskog sustava poljoprivredne proizvodnje, a razvijen je kako bi se što bolje iskoristila vrijednost manje

povoljnih brdsko-planinskih predjela i pašnjaka koji se nalaze na tim područjima (Dubeuf i sur., 2010.). U nekim otočnim državama kao što su Velika Britanija, Irska i Novi Zeland, ali i na području Mediterana, mlijeko koje se upotrebljava za proizvodnju visoko kvalitetnih sireva dobiva se pašnim sustavom ne samo od malih preživača, nego i od krava (Lucey, 1996.; Zeppa i sur., 2003.; Tornambe i sur., 2009.; Grimley i sur., 2009.; Bonanno i sur., 2013.; Fretin i sur., 2017.). Uvjeti proizvodnje mlijeka, koji pokazuju veliku varijabilnost u takvim proizvodnim sustavima, od velike su važnosti za kvalitetu sira (Bugaud i sur., 2001.). Sustav hranidbe ovaca i krava u tom se slučaju temelji na paši na prirodnim pašnjacima izvorne submediteranske flore, od kojih su najzastupljenije biljke iz zajednice *Festuco-Koelerietum splendentis* i *Stipo-Salvetium officinalis*. Najvažnija pašnjačka zajednica submediteranske vegetacijske zone Dalmatinske zagore *je Festuco-Koelerietum splendentis*, koju čini niz kvalitetnih pašnjačkih vrsta (Rogošić, 2000.). Izvorne pasmine mliječnih životinja uzgajane tradicijskim sustavom u kojemu se hranidba temelji gotovo isključivo na korištenju prirodnih pašnjaka, često bez dodatka krepkih krmiva, daju mlijeko posve različitog sastava od mlijeka specijaliziranih pasmina (Bonanno i sur., 2013.). Svaki tradicijski sir povezan je s područjem svog podrijetla i prevladavajućim pedo-klimatskim uvjetima tog područja (Alichanidis i Polychroniadou, 2008.). Budući da pedo-klimatski uvjeti određuju floru i, naravno, botanički sastav trava na kojima se temelji uzgoj izvornih vrsta životinja držanih zbog proizvodnje mlijeka, prirodno je da se lokalni tradicijski sirevi proizvode od mlijeka izvornih pasmina (Alichanidis i Polychroniadou, 2008.).

2.2. Proizvodnja sireva od više vrsta životinja (od miješanog mlijeka)

Mlijeko i mliječni proizvodi od kravljeg, ovčjeg, kozjeg i bivoljeg mlijeka važan su dio prehrane mediteranskog stanovništva (Selvaggi i sur., 2014.). U mediteranskim zemljama uobičajena je proizvodnja sireva od mlijeka više vrsta životinja. Različite vrste sireva proizvode se od miješanog mlijeka više vrsta životinja u različitim omjerima; svježi, meki, albuminski, polutvrdi, tvrdi sirevi i sirevi iz skupine pasta filata... Neki od njih su Teleme, Graviera, Kasseri, Kopanisti i Kefalotiri iz Grčke, Caciotta D' Urbino, Murazzano, Fossa, Robiola di Roccaverano, Castelmagno iz Italije, Cabrales, Mahon, Hispanico i Iberico iz Španjolske, Halloumi s Cipra, Picante, Amarelo i Rabacal iz Portugala, lećevački sir i lička basa iz Hrvatske (Bubić, 1981.; Economides i sur., 1987.; Lukač Havranek, 1995.; Freitas i sur., 1997.; Gobbeti i sur., 1999.; Freitas i Malcata, 2000.; Gobbeti 2004.; Medina i Nuñez, 2004.; Alichanidis i Polychroniadou, 2008.; Campos i sur., 2011.; Pirisi i sur., 2011.; Bertolino i sur., 2011.; Martinez i sur., 2011.; Alonso i sur., 2012.; Nega i

Moatsou, 2012.; Pappa i sur., 2012.). Mnogi od njih visoke su kvalitete i osobnosti, u njima su sadržani stoljetna mudrost i iskustvo, a odraz su zemlje, klime, kulture i ljudi koji su ih stvorili (Martinez i sur., 2011.). Temizkan i sur. (2014.) navode kako se mnoge vrste sireva proizvode od različitih vrsta mlijeka, uključujući kravlje, ovčje i kozje, ili od mješavine dviju ili triju vrsta, ponajprije zbog nedostatka ovčjeg i kozjeg mlijeka tijekom čitave godine. Teško je tijekom godine održati ujednačen sastav sireva proizvedenih od miješanoga ovčjeg i kravljeg mlijeka jer su proizvodnja i prerada ovčjeg mlijeka na vrhuncu u proljeće, zatim slijedi znatno smanjenje početkom ljeta te potpuni izostanak ili mala dostupnost ovčjeg mlijeka od kolovoza do listopada, odnosno studenoga (Freitas i Malcata, 2000.; Alonso i sur., 2012.; Todaro i sur., 2015.). Isto tako, udio kravljeg i ovčjeg mlijeka odnosno kozjeg i ovčjeg mlijeka koji se upotrebljavaju za proizvodnju nekih miješanih sireva osjetno varira od stada do stada, što je vjerojatno rezultat sastava miješanih stada muznih životinja (Bubić, 1981.; Freitas i Malcata, 1996.). Park i sur. (2007.) smatraju da bi se u sastavu kravljeg mlijeka trebale događati minimalne promjene tijekom godine budući da skupno mlijeko od različitih stada krava ne bi trebalo umnogome varirati između sezona jer je riječ o cjelogodišnjem uzgoju. Suprotno navedenome, zbog sezonskog ritma dobivanja mlijeka od malih preživača postoje velike varijacije između ljeta i zime, pa je teško održati standardizirani sastav sira proizvedenog od mlijeka malih preživača tijekom godine (Bubić, 1981.; Campos i sur., 2011.).

Sastav sira proizvedenog od mlijeka različitih vrsta umnogome ovisi o različitim promjenjivim sastojcima mlijeka, odnosno o sastavu i fizikalno-kemijskim svojstvima različitih vrsta mlijeka koje se koriste za njegovu proizvodnju, osobito o udjelu proteina i kazeina u mlijeku (Fox i McSweeney, 2004.; Park i sur., 2007.; Mayer i Fiechter, 2012.; Zedan i sur., 2014.), vrsti kazeina u mlijeku koje se upotrebljava za proizvodnju sira, zatim o udjelu masti, osobito o profilu masnih kiselina te o sadržaju soli, osobito kalcija (Fox i McSweeney, 2004.; Park i sur., 2007.).

2.3. Prikladnost mlijeka za preradu u sir

Proizvodnja kvalitetnog sira ponajprije ovisi o osiguravanju mlijeka dobre kakvoće s kemijskog, enzimatskog i mikrobiološkog stanovišta (Fox i Cogan, 2004.). Antunac (2004.) navodi da kvalitetu mlijeka za sirenje određuju njegov kemijski sastav (udio masti, bjelančevina, kazeina i suhe tvari bez masti), fizikalna svojstva (kiselost, pH-vrijednost i točka ledišta), higijenska kvaliteta (broj somatskih stanica i ukupan broj mikroorganizama), organoleptička svojstva (izgled, miris, boja i okus) i neprisutnost inhibitornih tvari u mlijeku (antibiotici, ostaci deterdženta i sredstava za dezinfekciju). Autor navodi kako proizvodnja

sira ne ovisi samo o njegovu makro sastavu, npr. o udjelu masti, bjelančevina, laktoze i mineralnih tvari, već i o prisutnosti pojedinih sastojaka kao što su masne kiseline, udio pojedinih frakcija kazeina, albumina i globulina. Kemijski sastav sirovog mlijeka, s udjelom masti i bjelančevina na prvom mjestu, ima dvostruku važnost u razvijenoj mliječnoj industriji, kako za proizvođače mlijeka, tako i za mljekare odnosno prerađivače. Cijena mlijeka se određuje prije svega na temelju udjela masti i bjelančevina (Merćep i sur., 2010.). Sastav mlijeka preuzet od proizvođača mlijeka važan je za proizvođače sira ne samo kao trošak osnovne sirovine, već i zbog planiranja i realizacije prinosa sira, odnosno stupnja iskoristivosti sirovine (Merćep i sur., 2010.). Sir proizveden od mlijeka s manjim udjelom masti, proteina i bezmasne suhe tvari ima manji randman od sireva proizvedenih s većim udjelom masti, proteina i bezmasne suhe tvari (Tuta, 2011). Stoga kemijski sastav mlijeka ima odlučujući učinak na tijek tehnološke proizvodnje te organoleptička i teksturna svojstva zrelog sira (Coulon i sur., 2004.; De Marchi i sur., 2008.; Merćep i sur., 2010.; Bonnano i sur., 2013.). Kemijski sastav mlijeka, osobito sadržaj kazeina, masti, kalcija i pH-vrijednost mlijeka, imaju velik utjecaj na nekoliko aspekata proizvodnje sira, ponajprije na koagulacijsku sposobnost sirila, čvrstoću gela, sinerezu gruša te stoga na sastav i prinos sira (Fox i Cogan, 2004.). Prema Katzu i sur. (2015.), sirarska industrija ovisi o kvaliteti mlijeka jer je cilj postići visok prinos, željenu teksturu i okus sira. De Marchi i sur. (2008.) smatraju sastav mlijeka i njegova koagulacijska svojstva najvažnijim čimbenikom uspješne ekonomije mliječnog sektora. Sirovo mlijeko je prilično promjenjiva sirovina, podvrgnuta nizu procesa kojima je cilj standardizacija i optimizacija svojstava mlijeka za sirenje (Fox i Cogan, 2004.).

Kao što je već navedeno, prikladnost mlijeka za preradu u sir mijenja se s mnogim čimbenicima koji uključuju, osim prethodno navedenog, i kondiciju životinje, endokrini status i zdravlje grla (Bertoni i sur., 2001.; Lucas i sur., 2006.; Bland i sur., 2015.). Na prikladnost mlijeka za preradu u sir utječe prisutnost mikrobnih i kemijskih tvari koje obogaćuju (izvorna mikroflora, kalcijev klorid i lizozim) ili smanjuju (nepoželjni ili patogeni mikroorganizmi, antibiotici, pesticidi i mikotoksini) kvalitetu mlijeka i sira (Bertoni i sur., 2001.; Skeie, 2007.). Zdravo vime povoljno djeluje na dušične sastojke mlijeka i kvalitetu proteina, a preradbene odlike mlijeka iz zdravog vimena su mnogo bolje (Bianchi i sur., 2004.). Mlijeko koje se upotrebljava za proizvodnju sira mora biti dobre mikrobiološke kvalitete, s niskim ukupnim brojem bakterija i malim brojem psihrotrofnih bakterija, čije su proteaze i lipaze otporne na toplinu i mogu smanjiti randman i uzrokovati neželjene okuse u zrelom siru (Skeie, 2007.). Dobra higijenska kvaliteta sirovog mlijeka i ispravni uvjeti skladištenja mlijeka ograničavaju aktivnosti indogenih i endogenih enzima povezanih sa somatskim stanicama i mikroorganizmima mlijeka (Albenzio i sur., 2010.). Svojstva mikrobnih populacija sirovog mlijeka u trenutku prerade odlučujuće su za pojavu kvarenja,

vrijeme održivosti, organoleptičku kvalitetu i randman mlijeka i mliječnih proizvoda (Samaržija i sur., 2012.). Autori navode da hlađenje i dulja pohrana sirovog mlijeka na niskim temperaturama, uobičajeni u današnjim uvjetima proizvodnje, pogoduju rastu psihrotrofnih bakterija koje karakterizira sposobnost tvorbe ekstracelularnih i/ili intracelularnih termostabilnih enzima (proteaze, lipaze, fosfolipaze) te mogu uzrokovati kvarenje mlijeka i negativno utjecati na kvalitetu sirovog mlijeka i gotovih mliječnih proizvoda.

Prema Samaržija i sur. (2012.) , prisutnost psihrotrofnih bakterija koje se nakon dva dana hladne pohrane mlijeka brzo povećavaju do razine kontaminiranosti od 10^5 do 10^8 cfu/ml , u velikoj mjeri umanjuje sposobnost mlijeka za preradu u sir, a posljedice su:

- destabilizacija prirodnog plazminskog sustava mlijeka, oslobađanje plazmina i plazminogena iz kazeinske micele,
- vrijeme zgrušavanja mlijeka i kvaliteta gruša uvelike su promijenjeni, umanjena je kvaliteta sirnoga gruša,
- smanjuje se prinos gruša,
- termostabilni proteolitički enzimi ostaju u sirnom grušu te poslije tijekom zrenja uzrokuju atipičan okus i pogreške u teksturi polutvrdih i tvrdih sireva,
- neželjena lipoliza nastavlja se do kraja zrenja te je ona uglavnom odgovorna za neželjen okus, užeglost polutvrdih i tvrdih sireva.

Varijabilnost u sastavu sireva proizlazi iz činjenice da je tehnologija prerade podložna mnogim varijacijama u odnosu na vrstu upotrijebljenog mlijeka i njegovu standardizaciju na određeni omjer kazeina i masti, stupanj zrenja i starost sira koji se stavlja na tržište (Alichanidis i Polychroniadou, 2008.). Niro i sur. (2014.) navode da djelomična zamjena kravljeg mlijeka ovčjim ili kozjim mlijekom u proizvodnji sira pasta filata utječe na fizikalno-kemijska, mikrobiološka i senzorska svojstva konačnog proizvoda. Istražujući utjecaj stada, pasmine, jedinke, broja i stadija laktacije na preradbena svojstva u proizvodnji sira od kozjeg mlijeka, Vacca i sur. (2018.) utvrdili su da je pasmina najvažniji izvor varijacija gotovo svih preradbenih svojstava u proizvodnji sira; sastav mlijeka, udio kazeina i masti u mlijeku, iskoristivost hranjivih tvari, randman sira i učinkovitost proizvodnje sira. U usporedbi s alpskim pasminama koza, četiri sredozemne pasmine su u prosjeku proizvodile manje mlijeka i sira dnevno, ostvarile su veći stvarni i teorijski randman sira, kao i veću iskoristivost hranjivih tvari u sir. Martin i sur. (2009.) utvrdili su da miješanje mlijeka različitih pasmina krava značajno utječe na fizikalno-kemijske i preradbene karakteristike mlijeka te stoga i na fizikalno-kemijska, proteolitička i teksturna svojstva proizvedenoga sira.

Kvaliteta paše može utjecati na senzornu kvalitetu sira uglavnom putem modifikacija svojstava mlijeka (Bugaud i sur., 2001.). Martini i sur. (2008.) utvrdili su da mlijeko proizvedeno u zimskom razdoblju i u brdovitim predjelima ima najbolja fizikalno-kemijska i nutritivna svojstva. Autori navode kako se tehnološke karakteristike mlijeka mogu poboljšati različitim tehnikama proizvodnje sira u odnosu na karakteristike mlijeka. I Fox i Cogan (2004.) navode da se varijabilnost u sastavu mlijeka može poništiti manipulacijom nekih procesnih parametara u postupku proizvodnje sira. Proces proizvodnje sira može modificirati sastav mlijeka, posebno sastojke od nutritivnog interesa kao što su masne kiseline, vitamini, mineralne tvari i antioksidansi na više ili manje bitan način, ovisno o parametrima proizvodnje i tako utjecati na sastav sira (Lucas i sur., 2006.). Lane i sur. (2001.) utvrdili su da dodavanje starter kultura pri temperaturi od 8 °C do 16 °C tijekom 24 sata, bez opsežne acidifikacije, znatno utječe na pH-vrijednost, vrijeme zgrušavanja i koncentraciju slobodnih aminokiselina u mlijeku koje se upotrebljava za proizvodnju sira. Toplinska obrada mlijeka je važan proces koji utječe na kvalitetu mlijeka, a osobito na fizikalno-kemijska i koagulacijska svojstva mlijeka (Raynal-Ljutovac i sur., 2007.). Autori navode kako je kozje i ovčje mlijeko manje stabilno na toplinsku obradu od kravljeg mlijeka te da ih karakterizira manja koloidna stabilnost u odnosu na kravlje mlijeko. S druge strane, nepravilna termička obrada mlijeka može uzrokovati nepotpunu inaktivaciju enzima mlijeka, a posljedica toga može biti razvoj užeglog okusa zbog nepotpune inaktivacije lipaza odnosno lipolize, i razvoj gorkog okusa zbog nepotpune inaktivacije proteinaza odnosno proteolize. Osim toga može se stvoriti gel, odnosno mogu koagulirati i sedimentirati proteini u mlijeku (Raynal-Ljutovac i sur., 2007.).

2.4. Proizvodnja i kvaliteta sira

Van Hekken i sur. (2013.) navode da je sir koncentrirani proteinski matriks u kojemu se nalaze zarobljeni mliječna mast i voda, a količina proteina i vode u matriksu povećava se kako se količina masti smanjuje. S obzirom na dobru kakvoću mlijeka, cilj proizvodnje sira je kontinuirana proizvodnja sira željenog i karakterističnog okusa, teksture i funkcionalnosti uz najviši mogući prinos te što jeftinije i što je brže moguće, a prvi zadatak je proizvesti gruš željenoga kemijskog sastava sa željenom mikroflorom. Ako se ti kriteriji ne ispune tijekom zrenja, gruš se neće razviti u sir karakterističnog okusa, teksture i funkcionalnosti (Fox i Cogan, 2004.). Povezanost između fizikalno-kemijskih i teksturnih svojstava sira tijekom zrenja važna je za modeliranje i optimizaciju tehnološkog procesa proizvodnje sira (Andronoiu i sur., 2015.). Kako ističu Fox i Cogan (2004.), ključni koraci u proizvodnji sira su: zakiseljavanje, koagulacija, sinereza/dehidracija i soljenje.

Lane i sur. (2001.) navode da je zakiseljavanje mlijeka i nakon toga sirnoga gruša prvi biokemijski fenomen transformacije mlijeka u sir. Zakiseljavanje i posljedično tome snižavanje pH-vrijednosti utječe na gotovo sve aspekte proizvodnje sira, a time i na konačni sastav sira i njegovu kvalitetu (Freitas i Malcata, 2000.). Utvrđeno je da okolišni čimbenici definirani tehnologijom sira utječu na rast i biokemijske aktivnosti bakterija mliječne kiseline u siru (Albenzio i sur., 2010.). U proizvodnji većine vrsta sireva u mlijeko se dodaju odabrani sojevi bakterija mliječne kiseline koje fermentiraju laktozu u mliječnu kiselinu i smanjuju pH-vrijednost (Albenzio i sur., 2010.) te tako poboljšavaju aktivnost stvaranja gruša, otjecanje sirutke iz gruša i utječu na okus sira (Skeie, 2007.; Alvarenga i sur., 2008.). Međutim, prisutnost startera mliječne kiseline ima važnu ulogu u očuvanju sira zbog konkurencije mikroorganizama za supstrat i zbog kontinuirane proizvodnje kiseline (Andreotti Dagostin i sur., 2013.). Smanjenje koncentracije laktoze uzrokovano rezanjem, dogrijavanjem i prešanjem, što olakšava istiskivanje sirutke i povećava učinak dogrijavanja na bakterije mliječne kiseline, ograničava nakupljanje mliječne kiseline u sirnom grušu (Nega i Moatsou, 2012.).

Proizvodnja sira je proces separacije i koncentracije sastojaka mlijeka prisutnih u koloidnoj disperziji (kazein, kalcijev fosfat i mliječna mast), koji se uglavnom zadržavaju u proizvodu, dok se sastojci topljivog oblika (proteini sirutke, laktoza i neki minerali) odvajaju sirutkom (Daviau i sur., 2000.b). Zgrušavanje je ključna faza prijelaza mlijeka u sir, koje označava kemijsku i fizikalnu modifikaciju kazeinskih micela djelovanjem proteolitičkih enzima i/ili bakterija mliječne kiseline te uvjetuje nastajanje trodimenzionalne proteinske mreže nazvane koagulum (gruš), gel, odnosno želatinozna masa (Havranek i sur., 2014.), a nakon formiranja gruša slijedi sinereza i odvajanje sirutke (Daviau i sur., 2000.a). Kazeini su presudni za enzimatsku koagulaciju mlijeka, a njihova hidrolitička razgradnja vrlo je važan dio zrenja sira (Moatsou i sur., 2004.). Budući da kazeini imaju ključnu ulogu u zgrušavanju mlijeka i određuju primarnu strukturu sirnoga gruša, zgrušavanje mlijeka može utjecati na sastav, teksturu i reologiju sira (Selvaggi i sur., 2014.). Oblikovanje gruša je važan korak u proizvodnji sira jer određuje sastav i strukturu sira, iako se bitne promjene događaju poslije, tijekom prešanja, soljenja i zrenja (Daviau i sur., 2000.a). Enzimatsko zgrušavanje događa se u nekoliko faza pa postoji velik broj čimbenika koji na njega utječu. Na koagulacijska svojstva mlijeka utječu genetski čimbenici kao što su vrsta i pasmina životinje, genetske varijante proteina i heritabilitet te okolišni čimbenici – klima, sezona, stadij laktacije, sustav uzgoja, hranidba i uvjeti mužnje (Bittante i sur., 2012.).

Osim fizikalno-kemijskih svojstava mlijeka, na koagulacijska svojstva mlijeka mogu utjecati tehnološki postupci u obradi mlijeka, koncentracija enzima i temperatura sirenja (Havranek i sur., 2014.). Proces separacije odnosno dehidracije reguliran je

opsegom i kombinacijom pet operacija: rezanja gruša, dogrijavanja, miješanja, presanja i soljenja, uz važan utjecaj kemijskog sastava mlijeka (Fox i McSweeney, 2004.). Nadalje, razina vode i soli, pH-vrijednost i mikrobiologija sira reguliraju i kontroliraju biokemijske promjene koje se pojavljuju tijekom zrenja i stoga određuju okus, aromu i teksturu gotovog proizvoda (Fox i McSweeney, 2004.).

Kvalitetu sira određuju njegov sastav, osobito sadržaj vode, koncentracija soli (poželjno izražena kao udio soli u vodenoj fazi sira – % S/V), pH-vrijednost, voda u bezmasnoj suhoj tvari i udio masti u suhoj tvari (Fox i Cogan, 2004.). Vodu se smatra korisnim pokazateljem kvalitete sira (Albenzio i sur., 2010.). Sadržaj soli utječe na funkcionalnost sira bilo izravno ili neizravno posredovanjem drugih promjena u sastavu sira, a također može utjecati i na strukturu sira (Pastorino i sur., 2003.). Hoće li soljenje smanjiti ili povećati sadržaj vode u siru ovisi o količini dodane soli, načinu soljenja i vjerojatno o kemijskom sastavu sira (npr. nizak ili visok sadržaj kalcija) (Pastorino i sur., 2003.).

Kirin (2016.) zaključuje da kvalitetu sira određuju, pojedinačno ili u interakciji, sljedeći čimbenici:

- zakonski propisi kvalitete (sastav, zdravstvena ispravnost, označavanje proizvoda)
- senzorička kvaliteta (oblik, boja, konzistencija, miris i okus proizvoda),
- prehrambeno-fiziološka kvaliteta (hranjiva vrijednost, štetne tvari, dodatci, esencijalne i balastne tvari u proizvodu)
- tehnološka kvaliteta (posebne uporabne i prehrambene pogodnosti proizvoda)
- socio-ekološka kvaliteta (uzgoj životinja, korištenje zemlje, gospodarenje otpadom i dr.).

Ovdje svakako treba naglasiti teksturu sira, koja je jedno od najvažnijih fizikalnih svojstava sira koju kupac među prvima ocjenjuje kada kupuje proizvod (Rohm i Jaros, 2011.).

Na kvalitetu i karakteristike sira, osim, naravno, različitih postupaka u obradi mlijeka, uvelike utječu čimbenici kao što su izvorna ili dodana mikrobna flora, vrsta sirila i fizikalno-mehanički postupci koji se primjenjuju tijekom proizvodnje (Bertoni i sur., 2001.; Ferreira i sur., 2006.; Calvo i sur., 2007.), te uvjeti zrenja kao što su trajanje zrenja, temperatura i relativna vlažnost zraka u zrioni (Berdague i Grappin, 1987.; Irigoyen i sur., 2002.; Ferreira i sur., 2006.). Buffa i sur. (2003.) utvrdili su da sirevi proizvedeni od pasteriziranog mlijeka imaju znatno manji udio vode u bezmasnoj suhoj tvari sira za razliku od sireva proizvedenih od sirovog mlijeka, dok su Rynne i sur. (2004.) utvrdili kako se povećanjem temperature pasterizacije sa 72 ºC na 87 ºC značajno povećava udio vode

u bezmasnoj suhoj tvari sira. Suprotno navedenome, Mucchetti i sur. (2009.) navode kako primjena visoke temperature u jednom koraku u proizvodnji sira Pannerone, može promjenom sastava mikrobne populacije sira biti uzrok ključne promjene u kemijskom sastavu sira. Elgaml i sur. (2017.) utvrdili su da odnos između glavnih sastojaka sira utječe na randman i sastav sira Halloumi proizvedena od različitih vrsta mlijeka.

2.5. Zrenje sira

Zrenje sira vrlo je složen biološki, biokemijski i kemijski proces koji se određuje i usmjerava sastavom i mikroflorom sirnoga gruša; ako je to ponovljivo i dosljedno, trebalo bi biti moguće kontinuirano proizvoditi sir odlične i ujednačene kvalitete (Fox i Cogan, 2004.) te poželjnog i karakterističnog okusa i teksture (Albenzio i sur., 2010.). Zrenje sira složen je proces koji čine kemijske i biokemijske reakcije, gubitak vode, difuzija soli te promjene u pH-vrijednosti i mikrobnoj populaciji (Buffa i sur., 2003.). Tijekom zrenja voda ima dominantnu ulogu jer je medij u kojemu se te reakcije odvijaju (Buffa i sur., 2003.). Voda i aktivitet vode pokazuju znatne razlike tijekom zrenja sira i uvelike utječu na proteolitičku aktivnost u siru (Pinho i sur., 2004.), odnosno na intenzitet proteolitičkih promjena u siru (Kalit i sur., 2016.). Kako sirevi zriju, proteinski matriks postaje puno gušći i kompaktniji (Buffa i sur., 2003.). Ovi rezultati ukazuju na to da se gubitak vode u siru tijekom zrenja također kontrolira unutarnjim profilima vode u siru, koji se odnose na mikrostrukturu sirnog matriksa, a ne samo na vanjske uvjete zrenja (Buffa i sur., 2003.). Biokemijski putovi katalizirani su metaboličkim djelovanjem enzima koji potječu iz mlijeka i koagulanta, te iz starterskih i nestarterskih bakterija mliječne kiseline (Albenzio i sur., 2010.).

Tijekom zrenja nekoliko biokemijskih procesa (prije svega proteoliza, glikoliza i lipoliza) te sporo otapanje zaostalog koloidnog kalcijeva fosfata mijenjaju gruš iz gumaste, mekane konzistencije u zreli sir karakterističnog okusa, teksture i arome (Lucey i sur., 2003.). Proteoliza i lipoliza su dva primarna procesa u zrenju sira tijekom kojih se događaju različite kemijske, fizikalne, mikrobiološke, teksturne i reološke promjene (Raynal-Ljutovac i sur., 2007.). Udio vode u siru određuje brzinu i smjer biokemijskih promjena tijekom zrenja, a time i konačna svojstva okusa, mirisa i arome sira. Voda je u bezmasnoj suhoj tvari sira dobar pokazatelj međudjelovanja vode i kazeina u enzimatskoj razgradnji tijekom zrenja sira (Havranek i sur., 2014.). Biokemijske promjene koje se događaju tijekom zrenja mogu biti grupirane u primarne procese koji uključuju metabolizam preostale laktoze, laktata i citrata odnosno glikolizu, zatim lipolizu i proteolizu. Ove primarne procese slijede sekundarni biokemijski procesi, vrlo važni za

razvoj mnogih hlapljivih sastojaka, a uključuju metabolizam masnih kiselina i aminokiselina (McSweeney, 2004.). Tijekom zrenja sira osjetno se mijenjaju fizikalno-kemijska svojstva sira i pokazatelji proteolize (Martin i sur., 2009.). Istodobno tekstura sira postaje manje elastična s razvijenom mikrostrukturom, uz to okus sira postaje postojaniji i slaniji, intenzitet arome se povećava, a miris postaje izraženiji. Ove promjene povezane su s katabolizmom šećera, proteina i masti i sve su izraženije kako zrenje napreduje (Martin i sur., 2009.). Značajne promjene u sastavu suhe tvari, masti, soli, proteina i topljivog dušika događaju se tijekom zrenja sira (Kesenkas i sur., 2012.). Udio suhe tvari u siru kontinuirano se povećava tijekom zrenja, a ponajviše ovisi o temperaturi i relativnoj vlažnosti zraka u zrioni (Irigoyen i sur., 2002.). Temperatura zrenja najviše utječe na stupanj zrenja i kvalitetu sira (Fox i Cogan, 2004.). Glavne enzimske aktivnosti koje su uključene u zrenje sira dolaze od preostalog koagulanta, indogenih proteinaza mlijeka i bakterijskih proteolitičkih enzima (Nega i Moatsou, 2012.). U mnogim vrstama sireva, početnu hidrolizu kazeina uzrokuje koagulant sirila, a u manjoj mjeri plazmin i možda proteinaze somatskih stanica (npr. katepsin D), što rezultira stvaranjem velikih (vodonetopljivih) i srednjih (vodotopljivih) peptida koji se zatim razgrađuju s pomoću koagulanta i enzima starterske i nestarterska flore sira (McSweeney i Sousa, 2000.). Proizvodnju malih peptida i slobodnih aminokiselina uzrokuje djelovanje mikrobnih proteinaza i peptidaza (McSweeney i Sousa, 2000.).

2.5.1. Proteoliza

Mikrookoliš sira vrlo je dinamičan s obzirom na to da enzimi iz mlijeka, starter kulture i dodani koagulant mijenjaju različite sastojke mlijeka (Van Hekken i sur., 2013.). Proteoliza se odvija postupno tijekom zrenja sira, promjenom proteinskog matriksa i ima ključnu ulogu u stvaranju željene teksture, arome i okusa većine sireva (Marcelino Kongo i sur., 2009.; Ferrandini i sur., 2011.; Van Hekken i sur., 2013.; Andronoiu i sur., 2015.). Proteoliza je najsloženiji i u većini sireva najvažniji biokemijski proces koji se događa tijekom zrenja sireva (McSweeney, 2004.; Marcelino Kongo i sur., 2009.; Albenzio i sur., 2010.), a izaziva promjene u strukturi sira i pridonosi omekšavanju teksture sira tijekom zrenja zbog hidrolize kazeinskog matriksa i smanjenja aktivnosti vode vezane s karboksilnim i amino skupinama peptida (Nega i Moatsou, 2012.). Sadržaj kazeina u matriksu sira, koji postaje supstrat za mikrobne aktivnosti tijekom zrenja, upotrebljava se za praćenje primarne proteolize (Albenzio i sur., 2010.). Koagulirane kazeine, koji tvore sirni matriks, progresivno hidroliziraju enzimi mlijeka, sirila i starterska i nestarterska mikroflora, što uzrokuje stvaranje spojeva dušika koji su topljivi u vodi (npr. proteoza-peptoni, peptidi i aminokiseline; Macedo i Malcata, 1997.). Proteoliza izravno utječe na

okus i aromu proizvodnjom kratkih peptida i aminokiselina i, još važnije, osiguravanjem slobodnih aminokiselina koje služe kao supstrat za niz kataboličkih reakcija u stvaranju mnogih spojeva arome (McSweeney, 2004.; Albenzio i sur., 2010.; Nega i Moatsou, 2012.). Prvo razdoblje zrenja – primarna proteoliza – osnova je za pravilan razvoj strukture i senzorskih svojstava sira (Albenzio i sur., 2010.). Proteolitička aktivnost u siru uglavnom je određena razinama zaostalog sirila i prirodno prisutnih proteinaza mlijeka, odnosom soli i vode u grušu i siru, temperaturom i trajanjem zrenja, vrstom upotrijebljenog sirila i promjenama pH-vrijednosti tijekom zrenja (Lawrence i sur., 1987.; Tarakci i Kucokoner, 2006.). Aktivitet vode s pH-vrijednosti sira određuje intenzitet proteolize (Kalit i sur., 2016.). Freitas i Malcata (1996.) utvrdili su da sirevi s manjim sadržajem soli imaju veći stupanj razgradnje α_s-kazeina i β-kazeina. Nizak sadržaj vode s višim sadržajem soli uzrokuje manju aktivnost vode u siru koja vodi nižem intenzitetu proteolitičke aktivnosti u siru (Kalit i sur., 2016.). pH-vrijednost također utječe na proteolitičku aktivnost sira. α_{s1}-kazein razgrađuje se uglavnom pod utjecajem kimozina (iz sirila), koji je aktivniji pri nižoj pH-vrijednosti. β-kazein se uglavnom razgrađuje pod utjecajem plazmina (iz mlijeka), koji je aktivniji pri višoj pH-vrijednosti (Watkinson i sur., 2001.). Pokazalo se da je proteoliza manje intenzivna i više homogena u sirevima od pasteriziranog mlijeka u usporedbi sa sirevima od sirovog mlijeka (Pisanu i sur., 2015.). Osim toga, promjene koje nastaju na proteinima mlijeka zbog zagrijavanja također mogu utjecati na njihovu razgradnju jer smanjuju osjetljivost na proteolitičko cijepanje (Pisanu i sur., 2015.). Sadržaj soli u vodenoj fazi sira utječe na intenzitet proteolize tijekom zrenja (Havranek i sur., 2014.). Tako je viša razina razgradnje α_s i β-kazeina utvrđena u sirevima s nižim sadržajem soli (Freitas i sur., 1997.). Koncentracija soli jedan je od temeljnih čimbenika u procesu zrenja sira, tako da određuje kvalitetu finalnog proizvoda (Irigoyen i sur., 2002.). Freitas i Malcata (1996.) navode da sadržaj soli utječe na mikrobiološke, fizikalno-kemijske i kemijske osobine sira Picante proizvedenog od miješanog ovčjeg i kozjeg mlijeka. Ako je sadržaj soli visok, dolazi do produžavanja zrenja, dok zbog niskog sadržaja soli dolazi do pretjerane proteolize s razvojem gorčine i drugih neželjenih osobina sira (Irigoyen i sur., 2002.). Sadržaj soli i metoda soljenja značajno utječu na intenzitet proteolize. Visoki sadržaj soli je povezan s odgađanjem proteolize (Calvo i sur., 2007.). Viši sadržaj soli i niski sadržaj vode uzrokuju nisku proteolitičku aktivnost (što su u nekim kozjim sirevima utvrdili Calvo i sur., 2007.), kao i u sirevima proizvedenim od miješanog ovčjeg i kozjeg mlijeka (Freitas i Malcata, 1996.).

Proteolizu sira tijekom zrenja kataliziraju proteinaze i peptidaze koje potječu od koagulanta (sirila), mlijeka, bakterija mliječne kiseline starter kultura, nestarterskih bakterija mliječne kiseline, sekundarnih startera (Havranek i sur., 2014.) ili mogu biti egzogene proteinaze ili peptidaze dodane u mlijeko ili gruš za ubrzavanje zrenja

(McSweeney, 2004.; Tratnik i Božanić, 2012.). Relativna važnost enzima iz svakog od tih izvora ovisi o vrsti sira (Upadhyay i sur., 2004.). Kirin (2016.) navodi koliko je važno stručno upravljati aktivnošću enzima – ponajprije mikroorganizama, koji kataliziraju biokemijske reakcije tijekom zrenja – kako bi se oblikovala specifična svojstva zrelog sira. Glavni izvor proteolitičkih enzima u mnogim vrstama sira je zaostali koagulant, a to je često kimozin, koji ostaje zarobljen u sirnom grušu (McSweeney, 2004.). U grušu se zadržava od 0 do 30 % koagulanta dodana u mlijeko za sirenje, ovisno o vrsti enzima (kimozin, pepsin, gljivične ili biljne kisele proteinaze), temperaturi dogrijavanja, pH-vrijednosti tijekom sušenja zrna i sadržaju vode u grušu (Upadhyay i sur., 2004.). Alichanidis i Polychroniadou (2008.) navode kako u bijelih sireva koji zriju u salamuri izostanak dogrijavanja zrna, visok sadržaj vode, niska pH-vrijednost tijekom sušenja zrna, koji pogoduje zadržavanju koagulanta u grušu, niska pH-vrijednost sira i relativno visok sadržaj soli pogoduju aktivnosti kimozina tijekom zrenja u odnosu na plazmin.

Iako mlijeko sadržava niz indogenih proteinaza, glavna proteinaza mlijeka bitna za zrenje sira tijekom primarne proteolize je plazmin, čija je aktivnost najvažnija u vrstama sira koje se dogrijavaju do visokih temperatura (oko 55 °C), kada se većina aktivnosti kimozina gubi (Kalit i sur., 2002.; Gobbetti, 2004.; McSweeney, 2004.; Alichanidis i Polychroniadou, 2008.) ili u nekih sireva proizvedenih od sirovog ovčjeg mlijeka (Mikulec i sur., 2008.; Magdić i sur., 2013.).

U mnogim vrstama sireva, početnu hidrolizu kazeina u manjoj mjeri mogu prouzročiti i proteinaze somatskih stanica, npr. katepsin D (McSweeney i Sousa, 2000.). Na katepsin D utječe termička obrada, tako da nakon pasterizacije samo oko 8% katepsina D može ostati aktivno (Pisanu i sur., 2015.). Proizvodnju malih peptida i slobodnih aminokiselina topljivih u vodi uzrokuje djelovanje mikrobnih proteinaza i peptidaza iz starterskih i nestarterskih bakterija mliječne kiseline (Macedo i Malcata., 1997.; McSweeney i Sousa, 2000.; Alichanidis i Polychroniadou, 2008.; Marcelino Kongo, 2009.). Mali peptidi i slobodne aminokiseline, koje pridonose razvijanju okusa i arome sira, nakupljaju se u siru tijekom zrenja (Kalit i sur., 2016.). Proteoliza sira procijenjena količinom slobodnih aminokiselina povećana je u svim sirevima tijekom zrenja (Buffa i sur., 2003.). Tijek i opseg proteolize znatno varira između različitih vrsta sira zbog razlika u proizvodnim postupcima (osobito o temperaturi dogrijavanja) i protokolu zrenja, koji uzrokuju razlike u duljini zrenja, sadržaju vlage, preostaloj aktivnosti sirila, aktivaciji plazminogena do plazmina (McSweeney, 2004.). Vrsta mlijeka koje se upotrebljava u proizvodnji sira značajno utječe na tijek i opseg proteolize i profile peptida (Ponce de Leon-Gonzalez i sur., 2002.; Temizkan i sur., 2014.). S druge strane, sirevi Danbo proizvedeni s tri različita udjela masti pokazuju visok stupanj sličnosti tijekom proteolize i potvrđuju da mast nije utjecala na akumulaciju i degradaciju peptida i aminokiselina

(Madsen i Ardo, 2001.). Agboola i sur. (2004.) tvrde kako vrsta koagulanta koji se upotrebljava u ovčjem mlijeku utječe na profile peptida. Ferrandini i sur. (2011.) navode kako je očekivano da se vrijednosti različitih frakcija dušika povećavaju kao funkcija vremena tijekom zrenja, što upozorava na to da sirevi razvijaju jasan proces frakcioniranja proteina koji uključuje oslobađanje spojeva nižih molekulskih masa topljivijih u vodi od onih iz početnog matriksa. Akumulacija srednjih i malih peptida i aminokiselina uzrokuje značajno povećanje udjela dušika topljivog u vodi i dušika topljivog u trikloroctenoj kiselini (Kalit i sur., 2016.). Udio frakcija u vodi topljivog dušika u odnosu na ukupan dušik predstavlja indeks brzine i opsega proteolize koji je pokazatelj hidrolize kazeina djelovanjem sirila i proteaza mlijeka, prisutnih na početku zrenja (Niro i sur., 2014.). Ove frakcije dušika topljive u vodi vrlo su heterogenog sastava, a čine ih proteini sirutke, peptidi niske, srednje i visoke molekulske mase te aminokiseline (Niro i sur., 2014.).

Zemljopisno područje proizvodnje, sezona proizvodnje, temperatura, relativna vlaga i trajanje zrenja i vrsta sira, čimbenici su koji utječu na opseg i stupanj proteolize (Macedo i Malcata, 1997.; Di Cagno i sur., 2003.). Udio dušika topljivog u vodi značajno je manji u siru proizvedenom od mlijeka životinja iz intenzivnog uzgoja nego u siru proizvedenom od mlijeka životinja iz ekstenzivnog uzgoja, vjerojatno zbog različitog sadržaja uree u mlijeku (Bonanno i sur., 2013.). Macedo i Malcata (1997.) utvrdili su veći sadržaj dušika topljivog u vodi zabilježen u siru u svibnju, kada su temperature bile 18 °C i najniža vlaga (70 %), a najniži u veljači, kada su temperature bile najniže (4 °C) i vlaga najviša (95 %). Isti je slučaj i s dušikom topljivim u 12-postotnoj trikloroctenoj kiselini (TCASN), koji varira u različitim sezonama proizvodnje (Macedo i Malcata, 1997.). Albenzio i sur., (2013.) utvrdili su da upotrijebljene starter kulture značajno utječu na udio dušika topljivog u vodi.

Primarna proteoliza može se uspješno odrediti elektroforezom na urea poliakrilamidnom gelu, dok se stvaranje peptida koji nastaju djelovanjem peptidaza mikrobnog porijekla (sekundarna proteoliza) mogu odrediti reverznom fazom visoke tekuće kromatografije (RP-HPLC) (Marcelino Kongo i sur., 2009.). Proteoliza sira također se može pratiti određivanjem razine pojedinih slobodnih aminokiselina (Bertolino i sur., 2011.).

2.5.2. Lipoliza

Mliječna mast ključna je za razvoj pravilnog okusa sira tijekom zrenja (McSweeney i Sousa, 2000.). Lipoliza je treći vrlo važan biokemijski fenomen u procesu zrenja (Freitas i Malcata, 2000.). Trigliceridi u svim vrstama sireva podvrgavaju se hidrolizi djelovanjem prirodno prisutnih indogenih, endogenih i/ili egzogenih lipaza, a rezultat je

oslobađanje masnih kiselina u siru tijekom zrenja. Osim njihovog izravnog doprinosa aromi sira, masne kiseline su također važni prekursori za proizvodnju drugih važnih hlapivih sastojaka okusa i arome kao što su esteri, aldehidi i ketoni (Freitas i Malcata, 2000.; McSweeney, 2004.). Lipolitičko djelovanje u siru potječe od mlijeka (prirodno prisutna lipaza), koagulanta (sirišna pasta) i mikroflore sira (starterski, nestarterski i dodatni mikroorganizmi; McSweeney 2004.). Analiza profila slobodnih masnih kiselina kratkog i srednjeg lanca često se upotrebljava za kemijsku karakterizaciju opsega zrenja sira jer takve slobodne masne kiseline značajno pridonose okusu različitih vrsta sireva. Nadalje, slobodne masne kiseline djeluju i kao prekursori za formiranje nekih drugih važnih sastojaka aroma kao što su esteri, aldehidi i ketoni (Freitas i Malcata, 2000.).

2.6. Randman sira

Randman sira važan je pokazatelj profitabilnosti u mljekarskoj industriji, a njegovo poboljšanje glavni je zadatak u zemljama u kojima se mlijeko većinom prerađuje u sir (Pretto i sur., 2013.). Randman sira od temeljne je važnosti u gospodarskom smislu za proizvođače sira jer se male razlike u randmanu prenose u velike razlike u profitu (Abd El-Gawad i Ahmed, 2011.). Prinos ili randman sira je vrijednost koja pokazuje stupanj iskoristivosti mlijeka za sirenje, a definira se kao broj kilograma sira koji se može proizvesti od 100 kilograma mlijeka za sirenje, odnosno broj kilograma mlijeka potreban za proizvodnju jednog kilograma sira (Kalit, 2003.). Sve formule predviđanja randmana bave se sastavom mlijeka i njegovim utjecajem u proizvodnji sireva različitih sastava (Katz i sur., 2015.). Prinos sira ovisi o nizu čimbenika, od kojih su najvažniji vrsta i skupina upotrijebljenog sirila, sastav mlijeka, odnosno suha tvar mlijeka, tehnologija prerade mlijeka u sir, sadržaj vode u siru, stupanj prešanja sira, soljenje sira, kalo sira tijekom zrenja i čuvanja sira (Kirin, 2016.). Uz to, na randman utječu vrsta i pasmina životinje, genetske varijacije proteina, sustav uzgoja, menadžment na farmi, hranidba, zdravlje vimena, higijena mužnje i postupanje s mlijekom prije prerade, sezona godine i stadij laktacije (Verdier-Metz i sur., 2000.; Barron i sur., 2001.; Wendorff, 2002.; Kalit, 2003.; Jaeggi i sur., 2005.; Pulina i sur., 2006.; Pianaccioli i sur., 2007.; Sevi, 2007.; De Marchi i sur., 2008.; Martini i sur., 2008.; Martin i sur., 2009.; Grimley i sur., 2009.; Milani i Wendorff, 2011.; Maamouri i sur., 2012.; Marques i sur., 2012.; Bonanno i sur., 2013.; Temizkan i sur., 2014.; Bland i sur., 2015.; Katz i sur., 2015.). Kazein i mliječna mast glavni su sastojci mlijeka u procesu proizvodnje sira i izravno su povezani s randmanom sira (Wendorff, 2002.; Jaeggi i sur., 2005.; Pretto i sur., 2013.; Schiavon i sur., 2016.). Vacca i sur. (2018.) navode kako kvaliteta prerađenog mlijeka, uglavnom masti i kazeina,

njihova iskoristivost u grušu sira, zadržavanje vode u siru i ukupna učinkovitost proizvodnje sira pridonose randmanu sira. Malacarne i sur. (2006.) tvrde da udio kazeina ima ključnu ulogu u procesu proizvodnje sira i izravno utječe na randman sira. Budući da je kazein ključni sastojak u stvaranju mreže sirnoga gruša koji će držati globule mliječne masti, razmatra se i odnos kazeina s drugim sastojcima mlijeka kako bi se predvidjela kakvoća i prinos sira (Wendorff, 2002.). Havranek i sur. (2014.) navode da omjer kazeina i masti određuje njihovu iskoristivost u siru. Abu-Tarboush (1982.) utvrdio je da veći omjer masti u odnosu na kazein u mlijeku utječe na veći postotak masti koji završava u sirutki. Viša temperatura zrenja uzrokuje veći gubitak vode iz sira (Tudor Kalit i sur., 2014.), što svakako utječe na randman sira (Abd El-Gawad i Ahmed, 2011.). Međutim, od svih čimbenika koji su pod kontrolom sirara, vjerojatno najveći utjecaj na randman sira ima udio vode u siru. Povećanje (smanjenje) udjela vode u siru ima značajan utjecaj na randman. Što je veći udio vode u siru, randman će biti veći (Abd El-Gawad i Ahmed, 2011.). Bergamaschi i sur. (2016.) navode kako je zadržavanje vode u svježim proizvodima kao što su sir i skuta vrlo bitno za postizanje boljeg randmana. Visok udio mliječne masti i proteina može biti povezan s višim randmanom sira i zato je važan u osiguravanju visoke kvalitete mlijeka za proizvodnju sira (Katz i sur., 2015.), iako prinos za tradicijske sireve nije glavni cilj (Bertoni, 2001.). Budući da kazein oblikuje strukturu matriksa koji sadržava mast i vodu, povećanje udjela kazeina i mliječne masti u mlijeku od 0,1 % rezultira povećanjem prinosa sira od oko 0,2 % (Schiavon i sur., 2016.). Ostali čimbenici kvalitete mlijeka – kao što su pH-vrijednost, titracijska kiselost, broj somatskih stanica i koagulacijska svojstva mlijeka – mogu imati kvantitativno marginalan, ali praktično značajan utjecaj na randman sira (Verdier-Metz i sur., 2001.). Koagulacijska svojstva mlijeka pozitivno utječu na randman sira i mogu se upotrijebiti kao pokazatelji učinkovitosti proizvodnje sira (Pretto i sur., 2013.). Uporaba mlijeka boljih koagulacijskih svojstava općenito povećava prinos sira kao i iskoristivost kazeina i masti iz mlijeka u sir (Malacarne i sur., 2006.; De Marchi i sur., 2008.).

Izražavanje stvarnog randmana može biti od male koristi jer randman varira zbog nekoliko razloga: ovisi o vrsti sira i njegovom specifičnom sastavu, sastavu mlijeka (mast i kazein/protein), sastavu sira (voda i sol) te gubitku masti i gruša tijekom njegove proizvodnje (Abd El-Gawad i Ahmed, 2011.). Radi usporedbe različitih vrijednosti randmana izračunava se naravnati randman na željeni sadržaj vode i soli u siru kao i teorijski randman iz vrijednosti udjela kazeina i mliječne masti u mlijeku za sirenje (Kalit, 2003.). Stvarni i naravnati randmani sireva razlikuju se ovisno o vrsti mlijeka koje se upotrebljava za proizvodnju. Sirevi proizvedeni od ovčjeg mlijeka imaju veći randman nego sirevi proizvedeni od kravljeg ili kozjeg mlijeka (Temizkan i sur., 2014). Skeie (2007.) navodi kako polimorfizmi proteina mlijeka utječu na randman sira. Tako su A i B genetske

varijante β-kazeina i κ-kazeina pokazale značajnu razliku u randmanu svježeg sira Saint-Nectaire (Verdier-Metz i sur., 2000). Tehnologija prerade mlijeka u sir i primijenjeni mehanički postupci utječu na randman sira i na njegov kemijski sastav (Abu-Tarboush, 1982.; Wendorff, 2002.; Rynne i sur., 2004.; Bonanno i sur., 2013). Primijenjeni intenzivniji mehanički postupci u proizvodnji Mozzarelle doveli su do većih gubitaka mliječne masti u odnosu na proizvodnju sira Cheddar (Abu-Tarboush 1982). Bonanno i sur. (2013.) utvrdili su da se tradicijskom tehnologijom postiže manji randman sira, dok su Rynne i sur. (2004.) utvrdili kako se višom temperaturom pasterizacije može postići zadržavanje veće količine vode u siru i manji udio proteina i masti u siru. De Marchi i sur. (2008.) utvrdili su da stado i pasmina značajno utječu na randman više vrsta sira proizvedenih od kravljeg mlijeka, a Malacarne i sur. (2006.) navode kako razlike u randmanu u korist mlijeka od smeđega goveda, imaju značajnu gospodarsku važnost za proizvođače sira. Sustav uzgoja životinja značajno utječe na randman sira, tako je viši randman sira proizvedenog od mlijeka životinja s farmi iz ekstenzivnog uzgoja, a povezan je s višim udjelom proteina i kazeina u mlijeku (Bonanno i sur., 2013). Grimley i sur. (2009.) navode kako se sastav mlijeka, osobito mliječne masti i proteina, mijenja tijekom hranidbe na pašnjaku, što pridonosi boljem randmanu sira. Jaeggi i sur. (2005.), Pianaccioli i sur. (2007.) i Milani i Wendorff (2011.) utvrdili su da sezona značajno utječe na randman sira od ovčjeg mlijeka, što je izravna veza s udjelom kazeina i masti u mlijeku. Kako je odmicala sezona, zbog visokih ljetnih temperatura i lošijeg sastava pašnjaka, smanjivali su se udjeli mliječne masti, kazeina i suhe tvari, a rezultat je bio smanjeni randman sira (Jaeggi i sur., 2005). Za razliku od njih, Barron i sur. (2001.) utvrdili su da se povećava randman sira Idiazabal kako sezona od veljače odmiče prema lipnju. Schiavon i sur. (2016.) navode da smanjenje udjela proteina u obroku krava može utjecati na smanjenje randmana sira. Pianaccioli i sur. (2007.) utvrdili su da je randman sira Pecorino Pistoiese proizvedenog od mlijeka pasmine ovaca Massese značajno viši zimi nego u proljeće i ljeto. Tijekom rane laktacije udio proteina mlijeka i randman sira su manji, osobito od mlijeka krava držanih u staji, a kada krave izađu na proljetnu travu, proteini i randman se povećavaju (Lucey, 1996). Martini i sur. (2008.) nisu utvrdili značajan utjecaj sezone na randman sira. Milani i Wendorff (2011.) navode da je smanjenje randmana sira povezano sa smanjenim udjelom kazeina i mliječne masti kao posljedice povećanog broja somatskih stanica u mlijeku. Istražujući utjecaj različitog broja somatskih stanica u mlijeku za proizvodnju sira Parmigiano-Reggiano, Summer i sur. (2015.) utvrdili su da se povećanjem broja somatskih stanica smanjuju udio kazeina i iskoristivost mliječne masti u siru, čime se smanjuje i randman sira. Pulina i sur. (2006.) navode kako povećani BSS u ovčjem mlijeku značajno smanjuje randman sira i ubrzava proteolizu tijekom njegovog zrenja, jer smanjuje količinu kazeina i povećava sadržaj vode u grušu i siru. Visok BSS povezan je s

promjenama u količini i aktivnosti proteolitičkih enzima u mlijeku, a ove proteaze mogu oštetiti kazein potičući prelazak topivih produkata proteolize kazeina u tekuću fazu (Othmane i sur., 2002.). Suprotno navedenome, Vacca i sur. (2018.) utvrdili su da je veći randman sira ostvaren preradom mlijeka kasne laktacije s povećanim brojem somatskih stanica. Pasmina ima značajan utjecaj na randman sira (Martin i sur., 2009.; Vacca i sur., 2018.). Krave pasmina Montbailard, smeđe i Jersey, daju značajno više sira od 100 kg mlijeka u odnosu na krave pasmine Holstein-Friesian. Ovo je povezano s višim udjelom proteina, kazeina i mliječne masti u mlijeku krava pasmina Montbailard, smeđe i Jersey, koje nedvojbeno ima i bolja koagulacijska svojstva te daje čvršći gruš nego mlijeko krava pasmine Holstein-Friesian (Malacarne i sur., 2006.; Martin i sur., 2009.; Bland i sur., 2015.). Vacca i sur. (2018.) utvrdili su da se od mlijeka sredozemnih pasmina koza dobije veći randman sira nego od mlijeka koza alpskih pasmina. Bland i sur. (2015.) utvrdili su da stvarni, teorijski i naravnati randman raste linearno s udjelom mlijeka krava pasmine Jersey, što povezuju s povećanjem iskoristivosti masti i proteina iz mlijeka. Osim toga, viši udio kazeina i micele manjeg promjera kompenziraju viši udio masti i veće masne globule mlijeka krava Jersey te uzrokuju poboljšanje svojstava sinereze (Bland i sur., 2015.). Niske temperature skladištenja mlijeka znatno utječu na micelarni sustav mlijeka, tako da hlađenje mlijeka vodi do djelomičnog otapanja (disocijacije) koloidnog kalcijeva fosfata i β-kazeina. Ove promjene odgovorne su za različite preradbene karakteristike mlijeka, posebno za smanjenje randmana sira (Park i sur., 2007.; Skeie, 2007.). Katz i sur. (2015.) utvrdili su da je u mlijeku koje je uskladišteno nekoliko dana prije prerade zabilježeno pogoršanje njegovih fizikalno-kemijskih procesa, a posljedica je bila povećani gubitak sastojaka mlijeka kroz sirutku, odnosno smanjen prinos proizvoda. Čimbenici čuvanja mlijeka (vrijeme i temperatura), kao i tehnološke pogreške mogu rezultirati gubicima proteina i mliječne masti tijekom proizvodnje sira i tako objasniti stagnaciju u prinosu sira (Verdier-Metz i sur., 2001.).

2.7. Tekstura i reologija sira

Reološka i/ili teksturna svojstva hrane kategorizirana su u skupinu fizičkih svojstava, a važna su za rukovanje proizvodom, obradu proizvoda i njegovo prihvaćanje kod potrošača (Rohm i Jaros, 2011.). Tekstura je jedno od najvažnijih svojstava koje određuje identitet i prihvatljivost sira za konzumenta (Patel i sur., 1993.; Hort i Le Grys, 2000.; Pappa i sur., 2007.). Cjelokupan izgled sira i osjećaj u ustima različitih sireva konzument ocjenjuje prije njihovog okusa (Lawrence i sur., 1987.). Obično se pojam tekstura upotrebljava u vrlo širokom smislu i pokriva ne samo reološka svojstva, već i

svojstva koja se ne mogu lako odrediti instrumentalnim mjerenjima (Rohm i Jaros, 2011.). Teksturu sira i prehrambenih proizvoda može se definirati na više načina. ISO tako definira teksturu prehrambenog proizvoda kao „sve reološke i strukturne (geometrijske i površinske) značajke proizvoda koji se mogu osjetiti s pomoću mehaničkih, taktilnih (dodirnih) i, gdje je prikladno, vizualnih i slušnih receptora" (Gunesekaran i Ak, 2003.). Rohm i Jaros (2011.) navode da se teksturu hrane može definirati sljedećim karakteristikama:

- tekstura sadržava skupinu fizičkih (djelomično reoloških) svojstava koja se mogu izvesti iz strukturnih svojstava
- tekstura se spoznaje uglavnom kontaktom, obično u ustima, i nije izravno povezana s osjetima okusa i arome
- objektivna mjerenja se najčešće obavljaju u funkciji mase, udaljenosti i vremena; neka, ali ne sva, svojstva teksture pogodna su za instrumentalna mjerenja.

Pinho i sur. (2004.) teksturu sira definiraju kao složeno senzorsko svojstvo koje proizlazi iz njegovih fizičkih karakteristika, a može se spoznati osjetilima dodira, vida i sluha. Tekstura je prilično povezana s osjetilnim spoznajama tijekom žvakanja, proizašlih iz specifičnih svojstava tečenja, strukturnih ili čak kemijskih svojstava određenog prehrambenog proizvoda (Rohm i Jaros, 2011.). Karakterizacija teksture hrane u osjetilnom kontekstu je visokoopisna i subjektivna. Ovo je jako važno, posebno za geometrijske i zvučne karakteristike jer je gotovo nemoguće podvrgnuti temeljne podražaje instrumentalnoj analizi (Rohm i Jaros, 2011.). Gunesekaran i Ak (2003.) također navode teksturu prehrambenih proizvoda kao visokosubjektivno ljudsko iskustvo koje se spoznaje tijekom njihove konzumacije, dok se teksturna svojstva koja očekujemo od različitih namirnica u velikoj mjeri razlikuju. Tekstura raznih vrsta sireva je vrlo različita, ali čimbenici koji određuju promjene teksture u svim varijantama su u osnovi isti jer su sastojci sira jednaki za sve vrste (Pappa i sur., 2007.). Struktura sira sastoji se od proteinskog matriksa koji potječe od malih čestica kazeina, koje se drže zajedno različitim fizičkim silama, a u kojima su raspršeni voda i globule mliječne masti (Hort i Grys, 2001.; Lucey i sur., 2003.; Pappa i sur., 2007.) te u vodi topljivi sastojci (Gunesekaran i Ak, 2003.). Na ovu mrežastu strukturu utječe relativni sadržaj proteina, mliječne masti i vode te biokemijske aktivnosti koje se gotovo kontinuirano događaju tijekom zrenja (Gunesekaran i Ak, 2003.). Reološka uloga kazeina u siru je osigurati kontinuirani elastični okvir za pojedinačna sirna zrna (Elgaml i sur., 2017.). Sile i interakcije koje pridonose formiranju kazeinskih micela i njihovoj stabilnosti važne su za određivanje funkcionalnih svojstava sireva (Lucey i sur., 2003.). Neke teksturne karakteristike sireva određene su i strukturnim svojstvima matriksa proteina i masnih globula raspršenih u

proteinskom matriksu (Andreotti Dagostin i sur., 2013.). Mehanička svojstva sira odnose se na sastav, strukturu i snagu privlačenja između strukturnih elemenata u siru (Albenzio i sur., 2010.).

Teksturne karakteristike manifestiraju se reološkim svojstvima fizičke strukture hrane (Hort i Gry, 2001.). Istražujući reološka i senzorska svojstva sira Danbo s različitim udjelom mliječne masti, Madsen i Ardo (2001.) objašnjavaju kako reološka mjerenja i senzorska analiza sira ne ocjenjuju ista svojstva.

Tablica 2. Testovi za mjerenje teksture hrane (Bourne, 2002.)

Objektivne		**Senzorske (subjektivne)**	
Izravne	**Neizravne**	**Oralne**	**Neoralne**
Osnovne	Optičke	Mehaničke	Prsti
Empirijske	Kemijske	Geometrijske	Ruka
Imitacijske	Akustične	Kemijske	Oči (vizualne)
	Ostale		Ostale

S obzirom na to da postoji vrlo širok raspon vrsta hrane i tipova teksturnih i reoloških svojstva koja se mogu objasniti također širokim rasponom metoda za mjerenje tih svojstava, potrebno ih je pokušati klasificirati kako bi sustav bio razumljiv. Postoji nekoliko klasifikacija sustava mjerenja (Bourne, 2002.). Klasifikacija mjerenja teksture na temelju vrste hrane (proizvoda) ili vrste teksturnih svojstava je korisna, ali je vjerojatno bolja klasifikacija koja se temelji na vrsti upotrebljavanih testova, jer se mnoge analize obavljaju na više vrsta hrane. Osnovni proces žvakanja događa se bez obzira na vrstu hrane u ustima. Stoga Bourne (2002.) smatra logičnim usredotočiti se na vrstu testa, a ne na prirodu hrane koju se testira (tablica 2). Tehnike mjerenja teksture mogu se prikazati kao senzorske (subjektivne) ili instrumentalne (objektivne). Osnovne metode mjerenja teksture rabe provjerene tehnike reoloških testiranja, a podatci se analiziraju s pomoću dobro definiranih reoloških, strukturnih i molekularnih teorija Gunesekaran i Ak (2003.). Izlazne varijable reoloških testova (npr. krivulje deformacija, relaksacija naprezanja) koje uključuju promjene u dimenzijama tijekom vremena, zatim omjer naprezanja i deformacija za određenu razinu deformacije te naprezanje ili deformacija potrebni da izazovu puknuće omogućuju određivanje reoloških svojstava materijala kao što su modul elastičnosti, modul odreza (smicanja), puknuće zbog naprezanja, deformacija u točki puknuća i čvrstoća (Guinee, 2011.).

Reologiji je cilj mjeriti ona (mehanička) svojstva materijala koja kontroliraju njihovu deformaciju i tečenje pri podvrgavanju vanjskim silama. Dakle, reologija se uglavnom bavi

odnosima između tri varijable; naprezanja, stresa i vremena (Gunesekaran i Ak, 2003.). Reološka svojstva sira su ona svojstva koja određuju njegov odgovor na stres ili naprezanje, a koja se primjenjuju, npr. tijekom kompresije, odrezivanja (smicanja) ili rezanja. U praksi se takav stres i naprezanje primjenjuju (djeluju) na sir tijekom obrade (npr. porcioniranje, rezanje na kriške, usitnjavanje i ribanje) i konzumacije (rezanje, širenje i žvakanje) (O'Calahan i Guinne, 2004.). Reološka svojstva obuhvaćaju intrinzična (unutarnja) svojstva kao što su elastičnost, viskoznost i viskoelastičnost, koja se ponajprije odnose na sastav, strukturu i snagu privlačenja između strukturnih elemenata sira (O'Calahan i Guinne, 2004.). Prema Lucey i sur. (2003.), broj, snaga i vrsta veza između kazeinskih molekula čine osnovu reoloških svojstava sira. Reološka svojstva sira utječu na njegovu teksturu i funkcionalna svojstva, naročito tijekom usitnjavanja na manje dijelove kada se upotrebljava kao sastojak hrane (O'Calahan i Guinne, 2004.).

Mnogi čimbenici utječu na reološka svojstva sira, među njima su tehnološki procesi, vrsta sira, sastav sira i biokemijske promjene tijekom zrenja. Ovi posljednji čimbenici uvelike utječu na stupanj hidratacije ili agregacije para-kazeinskog matriksa, koji je glavni strukturni element kontrole deformacije tijekom stresa (O'Calahan i Guinne, 2004.). Elgaml i sur. (2017.) navode kako čimbenici koji utječu na sadržaj vlage gruša (kao što su temperatura koagulacije i sinereza), sastav sira, pH-vrijednost, udio kazeina i serum proteina, kalcija, soli i mliječne masti kao i tehnološki procesi proizvodnje utječu i na mnoga poželjna funkcionalna i teksturna svojstva sira.

Na fizikalna svojstva sira (npr. teksturu, boju, funkcionalne značajke, okus i aromu) utječu brojni čimbenici: sastav i kvaliteta mlijeka za sirenje, primijenjeni tehnološki postupci, temperatura, brzina i opseg zakiseljavanja starter kulturama, razvoj kiselosti (pH) sira, sadržaj vode, koncentracija kalcijevih soli (topivi i netopivi oblik), opseg i vrsta proteolize te druge reakcije zrenja. Ovi čimbenici također kontroliraju i mijenjaju prirodu i snagu interakcija molekula kazeina (Lucey i sur., 2003.). Dva najvažnija čimbenika koja utječu na fizikalna svojstva sira jesu stanje kazeinskih čestica u siru (interakcija između i unutar molekula te količina kalcija povezanog tim kazeinskim česticama) i opseg proteolize (Lucey i sur., 2003.).

2.7.1. Čimbenici koji utječu na razvoj teksture sira

Tijekom proizvodnje različitih vrsta sira nekoliko čimbenika može pridonijeti razvoju njegove teksture (Lawrence i sur., 1987.). Više istraživača bavilo se razvojem teksture sira i čimbenicima koji na nju utječu. Utvrđeno je kako na razvoj teksture sira mogu utjecati vrsta i sastav upotrijebljenog mlijeka (Ponce de Leon-Gonzales i sur., 2002.; Coulon i sur, 2004.; Ferreira i sur., 2006.; Pappa i sur., 2007.; Bonczar i sur., 2009.; Martin i sur., 2009.;

Pappa i sur., 2012.; Aminifar i sur., 2013.; Bonanno i sur., 2013.; Temizkan i sur., 2014.; Zedan i sur., 2014.; Elgaml i sur., 2017.), vrsta sirila (Freitas i Malcata, 1996.; Calvo i sur., 2007.; Santillo i Albenzio, 2008.; Ferandini i sur., 2011.), vrsta i količina starter kulture (Madsen i Ardo, 2001.; Calvo i sur., 2007.; Pappa i sur., 2007.; Albenzio i sur., 2010.), kiselost (Watkinson i sur., 2001.; Lane i sur., 2001.; Andreotti Dagostin i sur., 2013.), sastav sira (Fenelon i Guinee, 2000.; Madsen i Ardo, 2001.; Buffa i sur., 2003.; Van Hakken i sur., 2013.), sadržaj soli u siru (Freitas i Malcata, 1996.; Pastorino i sur., 2003.; Calvo i sur., 2007.), primijenjeni proizvodni postupci (Buffa i sur., 2003.; Rynne i sur., 2004.; Andreotti Dagostin i sur., 2013.; Bonanno i sur., 2013.) i trajanje zrenja (Hort i Grys, 2001.; Watkinson i sur., 2001.; Ponce de Leon-Gonzales, 2002.; Pinho i sur., 2004.; Ferandini i sur., 2011.; Bonanno i sur., 2013.; Andronoiu i sur., 2015.). U razvoju teksture sudjeluju oni čimbenici koji utječu na udio vlage u siru kao što su temperatura dogrijavanja, veličina sirnog zrna, trajanje miješanja itd.) te kiselost (Gunesekaran i Ak, 2003.). Lawrence i sur. (1987.) navode kako se sastojci sira; sirilo, prirodni enzimi mlijeka, kazein, vlaga, mliječna kiselina, natrijev klorid, mliječna mast i kalcij nalaze u svim vrstama sira, ali u različitim omjerima. Svi glavni sastojci sira, proteini, mliječna mast i voda utječu na njegovo reološko ponašanje, stoga i na njegova teksturna svojstva (Pappa i sur., 2007.).

2.7.1.1. Utjecaj sastava i kvalitete mlijeka za sirenje na teksturu sira

Sirevi proizvedeni od različitih vrsta mlijeka imaju različita svojstva teksture (Pappa i sur., 2007.; Temizkan i sur., 2014.; Elgaml i sur., 2017.). Aminifar i sur. (2013.) utvrdili su da se miješanjem ovčjeg mlijeka s kravljim u omjeru 50 % : 50 %, tvrdoća sira značajno povećava zbog većeg udjela suhe tvari ovčjeg mlijeka, odnosno zbog različite strukture kazeina ili njegove koncentracije. Ponce de Leon-Gonzalez i sur. (2002.) navode kao razlog povećanja tvrdoće i čvrstoće sira Muenster, proizvedenog od miješanog ovčjeg i kravljeg mlijeka, manji sadržaj vode u miješanom siru u odnosu na sir proizveden od kravljeg mlijeka. Coulon i sur. (2004.) navode niz negenetskih čimbenika (hranidba, fiziološki stadij, zdravlje životinje, odnosno broj somatskih stanica u mlijeku) koji preko sastava mlijeka značajno utječu na teksturna svojstva sira.

2.7.1.2. Utjecaj sastava sira na teksturu sira

Kemijski sastav sira povezan je s teksturnim svojstvima sira, npr. povećanjem sadržaja proteina i soli u siru čvrstoća sira se povećava, dok se povećanjem sadržaja vode i mliječne masti u siru čvrstoća sira smanjuje (Andronoiu i sur., 2015.). Voda u siru važna je za razvoj mikrobiote sira, a u međuodnosu sa sirnim matriksom pridonosi razvoju teksture sira (Buffa i sur., 2003.). Utjecaj sadržaja mliječne masti na mikrostrukturu i teksturu sira dobro je poznat. Povećanje sadržaja mliječne masti uzrokuje slabljenje proteinske strukture pa sir postaje glađi i mekaniji (Lawrence i sur., 1987.), dok manji sadržaj mliječne masti omogućuje veći stupanj poprečnog povezivanja između molekula proteina (Andreotti-Dagostino i sur., 2013.), a povećanje sadržaja kazeina rezultira dobivanjem sira veće čvrstoće (Lawrence i sur., 1987.; Fenelon i Guinee, 2000.). Smanjenjem sadržaja mliječne masti mijenja se složena mikrostruktura sira tako da sirevi smanjenog udjela mliječne masti imaju veću elastičnost (Madsen i Ardo, 2001.; Gunesekaran i Ak, 2003.) i mnogo su tvrđi i čvršći od punomasnih sireva (Fenelon i Guinee, 2000.; Madsen i Ardo, 2001.; Van Hekken i sur., 2013.). Fenelon i Guinee (2000.) utvrdili su da je smanjenje udjela mliječne masti i istodobno povećanje udjela intaktnog kazeina po jediničnoj masi sira značajno povećalo sva tri mjerena reološka svojstva – napon puknuća, deformaciju do točke puknuća i čvrstoću. Povećanje napona puknuća, deformacije do točke puknuća i čvrstoće zbog smanjenja udjela mliječne masti vjerojatno se događaju zbog istodobne promjene u sastavu sira i stupnju proteolize (Fenelon i Guinee, 2000.). Kako ističu Pastorino i sur. (2003.), sol utječe na funkcionalnost sira, odnosno povećanje udjela soli značajno utječe na povećanje tvrdoće i adhezivnost sira te na smanjenje njegove kohezivnosti. Veći napon puknuća i veća deformacija u točki puknuća pokazuju čvršću i elastičniju teksturu sira Danbo 20+ (značajno smanjene masnoće), što se ne može objasniti samo sadržajem mliječne masti (Madsen i Ardo, 2001.). Tekstura je zadržana uz smanjenje udjela mliječne masti s 25 % u siru Danbo na 17 % u siru Danbo, povećanjem sadržaja vode, a možda i zbog mijenjanja peptidnog sastava koji nastaje zbog malih razlika u proteolizi (Madsen i Ardo, 2001.).

2.7.1.3. Utjecaj pH-vrijednosti i vode na teksturu sira

Uloga pH-vrijednosti u teksturi sira osobito je važna jer su njene promjene izravno povezane s kemijskim promjenama u proteinskoj mreži sira (Lawrence i sur., 1987.). Niska kiselost slabi proteinske veze slabljenjem naboja, dok se negativni naboj na kazeinskim molekulama povećava povećanjem pH-vrijednosti (Gunesekaran i Ak, 2003.).

Gunesekaran i Ak (2003.) navode da su hidrofobne interakcije, važne za stabilnu strukturu kazeinskog matriksa, oslabljene kao posljedica apsorpcije vode proteinima što se događa u cilju otapanja ionski nabijenih dijelova. Apsorpcija vode proteinima u siru visoke pH-vrijednosti ograničava količinu vode u međuprostorima matriksa. Watkinson i sur. (2001.) utvrdili su kako je sir star dva dana (minimalna proteoliza), zbog povećanja pH-vrijednosti (s pH 5,2 na 6,2) postao čvršći (povećanje napona puknuća) s „dužom" teksturom (povećanje vrijednosti deformacije u točki puknuća), dok je niža pH-vrijednost dovela do „kraće" teksture sira sklonog mrvljenju. Kako se pH-vrijednost mijenja od 5,4 do 4,6, submicele kazeina se postupno razdvajaju u manje agregate i na kraju u nelinearne niti koje teksturu sira čine od elastične pri visokoj pH-vrijednosti (5,3 do 5,4) do nekohezivne (nepovezane) pri pH-vrijednosti ispod 4,8 (Lawrence i sur., 1987.). Autori navode kako sadržaj vode, soli i kalcija u siru može promijeniti utjecaj pH-vrijednosti na teksturu sira, a promjene u veličini i svojstvima submicela značajno povećavaju sposobnost njihovog vezanja vode. Andreotti-Dagostino i sur. (2013.) navode kako i preacidifikacija utječe na mineralni sastav sira te posredno na njegovu teksturu jer se pH-vrijednost smanjuje uz istodobni gubitak koloidnog kalcijeva fosfata (netopivog kalcija) iz kazeinskih micela. Utvrđeno je da su sirevi s većim udjelom vode pri određenoj pH-vrijednosti i određenom udjelu soli manje čvrsti od sireva s nižim sadržajem vlage, što se pripisuje stupnju bubrenja kazeinskih submicela s povećanjem odnosa kazein : voda (Lawrence i sur., 1987.). Promjene pH-vrijednosti sira potiču promjene u količini poprečnih veza oblikovanih kalcijem u kazeinskim micelama koje, kao glavni nosivi sastojci u siru, mijenjaju reološka i lomna svojstva sira (Watkinson i sur., 2001.). Stoga se preko udjela ionskog kalcija mogu predvidjeti promjene reoloških i lomnih svojstava sira.

Gunesekaran i Ak (2003.) navode kako čak i male varijacije u udjelu vode mogu imati osjetan utjecaj na teksturu sira. Dobar primjer učinka niže kiselosti i veće vlage gruša je otvorenija tekstura sira Cheshire u usporedbi sa zatvorenom teksturom sira Cheddar, što je, između ostalog, posljedica ispreplitanja čestice gruša prešanjem (Gunesekaran i Ak, 2003.). Ferreira i sur. (2006.) utvrdili su sličan utjecaj vode i pH-vrijednosti na proteolizu i teksturu ovčjeg i kravljeg sira te miješanog sira s dva različita udjela ovčjeg mlijeka. Vrijednost pH varira s vremenom zrenja te utječe na sva reološka svojstva koja su povezana sa svojstvima teksture sira kao što su sila puknuća, naprezanje, površina puknuća, postotak deformacije (Watkinson i sur., 2001.).

2.7.1.4. Utjecaj zrenja na teksturu sira

Tijekom zrenja nekoliko biokemijskih procesa (prije svega proteoliza, glikoliza i lipoliza) i sporo otapanje zaostalog koloidnog kalcijeva fosfata mijenjaju gruš iz gumaste,

mekane konzistencije u zreli sir karakterističnog okusa, teksture i arome (Lucey i sur., 2003.). Biokemijski procesi koji se događaju tijekom zrenja uvelike utječu na teksturne pokazatelje, koje je moguće potvrditi instrumentalnim i senzorskim analizama sira (Andronoiu i sur., 2015.).

Tijekom zrenja sira odvijaju se dvije različite faze u razvoju teksture. Početna, kada tijekom dva tjedna primarne razgradnje α_{s1} - kazeina djelovanjem rezidualnog kimozina uzrokuje brzu disocijaciju kazeinskih submicela u manje kazeinske agregate (peptide) topljive u vodi, pri čemu gumasta tekstura mladog sira prelazi u mekaniju i homogeniju teksturu (Lawrence i sur., 1987; Pinho i sur., 2004.). Nakon 14 dana zrenja, sir može imati teksturu od elastične do plastične ili nepovezane, što ponajprije ovisi o pH-vrijednosti sira, a u manjoj mjeri o njegovu sadržaju kalcija (Lawrence i sur., 1987.). U ovoj, drugoj fazi, pojavljuju se postupne promjene jer kazein prolazi intenzivniju hidrolizu do peptida (Pinho i sur., 2004.) male molekularne mase i slobodnih aminokiselina (Nega i Moatsou, 2012.), čije se trajanje može mjeriti u mjesecima (Lawrence i sur., 1987.).

Fenelon i Guinee (2000.) utvrdili su da se tijekom zrenja smanjuju napon puknuća, deformacija do točke puknuća i čvrstoća sira. Zbog intenzivne proteolize kazeinske mreže mogu se smanjiti čvrstoća i tvrdoća poslije preporučenog vremena zrenja sira Cheddar (Hort i Grys, 2001.). Veći broj autora (Ponce de Leon-Gonzalez i sur., 2002.; Elgaml i sur., 2017.; Temizkan i sur., 2014.) utvrdio je da se tvrdoća sira i njegova elastičnost smanjuju kako napreduje zrenje (Van Hekken i sur., 2013.; Elgaml i sur., 2017.). Aminifar i sur. (2013.) navode da dolazi do smanjenja tvrdoće sira koji zrije u salamuri tijekom prvog mjeseca zrenja. Tvrdoća sira tijekom zrenja u salamuri ovisi o dva glavna čimbenika: o smanjenju udjela vode tijekom salamurenja (koje povećava tvrdoću) i o proteolizi (koja smanjuje tvrdoću zbog razgradnje kazeina; Aminifar i sur., 2013.). U slučaju inhibicije soli na protelizu, tvrdoća sira može ostati nepromijenjena u prvih mjesec dana zrenja sira. Nadalje, sir Linghvan postaje lomljiviji tijekom prvog mjeseca zrenja, što je povezano s formiranjem pora i smanjenjem sadržaja vlage tijekom njegova zrenja (Aminifar i sur., 2013.).

3. MATERIJAL I METODE RADA

Za potrebe istraživanja iz redovite proizvodnje Mljekare Split odabrano je ukupno 15 šarži lećevačkog sira koje su sadržavale različiti udio ovčjeg i kravljeg mlijeka, pri čemu je udio ovčjeg mlijeka bio kako slijedi: do 39 % (pet šarži), do 44 % (pet šarži) i do 50 % (pet šarži). Šarže sira odabrane su slučajno, bez obzira na doba godine. Kravlje i ovčje mlijeko koje se upotrebljavalo u proizvodnji lećevačkog sira prikupljeno je s područja Dalmatinske zagore. Kravlje mlijeko prikupljano je i dopremano svakodnevno, dok je ovčje mlijeko prikupljano i dopremano svaki drugi ili treći dan. Za istraživanje promjena tijekom zrenja uzorci sira uzimali su se na početku, zatim 30., 60. i 90. dana zrenja. Istraživanje je provedeno na šest farmi u submediteranskom području Hrvatske koje na prirodnim pašnjacima uzgajaju autohtonu pasminu ovaca – dalmatinsku pramenku. Odabrane su farme koje su imale između 150 i 300 muznih ovaca. Tijekom trogodišnjeg razdoblja pratio se utjecaj sezone, godine i stada na kemijski sastav, posebno na udio dušičnih sastojaka, fizikalna svojstva i higijensku kvalitetu ovčjeg mlijeka dalmatinske pramenke, koje se upotrebljavalo za proizvodnju lećevačkog sira.

Podatci o prosječnim mjesečnim oborinama (izraženima u mm) i relativnoj vlazi zraka (%) na području obuhvaćenom istraživanjem tijekom tri godine laktacije dobiveni su od Državnog hidrometeorološkog zavoda (tablice 3 i 4).

Tablica 3. Količina oborina (mm) na području obuhvaćenom istraživanjem tijekom tri godine (Državni hidrometeorološki zavod)

Mjesec	Godina		
	1.	2.	3.
Siječanj	116,8	59,0	72,1
Veljača	83,8	137,9	10,7
Ožujak	86,3	130,0	113,1
Travanj	91,1	14,4	91,6
Svibanj	68,2	96,6	48,9
Lipanj	28,4	102,2	199,6
Srpanj	30,5	30,3	23,1
Kolovoz	172,9	157,2	6,1
Suma	678	728	565

Tablica 4. Relativna vlaga (%) na području obuhvaćenom istraživanjem tijekom tri godine (Državni hidrometeorološki zavod)

Mjesec	Godina		
	1.	2.	3.
Siječanj	61	75	71
Veljača	63	69	63
Ožujak	68	65	69
Travanj	66	59	67
Svibanj	64	66	61
Lipanj	58	68	70
Srpanj	54	51	57
Kolovoz	69	61	53
Prosjek	62,9	64,3	63,9

3.1. Prikupljanje uzoraka mlijeka

Ovčje mlijeko upotrebljavano u pokusu otkupljivano je s područja Splitsko-dalmatinske i Šibensko-kninske županije, dok je kravlje mlijeko otkupljivano još i s područja Zadarske županije. Sve farme uzgajale su ovcu pasmine dalmatinska pramenka (slika 3) i bile su smještene u brdskim predjelima Dalmatinske zagore na nadmorskoj

visini od 200 do 500 metara – Umljanović 303 m, Lećevica 418 m, Glavice 322 m i Sinj 320 m nadmorske visine. Ovce su se ojanjile u razdoblju od siječnja do veljače, a nakon toga je janjad sisala od 60 do 90 dana (ovisno o godini i menadžmentu farme), kada je uslijedilo odbijanje janjadi i započela mužnja ovaca. Mužnja ovaca trajala je od ožujka ili travnja do srpnja ili kolovoza, ovisno o godini i menadžmentu farme (na većini farmi od travnja do srpnja). Na svim farmama ovce su mužene ručno, uglavnom dva puta dnevno (slika 1), dok su na jednoj farmi ovce mužene jednom dnevno.



Slika 1. Izmuzište na farmi za proizvodnju ovčjeg mlijeka

U istraživanim stadima, veličine od 150 do 300 grla (slika 2), ovce su uzgajane poluekstenzivnim sustavom te su gotovo tijekom cijele godine boravile na prirodnim pašnjacima, što je bilo moguće s obzirom na trajanje razdoblja vegetacije, dok su noću, kao i tijekom zime, držane u staji. Livadno sijeno i sijeno lucerke davano je ovcama prosječno u količini od oko 1 kg dnevno po grlu te je bilo osnovni sastojak zimskog obroka ovaca. Tijekom laktacije ovce su dodatno prihranjivane s oko 150 g pšenične ili ječmene prekrupe po grlu dnevno.



Slika 2. Stado ovaca dalmatinske pramenke na pašnjaku u Sinjskom polju

Ovisno o mjestu provedbe istraživanja, uzeti su skupni uzorci sirovog ovčjeg mlijeka za analizu tijekom 110. – 150. dana mužnje. Uzorci miješanoga kravljeg i ovčjeg mlijeka uzimani su neposredno nakon miješanja iz tanka za skladištenje u proizvodnom pogonu Mils Mljekare Split. Radi utvrđivanja kemijskog sastava i broja somatskih stanica uzimani su uzorci sirovog mlijeka u sterilne bočice zapremine 200 ml u kojima je kao konzervans dodan azidiol. Mlijeko namijenjeno određivanju pH-vrijednosti i ºSH mlijeka uzimalo se u staklenu sterilnu bocu od 500 ml. Mlijeko namijenjeno određivanju ukupnog broja aerobnih mezofilnih bakterija uzimalo se u sterilnu bočicu obujma 30 ml u kojoj je kao konzervans dodan bronopol.



Slika 3. Dalmatinska pramenka

3.2. Analiza sastava mlijeka

Radi utvrđivanja kemijskog sastava, fizikalnih svojstava i higijenske kvalitete sirovog ovčjeg i miješanoga kravljeg i ovčjeg mlijeka provedene su sljedeće analize:

- kemijski sastav mlijeka (udio masti, proteina, laktoze, suhe tvari i suhe tvari bez masti) metodom infra-crvene spektrometrije na instrumentu Milcoscan FT 120 (HRN ISO 9622)
- količina kazeina izravnom metodom (HRN ISO 17997-2)
- količina neproteinskog dušika metodom izračunavanja preko proteinskog i ukupnog dušika (HRN ISO 8968-5)
- količina uree enzimatskom spektrofotometrijskom metodom (upute proizvođača Herbos Dijagnostika)
- pH-vrijednost potenciometrijskom metodom uz pomoć uređaja Schot CG 842,
- titracijska kiselost (˚SH) titracijom 0,1 M NaOH, (AOAC 947.05)
- točka ledišta krioskopskom metodom (HRN ISO 5764)
- broj somatskih stanica fluoro-opto-elektronskom metodom na instrumentu Fossomatic 90 (HRN ISO 13366-2)

- ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija metodom protočne citometrije na instrumentu BactoScan FC prema uputama proizvođača, izražen kao broj kolonija (CFU)/ml i (HRN ISO 21187).

3.3. Tehnologija proizvodnje lećevačkog sira u pokusu

Tehnološki proces proizvodnje lećevačkog sira prikazan je u tablici 5. Nakon pasterizacije pomiješano kravlje i ovčje mlijeko je izmjereno vaganjem i stavljeno u sirarski kotao zapremine 600 litara za proizvodnju lećevačkog sira. Količina mlijeka za sirenje varirala je ovisno o dostupnoj količini ovčjeg mlijeka (između 343 i 614 kg). U zagrijano mlijeko dodavan je prvo kalcijev klorid ($CaCl_2$) prethodno pripremljen u vodi te lizozim prethodno aktiviran u vodi koji su ravnomjerno umiješani u mlijeko. Nakon toga je dodana duboko zamrznuta starter kultura sastavljena od homofermentativnih sojeva *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus helveticus* i *Lactococcus lactis* koja je pomiješana u mlijeku i ostavljena neko vrijeme dok nije postignuta odgovarajuća zrelost mlijeka za sirenje. Kada se promijenila početna pH-vrijednost mlijeka dodavano je, u vodi prethodno, pripremljeno sirilo (100 postotni kimozin), ravnomjerno je raspoređeno i umiješano, te je ostavljeno da se mlijeko zgruša. Nakon formiranja gruša, koje je trajalo od 30 do 40 minuta, pristupilo se procjeni prikladnosti gruša za rezanje. To se odredilo osobnom iskustvenom procjenom tj. uranjanjem noža u gruš. Pri podizanju noža puknuće gruša vidljivo je u obliku ravne pukotine s jasnim rubovima uz izdvajanje bistre sirutke zelene boje. Tada se pristupalo rezanju sirnoga gruša automatskim noževima okomito postavljenima u sirarskom kotlu sve dok se nije postiglo zrno veličine pšenice (slika 4).



Slika 4. Rezanje sirnoga gruša do veličine zrna pšenice

Zatim je smjesa zrna i sirutke miješana i postupno dogrijavana na temperaturu od 42 ºC. Tim postupkom omogućeno je otjecanje sirutke iz sirnog zrna, odnosno toplinska sinereza. Nakon zadržavanja na temperaturi od 42°C zrno je, zajedno sa sirutkom, izlijevano na distribucijski stol na kojem su bili perforirani kalupi (slika 5).



Slika 5. Ispuštanje gruša u kalupe

Na distribucijskom stolu kroz perforacije na kalupima sirutka se odvojila od gruša, a kalupi napunjeni do vrha prebačeni su pod pneumatsku prešu (slika 6). Nakon tri okretanja i prešanja pod različitim opterećenjem u trajanju od dva sata, prešanje je prekinuto, a oblikovani sir ostao je u kalupima do postizanja poželjne pH-vrijednosti od 5,1 do 5,2.



Slika 6. Prešanje sira pneumatskom prešom

Nakon vađenja sira iz kalupa i njegova vaganja, sir je uronjen u salamuru jakosti od 18 do 20 °Bé, na temperaturi od 15 do 16 °C i pH-vrijednosti približno jednake pH-vrijednosti sira. Salamurenje je trajalo 24 sata, pri čemu je bilo važno osigurati ravnomjerno prodiranje soli u sir. Poslije salamurenja sirevi su se jedan dan cijedili i sušili na policama, a zatim su premješteni na zrenje u kontrolirane uvjete zrionice. Temperatura u prostoriji za zrenje sira bila je između 14 i 16 °C, a relativna vlažnost zraka između 75 i 85 %. Da bi se to osiguralo, prostorija za zrenje sira je bila opremljena uređajem za grijanje i hlađenje te automatskim ovlaživačima i odvlaživačima zraka. Za vrijeme zrenja na drvenim daskama, lećevački sir okretan je i brisan dva puta tjedno (slika 7).



Slika 7. Zrenje lećevačkog sira na drvenim daskama

Tablica 5. Tehnološki proces proizvodnje lećevačkog sira

Redni broj procesa	Opis procesa	Tehnološki parametri
1	Pasterizacija i hlađenje mlijeka	Pločasti paster 74 ± 2 ºC / 30 sec. Hlađenje na temperaturu skladištenja 4 ± 2 ºC
2	Punjenje sirnog kotla dogrijanim mlijekom	Dogrijavanje na temperaturu sirenja 30 – 32 ºC
3	Dodavanje kalcijevog klorida	0,02 %
4	Dodavanje lizozima	0,0025 %
5	Dodavanje starter kulture	0,1 %
6	Dodavanje sirila	0,0016 %
7	Sirenje	Temperatura 30 – 32 ºC Vrijeme 30 – 40 min
8	Rezanje gruša	Do veličine zrna pšenice
9	Dogrijavanje sirnog zrna	Temperatura 41 – 43 ºC
10	Sušenje sirnog zrna	Temperatura 42 ºC Vrijeme oko 35 min
11	Pražnjenje zgotovljača	-
12	Kalupljenje	Oblikovanje, rezanje sirne mase i kalupljenje
13	Prešanje sira 1.faza prešanja 2.faza prešanja 3.faza prešanja	Vrijeme prešanja 30 minuta 1 bar 30 minuta 2 bara 1 sat 3 bara
14	Soljenje sira	Jačina salamure 18 – 20 ºBé Temperatura salamure 14 – 16 ºC Vrijema soljenja 24 sata ± 2 sata pH-vrijednost 5,1 ± 0,1
15	Ocjeđivanje i sušenje sira	1 dan
16	Zrenje i njega sira	Zrenje: minimalno 90 dana Temperatura: 14 – 16 ºC Relativna vlažnost zraka: od 75 do 85 % Okretanje sira na policama: Na početku dvaput tjedno Do kraja zrenja jednom tjedno
17	Skladištenje i distribucija	Temperatura 4 – 8 ºC

3.4. Prikupljanje uzoraka sira

Za potrebe analiza tijekom istraživanja ukupno je izdvojeno 60 sireva iz 15 odabranih šarži. Iz svake šarže izdvojena su četiri sira različite zrelosti: na početku zrenja te 30., 60. i 90. dana zrenja. U svrhu fizikalno kemijskih analiza, odnosno procjene proteolitičkih promjena tijekom zrenja, pomoću sirarskog svrdla uzimani su uzorci s bočne strane sira od kraja prema sredini. Količina sira po jednom uzorku za navedene analize iznosila je oko 60 g. Za mjerenje teksturalnih osobina sira različitog stupnja zrelosti u

svakoj prethodno navedenoj fazi zrenja uzimana su po četiri uzorka cilindričnog oblika s gornje strane sira paralelno sa smjerom prešanja cijelom dubinom pomoću cjevastog svrdla zaoštrenog na vrhu. Prije uzimanja uzoraka svrdlo je premazano mineralnim uljem kako bi se spriječilo trenje i dobio uzorak sira pravilnog cilindričnog oblika. Vanjska strana (gornji i donji dio) cilindričnog uzorka je rezana kako bi se uklonio tvrdi sloj blizu kore i dobili čepovi debljine 10 mm kojima je zatvarana unutrašnjost sira. Prije zatvaranja sireva čepovi su premazani voskom i utiskivani u sireve radi daljnjeg zrenja. Količina voska je bila dovoljna za potpuno zatvaranje otvora nastalog "svrdlanjem" sira. Uzeti uzorci su stavljeni u plastičnu vrećicu kako bi se spriječila njihova dehidracija prije stavljanja u hladnjak.

3.5. Analize fizikalno-kemijskog sastava sira

U svrhu utvrđivanja fizikalno-kemijskog sastava sira provedene su sljedeće analize:

- količina mliječne masti metodom po Van Guliku (HRN ISO 3433),
- udjel proteina, udio u vodi topljivih frakcija dušika (WSN) u odnosu na ukupni dušik (% TN) i udio frakcija dušika topljivih u 12 %-tnoj trikloroctenoj kiselini (TCA-SN) u odnosu na ukupni dušik (% TN) metodom blok digestije (HRN ISO 8968-2),
- količina suhe tvari – sušenjem na 102 +/- 2 ºC (HRN ISO 5534),
- pH-vrijednost potenciometrijskom metodom pomoću instrumenta Schot CG 842,
- udio mliječne kiseline titrimetrijskom metodom,
- udio soli metodom po Mohru (AOAC 935.43).

3.6. Izračunavanje randmana sira

Randman je utvrđivan vaganjem sireva proizvedenih od prethodno izvagane količine mlijeka za sirenje, a izračunat je kao broj kilograma mlijeka potrebnog za proizvodnju jednog kilograma sira.

Očekivani randman (OR) sira, iskoristivost masti (IM) i kazeina (IK) iz mlijeka u sir izračunani su po VanSlyke-ovoj formuli (Wendorff i Kalit, 2017.):

$$\mathrm{OR} = \frac{[(\mathrm{IM} \times \%\ \text{masti u mlijeku}) + (\mathrm{IK} \times \%\ \text{kazeina u mlijeku}) \times \mathrm{IOST}]}{100 - \%\ \text{vode u siru}}$$

OR = očekivani randman

IM = iskoristivost masti iz mlijeka

IK = iskoristivost kazeina iz mlijeka
IOST = iskoristivost ostale suhe tvari iz mlijeka

$$\text{IM} = \frac{\%\ \text{masti u siru} \times \text{težina sira}}{\%\ \text{masti u mlijeku} \times \text{težina mlijeka}}$$

$$\text{IK} = \frac{\%\ \text{kazeina u siru} \times \text{težina sira}}{\%\ \text{kazeina u mlijeku} \times \text{težina mlijeka}}$$

$$\text{IOST} = \frac{\text{IM} \times \%\ \text{masti u mlijeku}}{[(\text{IM} \times \%\ \text{masti u mlijeku}) + (\text{IK} \times \%\ \text{kazeina u mlijeku})] \times \text{MST}}$$

MST = mast u suhoj tvari sira
Navedene formule upotrebljavaju se za izračunavanje randmana sireva proizvedenih od ovčjeg mlijeka.

3.7. Procjena proteolitičkih promjena u siru tijekom zrenja

Za procjenu intenziteta primarnih proteolitičkih promjena kazeina korištena je specifična metoda razdvajanja frakcija kazeina u električnom polju – elektoforeza na urea poliakrilamidnom gelu (urea-PAGE). Gelovi su skenirani pomoću uređaja Gel Doc 2000 (BIO RAD), a denzitometrijske vrijednosti traka na gelu su određene pomoću programa Quantity One, Quantitation Software (BIO RAD). Denzitometrijske vrijednosti izražene su u postotku pojedine frakcije kazeina u odnosu na ukupnu količinu u urea puferu topljivih kazeinskih frakcija elektroforetograma svakog uzorka.
Denzitometrijskim mjerenjem određeni su sljedeći indeksi zrelosti:

- Σγ-CN/β-CN (ukupni relativni udio svih γ-CN u odnosu na β-CN),
- α_{s1}I-CN/(α_{s1}I-CN + α_{s1}-CN) (relativni udio razgradnog fragmenta α_{s1}-I-CN u odnosu na sumu α_{s1}-CN i α_{s1}I-CN).

U procjeni sekundarnih proteolitičkih promjena korištena je nespecifična metoda procjene proteolize, i to:

- postotak u vodi topljivih frakcija dušika (WSN) u odnosu na ukupni dušik (TN) kao pokazatelj količine polipeptida male i srednje dužine, slobodnih aminokiselina i

njihovih soli kao posljedica ponajviše enzimatske aktivnosti kimozina i u manjoj mjeri plazmina,

- postotak dušične frakcije topljive u trikloroctenoj kiselini (TCA-SN) u odnosu na ukupni dušik (TN) kao pokazatelj količine neproteinskog dušika odnosno malih peptida (2-20 ostataka) i slobodnih aminokiselina kao posljedica enzimatske aktivnosti proteinaza i peptidaza mljekarskih kultura i slučajno prisutnih mikroorganizama te u manjoj mjeri kimozina.

3.8. Mjerenje teksturnih promjena sira

Mjerenje teksture sira odnosno njegovih reoloških svojstava tijekom zrenja je obavljeno metodom testa kompresije pomoću teksturnog analizatora (TA Plus Lloyd Instruments, UK) opremljenog mjernom stanicom od 500 N, a kao alat je korištena okrugla sonda promjera 50 mm. Cilindrični uzorci uzeti su čitavom dubinom sira s posebnim svrdlom. Nakon toga su rashlađeni te sutradan rezani u manje uzorke. Prije izvođenja testa kompresije sonda je premazana mineralnim uljem. Tijekom testa sonda se kretala brzinom od 10 mm/min do trenutka kad je postigla 80% deformacije uzorka. Svaki uzorak je analiziran u dva ponavljanja.

Analizator je bio povezan sa softverskim programom Nexygen plus iz čijih dijagrama su se izračunale sljedeće varijable:

- napon puknuća – vrijednost naprezanja (kPa) pri kojem dolazi do puknuća parakazeinske strukture uzorka,
- deformacija u točki puknuća – visina uzorka postignuta prilikom puknuća parakazeinske strukture u odnosu na početnu visinu uzorka (%),
- elastičnost – duljina kretanja sonde (mm) od početka testa do točke puknuća.

3.9. Statistička obrada podataka

Statistička obrada podataka provedena je primjenom statističkog programa SAS (SAS Institute Inc., 2001.). Svi prikupljani podatci testirani su na postojanje normalne raspodjele, a po potrebi i transformirani prije statističke obrade. Za opis analiziranih varijabli korištene su metode opisne statistike (PROC UNIVARIATE). Utjecaj različitih udjela ovčjeg i kravljeg mlijeka na fizikalno-kemijski sastav, proteolitičke i teksturalne pokazatelje tijekom zrenja lećevačkog sira, kao i utjecaj sezone, godine i stada na kemijski sastav, fizikalna svojstva i higijensku kvalitetu mlijeka dalmatinske pramenke, testirane su analizom varijance (PROC GLM). Za analizu utjecaja sezone na varijabilnost

dušičnih sastojaka ovčjeg mlijeka korištena je analiza varijance koristeći model sa sezonom kao fiksnim i stadom kao slučajnim utjecajem. Za utvrđivanje razlika između prosjeka skupina kod kojih je utvrđen značajan utjecaj na razini $P<0,05$ koristit će se Tukey-Kramer post hoc test. Dobivene vrijednosti prikazat će se tablično i bit će izražene kao procijenjena srednja vrijednost i standardna greška (LSM +/- SE).

4. REZULTATI ISTRAŽIVANJA

4.1. Sastav miješanog ovčjeg i kravljeg mlijeka upotrijebljenog za proizvodnju lećevačkog sira

Kravlje mlijeko koje je upotrebljavano za proizvodnju lećevačkog sira sadržavalo je prosječno 3,74 % mliječne masti i 3,36 % proteina, a prosječna pH-vrijednost iznosila je 6,56. Sastav miješanog ovčjeg i kravljeg mlijeka upotrijebljenog za proizvodnju lećevačkog sira prikazan je u tablici 6.

Tablica 6. Utjecaj udjela ovčjeg mlijeka na sastav miješanog mlijeka upotrijebljenog za proizvodnju lećevačkog sira (1. razred 35-39 % : 65-61 %; 2. razred 40-44 % : 60-56 % i 3. razred 45-50 % : 55-50 %).

Sastojak mlijeka	**Udio ovčjega mlijeka u kravljem mlijeku u %**			**Razina značajnosti**
	od 35 do 39 n = 5	**od 40 do 44** n = 5	**od 45 do 50** n = 5	
Mliječna mast (g/100 g)	4,43 ± 0,18	4,80 ± 0,20	4,79 ± 0,22	NZ
Proteini (g/100 g)	4,06 ± 0,09	4,26 ± 0,10	4,37 ± 0,12	NZ
Laktoza (g/100 g)	4,24 ± 0,05	4,31 ± 0,05	4,30 ± 0,06	NZ
Suha tvar (g/100 g)	13,68 ± 0,25	14,26 ± 0,27	14,36 ± 0,30	NZ
STBM (g/100 g)	$9,16^{a}$ ± 0,09	$9,43^{ab}$ ± 0,10	$9,57^{b}$ ± 0,11	*
Kazein (g/100 g)	3,20 ± 0,07	3,40 ± 0,08	3,47 ± 0,08	P<0,1
NPN (g/100 g)	0,17 ± 0,02	0,13 ± 0,02	0,13 ± 0,03	NZ
pH	6,65 ± 0,37	6,61 ± 0,37	6,64 ± 0,42	NZ
Urea (mg/100 ml)	28,27 ± 4,12	29,08 ± 4,52	28,65 ± 5,05	NZ

Rezultati su izraženi kao prosjek sume najmanjih kvadrata ± standardna greška razlike; a, b vrijednosti u istom redu označene različitim slovima značajno se razlikuju, * (P<0,05), ^{t}P<0.10, NZ = nema značajne razlike, STBM – suha tvar bez mliječne masti, NPN – neproteinski dušik.

Povećanje udjela ovčjeg mlijeka u miješanome mlijeku za proizvodnju lećevačkog sira utjecalo je na povećanje udjela mliječne masti, proteina, laktoze i suhe tvari, kao i na smanjenje udjela neproteinskog dušika (tablica 6), ali ovaj utjecaj nije bio statistički značajan. Povećanje udjela ovčjeg mlijeka u miješanome mlijeku statistički je značajno (P<0,05) utjecalo na udio suhe tvari bez masti, a statistički značajna razlika utvrđena je između miješanog mlijeka s udjelom ovčjeg mlijeka od 35 % do 39 % u odnosu na

miješano mlijeko s udjelom ovčjeg mlijeka od 45 % do 50 %. Nadalje, veći udio ovčjeg mlijeka u mlijeku za proizvodnju lećevačkog sira pokazivao je trend prema značajnosti za udio kazeina (P<0,1). Razlike u udjelu kazeina utvrđene su u miješanom mlijeku s udjelom ovčjeg mlijeka od 35 % do 39 % u odnosu na miješano mlijeko s udjelom ovčjeg mlijeka od 45 % do 50 % (tablica 6).

4.2. Utjecaj udjela ovčjeg mlijeka na fizikalno-kemijske karakteristike lećevačkog sira

Utjecaj udjela ovčjeg mlijeka na fizikalno-kemijske karakteristike lećevačkog sira prikazan je u tablici 7.

Tablica 7. Utjecaj udjela ovčjeg mlijeka u miješanome mlijeku na fizikalno-kemijski sastav lećevačkog sira tijekom 90 dana zrenja.

Pokazatelj	**Udio ovčjeg u miješanom mlijeku (%)**			
	od 35 do 39 n=5	**od 40 do 44** n=5	**od 45 do 50** n=5	**Razina značajnosti**
Suha tvar (g/100 g)	$61,02^{a} \pm 0,27$	$60,65^{a} \pm 0,30$	$59,22^{b} \pm 0,34$	**
Mliječna mast (g/100 g)	$31,02^{a} \pm 0,42$	$30,88^{a} \pm 0,46$	$28,34^{b} \pm 0,47$	**
Proteini (g/100 g)	$24,34^{a} \pm 0,21$	$24,31^{a} \pm 0,23$	$25,20^{b} \pm 0,26$	*
Voda u bezmasnoj tvari sira (%)	56,51±0,43	56,93±0,46	56,91±0,50	NZ
Sol (%)	1,41 ± 0,04	1,40 ± 0,05	1,39 ± 0,05	NZ
pH	5,09 ± 0,03	5,04 ± 0,03	5,08 ± 0,03	NZ
Mliječna kiselina (%)	1,46 ± 0,04	1,40 ± 0,04	1,40 ± 0,04	NZ

Rezultati su izraženi kao prosjek sume najmanjih kvadrata ± standardna greška razlike; a, b vrijednosti u istom redu označene različitim slovima značajno se razlikuju, * (P<0,05),** (P<0,01), NZ = nema značajne razlike.

Povećanjem udjela ovčjeg mlijeka u mješavini ovčjeg i kravljeg mlijeka značajno su smanjeni (P<0,01) udjeli suhe tvari i mliječne masti u lećevačkom siru (tablica 7). Nije utvrđen značajan utjecaj miješanja različitih udjela ovčjeg mlijeka s kravljim mlijekom na sadržaj vode u bezmasnoj tvari sira.

Povećanjem udjela ovčjeg mlijeka do 39 % i do 44 % u mješavini ovčjeg i kravljeg mlijeka nije utvrđena statistički značajna razlika na udio proteina u siru (tablica 7). Povećanjem udjela ovčjeg mlijeka u miješanom mlijeku od 45 % do 50 % utvrđeno je da se udio proteina u siru značajno povećava (P<0,05; tablica 7).

Povećanje udjela ovčjeg mlijeka nije imalo značajan utjecaj na udio soli u siru (tablica 7).

Omjer miješanja nije imao značajan utjecaj na pH-vrijednost kao i na udio mliječne kiseline u lećevačkom siru (tablica 7).

4.3. Utjecaj udjela ovčjeg mlijeka na proteolitičke promjene lećevačkog sira

Utjecaj udjela ovčjeg mlijeka na proteolitičke promjene lećevačkog sira prikazan je u tablici 8.

Tablica 8. Utjecaj udjela ovčjeg mlijeka u miješanome mlijeku na proteolitičke promjene lećevačkog sira tijekom 90 dana zrenja

Pokazatelj	**Udio ovčjega u miješanome mlijeku (%)**			**Razina značajnosti**
	od 35 do 39 n=5	**od 40 do 44** n=5	**od 45 do 50** n=5	
I γ/β	0,44 ± 0,02	0,41 ± 0,02	0,41 ± 0,03	NZ
I α	0,55 ± 0,02	0,51 ± 0,02	0,53 ± 0,02	NZ
WSN (% TN)	18,92 ± 0,58	18,44 ± 0,60	17,47 ± 0,65	NZ
TCA-SN (% TN)	11,20 ± 0,62	11,62 ± 0,64	10,84 ± 0,70	NZ

Rezultati su izraženi kao prosjek sume najmanjih kvadrata ± standardna greška razlike; NZ = nema značajne razlike, ST = suha tvar, $I_{\gamma/\beta}$ = indeks beta, I_{α} = indeks alfa, WSN (%TN) = postotak u vodi topljivih frakcija dušika u odnosu na ukupni dušik, TCA-SN (%TN) = postotak u trikloroctenoj kiselini topljivih frakcija dušika u odnosu na ukupni dušik.

Iz tablice 8 vidljivo je da omjer miješanja nije imao značajan utjecaj na indeks zrenja α, premda treba spomenuti da su najveće vrijednosti indeksa α izmjerene u siru proizvedenom s najmanjim udjelom ovčjeg mlijeka (tablica 8).

Omjer miješanja nije imao značajan utjecaj na indeks zrenja β, premda treba spomenuti da je najveća vrijednost indeksa β izmjerena isto kao i za indeks α – u siru s najmanjim udjelom ovčjeg mlijeka (tablica 8).

Istraživanjem je utvrđeno da omjer miješanja ovčjeg i kravljeg mlijeka nije imao značajan utjecaj na udio dušika topljivog u vodi, premda se može vidjeti kako se povećanjem udjela ovčjeg mlijeka u miješanome mlijeku postotak dušika topljivog u vodi u lećevačkom siru smanjuje (tablica 8).

Omjer miješanja ovčjeg i kravljeg mlijeka nije imao značajan utjecaj na postotak dušika topljivog u trikloroctenoj kiselini (tablica 8).

4.4. Utjecaj udjela ovčjeg mlijeka na randman lećevačkog sira

Utjecaj udjela ovčjeg mlijeka na randman lećevačkog sira prikazan je u tablici 9.

Tablica 9. Utjecaj udjela ovčjeg mlijeka u miješanome mlijeku na randman lećevačkog sira tijekom 90 dana zrenja

Pokazatelj	**Udio ovčjega u miješanome mlijeku (%)**			**Razina značajnosti**
	od 35 do 39 n=5	**od 40 do 44** n=5	**od 45 do 50** n=5	
Stvarni randman*	7,48 ± 0,23	7,38 ± 0,26	7,25 ± 0,29	P=0,11
Očekivani randman**	10,63 ± 0,33	10,96 ± 0,35	10,74 ± 0,37	NZ
Voda u siru (%)	35,55 ± 0,65	36,08 ± 0,71	37,69 ± 0,80	NZ
Sol u siru (%)	1,64 ± 0,09	1,65 ± 0,10	1,67± 0,11	NZ
Mast u suhoj tvari sira (%)	49,86 ± 0,75	50,52 ± 0,80	47,55 ± 0,85	NZ
Iskoristivost masti	0,76 ± 0,03	0,74 ± 0,04	0,66 ± 0,05	P=0,074
Iskoristivost kazeina	0,82 ± 0,04	0,83 ± 0,05	0,82 ± 0,06	NZ

Rezultati su izraženi kao prosjek sume najmanjih kvadrata ± standardna greška razlike; NZ = nema značajne razlike, *Kilogrami mlijeka potrebnih za proizvodnju 1 kg lećevačkog sira, ** randman izračunat po Van Slyke-ovoj formuli

Povećanjem udjela ovčjeg mlijeka u proizvodnji lećevačkog sira utvrđen je trend povećanja stvarnog randmana (P=0,11; manjeg utroška mlijeka za proizvodnju jednog kilograma sira; tablica 9).

Iz tablice 9 vidljivo je da se očekivani randman lećevačkog sira povećava do udjela ovčjeg mlijeka od 44 %, da bi se daljnjim povećanjem udjela ovčjeg mlijeka preko 45 % smanjio, što se može povezati s trendom smanjenja iskoristivosti masti (P=0,074). Nasuprot tome, iskoristivost kazeina bila je prilično ujednačena, bez obzira na povećanje udjela ovčjeg mlijeka u miješanome mlijeku.

4.5. Utjecaj udjela ovčjeg mlijeka na teksturu lećevačkog sira

Utjecaj udjela ovčjeg mlijeka na teksturu lećevačkog sira prikazan je u tablici 10.

Tablica 10. Utjecaj udjela ovčjeg mlijeka u miješanome mlijeku na teksturu lećevačkog sira tijekom 90 dana zrenja

Pokazatelj	**Udio ovčjega u miješanome mlijeku (%)**			**Razina značajnosti**
	od 35 do 39 n=5	**od 40 do 44** n=5	**od 45 do 50** n=5	
Napon puknuća (kPa)	64,88 ± 4,53	74,94 ± 4,53	79,70 ± 5,06	P=0,088
Deformacija do točke puknuća (%)	38,79^{a} ± 1,92	45,54^{b} ± 1,92	41,05^{ab} ± 2,15	*
Elastičnost (mm)	9,70^{a} ± 0,48	11,38^{b} ± 0,48	10,26^{ab} ± 0,54	*

Rezultati su izraženi kao prosjek sume najmanjih kvadrata ± standardna greška razlike; a, b vrijednosti u istom redu označene različitim slovima značajno se razlikuju, * (P<0,05).

Povećanjem udjela ovčjeg mlijeka u proizvodnji lećevačkog sira utvrđen je trend povećanja napona puknuća sira (P=0,088; tablica 10).

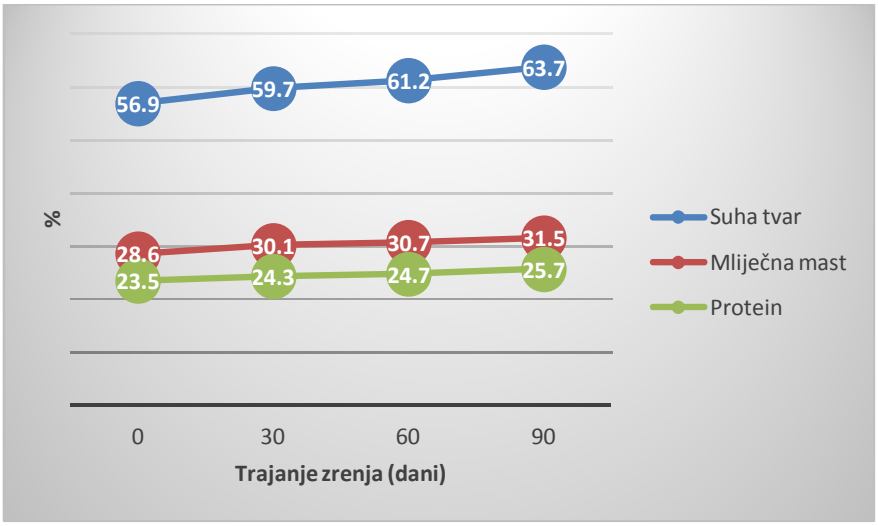
Iz tablice 10 vidljivo je da se povećanjem udjela ovčjeg mlijeka s 35 do 39 % na 40 do 44 % značajno povećao (P<0,05) postotak deformacije do točke puknuća.

Povećanjem udjela ovčjeg mlijeka s 35 do 39 % na 40 do 44 %, elastičnost se značajno povećava (P<0,05; tablica 10).

4.6. Utjecaj trajanja zrenja na sastav lećevačkog sira

S obzirom na to da nije bilo interakcije utjecaja udjela ovčjeg mlijeka i trajanja zrenja u predmetnom istraživanju, rezultati utjecaja udjela ovčjeg mlijeka i trajanja zrenja prikazani su odvojeno.

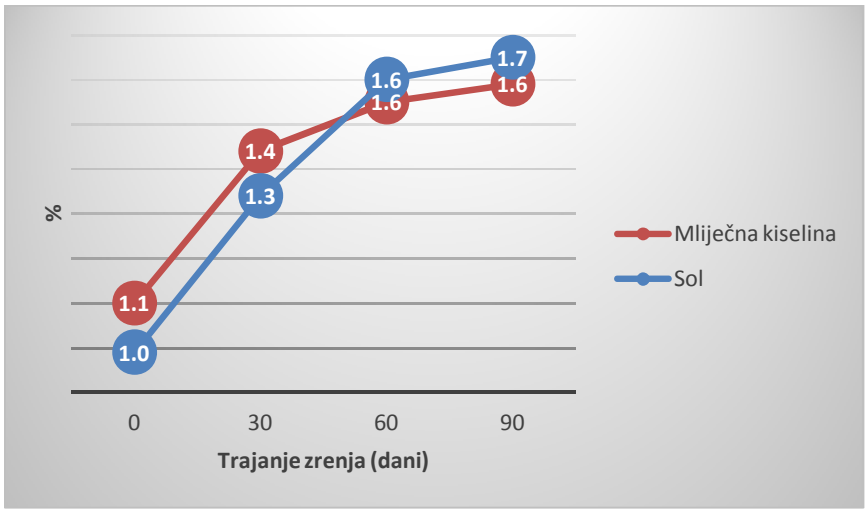
Utjecaj trajanja zrenja na sastav lećevačkog sira prikazan je u grafikonima 1 i 2.



Grafikon 1. Utjecaj trajanja zrenja na udio suhe tvari, mliječne masti i proteina u lećevačkom siru (n=15)

Vrijednosti unutar iste krivulje razlikuju se (P<0,01).

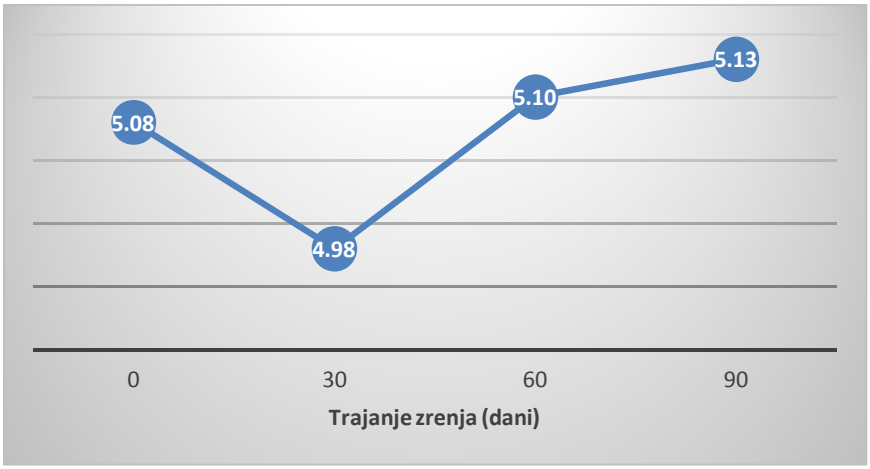
Tijekom zrenja udio suhe tvari, mliječne masti i proteina u lećevačkom siru značajno se povećavao (P<0,01; grafikon 1).



Grafikon 2. Utjecaj trajanja zrenja na udio soli i mliječne kiseline u lećevačkom siru (n=15)

Udio soli i udio mliječne kiseline značajno su se povećavali tijekom zrenja lećevačkog sira (P<0,01; grafikon 2).

Utjecaj trajanja zrenja na pH-vrijednost lećevačkog sira prikazan je u grafikonu 3.

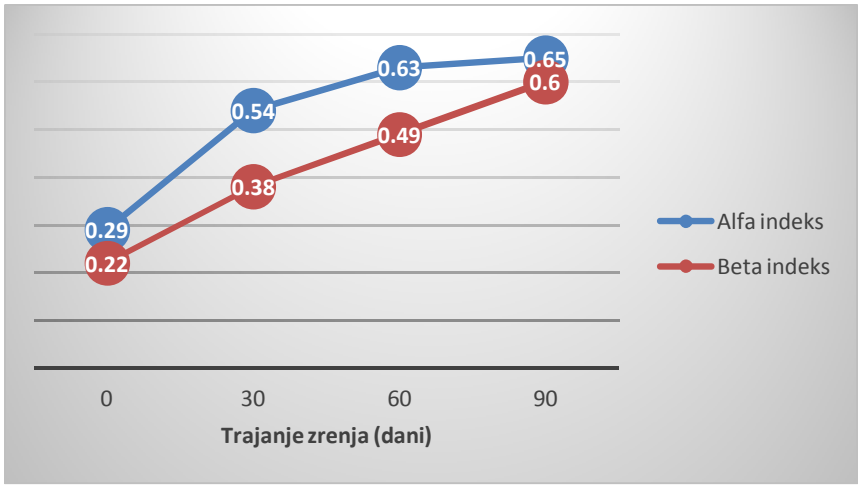


Grafikon 3. Utjecaj trajanja zrenja na pH-vrijednost lećevačkog sira (n=15)

Trajanje zrenja značajno je utjecalo na pH-vrijednost sira (P<0,01; grafikon 3). Najniža pH-vrijednost izmjerena je 30. dana zrenja, nakon čega je rasla do kraja zrenja sira.

4.7. Utjecaj trajanja zrenja na proteolizu lećevačkog sira

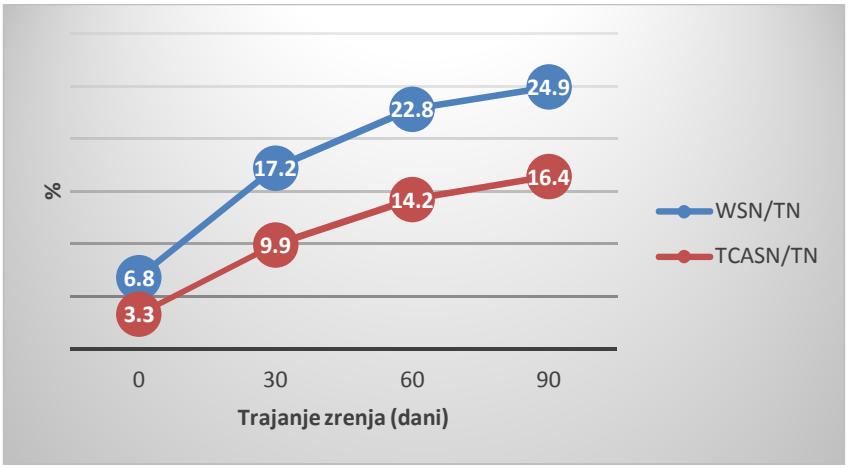
Utjecaj trajanja zrenja na proteolizu lećevačkog sira prikazan je u grafikonima 4 i 5.



Grafikon 4. Utjecaj trajanja zrenja na indekse alfa i beta (n=15)

Vrijednosti unutar iste krivulje razlikuju se (P<0,01).

Tijekom zrenja lećevačkog sira došlo je do značajnog povećanja (P<0,01) indeksa zrenja alfa i indeksa zrenja beta (grafikon 4).



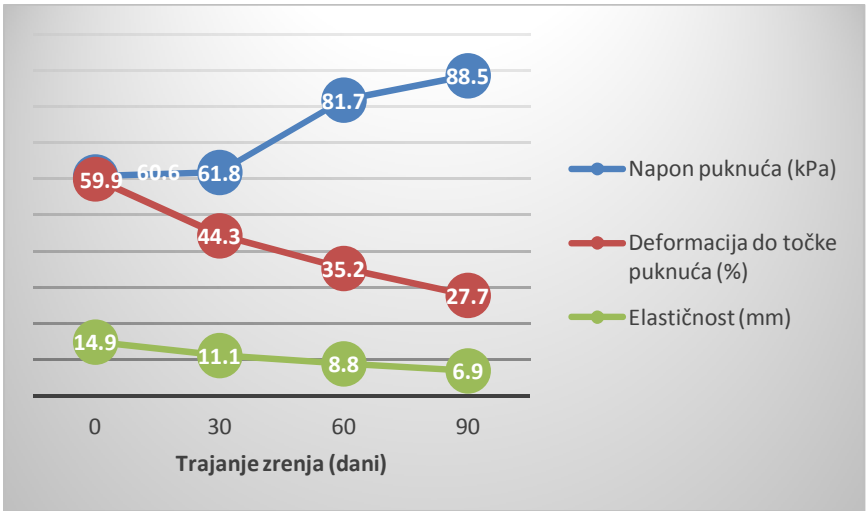
Grafikon 5. Utjecaj trajanja zrenja na postotak u vodi topljivog dušika [WSN (%TN)] i u 12-postotnoj trikloroctenoj kiselini topljivog dušika [TCA-SN (%TN)] u odnosu na ukupni dušik (n=15)

Vrijednosti unutar iste krivulje razlikuju se (P<0,01).

Udio dušika topljivog u vodi i udio dušika topljivog u 12-postotnoj trikloroctenoj kiselini značajno su se povećavali (P<0,01) tijekom zrenja lećevačkog sira (grafikon 5). U lećevačkom siru uočeno je intenzivnije povećanje udjela ovih dviju frakcija dušika u prvih 30 dana zrenja, nakon čega je povećanje bilo postupno do kraja zrenja.

4.8. Utjecaj trajanja zrenja na teksturu lećevačkog sira

Utjecaj trajanja zrenja na teksturu lećevačkog sira prikazan je u grafikonu 6.



Grafikon 6. Utjecaj trajanja zrenja na teksturu lećevačkog sira (n=15)
Vrijednosti unutar iste krivulje razlikuju se (P<0,01).

Utvrđene promjene teksture uzrokovane zrenjem bile su značajne (P<0,01; grafikon 6). Najveće promjene napona puknuća dogodile su se između 30. i 60. dana zrenja. Smanjenje postotka deformacije do točke puknuća bilo je značajno od nultog do 60. dana zrenja, da bi se nakon toga usporilo do kraja zrenja. Elastičnost sira značajno se smanjivala od nultog do 60. dana zrenja, da bi se nakon toga smanjenje elastičnosti usporilo do kraja zrenja.

4.9. Utjecaj sezone na kemijski sastav, fizikalna svojstva i higijensku kvalitetu mlijeka dalmatinske pramenke

Zbog svoje vremenske zahtjevnosti, malo je višegodišnjih istraživanja praćenja utjecaja sezone, godine i stada na varijabilnost sastava ovčjeg mlijeka koje se na području Mediterana i Submediterana u pravilu koristi za proizvodnju tvrdih sireva. Istraživanje utjecaja sezone, godine i stada na varijabilnost ovčjeg mlijeka značajno je s obzirom da su ovce sezonski poliestrične životinje kod kojih je dostupnost mlijeka na vrhuncu u proljeće, zatim slijedi znatno smanjenje početkom ljeta te potpuni izostanak ili mala dostupnost od kolovoza do listopada odnosno studenoga (Freitas i Malcata, 2000.; Alonso i sur., 2012.; Todaro i sur., 2015.). Razlog tome je činjenica da laktacija kod većine jedinki u stadu

započinje u istom periodu godine odnosno u istoj sezoni, a završava također u istom periodu godine odnosno u istoj sezoni. Stoga je za očekivati značajan utjecaj sezone na sastav ovčjeg mlijeka, što nije slučaj s kravljim mlijekom za koje se smatra da su promjene u sastavu minimalne tijekom godine budući da skupno mlijeko od različitih stada krava ne bi trebalo umnogome varirati između sezona jer je riječ o cjelogodišnjem uzgoju (Park i sur., 2007.). Prema tome, zbog sezonskog ritma dobivanja mlijeka od malih preživača postoje velike fluktuacije između ljeta i zime, pa je teško održati standardizirani sastav sira proizvedena od mlijeka malih preživača (Bubić, 1981.; Campos i sur., 2011.), pa tako i na sastav sira od miješanog ovčjeg i kravljeg mlijeka tijekom godine.

U predmetnom istraživanju, utvrđeni sastav ovčjeg mlijeka dalmatinske pramenke (tablica 11) bio je unutar granica sastava drugih hrvatskih izvornih pasmina ovaca koje se upotrebljavaju u proizvodnji tradicijskih tvrdih sireva (Matutinović i sur., 2007.).

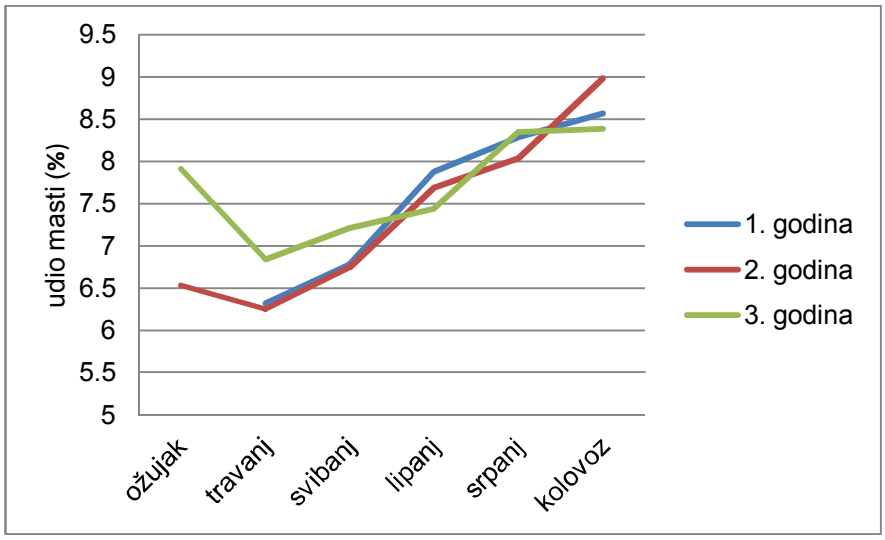
Tablica 11. Sastav mlijeka ovaca dalmatinske pramenke (n=148)

Sastojak mlijeka	$\bar{x}$	**Sd**	**Min.**	**Max.**	**C.V.**
Mliječna mast (g/100 g)	7,29	1,11	4,41	10,54	15,23
Proteini (g/100 g)	6,09	0,56	5,24	8,18	9,20
Kazein (g/100 g)	4,68	0,43	3,34	5,85	9,19
Laktoza (g/100 g)	4,36	0,29	3,15	4,81	6,65
Suha tvar (g/100 g)	18,52	1,21	15,57	21,75	6,53
Suha tvar bez masti (g/100 g)	11,33	0,40	10,42	12,49	3,53
NPN (g/100 g)	0,316	0,14	0,102	0,498	44,3
pH	6,71	0,10	6,53	7,07	1,49
°SH	8,6	0,77	7,0	10,4	8,95
Točka ledišta (°C)	-0,5626	0,0189	-0,6274	-0,5309	3,36
UBM (log_{10})	6,49	6,89	4,46	7,28	2,40
BSS (log_{10})	5,85	5,61	5,11	6,39	1,76
Urea (mg/100 ml)	37,11	10,44	17,21	63,63	28,13

$\bar{x}$ - srednja vrijednost, sd - standardna devijacija, C.V. - koeficijent varijacije, NPN – neproteinski dušik, BSS - broj somatskih stanica/ml, UBM - ukupan broj mikroorganizama (cfu/ml)

Sezonske varijacije značajno su utjecale na kemijski sastav mlijeka dalmatinske pramenke (grafikoni od 7 do 14).

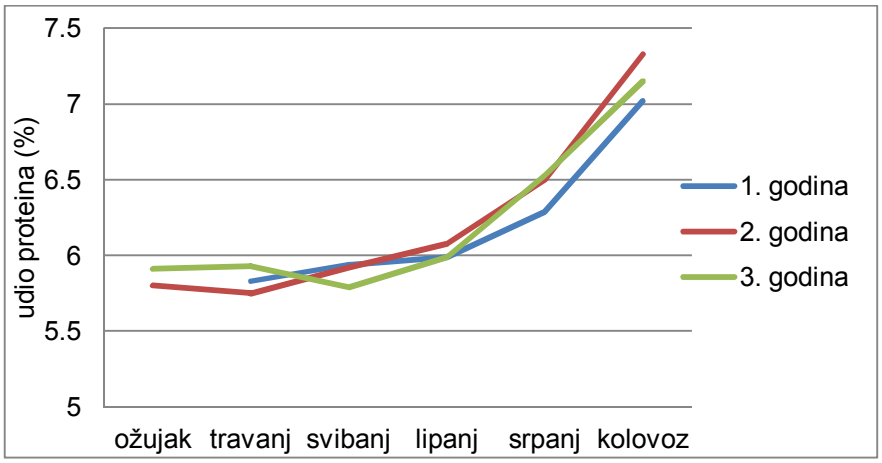
Utjecaj sezone na udio mliječne masti mlijeka ovaca dalmatinske pramenke prikazan je u grafikonu 7.



Grafikon 7. Utjecaj sezone na udio mliječne masti u ovčjem mlijeku (n=148)

Sezona je značajno utjecala (P<0,001) na udio mliječne masti u ovčjem mlijeku (grafikon 7).

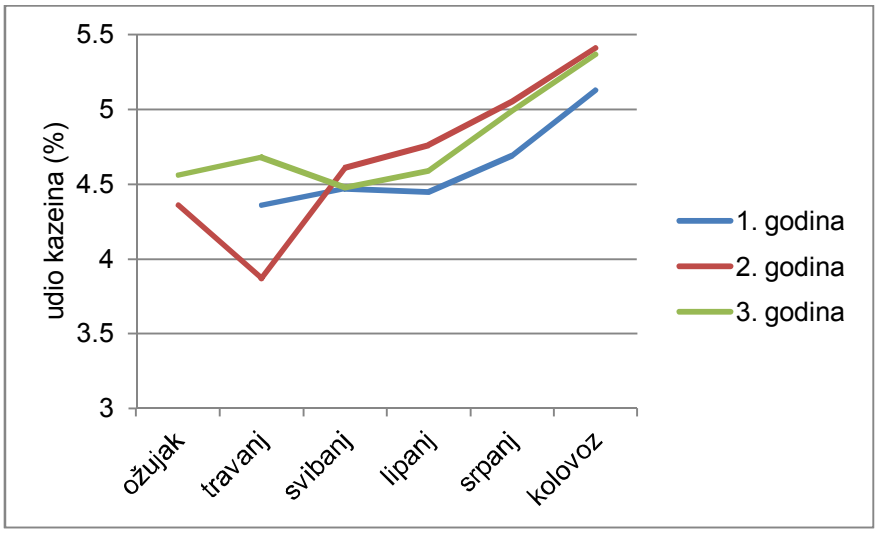
Utjecaj sezone na udio proteina mlijeka ovaca dalmatinske pramenke prikazan je u grafikonu 8.



Grafikon 8. Utjecaj sezone na udio proteina u ovčjem mlijeku (n=148)

Iz grafikona 8 može se vidjeti da je sezona značajno utjecala (P<0,001) na udio proteina u ovčjem mlijeku.

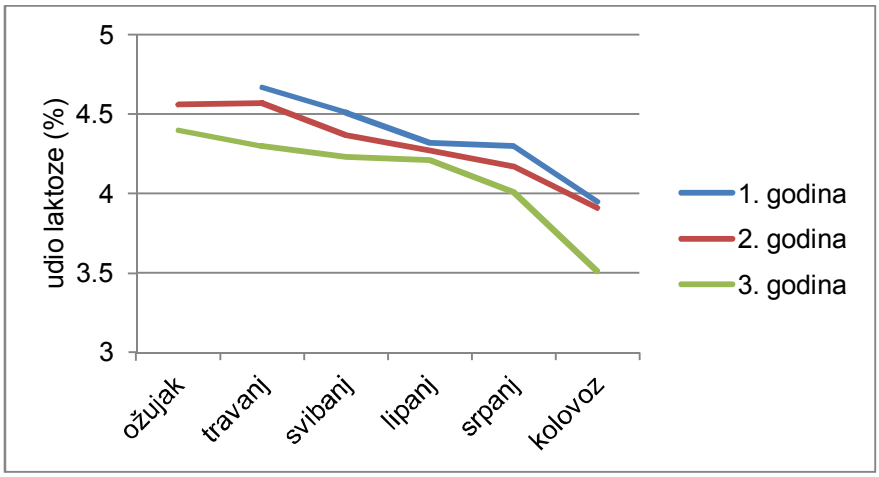
Utjecaj sezone na udio kazeina u mlijeku ovaca dalmatinske pramenke prikazan je u grafikonu 9.



Grafikon 9. Utjecaj sezone na udio kazeina u ovčjem mlijeku (n=148)

Sezona je značajno utjecala (P<0,001) na udio kazeina u ovčjem mlijeku (grafikon 9).

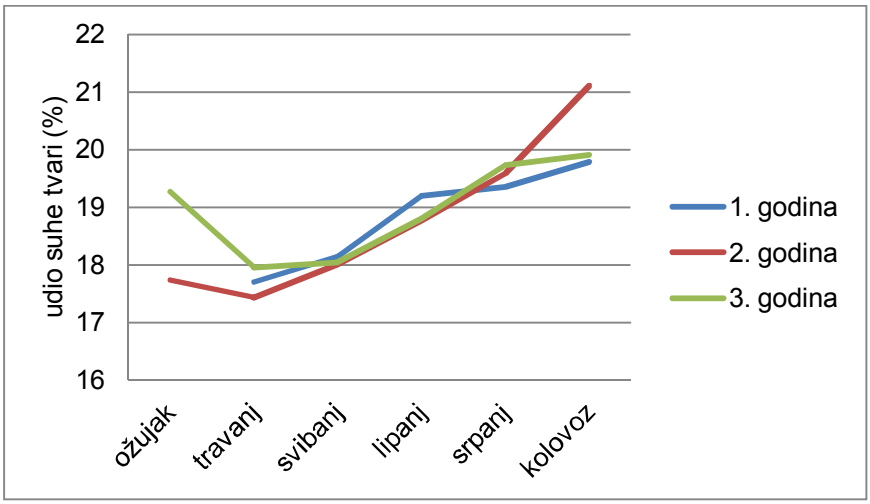
Utjecaj sezone na udio laktoze u mlijeku ovaca dalmatinske pramenke prikazan je u grafikonu 10.



Grafikon 10. Utjecaj sezone na udio laktoze u ovčjem mlijeku (n=148)

Iz grafikona 10 može se vidjeti da se udio laktoze u ovčjem mlijeku značajno (P<0,001) smanjuje tijekom sezone.

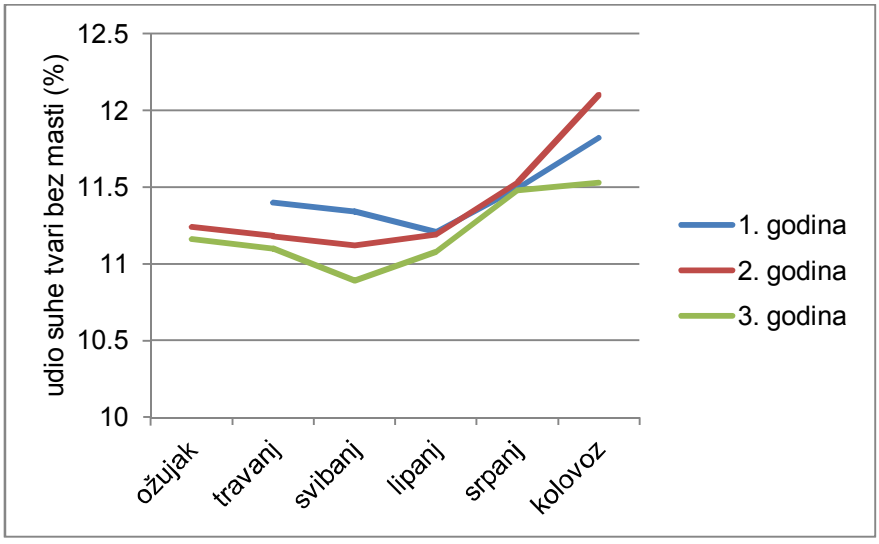
Utjecaj sezone na udio suhe tvari u mlijeku ovaca dalmatinske pramenke prikazan je u grafikonu 11.



Grafikon 11. Utjecaj sezone na udio suhe tvari u ovčjem mlijeku (n=148)

Sezona je značajno utjecala (P<0,001) na udio suhe tvari u ovčjem mlijeku (grafikon 11).

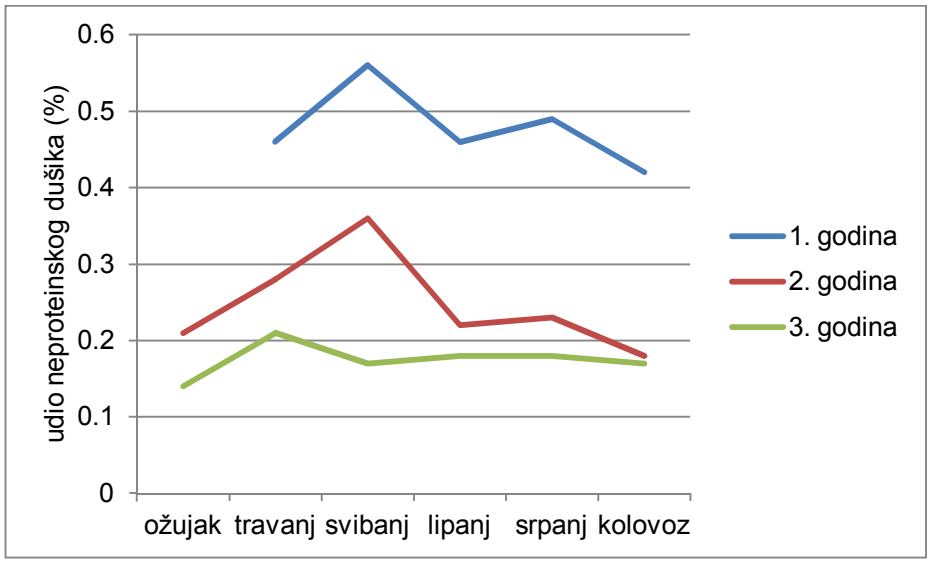
Utjecaj sezone na udio suhe tvari bez masti u mlijeku ovaca dalmatinske pramenke prikazan je u grafikonu 12.



Grafikon 12. Utjecaj sezone na udio suhe tvari bez masti u ovčjem mlijeku (n=148)

Utvrđen je statistički značajan utjecaj (P<0,05) sezone na udio suhe tvari bez masti u ovčjem mlijeku (grafikon 12).

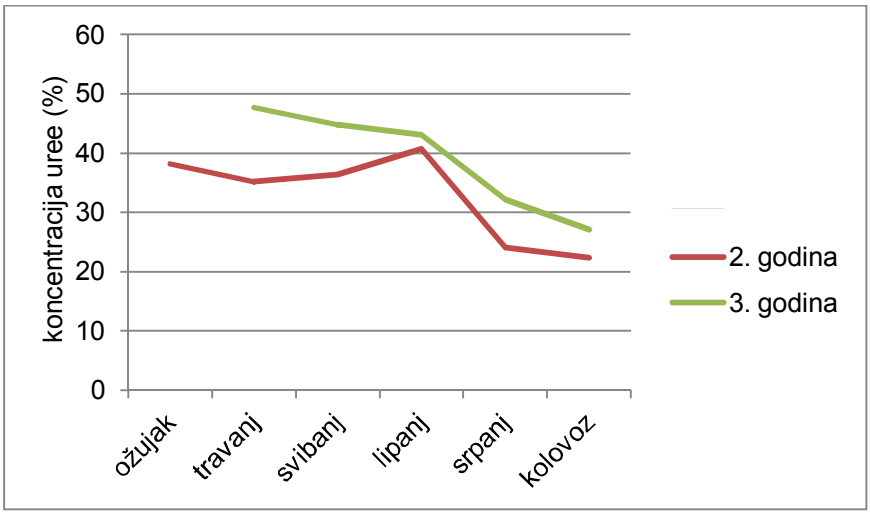
Utjecaj sezone na udio neproteinskog dušika u mlijeku ovaca dalmatinske pramenke prikazan je u grafikonu 13.



Grafikon 13. Utjecaj sezone na udio neproteinskog dušika (NPN) u ovčjem mlijeku (n=148)

Iz grafikona 13 vidljivo je da je sezona značajno utjecala (P<0,05) na udio neproteinskog dušika u ovčjem mlijeku, dok je godina imala još veći utjecaj (P<0,01) na udio neproteinskog dušika u ovčjem mlijeku.

Utjecaj sezone na koncentraciju uree u mlijeku ovaca dalmatinske pramenke prikazan je u grafikonu 14.

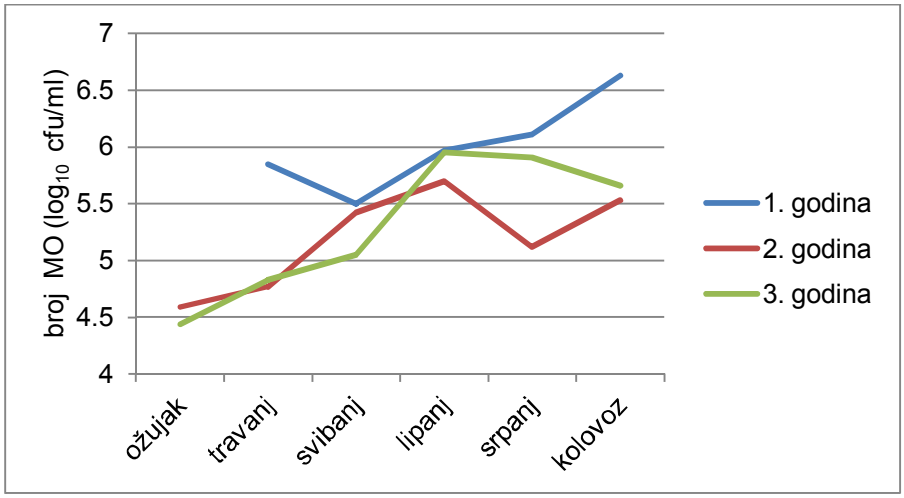


Grafikon 14. Utjecaj sezone na koncentraciju uree (mg/dl) u ovčjem mlijeku (n=98)

Iz grafikona 14 vidljivo je da je sezona značajno utjecala (P<0,01) na koncentraciju uree u mlijeku dalmatinske pramenke.

Sezonske varijacije značajno su utjecale na higijensku kvalitetu mlijeka dalmatinske pramenke (grafikoni 15 i 16).

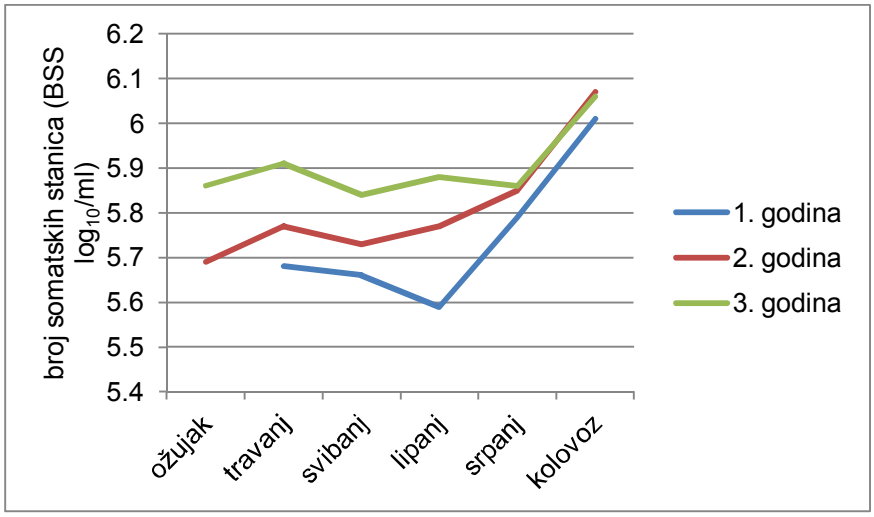
Utjecaj sezone na UBM u mlijeku ovaca dalmatinske pramenke prikazan je u grafikonu 15.



Grafikon 15. Utjecaj sezone na ukupan broj mikroorganizama (UBM $\log_{10}$ cfu/ml) u ovčjem mlijeku (n=148)

Iz grafikona 15 vidljivo je da je sezona značajno utjecala (P<0,05) na UBM u ovčjem mlijeku.

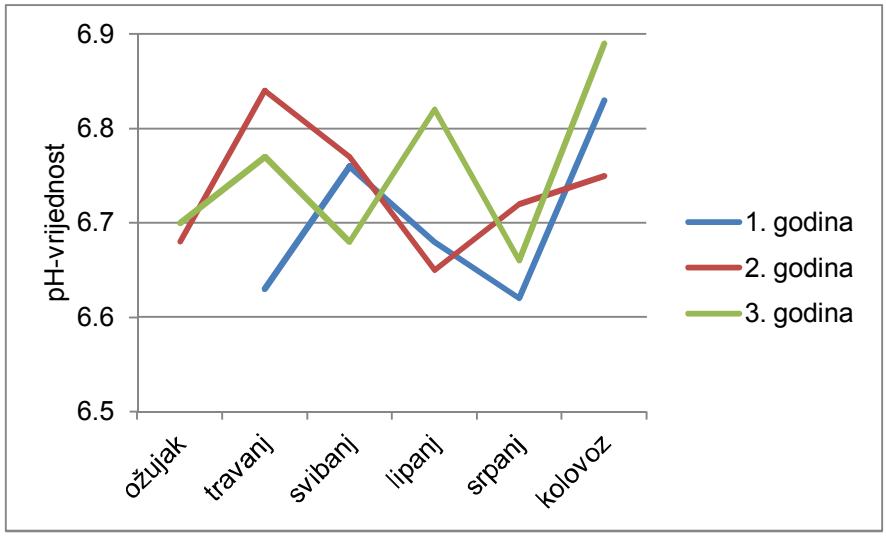
Utjecaj sezone na BSS u mlijeku ovaca dalmatinske pramenke prikazan je u grafikonu 16.



Grafikon 16. Utjecaj sezone na broj somatskih stanica (BSS log_{10}/ml) u ovčjem mlijeku (n=148)

Sezona je značajno utjecala (P<0,05) na BSS u ovčjem mlijeku (grafikon 16).

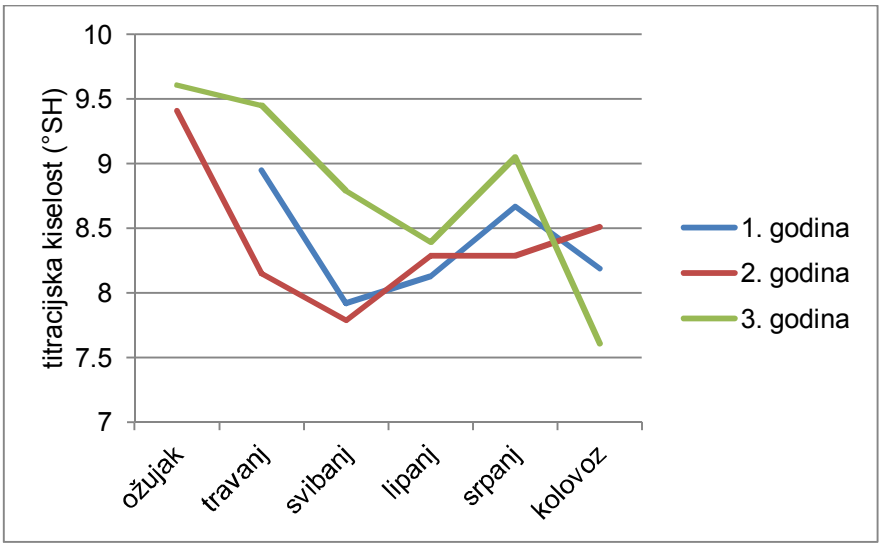
Utjecaj sezone na pH-vrijednost mlijeka ovaca dalmatinske pramenke prikazan je u grafikonu 17.



Grafikon 17. Utjecaj sezone na pH-vrijednost ovčjeg mlijeka (n=148)

Sezona je značajno utjecala (P<0,05) na pH-vrijednost ovčjeg mlijeka (grafikon 17).

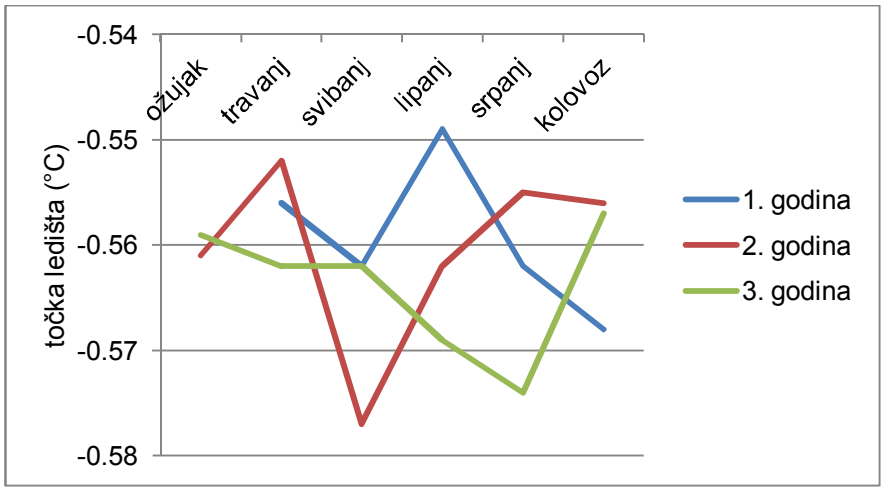
Utjecaj sezone na titracijsku kiselost mlijeka ovaca dalmatinske pramenke prikazan je u grafikonu 18.



Grafikon 18. Utjecaj sezone na titracijsku kiselost (°SH) ovčjeg mlijeka (n=148)

Utvrđen je značajan utjecaj (P<0,05) sezone na titracijsku kiselost (°SH) ovčjeg mlijeka (grafikon 18).

Utjecaj sezone na točku ledišta (°C) mlijeka ovaca dalmatinske pramenke prikazan je u grafikonu 19.



Grafikon 19. Utjecaj sezone na točku ledišta (°C) ovčjeg mlijeka (n=148)

Iz grafikona 19 vidljivo je da sezona nije značajno utjecala na točku ledišta (°C) ovčjeg mlijeka.

4.10. Utjecaj godine na kemijski sastav, fizikalna svojstva i higijensku kvalitetu mlijeka ovaca dalmatinske pramenke

Utjecaj godine na kemijski sastav, fizikalna svojstva i higijensku kvalitetu mlijeka ovaca dalmatinske pramenke prikazan je u tablici 12.

Tablica 12. Utjecaj godine na sastav mlijeka dalmatinske pramenke (LSM ± S.E.) (n=148)

Sastojak/osobina mlijeka	**Godina**			**Razina značajnosti**
	1. (n=52)	**2.** (n=48)	**3.** (n=48)	
Mliječna mast (g/100 g)	7,53± 0,14	7,38 ± 0,18	7,74 ± 0,18	NZ
Proteini (g/100 g)	5,94 ± 0,07^{a}	6,20 ± 0,09^{b}	6,18 ±0,08^{b}	*
Kazein (g/100 g)	4,52 ± 0,07^{a}	4,70 ± 0,09^{ab}	4,80 ± 0,09^{b}	*
Laktoza (g/100 g)	4,40 ± 0,03^{a}	4,30 ± 0,04^{a}	4,13 ± 0,04^{b}	**
Suha tvar (g/100 g)	18,76 ± 0,17	18,73 ± 0,21	18,91 ± 0,21	NZ
STBM (g/100 g)	11,42 ± 0,06	11,37 ± 0,08	11,22 ± 0,08	P<0,1
NPN (g/100 g)	0,47 ± 0,02^{a}	0,24 ± 0,02^{b}	0,17 ± 0,02^{c}	**
Urea (mg/100 ml)	-	32,23 ± 1,82^{a}	37,55 ± 1,66^{b}	*
pH	6,70 ± 0,02	6,74 ± 0,02	6,73 ± 0,02	NZ
°SH	8,54 ± 0,14^{ab}	8,37 ± 0,18^{a}	8,95 ± 0,18^{b}	*
Točka ledišta (°C)	-0,55948 ± 0,00423	-0,56062 ± 0,00540	-0,56524 ± 0,00550	NZ
UBM (log_{10})/ml	5,85 ± 0,11^{a}	5,21 ± 0,15^{b}	5,39 ± 0,14^{b}	**
BSS (log_{10})/ml	5,74 ± 0,04^{a}	5,82 ± 0,05^{ab}	5,91 ± 0,05^{b}	**

Rezultati su izraženi kao prosjek sume najmanjih kvadrata ± standardna greška razlike; a, b vrijednosti u istom redu označene različitim slovima značajno se razlikuju, *(P<0,05), **(P<0,01), NZ = nema značajne razlike, STBM – suha tvar bez masti, NPN – neproteinski dušik, °SH – stupnjevi Soxhlet Henkela, UBM – Ukupan broj mikroorganizama, BSS – broj somatskih stanica

Predmetnim istraživanjem utvrđen je značajan utjecaj godine na udio proteina, kazeina i uree (P<0,05), kao i na udio laktoze i NPN-a (P< 0,01) u mlijeku ovaca dalmatinske pramenke (tablica 12). Iako na udio mliječne masti i suhe tvari u mlijeku nije utvrđen značajan utjecaj godine, godina je pokazala tendenciju utjecaja (P<0,10) na udio suhe tvari bez masti. Na pH-vrijednost i točku ledišta ovčjeg mlijeka godina nije značajno utjecala. Utvrđen je značajan utjecaj (P<0,05) godine na titracijsku kiselost mlijeka. Iz tablice 12 vidljivo je da je godina značajno (P< 0,01) utjecala na ukupni broj mikroorganizama, kao i na broj somatskih stanica u ovčjem mlijeku.

4.11. Utjecaj stada na kemijski sastav, fizikalna svojstva i higijensku kvalitetu mlijeka ovaca dalmatinske pramenke

Utjecaj stada na kemijski sastav, fizikalna svojstva i higijensku kvalitetu mlijeka ovaca dalmatinske pramenke prikazan je u tablici 13.

Tablica 13. Utjecaj stada (n= 148) na sastav mlijeka dalmatinske pramenke (LSM ± S. E.)

	Stado						**Razina značajnosti**
	1 (n=23)	**2** (n=27)	**3** (n=22)	**4** (n=18)	**5** (n=29)	**6** (n=29)	
Mliječna mast (g/100 g)	7,51 ± 0,29^{ac}	7,53 ± 0,16^{ac}	8,25 ± 0,33^{a}	8,25 ± 0,50^{ab}	7,18 ± 0,13^{bc}	6,57 ± 0,15^{d}	**
Protein (g/100 g)	5,8 ± 0,13^{ac}	6,21 ± 0,07^{b}	6,37 ± 0,14^{b}	6,57 ± 0,30^{abc}	5,86 ± 0,06^{c}	5,84 ± 0.06^{c}	**
Laktoza (g/100 g)	4,32 ± 0,07^{abc}	4,36 ± 0,04^{ac}	4,06 ± 0,08^{b}	4,03 ± 0,12^{ab}	4,44 ± 0,03^{c}	4,46 ± 0,03^{c}	**
Suha tvar (g/100 g)	18,5 ± 0,34^{ab}	18,93 ± 0,19^{a}	19,39 ± 0,38^{a}	19,79 ± 0,58^{a}	18,31 ± 0,14^{ab}	1,88 ± 0,17^{b}	**
Suha tvar bez masti (g/100 g)	11,08 ± 0,13^{a}	11,51 ± 0,07^{b}	11,46 ± 0,15^{ab}	11,41 ± 0,23^{ab}	11,23 ± 0,06^{a}	1,34 ± 0,06^{ab}	*
Kazein (g 100 g)	4,49 ± 0,13	4,74 ± 0,07	4,92 ± 0,14	4,73 ± 0,30	4,55 ± 0,06	4,6 ± 0,06	P<0,1
Neproteinski dušik (g/100 g)	0,27 ± 0,03^{ab}	0,34 ± 0,02^{ab}	0,26 ± 0,03^{ab}	0,28 ± 0,07^{ab}	0,34 ± 0,01^{a}	0,28 ± 0,01^{b}	**
Točka ledišta (°C)	-0,56153 ± 0,00868	-0,56774 ± 0,00506	-0,55085 ± 0,00506	-0,56671 ± 0,01479	-0,56251 ± 0,00374	-0,56132 ± 0,00433	NZ
ºSH	8,57 ± 0,22	8,88 ± 0,16	8,77 ± 0,31	8,35 ± 0,48	8,77 ± 0,12	8,39 ± 0,14	NZ
pH	6,73 ± 0,04	6,72 ± 0,02	6,75 ± 0,04	6,72 ± 0,06	6,69 ± 0,02	6,74 ± 0,02	NZ
BSS (log_{10}/ml)	6,01 ± 0,08^{ab}	5,89 ± 0,05^{abc}	5,65 ± 0,09^{bcd}	5,95 ± 0,14^{abcd}	5,82 ± 0,03^{b}	5,61 ± 0,04^{d}	**
UBM (log_{10} cfu/ml)	5,53 ± 0,24^{ab}	5,90 ± 0,14^{a}	5,93 ± 0,26^{ab}	4,7 ± 0,40^{ab}	5,5 ± 0,10^{ab}	5,34 ± 0,12^{b}	**

Rezultati su izraženi kao prosjek sume najmanjih kvadrata ± standardna greška razlike; a, b, c, d vrijednosti u istom redu označene različitim slovima značajno se razlikuju, (* P<0.05; ** P<0.01; NZ – nema značajne razlike), ST – suha tvar; STBM – suha tvar bez masti; NPN – neproteinski dušik; TL – točka ledišta, BSS – broj somatskih stanica, UBM – ukupni broj mikroorganizama.

Iz tablice 13 se vidi da je stado imalo značajan utjecaj na sve analizirane kemijske sastojke mlijeka, kao i na broj somatskih stanica i ukupni broj mikroorganizama. Utjecaj stada nije bio značajan za fizikalna svojstva mlijeka (točku ledišta, titracijsku kiselost i pH-vrijednost).

5. RASPRAVA

5.1. Sastav miješanog ovčjeg i kravljeg mlijeka upotrijebljenog za proizvodnju lećevačkog sira

U predmetnom istraživanju, povećanje udjela ovčjeg mlijeka u miješanome mlijeku za proizvodnju lećevačkog sira utjecalo je na povećanje udjela mliječne masti, proteina, laktoze i suhe tvari, kao i na smanjenje udjela neproteinskog dušika (tablica 6). Međutim, ovaj utjecaj nije bio statistički značajan. Nasuprot tome, povećanje udjela ovčjeg mlijeka u miješanome mlijeku statistički je značajno ($P<0,05$) utjecalo na udio suhe tvari bez masti. Važno je također spomenuti da je veći udio ovčjeg mlijeka u mlijeku za proizvodnju lećevačkog sira pokazivao trend prema značajnosti za udio kazeina ($P<0,1$; tablica 6). Bonczar i sur. (2009.) utvrdili su da su se miješanjem ovčjeg i kravljeg mlijeka u istom omjeru značajno povećali udio suhe tvari, mliječne masti i proteina u mlijeku koje je upotrebljavano za proizvodnju sira Bundz. Do sličnih rezultata došli su i Ponce de Leon-Gonzalez i sur. (2002.). koji su utvrdili da su se dodavanjem ovčjeg mlijeka kravljemu značajno povećali udio suhe tvari, mliječne masti, proteina i kazeina u mlijeku za proizvodnju sira Muenster smanjene masnoće. Vyletelova-Klimešova i sur. (2014.) utvrdili su da se dodavanjem ovčjeg mlijeka kravljem i kozjem mlijeku, uz povećanje udjela suhe tvari, mliječne masti, proteina i kazeina u mlijeku, značajno povećavaju udio bezmasne suhe tvari i udio uree u miješanome mlijeku. Sadržaj uree u mlijeku za proizvodnju lećevačkog sira bio je niži (28,64 mg/100 ml) nego kod miješanog mlijeka (kravlje, ovčje i kozje) za proizvodnju sira u Češkoj – 37,48 mg/100 ml (Vyletelova-Klimešova i sur., 2014.). Poznato je da neki dušični sastojci mlijeka, npr. urea, mogu mijenjati tehnološka svojstva mlijeka, a zatim i karakteristike zrelog sira (Martin i sur., 1997.). Miješanje različitih udjela ovčjeg i kozjeg mlijeka za proizvodnju sira Picante utjecalo je na količinu mliječne masti i kazeina u miješanome mlijeku (Freitas i sur., 1997.). Freitas i sur. (1997.) utvrdili su da je udio kazeina bio značajno manji kod najmanjeg udjela ovčjeg mlijeka u miješanom ovčjem i kozjem mlijeku. Miješanjem bivoljeg mlijeka s kravljim mlijekom u proizvodnji Mozzarelle povećali su se udio suhe tvari, mliječne masti i proteina (Zedan i sur., 2014.). Elgaml i sur. (2017.) također su utvrdili da se povećanjem udjela kozjeg mlijeka u miješanom kravljem i kozjem mlijeku povećavaju udjeli suhe tvari, mliječne masti, proteina i kazeina, dok se udio laktoze smanjuje. U predmetnom istraživanju, pH-vrijednost mlijeka nije se značajno mijenjala povećanjem udjela ovčjeg mlijeka u miješanom mlijeku, što je u skladu s istraživanjem koje su proveli Bonczar i sur. (2009.),

koji su utvrdili da se pH-vrijednost nije značajno mijenjala miješanjem ovčjeg mlijeka s kravljim. Do sličnih rezultata došli su Vyletelova-Klimešova i sur. (2014.), koji su utvrdili da pH-vrijednost kravljeg mlijeka i miješanog ovčjeg, kravljeg i kozjeg mlijeka nije bila značajno različita. Freitas i sur. (1997.) utvrdili su da varijacije pH-vrijednosti nisu bile značajne kada su u različitim omjerima miješali ovčje mlijeko s kozjim. Vyletelova-Klimešova i sur. (2014.) utvrdili su da miješano ovčje, kravlje i kozje mlijeko u proizvodnji sira sadržava značajno veći broj somatskih stanica od kravljeg mlijeka upotrijebljenog za proizvodnju sira.

5.2. Utjecaj udjela ovčjeg mlijeka na fizikalno-kemijske karakteristike lećevačkog sira

Predmetnim je istraživanjem utvrđeno da je povećanjem udjela ovčjeg mlijeka u miješanome mlijeku značajno smanjen ($P<0,01$) udio suhe tvari u lećevačkom siru (tablica 7). U skladu s rezultatima ovog istraživanja, Freitas i sur. (1997.) utvrdili su da je veći udio ovčjeg mlijeka u tvrdom siru proizvedenom od miješanog ovčjeg i kozjeg mlijeka (od 25 % do 75 %) uzrok većeg sadržaja vode u siru, što pripisuju većem udjelu kazeina u ovčjem mlijeku koji uzrokuje veći kapacitet zadržavanja vode u siru. U predmetnom istraživanju se potvrdilo da veći udio kazeina u mlijeku s većim udjelom ovčjeg mlijeka (tablica 6) utječe na manji udio suhe tvari u siru (tablica 7). Do sličnih rezultata došli su Bonczar i sur. (2009.) kada su polovicu kravljeg mlijeka zamijenili ovčjim mlijekom u proizvodnji sira Bundz. Gobbetti i sur. (1999.) također su utvrdili da sir Fosa, proizveden od miješanoga kravljeg i ovčjeg mlijeka (70 % : 30 %), sadrži manje suhe tvari nego sir Fosa proizveden isključivo od kravljeg mlijeka. Autori su povezali manji udio suhe tvari u siru proizvedenom od ovčjeg ili od miješanog ovčjeg i kravljeg mlijeka s manjim udjelom mliječne masti u siru, što je slučaj i u predmetnom istraživanju. Aminifar i sur. (2013.) utvrdili su da se sadržaj vode u siru Lighvan smanjuje kada se polovica ili više kravljeg mlijeka zamijeni ovčjim mlijekom. Do sličnih rezultata došli su Ponce de Leon-Gonzales i sur. (2002.) istražujući utjecaj miješanja ovčjeg mlijeka s kravljim na kvalitetu sira Muenster smanjene masnoće. Oni su utvrdili da sir od miješanoga kravljeg i ovčjeg mlijeka ima manju količinu vode i viši udio proteina nego sir od kravljeg mlijeka. Elgaml i sur. (2017.) utvrdili su da se miješanjem kozjeg i kravljeg mlijeka u različitim omjerima (dodavanjem od 25 do 50 % kozjeg mlijeka) mijenja udio suhe tvari u siru Halloumi proizvedenom od miješanog mlijeka. Međutim, Niro i sur. (2014.) nisu utvrdili značajan utjecaj dodavanja ovčjeg mlijeka (18 %) kravljemu (82 %) na udio suhe tvari u siru od miješanog mlijeka. Na

sadržaj vode u bezmasnoj tvari sira nije utvrđen značajan utjecaj miješanja različitih udjela ovčjeg mlijeka s kravljim mlijekom.

Predmetnim istraživanjem utvrđen je značajno manji (P<0,01) udio mliječne masti u lećevačkom siru proizvedenom s većim udjelom ovčjeg mlijeka (od 45 % do 50 %; tablica 7), što se podudara s istraživanjima Gobbetti i sur. (1999.). Gobbetti i sur. (1999.) utvrdili su da je tvrdi sir Fossa proizveden od miješanog mlijeka (30 % ovčjeg i 70 % kravljeg) imao 32,7 % mliječne masti u odnosu na sir Fossa proizveden od kravljeg mlijeka koji je imao 38,8 % mliječne masti. Autori su utvrdili da su Fossa sirevi proizvedeni od ovčjeg mlijeka (pet šarži proizvodnje) imali manje mliječne masti (32 % do 33,7 %) u odnosu na Fossa sireve proizvedene od kravljeg mlijeka (38,8 %). To objašnjavaju većim promjerom masnih globula kravljeg mlijeka u usporedbi s masnim globulama ovčjeg mlijeka, što pogoduje većem zadržavanju mliječne masti u grušu u sirevima proizvedenim od kravljega mlijeka. Bonczar i sur. (2009.) utvrdili su da sir od miješanog ovčjeg i kravljeg mlijeka (50 % : 50 %) sadržava manje mliječne masti nego sir od kravljeg mlijeka i više mliječne masti nego sir od ovčjeg mlijeka. U skladu s rezultatima ovog istraživanja, Freitas i sur. (1997.) utvrdili su značajno manji udio mliječne masti u siru s većim udjelom ovčjeg mlijeka u odnosu na kozje. S obzirom na to da proteini i mliječna mast čine najveći dio suhe tvari sira, povećanje udjela proteina u siru može uzrokovati smanjenje udjela mliječne masti u siru što je bio slučaj u predmetnom istraživanju (tablica 7), osobito uzevši u obzir da je povećanje udjela ovčjeg mlijeka u miješanome mlijeku uzrokovalo smanjenje udjela suhe tvari u lećevačkom siru (P<0,01; tablica 7). U odnosu na rezultate predmetnog istraživanja, Ponce de Leon-Gonzales i sur. (2002.) u siru Muenster, proizvedenom od 20 % ovčjeg i 80 % kravljeg mlijeka, i Niro i sur. (2014.) u siru Caciocavallo, proizvedenom od 18 % ovčjeg i 82 % kravljeg mlijeka, nisu utvrdili značajan utjecaj miješanja ovčjeg mlijeka s kravljim na udio mliječne masti u siru. Nadalje, Freitas i Malcata (1996.) koji su proizvodili sir miješanjem 20 % odnosno 40 % kozjeg mlijeka s 80 % odnosno 60 % ovčjeg mlijeka, nisu utvrdili značajan utjecaj miješanja ovčjeg i kozjeg mlijeka na udio mliječne masti u siru. Elgaml i sur. (2017.) su utvrdili da se dodavanjem 25 % odnosno 50 % kozjeg mlijeka kravljemu značajno povećava udio mliječne masti u siru Halloumi. U odnosu na rezultate predmetnog istraživanja, Vyletelova-Klimešova i sur. (2014.) utvrdili su da sir proizveden od miješanoga kravljeg, ovčjeg i kozjeg mlijeka sadržava više mliječne masti nego sir od kravljeg mlijeka.

Predmetnim istraživanjem nije utvrđena statistički značajna razlika između sireva s manjim udjelima ovčjeg mlijeka u miješanom mlijeku, do 39 % i do 44 % (tablica 7) na udio proteina u siru, što se podudara s istraživanjem Niro i sur. (2014.) koji su utvrdili da miješanje 18 % ovčjeg mlijeka s 82 % kravljeg mlijeka nije značajno utjecalo na udio proteina u siru Caciocavallo. Međutim, daljnjim povećanjem udjela ovčjeg mlijeka u

miješanom mlijeku (od 45 % do 50 %) utvrđeno je da se udio proteina u siru značajno povećava ($P<0,05$; tablica 7). Gobbetti i sur. (1999.) i Ponce de Leon-Gonzales i sur. (2002.) utvrdili su da sir od ovčjeg mlijeka ima više proteina nego sir od miješanog ovčjeg i kravljeg mlijeka jer se dodavanjem više ovčjeg mlijeka (koje sadrži znatno više proteina) kravljem mlijeku povećava udio proteina u zrelom siru. Do sličnih rezultata došli su Vyletelova-Klimešova i sur. (2014.), koji su utvrdili da sir od miješanoga kravljeg, ovčjeg i kozjeg mlijeka sadrži veći udio proteina nego sir od kravljeg mlijeka. Elgaml i sur. (2017.) utvrdili su da se dodavanjem različitih udjela kozjeg mlijeka (25 % i 50 %) kravljemu povećava udio proteina u siru. Bonczar i sur. (2009.) utvrdili su da sir od miješanoga ovčjeg i kravljeg mlijeka (50 % : 50 %) sadržava više proteina nego sir od kravljeg mlijeka i manje proteina nego sir od ovčjeg mlijeka, ali te razlike nisu bile statistički značajne. Suprotno navedenome, Freitas i Malcata (1996.) koji su proizvodili sir miješanjem 20 % odnosno 40 % kozjeg mlijeka s 80 % odnosno 60 % ovčjeg mlijeka nisu utvrdili značajan utjecaj miješanja ovčjeg i kozjeg mlijeka na udio masti u siru. Fenelon i sur. (2000.), Madsen i Ardo (2001.) i Van Hekken i sur. (2013.) navode da se smanjenjem udjela masti u siru značajno povećava udio vode i proteina u siru.

Predmetnim istraživanjem utvrđeno je da omjer miješanja nije imao statistički značajan utjecaj na udio soli u siru (tablica 7), što su također utvrdili i Ponce de Leon-Gonzales i sur. (2002.) u siru Muenster od miješanog ovčjeg (20 %) i kravljeg mlijeka (80 %), kao i Freitas i sur. (1995.) u siru Picante od miješanog ovčjeg i kozjeg mlijeka (od 25 % do 75 %). Isto tako, Pappa i sur. (2012.) i Temizkan i sur. (2014.) nisu utvrdili značajnu razliku u udjelu soli tijekom zrenja sireva Teleme, odnosno sireva Kashar, proizvedenih od različitih vrsta mlijeka – kravljeg, ovčjeg ili kozjeg. Suprotno rezultatima ovog istraživanja, Aminifar i sur. (2013.) utvrdili su da vrsta upotrijebljenog mlijeka u proizvodnji sira Linghvan (zrije u 12 % salamuri tri mjeseca) utječe na udio soli u siru. Autori navode da sir od ovčjeg mlijeka sadržava manje soli nego sir od miješanog ovčjeg i kravljeg mlijeka (50 % : 50 %), ili sir od kravljeg mlijeka. I Elgaml i sur. (2017.) također su utvrdili kako različiti omjeri miješanja kozjeg i kravljeg mlijeka (25 % : 75 % i 50 % : 50 %) utječu na udio soli u proizvedenom siru, a to povezuju s različitim sadržajem vode u pojedinim sirevima. Dakle, sirevi većeg sadržaja vode tijekom salamurenja difuzijom apsorbiraju veći udio soli (Scott, 1998.). Iako su u predmetnom istraživanju utvrđene statistički značajne ($P<0,01$) razlike u sadržaju suhe tvari, odnosno vode u siru, te razlike između sireva različitog udjela ovčjeg i kravljeg mlijeka nisu bile tolike da bi značajno utjecale na intenzitet prodiranja soli tijekom salamurenja lećevačkog sira u predmetnom istraživanju.

Predmetnim istraživanjem utvrđeno je da omjer miješanja nije imao statistički značajan utjecaj na pH-vrijednost lećevačkog sira (tablica 7). Na pH-vrijednost sira, bez obzira na vrstu mlijeka korištenog u proizvodnji, utječu dva glavna čimbenika: fermentacija

laktoze i produkcija amino skupina (Fox, 1993.). Kako nisu utvrđene razlike u udjelima mliječne kiseline (tablica 7) kao pokazatelja fermentacije laktoze, bez obzira na udio ovčjeg mlijeka u lećevačkom siru, pH-vrijednost između sireva različitog udjela ovčjeg mlijeka nije se značajno mijenjala. Jednako tako, nisu utvrđene statistički značajne razlike u produkciji amino skupina izražene kroz udio u trilkoroctenoj kiselini topljivog dušika (tablica 8) između sireva različitog udjela ovčjeg mlijeka. Do sličnih rezultata došli su Ponce de Leon-Gonzales i sur. (2002.), Bonczar i sur. (2009.), Aminifar i sur. (2013.), koji također nisu utvrdili značajan utjecaj miješanja ovčjeg i kravljeg mlijeka (20 %: 80 %), (50 %: 50 %), (50 %: 50 %) na pH-vrijednost sira. Nadalje, Freitas i sur. (1997.) nisu utvrdili značajan utjecaj miješanja ovčjeg i kozjeg mlijeka (od 25 % do 75 %) na pH-vrijednost sira. Za razliku od njih, Niro i sur. (2014.) utvrdili su da se dodavanjem ovčjeg mlijeka kravljemu (18 %: 82 %) značajno smanjila pH-vrijednost sira kao posljedica veće produkcije mliječne kiseline u istraženim sirevima. Kako se povećava udio kozjeg mlijeka (s 25 % na 50 %) u kravljem, tako se smanjuje pH-vrijednost sira (Elgaml i sur., 2017.). Fenelon i sur. (2000.) utvrdili su da punomasni sir Cheddar od kravljeg mlijeka ima najvišu pH-vrijednost u odnosu na sireve s manjim udjelom mliječne masti, dok su Van Hekken i sur. (2013.) utvrdili da punomasni sir Cheddar od kozjeg mlijeka ima najnižu pH-vrijednost u odnosu na sireve od obranog mlijeka. Za razliku od njih, Madsen i Ardo (2001.) utvrdili su da smanjenje masti u siru Danbo ne utječe na promjenu pH-vrijednosti sira.

Suprotno navedenome, Niro i sur. (2014.) utvrdili su značajan utjecaj miješanja ovčjeg mlijeka s kravljim (18 %: 82 %) na udio mliječne kiseline u sirevima pasta filata. Ovi autori su također utvrdili da se dodavanjem ovčjeg mlijeka kravljem povećava udio mliječne kiseline u siru, što povezuju s različitom mikrobnom aktivnošću u istraženim sirevima. U nekim sirevima koji se proizvode po specifičnim recepturama, npr. sir Panerone, udio mliječne kiseline značajno je manji u odnosu na udio maslačne kiseline (Mucchetti i sur., 2009.).

5.3. Utjecaj udjela ovčjeg mlijeka na proteolitičke promjene lećevačkog sira

Predmetnim istraživanjem utvrđeno je da omjer miješanja nije imao statistički značajan utjecaj na indeks zrenja α, premda treba napomenuti da su najveće vrijednosti indeksa α izmjerene u siru s najmanjim udjelom ovčjeg mlijeka (tablica 8). Brzina i opseg hidrolize α_{s1}-kazeina tijekom zrenja sira Muenster proizvedenog od kravljeg, odnosno miješanog kravljeg i ovčjeg mlijeka (80 % : 20 %; Ponce de Leon-Gonzales i sur., 2002.), bili su slični brzini i opsegu zrenja lećevačkog sira u predmetnom istraživanju. Freitas i

sur. (1997.) utvrdili su da stupanj razgradnje α_{s1}-kazeina varira ovisno o omjeru miješanja ovčjeg i kozjeg mlijeka (od 25 % do 75 %); najmanji stupanj razgradnje utvrđen je kod sira od ovčjeg mlijeka i povećava se smanjivanjem udjela ovčjeg mlijeka (sa 75 % na 25 %) u miješanom mlijeku. Nasuprot tome, Gobbetti i sur. (1999.) utvrdili su da je u siru Fossa proizvedenom od ovčjeg mlijeka došlo do potpune razgradnje α_{s1}-kazeina, za razliku od sira Fossa proizvedenog od kravljeg mlijeka gdje je razgradnja β-kazeina bila izraženija. Temizkan i sur. (2014.) utvrdili su da vrsta mlijeka upotrijebljenog za proizvodnju sira ima veći utjecaj nego trajanje zrenja na koncentraciju i profile peptida te da se elektroforetski profili i kromatogrami sireva također razlikuju i kad je riječ o trajanju zrenja, odnosno zrelosti sira. Gobbetti i sur. (1999.) i Ferreira i sur. (2006.) utvrdili su da su elektroforetski profili (različiti udjeli) frakcija kazeina u ovčjem siru i sirevima od miješanog ovčjeg i kravljeg mlijeka (30 % : 70 %) i (90 % : 10 % i 80 % : 20 %) vrlo slični, za razliku od sira proizvedenog od kravljeg mlijeka.

U predmetnom istraživanju omjer miješanja nije imao značajan utjecaj na indeks zrenja β, premda treba spomenuti da je najveća vrijednost indeksa β izmjerena isto kao i za indeks α – kod sira s najmanjim udjelom ovčjeg mlijeka (tablica 8). Ponce de Leon-Gonzales i sur. (2002.) utvrdili su da se 40 % β-kazeina iz kravljeg sira Muenster hidrolizira u 90 dana zrenja, dok se kod sira Muenster od miješanog kravljeg i ovčjeg mlijeka (80 : 20) u 90 dana zrenja hidrolizira samo 16 % β-kazeina. Do sličnih rezultata došli su Gobbetti i sur. (1999.) kada su utvrdili da sir Fossa od kravljeg mlijeka pokazuje izraženiju hidrolizu β-kazeina nego sirevi Fossa od ovčjeg mlijeka i miješanog ovčjeg i kravljeg mlijeka (30 : 70). Opseg razgradnje β-kazeina tijekom 180 dana zrenja sira Picante od miješanog ovčjeg i kozjeg mlijeka povećava se smanjenjem udjela ovčjeg mlijeka (sa 75 % na 25 %; Freitas i sur., 1997.).

Predmetnim istraživanjem utvrđeno je da omjer miješanja ovčjeg i kravljeg mlijeka nije imao statistički značajan utjecaj na postotak dušika topljivog u vodi, premda se može vidjeti kako se povećanjem udjela ovčjeg mlijeka u miješanome mlijeku postotak dušika topljivog u vodi u lećevačkom siru smanjuje (tablica 8). Aminifar i sur. (2013.) navode da se miješanjem kravljeg mlijeka s ovčjim postotak dušika topljivog u vodi značajno mijenja. Nekim istraživanjima je utvrđeno da je postotak dušika topljivog u vodi manji kod sira proizvedenog od kravljeg mlijeka nego kod sira proizvedenog od ovčjeg mlijeka (Pappa i sur., 2007.; Aminifar i sur., 2013.; Temizkan i sur., 2014.) ili kod sira proizvedenog od miješanoga kravljeg i ovčjeg mlijeka (50 %: 50 %) (Aminifar i sur., 2013.). Nadalje, Pappa i sur. (2007.) navode da je najmanji postotak dušika topljivog u vodi utvrđen u siru proizvedenom od kozjeg mlijeka. Za razliku od njihovih rezultata, rezultati koje su objavili Gobbetti i sur. (1999.) navode da vrsta mlijeka upotrijebljenog u proizvodnji sira Fossa nije bila presudna za postotak dušika topljivog u vodi. U skladu s rezultatima predmetnog

istraživanja, Elgaml i sur. (2017.) nisu utvrdili značajan utjecaj miješanja različitih udjela kozjeg i kravljeg (od 25 % : 75 % do 50 % : 50 %) mlijeka na postotak dušika topljivog u vodi u siru Halloumi. Freitas i sur. (1997.) utvrdili su da omjer miješanja ovčjeg i kozjeg mlijeka (od 25 % do 75 %) nije imao značajan utjecaj na udio dušika topljivog u vodi do 83. dana zrenja, a nakon toga je omjer miješanja pokazao značajan utjecaj.

Predmetnim istraživanjem utvrđeno je da omjer miješanja ovčjeg i kravljeg mlijeka nije imao statistički značajan utjecaj na postotak dušika topljivog u triklorоctenoj kiselini (tablica 8). U skladu s rezultatima ovog istraživanja, Ponce de Leon-Gonzales i sur. (2002.) nisu utvrdili značajnu razliku u vrijednosti dušika topljivog u triklorоctenoj kiselini između sira proizvedenog od kravljeg mlijeka i sira proizvedenog od miješanoga kravljeg i ovčjeg mlijeka (80 % : 20 %). Međutim, Temizkan i sur. (2014.) u istraživanju su utvrdili da je vrijednost dušika topljivog u triklorоctenoj kiselini veća kod ovčjih sireva nego kod sireva proizvedenih od kravljeg ili od kozjeg mlijeka, što se podudara s navodima Pappa i sur. (2007.). Suprotno navedenome, Gobbetti i sur. (1999.) u svojim rezultatima navode da sir od kravljeg mlijeka ima veću vrijednost dušika topljivog u triklorоctenoj kiselini nego sir od miješanoga kravljeg i ovčjeg mlijeka. Isto tako navode da vrsta mlijeka upotrijebljenog u proizvodnji sira Fossa nije bila presudna za postotak dušika topljivog u triklorоctenoj kiselini. Autori su utvrdili da sir od miješanog kravljeg i ovčjeg mlijeka s višom vrijednosti dušika topljivog u vodi također ima i višu vrijednost dušika topljivog u triklorоctenoj kiselini. Prema tome, moglo bi se ustvrditi da se razina mikrobne proteolize tijekom zrenja sira Fossa može usporediti s razinom proteolize sirila i plazmina. Freitas i sur. (1997.) utvrdili su da je različit omjer miješanja ovčjeg i kozjeg mlijeka značajno utjecao na vrijednost dušika topljivog u triklorоctenoj kiselini u siru Picante, da bi se na kraju zrenja 180. dana vrijednosti u sirevima gotovo izjednačile.

5.4. Utjecaj udjela ovčjeg mlijeka na randman lećevačkog sira

Iz rezultata predmetnog istraživanja utvrđen je trend (P=0,11) smanjenja utroška mlijeka za proizvodnju lećevačkog sira s povećanjem udjela ovčjeg mlijeka (tablica 9). Dva su razloga ovakvom trendu. U miješanom mlijeku s većim udjelom ovčjeg mlijeka utvrđen je značajno veći udio bezmasne suhe tvari (P<0,05) i kazeina (P<0,1), što je rezultiralo manjim utroškom mlijeka za proizvodnju lećevačkog sira (tablica 6). Nadalje, lećevački sir s većim udjelom ovčjeg mlijeka imao je veći udio vode, pri čemu se zna da veće zadržavanje vode u siru povećava njegov randman (Vacca i sur., 2018). Prosječna vrijednost stvarnog randmana 90. dana zrenja lećevačkog sira izraženog kao broj kilograma sira proizvedenog iz 100 kg mlijeka za sirenje bila je 13,54 %. Ocjenjujući

kvalitetu Mozzarelle proizvedene od različitih vrsta mlijeka, Zedan i sur. (2014.) utvrdili su da je randman svježe Mozzarelle proizvedene od miješanog bivoljeg i kravljeg mlijeka veći (11,66 %) od randmana svježe Mozzarelle proizvedene od kravljeg mlijeka (10,66 %). To objašnjavaju većim udjelom suhe tvari, odnosno većim udjelom mliječne masti i proteina u bivoljem mlijeku u odnosu na kravlje mlijeko. Autori citiraju El-Zoughbyja (1988.), koji navodi da Mozzarella proizvedena od različitih vrsta mlijeka ima vrlo različite vrijednosti randmana, a osobito se različiti randmani dobiju miješanjem mlijeka različitih vrsta. Randmani svježe Mozzarelle nakon proizvodnje, od različitih vrsta mlijeka i raznih varijanti miješanog mlijeka, po El-Zoughbyju (1988.) iznose: bivolje 11,62 %, kravlje 8,95 %, kozje 7,93 %, bivolje + kravlje 10,50 %, bivolje + kozje 10,35 %, kravlje + kozje 8,37 % i bivolje + kravlje + kozje 9,15 %. Do sličnih rezultata randmana u sirevima Halloumi od miješanog ovčjeg i kozjeg mlijeka došli su Economides i sur. (1987.). Temizkan i sur. (2014.) utvrdili su da su stvarni i naravnati randmani sira Kashar proizvedenog od ovčjeg mlijeka (13,77 % i 12,31 %) značajno veći u odnosu na stvarni i naravnati randman sira Kashar proizvedenog od kravljeg mlijeka (8,04 % i 7,53 %). Wendorff (2002.) navodi da se randmani različitih vrsta sireva proizvedenih od ovčjeg mlijeka kreću od 16,1 % za Manchego tip sira do 21,9 % za plave sireve. Kalit (2003.) je utvrdio kako stvarni randman tounjskog sira proizveden od sirovoga kravljeg mlijeka iznosi 11,23 %. Merćep i sur. (2010.) utvrdili su kretanje stvarnog randmana u proizvodnji trapista od 9,25 % do 9,49 %, dok je Tuta (2011.) utvrdila da kretanje stvarnog randmana trapista iznosi od 8,78 % do 9,53 %. Randman paškog sira nakon prešanja iznosi od 18,92 % do 19,60 % ovisno o vrsti upotrijebljenog sirila (Oštarić i sur., 2015.). Faccia i sur. (2015.) utvrdili su da su randmani sireva Fior di latte proizvedenih od ovčjeg i kozjeg mlijeka značajno veći od randmana istog sira proizvedenog od kravljeg mlijeka.

U predmetnom istraživanju očekivani randman lećevačkog sira povećava se do udjela ovčjeg mlijeka od 44 %, da bi se daljnjim povećanjem udjela ovčjeg mlijeka preko 45 % očekivani randman smanjio (tablica 9). Ovo se može povezati s trendom smanjenja iskoristivosti masti (P=0,074) s početnih 0,76 (od 35 % do 39 % ovčjeg mlijeka) na 0,66 (od 45 % do 50 % ovčjeg mlijeka; tablica 9). Iskoristivost kazeina bila je prilično ujednačena bez obzira na povećanje udjela ovčjeg mlijeka u miješanome mlijeku. Bland i sur. (2015.) utvrdili su da se povećanjem udjela mlijeka krava Jersey u mlijeku krava Holstein značajno povećava iskoristivost masti i proteina u siru. Milani i Wendorff (2011.) utvrdili su da je iskoristivost masti od 0,83 do 0,84, dok je iskoristivost kazeina od 0,94 do 0,96 u proizvodnji tvrdih ovčjih sireva. Iskoristivost masti i iskoristivost proteina u proizvodnji sireva od kozjeg mlijeka iznosi 80,5 % i 81,5 % (Vacca i sur., 2018.), dok je Kalit (2003.) utvrdio da su iskoristivost masti i proteina 85,74 % i 77,16 % u proizvodnji tounjskog sira.

5.5. Utjecaj udjela ovčjeg mlijeka na teksturu lećevačkog sira

Iz rezultata predmetnog istraživanja vidljiv je trend povećanja napona puknuća sira (P=0,088; tablica 10). U skladu s rezultatima ovog istraživanja, Aminifar i sur. (2013.) utvrdili su da je sir Linghvan od miješanog ovčjeg i kravljeg mlijeka (50 % : 50 %) imao značajno veću vrijednost lomljivosti (bio je manje lomljiv) nego sir proizveden od kravljeg mlijeka. Pappa i sur. (2007.) utvrdili su da je sila u točki puknuća kao i postotak kompresije u točki puknuća veći u siru od ovčjeg mlijeka nego u siru od kravljeg mlijeka, ali ta razlika nije bila statistički značajna. Pappa i sur. (2012.) utvrdili su da je sila u točki puknuća kao i postotak kompresije u točki puknuća veći u siru od kozjeg mlijeka nego u siru od ovčjeg mlijeka.

Predmetnim istraživanjem utvrđeno je da se povećanjem udjela ovčjeg mlijeka s 35 do 39 % na 40 do 44 % statistički značajno povećao (P<0,05) postotak deformacije do točke puknuća (tablica 10). Daljnjim povećanjem udjela ovčjeg mlijeka do 50 % postotak deformacije počeo se smanjivati, ali je ipak bio veći nego kod miješanog mlijeka s udjelom ovčjeg mlijeka od 35 do 39 %. Istražujući promjene u teksturi sireva s različitim udjelima mliječne masti, Fenelon i Guinee (2000.) i Madsen i Ardo (2001.) utvrdili su kako se napon puknuća i postotak deformacije u točki puknuća povećavaju smanjenjem udjela mliječne masti i istodobnim povećanjem udjela kazeina u siru, što se poklapa s rezultatima ovog istraživanja u kojem se povećanjem udjela ovčjeg mlijeka smanjio udio mliječne masti i povećao udio proteina u siru (tablica 7), što se može povezati s povećanjem napona puknuća i postotka deformacije u točki puknuća lećevačkog sira.

Predmetnim istraživanjem utvrđeno je da se povećanjem udjela ovčjeg mlijeka s 35 do 39 % na 40 do 44 % elastičnost sira značajno povećava (P<0,05; tablica 10). Daljnjim povećanjem udjela ovčjeg mlijeka do 50 % elastičnost je počela padati, ali je ipak bila veća nego kod miješanog mlijeka s udjelom ovčjeg mlijeka od 35 do 39 %. Za razliku od rezultata ovog istraživanja, Bonzar i sur. (2009.) nisu utvrdili značajan utjecaj dodavanja ovčjeg mlijeka kravljemu u omjeru 50 % : 50 % na elastičnost proizvedenog sira. Za razliku od njih, Elgaml i sur. (2017.) utvrdili su da sir Halloumi proizveden od miješanoga kozjeg i kravljeg mlijeka u omjeru 50 % : 50 % ima značajno veću elastičnost od sireva proizvedenih od kozjeg mlijeka, kravljeg mlijeka i miješanoga kozjeg i kravljeg mlijeka u omjeru 25 % : 75 %. Madsen i Ardo (2001.) utvrdili su da se elastičnost sira povećava smanjenjem udjela mliječne masti i istodobnim povećanjem udjela kazeina u siru, što se događa i u ovom istraživanju povećanjem udjela ovčjeg mlijeka. Do sličnih rezultata došli su u svom istraživanju Van Hekken i sur. (2013.) u proizvodnji sireva od kozjeg mlijeka s četiri različita udjela mliječne masti.

5.6. Utjecaj trajanja zrenja na sastav lećevačkog sira

U predmetnom istraživanju udio suhe tvari lećevačkog sira značajno se statistički povećavao (P<0,01; grafikon 1) tijekom zrenja, kao što je to bio slučaj i u drugim sirevima od miješanog kravljeg i ovčjeg mlijeka (Alonso i sur., 2012.; Aminifar i sur., 2013.; Niro i sur., 2014.), zatim kod sireva proizvedenih od kravljeg mlijeka (Sert i sur., 2007.; Bertolino i sur., 2011.; Bergamaschi i sur., 2016.), sireva proizvedenih od ovčjeg mlijeka (Irigoyen i sur., 2002.; Addis i sur., 2005.; Tudor Kalit i sur., 2014.), sireva proizvedenih od kozjeg mlijeka (Ferrandini i sur., 2011.) i sireva od miješanoga kozjeg i kravljeg mlijeka (Elgaml i sur., 2017.). Najveće povećanje udjela suhe tvari u siru (grafikon 1) zabilježeno je u prvih 30 dana zrenja, što se može objasniti oblikovanjem kore na površini sira u prvih 14 dana zrenja, koja poslije otežava isparavanje vode (Andronoiu i sur., 2015.). U odnosu na predmetno istraživanje, Temizkan i sur. (2014.) nisu utvrdili značajan utjecaj zrenja na udio suhe tvari tijekom 90 dana zrenja sira Kashar proizvedenog od ovčjeg mlijeka, a vrlo male varijacije udjela suhe tvari utvrdili su tijekom 90 dana zrenja sira proizvedenog od kravljeg mlijeka i sira proizvedenog od kozjeg mlijeka. Irigoyen i sur. (2002.) navode da se udio suhe tvari u siru kontinuirano povećava tijekom zrenja, a to povećanje prije svega ovisi o temperaturi i relativnoj vlažnosti zraka u prostoriji za zrenje sira. Ukupan sadržaj vode kod svih sireva smanjuje se kako sir zrije, što upozorava na značajan utjecaj stadija zrenja na vezanje vode u siru (Buffa i sur., 2003.). U predmetnom istraživanju, postotak vode u bezmasnoj tvari sira se značajno smanjivao (P<0,01) tijekom zrenja. Slično su utvrdili Tudor Kalit i sur. (2014.) praćenjem zrenja sira iz mišine te Rako (2016.) praćenjem zrenja bračkog sira.

U predmetnom istraživanju udio mliječne masti u lećevačkom siru značajno se povećavao (P<0,01; grafikon 1) tijekom zrenja. Do sličnih rezultata došli su Bertolino i sur. (2011.), Tudor Kalit i sur. (2014.), Bergamaschi i sur. (2016.). Elgaml i sur. (2017.) utvrdili su da se trajanjem zrenja značajno povećava udio mliječne masti u sirevima proizvedenima od kozjeg mlijeka, kravljeg mlijeka, kao i u sirevima proizvedenima s različitim omjerima tih dviju vrsta mlijeka. Do porasta udjela mliječne masti tijekom zrenja dolazi kao posljedica gubitka vode, odnosno efekta koncentracije suhe tvari, pri čemu mliječna mast čini značajan dio suhe tvari (Kalit, 2003.). Freitas i Malcata (1996.) utvrdili su da je trajanje zrenja značajno utjecalo na udio mliječne masti u siru. Za razliku od rezultata ovog istraživanja, Tarakci i Kucokoner (2006.) i Sert i sur. (2007.) utvrdili su da zrenje sira Kashar od kravljeg mlijeka nije značajno utjecalo na udio mliječne masti u siru.

Predmetnim istraživanjem utvrđeno je značajno povećanje udjela proteina u lećevačkom siru (P<0,01) tijekom zrenja (grafikon 1). Značajno povećanje udjela proteina u siru tijekom zrenja utvrdili su Bertolino i sur. (2011.), Tudor Kalit i sur. (2014.), Bergamaschi i sur. (2016.) i Elgaml i sur. (2017.). Temizkan i sur. (2014.) utvrdili su značajan utjecaj zrenja na udio proteina tijekom 90 dana zrenja sireva proizvedenih od ovčjeg mlijeka, kravljeg mlijeka i od kozjeg mlijeka. Isti su autori utvrdili značajno smanjenje udjela proteina u siru od kravljeg mlijeka, dok su kod preostala dva sira zabilježili značajno smanjenje udjela proteina u prvih 30 dana i zadnjih 30 dana zrenja, a povećanje udjela proteina od 30. do 60. dana zrenja. Do porasta udjela proteina tijekom zrenja dolazi kao posljedica gubitka vode (Buffa i sur., 2003.). U odnosu na rezultate predmetnog istraživanja, Pappa i sur. (2012.) utvrdili su smanjenje udjela proteina tijekom 180 dana zrenja sira od ovčjeg mlijeka. Freitas i Malcata (1996.) utvrdili su da je trajanje zrenja značajno utjecalo na udio proteina u siru.

U predmetnom istraživanju udio soli se značajno povećavao (P<0,01) u prvih 30 dana zrenja lećevačkog sira (grafikon 2). Poslije je intenzitet povećanja bio manji. Tudor Kalit i sur. (2014.) utvrdili su značajno povećanje udjela soli u prvih 15 dana zrenja sira iz mišine, a Mikulec i sur. (2008.) u prvih 30 dana zrenja krčkog sira. Značajno povećanje udjela soli tijekom zrenja lećevačkog sira u skladu je s brojnim provedenim istraživanjima (Freitas i sur., 1995.; Jaeggi i sur., 2005.; Marcelino Kongo i sur., 2009.; Ferrandini i sur., 2011.; Aminifar i sur., 2013.; Magdić i sur., 2013.; Elgaml i sur., 2017.). Do povećanja udjela soli tijekom zrenja dolazi zbog gubitka vode, a udio soli u siru usko je povezan s početnim sadržajem vode u siru (Berdague i Grappin, 1987.). Za razliku od njih, Bonanno i sur. (2013.) utvrdili su da se početni udio soli smanjivao do 60. dana zrenja, kako bi se opet do kraja zrenja (120 dana) povećavao. U odnosu na predmetno istraživanje, Temizkan i sur. (2014.) nisu utvrdili značajan utjecaj zrenja na udio soli u siru Kashar proizvedenom od ovčjeg mlijeka, kao ni u siru Kashar proizvedenom od kozjeg mlijeka.

Metabolička aktivnost mikroflore sira praćena je stvaranjem octene, mliječne i limunske kiseline tijekom zrenja (Albenzio i sur., 2010.). Mliječna kiselina je najvažnija organska kiselina koja čini oko 95 % ukupnih organskih kiselina u tri dana starom siru Castelmagno i 78 % od ukupnih organskih kiselina u 150 dana starom siru Castelmagno (Bertolino i sur., 2011.). Smanjenje koncentracije laktoze koje je posljedica rezanja, dogrijavanja sirnog zrna i prešanja sira, a čime se potiče istiskivanje sirutke i povećava učinak dogrijavanja na aktivnost bakterija mliječne kiseline – ograničava nakupljanje mliječne kiseline u sirnom grušu (Nega i Moatsou, 2012.).

Predmetnim istraživanjem utvrđeno je da se udio mliječne kiseline statistički značajno ($P<0,01$) povećavao trajanjem zrenja (grafikon 2). Veće povećanje utvrđeno je tijekom prvih 30 dana zrenja. Do sličnih rezultata došli su Tudor Kalit i sur. (2014.) istražujući promjene sastava i senzorskih karakteristika sira iz mišine u različitim fazama zrenja. Kesenkas i sur. (2012.) utvrdili su da se udio mliječne kiseline u siru Telli povećava tijekom svih 90 dana zrenja, no značajnije nakon 30. dana zrenja. U odnosu na rezultate ovog istraživanja, Prieto i sur. (2000.) utvrdili su da se napredovanjem zrenja polagano smanjuje udio mliječne kiseline u siru Quesucos de Liébana. Bertolino i sur. (2011.) utvrdili su da se tijekom 150 dana zrenja u siru Castelmagno proizvedenom od kravljeg mlijeka značajno smanjuje udio mliječne kiseline.

Rezultatima ovog istraživanja utvrđeno je da je zrenje statistički značajno utjecalo ($P<0,01$) na pH-vrijednost sira (grafikon 3). Najniža pH-vrijednost 4,98 izmjerena je 30. dana zrenja, nakon čega se povećavala do kraja zrenja sira, kada je iznosila maksimalnih 5,13. Slične rezultate dobili su Marcelino Kongo i sur. (2009.) istražujući biokemijske promjene tijekom zrenja sira São Jorge, odnosno minimalna pH-vrijednost zabilježena je 30. dana zrenja, da bi se poslije povećavala, a pH-vrijednost sireva kretala se od 5,4 do 5,7. Slične rezultate objavili su Tudor Kalit i sur. (2014.) u siru iz mišine proizvedenom od ovčjeg mlijeka. U odnosu na predmetno istraživanje, Irigoyen i sur. (2002.) utvrdili su da se pH-vrijednost sira Roncal povećava tijekom prvih 30 dana zrenja, nakon čega se polako smanjuje do kraja zrenja. pH-vrijednost sireva od miješanoga kozjeg i ovčjeg mlijeka smanjuje se do 55. dana, nakon čega se povećava do kraja zrenja (Freitas i sur., 1997.). Za razliku od njih, Alonso i sur. (2012.) u siru od miješanoga kravljeg i ovčjeg mlijeka utvrdili su da se pH-vrijednost smanjila s početnih 5,02 na 4,89 šezdesetog dana zrenja. Sert i sur. (2007.) utvrdili su da se pH-vrijednost sira Kashar smanjuje od početnih 5,40 prvog dana zrenja na 5,06 na kraju zrenja, 90. dana zrenja. Tijekom 28 tjedana zrenja sira Cantal značajno su se povećali pH-vrijednost, sadrža suhe tvari, sol i indikatori proteolize (Martin i sur., 2009.). Calvo i sur. (2007.) nisu utvrdili značajnu promjenu pH-vrijednosti tijekom 60 dana zrenja polutvrdoga kozjeg sira. Tvrdi sirevi, Gruyère i pasta filata, imaju pH-vrijednost > 5,5 kao rezultat ograničenog zakiseljavanja sira tijekom prvih sati nakon proizvodnje (Nega i Moatsou, 2012.). Trajanje zrenja i temperatura s relativnom vlažnosti zraka u prostoriji za zrenje sira glavni su čimbenici koji utječu na pH-vrijednost sira (Berdague i Grappin, 1987.).

Kiselost sira, odnosno njegova pH-vrijednost, izravno utječe na razvoj nestarterske mikroflore, a time na brzinu i vrstu proteolitičke razgradnje tijekom zrenja, te na nastajanje karakteristične arome i teksture sira (Lawrence i sur., 1987.; Lucey i sur., 2003.; Havranek i sur., 2014.).

5.7. Utjecaj trajanja zrenja na proteolizu lećevačkog sira

Zbog djelovanja kimozina iz sirila na α_{s1}-kazein, u predmetnom istraživanju došlo je do statistički značajnog povećanja ($P<0,01$) indeksa zrenja alfa u lećevačkom siru (grafikon 4). Do sličnih rezultata došli su Kalit i sur. (2016.) istražujući proteolitičke promjene tijekom zrenja livanjskog sira proizvedenog od kravljeg mlijeka i miješanog ovčjeg i kravljeg mlijeka. Kesenkas i sur. (2012.) i Sert i sur. (2007.) utvrdili su da se indeksi zrenja povećavaju tijekom zrenja sira Telli, odnosno sira Kashar. Ponce de Leon-Gonzales i sur. (2002.) utvrdili su da se α_{s1}-kazein brzo hidrolizira tijekom zrenja sira Muenster od kravljeg mlijeka i miješanoga kravljeg i ovčjeg mlijeka te da je nakon 120 dana zrenja α_{s1}-kazein potpuno hidroliziran. Ferreira i sur. (2006.) navode kako je hidroliza α_{s1}-kazeina znatno brža tijekom prvog stadija zrenja, što se potvrdilo i predmetnim istraživanjem. Autori navode da je u 30 dana starim sirevima Terrincho od ovčjeg, kravljeg i miješanog mlijeka samo 20 % α_{s1}-kazeina ostalo nehidrolizirano zbog djelovanja kimozina iz zaostalog sirila, istodobno s djelovanjem hidrolitičkih enzima mikroorganizama prisutnih u siru. Temizkan i sur. (2014.) utvrdili su da se elektroforetički profili i kromatogrami sireva, osim prema vrsti mlijeka upotrijebljenog za proizvodnju sira, razlikuju i prema trajanju zrenja. Bertolino i sur. (2011.) utvrdili su da ni α-kazein ni β-kazein nisu posve hidrolizirani tijekom 150 dana zrenja sira Castelmagno proizvedenog od sirovoga kravljeg mlijeka, ali je opseg hidrolize α_{s1}-kazeina bio veći, što se također potvrdilo predmetnim istraživanjem na lećevačkom siru. Veći opseg hidrolize α-kazeina posljedica je, osim već spomenutog zadržavanja kimozina u sirnome matriksu, i zadržavanje njegove aktivnosti s obzirom na to da se u proizvodnji lećevačkog sira upotrebljavaju temperature dogrijavanja sirnog zrna koje ne dovode do inaktivacije kimozina (do 43 °C; Havranek i sur., 2014.).

S obzirom na to da je plazmin glavna indogena proteinaza odgovorna za razgradnju β-kazeina, termostabilan je te ostaje aktivan u sirevima proizvedenim od pasteriziranog mlijeka, kao što je to bio slučaj kod lećevačkog sira u predmetnom istraživanju, razgradnja β-kazeina bila je statistički značajna ($P<0,01$), ali nije nadvladala primarnu proteolitičku aktivnost rezidualnog kimozina u lećevačkom siru (grafikon 4). U skladu s rezultatima ovog istraživanja, Kalit i sur. (2016.) utvrdili su da se β-kazein značajno smanjivao tijekom 60 dana zrenja livanjskog sira od kravljeg mlijeka i miješanog ovčjeg i kravljeg mlijeka, što je dovelo do značajnog povećanja indeksa zrenja β. Ponce de Leon-Gonzales i sur. (2002.) utvrdili su da hidroliza β-kazeina nije bila jednako opsežna kao hidroliza α_{s1}-kazeina tijekom zrenja sira Muenster. Prieto i sur. (2000.)

utvrdili su da je tijekom dva mjeseca zrenja sira Quesucos de Liébana proizvedenog bez dogrijavanja od pasteriziranog kravljeg mlijeka razgrađeno samo 11 % β-kazeina. U 30 dana starim sirevima Terrincho proizvedenima bez dogrijavanja od sirovog ovčjeg, kravljeg i miješanog mlijeka, frakcija β-kazeina bila je otpornija na hidrolizu u odnosu na α_{s1}-kazein (Ferreira i sur., 2006.). I Temizkan i sur. (2014.) utvrdili su da je frakcija β-kazeina znatno otpornija na razgradnju tijekom 90 dana zrenja sira Kashar proizvedenog od ovčjeg, kravljeg i kozjeg mlijeka. Kod zrenja bračkog sira od ovčjeg mlijeka, Rako (2016.) je utvrdio intenzivniju proteolizu na α_{s1}-kazeinu nego na β-kazeinu. Za razliku od njega, Magdić i sur. (2013.) utvrdili su jednaku razgradnju α_s-kazeina i β-kazeina tijekom zrenja istarskog sira; vrijednost indeksa α bila je 0,60, dok je vrijednost indeksa β bila 0,63 120. dana zrenja.

Postotak dušika topljivog u vodi značajno se povećavao ($P<0,01$) tijekom zrenja lećevačkog sira (grafikon 5). Intenzivnije povećanje udjela frakcija dušika topljivog u vodi u prvih 30 dana zrenja, nakon čega je uslijedilo njegovo postupno povećanje do kraja zrenja, u skladu je s rezultatima istraživanja Aminifar i sur. (2013.), Temizkan i sur. (2014.), Kalit i sur. (2016.). Suprotno navedenome, Freitas i sur. (1997.) utvrdili su da promjene udjela dušika topljivog u vodi u siru od miješanog ovčjeg i kozjeg mlijeka između nultog, 25., 40. i 90. dana zrenja nisu bile značajne. U prvih pet mjeseci zrenja sireva Pecorino Romano, Addis i sur. (2005.) utvrdili su značajne razlike udjela dušika topljivog u vodi. Sert i sur. (2007.), Bertolino i sur. (2011.) i Bonanno i sur. (2013.) utvrdili su značajno povećanje udjela dušika topljivog u vodi tijekom zrenja sireva proizvedenih od sirovoga kravljeg mlijeka. Istražujući svojstva sireva pasta filata proizvedenih od kravljeg mlijeka i miješanoga kravljeg mlijeka s ovčjim ili kozjim mlijekom, Niro i sur. (2014.) utvrdili su značajno povećanje udjela dušika topljivog u vodi tijekom dva mjeseca zrenja. Autori navode da su u sirevima proizvedenima od kravljeg mlijeka i miješanog kravljeg i ovčjeg mlijeka konačne vrijednosti dušika topljivog u vodi bile vrlo slične, dok su u sirevima proizvedenim od miješanoga kravljeg i kozjeg mlijeka vrijednosti bile znatno veće. Dok su Ferrandini i sur. (2011.) utvrdili značajno povećanje udjela dušika topljivog u vodi tijekom 60 dana zrenja sira Murcia al Vino od kozjeg mlijeka, Bontinis i sur. (2012.) utvrdili su vrlo malo povećanje udjela dušika topljivog u vodi tijekom 180 dana zrenja sira Xinotyri od sirovoga kozjeg mlijeka. Općenito, u polutvrdim i tvrdim sirevima proteoliza uvjetuje povećanje udjela dušika topljivog u vodi u odnosu na ukupan dušik, ali karakterizacija proteolize za svaki pojedini sir mora uzeti u obzir procese koji uzrokuju stvaranje visokomolekularnih, srednjemolekularnih, niskomolekularnih peptida, slobodnih aminokiselina i dušičnih spojeva nastalih katabolizmom aminokiselina, a koji čine u vodi i/ili u trikloroctenoj kiselini topljive frakcije dušika (Innocente, 1997.; Kalit i sur., 2005.).

Frakcija dušika topljivog u trikloroctenoj kiselini po tradiciji se smatra indeksom dubine zrenja i sastoji se uglavnom od amonijaka, malih peptida sastavljenih od 2 do 20 ostataka aminokiselina i slobodnih aminokiselina, odnosno produkata njihovog katabolizma koji u svojoj strukturi sadrže dušik (Ferrandini i sur., 2011.). Gobbetti i sur. (1999.) i Niro i sur. (2014.) navode da je sirilo odgovorno za nastajanje nekih od dušičnih sastojaka topljivih u 12-postotnoj trikloroctenoj kiselini (vrlo malih peptida i aminokiselina), ali da proteinaze i peptidaze mliječnokiselih bakterija daju puno značajniji doprinos razgradnji kazeina, velikih i srednjih peptida, a rezultiraju porastom udjela neproteinskog dušika topljivog u trikloroctenoj kiselini. Sukladno tome, u predmetnom istraživanju udio dušika topljivog u 12-postotnoj trikloroctenoj kiselini značajno se povećavao ($P<0,01$) trajanjem zrenja lećevačkog sira (grafikon 5). Brže povećanje udjela frakcija dušika topljivog u trikloroctenoj kiselini utvrđeno je u prvih 30 dana, nakon čega se postupno povećava do kraja zrenja, što je u skladu s rezultatima istraživanja proteolitičkih promjena praćenih kod livanjskog sira koje su proveli Kalit i sur. (2016.). Do sličnih rezultata došli su Mikulec i sur. (2008.) u krčkom siru, Temizkan i sur. (2014.) u siru Kashar te Tudor Kalit i sur. (2014.) u siru iz mišine. Suprotno navedenome, Freitas i sur. (1997.) u siru Picante od miješanog ovčjeg i kozjeg mlijeka i Sert i sur. (2007.) u siru Kashar od kravljeg mlijeka utvrdili su sporije povećanje udjela dušika topljivog u trikloroctenoj kiselini u prvih 30 dana zrenja, a značajno povećanje udjela dušika topljivog u trikloroctenoj kiselini od 30. do 90., odnosno 180. dana zrenja. Nadalje, Macedo i Malcata (1997.) utvrdili su da je povećanje udjela dušika topljivog u trikloroctenoj kiselini bilo sporije prvih 21 dan, da bi bilo brže do kraja zrenja, odnosno 35. dana zrenja sira Sera od ovčjeg mlijeka. Bontinis i sur. (2012.) utvrdili su vrlo maleno povećanje udjela dušika topljivog u trikloroctenoj kiselini tijekom zrenja sira Xinotyri od sirovoga kozjeg mlijeka.

5.8. Utjecaj trajanja zrenja na teksturu lećevačkog sira

Iz rezultata predmetnog istraživanja može se vidjeti da su utvrđene promjene teksture uzrokovane zrenjem bile značajne ($P<0,01$; grafikon 6). Najveće promjene napona puknuća dogodile su se između 30. i 60. dana zrenja. U skladu s rezultatima ovog istraživanja, Fenelon i Guinee (2000.) i Rynne i sur. (2004.) utvrdili su značajno smanjenje napona puknuća tijekom zrenja. Hort i Grys (2001.) utvrdili su da je napon puknuća veći između 34. i 50. tjedna zrenja nego u ranijim stadijima zrenja sira Cheddar, da bi u 64. tjednu uslijedilo drastično smanjenje napona puknuća. Smanjenje postotka deformacije do točke puknuća bilo je značajno od nultog do 60. dana zrenja, da bi se nakon toga usporilo do kraja zrenja (grafikon 6). Do sličnih rezultata tijekom zrenja sira Cheddar došli su

Fenelon i Guinee (2000.), Hort i Grys (2001.) i Rynne i sur. (2004.). Relativni sadržaj mliječne masti, proteina i vode utječe na sva izmjerena reološka svojstva lećevačkog sira. Do kojeg stupnja bi se mogao promijeniti proteinski matriks sira, prije svega ovisi o količini mliječne masti i u manjoj mjeri o prisutnoj vodi (Prentis, 1987.). Alverenga i sur. (2008.) navode da se promjene teksture nastale tijekom zrenja mogu objasniti promjenama u proteinskoj mreži koje uključuju: pucanje veza između polimeriziranih proteina (gubitak organizacije kvarterne strukture proteina), proteolizu i disocijaciju kazeinskih submicela uzrokovanu padom pH-vrijednosti. Elastičnost sira značajno se smanjivala od nultog do 60. dana zrenja, da bi se nakon toga smanjenje usporilo do kraja zrenja (grafikon 6). Povećanjem trajanja zrenja značajno se smanjuje elastičnost kod različitih vrsta sireva (Patel i sur., 1993.; Hort i Grys., 2001.; Van Hekken i sur., 2013.; Elgaml i sur., 2017.). Hort i Grys (2001.), osim značajnog smanjenja elastičnosti, utvrdili su i da je elastičnost bila konstantna tijekom srednjeg razdoblja zrenja sira Cheddar. Za razliku od prije spomenutih autora, Bertolino i sur. (2011.) utvrdili su da se elastičnost značajno povećavala do 90. dana zrenja, da bi se nakon toga smanjivala do kraja zrenja (150. dana). Kesenkas i sur. (2012.) utvrdili su značajno povećanje elastičnosti samo u prvih 30 dana zrenja sira Telli, dok se elastičnost od 30. do 90. dana nije mijenjala. Autori su to objasnili promjenama u proteinskim frakcijama te promjenama na mliječnoj masti u siru.

5.9. Utjecaj sezone na kemijski sastav, fizikalna svojstva i higijensku kvalitetu mlijeka dalmatinske pramenke

S obzirom da ovce pasmine dalmatinska pramenka provode većinu godine na paši, sezonske varijacije značajno su utjecale na sastav mlijeka i njegove karakteristike (grafikoni od 7 do 19). Slične rezultate dobili su Carta i sur. (1995.) i Todaro i sur. (2014.) istražujući utjecaj sezone na kvalitetu mlijeka izvornih pasmina ovaca na Sardiniji i Siciliji, koje također većinu godine provode na paši. Pianaccioli i sur. (2007.) nisu utvrdili značajnu razliku u udjelu mliječne masti i proteina u ovčjem mlijeku između proljeća, ljeta, jeseni i zime, ali su utvrdili da su udio laktoze i udio suhe tvari bez masti bili najmanji tijekom ljeta u odnosu na druga godišnja doba. Bergamachi i sur. (2016.) utvrdili su da se dostupnost paše na planinskom pašnjaku, izražena u tonama svježe trave po hektaru, značajno povećava od početka pašne sezone sredinom lipnja do kolovoza, a smanjuje se na kraju pašne sezone sredinom rujna, kao i da kvaliteta trave značajno varira tijekom pašne sezone, što utječe na količinu, kvalitetu i sastav mlijeka.

Predmetnim istraživanjem utvrđen je najmanji udio mliječne masti tijekom travnja i svibnja (prosječna vrijednost od 6,25 % do 7,21 %), a najveći krajem sezone u kolovozu (od 8,39 % do 8,99 %) (P<0,001; grafikon 7). Tijekom rane vegetacije porast paše je velik, ali trava je u tom periodu godine bogata lakoprobavljivim dušičnim sastojcima, a siromašna vlaknima i energijom (Kalit, 2008.; Mikolayunas i sur., 2008.). U skladu s rezultatima ovog istraživanja, Carta i sur. (1995.) i Todaro i sur. (2014.) utvrdili su da je najmanji udio mliječne masti zabilježen u proljetnim mjesecima, a najveći u ljetnim mjesecima. Abilleira i sur. (2010.) utvrdili su da se udio mliječne masti u mlijeku ovaca Lacha postupno povećava od početka do kraja sezone proizvodnje. Martini i sur. (2008.) utvrdili su da je udio masti u mlijeku bio značajno veći u ljetnoj sezoni nego u zimskoj sezoni godine. Suprotno navedenome, Jaeggi i sur. (2005.) utvrdili su najmanji udio mliječne masti u ovčjem mlijeku ljeti u kolovozu, a najviši zimi u veljači. Istražujući utjecaj različitih sustava držanja krava na paši, Fretin i sur. (2017.) utvrdili su da se udio mliječne masti značajno povećava od srpnja do rujna. Stergiadis i sur. (2012.) utvrdili su da je udio mliječne masti značajno veći kod krava u zimskom djelu sezone, kada su hranjene u zatvorenom, nego u pašnom djelu sezone na livadama. Suprotno rezultatima ovog istraživanja, Nateghi i sur. (2014.) nisu utvrdili značajan utjecaj sezone na udio mliječne masti u mlijeku krava uzgajanih pašnim sustavom.

Predmetnim istraživanjem utvrđeno je da je udio proteina bio najmanji u proljeće (od 5,75 do 5,93 %), da bi se statistički značajno (P>0,001) povećao do kraja muzne sezone, kada je zabilježena najveća vrijednost (od 7,02 do 7,33 %; grafikon 8). Hranidba lakoprobavljivim ugljikohidratima prije odlaska na pašu može poboljšati iskoristivost dušičnih tvari kod muznih životinja koje su hranjene većim količinama krme bogate dušičnim sastojcima (Mitani i sur., 2012.). Abilleira i sur. (2010.) utvrdili su najmanji udio proteina u veljači, koji se značajno povećavao do kraja sezone mužnje u srpnju. Todaro i sur. (2014.) utvrdili su najveći udio proteina u ovčjem mlijeku u ljetnim i zimskim mjesecima, dok je manji udio proteina utvrđen u proljetnim i jesenskim mjesecima. Sevi i sur. (2004.) utvrdili su da se udio proteina u mlijeku ovaca koje se janje zimi značajno povećava od proljeća do ljeta. Za razliku od rezultata predmetnog istraživanja, Jaeggi i sur. (2005.) utvrdili su da se udio proteina u ovčjem mlijeku smanjuje tijekom sezone mužnje od veljače do kolovoza. Autori ovakve rezultate objašnjavaju utjecajem toplog vremena i lošije kvalitete paše u ovom razdoblju godine. Najmanji udio proteina u ljetnom mlijeku ovaca Masseese utvrdili su Pianaccioli i sur. (2007.), a najveći u zimskom mlijeku. Fretin i sur. (2017.) utvrdili su da se udio proteina kod poluekstenzivno držanih krava povećava od srpnja do rujna, dok su Nateghi i sur. (2014.) utvrdili da je manji udio proteina u kravljem mlijeku povezan sa zimskom sezonom. Malissiova i sur. (2015.)

utvrdili su da je manji udio proteina u ovčjem mlijeku povezan sa zimskom sezonom, ali i s izvornim pasminama i vremenom zadržavanja mlijeka na farmi. Stergiadis i sur. (2012.) utvrdili su značajno veći udio proteina u kravljem mlijeku proizvedenom u zimskim mjesecima u odnosu na mlijeko proizvedeno u pašnoj sezoni.

Predmetnim istraživanjem utvrđene su značajne razlike (P<0,001) u udjelu kazeina u ovčjem mlijeku (grafikon 9) u sezoni između pojedinih godina; tako je u travnju jedne godine zabilježeno blago povećanje udjela kazeina, a u drugoj značajno smanjenje udjela kazeina na njegovu minimalnu vrijednost (3,87 %), koja se može povezati s izrazito suhim periodom te godine, gotovo bez padalina (tablica 3). Do kraja sezone udio kazeina se značajno povećavao i u kolovozu je iznosio prosječnih 5,13 do 5,41 %. Abilleira i sur. (2010.) utvrdili su da se udio kazeina postupno povećava od najmanje vrijednosti u veljači (3,92 %) do maksimuma u svibnju (4,40 %), nakon čega se lagano smanjuje (4,31 %). Suprotno navedenome, Jaeggi i sur. (2005.) utvrdili su da je udio kazeina prilično ujednačen u prvom dijelu sezone mužnje od veljače do svibnja, a onda se smanjuje prema kraju sezone u kolovozu. Kao i za udio proteina, Todaro i sur. (2014.) u svom su istraživanju najveći udio kazeina utvrdili u ljetnim i zimskim mjesecima, a znatno manji udio kazeina utvrdili su u proljetnim i jesenskim mjesecima. Martini i sur. (2008.) utvrdili su najveći udio kazeina u jesen. Lucey (1996.) je utvrdio da je udio kazeina u mlijeku krava uzgajanih pašnim sustavom manji kada se krave hrane u staji u zimskom periodu, a povećava se tijekom pašne sezone. Za razliku od prethodno spomenutog autora, Stergiadis i sur. (2012.) utvrdili su kako je značajan porast količine cjelovitih žitarica u obroku (34 %) povezan s većom koncentracijom ukupnog kazeina, β-kazeina i κ-kazeina tijekom zimske sezone. Stoga povećan udio cjelovitih žitarica u obroku može biti značajan čimbenik povećanja udjela kazeina u mlijeku u usporedbi s mlijekom dobivenim tijekom pašne sezone.

Udio laktoze u mlijeku se statistički značajno (P<0,001) smanjuje tijekom sezone (grafikon 10), što se poklapa s trajanjem laktacije (Fuertes i sur., 1998.; Jaramillo i sur., 2008.; Mayer i Fiecher, 2012.). Najmanja vrijednost laktoze izmjerena je u kolovozu treće godine (grafikon 10), kada je palo najmanje kiše u sve tri godine (6,1 mm; tablica 3) i kada je bila izmjerena mala relativna vlažnost zraka (53 %; tablica 4), vjerojatno još povezana s visokim temperaturama zraka. Povrh toga, poznato je da povećan broj somatskih stanica utječe negativno na udio laktoze u mlijeku (Havranek i sur., 2014.). Tako je najmanji udio laktoze zabilježen kada je izmjeren najveći broj somatskih stanica u mlijeku, više od 1.000.000/ml, u kolovozu na kraju sezone (grafikon 11). U skladu s rezultatima ovog istraživanja, najmanji udio laktoze u ovčjem mlijeku u ljetnim mjesecima utvrdili su

Pianaccioli i sur. (2007.), Martini i sur. (2008.) i Todaro i sur. (2014.). Istražujući utjecaj sezone na kvalitetu kozjeg mlijeka, Salari i sur. (2016.) utvrdili su značajno manji udio laktoze u mlijeku proizvedenom ljeti u odnosu na proljeće. U odnosu na rezultate ovog istraživanja, Nateghi i sur. (2014.) nisu utvrdili značajan utjecaj sezone proizvodnje na udio laktoze u mlijeku krava uzgajanih pašnim sustavom.

Predmetnim istraživanjem utvrđeno je da se udio suhe tvari statistički značajno ($P<0,001$) povećava od travnja, kada je izmjerena najmanja vrijednost (s prosječnih 17,44 do 17,96%), do kraja sezone proizvodnje u kolovozu (od 19,79 do 21,12 %; grafikon 11). Kao u ovom istraživanju, Barron i sur. (2001.) utvrdili su da se udio suhe tvari značajno povećava tijekom sezone proizvodnje. Slično rezultatima ovog istraživanja, Pešinova i sur. (2011.) i Mayer i Fiecher (2012.) utvrdili su da se udio suhe tvari u ovčjem mlijeku povećava od početka do kraja sezone proizvodnje (od travnja do kolovoza, odnosno od ožujka do listopada). Suprotno rezultatima ovog istraživanja, Jaeggi i sur. (2005.) utvrdili su da se udio suhe tvari smanjuje tijekom sezone, što je rezultat visokih temperatura i lošije kvalitete paše. Sezonske varijacije rezultiraju raznovrsnim sastavom mlijeka uglavnom zbog različite hranidbe životinja (Nateghi i sur., 2014.) i utjecaja temperature okoliša tijekom pašne sezone (Finocchiario i sur., 2005.; Sevi, 2007.). Nateghi i sur. (2014.) navode da je ispaša krava na prirodnim pašnjacima tijekom ljeta uzrok bolje kvalitete mlijeka, mlijeka bogatijeg proteinima i laktozom te povećanja udjela suhe tvari u mlijeku u odnosu na mlijeko dobiveno zimi. Suprotno navedenome, Martini i sur. (2008.) nisu utvrdili značajan utjecaj sezone na udio suhe tvari u mlijeku.

Udio suhe tvari bez masti u predmetnom istraživanju bio je najveći ($P<0,05$) na kraju sezone mužnje (grafikon 12), što je u skladu s rezultatima istraživanja koje su proveli Plumi i sur. (1998.) i Abilleira i sur. (2010.). Pianaccioli i sur. (2007.) utvrdili su da je udio bezmasne suhe tvari najmanji ljeti u odnosu na druga godišnja doba, a Martini i sur. (2008.) utvrdili su najveći udio suhe tvari bez masti zimi.

Predmetnim istraživanjem utvrđen je statistički značajan utjecaj sezone ($P<0,05$) i godine ($P<0,01$) na udio neproteinskog dušika (NPN) u ovčjem mlijeku (grafikon 13). Udio NPN-a povećavao se od ožujka do travnja (u trećoj godini), odnosno svibnja (u prvoj i drugoj godini), nakon čega se postupno smanjuje do kraja sezone mužnje, u kolovozu. Slične rezultate sezonskih varijacija NPN-a u mlijeku ovaca uzgajanih pašnim sustavom objavili su Abilleira i sur. (2010.). Chrif i sur. (2018.) utvrdili su da se udio NPN-a u kravljem mlijeku smanjuje do travnja, zatim stagnira do rujna, da bi se ponovo povećavao do kraja sezone. Lacroix i sur. (1997.), istražujući utjecaj sezonskih varijacija na dušične frakcije u skupnom kravljem mlijeku, utvrdili su da je udio NPN-a u mlijeku ostao relativno

konstantan od siječnja do travnja, da bi se povećavao do rujna i zatim padao. Barron i sur. (2001.) utvrdili su da se udio NPN-a u ukupnom dušiku značajno smanjuje tijekom sezone (sa 6,23 %), da bi najmanji udio (5,05 %) utvrdili na kraju sezone. Za razliku od autora koji govore o značajnim varijacijama u sadržaju NPN-a u mlijeku tijekom sezone, McDowell (1972.) navodi da je utjecaj sezone na udio NPN-a u mlijeku krava pasmine Holstein Friesian i Jersey držanih na ispaši vrlo malen. Slične rezultate o manjim varijacijama udjela NPN-a u mlijeku krava pasmine Holstein navode i Chrif i sur. (2018.). Međutim, ako se životinje u proljeće hrane većom količinom trave koja je bogata dušikom, odnosno lakoprobavljivim proteinima, a siromašna lakoprobavljivim ugljikohidratima i vlaknima, udio NPN-a u mlijeku može dostići najveću vrijednost, odnosno može ga biti i do 7,5 % od ukupnog dušika mlijeka (Journet i Verite, 1975.). U predmetnom radu utvrđeno je da je udio NPN-a u odnosu na ukupni dušik u mlijeku u svibnju jedne godine bio 11,43 %. S druge strane, nedostatna količina razgradivih i nerazgradivih proteina u obroku rezultira značajnim smanjenjem udjela NPN-a u mlijeku (Roseler i sur., 1993.).

Predmetnim istraživanjem utvrđeno je da je koncentracija uree u mlijeku bila veća ($P<0,01$) i prilično ujednačena u proljeće, uz određene varijacije ovisno o godini (od 35,18 mg/dl do 47,63 mg/dl; grafikon 14). U ljetnom mlijeku zabilježeno je drastično smanjenje njezine koncentracije do kraja sezone, kada su izmjerene najmanje prosječne vrijednosti (od 22,4 mg/dl do 27,12 mg/dl). Todaro i sur. (2014.) utvrdili su najveću koncentraciju uree u mlijeku dobivenom zimi (43,34 mg/dl), a najnižu u mlijeku dobivenom ljeti od ovaca Comisana pasmine (26,38 mg/dl). Za razliku od njih, Hojman i sur. (2004.) utvrdili su značajno veću koncentraciju uree u kravljem mlijeku tijekom proljeća i ljeta u odnosu na hladni dio sezone, odnosno jesen i zimu. Bendelja i sur. (2009.) utvrdili su manju koncentraciju uree u mlijeku krčkih ovaca na početku laktacije u odnosu na sredinu i kraj laktacije, dok su Antunović i sur. (2017.) utvrdili smanjenje koncentracije uree trajanjem laktacije ovaca u organskom uzgoju. Jonkus i Paura (2011) utvrdili su da se koncentracija uree smanjuje nakon 150-og dana laktacije kod krava smeđe pasmine.

Predmetnim istraživanjem utvrđeno je da se ukupan broj mikroorganizama (UBM) statistički značajno ($P<0,05$) povećava u ljetnim mjesecima (najviše vrijednosti su izmjerene u lipnju druge i treće godine, odnosno u kolovozu prve godine) u usporedbi s proljetnim mjesecima (ožujak, travanj i svibanj; grafikon 15). Todaro i sur. (2014.) također su utvrdili da se ljeti povećava UBM, iako je u njihovom istraživanju zabilježen povećani UBM i u jesen. Sevi i sur. (2004.) utvrdili su da je utjecaj sezona janjenja bio značajan za UBM u mlijeku intenzivno uzgajanih ovaca Comisana pasmine u južnoj Italiji. Izvijestili su da je broj mikroorganizama bio veći u mlijeku ovaca janjenih zimi u odnosu na mlijeko

ovaca janjenih u jesen, jer je poznato da povećanje ambijentalne temperature uzrokuje brže razmnožavanje mikroorganizama (Albenzio i sur., 2002.). Kondyli i sur. (2012.) nisu utvrdili značajnu razliku u UBM-u u ovčjem mlijeku proizvedenom u proljeće u odnosu na ljeto kod dviju izvornih pasmine ovaca u Grčkoj. Suprotno navedenome, Martini i sur. (2008.) i Nateghi i sur. (2014.) utvrdili su veći ukupni broj mikroorganizama zimi u odnosu na ljeto, bez obzira na više ljetne temperature. Nateghi i sur. (2014.) navode da hranidba na zelenim pašnjacima ne utječe izravno samo na nutritivnu vrijednost mlijeka već može smanjiti i mikrobiološku kontaminaciju sirovog mlijeka.

Broj somatskih stanica (BSS; $\log_{10}$/ml) u predmetnom istraživanju bio je prilično ujednačen od ožujka do lipnja, zatim se počeo povećavati, da bi najveću vrijednost imao u kolovozu na kraju sezone, više od 1.000.000/ml mlijeka ($P<0,05$; grafikon 16). Slične rezultate objavili su Todaro i sur. (2014.), u čijem je istraživanju najmanji BSS utvrđen u svibnju, a značajno veći u ljeto i u jesen. Povećanje BSS-a u ovčjem mlijeku može se objasniti smanjenjem količine proizvedenog mlijeka i napredovanjem laktacije (Morgante i sur., 1996.; Fuertes i sur., 1998.; Mioč i sur., 2009.). Za razliku od rezultata ovog istraživanja, Jaeggi i sur. (2005.) utvrdili su da je BSS bio najveći na početku sezone u veljači, a značajno manji na kraju sezone mužnje u kolovozu. Značajno manji BSS u ovčjem mlijeku na kraju sezone mužnje u srpnju utvrdili su i Tančin i sur. (2017.). Istražujući utjecaj sezone na higijensku kvalitetu kravljeg mlijeka, Pašić i sur. (2016.) utvrdili su najmanji BSS u proljeće, a najveći u jesen. Suprotno rezultatima ovog istraživanja, Martini i sur. (2008.) u ovčjem mlijeku i Stergiadis i sur. (2012.) u kravljem mlijeku nisu utvrdili utjecaj sezone na BSS. Nadalje, Pianaccioli i sur. (2007.) utvrdili su da je BSS u mlijeku veći u jesen i zimi, ali utjecaj nije bio značajan.

Utvrđene su varijacije u pH-vrijednosti mlijeka tijekom cijele sezone (grafikon 17). Iako su pronađene statistički značajne razlike ($P<0,05$), oscilacija je u praktičnom smislu zanemariva (od 0,19 do 0,24 ovisno o godini), što je u skladu s istraživanjem Abilleira i sur. (2010.) i Todaro i sur. (2014.). U odnosu na ovo istraživanje, Barron i sur. (2001.) i Freitin i sur. (2017.) nisu utvrdili značajan utjecaj sezone na pH-vrijednost u ovčjem, odnosno kravljem mlijeku.

Bez obzira na to što Havranek i sur. (2014.) navode da je brže povećanje kiselosti rezultat lošijih higijenskih uvjeta tijekom mužnje i prisutnosti većeg broja bakterija u mlijeku, što je u ovom istraživanju zabilježeno u ljetnim mjesecima (grafikon 15), kada je došlo do određenog povećanja kiselosti, posebno u srpnju, u predmetnom istraživanju je najveća titracijska kiselost (od 9,41 °SH do 9,61 °SH) utvrđena na početku sezone mužnje

u ožujku, odnosno travnju (P<0,05; grafikon 18). Varijacije titracijske kiselosti utvrdili su Todaro i sur. (2014.), koji su najveću vrijednost zabilježili u jesen (10,46 °SH). Pad titracijske kiselosti u kolovozu može biti povezan s većim brojem somatskih stanica u mlijeku (grafikon 16). Suprotno tome, Bianchi i sur. (2004.) navode da se trajanjem laktacije povećava vrijednost titracijske kiselosti u ovčjem mlijeku.

Predmetnim istraživanjem nije utvrđen statistički značajan utjecaj sezone na točku ledišta ovčjeg mlijeka (grafikon 19). Martini i sur. (2008.) utvrdili su značajno povećanje vrijednosti točke ledišta ljeti, ali se radi o praktično zanemarivoj varijaciji. Mayer i Fiechter (2012.) nisu utvrdili jasne trendove utjecaja sezone na točku ledišta, ali su izmjerene vrijednosti bile značajno više (-0,544 °C) nego u ovom istraživanju (-0,563 °C).

5.10. Utjecaj godine na kemijski sastav, fizikalna svojstva i higijensku kvalitetu mlijeka dalmatinske pramenke

Kod utjecaja godine treba uzeti u obzir utjecaj klime odnosno količinu i raspored padalina tijekom godine, kao i postotak relativne vlage na području koje je bilo obuhvaćeno istraživanjem (tablica 3 i tablica 4). Plumi i sur. (1998.) utvrdili su značajan utjecaj godine na količinu i većinu sastojaka ovčjeg mlijeka Chios pasmine. Macciotta i sur. (2005.) su za stada koza Sarda utvrdili značajan utjecaj godine na udio mliječne masti i proteina, dok Hassan (1995.) nije utvrdio značajan utjecaj godine na sastav mlijeka (udio mliječne masti, suhe tvari i suhe tvari bez masti) ovaca Ossimi i Saidi i njihovih križanaca s ovcama Chios. Istražujući utjecaj okolišnih i genetskih čimbenika na količinu i sastav mlijeka izvornih talijanskih pasmina ovaca, Selvaggi i sur. (2016.) nisu utvrdili značajan utjecaj godine na udio mliječne masti, proteina i laktoze u ovčjem mlijeku. Sustav proizvodnje mlijeka koji se temelji na ispaši često je izložen klimatskim i meteorološkim događajima koji utječu na količinu i kvalitetu paše (Lucey, 1996.; Pulina i sur., 2006.; Morand-Fehr i sur., 2007.), a posredno i na količinu i sastav mlijeka (Grimley i sur., 2009.; Bergamachi i sur., 2016.).

U predmetnom istraživanju udio laktoze bio je najveći (tablica 12) u godini s najpovoljnije raspoređenim oborinama, kada je zasigurno bilo i najviše paše za ovce, a najmanji u godini s najmanje oborina (tablica 3). Prema Malissiova i sur. (2015.), raspoloživa paša je pozitivno povezana s udjelom laktoze u ovčjem mlijeku. Malissova i sur. (2015.) osim toga navode da je ručna mužnja povezana s manjim udjelom laktoze u ovčjem mlijeku. Strojnom mužnjom ovaca, u istraživanju Pešinova i sur. (2011.), dobiveno je mlijeko sa značajno većim udjelom laktoze (5,07 %) u odnosu na udio laktoze u ovom

istraživanju (4,36 %). Ploumi i sur. (2006.) utvrdili su da je udio laktoze bio veći u godini u kojoj su se ovce muzle strojno u odnosu na godine u kojima su se ovce muzle ručno. Utjecaj godine u predmetnom istraživanju nije bio statistički značajan za udio mliječne masti, što su u svom istraživanju utvrdili Hassan (1995.) i Selvaggi i sur. (2016.), dok su Ploumi i sur. (2006.) utvrdili značajan utjecaj godine na udio masti u mlijeku. U predmetnom istraživanju utvrđen je statistički značajan utjecaj godine na udio proteina u mlijeku. Za razliku od rezultata ovog istraživanja, Ploumi i sur. (2006.) i Selvaggi i sur. (2016.) nisu utvrdili značajan utjecaj godine na udio proteina u ovčjem mlijeku. Udio NPN-a u mlijeku bio je najmanji ($P<0,01$) u godini s najmanje oborina, dok je najveći udio NPN-a bio u godini s najpovoljnijim rasporedom oborina (kada je zasigurno bilo i najviše paše za ovce). U godini s najvećim udjelom NPN-a u mlijeku utvrđen je značajno ($P<0,05$) najmanji udio proteina i kazeina u mlijeku (tablica 12). Najveća pojedinačna vrijednost udjela NPN-a u ukupnom dušiku (11,43 %) izmjerena je u godini s najpovoljnijim rasporedom oborina, a najmanja vrijednost (1,55 %) u godini s najmanje oborina, dok je prosječni udio NPN-a u ukupnom dušiku bio 5,27 %.

U predmetnom istraživanju koncentracija uree u mlijeku bila je veća u trećoj godini (37,55 mg/100 ml; tablica 12) u odnosu na drugu godinu istraživanja (32,23 mg/100 ml). Može se vidjeti da udio NPN-a i koncentracija uree nisu u istom trendu u godini u kojoj je palo najmanje oborina, kada je prosječna koncentracija uree bila veća. Iz tablice 3 može se vidjeti da je u travnju druge godine palo vrlo malo kiše, što je vjerojatno zaustavilo porast vegetacije, a to nije slučaj s travnjem treće godine, kada je izmjerena pojedinačno najveća vrijednost uree (63,63 mg/100 ml) u mlijeku. Ovo se može objasniti navodima Roseler i sur. (1993.), koji su utvrdili da je urea puno osjetljiviji indikator promjena u unosu proteina u organizam preživača od NPN-a, odnosno da udio uree u ukupnom NPN-u pokazuje znatno veće varijacije nego NPN u odnosu na ukupni dušik u mlijeku. Udio uree u ukupnom NPN-u u njihovom istraživanju kretao se od 19,7 % do 46,5 %, dok Journet i sur. (1975.) navode da se udio uree u ukupnom udjelu NPN-a u kravljem mlijeku može kretati od 20 do 75 %. U predmetnom istraživanju manja koncentracija uree u mlijeku izmjerena je u istom periodu kada su izmjerene i najmanje vrijednosti kazeina u mlijeku, odnosno u travnju druge godine istraživanja. Hojman i sur. (2004.), istražujući utjecaj okolišnih faktora na koncentraciju uree u mlijeku, dokazali su značajan utjecaj godine na koncentraciju uree u mlijeku u stadima mliječnih krava u Izraelu. Proučavajući utjecaj okolišnih faktora na koncentraciju uree u mlijeku južnoafričkih krava pasmine Holstein, Kgole i sur. (2012.), u skladu s rezultatima ovog istraživanja, utvrdili su značajan utjecaj godine na koncentraciju uree, koji su objasnili različitim načinima upravljanja i hranidbe mliječnih krava.

U predmetnom istraživanju utvrđen je statistički značajan (P<0,01) utjecaj godine na BSS i na UBM u mlijeku (tablica 12), što je u skladu s rezultatima istraživanja Gonzalo i sur. (2010.).

Od fizikalnih osobina mlijeka, godina je statistički značajno utjecala na titracijsku kiselost (P<0,05), što je u skladu s rezultatima Sajko Matutinović i sur. (2012.). S obzirom na to da primarnu ili nativnu kiselost mlijeka ponajviše određuje udio kazeina u mlijeku, najveća vrijednost titracijske kiselosti (8,95 °SH) očekivano je utvrđena u godini kada je utvrđen i najveći udio kazeina (4,80 %) u mlijeku (tablica 12).

Točka ledišta je prilično konstantna i ujednačena vrijednost (Park i sur., 2007.), što potvrđuje i vrlo slična prosječna vrijednost točke ledišta mlijeka dalmatinske pramenke u sve tri istraživane godine (tablica 12).

5.11. Utjecaj stada na kemijski sastav, fizikalna svojstva i higijensku kvalitetu mlijeka dalmatinske pramenke

Predmetnim istraživanjem utvrđeno je da udio mliječne masti, proteina, laktoze, suhe tvari i neproteinskog dušika statistički značajno variraju (P<0,01) između pojedinih stada, (od 6,57 g/100 g do 8,25 g/100 g), (5,8 g/100 g do 6,57 g/100 g), (4,03 g/100 g do 4,46 g/100 g), (17,88 g/100 g do 19,79 g/100 g), (0,26 g/100 g do 0,34 g/100 g), što ukazuje na različit menadžment stada, različitu higijensku praksu u stadima i što je uzrokovalo značajne varijacije između stada. Udio bezmasne suhe tvari varira manje (11,08 g/100 g do 11,51 g/100 g) , ali je utjecaj stada bio statistički značajan (P<0,05), dok udio kazeina (4,49 g/100 g do 4,92 g/100 g) pokazuje trend prema značajnosti (P<0,10). Istražujući kemijske i prehrambene osobine mlijeka ovaca Massese uzgajanih poluekstenzivnim sustavom, Martini i sur. (2008.) utvrdili su utjecaj stada na sve analizirane fizikalno-kemijske i higijenske osobine ovčjeg mlijeka; iznimka je bio samo udio proteina. Abilleira i sur. (2010.) utvrdili su utjecaj stada na sve analizirane fizikalno-kemijske i higijenske osobine osim na udio mliječne masti i pH-vrijednost ovčjeg mlijeka. Prijašnja istraživanja provedena na području Mediterana pokazuju također značajan utjecaj stada na udio mliječne masti i proteina pasmine Chura (Gonzalo i sur., 1994.; De la Fuente i sur., 1997.) i paške ovce (Barać i sur., 2013.). Za razliku od njih, De Marchi i sur. (2008.), koji su istraživali utjecaj kvalitete mlijeka različitih pasmina krava na kvalitetu sira, nisu utvrdili značajan utjecaj stada na udio proteina i kazeina, ali su utvrdili značajan utjecaj stada na udio mliječne masti i laktoze u mlijeku. Ruska i Jonkus (2014.) utvrdili su značajan utjecaj stada na udio proteina, kazeina, uree i neproteinskog dušika u kravljem mlijeku. Bonanno i sur. (2013.) utvrdili su u stadima ekstenzivno uzgajanih krava na ispaši

značajno manju (31,7 mg/dl) koncentraciju uree u mlijeku u odnosu na mlijeko intenzivno uzgajanih krava, 43,9 mg/dl. Za razliku od njih, Ruska i Jonkus (2014.) utvrdili su da mlijeko krava koje provode dio godine na ispaši ima značajno višu koncentraciju uree nego mlijeko krava uzgajanih u zatvorenom sustavu slobodnog držanja u staji. Bugaud i sur. (2001.) navode kako vrsta paše značajno utječe na koncentraciju uree u mlijeku. Bendelja i sur. (2009.) utvrdili su da mlijeko ovaca držanih na paši ima značajno višu koncentraciju uree od mlijeka ovaca držanih u staji. Poznato je da neki dušični sastojci mlijeka, npr. urea, mogu mijenjati tehnološka svojstva mlijeka, a zatim i karakteristike zrelog sira (Martin i sur., 1997). Tako Havranek i sur. (2014.) navode da povećana koncentracija uree u mlijeku može uzrokovati oštećenja na kazeinu, odnosno dezintegraciju hidrofobnih dijelova jezgre kazeina, produženo vrijeme zgrušavanja mlijeka, nastajanje lomljivog gruša, smanjen stupanj zakiseljavanja i nepravilan tijek fermentacije.

Predmetnim istraživanjem utvrđeno je da je utjecaj stada bio značajan ($P<0,01$) za higijensku kvalitetu mlijeka izraženu kao BSS i UBM u mlijeku (tablica 13). Kada se radi o utjecaju stada na BSS, slične rezultate dobili su González-Rodrígez i sur. (1995.), Gonzalo i sur. (2002., 2005., 2006.) i Albenzio (2006.). Budući da je u svim stadima mužnja bila ručna, pretpostavka je da je BSS veći nego što je u stadima u kojima se muze strojno, kao što su u svojim istraživanjima utvrdili De la Fuente i sur. (1997.) i Gonzalo i sur. (2005. i 2006.). Osim toga, Gonzalo i sur. (2006.) utvrdili su da je UBM značajno veći kod ručne mužnje ili mužnje u kantu nego kod mužnje u mljekovod. Različit menadžment i higijenska praksa u stadima uzrokovali su značajne varijacije UBM-a i BSS-a među stadima. De Marchi i sur. (2008.) utvrdili su značajan utjecaj stada na BSS i UBM u mlijeku krava uzgajanih na planinskim pašnjacima. Značajan utjecaj stada na UBM također su utvrdili Muehlherr i sur. (2003.), koji su istraživali mikrobiološku kvalitetu zbirnog sirovog ovčjeg i kozjeg mlijeka u Švicarskoj. Sve farme obuhvaćene predmetnim istraživanjem bile su smještene u brdskim predjelima Dalmatinske zagore. Martini i sur. (2008.) utvrdili su da mlijeko ovaca Massese proizvedeno u brdskim predjelima do 500 metara nadmorske visine ima značajno viši ($P<0,01$) udio suhe tvari, mliječne masti, proteina, kazeina i bezmasne suhe tvari, ali ima značajno manji ($P<0,01$) UBM i BSS u odnosu na mlijeko koje je proizvedeno u nizinama. pH-vrijednost nije bila značajno različita između stada, kao što su to utvrdili i Albenzio i sur. (2006.) u kozjem mlijeku. Nadalje, stado nije imalo značajan utjecaj na titracijska kiselost, kao što su to u svom istraživanju utvrdili De Marchi i sur. (2008.) u kravljem mlijeku. Točka ledišta nije bila statistički značajno različita između stada, za razliku od rezultata istraživanja Antunac i sur. (2007.) u mlijeku istočnofrizijskih ovaca.

Budući da držanje ovaca, menadžment stada, posebno hranidba (Bencini, 2001.; Pulina i sur., 2006.; Mioč i sur., 2007.), higijena mužnje i postupak s mlijekom nakon

mužnje (Bencini, 2001.; Sevi, 2007.) snažno utječu na količinu i sastav ovčjeg mlijeka, moguće je poboljšati osobine proizvedenog mlijeka manipulacijom tim čimbenicima. Rezultati također ukazuju da su, posebno u proizvodnji sira, upotrebom tradicionalnih protokola, kontrola sanitacije, držanja životinja i postupka mužnje ključni za optimiziranje higijenske kvalitete mlijeka i proteolize tijekom zrenja sira (Albenzio i sur., 2006.).

6. ZAKLJUČCI

Na temelju rezultata predmetnog istraživanja moguće je donijeti sljedeće zaključke:

1. Iako se u proizvodnji lećevačkog sira miješa ovčje mlijeko s područja Mediterana i Submediterana s kravljim mlijekom, omjer miješanja nije standardiziran. U tom smislu udio ovčjeg u miješanom mlijeku od 40% do 44% uzrokuje povećanje udjela mliječne masti, proteina, kazeina, bezmasne suhe tvari i suhe tvari te smanjenje udjela neproteinskog dušika u miješanom mlijeku. Navedene promjene sastava miješanog mlijeka su od praktičnog značaja, dok daljnje povećanje udjela ovčjeg mlijeka u kravljem (≥45 %) ne uzrokuje daljnje značajnije promjene u sastavu miješanog ovčjeg i kravljeg mlijeka koje bi mogle imati praktični značaj u njegovoj preradi u lećevački sir.

2. Udio ovčjeg mlijeka u miješanom mlijeku od 45 do 50 % uzrokovao je smanjenje udjela suhe tvari i mliječne masti te povećanje udjela proteina u lećevačkom siru. S druge strane, veći udio ovčjeg mlijeka u miješanom mlijeku uzrokovao je smanjenje intenziteta proteolize tijekom zrenja lećevačkog sira koje može biti od praktičnog značaja.

3. S povećanjem udjela ovčjeg mlijeka u miješanom mlijeku smanjuje se iskoristivost masti, što nepovoljno utječe na randman sira. U tom smislu, udio ovčjeg mlijeka u miješanom mlijeku u proizvodnji lećevačkog sira ne bi trebao biti veći od 39 %.

4. Povećanjem udjela ovčjeg mlijeka u miješanom mlijeku povećavaju se vrijednosti napona puknuća, deformacije u točki puknuća i elastičnost kao posljedica smanjenja udjela mliječne masti i istodobno povećanja udjela proteina u lećevačkom siru.

5. Zbog svog kemijskog sastava, lećevački sir pripada skupini sireva kod kojih se tijekom zrenja događaju intenzivne biokemijske promjene razgradnje pojedinih sastojaka sira. Indeks zrenja alfa 90. dana zrenja bio je vrlo visok (0,66) u odnosu na slične sireve, što ukazuje na intenzivnu razgradnju α_{s1}-kazeina te možemo ovaj sir svrstati u skupinu sireva alfa tipa zrenja. Potvrđeno je povećanje udjela mliječne masti, proteina i suhe tvari, kao i svih pokazatelja zrelosti sira (indeks zrenja α, indeks zrenja β, postotak u vodi topljivih frakcija dušika (WSN) u odnosu na ukupni dušik i postotak dušične frakcije topljive u trikloroctenoj kiselini (TCA-SN) u odnosu na ukupni dušik). Indeks zrenja beta 90. dana zrenja bio je 0,60, što upućuje na intenzivniju razgradnju β-

kazeina u odnosu na slične sireve. Sekundarne proteolitičke promjene u lećevačkom siru procijenjene kao postotak u vodi topljivih frakcija dušika i postotak dušične frakcije topljive u trikloroctenoj kiselini u odnosu na ukupni dušik, usporedivi su sa sekundarnim proteolitičkim promjenama sličnih sireva. Zrenjem lećevačkog sira povećava se napon puknuća, a smanjuju deformacija do točke puknuća kao i elastičnost.

6. Kao posljedica poluekstenzivnog načina uzgoja, u kojem se ovce veći dio godine drže na paši, potvrđen je značajan utjecaj sezone na sva kemijsko-fizikalna svojstva ovčjeg mlijeka dalmatinske pramenke te na njegovu higijensku kvalitetu. Tako je utvrđeno povećanje udjela mliječne masti, proteina, kazeina, suhe tvari, suhe tvari bez masti, kao i povećanje ukupnog broja mikroorganizama i broja somatskih stanica s napredovanjem sezone, dok su se udio laktoze, udio NPN-a i koncentracija uree smanjivali kako je sezona napredovala. Kao posljedica sustava proizvodnje mlijeka koji se temelji na ispaši i koji je izložen klimatskim i meteorološkim događajima, potvrđen je utjecaj godine na spomenuta svojstva ovčjeg mlijeka. Udio laktoze bio je najviši u godini s ravnomjernije raspoređenim oborinama, kada je raspoloživost paše bila bolje raspoređena tijekom laktacije ovaca, a najniži u godini s najmanje oborina. Udio NPN-a u mlijeku bio je najmanji u godini s najmanje oborina, dok je najveći udio NPN-a bio u godini s najpovoljnijim rasporedom oborina. U godini s najvećim udjelom neproteinskog dušika u mlijeku utvrđen je značajno najmanji udio proteina i kazeina u mlijeku. Ukupan broj mikroorganizama bio je najveći u godini s najpovoljnije raspoređenim oborinama, a broj somatskih stanica najveći u godini s najmanje oborina.

7. Na temelju rezultata trogodišnjeg praćenja utjecaja stada (upravljanja farmom, što uključuje smještaj, hranidbu, mužnju i postupak s mlijekom nakon mužnje) na području Mediterana i Submediterana potvrđen je snažan utjecaj stada na udio svih kemijskih sastojaka mlijeka kao što su udio mliječne masti, proteina, laktoze, suhe tvari, suhe tvari bez masti, kazeina i neproteinskog dušika te na njegovu higijensku kvalitetu (ukupni broj mikroorganizama i broj somatskih stanica), što se može povezati s činjenicom da se na istraženom području ovce drže poluekstenzivno te su izložene velikom utjecaju klimatskih promjena koje, u kombinaciji s različitim postupcima uzgajivača u držanju životinja, utječu na sastav i kvalitetu ovčjeg mlijeka.

7. POPIS LITERATURE

1. Abd El-Gawad M.A.M., Ahmed N.S. (2011): Cheese yield as affected by some parameters. Review. *Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria,* 10: 131-153.
2. Abilleira E., Virto M., Nájera A.I., Salmerón J., Albisu M., Pérez-Elortondo F.J., Ruiz de Gordoa J.C., de Renobales M., Barron L.J.R. (2010): Effects of seasonal changes in feeding management under part-time grazing on the evolution of the composition and coagulation properties of raw milk from ewes. *Journal of Dairy science*, 93: 3902-3909.
3. Abu-Tarboush H.M. (1982): *Prediction of Mozzarella cheese yield from milk composition*. *Doctoral dissertation,* Nutrition and Food Sciences, Utah State University.
4. Addis M., Piredda G., Pes M., Di Salvo R., Scintu M.F., Pirisi A. (2005): Effect of the use of three different lamb paste rennets on lipolysis of the PDO Pecorino Romano cheese. *International Dairy Journal,* 15: 563-569.
5. Agboola S., Chen S., Zhao J. (2004): Formation of bitter peptides during ripening of ovine milk cheese made with different coagulants. *Lait* 84: 567-578.
6. Albenzio M., Taibi L., Muscio A., Sevi A. (2002): Prevalance and etiology of subclinical mastitis intensively managed flocks and related changes in the yield and quality of ewe milk. *Small Ruminant Research*, 43: 219-226.
7. Albenzio M., Carporese M., Marino R., Muscio A., Santillo A., Sevi A. (2006): Characteristics of Garganica goat milk and Cacioricotta cheese. *Small Ruminant Research*, 64: 35-44.
8. Albenzio M., Santillo A., Carporese M., Marino R., Trani A., Faccia M. (2010): Biochemical patterns in ovine cheese: Influence of probiotic strains. *Journal of Dairy Science*, 93: 3487-3496.
9. Albenzio M., Santillo A., Carporese M., Ruggieri D., Napolitano F., Sevi A. (2013): Physicochemical properties of Scamorza ewe milk cheese manufactured with different probiotic cultures. *Journal of Dairy Science*, 96: 2781-2791.
10. Alichanidis E., Polychroniadou A. (2008): Characteristics of major traditional regional cheese varieties of East-Mediterranean countries: a review. *Dairy Science and Technology*, 88: 495-510.
11. Alonso R., Picon A., Gaya P., Nuñez M. (2013): Proteolysis, lipolysis, volatile compounds and sensory characteristics of Hispánico cheeses made using frozen curd from raw and pasteurized ewe milk. *Journal of Dairy Research*, 80: 51-57.

12. Alvarenga N., Silva P., Garcia J.R., Sousa I. (2008): Estimation of Serpa cheese ripening time using multiple linear regression (MLR) considering rheological, phisical and chemical data. *Journal of Dairy Research*, 75: 233-239.
13. Aminifar M., Hamedi M., Emamdjomeh Z., Mehdinia A. (2013): The effect of ovine and bovine milk on the textural properties of Linghvan cheese during ripening. *International Journal of Dairy Technology*, 66: 45-53.
14. Andreotti Dagostin J.L., Carpine D., Masson L.M. (2013): Influence of acidification method on composition, texture, psychrotrophs, and lactic acid bacteria in Minas Frescal cheese*. Food and Bioprocess Technology*, 6: 3017-3028.
15. Andronoiu D.G., Botez E., Nistor O.V., Mocanu G.D. (2015): Ripening process of Cascaval cheese: compositional and textural aspects. *Journal of Food Science and Technology*, 52: 5278-5284.
16. Antunac, N. (2004): Sastav i osobine ovčjeg mlijeka i njihov značaj u preradi. U: Šesto savjetovanje uzgajivača ovaca i koza u Republici Hrvatskoj, Zbornik predavanja, Poreč, 21. i 22. listopad, 51-69.
17. Antunac N., Mioč B., Mikulec N., Kalit S., Pecina M., Havranek J., Pavić V. (2007): Utjecaj paragenetskih čimbenika na proizvodnju i kvalitetu mlijeka istočnofrizijsih ovaca u Hrvatskoj. *Mljekarstvo*, 57: 195-208.
18. Antunović Z., Novoselec J., Šperanda M., Steiner Z., Ćavar S., Pavlović N., Valek Lendić K., Mioč B., Paćinkovski N., Klir Ž. (2017): Monitoring of blood metabolic profile and milk quality of ewes during lactation in organic farming. *Mljekarstvo*, 67: 243-252.
19. AOAC 935.43 (2000): Chloride (Total) in Cheese, Volhard Method AOAC Official Method 935.43. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.
20. AOAC 947.05 (2000): Acidity of Milk, Titrimetric Method AOAC Official Method 947.05. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.
21. Baković D. (1970): Ovčje mljekarstvo na našim otocima. *Mljekarstvo*, 7: 157-159.
22. Balthazar C.F., Pimentel T.C., Ferrao L.L., Almada C.N., Santillo A., Albenzio M., Mollakhalili N., Mortazavian A.M., Nascimento, J.S., Silva M.C., Freitas M.Q., Sant`Ana A.S., Granato D., Cruz A.G. (2017): Sheep milk: Physicochemical characteristics and relevance for functional food development. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety,* 16: 247-262.
23. Barać Z., Mioč B., Špehar M. (2013): Utjecaj stadija i redoslijeda laktacije, sezone janjenja i stada na udjele mliječne masti i bjelančevina u mlijeku paške ovce. *Mljekarstvo*, 63: 81-90.
24. Barron L.J.R., Fernandez de Labastida E., Perea S., Chavarri F., De Vega C., Soledad Vicente M., Torres M.I., Najera A.I., Virto M., Santisteban A., Perez-

Elortondo F.J., Albisu M., Salmeron J., Mendia C., Torre P., Ibañez F.C., De Renobles M. (2001): Seasonal changes in the composition of bulk raw ewe's milk used for Idiazabal cheese manufacture. *International Dairy Journal,* 11: 771-778.

25. Bencini R. (2001): Factors affecting the quality of ewe' s milk. *Proceedings of the 7th Great Lakes Dairy sheep symposium*, Wisconsin, USA, 52-83.
26. Bendelja D., Antunac N., Mikulec N., Vnučec I., Mašek T., Mikulec Ž., Havranek J. (2009): Koncentracija ureje u ovčjem mlijeku. *Mljekarstvo*, 59: 3-10.
27. Berdague J.L., Grappin R. (1987): Affinage et qualité du Gruyère de Comte. Influence de l' affinage sur l' évolution des charactéristiques physicochimiques des fromages. *Lait* 67: 237-247.
28. Bergamaschi M., Cipolat-Gotet C., Stocco G., Valorz C., Bazzoli., Sturaro E., Ramanzin M., Bittante G. (2016): Cheesemaking in highland pastures: Milk technological properties, cream, cheese and ricotta yields, milk nutrients recovery, and products composition. *Journal of Dairy Science*, 99: 9631-9646.
29. Bertolino M., Dolci P., Giordano M., Rolla L., Zeppa G. (2011): Evolution of chemico-physical characteristics during manufacture and ripening of Castelmano PDO cheese in wintertime. *Food Chemistry*, 129: 1001-1011.
30. Bertoni G., Calamari L., Maianti M.G. (2001): Producing specific milks for speciality cheeses. *Proceedings of the Nutrition Society,* 60: 231-246.
31. Bianchi L., Bolla A., Budelli E., Caroli A., Casoli C., Pauseli M., Duranti E. (2004): Effects of udder health status and lactation phase on the characteristics of Sardinian ewe milk. *Journal of Dairy Science*, 87: 2401-2408.
32. Bittante G., Penasa M., Cecchinato A. (2012): Invited review: Genetics and modeling of milk coagulation properties. *Journal of Dairy Science*, 95: 6843-6870.
33. Bland J.H., Grandison A.S., Fagan C.C. (2015): Effect of blanding Jersey and Holstein-Friesian milk on Cheddar cheese processing, composition, and quality. *Journal of Dairy Science*, 98: 1-8.
34. Bonanno A., Tornambe G., Belina V., De Pasquale C., Mazza F., Maniaci G., Di Grigoli A. (2013): Effect of farming system and cheesmaking technology on the physicochemical characteristics, fatty acid profile, and sensory properties of Caciocavallo Palermitano cheese. *Journal of Dairy Science*, 96: 710-724.
35. Bonczar G., Regula-Sardat A., Pustkowiak H., Zebrovska A. (2009): Učinak zamjene ovčjeg mlijeka kravljim na osobine Bundz sira. *Zywnošć. Nauka. Technologia. Jakošć,* 5: 96-106.
36. Bontinis Th.G., Mallatou H., Pappa E.C., Massouras Th., Alichanidis E. (2012): Changes in lipolysis, proteolysis and volatile profile of Xinotyri cheese made from raw goat's milk. *International Dairy Journal,* 24: 87-89.

37. Bourne M.C. (2002): *Food texture and viscosity*. Elsevier.
38. Bovenhuis H., Visker M.H.P.W., Lundén A. (2013): Selection for milk fat and milk protein composition. *Advances in Animal Biosciences*, 4: 612-617.
39. Boyazoglu J., Morand-Fehr P. (2001): Mediterranean dairy sheep and goat products and their quality. A critical review. *Small Ruminant Research*, 40: 1-11.
40. Bubić M. (1981): *Prilog poznavanju kakvoće i proizvodnje lećevačkog sira*. Magistarska rasprava, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
41. Buffa M., Guamis B., Saldo J., Trujillo A.J. (2003): Changes in water binding during ripening of cheeses made from raw, pasteurized or high-pressure-treated goat milk. *Lait* 83: 89-96.
42. Bugaud C., Buchin S., Coulon J.B., Hauwuy A., Dupont D. (2001): Influence of the nature of alpine pastures on plasmin activity, fatty acid and volatile compound composition of milk. *Lait* 81: 401-414.
43. Calvo M.V., Castillo I., Diaz-Barcos V., Requena T., Fontecha J. (2007): Effect of a hygienized rennet paste and a defined strain starter on proteolysis, texture and sensory properties of semi-hard goat cheese. *Food Chemistry*, 102: 917-924.
44. Campos G., Robles L., Alonso R., Nuñez M., Picon A. (2011): Microbial dynamics during the ripening of a mixed cow and goat milk cheese manufactured using frozen goat milk curd. *Journal of Dairy Science*, 94: 4766-4776.
45. Carta, A., Sanna, S.R., Casu, S. (1995): Estimating lactation curves and seasonal effects for milk, fat and protein in Sarda dairy sheep with a test day model. Livestock Production Science 44, 37–44.
46. Chrif M., El Hourch A., Chouni S., Aitbenyouf S., El abidi A. (2018): The variation of the non-protein nitrogen content by region and season and their impact on the analysis of milk proteins in Morocco. *Journal of Materials and Environmental Sciences*, 9: 811-816.
47. Coulon J.B., Delacroix-Buchet A., Martin B., Pirisi A. (2004): Relationships between ruminant management and sensory characteristics of cheeses: a review. *Lait* 84: 221-241.
48. Daviau C., Pierre A., Famelart M.H., Goudedranche H., Jacob D., Garnier M., Maubois J.L. (2000a): Residual amount of water in a draining curd of Camembert cheese and physicochemical characteristics of the drained curd as modified by the pH at renneting, the casein concentration and the ionic strength of milk. *Lait* 80: 555-571.
49. Daviau C., Pierre A., Famelart M.H., Goudedranche H., Jacob D., Garnier M., Maubois J.L. (2000b): Whey drainage during soft cheese manufacture and

properties of drained curd as modified by casein concentration, whey protein to casein ratio, and pasterisation of milk. *Lait* 80: 573-587.

50. De la Fuente L.F., San Primitivo F., Fuertes J.A., Gonzalo C. (1997): Daily and between-milking variations and repetabilities in milk yield, somatic cell count, fat, and protein of dairy ewes. *Small Ruminant Research*, 24: 133-139.
51. De Marchi M., Bittante G., Dal Zotto R., Dalvit C., Cassandro M. (2008): Effect of Holstein Friesien and Brown Swiss on quality of milk and cheese. *Journal of Dairy Science*, 91: 4092-4102.
52. Di Cagno R., Banks J., Sheehan L., Fox P.F., Brechany E.Y., Corsetti A., Gobbetti M. (2003): Comparison of the microbiological, compositional, biochemical, volatile profile and sensory characteristics of tree Italian PDO ewes` milk cheeses. *International Dairy Journal,* 13: 961-972.
53. Dubeuf J.P., Ruiz Morales F de A., Castel Genis J.M. (2010): Initiatives and projects to promote the Mediterranean local cheese and their relations to the development of livestock systems and activities. *Small Ruminant Research*, 93: 67-75.
54. Economides S., Georghiades E., Mavrogenis A.P. (1987): The effect of different milks on the yield and chemical composition of Halloumi cheese. *Technical Bulletin, Agricultural Research Institute*, Cyprus, 90: 2-7.
55. Elgaml N.B., Moussa M.A.M., Saleh A.E. (2017): Comparison of the properties of Halloumi cheese made from goat milk, cow milk and their mixture. *Journal of Sustainable Agricultural Sciences*, 43: 77-87.
56. Faccia M., Trani A., Gambacorta G., Loizzo P., Cassone A., Caponio F. (2015): Production technology and characterization of Fior di latte cheeses made from sheep and goats milks. *Journal of Dairy Science*, 98: 1402-1410.
57. Fenelon M.A., Guinee T.P. (2000): Primary proteolysis and textural changes during ripening in Cheddar cheeses manufactured to different fat contents. *International Dairy Journal,* 10: 151-158.
58. Ferrandini E., López M.B., Castillo M., Laencina J. (2011): Influence of an artisanal lamb rennet paste on proteolysis and textural properties of Murcia al Vino cheese. *Food Chemistry*, 124: 583-588.
59. Ferreira I.M.P.L.V.O., Veiros C., Pinho O., Veloso A.C.A., Peres A.M., Mendonça A. (2006): Casein breakdown in Terrincho ovine cheese: comparasion with bovine cheese and with bovine/ovine cheeses. *Journal of Dairy Science*, 89: 2397-2407.
60. Finocchiaro R., van Kaam J.B.C.H.M., Portolano B., Misztal I. (2005): Effect of heat stress on production of Mediterranean dairy sheep. *Journal of Dairy Science*, 88: 1855-1864.

61. Freitas A.C., Malcata F.X. (1996): Influence of milk type, coagulant, salting procedure and ripening time on the final characteristics of Picante cheese. *International Dairy Journal,* 6: 1099-1116.
62. Freitas A.C., Malcata F.X. (2000): Microbiology and biochemistry of cheeses with Appélation d' Origine Proteggée and manufactured in the Iberian peninsula from ovine and caprine milks. *Journal of Dairy Science,* 83: 584-602.
63. Freitas A.C., Sousa M.I. , Malcata F.X. (1995): Effect of ripening time and the combination of ewe and goat milk on the microflora of Picante cheese. *Italian Journal of Animal Science*, 7: 361-377.
64. Freitas A.C., Fresno J.M., Prieto B., Malcata F.X., Carballo J. (1997): Effects of ripening time and combination of ovine and caprine milks on proteolysis of Picante cheese. *Food Chemistry*, 60: 219-229.
65. Fretin M., Ferlay A., Verdier-Metz I., Fournier F., Montel M.C., Farruggia A., Delbes C., Martin B. (2017): The effect of low-input grazing systems and milk pasterisation on the chemical composition, microbial communities, and sensory properties of uncooked pressed cheeses. *International Dairy Journal,* 64: 56-67.
66. Fox P.F. (1993): Cheese: An overview. U: Cheese: *Chemistry, Physics and Microbiology Vol. 1.* Chapman & Hall, London.
67. Fox P.F., McSweeney P.L.H. (2004): Cheese: An overview. U: *Cheese-Chemistry, Physics & Microbiology Vol.1.* (Urednici: Fox P.F., McSweeney P.L.H., Cogan T.M., Guinee T.P.): Elsevier academic press: 1-18.
68. Fox P.F., Cogan T.M. (2004): Factors that affect the quality of cheese. U: *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology, Vol. 1.* (Urednici: Fox P.F., McSweeney P.L.H., Cogan T.M., Guinee T.P.): Elsevier academic press: 583-608.
69. Fuertes J.A., Gonzalo C., Carriedo J.A., San Primitivo F. (1998): Parameters of test day milk yield and milk composition for dairy ewes. *Journal of Dairy Science*, 81: 1300-1307.
70. Gobbetti M., Folkertsma B., Fox P.F., Corsetti A., Smacchi E., De Angelis M., Rossi J., Kilcawley K., Cortini M. (1999): Microbiology and biochemistry of Fossa (pit) cheese. *International Dairy Journal,* 9: 763-773.
71. Gobbetti M. (2004): Exstra-hard varieties. U: *Cheese-Chemistry, Physics & Microbiology Vol.2.* (Urednici: Fox P.F., McSweeney P.L.H., Cogan T.M., Guinee T.P.): Elsevier academic press: 51-70.
72. Gonzalez-Rodriguez M.C., Gonzalo C., San Primitivo F., Carmenes P. (1995): Relationship between somatic cell count and intramammary infection of the half udder in dairy ewes. *Journal of Dairy Science*, 78: 2753-2759.

73. Gonzalo C., Carriedo J.A., Baro J.A., San Primitivo F. (1994): Factors influencing variation of test day milk yield, somatic cell count, fat, and protein in dairy sheep. *Journal of Dairy Science*, 77: 1537-1542.
74. Gonzalo C., Ariznabarreta A., Carriedo J.A., San Primitivo F. (2002): Mammary pathogens and their relationship to somatic cell count and milk yield losses in dairy ewes. *Journal of Dairy Science*, 85: 1460-1467.
75. Gonzalo C., Carriedo J.A., Blanco M.A., Beneitez E., Juarez M.T., De la Fuente L.F., San Primitivo F. (2005): Factors of variation influencing bulk tank somatic cell count in dairy sheep. *Journal of Dairy Science*, 88: 969-974.
76. Gonzalo C., Carriedo J.A., Beneitez E., Juarez M.T., De la Fuente L.F., San Primitivo F. (2006): Bulk tank total bacterial count in dairy sheep: Factors of variation and relationship with somatic cell count. *Journal of Dairy Science*, 89: 549-552.
77. Gonzalo C., Carriedo J.A., Garcia-Jimeno M.C., Perez-Bilbao M., De la Fuente L.F. (2010): Factors influencing variation of bulk milk antibiotic residue occurence, somatic cell count, and total bacterial count in dairy sheep flocks. *Journal of Dairy Science*, 93: 1587-1595.
78. Grimley H., Grandison A., Lewis M. (2009): Changes in milk composition and processing properties during spring flush period. *Dairy Science and Technology*, 89: 405-416.
79. Guinee T.P. (2011): Cheese rheology. U: *Encyclopedia of Dairy Sciences vol. 1.* (Urednici: Fuquay J.W., Fox P.F., McSweeney P.L.H.): Elsevier: 685 – 697.
80. Gunesekaran S., Ak M.M. (2003): *Cheese rheology and texture*. CRC Press.
81. Hassan H.A. (1995): Effects of crossing and environmental factors on production and some constituents of milk in ossimi and Saidi sheep and their crosses with Chios. *Small Ruminant Research*, 18: 165-172.
82. Havranek J., Kalit S., Antunac N., Samaržija D. (2014): *Sirarstvo*. Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb.
83. Hojman D., Kroll O., Adin G., Gips M., Hanochi B., Ezra E. (2004): Relationships between milk urea and production, nutrition, and fertility traits in Israeli dairy herds. *Journal of Dairy Science*, 87: 1001-1011.
84. Hort J., Le Grys G. (2000): Rheological models of Cheddar cheese texture and their application to maturation. *Journal of Texture Studies*, 31: 1-24.
85. Hort J., Le Grys G. (2001): Developments in the textural and rheological properties of UK Cheddar cheese during ripening. *International Dairy Journal,* 11: 475-481.
86. ISO (2004): 21187 - Quantitative determination of bacteriological quality - Guidance for establishing and verifying a conversion relationship between routine method and anchor method results. International Standard Organization. Geneva, Switzerland.

87. HRN ISO (2003): 8968-5 - Određivanje sadržaja dušika, metoda blok digestije – 5. dio: Određivanje sadržaja proteinskog dušika. Hrvatski zavod za norme, Zagreb.
88. HRN ISO (2003): 8968-2 - Određivanje sadržaja dušika, metoda blok digestije – 2. dio. Hrvatski zavod za norme, Zagreb.
89. HRN ISO (2001): 9622 - Određivanje udjela mliječne masti, bjelančevina i laktoze - Uputstva za rad mid-infrared instrumenata. Hrvatski zavod za norme, Zagreb.
90. HRN ISO (2003): 5764 - Određivanje točke ledišta - termistorsko krioskopska metoda. Hrvatski zavod za norme, Zagreb.
91. HRN ISO (2007): 13366-2 - Brojanje somatskih stanica - 2. dio: Uputa za rad fluoropto-elektroničkim brojačima. Hrvatski zavod za norme, Zagreb.
92. HRN ISO (2004): 17997-2 - Određivanje udjela kazeina - metoda blok digestije. Hrvatski zavod za norme, Zagreb.
93. HRN ISO (1999): 3433 - Određivanje sadržaja masti u siru po Van Guliku. Hrvatski zavod za norme, Zagreb.
94. HRN ISO (2004): 5534 - određivanje sadržaja suhe tvari sira. Hrvatski zavod za norme, Zagreb.
95. Innocente N. (1997): Free amino acids and water-soluble nitrogen as ripening indices in Montasio cheese. *Lait* 77: 359-369.
96. Irigoyen A., Izco J.M., Ibáñez F.C., Torre P. (2002): Influence of calf or lamb rennet on the physicochemical, proteolytic, and sensory characteristics of an ewe' s milk cheese. *International Dairy Journal,* 12: 27-34.
97. Jaeggi J.J., Wendorff W.L., Romero J., Berger Y.M., Johnson M.E. (2005): Impact of seasonal chenges in ovine milk on composition and yield of a hard-pressed cheese. *Journal of Dairy Science*, 88: 1358-1363.
98. Jaramillo D.P., Zamora., Guamis B., Rodriguez M., Trujillo A.J. (2008): Cheesemaking aptitude of two Spanish dairy ewe breeds: Changes during lactation and relationship between physico-chemical and technological properties. *Small Ruminant Research*, 78: 48-55.
99. Jonkus D., Paura L. (2011): Estimation of Genetic Parameters for Milk Urea and Milk Production Traits of Latvian Browns Cows. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 76: 227-230.
100. Journet M., Verite R. (1975): Neproteinski dušik u mlijeku: čimbenici varijacije. *Le Lait* Mars-Avril (543-544): 212-221.
101. Kalit S., Havranek-Lukač J., Čubrić Čurik V. (2002): Plazmin: indogena proteinaza mlijeka. *Mljekarstvo*, 52: 191-206.

102. Kalit S. (2003): *Biokemijski procesi Tounjskog sira tijekom zrenja*. Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet.
103. Kalit S., Lukač Havranek, J., Kapš, M., Perko, B., Čubric Čurik, V. (2005): Proteolysis and the optimal ripening time of Tounj cheese. *International Dairy Journal*, 15, 619-624.
104. Kalit S. (2008): Mlijeko za sir – „Sve radim isto, a sir je svaki put drugačiji". Deseto savjetovanje uzgajivača ovaca i koza u Republici Hrvatskoj. Šibenik, 16. i 17. listopad 2008., 65-71.
105. Kalit S., Matić A., Salajpal K., Sarić Z., Tudor Kalit M. (2016): Proteolysis of Livanjski cheese during ripening. *Journal of Central European Agriculture*, 17: 1320-1330.
106. Katz G., Merin U., Bezman D., Lavie S., Lemberskly-Kuzin L., Leitner G. (2015): Real-time evaluation of individual cow milk for higher cheese-milk quality with increased cheese yield. *Journal of Dairy Science*, 99: 4178-4187.
107. Kesenkas H., Dinkci N., Seckin K., Gursoy O., Kinik O. (2012): Physicochemical, biochemical, textural and sensory properties of Telli cheese a traditional Turkish cheese made from cow milk. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 18: 763-770.
108. Kgole, M.L., Visser, C., Banga, C.B. (2012): Environmental factors influencing milk urea nitrogen in South African Holstein cattle. *South African Journal of Animal Science 42*, 459-463.
109. Kirin S. (2016): Sirarski priručnik. Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb.
110. Kondyli E., Svarnas C., Samelis J., Katsiari M.C. (2012): Chemical composition and microbiological quality of ewe and goat milk of native Greek breeds. *Small Ruminant Research*, 103: 194-199.
111. Kuchtik J., Konečna L., Sykora V., Šustova K., Fajman M., Kos I. (2017): Changes of physico-chemical characteristics, somatic cell count and curd quality during lactation and their relationships in Lacaune ewes. *Mljekarstvo*, 67: 138-145.
112. Lacroix C., Verret P., Paquin P. (1997): Regional and seasonal variations of nitrogen fractions in commingled milk. *International Dairy Journal,* 6: 947-961.
113. Lane C.N., Sousa M.J., McSweeney P.L.H. (2001): Effect of prematuration conditions on the proteolytic and rheological properties of cheesemilk. *Lait*, 81: 415-427.
114. Lawrence R.C., Creamer L.K., Gilles J. (1987): Texture development during cheese ripening. *Journal of Dairy Science*, 70: 1748-1760.
115. Licitra G. (2010): World wide traditional cheeses: Banned for business? *Dairy Science and Technology*, 90: 357-374.

116. Lucas A., Rock E., Chamba J.F., Verdier-Metz I., Brachet P., Coulon J.B. (2006): Respective effects of milk composition and the cheese-making process on cheese compositional variability in components of nutritional interest. *Lait*, 86: 21-41.
117. Lucey J. (1996): Cheesemaking from grass based seasonal milk and problems associated with late-lactation milk. *Journal of the Society of Dairy Technology.* 49: 59-64.
118. Lucey J.A., Johnson M.E., Hornet D.S., (2003): Invited review: Perspectives on the basis of the rheology and texture properties of cheese. *Journal of Dairy Science*, 86: 2725-2743.
119. Lukač Havranek (1995): Autohtoni sirevi Hrvatske. *Mljekarstvo*, 45: 19-37.
120. Maamouri O., Atti N., Smeti S., Othmane M.H. (2012): Milk production parameters and cheese efficiency of ewes risen in two different feeding system. *International Dairy Journal,* 24: 34-36.
121. Macciotta N.P.P., Fresi P., Usai G., Cappio-Borlino A. (2005): Lactation curves of Sarda breed goats estimated with test day models. *Journal of Dairy Research*, 72: 470-475.
122. Macedo A.C., Malcata F.X. (1997): Secundary proteolysis in Serra cheese during and throughout the cheese-making season. *Zeitschrift fur Lebensmitteluntersuchung und Forschung A,* 204: 173-179.
123. Madsen J.S., Ardo Y. (2001): Exploratory study of proteolysis, rheology and sensory properties of Danbo cheese with different fat contents. *International Dairy Journal,* 11: 423-431.
124. Magdić V., Kalit S., Mrkonjić Fuka M., Skelin A., Redžepović S., Havranek J. (2013): A survey on hygienic and physicochemical properties of Istrian cheese. *Mljekarstvo*, 63: 55-63.
125. Malacarne M., Summer A., Fossa E., Formaggioni P., Franceschi P., Pecorari M., Mariani P. (2006): Composition, coagulation properties and Parmigiano-Reggiano cheese yield of Italian Brown and Italian Friesian herd milk. *Journal of Dairy Research*, 73: 171-177.
126. Malissiova E., Tzora A., Katsioulis A., Hatzinikou M., Tsakalof A., Arvanitoyannis I.S., Govaris A., Hadjichristodoulou C. (2015): Relationship between production conditions and milk gross composition in ewe' s and goat' s organic and conventional farms in central Greece. *Dairy Science and Technology*, 95: 437-450.
127. Manca M.G., Serdino J., Gaspa G., Urgeghe P., Ibba I., Contu M., Fresi P., Macciotta N.P.P. (2016): Derivation of multivariate indices of milk composition, coagulation properties, and individual cheese yield in dairy sheep. *Journal of Dairy Science*, 99: 4547-4557.

128. Maotsu G., Samolada M., Katsabeki A., Antifantakis E. (2004): Casein fraction of ovine milk from indogenous Greek breeds. *Lait*, 84: 285-296.
129. Marques M.R., Bernardino S. Ribeiro J.M., Belo A.T., Belo C.C. (2012): Sheep milk: yield, composition and potential cheese yield. *International Dairy Journal,* 24: 44-46.
130. Marcelino Kongo J., Gomes A.M., Xavier Malcata F., McSweeney P.L.H. (2009): Microbiological, biochemical and compositional chenges during ripening of São Jorge – a raw milk cheese from the Azores (Portugal). *Food Chemistry,* 112: 131-138.
131. Martin, B., Coulon, J.B., Chamba, J.F., Bugaud, C. (1997): Effect of milk urea content on characteristics of matured Reblochon cheeses, *Lait* 77, 505-514.
132. Martin B., Pomiès D., Pradel P., Verdier-Metz I., Remonds B. (2009): Yield and sensory properties of cheese made with milk from Holstein or Montbèliarde cows milked twice or once daily. *Journal of Dairy Science*, 92: 4730-4737.
133. Martini M., Mele M., Scolozzi C., Salari F. (2008): Cheese making aptitude and the chemical and nutritional characteristics of milk from Massese ewes. *Italian Journal of Animal Science*, 7: 419-437.
134. Martinez S., Franco I., Carballo J. (2011): Spanish goat and milk cheeses. *Small Ruminant Research*, 101: 41-54.
135. Matutinović S., Rako A., Kalit S., Havranek J. (2007): Značaj tradicijskih sireva s posebnim osvrtom na Lećevački sir. *Mljekarstvo* 57, 49–65.
136. Mayer H.K., Fiechter G. (2012): Physical and chemical characteristics of sheep and goat milk in Austria. *International Dairy Journal,* 24: 57-63.
137. McDowell A.K.R. (1972): Seasonal variations in the total nitrogen, non-protein nitrogen and urea nitrogen contents of Friesian and Jersey milk. *Journal of Dairy Research*, 39: 27-33.
138. McSweeney P.L.H., Sousa M.J. (2000): Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: A review, *Lait*, 80: 293-324.
139. McSweeney P.L.H. (2004): Biochemistry of cheese ripening. *International Journal of Dairy Technology*, 57: 127-144.
140. Medina M., Nuñez. (2004): Cheeses made from ewes' and goats' milk U: *Cheese-Chemistry, Physics & Microbiology Vol.2.* (Urednici: Fox P.F., McSweeney P.L.H., Cogan T.M., Guinee T.P.): Elsevier academic press: 279-299.
141. Merćep A., Kirin S., Zdolec N., Cvrtila Fleck Ž., Filipović I., Njari B., Mitak M., Kozačinski L. (2010): Quality of trapist cheese from Croatian dairy plant. *Mljekarstvo*, 60: 288-298.

142. Mikolayunas C.M., Thomas D.L., Albrecht K.A., Combs D.K., Berger Y.M., Eckerman S.R. (2008): Effects of suplementation and stage of lactation on performance of grazing dairy ewes. *Journal of Dairy Science*, 91: 1477-1485.
143. Mikulec N., Kalit S., Havranek J., Antunac N., Horvat I., Prpić Z. (2008): Characteristics of traditional Croatian ewe`s cheese from the island of Krk. *International Journal of Dairy Technology*, 61: 126-132.
144. Milani F.X., Wendorff W.L. (2011): Goat and sheep milk products in the United States. *Small Ruminant Research*, 101: 134-139.
145. Mioč B., Pavić, V., Sušić, V. (2007): *Ovčarstvo*. Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb.
146. Mioč, B., Prpić, Z., Antunac, N., Antunović, Z., Samaržija, D., Vnučec, I., Pavić, V. (2009): Milk yield and quality of Cres sheep and their crosses with Awassi and East Friesian sheep. *Mljekarstvo,* 59: 217-224.
147. Mitani T., Ueda K., Endo T., Takahashi M., Nakatsuji H., Kondo S. (2012): Effect of feeding non-fibrous carbohydrate before grazing on intake and nitrogen utilization in dairy cows throughout the grazing season. *Animal Science Journal,* 83: 121-127.
148. Molle G., Decandia M., Cabiddu A., Landau S.Y., Cannas A. (2008): An update on the nutrition of dairy sheep grazing Mediterranean pastures. *Small Ruminant Research*, 77: 93-112.
149. Morand-Fehr P., Fedele V., Decandia M., Le Frileux Y. (2007): Influence of farming and feeding systems on composition and quality of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*, 68: 20-34.
150. Morgante M., Ranucci S., Pauselli M., Casoli C., Duranti E. (1996): Total and differential cell count in milk of primiparous Comisana ewes without clinical signs of mastitis. *Small Ruminant Research*, 21: 265-271.
151. Mucchetti G., Ghiglietti R., Locci F., Francolino S., Bonvini B., Remagni M.C., Zago M., Iezzi R., Carminati D. (2009): Technological, microbiological and chemical characteristics of Pannerone, a traditional Italian raw milk cheese. *Dairy Science and Technology*, 89: 419-438.
152. Muehlherr, J.E., Zweifel, C., Corti, S., Blanco, J.E., Stephan, R. (2003): Microbiological quality of raw goat's and ewe's bulk-tank milk in Switzerland. *Journal of Dairy Science*, 86, 3849–3856.
153. Nateghi L., Yousefi M., Zamani E., Gholamian M., Mohammadzadeh M. (2014): The effect of different season on the milk quality. *European Journal of Experimental Biology*, 4: 550-552.
154. Nega A., Moatsou G. (2012): Proteolysis and related enzymatic activities in ten Greek cheese varieties. *Dairy Science and Technology*, 92: 57-73.

155. Niro S., Fratianni A., Tremonte P., Sorrentino E., Tipaldi L., Panfili G., Coppola R. (2014): Innovative Caciocavallo cheeses made from a mixture of cow milk with ewe or goat milk. *Journal of Dairy Science*, 97: 1296-1304.
156. O'Callaghan D.J., Guinee T.P. (2004): Rheology and Texture of Cheese. U: *Cheese-Chemistry, Physics & Microbiology Vol.1.* (Urednici: Fox P.F., McSweeney P.L.H., Cogan T.M., Guinee T.P.): Elsevier academic press: 511-540.
157. Oštarić F., Antunac N., Prpić Z., Mikulec N. (2015): Utjecaj sirila na kvalitetu paškog sira. *Mljekarstvo*, 65: 101-110.
158. Othmane M.H., De la Fuente L.F., Carriedo J.A., San Primitivo F. (2002): Heritability and genetic correlations of test day milk yield and composition, individual laboratory cheese yield, and somatic cell count for dairy ewes. *Journal of Dairy Science*, 85: 2692-2698.
159. Pappa E.C., Kandarakis I., Mallatou H. (2007): Effect of different types of milks and cultures on the rheological characteristics of Teleme cheese. *Journal of Food Engineering,* 79: 143-149.
160. Pappa E.C., Kandarakis I., Zefridis G.K., Antifantakis E.M., Robertson J.A., Mills E.N.C. (2012): Teleme white-brined cheese from sheep or goat milk. *International Dairy Journal,* 24: 83-86.
161. Park, Y.W., Juarez, M., Ramos, M., Haenlein, G.F.W. (2007): Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research,* 68: 88-113.
162. Pastorino A.J., Hansen C.L., McMahon D.J. (2003): Effect of salt on structure-function relationships of cheese. *Journal of Dairy Science*, 86: 60-69.
163. Pašić V., Tudor Kalit M., Salajpal K., Samardžija D., Havranek J., Kalit S. (2016): The impact of changes in the milk payment system and season on the hygienic quality of milk. *Journal of Central European Agriculture*, 17: 629-639.
164. Patel H.G., Upadhyay K.G., Miyani R.V., Pandya A.J. (1993): Instron texture profile of buffalo milk Cheddar cheese as influenced by composition and ripening changes. *Food Quality and Preference*, 4:187-192.
165. Pešinova P., Vejčik A., Maršalek M. (2011): Milk quality of the original Valachian in a submontane region. *Journal of Agrobiology*, 28: 147-155.
166. Pianaccioli L., Acciaoli A., Malvezzi R., Giustini L. (2007): Effect of season on characteristics of pecorino cheese and ricotta of Pistoiese Appennine: first results. *Italian Journal of Animal Science*, 6: 585-587.
167. Pinho O., Mendes E., Alves M. M., Ferreira I. M. P. L. V. O. (2004): Chemical, physical, and sensorial characteristics of "Terrincho" ewe cheese: changes during ripening and intravarietal comparison. *Journal of Dairy Science*, 87: 249-257.

168. Pisanu S., Pagnozzi D., Pes M., Pirisi A., Roggio T., Uzzau S., Addis M.F. (2015): Differences in the peptide profile of raw and pasterised ovine milk cheese and implications for its bioactive potencial. *International Dairy Journal,* 42: 26-33.
169. Pirisi A., Comunian R., Urgeghe P.P., Scintu M.F. (2011): Sheep`s and goat`s dairy products in Italy: Technological, chemical, microbiological, and sensory aspects. *Small Ruminant Research*, 101: 102-112.
170. Ploumi K., Belibasaki S., Triantaphyllidis G. (1998): Some factors affecting daily milk yield and composition in a flock of Chios ewes. *Small Ruminant Research*, 28: 89-92.
171. Ponce de Leon-Gonzalez L., Wendorf W.L., Ingham B.H., Thomas D.L., Jeaggi J.J., Houck K.B. (2002): Influence of ovine milk in mixture with bovine milk on the quality of reduced fat Muenster-type cheese. *Journal of Dairy Science*, 85: 36-42.
172. Prentice J.H. (1987): Cheese rheology. U: *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiolog,* (Urednici: Fox P.F., McSweeney P.L.H., Cogan T.M., Guinee T.P.): Elsevier Applied Science: 299-344.
173. Pretto D., De Marchi M., Penasa M., Cassandro M. (2013): Effect of milk composition and coagulation traits on Grana Padano cheese yield under field conditions. *Journal of Dairy Research*, 80: 1-5.
174. Prieto B., Urdiales R., Franco I., Fresno J.M., Carballo J (2000): „Quesucos de Liébana“ cheese from cow's milk biochemical changes during ripening. *Food Chemistry,* 70: 227-233.
175. Pulina G., Macciotta N., Nudda A. (2005): Milk composition and feeding in the Italian dairy sheep. *Italian Journal of Animal Science*, 4: 5-14.
176. Pulina G., Nudda A., Battacone G., Cannas A. (2006): Effects of nutrition on the contents of fat, protein, somatic cells, arometic compounds, and undesirable substances in sheep milk. *Animal Feed Science and Technology*, 131: 255-291.
177. Rako (2016): *Utjecaj sastava ovčjeg mlijeka na proteolitičke i teksturne promjene bračkog sira tijekom zrenja*. Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet.
178. Raynal-Ljutovac K., Park Y.W., Gaucheron F., Bouhallab S. (2007): Heat stability and enzymatic modifications of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*, 68: 207-220.
179. Rynne N.M., Beresford T.P., Kelly A.L., Guinee T.P. (2004): Effect of milk pasterization temperature in situ whey protein denaturation on the composition, texture and heat-induced functionality of half-fat Cheddar cheese. *International Dairy Journal,* 14: 989-1001.

180. Rogošić, J. (2000): Pregled biljnog pokrova Mediteranskog područja Hrvatske. U: *Gospodarenje mediteranskim prirodnim resursima*. Školska Naklada, Mostar, Bosna i Hercegovina: 1-141.
181. Rohm H., Jaros D. (2011): Analitical methods-Principles and significance in assessing rheological and textural properties U: *Encyclopedia of Dairy Sciences vol. 1.* (Urednici: Fuquay J.W., Fox P.F., McSweeney P.L.H.): Elsevier: 264 – 271.
182. Roseler D.K., Ferguson J.D., Sniffen C.J., Herrema J. (1993): Dietary protein degradability effects on plasma and milk urea nitrogen and milk nonprotein nitrogen in holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 76: 525-534.
183. RU 4.2-1-KA-10 (2006): Određivanje koncentracije uree metodom.kontinuiranog mjerenja. Radna uputa Referentnog laboratorija za mlijeko i mliječne proizvode, Zavoda za mljekarstvo. Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet. Zagreb.
184. Ruska D., Jonkus D. (2014): Crude protein and non-protein nitrogen content in dairy cow milk. *Proceedings of Latvia University of Agiculture,* 32: 36-40.
185. Sajko Matutinović L., Pavić V., Mioč B., Antunac N., Prpić Z., Matutinović S., Vrdoljak J. (2012): Sezonske promjene nekih fizikalno-kemijskih odlika mlijeka ovaca dalmatinske pramenke. *Mljekarstvo*, 62: 136-142.
186. Salari F., Altomonte I., Ribeiro N.L., Ribeiro M.N., Bozzi R., Martini M. (2016): Effects of season on the quality of Garfagnina goat milk. *Italian Journal of Animal Science*, 15: 568-575.
187. Samaržija D., Zamberlin Š., Pogačić T. (2012): Psihrotrofne bakterije i njihovi negativni utjecaji na kvalitetu mlijeka i mliječnih proizvoda. *Mljekarstvo*, 62: 77-95.
188. Samkova E., Koubova J., Hasonova L., Hanuš O., Kala R., Kvač M., Pelikanova T., Špička J. (2018): Joint effects of breed, parity, month of lactation, and cow individuality on the milk fatty acids composition. *Mljekarstvo*, 68: 98-107.
189. Santillo A., Albenzio M. (2008): Influence of lamb rennet paste containing probiotic on proteolysis and rheological properties of Pecorino cheese. *Journal of Dairy Science*, 91: 1733-1742.
190. SAS Institute (2001): SAS/STAT User' s Guide, Cary, NC: v.8.2 SAS Institute.
191. Schiavon S., Cesaro G., Cecchinato A., Cipolat-Gotet C., Tagliapietra F., Bittante G. (2016): The influence of dietary nitogen reduction and conjugated linoleic acid supply to dairy cows on fatty acids in milk and their transfer to ripened cheese. *Journal of Dairy Science*, 99: 8759-8778.
192. Scintu M.F., Piredda G. (2007): Typicity and biodiversity of goat and sheep milk products. *Small Ruminant Research*, 68: 221-231.
193. Scott, R. (1998): Cheesemaking Practice (Urednici: Robinson, R.K. i Wilbey, R.A.), Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.

194. Selvaggi M., D' Alessandro A.G., Dario C. (2017): Enviromental and genetic factors affecting milk yield and quality in three Italian sheep breeds. *Journal of Dairy Research*, 84: 27-31.
195. Selvaggi M., Laudadio V., Dario C., Tufarelli V. (2014): Investigating the genetic polymorphism of sheep milk proteins: A useful tool for dairy production. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94: 3090-3099.
196. Selvaggi M., Laudadio V., Dario C., Tufarelli V. (2015): β - lactoglobulin gene polymorphisms in sheep and effects on milk production traits. A review. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 3: 478-484.
197. Sert D., Ayar A., Akin N. (2007): The effects of starter culture on chemical composition, microbiological and sensory characteristics of Turkish Kasar cheese during ripening. *Internet Journal of Food Safety,* 9: 7-13.
198. Sevi A., Albenzio M., Marino R., Santillo A., Muscio A. (2004): Effects of lambing season and stage of lactation on ewe milk quality. *Small Ruminant Research*, 51: 251-259.
199. Sevi A., Taibi L., Albenzio M., Muscio A., Annicchiarico G. (2000): Effect of parity on milk yield, composition, somatic cell count, renneting parameters and bacteria counts of Comisana ewes. *Journal of Dairy Science*, 37: 99-107.
200. Sevi A. (2007): Ewe welfare and ovine milk and cheese quality. *Italian Journal of Animal Science*, 6: 521-526.
201. Skeie, S. (2007): Characteristics in milk influencing the cheese yield and cheese quality. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 16: 130-142.
202. Stergiadis S., Leifert C., Seal C.J., Eyre M.D., Nielsen J.H., Larsen M.K., Slots T., Steinshamn H., Butler G. (2012): Effect of feeding intensity and milking system on nutritionally relevant milk components in dairy farming systems in the north east of England. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 60: 7270-7281.
203. Summer A., Franceschi P., Formaggioni P., Malacarne M. (2015): Influence of milk somatic cell content on Parmigiano-Reggiano cheese yield. *Journal of Dairy Research*, 82: 222-227.
204. Tančin V., Baranović Š., Uhrinčat M., Mačuhova L., Vrškova M., Oravcova M. (2017): Somatic cell count in raw ewes` milk in dairy practice: frequency of distribution and possible effect on milk yield and composition. *Mljekarstvo*, 67: 253-260.
205. Tarakci Z., Kucokoner E. (2006): Changes on physicochemical, lipolysis and proteolysis of vacuum-packed Turkish Kashar cheese during ripening. *Journal of Central European Agriculture*, 7: 459-464.

206. Temizkan R., Yasar K., Hayaloglu A.A. (2014): Changes during ripening in chemical composition, proteolysis, volatile composition and texture in Kashar cheese made using raw bovine, ovine or caprine milk. *International Journal of Food Science and Technology,* 49: 2643-2649.
207. Tratnik Lj., Božanić R. (2012): Mlijeko i mliječni proizvodi. Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb.
208. Tudor Kalit, M., Kalit, S., Havranek, J. (2010): An overview of researches on cheeses ripening in animal skin. Mljekarstvo 60: 149-155.
209. Tudor Kalit M., Kalit S., Delaš I., Kelava N., Karoly D., Kaić D., Vrdoljak M., Havranek J. (2014): Changes in the composition and sensory properties of Croatien cheese in a lamb skin sack (Sir iz mišine) during ripening. *International Journal of Dairy Technology*, 67: 255-264.
210. Todaro M., Bonanno A., Scatassa (2014): The quality of Valle del Belice sheep's milk and cheese produced in the hot summer season in Sicily. *Dairy Science and Technology*, 94: 225-239.
211. Todaro M., Dattena M., Acciaioli A., Bonanno A., Bruni G., Caroprese M., Mele M., Sevi A., Trabalza Marinucci M. (2015): A seasonal sheep and goat milk production in the Mediterranean area: Physiological and tehnical insights. *Small Ruminant Research*, 126: 59-66.
212. Tornambe G., Di Grigoli A., Alicata M.L., De Pasquale C., Bonnano A. (2009): Comparing quality characteristics of „Caciocavallo Palermitano" cheese from traditional and intensive production systems. 15th Meeting of the FAO-CIHEAM Mountain Pastures Network, 7th-9th October 2009, 153-156.
213. Tuta N. (2011): Proizvodnja polutvrdog sira u tipu trapista. Diplomski rad, Sveučilište u Splitu, Sveučilišni studijski centar za stručne studije, Odsjek za kemijsku tehnologiju.
214. Vacca G.M., Stocco G., Dettori M.L.,Summer A., Cipolat-Gotet C., Bittante G., Pazzola M. (2018): Cheese yield, cheesemaking efficiency, and daily production of 6 breeds of goats. *Journal of Dairy Science*, 101: 7817-7832.
215. Van Hekken D.L., Park Y.W., Tunick M.H. (2013): Effect of reducing fat content on the proteolytic and reological properties of Cheddar-like caprine milk cheese. *Small Ruminant Research*, 110: 46-51.
216. Verdier-Metz I., Coulon J.B. Pradel P., Viallon C., Albouy H., Berdague J.L. (2000): Effect of the botanical composition of hay and casein genetic variants on the chemical and sensory characteristics of ripened Saint-Nectaire type cheeses. *Lait*, 80: 361-370.

217. Verdier-Metz I., Coulon J.B. Pradel P. (2001): Relatioship between milk fat and protein contents and cheese yield. *Animal Research*, 50: 365-371.
218. Vrdoljak J., Špehar M., Pavić V., Mioč B., Barać Z. (2012): Utjecaj okolišnih čimbenika na dnevnu proizvodnju i kemijski sastav mlijeka istarskih ovaca. *Mljekarstvo*, 62: 192-199.
219. Vyletelova-Klimešova M., Hanuš O., Horaček J., Vorlova L., Nemečkova I., Nejeschlebova L., Kopecky J. (2014): Characteristic and quality and food safety of regional cheese produced from mixed milk. *Acta Universitatis Agriculturae et silviculturae Mendelianae Brunensis*, 62: 1171-1182.
220. Zedan I.A., Abou-Shaloue Z., Zaky S.M. (2014): Quality evaluation of Mozzarella cheese from different milk types. *Alexandria Science Exchange Journal*, 35: 162-177.
221. Zeppa G., Giordano M., Gerbi V., Arlorio M. (2003): Fatty acid composition of Piedmont „Ossolano“ cheese. *Lait*, 83: 167-173.
222. Upadhyay V.K., McSweeney P.L.H., Magboul A.A.A., Fox P.F. (2004): Proteolysis in Cheese during ripening. U: *Cheese-Chemistry, Physics & Microbiology Vol.1.* (Urednici: Fox P.F., McSweeney P.L.H., Cogan T.M., Guinee T.P.): Elsevier academic press: 391-433.
223. Watkinson P., Coker C., Crawford R., Dodds C., Johnston K., McKenna A., White N. (2001): Effect of cheese pH and ripening time on model cheese textural properties and proteolysis. *International Dairy Journal,* 11: 455-464.
224. Wendorff W.L. (2002): Milk composition and cheese yield. *Proceedings of the 8th Great Lakes Dairy sheep symposium*: 104-117.
225. Wendorff W.L. i Kalit, S. (2017): Processing of sheep milk. U: *Handbook of milk of non-bovine mammals* (Urednici: Park, W.Y., Haenlein, G.F.W., Wendorf, W.L.). Wiley Blackwell: 222 – 260.

Životopis autora

Siniša Matutinović rođen je 14. siječnja 1970. godine u Splitu gdje je završio osnovnu i srednju školu. Na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu diplomirao je 1999. godine te stekao zvanje diplomirani inženjer agronomije – smjer stočarstvo. Nakon završetka studija zapošljava se u Mils Mljekari Split kao organizator otkupa mlijeka na području Sinja, Vrlike, Dugopolja i Dicma. Od 2001. godine u Mils Mljekari Split radio je kao direktor proizvodnje i predstavnik uprave za kvalitetu. Od 2014. radi u Meggle Mljekari u Bihaću, Bosna i Hercegovina, gdje je u početku bio predstavnik uprave za kvalitetu, da bi 2016. godine preuzeo i dužnost voditelja proizvodnje. Osim toga, od 2001. do 2006. bio je stručni suradnik na Odjelu za stručne studije iz predmeta „Proizvodnja mlijeka i mliječnih proizvoda" na Sveučilištu u Splitu.

Sudjelovao je na mnogobrojnim projektima od kojih treba izdvojiti:

- Uvođenje IFS Food standarda – voditelj (Meggle Mljekara Bihać)
- Fisibiliti (PESP) studija za restrukturiranje MILS, Mljekara Split d. d. s nizozemskim partnerima radi pristupanja fondovima iz programa SAPARD – suradnik
- Ministarstvo gospodarstva, rada i poduzetništva; Projekt – „Sustav kvalitete i tehničke regulative" – uvođenje HACCP sustava – voditelj
- Ministarstvo gospodarstva, rada i poduzetništva; Projekt – „Sustav kvalitete i tehničke regulative" – uvođenje ISO sustava – voditelj
- Ministarstvo rada i poduzetništva „Domaći proizvod" – voditelj
- Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodnog gospodarstva; Projekt – „Priprema Lećevačkog sira za tržište" – voditelj
- Projekt Hrvatskog stočarskog centra „Mlijeko s hrvatskih farmi" – za MILS, Mljekaru – voditelj
- Projekt revitalizacije tradicijskih sireva Dalmatinske zagore, Lećevački i Studenački sir – za MILS, Mljekaru – voditelj
- Ministarstvo znanosti, obrazovanja i športa RH, Projekt – „Tehnološki parametri proizvodnje tradicijskih sireva u funkciji njihove zaštite" – suradnik
- Projekt Hrvatske gospodarske komore, „Izvorno hrvatsko" za tradicijski Lećevački sir – voditelj
- Projekt Ujedinjenih naroda za razvoj (COAST), „Proizvodnja i prerada ovčjeg mlijeka u tradicijski Brački sir" – suradnik (izradio tehničko-tehnološki projekt)

Radovi a1

1. Matutinović, Siniša; Salajpal, Krešimir; Kalit, Samir (2014). Variation in nitrogen components of sheep milk in sub-Mediterranean area. Mljekarstvo 64 (1), 27-33.
2. Sajko-Matutinović, Lidija; Pavić, Vesna; Mioč, Boro; Antunac, Neven; Prpić, Zvonimir; Matutinović, Siniša; Vrdoljak, Josip (2012). Sezonske promjene nekih fizikalno-kemijskih odlika mlijeka dalmatinske pramenke. Mljekarstvo 62 (2), 136-142.
3. Matutinovic, Sinisa, Kalit, Samir, Salajpal, Kresimir, Vrdoljak, Josip (2011). Effects of flock, year and season on the quality of milk from indogenous breed in sub-Mediterranean area. Small Ruminant Research 100 (2-3), 159-163.
4. Matutinović, Siniša; Rako, Ante; Kalit, Samir; Havranek, Jasmina (2007). Značaj tradicijskih sireva s posebnim osvrtom na Lećevački sir. Mljekarstvo 57 (1), 49-65.

Sažeci u zbornicima skupova

1. Vrdoljak, Josip; Matutinović, Siniša; Salajpal, Krešimir; Kalit, Samir (2012). Usporedba promjene vrijednosti ionometrijske i titracijske kiselosti tijekom acidifikacije u proizvodnji svježeg sira. 40. Hrvatski simpozij mljekarskih stručnjaka s međunarodnim sudjelovanjem, Zbornik sažetaka/Vera Volarić (ur.). Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb, 90-91.
2. Matutinovic, Sinisa; Salajpal, Kresimir; Kalit, Samir (2011). Variation in nitrogen components of sheep milk in Dalmatian hinterland. 19. Animal Science Days, Abstracts and plenary lectures/Miroslav Kapš (ur.). Faculty of agriculture, University of Zagreb, page 36.
3. Matutinović, Siniša; Kalit, Samir; Prpić, Zvonimir (2008). Kvaliteta ovčjeg mlijeka na području Dalmatinske zagore. 38. Hrvatski simpozij mljekarskih stručnjaka s međunarodnim sudjelovanjem, Zbornik sažetaka/Vera Volarić (ur.). Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb, 97-98.