Mikrobiološka kvaliteta mlijeka u proizvodnji sira od sirovog mlijeka

Zebec, Vlatka

Master's thesis / Diplomski rad

2016

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:204:297272

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

Vlatka Zebec

MIKROBIOLOŠKA KVALITETA MLIJEKA U PROIZVODNJI SIRA OD SIROVOG MLIJEKA

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2016.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

AGRONOMSKI FAKULTET

Vlatka Zebec

MIKROBIOLOŠKA KVALITETA MLIJEKA U PROIZVODNJI SIRA OD SIROVOG MLIJEKA

DIPLOMSKI RAD

Mentor: prof.dr.sc. Dubravka Samaržija

Zagreb, 2016.

Ovaj diplomski rad je ocijenjen i obranjen dana _____

S ocjenom _____ pred Povjerenstvom u sastavu:

1. Prof.dr.sc.Dubravka Samaržija _____

2. Prof.dr.sc. Sanja Sikora _____

3. Prof.dr.sc. Samir Kalit _____

SAŽETAK

U radu su na temelju dosadašnjih istraživanja prikazani znanstveni rezultati istraživanja mikrobiološke kvalitete sirovog mlijeka i sira na primjeru Paškog, Krčkog i Domiati sira. Paški i Krčki sir su najpoznatiji tvrdi ovčji sireviu Hrvatskoj, a Domiati je bijeli meki sir koji zrije u salamuri, veoma popularan u Egiptu i zemljama Bliskog Istoka. U proizvodnji većine tradicionalnih sireva koristi se sirovo mlijeko koje može biti izvor patogenih bakterija i mikroorganizama uzročnika kvarenja. Stoga je poznavanje izvora kontaminacije, načina njihovog rasta u mlijeku i njihovog uništenja presudno za dobivanje zdravstveno ispravnog sira. Učinkovita metoda za kontrolu rasta mikroorganizama je primjena HACCP sustava u proizvodnom postrojenju i primjena načela dobre proizvođačke, poljoprivredne i veterinarske prakse u primarnoj proizvodnji mlijeka.

Tijekom pokusnog razdoblja prosječni broj somatskih stanica u ovčjem mlijeku (n=15) koje se koristilo u proizvodnji Krčkog sira (n=9) bio je 407 000 mL^{-1}, a ukupan broj bakterija 750 500 cfu mL^{-1}. U ovčjem mlijeku koje se koristilo u proizvodnji Paškog sira tijekom pokusnog razdobljaod tri godine utvrđeni prosječni broj somatskih stanica bio je manji od 200 000 mL^{-1} a ukupni broj bakterija manji od 5000 cfu mL^{-1} (n=720). Na temelju rezultata higijenske kvalitete mlijeka i jedno i drugo ovčje mlijeko ispunjava propisane kriterije Pravilnika (NN 102/00). Rezultati mikrobioloških analiza na pojavnost patogenih bakterija u Paškom siru (n=240) tijekom trogodišnjeg praćenja bili su negativni te su u potpunosti sukladni odredbama Pravilnika o mikrobiološki kriterijima za hranu (NN 156/08). Suprotno, 45% uzoraka Krčkog sira u istraživanom razdoblju bilo je pozitivno na bakterije *Staphylococcus aureus* i *Escherichia coli*. Mikrobiološkim analizama kravljeg mlijeka (n=50) i Domiati sira (n=50) utvrđena je prisutnost patogenih bakterija iznad dozvoljenih granica propisanih Uredbom EZ 853/2004 i ES 1008/2000. U usporedbi s Paškim i Krčkim sirom Domiati sir je podložniji pojavnosti patogenih bakterija. Razlog tome je visoki postotak vlage i pH u sirnom tijestu i tehnologija proizvodnje u kojoj se koriste niske temperature obrade sirnog gruša i kratko trajanje zrenja.

Ključne riječi: higijenska kvaliteta, ovčje mlijeko, patogene bakterije, mikrobiološka kvaliteta, Paški sir, Krčki sir, Domiati sir, legislativa

SUMMARY

Reviewing previous scientific research results of microbiological quality of raw milk and Paški, Krčki and Domiati cheese are shown. Paški and Krčki cheese are famous Croatian hard sheep cheese, while Domiati cheese, which ripens in brine, is very popular in Egypt and Middle East countries. In the production of most traditional cheeses raw milk is used, which can be source of pathogenic bacteria and spoilage microorganisms. Therefore, knowledge of the origin, the way of their growth in milk and their destruction is crucial to obtain a safe cheese. An effective method to control growth of microorganisms is the application of the HACCP system in the production plant and the application of the principles of good manufacturing, agricultural and veterinary practices in the primary production of milk.

During the experimental period the average number of somatic cells in the sheep's milk used in the manufacture of Krčki cheese was 407 000 mL^{-1} and the total bacterial count of 750 500 cfu mL^{-1}. The sheep's milk used in the manufacture of Paški cheese during the experimental period of three years average number of somatic cells was less than 200,000 mL^{-1} and the total bacterial count of less than 5000 cfu mL^{-1} (n =720). Based on the results of hygienic quality of milk both sheep milks comply criteria prescribed by Pravilnik (NN 102/00).The results of microbiological analysis on the incidence of pathogenic bacteria in the Paški cheese (n=240) during the three-year period were negative, and are fully compliant with the provisions of the Regulation for microbiological criteria for food (NN156/08). In contrast, 45% samples of Krčki cheese in the investigation period were positive for *Staphylococcus. aureus* and *Escherichia coli* bacteria. Microbiological analyzes of cow's milk (n=50) and Domiati cheese (n=50) was found the presence of pathogenic bacteria over the allowable limit prescribed by Regulation EC 853/2004 and EC 1008/2000. Compared with the Paški and Krčki cheese, Domiati cheese is more susceptible on the incidence of pathogenic bacteria. The reason for this is the high percentage of moisture and higher pH value in cheese curdand specificity of production technology, which uses low-temperature processing of cheese curd and short duration of ripening.

Key words: hygienic quality, sheep milk, patogenic bacteria, mikrobiological quality, Paški cheese, Krčki cheese, Domiati cheese, legislation

SADRŽAJ

1. UVOD 3

2. PREGLED LITERATURE 4

2.1. OPĆENITO O SIRU 4

2.2. Osnovni tehnološki postupci u proizvodnji sira 5

2.3. Proizvodnja tradicionalnih sireva 8

2.4. Zaštita sireva 10

2.5. Krčki sir 12

2.5.1. Tradicionalna proizvodnja 13

2.6. Paški sir 15

2.6.1. Tradicionalna proizvodnja 16

2.6.2. Industrijska proizvodnja 17

2.7.Domiati sir 18

2.7.1. Proizvodnja Domiati sira 20

2.7.2. Industrijska proizvodnja 21

3. MIKROBIOLOŠKA KVALITETA SIROVOG MLIJEKA 22

3.1. Vrste mikroorganizama 22

3.1.1. Psihrotrofna mikrobna populacija 24

3.1.2. Termorezistentna mikrobna populacija 25

3.1.3. Koliformna mikrobna populacija 26

3.1.4. Bakterije mliječne kiseline 26

3.1.5. Kvasci i plijesni 27

3.2. Patogeni mikroorganizmi 27

3.3. Patogene bakterije u siru 29

4. ZAKONSKI PROPISI U PROIZVODNJI MLIJEKA I SIRA 37

4.1. Higijenski paket 37

4.1.1. Pravilnik o higijeni hrane 38

4.1.2. Pravilnik o higijeni hrane životinjskog porijekla 38

4.1.3. Pravilnik o službenim kontrolama hrane životinjskog porijekla 40

4.1.4. Pravilnik o službenim kontrolama koje se provode radi verifikacije postupanja u skladu s odredbama propisa o hrani i hrani za životinje te propisa o zdravlju i zaštiti životinja 41

4.2. Pravilnik o kakvoći svježeg sirovog mlijeka 41

4.3. Pravilnik o mikrobiološkim kriterijima za hranu 43

4.4. HACCP 45

4.4.1. HACCP u proizvodnji sira 46

5. MIKROBIOLOŠKA KVALITETA KRČKOG, PAŠKOG I DOMIATI SIRA 48

5.1. Krčki sir 48

5.2. Paški sir 49

5.3. Domiati sir 51

6. RASPRAVA 54

7. ZAKLJUČAK 57

8. LITERATURA 58

1. UVOD

Paški i Krčki sir su najpoznatiji tvrdi ovčji sirevi u Hrvatskoj a Domiati je bijeli meki sir koji zrije u salamuri, veoma popularan u Egiptu i zemljama Bliskog Istoka. Sirevi u čijoj se proizvodnji koristi sirovo mlijeko se okusom i teksturom znatno razlikuju od istih sireva proizvedenih od pasteriziranog mlijeka zbog brojnije mikrobne populacije. Međutim, korištenjem sirovog mlijeka u izradi sira uz pozitivni učinak na specifičnost okusa, može imati i negativne posljedice. Tako na primjer pogreške sireva uzrokovane neželjenim mikroorganizama mogu biti znatno učestalije u usporedbi sa sirevima koji se proizvode od toplinski obrađenog mlijeka. Najčešće pogreške u proizvodnji sireva nastaju zbog loše mikrobiološke kvalitete mlijeka koje se kasnije očituju u pojavi ranog i kasnog nadimanja te u pogreškama izgleda i teksture. Kako bi se spriječile pogreške u proizvodnji i preradi mlijeka te zaštitilo zdravlje potrošača od presudne je važnosti primjena HACCP sustava u proizvodnom lancu. Prema Zakonu o hrani (NN 81/13) svaki subjekt u poslovanju s hranom, osim na razini primarne proizvodnje, dužan je uspostaviti i provoditi redovite kontrole higijenskih uvjeta proizvodnje u svakom objektu postupkom samokontrole. Kako postoje određena ograničenja u primjeni HACCP-a na razini primarne proizvodnje, tamo gdje se ne mogu primijeniti načela HACCP-a u potpunosti, primjenjuju se načela dobre proizvođačke, poljoprivredne i veterinarske prakse.

Cilj ovog rada je na temelju dosadašnjih istraživanja mikrobiološke kvalitete sirovog mlijeka i sira na primjeru Paškog, Krčkog i Domiati sira opisati postignute mikrobiološke standarde za te vrste sireva. Za bolje razumijevanje značenja mikrobiološke kvalitete sirovog mlijeka u proizvodnji sira opisane su i najčešće mikrobne vrste koje potencijalno mogu biti prisutne u mlijeku. Također, u radu je opisana tradicionalna i industrijska proizvodnja Krčkog, Paškog i Domiati sira, te su navedeni važeći zakonski propisi.

2. PREGLED LITERATURE

2.1. OPĆENITO O SIRU

Sirevi predstavljaju najznačajniju, a ujedno i najbrojniju skupinu mliječnih proizvoda. Proizvodnja sira datira unazad nekoliko tisuća godina što ga čini jednom od najstarijih namirnica. Od prvih početaka proizvodnje koja se temeljila na jednostavnim postupcima prerade mlijeka u sir, danas je sirarstvo u mnogim zemljama važna gospodarska grana. Kroz stoljeća, nastale su brojne autohtone vrste sireva od kojih su se mnoge vrste kasnije počele proizvoditi na industrijski način. Sirevi su u većini slučajeva zadržali svoj prvobitni naziv te su pojedina europska područja postala poznata zahvaljujući tim vrstama sireva. Uz te sireve, danas se na industrijski način proizvode i mnoge druge nove vrste sireva, te se procjenjuje da se u svijetu proizvodi preko 2200 sireva. Proizvodnja sireva se razvijala i usavršavala, u čemu je poseban doprinos ostvaren u periodu srednjeg vijeka, kada je i utemeljena proizvodnja najvećeg broja i vrsta sireva. Početak prave industrijske proizvodnje sireva datira iz sredine 19. stoljeća. U drugoj polovici 20. stoljeća proizvodnja sireva je u razvijenim zemljama, zahvaljujući velikim kapacitetima i potpunoj automatizaciji, zauzela jednu od vodećih pozicija u prehrambenoj industriji. Od tog perioda postepeno se potiskuje tradicionalni način izrade sireva. Današnja tradicionalna proizvodnja sireva ima izraženi zanatski karakter i u pravilu je organizirana u domaćinstvima i malim, zanatskim pogonima za preradu mlijeka. Različite vrste sira rezultat su korištenja brojnih vrsta mikrobnih kultura, različitog udjela mliječne masti u mlijeku tehnoloških postupaka obrade sirnog zrna, uvjeta zrenja te različitih metoda koagulacije (Puđa, 2009; Matijević, 2015). Ostali čimbenici uključuju razlike u hranidbi životinja i dodavanje sredstava za poboljšanje okusa, kao što su biljke, mirodije i upotreba dima. Sirevi se mogu razvrstati prema količini vode u bezmasnoj suhoj tvari sira:

- svježi sirevi
- polutvrdi sirevi
- tvrdi sirevi
- ekstratvrdi sirevi.

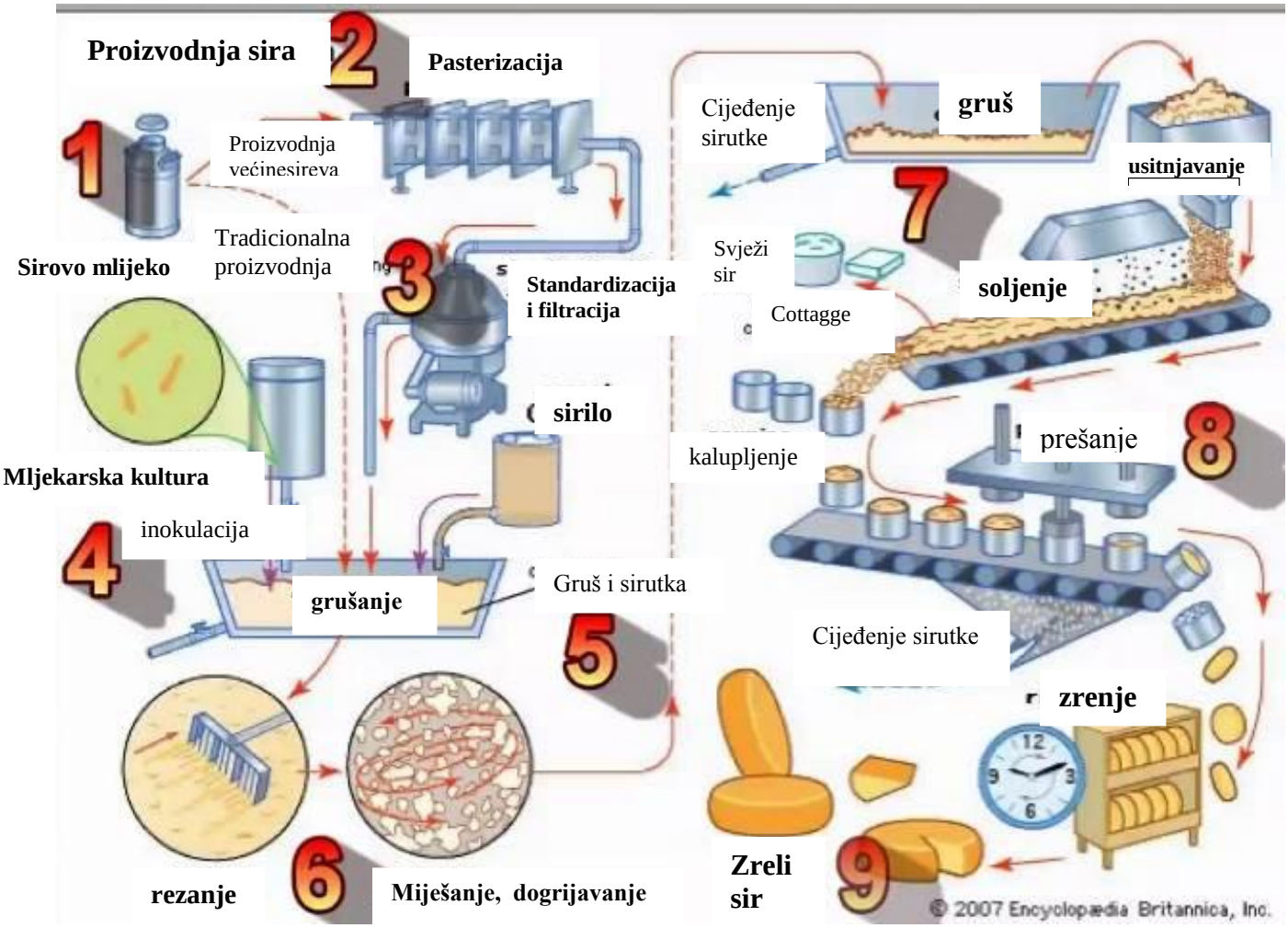
Prema udjelu mliječne masti, sirevi mogu biti posni do ekstra masni s više od 55 % masti u suhoj tvari sira. Neovisno o vrsti, sirevi se najčešće proizvode od kravljeg, ovčjeg, kozjeg mlijeka ili njihovih mješavina s različitim udjelompojedinačne vrste mlijeka (Božanić, 2015). Osim podjele prema udjelu vode u bezmasnoj suhoj tvari sira posebne skupine čine sirevi:

- slani sirevi u salamuri
- sirevi parenog tijesta
- sirevi s ¨mazom“ na površini
- sirevi s plemenitim plijesnima u tijestu sira i na površini
- topljeni sirevi za rezanje i mazanje

Najveći proizvođači sira su Sjedinjene Američke Države, koje čine 26% svjetske proizvodnje, a slijede Njemačka i Francuska. Godišnja proizvodnja sira od sirovog mlijeka u Europi procjenjuje se na oko 700.000 tona a najveći proizvođači su Francuska, Italija i Švicarska (Condron i sur., 2009). Na području EU-a Francuska je najveći potrošač sireva od 26,8 kg po glavi stanovnika godišnje, a slijedi je Island koji troši 25,8 kg, Finska s 25,6 kg i Njemačka s 24,6 kg po glavi stanovnika. Hrvatska ima potrošnju sira po glavi stanovnika 11,2 kg, što znači da smo daleko ispod prosjeka EU-a (Bulletin IDF, 2015).

2.2. Osnovni tehnološki postupci u proizvodnji sira

U proizvodnji sira postoje tehnološki postupci koji su zajednički za većinu sireva. Oni uključuju: hlađenje mlijeka, toplinsku obradu mlijeka, standardizaciju mlijeka, homogenizaciju mlijeka, dodavanje boja i aditiva, sirenje mlijeka, rezanje gruša i obradu sirnog zrna, oblikovanje sira u kalupu, prešanje, soljenje, zrenje i pakiranje, pohranu te otpremu sira (Kalit, 2015). Shematski prikaz najčešće korištenje tehnoloških postupaka objedinjen je slikom 1.



Slika 1. Shematski prikaz tehnoloških postupaka u proizvodnji sira (Izvor: https://www.google.hr/search?q=faze+u+proizvodnji+sira)

U proizvodnji sira, mlijeko mora biti higijenski proizvedeno i što prije prerađeno u sir. Ako se mlijeko ne može odmah preraditi u sir, bitno je tijekom pohrane mlijeka zadržati njegova prirodna svojstva koja mogu biti promijenjena zbog kontaminacije mikroorganizmima. Dokazano je da nakon dulje hladne pohrane mlijeka oslabi svojstvo sirenja, jer dolazi do razgradnje kazeina i smanjenja topljivog kalcija (Tratnik, 2012). U sirarstvu se najčešće koriste dvije vrste toplinske obrade mlijeka: termizacija i pasterizacija. Pasterizacijom se osigurava mikrobiološka ispravnost sira a termizacija se najčešće koristi u proizvodnji nekih tradicionalnih sireva od sirovog mlijeka kada se u mlijeku želi što više sačuvati prirodnih sastojaka ili ako se mlijeko mora duže vrijeme pohraniti. Standardizacija mlijeka se primjenjuje kada je potrebno optimizirati omjer kazein:mliječna mast, da se osigura svojstvena konzistencija, tekstura i maksimalni prinos sira. Homogenizacija se u sirarstvu

rijetko koristi jer u mlijeku uzrokuje promjene koje dovode do oblikovanja mekšeg gruša, uz smanjenu sposobnost kontrakcije i odvajanja sirutke. Homogenizacija mlijeka ili češće samo dodanog vrhnja ima prednost u proizvodnji, fete i sireva s plemenitim plijesnima, kojima pogoduje zadržavanje veće količine vode i tvorba glatkog gruša. Veći udio vode u siru i veća kiselost pospješuju rast plijesni, a homogenizirana mliječna mast ubrzava lipolizu (Tratnik, 2012). Od dodataka u proizvodnji sira najčešće se koristi kalcijev klorid ($CaCl_2$; za bolja svojstva grušanja mlijeka), enzim lizozim (za sprječavanje kasnog nadimanja sira), enzimi za ubrzanje zrenja sira (lipaze, proteinaze i peptidaze), boje (anato/β-karoten). Dodaci se moraju otopiti u vodi da bi se što bolje kasnije rastopili u mlijeku za sirenje. Nakon prethodne obrade i miješanja mlijeka s dodacima provodi se sirenje. Sirenje se može odvijati uz dodatak mljekarske kulture ili uz pomoć sirila najčešće na temperaturama 30-45 °C, ovisno o tome kakav sir želimo proizvesti. Osim dodataka, mljekarske kulture (liofilizirana kultura u prahu ili zamrznuta kultura) ili sirilo (u prahu, tablete, tekuće) se također moraju prije dodavanja u mlijeko otopiti ili promiješati s potrebnom količinom vode a tada ravnomjerno umiješati u mlijeko (Tratnik, 2012). Cilj grušanja je dobivanje čvrstog i kompaktnog gruša. Provjera čvrstoće gruša u praksi može biti vrlo jednostavna i može se provesti za bilo koju vrstu sira. Najčešća metoda, koju sirari obično koriste za određivanje svršetka zgrušavanja, jest uranjanje ruke ili štapa u gruš i podizanje gruša pri čemu on puca. Jasna pukotina sa zelenom sirutkom u bazi je pokazatelj da je gruš spreman za obradu (Kalit, 2015). Obrada gruša uključuje rezanje gruša, miješanje, dogrijavanje i sušenje sirnog gruša. Kod mekih i svježih sireva većina sirutke odvaja se tijekom formiranja gruša u perforirane kalupe, bez prethodnog rezanja ili dogrijavanja gruša. Ako se želi dobiti tvrdi sir, gruš se reže na što manje kockice kako bi se što više ocijedila sirutka. Nakon rezanja gruša, kada se vidljivo izdvoji bistra sirutka od gruša, provodi se miješanje gruša da se spriječi ponovno sjedinjavanje već izrezanog gruša. Za očvršćivanje izrezanih sirnih kockica primjenjuje se dogrijavanje zrna koje pospješuje daljnje odvajanje sirutke. Dogrijavanje sirnih zrna za većinu vrsta obično se provodi na temperaturi od 35–40 °C a za vrlo tvrde sireve na temperaturi od 40–56 °C (Tratnik, 2012). Kada se postigne željena temperatura dogrijavanja, slijedi sušenje zrna na toj temperaturi, uz stalno miješanje, da bi se postigla daljnja dehidratacija zrna. Prekidom miješanja, zrna se sljepljuju u sirnu masu, poslije čega se ispušta sirutka. Sirna masa se zatim premješta u kalupe da bi se sirutka dodatno istisnula a zatim se vrši prešanje. Svrha prešanja je stapanje sirnih zrna u sirnu masu i oblikovanje kompaktnog (koluta) sira kojim je omogućena laka manipulacija, izdvajanje suvišne sirutke i poravnanje kore sira koja uvjetuje

nastajanje glatke zatvorene površine što omogućuje jednostavnu njegu sira tijekom zrenja. Ako se proizvodi sir tvrđe konzistencije, primjenjuje se veći tlak prešanja. Prešanje većine sireva se odvija u hladnim prostorijama (oko 15°C) a kod sireva gdje se primjenjuje samoprešanje temperatura može biti oko 10°C. Nakon prešanja, sirevi se sole osim onih sireva koji se proizvode od slanog mlijeka (primjerice sir Domiati) ili sira čedra kod kojeg se suho soli izrezana sirna masa prije oblikovanja. Najčešći načini soljenja u sirarstvu su utrljavanje soli po površini sira, uranjanje sira u salamuru i soljenje sira u kalupima kod punjenja sirnim tijestom. Za suho soljenje zrna koristi se sitnija sol, a za suho soljenje oblikovanog sira, nakon prešanja, krupnija sol. Za soljenje tvrdih i polutvrdih sireva se najčešće koristi salamura različite koncentracije, ovisno o vrsti sira ili kvaliteti sirne mase nakon prešanja. Soljenjem se dodatno istiskuje sirutka iz sira, reducira se nepoželjna mikrobna populacija, poboljšava se okus i produžuje se rok trajanja sira (Kalit, 2015). Bitno je stalno kontrolirati koncentraciju soli te temperaturu i kiselost salamure kako ne bi došlo do stvaranja mana sireva. Nakon soljenja slijedi zrenje, najvažniji proces u proizvodnji sireva.

Glavni cilj zrenja sireva jest pretvaranje sirne mase, koja se u početku značajno ne razlikuje ovisno o vrsti sira, u sireve karakteristična okusa, arome, teksture i izgleda. Zrenje se odvija u posebnim prostorijama koje moraju imati povoljnu klimu (temperatura, relativna vlažnost i protok zraka) te odgovarajuću opremu koji će tijekom zrenja osigurati optimalno odvijanje biokemijskih i fizikalno-kemijskih procesa u siru. Tijekom zrenja, sir je potrebno njegovati. Njega sira uključuje okretanje, brisanje suhom ili vlažnom pamučnom tkaninom te četkanje, ribanje i struganje sira. Stoga, njega sira podrazumijeva redovito ručno ili strojno pranje tkaninom ili četkom namočenom u slanu vodu. Njegom sira sprječava se razvoj plijesni ili prekomjernog maza. Plastični materijali (folije) i zaštitni premazi sprječavaju razvoj plijesni i zamjenjuju tradicionalan način njege sira, što je ekonomski vrlo značajno jer štedi radnu snagu. Također, premaz na siru smanjuje evaporaciju vlage i prekomjerne gubitke randmana. (Tratnik, 2012, Kalit, 2015, Perko, 2015).

2.3. Proizvodnja tradicionalnih sireva

U vremenu suvremene proizvodnje hrane, tradicionalna proizvodnja autohtonih mliječnih proizvoda, a osobito sireva, dobiva sve veći značaj. Najpoznatiji tradicionalni sirevi od sirovog mlijeka u Europi su: Parmigiano Reggiano, Grana Padano i Provolone (Italija),

Roquefort, Brie, Camambert, Comte i Reblochon (Francuska), Gruyere i Emmentaler (Švicarska) te Idiazabal, Mahon i Manchego (Španjolska) te Domiati (Egipat). U Hrvatskoj vrijedi spomenuti: Tounjski sir od kravljeg mlijeka, Lička basa od miješanog mlijeka, Grobnički sir od ovčjeg, tvrdi ovčji sirevi Dalmacije (Paški, Brački, Krčki, Creski), Istarski Pekorino i Istarski sir (Lukač-Havranek, 1995). Najvažnija odlika tradicijskih sireva je njihova originalnost tehnologije i podrijetlo sirovog mlijeka. U proizvodnji sira od sirovog mlijeka ne koriste se komercijalne kulture i aditivi. Suprotno, dodatak komercijalne kulture može uzrokovati potpuni gubitak autentičnosti sira. Osim toga u proizvodnji tradicionalnih sireva najčešće se ne provodi pasterizacija mlijeka. Zbog toga je u proizvodnji sireva od sirovog mlijeka osobito važno osigurati mlijeko besprijekorne mikrobiološke kakvoće. Važan značaj za proizvodnju higijenski ispravnog i kvalitetnog mlijeka ima zdravlje muznih životinja i osiguranje dobrih higijensko-tehnoloških uvjeta u proizvodnji i preradi, transportu i pohrani mlijeka. Međutim, razvojem znanosti, primjenom novih tehnologija i razvitak mikrobnih kultura te sve veće svijesti o zaštiti potrošača, proizvodnja sireva u svijetu se značajno mijenja. Stoga se umjesto pasterizacije u industrijskim postrojenjima primjenjuju procesi mikrofiltracije ili baktofugacije kako bi se uklonila nepoželjna mikrobna populacija i poboljšala svojstva proizvoda. Takvi se sirevi razlikuju od sireva proizvedenih od pasteriziranog mlijeka okusom i teksturom i kraćim vremenom zrenja. Razlog su promjene u djelomičnoj denaturaciji a-laktoalbumina i β-laktoglobulina, te njihove interakcije s kazeinom, denaturaciji prirodnih enzima i destrukciji termolabilnih membrana prirodne mikrobne populacije (Bachmann i sur., 1996, Samaržija i Antunac, 2002).

Tekstura i okus sira su rezultat izuzetno složenog sustava biokemijskih reakcija uvjetovanih zajedničkim djelovanjem definirane i nedefinirane populacije bakterija, enzima mlijeka i sirila, te sekundarne mikrobne populacije tijekom izrade i zrenja sira. Tako se proteoliza i lipoliza, kao posljedica utjecaja autohtone mikrobne populacije na okus i teksturu sira, smatraju najznačajnijim objektivnim parametrima u identifikaciji podrijetla tradicionalnih sireva proizvedenih od sirovog mlijeka. U većini slučajeva autohtonu mikrobnu populaciju čine heterogene vrste bakterija mliječne kiseline, a dominantnost određene vrste uvjetovana je vrstom mlijeka i podrijetlom. Zbog te činjenice može se govoriti o autentičnosti, specifičnosti određene vrste sira prema kojoj se razlikuje od iste vrste sira drugih zemljopisnih regija (Samaržija i Antunac, 2002).

2.4. Zaštita sireva

Većina europskih zemalja je značenje zaštite autohtonih sireva prepoznala u zaštiti vlastitih proizvođača kroz nacionalnu legislativu. Učinkovit sustava zaštite proizvoda kroz nacionalnu legislativu omogućuje bolju trgovinsku razmjenu između zemalja članica EU, te postaje njen integralni dio. Zaštita vlastitih proizvođača ujedno znači i ruralni razvitak u smislu uvođenja različitih modela proizvodnje, aktivno uključivanje svih sudionika u distributivni lanac i očuvanje tradicije proizvodnje sira za naredne generacije. Važnost zaštite autohtonih sireva ogleda se i u zaštiti potrošača, koji time dobivaju potpunu informaciju o proizvodu uz garanciju kvalitete i autentičnosti. Osim toga, jednom registriran sir od Europskog povjerenstva (engl. *The European Committee*) znači da je zaštićen u svim EU zemljama, da mu je zaštićeno ime i da je zaštićen od zlouporaba (Samaržija i Antunac, 2002). Europska unija u lipnju 1993. usvojila je propise kojim se prema točno određenim kriterijima mogu zaštititi sirevi oznakama izvornosti, zemljopisnog podrijetla i tradicionalnog ugleda. Namjera Propisa je zaštita imena proizvoda koji ispunjavaju točno definirane kriterije. Istovremeno, Propis nije u suprotnosti sa zakonom o intelektualnom vlasništvu i s TRIPS sporazumom iz 1994. godine.

Zaštita i poticanje proizvodnje autohtonih sireva na tradicionalan način, posljedica je nove agrikulturne politike EU. Takvom politikom nastoji se proširiti trgovinska razmjena i smanjiti zalihe industrijski proizvedenih mliječnih proizvoda, zaštiti proizvod od nestajanja i imitacija, te pomoći potrošaču u prepoznavanju specifičnog karaktera proizvoda. Istovremeno, želi se stimulirati određeni vid ekstenzivne poljoprivredne proizvodnje koja pridonosi očuvanju okoliša, zaštiti biološke raznolikosti i zaštiti ruralnih područja.Za sireve oznaka izvornosti (engl. *Protected Designation of Origin*; PDO) znači povezanost povijesne i zemljopisne dimenzije. Zato se sir mora proizvoditi u točno definiranoj zemljopisnoj regiji. Razlog tome je što klima, vrsta tla, položaj, prirodna vegetacija, vrste kultiviranog bilja, način držanja i pasmina životinja uvjetuju originalnost i posebnost sira. Uz te fizikalne čimbenike tradicija i iskustvo, koje se prenose s generacije na generaciju, presudni su u priznavanju izvornosti sira. Oznakom zemljopisnog podrijetla (engl. *Protected Geographical Indication*; PGI) mogu se zaštititi sirevi pod uvjetom da se postupak proizvodnje, prerade ili pripreme proizvoda odvija u mjestu podrijetla. Time su svojstva proizvoda uvjetovana podnebljem, tlom, vegetacijom i djelovanjem čovjeka na posebnost načina proizvodnje i primjenu

tradicionalnih postupaka i vještina. Sir zaštićen oznakom tradicionalnog ugleda (engl. *Traditional Speciality Guaranteed*; TSG) znači da ima specifične karakteristike zbog načina izrade ili tradicionalnog sastava, neovisno o određenom području (Samaržija i Antunac, 2002). Broj zaštićenih tradicionalno proizvedenih sireva oznakam kvalitete PDO i PGI pojedinih europskih zemalja i njihovo sudjelovanje u ukupnoj proizvodnji sira prikazan je u tablici 1.

Tablica 1: Broj sireva registriran oznakama PDO i PGI u zemljama EU i % u ukupnoj proizvodnji sira

Zemlja	Broj PDO sireva	Broj PGI sireva	% od ukupne proizvodnje
Francuska	44	10	10,4
Italija	30		49,1
Grčka	19		42,9
Španjolska	12		4,5
Portugal	11		
Velika Britanija	8	3	
Austrija	6		
Njemačka	4		
Nizozemska	3		7,6

(Izvor: Samaržija i Antunac, 2002).

2.5. Krčki sir

Krčki sir pripada skupini tvrdih, punomasnih sireva koji se proizvode na otoku Krku na tradicionalan i industrijski način od mlijeka krčke ovce. Krčka ovca (slika 2) je hrvatska izvorna pasmina ovaca koja je nastala na otoku Krku i pripada skupini ovaca kombiniranih mesnih odlika (mlijeko-meso-vuna). Uzgoj krčke ovce karakteriziraju izrazito ekstenzivni uvjeti, koji se očituju kroz skromne uvjete držanja i hranidbe. Sitna je ali skladne i čvrste tjelesne građe. Ovce su najčešće bijele, a rjeđe crne, sive ili smeđe. U laktaciji, koja traje između pet i šest mjeseci, ovca proizvede oko 100 L mlijeka. Prema najnovijim podacima na području otoka Krka uzgaja se oko 18 000 čistokrvnih izvornih ovaca (HPA, 2014).



Slika 2. Krčka ovca (Izvor: https://www.google.hr/search?q=krčka+ovca)

Krčki sir je pravilnog, cilindričnog oblika (slika 3). Masa sira prosječno je oko 1000 g s varijacijama od 580 do 1700 g prosječni promjer izbrisati 13 cm s varijacijama 11,5-15 cm. Visina sira iznosi 6,5 cm s varijacijama 4,4-7,8 cm. Kora sira je jednolične smeđe žute boje bez raspuklina i nečistoća. Sir može biti premazan tankim slojem biljnog ulja. Boja sira na prerezu je jednolična blijedožuta, tijesto je slabo elastično, pogodno za rezanje. Sir na prerezu ima mali broj rijetko posijanih okruglastih sirnih očica. Miris je ugodan, tipičan za ovčje sireve a okus je umjereno kiseli (Kalit, 2015). Optimalno trajanje zrenja Krčkog sira je 90 dana (Antunac i sur., 2008). U proizvodnji se mogu koristiti i začinske biljke, poput

ružmarina, lista oraha i kadulje kojim se oblažu sirevi u fazi zrenja kako bi poprimili razne prirodne arome.



Slika 3. Krčki sir (Izvor: https://www.google.hr/search?q=krčki+sir).

2.5.1.Tradicionalna proizvodnja

Izvorno, Krčki sir se na tradicionalan način proizvodio od sirovog ovčjeg mlijeka. Mlijeko se procijedilo na temperaturi od 25°C. Za podsiravanje 15-20 litara mlijeka uzimale su se 2-3 žlice domaćeg sirila. Mlijeko se usirilo za 15-20 minuta. Tada se pristupalo obrađivanju gruša isključivo rukama. Obrađivanje i usitnjavanje na sitna zrna trajalo je nekoliko minuta. Gruš se ostavio mirovati da se lagano istaloži i stisne u grudu. Sirna gruda oblikovala se rukama pritiskanjem najprije odozgo prema dnu, a zatim i sa strane. Zatim se pristupalo oblikovanju sira u "samici" (kalup, visok 22 cm, a širok promjera 12 cm). Gnječenje i tiještenje rukama pojedinih "siraca" trajalo je 30-40 minuta. Potom se sir jedan za drugim stavljao u drugu veću perforiranu "samicu" (kalup visok 50 cm, promjera 20 cm za otjecanje sirutke. Između sirčića ulagali su se limeni ulošci, koji su oblikovali donju i gornju stranu sirčića. U "samici" su sirčići bili opterećeni sa 6 kg teškim kamenom tijekom 24 sata. Tijekom 24 sata sirčići su se dva puta vadili i suho solili. Nakon toga sirčići su se ostavili sušiti na dasci 2-3 dana u zračnoj prostoriji. Na dasci osušeni sirčići su se potom vezali širokim platnenim vrpcama i objesili da

suše na slobodnom zraku 2-3 mjeseca. Ako se sirčići nisu odmah nakon zrenja prodali, stavljali su ih u ulje i tako ostavili pohranjene i do godine dana (Havranek, 1995).

Današnja tradicionalna proizvodnja Krčkog sira u odnosu na njenu početnu proizvodnju je ipak modificirana. Za proizvodnju sira koristi se svježe pomuzenoi procijeđeno mlijeko jutarnje ili večernje mužnje koje se obično siri jedan sat nakon mužnje. Također se vrlo često mlijeko večernje mužnje miješa s mlijekom jutarnje mužnje. Mlijeko za sirenje zagrijava se u kotlu na temperaturu od 35°C. U zagrijano mlijeko dodaje se mikrobna mezofilna kultura sastavljena od bakterija *Lactococcus lactis* subsp. *lactis, Lactococcus lactis* subsp. *cremoris, Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis i Lactobacillus helveticus*. Količina dodane kulture, ovisno o domaćinstvu, varira od 2,5-4 g na 100 litara mlijeka za sirenje. Time se dobiva poželjan broj bakterija mliječne kiseline u sirovom mlijeku koje su presudne za ispravnu i pravovremenu acidifikaciju mlijeka. U mlijeko se dodaje i otopina $CaCl_2$ u količini od 3 mL/10 L mlijeka. Nakon toga, na temperaturi od 33°C (s varijacijama od 32 - 35°C) mlijeku se dodaje pripravak sirila u prahu u količini od 1 g na 10 L mlijeka. Potrebna količina sirila otopi se u 100 mL vode, te polagano ulijeva u mlijeko uz neprestano miješanje. Mlijeko se miješa 5 minuta da bi se sirilo dobro i ravnomjerno raspodijelilo. Sirenje mlijeka obično traje oko 30 minuta, s varijacijama od 20-45 minuta. Kakvoća gruša, odnosno svršetak sirenja, provjerava se «prstnom probom», pri čemu gruševina pod prstima puca poput porculana, a izdvojena sirutka ima zelenu boju. Gruševina se zatim reže sirarskom harfom koja ima promjer između žica od 1,5 cm do veličine zrna pšenice. Postupak usitnjavanja gruša traje prosječno 15 minuta. Slijedi miješanje i dogrijavanje sirnog zrna na temperaturu od 39°C i obično traje 10 do 15 minuta. Zatim se sirno zrno taloži oko 10 do 30 minuta uz istodobno odvajanje sirutke. Sirno zrno se cjedilom prenosi u perforirane kalupe izrađene od nehrđajućeg čelika. Kalupi se pune do polovice volumena a sirno tijesto se pritom pritišće rukama i zatim ostavi stajati u kalupima oko 24 sata. Sir u kalupu okreće se svakih 10 minuta tijekom prvog sata, a kasnije svaka dva do tri sata. Nakon oblikovanja, sir se soli u salamuri prosječne jačine 18,5 °Bé, s varijacijama od 15 do 19,5 °Bé, temperature 15 do 18°C i pH vrijednosti 4,97-5,02. Salamurenje sira traje oko 12 sati, a nakon toga se ocijede i osušeni sirevi se ostave stajati 2-3 dana na suhim pamučnim maramama. U zrioni se osušeni sirevi slažu na drvene police, dva puta se okreću i otprilike dva do tri puta tjedno peru i brišu. Za pranje sira koristi se mlaka, slana voda, koja može biti blago zakiseljena octenom kiselinom. Klasičnim načinom zrenja Krčkog sira na drvenim policama stvara se kora koja regulira evaporaciju vode iz sira. U uvjetima temperature od

prosječno 18,5°C i relativne vlažnosti zraka od 82% sir zrije od 30 do 90 dana. Izmjereni mikroklimatski uvjeti u zrioni bili su prosječne temperature od 18,5°C. Nakon prvih 20 dana zrenja sir se premazuje biljnim ili, rjeđe, maslinovim uljem. Nakon 2 mjeseca zrenja, sir se može pohraniti u kamenicu u kojoj je uronjen uulje (najčešće biljno), sljedećih nekoliko mjeseci pai do godine dana (Prpić i sur., 2003).

2.6. Paški sir

Paški sir je najcjenjeniji hrvatski tvrdi ovčji sir koji se proizvodi od mlijeka paške ovce na otoku Pagu. Ovce se tijekom cijele godine danonoćno drže na otvorenom, na pašnjacima. Hrane se ispašom na škrtim kamenjarima potpomognutom sijenom, kukuruzom i krmnim smjesama.Tjelesna im je masa relativno mala (24 do 35kg). Laktacija paške ovce traje 150 dana, a mliječnost joj varira od 80 do 150 L po laktaciji (Barać i sur., 2008). Veličina sveukupne populacije je oko 30 000 grla a u proizvodnji mlijeka se koristi oko 24 000 rasplodnih ovaca (HPA, 2014). Proizvodnja Paškog sira je sezonskog karaktera, što se poklapa s mužnjom ovaca na otoku Pagu od siječnja do kraja lipnja. Ukupna proizvodnja paškog sira procjenjuje se na 180 do 220 tona godišnje. Polovica od ukupne proizvodnje Paškog sira proizvodi se na obiteljskim poljoprivrednim gospodarstvima a druga polovica u tri velike sirane: Paška sirana, Sirana Gligora i Sirana MIH. U tim siranama Paški sir se proizvodi suvremenom tehnologijom (pasterizacija mlijeka, kontrolirani uvjeti temperature i vlage). Paški sir zrije minimalno dva mjeseca, a maksimalno pet mjeseci na temperaturi ne nižoj od 16°C i relativne vlažnosti zraka ne više od 90 %. Sir ima oblik pravilnog cilindara, blago konveksnih do ravnih bočnih strana te ravne gornje i donje strane. Promjer paškog sira varira između 18−23 cm, a visina 7−9 cm. Težina mu varira između 2−4 kg. Kora sira je tvrda, zlatno žuta do svijetlo crveno smeđe boje, debljina 3−4 mm (slika 4). Tekstura mladog paškog sira slabo je elastična, lako reziva, na prerezu nalazimo rijetko raspoređene okrugle očice, dok je tekstura paškog sira pune zrelosti granulasta, a rezanjem se nepravilno lomi. Okus mu je intenzivan, karakterističan za ovčje sireve, a kod paškog sira pune zrelosti prilikom konzumacije topi se u ustima oslobađajući veliku količinu aromatskih spojeva (Samaržija i sur., 2004).



Slika 4. Paški sir (Izvor:https://www.google.hr/search?q=paška+ovca&sir)

2.6.1.Tradicionalna proizvodnja

Tradicionalno se Paški sir proizvodi od sirovog ovčjeg mlijeka večernje i jutarnje mužnje. Za sirenje se koristi sirilo a sirenje mlijeka traje do sat vremena. Gruš se reže na veličinu kocke 5−7 x 5−7 cm , a zatim se sirne kocke usitnjavaju drvenim pršljenom do veličine riže. Zrno se potom suši na temperaturi od 41°C iza čega slijedi taloženje i oblikovanje sirne grude te oblikovanje sira u kalup i prešanje. Za soljenje se koristi krupna morska sol koja se tri puta u tijeku 48 sati utrljava po vanjskoj površini sira. Nakon soljenja, sir minimalno zrije 2, a maksimalno 5 mjeseci. Stoga se autohtoni (tradicionalni) paški sir prije 60 dana zrelosti ne smije stavljati na tržište. Temperatura u zrioni ne smije biti niža od 16°C, a relativna vlaga ne viša od 90%. Za zaštitu kore sira dozvoljeno je premazivanje jestivim biljnim uljem i/ili murkom (ocjedinom nakon tještenja maslinova ulja). Prije premazivanja kore sira uljem, dozvoljeno je sir 2-3 dana ostaviti u fermentiranom vinskom moštu (Samaržija i sur., 2004).

2.6.2. Industrijska proizvodnja

U proizvodnji Paškog sira na industrijski način umjesto sirovog koristi se pasterizirano ovčje mlijeko paške ovce. Proizvođači nakon mužnje mlijeko ohlade na temperaturu od 4°C koje se cisternama za mlijeko doprema u pogon sirane (slika 5). Nakon filtriranja mlijeko se pasterizira u pločastom pasterizatoru na temperaturi od 72° C u trajanju od 15 sekundi. Nakon toplinske obrade mlijeku se dodaje termofilna kultura i sirilo. Sirenje mlijeka traje između 40 i 50 minuta. Slijedi rezanje i usitnjavanje gruševine do veličine zrna riže uz postepeno dogrijavanje do temperature od 43° C. Na istoj temperaturi sirno zrno se suši 10-15 minuta. Nakon sušenja sirnog zrna, crpkom se izdvoji dio sirutke, koja će kasnije poslužiti za dobivanje paške skute, a zatim slijedi predprešanje i punjenje sirne mase u kalupe. Prešanje sira u kalupima uz tlak od 3-5 bara traje 4 sata. Nakon prešanja, sir se soli u salamuri jačine 20°Be 48 sati. Zrenje sira u mikroklimatskim uvjetima temperature ne niže od 16°C i relativne vlažnosti zrake ne više od 90°C zrije najmanje 6 mjeseci (Barać i sur. 2008).



Slika 5. Pogon sirane Gligora

(Izvor: http://www.gligora.com/hr/galerija/pogon-sirane-gligora-s18-a18.htm)

2.7. Domiati sir

Domiati sir je najpopularniji meki bijeli sir (slika 6) koji se konzumira u Egiptu i zemljama Bliskog Istoka. Tradicionalno se proizvodi od zasoljenog bivoljeg ili kravljeg mlijeka i njihovih mješavina ali se može proizvoditi i od ovčjeg, kozjeg pa čak i devinog mlijeka. Dobio je ime po lučkom gradu Damietta (također se izgovara Damiata ili Domyat). Smatra se da proizvodnja usoljenih sireva u Egiptu potječe od Prve dinastije (3200 godina prije Krista). U grobnici „Hor Aha“ u Sahari pronađeno je zemljano posuđe za sirenje, koje se koristilo u tradicionalnoj proizvodnji usoljenih sireva.Tradicionalno, u proizvodnji Domiati sira nije se koristila kultura ali se danas koristi nekonvencionalna kultura koja sadrži bakterijske sojeve *Enterococcus faecium, Pediococcus* ssp i *Lactobacillus casei* koji podnose visoke koncentracije soli (Tratnik; 2012).



Slika 6. Domiati sir

(Izvor: https://www.google.hr/search?q=domiati+cheese&biw).

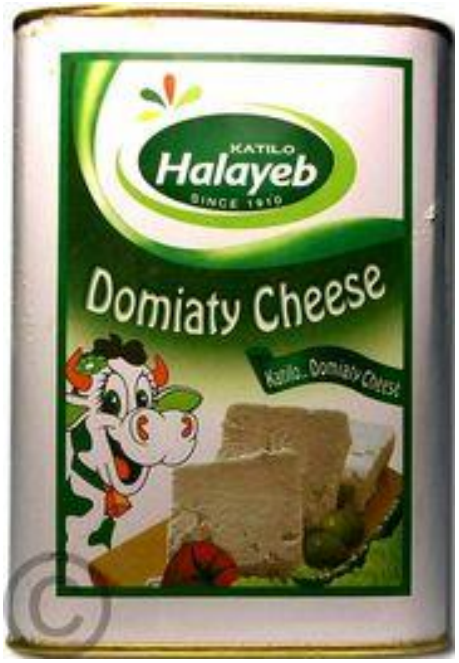
Između brojnih vrsta koje se uglavnom razlikuju po načinu soljenja izdvajaju se sir Feta (Grčka) i njegove varijante sirevi i sir Domiati (Egipat) i njegove varijante. Za razliku od Fete, mlijeko u proizvodnji Domiati sira se soli prije dodavanja sirila. Količina soli (5-14 %) ovisi o sezoni proizvodnje i temperaturi sira tijekom zrenja (El-Baradei i sur., 2006). Zbog tih razlika potječu i razlike u kiselosti, udjelu vode i količini soli prije i nakon zrenja. U proizvodnji sira Domiati koagulacija slanog mlijeka traje znatno duže od koagulacije mlijeka

bez soli pa se sirenje slanog mlijeka provodi i na višim temperaturama od 40°C (Tratnik, 1998).

Tratnik i sur. (2000) istraživali su utjecaj punomasnog i djelomično obranog kravljeg mlijeka u proizvodnji Feta i Domiati sireva. Zaključili su da je vrijeme grušanja Domiati sira u obje vrste mlijeka trajalo značajno duže od Feta sireva. Također je utvrđeno da Domiati sir od obje vrste mlijeka sadrži veću količinu suhe tvari (više kalcija, fosfora, soli i pepela a manje proteina i masti), veći prinos, veće pH vrijednosti i puno manje vrijednosti titracijske kiselosti prije i tijekom zrenja od Feta sireva. Senzorskom analizom autori su utvrdili da Domiati sir od djelomično obranog mlijeka ima najbolji okus, miris i konzistenciju tijekom 7, 14 i 20 dana zrenja u salamuri dok isti sir od punomasnog mlijeka imaju najbolje senzorske karakteristike tijekom 14 i 20 dana zrenja. Slično istraživanje su provodili Drgalić i sur. (2002.) u proizvodnji varijanti sireva Feta i Domiati od kozjeg mlijeka sa i bez dodatka limunske kiseline. Dokazali su da dodatak limunske kiseline u kozje mlijeko nije utjecao na vrijeme grušanja sireva varijante Feta sira (30 min) ali je znatno skratio vrijeme grušanja sireva varijante Domiati (sa 125 min na 85 min). Sirevi u tipu Domiati imali su bitno manju kiselost od sireva u tipu Feta i bili su mekše konzistencije. Sirevi u tipu Feta sira imali su veći udio masti, kalcija i proteina od sireva u tipu Domiati sira ali dvostruko manju količinu pepela i prinos. Nakon 14 dana salamurenja u svim je sirevima znatno poboljšan okus i miris uz smanjen udio proteina i masti te Ca i povećan udjel pepela. Primjenom ultrafiltracije u proizvodnji Domiati sira od devinog mlijeka je dobiven veći prinos, pH i sadržaj vlage a manje proteina i masti od sira proizvedenog konvencionalnim putem. Senzornom analizom je dokazano da Domiati sirevi proizvedeni primjenom ultrafiltracije imaju bolji izgled, okus i teksturu od sireva proizvedenih konvencionalnim putem (Mehaia, 2006). Salwa i Galal (2002) istraživali su učinak predtretmana mlijeka na očuvanje kvalitete Domiati sira. U istraživanju su bili obuhvaćeni sirevi proizvedeni od sirovog, termiziranog i pasteriziranog mlijeka. Za proizvedene sireve određeni su kemijsko – fizikalni i organoleptički parametri 0 dana i nakon zrenja od 120 dana. Sirevi proizvedeni od termiziranog i pasteriziranog mlijeka imali suveći udio vlage i višu pH vrijednost ali niži udio masti od sira od sirovog mlijeka. Senzornom analizom je najbolje ocijenjen Domiati sir proizveden od sirovog mlijeka zatim od termiziranog a najlošije onaj proizveden od pasteriziranog mlijeka.

2.7.1. Proizvodnja Domiati sira

Domiati sir se tradicionalno proizvodi od sirovog mlijeka ali se može proizvoditi i od pasteriziranog mlijeka. Neposredno prije dodatka sirila u mlijeko se dodaje sol 5-14%. Sirenje slanog mlijeka najbolje je provoditi na temperaturi od 38°C. Grušanje traje 2-3 sata, zatim se gruš prebacuje u kalupe raznih veličina (od tradicionalno zemljanih do drvenih i metalnih). Oblikovani gruš slanog mlijeka je vrlo slab, a ocjeđivanje sirutke vrlo sporo (oko 24 sata). Manji se kalupi povremeno okreću, a veći se opterete utezima kako bi se što jače ocijedila sirutka. Kada je gruš čvrst reže se na komade koji se kasnije stavljaju u velike konzerve (slika 7) ili zemljane posude ispunjene slanom sirutkom ili salamurom. Može se konzumirati svjež ali postaje aromatičan tek zrenjem u salamuri (2-4 mjeseca). Može se čuvati u salamuri >16% soli i do godinu dana na temperatauri od 2°C uz povremenu zamjenu zamućene salamure svježom. Sir ima karakterističnu aromu, te zatvorenu teksturu bez rupica. Od 100 L bivoljeg mlijeka proizvede se oko 33 kg sira, a od 100 L punomasnog kravljeg mlijeka oko 25 kg sira. Ako zrije u salamuri, procesi zrenja najintenzivniji su tijekom prvog mjeseca(proteliza i lipoliza), a poslije se odvijaju manje intenzivno (Tratnik, 2012).



Slika 7. Pakiranje Domiati sira i zrenje

(Izvor: https://www.google.hr/search?q=domiati&)

2.7.2. Industrijska proizvodnja

Proizvodnja Domiati sira industrijskim načinom započinje standardizacijom mlijeka na željeni postotak masti. Mlijeko se zatim pasterizira 65°C/15 min i ohladi na 35-40°C. Kada se pasterizirano mlijeko koristi u proizvodnji, količina dodanog NaCl ne prelazi 6%. Drugi način za proizvodnju Domiati sira je da se sirovo mlijeko podjeli u dvije serije. U prvu seriju koja predstavlja dvije trećine sirovog mlijeka se dodaje 5-15% NaCl a druga serija koja sadrži jednu trećinu mlijeka se pasterizira na 77-80°C. Obje serije se zatim miješaju kako bi se podesila temperatura na 35-40°C. Zatim se u mlijeko dodaje kultura sol tolerantnih laktobacila (22-30 mL/100 L mlijeka). Koagulacija traje 2-3 sata a nakon toga se gruš stavlja u kalupe s gazom kako bi se iscijedila sirutka. Nakon cijeđenja sirutke, sir se vadi iz kalupa i pakira u posude sa slanom sirutkom ili salamurom. Domiati sir proizveden od bivoljeg mlijeka sadrži 55% vlage, 12,9 % proteina, 4,9 % soli i 44,4 % suhe tvari (Farkye i Vedamuthu, 2002).

3. MIKROBIOLOŠKA KVALITETA SIROVOG MLIJEKA

U mlijeko tijekom dobivanja, transporta, obrade i prerade mogu dospjeti mikroorganizmi iz različitih izvora. Sirovo mlijeko, neposredno nakon higijenski provedene mužnje, obično sadržava manje od 5000 mikroorganizama/mL i manje od 250.000 somatskih stanica. Suprotno, nehigijenskom mužnjom i nehigijenskim postupcima s mlijekom nakon mužnje i u slučajevima bakterijske upale vimena, ukupan broj bakterija u mlijeku može biti i veći od 10^7 mL. Bakterijska upala vimena, istovremeno, uzrokuje značajno povećanje broja somatskih stanica iznad fiziološke granice, a nastaje zbog imunološkog odgovora organizma na upalni proces (Samaržija, 2015). Do povećanja broja mikroorganizama u mlijeku dolazi nakon mužnje uslijed neadekvatne pohrane mlijeka. U procesu mužnje i pohrane mlijeka postoji nekoliko kritičnih točaka, potencijalnih izvora mikroorganizama, koje je potrebno uočiti i na njih pravovremeno i primjereno djelovati. Prljave sise, neizmuzivanje prvih mlazeva mlijeka, neispravan muzni i rashladni uređaj, najčešći su izvori kontaminacije mlijeka mikroorganizmima. Od velikog je značaja i ljudski faktor. Naime, ako se samo jedna, u nizu kritičnih točaka, adekvatno ne tretira doći će do nepovoljne higijenske kvalitete mlijeka (Božanić i sur., 2012). Osnovni preduvjeti za proizvodnju higijenski kvalitetnog mlijeka su: pranje ruku muzača, pranje vimena i sisa, izmuzivanje prvih mlazeva mlijeka u posebnu posudu, dezinfekcija sisa prije i nakon završene mužnje, temeljito čišćenje i dezinfekcija posuda i pribora nakon mužnje te hlađenje mlijeka (Antunac, 2005). Dezinfekcija sisa prije početka mužnje provodi se s ciljem dobivanja mlijeka što bolje higijenske kvalitete. Drugi cilj dezinfekcije sisa nakon završetka mužnje je da potpuno zatvori sisni kanal i spriječi prodor mikroorganizama u unutrašnjost mliječne žlijezde.

3.1.Vrste mikroorganizama

Mlijeko može biti kontaminirano različitim vrstama mikroorganizama ovisno o zdravstvenom stanju vimena i načinu postupanja s mlijekom nakon mužnje. Prisutnost mikroorganizama uzročnika kvarenja može uzrokovati promjene boje, mirisa, okusa i teksture mlijeka (tablica 2). Između mikrobnih uzročnika kvarenja mlijeka su najčešće izolirane bakterije ali uzročnici kvarenja mogu biti i kvasci i plijesni.

Tablica 2:Mikrobne pogreške sirovog mlijeka

Pogreška mlijeka		Uzročnici kvarenja
Povećana kiselost	T = 10-37°C	*Lactococcus lactis*, koliformne bakterije, mikrokoki, laktobacili
	T = 37-50°C	*Streptococcus thermophilus, Enterococcus faecalis*
	T ≥ 50°	*Lactobacillus thermophilus*
Stvaranje plina		Koliformne bakterije, kvasci, *Clostridium i Bacillus* spp.
Sluzavost	Površinska	*Alcaligenes visiolactis*
	U svim slojevima	*L.delbrueckii* supsp*bulgaricus, L.lactis, Lactobacillus plantarum*
Promjena okusa	Kiseli karamel	*L. lactis*
	Kiseli - aromatični	*Leuconostoc* spp, streptokoki
	Oštar	Koliformne bakterije
	Gorak	Proteolitičke i koliformne bakterije
	Sapunast	*Pseudomonas* spp.
Promjena boje	Tamno plava	*Pseudomonas* spp.*L. lactis*
	Žuta boja površine	*Pseudomonas synxantha*
	Crvena boja	*Serratia* spp.
Proteoliza mlijeka	Kisela	mikrokoki, streptokoki

(Izvor: prilagođeno prema Matić, 2009)

Primarni izvori patogenih bakterija u mlijeku su bolesna muzna životinja, infektivno vime i bolestan čovjek. Međutim, uzrok širenja patogenih bakterija mlijekom je uvijek posljedica nedovoljne higijene, neznanja ili nesavjesnosti radnika (Samaržija, 2014). Zbog toga je potrebno uspostaviti učinkovitu strategiju kontrole njihova rasta. Kao najučinkovitiji alat za kontrolu rasta patogenih bakterija ističe se HACCP sustav. HACCP sustav pomaže proizvođačima u svakoj fazi proizvodnje identificirati opasnosti i poduzimanje određenih koraka radi ponovne uspostave kontrole prije završetka proizvodnog procesa (Tudor Kalit, 2014). Osim HACCP sustava, preporučeni mikrobiološki kriteriji za mlijeko pomažu u provjeri postavljenih kriterija za provedbu dobre proizvođačke i higijenske prakse.

3.1.1. Psihrotrofna mikrobna populacija

Hlađenje mlijeka na temperaturu od 4°C i duža pohrana mlijeka na tim temperaturama uzrok su dominantnog rasta psihrotrofnih bakterija. Psihrotrofna mikrobna populacija potječe uglavnom iz okoline gdje se mlijeko proizvodi, od higijenski neispravne vode i nedovoljno čistih muznih uređaja, opreme za transport i pohranu mlijeka (Samaržija i sur., 2007). Osim uzročnika kvarenja određene vrste patogenih bakterija također pokazuju psihrotrofna svojstva. Tablica 3. prikazuje skupine psihrotrofnih bakterija koje često kontaminiraju mlijeko, a prema svojoj prirodi te bakterije mogu biti uzročnici kvarenja ili su one patogene bakterije.

Tablica 3: Najzastupljenije skupine psihrotrofnih bakterija u sirovom mlijeku

Skupina	Patogene bakterije	Gram vrsta
Pseudomonas		-
Flavobacterium		-
Alcaligenes		-
Enterobacteriaceae	*E.coli O157:H7* *Yersinia enterocolitica*	-
Serratia		-
Acinetobacter		-
Aeromonas	*Aeromonas hydrophila*	-
Bacillus	*Bacillus spp.*	+
Clostridium	*Clostridium spp.*	+
Arthrobacter		+
Streptococcus		+
Corynebacterium		+
Micrococcus		+
Ostali	*Listeria monocytogenes*	+

(Izvor: Moatsou i Moschopoulou, 2014)

Od ukupne gram-negativne populacije u ohlađenom mlijeku izdvaja se *Pseudomonas* spp. s izrazitom dominacijom vrste *Pseudomonas fluorescens*. U odnosu na sve gram-pozitivne i ostale gram-negativne psihrotrofne bakterije, *Pseudomonas* spp. na temperaturama nižim od

6°C karakterizira brži rast, duže vrijeme preživljavanja i kratko generacijsko vrijeme. Osim sposobnosti rasta i razmnožavanja na niskim temperaturama, većina vrsta ima sposobnost tvorbe ekstracelularnih i/ili intracelularnih hidrolitičkih termostabilnih enzima koji razgrađuju proteine, masti i fosfolipide. Upravo zbog tih osobina i svojstava, psihrotrofne bakterije se smatraju najčešćim uzročnicima kvarenja mlijeka. Kvarenje se očituje u promjeni okusa, mirisa, neželjenoj koagulaciji proteina mlijeka, te promjenom teksture. Strani okus sirovog mlijeka, koji se opisuje kao gorak, okus po voću, kvascima ili kao metalan okus, posljedica je rasta nesporogenih proteolitičkih bakterija, *Proteus, Pseudomonas* (posebice *Pseudomonas fluorescens*), *Acinetobacter, Flavobacterium, Serratia* i *Alcaligenes* spp. (Samaržija i sur., 2007). Najučinkovitije sredstvo za kontrolu psihrotrofne mikrobne populacije je strogo pridržavanje higijenskih mjera s mlijekom tijekom mužnje, pohrane i proizvodnje. Skraćivanje vremena između pohrane i prerade mlijeka smanjuje rizik od dominantnosti psihrotrofnih bakterija u sirovom mlijeku.

3.1.2. Termorezistentna mikrobna populacija

Termorezistentna mikrobna populacija je skupina mikroorganizama koja preživljava temperature pasterizacije, ne raste na tim temperaturama, ali može rasti na niskim temperaturama. U termorezistentne mikroorganizme uključujemo i termofilne mikroorganizme koji preživljavaju najnižu temperaturu pasterizacije 63°C/30 min (Samaržija, 2013). Oni ne stvaraju spore ali mogu biti važan faktor kvarenja pasteriziranog mlijeka ako se u sirovom mlijeku nalazio povećan broj psihrotrofnih bakterija ili ako je došlo do rekontaminacije. Općenito, termorezistentna skupina bakterija slabo raste u ohlađenom mlijeku (<5°C) i jedino u slučajevima njihove pojave u mlijeku u velikom broju mogu uzrokovati kvarenje sira (Samaržija i sur., 2007, 2012). Rodovi *Bacillus, Clostridium, Arthrobacter, Streptococcus, Lactobacillus, Corynebacterium, Micrococcus* i *Microbacterium* su pripadnici ove skupine (Samaržija i sur., 2012). *Clostridium* i *Bacillus* spp mogu preživjeti visoku temperaturu u obliku spore te tako smanjiti rok trajanja mlijeka i sira. *Bacillus coagulans* može uzrokovati kiselu koagulaciju i siru sličan okus i miris steriliziranog mlijeka dok je *Bacillus subtilis* zaslužan za slatku koagulaciju mlijeka.

3.1.3. Koliformna mikrobna populacija

Predstavnici ove skupine su mikroorganizmi iz porodice *Enterobacteriacaea: Escherichia, Enterobacter, Klebsiella, Proteus, Serratia i Citrobacter* spp. Neke vrste koliformnih bakterija pripadaju skupini enteropatogenih bakterija a njihovo pojavnost u sirovom mlijeku predstavlja potencijalnu opasnost za zdravlje čovjeka. Kada su koliformne bakterije prisutne u velikom broju uzrokuju pogrešku izgleda i okusa mlijeka radi tvorbe plina i povećanja kiselosti (Samaržija i sur., 2007.). Sposobne su stvarati biofilm te njihova pojavnost ukazuje na nehgijenske uvjete u proizvodnji (Moatsou i Moschopoulou, 2014). Kao skupina koliformne bakterije se opisuju: nesporotvorne, oblikom štapićaste bakterije, i oksidaza negativne. Mogu biti aerobne ili fakultativno anaerobne i obično imaju sposobnost fermentirati laktozu unutar 48 sati na temperaturi od 37°C uz stvaranje kiselina i plina. U odnosu na psihrotrofne bakterije, koliformna skupina bakterija u sirovom ohlađenom mlijeku rastu sporije, ali znatno bolje od mnogih drugih u mlijeku prisutnih bakterija (Samaržija, 2013).

3.1.4. Bakterije mliječne kiseline

Kvarenje sirovog mlijeka bakterijama mliječne kiseline moguće je u slučaju ako se mlijeko poslije mužnje ne pohrani na temperaturi od 4°C. To se najčešće događa u nerazvijenim zemljama gdje se mlijeko još uvijek pohranjuje ili transportira u kantama ili cisternama bez hlađenja, osobito u toplije vrijeme (Tratnik, 2012). *Lactobacillus, Lactococcus, Leuconostoc* i *Enterococcus* spp. su najčešći uzročnici kvarenja neohlađenog mlijeka a pogreška se manifestira promjenom okusa i izgleda mlijeka. Bakterija *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* je glavni uzročnik kvarenja sirovog mlijeka ako se ono pohranjuje na temperaturi od 10-37 °C, sposobna je tvoriti mliječnu kiselinu te male količine octene i propionske kiseline (Moatsou i Moschopoulou, 2014). Mezofilne i veliku većinu vrsta termofilnih bakterija mliječne kiseline uništavaju temperature srednje pasterizacije 72°C/15 sekundi (Walstra i sur., 2006).

3.1.5. Kvasci i plijesni

U usporedbi s bakterijama, kontaminacija sirovog mlijeka kvascima i plijesnima je rjeđa. Najučestaliji kvasci su *Debaromyces hansenii*, *Kluyveromyces marxianus var marxianus, Kluyveromyces marxianus var lactis, Sacharomyces cerevisiae, Candida spp. i Yarrowia lipolitica* dok od plijesni prevladavaju *Penicillium, Rhizomucor* i *Aspergillus* (Moatsou i Moschopoulou, 2014). Mnogi kvasci proizvode alkohol i CO_2 te u mlijeku stvaraju okus po kvascima. Izvori kontaminacije mogu biti podovi, zidovi, police, sirarski pribor i oprema (Samaržija, 2013). Plijesni uzrokuju kvarenje mlijeka koje se manifestira širokim rasponom metaboličkih produkata koji su uzrok stranog okusa i mirisa mlijeka. Osim toga, plijesni mogu biti uzrokom vidljivih promjena boje i teksture mlijeka.

3.2. Patogeni mikroorganizmi

Iz sirovog mlijeka su izolirani brojni patogeni mikroorganizmi koji su sposobni uzrokovati bolesti ljudi i životinja samostalno ili preko svojih štetnih produkata. S obzirom na izvore kontaminacije, iz mlijeka su najčešće izolirane bakterije: *Salmonella* spp, *Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Shigella dysenteriae, Campylobacter jejuni i Yersinia enterocolitica*. Od sporotvornih patogenih bakterija najčešće su izolirani *Bacillus cereus* te *Clostridium perfringens*. U tablici 4 su prikazani rasponi uvjeta rasta za rast pojedinih patogenih vrsta bakterija. Sve patogene bakterije mogu rasti u širokom rasponu pH i temperatura u prisutnosti male količine soli i visokog aktiviteta vode.

Tablica 4: Rast patogenih bakterija u rasponu pH, temperature, % soli i aktiviteta vode

Patogena bakterija	Minimalni $_{aw}$	pH	Temperatura (°C)	% soli
E.coli	0,95	4,4 – 9,5	7 – 48	< 2
***Salmonella*spp.**	0,95	3,8 – 9,5	7 – 46	< 2
Listeria monocytogenes	0,92	4,4 – 9,5	-1,5 – 45	25
Staphylococcus aureus	0,86	4 – 10	7 – 48	15 - 20
Campylobacter jejuni	0,97	4,9 – 9	30 – 45	< 2
***Bacillus* spp.**		4 – 9	10 – 48	2 – 2,5

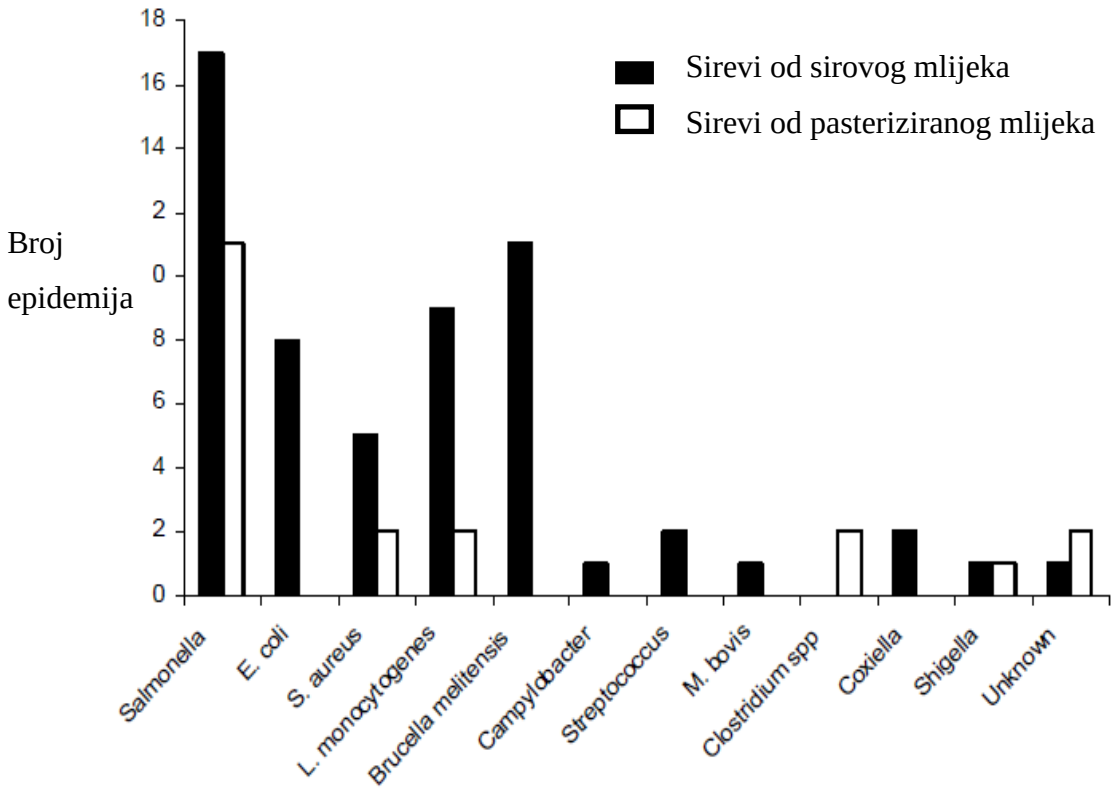
(Izvor: prilagođeno prema Condronu i sur, 2009 i Samaržija, 2013).

Kada ove bakterije prodru kroz sisni kanal u vime, automatski se povećava broj somatskih stanica kao odgovor na upalne procese. Ne samo da se narušava zdravlje životinje, već je i higijenska kvaliteta mlijeka umanjena kao i njegova tehnološka svojstva. Bakterije koje najčešće uzrokuju mastitis su: *Staphylococcus aureus, Streptococcus* spp. *(agalactiae, dysgalactiae, pyogenes i uberis), Listeria monocytogenes i E.coli.Salmonella* spp. i termorezistentni *Campylobacter* spp. su najčešće izolirane bakterije s površine vimena (Chambers, 2002). Neki sojevi *S.aureus* mogu stvarati termostabilne enterotoksine koji uzrokuju trovanje hranom. Za tvorbu enterotoksina potreban je velik početni broj bakterija u mlijeku. Međutim, tvorba enterotoksina može biti smanjena primjenom niske temperature pohrane mlijeka, pasterizacije, niskim pH i antagonističkim komponentama koje stvaraju bakterije mliječne kiseline. Bakterije iz porodice *Enterobacteriaceae* su široko prisutne u prirodi. Mlijeko se njima obično kontaminira fecesom, preko ljudi, vodom i prašinom. Uobičajene temperature pasterizacije mlijeka ih uništavaju, ali uvijek postoji rizik od neadekvatne pasterizacije ili naknadne kontaminacije. *Campylobacter jejuni* rijetko kontaminira mlijeko ali se mlijeko tom bakterijskom vrstom može kontaminirati nakon sekrecije fecesom uprljanog vimena i sisa te preko aparata za mužnju. Između patogenih bakterija *C.jejuni* je osjetljivija na toplinu, pH ≤5, koncentraciju kisika u mediju (zahtjeva približno 5%) i dehidraciju. Zbog toga se ta bakterija relativno brzo inaktivira tehnološkim

postupcima koji se koriste u mljekarskoj industriji (Samaržija, 2013). *Listeria monocytogenes* je široko prisutna u prirodi te ima sposobnost kolonizacije, razmnožavanja i preživljavanja u proizvodnim pogonima mljekarske industrije i do nekoliko mjeseci. Zbog toga, predstavlja stalnu potencijalnu opasnost za moguću kontaminaciju mlijeka tijekom prerade. U uvjetima dobre proizvođačke prakse, bakterije *Listeria* spp. u sirovom mlijeku uvijek su prisutne u 3% do 5% slučajeva, ali njihov broj ne prelazi 10 cfu mL^{-1}. Međutim, povišenjem temperature hlađenja mlijeka iznad 4°C i produženom pohranom (4-10 dana), broj bakterija će se povećati za 1000 puta (Samaržija, 2013). Bakterija *L. monocytogenes* uzročnik je bolesti listerioze, od koje prema dostupnim podacima ljudi rijetko obolijevaju, ali je smrtnost uzrokovana infekcijom te patogene bakterije i do 40%. Sporotvorne bakterije *Bacillus* spp. i *Clostridium* spp. zbog svojih psihrotrofnih svojstava mogu rasti i na temperaturama od 4°C i biti uzročnici kvarenja mlijeka. Ali zbog slabe kompetitivne sposobnosti rasta s ostalim uzročnicima kvarenja, njihova pojavnost u malom broju u mlijeku ne predstavljaju opasnost za čovjeka (Samaržija, 2013). U odnosu na ostale patogene bakterije *Bacillus* spp. i *Clostridium* spp. mogu preživjeti pasterizaciju mlijeka i tvoriti toksine koji mogu uzrokovati dugotrajne posljedice na ljudski organizam.

3.3. Patogene bakterije u siru

Neovisno o vrsti, svi sirevi mogu biti prikladni za rast patogenih bakterija, premda se sadržajem vode, soli, pH vrijednosti i ostalim sastojcima međusobno znatno razlikuju (Samaržija, 2013). Patogenim bakterijama sir se može kontaminirati izravno preko sirovog mlijeka, tijekom cijelog proizvodnog procesa i naknadnom kontaminacijom. U odnosu na mlijeko, sir je puno rjeđe uzrok bolesti odnosno trovanja ljudi. Usporedba epidemija povezanih sa sirevima od pasteriziranog i sirovog mlijeka u razdoblju od 1973-2006 prikazana je u slici 8. Kao glavni razlozi trovanja sirom navedeni su slaba aktivnost mljekarske kulture, loša higijena u proizvodnom procesu, naknadna kontaminacija i neispravna pasterizacija.



Slika 8. Najčešći uzročnici trovanja sira od 1973-2006. (Izvor: Condron i sur., 2009)

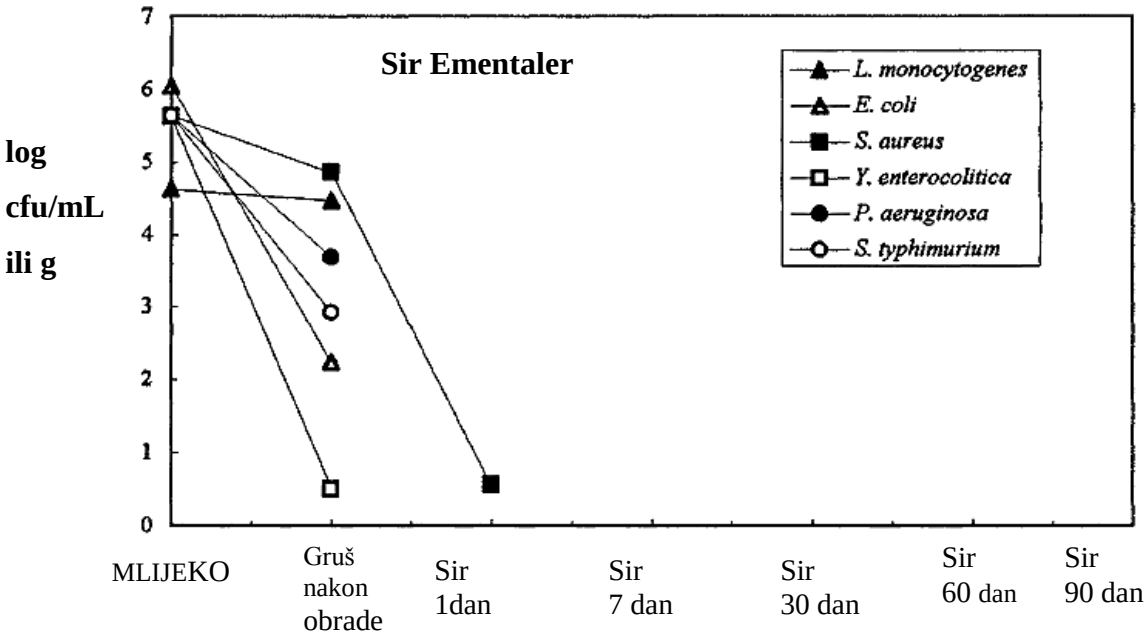
Najčešći uzročnici trovanja sireva od pasteriziranog i sirovog mlijeka su *Salmonella* spp. *Escherichia coli, Staphylococcus aures* i *Listeria monocytogens*. U odnosu na ostale vrste sireva, meki sirevi (sirevi s plemenitim plijesnima, sirevi s „mazom“ na površini sira, sirevi u salamuri i meki sirevi koji ne zriju) predstavljaju veći rizik za rast i preživljavanje patogenih bakterija zbog visokog sadržaja vlage, pH i soli. U tablici 5 su prikazane fizikalno-kemijske karakteristike pojedinih vrsta sireva. Velik utjecaj na rast patogenih bakterija također mogu imati i tehnološke faze u proizvodnji sira poput pasterizacije, dodataka mljekarske kulture, soljenja, obrada gruša i zrenja.

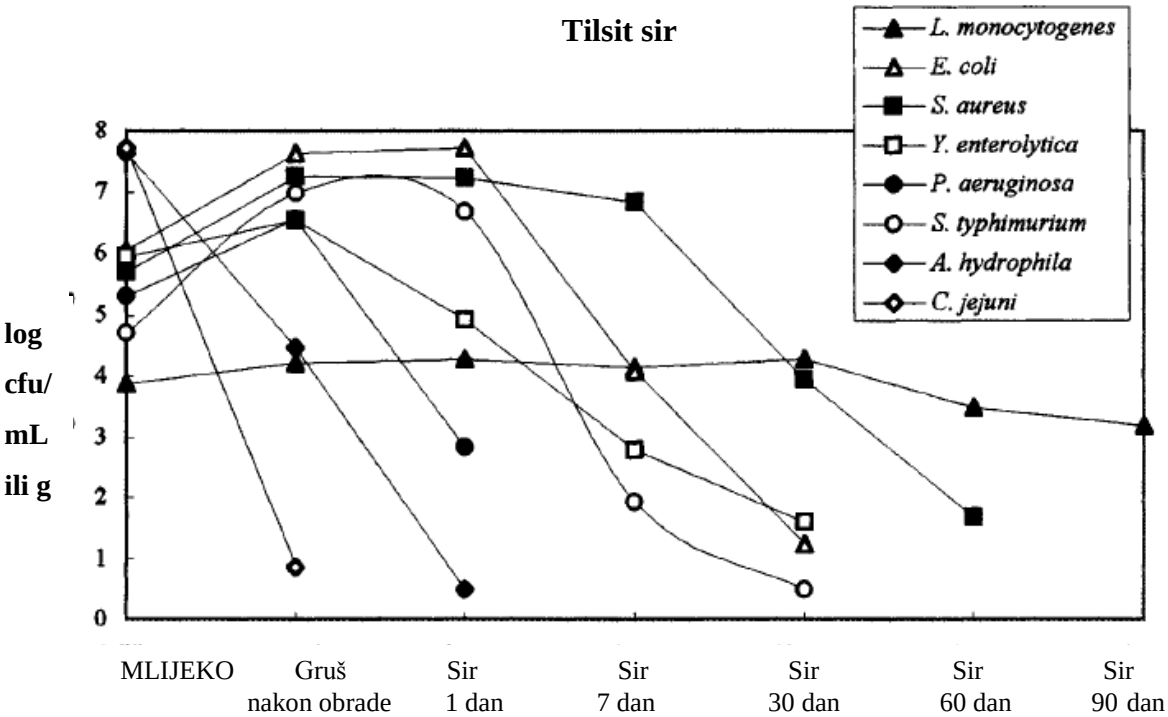
Tablica 5. Fizikalno- kemijske karakteristike pojedinih vrsta sireva

Sir	Vlaga (%)	pH	a_w	Sol (%)
Domiati	60 – 65	6,0 – 6,5	0,97 – 0,99	5-8
Feta	58	4,4	0,97 – 0,99	4
Camembert	50 – 54	6,3 – 6,9	0,98	1,5
Roquefort	40 – 46	6,4	0,97	4-5
Emmentaler	35 - 37	5,6	0,97	1,2
Cheddar	36 – 38	5,5	0,96	2,8

(Izvor: Prilagođeno prema Condronu i sur., 2009 i Tratnik i sur., 2012).

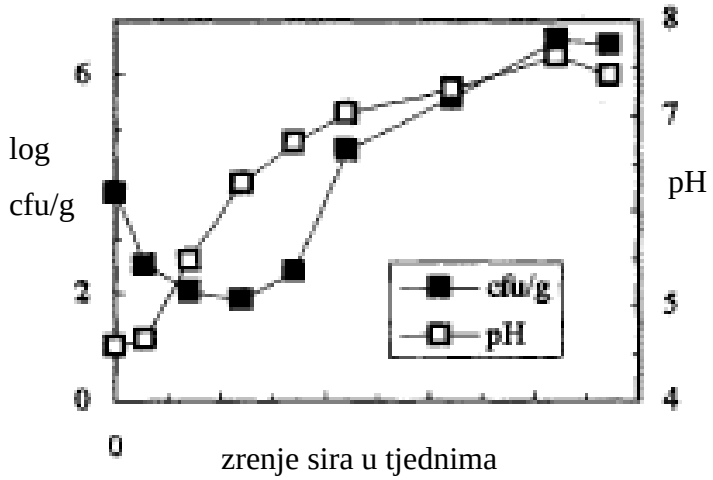
Kombinacija temperatura vrijeme obrade gruša u proizvodnji tvrdih sireva na temperaturi od 54 °C/50 min će uništiti gotovo sve patogene bakterije osim sporotvornih bakterija. U proizvodnji mekih sireva temperature obrade gruša su niže (oko 35 °C) pa su time i stvorene veće šanse za preživljavanje patogenih bakterija. Međutim, ako je mljekarska kultura aktivna doći će do brzog snižavanja pH vrijednosti te će rast patogena biti usporen ili zaustavljen (Fox i sur., 2000). Tijekom zrenja se odvijaju složene biokemijske promjene koje mogu utjecati i na redukciju nepoželjne mikrobne populacije. Što se zrenje duže i pravilno odvija, šanse za preživljavanje patogenih bakterija će biti male. Zrenje tvrdih sireva može trajati do godinu dana, sireva s „mazom“ 1-5 mjeseci a sireva u salamuri do mjesec dana i duže (Tratnik i sur., 2012). Na slici 10 je prikazan rast bakterija *L. monocytogenes, E. coli, S. aureus, Y. enterocolitica, P. aeruginosa, S. typhimurium, Aeromonas hydrophila* i *Campylobacter jejuni* u siru Emmentaleru i Tilsitu tijekom zrenja.


Sir Ementaler
log cfu/mL ili g
L. monocytogenes
E. coli
S. aureus
Y. enterocolitica
P. aeruginosa
S. typhimurium
0
1
2
3
4
5
6
7
MLIJEKO
Gruš nakon obrade
Sir 1dan
Sir 7 dan
Sir 30 dan
Sir 60 dan
Sir 90 dan


Tilsit sir
log cfu/ mL ili g
L. monocytogenes
E. coli
S. aureus
Y. enterolytica
P. aeruginosa
S. typhimurium
A. hydrophila
C. jejuni
0
1
2
3
4
5
6
7
8
MLIJEKO
Gruš nakon obrade
Sir 1 dan
Sir 7 dan
Sir 30 dan
Sir 60 dan
Sir 90 dan

Slika 10. Rast bakterija *L. monocytogenes, E. coli, S. aureus, Y. enterocolitica, P. aeruginosa, S. typhimurium, Aeromonas hydrophila* i *Campylobacter jejuni* u siru Emmentaleru i Tilsitu tijekom zrenja (Izvor: Fox i sur., 2000).

Navedeni rezultati pokazuju da sir Ementaler nije pogodan za rast patogenih bakterija. Ementaler pripada skupini tvrdih sireva u čijoj se proizvodnji primjenjuju visoke temperature obrade gruša i dugotrajno zrenje na višim temperaturama. Sir Tilsit pripada skupini polutvrdih sireva te je podložniji za rast patogenih bakterija. Sve patogene bakterije mogu preživjeti proces proizvodnje Tilsit sira osim *C.jejuni* i *A.hydrophilla*. U odnosu na tvrde sireve, *L.monocytogenes* može preživjeti duže od 90 dana tijekom zrenja u polutvrdim sirevima. *L.monocytogenes* može rasti u širokom temperaturnom rasponu od -1 - 45°C pa je zbog toga u mogućnosti preživjeti proces proizvodnje mekih sireva i zrenje. Papageorgieu i sur. (1989.) istraživali su sposobnost rasta *L.monocytogenes* tijekom proizvodnje i zrenja plavih sireva i Fete. Dokazali su da *L.monocytogenes* može rasti u Feta siru tijekom 90 dana pohrane na temperaturi 4°C i pH iznad 4,3. U drugim studijama vezano za rast te bakterije u bijelim mekim sirevima, dokazano je da *L.monocytogenes* može preživjeti 118 dana u salamuri koja sadrži 65 g/L NaCl. Također, ta bakterija može preživjeti i proces proizvodnje plavih sireva ali ne i zrenje jer plijesan *Penicillium roqueforti* stvara bakteriocine prema *L.monocytogenes* te sprečavaju njen rast ali ne i preživljavanje. U Camembert siru može preživjeti proces proizvodnje a najveći rast je zabilježen u osmom tjednu zrenja kada je pH neutralan (slika 12).

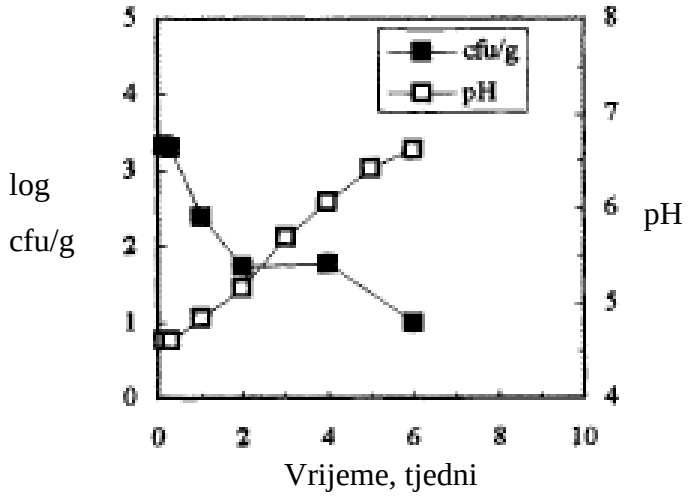


Slika 12. Rast *L.monocytogenes* u Camembert siru tijekom zrenja (Izvor: Fox i sur., 2000).

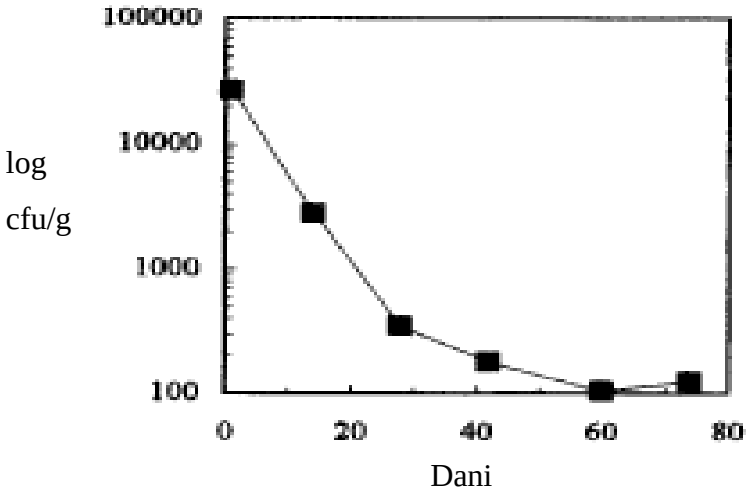
Sposobnost preživljavanja *L.monocytogenes,* ovisno o vrsti sira je između 0, 5-10%. Osim toga, *L. monocytogenes* može rasti na površini sira i kada je temperatura pohrane sira ≥2,5°C (Samaržija, 2013). Bakterija *S.aureus* je najčešći uzročnik mastitisa te je gotovo uvijek prisutna u sirovom mlijeku. U odnosu na ostale patogene bakterije koje mogu kontaminirati sir, *S.aureus* podnosi najniži a_w (a_w minimum: 0,83-0,86) i vrlo visoke koncentracije soli (15-20%). Početna faza proizvodnje tvrdih i polutvrdih sireva može predstavljati idealan medij za rast *S.aureus* a nakon tridesetog dana zrenja nije detektirana njegova prisutnost neovisno o početnoj razini kontaminacije mlijeka ili sirnog gruša. Povećani rizik za *S.* a*ureus* uvjetuje i neaktivna kultura koja može gubiti aktivnost zbog ostatka antibiotika ili kontaminacije kulture bakteriofagima te je tada stvaranje mliječne kiseline u mlijeku usporeno ili potpuno zaustavljeno (Samaržija, 2013). Ako je u sirovom mlijeku prisutan velik broj *S.aureus,* tada postoji mogućnost stvaranja stafilokoknih enterotoksina koji mogu izazvati rizik za zdravlje potrošača. Međutim, trovanje bakterijom *S.aureus* može biti zanemarivo ako se provodi kontrola zdravstvenog stanja muznih životinja te higijenskih postupaka tijekom mužnje i pohrane mlijeka. U svježem siru nije zabilježen rast *S.aureus* zbog brzog stvaranja mliječne kiseline i niskog pH kao ni u topljenim i pasta filata sirevima zbog korištenja visokih temperatura obrade sirnog gruša (Samaržija, 2013).

S*almonella* spp. i *E.coli* O157: H7 mogu rasti u mekim sirevima do momenta snižavanja pH vrijednosti, temperature te dodatka soli sa povišenim postotkom vlage i gdje se koriste niske temperature obrade sirnog gruša. *Salmonella* spp. mogu kontaminirati sir naknadnom kontaminacijom ako proizvodnja sira nije valjano kontrolirana. Ako je proizvodnja mliječne kiseline spora, *Salmonella* spp mogu preživjeti proces proizvodnje i ostati aktivne više od 60 dana u Cheddar siru (Fernandes, 2008). *Salmonella typhi* može preživjeti 34 dana u Domiati siru koji sadrži 50 g L^{-1} NaCl a ako je sadržaj NaCl veći od 100 g/L tada ne može preživjeti duže od 16 dana.Patogena *E.coli* također može rasti na početku proizvodnje tvrdih sireva ali ne preživljava pasterizaciju, visoke temperature dogrijavanja gruša (55°C/15-20 min) te duže zrenje a osim toga može preživjeti i proces proizvodnje Feta sira te prvih 10 dana zrenja (Condron i sur., 2009). Rast patogene *E.coli* tijekom zrenja Camembert i Cheddar sira prikazan je na slici 13.

a)



b)



Slika 13. Rast patogene*E.coli* tijekom zrenja a) Camembert sira i b) Cheddar sira (Izvor: Fox i sur., 2000).

Maksimalni rast te bakterije zabilježen je na početku zrenja obje vrste sira. Kasnije, tijekom zrenja Cheddar sira rast patogene *E.coli* se usporava, a nakon dva mjeseca zrenja potpuno prestaje. Međutim, u nekim drugim istraživanjima potvrđeno je preživljavanje patogene *E.coli* i nakon 60 dana zrenja Cheddar sira.

U smislu zdravstvene kontrole i sprječavanja kontaminacije sira patogenim bakterijama postoje brojne preventivne mjere od kojih se ni jedna ne smije izostaviti. Za bakterije vrsta *Staphylococcus aureus, Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* i *Escherichia coli* 0157:H7 koje su najčešće izolirane iz sira, pasterizacija mlijeka je najefikasnija zdravstvena mjera u eliminaciji moguće infekcije (Samaržija, 2013). Kako bi se proizveo zdravstveno ispravan sir, važna je kvaliteta sirovog mlijeka. Stoga je u proizvodnji mlijeka potrebno provođenje striktnih higijenskih mjera tijekom i nakon mužnje te redovita kontrola muznih životinja. Mlijeko se odmah nakon mužnje treba pohraniti na niskim temperaturama (4°C) te u što kraćem roku preraditi u sir.

4. ZAKONSKI PROPISI U PROIZVODNJI MLIJEKA I SIRA

Ulaskom Republike Hrvatske 2013 godine u Europsku uniju Uredbe vijeća EU u području sigurnosti hrane su postale obvezujuće. Stoga je RH izradila opći zakonodavni okvir u području sigurnosti hrane u svrhu provedbe uredbi EU te osiguranja pravnog temelja za donošenje pravilnika, naredbi i naputaka koje će biti potrebno donijeti za prijenos i provedbu pravno obvezujućih akata EU. Provedba spomenutih uredbi EU je osigurana kroz pet zakona: Zakon o hrani („Narodne novine", br. 81/13), Zakon o higijeni hrane i mikrobiološkim kriterijima za hranu („Narodne novine", br. 81/13 i 14/14), Zakon o veterinarstvu („Narodne novine", br. 82/13 i 148/13), Zakon o službenim kontrolama koje se provode sukladno propisima o hrani, hrani za životinje, o zdravlju i dobrobiti životinja („Narodne novine", br. 81/13 i 14/14). Zakonom o hrani u potpunosti je osigurana provedba Uredbe (EZ) br. 178/2002 i drugih relevantnih propisa EU. Zakonom o higijeni hrane i mikrobiološkim kriterijima za hranu osigurana je provedba Uredbe (EZ) br. 852/2004 i Uredbe (EZ) br. 2073/2005, kao i drugih relevantnih uredbi EU. Provedba Uredbe (EZ) br. 853/2004 i Uredbe (EZ) br. 854/2004, uz druge relevantne propise EU, osigurana je Zakonom o veterinarstvu. Provedba Uredbe (EZ) br. 882/2004, kao i provedba drugih relevantnih odluka Europske komisije, osigurana je Zakonom o službenim kontrolama koje se provode sukladno propisima o hrani, hrani za životinje, o zdravlju i dobrobiti životinja (Mini vodič za poslovnu Hrvatsku, 2015).

4.1. Higijenski paket

"Higijenski paket" je skup Uredbi koje se primjenjuju na području EU od 2006. godine. Time su Uredbe EU 852/2004, 853/ 2004, 854/2004, 882/2004 stupile na snagu i u Republici Hrvatskoj. Higijenski paket čine četiri propisa: Pravilnik o higijeni hrane, Pravilnik o higijeni hrane životinjskog porijekla, Pravilnik o službenim kontrolama hrane životinjskog porijekla i Pravilnik o službenim kontrolama koje se provode radi verifikacije postupanja u skladu s odredbama propisa o hrani i hrani za životinje te propisa o zdravlju i zaštiti životinja (Hadžiosmanović i sur, 2014).

4.1.1. Pravilnik o higijeni hrane

Pravilnik propisuje opća pravila o higijeni hrane za subjekte u poslovanju hranom, sadrži popis stručnih pojmova te propisuje obveze subjekata u poslovanju s hranom, izradu nacionalnih vodiča za dobru higijensku praksu, što sve uključuje načela higijene u primarnoj proizvodnji, subjekata u poslovanju s hranom i njihove obaveze. Među obavezama subjekata koji posluju s hranom (proizvođači, prerađivači, distributeri) ističe se uspostavljanje, provođenje i održavanje sustava HACCP koji je temeljni alat u osiguranju zdravstvene ispravnosti hrane. Njegova implementacija podrazumijeva cjelovit pristup, punu suradnju i angažiranost svih subjekata u prehrambenom sektoru Tako su subjekti u poslovanju s hranom dužni čistiti i dezinficirati sve prostorije, opremu i radne površine u doticaju s hranom te poduzimati sve mjere za kontrolu kontaminacije koja dolazi iz zraka, tla, vode, hrane za životinje, lijekova i drugih sredstava. Dužni su osiguravati higijenske uvjete tijekom proizvodnje, skladištenja i prijevoza hrane. Sve osobe u kontaktu s hranom moraju voditi računa o osobnoj higijeni te proći edukaciju o rukovanju hranom i rizicima za zdravlje. Osim toga, dužni su provoditi mjere vezane uz zdravlje i dobrobit životinja te propisane mjere za pravilno skladištenje otpada kako bi se spriječila daljnja kontaminacija. Subjekti u poslovanju s hranom koji se bave uzgojem životinja ili koji proizvode primarne proizvode životinjskog podrijetla moraju obvezno voditi evidencije o: vrsti i podrijetlu hrane kojom su hranjene životinje, veterinarskim lijekovima i veterinarsko-medicinskim proizvodima ili drugim vrstama liječenja kojima su bile podvrgnute životinje, datumu primjene lijekova odnosno liječenja i karenciji, pojavama bolesti koje mogu utjecati na zdravstvenu ispravnost proizvoda životinjskog podrijetla, rezultatima svih analiza koje su obavljene na uzorcima uzetim od životinja ili drugim uzorcima u dijagnostičke svrhe koji su važni za zdravlje ljudi te svim relevantnim izvješćima o obavljenim pregledima životinja ili proizvoda životinjskog podrijetla (Hadžiosmanović, 2014).

4.1.2. Pravilnik o higijeni hrane životinjskog porijekla

Ovim se Pravilnikom utvrđuju posebna pravila o higijeni hrane životinjskog podrijetla kojih se moraju pridržavati subjekti u poslovanju s hranom. Ta pravila nadopunjuju ona koja su

propisana odredbama Pravilnika o higijeni hrane. Ona se primjenjuju na neprerađene i prerađene proizvode životinjskog podrijetla. Između ostalog, Pravilnikom su regulirani zdravstveni zahtjevi za proizvodnju sirovog mlijeka i kolostruma te su propisane higijenske mjere za proizvodnju mlijeka vezane uz higijenu prostora i opreme, higijenu tijekom mužnje, sakupljanja i transporta te higijena osoblja. Tako, sirovo mlijeko i kolostrum moraju potjecati od životinja: koje ne pokazuju simptome zaraznih bolesti prenosivih na ljude putem mlijeka i kolostruma, koje su dobrog općeg zdravstvenog stanja, ne pokazuju znakove bolesti, koje ne pate od infekcije spolnog sustava popraćene iscjetkom, enteritisa popraćenog proljevom i temperaturom ili od prepoznatljive upale vimena, koje nemaju nikakve ozljede vimena koje bi mogle utjecati na mlijeko i kolostrum, kojima nisu davane nedopuštene tvari ili proizvodi i koje nisu bile podvrgnute nikakvom obliku nedopuštenog liječenja u smislu Pravilnika o mjerama za monitoring određenih tvari i njihovih rezidua u živim životinjama i proizvoda životinjskog podrijetla. Vezanu uz brucelozu i tuberkulozu, mlijeko mora potjecati od krava, ovaca ili koza koje pripadaju stadu slobodnom ili službeno slobodnom od bruceloze i tuberkuloze. Oprema za mužnju te prostori u kojima se mlijeko i kolostrum skladište, njima rukuje ili se hlade, moraju biti tako smješteni i izgrađeni da se ograniči opasnost od kontaminacije mlijeka i kolostruma. Površine opreme koje dolaze ili mogu doći u dodir s mlijekom i kolostrumom (pribor, spremnici, cisterne, itd. namijenjeni za mužnju, sakupljanje ili prijevoz) moraju se lako čistiti i, prema potrebi, dezinficirati te održavati u dobrom stanju. Stoga se moraju upotrebljavati glatki, perivi i neotrovni materijali. Mužnja se mora obavljati na higijenski način, pri čemu se mora osigurati: da prije početka mužnje sise, vime i okolni dijelovi budu čisti, da mlijeko i kolostrum svake životinje bude pregledano, kako bi se utvrdile organoleptičke ili fizikalno-kemijske anomalije, te da mlijeko i kolostrum koji pokazuju te anomalije ne budu upotrijebljeni za prehranu ljudi, da se sredstva u koja se uranjaju ili kojim se peru sise upotrebljavaju samo ako ih je odobrilo nadležno tijelo u skladu s posebnim propisom. Odmah nakon mužnje, mlijeko i kolostrum moraju se držati na čistom mjestu koje je tako izvedeno i opremljeno da se izbjegne svaka kontaminacija. Mlijeko se, u slučaju svakodnevnog sakupljanja, mora odmah ohladiti do temperature ne više od 8°C, ili ne više od 6°C ako se sakupljanje ne obavlja svakodnevno. Tijekom prijevoza se mora održavati hladni lanac i pri dolasku u odredišni objekt temperatura mlijeka i kolostruma ne smije biti viša od 10°C. Osobe koje obavljaju mužnju i/ili rukuju sirovim mlijekom i kolostrumom moraju nositi odgovarajuću čistu odjeću te održavati visoki stupanj higijene. Pravilnikom su također regulirani kriteriji za sirovo mlijeko u pogledu broja

mikroorganizama i somatskih stanica, zahtjevi za temperaturu, pakiranje i ambalažiranje te označavanje i deklariranje mlijeka i mliječnih proizvoda (Hadžiosmanović, 2014).

4.1.3. Pravilnik o službenim kontrolama hrane životinjskog porijekla

Ovim Pravilnikom utvrđuju se posebna pravila organizacije i provedba službenih kontrola hrane životinjskog podrijetla te se primjenjuju uz odredbe Pravilnika o službenim kontrolama koje se provode radi verifikacije postupanja u skladu s odredbama propisa o hrani i hrani za životinje, te propisa o zdravlju i zaštiti životinja. Njime su obuhvaćeni i postupci pri uvozu i izvozu u ukupnoj animalnoj proizvodnji. Nadležno tijelo provodi službene kontrole kako bi verificiralo ispunjavaju li subjekti u poslovanju s hranom zahtjeve određene: Pravilnikom o higijeni hrane, Pravilnikom o higijeni hrane životinjskog podrijetla i Pravilnikom o načinu postupanja s nusproizvodima životinjskog podrijetla koji nisu za prehranu ljudi. Službene kontrole obuhvaćaju: reviziju dobre higijenske prakse i postupaka vezanih uz primjenu načela koja se temelje na sustavu analize opasnosti i kritičnih kontrolnih točaka (u daljnjem tekstu: HACCP). Revizijom dobre higijenske prakse verificira se da li subjekti u poslovanju s hranom stalno i pravilno primjenjuju postupke koji se odnose najmanje na sljedeće: kontrolu podataka o lancu prehrane, izvedbu i održavanje prostora i opreme, higijenu prije, tijekom i nakon rada, osobnu higijenu osoblja, izobrazbu u području higijene i radnih postupaka, suzbijanje štetočina, kakvoću vode, kontrolu temperature, kontrolu hrane koja se doprema u objekt i otprema iz objekta te kontrolu prateće dokumentacije. Revizijom postupaka koji se temelje na načelima HACCP-a verificira se primjenjuju li subjekti u poslovanju s hranom postupke stalno i pravilno. Proizvodi životinjskog podrijetla moraju udovoljavati propisanim mikrobiološkim kriterijima te propisima koji se odnose na rezidue, kontaminante i zabranjene tvari. Životinje na gospodarstvima za proizvodnju mlijeka i kolostruma podvrgavaju se službenim kontrolama kojima se verificira sukladnost sa zahtjevima za proizvodnju sirovog mlijeka i kolostruma, a naročito zdravstveno stanje životinja i uporaba veterinarskih lijekova. Te službene kontrole mogu uključivati veterinarske preglede i/ili monitoring kontrola koje obavljaju stručne organizacije. Ukoliko se pokaže da je higijena nezadovoljavajuća, nadležno tijelo provjerava poduzimaju li se potrebne mjere kako bi se stanje popravilo (Hadžiosmanović, 2014).

4.1.4. Pravilnik o službenim kontrolama koje se provode radi verifikacije postupanja u skladu s odredbama propisa o hrani i hrani za životinje te propisa o zdravlju i zaštiti životinja

Ovim Pravilnikom utvrđuju se opća pravila provedbe službenih kontrola kojima se verificira udovoljavanje odredbama propisa koji uređuju: sprječavanje, uklanjanje ili smanjivanje, na prihvatljive razine, rizika za zdravlje ljudi i životinja, izravno ili putem okoliša i osiguranje pravedne prakse u prometu hranom i hranom za životinje, te zaštite interesa potrošača, uključujući označavanje hrane i hrane za životinje i ostalih oblika informacija za potrošače. Službene kontrole moraju se provoditi redovito, na temelju analize rizika i s odgovarajućom učestalosti, kako bi se postigli ciljevi ovog Pravilnika, Zakona o hrani i Zakona o veterinarstvu uzimajući u obzir: utvrđene rizike povezane sa životinjama, hranom ili hranom za životinje, poslovanjem s hranom ili hranom za životinje, upotrebom hrane ili hrane za životinje ili bilo kojim procesom, materijalom, tvari, aktivnosti ili postupkom koji mogu utjecati na sigurnost hrane ili hrane za životinje, na zdravlje ili dobrobit životinja, dokumentaciju o ranijem postupanju subjekata u poslovanju s hranom ili hranom za životinje o udovoljavanju propisima o hrani ili hrani za životinje, o zdravlju i zaštiti životinja, pouzdanost vlastitih provjera/samokontrola koje su već provedene te informacije koje bi mogle ukazivati na nesukladnost. Službene kontrole moraju se provoditi u svim fazama proizvodnje, prerade i distribucije hrane ili hrane za životinje, i na životinjama i proizvodima životinjskog podrijetla. Pravilnikom se propisuju programi kontrole Europske unije u državama članicama i trećim zemljama. Također su obuhvaćeni uvjeti uvoza, edukacija osoba koje obavljaju kontrolu i provedbene mjere (Hadžiosmanović i sur., 2014).

4.2. Pravilnik o kakvoći svježeg sirovog mlijeka

Ovim se Pravilnikom propisuju zahtjevi kojima u pogledu kakvoće mora udovoljavati svježe sirovo mlijeko (u daljnjem tekstu: sirovo mlijeko) pri otkupu, način ispitivanja njegove kakvoće i uvjeti koje moraju ispunjavati ovlašteni i referentni laboratorij za ispitivanje kakvoće sirovog mlijeka. Prema Pravilniku o kakvoći svježeg sirovog mlijeka, mlijeko mora sadržavati najmanje 3,2% mliječne masti, najmanje 3,0% bjelančevina, najmanje 8,5% suhe tvari bez masti, da mu je gustoća od 1,028 do 1,034 g/cm^3 na temperaturi od 20ºC, i da mu je stupanj kiselosti od 6,6 do 6,8ºSH, a pH vrijednost od 6,5 do 6,7. Mora imati svojstven izgled, boju i miris. Sirovo mlijeko mora najkasnije dva sata nakon mužnje biti ohlađeno na

temperaturu do najviše 6° C. Također ne smije sadržavati rezidue iznad dozvoljene količine koje imaju farmakološko ili hormonalno djelovanje te antibiotike, pesticide, detergente i druge štetne tvari koje mijenjaju organoleptička svojstva mlijeka. Dozvoljene količine rezidua i štetnih tvari propisane su posebnim veterinarsko zdravstvenim propisima. Sirovo mlijeko ne smije sadržavati mehaničke nečistoće niti sadržavati dodane količine vode. Također su utvrđeni kriteriji (tablica 6) za ukupan broja mikroorganizama i broj somatskih stanica u 1 mL sirovog kravljeg, te ovčjeg i kozjeg mlijeka a one iznose:

Tablica 6: Utvrđeni kriteriji za kravlje, ovčje i kozje mlijeko

Vrsta mlijeka	Broj mikroorganizama/mL	Broj somatskih stanica/ mL
Kravlje mlijeko	≤ 100.000	≤ 400.000
Ovčje i kozje mlijeko	≤ 1 500 000	-

(Izvor: Pravilnik o kakvoći svježeg sirovog mlijeka NN 102/00)

Broj bakterija u mlijeku veći od 100 000 mL pokazatelj je ozbiljnih pogrešaka tijekom i nakon mužnje. U većini zemalja određivanje ukupnog broja bakterija provodi se radi svrstavanja mlijeka u određeni bakteriološki razred, na osnovi kojeg se korigiraju cijene mlijeka (tablica 7).

Tablica 7. Klase mikrobiološke kakvoće sirovog mlijeka

Klasa	Broj/mikroorganizama/mL
E	50 000
I	51 000 – 100 000
II	101 000 -400 000
III	➢ 400 000

(Izvor: Pravilnik o kakvoći svježeg sirovog mlijeka NN 102/00)

Uzimanje uzoraka provodi osposobljena osoba jednom mjesečno metodom slučajnog izbora pri čemi se uzimaju dva uzorka za utvrđivanje udjela mliječne masti, dva za utvrđivanje udjela bjelančevina, jedan za utvrđivanje broja mikroorganizama, jedan za utvrđivanje broja somatskih stanica, jedan za utvrđivanje točke ledišta i jedan za utvrđivanje pojave rezidua (NN 102/00).

4.3. Pravilnik o mikrobiološkim kriterijima za hranu

Ovim Pravilnikom su utvrđeni mikrobiološki kriteriji za određene mikroorganizme i pravila kojima moraju udovoljavati subjekti u poslovanju s hranom. Pomoću njih možemo provjeriti, jesu li ispunjeni zahtjevi dobre proizvođačke i higijenske prakse te HACCP sustava u proizvodnji hrane, pri rukovanju hranom i njenom plasiranju na tržište. Subjekti u poslovanju s hranom u svakoj fazi proizvodnje, prerade i distribucije, uključujući maloprodaju, moraju poduzimati mjere, koje se temelje na HACCP načelima zajedno s provedbom dobre higijenske prakse. Korištenje mikrobioloških kriterija trebao bi biti sastavni dio provedbe postupaka temeljenih na HACCP načelima i drugih higijenskih kontrolnih mjera. Osim toga, mikrobiološki kriteriji mogu se koristiti za validaciju i verifikaciju HACCP postupaka te drugih higijenskih kontrolnih mjera (Havranek i Đugun, 2014). Tako su za svu hranu među kojom su mlijeko i mliječni proizvodi određeni kriteriji za *Salmonella spp, Listeriu monocytogenes, Staphylococcus aureus, Enterobacteriaceae*, sulfitreducirajuće klostridije, aerobne mezofilne bakterije a za određene proizvode kvasci i plijesni. Kao primjer su u tablici 8 prikazani preporučeni mikrobiološki kriteriji za sirovo mlijeko namijenjeno konzumaciji bez prethodne toplinske obrade i za tvrde sireve.

Tablica 8: Preporučeni mikrobiološki kriteriji za sirovo mlijeko

	Preporuceni parametri	**Plan uzorkovanja**		**Kriteriji**
		n	**c**	
SIROVO MLIJEKO NAMIJENJENO KONZUMACIJI BEZ PRETHODNE TOPLINSKE OBRADE	*Salmonella* spp.	5	0	n.n. u 25 mL
	Listeria monocytogenes	5	0	n.n. u 25 mL
	Koagulaza pozitivni stafilokoki / *Staphylococcus aureus*	5	1	m=10 cfu/mL M=10^2 cfu/mL
	Enterobacteriaceae	5	1	m=10 cfu/mL M=10^2 cfu/mL
	Sulfitreducirajuće klostridije	5	2	m=10 cfu/mL M=10^2 cfu/mL
	Aerobne mezofilne bakterije	5	1	m=10^4 cfu/mL M=10^5 cfu/mL
TVRDI SIREVI	*Salmonella* spp.	5	0	M= 0 cfu/ 25 g
	Listeria monocytogenes	5	0	M= 0 cfu/ 25 g
	Koagulaza pozitivni stafilokoki / *Staphylococcus aureus*	5	2	m=1 cfu/g M=10 cfu/g
	Escherichia coli	5	1	m=1 cfu/g M=10 cfu/g
	Sulfitreducirajuce klostridije	5	1	m=1 cfu/g M=10^2 cfu/g
	Salmonella spp.	5	0	M= 0 cfu/ 25 g

(Izvor: Pravilnik o mikrobiološkim kriterijima za hranu)

*n-broj elementarnih jedinica uzorka koji čine uzorak

*c- broj jedinica uzorka, gdje se broj bakterija može nalaziti između "m" i "M", pri čemu se uzorak smatra prihvatljivim, ukoliko je broj bakterija u ostalim jedinicama uzoraka "m" ili manje od "m"

*n.n.- nije nađeno

*m-granična vrijednost ispod koje se svi rezultati smatraju zadovoljavajućim

*M- granična dopuštena vrijednost iznad koje se rezultati smatraju ne zadovoljavajućim. Ukoliko samo jedan rezultat nadilazi tu vrijednost, uzorak je nezadovoljavajući.

4.4. HACCP

Kontrola procesa proizvodnje ili HACCP (engl. Hazard Analysis and Control Critical Points) sustav je preventivnog pristupa osiguranju zdravstvene ispravnosti i sigurnosti namirnica koji se temelji na identifikaciji i analizi specifičnih opasnosti i utvrđivanju preventivnih mjera kojima se rizik proizvodnje i nastanka potencijalno opasne hrane uklanja ili svodi na prihvatljivu mjeru. U Republici Hrvatskoj HACCP standard propisan je Zakonom o hrani, Pravilnikom o zdravstvenoj ispravnosti vode za piće i Pravilnikom o provedbi obvezatnih mjera u odobrenim objektima radi smanjenja mikrobioloških i drugih onečišćenja mlijeka, mliječnih proizvoda i ostalih proizvoda životinjskog podrijetla namijenjenih prehrani ljudi. HACCP sustav je prihvaćen kao sustav upravljanja kojim se sigurnost hrane postiže analizom i kontrolom bioloških, kemijskih, fizikalnih i drugih opasnosti počevši od proizvodnje sirovina, nabave, rukovanja, prerade, distribucije, trgovine i konzumiranja gotovog proizvoda. To je interdisciplinarni sustav koji zahtijeva uključivanje stručnjaka iz različitih znanstvenih područja, a njegovi su principi trenutno osnova većine neslužbenih sustava za osiguranje kvalitete i sigurnosti hrane općenito. HACCP identificira rizike u proizvodnim procesima koji mogu dovesti do smanjenja sigurnosti i dizajnira mjere koje te rizike reduciraju na prihvatljivu razinu. Prednosti primjene ovog sustava su:smanjenje pojave bolesti izazvanih hranom, osigurava snabdijevanje stanovnika zdravstveno sigurnim prehrambenim proizvodima, omogućuje ispunjenje zahtjeva zakonske regulative i efikasniji inspekcijski nadzor, omogućava efektivniji i efikasniji rad prehrambenih tvrtki, povećava konkurentnost tvrtki na svjetskom tržištu, uklanja barijere internacionalne trgovine, omogućava efikasno uvođenje novih tehnologija i proizvoda te povećava profit. Preduvjetni programi HACCP sustava uključuju sustave: Dobre proizvođačke prakse (engl.GoodManufacturingPractice–GMP) i Dobre higijenske prakse (engl.Good Hygienic Practice-GHP), sustav standardnih operativnih postupaka (SOP), te sustav sljedivosti. Preduvjetni programi HACCP sustava se najčešće primjenjuju na razini primarne proizvodnje mlijeka i malim obiteljskim

gospodarstvima. Temelji se na sedam principa koji uključuju provedbu analize opasnosti, određivanje kritičnih kontrolnih točaka, uspostavu kritičnih granica, uspostavu nadzornih postupaka, uspostavu korektivnih mjera, uspostavu postupaka verifikacije te uspostavu zapisa i dokumenata (Omejec i Pejić Bach, 2007).

4.4.1. HACCP u proizvodnji sira

Aplikacija HACCP principa u proizvodnji sira se provodi kroz 12 koraka a prije aplikacije HACCP principa trebaju biti uspostavljeni preduvjetni programi dobre proizvođačke prakse (GMP) i dobre higijenske prakse (GHP) u objektu. Prvi korak u primjeni HACCP je uspostaviti HACCP tim koji obično sačinjavaju tehnolozi, mikrobiolozi, agronomi, veterinari, tehničari koji provode analize bilo sirovine ili poluproizvoda i gotovih proizvoda te nerijetko i operateri s pojedinih linija. Vrlo je bitno da se članovi HACCP tima prije daljnjih koraka educiraju o HACCP sustavu, kako bi mogli nesmetano provoditi daljnje radnje vezane uz implementaciju. Sljedeći korak je opisivanje proizvoda koji mora sadržavati informacije koje se odnose na sigurnost kao što su: kemijski sastav, fizikalna svojstva (uključujući aktivitet vode, pH, i drugo), način konzerviranja, pakiranje, uvjeti skladištenja, trajnost, metoda distribucije, upute za uporabu te mikrobiološke kriterije. Treći korak uključuje utvrđivanje namjene proizvoda i potrošačku skupinu. U posebnim slučajevima treba uzeti u obzir osjetljive skupine populacije, prvenstveno ako sir sadržava potencijalne alergene. Nakon toga, slijedi izrada dijagrama toka koji mora pokrivati sve korake u procesu proizvodnje sira (proizvodnja mlijeka na farmi, skladištenje mlijeka na sabiralištu, sakupljanje i transport mlijeka, skladištenje sirovog mlijeka u sirani, sirenje mlijeka, oblikovanje sira,soljenje, sušenje, zrenje sira). Vrši se potvrda dijagrama toka da se provjeri da li je dijagram kompletan kroz sve faze proizvodnje. Zatim se utvrđuju potencijalne opasnosti za koje postoji realno očekivanje da se pojave kod svakog koraka prema opsegu primarne proizvodnje, prerade, proizvodnje i distribucije do točke potrošnje te se razmatraju korektivne mjere. Biološke opasnosti predstavljaju patogeni mikroorganizmi iz roda *Salmonella* i ostale bakterije iz roda *Enterobacteriaceae, Listeria* ili bakterije koje imaju sposobnost stvaranja toksina kao što je npr. *Staphylococcus aureus*. Kemijske opasnosti mogu biti uzrokovane kontaminacijom sirovine (npr. pesticidi), antibioticima, ali i kontaminacijom tijekom procesa sanitacije. Fizičke opasnosti se mogu pojaviti u bilo kojoj fazi proizvodnje npr. staklo, metal, drvo,

plastika, štetočine i dr. Postavljanje kritičnih kontrolnih točaka kako bi se identificirana opasnost uklonila ili svela na prihvatljivi nivo uz pomoć dijagrama odluke. Kritične kontrolne točke u proizvodnji sira su primarna proizvodnja mlijeka (mužnja, hranidba, zdravstveno stanje životinja, higijena prostora i opreme) te faze u proizvodnji sira (pohrana mlijeka, sirenje mlijeka, obrada, soljenje, prešanje, zrenje, pakiranje). Tako naprimjer kontaminirano sirilo može uzrokovati slabu koagulaciju mlijeka, slabo cijeđenje gruša i uzrokovati rast nepoželjne mikrobne populacije. Korištenjem dijagrama odluke postavlja se niz logičnih pitanja za utvrđivanje kritičnih kontrolnih točaka koje se primjenjuju na svaku identificiranu opasnost u svakoj fazi proizvodnje.Stoga nakon što su KKT utvrđene, logičan slijed je dalje za svaku odrediti kritične granice, ciljanu vrijednost, način na koji se taj korak proizvodnog procesa nadzire i drži pod kontrolom te korektivne akcije koje je potrebno poduzeti u slučaju odstupanja. Tako se može reći da su kritične granice parametri koji odvajaju prihvatljivo od neprihvatljivog. Kritične granice obično se uspostavljaju na osnovi literaturnih podataka i na osnovi vlastitih iskustava iz proizvodne prakse. Kad su kritične granice uspostavljene, potrebno je osmisliti adekvatne načine nadziranja svakog procesa. Pritom nadzor podrazumijeva sva planirana promatranja i mjerenja na KKT radi potvrde da je proces pod kontrolom, tj. da ne dolazi do prekoračenja ciljnih razina, tolerancije ili kritičnih granica. Kod uspostavljanja nadzora potrebno je dati informacije o tome tko provodi nadzor, kako, kada i koliko često. Nakon uspostavljanja nadzora potrebno je utvrditi i korektivne mjere za svaku kritičnu kontrolnu točku. Korektivna mjera po potrebi mora navesti kako postupiti s neispravnim proizvodom (testiranje, ponovna obrada, bacanje i povlačenje). Slijedi utvrđivanje verifikacijskih postupaka. Verifikacija je ključan postupak koji je vrlo bitan alat za održavanje i unaprjeđivanje postojećeg HACCP sustava te uključuje primjenu raznih metoda, postupaka i testova. Verifikacija se provodi odmah nakon implementacije HACCP ako je potrebno nešto modificirati a kasnije se provodi periodično. I na kraju se uspostavlja dokumentacijski sustav koji prikazuje rezultate analize opasnosti, pregled opasnosti i kritičnih granica, nadzornih postupaka, korektivnih mjera i verifikacijskih postupaka (Jeličić i sur., 2009., Tudor Kalit, 2014.).

5. MIKROBIOLOŠKA KVALITETA KRČKOG, PAŠKOG I DOMIATI SIRA

5.1. Krčki sir

Autori Prpić i sur., (2003) su tijekom 2002. i 2003. godine za istraživanje mikrobiološke kvalitete Krčkog sira analizirali sirovo ovčje mlijeko (n= 15) i sir (n=9) s četiri obiteljska gospodarstva na otoku Krku. U uzorcima sirovog mlijeka utvrdio se ukupan broj mezofilnih aerobnih bakterija i broj somatskih stanica. Uzorci sira analizirani su na moguću pojavnost patogenih bakterija *E.coli*, *L. monocytogenes*, *S. aureus*, i *Salmonella* spp. sukladno Pravilniku o mikrobiološkim standardima za namirnice (NN 46/1994). U proizvodnji Krčkog sira se vršila pasterizacija. Higijenski uvjeti tijekom mužnje osobito su važni jer utječu na kvalitetu sira. Na sposobnost mlijeka za sirenje uvelike utječu broj somatskih stanica i ukupan broj bakterija. U tablici 9 su prikazane vrijednosti higijenske kvalitete mlijeka krčkih ovaca.

Tablica 9: Higijenska kvaliteta ovčjeg mlijeka

Parametri	N	X	S	Min.	Max
Ukupan broj bakterija/ mL	15	750 500	4,10	18 000	4 145 000
Broj SS/ mL	15	407 000	2,22	124 000	915 000

(Izvor: Prpić i sur., 2003)

Srednja vrijednost somatskih stanica iznosila je 407 000 mL^{-1} što je u skladu s Pravilnikom o kakvoći svježeg sirovog mlijeka (NN 102/00). U pojedinim uzorcima analiziranog mlijeka utvrđen je povećani broj somatskih stanica (do 915 000 mL^{-1}) koji upućuje na sporadičnu pojavu subkliničkog (latentnog) mastitisa u stadu. S obzirom na ukupni broj mikroorganizama analizirano mlijeko je gotovo u potpunosti sukladno Pravilniku (NN 102/00.) kojim je u ovčjem mlijeku dopušteno najviše 1 500 000 mikroorganizama u 1 mL. Svega u 6,6 % uzoraka utvrđen je povećani broj mikroorganizama što je pokazatelj loše higijene tijekom mužnje i lošeg higijenskog stanja opreme i posuđa za čuvanje i manipulaciju mlijeka.

Rezultati mikrobioloških analiza Krčkog sira, odnosno broj neispravnih uzoraka prema Pravilniku o mikrobiološkim standardima za namirnice prikazani su u tablici 10.

Tablica 10. Mikrobiološka analiza Krčkog sira

Izolirana vrsta mikroorganizama iz sira	N	Neispravni sirevi (n)	Ispravni sirevi (n)	Udio neispravnih sireva (%)
***Escherichia coli* / 1 g**	9	3	6	33,3
***Staphylococcus aureus* / 1 g**	9	4	5	44,4
***Salmonella* spp./ 25 g**	9	0	9	100,00
Sulfitreducirajuće klostridije/ 1 g	9	0	9	100,00

(Izvor: Prpić i sur., 2003)

Od ukupnog broja analiziranih uzoraka sira kriterijima mikrobiološke ispravnosti propisanih Pravilnikom o mikrobiološkim standardima za namirnice (NN 46/94.) nije udovoljilo 45,0% uzoraka. Uzorci su higijenski neispravni zbog povećanog broja bakterija *Staphylococcus aureus* i *E. coli* u siru. Ovi rezultati ukazuju na potrebu poboljšanja razine higijene u proizvodnji i postupanja s mlijekom za sirenje.

5.2. Paški sir

Autori Samaržija i sur. (2004) tijekom tri godine istraživali su moguću pojavnost patogenih bakterija u Paškom siru. Istraživanja su provedena na tri obiteljska gospodarstva koja istovremeno drže pašku ovcu i proizvode Paški sir na tradicionalan način. Tijekom tri godine kroz jednomjesečne kontrole, ukupno je analizirano 720 pojedinačnih uzoraka ovčjeg mlijeka, 20 uzoraka skupnog mlijeka neposredno prije sirenja i 70 nasumično uzetih skupnih uzoraka mlijeka za dokazivanje pojavnosti patogenih bakterija. Za utvrđivanje kvalitete paškog sira na tradicionalan način izabrano je jedno obiteljsko gospodarstvo (A) gdje je praćen cjelokupni proizvodni proces. Sirana na otoku Pagu koja proizvodi paški sir od pasteriziranog mlijeka (B) izabrana je za kontrolnu skupinu te je u istraživanje uključeno 60 nasumično odabranih

tradicionalno proizvedenih sireva s cijelog područja otoka Paga (C). Kvaliteta sira se utvrđivala tijekom 30, 60, 90 i 120 dana zrenja. Za analizu ovčjeg mlijeka i Paškog sira se ispitivao ukupan broj bakterija, broj somatskih stanica, prisutnost uzročnika kvarenja: koliformni organizmi, *Clostridium* spp. lipolitičke i proteolitičke bakterije i pojavnost patogenih bakterija: *Staphylococcus aureus, Streptococcus agalactiae, Listeria monocytogenes, Campylobacter jejuni, Yersinia enterocolitica, E.coli O157: H7, Salmonella* spp. U tablici 11 su prikazani rezultati analize mlijeka paških ovaca za proizvodnju paškog sira.

Tablica 11: Mikrobiološka analiza ovčjeg mlijeka

Parametri	N	Broj bakterija	Somatske stanice
Ukupan broj bakterija /mL	720	A ,B, C >5000 A= Ožujak: 53 700 Travanj: 132 000 Svibanj: 6918 Lipanj: 36 307	1. 170 000/mL 2. 120 000/mL 3. 155 000/mL
Lipolitičke i proteolitičke bakterije /mL	720	>100 000	
Patogene bakterije: *C.jejuni,*	720	-	
L.monocytogenes, S.aureus,	720		
E.coli O157:H7, Clostridium spp.	720		

(Izvor: Samaržija i sur., 2004).

Ukupan broj bakterija u 720 analiziranih pojedinačnih uzoraka mlijeka odmah nakon mužnje, za sva tri obiteljska gospodarstva je bio niži od 5000 mL^{-1}. Za ovčje mlijeko, mlijeko obiteljskog gospodarstva (A) utvrđen je prosječan ukupan broj bakterija u ožujku 53 700 mL, u travnju 132 000 mL^{-1}, u svibnju 6 918 mL^{-1} i lipnju 36 307 mL^{-1}. Utvrđen broj lipolitičkih i proteolitičkih bakterija je bio niži od 100 000 mL^{-1}. Patogene mikroorganizme, u 10% nasumično uzetih uzoraka skupnog mlijeka kroz sve stadije laktacije, nije sadržavao ni jedan uzorak kao niti jedan od 20 uzoraka skupnog mlijeka. Također je utvrđeno da *S.aureus* u mlijeku zdravih ovaca nije prelazio 200 mL. Broj somatskih stanica u prvom stadiju laktacije

je iznosio 170 000 mL^{-1}, u drugom 120 000 mL^{-1} i trećem stadiju laktacije 155 000 mL^{-1}.Na osnovu rezultata istraživanja može se zaključiti da je mikrobiološka kvaliteta ovčjeg mlijeka zadovoljavajuća. U tablici 12 su prikazani rezultati analize paškog sira tijekom 30, 60, 90 i 120 dana zrenja.

Tablica 12: Prisutnost patogenih bakterija u paškom siru tijekom zrenja

Parametar	n	30	60	90	120
***C.jejuni,L.monocytogenes, S.aureus,E.coli O157:H7, Clostridium* spp**	84	-	-	-	-
Koliformi i *E.coli*/mL	13	-	-	-	350- 4 $x10^4$

(Prilagođeno prema Samaržija i sur., 2004).

Niti u jednom od analiziranih uzoraka sira zrelosti 2 mjeseca nije utvrđena prisutnost patogenih bakterija. Pojavnost bakterije *S.aureus* od 720 organizama/g utvrđeno je u samo jednom siru zrelosti 2 mjeseca što se smatra nedostatnim brojem za stvaranje enterotoksina. Prisustvo *S.aureus* do 10^3 cfu mL^{-1} u mlijeku nije potvrđeno u siru zrelosti 2 i više mjeseci. Pojavnost koliformnih bakterija i *E.coli* u broju >100 cfu 100 mL^{-1} utvrđeno je u 13 sireva skupine C u broju od 350-40 000 mL^{-1} što je posljedica nehigijenske mužnje i postupaka s mlijekom nakon mužnje.

5.3. Domiati sir

Mikrobiološku kvalitetu mlijeka i Domiati sira istraživali su Gamal i sur.(2015), Meshref, 2013, El-Sayed i sur.(2011), Sharaf i sur.(2014) te Rabee i Abdel-Rahman (2015). Uzorci mlijeka i Domiati sira su nasumično sakupljeni sa lokalnih tržnica u Egiptu. Za analizu mlijeka i Domiati sira se utvrđivao ukupan broj bakterija, koliformnih bakterija, kvasaca plijesni te patogenih bakterija: *S.aureus*, *E.coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *B.cereus* i *L.monocytogenes*. U tablici 13 prikazana je mikrobiološka kvaliteta mlijeka za proizvodnju Domiati sira.

Tablica 13: Vrsta mikroorganizama prisutnih u kravljem mlijeku

Vrsta mikroorganizma	Pozitivni uzorci		Broj bakterija (log cfu /mL)		
	Broj	%	Mininimalno	Maksimalno	Prosječno
Ukupan broj bakterija	50	100	6.2	8.4	7.8
S.aureus	50	100	4.7	5.7	5.3
Koliformne bakterije	50	100	4.8	6.3	5.8
E.coli	40	80	-	-	-
E.coli O157	20	40	-	-	-
***Salmonella* spp.**	25	50	-	-	-
Bacillus cereus	N.d.	N.d.	-	-	-
Kvasci i Plijesni	50	100	2.8	4.3	3.5

(Izvor: Gamal i sur., 2015).

Ukupan broj bakterija u svim uzorcima mlijeka bio je veći od 100 000 bakterija mL^{-1} (Gamal i sur., 2015, Meshref, 2013, Rabee i Abdel-Rahman, 2015). Na visoki broj bakterija u sirovom mlijeku utjecali su nehigijenski uvjeti rukovanja mlijekom na tržnici, ograničeno znanje u higijenskoj proizvodnji mlijeka te nedostupnost sustava za hlađenje tijekom pohrane i transporta. U svim istraživanjima broj koliformnih bakterija u mlijeku bio je veći od 10^5 cfu mL^{-1}. Prisutnost koliformnih bakterija se često koristi kao indikator uspješnosti proizvodnje a kada se one pojave u većem broju uzrokovat će promjene izgleda i okusa mlijeka radi tvorbe plina i povećanja kiselosti. U mlijeku je također dokazana prisutnost patogenih bakterija: *S.aureus*, *E.coli* O157:H7 i *Salmonella* spp. (Gamal i sur., 2015, Meshref, 2013, Rabee i Abdel-Rahman, 2015). Izolirane bakterijske vrste su uzročnici mastitisa te predstavljaju potencijalnu opasnost za zdravlje potrošača. Zbog visokog broja koliformnih bakterija, kvasaca i plijesni te patogenih bakterija, mlijeko se smatra zdravstveno neispravnim. U tablici 13 prikazani su rezultati analize Domiati sira.

Tablica 14: Mikrobiološka analiza Domiati sira

Vrsta mikroorganizma	Pozitivni uzorci		Broj bakterija (log cfu /g)		
	Broj	%	Mininimalno	Maksimalno	Prosječno
Ukupan broj bakterija	50	100	3,7	5,4	5,2
S.aureus	30	60	3,3	5,4	4,4
Koliformne bakterije	40	80	2,5	4,4	3,6
E.coli	10	20	-	-	-
***E.coli* O157**	2	4	-	-	-
***Salmonella* spp.**	2	4	-	-	-
Bacillus cereus	N.d.	N.d.	-	-	-
Kvasci i Plijesni	50	100	2.2	4.5	3.3

(Izvor: Gamal i sur., 2015).

U Domiati siru je utvrđena prisutnost patogenih bakterija: *S.aureus*, *E.coli* O157:H7, *Salmonella* spp. *L.monocytogenes* te *Bacillus cereus*(Gamal i sur., 2015, El-Sayed i sur., 2011, Sharaf i sur., 2014). Prisutnost koliformnih bakterija je utvrđena u 50- 80% uzoraka Domiati sira (El-Sayed i sur., 2011, Gamal i sur.,2015). Između koliformnih bakterija najzastupljeniji predstavnik ove skupine je *E.coli*, uzročnik ranog nadimanja sireva. Prisutnost kvasaca i plijesni utvrđena je u 27- 100% uzoraka (El-Sayed i sur., 2011, Sharaf i sur., 2014, Gamal i sur., 2015). Uz rano nadimanje, kvasci i plijesni mogu izazvati promjene okusa, mirisa, teksture tijesta i promjene na kori. Poput mlijeka i Domiati sir proizveden i pohranjen u nehigijenskim uvjetima predstavlja potencijalnu opasnost za zdravlje potrošača zbog moguće pojavnosti velikog broja vrsta patogenih bakterija.

6. RASPRAVA

U ovom radu su prikazani rezultati mikrobiološke kvalitete ovčjeg i kravljeg mlijeka za proizvodnju Krčkog, Paškog i Domiati sira koji su prikupljeni iz relevantnih stručnih i znanstvenih publikacija. Mikrobiološka kvaliteta ovčjeg mlijeka, Krčkog i Paškog sira bila je uspoređivana sa Pravilnikom o mikrobiološkim kriterijima za hranu NN 74/08 i NN 156/ 08 i Pravilnikom o kakvoći svježeg sirovog mlijeka NN 102/00 i Uredbama EU Vijeća 853/2004 i 2073/2005 implementirane u zakonodavni okvir RH vezano uz higijenu i mikrobiološke kriterije za hranu. Mikrobiološka kvaliteta kravljeg mlijeka i Domiati sira objašnjena je prema nacionalnim standardima Egipta za meke sireve prema kojima su autori uspoređivali vlastite rezultate sa Egipatskim standardom ES 1008/2000 za meke sireve.

Prema Pravilniku o kakvoći svježeg sirovog mlijeka (NN 102/00) ukupan broj bakterija za ovčje mlijeko mora biti manji od 1 500 000 cfu mL^{-1}. U ovčjem mlijeku za proizvodnju Krčkog sira prosječan ukupan broj bakterija je 750 000 cfu mL^{-1} a u mlijeku za proizvodnju Paškog sira 5000 cfu mL^{-1}. Bakteriološki, prema važećim propisima mlijeko udovoljava propisanim kriterijima. Relativno velika razlika u ukupnom broju bakterija utvrđena u mlijeku Paške i Krčke ovce može se pripisati načinu na koje je organizirano istraživanje. Naime, kontrola bakteriološke kvalitete mlijeka Paške ovce provedena je prema kriterijima dobre proizvođačke prakse. Suprotno, u kontroli mlijeka Krčke ovce koristio se nasumični uzorak.
Broj somatskih stanica u mlijeku Krčke ovce je između 124 000 i 915 000 mL^{-1}. Utvrđeni broj somatskih stanica u mlijeku Paške ovce na temelju rezultata trogodišnjeg istraživanja je manji od 160 000 mL^{-1}. Značajno manji broj somatskih stanica u mlijeku Paške ovce je rezultat izlučivanja ovaca iz pokusa koje su sadržavale ≥400 000 somatskih stanica mL^{-1}. Granične vrijednosti za broj somatskih stanica u ovčjem mlijeku nisu propisane Pravilnikom. Međutim, mali broj somatskih stanica u mlijeku presudan je za visoku kvalitetu sira. Na temelju rezultata istraživanja higijenske kvalitete ovčjeg mlijeka može se zaključiti da je korištenje dobre higijenske i veterinarske prakse obvezatno u proizvodnji sira. Tijekom trogodišnjeg istraživanja u mlijeku Paške ovce pojavnost patogenih bakterija *S. aureus, S. agalactiae, L.monocytogenes, C. jejuni, Y.enterocolitica, E. coli* O157: H7 i *Salmonella* spp nije utvrđena niti u jednom od ukupno analiziranih 90 uzoraka mlijeka. Također niti jedna od tih patogenih bakterija nije utvrđena u uzorcima Paškog sira (n=240) nakon zrenja sira u trajanju 30, 60, 90 i 120 dana (Samaržija i sur, 2004). Za procjenu pojavnosti patogenih

bakterija u Krčkom siru Prpić i sur. (2003) odabrali su sljedeće bakterijske vrste ili skupine patogenih bakterija*: E.coli, S.aureus, Salmonella* spp. i sulfitoreducirajuće klostridije. Od ukupno nasumično odabranih 9 uzoraka Krčkog sira *Salmonella* spp. i sulfidoreducirajuće klostridije nisu utvrđene, 4 uzorka sira bila su pozitivna na *S. aureus* a 3 uzorka na *E.coli*. Na temelju dobivenih rezultata može se zaključiti da je mikrobiološka kvaliteta ovčjeg mlijeka i Paškog sira bolja od mikrobiološke kvalitete Krčkog sira te je sukladna odredbama Pravilnika o mikrobiološkim kriterijima za hranu (NN 74/08, NN 156/08, NN 89/10). Razlog tome leži u činjenici da otok Pag ima dugu tradiciju proizvodnje Paškog sira čime je kroz godine usavršena dobra higijenska i proizvođačka praksa. Trenutno se na otoku Pagu uzgaja 30 000 paških ovaca čije se mlijeko koristi u proizvodnji dobro poznatog Paškog sira dok se na otoku Krku uzgaja 18 000 krčkih ovaca namijenjenih uglavnom za dobivanje mesa a manjim dijelom radi proizvodnje sira.

Ukupan broj bakterija i pojavnost patogenih bakterija u mlijeku i Domiati siru istraživali su Gamal i sur. (2015), Rabee i Abdel-Rahman (2015), Meshref (2013), El-Sayed i sur. (2011) te Sharaf i sur. (2014). Gamal i sur. (2015) na pojavnost koliformnih i patogenih bakterija: *S.aureus, E.coli* O157:H7*, B.cereus* i *Salmonella* spp. su analizirali 50 uzoraka mlijeka i 50 uzoraka Domiati sira. Uzorci su nasumično sakupljeni sa lokalnih tržnica Kaira i Gize. Prisutnost koliformnih bakterija: *S.aureus, E.coli* O157:H7 i *Salmonella* spp. utvrđena je u 100%, 100%, 40% i 50% uzoraka sirovog mlijeka i u 80%, 60%, 4% i 4% uzoraka Domiati sira. Rabee i Abdel-Rahman (2015) su na pojavnost koliformnih i patogenih bakterija: *L.monocytogenes, Salmonella* spp. i *S.aureus* analizirali 35 uzoraka mlijeka.Uzorci su nasumično skupljeni u pokrajini Menoufia. Prisutnost koliformnih bakterija i *S.aureus* utvrđena je u 88,6% i 62,9% uzoraka dok *Salmonella* spp. i *L.monocytogenes* nisu bile prisutne ni u jednom uzorku. Meshref (2013) je tako na pojavnost koliformnih i patogenih bakterija: *E.coli* O157:H7 i *S.aureus* analizirao 38 uzoraka mlijeka. Uzorci su nasumično sakupljeni u pokrajini Beni-Suef. Prisutnost *E.coli* O157:H7 je utvrđena u 2,6%, *S.aureus* 23,7% i koliformnih bakterija u 65,8%. U svim istraživanjima pratio se i ukupan broj bakterija koji je redovito prelazio više od 100 000 bakterija mL^{-1}. Na temelju dobivenih rezultata može se zaključiti da mlijeko za proizvodnju Domiati sira ne odgovara kriterijima Uredbe EU Vijeća 853/2004.

Prema Egipatskom standardu za bijele meke sireve ES 1008/2000 *E.coli, S.aureus i L. monocytogenes* moraju biti odsutni u 1g, *Salmonella* spp. i druge patogene bakterije moraju

biti odsutne u 25 g, kvasci u 400 cfu g^{-1} dok plijesni i koliformi ne smiju prelaziti više od 10 cfu g^{-1}.

El-Sayed i sur. (2011) su na pojavnost patogenih bakterija: *Salmonella* spp. *L.monocytogenes*, *B.cereus, E.coli* O157:H7 i *S.aureus* analizirali 30 uzoraka Domiati sira. U Domiati siru je utvrđena prisutnost *L.monocytogenes* 14%, *S.aureus* 25%, *B.cereus* 11%, *E.coli* O157:H7 19% te *Salmonella* spp. 3%. U 23% uzoraka utvrđena je i prisutnost aflatoksina M_1. Sharaf i sur. (2014) su analizirali pojavnost *S.aureus, Bacillus* spp. *Clostridium* spp. te koliformnih bakterija u 45 uzoraka Domiati sira. Prisutnost *S.aureus* je utvrđena u 4,5% uzoraka, *Bacillus* spp. 40% a koliformnih bakterija u 18% uzoraka.

Zbog prisutnosti gotovo svih patogenih bakterija u mlijeku i Domiati siru potrebno je uvesti dodatnu edukaciju osoba koje sudjeluju u proizvodnji mlijeka i sira kako bi se usavršila dobra higijenska i proizvođačka praksa. Visok stupanj patogenih bakterija također može inducirati i pojavu subkliničkog mastitisa u stadu čime je potrebno izvršiti zdravstveni pregled muznih životinja uz održavanje visokog stupnja higijene. Unatoč tome, Domiati sir pripada skupini bijelih mekih sireva koji su podložniji kvarenju za razliku od tvrdih sireva. Na temelju mikrobiološke kvalitete Domiati sira uz održavanje visokog stupnja higijene u proizvodnji i preradi mlijeka brojni autori preporučuju da se mlijeko u proizvodnji Domiati sira pasterizira.

7. ZAKLJUČAK

Na temelju provedenih istraživanja mikrobiološke kvalitete ovčjeg i kravljeg mlijeka, te Krčkog, Paškog i Domiati sira može se zaključiti sljedeće:

1. Mikrobiološka kvaliteta ovčjeg mlijeka za proizvodnju Paškog i Krčkog sira bila je u potpunosti sukladna sa Pravilnikom o kakvoći svježeg sirovog mlijeka (NN 102/00)
2. Rezultati mikrobiološke analize Paškog sira ukazuju na odsutnost patogenih bakterija te su u potpunosti sukladni odredbama Pravilnika o mikrobiološki kriterijima za hranu (NN 74/08). Zbog prisutnosti *S.aureus* i *E.coli* u Krčkom siru 45% uzoraka nije bilo zdravstveno ispravno.
3. Mikrobiološkom analizom kravljeg mlijeka i Domiati sira bila je utvrđena prisutnost patogenih bakterija: *S.aureus*, *E.coli* O157:H7, *B.cereus*, *Salmonella* spp. *L.monocytogenes* iznad dozvoljenih granica propisanih Uredbom EZ 853/2004 i ES 1008/2000.

8. LITERATURA

Antunac, N. (2005): Značaj higijenske kvalitete mlijeka u proizvodnji sira, Sedmo savjetovanje uzgajivača ovaca i koza u Republici Hrvatskoj i Šesta izložba ovčjih i kozjih sireva, Zadar, 41-58.

Antunac, N., Mikulec, N., Bendelja, D., Prpić, Z., Barać, Z. (2008): Karakterizacija i istraživanje kvalitete mlijeka u proizvodnji krčkog sira. Mljekarstvo 58, 203-222.

Bachmann, H. P., McNulty, D. A., McSweeney, P. L. H., Rübgg, M. (1996): Experimental designs for studyng the influence of the raw milk on cheese characteristics: a review. The Journal of the Society of Dairy Tehnology 49, 53 – 56.

Barać, Z., Mioč, B., Havranek, J., Samaržija, D. (2008): Današnji uzgoj paške ovce. U knjizi, Paška ovca-hrvatska izvorna pasmina, Barać, Z., Matica hrvatska, Novalja, 39-63.

Barać, Z., Mioč, B., Havranek, J., Samaržija, D. (2008): Paški sir. U knjizi, Paška ovca-hrvatska izvorna pasmina, Barać, Z., Matica hrvatska, Novalja, 65-70.

Božanić, R., Bašić, Z., Konjačić, M., Antunac, N., Đermadi, J., Volarić, V. (2012): Kemijska i higijenska kvaliteta mlijeka na farmama mliječnih krava u tri hrvatske regije. Mljekarstvo 62, 251- 260.

Bulletin IDF (2015): Cheese consumption. IDF, Brussels, 233-234

Chambers, J.V. (2002): The microbiology of raw milk. U knjizi,*Dairy Microbiology Handbook* 3rd edition, Robinson, R.K., John Wiley & Sons, New York, 39–90.

Condron, R., Desmarchelier, P., Dyson, R., Eddy, D., Hammond, L., Kirk, M., MacBean, R., O´Regan, J., Rice, S., Robertson, J.,Willman, N., Oakley, L. (2009): Microbiological Risk Assessment of Raw Milk Cheese, Studija, Food Standards Australia and New Zeland, 1-264.

Donnelly, C.V., (2007): What factors should be considered when developming a HACCP plan for cheesemaking?. U knjizi: Cheese Problems Solved, McSweeney, P. L. H., Cambridge, 146-147.

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

El –Sayed, M.A., Hosny, I.M., El Kholy, W.I., El Dairouty, R.K., Sahar H.S.M. (2011): Microbiological evaluation of Egyptian white soft cheeses style. Journal of American Science 7, 517-526.

El-Baradei, G., Delacroix-Buchet, A., Ogier, J.C. (2006): Biodiversity of Bacterial Ecosystems in Traditional Egyptian Domiati Cheese. Applied and Enviromental Microbiology 73, 1248–1255.

Farkye, N.Y., Vedamuthu, E.R. (2002): Microbiology of soft cheeses. U knjizi, Dairy Microbiology Handbook 3rd edition, Robinson, R., K., John Wiley & Sons. New York, 479-510.

Fernandes, R. (2008): Cheese. U knjizi: Microbiology handbook dairy products, Fernandes, R., Leatherhead Publishing and Royal Society of Chemistry, Surrey, 61-74.

Fernandes, R. (2008): HACCP. U knjizi: Microbiology handbook dairy products, Fernandes, R., Leatherhead Publishing i Royal Society of Chemistry, Surrey, 103 – 114.

Fox, P. F.; Guinee, T. P.; Cogan, T. M.; McSweeney, P. L. H. (2000): Pathogens and Food-Poisoning Bacteria in Cheese. U knjizi: Fundamentals of Cheese Science, Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., McSweeney, P. L. H., Aspen Publishers Inc.; Aspen, 484-512.

Gamal, A. I., Sharaf, O. M., Abd El-Khalek A. B. (2015): Microbiological Quality of Commercial Raw Milk, Domiati Cheese and Kareish Cheese. Middle East Journal of Applied Sciences 5, 171-176.

Hadžiosmanović, M. (2014): Veterinarsko-higijenska kontrola namirnica animalnog porijekla. U knjizi: Sigurnost hrane od polja do stola, Havranek, J., Tudor-Kalit, M., M.E.P. d.o.o., Zagreb, 253-264.

Havranek, J., Đugnum, J. (2014): Zakonodavstvo o hrani. U knjizi : Sigurnost hrane od polja do stola, Havranek, J., Tudor-Kalit, M., M.E.P. d.o.o., Zagreb, 425 – 438.

HPA (2014): Godišnje izvješće za 2014. godinu, Ovčarstvo, kozarstvo i male životinje, Hrvatska poljoprivredna agencija, Zagreb.

http://www.gligora.com/hr/galerija/pogon-sirane-gligora-s18-a18.htm

https://www.google.hr/search?q=domiati&
https://www.google.hr/search?q=faze+u+proizvodnji+sira
https://www.google.hr/search?q=faze+u+proizvodnji+sirahttps://www.google.hr/search?q=krčka+ovca

https://www.google.hr/search?q=krčki+sir

https://www.google.hr/search?q=paški+sir++opg&biw

Jeličić, I., Božanić, R., Krčmar, N., (2009): Primjena HACCP sustava u proizvodnji UHT sterilizuranog mlijeka. Mljekarstvo59, 155-175.

Kalit, S., (2015): Opće sirarstvo, U knjizi: Sirarstvo u teoriji i praksi, Matijević, B., Veleučilište u Karlovcu, 29 – 45.

Kalit, S., (2015): Tradicionalni sirevi Hrvatske i Slovenije, U knjizi: Sirarstvo u teoriji i praksi, Matijević, B., Veleučilište u Karlovcu, 59-70.

Lukač-Havranek, J. (1995): Autohtoni sirevi Hrvatske. Mljekarstvo,45, 19-37.

Matić, J. (2009):Kontaminacija animalnih proizvoda patogenim bakterijama. http://www.tehnologijahrane.com/enciklopedija/kontaminacija-animalnih-proizvoda-patogenim-bakterijama-12, Novi Sad.

Mehaia, M. A., (2006): Manufacture of Fresh Soft White Cheese (Domiati-Type) from Dromedary Camels Milk Using Ultrafiltration Process. Journal of Food Technology 4, 206-212.

Meshref, M. S. (2013): Bacteriological quality and safety of raw cow´s milk and fresh cream. Slovenia Veterinary Research 50, 21-30.

Moatsou, G., Moschopoulou, E., (2014): Microbiology of Raw Milk. U knjizi: Dairy Microbiology and Biochemistry: Recent Developments, Barbaros H. Ö., Akdemir-Evrendilek G., CRC Press Taylor & Francis Group, London, 1-39.

Omejec, D., Pejić Bach, M. (2007): Sljedivost prehrambenih proizvoda hrvatskih poduzeća, Zbornik Ekonomskog fakulteta u Zagrebu 5, 43-65.

Papageorgiou, D. K., Marth, E. H. (1989): Fate of *Listeria monocytogenes* during the Manufacture and Ripening of Blue Cheese, Journal of Food Protection7, 456-524.

Papageorgiou, D. K., Marth, E. H. (1989): Fate of *Listeria monocytogenes* during the manufacture, ripening andstorage of feta cheese. Journal of Food Protection52,82–87.

Pravilnik o higijeni hrane (Narodne novine br. 99/07, 27/08, 118/09).

Pravilnik o higijeni hrane životinjskog podrijetla (Narodne novine br. 99/07, 28/10, 45/11).

Pravilnik o kakvoći svježeg sirovog mlijeka (Narodne novine br. 102/00.).

Pravilnik o mikrobiološkim kriterijima za hranu (Narodne novine br. 74/08, 156/08, 89/10, 153/11).

Pravilnik o službenim kontrolama hrane životinjskog podrijetla (Narodne novine br. 99/07, 28/10, 94/11, 51/12).

Pravilnik o službenim kontrolama koje se provode radi verifikacije postupanja u skladu s odredbama propisa o hrani i hrani za životinje, te propisa o zdravlju i zaštiti životinja (Narodne novine br. 99/07, 74/08).

Prpić, Z., Kalit, S., Lukač Havranek, J., Štimac, M., Jerković, S. (2003): Krčki sir. Mljekarstvo 53, 175-194.

Puđa, P. (2009): Tehnologija mleka i sirarstvo-Opšti deo. Novi Sad, http://www.tehnologijahrane.com/knjiga/tehnologija-mleka-i-sirarstvo-opsti-deo.

Rabee, A. O., Abdel-Rahman, M. E. (2015):Bacteriological Quality and Safety of Raw Cow's and Buffalo's Milk Sold in Menoufia Governorate, Egypt. Minufiya Veterinary Journal 9, 101-113.

Salwa, A. A., Galal, E. A., (2002): Effect of Milk Pretreatment on the Keeping Quality of Domiati Cheese. Pakistan Journal of Nutrition 1, 132-136.

Samaržija, D., Antunac, N. (2002):Oznake kvalitete: izvornost (PDO), zemljopisno podrijetlo (PGI) i garantirano tradicijski specijalitet (TSG) u socijalnoj i gospodarstvenoj zaštiti tradicionalne proizvodnje sira. Mljekarstvo 52, 279-290.

Samaržija, D., Podoreški, M., Sikora, S, Skelin, A., Pogačić, T. (2007): Mikroorganizmi - uzročnici kvarenja mlijeka i mliječnih proizvoda. Mljekarstvo 57, 251-273.

Samaržija, D., Antunac, N, Havranek, J., Pećina, M., Mioč, B., Pavić, V., Barač, Z. (2004): Autohtoni (tradicionalni) paški sir. Studija, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet 1-43.

Samaržija, D.,Antunac, N., Havranek, J., Pecina, M. (2006): Zaštita izvornosti sira. Mljekarstvo 56, 35-44.

Samaržija, D., Antunac, N., Pećina, M., Havranek, J. (2003): Quality of the artisanal hard cheeses produced in Mediteranean area of Croatia. Milkwissenchaft 58, 43-46.

Samaržija, D., Damjanović, S., Pogačić, T. (2007.): *Staphylococcus aureus* u siru. Mljekarstvo 57, 31-48.

Samaržija, D., Zamberlin, Š., Pogačić, T. (2012): Psihrotrofne bakterije i njihovi negativni utkecaji na kvalitetu mlijeka i mliječnih proizvoda. Mljekarstvo 62, 77-96.

Sharaf, O. M., Gamal, A. I., Nabil F. T., Baher, A. M. E., El Shafei, K., El-Din, H. M. F., Moussa M. A. (2014): Prevalence of some pathogenic microorganisms in factories Domiati, Feta cheeses and UHT milk in relation to public health sold under market conditions in Cairo.International Journal of ChemTech Research 5, 2807-2814.

Touch, V., Deeth, H. C. (2009): Microbiology of Raw and Market Milks. U knjizi: Milk Processing and Quality Management, Tamime, A. Y., Blackwell Publishing Ltd., UK, 48-66.

Tratnik, Lj. (2012): Sirovo mlijeko. U knjizi: Mlijeko i mliječni proizvodi, Tratnik, Lj., Božanić, R., Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb, 19-82.

Tratnik, Lj. (2012): Sirarstvo. U knjizi: Mlijeko i mliječni proizvodi, Tratnik, Lj., Božanić, R., Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb, 205-348.

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

Tudor-Kalit, M. (2014): HACCP sustav i pristup analize rizika u hrani. U knjizi: Sigurnost hrane od polja do stola, Havranek, J., Tudor-Kalit, M., M.E.P. d.o.o., Zagreb, 166-196.

Walstra, P., Wouters, J., Geurts, T. (2006): Microbial defects. U knjizi: Dairy Science and Technology Second Edition, Walstra, P., Wouters, J., Geurts, T., CRC Taylor & Francis Group, USA. 677-686.

Zeinhom M. M.A., Gihan Abdel-Latef, K.(2014): Public health risk of some milk borne pathogens, Journal of Basic and Applied Sciences 3, 209–215.