

# Kvaliteta kiselog vrhnja na tržnicama grada Zagreba

---

**Boroša, Melita**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2024**

*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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:204:666326>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-03-09**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET

**KVALITETA KISELOG VRHNJA NA TRŽNICAMA GRADA  
ZAGREBA**

DIPLOMSKI RAD

Melita Boroša

Zagreb, rujan, 2024.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET**

Diplomski studij:

Proizvodnja i prerada mlijeka

**KVALITETA KISELOG VRHNJA NA TRŽNICAMA GRADA  
ZAGREBA**

DIPLOMSKI RAD

Melita Boroša

Mentor:

doc. dr. sc. Darija Bendelja Ljoljić

Zagreb, rujan, 2024.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET**

**IZJAVA STUDENTA  
O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI**

Ja, **Melita Boroša**, JMBAG 0178122464, rođena 29.01.2001. u Zagrebu, izjavljujem da sam samostalno izradila diplomski rad pod naslovom:

**KVALITETA KISELOG VRHNJA NA TRŽNICAMA GRADA ZAGREBA**

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznata s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
*Potpis studentice*

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET

IZVJEŠĆE

O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studentice **Melite Boroša**, JMBAG 0178122464, naslova

**KVALITETA KISELOG VRHNJA NA TRŽNICAMA GRADA ZAGREBA**

obranjen je i ocijenjen ocjenom \_\_\_\_\_, dana \_\_\_\_\_.

Povjerenstvo:

potpisi:

- |    |                                     |        |       |
|----|-------------------------------------|--------|-------|
| 1. | doc.dr.sc. Darija Bendelja Ljoljić  | mentor | _____ |
| 2. | izv.prof.dr.sc. Iva Dolenčić Špehar | član   | _____ |
| 3. | prof.dr.sc. Ivica Kos               | član   | _____ |

## Zahvala

*Veliko hvala mojoj mentorici doc.dr.sc. Dariji Bendelja Ljoljić na stručnom mentorstvu, ukazanoj podršci i trudu prilikom izrade i pisanja ovog diplomskog rada.*

*Zahvaljujem se djelatnicima Referentnog laboratorija za mlijeko i mliječne proizvode Agronomskog fakulteta na pomoći i pristupačnosti tijekom provođenja eksperimentalnog dijela rada.*

*Najveće hvala mojim roditeljima i sestri koji su mi oduvijek bili najveća podrška u životu i koji su sve muke, brige i radosti tokom ovih pet godina studiranja dijelili sa mnom. Hvala vam što ste vjerovali u mene čak i kada ja nisam.*

*Posebno hvala Francesci, Loreni i Ivanu na svakoj pomoći, podršci i savjetima bez kojih bi ovi studentski dani bili puno teži. Hvala vam što ste moju radost i tugu dijelili sa mnom, kao da su vaše.*

## Sadržaj

1.	Uvod .....	1
1.1.	Cilj istraživanja .....	2
2.	Pregled literature .....	3
2.1.	Prethodna istraživanja .....	3
2.2.	Tehnologija proizvodnje kiselog vrhnja .....	4
2.3.	Kemijska svojstva kiselog vrhnja .....	6
2.4.	Mikrobna kultura i mikrobiološki sastav kiselog vrhnja .....	8
2.5.	Senzorska svojstva kiselog vrhnja .....	10
3.	Materijali i metode .....	13
3.1.	Fizikalno-kemijska analiza .....	13
3.1.1.	Određivanje kiselosti vrhnja .....	13
3.1.2.	Analize kemijskog sastava vrhnja .....	15
3.2.	Mikrobiološka analiza .....	16
3.2.1.	Izdvajanje bakterije roda <i>Salmonella</i> .....	16
3.2.2.	Izdvajanje bakterijske vrste <i>Listeria monocytogenes</i> .....	17
3.2.3.	Izdvajanje koagulaza pozitivnih stafilokoka/ <i>Staphylococcus aureus</i> .....	17
3.2.4.	Izdvajanje <i>Enterobacteriaceae</i> .....	19
3.2.5.	Izdvajanje <i>Escherichia coli</i> .....	19
3.2.6.	Izdvajanje kvasaca .....	20
3.2.7.	Izdvajanje sulfitreducirajućih <i>Clostridium</i> spp. ....	21
3.3.	Određivanje boje .....	21
3.3.1.	Senzorska analiza .....	22
4.	Rezultati i rasprava .....	23
5.	Zaključak .....	39
6.	Popis literature .....	40
	Životopis .....	44

## Sažetak

Diplomskog rada studentice **Melite Boroša**, naslova

### **KVALITETA KISELOG VRHNJA NA TRŽNICAMA GRADA ZAGREBA**

Poštivanje higijenskih standarda u proizvodnji mlijeka osnovni je preduvjet za pravljenje kiselog vrhnja visoke kvalitete, što je presudno prilikom upotrebe sirovog mlijeka. Cilj ovog rada bio je utvrditi fizikalno-kemijska svojstva, mikrobiološku i senzorsku kvalitetu kiselog vrhnja prikupljenog s većih tržnica na širem području grada Zagreba. Prosječni udio mliječne masti iznosio je 27,99%, proteina 3,30%, suhe tvari 34,29%, suhe tvari bez masti 6,51%, a laktoze 3,00% uz izrazito veliku varijabilnost svih sastojaka vrhnja. *S. aureus* utvrđen je u 35,30% uzoraka, *Enterobacteriaceae* u 76,47%, *E. coli* u 94,11% i *Bacillus* spp. u 23,53% te kvasci u 100% uzoraka dok u vrhnju nije utvrđena prisutnost *L. monocytogenes* i *Salmonella* spp.. Senzorskom analizom teksturnih svojstava utvrđena je primjetna varijabilnost u čvrstoći, ljepljivosti, gustoći, punoći i pjenušavosti uzoraka. Uzorci s većim sadržajem mliječne masti i suhe tvari ocijenjeni su bolje za svojstva punoće, gustoće i čvrstoće u ustima, a što je rezultiralo višom ukupnom ocjenom teksture. Ocjene za aromu po vrhnju i diacetilu bile su u širokom rasponu vrijednosti. Ovi rezultati ukazuju na kompleksnost senzorskih karakteristika kiselog vrhnja te na važnost njegovih sastojaka i tehnoloških postupaka u oblikovanju izgleda, mirisa, teksture, okusa i arome.

**Ključne riječi:** kiselo vrhnje, kemijski sastav, bakterije, senzorska analiza



## Summary

Of the master's thesis – student **Melita Boroša**, entitled

### THE QUALITY OF SOUR CREAM IN THE MARCETS OF THE CITY ZAGREB

Compliance with hygiene standards in milk production is a basic prerequisite for the production of high-quality sour cream, which is of crucial importance in the traditional production of cream from raw milk. The aim of this work was to determine the physico-chemical properties, microbiological and sensory quality of sour cream collected from larger markets in the wider Zagreb area. The average percentage of milk fat was 27.99%, protein 3.30%, dry matter 34.29%, dry matter without fat 6.51% and lactose 3.00%, with extremely high variability in all cream components. *S. aureus* was found in 35.30% of the samples, *Enterobacteriaceae* in 76.47%, *E. coli* in 94.11% and *Bacillus* spp. in 23.53% and yeasts in 100% of the samples, while the presence of *L. monocytogenes* in the cream and *Salmonella* spp. was not found. The sensory analysis of the textural properties revealed noticeable variability in terms of firmness, stickiness, density, fullness and foaminess of the samples. Samples with a higher milk fat and dry matter content were rated better for mouthfeel, density and mouth firmness, resulting in a higher overall texture score. The scores for cream and diacetyl flavour were in a wide range. These results indicate the complexity of the sensory properties of sour cream and the importance of its ingredients and technological processes in shaping appearance, odour, texture, taste and flavour.

**Keywords:** sour cream, chemical composition, bacteria, sensory analysis

# 1. Uvod

Vrhnje je mliječni proizvod koji se sastoji od koncentrirane mliječne masti, pri čemu su globule mliječne masti zaštićene membranom (Codex Alimentarius 2022.). Ovaj ukusni proizvod može se konzumirati kao zasebna namirnica, često u kombinaciji s drugim mliječnim proizvodima poput svježeg kravljeg sira, ili se koristi u pripremi raznih jela i za proizvodnju maslaca.

Danas na tržnicama postoji široka ponuda mliječnih proizvoda, među kojima su najzastupljeniji sirevi (svježi, meki, dimljeni i tvrdi), mlijeko i kiselo vrhnje. Vrhnje se obično nudi u plastičnim kanticama, a potrošači ga presipavaju u plastične vrećice ili staklenke. Nažalost, ovakav način distribucije može negativno utjecati na kvalitetu proizvoda, koji je izložen raznim vanjskim uvjetima od proizvodnje do konzumacije. To ga čini podložnim kontaminaciji i kvarenju. Domaće vrhnje često ima kraći rok trajanja, najčešće zbog nedostatka adekvatne toplinske obrade i sterilnih uvjeta tijekom mužnje, rukovanja i pohrane. Nažalost, informacije o kvaliteti vrhnja dostupnog na tržnicama su oskudne. Proizvodi često nemaju deklaraciju s osnovnim informacijama poput naziva, roka valjanosti, uvjeta pohrane i nutritivnog sastava. Potrošači se stoga moraju osloniti na vlastitu procjenu ili konzultacije s proizvođačima.

Proizvodnja domaćeg vrhnja temelji se na spontanom kiseljenju sirovog nepasteriziranog mlijeka. Izostanak homogenizacije u proizvodnji domaćeg vrhnja dovodi do izdvajanja mliječne masti na površini zbog razlike u gustoći pojedinih sastojaka mlijeka, a uslijed spontane fermentacije dolazi do stvaranja kiselog vrhnja. Kvaliteta ovako dobivenog vrhnja ovisi o sezoni proizvodnje, mikrobiološkoj kvaliteti sirovog mlijeka, higijenskim uvjetima te umijeću proizvodnje (Kirin 2009.). Način pripreme kiselog vrhnja u domaćinstvima često je primitivan gdje se svježe pomuzeno mlijeko ostavlja na sobnoj temperaturi da se ukiseli, a površinska mliječna mast se skuplja u posebnu posudu. Ovaj proces može dovesti do prisutnosti patogenih mikroorganizama, što narušava higijensku i zdravstvenu ispravnost vrhnja (Hergešić 1965.).

Osnovni preduvjet proizvodnje vrhnja visoke kvalitete je dobra bakteriološka kvaliteta sirovog mlijeka, uz što kraće vrijeme njegove pohrane na visokim temperaturama. Ako je sirovo mlijeko dobre kvalitete (ukupan broj bakterija < 20.000/mL), mikrobne pogreške vrhnja bit će zanemarive. Suprotno tome, mlijeko lošije kvalitete (ukupan broj bakterija > 100.000/mL) negativno će utjecati na kvalitetu vrhnja, čak i uz hladnu pohranu (Samaržija 2011.). Mikroorganizmi poput *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *E. coli*, *L. monocytogenes*, *Y. enterocolitica* i bakterija roda *Campylobacter* često se nalaze u mlijeku i mliječnim proizvodima. Njihova prisutnost može biti posljedica raznih izvora, uključujući okoliš na farmi, mljekarsku opremu, osoblje u kontaktu s mlijekom te zrak (Tesfaw 2013.; Bintsis 2017.; Samaržija 2021.).

Unatoč rizicima, mnogi potrošači preferiraju "domaće" mliječne proizvode, vjerujući da su kvalitetniji od onih proizvedenih u mljekarskim pogonima. Ova navika potiče tradicionalni način opskrbe i uobičajene posjete tržnicama. Međutim, zbog nehigijenskih uvjeta, kiselo

vrhnje s tržnica može predstavljati potencijalnu opasnost za zdravlje potrošača (Kirin 2009.). Da bi se očuvala mikrobiološka ispravnost svježeg vrhnja, ključno je sakupljati i čuvati svježe sirovo mlijeko u optimalnim higijenskim uvjetima. Mliječna industrija zahtijeva stroge standarde kako bi se osigurala sigurnost i kvaliteta proizvoda. Sirovo mlijeko treba biti pohranjeno u rashladnom uređaju odmah nakon mužnje, čime se usporava rast potencijalno štetnih mikroorganizama. Alternativno, sirovo mlijeko može biti podvrgnuto postupku pasterizacije, što dodatno smanjuje rizik od kontaminacije.

Sirovo mlijeko može se koristiti za tradicionalno proizvedeno vrhnje, no važno je da to bude u kontroliranim uvjetima. Prema europskim i hrvatskim standardima, kvaliteta sirovog mlijeka mora udovoljavati specifičnim kriterijima kako bi se moglo koristiti za proizvodnju mliječnih proizvoda bez prethodne toplinske obrade. Ovi kriteriji uključuju provjeru bakteriološke kvalitete, što osigurava da mlijeko bude sigurno za konzumaciju i da ne predstavlja zdravstveni rizik (Markov i sur. 2009.). Pridržavanje ovih smjernica ključno je za očuvanje kvalitete i sigurnosti vrhnja, čime se osigurava zadovoljstvo potrošača i očuvanje zdravlja.

### **1.1. Cilj istraživanja**

Polazeći od pretpostavke kako različiti uvjeti proizvodnje, manipulacija i transport vrhnja značajno utječu na njegov okus i kvalitetu, cilj ovog rada bio je utvrditi fizikalno-kemijski sastav, boju, te mikrobiološku i senzorsku kvalitetu domaćeg vrhnja s tržnica grada Zagreba.

## 2. Pregled literature

### 2.1. Prethodna istraživanja

Rezultati istraživanja o mikrobiološkoj kvaliteti domaćeg vrhnja sa sisačkog područja provedenog prije gotovo 60 godina upozoravaju na veliku kontaminaciju higijenski nedopustivim mikroorganizmima pri čemu 80% analiziranih uzoraka ne zadovoljava standarde mikrobiološke ispravnosti (Hergešić 1965.). Autor je u većini uzoraka utvrdio prisutnost bakterija koje su indikatori fekalnog onešćenja kao što su *E. coli*, *Proteus* spp. i fekalni streptokoki. Osim toga, identificirane su patogene bakterije poput *Staphylococcus pyogenes* i *Streptococcus pyogenes*, a također je zabilježen i visok broj kvasaca i plijesni. Slični problemi su uočeni i u istraživanju kvalitete domaćih mliječnih proizvoda (vrhnje, maslac, svježi sir) sa zagrebačkih tržnica provedenom prije više od 30 godina (Lukač i Samaržija 1990.). Autori su potvrdili prisutnost koliformnih bakterija i *E. coli* u svježem siru i vrhnju te prisutnost klostridija u maslacu, što dodatno naglašava nezadovoljavajuću mikrobiološku ispravnost ovih proizvoda.

U istraživanju koje su proveli Kozadžinski i sur. (2003.) prije 20 godina ustanovljeno je da 26,77% mekih (svježih) sireva i 31,51% kiselog vrhnja nije zadovoljilo kriterije mikrobiološke ispravnosti zbog povećanog broja enterobakterija, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, kvasaca i plijesni. Autori ovu situaciju objašnjavaju lošom higijenskom kakvoćom svježeg sirovog mlijeka, što može uzrokom produženog vremena izlaganja mliječnih proizvoda nepovoljnim uvjetima.

Istraživanje Markov i sur. (2009.) provedeno prije 15 godina dodatno je ukazalo na problem mikrobiološke kontaminacije. Provedena mikrobiološka analiza domaćeg svježeg sira i vrhnja sa područja grada Zagreba pokazala je prisutnost enterobakterija, *Staphylococcus aureus* te *Listeria* spp., koje u određenim omjerima predstavljaju opasnost po zdravlje ljudi. Rezultati su pokazali da 65% uzoraka svježeg sira i 83% uzoraka vrhnja ne zadovoljava propisane standarde, primarno zbog kontaminacije kvascima i plijesnima, s vrijednostima u rasponu od  $10^3$  do  $5 \times 10^6$  CFU/g.

U istraživanju provedenom na domaćem vrhnju s bjelovarskih tržnica (Kirin 2009.), obavljene su senzorske i mikrobiološke analize uzoraka. Autor je utvrdio neujednačenost organoleptičkih svojstava uzoraka domaćeg vrhnja primjećujući prisutnost slabije ili jače izraženog okusa po kvascima, dok je konzistencija uzoraka varirala. Mikrobiološka analiza pokazala je nedopušteno visok broj kvasaca i plijesni uz prisutnost *Enterobacteriaceae* u 58,3% uzoraka, *Escherichia coli* u 41,7% uzoraka te *Staphylococcus aureus* u 25% uzoraka.

Navedeni rezultati već dugi niz godina ukazuju na potencijalne rizike za zdravlje potrošača naglašavaju potrebu za poboljšanjem higijenskih standarda u proizvodnji i distribuciji domaćih mliječnih proizvoda, kao i potrebu za strožim i redovitim kontrolama mikrobiološke kvalitete. U literaturi se također preporučuje edukacija proizvođača o pravilnoj manipulaciji i skladištenju mliječnih proizvoda kako bi se smanjio rizik od kontaminacije.

Slična istraživanja su pokazala da kemijska i senzorska svojstva mliječnih proizvoda značajno utječu na njihovu prihvaćenost među potrošačima. Shepard i sur. (2013.) proveli su istraživanje kiselog vrhnja u kojem su utvrđivali njegova kemijska i senzorska svojstva.

Rezultati ocjenjivanja stručnog panela su pokazali da su najviše ocjene dobivala vrhnja s većim udjelom mliječne masti, dok su kisela vrhnja sa smanjenim udjelom masti ili bez masti bila karakterizirana nepoželjnim okusima, poput okusa po kartonu, slatkog okusa, krumpira i zelenog/acetaldhidnog okusa. Kiselo vrhnje koje bi se svidjelo većini potrošača karakterizirano je umjerenim do visokim razinama diacetila, mliječne masti i kuhanih/mliječnih okusa, dok su razine kiselog okusa i kiselih aroma bile niske do umjerene. Ova istraživanja ukazuju na važnost pravilne proizvodnje i skladištenja domaćih mliječnih proizvoda kako bi se osigurala njihova mikrobiološka ispravnost i senzorska svojstva.

## **2.2. Tehnologija proizvodnje kiselog vrhnja**

Industrijalizacija proizvodnje kiselog odnosno fermentiranog vrhnja razvijala se kroz godine, uslijed promjena u obrascima potrošnje, prehrambenim trendovima i razvoju opreme za preradu. Prema Codex Alimentarius (2022.), vrhnje može sadržavati između 10 i 50% mliječne masti. Kako navode Narvhus i sur. (2019.) ovaj raspon također se primjenjuje na fermentirano vrhnje, što znači da proizvodi s udjelom masti manjim od 10% ili koji sadrže mast koja ne potječe iz mlijeka ne bi trebali biti označeni kao fermentirano vrhnje.

Vrhnje se najčešće definira prema udjelu mliječne masti, a klasifikacija uključuje: i) vrhnje  $\geq 18\%$  mliječne masti, ii) polumasno vrhnje 10-18% mliječne masti, iii) masno vrhnje  $\geq 45\%$  mliječne masti, iv) vrhnje za tučenje  $\geq 35\%$  mliječne masti, v) vrhnje za kavu  $\geq 10\%$  mliječne masti te vi) vrhnje za kuhanje  $\geq 20\%$  mliječne masti. Osim udjela masti, vrhnje se može klasificirati i prema načinu toplinske obrade (pasterizirano ili sterilizirano), namjeni (vrhnje za kuhanje, tučeno vrhnje, kiselo vrhnje, kiselo ili slatko vrhnje za izradu maslaca) te viskoznosti (Samaržija 2011.).

Standardni proces za izradu komercijalnog fermentiranog vrhnja obično uključuje standardizaciju mliječne masti, nakon čega slijedi homogenizacija i toplinska obrada. Nakon ovih koraka, dodaje se odgovarajuća starter kultura bakterija mliječne kiseline (BMK), a zatim slijedi fermentacija na temperaturi koja omogućuje optimalan rast odabrane kulture, pri čemu se proizvode mliječna kiselina i hlapljivi aromatski spojevi (Narvhus i sur. 2019.). Najkritičnije točke u proizvodnji vrhnja uključuju vrijeme nakon toplinske obrade i promjene temperatura tijekom pohrane i distribucije (Samaržija 2011.).

Proizvodnja kiselog vrhnja započinje obiranjem i standardizacijom željenog udjela mliječne masti pomoću separatora. Ovaj proces ne služi samo za postizanje željenog udjela masti, već ima i ključnu ulogu u odvajanju nečistoća, somatskih stanica, bakterija i drugih stranih tvari prisutnih u mlijeku.

Primjerice, separacijom se iz mlijeka u značajnom postotku uklanjaju određene bakterije, uključujući njihove nakupine i bakterijske spore, čime se poboljšava kvaliteta konačnog proizvoda (Samaržija 2011.). Za proizvodnju kiselog vrhnja, vrhnje bi trebalo sadržavati minimalno 18% mliječne masti te 9-9,5% bezmasne suhe tvari, što ukupno čini više od 27,5% ukupne suhe tvari. Ovi parametri su od esencijalne važnosti za postizanje željene teksture i okusa kiselog vrhnja.

Nakon separacije, slijedi homogenizacija vrhnja koja je uobičajen korak u mliječnoj industriji. Njezina glavna funkcija je stabilizirati fazu masti u vrhnju i spriječiti odvajanje masti na površinu. Homogenizacija prije pasterizacije smanjuje mogućnost kvarenja uslijed mikrobne kontaminacije, dok se homogenizacijom nakon pasterizacije inaktiviraju prirodne lipaze prisutne u mlijeku, koje mogu uzrokovati užegli okus vrhnja. Ovisno o liniji proizvodnje, homogenizacija se može provoditi prije i/ili poslije toplinske obrade. Postoje dvije vrste homogenizacije: jednofazna, koja se provodi prije toplinske obrade, i dvofazna, koja se provodi i prije i poslije toplinske obrade.

Nakon homogenizacije slijedi postupak pasterizacije, koja ima za cilj uništiti patogene mikroorganizame, produžiti održivosti vrhnja i razgraditi prirodne enzime mlijeka, poput lipaza. Prema Narvhus i sur. (2019.) mlijeko namijenjeno za proizvodnju fermentiranog vrhnja obično se termički obrađuje na visokim temperaturama tijekom relativno dugog vremena, primjerice 90-95°C tijekom 3-5 minuta. Ova visoka temperatura osigurava sigurnost proizvoda, čime se smanjuje rizik od kvarenja i stvara stabilnija baza za fermentaciju.

Prethodno homogenizirano i pasterizirano mlijeko potrebno je ohladiti na temperaturu inokulacije koja iznosi 18-20°C ili 28-30°C, ovisno o odabranom soju mikrobne kulture. Nakon hlađenja slijedi inokulacija s mikrobnom kulturom u količini od 1 do 3%. Najčešće korištene mikrobne vrste pripadaju rodu *Lactococcus*, dok su vrste roda *Leuconostoc* manje zastupljene. Fermentacija traje od 12 do 24 sata i može se odvijati u fermentorima ili u čašicama. U početnoj fazi fermentacije dolazi do stvaranja mliječne kiseline, a nakon toga se formiraju aromatske komponente okusa, prvenstveno diacetil. Ova sinteza može se odvijati tek kada pH vrijednost vrhnja padne ispod 5,2 (Goddik 2012.; Samaržija 2021.). Punjenje inokuliranog vrhnja u čašice smatra se boljim odabirom u usporedbi s fermentacijom vrhnja u fermentorima jer se zadržava viskoznost vrhnja. Fermentacija u čašicama također sprječava oštećenje masnih globula, što se često događa tijekom mehaničkog prebacivanja već fermentiranog vrhnja iz fermentora u ambalažu.

Nakon završetka fermentacije, vrhnje je potrebno ohladiti na temperaturu od 4-5°C tijekom 24 sata kako bi se prekinuo daljnji proces acidifikacije. Nakon hlađenja, vrhnje se pohranjuje u prodajnoj ambalaži na temperaturi od 4°C kako bi se osigurala njegova stabilnost i kvaliteta. Tehnologija proizvodnje kiselog vrhnja značajno je kompleksnija u usporedbi s proizvodnjom pasteriziranog i/ili steriliziranog mlijeka. Ova kompleksnost proizlazi iz odvojenih tehnoloških operacija te povećane mogućnosti mikrobiološke kontaminacije tijekom procesa (Samaržija 2011.).

Naime, svaka faza proizvodnje zahtijeva precizno upravljanje uvjetima kako bi se osigurala sigurnost i kvaliteta konačnog proizvoda, čime se dodatno naglašava važnost higijenskih standarda i kontrole kvalitete u mliječnoj industriji.

### **2.3. Kemijska svojstva kiselog vrhnja**

Kemijski sastav i kiselost domaćeg vrhnja variraju ovisno o sezoni proizvodnje. Mikroflora i mikrobiološka ispravnost, s druge strane, ovisne su o kvaliteti sirovog mlijeka, higijeni tijekom proizvodnje te uvjetima pohrane i prodaje. Ovi faktori značajno utječu na kvalitetu konačnog proizvoda, što je ključno za potrošače.

Mliječna mast je najvažniji sastojak mlijeka i kiselog vrhnja. Ona predstavlja smjesu različitih lipidnih tvari i sadrži više od 200 različitih masnih kiselina, od kojih se većina javlja samo u tragovima. Za kvalitetno kiselo vrhnje, minimalni udio mliječne masti trebao bi biti 18%, uz najmanje 0,5% titracijske kiselosti izražene kao mliječna kiselina (FDA 2008.). Mogu se dodati i drugi mliječni ili nemliječni sastojci, ali udio masti u konačnom proizvodu ne smije biti manji od 14,4%. Uz to, na tržištu su dostupne i verzije kiselog vrhnja s niskim udjelom masti i bez masti, što pruža potrošačima više opcija. Kako navodi Samaržija (2011.), zbog visokog udjela mliječne masti (od 10 do 48%), bilo koja strana komponenta lošeg okusa sadržana u mliječnoj masti u vrhnju postaje višestruko izražena. Na primjer, ako mlijeko sadrži slobodne masne kiseline u koncentraciji od 1  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$  masti, većina ljudi neće osjetiti užegli okus mlijeka, no taj će se okus u kiselom vrhnju pojačati. Kvaliteta vrhnja ovisi o fizikalnim i kemijskim svojstvima mliječne masti, odnosno, o svojstvima masnih globula koje su osjetljive na neodgovarajući „režim“ tijekom proizvodnje i prerade mlijeka. Za kvalitetno vrhnje važno je da mast bude u obliku masnih globula/kapljica. Na stabilnost membrane masne globule utječe veliki broj čimbenika, prvenstveno prehrana životinje, sastav masti, toplinsko i mehaničko opterećenje, itd. Nepovoljni uvjeti, kao što su loše pumpe, transport, skladištenje i sl. dovode do oštećenja membrane/ovojnice masnih globula i oslobađanja slobodnih masti. Izdvojena mast stvara agregate koji negativno utječu na izdvajanje mliječne masti iz mlijeka (EU 2022.).

Masti su građene iz trovalentnog alkohola glicerola i viših masnih kiselina, te su uz ugljikohidrate i proteine jedan od tri glavnih sastojaka hrane. Zbog visokog udjela zasićenih masnih kiselina u proizvodima životinjskog podrijetla, kao što su meso, mlijeko i jaja, oni se često spominju u negativnom kontekstu po pitanju ljudskog zdravlja, dok suprotno vrijedi za nezasićene masne kiseline (Barbir i sur. 2014.). Sastav masnih kiselina nije konstantan tijekom cijele godine; on varira ovisno o sezoni i hranidbi životinja. U hladnijem dijelu godine, većinu obroka čine sijeno i koncentrirana krmiva, što rezultira vrhnjem koje nazivamo „zimsko vrhnje“ s većim udjelom kratkolančanih i zasićenih masnih kiselina. S druge strane, hranidba zelenom krmom tijekom ljeta dovodi do „ljetnog“ vrhnja koje sadrži veći udio dugolančanih i nezasićenih masnih kiselina (tablica 2.2.1.) (Samaržija 2011).

Među najčešćim organskim kiselinama u fermentiranim mliječnim proizvodima nalazimo octenu, maslačnu, limunsku, mravlju, hipurnu, mliječnu, orotsku, propionsku, piruvičnu i

mokraćnu kiselina (Marsili i sur. 1981.). Istraživanja su pokazala kako se koncentracija ovih organskih kiselina odražava na okus proizvoda. Marsili i sur. (1981.) utvrdili su da većina ovih organskih kiselina nije hlapljiva i stoga nije aromatski aktivna, ali posjeduje različite profile okusa koji doprinose senzorskim svojstvima fermentiranih mliječnih proizvoda.

Tablica 2.2.1. Udio pojedinih masnih kiselina u vrhnju tijekom ljetnog i zimskog razdoblja

Masna kiselina	Formula	Zimsko vrhnje (%)	Ljetno vrhnje (%)	Talište (°C)
<b>Zasićene masne kiseline</b>				
Maslačna	C4:0	2,9	2,2	-7,9
Kaprnska	C6:0	1,7	1,7	-1,5
Kaprilna	C8:0	1,3	9,6	16,5
Kaprinska	C10:0	2,9	2,0	31,4
Laurinska	C12:0	3,3	2,4	43,6
Miristinska	C14:0	11,5	9,7	53,8
Palmitinska	C16:0	33,0	26,6	62,6
Stearinska	C18:0	11,0	12,6	69,3
<b>Nezasićene masne kiseline</b>				
Miristoleinska	C14:1	1,4	1,2	-4,0
Palmitoleinska	C16:1	1,9	1,7	-0,1
Oleinska	C18:1	2,2	3,6	14,0
Linolna	C18:2	0,5	1,6	-5,0
Linolenska	C18:3	0,8	1,4	-5,0

Izvor: Fearnon, (2011.)

Normalno nepatvoreno vrhnje sadrži prosječno oko 9,2% suhe tvari bez masti (Sbm), dok vrhnje koje je sumljivo na razvodnjavanje sadrži ispod 9% Sbm. Vrhnje dobiveno obiranjem sirutke sadrži najmanje 6,5% suhe tvari bez masti (Sabadoš 1996.). Fermentirano vrhnje trebalo bi sadržavati više od 27,5% suhe tvari (ST) kako bi se osigurala njegova kvaliteta.

Kiselost vrhnja može se odrediti na dva načina: titracijom prema metodi Soxhlet-Henkel ili elektrometričkim mjerenjem pH vrijednosti. Kiselost se izražava u °SH, dok pH metar mjeri koncentraciju vodikovih iona. Za vrhnje namijenjeno izravnoj potrošnji, slatko vrhnje ne smije biti kiselije od 6°SH (30% masti), dok vrhnje za kavu ne smije prelaziti 6°SH (10% masti). Fermentirano vrhnje, s maksimalno 45°SH, obično sadrži oko 20% masti. Tijekom fermentacije vrhnja ključno je pratiti kiselost kako bi se pravovremeno mogao zaustaviti daljnji proces fermentacije hlađenjem.



Također, važno je znati udio mliječne masti u vrhnju jer se titracijska kiselost smanjuje s povećanjem sadržaja masti, što može utjecati na konačni okus i teksturu proizvoda. Kako navode Salampessy i Kailasapathy (2011.), dodavanje dviju različitih kultura za fermentaciju vrhnja rezultira proizvodnjom različitih derivata laktoze putem dvaju različitih puteva. Kulture koje proizvode kiselinu, kao što su homofermentativne bakterije, slijede put koji dominantno vodi do proizvodnje L-laktata iz laktoze. Ove bakterije rastu pri temperaturama oko 10°C i mogu proizvesti otprilike 0,8% mliječne kiseline, ovisno o korištenom soju (Cogan 1995). S druge strane, kultura koja proizvodi okus koristi heterofermentativni put, pri čemu se laktoza pretvara u D-laktat, etanol i ugljični dioksid. Salampessy i Kailasapathy (2011.) također ističu da se acetat može proizvoditi kada su dostupni vanjski akceptori elektrona, poput kisika i citrata. Sadržaj citrata u mlijeku iznosi oko 8 mM i varira tijekom laktacije, što može utjecati na fermentacijske procese. Metabolizam citrata predstavlja ključnu osobinu nekih mezofilnih kultura, kao što je *Lc. lactis* subsp. *lactis biovar diacetylactis*. Ovaj metabolizam dovodi do proizvodnje acetata, diacetila, acetoina, 2,3-butanediola i ugljičnog dioksida. Diacetil je jedan od glavnih spojeva zaslužnih za tipični okus mlaćenice, maslaca, kiselog vrhnja, quark i cheddar sira (Salampessy i Kailasapathy 2011.). Acetat također doprinosi okusu, iako acetoin (derivat diacetila) i 2,3-butanediol nemaju značajan utjecaj na senzorska svojstva (Monnet i sur. 1995). Tijekom fermentacije mliječnog vrhnja dolazi do povećanja viskoznosti, što je rezultat snižavanja pH i proizvodnje drugih metabolita od strane bakterijske kulture. Ovo povećanje viskoznosti posljedica je dezintegracije kalcijevih submicela, pri čemu se koloidni kalcijev fosfat otapa i agregira u uređeniji sustav (Fox i sur. 2000). Osim toga, promjene u strukturi i viskoznosti mogu utjecati na konačnu teksturu i stabilnost fermentiranih mliječnih proizvoda.

#### **2.4. Mikrobna kultura i mikrobiološki sastav kiselog vrhnja**

Mikrobiološka kvaliteta domaćeg vrhnja predstavlja značajan javnozdravstveni problem jer spada u rizičnu skupinu namirnica koje mogu biti izvor različitih uzročnika bolesti (Markov i sur. 2009.). Mikrobne kulture imaju višestruku ulogu u fermentaciji mlijeka. Mikrobne kulture pažljivo su odabrani mikroorganizmi koji se namjerno dodaju u mlijeko kako bi pokrenuli i proveli željenu fermentaciju pod kontroliranim uvjetima u proizvodnji fermentiranih mliječnih proizvoda (Rakib i sur. 2017.). Skupina bakterija mliječne kiseline (BMK) ima ključnu ulogu u ovim procesima i stoljećima se sigurno koristi u proizvodnji fermentirane hrane i pića. Ove bakterije omogućuju brzo zakiseljavanje sirovina kroz stvaranje organskih kiselina, prvenstveno mliječne kiseline, koja igra ključnu ulogu u očuvanju i stabilnosti proizvoda. Osim mliječne kiseline, značajna je i njihova sposobnost proizvodnje octene kiseline, etanola, aromatskih spojeva, bakteriocina, egzopolisaharida te raznih enzima. Ovi spojevi ne samo da poboljšavaju rok trajanja i mikrobiološku sigurnost, već također unapređuju teksturu i doprinose ugodnim senzornim karakteristikama konačnog proizvoda.

U proizvodnji fermentiranog vrhnja koristi se mješovita kultura različitih sojeva bakterija mliječne kiseline, najčešće iz rodova *Lactococcus*, dok su bakterije iz roda *Leuconostoc* rjeđe zastupljene.

Dio tih bakterija ima ulogu acidifikacije, odnosno snižavanja pH proizvoda (homofermentativne bakterije), dok je dio zadužen za stvaranje specifične arome vrhnja (heterofermentativne bakterije) (Goddik 2012.; Samaržija 2021.). Većina mikroorganizama koji se koriste u proizvodnji fermentiranih mliječnih proizvoda pripada grupi bakterija mliječne kiseline, uključujući rodove *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* i *Leuconostoc*. Međutim, u određenim slučajevima, koriste se i drugi starteri koji nisu mliječno-kiselinski, kao što su kvasci i plijesni. Ovi mikroorganizmi često se primjenjuju zajedno s bakterijama mliječne kiseline tijekom proizvodnje specifičnih fermentiranih proizvoda, čime se postižemo jedinstveni okus i tekstura (Rakib i sur. 2017.).

U proizvodnji fermentiranog vrhnja koriste se različiti mikroorganizmi, među kojima su *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*, *Cit + Lc. lactis* ssp. *lactis* i *Leuconostoc citrovorum*. Preporučena količina aktivne starter kulture iznosi oko 2 do 2,5%. Idealno je koristiti liofilizirane duboko smrznute kulture, koje se dodaju prema uputama proizvođača, čime se osigurava visoka kvaliteta i konzistentnost proizvoda (Meunier-Goddik 2004.b). Mikroorganizmi uzročnici kvarenja mogu značajno umanjiti kvalitetu mlijeka i mliječnih proizvoda. Osim toga, prisutnost patogenih mikroorganizama predstavlja ozbiljan rizik za ljudsko zdravlje, jer mogu uzrokovati zoonoze i bolesti prenosive putem mlijeka i njegovih proizvoda (Samaržija 2021.). Uredbom Komisije (EZ) 2073/2005 propisani su mikrobiološki kriteriji sigurnosti hrane, posebno za mliječne proizvode od sirovog mlijeka, koji se odnose na prisutnost *Listeria monocytogenes* i *Salmonella* spp.

Tablica 2.3.1. Uredba (EZ) 2073/2005 o mikrobiološkim kriterijima za hranu

Hrana	Mikroorganizmi/ njihovi toksini i metaboliti	Kriteriji
1.2. Gotova hrana koja pogoduje rastu bakterije <i>Listeria monocytogenes</i> , osim hrane za dojenčad i za posebne med. potrebe	<i>Listeria monocytogenes</i>	Odsutnost u 25 g
1.11. Sirevi, maslac i vrhnje načinjeni od sirovog mlijeka ili mlijeka koje je obrađeno temperaturom nižom od temperature pasterizacije	<i>Salmonella</i> spp	Odsutnost u 25 g
2.2.1. Pasterizirano mlijeko i drugi pasterizirani tekući mliječni proizvodi	<i>Enterobacteriaceae</i>	m = <1 CFU/ml M = 5/ml
2.2.6. Maslac i vrhnje napravljeni od sirovog mlijeka ili mlijeka koje je termički obrađeno na temperaturi nižoj od temperature pasterizacije	<i>E. coli</i>	m = 10 CFU/g M = 100 CFU/g

Izvor: Prilagođeno prema Uredbi (EZ) 2073/2005 o mikrobiološkim kriterijima za hranu, (2005.)

Vodič za mikrobiološke kriterije za hranu iz 2011. godine sadrži dodatne preporučene kriterije, koji uz salmonelu i enterobakterije uključuju i koagulaza pozitivne stafilokoke, kao i kvasce i

plijesni u fermentiranim proizvodima i vrhnju od sirovog mlijeka (Tablica 2.3.2.). Također, kriteriji higijene procesa uključuju praćenje *Escherichia coli* u vrhnju od sirovog mlijeka, dok se za pasteurizirane tekuće mliječne proizvode nadzire prisutnost *Enterobacteriaceae* (Tablica 2.3.1.).

Tablica 2.3.2. Mikrobiološki kriteriji za kiselo mliječne fermentirane proizvode, kiselo vrhnje i vrhnje od sirovog mlijeka

Hrana	Preporučeni parametri	Plan		Kriterij
		uzorkovanja	n	
3.3.1. Kiselo mliječni fermentirani proizvodi, kiselo vrhnje	<i>Salmonella spp.</i>	5	0	n.n. u 25g
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	n.n. u 25g
	Koagulaza pozitivni stafilocoki / <i>Staphylococcus aureus</i>	5	1	m=10 cfu/g M=10 <sup>2</sup> cfu/g
	<i>Enterobacteriaceae</i>	5	1	m=10 cfu/g M= 10 <sup>2</sup> cfu/g
	Kvasci i plijesni	5	1	m=10 cfu/g M=10 <sup>2</sup> cfu/g
3.3.2. Vrhnje od sirovog mlijeka	<i>Salmonella spp.</i>	5	0	n.n. u 25g
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	n.n. u 25g
	Koagulaza pozitivni stafilocoki / <i>Staphylococcus aureus</i>	5	1	m= 10 <sup>2</sup> cfu/g M= 10 <sup>3</sup> cfu/g
	<i>Enterobacteriaceae</i>	5	1	m= 10 <sup>2</sup> cfu/g M= 10 <sup>3</sup> cfu/g
	Kvasci i plijesni	5	1	m=10 cfu/g M= 10 <sup>2</sup> cfu/g

*n = broj elementarnih jedinica koje sačinjavaju uzorak; c = dozvoljeni broj elementarnih jedinica uzorka koje daju vrijednosti između m i M. (Izvor: Vodič za mikrobiološke kriterije za hranu 2011.)*

Pravilna kontrola mikroorganizama u proizvodnji fermentiranih mliječnih proizvoda ključna je za održavanje sigurnosti i kvalitete proizvoda, a poštivanje regulativa i preporuka dodatno doprinosi sigurnijem prehrambenom lancu.

## 2.5. Senzorska svojstva kiselog vrhnja

Okus igra ključnu ulogu u prihvatljivosti bilo kojeg prehrambenog proizvoda. Stoga se istraživanje okusa često provodi putem deskriptivne analize i testiranja prihvatljivosti kod potrošača. Kiselo vrhnje, kao jedan od popularnih fermentiranih mliječnih proizvoda, karakterizira težak, viskozan i sjajan izgled, uz delikatan okus mliječne kiseline i uravnoteženu, ugodnu maslačnu aromu, koja je rezultat prisutnosti diacetila (Meunier-Goddik 2004a).

Iako senzorska analiza može biti prilično subjektivna, ona ostaje neizostavna metoda u procjeni kvalitete hrane koja se ne može u potpunosti zamijeniti mjernim instrumentima. Optimalna konzistencija fermentiranog vrhnja ovisi o njegovoj namjeni i može varirati od viskozne i tekuće do krute i pogodne za jelo žlicom. Izgled i konzistencija fermentiranog vrhnja suočavaju se s brojnim izazovima kvalitete, uključujući odvajanje sirutke, zrnatu konzistenciju, želatinoznost, te probleme s gustoćom — poput previše tanke, previše guste, ljepljive ili grudaste teksture, ili nehomogenog sastava (Meunier-Goddik 2012).

Ove varijacije kvalitete mogu se pripisati složenoj sinergiji između nekoliko čimbenika. Neki od glavnih čimbenika koji utječu na kvalitetu fermentiranog vrhnja uključuju:

- i) Udio mliječne masti koji igra ključnu ulogu u teksturi i okusu proizvoda. Viši udjeli masti obično doprinose kremastijem okusu i boljoj konzistenciji.
- ii) Homogenizaciju: Ovaj proces razbija globule mliječne masti u manje čestice, čime se poboljšava stabilnost i tekstura proizvoda. Nedovoljna homogenizacija može uzrokovati odvajanje sirutke.
- iii) Toplinsku obradu: Pasterizacija ili druga toplinska obrada može eliminirati neželjene mikroorganizme, ali može i utjecati na senzorske karakteristike proizvoda.
- iv) Vrstu mikrobne kulture: Različite bakterijske kulture mogu proizvesti različite arome i teksture. Odabir odgovarajuće kulture ključan je za postizanje željenih senzorskih svojstava.
- v) Uvjete tijekom fermentacije: Temperatura i vrijeme fermentacije izravno utječu na razvoj okusa i teksture. Optimalni uvjeti osiguravaju kvalitetan proizvod.
- vi) Tretman nakon fermentacije: Postupci poput hlađenja, pakiranja i skladištenja također igraju značajnu ulogu u očuvanju kvalitete proizvoda.
- vii) Distribuciju: Način na koji se fermentirano vrhnje transportira i čuva može utjecati na njegovu konačnu kvalitetu i prihvatljivost.

Fermentirana vrhnja s reduciranim udjelom mliječne masti predstavljaju veći tehnološki i kvalitativni izazov od onih s višim udjelom. Takvi proizvodi često imaju lošiju konzistenciju, probleme sa zadržavanjem vode i nepovoljan osjećaj u ustima. Takvi problemi mogu se ublažiti dodavanjem ne-mliječnih sastojaka, poput raznih hidrokoloida i/ili emulgatora. Međutim, u nekim zemljama se, s ciljem proizvodnje "clean-label" mliječnih proizvoda, dodaci izbjegavaju gdje god je to moguće.

Fermentirano vrhnje ima čvrstu, homogenu konzistenciju i ugodan mliječno-kiseli okus, koji uvelike ovisi o korištenoj starter kulturi. Primjerice, vrhnje fermentirano jogurtom obično je kiselije i manje aromatično u usporedbi s vrhnjem fermentiranim mezofilnim bakterijama mliječne kiseline, odnosno maslačnom kulturom.

Boja prehrambenih proizvoda pokazuje više od samo vizualne karakteristike; ona odražava i organoleptička svojstva proizvoda. Uglavnom, boja, njen intenzitet i nijansa su odraz fizikalno-kemijskih procesa.

Analiza boje pomoću instrumenata provodi se koristeći Lab\* kolorimetrijsku skalu pri čemu L\* označava svjetlinu, a\* označava položaj između crvene/magenta i zelene boje, a b\* označava položaj između žute i plave. Pored toga, procjena boje proizvoda može se utvrditi subjektivnom, odnosno vizualnom procjenom promatrača, kao i komparativnim utvrđivanjem pomoću određenog standarda (Shepard i sur. 2013.).

Za senzorsko ocjenjivanje, ocjenjivači koriste ocjenjivačke liste koje su sastavni dio senzorske analize kvalitete mlijeka i mliječnih proizvoda. Svaki osjetilni atribut proizvoda vrednuje se određenim brojem bodova. U slučaju identifikacije pojedinačnih nedostataka i grešaka, bodovi se umanjuju za svako pojedino svojstvo. Ukupni broj bodova koji se može dodijeliti iznosi 20 raspoređenih na sljedeći način; izgled (2), konzistencija (4), boja (1), miris (3) i okus (10). U tablici 2.4.1. prikazane su najčešće pogreške senzorske analize vrhnja i njihovi uzroci.

Tablica 2.4.1. Najčešće pogreške i uzroci kod senzorskog ocjenjivanja

<b>Pogreške</b>	<b>Uzroci</b>
Nehomogeni izgled	Mliječna mast se odvojila od kiselog mlijeka, predugačko vrijeme skladištenja
Previše kiselog okusa	Nepravilna fermentacija vrhnja zbog prekomjernog dodavanja mikrobiološke kulture previsoka temperatura i/ili predugo trajanje fermentacije
Previše nježan, prazan, nedovoljno aromatičan miris i okus	Usporavanje aktivnosti mikroorganizama, nedovoljna količina mikrobne kulture koja stvara kiselinu ili stvara okus, temperatura fermentacije, preniska fermentacija se završava prebrzo i ne postiže se potrebna razina kiselosti kiselog vrhnja
Pljesnivi miris i okus stočne hrane	Stočna hrana s neprikladnim mirisom, kontaminirana stočna hrana, pokvarena silaža
Pljesnivost na površini proizvoda	Slabo zatvorena, kontaminirana i/ili oštećena ambalaža
Pljesniv i nedefiniran miris i okus	Neadekvatna toplinska obrada vrhnja, naknadna mikrobiološka kontaminacija kiselog vrhnja, previsoka temperatura skladištenja kiselog vrhnja

Izvor: EU 2022.

### **3. Materijal i metode istraživanja**

Kiselo vrhnje prikupljeno je u lipnju 2024. na zagrebačkim tržnicama Dolac, Trešnjevka, Utrine i Dubrava. Prodaja vrhnja odvija se u otvorenom (vanjskom) prostoru tržnica, gdje se proizvodi čuvaju u rashladnim staklenim vitrinama. Uglavnom se kiselo vrhnje drži u većim plastičnim kantama ili kanticama, a prilikom kupnje se presipa u plastične vrećice ili staklene posude koje kupac donese.

Za potrebe fizikalno-kemijske, mikrobiološke i senzorske analize domaćeg vrhnja, sakupljeno je ukupno 17 uzoraka (n=17):

- Dolac: 4 uzorka
- Trešnjevka: 4 uzorka
- Utrine: 6 uzoraka
- Dubrava: 3 uzorka

Uzorci domaćeg vrhnja pohranjeni su na temperaturi +4°C do njihove analize kako bi se očuvala kvaliteta i stabilnost proizvoda. Uzorkovanje je provedeno metodom slučajnog odabira, što osigurava reprezentativnost uzoraka. Fizikalno-kemijske analize uzoraka provedene su u Referentnom laboratoriju za mlijeko i mliječne proizvode Sveučilišta u Zagrebu Agronomskog fakulteta, a senzorska analiza u Laboratoriju za senzorske analize poljoprivredno-prehrambenih proizvoda. Mikrobiološka analiza uzoraka vrhnja izvršena je u laboratoriju Hrvatskog veterinarskog instituta u Veterinarskom zavodu u Križevcima.

#### **3.1. Fizikalno-kemijska analiza**

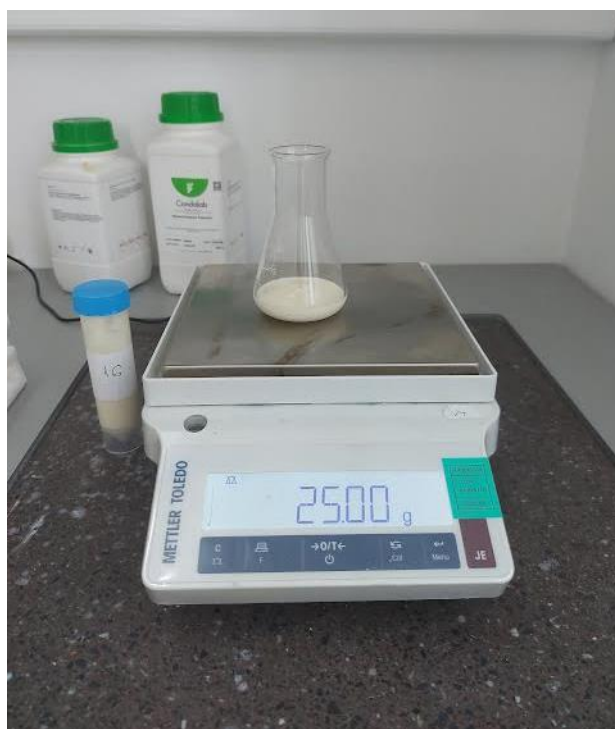
##### **3.1.1 Određivanje kiselosti vrhnja**

U svrhu provedbe mjerenja kiselosti (pH) korišten je instrument Mettler Toledo (Švicarska). Ovaj uređaj je specijaliziran za precizno mjerenje pH vrijednosti i sastoji se od staklene elektrode, koja djeluje kao sonda, spojene na elektronički metar koji mjeri i prikazuje izmjerenu pH vrijednost. Prije provođenja mjerenja, uređaj je kalibriran korištenjem standardnih pufera poznatih pH vrijednosti (4,01, 7,00 i 9,21). Nakon mjerenja svakog uzorka, sonda s elektrodom pažljivo je isprana redestiliranom vodom kako bi se uklonile eventualne kontaminacije i osigurali točniji rezultati. Nakon ispiranja, sonda je obrisana papirnatim ručnikom kako bi se uklonila višak tekućine koja bi mogla utjecati na mjerenje. Svaki uzorak je mjereno u tri ponavljanja, a zatim je izračunata srednja vrijednost.



Slika 3.1.1. Mjerenje pH vrhnja na uređaju Mettler Toledo

Za određivanje titracijske kiselosti ( $^{\circ}\text{SH}$ ) korištene su standardizirane kemijske otopine: natrijev hidroksid ( $\text{NaOH}$ ) u koncentraciji od 0,25 M i 2%-tni fenolftalein. U Erlenmeyerovu tikvicu potom je odvagano 25g uzorka vrhnja te dodan 1mL otopine fenolftaleina.



Slika 3.1.2. Odvaga uzorka vrhnja

Kružnim pokretima tikvice promiješan je sadržaj te titriran s 0,25M  $\text{NaOH}$  do trajne pojave blago ružičaste boje. Utrošeni volumen  $\text{NaOH}$  pomnožen je sa 4 (kod odvage 25g vrhnja).



Slika 3.1.3. Titracija natrijevim hidroksidom (NaOH)

### 3.1.2. Analize kemijskog sastava vrhnja

Udio masti, proteina, suhe tvari (ST), suhe tvari bez masti (Sbm) i laktoze određeni su korištenjem instrumenta MilkoScan FT 120 (FossElectric, Danska) koji djeluje na principu Fourierove transformacije infracrvenog spektra. Prije analize, uzorci su zagrijani u vodenoj kupelji na 40°C, a postavke instrumenta podešene su na program „vrhnje“.

Priprema metilnih estera masnih kiselina provedena je prema normi HRN ISO (15884:2003). Za dobivanje metilnih estera masnih kiselina, u mikroreakcijsku posudicu odvagano je 100 mg ekstrahirane masti (slika 3.1.2.1.) i razrijeđeno je u 5 mL heksana.



Slika 3.1.2.1. Ekstrahirana mast



Potom je dodano 0,2 mL transesterifikacijskog reagensa koji pripremljen otapanjem 10,8 g natrijevog metoksida (NaOCH<sub>3</sub>) u 100 mL metanola i dobro promiješan. Otopinu je vorteksirana 1 minutu, u što je nakon 5 minuta dodano 0,5 g natrijeva hidrogensulfata monohidrata (NaHSO<sub>4</sub> x H<sub>2</sub>O) te ponovno promiješano. Sadržaj je izlijevan u tubice za centrifugu i centrifugiran 3 minute/350 G na sobnoj temperaturi. Nakon centrifugiranja formiran gornji sloj - čisti supernatant prenesen je u čistu vialu. Pripravljene metilni esteri masnih kiselina analizirani su plinskom kromatografijom prema normi HRN ISO (15885:2003). Korišten je plinski kromatograf Shimadzu GC Plus-2010 s FID detektorom i kapilarnom kolonom InertCap PureWax dimenzija 0,25mm I.D x 30m df = 0,25um (slika 3.1.2.2.). Analiza je provedena metodom normalizacije, s tipom injektiranja split i temperaturom injektora postavljenom na 250°C. Uzorak (1 µL) injektiran je uz omjer razdjeljenja 1:50. Početna temperatura kolone bila je 50°C, nakon 5 minuta programirana je povećana temperatura za 5°C po minuti do 260°C, uz zadržavanje na toj temperaturi 30 minuta. Plin nosioc bio je helij.



Slika 3.1.2.2. Plinski kromatograf Shimadzu GC Plus-2010

## 3.2. Mikrobiološka analiza

### 3.2.1. Izdvajanje bakterija roda *Salmonella*

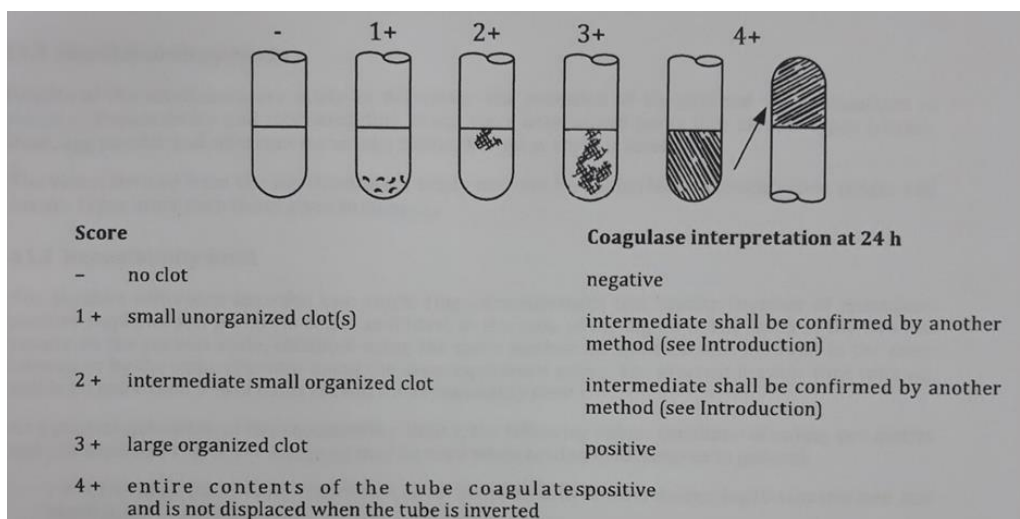
Za izdvajanje bakterija roda *Salmonella* korištena je metoda prema standardu HRN EN ISO 6579-1:2017; HRN EN ISO 6579-1:2017/A1:2020. Ispitni dio uzorka sačinjavao je 25 g kiselog vrhnja koji je razrijeđen s 225 mL puferirane peptonske vode (Biokar, Francuska). Za selektivno namnažanje korišteni su MkTTn (Biokar, Francuska) i RVS (Oxoid, UK) bujoni, a za rast salmonela korištene su dvije selektivne podloge: XLD (Biokar, Francuska) i RAMBACH agar (Merck, Njemačka).

### 3.2.2. Izdvajanje bakterijske vrste *Listeria monocytogenes*

Za izdvajanje *Listeria monocytogenes* i drugih *Listeria* spp korištena je metoda prema HRN EN ISO 11290-1:2017. Ispitni dio uzorka sačinjavao je 25 g kiselog vrhnja koji je razrijeđen s 225 mL Fraserovog bujona ½ (Biokar, Francuska) sa smanjenom koncentracijom inhibitora koji je korišten za revitalizaciju i prednamnažanje. Za sljedeći stupanj selektivnog namnažanja korišten je Fraserov bujon 1/1 (Biokar, Francuska) s punom koncentracijom selektivnih inhibitora. Iz inkubiranih bujonskih kultura nacjepljene su površine ALOA (Biokar, Francuska) i Palcam agara (Biokar, Francuska) postupkom razrjeđenja kako bi se dobile pojedinačne odvojene kolonije.

### 3.2.3. Izdvajanje koagulaza pozitivnih stafilokoka / *Staphylococcus aureus*

Za izdvajanje i određivanje broja koagulaza pozitivnih stafilokoka/*Staphylococcus aureus* korištena je metoda po standardu HRN EN ISO 6888-1:2021/A1:2023. Ispitni dio uzorka sačinjavao je 10 g kiselog vrhnja koji je razrijeđen s 90 mL puferirane peptonske vode (Biokar, Francuska), zatim su nacjepljene ploče sa Baird-Parker agarom (Biokar, Francuska), koje su inkubirane u termostatu na 34°C do 38°C kroz 24 ± 2 sata, zatim još daljnjih 24 ± 2 sata. Tipične kolonije su crne ili sive, sjajne i konveksne (1 mm do 1.5 mm promjera nakon inkubacije od 24 sata i 1,5 mm do 2,5 mm promjera nakon inkubacije od 48 sati), a okružene su čistom zonom koja može djelomično biti i mutna. Nakon inkubacije od najmanje 24 sata u toj čistoj zoni može se pojaviti opalescentni prsten koji je u neposrednom kontaktu s kolonijama (Slika 3.2.3.3). Takve kolonije su precijepljene u BHI bujon (Oxoid, Ujedinjeno Kraljevstvo) te inkubirane pri 34°C do 38°C tijekom 24 ± 2 sata, nakon toga se prenosi 0,1 ml kulture iz svake epruvete sa BHI bujonom u epruvete sa 0,3 ml kuničje plazme (Merck, Njemačka) i inkubira 4 do 6 sati pri 34°C do 38°C. Koagulaza test je pozitivan ako volumen ugruška zauzima više od pola originalnog volumena tekućine. Slika 3.2.3.1. prikazuje moguće reakcije kod očitavanja testa koagulaza.

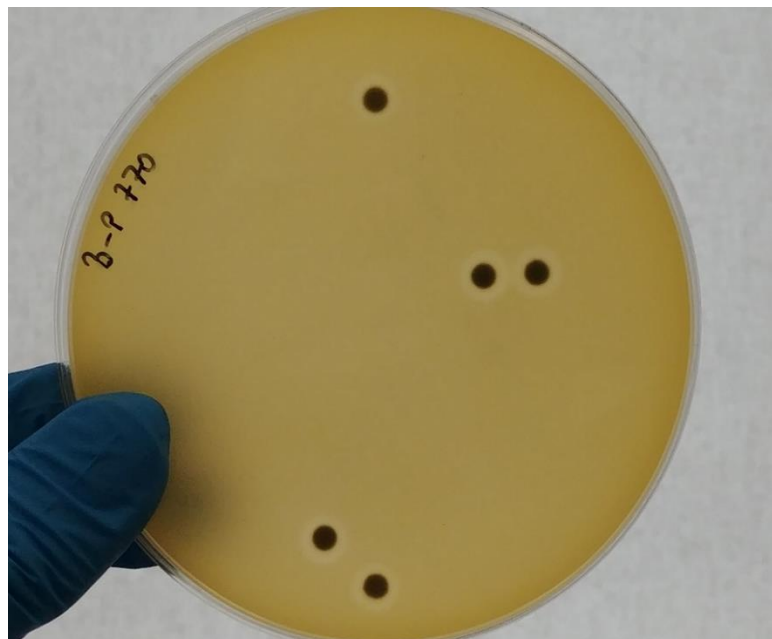


Slika 3.2.3.1. Moguće reakcije kod očitavanja testa koagulaza

Sojevi su potvrđeni biokemijski i identificirani do vrste automatiziranim sustavom Vitek2 Compact (bioMerieux, Francuska) s Vitek2 ID GP identifikacijskom karticom. Čista kultura uzgojena na neutralnom agaru je sterilnim brisom prebačena u sterilnu otopinu (0,45% do 0,50% NaCl, pH 4,5-7,0) kako bi se dobila bakterijska suspenzija optičke gustoće od 0,50 do 0,63 prema McFarlandu. Za identifikaciju su korištene kolorimetrijske kartice za određivanje Gram-pozitivnih bakterija (bioMerieux, Francuska) koje sadrže testove prikazane na slici 3.2.3.2. Rezultati biokemijskog testiranja VITEK2 sustavom po završetku očitavanja izraženi su s postotkom pouzdanosti identifikacije.

Biochemical Details																	
2	AMY	-	4	PIPLC	-	5	dXYL	-	8	ADHI	+	9	BGAL	+	11	AGLU	-
13	APPA	-	14	CDEX	-	15	AspA	-	16	BGAR	-	17	AMAN	-	19	PHOS	+
20	LeuA	-	23	ProA	-	24	BGURr	-	25	AGAL	-	26	PyrA	+	27	BGUR	-
28	AlaA	-	29	TyrA	-	30	dSOR	-	31	URE	-	32	POLYB	+	37	dGAL	+
38	dRIB	+	39	ILATk	+	42	LAC	+	44	NAG	-	45	dMAL	+	46	BACI	+
47	NOVO	-	50	NC6.5	+	52	dMAN	+	53	dMNE	+	54	MBdG	+	56	PUL	-
57	dRAF	-	58	O129R	-	59	SAL	-	60	SAC	+	62	dTRE	+	63	ADH2s	-
64	OPTO	+															

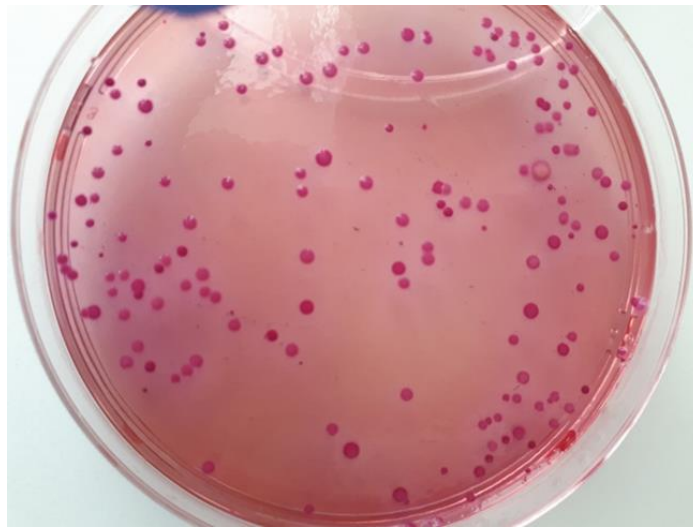
Slika 3.2.3.2. Prikaz biokemijskih testova VITEK2 sustava u slučaju utvrđene prisutnosti bakterijske vrste *Staphylococcus aureus*



Slika 3.2.3.3. Prikaz kolonija bakterijske vrste *Staphylococcus aureus*  
(Izvor: Veterinarski zavod Križevci)

#### 3.2.4. Izdvajanje *Enterobacteriaceae*

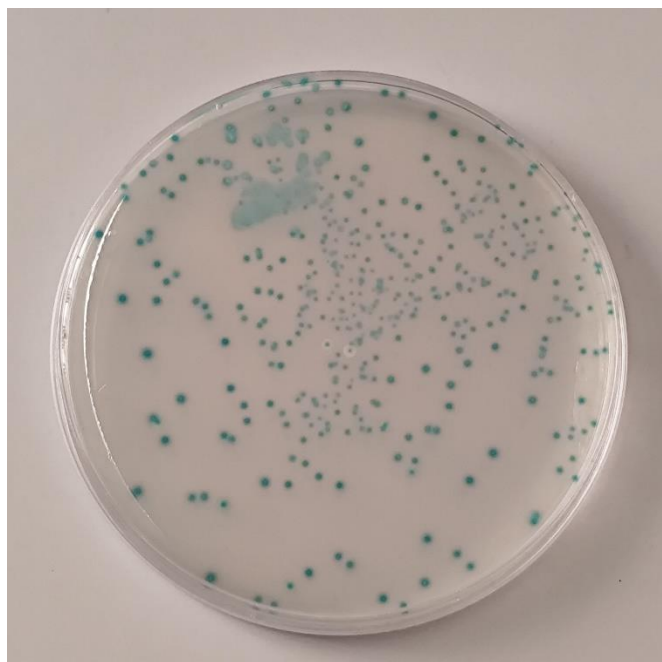
Za izdvajanje i određivanje broja bakterija iz roda *Enterobacteriaceae* korištena je metoda po standardu HRN EN ISO 21528-2:2017. Ispitni dio uzorka sačinjavao je 10 g kiselog vrhnja koji je razrijeđen s 90 mL puferirane peptonske vode (Biokar, Francuska), zatim su nacjepljene ploče s VRBG agarom (Biokar, Francuska) koje su inkubirane u termostatu na 34°C do 38°C kroz  $24 \pm 2$  sata. Karakteristične kolonije su ružičaste do crvene ili ljubičaste (sa ili bez precipitativne aureole). Takve kolonije su precijepljene u glukoza bujon (Kemika, Hrvatska) i na ploče s neutralnim hranjivim agarom (Merck, Njemačka) i inkubirane pri 34°C do 38°C tijekom  $24 \pm 2$  sata. Bakterije roda *Enterobacteriaceae* iskorištavaju glukozu i oksidaza su negativne.



Slika 3.2.4.1. Prikaz kolonija bakterija iz roda *Enterobacteriaceae*  
(Izvor: Veterinarski zavod Križevci)

#### 3.2.5. Izdvajanje *Escherichia coli*

Za izdvajanje i određivanje broja bakterijske vrste *Escherichia coli* korištena je metoda po standardu HRN ISO 16649-2:2001. Ispitni dio uzorka sačinjavao je 10 g kiselog vrhnja koji je razrijeđen s 90 mL puferirane peptonske vode (Biokar, Francuska), zatim su nacjepljene ploče sa TBX agarom (Biokar, Francuska) koje su inkubirane u termostatu na 44°C kroz 18 - 24 sata. Tipične kolonije su plave boje.



Slika 3.2.5.1. Prikaz kolonija bakterija *E. coli*  
(Izvor: Veterinarski zavod Križevci)

### 3.2.6. Izdvajanje kvasaca

Metoda po standardu HRN ISO 21527-1:2012 korištena je za izdvajanje i određivanje broja kvasaca. Ispitni dio uzorka sačinjavao je 10 g kiselog vrhnja koji je razrijeđen s 90 mL puferirane peptonske vode (Biokar, Francuska), zatim su nacjepljene ploče sa DRBC agarom (Biokar, Francuska) koje su inkubirane u termostatu na 25°C kroz 5 dana.



Slika 3.2.6.1 Prikaz kolonija kvasaca  
(Izvor: Veterinarski zavod Križevci)

### 3.2.7. Izdvajanje sulfitreducirajućih *Clostridium* spp.

Za izdvajanje i određivanje broja sulfitreducirajućih *Clostridium* spp. korištena je metoda po standardu HRN EN ISO 15213-1:2023. Ispitni dio uzorka sačinjavao je 10 g kiselog vrhnja koji je razrijeđen s 90 mL puferirane peptonske vode (Biokar, Francuska), zatim su nacjepljene ploče sa ISA (sulfid željezni) agarom (Condalab, Španjolska) koje su inkubirane u termostatu u anaerobnim uvjetima na 37°C kroz 48 ± 2 sati.

### 3.3. Određivanje boje

U provedbi mjerenja boje površine kiselog vrhnja korišten je uređaj Minolta Chroma-Meter CR-410 (slika 3.3.1.) s promjerom mjernog područja od 50 mm s D65 osvjetljenjem u spektru boja Lab\* u skladu s normama Međunarodne komisije za iluminaciju (CIE 1976.).



Slika 3.3.1.: Minolta Chroma-Meter CR-410  
(Izvor: <https://www.poly.my/product/chroma-meter-cr-410/>)

CIE standard je univerzalno prihvaćen za specifikaciju boje i uključuje tri osnovna parametra:

1. L\* - svjetloća ili sjaj vrhnja, od svijetlih do tamnih nijansi,
2. a\* - predstavlja spektar boje od zelene do crvene nijanse, poznato i kao crvenilo,
3. b\* - predstavlja spektar od plave do žute nijanse, odnosno žutilo.

Izračunata je prosječna vrijednost iz tri ponovljena mjerenja, a ta vrijednost korištena je kao reprezentativna za jedno ponavljanje eksperimenta s vrhnjem u statističkoj analizi. Ovi podaci omogućuju preciznu kvantifikaciju boje vrhnja, što je važno za ocjenu njegovog izgleda i kvalitete.



### 3.4. Senzorska analiza

Senzorsko ocjenjivanje uzoraka provedeno je drugi dan nakon kupnje. Uzorci su 30 minuta prije kušanja izvađeni iz hladnjaka kako bi se temperirali. Analiza je provedena u Laboratoriju za senzorske analize poljoprivredno-prehrambenih proizvoda Sveučilišta u Zagrebu Agronomskog fakulteta.



Slika 3.4.1. Jedinica za senzorsko ocjenjivanje

Senzorsku analizu i ocjenjivanje provelo je pet stručnih i educiranih panelista. Testni uzorci vrhnja, prije premještanja u manje posudice za kušanje, dobro su promiješani te numerirani odgovarajućim brojem uzorka. Panelisti su prije analize testnih uzoraka kušali kupovni "standard" uzorak vrhnja. Svaki panelist dobio je jedan uzorak od svakog vrhnja, a na kraju analize i jedan nasumično izabrani ponovljeni uzorak vrhnja radi provjere ponovljivosti. Nakon kušanja svakog uzorka panelisti su na raspolaganju imali dostupnu vodu, kruh, bademe i jabuku za neutralizaciju okusa prije kušanja sljedećeg uzorka. Korišten je test kvantitativne deskriptivne analize (QDA) (Lawless i Heymann 2010.). Panelisti su ocjenjivali intenzitet objektivnih i subjektivnih svojstava uzorka koristeći skalu od 0 do 9, gdje je 0 predstavljalo potpuno odsustvo intenziteta svojstva, a 9 najveći intenzitet svojstva.

## 4. Rezultati i rasprava

U tablici 4.1. prikazan je kemijski sastav uzoraka kiselog vrhnja, odnosno udio mliječne masti, proteina, suhe tvari, suhe tvari bez masti te laktoze. Izražene su minimalne i maksimalne vrijednosti, prosječne vrijednosti, standardna devijacija, standardna greška i koeficijent varijabilnosti za svaki pokazatelj.

Tablica 4.1. Kemijski sastav kiselog vrhnja

Uzorak	Mast (%)	Protein (%)	ST (%)	Sbm (%)	Laktoza (%)
1	27,74	2,93	33,7	6,3	3,03
2	18,61	4,77	25,08	5,55	1,7
3	19,35	2,92	26,76	8,02	4,49
4	23,16	3,13	29,93	7,42	3,64
5	33,3	2,89	38,33	4,78	2,14
6	39,8	2,72	44,3	4,75	1,78
7	30,8	3,52	36,89	6,51	2,57
8	36,52	2,96	42,25	7,16	2,77
9	25,28	3,25	31,7	6,71	3,17
10	33,99	3,05	40,41	7,42	3,37
11	15,36	3,23	23,11	8,02	4,52
12	25,92	3,51	32,8	6,58	3,37
13	26,3	3,19	31,41	4,34	1,92
14	35,89	4,54	42,74	6,99	2,31
15	29,92	3,29	35,99	5,78	2,78
16	29,41	3,19	36,19	7,19	3,59
17	24,42	3,09	31,38	7,18	3,87
Min	15,36	2,72	23,11	4,34	1,7
Max	39,8	4,77	44,3	8,02	4,52
Prosjek	27,99	3,30	34,29	6,51	3,00
CV	24,06	16,68	18,06	17,22	29,09
SE	1,633	0,134	1,502	0,272	0,212
SD	6,73	0,55	6,19	1,12	0,87

CV = Koeficijent varijabilnosti; SE = Standardna greška; SD = Standardna devijacija

Prosječni udio mliječne masti iznosio je 27,99%, dok su udjeli proteina, suhe tvari, suhe tvari bez masti i laktoze iznosili 3,30%, 34,29%, 6,51% i 3,00%. Minimalne vrijednosti za mliječnu mast, protein, suhu tvar, suhu tvar bez masti i laktozu zabilježene su kod uzorka 11, gdje su iznosile 15,36%, 2,72%, 23,11%, 4,34% i 1,7%. S druge strane, maksimalne vrijednosti zabilježene su kod uzorka 6, s vrijednostima od 39,8%, 2,77%, 44,3%, 8,02% i 4,52%.



Koeficijenti varijabilnosti pokazuju izrazitu varijabilnost među uzorcima: 24,06% za mliječnu mast, 16,68% za proteine, 18,06% za suhu tvar, 17,22% za suhu tvar bez masti te 29,09% za laktozu. Ova varijabilnost sastojaka može se pripisati različitim čimbenicima, od kojih su najznačajniji hranidba, sezona proizvodnje vrhnja, stadij laktacije i pasmina (genotip). Poznato je da su količina proizvedenog mlijeka i udio mliječne masti u negativnoj korelaciji. Primjerice, pasmine goveda poput Holsteina proizvode veću količinu mlijeka s manjim postotkom mliječne masti, dok pasmine poput Jerseyja proizvode manju količinu mlijeka s većim postotkom mliječne masti. Također, na početku laktacije mlijeko sadrži najviši udio mliječne masti i proteina, koji se kasnije postepeno smanjuju. Udio mliječne masti i bjelančevina obično je najviši u zimskom i jesenskom razdoblju, kada krave imaju povećani apetit zbog hladnijih uvjeta (Konjačić i sur. 2015.). Tijekom ljetnih vrućina, udio mliječne masti se smanjuje zbog gubitka sline kroz termoregulaciju, što rezultira smanjenjem kapaciteta puferiranja buragovog sadržaja. Ovaj proces izaziva blagi pad pH i nižu proizvodnju octene kiseline u buragu.

Osim toga, kvaliteta krme, stadij otkosa i način pohrane također značajno utječu na varijabilnost kvalitete mlijeka. Velika varijabilnost navedenih parametara fermentiranog vrhnja na zagrebačkim tržnicama može biti povezana s njihovom senzorskom analizom. Usporedbom rezultata istraživanja Lukač i Samaržija (1990.) o vrhnju sakupljenom na zagrebačkim tržnicama utvrđeno je da minimalni sadržaj mliječne masti iznosi 13,5%, dok maksimalni iznosi 36,5%. Prosječni udio mliječne masti u uzorcima bio je 25,83%. S druge strane, prema istraživanju Kirin (2009.) u vrhnju sakupljenom na bjelovarskim tržnicama, prosječni udio mliječne masti iznosio je 26,5%, što je neznatno manje od prosječnog udjela zabilježenog na zagrebačkim tržnicama (27,99%). Minimalni udio mliječne masti u vrhnju bjelovarskih tržnica iznosio je 22,5%, što predstavlja 7,14% viši rezultat u odnosu na minimalne vrijednosti zabilježene na zagrebačkim tržnicama. S druge strane, maksimalni udio masti na bjelovarskim tržnicama iznosio je 34,0%, što je 5,8% niže od rezultata prikazanih u tablici 4.1. Ova analiza ukazuje na određenu podudarnost u rezultatima dosadašnjih istraživanja, unatoč različitim vremenskim okvirima i lokacijama. Razlike u rezultatima nisu značajne, što sugerira da se domaće vrhnje u pogledu kemijskog sastava nije značajno mijenjalo tijekom vremena. Takvi rezultati mogu biti korisni za daljnje proučavanje kvalitete vrhnja i potrošačkih preferencija.

U Tablici 4.2. prikazane su vrijednosti kiselosti kiselog vrhnja izražene kroz pH-vrijednost i °SH za svaki od 17 uzoraka.

Tablica 4.2. Vrijednosti kiselosti vrhnja izražena kao pH vrijednost i °SH

Uzorak	pH	°SH
1	4,48	8,4
2	4,53	7,84
3	4,7	7,72
4	4,67	5,6
5	4,37	12
6	4,11	5,24
7	4,3	5,24
8	4,58	5,68
9	4,35	9,12
10	4,25	3,92
11	4,71	14,24
12	4,59	9,2
13	4,31	11,48
14	4,09	9,36
15	4,11	14,84
16	4,36	9,04
17	4,35	20,92
Min	4,09	3,92
Max	4,71	20,92
Prosjek	4,40	9,40
CV	4,62	45,76
SE	0,049	1,044
SD	0,20	4,30

CV = Koeficijent varijabilnosti; SE = Standardna greška; SD = Standardna devijacija

Rezultati pH vrijednosti uzoraka pokazuju minimalnu varijabilnost. Najniža pH vrijednost iznosi 4,09 kod uzorka broj 14, dok maksimalna pH vrijednost iznosi 4,71 kod uzorka 11, s prosječnom vrijednošću od 4,40. U usporedbi s podacima o vrhnju s bjelovarskih tržnica (Kirin 2009.), gdje je minimalna pH vrijednost iznosila 4,14, a maksimalna 4,48 (prosječno 4,31), možemo zaključiti da ne postoji značajna razlika između rezultata. Nasuprot tome, vrijednosti °SH pokazuju veću varijabilnost među uzorcima. Minimalna vrijednost °SH iznosi 3,92, dok je maksimalna 20,92, s prosječnom vrijednošću od 9,40. Kada usporedimo ove rezultate s istraživanjem vrhnja sa zagrebačkih tržnica (Lukač i Samaržija 1990.), gdje je prosječna vrijednost iznosila 29,88°SH, primjećujemo značajnu razliku. Varijabilnost dobivenih rezultata može se pripisati mikrobiološkoj kvaliteti mlijeka korištenog za proizvodnju vrhnja, kao i samom procesu proizvodnje. Mikrobna kultura prisutna u mlijeku, ili naknadno dodana, snižava pH stvaranjem mliječne kiseline i formiranjem gel-strukture.

Tijekom fermentacije, ključno je pravovremeno zaustaviti daljnju acidifikaciju, hlađenjem proizvoda na 4°C, kako bi se postigao željeni pH fermentiranog vrhnja. Vrijednosti °SH ukazuju na određenu varijabilnost u mjerenju titracijske kiselosti, odnosno latentne kiselosti koja potječe od nedisociranih kiselih sastojaka s velikim pufernim kapacitetom. Općenito, vrhnja s višim udjelom masti trebala bi imati veću titracijsku kiselost, no to nije uvijek slučaj u našim rezultatima. Prema Tablicama 4.1. i 4.2., uzorak broj 6, koji ima najveći udio mliječne masti (39,8%), pokazuje relativno nižu titracijsku kiselost (5,24). S druge strane, uzorak broj 17, s najvećom titracijskom kiselosti (20,92), sadrži 24,42% mliječne masti. Iako se može primijetiti korelacija između udjela masti i °SH u određenim uzorcima, navedene rezultate nije moguće potpuno objasniti isključivo tom korelacijom. Dodatna varijabilnost titracijske kiselosti može se objasniti i duljinom trajanja fermentacije. Tijekom procesa fermentacije važno je pratiti kiselost vrhnja i, sukladno tome, prilagoditi vrijeme fermentacije.

U tablici 4.3. prikazani su utvrđeni udjeli zasićenih masnih kiselina za svaki uzorak kiselog vrhnja.

Tablica 4.3. Udio zasićenih masnih kiselina

	<b>C4:0</b>	<b>C6:0</b>	<b>C8:0</b>	<b>C10:0</b>	<b>C12:0</b>	<b>C14:0</b>	<b>C15:0</b>	<b>C16:0</b>	<b>C18:0</b>	<b>ZMK (%)</b>
1	4,21	2,34	1,32	2,82	3,15	10,73	1,10	26,85	10,94	<b>64,56</b>
2	3,58	2,26	1,37	3,31	3,77	12,31	0,00	32,18	7,99	<b>68,09</b>
3	4,09	2,31	1,33	2,93	3,34	11,27	1,19	28,11	11,28	<b>66,80</b>
4	3,45	2,46	2,43	2,58	2,87	10,24	2,02	29,45	11,17	<b>67,44</b>
5	3,94	2,21	1,21	2,51	2,85	11,05	1,17	29,62	10,14	<b>65,48</b>
6	3,87	1,96	1,04	2,13	2,40	9,34	1,06	28,48	10,91	<b>62,20</b>
7	4,49	2,37	1,34	3,09	3,64	11,94	1,62	29,45	10,04	<b>69,20</b>
8	5,42	2,09	0,95	1,62	1,67	6,91	0,81	26,65	12,81	<b>60,35</b>
9	4,59	2,49	1,39	2,88	3,16	11,39	1,18	27,42	11,53	<b>67,18</b>
10	5,55	2,73	1,52	3,11	3,52	11,07	1,03	31,64	10,78	<b>72,47</b>
11	4,92	2,37	1,27	2,62	2,93	9,66	1,10	26,84	10,59	<b>64,42</b>
12	4,20	1,96	1,10	2,12	2,40	8,19	1,06	24,17	8,92	<b>58,03</b>
13	3,61	1,87	1,02	2,18	2,61	9,66	1,44	28,44	10,35	<b>62,58</b>
14	4,90	2,49	1,30	2,58	2,82	10,32	1,71	28,02	9,90	<b>66,12</b>
15	3,84	2,28	1,34	3,07	3,58	11,60	1,16	31,18	9,36	<b>68,31</b>
16	3,73	2,27	1,37	3,26	3,83	12,08	1,11	31,45	10,47	<b>70,67</b>
17	3,88	2,22	1,23	2,67	3,08	11,53	1,18	31,58	10,41	<b>68,95</b>
%	4,25	2,27	1,32	2,68	3,04	10,55	1,17	28,91	10,45	-

ZMK (%) – Zasićene masne kiseline

U tablici 4.3. prikazane su najzastupljenije zasićene masne kiseline prisutne u uzorcima vrhnja. Ove masne kiseline uključuju butansku (maslačnu, C4:0), kaprionsku (C6:0), kaprilnu (C8:0), kaprinsku (C10:0), laurinsku (C12:0), miristinisku (C14:0), pentadekansku (C15:0), palmitinsku (C16:0) i stearinsku (C18:0). Osim njih, analizom su identificirane i druge zasićene masne kiseline koje se nalaze samo u pojedinim uzorcima ili u malom postotku, kao što su undekanska (C11:0), tridekanska (C13:0), margarinska (C17:0), arahininska (C20:0), henikosanska (C21:0), beheinska (C22:0), trikosanska (C23:0) i lignocerinska (C24:0). Rezultati ukazuju na raznolik sastav zasićenih masnih kiselina i njihovu zastupljenost. Na temelju podataka iz tablica 4.3. i 4.4., potvrđuje se da su zasićene masne kiseline dominantne u svim uzorcima vrhnja. Najveći udio zasićenih masnih kiselina nalazi se u uzorku 10, s vrijednošću od 72,47%, dok najmanji udio pripada uzorku 12, koji iznosi 58,03%. Prema Barbire i sur. (2014.), na sastav masnih kiselina u hrani životinjskog podrijetla značajno utječe niz čimbenika, uključujući hranidbu, dob, tjelesnu masu, spol i genotip životinje. Autori također ističu da se u profilu masnih kiselina obično uočava visok udio maslačne i drugih kratkolančanih masnih kiselina, te nizak udio polinezasićenih masnih kiselina.

Iz rezultata prikazanih u tablici 4.3. može se primijetiti da dominantne zasićene masne kiseline, poput maslačne, miristanske, palmitinske i stearinske, potvrđuju navedenu tvrdnju. Poznato je da se kratkolančane masne kiseline (s 4 do 16 atoma ugljika) sintetiziraju de novo u vimenu, dok dugolančane masne kiseline (više od 18 atoma ugljika) dolaze u vime iz krvi. U kravljem mlijeku nalazi se 437 različitih masnih kiselina, pri čemu su maslačna kiselina, koja nastaje kao rezultat biohidrogenacije nezasićenih masnih kiselina u buragu, i oleinska kiselina, koja nastaje destauracijom stearinske kiseline u vimenu, prisutne u značajnijim količinama. U manjoj količini prisutne su i nezasićene masne kiseline, među kojima se najviše ističu linolna i linolenska kiselina.

U istraživanju Izsó i sur. (2020.), zasićene masne kiseline u uzorcima vrhnja identificirane su u sljedećim udjelima: butanska (C4:0) s prosjekom od 3,69%, kaprionska (C6:0) s 2,50%, kaprilna (C8:0) s 1,37%, kaprinska (C10:0) s 2,89%, laurinska (C12:0) s 3,58%, miristanska (C14:0) s 11,63%, pentadekanska (C15:0) s 1,21%, palmitinska (C16:0) s 32,57% i stearinska (C18:0) s 9,47%. U usporedbi s rezultatima autora Izsó i sur. (2020.), ovo istraživanje pokazuje neznatno više udjele zasićenih masnih kiselina, osim kod butanske (C4:0) i stearinske (C18:0) masne kiseline (tablica 4.3.). Ukupni udio zasićenih masnih kiselina u ovom istraživanju iznosi 66,05%, što je za 4,1% manje u odnosu na istraživanje Izsó i sur. (2020.), gdje je taj udio bio 70,15%. Osim toga, autori Mieželiene i sur. (2012.) navode da se u uzorcima fermentiranog vrhnja nalazilo više od 55% zasićenih masnih kiselina. Rezultati drugih istraživanja potvrđuju dominaciju zasićenih masnih kiselina poput butanske ili maslačne, miristanske, palmitinske i stearinske, što je karakteristično za mliječne proizvode.

Tablica 4.4. Udio mononezasićenih i polinezasićenih masnih kiselina

	MUFA			PUFA	
	C14:1	C16:1	C18:1n9	C18:2n6	C18:3n3
1	0,77	1,54	25,07	2,23	0,71
2	0,88	1,56	20,14	2,33	0,78
3	0,89	1,48	23,60	1,98	0,50
4	1,58	1,78	20,81	2,54	0,14
5	1,02	1,62	24,56	1,69	0,31
6	0,75	1,71	28,09	2,03	0,44
7	1,06	1,96	21,75	1,66	1,32
8	0,54	2,18	33,89	2,07	0,23
9	0,77	1,14	23,51	1,94	0,42
10	0,93	1,50	20,60	2,75	0,00
11	0,81	1,44	21,94	1,85	0,69
12	0,00	1,52	18,80	2,01	1,07
13	0,86	0,10	26,32	1,89	0,47
14	0,80	1,65	22,62	0,59	1,24
15	0,94	1,64	21,79	2,06	0,53
16	0,77	1,40	20,56	2,09	0,38
17	1,02	1,31	22,86	2,00	0,00
%		26,86			2,71

MUFA – Mononezasićene masne kiseline; PUFA – Polinezasićene masne kiseline

Najzastupljenije mononezasićene masne kiseline (MUFA) u uzorcima vrhnja su miristoleinska (C14:1), palmitoleinska (C16:1) i oleinska (C18:1n9). Ostale mononezasićene masne kiseline, koje se javljaju u manjem broju uzoraka, uključuju pentadekansku (C15:1), heptadecenoičnu (C17:1), gadoleinsku (C20:1n9), erucinsku (C22:1n9) i nervonsku (C24:1n9). Od polinezasićenih masnih kiselina (PUFA), najzastupljenije su linolna (C18:2n6) i alfa-linolenska kiselina (C18:3n3), dok su u manjim udjelima prisutne gama-linolenska (C18:3n6), eikozadienoinska (C20:2), dihomogama-linolenska (C20:3n6), arahidonska (C20:4n6), eikozatrienska (C20:3n3), eikozapentaenska (C20:5n3) i dokozaideinska kiselina (C22:2). Prema istraživanju Izsó i sur. (2020.), udio mononezasićenih masnih kiselina (MUFA) iznosi 23,37 g/100 g uzorka, dok udio polinezasićenih masnih kiselina (PUFA) iznosi 2,65 g/100 g uzorka kiselog vrhnja. Autori su uzorke prikupljali u travnju, što može objasniti niži udio nezasićenih masnih kiselina u odnosu na rezultate iz tablice 4.4., koji pokazuju da su udjeli MUFA iznosili 26,86 g/100 g, a PUFA 2,71 g/100 g.

Hranidba može utjecati na sastav i udio masnih kiselina; primjerice, zimski režim hranidbe temeljen na koncentratu može rezultirati nižim udjelima nezasićenih masnih kiselina, dok ljetni režim hranidbe, koji uključuje zelenu krmu bogato proteinima i vlaknima, može povećati udio nezasićenih i dugolančanih masnih kiselina.

Međutim, usporedbom navedenih rezultata ne možemo sa sigurnošću tvrditi da je hranidba isključivi razlog višeg ili nižeg sastava nezasićenih i zasićenih masnih kiselina, budući da njihov sastav ovisi o brojnim čimbenicima. Primjerice, bolesti mliječne žlijezde, poput mastitisa, mogu značajno utjecati na cjelokupni sastav mlijeka i masnih kiselina, s obzirom na to da se veći dio masnih kiselina sintetizira u vimenu. Također, sezonski utjecaji mogu uzrokovati razlike u kemijskom sastavu općenito i sastavu masnih kiselina. Povišene temperature okoliša iznad 24°C, pogotovo kada su povezane s visokom vlažnošću zraka (>90%), mogu izazvati stres kod mliječnih krava (Konjačić i sur. 2015.). Tokom toplinskog stresa u vrućim ljetnim mjesecima, životinje obično konzumiraju manje hrane i više vode, što se posljedično odražava na kemijski sastav mlijeka i vrhnja.

Tablica 4.5. Rezultati mikrobiološke analize kiselog vrhnja

Uzorak	Kvasci cfu/mL	<i>B. spp.</i> cfu/mL	<i>L. mon.</i> cfu/mL	<i>St.aur.</i> cfu/mL	<i>Ent.</i> cfu/mL	<i>Sal.</i> cfu/mL	<i>E.coli</i> cfu/mL	<i>Cl. spp.</i> cfu/mL
1	72727	+	-	13636	973	-	250	<10
2	54545	<10	-	<100	80000	-	3909	<10
3	50000	<10	-	<100	6364	-	1364	<10
4	90000	<10	-	<100	20000	-	9091	<10
5	86364	<10	-	<100	15636	-	11364	<10
6	104545	<10	-	3636	30000	-	12727	<10
7	145455	<10	-	27273	13636	-	35	<10
8	109091	<10	-	<100	1445	-	180	<10
9	90909	<10	-	<100	718	-	409	<10
10	50000	+	-	3455	18182	-	3636	<10
11	55455	<10	-	<100	16364	-	4545	<10
12	172727	+	-	<100	19091	-	5455	<10
13	70909	<10	-	2273	59091	-	2727	<10
14	54545	<10	-	<100	973	-	255	<10
15	107273	<10	-	<100	636	-	150	<10
16	81818	<10	-	<100	10090	-	4773	<10
17	163636	+	-	1909	3636	-	955	<10

+ = Pozitivno; - = Negativno; *B. spp.* = *Bacillus spp.*; *L.mon.* = *L. monocytogenes*; *St.aur.* = *S. aureus*; *Ent.* = *Enterobacteriaceae*; *Sal.* = *Salmonella*; *Cl. spp.* = *Clostridium spp.*

Mikrobiološka analiza pokazala je da uzorci domaćeg vrhnja ne sadrže *L. monocytogenes* i *Salmonellu*. Najčešći kontaminanti u domaćem vrhnju sa zagrebačkih tržnica su *S. aureus*, čiji je povišeni broj utvrđen u 6 uzoraka (35,30%), *Enterobacteriaceae*, čiji je povišen broj utvrđen u 13 uzoraka (76,47%), *E. coli* koja je utvrđena u 16 uzoraka (94,11%) te *Bacillus spp.* koji je bio prisutan u 4 uzorka (23,53%). *Clostridium spp.* je utvrđen u svim uzorcima u količini manjoj od 10 cfu/mL, a visoka prisutnost kvasaca utvrđena je u svim uzorcima (100%). Prisutnost kvasaca ukazuje na lošu higijenu tijekom mužnje te moguću neadekvatnu proizvodnju i pohranu vrhnja.

Određene vrste kvasaca otporne su na sredstva za čišćenje koja se koriste u mljekarskoj industriji. Psihrotrofni mikroorganizmi, koji su dominantni uzročnici kvarenja, postaju posebno problematični jer se u proizvodnji vrhnja i maslaca koristi ohlađeno mlijeko (Samaržija i sur. 2007.).

*Staphylococcus aureus* se najčešće izolira kao uzročnik subkličkog i kliničkog mastitisa muznih životinja, s prevalencijom od 30-40%. Ova bakterija pripada patogenim mikroorganizmima i stvara termostabilne enterotoksine, koji ostaju aktivni i nakon toplinske obrade. Njena prisutnost u vrhnju može se pripisati kontaminaciji mlijeka tijekom mužnje (mastitis) ili naknadnoj kontaminaciji tijekom proizvodnje.

U uzorcima vrhnja također je utvrđena visoka prisutnost *E. coli*, čiji je primarni izvor digestivni trakt ljudi i životinja, a u mlijeko dopijeva putem fekalija. To sugerira da je u 16 od 17 uzoraka mužnja bila nehigijenska i neadekvatna. U uzorcima 5 i 6, *E. coli* je zabilježena u više od 100 puta većem broju od dozvoljenog, što upućuje na izrazito lošu higijenu i može predstavljati potencijalnu opasnost za zdravlje. Osim toga, visoka prisutnost *Enterobacteriaceae* ukazuje na slične probleme s higijenom. Kontaminacija se može dogoditi tijekom mužnje, preko opreme ili iz okruženja na farmi, uključujući stelju i hranu. *Bacillus* spp. je također utvrđena u 4 uzorka, što sugerira kontaminaciju mlijeka putem tla ili fecesa životinja.

Prethodna istraživanja, primjerice ona provedena na vrhnju s bjelovarskih tržnica (Kirin 2009.), pokazala su prisutnost *Enterobacteriaceae* u 58,33% uzoraka i *E. coli* u 25% uzoraka, što je znatno manje u odnosu na rezultate iz ovog istraživanja. Također, istraživanje Markov i sur. (2009.) otkrilo je prisutnost *L. monocytogenes* u 10% uzoraka te *S. aureus* u 41,66% uzoraka, uz značajnu prisutnost *Enterobacteriaceae* i *E. coli*. Rezultati analize ukazuju na loš mikrobiološki sastav svih uzoraka vrhnja, pri čemu nijedan uzorak ne zadovoljava mikrobiološku ispravnost. Prisutni mikroorganizmi ukazuju na lošu higijenu mužnje, proizvodnje i pohrane. Ova kontaminacija negativno utječe na senzorske karakteristike i kemijsku analizu vrhnja. Usporedba s drugim istraživanjima pokazuje konstantnu lošu mikrobiološku sliku kroz duži vremenski period.

U tablici 4.6. prikazane su vrijednosti parametara boje za svaki uzorak kiselog vrhnja, uključujući parametre L, a\* i b\*.

Tablica 4.6. Vrijednosti parametara boje kiselog vrhnja sa zagrebačkih tržnica

<b>Parametri boje</b>			
<b>Uzorak</b>	<b>L</b>	<b>a*</b>	<b>b*</b>
1	97,34	-2,02	17,29
2	99,62	-2,72	17,15
3	102,33	-1,88	14,3
4	98,29	-1,97	9,73
5	102,29	-1,14	16,81
6	99,53	-1,06	15,26
7	101,12	-1,72	15,83
8	97,63	-1,99	24,14
9	98,24	-1,86	8,69
10	99,1	-0,94	15,32
11	99,6	-2,44	13,08
12	96,98	-1,84	16,57
13	96,72	-1,76	13,02
14	99,11	-3,26	23,47
15	101,57	-3,07	18,78
16	99,94	-1,13	14,71
17	99,52	-1,93	11,57
Min	96,72	-3,26	8,69
Max	102,33	-0,94	24,14
Prosjek	99,35	-1,93	15,63
CV	1,75	34,49	26,13
SE	0,421	0,161	0,990
SD	1,73	0,66	4,08

CV = Koeficijent varijabilnosti; SE = Standardna greška; SD = Standardna devijacija

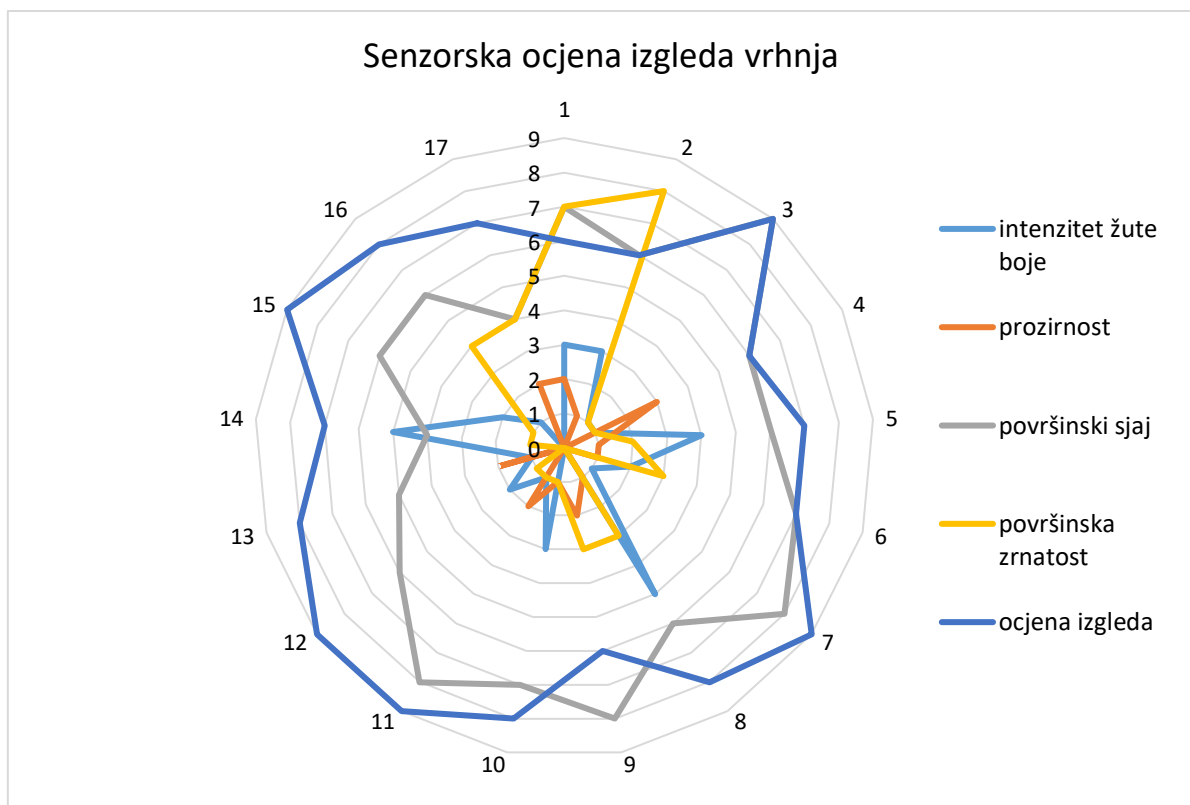
Minimalna svjetlina, odnosno sjaj vrhnja (L), zabilježena je kod uzorka broj 13 i iznosila je 96,72, dok je maksimalna vrijednost sjaja zabilježena kod uzorka broj 3, uz vrijednost 102,33. Minimalna izmjerena vrijednost a\* iznosila je -3,26 na uzorku 14, dok je maksimalna vrijednost zabilježena na uzorku 10 i iznosila je -0,94. Što se tiče žuto-plave komponente (b\*), minimalna vrijednost izmjerena je na uzorku 9, uz vrijednost 8,69, dok je maksimalna vrijednost zabilježena na uzorku 8 i iznosila je 24,14. Na temelju provedenih mjerenja, izračunati su prosjeci za sjaj (L), crvenilo (a\*) i žutilo (b\*), koji redom iznose 99,35, 1,93 i 15,63 (tablica 4.6.). Koeficijent varijabilnosti za svjetlinu vrhnja (L) pokazuje malu varijabilnost od 1,75%, što znači da između uzoraka ne postoje velike razlike. S druge strane, zabilježena je visoka varijabilnost za crveno-zelenu komponentu (a\*) od 34,49% i žuto-plavu komponentu (b\*) od 26,13%. Shepard i sur. (2013.) utvrdili su pak minimalan sjaj vrhnja (L) od 82,1 i maksimalan od 85,4. Minimalna vrijednost crveno-zelene komponente (a\*) iznosila je -2,72, dok je maksimalna



vrijednost bila -1,20. U pogledu žuto-plave komponente ( $b^*$ ), minimalna izmjerena vrijednost bila je 7,68, a maksimalna 15,00. Ove usporedbe ukazuju na niže izmjerene vrijednosti u ovom istraživanju za sve tri komponente.

Na boju fermentiranog vrhnja značajno utječe kemijski sastav i tehnološki procesi proizvodnje. Najvažniji faktor u kemijskom sastavu je udio mliječne masti. Uzorci s većim udjelom mliječne masti pokazuju izraženiju žuto-plavu komponentu ( $b^*$ ) u odnosu na uzorke s manjim udjelom. Osim kemijskog sastava, proces homogenizacije također igra ključnu ulogu u boji vrhnja. Homogenizacijom se smanjuje veličina masnih globula, koje se ravnomjerno raspoređuju u mlijeku. Prije homogenizacije, veće masne globule raspršuju svjetlost, što daje vrhnju blago žućkastu nijansu. Nakon homogenizacije, usitnjene globule ravnomjerno raspršuju svjetlost, čineći vrhnje bjelijim i svjetlijim. Zbog veće koncentracije globula mliječne masti u homogeniziranom vrhnju dolazi do intenzivnijeg raspršivanja svjetlosti, što smanjuje prozirnost i pojačava njegov bijeli izgled. Usitnjene masne globule također čine vrhnje vizualno gušćim i homogenijim, što dodatno pridonosi stvaranju svjetlije boje.

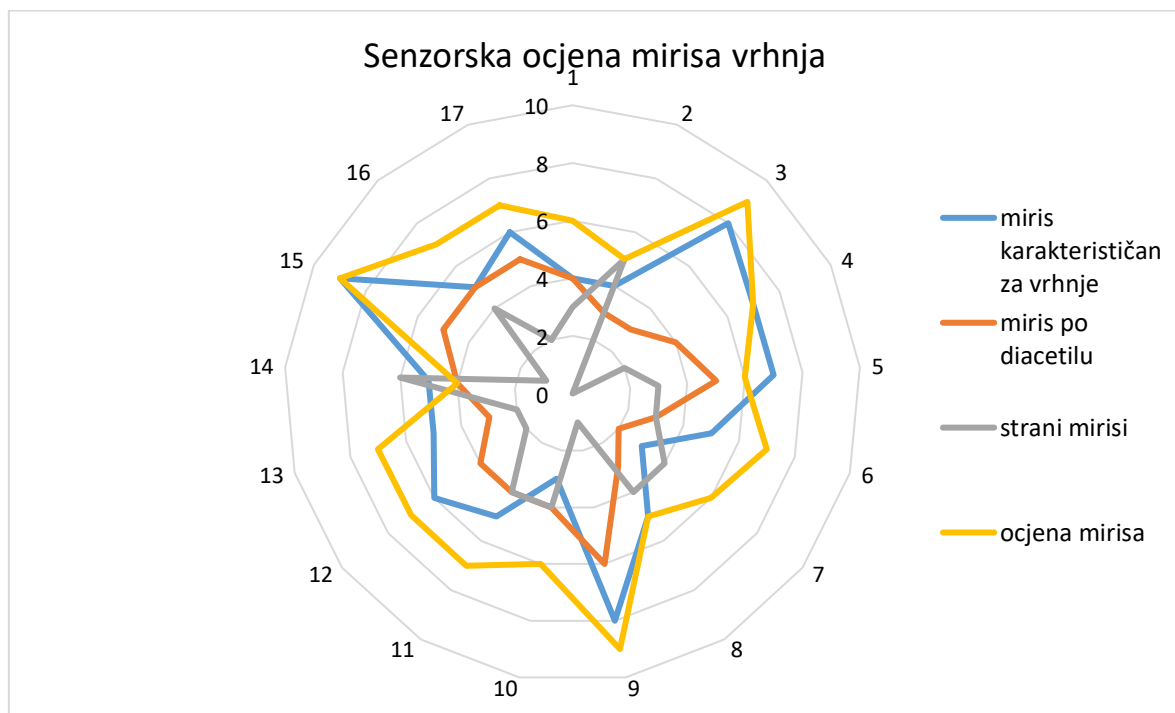
Slika 4.1. prikazuje rezultate izgleda vrhnja koji uključuje intenzitet žute boje, prozirnost, površinski sjaj, površinsku zrnatost i subjektivnu ocjenu izgleda.



Slika 4.1. Prikaz profila izgleda kiselog vrhnja

Na slici 4.1. uočljive su značajne varijacije u izgledu vrhnja među uzorcima, koje obuhvaćaju intenzitet žute boje, prozirnost, površinski sjaj, površinsku zrnatost i ukupnu ocjenu izgleda. Konzistencija vrhnja varirala je od tekuće do zgusnute, s prisutnošću grudica. Stupanj prozirnosti ocijenjen je na skali od 0 do 9, pri čemu 0 označava bijelu boju, a 9 bistru. Prosječni stupanj prozirnosti iznosio je 1, što ukazuje na to da uzorci nisu prozirni. Intenzitet žute boje također je bio mjerljiv, s 0 kao najsvjetlijom nijansom (bijela) i 9 kao tamnožutom. Ocjene za intenzitet žute boje kretale su se od 0 do 5, pri čemu je medijan iznosio 2. Površinski sjaj, koji predstavlja stupanj refleksije svjetlosti, varirao je između 4 i 9. Ukupna ocjena izgleda vrhnja pokazuje da su uzorci većinom dobivali ocjene 8 ili više, uz nekoliko iznimaka s nižim ocjenama. Na izgled vrhnja značajno utječu higijena mužnje i određeni tehnološki postupci proizvodnje. Prethodna rasprava o parametrima boje vrhnja ukazuje na to da homogenizacija i udio mliječne masti utječu na boju i sjaj. Rezultati prikazani na slici 4.1. jasno pokazuju uzorke s izraženijim intenzitetom žute boje, poput uzoraka broj 8 i 14, koji sadrže visok udio mliječne masti (>30%) i imaju ocjenu 5 za intenzitet žute boje. S druge strane, uzorak broj 9 ocijenjen je s 0 u pogledu intenziteta žute boje, a također ima i najmanju izmjerenu vrijednost žuto-plave komponente ( $b^*$ ; 8,69) te niži udio mliječne masti (>20%). Prisutnost površinske zrnatosti, koja se kretala između 0 i 8, ukazuje na veliku varijabilnost između uzoraka. Površinska zrnatost nije karakteristična za vrhnje, koje bi trebalo imati ujednačenu i glatku površinu bez zrnatosti. Zrnatost se može javiti uslijed tehnoloških pogrešaka tijekom proizvodnje.

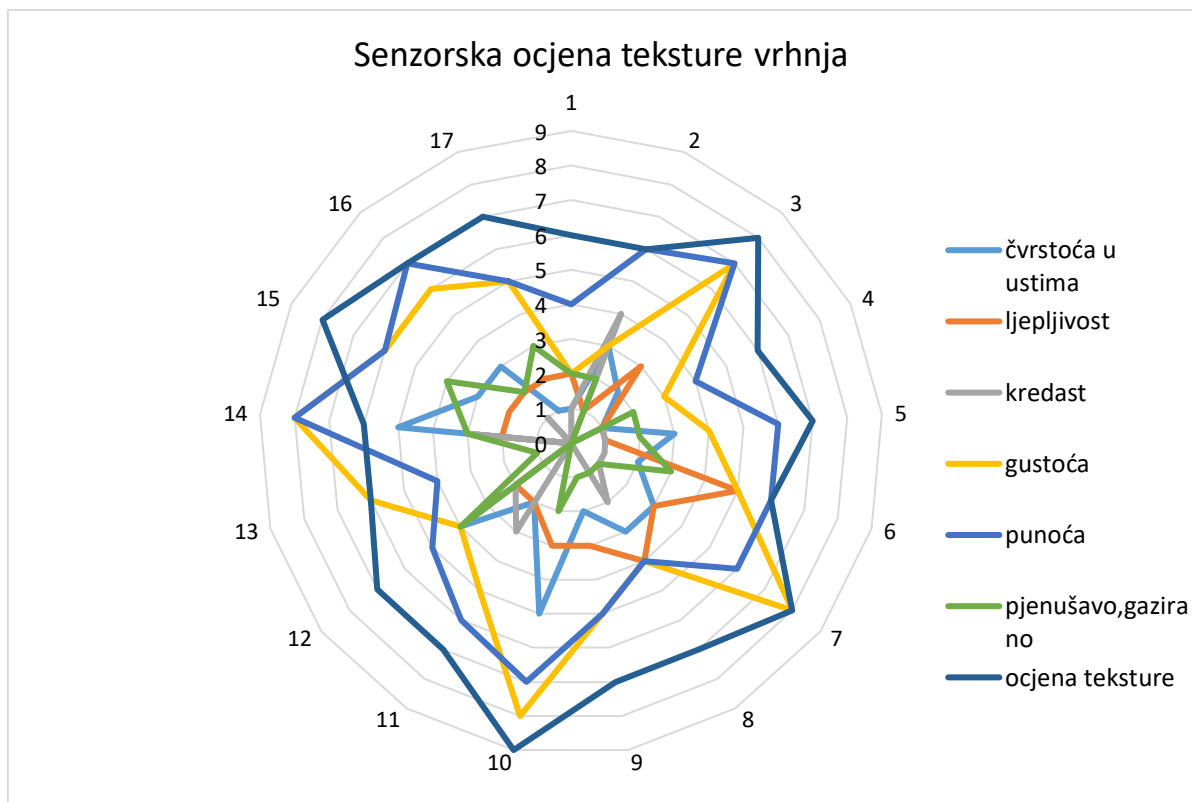
Slika 4.2. prikazuje ocjene mirisa za različite uzorke prema četiri svojstva: miris karakterističan za vrhnje, miris po diacetilu, strani mirisi i ukupnu ocjenu mirisa.



Slika 4.2. Prikaz profila mirisa kiselog vrhnja

Rezultati prikazani na slici 4.2. ilustriraju varijabilnost mirisa vrhnja, koja obuhvaća miris karakterističan za vrhnje, miris po diacetilju, strani miris i ukupnu ocjenu mirisa. Ocjene za miris karakterističan za vrhnje variraju od 3 do 9, pri čemu većina uzoraka dobiva ocjene između 5 i 8. Miris po diacetilju većinom je ocijenjen umjereno izraženim intenzitetom, u rasponu od 3 do 5. Svojstvo stranih mirisa za većinu uzoraka ocijenjeno je između 2 i 4. Ovi strani mirisi mogu nastati kao posljedica kontakta mlijeka s vanjskom okolinom u kojoj boravi životinja, ili zbog prisutnosti većeg broja mikroorganizama u mlijeku i vrhnju. Cjelokupan subjektivan dojam mirisa varirao je od 4 do 9, pri čemu većina uzoraka ima ocjene između 6 i 7. Ova analiza jasno pokazuje veliku heterogenost uzoraka, koji se značajno razlikuju u svojstvima mirisa. Prisutni enzimi lipaze djeluju na slobodne masti, što dovodi do oslobađanja slobodnih masnih kiselina i neposredno utječe na promjenu okusa i mirisa proizvoda (EU 2022.).

Na slici 4.3. prikazane su različite teksturalne karakteristike, uključujući čvrstoću u ustima, ljepljivost, kredastu teksturu, gustoću, punoću, pjenušavost (gazirano) i ukupnu ocjenu teksture.



Slika 4.3. Prikaz profila teksture kiselog vrhnja

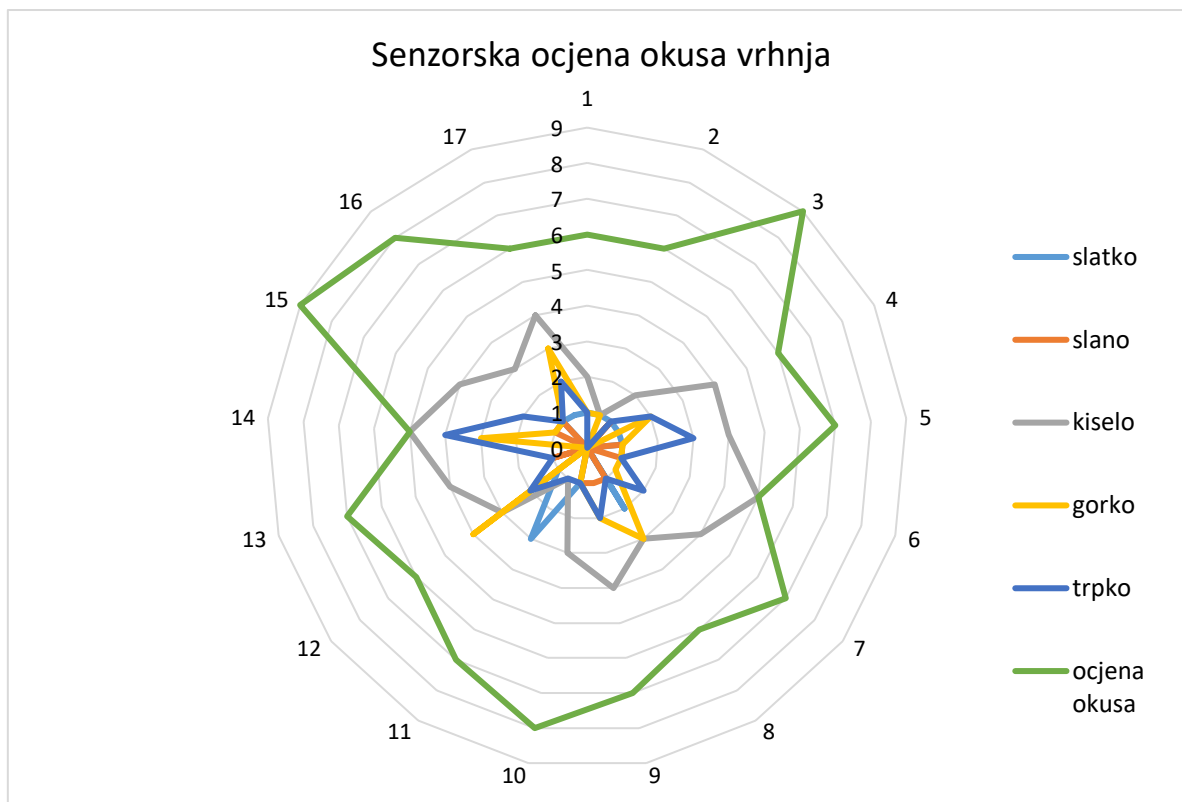
Iz rezultata prikazanih na slici 4.3. vidljive su značajne varijacije u senzorskim ocjenama teksture vrhnja među uzorcima. Tekstura vrhnja obuhvaća čvrstoću u ustima, ljepljivost, kredastu teksturu, gustoću, punoću, pjenušavost i ukupnu ocjenu teksture. Ocjene čvrstoće u ustima kretale su se od 0 do 5, dok je gustoća uzoraka bila izrazito varijabilna, s ocjenama od 2 do 8, s prosjekom između 5 i 6.

Gustoća se kretala od rjeđe, nalik tekućem jogurtu, do guste i stabilne. Uzorci s višim ocjenama za čvrstoću i gustoću općenito su bolje ocijenjeni u ukupnoj ocjeni teksture.

Ljepljivost, koja označava stupanj prijanjanja uzorka na površinu u ustima, imala je ocjene između 2 i 3, što sugerira da uzorci nisu bili pretjerano ljepljivi. Kredasta tekstura, definirana kao praškast osjećaj u ustima, varirala je između 0 i 4. Ova pojava može nastati uslijed dodavanja praškastih mliječnih aditiva, poput mlijeka u prahu ili sirutke, zbog obogaćivanja mlijeka mliječnom masti, proteinima i suhom tvari.

Punoća je varirala između ocjena 4 i 8, dok je pjenušava, odnosno gazirana tekstura, imala raspon od 0 do 4. Pjenušavost je karakteristična za mliječne proizvode poput kefira, ali u vrhnju predstavlja nepoželjnu osobinu koja ukazuje na produkciju plinova od strane određenih bakterija mliječne kiseline i nekih skupina kvasaca. Prekomjerna zasićenost ovim plinovima, kao što je slučaj s našim uzorcima, može se primijetiti u senzorskoj analizi. Ukupna ocjena teksture iznosila je 7,4, pri čemu su neki uzorci dobili najvišu ocjenu 9.

Poznato je da određeni sastojci kiselog vrhnja, poput mliječne masti, te tehnološki procesi proizvodnje, poput homogenizacije, utječu na teksturu i okus proizvoda. S obzirom na udio mliječne masti u pojedinom uzorku i ispravnost tehnoloških postupaka, rezultati senzorske analize mogu varirati. Ovi rezultati mogu se usporediti s istraživanjem Shepard i sur. (2013.), koji su zaključili da su kisela vrhnja s višim udjelom mliječne masti karakterizirana boljom punoćom okusa, neprozirnošću, ljepljivošću, višim intenzitetom žute boje, čvrstoćom i gustoćom. S druge strane, kisela vrhnja s reduciranim udjelom mliječne masti pokazala su kredastu teksturu i sjaj površine. Mliječna mast je ključni sastojak mlijeka koji značajno utječe na senzorsku analizu, oblikujući različite profile okusa i teksture. Usporedbom rezultata iz tablice 4.1. može se zaključiti da su uzorci s većim sadržajem mliječne masti i ukupne suhe tvari bili bolje ocijenjeni za svojstva punoće, gustoće i čvrstoće u ustima, što je rezultiralo višom ukupnom ocjenom teksture.



Slika 4.4. Prikaz profila okusa kiselog vrhnja

Rezultati prikazani na slici 4.4. ukazuju na značajnu varijabilnost u parametrima poput slatkog, slanog, kiselog, gorkog i trpkog okusa. Slatki okus, koji nije uobičajen za kiselo vrhnje, pokazuje malu varijabilnost s ocjenama koje se kreću između 0 i 3. S druge strane, slani okus je bio još manje izražen, s ocjenama od 0 do 1. Kiselo se pokazuje kao dominantna karakteristika okusa vrhnja, što je očekivano za fermentirane mliječne proizvode. Kiselo ima nešto veću varijabilnost, s ocjenama između 1 i 5, pri čemu je medijan 3. Izraženi kiseli okus rezultat je stvaranja mliječne kiseline djelovanjem bakterija mliječne kiseline. Na kiseloost najviše utječe korištena bakterijska kultura te pravovremeno zaustavljanje daljnje acidifikacije tijekom fermentacije.

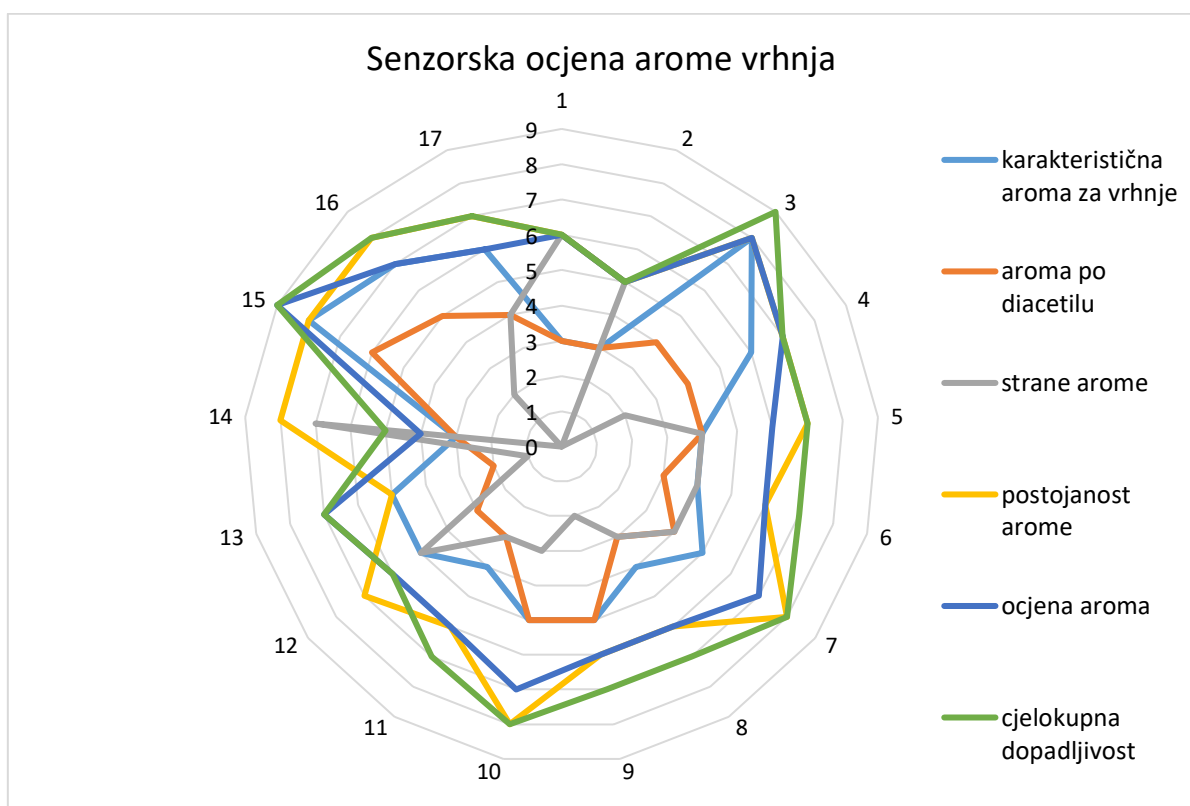
Prema tablici 4.5., svi uzorci imali su nedopušteno visoke koncentracije kvasaca, što može promijeniti okus, miris i izgled proizvoda. Gorak okus, zajedno s mirisom po voću, ukazuje na prisutnost kvasaca. S obzirom na sliku 4.4., gorčina nije bila izražena u svim uzorcima, a vrijednosti su se kretale između 0 i 4, pri čemu je gorčina najviše bila izražena u uzorku broj 12. Prisutnost gorčine u nekim uzorcima može se objasniti mikrobnom proteolizom koja povećava razinu hidrofobnih peptida i određenih glicerida nastalih lipolitičkom razgradnjom masti (Wilbey 2002.).

Trpkoo okus označava sušenje ili nabiranje sluznice u ustima, a ocjene za ovo svojstvo varirale su između 0 i 4. Slatkoća, slanoća, gorčina i trpkoo imaju niže intenzitete, što sugerira da su ove karakteristike slabo izražene ili gotovo nepostojeće. Cjelokupna ocjena okusa varirala je između 5 i 9, s medijanom 7.

To sugerira da su uzorci vrhnja, unatoč lošim mikrobiološkim rezultatima, ocijenjeni pozitivno, te se mikrobiološki sastav nije negativno odrazio na okus vrhnja u svim slučajevima. Autori Shepard i sur. (2013.) u svom istraživanju navode da je kiseli okus bio dominantna senzorska karakteristika svih kiselih vrhnja, što je potvrđeno i u ovom istraživanju. Također, navode da su sva kisela vrhnja sadržavala ukupni intenzitet arome, kiseli okus, kuhano/mliječni okus, kuhano/sumporni/goveđi okus, adstringentnost te slatko-kiseli okus. Ove senzorske karakteristike nastale su kao posljedica toplinske obrade proizvoda prije ili tijekom fermentacije. Značajni spojevi uključuju acetaldehid, koji igra ključnu ulogu u formiranju kiselog okusa, te 2,3-butandion i acetoin, koji su prisutni u većini uzoraka.

Sadržaj masti u kiselom vrhnju ima ključnu ulogu u percepciji i oslobađanju okusa. Istraživanja pokazuju da punomasno kiselo vrhnje ima niži intenzitet nepoželjnih okusa, poput kartona, u usporedbi s varijantama sa smanjenim udjelom masti. Ova razlika može se pripisati načinu na koji mlječna mast interagira s aromatskim spojevima. Proizvodi s niskim udjelom masti imaju tendenciju bržeg otpuštanja hlapljivih tvari, što dovodi do izraženijeg profila okusa. Na primjer, studije su pokazale da nemasni jogurt brže otpušta aromatske spojeve nego punomasni jogurti, što utječe na osjetilna iskustva.

Na slici 4.5. prikazane su senzorske karakteristike arome vrhnja koje uključuju karakterističnu aromu za vrhnje, aromu po diacetilu, strane arome, postojanost arome, ocjenu arome i cjelokupnu dopadljivost uzoraka.



Slika 4.5. Prikaz profila arome vrhnja

Slika 4.5. prikazuje veliku varijabilnost arome u uzorcima kiselog vrhnja, koje obuhvaćaju karakterističnu aromu za vrhnje, aromu po diacetilu, strane arome, postojanost arome, ocjenu

arome i cjelokupnu dopadljivost. Karakteristična aroma za vrhnje varira s ocjenama između 3 i 8, s medijanom od 5. Aroma po diacetilu također pokazuje varijabilnost, s ocjenama između 2 i 6, dok je medijan 4. Ove arome posljedica su biokemijskih procesa koji se odvijaju u mlijeku i vrhnju prije, tijekom i nakon fermentacije.

Panelisti su u većem broju uzoraka uočili prisutnost stranih aroma, s rasponom ocjena od 0 do 7 i medijanom 3. Ova prisutnost stranih aroma može se pripisati lošoj higijeni tijekom mužnje i proizvodnje, što potvrđuju rezultati mikrobiološke analize (Tablica 4.5.). Mlijeko lako može poprimiti strane arome i mirise (poput onih po štali, životinji ili fecesu) ako se ostavi nepoklopljeno u prostoru gdje borave životinje. Dodatno, visoke vrijednosti kvasaca u uzorcima također mogu utjecati na pojavu stranih aroma. Postojanost arome varirala je s ocjenama između 5 i 8, dok je ukupna ocjena arome pokazivala nešto veću varijabilnost, s ocjenama između 4 i 9.

Aromatski spojevi u kiselom vrhnju prvenstveno potječu od kemijske pretvorbe komponenata mlijeka tijekom obrade, pod utjecajem čimbenika poput toplinske obrade. Ključni metabolički putovi uključuju lipolizu (razgradnju masti), glikolizu (razgradnju laktoze) i proteolizu (razgradnju proteina poput kazeina) (Shepard i sur. 2013.). Prethodne studije također su identificirale slične spojeve u drugim fermentiranim mliječnim proizvodima, poput mlaćenice i raznih sireva, što ukazuje na sličnost u profilima arome mliječnih proizvoda.

U svim uzorcima vrhnja najizraženije su arome karakteristične za vrhnje. Rezultati pokazuju da vrhnje ima očekivane aromatske karakteristike, uz visok stupanj zadovoljstva aromom među ocjenjivačima. Cjelokupna dopadljivost ocijenjena je visokom ocjenom od 7,5. Veza između arome, metoda obrade i sadržaja masti značajno oblikuje osjetilne attribute kiselog vrhnja, utječući na preferencije potrošača i percepciju okusa. Razumijevanjem ove dinamike, proizvođači mogu bolje prilagoditi svoje proizvode kako bi zadovoljili zahtjeve tržišta i poboljšali ukupnu kvalitetu ponude mliječnih proizvoda.

## 5. Zaključak

Na temelju provedenih analiza može se zaključiti da domaće vrhnje sa zagrebačkih tržnica pokazuje neujednačeni kemijski sastav. Kemijska analiza ukazuje na širok raspon udjela masti, proteina i suhe tvari, što znači da potrošači ne mogu očekivati dosljednu kvalitetu prilikom kupnje ovog proizvoda. Osim toga, udio masnih kiselina ovisi o različitim čimbenicima, uključujući hranidbu krava, godišnje doba, te bolesti mliječne žlijezde (kao što je mastitis) i opće zdravlje vimena, što posljedično utječe na senzorska svojstva vrhnja.

Istraživanje je također pokazalo da domaće fermentirano vrhnje sadrži povišene razine patogenih mikroorganizama, poput *E. coli*, *S. aureus* i *Enterobacteriaceae*, što predstavlja ozbiljan javnozdravstveni problem. Prisutnost ovih patogena, zajedno s kvascima u svim uzorcima, sugerira na nezadovoljavajuću higijensku praksu u procesu proizvodnje, skladištenja i rukovanja vrhnjem. Izgled vrhnja bio je većinom zadovoljavajuć, no konzistencija je varirala od tekuće do zgusnute, s prisutnošću grudica. Najviše je bio izražen kiseli okus, karakterističan za fermentirano vrhnje, dok su u uzorcima primijećene strane arome i mirisi, što dodatno ukazuje na neispravnu mikrobiološku kvalitetu proizvoda.

Uzimajući u obzir sve navedene aspekte, nužna je češća kontrola kvalitete domaćih mliječnih proizvoda kako bi se osigurala sigurnost potrošača. Također, važno je naglasiti potrebu za visokom kvalitetom i ispravnosti domaćih mliječnih proizvoda, uključujući vrhnje, koji mogu izazvati bolesti i predstavljati potencijalnu opasnost po zdravlje.



## Popis literature

1. Barbir, T., Vulić, A., Pleadin, J. (2014). Masti i masne kiseline u hrani životinjskog podrijetla. *Veterinarska stanica*, 45(2), 97-110.
2. Bintsis, T. (2017.). Foodborne pathogens. *AIMS Microbiol.*, 3, 529-563. 10.3934/microbiol.2017.3.529
3. Codex Alimentarius. (2022). Standard for cream and prepared creams. (FAO/WHO. <https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/> Codex Standard 288.
4. Cogan, T.M. (1995.). " History and Taxonomy of Starter Culture . " Dairy Starter Culture . Cogan , T.M. , Accolas , J.P. (eds). VCH Publishers , New York, NY . 1 – 23 .  
Doi: [10.1201/b12084-16](https://doi.org/10.1201/b12084-16)
5. Europska unija (2022.). Senzorska ocjena mliječnih proizvoda. Modern and innovative online-based know-how on european dairy processing (Milk-ed). Dostupno na : [https://milk-ed.eu/wp-content/uploads/2022/05/SENSORY-EVALUATION-OF-DAIRY-PRODUCTS\\_HR.pdf](https://milk-ed.eu/wp-content/uploads/2022/05/SENSORY-EVALUATION-OF-DAIRY-PRODUCTS_HR.pdf)
6. Europska Unija. (2022.). Vrhnje. Modern and innovative online-based know-how on european dairy processing (Milk-ed). Dostupno na: [https://milk-ed.eu/wp-content/uploads/2022/05/Cream\\_HR.pdf](https://milk-ed.eu/wp-content/uploads/2022/05/Cream_HR.pdf)
7. FDA (2008.). "Code of Federal Regulation". Food and Drug Administration. Title 21. Washington, D.C.
8. Fearon, A. M. (2011.). Butter and Butter Products. U: Dairy Ingredients for Food Processing (ur. Fearon, R. C., Kilara, A.). Blackwell Publishing Ltd. 199-225.
9. Fox, P.F., Guinee, T.P., Cogan, T.M., McSweeney, P.L.H. (2000.). Fundamentals of Cheese Science . Aspen Publications , Gaithersburg, MD
10. Goddik, L. (2012.). Sour Cream and Crème Fraiche. U: Handbook of Animal-Based Fermented Food and Beverage Technology. Second edition. (Y. H. Hui, O. Evranuz, Eds). CRC Press. New York, pp. 235-244.
11. Hergešić, B.(1965). Mikrobiološka kvaliteta kiselog vrhnja. *Mljekarstvo* 15 (4), 73-76.
12. Hrvatski zavod za norme. (2001.). HRN ISO 16649-2:2001: Mikrobiologija hrane i stočne hrane - Metoda brojenja beta-glucuronidas pozitivne Escherichia coli - 2. dio: Brojenje kolonija pri 44°C uporabom 5-bromo-4-chloro-3-indolyl beta-D-glucuronide (ISO 16649-2:2001). Hrvatski zavod za norme.

13. Hrvatski zavod za norme. (2003.). HRN ISO 15884:2003: Mliječna mast - Priprava metilnih estera masne kiseline (ISO 15884:2002). Hrvatski zavod za norme.
14. Hrvatski zavod za norme. (2003.). HRN ISO 15885:2003: Mliječna mast - Određivanje sastava mliječne masti plinsko-tekućinskom kromatografijom (ISO 15885:2002). Hrvatski zavod za norme.
15. Hrvatski zavod za norme. (2012.). HRN ISO 21527-1:2012: Mikrobiologija hrane i hrane za životinje - Horizontalna metoda za brojenje kvasaca i plijesni - 1. dio: Tehnika brojenja kolonija u proizvodima s aktivitetom vode većim od 0,95 (ISO 21527-1:2008). Hrvatski zavod za norme.
16. Hrvatski zavod za norme. (2017.). HRN EN ISO 11290-1:2017: Mikrobiologija u lancu hrane - Horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti i određivanje broja *Listeria monocytogenes* i drugih *Listeria* spp. - 1. dio: Metoda dokazivanja prisutnosti (ISO 11290-1:2017; EN ISO 11290-1:2017). Hrvatski zavod za norme.
17. Hrvatski zavod za norme. (2017.). HRN EN ISO 21528-2:2017: Mikrobiologija u lancu hrane - Horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti i određivanje broja *Enterobacteriaceae* - 2. dio: Postupak određivanja broja kolonija (ISO 21528-2:2017, ispravljena verzija 2018-06-01; EN ISO 21528-2:2017). Hrvatski zavod za norme.
18. Hrvatski zavod za norme. (2017.). HRN EN ISO 6579-1:2017: Mikrobiologija u lancu hrane - Horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti, određivanje broja i serotipizaciju *Salmonella* - 1. dio: Dokazivanje prisutnosti *Salmonella* spp. (ISO 6579-1:2017; EN ISO 6579-1:2017). Hrvatski zavod za norme.
19. Hrvatski zavod za norme. (2020). HRN EN ISO 6579-1:2017/A1:2020: Mikrobiologija u lancu hrane – Horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti, određivanje broja i serotipizaciju *Salmonella* – 1. dio: Dokazivanje prisutnosti *Salmonella* spp. – Amandman 1: Proširenje raspona temperatura inkubacije, izmjena značaja Dodatka D i ispravak sastava MSRV i SC. Hrvatski zavod za norme.
20. Hrvatski zavod za norme. (2023.). HRN EN ISO 15213-1:2023: Mikrobiologija u lancu hrane - Horizontalna metoda za dokazivanje i određivanje broja *Clostridium* spp. - 1. dio: Određivanje broja sulfitreducirajućih *Clostridium* spp. tehnikom brojenja kolonija (ISO 15213-1:2023; EN ISO 15213-1:2023). Hrvatski zavod za norme.
21. Hrvatski zavod za norme. (2023.). HRN EN ISO 6888-1:2021/A1:2003: Mikrobiologija u lancu hrane - Horizontalna metoda određivanja broja koagulaza-pozitivnih stafilokoka

- (*Staphylococcus aureus* i ostale vrste) - 1. dio: Postupak primjene Baird-Parker agara (ISO 6888-1:2021/Amd 1:2023; EN ISO 6888-1:2021/A1:2023). Hrvatski zavod za norme.
22. Izsó, T., Kasza, G. Y., Somogyi, L. (2020). Differences between fat-related characteristics of sour cream and sour cream analogues. *Acta Alimentaria*, 49(4), 390-397.
  23. Kirin, S. (2009). Bjelovarsko domaće vrhnje. *Mljekarstvo* 59 (4), 343-348.
  24. Konjačić, M., Marković, T., Ivanković, A., & Stručić, D. (2015). Utjecaj godine i sezone na kemijski sastav i higijensku kvalitetu ekološki proizvedenog kravljeg mlijeka. *Stocarstvo*, 69.
  25. Kozačinski, L., Cvrtila, Ž., Hadžiosmanović, M., Majnarić, D., Kukuruzović, B. (2003). Mikrobiološka ispravnost mlijeka i mliječnih proizvoda. *Mljekarstvo* 53 (1), 17-22.
  26. Lawless, H. T., Heymann, H. (2010). *Sensory evaluation of food: principles and practices*. Springer Science & Business Media. <http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4419-6488-5>
  27. Lukač, J., Samaržija, D. (1990). Kvaliteta mliječnih proizvoda individualnih proizvođača na zagrebačkim tržnicama. *Mljekarstvo* 40 (8), 209-215.
  28. Markov, K., Frece, J., Čvek, D., Delaš, F. (2009). *Listeria monocytogenes* i drugi kontaminanti u svježem siru i vrhnju domaće proizvodnje s područja grada Zagreba. *Mljekarstvo* 59 (3), 225 - 231.
  29. Marsili, R. T., Ostapenko, H., Simmons, R. E., Green, D. E. (1981). High performance liquid chromatographic determination of organic acids in dairy products. *Journal of Food Science*, 46(1), 52-57.
  30. Meunier-Goddik, L. (2004a). Sour cream and creme fraiche. In Handbook of food and beverage fermentation technology 192-204.
  31. Meunier-Goddik, L. (2004b). Semisolid cultured dairy products: Sour cream and crème fraiche in book: Handbook of Animal-Based Fermented Food and Beverage Technology, Second Edition (pp.235-246).
  32. Miežalienė, A., Alenčikienė, G., Zaborskienė, G., Garmienė, G. (2012). Effect of fat origin on sensory and physicochemical characteristics of sour cream. *Milchwissenschaft*, 67, 64-67.
  33. Monnet, V., Condon, S., Cogan, T.M., Gripon, K.C. (1995.). Metabolism of Starter Culture. VCH Publishers , New York, NY

34. Narvhus, A. J., Østby N., K. Abrahamsen R. (2019.). Science and technology of cultured cream products: A review. *International Dairy Journal* 93, 57–71. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2019.01.011>
35. Rakib, M. R. H., Kabir, A., Amanullah, S. M. (2017). Starter cultures used in the production of probiotic dairy products and their potential applications: A Review. *Chemical and Biomolecular Engineering*, 2(2), 83-89.
36. Sabadoš D. (1996.). Kontrola i ocjenjivanje kakvođe mlijeka i mliječnih proizvoda, Hrvatsko mljekarsko društvo, Zagreb.
37. Salampessy, J., Kailasapathy, K. (2011). Fermented dairy ingredients. *Dairy Ingredients for Food Processing*, 335-356. DOI:10.1002/9780470959169
38. Samaržija, D. (2011) Fermentirana mlijeka, vrhnje i maslac. [online]. Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet. Preuzeto s: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:204:303724> (Datum pristupa: 10.06.2024.)
39. Samaržija, D. (2021.). Mljekarska mikrobiologija. Hrvatska mljekarska udruga. Zagreb. str. 2-21, 130-176, 187-193, 228-235, 240-259.
40. Samaržija, D., Podoreški, M., Sikora, S., Skelin, A., Pogačić, T. (2007). Mikroorganizmi-uzročnici kvarenja mlijeka i mliječnih proizvoda. *Dairy/Mljekarstvo*, 57(4).
41. Shepard, L., Miracle, R.E., Lekrisompong, P., Drake, M.A. (2013.). Relating sensory and chemical properties of sour cream to consumer acceptance. *Journal of Dairy Science*, Volume 96, Issue 9. Pages 5435-5454. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6317>
42. Tesfaw, Taye L. B., Alemu S., Alemayehu H., Sisay Z., Negussie H. (2013.). Prevalence and antimicrobial resistance profile of Salmonella isolates from dairy products of Addis Ababa, Ethiopia. *Afr. J. Microbiol. Res.* 7, 1-24.
43. Uredba Komisije (EZ) (2005.) br. 2073/2005 od 15. studenoga 2005. o mikrobiološkim kriterijima za hranu (L 338/1 22.12.2005., 34). Dostupno na: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/HTML/?uri=CELEX:32005R2073&from=HR>
44. Vodič za mikrobiološke kriterije za hranu (2011.) (3. izmijenjeno izdanje). Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja. Ožujak 2011. Dostupno na: <https://cdn.agroklub.com/upload/documents/vodic-za-mikrobioloske-kriterije-zahranu.pdf>
45. Wilbey, R. A. (2002). Microbiology of cream and butter. *Dairy Microbiology Handbook: The Microbiology of Milk and Milk Products*, 123-174.

## 6. Životopis

Melita Boroša rođena je 29. siječnja 2001. godine u Zagrebu. Pohađala je srednju Veterinarsku školu u Zagrebu u periodu od 2015. do 2019. godine. Završila je preddiplomski studij Animalne znanosti na Agronomskom fakultetu u Zagrebu u periodu od 2019. do 2022. godine. Istovremeno je pohađala školu za strane jezike gdje je državnim ispitom savladala A2 stupanj francuskog jezika u razumijevanju, govoru i pisanju. Osim francuskog dobro poznaje engleski jezik kojeg je usavršila tijekom svog školovanja u osnovnoj i srednjoj školi te na fakultetu. Poznaje osnove korištenja SAS programa kao i programe Microsoft Word, Microsoft PowerPoint i Microsoft Excel. Od kreativnih zanimanja bavila se plesanjem i slikanjem na platnu.