Mikrobne kulture u proizvodnji sireva

Štadler, Tena

Master's thesis / Diplomski rad

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of agriculture / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:151:762365

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

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

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek - Repository of the Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek

zir.nsk.hr

Image not found or type unknown

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Tena Štadler

Sveučilišni diplomski studij Bilinogojstvo

Smjer Zaštita bilja

MIKROBNE KULTURE U PROIZVODNJI SIREVA

Diplomski rad

Osijek, 2017.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Tena Štadler

Sveučilišni diplomski studij Bilinogojstvo

Smjer Zaštita bilja

MIKROBNE KULTURE U PROIZVODNJI SIREVA

Diplomski rad

Povjerenstvo za ocjenu i obranu završnog rada:

1. Izv.prof.dr.sc. Zvonimir Steiner, predsjednik
2. Prof.dr.sc. Suzana Kristek, mentor
3. Izv.prof.dr.sc. Drago Bešlo, član

Osijek, 2017.

ZAHVALA:

Zahvaljujem svojoj mentorici prof.dr.sc Suzani Kristek što mi je omogućila izradu ovog rada i pomogla svojim iskustvom, znanjem i vodstvom.

Veliko hvala mojim roditeljima koji su mi omogućili studij i na njihovoj bezuvjetnoj ljubavi i podršci. Također se zahvaljujem i svome bratu koji me uvijek ohrabrivao, a u određenim trenucima i svojim osobnim uspjesima dodatno motivirao.

Zahvaljujem se i svome dečku Matiji koji mi je bio potpora kroz sve ove godine studiranja, na pomoći, strpljivosti, te prijedlozima pri izradi ovog rad.

SADRŽAJ

1. UVOD 1

2. OPĆENITO O SIRU 3

2.1. Povijest sira 3

2.2. Definicija i podjela sira 4

2.3. Način dobivanja sira 5

3. MIKROBNE KULTURE U PROIZVODNJI SIRA 8

3.1. Vrste mikrobnih kultura 11

3.1.1. Nedefinirane i definirane mikrobne kulture 11

3.1.2. Podjela mikrobnih kultura prema temperaturi rasta i produktima fermentacije 13

3.2. Bakterije mliječne kiseline 13

3.2.1. Oblici bakterija mliječne kiseline 21

3.3. Kulture bakterija propionske kiseline 28

3.3.1. Fiziološke karakteristike bakterija propionske kiseline 28

3.3.2. Uloga propion bakterija u formiranju arome sira 29

3.4. Kulture bakterija Brevibacterium linens 30

3.5. Kulture plemenitih plijesni 31

4. TIPIČNI AUTOHTONI SIREVI 33

4.1. Paški sir 33

4.2. Krčki sir 35

4.3. Istarski sir 36

4.4. Sir škripavac 37

4.5. Parmesan 39

4.6. Roquefort 41

5. ZAKLJUČAK 43

6. POPIS LITERATURE 44

7. SADRŽAJ 46

8. SUMMARY 47

9. POPIS TABLICA 48

10. POPIS SLIKA 49

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA 51

BASIC DOCUMENTATION CARD 52

1. UVOD

Sir je zajednički naziv za skupinu fermentiranih mliječnih proizvoda, koji, u pogledu kinetike i trajanja, čine nešto posebno. Danas u proizvodnji sira koristimo odabrane mikrobne kulture sastavljene od različitih vrsta bakterija, kvasaca, plijesni i njihovih međusobnih kombinacija.

Mikroorganizmi i njihovi enzimi imaju ključnu ulogu u pravilnom odvijanju procesa proizvodnje sireva. Stoga se u suvremenoj proizvodnji pridaje veliki značaj upotrebi kvalitetnog sirila i starter kultura. Njihova uloga je u stvaranju specifičnog okusa, mirisa i konzistencije sira.

Kroz ovaj diplomski rad pokušat ćemo prikazati koje promjene mikroorganizmi mogu uzrokovati u siru. Svrha ovog istraživanja bila je istražiti mikrobne kulture-starter kulture koje se koriste u proizvodnji sireva, uključujući plemenite plijesni.

Starter kulture su jedna ili više specifično odabranih bakterija koje se dodaju mlijeku da se dobiju željeni okusi, teksture i opće karakteristike potrebne za određeni stil sira. Starter kulture su jedan od najvažnijih sastojaka koji se koriste za izradu sira. Postoji samo nekoliko proizvođača starter kultura širom svijeta i imaju na raspolaganju vrlo velike knjižnice definiranih sojeva pojedinačnih bakterija. Od tih "bakterijskih knjižnica" ova su poduzeća istražila i razvila vrlo temeljito razumijevanje svojstava svake bakterije. Svaka starter kultura ima svoje jedinstvene karakteristike kao što su idealna temperatura za rast, preživljavanje pri različitim temperaturama, brzina proizvodnje kiseline, količina kiselinske proizvodnje, sposobnost i stupanj razgradnje masti, bjelančevina i šećera u siru.

Proizvođači starter kultura su u stanju kombinirati odabrane sojeve bakterija u jedan proizvod da bi starter kultura odgovarala određenom siru. Više nije potrebno koristiti jednu ili dvije iste starter kulture kroz nekoliko vrsta sira. Ta se tehnologija još uvijek razvija i napredovala je tako da sada jedna tvornica za proizvodnju sireva može imati desetke različitih starter kulture u njihovom zamrzivaču.

Mliječno kisela fermentacija je najvažniji proces koju provodi najznačajnija skupina mikroorganizama, bakterije mliječne kiseline (BMK). Ove bakterije se mogu naći posvuda gdje postoji mogućnost spontanog vrenja ugljikohidrata. Bakterije mliječne kiseline fermentiranoj hrani daju svojstven miris i teksturu, istovremeno sprječavajući kvarenje i rast patogenih

mikroorganizama. Natjecanje s ostalim mikroorganizmima u fermentriranom proizvodu omogućava nastanak brojnih metabolita koji posjeduju antimikrobno djelovanje, kao što su organske kiseline, vodikov peroksid, acetaldehid, diacetil i bakteriocini.

Fermentirano mlijeko i sir među najstarijim su mliječnim proizvodima, a njihovi počeci sežu tisućljećima u prošlost. Proizvodnja sira danas se bez uporabe odabranih kultura mikroorganizama ne može zamisliti. Spontana, neselekcionirana mikrobna kultura nije nestala, ona se i dalje primjenjuje u proizvodnji različitih tradicionalnih sireva, koji postaju sve popularniji. Bez obzira na vrstu i sastav mikrobne kulture, glavni učinci mogu se svrstati u tri skupine:

- produžena stabilnost i sigurnost sireva
- nastajanje željenih senzornih i reoloških svojstava sira
- nastajanje terapeutskih/funkcionalnih svojstava sira.

2. OPĆENITO O SIRU

2.1. Povijest sira

Sir je drevna vrsta hrane čije porijeklo seže duboko u prošlost. Ne postoje jasni i odlučujući dokazi koji bi indicirali odakle točno potječe poizvodnja sira, da li je to Europa, središnja Azija ili Srednji Istok, ali postupak pravljenja sira se proširio Europom još prije Rimskog carstva te postao još sofisticiraniji za vrijeme Rimskog carstva. Postoje i neki okvirni datumi kad je počela proizodnja sira; neki sugeriraju da bi to moglo biti između 8000. god. pr.Kr. (kad su ovce pripitomljene) i 3000. god. pr.Kr. Najraniji arheološki nalazi o proizvodnji sira pronađeni su na freskama Egipatskih grobova koji datiraju u 2000. god. pr.Kr.

Prvi sirevi su najvjerojatnije bili kiseli, gorki, vrlo slani i slične strukture kao grubi grčki Feta sir koji se mrvi i intenzivnog je okusa. Sirevi proizvedeni u Europi, gdje je klima hladnija nego na srednjem Istoku, zahtjevaju manje soli radi zaštite.

Rimljani su proširili način proizvodnje sira kroz gotovo cijelu Europu, te su uveli proizvodnju u one dijelove kontinenta gdje do tada nisu poznavali sir. Nakon propasti Rimskog carstva i međunarodne trgovine, sir se unutar Europe nastavio razlikovati od naroda do naroda. Različiti lokaliteti su razvijali svoje načine proizvodnje i svoju tradiciju te svoje proizvode.

U Britaniji tvrde da postoji oko 700 različitih lokalnih vrsta sira, a Francuska i Italija po 400. Francuska izreka kaže da u Francuskoj postoji gotovo toliko različitih sireva kojiko je i dana u godini. Ipak, napredak proizvodnje sira u Europi bio je spor još stoljećima nakon pada rimskog carstva. Mnogi od sireva koje danas poznajemo jedni su od prvih zabilježenih još u srednjem vijeku ili malo kasnije, npr; CHEDDAR potječe još iz 1500. god, PARMEZAN iz 1597, GAUDA iz 1697. i CAMAMBERT iz 1791. i 1546. god.

2.2. Definicija i podjela sira

Sir je svježi ili zreli proizvod dobiven grušanjem mlijeka uz izdvajanje sirutke. Sirevi predstavljaju najznačajniju i najbrojniju porodicu mliječnih proizvoda.

Prema Pravilniku o sirevima i proizvodima od sireva (2009.), sirevi su svježi proizvodi ili proizvodi s različitim stupnjem zrelosti koji se proizvode odvajanjem sirutke nakon zgrušavanja mlijeka. Sir se definira i kao fermentiran ili nefermentiran proizvod dobiven nakon zgrušavanja mlijeka, obranog mlijeka ili djelomično obranog mlijeka, vrhnja ili kombinacijom navedenih sirovina te otjecanjem sirutke uz dodatak sirila ili nekoga drugog zamjenskog enzima zgrušavanja (Božanić, 2015.).

Neovisno o vrsti, sirevi se najčešće proizvode od kravljeg, ovčjeg, kozjeg mlijeka ili njihovih mješavina s različitim udjelom pojedinačne vrste mlijeka (Božanić, 2015).

Svježi sirevi vrlo brzo prestaju biti svježi uslijed sušenja stajanjem ili zbog djelovanja mikroorganizama. Karakteristično je za njih da se troše u svježem stanju, počevši odmah nakon proizvodnje i da sadrže mnogo vode, kao prirodnog sastojka mlijeka.

Sirevi se prema sadržaju vode u bezmasnoj suhoj tvari sira (Tablica 1.) dijele na ekstra tvrde, tvrde, polutvrde, meke i svježe. Prema udjelu mliječne masti (Tablica 2.), sirevi mogu biti posni do ekstra masni s više od 55% masti u suhoj tvari sira. Sirevi se još dijele i prema načinu zrenja (Tablica 3.) na one koji ne zriju, na one koji zriju pretežno s bakterijama u unutrašnjosti, na one koji zriju pretežno s bakterijama na površini i na one koji zriju s plijesnima pretežno u unutrašnjosti i s plijesnima pretežno na površini (Božanić, 2015.)

Tablica 1. Naziv sira s obzirom na udio vode u bezmasnoj tvari sira (MPRRR, 2009.).

Naziv sira	udio vode u bezmasnoj tvari sira (%)
Ekstra tvrdi sir	< 51
Tvrdi sir	49 - 56
Polutvrdi sir	54 - 69
Meki sir	> 67
Svježi sir	69 - 85

Tablica 2. Vrste sira s obzirom na udio mliječne masti u suhoj tvari sira (MPRRR, 2009.).

Naziv sira	udio vode u bezmasnoj tvari sira (%)
Ekstramasni	≤ 60
Punomasni	45 - 60
Masni	25 - 45
Polumasni	10 - 25
Posni	< 10

Tablica 3. Vrste sira s obzirom na zrenje sira (Tratnik, 1998.).

Sirevi bez zrenja (svježi)	Pastozni tip (svježi sir, kremasti sirevi) Zrnati tip (zrnati i kremasti zrnati svježi sir) Plastični, rastezljivi tip (mocarela, parenica)
Sirevi sa zrenjem (uz bakterije)	Na površini (limburger, romadur) U unutrašnjosti: • bez tvorbe plina (parmezan, Paški sir) • uz tvorbu plina (ementaler, gauda) U salamuri (Feta, travnjački, bijeli sir u kriškama)
Sirevi sa zrenjem (uz plemenite plijesni)	Na površini – bijele – (kamamber, bri) U unutrašnjosti – plave/zelene – (rokfor, gorgonzola) Površina/unutrašnjost – (plavi bri, kambazola)

2.3. Način dobivanja sira

Tehnologija proizvodnje sira ima dva cilja:

- proizvesti sir željenih senzorskih osobina (vanjski izgled, boja, presjek, konzistencija, miris i okus).
- postaviti tehnološki lako ponovljivi protokol koji će za cilj svakodnevno dati sir istih osobina (Kalit, 2015.).

Proizvodnja sira (Slika 1.) započinje odabirom mlijeka, odnosno kontrolom prikladnosti mlijeka za sirenje. Treba provjeriti je li mu kiselost u redu te da ne sadrži neke inhibitorne tvari kao, primjerice, antibiotike. Zatim se mlijeku tipizira količina mliječne masti ovisno o vrsti sira

koja se želi proizvesti. Svaki tip sira zahtijeva posebnu tipizaciju mlijeka kao i posebne uvjete proizvodnje i kasnije zrenja sira kako bi postigao karakteristike koje su specifične baš za taj tip sira (Božanić, 2015.).

Usitnjavanje mliječne masti, tzv. homogenizacija mlijeka, u sirarstvu se uglavnom ne provodi radi posljedične slabije sposobnosti koagulacije kazeina, glavnog proteina mlijeka (Božanić, 2015.).

Toplinska obrada mlijeka provodi se na minimalnoj temperaturi koju zakon propisuje kako bi kasnija koagulacija proteina bila što bolja. Zatim slijedi sirenje mlijeka. Ono se provodi dodatkom sirila (enzima) ili mljekarske kulture (bakterija mliječne kiseline). Moguće je provođenje sirenja i dodatkom kiseline (npr. octa) direktno u mlijeko uz eventualno zagrijavanje, iako je ovakav način sirenja znatno rjeđi u industrijskim razmjerima (Božanić, 2015.).

Nakon koagulacije proteina, odnosno nastanka čvrstog gruša, gruš se reže kako bi se izdvojila sirutka. Pri proizvodnji tvrđeg sira provodi se dogrijavanje gruša kako bi se sirno zrno osušilo, odnosno kako bi se iz njega izdvojilo što više sirutke i proizveo sir s velikom količinom suhe tvari, a s malim udjelom vode (Božanić, 2015.).

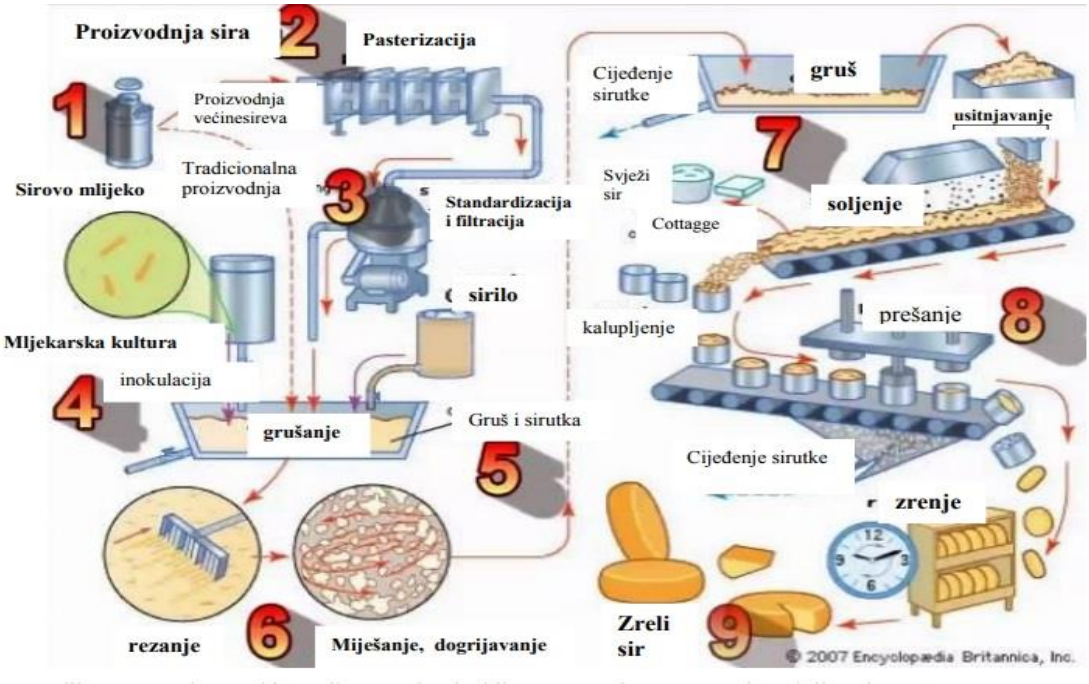
Gruš se prebacuje u kalupe koji ga oblikuju i pri tome se cijedi. Kalupi se povremeno okreću da se ravnomjerno ocijedi sirutka i zatim formirani sir ide na prešanje (Božanić, 2015.).

Nakon prešanja slijedi soljenje sira. Sol pomaže nastanku kore sira, te značajno utječe na proces zrenja i na sam okus sira. Soljenje se obično provodi salamurenjem sira u slanoj salamuri. Nakon toga, sir se mora osušiti prije premještanja u zrionu kako ne bi došlo do njegova kvarenja. U zrioni sir zrije pri točno definiranim uvjetima vlage i temperature dok ne postigne željene karakteristike. U pravilu, što sir dulje zrije, okus mu je intenzivniji (Božanić, 2015.).

Naš originalni, autohtoni svježi sir se u domaćinstvu proizvodi od spontano ukiseljenog-zgrušanog mlijeka s kojeg se (najčešće) odvaja površinski sloj vrhnja, a gruš ocjeđuje u rahlu sirnu masu koja je odmah u svježem stanju prikladna za jelo.

Moderno mljekarstvo postepeno preuzima i prilagođuje domaće tehnologije i proizvode. Industrijski proizvedeni svježi sir odlikuje se većom trajnosti, poznatog je sastava i visoke kvalitete.

Svježi sir je s ekonomskog gledišta za proizvođača — mljekaru, vrlo interesantan zbog visokog iskorištenja i relativno malo uloženog rada. Kemijski sastav industrijskog svježeg sira dosta varira, a ovisi o kvaliteti mlijeka — sirovine, i o primijenjenoj tehnologiji.



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

Iako u razvoju sirarstva uopće nije moguće točno utvrditi liniju koja dijeli domaću proizvodnju od mehanizirane i danas već visoko automatizirane, mogu se navesti četiri faze razvoja:[1]

- tradicionalna proizvodnja: obrada sirovog mlijeka bez kontrole, nema primjene na sirila i mljekarskih kultura,
- klasična proizvodnja: faza u razvoju gdje se koristi toplinska obrada mlijeka, prerađeno sirilo i mljekarske kulture,
- mehanizirana proizvodnja: u sirarskoj se proizvodnji primjenjuje od oko 1950. godine,
- kontinuirana proizvodnja: moderne metode proizvodnje — predzrenje mlijeka, hladno podsirivanje, proces ultrafiltracije i dr.

[1] Dr. Ljerka Kršev: Stručni rad- Razvoj proizvodnje svježeg sira od obranog mlijeka (1986.)

3. MIKROBNE KULTURE U PROIZVODNJI SIRA

Značaj primjene mikrobnih kultura u proizvodnji sira prepoznao je Kundsen (1931. god.), a danas poznajemo njihov mikrobni sastav i značaj u proizvodnji sira te ih vješto primjenjujemo u različitim oblicima (Matijević, 2015.).

Mikrobnu kulturu može se definirati kao pažljivo selekcionirane mikroorganizme koji se dodaju u mlijeko ili gruš zbog iniciranja i izvođenja poželjne fermentacije i zrenja u proizvodnji različitih tipova sira, ali i fermentiranih mlijeka (Matijević, 2015.).

One u proizvodnji sira imaju višestruku ulogu, koja, ovisno o mikrobnom sastavu, može biti :

- proizvodnja kiseline
- tvorba tvari arome
- tvorba plina (CO_2)
- proteoliza
- lipoliza
- inhibicija nepoželjnih mikroorganizama (Matijević, 2015.)

Poznavanje mikrobnog sastava i svojstava mikrobne kulture olakšava pravilan odabir kako bismo dobili željeni sir i osigurali provedbu kontrolirane fermentacije i pravilne biokemijske procese tijekom zrenja. Međutim, aktivnost mikroorganizama upotrjebljene mikrobne kulture ovisi o procesnim uvjetima te provedbi pojedinih postupaka tijekom proizvodnje ili tijekom zrenja sira. U proizvodnji svih vrsta sira uvijek se primjenjuju mikrobne kulture bakterija mliječne kiseline (Matijević, 2015.).

Primarna je uloga kulture bakterija mliječne kiseline u proizvodnji svih sireva, a djelovanje ostalih kultura dolazi do izražaja tek u fazi zrenja sira u zrionici, pri uvjetima optimalnim za određenu vrstu, uz stalnu kontrolu i pravilno njegovanje sira (Tratnik, 1998.).

Ovisno o vrsti sira, koriste se mezofilne (optimalna temperatura rasta od 22 do 30 °C) ili termofilne (optimalna temperatura rasta od 37 do 45 °C) kulture bakterija mliječne kiseline, a kombiniraju se međusobno ili s kulturama drugih vrsta bakterija (bakterije propionske kiseline ili sojevi *Brevibacterium linens*) te s plemenitim plijesnima (Matijević, 2015.).

Ovisno o vrsti sira, mikrobne se kulture mogu svrstati u nekoliko grupa (Tablica 4.):

- bakterije mliječne kiseline, prvotno odgovorne za proizvodnju mliječne kiseline, tvari arome, a neke vrste proizvode i CO_2 (zaslužan za sirne oči);
- bakterije propionske kiseline, odgovorne za tvorbu specifične arome i većih količina CO_2 (oblikovanje većih sirnih očiju kod Emmentalera);
- sojevi bakterije *Brevibacterium linens* odgovorni su za tvorbu sluzavosti na površini sira ("maza"), te utječu na boju i tvorbu tipične arome sira;
- plemenite plijesni koje mogu biti na površini sira (bijele plijesni) ili unutar sira (plavozelene plijesni) koje tvore intenzivan okus i miris sira (Matijević, 2015.).

Tablica 4. Vrste mikroorganizama* u sastavu tradicionalnih kultura za proizvodnju glavnih tipova sira (prema Robinsonu, 1990.,1993.) (Tratnik, 1998.).

Mikroorganizmi tradicionalne kulture	Tip sira (vrste)	Vrsta mikroorganizma
MEZOFILNE BAKTERIJE	TVRDI SIREVI (NDG)	1,2,3,4
MLIJEČNE KISELINE	TVRDI SIREVI (SDG)	
Lactococcus lactis	čedar	1,2,3
1. ssp. *Lactis*	modificirani čedar	1,2,3,5
2. ssp. *Cremoris*	TVRDI SIREVI (VDG)	
3. ssp. *Diacatylactis*	parmezan / romano	6,7,8,9,10,11,12
4. ssp. *Leuconostoc cremoris*	ementaler / grojer	6,7,8,9,15
TERMOFILNE BAKTERIJE MLIJEČNE KISELINE		
5. Enterococcus faecium	POLUTVRDI SIREVI (NDG)	
6. Streptococcus thermophilus	gauda / edamac i drugi	1,2,3,4
7. Lactobacillus bulgaricus		
8. Lactobacillus lactis	SIREVI U SALAMURI (BDG)	
9. Lactobacillus helveticus	(različite vrste)	1,2/3,4/6,7,10
10. Lactobacillus casei		(različite vrste)
11. Lactobacillus plantarum		
TERAPIJSKE BAKTERIJE MLIJEČNE KISELINE		
12. Lactobaccilus acidophilus	SIREVI NA SLUZI (maz) (NDG)	
13. Bifidobacterium bifidum	limburger / tilzit	1,2,3,14
DRUGE BAKTERIJE	SIREVI UZ PLEMENITE PLIJESNI (BDG ili NDG)	
14. Brevibacterium linens	na površini (bijele)	1,2,3,4,16,17,18,20
15. Propionibacterium shermanii	kamamber / bri	
i druge bakterije propionske kiseline	unutar sira (plave)	1,2,3,4,19
PLEMENITE PLIJESNI	rokfor / gorgonzola	
16. Penicillium camamberti		
17. Penicillium caseoicolum	SVJEŽI MEKI (BDG)	
18. Penicillium candidum	tradicionalni	1,2,3,4
19. Penicillium roqueforti	terapijski	12,13
20. Geotrichum candidum		

NDG – dogrijavanje gruša pri niskim temperaturama

VDG – dogrijavanje gruša pri visokim temperaturama

SDG – dogrijavanje gruša pri srednjim temperaturama

BDG – bez dogrijavanja gruša

*neke bakterije imaju skraćeni (stari) naziv; vrste *Lactococcus*, bivše vrste *Streptococcus*

3.1. Vrste mikrobnih kultura

Mikrobne kulture mogu se klasificirati na više načina: prema načinu pripreme (osnova mlijeko, sirutka), obliku pripreme (tekuće, osušene, smrznute), aromi ili drugim osobinama koje daju proizvodu (homofermentativne, heterofermentativne), temperaturi tehnološkog procesa pri kojoj se koriste (mezofilne, termofilne), vrsti prisutnih mikroorganizama i/ili broju vrsta i sojeva. Različiti načini razvrstavanja isprepliću tradiciju i suvremenu znanost u području mikrobnih kultura u proizvodnji sira (Rogelj, 2015.).

Primarne starter kulture: (http://www.caritas.ba)

- Mezofilne
- Termofilne

Sekundarne starter kulture:

- Bakterije propionske kiseline
- *Brevibacterium linens*
- Plemenite plijesni

3.1.1. Nedefinirane i definirane mikrobne kulture

Tradicionalan način proizvodnje sira koristio je „prirodnu“ mikrobnu kulturu (ne znajući mikrobiologiju) na sljedeća dva načina:

1) mlijeko je inkubirano na temperaturi koja je omogućavala rast mikrobne populacije prirodno prisutnih bakterija mliječne kiseline, sve dok nije porasla kiselost, a zatim se koristilo kao mikrobna kultura;

2) korišteno je fermentirano mlijeko ili sirutka iz prethodno dobivenog sira, najčešće uz dodatnu inkubaciju.

Sastav tako dobivene mikrobne kulture bio je neodređen i promjenjiv, u ovisnosti od temperature inkubacije, koja je prilagođena vrsti sira, što je uveliko ovisilo i o dominantnim bakterijama mliječne kiseline (Rogelj, 2015.).

Povećani interes za tradicionalne sireve potaknuo je proučavanje mikrobnih populacija prirodnih mikrobnih kultura, što je potvrdilo raznolikost i varijabilnost. Primjerice, u prirodnim kulturama inkubirana sirutka za pripravu Mozzarele sadrži složenu mikrofloru bakterijskih vrsta *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis*, *Lact. garviae*, *Lactobacillus helveticus*, *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Lb. fermentum*, *Lb. plantarum*, *Lb. casei* ssp. *casei* i *Enterococcus faecalis*. Međutim, mikrobna populacija prirodne sirutke za tradicionalni sir Caciocavallo Silano mnogo je manje raznolika, jer se sastoji samo od vrste *Lb. delbrueckii*, *Lb. helveticus*, *Str. thermophilus* i *Lact. lactis* (Rogelj, 2015.).

Tradicionalan način pripreme mikrobnih kultura još uvijek se koristi u proizvodnji mnogih europskih tradicionalnih sireva, što tim sirevima daje svojstvene karakteristike i razlikuje ih od ostalih sireva. Inovativnost u proizvodnji „prirodnih mikrobnih kultura“ jest prilagoditi /optimizirati njihovu primjenu u manjim industrijskim pogonima. Varijabilnost (u sastavu i veličini pojedinih mikrobnih zajednica bakterija mliječne kiseline) tako dobivenih mikrobnih kultura u industrijskim uvjetima rizična je za ispunjavanje zahtjeva standardne mikrobiološke i senzorske kakvoće proizvoda. Stoga, napredak u znanosti i tehnologiji, do tada potpuno nepoznat sastav mikrobne kulture (sirutka prethodnog dana, nakon inkubacije na temperaturi koja se koristi za cijepljenje svježeg mlijeka), zamijenio je definiranim mikrobnim kulturama, poznatog sastava i djelovanja (Rogelj, 2015.).

Definirane mikrobne kulture dobivamo tako da u laboratoriju iz sirove ili prirodne mikrobne kulture (često tradicionalne, od mlijeka) izoliramo, pročistimo i dobro istražimo svojstva pojedinih bakterijskih vrsta/sojeva, a zatim umnožavamo kao čišću kulturu. Nakon toga se mogu koristiti samostalno ili u kombinaciji jedna s drugom. Takvom pripremom vrsta/sojeva dobivamo mikrobne kulture sa željenim svojstvima.

Ovisno o sastavu poznajemo (Rogelj, 2015.):

- pojedinačne mikrobne kulture − jedan soj određene vrste mikroorganizma
- složene mikrobne kulture – različiti sojevi jedne vrste mikroorganizma
- kombinirane mikrobne kulture − različiti sojevi različitih vrsta mikroorganizama

3.1.2. Podjela mikrobnih kultura prema temperaturi rasta i produktima fermentacije

Definirane mikrobne kulture dijelimo prema njihovim svojstvima i načinu uporabe. Prema optimalnoj temperaturi rasta, dijele se na mezofilne i termofilne (Rogelj, 2015.). Mezofilne bakterije mliječne kiseline rastu pri temperaturi od 10 do 40 °C, a optimalna temperatura rasta im je od 20°C do 30 °C. Trajanje inkubacije ovisi o temperaturi inkubacije i aktivnosti i količini upotrjebljene kulture te o postizanju željene kiselosti proizvoda. Fermentacija je dugotrajna. Termofilne bakterije mliječne kiseline se razmnožavaju pri temperaturi od 37°C do 45°C i proizvode mliječnu kiselinu brže i u većoj količini nego mezofilne bakterije. Uglavnom se koriste kao mješovite kulture jer mliječna kiselina nastaje brže i u većoj količini. Tipični predstavnici mezofila su: *Lact. lactisi leuconostoc mesenteroides*, a termofila *Str. thermophilus, Lb. delbruecki* i *Lb. helveticus* (Rogelj, 2015.).

Također, mikrobne kulture možemo dijeliti i prema načinu fermentacije laktoze na homofermentativne (konačni produkt fermentacije glukoze je samo mliječna kiselina) i heterofermentativne (konačni produkt fermentacije glukoze je mliječna kiselina, CO_2 i etanol) te po mogućnosti nastajanja aromatičnih tvari (fermentacija citrata). Tako, primjerice, mezofilne kulture, koje sadrže samo podvrstu *Lac. lactis* ssp. *lactis* i *Lact. lactis* ssp. *cremoris*, označavamo kao homofermentativne kulture, one kulture koje ne tvore aromatične tvari i plin, a sadrže vrste *Leuconostoc* kao heterofermentativne kulture, kulture koje sadrže vrste *Leuconostoc* i/ili *Lac. lactis* ssp. *lactis biovar diacetylactis* kao »aromatične«, jer sojevi/vrste *Leuconostoc* i *Lac. lactis* ssp. *lactis biovar diacetylactis* fermentiraju citrate i tvore aromatične tvari (diaceti l, acetoin) i CO_2 (Rogelj, 2015.).

3.2. Bakterije mliječne kiseline

Bakterije mliječne kiseline (Tablica 5.) obuhvaćaju velik broj bakterijskih vrsta koje proizvode mliječnu kiselinu previranjem različitih ugljikohidrata, a glavni produkt razgradnje je mliječna kiselina.

One su gram-pozitivni, nesporogeni mikroorganizmi. Rastu samo na kompleksnim podlogama. Otkrio ih je 1857.godine L.Pasteur. Bakterije mliječne kiseline dio su populacije mikroorganizama probavnog trakta zdravih ljudi i životinja i uključene su u njihov metabolizam Obuhvaćaju velik broj vrsta koje pripadaju rodovima: *Lactococcus, Leuconostoc, Pediococcus, Streptococcus, Lactobacillus, Enterococcus, Aerococcus, Vagococcus, Tetragenococcus,*

Carnobacterium, Weissella i *Oenococcus*. U proizvodnji se kao starter kulture koriste samo *Lactococcus, Leuconostoc, Pediococcus, Streptococcus* i *Lactobacillus*.

Bakterije mliječne kiseline mogu se naći posvuda gdje postoji mogućnost spontanog vrenja ugljikohidrata. One fermentiranoj hrani daju svojstven miris i teksturu, istovremeno sprječavajući kvarenje i rast patogenih mikroorganizama (Rogelj, 2015.).

Doprinosi BMK:

- brza proizvodnja mliječne kiseline i acidifikacija prehrambenog proizvoda
- aroma
- tekstura
- nutritivna vrijednost

Tablica 5. Lista bakterija mliječne kiseline u sastavu kultura za proizvodnju sira (prema Robinsonu, 1990.,1993., Cogan i Hill, 1993.) (Tratnik, 1998.).

Vrsta bakterija mliječne kiseline	**Vrste vrenja laktoze/citrata (cit^+)**	**Učinak**
MEZOFILNE BAKTERIJE MLIJEČNE KISELINE		
Lactococcus lactis		
ssp. *lactis*	homofermentativne ($cit^{+/-}$)	kiselina
ssp. *cremoris*	homofermentativne	kiselina
ssp. *diacetylactis*	homofermentativne cit^+	kiselina, tvari arome, CO_2
Leuconostoc mesenteroides		
ssp. *cremoris*	heterofermentativne cit^+	tvari arome, CO_2
ssp. *dextranicum*	heterofermentativne cit^+	tvari arome, CO_2
Leuconostoc lactis	heterofermentativne cit^+	tvari arome, CO_2
TERMOFILNE BAKTERIJE MLIJEČNE KISELINE		
Lactobacillus delbrueckii		kiselina, (tvari arome)*
ssp. *bulgaricus*	homofermentativne	kiselina
ssp. *lactis*	homofermentativne	kiselina
Lactobacillus helveticus	homofermentativne	kiselina, tvari arome, CO_2
Lactobacillus casei ssp. *casei*	homo/f. heterofermentativne	kiselina, tvari arome, CO_2
Lactobacillus plantarum	homo/f. heterofermentativne	kiselina
Lactobacillus acidophilus	homofermentativne	
Streptococcus thermophilus	homofermentativne	kiselina, (tvari arome)*
Streptococcus durans i		
*Enterococcus faecium***	mješovito-kiselo vrenje	kiselina i tvari arome
TERAPIJSKE BAKTERIJE MLIJEČNE KISELINE		
Lactobacillus acidophilus (A)	homofermentativne	blaga kiselost i terapijska
Bifidobacterium bifidum (B)	heterofermentativne	svojstva (svježi sirevi)
A/B kultura		

** može se uključiti u sastav kulture za modificirani čedar (USA), ali nije u široj uporabi

tvari arome = d i a c e t i l je glavna tvar arome

*(tvari arome) = a c e t a l d e h i d je glavna tvar arome

Bakterije mliječne kiseline se prema tipu fermentacije mogu se podijeliti na:

- Homofermentativne bakterije mliječne kiseline- 90-95% produkta čini mliječna kiselina
- Heterofermentativne bakterije mliječne kiseline pored mliječne 50%, stvaraju se octena kiselina i ugljikov dioksid

Prema optimalnoj temperaturi rasta mogu se podijeliti na:

- Mezofilne bakterije mliječne kiseline
- Termofilne bakterije mliječne kiseline

Mezofilne bakterije mliječne kiseline, ovisno o prisutnosti određenih bakterija koje proizvode tvari arome (fermentiraju citrat, cit^+ bakterije) u sastavu kulture, mogu se razvrstati kao u tablici 6., i to:

- "L" tip kulture: koje sadržavaju heterofermativne vrste roda *Leuconostoc* (cit^+ bakterije);
- "D" tip kulture: koje sadržavaju homofermentativne cit^+ vrste bakterija (*Lactococcus lactic* ssp. *diacetylactis*);
- "LD" tip kulture: sadržava obje vrste (cit^+ bakterije) te
- "O" tip kulture: sadržava homofermentativne vrste roda *Lactococcus*, a ne sadržava cit^+ vrste bakterija (Tratnik, 1998.).

Termofilne kulture bakterija mliječne kiseline u svom sastavu većinom sadrže *Streptococcus thermophilus*, te različite vrste iz roda *Lactobacilllus* (Tablica 5.) koje proizvode više kiseline od bakterija *Streptococcus*, ali nešto kasnije (*Lb. bulgaricus*, a potom tek *Lb. helveticus*).

Proizvodnja kiseline pod utjecajem termofilnih bakterija mliječne kiseline počinje tek u kadi za sirenje, a potom tijekom tlačenja sira.

Pri povoljnim uvjetima kiselina tada brzo nastaje prvo pod utjecajem bakterija *Streptococcus* koje su odgovorne za nastanak povoljne pH-vrijednosti gruša (0,8-0,9% mliječne kiseline). Tada neće doći do razgradnje kazeina, nego tek pod utjecajem bakterija *Lactobacillus,* a za to je pogodan *Lactobacillus helveticus* koji proizvodi najviše kiseline i čija aktivnost dolazi do izražaja tek pri nastanku oko 2% mliječne kiseline (metabolizira i galaktozu, Gal^+).

Njegova jača proteolitička aktivnost može dodatno tijekom sekundarnog zrenja čak uzrokovati mane sira.

Količina inokuluma termofilne kulture u proizvodnji ementalera i grojera nešto je manja (za 3-10%) od količine koja se rabi u proizvodnji sira čedar. Pod određenim uvjetima u proizvodnji modificiranog sira čedar (SAD) može se unutar termofilne mikrobne kulture uklopiti bakterija *Enterococcus faecium,* koja pridonosi aromi sira, a koja uglavnom nije u široj uporabi (Tratnik, 1998.). Potrebno je poznavati svojstva bakterija mliječne kiseline te biti odličan poznavatelj

značajki sireva i tehnološkog procesa proizvodnje sira. Primjer nekih kombinacija mezofilnih i termofilnih vrsta ili obiju vrsta bakterija mliječne kiseline, koje se mogu koristiti u sastavu kultura za proizvodnju sira (ili za druge fermentirane proizvode), prikazuje tablica 6. (Tratnik, 1998.).

Tablica 6. Različiti tipovi mikrobnih kultura bakterija mliječne kiseline i njihova primjena (prema Robinsonu, 1990.; Bylundu, 1995.) (Tratnik, 1998.).

Tip kulture Stari naziv bakterija	Novi naziv bakterija	Primjena kulture
Mezofilne kulture	Optimalna temperatura 20-30°C	Proizvod
O *Streptococcus cremoris* *Streptococcus lactis*	*Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*	čedar, feta Cottage cheese, kvark
L *Streptococcus cremoris* *Streptococcus lactis* *Leuconostoc citrovorum* *Leuconostoc* lactis	*Lactococcus lactis* ssp.*cremoris* *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *cremoris* (cit$^+$) *Leuconostoc lactis* (cit$^+$)	kontinentalni sir (s rupicama), svježi sir, feta (maslac)
D *Streptococcus cremoris* *Streptococcus lactis* *Streptococcus lactis* ssp. *diacetylactis*	*Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* *Lactococcus lactis* ssp. *lactis biovar diacetylactic* (cit$^+$)	sježi sir (maslac)
LD *Streptococcus cremoris* *Streptococcus lactis* *Streptococcus lactis* ssp. *diacetylatis* *Leuconostoc citrovorum* *Leuconostoc lactis*	*Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* *Lactococcus lactis* ssp. *lactis biovar diacetylactic* (cit$^+$) *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *cremoris* (cit$^+$) *Leuconostoc lactis* (cit$^+$)	kontinentalni sir (s rupicama), sirevi sa zrenjem, plijesni, svježi sirevi . (maslac, stepka)
Termofilne kulture	Optimalna temperatura 37-45°C	Proizvod
Steptococcus thermophilus *Lactobacillus bulgaricus*	*Streptococcus thermophilus* *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*	parmezan mocarela (jogurt)
Sreptococcus thermophilus *Lactobacillus helveticus* *Lactobacillus lactis*	*Streptococcus thermophilus* *Lactobacillus helveticus* *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *lactis*	ementaler grana
Miješane (obje)		Proizvod
Streptococcus lectis *Streptococcus thermophilus* ili *Streptococcus faecalisi* *Lactobacillus bulgaricus*	*Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Streptococcus thermophilus* ili *Enterococcus faecalis* i *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*	talijanska pasta filata, mocarela, provolone

Bakterije mliječne kiseline imaju i probiotičko djelovanje. Izraz probiotik se odnosi na proizvode koji:

- sadrže žive mikroorganizme
- poboljšavaju zdravstveno stanje ljudi i životinja (koje može uključivati poticanje rast životinja)
- mogu djelovati u ustima ili probavnom traktu u hrani ili u obliku kapsula, u gornjem respiratornom traktu (aerosol) ili u urogenitalnom traktu (Šušković, 1997.)

Prema definiciji European Expert Committee probiotici su: „Živi mikroorganizmi koji konzumirani u određenom broju (najmanje 109 CFU po danu) uzrokuju zdravstveni boljitak iznad granica normalne prehrane" (http://www.tehnologijahrane.com/).

Bakterije mliječne kiseline koje se primjenjuju kao probiotici mogu djelovati antagonistički zbog:

- sniženja pH uslijed nakupljanja organskih kiselina
- proizvedenog H_2O_2 (u anaerobnim uvjetima)
- proizvedenog diacetila
- proizvedenih specifičnih inhibicijskih supstancija, npr. bakteriocina (Šušković, 1997.)

Najvažnija je zadaća mikrobne kulture bakterija mliječne kiseline proizvodnja kiseline (metabolizam laktoze), prvo u mlijeku, a potom u grušu sira. Za proizvodnju kiseline uglavnom su odgovorne homofermentativne bakterije mliječne kiseline (Tablica 5.), a bakterije *Lactobacillus* proizvode više mliječne kiseline (laktata) od bakterije *Lactococcus*, tj. mezofilnih mliječnih streptokoka (Tratnik, 1998.).

Poslije kultura osigurava uvjete za tvorbu svojstvene arome sirnoga gruša za što su više odgovorne heterofermentativne bakterije mliječne kiseline, osobito vrste koje metaboliziraju citrate. To su vrste *Leuconostoc* i Cit^+ vrste *Lactococcu.*

Aktivnost bakterija mliječne kiseline u proizvodnji sira u početku je rezultat rasta bakterija i djelovanja njihovih enzima. Tako se tijekom proizvodnje sira bakterijska kultura razmnožava od otprilike 10^7 živih stanica po mililitru mlijeka od 10^8-10^9 živih stanica po gramu sirnog gruša. Proizvodnja kiseline tada, tijekom pojedinih faza proizvodnje sira, ima višestruko djelovanje.

Proizvedena mliječna kiselina u prvom redu utječe na svježi okus sirnog gruša, što je posebno važno u proizvodnji svježih mekih sireva kada se grušanje mlijeka i odvija djelovanjem

kiseline. Mliječna kiselina isto tako potpomaže djelovanje pripravaka sirila tijekom enzimskoga grušanja mlijeka. Osim toga kiselina uzrokuje stezanje gruša i omogućuje bolje odvajanje vode te uvjetuje svojstvenu teksturu gruša i osigurava uvjete za tvorbu tipične arome sira. Postupci obrade gruša također utječu na rast i djelovanje bakterija mliječne kiseline (Tratnik, 1998.).

Pri nižoj toplinskoj obradi gruša, zadržat će se više vode ili sirutke, a time i više laktoze u grušu. Zbog toga je veća tvorba kiseline u mekšim sirevima, a sazrijevanje sirne mase puno brže. Obrnuto, pri višoj toplinskoj obradbi gruša nastaje čvršći gruš (manje vode i laktoze), pogodan za dulje čuvanje, jer su daljni procesi sazrijevanja gruša tada kud i kamo sporiji. Osim toga, utjecaj viših temperatura na proteine pogoduje nastanku više elastičnog, gipkog tipa gruša (kao što se zahtijeva za sireve tipa ementaler). Tvorba kiseline također utječe na promjene unutar čestica kazeina. Kiselina uzrokuje otapanje jednog dijela Ca-fosfata iz kazeina, pa sirutka, uključujući laktozu, difundira unutar čestica gruša.

Tako rast bakterija mliječne kiseline određuje stupanj sinereze gruša, difuziju laktoze u gruš, a i stupanj naknadnog zakiseljavanja, tijekom daljnje proizvodnje sira. U sirišnom grušu kazein se nalazi u obliku Ca-parakazeinata (Tratnik, 1998.).

Nastala mliječna kiselina otapa dio vezanog kalcija iz gruša (demineralizacija gruša), što se može prikazati sljedećim reakcijama:

Ca-parakazeinat + mliječna kiselina → monokalcijev-parakazeinat + Ca-laktat

$2NH_2R(COO)_6Ca_3 + 10C_3H_6O_3 \rightarrow [NH_2R(COOH)_5COO]_2Ca + 5Ca(C_3H_5O_3)_2$

Zbog toga u sirevima, u kojima nastaje više kiseline u grušu, bit će manje kalcija vezanog na kazein. Nasuprot tome, u čedru i ementaleru gruš kazeina sadržava više kalcija, što utječe na strukturu gruša, te na kakvoću tijesta sira.

Stupanj i dinamika tvorbe kiseline, tijekom proizvodnje sira, uvjetuju okus, svojstvenu konzistenciju i teksturu tijesta te omogućuje nastanak određenih značajki sira. Bakterije mliječne kiseline koje troše citrat utječu na tvorbu arome plina (CO_2) što uvjetuje nastajanje sirnih rupica u nekih polutvrdih sireva (gouda, edemac, trapist). Zbog toga se u sastavu mezofilne kulture bakterija mliječne kiseline uglavnom nalazi oko 90% mikroflore odgovorne za tvorbu kiseline, a oko 10% odgovorne za tvorbu arome i plina (Tratnik, 1998.).

Rast i aktivnost bakterija mliječne kiseline, tj. mala pH-vrijednost gruša, potiskuje također razvoj patogenih i plinotvornih bakterija, te povoljno utječe na trajnost sira. U sastavu kultura

ponekad se koriste selekcionirani sojevi bakterija mliječne kiseline, koji imaju izrazito antimikrobno djelovanje na neželjene onečišćivače sira. Osim njihova nespecifičnog inhibitornog utjecaja: proizvodnja organske kiseline, apsorpcija 0_2 bitna je proizvodnja H_2O, a osobito proizvodnja specifičnih inhibitora neželjenih bakterija bakteriocina.

Nizin je najpoznatiji bakteriocin kojega proizvode sojevi *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, a vrlo je djelotvoran inhibitor rasta za enterobakterije, stafilokoke, klostridije te listerije. Nizin se proizvodi i u komercijalne svrhe kao prehrambeni aditiv (prihvatila ga je 1969. godine Svjetska zdravstvena organizacija). Može se stoga koristiti i kao dodatak u proizvodnji sira ako to dopuštaju propisi pojedine zemlje. Dodatak nizina obično se koristi u proizvodnji sirnih namaza i topljenih sireva i to pri zaštiti njihove kore (Tratnik, 1998.).

Posebno još treba istaknuti da je bitno u sastav kulture za sir uključiti fag-rezistentne bakterije mliječne kiseline. Rast neželjene mikroflore može spriječiti određena količina soli u siru, što je vrlo bitno za sireve tipa edamac i gouda, jer sadržavaju više vode i imaju više pH-vrijednosti, što pogoduje rastu mikroorganizama. Međutim, nakon prešanja i soljenja sira mnoge bakterije mikrobne kulture također ugibaju pogotovo u siru već pri početnoj fazi zrenja u zrionici. Zbog toga se daljnji biokemijski procesi u siru tijekom trajanja zrenja u zrionici nastavljaju djelovanjem njihovih egzogenih enzima.

Bakterije mliječne kiseline imaju slabo proteolitičko djelovanje (vidi metabolizam proteina), a osobito slabo lipolitičko djelovanje, ali aktivnost njihovih egzogenih enzima pomaže daljnje procese u siru u uvjetima zrionice, uz naknadno kemijsko međudjelovanje nastalih produkata razgradnje (Tratnik, 1998.).

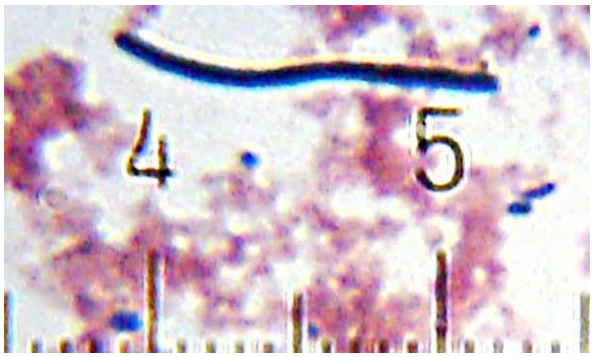
3.2.1. Oblici bakterija mliječne kiseline

3.2.1.1. Štapičaste forme

Predstavljaju široku grupu mikroorganizama koji imaju slične genotipske i fenotipske osobine. To su G^+ mikroorganizmi, nepokretni i asporogeni. Imaju zajedničku osobinu da iz laktoze stvaraju mliječnu kiselinu. Zavisno od toga da li je mliječna kiselina jedini proizvod te fermentacije dijelimo ih na homo i heterofermentativne. Mliječna kiselina snižava pH i time spriječava razvoj nepoželjnih patogenih mikroorganizama. Također povoljno utječe na lučenje želučanih sokova i odstranjivanje toksičnih materija iz organizma. Bakterije mliječne kiseline imaju složene prehrambene potrebe, a podloge na kojima se uzgajaju treba sadržavati puno ugljikohidrata. BMK svojim ekstracelularnim enzimima (proteinazama) vrše razgradnju proteina mlijeka prije svega kazeina čime omogućavaju svoj normalni razvoj 10^9-10^{10} po ml. Mogu stvarati baktericidne, antimikrobne spojeve koji inhibiraju rast truležnih i patogenih bakterija (Obradović, 2002/03.).

a) ***Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus***

Štapićasta, homofermentativna vrsta BMK, koja je izolirana iz bugarskog kiselog mlijeka. Stvara D(-) mliječnu kiselinu i acetaldehid koji daje aromu. To su štapići veličine 0.8-4µm, sa starošću se izdužuju, asporogeni su, fakultativno anaerobni, nepokretni i javljaju se pojedinačno, u parovima ili u kraćim lancima. Morfološke karakteristike zavise od prisutnosti stranih spojeva u sredini. Optimalna temperatura za razvoj je 40-45°C, a moguće je i na 52-55°C, ne rastu na 15°C. Koristi se za proizvodnju jogurta i kiselog mlijeka ulazeći u sastav startera. Može stvarati bakteriocin bulgarican koji inhibira neke G+ i G- bakterije. Posjeduje ekstracelularne proteinaze koje oslobađaju neophodne niže molekulske proteinske materijale. Neke vrste stvaraju i H_2O_2 koji inhibira većinu patogenih bakterija.



Slika 2. Bakterija *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus*
(Izvor: https://en.wikipedia.org/wiki/Lactobacillus_delbrueckii_subsp._bulgaricus)

b) ***Lactobacillus casei***

Homofermentativna vrsta čija je optimalna temperatura za razvoj 30°C, a može se razviti u temperaturnom rasponu od 10-40°C. U mlijeku se javlja u obliku kratkih koloidnih štapića u lancima. Stvara manje mliječne kiseline, 1.5% manje, od *bulgaricusa* i to stvara L(+) oblik. Ima usavršen enzimatski sustav (aminopeptidaze, proteinaze) zbog čega se koristi u proizvodnji većine sireva.



Slika 3. Bakterija *Lactobacillus casei*
(Izvor: https://i2.wp.com/www.nosterprobiotics.com)

c) ***Lactobacillus helveticus***

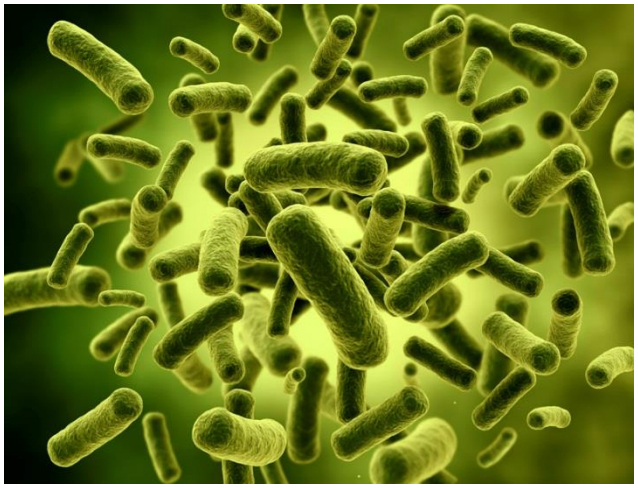
Homofermentativna vrsta čija je optimalna temperatura za razvoj 40-45°C. Stvara D i L mliječnu kiselinu 2-3%. Ima jak fermentativni i umjeren proteolitički sustav. Koristi se u proizvodnji sira ementalera gdje sa drugim bakterijama utječe na specifičan okus ovog sira. Za razliku od ostalih laktobacila transformira galaktozu.



Slika 4. Bakterija *Lactobacillus helveticus*
(Izvor: https://nootriment.com/wp-content/uploads/)

d) ***Lactobacillus acidophilus***

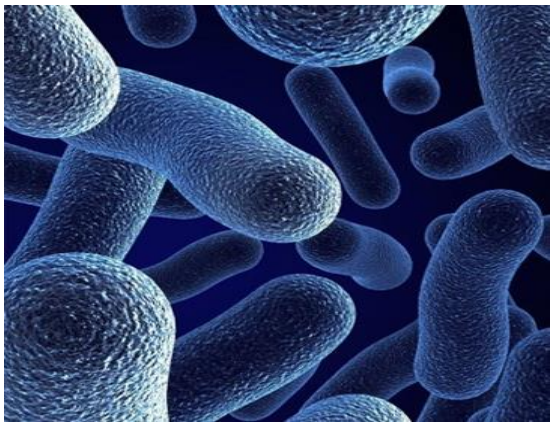
Homofermentativna vrsta koja se najčešće javlja u crijevnoj flori dojenčadi. U mlijeku se slabo razvija i javlja u obliku dužih i kraćih štapića, a optimalna temperatura za razvoj je 37°C. Može stvarati antibiotik acidophilin ili acidolin, a koristi se za proizvodnju nefermentiranog mliječnog proizvoda koji se naziva slatko acidofilno mlijeko. Stvara D i L mliječnu kiselinu 1.8%. Ne podnosi veće koncentracije soli. Ulazi u sastav ABT i ABY startera, u proizvodnji fermentiranih napitaka sa terapeutskim učinkom.



Slika 5. Bakterija *Lactobacillus acidophilus*
(Izvor: http://www.mysticalbiotech.com/)

e) ***Bifidobacterium bifidum***

Nalaze se u crijevnoj flori dojenčadi. To su G+, nepokretne, asporogene, anaerobne bakterije. Inhibira ih kisela sredina ispod pH=5.5. Optimum za razvoj je 36-38°C. to je heterofermentativna vrsta jer laktozu pretvara u mliječnu i octenu kiselinu u odnosu 2:3. Stvara D i L mliječnu kiselinu. Zajedno sa *Lb.acidophilusom* se koristi u proizvodnji nekih mliječnih proizvoda, terapeutskih svojstava, gdje su ove dvije vrste u simbiozi. Simbioza se ogleda u bržem stvaranju kiseline i snižavanju pH sredine.

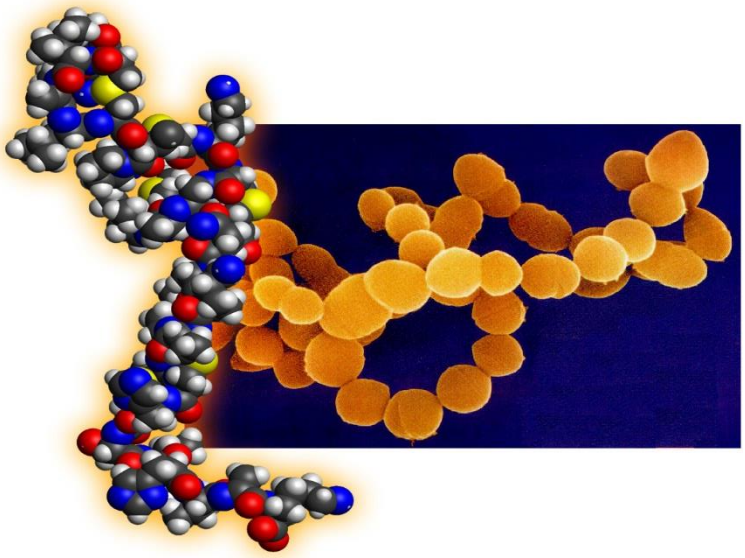


Slika 6. Bakterija *Bifidobacterium bifidum*
(Izvor: http://sglprobiotics.com/)

3.2.1.2. Okruglaste forme

a) ***Lactococcus lactis* ssp. *lactis***

Rasprostranjena u mlijeku i mliječnim proizvodima. To su G+ mikroorganizmi, nepokretni. Ulazi u sastav startera za proizvodnju sireva i nekih fermentiranih napitaka. Optimum za razvoj je 30°C, a raste od 10-39.5°C pri pH=9.2 i koncentraciji soli od 4%. Proizvodi bakteriocin nizin, a iz arginina stvara NH_3. Posjeduje ekstracelularne stanice proteinaze koje razlažu proteine do nižih dušikovih spojeva, a dalja razgradnja se obavlja intracelularno. U mlijeku se javljaju pojedinačno, u paru ili u lancima.



Slika 7. Bakterija *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*
(Izvor: http://textbookofbacteriology.net/Lactococcus_lactis_and_Nisin-1.jpg)

b) ***Lactococcus lactis* ssp. *cremoris***

Nalazi se u mlijeku i proizvodima od mlijeka, ulazi u sastav starter kultura. Sirasti starteri imaju veći postotak *cremorisa*. Raste pri koncentraciji soli od 2%, ne raste pri pH=9.2. Ne razlaže arginin, javlja se u lancima, stvara sluz i kapsule.



Slika 8. Bakterija *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*
(Izvor: http://genome.jgi.doe.gov/laccr/laccr.jpg)

c) ***Lactococcus lactis* ssp. *lactis biovar diacetylactis***

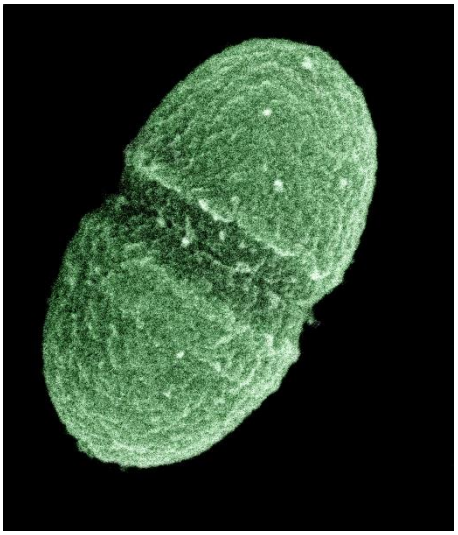
Potječe iz mlijeka i mliječnih proizvoda. Morfološki je sličan *lactisu*, a razlika je u upotrebi ugljika iz citrata pri čemu nastaje diacetil, acetoin i CO_2. Po ostalim karakteristikama bliži je *lactisu* nego *cremorisu*. Koristi se kao starter u proizvodnji sireva, kao i maslaca.



Slika 9. Bakterija *Lactococcus lactis* ssp. *lactis biovar diacetylactis*
(Izvor: https://viiliculture.files.wordpress.com/)

d) ***Enterococcus faecalis***

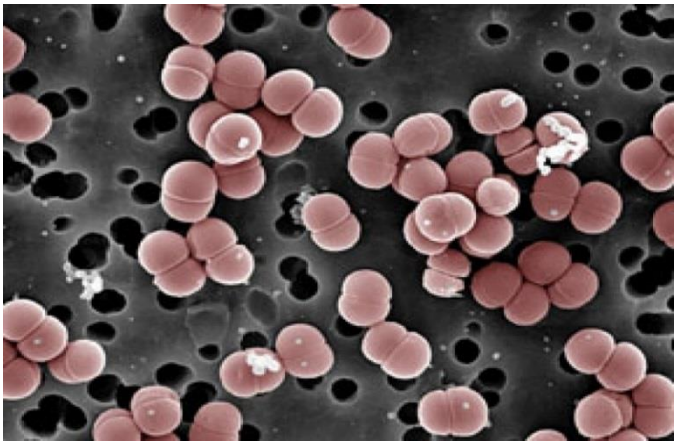
Pripada serološkoj grupi *D. Optimum*. Razvija se na temperaturama od 10-45°C, a podnosi i 30min na 60°C. Podnosi koncentracije soli do 6.5% pri pH=9.6. Koristi se za proizvodnju sira trapista. Postoje oblici koji daju neugodan miris ali imaju neke osobine zbog kojih se koriste u prehrambenoj industriji.



Slika 10. Bakterija *Enterococcus faecalis*
(Izvor: https://upload.wikimedia.org)

e) ***Pediococcus* ssp.**

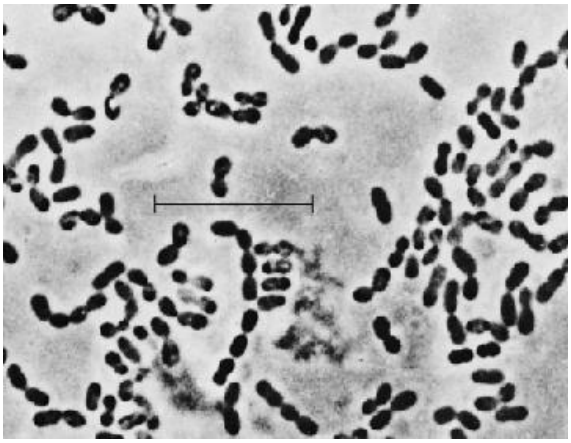
Homofermentativna vrsta, javlja se u parovima ili kratkim lancima. Stvara 0.5-0.9% mliječne kiseline. Podnosi veće koncentracije soli do 5.5%. Optimum za razvoj je 25-32°C. Nalazi se u mlijeku i mliječnim proizvodima a često se javlja u kiselom kupusu.



Slika 11. Bakterija *Pediococcus pentosaceus*
(Izvor: http://parasites.ftz.czu.cz/food/_data/240.jpg)

f) ***Leuconostoc***

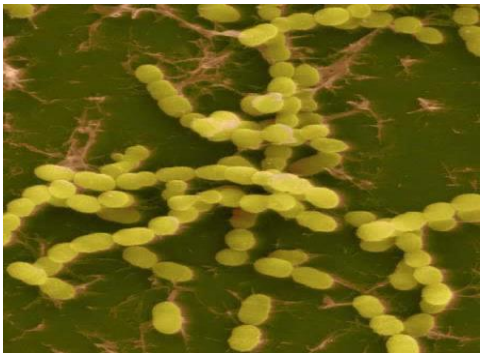
U ovom rodu se nalaze heterofermentativne koke. Fermentiraju šećere do mliječne kiseline, octene kiseline i CO_2. *Leuconostoc mesenteroides* ssp.*cremoris* se koristi za startere u proizvodnji maslaca i sireva. Karakteristika je stvaranje diacetila pri pH=5.5, tolerira veće koncetracije soli.



Slika 12. Bakterija *Leuconostoc mesenteroides*
(Izvor: http://cooknkohlmesenteroides.pbworks.com/f/1197607598/leuconostoc.jpg)

g) ***Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus***

Tipična mliječna bakterija, termofilna, optimalna temperatura 43°C. Zajedno sa *bulgaricusom* sudjeluje u starteru za proizvodnju jogurta u odnosu 1:1. Nalaze se u simbiozi gdje je *bulgaricus* jači proteolit i stvara spojeve manje molekulske mase koje *thermophilus* koristi.



Slika 13. Bakterija *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus*
(Izvor: https://microbewiki.kenyon.edu/images/3/36/Streptococcus_thermophilus.jpg)

3.3. Kulture bakterija propionske kiseline

Bakterije propionske kiseline koriste se u proizvodnji tvrdih sireva pri visokim temperaturama dogrijavanja gruša pa se dodaju u kombinaciji s termofilnim bakterijama mliječne kiseline.

Kulture bakterija propionske kiseline odgovorne su za razvoj osebujnog okusa i mirisa i razvoj "sirnih rupica" te se dodaju u mlijeko za proizvodnju švicarskih sireva (ementaler i grojer). Nekoliko se vrsta bakterija propionske kiseline može koristiti u proizvodnji kultura, ali najčešće:

- *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *freudenreichii*
- *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *globosum*
- *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii*

Međutim, i druge se vrste bakterija propionske kiseline često pojavljuju kao sekundarna mikroflora nekih sireva: *Propionbacterium acidipropionici, Propionibacterium jenseni, Propionibacterium thoenii* (Tratnik, 1998.).

3.3.1. Fiziološke karakteristike bakterija propionske kiseline

Propionibakterije su Gram-pozitivne, mezofilne, aerotolerantne, pleomorfne štapićaste bakterije s visokim udjelom G + C% baza u genomu. Imaju karakterističan metabolizam u kojem kao krajnji produkt fermentacije nastaje propionska kiselina. Pokazuju nisku potrebu za hranjivim sastojcima, a odlikuju se sposobnošću dugoročnog preživljenja u različitim mikrookolišima (Thierry i sur., 2011.).

P. freudenreichii su prvi puta opisali Orla Jensen i von Freudenreich prije više od 100 godina u švicarskom ementaler siru te su uočili povezanost između sintetizirane propionske kiseline i nastajanja karakterističnih rupa u siru (von Freudenreich, Orla Jensen, 1906.).

P. freudenreichii se koristi kao kultura za dozrijevanje švicarskog tipa sira. Također je značajna zbog proizvodnje vitamina B12 i propionske kiseline te se smatra da ima zaštitne učinke u hrani za ljude i stoku (Thierry i sur., 2011.). Osim toga, sve se više istražuje obećavajući probiotički učinak *P. freudenreichii* (Cousin i sur., 2010.).

3.3.2. Uloga propion bakterija u formiranju arome sira

P. freudenreichii je glavna *Propionibacterium* vrsta koja se koristi u proizvodnji sira. Koristi se kod švicarskog tipa sira kod kojeg je odgovorna za dobivanje karakterističnih rupa zbog proizvodnje CO_2 koji se javlja tijekom *rasta P. freudenreichii*. No, značajna je jer *P. freudenreichii* ima glavnu ulogu i u formiranju arome švicarskog tipa sira. Komponente koje čine aromu proizvodi putem tri glavna puta: fermentacije laktata i aspartata, katabolizma aminokiselina i hidroliza masti (Thierry i sur., 2004.).

Mnoga svojstva ovise o soju. Sposobnost rasta i brze propionske fermentacije u siru jako variraju. Sposobnost preživljenja u uvjetima povećane koncentracije soli također ovisi o soju *P. freudenreichii* (Thierry i sur., 2011.).

Fermentacijom laktata kod *P. freudenreichii* nastaje propionat, acetat (i CO_2), a obje se ove kiseline smatraju tvarima arome u siru.

Rezultat propionsko-kiselog vrenja (Tratnik 1998.):

bakterije

$3CH_3\text{-}CHOH\text{-}COO^- \xrightarrow{\textbf{propionske kiseline}} 2\ CH_3\text{-}CH_2\text{-}COO^- + CH_3\text{-}COO^- + CO_2 + H_2O$

(laktat) (propionat) (acetat)

Metabolizam aspartata propionibakterija tijekom fermentacije laktata uzrokuje dodatnu proizvodnju CO_2. Ravnoteža produkata fermentacije *P. freudenreichii* ima važnu ulogu u dozrijevanju sira. Intenzitet metabolizma aspartata kod *P. freudenreichii* ovisi o soju. Sojevi s visokom sposobnošću metaboliziranja aspartata pokazuju veću brzinu fermentacije i proizvode više CO_2 po molu potrošenog laktata (Wyder i sur., 2001.).

Također se mogu utjecati i na nepoželjnu kasniju fermentaciju u Ementaler siru, što rezultira stvaranjem proreza i pukotina. To se može dogoditi i tijekom zrenja švicarskog Ementaler sira koje traje nekoliko mjeseci pri temperaturi od 10 do 12 °C (Fröhlich-Wyder, Bachmann, 2004.).

Specifična aktivnost aspartaze (L-aspartat amonijačnaliaza) uspoređivana je u ekstraktima bez stanica 12 sojeva *P. freudenreichii*, a dobivene vrijednosti su varirale od manje od 0.5 do 35 mmol/min/mg proteina. *P. freudenreichii* katabolizira razgranate lance aminokiselina u razgranate lance hlapljivih tvari aroma. Glavne razgranate komponente koje *P. freudenreichii* proizvodi su 2-metilmaslačna kiselina i 3-metilmaslačna kiselina (stvarna izovalerijanska

kiselina) koje nastaju razgradnjom izoleucina i leucina (Thierry i sur., 2011.).

Ove dvije kiseline važne su tvari arome u mnogim sirevima, a povezuju se sa tipičnim notama 'starih sireva' ili 'znojnih čarapa'. *P. freudenreichii* je presudna bakterijska vrsta za sintezu metilmaslačne kiseline u švicarskom siru (Thierry i sur., 2004.).

Bakterija *P. freudenreichii* također ima značajnu ulogu tijekom lipolize sira Ementaler. Odgovorna je za skoro svo otpuštanje slobodnih masnih kiselina tijekom zrenja švicarskog sira (Dherbécourt i sur., 2010.).

Razvoj komponenata arome zbiva se tijekom rasta *P. freudenreichii* u sirevima pri temperaturama oko 24 °C i nastavlja se tijekom skladištenja sireva pri nižim temperaturama kada se propionska fermentacija značajno usporava. Na primjer, oko 60% metilmaslačne kiseline iz katabolizma aminokiselina i 40% masnih kiselina iz lipolize se proizvode tijekom hladnijeg skladištenja eksperimentalnih švicarskih sireva, dok samo 20% propionske kiseline nastane tijekom istog perioda (Thierry i sur., 2005.).

3.4. Kulture bakterija *Brevibacterium linens*

Ova mikrobna kultura naziva se i kulturom crvenog maza. Dobiva se u specijaliziranim laboratorijima. Živi u alkalnoj sredini i snažan je proteolit. Sudjeluje u sekundarnom zrenju sira. Raste na površini sira, primjerice Romadura, gdje tvori crveni maz (Perko, 2015.).

Brevibacterium linens je striktno aerobna bakterija, koja raste pri temperaturama 20 - 30°C i pH-vrijednosti 6,5 – 8,5. Halotolerantna je bakterija koja raste u prisutnosti i do 15 % soli. *B. linens* slabo/sporo raste pri normalnim uvjetima okoline (12°C i pH 5,5), zato se pojavljuje naknadno. Predhode mu kvasci i plijesni, koji svojom aktivnošću podižu pH-vrijednost na površini sira. *B. linens* proizvodi ekstracelularne proteinaze i aminopeptidaze, koje su svojom aktivnošću i količinom vrlo specifične. S aspekta zrenja sira, ova je bakterija značajna za nastajanje različitih hlapljivih spojeva, kao što su metantiol, α-ketobutirat i amonijak, koji nastaju kao posljedica metabolizma metionina. Metantiol je vrlo hlapljivi spoj, niskog praga senzorske osjetljivosti i svojstvenog mirisa na „trula jaja“ ili na zelje, što je svojstveno za sireve koji zriju u prisutnosti bakterija *B. linens* (Rogelj, 2015.)

Pojedini sojevi *B. linens* proizvode različite antimikrobne spojeve, kao što su bakteriocini, koji sprječavaju rast patogenih bakterija poput *Staphylococcus aureus* i *Listeria monocytogenes*.

Osobito je značajno i njihovo djelovanje zajedno s vrstama iz rodova *Corynebacterium* i *Micrococcus* na stvaranje žuto-narančastih karotenoidnih pigmenata, koji površinu sira značajno boje i stvaraju crveni maz sira.

Najpopularniji meki sirevi uz nastanak površinskog maza u Europi su : limburger, romadur, te potpuno zreli kamamber i bri. Od polutvrdih sireva s mazom, vrlo popularan u Sjedinjenim Američkim Državama je sir brik (Brick). Zbog kraćeg zrenja, relativno lake probavljivosti te jače arome, meki i polutvrdi sirevi s površinskim mazom zavređuju pozornost.

Meki sirevi tog tipa zriju od površine prema unutrašnjosti, uglavnom pod utjecajem enzima izlučenih od bakterija prisutnih u karakterističnoj sluzi sira.

Polutvrdi sirevi pak zriju kombinirano, aktivnošću enzima prisutnih u siru i izlučenih enzima od mikroorganizama prisutnih u površinskoj sluzi (brik, tilsit) (Tratnik, 1998.).

3.5. Kulture plemenitih plijesni

Kulture plijesni koriste se u proizvodnji plemenitih sireva zajedno s mezofilnom kulturom bakterija mliječne kiseline, a ponekad i s termofilnom kulturom kao u proizvodnji gorgonzole (*S. thermophilus* i *Lb. bulgaricus*) ili u proizvodnji sireva Camembert i Brie (Tratnik, 1998.).

Sirevi s plemenitom plijesni su vrlo korisni jer su bogati kalcijem i fosforom, vitaminima i proteinima koji sadrže aminokiseline koje su neophodne našem organizmu. Proizvode se od najmasnijeg kravljeg ili ovčjeg mlijeka.

Sirevi koji sadrže plemenite plijesni mogu se podjeliti u dvije grupe. Prvu grupu čine bijeli sirevi. Ovi sirevi na površini imaju sasušenu kožicu s bijelom plijesni. Tijesto im je glatko, plastično i elastično. Dugim zrenjem postaje mekano do vrlo mazivo, slično strukturi toplog maslaca, pa se kaže da tijesto "teče". Na početku zrenja sir ima blagi okus na šampinjone, a kasnije, duljim zrenjem, okus postaje sve oštriji uz miris na amonijak. Vrlo zreli sirevi ovog tipa mogu imati vrlo intenzivan miris i okus koji gurmani jako cijene. Ovi se sirevi pakiraju u aluminijske folije i budući da pripadaju grupi polumekih sireva, ulažu se u kartonske ili drvene kutije kako se ne bi deformirali tijekom transporta. Najpoznatiji predstavnici ove grupe sireva su Camembert i Brie.

Oba sira su podrijetlom iz Francuske i karakterizira ih različit oblik. Camembert je mali sir promjera 15 − 20 cm, dok je Brie, njegov veliki brat, promjera oko 40 cm (Božanić, 2015.).

Drugu grupu sireva s plemenitim plijesnima čine plavi sirevi. Za razliku od bijelih plijesni koje se nalaze isključivo na površini sira, plavo-zelene plijesni nalaze se unutar sira. Sir ima sasušenu kožicu na površini, tijesto mu je bijelo do blago rumeno prošarano plavo-zelenim plijesnima. Okus sira je blago kiselkast do vrlo pikantan ako se provodi dulje zrenje. Obično su znatno slaniji u odnosu na bijele sireve. Ako se ovi sirevi rade iz ovčjeg mlijeka, tada imaju znatno intenzivniji miris i okus. Najpoznatiji predstavnici ove grupa sireva su Roquefort, sir podrijetlom iz Francuske, iz pokrajine Roquefort, koji se radi isključivo iz ovčjeg mlijeka, te sirevi iz kravljeg mlijeka: Gorgonzola iz Italije i Stilton iz Velike Britanije. Danas se na tržištu javljaju i sirevi proizvedeni kombinacijom bijelih i plavozelenih plijesni. Takvi sirevi imaju bijele plijesni na površini sira te plave plijesni koje prožimaju unutrašnjost sira (Božanić, 2015.).



Slika 14. Plemenita plijesan na siru
(Izvor: http://www.dobartek.spar.hr/)

Tijekom procesa proizvodnje plemenitih sireva glavnu ulogu u primarnim biokemijskim procesima (zrenje mlijeka, gruša ili sira) imaju uporabljene kulture mezofilnih bakterija mliječne kiseline, koje najprije moraju stvoriti uvjete u siru da bi se omogućio rast plijesni i njihova aktivnost tijekom sazrijevanja sira u uvjetima zrionice. Međutim, esencijalna je uloga kulture plijesni za razvoj senzorskih osobina, svojstvenih za pojedinu vrstu tih sireva.

Plijesni su aerobne, optimalno rastu pri većoj vlažnosti, povećanoj kiselosti (pH oko 4-5) i pri

temperaturi oko 20 °C, ali dobro rastu i pri nižoj temperaturi tijekom zrenja sireva. Za pravilan rast plijesni bitno je osigurati jednoličan pristup zraka na površini sira (bijele plijesni) ili unutar sira (plave plijesni) (Tratnik, 1998.).

4. TIPIČNI AUTOHTONI SIREVI

Glavno obilježje tradicionalnih sireva je uporaba sirovog, odnosno termički neobrađenog mlijeka za sirenje. Mlijeko kao sirovina utječe na specifičnost (autohtonost) sireva ponajprije zbog bakterija mliječno kisele fermentacije prirodno prisutnih u sirovom mlijeku, koje doprinose karakterističnom i prepoznatljivom okusu, mirisu i konzistenciji određenog sira (Radeljević i sur., 2013.).

U ovom poglavlju su navedeni neki od tradicionalni sireva koji zaslužuju posebnu pozornost.

4.1. Paški sir

Paški je sir najpoznatiji autohtoni sir u Hrvatskoj, poznat već i u svijetu, a od davnine se proizvodi na otoku Pagu od ovčjeg mlijeka, domaće paške ovce.

Najčešća visina paškog sira je 7-8 cm, promjera 18-22 cm, a težina mu je 2-4 kg. Paški sir se razlikuje od sireva susjednih otoka (Silba, Olib) po načinu izrade. Većina paških pastira – sirara podsiruje na "ruke" tj. bez pomoći bilo kakvih sprava suvremenog sirarstva. Sir se pravi u "kotlenicama" - "pinjatima" koji sadrže oko 20 litara mlijeka. U posljednje vrijeme željezni kotlići - "brunci", istiskuju bakrene "pinjate "(Lukač-Havranek, 1995.).

Smatra se da se paški sir počeo proizvoditi od mlijeka paške ovce 1870. godine. Oplemenjivanjem domaće ovce s merino negretti ovnovima dobila se ovca vrlo dobro prilagođena na okoliš kakav je na otoku Pagu kombiniranih proizvodnih osobina (za meso i mlijeko).



Slika 15. Paški sir
(Izvor: https://paskisir.files.wordpress.com/2011/07/3.jpg)

Osim na obiteljskim poljoprivrednim gospodarstvima, paški sir se proizvodi i u nekoliko sirana. Prema evidenciji Hrvatske poljoprivredne agencije, broj muznih ovaca na otoku Pagu varira između 25 000 i 28 000.

Paška ovca tjelesno je nešto manja od drugih otočkih ovaca, skladno građenog trupa s osrednje izraženim širinama i dubinama, tjelesne mase 30 do 40 kg, dok su ovnovi prosječne težine 50 kg. Ovca se janji u siječnju i veljači, a plodnost joj je 120%. Zbog proizvodnje paškog sira, razdoblje sisanja janjadi je kratko, svega tridesetak dana. Laktacija paške ovce traje 150 dana, a mliječnost joj varira od 80 do 150 L po laktaciji. Karakteristično je da se paška ovca drži na otvorenom cijelu godinu, tako da joj se osnovni obrok sastoji od paše. Uz pašu, ovca se prihranjuje sijenom i kukuruzom (zimi i u vrijeme laktacije).

Kvaliteta ovčjeg mlijeka dobro je istražena i karakterizira je nadprosječan sadržaj suhe tvari, osobito masti i proteina što ga čini vrlo pogodnim za sirenje. Za proizvodnju paškog sira smije se koristiti ovčje mlijeko proizvedeno od paške ovce na otoku Pagu. Za sirenje smije se koristiti sirilo prirodnog podrijetla, a sirenje mlijeka traje do sat vremena.

Gruš se reže na veličinu kocke 5 − 7 x 5 − 7 cm , a zatim se tradicionalno usitnjava drvenim pršljenom do veličine riže (Slika 16. i 17.). Sušenje sirnog zrna odvija se na temperaturi od 41°C iza čega slijedi taloženje i oblikovanje sirne grude te oblikovanje sira u kalup i prešanje. Sir se soli krupnom morskom solju utrljavanjem soli po površini sira 3 puta u 48 sati (Kalt, 2015.).



Slika 16. Drveni nož i pršljen za proizvodnju paškog sira
(Izvor: http://napredak.vuka.hr/)



Slika 17. Sirno zrno u proizvodnji paškog sira
(Izvor: http://napredak.vuka.hr/)

Majer-Waldburg (1974.) navodi da je Paški sir na popisu najpoznatijih europskih sireva, a Carić ga (1993.) navodi pod autohtonim sirevima Balkanskih zemalja. Osim toga, vrlo je poznat i traže ga turisti koji posjećuju Dalmaciju i otok Pag, gdje se nudi kao desret (Tratnik, 1998.).

4.2. Krčki sir

Krčki sir proizvodi se od mlijeka izvorne pasmine ovaca koja se uzgaja na otoku Krku – krčka ovca. Ovaj sir je, kao i ostali primorski sirevi, nastao tijekom 18. i 19. st. križanjem lokalnih izvornih pasmina ovaca s merino ovnovima uvezenim iz Španjolske, Francuske, Italije i Austrije.

Krčka ovca pripada skupini pramenki, kombiniranih proizvodnih osobina. Zahvaljujući okolišu, krčka ovca je relativno mala (tjelesna masa 24 − 43 kg), ali prilično otporna i prilagodljiva na oskudne uvjete uzgoja. U laktaciji, koja traje između pet i šest mjeseci, ovca proizvede oko 100 L mlijeka. Krčki sir pripada skupini tvrdih punomasnih otočkih ovčjih sireva.

Sir je proizveden od sirovog ovčjeg mlijeka u kojemu je sačuvana aktivnost prirodnih enzima i prirodna mikroflora nestarterskih bakterija mliječne kiseline. U njihovoj se izvornoj proizvodnji koristilo domaće sirilo i priručna pomagala od prirodnih materijala. Danas je njihova proizvodnja dijelom modificirana zbog primjene različitih sirila i čistih kultura, kojih ima na tržištu, te primjene suvremene sirarske opreme.

Krčki sir se ručno proizvodi na obiteljskim poljoprivrednim gospodarstvima otoka Krka. Sir je

pravilnoga cilindričnog oblika. Masa sira iznosi prosječno oko 1000 g s varijacijama 580 − 1700 g, dok promjer prosječno iznosi 13 cm, s varijacijama 11,5 – 15 cm. Visina sira iznosi oko 6 cm, s varijacijama 4,4 − 7,8 cm. Kora mu je jednolične smeđe žute boje, bez raspuklina i nečistoća. Sir može biti namazan tankim slojem biljnog ulja. Boja sira na prerezu jednolična je blijedožuta, tijesto je slabo elastično i mekano za rezanje. Sir na prerezu ima mali broj rijetko posijanih okruglastih sitnih očica. Miris je ugodan, tipičan za ovčje sireve, dok je okus sira umjereno kiseo (Kalit, 2015.).



Slika 18. Krčki sir tijekom zrenja
(Izvor: http://www.novilist.hr/)

4.3. Istarski sir

Istarski ovčji sir tradicionalni je autohtoni proizvod dobiven koagulacijom sirovog ili pasteriziranog mlijeka ovaca uzgajanih na području Istre pomoću prirodnog sirila uz izdvajanje sirutke što se posti već rezanjem sirnog zrna na veličinu zrna pšenice i njegovim dogrijavanjem na temperature između 41 i 42°C. Izvorni istarski ovčji sir je punomasni tvrdi sir. Sir smije sadržavati najviše 56% vode u bezmasnoj tvari i najmanje 45% masti u suhoj tvari sira. Sir je cilindričnog oblika promjera između 18 i 20 cm i visine između 7 i 9 cm. Težina sira može varirati 1,8 − 3 kg. Istarski sir spreman za konzumaciju optimalne je zrelosti između 60 i 120 dana. Kora sira je zlatno-žute boje, a tijesto sira je slabo elastično, no lako rezivo. Sir je blago pikantan, izražene i specifične arome po ovčjem mlijeku. Konzumacijom se „topi u ustima“ i oslobađa veliku količinu ukusnih spojeva koji ispunjavaju usta tijekom žvakanja (Kalit, 2015.).



Slika 19. Istarski sir
(Izvor: https://images-popusti.njuskalo.hr/)

4.4. Sir škripavac

Naziv je ova vrsta sira dobila prema njegovome specifičnom svojstvu da škripi pod zubima dok je mlad. Škripavac se u pravilu izrađuje od kravljeg mlijeka, a puno rjeđe od ovčjeg (proizvodili su ga oni koji su imali više ovaca). Katkada su žene znale pomiješati kravlje i ovčje mlijeko i napraviti sir. Temelj za pravljenje sira predstavlja sirište koje se dobiva od telećeg ili janjećeg želuca, murice. Želudac se temeljito ispere, usoli te ostavi odstajati nekoliko dana (najčešće dva do tri dana). Murica se zatim rastegne na dva ili više štapića te se stavi na sušenje. Izrezani komadići stavljaju se u posude s vodom koje se moraju dobro zatvoriti da bi se u njima napravilo sirište. Dobivena tekućina, sirište, ulijeva se u zagrijano mlijeko kako bi se sir usirio nakon približno dvadeset minuta. Nakon sat-dva u posudi zvanoj padela sir dobiva tvrđi oblik. Oblikovao se rukama, a ostavljala se pri tome tekućina, surutka, sirutka, koja se najčešće davala svinjama ili kokošima.

Ponegdje sole mlijeko koje se siri ili grušalinu prije vađenja iz surutke, dok se drugdje siru dodavala sol prilikom oblikovanja sira. Škripavac se cijedi u pladnjevima, zdjelicama ili posudama s rupicama. Veličina sira zavisi od količine mlijeka upotrijebljenog za njegovu pripremu.

Jedna žlica sirišta ulije se na deset litara mlijeka kako bi se dobio kilogram sira. Sir škripavac jeo se svjež i mogao je trajati dan do dva, a ukoliko ga je bilo više, dimio se na dimu ili, rjeđe,

sušio na zraku i na suncu i tako dobivao suhi sir. Sušio se na dimu u tzv. sušarama, sušionama ili bajtama. Nekada se škripavac držao u drvenim posudama okruglog oblika, a danas u tanjuru.

Povijesni podaci o siru škripavcu poznati su samo iz etnografskih opisa od sredine 20. stoljeća. O njegovom podrijetlu i starini nedostaju podaci no budući da je riječ o karakterističnom stočarskom proizvodu, čiji su glavni nositelji bunjevačko planinsko stanovništvo Like i Primorja, čini se da pripada široj stočarskoj dinarskoj tradiciji, premda u drugim dinarskim područjima pod tim nazivom i načinom pripreme nije poznat.

Nositelji tradicije izrade sira škripavca žitelji su planinskih krajeva u podnožju Velike Kapele i Velebita s primorske strane (Bunjevci) i Like. Proizvodnja ovoga sira poznata je i u bunjevačkim i u drugim krajevima Like. Riječ je o specifičnom regionalnom proizvodu stočarskog stanovništva, koje ovu tradiciji njeguje i u suvremeno doba, u prvom redu za vlastite potrebe. Od posljednjeg desetljeća 20. stoljeća, od osamostaljenja Republike Hrvatske, dobiva i sve veći turistički značaj. Proizvodnja ovoga sira je, osim svoje upotrebne vrijednosti u svakodnevnom života žitelja planinskog dijela Primorja i Like, prepoznatljivi simbol regionalnog identiteta njezinih nositelja.

Prema terenskim istraživanjima na primorskoj strani Velebita i Velike Kapele proizvodnja sira škripavca i danas je tradicija ovoga kraja, s tom razlikom da ga danas zna pripremati manji broj žena u pojedinim domaćinstvima. Pojedine žene proizvode i veću količinu sira za prodaju. Prodaju ga u Senju ili kupci dolaze po sir k njima u selo. Što se tiče promjena u tehnologiji proizvodnje, ona se odnosi u prvom redu na sirište. Naime, danas se rijetko priprema sirište na stariji opisani način, već se kupuje gotovo sirište u ljekarni. Nekada se sir držao u drvenim posudama okruglog oblika, danas se obično drži na tanjuru.

Priprema škripavca je danas zastupljena i u mnogim krajevima Like. Osim što se proizvodi u pojedinim obiteljima za vlastite potrebe, od devedesetih godina prošloga stoljeća, a još češće na početku 21. stoljeća, počinje proizvodnja škripavca u novootvorenim privatnim obiteljskim siranama i pojedinim seoskim domaćinstvima u Krasnu, Ogulinu, Josipdolu, Korenici, Lovincu, Smiljanu, Ličkom Lešću, Otočcu itd. U prilog tim tendencijama govore i inicijative za proizvodnju sira škripavca tijekom 2005. godine u okviru poljoprivredne zadruge „Velebitska degenija“, osnivanjem udruga malih sirara Ličko-senjske županije „Lički škripavac“ krajem 2006. godine, kao i projekti zaštite tradicijskih proizvoda s geografskim podrijetlom, među koje se ubraja i lički škripavac (poljoprivredna zadruga Lovinac, „Frankopan“ iz Brinja).



Slika 20. Sir škripavac
(Izvor: https://www.agroklub.com/upload/slike/naslov/sir.jpg)

4.5. Parmesan

Parmiggiano Reggiano (engl. Parmesan) sljedeći je poznati izvorni talijanski sir koji je strogo zaštićen oznakom izvornosti i smije se proizvoditi samo u regijama Parma, Reggio Emilia, Bologna (samo u područjima zapadno od rijeke Reno), Modena i Mantova (Burukčić, 2015.).

Parmesan je jako tvrdi sir koji se proizvodi od siroog kravljeg mlijeka. Ima čvrstu i glatku koru, slamnato-rumene boje. Sirno je tijesto svijetlo do tamnije žute boje, zrnate teksture i lomljivo. Iz 100 kg mlijeka proizvede se oko 5-7- kg sira.

Mlijeko za parmezan dobiva se od krava koje su se hranile isključivo travom i sijenom, a koje se uzgajaju samo na već spomenutom području koje karakterizira plodna zemlja i hladnija klima. Koristi se samo svježe, nepasterizirano mlijeko pomuzeno večer prije i to jutro, a jedini dodatak je sol.

Sirovo mlijeko, dobiveno večernjom mužnjom krave, preko noći sazrije u plitkim kadama. Tada se pobere spontano odvojeno vrhnje i dodaje punomasno mlijeko jutarnje mužnje da bi u mlijeku udjel mliječne masti bio 2-2.8%. Uz dodatak sirila mlijeko se gruša u kotlu pri 32-35°C. Umjesto kulture prije se dodavala sirutka toga sira od prethodnog dana, a kasnije se prema potrebi koristila posebno sastavljena kultura u kojoj su zastupljeni *Lactobacillus helveticus* ili 1-3% jogurtne kulture sto se dodaje ovisno o kiselosti mlijeka i trajanju toplinske obrade gruša. Nastali se čvrsti gruš reže na kockice od 3 mm. Gruš se tada stalno miješa tijekom dogrijavanja, nakon čega sadržaj kotla miruje (oko 20 minuta).

Kada se zrno veličine pšenice slegne na dno kotla, sirnom se krpom zgrabi i ocijedi oko 15 minuta pod vlastitom masom. Tada se gruda sira stavlja u velike kalupe preko krpe i optereti silom od 250 N/m^2 tijekom 20 sati. Svaki se sat sir okreće, a nakon 5-6 sati sir se uranja u salamuru, a soljenje može trajati 15-24 dana. Nekoliko se dana sir prosušuje pri temperaturi oko 15-20°C.

Sir zatim dozrijeva na policama 12 mjeseci, a tijekom tog razdoblja se okreće svakih 7 dana. Nakon 12 mjeseci svaki kolut pregleda inspektor Konzorcija koji kucka po kolutu (Slika 21.) kako bi otkrio moguće pukotine i šupljine u siru.

Na kolutove koji prođu kontrolu utiskuje se logotip Konzorcija, a sirevi zatim dozrijevaju još 12-24 mjeseca. Zanimljivo je da se sirutkom dobivenom pri izradi parmezana hrane svinje od kojih se radi i čuvena parmska šunka (prosciutto di Parma).



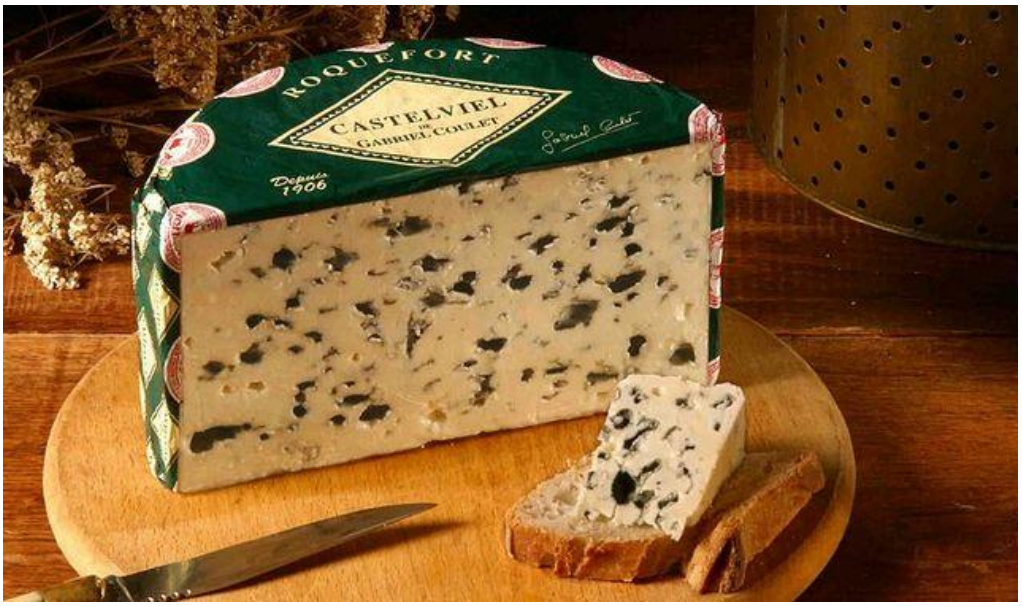
Slika 21. Kuckanje po kolutu sira radi otkrivanja pukotina u siru
(Izvor: http://www.parmigianoreggiano.com/)

4.6. Roquefort

Roquefort je domaći francuski sir od ovčijeg mlijeka, sa plemenitim plavim plijesnima. Porijeklom je sa juga Francuske i jedan je od najpoznatijih sireva na svijetu. Roquefortom se danas mogu označavati samo sirevi nastali u pećinama u blizini mjestašca Roquefort-sur-Soulzon u okrugu Aveyron, na južnim obroncima Cevennes gorja. Inače, Rokfor zovu „kralj sireva“, i Francuzi tvrde da mu ni jedan nije ravan.

Legenda kaže da je nastao sasvim slučajno, kao i većina proizvoda tog tipa: mladi pastir koji je čuvao ovce sklonio se u pećinu kako bi tamo u miru pojeo kruh sa sirom. Iznenada je u polju ugledao krasnu djevojku, zaboravio na glad i otrčao za njom ostavivši za sobom hranu. Poslije nekoliko tjedana kada je navratio do pećine, ugledao je pljesniv sir. Usprkos izgledu, odlučio ga je probati i na svoje veliko iznenađenje, oduševio okusom.

Cilindrična je oblika, promjera 20 cm i visine 8-10 cm, a mase od 2 do 3 kg. Površina je tog sira prekrivena bijelo-rumenom sluzi koja je najčešće suha. Sirno je tijesto bijele do kremaste boje, prošarano plijesnima plavo-zelene do sive boje, povezano i drobljivo, ovisno o stupnju zrenja. Potpuno zreli Roquefort je vrlo pikantna okusa te oštra mirisa.



Slika 22. Sir Roquefort
(Izvor: http://www.bizlife.rs/)

U mlijeko se ili u mladi sir dodaje kultura plijesni. U prvoj fazi ciklusa u hladnim, vlažnim pećinama čije su zidine prekrivene kulturama pljesni *Penicillinum roquefort*, sir se prvih nekoliko dana soli, a zatim bode kako bi unutar sira mogao prodrjeti okolni zrak koji je

neophodan za rast plijesni. U pećini sir zrije četiri tjedana na temperaturi od 7 do 10°C. Kada se na površini pojave prve zelene "fleke", probode se i zamotava u aluminijsku foliju kako bi se spriječio utjecaj zraka i drugih vrsti plijesni na njega i tako zamotan zrije 3 do 4 mjeseca sve dok ne dobije krajnji izgled. Rezultat je pikantno slani kremasti krhki sir s najmanje 52% suhe tvari. Krhkost sira je dokaz njegove kvalitete. Čim je krhkiji, tim je bolji.

5. ZAKLJUČAK

Na temelju pisanja i istraživanja ovog diplomskog rada došla sam do nekoliko zaključaka. Cilj rada bio je istražiti sve mikrobne kulture koje se koriste u proizvodnji sira, uključujući plemenite plijesni. Mikrobne kulture koriste se u proizvodnji sira s unutarnjim bakterijskim zrenjem kada se mlijeko termički obrađuje. To su kulture koje sadrže specifične mikroorganizme, a sastoje se od neškodljivih aktivnih organizama koji svojim rastom i razmnožavanjem u siru osiguravaju željeni okus i teksturu. Na temelju više segmenata došla sam do zaključka da su kulture bakterija mliječne kiseline najvažnije zato što imaju važnu ulogu u proizvodnji bilo koje vrste sira. One fermentiranoj hrani daju svojstven miris i teksturu, istovremeno sprječavajući kvarenje i rast patogenih mikroorganizama. Bakterije mliječne kiseline imaju i probiotičko djelovanje te, zahvaljujući tome, mogu poboljšati zdravstveno stanje ljudi i životinja. Također bih htjela naglasit izrazito važnu ulogu bakterije *Brevibacterium lines* kao glavni sadržaj mikroflore u vrstama sira u kojima je prisutno zrenje bakterija. Ova je bakterija značajna za nastajanje različitih hlapljivih spojeva kao što je metantiol, spoj koji ima miris na „trula jaja“ ili na zelje, što je svojstveno za sireve koji zriju u prisutnosti bakterija *B. linens*. Kroz rad, posebice me zainteresiralo djelovanje kultura plemenitih plijesni koje se koriste u proizvodnji plemenitih sireva zajedno s mezofilnom kulturom bakterija mliječne kiseline. Sirevi s plemenitom plijesni su vrlo korisni jer su bogati kalcijem i fosforom, vitaminima i proteinima koji sadrže aminokiseline koje su neophodne našem organizmu. Nakon mikrobnih kulture, odlučila sam obraditi i neke od autohtonih sireva čije je glavno obilježje uporaba sirovog, odnosno termički neobrađenog mlijeka za sirenje. Od obrađenih autohtonih sireva najviše mi je privukao pažnju sir Roquefort sa svojom zanimljivom legendom o postanku.

6. POPIS LITERATURE

1. Tratnik Lj: Mlijeko – tehnologija, biokemija i mikrobiologija, str. 13 - 217. Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb, 1998.

2. Jagoda Šušković, Blaženka Brkić i Srećko Matošić (1997.), Mehanizam probiotičkog djelovanja, str. 59.-60.

3. Thierry, A., Deutsch, S. M., Falentin, H., Dalmasso, M., Cousin, F. J., Jan, G. (2011) New insights into physiology and metabolism of Propionibacterium freudenreichii. Int. J. Food Microbiol. 149, 19-27.

4. Thierry, A., Maillard, M. B., Hervé, C., Richoux, R., Lortal, S. (2004.) Varied volatile compounds are produced by Propionibacterium freudenreichii in Emmental cheese. Food Chem. 87, 439-446.

5. Cousin, F., Mater, D. D. G., Foligné, B., Jan, G. (2010.) Dairy propionibacteria as human probiotics: a review of recent evidence. Dairy Sci. Technol. 91, 1-26.

6. Wyder, M. T., Bosset, J. O., Casey, M. G., Isolini, D., Sollberger, H. (2001.) Influence of two different propionibacterial cultures on the characteristics of Swiss-type cheese with regard to aspartate metabolism. Milchwissenschaft. 56, 78-81.

7. Fröhlich-Wyder, M. T., Bachmann, H. P. (2004.) Cheeses with propionic acid fermentation. In: Fox, P. F., McSweeney, P. L. H., Cogan, T. M., Guinee, T. P. (Eds.), Cheese. Chemistry, Physics and Microbiology. Elsevier, London, 141-156.

8. Dherbécourt, J., Falentin, H., Jardin, J., Maillard, M. B., Bagliniere, F., Barloy-Hubler, F., Thierry, A. (2010) Identification of a secreted lipolytic esterase in Propionibacterium freudenreichii, a ripening process bacterium involved in Emmental cheese lipolysis. Appl. Environ. Microbiol. 76, 1181-1188.

9. Thierry, A., Maillard, M. B., Richoux, R., Kerjean, J. R., Lortal, S. (2005.) Propionibacterium freudenreichii strains quantitatively affect production of volatile compounds in Swiss cheese. Le Lait. 85, 57-74.

10. Božanić R: Vrste sireva i značaj u prehrani ljudi. U Sirarstvo u teoriji i praksi, str. 47 – 58. Veleučilište u Karlovcu, Karlovac, 2015.; Dostupno na url: http://napredak.vuka.hr/fileadmin/napredakrepozitorij/prirucnik/Sirarstvo_u_teoriji_i_praksi_net.pdf

11. Kalit S: Opće sirastvo. U Sirarstvo u teoriji i praksi, str. 29., Veleučilište u Karlovcu, Karlovac, 2015., str. 59-70.; Dostupno na url: http://napredak.vuka.hr/fileadmin/napredakrepozitorij/prirucnik/Sirarstvo_u_teoriji_i_praksi_net.pdf

12. Rogelj, I.: Mikrobne kulture u proizvodnji sira, Sirarstvo u teoriji i praksi, 113 – 123.; Dostupno na url: http://napredak.vuka.hr/fileadmin/napredakrepozitorij/prirucnik/Sirarstvo_u_teoriji_i_praksi_net.pdf

13. Matijević B: Dodaci u proizvodnji sira i njihov značaj. U Sirarstvo u teoriji i praksi, str. 103 – 104. Veleučilište u Karlovcu, Karlovac, 2015.; Dostupno na url: http://napredak.vuka.hr/fileadmin/napredakrepozitorij/prirucnik/Sirarstvo_u_teoriji_i_praksi_net.pdf

14. Barukčić, I.: Proizvodnja sira u zemljama Europske unije, Sirarstvo u teoriji i praksi, 71 - 84.; Dostupno na url: http://napredak.vuka.hr/fileadmin/napredakrepozitorij/prirucnik/Sirarstvo_u_teoriji_i_praksi_net.pdf

15. B. RADELJEVIĆ i sur.: Ukupne slobodne aminokiseline u Krčkom siru, *Mljekarstvo 63* (1), 15-21 (2013), Zagreb; Dostupno na url: Mljekarstvo_12_03_2013_15_21.pdf

Web stranice:

16. https://repozitorij.agr.unizg.hr/islandora/object/agr%3A118/datastream/PDF/view

17. https://dr.nsk.hr/islandora/object/ptfos%3A1026/datastream/PDF/view

18. http://cook-mania.blogspot.hr/2009/03/kratka-povijest-sira.html

19. KRSEV_Razvoj_proizvodnje_svjezeg_sira_od_obranog_mlijeka.pdf

20. https://repozitorij.ptfos.hr/islandora/object/ptfos%3A72/datastream/PDF/view

21. http://www.tehnologijahrane.com/enciklopedija/probiotici-u-industriji-mlijeka

22. http://www.hrcak.srce.hr/file/160116

23. https://dr.nsk.hr/islandora/object/ptfos%3A1107/datastream/PDF/view

24. http://www.sirikajmak.rs/documents/predavanja-tehn-mikorbiologija.pdf

25. https://www.cheesemaking.com.au/starter-cultures/

26. https://www.pauza.hr/blog/pauziraj-malo/prica-o-parmezanu

27. https://hr.wikipedia.org/wiki/Roquefort

7. SADRŽAJ

Danas, u proizvodnji sireva, koristimo odabrane mikrobne kulture u čijem se sastavu mogu naći bakterije mliječne kiseline, bakterije propionske kiseline, sojevi bakterije *Brevibacterium linens* i plemenite plijesni. Primarna je uloga kulture bakterija mliječne kiseline u proizvodnji svih sireva, a djelovanje ostalih kultura dolazi do izražaja tek u fazi zrenja, pri uvjetima optimalnim za određenu vrstu, uz stalnu kontrolu i pravilno njegovanje sira. Ovisno o vrsti sira, koriste se mezofilne ili termofilne kulture bakterija mliječne kiseline. Bakterije mliječne kiseline se mogu podjeliti i prema obliku na štapičaste i okruglaste forme. Bakterije propionske kiseline koriste se u proizvodnji tvrdih sireva i dodaju se u kombinaciji s termofilnim bakterijama mliječne kiseline. Kulture bakterija propionske kiseline odgovorne su za razvoj osebujnog okusa i mirisa i razvoj "sirnih rupica". Bakterija *Brevibacterium linens* raste na površini sira, primjerice Romadura, gdje tvori crveni maz. Živi u alkalnoj sredini i snažan je proteolit. Sudjeluje u sekundarnom zrenju sira. Kulture plijesni koriste se u proizvodnji plemenitih sireva zajedno s mezofilnom kulturom bakterija mliječne kiseline, a ponekad i s termofilnom kulturom kao u proizvodnji gorgonzole (*S. thermophilus* i *Lb. bulgaricus*) ili u proizvodnji sireva Camembert i Brie. Sirevi koji sadrže plemenite plijesni mogu se podjeliti u dvije grupe. Prvu grupu čine bijeli sirevi, a drugu grupu plavi sirevi.

8. SUMMARY

Today, in the cheese production, we use selected microbial cultures which contain lactic acid bacteria, propionic acid bacteria, strains of *Brevibacterium linens* and blue mold strains. Culture of lactic acid bacteria has the primary role in the production of all cheeses, and the role of other cultures comes to light only in the ripening phase of the cheese, under conditions optimal for a particular type, with constant control and proper nourishment of cheese. Depending on the cheese type, mesophilic or thermophilic cultures of lactic acid bacteria are used. Lactic acid bacteria can also be divided according to the shape of the bacteria into spherical and rounded forms. Propionic acid bacteria are used in the production of hard cheeses at high temperatures and are added in combination with thermophilic lactic acid bacteria. Propionic acid bacteria cultures are responsible for developing distinctive flavors and smells as well as developing "cheese holes". Bacteria *Brevibacterium linens* grows on the surface of the cheese, for example Romadura, where it forms a red smear. It lives in the alkaline environment and is a strong proteolite. *B.linens* also participates in the process of secondary cheese ripening. Mold cultures are also used while manufacturing blue cheeses, alongside the mesophilic lactic acid bacteria cultures and sometimes the thermophilic cultures, such as in the manufacture of Gorgonzola (*S. thermophilus* and *Lb. bulgaricus*), Camembert and Brie. Cheeses containing precious molds can be divided into two groups. The first group consists of white cheeses, and the other group consists of blue cheeses.

9. POPIS TABLICA

1. Naziv sira s obzirom na udio vode u bezmasnoj tvari sira (MPRRR, 2009.); Dostupno na url: http://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2009_02_20_446.html

2. Vrste sira s obzirom na udio mliječne masti u suhoj tvari sira (MPRRR, 2009.); Dostupno na url: http://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2009_02_20_446.html

3. Vrste sira s obzirom na zrenje sira (Tratnik, 1998)

4. Vrste mikroorganizama u sastavu tradicionalnih kultura za proizvodnju glavnih tipova sira (prema Robinsonu, 1990. i 1993.) (Tratnik, 1998.)

5. Lista bakterija mliječne kiseline u sastavu kultura za proizvodnju sira (prema Robinsonu, 1990.,1993., Cogan i Hill, 1993.) (Tratnik, 1998.)

6. Različiti tipovi mikrobnih kultura bakterija mliječne kiseline i njihova primjena (prema Robinsonu, 1990.; Bylundu, 1995.) (Tratnik, 1998.)

10. POPIS SLIKA

Slika 1. Shematski prikaz tehnoloških postupaka u proizvodnji sira, preuzeto sa: https://www.google.hr/search?q=faze+u+proizvodnji+sira

Slika 2. Bakterija *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus*, preuzeto sa: https://en.wikipedia.org/wiki/Lactobacillus_delbrueckii_subsp._bulgaricus

Slika 3. Bakterija *Lactobacillus casei*, preuzeto sa: https://i2.wp.com/www.nosterprobiotics.com/wp-content/uploads/2016/06/Lactobacillus-casei-01.jpg?fit=900%2C670

Slika 4. Bakterija *Lactobacillus helveticus*, preuzeto sa: https://nootriment.com/wpcontent/uploads/2015/12/lactobacillus-helveticus-probiotic-300x271.jpg

Slika 5. Bakterija *Lactobacillus acidophilus*, preuzeto sa: http://www.mysticalbiotech.com/wp-content/uploads/2016/05/Lactobacillus-Acidophilus.jpg

Slika 6. Bakterija *Bifidobacterium bifidum*, peuzeto sa: http://sglprobiotics.com/wp-content/uploads/2016/06/bifidobacterium-bifidum-363x363.jpg

Slika 7. Bakterija *Lactococcus lactis* ssp. *Lactis*, preuzeto sa: http://textbookofbacteriology.net/Lactococcus_lactis_and_Nisin-1.jpg

Slika 8. Bakterija *Lactococcus lactis* ssp. *Cremoris*, preuzeto sa: http://genome.jgi.doe.gov/laccr/laccr.jpg

Slika 9. Bakterija *Lactococcus lactis* ssp. *Lactis biovar diacetylactis*, preuzeto sa: https://viiliculture.files.wordpress.com/2011/08/lactococcus-lactis-subsp-lactis-biovar-diacetylactis.jpg

Slika 10. Bakterija *Enterococcus faecalis*, preuzeto sa: https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/4/4a/Enterococcus_faecalis20023-300.jpg

Slika 11. Bakterija *Pediococcus pentosaceus*, preuzeto sa: http://parasites.ftz.czu.cz/food/_data/240.jpg

Slika 12. Bakterija *Leuconostoc mesenteroides*, preuzeto sa: http://cooknkohlmesenteroides.pbworks.com/f/1197607598/leuconostoc.jpg

Slika 13. Bakterija *Streptococcus salivarius* ssp. *Thermophilus*, preuzeto sa: https://microbewiki.kenyon.edu/images/3/36/Streptococcus_thermophilus.jpg

Slika 14. Plemenita plijesan na siru, preuzeto sa: http://www.dobartek.spar.hr/files/images/novosti/LIFESTYLE/680x370-7/plijesan.jpg

Slika 15. Paški sir, preuzeto sa: https://paskisir.files.wordpress.com/2011/07/3.jpg

Slika 16. Drveni nož i pršljen za proizvodnju paškog sira, preuzeto sa: http://napredak.vuka.hr/fileadmin/napredakrepozitorij/prirucnik/Sirarstvo_u_teoriji_i_praksi_net.pdf

Slika 17. Sirno zrno u proizvodnji paškog sira, preuzeto sa: http://napredak.vuka.hr/fileadmin/napredakrepozitorij/prirucnik/Sirarstvo_u_teoriji_i_praksi_net.pdf

Slika 18. Krčki sir tijekom zrenja, preuzeto sa: http://www.novilist.hr/var/novilist/storage/images/vijesti/regija/node_1585/krcki-sir-ide-po-eu-zastitu-izvornosti/9065181-1-cro-HR/Krcki-sir-ide-po-EU-zastitu-izvornosti_ca_large.jpg

Slika 19. Istarski sir, preuzeto sa: https://images-popusti.njuskalo.hr/data/image/500x705/13/istarski-sir-spin-1-kg-tommy-60343.jpg

Slika 20. Sir škripavac, preuzeto sa: https://www.agroklub.com/upload/slike/naslov/sir.jpg

Slika 21. Kuckanje po kolutu sira radi otkrivanja pukotina u siru, preuzeto sa: http://www.parmigianoreggiano.com/download_parmigiano-reggiano-espertizzazione.jpg?h=65d38fdc12ccf8b488c381872e6128bd85a19535

Slika 22. Sir Roquefort, preuzeto sa: http://www.bizlife.rs/files/images/news/FRANCUSKA-specijal/Demi-Castelviel-Gabriel%20Coulet-by-Digitalyeti-Own%20work.jpg

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku **Diplomski rad**
Poljoprivredni fakultet u Osijeku
Sveučilišni diplomski studij, smjer Zaštita bilja

Mikrobne kulture u proizvodnji sireva

Tena Štadler

Sažetak: Danas, u proizvodnji sireva, koristimo odabrane mikrobne kulture u čijem se sastavu mogu naći bakterije mliječne kiseline, bakterije propionske kiseline, sojevi bakterije *Brevibacterium linens* i plemenite plijesni. Primarna je uloga kulture bakterija mliječne kiseline u proizvodnji svih sireva, a djelovanje ostalih kultura dolazi do izražaja tek u fazi zrenja sira u zrionici, pri uvjetima optimalnim za određenu vrstu, uz stalnu kontrolu i pravilno njegovanje sira. Ovisno o vrsti sira, koriste se mezofilne ili termofilne kulture bakterija mliječne kiseline. Bakterije mliječne kiseline se mogu podjeliti i prema obliku na štapičaste i okruglaste forme. Bakterije propionske kiseline koriste se u proizvodnji tvrdih sireva i dodaju se u kombinaciji s termofilnim bakterijama mliječne kiseline. Kulture bakterija propionske kiseline odgovorne su za razvoj osebujnog okusa i mirisa i razvoj "sirnih rupica". Bakterija *Brevibacterium linens* raste na površini sira, primjerice Romadura, gdje tvori crveni maz. Živi u alkalnoj sredini i snažan je proteolit. Sudjeluje u sekundarnom zrenju sira. Kulture plijesni koriste se u proizvodnji plemenitih sireva zajedno s mezofilnom kulturom bakterija mliječne kiseline, a ponekad i s termofilnom kulturom kao u proizvodnji gorgonzole (*S. thermophilus* i *Lb. bulgaricus*) ili u proizvodnji sireva Camembert i Brie. Sirevi koji sadrže plemenite plijesni mogu se podjeliti u dvije grupe. Prvu grupu čine bijeli sirevi, a drugu grupu plavi sirevi.

Rad je izrađen pri: Poljoprivredni fakultet u Osijeku
Mentor: Prof.dr.sc. Suzana Kristek

Broj stranica: 57
Broj grafikona i slika: 22
Broj tablica: 6
Broj literaturnih navoda: 27
Broj priloga: 0
Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: : sir, mliječne kiseline, mezofilne kulture, bakterije, kiseline

Datum obrane:

Stručno povjerenstvo za obranu:

1. Izv.prof.dr.sc. Zvonimir Steiner, predsjednik
2. Prof.dr.sc. Suzana Kristek, mentor
3. Izv.prof.dr.sc. Drago Bešlo, član

Rad je pohranjen u: Knjižnica Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku, Sveučilištu u Osijeku, Kralja Petra Svačića 1d

BASIC DOCUMENTATION CARD

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek **Graduate thesis**
Faculty of Agriculture
University Graduate Studies, Plant production, course

Microbial cultures in cheese production

Tena Štadler

Abstract: Today, in the cheese production, we use selected microbial cultures which contain lactic acid bacteria, propionic acid bacteria, strains of *Brevibacterium linens* and blue mold strains. Culture of lactic acid bacteria has the primary role in the production of all cheeses, and the role of other cultures comes to light only in the ripening phase of the cheese, under conditions optimal for a particular type, with constant control and proper nourishment of cheese. Depending on the cheese type, mesophilic or thermophilic cultures of lactic acid bacteria are used. Lactic acid bacteria can also be divided according to the shape of the bacteria into spherical and rounded forms. Propionic acid bacteria are used in the production of hard cheeses at high temperatures and are added in combination with thermophilic lactic acid bacteria. Propionic acid bacteria cultures are responsible for developing distinctive flavors and smells as well as developing "cheese holes". Bacteria *Brevibacterium linens* grows on the surface of the cheese, for example Romadura, where it forms a red smear. It lives in the alkaline environment and is a strong proteolite. *B.linens* also participates in the process of secondary cheese ripening. Mold cultures are also used while manufacturing blue cheeses, alongside the mesophilic lactic acid bacteria cultures and sometimes the thermophilic cultures, such as in the manufacture of Gorgonzola (*S. thermophilus* and *Lb. bulgaricus*), Camembert and Brie. Cheeses containing precious molds can be divided into two groups. The first group consists of white cheeses, and the other group consists of blue cheeses.

Thesis performed at: Faculty of Agriculture in Osijek
Mentor: PhD. Suzana Kristek

Number of pages: 57
Number of figures: 22
Number of tables: 6
Number of references: 27
Number of appendices: 0
Original in: Croatian

Key words: cheese, lactic acid, mesophilic cultures,bacteria, acid

Thesis defended on date:

Reviewers:

1. PhD. Zvonimir Steiner, president
2. PhD. Suzana Kristek, mentor
3. PhD. Drago Bešlo, member

Thesis deposited at: Library, Faculty of Agriculture in Osijek, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Kralja Petra Svačića 1d.