

# Određivanje trajnosti svježeg sira i jogurta proizvedenih na obiteljskom poljoprivrednom gospodarstvu

---

Lendel, Sintija

Master's thesis / Diplomski rad

2024

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:*

**Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek /  
Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:151:226719>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-12-19**



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](#)



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURAJA SROSSMAYERA  
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Sintija Lenđel

Diplomski studij Zootehnika

Modul Specijalna Zootehnika

**ODREĐIVANJE TRAJNOSTI SVJEŽEG SIRA I JOGURTA  
PROIZVEDENIH NA OBITELJSKOM  
POLJOPRIVREDNOM GOSPODARSTVU**

Diplomski rad

Osijek, 2024.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU  
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Sintija Lendel

Diplomski studij Zootehnika

Modul Specijalna Zootehnika

**ODREĐIVANJE TRAJNOSTI SVJEŽEG SIRA I JOGURTA  
PROIZVEDENIH NA OBITELJSKOM  
POLJOPRIVREDNOM GOSPODARSTVU**

**Diplomski rad**

Povjerenstvo za ocjenu i obranu diplomskog rada:

1. prof. dr. sc. Goran Kušec, predsjednik
2. prof. dr. sc. Ivona Djurkin Kušec, mentorica
3. doc. dr. sc. Jurica Jović, član

Osijek, 2024.

## **ZAHVALA**

*Prije svega željela bih uputiti zahvale svojoj mentorici, prof. dr. sc. Ivona Djurkin Kušec, na ukazanom povjerenju, uloženom vremenu i trudu, ali i na ugodnoj atmosferi koju je stvorila pri izradi ovog diplomskog rada. Srdačno se zahvaljujem i doc. dr. sc. Jurica Jović na stručnoj pomoći te korisnim savjetima. Hvala Vam na ukazanom povjerenju, strpljivosti i razumijevanju te na svim savjetima koje ste mi dali tijekom cijelog studija i tijekom izrade diplomskog rada.*

*Želim se zahvaliti svim svojim kolegama i prijateljima koji su svakim danom stvarali lijepe fakultetske uspomene te bili podrška.*

*Najveću zahvalu za ovo što sam postigla dugujem svojim roditeljima, bratu te zaručniku koji su mi omogućili studiranje, poticali me i podržavali kroz sve godine studiranja te bili uz mene u dobrim i lošim trenucima.*

# Sadržaj

1. UVOD.....	1
2. PREGLED LITERATURE .....	3
2.1. Sir.....	3
2.1.1. Koaguacija .....	3
2.1.2. Rezanje i ocjeđivanje gruša .....	4
2.1.3. Soljenje i oblikovanje .....	4
2.1.4. Zrenje.....	4
2.1.5. Mikrobna i enzimatska aktivnost u siru.....	4
2.2. Kvaliteta sira .....	5
2.3. Svježi sir.....	7
2.4. Grčki tip jogurta.....	7
2.4.1. Proces cijedenja .....	9
2.4.2. Mikrobiološka kakvoća .....	9
2.5. Mikroorganizmi u mlijeku i mliječnim proizvodima .....	10
2.6. Kvarenje mlijeka .....	11
2.6.1. Escherichia coli.....	11
2.6.2. Izvori kontaminacije bakterijom E. coli .....	12
2.6.3. Preventivne mjere .....	12
2.6.4. Salmonela .....	12
2.6.5. Izvori kontaminacije Salmonelom.....	13
2.6.6. Preventivne mjere .....	13
2.7. Listeria monocytogenes .....	14
2.7.1. Izvori kontaminacije Listeriom monocytogenes .....	14
2.7.2. Preventivne mjere .....	14
2.8. <i>Campylobacter</i> .....	15
2.8.1. Izvori kontaminacije .....	15
2.8.2. Preventivne mjere .....	15
2.9. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	16
2.9.1. Izvori kontaminacije .....	16
2.9.2. Preventivne mjere .....	16
2.10. <i>Shigella spp.</i> .....	17
2.11. Pravilnik o mikrobiološkim kriterijima za hranu .....	17
3. MATERIJAL I METODE.....	19
3.1. Tehnologija proizvodnje svježeg kravljeg sira na OPG Lendel .....	19

3.2.	Tehnologija proizvodnje krem sira na OPG Lendel.....	19
3.3.	Tehnologija proizvodnje grčkog jogurta na OPG Lendel .....	20
3.4.	Mikrobiološka analiza .....	20
4.	REZULTATI .....	22
4.1.	Testiranje podloga na selektivnost .....	22
4.2.	Analiza uzoraka s valjanim rokom trajanja proizvoda.....	23
4.3.	Analiza uzoraka nakon isteka roka valjanosti proizvoda.....	27
5.	RASPRAVA.....	31
6.	ZAKLJUČAK.....	34
7.	LITERATURA .....	35
8.	SAŽETAK .....	40
9.	SUMMARY .....	41
10.	POPIS TABLICA.....	42
11.	POPIS SLIKA .....	43
	TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA .....	44
	BASIC DOCUMENTATION CARD .....	45

## 1. UVOD

Svježi sir i jogurt su među najpopularnijim mliječnim proizvodima u svakodnevnoj prehrani, prvenstveno zbog svojih hranjivih svojstava, visoke razine proteina, kalcija te korisnih probiotičkih kultura. Zbog svojih funkcionalnih i nutritivnih prednosti predstavljaju neizostavan dio uravnotežene prehrane, no istovremeno su proizvodi osjetljivi na promjene tokom skladištenja. Brojni narodi u svijetu proizvode sir i fermentirane mliječne proizvode stoljećima, čak tisućama godina. Tijekom vremena načini proizvodnje sira, kao i tehnološka rješenja koja su se primjenjivala kako bi se ubrzala i automatizirala njegova proizvodnja, su se mijenjali. Ove promjene pratile su promjene i u tehnikama ambalaže i skladištenja različitih vrsta sireva čiji je primarni zadatak bio održati proizvod kroz duži period jednako kvalitetnim i sigurnim za ljudsku uporabu. U današnje vrijeme potrošači traže mliječne proizvode koji su zdravi i bez konzervansa, no s produženim periodom skladištenja (Rodriguez-Aguilera i sur., 2011.). Stoga su napori mljekarske industrije u posljednje vrijeme usmjereni na osmišljavanje novih načina pakiranja sireva kako bi se produžio njihov vijek skladištenja. Upravo zbog navedenoga, kao i činjenice da je sir namirnica sklona kvarenju, analiza patogenih mikroorganizama predstavlja neizostavan korak u njegovoj proizvodnji.

Kvarenje mliječnih proizvoda može biti uzrokovano brojnim čimbenicima, kao što su to neučinkovita pasterizacija ili tehnološke pogreške tijekom proizvodnje. Također, izvori tih mikroorganizama mogu biti različiti, poput mikroorganizama koji dospiju kroz sirovinu ili tijekom neučinkovite toplinske obrade mlijeka (Ledenbach i sur., 2009.). Stoga tehnološki postupci proizvodnje mliječnih proizvoda uvijek uključuju predradnje koje usporavaju ili potpuno onemogućuju rast i razvoj mezofilnih mikroorganizama poput pasterizacije. Nadalje, kako bi se produljio vijek trajanja proizvoda u današnje se vrijeme sve više uvode različiti načini pakiranja proizvoda, poput MAP (pakiranje u modificiranoj atmosferi). Tako primjerice Conte i sur. (2009.) navode da je pakiranje sira Fior di Latte u MAP produžilo njegovo trajanje za tri dana, dok Attallah i sur. (2021.) navode da je MAP pakiranje sa 100% CO<sub>2</sub> i 100% N<sub>2</sub> značajno doprinijelo produljenju skladištenja Domiati sira.

Iako je općepoznato da kontrolirani uvjeti skladištenja mogu pomoći u očuvanju kvalitete mliječnih proizvoda, mnogi potrošači i proizvođači još uvijek se suočavaju s izazovima vezanim uz optimalno skladištenje. Nadalje, vremenski periodi skladištenja svježeg sira i

jogurta procjenjuju se prema naputcima iz dobre higijenske prakse, Europske legislative, te uputama koje izdaju Zavod za javno zdravstvo i Ministarstvo poljoprivrede (NN 81/2013, Ministarstvo poljoprivrede (2023.), (EZ) br. 178/2002), no unatoč tome nepoznato je postoji li mogućnost produljenja vijeka skladištenja ovih proizvoda i za koji vremenski period bez kompromitacije patogenim mikroorganizmima.

Stoga je cilj ovog istraživanja bio utvrditi prisutnost/odsutnost patogenih mikroorganizama u svježem siru, krem-siru i grčkom jogurtu proizvedenim na OPG Lenđel tijekom propisanog vijeka skladištenja, te utvrditi mogućnost njegovog produljenja za navedene mliječne proizvode.



## 2. PREGLED LITERATURE

### 2.1. Sir

Prema definiciji FAO organizacije (2012.) sir je zreli ili nezreli meki, polutvrđi, tvrdi ili ekstra tvrdi proizvod, koji može biti premazan i u kojem omjer proteina sirutke/kazeina ne prelazi onaj u mlijeku.

Pravilnik o sirevima i proizvodima od sireva (NN 20/2009) navodi slijedeće nazive sireva obzirom na udio vode u bezmasnoj tvari sira, konzistenciju i građu:

**Tablica 1.:** Naziv sira obzirom na udio vode u bezmasnoj tvari sira (NN 20/2009)

Naziv sira obzirom na udio vode u bezmasnoj tvari sira	Udio vode u bezmasnoj tvari sira (%)
Ekstra tvrdi sir	<51
Tvrdi sir	49 – 56
Polutvrđi sir	54 – 69
Meki sir	>67
Svježi sir*	69 – 85

\*ne odnosi se na svježe sireve proizvedene od vrhnja

Izrada sira je biokemijski proces koji pretvara mlijeko u sir kroz niz enzimatskih, mikrobioloških i fizikalnih metoda. Temeljne faze proizvodnje sira uključuju koagulaciju, formiranje gruš, izdvajanje sirutke i zrenje (Fox i sur., 2004.; Fox i sur., 2017.), gdje svaka od navedenih faza doprinosi konačnoj teksturi, okusu i kvaliteti sira.

#### 2.1.1. Koagulacija

Koagulacija mliječnih proteina (kazeina) temelj je izrade sira jer stvara strukturu gruš iz tekućeg mlijeka. Dva su glavna načina kojima se kazein može koagulirati. To su:

- a) Enzimska koagulacija: Enzim sirilo koristi se za cijepanje  $\kappa$ -kazeina, destabilizirajući micelle i omogućujući molekulama kazeina da se grupiraju. Ova metoda je ključna za većinu sireva, posebno za vrste koagulirane sirilom kao što su to cheddar ili gauda (Fox o sur., 2004.).
- b) Kiselinska koagulacija: Ova metoda uključuje dodavanje kiseline ili upotreba bakterija koje proizvode kiselinu snižava pH mlijeka, što uzrokuje taloženje kazeina.

Ova metoda se obično koristi za svježe sireve, kao što je to primjerice rikota (Hayaloglu, 2016.).

### *2.1.2. Rezanje i ocjeđivanje grušā*

Nakon formiranja grušā, on se reže na manje komade kako bi se otpustila sirutka. Veličina rezanog grušā određuje sadržaj vlage, pri čemu manji komadi proizvode čvršće, suše sireve (Fox i sur., 2017.). Ocjeđivanje grušā dalje odvaja sirutku od čvrste mase, što je ključno za oblikovanje teksture sira.

### *2.1.3. Soljenje i oblikovanje*

Sol se dodaje siru kako bi se poboljšao okus, regulirala vlažnost i spriječio rast nepoželjnih mikroorganizama. Sol također utječe na teksturu, učvršćujući strukturu grušā. Nakon soljenja, gruševi se prešaju u kalupe kako bi se dobio oblik sira (Papademas i Bintsis, 2017.).

### *2.1.4. Zrenje*

Zrenje predstavlja biokemijski proces u kojem se razvijaju okus i tekstura sira tijekom vremena. Za proces zrenja ključne su dvije biokemijske reakcije, a to su razgradnja proteina (proteoliza) i razgradnja masti (lipoliza) pomoću enzima i mikroorganizama. Pri tome se proteoliza odnosi na razgradnju proteina kazeina, što rezultira peptidima i aminokiselinama, koji doprinose teksturi sira i slanosti (Fox i sur., 2004.), dok se lipoliza odnosi na hidrolizu masti u slobodne masne kiseline, što ima utjecaj na složenost okusa, odnosno pridonosi pikantnosti kod sireva poput plavog sira (Hayaloglu, 2016.).

### *2.1.5. Mikrobna i enzimatska aktivnost u siru*

Mikroorganizmi igraju ključnu ulogu u fermentaciji i sazrijevanju. Mliječno-kiselinske bakterije pretvaraju laktozu u mliječnu kiselinu, što utječe na teksturu i okus sira. Sekundarne kulture, poput plijesni (*Penicillium* vrste), doprinose okusu i izgledu sireva poput Brie i plavog sira (Fox i sur., 2017.).

## 2.2. Kvaliteta sira

Kvaliteta sira ovisi o mnogim svojstvima, uključujući izgled, teksturu, funkcionalnost, okus, sigurnost i hranjivu vrijednost. Kontrola kvalitete sira ključna je za osiguranje sljedivosti, sigurnosti i zadovoljstva potrošača. Sastavni dijelovi sira, poput sadržaja vlage, masti i proteina, igraju presudnu ulogu u formiranju njegove teksture, okusa i konzistencije.

Na kvalitetu sira utječe mnoštvo čimbenika, od kojih svaki igra ključnu ulogu u određivanju karakteristika konačnog proizvoda. Prema Fox i sur. (2017.) oni uključuju:

1. **Mlijeko i njegovu kvalitetu:** Mlijeko i njegova kakvoća imaju izravan utjecaj na krajnji proizvod, zbog čega se ona strogo kontrolira kako bi se postigla željena kvaliteta sira (Johnson, 2017.). Sastav mlijeka od kojeg je sir napravljen značajno utječe na njegovu kvalitetu kroz sadržaj masti, proteina i minerala. Sadržaj masti u mlijeku utječe na teksturu i okus sira, pri čemu viši udjeli masti obično dovode do kremastije teksture i bogatijeg okusa. Sadržaj proteina, posebno kazeina, ključan je za strukturu i prinos sira, gdje viši udjeli kazeina općenito poboljšavaju čvrstoću i elastičnost sira, dok sadržaj minerala, posebno kalcija i fosfora, igra vitalnu ulogu u procesu koagulacije i konačnoj teksturi sira. Pri tome su tvrđi sirevi, koji imaju niži sadržaj vlage, obično kompaktniji, dok su mekani sirevi bogatiji vlagom što im daje glatku i kremastu teksturu (Fox i sur., 2017.). Mikrobiološka kvaliteta mlijeka još je jedan čimbenik koji izravno utječe na kakvoću sira jer o njoj ovisi na prinos, sigurnost i ukupnu kvalitetu konačnog proizvoda (D'Amico, 2014.). Mlijeko visoke kvalitete s optimalnom mikrobnom ravnotežom ključno je za olakšavanje procesa fermentacije, a oni su presudni za razvoj poželjnog okusa i teksture sira (Nam i sur., 2021.). Kontaminanti u mlijeku, poput mikroorganizama koji uzrokuju kvarenje i patogena, mogu dovesti do nedostataka koji negativno utječu na okus, aromu i sigurnost. S druge pak strane prisutnost korisnih bakterija u mlijeku, kao što su bakterije mliječne kiseline, neophodna je za proces kiseljenja, što pomaže u zgrušavanju mlijeka i formiranju gruš (Quigley i sur., 2013.).
2. **Bakterijske kulture** koje se koriste za acidifikaciju, poput mliječnokiselinskih bakterija (LAB), igraju ključnu ulogu tijekom zrenja mliječnih proizvoda. Ove bakterije, uključujući vrste kao što su *Lactobacillus* i *Lactococcus*, započinju proces fermentacije pretvaranjem laktoze u mliječnu kiselinu, što snižava pH mlijeka (Aguirre-Garcia i sur., 2024.). Proces acidifikacije ne samo da pomaže u zgrušavanju

mliječnih proteina kako bi se formirao gruša, već također stvara okruženje koje inhibira rast mikroorganizama koji uzrokuju kvarenje i patogena. Tijekom zrenja, ove bakterije nastavljaju doprinositi razvoju okusa, teksture i arome razgrađujući proteine i masti u manje spojeve (Tratnik, 1998.). Prisutnost i aktivnost ovih bakterijskih kultura ključni su za proizvodnju visokokvalitetnih, sigurnih i ukusnih mliječnih proizvoda.

3. **Sirilo:** Igra ključnu ulogu u proizvodnji sira omogućujući koagulaciju mlijeka, što je neophodno za formiranje gruš a odvajanje sirutke. Ovaj proces prvenstveno pokreće enzim kimozin koji se nalazi u sirilu, a koji specifično cilja kazeinske proteine u mlijeku, dovodeći do formiranja čvrstog gruš a (Garg and Johri, 1994.). Sirilo također značajno utječe na teksturu i okus konačnog proizvoda (Guven i sur., 2008.).
4. **Nespecifične bakterije startera (NSLAB):** Odnose se na bakterije koje nisu dio početne kulture korištene u proizvodnji sira, već ulaze u mlijeko ili sir kroz izvore iz okoline tijekom proizvodnje ili su prirodno prisutne u mlijeku. Te bakterije mogu utjecati na okus, teksturu i zrenje sira, a njihova prisutnost pripisuje se izloženosti okolišu ili kontaminaciji u mljekarskim pogonima (Dugat-Bony i sur., 2016.). Autohtone bakterije u mlijeku također mogu pridonijeti populaciji NSLAB-a, dodatno obogaćujući mikrobnu zajednicu i utječući na konačnu kvalitetu proizvoda (Gobbetti i sur., 2015.).
5. **Sastav sira:** sir je složen prehrambeni proizvod koji se sastoji od različitih komponenti, uključujući vodu, proteine (prvenstveno kazein), masti, laktozu, minerale i vitamine. Sastav sira ovisi o vrsti mlijeka koja se koristi (npr. kravlje, kozje, ovčje) te metodama obrade, uključujući koagulaciju, rezanje i zrenje. Na primjer, kazeinski proteini su glavni strukturni element sira i igraju ključnu ulogu u formiranju teksture (Fox i sur., 2017.). Sadržaj masti također je značajan, jer doprinosi ukupnom okusu i osjećaju u ustima. Sadržaj vode određuje razinu vlažnosti, što zatim utječe na tvrdoću ili mekoću sira). Minerali poput kalcija i fosfora pomažu u definiranju tvrdoće i potencijala sazrijevanja sira (Fox i sur., 2017.).
6. **Zrenje sirne grude** je kritična faza u proizvodnji sira, na koju značajno utječu i temperatura i trajanje. Tijekom ovog procesa moraju se održavati specifični uvjeti okoliša kako bi se potaknule željene biokemijske promjene koje poboljšavaju okus, teksturu i ukupnu kvalitetu sira. Optimalne temperature zrenja obično se kreću od 10 do 15°C, ovisno o vrsti sira koji se proizvodi. Trajanje zrenja može jako varirati, pri čemu je za neke sireve potrebno samo nekoliko tjedana, dok je za druge potrebno

nekoliko mjeseci (Leclercq-Perlat i sur., 2015.). Ovo kontrolirano okruženje omogućuje razgradnju proteina i masti, što dovodi do razvoja složenih okusa i aroma koje karakteriziraju konačni proizvod.

### **2.3. Svježi sir**

Svježi sir se proizvodi mliječno kiselom fermentacijom pomoću bakterija mliječne kiseline. Najčešće se proizvode iz obranog mlijeka uz bakterijsku kulturu, a ponekad se u mlijeko dodaje mala količina sirila radi bolje čvrstoće sirnog gruša. Ako su pravljani od punomasnog mlijeka, tada im se naziv mijenja u kremasti svježi sir (Vuk, 2023.). Bez obzira na vrstu mlijeka od kojeg se pravi svježi sir se ističe kao jedna od lako kvarljivih netekućih namirnica, a karakteriziraju ga kratak rok trajanja, koji iznosi od 7 do 9 dana (Barukčić i sur., 2020.). Kratak vijek trajanja svježeg sira posljedica je visokog sadržaja vode i hranjivih tvari u ovom proizvodu, što dovodi do povećane sinereze, smanjenja pH i lipolize (Monasterio i sur., 2024.).

### **2.4. Grčki tip jogurta**

Jogurt se definira kao „hrana proizvedena kultiviranjem jednog ili više sastojaka mlijeka (vrhnje, mlijeko, djelomično obrano mlijeko) karakterističnim bakterijskim kulturama koji sadrže bakterije koje proizvode mliječnu kiselinu (Hui, 2012.). Osnovni princip proizvodnje jogurta leži u fermentaciji mlijeka specifičnim bakterijskim kulturama. Najčešće korištene kulture su *Lactobacillus bulgaricus* i *Streptococcus thermophilus*, koje fermentiraju laktozu u mliječnoj kiselini. Ova kisela reakcija uzrokuje koagulaciju mliječnih proteina rezultirajući konzistencijom tipičnom za jogurt.

Grčki tip jogurta, također poznat kao koncentrirani jogurt ili gusti jogurt, zapravo je polu čvrsta inačica fermentiranog mliječnog proizvoda proizvedena od jogurta cijedenjem dijela njegove sirutke (Lange i sur., 2020.). Rezultat ovog cijedenja je proizvod koji ima više ukupnih čvrstih tvari i niži sadržaj laktoze od običnog jogurta (Tablica 2; Tamime i sur., 1989., 2003.).

**Tablica 2.** Uobičajeni kemijski sastav različitih industrijski proizvedenih jogurta (Tamime, 2003.)

Sastav	Punomasno	Obrano
Suha tvar	22.0	14.3
Bjelančevine	4.9	9.9
Masti	10.1	0.2
Ugljikohidrati	6.0	3.5
Pepeo	1.0	0.6

Na karakteristike grčkog jogurta utječe nekoliko ključnih čimbenika:

- Sastav mlijeka:** Vrsta mlijeka koja se koristi značajno utječe na konačni proizvod. Viši sadržaj proteina u mlijeku dovodi do gušćeg jogurta zahvaljujući formiranju jače proteinske matrice tijekom fermentacije (Lang i sur., 2020.). Tako su primjerice Serhan i sur. (2016.) karakterizirali Labneh (koncentrirani jogurt ili grčki tip jogurta) proizveden od mješavine kozjeg i kravljeg mlijeka, te utvrdili da je Labneh od kozjeg mlijeka imao viši sadržaj vlage, pepela i masti, ali niži pH, ukupne čvrste tvari, proteina i laktoze u usporedbi s kravljim mlijekom, dok je mješavina od 40% kozjeg mlijeka i 60% kravljeg mlijeka bila najprihvaćenija među senzornim panelima vjerojatno zbog povoljnih promjena u profilima masnih kiselina.
- Izbor starter kulture:** Vrste starter kulture značajno utječe na kvalitetu jogurta, pri čemu kulture koje proizvode eksopolisaharide (EPS) stječu popularnost zbog svoje sposobnosti poboljšanja viskoznosti, teksture i senzorskih atributa kao što su osjećaj u ustima i kremastost, a također poboljšavaju i stabilnost tijekom skladištenja (London i sur., 2015.). Različite kombinacije mliječnih starter kultura mogu utjecati na senzorske osobine, te je tako u istraživanju Nsabimana i sur. (2005.) svježi jogurt napravljen korištenjem kombinacije jogurt startera i *Bifidobacterium bifidum* dobio najviše ocjene u organoleptičkoj evaluaciji. Omjer kazeina i serumskih proteina (CN:SP) u osnovi mlijeka za jogurt utječe na sposobnost mreže gela da zadrži vodu, pri čemu niži omjeri povećavaju čvrstoću (Lee i Lucey, 2010.). Osim toga, utvrđeno je da *L. paracasei* proizvodi jogurt s izvrsnim senzorskim karakteristikama i dobrom mikrobiološkom stabilnošću, iako prekomjerne razine inokuluma mogu

dovesti do dužih vremena fermentacije i lošijih senzorskih svojstava (Maragkoudakis i sur., 2006.).

3. **Toplinska obrada:** Zagrijavanje mlijeka na otprilike 90°C tijekom deset minuta prije inokulacije denaturira proteine sirutke, poboljšavajući njihovu sposobnost interakcije s kazeinskim proteinima i poboljšavajući teksturu (Ichimura i sur., 2023., Xu i sur., 2015.). Ovaj proces je ključan za postizanje željene gustoće karakteristične za grčki jogurt.
4. **Temperatura i vrijeme fermentacije:** Temperatura inkubacije obično se kreće od 38°C do 42°C, a vrijeme fermentacije varira od 5 do 12 sati ovisno o željenoj kiselosti i gustoći.

#### *2.4.1. Proces cijedenja*

Za razliku od običnog jogurta, grčki jogurt prolazi kroz proces cijedenja kojim se uklanja višak sirutke, rezultirajući gušćim proizvodom s koncentriranim okusima i hranjivim tvarima. U tradicionalnoj proizvodnji grčkog jogurta proizvod se cijedi kroz sirarsku krpu pri čemu se sirutka ocijedi, a koagulacija jogurta povećava ukupne čvrste tvari i postotak mliječne masti (Gyawali i Ibrahim, 2016.). Nove tehnologije, poput ultrafiltracije ili centrifugiranja, zamijenile su tradicionalni proces jer mogu poboljšati i učinkovitost i mikrobiološku kvalitetu (Chandan i O'Rell, 2006.).

#### *2.4.2. Mikrobiološka kakvoća*

Tradicionalna obrada grčkog tipa jogurta uključuje ručnu manipulaciju, što povećava rizik od kontaminacije kvascima i plijesnima. Ovo je navelo proizvođače da koriste različite aditive za produljenje vijeka trajanja grčkog jogurta (Haddad i sur., 2007.). Istraživanje Al-Kadamanyja i sur. (2003.) pokazalo je da jogurt napravljen od mješavine obranog mlijeka i vrhnja te pohranjen na 5°C, ima znatno duži rok trajanja od jogurta proizvedenog korištenjem tradicionalne metode cijedenja kroz sirarsku krpu, prvenstveno upravo zbog toplinske obrade koja eliminira vegetativne oblike kvasaca i plijesni. Dagher i Ali (1985.) su u svom istraživanju pokazali da blaga toplinska obrada (70°C tijekom 3 minute) u kombinaciji s aditivima poput vodikovog peroksida i kalijevog sorbata te zgušnjivača, poboljšava kvalitetu i rok trajanja jogurta. Isti autori navode kako je jogurt proizveden brzom centrifugacijom imao povoljna organoleptička svojstva te manje šanse za konatminacijom

bakterijama i plijesnima u odnosu na kontaminaciju koja se uočava kod sira dobivenog tradicionalnim postupkom cijedenja kroz krpenu vreću.

## 2.5. Mikroorganizmi u mlijeku i mliječnim proizvodima

Tijekom mužnje, transporta, obrade i prerade u mlijeko mogu dospjeti mikroorganizmi iz različitih izvora. Mlijeko je sterilno pri izlučivanju u vimenu, ali je kontaminirano bakterijama i prije nego što napusti vime. Osim u slučaju mastitisa, bakterije su u ovoj fazi proizvodnje mlijeka bezopasne i malobrojne. Sirovo mlijeko, neposredno nakon provedene mužnje, sadržava manje od 5000 mikroorganizama/mL i manje od 250.000 somatskih stanica. Broj i vrsta mikroorganizama prisutnih u sirovom mlijeku određena je sezonom, higijenskim uvjetima proizvodnje, hranidbom i sustavom hlađenja. Hlađenje mlijeka odmah nakon mužnje mijenja samo prirodno prisutnu mikrobnu populaciju, dok se u neohlađenom mlijeku mijenja njihova razina kontaminacije (Samaržija i sur., 2012.). Generalno mikroorganizme u mlijeku i mliječnim proizvodima dijelimo na korisne i patogene.

Korisni mikroorganizmi u mlijeku igraju ključne uloge u fermentaciji i očuvanju mliječnih proizvoda. U mlijeku to su bakterije mliječne kiseline i probiotici, dok u siru i fermentiranim mliječnim proizvodima pronalazimo još i nekulture starter bakterija mliječne kiseline, plijesni i kvasce. Bakterije mliječne kiseline (LAB) zastupljene su sa *Lactococcus lactis* i *Lactobacillus* spp., koji su prirodno su prisutni u mlijeku i ključni u procesima fermentacije, poput proizvodnje jogurta i sira. Ove bakterije pretvaraju laktozu u mliječnu kiselinu, što smanjuje pH i inhibira kvarenje (Salque i sur., 2013.). Određeni sojevi probiotika poput *Bifidobacterium* i *Lactobacillus acidophilus* mogu biti prisutni u mlijeku ili se dodaju zbog svojih zdravstvenih koristi, poput poboljšanja zdravlja crijeva i jačanja imunološkog sustava (Vinderola et al., 2011.). U siru korisne mikroorganizme dijelimo na starter kulture, nekulture starter bakterija mliječne kiseline, plijesni i kvasce.

- a) **Starter kulture:** Starter kultura obično sadrži LAB poput *Lactococcus*, *Lactobacillus* i *Streptococcus thermophilus*. Ove bakterije započinju fermentaciju mlijeka pretvarajući laktozu u mliječnu kiselinu, što pomaže u zgrušavanju mlijeka (McSweeney, 2004.).
- b) **NSLAB:** Ove bakterije, koje su često prisutne tijekom sazrijevanja sira, doprinose razvoju okusa i teksture u zrelih sirevima (Beresford i sur., 2001.).



- c) **Plijesni:** U određenim vrstama sira, poput plavih sireva i Briea, plijesni poput *Penicillium roqueforti* i *Penicillium camemberti* igraju ključnu ulogu. Ove plijesni rastu u ili na siru i utječu na profil okusa (Beresford i Williams, 2004.).
- d) **Kvasci:** Kvasci su važni u procesu sazrijevanja, posebno u sirevima sazrijevanim na površini. *Debaryomyces hansenii* je uobičajeni kvasac koji se koristi u sirevima poput Camemberta, gdje doprinosi razgradnji masti i proteina, utječući na teksturu i okus (Lopandic i sur., 2006.).

## 2.6. Kvarenje mlijeka

Mlijeko i mliječni proizvodi imaju visoku nutritivnu vrijednost za ljude. Zbog svog jedinstvenog sastava, idealne pH vrijednosti i visokog aktiviteta vode mlijeko je idealni medij za razvoj bakterija. Patogene bakterije koje se prenose mlijekom predstavljaju prijetnju ljudskom zdravlju i čine oko 90% svih bolesti povezanih s mliječnim proizvodima. *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* i *Campylobacter* glavne su mikrobiološke opasnosti povezane s konzumacijom sirovog mlijeka. Na mikrobiološki status sirovog mlijeka utječe nekoliko čimbenika uključujući zdravstveni status životinje, hrana za životinje, tlo, izmet, upravljanja farmom, higijenu okoliša i lošu kontrolu temperature mlijeka tijekom i prije prerade (Berhe i sur., 2020.).

### 2.6.1. *Escherichia coli*

Bakterija *Escherichia coli* je dominantna bakterijska vrsta u crijevima i izmetu. U organizmu čovjeka sprječava razmnažanje patogenih bakterija u crijevu i sintetizira pojedine vitamine u količini značajnoj za organizam čovjeka (Marinculić i sur., 2009.). Ljudi su vrlo osjetljivi na infekciju nakon izravnog kontakta sa životinjskim otpadom ili životinjskim proizvodima kontaminiranih *Escherichiom coli*. Ove bakterije mogu uzrokovati ozbiljne bolesti kod ljudi, kao što su proljev, hemoragični kolitis i hemolitički uremijski sindrom. Optimalna temperatura za rast i razvoj *Escehrichie coli* se kreće oko 37°C i pH 7, ali može rasti u rasponu pH vrijednosti od 2,4 do 11,6. Fermentira glukozu i laktozu uz stvaranje mliječne, octene i mravlje kiseline i nastaje ugljični dioksid. Na agaru tvori tamno crvene kolonije metalnog sjaja (Samaržija, 2021.).

### 2.6.2. Izvori kontaminacije bakterijom *E. coli*

Kontaminacija mlijeka i mliječnih proizvoda bakterijom *E. coli* može se dogoditi u različitim fazama lanca opskrbe mlijekom, no primarnim izvorom kontaminacije gotovo uvijek se smatra sirovo mlijeko. *E. coli* može biti unesena u mlijeko od krava koje su zaražene ili nose bakteriju u svojim crijevima, gdje tijekom mužnje fekalni materijal zaraženih krava može izravno kontaminirati mlijeko, posebno ukoliko se ne održava odgovarajuća higijena. Muzna oprema i površine koje se koriste za mužnju također može biti značajan izvor kontaminacije. Loše očišćeni ili dezinficirani strojevi za mužnju, cjevovodi i spremnici za skladištenje mogu sadržavati bakterije *E. coli*, osobito u vlažnim uvjetima, što omogućuje rast bakterija i stvaranje biofilma koji trajno kontaminira mlijeko (Jayarao i Henning, 2001.).

Također i kvaliteta vode koja se koristi na mliječnim farmama može biti izvor kontaminacije ovom bakterijom. Voda kontaminirana *E. coli*, koja se često koristi za čišćenje opreme za mužnju, pranje krava ili čak kao sastojak u određenim mliječnim proizvodima, može unijeti bakteriju u proces proizvodnje. Neodgovarajuće tretirana voda korištena tijekom čišćenja može dodatno povećati rizik od kontaminacije. Potencijalni izvor *E. coli* u mliječnim proizvodima može biti i unakrsna kontaminacija. Ako se ne slijede odgovarajuće tehnike rukovanja, skladištenja i prerade, kontaminacija može nastati od sirovih do pasteuriziranih proizvoda, često kao rezultat loše higijenske prakse ili neodgovarajuće kontrole temperature tijekom skladištenja (Oliver i sur., 2005.).

### 2.6.3. Preventivne mjere

Prevenција kontaminacije mlijeka i mliječnih proizvoda bakterijom *E. coli* zahtijeva sveobuhvatan pristup koji uključuje stroge mjere higijene i dezinfekcije u svim fazama proizvodnje. Jedna od najučinkovitijih metoda za uklanjanje bakterije *E. coli* iz mlijeka je pasteurizacija.

### 2.6.4. *Salmonela*

*Salmonela* je jedna od najčešćih bakterijskih patogena koja može kontaminirati mlijeko i sir, što može dovesti do ozbiljnih bolesti uzrokovanih hranom. Konzumacija kontaminiranih mliječnih proizvoda može uzrokovati salmonelozu, infekciju karakteriziranu simptomima poput proljeva, vrućice i grčeva u truhu. *Salmonela* raste pri temperaturi od 5 do 45°C, gdje optimalna temperatura za njen rast i razvoj iznosi 35 – 37°C, dok je optimalna pH vrijednost

7,5. Rast ovih bakterija se zaustavlja na temperaturi nižoj od 4°C i višoj od 9,5°C (Compendium of Microbiological Criteria for Food, 2022.).

#### 2.6.5. *Izvori kontaminacije Salmonelom*

Kontaminacija mlijeka i sira *Salmonelom* prvenstveno potječe od zaraženih životinja i loše higijene tijekom proizvodnje i obrade. Zaražene krave mogu izlučivati *Salmonelu* u svom izmetu, koji onda može kontaminirati mlijeko tijekom mužnje. Kontaminacija se može dogoditi izravno putem kontakta izmeta s vimenom, opremom za mužnju ili samim mlijekom (Oliver i sur., 2005.). Stoga, u slučaju kada se za proizvodnju sira koristi mlijeko koje nije prethodno pasterizirano, povećava se mogućnost njegove kontaminacije upravo prijenosom ovih bakterija iz svježeg mlijeka (Doyle i Roman, 1982.). Neodgovarajuće rukovanje i skladištenje sira tijekom obrade, poput nedovoljne kontrole temperature ili nesanitarnе opreme, mogu dodatno povećati rizik od kontaminacije (Sofos, 2008.).

#### 2.6.6. *Preventivne mjere*

Najefikasniji način prevencije kontaminacije mlijeka *Salmonelom* je pasterizacija. Zagrijavanjem mlijeka na visoku temperaturu tijekom određenog vremena učinkovito se uništavaju bakterije *Salmonela* i ostale štetne mikroorganizmi, čime se mlijeko čini sigurnim za konzamaciju. Pasterizacija značajno smanjuje rizik od salmoneloze iz mliječnih proizvoda (Sofos, 2008.).

Osim pasterizacije, održavanje stroge higijene u svim fazama lanca opskrbe mlijekom je od ključne važnosti. Farme moraju provoditi dobru poljoprivrednu praksu (GMP) kako bi osigurale da su krave zdrave, čiste i da se njima upravlja na način koji minimizira rizik od kontaminacije. Nadalje, kod proizvodnje sira izuzetno je važno koristiti pasterizirano mlijeko ili osigurati da proces proizvodnje sira uključuje toplinsku obradu kako bi se uništila eventualna *Salmonela*. Također, sir se mora skladištiti na odgovarajućoj temperaturi kako bi se spriječio rast bakterije *Salmonela*, koja uspijeva u toplim okruženjima. Redovito testiranje mliječnih proizvoda na prisutnost *Salmonele* ključna je preventivna mjera, koja omogućuje proizvođačima da identificiraju kontaminaciju prije nego proizvodi stignu do potrošača (Doyle i Roman, 1982.).

## 2.7. *Listeria monocytogenes*

*Listeria monocytogenes* je bakterijski patogen koji predstavlja značajnu prijetnju javnom zdravlju, posebno u mliječnim proizvodima poput mlijeka i sira. Ova bakterija uzrokuje listeriozu, ozbiljnu infekciju koja može dovesti do teških bolesti, naročito kod osjetljivih populacija kao što su trudnice, starije osobe i osobe s oslabljenim imunitetom.

### 2.7.1. *Izvori kontaminacije Listeriom monocytogenes*

Kontaminacija mlijeka i sira bakterijom *Listeria monocytogenes* može se dogoditi u različitim fazama proizvodnog procesa. Jedan od glavnih izvora su zaražene životinje. *Listeria monocytogenes* može se naći u crijevima goveda, a u okoliš se izlučuje putem izmeta. Kao i kod drugih fekalnih bakterija primarna kontaminacija mlijeka nastaje tijekom mužnje ako se ne slijede strogi sanitarni uvjeti. Primjerice, loša higijena opreme za mužnju, kontakt između vimena i kontaminiranih površina ili fekalna kontaminacija mogu unijeti bakterije u sirovo mlijeko (Oliver i sur., 2005.).

Nepasterizirano mlijeko nosi posebno visok rizik za kontaminaciju bakterijom *Listeria monocytogenes*, jer proces pasterizacije učinkovito eliminira patogene. Ako se nepasterizirano mlijeko koristi u proizvodnji sira, bakterije mogu preživjeti i umnožiti se, posebno u mekanim sirevima, gdje visoka vlažnost i niska kiselost stvaraju pogodno okruženje za rast bakterija (Donnelly, 2001.). Kontaminacija također može nastati tijekom rukovanja i obrade sira, osobito ako se ne održavaju strogi higijenski standardi.

### 2.7.2. *Preventivne mjere*

Kako bi se spriječila kontaminacija mlijeka i sira bakterijom *Listeria monocytogenes* osobito je važno provesti pasterizaciju mlijeka koja uključuje zagrijavanje mlijeka na temperaturu koja ubija štetne patogene, uključujući bakteriju *Listeria monocytogenes* (Sofos, 2008.). Ovaj proces je vrlo učinkovit u smanjenju rizika od kontaminacije kako mlijeka, tako i mliječnih proizvoda napravljenih od pasteriziranog mlijeka.

Strogi higijenski uvjeti na farmama i u objektima za preradu mlijeka također su ključni za sprječavanje kontaminacije. Redovito čišćenje i dezinfekcija opreme za mužnju, spremnika za skladištenje i proizvodnih površina mogu značajno smanjiti rizik od ulaska bakterije *Listeria* u prehrambeni lanac. Osim toga, radnici moraju održavati visoke standarde osobne

higijene kako bi izbjegli prijenos bakterija tijekom rukovanja i obrade mlijeka i sira (Oliver i sur., 2005.).

Proizvođači sira mogu dodatno smanjiti rizik od kontaminacije kontrolom uvjeta u okolišu tijekom proizvodnje. Na primjer, održavanje odgovarajućih temperatura hlađenja i nadzor razine vlage u siru može spriječiti rast bakterije *Listeria monocytogenes*. Redovito mikrobiološko testiranje mliječnih proizvoda na prisutnost *Listerie* također je važna preventivna mjera, koja omogućuje proizvođačima da rano otkriju kontaminaciju i poduzmu korektivne mjere prije nego što proizvodi stignu do potrošača (Donnelly, 2001.).

## **2.8. *Campylobacter***

*Campylobacter* je jedan od vodećih uzročnika bakterijskog gastroenteritisa u svijetu, a njegova prisutnost u mlijeku i siru predstavlja značajan problem za sigurnost hrane. Najčešća vrsta povezana s ljudskim bolestima je *Campylobacter jejuni*, koja uzrokuje kampilobakteriozu, bolest karakteriziranu proljevom, bolovima u trbuhu i groznicom.

### *2.8.1. Izvori kontaminacije*

Kontaminacija mlijeka i sira bakterijom *Campylobacter* može se dogoditi kroz nekoliko puteva, prvenstveno putem zaraženih životinja. *Campylobacter* obitava u crijevima životinja, osobito peradi i goveda, te se može izlučivati u okoliš putem izmeta (Kaakoush i sur., 2015.). Tijekom procesa mužnje može doći do kontaminacije ako fekalni materijal dođe u kontakt s vimenom. Kada se bakterija unese u sirovo mlijeko, može preživjeti i čak se umnožiti ako se mlijeko skladišti na neodgovarajućim temperaturama. Sir napravljen od sirovog mlijeka, osobito meki sir, također je podložan kontaminaciji ako je *Campylobacter* prisutan u sirovom mlijeku koje se koristi tijekom proizvodnje (Blaser i sur., 1985.).

Unakrsna kontaminacija može se dogoditi tijekom rukovanja mliječnim proizvodima ako su uključene kontaminirane površine, oprema ili pribor. Ovo predstavlja potencijalnu opasnost tijekom procesa proizvodnje sira, osobito ako se ne poštuju stroge higijenske mjere.

### *2.8.2. Preventivne mjere*

Najvažnija preventivna mjera protiv kontaminacije mlijeka i sira bakterijom *Campylobacter* je pasterizacija. Nadalje, za minimaliziranje kontaminacije na farmama ključno je održavanje stroge higijene tijekom mužnje. Oprema za mužnju mora se redovito čistiti i dezinficirati kako bi se spriječio prijenos bakterija s kontaminiranih površina na mlijeko.

Također, pravilno rukovanje životinjama, uključujući održavanje vimena čistim i sprječavanje fekalne kontaminacije tijekom mužnje, pomaže smanjiti vjerojatnost unosa bakterije *Campylobacter* u opskrbu mlijekom (Robinson, 1981.).

Pri proizvodnji sira kao sigurnosna mjera preporuča se korištenje pasteriziranog mlijeka. U slučajevima kada se koristi sirovo mlijeko, potrebno je strogo nadzirati i testirati prisutnost bakterije *Campylobacter*. Praćenje temperature skladištenja mliječnih proizvoda također je ključno, jer hlađenje na temperaturama ispod 4°C značajno usporava rast ove bakterije (Kaakoush i sur., 2015.). Osim ovih mjera, također se preporučuje i redovito mikrobiološko testiranje mlijeka i sira na prisutnost bakterije *Campylobacter*.

## **2.9. *Staphylococcus aureus***

*Staphylococcus aureus* je značajan patogen u mliječnoj industriji, poznat po svojoj sposobnosti proizvodnje enterotoksina koji mogu dovesti do trovanja hranom.

### *2.9.1. Izvori kontaminacije*

Primarni izvor kontaminacije *S. aureusom* je sirovo mlijeko. Kao i u gotovo svim slučajevima kontaminacije patogenim bakterijama, i bakterije *S. aureus* se mogu unijeti tijekom procesa mužnje s vimena zaraženih životinja ili putem kontaminirane opreme za mužnju. Istraživanja su pokazala da prevalencija *S. aureusa* u sirovom kravljem mlijeku može biti čak 30,7% (Deddefo i sur., 2022.). Kontaminacija se također može dogoditi u okruženju za preradu mlijeka, uključujući opremu, površine i ljude koji rade u mliječnoj industriji. Tako primjerice radnici mogu biti nositelji *S. aureusa*, prenoseći bakterije na mlijeko i sir putem izravnog kontakta. Osim toga, voda koja se koristi za pranje posuđa za mužnju i spremnika može biti izvor kontaminacije ako nije pravilno dezinficirana. Kontaminirana voda ima veću prevalenciju *S. aureusa* u usporedbi s drugim izvorima.

### *2.9.2. Preventivne mjere*

Za prevenciju kontaminacije *S. aureus* ključno je provođenje dobrih praksi mužnje. To uključuje redovite zdravstvene preglede mliječnih životinja, pravilno čišćenje i dezinfekciju opreme za mužnju te osiguravanje da mljekari slijede higijenske protokole. Istovremeno, pasterizacija predstavlja iznimno učinkovitu metodu za eliminaciju *S. aureusa* iz mlijeka (Szczyka i sur., 2022.).

## 2.10. *Shigella spp.*

Bakterije roda *Shigella* su gram–pozitivne bakterije koje pripadaju porodici *Enterobacteriaceae* te ne tvore spore. Genetski je slična *E. coli*. Sintetiziraju enterotoksine koji djeluju toksično prije svega na crijeva domaćina. *Shigella* može kontaminirati sirovo mlijeko te u njemu može preživljavati na 4°C najmanje 72 sata, dok se puno brže razmnožava na temperaturama između 15 i 36°C. Posljedica kontaminacije domaćina bakterijom je dizenterija, gdje se *Shigella* u citoplazmi epitelnih stanica crijeva veže se na podjedinicu ribosoma i inaktivira sintezu proteina (Samaržija, 2021.).

## 2.11. Pravilnik o mikrobiološkim kriterijima za hranu

Prema pravilniku o mikrobiološkim kriterijima za hranu propisani su kriteriji prema kojima se moraju svi proizvođači držati propisa (Tablica 3.). Pravilnik zahtjeva sljedeće:

*E. coli*, *Enterobacteriaceae* (za ostale kategorije hrane) i koagulaza pozitivni stafilokoki:

- zadovoljavajuće, ako su sve ustanovljene vrijednosti  $\leq m$ ,
- prihvatljivo, ako je najviše  $c$  od ispitivanih  $n$  uzoraka vrijednosti između  $m$  i  $M$  te ako su ostale ustanovljene vrijednosti  $\leq m$ ,
- nezadovoljavajuće, ako je jedna ili više ustanovljenih vrijednosti  $> M$ , ili ako je više  $c$  od ispitivanih  $n$  uzoraka vrijednosti između  $m$  i  $M$ .

**Tablica 3.** Mikrobiološki kriterij za pojedine mliječne proizvode

Izvor: Vodič za mikrobiološke kriterije za hranu (2011.)

Hrana	Mikroorganizmi/ njihovi toksini i metaboliti	Plan uzorkovanja n c		Kriteriji
Kiselo mliječni fermentirani proizvodi, kiselo vrhnje	<b>Preporučeni</b>			
	<i>Salmonella</i> spp.	5	0	n.n. u 25g
	Koagulaza pozitivni stafilocoki / <i>Staphylococcus aureus</i>	5	1	m=10cfu/g M=10 <sup>2</sup> cfu/g
	<i>Enterobacteriaceae</i>	5	1	m=10cfu/g M=10 <sup>2</sup> cfu/g
	Kvasci i plijesni	5	1	m=10cfu/g M=10 <sup>2</sup> cfu/g
	<b>Obvezni</b>			
Pravilnik o mikrobiološkim kriterijima za hranu		Kriterij 1.2.		
Meki (svježi) sirevi od pasteriziranog mlijeka	<b>Preporučeni</b>			
	<i>Salmonella</i> spp.	5	0	n.n. u 25g
	<i>Escherichia coli</i>	5	2	m=10cfu/g M=10 <sup>2</sup> cfu/g
	Koagulaza pozitivni stafilocoki / <i>Staphylococcus aureus</i>	5	2	m=10cfu/g M=10 <sup>2</sup> cfu/g
	Kvasci	5	1	m=10 <sup>2</sup> cfu/g M=10 <sup>3</sup> cfu/g
	Plijesni	5	1	m=10cfu/g M=10 <sup>2</sup> cfu/g
	<b>Obvezni</b>			
Pravilnik o mikrobiološkim kriterijima za hranu		Kriterij 2.2.2. Kriterij 2.2.5. Kriterij 1.2.		
Mliječni i sirni namazi (toplinski obrađeni)	<b>Preporučeni</b>			
	<i>Salmonella</i> spp.	5	0	n.n. u 25g
	Aerobne mezofilne bakterije	5	2	m=10 <sup>2</sup> cfu/g M=10 <sup>3</sup> cfu/g
	<i>Escherichia coli</i>	5	1	m=1cfu/g M=10cfu/g
	Sulfitreducirajuće klostridije	5	1	m=1cfu/g M=10cfu/g
	<b>Obvezni</b>			
Pravilnik o mikrobiološkim kriterijima za hranu		Kriterij 2.2.2. Kriterij 1.2.		



### **3. MATERIJAL I METODE**

Za istraživanje su korišteni uzorci sa obiteljskog poljoprivrednog gospodarstva Lendel (OPG Lendel, Podolje) koji proizvode različite mliječne proizvode od mlijeka vlastitog stada. Mikrobiološke analize provedene su na tri proizvoda s različitim rokom trajanja: svježi kravlji sir, krem sir i grčki jogurt.

Ispitivanje je provedeno u dvije faze: na početku roka trajanja (1 dan nakon proizvodnje) dok su proizvodi imali važeći rok trajanja te nakon isteka roka trajanja (za grčki jogurt 7 dana, svježi sir i krem sir 15 dana). Tijekom skladištenja uzorci su držani u hladnjaku na 4 °C u čistim zatvorenim jednokratnim plastičnim posudama.

#### **3.1. Tehnologija proizvodnje svježeg kravljeg sira na OPG Lendel**

Ohlađeno punomasno mlijeko iz laktofriza na 4 do 6 °C se cijevima prenosi u sirarski kotao, gdje se temperira na 40°C te slijedi separacija mlijeka da bi se izdvojila mliječna mast i dobilo vrhnje. Neposredno nakon separacije obrano mlijeko se pasterizira na 63 °C/ 30 minuta. Zatim se ohladi na 30 °C te mu se dodaje mezofilna kultura (DI-PROX M 179, Bioprox, Francuska) za svježi sir prema uputi proizvođača. Fermentacija mlijeka traje prosječno 18 do 26 sati, nakon čega se dobiveni kiseli gruš reže na kocke veličine cca 10 x 10 cm i potom zagrijava na temperaturu od oko 45 – 55 °C. Gruš se stavlja u stol za cijedenje kako bi se izdvojila preostala sirutka. Po završetku postupka cijedenja sir se pakira u plastične nepovratne posudice koje se čuvaju u hladnjaku na temperaturi od 2 do 8 °C do prodaje, a deklarira se s rokom trajanja od 20 dana.

#### **3.2. Tehnologija proizvodnje krem sira na OPG Lendel**

Ohlađeno mlijeko se pasterizira na 72 °C/ 15 minuta, zatim se hladi na 25 °C i dodaje kultura za krem sir te dobro se pomiješa. Ovako dobiveno mlijeko ostavlja se 10 minuta da odstoji te se dodaje 10 ml sirila (BioRen® Classic 80LHA150, Chr. Hansen, Danska) na 100 l mlijeka, dobro promiješa, i poklopi. Takvo mlijeko potrebno je ostaviti da odstoji 6 – 12 sati (ovisno o temperaturi). Dobiveni gruš se reže na veličinu 4 x 4 cm te opet ostavlja da odstoji 6 – 12 sati dok se sirutka ne izdvoji i sir slegne. Dobiveni krem sir se stavlja u sirarsku maramu i cijedi tijekom 6 – 12 sati, nakon čega se soli (Tuzlanska sol, Solana d.d. Tuzla, Bosna i Hercegovina), promiješa i vraća na cijedenje slijedećih 1 – 2 sata pri temperaturi 4 °C. Po završetku procesa krem sir se oblikuje i pakira te skladišti na 4°C, a deklarira se rokom trajanja od 14 dana.

### 3.3. Tehnologija proizvodnje grčkog jogurta na OPG Lendel

Hladno mlijeko se pasteurizira na 80 – 85 °C u trajanju od 10 minuta. Potom se hladi na 42 °C te se dodaje kultura za grčki tip jogurta (YO-PROX 033, Bioprox, Francuska) i dobro promiješa. Fermentacija traje sve dok se ne postigne pH od 4,60, nakon čega se gruž reže na kocke 2 x 2 cm do 3 x 3 cm. Potom slijedi cijedenje preko noći na 4 °C u sirarskoj marami, nakon čega se grčki jogurt izvadi, promiješa, i pakira u ambalažu te skladišti na 4 °C. Na proizvodu se deklarira rok trajanja od 7 dana.

### 3.4. Mikrobiološka analiza

Priprema i analiza uzoraka odrađena je u mikrobiološkom laboratoriju Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek. Za analizu uzoraka korištene su četiri selektivne hranjive podloge s poznatim ključevima determinacije za pojedine predstavnike iz porodice *Enterobacteriaceae* među kojima su najznačajniji rodovi *Salmonella* sp., *Shigella* sp., *Escherichia* sp., *Klebsiella* sp. te *Enterobacter* sp., te peta selektivna podloga za determinaciju prisutnosti plijesni kod uzoraka kojima je istekao rok trajanja.

Kao selektivne hranjive podloge za analizu uzoraka korištene su Xylose Lysine Deoxycholate agar (XLD agar, Biolife, Italy), Salmonella Shigella agar (SS agar, Liofilchem, Italy), Violet Red Bile Agar (VRB agar, Biolife, Italy), ENDO agar (Liofilchem, Italy) i Potato Dextrose Agar (PDA agar, Liofilchem, Italy). Priprema podloga obavljena je prema uputama proizvođača pojedine podloge, a podloge su nakon toga izljevane u Petrijeve zdjelice i stavljene na hlađenje. Priprema radnog uzorka obavljena je u sterilnim uvjetima i pomoću prethodno steriliziranog laboratorijskog pribora i posuđa. Nacjeppljivanje radnog uzorka na selektivne hranjive podloge odrađeno je u sterilnim uvjetima (sterilna komora, plamenik) uz korištenje jednokratnih, sterilnih mikrobioloških pipeta. Pri tom postupku preneseno je 100 µl radnog uzorka na podlogu te je pomoću "L" staklenog štapića napravljen razmaz uzorka po cjelokupnoj površini hranjive podloge. Nakon upijanja uzorka u podlogu uzorci su stavljani u inkubatore na preporučene temperature (35 °C, odnosno 37 °C) za pojedinu podlogu. Nakon 24 sata utvrđeni su rezultati porasta mikroorganizama na pojedinim podlogama. Prisustvo patogenih predstavnika iz porodice *Enterobacteriaceae* u pojedinim uzorcima utvrdilo bi se pomoću determinacijskih ključeva pojedine selektivne podloge (Tablica 4.). U procesu analiziranja uzoraka korištena je i slijepa proba kao kontrola čistoće laboratorijskog pribora, posuđa i podloga.

**Tablica 4.** Determinacijski ključevi pojedine selektivne podloge

<b>PODLOGA</b>	<b>PATOGEN</b>	<b>Oblik i boja kolonije</b>
Xylose Lysine Deoxycholate agar (XLD agar, Biolife, Italy)	<i>Salmonella Typhi</i>	Crvene kolonije sa crnim središtem
	<i>Shigella sonnei</i>	Crvene kolonije
	<i>E. coli</i>	Velike i ravne žute kolonije
Salmonella Shigella agar (SS agar, Liofilchem, Italy)	<i>Salmonella spp.</i>	Bezbojna i prozirna
	<i>Shigella spp.</i>	Bezbojan, proziran, s crnim središtem
	<i>E. coli</i>	Male ružičaste do crvene kolonije
Violet Red Bile Agar (VRB agar, Biolife, Italy)	<i>Salmonella Enteritidis</i>	Bezbojno do narančastožuto
	<i>Salmonella typhimurium</i>	Bezbojne kolonije
	<i>E. coli</i>	Velike, ravne žute kolonije
ENDO agar (ENDO agar, Liofilchem, Italy)	<i>E. coli</i>	Ružičasta do ružičasto crvena s metalnim odsjajem
	<i>Salmonella Typhi</i>	Bezbojno do blijedo ružičasto
	<i>Salmonella Typhimurium</i>	Bezbojne kolonije
	<i>Salmonella Enteritidis</i>	
<i>Shigella flexneri</i>		
Potato Dextrose Agar (PDA agar, Liofilchem, Italy)	<i>Aspergillus candidus</i>	Bijelo
	<i>Aspergillus niger</i>	Bijelo sa crnim sporama
	<i>Aspergillus sulphureus</i>	Bijelo sa žutim sporama u sredini
	<i>Penicillium corylophilum</i>	Tamno zelena

## 4. REZULTATI

### 4.1. Testiranje podloga na selektivnost

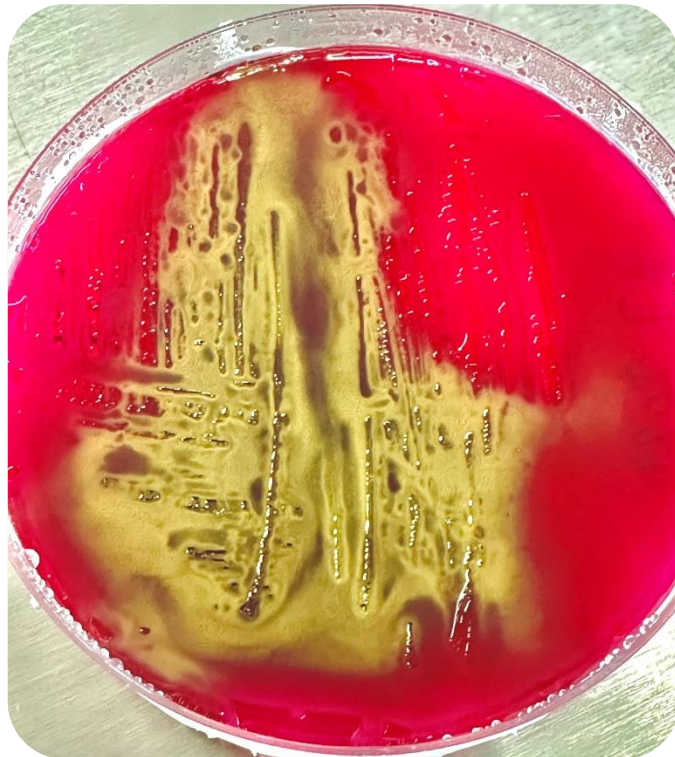
U prvom dijelu istraživanja utvrđena je selektivnost, odnosno specifičnost dvije podloge na determinaciju patogena, u ovom slučaju *E. coli*. Tako je podloga Xylose Lysine Deoxycholate agar (XLD agar, Biolife, Italija) testirana na navedenu patogenu bakteriju te na vrijeme ključanja podloge (2 i 10 min), jer proizvođač navodi kako uslijed dužeg kuhanja podloge može doći do narušavanja selektivnosti/specifičnosti podloge na određenog patogena. Rezultati ukazuju na selektivnost podloge jer su na podlozi s necijepljenom *E. coli* uočene značajne promjene glede boje podloge (iz narančaste u žutu boju), dok na slijepoj probi i uzorcima grčkog jogurta takve promjene nisu uočene. Također, utvrđeno je kako vrijeme pripreme, odnosno kuhanja podloge nije utjecalo na selektivnost iste, jer je promjena podloge iz narančaste u žutu boju uslijed porasta *E. coli* uočena na objema podlogama.



**Slika 1.:** Testiranje specifičnosti XLD agara

Izvor: Vlastiti izvor

Nadalje, testirana je podloga ENDO agar (Liofilchem, Italija) na specifičnost i determinacijski ključ vezano za porast *E. coli* na navedenoj podlozi. Na podlogu je nacijepljena *E. coli* koja je determinirana temeljem gore navedenog porasta na XLD agaru. Nakon 24 sata inkubacije uočene su vidljive promjene u obliku porasta ružičasto-crvenih kolonija s metalnim odsjajem (Slika 2) koje odgovaraju selektivnosti za *E. coli*. U istraživanju su korištene 4 različite podloge sa selektivnim porastom na patogene mikroorganizme. U slučaju da dođe do porasta patogena na podlogama, pomoću determinacijskih ključeva se lako može determinirati o kojem patogenu je riječ.

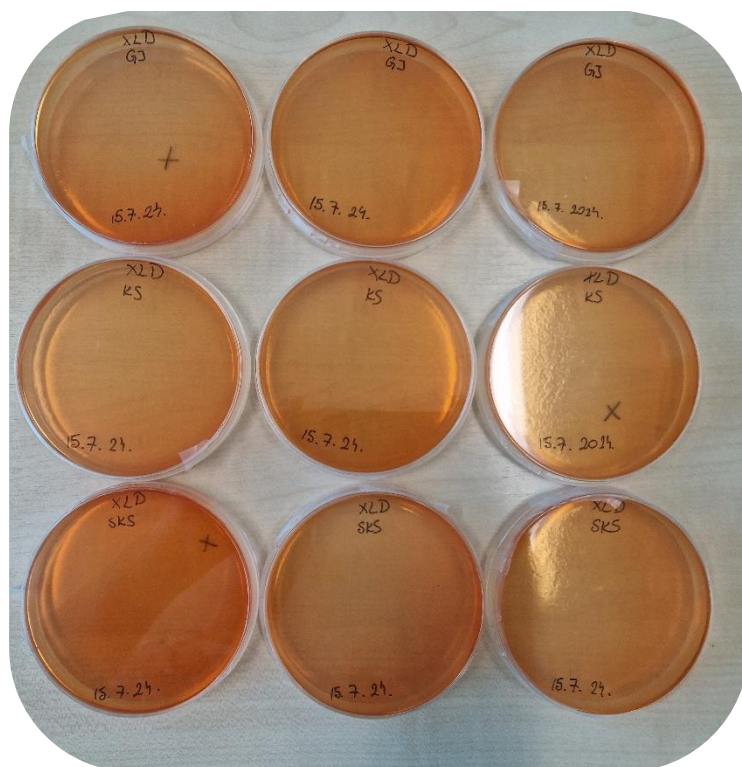


**Slika 2.:** Testiranje specifičnosti ENDO agara

Izvor: Vlastiti izvor

#### **4.2. Analiza uzoraka s valjanim rokom trajanja proizvoda**

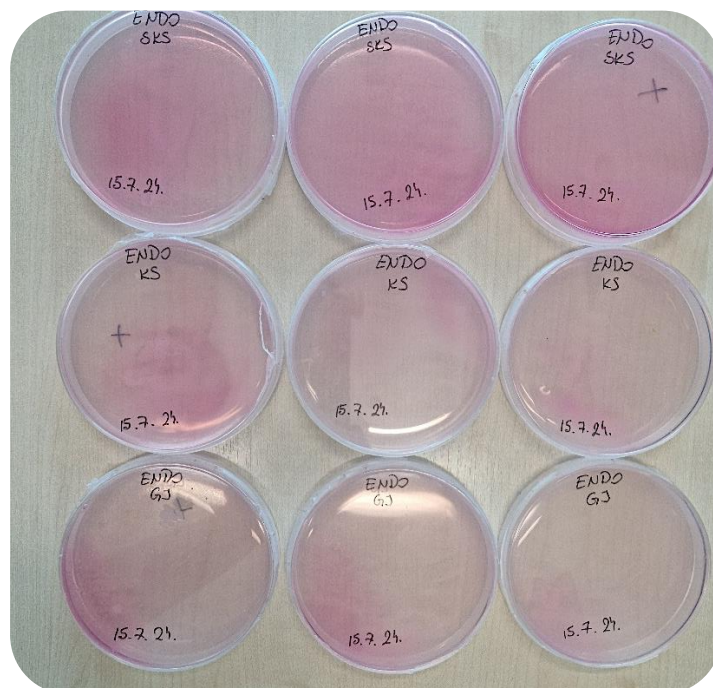
Cilj drugog dijela istraživanja bio je ispitati trajnost mliječnih proizvoda na OPG-u Lendel. Analizirani su svježi kravlji sir (SKS), krem sir (KS) i grčki jogurt (GJ). U prvoj analizi uzorci su bili svježi, valjanog roka trajanja, a skladišteni su prije stavljanja na podlogu nakon 24 sata skladištenja na 4°C.



**Slika 3.:** Rezultati na XLD agar podlozi nakon 24 sata inkubacije (\*GJ-grčki jogurt; KS-krem sir; SKS-svježi kravliji sir)

Izvor: Vlastiti izvor

Na slici 3. prikazane su podloge s XLD agarom i različitim uzorcima proizvoda stavljenim na podlogu jednog dana skladištenja na temperaturi 4°C te nakon 24 sata inkubacije. Na podlogama nisu uočene promjene podloge, niti je utvrđen porast patogenih mikroorganizama za koje bi se koristio determinacijski ključ podloge prema uputama proizvođača.



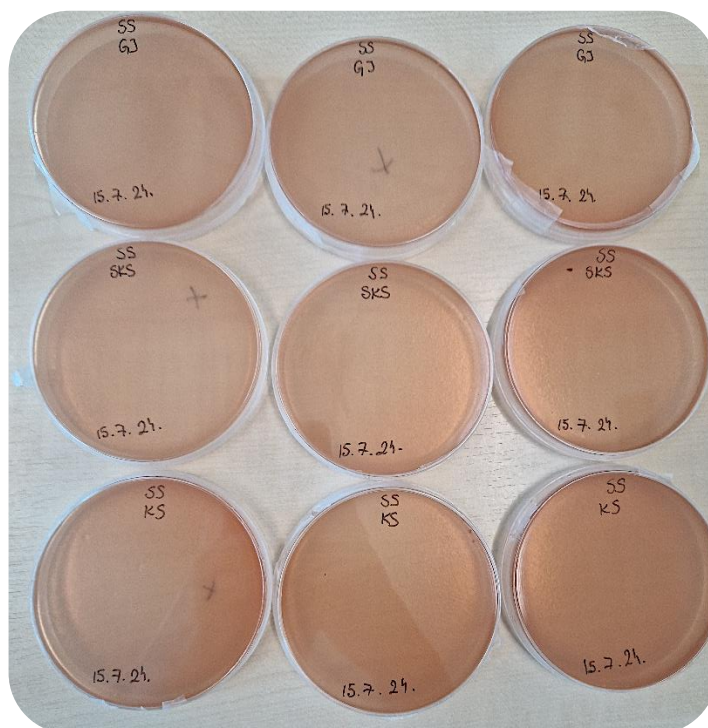
**Slika 4.:** Rezultati na ENDO agar podlozi nakon 24 sata inkubacije (\*GJ-grčki jogurt; KS-krem sir; SKS-svježi kravljji sir)

Izvor: Vlastiti izvor

Jednaki rezultati uočeni su i na ENDO agar podlogama s uzorcima grčkog jogurta, krem sira, svježeg kravljeg sira te „slijepa probe“ izuzetim u isto vrijeme skladištenja na temperaturi 4°C. Kako je vidljivo na slici 4 na podlogama nije utvrđen porast patogenih mikroorganizama nakon 24 sata inkubacije za koje bi se prema uputama proizvođača koristio detereminacijski ključ naveden u tablici 3.

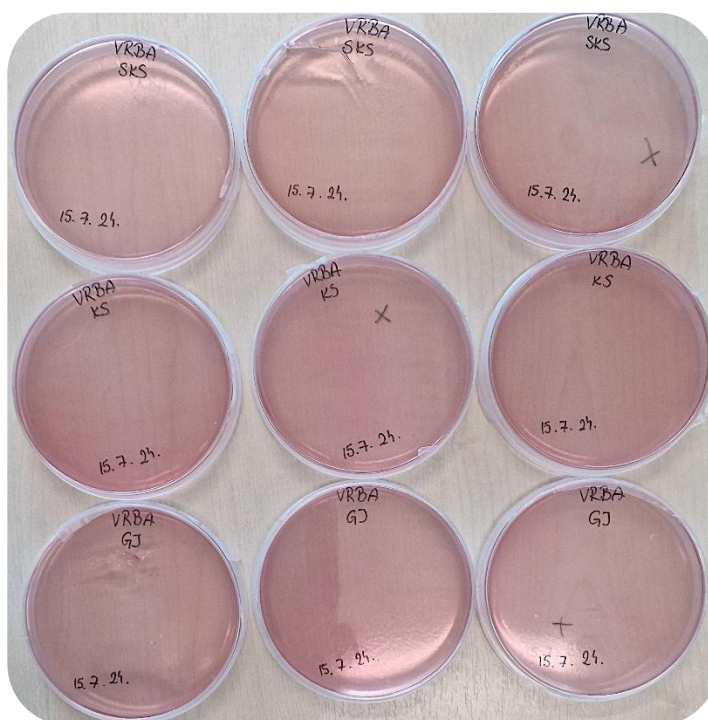
Na slici 5. prikazana je SS agar podloga s jednakim uzorcima kao i na XLD i ENDO agaru. Nakon 24 sata inkubacijskog razdoblja nisu utvrđene promjene podloge glede boje, niti je ustanovljen porast patogenih mikroorganizama za koje bi se primijenio determinacijski ključ.

Također, nakon 24 sata inkubacije na temperaturi od 35°C nisu ustanovljene promjene podloge glede boje, niti je utvrđen porast patogenih mikroorganizama za koje bi se primijenio determinacijski ključ prema uputama proizvođača (Slika. 6.).



**Slika 5.:** Rezultati na SS agar podlozi nakon 24 sata inkubacije (\*GJ-grčki jogurt; KS-krem sir; SKS-svježi kravljji sir)

Izvor: Vlastiti izvor



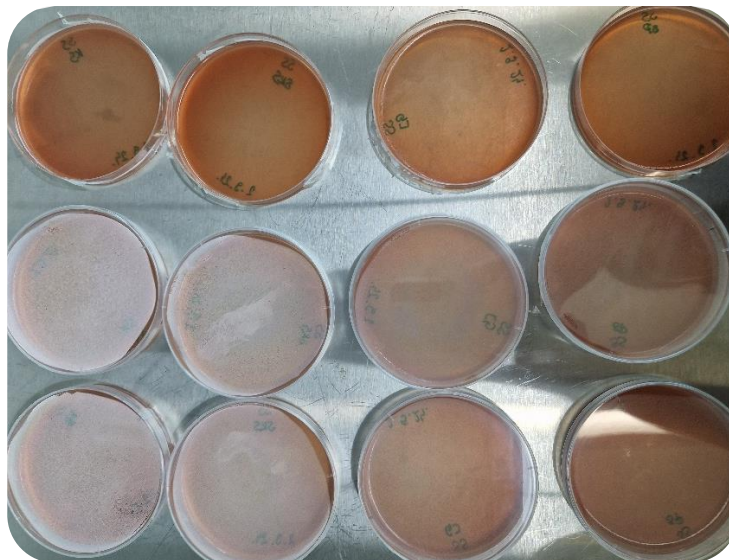
**Slika 6.:** Rezultati na VRBA agar podlozi nakon 24 sata inkubacije (\*GJ-grčki jogurt; KS-krem sir; SKS-svježi kravljji sir)

Izvor: Vlastiti izvor



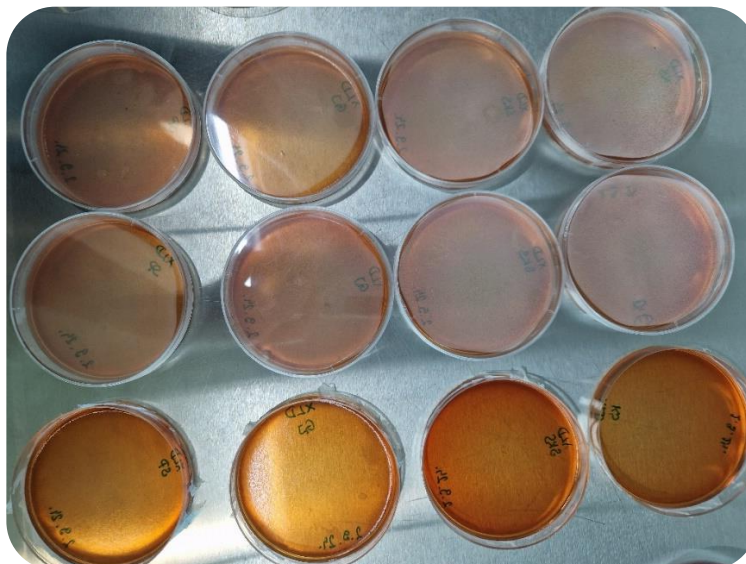
### 4.3. Analiza uzoraka nakon isteka roka valjanosti proizvoda

U ovom dijelu istraživanja analizirani su uzorci mliječnih proizvoda 10 dana nakon isteka roka valjanosti. Na selektivnim podlogama SS agara i XLD agara nisu uočene promjene podloge glede boje, niti je utvrđen porast patogenih mikroorganizama na koje bi se primijenio determinacijski ključ prema uputama proizvođača (Slika 7. i 8.).



**Slika 7.** SS agar nakon 24 sata inkubacije (\*GJ-grčki jogurt; KS-krem sir; SKS-svježi kravlji sir; SP – prazni uzorak „slijepa proba“)

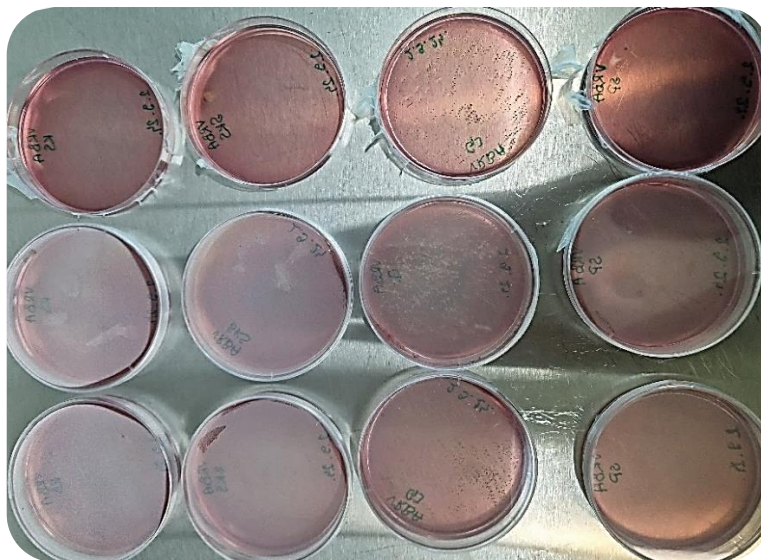
Izvor: Vlastiti izvor



**Slika 8.:** XLD agar podloga nakon 24 sata inkubacije (\*GJ-grčki jogurt; KS-krem sir; SKS-svježi kravlji sir; SP – prazni uzorak „slijepa proba“)

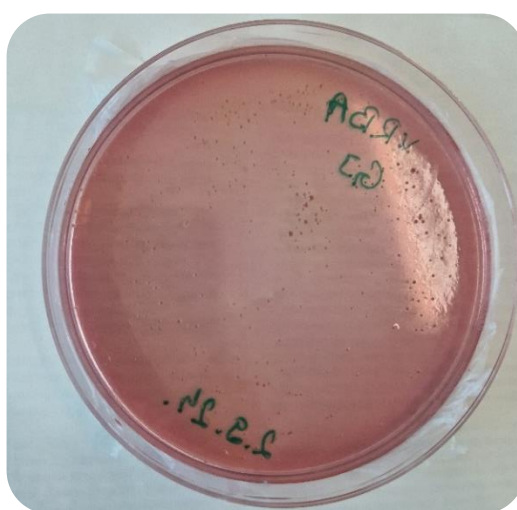
Izvor: Vlastiti izvor

Nadalje, na podlogama VRBA i ENDO agara uočen je porast mikroorganizama pretežito na uzorcima grčkog jogurta (Slika 9. i 11.). Prema obliku, boji i površini uočene kolonije međutim nisu odgovarale opisima determinacijskih ključeva navedenih podloga. Ovaj rezultat pokazuje da se ne radi o patogenim mikroorganizmima za koje su pogodne ove podloge, nego se radi o drugim mikroorganizmima koji se pojavljuju uslijed kvarenja namirnica (Slika 10. i 12.). Ovo ukazuje na potrebu daljnje determinacije mikroorganizama u navedenim proizvodima uporabom prikladnijih podloga.



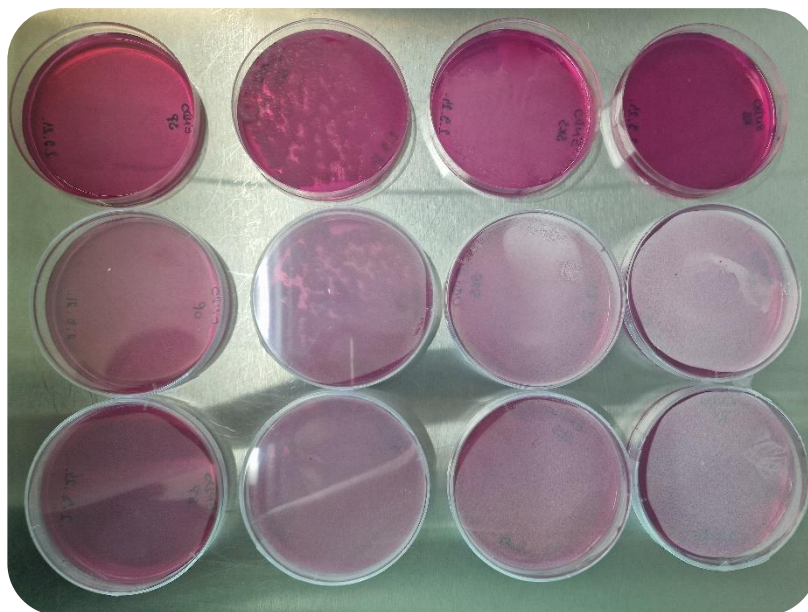
**Slika 9.:** VRBA agar podloga nakon 24 sata inkubacije (\*GJ-grčki jogurt; KS-krem sir; SKS-svježi kravliji sir; SP – prazni uzorak „slijepa proba“)

Izvor: vlastiti izvor



**Slika 10.:** VRBA agar podloga s uočenim porastom mikroorganizama (\*GJ-grčki jogurt)

Izvor: Vlastiti izvor



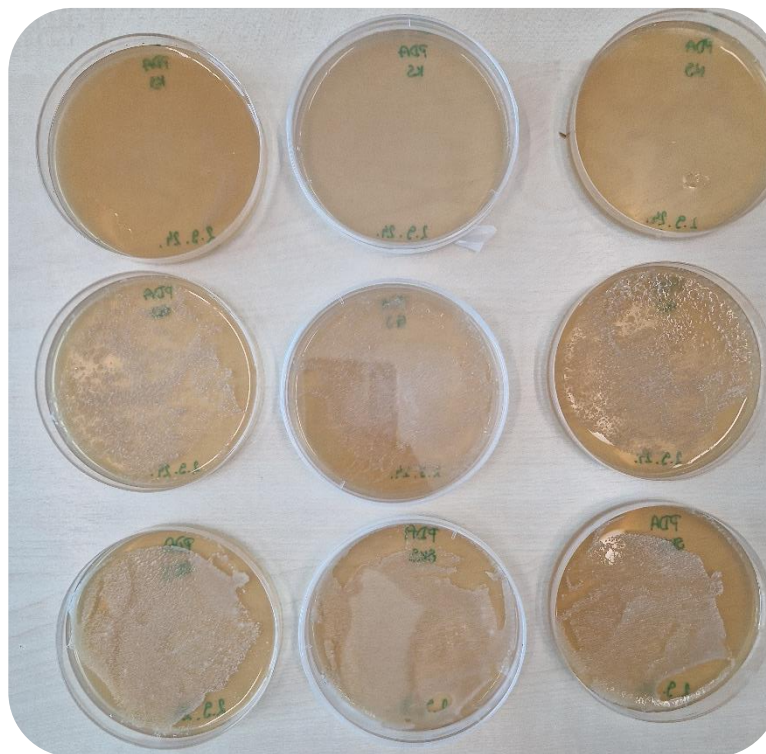
**Slika 11.:** ENDO agar podloga nakon 24 sata inkubacije (\*GJ-grčki jogurt; KS-krem sir; SKS-svježi kravlji sir; SP – prazni uzorak „slijepa proba“)  
Izvor: Vlastiti izvor



**Slika 12.:** ENDO agar podloga sa uočenim porastom patogenih mikroorganizama (\*GJ-grčki jogurt)  
Izvor: Vlastiti izvor

Nadalje, u ovom dijelu istraživanja korištena je i PDA podloga koja je pogodna za rast širokog spektra mikroorganizama, posebice gljiva i plijesni. Na slici 13 prikazani su rezultati porasta mikroorganizama na analiziranim uzorcima mliječnih proizvoda nakon isteka roka

valjanosti. Iz slike je vidljivo kako je zabilježen porast različitih mikroorganizama, naročito plijesni u uzorcima svježeg kravljeg sira te grčkog jogurta (Slika 13.)



**Slika 13.:** PDA agar nakon 24 sata inkubacije (\*GJ-grčki jogurt; KS-krem sir; SKS-svježi kravljji sir)

Izvor: Vlastiti izvor

## 5. RASPRAVA

Rezultati mikrobiološke pretrage pokazali su da u uzorcima grčkog jogurta, svježeg kravljeg sira i krem sira bakterije *Salmonella spp.*, *Shigella spp.* i *E. coli*. nisu utvrđene niti u jednom istraživanom uzorku. U tehnologiji proizvodnje ovih proizvoda na OPG-u se pokazalo da primjena pasterizacije i dodavanje mikrobiološke kulture znatno povećava mikrobiološku kvalitetu i održivost. Zbog odsutnosti bakterije *E. coli* koji je indikator u procjeni higijene i sigurnosti hrane (HAH, 2016.) može se zaključiti da u tehnološkim procesima proizvodnje istraživanih proizvoda nije došlo do kontaminacija. U svom znanstvenom mišljenju iz 2016. navodi kako su rezultati analize za bakteriju *E. coli* u sirevima od nepasteriziranog mlijeka bili zabrinjavajući te su iznosili u Zagrebu  $3 \times 10^4$  cfu/g i Osijeku  $2,9 \times 10^4$  cfu/g u ljetnom uzorkovanju, dok su u zimskom uzorkovanju iznosili u Splitu  $3 \times 10^6$  cfu/g i Osijeku  $2,9 \times 10^4$  cfu/g. U navedenom mišljenju navodi se da su moguće posljedice takvih rezultata nedovoljnog kuhanja ili križne kontaminacije, nehigijenskog rukovanja s hranom, kontaktom hrane s nečistim proizvodnim površinama ili pohranom na neprimjerenim temperaturama.

U ovom istraživanju u uzorcima svježeg kravljeg sira, grčkog jogurta i krem sira prvog dana nisu utvrđene bakterije *Salmonella spp.*, *Shigella spp.* i *E. coli*. Sabljak i sur. (2013.) su u svom istraživanju analizirali 12 uzoraka svježih sireva s obiteljskih poljoprivrednih gospodarstava iz okolice Zagreba. Uzorci su bili analizirani prvi, treći i šesti dan, a analiza na *Salmonella sp.* provedena je prvi dan istraživanja, kada u niti jednom uzorku sira nije bila dokazana prisutnost ove bakterije. Suprotno ovome, autori navode da su u svim uzorcima sira za kvasce i plijesni bile utvrđene koncentracije veće od preporučenih. Autori su obrazložili ovu pojavu niskim pH vrijednostima karakterističnim za svježi sir te temperaturom pri kojoj se odvija fermentacija, koji su izuzetno pogodni za rast i razvoj plijesni i kvasaca. Kirin (2009.) je analizirao 14 uzoraka svježeg sira s Bjelovarske tržnice. Sirevi su bili napravljeni od svježeg mlijeka, a fermentacija je trajala između 2 i 3 dana, nakon čega se još 2 do 3 sata sirevi ostavljaju na toplom mjestu kako bi se lakše izdvojila sirutka iz sirnog grušta te se sir cijedi nekoliko sati na sobnoj temperaturi. Mikrobiološkim analizama utvrđena je prisutnost *E. coli* u 3 od 14 uzoraka, dok *Salmonella spp.* nije utvrđena niti u jednom uzorku. Kvasci i plijesni su predstavljali najbrojniju mikrofloru istraživanih uzoraka svježeg sira, pri čemu je većina njih sadržavala više od  $10 \times 10^4$  kvasaca i plijesni u 1 g, što je znatno više od dopuštenog broja prema Pravilniku o mlijeku i mliječnim proizvodima (NN 133/2007). Laslo i sur. (2018.) su mikrobiološki analizirali 22 različita

mliječna proizvoda uključujući svježi sir i mliječni namaz iz lokalnih trgovina i tržnica. Među ispitivanim uzorcima bio je 1 uzorak mliječnog namaza i 5 uzorka svježeg sira. U mliječnom namazu je pronađena *Salmonella spp.* ( $3 \times 10$  CFU/g), a od 5 uzoraka svježeg sira u 3 je pronađena *Salmonella spp.*

Suprotno navedenim istraživanjima u uzorcima mliječnih proizvoda na OPG Lenđel tijekom roka valjanosti nije utvrđena prisutnost patogenih bakterija. Razlog ovome leži u činjenici da se na OPG-u Lenđel mlijeko za preradu prvotno pasteurizira, dok se prostor i oprema se održava čistim prema vlastitom HACCP planu te mikrobiološki testira jednom godišnje. U istraživanju mikrobiološke ispravnosti jogurta napravljenog od prethodno pasteuriziranog mlijeka Biljan (2023.) navodi kako u niti jednom istraživanom uzorku nije identificirana *Salmonella spp.* Autor je nadalje utvrdio porast kvasaca i plijesni od trećeg dana skladištenja te navodi da je mogući uzrok ovome kontaminacija tijekom proizvodnje zbog nedostatka higijenski ispravnog prostora i opreme koji igraju važnu ulogu u procesu proizvodnje.

Kozačinski i sur. (2003.) su istraživali mikrobiološku ispravnost mlijeka i mliječnih proizvoda na križevačkom tržištu. Analizirano je 802 uzoraka mlijeka i mliječnih proizvoda te je utvrđeno da je 147 uzoraka mlijeka i mliječnih proizvoda (18,33%) bilo mikrobiološki neispravno. Od 127 uzoraka mekih (svježih) sireva 26,77% nisu bili zadovoljavajuće mikrobiološke kakvoće, a od 86 uzoraka jogurta 1,16% njih se pokazalo mikrobiološki neispravnim. Autori navode kako je razlog mikrobiološke neispravnosti analiziranih uzoraka i lošija kakvoća sirovog mlijeka. Valja međutim naglasiti kako se nakon uvođenja Pravilnika o kakvoći svježeg sirovog mlijeka, te promjena u naknadama ovisno o kategoriji mlijeka koja je proizvedena, poboljšala i mikrobiološka kvaliteta svježeg sirovog mlijeka te sada gotovo svi proizvođači svježeg sirovog mlijeka u Republici Hrvatskoj proizvode mlijeko I. kategorije. Loši rezultati mikrobiološke kakvoće gotovo su uvijek posljedica nedostatne higijene pri rukovanju svježim sirovim mlijekom te tijekom procesa prerade. Stoga je od iznimne važnosti pridržavati se najviših standarda higijene pri mužnji i daljem rukovanju s mlijekom, osigurati što kraći transport mlijeka u mljekaru uz hlađenje na 4°C, toplinski obraditi mlijeko prije prerade te sterilizirati svu opremu i uređaje koji se koriste u preradi (Tratnik, 1998.). Barukčić i sur. (2020.) su istraživali učinak pakiranja u modificiranoj atmosferi (MAP) na svježi sir i usporediti ga s uobičajenim pakiranjem u atmosferskom zraku i vakuumu. Svi uzorci sira su bili čuvani na hladnom 18 dana, pri čemu su uzorkovanje i analize vršeni svaka 3 dana. Tijekom skladištenja sira u modificiranoj atmosferi došlo je do kontinuiranog pada kiselosti (sa 4,66 na 4,47), dok broj živih

mikroorganizama se povećavao. Međutim, u uzorcima pakiranim u vakuumu i modificiranoj atmosferi uočeno je manje smanjenje kiselosti (bez rezultata ispod 4,50) i inhibicija mikrobiološkog rasta.

## 6. ZAKLJUČAK

Na temelju rezultata ovog istraživanja može se zaključiti da mikrobiološki standardi za svježi kravljji sir, krem sir i grčki jogurt proizvedeni na OPG-u Lendel zadovoljavaju propisane norme tijekom cijelog roka trajanja. Analiza uzoraka nije pokazala prisutnost patogenih mikroorganizama, uključujući *Salmonella spp.*, *Shigella spp.* i *E. coli*. Iako je nakon isteka roka trajanja zabilježen rast mikroorganizama, patogeni organizmi nisu otkriveni. Ovi rezultati potvrđuju sigurnost i kvalitetu proizvodnih postupaka, uz napomenu o potrebi dodatnih istraživanja za optimizaciju trajnosti proizvoda.

Dodatno, rezultati sugeriraju mogućnost razmatranja novih metoda pakiranja i skladištenja kako bi se produžio rok trajanja ovih proizvoda bez ugrožavanja njihove sigurnosti i kvalitete. U tom kontekstu, buduća istraživanja mogla bi se usmjeriti na utjecaj različitih uvjeta skladištenja i ambalaže na mikrobiološku stabilnost svježih mliječnih proizvoda, čime bi se doprinijelo boljoj zaštiti potrošača i smanjenju otpada od hrane.



## 7. LITERATURA

1. Microbe Notes, XLD Agar- Composition, Principle, Preparation, Results, Uses, 07.01.2022., <https://microbenotes.com/xylose-lysine-deoxycholate-xld-agar/>, Datum pristupa: 09.08.2024.
2. Microbe Notes, Salmonella Shigella (SS) Agar- Composition, Principle, Preparation, Results, Uses, 06.01.2022., <https://microbenotes.com/salmonella-shigella-ss-agar/>, Datum pristupa: 09.08.2024.
3. Microbe Notes, VRBA- Composition, Principle, Preparation, Results, Uses, 06.01.2022., <https://microbenotes.com/violet-red-bile-agar-vrba/>, Datum pristupa: 09.08.2024.
4. Microbe Notes, Endo Agar- Composition, Principle, Preparation, Results, Uses, 03.01.2022., <https://microbenotes.com/endo-agar/>, Datum pristupa: 09.08.2024.
5. Microbe Notes, PDA- Composition, Principle, Preparation, Results, Uses, 02.01.2022., <https://microbenotes.com/potato-dextrose-agar-pda/>, Datum pristupa: 09.08.2024.
6. Zakon o hrani, NN 81/2013, 29.6.2013., [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2013\\_06\\_81\\_1699.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2013_06_81_1699.html), Datum pristupa: 18.8.2024.
7. Pravilnik o sirevima i proizvodima od sireva, NN 20/2009, 13.2.2009., [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2009\\_02\\_20\\_446.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2009_02_20_446.html), Datum pristupa: 20.9.2024.
8. UREDBA (EZ) br. 178/2002 EUROPSKOG PARLAMENTA I VIJEĆA, o utvrđivanju općih načela i uvjeta zakona o hrani, osnivanju Europske agencije za sigurnost hrane te utvrđivanju postupaka u područjima sigurnosti hrane, 28.1.2022., <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX:32002R0178>, Datum pristupa: 19.9.2024.
9. Pravilnik o mikrobiološkim kriterijima za hranu, NN 74/2008, 27.6.2008., [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2008\\_06\\_74\\_2454.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2008_06_74_2454.html), Datum pristupa: 20.08.2024.
10. Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja (2011.), Vodič za mikrobiološke kriterije za hranu, Zagreb, Hrvatska.
11. Ministarstvo poljoprivrede (2023.): Vodič za označavanje roka trajanja hrane, [https://poljoprivreda.gov.hr/UserDocsImages/dokumenti/hrana/vodici/vodic\\_za\\_oznacavanje\\_rokova\\_trajanja\\_hrane\\_MREZNO.pdf](https://poljoprivreda.gov.hr/UserDocsImages/dokumenti/hrana/vodici/vodic_za_oznacavanje_rokova_trajanja_hrane_MREZNO.pdf), Datum pristupa: 19.9.2024.
12. Pravilnik o mlijeku i mliječnim proizvodima, NN 133/2007, 27.12.2007., [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2007\\_12\\_133\\_3798.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2007_12_133_3798.html), Datum pristupa: 18.9.2024.
13. Food and Agriculture Organization (FAO): Milk products > cheese. 3.2.2012. [https://agrovoc.fao.org/browse/agrovoc/en/page/c\\_1507](https://agrovoc.fao.org/browse/agrovoc/en/page/c_1507) (Datum pristupa: 19.8.2024.)
14. Nikolina Vuk (2023.): Osnovne značajke i način proizvodnje tradicionalnih hrvatskih i europskih sireva, Završni rad, Sveučilište Sjever, Koprivnica, <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:122:708814>, Datum pristupa: 14.8.2024.
15. Rodriguez-Aguilera, R., Oliveira, J. C., Montanez, J. C., & Mahajan, P. V. (2011). Effect of modified atmosphere packaging on quality factors and shelf-life of mould

- surface-ripened cheese: Part II varying storage temperature. *LWT-Food Science and Technology*, 44(1), 337-342.
16. Ledenbach, L. H., i Marshall, R. T. (2009): Microbiological Spoilage of Dairy Products. *Compendium of the Microbiological Spoilage of Foods and Beverages*, 41–67.
  17. Conte, A., Gammariello, D., Di Giulio, S., Attanasio, M. and Del Nobile, M.A. (2009.): Active coating and modified-atmosphere packaging to extend the shelf life of Fior di Latte cheese. *Journal of Dairy Science*, 92(3), pp.887-894.
  18. Gebretsadik Berhe, Araya Gebreyesus Wasihun, Enquebaher Kassaye i Kibrom Gebreselassie (2020.): Milk-borne bacterial health hazards in milk produced for commercial purpose in Tigray, northern Ethiopia, *BMC Public Health* 20, 894.
  19. Fox, P. F., McSweeney, P. L. H., Cogan, T. M., & Guinee, T. P. (2004.): *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* (3rd ed.). Elsevier.
  20. Hayaloglu, A. A. (2016.): *Cheese: Microbiology of Cheese*. Reference Module in Food Science. Elsevier.
  21. Papademas, P., i Bintsis, T. (2017.): *Global Cheesemaking Technology: Cheese Quality and Characteristics*. Wiley-Blackwell.
  22. Patrick F. Fox , Timothy P. Guinee , Timothy M. Cogan , Paul L. H. McSweeney (2017.): *Fundamentals of Cheese Science* (2nd ed.). Springer.
  23. Fox, P.F., Guinee, T.P., Cogan, T.M., McSweeney, P.L.H. (2017.): *Factors that Affect Cheese Quality*. U: *Fundamentals of Cheese Science*. Springer, Boston, MA.
  24. Albert Marinculić, Boris Habrun, Ljubo Barbić i Relja Beck (2009.): *Biološke opasnosti u hrani*, Hrvatska agencija za hranu, Osijek, Hrvatska.
  25. T. Ariyanti, F. Rachmawati, S.M. Noor i Suhaemi (2022.): Contamination of *Escherichia coli* O157:H7 in Milk and Its Dairy Products in Depok, Cianjur, Sukabumi and Bandung, *Earth and Environmental Science* 1107, 012047.
  26. D'amico D.J. (2014.): *Microbiological Quality and Safety Issues in Cheesemaking*. *Microbiol Spectr* 2.
  27. Nam, J.H., Cho, Y.S., Rackerby, B. Goddik L, Park SH (2021.): Shifts of microbiota during cheese production: impact on production and quality. *Appl Microbiol Biotechnol* 105, 2307–2318.
  28. H. Douglas Goff, Arthur Hill i Mary Ann Ferrer (2021.), *Dairy Science and Technology eBook*, University of Guelph, Kanada.
  29. Lisa Quigley, Orla O'Sullivan, Catherine Stanton, Tom P. Beresford, R. Paul Ross, Gerald F. Fitzgerald, Paul D. Cotter (2013.), *The complex microbiota of raw milk*, *FEMS Microbiol Rev.* 37(5):664-98.
  30. Quigley, L., O'Sullivan, O., Stanton, C., Beresford, T. P., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F., i Cotter, P. D. (2013.): *The complex microbiota of raw milk*. *FEMS Microbiology Reviews*, 37(5), 664-698.
  31. Aguirre-Garcia, Y.L., Nery-Flores, S.D., Campos-Muzquiz, L.G., Flores-Gallegos, A.C., Palomo-Ligas, L., Ascacio-Valdés, J.A. Sepúlveda-Torres, L., Rodríguez-Herrera, R. (2024.): *Lactic Acid Fermentation in the Food Industry and Bio-Preservation of Food*. *Fermentation* 10, 168.
  32. Tratnik, L. (1998). *Mikrobiološka kakvoća sireva na hrvatskom tržištu*. Repozitorij Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.
  33. Garg, S. K. i Johri, B. N. (1994.): *Rennet: Current trends and future research*. *Food Reviews International*, 10(3), 313–355.

34. Marco Gobetti , Maria De Angelis , Raffaella Di Cagno , Leonardo Mancini , Patrick F. Fox (2005.): Pros and cons for using non-starter lactic acid bacteria (NSLAB) as secondary/adjunct starters for cheese ripening, *rends in Food Science and Technology*, 45(1), 167–178.
35. Barukčić, I., Ščetar, M., Marasović, I., Lisak Jakopović, K., Galić, K., Božanić, R. (2020.): Evaluation of quality parameters and shelf life of fresh cheese packed under modified atmosphere. *J. Food Sci. Technol.* 57, 2722–2731.
36. Monasterio, A., Núñez, E., Verdugo, V., Osorio, F.A. (2024.): Stability and Biaxial Behavior of Fresh Cheese Coated with Nanoliposomes Encapsulating Grape Seed Tannins and Polysaccharides Using Immersion and Spray Methods. *Polymers* 16 (11), 1559.
37. Hui Y. H. (2012.): Cottage cheese and yogurt: standards, grades, and specifications, *Handbook of animal-based fermented food and beverage technology*, 319-334, CRC Press, Boca Raton
38. Lange, I., Mleko, S., Tomczyńska-Mleko, M., Polischuk, G., Janas, P. i Ozimek, L. (2020.): Technology and factors influencing Greek-style yogurt-a Review. *Ukrainian Food Journal*, 9(1).
39. M. Guven, C. Cadun, O.B. Karaca, A.A. Hayaloglu (2008.): Influence of rennet concentration on ripening characteristics of halloumi cheese, *Journal of Food Biochemistry*, 32(5), 615–627.
40. Tamime A.Y., Kalab, M., Davies G. (1989), Rheology and microstructure of strained yogurt (labneh) made from cow's milk by three different methods, *Food structure*, Volume 8, Number 1
41. Tamime A.Y. (2003.): Yogurt-based products. In B. Caballero, L. Trugo, i P. Finglas (Eds.), *Encyclopedia of Food Science and Nutrition 2nd Edition*, pp. 6259–6264, Academic Press, London.
42. Serhan, M, Mattar, J and Debs, L (2016.): Concentrated yogurt (Labneh) made of a mixture of goats' and cows' milk: physicochemical, microbiological and sensory analysis. *Small Ruminant Research* 138, 46–52.
43. London, LE, Chaurin, V, Auty, MA, Fenelon, MA, Fitzgerald, GF, Ross, RP i Stant onC. (2015.): Use of *Lactobacillus mucosae* DPC 6426, an exopolysaccharide-producing strain, positively influences the techno-functional properties of yoghurt. *International Dairy Journal* 40, 33–38.
44. Nsabimana, C., Jiang, BO i Kossah, R. (2005.): Manufacturing, properties and shelf life of labneh: a review. *International Journal of Dairy Technology* 58, 129–137.
45. Lee, W. and Lucey, J. (2010.): Formation and physical properties of yogurt. *Asian-Australasian. Journal of Animal Sciences* 23, 1127–1136.
46. Maragkoudakis, P.A., Miaris, C., Rojez, P., Manalis, N., Magkanari, F. i Kalantzopoulos, G. (2006.): Production of traditional Greek yoghurt using *Lactobacillus* strains with probiotic potential as starter adjuncts. *International Dairy Journal* 16, 52–60.
47. Ichimura, T., Kusaka, M., i Nakamura, T. (2023.): The effect of high-temperature heat treatment and homogenization on the microstructure of set yogurt curd networks. *Journal of Dairy Research*, 90(3), 306-311.
48. Xu, W., He, S., Ma, Y., Zhang, Y. and Wang, R. (2015.): Effect of the heat-induced whey proteins/ $\kappa$ -casein complex on the acid gelation of yak milk. *RSC Advances* 5, 8952–8956.

49. Eric Dugat-Bonya, Lucille Garnier , Jeremie Denonfoux , Stéphanie Ferreira , Anne-Sophie Sarthoua, Pascal Bonnarrea, Françoise Irlinger (2016.): Highlighting the microbial diversity of 12 French cheese varieties, *International Journal of Food Microbiology* 238, 265–273.
50. Gyawali, R. i Ibrahim, S.A. (2016.): Effects of hydrocolloids and processing conditions on acid whey production with reference to Greek yogurt. *Trends in Food Science and Technology* 56, 61–76.
51. Chandan, R.C. i O'Rell, K.R. (2006.): Principles of yogurt processing. Ur: Chandan, R.C., White, C.H., Kilara, A. i Hui, Y.H., U: Manufacturing Yogurt and Fermented Milks. Ames: Blackwell Publishing, 195–209.
52. Haddad, Y., Haddad, J., Olabi, A., Shuayto, N., Haddad, T. i Toufeili, I. (2007.): Mapping determinants of purchase intent of concentrated yogurt (Labneh) by conjoint analysis. *Food Quality and Preference* 18, 795–802.
53. Al-Kadamany, E., Khattar, M., Haddad, T. i Toufeili, I. (2003.): Estimation of shelf-life of concentrated yogurt by monitoring selected microbiological and physicochemical changes during storage. *LWT-Food Science and Technology* 36, 407–414.
54. Leclercq-Perlat M., M. Sicard N., Perrot I., Trelea D., Picque G., Corrieu (2015.): Temperature and relative humidity influence the ripening descriptors of Camembert-type cheeses throughout ripening, *Journal of Dairy Science*, 98(2), 1325–1335.
55. Dagher, S. i Ali, A. (1985.): Effect of pasteurization, centrifugation and additives on quality of concentrated yogurt (labneh). *Journal of Food Protection* 48, 300–302.
56. Salque, M., Bogucki, P.I., Pyzel, J., Sobkowiak-Tabaka, I., Grygiel, R., Szmyt, M. i Evershed, R.P. (2013.): Earliest evidence for cheese making in the sixth millennium BC in northern Europe. *Nature*, 493(7433), 522–525.
57. Beresford, T. P., Fitzsimons, N. A., Brennan, N. L., i Cogan, T. M. (2001.): Recent advances in cheese microbiology. *International Dairy Journal*, 11(4-7), 259-274.
58. Beresford, T. and Williams, A. (2004.): The microbiology of cheese ripening. U: Cheese: chemistry, physics and microbiology (Vol. 1, 287-317). Academic Press.
59. Lopandic, K., Zelger, S., Banzsky, L.K., Eliskases-Lechner, F. and Prillinger, H. (2006.): Identification of yeasts associated with milk products using traditional and molecular techniques. *Food microbiology*, 23(4), 341-350.
60. Jayarao, B.M. i Henning, D.R. (2001.): Prevalence of foodborne pathogens in bulk tank milk. *Journal of Dairy Science*, 84(10), 2157-2162.
61. Oliver, S. P., Jayarao, B. M. i Almeida, R. A. (2005.): Foodborne pathogens in milk and the dairy farm environment: food safety and public health implications. *Foodborne Pathogens & Disease*, 2(2), 115-129.
62. Doyle, M. P. i Roman, D. J. (1982.): Prevalence and survival of *Campylobacter jejuni* in unpasteurized milk. *Applied and Environmental Microbiology*, 44(5), 1154-1158.
63. Sofos, J. N. (2008.): Challenges to meat safety in the 21st century. *Meat Science*, 78(1-2), 3-13.
64. Donnelly, C. W. (2001.): *Listeria monocytogenes*: A continuing challenge. *Journal of Dairy Science*, 84, 1131-1137.
65. Kaakoush, N. O., Castano-Rodriguez, N., Mitchell, H. M., Man, S. M. (2015.): Global epidemiology of *Campylobacter* infection. *Clinical Microbiology Reviews*, 28(3), 687-720.

66. Blaser, M. J., Hardesty, H. L., Powers, B., i Wang, W. L. (1985.): Survival of *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni* in biological milieus. *Journal of Clinical Microbiology*, 21(3), 309-312.
67. Robinson, D. A. (1981.): Infective dose of *Campylobacter jejuni* in milk. *BMJ (Clinical Research Edition)*, 282(6258), 1584.
68. Deddefo, A., Mamo, G., Amenu K., Leta, S. (2022.): Prevalence and molecular characteristics of *Staphylococcus aureus* in raw milk and milk products in Ethiopia: a systematic review and meta-analysis. *Food Contamination* 9, 8
69. Szczuka E., Porada K., Wesołowska M., Łęska B. (2022.): Occurrence and Characteristics of *Staphylococcus aureus* Isolated from Dairy Products. *Molecules* 27, 4649.
70. Samaržija, D., Zamberlin, Š., Pogačić, T. (2012): Psihrotrofne bakterije i njihovi negativni utjecaji na kvalitetu mlijeka i mliječnih proizvoda. *Mljekarstvo* 62, 77-96.
71. Samaržija D. (2015): Fermentirana mlijeka. U: Tehnologija proizvodnje fermentiranih mlijeka, Ur: Samaržija D., Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska, 121 – 141.
72. Samaržija D. (2021.): Mljekarska mikrobiologija, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska,
73. Islam, S.M.R.; Tanzina, A.Y.; Foyosal, M.J.; Hoque, M.N.; Rumi, M.H.; Siddiki, A.M.A.M.Z.; Tay, A.C.; Hossain, M.J.; Bakar, M.A.; Mostafa, M.; Mannan, A. (2021.): Insights into the nutritional properties and microbiome diversity in sweet and sour yogurt manufactured in Bangladesh. *Scientific Reports* 11(1):22667
74. Vanja Sabljak, Katarina Lisak-Jakopović, Irena Barukčić, Anđelka Pejaković, Rajka Božanić (2013.): Određivanje trajnosti tradicionalnog svježeg sira, *Croatian Journal of Food Technology, Biotechnology and Nutrition*, 8 (3-4), 115-122
75. Hrvatska agencija za hranu, HAH (2016.): Znanstveno mišljenje o mikrobiološkim opasnostima u svježim i polutvrdim sirevima na tržnicama RH i njihovim kemijskim parametrima, OB-34-02
76. Slavko Kirin (2009.): Bjelovarski domaći svježi meki sir, *Mljekarstvo* 59 (2), 148-154.
77. Josipa Biljan (2023.): Održivost fermentiranih mliječnih proizvoda, Diplomski rad, Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet, Zagreb, <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:178:263161>, Datum pristupa: 16.9.2024.
78. Lidija Kozačinski, Željka Cvrtila, Mirza Hadžiosmanović, Darko Majnarić, B. Kukuruzović (2003.): Mikrobiološka ispravnost mlijeka i mliječnih proizvoda, *Mljekarstvo* 53 (1) 17-22.
79. É. Laslo i É. Gyorgy (2018.): Evaluation of the microbiological quality of some dairy products, *Acta Univ. Sapientiae, Alimentaria*, 11, 27 – 44.
80. Ljubica Tratnik (1998.): Mlijeko – tehnologija, biokemija i mikrobiologija, Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb, Hrvatska.
81. Josip Vrdoljak, Vesna Dobranić, Ivana Filipović, Nevijo Zdolec (2016.): Microbiological quality of soft, semi-hard and hard cheeses during the shelf-life, *Macedonian Veterinary Review* 39 (1): 59-64.

## 8. SAŽETAK

Svježi sir i jogurt spadaju među najpopularnije mliječne proizvode u svakodnevnoj prehrani, prvenstveno zbog svojih hranjivih svojstava, visoke razine proteina, kalcija te korisnih probiotičkih kultura. Međutim, njihova osjetljivost na kvarenje tijekom skladištenja postavlja izazove za proizvođače i potrošače. Kvarenje ovih proizvoda može biti uzrokovano različitim čimbenicima, uključujući neučinkovitu pasterizaciju, nepravilno rukovanje ili neodgovarajuće uvjete skladištenja. Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi prisutnost patogenih mikroorganizama u svježem siru, krem-siru i grčkom jogurtu proizvedenim na obiteljskom poljoprivrednom gospodarstvu Lenđel tijekom propisanog roka trajanja te istražiti mogućnosti produženja tog roka bez kompromitacije kvalitete i sigurnosti proizvoda. Za istraživanje su korišteni uzorci sa obiteljskog poljoprivrednog gospodarstva Lenđel (OPG Lenđel, Podolje), koje proizvodi različite mliječne proizvode od mlijeka vlastitog stada. Ispitivanje je provedeno u dvije faze: na početku roka trajanja, kada su proizvodi imali važeći rok trajanja, te nakon isteka roka trajanja. Za mikrobiološku analizu uzoraka korištene su četiri selektivne hranjive podloge s poznatim ključevima determinacije za predstavnike iz porodice Enterobacteriaceae, uključujući rodove *Salmonella sp.*, *Shigella sp.*, *Escherichia sp.*, *Klebsiella sp.*, te *Enterobacter sp.* Također je korištena peta selektivna podloga za određivanje prisutnosti plijesni kod uzoraka kojima je istekao rok trajanja.

Mikrobiološki rezultati analiziranih uzoraka pokazali su kako unutar dopuštenog vijeka trajanja proizvoda nije bilo porasta broja istraživanih patogenih bakterija, no nakon isteka roka trajanja postoje varijacije u porastu broja mikroorganizama, prvenstveno u grčkom jogurtu, koji je pokazao promjene u mikrobiološkoj kvaliteti tijekom vremena skladištenja. Unatoč uočenom povećanju broja kolonija mikroorganizama nakon isteka roka trajanja, zbog neselektivnosti upotrijebljenih podloga nismo bili u mogućnosti determinirati o kojem soju mikroorganizama se radi. Također, nakon isteka roka trajanja na podlogama je uočen porast plijesni na uzorcima svježeg sira i grčkog jogurta. Ovi rezultati podržavaju hipotezu o potrebi za rigoroznom kontrolom kvalitete i sigurnosti prilikom proizvodnje i skladištenja mliječnih proizvoda kako bi se osigurala sigurnost potrošača i produžio rok trajanja bez kompromitacije kvalitete proizvoda.

**Ključne riječi:** svježi sir, jogurt, mikrobiološka analiza, patogeni mikroorganizmi, vijek skladištenja.

## 9. SUMMARY

Fresh cheese and yoghurt are among the most popular dairy products in the daily diet, mainly due to their nutritional properties, their high protein and calcium content and their beneficial probiotic cultures. However, their susceptibility to spoilage during storage poses a challenge for both producers and consumers. Spoilage of these products can be caused by various factors, such as ineffective pasteurisation, improper handling or inadequate storage conditions. It is therefore important to carry out rigorous microbiological analyses to ensure consumer safety. The aim of this study was to determine the presence of pathogenic microorganisms in fresh cheese, cream cheese and Greek yoghurt produced on the Lendel family farm during the prescribed shelf life and to explore possibility to extend this shelf life without compromising product quality and safety. For the study, samples were taken from the Lendel family farm (OPG Lendel, Podolje), which produces various dairy products from the milk of its own herd. The analysis was carried out in two phases: at the beginning of the shelf life, when the products had a valid expiry date, and after the expiry date. Four selective culture media with known identification keys for representatives of the Enterobacteriaceae family were used for the microbiological analysis of the samples, including the genera *Salmonella* sp., *Shigella* sp., *Escherichia* sp., *Klebsiella* sp. and *Enterobacter* sp. In addition, a fifth selective medium was used to determine the presence of moulds in samples that had passed their expiry date. The microbiological results of the samples tested showed that there was no increase in the number of pathogenic bacteria tested within the permitted shelf life of the products. However, fluctuations in bacterial counts were observed after the expiry date, particularly in Greek yoghurt, which showed changes in microbiological quality over time during storage. Despite the observed increase in microbial colony counts after the expiry date, we were unable to determine which strains of microorganisms were present due to the non-selectivity of the media used. In addition, an increase in mould growth was observed in the fresh cheese and Greek yoghurt samples after the expiry date.

These results support the hypothesis that strict quality and safety control during the production and storage of dairy products is necessary to ensure consumer safety and extend shelf life without compromising product quality.

**Key words:** fresh cheese, yogurt, microbiological analysis, pathogenic microorganisms, shelf life.

## **10.POPIS TABLICA**

### **BROJ TABLICE**

Tablica 1. Naziv sira obzirom na udio vode bezmasnoj tvari sira (NN 20/2009)

Tablica 2. Uobičajeni kemijski sastav različitih industrijski proizvedenih jogurta (Tamime, 2003.)

Tablica 3. Mikrobiološki kriterij za pojedine mliječne proizvode

Tablica 4. Determinacijski ključevi pojedine selektivne podloge



## **11.POPIS SLIKA**

### **BROJ SLIKE**

Slika 1. Testiranje specifičnosti XLD agara

Slika 2. Testiranje specifičnosti ENDO agara

Slika 3. Rezultati na XLD agar podlozi nakon 24 sata inkubacije (\*GJ-grčki jogurt; KS-krem sir; SKS-svježi kravljji sir)

Slika 4. Rezultati na ENDO agar podlozi nakon 24 sata inkubacije (\*GJ-grčki jogurt; KS-krem sir; SKS-svježi kravljji sir)

Slika 5. Rezultati na SS agar podlozi nakon 24 sata inkubacije (\*GJ-grčki jogurt; KS-krem sir; SKS-svježi kravljji sir)

Slika 6. Rezultati na VRBA agar podlozi nakon 24 sata inkubacije (\*GJ-grčki jogurt; KS-krem sir; SKS-svježi kravljji sir)

Slika 7. SS agar nakon 24 sata inkubacije (\*GJ-grčki jogurt; KS-krem sir; SKS-svježi kravljji sir; SP-prazni uzorak „slijepa proba“)

Slika 8. XLD agar podloga nakon 24 sata inkubacije (\*GJ-grčki jogurt; KS-krem sir; SKS-svježi kravljji sir; SP-prazni uzorak „slijepa proba“)

Slika 9. VRBA agar podloga nakon 24 sata inkubacije (\*GJ-grčki jogurt; KS-krem sir; SKS-svježi kravljji sir; SP-prazni uzorak „slijepa proba“)

Slika 10. VRBA agar podloga s uočenim porastom mikroorganizama (\*GJ-grčki jogurt)

Slika 11. ENDO agar podloga nakon 24 sata inkubacije (\*GJ-grčki jogurt; KS-krem sir; SKS-svježi kravljji sir; SP-prazni uzorak „slijepa proba“)

Slika 12. ENDO agar podloga sa uočenim porastom patogenih mikroorganizama (\*GJ-grčki jogurt)

Slika 13. PDA agar nakon 24 sata inkubacije (\*GJ-grčki jogurt; KS-krem sir; SKS-svježi kravljji sir)

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Diplomski rad

Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

Sveučilišni diplomski studij, smjer (Specijalna zootehnika)

Određivanje trajnosti svježeg sira i jogurta proizvedenih na obiteljskom poljoprivrednom gospodarstvu

Sintija Lenđel

### Sažetak

Svježi sir i jogurt su među najpopularnijim mliječnim proizvodima u svakodnevnoj prehrani zbog svojih hranjivih svojstava, visoke razine proteina, kalcija i korisnih probiotičkih kultura. Međutim, njihova osjetljivost na kvarenje tijekom skladištenja predstavlja izazov za proizvođače i potrošače. Kvarenje može biti uzrokovano neučinkovitom pasterizacijom, nepravilnim rukovanjem ili neodgovarajućim uvjetima skladištenja, što može dovesti do ozbiljnih zdravstvenih problema. Stoga su rigorozne mikrobiološke analize ključne za osiguranje sigurnosti potrošača. Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi prisutnost patogenih mikroorganizama u svježem siru, krem-siru i grčkom jogurtu proizvedenim na OPG Lenđel tijekom propisanog roka trajanja te istražiti mogućnost produženja tog roka bez kompromitacije kvalitete proizvoda. Mikrobiološke analize provedene su na uzorcima tri različita svježja proizvoda s različitim rokovima trajanja, u dvije faze: na početku roka trajanja i nakon isteka. Rezultati su pokazali da unutar dopuštenog vijeka trajanja nije bilo porasta patogenih bakterija, no nakon isteka roka zabilježene su varijacije u broju mikroorganizama, posebno u grčkom jogurtu. Ovi nalazi naglašavaju potrebu za strožom kontrolom kvalitete tijekom proizvodnje i skladištenja kako bi se osigurala sigurnost i produžio rok trajanja proizvoda.

**Rad je izrađen pri:** Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

**Mentor:** Prof.dr.sc. Ivona Djurkin Kušec

**Broj stranica:** 43

**Broj grafikona i slika:** 13

**Broj tablica:** 4

**Broj literaturnih navoda:** 81

**Broj priloga:** 2

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Ključne riječi:** svježi sir, jogurt, mikrobiološka analiza, patogeni mikroorganizmi, vijek skladištenja

**Datum obrane:**

**Stručno povjerenstvo za obranu:**

1. prof. dr. sc. Goran Kušec, predsjednik
2. prof. dr. sc. Ivona Djurkin Kušec, mentorica
3. doc. dr. sc. Jurica Jović, član

**Rad je pohranjen u:** u Knjižnici Fakulteta agrobiotehničkih znanosti u Osijeku i u digitalnom repozitoriju završnih i diplomskih radova Fakulteta agrobiotehničkih znanosti u Osijeku

## **BASIC DOCUMENTATION CARD**

**Josip Juraj Strossmayer University of Osijek**  
**Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek**  
**University Graduate Studies, Special zootecnics**

**Graduate thesis**

Shelf-life determination of fresh cheese and yogurt produced at family farm  
Sintija Lenđel

### **Abstract**

Fresh cheese and yoghurt are among the most popular dairy products in the daily diet due to their nutritional properties, high protein and calcium content and beneficial probiotic cultures. However, their susceptibility to spoilage during storage poses a challenge for producers and consumers. Spoilage can be caused by various factors, such as ineffective pasteurisation, improper handling or inadequate storage conditions. In addition, spoilage can lead to serious health problems, so rigorous microbiological analyses are essential to ensure consumer safety.

The aim of this study was to determine the presence of pathogenic microorganisms in fresh cheese, cream cheese and Greek yoghurt produced on the Lenđel family farm during the prescribed shelf life and to investigate the possibility of extending this shelf life without compromising product quality. The microbiological analyses were carried out on samples taken on the farm, focusing on three different fresh products with different shelf lives. The analysis was carried out in two phases: at the beginning of the shelf life and after the expiry date. The results indicated that there was no increase in pathogenic bacteria within the permitted shelf life. However, fluctuations in bacterial counts were observed after the expiry date, particularly in Greek yoghurt, highlighting the need for strict quality control during production and storage to ensure safety and extend shelf life without compromising product quality.

**Thesis performed at:** Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek

**Mentor:** Prof.dr. Ivona Djurkin Kušec

**Number of pages:** 43

**Number of figures:** 13

**Number of tables:** 4

**Number of references:** 81

**Number of appendices:** 2

**Original in:** Croatian

**Key words:** fresh cheese, yogurt, microbiological analysis, pathogenic microorganisms, shelf life

**Thesis defended on date:**

### **Reviewers:**

1. Prof dr. Goran Kušec, president
2. Prof. dr. Ivona Djurkin Kušec, supervisor
3. Assist. Prof. Jurica Jović, member

**Thesis deposited at:** Library of Faculty of Agrobiotechnical Sciences in Osijek and in digital repository of Faculty of Agrobiotechnical Sciences in Osijek