

# Fizikalno-kemijska i tehnološka uspredba kefira i jogurta

---

Međimorec, Nino

Undergraduate thesis / Završni rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University North / Sveučilište Sjever**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:122:710139>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-28**



Repository / Repozitorij:

[University North Digital Repository](#)





# Sveučilište Sjever

**Završni rad br. 3/PREH/2021**

## **Fizikalno – kemijska i tehnološka usporedba kefira i jogurta**

**Nino Medimorec, 3532/336**





# Sveučilište Sjever

Odjel za Prehrambenu tehnologiju

Završni rad br. 3/PREH/2021

## Fizikalno - kemijska i tehnološka usporedba kefir i jogurta

### Student

Nino Međimorec, 3532/336

### Mentor

Doc. dr. sc. Katarina Lisak Jakopović

Koprivnica, srpanj 2021. godine

# Prijava završnog rada

## Definiranje teme završnog rada i povjerenstva

ODJEL Odjel za prehrambenu tehnologiju

STUDIJ preddiplomski stručni studij Prehrambena tehnologija

PRISTUPNIK Nino Medimorec

JMSAG 0313017969

DATUM 8.6.2021.

KOLEGI Tehnologija proizvodnje i prerade mlijaka

NASLOV RADA Fizikalno-kemijska i tehnološka usporedba kefira i jogurta

NASLOV RADA NA ENGL. JEZIKU Physico-chemical and technological comparison of kefir and yoghurt

MENTOR Katarina Lisak Jakopović

ZVANJE docentica

ČLANOVI POUČAVANJA

1. doc. dr. sc. Dunja Šamac

2. izv. prof. dr. sc. Bojan Šerkanj

3. doc. dr. sc. Katarina Lisak Jakopović

4. doc. dr. sc. Natalija Uršulin - Trstenjak

## Zadatak završnog rada

PRID 3/PREH/2021

D-15

Zadatak predloženog završnog rada je odrediti fizikalno-kemijski sastav kefira i jogurta te ga međusobno usporediti. Osim toga, potrebno je usporediti kefir napravljen kefirnom zrncom te industrijskom kefirnom kulturom s jogurtom dobivenim fermentacijom jogurtom kulturom i probiotičkim bakterijama. Potrebno je odrediti kemijski sastav svih fermentiranih mlijeka, aktivnu i titracijsku kiselost te reološke karakteristike proizvoda. Uz sve navedeno, potrebno je napisati i usporediti tehnologiju proizvodnje kefira i jogurta. Za zaključak rada potrebno je istaknuti glavne razlike u fizikalno-kemijskim i tehnološkim karakteristikama kefira i jogurta.

ZAVRŠEN DANOM

10.6.2021

POTPIS MENTORA

SVEUČILIŠTE  
SJEVER



## **Predgovor**

Želim zahvaliti svojoj mentorici, Doc. dr. sc. Katarini Lisak Jakopović na predanosti, vremenu i trudu oko završnog rada. Hvala Vam na dostupnosti i praćenju nastanka ovoga završnog rada, svim Vašim savjetima i pomoći! Posebno se zahvaljujem mojim roditeljima i sestri na strpljenju i podršci koju su mi davali tijekom studiranja. Isto tako se zahvaljujem i svim profesorima na Sveučilištu, a osobito pročelniku Odjela za prehrambenu tehnologiju Izv.prof.dr.sc Bojanu Šarkanju!

## Sažetak

Mlijeko je najkompletnija prirodna tekućina, jer sadržava sve tvari neophodne za očuvanje zdravlja i normalnu funkciju ljudskog organizma. Osim toga, mlijeko je osnovna sirovina u proizvodnji mliječnih proizvoda. Kada se isto to mlijeko izvrsnih nutritivnih karakteristika podvrgne fermentaciji dobije se proizvod dodane vrijednosti. Cilj ovog završnog rada je bio odrediti fizikalno – kemijski sastav kefir (fermentiranog kefirnom kulturom i kefirnim zrnima) i jogurta (fermentiranog probiotičkim bakterijama i termofilnim bakterijama mliječne kiseline) te ga međusobno usporediti. Osim toga cilj rada je bio opisati mlijeko kao osnovnu sirovinu u proizvodnji fermentiranih proizvoda, utjecaj fermentiranih mliječnih proizvoda na zdravlje ljudi, tehnološku razliku u proizvodnji kefir i jogurta te usporediti njihov nutritivni sastav. Dobiveni rezultati pokazuju da domaći kefir ima najnižu pH vrijednost (4,13) , te najveći sadržaj mliječne kiseline (0,71 g) u odnosu na ostale uzorke. Što se tiče sadržaja ugljične kiseline, kod domaćeg kefir je izmjerena vrijednost 2,38 mg/L, a kod komercijalnog 2,75 mg/L. Najgušći su bili uzorci jogurta i probiotičkog jogurta (46 mPas), dok je najrjeđi uzorak domaćeg kefir (22 mPAs).

**Ključne riječi:** mlijeko, kefir, jogurt, fermentirani mliječni proizvodi

## Popis korištenih kratica

NPN	Neproteinski dušik
CFU	Colony forming units
UV	Ultraljubičasto
BV	Biološka vrijednost
TD	Stvarna probavljivost
NPU	Neto iskorištenje proteina
PER	Omjer djelotvornosti proteina



# Sadržaj

1.	Uvod.....	1
2.	Sastav mlijeka .....	2
2.1.	Proizvodnja mlijeka.....	5
2.2.	Proteini mlijeka .....	7
2.3.	Mliječna mast .....	8
2.4.	Laktoza .....	10
2.5.	Mineralne tvari i vitamini.....	11
3.	Fermentirani mliječni proizvodi .....	14
3.1.	Podjela fermentiranih mlijeka .....	14
3.2.	Tehnologija proizvodnje jogurta .....	15
3.3.	Tehnologija proizvodnje kefira .....	17
3.4.	Razlike u proizvodnji kefira - kefirno zrno i starter kultura.....	19
3.4.1.	<i>Tradicionalna metoda proizvodnje kefira – kefirno zrno .....</i>	<i>19</i>
3.4.2.	<i>Industrijska proizvodnja kefira – starter kultura .....</i>	<i>19</i>
3.5.	Usporedba nutritivnog sastava kefira i jogurta .....	20
3.6.	Utjecaj fermentiranih mliječnih proizvoda na zdravlje.....	20
4.	Materijali i metode .....	22
4.1.	Određivanje kiselosti.....	22
4.1.1.	<i>Određivanje kiselosti fermentiranih mliječnih napitaka pH-metrom .....</i>	<i>22</i>
4.1.2.	<i>Određivanje kiselosti titracijskom metodom po Soxhlet-Henkelu .....</i>	<i>22</i>
4.2.	Određivanje udjela mliječne kiseline .....	23
4.3.	Određivanje ugljične kiseline (CO <sub>2</sub> ) u kefiru.....	23
4.4.	Reologija fermentiranog mlijeka.....	24
4.5.	Određivanje mliječne masti butirometrijskom metodom po Gerberu.....	25
5.	Rezultati i rasprava .....	27
5.1.	Reološka svojstva uzorka .....	29
5.1.1.	<i>Proračun viskoznosti uzorka probiotičkog jogurta .....</i>	<i>29</i>
5.1.2.	<i>Proračun viskoznosti uzorka kefira .....</i>	<i>31</i>
5.1.3.	<i>Proračun viskoznosti uzorka domaćeg kefira.....</i>	<i>33</i>
5.1.4.	<i>Proračun viskoznosti tekućeg jogurta .....</i>	<i>35</i>
5.1.5.	<i>Usporedba reoloških svojstava uzoraka.....</i>	<i>38</i>
6.	Zaključak.....	39
7.	Literatura.....	41

# 1. Uvod

Mlijeko je najkompletnija prirodna tekućina, jer sadržava sve tvari neophodne za očuvanje zdravlja i normalnu funkciju ljudskog organizma. Osim toga, mlijeko je osnovna sirovina u proizvodnji mliječnih proizvoda. Prema pravilniku o mlijeku i mliječnim proizvodima (NN 133/2007): „Sirovo mlijeko jest prirodni sekret mliječne žlijezde, dobiveno redovnom i neprekidnom mužnjom jedne ili više zdravih muznih životinja, pravilno hranjenih i držanih, kojem nije ništa dodano niti oduzeto i nije zagrijavano na temperaturu višu od 40 °C“ [1]. Sirovo mlijeko koje će se toplinski obrađivati mora zadovoljavati standarde kvalitete prema broju somatskih stanica (maksimalno 400.000 somatskih stanica/mL). Somatske stanice su epitelne stanice vimena i stanice krvi te veći broj upućuje na upalu vimena (mastitis). Mlijeko zdravih životinja uglavnom sadržava manje od 200.000 somatskih stanica/mL. Isto tako sirovo mlijeko mora zadovoljavati standarde kvalitete i prema broju mikroorganizama. Prema nacionalnim propisima i standardima Europske Unije, maksimalno dopušteni broj živih stanica bakterija (CFU – Colony Forming Units) u mL sirovog mlijeka može biti 100.000 (maksimalno  $10^5$  CFU/mL) [2]. Kefir je fermentirani mliječni napitak podrijetlom s Kavkaza, koji se u prošlosti proizvodio samo od ovčjeg mlijeka, no u današnje vrijeme se proizvodi i od kravljeg i kozjeg mlijeka. Za pripremu kefirna se koriste kefirna zrnca. Ona sadrže mješavinu nekoliko skupina mikroorganizama koji žive u simbiozi. Nije točno utvrđeno kada su kefirna zrnca nastala pa ih mnogi autori nazivaju „Božji dar“. Fermentirani mliječni proizvod mora sadržavati minimalno  $10^6$  živih stanica/mL da bi imao terapijska svojstva. Konzumiranjem proizvoda odabrani sojevi probiotičkih bakterija, osobito uz prebiotike važni su za ljudsko zdravlje jer mogu obnoviti ili uspostaviti cjelovitu crijevnu mikrofloru koja je često oštećena ili poremećena zbog ubrzanog ritma života, stresa i sl. [3].

Cilj ovog završnog rada je bio odrediti fizikalno – kemijski sastav kefirna koji je fermentiran kefirnom kulturom i kefirnim zrcima te jogurta fermentiranog probiotičkim bakterijama i termofilnim bakterijama mliječne kiseline te usporediti njihov sastav, kiselost i reološke karakteristike. Osim toga cilj rada je bio opisati mlijeko kao osnovnu sirovinu u proizvodnji fermentiranih proizvoda, utjecaj fermentiranih mliječnih proizvoda na zdravlje ljudi, tehnološku razliku u proizvodnji kefirna i jogurta te usporediti njihov nutritivni sastav.

## 2. Sastav mlijeka

Mlijeko je biološka tekućina, vrlo složena i promjenjiva sastava, bijele do žućkasto-bijele boje, karakteristična mirisa i okusa, koju izlučuje mliječna žlijezda ženki sisavaca određeno vrijeme nakon poroda.

Pod pojmom „mlijeko” uvijek se podrazumijeva „kravlje mlijeko”, dok se ostale vrste mlijeka moraju istaknuti oznakom – „bivolje”, „kozje”, „ovčje” ili neko drugo. Pojedine vrste mlijeka sadržavaju uglavnom iste sastojke, ali se udjeli i odnosi sastojaka pa i njihova struktura ili kvaliteta mogu znatno razlikovati. Zbog toga se vrste mlijeka razlikuju prema energetske i hranjivoj vrijednosti, fizikalno – kemijskim, tehnološkim i senzorskim svojstvima. Pojedine vrste mlijeka sadržavaju uglavnom iste sastojke, ali se udjeli i odnosi sastojaka pa i njihova struktura ili kvaliteta mogu znatno razlikovati. Zbog toga se vrste mlijeka razlikuju prema energetske i hranjivoj vrijednosti, fizikalno – kemijskim, tehnološkim i senzorskim svojstvima. Razdoblje lučenja mlijeka naziva se laktacija, a riječ je o aktivnoj funkciji mliječne žlijezde vimena od teljenja do zasušenja krave. Standardna laktacija kod muznih krava traje 305 dana. Sastav mlijeka može biti vrlo promjenjiv jer ovisi o mnogo čimbenika – pasmini i zdravstvenom stanju muznih životinja, stadiju laktacije, načinu i vrsti hranidbe, sezoni, vrsti mužnje (strojna, ručna) te dobi i broju mužnji, a na kraju i o samom individuumu [3].

Mlijeko sadržava nekoliko tisuća kemijskih spojeva, od kojih samo oko 90 onih potpuno različitih gradivnih tvari (primjerice, samo 20 različitih aminokiselina gradi neki protein). Mlijeko se može smatrati emulzijom ili suspenzijom mliječne masti u vodi u kojoj se nalazi niz tvari u topljivom stanju (laktoza, topljive mineralne tvari u obliku soli i vitamini topljivi u vodi) te tvari u koloidnom stanju (proteini), od kojih je kazein koloidna suspenzija, dok su proteini sirutke koloidna otopina [3].

Najčešći udjeli glavnih sastojaka u sirovom mlijeku nalaze se u sljedećem rasponu:

- Udjel vode        86 – 89 %
- Udjel suhe tvari   11-14 %
- Mast                3,2-5,5 %
- Laktoza            4,6-4,2 %
- Proteini            2,6-4,2 %
- Pepeo              0,6-0,8 %

Navedene vrijednosti mogu se smatrati prosječnim graničnim vrijednostima, a primjer prosječnoga kemijskog sastava mlijeka prikazuje tablica 1.

*Tablica 1. Prosječni kemijski sastav kravljeg mlijeka [3]*

Sastojci mlijeka	Udjel u mlijeku %	Udjel u suhoj tvari %
Laktoza	4,8	37,5
Mast	3,7	28,9
Proteini	3,4	26,6
Pepeo	0,7	5,5
NPN	0,2	1,5
Suha tvar	12,8	100,0

Voda u mlijeku nalazi se u dva oblika:

- Slobodna voda (u kojoj se nalaze sastojci suhe tvari mlijeka),
- Vezana voda (koju vezuju hidrofilne skupine sastojaka suhe tvari).

Vezana se voda nalazi adsorbirana u hidratacijskom sloju pojedinih sastojaka suhe tvari, i to se odnosi na kazein (oko 50 %), proteine sirutke (oko 30 %), membranu masne globule (oko 15 %), laktozu i ostale sastojke (oko 5 %). Sastojci suhe tvari mlijeka imaju različitu sposobnost vezivanja vode, zbog različitog udjela hidrofilnih skupina na koje se vezuju dipolarne molekule vode. Hidratacijski sloj vezane vode utječe na stabilnost sastojaka mlijeka, a ponajviše na stabilnost proteina, jer smanjuje površinsku energiju koloidne čestice pa je i mogućnost njihova spajanja tada svedena na minimum. Zbog toga su proteini sirutke stabilniji od kazeina jer su i hidrofilniji [3].

#### *Fizikalna svojstva mlijeka*

Prirodna kiselost svježeg mlijeka potječe od kiselih svojstava proteina (više od kazeina, zbog većeg udjela), a najviše od kiselih soli (citrati i fosfati) te nešto od plinova u mlijeku, askorbinske kiseline i slobodnih masnih kiselina ili aminokiselina.

Gustoću neke tvari u mlijeku omjer je mase tvari i volumena (m/V). Obično se izražava u g/cm<sup>3</sup>, a zbog ovisnosti o temperaturi, navodi se i referentna temperatura (20 °C). Ako se gustoća definira kao omjer gustoće neke tvari prema gustoći standardne tvari (obično voda maksimalne gustoće: pri 4 °C i tlaku od 1,01325 bara), onda je to „relativna gustoća“ – bezdimenzionalan broj. Dakle, relativna gustoća mlijeka krava može biti u granicama o 1,015 do 1,045, ali se gustoća

skupnog mlijeka može kretati između 1,028 i 1,034. Obiranje mliječne masti povećava gustoću mlijeka, a dodatak vode ju smanjuje (patvorenje mlijeka) [3].

Vrelište je temperatura ključanja mlijeka, a zbog otopljenih je tvari nešto veća od temperature ključanja vode (100 °C) i iznosi oko 100,16 °C.

Ledište je temperatura zamrzavanja mlijeka, a zbog otopljenih tvari je manja od temperature zamrzavanja vode. Iako ovisi o koncentraciji svih topljivih tvari, najviše ovisi o udjelu laktoze. Laktoza je najstabilnija konstanta na osnovi koje se može kontrolirati patvorenje mlijeka razvodnjavanjem. Ledište sirovog mlijeka kreće se od -0,517 °C do -0,530 °C.

Optička svojstva mlijeka ovise o koncentraciji i disperziji pojedinih sastojaka. Mlijeko je neprozirna tekućina bijele boje na koju najviše utječe kazein, a i mliječna mast tome pridonosi zbog odbijanja svjetla od njezine površine. Svijetlo žućkasta nijansa mlijeka potječe od karotenoidnih pigmenata u mliječnoj masti (beta – karoten). Ako se iz mlijeka izdvoje kazein i mliječna mast (serum mlijeka ili sirutka) nastaje prozirna tekućina žućkasto zelenkaste boje koja potječe od riboflavina (vitamina B<sub>2</sub>). To dokazuje u kojoj mjeri kazein prekriva boju pigmenata sirovog mlijeka [3].

Kvaliteta svježeg pomuzenog mlijeka može se mijenjati tijekom duljeg čuvanja, transporta ili primarne obrade. Najčešći uzročnici promjena u mlijeku su mikroorganizmi, temperatura, zrak ili onečišćenje nekim sastojcima koji mogu loše utjecati na kvalitetu mlijeka [3].

Tablicom 2 prikazana je kemijska i mikrobiološka kvaliteta sirovog mlijeka izražena u tri regije u 360 uzoraka u Hrvatskoj.

*Tablica 2. Kemijska i mikrobiološka kvaliteta sirovog mlijeka istražena u tri regije (istočna, južna i središnja) u 360 uzoraka u Hrvatskoj[3]*

Sastojci mlijeka	Proteini %	Mast %	Laktoza %	Somatske stanice SS/mL	Mikroorganizmi CFU/mL
Minimalno	2,55	2,04	3,52	800	4000
Maksimalno	4,56	5,92	4,85	4.130.000	1.555.000
Srednja vrijednost	3,53	4,15	4,45	237.133	76.939

## 2.1. Proizvodnja mlijeka

Proizvodnja mlijeka ima velik gospodarski značaj jer je namijenjena prehrani stanovništva. Proizvodnja mlijeka je zahtjevnija i na nju mogu utjecati različiti čimbenici:

- agroekološki klimatski faktori
- stupanj razvoja gospodarstva,
- vjerske strukture stanovništva,
- tradicijski aspekt,
- te navika konzumiranja mlijeka

Potrošnja mlijeka ovisi o stupnju razvijenosti pojedine zemlje, kupovnoj moći, prehrambenim navikama.

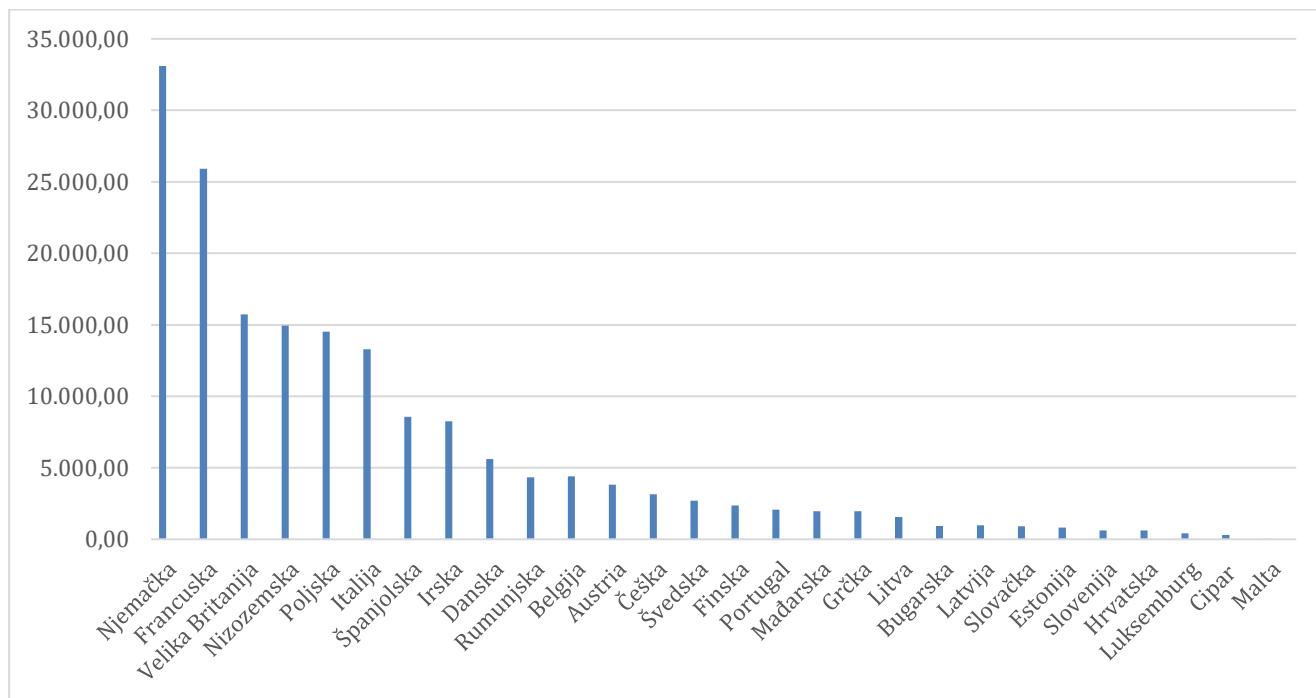
U desetogodišnjem razdoblju (1989./1991. god. – 2000. god) za 5,67 % povećana je ukupna svjetska proizvodnja svih vrsta mlijeka koja je u 2000. godini iznosila 568.480 tisuća tona. Dominantan položaj u ukupnoj proizvodnji ima kravljje mlijeko, tj. 85,30 % i ostvarenom proizvodnjom od 484.895 tisuća tona. Značajne su promjene u tom smislu s bivoljim mlijekom jer se proizvodnja kontinuirano povećava (61.913 tisuća tona – 2000. god.) a s tim i udio u ukupnoj proizvodnji mlijeka u Svijetu koji sada iznosi 10,89 %. Gotovo cjelokupna proizvodnja bivoljeg mlijeka je u Aziji, a najveći proizvođači su Indija (39.000 tisuća tona) i Pakistan (16.910 tisuća tona) [4].

U Europi, Sjevernoj Americi i Aziji je 81,82 % ukupne proizvodnje kravljeg mlijeka od čega u Europi 42,66 %, u Sjevernoj Americi 20,20 % i u Aziji 18,97 %. Ova je proizvodnja zastupljena i u manjim postocima u Južnoj Americi 9,53 %, u Oceaniji s 4,80 % i u Africi s 3,84 %. Od država najveću proizvodnju imaju Sjedinjene Američke Države – 76.294 tisuća tona, zatim Rusija – 32.000 tisuće tona i Indija – 30.900 tisuća tona [4].

Količina isporučenog kravljeg mlijeka u Republici Hrvatskoj 2016. godine bila je 489.645.699 L, 2017. godine – 476.773.216 L, 2018. godine – 453.458.230 L i 2019. godine – 435.606.090 L, te iz toga možemo zaključiti da je došlo do blagog pada u proizvodnji kravljeg mlijeka u zadnje četiri godine.

Godišnji prosjek broja isporučitelja kravljeg mlijeka u Republici Hrvatskoj 2016. godine je bio – 7.329 isporučitelja, 2017. godine – 6.389, zatim 2018. godine 5.661 i 2019. godine – 4.983 isporučitelja. U zadnje četiri godine došlo je do značajnog smanjenja broja isporučitelja mlijeka [5].

Trenutan cilj Europske Unije je povećanje proizvodnje mlijeka po kravi uz smanjenje broja mliječnih krava. No, postoji opravdana bojazan: hoće li u budućnosti povećanje proizvodnje po kravi uspjeti održati proizvodnju mlijeka uz kontinuirano smanjenje broja krava. Slika 1 prikazuje proizvodnju sirovog mlijeka na farmama po državama Europske unije.



*Slika 1. Proizvodnja sirovog mlijeka na farmama po državama Europske unije u 2019. godini (vrijednosti izražene u tisućama tona)[6]*

Prema podacima prikazanim na slici 1 vidljivo je da je na farmama na području Europske unije u 2019. godini najviše sirovog mlijeka proizvedeno u Njemačkoj (33,102 milijuna tona mlijeka) i Francuskoj (25,908 milijuna tona mlijeka), dok je najmanje mlijeka proizvedeno na Malti (44 000 tona mlijeka). Podatci prikazani na slici 1. također ukazuju na to da je u 2019. godini na hrvatskim farmama proizvedeno 615 000 tona sirovog mlijeka, što obuhvaća samo 0,34 % od ukupne proizvodnje sirovog mlijeka u državama Europske unije u 2019. godini. Iz toga se može zaključiti da je u 2019. godini Republika Hrvatska bila pri samom dnu u proizvodnji sirovog mlijeka među 28 država članica Europske unije.

## 2.2. Proteini mlijeka

U mlijeku je identificirano više od 200 različitih proteina, od kojih je većina samo u neznatnim koncentracijama. U proteinima mlijeka nalaze se dva glavna tipa potpuno različitih proteina, a to su: kazein i proteini sirutke, koji se nalaze u omjeru 80 : 20 %. Tablicom 3 prikazane su količine glavnih proteina mlijeka.

Tablica 3. Koncentracija glavnih proteina u mlijeku [3]

PROTEINI (glavne frakcije)	Udjel u mlijeku g/kg	Udjel od ukupne mase %
KAZEIN (Ukupno)	26,0	79,5
A <sub>s1</sub> -kazein	10,0	30,6
A <sub>s2</sub> -kazein	2,6	8,0
Beta-kazein (uključivši gama-kazeine)	10,1	30,8
k-kazein	3,3	10,1
PROTEINI SIRUTKE (ukupno)	6,3	19,3
Beta-laktoglobulin	3,2	9,8
Alfa-laktalbumin	1,2	3,7
Albumin krvnog seruma	0,4	1,2
Imunoglobulini	0,7	2,1
Proteolize – peptoni (i mnogi drugi)	0,8	2,4
PROTEINI MEMBRANE MASTI	0,4	1,2
UKUPNI PROTEINI	32,7	100,0

Kazein je najsloženiji protein mlijeka, ali se lako koagulira djelovanjem kiseline ili enzima, pa se tako može izdvojiti od mlijeka u proizvodnji sira ili kazeina.

Proteini sirutke nisu osjetljivi na djelovanje kiseline ili enzima, ali su vrlo osjetljivi na djelovanje topline te mogu denaturirati već pri temperaturi višoj od 60 °C.

Kazein i proteini sirutke razlikuju se po udjelu u mlijeku, po kemijskom sastavu i strukturi, veličini i obliku, funkcionalnim i tehnološkim svojstvima te po hranjivoj i zdravstvenoj vrijednosti.

Energetska vrijednost proteina iznosi 4 kcal/g. Pokazatelji hranjive vrijednosti proteina su biološka vrijednost (BV), omjer djelotvornosti proteina (PER), neto iskorištenje proteina (NPU) i stvarna probavljivost (TD). Hranjiva vrijednost proteina ovisi o količini esencijalnih aminokiselina koje se apsorbiraju nakon probave u organizmu. Biološka vrijednost (BV) i ostali pokazatelji hranjive vrijednosti veći su za proteine sirutke nego za kazein. Hranjiva vrijednost proteina prikazana je tablicom 4.



Tablica 4. Hranjiva vrijednost pojedinih vrsta proteina [3]

Proteini	BV	PER	NPU	TD
Kravlje mlijeko	91	3,1	82	98
Kazein	77	2,9	76	97
Sirutka	100	3,0	84	97
Laktalbumin	104	3,6	92	98

Proteini sirutke oblikuju mekši i disperzniji (rastresit) gruš za razliku od kazeina, također su probavljiviji pa se mogu preporučiti u prehrani mlađe i starije populacije.

Bitno je za istaknuti imunoaktivni sustav proteina, kao što su imunoglobulini (specifična antitijela) i nespecifični (laktoferin, transferin, enzimi laktoperoksidaza i lizozim). Ti sastojci mlijeka utječu na otpornost ljudskog organizma i zaštićuju ga od štetnih bakterija, toksina, virusa, alergijskih reakcija.

### 2.3. Mliječna mast

Najviše je promjenjiv udio mliječne masti u mlijeku koji se kreće od 2,5 pa i do 6,0 %. Mliječna mast utječe na aromu, na ugodan okus mlijeka, konzistenciju i teksturu mliječnih proizvoda. Ona ima najveću energetska vrijednost od 9 kcal/g ili 37 kJ/g i ekonomski je vrlo važna, osobito u proizvodnji vrhnja i maslaca. Mliječna mast se u mlijeku nalazi u obliku globula koje su različitih veličina i puno su veće od ostalih sastojaka mlijeka. Globule masti su vrlo složene strukture, a obavijene su membranom ili adsorpcijskim slojem koja stabilizira mliječnu mast u okolnoj sredini mlijeka (plazma).

Mliječna mast sadržava najviše triacilglicerola uz mali udio diacilglicerola i monoacilglicerola. To su esteri glicerola sa 1, 2 ili 3 masne kiseline, a općenito se navode kao gliceridi ili jednostavni lipidi (C, H, O).

Drugi sastojci mliječne masti nalaze se u vrlo malim koncentracijama, ali su važni pri određivanju senzorskih svojstava i hranjive vrijednosti mlijeka:

- Vitamini topljivi u mastima (uglavnom A, D, E, K)
- Sastojci arome (aldehidi, ketoni, laktoni i drugi)
- Karotenoidni pigmenti (utječu na zlatno žućkastu boju mliječne masti)
- Glikoproteini (genetski produkti unutar sloja membrane masti)

- Proteini iz plazme mlijeka (adsorbirani na površinu membrane masti)
- Endogeni enzimi (ksantin oksidaza, alkalna fosfataza i mnogi drugi)
- Mineralne tvari (potječu od prisutnih enzima i proteina u masti)
- Vezana voda (na hidrofilne sastojke fosfolipida i proteina u masti) [3].

Promjer masnih globula u mlijeku najčešće je od 1 do 5 mikro metara, ali mogu biti prisutne i puno manje i puno veće globule (od 0,1 pa i do 22 mikro metra), dok je prosječni promjer uglavnom 3- 4 mikro metara. U mlijeku s većim udjelom masti obično su i globule masti većeg promjera. U 1 mL mlijeka prosječno se nalazi oko  $15 \times 10^9$  globula masti, a mogu se naći kao pojedinačne, u paru ili u nakupinama [3].

Neposredno nakon mužnje mlijeko je toplo (oko 37 °C) pa se mliječna mast nalazi u tekućem stanju kao emulzija u obliku sitnih kapljica. Nakon hlađenja mlijeka masne se kapljice skrućuju i postaju kuglice, a emulzija postaje suspenzija. Mliječna mast tako istodobno može biti u stanju emulzije ili suspenzije, što ovisi o uvjetima koji utječu na njezino fiziološko stanje, zbog promjenjivog sastava triacilglicerola. U normalnim je uvjetima u mliječnoj masti zastupljeno oko 70 % zasićenih masnih kiselina i 30 % nezasićenih masnih kiselina. Od zasićenih masnih kiselina najviše su zastupljene palmitinska (25,0-29,0 %) i stearinska (7,0-13,0 %), a od nezasićenih masnih kiselina najzastupljenija je oleinska (30,0-40,0 %).

Mliječna mast se spontano izdvaja na površinu nakon duljeg stajanja mlijeka, zato što je gustoća mliječne masti znatno manja ( $0,915-0,930 \text{ g/cm}^3$  od gustoće mlijeka ( $1,028 - 1,034 \text{ g/cm}^3$ ). Mliječna mast će se brže izdvojiti na površinu hladnog mlijeka, jer se kriogeni imunoglobulin (IgM) već na temperaturi nižoj od 15 °C može denaturirati te istaložiti na globule masti, a one se tada povećaju i puno se brže izdvoje na površinu mlijeka. Vrhnje se ne stvara kod mlijeka s više od 37 °C.

Određeni vanjski utjecaji na mlijeko kao svjetlo, temperatura, zrak ili mehanički udari (miješanje, homogenizacija) pogoduju lipolizi i oksidaciji (promjenama u mliječnoj masti). Pod utjecajem enzima lipaze može doći do cijepanja masnih kiselina (lipolize), i to uglavnom triacilglicerola. Oslobođene kratkolančane masne kiseline (pogotovo maslačna) utječu na neugodan okus i miris mlijeka, a to upućuje na lipolitičku užeglost masti.

Pod utjecajem svjetla i zraka može doći do oksidacije nezasićenih masnih kiselina uz nastajanje aldehida i ketona koji se mogu transformirati u metilketone, vrlo neugodna mirisa i okusa.

Oksidativne promjene na lecitinu (glicerofosfatidil kolin) mogu uzrokovati miris i okus po ribi (oslobađa se trimetilamin od kolina koji u daljnjim interakcijama sudjeluje u tvorbi tvari tog okusa i mirisa). Drugi kontakt sa zrakom može dovesti i do polimerizacijemasnih kiselina i nastanka tvari loša okusa i mirisa, te do tamnije boje mliječne masti (vidljivo kod užeglog maslaca, tvrdih sireva i punomasnog mlijeka u prahu) [3].

Mliječna mast je relativno stabilna u usporedbi s ostalim sastojcima sirovog mlijeka. Tome pridonosi veća koncentracija zasičenih masnih kiselina i prirodnog antioksidansa tokoferola (provitamin E vitamina) ili Beta karotena (provitamin A vitamina).

## **2.4. Laktoza**

Laktoza je mliječni šećer prisutan u mlijeku većine sisavaca te u mlijeku žene, ali u različitim količinama. Veći udjel laktoze sadržavaju kobilje mlijeko (oko 6 %) i majčino mlijeko (6-8 %), a kravlje bivolje, ovčje i kozje mlijeko sadržavaju manju količinu laktoze (4,5-4,8 %) [3].

Laktoza je disaharid sastavljen od molekula alfa-D-glukoze i beta-D-galaktoze. Laktoza je lako probavljiva, ali osobe s nedostatkom enzima laktaze (beta-galaktozidaze) teško ju podnose. Laktoza je vrlo podložna promjenama pod utjecajem topline ili nekih mikroorganizama. Jedna od čestih pojava promjena laktoze u mlijeku događa se pod utjecajem visoke toplinske obrade i to je ireverzibilna reakcija neenzimatskog posmeđivanja – Maillardove reakcije. Maillardove reakcije su reakcije između proteina i šećera uz nastajanje aminošećera. Najveće promjene laktoze u mlijeku događaju se pod utjecajem mikroorganizama koji su uzročnici vrenja laktoze. Najčešće su to bakterije mliječne kiseline ili koliformne bakterije, a rjeđe kvasci. Ovisno o uvjetima u kojima se mlijeko nalazi i o vrsti mikroorganizama, mogu se zbivati različite vrste vrenja. Pojedine vrste vrenja laktoze provode se u proizvodnji fermentiranih mlijeka ili sireva pod utjecajem odabranih kultura i u kontroliranim uvjetima, ali sve promjene koje se u sirovom mlijeku odvijaju spontano, a koje uzrokuju mikroorganizmi su nepoželjne i dovode do zakiseljavanja i kvarenja mlijeka.

Mlijeko se mora proizvesti u higijenskim uvjetima i treba spriječiti kontaminaciju i rast mikroorganizama. Važno je da se svježe pomuzeno mlijeko što prije ohladi i što prije preradi u odgovarajući proizvod.

## 2.5. Mineralne tvari i vitamini

U mlijeku je identificirano oko 40 različitih mineralnih tvari. Prema njihovom udjelu ubrajaju se u makroelemente i mikroelemente.

Mikroelemenata je u mlijeku brojčano puno više nego makroelemenata, ali je većina nađenih prisutna samo u tragovima. Njihov je udjel u mlijeku od fiziološke, biokemijske i hranjive važnosti dok im je podrijetlo u prvom redu iz hrane, međutim neki mogu potjecati dijelom iz vode (Br, F), neki od ostataka pesticida (As, Pb), staklenih posuda (Si), metalne opreme, kanti i uređaja (Cu, Fe, Zn, Al) i ne smatraju se prirodnim sastojcima mlijeka.

Makroelementi u mlijeku se nalaze uglavnom u obliku anorganskih ili organskih soli koje su topljive ili netopljive. Manji dio mineralnih tvari nalazi se u sustavu proteina, adsorpcijskom sloju membrane masne globule, enzimima i vitaminima mlijeka. Tablicom 5 prikazan je prosječni sastav glavnih soli u mlijeku.

Tablica 5. Prosječni sastav glavnih soli u mlijeku [3]

Soli	Udjel u mlijeku mg/100 mL	Udjel u topljivom stanju %
Kalcija (Ca)	123	39
Fosfora (P)	95	38
Magnezija (Mg)	12	73
Natrija (Na)	58	<100
Kalija (K)	141	<100
Klora (klorida)	119	100
Sumpora (sulfata)	30	100
Limunske kiseline (citrata)	160	90

Mineralne tvari se u mlijeku nalaze u međusobnom odnosu i obliku koji najbolje odgovara potrebama ljudskog organizma, a od prisutnih mineralnih tvari u mlijeku najvažniji su kalcij i fosfor.

Omjer kalcij/fosfor u mlijeku iznosi 1,2-1,4 : 1 i to je vrlo povoljan omjer jer kalcij iz mlijeka ljudski organizam može dobro iskoristiti. Taj omjer je identičan omjeru kalcij/fosfor u kosturu odrasle osobe. Mlijeko sadržava najviše kalija, i oko tri puta više nego natrija, ali se višak kalija iz organizma lakše izlučuje.

U mlijeku se nalaze svi poznati vitamini, ali mlijeko može biti bogato ili vrlo siromašno pojedinim vitaminima u usporedbi s dnevnim potrebama ljudskog organizma. Količina vitamina

topljivih u masti (A,D,E i K) ovisi o njihovom udjelu u hrani za muzučne životinje te o udjelu prisutne masti u mlijeku. Količina vitamina topljivih u vodi (vitamini B kompleksa i vitamin C) potječe uglavnom od mikroflore buraga koja ih sintetizira. Nešto se vitamina vezuje na specifične proteine u serumu mlijeka. Može se reći da je mlijeko bogato vitaminima B<sub>2</sub> i B<sub>12</sub> jer litra mlijeka može zadovoljiti dnevnu potrebu ljudskog organizma za tim vitaminima, dok su količine drugih vitamina u mlijeku manje ili više nedostatne da bi se zadovoljio preporučeni dnevni unos. Riboflavin (B<sub>2</sub> odgovoran je za žućkasto zelenkastu boju sirutke [3].

Vitamin C (askorbinska kiselina) najviše sadržava svježe pomuzeno mlijeko (oko 20 mg/kg), ali je vrlo termolabilan i osjetljiv na svjetlost. Tablica 6 prikazuje vitamine u mlijeku i njihov preporučeni dnevni unos.

*Tablica 6. Vitamini u mlijeku i preporučeni dnevni unos [3]*

Vitamini	Kemijski naziv	Koncentracija / kg mlijeka	RDI*	Prisutni (u/na)
A	Retinol	0,7-1,3 mg	0,4-1	Mast
B <sub>1</sub>	Tiamin	0,5 mg	0,5-1	Serum
B <sub>2</sub>	Riboflavin	1,8 mg	1-2	Serum
B <sub>3</sub>	Niacin + amidi	8 mg	18	Plazma
B <sub>5</sub>	Pantotenska kiselina	3,5 mg	3-8	Serum
B <sub>6</sub>	Piridoksin	0,5 mg	1-2	Serum
B <sub>7</sub>	Niotin	20-40 μ	100-200	Serum
B <sub>11</sub>	Folna kiselina	50 – 60 μg	200-400	Proteini
B <sub>12</sub>	Kobalamin	4,5 μg	1,5-2,5	Proteini
C	Askorbinska kiselina	10-25 mg	40-70	Serum
D	Kalciferoli	0,1-0,8 μg	2-10	Mast
E	Tokoferoli	1-1,5 mg	5-10	Globule masti

Vitamin A (retinol) utječe na svijetložućkastu boju mlijeka, a u mlijeku se nalazi u obliku vitamina tj. beta karotena (3:1). Ljetno mlijeko je bogatije vitaminom A od zimskog. Otporan je na visoke temperature i oksidaciju, ali UV zrake i dnevna svjetlost kataliziraju oksidativne promjene.

Vitamin A i D se često dodaju u konzumno mlijeko jer su vrlo bitni za ljudski organizam, a posebno je to bitno za obrano mlijeko jer vitamin D pomaže apsorpciju kalcija u organizmu u mineralizaciju kostiju.

Vitamin E i K nalaze se u mlijeku u vrlo malim koncentracijama. Pronađeno je nekoliko spojeva u mlijeku koji imaju aktivnost vitamina E (tokoferoli) i antioksidativno djelovanje, što može spriječiti pojavu užglosti maslaca jer su uglavnom vezani na mliječnu mast. U maslacu se (oko 84 % mliječne masti) tokoferoli nalaze u vrlo značajnoj koncentraciji.

### 3. Fermentirani mliječni proizvodi

#### 3.1. Podjela fermentiranih mlijeka

Razvoj mikrobiologije i tehnologije omogućio je da se vrenje mlijeka provodi pomoću odabranih mikroorganizama čije su nam karakteristike poznate, tako da se u kontroliranim uvjetima mogu proizvoditi fermentirana mlijeka željenih senzorskih svojstava koja su vrlo privlačna potrošačima [3].

Fermentirani mliječni proizvodi mogu se svrstati u više skupina:

- prema vrsti sirovine (različita količina suhe tvari i/ili mliječne masti):
  - Fermentirano mlijeko (kravlje, kozje, ovčje, kobilje ili drugo)
  - Fermentirana stepka (sporedni produkt u proizvodnji maslaca)
- prema vrsti vrenja (i primjenjenoj mikrobnjoj kulturi):
  - Mliječno-kiselno vrenje (bakterije mliječne kiseline i bifidobakterije)
  - Mliječno-kiselno/alkoholno vrenje (bakterije mliječne kiseline/kvasci)
  - Mliječno-kiselno vrenje/naknadno zrenje bijele plijesni (mezofilne bakterije mliječne kiseline/*Geotrichum candidum*)
- prema konzistenciji (uglavnom se odnosi na jogurt):
  - Čvrsti, tekući/viskozni, pitki, zamrznuti, u prahu
- prema dodacima (uglavnom se odnosi na tekuće proizvode):
  - Obični, aromatizirani, voćni, vitaminizirani, desertni, funkcionalni [3].

Tablicom 7 su prikazane glavne vrste fermentiranih mliječnih proizvoda.

Tablica 7. Glavne vrste fermentiranih mliječnih proizvoda i mikroorganizama koji vrše fermentaciju [3]

Fermentirani mliječni proizvodi	Vrste mikroorganizama korištenih kultura
Mezofilne bakterije mliječne kiseline (20-30 stupnjeva Celzija)	
Kiselno mlijeko (1,2,3,4)	1. <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactic</i>
Fermentirana stepka (1,2,3,4)	2. <i>Lactococcus</i> ssp. <i>cremoris</i>
Filmjolk (1,3,4)	3. <i>Lactococcus</i> ssp. <i>lactic</i> biovar. <i>diacetylactis</i>
Taetmjolk (1,2,3,4)	4. <i>Leuconostoc mesenteroides</i> ssp. <i>cremoris</i>
Ymer (2,3)	5. <i>Leuconostoc mesenteroides</i> ssp. <i>dextranicum</i>

Termofilne bakterije mliječne kiseline (37-45 stupnjeva Celzija)	
Tradicionalni jogurt i Koncentrirani jogurt (Labneh, Skyr i dr.)	<i>Streptococcus thermophilus</i> i <i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> (jogurtna kultura)
Fermentirana stepka	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i>
Terapijske bakterije mliječne kiseline i bifidobakterije (37-40 stupnjeva Celzija)	
Acidofil (-no mlijeko) (1) Bifido (mlijeko) (2 ili 3 ili 12) AB kultura (1 i 2 ili 3) Acidofilni jogurt (1, 4, 5) Bifido jogurt (2 ili 12, 4, 5) Bioghurt (1, 4) Biogarde (1, 2, 4) Biokys (1, 2, 6) Yakult (7) b Aktiv (4, 5, 8) Vivis (3, 4, 5) Vitaktiv (1, 4, 5, 9) BRA mlijeko (1, 10, 11) ABT mlijeko (1, 4, 12) SymBalance (1, 9, 10, 13) ProBiotik Fortija (4, 5, 13)	1. <i>Lactonacillus acidophilus</i> 2. <i>Bifidobacterium bifidum</i> 3. <i>Bifidobacterium longum</i> 4. <i>Streptococcus thermophilus</i> 5. <i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> 6. <i>Pediococcus acidilactici</i> 7. <i>Lactobacillus casei</i> soj <i>Shirota</i> 8. <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG 9. <i>Bifidobacterium</i> spp. 10. <i>Lactobacillus reuteri</i> 11. <i>Bifidobacterium infantis</i> 12. <i>Bifidobacterium animalis</i> 13. <i>Lactobacillus casei</i> + <i>inulin</i>
Bakterije mliječne kiseline – kvasci	
Kefir (1) Acidofilin (1, 2, 3) Kumis (3, 4, 5, 6)	1. Kefirna zrnca (bakterije + kvasci) 2. <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactic</i> 3. <i>Lactobacillus acidophilus</i> 4. <i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> 5. <i>Kluyveromyces marxianus</i> var. <i>marxianus</i> 6. <i>Kluyveromyces marxianus</i> var. <i>lactis</i>
Bakterije mliječne kiseline – plijesni	
Viili (samo u Finskoj)	-kao za Filmjolk + <i>Geotrichum candidum</i>

### 3.2. Tehnologija proizvodnje jogurta

Prvi korak u proizvodnji jogurta je odabir i obrada mlijeka. Treba odabrati mlijeko najbolje mikrobiološke kvalitete. Mlijeko ne smije sadržavati inhibitorne tvari – antibiotike, bakteriofage, kemijska sredstva, a niti pesticide koji se nalaze iznad dopuštenih granica. Prema standardnim



propisima mlijeko za fermentirane mliječne proizvode treba sadržavati najmanje 8,5 % suhe tvari bez masti, a kiselost mlijeka ne smije biti niža od pH 6,5.

Ako pristiglo mlijeko u mljekari nije moguće odmah preraditi u proizvod, treba ga termalizirati, baktofugirati ili mikrofiltrirati te ohladiti na 4 °C i tako čuvati do početka procesa proizvodnje [3].

Za svaki se proizvod mlijeko treba standardizirati, a to znači: prilagoditi udio mliječne masti i prilagoditi udio suhe tvari. Prilagodba udjela mliječne masti može se provesti – obiranjem mlijeka, ili miješanjem obranog i punomasnog mlijeka, ili miješanjem obranog mlijeka i vrhnja. Standardizacija suhe tvari mlijeka može se provesti – koncentriranjem mlijeka, dodatkom ultrafiltriranog obranog mlijeka (ili u prahu), dodatkom ultrafiltrirane sirutke (ili u prahu) ili dodatkom obranog mlijeka u prahu (najviše do 3 %). Kako bi se postigla poželjna konzistencija proizvoda, bitno je pronaći optimalnu količinu suhe tvari (oko 15 %) ili udio proteina (oko 5 %).

Nakon standardizacije slijedi homogenizacija mlijeka kojom se usitnjava i jednolično raspoređuje mliječna mast. Kod homogeniziranog mlijeka mliječna mast se ne izdvaja na površinu proizvoda, a također se postiže:

- Povećanje viskoznosti i bolja konzistencija proizvoda
- Poboljšanje teksture gruš
- Puniji okus proizvoda
- Bolja probavljivost.

Homogenizacija mlijeka preporučuje se provoditi pod tlakom 15 – 18 MPa i pri temperaturi oko 65 °C. Može se provoditi prije toplinske obrade ili nakon nje (ovisno o postojećoj liniji), ali bez obzira kada se provodi homogenizirano mlijeko (ili vrhnje) mora biti pasterezirano (ili sterilizirano) kako bi se spriječilo djelovanje lipaza na mliječnu mast [3].

Nakon homogenizacije kreće toplinska obrada mlijeka čiji je osnovni cilj uništenje patogenih mikroorganizama i što većeg broja ostalih mikroorganizama, ali i inaktivacija enzima u mlijeku da bi se osigurala aktivnost uporabljene mikrobne kulture i zbivalo kontrolirano vrenje. Kod proizvodnje jogurta, pasterezacija mlijeka se preporučuje provoditi pri visokoj temperaturi (90 °C do 95 °C / 5 do 10 minuta) ili pri nižoj temperaturi, ali dulje vrijeme (80 °C do 85 °C / 20 do 30 minuta). Nakon toplinske obrade slijedi hlađenje mlijeka na temperaturu pogodnu za inokulaciju.

Inokulacija (nacjepeljivanje) mlijeka provodi se određenim udjelom mikrobne kulture pri temperaturi optimalnoj za rast kulture, uz intenzivno miješanje [3]. Starter kultura za proizvodnju jogurta sastoji se od *S. thermophilus* i *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*. Daljnji proces proizvodnje fermentiranog mlijeka ovisi želi li se proizvesti čvrsti ili tekući jogurt [7].

U proizvodnji tekućeg jogurta inkubacija mlijeka se provodi u spremniku za vrenje i to prije pakiranja u ambalažu, tako da se koagulum koji je oblikovani nakon vrenja tijekom prebacivanja crpkom te tijekom skladištenja i punjenja u ambalažu homogenizira i tako postaje tekući.

Trajanje inkubacije treba kontrolirati i treba znati odabrati povoljan trenutak za prekidom vrenja hlađenjem. Potrebno je zaustaviti daljnje povećanje kiselosti te proizvesti fermentirano mlijeko optimalne senzorske kvalitete. Kod običnog je jogurta pH nakon vrenja i nastanka stabilnog koaguluma oko 4,5. Hlađenje se provodi u pločastim ili cijevnim hladnjacima.

Jogurt se najčešće pakira u plastične čaše ili u kartonsku ambalažu, ali u oba slučaja hermetički u aseptičkim uvjetima [3].

### 3.3. Tehnologija proizvodnje kefir

Kefir je mliječno-kiseli alkoholni napitak podrijetlom s Kavkaza. Izvorno se proizvodio od ovčjeg mlijeka, a kasnije i od kravljeg i kozjeg mlijeka [3].

Slika 2 prikazuje domaća kefirna zrnca.



*Slika 2. Domaća kefirna zrnca (Izvor: vlastita fotografija)*

Kefirna zrnca se koriste za pripremu kulture u proizvodnji kefira. U posljednje vrijeme kultura se proizvodi i od mješavine mikroorganizama koji su utvrđeni u sastavu kefirnih zrnaca. Te kulture, vrlo koncentrirane, pogodne su za izravno naciepljivanje u mlijeko. Kefirna zrnca su elastične, želatinozne granule, promjera 2-15 mm, neizjednačenog oblika, nabrane ili hrapave površine, bijele do svijetložute boje (ovisno uklopi li se i nešto masti iz mlijeka u kojem se razmnožavaju). Nije točno utvrđeno ni kada ni kako su nastala pa ih mnogi autori nazivaju „Božji dar“. Kefirna zrnca sadržavaju mješavinu nekoliko skupina mikroorganizama koji žive u simbiozi.

Uglavnom su to bakterije mliječne kiseline i mliječni kvasci, a u nekim se zrnacima pojavljuju i bakterije octene kiseline (*Acetobacter aceti*) i plijesni (*Geotrichum candidum*). Osnovna mikroflora kefirnih zrnaca uključuje različite vrste:

Bakterije mliječne kiseline:

-*Lactococcus* spp. :

- *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*
- *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*

-*Lactobacillus* spp. :

- *Lactobacillus kefir*
- *Lactobacillus kefiranofaciens*
- *Lactobacillus acidophilus*
- *Lactobacillus casei*

- *Leuconostoc* spp. :

- *Leuconostoc mesenteroides* ssp.

Kvasci:

- *Candida kefyr*
- *Sacharomyces* spp.
- *Torulopsis* spp.
- *Klyveromyces marxianus* var. *marxianus* ili var. *lactis*
- *Torulospora* spp. i drugi [3].

Kultura za kefir pripravlja se od kefirnih zrnaca i koristi se mlijeko koje je pasterizirano pri 95 °C 5 do 10 minuta i homogenizirano. Obradeno se mlijeko hladi na 20 °C do 25 °C i naciepi kefirnim zrnacima (oko 5 %) te inkubira oko 20 sati uz povremeno miješanje svakih 2 do 5 sati. Tijekom inkubacije mlijeka biomasa kefirnih zrnaca se povećava za 5 do 10 % i nakon toga se

zrnca odvoje prosijavanjem, a zaostali se inokulum (bez zrnaca) koristi kao kultura za proizvodnju kefira jer tada sadržava sve glavne vrste mikroorganizama kefirnih zrnaca.

Na isti način se odvija i proizvodnja kefira, ali se još dodaje 3 do 5 % pripravljenog inokuluma (kefirna kultura, bez zrnaca). Nakon 20 sati vrenja mlijeka pri sobnoj temperaturi (18-22 °C) preporučljivo ga je malo ohladiti i ostaviti nekoliko sati da „zrije“. Kada se koagulum stabilizira, kefir se puni u određenu ambalažu, distribuira se na tržište i čuva pri temperaturi od 4 do 7 °C. Takav zreli kefir sadržava od 0,9 do 1,1 % mliječne kiseline i od 0,3 do 1 % etanola, a njegova pH-vrijednost je oko 4,3. Kefir se može inkubirati i dulje (2 do 3 dana), a tada sadržava više alkohola i kiseline, ali i više CO<sub>2</sub>. Stariji kefir sadržava manji udio proteina, a veći udio peptida.

Kefirna zrnca, odvojena od kefirne kulture se prije ponovne upotrebe isperu mlijekom koje je obrano, pasterizirano i ohlađeno. Također, moguće ih je isprati u prokuhanj i ohlađenoj vodi. Kefirna zrnca se mogu čuvati u steriliziranoj vodi pri temperaturi hladnjaka, ali tada je potrebno višestupanjsko precjepljivanje u mlijeku kako bi se zrnca ponovno aktivirala [3].

### **3.4. Razlike u proizvodnji kefira - kefirno zrno i starter kultura**

Kefir je prirodni probiotik. Probiotici su hrana koja sadrži žive bakterije i korisne su za zdravlje. Kefir se može napraviti od bilo koje vrste mlijeka. Mlijeko za proizvodnju kefira može biti: pasterizirano, nepasterizirano, obrano ili punomasno [8].

#### **3.4.1. Tradicionalna metoda proizvodnje kefira – kefirno zrno**

U tradicionalnoj se proizvodnji kefirna zrnca dodaju direktno u mlijeko. Sirovo mlijeko se prokuha i ohladi na 20 do 25 °C i inokulira sa oko 5 % kefirnih zrnaca. Nakon perioda fermentacije 18 do 24 sata, kefir se procijedi, a kefirna zrnca operemo vodom i spremna su za sljedeću inokulaciju. Kefir se čuva u hladnjaku na temperaturi od 4°C [8].

#### **3.4.2. Industrijska proizvodnja kefira – starter kultura**

U industrijsko proizvodnji kefira mogu se koristiti različite metode na istom principu. Prvi korak je homogenizacija mlijeka, zatim se mlijeko zagrijava na 90–95 °C i zadržava na toj temperaturi 5-10 minuta. Nakon toga se mlijeko hladi na 18-24 °C i inokulira sa 2-8 % kefirnih kultura (bakterijske starter kulture). Vrijeme fermentacije od 18 do 24 sata na 18–24 °C. Odvaja se koagulirana faza i puni boce. Nakon sazrijevanja na 12-14 °C ili 3-10 °C tijekom 24 sata, kefir se čuva na 4 °C [8].

### 3.5. Usporedba nutritivnog sastava kefira i jogurta

Sastav kefira je promjenjiv i nije dobro definiran. On ovisi o sastavu mlijeka iz kojeg se proizvodi, ovisi o sastavu kefirnih zrnaca ili kefirnoj kulturi te o procesu proizvodnje. Najvažniji produkti tijekom fermentacije kefira su: mliječna kiselina (0,9-1,1 %), CO<sub>2</sub> i etilni alkohol (0,5-1 %). Aromatske supstance prisutne u kefiru su acetaldehid i diacetil. Mikrobiološki sastav kefirnog zrnca vrlo je promjenjiv, a može sadržavati *Lactobacillus lactis* ssp. *lactis* i *Lactobacillus lactis* ssp. *cremoris*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus kefir*, *Lactobacillus kefiranofaciens*, *Lactobacillus casei*, *Candida kefir*, *Kluyveromyces marxianus* var. *marxianus* i *Saccharomyces* vrste uključujući *Saccharomyces cerevisiae*. Kod proizvodnje jogurta starter kultura za proizvodnju se sastoji od *S. thermophilus* i *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* i on ne sadrži kvasce u svom nutritivnom sastavu, dok ih kefir sadrži. Razlika je i u etilnom alkoholu, te CO<sub>2</sub> koji sadrži kefir [9].

### 3.6. Utjecaj fermentiranih mliječnih proizvoda na zdravlje

Prehrambena vrijednost fermentiranih mlijeka ovisi o sastavu sirovine upotrijebljene za njihovu proizvodnju, ali i o promjenama koje nastaju tijekom procesa proizvodnje. Nastale promjene i stvoreni metaboliti vrenja ovise o sastavu korištene mikrobne kulture.

Laktoza se u mlijeku tijekom vrenja smanjuje 20-30 %, a nastaje mliječna kiselina ili druge, ovisno o vrsti mikrobne kulture. Nakon vrenja laktoze nastala mliječna kiselina potiče peristaltiku crijeva, sekreciju sluzi i korisnih enzima te udvostručuje resorpciju kalcija, fosfora i ostalih hranjivih tvari. Mliječna kiselina također produljuje trajnost proizvoda, a konzumiranjem fermentiranog mlijeka snižava se pH-vrijednost probavnog sustava i sprječava rast nepoželjne mikroflore te potiče rast poželjne. Zbog smanjenog udjela laktoze, fermentirani mliječni napici važni su u prehrani ljudi koji ju teško probavljaju (nedostatak Beta-galaktozidaze) [3].

Proteini mlijeka se djelomično razgrađuju do aminokiselina i tako postaju lakše probavljivi, jer je struktura koaguluma proteina u fermentiranom mlijeku lakše pristupačna djelovanju enzima ljudskoga probavnog sustava. Toplinska obrada i homogenizacija mlijeka pridonose nastanku rastresitoga mekog koaguluma, te su zbog toga fermentirani mliječni proizvodi i dvaput probavljiviji od izvornoga svježeg mlijeka. Takvi su proizvodi vrlo važni u prehrani male djece i starijih osoba.

Smatra se da fermentirani proizvod mora sadržavati minimalno 10<sup>6</sup> živih stanica/mL da bi imao terapijska svojstva. Posebna je prednost prebiotičkih bakterija što dobro preživljavaju u ljudskom probavnom sustavu, povećavaju aktivnost enzima važnih za probavu, a smanjuju aktivnost fekalnih enzima i onih koji sudjeluju u kancerogenim procesima. Konzumiranjem proizvoda

odabrani sojevi probiotičkih bakterija, osobito uz prebiotike (sinbiotik), mogu obnoviti ili uspostaviti cjelovitu crijevnu mikrofloru koja je često oštećena ili poremećena zbog ubrzanog ritma života, stresa ili nakon infektivnih bolesti, kemoterapije i sl. Tada postaje vrlo važna uloga unosa živih probiotičkih bakterija koje stimuliraju imunološki sustav ljudskog organizma. Bitno je istaknuti, ako se dulje vrijeme u ljudski organizam unosi dovoljno veliki broj bakterija mliječne kiseline ili bifidobakterija (oko  $10^9$  CFU/dnevno), izoliranih iz probavnog sustava može se očekivati povoljan učinak na zdravlje (iznad granica normalne prehrane). U svakom slučaju, fermentirano mlijeko ima puno veću hranjivu i zdravstvenu vrijednost od svježeg mlijeka, a mogu se sažeti njegove glavne prednosti:

- Lakše je probavljivo od svježeg mlijeka
- Održava ravnotežu crijevne mikroflore
- Inhibira rast štetne mikroflore
- Poboljšava toleranciju laktoze
- Posjeduje mnoga terapijska svojstva [3].

## **4. Materijali i metode**

### **4.1. Određivanje kiselosti**

Analiza pH vrijednosti i titracijske kiselost ( $^{\circ}\text{SH}$ ) provedena je u sva četiri uzorka fermentiranog mlijeka: jogurta, probiotičkog jogurta, kefiru te domaćeg kefiru. Osim toga, određen je udjel mliječne kiseline te ugljične kiseline.

#### **4.1.1. Određivanje kiselosti fermentiranih mliječnih napitaka pH-metrom**

Parametar pH vrijednost predstavlja negativni logaritam koncentracije vodikovih iona u otopini te je mjerilo za aktivnu kiselost svježeg mlijeka. Koncentracija vodikovih iona najčešće se mjeri pH-metrom ili titracijskim metodama [10].

Elektroda pH-metra (WTW pH3110, Njemačka) prvo je isprana destiliranom vodom i posušena staničevinom. Prije početka provođenja analize provedena je kalibracija elektrode pH metra prema uputama proizvođača. Elektroda je potom lagano uronjena u čašu s mlijekom ili fermentiranim mliječnim napitkom te je nakon što se ustalila, očitana pH vrijednost. Zatim je elektroda dobro isprana destiliranom vodom, posušena staničevinom te uronjena u otopinu KCl-a do sljedeće upotrebe.

#### **4.1.2. Određivanje kiselosti titracijskom metodom po Soxhlet-Henkeli**

Određivanje titracijske kiselosti definira se kao mjerenje puferske sposobnosti mlijeka. Naime, svježe mlijeko zahvaljujući  $\text{CO}_2$ , proteinima, fosfatima i citratima djeluje kao puffer čemu pridonose i laktati i ostali organski anioni proizvedeni djelovanjem mikroorganizama. Određivanjem titracijske kiselosti mlijeka mjeri se tzv. latentna kiselost koja potječe od trenutno nedisociranih kiselih sastojaka s velikim puferskim kapacitetom [11].

Titracijska kiselost određuje se titracijom mlijeka s otopinom NaOH određenog molariteta uz indikator fenolftalein. Metoda po Soxhlet-Henkeli u Republici Hrvatskoj predstavlja referentnu titracijsku metodu za određivanje stupnja kiselosti mlijeka i mliječnih proizvoda. Rezultati se izražavaju u stupnjevima po Soxhlet-Henkeli ( $^{\circ}\text{SH}$ ).

Odvaga (20 g) fermentiranog napitka pipetom je prenesena u dvije Erlenmeyerove tikvice i razrijeđena s 20 mL destilirane vode. Prva tikvica je služila kao standardna boja do koje se mora

titrirati analizirani uzorak, a pripremljena je tako da je u nju otpipetirano 0,4 mL 5 %-tne otopine kobaltova sulfata. U drugu Erlenmeyerovu tikvicu otpipetirano je 2 mL otopine fenolftaleina, a zatim titrirano s 0,1 M NaOH. Volumen utrošen za titraciju je očitao kad je postignuta boja otopine jednake onoj u prvoj tikvici.

Titracijska kiselost izračunata je prema izrazu:

$$[a \times 2 \times f = \text{°SH}] \quad (1)$$

gdje je:

a - 0,1 M NaOH mL utrošenih za neutralizaciju 20 mL mlijeka

f - faktor otopine natrijeve lužine (NaOH) 0,1 M = 1 [12]

## 4.2. Određivanje udjela mliječne kiseline

Mliječna se kiselina određuje po postupku predviđenom za određivanje kiselosti u kiselom mlijeku i jogurtu. Izračunavanje:

$$[\% \text{ mliječne kiseline} = V \times f \times a \times 10] \quad (2)$$

V – utrošak lužine u mL

f – faktor molariteta lužine

a – faktor za preračunavanje mliječne kiseline 0,009

## 4.3. Određivanje ugljične kiseline (CO<sub>2</sub>) u kefiru

Slobodna ugljična kiselina određuje se titracijom sa 0,1 mol/L NaOH uz dodatak fenolftaleina (do pH = 8,4) kao indikatora.

Pribor i reagensi isti su kao i za određivanje kiselosti kiselog mlijeka i jogurta, odnosno mlaćenice ali je potreban i 10%-tni (g/vol) NaOH.

U Erlenmeyerovu tikvicu se otpipetira 10 mL fermentiranog mlijeka. Upotrijebljena pipeta se ispere sa 20 mL destilirane vode. Dodati 1 mL 2%-tne otopine fenolftaleina i titrira sa 0,1 mol/L NaOH do pojave ružičaste boje.

$$[\text{ugljična kiselina (mg/L)} = V1 \times f \times 2,2 / V2] \quad (3)$$

V1 – utrošak lužine (mL)



V2 – količina uzorka (10 mL)

F - faktor molariteta lužine

2,2 – ekvivalent za CO<sub>2</sub>, znači: 1 mL lužine odgovara 2,2 g CO<sub>2</sub>

#### 4.4. Reologija fermentiranog mlijeka

Reologija se bavi proučavanjem deformacija i protjecanja krutih i tekućih tvari podvrgnutih djelovanju sile. U prehrambenoj industriji reologija ima veliki značaj jer definira i opisuje teksturalna svojstva prehrambenih proizvoda. Za određivanje teksture fermentiranih mliječnih napitaka potrebne su složene analize različitih svojstava kao što su čvrstoća, stabilnost i viskoznost gela te intenzitet sinereze. Navedeni parametri razlikuju se ovisno o sastavu mlijeka, strukturi proteina, udjelu masti i stabilnosti emulzije masti u mlijeku, koncentraciji fosfatnih i kalcijevih iona u mlijeku, vrsti starter kulture korištene za fermentaciju, uvjetima fermentacije, uvjetima čuvanja i dr. [13].

Viskoznost svih fermentiranih mlijeka pa tako i jogurta, kompleksan je reološki parametar kvalitete koji predstavlja osnovu za optimiranje tehnološkog procesa, procesnu kontrolu i potrošačku prihvatljivost proizvoda. Na vrijednost viskoznosti jogurta utječu sastav mlijeka od kojeg se jogurt priprema, način standardizacije mlijeka, toplinska obrada mlijeka, vrsta mikrobne kulture koja se koristi za fermentaciju mlijeka, količina inokuluma, temperatura i trajanje fermentacije. Također, na viskoznost mogu utjecati i dodaci koji se koriste kod proizvodnje jogurta. Utjecaj dodataka može biti pozitivan i negativan, ovisno o vrsti i količini koje se koriste [14].

Viskoznost je svojstvo tekućine da se opire promjeni položaja svojih molekula, odnosno trenje koje djeluje unutar tekućine kao otpor tečenju. Deformacija izazvana djelovanjem sile može se izraziti kao gradijent brzine između dviju ploha, a izraz koji to opisuje je poznat kao Newtonov zakon:

$$[\tau = \mu * \gamma] \quad (4)$$

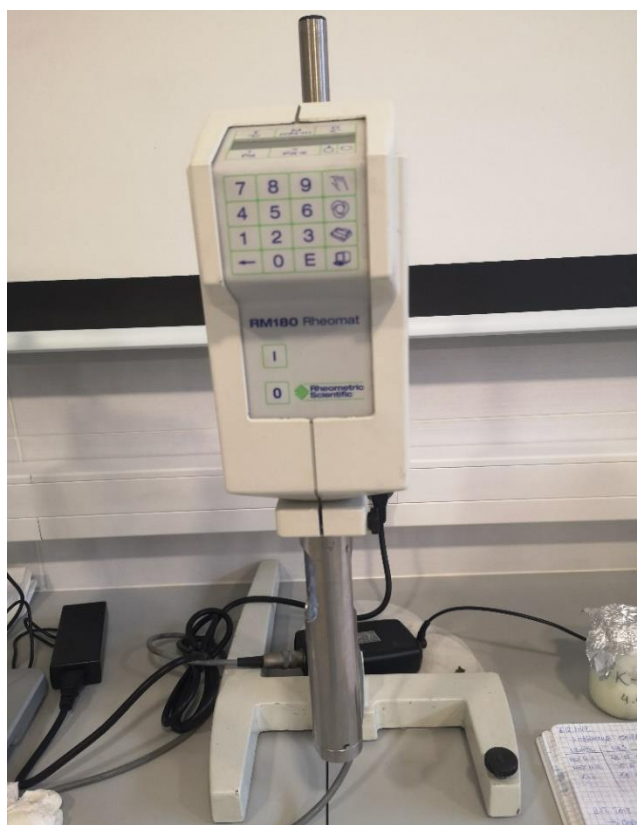
gdje je:

$\tau$  = smično naprezanje (Pa)

$\mu$  = viskoznost (Pa s)

$\gamma$  = brzina smicanja (1 s<sup>-1</sup>) [15].

Viskoznost jogurta mjerena je na rotacijskom reometru (Rheometric Scientific RM-180, Rheometric, Inc., Piscataway, SAD) (slika 3) koji se sastoji od cilindričnog vretena (br. 1  $\phi$  30 mm,  $l = 45$  mm) i vanjskog plašta (br. 1,  $\phi$  32,54 mm). U vanjski plašt stavljeno je 32 mL uzorka. Cilindrično vreteno s vanjskim plaštom se pričvrstilo za tijelo uređaja kako bi vreteno tijekom rotacije bilo konstantno uronjeno u uzorak. Za mjerenje obrnutog momenta koji se javlja na rotirajućem vretenu korišteno je relativno obrtanje mjerne osovine u odnosu na pogonsku osovinu. Uređaj potencijometar vezan je na dinometar i prima podatke o relativnom obrtanju, pri čemu se obrtni moment pretvara u električni signal koji se prevodi u digitalnu vrijednost koja je očitana sa zaslona uređaja. Mjerenje viskoznosti provedeno je u području brzine smicanja od 100 do 1290 s<sup>-1</sup>. Slika 3 prikazuje rotacijski reometar.



Slika 3. Rotacijski reometar (Izvor: vlastita fotografija)

#### 4.5. Određivanje mliječne masti butirometrijskom metodom po Gerberu

##### **Pribor i reagensi:**

1. vodena kupka,
2. butirometar za mlijeko

3. centrifuga po Gerberu,
4. kapaljka od 1,10 ili 11mL (posebno napravljena za određivanje postotka masti u mlijeku Gerberovim postupkom),
5. kapaljka od 10 mL,
6. Erlenmajerova posuda od 250 mL,
7. menzura od 100 mL
8. sulfatna kiselina D<sup>20</sup> 1,520 – 1,825 g/mL,
9. amilalkohol D<sup>20</sup> 0,811, g/mL s vrelištem 128 °C do 130 °C ( provjeren slijepim pokusom),
10. 10%-tni amonijak.

### **Postupak**

U Erlenmayerovu posudu menzurom se odmjeri 90 mL kiselog mlijeka, odnosno jogurta, mlaćenice ili kefira, doda 10 mL 10%-tnog amonijaka i promiješa. Nakon toga se u butirometar za mlijeko nalije 10 mL sulfatne kiseline, oprezno doda 11 mL kiselog mlijeka, mlaćenice ili kefira, odnosno jogurta (razrijeđenog s amonijakom) i 1 mL amilalkohola. Daljnji je postupak isti kao za određivanje sadržaja masti u mlijeku.

Formula za izračunavanje sadržaja masti glasi:

$$\mathbf{m = a + 10\% a} \qquad \mathbf{(5)}$$

gdje je:

m = sadržaj masti

a = pročitani postotak masti u butirometru [12].

## 5. Rezultati i rasprava

Uzorci kojima je određivana pH vrijednost su domaći kefir, kefir, probiotički jogurt i jogurt. Tablicom 8 su prikazane pH vrijednosti uzoraka. Svi ispitivani uzorci su bili isti dan proizvedeni. Kao što se iz rezultata može vidjeti domaći kefir koji je bio proizveden iz kefirnog zrna je imao najnižu pH vrijednost, slijedi tekući jogurt, kefir, a najveću pH vrijednost je imao probiotički jogurt. Razlog najvećoj pH vrijednosti probiotičkog jogurta je što probiotičke bakterije prilikom svoga rasta i razmnožavanja stvaraju nešto manje kiseline u odnosu na termofilnu jogurtnu kulturu i na kefirna zrnca.

Tablica 8. pH vrijednost uzoraka

Uzorak	pH
Probiotički jogurt	4,52
Kefir	4,31
Tekući jogurt	4,18
Domaći kefir	4,13

Kiselost mlijeka može se mjeriti ili određivanjem pH mlijeka ili titracijom s lužinom. Osnovna razlika između ove dvije metode određivanja kiselosti je u tome, što prilikom mjerenja pH mjerimo aktivnu kiselost odnosno mjerimo koncentraciju vodikovih iona prisutnih u mlijeku, a nastalih uslijed disocijacije sastojaka mlijeka, dok prilikom određivanja titracijske kiselosti mjerimo i latentnu kiselost koja potiče od momentalno nedisociranih kiselih sastojaka, a koji imaju veliki puferski kapacitet. Zbog toga, mlijeko s povećanim suhim bezmasnim ostatkom može imati povećanu titracijsku kiselost mada njegova aktivna kiselost ne mora biti povećana. Ovakvo mlijeko je u tehnološkom pogledu sasvim ispravno i ono će za preradu u neke proizvode biti i pogodnije zbog povećanog sadržaja suhe tvari. Postoji više metoda za određivanje kiselosti mlijeka titracijom, ali svima je zajedničko da koriste natrijev hidroksid (NaOH), uz dodatak fenolftaleina, kao indikatora, i da titraciju vrše do pojave blijedo crvenkaste boje. Sveže, normalno mlijeko, ima titracijsku kiselost između 6,0 - 7,5 °SH [12].

Tablicom 9 je prikazana titracijska kiselost uzoraka. Kiselost fermentiranih mlijeka određena je titracijskom metodom po Soxhlet-Henkelu i iz prikazanih rezultata se može vidjeti da najvišu titracijsku kiselost ima tekući jogurt, dok najnižu vrijednost titracijske kiselosti ima probiotički jogurt.

Tablica 9. °SH vrijednosti uzorka

Uzorak	°SH
Probiotički jogurt	49,8
Kefir	53,6
Tekući jogurt	62,8
Domaći kefir	57,2

Tablicom 10 prikazan je sadržaj mliječne kiseline u uzorcima. Tijekom fermentacije mlijeka stvaraju se organske kiseline koje djeluju inhibicijski na rast i razmnožavanje mikroorganizama. Bakterije mliječne kiseline fermentiraju ugljikohidrate uz stvaranje mliječne kiseline. Najviše mliječne kiseline ima uzorak domaćeg kefira, a razlog tome je što kefirna zrnca prilikom svoga rasta i razmnožavanja stvaraju nešto više kiseline u odnosu na termofilnu jogurtnu kulturu te na probiotičke bakterije, te zbog razlike u tehnologiji proizvodnje [16].

Tablica 10. Sadržaj mliječne kiseline u uzorcima

Uzorak	Mliječna kiselina (g)
Probiotički jogurt	0,56
Kefir	0,6
Tekući jogurt	0,64
Domaći kefir	0,71

Kefir i domaći kefir sadrže ugljičnu kiselinu, jer osim što je fermentiran bakterijama, fermentaciju provode i kvasci. Alkoholnom fermentacijom (kvasci) se stvara mala količina etanola i CO<sub>2</sub> [17]. Tablicom 11 je prikazan sadržaj ugljične kiseline u uzorcima kefira i domaćeg kefira. Domaći kefir sadrži nešto više ugljične kiseline zbog dulje fermentacije, a to je slučaj zbog razlike u tehnologiji proizvodnje (kefirno zrno za domaći kefir, kefirna starter kultura za komercijalni).

Tablica 11. Sadržaj ugljične kiseline u uzorcima kefira i domaćeg kefira

Uzorak	Ugljična kiselina (CO <sub>2</sub> ) (mg/L)
Kefir	2,38
Domaći kefir	2,75

Udio mliječne masti je veoma promjenjiv u mlijeku i se kreće od 2,5 pa i do 6,0 %. Kod proizvodnje fermentiranih mlijeka radi se standardizacija mliječne masti. Fermentirani mliječni proizvodi se proizvode od punomasnog ili obranog mlijeka. Tablica 12 prikazuje postotak mliječne masti u uzorcima. Najveći udio mliječne masti ima kefir, dok najmanji udio mliječne masti ima probiotički jogurt za čiju se proizvodnju koristilo obrano mlijeko. Domaći kefir je proizveden od mlijeka sa 2,5 % mliječne masti.

*Tablica 12. Postotak mliječne masti u uzorcima*

Uzorak	Mliječna mast %
Probiotički jogurt	1,5
Kefir	3,5
Tekući jogurt	2,8
Domaći kefir	2,7

## **5.1. Reološka svojstva uzorka**

Nastala promjena oblika (deformacija) odnosno svojstva tečenja određuju reološka svojstva ispitivanog uzorka. Reologija ima veliki značaj u prehrambenoj tehnologiji, jer definira i opisuje teksturalna svojstva (čvrstoću, stabilnost, viskoznost gela). Na vrijednosti ovih parametara značajno utječu: sastav mlijeka, struktura proteinskog kompleksa, udio masti i stabilnost emulzije mliječne masti u mlijeku, način standardizacije mlijeka, režim fermentacije, vrsta starter kultura. Do promjena u teksturi fermentiranih mliječnih napitaka dolazi i tijekom skladištenja proizvoda, a poželjno je da te promjene budu što manje izražene [18].

Reološka svojstva uzorka su određena reometrom. Reometar određuje napon smicanja te prividnu viskoznost pri brzinama od 100, 270, 440, 610, 780, 950, 1120 i 1290. Temperatura uzorka je oko 20°C. Brzine reometar određuje sam.

### **5.1.1. Proračun viskoznosti uzorka probiotičkog jogurta**

Tablica 13 prikazuje reološke vrijednosti probiotičkog jogurta. Mjerenje je vršeno u rasponu brzina smicanja od 100 - 1290 s<sup>-1</sup>. Reometrom je određen napon smicanja i prividna viskoznost

pri različitim brzinama smicanja. U tablici možemo vidjeti kako prividna viskoznost uzorka probiotičkog jogurta pada kako raste brzina smicanja.

*Tablica 13. Reološki parametri probiotičkog jogurta*

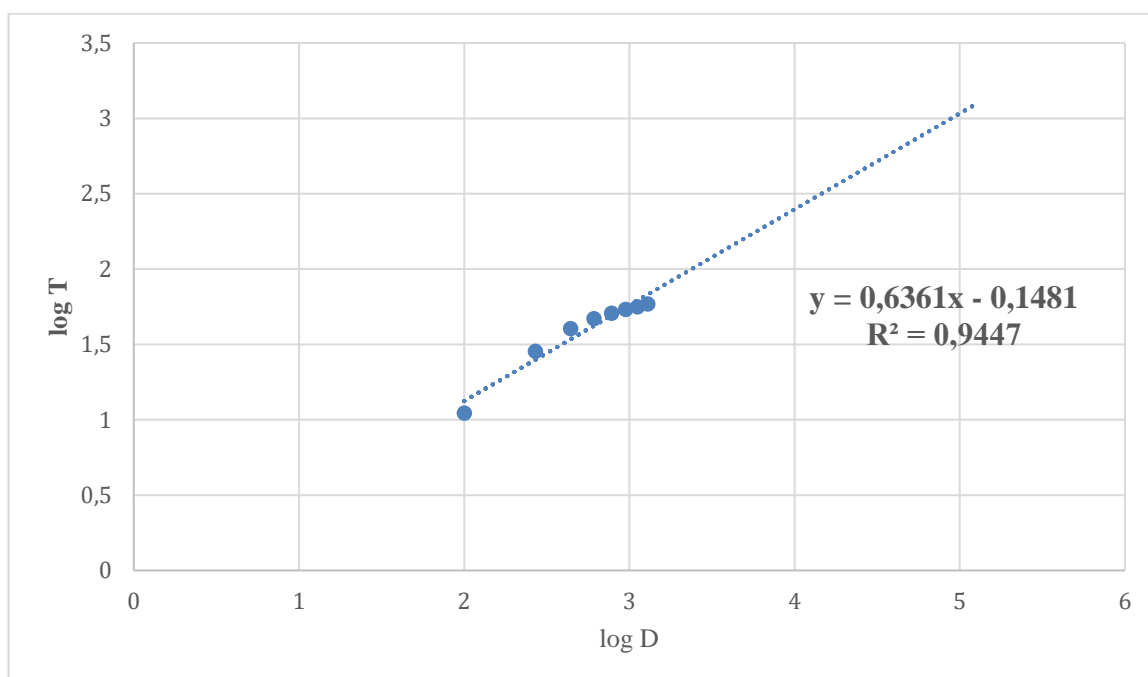
<b>Brzina, D</b>	<b>Napon smicanja, T</b>	<b>Prividna viskoznost, Pas</b>
100	11,1	0,111
270	28,5	0,105
440	40,4	0,092
610	46,9	0,077
780	51,0	0,065
950	54,2	0,057
1120	56,3	0,050
1290	58,7	0,046

Tablicom 14 su određene logaritamske vrijednosti brzine i napona smicanja uzorka probiotičkog jogurta.

*Tablica 14. Logaritamske vrijednosti brzine i napona smicanja probiotičkog jogurta*

D- brzina	log D	log T	T- napon smicanja
100	2,000000	1,045323	11,1
270	2,431364	1,454845	28,5
440	2,643453	1,606381	40,4
610	2,785330	1,671173	46,9
780	2,892095	1,707570	51,0
950	2,977724	1,733999	54,2
1120	3,049218	1,750508	56,3
1290	3,110590	1,768638	58,7

Slika 4 prikazuje odnos između logaritamske brzine i napona smicanja uzorka probiotičkog jogurta.



Slika 4. Odnos između log brzine i napona smicanja uzorka probiotičkog jogurta

Tablicom 15 su prikazani rezultati linearne regresije uzorka probiotičkog jogurta. Indeks tečenja je broj uz x u dobivenoj jednadžbi te iznosi 0,6361, a koeficijent konzistencije je antilog drugog člana jednadžbe te je za probiotički jogurt iznosio 1,4064 mPas.  $R^2$  je koeficijent regresije te predstavlja točnost metode te je ovom linearnom regresijom bio 94,47 % što je izrazito visok postotak točnosti. Prividna viskoznost probiotičkog jogurta pri brzini od 1290 okretaja u minuti je iznosila 46 mPas.

Tablica 15. Završna tablica uzorka probiotičkog jogurta

Prividna viskoznost/ mPas	Koeficijent konzistencije/mPas	Indeks tečenja, n	Koeficijent regresije, $R^2$
46	1,4064	0,6361	0,9447

### 5.1.2. Proračun viskoznosti uzorka kefira

Tablica 16 prikazuje vrijednosti uzorka kefira dobivene reometrom. Mjerenje je vršeno u rasponu brzina smicanja od 100-1290  $s^{-1}$ . Reometrom je određen napon smicanja i prividna viskoznost pri različitim brzinama smicanja. U tablici možemo vidjeti kako prividna viskoznost uzorka kefira pada kako raste brzina smicanja.



Tablica 16. Vrijednosti uzorka kefiru dobivene reometrom

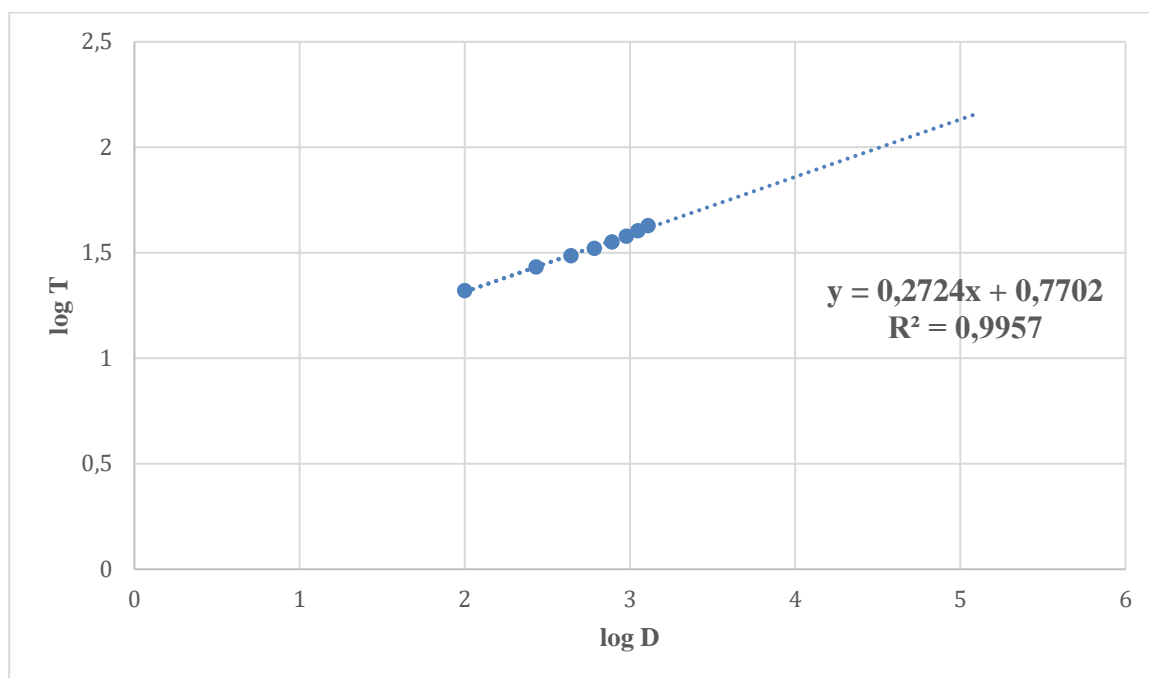
<b>Brzina, D</b>	<b>Napon smicanja, T</b>	<b>Prividna viskoznost, Pas</b>
100	20,9	0,209
270	27,1	0,101
440	30,6	0,070
610	33,2	0,054
780	35,6	0,046
950	37,9	0,040
1120	40,2	0,036
1290	42,6	0,033

Tablicom 17 su određene logaritamske vrijednosti brzine i napona smicanja uzorka kefiru.

Tablica 17. Logaritamske vrijednosti brzine i napona smicanja uzorka kefiru

D- brzina	log D	log T	T- napon smicanja
100	2,000000	1,320146	20,9
270	2,431364	1,432969	27,1
440	2,643453	1,485721	30,6
610	2,785330	1,521138	33,2
780	2,892095	1,551449	35,6
950	2,977724	1,578639	37,9
1120	3,049218	1,604226	40,2
1290	3,110590	1,629409	42,6

Slika 5 prikazuje odnos između logaritamske brzine i napona smicanja uzorka kefira.



Slika 5. Odnos između log brzine i napona smicanja uzorka kefira

Tablicom 18 su prikazani rezultati linearne regresije uzorka kefira. Indeks tečenja je broj uz x u dobivenoj jednadžbi te iznosi 0,2724, a koeficijent konzistencije je antilog drugog člana jednadžbe te je za kefir iznosio 5,8911 mPas.  $R^2$  je koeficijent regresije te predstavlja točnost metode te je ovom linearnom regresijom bio 99,57 % što je izrazito visok postotak točnosti. Prividna viskoznost kefira pri brzini od 1290 okretaja u minuti je iznosila 33 mPas.

Tablica 18. Završna tablica uzorka kefira

Prividna viskoznost/ mPas	Koeficijent konzistencije/mPas	Indeks tečenja, n	Koeficijent regresije, $R^2$
33	5,8911	0,2724	0,9957

### 5.1.3. Proračun viskoznosti uzorka domaćeg kefira

Tablica 19 prikazuje vrijednosti uzorka domaćeg kefira dobivene reometrom. Mjerenje je vršeno u rasponu brzina smicanja od 100-1290  $s^{-1}$ . Reometrom je određen napon smicanja i prividna viskoznost pri različitim brzinama smicanja. U tablici 19 možemo vidjeti kako prividna viskoznost uzorka domaćeg kefira pada kako raste brzina smicanja.

Tablica 19. Logaritamske vrijednosti brzine i napona smicanja domaćeg kefira

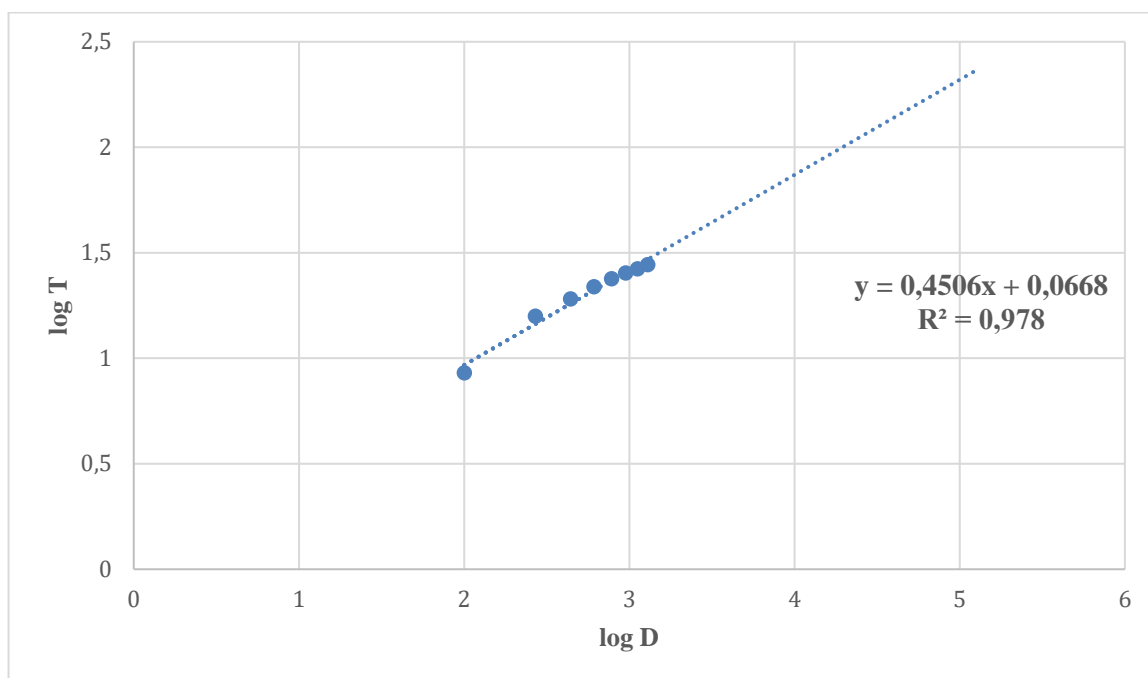
<b>Brzina, D</b>	<b>Napon smicanja, T</b>	<b>Prividna viskoznost, Pas</b>
100	8,54	0,085
270	15,8	0,058
440	19,1	0,043
610	21,8	0,036
780	23,8	0,031
950	25,4	0,027
1120	26,5	0,024
1290	27,8	0,022

Tablicom 20 su određene logaritamske vrijednosti brzine i napona smicanja uzorka domaćeg kefira.

Tablica 20. Logaritamske vrijednosti brzine i napona smicanja uzorka domaćeg kefira

D- brzina	log D	log T	T- napon smicanja
100	2,000000	0,931457	8,54
270	2,431364	1,198657	15,8
440	2,643453	1,281033	19,1
610	2,785330	1,338456	21,8
780	2,892095	1,376576	23,8
950	2,977724	1,404833	25,4
1120	3,049218	1,423224	26,5
1290	3,110590	1,444044	27,8

Slika 6 prikazuje odnos između logaritamske brzine i napona smicanja uzorka domaćeg kefir.



Slika 6. Odnos između log brzine i napona smicanja uzorka domaćeg kefir

Tablicom 21 su prikazani rezultati linearne regresije uzorka domaćeg kefir. Indeks tečenja je broj uz x u dobivenoj jednadžbi te iznosi 0,4506, a koeficijent konzistencije je antilog drugog člana jednadžbe te je za domaći kefir iznosio 1,1663 mPas.  $R^2$  je koeficijent regresije te predstavlja točnost metode te je ovom linearnom regresijom bio 97,8 % što je izrazito visok postotak točnosti. Prividna viskoznost domaćeg kefir pri brzini od 1290 okretaja u minuti je iznosila 22 mPas.

Tablica 21. Završna tablica uzorka domaćeg kefir

Prividna viskoznost/ mPas	Koeficijent konzistencije/mPas	Indeks tečenja, n	Koeficijent regresije, $R^2$
22	1,1663	0,4506	0,978

#### 5.1.4. Proračun viskoznosti tekućeg jogurta

Tablica 22 prikazuje vrijednosti uzorka tekućeg jogurta dobivene reometrom. Mjerenje je vršeno u rasponu brzina smicanja od 100-1290  $s^{-1}$ . Reometrom je određen napon smicanja i prividna viskoznost pri različitim brzinama smicanja. U tablici možemo vidjeti kako prividna viskoznost uzorka tekućeg jogurta pada kako raste brzina smicanja.

Tablica 22. Logaritamske vrijednosti brzine i napona smicanja uzorka tekućeg jogurta

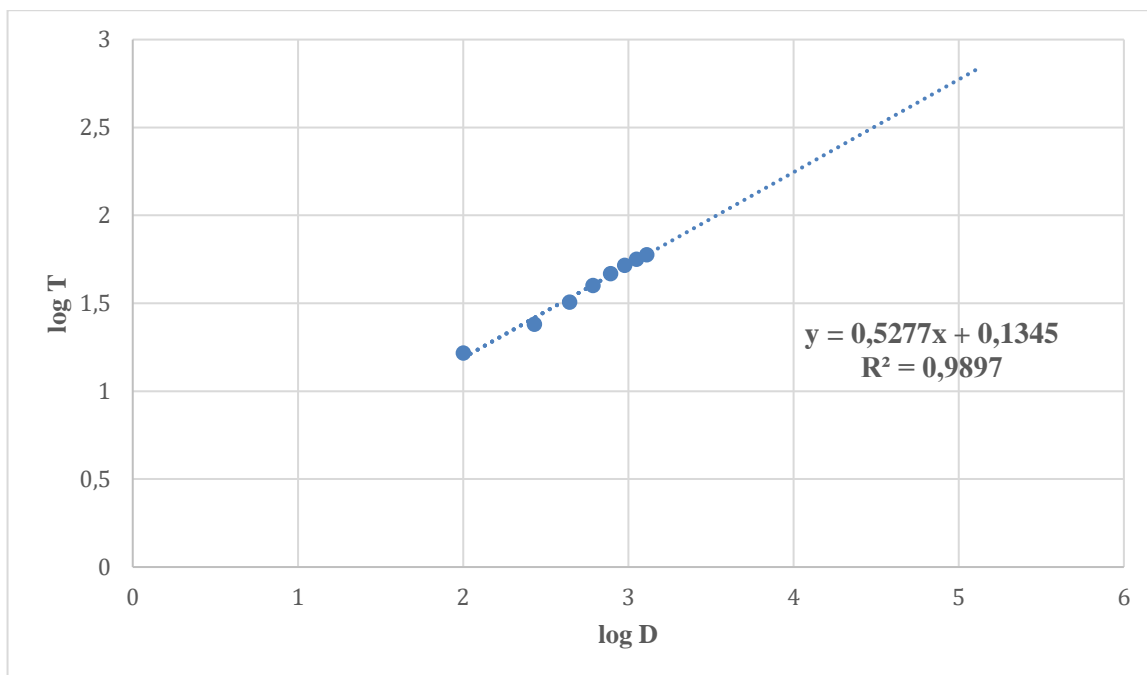
<b>Brzina, D</b>	<b>Napon smicanja, T</b>	<b>Prividna viskoznost, Pas</b>
100	16,5	0,165
270	24,1	0,098
440	32,2	0,073
610	40,0	0,066
780	46,8	0,060
950	52,2	0,055
1120	56,5	0,050
1290	59,9	0,046

Tablicom 23 su određene logaritamske vrijednosti brzine i napona smicanja uzorka tekućeg jogurta.

Tablica 23. Logaritamske vrijednosti brzine i napona smicanja uzorka tekućeg jogurta

D- brzina	log D	log T	T- napon smicanja
100	2,000000	1,217483	16,5
270	2,431364	1,382017	24,1
440	2,643453	1,507855	32,2
610	2,785330	1,602059	40,0
780	2,892095	1,670245	46,8
950	2,977724	1,717670	52,2
1120	3,049218	1,752048	56,5
1290	3,110590	1,777426	59,9

Slika 7 prikazuje odnos između logaritamske brzine i napona smicanja uzorka tekućeg jogurta.



Slika 7. Odnos između log brzine i napona smicanja uzorka tekućeg jogurta

Tablicom 24 su prikazani rezultati linearne regresije uzorka tekućeg jogurta. Indeks tečenja je broj uz x u dobivenoj jednadžbi te iznosi 0,5277, a koeficijent konzistencije je antilog drugog člana jednadžbe te je za tekući jogurt iznosio 1,3630 mPas.  $R^2$  je koeficijent regresije te predstavlja točnost metode te je ovom linearnom regresijom bio 98,97 % što je izrazito visok postotak točnosti. Prividna viskoznost tekućeg jogurta pri brzini od 1290 okretaja u minuti je iznosila 46 mPas.

Tablica 24. Završna tablica uzorka tekućeg jogurta

Prividna viskoznost/ mPas	Koeficijent konzistencije/mPas	Indeks tečenja, n	Koeficijent regresije, $R^2$
46	1,3630	0,5277	0,9897

### 5.1.5. Usporedba reoloških svojstava uzoraka

Reološka svojstva uzoraka mjerena su da bi se odredila konzistencija uzoraka. U prethodnim tablicama (13, 16, 19 i 22) možemo vidjeti kako prividna viskoznost uzoraka pada kako raste brzina smicanja. Takvo ponašanje nazivamo posmično stanjivanje iako se može reći i privremeni gubitak viskoznosti, a takve fluide nazivamo pseudoplastičnim fluidima [19]. Zbog karakteristične trodimenzionalne mrežaste strukture kazeina s dispergiranim masnim globulama i otopljenim sastojcima u sirutki jogurt je, od svih fermentiranih mliječnih proizvoda, s reološkog gledišta najviše obrađivani proizvod. Fermentirani mliječni napici imaju svojstva tečenja karakteristična za pseudoplastični tip tekućina. Iz tablice 25 možemo vidjeti da probiotički i tekući jogurt imaju najvišu prividnu viskoznost. Koeficijent regresije je za sve uzorke bio je visok (više od 0,90) što implicira točnost izračunatih reoloških svojstava jogurta metodom linearne regresije [18].

Tablica 25. Završna tablica reologije za sve uzorke

Uzorci	Prividna viskoznost/ mPas	Koeficijent konzistencije/mPas	Indeks tečenja, n	Koeficijent regresije, R <sup>2</sup>
Probiotički jogurt	46	1,4064	0,6361	0,9447
Kefir	33	5,8911	0,2724	0,9957
Domaći kefir	22	1,1663	0,4506	0,978
Tekući jogurt	46	1,3630	0,5277	0,9897

## 6. Zaključak

Na temelju provedenog istraživanja i dobivenih eksperimentalnih rezultata mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Domaći kefir koji je bio proizveden iz kefirnog zrna je imao najnižu pH vrijednost, slijedi tekući jogurt, kefir, a najveću pH vrijednost je imao probiotički jogurt. Razlog najvećoj pH vrijednosti probiotičkog jogurta je što probiotičke bakterije prilikom svoga rasta i razmnožavanja stvaraju nešto manje kiseline u odnosu na termofilnu jogurtnu kulturu te na kefirna zrnca.
2. Najviše mliječne kiseline ima uzorak domaćeg kefira, dok najmanje mliječne kiseline sadrži probiotički jogurt, a razlog tome je što kefirna zrnca prilikom svoga rasta i razmnožavanja stvaraju nešto više kiseline u odnosu na termofilnu jogurtnu kulturu te na probiotičke bakterije, te zbog razlike u tehnologiji proizvodnje.
3. Najvišu titracijsku kiselost ima tekući jogurt, dok najnižu vrijednost titracijske kiselosti ima probiotički jogurt.
4. Domaći kefir sadrži nešto više ugljične kiseline zbog dulje fermentacije, a to je slučaj zbog razlike u tehnologiji proizvodnje (kefirno zrno za domaći kefir, kefirna starter kultura za komercijalni).
5. Uzorci tekućeg i probiotičkog jogurta su imali veću prividnu viskoznost od kefira i domaćeg kefira. Prividna viskoznost uzoraka je padala kako je rasla brzina smicanja. Koeficijent regresije je za sve uzorke bio je visok (više od 0,90) što implicira točnost izračunatih reoloških svojstava jogurta metodom linearne regresije.



IZJAVA O AUTORSTVU  
I  
SUGLASNOST ZA JAVNU OBJAVU

Završni/diplomski rad isključivo je autorsko djelo studenta koji je isti izradio te student odgovara za istinitost, izvornost i ispravnost teksta rada. U radu se ne smiju koristiti dijelovi tuđih radova (knjiga, članaka, doktorskih disertacija, magistarskih radova, izvora s interneta, i drugih izvora) bez navođenja izvora i autora navedenih radova. Svi dijelovi tuđih radova moraju biti pravilno navedeni i citirani. Dijelovi tuđih radova koji nisu pravilno citirani, smatraju se plagijatom, odnosno nezakonitim prisvajanjem tuđeg znanstvenog ili stručnoga rada. Sukladno navedenom studenti su dužni potpisati izjavu o autorstvu rada.

Ja, NINO MEDIMOREC (ime i prezime) pod punom moralnom, materijalnom i kaznenom odgovornošću, izjavljujem da sam isključivi autor/ica završnog/diplomskog (obrisati nepotrebno) rada pod naslovom FIZIKALNO-KEMIJSKA I TERMOLOŠKA (upisati naslov) te da u navedenom radu nisam na nedozvoljeni način (bez pravilnog citiranja) korišteni dijelovi tuđih radova.

Student/ica:

(upisati ime i prezime)

Nino Medimorec  
NINO MEDIMOREC

(vlastoručni potpis)

Sukladno Zakonu o znanstvenoj djelatnosti i visokom obrazovanju završne/diplomske radove sveučilišta su dužna trajno objaviti na javnoj internetskoj bazi sveučilišne knjižnice u sastavu sveučilišta te kopirati u javnu internetsku bazu završnih/diplomskih radova Nacionalne i sveučilišne knjižnice. Završni radovi istovrsnih umjetničkih studija koji se realiziraju kroz umjetnička ostvarenja objavljuju se na odgovarajući način.

Ja, NINO MEDIMOREC (ime i prezime) neopozivo izjavljujem da sam suglasan/na s javnom objavom završnog/diplomskog (obrisati nepotrebno) rada pod naslovom FIZIKALNO-KEMIJSKA I TERMOLOŠKA (upisati naslov) čiji sam autor/ica. USPOREDBA KEMIJA I SOGURTA

Student/ica:

(upisati ime i prezime)

NINO MEDIMOREC  
Nino Medimorec

(vlastoručni potpis)

## 7. Literatura

- [1] Narodne novine: Zakon o hrani, Pravilnik o mlijeku i mliječnim proizvodima, Zagreb, 2007.
- [2] Narodne novine: Zakon o poljoprivredi, Pravilnik o utvrđivanju sastava sirovog mlijeka, Zagreb, 2020.
- [3] Lj. Tratnik, R. Božanić: Mlijeko i mliječni proizvodi, Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb, 2012.
- [4] P. Bosnić: Svjetska proizvodnja i kvaliteta kravljeg mlijeka, Stručni rad, Mljekarstvo, 2003.
- [5] eGlasilo, Izvješće o stočarskoj proizvodnji, Ministarstvo poljoprivrede, 2020.
- [6] <https://ec.europa.eu/eurostat/databrowser/view/tag00041/default/table?lang=en>. Pristupljeno 6. svibnja. 2021.
- [7] S. Bijeljac, Z. Sarić: Tehnologija mlijeka, Poljoprivredni fakultet Sveučilišta u Sarajevu, 2003.
- [8] S. Otes, O. Cadingi: Kefir: A Probiotic Dairy-Composition, Nutritional and Therapeutic Aspects, Pakistan Journal of Nutrition 2 (2): 54-59, Food Engineering Department, Engineering Faculty, Ege ,Izmir, Turkey, 2003.
- [9] I. Ljubić: Fermentirani mliječni proizvodi, Završni rad, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera, Osijek 2016.
- [10] R. Božanić, I. Jeličić, T. Bilušić: Analiza mlijeka i mliječnih proizvoda (urednik: Ranić, I.), Plejada, Zagreb, 2010.
- [11] R. Stelkić: Metode određivanja kiselosti mleka. Mljekarstvo, 1968.
- [12] D. Sabadoš: Kontrola i ocjenjivanje mlijeka i mliječnih proizvoda, Zagreb, 1996
- [13] M. Stijepić,, S. Milanović, J. Glušac, V.Vukić, K. Kanurić, ,D. Đurđević-Milošević, M. Ranogajec: Utjecaj odabranih čimbenika na reološka i teksturalna svojstva probiotičkog jogurta, Mljekarstvo, 2011.
- [14] Š. Zamberlin, D. Samaržija, P. Mamula, J. Havranek, M. Pecina, T. Pogačić: Viskoznost tekućeg jogurta tijekom pohrane, Mljekarstvo, 2007.
- [15] T. Lovrić: Procesi u prehrambenoj industriji s osnovama prehrambenog inženjerstva, HINUS, Zagreb, 2007

- [16] J. Šušković i sur.: Mehanizam probiotičkog djelovanja bakterija mliječne kiseline, *Mljekarstvo* 47 (1) 57-73, 1997.
- [17] Sabadoš: *Mljekarstvo*, 25-34 str., Zagreb, 1958.
- [18] A. Legac: Utjecaj dodatka obranog mlijeka u prahu i sirutke u prahu na viskoznost i senzorska svojstva tekućeg jogurta, *Prehrambeno-biotehnološki fakultet, diplomski rad*, Zagreb, 2012.
- [19] T. Golubičić: Reološka karakterizacija samouređujućih gel struktura, *Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera, Diplomski rad*, Osijek, 2018.

## Popis slika

Slika 1 Proizvodnja sirovog mlijeka na farmama po državama Europske unije u 2019. godini (vrijednosti izražene u tisućama tona) .....	6
Slika 2 Domaća kefirna zrnca (Izvor: vlastita fotografija) .....	17
Slika 3 Rotacijski reometar (Izvor: vlastita fotografija) .....	25
Slika 4 Odnos između log brzine i napona smicanja uzorka probiotičkog jogurta .....	31
Slika 5 Odnos između log brzine i napona smicanja uzorka kefira .....	33
Slika 6 Odnos između log brzine i napona smicanja uzorka domaćeg kefira .....	35
Slika 7 Odnos između log brzine i napona smicanja uzorka tekućeg jogurta .....	37