



**UNIVERZITET CRNE GORE**  
**METALURŠKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET**

**ELMA BAKIJA**

**PRISUSTVO REZIDUA TEŠKIH METALA U BIJELIM  
SALAMURNIM SIREVIMA CRNE GORE**

**MASTER RAD**

**PODGORICA, 2022. GODINE**

**UNIVERZITET CRNE GORE**  
**METALURŠKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET**

**ELMA BAKIJA**

**PRISUSTVO REZIDUA TEŠKIH METALA U BIJELIM  
SALAMURNIM SIREVIMA CRNE GORE**

**MASTER RAD**

**PODGORICA, 2022. GODINE**

## **PODACI I INFORMACIJE O STUDENTU**

Ime i prezime: Elma Bakija

Datum i mjesto rođenja: 17.04.1993. godine u Beranama

Naziv završenog osnovnog studijskog programa: Specijalista hemijske tehnologije (Metalurško-tehnološki fakultet, Podgorica)

Godina završetka osnovnih studija: 14.02.2020. godine

## **INFORMACIJE O MASTER RADU**

Naziv master studija: Studijski program Hemijska tehnologija

Naziv rada: „Prisustvo rezidua teških metala u bijelim salamurnim sirevima Crne Gore“

Fakultet: Metalurško-tehnološki fakultet, Podgorica

## **UDK, OCJENA I ODBRANA MASTER RADA**

Datum prijave master rada: 27.01.2022. godine

Datum sjednice Vijeća na kojoj je prihvaćena tema: 09.06.2022. godine

Mentor: Prof. dr Slavko Mirecki

## **KOMISIJA ZA OCJENU TEME I PODOBNOSTI MAGISTRANDA/ OCJENU RADA/ ODBRANU RADA**

Prof. dr Slavko Mirecki, redovni profesor na BTF-u, mentor

Prof. dr Nada Blagojević, redovni profesor na MTF-u

Prof. dr Vesna Pešić-Vukašinović, vanredni profesor na MTF-u

**Datum odbrane:**

**Univerzitet Crne Gore**  
**Metalurško-tehnološki fakultet**

## **IZJAVA O AUTORSTVU**

Kandidat: Elma Bakija

Na osnovu člana 22 Zakona o akademskom integritetu, ja, dolje potpisani/potpisana

## **IZJAVLJUJEM**

pod punom krivičnom i materijalnom odgovornošću da je magistarski rad pod nazivom „Prisustvo rezidua teških metala u bijelim salamurnim sirevima Crne Gore” rezultat sopstvenog istraživačkog rada, da nijesam kršio/kršila autorska prava i koristio/koristila intelektualnu svojinu drugih lica i da je navedeni rad moje originalno djelo.

Podgorica, 2022. godine

Potpis studenta

---

## **ZAHVALNICA**

*Master rad je rezultat istraživanja sprovedenih na Metalurško-tehnološkom fakultetu u Podgorici, laboratoriji Biotehničkog fakulteta u Podgorici, Centru za ekotoksikološko ispitivanje (CETI) u Podgorici. Ovom prilikom im se zahvaljujem na nesebičnoj pomoći tokom izrade ovog rada.*

*Izuzetnu zahvalost dugujem mentoru prof. dr Slavku Mireckom na ukazanom povjerenju i spremnosti na zajedički rad, bez čijih stručnih savjeta i sugestija, razumijevanja, požrtvovanja, strpljenja i pomoći, realizacija ovog magistarskog rada ne bi bila moguća.*

*Neizmjernu zahvalost dugujem svojoj porodici, kolegama i prijateljima na velikoj podršci, ljubavi i razumijevanju.*

## IZVOD

U ovom radu vršeno je ispitivanje hemijskog sastava i prisustva rezidua teških metala u bijelim salamurnim sirevima.

Crna Gora je poznata po širokom spektru mliječnih proizvoda. Po proizvodnji i potrošnji, najdominantniji su bijeli salamurni sirevi. Kao i svi sirevi svijeta, i crnogorski sirevi pod rizikom su od kontaminacije teškim metalima. Teški metali u mlijeko mogu ući na različite načine: primjenom neorganskih đubriva, agrohemijskih i stajnjaka na zemljište. Većina proizvođača mlijeka u Crnoj Gori uzgaja vlastitu stočnu hranu, ali posljednjih godina, mnoge farme povećale su brojnost stada i to bez povećanja površine zemljišta za proizvodnju usjeva. To je rezultiralo većim uvozom stočne hrane radi zadovoljenja nutritivnih potreba mliječnih grla i povećanjem količine korištenog stajnjaka na usjeve. Ove činjenice, pored kontinuiranog unosa nutrijenata iz drugih izvora, snažno su povezane s nagomilavanjem nutrijenata u tlu, ali i aditiva koji se koriste u stočnoj hrani i agrohemijskim. Teški metali su često sastavni dio i aditiva i agrohemijskih. Ovim se povećava mogućnost dospijanja teških metala u mlijeko i mliječne proizvode. Stoga je predmet istraživanja eventualno prisustvo teških metala (Pb, Cu i Fe) u bijelim salamurnim sirevima sa područja Berana, Bijelog Polja, Nikšića i Podgorice.

**Ključne riječi:** *mliječni proizvodi, sir, teški metali, mikrotalasna digestija, ICP-MS*

## ABSTRACT

In this work, the chemical composition and presence of heavy metal residues in white brine cheeses were examined.

Montenegro is known for its wide range of dairy products. In terms of production and consumption, the most dominant are white brine cheeses. Like all cheeses in the world, Montenegrin cheeses are at risk of contamination with heavy metals. Heavy metals can enter milk in different ways: by applying inorganic fertilizers, agrochemicals and manure to the soil. Most dairy farmers in Montenegro grow their own fodder, but in recent years, many farms have increased the number of herds without increasing the area of land for crop production. This resulted in higher imports of animal feed to meet the nutritional needs of dairy cattle and an increase in the amount of manure used on crops. These facts, in addition to the continuous intake of nutrients from other sources, are strongly related to the accumulation of nutrients in the soil, as well as additives used in animal feed and agrochemicals. Heavy metals are often an integral part of additives and agrochemicals. This increases the possibility of heavy metals reaching milk and milk products. Therefore, the subject of research is the possible presence of heavy metals (Pb, Cu and Fe) in white brine cheeses from the areas of Berane, Bijelo Polje, Nikšić and Podgorica.

**Key words:** *dairy products, cheese, heavy metals, microwave digestion, ICP-MS*

# SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	1
<b>2. PREGLED LITERATURE</b> .....	2
2.1. Autohtoni mliječni proizvodi u Crnoj Gori.....	2
2.2 Istorija mlijeka i opšta istorija sirarstva .....	3
2.3 Hemijske, fizičke i biološke osobine mlijeka .....	5
2.4 Hemijske osobine mlijeka.....	5
2.4.1 Suva materija mlijeka.....	8
2.4.2 Mliječna mast.....	9
2.4.3 Proteini mlijeka.....	10
2.4.4 Laktoza.....	10
2.5 Fizičke osobina mlijeka .....	11
2.5.1 Izgled.....	12
2.5.2 Gustina .....	12
2.5.3 Osmotski pritisak .....	12
2.5.4 Tačka mržnjenja.....	13
2.5.5 Kiselost .....	13
2.5.6 Temperatura ključanja.....	15
2.6 Mijeko kao sirovina za proizvodnju sira.....	15
2.7 Sir – definicija i klasifikacija .....	16
2.7.1 Definicija sira.....	17
2.7.2 Klasifikacija sira .....	18
2.8 Bijeli sirevi i njihov hemijski sastav .....	20
2.9 Osnovne faze u proizvodnji sireva.....	23
2.10 Teški metali.....	27
2.10.1 Klasifikacija teških metala .....	28
2.10.2 Teški metali u mlijeku.....	30
2.10.3 Teški metali u mliječnim proizvodima .....	31
2.11 Izvor kontaminacije teškim metalima i njihovo otklanjanje .....	33
2.12 Smanjenje kontaminacije .....	34
2.13 Kontrola teških metala u mlijeku .....	36
2.14 Koncentracija teških metala u mliječnim proizvodima.....	36



2.15 Toksično dejstvo teških metala na zdravlje ljudi i životinja .....	37
<b>3. CILJ RADA</b> .....	<b>41</b>
<b>4. MATERIJAL I METODE</b> .....	<b>42</b>
4.1 Mikrotalasna digestija .....	44
4.1.1 Mikrotalasni digestor Berghof SpeedWave XPERT .....	45
4.1.2 Priprema uzoraka za mikrotalasnu digestiju .....	45
4.2 Induktivno spregnuta plazma s masenom spektrometrijom (ICP-MS) .....	46
4.2.1 Princip rada ICP-MS .....	48
4.2.2 Prednosti i nedostaci ICP-MS .....	50
<b>5. REZULTATI I DISKUSIJA</b> .....	<b>51</b>
5.1 Rezultati hemijskog sastava sakupljenih sireva .....	51
5.2 Rezultati analiza na prisustvo rezidua teških metala .....	56
<b>6. ZAKLJUČAK</b> .....	<b>61</b>
<b>LITERATURA</b> .....	<b>62</b>

# 1. UVOD

Prirodni izvor teških metala je zemljina kora, ali ljudske aktivnosti poput stvaranja industrijskog i gradskog otpada, urbanizacija, upotreba agenasa u poljoprivredi i dr., utiču da se oni često nalaze u vazduhu, vodi i hrani. Iako na toksičnost zagađivača utiče njegova koncentracija, stalna izloženost teškim metalima, čak i u niskim koncentracijama, štetno djeluje na ljudsko zdravlje, što je zabrinjavajuće.

U ljudsko tijelo teški metali dospijevaju disanjem, konzumacijom vode, a naročito hrane. Mlijeko i mliječni proizvodi, važan dio ljudske ishrane, često su izloženi kontaminaciji teškim metalima. Oni u ove proizvode dospijevaju konzumacijom kontaminirane vode i hrane od strane životinja koje proizvode mlijeko, a mogu poticati i od opreme ili ambalaže sa kojom mliječni proizvodi imaju kontakt. Nalaze se u količinama koje nisu riskantne po zdravlje ljudi, ali problem je što se akumuliraju i kada njihova količina pređe prag tolerancije ljudskog organizma, ispoljavaju svoju toksičnost. Zato je veoma bitno detektovati prisustvo teških metala, pronaći njihove izvore i definisati aktivnosti kojima bi se mogućnost njihovog dospijea u hranu eliminisala, ili barem umanjila.

Crna Gora je jedna od poznatih zemalja po širokom asortimanu mliječnih proizvoda. Po proizvodnji i potrošnji, najdominantniji su bijeli salamurni sirevi. Kao i svi sirevi svijeta, i crnogorski sirevi pod rizikom su od kontaminacije teškim metalima.

Teški metali u mlijeko mogu ući na različite načine: primjenom neorganskih đubriva, agrohemičalija i stajnjaka na zemljište. Većina proizvođača mlijeka u Crnoj Gori uzgaja vlastitu stočnu hranu, ali posljednjih godina, mnoge farme povećale su brojnost stada i to bez povećanja površine zemljišta za proizvodnju usjeva. To je rezultiralo većim uvozom stočne hrane radi zadovoljenja nutritivnih potreba mliječnih grla i povećanjem količine korišćenog stajnjaka na usjeve. Ove činjenice, pored kontinuiranog unosa nutrijenata iz drugih izvora, snažno su povezane s nagomilavanjem nutrijenata u tlu, ali i aditiva koji se koriste u stočnoj hrani i agrohemičalijama. Teški metali su često sastavni dio i aditiva i agrohemičalija. Ovim se povećava mogućnost dospijea teških metala u mlijeko i mliječne proizvode.

## **2. PREGLED LITERATURE**

### **2.1. Autohtoni mliječni proizvodi u Crnoj Gori**

Autohtono mljekarstvo je obilježje mljekarstva jedne zemlje, ljudi i kulture njihovog razvoja [1].

U svijetu se sve više traže i bolje vrednuju proizvodi dobijeni prirodnim procesima, zaštićeni od nepoželjnih neorganskih i drugih negativnih uticaja [2].

Kvalitet autohtonih mliječnih proizvoda u osnovi zavisi od sirovine i načina proizvodnje, ali isto tako, i od vrste i rase muzne stoke, klime, zemljišta, vegetacije, geografskog okruženja, načina života i kulture stanovništva [2].

Mnogobrojni autohtoni mliječni proizvodi se i danas proizvode, ali pri njihovoj proizvodnji sve je više raznih uticaja koji mogu da izmijene način prerade i kvalitet tih proizvoda. Ti uticaji mogu da budu toliki da autohtoni proizvodi izgube svoju originalnost i da se utope u konvencionalnu proizvodnju. Iz tih razloga je neophodna zaštita porijekla i geografskih oznaka najznačajnijih autohtonih mliječnih proizvoda. Time bi ostali ne samo sačuvani već bi se postigao ujednačen i viši kvalitet tih proizvoda [2].

Autohtoni sirevi su proizvodi proizvedeni od mlijeka na određenom geografskom području kao rezultat višegodišnjeg razvoja tradicionalne proizvodnje. Svijest o karakteristikama u ovakvoj proizvodnji doprinosi rastućoj potražnji za organskom i visokokvalitetnom hranom sa oznakom porijekla, čija tržišna cijena, u poređenju sa konvencionalnim proizvodima, iz dana u dan značajno raste. Danas su domaći sirevi karakteristični za nacije, države i regione, odnosno bogatstvo i materijalni dio nasleđa svake zemlje [3].

To su proizvodi različitih ukusa i konzistencije u odnosu na industrijski proizveden sir, gde je tehnologija strogo definisana i kontrolisana. Njihova specifičnost je uglavnom vezana za klimu, geografiju, stanje zemljišta, vodu, botanički sastav prirodnih livada i pašnjaka, rasa i uzgoja goveda, kao i tradicionalnih navika i običaja lokalnog stanovništva [3].

Autohtoni sirevi se uglavnom proizvode od sirovog mlijeka, bez upotrebe starter kultura. Njihova autentičnost, koja ih razlikuje od drugih sireva iste vrste ali drugog regiona, zasniva se, između ostalog, na karakteristikama i raznovrsnosti autohtonih mikroorganizama, prije svega bakterija mliječne kiseline (LAB), koje predstavljaju značajan potencijal u izboru tehnoloških proizvoda. Dodavanje komercijalne kulture u proizvodnju autohtonog sira dovelo bi do gubitka autentičnosti [3].

Prema rasprostranjenosti i obimu proizvodnje, u Crnoj Gori je dominantna proizvodnja bijelog sira u salamuri. U njihovoj kućnoj proizvodnji ne koriste se postupci standardizacije i pasterizacije mlijeka i čistih, starter organizama. Obično se proizvodi u sjevernom, kao i u

sjeвероistočnom regionu i na krajnjem jugu Crne Gore. Zatvorena u niz lokacija, autohtona proizvodnja je zadržana i sada imaju nazive oblasti u kojima se proizvodi [3].

## 2.2 Istorija mlijeka i opšta istorija sirarstva

Sir je namirnica koju prihvatamo kao nešto prihvaćeno u svakodnevnoj ishrani. Međutim, sir ima dugu istoriju ispunjenu istorijskim dokazima koji opisuju njegovo porijeklo, ali i razvoj proizvodnje. Neka vjerovanja o siru nisu jasno istorijski potkrijepljena i dio su kulturne tradicije koja se prenosi kroz usmeno predanje pojedinog naroda i podnevlja. Ovo čini istoriju sira veoma dinamičnom i zanimljivom. Vještine u proizvodnji sira razvijaju se vjekovima u cilju obezbjeđivanja što bolje ljudske ishrane, kao i što dužeg očuvanja i čuvanja mlijeka. Ova vještina se tradicionalno prenosi generacijama, a za njeno širenje i razvoj zaslužni su brojni ratovi, osvajanja i susreti civilizacija. Pojedine zemlje i regioni ovih zemalja razvili su specifične, često veoma različite procese proizvodnje sireva, tako da savremena civilizacija danas ima veliki broj različitih vrsta sireva. Literatura navodi preko 2000 različitih sireva. Brojni sirevi nose naziv mjesta porijekla. Njihova raznovrsnost je vidljiva u obliku i konstrukciji opreme koja se koristi u proizvodnji sira, dok su osnovne karakteristike procesa proizvodnje i senzorna svojstva veoma slične. Ovakav pristup je smanjio broj različitih vrsta sireva na 400 do 1000 [4]. Prema Robinsonu (1990), postoji samo 18 različitih vrsta sireva od kojih su nastale mnoge vrste kao rezultat kulturnih, klimatskih i drugih specifičnosti pojedinih regiona [5].

Mlijeko je važna životna namirnica koja se u ishrani ljudi koristi od davnina. Značajan segment prerade mlijeka čini proizvodnja sireva koja omogućava konzervisanje mlijeka i dobijanje proizvoda dužeg roka trajanja [6].

Proizvodnja sira seže u daleku prošlost (8000 - 10000 prije n. e.), a prenoseći znanje kroz generacije, opstala je i usavršila se do današnjih dana. U skoro svim civilizacijama proizvodnja sira imala je veliki značaj [6].

Pretpostavlja se da je proizvodnja sira nastala slučajno. Grupa sireva, danas poznata kao kiselo-koagulišući sirevi, nastala je spontanim zakiseljavanjem mlijeka na visokoj temperaturi, što je dovelo do razvoja velikog broja mikroorganizama. To je dovelo do formiranja gela, koji se tokom transporta razbio u čvrsti dio - gruš i tečni dio - surutku [6].

Sirišno-koagulišući sirevi, koji danas obuhvataju veliki dio u proizvodnji sira, isto su nastali spontanim formiranjem grude, ali na drugačiji način. Naime, mlijeko je skladišteno i transportovano u životinjskim mješinama iz kojih su prisutni enzimi (danas poznati pepsin i himozin) koagulisali mlijeko – zgrušavali sirilo. Svojstva ovako dobijenog gela razlikuje se od kiselo-koagulisano gela, prije svega, on je podložniji odvajanju tečne faze, pa je tako dobijeni proizvod suvlji i dugotrajniji od prethodno opisanog [6].

Sirarstvo je kroz historiju imalo veliki trgovinski i ekonomski značaj. U srednjem vijeku značajni proizvođači sira bili su feudalni posjedi i manastiri, pa prema tome, pojedine grupe danas poznatih sireva potiču od te proizvodnje. Ove komune su razvile tehnologiju proizvodnje sira na zatvorenim imanjima, a miješanjem ljudi sa drugim kulturama, znanje se širilo po pojedinačnim teritorijama [6].

Sve do 19. vijeka sir se proizvodi na tradicionalan način. Društveni i ekonomski uslovi pogodovali su razvoju sirarstva [6]. U različitim djelovima svijeta proizvodnja sira se razvijala različitim intenzitetom. Sa povećanjem broja stanovništva i životnog standarda povećana je potreba za boljom ishranom [7]. Sa razvojem hemije i mikrobiologije, stvorene su mogućnosti za kontrolu procesa proizvodnje mlijeka i stvaranje mogućnosti za kontrolu procesa proizvodnje sira. S tim je počela i industrijska proizvodnja sira sredinom 19. vijeka. Fabrika koja je počela proizvodnju sir čedar, osnovana je u Njujorku, SAD, 1851. godine. Danas je industrijska proizvodnja sira u zemljama razvijenog svijeta u velikoj mjeri prevazišla ili potpuno potisnula tradicionalni način proizvodnje [6]. Na neki način je promijenila ne samo vrstu već i strukturu sireva [7].

Proizvodnja sira se posljednjih sto godina, u većoj ili manjoj mjeri, konstantno razvijala zahvaljujući novim saznanjima i savremenim analitičkim metodama. Veliki napredak u proizvodnji sira ostvaren je uvođenjem hlađenja mlijeka, čime je značajno poboljšan njegov mikrobiološki kvalitet, pasterizacijom i upotrebom novih starter kultura. Kompanija Chr. Hansen (Danska) je prvu starter kulturu za proizvodnju sira proizvela 1890. godine i time je omogućila proširenje proizvodnje industrijskog sira. Tako je stvorena bezbjednija proizvodnja sira 60-tih godina prošlog vijeka. Automatizacija proizvodnje sira počela je šezdesetih godina prošlog vijeka i značajno je doprinjela dobijanju proizvoda ujednačenog kvaliteta. Tehnološkom napretku i povećanju efikasnosti u proizvodnji sira doprinjela je i upotreba membranske filtracije u proizvodnji sira, koja je prisutna od 1969. godine. Istraživanja u ovoj oblasti su od 1990. godine usmjerena ka smanjenju sadržaja soli i masti [6].

U svijetu je poznato preko hiljadu vrsta sireva, ali samo osamnaest različitih vrsta je značajno. Mnoge vrste sireva su nazvane po mjestu porijekla i razlikuju se samo po obliku i vrsti pakovanja, dok su načini proizvodnje i glavne karakteristike često veoma slični [7].

Sir je veoma bitna namirnica, u mnogim zemljama svijeta. U Italiji su najpoznatiji Asago, Parmesan i Romano, u Engleskoj su to Cambridge, Cheddar ili Cheshire, u Francuskoj Camembert, Cantal, Brie i Provence, u Danskoj je to Dambo ili Finbo, Samsøe, u Holandiji Gouda, Edam, Sjedinjenim Američkim Državama Cheddar, itd [7].

Osnova izrade industrijskih sireva su prvenstveno autohtoni sirevi [7].

## 2.3 Hemijske, fizičke i biološke osobine mlijeka

Ne postoji jasna linija razdvajanja između fizičkih i fizičko-hemijskih svojstava. Međutim, fizičke osobine se mogu smatrati mjerama ponašanja mlijeka u zapremini i načina na koji mlijeko stupa u interakciju sa energijom, dok su fizičko-hemijska svojstva mjere kako ponašanje u zapremini i energetske interakcije zavise od koloidnih čestica, atoma, molekula i jona [8].

Poznavanje fizičkih svojstava je od posebnog značaja u tehnološkom i inženjerskom projektovanju i kontroli opreme za preradu mlijeka. Poznavanje fizičko-hemijskih svojstava daje osnovu za projektovanje savremenih metoda analize mlijeka, određivanje mikrostrukture mlijeka i rasvetljavanje složenih hemijskih reakcija koje se dešavaju u mlijeku [8].

## 2.4 Hemijske osobine mlijeka

Hemijski sastav mlijeka varira i zavisi od niza faktora kao što su rasa i starost životinje, period laktacije, uslovi hranjenja i održavanja, nivo produktivnosti, način muže itd.

Tokom perioda laktacije svojstva mlijeka se značajno mijenjaju tri puta. Mlijeko dobijeno u prvih 5 – 10 dana nakon teljenja (prvi period) naziva se kolostrum, u drugom periodu dobijaju obično mlijeko, a u trećem (posljednjih 10-15 dana prije teljenja) - staro mlijeko [9].

Mliječna fermentacija, koja se koristi u mliječnoj industriji, ima za glavnu posljedicu povećanje sadržaja mliječne kiseline u medijumu nakon fermentacije glukoze dobijene iz laktoze [7].

Kolostrum je gušće konzistencije od običnog mlijeka, intenzivne žute boje, slanog ukusa, specifičnog mirisa. Kolostrum karakteriše visok sadržaj proteina (do 11%) i minerala (do 1,2%), visoka kiselost (40 - 50°T). Kolostrum ne podliježe prijemu u postrojenje i preradi [9].

Primjera radi, u tabeli 1 dat je prosječan hemijski sastav mlijeka domaćih obojenih junadi (domaći simentalški) [10].

Tabela 1. Prosječan sastav mlijeka [10].

–	% u mlieku	% od suve materije
<b>Voda</b>	87,3	–
<b>Suva materija</b>	12,7	100,0
<b>Mast</b>	3,8	30,0
<b>Bjelančevine</b>	3,55	28,0
<b>(Kazein)</b>	3,0	–
<b>Ml. albumin</b>	0,5	–
<b>Ml. globulin</b>	0,05	–
<b>Mliječni šećer</b>	4,7	36,9
<b>Mliječni pepeo</b>	0,65	5,1

Sastav iz prethodne tabele dobijen je sakupljanjem višegodišnjeg istraživanja mlijeka ovih rasa krava, u toku cijelog perioda laktacije [11].

Navedeni sastav je udžbenički primjer ili jedan od oblika hemijskog sastava mlijeka i koristi se uglavnom kao orijentacija za konkretan uzorak mlijeka. Time bi trebalo da se utvrdi u kojoj mjeri uzorak odstup od ovog prosjeka [9].

Kada se govori o prosječnom hemijskom sastavu, moguće je navesti veliki broj primjera za različite rase koje će po vrijednostima donekle odstupati od onih u datom primjeru. Zato treba uzeti u obzir da takvo mlijeko ima sastav koji zavisi od rase i podnevlja sa kojeg potiče [9].

Prilikom procjene sastava mlijeka mora se imati u vidu i da se on mijenja pod uticajem velikog broja drugih faktora, odnosno da pokazuje veliku varijabilnost. Sastav mlijeka se mijenja od muže do muže u toku istog dana i mjeseca. Značajno se mijenja i zavisi od ishrane, godišnjeg doba, fizioloških promjena u organizmu muznih životinja u toku laktacije i sl. Može izgledati nerazumno da osoba svoja razmatranja zasniva na sastavu prosječnog uzorka koji se rijetko ponavlja u stvarnosti. Međutim, odmah treba reći da procjena mora biti zasnovana na nečemu konkretnom. Ne treba prebrzo donositi zaključke o uzorku čiji sastav značajno odstupa od prihvaćenog modela. Naprotiv, treba voditi računa da li uzorak potiče od samo jedne krave, od jutarnje ili večernje muže ili ako je u pitanju kombinovano mlijeko, treba da se svi faktori koji utiču na sastav mlijeka uzmu u obzir prije nego što se donese odluka da je mlijeko na neki način falsifikovano [9].

Treba istaći da je mnogo lakše procijeniti sastav mlijeka kada je mlijeko od velikog broja krava nego kada je u pitanju mlijeko od jedne krave [9].

Zbog hemijskog sastava i velikog broja faktora često se pribjegava njegovom predstavljanju u obliku varijacija, kao u sljedećem primjeru:

- Suva materija 11 - 14%
- Mast 3,2 - 5,5%
- Bjelančevine 2,6 - 4,2%
- Laktoza (mliječni šećer) 4,6 - 4,9%
- Pepeo 0,6 - 0,8% [11].

Čak i kada je sastav mlijeka predstavljen u tako širokom obimu, on još uvek ne dozvoljava da se pokriju svi slučajevi. Činjenica da minimalne i maksimalne vrijednosti za pojedinačne komponente u gornjem primjeru predstavljaju samo prosječne vrijednosti za rase sa najnižim i najvećim sadržajem pojedinačnih sastojaka. Tako se za prosječnu masnoću istočnofrizijske rase uzima 3,2%, dok se za prosječnu masnoću u mlijeku rase krava Jersei smatra 5,5%. Razumljivo je da su u okviru jedne rase moguće velike varijacije u sastavu [9].

Dok hemijski sastav mlijeka pojedinačnih krava znatno varira, mlijeko većih stada, kolektivno mlijeko određenog regiona, pokazuje mnogo uže granice varijacije. Razlike u sastavu sakupljenog mlijeka nastaju uglavnom kao rezultat uticaja sezone i perioda laktacije. Manje varijacije u sastavu sakupljenog mlijeka rezultat su evidencije da se plus i minus varijacije uklapaju u jedan utvrđeni prosjek. Stoga, u slučaju većih odstupanja u sastavu sakupljenog mlijeka, stručnjak mora biti mnogo rigorozniji [9].

Ovako prikazan hemijski sastav mlijeka izgleda prilično jednostavno. Međutim, treba napomenuti da mlijeko ne treba posmatrati kao skup različitih supstanci raspršenih u vodi. Naprotiv, postoji bliska veza, zavisnost i interakcija između sastojaka mlijeka, što ga čini veoma složenim fizičko-hemijskim sistemom, koji se uvijek mora imati na umu. Takođe treba napomenuti da je prilikom predstavljanja sastava mlijeka napravljeno izvjesno pojednostavljenje, posebno kada su u pitanju proteini, što je neizbježno na samom početku, kada počinje upoznavanje sa sastavom mlijeka [9].

Na osnovu prethodno rečenog, za mlijeko možemo reći da je sastavljeno iz:

- Vode kao disperzionog sredstva.
- Masnoće, veličine uglavnom od 0,1 do 10 mikrona.
- Albumina, veličine od 0,015 do 0,005 mikrona.
- Mliječnog šećera u obliku pojedinačnih molekula veličine oko 0,001 mikrona
- Kompleksa kazeina čija se veličina kreće od 0,1 do 0,0005 mikrona i
- Mineralnih supstanci u formi pojedinačnih molekula ili jona prečnika od 0,0004 do 0,0005 mikrona



Ako imamo prikazan ovakav raspored komponenti mlijeka, onda su razumljiva različita svojstva mlijeka sa stanovišta fizike i hemije, kao što je, na primjer, sposobnost izdvajanja masti [10].

### **2.4.1 Suva materija mlijeka**

Suva materija se dobija uklanjanjem cjelokupne količine vode iz mlijeka. To znači da je suva materija razlika između količine mlijeka i vode koju sadrži i izražena je u procentima [11].

Prilikom uklanjanja vode odlaze isparljive materije, a ostaje suva materija. Zato se ona naziva suvi ostatak ili ukupna suva materija [11].

Suva materija mlijeka predstavlja zbir količina njegovih pojedinačnih sastojaka i mijenja se prema njihovoj varijabilnosti. Dakle, međusobni odnos sastojaka suve materije je isti kao u mlijeku. Ovaj odnos se najčešće izražava kao procenat suve materije.

Procenat suve materije bez masti dobija se oduzimanjem procenta masti od ukupne suve materije [9].

Suva materija i suva materija bez masti su značajne i direktno utiču na randman proizvoda. To su mliječni konzervisani proizvodi u užem smislu riječi (kondenzovano i nezaslađeno mlijeko, mlijeko u prahu i dr.). Da bi se dobio željeni proizvod, neophodno je poznavanje procenta suve materije u njemu. To je slučaj u konzerviranju mlijeka i proizvodnji sira. Prethodni podaci su neophodni i pri koncentraciji ili obogaćivanju suve materije mlijeka namenjenog za proizvodnju kiselomliječnih proizvoda [9].

Ukupna suva materija i suva materija bez masti imaju veliki uticaj na konzistenciju ovih proizvoda, a samim tim i na njihov ukupan kvalitet. Podaci o suvoj materiji i suvoj materiji bez masti često su sastavni dio propisa o prometu mlijeka i predstavljaju važan element u nastojanjima da se poboljša kvalitet mlijeka sa stanovišta hemijskog sastava i spriječi falsifikovanje mlijeka dodavanjem vode [9].

Kravlje mlijeko sadrži u prosjeku 12,7% suve materije sa najčešćim varijacijama od 11-14%. Variranje suve materije javlja se usljed uticaja različitih faktora, od kojih su najvažniji: rasa kojoj pripada, kao i period laktacije [11].

Variranje sadržaja suve materije u najvećoj mjeri zavisi od procenta masti [9].

Postoje uslovi kada se suva materija bez masti u mlijeku nalazi u manjoj količini od propisane. To se može desiti kod pojedinih krava koje se odlikuju znatno većom proizvodnjom mlijeka nego što odgovara produktivnosti njihove rase: može biti posljedica fizioloških poremećaja organizma ili patološkog stanja mliječne žlijezde; može se desiti i zbog neadekvatne ishrane (ako je u obroku veći deficit proteina). Međutim, mlijeko (posebno obrano mlijeko)

obično sadrži više od 8,5% suve materije bez masti, što znači da mlijeko sa većim sadržajem masti ima i veću količinu suve materije bez masti, i obrnuto. Brojni eksperimenti su pokazali da povećanje sadržaja masti za jedan odstod iznad određene vrijednosti izaziva povećanje količine proteina za 0,4 do 0,7%. Ovo važi i kada je u pitanju mlijeko različitih rasa, a brojčana vrijednost zavisi od rase, sorte i načina ishrane [9].

## 2.4.2 Mliječna mast

Mliječna mast je najvrednija komponenta mlijeka [12].

Visoka cijena ove masti potiče iz vremena kada na tržištu nije bilo dovoljno maslaca, pa je stimulirana proizvodnja mliječne masti, što je dovelo do selekcije krava ne samo po količini, već i prema mliječnoj masti [11].

Drugi razlog za to je što više od polovine ukupne energetske vrijednosti mlijeka čini mliječna mast. Od ukupne energetske vrijednosti mlijeka ono u prosjeku čini oko 54%, a kod rasa koje daju mlijeko sa visokim sadržajem masti ovaj udio je znatno veći. Mliječna mast čini samo oko 30% suve materije mlijeka [11].

Treći razlog treba tražiti u njegovoj biološkoj vrijednosti u poređenju sa drugim mastima. Naime, mliječna mast je veoma važan sastojak mliječnih proizvoda (pavlaka različitih masnoća, maslac), a osim toga, procenat masti u drugim proizvodima značajno utiče na kvalitet, jer se time poboljšava njihov ukus i sastav [11].

Da je mliječna mast cijenjena govori i podatak da kajmak dobijen od mlijeka predstavlja samo 1/10 količine, ali je u njemu koncentrisana skoro sva mast, a vrednosno čini 66-70% vrijednosti mlijeka. Ostatak mlijeka - obrano mlijeko - koje po količini čini 9/10 i u kome se nalaze bjelančevine i ostali nemasni sastojci predstavlja samo 30 - 34% od cijene mlijeka. Međutim, kada se razmatraju gore navedene vrijednosti i odnosi, treba imati u vidu da cijena mliječne masti zavisi od ponude i potražnje na tržištu [11] [12].

Može se pretpostaviti da mlijeko sadrži u prosjeku oko 3,8% masti. Međutim, to je sastojak koji je podložan najvećim količinskim varijacijama unutar iste rase, pa čak i kod pojedinih jedinki tokom istog dana (jutarnje i večernje mlijeko), tokom laktacije i pod uticajem brojnih faktora koji mogu uticati na sastav i svojstva mlijeka [11].

### 2.4.3 Proteini mlijeka

Mlijeko i mliječni proizvodi su bogati proteinima. Proteini imaju veliku biološku vrijednost i po ovom svojstvu se nalaze odmah iza bjelančevina jajeta, jer mlijeko sadrži sve bitne aminokiseline koje su bliske proteinima koje se sintetiziraju u ljudskom organizmu [13].

Termin biološka vrijednost se odnosi na broj grama proteina ljudskog ili životinjskog organizma koji se može sintetizirati iz 100 g proteina u hrani [11].

Tabela 2. Biološka vrijednost proteina mlijeka [11].

Protein	Biološka vrijednost
<b>Proteini surutke</b>	104
<b>Cijelo jaje (uzeto kao 100%)</b>	100
<b>Ukupni proteini mlijeka</b>	88
<b>Kazein</b>	76

Biološka vrijednost pojedinih proteina u mlijeku je niža od navedene vrijednosti za ukupne mliječne bjelančevine (tabela 2), ali je karakteristično da se oni međusobno dopunjuju u pogledu aminokiselinskog sastava, uslijed čega je ukupna vrijednost mliječnih proteina povećava [11].

Mliječni proteini mogu povećati biološku vrijednost drugih manje vrijednih proteina. Zbog toga se mlijeko i mliječni proizvodi miješaju sa drugim namirnicama ili konzumiraju zajedno sa njima, što omogućava tijelu da efikasnije koristi veću masu proteina u hrani [11].

Proteini također imaju energetska vrijednost od 16,6 kJ/g, slično ugljenim hidratima. Ali pošto se unose u organizam u mnogo manjim količinama od ugljenih hidrata i masti, oni nijesu primarni izvor energije.

### 2.4.4 Laktoza

Laktoza je važan izvor energije u organizmu čovjeka. Anhidrid laktoze stvara 16,5 kJ/g, dok hidratizirani oblik stvara 15,6 kJ/g, jer voda koja se nalazi u hidratiziranoj laktozi nema uticaja na energetska vrijednost [10].

Mnogi podaci, međutim, sugerišu da je biološki uticaj laktoze mnogo veći. Fiziološki značaj potiče iz činjenice da laktoza sadrži galaktozu, koja je uključena u sastav cerebrozida, koji su komponente tkiva centralnog nervnog sistema [10].

Laktoza prolazi kroz želudac gotovo nepromijenjena jer se teže resorbuje. Zbog toga ona dopijeva u tanko crijevo (ileum) gdje je koriste mikroorganizmi i fermentacijom formiraju mliječnu kiselinu koja snižava pH u crijevima, čime se smanjuje aktivnost štetne mikroflore i na taj način potiskuju gastrointestinalni poremećaji. Štaviše, laktoza stimulira rast bakterija koje proizvode kiselinu. Oni, zauzvrat, sintetiziraju različite vitamine B kompleksa, koji su kasnije dostupni domaćinu [10].

Kravlje mlijeko sadrži u prosjeku 4,8% laktoze, sa varijacijama od 4,4 - 4,9%. Laktoza predstavlja oko 36,9% suve materije mlijeka [12].

## **2.5 Fizičke osobine mlijeka**

Mlijeko dobijeno od zdravih farmskih životinja odlikuje se određenim organoleptičkim karakteristikama (ukus, miris, boja, tekstura) i fizičko-hemijskim (titraciona i aktivna kiselost, gustina, viskozitet, površinski napon, osmotski pritisak, tačke smrzavanja i ključanja, električna provodljivost, dielektrična konstanta, prelamanje svjetlosti) [9].

Faktori kao što su bolesti životinja, promjene u ishrani, skladištenje mlijeka u nepovoljnim uslovima, falsifikovanje i dr., doprinose smanjenju kvaliteta mlijeka i dovode u sumnju mogućnost njegovog korišćenja kao sirovine za proizvodnju drugih prehrambenih proizvoda [9].

Prema standardu, sirovo mlijeko mora imati ujednačenu konzistenciju bez taloga, bijele boje (sa blago žutom nijansom), bez ukusa i mirisa koji nijesu karakteristični za prirodni svjež proizvod [9].

Bijela boja i neprozirnost mlijeka je zbog činjenice da se svjetlost koja pada na mlijeko raspršuje koloidnim česticama proteina i masnih globula. Prisustvo žućkaste nijanse u mlijeku zavisi od prisustva karotena rastvorenog u masti. Karakterističan blago sladak ukus određuju supstance kao što su laktoza, hloridi, masne kiseline i masti. Urođeni miris mlijeka je uzrokovan prisustvom nekih isparljivih jedinjenja (acetona, isparljive masne kiseline, dimetil sulfid, itd.) [9].

### 2.5.1 Izgled

Mlijeko je bijele boje bez sjaja, a ako sadrži veću količinu masti onda je svijetlo-žute boje. Obrano i razblaženo mlijeko ima plavičastu boju i veću providnost, a izmijenjeno mlijeko može biti crvenkaste, žute i plavičaste boje. U mlijeku nema stranih primjesa i sedimenata, a mlijeko sa izmijenjenim izgledom može sadržati dlake, komade prostirki, hranu, feces i druge nečistoće na površini ili u obliku taloga. U tankom sloju je neprozirno, što se utvrđuje laktoskopom (propuštanje mlaza svjetlosti), a izražava se u stepenima providnosti [14].

### 2.5.2 Gustina

Gustina mlijeka je odnos mase mlijeka na 20°C prema masi iste zapremine vode na 4°C. Gustina kombinovanog kravljeg mlijeka je u rasponu od 1027 - 1032 kg/m<sup>3</sup>. Na gustinu mlijeka utiču sve komponente, prije svega suve bezmasne materije (proteini, minerali i dr.) i mast. Tokom obranja, gustina mlijeka se povećava, razređivanje vodom dovodi do smanjenja gustine. Kada se mlijeku doda voda u količini od 10%, gustina se smanjuje za 0,003 jedinice, tako da može biti u opsegu fluktuacije gustine mlijeka. Pouzdano falsifikovanje (razblaživanje vodom) može se odrediti po gustini ako se doda 15% vode [9].

Gustina mlijeka je rezultujuća količina i gustina pojedinih sastojaka mlijeka. Mliječna mast ima najmanju gustinu 0,93 g/l, pa se moglo očekivati da mlijeko sa više masti ima manju gustinu. Međutim, u praksi to nije slučaj jer je povećanje količine masti praćeno povećanjem količine proteina, prije svih kazeina. Drugim riječima, povećanje količine masti dovodi do smanjenja sadržaja vode (što dovodi i do smanjenja gustine mlijeka), pa je rezultat povećane masti skoro poništen manjim sadržajem vode [11].

Gustina mlijeka se mijenja u zavisnosti od mnogih faktora kao što su rasa, period laktacije itd. Zbog dodavanja vode smanjuje se gustina mlijeka. Dodavanjem vode i uzimanjem masti gustina mlijeka može ostati nepromjenjena, tako da ovo nije pouzdan podatak za određivanje kvaliteta mlijeka [11].

Vrijednosti gustine na 15°C kreću se od 1,028 do 1,035g/l.

### 2.5.3 Osmotski pritisak

Kod osmotskog pritiska bitne su sve komponente osim mliječne masti. Osmotski pritisak zavisi od molarne koncentracije pojedinih supstanci, a ne od molekulske mase, i zato njihov uticaj nije isti [11].

Osmotski pritisak je u prosjeku 0,67 kPa, a molarna koncentracija u mlijeku je 0,293 M/dm<sup>3</sup> [11].

Najveći dio osmotskog pritiska otpada na laktozu (oko 47%) [11].

#### **2.5.4 Tačka mržnjenja**

Prosječna temperatura mržnjenja iznosi -0,0545°C i ona zavisi direktno od pritiska. Razređivanje mlijeka izaziva povećanje temperature mržnjenja (približava se 0°C), jer se time smanjuje koncentracija materija koje izazivaju njeno snižavanje. Ovo se koristi za otkrivanje falsifikovanog mlijeka. Temperatura mržnjenja se određuje krioskopom [11].

#### **2.5.5 Kiselost**

Određeni sastojci mlijeka utiču na njegova fizička svojstva, kao što su: prirodna kiselost koja potiče od kiselih svojstava proteina (kazeina), kisele soli mlijeka, gasovi u mlijeku, askorbinska kiselina. Dok je nastala kiselost rezultat razgradnje laktoze djelovanjem mikroorganizama. Prirodna i rezultujuća kiselost daje ukupnu kiselost, koja se praktično određuje titracijom [12].

U takvom mlijeku je jako povećan broj mikroorganizama, poremećen je koloidni sistem, a usljed dejstva viših temperatura dolazi do koagulacije. Određivanje titrabilne kiselosti pri prijemu mlijeka u mljekare je presporo. Zbog toga se koriste i druge brze metode koje ukazuju na povećanu kiselost ili pokazuju druge promjene. Ove metode su testiranje alkohola i testiranje kuvanja. Mlijeko ima kiseli karakter, što se može utvrditi titracijom sa bazama ili određivanjem pH vrijednosti [12].

Stoga razlikujemo titracijsku kiselost i pH mlijeka [12].

#### **pH kiselost**

Aktivna kiselost pH je jedan od pokazatelja kvaliteta mlijeka i određuje se koncentracijom vodoničnih jona. Za svježe mlijeko pH je u rasponu od 6,4 - 6,8, odnosno mlijeko je blago kiselo [7].

Od pH vrijednosti zavise koloidno stanje mliječnih proteina, razvoj korisne i štetne mikroflore, termička stabilnost mlijeka i aktivnost enzima [7].

Aktivna kiselost mlijeka ili pH kiselost se izražava koncentracijom vodoničnih jona ili pH vrijednošću, koja predstavlja negativni logaritam koncentracije vodonikovih jona.

$$\text{pH} = -\log(\text{H}^+); (\text{H}^+) = 10^{-\text{pH}}$$

Mjerenje pH se određuje pH metrom.

Određene komponente mlijeka utiču na njegovu „prirodnu kiselost“, a nastala kiselost je rezultat razgradnje laktoze usljed djelovanja mikroorganizama. Na prirodnu kiselost utiču kiselost svojstva proteina i većine kiselih soli u mlijeku (citrati i fosfati), CO<sub>2</sub> i askorbinske kiseline. Zbir prirodne i rezultujuće kiselosti daje ukupnu kiselost koja se može odrediti titracijom [12].

### Titracijska kiselost

Ukupna (titraciona) kiselost je najvažniji pokazatelj svježine mlijeka i odražava koncentraciju komponenti kiselog mlijeka. Izražava se u Tarnerovim stepenima °T, a za svježe pomuženo mlijeko iznosi 16-18 °T. Glavne komponente mlijeka koje određuju titrabilnu kiselost su kisle soli fosforne kiseline, natrijuma, kalcijuma, kalijuma, soli limunske kiseline, ugljene kiseline i proteina. Udio proteina u stvaranju titrabilne kiselosti mlijeka je 3-4 °T. Kada se mlijeko skladišti, titrabilna kiselost se povećava usljed stvaranja mliječne kiseline iz laktoze [12].

Titraciona kiselost se izražava brojem mililitara baze određenog molariteta koji je potreban za neutralizaciju 100 ml. mlijeka, sa indikatorom fenolftaleina. Kao baza se koristi rastvor NaOH određenog molariteta [12].

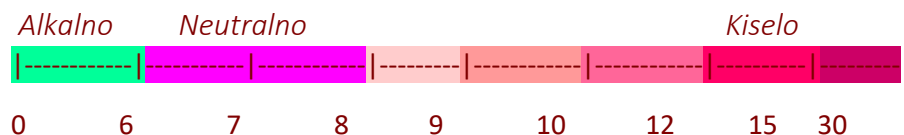
Prema Soxhlet-Henkelu (°SH) – koristi se 0,25 molarni rastvor NaOH.

Titraciona kiselost svježeg mlijeka najčešća je između 6,5 – 7,5°SH.

Iznad 7,5°SH se ne prihvata u mljekari - (alkoholna proba –72% etanol).

Neki proizvođači pribjegavaju dodavanju neutralnih agenasa (sode bikarbone) kako bi prikrili efekte bakterijske aktivnosti. Međutim, dodavanje aditiva ne zaustavlja rast mikroorganizama, već ga još više podstiče. Ako se doda previše ovih supstanci, doći će do smanjenja kiselosti što se može utvrditi titracijom [12].

### °SH - Skala



Titraciona kiselost i pH se takođe koriste za kontrolu kiselosti mlijeka, mliječnih proizvoda itd.

Nedostaci određivanja pH su nedovoljna osjetljivost aparata na minimalne promjene pH.

Dobre strane titrabilne kiselosti odnose se na otkrivanje i najmanju aktivnost bakterija, vezano za razblaživanje mlijeka, kod bolesti krava. Međutim, određivanje titrabilne kiselosti je veoma sporo i zbog toga je neprihvatljivo pri prijemu mlijeka [12].

### **2.5.6 Temperatura ključanja**

Za mlijeko je 100,16°C. Tačka ključanja mlijeka se ne koristi za kontrolu falsifikovanja mlijeka iz sljedećih razloga:

1. Zagrijevanje izaziva isparavanje vode i promjene u sastavu suve materije,
2. Sa povećanjem temperature ključanja koja je 3,6 puta manja od smanjenja temperature, mogućnost greške je veća.

Rastvorene materije u mlijeku svojim privlačnim silama snižavaju napetost njegovih para i potrebno je izvršiti određeni rad da bi se te privlačne sile savladale. Rezultat toga je da rastvor ključa na višoj temperaturi [6].

## **2.6 Mijeko kao sirovina za proizvodnju sira**

Značaj mlijeka kao sirovine za proizvodnju sira najviše zavisi od uslova uzgoja mliječnih životinja. Higijenske uslove treba izdvojiti kao primarne uslove, kao i zdravstveno stanje krava. Mlijeko koje potiče od životinja koje su tretirane antibioticima ne smije se koristiti u proizvodnji sira ili drugih mliječnih proizvoda [15].

Da bi se mlijeko koristilo za proizvodnju sira, mora da je dobijeno od zdravih i pravilno hranjenih krava, kao i pravilno prerađeno nakon muže i pripremljeno za proizvodnju sira. Za proizvodnju sira mlijeko ne smije da ima nedostatke kao što su: promjene izgleda mlijeka, a zatim sluzavo i žilasto mlijeko, prerano zgrušano, kao i vodenasto mlijeko [16].

Mlijeko sa promjenom boje pokazuje zdravstveno stanje muzne životinje, prije svega na nepravilnu ishranu i prisustvo mikroorganizama u vimenu. Prisustvo crvene boje u mlijeku ukazuje na prisustvo krvi. Crvena boja može doći i od obojenih supstanci određenih biljaka kojima se životinja hrani. Žutu boju mogu izazvati i razne biljke, to važi i za plavu boju, takođe mlijeko u koje se dodaje voda ima plavičastu nijansu [16].

Gorko mlijeko nastaje u polnom žaru (estrusu) životinje i na kraju laktacije, zatim ako se životinje hrane plesnivom kao i pokvarenom hranom. Takođe, na gorak ukus mlijeka utiču i prisutni mikroorganizmi [16].



Promjene u izgledu mlijeka praćene su, prije svega, sluzavim i žilavim mlijekom, prijevremenom koagulacijom i vodenastim mlijekom. Mukozno i žilavo mlijeko najčešće izazivaju teže bolesti: plućne infekcije, sepsa, slinavka i šap, bolesti organa za varenje i mastitis. Do prijevremenog zgrušavanja mlijeka najčešće dolazi zbog bolesti vimena. Tada se mlijeko veoma brzo zgrušava nakon muže. Ako nije u pitanju bolest vimena, moguće je pregrijavanje životinje na suncu, kao i hranjenja kiselim i pokvarenom hranom [16].

Vodenasto mlijeko je često rezultat ishrane krompirom u većim količinama. Naravno, vodenasto mlijeko nastaje dodavanjem vode normalnom mlijeku. Dok zrnasto mlijeko nastaje usljed stagnacije mliječne sekrecije usljed različitih patoloških promjena u izlaznim kanalima mliječne žlijezde.

Svaka od navedenih promjena u mlijeku, a ima ih još, loše utiču na proizvodnju sira. Zrenjem sira odvijaju se složeni biohemijski procesi koji u velikoj mjeri zavise od osobina grude i mikroflore koja se u njoj nalazi, pa je potrebno povećati pažnju na kvalitet sirovog mlijeka. Zato sirovo mlijeko mora da ispunjava osnovne uslove za pravljenje sira, a to su:

- U proizvodnji sira se ne smije koristiti mlijeko ako je kontaminirano, dobijeno od životinja oboljelih od mastitisa, u vrijeme kolostruma, kao i mlijeko dobijeno od krava koje su hranjenje trulom i buđavom hranom
- Da ima prirodnu mikrofloru koja pod određenim uslovima može dostići normalnu zrelost [16].

Kvalitet gruš – njegova fizička i hemijska svojstva su osnovni parametri koji zavise od količine dobijenog proizvoda, tehnoloških procesa kao i kvalitet samog gotovog proizvoda. Zato se u sirarstvu velika pažnja poklanja na dobijanje grude normalnih fizičko-hemijskih svojstava.

Normalna svojstva gruš zavise od fizičko-hemijskih svojstava mlijeka, kao i od načina i uslova proizvodnje. Kada bi se od mlijeka sa različitim fizičkim i hemijskim svojstvima (miješano mlijeko), mogao dobiti gruš ujednačenog fizičko-hemijskog sastava, tehnologija sira bi se lako standardizovala. Prema tome, hemijski sastav i fizička svojstva mlijeka variraju u većoj ili manjoj mjeri pod uticajem različitih parametara što utiče na svojstva same grude. Međutim, treba voditi računa o poboljšanju kvaliteta i standardizaciji proizvoda, i voditi računa o sastavu i kvalitetu mlijeka [17].

## **2.7 Sir – definicija i klasifikacija**

Prema Pravilniku o sirevima i proizvodima od sira (2009), sir je svježi proizvod različitog stepena zrelosti proizveden odvajanjem surutke nakon koagulacije mlijeka (kravlje, ovčije, kozje, bivolje mlijeko i/ili njihove mješavine), kajmak ili kombinacija navedenih sirovina [17]. U proizvodnji sireva dozvoljena je upotreba mliječnih kultura, sirila i/ili drugih odgovarajućih

enzima za zgrušavanje i/ili dozvoljenih koagulacionih kiselina. Sir se takođe definiše kao fermentisani ili nefermentisani proizvod dobijen koagulacijom mlijeka, obranog mlijeka ili djelimično obranog mlijeka, kajmaka, mlaćenice ili kombinacije ove sirovine i odliv surutke (sa dodatkom sirila ili druge zamjene enzima za zgrušavanje) [4].

Prema sadržaju vode u nemasnoj suvoj materiji sira, sirevi se dijele na ekstra tvrde, tvrde, polutvrde, meke i svježije, dok se prema sadržaju masti u suvoj materiji sirevi dijele na ekstra-masne, punomasne, masne, polumasne i posne. Prema načinu zrenja sirevi se dijele na one koji ne sazrijevaju, na one koji sazrevaju uglavnom sa bakterijama iznutra, na one koji sazrevaju uglavnom sa bakterijama na površini i na one koji sazrevaju sa plijesnima uglavnom iznutra i sa plijesnima uglavnom na površini [4].

Tehnologija proizvodnje sira ima dva cilja:

1. Proizvesti sir sa željenim senzornim osobinama (izgled, boja, presjek, konzistencija, miris i ukus).
2. Uspostaviti tehnološki lako ponovljiv protokol koji će imati za cilj da proizvodi sir sa istim karakteristikama na dnevnoj bazi [4].

U proizvodnji sira, mlijeko se može koagulisati na tri načina:

1. Korišćenjem sirila ili nekog drugog zamjenskog proteolitičkog enzima koji se koristi u proizvodnji većine zrelih sireva i nekih svježih sireva.
2. Prirodno zakiseljavanje (izoelektrična precipitacija) pri pH 4,6 je najčešće proizvodnja mliječne kiseline djelovanjem mliječnokiselinskih bakterija koja se koristi u proizvodnji svježih sireva.
3. Dodavanjem organskih kiselina u mlijeku zagrijanom na 80 do 96°C koje se koristi u proizvodnji kuvanih sireva [4].

### **2.7.1 Definicija sira**

Prema pravilnicima, propisani su pojmovi i definicije sireva i aditivi koji se mogu koristiti. Codex Alimentarius Commission predstavlja organizaciju koju su osnovali FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) i WHO (World Health Organization), objavila je standarde za najvažnije grupe sireva. Ovi standardi opisuju svojstva i sastav, osnovu tehnološkog procesa proizvodnje, kao i dozvoljene aditive u proizvodnji i način obelježavanja vrste sireva [6].

## 2.7.2 Klasifikacija sira

Klasifikacija sira je složena i nije u potpunosti precizirana. Mnogi naučnici su se bavili pitanjem klasifikacije sira u posljednjih pedeset godina. Jedna grupa smatra da sireve treba klasifikovati u manji broj grupa prema načinu njihove proizvodnje, iako se njihova proizvodnja obavlja u različitim oblastima. A drugi naučnici smatraju da je potrebno detaljnije klasifikovati sireve prema određenim parametrima [6].

U grupu sireva i proizvoda koji se dobijaju od sira mogu se svrstati sljedeći proizvodi: različite vrste topljenih sireva, prirodnih sireva, enzimski modifikovanih sirevi, sušenih sireva. Prirodni sirevi se dobijaju od mlijeka, a topljeni sirevi se dobijaju od različitih vrsta prirodnih sireva. Enzimski modifikovani sirevi su proizvodi u kojima su mliječne komponente zamijenjene nemliječnim komponentama (najčešće mliječne masti) [6].

Najvažniji proces u proizvodnji sira je koagulacija mlijeka, pri čemu dolazi do prelaska iz tečnog u čvrsto agregatno stanje. Kao sredstva za koagulaciju u proizvodnji sira mogu se koristiti mikroorganizmi, kiseline, sirilo i visoke temperature. **Na osnovu toga, prema vrsti koagulacije, kao osnovnoj operaciji u proizvodnji sira, sirevi se dijele na:**

- toplotno-koagulišuće sireve, kod kojih je prisutna toplotna koagulacija mlijeka, praćena često dodavanjem kiselina, pa se naziva i toplotno-kiselinska koagulacija;
- kiselo-koagulišuće sireve, kod kojih je prisutna kisela koagulacija mlijeka;
- sirišno-koagulišuće sireve, kod kojih je prisutna sirišna koagulacija mlijeka [6].

Sirišno-koagulišući sirevi su najveća grupa koja čini oko 75% cjelokupne proizvodnje sira u svijetu. U drugu grupu spadaju kiselo-koagulišući sirevi, koji zajedno sa malom grupom toplotno-koagulišućih sireva čine ostalih 25% proizvodnje sireva [6].

Grupa sirišno-koagulišućih sireva odlikuje velika raznovrsnost, što zahtijeva njihovu dalju podjelu, koja se najčešće vrši prema tehnologiji proizvodnje.

Prema tome, **sirišno-koagulišući sirevi se mogu podijeliti na:**

- sireve sa unutrašnjim zrenjem koji se dijele na različite podgrupe sireva, najčešće polutvrde i tvrde sireve;
- plijesne sireve
- sireve sa mažom.

**Sirevi sa unutrašnjim zrenjem** kod kojih su glavni agens zrenja koagulansi i nativni enzimi su najbrojniji i mogu se podijeliti u podgrupe prema različitim parametrima. Prema specifičnostima tehnološkog procesa proizvodnje, u ovu grupu spadaju ekstra tvrdi sirevi, sirevi

holandskog tipa, sirevi švajcarskog tipa, sirevi tipa čedar, sirevi u salamuri i sirevi parenog tijesta [6].

### **Sirevi sa plesnima**

— Sirevi sa plavim plijesnima

— Sirevi sa bijelim plijesnima

### **Sirevi sa površinskom mažom**

**Sirevi sa plesnima dijele se u dvije podgrupe** u zavisnosti od toga da li se plijesni razvijaju na površini (sirevi sa bijelim plijesnima) ili unutar sira (sirevi sa plavim plijesnima). Sireve sa površinskom mažom karakteriše specifična mikrobiota na površini, koja se uglavnom sastoji od kvasaca i bakterija. Mora se naglasiti da se zbog velike različitosti sirišno-koagulišućih sireva pojedine vrste prema svojstvima mogu svrstati u nekoliko grupa [6].

Prema “Pravilniku o kvalitetu mlijeka, proizvoda od mlijeka, sirila i čistih kultura”, po količini masti u SM sirevi se dijele na sljedeće grupe:

- ekstra-masni (najmanje 55% masti u SM)
- puno-masni (najmanje 50% masti u SM)
- masni (najmanje 45% masti u SM)
- tričetvrtmasni (najmanje 35% masti u SM)
- polu-masni (najmanje 25% masti u SM)
- četvrtmasni (najmanje 15% masti u SM)
- posni (ispod 15%) [19].

Isti pravilnik dijeli sir u 5 grupa prema sadržaju vode, konzistenciji i načinu proizvodnje:

- tvrdi sirevi
- polutvrđi sirevi (sadržaj vlage 40-50%) – zrenje najmanje 40 dana
- za rendanje, sadržaj vlage ispod 35%, zrenje najmanje 6 mjeseci
- za rezanje, sadržaj vlage 35-40%, zrenje najmanje tri mjeseca
- meki sirevi (sadržaj vlage preko 50%), zrenje najmanje 20 dana, stavljaju se u promet kao:
  - meki sir sa plemenitim plijesnima,
  - meki sir sa crvenom mažom,
  - bijeli sir (salamura)
  - svježi sirevi
  - sirni namazi [19].

Prilikom označavanja sira potrebno je navesti podatke o udjelu mliječne masti u suvoj materiji (MSM) [6].

Pored mliječne masti, suva materija ima značajan udio u hemijskom sastavu i teksturi sira. U prošlosti je sadržaj suve materije parametra sira korišćen za klasifikaciju sireva prema njihovim reološkim svojstvima, a danas se koristi sadržaj vode u nemasnoj materiji sira (VBMS). Razlog za to je poništavanje uticaja sadržaja mliječne masti na teksturna svojstva sireva. Naime, sirevi sa visokim sadržajem suve materije i mliječne masti mogu imati malu čvrstinu, dok se sirevi sa niskim sadržajem masti mogu razlikovati po veoma tvrdom sirnom tijestu, zbog toga je podjela sira prema sadržaju suve materije nepravilna [6].

## 2.8 Bijeli sirevi i njihov hemijski sastav

Bijeli sirevi u salamuri se proizvode i konzumiraju u 15 ili više zemalja kao što je prikazano u tabeli 3. Ove zemlje graniče sa Sredozemnim morem (na istoku) ili pripadaju balkanskoj grupi zemalja. Feta, Domiati, Halloumi i Beiaz Peynir su dobro poznate sorte u ovoj grupi, a Feta i Halloumi su stekle međunarodni status [15].

Osim toga, neke domaće sorte sazrele u salamuri proizvodi se i u zemljama navedenim u tabeli 3 i drugim zemljama, na primjer: Urfa, Gaziantep, Malatia, Orgu, Mihalić, Ezine, Dil, Otlu, Hellim (Turska), Sfela, Batzos, Kalathaki Limnou (Grčka), Braidad ili Mujaddal (u mnogim zemljama Bliskog istoka), iranski bijeli i Lighvan (Iran). Generalno, ovi sirevi nemaju koru, blago kiselkastog su ukusa, zbog djelovanja bakterija mliječne kiseline tokom zrenja, i slanog ukusa koji nastaje skladištenjem u salamuri (10%–18% NaCl). Zbog toga su so i kiselina kritični parametri za očuvanje ovih vrsta sireva i sirevi se periodično provjeravaju tokom zrenja kako bi se osigurao kvalitet. Glavne razlike između sirevima se uočavaju u procesu proizvodnje (na primjer, vrsta mlijeka, vrijeme i temperature sirenja, proces vrenja sira (ili skute), proces cijedenja, oblik i veličina grude i soljenje skute prije slanja). Sirevi opečeni u vrućoj vodi ili surutki takođe se karakterišu kao slani sir; međutim, proizvodni protokol pruža različite karakteristike, uključujući teksturu, biohemiju, mikrobiologiju i senzorna svojstva finalnog proizvoda. Iako postoje velike razlike u proizvodnom protokolu, postoje samo male varijacije među nekim varijantama, uprkos različitim nazivima [15].

Sirevi sazreli u salamuri razlikuju se od drugih sorti, sa karakteristikama navedenim u tabeli 4. Geografski položaj zemalja istočnog Mediterana treba uzeti u obzir da bi se bolje razumjela priroda ovih sireva [20].

Većina ovih sireva se suvo soli, a zatim sazrijevaju i čuvaju u salamuri, i ovo soljenje je glavna razlika u odnosu na sorte sireva koje se proizvode u zemljama sjeverne Evrope. Tradicionalno su se pravili kao zanatski sirevi od sirovog mlijeka, a sirar je morao da se oslanja

na prirodnu mikrofloru mlijeka, uglavnom bakterije mliječne kiseline, da bi zakiseli mlijeko [20].

Zemlje koje se nalaze u blizini Sredozemnog mora karakterišu topla i suva leta, a sirevi veoma teško sazrijevaju bez sistema za hlađenje. Ravne površine zemljišta koje omogućavaju autohtone pašnjake sa različitom botaničkom florom trava su male u odnosu na površine planina i brda. Ovo obezbjeđuje povoljnije uslove za uzgoj sitnih preživara nego za goveda, iako je populacija sitnih preživara opala u prošlom vijeku. Ovce i koze gaje nomadski ili polunomadski narodi za proizvodnju mlijeka, a od ovog mlijeka se kroz istoriju pravio sir. Zbog visokih proizvodnih zahtjeva za bijelim slanim sirevima u ovim zemljama i oskudne dostupnosti mlijeka od sitnih preživara, kravlje mlijeko se ponekad koristi u proizvodnji bijelih slanah sireva, kako u industrijskoj tako i tradicionalnoj proizvodnji [20].

Tabela 3. Zreli sirevi u salamuri i zemlje u kojima su proizvedeni [20].

Sirevi	Zemlje	Status
<b>Akawi</b>	Zemlje Bliskog Istoka	Nacionalni
<b>Beyaz Peynir</b>	Turska	Nacionalni
<b>Gibna Beyda</b>	Sudan	Nacionalni
<b>Domiani</b>	Egipat	Nacionalni
<b>Mish</b>	Egipat, Sudan	Regionalni
<b>Feta</b>	Grčka	Nacionalni
<b>Brinza</b>	Egipat	Regionalni
<b>Nabulsi</b>	Jordan	Nacionalni
<b>Teleme</b>	Rumunija, Grčka, Turska	Regionalni
<b>Iranian White</b>	Iran	Nacionalni
<b>Lighvan</b>	Iran	Regionalni
<b>Bieno Sirenje ili Beaten cheese</b>	Makedonija	Nacionalni
<b>Bijeli sir u kriškama ili Srpski, Travnički i Sremski</b>	Bivša Jugoslavija	Nacionalni
<b>Sjenički, Homoljski, Zlatarski</b>	Srbija	Nacionalni
<b>Pljevaljski, Polimsko-Vasojevski, Ulcinjski</b>	Crna Gora	Nacionalni
<b>Travnički/Vlašički</b>	Bosna i Hercegovina	Nacionalni

Tabela 4. Fizička i senzorna svojstva sireva sazrelih u salamuri [20].

<b>Boja</b>	Porcelansko bijelo, snijeg bijelo, kremasto
<b>Ukus</b>	Kiselog i slanog ukusa, blagog do jakog pikantnog ukusa
<b>Tekstura</b>	Zatvoreno bez rupa, meke do polutvrde teksture; međutim, neki tipovi imaju male i amorfne mehaničke otvore
<b>Kora</b>	Nema

<b>Oblik</b>	Kubične, pravougaone, neke vrste imaju konusni oblik nalik na jagode ili pletene
<b>Vrijeme sazrijevanja</b>	7-180 dana
<b>Način soljenja</b>	Potapanje u salamuri, suvo soljenje, a zatim prebacivanje u salamuru
<b>Temperatura sazrijevanja</b>	4-8 °C ili prvo 12-15 °C poslije 6-8 °C
<b>Lako rezanje</b>	Da
<b>Osipanje</b>	Da za neke tipove
<b>Prženje na tiganju</b>	Da za Holloumi tip
<b>Ambalaža</b>	Metalne posude od 0,5-18 kg svaka uključujući slanu vodu, ili plastične posude od 250-1000 g uključujući slanu vodu, ili zapečaćene plastičnim kesama koje se drže pod vakuumom nakon procesa salamurenja

Tabela 5. Hemijski sastav bijelih sireva prema raznim autorima [22] [23].

Autori	Područje Proizvodnje	Vrsta sira	Sastojci sira %					
			Vlaga	Mast	Mast u SM	Proteini	NaCl	Pepeo
Dimov, Černev (1973)	Bugarska	Ovčije sirene	46-54	18-28	39-52	14-22	4-6	-
Pijanowski, Supinska (1940)	Poljska	Brinza	33.3 - 49.0	23.8 - 34.8	-	20.0-27.2	2.9 - 5.6	4.7 - 8.0
Constantinascu (1953)	Rumunija	Telemea	53.0	24.8	51.8	17.6	5.75	7.55
Markin- Pollak (1959)	Izrael	Brinza	49.2	28.6	56.1	-	6.50	-
Kern (1954)	Izrael	Brinzen	32.9 - 67.0	13.5 - 34.5	32.9 - 62.2	-	3.1 - 11.4	-
Metin (1987)	Turska	Beyaz	58.48	19.25	-	15.75	1.02	3.94
Fahri,Sharara (1950)	Egipat	Domiat	52-55	20.25	-	-	-	-
Vukina (1949)	Crna Gora	Durmitorski („Kriška“)	46.00	35.02	64.80	13.54	3.47	5.44
Ostojić i sar. (2000)	Srbija	Zlatarski	47.20	28.00	53.05	20.26	3.15	4.54
Ostojić (2000)	Srbija	Kopaonički	49.32	26.50	52.29	19.29	-	-
Ostojić (1998)	Crna Gora	Durmitorski	56.36	24.00	55.00	17.42	-	-
Dozet i sar. (1987)	Crna Gora	Pljevaljski	53.62	29.49	55.04	20.68	2.16	3.26

<b>Karabašević (1959)</b>	Srbija	Vlaški sir	40.00	28.00	46.00	27.45	5.75	7.55
<b>Ostojić i sar. (1978)</b>	Srbija	Bijeli sir	50.14	-	50.84	17.27	2.28	-
<b>Ostojić i sar. (1981)</b>	Srbija	Krivovirski	44.08	-	55.00	19.92	2.72	-
<b>Živić (1989)</b>	Srbija	Bijeli sir	61.77	19.87	50.24	15.12	-	1.07
<b>Zdanovski (1942)</b>	Srednja Bosna	Travnički	46.57	25.70	48.04	19.96	4.18	5.69
<b>Dozet (1963)</b>	Srednja Bosna	Travnički	50.32	22.43	46.09	20.10	3.77	5.49
			-	-	-	-	-	
			52.05	27.42	54.80	21.89	5.44	
<b>Slanovec (1974)</b>	Slovenija	Bohinjski mohant	52.58	-	49.39	19.28	1.03	-
<b>Kapac-Parkačeva i sar. (1974)</b>	Makedonija	Bijeni sir	38.41	25.30	41.47	25.49	7.09	9.80

## 2.9 Osnovne faze u proizvodnji sireva

Proizvodnja sira se zasniva na činjenici da mliječni proteini (najčešće kazein) koagulacijom formiraju gel koji uključuje sve sastojke mlijeka.

U daljem toku proizvodnje, zbog aktivnosti gela, dolazi do izdvajanja surutke, dok se kazein i mast u najvećoj mjeri zadržavaju u siru [24].

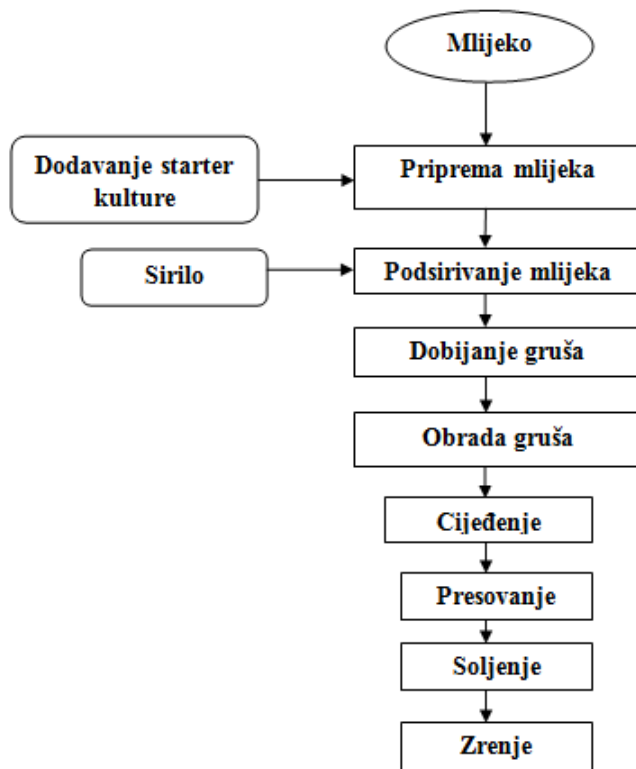
### **Proizvodnja sira sastoji se od sljedećih faza:**

- a) Koagulacije mlijeka i stvaranje gruša (fizičko-hemijska modifikacija micela kazeina pod uticajem proteolitičkih enzima i mliječne kiseline, koje mijenjaju strukturu kazeina u grušu)
- b) Sinereze ili odvajanje surutke (djelimična dehidracija gruša, sa odvajanjem rastvorljivih i drugih komponenata mlijeka)
- c) Dodavanje soli (što utiče na surutku u sirnoj masi, kao i na ukus sira)
- d) Zrenje (biohemijska promjena sastojaka sirne mase pod uticajem enzima i mikroorganizama) [24].



## Koagulacija mlijeka

### Enzimsko sirilo



Slika 1. Blok shema proizvodnje salamurnih sireva [24].

Osnovni proces u proizvodnji sirišno-koagulišućih sireva jeste koagulacija, pri kojoj se mlijeko kao tečna masa prevodi u gelasto stanje dejstvom koagulišućih enzima-sirila. Najčešći i najpouzdaniji koagulant mlijeka je teleće sirilo (eng. calf rennet) koje se dobija iz želuca mladih jagnjadi i teladi, a sastoji se od 90% himozina i oko 10% pepsina. Sa odrastanjem životinje smanjuje se učešće himozina, a povećava se sadržaj pepsin [24].

### Mikrobiološka Sirilaladih

Sirište mikrobiološkog porijekla najčešće se dobija od gljiva *M. meihei*, *M. pusilis* i *E. parasitica*. Na tržištu se ovi enzimi mogu naći pod nazivima “renilaza”, “hanilaza” i sl. Sirila mikrobiološkog porijekla nastala su kao rezultat nedostatka prirodnih sirovina životinjskog porijekla [24].

## **Koagulacija**

Koagulacijom se postiže promjena tečnog sistema kao što je mlijeko u sistem gela, čime se mijenja stanje početnog supstrata i nastaje buduća struktura sira. Gel koji nastaje koagulacijom mlijeka može se okarakterisati kao sistem koji posjeduje potpuni kontinuitet i tečne i čvrste faze. Čvrsti dio gela je proteinski matriks i on se formira tokom koagulacije, a nastaje procesom agregacije mliječnih proteina, prije svega kazeina. Tečna faza gela se sastoji od sadržanog seruma koji se neprekidno širi kroz pore proteinskog matriksa. Koagulacija mlijeka se može podijeliti u dvije faze: biohemijsku fazu (enzimsku) i fizičko-hemijsku fazu koagulacije. Biohemijska faza koagulacije se postiže dejstvom himozina ili sličnih koagulacionih enzima na  $\alpha$ -kazein, a fizičko-hemijska faza uključuje agregaciju kazeina promijenjenog pod dejstvom himozina uz prisustvo kalcijumovih jona, usljed toga dolazi do formiranja gela. Razvoj biohemijske i fizičko-hemijske faze koagulacije može se posmatrati potpuno odvojeno. Naime, u stvarnosti su ove dvije faze koagulacije usko povezane. One se djelimično preklapaju, a to zavisi od više faktora [24].

Realizacijom fizičko-hemijske faze koagulacije dolazi do promjene tečnog sistema mlijeka u sistem gela. Tokom ove transformacije dolazi do dramatičnih promjena u određenim fizičkim karakteristikama. Poznavanje toka koagulacije mlijeka i karaktera nastalog gela bila je najvažnija vještina sirara od davnina, a sirarstvo kao zanat je u značajnoj mjeri počivalo na uspješnosti kontrole ovog procesa [24].

## **Sinersis**

Sinersis, odnosno odvajanje seruma iz gela, je bitno svojstvo mliječnog gela. Sinereza predstavlja glavnu fazu u proizvodnji sira tokom koje se u najvećoj mjeri stvara hemijski sastav, stvaraju bitni elementi mikrostrukture budućeg sira [24].

## **Dodatak $\text{CaCl}_2$**

So predstavlja redovan dodatak u industrijskoj proizvodnji sira i prvenstveno se dodaje da bi se nadoknadili štetni efekti pasterizacije mlijeka [24]. Prevelika količina može uzrokovati pojavu čvrstog gruš i gorčinu. Prema našim propisima dozvoljena količina u proizvodnji sira je do 0,02% [19].

## **Sječenje gruša**

Rezanje gruša je prva faza u okviru prerade gruša, a u isto vrijeme početak sječenja gruša je završna faza koagulacije mlijeka. Rezanje gruša se vrši u trenutku kada se postigne željena gotovost gruša [24].

## **Odlivanje surutke**

Odlivanje surutke je zadnja operacija u preradi gruša, u kojoj se obavlja razdvajanje gruša od surutke. Sirna zrna su u toku obrade gruša potopljena u surutki. Sve promjene na sirnim zrnima vrše se preko surutke. U tom smislu se može reći da surutka predstavlja pokretni mehanizam za sve promjene sastava sirnih zrna [24].

## **Slepljivanje zrna gruša**

Stavljanje sireva u kalup treba obaviti što je prije moguće. Prilikom kalupljenja treba paziti gruša da se ne ohladi. U toku odlivanja surutke zrna gruša dolaze u dodir jedno sa drugim i započinje proces njihovog lijepljenja [24].

## **Kalupi za Sireve**

Sir se može stavljati u kalupe raznih oblika i veličina. Oblik i dimenzija kalupa za sir uglavnom se definiše na osnovu kalupa koji se koriste u tradicionalnoj proizvodnji sira, ali postoje slučajevi kada su uvedeni novi oblici i forme kalupa [24].

U današnjoj proizvodnji sira kalup treba da ispunjava sljedeće zahtjeve:

- da obezbijedi odgovarajući oblik i veličinu sira;
- da omogući normalno oticanje surutke;
- da podnese odgovarajući pritisak tokom presovanja sira;
- da omogući jednostavnu manipulaciju i pranje.

Na osnovu dimenzija, visina kalupa mora biti veća od visine sira, jer visina sira se smanjuje tokom kalupljenja i presovanja [24].

## Presovanje sireva

Konačan oblik sira se postiže presovanjem. Prilikom oblikovanja nastaje međusobni raspored zrna gruša u siru. Međutim, zbog zaobljenog obliku zrna gruša ne postiže se potpuni kontakt, već određeni dio surutke i dalje ispunjava prostor između zrna gruša, pa je djelimično slijepljen [24].

Presovanje sira ima sljedeće zadatke:

- da obezbijedi konačno odvajanje surutke;
- da se postigne konačni oblik sira;
- da obezbijedi potreban obim slepljivanja zrna;
- da se omogući nastavak procesa fermentacije;
- da se formira željena makrostruktura sira [19] [24].

## 2.10 Teški metali

Teški metali se definišu kao metali čija je gustina veća od  $5 \text{ g mL}^{-1}$ , na primjer, Fe, Cu, Pb, Cd, Hg, Ni, Zn i Mn [25].

Teški metali su među najopasnijim zagađivačima životne sredine, iako mnogi od njih, pod odgovarajućim uslovima, igraju ulogu bioelemenata neophodnih za pravilno funkcionisanje ljudskog organizma, npr. cink, željezo, bakar i selen [26].

Do sada nije dokazana biološka uloga koju bi živa, arsen, kadmijum i olovo mogli da imaju, a smatraju se supstancama koje su potpuno strane ljudskom organizmu i štetne, čak i u veoma malim koncentracijama. Zajednička svojstva žive, olova i kadmijuma uključuju lakoću apsorpcije iz atmosfenskog vazduha i iz digestivnog trakta, lakoću prodiranja kroz placentu, kroz krvno-moždanu biološku barijeru (Hg, Pb), sposobnost formiranja kompleksa sa makromolekulima i izazivaju oštećenje strukture lanaca nukleinskih kiselina (Cd, Hg) [26].

Toksični elementi, npr. kadmijum, apsorbuju se hranom i vodom za piće. Zbog toga se mogu podvrgnuti bioakumulaciji u proizvodima životinjskog porijekla i uključivanju u lanac ishrane ljudi. Dugotrajna izloženost ljudskog organizma čak i malim dozama teških metala, koja je rezultat stalnog prisustva u kontaminiranoj sredini, može biti uzrok subkliničkih promjena, često ireverzibilnih, koje se otkrivaju poslije mnogo godina, npr. Leukemija [26].

Oko pedeset tri od devedeset elemenata koji se javljaju u prirodi nazivaju se teškim metalima, a mnogi od njih, kao što su Cu, Mn, Fe i Zn, su esencijalni mikronutrijenti, ali mogu postati toksični u koncentracijama većim od količine potrebne za normalan rast. Drugi teški metali, kao što su Cd, Hg i Pb, imaju do sada nepoznatu ulogu u živim organizmima i toksični su čak i pri veoma malim koncentracijama [25].

Iako različiti teški metali pokazuju niz različitih svojstava i mobilnosti u zemljištu, gubici su generalno mali i mogu nastati usljed uklanjanja usjeva, ispiranja i erozije zemljišta. Dugoročna akumulacija teških metala u poljoprivrednim zemljištima ima potencijal da smanji produktivnost zemljišta inhibicijom populacija mikroba i faune u tlu, i može predstavljati rizik po zdravlje životinja, ljudi i ekosistema. Budući da mnogi teški metali mogu biti veoma toksični i na taj način mogu ugroziti zdravlje organizama, sprovedene su studije za ispitivanje nivoa teških metala u uzorcima životne sredine, kao i akumulacije teških metala u organizmima i uticaja na njih, kao i faktora koji utiču na akumulaciju teških metala od strane različitih organizmi. Međutim, studije sprovedene u tropskim sredinama su rijetke [25].

Rezultati dosadašnjih istraživanja pokazuju da je veliki broj životinjskih i biljnih proizvoda hemijski kontaminiran, sa štetnim agensima visokog rizika kao što su teški metali (Pb, Cd) i druge hemijske supstance. Opasnost da stočna hrana ili proizvodi životinjskog porijekla postanu potencijalno štetni za životinju ili ljudski organizam, proizilazi iz stepena njihove kontaminacije različitim hemijskim zagađenjima. Životinje bi mogle biti kontaminirane teškim metalima unošenjem zagađene hrane. Teški metali sa potencijalnom toksičnošću mogu ući u hranu na više načina. Toksičnost zagađivača zavisi od životinjske vrste, hemijske doze i trajanja njihovog djelovanja na organizam. Olovo i kadmijum imaju toksično i onkološko dejstvo, što dovodi do karcinoma jetre, kože i pluća i izmenjenih hematoloških parametara [25].

### 2.10.1 Klasifikacija teških metala

Teški metali se mogu svrstati u četiri velike grupe prema njihovom zdravstvenom značaju.

- Esencijalni: Cu, Zn, CO, Cr, Mn i Fe. Ovi metali se takođe nazivaju mikronutrijentima i toksični su kada se uzimaju prekomjerno.
- Neesencijalni: Ba, Al, Li i Zr
- Manje toksični: Sn i Al
- Visoko toksični: Hg, Cd i Cd. Teški metali se takođe nazivaju elementima u tragovima zbog njihovog prisustva u tragovima ( $10 \text{ mg Kg}^{-1}$ ) ili u ultratrace ( $1 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$ ) količinama u matricama životne sredine.

**Bakar (Cu):** Bakar je esencijalni element u tragovima za adekvatan rast, kardiovaskularni sistem, pluća, neuronendokrinu funkciju i metabolizam željeza [27].

Njegova hemijska struktura omogućava mu da igra ključnu ulogu u funkciji proteina. Joni bakra su vezani za proteine mnogo jače od drugih metalnih jona. Bakar je izuzetno efikasan katalitički reagens. Sam jon je vjerovatno najsvestraniji katalizator od svih elemenata; njegova katalitička aktivnost je znatno poboljšana kada se ugradi u proteine. Značaj prisustva bakra u mlijeku ne odnosi se na toksikološke aspekte, već na štetan efekat na ukus mlijeka i mliječnih proizvoda kroz duboko dejstvo koje ima na brzinu radikalne lančane oksidacije [28].

Bakar se nalazi u tragovima, ali u visokim koncentracijama opasno djeluje na ljudski organizam [27]. Kao rezultat kontaminacije, bakar može dostići visoke nivoe u mlijeku i mliječnim proizvodima. JECFA (Zajednički stručni komitet FAO/WHO za aditive u hrani) je odredio maksimalnu dnevnu dozvoljenu dozu bakra od 0,5 mg/kg. Prema Codex Alimentarius u okviru Organizacije za hranu i poljoprivredu (FAO) i Svjetske zdravstvene organizacije (WHO), maksimalna količina bakra koja se može naći u hrani je 0,1 - 5,0 mg/kg [29].

Normalna količina bakra u maslacu i siru je oko 0,6 mg/kg. Kiselost i toplota, ako su mlijeko ili proizvodi u kontaktu s bakrom, pogoduju njegovom rastvaranju [30].

**Olovo (Pb):** Olovo je najčešći industrijski metal koji je postao široko rasprostranjen u vazduhu, vodi, zemljištu i hrani. Olovo je slabo rastvorljivo u vodi i transportuje se uglavnom kroz atmosferu. Ponaša se kao kalcijum u tijelu i akumulira se u kostima, jetri, bubrezima i drugim tkivima. Problem trovanja olovom kod životinja je opštepriznat i zahtijeva posebnu pažnju ekologa i zdravstvenog osoblja [25].

Prisustvo olova u mlijeku i mliječnim proizvodima može biti iz izvora životne sredine (atmosfera, izduvni gasovi vozila, komunalni otpad, itd.). Olovo je vrsta neurotoksina i uzrokuje abnormalne funkcije mozga i nervnog sistema. Veoma je toksičan i negativno utiče na zdravlje ljudi. Komisija Codex Alimentarius [29] utvrdila je količinu olova na nivou od 0,02 mg/kg za mlijeko i mliječne proizvode [27].

**Željezo (Fe):** Željezo je esencijalni element u tragovima u ljudskoj ishrani i najzastupljeniji u ljudskom tijelu [27]. Željezo u tragovima učestvuje kao katalizator u nekoliko metaboličkih reakcija. Kao komponenta hemoglobina, mioglobina, citohroma i drugih proteina, igra suštinsku ulogu u transportu, skladištenju i korišćenju kiseonika. Takođe je kofaktor za brojne enzime i njegov nedostatak dovodi do anemije. Dnevni unos (mg/dan) za željezo u mlijeku i mliječnim proizvodima kreće se od 0,04 do 1,799 mg/dan, što predstavlja 0,5–22,49 i 0,22–9,99% RDA vrijednosti od 8 mg/dan za odrasle muškarce i 18 mg/dan za odrasle žene. Nedostatak željeza je jedan od najčešćih nedostataka u ishrani u detinjstvu i detinjstvu zbog brzog rasta i marginalne količine željeza u ishrani. Bioraspoloživost željeza odojčetu iz kravljeg

mlijeka kreće se od 10 do 34 %, što je znatno niže nego iz ljudskog mlijeka (49–70 %). Zbog toga se kravlje mlijeko i mliječni proizvodi smatraju lošim izvorima željeza, posebno za bebe [31].

Međutim, nedostatak željeza je rasprostranjen kod ljudi širom sveta. Mlijeko i mliječni proizvodi su veoma siromašni izvori željeza. Značaj prisustva željeza u mlijeku ne odnosi se na dijetetske ili toksikološke aspekte, već na činjenicu da ono doprinosi, u određenim slučajevima, ubrzanju oksidacije lipida [27].

Željezo u mlijeku je, kao i bakar, vezano za mliječne proteine. Ovi kompleksi željezo-protein su katalitički neaktivni u pogledu oksidacije lipida, za razliku od bakra vezanog za proteine, što značajno povećava brzinu oksidacije radikalnog lanca. U proizvodima bez proteina (kao što je mliječna mast) nevezano željezo može izazvati oksidativno pogoršanje [28].

### **2.10.2 Teški metali u mlijeku**

Mlijeko se smatra gotovo potpunom hranom jer je dobar izvor proteina, masti i glavnih minerala. Pored toga, mlijeko i mliječni proizvodi su glavni sastojci svakodnevne ishrane, posebno za osjetljive grupe kao što su odojčad, djeca školskog uzrasta i stari [31].

Nekoliko studija je izvjestilo o distribuciji i pojavi esencijalnih komponenti u različitim životinjskim mlijecima. Mlijeko i mliječni proizvodi sadrže važne hranljive materije koje su neophodne za život čovjeka. Mlijeko je veoma poželjna namirnica jer ima visoke biološke vrijednosti i bogato je hranljivim materijama [27]. Podaci pokazuju da sadržaj odabranih komponenti mlijeka značajno varira i da na njihov sastav utiču genetika, fizički i faktori životne sredine [32].

Mlijeko i mliječni proizvodi su po sastavu najraznovrsnija prirodna hrana, sadrže više od dvadeset različitih elemenata u tragovima. Većina njih je esencijalna i veoma važna kao što su bakar, cink, mangan i željezo. Ovi metali su kofaktori mnogih enzima i igraju važnu ulogu u fiziološkim funkcijama ljudi i životinja. Nedostatak ovih metala izaziva poremećaje i patološka stanja. Količina metala u nekontaminiranom mlijeku je doduše mala, ali se njihov sadržaj može značajno promijeniti procesom proizvodnje i pakovanja [32].

Toksičnost metala je usko povezana sa godinama, polom, putem izlaganja, nivoom unosa, rastvorljivosti, oksidacionim stanjem metala, procentom zadržavanja, trajanjem izlaganja, učestalošću unosa, brzinom apsorpcije i mehanizmima/efikasnošću izlučivanja [32].

Zagađenje životne sredine metalima kao što je olovo je problem širom svijeta. Alkilni aditivi olova u benzinu se sagorevaju i emituju u atmosferu i mogu biti odgovorni za visoke koncentracije olova u nekoj vegetaciji, pored puteva, zemljištu, vazduhu, vodi i biljkama. Proizvodni procesi, spaljivanje otpada i sagorijevanje uglja, takođe su drugi izvori koji doprinose olovu u atmosferi; stoga nije iznenađujuće da su nivoi olova najviši u oblastima intenzivne industrijalizacije. Olovo je toksično za krv i nervni, urinarni, želudačni i genitalni sistem. Štaviše, olovo je izazvalo kancerogenezu, mutagenezu i teratogenezu kod eksperimentalnih životinja. S druge strane, kadmijum takođe lako ispari na radnim temperaturama uobičajenih industrijskih procesa, veliki dio kadmijuma u atmosferi nastaje spaljivanjem otpada gvožđa i metalurškim procesima. Kadmijum se smatra jednim od najotrovnijih metala. Pored toga, izaziva visok krvni pritisak, mutacije i fetalnu (embrionsku) smrt. Hrom, nikl i kobalt su takođe toksični metali na višim nivoima koji se ispuštaju u životnu sredinu. Nastali su odlaganjem industrijskog otpada u rijeke, kao i primjenom fosfatnih đubriva [32].

Često se razmatra sastav mineralne frakcije mlijeka i mliječnih proizvoda, ali samo nekoliko objavljenih studija bavi se minornim elementima i elementima u tragovima, uprkos njihovom značaju u ishrani [32].

### **2.10.3 Teški metali u mliječnim proizvodima**

Mlijeko i mliječni proizvodi su osnovni sastojci ljudske ishrane, a među njima značajno mjesto zauzima sir. Mliječna hrana je dobar izvor proteina, kalcijuma, riboflavina, fosfora, kalijuma, vitamina A i vitamina D. Grupa mliječnih proizvoda jedan je od najvećih doprinosa unosu kalcijuma, što je izuzetno važno za zdravlje kostiju [33]. Iako mlijeko i sir imaju mnoge nutritivne prednosti, ponekad mogu da sadrže mnoge zagađivače životne sredine kao što su pesticidi, deterdženti, ostaci lijekova, teški metali, koji mogu biti opasni po zdravlje ljudi [27]. Sadržaj metala u tragovima sira je promjenljiv zbog faktora kao što su razlike među vrstama, geografsko područje, karakteristike proizvodnih procesa i moguća kontaminacija od opreme tokom obrade, pakovanja i skladištenja [33].

Iako različiti teški metali pokazuju niz različitih svojstava i pokretljivosti u zemljištu, gubici su generalno mali i mogu nastati usljed uklanjanja usjeva, ispiranja i erozije zemljišta. Dugoročna akumulacija teških metala u poljoprivrednim zemljištima ima potencijal da smanji produktivnost zemljišta inhibiranjem populacija mikroba i faune u tlu i može predstavljati rizik za zdravlje životinja, ljudi i ekosistema [25].

U zatvorenom sistemu, kruženje mnogih teških metala kroz mliječni lanac ishrane vjerovatno će biti ograničeno barijerom zemljišta i biljaka. Barijera tla ograničava prenos metala



kroz lanac ishrane hemijskim procesima koji ograničavaju bioraspoloživost. U principu, ovo je kapacitet katjonske razmjene u zemljištu, ali na njega utiču druga hemijska svojstva zemljišta kao što su pH, salinitet, mikro- i makronutrijenti i koncentracija metala [25]. Biljna barijera ograničava prenos određenih teških metala kroz lanac ishrane gdje su metali fitotoksični, a značajno smanjenje prinosa se dešava prije nego što bi usjev predstavljao životni rizik za stoku. Izuzetak od ovog pravila je kadmijum. Kadmijum ima najveći potencijal za prenos kroz lanac ishrane na nivoima koji predstavljaju rizik za potrošače. Utvrđeno je da je tokom 1980-ih godina konzumiranjem žitarica i proizvoda od žitarica, odrasla populacija SAD dobijala oko 20% dozvoljenog dnevnog unosa kadmijuma propisanog od strane WHO [34].

Cink i bakar su esencijalni minerali u tragovima potrebni za mnoge biološke procese, posebno funkcije enzima, i imaju pozitivan uticaj na rast i reprodukciju stoke. Zbog niskog sadržaja cinka i bakra u pojedinim domaćim hranivima u odnosu na preporuke i različite bioraspoloživosti, suplementacija ovih metala je neophodna za većinu vrsta stoke, a obično se dodaju mliječnim obrocima kao mineralni dodaci. Međutim, kada se ovi hranljivi sastojci dodaju u većim količinama od propisanih, krava muzara može da ograniči neželjeno nakupljanje cinka i bakra u tkivu prilagođavanjem apsorpcije i izlučivanja što dovodi do povećanja sadržaja cinka i bakra u stajnjaku [25].

Pored Zn i Cu, teški metali kao što su Cr, As, Cd i Pb se generalno smatraju zagađivačima hrane za životinje koji se nenamjerno unose u hranu, uglavnom kroz koncentrate i dodatke koji sadrže fosfate. Konzumacija ovih zagađujućih teških metala će vjerovatno povećati njihovu koncentraciju u stajnjaku. Primjena teških metala u zemljištu u obliku stajnjaka može se preuzeti od strane krmnih usjeva, što može dugoročno pogoršati izloženost muznih krava teškim metalima. Trovalentni oblik Cr se smatra neophodnim za normalan metabolizam ugljenih hidrata i lipida. Međutim, Cr (III) je sveprisutan u prirodi, javlja se u vazduhu, vodi, zemljištu i biološkim materijalima, a suplementacija se generalno ne smatra neophodnim. Iako je Cr (III) relativno bezopasan za većinu životinjskih vrsta, konzumacija visokih doza Cr (VI) je izazvala toksikozu kod mliječnih teladi [25].

Pokazalo se da je arsen esencijalni element u tragovima kod glodara, a neka organska jedinjenja arsena (npr. arsaninska kiselina, 4-nitrofenilarsonska kiselina, 3 nitro-4-hidroksifenilarsonska kiselina i njihove soli) su korišćena kao aditivi u hrani za kontrolu bolesti i poboljšanje povećanja tjelesne težine kod svinja i živine u visokim koncentracijama već neko vrijeme. Međutim, nema dokaza da je arsen esencijalni nutrijent za mliječnu stoku. Toksičnost arsena zavisi od hemijskog oblika i valencije. Neorganski oblici arsena su generalno mnogo toksičniji od organskih oblika. Preživari su manje podložni As toksikozi i ne pokazuju nikakve znake toksičnosti osim ako ponuđena hrana ne sadrži više od 200 do 300 mg/kg neorganskog As [25].

Kadmijum i olovo su neesencijalni hranljive materije koje su od direktnog značaja za zdravlje ljudi i stoke i mogu se akumulirati u tijelu, posebno u bubrezima, jetri i u manjoj mjeri u mišićima. Prijavljen je samo ograničen broj slučajeva u kojima su nivoi tkiva kod goveda premašili maksimalne prihvatljive granice za ljudsku ishranu, ali nedavni radovi sugeriraju da bi mliječna goveda mogla biti podložnija akumulaciji Cd i Pb od tovnihi goveda. Iako je malo vjerovatno da bi se Cd akumulirao u proizvodima namijenjenim za ljudsku ishranu, akumulacija je primijećena u jajnicima i matericama mliječnih krava što može uticati na reprodukciju [25].

## **2.11 Izvor kontaminacije teškim metalima i njihovo otklanjanje**

Nutritivna vrijednost mlijeka prepoznata je od davnina i oduvijek se smatralo kompletnom hranom. Mlijeko je posebno vrijedna hrana za djecu, odrasle i starije osobe. Kravlje mlijeko je glavni izvor svježeg mlijeka i mliječnih proizvoda u razvijenim zemljama. Mnoge evropske zemlje imaju dugu tradiciju u ovom sektoru poljoprivrede, kao što je EU jedan od najvažnijih proizvođača kravljeg mlijeka u svijetu. Takođe, ima mnogo slučajeva gdje mlijeko proizvode mali poljoprivrednici, što doprinosi svakodnevnom životu [25].

Mlijeko i proizvodi od njega, npr. sirevi, kefir, maslac itd., kao osnovni izvori životinjskih bjelančevina, većine vitamina i minerala i uobičajenih elemenata ljudske ishrane, ujedno su i glavni izvor teških metala i treba da budu pod stalnom kontrolom koncentracija ovih metala. Monitoring studije proizvoda životinjskog porijekla (mlijeko, jaja) ukazuju na značajne varijacije u koncentraciji Cd, Hg, Pb i drugih teških metala, od nivoa u tragovima do količina koje višestruko prelaze maksimalno dozvoljene koncentracije [26].

U svijetu kontaminacija mlijeka raznim zagađivačima potiče uglavnom od ishrane stoke, tj. stočne hrane. Danas postoji velika zabrinutost u vezi kvaliteta ishrane jer su i mlijeko i mliječni proizvodi namirnice koje se u djetinjstvu konzumiraju u značajnim količinama. Kvalitet zemljišta je jedan od glavnih faktora koji doprinose kontaminaciji hrane i mlijeka toksičnim metalima i pesticidima. Intenzivna industrijalizacija koju su ostvarile naftna industrija i srodne grane (inženjering, elektro oprema, takođe održavanje), tekstilna i hemijska industrija, zagađenje automobilima u prenaseljenim gradovima, godinama je stvorilo značajan nivo toksičnih metala koji su se bioakumulirali u tla. Prisustvo metala kao što su kadmijum i olovo u visokim koncentracijama kako u zemljištu tako i u vazduhu je posljedica ovih aktivnosti [35].

Kadmijum i olovo izazivaju veliku zabrinutost zbog svojih toksičnih efekata u malim dozama, smatraju se potencijalnim kancerogenima i obično su povezani sa nekoliko bolesti koje utiču na bubrege, nervni ili kardiovaskularni sistem. Drugi metali, kao što su bakar i cink, su esencijalni nutritivni elementi, ali izlaganje visokim koncentracijama izaziva toksične

metaboličke efekte. Metali se prenose trofičkim lancem (zemljište - biljke - stoka - mlijeko - mliječni proizvod - ljudi) i njihova akumulacija varira u zavisnosti od metala i interakcije sa različitim kontaktnim površinama. Nekoliko studija tokom više godina, koje su pokrivale različite geografske oblasti, otkrile su blisku korelaciju između nivoa toksičnih metala u hrani i zagađenja životne sredine [35].

Sva zemljišta sadrže različite koncentracije teških metala u zavisnosti od vrste matičnog materijala od kojeg je zemljište formirano. Teški metali se mogu naći u zemljištu kroz primjenu mineralnih i organskih đubriva, direktnom defekacijom i mokrenjem od strane životinja, primjenom pesticida, praksama izmjene zemljišta (npr. krečovanje i nanošenje gipsa) i atmosferskim taloženjem (npr. radionuklidi, vozila i industrijske emisije). Sadržaj teških metala u goveđim fekalijama i urinu varira u zavisnosti od ishrane životinja. Otpaci od mliječnih proizvoda i goveda sadrže veće koncentracije teških metala kada se hrane koncentrovanom hranom, a ne kabastom stočnom hranom ili silažom. Takođe, sadržaj teških metala u stajnjaku zavisi prije svega od koncentracije u stočnoj hrani. Uzimajući u obzir potencijalni uticaj teških metala na zagađenje zemljišta pašnjaka u dugoročnom periodu, važno je kvantifikovati koncentracije metala u zemljištu pašnjaka kako bi se otkrilo moguće dugoročno nakupljanje teških metala, posebno u tropskim regionima sa kiselim zemljištima. Dostupnost metala u biljkama je visoka u kiselim zemljištima [25].

Prijavljeno je da primjena mliječnog mulja na travnjacima ne dovodi do akumulacije teških metala do štetnog nivoa u kratkom ili srednjem roku (1 i 4 godine). Na uticaj teških metala koji ulaze u zemljište pašnjaka utiču karakteristike zemljišta. Koncentracija metala u zemljištu se mijenja u zavisnosti od vrste izvora, prisustva metala u životnoj sredini i hemijskih karakteristika zemljišta. Raspodjela i lokalizacija teških metala unutar profila zemljišta su regulisani tipom minerala gline i procentom ispiranja organske materije, erozije i bioloških i mikrobnih procesa. Raspodjela teških metala nije identična po cijelom profilu zemljišta; međutim, teški metali se obično nalaze unutar gornjih 25 cm zemljišta u kultivisanim zemljištima [25].

Zagađenje teškim metalima takođe može nastati iz prirodnih i antropogenih izvora. Aktivnosti kao što su rudarstvo i poljoprivreda, kontaminirale su velike oblasti svijeta kao što su Japan, Indonezija i Kina, uglavnom teškim metalima kao što su Cd, Cu i Zn Cu i Pb u sjevernoj Grčkoj, Cu, Pb, Cu, Ni, Zn i Cd u Austriji [25].

## **2.12 Smanjenje kontaminacije**

Tijelo krave djeluje kao biološki filter za teške metale (posebno kadmijum). Apsorbovani olovo i kadmijum prelaze u njene kosti i počinju da se akumuliraju. U posebnim okolnostima,

kao što su prekomjerni nivoi metala u tijelu životinje ili nedostatak kalcijuma u ishrani, može se izlučiti u kravlje mlijeko [36].

Prema rezultatima studije o kontaminaciji metala u siru i bijelom siru, kontaminacija olovom se desila kroz galonske kontejnere [36].

Nurdin i saradnici (2013) proučavali su dejstvo nekih ljekovitih biljaka koje se koriste u ishrani koje mogu da smanje količinu olova izlučenog u mlijeku životinja. Njihovi rezultati su pokazali da kumin, bijela kurkuma i mango kurkuma mogu da smanje količinu olova u mlijeku i mliječnim proizvodima za 98,36%, 99,33% , odnosno 99,37% [37].

U studiji A. Enb i sar. (2009) ispitivana je količina metalnih elemenata u mlijeku i proizvodima od njega. Količina željeza, bakra, mangana, cinka, olova, kadmijuma i hroma smanjena je za 0,40 - 15% u jogurtu od kravljeg mlijeka i 0,50 - 15% u jogurtu od bivoljeg mlijeka. Količina nikla, kobalta i kalaja smanjena je za 50 - 100% u jogurtu od kravljeg mlijeka i 25 - 50% u jogurtu od bivoljeg mlijeka. Kao rezultat toga, količina ovih metala naglo opada u procesu proizvodnje jogurta, što je posljedica visoke kiselosti i aktivnosti bakterija [32].

Postojale su opsežne studije o uklanjanju kontaminacije teškim metalima iz različitih izvora, posebno vodnih resursa. Ova metoda se može generalizovati na dekontaminaciju različitih mliječnih proizvoda, posebno olova i kadmijuma. Poslednjih nekoliko godina za apsorpciju teških metala korišćeni su mineralni apsorbenti kao što su smektit i paligorskit. U drugoj studiji, minerali sepiolita i zeoliti su uvedeni kao adsorbenti i sredstva za uklanjanje teških metala. U studiji Shahmohammadi i sar. korišćena je modifikovana pirinčana ljuska sa različitim koncentracijama natrijum bikarbonata za apsorpciju niskih koncentracija kadmijuma u vodenom okruženju [38].

Studije Penaud S. i sar. su pokazale da neke vrste laktobacila koriste teške metale u svom metabolizmu. Korišćenje ovih laktobacila kao probiotičkih agenasa može smanjiti kontaminaciju apsorbovanjem teških metala iz proizvoda kao što je jogurt [39].

Smanjenje kontaminacije teškim metalima u mlijeku može se postići i kroz promjene u procesu proizvodnje mlijeka. Vodu koja se koristi za piće i stočnu hranu za mužu treba redovno pratiti kako bi se procenio nivo teških metala. Treba preduzeti mjere predostrožnosti kako bi se izbjegla kontaminacija metalom tokom rukovanja, obrade i skladištenja mlijeka i mliječnih proizvoda, a tokom ovih koraka treba koristiti samo materijale koji se koriste za hranu. Stada životinja i zemljište koje se koristi za uzgoj stočne hrane treba odabrati dalje od industrijskih područja i područja sa velikim prometom kako bi se izbjegla mogućnost kontaminacije metalom [40]. Postoje ograničene mogućnosti za uklanjanje teških metala iz mlijeka; međutim, Porova i sar. (2014) su uspješno koristili ultrazvučne talase niske frekvencije za dekontaminaciju teških metala Pb, Hg i As u mlijeku bez štetnog uticaja na njegova hemijska i fizička svojstva. Treba

uložiti dodatne napore da se pronade ekonomski pogodan i lako izvodljiv metod za dekontaminaciju teških metala u mlijeku [41].

### **2.13 Kontrola teških metala u mlijeku**

Teški metali se mogu transportovati u životnoj sredini od industrijskih lokacija do kanala i rijeka, direktnim ispuštanjem i oticanjem do kontaminiranih lokacija. Oticanje atmosferskih voda sa gradskih puteva takođe može sadržati značajne količine teških metala. Ovi teški metali na kraju dopijevaju u poljoprivredne oblasti gdje se uzgaja stočna hrana. Konačno, ovi metali mogu ući u mlijeko konzumiranjem hrane ili vode kontaminirane metalima od strane mliječnih životinja ili preko opreme koja se koristi u transportu i preradi mlijeka. Ponekad su mljekari uključeni u falsifikovanje mlijeka sa prljavom vodom kao što je npr. kanalska voda koja bi mogla biti odličan izvor teških metala [40].

Adsorpcija teških metala iz industrijskih otpadnih voda bila je uspješna. Neki potencijalno jeftini sorbenti teških metala su bili efikasni, uključujući sorbente koji su otpadni proizvodi nekih industrijskih procesa. Ovi jeftini sorbenti mogu biti održivija opcija u oblastima u razvoju. Generalno, široko korišćena tehnika tretmana je hemijska precipitacija korišćenjem hidroksida. Naprednije tehnologije tretmana kao što su nanofiltracija (NF), reverzna osmoza (RO) i jonska razmjena takođe su se pokazale efikasnim. Međutim, ove tehnologije možda neće biti ekonomski izvodljive u nekim oblastima u razvoju [40].

### **2.14 Koncentracija teških metala u mliječnim proizvodima**

Mlijeko je kompleksna, bioaktivna supstanca koja stimulise rast i razvoj odojčadi sisara. Smatra se gotovo kompletnom hranom jer je dobar izvor proteina, masti, šećera, vitamina i minerala. Stoga su mlijeko i mliječni proizvodi važne komponente ljudske ishrane koje u velikoj mjeri konzumiraju djeca i odrasli, posebno stariji ljudi širom svijeta. Iako je mlijeko idealan izvor makroelemenata (Ca, K i P) i mikroelemenata (Cu, Fe, Zn, Se), dodatne količine zagađujućih metala mogu ući u mlijeko i mliječne proizvode dostižući nivoe koji su štetni za ljude. Mlijeko i mliječni proizvodi postaju kontaminirani teškim metalima bilo kroz hranu i vodu ili kroz procese proizvodnje i pakovanja [25].

Istraživanjem koncentracija Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb, Se i Zn u uzorcima sira pakovanim u plastične i limene posude, utvrđeno je da postoje značajne razlike između

proučavanih sadržaja elemenata u uzorcima sireva upakovanih u limene i plastične kontejnere. Zaključeno je da vrste sireva i materijala za pakovanje igraju ključnu ulogu u sadržaju metala u tragovima. Sve u svemu, mlijeko, mliječni proizvodi i jaja predstavljaju glavni izvor proteinske hrane širom svijeta. Zbog toga je praćenje nivoa teških metala u mlijeku, mliječnim proizvodima i jajima od velikog značaja za nutritivne, toksikološke i ekološke svrhe. Na Zapadnoj obali ne postoje studije o nivoima teških metala u mlijeku, mliječnim proizvodima i jajima, iako su ovi proizvodi tipična hrana koja se u velikoj mjeri konzumira [25].

## **2.15 Toksično dejstvo teških metala na zdravlje ljudi i životinja**

Toksičnost metala može se definisati kao štetni efekti na zdravlje usljed unosa metala preko određene granice. Toksičnost metala kroz mlijeko je ozbiljniji problem u odnosu na drugu hranu zbog veće potrošnje mlijeka najugroženijih starosnih grupa, odnosno odojčadi i starijih, koja se kreće između 30 - 150 kg/stanovniku/godišnje. Utvrđeno je da Ni, Co i Cu imaju neke zdravstvene koristi za ljude, ali njihov unos preko određenih granica može stvoriti zdravstvene rizike, dok Pb, Cd i Hg nemaju prijavljenih zdravstvenih koristi [40].

Jasno razgraničenje između nivoa unosa toksičnih i esencijalnih mineralnih elemenata je još uvek neriješeno pitanje. Utvrđeno je da se koncentracija teških metala kao što su Pb i Cd u životinjskom mlijeku povećava sa starošću životinje. Toksičnost metala zavisi od niza faktora, od kojih su najkritičniji put ulaska u organizam, starost i pol izložene osobe, nivo unosa i stanje metala i njegova brzina apsorpcije. Uočeno je da bivolje mlijeko ima više Pb i Cd u poređenju sa kravljim mlijekom [40].

Olovo je jedan od najotrovnijih teških metala koji se nalaze u lancu ishrane. Povećana urbanizacija i industrijalizacija dovode do sve veće kontaminacije olovom u zalihama hrane [40]. Stopa apsorpcije Pb kod dece je 40% veća u poređenju sa odraslima, dok se navodi da nedostatak esencijalnih elemenata kao što su cink, kalcijum i selen u ishrani povećava stopu apsorpcije olova u ljudskom tijelu [42]. Glavni ciljni organ toksičnosti Pb je nervni sistem, koji je najproblematičniji kod djece zbog faze rasta njihovih tjelesnih sistema. Povišeni nivoi Pb u krvi djece takođe su povezani sa mentalnim smetnjama i smetnjama u ponašanju [40]. Međunarodna agencija za istraživanje raka (IARC) klasifikuje olovo kao vjerovatni kancerogen za ljude (grupa 2A) [43]. Drugi zdravstveni efekti olova na ljudsko tijelo uključuju hiperaktivnost, smanjen imunitet i anemiju [40].

Kadmijum je još jedan toksičan zagađivač koji je otkriven u mlijeku i mliječnim proizvodima. Cd se uglavnom nalazi u bubrezima i jetri ljudskog tijela, što ih čini glavnim ciljnim organima toksičnosti Cd. Toksičnost Cd je takođe povezana sa bolešću koja se zove

Itailtai bolest. Štaviše, izloženost kadmijumu se pripisuje demineralizaciji kostiju i hipertenziji kod trudnica [40].

Utvrđeno je da konzumacija arsena izaziva različite vrste raka kod ljudi, uključujući rak kože, rak jetre, rak bešike i rak pluća. Kardiovaskularne bolesti, lezije kože, gastrointestinalni, respiratorni i urinarni poremećaji, kao i hiperpigmentacija su neki od drugih glavnih uticaja toksičnosti arsena na zdravlje ljudi. Živa je jedan od najotrovnijih teških metala koji se nalazi u lancu ishrane i navodno izaziva brojne poremećaje kod ljudi. Poremećaji nervnog sistema u Japanu (1950-ih) i Iraku (1971–72) su bili povezani sa unosom metil žive. Utvrđeno je da živa smanjuje pamćenje kod djece i izaziva različite poremećaje uključujući reproduktivni, nervni, srčani, genetski, motorni i imuni sistem [40].

Nikl je neophodan element u tragovima za ljude. Međutim, prekomjerni unos jedinjenja Ni takođe može dovesti do oksidativnog stresa, oštećenja muškog reproduktivnog sistema i neurotoksičnosti. IARC je klasifikovao nikl kao kancerogeno jedinjenje ukoliko se nađe u prevelikim količinama [44]. Bakar je takođe bitan element za ljude, ali njegova potrošnja iznad normalnih nivoa može izazvati toksične efekte kao što su ciroza jetre, dermatitis, neurološki poremećaji, smanjen nivo imuniteta i gastrointestinalni poremećaji. Kobalt se nalazi kao dio vitamina B-12 i neophodan je element za normalno funkcionisanje ljudskog organizma. Međutim, u prevelikim količinama, IARC ga je klasifikovao kao vjerovatni kancerogen za ljude (grupa 2B) [45]. Drugi ciljni organi povezani sa toksičnošću kobalta su reproduktivni organi, miokard i štitna žlijezda [40].

Teški metali se nalaze u kategoriji zagađivača životne sredine zbog njihovog toksičnog dejstva na biljke, ljudske životinje i hranu. Neki od teških metala kao što su arsen, kadmijum, olovo, živa su kumulativni otrovi. Ovi teški metali su postojani, akumuliraju se i ne metabolišu se u drugim intermedijarnim jedinjenjima i ne razlažu se lako u okruženju. Ovi metali se akumuliraju u lancu ishrane kroz uzimanje na nivou primarnog proizvođača, a zatim kroz potrošnju na nivou potrošača [25].

Teški metali remete metaboličke funkcije na dva načina:

1. Nagomilavaju se i time remete funkciju vitalnih organa i žlijezda kao što su srce, mozak, bubrezi, kosti, jetra itd.
2. Oni istiskuju vitalne nutritivne minerale sa njihovog prvobitnog mjesta, ometajući tako njihovu biološku funkciju. Međutim, nemoguće je živjeti u okruženju bez teških metala. Postoji mnogo načina na koji ovi toksini mogu ući u tijelo, kao što su konzumiranje hrane, pića, izlaganje kože i udisanje [25].

Za nekoliko metala i njihovih jedinjenja je prijavljeno da su toksični za životinje, što se može vidjeti u tabeli 6. Na primjer, As, Cu, Pb, Hg i Cd su prijavljeni kao najotrovniji teški metali. Vjeruje se da mnogi toksični metali ispoljavaju svoje loše dejstvo ometajući enzimske sisteme životinja. Mnogi od njih se vezuju za specifične enzime i proteine neophodne za ćelijsku funkciju i tako se takmiče sa drugim supstancama neophodnim za održavanje i kontinuirano funkcionisanje ćelija. Dakle, otrovi takođe mogu izazvati nedostatak minerala. Pored toga, čini se da mnogi toksikanti pomažu u formiranju paramagnetnog anjona, superoksida ( $O_2^-$ ), koji je sam po sebi toksičan i čini se da je u velikoj mjeri odgovoran za spontanu ćelijsku smrt [25].

Tabela 6: Toksičnost teških metala, izvor i opis [25].

<b>Metal</b>	<b>Izvori zagađenja</b>	<b>Opis</b>
<b>Arsen</b> (As)	Postrojenja za hemijsku preradu, dim cigareta, voda za piće, fungicidi, meso i plodovi mora, livnice metala, postrojenja za topljenje rude, pesticidi, zagađen vazduh, specijalni proizvodi od stakla, sredstva za ubijanje korova, sredstva za zaštitu drveta itd.	Izuzetno otrovan, bezbojan i bez mirisa, arsen može ući u organizam kroz usta, pluća i kožu. Čini se da toksičnost arsena pretežno utiče na kožu, pluća i gastrointestinalni sistem i može izazvati nervne poremećaje, pogoršanu motoričku koordinaciju, respiratorna oboljenja i oštećenje bubrega, kao i rak kože, jetre, bešike i pluća.
<b>Kadmijum</b> (Cd)	Zagađenje vazduha, baterije, keramičke glazure/emajli, dim cigareta (i iz prve i druge ruke), voda iz česme i bunara, hrana (ako se uzgaja u zemljištu kontaminiranom kadmijumom), fungicidi, rudnici, boje, postrojenja za proizvodnju energije i topionica, morski plodovi itd.	Izloženost kadmijumu može se desiti udisanjem ili gutanjem na mjestima ili situacijama gdje se proizvodi od kadmijuma koriste, proizvode ili konzumiraju. Dim cigareta je najveći izvor toksičnosti kadmijuma, koji prvenstveno utiče na pluća, bubrege, kosti i imuni sistem. Može dovesti do raka pluća, raka prostate i bolesti srca, a takođe uzrokuje žute zube i anemiju. Čini se da kadmijum takođe doprinosi autoimunoj bolesti štitne žlijezde.
<b>Hrom</b> (Cr)	Zavarivanje nerđajućeg čelika, proizvodnja hroma ili hromiranih pigmenta, hromiranje, štavljenje kože, rukovanje ili udisanje piljevine od drveta tretiranog hromom.	Izlaganje visokom nivou hroma može oštetiti i iritirati nos, pluća, stomak i crijeva. Unošenje veoma velikih količina hroma može izazvati stomačne tegobe i čireve, konvulzije, oštećenje bubrega i jetre, pa čak i smrt.



<p><b>Olovo</b> <b>(Pb)</b></p>	<p>Zagađenje vazduha, municija, izduvni gasovi, baterije, kontejneri za korozivna sredstva, kontaminirano zemljište, kozmetika, đubriva, hrana (ako se uzgaja u zemljištu zagađenom olovom), boje za kosu, insekticidi, boje na bazi olova, olovno glazirana grnčarija, pesticidi, lem, duvanski dim, voda (ako se transportuje preko olovnih cijevi) itd.</p>	<p>Olovo je neurotoksin koji se javlja u prirodi. Iako su mnogi proizvodi koji sadrže olovo (kao što su benzin i boje za kuće) bili zabranjeni 1970-ih, kontaminacija se i danas dešava uglavnom pijenjem vode zagađene olovom, udisanjem zagađenog vazduha olovom i životom u ili blizu starijih obojenih zgrada i određenih toksičnih industrijskih područja. Toksičnost olova prvenstveno pogađa nervni sistem, bubrege, kosti, srce i krv i predstavlja najveći rizik za odojčad, malu djecu i trudnice. Može uticati na razvoj fetusa, odložiti rast, a takođe može izazvati poremećaj pažnje, smetnje u učenju, defekte u ponašanju i druge razvojne probleme.</p>
<p><b>Živa</b> <b>(Hg)</b></p>	<p>Zagađenje vazduha, barometri, baterije, kozmetika, zubne amalgamske plombe, slatkovodna riba (kao što su bas i pastrmka), fungicidi, insekticidi, laksativi, boje, pesticidi, morska riba (kao što su tunjevina i sabljarka), školjke, voda iz česme i bunara, termometri, termostati, vakcine itd.</p>	<p>I otrovna i opasna, živa se nalazi širom našeg okruženja u mnogim oblicima, kao i u mnogim predmetima za domaćinstvo. Živa koja se koristi u zubnim plombama je primarni izvor toksičnog izlaganja, a u obliku pare čini većinu svih izloženosti (putem udisanja). Toksičnost žive može uticati na centralni nervni sistem, bubrege i jetru. Istraživanja sugeriraju da ovaj teški metal takođe može doprinjeti autizmu i multiploj sklerozi.</p>
<p><b>Talijum</b> <b>(Tl)</b></p>	<p>Infracrveni i električni optički uređaji za oči, hrana (ako se uzgaja u zemljištu kontaminiranom talijumom), kristali osjetljivi na svjetlost, fotočelije, otrovi za glodare i mrave (sada ukinuti), kontaminirani kokain (ili ono što se smatra kokainom), poluprovodnici, itd.</p>	<p>Talijum je otrovan teški metal bez poznate biološke funkcije. Ljudska kontaminacija može nastati oralnim unošenjem, kao i preko kože i pluća, posebno ako je izložena prašini kontaminiranoj talijumom iz postrojenja za topljenje olova i cinka. Toksičnost talijuma uglavnom utiče na nervni sistem i može dovesti do bolesti kao što su gubitak kose, degeneracija nerva, utrnulost ekstremiteta i katarakta.</p>

### 3. CILJ RADA

Cilj ovog rada je utvrditi eventualno prisustvo teških metala (olova, bakra i željeza) u bijelim salamurnim sirevima proizvedenim na području Berana, Bijelog Polja, Nikšića i Podgorice, putem induktivno spregnute plazme s masenom spektrometrijom (ICP-MS).

U tom cilju, u okviru ovog master rada urađeno je sljedeće:

- Sirevi su skupljeni od 16. do 23. Aprila 2022. godine na teritoriji opština Berane, Bijelo Polje, Podgorica i Nikšić.
- Ispitivanje hemijskog kvaliteta sireva (masti, proteini, suva materija i soli) obavljeno je na uređaju MilkoScan FT 120.
- Priprema čvrstih uzoraka odrađena je na Berghof SpeedWave XPERT mikrotalasnom digestoru.
- Ispitivanje teških metala (Cu, Pb i Fe) u uzorcima sireva obavljeno je na Agilent 7700 Series ICP-MS.

## 4. MATERIJAL I METODE

Eksperimentalni dio master rada rađen je u laboratoriji za mlijeko na Biotehničkom fakultetu u Podgorici i Centru za ekotoksikološka ispitivanja (CETI) u Podgorici.

Eksperimentalno istraživanje se može podijeliti na sljedeće faze:

1. Terensko sakupljanje sireva (Berane, Bijelo Polje, Podgorica i Nikšić).
2. Ispitivanje hemijskog kvaliteta sireva (masti, proteini, suva materija i soli).
3. Priprema čvrstih uzoraka u Berghof SpeedWave XPERT mikrotalasnom digestoru.
4. Ispitivanje teških metala (Cu, Pb i Fe) na Agilent 7700 Series ICP-MS u uzorcima sireva.

Terensko sakupljanje sireva obavljeno je od 16. do 23. aprila 2022. godine na teritoriji opština Berane, Bijelo Polje, Podgorica i Nikšić. Nakon toga je urađena hemijska analiza uzetih uzoraka, pri čemu je odrađen sadržaj masti, proteina, suve materije i soli.



Slika 2. Uzorak nakon usitnjavanja (rendanja)

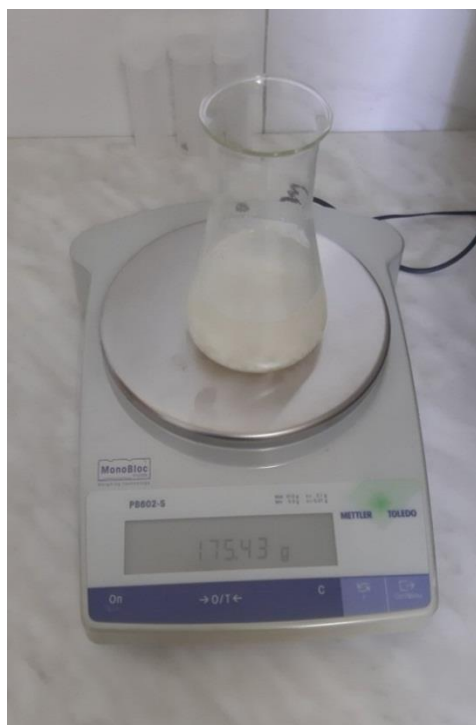
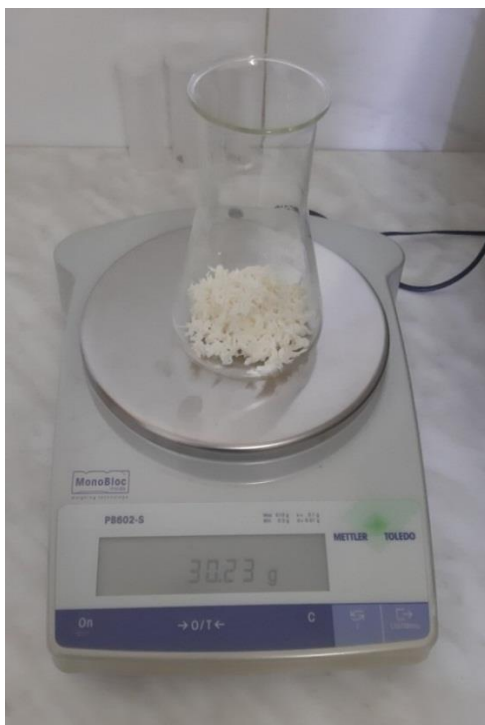
Hemijska analiza uzetih uzoraka obavljena je na uređaju MilkoScan FT 120. MilkoScan™ FT 120 koristi FTIR princip merenja (Furijeova transformacija infracrvene spektroskopije), u skladu sa IDF i AOAC standardima. Princip rada uređaja se zasniva na mjerenju apsorpcije, odnosno prenosa IC zračenja kroz uzorak, na osnovu čega se mjeri koncentracija pojedinih sastojaka u uzorku. MilkoScan FT 120 je pogodan i za kontrolu procesa i za sofisticirane analize u laboratoriji.

Aparat MilkoScan FT 120 (slika 3) je namijenjen za analizu mlijeka i mliječnih proizvoda (sir, pavlaka, kajmak, jogurt i surutka).



Slika 3. MilkoScan™ FT 120

Uzorci se prvo rendaju zbog boljeg mjerenja i uzorkovanja. Na računaru se odabere opcija – meki sir. Rendani sir (slika 2) se mjeri na vazi (Metler Toledo, tehnička vaga povezana sa računarem) približno 30 g i razblaži rastvorom 0,08% NaOH u zero rastvoru (slika 4b), u odnosu koji zahtijeva softver (preračunato softverom).



Slika 4. Odmjereni uzorak i uzorak u kojem je dodata softverski određena količina 0,08% NaOH

Uzorak zagrijemo do 55°C u mikrotalasnoj (Whirlpool). Pripremljeni uzorak miješamo na mikseru (Ultra Turrax IKA T18 basic) Bie & Berntsen A-s (slika 5).



Slika 5. Mikser (Ultra Turrax IKA T18 basic) Bie & Berntsen A-s

Zatim se sipa kap, dvije Antifoam Y30 Emulsion da bi se izgubila pjena, da ne bi uticalo na rezultat. Nakon dodavanja, izmiješa se i pjena se izgubi tokom miješanja (ručnog). Zatim se stavi ispod pipete i klikne na dugme za mjerenje. Uređaj uzima 2x uzorak i daje rezultat + srednju vrijednost.

#### **4.1 Mikrotalasna digestija**

Određivanje teških metala u mliječnim proizvodima, posebno siru, predstavlja različite izazove zbog složenosti matrice i izuzetno niskog nivoa koncentracije u kojoj se elementi nalaze. Razvijeno je nekoliko analitičkih metoda za određivanje teških metala u uzorcima sira. Tehnike prethodnog tretmana mogu uključivati konvencionalnu suhu i vlažnu digestiju, koja oduzima mnogo vremena i zahtijeva velike količine reagensa [46].

#### 4.1.1 Mikrotalasni digestor Berghof SpeedWave XPERT

Priprema čvrstih uzoraka za ICP-MS određivanje izvodi se u mikrotalasnom digestoru. Zahvaljujući inovativnoj tehnologiji senzora, Berghof SpeedWave XPERT ima sljedeće prednosti:

- Nema unakrsne kontaminacije zbog minimalne površinske poroznosti TFM-PTFE posuda
- Homogena distribucija mikrotalasnog zračenja zbog okruglog dizajna komore pećnice
- Trajna kontrola pritiska i temperature pomoću optičkih senzora [47] [48].



Slika 6. Mikrotalasni digestor Berghof SpeedWave XPERT

#### 4.1.2 Priprema uzoraka za mikrotalasnu digestiju

Procesi digestije neophodni za eliminaciju organskih jedinjenja i prelazak neorganskih elemenata u rastvorljivu fazu rađeni su na Berghof SpeedWave XPERT mikrotalasnom digestoru (slika 6).

Mikrotalasni digestor radi pod povišenim pritiskom (30 bar) i visokom temperaturom (do 200°C) opremljen je rotorom koji ima 12 mjesta i teflonskim kivetama u kojima se odvija kiselinska digestija/rastvaranje. Uređaj vrši totalno rastvaranje/mineralizacija svih vrsta uzoraka:

hrane, biološkog materijala, biljnog i životinjskog materijala, kao i zemljišta. Svi procesi su brzi, traju najviše 30 min, a kontaminacija je svedena na minimum [47].

Postupak digestije kod sireva i većine drugih namirnica obavlja se u mješavini azotne kiseline i vodonik peroksida u odnosu 5:2. Odvaga za sir bila je 0,5 g.

Postupak je sljedeći: mjeri se uzorak, dodaju se reagensi, prvo azotna kiselina, zatim vodonik peroksid. Posuda se zatvori i uzorci se ostave da odstoje preko noći, da bi odreagovali na hladno. Zatim se uzorci stavljaju u mikrotalasnu i po programu digestije koju preporuča proizvođač za tu vrstu uzoraka radi se digestija.

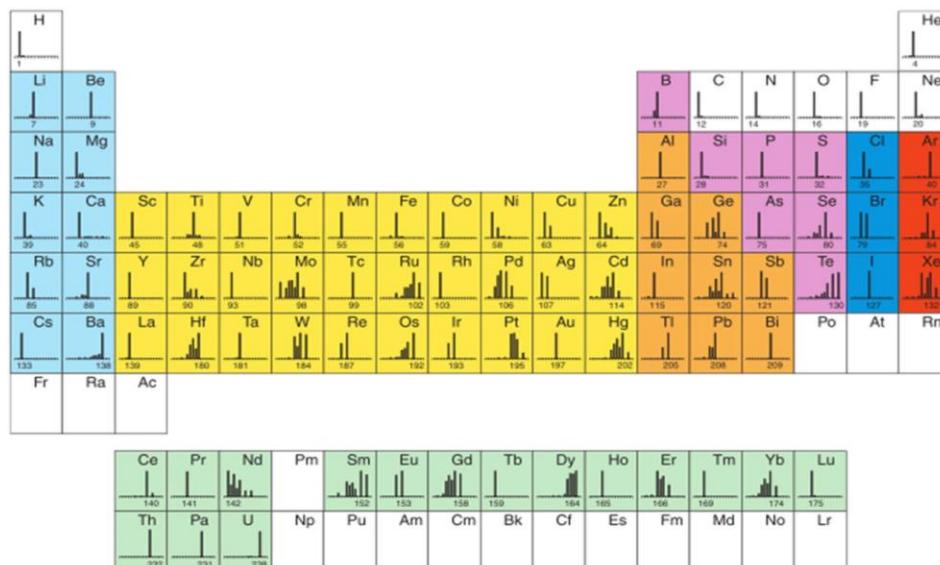
Uzorci se kvantitativno prenose u normalne sudove, dopunjavaju se do tačno zabilježene zapremine (50 ml). Nakon toga, uzorak je spreman za ICP-MS analizu.

## **4.2 Induktivno spregnuta plazma s masenom spektrometrijom (ICP-MS)**

ICP-MS je najbrže rastuća tehnika za analizu elemenata u tragovima [49]. ICP-MS je postao prihvaćen kao najmoćnije analitičko sredstvo za istovremeno određivanje elemenata u tragovima zbog svoje ekstremne osjetljivosti, selektivnosti i sposobnosti za multielementnu i izotopsku analizu [50].

Od komercijalizacije 1983. godine, koristi se u raznim oblastima, od kojih su najčešće biomedicina, ekologija i geologija. Iako može da odredi iste elemente kao i druge atomske spektroskopske tehnike kao što su FAA (Flame Atomic Absorption), ETA (Elektrotermalna atomizacija i ICP-OES (Induktivno spregnuta plazma optička emisiona spektroskopija), ICP-MS ima veliku prednost u svojoj multielementarnoj analizi, brzina analize, granica detekcije i mogućnost mjerenja izotopa ICP-MS može da vrši kvalitativne, polukvantitativne i kvantitativne analize [50]. Induktivno spregnute plazme su veoma efikasne u atomizaciji i jonizaciji skoro svih elemenata u periodnom sistemu [51].

Na slici 7. prikazani su elementi koji se mogu kvantitativno analizirati ICP-MS (obojeni elementi) [49].



Slika 7. Približan limit detekcije za ICP-MS [52].

Ispitivanje teških metala (Cu, Pb i Fe) u uzorcima sireva obavljeno je na Agilent 7700 Series ICP-MS (slika 8). Serija 7700 redefiniše standard za ICP-MS: produktivniji, lakši za upotrebu, osjetljiviji, bolje uklanjanje smetnji, povećana fleksibilnost, lakši za održavanje i servis.

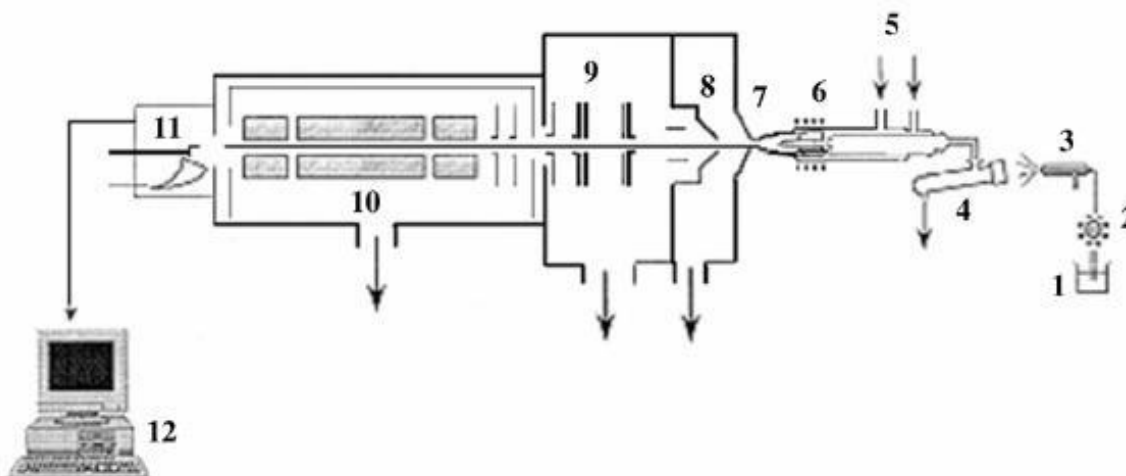


Slika 8. Agilent 7700 Series ICP-MS.



### 4.2.1 Princip rada ICP-MS

ICP-MS je tehnika u kojoj se induktivno spregnuta plazma koristi kao izvor jonizacije, a maseni spektrometar se koristi za detekciju rezultujućih jona. Danas su dostupni ICP-MS instrumenti različitih dizajna koji imaju slične komponente: nebulizator, komoru za raspršivanje, gorionik i detektor, ali se mogu značajno razlikovati u dizajnu interfejsa, instrumentu za odvajanje mase i vakuumskoj komori. Na slici 9. prikazan je šematski dijagram ICP-MS instrumenta sa osnovnim djelovima [49].



Slika 9. Šematski prikaz ICP-MS instrumenta: 1 – tečni uzorak, 2 – pumpa, 3 – nebulizator, 4 – komora za raspršivanje, 5 – ulaz za gas argon u gorioniku, 6 – gorionik, 7 – prvi konus (konus za uzorkovanje), 8 – drugi konus (konus skimmera), 9 – jonska sočiva, 10 – kvadrupolni analizator mase, 11 – detektor elektronskih multiplikatora, 12 – prikupljanje podataka [49].

Najčešće korišćeni gas plazme je argon sa temperaturom plazme od 6000 do 10000K, pogodan za jonizaciju i pobudu većine elemenata. Kvarcna baklja se sastoji od tri koncentrične cijevi u koje se uvode različiti tokovi argona. Kada se uzorci unesu u plazmu, oni prolaze kroz faze desolvatacije, isparavanja, atomizacije i jonizacije prije nego što uđu u maseni spektrometar. Dobijeni joni se ekstrahuju u interfejs masenog spektrometra kroz prvi i drugi konus, koji su obično napravljeni od nikla. Joni se zatim fokusiraju nizom jonskih sočiva u analizator mase. Pozitivno naelektrisani joni se odvajaju na osnovu njihovog odnosa masa/naelektrisanje i detektuju se korišćenjem množitelja elektrona [49].

Rad ICP-MS instrumenta može se podijeliti u nekoliko faza:

1) Uvođenje šablona

Mehanizam uvođenja uzorka u plazmu može se posmatrati kao dva odvojena koraka, stvaranje aerosola raspršivačem i odvajanje kapljica u komori za raspršivanje. Uzorak, koji je obično u tečnom stanju, unosi se u pneumatski nebulizator gde se pretvara u aerosol. Male kapljice aerosola, koje predstavljaju 1-2% uzorka, odvajaju se od većih kapljica pomoću komore za prskanje. Male kapljice aerosola izlaze iz komore za prskanje i unose se u gorionik.

2) Stvaranje jona

Kako aerosol putuje kroz različite temperaturne zone u gorioniku, uzorak prolazi kroz faze desolvatacije, isparavanja, atomizacije i jonizacije. Pri tome se uzorak iz tečnog aerosola pretvara u čvrste čestice, a zatim u gas. Svrha plazme je da formira pozitivno naelektrisane jone iz uzorka aerosola.

3) Region interfejsa

Uloga interfejs regiona (interfejsa) je efikasan i konzistentan prenos formiranih jona iz plazme, koja je na atmosferskom pritisku, u oblast analizatora mase, koja je na mnogo nižem pritisku (vakumu). Interfejs se sastoji od dva metalna konusa sa veoma malim otvorima koji se nalaze u vakuumu. Oba konusa su najčešće napravljena od nikla, ali mogu biti i od drugih materijala poput platine.

4) Pravac jona

Jonska sočiva se nalaze između konusa interfejsa i masenog spektrometra i sastoje se od elektrostatičkih ploča. Funkcija jonskih sočiva je da efikasno usmjeravaju i prenose jone u maseni spektrometar. Druga, takođe veoma važna, uloga jonskih sočiva je da spriječe neutralne čestice i fotone da stignu do analizatora mase i detektora jer te čestice izazivaju nestabilnost signala i povećavaju pozadinski šum.

5) Odvajanje i detekcija jona

Joni prelaze iz sistema jonskih sočiva u vakuumsku fazu analizatora gdje se odvajaju na osnovu odnosa mase i naelektrisanja. Koriste se 4 različita tipa analizatora mase, od kojih je kvadrupolni analizator mase najčešći. Kvadrupolni analizator mase koristi kombinaciju DC i AC jonskih električnih polja. Najčešći detektor koji se koristi je elektronski množilac. Kada jon napusti kvadrupolni analizator, on udara u dinod i oslobađa nekoliko sekundarnih elektrona. Ti sekundarni elektroni udaraju u sljedeći dinod i tako se stvara više elektrona. Electron Multiplier detektuje svaki jon koji napušta analizator. Detektor izračunava i skladišti ukupan signal za svaki odnos masa/naelektrisanje stvarajući maseni spektar [49].

#### 4.2.2 Prednosti i nedostaci ICP-MS

Brza i efikasna multielementna analiza čini ovu tehniku poželjnom za analizu metalnih zagađivača. U poređenju sa ICP-AES, ICP-MS takođe pruža izotopske informacije, što je važno jer je ponekad neophodna potpuna karakterizacija elemenata. Za razliku od ICP-AES, rezultati ICP-MS testa se lako analiziraju i pružaju jednostavniji spektar. Brzina analize je takođe prednost ove metode, s obzirom da mjerenje cjelokupnog skupa elemenata traje nekoliko minuta. Prednost je veoma niska granica detekcije i pokrivenost širokog spektra elemenata [49].

Nedostatak ICP-MS u poređenju sa ICP-AES je to što ne može detektovati neutralne čestice. Glavni nedostatak ICP-MS je visoka cijena uređaja, kao i obimno znanje potrebno za njegovu upotrebu, zbog čega još nije u rutinskoj upotrebi. ICP-MS zahtijeva vakuum pumpu i jonska sočiva sa kojima analitičari često ne znaju kako da rukuju [49].

## 5. REZULTATI I DISKUSIJA

### 5.1 Rezultati hemijskog sastava sakupljenih sireva

U tabeli 7. su prikazane vrijednosti hemijskog sastava bijelih salamurnih sireva sakupljenih na teritoriji opštine Berane.

Tabela 7. Hemijski sastav sireva

Broj uzorka	Berane			
	Masti	Proteini	Suva materija	Soli
Uzorak 1	30,33	20,79	55,75	1,35
Uzorak 2	23,21	17,19	44,88	1,71
Uzorak 3	25,84	20,12	52,66	2,21
Uzorak 4	26,51	21,65	53,87	1,84
Uzorak 5	24,84	20,29	50,01	2,23
Uzorak 6	21,31	22,38	49,82	2,21
Uzorak 7	25,26	21,09	51,39	1,98
Uzorak 8	28,62	19,49	51,59	0,99
Uzorak 9	24,17	17,88	46,23	1,76
Uzorak 10	25,65	20,62	50,34	1,65
$\bar{x}$	25,574	20,15	50,654	1,793
<b>Min.</b>	21,31	17,19	44,88	0,99
<b>Max.</b>	30,33	22,38	55,75	2,23
<b>SD</b>	2.565	1.602	3.263	0.400

Hemijske analize prvih deset uzoraka sireva iz Berana pokazuju da je prosječan sastav masti 25,574, uz variranja od 21,31 do 30,33. Prosječan sadržaj proteina iznosio je 20,15, uz variranja od 17,19 do 22,38. Prosječan sastav suve materije iznosio je 50,654, uz variranja od 44,88 do 55,75. Prosječan sastav soli iznosio je 1,793, uz variranja od 0,99 do 2,23. U poređenju sa rezultatima iz literature vidi se da se oni poklapaju.

U tabeli 8. su prikazane vrijednosti hemijskog sastava bijelih salamurnih sireva sakupljenih na teritoriji opštine Bijelo Polje.

Tabela 8. Hemijski sastav sireva

<b>Bijelo Polje</b>				
Broj uzorka	Masti	Proteini	Suva materija	Soli
Uzorak 11	19,27	17,68	43,75	3,61
Uzorak 12	22,72	15,92	43,25	1,82
Uzorak 13	28,23	19,37	51,76	1,79
Uzorak 14	30,46	17,02	50,39	1,38
Uzorak 15	25,73	19,63	49,10	1,50
Uzorak 16	24,62	17,44	46,25	2,07
Uzorak 17	28,67	16,64	48,78	1,77
Uzorak 18	23,45	18,66	48,08	2,49
Uzorak 19	28,66	17,65	50,25	1,80
Uzorak 20	24,93	18,88	48,23	1,88
<b><math>\bar{x}</math></b>	25,674	17,889	47,984	2,011
<b>Min.</b>	19,27	15,92	43,25	1,38
<b>Max.</b>	30,46	19,63	51,76	3,61
<b>SD</b>	3.394	1.215	2.798	0.637

Hemijske analize drugih deset uzoraka sireva iz Bijelog Polja pokazuju da je prosječan sastav masti 25,674, uz variranja od 19,27 do 30,46. Prosječan sadržaj proteina iznosio je 17,889, uz variranja od 15,92 do 19,63. Prosječan sastav suve materije iznosio je 47,984, uz variranja od 43,25 do 51,76. Prosječan sastav soli iznosio je 2,011, uz variranja od 1,38 do 3,61. U poređenju sa rezultatima iz literature vidi se da se oni poklapaju.

U tabeli 9. su prikazane vrijednosti hemijskog sastava bijelih salamurnih sireva sakupljenih na teritoriji opštine Podgorica.

Tabela 9. Hemijski sastav sireva

<b>Podgorica</b>				
Broj uzorka	Masti	Proteini	Suva materija	Soli
Uzorak 21	24,64	19,25	48,49	1,64
Uzorak 22	20,88	17,59	44,06	2,60
Uzorak 23	20,90	15,52	43,12	2,03
Uzorak 24	22,56	17,50	46,64	3,15
Uzorak 25	22,37	15,97	45,01	2,98
Uzorak 26	23,80	17,23	47,23	2,58
Uzorak 27	22,45	12,35	42,91	4,37
Uzorak 28	22,41	16,37	45,17	2,72
Uzorak 29	24,78	15,07	45,76	3,19
Uzorak 30	30,07	16,60	52,21	2,18

<b><math>\bar{x}</math></b>	23,49	16,34	46,06	2,74
<b>Min.</b>	20,88	12,35	43,12	1,64
<b>Max.</b>	30,07	19,25	52,21	4,37
<b>SD</b>	3,071	2,139	3,123	0,866

Hemijske analize uzoraka sireva iz Podgorice pokazuju da je prosječan sastav masti 23,49, uz variranja od 20,88 do 30,07. Prosječan sadržaj proteina iznosio je 16,34, uz variranja od 12,35 do 19,25. Prosječan sastav suve materije iznosio je 46,06, uz variranja od 43,12 do 52,21. Prosječan sastav soli iznosio je 2,74, uz variranja od 1,64 do 4,37. U poređenju sa rezultatima iz literature vidi se da se oni poklapaju.

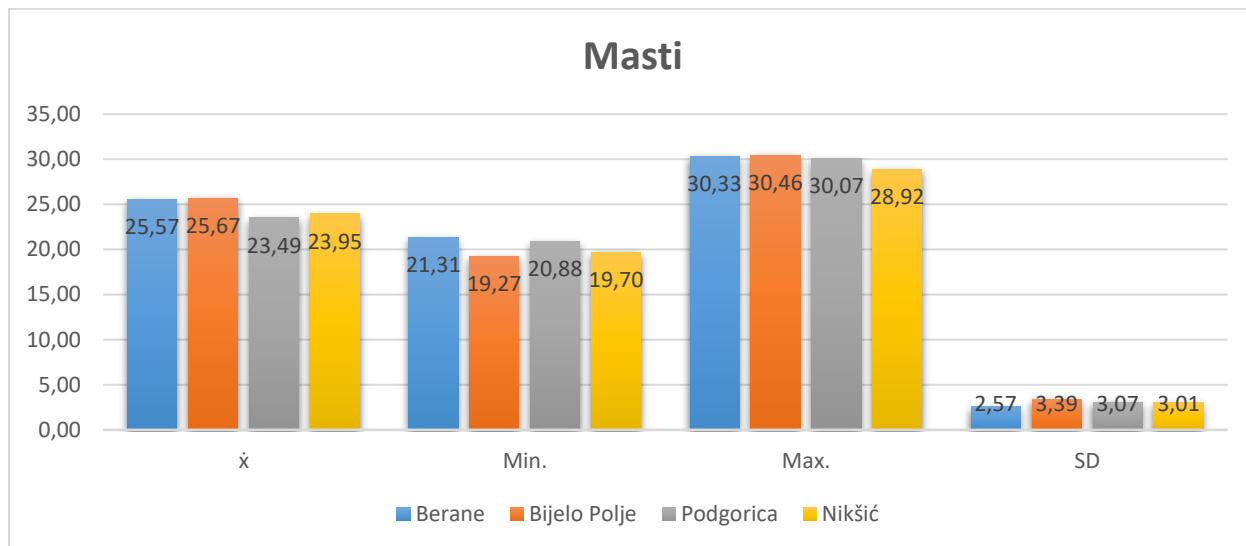
U tabeli 10. su prikazane vrijednosti hemijskog sastava bijelih salamurnih sireva sakupljenih na teritoriji opštine Podgorica.

Tabela 10. Hemijski sastav sireva

<b>Nikšić</b>				
Broj uzorka	Masti	Proteini	Suva materija	Soli
Uzorak 31	21,28	18,67	45,73	1,77
Uzorak 32	22,92	18,73	45,80	1,81
Uzorak 33	24,79	16,70	46,20	1,80
Uzorak 34	24,38	19,66	51,18	2,38
Uzorak 35	24,31	18,13	46,40	1,27
Uzorak 36	28,92	18,16	51,57	1,73
Uzorak 37	19,70	19,09	44,61	2,60
Uzorak 38	24,99	17,19	46,13	1,52
Uzorak 39	21,60	18,20	44,17	1,95
Uzorak 40	26,62	17,97	51,18	2,32
<b><math>\bar{x}</math></b>	23,95	18,25	47,29	1,92
<b>Min.</b>	19,70	16,70	44,17	1,27
<b>Max.</b>	28,92	19,66	51,57	2,60
<b>SD</b>	3,006	0,963	2,907	0,446

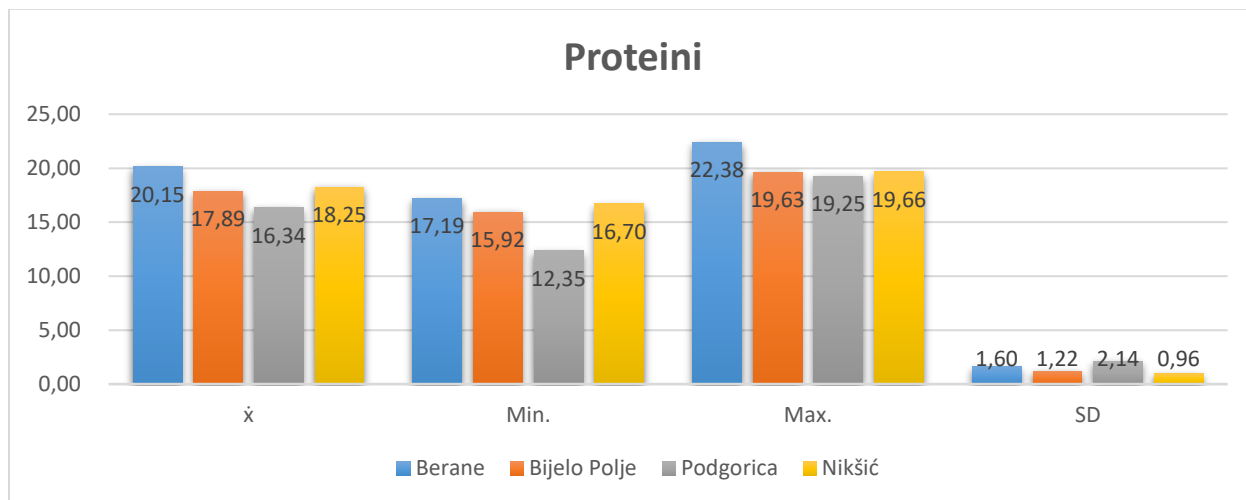
Hemijske analize uzoraka sireva iz Nikšića pokazuju da je prosječan sastav masti 23,95, uz variranja od 19,70 do 28,92. Prosječan sadržaj proteina iznosio je 18,25, uz variranja od 16,70 do 19,66. Prosječan sastav suve materije iznosio je 47,29, uz variranja od 44,17 do 51,57. Prosječan sastav soli iznosio je 1,92, uz variranja od 1,27 do 2,60. U poređenju sa rezultatima iz literature vidi se da se oni poklapaju.

Grafik 1. Procenat masti u sirevima skupljenih na teritoriji Berana, Bijelog Polja, Podgorice i Nikšića.



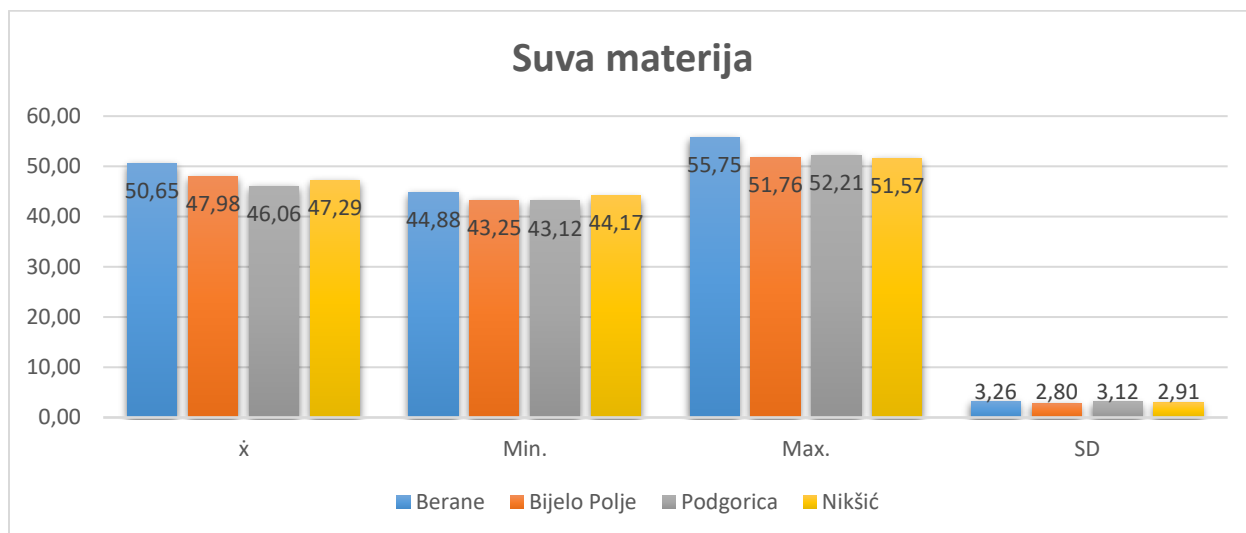
Procenat masti u sakupljenim sirevima pokazuje približnu vrijednost.

Grafik 2. Procenat proteina u sirevima skupljenih na teritoriji Berana, Bijelog Polja, Podgorice i Nikšića.



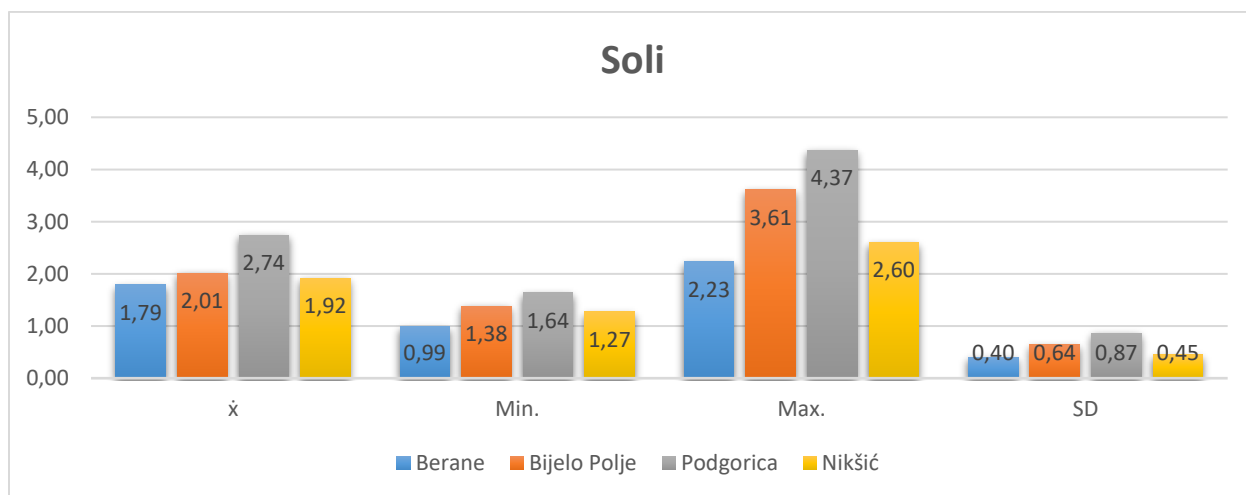
Procenat proteina u sakupljenim sirevima, za razliku od masti i suve materije, pokazuje manja odstupanja. Sirevi sakupljeni u Podgorici imaju najnižu srednju vrijednost proteina, a sirevi sakupljeni u Beranama pokazuju najveću srednju vrijednost proteina.

Grafik 3. Procenat suve materije u sirevima skupljenih na teritoriji Berana, Bijelog Polja, Podgorice i Nikšića.



Procenat suve materije u sakupljenim sirevima pokazuje približnu vrijednost.

Grafik 4. Procenat soli u sirevima skupljenih na teritoriji Berana, Bijelog Polja, Podgorice i Nikšića.



Procenat soli u sakupljenim sirevima, za razliku od masti i suve materije, pokazuje odstupanja. Najmanju srednju vrijednost soli pokazuju sirevi sakupljeni u Beranama, a najveću srednju vrijednost soli pokazuju sirevi sakupljeni u Podgorici.



## 5.2 Rezultati analiza na prisustvo rezidua teških metala

Tabela 11. Rezultati analiza na prisustvo rezidua teških metala u sirevima sakupljenim na teritoriji Berana

<b>Berane</b>				
	Rezultat i proširena mjerna nesigurnost <sup>1</sup>			Oznaka metode
Broj uzorka	Željezo [mg/kg]	Bakar [mg/kg]	Olovo [mg/kg]	MEST EN 13805:2016*
Uzorak 1	1,28	0,22	<0,05 <sup>2</sup>	
Uzorak 2	1,26	0,20	<0,05 <sup>2</sup>	
Uzorak 3	1,42	0,15	<0,05 <sup>2</sup>	
Uzorak 4	1,45	0,17	0,057	
Uzorak 5	1,15	0,18	<0,05 <sup>2</sup>	
Uzorak 6	1,17	<0,10	<0,05 <sup>2</sup>	
Uzorak 7	1,60	0,28	<0,05 <sup>2</sup>	
Uzorak 8	1,34	0,44	<0,05 <sup>2</sup>	
Uzorak 9	1,49	0,22	<0,05 <sup>2</sup>	
Uzorak 10	2,66	3,08	<0,05 <sup>2</sup>	
<b><math>\bar{x}</math></b>	1,482	0,504		
<b>SD</b>	0,437	0,909		

\* van obima akreditacije

<sup>1</sup> Proširena mjerna nesigurnost izražena je kao kombinovana standardna mjerna nesigurnost uvećana za factor pokrivenosti k=2 za nivo povjerenja od približno 95%

<sup>2</sup> Granica kvantifikacije (LOQ)

Tabela 12. Rezultati analiza na prisustvo rezidua teških metala u sirevima sakupljenim na teritoriji Bijelog Polja

<b>Bijelo Polje</b>				
	Rezultat i proširena mjerna nesigurnost <sup>1</sup>			Oznaka metode
Broj uzorka	Željezo [mg/kg]	Bakar [mg/kg]	Olovo [mg/kg]	MEST EN 13805:2016*
Uzorak 11	0,79	0,19	<0,05 <sup>2</sup>	
Uzorak 12	2,03	<0,10	<0,05 <sup>2</sup>	
Uzorak 13	1,10	0,10	<0,05 <sup>2</sup>	
Uzorak 14	1,68	0,24	<0,05 <sup>2</sup>	
Uzorak 15	0,88	0,18	<0,05 <sup>2</sup>	
Uzorak 16	0,93	<0,10	<0,05 <sup>2</sup>	
Uzorak 17	1,02	<0,10	<0,05 <sup>2</sup>	
Uzorak 18	1,86	0,26	<0,05 <sup>2</sup>	

Uzorak 19	1,60	0,10	<0,05 <sup>2</sup>	
Uzorak 20	1,77	0,35	<0,05 <sup>2</sup>	
$\bar{x}$	1.366	0.172		
<b>SD</b>	0.465	0.088		

\* van obima akreditacije

<sup>1</sup> Proširena mjerna nesigurnost izražena je kao kombinovana standardna mjerna nesigurnost uvećana za factor pokrivenosti k=2 za nivo povjerenja od približno 95%

<sup>2</sup> Granica kvantifikacije (LOQ)

Tabela 13. Rezultati analiza na prisustvo rezidua teških metala u sirevima sakupljenim na teritoriji Podgorice

<b>Podgorica</b>				
Broj uzorka	Rezultat i proširena mjerna nesigurnost <sup>1</sup>			Oznaka metode
	Željezo [mg/kg]	Bakar [mg/kg]	Olovo [mg/kg]	MEST EN 13805:2016*
Uzorak 21	1,04	0,11	<0,05 <sup>2</sup>	
Uzorak 22	0,97	0,18	<0,05 <sup>2</sup>	
Uzorak 23	0,84	<0,10 <sup>2</sup>	<0,05 <sup>2</sup>	
Uzorak 24	0,98	0,17	<0,05 <sup>2</sup>	
Uzorak 25	1,20	0,11	<0,05 <sup>2</sup>	
Uzorak 26	0,82	0,11	<0,05 <sup>2</sup>	
Uzorak 27	1,12	0,11	<0,05 <sup>2</sup>	
Uzorak 28	0,73	<0,10 <sup>2</sup>	<0,05 <sup>2</sup>	
Uzorak 29	1,33	0,11	<0,05 <sup>2</sup>	
Uzorak 30	1,51	0,14	<0,05 <sup>2</sup>	
$\bar{x}$	1.054	0.124		
<b>SD</b>	0.242	0.029		

\* van obima akreditacije

<sup>1</sup> Proširena mjerna nesigurnost izražena je kao kombinovana standardna mjerna nesigurnost uvećana za factor pokrivenosti k=2 za nivo povjerenja od približno 95%

<sup>2</sup> Granica kvantifikacije (LOQ)

Tabela 14. Rezultati analiza na prisustvo rezidua teških metala u sirevima sakupljenim na teritoriji Nikšića

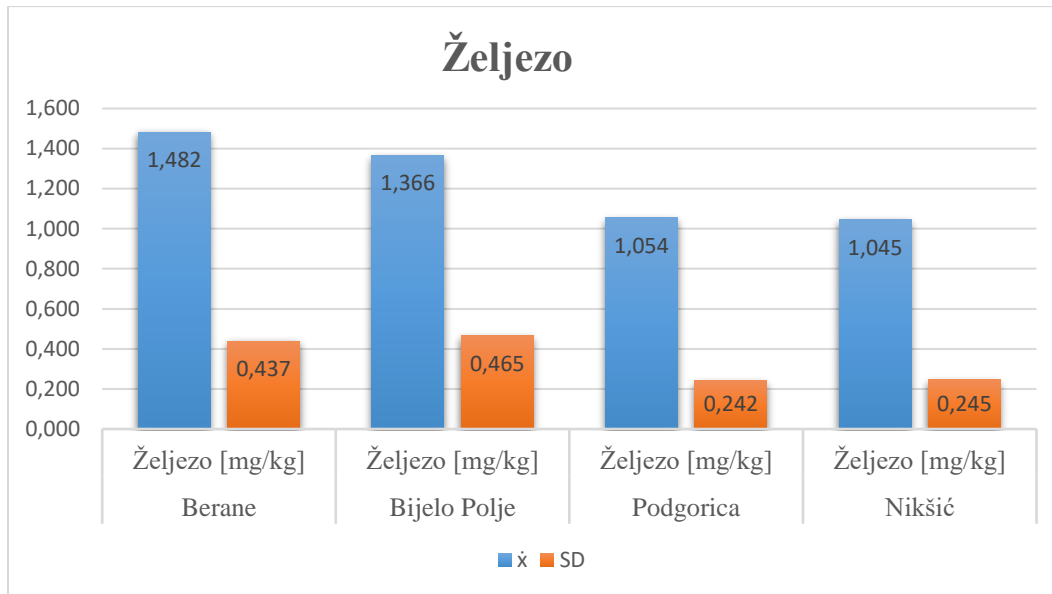
<b>Nikšić</b>				
	Rezultat i proširena mjerna nesigurnost <sup>1</sup>			Oznaka metode
Broj uzorka	Željezo [mg/kg]	Bakar [mg/kg]	Olovo [mg/kg]	MEST EN 13805:2016*
Uzorak 31	0,87	0,31	<0,05 <sup>2</sup>	
Uzorak 32	1,07	0,19	<0,05 <sup>2</sup>	
Uzorak 33	0,99	0,31	<0,05 <sup>2</sup>	
Uzorak 34	0,90	0,19	<0,05 <sup>2</sup>	
Uzorak 35	0,76	0,14	<0,05 <sup>2</sup>	
Uzorak 36	0,93	0,19	<0,05 <sup>2</sup>	
Uzorak 37	1,16	0,28	<0,05 <sup>2</sup>	
Uzorak 38	1,62	0,13	<0,05 <sup>2</sup>	
Uzorak 39	0,92	<0,10 <sup>2</sup>	<0,05 <sup>2</sup>	
Uzorak 40	1,23	0,23	<0,05 <sup>2</sup>	
<b><math>\bar{x}</math></b>	1.045	0.207		
<b>SD</b>	0.245	0.074		

\* van obima akreditacije

<sup>1</sup> Proširena mjerna nesigurnost izražena je kao kombinovana standardna mjerna nesigurnost uvećana za factor pokrivenosti k=2 za nivo povjerenja od približno 95%

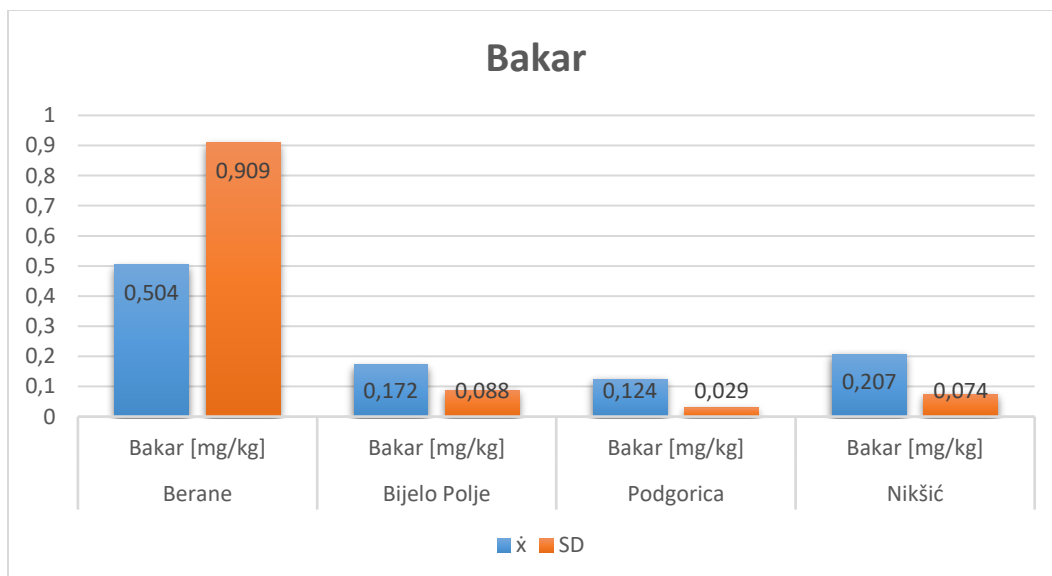
<sup>2</sup> Granica kvantifikacije (LOQ)

Grafik 5. Srednja vrijednost i standardna devijacija željeza u uzorcima sireva



Na grafiku 5. prikazana je srednja vrijednost i standardna devijacija željeza u uzorcima sakupljenim na teritoriji Berana, Bijelog Polja, Podgorice i Nikšića. Sirevi sakupljeni u Beranama pokazuju najveću srednju vrijednost željeza, 1,482 mg/kg. Sirevi sakupljeni na teritoriji Nikšića pokazuju najnižu srednju vrijednost željeza, 1,045 mg/kg.

Grafik 6. Srednja vrijednost i standardna devijacija bakra u uzorcima sireva



Na grafiku 6. prikazana je srednja vrijednost i standardna devijacija bakra u uzorcima skupljenim na teritoriji Berana, Bijelog Polja, Podgorice i Nikšića. Sirevi sakupljeni u Beranama pokazuju najveću srednju vrijednost bakra, 0,504 mg/kg. Najnižu srednju vrijednost bakra pokazuju sirevi sakupljeni na teritoriji Podgorice, 0,124 mg/kg. Ovako veliko odstupanje srednje vrijednosti i standardne devijacije za bakar je zbog uzorka broj 10 (Berane) koji pokazuje vrijednost od 3,08 mg/kg.

U 39 od 40 uzoraka sireva sakupljenih u Beranama, Bijelom Polju, Podgorici i Nikšiću, rezultat za olovo je manji od 0,05 mg/kg, što predstavlja granicu kvantifikacije. U uzorku broj 4 (Berane) olovo je 0,057mg/kg što prema International Dairy Federation (IDF) analizirani uzorci sireva nisu prelazili ovu dozvoljenu granicu.

## 6. ZAKLJUČAK

Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti sljedeće:

1. Hemijski kvalitet sakupljenih sireva iz Berana, Bijelog Polja, Podgorice i Nikšića se poklapa sa rezultatima upoređenim iz literature.
2. Procenat masti u sakupljenim sirevima pokazuje približnu vrijednost.
3. Procenat proteina u sakupljenim sirevima, za razliku od masti i suve materije, pokazuje manja odstupanja. Najmanju srednju vrijednost proteina pokazuju sirevi sakupljeni u Podgorici, a najveću srednju vrijednost proteina pokazuju sirevi sakupljeni u Beranama.
4. Procenat suve materije u sakupljenim sirevima pokazuje približnu vrijednost.
5. Procenat soli u sakupljenim sirevima, za razliku od masti i suve materije, pokazuje odstupanja. Najmanju srednju vrijednost soli pokazuju sirevi sakupljeni u Beranama, a najveću srednju vrijednost soli pokazuju sirevi sakupljeni u Podgorici.
6. Najveću srednju vrijednost za željezo pokazuju sirevi skupljeni u Beranama, 1,482 mg/kg. Najmanju srednju vrijednost željeza pokazuju sirevi skupljeni na teritoriji Nikšića.
7. Najveću srednju vrijednost za bakar pokazuju sirevi skupljeni u Beranama, 0,504 mg/kg. Najmanju srednju vrijednost za bakar pokazuju sirevi skupljeni na teritoriji Podgorice, 0,124 mg/kg. Ovako veliko odstupanje srednje vrijednosti i standardne devijacije za bakar je zbog uzorka broj 10 (Berane) koji pokazuje vrijednost od 3,08 mg/kg.
8. U 39 od 40 uzoraka sireva koji su sakupljeni u Beranama, Bijelom Polju, Podgorici i Nikšiću, za olovo pokazuje rezultat manji od 0,05mg/kg, što predstavlja granicu kvantifikacije. U uzorku broj 4 (Berane) olovo je 0,057mg/kg, što prema International Dairy Federation (IDF) analizirani uzorci sireva nisu prelazili ovu dozvoljenu granicu.

# LITERATURA

1. **Dozet N., Maćej O., Jovanović S.** *Autohtoni mliječni proizvodi osnova za razvoj specifičnih originalnih mliječnih prerađevina u savremenim uslovima*, 31-48. 2004.
2. **Adžić N., Dozet N., Ljumović M., Marković M., Adžić Z.** *Autohtoni mliječni proizvodi Crne Gore koje treba zaštititi po osnovu porijekla*, *Poljoprivreda i šumarstvo*, Vol.43(3), 1-168, 127-135. Podgorica : s.n., 1997.
3. **Vesković Moračanin S. M., Mirecki S., Trbović D. K., Turubatović L. R., Kurćubić V. S. and Mašković P. Z.,.** *Traditional manufacturing of white cheese in brine in Serbia and Montenegro – similarities and differences*, 107-113. 2012.
4. *Sirarstvo u teoriji i praksi*. s.l. : Veleučilište u Karlovcu, Karlovac, Hrvatska.
5. **Robinson, R. K.** *Modern Dairy Technology*. s.l. : Elsevier Applied Science, London & New York, Vol.2. *Advances in Milk Products*, 1993.
6. **Miočinović, J.** *Tehnologija mleka II posebno sirarstvo*. s.l. : Univerzitet u Beogradu - Poljoprivredni fakultet, 2020.
7. **Havraneck, J. Lukač.** *Sirarstvo kroz vijekove i proizvodnja danas*. s.l. : Agronomski glasnik 4-5/98.
8. **McCarthy, O. J.** *Physical and Physico-Chemical Properties of Milk*. Palmerston North, New Zealand : Massey University, 2002. Volume 3, pp 1812-1821.
9. **McCarthy, O. J. and Singh, H.** *Physico-chemical Properties of Milk*. Palmerston North, New Zealand : *Advanced Dairy Chemistry, Volume 3: Lactose, Water, Salts and Minor Constituents*, 2009.
10. **Đorđević, J.** *Mleko: hemija i fizika mleka*. Beograd : Naučna knjiga, 1987.
11. **Đorđević.** *Mleko (hemija i fizika mleka)*. Beograd : PKB - Agroekonomik, 1982.
12. **Čuklić, D.** *Mlijeko i mliječni proizvodi*. s.l. : Interna skripta, 2014.
13. **Carić, M. and Milanović, S.** *Topljeni sir*. Beograd : Nauka - Beograd, 1997.
14. **Lalović, M.** *Mljekarstvo, vježbe*. Sarajevo, Bosna i Hercegovina : Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Istočnom Sarajevu, interna skripta, 2019.
15. **Marković, D.** *Priručnik za mlekarstvo*. Beograd : AD „Imlek“, 2003.
16. **Glišić, Z.** *Proizvodnja sira na tradicionalan način*. Kairo, Sremski Karlovci : s.n., 2006.
17. **Pejić, O.** *Mljekarstvo II deo, tehnologija mlečnih proizvoda*. Beograd : Naučna knjiga, 1956.
18. **Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja.** *Pravilnik o sirevima i proizvodima od sireva*. s.l. : Narodne Novine, 2009. Vol. NN 20/2009.
19. **Mirecki, S.** *Tehnologija mlijeka*. Podgorica : Biotehnički fakultet, interna skripta, 2021.

20. **Hayaloglu, A. Adnan.** *Cheese Varieties Ripened Under Brine.* Inonu University, Malatya, Turkey : Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-417012-4.00039-9>, 2017.
21. **Bintsis, T. and Papademas, P.** *Microbiological quality of white-brined cheeses: a review.* Faculty of Agriculture, Aristotle University of Thessaloniki, Greece : Vol 55, No 3 August 2002 International Journal of Dairy Technology.
22. **Dozet, N., et al., et al.** *Autohtoni mliječni proizvodi; Poljoprivredni institut.* Podgorica : Silmir – Beograd, 1996.
23. **M. Ostojić, Lj. Topisirović.** *Geografska oznaka autohtonih sireva.* Beograd : Ekonomika poljoprivrede broj 3/2006 UDK: 631.3:006.063, 2006.
24. **Nastić, P.** Osnovne faze proizvodnje sira. *Agronomija.* [Online] 2014.
25. **Tibebu Kochare, Berhan Tamir.** *Assessment of Dairy Feeds for Heavy Metals.* s.l. : American Scientific Research Journal for Engineering, Technology, and Sciences (ASRJETS), 2015. Vols. 11, No.1, pp.20-31.
26. **Sujka, M., et al., et al.** *Determination of the content of Pb, Cd, Cu, Zn in dairy products from various regions of Poland.* Department of Analysis and Evaluation of Food Quality, University of Life Sciences in Lublin, Poland : Open Chem., 2019; 17: 694–702, <https://doi.org/10.1515/chem-2019-0072>.
27. **Serap Kilic Altun, Mehmet Emin Aydemir.** *Determination of some minerals and heavy metal levels in Urfa cheese and cow's milk.* Harran University, Veterinary Faculty, Department of Food Hygiene and Technology, Şanlıurfa, Turkey : Food and Health, 7(3), 185-193. <https://doi.org/10.3153/FH21020>, 2021.
28. *Metal contaminants in milk and milk products.* **(FIL-IDF), Federation Internationale De Laiterie - International Dairy Federation.** 1978.
29. **FAO/WHO.** *Food and Agriculture Organization/World Health Organization. Joint FAO/WHO food standards program: Codex committee on contaminants in foods (Editorial amendments to the general standard for contaminants and toxins in food and feed), sixth session.* Maastricht, Netherlands : ISBN: 978-92-5-105807-7, 2012.
30. **Jović, V.** *Teški metali u mlijeku i mliječnim proizvodima.* s.l. : Tehnološki fakultet, Zagreb.
31. **Arafa M. S. Meshref, Walaa A. Moselhy, Nour El-Houda Y. Hassan.** *Heavy metals and trace elements levels in milk and milk products.* s.l. : Springer Science+ Business Media New York 2014, Food Measure, DOI 10.1007/s11694-014-9203-6, 2014.
32. **Enb, A., et al., et al.** *Chemical Composition of Raw Milk and Heavy Metals Behavior During Processing of Milk Products.* Giza, Egypt : Global Veterinaria 3 (3): 268-275, ISSN 1992-6197, IDOSI Publications, 2009.
33. **Dilek Bakircioglu, Yasemin Bakircioglu Kurtulus, Gokhan Ucar.** *Determination of some traces metal levels in cheese samples packaged in plastic and tin containers by ICP-OES after dry, wet and microwave digestion.* Trakya University, Faculty of Science, Department of Chemistry, 22030 Edirne, Turkey : Food and Chemical Toxicology 49 (2011) 202–207, 2010.



34. **WHO, World Health Organization.** *Cadmium. Environmental Health Criteria 144.* WHO Geneva, Switzerland : s.n., 1993.
35. **Năstăsescu, V., Mititelu, M., Goumenou, M., Docea, A.O., Renieri, E.** *Heavy metal and pesticide levels in dairy products: Evaluation of human health risk, Food and Chemical Toxicology* <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111844>. s.l. : Elsevier Ltd., 2020.
36. **Razzagh Mahmoudi, Masoud Kazeminia, Ata Kaboudari, Seyedeh Faezeh Rahimi Pir-Mahalleh, Babak Pakbin.** *A review of the importance, detection and controlling of heavy metal in milk and dairy products.* s.l. : Malasyan Journal of Science 36 (1): 1-16, 2017.
37. **Nurdin, E., Putra, D.P. and Amelia, T.** *Analysis of Heavy Metal Lead (Pb) Levels with Aas in Cow's Milk by Giving Cumin (Cuminum cyminum L.), White Turmeric (Curcuma zedoaria Rosc.) and Mango Turmeric (Curcuma mangga Val.).* Pakistan : Journal of Biological Sciences, 16: 1373-1377., 2013.
38. **Shahmohammadi HZ., Moazed H., Jafarzadeh HNE., Haghghat JP.** *Removal of low concentrations of cadmium from water using improved rice husk.* s.l. : Water and wastewater 19(6): 27-33., 2008.
39. **Penaud S., Fernandez A., Boudebouze S., Ehrlich SD., Maguin E. & Van De Guchte M.** *Induction of heavy-metal-transporting CPX-type ATPases during acid adaptation in Lactobacillus bulgaricus.* s.l. : Applied and environmental microbiology 72(12): 7445-7454., 2006.
40. **Amir Ismail, Muhammad Riaz, Saeed Akhtar, Joseph E. Goodwill & Jin Sun.** *Heavy metals in milk: global prevalence and health risk assessment, Toxin Reviews, DOI:10.1080/15569543.2017.1399276.* 2017.
41. **Nataliya Porova, Valentina Botvinnikova, Olga Krasulya, Pavel Cherepanov, Irina Potoroko.** *Effect of ultrasonic treatment on heavy metal decontamination in milk.* s.l. : Ultrasonics sonochemistry, 21, 2107–2111, DOI:10.1016/j.ultsonch.2014.03.029, 2014.
42. **(WHO), World Health Organization.** *Inorganic Lead. WHO Environmental Health Criteria Series, 165.* Geneva, Switzerland : World Health Organization, pp. 1–300, 1995.
43. **IARC, International Agency for Research on Cancer.** *Inorganic and organic lead compounds. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans.* s.l. : Vol. 87.Geneva: WHO Press, 2006.
44. **IARC.** *IARC monograph on the evaluation of carcinogenic risks to humans.* France: Lyans, 49:318–411 : s.n., 1990.
45. **IARC, International Agency for Research on Cancer.** s.l. : Monograph Series 52, 263–472, 1991.
46. **Christophoridis, C., et al., et al.** *Determination of heavy metals and health risk assessment of cheese products consumed in Greece.* s.l.: Journal of Food Composition and Analysis, <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2019.103238>, 2019.
47. **Univerzitet u Beogradu, Hemijski fakultet.** *Instrumenti za uslužne analize, Mikrotalasni digestor Berghof SpeedWave XPERT.*
48. Analytikjena An Endress+Hauser Company. [Online] <https://www.analytikjena.com/products/chemical-analysis/sample-preparation/digestions/speedwave-xpert-microwave-pressure-digestion-system/>.

49. **Brzović, A.** *Razvoj i validacija metode za određivanje elementarnih onečišćenja u eritromicinu.* Zagreb : Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet, 2016.
50. **A. Ataro, R.I. McCrindle, B.M. Botha, C.M.E. McCrindle, P.P. Ndibewu.** *Quantification of trace elements in raw cow's milk by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS).* s.l. : Food Chemistry 111 (2008) 243–248, 2008.
51. **Dennis D. Miller, Michael A. Rutzke.** Atomic Absorption Spectroscopy, Atomic Emission Spectroscopy and Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry. [book auth.] S. Suzanne Nielsen. *Food Analysis (Fourth Edition).* West Lafayette, IN, USA : Springer New York Dordrecht Heidelberg London, DOI 10.1007/978-1-4419-1478-1.
52. **Mostafa F. Al-Hakkani.** *Guideline of inductively coupled plasma mass spectrometry "ICP-MS": fundamentals, practices, determination of the limits, quality control, and method validation parameters.* s.l. : Springer Nature Switzerland AG 2019. <https://doi.org/10.1007/s42452-019-0825-5>.
53. **Vajić, B.** *Poznavanje živežnih namirnica, Mlijeko i proizvodi od mlijeka.* Zagreb : Komisija za udžbenike i skripta sveučilišta u Zagrebu, 1957.
54. **Ahlam A. Eleboudy, Amer A.A., Abo El- Makarem H.S., Hend. H. Abo Hadour.** *Heavy Metals Residues in Some Dairy Products.* s.l. : Alexandria Journal of Veterinary Sciences, AJVS. Vol. 52(1): 334-346. , 2016.
55. **C. Voica, A. Dehelean, M.H. Kovacs.** *The Use Of Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-MS) For The Determination Of Toxic And Essential Elements In Different Types Of Food Samples.* s.l. : American Institute of Physics, 2012.
56. **Martín-Cameán, A., et al., et al.** *Development and validation of an inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) method for the determination of cobalt, chromium, copper and nickel in oral mucosa cells.* University of Seville, Spain: Microchemical Journal 114 (2014) 73–79, <http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2013.12.009>, 2013.