



## DUŠIČNE TVARI KAO PARAMETRI KVALITETE LIVANJSKOG I TRAVNIČKOG SIRA

### NITROGEN MATTER AS PARAMETERS OF THE QUALITY OF THE LIVNO AND TRAVNIK CHEESE

**Amina Hrković-Porobija, Aida Hodžić, M. Vegara, Almira Softić, Aida Kavazović, H. Ohran, V. Batinić**

Izvorni znanstveni članak – Original scientific paper  
Primljeno – Received: 27. studeni - November 2018

#### SAŽETAK

Istraživanje autohtone proizvodnje Livanjskog i Travničkog sira ima za cilj očuvanje tradicije, organizirane proizvodnje i plasmana na tržišta izvan domicilne regije. Autohtoni sirevi su raznovrsnijeg okusa, arome i konzistencije u odnosu na industrijski proizvedene sireve, gdje je tehnologija definirana, a uvjeti proizvodnje kontrolirani. Nadmorska visina, kvalitetna voda i hrana nisu dovoljni čimbenici za trajno održavanje kvalitete autohtonih sireva. Na osnovi standardizacije tehnoloških postupaka proizvodnje može se proizvesti sir specifičnog obilježja. Cilj istraživanja bio je odrediti i komparirati ukupni dušik i dušične frakcije u dva autohtona sira – Livanjskom i Travničkom, ovisno o terminu uzorkovanja (srpanj, kolovoz i rujna). Za anлізу su uzorci sira uzeti nakon 90 dana zrenja u izvornim uvjetima okoline. U uzorcima sira određivan je ukupni dušik i dušične frakcije. Određivanje sadržaja ukupnog dušika (TN), kao i dušika topljivog u vodi pri pH 4,6 (SN-4,6) i 12% triklo-roctenoj kiselini (TCA-SN) provedeno je metodom po Kjeldahlu.

Vrijednosti TN, SN-4,6 i TCA-SN u uzorcima Travničkog sira bile su niže u odnosu na uzorke Livanjskog sira pri svakom terminu uzorkovanja. Najveće vrijednosti indeksa SN-4,6/TN i TCA-SN/TN kod oba ispitivana sira utvrđene su u sirevima proizvedenim od mlijeka prikupljenog tijekom rujna. Indeksi zrenja su bili viši u uzorcima Travničkog sira, što ukazuje na povećanu primarnu proteolizu u odnosu na Livanjski sir, to može biti rezultat specifičnosti biljnog pokrivača i ispaše ovaca na nižoj nadmorskoj visini.

Ključne riječi: Livanjski sir, Travnički sir, dušične tvari, zrenje, kvaliteta, sir,

#### UVOD

Livanjski i Travnički sirevi su mliječni proizvodi koji imaju veliku popularnost u prehrani zbog svog okusa, funkcionalnosti i nutritivnih svojstava. Sir je izvor visokokvalitetnih proteina, kalcija i mnogih drugih važnih nutrijenata koji daju vrijedan doprinos kvalitetnoj prehrani. Proteini u siru sadrže sve esencijalne aminokiseline u količinama proporcionalnim potrebama čovjeka. U većini sireva proteini su lakoprobavljivi, jer oni teže probavljivi i u vodi topljivi

proteini uglavnom se razgrađuju u procesu proizvodnje sira. Većina ugljikohidrata razgrađena je u procesu proizvodnje sira ili je tijekom zrenja konvertirana u mliječnu kiselinu. To znači da osobe koje ne podnose mlijeko (zbog netolerancije na laktozu) mogu dobro podnositi sir. Danas se u svijetu proizvodi preko tisuću različitih vrsta sireva i ovakva raznolikost se može objasniti specifičnim lancem biokemijskih promjena koje se odvijaju u svakom pojedinom tipu sira (Sarić, 2002.).

Dr. sc. Amina Hrković-Porobija, e-mail: amina.hrkovic@vfs.unsa.ba, prof. dr. sc. Aida Hodžić, prof. dr. sc. Almira Softić, prof. dr. sc. Aida Kavazović, dipl. vet. Husein Ohran, Veterinarski fakultet Univerziteta u Sarajevu, Zmaja od Bosne 90, 71000 Sarajevo, prof. dr. sc. Mensur Vegara, Faculty of Landscape and Society, Norwegian University of Life Sciences (NMBU) Aas Norway, dr. sc. Vinko Batinić, Agronomski i prehrambeno tehnološki fakultet Sveučilišta u Mostaru, Nadbiskupa Čule, 88000 Mostar

Autohtoni sirevi su raznovrsnijeg okusa, arome i konzistencije u odnosu na industrijski proizvedene sireve, gdje je tehnologija definirana, a uvjeti proizvodnje kontrolirani. U sirarstvu ključnu ulogu za dobru kvalitetu sira imaju sastav i osobine mlijeka, uključujući količinu i kvalitetu proteina, masti, mineralnih tvari, sposobnost sirenja kao i cijeli niz drugih povezanih čimbenika (količina dodatog sirila, temperatura u tijeku zrenja i dužina zrenja, sadržaj vode u siru, aktivnost mikroorganizama, količina soli i tehnologija proizvodnje mlijeka). U preradi mlijeka u sir poznavanje promjena pH vrijednosti i točke ledišta mlijeka od izuzetne je važnosti, jer se i na osnovi tih vrijednosti procjenjuje kvaliteta mlijeka za sirenje. U nizu promjena tijekom zrenja sira, transformacije proteina i njihovih produkata razgradnje smatraju se najznačajnijim biokemijskim procesima. Od mnogih produkata razgradnje proteina za zrenje sireva i njihove organoleptičke osobine osobito su značajne dušične tvari topljive u vodi, jer utječu na osobinu tijesta sira, njegovu aromu i okus (Petrović i sur., 1988.), i karakteristična su za svaku vrstu sira (Taborda i sur., 2003.).

Na osnovi količine dušičnih tvari topljivih u vodi dobiva se uvid o intenzitetu razgradnje proteina i zrelosti sira. Tijekom zrenja sira najznačajnije promjene događaju se na  $\alpha_{S1}$ -CN kazeinu, pri čemu se u prvom stadiju hidrolize stvaraju spojevi veće molekularne mase koji su topljivi u vodi, ali nisu topljivi u 12% TCA (Jovanović i sur., 2007.). Razina i sastav dušičnih tvari topljivih u vodi kao i topljivi dušik pri pH 4,4 (pH 4,4-SN) veoma malo se razlikuju u siru kada je pH < 5,2, ali značajne razlike u siru nastaju pri višem pH (Polychroniadou i sur., 1999.). Poznato je da u 12% TCA otopini ostaju dušične tvari malih i srednjih molekularnih masa. Proteozo-peptonska frakcija definira se kao smjesa peptida različitih molekularnih masa koji se precipitiraju u otopini 12% TCA. Spojevi topljivi u 12% TCA mogu biti značajan pokazatelj dinamike proteolitičkih procesa tijekom zrenja sira i mogu vrlo slikovito opisati „dubinu“ zrenja sira (Christensen i sur., 1991.). Intenzitet promjena proteina, što predstavlja suštinu zrenja, najveći je tijekom prvih dana. Formiranje hidrofobnih gorkih peptida koji nastaju aktivnošću različitih proteinaza na kazein može imati kao posljedicu gorak okus sireva. Hidrofobni peptidi odgovorni za gorak okus u siru formiraju se neadekvatnom razgradnjom  $\alpha_{S1}$  i  $\beta$ -kazeina (Mikulec i sur., 2010.a). Tijekom zrenja sira biokemijske promjene koje se događaju mogu

biti primarne i sekundarne. U primarne se ubrajaju lipoliza, proteoliza i metaboliziranje rezidualne laktoze odgovorne za teksturu, dok su sekundarne metaboliziranje masnih i aminokiselina (Mikulec i Havranek, 2010.b). Najsloženijim biokemijskim promjenama podliježu proteini, pa se razgradnja proteina definira kao zrenje u „užem“ smislu riječi. Dinamika razgradnje proteina u vezi je s tehnologijom izrade sira, uvjetima zrenja, aktivnošću primarnih starter kultura, nestarterskih bakterija mliječno-kiselinske fermentacije (NSLAB - engl. non starter lactic acid bacteria) i enzima sekundarnih startera (Puđa i Miočinović, 2009.).

## MATERIJAL I METODE RADA

Za istraživanje korišteni su uzorci svježeg ovčjeg mlijeka uzorkovanog tijekom jutarnje mužnje koja se obavljala ručno. Uzorci mlijeka uzimani su pojedinačno od ovaca Pramenka pasmine. U tijeku uzimanja uzorka hranidba ovaca bazirala se na ljetnoj ispaši. Na području Livna mlijeko je uzorkovano u tri termina - srpanj (n=20), kolovoz (n=20) i rujana (n=25), kao i na području Travnika - srpanj (n=25), kolovoz (n=25), rujana (n=25). Za proizvodnju Livanjskog i Travnčkog sira korišteno je zbirno mlijeko ovaca od kojih smo prethodno uzorkovali mlijeko za svaki termin uzorkovanja. Od pripremljenih sireva za ispitivanje su uzeti uzorci nakon 90 dana zrenja u izvornim ambijentalnim uvjetima. Ukupno je uzeto 6 uzoraka sira (3 za Livanjski i 3 za Travnčki sir za svaki termin uzorkovanja). U uzorcima sira određivani su ukupni dušik i dušične frakcije. Određivanje ukupnog sadržaja dušika (TN), kao i utvrđivanje dušika topljivog pri pH 4,6 (SN-4,6) i dušika topljivog u 12% TCA (TCA-SN) izvršeno je metodom po Kjeldahlu (ISO, 2014.).

### *Obrada uzoraka sira za spaljivanje*

U omnimix posudu odvagano je 12,5 g sira i dodano 50 ml 0,5 M trinatriumcitratne kiseline i 50 ml H<sub>2</sub>O temperature 50 °C. Posuda s uzorkom je temperirana na 50 °C u vodenoj kupelji u trajanju od 30 minuta. Zatim se omnimix posuda sa sadržajem miješala u mješalici 1 minutu pri brzini 4 dok se uzorak u potpunosti ne otopi. U mjernu posudu od 250 ml čitav je sadržaj omnimix posude pretočen uz ispiranje destiliranom vodom. U ovako pripremljenu otopinu sira dodano je 3-4 kapi izo-propil

alkohola, koji ima ulogu spriječiti formiranje pjene. Mjerna posuda se hladila na sobnoj temperaturi, a zatim dopunjavala destiliranom vodom do oznake. Ova otopina je predstavljala osnovnu otopinu za analizu ukupnog dušika (TN), dušika topljivog u vodi pri pH 4,6 (SN-4,6) i dušika topljivog u 12% TCA (TCA-SN)

Za određivanje ukupnog dušika (TN) u mjernu posudu od 100 ml odpipetirano je 50 ml pripremljene otopine sira i dopunjeno destiliranom vodom do oznake. Od ovako pripremljene otopine 1 ml se odpipetira u Kjeldahl epruvetu.

Da bi se dobila frakcija dušika (SN-4,6) topljiva u vodi pri pH 4,6, u mjernu posudu s osnovnom otopinom dodano je 50 ml 0,564 M HCl. Sadržaj mjerne posude je promiješan, a zatim filtriran kroz filter papir 589/2 (S&S Whatman Schleicher & Schule), pri čemu su prve kapi dobivene filtriranjem ponovo vraćane na filtraciju. Od ovog filtrata 2 ml se otpipetira u Kjeldahl epruvetu.

Za određivanje frakcije dušika topljive u 12% TCA (TCA-SN) odpipetirano je 25 ml SN-4,6 frakcije topljivog dušika i stavljeno u mjernu posudu od 100 ml, zatim je dodano 25 ml 24% TCA i ostavljeno u hladnjaku na 4°C tijekom noći. Sljedeći dan otopina se filtrira kroz S&S Whatman 589/2 filter papir uz refiltraciju prvih kapi. Od ovog filtrata 4 ml se otpipetira u Kjeldahl epruvetu.

U Kjeldahllove epruvete dodavane su Kjeldahl tablete i 3 ml koncentrirane sumporne kiseline. Blok za spaljivanje je grijan 10 minuta do temperature od 230 °C, a zatim su Kjeldahl epruvete s uzorkom stavljene na spaljivanje. Spaljivanje svih uzoraka (TN, SN-4,6 i TCA-SN) obavljeno je na temperaturi od 420 °C u trajanju od 1 sata.

Spaljivanje uzoraka je obavljeno na uređaju Tecator 2040 digestor, dok su uzorci destilirani i titrirani na uređaju Tecator 1035 Analyzer - Kjeltex auto sampler system. Pri spaljivanju svake serije uzoraka rađene su po tri slijepe probe. Nakon spaljivanja, epruvete s uzorcima su hladene, a zatim je pristupano destilaciji i titriranju na Kjeltex destilacijskoj koloni.

Indeks SN-4,6 / TN je izračunat prema formuli:

$$\frac{\text{SN-4,6} \times 100}{\text{TN}}$$

a indeks TCA-SN / TN prema formuli:

$$\frac{\text{TCA-SN} \times 100}{\text{TN}}$$

Statistička obrada podataka obavljena je korištenjem softverskog paketa / programa SPSS 21.00. Za obradu je korištena neparametrijska statistika, gdje su korišteni Friedman (za područje Travnika) i Wilcoxon test (distribution free tests) (za područje Livna). Razlike su smatrane statistički značajnima na razini  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$  i  $p < 0,001$ . Statistički testovi koji su korišteni bili su neophodni s obzirom na asimetričnost distribucije rezultata.

## REZULTATI I RASPRAVA

Utvrđene vrijednosti dušičnih tvari u Livanjskom i Travničkom siru varirale su u ovisnosti od termina uzorkovanja. Utvrđena TN vrijednost u Livanjskom siru u I. i II. terminu uzorkovanja bila je približno ista, dok je u III. terminu uzorkovanja utvrđena najniža vrijednost. Vrijednost dušika topljivog pri pH 4,6 (SN-4,6) u Livanjskom siru je bila veća u siru proizvedenom prilikom II. uzorkovanja mlijeka u mjesecu kolovozu u odnosu na sireve iz I. (srpanj) i III. (rujan) uzorkovanja. Najveća vrijednost TCA-SN zabilježena je u III. terminu uzorkovanja (Tablica 1).

Koncentracija ukupnog dušika u uzorcima Travničkog sira je iznosila 0,963 do 0,892 %, ovisno o razdoblju uzorkovanja (Tablica 2). Koncentracija dušika topljivog pri pH 4,6 (SN-4,6) i frakcije dušika topljivog u 12% trikloroocenoj kiselini u uzorcima Travničkog sira imale su intenciju rasta prema mjesecu uzorkovanja (Tablica 2). Vrijednosti TN, SN-4,6 i TCA-SN u uzorcima Travničkog sira bile su manje u odnosu na uzorke Livanjskog sira (Tablica 1 i 2). U proizvodnji tradicijskih sireva uglavnom se koristi mlijeko ovaca koje se drže na ekstenzivan način. Kemijski sastav mlijeka za sirene se razlikuje između pojedinih pasmina, što je vezano za utjecaj hranidbe i sezonu. Specifična svojstva Livanjskog i Travničkog sira proizilaze iz svojstava mlijeka ovce pramenke, dobivenog u uvjetima specifičnog planinskog biljnog pokrivača i klimatskih prilika (Hrković-Porobija i sur., 2017.). U razdoblju srpanj-rujan ovcama je dostupna kvalitetna i obilna ljetna ispaša bogata dušičnim tvarima potrebnim za sintezu bjelančevina u buragu preživača. Sirevi proizvedeni od mlijeka dobivenog s planinske ispaše, kao što je na Dinarskom gorju, imaju veći

udjel nezasićenih masnih kiselina (C18) što utječe na bolja reološka svojstva i povećanu primarnu proteolizu, u odnosu na sireve dobivene od mlijeka s ispaše iz doline (Matutinović i sur., 2007.).

Uspoređujući vrijednosti frakcija dušičnih tvari između uzoraka Livanjskog i Travničkog sira prema terminima uzorkovanja utvrđene su veće vrijednosti kod uzoraka Livanjskog sira (Tablica 1 i 2). Na osnovi literaturnih podataka, nedvosmisleno se može zaključiti da se zrenje tvrdih, polutvrdih i mekih sireva kvalitativno i kvantitativno razlikuje. Tijekom zrenja mekih sireva, kojima je po pravilu

kraće vremensko razdoblje zrenja, u većoj mjeri nastaju primarni produkti razgradnje proteina, dok kod tvrdih sireva u topljivim dušičnim tvarima, veći je udio sekundarnih produkata razgradnje, s obzirom na njihovo duže razdoblje zrenja. Promjene dušičnih tvari tijekom zrenja polutvrdog sira proizvedenog na temelju koagregata proteina mlijeka, obim i dinamika razgradnje proteina u tijesnoj su vezi s tehnologijom izrade sira, uvjetima zrenja, aktivnošću primarnih starter kultura kao i dopunskih kultura koje se koriste kod ubrzanog zrenja (Jovanović i sur., 2007.).

**Tablica 1. Sadržaj dušičnih tvari u Livanjskom siru po terminima uzorkovanja**

**Table 1 The nitrogen matter content in the Livno cheese per sampling periods**

| Dušične tvari u siru<br>Nitrogen matter in cheese                            | I. uzorkovanje<br>Sampling I | II. uzorkovanje<br>Sampling II | III. uzorkovanje<br>Sampling III |
|--|------------------------------|--------------------------------|----------------------------------|
| Ukupni dušik (TN) %<br>Total nitrogen (TN) %                                 | 1,53                         | 1,53                           | 1,41                             |
| Dušik topljiv pri pH 4,6 (SN-4,6) %<br>Soluble nitrogen 4.6 (SN-4.6) %       | 0,31                         | 0,42                           | 0,41                             |
| Dušik topljiv u 12% TCA (TCA-SN) %<br>Soluble nitrogen in 12% TCA (TCA-SN) % | 0,40                         | 0,55                           | 0,78                             |
| Indeks SN-4,6 / TN<br>Index SN-4,6 / TN                                      | 20,26                        | 27,45                          | 29,08                            |
| Indeks TCA-SN / TN<br>Index TCA-SN / TN                                      | 26,14                        | 35,95                          | 55,32                            |

I., II., III. – termini uzorkovanja: srpanj, kolovoz i rujan

I, II, III- sampling periods: July, August and September

**Tablica 2. Sadržaj dušičnih tvari u Travničkom siru po terminima uzorkovanja**

**Table 2 The nitrogen matter content in the Travnik cheese per sampling periods**

| Dušične tvari u siru<br>Nitrogen matter in cheese                            | I. uzorkovanje<br>Sampling I | II. uzorkovanje<br>Sampling II | III. uzorkovanje<br>Sampling III |
|--|------------------------------|--------------------------------|----------------------------------|
| Ukupni dušik (TN) %<br>Total nitrogen (TN) %                                 | 0,96                         | 0,89                           | 0,96                             |
| Dušik topljiv pri pH 4,6 (SN-4,6) %<br>Soluble nitrogen at pH 4.6 (SN-4.6) % | 0,28                         | 0,30                           | 0,39                             |
| Dušik topljiv u 12% TCA (TCA-SN) %<br>Soluble nitrogen in 12% TCA (TCA-SN) % | 0,37                         | 0,44                           | 0,57                             |
| Indeks SN-4,6 / TN<br>Index SN-4,6 / TN                                      | 29,17                        | 33,71                          | 40,62                            |
| Indeks TCA-SN / TN<br>Index TCA-SN / TN                                      | 38,54                        | 49,44                          | 59,38                            |

I., II., III. – termini uzorkovanja: srpanj, kolovoz i rujan

I, II, III- sampling periods: July, August and September

U nizu promjena do kojih dolazi za vrijeme zrenja sireva, transformacije proteina i njihovih produkata razgradnje smatraju se najznačajnijim biokemijskim procesima. Od mnogih produkata razgradnje proteina za zrenje sireva i njihove organoleptičke osobine osobito su značajne dušične tvari topljive u vodi, jer utječu na svojstvo tijesta sira, njegovu aromu i okus (Petrović i sur., 1988.). Na osnovi količine dušičnih tvari topljivih u vodi dobiva se uvid o intenzitetu razgradnje proteina i zrelosti sira. Tijekom zrenja sireva najznačajnije promjene događaju se na  $\alpha_{S1}$ -CN kazeinu, pri čemu se u prvom stadiju hidrolize stvaraju spojevi veće molekularne mase koji su topljivi u vodi, ali nisu topljivi u 12% TCA (Jovanović i sur., 2007.).

Poznato je da u 12% TCA otopini ostaju dušične tvari malih i srednjih molekularnih masa. Proteo-peptonska frakcija definira se kao smjesa peptida različitih molekularnih masa koji se precipitiraju u otopini 12% TCA. Spojevi topljivi u 12% TCA mogu biti značajan pokazatelj dinamike proteolitičkih procesa tijekom zrenja sireva i mogu vrlo slikovito opisati „dubinu“ zrenja sireva (Christensen i sur., 1991.).

Postoje razne metode za određivanje stupnja proteolize, a neke od njih se zasnivaju na analizi dušika dobivenog iz ekstrakta sira. Frakcija dušika topljivog u vodi (WSN-a engl. water soluble nitrogen) ili u različitim otapalima pri pH 4,6 određuje takozvanu „širinu“ zrenja, gdje je sirilo glavni proteolitički faktor. U odnosu na WSN, frakcije dušika topljivog u 12% trikloroctenoj kiselini uglavnom sadrže peptide s molekulskom masom manjom od 1.400 daltona i aminokiseline. Tijekom zrenja proteini u siru se transformiraju do produkata nižih molekularnih masa od kojih u velikoj mjeri ovise senzorske i reološke karakteristike sira. (Jovanović i sur., 2007.).

Stoga se kao mjerilo intenziteta razgradnje proteina uzima količina proteina topljivih u vodi, odnosno udio dušičnih tvari topljivih u vodi koje nastaju tijekom zrenja. Kvantitativna procjena stupnja proteolize u Livanjskom i Travničkom siru tijekom zrenja je iskazana preko indeksa SN-4,6/TN. Ova frakcija se uglavnom sastoji od proizvoda razgradnje koje proizvodi sirišni enzim i endogene proteinaze mlijeka (plazmin), i služi uglavnom kao monitor primarne proteolize. Vrijednosti indeksa SN-4,6/TN Livanjskog i Travničkog sira su praćene za svaki termin uzorkovanja nakon zrenja od 90 dana.

Indeks SN-4,6/TN u uzorcima Livanjskog sira se povećavao od 20,64 do 29,23% u skladu s terminima uzimanja uzoraka srpanj-kolovoz-rujan (Tablica 1). Najveće proteolitičke promjene su zabilježene u sirevima proizvedenim od mlijeka prikupljenog tijekom rujna, a utvrđeni indeks SN-4,6/TN je imao najveću vrijednost u oba ispitivana sira. Kompariranjem vrijednosti TCA-SN/TN u uzorcima Livanjskog sira utvrđeno je povećavanje vrijednosti u odnosu na termin uzorkovanja, tako da su najveću vrijednost imali sirevi u III. terminu uzorkovanja (Tablica 1). Jovanović i sur. (2007.) su utvrdili da se povećanjem udjela topljivog dušika povećavao i indeks zrelosti pokusnog polutvrđog sira. Kemijske promjene sastojaka mlijeka tijekom zrenja svakako ne protiču jedna za drugom po redu, već neke od njih prethode drugima, a druge se događaju istovremeno u paralelnim nepovezanim ili spregnutim kemijskim reakcijama (McSweeney i Soussa, 2000).

Indeks SN-4,6/TN u uzorcima Travničkog sira je bio u rasponu od 25,64 do 39,97%, što ukazuje na pravilno zrenje. Tijekom zrenja, što je u osnovi enzimatski proces, dolazi do stalne razmjene tvari između sira i salamure. U literaturi se navodi da su vrijednosti indeksa SN-4,6/TN kod tradicionalnog Vlašićkog sira dosta heterogene, iako se većina autora slaže (Petrović i sur., 1988; Jovanović i sur., 2007; Kalit i sur., 2016.) da se odnos topljivih prema ukupnim dušičnim tvarima sira povećava sa zrelošću sira. Povećanje topivog dušika u siru intenzivno je u početnom periodu zrenja što se može povezati s utjecajem većeg broja faktora: povećan sadržaj vode u siru, intenzivan rast kiselosti i povećane temperature na početku zrenja.

Indeks TCA-SN/TN uzoraka Travničkog sira kretao se u rasponu od 38,83 do 58,87% (Tablica 2). Općenito bi se moglo reći da je sir zreliji, što je indeks manji i obratno, sir je s obzirom na zrelost sposoban za potrošnju. Međutim, kako su neki sirevi proizvedeni iz kravljeg mlijeka, neki iz ovčjeg, neki iz miješanog, trebalo bi posebno ispitati odnosi li se ova granica na sir proizveden iz bilo kojeg mlijeka ili samo iz kravljeg. Ako se upoređuju podaci za različite vrste sireva, oni pokazuju da se indeksi zrelosti razlikuju po vrstama, s time što različiti sirevi postižu zrelost u različitom vremenu, a variranja se mogu javljati i u okviru iste vrste (Petrović i sur., 1988.). Indeksi zrelosti su bili veći u uzorcima Travničkog sira u odnosu na uzorke Livanjskog sira (Tablica 1 i 2).

## ZAKLJUČAK

Količina ukupnog dušika i frakcija dušičnih tvari Livanjskog i Travničkog sira nije se značajno razlikovala kod svih termina uzorkovanja. Indeksi zrenja SN-4,6/TN i TCA-SN/TN su se povećavali tijekom ispitivanih termina kod obje vrste sira, što ukazuje na pravilno odvijanje proteolize tijekom njihovog zrenja. Najveće proteolitičke promjene su zabilježene u sirevima proizvedenim od mlijeka prikupljenog tijekom rujna, uz najveću vrijednost indeksa SN-4,6/TN i TCA-SN/TN kod oba ispitivana sira. Indeksi zrenja su bili viši u uzorcima Travničkog sira, što ukazuje na povećanu primarnu proteolizu u odnosu na Livanjski sir a što može biti rezultat specifičnosti biljnog pokrivača i ispaše ovaca na nižoj nadmorskoj visini.

## LITERATURA

1. Christensen T.M.I.E., Bech A.M., Werner H.: Methods for crude fractionation (extraction and precipitation) of nitrogen components in cheese. (1991.): Bulletin IDF 261, 4-9.
2. Hrković-Porobilja A., Hodžić A., Crnikć Č., Barić Z., Hadžimusić N., Krvavica M., Vegara M.: Ispaljive aromatske komponente kao parametri kvalitete autohtonih sireva –Livanjskog i Travničkog (2017.): *Krmiva*, 59 (1) 7-13.
3. ISO 8968-1:2014 Milk and milk products - Determination of nitrogen content - Part 1: Kjeldahl principle and crude protein calculation International Organisation for Standardisation No. 8968-1, Geneva.
4. Jovanović S., Mačej O., Barać M., Vučić T.: Promjene dušičnih tvari tijekom zrenja polutvrdog sira proizvedenog na temelju koagregata proteina mlijeka. (2007.): *Mljekarstvo*, 57 (3), 169-193.
5. Kalit S., Matić A., Salajpal K., Sarić Z., Tudor Kaliti M.: Proteolysis of Livanjski cheese during ripening. (2016.): *Journal of Central European Agriculture*, 17(4), 1320-1330.
6. Matutinović S., Rako A., Kalit S., Havranek J.: Značaj tradicijskih sireva s posebnim osvrtom na Lećevački sir. (2007.): *Mljekarstvo* 57 (1) 49-65.
7. McSweeney P.L.H., Sousa M.J. : Biochemical pathways for the production of flavour compound in cheeses during ripening. (2000.): *Lait*, 80 (3), 293-324.
8. Mikulec N., Habuš I., Antunac N., Vitale Lj., Havranek J.: Utjecaj peptida i aminokiselina na formiranje arome sira. (2010.a): *Mljekarstvo*, 60 (4), 219-227.
9. Mikulec N., Havranek J.: Formiranje arome sira. „1. Savjetovanje uzgajivača Paške ovce“ Zbornik predavanja, (2010.b): 10-11, Novalja, Hrvatska.
10. Petrović D., Đorđević J., Mišić D.: Dinamika rastvorljivih azotnih materija i slobodnih aminokiselina u toku zrenja somborskog sira. (1988.): *Mljekarstvo*, 39 (1), 15-21.
11. Polychroniadou A., Michaelidou A., Paschaloudis N.: Effect of time, temperature and extraction method on the trichloroacetic acid-soluble nitrogen of cheese. (1999.): *International Dairy Journal* 9 (8), 559-568.
12. Puđa P., Miočinović J.: Sirevi sa dijetetskim i funkcionalnim svojstvima. (2009.): *Prehrambena industrija - Mleko i mlečni proizvodi* 20 (1-2), 20-30.
13. Sarić, Z.: Investigation of biochemical changes of Livanjski and Travnik cheeses. (2002.): PhD Thesis, University of Sarajevo, Faculty of Agriculture (in Bosnian and Herzegovinian).
14. Taborda G., Molina E., Ānez-Castro I.M., Ramos M., Amigo L.: Composition of the Water-Soluble Fraction of Different Cheeses. (2003.): *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51 (1), 270-276.

## SUMMARY

The research on autochthonous production of Livanjski and Travnik cheeses aims to preserve tradition, organized production and placement on markets outside the domicile region. Indigenous cheeses have a variety of taste, flavor and consistency over industrial cheeses, where technology is defined and production conditions are controlled. Altitude, quality of water and feed are not sufficient factors for permanently maintaining the quality of autochthonous cheeses. Based on the standardization of technological procedures, cheese with distinctive characteristics can be produced. The aim of the research was to determine and compare the total nitrogen and nitrogen fractions in two indigenous cheeses - Livanjski and Travnik, depending on the time of sampling (July, August and September). Cheese samples were taken after 90 days of ripening in the original environmental conditions and analyzed. Sampled milk from both sampling areas, were sufficient for making Livno and Travnik cheese, from which samples were taken after 90 days of ripening in the original ambient conditions. Determination of total nitrogen content (TN) as well as water-soluble pH at pH 4.6 (SN-4.6) and 12% trichloroacetic acid (TCA-SN) was performed by Kjeldahl method.

The values of TN, SN-4.6 and TCA-SN in samples of Travnik cheese were lower compared to samples of Livno cheese at every time of sampling. The highest index values of SN-4.6 / TN and TCA-SN / TN for both examined cheeses were found in the cheese produced from milk collected during September. Indexes of ripening were higher in the samples of Travnik cheese indicating increased primary proteolysis compared to Livno cheese which may be the result of the specificity of the plant cover and sheep grazing at a lower altitude.

Key words: Livno cheese, Travnik cheese, nitrogen matter, ripening, quality