

**НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ
ПОЉОПРИВРЕДНОГ ФАКУЛТЕТА
УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ**

Датум: 25.04.2019.

ПРЕДМЕТ: Извештај Комисије за оцену урађене докторске дисертације Немање Кљајевића, дипл. инж.

Одлуком Наставно-научног већа Пољопривредног факултета Универзитета у Београду бр. 32/7-6.1. од 24.04.2019. године именована је Комисија за оцену и одбрану урађене докторске дисертације под насловом „*Утицај складиштења смрзнутог козјег млека, груша и груде на својства сира у саламури*“, кандидата Немање Кљајевића, дипл. инж. На основу увида у завршену докторску дисертацију, Комисија подноси следећи

ИЗВЕШТАЈ

1. ОПШТИ ПОДАЦИ О ДОКТОРСКОЈ ДИСЕРТАЦИЈИ

Докторска дисертација Немање Кљајевића дипл. инж., написана је на 141 страни са укупно 22 табеле и 33 слике. Такође, саставни део дисертације је: Насловна страна на српском и енглеском језику, Информација о ментору и члановима комисије, Резиме са кључним речима на српском и енглеском језику, Списак скраћеница и Садржај. Докторска дисертација садржи седам поглавља: *Увод* (стр. 1-4), *Преглед литературе* (стр. 5-45), *Циљ истраживања* (стр. 46-47), *Материјал и методе* (стр. 48-75), *Резултате и дискусију* (стр.76-123), *Закључке* (стр. 124-129) и *Литературу* (стр. 130-141). На крају текста дисертације налази се Биографија кандидата, Изјава о ауторству, Изјава о истовестности штампане и електронске верзије и Изјава о коришћењу.

2. ПРИКАЗ И АНАЛИЗА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Увод. У уводном разматрању кандидат наводи значај козјег млека са нутритивног аспекта, као и чињеницу да садржи нижи ниво алергена и да је сварљивије од крављег млека, што битно утиче на пораст производње ове врсте млека. Такође, истакнута је и важност ове врсте млека у економији појединих земаља, с обзиром да су планински и пустињски предели често непогодни за гајење крава, али могу бити врло погодни за гајање коза и оваца. У свету постоји изражен пораст популације коза, а протеклих деценија тренд повећања производње козјег млека од 70% превазилази повећање производње крављег млека. Без обзира на значајан пораст производње доминантно присуство крављег млека и млечних производа, смањује конкурентност козјег млека и производа на тржишту. Значајан пораст производње козјег млека свакако указује на потребу да се интензивирају истраживања у овој области с обзиром да постоје велике разлике у технолошким особинама крављег и козјег млека, иако је њихов хемијски састав веома сличан. Најповољнији облик прераде козијег млека је у сиреве, који се традиционално производе од млека малих преживара, мада се због сезонског карактера производње овчијег и козјег

млека често користи и кравље млеко. Најзначајнија група сирева у источномедитеранском делу, као и на Балкану су бели сиреви у саламури. Када је Србија у питању да би се развило козарство, а самим тим и продукција и прерада козјег млека потребно је применити неки од већ постојећих модела, радити на проширењу тржишта и популаризацији производа од ове врсте млека.

Преглед литературе. Ово поглавље састоји се из 5 потпоглавља у којима су обрађени доступни литературни подаци везани за предмет проучавања докторске дисертације.

У првом потпоглављу кандидат даје преглед физичко-хемијских карактеристика козјег млека, које имају веома наглашене сезонске варијације под утицајем бројних фактора са посебним освртом на утицај расе, лактације и климатских услова.

У другом потпоглављу обрађени су литературни подаци везани за параметре сиришне коагулације која представља централну фазу поступка производње сиришно коагулишућих сирева у које се убрајају и сиреви у саламури, са посебним освртом на значај времена и брзине коагулације, као и чврстине сирног гела. Истакнут је утицај бројних фактора на сиришну коагулацију, као и специфичност козјег млека као сировине у производњи сирева.

Треће потпоглавље се односи на текстуру и микроструктуру сирева које су условљене низом технолошких операција које се примењују у процесу производње, а обрађене су и промене које се дешавају током периода зрења које имају значајан утицај на наведене карактеристике.

У четвртном потпоглављу кандидат се бави детаљно смрзавањем у прехранбеној технологији, разматрањем сложеног механизма смрзавања намирница, ефектима брзине смрзавања, физичким и хемијским променама током складиштења намирница у смрзнутом стању, као и променама које се дешавају при одмрзавању применом различитих техника.

Пето потпоглавље се односи на утицај хлађења и смрзавања на компоненте млека. Кандидат разматра не само смрзавање млека намењеног производњи сира, него и груша и сира, као начина за превазилажење сезонског карактера производње козјег млека. Установљено је да смрзавање има велики утицај на карактеристике сира, које зависе пре свега од технолошког поступка производње сира, брзине смрзавања, температуре и времена складиштења у смрзнутом стању.

Циљ истраживања. Основни циљ истраживања у овој дисертацији је био да се испитају могућности превазилажења сезонског карактера производње козјег млека складиштењем млека, груша или груде у смрзнутом стању у максималном трајању од 60 дана, ради потенцијалног увећања доступности козјих сирева на тржишту у зимском периоду, као и да би се отворила могућност за производњу козјих сирева ван периода лактације. Истраживања варијација физичко-хемијских карактеристика козјег млека током лактације се састојао у утврђивању њиховог обима, као и у утврђивању утицаја климатских фактора на поменуте варијације, како би се указало на могућност коришћења смрзнутог козјег млека за стандардизацију у току лактације када су варирања параметара физичко-хемијског састава изражена у значајној мери. Испитивање утицаја складиштења козјег млека у смрзнутом стању током 60 дана на параметре сиришне коагулације је рађено, с обзиром на важност ове фазе у поступку производње сиришно коагулишућих сирева и утицаја на квалитет готовог производа. Производња сира од груша смрзаног у различитим фазама пресовања и складиштеног у таквом стању има за циљ утврђивање

најпогоднијег начина смрзавања груша, које је даље примењен у следећој фази истраживања. Такође је циљ да се утврди оптималан начин загревања одмрзнутих грушева на температуру пресовања. Производња и анализа сирева има за циљ утврђивање утицаја складиштења козјег млека, груша и груде у смрзнутом стању на ток промена физичко-хемијских карактеристика, текстуре, микроструктуре, као и на ток и обим протеолитичких промена током 8 недеља зрења. Уз помоћ стручног панела и потрошача, испитивано је на који начин складиштење козјег млека, груша или груде у смрзнутом стању у трајању од 60 дана утиче на сензорни квалитет и прихватљивост сирева након периода зрења од 2 и 8 недеља.

Материјал и методе. У оквиру овог поглавља издвојено је 4 потпоглавља и детаљно су представљене све методе које су примењене у изради тезе.

У истраживању коришћено је млеко Санске расе коза са фарме „Веосарга“ у Кукујевцима. Сиреви су произведени у пилот погону Одељења за технологију млека, Пољопривредног факултета у Београду.

У првој фази истраживања је испитиван физичко-хемијски састав млека током лактације помоћу уређаја Lactoscan SA60 Milk analyzer (Milkotronic, Bulgaria) у лабораторији млекаре „Веосарга“. Одређивани су следећи параметри хемијског састава козјег млека: садржај млечне масти, протеина, суве материје без масти, лактозе и минералних материја, као и физички параметри: густина, рН вредност, титрациона киселост и тачка смрзавања. Подаци о климатским условима (температура ваздуха, релативна влажност ваздуха, инсолација) у току лактације прибављени су од Републичког хидрометеоролошког завода Републике Србије. Утицај периода лактације на састав и својства козјег млека утврђен је анализом варијансе (ANOVA), а Duncan-овим тестом утврђене су разлике између средњих вредности. Да би се установио утицај испитиваних климатских фактора на параметре физичко-хемијског састава млека у току лактације израчунати су Pearson-ови коефицијенти корелације.

У другој фази истраживања за испитивање физичко-хемијског састава козјег млека коришћене су референтне методе. Одређен је садржај суве материје, протеина, млечне масти, као и титрациона киселост и рН вредност. На исти начин одређен је квалитет млека у трећој и четвртој фази истраживања.

Параметри коагулације козјег млека праћени су реометром Kinexus Pro (Malvern Instruments Ltd, Worcestershire, UK), у комбинацији са „Vane“ геометријом истог произвођача. Време коагулације (СТ) мерено је током 64 минута формирања гела при фреквенцији осциловања од 1 Hz и деформацији од 1%. Брзина агрегирања (AR) је рачуната преко нагиба тангенте у тачки максималног увећања модула еластичности (G'), док је чврстина гела (CF) одређена на основу спектра фреквенција готових гелова (Steffl et al., 1999). Статистичка анализа овог сегмента огледа обављена је анализом варијансе и Duncan-овим тестом.

У трећој фази истраживања је испитан утицај краткотрајног складиштења млека и груша у смрзнутом стању на својства сирева. Складиштење млека и груша у смрзнутом стању на температури -27°C трајало је 7 дана. Направљено је 6 варијанти сира. Производња *контролног сира* обављена је на следећи начин: 1) пастеризација млека на $63^{\circ}\text{C}/30$ минута; 2) коагулација млека на 31°C у трајању од 45 минута; 3) пресецање сирног гела и „одмарање“ 15 минута; 4) одливање сурутке; 5) самопресовање 20 минута; 6) пресовање оптерећењем 2 kg/kg груша у трајању од 1 час; 7) пресовање оптерећењем 4 kg/kg груша у трајању од 1 час; 8) сечење сира на коцке 7×15 cm и суво сољење са 3% соли; 9) потапање

сира у 6% саламури рН вредности 4,6 након 24 часа; 10) зрење у саламури у трајању од 7 дана на температури од 13-15°C. *Експериментални сиреви* произведени су према идентичном поступку производње: од смрзнутог козјег млека, смрзнутог груша после фазе самопресовања и смрзнутог груша после прве фазе пресовања. Смрзнути грушеви из обе поменуте фазе пресовања, после одмрзавања загревани су на температуру пресовања (~25°C) помоћу 2 методе: у директном контакту са сурутком и индиректно у контакту са водом као грејним медијумом. После 7 дана зрења сви сиреви су анализирани рефрентним методама и одређен је садржај: суве материје, млечне масти и укупног азота, као и рН вредност.

Анализа текстуре сирева одређена је помоћу анализатора текстуре Texture Analyser TA.XT Plus (Stable Micro Systems, Surrey, UK) уз примену три методе: метод прелома клином (*енг. Fracture Wedge Test*), метод пенетрације сферичном сондом (*енг. Spherical Probe Test*) и метод сечења уз помоћ жице (*енг. Wire Cutter Test*). Овим методама добијени су следећи параметри инструменталне текстуре сирева: тврдоћа при компресији, чврстоћа при сечењу и ломљивост.

Статистичка анализа овог дела експеримента обухватила је анализу варијансе и Duncan-ов тест. Такође, рангирање експерименталних сирева према сличности са контролним сиром према свим испитиваним параметрима физичко-хемијског састава и текстуре одређено је помоћу квадратног Ивановићевог одстојања (Ivanovic, 1977).

У четвртој фази направљене су 4 варијанте сира. Производња *контролног сира* је урађена према идентичној процедури описаној у трећој фази експеримента. *Експериментални сиреви* су произведени од смрзнутог млека, смрзнутог груша и од смрзнуте груде. Складиштење млека, груша и груде у смрзнутом стању трајало је 60 дана, а зрење сирева трајало је 8 недеља.

Анализа физичко-хемијског састава сирева урађена је истоветно трећој фази истраживања, уз одређивање садржаја соли. Узорковање је вршено након 1, 14, 28, 42 и 56 дана зрења.

Текстура сирева је анализирана помоћу 3 методе: анализом профила текстуре (*енг. TPA – Texture Profile Analysis*), анализом максималног напрезања сира и 3) методом релаксације напрезања (Romeih et al., 2002). Овим методама добијени су следећи параметри текстуре: чврстоћа, кохезивност, еластичност, жвакљивост, гумастост, ломљивост, максимално напрезање, брзина релаксације и ниво релаксације. Протеолиза сирева утврђена је методом Уреа полиакриламидне гел електрофорезе (*енг. Urea –PAGE*) према методи Andrews (1983) и анализом у води растворљивих азотних материја.

Статистичка обрада података је урађена анализом варијансе и Duncan-овим тестом. Коefицијенти детерминације су рачунати како би се одредило поклапање експерименталних кривих добијених тестом релаксације напрезања са Пелеговим моделом.

Сензорна анализа сирева обухватила је неколико тестова којима су испитивани сензорни квалитет и прихватљивост експерименталних сирева у односу на контролни. Сензорни квалитет произведених узорака сирева утврдила је стручна комисија методом петобалног бод система, док је испитивање прихватљивости свих наведених узорака сирева од стране потрошача извршено уз коришћење хедонске скале, помоћу које су испитаници оценили: (1) степен укупне прихватљивости производа, (2) степен прихватљивости мириса, (3) укуса и (4) текстуре свих наведених узорака. Поред ове скале, потрошачи су такође уз помоћ скале „Управо онако како треба да буде“ (*енг. Just about right – JAR*) оцењивали ниво прихватљивости одабраних сензорних својстава сирева.

Микроструктура сирева испитана је скенирајућом електронском микроскопијом (СЕМ) коришћењем електронског микроскопа JEOL JSM-6390 LV (SAD) у Лабораторији за електронску микроскопију на Пољопривредном факултету у Београду.

Целокупна статистичка анализа урађена је уз помоћ софтвера SPSS ver. 21, док је се за израчунавање Ивановићевог одстојања коришћен Microsoft Office Excel 2007.

Резултати и дискусија. Резултати истраживања обрађени су у оквиру четири потпоглавља, приказани уз текстуална тумачења, прегледне табеле и слике које илуструју истраживања.

Физичко-хемијска својства млека Санске расе коза током периода лактације. На основу података о саставу козјег млека у току четири године, утврђено је да период лактације има статистички значајан утицај на сва испитивана физичко-хемијска својства, осим на густину млека. Физичко-хемијска својства млека имала су најниже вредности током средњег периода лактације, док су највише вредности утврђене на крају лактације. Највеће варирање у току лактације примећено је код садржаја млечне масти, који је био просечно 16,7% и 18,3% нижи од вредности у раном и касном периода лактације, редоследно. Смањење вредности садржаја млечне масти, протеина, суве материје без масти и лактозе у средњем периоду лактације објашњено је високом корелацијом поменутих параметара са посматраним климатским факторима: температуром ваздуха, инсолацијом и индексом температуре и влажности (ТНІ). Највећи утицај температуре је забележен код млечне масти козјег млека, чији је коефицијент корелације -0,90, док је најмањи утицај био на густину млека (-0,46). Садржај млечне масти имао је највећи коефицијент корелације и са инсолацијом (-0,79), док је најмањи коефицијент корелације забележен код рН вредности (0,41). ТНІ је у статистички значајној корелацији са свим испитиваним својствима козијег млека, изузев са рН вредношћу.

Утицај смрзавања на параметре сирејне коагулације млека Санске расе коза. Статистички значајан утицај складиштења сировог козјег млека 60 дана у смрзнутом стању на испитиване параметре квалитета сировог козјег млека установљен је само на промену рН вредности, који је нарочито изражен у другој фази, односно након 30 дана складиштења.

Параметри коагулације (време коагулације, брзина агрегирања и чврстина гела) нису се статистички значајно мењали под утицајем складиштења млека у смрзнутом стању.

Својства сирева од козјег млека и груша складиштених 7 дана у смрзнутом стању. Краткотрајно складиштење млека и груша у смрзнутом стању статистички значајно утиче на физичко-хемијска и текстуална својства сирева. Све варијанте произведених сирева припадају групи пуномасних сирева (>45% МуСМ), док према садржају ВуБМС, два експериментална сира (СС и СВ) се могу класификовати као полутврди, док остале варијанте сирева (Ц, Ф, ПС, ПВ) припадају категорији меких сирева. Сви експериментални сиреви имали су статистички значајно мањи садржај воде у безмасној материји сира у поређењу са контролним сиром, што се може објаснити издвајањем веће количине воде током отапања груша услед оштећења на протеинском матриксу сирева добијених од одмрзнутог груша. Загревање груша у директном контакту са сурутком (варијанте СС и ПС) вршено је ради рехидрирања протеина како би се спречио превелики губитак воде приликом отапања. Овакав начин догревања одмрзнутог груша имао је утицаја на груш који је био смрзнут у каснијој фази пресовања (ПС), али не и на груш

смрзнут после самопресовања (СС). Варијанта ПС је имала статистички значајно већи садржај ВуБМС од варијанте ПВ која је добијена од груша смрзнутог у истој фази пресовања, али је после одмрзавања догревана индиректним контактом са водом. Ипак, вредности ВуБМС код варијанте ПС су статистички значајно ниже и од контролне варијанте сира (Ц) и од варијанте која је добијана од одмрзнутог млека (Ф). Код варијанти сирева Ф, СС и СВ утврђен је статистички значајно нижи садржај МуСМ и статистички значајно већи садржај ПуСМ у односу на контролни сир. Сир добијен од одмрзнутог млека (Ф) имао је најнижу рН вредност.

Варијанте сира СС и СВ имале су статистички значајно више вредности текстуалних својстава од свих испитиваних варијанти на нивоу значајности од $\alpha=0,05$. Контролна варијанта сира (Ц) је имала статистички значајно различите вредности свих текстуалних својстава у односу на експерименталне сиреве, осим у случају својства Б (кртост) где се вредност контролне варијанте није разликовала у односу на варијанту Ф. Варијанте сирева СС и СВ имале су максималне вредности за кртост ($B=10$ мм), што значи да током анализе није дошло до ломљења узорака. Друге две варијанте произведене од смрзнутог груша ПС и ПВ су такође имале високе вредности овог својства ($B=8,62$ мм и $B=9,78$ мм, редоследно). Ови резултати указују да структура протеинског матрикса код одмрзнутог груша узрокује мању кртост и већу еластичност произведених сирева.

Својства сирева од козјег млека, груша и груде складиштених 60 дана у смрзнутом стању. У овом поглављу испитан је утицај дуготрајног складиштења козјег млека, груша и груде на физичко-хемијска, текстуална и сензорна својства, микроструктуру и протеолизу сирева.

Важан резултат овог дела огледа представљају промене које су се догодиле на сиревима направљеним од одмрзнутог груша и груде (ФЦ и ФПЦ). Након 14 дана зрења уочен је значајан пораст садржаја воде у безмасној материји сира који је износио 20,44% за варијанту ФЦ и 23,49% за варијанту ФПЦ. Такође, уочен је и значајан губитак масти у саламури, који је довео до смањења садржаја масти у сувој материји за 22,72% код варијанте ФЦ и 28,91% код варијанте ФПЦ, као и визуелно замућење саламуре и значајно омекшавање сирева. До таквих промена је дошло услед промена на протеинском матриксу груде и груша код ових варијанти, чиме је било онемогућено истискивање водене фазе из сира у саламуру процесом дифузије, а допринос томе дала је и слабија активност стартерске микрофлоре, која је била у немогућности да довољно брзо снизи рН вредност сира. Вредност рН контролног сира (ЦЦ) је била већа од 5,0 током целокупног периода зрења, али изостанак оштећења на протеинима која настају услед смрзавања, спречило је појаву распадања сирне масе у саламури. Варијанта сира направљена од смрзнутог млека (ФМ) је имала најнижу рН вредност током целог периода зрења, која је била нижа од 5,0, осим првог дана зрења. Статистички значајне разлике између сирева ЦЦ и ФМ се појављују код својстава ВуБМС и рН вредности. Период зрења је имао утицај само на садржај соли у сиру и поређењем средњих вредности уочава се да су сиреви ЦЦ и ФМ првог дана зрења имали статистички значајно ($p<0,05$) мањи удео соли од осталих вредности добијених у току периода зрења, које се међусобно нису статистички значајно разликовале. У случају сирева произведених од одмрзнутог млека уочава се повећање ВуБМС у односу на контролни сир.

Текстуална својства сирева утврђена су методом анализе профила текстуре, док су вискоеластична својства приказана помоћу Пелеговог модела. Резултати анализе варијансе указују да смрзавање млека има статистички значајан утицај на следећа

текстурална својства: чврстоћу, ломљивост и брзину релаксације. Чврстоћа и ломљивост су у просеку била за 18-25% већи код варијанте ЦЦ у односу на варијанту ФМ. Брзина релаксације је била у просеку за 19% већа код варијанте ФМ. На остала текстурална својства смрзавање није имало статистички значајан ефекат. С обзиром на то да постоји статистички значајна разлика између садржаја ВуБМС сирева ЦЦ и ФМ, то може објаснити разлике у њиховој чврстоћи и ломљивости. Својства ломљивости и чврстоће су у најјачој корелацији са садржајем ВуБМС. Брзина релаксације је у најјачој статистички значајној корелацији са уделом соли, затим са рН вредности, а на крају са уделом масти у сувој материји. Вредност рН је у негативној корелацији са брзином релаксације ($r = -0,62$), те се може увидети да је узрок разлика у брзини релаксације значајно нижа рН вредност код варијанте ФМ. Пеарсон-ови коефицијенти корелације између текстуралних и физичко-хемијских својстава сирева, указују да је највећи степен корелације са текстуралним својствима установљен са ВуБМС и садржајем соли. Вода у безмасној материји сира (ВуБМС) је у статистички значајној корелацији са свим својствима текстуре осим са Пелеговим коефицијентима (А и Б). Удео соли у сиру је у статистички значајној корелацији са свим својствима текстуре осим са чврстоћом и ломљивошћу. Удео протеина у сувој материји није у статистички значајној вези ни са једним испитиваним својством текстуре. Маст у сувој материји и рН вредност су у статистички значајној корелацији само са Пелеговим коефицијентом Б, односно брзином релаксације. Период зрења је статистички значајно утицао на еластичност, кохезивност, жвакљивост и брзину релаксације (Б). Код свих ових својстава поређење средњих вредности показује да се њихове вредности статистички значајно разликују првог дана зрења, док у у току даљег периода зрења не постоји статистички значајна разлика. Период зрења је такође утицао и на ниво релаксације (А). Поређења средина указују да разлике постоје између 1-ог и 28-ог дана, као и 1-ог и 42-ог дана зрења. Разлике постоје још и између нивоа релаксације 14-ог и 42-ог дана зрења. Вредности за ниво релаксације између осталих дана зрења се статистички значајно не разликују. Кохезивност, еластичност и жвакљивост су у статистички значајној негативној корелацији са уделом соли у сиру. Као и на три поменута параметра текстуре и на удео соли утиче период зрења. Такође је заједничко за сва ова својства да се вредности статистички значајно разликују само првог дана зрења, док су током преосталог периода зрења вредности константне.

Испитивање утицаја складиштења смрзнутог млека на протеолизу козјег сира у саламури, као и повезаност удела β - и α -казеина са претходно испитиваним својствима текстуре је показало да смрзавање млека и период зрења нису имали статистички значајан утицај на садржај у води растворљивих азотних материја, а просечне вредности за ЦЦ и ФМ износиле су 6,53% и 6,96% од укупних азотних материја, редоследно. Овакав резултат се може објаснити дифузијом ових једињења из сира у саламуру и слабо израженом протеолизом сирева у саламури. Електрофоретским испитивањем установљено је да између варијанти ЦЦ и ФМ не постоји разлика у уделу β -казеина. Анализа варијансе такође показује да је током зрења удео β -казеина константан, па се може закључити да не постоји статистички значајна протеолиза ове фракције казеина током периода зрења. На протеолизу α_s -казеина је статистички значајно утицало смрзавање млека. Анализа варијансе је показала да је мањи обим протеолизе постојао код варијанте ФМ у односу на варијанту ЦЦ. Значајан утицај на протеолизу је имао и период зрења, при чему се интензивна протеолиза одвијала у периоду од првог до 14-ог дана, док је удео α_s -казеина у укупном казеину био константан од 14-ог до 56-ог дана. Дензитометријском анализом

электрофореграма удео α_s – казеина се након првих 14 дана зрења смањује са 20,92% на 7,95% код варијанте ЦЦ, односно са 20,38% на 15,38% код варијанте ФМ. Статистички значајно нижа вредност удела соли у сиру је допринела интензивнијим биохемијским променама у првих 14 дана зрења. Удео резидуалног β –казеина не показује статистички значајну корелацију ни са једним својством текстуре, док је удео резидуалног α_s – казеина у статистички значајној, позитивној корелацији са својствима кохезивности, еластичности и жвакљивости сирева

Микроструктура сирева је дала увид у промене које су се под утицајем смрзавања и складиштења догодиле на микро нивоу, које на даље могу бити узрок променама које су се догодиле у текстури сирева. Проучавањем микроструктуре може се уочити различита структура између контролног сира и експерименталних варијанти сирева првог дана зрења, што може да се објасни настајањем оштећења на протеинима у току смрзавања и складиштења груша и груде, која имају веће последице за својства сира од оштећења која се могу јавити на протеинима у току смрзавања и складиштења млека. Већи обим финије структуре ланаца у протеинском матриксу, уз вишу рН вредност варијанти сирева ФЦ и ФПЦ вероватно су довели до упијања велике количине воде из саламуре, а потом и до разарања сирне масе. Ова неуређена структура танких (финих) ланаца протеина у матриксу сирева ФЦ и ФПЦ се још јасније може уочити на електронском микроскопу при увећањима од 2.000, 5.000 и 10.000x. Са слика које приказују микроструктуру сирева првог дана зрења може се запазити да се у структури налазе и ћелије микроорганизама код контролног сира (ЦЦ), као и код сира од одмрзнутог млека (ФМ). Код варијанти које су добијене од одмрзнутог груша и одмрзнуте груде се ни на једном увећању нису могле уочити ћелије микроорганизама, што се доводи у везу са одумирањем стартерских микроорганизама. Ако се погледа микроструктура сирева ЦЦ и ФМ 56-ог дана зрења уочава се да постоји већа сличност између контролне варијанте сира и варијанте која је добијена од одмрзнутог млека него што је то био случај првог дана зрења. Такође се уочава одсуство шупљика које су се могле приметити првог дана зрења код варијанте ФМ. На сликама које представљају микроструктуру 56-ог дана зрења, и даље се може уочити присуство микроорганизама у протеинском матриксу. Код варијанте ЦЦ може се уочити нешто учесталија појава танких ланаца протеина у матриксу, што се може објаснити деловањем протеолитичких агенаса, као што су протеолитички ензими стартерске микрофлоре и химозина.

Сензорна оцена контролног сира (А и Б) и сира од одмрзнутог млека (Ц и Д) 14-ог и 56-ог дана зрења је урађена од стране потрошача и стручног панела. Потрошачи су на сличан начин оценили прихватљивост сирева као целине, затим прихватљивост текстуре и укуса помоћу хедонске скале. Између средњих вредности оцена није било статистички значајне разлике. Испитаници оба пола оценили су сиреве са високим степеном прихватљивости. Оценом прихватљивости одабраних сензорних својстава потрошача ЈАР скалом (*eng. just about right* – управо онако како треба) уочава се да је велики удео потрошача давао оцене да су испитивана својства онако како треба да буду. Сва 4 испитивана сира имала су релативно високу вредност за оцену укупне прихватљивости. Анализом пада средње вредности оцене укупне прихватљивости утврђено да су сиреви А и Ц добили нешто слабије оцене за укупну прихватљивост услед тога што су били превише кисели, док су сиреви Б и Д слабије оцењени услед тога што су били превише слани. Према ставу потрошача два најважнија ограничавајућа фактора при куповини козјих сирева су висока

цена и слаба понуда сирева на тржишту, док су специфичан укус и непостојање навике мање важни фактори у односу на претходна два.

Сензорна оцена стручног панела је показала да је укупан квалитет сира Б оцењен као одличан, док су остали сиреви били оцењени врло добрим квалитетом. Уочено је да је главни разлог да остали сиреви не буду оцењени одличним квалитетом лошија текстура, која се манифестовала кроз израженију мекшу конзистенцију ових сирева. Иако се међу испитиваним сиревима могу уочити разлике у сензорним својствима, сви сиреви су оцењени врло прихватљивим оценама, као и у случају сензорног испитивања потрошача.

Закључци. Испитивани физичко-хемијски параметри козјег млека Санске расе статистички значајно варирају током лактације. У средњем периоду лактације испитивана својства козјег млека имају статистички значајно ниже вредности у односу на вредности које су измерене у раном и касном периоду лактације, што је нарочито изражено код млечне масти. На варирање испитиваних физичко-хемијски параметара козјег млека утицали су и климатски фактори (температура ваздуха, реалативна влажност, инсолација, као и индекс температуре и релативне влажности ваздуха), а највећи утицај је установљен код млечне масти.

Веома важан закључак, који се користи за предвиђање ефикасности поступка производње сирева је да на испитиване параметре сиришне коагулације (време коагулације, брзина агрегирања и чврстина гела) није значајно утицало складиштење млека Санске расе коза у смрзнутом стању у трајању од 60 дана.

Краткотрајно складиштење у смрзнутом стању (7 дана) козјег млека и грушева смрзнутих у различитим фазама пресовања имало је статистички значајан утицај на физичко-хемијска и текстурална својства сирева. Сир од одмрзнутог млека био најсличнији контролном сиру према свим испитиваним физичко-хемијским и текстуралним својствима. Сиреви који су произведени од груша који је био смрзнут у каснијим фазама пресовања су сличнији контролној варијанти сира од сирева произведених од груша који је смрзнут одмах након фазе самопресовања. Сиреви који су произведени од груша догреваног у директном контакту са сурутком су сличнији контролном сиру од варијанти код којих је догревање вршено индиректним контактом с водом. Такође је указано на то да је такво догревање компликовано и може бити опасно у смислу контаминације, ако нису испоштовани строги санитарно-хигијенски услови у производним просторијама.

Испитивања утицаја дуготрајног складиштења (60 дана) козјег млека, груша и груде у смрзнутом стању на својства сирева су показала да сиреви произведени од одмрзнутог груша и груде нису одрживи након 14 дана зрења. Негативан утицај смрзавања груша и груде огледао се у променама које су се уочиле на протеинском матриксу, на шта указују и испитивања микроструктуре. Дуготрајно складиштење у смрзнутом стању штети и присутној стартерској микрофлори, те је код ових сирева изостао пад рН вредности, који је веома важан у производњи сирева у саламури. Анализом разлика између контролног сира и сира произведеног од одмрзнутог млека установљено је да сир од одмрзнутог млека има статистички значајно различиту рН вредност и садржај воде у безмасној материји сира. Нижа рН вредност овог сира узрокована је преципитацијом калцијумфосфата у току смрзавања и складиштења, што доводи до смањивања пуферног капацитета. У погледу *текстуре*, контролни сир и сир од одмрзнутог млека показују разлике у чврстоћи, ломљивости и брзини релаксације. Резултати корелације између текстуралних и физичко-хемијских својстава указују да су управо разлике у рН вредности и садржају воде у

безмасној материји сира довеле до разлика у поменутиим својствима текстуре. Испитивањем протеолизе ова два сира утврђено је да не постоји статистички значајна протеолиза β – казеина, при чему сир од одмрзнутог млека показује мањи обим протеолизе α_s – казеина од контролног сира. Овај резултат је показао да постоји утицај смрзавања и складиштења млека на протеолизу сирева у саламури. Протеолиза α_s – казеина одвијала се у првих 14 дана зрења, након чега није утврђена даља разградња ове фракције. Микроструктура контролног сира и сира од одмрзнутог млека указује да се изглед протеинског матрикса значајно разликује. Првог дана зрења ове разлике су веома лако уочљиве, док се на крају зрења поменуте разлике умањују, под утицајем протеолизе. Сензорном анализом контролног сира и сира од одмрзнутог млека 14-ог и 56-ог дана зрења добијене су високе оцене, како од стране потрошача, тако и од стране стручног панела, па се може извести закључак да смрзавање млека не утиче значајно на сензорна својства козјих сирева у саламури.

Литература. У дисертацији је на правилан начин наведено укупно 197 референци. Избор референци је актуелан и одговара предмету проучавања.

3. ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ

На основу прегледа и анализе докторске дисертације под насловом *„Утицај складиштења смрзнутог козјег млека, груша и груде на својства сира у саламури“* коју је поднео Немања Кљајевић, дипл. инж., Комисија сматра да је кандидат у целости испунио план и програм истраживања, који је дат у пријави за израду ове докторске дисертације.

Докторска дисертација представља оригиналну, самосталну и заокружену научно-истраживачку целину. У Уводу и Прегледу литературе кандидат је успешно образложио теоријску поставку своје докторске дисертације и на основу проучавања обимне литературе правилно поставио Циљ истраживања. Експериментални део дисертације је методолошки добро постављен, а одабране методе су савремене и омогућавају да се добију поуздани резултати, на основу којих се могу извести правилни закључци. Кандидат је врло успешно анализирао добијене резултате, упоређујући их са резултатима других аутора.

Резултати истраживања остварени у оквиру ове дисертације су значајни, како за науку, тако и за праксу, јер се смрзавањем козјег млека, груша и груде може у одређеној мери превазићи сезонски карактер производње козјег млека, самим тим и доступност сирева на тржишту током целе године. Осим тога, на овај начин је могуће умањити сезонско варирање састава и својстава козијег млека, што у великој мери утиче на карактеристике готових производа и извршити стандардизација производње сирева у саламури.

Имајући у виду све наведене констатације, Комисија позитивно оцењује урађену докторску дисертацију Немање Кљајевића, дипл. инж., под насловом „*Утицај складиштења смрзнутог козјег млека, груша и груде на својства сира у саламури*“ и предлаже Наставно-научном већу Пољопривредног факултета Универзитета у Београду да прихвати позитивну оцену и омогући кандидату јавну одбрану.

У Београду, 25.04.2019.

Чланови Комисије:

Др Снежана Јовановић, редовни професор
Универзитет у Београду, Пољопривредни факултет
(Ужа научна област: Технологија анималних производа)

Др Јелена Миочиновић, ванредни професор
Универзитет у Београду, Пољопривредни факултет
(Ужа научна област: Технологија анималних производа)

Др Мирела Иличић, ванредни професор
Технолошки факултет Универзитета у Новом Саду
(Ужа научна област: Прехрамбено инжењерство)

Др Владимир Павловић, редовни професор
Универзитет у Београду, Пољопривредни факултет
(Ужа научна област: Физика)

Др Никола Томић, ванредни професор
Универзитет у Београду Пољопривредни факултет
(Ужа научна област: Управљање безбедношћу и квалитетом хране)

Др Снежана Стевановић, ванредни професор
Универзитет у Београду, Пољопривредни факултет
(Ужа научна област: Наука о конзервисању)

Прилог:

Радови објављени у часописима на SCI листи који су садржајем повезани са докторском дисертацијом:

1. **Kljajevic, N.**, Tomasevic, I., Miloradovic, Z., Nedeljkovic, A., Miocinovic, J., Jovanovic, S. (2018): Seasonal variations of Saanen goat milk composition and the impact of climatic conditions. *Journal of Food Science and Technology-Mysore* 55(1), 299-303. **(M22) IF 1.797 (2017)**
2. **Kljajevic, N.**, Miloradovic, Z., Miocinovic, J., Jovanovic, S. (2017): Textural and physico-chemical characteristics of white brined goat cheeses made from frozen milk and curd. The use of square I - distance statistics. *Mljekarstvo* 67 (2), 130-137. **(M23) IF 0.529 (2017)**
3. **Kljajevic, N.**, Jovanovic, S., Miloradovic, Z., Macej, O., Vucic, T., Zdravkovic, I. (2016): Influence of the frozen storage period on the coagulation properties of caprine milk, *International Dairy Journal*, 58, 36-38. **(M21) IF 2.067 (2016)**

**НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ
ПОЉОПРИВРЕДНОГ ФАКУЛТЕТА
УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ**

Датум: 25.04.2019.

На основу Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду, а који се примењује од 01.10.2018. године, ментор подноси оцену извештаја о провери докторске дисертације.

После прегледа извештаја о провери оригиналности докторске дисертације *Утицај складиштења смрзнутог козјег млека, груша и груде на својства сира у саламури*“, кандидата Немање Кљајевића, дипл. инж., реализован од стране Универзитетске библиотеке 17.04.2019. године, ментор доноси следећу

ОЦЕНУ

Извештај Универзитетске библиотеке о провери оригиналности докторске дисертације *Утицај складиштења смрзнутог козјег млека, груша и груде на својства сира у саламури*“, кандидата Немање Кљајевића, дипл. инж., указује на оригиналност докторске дисертације, те се прописани поступак припреме за њену одбрану може наставити.

Ментор

Др Снежана Јовановић, редовни професор
Универзитет у Београду, Пољопривредни факултет
(Ужа научна област: Технологија анималних производа)