

НАСТАВНО НАУЧНОМ ВЕЋУ
ПОЉОПРИВРЕДНОГ ФАКУЛТЕТА
УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ
Датум: 22.02.2021.

Предмет: Извештај Комисије за оцену урађене докторске дисертације Марине Ховјецки, мастер инжењера технологије

Одлуком Наставно-научног већа Пољопривредног факултета Универзитета у Београду, бр, 32/22-9.2. од 23.12.2020. године, именовани смо у Комисију за оцену урађене докторске дисертације мастер инжењера Марине Ховјецки под насловом „*Утицај одабраних фактора на ток киселе и сиришне коагулације козјег млека и квалитет јогурта и сирева*“.

Комисија у саставу др Јелена Миочиновић, редовни професор Пољопривредног факултета Универзитета у Београду, др Предраг Пуђа, редовни професор Пољопривредног факултета Универзитета у Београду, др Мирела Иличић, ванредни професор Технолошког факултета Нови Сад Универзитета у Новом Саду, др Владислав Рац, ванредни професор Пољопривредног факултета Универзитета у Београду и др Милица Мирковић, доцент Пољопривредног факултета Универзитета у Београду прегледала је поднету докторску дисертацију и о томе подноси следећи

И З В Е Ш Т А Ј

1 Општи подаци о докторској дисертацији

Докторска дисертација Марине Ховјецки, мастер инж. тех., написана је на 130 страна текста, укључујући 25 табела, 18 графика и 7 слика, а цитирано је 195 рефернци из изворне научне литературе. Дисертација садржи сажетак са кључним речима на српском и енглеском језику.

Дисертација садржи следећих седам поглавља: 1. Увод (стр. 1–3), 2. Преглед литературе (стр. 4–26), 3. Циљ истраживања (стр. 27), 4. Материјал и методе (стр. 28–39), 5. Резултати и дискусија (стр. 40–89), 6. Закључци (стр. 90–93), 7. Литература (стр. 93–106). На крају текста дисертације налазе се Биографија кандидата, Изјава о ауторству, Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада и Изјава о коришћењу.

2 Приказ и анализа дисертације

2.1 Увод

У уводном разматрању докторанткиња полази од констатације да се значај козјег млека огледа у његовој високој нутритивној вредности, бољој пробављивости као и повољнијем односу протеина сурутке и казеина у поређењу са կрављим млеком. Посебно се истиче нутритивна вредност козјег млека која се огледа и у благотворном утицају на здравље потрошача. У овом делу истиче се да, иако производња козјег млека чини свега

2% од укупно произведене количине млека у свету, она има посебног значаја у појединим регионима као што су земље Медитерана, као и Азије и Африке. Такође, у овом делу се истиче да је последњих година евидентан пораст производње козјег млека у појединим земљама укључујући и нашу земљу. Просечна производња козјег млека у Србији чини 31-33 милиона литара годишње.

Докторанткиња истиче да се далеко мањи број студија баве изучавањем козјег млека у односу на оне чији је предмет проучавања кравље млеко, а евидентно је да потражња за козјим млеком и производима има константан тренд пораста. Овакво стање наводи да је неопходно вршити истраживања са овом врстом млека како би се оптимизовао поступак производње и добили производи најбољих сензорних својстава.

Козје млеко се у највећој мери користи за производњу различитих врста сирева и ферментисаних млечних производа који су управо и предмет ове дисертације. Коагулација млека је централна фаза у производњи наведених производа и од фундаменталног је значаја за њихов квалитет. Механизми настајања као и својства гелова добијених киселом и сиришном коагулацијом које су основа производње јогурта односно сирева су различити, а подесан алат за њихово испитивање су реолошке методе које су великим делом коришћене и у овом раду.

2.2 Преглед литературе

Поглавље „Преглед литературе“ је подељено на четири потпоглавља са више поднаслова у којима су обрађени литературни подаци из области која је предмет проучавања докторске дисертације. Докторанткиња обрађује следеће области: физичко хемијски састав козјег млека са освртом на главне разлике у односу на кравље млеко, утицај термичког третмана на својства козјег млека, киселу коагулацију и производњу јогурта од козјег млека и сиришну коагулацију козјег млека.

2.2.1 Физичко хемијски састав козјег млека са освртом на главне разлике у односу на кравље млеко

Анализа физичко хемијског састава козјег млека у овом делу прегледа литературе се односила на истицање најважнијих разлика у односу на састав и својства крављег млека. Састав козјег и крављег млека је веома сличан или су својства појединачних компонената веома различита што утиче на њихова технолошка својства. С тим у вези, козје млеко често садржи исти или чак већи садржај протеина или мање α_{s1} казеина у поређењу са крављим млеком што има директан утицај на квалитет производа од ове врсте млека као што су слаба текстурална својства и лош рандман у производњи сирева. У овом делу посебно је истакнут значај полиморфизма протеина козјег млека који је знатно заступљенији у поређењу са крављим млеком и такође значајно утиче на његова технолошка својства. Састав и својства козјег млека зависе од бројних фактора а један од најважнијих је и раса животиња. У нашој земљи су заступљене Алпска и Санска раса коза и управо млеко од ових раса је коришћено у докторској дисертацији.

2.2.2 Утицај термичког третмана на својства козјег млека

Термички третман представља веома важну операцију у производњи млечних производа. За ферментисане млечне производе као што је јогурт уобичајено се користи висока пастеризација ($85-95^{\circ}\text{C}$) која повољно утиче на текстуру производа, док се у производњи сирева претежно користи краткотрајна или ниска пастеризација.

Термички третман млека доводи до денатурације протеина сурутке а на вишим температурама и формирања коагрегата протеина млека, посебно између β лактоглобулина и κ казеина. Услед наведених промена, строги режим термичке обраде млека има значајан утицај на технолошка својства крављег млека и ретко се користи у производњи сирева. С друге стране, утицај термичког третмана на састав и својства козјег млека у поређењу са крављим млеком је различит и још увек недовољно испитан, посебно са аспекта примене таквих третмана у производњи различитих производа од ове врсте млека.

У овом делу прегледа литературе докторанткиња обрађује утицај термичког третмана на протеине козјег млека, са посебним освртом на величину казеинских мицела и колоидну стабилност. С обзиром на различитост састава компоненти козјег млека у односу на кравље млеко сматра се да се високе температуре термичког третмана могу користити у технологији прераде што је делимично и обухваћено испитивањима у оквиру ове докторске дисертације.

2.2.3 Кисела коагулација и производња јогурта од козјег млека

Кисела коагулација је основа производње ферментисаних млечних производа и има великог значаја за квалитет готових производа. Формирање киселих гелова се одвија услед деловања бактерија млечне киселине које ферментишу лактозу повећавајући киселост односно опадање pH вредности система што доводи до његове дестабилизације, посебно протеина. Реолошке методе су вредан алат за изучавање тока киселе коагулације као и својства добијених гелова као што су модул еластичности и вискозности а који су важне детерминанте структуре будућег производа. У истраживањима реолошке методе се често користе заједно са анализом текстуре готових производа.

Ферментисани производи од козјег млека имају велики потенцијал да учествују са већим уделом на тржишту ферментисаних млечних производа због могућности да их конзумира шира популација. Међутим, ферментисане производе од козјег млека одликују често слабија текстурална својства у поређењу са аналогима од крављег млека. Услед тога, производња ферментисаних производа од козјег млека захтева модификације у циљу побољшања њихових текстуралних својстава, као што су додавање различитих додатака и/или измене процеса технолошког поступка производње. У овом делу рада разматрани су литературни извори о могућностима побољшања текстуралних својстава јогурта посебно додавањем изолата протеина млека и ензима трансглутаминазе који су коришћени у експерименталном делу овог рада.

2.2.4 Сиришна коагулација козјег млека

У овом делу прегледа литературе докторанткиња се бави изучавањем различитих аспекта сиришне коагулације млека као централне фазе поступка производње сиришно коагулишућих сирева, а посебна пажња је дата на утицај различитих фактора на параметре сиришне коагулације, као што су време коагулације и стасавања гела, брзина агрегирања, чврстина гела. Поред тога, у овом делу дат је приказ специфичности производње сирева од козјег млека с обзиром на јединственост његовог састава и технолошких својстава. Посебан акценат је дат на сагледавање улоге калцијум хлорида у производњи сирева који доприноси побољшању секундарне фазе сиришне коагулације крављег млека.

2.3 Циљ истраживања

У овом поглављу докторанткиња наводи да је циљ дисертације испитивање одабраних фактора на сиришну и киселу коагулацију козјег млека и да се сагледа повезаност параметара коагулације и реолошких својстава формираних гелова млека са квалитетом готових производа. Циљ је такође био да се инструменталном анализом текстуре финалних производа, дође до закључака о могућностима за унапређење квалитета производа од козјег млека и оптимизацију поступака производње.

Прикупљање експерименталних података о ефектима деловања различитих фактора на процесе киселе и сиришне коагулације козјег млека као централне фазе у поступку производње јогурта и сирева, а које се прате реолошким методама, омогућава се употпуњавање досадашњих сазнања о овој тематици као и дефинисање оптималних параметара процеса у функцији добијања производа побољшаних својстава.

2.4 Материјал и методе

У овом поглављу аутор даје приказ поставке експерименталног рада у циљу испитивања одабраних фактора на ток киселе и сиришне коагулације козјег млека као и својства добијених гелова и квалитет готових производа као што су јогурт и сиреви. Такође дат је приказ аналитичких метода коришћених током истраживања и начин обраде добијених резултата.

2.4.1 Испитивање утицаја одабраних фактора на ток киселе коагулације и својства јогурта

У овом делу приказан је опис коришћених материјала за експерименте, план огледа, аналитичке методе и статистичке методе коришћене за обраду добијених резултата. Проучавање утицаја одабраних параметара на ток киселе коагулације и својства јогурта је обухватило испитивање додавања изолата протеина млека (Промилк 852A, Ingredia, Француска), различитих термичких третмана козјег млека ($72^{\circ}\text{C}/30$ секунди, $85^{\circ}\text{C}/5$ минута и $95^{\circ}\text{C}/5$ минута) и додавања ензима трансглутаминазе (БДФ Пробинд ЦХ, БДФ Ingredients, Шпанија) у количини од 0,5 г/л млека. Детаљно је описана кисела коагулација и технолошки поступак производње јогурта. Сви огледи су вршени у три понављања, а аналитичке методе мерења у минимално два понављања.

Аналитичке методе испитивања које су се користиле у овом делу дисертације су обухватиле анализу физичко хемијског састава сировог млека, реолошка испитивања тока киселе коагулације и својства киселог гела на реометру, мерење величине казеинских мицела козјег млека, СДС полиакриламидну електрофорезу, одређивање способности везивања воде и спонтаног синерезиса, анализу текстуре и броја стартер бактерија и сензорно оцењивање јогурта. Статистичка обрада резултата је вршена анализом варијансе применом Фишеровог ЛСД теста на нивоу статистичке значајности од 0,05.

2.4.2 Испитивање утицаја одабраних фактора на ток сиришне коагулације козјег млека

У овом делу дисертације приказан је методолошки приступ испитивањима утицаја различитих фактора на ток сиришне коагулације млека који су обухватили pH вредност (6,5, 6,3 и 6,1), концентрацију сирила (0,054 г/л, 0,020 г/л, 0,015 г/л и 0,010 г/л), температуру коагулације (27°C , 31°C и 35°C), додавање калцијум хлорида и период

лактације (рана, средња и касна лактација). Као контролни узорак коришћено је пастеризовано козје млеко ($65^{\circ}\text{C}/30$ минута), pH вредности 6,5, температура коагулације 31°C , 0,054% сирила и 0,2 г/л CaCl_2 . Експерименти су понављани три пута за сваки сет огледа.

Аналитичке методе су обухватиле испитивање физичко хемијског састава козјег млека, а ток сиришне коагулације и својства добијених гелова су праћени реолошким методама при чemu су одређивани време коагулације, брзина агрегирања и чврстине гела.

Статистичка обрада резултата обухватила је примену двофакторијалног огледа анализе варијансе за утврђивање значајности утицаја одабраних фактора као и њихове интеракције на испитивање реолошке параметре сиришне коагулације коришћењем програма Statistica 10.0 (СтатСофт, САД). Разлика између средњих вредности је одређена на нивоу 5% статистичке значајности, коришћењем ЛСД теста. Поред тога вршена је анализа корелације (Пирсонова корелација) како би се утврдила веза између одабраних реолошких параметара.

2.4.3 Испитивање утицаја додавања калцијум хлорида на квалитет сирева од козјег млека

У овом делу рада описаны су технолошки поступци производње сирева у саламури и сирева за гриловање који су произведени без и уз додавање калцијум хлорида од козјег млека третираног при $65^{\circ}\text{C}/30$ минута. Зрење сирева у саламури је трајало 9 дана док је зрење сирева за гриловање спроведено 40 дана на температури $12\text{--}14^{\circ}\text{C}$. Испитивања су обухватила одређивање основних параметара квалитета као што су физичко хемијски састав и текстурална својства сирева референтним методама.

Реализованим испитивањима је у целости испуњен програм рада одобрен у пријави.

2.5 Резултати и дискусија

У овом поглављу приказани су резултати изведенih истраживања и дискусија.

2.5.1 Утицај изолата протеина млека на реолошка и текстурална својства јогурта од козјег и крављег млека

Додавање изолата протеина млека (ИПМ) значајно утиче на ток киселе коагулације и реолошка својства киселокоагулишућих гелова као и текстурална својства финалних производа.

У раду је установљено да су време гелирања и време потребно за постизање pH 4,6 најдужи код јогурта од обогаћеног козјег млека са ИПМ (просечно 84 минута односно 305 минута), а најкраћи током ферментације производа од крављег млека (просечно 66 минута и 166 минута). Докторанткиња наводи да разлог томе је повећан пуферски капацитет услед повећаног садржаја протеина. Додавање изолата протеина млека је значајно утицало и на повећање модула еластичности (G') гелова од козјег млека. G' при pH 4,6 гела од козјег млека је просечно износио 5,8 Pa, док ова вредност гела од крављег млека односно обогаћеног козјег млека је 124 Pa и 112 Pa. Ниска вредност G' при pH 4,6 указује на веома слабу структуру гела од козјег млека. Током хлађења гелова, што је уобичајен процес у производњи јогурта, долази до значајног повећања G' као последица бubreња казеина, али је повећање различито код експерименталних узорака што указује на дивергенцију природе протеинског матрикса.

У складу са резултатима реолошких мерења анализа текстуре финалних производа је показала да додавање ИПМ значајно побољшава сва својства као што су чврстоћа, конзистенција, кохезивност и индекс вискозности јогурта од козјег млека. Чврстона козјег млека је просечно износила 48,4 g, док јогурта од обогаћеног козјег млека 234 g а од крављег млека 329 g.

На основу целокупне анализе закључено је да се јогурт од козјег млека не може класификовати као чврсти тип због веома малих вредности модула еластичности, напона попуштања и текстуралних својстава. Обогаћивање млека додатком изолата протеина млека значајно је побољшало својства јогурта, и приближило га производу од крављег млека, али и даље је јогурт од козјег млека био инфериорнији у погледу свих испитаних реолошких и текстуралних својстава.

2.5.2 Утицај трансглутаминазе и термичких третмана на својства јогурта од козјег и крављег млека

Термички третман млека и додатак ензима трансглутаминазе су значајно утицали на већину реолошких својстава киселих гелова од козјег млека. Утицај додавања ензима транглутаминазе на својства јогурта се веома разликује од врсте млека, а посебно у зависности од термичког третмана млека коришћеног за његову производњу. Реолошки параметри киселих гелова од обе врсте млека третираних ензимом транглутаминаза указују на постојање значајних разлика између варијанте произведене оштрим режимом пастеризације ($90^{\circ}\text{C}/5$ минута) и свих осталих варијанти гелова, без обзира на врсту млека. Варирањем обима деформација током теста са различитим фреквенцијама, третман $72^{\circ}\text{C}/30$ секунди дао је мање нагибе криви код козјег (0,09) и крављег (0,13) млека, у поређењу са вредностима нагиба након третмана $90^{\circ}\text{C}/5$ минута козјег (0,11) и крављег (0,19) млека што указује да се природа и тип веза у протеинском матриксу веома разликују.

Време гелирања је било значајно краће приликом ферментације крављег млека третираног на $90^{\circ}\text{C}/5$ минута и износило је просечно 37 минута у односу на другу варијанту од крављег млека и обе варијанте козјег млека чије се време кретало у интервалу 112–202 минута. Међутим, укупно време до постизања pH 4,6 је показало значајно мање разлике између испитиваних варијанти. Реолошка испитивања су показала да највеће вредности модула еластичности G' при pH 4,6 је установљен код јогурта од крављег млека третираног строгим режимом термичке обраде који је просечно износио 180,2 Pa. У складу са тим, модули еластичности G' при 1 Hz гелова од козјег млека и крављег млека третираних блажим термичким третманом (25–60 Pa) се нису статистички значајно разликовали, али гел од крављег млека третираног на $90^{\circ}\text{C}/5$ минута је имао значајно веће вредности G' (1662 Pa). Реолошка својства гелова од различитих врста млека третираних различитим термичким третманима су последица у највећој мери својстава компонената састава, посебно протеина.

Значајан део овог дела дисертације се заснива на детаљном испитивању реолошких и текстуралних својстава јогурта од козјег млека третираног различitim термичким третманима и произведеним без и са ензимом транглутаминаза. Установљено је да је модул еластичности G' јогурта при pH 4,6 јогурта од козјег млека третираног блажим термичким третманом ($72^{\circ}\text{C}/30$ секунди) и без и са додатим ензимом (просечно 1,3 Pa односно 2,9 Pa) био знатно мањи у односу на вредности узорака од козјег млека третираног интензивним термичким третманом ($90^{\circ}\text{C}/5$ минута) без и са

транглутаминазом који су износили 6,1 Pa и 8,3 Pa. Модул еластичности је важан параметар који указује на структуру унутрашњих веза и има директан утицај на чврстину јогурта која представља важно сензорно својство.

У погледу текстуралних својстава јогурти произведени од крављег млека су се одликовали бољим својствима и већим вредностима чврстине. Текстура јогурта од крављег млека третираног на 90°C/5 минута је била значајно боља у односу на узорке од млека третираног блажим режимом. Ензим је испољио значајан утицај на повећање чврстине и конзистенције током 15 дана складиштења код јогурта од крављег млека, и након 1 и 15 дана код јогурта од козјег млека.

Релативни пораст вредности чврстине јогурта од крављег и козјег млека третираног ензимом мТГ након 15 дана складиштења износио је: 49,5% (јогурт од крављег млека са мТГ C90TG) и 32,3% (јогурт од козјег млека са мТГ G90TG), у поређењу са контролним узорцима без ензима код којих је пораст био 45,6% (јогурт од крављег млека C90) односно 17,2% (јогурт од козјег млека G90). Ово указује да је значај додатка мТГ у циљу побољшања чврстине јогурта већи у случају козјег млека док је утицај на чврстину јогурта од крављег млека далеко мањи. Међутим, и након додавања овог ензима, вредности свих параметара текстуре јогурта од козјег млека су вишеструко ниже у односу на аналогне узорке од крављег млека.

Ензим трансглутаминаза је испољио стабилизујући утицај на преживљавање бактерија стартер културе у јогурту током складиштења. У погледу сензорног квалитета јогурта, није запажен било какав негативан ефекат додавања ензима трансглутаминазе. Термички третман млека је значајно утицао на сензорну оцену текстуре јогурта, тако да су узорци јогурта произведени без и са трансглутаминазе од млека третираног високим температурама непосредно након производње, као и након 15 дана складиштења, оцењени значајно већим оценама (просечна оцена текстуре за узорке без и са ензимом је износила 4,70) у поређењу са узорцима од млека третираног блажим термичким третманом (просечна оцена текстуре 4,15 за узорке без и 4,55 за узорке са ензимом).

2.5.3 Утицај термичких третмана на реолошка и текстурална својства јогурта од козјег млека

Резултати испитивања тока киселе коагулације различито термички третираног козјег млека пре ацидификације показали су да се формирани кисели гел и јогурт одликују изменењим реолошким односно текстуралним својствима. Кисели гел и јогурт од млека третираног на 85 °C/5 минута имали су боља реолошка и текстурална својства у поређењу са умеренијим и интензивнијим термичким третманом. Чврстина овог јогурта је просечно износила 40,0 g док су вредности за ово својство производа млека третирано блажим и интензивнијим третманима износиле 30,2 g и 25,9 g.

Средња вредност пречника казеинских мицела козјег млека је након поменутог третмана била највећа (360 nm), док са друге стране, има индиција да је виши режим пастеризације узроковао смањење просечног пречника (321 nm). На основу резултата може се претпоставити да применом оштријег термичког режима (95°C/5 минута) козјег млека, упркос већем обиму денатурације протеина сурутке, наступају структурне промене у самој мицели и долази до ослобађања агрегата протеина у серумску фазу, услед чега је изменењен процес киселе коагулације као и својства гела од оваквог млека, али потребна су додатна истраживања у циљу потврде ове хипотезе. Просечна величина мицела се није променила

након термичког третмана козјег млека на 72 °C/30 s у поређењу са сировим млеком (~253 nm).

2.5.4 Утицај одабраних фактора на реолошке параметре сиришне коагулације козјег млека

Утицај концентрације сирила је био значајан на време сиришне коагулације сировог и пастеризованог козјег млека. Смањење концентрације сирила значајно је продужило време коагулације. Време коагулације пастеризованог млека при додавању 2,0 г/100 л и 1,0 г/ 100 л сирила је износило 26,4 минута односно 49 минута. Значајна разлика у времену коагулације (10–20 %) установљена је између сировог и пастеризованог млека (65 °C/30 мин) при нижој концентрацији сирила (1,0 и 1,5 г/100 л). Концентрација сирила као и термички третман млека значајно су утицали и на чврстину сиришног гела. Чврстина сиришног гела од сировог млека добијеног додавањем 2,0 г/100 л сирила је износила 78,4 Pa, док гела од пастеризованог млека 107,8 Pa.

Драстично повећање концентрације сирила (са 2,0 на 5,4 г/100 л) није значајно утицало на пораст чврстине гела након 60 минута мерења. Концентрација сирила је значајно утицала на брзину агрегирања, тако да су при низким концентрацијама сирила забележене мање брзине. Брзина агрегирања приликом коагулације сировог млека додавањем 1,0 г/100 л сирила је износила 0,02 Pa/s а при коагулацији са 5,4 г/100 л сирила је била око пет пута већа и износила просечно 0,11 Pa/s. У опсегу концентрација 1,0–2,0 г/100 л, повећање количине сирила је имало незнатан утицај на брзину агрегирања.

Снижавање pH вредности млека узроковало је значајно скраћење времена коагулације. Време коагулације сировог млека при pH 6,5 је била просечно 11,6 минута док при pH 6,1 два пута краће односно 5,7 минута. Такође, утврђена је значајна разлика у времену коагулације између сировог и пастеризованог млека при низким pH (6,3 и 6,1), при чему је краће време забележено током коагулације термички третираног млека. Овим огледом није утврђен значајан утицај pH на чврстину сиришног гела након 60 минута која је за сивово млеко била у интервалу 57–83,1 Pa, а за пастеризовано млеко 79–95,4 Pa. Брзина агрегирања се значајно повећала приликом смањења pH при коагулацији и сировог и термички третираног млека. Брзина коагулације сировог млека при pH 6,5 је износила просечно 0,06 Pa/s а при pH 6,1 0,12 Pa/s. При коагулацији пастеризованог млека брзина је била већа и кретала се у интервалу од 0,08 до 0,14 Pa/s. Ови резултати указују да се у производњи може вршити смањење pH вредности млека које би допринело смањењу времена коагулације односно повећању брзине агрегирања, али без урушавања чврстине гела.

Температура коагулације остварила је значајан ефекат на време коагулације сировог и пастеризованог млека, односно са повећањем температуре време коагулације је било краће. Време сиришне коагулације козјег сировог млека при 27°C је просечно износило 11,8 минута, док при 35°C 8,9 минута. Слично скраћење времена је установљено и при коагулацији пастеризованог козјег млека. Са друге стране, ни температура ни термички третман млека, као ни њихова интеракција, нису значајно утицали на чврстину сиришног гела након 60 минута. Чврстина гела од сировог млека је била у интервалу 97,9–99,7 Pa, а од пастеризованог козјег млека од 111–120 Pa. Температура коагулације је имала значајан утицај на брзину агрегирања, при чему је повећање температуре узроковало линеарни пораст брзине агрегирања. Повећање температуре коагулације од 27°C до 35°C је

допринело повећању брзине агрегирања од 0,06 Pa/s до 0,13 Pa/s за сирово козје млеко односно од 0,07 Pa/s до 0,15 Pa/s за пастеризовано козје млеко. Ови резултати су од значаја за примену у пракси, јер указују да је могуће користити више температуре коагулације које убрзавају процес, али не доводе до нарушавања чврстине, односно реолошких својстава сиришно коагулисаног гела, који представља структуру будућег сира.

Испитивањем утицаја лактационог периода установљено је најдуже време сиришне коагулације козјег млека средње лактације које је за сирово млеко износило 15 минута а за пастеризовано млеко 13 минута. Такође, чврстина гелова од ових млека након 60 минута коагулације је била мања и кретала се у интервалу 30–35 Pa, у поређењу са гелом од козјег млека касне лактације која је била у интервалу 90–120 Pa. Поређењем реолошких својстава гелова са резултатима физичко-хемијског састава козјег млека, увиђа се значајно мањи садржај протеина, суве материје и млечне масти у средњој у односу на рану и касну лактацију, што објашњава уочени тренд. Ови резултати су значајни јер у зависности од периода лактације и састава млека, неопходно је вршити модификације технолошког поступка производње, како би се постигла уједначеност својстава готових производа, као и да би се производња обављала на адекватан начин са економског становишта.

Реолошки параметри сиришне коагулације зависе од термичког третмана козјег млека а такође и додавања калцијум хлорида. У том смислу посебно се истиче статистички значајан утицај термичког третмана млека на чврстину гела. Чврстина гела добијеног од млека третираног на 65 °C/30 минута је износила 48,5 Pa односно 38,9 Pa без и са калцијум хлоридом, док је од млека третираног 80 °C/5 минута и 90°C/5 минута била знанто мања и кретала се у интервалу 19,1–27,2 Pa. Време коагулације се није статистички значајно разликовало између испитиваних узорака што указује да термички третман и додавање калцијум хлорида не утиче на овај параметар. Брзина агрегирања је била мања при коагулацији козјег млека третираног строжијим режимима и просечно је износила 0,01 Pa/s док је при коагулацији козјег млека третираног блажим режимима брзина била већа и просечно износила 0,03 Pa/s у случају додавања и 0,02 Pa/s без калцијум хлорида. Утицај додатка CaCl_2 није показао значајаност за реолошке параметре сиришне коагулације, што указује да у производњи козјих сирева од пастеризованог млека није неопходно користити овај додатак који је уобичајен у производњи сирева од термички третираног крављег млека.

2.5.5 Испитивање утицаја додавања калцијум хлорида на квалитет сирева од козјег млека

Калцијум хлорид је уобичајен додатак у производњи сирева од термички третираног крављег млека у циљу поспешења побољшања секундарне фазе сиришне коагулације. С обзиром на специфичност састава и својства козјег млека као и утицај термичког третмана на компоненте састава додавање калцијум хлорида није неопходан додатак за производњу сирева од ове врсте млека и не утиче значајно на сиришну коагулацију што је показано у експерименталном делу дисертације приказаном у претходном потпоглављу.

У овом делу приказани су резултати испитивања квалитета сирева у саламури и сирева за гриловање произведених без и са калцијум хлоридом. Установљено је да без обзира на изостанак утицаја на реолошке параметре сиришне коагулације значај калцијум хлорида зависи и од врсте сира који се производи и посебно степена зрелости.

У раду је установљено да додавање калцијум хлорида није имало значајан утицај на својства сирева у саламури те указује да се овај додатак може изоставити у њиховој

производњи чак и када се сиреви производе од термички третираног козјег млека. Својства сирева у саламури у највећој мери зависе од степена зрелости. Током 10 дана зрења сирева у саламури установљен је пораст чврстоће од просечних 534 г до 1472 г за сиреве произведене без и од 490 г до 1605 г за сиреве произведене са додатком калцијум хлорида. Повећање чврстоће сирева током зрења је у највећој мери последица смањења pH вредности у овом периоду. Уочљив је и пораст жвакљивости обе врсте сира током зрења, док су кохезивност и флексибилност смањени.

Анализом текстуре козјег сира за гриловање установљен је изражен утицај калцијум хлорида непосредно након производње. На почетку зрења чврстине сирева за гриловање произведених без калцијум хлорида је износила 1554 г док оних са овим додатком 2190 г. Ипак, током зрења сирева за гриловање установљено је опадање чврстине, а такође и смањење разлика односно вредности овог својства се нису значајно разликовали код сирева без и са додавањем калцијум хлорида (1290 г и 1500 г). Смањење вредности чврстине сирева током 40 дана зрења је последица вероватно протеолитичких промена што је допринело омекшавању сирног теста. Након зрења, сиреви произведени без калцијум хлорида су имали мању адхезивност (0,40) у односу на сиреве са додатим CaCl_2 (0,66) али остала текстурална својства се нису значајно разликовања.

Посматрајући сиреве за гриловање након зрења такође се може закључити да додавање калцијум хлорида није неопходно у производњи ове врсте сира од термички третираног козјег млека.

2.6 Закључци

У закључном разматрању докторанткиња, сумирајући резултате, подвлачи важније сегменте рада, међу којима се посебно могу издвојити следећи ставови:

Обогаћивање млека додатком изолата протеина млека (ИПМ) значајно је утицало на побољшање реолошких и текстуралних својстава јогурта од козјег млека. И поред повећања чврстине обогаћеног козјег млека са ИПМ које је износило 234 г јогурти од козјег млека су инфериорнији у односу на производе од крављег млека који су имали чврстину 329 г.

Термички третман млека и додатак ензима трансглутаминазе су значајно утицали на реолошка својства киселих гелова од козјег млека. Додавање ензима транглутаминаза повећало је чврстину јогурту од млека третираног високим термичким третманом, непосредно након производње (за 17%) као и након периода од 15 дана (за 25%) складиштења у поређењу са контролним јогуртом без ензима. Закључује се да је термички третман 90 °C/ 5 минута подеснији за производњу јогурта од козјег млека, јер се на тај начин постиже боља својства производа и обезбеђују бољи услови за активност ензима у млеку. Негативан утицај додавања ензима на сензорни квалитет јогурта од козјег млека није установљен и најбоље су оцењени узорци без и са ензимом од козјег млека третираног на 90 °C/ 5 минута.

Додавање ензима транглутаминаза у производњи јогурта од козјег и крављег млека третираних различитим режимима пастеризације (72 °C/ 30 секунди 90 °C/ 5 минута) установљен је значајан утицај на реолошка и текстурална својства производа. Тектурална својства јогурта од крављег млека третираног строгим режимом пастеризације су била супериорнија од јогурта добијеног од исте врсте млека третираног блажим режимом и посебно производа од козјег млека, чак и третираним на вишеј температури. Овај резултат указује на то да без обзира на примењени третмани јогурта од козјег млека има значајно слабија текстурална својства у поређењу са производима од крављег млека.

Термички третмани козјег млека значајно утичу на реолошка и текстуална својства гелова односно јогурта. Кисели гел и јогурт од млека третираног на 85 °C/ 5 минута имали су бољу реолошку и текстуалну својину у поређењу са умереним и интензивним термичким третманима. Такође, средња вредност пречника казеинских мицела козјег млека је након поменутог третмана била највећа (360 nm), док је неочекивано виши режим пастеризације узроковао смањење просечног пречника (321 nm). У циљу детаљнијег сагледавања промена величине казеинских мицела између примењених термичких третмана потребна су додатна истраживања. Претпоставка је да током оштријег термичког режима козјег млека (упркос већем обиму денатурације протеина суртке) наступају структурне промене у мицели и долази до ослобађања агрегата протеина у серумској фазу, услед чега је изменењен процес киселе коагулације као и својства гела од оваквог млека.

Утицај концентрације сирила је био значајан на време сиришне коагулације (ВК) сировог и пастеризованог козјег млека. Значајна разлика од 10–20% у времену коагулације установљена је између сировог и пастеризованог млека (65 °C/ 30 минута) при нижој концентрацији сирила (1,0 и 1,5 г / 100 л), тако да се може закључити да време коагулације зависи од количине сирила. С друге стране, драстично повећање концентрације сирила (са 2,0 на 5,4 г/ 100 л) није значајно утицало на пораст чврстине гела након 60 минута. Концентрација сирила је значајно утицала на брзину агрегирања (БА), која је при за сирово млеко при најмањој концентрацији износила 0,02 а при највећој 0,11 Pa/s.

Снижавање pH вредности млека узроковало је значајно скраћивање времена коагулације (пад pH од 6,5 до 6,1 допринео два пута краћем ВК), а разлика је утврђена у ВК између сировог и пастеризованог млека при низким pH (6,3 и 6,1). Краће време коагулације је установљено за термички третирано млеко. Утицај pH на чврстину сиришног гела након 60 минута није установљен, али се брзина агрегирања значајно повећала приликом смањења pH и током коагулације сировог и термичког третираног млека. Ови резултати указују да се у производњи може вршити смањење pH вредности млека које би допринело смањењу времена коагулације односно повећању брзине агрегирања или без урушавања чврстих гела.

Температура коагулације остварила је значајан ефекат на време коагулације сировог и пастеризованог млека. Повећање температуре коагулације пастеризованог млека од 27°C на 35°C допринело је скраћењу времена коагулације од 12,6 минута до 8,6 минута. Температура и термички третман млека, као и њихова интеракција нису значајно утицали на чврстину сиришног гела након 60 минута. Температура коагулације је имала значајан утицај на брзину агрегирања, при чему је раст температуре узроковао линеарни пораст брзине агрегирања. Ови резултати су од значаја за примену у пракси, јер указују да је могуће користити више температурне коагулације које убрзавају процес, али не и доводе до нарушавања чврстине, односно реолошких својстава сиришнокоагулисаног гела, који представља структуру будућег сира.

Најдуже време коагулације је установљено при сиришној коагулацији козјег млека средње лактације које је износило 15 минута за сирово млеко и 13 минута за пастеризовано млеко. Гел добијен од козјег млека средње лактације је такође имао два и три пута мању чврстину након 60 минута у односу на гел добијен од козјег млека ране односно касне лактације. Ови резултати су значајни јер у зависности од периода лактације и састава млека, неопходно је вршити модификације технолошког поступка производње, како би се постигла уједначеност својстава готових производа, као и да се производња производи на адекватан начин са економским становиштва.

Строжији термички третмани козјег млека ($80^{\circ}\text{C}/5$ минута и $90^{\circ}\text{C}/5$ минута) допринели су значајном смањењу чврстине сиришног гела (ЧГ) у односу на вредности гела добијеног од козјег млека третираног блажим режимом ($65^{\circ}\text{C}/30$ минута). Са повећањем термичког третмана козјег млека брзина агрегирања се два пута смањила. Утицај додатка CaCl_2 није био значајан за параметаре коагулације козјег млека подвргнутог истом режиму термичког третмана, што указује на то да у производњи козјих сирева од пастеризованог млека није неопходно користити овај додатак који је уобичајен у производњи сирева од термичког третираног млека крављег млека.

Додавање калцијум хлорида у производњу сирева у саламури и сирева за гриловање није значајно утицало на њихов састав и текстурална својства након периода зрења. Ови резултати указују да додавање калцијум хлорида није неопходно у производњи ових врста сирева од пастеризованог козјег млека, што је супротно са производњом сирева од крављег млека.

2.7 Литература

У дисертацији је на правилан начин цитирано 195 литературних извора који у потпуности одговарају проблематици која је изучавана.

3 Закључак и предлог

Докторска дисертација Марине Ховјецки, мастер инжењера технологије, под насловом *Утицај одабраних фактора на ток киселе и сиришне коагулације козјег млека и квалитет јогурта и сирева* представља оригиналну, самосталну и заокружену научно-истраживачку целину.

Програмом ове дисертације обухваћена су испитивања одабраних фактора на ток киселе и сиришне коагулације козјег млека и реолошка својства добијених гелова, што је омогућило сагледавање технолошких својстава ове врсте млека и дефинисање параметара у циљу оптимизације поступка производње и побољшања квалитета јогурта и сирева.

Примењујући адекватне, савремене методе и технике, Марина Ховјецки је у оквиру постављеног циља и програма рада, веома успешно обавила експериментални део истраживања, што је и документовала резултатима дисертације. Дискусију резултата је водила успешно коментаришући и упоређујући сопствене резултате са резултатима других аутора. Закључци су такође добро изведени и у сагласности су са добијеним резултатима и вођеном дискусијом.

Дисертација је писана веома јасним језиком и прегледно, а такође је технички веома добро организована и уређена.

Оцењујемо да ова дисертација представља заокружену научну целину проучавања технолошких својстава козјег млека и његовог понашања током киселе и сиришне коагулације спроведених под утицајем различитих фактора. С обзиром да је коагулација централна фаза поступка производње јогурта и сирева установљена је корелација тока коагулације и својства добијених гелова са квалитетом финалних производа. Добијени подаци су веома значајни у циљу оптимизације технолошких поступака производње и добијања јогурта и сирева најбољих сензорних својстава.

Сматрамо да је проблематика коју је докторанткиња одабрала, експериментално испитала и обрадила у поднетој дисертацији веома значајна, а добијени резултати и њихово тумачење представљају значајан допринос науци и пракси.

Имајући све ово у виду, предлажемо Наставно-научном већу Польопривредног факултета Универзитета у Београду да усвоји позитивну оцену докторске дисертације мастер инжењера Марине Ховјеџки под насловом „*Утицај одабраних фактора на ток киселе и сиришне коагулације козјег млека и квалитет јогурта и сирева*“ и позове докторанткињу да је јавно брани.

Београд,
22.02.2021. године

ЧЛНОВИ КОМИСИЈЕ:

Др Јелена Миочиновић, редовни професор
Польопривредни факултет, Универзитет у Београду
Ужа научна област *Технологија анималних производа*

Др Предраг Пуђа, редовни професор
Польопривредни факултет, Универзитет у Београду
Ужа научна област *Технологија анималних производа*

Др Мирела Иличић, ванредни професор
Технолошки факултет Нови Сад, Универзитет у Новом Саду
Ужа научна област *Прехрамбено инжењерство*

Др Владислав Рац, ванредни професор
Польопривредни факултет, Универзитет у Београду
Ужа научна област *Физичка хемија*

Др Милица Мирковић, доцент
Польопривредни факултет, Универзитет у Београду
Ужа научна област *Технолошка микробиологија*

Прилог

Објављени радови Марине Ховјеџки (рођ. Јосиповић), мастер инж. у научним часописима на SCI листи:

Hovjecki M., Miloradovic Z., Rac V., Pudja P., Miocinovic J. (2020): Influence of heat treatment of goat milk on casein micelle size, rheological and textural properties of acid gels and set type yoghurts, Journal of texture studies, 51, 4, 680-687.

Miocinovic, J., Miloradovic, Z., **Josipovic, M.**, Nedeljkovic, A., Radovanovic, M., Pudja, P. (2016): Rheological and textural properties of goat and cow milk set type yoghurts, International Dairy Journal, 58, 43-45.

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
Датум: 22.02.2021.

ОЦЕНА ИЗВЕШТАЈА О ПРОВЕРИ ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

На основу Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду и налаза у извештају из програма iThenticate којим је извршена провера оригиналности докторске дисертације под насловом: „*Утицај одабраних фактора на ток киселе и сириине коагулације козјег млека и квалитет јогурта и сирева*”, кандидаткиње Марине Ховјеџки, констатујем да утврђено подударање текста последица цитата, личних имена, библиографских података о коришћеној литератури, општих места и података, као и претходно публикованих резултата докторандових истраживања, који су проистекли из његове дисертације, што је у складу са чланом 9. Правилника.

На основу свега изнетог, а у складу са чланом 8. став 2. Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду, изјављујем да извештај указује на оригиналност докторске дисертације, те се прописани поступак припреме за њену одбрану може наставити.

Ментор

Др Јелена Миочиновић, редовни професор
Универзитет у Београду, Пољопривредни факултет
Ужа научна област: технологија анималних производа