

Usporedba jogurta i kiselog mlijeka od kravljeg, ovčjeg i kozjeg mlijeka

Kukolja, Hana

Master's thesis / Diplomski rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:090092>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-23**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2018.

Hana Kukolja, 972/USH

**USPOREDBA JOGURTA I
KISELOG MLIJEKA OD
KRAVLJEG, OVČJEG I KOZJEG
MLIJEKA**

Rad je izrađen u Laboratoriju za tehnologiju mlijeka i mliječnih proizvoda na Zavodu za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom dr. sc. Irene Barukčić, doc. Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu te uz pomoć doc. dr. sc. Katarine Lisak Jakopović, Snježane Šimunić, tehničke suradnice i Katharine Zwinkmann, studentice na praksi.

Zahvaljujem se mentorici doc. dr. sc. Ireni Barukčić na odabranoj temi, stručnim savjetima i vođenju kroz cijeli diplomski.

Zahvaljujem se doc. dr. sc. Katarini Lisak Jakopović, doc. dr. sc. Ivani Rumora Samarin, dr. sc. Nini Bilandžić, Snježani Šimunić i Katharini Zwinkmann na pomoći i stručnim savjetima tijekom izrade diplomskog rada.

Hvala obitelji i prijateljima na podršci i ljubavi kroz studentske dane- koji su proletjeli brzinom svjetlosti. 😊 😊

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Zavod za prehrambeno - tehnološko inženjerstvo
Laboratorij za tehnologiju mlijeka i mliječnih proizvoda

Diplomski rad

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambeno inženjerstvo

USPOREDBA JOGURTA I KISELOG MLIJEKA OD KRAVLJEG, OVČJEG I KOZJEG MLIJEKA

Hana Kukolja, 972/USH

Sažetak: Proizvedeni su jogurti i kisela mlijeka od kravljeg, ovčjeg i kozjeg mlijeka. Na uzorcima mlijeka, jogurta i kiselih mlijeka provedene su fizikalno-kemijske, mikrobiološke i reološke analize. Ovčje mlijeko imalo je najveći udio masti (7,95 %), proteina (4,94 %) i suhe tvari (14,33 %), dok je kravlje mlijeko imalo najveći udio laktoze (5,05%). Na uzorcima jogurta i kiselih mlijeka provedena je i senzorska analiza te test prihvatljivosti s obzirom da je glavni cilj ovog rada bio ispitati prihvatljivost fermentiranih proizvoda od ovčjeg i kozjeg mlijeka u odnosu na kravlje. U testu prihvatljivosti najviše ocjene postigli su ovčji jogurt (7,52 od 9) i ovčje kiselo mlijeko (7,41 od 9), a najlošije su ocjenjeni uzorci kozjeg jogurta (6,6 od 9) i kozjeg kiselog mlijeka (6,2 od 9). Dobiveni rezultati ukazuju da bi se ovčje mlijeko moglo više koristiti i u izravnoj potrošnji te u proizvodnji fermentiranih proizvoda.

Ključne riječi: kravlje mlijeko, kozje mlijeko, ovčje mlijeko, jogurt, kiselo mlijeko

Rad sadrži: 55 stranica, 12 slika, 9 tablica, 56 literaturnih navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u: Knjižnica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb

Mentor: *doc. dr. sc. Irena Barukčić*

Pomoć pri izradi: *doc. dr. sc. Katarina Lisak Jakopović, Snježana Šimunić, Katharina Zwinkmann*

Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:

1. prof.dr.sc. Rajka Božanić
2. doc.dr.sc. Irena Barukčić
3. prof.dr.sc. Ksenija Marković
4. prof.dr.sc. Nada Vahčić (zamjena)

Datum obrane: 20. rujan 2018.

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
Department of Food Technology and Engineering
Laboratory of Technology of Milk and Milk Products

Graduate Thesis

Scientific area: Biotechnical Sciences

Scientific field: Food Technology

COMPARISON OF YOGHURT AND SOUR MILK FROM COW, SHEEP AND GOAT MILK

Hana Kukolja, 972/USH

Abstract: Yoghurt and sour milk were produced from cow, sheep and goat milk. Physico-chemical, microbiological and rheological analyzes were performed on milk, yoghurt and sour milk samples. Sheep milk had the highest share of fat (7.95%), protein (4.94%) and dry matter (14.33%), while cow's milk had the highest share of lactose (5.05%). Sensory analysis and the acceptability test were performed on yoghurt and sour milk samples as the main purpose of this paper was to examine the acceptability of fermented products of sheep and goat milk in regards to cow's. In the acceptability test, sheep's yogurt (7.52 out of 9) and sheep's sour milk (7.41 out of 9) got the highest score, while goat's yogurt (6.6 out of 9) and goat's sour milk (6.2 of 9) got the lowest score. The obtained results indicate that sheep milk could be used more in direct consumption and in the production of fermented products.

Keywords: cow milk, goat milk, sheep milk, yoghurt, sour milk

Thesis contains: 55 pages, 12 figures, 9 tables, 56 references

Original in: Croatian

Graduate Thesis in printed and electronic (pdf format) version is deposited in: Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb.

Mentor: PhD, *Irena Barukčić*, Assistant Professor

Technical support and assistance: PhD, *Katarina Jakopović Lisak*, *Snježana Šimunić*, *Katharina Zwinkmann*

Reviewers:

1. PhD. Rajka Božanić, Full professor
2. PhD. Irena Barukčić, Assistant professor
3. PhD. Ksenija Marković, Full professor
4. PhD. Nada Vahčić, Full professor (substitute)

Thesis defended: September 20th 2018.

SADRŽAJ

1.UVOD	1
2.TEORIJSKI DIO	2
2.1.Kravlje mlijeko	2
2.2.Kozje mlijeko	3
2.3.Ovčje mlijeko	5
2.4.Fermentirana mlijeka.....	7
2.4.1.Jogurt	8
2.4.2.Kiselo mlijeko	10
2.5.Prehrambena i zdravstvena vrijednost fermentiranih mlijeka	10
3. EKSPERIMENTALNI DIO	12
3.1.Materijali	12
3.2.Metode rada.....	12
3.2.1.Priprema mlijeka za fermentaciju.....	12
3.2.2.Proizvodnja jogurta	12
3.2.3.Proizvodnja kiselog mlijeka	13
3.2.4.Određivanje kiselosti	13
3.2.5.Određivanje udjela mliječne masti u mlijeku metodom prema Gerberu	15
3.2.6.Određivanje udjela proteina modificiranom metodom po Kjeldalhu	16
3.2.7.Određivanje udjela laktoze u mlijeku metodom prema Loof- Schoorlu	19
3.2.8.Određivanje udjela suhe tvari u mlijeku i fermentiranom mlijeku direktnom metodom za određivanje ukupne suhe tvari (sušenje u sušioniku)	21
3.2.9.Određivanje sinereze fermentiranog mlijeka.....	22
3.2.10.Određivanje koncentracije mineralnih tvari u mlijeku i fermentiranom mlijeku	22
3.2.11.Mikrobiološke analize	23
3.2.12.Određivanje reoloških svojstava mlijeku i fermentiranom mlijeku	25
3.2.13.Određivanje boje mlijeka i fermentiranog mlijeka.....	26
3.2.14.Senzorska ocjena mlijeka i fermentiranog mlijeka.....	26
3.2.15.Prihvatljivost jogurta i kiselog mlijeka.....	27
4.REZULTATI I RASPRAVA	28
4.1. Fizikalno-kemijske analize mlijeka i fermentiranih mlijeka	29

4.2. Mikrobiološke analize mlijeka	35
4.3. Reološka svojstva uzoraka mlijeka i proizvedenih fermentiranih mlijeka.....	37
4.4. Senzorsko ocjenjivanje proizvedenih fermentiranih mlijeka	42
4.5. Prihvatljivost jogurta i kiselog mlijeka.....	46
4.6. Boja mlijeka i fermentiranih mlijeka.....	48
5.ZAKLJUČCI	50
6.LITERATURA	51

1.UVOD

Sirovo mlijeko (kravlje, ovčje, kozje i bivolje) je prirodni sekret mliječne žlijezde dobiven jednom ili više mužnji zdravih životinja, kojemu ništa nije dodano ili oduzeto, koje nije zagrijavano na temperaturu veću od 40°C niti je bilo podvrgnuto nekom drugom postupku koji ima isti učinak, a namijenjeno je konzumaciji kao tekuće mlijeko ili mlijeko za daljnju obradu odnosno preradu. Mliječni proizvodi su proizvodi koji se proizvode bilo kojim postupkom prerade mlijeka, isključivo iz kravljeg, ovčjeg, kozjeg te bivoljeg mlijeka, te njihovih mješavina, a koji sadrže najmanje 50% mlijeka, mliječnih proizvoda ili mliječnih udjela (Pravilnik, 2017a).

Mlijeko ima važnu ulogu u prehrani ljudi u svim fazama života. Znanstvena su istraživanja pokazala da je ono najbolja hrana za ljude izložene posebnom tjelesnom i psihičkom naporu i da povećava moć koncentracije. Prema mišljenju nutricionista, mlijeko treba trošiti najprije zbog biološke vrijednosti proteina, a zatim i zbog bitne uloge mineralnih tvari. Mlijeko je najkompletnija prirodna tekućina, jer sadržava sve tvari neophodne za očuvanje zdravlja i normalnu funkciju ljudskog organizma (Tratnik i Božanić, 2012).

U odnosu na mlijeko, fermentirani proizvodi imaju bolju probavljivost, višu količinu vitamina, minerala, esencijalnih amino i masnih kiselina, a samim time i veću prehrambenu vrijednost (Tamime i sur., 2003).

Osnovna svrha ovog rada bila je proizvesti jogurt i kiselo mlijeko od kravljeg, kozjeg i ovčjeg mlijeka te ih međusobno usporediti. Provedene su fizikalno-kemijske, reološke i mikrobiološke analize uzoraka sirovog i pasteuriziranog mlijeka. Nakon provedene fermentacije, provedene su fizikalno-kemijske, reološke i senzorske analize uzoraka jogurta i kiselog mlijeka. Također, proveo se i test prihvatljivosti jogurta i kiselog mlijeka od strane potrošača budući da je njihovo mišljenje veoma bitno kod stavljanja proizvoda na tržište. Cilj je bio ispitati prihvatljivost fermentiranih proizvoda od ovčjeg i kozjeg mlijeka u odnosu na kravlje, s obzirom da je proizvodnja tih napitaka relativno slabo zastupljena, iako su ove vrste mlijeka poznate po svojoj terapijskoj i nutritivnoj vrijednosti.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Kravlje mlijeko

Pod pojmom “mlijeko“ uvijek se podrazumijeva kravlje mlijeko, dok se ostale vrste mlijeka moraju istaknuti oznakom. Kravlje mlijeko je najviše zastupljeno (oko 85%) pa se ono najviše i koristi u proizvodnji svih mliječnih proizvoda. Stoga je i konzumno mlijeko najčešće kravlje mlijeko. Kemijski sastav, fizikalna i senzorska svojstva te prehrambena i zdravstvena vrijednost kravljeg mlijeka dobro su poznati i zastupljeni u literaturi, dok je o ostalim vrstama mlijeka dostupno puno manje podataka (Božanić i sur., 2018).

Neke osobe ne podnose kravlje mlijeko, najčešće zbog dva razloga:

1. ne podnose laktozu zbog nedostatka enzima β -galaktozidaze (laktaze). Tim osobama preporuča se prehrana mlijekom ili mliječnim proizvodima s hidroliziranom laktozom (hidrolizati mlijeka, fermentirana mlijeka i vrlo zreli sirevi koji više nemaju laktoze).

2. Ne podnose proteine mlijeka (kazein ili β -laktoglobulin u većoj koncentraciji), jer uzrokuju pojavu nekih oblika alergija, a najčešće dijareju. Tim osobama preporuča se kozje mlijeko, iako se u nekim osoba može pojaviti i alergija na kozje mlijeko, ali puno rjeđe. Provedena istraživanja su pokazala a od 100 odraslih osoba alergičnih na proteine kravljeg mlijeka, oko 40 ih tolerira kozje mlijeko, a od 100 testirane djece, alergične na kravlje mlijeko samo je jedno dijete bilo alergično i na kozje (Tratnik i Božanić, 2012).

Sam sastav mlijeka se mijenja u širokom rasponu, a ovisi o brojnim čimbenicima, poput dobi pasmine stoke i zdravstvenom stanju, stadiju laktacije, načinu i vrsti hranidbe u sezonskim razdobljima te mužnji (Tratnik, 1998).

Prosječni kemijski sastav kravljeg mlijeka iznosi 4,8% laktoze, 3,7% masti, 3,4% proteina, 0,7% pepela i 12,8% suhe tvari (Bylund, 2003).

2.2.Kozje mlijeko

Proizvodnja kozjeg mlijeka u svijetu bilježi sve veći porast u posljednjih 20 godina. 2015. godine iznosila je 19,6 milijuna tona. Najveći su proizvođači kozjeg mlijeka u svijetu Indija, Bangladeš i Pakistan, dok Azija i Afrika obuhvaćaju 58, odnosno 24% ukupne svjetske proizvodnje (IDF Bulletin, 2016). Najveći porast proizvodnje mlijeka i broja koza zabilježen je u nerazvijenim i zemljama u razvoju. Proizvodnja kozjeg mlijeka u Hrvatskoj iznosila je u 2016. godini 4042 tone, što je oko 9,5% više u odnosu na 2015. Godinu (Državni zavod za statistiku, 2017.).

Osnovni sastav kozjega i kravljeg mlijeka približno je identičan. Sastav kozjeg mlijeka znatno se razlikuje, ovisno o pasmini i genotipu koza, redoslijedu i stadiju laktacije te godišnjem dobu. Zadnja dva parametra mogu se i povezati jer je većina mliječnih koza u istom stadiju laktacije u određeno doba godine, što može utjecati na sastav mlijeka. Duljina laktacije koza također je varijabilna, od 150 do 300 dana, a mliječnih pasmina od 210 do 300 dana (Božanić i sur., 2018).

Prema Pravilniku o utvrđivanju sastava sirovog mlijeka (2017b), udjel proteina u kozjem mlijeku iznosi najmanje 2,5 %, a najviše 4,5 %. Proteini kozjeg mlijeka probavljiviji su od proteina kravljeg mlijeka i veća je apsorpcija aminokiselina (Park, 1994b). Nutritivna vrijednost proteina ovisi o udjelu različitih aminokiselina koje se apsorbiraju u probavnom sustavu. Količina ukupnih aminokiselina podjednaka je u oba mlijeka, a od slobodnih aminokiselina kozje mlijeko sadrži najviše taurina. Količina taurina u kozjem mlijeku slična je količini taurina u humanom mlijeku i znatno veća u odnosu na kravlje mlijeko. Taurin je esencijalna amino-kiselina prirodno sadržana u tekućinama i tkivima organizma, a osobito je važan u prehrani male djece i beba jer sudjeluje razvoju mozga. Kozjeg mlijeka je u svijetu svega oko 2 % pa se ono više koristi u proizvodnji visoko cijenjenih sireva (Tratnik i Božanić, 2012).

Gruš kozjeg mlijeka probavljiviji je u odnosu na gruš kravljeg mlijeka. Razlog tome je upravo u njegovoj manjoj čvrstoći. Dodatkom jake kiseline izravno u kozje mlijeko nastaju manje i nježnije pahulje gruša, i to puno brže u odnosu na kravlje mlijeko koje sporije stvara veće nakupine. Ovakav pokus opisuje zbivanja u želucu tijekom probave, gdje želučane preteine djeluju puno lakše i brže na kozje mlijeko (Park, 2017). Zbog toga se kozje mlijeko probavlja brže (40 min) i lakše u odnosu na kravlje (2,5 h) (Haenlein, 1992).

Prema Pravilniku o utvrđivanju sastava sirovog mlijeka (2017b), udjel masti u kozjem mlijeku iznosi najmanje 2,5 %, a najviše 5 %. Mliječna mast sastoji se od velikog broja različitih lipidnih tvari i sadržava više od 200 različitih masnih kiselina. Kratki lanci masnih kiselina osiguravaju veliku probavljivost mliječne masti, brzo oksidiraju tijekom probave i daju energiju, a mliječna mast opskrbljuje organizam esencijalnim masnim kiselinama i u masti topljivim vitaminima (A, D, E i K). Mliječna mast sadržava konjugiranu linolnu kiselinu, vitamine topljive u masti i fosfolipide koji sadržavaju kolin. Kozje mlijeko sadržava manje kolesterola u odnosu na kravlje. Razlika u mliječnoj masti kozjega i kravljeg mlijeka je u zasićenosti i dužini lanaca masnih kiselina, što ima veliku nutritivnu i zdravstvenu važnost. Mast kozjeg mlijeka probavljivija je od masti kravljeg mlijeka, jer su masne globule kozjeg mlijeka manje i ima ih više pa je ukupna masna površina veća te ih lipaze u crijevima lakše razgrađuju (Božanić i sur., 2018).

Kozje mlijeko lakše je probavljivo i zbog svoje prirodne homogeniziranosti. Oko 20 % manje vremena potrebno je za probavu masti kozjeg mlijeka čije su masne globule promjera od 0,1 do 10 μm , s velikim udjelom globula manjih od 2 μm (Saini i Gill, 1991). Prirodna homogenizacija kozjeg mlijeka, što se tiče probave, povoljnija je u odnosu na mehaničku homogenizaciju kravljeg mlijeka.

Također, kozje mlijeko sadrži veći udio vitamina A u odnosu na kravlje mlijeko zbog čega je bjelje boje, sadrži više vitamina D i C te nikotinske kiseline, no 7-8 puta manji udjel folne kiseline. Osim toga, kozje mlijeko ima jače izražena bakteriocidna i imunološka svojstva (više imunoglobulina i drugih antimikrobnih stvari) pa je pogodno u prehrani osoba mlađe ili starije dobi, ali i za osobe podložne raznim stresovima i blokadama (Tratnik i Božanić, 2012).

Kozje mlijeko sadržava veći udjel mineralnih tvari od kravljeg mlijeka, osobito kalija i klorida (tablica 1.), pa je zbog toga njegov okus blago slan. Potkraj laktacije mlijeko sadržava više mineralnih tvari pa je ta slanost izraženija.

Tablica 1. Udjeli mineralnih tvari (mg L⁻¹) u kozjem i kravljem mlijeku (Božanić i sur., 2002b)

Mineralna tvar	Kozje mlijeko	Kravlje mlijeko
Kalcij	1304	1200
Fosfor	1080	950
Magnezij	136	130
Natrij	488	500
Kalij	1996	1500
Kloridi	1566	1000
Željezo	0,5	0,5
Cink	2,9	3,5
Bakar	0,23	0,20

Vrlo je rašireno mišljenje o neprihvatljivu okusu i mirisu kozjeg mlijeka. Međutim, svježe pomuzeno kozje mlijeko s kojim se pravilno i higijenski postupa okusom i mirisom ne razlikuje se uvelike od kravljeg mlijeka (Alichanidis i Polychroniadou, 1997). Karakterističan okus koji se percipira kao nepoželjan može biti posljedica neispravnog rukovanja mlijekom od trenutka mužnje do prodaje ili proizvodnje određenih proizvoda.

Kozje mlijeko ima i neke terapijske prednosti i važno je za ljude koji su alergični na kravlje mlijeko. Oko 40 od 100 % osoba alergičnih na kravlje mlijeko tolerira kozje mlijeko (Park, 1994 a).

2.3.Ovčje mlijeko

U 2015. godini proizvedeno je ukupno 830 milijuna tona mlijeka, od čega je oko 1,3 % ovčjeg mlijeka, što je preračunato iznosilo gotovo 10,3 milijuna tona. Najveći svjetski proizvođači ovčjeg mlijeka u svijetu su Azija s proizvodnjom od 3,7 milijuna tona, Europa s proizvodnjom od 3,6 milijuna tona, te Afrika s 0,7 milijuna tona ovčjeg mlijeka godišnje (IDF Bulletin, 2016).

Prema podacima Državnog zavoda za statistiku, količina prikupljenoga ovčjeg mlijeka u Republici Hrvatskoj u 2016. godini iznosila je 3097 tona. Ako se količina ovčjeg mlijeka iz 2016. godine usporedi s prikupljenom količinom ovčjeg mlijeka u 2015., zabilježen je rast od oko 9,8 %.

Sastav ovčjeg mlijeka ovisi o hranidbi ovaca, a ujedno određuje i njegovu prehrambenu vrijednost kao i mogućnost preradbe u mliječne proizvode (najviše sir), te mnoga fizikalno-kemijska i senzorska svojstva (Alichanidis i Polychroniadou, 1995). Na kemijski sastav ovčjeg mlijeka utječu brojni čimbenici kao što su pasmina, stadij laktacije, dob, sezona i klima pa je upravo zbog toga svaki proizvod karakterističan za određeno podneblje. Ako se uspoređi prosječan sastav kravljega i ovčjeg mlijeka može se vidjeti kako ovčje mlijeko sadržava veću količinu ukupnih proteina, čak 2,3 % više, od čega 2 % otpada na kazein, a samo 0,2 % na proteine sirutke. Ovčje mlijeko sadržava u prosjeku znatno veću količinu mliječne masti u odnosu na kravlje mlijeko (Tratnik i Božanić, 2012). Količina suhe tvari i mineralnih tvari (izraženih kao pepeo) također je veća u ovčjem mlijeku, dok se količinom laktoze ovčje i kravlje mlijeko gotovo i ne razlikuju.

Ovčje mlijeko prosječno sadržava oko 5,8 % proteina. Na početku laktacije ovčje mlijeko sadržava minimalnu količinu proteina koja iznosi oko 4,3 %, a prema kraju laktacije količina proteina povećava se čak do 7,6 % (Antunac i Lukač Havranek, 1999). Ukupna količina proteina, isto kao i odnos kazeina i proteina sirutke, u ovčjem se mlijeku znatno razlikuje od onoga u kravljem mlijeku. Naime, ovčje mlijeko sadržava u prosjeku čak 4,9 % kazeina, što je 57 % više od količine kazeina u kravljem mlijeku. Zbog toga se ovčje mlijeko naziva i kazeinsko mlijeko, jer udjel kazeina u ukupnim proteinima iznosi oko 85 % te je kao takvo vrlo pogodno za proizvodnju sireva. Ovčje mlijeko sadržava oko 0,9 % proteina sirutke, a kravlje mlijeko oko 0,7 % (Božanić i sur., 2018).

Mliječna mast glavni je izvor energije u ovčjem mlijeku, jer je sadržava čak oko 8 %. Također, mliječna mast ovčje mlijeko čini kremastim i ugodnog okusa, a istovremeno utječe na proizvode od ovčjeg mlijeka dajući im karakterističan okus i konzistenciju (Božanić i sur., 2018). U ovčjem se mlijeku mliječna mast nalazi u obliku globula koje su karakteristične što se tiče veličine te iznose manje od 3,5 μm . Neka istraživanja navode kako je čak 65 % globula mliječne masti u ovčjem mlijeku manja od 3 μm (Mens, 1985). S tehnološkog aspekta, zbog manjih globula mliječne masti, ovčje mlijeko teže se obire od kravljeg.

Ovčje mlijeko sadržava više mineralnih tvari od kravljeg mlijeka, i to oko 30 %. U odnosu na kravlje, ovčje mlijeko sadržava veće količine gotovo svih mineralnih tvari, osim natrija i kalija. Koncentracija kalcija u ovčjem je mlijeku izrazito visoka, za 730 mg L^{-1} veća nego u kravljem mlijeku (Božanić i sur., 2018).

Ovčje je mlijeko znatno bogatije vitaminima u odnosu na kravlje. S obzirom na znatno veći udjel masti, ovčje mlijeko sadržava i veći udjel vitamina topljivih u mastima, prije svega vitamina A i D. Tako ovčje mlijeko sadržava dvostruko više vitamina A u odnosu na kravlje mlijeko. Razlog tome je što metabolizam ovce ima veću sposobnost pretvaranja karotena u vitamin A, te ovčje mlijeko gotovo da i ne sadržava karoten. Upravo zbog toga, boja mliječne masti ovčjeg mlijeka izrazito je bijela (Božanić i sur., 2018).

Za razliku od kravljeg, ovčje mlijeko manje se koristi u izravnoj potrošnji, ali odlična je sirovina za proizvodnju sireva. Zbog visokog sadržaja suhe tvari, iskoristivost ovčjeg mlijeka gotovo je dvaput veća nego kravljeg. Maslac se iz ovčjeg mlijeka uglavnom ne proizvodi, iako ovčje mlijeko sadržava puno veću količinu mliječne masti u odnosu na kravlje. Masne kiseline ovčjeg mlijeka specifičnog su sastava pa je mliječna mast na sobnoj temperaturi polutekuća. Fermentirana mlijeka od ovčjeg mlijeka gotovo se i ne proizvode (Božanić i sur., 2018).

2.4. Fermentirana mlijeka

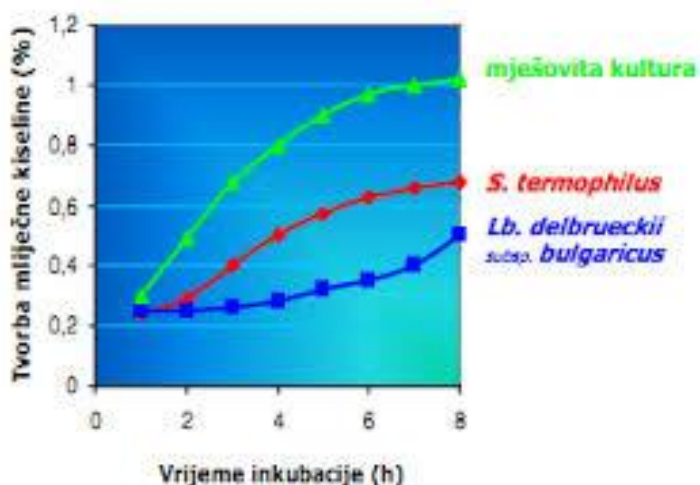
Fermentirana mlijeka proizvode se fermentacijom mlijeka (kravljeg, ovčjeg, kozjeg i bivoljeg mlijeka ili njihove mješavine) primjenom odgovarajućih starter kultura. Mikroorganizmi starter kulture u proizvodu moraju biti aktivni do isteka roka valjanosti ili roka upotrebe proizvoda. Broj i vrsta mikroorganizama starter kulture ovisi o specifičnim svojstvima ciljanog proizvoda. Najvažnije mikrobne kulture za proizvodnju fermentiranih mliječnih proizvoda su mezofilne kulture bakterija mliječne kiseline (BMK), termofilne kulture BMK, probiotičke kulture BMK i mješovite kulture BMK i kvasaca. Fermentirana mlijeka najčešće zastupljena na tržištu su jogurt, acidofilno mlijeko, kiselo mlijeko i kefir, no postoji čitav niz fermentiranih mlijeka čija dostupnost varira o nizu različitih čimbenika. Međutim, još krajem 19. i početkom 20. stoljeća najproučavaniji fermentirani proizvod je jogurt koji je tada osvojio istočnoeuropsko tržište. Tome su pridonijela istraživanja i radovi poznatog ruskog znanstvenika Ilje Mečnikova, koji je pretpostavio da su Bugari dugovječni zbog dugotrajne potrošnje jogurta (Tratnik i Božanić, 2012).

Bez obzira na vrstu, fermentirani mliječni napitci su najpopularniji komercijalni industrijski proizvodi zbog niza povoljnih učinaka na zdravlje čovjeka. U odnosu na mlijeko, fermentirani proizvodi imaju bolju probavljivost, veću količinu vitamina, minerala, esencijalnih amino i masnih kiselina, te time i veću prehrambenu vrijednost (Tamime i sur., 2003).

2.4.1. Jogurt

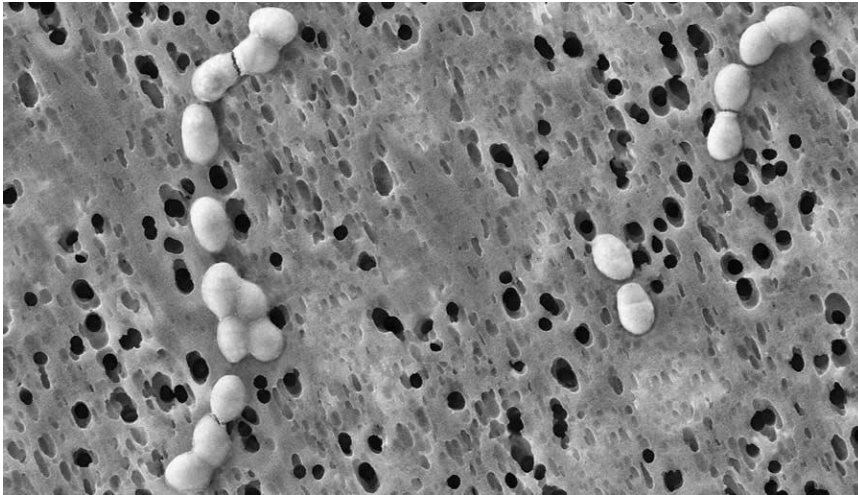
Jogurt se proizvodi fermentacijom mlijeka djelovanjem sojeva *Streptococcus thermophilus* i *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* koji sačinjavaju jogurtnu kulturu. To su termofilne bakterije koje se optimalno razmnožavaju pri višim temperaturama (37-45°C) te mliječnu kiselinu proizvode brže nego mezofilne bakterije. Tijekom fermentacije, *S. thermophilus* na početku raste brže, koristeći esencijalne amino kiseline koje proizvodi *L. bulgaricus*. Zauzvrat, *S. thermophilus* proizvodi mliječnu kiselinu koja snizuje pH na optimalnu razinu za rast *L. bulgaricus*. Proizvedena mliječna kiselina i manje količine mravlje kiseline stimuliraju rast *L. bulgaricus*. *S. thermophilus* je inhibirana pri pH 4,2-4,4, dok laktobacili toleriraju niži pH 3,5-3,8. Nakon otprilike 3 sata fermentacije, broj ovih dvaju mikroorganizama trebao bi biti jednak. pH vrijednost komercijalnog jogurta kreće se od 3,7-4,3 (Tamime i Robinson, 2007).

Za zajednički rast u mlijeku preporučuje se temperatura od 42 °C i mješovita kultura s omjerom navedenih vrsta 1:1, te količina inokuluma oko 2 %. Jogurt tada za nekoliko sati može sadržavati 0,90 - 0,95 % mliječne kiseline. U zajedničkom rastu tih bakterija razvoj kiseline u mlijeku puno je brži i nastaje više mliječne kiseline nego djelovanjem svake vrste posebno što je vidljivo na slici 1 (Tratnik i Božanić, 2012).



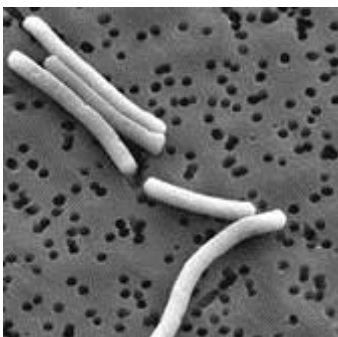
Slika 1. Tvorba mliječne kiseline u mlijeku (40°C) djelovanjem kulture (2 %) pojedinačnih bakterija ili mješovite jogurtne kulture (Tamime i Robinson, 2007)

Streptococcus thermophilus je gram-pozitivni anaerob koji ne stvara spore i ubraja se u homofermentativne bakterije (slika 2). Klasificira se kao termofil i raste na temperaturi od 45 °C. Većina sojeva ove vrste ne raste ispod 15 °C. Starter sojevi *S. thermophilus* osjetljivi su na natrijev klorid (NaCl) te ne rastu u mediju koji sadrži više od 2 % NaCl-a (Batt i Tortorello, 2014).



Slika 2. *Streptococcus thermophilus* (Anonymous 1)

Lactobacillus delbrueckii subsp. *bulgaricus* je gram pozitivni fakultativni anaerob koji ne stvara pore i ubraja se u homofermentativne bakterije (slika 3). Klasificira se kao termofil budući da raste pri 40-50°C. Proizvodi polisahardine sluzave tvari, koje poboljšavaju viskoznost fermentiranih mlijeka, u puno većoj koncentraciji od streptokoka (Tratnik i Božanić, 2012).



Slika 3. *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (Anonymous 2)

2.4.2. Kiselo mlijeko

Mezofilne bakterije mliječne kiseline rastu u temperaturnom rasponu između 10 i 40 °C, a optimalna temperatura rasta im je od 20 do 30 °C (ovisno o vrsti ili soju). Mezofilne su kulture bakterija mliječne kiseline za proizvodnju fermentiranih mlijeka sastavljene od homofermentativnih vrsta *Lactococcus* te od heterofermentativnih bakterija *Leuconostoc*. One neposredno utječu na konzistenciju proizvoda te na okus, miris i svojstvenu aromu. Trajanje fermentacije djelovanjem mezofilnih bakterija mliječne kiseline ovisi o temperaturi inkubacije, ali znatno i o aktivnosti i količini korištene kulture. U svakom slučaju, ta fermentacija je vrlo dugotrajna te se najčešće provodi preko noći (Tratnik i Božanić, 2012).

2.5. Prehrambena i zdravstvena vrijednost fermentiranih mlijeka

Prehrambena vrijednost fermentiranih mlijeka ponajviše ovisi o sastavu sirovine upotrijebljene za njihovu proizvodnju, ali i o promjenama koje nastaju tijekom fermentacije. Nastale promjene i stvoreni metaboliti ovise o sastavu korištene mikrobne kulture koja utječe na nova svojstva fermentiranog mlijeka u odnosu na svježe. Fermentirano mlijeko ima puno veću hranjivu i zdravstvenu vrijednost od svježeg mlijeka.

Koncentracija laktoze u mlijeku tijekom fermentacije se smanjuje za 20-30 %, a nastaje uglavnom mliječna kiselina, iako je moguća pojava i drugih kiselina ovisno o vrsti mikrobne kulture. Mliječna kiselina potiče peristaltiku crijeva, sekreciju sluzi i korisnih enzima te udvostručuje resorpciju kalcija, fosfora i ostalih hranjivih tvari. Mliječna kiselina također produljuje trajnost proizvoda, a konzumiranjem fermentiranog mlijeka snizuje se pH-vrijednost probavnog sustava i sprječava rast nepoželjne mikroflore te potiče rast poželjne. Zbog smanjenog udjela laktoze, fermentirani mliječni napici važni su u prehrani ljudi koji ju teško probavljaju (Tratnik i Božanić, 2012).

Proteini mlijeka fermentacijom se djelomično razgrađuju do aminokiselina te tako postaju lakše probavljivi, a struktura koaguluma proteina je lakše pristupačna djelovanju enzima ljudskog probavnog sustava. Zbog toga su fermentirani mliječni napici i dvaput probavljiviji od izvornog svježeg mlijeka pa su važni u prehrani male djece i starijih osoba.

Mliječna mast i mineralne tvari mlijeka ostaju gotovo nepromijenjeni. Udjel nekih vitamina tijekom aktivnosti bakterija mliječne kiseline u mlijeku može se povećati (kolin, folna

kiselina, vitamini B-kompleksa), ali se udjel mnogih vitamina bitno smanjuje jer neke bakterije mliječne kiseline troše veliku količinu vitamina za svoj rast ili se oni djelomično razgrade tijekom toplinske obrade mlijeka (Tratnik i Božanić, 2012).

Mliječni proizvodi fermentirani probiotičkim bakterijama imaju dodatnu zdravstvenu vrijednost. Naime, uslijed ubrzanog tempa života, stresa, korištenja antibiotika i raznih drugih lijekova kod ljudi može doći do poremećaja ravnoteže crijevne mikroflore. Tada se smanjuje broj korisnih bakterija, dok istovremeno raste broj bakterija čiji produkti metabolizma mogu biti toksični, pa mogu izazvati probavne probleme (Isolauri i sur., 2004).

Danas se smatra da fermentirani proizvod mora sadržavati minimalno 10^6 živih stanica/mL (tzv. probiotički minimum) da bi imao terapijska svojstva. Posebna je prednost probiotičih bakterija što dobro preživljavaju u ljudskom probavnom sustavu, povećavaju aktivnost enzima važnih za probavu, a smanjuju aktivnost fekalnih enzima i onih koji sudjeluju u kancerogenim procesima (Tratnik i Božanić, 2012).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Materijali

Za eksperimentalni dio ovog rada korišteno je kozje mlijeko s farme koza Bresnica (Cvetković, Jastrebarsko), kravlje mlijeko proizvođača OPG Šmida (Vrbovec) te ovčje mlijeko s otoka Paga. Za fermentaciju mlijeka korištene su jogurtna kultura Vital Culture sachets (DuPont-Danisco, Francuska) i mezofilna kultura Probat 222 LYO 100 DCU (DuPont-Danisco, Francuska).

3.2. Metode rada

3.2.1. Priprema mlijeka za fermentaciju

Prilikom zaprimanja uzoraka, mlijeku je najprije izmjerena pH vrijednost, kako bi se utvrdilo da je uzorak odgovarajuće svježine i kvalitete. Mlijeko je tada obrano na najviše 1 % mliječne masti, a nakon toga pasterizirano na temperaturi od 90 °C/ 10 min. Mlijeko je tada podijeljeno na dva dijela, a mali dio pasteriziranog mlijeka (cca 200 mL) ostavljen je za provođenje fizikalno-kemijskih analiza (mikrobiološke analize, određivanje laktoze, reologije, boje i dr). Mlijeko je čuvano u hladnjaku.

3.2.2. Proizvodnja jogurta

Temperirano mlijeko inokulirano je dodatkom 2 % jogurtne kulture dostatne za fermentaciju 2 L mlijeka. Nakon naciepljivanja, volumen od po 200 mL mlijeka razliven je u sterilne bočice te je izmjerena pH vrijednost u jednoj od bočica. Bočice su zaklopljene, obavijene parafinskim filmom i stavljene u termostat na temperaturu od 41°C do postizanja pH vrijednosti od 4,6. pH vrijednost u bočicama izmjerena je prvi put nakon 2 sata, a zatim u manjim razmacima po procjeni. Po postizanju pH 4,65 bočice su izvađene iz termostata i hladene pod mlazom tekuće vode te smještene u hladnjak do analize.

3.2.3. Proizvodnja kiselog mlijeka

Temperirano mlijeko inokulirano je dodatkom 2 % kulture Probat 222 LYO 100 DCU, dostatne za fermentaciju 1,5 L mlijeka. Bočice su zaklopljene, obavijene parafinskim filmom i stavljene u termostat na temperaturu od 28°C do postizanja pH vrijednosti od 4,6. pH u bočicama izmjeren je prvi put nakon 2 sata, a zatim u manjim razmacima po procjeni. Po postizanju pH vrijednosti 4,65 bočice su izvađene iz termostata i hladene pod mlazom tekuće vode te smještene u hladnjak do analize.

3.2.4. Određivanje kiselosti

pH vrijednost je negativni logaritam koncentracije vodikovih iona u otopini te je mjerilo za aktivnu kiselost svježeg mlijeka. Koncentracija vodikovih iona najčešće se mjeri pH-metrom ili titracijskim metodama (Božanić i sur., 2010)

3.2.4.1. Određivanje kiselosti mlijeka i fermentiranih mliječnih napitaka pH-metrom

Potreban pribor: - pH-metar

-destilirana voda

-staklena čaša od 100 mL

-staničevina

Potrebni reagensi: - otopina KCl

- puferi za kalibraciju elektrode pH-metra

Postupak:

Elektrodu pH-metra potrebno je isprati destiliranom vodom i posušiti staničevinom. Prije početka provođenja analize potrebno je provesti kalibraciju elektrode pH metra prema uputama proizvođača.

Elektrodu potom lagano uroniti u čašu s mlijekom ili fermentiranim mliječnim napitkom, lagano miješati i očitati kad se pH vrijednost ustali. Nakon očitavanja elektrodu pH-metra

potrebno je dobro isprati destiliranom vodom, pobrisati staničevinom, uroniti u otopinu KCl-a te tako čuvati do iduće upotrebe.

3.2.4.2. Titracijske metode

Titracijska kiselost određuje se titracijom mlijeka s otopinom NaOH određenog molariteta uz indikator fenolftalein. Metoda po Soxhlet-Hankelu u Republici Hrvatskoj predstavlja referentnu titracijsku metodu za određivanje stupnja kiselosti mlijeka i mliječnih proizvoda. Rezultati se izražavaju u stupnjevima po Soxhlet-Henkelu (°SH).

Izračun kiselosti mlijeka radi se prema izrazu:

$$^{\circ}\text{SH} = \text{mL NaOH} \times 2 \times f,$$

gdje $a = \text{mL } 0,1 \text{ NaOH}$ utrošenih za neutralizaciju uzorka, a $f = \text{faktor otopine NaOH} = 0,1 \text{ mol/L} = 1$.

Potrebni reagensi: 0,1 M otopina NaOH

2%-tna alkoholna otopina fenolftaleina

5%-tna otopina kobaltovog sulfata

Postupak: Prvo je potrebno pripremiti standardnu boju koja predstavlja nijansu do koje je mlijeko potrebo titrirati. Standardna boja priprema se tako da se u jednu Erlenmeyerovu tikvicu otpipetira 20 mL analiziranog mlijeka i doda 1 mL 5%-tne otopine kobaltovog sulfata. U drugu Erlenmeyerovu tikvicu otpipetira se 20 mL mlijeka prethodno temperiranog na 20°C i 1 mL 2%-tne otopine fenolftaleina. Smjesa se promiješa i titrira 0,1 M natrijevom lužinom do postizanja blijedo ružičaste boje koja se uspoređuje sa standardnom bojom i mora trajati 1 minutu.

3.2.4.3. Određivanje titracijske kiselosti fermentiranih mliječnih proizvoda

S obzirom da fermentirani mliječni proizvodi imaju gušću konzistenciju potrebno ih je razrijediti destiliranom vodom prije titracije.

Postupak: U dvije Erlenmeyerove tikvice odvagane se po 20 g fermentiranog napitka i razrijedi s 20 mL destilirane vode. U prvu tikvicu se otpipetira 1 mL otopine kobaltovog sulfata te ta otopina služi za orijentaciju za boju do koje se mora titrirati, a u drugu Erlenmeyerovu tikvicu otpipetira se 2 mL fenolftaleina i titrira s 0,1 M NaOH do postizanja boje jednake onoj u prvoj tikvici, koja mora biti stabilna 2 min.

3.2.5. Određivanje udjela mliječne masti u mlijeku metodom prema Gerberu

Metoda se zasniva na kemijskom otapanju proteina mlijeka (kazeina) i zaštitne opne globula mliječne masti sumpornom kiselinom. Radi lakšeg izdvajanja masti dodaje se izoamilni alkohol koji snizuje površinsku napetost mlijeka. Mast se odvoji centrifugiranjem i količina se očita pri točno određenoj temperaturi (65°C) (Božanić i sur., 2010).

Potreban pribor:

- umjereni butirometar za mlijeko
- čep za butirometar
- nastavak za umetanje čepa u butirometar
- stalak za butirometre
- centrifuga po Gerberu
- vodena kupelj podešena na 65°C (ukoliko centrifuga nije temperirana)
- pipeta od 11 mL za mlijeko
- pipeta od 10 mL za sumpornu kiselinu
- pipeta od 1 mL za izoamilni alkohol

Potrebni reagensi:

- koncentrirana sumporna kiselina (Gerberova; $\varphi = 1,815-1,820$)
- izoamilni alkohol (za analize mlijeka i mliječnih proizvoda)

Postupak rada:

U butirometar se prvo otpipetira sumporna kiselina, zatim mlijeko i na kraju izoamilni alkohol. Mlijeko se u butirometar pušta tako da mlaz mlijeka ne udara izravno u sumpornu kiselinu, nego u stjenku butirometra iznad sloja sumporne kiseline jer bi u protivnom došlo do karbonizacije mliječnog šećera i proteina te stvaranja tamnog prstena koji bi otežavao očitavanje butirometra i mogao dati netočan rezultat. Mlijeko se u dodiru sa sumpornom kiselinom gruša i tako načini čvršći sloj na koji se zatim može brže pustiti ostala količina mlijeka. U pravilno napunjenom butirometru raspoznaju se tri oštro odijeljena sloja reagensa i mlijeka koji su očuvali svoju izvornu boju. Butirometar se zatvori čepom i promućka. Tijekom mućkanja svijetlosmeđa boja sadržaja butirometra postupno prelazi u tamnosmeđu, što je znak završetka reakcije i mućkanja. Zatim slijedi postupak centrifugiranja 5-10 minuta pri brzini od 1100-1200 o/min. Udio mliječne masti u mlijeku očitava se nakon sigurnog zagrijavanja sadržaja butirometra na $65\pm 2^{\circ}\text{C}$. Dužina stupca masti u kapilari odgovara udjelu masti u mlijeku izraženom u masenim postocima.

3.2.6. Određivanje udjela proteina modificiranom metodom po Kjeldalhu

Metoda se temelji na razgradnji organskih tvari sulfatnom kiselinom u prisutnosti katalizatora na visokoj temperaturi, oslobađanju alkalnih produkata, destilaciji i titraciji oslobođenog amonijaka (Božanić i sur., 2010).

Pribor:

- analitička vaga
- porculanski tarionik s tučkom
- filter papir

- pipeta od 15 mL
- bireta od 50 mL - menzura od 50 mL
- menzura od 100 mL
- Erlenmeyerova tikvica od 100 mL
- kivete za Kjeltec sustav od 500 mL
- blok za spaljivanje – Tecator
- Digestion system 6 1007 Digester
- sustav za destilaciju – Destilling Unit 1002
- digestor

Kemikalije:

- koncentrirana sumporna kiselina (H_2SO_4) 95 – 98 %
- trikloroctena kiselina (TCA) – 15 %
- natrijev hidroksid 40 % (400 g NaOH se otopi u 1 L redestilirane vode)
- katalizator: kalijev sulfat (K_2SO_4), otopina $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$
- borna kiselina 4 % s indikatorom: bromkrezol-zeleno/metilno crvenilo
- 0,1 M otopina HCl
- destilirana voda 20

Priprema uzorka: Na analitičkoj vagi izvaže se 5 g uzorka i prebaci u kivetu za Kjeltec sustav. U kivetu se zatim doda 40 mL TCA i ostavi 5 minuta da smjesa izreagira tj. da se formira talog, a potom se dobivena mješavina propusti kroz filter papir i skupi se filtrat. Proteinski precipitat zadržan na stjenkama kivete ispiri se s 10 mL TCA, promiješa i propusti kroz isti filter papir. Filtrat treba biti bistar i bez krutih čestica. Uz rukavice otporne na djelovanje kiseline pincetom uzeti filter papir i pri tome paziti da se ne izgubi dio taloga. Papir s talogom presaviti kao rolicu, ubaciti u kivetu, dodati katalizator (12 g K_2SO_4 i 1 mL otopine $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$) i 20 mL koncentrirane sumporne kiseline. Smjesa u kiveti se zatim lagano miješa kako bi se uzorak potpuno navlažio kiselinom. Zbog burne reakcije koja nastaje uslijed dodatka koncentrirane sumporne kiseline, kiselina se dodaje u digestoru.

Postupak: Kiveta za Kjeltce sustav s pripremljenim uzorkom stavi se na nosač bloka za spaljivanje na koju se zatim montira vakuum-kapa. Sve zajedno stavljeno je na blok za spaljivanje (slika 4.) te se temperatura postupno pojačava do 400 °C kako bi se spriječilo pretjerano pjenjenje uzorka. Spaljivanje je trajalo oko 120 minuta. Prvih pola sata spaljivanje se provodi uz maksimalan protok vode, a kasnije uz smanjeni. Uzorak se spaljuje dok otopina ne postane bistra, bez promjene boje i bez neizgorenih crnih komadića uzorka. Spaljeni uzorak se zatim zajedno s nosačem vadi iz bloka za spaljivanje i hladi na sobnoj temperaturi. Postupak spaljivanja zbog sigurnosnih razloga provodi se u digestoru. U ohlađeni uzorak zatim je dodano 80 mL destilirane vode te je kiveta postavljena na svoje mjesto u sustav za destilaciju. U Erlenmeyerovu tikvicu dodano je 50 mL 4% borne kiseline (uz indikator bromkrezol zeleno / metilno crvenilo) te je tikvica postavljena na podignuto postolje u destilacijskom sustavu tako da je destilacijska cjevčica uronjena u otopinu. Zatim su spuštene sigurnosna vratašca i pokrenut je destilacijski sustav koji dozira 65-70 mL 40 % NaOH u kivetu s uzorkom, a nakon toga počinje destilacija koja traje otprilike 4 minute.

Pred kraj destilacije se spusti postolje za Erlenmeyerovu tikvicu i nastavi destilacija još par sekundi da se ispere cjevčica. Destilat u Erlenmeyerovoj tikvici je zelene boje što ukazuje na prisutnost amonijaka (slika 5). Dobiveni destilat se zatim titrira otopinom 0,1 M HCl do promjene zelene boje u nježno ružičastu boju. U svakoj seriji ispitivanja provodi se i slijepa proba, tako da se u kivetu stavi filter papir, katalizatori i 20 ml koncentrirane H₂SO₄ te provede isti postupak kao i za uzorak.



Slika 4. Prikaz Kjeltce kiveta s uzorcima u bloku za spaljivanje (vlastita fotografija)



Slika 5. Prikaz destilacije metodom po Kjeldalhu (vlastita fotografija)

Udio proteinskog dušika računat je prema formuli:

$$\% N = [1,4007 * (V - V_s) * c(\text{HCl})] / m$$

gdje je: V – utrošeni mL 0,1 M otopine HCl za titraciju uzorka

V_s – utrošeni mL 0,1 M otopine HCl za titraciju slijepe probe

c(HCl) – 0,1 mol L⁻¹

m – masa uzorka u gramima.

Udio proteina računat je prema izrazu: % proteina = % N x F

F – faktor za preračunavanje % dušika u proteine (6,38 za kazein i kazeinate)

3.2.7. Određivanje udjela laktoze u mlijeku metodom prema Loof- Schoorlu

Laktoza je disaharid sastavljen od molekula α-D-glukoze i β-D-galaktoze, a naziva se još i mliječni šećer jer je prisutna u mlijeku sisavaca. Budući da se stajanjem razgrađuje pod utjecajem mikroorganizama prisutnih u mlijeku, udio laktoze najbolje je određivati u svježem mlijeku.

Potreban pribor:

-vaga

-povratno hladilo

- 2 tikvice s brušenim grlom od 300 mL

-grijač

-štoperica

- 2 pipete od 1 mL

-4 pipete od 20 mL

Potrebni reagensi:

-Luffova otopina

-0,1 M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

- 1 M otopina kalijevog jodida

-25 % otopina sumporne kiseline

-2 % otopina škroba

Postupak:

U tikvicu s brušenim grlom otpipetira se 1 mL uzorka mlijeka. Zatim se otpipetira 24 mL destilirane vode i 25mL Luffove otopine. Tikvica se priključi na povratno hladilo i kuha uz lagano vrenje točno 10 minuta (nakon što prva kap kapne natrag u tikvicu). Tada se tikvica skine, ohladi pod mlazom tekuće vode pa se u otopinu otpipetira 15 mL 20%- tne otopine kalij jodida. Zatim se oprezno, uz miješanje, otpipetira 25 mL 25%-tne otopine sumporne kiseline. Izlučeni jod titrira se sa 0,1 mol/L Na- tiosulfatom tako dugo dok boja uzorka ne prijeđe u žutu. Zatim se otpipetira 1 mL svježe pripremljene 2%-tne otopine škroba i lagano nastavi titracija Na-tiosulfatom sve do prijelaza tamnoplave u putenastu boju koja se treba zadržati nekoliko minuta. U račun se uzima u obzir zbroj utrošenih mililitara tiosulfata u obje titracije.usporedno se radi slijepa proba gdje se umjesto 1 mL uzorka i 24 destilirane vode otpipetira 25 mL destilirane vode, a dalje se sve radi na isti način kao i s uzorkom (modifikacija prema Trajković i sur., 1983)

3.2.8. Određivanje udjela suhe tvari u mlijeku i fermentiranom mlijeku direktnom metodom za određivanje ukupne suhe tvari (sušenje u sušioniku)

Metoda se temelji na isparavanju vode iz uzorka za analizu sušenjem u sušioniku pri konstantnoj temperaturi od 102 ± 2 °C do konstantne mase (Božanić i sur., 2010).

Pribor:

- analitička vaga
- eksikator s učinkovitim sredstvom za izvlačenje vlage
- sušionik s temperaturom održavanom na 102 ± 2 °C na cijelom radnom prostoru
- aluminijske posudice s poklopcem
- kvarcni pijesak
- hvataljka za posudice
- pipeta od 10 mL

Postupak: U čiste i oprane aluminijske posudice stavljen je kvarcni pijesak te su posudice zajedno s poklopcem stavljene u sušionik na sušenje pri temperaturi od 102 ± 2 °C. Nakon sušenja posudice s pripadajućim poklopcima oprezno su prenesene u eksikator kako bi se ohladile do sobne temperature. Ohlađene posudice s poklopcima izvagane su i zapisane su odvage. U ohlađene i izvagane posudice otpipetirano je 10 mL uzorka mlijeka (sirutke) odnosno odvagano 3 do 5 g jogrta i kiselog mlijeka te su posudice s poklopcima stavljene u sušionik na sušenje 2 sata na 102 ± 2 °C. Nakon sušenja posudice su izvadene i stavljene u eksikator kako bi se ohladile i mogle izvagati. Postupak je ponavljan do postizanja konstantne mase ili do povećanja mase. Izračun udjela suhe tvari izvodi se prema formuli:

$$\% \text{ suhe tvari} = (\text{zadnja odvaga} - \text{prazna posudica}) / \text{odvaga uzorka} \times 100$$

3.2.9. Određivanje sinereze fermentiranog mlijeka

Aparatura i pribor:

-žlica

-digitalna vaga (KERNKB, Balingen, Njemačka)

-filter papir

-lijevak

-menzura od 25 mL

Postupak: 30 g fermentiranog mlijeka odvagano na filter papiru, zajedno s lijevkom, postavljeno je na grlo menzure volumena od 25 mL. Potom je sve skupa stavljeno u hladnjak na stajanje, pri temperaturi od +4°C, tijekom pet sati, nakon čega je zabilježen volumen sirutke koja se skupila u menzuri (Reiner i sur., 2010).

3.2.10. Određivanje koncentracije mineralnih tvari u mlijeku i fermentiranom mlijeku

U postupcima pripreme uzoraka i standarda korištena je kiselina HNO₃ (65%, v/v) i vodikov peroksid H₂O₂ (30%, v/v) (Kemika d.o.o., Hrvatska). U analizama je korištena ultra-čista voda (18 MΩxcm) dobivena sustavom pročišćavanja NIRO VV UV UF 20 (Nirosta d.o.o. Water Technologies, Osijek, Croatia).

Koncentracije mineralnih tvari prisutnih u kravljem, kozjem i ovčjem mlijeku te fermentiranim napitcima određene su primjenom tehnike induktivno spregnute plazme s masenom detekcijom (ICP - MS). Postupak započinje tako da se uzorci važu u posudicama (2 g) i doda se 1 mL H₂O₂ te 6 mL HNO₃. Mokro spaljivanje uzoraka odvija se u mikrovalnoj pećnici Multiwave 3000 (Anton Paar, Ostfildren, Njemačka) provođenjem digestije u 2 koraka: prvi korak snage 800 W 15 minuta uz zadržavanje 15 minuta te drugi korak snage 0 W 15 minuta. Otopljeni uzorci se prenesu u odmjerne tikvice od 50 mL i do vrha dopune ultra-čistom vodom. Isti postupak koristi se za slijepu probu, ali bez uzorka (Bilandžić i sur., 2014).

Kvantitativna analiza provedena je pomoću metode kalibracijske krivulje. Granice detekcije elemenata su izračunate kao 3 puta standardna devijacija 10 uzastopnih mjerenja slijepe probe

i iznose (mg kg^{-1}): Ca 0.01, Na 0.01, K 0.025, Mg 0.02, Cu 0.01, Fe 0.005, Se 0.001, Zn 0.005 i Mn 0.01.

Koncentracije elemenata mjerene su primjenom instrumenta induktivno spregnute plazme s masenim detektorom model Optima 8000 (Perkin Elmer, Waltham, Massachusetts, SAD).

Rezultati koncentracija elemenata obrađeni su statističkim programom Statistica 6.1. (StatSoft Inc., Tulsa, SAD). Koncentracije su izražene kao srednje vrijednosti dobivenih rezultata.

3.2.11. Mikrobiološke analize

Mikrobiološka analiza provedena je na sirovim i pasteriziranim uzorcima svih vrsta mlijeka. Svi uzorci za mikrobiološke analize izuzeti su u sterilnim uvjetima kako bi se spriječila moguća naknadna kontaminacija. Sterilni uvjeti osigurani su suhom i mokrom sterilizacijom svog potrebnog posuđa, te pribora za uzorkovanje i pripremu uzorka. Radne površine sterilizirane su alkoholom i drugim dezinficijensima prije i tijekom mikrobioloških analiza, a kako bi aseptični uvjeti bili što bolji analize su provedene uz otvoreni plamen plamenika. Osoba koja je provodila analiza koristila je sterilne rukavice, zaštitne naočale i sterilnu masku za usta kako ne bi došlo do eventualne kontaminacije od strane analitičara. Za uzorke mlijeka, što podrazumijeva sirovo mlijeko i pasterizirano mlijeko praćena je prisutnost ukupnog broja mikroorganizama, kvasaca i plijesni te enterobakterija (Božanić i sur., 2010).

Pribor:

- laboratorijska vaga
- laboratorijska žlica
- Erlenmeyerova tikvica od 2000 mL
- aluminijska folija
- stakleni štapić
- štapić po Drigalskom
- grijač s magnetnom miješalicom
- autoklav

- infuzijske boce s čepovima
- epruvete s metalnim čepovima
- stalak za epruvete
- Erlenmeyerova tikvica od 300 mL
- staklena čaša od 300 mL
- staklena zrnca
- mikropipete od 1000 μ L i 100 μ L
- vortex mješač
- laboratorijski tronožac
- Bunsenov plamenik
- staklene i plastične Petrijeve zdjelice
- vodena kupelj s tresilicom
- termostat
- brojač kolonija

Kemikalije:

- natrijev klorid, NaCl
- destilirana voda
- dehidrirane hranjive podloge:- Tryptic Glucose Yeast Agar, Biolife, Milano - Sabourad Dextrose Agar CAF 50, Biolife, Milano - Violet Red Biel Glucose Agar, Biolife, Milano

Priprema decimalnih razrjeđenja

Potrebni pribor: - Mikropipeta (100-1000 μ L)

- Sterilni nastavci za mikropipetu
- Vorteks

Iz homogeniziranog uzorka mlijeka sterilnom mikropipetom 1 mL uzorka prenese se u epruvetu s 9 mL sterilne fiziološke otopine. Nastalo razrjeđenje dobro se homogenizira na vorteks mješaču te se iz te epruvete, čistim sterilnim nastavkom za mikropipetu 1 mL homogeniziranog razrjeđenja prenese u epruvetu s 9 mL sterilne fiziološke otopine. Postupak se ponavlja dok se ne dobije željeni broj decimalnih razrjeđenja. Mikrobiološka analiza navedenih uzoraka provodila se primjenom direktne metode nacjepljivanja decimalnih razrjeđenja na odgovarajuće hranjive podloge i inkubacijom na prikladnim temperaturama.

Očitavanje rezultata

Po završetku zadane inkubacije broje se narasle kolonije. Za brojenje se odabiru one podloge na kojima je naraslo od 30 do 300 kolonija. Izračuna se broj naraslih kolonija po mL odnosno CFU (colony forming unit)/mL po formuli:

$$\text{CFU/mL} = \text{broj kolonija} / \text{nasaden volumen} \times \text{recipročna vrijednost decimalnog razrjeđenja}$$

3.2.12. Određivanje reoloških svojstava mlijeku i fermentiranom mlijeku

Potrebni pribor: -čaha od 100 mL

-rotacioni reometar (Rheometric Scientific RM-180, Rheometric, Inc., Piscataway, SAD)

Postupak: Mjerenje viskoznosti provedeno je na rotacionom reometru koji se sastoji od cilindričnog vretena (br. 1 ϕ 30 mm, l = 45 mm) i vanjskog plašta (br. 1, ϕ 32,54 mm) u koji se stavi uzorak od 32 mL. Za tijelo uređaja pričvrsti se cilindrično vreteno s vanjskim plaštom u kojem se nalazi uzorak jogurta. Time se omogući da tijekom rotiranja konstantnom brzinom vreteno bude uronjeno u uzorak. Za mjerenje obrnutog momenta koji se javlja na rotirajućem vretenu korišteno je relativno obrtanje mjerne osovine u odnosu na pogonsku osovinu. Uređaj potencijometar vezan je na dinometar, prima podatke o relativnom obrtanju, pri čemu se obrtni moment pretvara u električni signal koji se prevodi u digitalnu vrijednost koja se očitava na zaslonu uređaja. Mjerenje viskoznosti provedeno na uzorcima mlijeka i fermentiranih napitaka u području brzine smicanja od 100 do 1290 s⁻¹.

3.2.13. Određivanje boje mlijeka i fermentiranog mlijeka

Mjerenje boje provedeno je pomoću uređaja Spectrophotometer CM-3500d (Konica Minolta, Nizozemska). Određivana su tri parametra boje: L (svjetlina), a (zeleno) i b (žuto). Prije svakog mjerenja instrument je standardiziran s bijelom i crnom keramičkom pločicom. Mjerenje je provedeno postavljanjem uzorka mlijeka i fermentiranih proizvoda veličine otprilike 1 x 1 cm. Uzorak se poklopi te se na računalnom programu pokrene očitavanje.

3.2.14. Senzorska ocjena mlijeka i fermentiranog mlijeka

Senzorska (organoleptička) analiza je znanstvena disciplina koja se koristi u svrhu mjerenja, analize, interpretacije reakcija na karakteristična svojstva namirnica koja se određuju uz pomoć mirisa, okusa, dodira ili sluha.

U ovom istraživanju skupina sastavljena od 5 panelista ocjenjivala je uzorke jogurta i kiselog mlijeka od kravljeg, ovčjeg i kozjeg mlijeka. Senzorski parametri koji su se pratili kao mjerilo su: izgled, boja, konzistencija, miris, te okus jogurta, a koristila se metoda bodovanja s ponderiranim bodovima (Božanić i sur., 2010). Obrazac za ocjenjivanje uzoraka jogurta i kiselog mlijeka prikazan je u tablici 2.

Tablica 2. Obrazac za senzorsku ocjenu fermentiranih mliječnih proizvoda sustavom od 20 ponderiranih bodova (Pravilnik, 2004)

OSOBI NE	NAJVIŠI BROJ BODOVA	POSTIGNUT BROJ BODOVA		Komentar
Izgled	1			
Boja	1			
Konzistencija	4			
Miris	2			
Okus	12			
Ukupno	20			

Statistička obrada podataka

U statističku obradu svih podataka uključeno je računanje srednje vrijednosti tri paralelna mjerenja te standardne devijacije kao mjere raspršenosti rezultata oko srednje vrijednosti.

Srednja vrijednost: $\bar{x} = \sum x_i / n$

Standardna devijacija: $\sigma^2 = \sum (x - x_i)^2 / n - 1$

3.2.15. Prihvatljivost jogurta i kiselog mlijeka

Testiranje potrošača se provodi u svrhu ocjene prihvatljivosti proizvoda i provodi se s većom grupom ispitanika koji nisu prethodno testirani niti imaju potrebnu izobrazbu. Prilikom takvog ocjenjivanja koristi se hedonistička skala po Peryamu s devet mogućih odgovora koja ima jednostavnu primjenu i omogućuje statističku obradu rezultata (Vahčić i sur., 1993; Lim i sur., 2009). Skupina studenata i zaposlenika PBF-a ocjenjivala je prihvatljivost uzoraka jogurta i kiselog mlijeka od kravljeg, ovčjeg i kozjeg mlijeka. Do početka isprobavanja, uzorci su čuvani u hladnjaku pri 4 °C. Uzorci su bili kodirani s randomiziranim troznamenkastim kodovima. Uzrocima se ocjenjivao okus, miris, konzistencija i ukupan dojam. Uzorci kojima se dodjele ocjene manje od 7 ne smatraju se prihvatljivima (Božanić i sur., 2001; Vahčić i sur., 1993).

4.REZULTATI I RASPRAVA

Cilj ovog rada bio je proizvesti jogurt i kiselo mlijeko od kravljeg, kozjeg i ovčjeg mlijeka te ih međusobno usporediti. Provedene su fizikalno- kemijske, reološke i mikrobiološke analize uzoraka sirovog i pasteriziranog mlijeka. Nakon provedene fermentacije, provedene su fizikalno-kemijske, reološke i senzorske analize uzoraka jogurta i kiselog mlijeka. Također, proveo se i test prihvatljivosti jogurta i kiselog mlijeka od strane potrošača budući da je mišljenje potrošača veoma bitno kod stavljanja novog proizvoda na tržište. Cilj je bio ispitati prihvatljivost fermentiranih proizvoda od ovčjeg i kozjeg mlijeka u odnosu na kravlje, s obzirom da je proizvodnja tih napitaka relativno slabo zastupljena, a ta mlijeka poznata su po svojoj terapijskoj i nutritivnoj vrijednosti.

Rezultati fizikalno-kemijskih analiza sirovog, pasteriziranog mlijeka, jogurta i kiselog mlijeka od kravljeg, kozjeg i ovčjeg mlijeka prikazani su u tablicama 3, 4 i 5.

Rezultati reoloških analiza sirovog i pasteriziranog mlijeka, jogurta i kiselog mlijeka od kravljeg, kozjeg i ovčjeg mlijeka prikazani su dijagramima, slike 7, 8, 9 i 10.

Rezultati vezani uz boju mlijeka i fermentiranih napitaka prikazani su u tablici 9, a rezultati vezani uz mikrobiološke analize sirovog i pasteriziranog mlijeka u tablici 6.

Nadalje, u tablicama 7. i 8. te na slici 11, prikazane su prosječne ocjene dobivene pri senzorskom ocjenjivanju uzoraka jogurta i kiselog mlijeka od kravljeg, kozjeg i ovčjeg mlijeka, a prihvatljivost potrošača prikazana je dijagramima, slike 12 i 13.

4.1. Fizikalno-kemijske analize mlijeka i fermentiranih mlijeka

Tablica 3. Prikaz prosječnog sastava i svojstava sirovog i pasteuriziranog mlijeka, te jogurta i kiselog mlijeka od kravljeg, kozjeg i ovčjeg mlijeka

	KRAVLJE MLIJEKO	KOZJE MLIJEKO	OVČJE MLIJEKO
pH sirovo mlijeko	6,63 ± 0,12	6,70 ± 0,06	6,62 ± 0,03
°SH sirovo mlijeko	8,20 ± 0,20	9,60 ± 1,22	9,50 ± 0,71
m.m neobrano mlijeko (%)	5,00 ± 0,00	3,93 ± 0,95	7,95 ± 0,07
m.m obrano mlijeko (%)	0,75 ± 0,25	0,70 ± 0,20	0,80 ± 0,30
laktoza (%)	5,05 ± 0,55	4,16 ± 0,07	4,69 ± 0,00
proteini (%)	2,65 ± 0,31	4,66 ± 0,46	4,94 ± 0,80
suha tvar (%)	12,61 ± 1,17	11,23 ± 0,40	14,33 ± 1,54
pH jogurt	4,62 ± 0,03	4,65 ± 0,03	4,61 ± 0,02
°SH jogurt	45,20 ± 0,25	45,80 ± 0,00	47,00 ± 1,41
pH kiselo mlijeko	4,62 ± 0,04	4,60 ± 0,02	4,65 ± 0,02
°SH kiselo mlijeko	47,80 ± 0,20	52,80 ± 0,13	44,6 ± 4,80
sinereza jogurt (mL)	12,00 ± 2,00	14,00 ± 0,00	10,00 ± 7,07
sinereza kiselo mlijeko(mL)	11,00 ± 2,00	11,00 ± 1,00	10,90 ± 6,08

Po dobivenim rezultatima može se zaključiti da je pH vrijednost svih uzoraka bila slična i u skladu s očekivanim vrijednostima prema kojima se aktivna kiselost mlijeka zbog puferskih osobina mlijeka kreće u užim granicama, u rasponu između 6,5 i 6,7 (Bajt i sur., 1998). Dobiveni rezultati pH-vrijednosti u skladu su i s istraživanjem skupine autora (Nguyen i sur., 2018) gdje su dobivene slične vrijednosti.

Prema Pravilniku (2017 b) sirovo mlijeko mora zadovoljavati sljedeće kriterije:

- za kravlje mlijeko ima kiselinski stupanj od 6,0 do 6,8 °SH, a pH vrijednost od 6,5 do 6,7 i da ima negativnu reakciju na alkoholnu probu sa 72% etilnim alkoholom,

- za ovčje mlijeko ima kiselinski stupanj od 8,0 do 12,0 °SH, a pH vrijednost od 6,5 do 6,8
- za kozje mlijeko ima kiselinski stupanj od 6,5 do 8,0 °SH, a pH vrijednost od 6,4 do 6,7.

Prema dobivenim rezultatima prikazanim u Tablici 3 može se zaključiti kako sirovo kravlje mlijeko ima odgovarajuću pH vrijednost, ali °SH je nešto viši od očekivanih vrijednosti ($8,2 \pm 0,2$). Kozje mlijeko također ima odgovarajuću pH vrijednost, dok je °SH vrijednost nešto viša ($9,6 \pm 1,22$). Ovčje mlijeko ima odgovarajuće i °SH i pH vrijednosti. Dobiveni rezultati u skladu su s referentnim rezultatima (Öner i sur., 2010) prema kojima kravlje i kozje mlijeko također imaju nešto višu °SH vrijednost. Iako se titracijska kiselost mlijeka najčešće kreće u rasponu 6,5- 7,5 °SH, ona može biti i u puno širem rasponu u pojedinim uzorcima ovisno o puferskom kapacitetu mlijeka, čime se mogu objasniti dobivene razlike (Božanić i sur., 2010).

Udio mliječne masti u neobranom kravljem i ovčjem mlijeku nešto je viši od očekivane vrijednosti (5% u odnosu na očekivanu literaturnu vrijednost 3,7% za kravlje mlijeko i 7,95% u odnosu na 7,2% za ovčje mlijeko), dok je udio mliječne masti u kozjem mlijeku u skladu s očekivanim vrijednostima prema (Bylund, 2003). Udio masti u uzorcima je u skladu s trenutno važećim Pravilnikom o utvrđivanju sastava sirovog mlijeka (2017b). Treba istaknuti da je upravo mliječna mast najpromjenjiviji sastojak u mlijeku prema literaturnim navodima (Tratnik i Božanić, 2012).

Udio laktoze u sve tri vrste mlijeka u skladu je s očekivanim vrijednostima navedenim u postojećoj stručnoj literaturi (Bylund, 2003). Najveći udio laktoze imali su uzorci kravljeg mlijeka s prosječnom vrijednosti oko 5,05 % što je u skladu s referentnom literaturom (Nguyen i sur., 2018). Slijede uzorci ovčjeg mlijeka s 4,69 %, a najmanje laktoze imali su uzorci kozjeg mlijeka, 4,16 %. Dobiveni rezultati u skladu su s navodima iz literature prema kojima kravlje mlijeko sadrži više laktoze u odnosu na ovčje mlijeko (Nguyen i sur., 2018). Kravlje mlijeko imalo je nešto više laktoze od očekivanih literaturnih navoda, prema kojima kravlje mlijeko prosječno sadrži oko 4,8 % laktoze, a kozje mlijeko imalo je manje laktoze od očekivanih literaturnih vrijednosti od oko 4,7 % (Bylund, 2003). Također, udio laktoze u kravljem i kozjem mlijeku u skladu je s rezultatima dobivenim u istraživanju skupine autora (Tratnik i sur., 2006) prema kojem je kravlje mlijeko prosječno imalo 4,98 %, a kozje 4,34 % laktoze. Laktoza ili mliječni šećer važan je izvor energije. Pospješuje djelovanje probavnog

sustava i povećava sposobnost organizma za vezanje fosfora i kalcija. Laktoza je disaharid koji se sastoji od glukoze i galaktoze. Slatkoća joj iznosi 1/5 slatkoće saharoze i mlijeku daje blago slatkast okus. Fermentacijom dio laktoze (23-30 %) prelazi u mliječnu kiselinu (75-95 %), ali i u niz drugih spojeva tijekom heterofermentativnoga mliječno-kiselog vrenja (Božanić i sur., 2018). Za razliku od mliječne masti, udio laktoze u mlijeku najmanje je promjenjiv (Tratnik i Božanić, 2012).

Što se tiče udjela proteina, uzorci kravljeg mlijeka imali su prosječno 2,65 % proteina što je niže od uvriježene prosječne vrijednosti (3,5 %) (Tratnik i Božanić, 2012). Također, udio proteina u kravljem mlijeku niži je i od rezultata dobivenih u istraživanju skupine autora (Tratnik i sur., 2006). S druge strane, uzorci kozjeg i ovčjeg mlijeka imali su prosječno 4,66 %, odnosno 4,94 % proteina što je više od očekivane prosječne vrijednosti (3,6%, odnosno 4,6%). Na temelju udjela proteina u ovčjem mlijeku, može se zaključiti da je ovčje mlijeko bilo s početka laktacije, s obzirom da prema literaturnim navodima ovčje mlijeko na početku laktacije sadržava minimalnu količinu proteina koja iznosi oko 4,3 %, a prema kraju laktacije količina proteina povećava se čak do 7,6% (Antunac i Lukač Havranek, 1999). U istraživanju skupine autora (Nguyen i sur., 2018) udio proteina za kravlje i kozje mlijeko bio je veći od dobivenih rezultata, dok je udio proteina za ovčje mlijeko bio u skladu s dobivenim vrijednostima te je iznosio 4,8 %. Sastav mlijeka ovisi o brojnim čimbenicima, poput dobi pasmine stoke i zdravstvenom stanju, stadiju laktacije, načinu i vrsti hranidbe u sezonskim razdobljima te mužnji (Tratnik, 1998). Tim čimbenicima mogu se pripisati razlike između dobivenih rezultata i očekivanih referentnih vrijednosti.

Udio suhe tvari u uzorcima kravljeg mlijeka iznosio je 12,61 %, kozjeg mlijeka 11,23 %, a ovčjeg mlijeka 14,33 % što je u skladu s dobivenim rezultatima prema kojima kravlje mlijeko ima 12,89 % , a kozje 11,94 % suhe tvari (Božanić i sur., 2018). Rezultatima su u skladu i s istraživanjem skupine autora (Tratnik i sur., 2006) prema kojima kravlje mlijeko ima veći udio suhe tvari u odnosu na kozje mlijeko, ali i s rezultatima iz istraživanja skupine autora (Barukčić i sur., 2017). Također, u skladu su s navodima iz literature prema kojima suha tvar mlijeka iznosi od 11- 14 % (Tratnik i Božanić, 2012). No ipak, udio suhe tvari ovčjeg mlijeka nešto je niži od navedene vrijednosti od 17,12 % tj. 18,66 % (Cais-Sokolińska i sur., 2008; Vianna i sur., 2017). To se može objasniti time što je ovčje mlijeko bilo s početka laktacije kada sadrži minimalnu količinu proteina, kao što je već spomenuto, pa je i suha tvar niža. Ovčje mlijeko sadrži najveći udio suhe tvari jer ujedno sadrži i više proteina i masti u odnosu na kravlje i kozje mlijeko.

Sinereza jogurta od kozjeg mlijeka iznosila je 14 mL, jogurta od kravljeg mlijeka 12 mL, a jogurta od ovčjeg mlijeka 10 mL. Sinereza kiselih mlijeka bila je nešto manja, točnije 11 mL za kozje i kravlje i 10,9 mL za ovčje mlijeko. Dobiveni rezultati u skladu su s rezultatima dobivenim u referentnoj literaturi prema kojoj je kozji jogurt imao najveću sinerezu, a ovčji jogurt najmanju (Domagała, 2009). Dobiveni rezultati u skladu su i s istraživanjem skupine autora (Joon i sur., 2017) prema kojemu je kozji jogurt imao veću sinerezu od kravljeg jogurta. Također, slične vrijednosti sinereze dobivene su i u istraživanju skupine autora (Barukčić i sur., 2017). Prema (Vlahopuolou i sur., 1994) kozje mlijeko tvori gel manje čvrstoće u odnosu na ostala mlijeka, što je u skladu s dobivenim rezultatima. Prema (Domagała, 2009) sinereza ne ovisi samo o količini suhe tvari i udjelu proteina u mlijeku, nego i o vrsti mlijeka i o mikrostrukturi jogurta. Prema (Nguyen i sur., 2018) kozje mlijeko stvara najslabiji gruša zbog manjeg promjera micela kazeina i masnih globula, manjeg udjela kazeina te većeg udjela neproteinskog dušika u odnosu na kravlje i ovčje mlijeko. Navedeno istraživanje u skladu je s podacima iz litererature (Tratnik i Božanić, 2012; Tratnik i sur., 2006) prema kojima kozje mlijeko ima manje kazeina te manji promjer micela zbog puno manje α_s kazeina. Prema (Nguyen i sur., 2018) kozje mlijeko u prosjeku sadrži 8,3-11 % α_s kazeina, dok kravlje i ovčje mlijeko sadrže 33-40% što je uzrok nastanka slabijeg gruša te veće sinereze kozjih fermentiranih proizvoda.

Tablica 4. Prosječni mineralni sastav (mg L^{-1} odnosno $\mu\text{g L}^{-1}$) uzoraka mlijeka i fermentiranih mlijeka

Uzorak	Na [mg L^{-1}]	Mg [mg L^{-1}]	Ca [mg L^{-1}]	Zn [mg L^{-1}]	Se [$\mu\text{g L}^{-1}$]	Fe [$\mu\text{g L}^{-1}$]	Cu [$\mu\text{g L}^{-1}$]
kravlje mlijeko	489,23	140,93	1411,73	4,80	30,88	412,14	58,50
kozje mlijeko	376,10	224,70	1795,18	6,28	42,48	303,38	61,16
ovčje mlijeko	423,59	175,63	1860,84	5,92	46,69	525,06	188,20
kravlji jogurt	470,17	144,07	1570,96	5,64	33,74	437,79	67,36
kozji jogurt	383,23	203,29	1511,23	5,31	46,67	395,27	72,42
ovčji jogurt	427,56	176,92	1885,78	5,99	45,35	486,76	188,57
kravlje kiselo mlijeko	481,18	137,25	1497,84	5,23	31,81	348,68	67,40
kozje kiselo mlijeko	410,43	210,30	1560,33	4,94	22,14	156,90	38,64
ovčje kiselo mlijeko	419,61	174,33	1835,90	5,85	48,02	563,37	187,83

Mineralne tvari mlijeka imaju bitnu nutritivnu i fiziološku važnost u prehrani, jer se nalaze u povoljnom omjeru i obliku koji omogućuju njihovu dobru iskoristivost u ljudskom organizmu. Fiziološka uloga mineralnih tvari u mlijeku važna je za organizam jer uspostavljaju aktivnosti mnogih enzima, održavaju kiselo-lužnatu ravnotežu i osmolalnost, te omogućavaju prijenos esencijalnih tvari kroz staničnu membranu (Tratnik i Božanić, 2012). Iz Tablice 4. vidljivo je kako kravlje mlijeko sadrži više natrija u odnosu na ovčje i kozje mlijeko. Kozje mlijeko sadrži više magnezija i cinka, a ovčje mlijeko sadrži najviše kalcija, selena, željeza i bakra. U odnosu na kravlje, ovčje mlijeko sadržava veće količine gotovo svih mineralnih tvari, osim natrija. Uzorci kravljeg mlijeka bili su najsiromašniji magnezijem, cinkom i željezom. Uz manja odstupanja, dobiveni rezultati su uskladu s literaturnim podacima (Božanić i sur., 2018) kao i s rezultatima istraživanja skupine autora (Tratnik i sur. 2006) prema kojem kozje mlijeko ima veće količine magnezija u odnosu na kravlje mlijeko. Prema skupini autora (Atamian i sur., 2014) ovčje mlijeko imalo je više kalcija, natrija i magnezija u odnosu na kravlje i kozje mlijeko. U istraživanju skupine autora (Souza i sur., 2018) spominje se kako su uzorci kravljeg mlijeka bili bogatiji kalcijem i natrijem u odnosu

na kozje mlijeko, dok je kozje mlijeko sadržavalo više kalija, magnezija i cinka. Razlike u mineralnom sastavu mlijeka i fermentiranih napitaka su neznatne, što je i očekivano s obzirom da mineralne tvari mlijeka tijekom fermentacije ostaju gotovo nepromijenjene (Tratnik i Božanić, 2012). Ipak, skupina autora (Souza i sur., 2018) spominje veće količine svih minerala u jogurtima u odnosu na mlijeka iz kojih su pripremljeni.

Tablica 5. Prikaz prosječne dužine trajanja fermentacije (u satima) prilikom proizvodnje jogurta i kiselog mlijeka

Uzorak	Kozji jogurt	Kravlji jogurt	Ovčji jogurt	Kozje kiselo mlijeko	Kravlje kiselo mlijeko	Ovčje kiselo mlijeko
Trajanje (sat)	4,4	4	5,5	12,5	11	11

Fermentacija se provodila do postizanja pH-vrijednosti 4,6. Fermentacija jogurta od svih vrsta mlijeka u prosjeku je trajala između 4-5 sati, a fermentacija kiselog mlijeka 11-12 sati, kao što je vidljivo u Tablici 5. Nije bilo većih odstupanja između uzoraka i dobiveni rezultati u skladu su s podacima iz literature prema kojima fermentacija djelovanjem mezofilnih bakterija mliječne kiseline traje znatno duže od fermentacije djelovanjem termofilnih bakterija, te se najčešće provodi tijekom noći (Tratnik i Božanić, 2012). Do manjih odstupanja došlo je kod ovčjeg jogurta i kozjeg kiselog mlijeka, kod kojih je fermentacija u prosjeku trajala sat vremena duže jer je pad pH-vrijednosti tijekom fermentacije bio sporiji. Tome je vjerojatno pridonio veći udjel proteina u ovčjem i kozjem mlijeku koje stoga ima veći puferski kapacitete pa i pH vrijednost sporije pada. Dobivena odstupanja u skladu su s literaturnim navodima prema kojima je fermentacija kozjeg mlijeka u prosjeku trajala sat vremena duže od fermentacije kravljeg mlijeka (Božanić i sur., 2002a; Nguyen i sur., 2018).

4.2. Mikrobiološke analize mlijeka

Osim fizikalno-kemijskih i higijenska svojstva sirovog mlijeka temeljni su pokazatelj njegove kvalitete, prikladnosti za preradu i zdravstvene ispravnosti. Stoga su mikrobiološke analize sastavni dio ispitivanja mlijeka i mliječnih prerađevina. Na rast i razvoj raznih patogena u sirovom mlijeku utječe velik broj čimbenika, poput veličine stada, higijene tijekom mužnje, zemljopisno područje i sezona, ali i način uzorkovanja mlijeka (Kirin, 2001).

Sirovo mlijeko zdrave krave, osim primarne mikroflore, može biti izvor mnogih mikroorganizama koji potječu iz okoline s kojom mlijeko dolazi u doticaj tijekom i nakon mužnje. Ti naknadno dospjeli mikroorganizmi čine sekundarnu mikrofloru koja kontaminira mlijeko. Najčešće su to bakterije, rjeđe kvasci, a samo ponekad i plijesni. Sirovo mlijeko kojemu je nakon mikrobiološke analize ustanovljeno više od $100.000 \text{ CFU mL}^{-1}$ već upućuje na nedostatak higijenskih uvjeta.

Zahvaljujući prirodnom imunoaktivnom sustavu mlijeka (imunoglobulini, laktoperoksidaza i drugi) te lag-fazi bakterija, sirovo je mlijeko neko vrijeme zaštićeno od porasta broja stanica što se naziva bakteriocidna faza mlijeka. Ona obično traje 2-5 sati, što također ovisi o brojnim uvjetima. Higijenska kvaliteta sirovog mlijeka određuje i njegov zdravstveni status i sigurnost, posebice u uvjetima upotrebe i konzumacije sirovog mlijeka i proizvoda dobivenih njegovom preradom. To je naročito važno u suvremenim trendovima zdrave prehrane jer sve educiraniji potrošači traže upravo sirovo mlijeko i njegove proizvode ("bio", "eko" i sl.) (Kirin, 2001).

Tablica 6. Prikaz prosječnog broja poraslih kolonija ($\log \text{CFU mL}^{-1}$) ukupnog broja mikroorganizama, kvasaca i plijesni te enterobakterija u uzorcima sirovog i pasteriziranog mlijeka.

Uzorak	Ukupan broj mikroorganizama ($\log \text{CFU mL}^{-1}$)	Kvasci i plijesni ($\log \text{CFU mL}^{-1}$)	Enterobakterije ($\log \text{CFU mL}^{-1}$)
Sirovo kravlje mlijeko	5,99	3	2,88
Pasterizirano kravlje mlijeko	2,65	< 10	< 10
Sirovo kozje mlijeko	5,03	3,51	5,18
Pasterizirano kozje mlijeko	3,48	< 10	< 10
Sirovo ovčje mlijeko	6,28	5	3,48
Pasterizirano ovčje mlijeko	3,23	2,82	1,68

Kao mjera higijenske kvalitete sirovog mlijeka, u mljekarskoj se praksi i u zakonskim propisima uzima ukupan broj mikroorganizama u 1 mL sirovog mlijeka (Kirin, 2001).

Prema Pravilniku u utvrđivanju sastava sirovog mlijeka (2017b) mlijeko se razvrstava u dva razreda (I, II) ovisno u ukupnom broju mikroorganizama kao što je vidljivo na slici 6. Uzorci sirovog kravljeg i ovčjeg mlijeka po tome spadaju u II. kategoriju, s obzirom da je u uzorku kravljeg sirovog mlijeka mikrobiološkom analizom utvrđeno više od 100.000 mikroorganizama u 1 mL, odnosno više od 1 500.000 u sirovom ovčjem mlijeku. Sirovo kozje mlijeko spada u I. kategoriju s obzirom da je broj mikroorganizama bio manji od 1 500.000 (Tablica 6.)

Vrsta mlijeka	Razred	Geometrijski prosjek	
		Mikroorganizmi (u 1 mL)	Somatske stanice (u 1 mL)
Mlijeko	I	≤ 100.000	≤ 400.000
	II	> 100.000	> 400.000
Ovčje i kozje mlijeko	I	≤ 1.500.000	
	II	> 1.500.000	

Slika 6. Prikaz razvrstavanja sirovog mlijeka u razrede (Pravilnik, 2017b)

Prema dobivenim rezultatima može se zaključiti, da su u pogledu broja prisutnih kolonija roda *Enterobacteriaceae* pasterizirano kravlje i kozje mlijeko u skladu s kriterijima Zakona o higijeni hrane (NN 81/2013) i EU odredbe 2073/2005. S druge strane, uzorak pasteriziranog ovčjeg mlijeka nije u skladu s kriterijima, odnosno broj poraslih kolonija (CFU/mL⁻¹) bio je nešto veći od dozvoljenih vrijednosti.

U pogledu broja prisutnih kolonija kvasaca i plijesni, uzorci pasteriziranog kravljeg i kozjeg mlijeka u skladu su s očekivanim vrijednostima (nije došlo do porasta kolonija), dok uzorak ovčjeg pasteriziranog mlijeka ima povišen broj izraslih kolonija kvasaca i plijesni. Nešto veće vrijednosti zabilježene u ovčjem mlijeku mogu se pripisati kontaminaciji prilikom transporta. U usporedbi s bakterijama, kontaminacija sirovog mlijeka kvascima i plijesnima je rjeđa. Mnogi kvasci proizvode alkohol i CO₂ te u mlijeku stvaraju okus po kvascima. Izvori kontaminacije mogu biti podovi, zidovi, police, sirarski pribor i oprema. Plijesni uzrokuju kvarenje mlijeka koje se manifestira širokim rasponom metaboličkih produkata koji su uzrok stranog okusa i mirisa mlijeka. Osim toga, plijesni mogu biti uzrokom vidljivih promjena boje i teksture mlijeka (Samaržija i sur., 2007).

4.3. Reološka svojstva uzoraka mlijeka i proizvedenih fermentiranih mlijeka

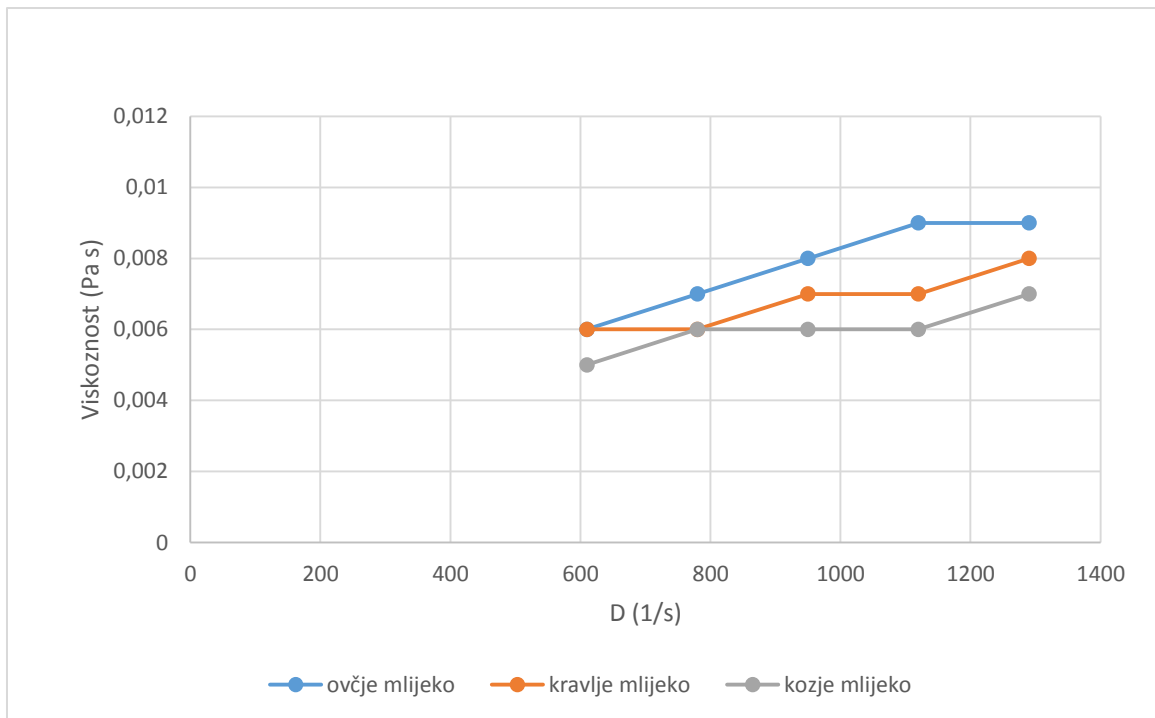
Viskoznost je svojstvo tekućine da se opire promjeni položaja svojih molekula, odnosno trenje koje djeluje unutar tekućine kao otpor tečenju. Deformacija izazvana djelovanjem sile može se izraziti kao gradijent brzina između dviju ploha, a izraz koji to opisuje poznat je kao Newtonov zakon:

$$\tau = \mu \times \gamma$$

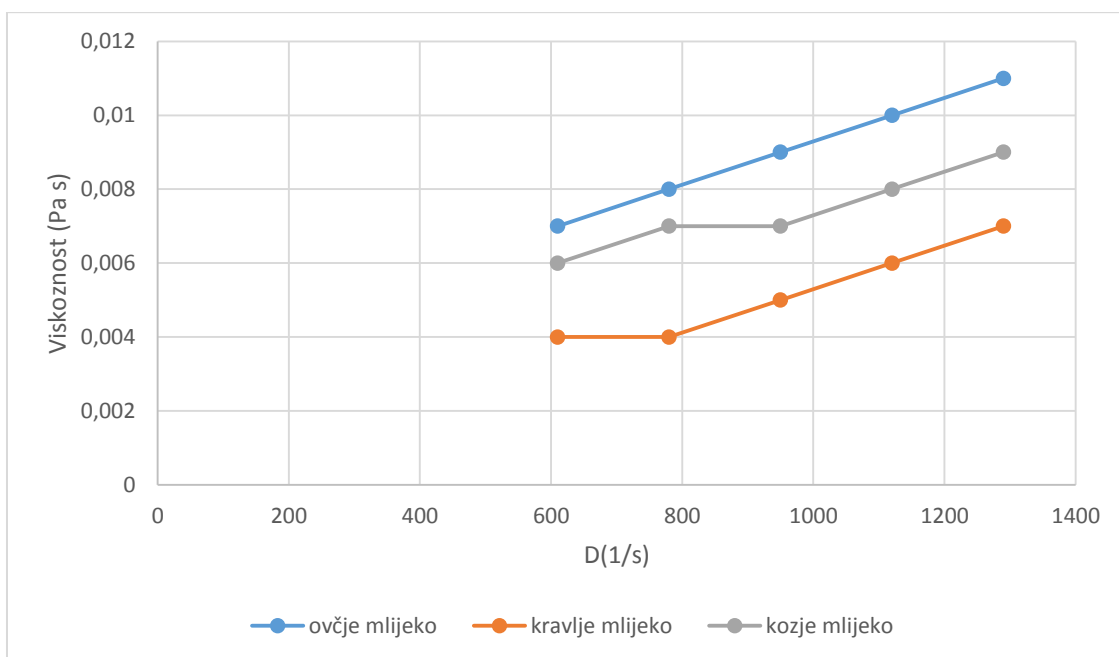
gdje je: τ = smično naprezanje (Pa) μ = viskoznost (Pa s) γ = brzina smicanja (s^{-1}) (Lovrić, 2003).

Na vrijednosti viskoznosti utječu čimbenici kao sastav mlijeka, toplinska obrada, način standardizacije, odabrana mikrobna kultura, količina inokuluma, temperatura i trajanje fermentacije. Viskoznost jogurta i kiselog mlijeka, kao kompleksni reološki parametar kvalitete, predstavlja osnovu za optimizaciju tehnološkog procesa, procesnu kontrolu i potrošačku prihvatljivost proizvoda (Zamberlin i sur., 2007).

Na slikama 7, 8, 9 i 10 vidljivo je kako fermentirana mlijeka imaju veću viskoznost u odnosu na mlijeka, neovisno o vrsti mlijeka, dok između fermentiranih mlijeka veću viskoznost imaju jogurti u odnosu na kiselo mlijeko. Tome može biti uzrok različita mikrobna kultura korištena za fermentaciju, različite temperature pri kojima se provodila fermentacija ili razlike prilikom dužine trajanje iste. Prema istraživanju skupine autora (Barukčić i sur., 2017) viskoznost kefira proizvedenog pri 25 °C bila je veća od viskoznosti kefira proizvedenog na 35 °C što se razlikuje od dobivenih rezultata s obzirom da su jogurti fermentirani na višoj temperaturi od kiselih mlijeka. Navodi iz literature spominju da neki sojevi termofilnih bakterija mliječne kiseline proizvode polisaharidne sluzave tvari, koje poboljšavaju viskoznost fermentiranih mlijeka. Lactobacili ih proizvode puno više od streptokoka ili mezofilnih bakterija mliječne kiseline (Tratnik i Božanić, 2012; Farnworth, 2005; Barukčić i sur., 2017).



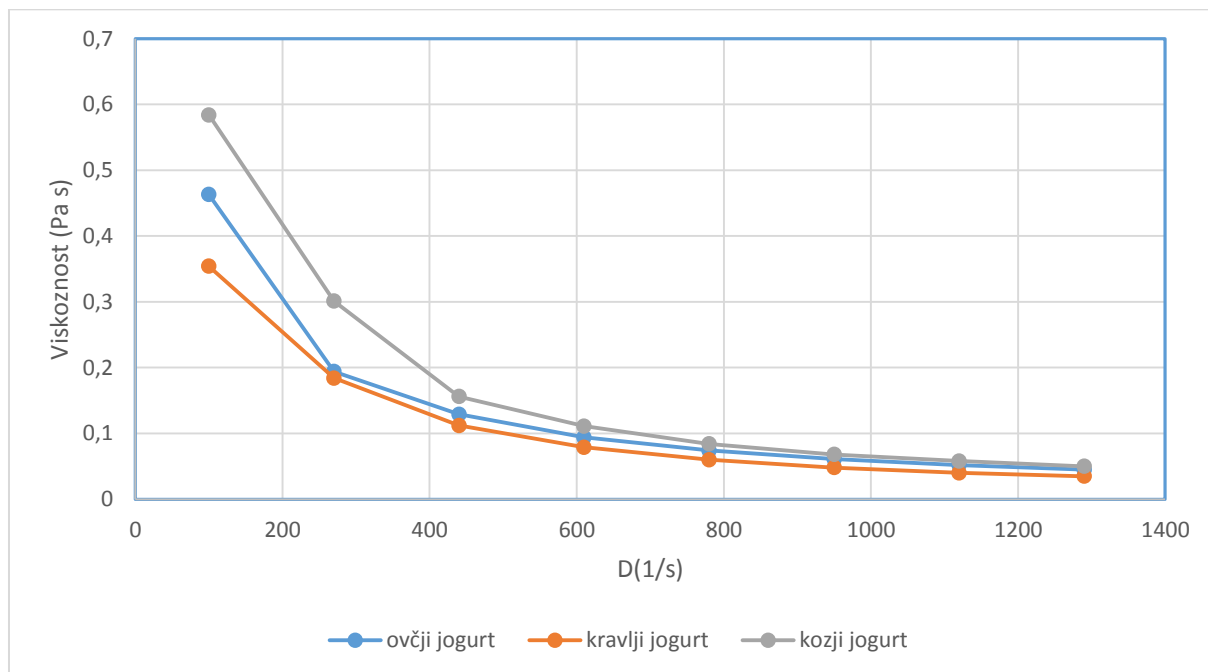
Slika 7. Viskoznost (Pa s) uzoraka sirovog ovčjeg, kravljeg i kozjeg mlijeka



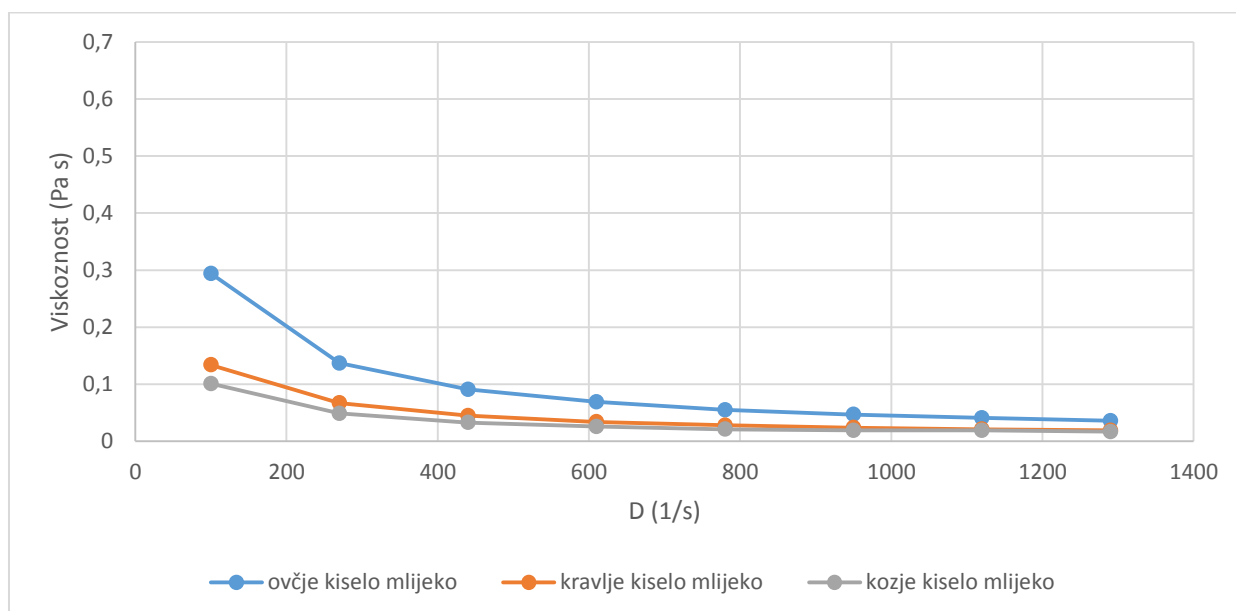
Slika 8. Viskoznost (Pa s) uzoraka pasteuriziranog ovčjeg, kravljeg i kozjeg mlijeka

Prema dobivenim rezultatima može se zaključiti da je najveću viskoznost imao uzorak ovčjeg mlijeka bez obzira da li je bilo toplinski obrađeno ili ne. S obzirom da na viskoznost utječe i sastav mlijeka, to se može objasniti upravo većim udjelom suhe tvari, proteina i masti u

ovčjem mlijeku u odnosu na kravlje i kozje mlijeko i dobiveni rezultati su u skladu s navodima iz literature (Božanić i sur., 2018; Nguyen i sur., 2018).



Slika 9. Viskoznost (Pa s) uzoraka jogurta od ovčjeg, kravljjeg i kozjeg mlijeka



Slika 10. Viskoznost (Pa s) uzoraka kiselog mlijeka od ovčjeg, kravljjeg i kozjeg mlijeka

Najveću viskoznost među uzorcima jogurta imao je uzorak kozjeg jogurta, a najmanju uzorak kravljeg jogurta, što se razlikuje od podataka prikazanih u ranijim istraživanjima, prema kojima je viskoznost kravljeg jogurta veća od viskoznosti kozjeg jogurta (Božanić i sur., 2000). U istraživanju provedenom od strane skupine autora (Tratnik i sur., 2006) navodi se kako su fermentirani proizvodi od kozjeg mlijeka imali značajno manju viskoznost u odnosu na fermentirane proizvode od kravljeg mlijeka te kako su ujedno bili i manje čvrstoće. Dobiveni rezultati razlikuju se i od rezultata istraživanja (Domagała, 2009) prema kojemu je viskoznost u uzorcima jogurta opadala od ovčjeg, preko kravljeg do kozjeg jogurta. Prema istraživanju skupine autora (Vianna i sur., 2017) jogurt od ovčjeg mlijeka imao je veću viskoznost u odnosu na kravlje mlijeko, što je u skladu s dobivenim rezultatima. Dobiveni rezultati razlikuju se od istraživanja skupine autora (Nguyen i sur., 2018) prema kojem ovčji jogurt ima bolju teksturu i viskoznost u odnosu na kozji jogurt s obzirom na veći udio proteina i sposobnost tvorbe čvršćeg gela u odnosu na kozji jogurt. Navodi se i kako kozji jogurt ima najporozniju mikrostrukturu gela i najmanju veličinu čestica, a ovčji jogurt najgušću mikrostrukturu gela. Kod kiselog mlijeka, najviskozniji je bio uzorak ovčjeg kiselog mlijeka, a najmanju viskoznost imao je uzorak kozjeg kiselog mlijeka. Upravo je kozje kiselo mlijeko imalo i najveću sinerezu prilikom provođenja fizikalno-kemijskih analiza. Dobiveni rezultati u skladu su s navodima skupine autora (Nguyen i sur., 2018) prema kojima, kao što je već navedeno, ovčje mlijeko ima gušću mikrostrukturu gela i veći udio kazeina u odnosu na kozje mlijeko.

4.4. Senzorsko ocjenjivanje proizvedenih fermentiranih mlijeka

Senzorsku analizu proveli su izučeni panelisti koji su ocjenjivali izgled, boju, konzistenciju, miris i okus uzoraka jogurta i kiselih mlijeka od kravljeg, ovčjeg i kozjeg mlijeka. Rezultati provedene analize prikazani su u tablici 7. i 8.

Tablica 7. Prosječan broj ponderiranih bodova postignutih pri senzorskoj analizi uzoraka jogurta od kozjeg, kravljeg i ovčjeg mlijeka

Uzorak	Izgled	Boja	Konzistencija	Miris	Okus
	(max 1)	(max 1)	(max 4)	(max 2)	(max 12)
Kravljji jogurt	0,87 ± 0,21	0,96 ± 0,13	3,31 ± 0,54	1,64 ± 0,53	9,41 ± 1,81
Kozji jogurt	0,96 ± 0,10	0,98 ± 0,06	3,02 ± 1,12	1,73 ± 0,50	9,04 ± 2,05
Ovčji jogurt	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	3,63 ± 0,48	1,88 ± 0,25	10,00 ± 0,82

Tablica 8. Prosječan broj ponderiranih bodova postignutih pri senzorskoj analizi uzoraka kiselog mlijeka od kozjeg, kravljeg i ovčjeg mlijeka

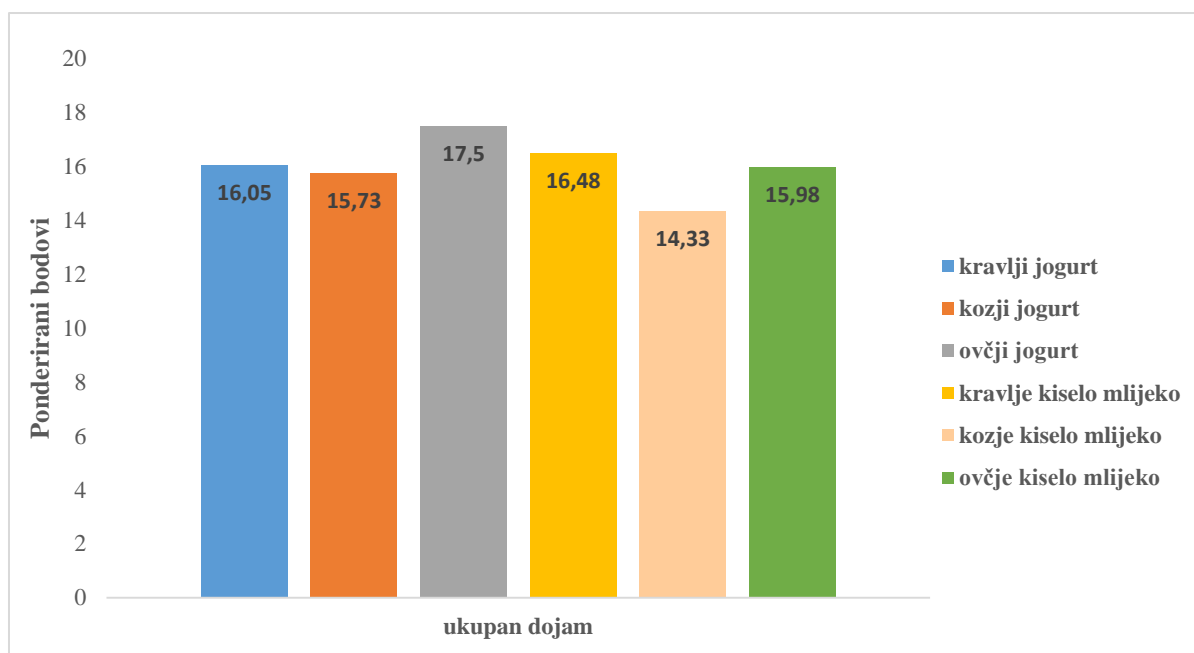
Uzorak	Izgled	Boja	Konzistencija	Miris	Okus
	(max 1)	(max 1)	(max 4)	(max 2)	(max 12)
Kravlje kiselo mlijeko	0,85 ± 0,21	0,96 ± 0,14	3,21 ± 0,81	1,55 ± 0,52	9,92 ± 2,15
Kozje kiselo mlijeko	0,76 ± 0,24	0,89 ± 0,16	2,17 ± 1,09	1,56 ± 0,50	8,96 ± 1,71
Ovčje kiselo mlijeko	0,95 ± 0,10	1,00 ± 0,00	3,25 ± 0,96	2,00 ± 0,00	8,75 ± 2,06

Na temelju prosječnih bodova postignutih pri senzorskoj analizi vidljivih u Tablici 7, može se zaključiti da je ovčji jogurt postigao najviše bodova za sve parametre u odnosu na ostale jogurte. U istraživanju skupine autora (Zamberlin i Samaržija, 2017) ovčjem jogurtu

dodjeljeni su slični bodovi za sve parametre, uz manja razlike za parametre boju i izgled. Upravo je ovčji jogurt u analizi određivanja boje imao najmanju L vrijednost, što ukazuje na to da je bio manje bijel u odnosu na ostala dva uzorka, a postigao je više bodova za parametar okusa. Najmanje bodova za izgled, boju i miris dobio je jogurt od kravljeg mlijeka, a najmanje bodove za konzistenciju i okus dobio je jogurt od kozjeg mlijeka. Dobiveni rezultati u skladu su s rezultatima iz referentne literature prema kojima su fermentirani proizvodi od kozjeg mlijeka lošije ocjenjeni u odnosu na proizvode od kravljeg i ovčjeg mlijeka (Božanić i sur., 2018; Tratnik i sur., 2006). Prema istraživanju (Joon i sur., 2017) kozji jogurt je također postigao manje bodova za konzistenciju u odnosu na kravlje mlijeko. Dobiveni rezultati u skladu su i s istraživanjem skupine autora (Vianna i sur., 2017) prema kojem je jogurt od ovčjeg mlijeka postigao više bodova u odnosu na kravlji jogurt za izgled, aromu, okus i konzistenciju, a i prema (Cais-Sokolinska i sur., 2008) u čijem istraživanju se spominje kako fermentirani proizvodi od ovčjeg mlijeka postižu zadovoljavajuću konzistenciju.

Kod kiselih mlijeka, najviše bodova za sve parametre, osim okusa, postiglo je ovčje kiselo mlijeko (Tablica 8). Također, ovčje kiselo mlijeko imalo je najniže L vrijednosti prilikom određivanja boje. Kozje kiselo mlijeko postiglo je najmanje bodova za izgled, boju i konzistenciju. Kozje kiselo mlijeko imalo je i najveće L vrijednosti u odnosu na ostala kisela mlijeka. Kravlje kiselo mlijeko postigalo najviše bodova za okus (9,92 od 12). Slični rezultati dobiveni su u istraživanju (Nguyen i sur., 2018) prema kojem su fermentirani proizvodi od kozjeg mlijeka postigli puno lošije rezultate u pogledu konzistencije proizvoda u odnosu na fermentirane proizvode od kravljeg i ovčjeg mlijeka. Lošija konzistencija može se povezati i s većom sinerezom te manjom viskoznosti kozjeg kiselog mlijeka u odnosu na druge uzorke, a čemu je uzrok manji udio kazeina u odnosu na kravlje i ovčje mlijeko (Tratnik i Božanić, 2012; Tratnik i sur., 2006) te poroznija mikrostruktura gela (Nguyen i sur., 2018).

S obzirom na provedenu senzorsku analizu, vidljivo je kako kako kozje kiselo mlijeko koje ima najmanju viskoznost, ujedno ima i najmanje bodova za parametar konzistenciju (2,17 od 4), dok ovčje kiselo mlijeko ima najveću viskoznost od kiselih mlijeka, a ujedno i najviše bodova za konzistenciju (3,25 od 4). Time se može zaključiti kako viskoznost ima velik utjecaj na konzistenciju. S druge strane, kod uzoraka jogurta, kozji jogurt koji je imao najveću viskoznost ujedno ima i najmanje bodova za konzistenciju (3,02 od 4) u odnosu na druge jogurte. Prema skupini autora (Nguyen i sur., 2018) vrsta mlijeka iz koje se proizvode fermentirani proizvodi ima značajan utjecaj na konzistenciju i viskoznost proizvoda.



Slika 11. Prikaz ukupnog broja ponderiranih bodova uzoraka jogurta i kiselog mlijeka od kravljeg, kozjeg i ovčjeg mlijeka prilikom senzorske analize

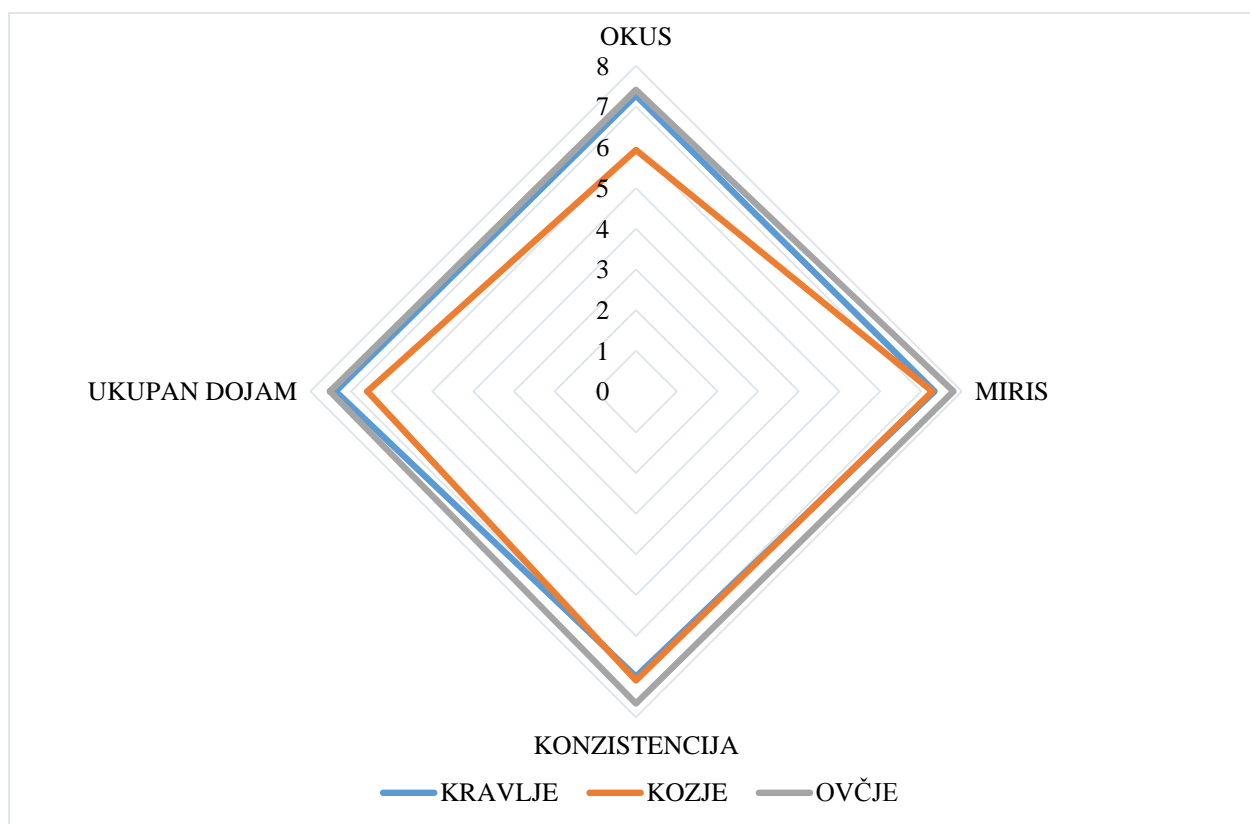
Na Slici 11. vidljivo je kako je prilikom senzorske analize, od svih uzoraka fermentiranih napitaka, najviše ukupnih bodova postigao ovčji jogurt (17,5 od 20). Slijede ga kravlje kiselo mlijeko (16,48) i kravlji jogurt (16,05). Nešto lošije ocjenjeni su uzorci ovčjeg kiselog mlijeka (15,98) i kozjeg jogurta (15,73), dok je najlošije ocijenjen uzorak kozjeg kiselog mlijeka (14,33).

Najčešći komentari ocjenjivača bili su da je ovčji jogurt ugodnog okusa i ugodne konzistencije. U istraživanju autora (Zamberlin i Samaržija, 2017) ovčji jogurt postigao je nešto više bodova za ukupni dojam (18,73 od 20). Dobiveni rezultati u skladu su s istraživanjem skupine autora (Vianna i sur., 2017) prema kojem je ovčji jogurt postigao više bodova za sve parametre, ali i više bodova za ukupan dojam od kravljeg jogurta. Ovčje se mlijeko, najčešće koristi u proizvodnji sira, zbog veće količine željeza koja utječe na izražene oksidativne promjene u mliječnoj masti, što pridonosi jače izraženoj aromi, uz pojavu oštrijeg mirisa i okusa, što većina potrošača sira posebno cijeni (Tratnik i Božanić, 2012).

Na drugom mjestu nalazi se kravlje kiselo mlijeko (16,48 od 20). Najčešći komentari ocjenjivača bili su da je kiselo mlijeko ugodnog okusa i odgovarajuće konzistencije. Slijedi kravlji jogurt s prosječnom ukupnom ocjenom 16,05. Najčešći komentari dobiveni od ocjenjivača bili su da je kravlji jogurt ukusan, ali da fali punoće okusa. Bilo je i nekoliko komentara da je jogurt prekiseo. Slijede ovčje kiselo mlijeko s prosječnim bodovima 15,95 te

kozji jogurt s 15,73. Najčešći komentari ocjenjivača za kozji jogurt bili su da je ugodnog okusa, ali da je miris pomalo neugodan (na kozu). Dobiveni rezultati u skladu su s istraživanjem skupine autora (Nguyen i sur., 2018) prema kojima je ovčji jogurt prilikom senzorske analize postigao bolje rezultate u odnosu na kozji jogurt te se također spominje neodgovarajuća konzistencija kozjeg jogurta. Najmanje bodova postiglo je kiselo mlijeko od kozjeg mlijeka (14,33). Komentari ocjenjivača za kozje kiselo mlijeko bili su da je konzistencija prerijetka i da je došlo do prevelike sinereza, ali da su okus i miris ugodni. Komentari ocjenjivača u skladu su s dobivenim rezultatima, prema kojima kozje kiselo mlijeko ima najveću sinerezu te tvori najslabiji gruš. Dobiveni rezultati u skladu su s rezultatima iz referentne literature prema kojima su fermentirani proizvodi od kozjeg mlijeka lošije ocjenjeni u odnosu na proizvode od kravljeg i ovčjeg mlijeka (Božanić i sur., 2018; Tratnik i sur., 2006). Također, rezultati su u skladu i s istraživanjem skupine autora (Joon i sur., 2017) prema kojem su fermentirani proizvodi od kozjeg mlijeka dobili manje bodova s obzirom na manju čvrstoću i rjeđu konzistenciju koju se smatra nepoželjnom. Dobiveni rezultati u skladu su sa sličnim podacima iz literature, prema kojima je kravljji jogurt postigao bolje ocjene od kozjeg jogurta (Vargas i sur., 2008). Također, rezultati su u skladu i s navodima iz literature (Božanić i sur., 2018) prema kojima razlog lošije senzorske ocjene jogurta od kozjeg mlijeka u odnosu na iste od kravljeg mlijeka može biti u njegovu aminokiselinskom sastavu. Naime, kozje mlijeko sadržava manje treonina koji je najvažniji prekursor nastajanja acetaldehida, najvažnijega hlapljivog sastojka arome u jogurtu.

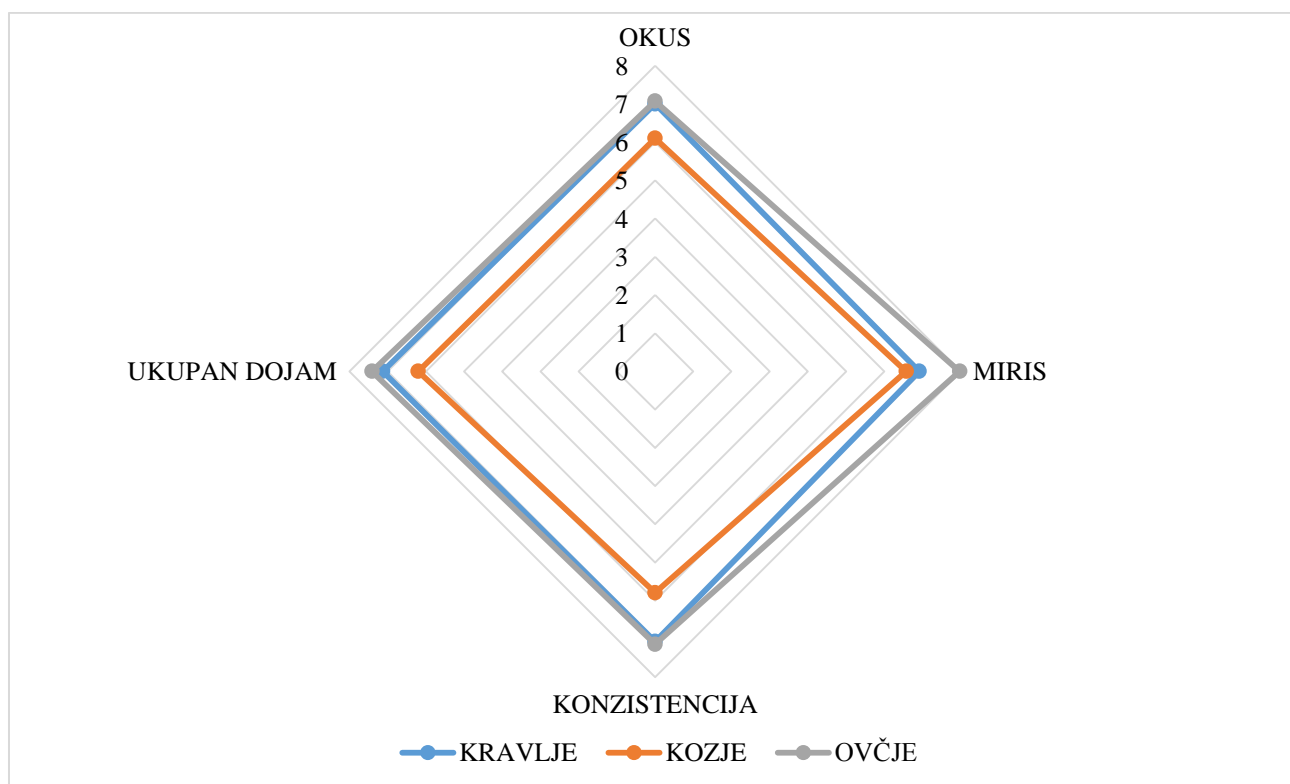
4.5. Prihvatljivost jogurta i kiselog mlijeka



Slika 12. Prikaz prosječnih ocjena prihvatljivosti uzoraka jogurta od kravljeg, kozjeg i ovčjeg mlijeka

Iz Slike 12. može se zaključiti da je najbolje prosječne ocjene prihvatljivosti postigao ovčji jogurt i to za sva svojstva (okus, miris, konzistencija, ukupan dojam). Ukupna ocjena ovčjeg jogurta iznosila je 7,52 od mogućih 9. Najčešći komentari ocjenjivača bili su da je jogurt ugodnog okusa i konzistencije. Slijedi kravljji jogurt, sa ukupnom ocjenom 7,38, a najčešći komentari ocjenjivača bili su da fali punoće okusa. Dobiveni rezultati u skladu su s rezultatima istraživanja skupine autora (Vianna i sur., 2017), ali se razlikuju od od rezultata istraživanja skupine autora (Atamian i sur., 2014) prema kojima je jogurt od kravljeg mlijeka postigao bolje ocjene za sve parametre. Najlošije je ocijenjen kozji jogurt sa 6,6 te se taj uzorak ne smatra prihvatljivim s obzirom da je postigao ocjenu manju od 7. Također, kozji jogurt dobio je najniže ocjene pojedinačno za sva svojstva, što je u skladu s podacima iz literature (Vargas i sur., 2008). Najčešći komentari ocjenjivača bili su da je kozji jogurt

neugodnog mirisa. Dobiveni rezultati u skladu su s ocjenama panela, prema kojima je ovčji jogurt također ocijenjen najbolje, a kozji najlošije.



Slika 13. Prikaz prosječnih ocjena prihvatljivosti uzoraka kiselog mlijeka od kravljeg, kozjeg i ovčjeg mlijeka

Iz slike 13. može se zaključiti da je najbolje ocijenjeno kiselo mlijeko od ovčjeg mlijeka s prosječnom ocjenom 7,41 od mogućih 9. Također, kao i za jogurt, ovčje kiselo mlijeko postiglo je najbolje ocjene za sva svojstva. Slijedi kiselo mlijeko od kravljeg mlijeka s prosječnom ocjenom 7,13. Najlošije je ocijenjeno kiselo mlijeko od kozjeg mlijeka, s prosječnom ocjenom od 6,2 zbog čega se ne bi moglo smatrati prihvatljivim. Također, kao i uzorak kozjeg jogurta, uzorak kozjeg kiselog mlijeka ne smatra se prihvatljivim s obzirom da je postigao ocjenu manju od 7. Najčešći komentari bili su da je konzistencija kozjeg kiselog mlijeka prerijetka, ali da su okus i miris ugodni. Rezultati prihvatljivosti razlikuju se od rezultata dobivenih od strane panela, prema kojem je najbolje ocjene postiglo kiselo mlijeko od kravljeg mlijeka. Dobiveni rezultati u skladu su s rezultatima iz referentne literature prema kojima su fermentirani proizvodi od kozjeg mlijeka lošije ocijenjeni u odnosu na proizvode od kravljeg i ovčjeg mlijeka. Također, spominje se i da je poželjno povećanje suhe tvari kozjeg

mlijeka, dodatkom obranog mlijeka u prahu ili koncentrata proteina sirutke prije fermentacije, kako bi se poboljšala konzistencija (Božanić i sur., 2018).

4.6. Boja mlijeka i fermentiranih mlijeka

Tablica 9. Boja mlijeka i fermentiranih mlijeka izražena kroz srednje vrijednosti svojstava L (svjetlina), a (zeleno) i b (žuto)

Uzorak	Svojstvo boje		
	L vrijednost	a vrijednost	b vrijednost
Sirovo kravlje mlijeko	20,42 ± 1,04	6,31 ± 0,44	33,06 ± 1,15
Pasterizirano kravlje mlijeko	29,92 ± 2,86	3,49 ± 0,66	42,60 ± 1,25
Kravlji jogurt	17,65 ± 2,02	2,49 ± 1,23	28,57 ± 2,36
Kravlje kiselo mlijeko	17,64 ± 0,58	3,58 ± 0,78	28,73 ± 0,65
Sirovo kozje mlijeko	16,56 ± 1,13	6,30 ± 0,12	26,75 ± 1,56
Pasterizirano kozje mlijeko	24,70 ± 0,80	2,97 ± 0,39	37,87 ± 0,51
Kozji jogurt	19,52 ± 0,60	2,79 ± 0,14	31,30 ± 0,97
Kozje kiselo mlijeko	21,12 ± 0,68	2,99 ± 0,17	32,86 ± 1,38
Sirovo ovčje mlijeko	12,97 ± 0,68	7,66 ± 0,38	21,69 ± 1,17
Pasterizirano ovčje mlijeko	18,08 ± 0,11	5,06 ± 0,11	30,03 ± 0,13
Ovčji jogurt	14,44 ± 0,12	3,79 ± 0,63	24,07 ± 0,47
Ovčje kiselo mlijeko	14,49 ± 1,18	4,42 ± 0,00	24,04 ± 1,69

Boja je osjet vida izazvan podraživanjem mrežnice oka elektromagnetskim zračenjem. Ljudsko oko detektira boju pomoću receptora (fotoosjetljivih stanica) štapića i čunjića koji se nalaze u mrežnici oka i živcima su povezani s mozgom. Štapići su receptori osjetljivi na svjetlost, dok su čunjići osjetljivi na boje. Vrijednost L (engl. Lightness) predstavlja svjetlinu boje ili luminanciju i daje skalu neutralne boje od crne do bijele (od 0 do 100 jedinica svjetline) pri čemu je L=100 apsolutno bijelo, a L=0 je apsolutno crno. Dakle, niže vrijednost L ukazuju na tamnije obojenje, a više vrijednosti L ukazuju na svjetlije obojenje. Vrijednost a

predstavlja odnos zelene i crvene komponente, a vrijednost b predstavlja odnos žute i plave komponente. Negativna a vrijednost označava zelenu, a pozitivna vrijednost crvenu boju, dok negativna b vrijednost označava plavu, a pozitivna vrijednost žutu boju (Costa i sur., 2015).

Iz Tablice 9. vidljivo je kako među uzorcima svježeg mlijeka, najveću L vrijednost imalo kravlje mlijeko, što ukazuje na to da je ono imalo najsvjetlije obojenje. Od pasteriziranih mlijeka, najveću L vrijednost imalo je pasterizirano kravlje mlijeko. Dobiveni rezultati nisu u skladu s navodima iz referentne literature, prema kojima su kozje i ovčje mlijeko izrazito bijele boje u odnosu na kravlje zbog toga što je sav β -karoten konvertiran u vitamin A (Božanić i sur., 2018). Također, u istraživanju skupine autora (Atamian i sur., 2014) kozje i ovčje mlijeko bili su bijelje bolje u odnosu na kravlje. Dobivene razlike se mogu objasniti razlikama u kemijskom sastavu mlijeka, načinu hranjenja životinja i periodu laktacije. Također je vidljivo, kako, uz manje iznimke, fermentirana mlijeka imaju niže L vrijednosti od mlijeka. Po tome se može zaključiti kako L vrijednost stajanjem opada, s obzirom da je zbog trajanja fermentacije, mjerenje fermentiranih napitaka provedeno dan nakon mjerenja uzoraka mlijeka. Ipak, od fermentiranih proizvoda najviše L vrijednosti imali su kozji jogurt i kiselo mlijeko, što ukazuje na njegovu bijelju boju u odnosu na kravlji i ovčji jogurt, što je u skladu s literaturom (Atamian i sur., 2014). S obzirom na pozitivne a i b vrijednosti svih uzoraka, može se zaključiti kako svi uzorci sadrže crvene i žute tonove što je u skladu s referentnom literaturom (Atamian i sur., 2014). No, ipak valja primijetiti, kako se a vrijednost smanjuje fermentacijom, odnosno niža je u fermentiranom u odnosu na svježe mlijeko.

5.ZAKLJUČCI

Na temelju dobivenih rezultata fizikalno-kemijskih, reoloških, mikrobioloških i senzorskih analiza na uzorcima kravljeg, kozjeg i ovčjeg mlijeka, jogurta i kiselog mlijeka mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. pH vrijednost svih uzoraka bila je slična i u skladu s očekivanim vrijednostima prema kojima se aktivna kiselost mlijeka zbog puferskih osobina mlijeka kreće u užim granicama, u rasponu između 6,5 i 6,7.
2. Uzorci mlijeka kemijskim sastavom udovoljavaju odredbama Pravilnika o utvrđivanju sastava sirovog mlijeka (NN 27/17) te su u skladu s literaturom. Ovčje mlijeko imalo je najveći udio masti (7,95 %), proteina (4,94 %) i suhe tvari (14,33 %), dok je kravlje mlijeko imalo najveći udio laktoze (5,05%).
3. Iz prosječnog mineralnog sastava uzoraka mlijeka i fermentiranih mlijeka vidljivo je da kravlje mlijeko sadrži više natrija u odnosu na ovčje i kozje mlijeko, kozje mlijeko sadrži više magnezija i cinka, a ovčje mlijeko sadrži najviše kalcija, selena, željeza i bakra što je u skladu s referentnom literaturom.
4. Po dobivenim rezultatima mikrobioloških analiza uzorci kozjeg mlijeka spadaju u I., a uzorci kravljeg i ovčjeg mlijeka u II. kategoriju prema Pravilniku o utvrđivanju sastava sirovog mlijeka (2017b).
5. Na temelju prosječnih bodova postignutih pri senzorskoj analizi može se zaključiti da je ovčji jogurt postigao najviše bodova (17,5 od 20) uz komentare da je ugodnog okusa i konzistencije, dok je najmanje bodova postiglo kozje kiselo mlijeko (14,33 od 20) uz komentare da je konzistencija prerijetka i da je došlo do prevelike sinereze.
6. U testu prihvatljivosti najviše ocjene postigli su ovčji jogurt (7,52 od 9) i ovčje kiselo mlijeko (7,41 od 9), a najlošije su ocjenjeni uzorci kozjeg jogurta (6,6 od 9) i kozjeg kiselog mlijeka (6,2 od 9). Dobiveni rezultati ukazuju da bi se ovčje mlijeko, iako se najčešće koristi u proizvodnji sireva, moglo više koristiti i u izravnoj potrošnji te u proizvodnji fermentiranih proizvoda.
7. Fermentacijom kozjeg mlijeka djelomično se gubi svojstven okus, neprihvatljiv mnogim potrošačima. S obzirom da je glavni nedostatak fermentiranih proizvoda od kozjeg mlijeka bila prerijetka konzistencija, povećanjem suhe tvari tih proizvoda, bilo dodatkom obranog mlijeka u prahu ili koncentrata proteina sirutke poboljšala bi se konzistencija, a proizvod učinio prihvatljiviji potrošačima.

6.LITERATURA

Alichanidis E., Polychroniadou A. (1995) Special features of dairy products from ewe and goat milk from the physicochemical and organoleptic point of view. U: FIL-IDF, Production and utilization of ewe and goat milk. Crete (Greek), 19-21 October, 21-43.

Alichanidis E., Polychroniadou A. (1997) Special features of dairy products from of ewe and goat milk from the physicochemical and organoleptic point of view. *Sheep Dairy News*, **14** (1), 11-18.

Anonymous 1, *Streptococcus thermophilus*, <<https://www.chr-hansen.com/en/search?term=s.thermophilus>> Pristupljeno 20.travanj 2018.

Anonymous 2, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, <http://www.probiotic-cn.com/Lactobacillus_Bulgaricus.html> Pristupljeno 20.travanj 2018.

Antunac, N. i Lukač Havranek, J. (1999) Proizvodnja, sastav i osobine ovčjeg mlijeka. *Mljekarstvo*, **49**(4), 241-254.

Atamian, S., Olabi, A., Kebbe Baghdadi, O., Toufeili, I. (2014) The characterization of the physicochemical and sensory properties of full- fat, reduced- fat and low- fat bovine, caprine, and ovine Greek yogurt (Labneh). *Food Sci Nutr.*, **2**(2), 164-173.

Bajt, N., Golc- Teger, S., Pirkmajer, E. (1998) *Mleko in mlečni izdelki*, Zavod Republike Slovenije za šolstvo, Ljubljana.

Barukčić, I., Gracin, L., Režek Jambrak, A., Božanić, R. (2017) Comparison of chemical, rheological and sensory properties of kefir produced by kefir grains and commercial kefir starter. *Mljekarstvo*, **67**(3), 169-176.

Batt, C., A., Tortorello, M., L. (2014) *Encyclopedia of food microbiology*, 2. izd., Academic Press, London

- Bilandžić, N., Sedak, M., Đokić, M., Solomun Kolanović, B., Varenina, I., Božić, Đ., Končurat, A. (2014) Differences of the essential mineral element levels in the milk of Croatian Coldblood horse and Littoral-Dinaric donkey. *Mljekarstvo*, **64**(1), 12-18.
- Božanić, R., Lisak Jakopović, K., Barukčić, I. (2018) Vrste mlijeka, Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb (u tisku).
- Božanić, R., Tratnik, Lj, Marić, O. (2000) Senzorska svojstva i prihvatljivost jogurta i aromatiziranog jogurta proizvedenog od kozjeg i kravljeg mlijeka. *Mljekarstvo*, **50**, 199-208.
- Božanić, R., Tratnik, L., & Parat, M. (2001) Prihvatljivost jogurta i probiotičkog jogurta od kozjeg mlijeka. *Mljekarstvo*, **51**(4), 317-326.
- Božanić, R., Rogelj, I., Tratnik, LJ. (2002a) Fermentacija i čuvanje probiotičkog jogurta od kozjeg mlijeka. *Mljekarstvo*, **52** (2), 93-111
- Božanić, R., Tratnik, Lj., Dragalić, I. (2002b) Kozje mlijeko: karakteristike i mogućnosti. *Mljekarstvo*, **52** (3), 207-237.
- Božanić, R., Jelčić, I., Bilušić, T. (2010) Analiza mlijeka i mliječnih proizvoda, Plejada, Zagreb.
- Bylund, G.(2003) *Dairy processing handbook*. Tetra Pak Processing Systems AB.
- Cais-Sokolińska, D., Danków, R., Pikul, J. (2008) Physicochemical and sensory characteristics of sheep kefir during storage. *Acta Sci Pol Technol Aliment*, **7**(2), 63-73.
- Costa, M. P., Frasaio, B. S., Silva, A. C. O., Freitas, M. Q., Franco, R. M., Conte-Junior, C. A. (2015) Cupuassu (*Theobroma grandiflorum*) pulp, probiotic, and prebiotic: Influence on color, apparent viscosity, and texture of goat milk yogurts. *J Dairy Sci*, **98**(9), 5995-6003.
- Domagała, J. (2009) Instrumental texture, syneresis and microstructure of yoghurts prepared from goat, cow and sheep milk. *Int J Food Prop*, **12**(3), 605-615.
- Državni zavod za statistiku republike hrvatske (2017) Proizvodnja mlijeka i mliječnih proizvoda. Priopćenje 1.1.25.
- Farnworth, E.R. (2005) Kefir a complex probiotic. *Food Sci Technol* **2**, 1-17.
<https://doi.org/10.1616/1476-2137.13938>

Haenlein, G.F.W. (1992) Goat milk versus cow milk. *Goat Handbook*

IDF Bulletin (2016): The World Dairy Situation 485/2016.

Isolauri, E., Salminen, S., Ouwenhand, A.C. (2004) Probiotics. *Best Practice & Res. Clin. Gastroenterology* **18**, 299-313.

Joon, R., Mishra, S. K., Brar, G. S., Singh, P. K., Panwar, H. (2017) Instrumental texture and syneresis analysis of yoghurt prepared from goat and cow milk. *J Pharm Innov*, **6**, 971-974.

Kirin, S. (2001) Higijenska kakvoća sirovog mlijeka u svjetlu zakonskih propisa. *Mljekarstvo* **51**, 49-60

Lim, J., Wood, A., Green, B., G. (2009) Derivation and evaluation of a labeled hedonic scale. *Chem. Senses*, **34**, 739-751.

Lovrić, T. (2003) *Procesi u prehrambenoj industriji s osnovama prehrambenog inženjerstva*. HINUS, Zagreb.

Mens P.L. (1985) *Propriétés physico-chimiques nutritionnelles et chimiques (physico-chemical nutritional and chemical properties)*. (ur: Luquet, F.M.), *Laits et Produits Laitiers. Vache. Brevis. Chevre (Milk and Milk Products from Cows, Sheep and Goats)*, vol. I. Apria, Paris, 349–367.

Nguyen, H. T., Afsar, S., Day, L. (2018) Differences in the microstructure and rheological properties of low-fat yoghurts from goat, sheep and cow milk. *Food Res Int*, **108**, 423-429.

Öner, Z., Karahan, A. G., Çakmakçı, M. L. (2010) Effects of different milk types and starter cultures on kefir. *Gida*, **35**(3), 177-182.

Park, Y. W. (1994a) Nutrient and mineral composition of commercial US goat milk yoghurts. *Small Rumin Res*, **14**, 63-70.

Park, Y.W. (2017): *Goat milk – Chemistry and nutrition*. U: *Handbook of milk of non-bovine mammals*. (ured: Park Y.W.; Haenlein G.F.W. i Wendorff W.L.) Wiley Blackwell, USA, Second edition.

Park, Y. W. (1994b) Nutrient and mineral composition of commercial US goat milk yoghurts. *Small Rumin Res*, **14**, 151-159.

Pravilnik za ocjenjivanje kakvoće mlijeka i mliječnih proizvoda (2004), Zavod za mljekarstvo Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Pravilnik o mlijeku i mliječnim proizvodima (2017a) *Narodne novine* **64**, Zagreb.

Pravilnik o utvrđivanju sastava sirovog mlijeka (2017b) *Narodne novine* **27**, Zagreb.

Riener, J., Noci, F., Cronin, D.A, Morgan D.J., Lyng, J.G. (2010) A comparison of selected quality characteristics of yoghurts prepared from thermosonicated and conventionally heated milks. *Food Chem*, **119**, 1108-1113.

Saini A.L., Gill R. S. (1991) Goat milk: An attractive alternate. *Indian Dairyman*, **42**, 562-564.

Samaržija, D., Podoreški, M., Sikora, S, Skelin, A., Pogačić, T. (2007) Mikroorganizmi - uzročnici kvarenja mlijeka i mliječnih proizvoda. *Mljekarstvo*, **57**, 251-273.

Souza, S. O., Santos, V. S., Santos, E. S., Ávila, D. V. L., Nascimento, C. C., Costa, S. S. L., Garcia, C. A. B., Araujo, R. G. O. (2018). Evaluation of the mineral content in milk and yogurt types using chemometric tools. *Microchem J*, **143**, 1-8. doi:10.1016/j.microc.2018.07.019 Pristupljeno 18. kolovoz 2018.

Tamime, A. Y., Božanić, R., Rogelj, I. (2003) Probiotički fermentirani mliječni proizvodi. *Mljekarstvo*, **53**(2), 111-134.

Tamime, A. Y., Robinson, R. K. (2007) *Tamime and Robinson's yoghurt: science and technology*. Elsevier.

Trajković, J., Mirić, M., Baras, J., Šiler, S. (1983) *Analize životnih namirnica*, Tehnološko-metalurški fakultet Univerziteta u Beogradu, Beograd.

Tratnik, Lj. (1998) *Mlijeko – tehnologija, biokemija i mikrobiologija*, Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb

Tratnik, Lj., Božanić, R. (2012) *Mlijeko i mliječni proizvodi*, Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb.

Tratnik, L., Božanić, R., Herceg, Z., Drgalić, I. (2006) The quality of plain and supplemented kefir from goat's and cow's milk. *Int J Dairy Technol*, **59**(1), 40-46.

Uredba Komisije (EZ) br 2073/2005 (15. studenog 2005) O mikrobiološkim kriterijima za hranu, Službeno glasilo Europske unije L 338/1

Vahčić, N., Ritz, M., Vojnović, V., Hruškar, M. (1993) Potrošačka ocjena prihvatljivosti komercijalnog jogurta primjenom hedonističke skale. *Mljekarstvo* **43** (2), 153-159.

Vargas, M., Cháfer, M., Albors, A., Chiralt, A., González-Martínez, C. (2008) Physicochemical and sensory characteristics of yoghurt produced from mixtures of cows' and goats' milk. *Int Dairy J*, **18**(12), 1146-1152.

Vianna, F. S., Canto, A. C., da Costa-Lima, B. R., Salim, A. P. A., Costa, M. P., Balthazar, C. F., Silva, A. C. (2017). Development of new probiotic yoghurt with a mixture of cow and sheep milk: effects on physicochemical, textural and sensory analysis. *Small Rumin Res*, **149**, 154-162

Vlahopoulou, J., Bell, A. E., Wilbey A. (1994) Starter culture effects on caprine yoghurt fermentation. *J Soc Dairy Technol*, **47** (4), 121-123.

Zakon o higijeni hrane i mikrobiološkim kriterijima za hranu (2013) *Narodne novine* **81**, Zagreb.

Zamberlin, S., Samaržija, D. (2017) The effect of non-standard heat treatment of sheep's milk on physico-chemical properties, sensory characteristics, and the bacterial viability of classical and probiotic yogurt, *Food Chemistry*, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.001>
Pristupljeno 20.kolovoz 2018.

Zamberlin, Š., Samaržija, D., Mamula, P., Havaraneck, J., Pecina, M., Pogačić, T. (2007) Viskoznost tekućeg jogurta tijekom pohrane. *Mljekarstvo* **57** (3), 209-218

IZJAVA O IZVORNOSTI

Izjavljujem da je ovaj diplomski rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio/la drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

Hana Kubolja

Ime i prezime studenta