

# Utjecaj brašna sjemenki rogača na fermentaciju kozjeg mlijeka te fizikalno-kemijske karakteristike proizvedenih jogurta

---

Pilić, Daria

Master's thesis / Diplomski rad

2023

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:159:265822>

Rights / Prava: [Attribution-NoDerivatives 4.0 International](#)/[Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-13**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

# DIPLOMSKI RAD

Zagreb, lipanj 2023.

Daria Pilić

**UTJECAJ BRAŠNA SJEMENKI  
ROGAČA NA FERMENTACIJU  
KOZJEG MLIJEKA TE  
FIZIKALNO-KEMIJSKE  
KARAKTERISTIKE  
PROIZVEDENIH  
JOGURTA**

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 izv. prof. dr. sc. Katarine Lisak Jakopović.

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

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

**Znanstveno područje:** Biotehničke znanosti

**Znanstveno polje:** Prehrambena tehnologija

**Diplomski sveučilišni studij:** Prehrambeno inženjerstvo

### UTJECAJ BRAŠNA SJEMENKI ROGAČA NA FERMENTACIJU KOZJEG MLIJEKA TE FIZIKALNO-KEMIJSKE KARAKTERISTIKE PROIZVEDENIH JOGURTA

*Daria Pilić*, univ. bacc. ing. techn. aliment.

0113145243

**Sažetak:** Jogurt se ubraja u najpopularnije fermentirane mliječne napitke. Pomoću bakterija mliječne kiseline *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* i *Streptococcus thermophilus* dobije se proizvod zadovoljavajućih prehrambenih i zdravstvenih vrijednosti. Kozje mlijeko je namirnica visoke prehrambene i zdravstvene vrijednosti. Karuba guma od rogača je aditiv koji se široko primjenjuje u prehrambenoj industriji, a dobiva se iz biljke *Ceratonia siliqua*. Cilj ovog diplomskog rada bio je proizvesti jogurt od kozjeg mlijeka uz dodatak karuba gume od rogača (0,05 %, 0,15 %, 0,25 %) fermentacijom na dvije različite temperature (37 °C i 43 °C) te ih usporediti s jogurtom bez dodatka karuba gume. Svim uzorcima određena je aktivna i titracijska kiselost, boja, sinereza, kapacitet zadržavanja vode, udio laktoze, suhe tvari i pepela te viskoznost, mikrobiološka i senzorska procjena. Dodatak karuba gume je u većini uzoraka pozitivno utjecao na konačni proizvod, dok su organoleptički prihvatljiviji proizvodi bili oni koji su fermentirani pri nižoj temperaturi.

**Ključne riječi:** kozje mlijeko, rogač, karuba guma, jogurt

**Rad sadrži:** 64 stranica, 18 slika, 23 tablica, 31 literaturnih navod, 0 priloga

**Jezik izvornika:** hrvatski

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

**Mentor:** izv. prof. dr. sc. Katarina Lisak Jakopović

**Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:**

1. izv.prof.dr.sc. Irena Barukčić Jurina (predsjednica)
2. izv.prof.dr.sc. Katarina Lisak Jakopović (mentorica)
3. izv.prof.dr.sc. Nives Marušić Radovčić (članica)
4. izv.prof.dr.sc. Nikolina Čukelj (zamjenska članica)

**Datum obrane:** 12. lipnja 2023.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

**Universty of Zagreb**  
**Faculty of Food Technology and Biotechnology**  
**Department of Food Engineering**  
**Laboratory for Technology of Milk and Milk Products**

**Scientific area:** Biotechnical Sciences

**Scientific field:** Food Technology

**Graduate university study programme:** Food Engineering

THE INFLUENCE OF CAROB SEED FLOUR ON THE FERMENTATION OF GOAT'S MILK  
AND THE PHYSICAL-CHEMICAL CHARASTERISTICS OF THE PRODUCE

*Daria Pilić, univ. bacc. ing. techn. aliment*

**Abstract:** Yogurt is the most popular fermented milk drink. By use of the lactic acid bacteria *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*, a product with satisfactory nutritional and health values obtain. Goat's milk is a food of high nutritional and health value. Carob gum is an additive widely used in the food industry obtained from the *Ceratonia siliqua* plant. This thesis aimed to produce yogurt from goat's milk with the addition of carob gum (0.05 %, 0.15 %, 0.25 %) by fermentation at two different temperatures (37 °C i 43 °C) and to compare them with yogurt without the addition of carob gum. Active and titration acidity, color, syneresis, water retention capacity, lactose content, dry matter and ash content, viscosity, and microbiological and sensory evaluation were determined for all samples. In most tests, carob gum had a positive effect on the final product, while the organoleptically more acceptable products are those fermented at a lower temperature.

**Keywords:** goat's milk, locust bean gum, yogurt

**Thesis contains:** 64 pages, 18 figures, 23 tables, 31 references, 0 supplements

**Original in:** Croatian

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

**Mentor:** PhD. Katarina Lisak Jakopović

### Reviewers:

1. Irena Barukčić Jurina, PhD, Associate professor (president)
2. Katarina Lisak Jakopović, PhD, Associate professor (mentor)
3. Nives Marušić Radovčić, PhD, Associate professor (member)
4. Nikolina Čukelj, PhD, Associate professor (substitute)

**Thesis defended:** June 12<sup>th</sup>, 2023

## Sadržaj

<b>1. UVOD</b> .....	<b>1</b>
<b>2. TEORIJSKI DIO</b> .....	<b>2</b>
<b>2.1. KOZJE MLIJEKO</b> .....	<b>2</b>
2.1.1. Mliječna mast.....	3
2.1.2. Proteini .....	3
2.1.3. Ugljikohidrati .....	4
<b>2.2. ROGAČ</b> .....	<b>4</b>
2.2.1. Sistematska pripadnost.....	4
2.2.2. Morfologija rogača .....	5
2.2.3. Kemijski sastav rogača .....	5
<b>2.3. PROIZVODNJA JOGURTA</b> .....	<b>6</b>
<b>2.4. FERMENTIRANI NAPITCI I ZDRAVLJE</b> .....	<b>8</b>
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO</b> .....	<b>10</b>
<b>3.1. MATERIJALI</b> .....	<b>10</b>
<b>3.2. PRELIMINARNI EKSPERIMENTI</b> .....	<b>10</b>
<b>3.3. METODE RADA</b> .....	<b>12</b>
3.3.1. Proizvodnja jogurta .....	12
3.3.2. Analize mlijeka .....	13
3.3.2.1. <i>Određivanje aktivne kiselosti mlijeka</i> .....	13
3.3.2.2. <i>Određivanje titracijske kiselosti mlijeka</i> .....	13
3.3.2.3. <i>Mikrobiološka analiza mlijeka</i> .....	14
3.3.3. Analize jogurta .....	15
3.3.3.1. <i>Određivanje aktivne kiselosti jogurta</i> .....	15
3.3.3.2. <i>Određivanje titracijske kiselosti jogurta</i> .....	15
3.3.3.3. <i>Mikrobiološka analiza jogurta</i> .....	16
3.3.3.4. <i>Određivanje udjela suhe tvari u jogurtu</i> .....	16
3.3.3.5. <i>Određivanje udjela pepela u jogurtu</i> .....	16
3.3.3.6. <i>Određivanje udjela laktoze u jogurtu</i> .....	17
3.3.3.7. <i>Određivanje boje jogurta</i> .....	19
3.3.3.8. <i>Određivanje reoloških svojstava jogurta</i> .....	20
3.3.3.9. <i>Određivanje sinereze i kapaciteta zadržavanja vode</i> .....	21
<b>3.4. OBRADA PODATAKA</b> .....	<b>24</b>
<b>4. REZULTATI I RASPRAVA</b> .....	<b>24</b>

<b>4.1. SASTAV I MIKROBIOLOŠKA SVOJSTVA MLIJEKA .....</b>	<b>25</b>
<b>4.2. AKTIVNA I TITRACIJSKA KISELOST JOGURTA .....</b>	<b>26</b>
<b>4.3. MIKROBIOLOŠKA SVOJSTVA JOGURTA.....</b>	<b>29</b>
<b>4.4. UDIO SUHE TVARI, PEPELA I LAKTOZE U JOGURTU .....</b>	<b>32</b>
<b>4.5. ODREĐIVANJE BOJE JOGURTA.....</b>	<b>35</b>
<b>4.6. REOLOŠKA SVOJSTVA JOGURTA.....</b>	<b>36</b>
<b>4.7. SINEREZA I KAPACITET ZADRŽAVANJA VODE .....</b>	<b>42</b>
<b>4.8. SENZORSKE OCJENE JOGURTA.....</b>	<b>45</b>
<b>5. ZAKLJUČCI .....</b>	<b>54</b>
<b>6. LITERATURA .....</b>	<b>55</b>



# 1. UVOD

Fermentirani mliječni proizvodi su namirnice koje se konzumiraju već od davnina i uvelike je poznato njihovo pozitivno djelovanje na ljudsko zdravlje. Najčešće korišteni fermentirani mliječni proizvod je jogurt. Jogurt je namirnica sa živom i aktivnom kulturom, odnosno namirnicom koja sadrži probiotike, dobre bakterije koje pridonose poboljšanju funkcioniranja ljudskog organizma. Nadalje, jogurt je proizvod s visokom prehrambenom vrijednosti. U svom sastavu sadrži vrijedne proteine, vitamine i mineralne tvari. Dobiva se mliječno-kiselom fermentacijom mlijeka uz djelovanje bakterija mliječne kiseline. Bakterije mliječne kiseline pridonose lakšoj probavljivosti jogurta zbog razgradnje proteina mlijeka te konzistenciji koja je odgovorna za samu sensoriku proizvoda. Najčešća mliječno-kisela fermentacija se provodi koristeći kravlje mlijeko, međutim sve više istraživanja polazi od fermentacije kozjeg mlijeka. Kozje mlijeko ima znatno veću probavljivost, veći udio topljivih mineralnih tvari, manji promjer micela kazeina u odnosu na kravlje mlijeko (Božanić i sur., 2002).

Karuba guma, odnosno brašno sjemenki rogača predstavlja proizvod koji ima višestruko djelovanje. To je prirodni biljni zgušnjivač, emulgator i stabilizator. Karuba guma se dobiva iz rogača (*Ceratonia siliqua*) te se upotrebljava kao aditiv u raznim prehrambenim industrijama (proizvodnja keksa, kolača, peciva itd.)

Jogurt dobiven fermentacijom kozjeg mlijeka ima rjeđu konzistenciju u odnosu na jogurt od kravljeg mlijeka. Stoga je cilj ovog diplomskog rada bio provesti jogurt s dodatkom brašna sjemenki rogača kako bi se na taj način poboljšala konzistencija fermentiranog proizvoda. Isto tako, provela se fermentacija pri dvije različite temperature te se pratilo djelovanje dodatka karuba gume u fermentirane uzorke od kozjeg mlijeka i utjecaj na fizikalno-kemijskih svojstava. Provele su se i analize aktivne i titracijske kiselosti, mikrobiološka analiza, određivanje suhe tvari, pepela, mineralnih tvari, boje i laktoze u jogurtu. Osim toga odredila su se reološka i senzorska svojstva dobivenog proizvoda, te sinereza i kapacitet zadržavanja vode.

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. KOZJE MLIJEKO

Mlijeko je prehrambena namirnica, prirodna tekućina koja u svom sastavu sadrži sve potrebne sastojke bitne za živući organizam. Najraširenije mlijeko je kravlje mlijeko, a sve više postaju popularne i ostale vrste mlijeka.

Proizvodnja kozjeg mlijeka je sve učestalija, ali i dalje prema svjetskoj proizvodnji iza proizvodnje kravljeg i ovčjeg mlijeka. Najveća proizvodnja kozjeg mlijeka je u Aziji, dok je u Europi najzastupljenija na području Francuske, Španjolske i Grčke. U Hrvatskoj proizvodnja kozjeg mlijeka varira ovisno o razdobljima, prema zadnjim istraživanjima, 2021. godine, smanjena je proizvodnja kozjeg mlijeka za 4,3 %, što znači da je u navedenoj godini prikupljeno za 173 t manje kozjeg mlijeka (Državni zavod za statistiku, 2022). Prerada kozjeg mlijeka postaje važna djelatnost u svijetu i prema tome dolazi do sve većeg razvoja kozarstva (Dermitt i sur., 2014).

Postoje brojni čimbenici koji utječu na količinu i kvalitetu dobivenog mlijeka. Ovisno o pasmini koza, može se uvidjeti različita mliječnost što na kraju dovodi do najvećeg utjecaja na godišnju proizvodnju mlijeka. Osim pasmine, velik utjecaj na proizvodnju ima dužina, redoslijed i stadij laktacije. Dužina laktacije varira ovisno o ekološkim, hranidbenim i genetskim čimbenicima, a prema rezultatima je to uglavnom period od 200 do 300 dana. Dobiveni su rezultati da prema redoslijedu laktacije najviša količina mlijeka se dobiva u 3. i 4. laktaciji, a ovisno o redoslijedu različit je i sadržaj mliječne masti i bjelančevina, koji je visok početkom laktacije, smanjuje se prema sredini i opet raste prema završetku laktacije (Antunac i Samaržija, 2000.).

Kemijski sastav je važan podatak u saznanju kvalitete mlijeka i njegovih najvažnijih osobina. Prema kemijskom sastavu, prikazanom u tablici 1, kozje mlijeko je slično kravljem mlijeku. Razlikuje se prema količini masti, proteina i pepela koje kozje mlijeko više sadrži i prema laktozi koje prema količini ima manje u kozjem nego u kravljem mlijeku. Kemijski sastav varira i ovisi o brojnim čimbenicima (Božanić i sur., 2018).

**Tablica 1.** Usporedba kemijskog sastava kozjeg i kravljeg mlijeka (Božanić i sur., 2018)

Sastojci	Kozje mlijeko	Kravlje mlijeko
Suha tvar (%)	11,94	12,8
Mliječna mast (%)	3,60	3,7
Proteini (%)	3,10	3,5
Laktoza (%)	4,60	4,8
Pepeo (%)	0,77	0,7
Gustoća (g/L)	1030,10	1020
pH vrijednost	6,72	6,5 – 6,7
Titracijska kiselost (°SH)	6,80	6,6 – 6,8
Energijska vrijednost (kJ na 100 mL)	293,10	264

#### 2.1.1. Mliječna mast

Mliječna mast je sastojak čiji sadržaj najviše varira (2-8 %). Podrazumijeva smjesu triglicerida alkohola glicerola i različitih masnih kiselina. Glavni je sastojak koji utječe na okus i aromu mlijeka te konzistenciju i teksturu mliječnih proizvoda. Veliku probavljivost, brzu oksidaciju probave i energiju omogućuju kratki lanci masnih kiselina, dok mliječna mast sadrži esencijalne masne kiseline i vitamine topljive u mastima (A, D, E i K). Osim toga, kozje mlijeko sadrži manje globule masti, bolje raspršene u mlijeku i koje ujedno osiguravaju bolju homogenost mlijeka (Božanić i sur., 2018).

#### 2.1.2. Proteini

Sastav proteina odgovoran je za tehnološke osobine mlijeka, kataliziranje reakcija u ljudskom organizmu, vezanje mineralnih tvari i vitamina i u konačnici na okus mlijeka i mliječnih proizvoda (Dermit i sur., 2014). Prema sastavu, proteini kozjeg mlijeka su probavljiviji od proteina kravljeg mlijeka i kozje mlijeko ima veću apsorpciju aminokiselina. Kozje mlijeko sadrži veću količinu slobodnih aminokiselina među kojima su i esencijalne aminokiseline. Najznačajnija esencijalna aminokiselina je taurin koji je važan u prehrani male djece i novorođenčadi. U usporedbi s kravljim mlijekom, kazeinske micelle kozjeg mlijeka su manje i glavna frakcija je  $\beta$ -kazein odgovoran za mekši i nježniji gruš kozjeg mlijeka. Mali udio alfa kazeina važan je pri sigurnoj identifikaciji patvorenja kozjeg mlijeka (Božanić i sur., 2018).

### 2.1.3. Ugljikohidrati

Laktoza je ugljikohidrat koji prevladava u kozjem mlijeku. Sastavljena je od molekule glukoze i galaktoze. Odgovorna je za slatkasti okus mlijeka, vezanje fosfora i kalcija, izvor energije i bitan sastojak za fermentaciju mliječnih proizvoda (Antunac i Samaržija, 2000). Fermentacijom prelazi u mliječnu kiselinu i druge spojeve tijekom heterofermentativnog mliječno-kiselog vrenja. Upravo na tom procesu vrenja se zasniva proizvodnja svih fermentiranih mliječnih proizvoda dobivenih od kozjeg mlijeka (Božanić i sur., 2018).

Kozje mlijeko je proizvod visoke nutritivne vrijednosti i vrijednih terapijskih svojstava koji su vrlo značajni za ljudsko zdravlje. Omogućava visoku dostupnost kalcija, iskoristivost željeza, bakra, magnezija i cinka. Prisutnost selena važna je za aktivnost enzima glutation peroksidaze i utjecaja na karcinom i krvožilne bolesti. Masne kiseline koje čine dio sastava kozjeg mlijeka imaju ulogu u boljoj probavljivosti, utjecaju na krvožilni sustav, smanjenju kolesterola. Ključnu ulogu u terapijskim svojstvima kozjeg mlijeka u usporedbi s kravljim je hipoalergenost, odnosno struktura proteina koja se bolje podnosi za razliku od proteina kravljeg mlijeka koje izazivaju alergije. Kozje mlijeko je namirnica koja sadrži vitamine topljive u vodi i u mastima koji su bitni za zdravlje ljudskog organizma. Prema tome, kozje mlijeko se preporuča svim populacijama ljudi kao namirnica koja će uravnotežiti prehranu i pridonijeti zdravlju (Dermić i sur., 2014).

## 2.2. ROGAČ

### 2.2.1. Sistematska pripadnost

Rogač prema sistematici spada u klasu *Magnoliopsida*, potklasu *Rosidae*. Unutar navedene potklase nalazi se nadred *Fabane*, unutar kojeg je red *Fabales*. Rogać također spada u porodicu *Fabaceae*, u potporodicu *Caesalpinioideae* u koju spadaju mnogi rodovi, među kojima je i rod *Ceratonia*. U rod *Ceratonia* spada vrsta *Ceratonia siliqua* L., odnosno biljna vrsta imena rogač.

Rogač je zimzeleno stablo i pripada rodu *Ceratonia*. Smatra se da potječe iz Etiopskog centra i da je prenesen na prostor drevnog Babilona otkuda se širio prema Mediteranu. Za njegovo širenje na otoke su odgovorni stari Grci gdje je i danas rogač najviše raširen (Sirakuza, Isa, Far). Danas je rogač rasprostranjen na područje zemalja sredozemnog bazena, na Kaliforniji, Arizoni, Južnoafričkoj Republici, Australiji i Čileu. Rogać je biljka kojoj ne odgovaraju niske, zimske temperature ispod  $-7\text{ }^{\circ}\text{C}$ , dok lako podnosi temperature više od  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$  stupnjeva te vruće i suhe vjetrove (Srećec i Bradač, 2020).

### 2.2.2. Morfologija rogača

Rogač je drvenasta, vazdazelena biljna vrsta. Kora rogača je debela i omogućuje akumuliranje vode što štiti rogač od požara i zapaljivanja. Listovi su dorziventralni, parno perasto sastavljeni. Svake druge godine dolazi do djelomičnog obnavljanja lišća u proljeće. Korijen pripada skupini aloriznog korijenja s primarnim i sekundarnim korijenjem. Podnosi salinitet, te na korjenovom sustavu sadrži arbuskularnu mikorizu pomoću koje uzima dušik iz tla. Razlikuju se muške i ženske biljke rogača i prema tome je rogač dvodomna biljka. Sadrži pojedinačne cvjetove skupljeni u grozdaste cvatove. Veći broj sjemenih zametaka nalaze se u plodnici tučka rogača, a u poprečnom presjeku sjemenke vidljivo je deset slojeva tkiva. Mahuna, kao plod rogača, je u obliku luka ili roga, na početku zelena, a kasnije dolazi do mijenjanja boje u žutozelenu sve do tamnosmeđe kada se podrazumijeva da je zrela (Srećec i sur. 2020).

### 2.2.3. Kemijski sastav rogača

Glavni sastojci rogača čine pulpa i sjeme. Kao i kod ostalih prehrambenih namirnica tako i kod rogača kemijski sastav ovisi o brojnim čimbenicima kao što su uzgoj i uvjeti, genetski utjecaj, podrijetlo, vrijeme berbe. Prema kemijskom sastavu, pulpa kao najveći dio rogača (90%) se sastoji od visokog udjela šećera u kojem prevladavaju saharoza, glukoza, fruktoza i maltoza. Zbog prisutnosti šećera, rogač se koristi kao zaslađivač u brojnim industrijama. Nadalje, sadrži celulozu i hemicelulozu i vlakna bogata polifenolima, te kalij, kalcij, magnezij, natrij, bakar, željezo, mangan i cink koji čine mineralni sastav pulpe. Osim navedenog, pulpa sadrži određenu količinu masnih kiselina koje su odgovorne za izvor energije i prisutnost vitamina topivih u mastima i esencijalne aminokiseline.

Sjemenka koja čini 10 % sastava rogača dobiva se nakon lomljenja mahuna rogača i sastoji se od ljuske, endosperma, embrija ili klice (Battle i Tous, 1997). Ljuska sjemenke sadrži antioksidanse, a sastavni dio endosperma je polisaharid galaktomanan. Zbog prisutnosti galaktomanana, sjemenka rogača se koristi za proizvodnju gume bagrema poželjne kao stabilizator i aditiv u prehrambenoj, farmaceutskoj i biotehnološkoj industriji. Klica sjemenke sadrži masne kiseline koje imaju utjecaj na ljudsko zdravlje i primjenu u prehrambenoj industriji (Fidan i sur., 2020, Muller, 2017). U tablici 2 prikazan je kemijski sastav ploda rogača.

**Tablica 2.** Kemijski sastav ploda rogača (Dragojević, 2017)

Sastojci	Udjel (g/100 g)
Voda	3,6 – 18,0
Proteini	1,0 – 7,6
Masti	0,2 – 2,3
Ugljikohidrati	48,0 – 88,9
Ukupni šećeri	32,0 – 60,0
Prehrambena vlakna	2,6 – 39,8
Polifenoli	0,5 – 20,0
Pepeo	1,0 – 6,0

### 2.3. PROIZVODNJA JOGURTA

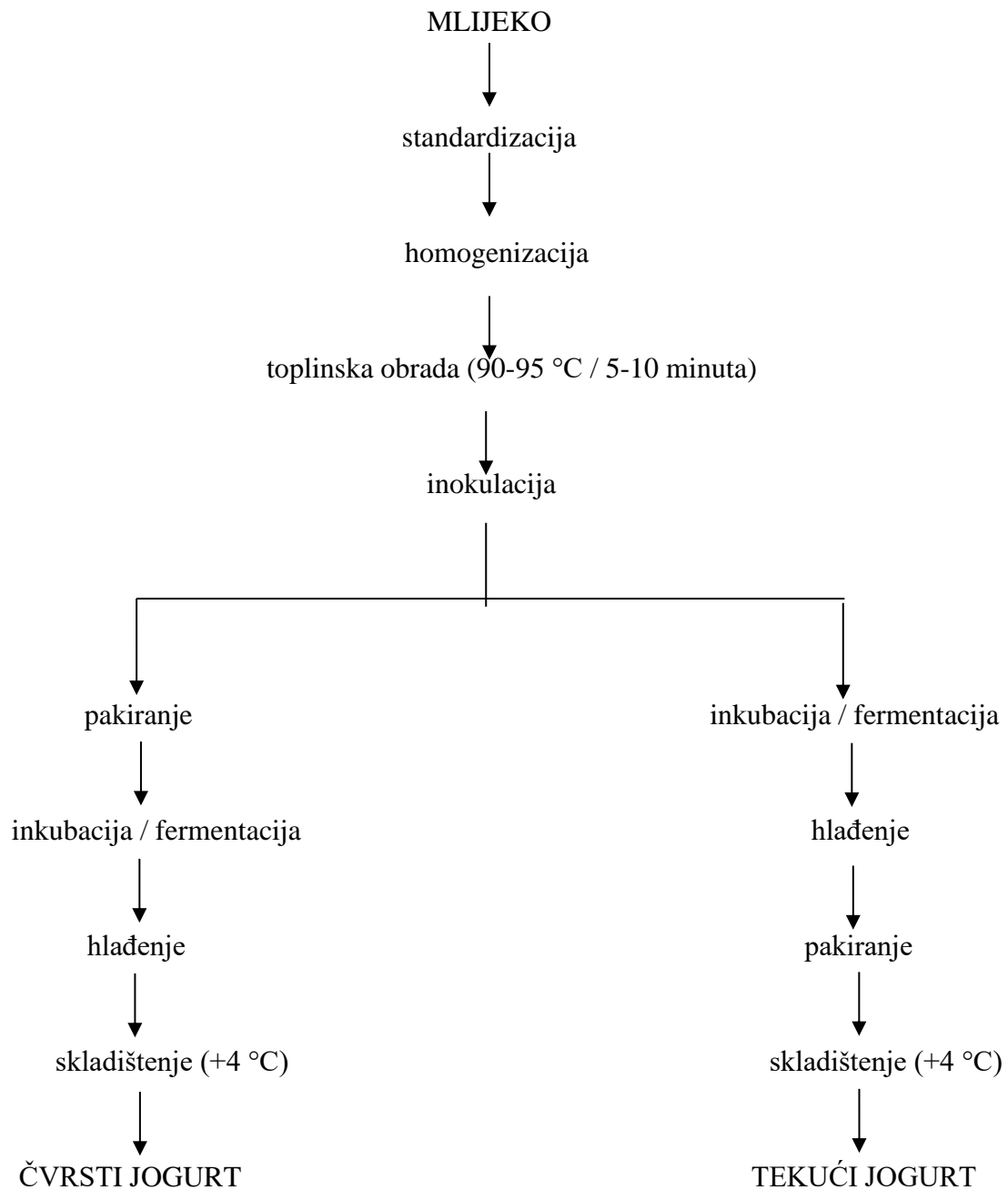
Fermentacijom različitih vrsta mlijeka ili mješavina mlijeka uz primjenu starter kultura proizvode se fermentirana mlijeka. U fermentiranim proizvodima mikroorganizmi starter kulture moraju biti aktivni do isteka roka valjanosti ili roka upotrebe proizvoda, a njihov broj i vrsta ovise o specifičnosti određenog proizvoda. Glavne vrste fermentiranih mliječnih proizvoda su kiselo mlijeko, jogurt, acidofil, kefir i dr.

U sastavu mikrobnih kultura za proizvodnju fermentiranih mlijeka nalaze se odabrane vrste i sojevi bakterija mliječne kiseline i bifidobakterije. Svojstva navedenih mikrobnih kultura utječu na konačna svojstva fermentiranog mliječnog proizvoda. Fermentacijom mlijeka i djelovanjem različitih sojeva *Streptococcus thermophilus* i *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sa ili bez dodatka drugih sojeva *Lactobacillus* spp. proizvodi se jogurt (Tratnik i Božanić, 2012).

Mliječno-kiselo vrenje laktoze mlijeka u mliječnu kiselinu je proces koji se odvija uz djelovanjem enzima bakterija mliječne kiseline. Navedene bakterije prenose laktozu iz mlijeka pomoću specifičnih enzima permeaze u svoje stanice gdje je cijepaju na glukozu i galaktozu pomoću enzima beta-galaktozidaze. U procesu glikolize dolazi do razgradnje glukoze do piruvata, koji se reducira do mliječne kiseline uz pomoć enzima laktat dehidrogenaze u anaerobnim uvjetima. Nastala mliječna kiselina utječe na svježi okus i konzistenciju fermentiranih proizvoda. Daljnjim procesom dolazi do fizikalno-kemijskih promjena micela kazeina. Micele destabiliziraju kazeinski sustav, dolazi do njihove agregacije i formiranja mreže gela koji se naziva koagulum. Kako bi konačni proizvod imao odgovarajuću i zadovoljavajuću konzistenciju, potrebno je pravilno oblikovanje mreže gele. Oblikovanje se

odvija pri pH vrijednosti izoelektrične točke kazeina, oko 4,6, i pri tome je potrebno održavati potpuno zakiseljavanje kako bi se dobio dobar proizvod (Tratnik i Božanić, 2012).

Proces proizvodnje jogurta prikazan je slikom 1. Polazna sirovina u proizvodnji jogurta je mlijeko. Mlijeko treba biti najbolje mikrobiološke kvalitete, bez prisustva inhibitornih tvari. Prvi korak u tehnološkoj proizvodnji je standardizacija mlijeka zbog prilagođavanja udjela mliječne masti i udjela suhe tvari, kako bi se postigla zadovoljavajuća konzistencija proizvoda. Sljedeći korak je homogenizacija mlijeka, odnosno usitnjavanje mliječne masti kako bi se spriječilo izdvajanje masti na površinu proizvoda. Nakon homogenizacije, slijedi toplinska obrada mlijeka u svrhu uništenja mikroorganizama koji mogu biti patogeni, inaktivacije enzima kako bi se osigurala aktivnost mikrobne kulture zaslužne za vrenje mlijeka i sprječavanje interakcije proteina sirutke s kazeinom što bi dovelo do smanjenja stabilnosti proizvoda. Toplinska obrada koja se provodi na temperaturama od 90-95 °C pri 10 min i homogenizacija osiguravaju nježniju i bolje organiziranu strukturu gela. U daljnjoj proizvodnji jogurta slijedi inokulacija mlijeka tzv. „jogurtnom kulturom“, odnosno bakterijama mliječne kiseline koje se koriste u proizvodnji jogurta. Nakon inokulacije, mlijeko se inkubira pri temperaturi od 43 °C, 4-6 sati dok se pH vrijednost proizvoda ne spusti na 4,6 kada je nastao koagulum odgovarajuće teksture. Slijedi hlađenje i skladištenje proizvoda pri temperaturama od +4 °C do +8 °C kako bi se spriječilo kvarenje i nepoželjne promjene na jogurtu (Tratnik i Božanić, 2012).



**Slika 1.** Shema proizvodnje jogurta (Tratnik i Božanić, 2012)

#### 2.4. FERMENTIRANI NAPITCI I ZDRAVLJE

Prehrambena i energetska vrijednost jogurta isključivo ovisi o mlijeku, vrsti i soju mikroorganizama, o procesu proizvodnje odnosno uvjetima fermentacije i o skladištenju, a prikazana je tablicom 3.



**Tablica 3.** Energetska vrijednost i kemijski sastav jogurta s 3,2% prosječnog sastava mliječne masti u 100 g jogurta (Kaič Rak i Antonić-Degač, 1996)

Sastav	Jogurt (3,2 % u 100 g)
Energija (kJ)	255
Bjelančevine, g	3,5
Ugljikohidrati, g	4,7
Masti, g	3,2
Kolesterol, mg	13
Kalcij, mg	121
Fosfor, mg	95
Vitamin A, RE*	12
Vitamin B1, mg	0,04
Vitamin B2, mg	0,16
Vitamin B6, mg	0,04
Niacin, mg	0,10

\*RE - animalni izvor vitamina A

Energetska vrijednost jogurta je slična vrijednosti mlijeka kao polazne sirovine u njegovoj proizvodnji. Zbog prevođenja laktoze u mliječnu kiselinu, koncentracija laktoze je niža nego kod nefermentiranog mlijeka. Mliječna kiselina poboljšava iskorištenje kalcija i inhibira rast štetnih bakterija u crijevima. Zbog proteolitičkog djelovanja mikroorganizama fermentirano mlijeko sadrži više slobodnih aminokiselina, a tehnološkim postupkom dolazi do denaturacije proteina te istovremeno do povećanja njihove probavljivosti.

Na sadržaj vitamina znatno utječe pasmina životinje od koje se dobiva mlijeko, prehrana, stadij laktacije i ostali čimbenici. Tijekom same fermentacije, odnosno toplinske obrade, dolazi do smanjenja koncentracije vitamina, a mnoge bakterije mliječne kiseline koriste vitamin B za svoj rast.

Jogurt predstavlja dobar izvor esencijalnih mineralnih tvari posebno kalcija, fosfora, cinka i magnezija. Prema istraživanjima Gurr, (1987) laktoza poboljšava apsorpciju kalcija i drugih mineralnih tvari, međutim kako se koncentracija laktoze fermentacijom smanjuje uvidjelo je se da je i nešto niža bioraspoloživost kalcija i ostalih mineralnih tvari (Gurr, 1987).

Obzirom da bakterijske kulture stvaraju mliječnu kiselinu dolazi do snižavanja pH u crijevima što dovodi do sprječavanja rasta i razvoja bakterija što pozitivno utječe na sprječavanje

gastrointestinalnih infekcija. Osim toga, bakterijske kulture posebno *Lactobacillus acidophilus* može proizvesti bakteriocine čija je uloga potiskivanje razvoja enteropatogena u crijevima. Neke vrste fermentiranih napitaka mogu ublažiti simptome intolerancije laktoze obzirom da sadrže enzim laktoze koja probavlja laktozu iz jogurta (Kaič Rak i Antonić-Degač, 1996).

### **3. EKSPERIMENTALNI DIO**

#### **3.1. MATERIJALI**

Polazna sirovina u eksperimentalnom dijelu istraživanja je bila kozje mlijeko od proizvođača „OPG Moravec“. Jogurtna kultura YO-MIX 883 LYO 59 DCU (Danisco, Francuska) je korištena za fermentaciju mlijeka. Kao dodatak prilikom fermentacije se koristilo brašno sjemenki rogača (OPG Goravica, Šipan).

#### **3.2. PRELIMINARNI EKSPERIMENTI**

Kako bi se glavno istraživanje provelo na način da se dobije senzorski i analitički najbolji fermentirani proizvod, prije svega su se proveli preliminarni eksperimenti kako bi izdvojili najbolje koncentracije dodatka brašna sjemenki rogača u uzorke mlijeka.

Polazna sirovina je bila sirovo kozje mlijeko pasterizirano na 90-95 °C / 5-10 minuta i ohlađeno na 40 °C. U uzorke mlijeka (2 L) dodane su jogurtne kulture prema naptku proizvođača (0,0422 g) te određene koncentracije brašna sjemenki rogača. Za provedbu eksperimenta korištene su tri različite koncentracije dodatka brašna sjemenki rogača i to 0,25 % (w/v, 5 g brašna), 0,5 % (w/v, 10 g brašna) i 1 % (w/v, 20 g brašna). Tako pripremljeni uzorci su razliveni u prethodno sterilizirane bočice koje su stavljene u termostat (3u1 Inko, Hrvatska) na fermentaciju pri temperaturi od 43 °C.

Tijek fermentacije se pratio svakih sat vremena uz provjeru pH vrijednosti. Pri dostignuću izoelektrične točke kazeina, vrijednosti pH od 4,6, staklene bočice su se hladile i tako se proveo prekid fermentacije. Uzorci su nakon hlađenja skladišteni na temperaturi od +4 °C.

Nakon 4 sata i 15 minuta sve tri koncentracije uzorka su postigle vrijednost pH od 4,6 te su primijećene određene promjene. Velika sinereza i prisutnost taloga se pokazao na koncentraciji od 1 % fermentiranog uzorka, što je bilo prisutno i u koncentraciji od 0,5 % ali nešto u manjoj količini, ali i dalje neprihvatljivo za senzorski izgled jednog proizvoda (slika 2, slika 3). Uzorak koncentracije 0,25 % je bio prihvatljive i poželjne konzistencije za konzumaciju.



**Slika 2.** Fermentirani proizvod uz dodatak 1 % brašna sjemenki rogača (vlastita fotografija)



**Slika 3.** Fermentirani proizvod uz dodatak 0,5 % brašna sjemenki rogača (vlastita fotografija)

Nakon 24 h skladištenja uzoraka na temperaturi od 4 °C, došlo je do još uočljivijih promjena na uzorcima. Na uzorku uz dodatak 1 % brašna sjemenki rogača bila je prisutna još veća sinereza, odvajanje sirutke na površini, koagulacija proteina i taloženje brašna sjemenki rogača na dnu bočice. Konzistencija uzorka je bila grudasta i nehomogena. Za razliku od uzorka koncentracije od 1 %, na uzorku koncentracije 0,5 % također je bila prisutna sinereza ali u manjoj količini, brašno sjemenki rogača se također istaložilo na dno, a površina uzorka je bila zgrušana i mramorirana. Nakon navedenog vremena, uzorak s dodatkom brašna koncentracije od 0,25 % je i dalje bio prihvatljivog izgleda.

Nakon provedenog eksperimenta, dokazano je da su uzorci s navedenim koncentracijama od 1 % i 0,5 % dostigli željenu vrijednost izoelektrične točke kazeina, ali organoleptički nisu

zadovoljavali. Zaključeno je da dodatak velike količine brašna sjemenki rogača djeluje nepovoljno za razvijanje fermentiranog proizvoda i da je poželjno da najviša koncentracija iznosi 0,25 %, odnosno dodatak 5 g brašna sjemenki rogača na 2 L sirovog mlijeka.

### **3.3. METODE RADA**

#### **3.3.1. Proizvodnja jogurta**

Za fermentaciju uzoraka jogurta s dodatkom brašna sjemenki rogača korišteno je 8 litara kozjeg mlijeka (po dvije litre mlijeka za svaku navedenu koncentraciju i dvije litre za kontrolni uzorak). Pripremljene su koncentracije 0,05 %, 0,15 % i 0,25 % brašna sjemenki rogača, a kontrolni uzorak je bio bez dodatka brašna sjemenki rogača. Prije fermentacije sirovo kozje mlijeko je pasterizirano na 90-95 °C tijekom 5-10 minuta. Zatim je mlijeko ohlađeno do temperature od 40 °C i inokulirano s 0,0422 g jogurtne kulture, koliko je i potrebno prema napatku proizvođača, za fermentaciju 2 litra mlijeka. Nadalje, u inokulirano mlijeko je dodano brašno sjemenki rogača u različitim koncentracijama od 0,05 % (w/v, 1 g brašna), 0,15 % (w/v, 3 g brašna) i 0,25 % (w/v, 5 g brašna) na 2 litra mlijeka. Inokulirano mlijeko s dodatkom brašna se razlijevalo u staklene, prethodno sterilizirane bočice, prekrivene aluminijskom folijom, i odložene u termostat (3u1 Inko, Hrvatska) na temperaturu od 37 °C.

Isti postupak se proveo ponovno, korištenjem 6 litara sirovog mlijeka. Nakon pasterizacije i hlađenja novih uzoraka sirovog mlijeka, provedena je inokulacija s 0,0422 g jogurtne kulture. U tri uzorka u različitim koncentracijama od 0,05 % (w/v, 1 g brašna), 0,15 % (w/v, 3 g brašna) i 0,25 % (w/v, 5 g brašna) na 2 litra mlijeka, dodano je brašno sjemenki rogača. Takvi pripremljeni uzorci u steriliziranim bočicama su odloženi u termostat na temperaturu od 43 °C.

Svaki sat vremena je praćen tijekom fermentacije, na način da se provjeravala pH vrijednost uzoraka. Kada se postigla izoelektrična točka kazeina, vrijednost pH od 4,6, fermentacija je prekinuta na način da su se staklene bočice s uzorcima ohladile. Nakon hlađenja, uzorci su hladno skladišteni na temperaturu od +4 °C. Analize uzoraka jogurta su rađene 1., 7., 14., 21. i 28. dana (slika 4). Na uzorcima jogurta, svakih sedam dana, provedeno je određivanje aktivne i titracijske kiselosti, određivanje boje, reoloških svojstava i senzorika. Prvog i zadnjeg dana fermentacije provedena je mikrobiološka analiza, određivanje udjela suhe tvari i pepela te određivanje udjela laktoze.



**Slika 4.** Hladno skladištenje fermentiranih napitaka (vlastita fotografija)

### 3.3.2. Analize mlijeka

#### 3.3.2.1. *Određivanje aktivne kiselosti mlijeka*

Aktivna kiselost mlijeka podrazumijeva kiselost od prirodno prisutnih sastojaka svježeg mlijeka (Tratnik i Božanić, 2012).

Postupak:

Mjerenje pH provedeno je pomoću pH-metra koji je kalibriran (WTW-Profiline pH 3110, Xylem Analytics, Njemačka). Elektroda pH-metra koja je prethodno bila uronjena u otopinu KCl-a, je isprana destiliranom vodom, obrisana i uronjena u svaki pojedini uzorak mlijeka. Vrijednost pH se očitala, nakon što se ustalila na zaslonu uređaja. Između svakog mjerenja, elektroda je ponovno isprana destiliranom vodom i vraćena u otopinu KCl-a do sljedeće uporabe (Božanić i sur., 2010).

#### 3.3.2.2. *Određivanje titracijske kiselosti mlijeka*

Titracijom mlijeka s otopinom NaOH, određene molarnosti, uz indikator fenolftalein se određuje titracijska kiselost mlijeka (Tratnik i Božanić, 2012). Referentna metoda za određivanje stupnja kiselosti mlijeka i mliječnih proizvoda je metoda po Soxhlet-Henkelu (Božanić i sur., 2010).

Postupak:

Prije početka određivanja titracijske kiselosti uzoraka, pripremljena je standardna boja, koja predstavlja boju do koje se treba titrirati natrijevom lužinom. Za pripremu standardne boje je u Erlenmayerovu tikvicu dodano 20 mL uzorka mlijeka uz dodatak 0,4 mL 5 %-tne otopine kobaltovog sulfata ( $\text{CoSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ ). Za daljnju analizu mlijeka, u drugu Erlenmayerovu tikvicu je dodano 20 mL mlijeka i otpipetirano je 1 mL indikatora fenolftaleina. Dobivena smjesa se promiješala te titrirala 0,1 M natrijevom lužinom do postizanja blago ružičaste boje postojane oko 1 minutu, koja predstavlja standardnu boju. Očitana je volumen utrošenog NaOH tijekom titracije (Božanić i sur., 2010).

Titracijska kiselost se izračunala prema izrazu:

$$a \cdot 2 \cdot f = {}^{\circ}SH \quad [1]$$

gdje je  $a$  = mL 0,1 M NaOH utrošenih za neutralizaciju 20 mL mlijeka,  $f$  = faktor otopine natrijeve lužine ( $\text{NaOH}$ ) = 0,1 mol/L = 1

### 3.3.2.3. Mikrobiološka analiza mlijeka

Mikrobiološka analiza mlijeka provedena je na uzorku sirovog i pasteuriziranog mlijeka, te pasteuriziranog i inokuliranog mlijeka. Za određivanje broja bakterija na Petrijevim pločama je Kochova metoda, koja je ujedno i referentna metoda za mikrobiološku analizu (Božanić i sur., 2010).

Postupak:

Mikrobiološka analiza mlijeka je provedena u sterilnim uvjetima, tako što se provela dezinfekcija radne površine alkoholom, stvaranje sterilnog luka korištenjem dva plamenika, uz laboratorijsko posuđe koje je steriliziranom suhom (u termostatu) ili mokrom sterilizacijom (u autoklavu).

Na uzorcima sirovog i pasteuriziranog mlijeka provedena je mikrobiološka analiza u svrhu određivanja broja bakterijskih stanica roda *Enterobacteriaceae* te kvasaca i plijesni, dok je na uzorcima fermentiranog mlijeka, uz određivanje *Enterobacteriaceae*, provedeno i određivanje broja živih bakterijskih stanica bakterija *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* i *Streptococcus thermophilus*, koje predstavljaju jogurtnu kulturu. Tijekom provođenja analize korištene su 4 vrste podloga: MRS-agar za laktobacile, M-17 agar za streptokoke, Violet red bile glucose agar za enterobakterije te Sabouraud dextrose agar za kvasce i plijesni (sve Biolife,

Italija). Podloge su pripremljene prema uputi proizvođača. Sam postupak je proveden na način da se uzorak mlijeka homogenizirao, te je sterilnom mikropipetom prenesen 1 mL uzorka u sterilnu epruvetu napunjenu s 9 mL fiziološke otopine. Iz te epruvete se također uzeo 1 mL prethodno homogeniziranog uzorka i prenio u iduću epruvetu s 9 mL fiziološke otopine, čime je postignuto prvo razrjeđenje, a postupak je nastavljen dok se nije dobilo konačno željeno razrjeđenje (Božanić i sur., 2010). Daljnji postupak je zahtijevao naciepljivanje sterilnih Petrijevih ploča, na način da se 1 mL željenog decimalnog razrjeđenja prenio na Petrijevu ploču te zalio s određenom podlogom. Za određivanje broja poraslih bakterija roda *Enterobacteriaceae* na sterilne Petrijeve ploče s već prethodno razlivenom podlogom, naciepilo se 100 µL uzorka.

Nakon zalijevanja svih naciepljenih ploča s određenim podlogama, ploče su ostavljene u sterilnim uvjetima kako bi se skrutnule, a nakon skrutnjivanja premještene su na inkubaciju na 37 °C dnom prema gore kako bi se izbjegla kondenzacija. Izuzetak je inkubacija kvasaca i plijesni koja je bila pri sobnoj temperaturi. Na brojaču kolonija (Funke Gerber, Njemačka) se nakon 72 h inkubacije provelo očitavanje rezultata, a za brojanje su odabrane one Petrijeve ploče na kojima je poraslo između 30 i 300 kolonija. Konačni broj poraslih kolonija po mL (eng. Colony-forming Unit, CFU) dobiven je prema formuli:

$CFU\ mL^{-1} = \text{broj kolonija/naciepljen volumen} \times \text{recipročna vrijednost decimalnog razrjeđenja}$

### 3.3.3. Analize jogurta

#### 3.3.3.1. *Određivanje aktivne kiselosti jogurta*

Aktivna kiselost jogurta se određivala svakih 7 dana tijekom hladnog skladištenja od 28 dana. Provedena je na način kao i određivanje aktivne kiselosti mlijeka opisanog u poglavlju 3.3.2.1.

#### 3.3.3.2. *Određivanje titracijske kiselosti jogurta*

U Erlenmayerovu tikvicu je dodano 20 g jogurta razrijeđenog s 20 mL destilirane vode, 1 mL kobaltovog sulfata, pri čemu se dobila boja do koje se mora titrirati svaki pojedini uzorak. Za provođenje titracijske kiselosti uzoraka različitih količina dodataka, u Erlenmayerovu tikvicu je dodano 20 g jogurta razrijeđenog s 20 mL destilirane vode uz dodatak 2 mL 2 %-tnog indikatora fenoftaleina. Tako pripremljen uzorak se titrirao s 0,1 M otopinom natrijeve lužine do pojave blago ružičaste boje koja je bila postojana 1 minutu (Božanić i sur., 2010).

### 3.3.3.3. Mikrobiološka analiza jogurta

Navedena analiza provedena je 1. i 28. dan hladnog skladištenja. Analiziran je broj poraslih kolonija laktobacila i streptokoka, te određivanje broja bakterijskih stanica *Enterobacteriaceae*. Analiza je provedena koristeći Kochovu metodu.

Postupak:

20 mL uzorka fermentiranog napitka se prenijelo u Erlenmayerovu tikvicu sa staklenim zrcima i dodalo se 180 mL prethodno pripremljene fiziološke otopine. Takav homogenizirani uzorak predstavljao je osnovno razrjeđenje (Božanić i sur., 2010). Ostatak mikrobiološke analize proveden opisan je u poglavlju 3.2.3.3.

### 3.3.3.4. Određivanje udjela suhe tvari u jogurtu

Ukupna suha tvar mlijeka predstavlja masu koja ostane nakon postupka sušenja na konstantnoj temperaturi do konstantne mase, a izražava se kao maseni udio.

Suha tvar je određena upotrebom referentne metode za određivanje udjela ukupne suhe tvari (Božanić i sur., 2010).

Postupak:

Prvi korak u određivanju ukupne suhe tvari bio je zagrijavanje praznih aluminijskih posudica u sušioniku (ST-01/01, Instrumentaria, Hrvatska) na temperaturi od 102 °C, na način da se poklopac naslonio na aluminijsku posudicu u sušioniku. Posudica se nakon zagrijavanja od 30 min, izvadila i premjestila u eksikator na hlađenje. Kada se posudica u potpunosti ohladila, izvagana je na analitičkoj vazi (AB 104, Mettler Toledo, SAD) te je u praznu posudicu dodano 3 do 5 g uzorka jogurta. Posudice s uzorkom jogurta su vraćene u sušionik na sušenje određeno vrijeme, a prije ponovnog vaganja posudica se hladila u eksikatoru. Takav postupak je ponavljan do konstantne mase uzorka. Udio suhe tvari je izražen u postotku.

Udio ukupne suhe tvari se izračunao prema izrazu:

$$\% \text{ suhe tvari} = \left( \text{zadnja odvaga} - \frac{\text{prazna posudica}}{\text{odvaga uzorka}} \right) \cdot 100 \quad [2]$$

### 3.3.3.5. Određivanje udjela pepela u jogurtu

Udio pepela predstavlja udio ukupnih mineralnih tvari u uzorku, određena spaljivanjem uzorka, izražena kao ukupni udio mineralnih tvari (Tratnik i Božanić, 2012).



Postupak:

Za određivanje udjela pepela porculanski lončić za žarenje se stavio u Muffolnu peć (LP-08, Instrumentaria, Hrvatska) na 550 °C. Nakon žarenja, lončići su ohlađeni u eksikatoru te izvagani na analitičkoj vagi (AB 104, Mettler Toledo, SAD). U ohlađeni lončić dodano je 10 g uzorka jogurta, nakon čega je lončić premješten u sušionik (ST-01/02, Instrumentaria, Hrvatska) do potpunog sušenja. Nakon što se uzorak potpuno osušio, premješten je u Muffolnu peć dok sadržaj nije pobijelio. Daljnji postupak je zahtijevao vađenje lončića iz peći nakon određenog perioda, hlađenje i vaganje, sve dok se nije postigla konstantna masa (Božanić i sur., 2010).

Udio mineralnih tvari se izračunao prema izrazu:

$$\% \text{ pepela} = \left( \frac{\text{zadnja odvaga} - \text{prazan lončić}}{\text{odvaga uzorka}} \right) \cdot 100 \quad [3]$$

#### 3.3.3.6. Određivanje udjela laktoze u jogurtu

Laktoza je mliječni šećer prisutan u mlijeku. To je disaharid (C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub>) sastavljen od molekula α-D-glukoze i β-D-galaktoze (Tratnik i Božanić, 2012). Određivanje laktoze u mlijeku je provedeno modificiranom metodom prema Loof-Schoorlu (Božanić i sur., 2010), a određivanje se provodilo 1. i 28. dan hladnog skladištenja. Prema prosjeku, kozje mlijeko sadrži 4,6 % udjela laktoze (Božanić i sur., 2018).

Postupak:

Za određivanje laktoze koristila se tikvica s okruglim dnom u koju je otpipetirano 1 mL uzorka jogurta, zajedno s 24 mL destilirane vode i 25 mL Luffove otopine. Luffova otopina je reagens koji sadrži Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> i Na-citrat, manje je alkalna, a metoda je specifičnija jer s njom reagiraju aldoze i ketoze, ali ne i aldehidi (Primorac i Flanjak, 2012). Tikvica s takvom smjesom se priključila na povratno hladilo i kuhala 10 minuta od trenutka kad je prva kap kapnula s hladila u tikvicu.

Nakon kuhanja, tikvica se ohladila pod mlazom vode, te u takvu ohlađenu smjesu u tikvicu se dodalo 15 mL 20 %-tne otopine kalijevog jodida, polagano se dodavala sumporna kiselina kako bi se spriječilo intenzivno pjenjenje, pri čemu je ujedno došlo do izlučivanja joda. Izlučeni jod se titrirao s 0,1 M natrijevim tiosulfatom (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) do prelaska boje uzorka u žutu, nakon čega se dodalo 1 mL svježe pripremljene 2 %-tne otopine škroba. Dodatkom škroba uzorak je primio plavu boju te se nastavio titrirati s natrijevim tiosulfatom do pojave putenaste boje koja je stabilna nekoliko minuta.

Na isti način provodila se i slijepa proba, a umjesto uzorka dodan je 1 mL destilirane vode (Božanić i sur., 2010).

Udio laktoze se dobio prema izračunu:

Slijepa proba troši:  $X$  mL 0,1 M  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

Uzorak troši:  $Y$  mL 0,1 M  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

$$(X - Y) \cdot f = Z \quad [4]$$

gdje je  $f$  = faktor otopine natrijevog tiosulfata ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) = 0,1 mol/L, a  $Z$  mL 0,1 M  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  iz čije se vrijednosti iz tablice 4. očitaju mg laktoze u 1 mL uzorka.

**Tablica 4.** Izračunavanje laktoze po Loof-Schoorlu (Božanić i sur., 2010)

<b>0,1 M Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub></b>	<b>Laktoza</b>	
<b>mL</b>	<b>mg</b>	<b>razlika</b>
1	3,6	3,7
2	7,3	3,7
3	11,0	3,7
4	14,7	3,7
5	18,4	3,7
6	22,1	3,7
7	25,8	3,7
8	29,5	3,7
9	33,2	3,7
10	37,0	3,8
11	40,8	3,8
12	44,6	3,8
13	48,4	3,8
14	52,2	3,8
15	56,0	3,8
16	59,9	3,9
17	63,8	3,9
18	67,7	3,9
19	71,7	4,0
20	75,7	4,0
21	79,8	4,1
22	83,9	4,1
23	88,0	4,1

### 3.3.3.7. Određivanje boje jogurta

Uređaj za određivanje boje jogurta bio je kolorimetar (Colorimeter PCE-CSM 3, PCE instruments, Njemačka), u CIE L\*a\*b\* modelu boja.

Koordinate CIELAB sustava su: os  $a^*$  koja prikazuje raspon boja crveno-zeleno, os  $b^*$  kao raspon boja žuto-plavo, te akromatska os  $L^*$  s vrijednostima 0 % (crna) do 100 % (bijela) (OIV 2014).

Postupak:

Određivanje boje se provodilo na kolorimetru (Colorimeter PCE-CSM 3, PCE instruments, Njemačka) koji je prije svake analize kalibriran. U kivetu se dodala određena količina (do oznake na kiveti) pojedinog uzorka i postavljena je u uređaj. Shodno tome postupku, na zaslonu su se prikazivali rezultati  $L^*$ ,  $a^*$  i  $b^*$  vrijednosti.

Razlika u boji uzoraka s dodatkom brašna rogača u odnosu na kontrolni uzorak bez dodatka se određivala prema slijedećem izrazu:

$$\Delta E^* = \sqrt{[(L^* - L^*_{ref})^2 + (a^* - a^*_{ref})^2 + (b^* - b^*_{ref})^2]} \quad [5]$$

gdje se  $L^*_{ref}$ ,  $a^*_{ref}$ ,  $b^*_{ref}$  odnose na kontrolni uzorak jogurta, a  $L^*$ ,  $a^*$  i  $b^*$  na uzorke s dodanim brašnom sjemenki rogača. Tablicom 5 je prikazano značenje dobivenih  $\Delta E^*$  vrijednosti.

**Tablica 5.** Značenje razlika među određenim  $\Delta E^*$  vrijednostima (Božanić i sur., 2010)

$\Delta E^*$	Značenje
0-0,5	Razlike u tragovima
0,5-1,5	Mala razlika
1,5-3,0	Primjetna razlika
3,0-6,0	Značajna razlika
6,0-12,0	Velika razlika
>12,0	Vrlo velika razlika

### 3.3.3.8. Određivanje reoloških svojstava jogurta

Viskoznost je reološko svojstvo koje predstavlja rezultat unutrašnjeg trenja molekula, tj. otpora tekućine pri protjecanju (Tratnik i Božanić, 2012). Uređaj na kojemu su provedena ispitivanja je rotacijski reometar (RM-180, Rheometric, Inc., Piscataway, SAD).

Postupak:

Rotacijski reometar (Rheometric Scientific RM-180, Rheometric, Inc., Piscataway, SAD) se sastoji cilindričnog vretena te od vanjskog plašta u koje se prije svakog mjerenja dodalo 32 mL

uzorka jogurta. Vreteno s uzorkom se pričvrstilo nazad na tijelo uređaja, kako bi bilo uronjeno u uzorak tijekom ispitivanja. Ispitivanjem se dobila vrijednost napona smicanja ( $T$ ) u Pa i prividna viskoznost ( $\mu$ ) u Pa $\times$ s pri brzinama smicanja ( $D$ ) od 100, 270, 440, 610, 780, 950, 1120 i 1290 s<sup>-1</sup>.

### 3.3.3.9. Određivanje sinereze i kapaciteta zadržavanja vode

Sinereza predstavlja svojstvo izdvajanja sirutke na površini krutog fermentiranog mliječnog proizvoda zbog stezanja strukture gela nastalog fermentacijom. Kapacitet zadržavanja vode (WHC) je pokazatelj sposobnosti zadržavanja seruma u strukturi gela, koja doprinosi minimalnom odvajanju sirutke (Filipan, 2021).

Postupak:

U plastične kivete volumena 50 mL dodano je 10 g fermentiranog uzorka te je centrifugirano na centrifugiranom separatoru (IKA, Rotina 380 R, Njemačka). Centrifugiranje je provedeno na temperaturi 4 °C, na 5000 okretaja po minuti tijekom 10 minuta. Nakon provedenog centrifugiranja, pipetom se odvojio supernatant, a talog koji je zaostao u kiveti se izvagao. Razlika u masama predstavlja masu supernatanta. U rezultatima je izdvojeni supernatant prikazan u volumnim vrijednostima, a kapacitet zadržavanja vode se izračunao prema sljedećoj formuli:

$$WHC (\%) = \left( \frac{m_{talog}}{m_{uzorak}} \right) \cdot 100 \quad [6]$$

$m_{talog}$  = masa taloga nakon uklanjanja tekućeg dijela prije filtriranja (g)

$m_{uzorak}$  = masa uzorka prije centrifugiranja (g)

Iz dobivenih vrijednosti dobila se i sinereza kao postotak prema sljedećoj formuli:

$$S (\%) = \left( \frac{m_{supernatant}}{m_{uzorak}} \right) \cdot 100 \quad [7]$$

$m_{supernatant}$  = masa supernatanta (sirutke) odvojene od mreže gela tijekom centrifugiranja (g)

$m_{uzorak}$  = početna masa uzorka, prije centrifugiranja (g)

### 3.3.3.10. Senzorsko ocjenjivanje jogurta

Ljudska osjetila predstavljaju najbolji mjerni instrument pomoću kojeg provodimo analizu senzorske procjene hrane (Filajdić i sur., 1988).

U ovoj senzorskoj procjeni hrane sudjelovalo je 5 ispitivača koji su ocjenjivali 4 uzorka kroz period od 28 dana. Ocjenjivanje je provedeno na uzorcima s dodatkom različite količine brašna sjemenki rogača, te na kontrolnom uzorku jogurta. U ocjenu su ulazila mišljenja ispitivača o izgledu, boji, konzistenciji, mirisu, sinerezi i okusu uzoraka, a rangirano je od ocjene 1 do 5, prema obrascu prikazanom tablicom 6. Rezultati senzorskog ocjenjivanja su dobiveni su korištenjem metode ponderiranih bodova, množenjem ocjenjivanog svojstva s faktorom značajnosti ( $F_v$ ) (tablica 7). Faktor značajnosti za pojedino svojstvo se izračunao tako da se maksimalan broj bodova svojstva podijeli s maksimalnom ocjenom (5) (Filajdić i sur., 1988).

**Tablica 6.** Primjer obrasca za senzorsko ocjenjivanje fermentiranog mlijeka (Božanić i sur., 2010)

<b>Datum:</b>				
<b>Ime i prezime</b>				
<b>Svojstvo (ocjenjuje se ocjenama od 1 do 5)</b>	<b>Kontrola</b>	<b>Dodatak brašna sjemenki rogača 0,25 %</b>	<b>Dodatak brašna sjemenki rogača 0,15 %</b>	<b>Dodatak brašna sjemenki rogača 0,05 %</b>
Izgled				
Boja				
Konzistencija				
Miris				
Sinereza				
Okus				
Komentari:				

**Tablica 7.** Opisni parametri senzorskih svojstava za ocjenjivanje fermentiranih mliječnih napitaka sustavom od 20 ponderiranih bodova (Filipan, 2021)

<b>Senzorsko svojstvo</b>	<b>F<sub>v</sub></b>	<b>Opisni parametar</b>	<b>Ocjena</b>	<b>Najviši broj bodova</b>
<b>Izgled</b>	0,2	Homogeno, glatko, boja jednaka po cijeloj površini	5	1
		Zamjetne male neravnine i udubljenja, malo izdvajanje sirutke na površini, male razlike u boji površine	3-4	
		Neravno, znatno izdvojena sirutka, bitne razlike u boji na površini	1-2	
<b>Boja</b>	0,2	Jednolična po cijelom proizvodu, bijela do blago žućkasta	4-5	1
		Manja odstupanja u boji	3	
		Strana boja, ne karakteristična za jogurt, nejednolična	1-2	
<b>Konzistencija</b>	0,8	Homogena, viskozna, kompaktna, ujednačene strukture, bez grudica	5	4
		Male nehomogenosti, zamjetno odvajanje krute i tekuće faze ili male grudice	3-4	
		Odvajanje faza, grudičavost, nehomogenost	1-2	
<b>Miris</b>	0,4	Ugodno osvježavajući kiselkasti miris	4-5	2
		Slabo izražen okus po prekiselom	3	
		Proizvod neugodna mirisa, po prekiselom, strani miris	1-2	
<b>Sinereza</b>	0,4	Nema je, ne zamjetna je	4-5	2
		Slabo do umjereno izražena	2-3	

**Tablica 8.** Opisni parametri senzorskih svojstava za ocjenjivanje fermentiranih mliječnih napitaka sustavom od 20 ponderiranih bodova (Filipan, 2021) - *nastavak*

		Jako zamjetna	1	
<b>Okus</b>	2,0	Ugodno kiseo, osvježavajući, fine konzistencije u ustima, bez grudica	4-5	10
		Malo prekiselo ili malo preslatko	3	
		Jako kiseo ili nimalo kiseo, stranog okusa, nehomogen u ustima, ostavlja neugodan naknadni okus	1-2	

Mikrobiološka analiza, određivanje udjela laktoze te određivanje udjela suhe tvari i pepela su se provodile prvog i sedmog dana fermentacije na uzorcima različitih koncentracija. Ostale analize među kojima su određivanje titracijske i aktivne kiselosti, reoloških svojstava, boje i senzorsko ocjenjivanje se provodilo 1., 7., 14., 21. i 28. dan fermentacije na uzorcima različitih koncentracija.

### 3.4. OBRADA PODATAKA

Rezultati istraživanja su obrađeni u programu Microsoft Excel 2010. Prikazani su rezultati uzoraka fermentiranih na temperaturi od 37 °C i rezultati uzoraka fermentiranih na 43 °C kao srednja vrijednost.

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

Cilj ovog rada bilo je provesti fermentaciju kozjeg mlijeka uz dodatak brašna sjemenki rogača. Budući da je fermentirano kozje mlijeko po sebi rijetke konzistencije, dodatak brašna sjemenki rogača ima za cilj poboljšanje i dobivanje u konačnici proizvoda bolje i gušće konzistencije. Fermentacija se provodila na dvije različite temperature gdje se kroz 28 dana pratile i određivale fizikalno-kemijske, mikrobiološke, reološke i senzorske karakteristike na uzorcima s dodatcima 0,05 %, 0,15 % i 0,25 % brašna sjemenki rogača u usporedbi s kontrolnim uzorkom. Tablicom 8 prikazan je sastav korištenog mlijeka za pokuse. Tablica 9 prikazuje broj enterobakterija i kvasaca i plijesni u sirovom i pasteriziranom mlijeku. pH vrijednost uzoraka tijekom fermentacije na 37 °C i na 43 °C za sve koncentracije je prikazana tablicom 10 i 12 aktivna i titracijska kiselost svih uzoraka za obje temperature je prikazana u tablici 11 (za fermentaciju na 37 °C) i tablicom 13 (za fermentaciju na 43 °C). Broj laktobacila i streptokoka prikazani su tablicama 14, za fermentaciju na 37 °C, i tablicom 15 za 43 °C. Tablice 16 i 17 daju prikaz prosječnog broja enterobakterija u uzorcima fermentiranih na 37 °C i 43 °C. Dalje, tablica 18 i



tablica 19 prikazuju udio suhe tvari i pepela u uzorcima fermentiranih na različitim temperaturama, a tablice 20 i 21 udio laktoze. Vrijednost  $\Delta E$  je prikazana u tablicama 22 i 23 promjena viskoznosti u uzorcima s različitim koncentracijama brašna sjemenki rogača fermentiranih na 37 °C prikazani su slikom 9 (a-e), a u uzorcima fermentiranih na 43 °C slikom 10 (a-e). Na slikama 11 i 12 vidljive su prosječne vrijednosti sinereze i kapaciteta zadržavanja vode u uzorcima fermentiranih na dvjema različitim temperaturama. Slike 13-17 prikazuju senzorsku analizu uzoraka fermentiranih na 37 °C od 1. do 28. dana skladištenja, a u nastavku na slikama 18-22 jednako tako je prikazana senzorska analiza za uzorke fermentirane na 43 °C od 1. do 28. dana skladištenja.

#### 4.1. SASTAV I MIKROBIOLOŠKA SVOJSTVA MLIJEKA

Tablicom 8 je prikazan sastav kozjeg mlijeka koje je korišteno za fermentaciju. Količina mliječne masti i bjelančevina kozjeg mlijeka proizvođača „OPG Moravec“ se nalaze u granicama prema Pravilniku o utvrđivanju sastava sirovog mlijeka (Pravilnik, 2020). Također, prema istraživanju Antunca i Samaržije (2000) sastav kozjeg mlijeka je sličnih vrijednosti kao kod proizvođača „OPG Moravec“.

**Tablica 8.** Sastav svježeg kozjeg mlijeka s 3 % m.m. proizvođača "OPG Moravec"

Parametar	Vrijednost
<b>Energija</b>	233 kJ/56 kcal
<b>Masti</b>	3,0 g
<b>od toga zasićene masne kiseline</b>	2,1 g
<b>Ugljikohidrati</b>	4,3 g
<b>od toga šećeri</b>	4,3 g
<b>Bjelančevine</b>	2,9 g
<b>Sol</b>	0,30 g

Tablica 9 prikazuje broj kolonija roda *Enterobacteriaceae* ( $\log$  CFU mL<sup>-1</sup>) i kvasaca i plijesni ( $\log$  CFU mL<sup>-1</sup>) u uzorcima sirovog i pasteriziranog mlijeka koje je analizirano prije samog početka procesa fermentacije (tablica 9).

**Tablica 9.** Prosječan broj poraslih kolonija roda *Enterobacteriaceae* (log CFU mL<sup>-1</sup>) i kvasaca i plijesni (log CFU mL<sup>-1</sup>) u uzorcima sirovog i pasteuriziranog mlijeka (n=2)

Uzorak	<i>Enterobacteriaceae</i> log (CFU ml <sup>-1</sup> )	Kvasci i plijesni log (CFU ml <sup>-1</sup> )
Sirovo mlijeko	2,46	3,51
Pasteurizirano mlijeko	0	1,25

#### 4.2. AKTIVNA I TITRACIJSKA KISELOST JOGURTA

Mjerenjem aktivne kiselosti koja se izražava koncentracijom vodikovih iona (pH vrijednost), određivana je kiselost fermentiranog napitka od kozjeg mlijeka tijekom postupka fermentacije i tijekom 7 dana hladnog skladištenja napitaka. Kiselost se tijekom postupka fermentacije određivala do postizanja pH vrijednost 4,6 pri čemu se smatralo da je fermentacija gotova. Fermentacija napitaka je provedena na dvije različite temperature 37 °C i 43 °C.

Prema istraživanjima (Božanić i Tratnik, 1996) proizvodnja mliječne kiseline kozjeg mlijeka je brža u odnosu na fermentaciju kravljeg mlijeka. Istraživanje je pokazalo da je prosječno stvaranje mliječne kiseline 2 sata i 30 minuta. U ovom radu, kraj fermentacije odnosno postizanje pH 4,6 na temperaturi od 37 °C je različito ovisno o dodatku brašna sjemenki rogača. Tako je postupak fermentacije uzorka s koncentracijom od 0,25 % trajao 6 h, dok za postizanje pH vrijednosti 4,6 uzorka s dodatkom 0,15 % i 0,05 % brašna sjemenki rogača bilo potrebno 6 h i 30 min (tablica 10). Za fermentaciju na temperaturi od 43 °C bilo je potrebno 6 h za sve tri dodane koncentracije brašna sjemenki rogača (tablica 12). Kontrolnom uzorku je bilo potrebno 5 sati i 15 minuta za postizanje pH vrijednosti 4,6 jedinica. Fermentacija je provedena jogurtnom kulturom *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* i *Streptococcus thermophilus*. Laktobacili i streptokoki sadrže enzime amilaze koje hidroliziraju škrob u jednostavnije šećere. Takve jednostavne šećere bakterije mliječne kiseline mogu bolje iskoristiti za svoj rast i razvoj (Panda i Ray, 2016). Obzirom da je brašno sjemenki rogača bogato škrobom, uz prisutnost jogurtne kulture, lako je moguće proizvesti mliječnu kiselinu i postići fermentaciju, odnosno željnu pH vrijednost.

U tablicama 11 i 13 prikazane su pH vrijednosti napitaka mjerene kroz 28 dana skladištenja na temperaturi od 4 °C. Napitci fermentirani na temperaturi od 37 °C (tablica 11) imali su ne promijenjenu pH vrijednost kroz sve dane praćenja, a iznosila je oko 4,5 pH jedinica. pH

vrijednost je bila slična za sve napitke s različitim koncentracijama dodatka brašna sjemenki rogača. Prema tablici 13, gdje su prikazani rezultati fermentacije na 43 °C, vidljiv je blagi pad pH vrijednost s dužim vremenom. pH vrijednost se 21. dana skladištenja snizila na 4,3 jedinica. Također, pH vrijednost kontrolnog uzorka je padala tijekom cijelog procesa skladištenja. Pad pH vrijednosti tijekom skladištenja uzoraka možemo pripisati naknadnoj aktivnosti jogurtne kulture te proizvodnji mliječne kiseline.

Rezultati mjerenja pH vrijednosti u istraživanju Mahtout i sur. (2016) koji su dodavali brašno rogača u kefir i pratili promjene, pokazali su da je pH također lagano padao s vremenom skladištenja proizvoda. Smanjenje pH značilo je povećanje kiselosti što je povezano s kontinuiranom razgradnjom laktoze dodanom jogurtnom kulturom. Također je vidljivo i iz istraživanja Arab i sur. (2022) da je pH vrijednost padala tijekom skladištenja, dok je nakon 14. dana vrijednost pH ostala konstantna. Osim toga, kontrolni uzorak fermentiranog kravljeg mlijeka je imao pH vrijednost nešto nižu u odnosu na uzorke uz dodatak rogača. Rezultati istraživanja Macit i Bakirci (2017) su također u korelaciji s rezultatima ovog rada, gdje je pH vrijednost bila najviša 1. dana čuvanja, nakon čega je nastavila padati zbog stvaranja mliječne kiseline u uzorcima jogurta s dodanom karuba gumom.

Titracijska kiselost predstavlja stupanj kiselosti mlijeka i mliječnih proizvoda titriranih pomoću NaOH uz indikator fenolftalein. U ovom radu se titracijska kiselost pratila tijekom 28 dana hladnog skladištenja u jogurtima fermentiranim na 37 °C i 43 °C. Prema tablicama 11 i 13 vidljivo je da se titracijska kiselost kod obje provedene fermentacije povećavala tijekom 28 dana skladištenja. Uočeno je da su napitci fermentirani na 43 °C imali nešto višu titracijsku kiselost u odnosu na jogurte fermentirane na nižoj temperaturi. Povišenje titracijske kiselosti je očekivano zbog stvaranja mliječne kiseline i tijekom perioda skladištenja, što se naziva naknadno zakiseljavanje.

Rezultati istraživanja Arab i sur. (2022) pokazali su također porast titracijske kiselosti u usporedbi s kontrolnim uzorkom, te su dokazali da je dodatak rogača u fermentirani napitak omogućio održavanje titracijske kiselosti tijekom skladištenja više od 7 dana. Maksimalna titracijska kiselost je postignuta 21. dana dok prema inicijalnim rezultatima, maksimalna vrijednost kod obje fermentacije je postignuta 28. dana skladištenja. Ovakvi rezultati su u korelaciji i s istraživanjem skupine autora Mahtout i sur. (2016) gdje je također vidljivo da se kiselost povećavala tijekom skladištenja i da je uz dodatak rogača moguće održavanje

koncentracije ugljikohidrata koje bakterije mliječne kiseline mogu metabolizirati kroz cijeli proces fermentacije.

**Tablica 10.** pH vrijednost uzoraka jogurta bez (Kontrola) i s dodatkom brašna sjemenki rogača (0,05 %, 0,15 %, 0,25 %) tijekom fermentacije na T=37 °C

Vrijeme (h)	Uzorak / pH			
	Kontrola	0,05 %	0,15 %	0,25 %
0	6,05	6,42	6,41	6,41
1	6,01	6,26	6,30	6,29
2	5,56	6,16	6,16	6,15
3	5,08	6,25	6,18	6,10
4	/	5,93	5,69	5,36
5	/	5,19	5,69	5,19
5,15	4,66	/	/	/
6	/	4,92	4,80	4,65
6,15	/	4,88	4,71	/
6,30	/	4,68	4,61	/

**Tablica 11.** pH i °SH vrijednosti uzoraka bez (Kontrola) i s dodatkom brašna sjemenki rogača (0,05 %, 0,15 %, 0,25 %) fermentiranih na T=37 °C kroz 28 dana hladnog skladištenja

Dani čuvanja	Kontrola		0,05 %		0,15 %		0,25 %	
	pH	°SH	pH	°SH	pH	°SH	pH	°SH
1.	4,53	24,6	4,60	30,4	4,56	30,2	4,59	29,4
7.	4,49	35,5	4,44	35,2	4,50	34,2	4,51	33,8
14.	4,47	40,5	4,45	37,0	4,42	36,2	4,44	35,6
21.	4,39	35,9	4,42	45,6	4,38	49,6	4,40	42,8
28.	4,35	38,4	4,44	46,0	4,40	46,0	4,40	46,6

**Tablica 12.** pH vrijednost jogurta bez (Kontrola) i s dodatkom brašna sjemenki rogača (0,05 %, 0,15 %, 0,25 %) tijekom fermentacije na T=43 °C

Vrijeme (h)	Uzorak / pH			
	Kontrola	0,05 %	0,15 %	0,25 %
0	6,05	6,34	6,31	6,36
1	6,01	6,22	6,17	6,23
2	5,56	6,08	6,04	6,06
3	5,08	5,82	5,75	5,82
4	/	5,20	5,09	5,25
5	/	4,83	4,76	4,78
5,15	4,66	/	/	/
6	/	4,63	4,64	4,65

**Tablica 13.** pH i °SH vrijednosti uzoraka bez (Kontrola) i s dodatkom brašna sjemenki rogača (0,05 %, 0,15 %, 0,25 %) fermentiranih na T=43 °C kroz 28 dana hladnog skladištenja

Dani čuvanja	Kontrola		0,05 %		0,15 %		0,25 %	
	pH	°SH	pH	°SH	pH	°SH	pH	°SH
1.	4,53	24,6	4,67	32,4	4,61	33,6	4,62	32,2
7.	4,49	35,5	4,55	35,0	4,51	32,0	4,55	30,4
14.	4,47	40,5	4,44	44,4	4,43	35,2	4,44	34,4
21.	4,39	35,9	4,39	48,4	4,45	37,2	4,37	47,2
28.	4,35	38,4	4,33	50,2	4,31	49,0	4,33	51,4

#### 4.3. MIKROBIOLOŠKA SVOJSTVA JOGURTA

Kontrolnim uzorcima te uzorcima obogaćenim brašnom sjemenki rogača, prvog i zadnjeg dana hladnog skladištenja provedena je mikrobiološka analiza. Analizom su se dobili rezultati za prisutnost laktobacila, streptokoka i enterobakterija.

Analizom uzoraka fermentiranih na 37 °C utvrđeno je da se broj laktobacila smanjio u uzorcima obogaćenim brašnom sjemenki rogača do zadnjeg dana skladištenja, dok se broj laktobacila u kontrolnom uzorku povećao. Suprotno tome, broj streptokoka se povećao u obogaćenim uzorcima do zadnjeg dana čuvanja, iako se u kontrolnom uzorku u manjoj mjeri smanjio (tablica

14). Kod uzoraka fermentiranih na 43 °C vrijednosti su bile nešto drugačije (tablica 15). Broj laktobacila se također smanjio od 1. do 28. dana čuvanja u obogaćenim uzorcima, dok se u kontrolnom uzorku povećao. Nadalje, broj streptokoka se također smanjio do zadnje provedene analize u svim obogaćenim uzorcima kao i u kontrolnom uzorku. Pad broja laktobacila se može pripisati svojstvima termofilnih bakterija koje su bile izložene niskim temperaturama čuvanja, neadekvatnima za njihov rast i razvoj.

Rezultati su u korelaciji s istraživanjem skupine autora Sadoud i sur. (2022) koji su također zaključili da se broj laktobacila i streptokoka smanjivao tijekom perioda skladištenja dodatkom karuba gume jogurt proizveden od obranog mlijeka u prahu, uz objašnjenje da je to moguća posljedica proizvodnje toksičnih metabolita bakterija mliječne kiseline. Nadalje, preživjeli broj laktobacila i streptokoka u radu skupine autora Kholy i sur. (2015) je u svim uzorcima jogurta s dodanom karuba gumom od rogača bio iznad 8 log cfu/g što je u korelaciji s ovim radom. Kholy i sur. (2015) navode da aditivi poput karuba gume imaju zaštitni učinak na bakterije mliječne kiseline, te omogućuju njihovo preživljavanje. Arab i sur. (2022) su uočili da dodatak brašna sjemenki rogača u fermentirano mlijeko nema učinka na broj streptokoka i laktobacila.

**Tablica 14.** Prosječan broj poraslih kolonija *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* i *Streptococcus thermophilus* (log CFU mL<sup>-1</sup>) 1. i 28. dana hladnog skladištenja uzoraka bez (Kontrola) i s dodatkom brašna sjemenki rogača (0,05 %, 0,15 %, 0,25 %) fermentiranih na T=37 °C

Dani čuvanja	log CFU mL <sup>-1</sup>							
	Kontrola		0,05 %		0,15 %		0,25 %	
	Lakto- bacili	Strepto- -koki	Laktobac- ili	Strepto- -koki	Lakto- bacili	Strepto- koki	Lakto- bacili	Strepto- koki
1.	3,13	8,96	10,07	7,95	8,62	8,26	8,66	8,07
28.	8,14	8,49	3,15	8,86	2,64	8,97	2,26	9,36

**Tablica 15.** Prosječan broj poraslih kolonija *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* i *Streptococcus thermophilus* ( $\log \text{CFU mL}^{-1}$ ) 1. i 28. dana hladnog skladištenja uzoraka bez (Kontrola) i s dodatkom brašna sjemenki rogača (0,05 %, 0,15 %, 0,25 %) fermentiranih na  $T=43\text{ }^{\circ}\text{C}$

Dani čuvanja	$\log \text{CFU mL}^{-1}$							
	Kontrola		0,05 %		0,15 %		0,25 %	
	Lakto- bacili	Strepto- -koki	Laktobac- ili	Strepto- -koki	Lakto- bacili	Strepto- koki	Lakto- bacili	Strepto- koki
1.	3,13	9,95	9,72	8,78	8,72	10,82	8,74	9,95
28.	8,14	8,55	2,52	8,5	2,32	7,90	2,80	8,55

Koliformne bakterije, odnosno enterobakterije su također nepoželjna pojava u prehrambenim namirnicama, a otkrije li se njihova prisutnost u nedozvoljenim granicama, namirnica se smatra zdravstveno neispravnom (Božanić i sur, 2010). U ovom radu, utvrdila se vrlo niska prisutnost enterobakterija u uzorcima fermentiranim na  $43\text{ }^{\circ}\text{C}$  (tablica 17). 0,25 % uzorak prema Vodiču za mikrobiološke kriterije za hranu (2009) je imao broj enterobakterija ispod minimalne dopuštene vrijednosti 1. dana skladištenja, a 28. dana takvu vrijednost je imao uzorak 0,15 %. U uzorcima fermentiranim na nižoj temperaturi, analizom tijekom zadnjeg dana skladištenja nije identificirana prisutnost enterobakterija u uzorcima obogaćenim brašnom sjemenki rogača, dok je u kontrolnom uzorku bilo nešto više enterobakterija (tablica 16). Također, 0,25 % uzorak 1. i 28. dana skladištenja, prema Vodiču za mikrobiološke kriterije za hranu je imao broj enterobakterija ispod minimalne dopuštene vrijednosti. Vrijednosti dobivene u ovom radu su u dozvoljenim granicama prema Vodiču za mikrobiološke kriterije za hranu ( $10 \cdot 10^2 \text{ cfu/mL}$ ). Kholy i sur. (2015) nisu otkrili njihovu prisutnost uz očekivanje da bakterije mliječne kiseline imaju ulogu u očuvanju proizvoda i da visoke temperature ne pogoduju razvoju koliformnih bakterija.

**Tablica 16.** Prosječan broj poraslih kolonija roda *Enterobacteriaceae* (log CFU mL<sup>-1</sup>) 1. i 28. dana hladnog skladištenja uzoraka bez (Kontrola) i s dodatkom brašna sjemenki rogača (0,05 %, 0,15 %, 0,25 %) fermentiranih na T=37 °C

Dani čuvanja	log CFU mL <sup>-1</sup>			
	Kontrola	0,05 %	0,15 %	0,25 %
1.	0,90	1,70	1,75	0,30
28.	1,59	-	-	0

- nije bilo poraslih kolonija

**Tablica 17.** Prosječan broj poraslih kolonija roda *Enterobacteriaceae* (log CFU ml<sup>-1</sup>). i 28. dana hladnog skladištenja tijekom fermentacije uzoraka bez (Kontrola) i s dodatkom brašna sjemenki rogača (0,05 %, 0,15 %, 0,25 %) na T=43 °C

Dani čuvanja	log CFU mL <sup>-1</sup>			
	Kontrola	0,05 %	0,15 %	0,25 %
1.	0,90	1,04	1,36	0,60
28.	1,59	1,30	0,60	1

#### 4.4. UDIO SUHE TVARI, PEPELA I LAKTOZE U JOGURTU

Ostatak koji ostane nakon izdvajanja vode, nakon postupka sušenja materijala naziva se suha tvar. U ovom radu količina suhe tvari određivana je prvi i posljednji dan hladnog skladištenja. Rezultati za kontrolni uzorak bili su podjednaki nakon 1. i nakon 28. dana čuvanja, a udio suhe tvari iznosio je 11,73 % za kontrolni uzorak 1. dana skladištenja, odnosno 11,64 % za kontrolni uzorak 28. dana skladištenja. Uzorci obogaćeni brašnom sjemenki rogača i fermentirani na temperaturi od 37 °C imali su vrijednosti udjela suhe tvari oko 11 % (tablica 18). Iznimka je bio uzorak koncentracije 0,15 % čiji je udio na početku postupka iznosio 6,39 % dok je do kraja perioda povećan na 11,73 %. Razlog tome je vjerojatno analitička pogreška prilikom određivanja suhe tvari jer nema razloga za povećanjem suhe tvari. Slični rezultati su dobiveni i mjerenjem suhe tvari kod uzoraka fermentiranih na temperaturi od 43 °C (tablica 19). Udio suhe tvari iznosio je od 10 do 11 % na početku i na kraju perioda hladnog skladištenja.

Guler i sur. (2016) su uočili neznatno povećanje udjela suhe tvari u probiotičkom sladoledu s dodatkom ekstrakta rogača za razliku od kontrolnih uzoraka. Peker i sur. (2013) su napisali da se udio suhe tvari proporcionalno povećavao s dodatkom karuba gume od rogača u uzorke jogurta, dok je u ovom radu udio suhe tvari ostajao konstantan s promjenom koncentracije



dotatka brašna sjemenki rogača. Rezultati istraživanja Kholy i sur. (2015) su pokazali da se ukupni sadržaj suhe tvari kretao oko 20 % što je znatno više u usporedbi s navedenim rezultatima, te se ukupna suha tvar povećavala što je veća koncentracija dodane gume od rogača.

Dobiveni ostatak tijekom procesa spaljivanja uzoraka na 550 °C naziva se pepeo, a predstavlja udio mineralnih tvari. Udio mineralnih tvari se određivao nakon 1. i nakon 28. dana hladnog skladištenja. Iz tablice 20 za uzorke fermentirane na nižoj temperaturi vidljivo je da je udio mineralnih tvari sasvim malo povećao do zadnjeg dana skladištenja, ali prosječna vrijednost se kretala oko 0,90 %. Suprotno tome, iz tablice 21 kod uzoraka fermentiranih na višoj temperaturi, koncentracija pepela se održavala konstantnom 1. i 28. dana, u vrijednosti oko 0,83 %. Kod obje provedene fermentacije, vrijednosti pepela obogaćenih uzoraka su bile niže od kontrolnog uzorka. Macut i sur. (2017) također su dobili sličnu količinu pepela u uzorku jogurta s dodanom karuba gumom rogača od 0,90 %, dok je njihov kontrolni uzorak imao nešto nižu vrijednost pepela.

**Tablica 18.** Udio suhe tvari i pepela u uzorcima bez (Kontrola) i s dodatkom brašna sjemenki rogača (0,05 %, 0,15 %, 0,25 %) 1. i 28. dan hladnog skladištenja fermentiranih na T=37 °C

Dani čuvan ja	Kontrola		0,05 %		0,15 %		0,25 %	
	Suha tvar (%)	Pepeo (%)	Suha Tvar (%)	Pepeo (%)	Suha tvar (%)	Pepeo (%)	Suha Tvar (%)	Pepeo (%)
1.	11,73	0,95	14,32	0,83	6,39	0,83	10,99	0,84
28.	11,64	0,91	11,18	0,84	11,73	0,83	11,66	0,82

**Tablica 19.** Udio suhe tvari i pepela u uzorcima bez (Kontrola) i s dodatkom brašna sjemenki rogača (0,05 %, 0,15 %, 0,25 %) 1. i 28. dan hladnog skladištenja fermentiranih na T=43 °C

Dani čuvan ja	Kontrola		0,05 %		0,15 %		0,25 %	
	Suha tvar (%)	Pepeo (%)	Suha Tvar (%)	Pepeo (%)	Suha tvar (%)	Pepeo (%)	Suha Tvar (%)	Pepeo (%)
1.	11,73	0,95	11,60	0,85	10,06	0,87	11,61	0,81
28.	11,64	0,91	10,21	0,89	9,51	0,90	10,43	0,89

Udio laktoze za uzorke fermentirane na 37 °C se povećao do zadnjeg dana čuvanja za sve koncentracije obogaćenih jogurta, dok se u kontrolnom uzorku udio laktoze smanjio (tablica 20). Slični rezultati su dobiveni kod mjerenja laktoze u uzorcima fermentiranih na višoj temperaturi, udio se povećao nakon proteklog vremena skladištenja, osim za 0,05 % uzorak kojem se udio laktoze smanjio za to vrijeme (tablica 21). Bakterije mliječne kiseline konvertiraju laktozu u mliječnu kiselinu pri čemu nastaje fermentirani proizvod. Tijekom 28 dana skladištenja istraživanjem je vidljivo da se broj bakterija mliječne kiseline (laktobacila i streptokoka) smanjivao, a udio laktoze povećavao kod fermentacije i na nižoj i na višoj temperaturi. Budući da se broj bakterija mliječne kiseline smanjivao vremenom, nadovezuje se podatak o povećanju laktoze koja se vremenom nije mogla prevesti u mliječnu kiselinu.

**Tablica 20.** Udio laktoze u uzorcima bez (Kontrola) i s dodatkom brašna sjemenki rogača (0,05 %, 0,15 %, 0,25 %) 1. i 28. dan hladnog skladištenja fermentiranih na T=37 °C

Dani čuvanja	Uzorak			
	Kontrola	0,05 %	0,15 %	0,25 %
1.	3,17%	2,17 %	3,43 %	3,39 %
28.	1,71%	4,80 %	3,89 %	5,18 %

**Tablica 21.** Udio laktoze u uzorcima bez (Kontrola) i s dodatkom brašna sjemenki rogača (0,05 %, 0,15 %, 0,25 %) 1. i 28. dan hladnog skladištenja fermentiranih na T=43 °C

Dani čuvanja	Uzorak			
	Kontrola	0,05 %	0,15 %	0,25 %
1.	3,17%	5,33 %	3,74 %	4,35 %
28.	1,71%	4,23 %	4,80 %	4,92 %

#### 4.5. ODREĐIVANJE BOJE JOGURTA

Ukupna razlika obojenosti računala se kako bi se utvrdilo odstupaju li uzorci s dodatkom rogača u boji u odnosu na referentni, kontrolni uzorak. Prema tablici 22, uzorcima fermentiranim na nižoj temperaturi tijekom 28 dana skladištenja utvrđena je velika razlika u boji u odnosu na kontrolni uzorak, osobito zadnjeg dana skladištenja gdje je vidljiva značajna razlika u boji kod uzoraka svih koncentracija. Tablica 23 nam prikazuje da je tijekom cijelog perioda čuvanja također vidljiva velika, a tijekom zadnjeg dana čuvanja uz dodatak 0,25 % i 0,15 % brašna rogača i značajna razlika u boji u odnosu na kontrolu. Kod dodatka 0,05 % brašna vidljiva je velika razlika u boji sve do posljednjeg dana kad je razlika bila primjetna. Dobiveni rezultati ukazuju da dodatak rogača utječe na promjenu boje konačnog proizvoda.

**Tablica 22.** Razlika vrijednosti za kromatske karakteristike uzoraka s dodatkom brašna sjemenki rogača (0,05 %, 0,15 %, 0,25 %) u odnosu na kontrolni uzorak izraženih kao vrijednost  $\Delta E^*$  fermentiranih na T=37 °C

Dani čuvanja	$\Delta E^*$		
	0,05 %	0,15 %	0,25 %
1.	6,86	9,41	8,61
7.	5,63	8,78	6,40
14.	15,16	16,22	19,50
21.	10,22	9,36	9,30
28.	4,73	5,44	4,83

**Tablica 23.** Razlika vrijednosti za kromatske karakteristike uzoraka u odnosu na kontrolni uzorak izraženih kao vrijednost  $\Delta E$  fermentiranih na  $T=43\text{ }^{\circ}\text{C}$

Dani čuvanja	$\Delta E^*$		
	0,05 %	0,15 %	0,25 %
1.	6,15	7,96	7,95
7.	7,79	14,05	10,75
14.	9,41	10,72	12,40
21.	2,78	7,51	4,75
28.	1,51	2,38	3,45

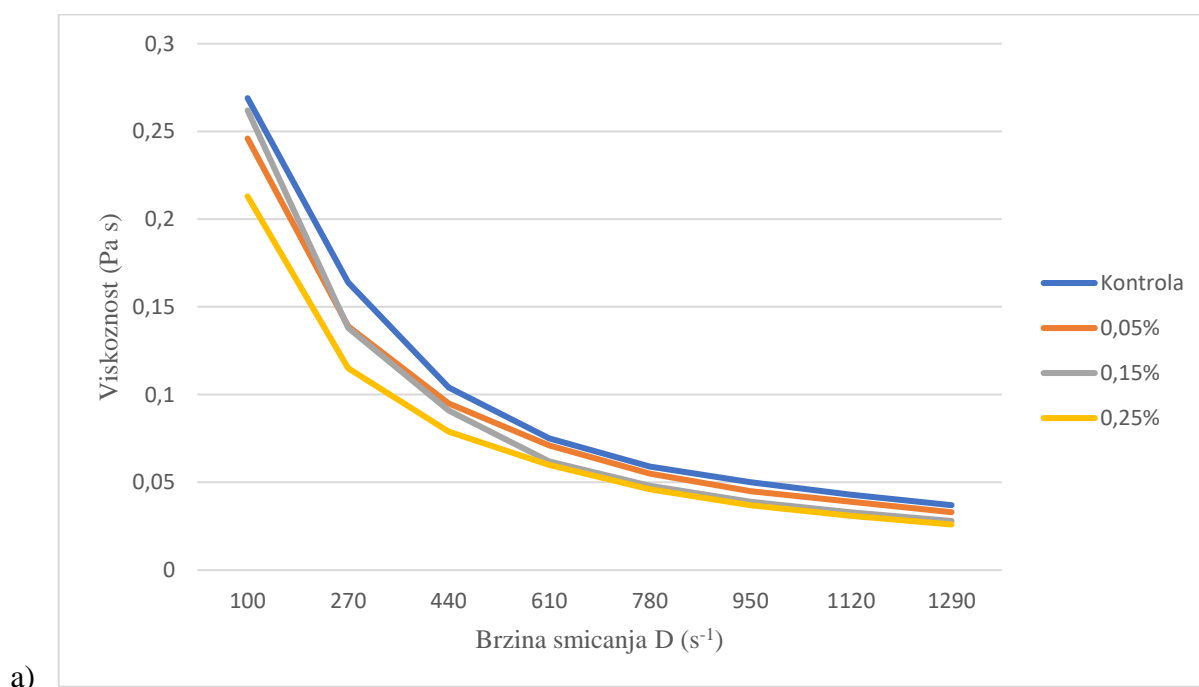
#### 4.6. REOLOŠKA SVOJSTVA JOGURTA

Pomoću rotacijskog reometra određena su reološka svojstva fermentiranih napitaka. Viskoznost ( $\mu$ ) predstavlja fizikalnu veličinu koja opisuje otpor tekućine prema tečenju. Pokretljivost tekućine je obrnuto proporcionalno s vrijednošću viskoznosti, ako je tekućina više pokretljiva manje je viskozna. Na slici 5 (a-e) i slici 6 (a-e) prikazane su promjene viskoznosti uzoraka fermentiranih napitaka s obzirom na brzinu smicanja nakon 7 dana hladnog skladištenja.

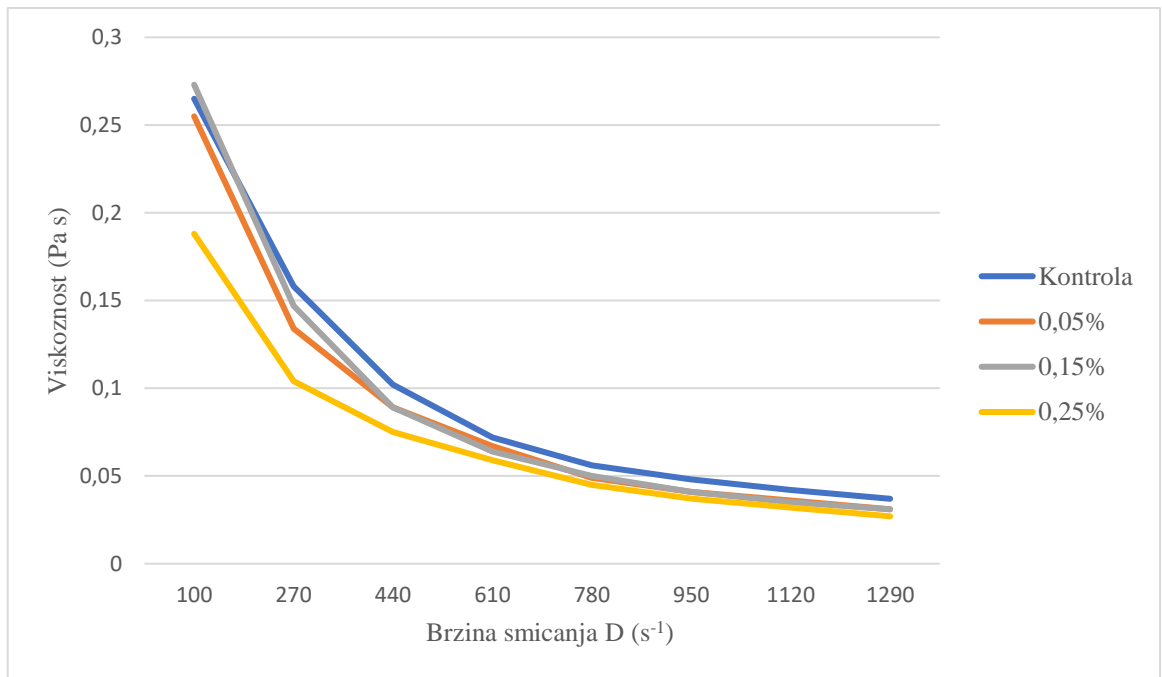
Prema rezultatima je vidljivo da je došlo do naglog pada viskoznosti kod većine uzoraka prelaskom brzine smicanja od 100 na 270  $\text{s}^{-1}$  nakon čega su vrijednosti nastavile blago padati. Viskoznost se održavala oko podjednakih vrijednosti na obje temperature fermentacije. Za sve uzorke vrijedi da se povećanjem brzine smicanja viskoznost smanjivala. Kontrolni uzorak je tijekom cijelog perioda skladištenja imao najvišu viskoznost u usporedbi s uzorcima s dodatkom brašna sjemenki rogača koji su imali niže vrijednosti viskoznosti. Iznimka je kod uzoraka s dodatkom 0,15 % brašna sjemenki rogača fermentiranih na temperaturi od 43  $^{\circ}\text{C}$ , koji su cijeli period skladištenja imali najnižu vrijednost viskoznosti u odnosu na ostale uzorke s dodatkom brašna sjemenki rogača. Na slici 5 a-e su prikazani rezultati viskoznosti uzoraka bez (Kontrola) i s dodatkom brašna sjemenki rogača (0,05 %, 0,15 %, 0,25 %) uzoraka fermentiranih na  $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}$  tijekom 28 dana hladnog skladištenja, dok je to isto za uzorke fermentirane na  $T=43\text{ }^{\circ}\text{C}$  prikazano na slici 6 a-e.

Rezultati ovog rada su u korelaciji s istraživanjem kojeg su proveli Benković i sur. (2019) pri čemu se brašno sjemenki rogača koristilo za pripremu nadjeva za tijesto i rezultati viskoznosti su pokazali da se vrijednosti smanjuju pri povećanju brzine smicanja. Također, Benković i sur. (2019) uočili su da ugljikohidrati, odnosno šećeri prisutni u rogaču uzrokuju smanjenje protoka

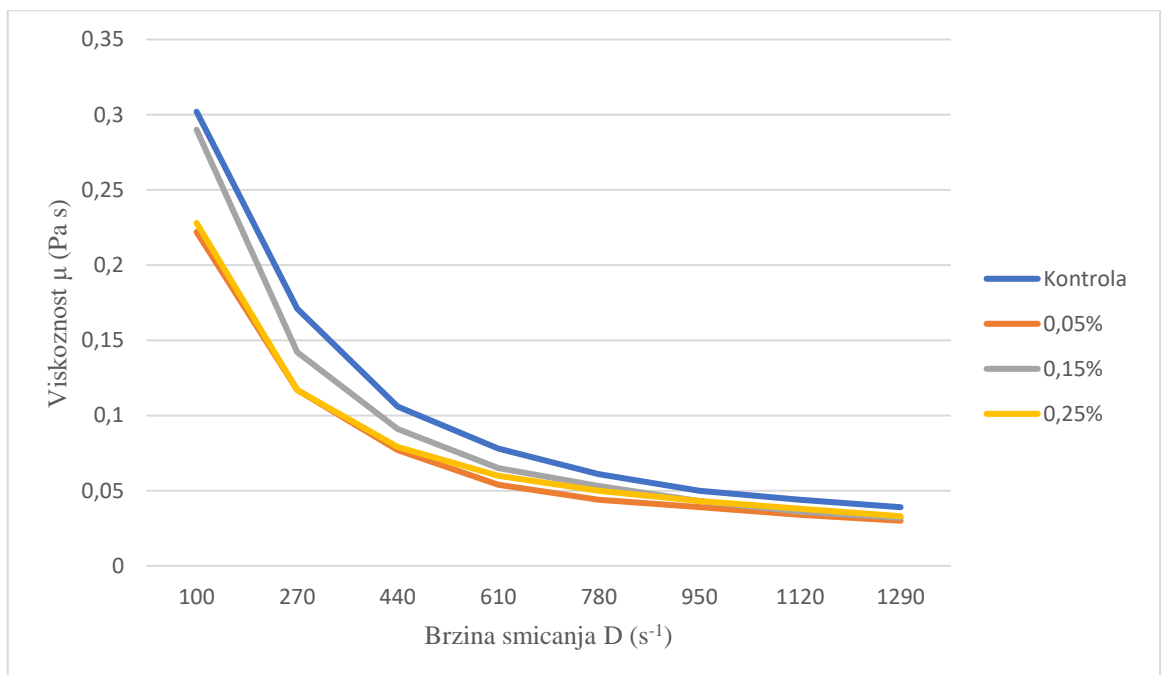
tekućine. Nadalje, Froiio i sur. (2020) su koristeći brašno sjemenki rogača kao dodatak pri fermentaciji biljnih napitaka, dokazali da veći sadržaj brašna sjemenki rogača omogućuje dobivanje proizvoda konzistencije slične jogurtu ujedno s prikladnom vrijednostima viskoznosti. Brašno sjemenki rogača omogućuje stvaranje trodimenzionalne mreže, podupire strukturu jogurta i sprečava destabilizaciju (Froiio i sur., 2020). U istraživanju skupine autora Sadoud i sur. (2022) koji su koristili gumu rogača kao dodatak u nemasni jogurt, dobili su rezultate da uzorci s dodanom gumom rogača imaju veću viskoznost od kontrolnih uzoraka uz objašnjenje da polisaharidi povećavaju viskoznost jogurta.

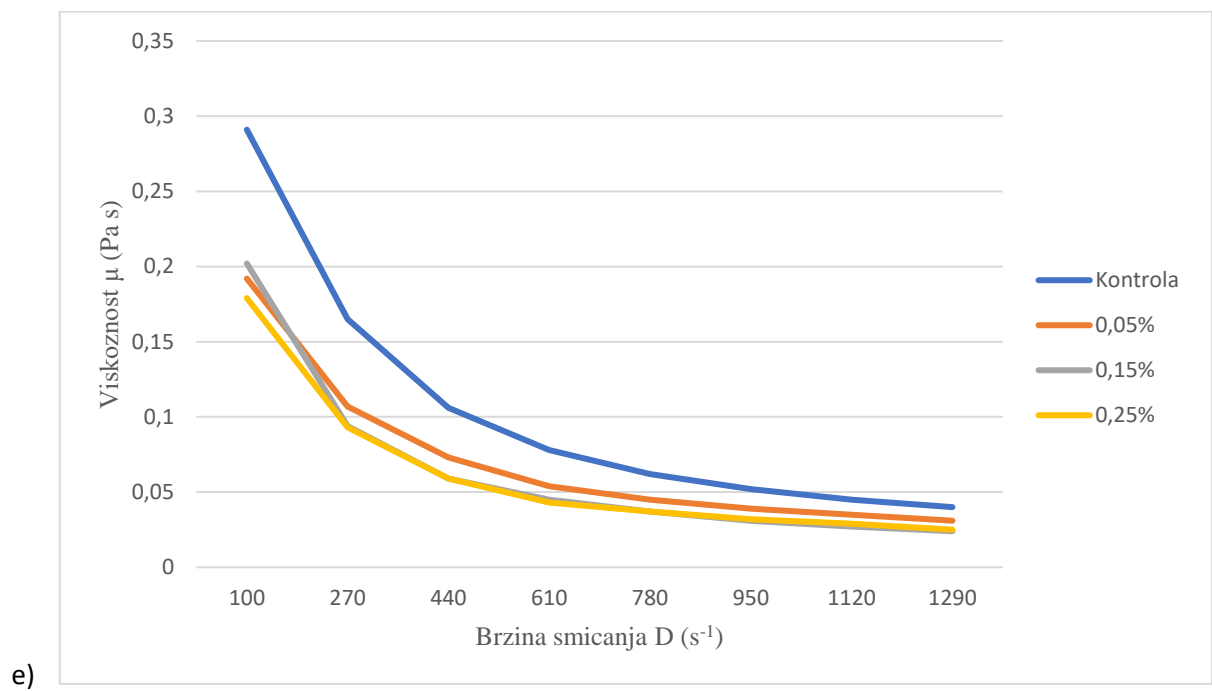
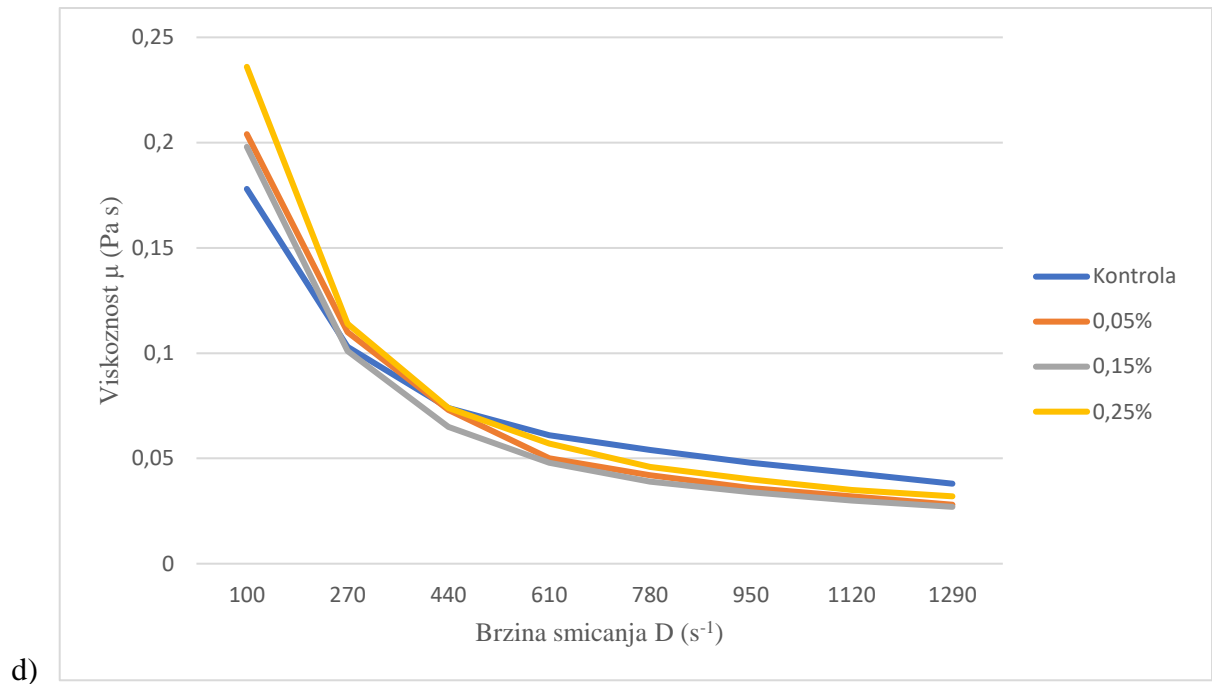


b)

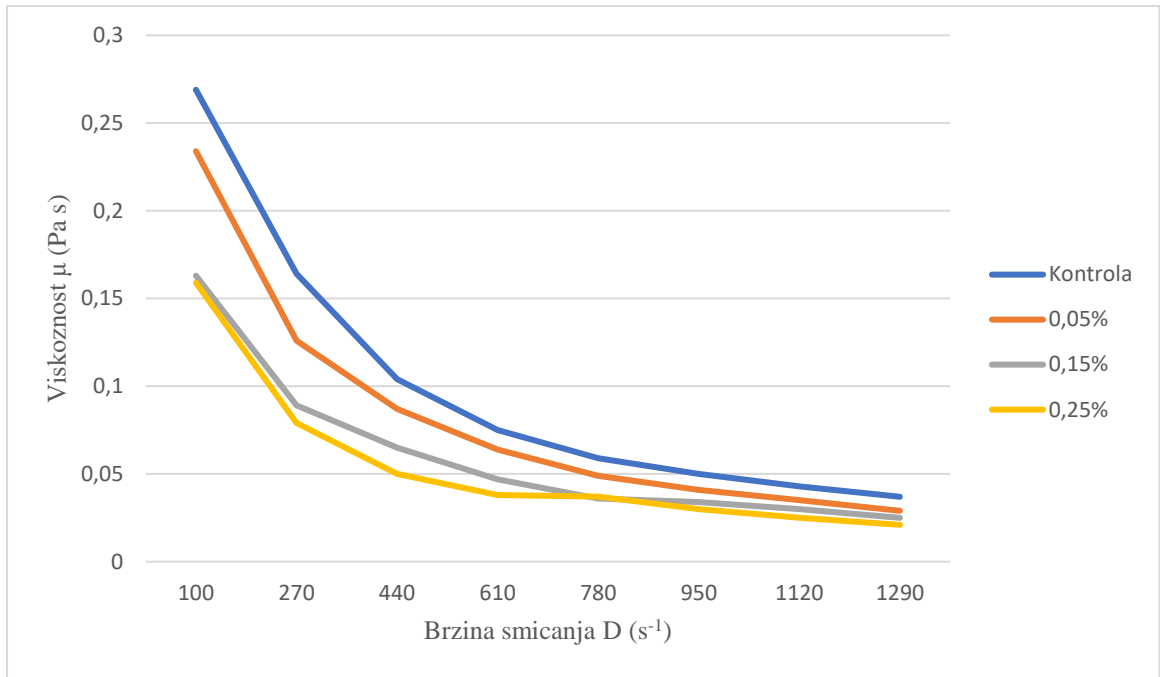


c)

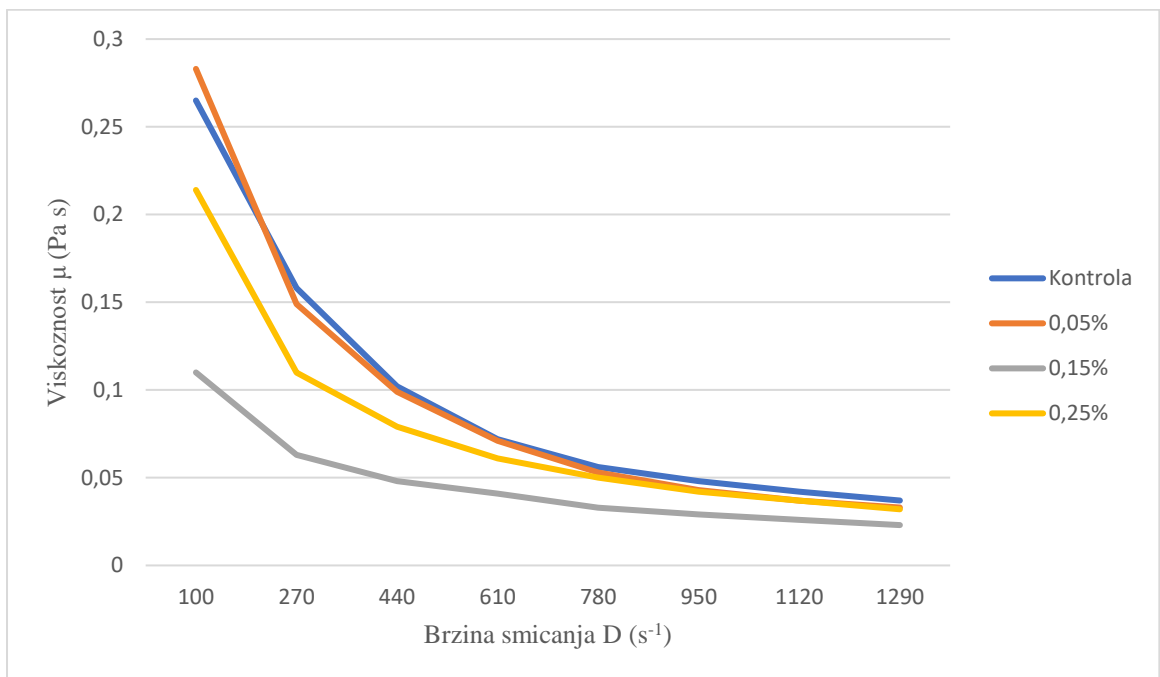




**Slika 5.** Promjena viskoznosti ( $\mu$ , Pa s) uzoraka jogurta bez (Kontrola) i s dodatkom brašna sjemenki rogača (0,05 %, 0,15 %, 0,25 %) fermentiranih na  $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}$  s obzirom na brzinu smicanja ( $D$ , s<sup>-1</sup>) nakon 1 (a), 7 (b), 14 (c), 21 (d) i 28 (e) dana hladnog skladištenja



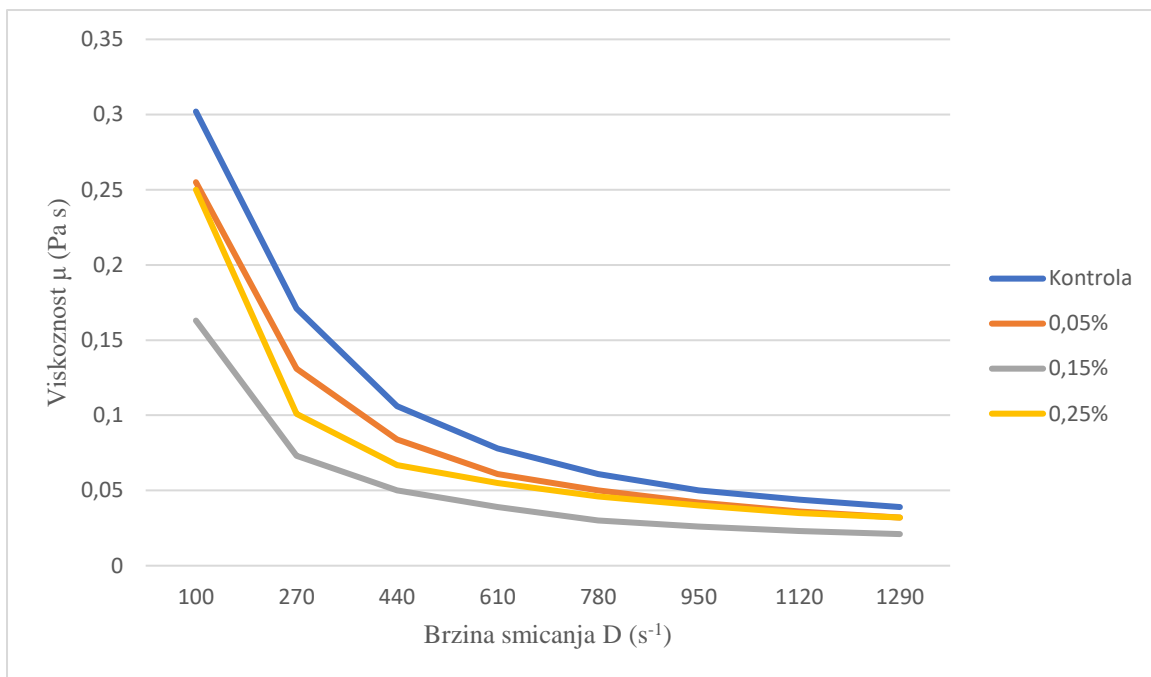
a)



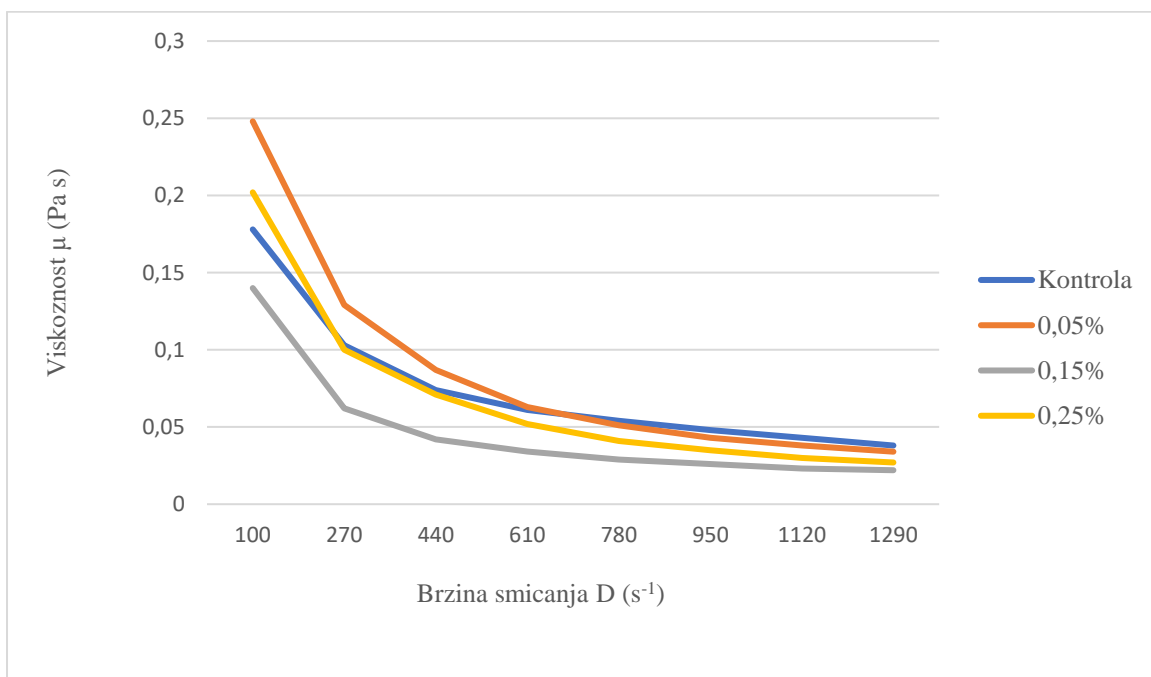
b)

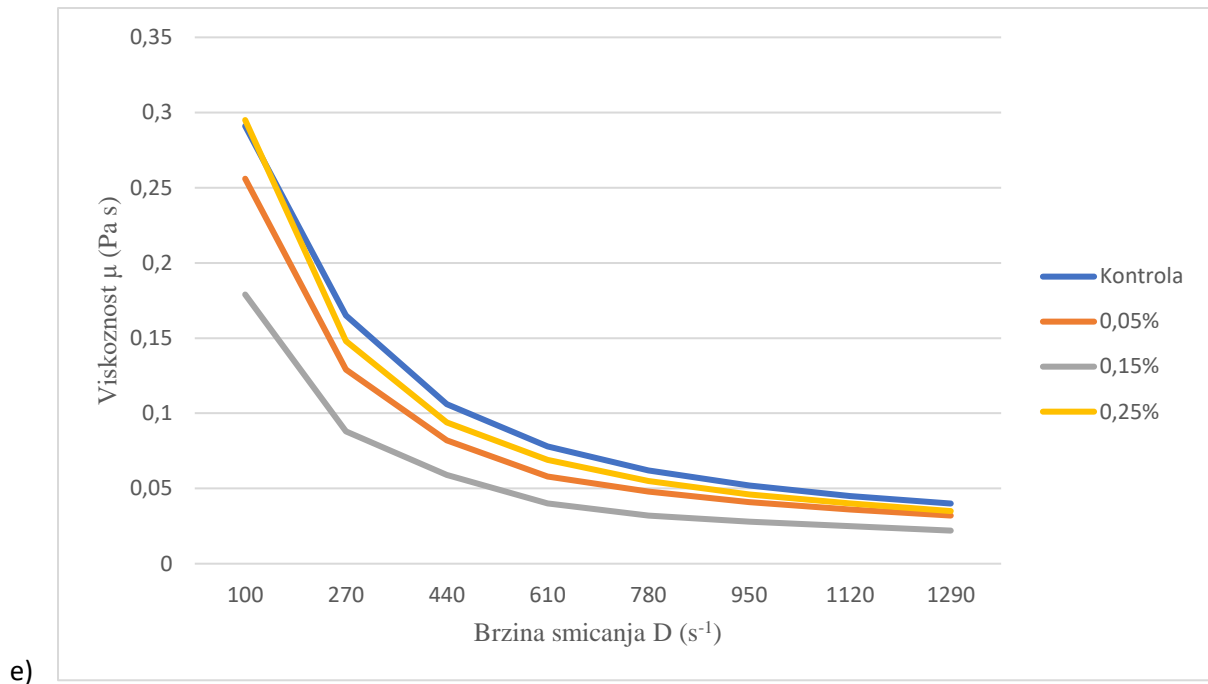


c)



d)





**Slika 6.** Promjena viskoznosti ( $\mu$ , Pa s) uzoraka jogurta bez (Kontrola) i s dodatkom brašna sjemenki rogača (0,05 %, 0,15 %, 0,25 %) fermentiranih na  $T=43$  °C s obzirom na brzinu smicanja ( $D$ , s<sup>-1</sup>) nakon 1 (a), 7 (b), 14 (c), 21 (d) i 28 (e) dana hladnog skladištenja

#### 4.7. SINEREZA I KAPACITET ZADRŽAVANJA VODE

Određivanjem sinereze dobiva se uvid u količinu izdvojene vode (sirutke) na površini fermentiranog proizvoda, a prema kapacitetu zadržavanja vode možemo vidjeti kolika je sposobnost zadržavanja vode u strukturi gela fermentiranog proizvoda. Slike 7 i 8 prikazuju prosječne vrijednosti sinereze kontrolnog uzorka i uzoraka s dodatkom brašna sjemenki rogača fermentiranih na temperaturama od 37 i 43 °C, tijekom cijelog perioda hladnog skladištenja izraženih u postocima.

Rezultati prikazuju da je sinereza tijekom 28 dana hladnog skladištenja bila manja kod kontrolnih uzoraka nego kod uzoraka s dodanim brašnom sjemenki rogača. Vrijednosti obogaćenih uzoraka fermentiranih na temperaturi od 37 °C opadaju dužim vremenom skladištenja (slika 7). Iznimka je vidljiva kod uzoraka svih koncentracija tijekom 21. dana skladištenja, gdje je došlo do povećanja vrijednosti sinereze. Najviše vrijednosti su vidljive prvog dana skladištenja uzoraka, među kojima se najviše sirutke izdvojilo u uzorku od 0,15 % koncentracije brašna sjemenki rogača i iznosila je 71 %. Suprotno tome, najniže vrijednosti su vidljive 28. dana čuvanja, uz iznimku uzorka koncentracije 0,25 % i kontrolnog uzorka čije su najniže vrijednosti očitane 14. dana čuvanja. Vrijednost kontrolnog uzorka 14. dana čuvanja je iznosila 49,06 %, dok uzorka koncentracije 0,25 % je iznosila 62,68 % (slika 7).

Na slici 8 vidljivi su rezultati vrijednosti sinereze uzoraka fermentiranih na 43 °C. Također je vrijednost sinereze kontrolnog uzorka niža od obogaćenih uzoraka. Međutim, za fermentaciju pri 43 °C se ne može reći da vrijednosti opadaju tijekom skladištenja za sve uzorke. Kod uzorka s dodatkom 0,25 % brašna sjemenki rogača vrijednosti opadaju do 14 dana skladištenja, kada je i ujedno postignuta najniža vrijednost sinereze u usporedbi sa svim ostalim uzorcima, a iznosila je 55,22 %. Nakon 14. dana čuvanja količina izdvojene sirutke nastavlja rasti. S druge strane, vrijednosti uzoraka koncentracija 0,15 % i 0,05 % padaju do 7. dana čuvanja, nakon čega polagano rastu. 21. dana čuvanja koncentracija 0,15 % postiže najvišu vrijednost izdvojene sirutke od 75,17 %. 28. dana čuvanja kod uzorka koncentracije 0,15 % brašna sjemenki rogača vidljiv je pad vrijednosti sinereze, dok uzorcima s 0,05 % brašna sjemenki rogača vrijednosti sinereze rastu.

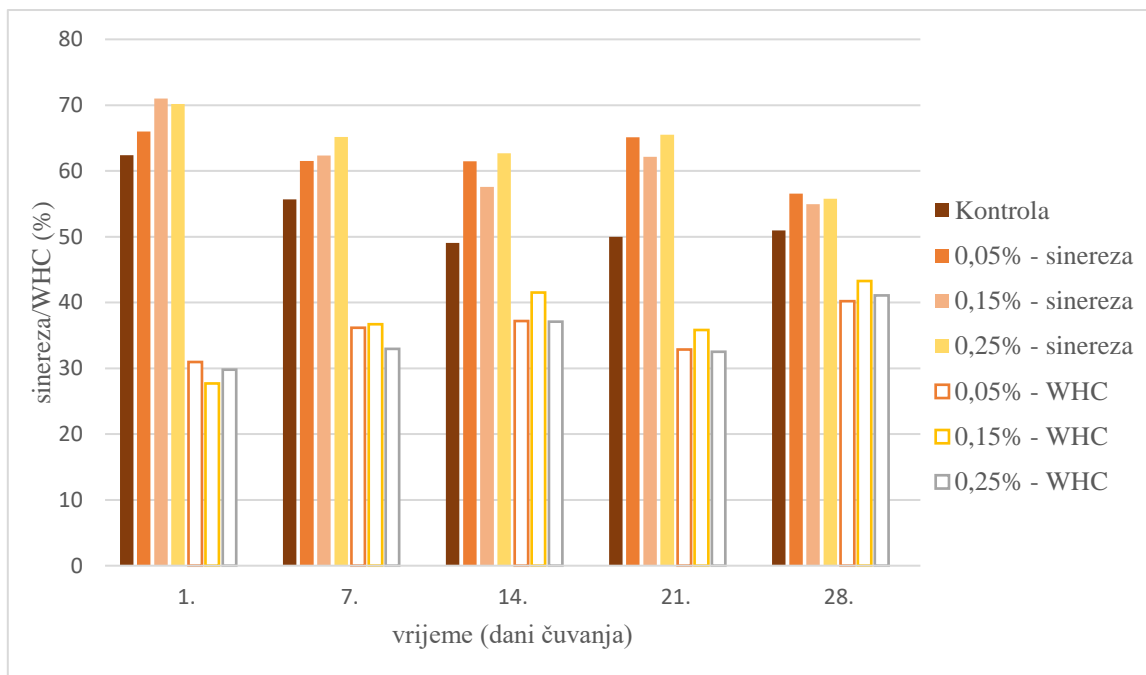
Prema istraživanju Arab i sur. (2022) jogurt obogaćen rogačem imao je veće izdvajanje sirutke na površini od kontrolnog jogurta bez dodataka. Sukladno njihovim zaključcima, obogaćeni jogurti podložniji su većoj sinerezi i dolazi do modifikacije proteinske mreže, a brašno od rogača sadrži niži udio proteina koji nisu u mogućnosti održavati stabilnost strukture mreže. Suprotno tome, Lucey (2002) je u svom radu uspjela dokazati da jogurt s dodatkom karuba gume omogućuje smanjenje sinereze tijekom skladištenja u usporedbi s kontrolnim uzorkom. Također, Sadoud i sur. (2022) su uspoređujući nemasni jogurt bez dodataka i nemasni jogurt uz dodatak karuba gume došli do rezultata da karuba guma omogućuje smanjenje sinereze.

Na slikama 7 i 8 prikazani su rezultati mjerenja kapaciteta zadržavanja vode. Kapacitet zadržavanja vode kod uzoraka fermentiranih na temperaturi od 37 °C se kretao za sve koncentracije između 30 do 40 %. Isti trend je prisutan kod svih uzoraka, a to je da se kapacitet zadržavanja vode povećavao do 14. dana čuvanja, a 21. dana čuvanja kapacitet svih uzoraka se smanjio, dok je 28. dana čuvanja opet uslijedio rast. Najviša vrijednost kapaciteta zadržavanja vode kod svih uzoraka je bila 28. dana čuvanja, a najniža 1. dan čuvanja za sve uzorke (slika 7).

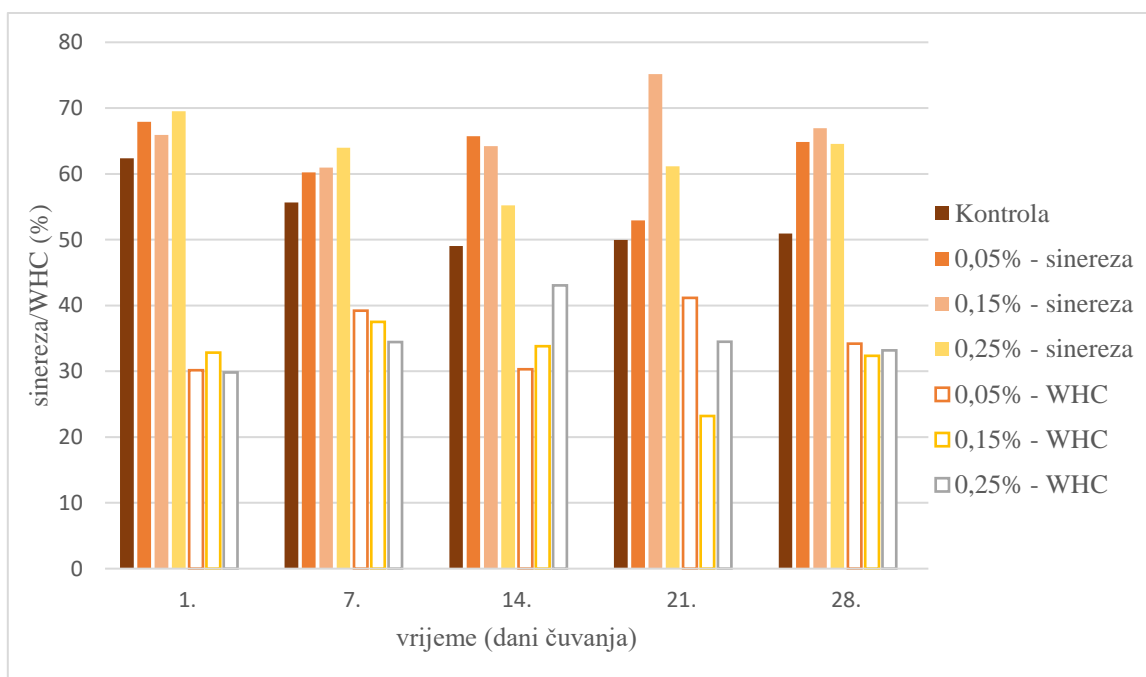
Kod uzoraka fermentiranih na temperaturi od 43 °C dobiveni su drugačiji rezultati od uzoraka fermentiranih na nižoj temperaturi. Naime, kapacitet zadržavanja vode uzorka koncentracije 0,25 % se povećavao od 1. do 14. dana čuvanja, nakon čega je 21. i 28. dana čuvanja nastavio padati. Vrijednost uzorka 0,15 % se povećavala od 1. do 7. dana, gdje je već 14. dana nastavila padati, dok je zadnjeg dana hladnog skladištenja porasla. Suprotno tome, vidljivi su nešto drugačiji rezultati za uzorak koncentracije 0,05 %. Kapacitet zadržavanja vode navedenog

uzorka je rastao do 7. dana čuvanja, 14. dana je vrijednost opala, nakon čega se 21. dana čuvanja povisila, dok je za kraj perioda skladištenja opet bila u padu. Najviša vrijednost kapaciteta zadržavanja vode bila je kod uzorka s dodatkom od 0,25 % brašna sjemenki rogača 14. dana čuvanja u iznosu od 43,07 %. Nakon toga slijedi uzorak s 0,05 % u iznosu od 41,15 % tijekom 21. dana čuvanja. Najmanju vrijednost ima uzorak 0,05 % u vrijednosti od 37,52 % tijekom 7. dana čuvanja. Suprotno tome, najniža vrijednost je očitana 21. dana čuvanja kod uzorka 0,15 % u iznosu od 23,19 %, dok su najniže vrijednosti za ostala dva uzorka očitane nakon 1. dana čuvanja u vrijednosti od 29,84 % za uzorak 0,25 % i vrijednost 30,14 % za uzorak od 0,05 % (slika 8).

Sichani i sur. (2014) su u svom radu prikazali rezultate kapaciteta zadržavanja vode u uzorcima nemasnog jogurta s dodatkom karuba gume rogača. Vrijednosti kapaciteta zadržavanja vode kontrolnog uzorka tijekom skladištenja pokazali su niže vrijednosti od jogurta obogaćenog karuba gumom od rogača. Vrijednosti obogaćenog uzorka iznosile su od 20 do 30 %, što je nešto niže od vrijednosti u ovom radu. Najniži kapacitet vode je imao uzorak tijekom 7. dana skladištenja u vrijednosti od 20,31 %, a najviši tijekom 1. dana skladištenja u iznosu od 30,21 %. Rezultati Sichani i sur. (2014) su u korelaciji s rezultatima iz ovoga rada s uzorcima fermentiranih na nižoj temperaturi gdje su također bile najviše vrijednosti 1. dana čuvanja, dok su u usporedbi s ostalim podacima vrijednosti različite. Sichani i sur. (2014) ovakve rezultate pripisuju mliječnoj kiselini koja stvara veću kiselost i agregaciju kazeina, a što je veća interakcija kazeina moguće je veće zadržavanje vode. Nadalje, Kholy i sur. (2015) pokazali su da veća koncentracija gume od rogača u jogurtu pridonosi većoj vrijednosti kapaciteta zadržavanja vode, a kretala se u vrijednostima od 63 do 69 %. Takvi rezultati su povezani s tim da stabilizatori poput karuba gume imaju ulogu vezanja vode. Sukladno tim rezultatima, vidljiva je karakteristika hidrokoloida kao što je karuba guma od rogača, da vežu vodu i sprječavaju oslobađanje vode.



**Slika 7.** Prosječne vrijednosti (%) sinereze i kapaciteta zadržavanja vode (WHC) kontrolnog uzorka i uzoraka s dodatkom brašna sjemenki rogača (0,05 %, 0,15 %, 0,25 %) tijekom 28 dana hladnog čuvanja fermentiranih na T=37 °C



**Slika 8.** Prosječne vrijednosti (%) sinereze i kapaciteta zadržavanja vode (WHC) kontrolnog uzorka i uzoraka s dodatkom brašna sjemenki rogača (0,05 %, 0,15 %, 0,25 %) tijekom 28 dana hladnog čuvanja fermentiranih na T=43 °C

#### 4.8. SENZORSKE OCJENE JOGURTA

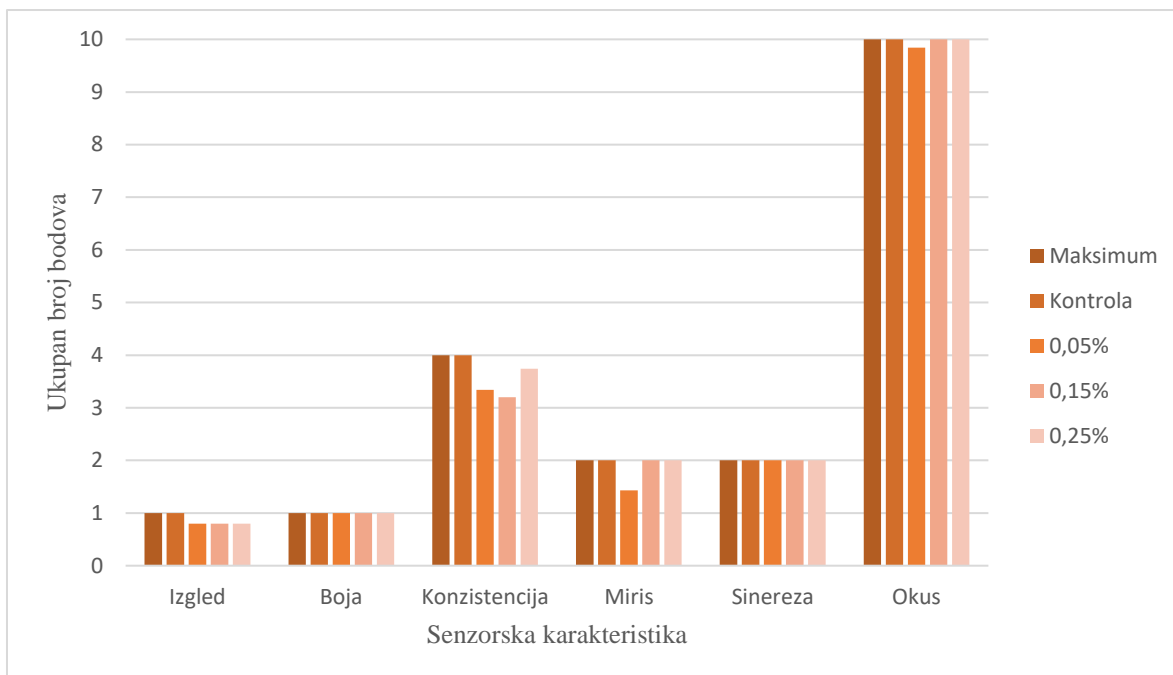
Senzorska analiza proizvoda ima bitnu ulogu u razvoju novih proizvoda, pri poboljšanju kvalitete već postojećih proizvoda, pri ispitivanju ukusa potrošača i procjeni kvalitete proizvoda

tijekom skladištenja. Metoda koja je korištena u ovom radu i koja se najčešće koristi je metoda ponderiranih bodova (Tratnik i Božanić, 2012). Ocjenjivani su izgled, boja, konzistencija, miris i okus proizvoda, a rezultati su prikazani slikama 9 do 13 za fermentaciju provedenu na 37 °C i slikama 14 do 18 za fermentaciju provedenu na 43 °C. Uzorci su se ocjenjivali i uspoređivani s maksimalnim mogućim brojem bodova za 1., 7., 14., 21., i 28. čuvanja.

Prema navedenim analizama, uočeno je da su uzorci fermentirani na 37 °C imali grudičastu konzistenciju na početku perioda hladnog skladištenja koja se pri kraju čuvanja smanjivala. Zaključeno je da je fermentacija na nižoj temperaturi u odnosu na višu dala bolje rezultate senzoričke jer su uzorci bili gušći, te nije bilo izdvojenog brašna sjemenki rogača na površini kao kod uzoraka fermentiranih na 43 °C. Također, uzorci fermentirani na nižoj temperaturi su bili boljeg okusa i prihvatljivijeg izgleda koji bi u konačnici mogao zadovoljiti zahtjeve potrošača.

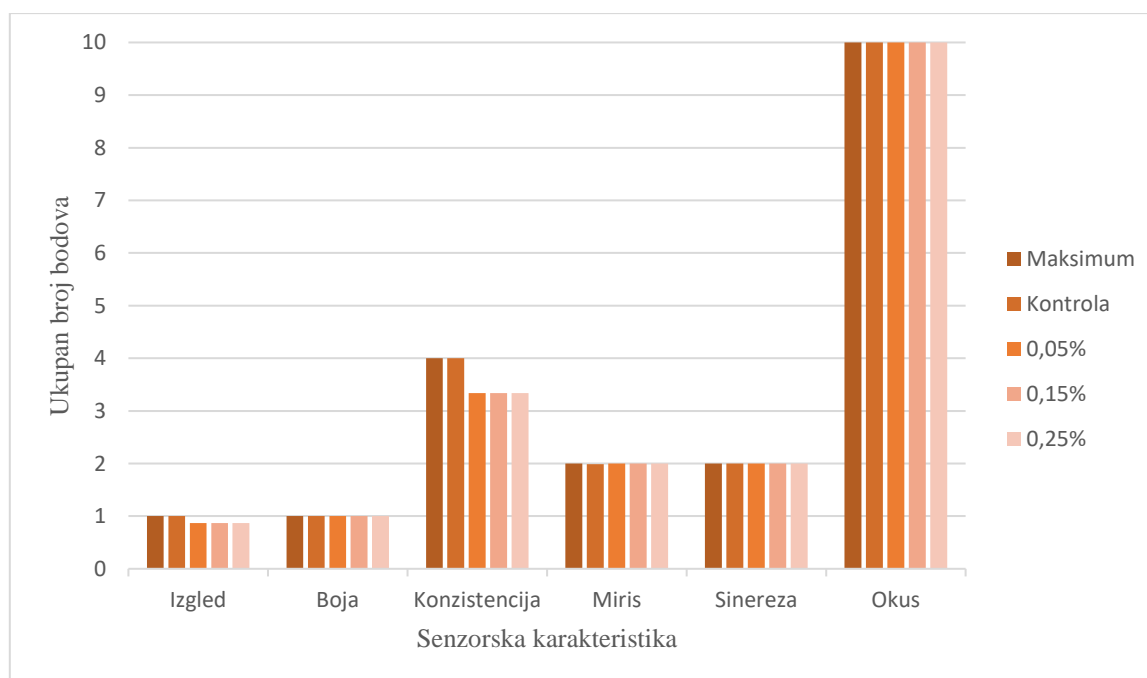
Fermentacijom jogurta s dodatkom karuba gume rogača na temperaturi od 44 °C, Macit i sur. (2017) su došli do zaključka da vrijeme skladištenja od 21 dan nije imalo utjecaja na senzorska svojstva jogurta, te da je karuba guma pozitivno djelovala na sve senzorske karakteristike jogurta. Također, Sadoud i sur. (2022) su naveli poboljšanje teksture napitaka uz dodataka hidrokoloida, odnosno karuba gume, jer hidrokoloidi vežu vodu i stupaju u interakciju s mliječnim proteinima te stabiliziraju proteinsku mrežu. U njihovim rezultatima navedeno je da nema promjene boje kod uzoraka s dodanim rogačem što je u korelaciji s ovim radom, dok su Kholy i sur. (2015) uočili jače izraženu boju. Nadalje, Kholy i sur. (2015) su naveli da karuba guma od rogača nije utjecala na miris proizvoda, što je također u skladu s ovim radom gdje se miris osjetio samo pred kraj čuvanja što je za očekivati kada je podložniji kvarenju.

Prvi dan senzorske procjene za napitke fermentirane na 37 °C (slika 9) pokazao je da je najviša ocjena dodijeljena za okus, boju i sinerezu kontrolnog uzorka i obogaćenih uzoraka, dok je najniža ocjena bila za konzistenciju. Uzorak koncentracije 0,25 % je bio gušći i bolje konzistencije od kontrolnog uzorka i finijeg okusa koji je podsjećao na žitarice. Uzorak 0,15 % je prema mišljenju senzorskih analitičara imao najbolji okus, dok je uzorak 0,05 % bio kiselijeg okusa od ostalih, a miris je sličio pokvarenim proizvodima. Sva tri uzorka ocjenjivana prvog dana čuvanja su bila grudičaste konzistencije što nije prihvatljivo za konzumiranje i izgled proizvoda.



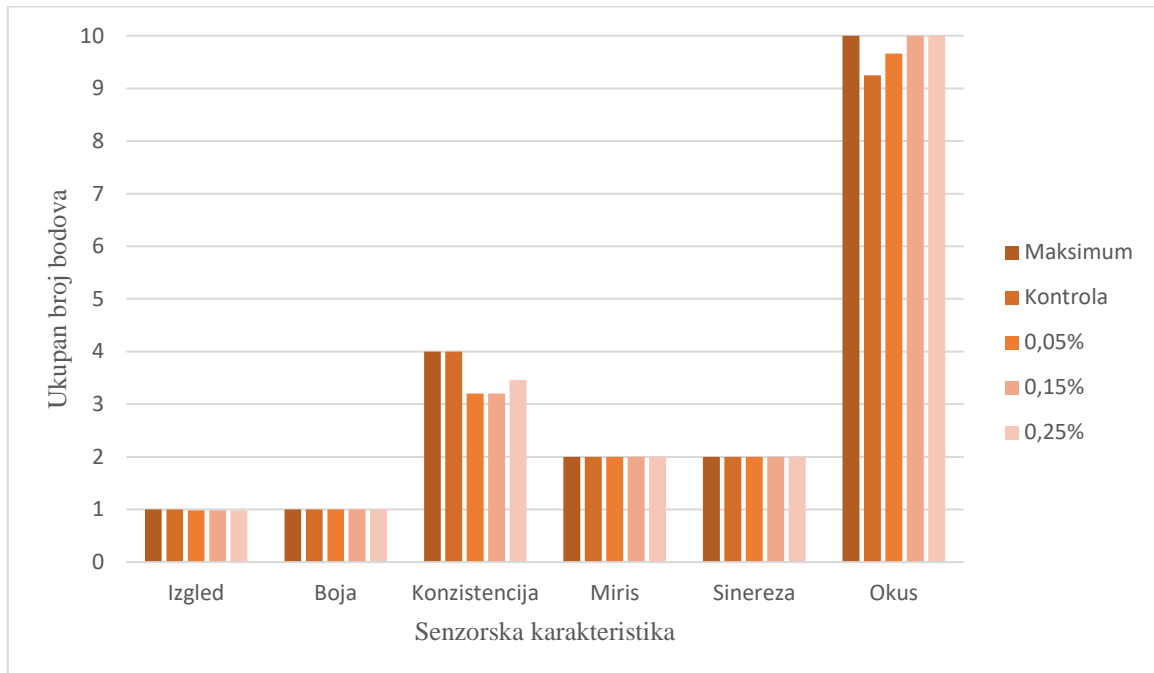
**Slika 9.** Senzorska analiza jogurta fermentiranog na  $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 1. dan skladištenja prema sustavu ponderiranih bodova

7. dan ocjenjivanja pokazao je opet najviše ocjene za okus, boju, miris i sinerezu svih uzoraka uz komentare da su sva tri uzorka bila rijetka i grudicašta što je slijedilo i najnižu ocjenu za konzistenciju proizvoda (slika 10).



**Slika 10.** Senzorska analiza jogurta fermentiranog na  $T=37^{\circ}\text{C}$ , 7. dan skladištenja prema sustavu ponderiranih bodova

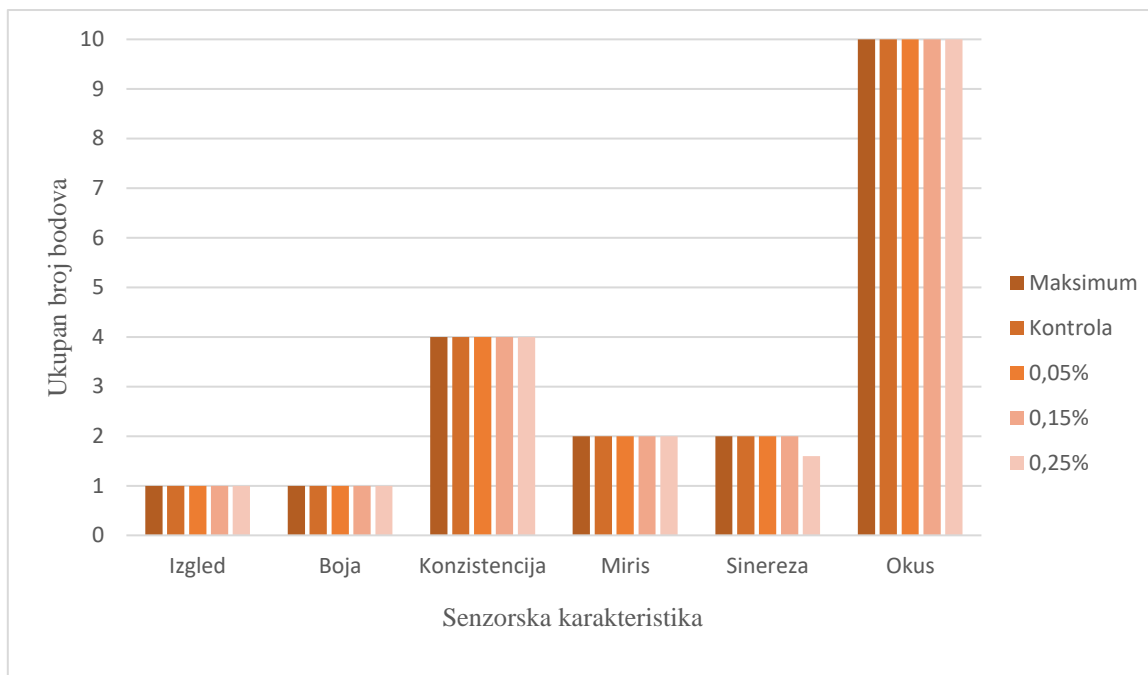
14. dan čuvanja bila je primjetna razlika u gustoći uzoraka. Najgušći uzorak je bio koncentracije 0,05 %, zatim 0,25 % dok je najrjeđi uzorak bio koncentracije 0,15 %. Za ostale parametre, osim konzistencije koja je bila vidljiva grudičasta za sve uzorke, je ostvaren maksimalan broj bodova (slika 11).



**Slika 11.** Senzorska analiza jogurta fermentiranog na  $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 14. dan skladištenja prema sustavu ponderiranih bodova

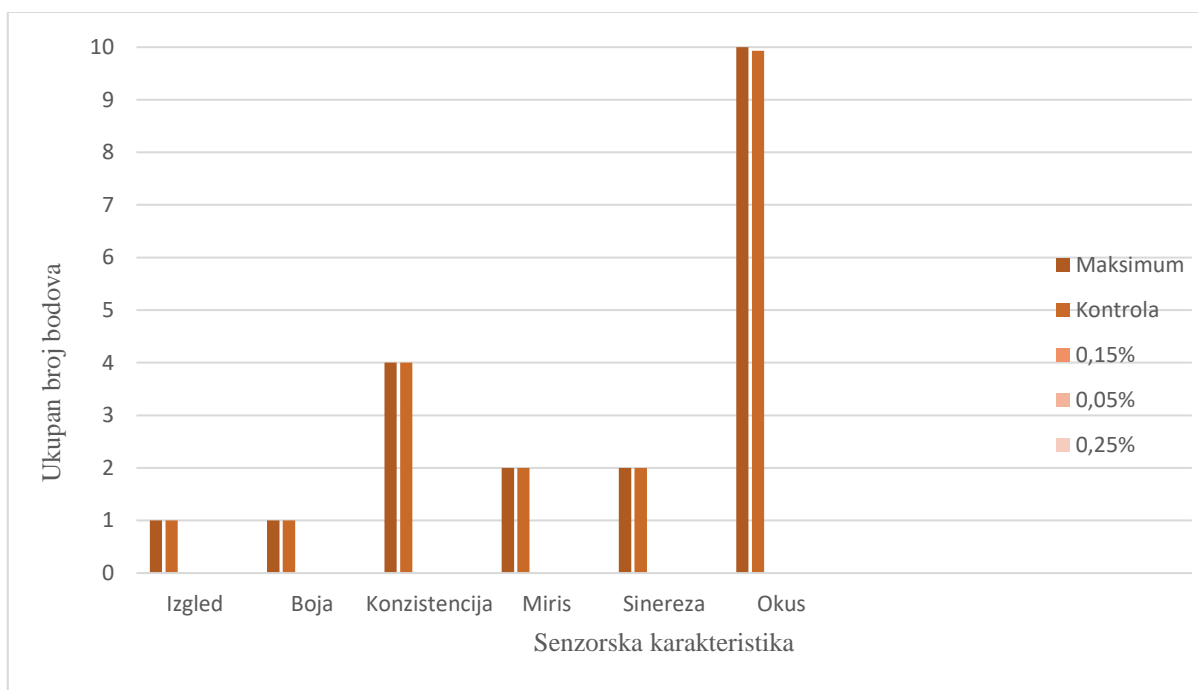
Tijekom analize 21. dana čuvanja, konzistencija se poboljšala, uzorci su bili boljeg okusa, a uzorak 0,25 % je imao najblaži miris. Dodijeljeni su svi maksimalni bodovi te se dalo primijetiti da je fermentacija na  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  bila uspješna i nakon 21. dana čuvanja (slika 12).





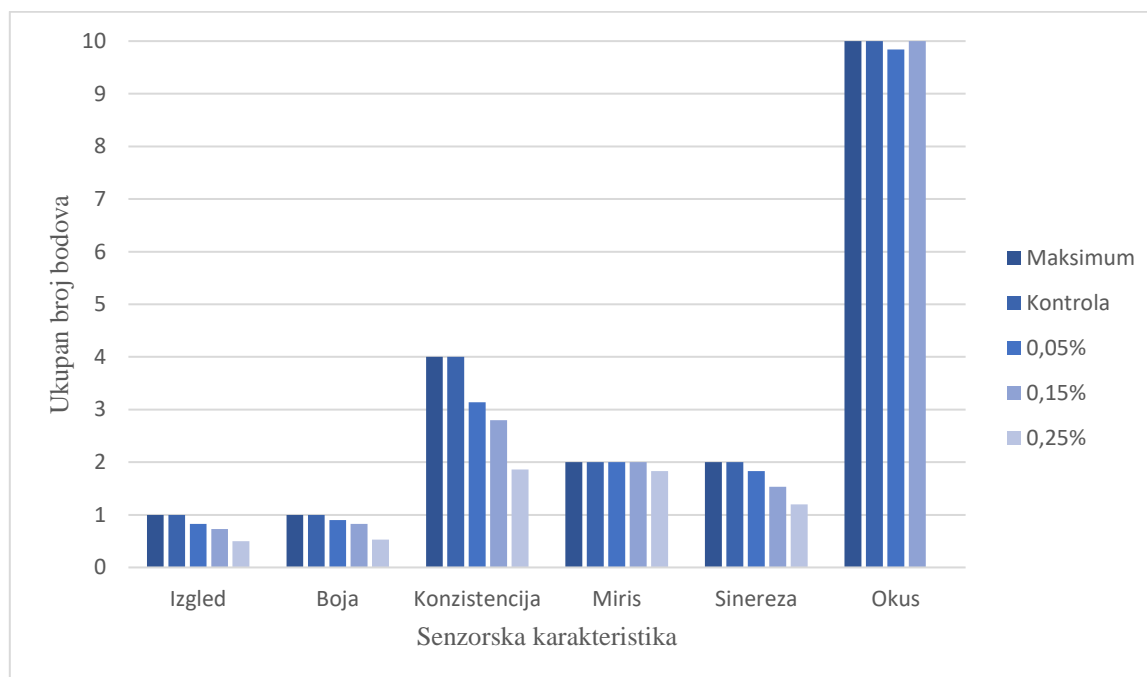
**Slika 12.** Senzorska analiza jogurta fermentiranog na T=37 °C, 21. dan skladištenja prema sustavu ponderiranih bodova

Analiza zadnjeg dana čuvanja se nije mogla provesti za uzorke koncentracija 0,25 % i 0,15 % zbog kvarljivosti proizvoda, a ostali proizvodi su dobili maksimalan broj bodova za sve senzorske karakteristike (slika 13).



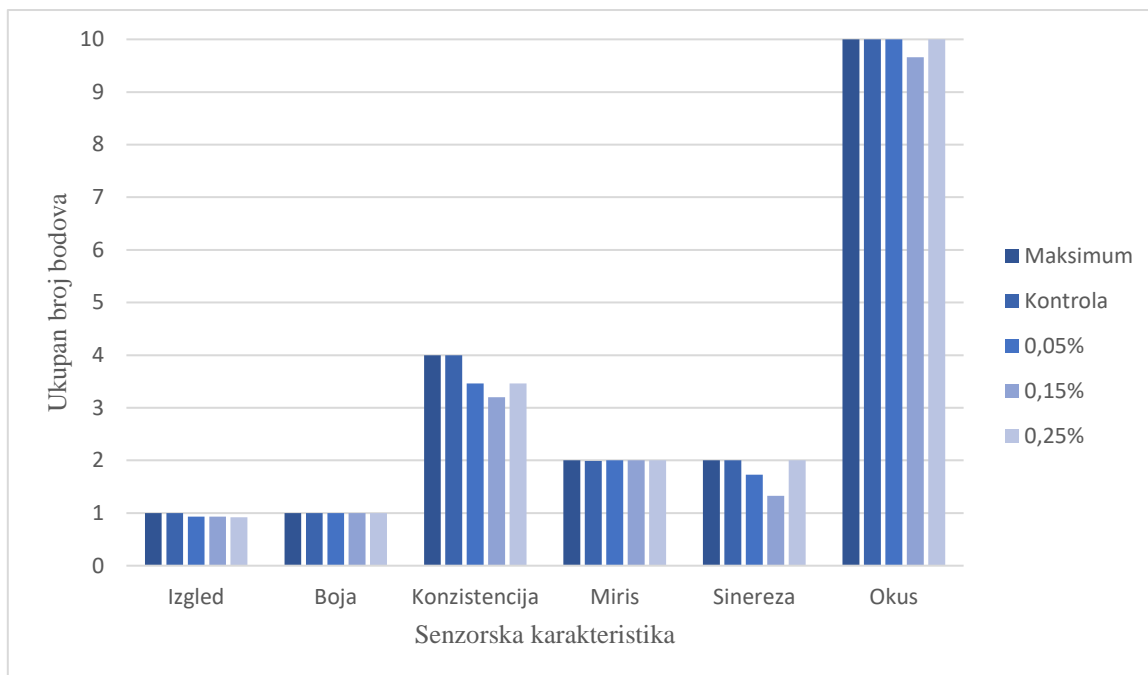
**Slika 13.** Senzorska analiza jogurta fermentiranog na T=37 °C, 28. dan skladištenja prema sustavu ponderiranih bodova

Nakon 1. dana čuvanja uzoraka fermentiranih na 43 °C, na uzorku 0,25 % vidljivo je izdvojeno brašno sjemenki rogača na površinu napitka, velika sinereza te vodenasta tekstura proizvoda. Uzorak 0,15 % je imao finiji ali jači okus s manje grudica, dok je uzorak 0,05 % također imao izraženu sinerezu ali dobar i blaži okus bez vidljivih grudica. Uzorak 0,25 % nije bio primjeren za kušanje zbog svoje loše konzistencije i izgleda (slika 14).



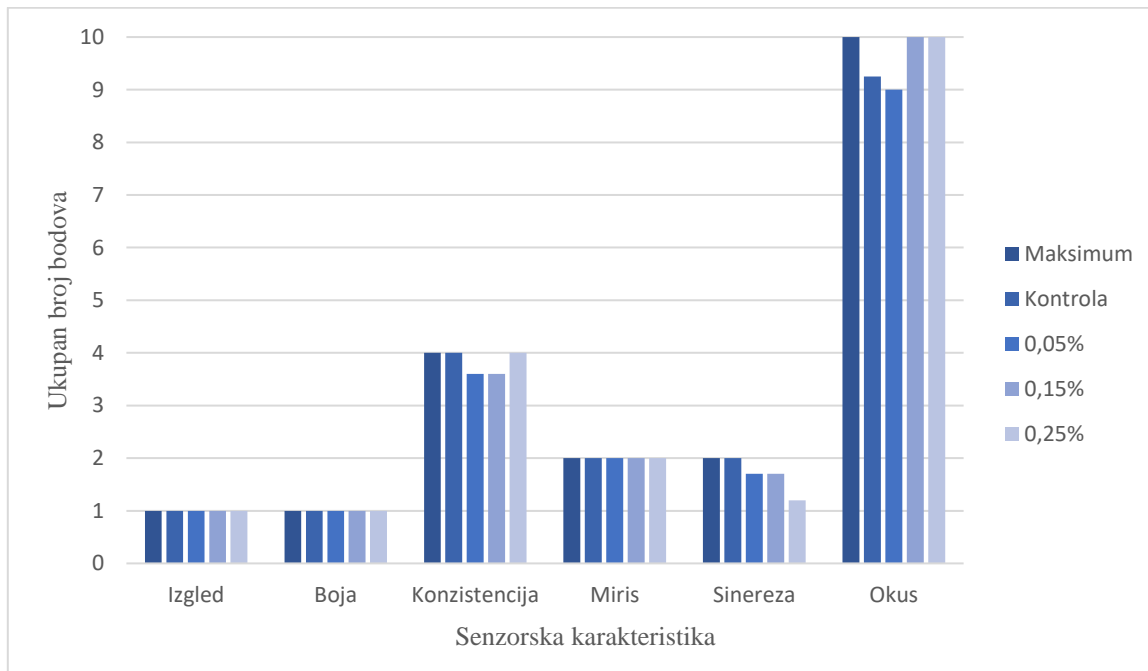
**Slika 14.** Senzorska analiza jogurta fermentiranog na T=43 °C, 1. dan skladištenja prema sustavu ponderiranih bodova

Nakon 7. dana čuvanja analitičari su uočili okus po brašnu na uzorku 0,25 %, dok je uzorak 0,15 % imao jak, intenzivan i kiseo okus te je bio najrjeđe konzistencije. 0,05 % uzorak je bio prihvatljiv i imao je okus po običnom fermentiranom napitku bez okusa na brašno sjemenki rogača (slika 15).



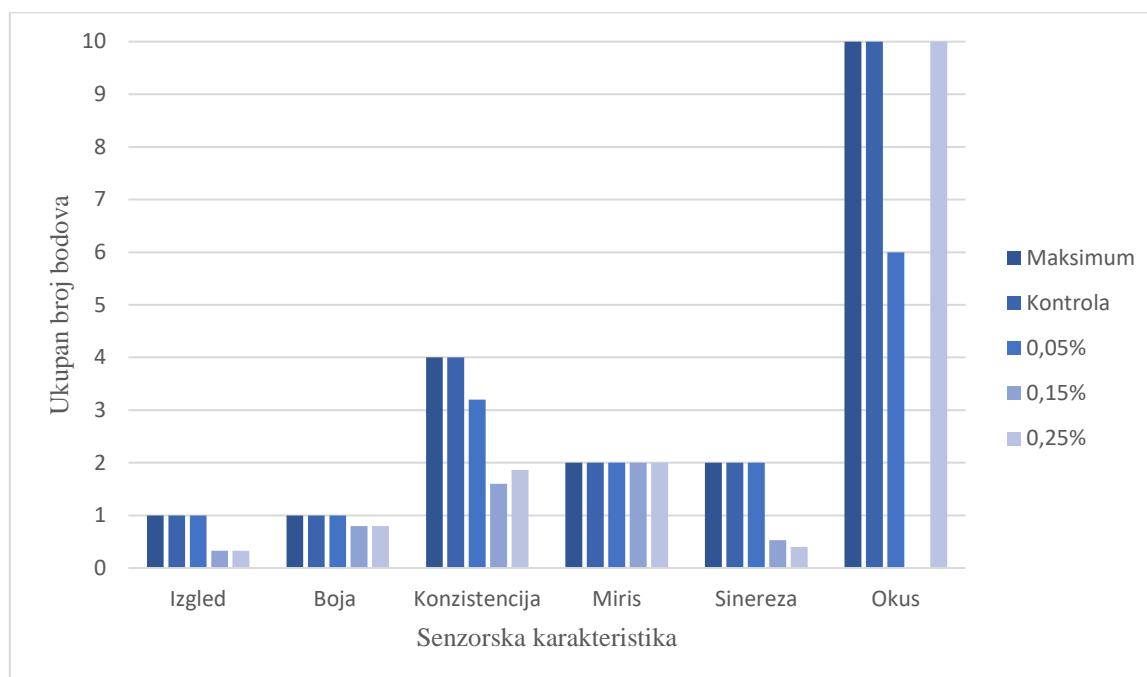
**Slika 15.** Senzorska analiza jogurta fermentiranog na  $T=43\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 7. dan skladištenja prema sustavu ponderiranih bodova

14. dan čuvanja primijećen je kiselkast okus kod uzorka 0,25 %. Uzorak 0,15 % bio je rjeđe konzistencije, a uzorak 0,05 % je imao okus po staji i po kvascima i plijesnima (slika 16).



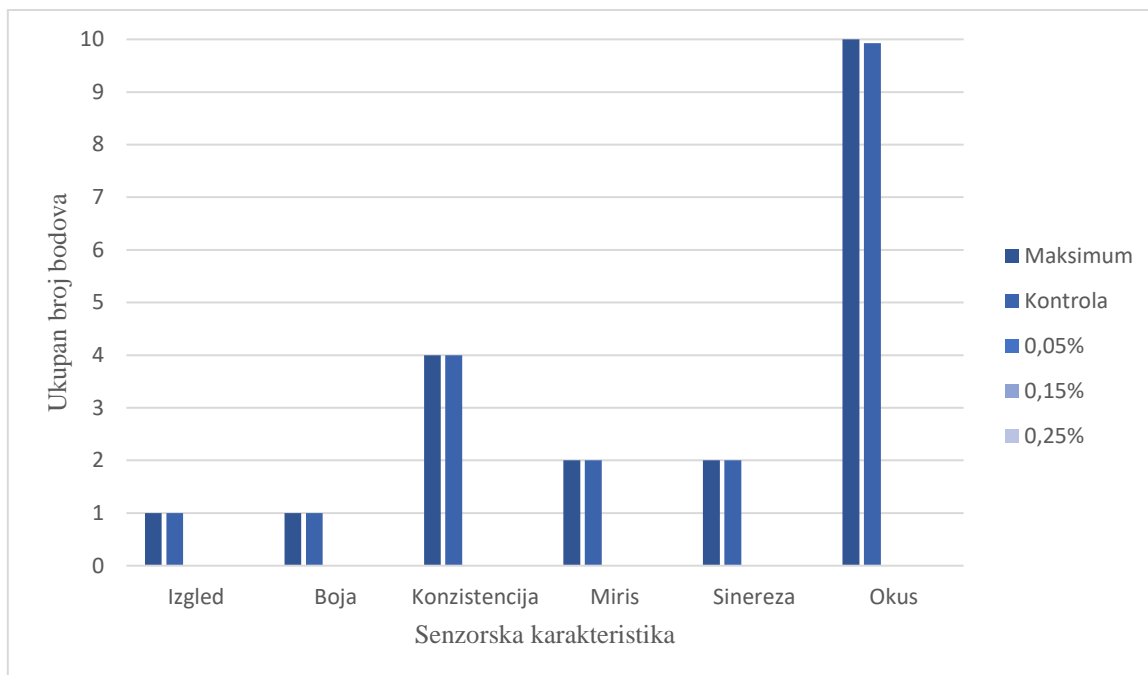
**Slika 16.** Senzorska analiza jogurta fermentiranog na  $T=43\text{ }^{\circ}\text{C}$  14. dan skladištenja prema sustavu ponderiranih bodova

21. dan čuvanja uočena je vodenasta struktura, velika sinereza i grudičasta konzistencija kod 0,25 % i 0,15 %, dok je 0,05 % bio kiselog okusa i rijetke konzistencije. Prema tome, uzorak 0,15 % nije bio odgovarajući za kušanje (slika 17).



**Slika 17.** Senzorska analiza jogurta fermentiranog na  $T=43\text{ }^{\circ}\text{C}$  21. dan skladištenja prema sustavu ponderiranih bodova

Zadnjeg dana čuvanja senzorska analiza uzoraka se nije mogla obaviti zbog pojave kvasaca i plijesni na površini jogurta (slika 18).



**Slika 18.** Senzorska analiza jogurta fermentiranog na  $T=43\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 28. dan skladištenja prema sustavu ponderiranih bodova

## 5. ZAKLJUČCI

1. Za proizvodnju fermentiranog kozjeg mlijeka poželjnih fizikalnih i organoleptičkih svojstava prikladnije su niže koncentracije brašna sjemenki rogača od 0,05 % i 0,15 %. Trajanje fermentacije se nije razlikovalo pri različitim količinama dodatka brašna sjemenki rogača, međutim s dodatkom veće koncentracije dobiven je proizvod koji nije odgovarao željenom. Kraj fermentacije postignut je za otprilike 6 h.
2. pH vrijednosti za uzorke fermentirane na 37 °C su tijekom perioda čuvanja iznosile oko 4,5, dok je kod uzoraka fermentiranih na 43 °C pH vrijednost padala. Suprotno tome, vrijednosti titracijske kiselosti su se povećavale kod svih uzoraka za obje temperature fermentacije.
3. Mikrobiološka kvaliteta uzoraka je također promijenjena. Broj laktobacila se smanjio kod oba provedena pokusa, dok se broj streptokoka kod fermentacije pri nižoj temperaturi povećao, a pri višoj smanjio. U korelaciji s tim, udio laktoze se povećao kod oba provedena pokusa, budući da se broj bakterija mliječne kiseline vremenom smanjivao. Prisutnost enterobakterija je u granicama dopuštenih vrijednosti.
4. Dodatak brašna sjemenki rogača nije uvelike utjecao na promjenu udjela suhe tvari u odnosu na kontrolni uzorak, koja je za sve uzorke iznosila od 10 do 11 %. Količina mineralnih tvari se održavala konstantnom kod uzoraka fermentiranih na 43 °C, dok kod uzoraka fermentiranih na 37 °C se koncentracija mineralnih tvari povećala.
5. Određivanjem boje obogaćenih uzoraka i kontrolnog dokazano je da je dodatak brašna sjemenki rogača utjecao na boju, te je vidljiva razlika u boji konačnog proizvoda u odnosu na kontrolni uzorak kod obje temperature fermentacije.
6. Kod svih uzoraka se povećanjem brzine smicanja smanjivala viskoznost. Duže vrijeme čuvanja rezultiralo je većom viskoznošću kontrolnog uzorka, a manjom kod uzoraka obogaćenih brašnom sjemenki rogača.
7. Obogaćeni uzorci su imali višu vrijednost sinereze od kontrolnog uzorka.
8. Kapacitet zadržavanja vode kod niže temperature fermentacije se tijekom čuvanja povećavao i smanjivao (30 – 40 %), a kod više temperature fermentacije, vrijednosti su varirale (20 – 45 %)
9. Senzorskom procjenom utvrđeno je da su prihvatljiviji proizvodi fermentirani na nižoj temperaturi. Dužim vremenom skladištenja konzistencija proizvoda fermentiranih na nižoj temperaturi se poboljšavala. Kod uzoraka fermentiranih na višoj temperaturi, javljao se kiselkast okus i nepoželjna boja i konzistencija.

## 6. LITERATURA

Antunac N, Samaražija D (2000) Proizvodnja, sastav i osobine kozjeg mlijeka. *Mljekarstvo* **50** (1), 53-66.

Arab R, Hano C, Oomah BD, Yous F, Ayouaz S, Madani K, Makhoul LB (2022) Impact of carob (*Ceratonia siliqua* L.) pulp flour supplementation on probiotic viability, milk fermentation and antioxidant capacity during yogurt storage. *Afr J Food Nutr Res* **6** (14), 154-164. <https://doi.org/10.51745/najfnr.6.14.154-164>

Benković M, Bosiljkov T, Semić A, Ježek D, Srećec S (2019) Influence of Carob Flour and Carob Bean Gum on Rheological Properties of Cocoa and Carob Pastry Fillings. *Foods* **8** (66), 1-17. <https://doi.org/10.3390/foods8020066>

Božanić R, Jakopović KL, Barukčić I (2018) Vrste mlijeka, Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb

Božanić R, Jeličić I, Bilušić T (2010) Analiza mlijeka i mliječnih proizvoda: priručnik, Zagreb: Plejada.

Božanić R, Tratnik Lj (1996) Utjecaj steriliziranog kravljeg i kozjeg mlijeka te njihove mješavine na tijek fermentacije jogurta. *Mljekarstvo* **46** (2), 101-110.

Dermit FZ, Mikulec N, Ljoljić BD, Antunac N (2014) Terapijska i zdravstvena svojstva kozjeg mlijeka. *Mljekarstvo* **64** (4), 280-286. <https://doi.org/10.15567/mljekarstvo.2014.0407>

Dragojević MI (2017) Morfološke, genetske i fitokemijske značajke populacije rogača (*Ceratonia siliqua* L.) u Hrvatskoj, Zagreb.

Državni zavod za statistiku (2022), <https://podaci.dzs.hr/2022/hr/29342>. Pristupljeno 23. ožujka 2023.

Elsanhoty RM, Ramadan MF (2017) Changes in the physicochemical and microbiological properties of probiotic-fermented low-fat yoghurt enriched with barley beta-glucan during cold storage. *Mljekarstvo* **68** (4), 295-309. <https://doi.org/10.15567/mljekarstvo.2018.0405>

Fidan H, Stankov S, Petkova N, Petkova Z, Iliev A, Stoyanova M, i sur. (2020) Evaluation of chemical composition, antioxidant potential and functional properties of carob (*Ceratonia*

*siliqua* L.) seeds. *J Food Sci Technol* **57** (7), 2404-2413. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04274-z>

Filajdić M, Ritz M, Vojnović V (1988) Senzorska analiza mliječnih proizvoda. *Mljekarstvo* **38**, 295-301, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb

Filipan K (2021) Utjecaj dodatka ekstrakta lista masline (*Olea europaea*) na fizikalnokemijske karakteristike i fermentaciju kravljeg mlijeka (diplomski rad), PBF, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.

Froio F, Cristiano MC, Mancuso A, Iannone M, Paolino D (2020) Vegetable Milk Based Yogurt Like Structure: Rheological Properties Influenced by Gluten-Free Carob Seed Flour. *Appl Sci* **10**, 1-15. <https://doi.org/10.3390/app10196963>

Guler MB, Goncu B, Akin MS (2016) Some properties of Probiotic Yoghurt Ice Cream Supplemented with Carob Extract and Whey Powder. *Advances in Microbiology* **6**, 1010-1020. <http://dx.doi.org/10.4236/aim.2016.614095>

Gurr MI (1987) Nutritional aspects of fermented milk products. *FEMS Microbiology Letter* **46** (3), 337-342. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1987.tb02470.x>

Kaić-Rak A, Antonić-Degač K (1996) Prehrambena i biološka vrijednost fermentiranih mliječnih proizvoda. *Mljekarstvo* **46** (4), 285-290.

Karaca OB (2013) Effects of different prebiotic stabilisers and types of molasses on physiochemical, sensory, colour and mineral characteristics of probiotic set yoghurt. *Int J of Dairy Techn* **16** (4), 490-497. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12058>

Kholy E, Wedad M, Reda AA, Zedan MA (2015) Production, purification of locust bean gum and carob dibis and their application in manufacture of yoghurt. *Egypt. J Agric Res* **93** (4), 1271-1292. <https://doi.org/10.21608/EJAR.2015.157067>

Lucey JA (2002) Formation and Physical Properties of Milk Protein Gels. *J Dairy Sc* **85**, 281-294. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74078-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74078-2)

Macit E, Bakirci I (2017) Effect of different stabilizers on quality characteristics of the set-type yogurt. *Afr J of Biotechn* **16** (46), 2142-2151. <https://doi.org/10.5897/AJB2017.16197>



Mahtout R, Farid Z, Saadi LO, Boudjou S, Oomah, BD, Hosseinian F (2016) Carob (*Ceratonia siliqua L.*) (pod, pulp, seed) flours and pulp mucilage affect kefir quality and antioxidant capacity during storage. *Int J of Eng and Techn* **2**, 168-180.

OIV – Compendium of International Methods of Analysis of Spirituous Beverages of Vitivincultural Origin (2014). Determination of chromatic characteristics (OIV-MA-BS-27). Paris, France: International Organisation of Vine and Wine.

Panda SH, Ray RC (2016) Amylolytic Lactic Acid Bacteria Microbiology and Technological Interventions in Food Fermentations. U: fermented foods. Part 1. Biochemistry & Biotechnology (Montet, D., Ray, R.C., ured.), CRC press, 148-165. <https://doi.org/10.1201/b19872>

Peker H, Arslan S (2013) Effects of addition of locust bean gum on sensory, chemical, and physical properties of low-fat yoghurt. *J of Food Agric and Environment* **11 (2)**, 274-277.

Pravilnik (2020) Pravilnik o utvrđivanju sastava sirovog mlijeka. Narodne novine 136, Zagreb. [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2020\\_12\\_136\\_2605.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2020_12_136_2605.html). Pristupljeno 2. svibnja 2023.

Primorac Lj, Flanjak I (2012) Kontrola kakvoće hrane: Propisi za vježbe, Prehrambeno-tehnološki fakultet, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera, Osijek.

Sadoud M, Ziar H, Riazi A (2022) Effect of carob galactomannans on starter cultures viability and on textural properties of refrigerated non-fat yoghurt. *Journal of Applied Biological Sciences* **16 (2)**, 296-307. <https://doi.org/10.5281/zenodo.6590482>

Sichani MS, Ardakani SA, Daneshi M (2014) The effect of cress seed gum and locust bean gum on textural properties of low fat set yoghurt. *Indian J Sci Res* **5 (1)**, 439-445.

Srećec S (2020) Etnobotaničke značajke rogača i uporaba rogača u etnomedicini, u stočarstvu i u prevenciji šumskih požara. U: Srećec S, Kremer D, Benković M, Dunkić V (ured.) Taksonomija, ekologija i uporaba rogača (*Ceratonia siliqua L.*) i lovora (*Laurus nobilis L.*) Hrvatska, Zagreb-Križevci, 97-109.

Srećec S, Bradač MM (2020) Podrijetlo rogača, domestifikacija, širenje i fitogeografska rasporstranjenost. U: Srećec S, Kremer D, Benković M, Dunkić V (ured.) Taksonomija, ekologija i uporaba rogača (*Ceratonia siliqua L.*) i lovora (*Laurus nobilis L.*) Hrvatska, Zagreb-Križevci, 11-15.

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

Vodič za mikrobiološke kriterije za hranu (lipanj, 2009) Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja, Zagreb, Republika Hrvatska.

## IZJAVA O IZVORNOSTI

Ja Daria Pilić izjavljujem da je ovaj diplomski rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristila drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

---

Vlastoručni potpis