

UNIVERZITET CRNE GORE

Biotehnički fakultet

Vijeću

Izveštaj o ocjeni magistarskog rada Ivane Novaković

Odlukom Vijeća Biotehničkog fakulteta broj 07-2200 od 29.06.2020 odobrena je tema magistarskog rada pod nazivom " *Uticaj primjene autohtonog izolata *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* na kvalitet i senzorne osobine lisnatog sira*" Ivane Novaković, studenta akademskih postdiplomskih studija, studijskog programa Stočarstvo. Prema pomenutoj odluci, za mentora je imenovana prof. dr Mirjana Bojanić Rašović, a za ocjenu magistarskog rada imenovana je Komisija u sastavu: prof. dr Mirjana Bojanić Rašović, mentor, prof dr Vera Katić, član i prof. dr Slavko Mirecki, član. Komisija podnosi Vijeću sljedeći Izveštaj o ocjeni magistarskog rada Ivane Novaković, koji je podnijela 12. jula 2021. godine

I. Osnovni podaci o kandidatu

Ivana Saičić udata Novaković je rođena 1992. godine u Podgorici, Crna Gora. Prva četiri razreda Osnovne škole završila je u Danilovgradu, V razred je završila u Podgorici, a ostatak u Republici Srbiji. Srednju Medicinsku školu je završila u Podgorici sa odličnim uspjehom. Studijski program Stočarstvo na Biotehničkom fakultetu u Podgorici, upisala je 2011. godine. Osnovne akademske studije završila je 2014. godine sa srednjom ocjenom "A" (9,53). Postdiplomske specijalističke studije u trajanju od jedne godine završila je 2015. godine sa srednjom ocjenom "A" (9,80). Odslušala je i jednogodišnje magistarske studije na smjeru: „Stočarstvo“, na Biotehničkom fakultetu - Univerziteta u Podgorici i položila sve ispite predviđene planom i programom. Ispite je položila sa najvećom ocjenom "A".

Ivana Saičić Novaković obavila je stručno osposobljavanje visokoškolaca na Biotehničkom fakultetu 2015. godine. Državni ispit položila je 2019. godine u organima javne uprave u Upravi za kadrove Crne Gore. Kandidatkinja je koautor jednog rada Bojanić Rašović M, Saičić I., Davidović V., Joksimović Todorović M., Relić R. *Poster presentation: APPLICATION OF GOOD MANUFACTURING PRACTICE IN BEEKEEPING, INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ANIMAL SCIENCE 2016, 24-25 november 2016, Belgrade - Zemun, Serbia.* Dobro poznaje engleski jezik kao i rad na računaru (Internet, Word, Exel, Photoshop, Powerpoint).

Kao jedan od najboljih studenata u svojoj generaciji dobila je stipendiju Ministarstva prosvjete i nauke, kao i stipendije Biotehničkog fakulteta i Ministarstva poljoprivrede i ruralnog razvoja.

II. Izveštaj o ocjeni magistarskog rada Ivane Novaković

Magistarski rad magistrantkinje Ivane Saičić Novaković je napisan na 96 strana, formata A4, font Times New Roman, veličine fonta 12 sa razmakom između redova 1. Rad obuhvata 36 tabela, 3 grafikona i 15 fotografija na kojima su predstavljeni rezultati istraživanja. Rezultati istraživanja su statistički obrađeni analizom srednje vrijednosti, standardne devijacije i standardne greške u programu Statistica 12. Statistička značajnost razlika aritmetičkih sredina rađena je LSD testom.

Rad je pisan prema zahtjevima za pisanje magistarskih radova na Univerzitetu Crne Gore i sastoji se iz sljedećih cjelina: biografije kandidata, izvoda rada na maternjem i engleskom jeziku sa ključnim riječima, uvoda, pregleda literature, cilja i predmeta istraživanja, materijala i metoda rada, rezultata istraživanja i diskusije, zaključka i literature. Kandidatkinja je prije prijave teme i postavljanja eksperimenta proučila literaturu vezanu za uticaj autohtonih izolata bakterija

mlječne kisjeline *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* na kvalitet fermentisanih mlječnih proizvoda, kao i proizvodnju autohtonog lisnatog sira u Crnoj Gori. U radu je koristila 169 literaturna izvora iz uže oblasti istraživanja.

U sažetku rada je prikazan kratak pregled istraživanja, ciljevi, rezultati i zaključci istraživanja. Sažetak je napisan je na maternjem i engleskom jeziku, sa ključnim riječima na kraju.

U uvodu je opisana proizvodnja lisnatog sira, značaj autohtone mikrobiote za specifičnost autohtonih sireva i njihovu standardizaciju. Autohtona proizvodnja lisnatog sira u Crnoj Gori svjedoči o kulturnom bogatstvu i crnogorskoj tradiciji. Autohtona mikrobiota utiče na razlike u ukusu i teksturi među istim vrstama sira, različitog geografskog porijekla. Bakterije mlječne kisjeline (BMK) imaju nezamjenjivu ulogu u proizvodnji fermentisanih mlječnih proizvoda. Svojom biohemijskom aktivnošću utiču na promjenu pH vrijednosti, pospješuju razvoj boje, konzistencije, utiču na razgradnju proteina, masti, laktoze i citrata tokom zrenja mnogih vrsta sira i direktno određuju ukus, miris i teksturu sira. Savremeno mljekarstvo sve više prepoznaje potencijal primjene autohtonih izolata bakterija mlječne kisjeline u proizvodnji tradicionalnih mlječnih proizvoda.

U pregledu literature magistrantkinja je koristila relevantne literaturne izvore, kroz koje se upoznala sa značajem tradicionalnih sireva, posebno proizvodnjom i karakteristikama lisnatog sira, značajem bakterija mlječne kisjeline u proizvodnji sireva, sa posebnim osvrtom na autohtone bakterije mlječne kisjeline. Pomenute teme su razmatrane kroz sljedeća potpoglavlja: Značaj sirarstva, Klasifikacija sireva, Sirevi parenog tijesta, Autohtoni lisnati sir Crne Gore, Kvalitet mlijeka, Kvalitet surutke, Mikrobiološki kvalitet mlijeka i sira, Značaj starter kultura, Bakterije mlječne kisjeline (BMK), Politika kvaliteta. Prerada mlijeka na tradicionalan način i danas zauzima značajno mjesto u proizvodnji kvalitetnih proizvoda. Autohtoni mlječni proizvodi zadržali su svoju vrijednost, cijenu i potrošače te s toga i danas imaju veliki značaj. Centralni dio Crne Gore karakteriše proizvodnja lisnatog sira, koji ima karakteristike sireva parenog tijesta. U crmničkoj i paštrovičkoj regiji proizvode se Crmnički i koziji sirevi (Dozet i sar., 1996). U sjevernom i sjeveroistočnom dijelu dominiraju sirevi u salamuri poznati pod imenom "masni" koji su zadržali svoju autohtonu proizvodnju i nose ime područja u kome su proizvedeni, kao što su: Pljevaljski, Kučki, Polimsko-vasojevički i Polimsko-sjenički sir (Bojanić Rašović i sar., 2010; Dozet i sar., 2006; Dozet i sar., 2004). Crnogorski lisnati sir pripada grupi sireva parenog tijesta sa specifičnom obradom sirnog tijesta. Naziv "meki" sir dobio je zbog meke konzistencije i plastičnog tijesta. Crnogorski meki sir se proizvodi najviše u kolašinskoj, mojkovačkoj, pljevaljskoj, žabljačkoj, šavničkoj, pluzinskoj i nikšičkoj regiji (Dozet i sar., 1996, Dozet i sar., 2004). Lisnati sir pripada grupi kiselokoagulirajućih sireva, koji se zbog visokog sadržaja vode i kratkog roka trajanja konzumiraju u svježem stanju (Puđa, 2009). Osnovna sirovina u proizvodnji tradicionalnog lisnatog sira je nepasterizovano mlijeko, koje se prerađuje nestandardizovanim postupkom i bez dodatka definisane starter kulture (Bojanić Rašović i sar. 2018). Za njegovu proizvodnju se koristi kravlje, ovčije i miješano mlijeko sa dodatkom do 15% vode. Izbor starter kulture zavisi od tipa proizvoda koji se želi proizvesti. Shodno tome se vrši selekcija bakterija mlječne kisjeline u odnosu na sljedeće njihove karakteristike: brzinu razmnožavanja u mlijeku, sposobnosti stvaranja mlječne kisjeline, sposobnost razlaganja kazeina, razlaganja masti, stvaranja aromatskih jedinjenja ili gasa, sposobnosti povećanja viskoznosti, odnosno stvaranja egzopolisaharida, stvaranja egzopolisaharida, preživljavanja u visokim koncentracijama soli, sposobnosti razmnožavanja u prisustvu drugih bakterijskih sojeva u kulturi, otpornosti na bakteriofage, sposobnosti preživljavanja tokom pripreme kultura, konzervisanja, skladištenja i distribucije proizvoda i dr. Autohtoni izolati BMK porijeklom iz tradicionalnih proizvoda predstavljaju neiscrpan izvor novih sojeva. Njihovim izučavanjem stvara se osnova za selekciju specifičnih sojeva karakterističnih za određeni lokalitet (Topisirović i Ostojić, 2000, Radulović i sar., 2006 Mirković, 2016). Autohtoni izolati BMK se koriste u tradicionalnoj proizvodnji za dobijanje odgovarajućeg kvaliteta, zahvaljujući njihovim sposobnostima da poboljšavaju organoleptička, hranljiva i fizičko-hemijska svojstva (Saez et al., 2018). Prednosti primjene

autohtonih izolata BMK je i u tome što doprinose proizvodnji proizvoda ujednačenog kvaliteta. Doprinosi stabilnoj i predvidljivoj fermentaciji, čak i kada uslovi proizvodnje nisu idealni. (Dimitrijević Branković i sar., 2000). Nezamjenjiva uloga BMK u proizvodnji fermentisanih mliječnih proizvoda se ogleda u produkciji mliječne kiseline fermentacijom laktoze. Mliječna kiselina dovodi do sniženja pH, što je neophodno za željeni kvalitet proizvoda. Mliječna kiselina podstiče aktivnost sirila na brže formiranje gela, doprinosi bržem izdvajanju surutke, utiče na kvalitet grušta i smanjuje sadržaj vlage u siru (Suliman, 2018; Puđa, 2009; Leroy and Vuyst, 2004; Savić i sar., 2005).

Imajući u vidu uticaj autohtone mikroflore na hemijski i senzorni kvalitet sira, kandidatkinja je postavila opravdanu naučnu hipotezu, da ispita uticaj definisanog autohtonog izolata *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, na hemijske, mikrobiološke i senzorne osobine lisnatog sira, koji ima veliki značaj u ishrani lokalnog stanovništva. Shodno tome, u poglavlju **Ciljevi rada** je postavila sljedeće ciljeve: opisivanje autohtone tehnologije izrade lisnatog sira, proizvodnja eksperimentalnih lisnatih sireva sa dodatkom autohtonog izolata bakterije mliječne kiseline *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* 152, određivanje fizičko – hemijskog kvaliteta (pH, sadržaj masti, proteina, laktoze, soli i suve materije), higijenskog kvaliteta (ukupan broj mikroorganizama, broj somatskih ćelija) svježeg, acidifikovanog i zbirnog mlijeka sa i bez dodatka autohtone kulture *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* 152, određivanje hemijskog sastava surutke dobijene tokom proizvodnje eksperimentalnih sireva, ispitivanje hemijskog kvaliteta, pH, mikrobiološkog kvaliteta, kao senzornog kvaliteta lisnatih sireva sa dodatkom autohtonog izolata BMK *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* 152.

U poglavlju **Materijal i metode** opisani su materijal i metodologija koji su korišćeni tokom istraživanja. U metodama rada je opisana tehnologija autohtone proizvodnje lisnatog sira kao i eksperimentalna proizvodnja lisnatog sira sa i bez dodatka autohtonog izolata *Lactococcus lactis* 152. Dalje je opisana metodologija pripreme inokuluma izolata, način uzorkovanja mlijeka i lisnatog sira za laboratorijsko ispitivanje, metode hemijskih analiza mlijeka, surutke i proizvedenog sira, kao i metode za ispitivanje mikrobiološkog kvaliteta lisnatih sireva. Dalje je opisana i metoda za određivanje ukupnog broja laktokoka u uzorcima lisnatih sireva. Za subkultivaciju autohtonog izolata bakterija mliječne kiseline *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* 152 korišćen je M17 bujon po TERZAGHI-ju. Čistoća kulture provjeravana je bojenjem po Gramu i katalaza testom. Za pripremu 1 % inokuluma *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* 152 korišćeno je UHT mlijeko sa 1,5 % mm. Za proizvodnju lisnatih sireva ukupno je upotrijebljeno 160 litara sirovog kravljeg mlijeka. Jedan dio mlijeka (80 L) je otkupljen sa farme visokoproduktivnih muznih goveda, a drugi dio mlijeka (80 L) otkupljen je od malih proizvođača koji imaju do 2 muzna grla. Za proizvodnju svakog eksperimentalnog sira upotrijebljeno je po 40 L mlijeka. U cilju ispitivanja uticaja autohtonog izolata *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* 152, na kvalitet lisnatog sira, proizvedena su dva sira bez (kontrolni sirevi, **kLS**) i dva sira sa dodatkom 1% autohtonog izolata BMK *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* 152 (eksperimentalni, **eLS**). Svi sirevi su proizvedeni na tradicionalan način u uslovima koji odgovaraju autohtonoj proizvodnji od sirovog mlijeka istog hemijskog kvaliteta.

U poglavlju **Rezultati i diskusija** rezultati su prikazani u 9 potpoglavlja: Tehnološki proces proizvodnje lisnatih sireva, Rezultati kvaliteta mlijeka, Higijenska ispravnost mlijeka, Parametri kvaliteta surutke, Hemijski kvalitet lisnatog sira, Mikrobiološki kvalitet lisnatog sira, Rezultati određivanja pH vrijednosti mlijeka i sira, Rezultati senzorne analize lisnatih sireva i Rezultati ispitivanja ukupnog broja laktokoka. Prikazani su rezultati istraživanja autohtone tehnologije proizvodnje lisnatog sira, kao i uticaj autohtonog izolata BMK *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* 152, na fizičko-hemijski, mikrobiološki i senzorni kvalitet lisnatih sireva. Rezultati su prikazani kroz 20 tabela, 3 grafikona i 14 fotografija. Autohtona tehnologija lisnatog sira je praćena u mjestu Burum, opština Danilovgrad, u domaćinstvu koje se tradicionalnom proizvodnjom lisnatog sira bavi dugi niz godina. Kao osnovna sirovina u proizvodnji lisnatog sira korišćeno je sirovo kravlje mlijeko simentalke rase. Mlijeko kojem je dodata autohtona kultura *Lactococcus lactis* ssp.

lactis 152 u cilju pospješivanja mliječne fermentacije je dostiglo veću kisjelost tokom 24 h acidifikacije u odnosu na mlijeko koje je acidifikovalo pod uticajem prirodne mikrobiote. Njenu acidogenu aktivnost potvrđuje i finalna pH vrijednost lisnatih sireva, koja je znatno niža 3,41 (eLS2) i 3,43 (eLS1), u odnosu na početnu pH vrijednost zbirnog mlijeka 4,24 i 4,50, koje je korišćeno pri njihovoj proizvodnji. U odnosu na obradu gruš kontrolnog uzorka kLS₂, obrada grūša uzoraka sa autohtonom kulturom BMK *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* 152 se odvijala lako, jednostavno i brzo. Gruš eksperimentalnih uzoraka je postigao značajnu čvrstinu, koji pri dodiru sa nožem nije ostavljao tragove, a tokom sakupljanja je pokazao izuzetnu elastičnost. Sirno tijesto sa dodatkom autohtonog izolata BMK *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* 152 je bilo kompaktno, meko i elastično. Presavijanje i istezanje sirnog tijesta se odvijalo lako i brzo svakih 2-3 minuta. Senzorni kvalitet lisnatih sireva formiran je na osnovu ocjene sledećih parametara: ukusa, mirisa, boje, konzistencije, spoljašnjeg izgleda i presijeka. Analizom aritmetičkih sredina ocjena parametara senzornog kvaliteta LSD testom konstatovana je statistički značajna razlika ($p < 0,05$) između kontrolnih i eksperimentalnih lisnatih sireva, u korist kvaliteta eksperimentalnih sireva. Na kraju obrade, finalni lisnati sirevi sa kulturom su bili izrazito porcelansko bijele boje, glatke, sjajne i listave strukture, u odnosu na sireve bez kulture. Debljina lista sira je bila nalik debljini lista papira. Eksperimentalni sirevi sa kulturom su takodje imali bolji ukus, miris, konzistenciju, strukturu na presjeku i imali su duži rok trajanja ($p < 0,05$).

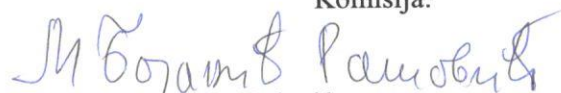
Zaključak rada je da je *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* 152 je uticao na formiranje čvršćeg i kvalitetnijeg grūša, koji je kao takav bio pogodniji za obradu. Autohtona kultura *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* 152 je pospješila i ubrzala acidifikaciju mlijeka, što je uticalo i na skraćenje procesa proizvodnje sira. Zahvaljujući mliječnoj kisjelinu koju stvara, *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* 152 je inhibirao rast i razvoj nepoželjnih mikroorganizama, što je pozitivno djelovalo na postojanost i mikrobiološki kvalitet proizvedenih lisnatih sireva. Lisnati sirevi sa dodatkom autohtonog izolata BMK *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* 152, imali su bolji senzorni kvalitet u odnosu na lisnate sireve bez dodatka autohtone kulture. Utvrđena je statistički značajna razlika između njih ($p < 0,05$). Tokom skladištenja sireva 30 dana na +4 °C, među kontrolnim i eksperimentalnim sirevima, senzornom evaluacijom zabilježena je statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u spoljašnjem izgledu, boji, stanju tijesta, slici na presjeku, mirisu i ukusu. Lisnati sirevi sa kulturom, su zadržali odličan kvalitet tokom svih 30 dana, odnosno imali su duži rok trajanja u odnosu na kontrolne lisnate sireve. Iz pomenutog se može izvesti zajednički zaključak, da se autohtoni izolat *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* 152, izolovan iz autohtonog lisnatog sira sa područja Crne Gore, može uspješno koristiti u proizvodnji lisnatog sira, zahvaljujući svojoj sposobnosti zakisjeljavanja mlijeka i uticaja na značajno poboljšanje njegovih senzornih karakteristika - ukusa, mirisa, konzistencije, boje, poprečnog presjeka.

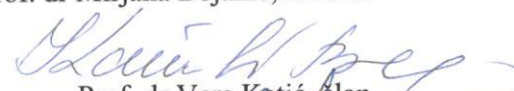
Ciljevi postavljeni u magistarskom radu su dali potvrđan odgovor da se primjenom definisanog autohtonog izolata *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* može dobiti lisnati sir poboljšanih mikrobioloških, hemijskih i senzornih osobina i sa produženim rokom upotrebe. Ovi rezultati ohrabruju da se nastavi sa istraživanjima, sa krajnjim ciljem da, zbog svog višestrukog značaja, autohtoni izolati bakterija mliječne kisjeline nađu svoje mjesto u proizvodnji autohtonih sireva u Grnoj Gori.

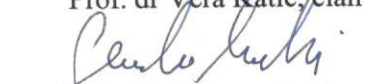
Završno mišljenje Komisije:

S obzirom da je kandidatkinja Ivana Novaković ispunila ciljeve postavljene u prijavi teme magistarskog rada i došla do veoma interesantnih i značajnih rezultata koji su prvi ove vrste u Crnoj Gori, to sa zadovoljstvom predlažemo Vijeću da usvoji pozitivni Izvještaj Komisije o ocjeni njenog magistarskog rada pod naslovom "*Uticaj autohtonog izolata Lactococcus lactis ssp. lactis na kvalitet i senzorne osobine lisnatog sira*" i odobri joj javnu odbranu magistarskog rada pod naslovom „*Uticaj primjene autohtonog izolata Lactococcus lactis ssp. lactis na kvalitet i senzorne osobine lisnatog sira*“.

Komisija:


Prof. dr Mirjana Bojanić, mentor


Prof. dr Vera Katić, član


Prof. dr Slavko Mirecki, član