



ТЕХНИЧЕСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ

Факултет Автоматика

**Катедра „Автоматизация на непрекъснатите
производства“**

Маг. инж. Йордан Георгиев Карачивиев

**ИЗСЛЕДВАНЕ НА МЕТОДИ И СРЕДСТВА ЗА ОЦЕНКА НА
КАЧЕСТВОТО НА МЛЕКА С БИОСЕНЗОРИ**

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

на дисертация за придобиване на образователна и научна степен
"ДОКТОР"

Област: 5.Технически науки

Професионално направление: 5.2. Електротехника, електроника и
автоматика

Научна специалност: Уреди и системи за аналитични измервания и за
контрол на среди (вкл. на околната среда)

**Научни ръководители: Доц. д-р инж. Димитър Ненов
Доц. д-р инж. Васил Гълъбов**

СОФИЯ, 2020 г.

Дисертационният труд е обсъден и насочен за защита от Катедрения съвет на катедра „Автоматизация на непрекъснатите производства“ към Факултет Автоматика на ТУ-София на редовно заседание, проведено на 11.09.2020 г.

Публичната защита на дисертационния труд ще се състои на 03.12.2020 г. от 13.00 часа в Конферентната зала на БИЦ на Технически университет –София на открито заседание на научното жури, определено със заповед № ОЖ-5.2-98/24.09.2020 г. на Ректора на ТУ-София в състав:

1. Доц. д-р инж. Николай Стоянов – председател
2. Доц. д-р инж. Васил Гълъбов – научен секретар
3. Проф. д.с.н. Живко Кръстанов – член
4. Проф. д-р инж. Николай Пенев – член
5. Доц. д-р инж. Иван Коджабашев – член

Рецензенти:

1. Проф. д.с.н. Живко Кръстанов
2. Доц. д-р инж. Иван Коджабашев

Материалите по защитата са на разположение на интересуващите се в канцеларията на Факултет Автоматика на ТУ – София, блок № 2, кабинет № 2340.

Дисертантът е редовен докторант към катедра „Автоматизация на непрекъснатите производства“ на Факултет Автоматика на ТУ – София. Изследванията по дисертационната разработка са направени от автора.

Автор: маг. инж. Йордан Карачивиев

Заглавие: Изследване на методи и средства за оценка на качеството на млека с биосензори.

Тираж: 30 броя

Отпечатано в ИПК на Технически университет – София

I. ОБЩА ХАРАКТЕРИСТИКА НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

Актуалност на проблема

Коагулационната способност на млякото намира все по-голямо значение в научните среди и индустрията, главно заради относителния дял на млякото, което се преработва в сирене. Има редица научни трудове, които потвърждават важността на коагулационната способност на млякото за рандемана и качеството при производството на сирене. Условиата за производство на сирене, като типа и концентрацията на ензима, температурата на инкубиране, както и отделните компоненти в състава на млякото, влияят върху коагулационната способност на млякото. По този начин, всеки фактор, който влияе върху качествения състав на млякото, влияе също и на коагулационната му способност.

Проучванията за използването на механичния лактодинамограф, за генериране на референтни данни за MIRS калибрация продължават.

Редица автори дискутират проблемните страни на този метод, както и произтичащи от него негативни, относно точността ефекти. Очевидно е, че колкото по-дълго е времето за коагулация, толкова по-кратко време ще има за стягане на коагулума и твърдостта на коагулума ще бъде по-ниска. Това ограничава възможността да бъдат измервани всички параметри характеризиращи коагулационната способност на млякото, особено при бавно коагулиращите млека – краве и биволско, които са основна суровина за млечната индустрия.

Очевидно и в бъдеще измерването на коагулационната способност на млякото с лактодинамограф ще бъде референтен метод, като основа за модернизация на инструментариума, основан на инфрачервени лъчи със средна дължина. В тази връзка преодоляването на някои методични слабости на този метод по пътя на моделиране на основните компоненти, влияещи върху измерителния процес в посока постигане подобро измерване на твърдостта на коагулума, като ключов признак за млекопреработването, придобива все по-важно значение.

В нашата страна не са извършвани изследвания на проблемите, свързани с измерването на коагулационната способност на млякото с биосензор - механичен лактодинамометър.

Цел на дисертационния труд, основни задачи и методи за изследване

Целта на дисертационния труд е да се установи възможността за моделиране на времето за коагулация на млякото, при използване на различни ензими и концентрации.

За постигане на целта са поставени следните **задачи**:

- Установяване време за коагулация - RCT, време за стягане на коагулума - k_{20} и твърдостта на коагулума - a_{30} при краве, биволско и козе мляко, третирано с различни ензими и концентрации;
- Определяне на общите статистики и проверка на хипотезата за достоверност на различията между изследваните параметри на различните ензими и концентрации;
- Установяване корелационните зависимости между a_{30} и RCT, и между a_{30} и k_{20} , и произтичащите от това фактори за различните ензими и за основните параметри, обект на измерване;
- Изследване възможността за моделиране на измервателния процес;
- Изследване статистическото разпределение на получените резултати от измерването на основните признаци, характеризиращи коагулационната способност на млякото;
- Клъстерен анализ за групиране на ензимите по изследваните признаци при краве, биволско и козе мляко.

Научна новост

Установените регресионни уравнения могат да служат за коригиране на показателя твърдост на коагулума a_{30} при млека с бавна коагулация, чието време на коагулиране надхвърля нормално очакваното типично за този вид мляко.

Важна сфера на приложение е при използването на метода като референтен за настройки на уреди, на основата на среднодълги вълни на инфрачервения спектър.

Подобряване на измерването на показателя a_{30} , позволява използването на метода за по-точно измерване и оценяване на фенотипната и генетична вариабилност и ковариабилност на кравето и биволското мляко, при индивидуални млечни проби, с цел оценяване на генетичната ценност на животните и нейното подобряване.

От голямо значение е коригирането на признака a_{30} , при случаите на разработване на методи и подходи за насочване на целите на производителите на суровина и преработвателите, на основата на изследване на връзките с технологичните характеристики на българските национално идентични млечни продукти и показателите, характеризиращи коагулационната способност на млякото.

Практическа приложимост

Получените лабораторни данни могат да бъдат използвани за:

- коригиране на показателя твърдост на коагулума a_{30} , при млека с бавна коагулация и по този начин постигане реалното му измерване;

- калибриране на уреди на основата на среднодълги вълни на инфрачервения спектър;
- насочване на целите на производителите на суровина и преработвателите, на основата на изследване на връзките с технологичните характеристики на българските национално идентични млечни продукти и показателите, характеризиращи коагулационната способност на млякото

Апробация

Резултати от извършените изследвания са представени и обсъдени на 2 научни конференции. Част от резултатите са публикувани в международно научно списание.

Публикации

Публикациите свързани с дисертационния труд са общо 4 бр., от които 2 бр. самостоятелни.

Структура и обем на дисертационния труд

Дисертационният труд е в обем от **(147)** страници, като включва увод, 5 глави за решаване на формулираните основни задачи, списък на основните приноси, списък на публикациите по дисертацията и използвана литература. Цитирани са общо **(102)** литературни източници, като **(97)** са на латиница и **(5)** на кирилица, а останалите са интернет адреси. Работата включва общо **(33)** фигури и **(46)** таблици. Номерата на фигурите и таблиците в автореферата съответстват на тези в дисертационния труд.

II. СЪДЪРЖАНИЕ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

ГЛАВА 1. ОБЗОР ПО ПРОБЛЕМА

Разгледани са състав и характеристики на млякото, както и различните фактори, обуславящи коагулационната способност на млякото и влияещи върху технологичните му качества.

Извършено е проучване на съвременните проблеми и достижения при измерване на коагулационната способност на млякото, както и най-важните фактори, използваните методи на коагулиране и възможностите за управление на процеса на коагулацията на млякото.

ИЗВОДИ КЪМ ГЛАВА ПЪРВА:

1. Литературните източници показват, че ензимната коагулация на казеиновите мицели зависи от концентрацията на мицелите в млякото, от температурата, рН и йонната сила, при които настъпва хидролиза и започва коагулация. Тези фактори от своя страна засягат физичните и химични взаимодействия, които се появяват, когато мицелите, съдържащи значителни количества хидролизиран казеин, се приближават взаимно.

2. Химозинът е основният и най-активен компонент, който предизвиква специфичното разцепване на пептидната връзка Phe105-Met106 на к-CN. Химозин-индуцираната коагулация на млякото може да бъде описана чрез три фази. По време на първичната фаза става ензимна хидролиза на к-CN в пара-к-CN. Когато приблизително 70% от к-CN се хидролизира, колоидната стабилност на мицелите е достатъчно намалена, за да започне спонтанната фаза на второ агрегиране и образуване на триизмерна мрежа, последвана от по-нататъшно втвърдяване. Накрая, в третата фаза, суроватката се изхвърля от казеиновата мрежа чрез синереза.

3. Млякото от различни видове преживни животни се различава по отношение на коагулационния им капацитет, тъй като те се влияят от млечния състав и главно от генетичните варианти на млечните протеини.

4. Има няколко използвани техники за измерване на коагулационната способност на млякото и широк диапазон от механични, вибрационни, ултразвукови, термични и оптични инструменти. Най-разпространеният подход както в изследванията, така и в индустрията е да се контролира вискозитета на млякото след добавяне на химозин.

5. Най-новите изследвания са фокусирани специално върху развитието на комбинирани сензори за непрекъснато неинвазивно наблюдение на коагулацията на млякото, базирана на ултразвукови измервания или NIR системи, базирани на обратното разсейване на светлината в зависимост от размера на частиците на сиренината. Изследвана е потенциалната приложимост на спектроскопия за измерване както на коагулацията, така и на фазите на образуване на сиренината при лабораторното производство на сирене.

6. Традиционно коагулационната способност на млякото се оценява за 30 min с помощта на лактодинамограф. Това е механично устройство, специално пригодно за оценка на няколко проби мляко (обикновено 10) едновременно. Температурата на млякото се поддържа постоянна по време на анализа. Основните параметри характеризиращи коагулационната способност на млякото са: RCT – време за коагулиране, k_{20} – време за стягане на коагулума, a_{30} – твърдост на коагулума.

7. Млякото от дребните преживни животни коагулира по-рано от кравето мляко и по този начин интервала от времето между добавянето на ензими и постигането на $a_{30} > 1 \text{ mm}$ е по-кратко при млякото от дребни преживни животни, освен това стойността k_{20} е много по-кратка за млякото на дребните преживни животни, отколкото за кравето мляко. Ако млякото се анализира с един и същ инструмент и при същите експериментални условия, биволското мляко коагулира по-рано и достига по-висока стойност на a_{30} , в сравнение с млякото от говеда.

8. Сравнението на данните, получени от различните видове млека потвърждават, че моделирането на твърдостта на коагулума - a_{30} изисква преоценка, когато традиционните методи се използват като референтни.

9. В световен мащаб са ограничени, а в нашата страна липсват изследвания на възможностите за моделиране на процеса на коагулация и коригиране на стойностите на твърдостта на коагулума, който е ключов признак при оценяването на сиренарските качества на млякото.

ГЛАВА 2. АНАЛИЗ НА ОБЗОРА

В млякото около 95% от казеините се агрегират в колоидни структури, казеинови мицели, чиято главна функция е да флуидизират молекулите казеин и да разтворят калция и фосфатите [50].

Млякото се характеризира с различна коагулационна способност, като основен фактор, който влияе са различните размери на частиците на казеина. Много автори посочват, че колкото по-високо е съдържанието на калций, толкова по-големи ще бъдат частиците казеин, което предполага по-добра коагулационна способност на млякото, тъй като калциевите йони са в основата на образуваното сиреще при преработката му [57, 60]. Размерът на частиците влияе върху възможностите на коагулума да се свива и отделя суроватка. Ако те са по-големи, „мрежата” е груба и отворена и суроватка се отделя по-лесно. Според [4, 56], физико - химичните измервания на казеиновия мицел показват, че най-външната част се състои от дифузен слой на гъвкави хидрофилни полипептидни вериги от C - терминал.

Ензимната хидролиза на к-казеин от добавянето на химозин води до коагулация на сферичните белтъчни агломерати, известни като казеинови мицели. Това формира основата на процеса при производството на сирене. Ензимната коагулация на казеиновите мицели зависи от концентрацията на мицелите в млякото, от температурата, рН и йонната сила, при които настъпва хидролизата и започва коагулацията. Тези фактори от своя страна засягат

физичните и химичните взаимодействия, които се появяват, когато мицелите, съдържащи значителни количества хидролизиран казеин, се приближават взаимно. Общият процес на коагулиране на мляко в млечни продукти, като сирене и кисело мляко се основава на образуването на агрегирана протеинова мрежа, която основно се състои от определена група протеини известни като казеини. Биохимичните процеси се различават при производството на сирене и ферментацията при другите млечни продукти. Производството на сирене включва разделяне на казеина от суроватката [55].

Ензимното коагулиране на млякото е модифицирането на казеиновите мицели чрез хидролиза на казеина от сирище /химозин/, последвано от агрегиране на калций-мицел [52]. Обикновено химозинът се извлича от телешки стомах и е смес от двете стомашни протеази - химозин и пепсин [10].

Основните фактори, влияещи върху коагулацията са породата [13, 29, 55], етапът на лактация [81], поредната лактация [69, 92], сезона и храненето [30] и здравето на кравите [54]. Млякото, продуцирано от крави с мастит се свързва с високо рН и ниски нива на казеин [14, 67, 97] и има отрицателни ефекти при производството на сирене [14, 68]. Млякото, което не коагулира при добавянето на химозин, е установено от редица автори [26, 34, 59, 62]. Причините за некоагулирането на млякото не са напълно установени. Това се дължи до голяма степен на все още неуловимата структура на казеиновия мицел, и сложността на процеса на коагулация на млякото.

Коагулационната способност на млякото зависи от: вида и концентрацията на коагулиращия ензим, температурата на млякото, киселинността, протеините (казеин и неговите фракции), съдържание на калций и фосфор и брой на соматични клетки [59, 94]. Определянето на коагулационната способност на млякото е от изключително значение, тъй като млякото от крави, биволи, овце или кози е с различен състав и има различна коагулационна способност [6].

Една от най-важните стъпки в производството на сирене е процесът на коагулация и познаването на параметрите, които го характеризират. Млякото от различните видове преживни животни се различава по отношение на коагулационния им капацитет, тъй като те се влияят от млечния състав и главно от генетичните варианти на млечните протеини. Коефициентът на коагулация на млякото може да бъде измерен чрез механични и/или оптични устройства, като лактодинамографски анализ и близка инфрачервена и средно инфрачервена спектроскопия [19].

Най-новите изследвания са фокусирани специално върху развитието на комбинирани сензори за непрекъснато неинвазивно наблюдение на коагулацията на млякото, базирани на ултразвукови измервания [96] или NIR системи, базирани на обратното разсейване на светлината в зависимост от размера на частиците на сиренината [47, 48, 49]. Последно проучване на [46] показва потенциалната приложимост на спектроскопия за измерване, както на коагулацията, така и на фазите на образуване на сиренината при лабораторно сирене производство.

Химозинът модифицира казеиновите мицели, което води до промени във вискозитета и еластичността на млякото [12, 78]. Има няколко използвани техники за измерване на коагулационната способност на млякото и широк диапазон от механични, вибрационни, ултразвукови, термични и оптични инструменти [64, 66, 78]. Най-разпространеният подход както в изследванията, така и в индустрията е да се контролира вискозитета на млякото след добавянето на химозин. Традиционно коагулационната способност на млякото се оценява за 30 min с помощта на лактодинамограф. Това е механично устройство, специално пригодно за оценка на няколко проби мляко (обикновено 10) едновременно. Температурата на млякото се поддържа постоянна по време на анализа.

Само няколко изследователи са се занимавали с коагулационната способност на биволско мляко [11, 15, 87].

Няколко проучвания са изследвали повторемостта и възпроизводимостта на коагулационната способност на млякото, получена чрез традиционните механични инструменти [20, 25, 36].

Традиционно, коагулационната способност на млякото се изразява чрез време за коагулация - RCT, време за стягане на коагулума - k_{20} и твърдост на коагулума - a_{30} , измервано чрез формаграф. Най-разпространената порода крави в света - Холщайн се характеризира с мляко, което по-късно коагулира, като има и проби, които не коагулират изобщо. В [20] се посочва, че твърдостта на коагулума е в силна отрицателна връзка с времето за коагулиране, и че k_{20} не е измерима. Целта на неговото изследване е да се създаде модел, като твърдостта на коагулума е функция от времето за коагулиране за 30 min интервал. Тестваният модел е бил: $CFt = CF_p \times (1 - e^{-k_{CF} \times (t - RCT)})$. Техническото развитие на Formagraph и наличието на компютризиран коагулатор на млякото, позволяват измерванията да се извършват автоматично и резултатите непрекъснато да се записват в компютърната памет. Има редица проучвания за моделирането на динамиката на коагулиране на млякото посредством различни реометри [42, 75, 77]. В наши дни се използват и NIRS и други оптични измервателни уреди за мониториране на коагулацията [48, 65, 78], като оптичните стойности се трансформират за симулиране на традиционните параметри. Освен това, такива параметрите могат да бъдат индиректно предсказани от MIRS при мляко, без да е необходимо да се предизвиква коагулация, като се използват подходящи алгоритми за калибриране [36, 39].

Лактодинамографските техники първоначално са били използвани за установяване и оценка на краве мляко, което представлява около 80% от млякото, произведено в световен мащаб. Измервателните уреди са широко използвани за изследване на млякото и на други преживни животни, но настройките и условията на околната среда се различават според проучванията. По този начин директните сравнения на данните от по-ранните доклади не са осъществими [21]. Традиционните начини за измерване на коагулационната способност на млякото при крави, посредством лактодинамография, оптимизирана до анализ на проби от мляко на говеда, може да не е особено

ценно и приложимо, когато се използва за изследване на мляко от други видове. Трябва да се отбележи, че млякото от дребните преживни животни коагулира по-рано от кравето мляко и по този начин интервала от времето между добавянето на ензими и постигането на $a_{30} > 1 \text{ mm}$ е по-кратко при млякото от дребни преживни животни, в съответствие с данни, публикувани от [82]. Освен това стойността k_{20} е много по-кратка за млякото на дребните преживни животни, отколкото за кравето мляко. При всички видове твърдостта на коагулума се увеличава до максимум и след това постепенно намалява. Този факт се дължи на синерезата [23], която причинява експулсиране на суроватка от подсирката, дори при липса на стягане на сиренината. Най-очевидната разлика между видовете е, че синерезиса обикновено започва много по-рано в млякото на дребните преживни животни, отколкото в млякото на крави. Традиционната настройка на лактодинамографите за анализ от млякото от говеда е предназначено преди всичко да изследва коагулацията и процеса на стягане на подсирката, а не синерезис.

Освен това, млякото от крави и овце реагира различно при повишаване на киселинността, температурни промени, добавяне на калций и вариации в концентрацията на сирищния ензим [17]. Ако млякото се анализира с един и същ инструмент и при същите експериментални условия [28], биволското мляко коагулира по-рано и достига висока стойност на a_{30} , отколкото млякото от говеда. Традиционните инструменти за анализ на КСМ са с по-голямо значение за производството на биволско сирене [11, 15, 16, 86, 87, 101], отколкото при производство на сирене от козе и овче мляко. Сравнение на данните, получени от млякото на различните видове животни потвърждават, че моделирането на CF изисква преоценка, ако трябва да се получи полезна информация.

Някои изследователи [36, 39] установяват средна до висока корелация между резултатите от анализа на КСМ чрез традиционните методи и тези, получени чрез MIRS. Следователно анализът чрез MIRS не може да замени лактодинамографския анализ, но MIRS може да се използва за анализ на популацията за генетични цели [27].

ИЗВОДИ КЪМ ГЛАВА ВТОРА

1. За млечната промишленост е важно да се познават свойствата на коагулационната способност на млякото. Млеката с благоприятни характеристики за производството на сирене трябва да имат кратко време за коагулиране и твърд коагулум, което води до получаване на продукти с желан състав. Тези изисквания са важни при преработката на мляко.

2. Времето за коагулиране е свързано главно с добива на мляко и съдържанието на казеин, докато твърдостта на коагулума е в пряка връзка със съдържанието на протеин, процента казеин и киселинността. Времето за стягане на коагулума зависи от съдържанието на казеина и киселинността в млякото.

3. За постигане на изследователски модел, който да не се влияе от биологичните особености на суровината е необходимо да се използват сборни проби млека, последователно взети от едни и същи ферми, които да се изследват с всички предвидени фактори, за постигане на моделиране при процеса на коагулация.

4. Изхождайки от спецификата на процеса на ензимна коагулация е възможно постигане на моделиране на процеса на коагулация, както с различни ензими, така и с различни концентрации на ензими.

5. Постигането на по-висока твърдост на коагулума е ключов момент за измервателния процес и безспорно зависи от скоростта на коагулиране и времето за втвърдяване на коагулума.

ГЛАВА 3. ОСНОВНИ ЕЛЕМЕНТИ И ПРОЦЕСИ

Основните елементи на провежданото изследване са млечни проби, ензими с различна активност и концентрации, биосензорен апарат за измерване на коагулационната способност на млякото, апарати за анализ на химическия състав, апарат за измерване соматичните на клетки и статистически пакет за анализ на резултатите.

3.1. Ензими с различна активност и концентрации

Анализирана е възможността за моделиране на процеса на коагулация, посредством използването на различни видове ензими и концентрации. Изследвани са пет ензима /MAXIREN 600, FROMASE 750, MAXIREN XDS, MAXIREN 180 и MAXIREN PREM P/ с по четири концентрации за всеки и една контролна група със стандартен химозин, препоръчан от производителя на биосензора.

3.2.1. Биосензорен апарат за измерване на коагулационната способност на млякото

Биосензорният апарат /Computerized Renneting Metter – Polo Trade, Italy /CRM// се класифицира като механична система или реологичен метод и се основава на запис на трептене, което се задвижва от електромагнитно поле, създадено от люлеенето на малко махало от неръждаема стомана, потопено в пробите от коагулиращо мляко, предизвикано от добавен стандартен ензим. Системата за изследване измерва разликите в електромагнитното поле, причинени от коагулацията на млякото - колкото по-голяма е степента на коагулация, толкова по-малки са люлеенията на махалото. Апаратът трансформира промените в съпротивлението на движението на махалата в следствие на образуването на коагулума в графично изображение, посредством компютърна система (фиг. 3.1). За да бъдат актуални и приложими в практиката резултатите от изследването, са използвани температури, които са зададени в технологичните карти на основните млечни продукти в нашата страна. Температурният режим - 35°C е технологичен параметър при производство на сирена по класически технологии.

3.2.2. Апарат за анализ на качествения състав на мляко

Анализът на качествения състав на млякото се извърши в лабораторията на Земеделски институт – Стара Загора, посредством ултразвуков млекоанализатор Лактоскан (фиг. 3.2). Анализаторът на мляко е предназначен за провеждане на експресни анализи за съдържание на мазнина (FAT), сух безмаслен остатък (SNF), белтък, лактоза и оводняване в проценти, температура ($^{\circ}\text{C}$), както и плътност в Гъстомерни градуси ($^{\circ}\text{Г}$), рН, точка на замръзване, соли и проводимост на една и съща проба, при производството, изкупуването и преработката на мляко.

3.2.3. Апарат за измерване на общ брой соматични клетки в мляко

Апаратът за измерване на общ брой соматични клетки в мляко /Lactoskan somatic cells/ е базиран на флуоресцентна микроскопска техника за броене на клетки, с ниско увеличение и софтуер за анализ на изображения. Към пробата от мляко се добавя лиофилизирано флуоресцентно багрило и чрез алгоритъм за анализ на дигиталните изображения се определя броя на флуоресциращите клетки и се изчислява техният размер и концентрация. Получените резултати от анализа на млякото автоматично се визуализират на дисплея на апарата (фиг. 3.3).

3.3. Методика за определяне на коагулационната способност на млякото:

- Млякото се изследва до третия час от вземането на пробата;
- Дозира се 10 ml мляко във всяко от гнездата;
- Млякото се загрява до достигане на температура 35°C ;
- Дозира се 0.2 ml химозин;
- При достигане на температурата 35°C на пробата се прибавя химозин;
- Хомогенизира се 15-20 пъти с помощта на бъркалки;
- Стартира се анализът.

Коагулационната способност на млякото се определя от три показателя:

- *Време за коагулиране на млякото - RCT;*
- *Време за стягане на коагулума - k_{20} ;*
- *Твърдост на коагулума - a_{30} ;*

В настоящия експеримент са анализирани показателите на коагулационната способност на краве, биволско и козе мляко (фиг. 3.4). За тази цел бяха изследвани по 420 млечни проби от краве, биволско и козе мляко, които се взеха от различни ферми. Пробите са транспортирани до лабораторията, посредством хладилни чанти при 4°C , непосредствено след приключване на процеса на доене.



Фиг. 3.4. Показатели характеризирани коагулационната способност на млякото

3.4. Статистически пакет за анализ на резултатите

Получените резултати от проведените експерименти са обработени вариационно - статистически чрез програмен продукт SYSTAT 12 © Copyright 2007, SYSTAT Software, Inc. All Rights Reserved u STATSOFT Statistics for Windows 10.

Средните стойности - (*Mean values*); стандартното отклонение - (*Standard deviation*); коефициент на вариране (*Coefficient of variation*); средна грешка (*Standard Error, %*); минимална (*Min*) и максимална (*Max*) стойност са определени чрез *Descriptive Statistics – brake down one way ANOVA*.

Статистическата значимост на разликите между променливите величини е установена чрез *ANOVA - Post hoc - LSD test at $P < 0.05$* (за корелации) и реални *P values by Duncan multiple range test* (за останалите показатели – регресионни уравнения, факторен анализ).

Корелационните зависимости между показателите са изчислени чрез *Basic Statistics Correlation matrices*.

Регресионните зависимости между зависими и независими променливи величини са изчислени чрез *Advanced Linear/Non linear models-General Regresiion models – Simple regression and Polynomial regression, Scatterplot-Graphs- Scatterplots*.

Индексът (*I*) на изменение на зависимата променлива величина (a_{30} – твърдост на коагулума) от независимата величина (*RCT* – време за коагулиране, k_{20} – време за стягане на коагулума) е изчислено чрез формула:

$$I = Y_{\text{ср.}} / X_{\text{ср.}}$$

където $Y_{\text{ср.}}$ - средна стойност на зависимата променлива величина,

$X_{\text{ср.}}$ - средна стойност на независимата величина.

Значимостта на факторите и показателите е установена чрез принципен компонентен анализ (*Principal Component Analysis – Power*).

Разпределението на изследваните показатели като основни фактори е изразено чрез *Scatterplot- PCA by 2 Factors* чрез *Multivariate Exploratory techniques-Principal component & Classification analysis*.

Разпределението на показателите по групи е изразено чрез *Scatterplot - PCA by 2 Factors* чрез *Multivariate Exploratory techniques-Principal component & Classification analysis*.

Клъстерният анализ за влиянието на различните ензими и концентрации е проведен чрез *Multivariate Exploratory techniques-Cluster Analysis- Euclidean distances*.

Графичното оформяне на резултатите е осъществено с *Excel 2013*.

ИЗВОДИ КЪМ ГЛАВА ТРЕТА

1. Основните елементи на изследването са: млечни проби, ензими с различна активност и концентрации, биосензорен апарат за измерване на коагулационната способност на млякото, апарати за анализ на химическия състав, апарат за измерване на соматичните клетки и статистически пакет за анализ на резултатите.

2. Анализирани са 420 проби от всеки вид млечни проби – краве, биволски и козе.

3. Анализирани са параметрите, характеризиращи коагулационната способност на млякото, посредством използването на различни видове и с различни концентрации ензими.

4. Анализирана е възможността за моделиране на процеса на коагулация, посредством използването на различни видове ензими и с различна концентрация.

5. Анализирани са параметрите, характеризиращи качествения състав на млякото и общ брой на соматични клетки в млякото.

6. Анализирани са зависимостите между факторите.

ГЛАВА 4. ИЗСЛЕДВАНЕ ДИНАМИКАТА НА ИЗМЕРВАНИТЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПОД ВЪЗДЕЙСТВИЕ НА РАЗЛИЧНИ ЕНЗИМИ И КОНЦЕНТРАЦИИ И ВЪЗМОЖНОСТИ ЗА МОДЕЛИРАНЕ

4.1. Общи статистически характеристики и достоверност за получените резултати за краве мляко

Общите статистически характеристики на получените резултати за краве мляко са представени съответно на таблица 4.1, таблица 4.2 и таблица 4.3 за трите показателя, характеризиращи коагулационната способност на кравето мляко.

Установените средни стойности за времето за коагулиране на млякото са по-ниски от контролната група (17.66 min), при която е използван ензим, препоръчван от производителя на апарата. Установените стойности са в границите от 4.31min за MAXIREN 600/ 0.25 ml до 13.25 min при FROMASE 750/ 0.08 ml. Като изключим по-високите стойности при FROMASE 750/ 0.08 и 0.13 ml, MAXIREN PREM P/ 0.22 ml и всички стойности на MAXIREN 180,

които са по-високи от 10 min, останалите се движат в по-тесни граници между 4.31 и 7.96 min с изключение на MAXIREN PREM P/ 0.27 ml, който има стойности близки до 10 min.

Таблица 4.1. Средни стойности и вариране на RCT

Enzymes	RCT – Means	RCT – N	RCT – Std.Dev.	RCT – Variance	RCT – Std.Err.
Standart	17.66***	20	0.98	0.96	0.22
MAXIREN 600/0.1 ml	6.59a	20	1.633	2.67	0.37
MAXIREN 600/0.15 ml	5.57a	20	2.14	4.56	0.48
MAXIREN 600/0.20 ml	6.16a	20	0.98	0.97	0.22
MAXIREN 600/0.25 ml	4.31b	20	1.06	1.13	0.24
FROMASE 750 / 0.08 ml	13.25d	20	2.80	7.86	0.63
FROMASE 750 / 0.13 ml	12.159d	20	2.12	4.48	0.47
FROMASE 750 / 0.18 ml	6.68a	20	1.25	1.56	0.28
FROMASE 750 / 0.23 ml	5.22ab	20	0.71	0.50	0.16
MAXIREN XDS/ 0.1 ml	6.98a	20	1.58	2.48	0.35
MAXIREN XDS/ 0.15 ml	6.48a	20	1.36	1.85	0.30
MAXIREN XDS/ 0.2 ml	6.09a	20	0.62	0.38	0.14
MAXIREN XDS/ 0.25 ml	4.49b	20	0.97	0.94	0.22
MAXIREN PREM P/0.22 ml	10.07c	20	1.08	1.17	0.24
MAXIREN PREM P/0.27 ml	9.48c	20	1.49	2.23	0.33
MAXIREN PREM P/0.30 ml	7.96a	20	1.07	1.15	0.24
MAXIREN PREM P/0.35 ml	7.26a	20	1.23	1.50	0.27
MAXIREN 180 /0.37 ml	13.14d	20	1.62	2.61	0.36
MAXIREN 180 /0.40 ml	12.45d	20	2.08	4.33	0.47
MAXIREN 180 /0.45 ml	11.74c	20	2.05	4.22	0.46
MAXIREN 180 /0.50 ml	10.58c	20	1.37	1.88	0.31
All groups	8.78	420	3.78	14.32	0.18

Разликите са статистически доказани при $P < 0.05$, ако нямат еднакви букви

Таблица 4.2 Средни стойности и вариране на k_{20}

Enzymes	k_{20} – Means	k_{20} – N	k_{20} – Std.Dev.	k_{20} – Variance	k_{20} – Std.Err.
Standart	2.38***	20	1.40	1.97	0.31
MAXIREN 600/0.1 ml	0.92b	20	0.91	0.83	0.20
MAXIREN 600/0.15 ml	1.50c	20	1.62	2.63	0.36
MAXIREN 600/0.20 ml	0.69a	20	0.58	0.34	0.13
MAXIREN 600/0.25 ml	0.59a	20	0.37	0.14	0.08
FROMASE 750 / 0.08 ml	1.46c	20	1.06	1.12	0.24
FROMASE 750 / 0.13 ml	1.18b	20	0.79	0.62	0.18
FROMASE 750 / 0.18 ml	1.20b	20	1.60	2.57	0.36
FROMASE 750 / 0.23 ml	0.66a	20	0.43	0.19	0.10
MAXIREN XDS/ 0.1 ml	0.85b	20	0.85	0.71	0.19
MAXIREN XDS/ 0.15 ml	0.43a	20	0.28	0.08	0.06
MAXIREN XDS/ 0.2 ml	0.48a	20	0.33	0.11	0.08
MAXIREN XDS/ 0.25 ml	0.55a	20	0.66	0.44	0.15
MAXIREN PREM P/0.22 ml	1.06b	20	0.64	0.41	0.14
MAXIREN PREM P/0.27 ml	0.88b	20	1.01	1.01	0.23
MAXIREN PREM P/0.30 ml	0.99b	20	0.692	0.48	0.16
MAXIREN PREM P/0.35 ml	0.83b	20	0.772	0.60	0.17
MAXIREN 180 /0.37 ml	1.33b	20	0.717	0.52	0.16
MAXIREN 180 /0.40 ml	1.04b	20	0.856	0.73	0.19
MAXIREN 180 /0.45 ml	1.21b	20	0.772	0.59	0.17
MAXIREN 180 /0.50 ml	1.10b	20	0.653	0.43	0.15
All groups	1.02	420	0.965	0.93	0.05

Разликите са статистически доказани при $P < 0.05$, ако нямат еднакви букви

Най-високи стандартни отклонения са установени при ниските дози на FROMASE 750/ 0.08 и 0.13 ml и MAXIREN 600 (2.8, 2.12 и 2.14, съответно). Най-ниско е стандартното отклонение при MAXIREN XDS/ 0.2 ml – 0.62. При повечето експериментални групи стойностите са близки до 1, като изключение правят групите с MAXIREN 600/ 0.1 , (1.63), MAXIREN XDS/ 0.1 и 0.15 ml - (1.58 и 1.36 съответно).

Най-висок е установеният вариант при групата FROMASE 750/ 0.08 ml - (7.86). Останалите стойности са групирани около 4.22 – 4.56 при четири от експерименталните групи, 1.56 – 2.67 при седем от групите и останалите са с близки около единица стойности.

Стандартните грешки са ниски и се движат в тесни граници между 0.14 и 0.48, като най-висока стойност е установена при FROMASE 750 /0.08 ml – 0.63.

Установените резултати относно достоверните разлики между контролната и някои от експерименталните групи са обнадеждаващи.

Достоверни разлики и висока скорост на коагулация са установени при експерименталната група с MAXIREN 600/0.25 ml (4,31 min) и MAXIREN XDS/ 0.25 ml (4.49 min), близки до тези стойности са установените и при FROMASE 750 / 0.23 ml (5.22 min).

При показателя време за стягане на коагулума - k_{20} (таблица 4.2) се наблюдават високо достоверни разлики между контролната и експерименталните групи.

Най-кратко време за стягане на коагулума достоверно е установено при ензимите MAXIREN XDS/ 0.15, 0.20 и 0.25 ml – (0.43, 0.48 и 0.55 min) съответно. С ниски стойности за k_{20} са и високите концентрации на MAXIREN

600 – 0.20 и 0.25 ml, както и FROMASE 750, като разликите между изброените до тук са недостоверни, но са достоверни разликите между тях и останалите ензими и концентрации. Макар и значително по-високи, установените стойности за останалите ензими и концентрации са почти с два пъти по-кратко време за стягане на коагулума.

Независимо от значителното ускорение постигнато при двата показателя RCT и k_{20} , то не е постигната достоверна разлика по показателя a_{30} между контролната и експерименталните групи (таблица 4.3). Изключение правят достоверно по-високите стойности за FROMASE 750/ 0,23 ml – 40.05 mm, MAXIREN XDS/ 0.15 и 0.25 ml – 42.70 mm и 41.75 mm съответно, MAXIREN PREM P/ 0.27 и 0.35 ml – 43.55 mm и 41.80 mm съответно.

Може да се твърди, че въздействието на различните ензими и концентрации е твърде разнообразно по нива и посока на въздействие. Някои от групите с високи концентрации на ензимите MAXIREN XDS/ 0.15 и 0.25 ml, MAXIREN PREM P/0.30 ml, FROMASE 750/0.23 ml, демонстрират значително въздействие върху всички показатели, като ускоряват процеса на коагулация, намаляват времето за стягане на коагулума и имат най-високи стойности за твърдост на коагулума. Твърде различно е въздействието на ензима MAXIREN 600, който има силно въздействие върху съкращаването на времето за коагулиране и времето за стягане на коагулума, но има недостоверно, макар и слабо положително въздействие върху твърдостта на коагулума.

Таблица 4.3 Средни стойности и вариране на a_{30}

Enzymes	a_{30} – Means	a_{30} – N	a_{30} – Std.Dev.	a_{30} – Variance	a_{30} – Std.Err.
Standart	33.35a	20	6.52	42.45	1.46
MAXIREN 600/0.1 ml	33.85a	20	9.23	85.19	2.06
MAXIREN 600/ 0.15 ml	37.55a	20	9.99	99.73	2.23
MAXIREN 600/ 0.20 ml	38.95a	20	9.57	91.6289	2.14
MAXIREN 600/ 0.25 ml	37.65a	20	9.40	88.45	2.10
FROMASE 750 / 0.08 ml	36.35a	20	8.68	75.36	1.94
FROMASE 750 / 0.13 ml	37.90a	20	9.11	83.04	2.04
FROMASE 750 / 0.18 ml	38.75a	20	10.21	104.30	2.28
FROMASE 750 / 0.23 ml	40.05b	20	11.44	130.79	2.56
MAXIREN XDS/ 0.1 ml	35.05a	20	8.77	76.89	1.96
MAXIREN XDS/ 0.15 ml	42.70bc	20	7.83	61.38	1.75
MAXIREN XDS/ 0.2 ml	35.35a	20	9.64	92.87	2.15
MAXIREN XDS/ 0.25 ml	41.75b	20	8.80	77.46	1.97
MAXIREN PREM P/0.22 ml	31.95a	20	7.88	62.05	1.76
MAXIREN PREM P/0.27 ml	43.55c	20	9.45	89.31	2.11
MAXIREN PREM P/0.30 ml	35.90a	20	10.59	112.09	2.37
MAXIREN PREM P/0.35 ml	41.80b	20	9.87	97.33	2.21
MAXIREN 180 /0.37 ml	31.95a	20	8.39	70.47	1.88
MAXIREN 180 /0.40 ml	37.70a	20	9.51	90.43	2.12
MAXIREN 180 /0.45 ml	33.70a	20	10.22	104.54	2.29
MAXIREN 180 /0.50 ml	36.95a	20	7.88	62.16	1.76
All grups	37.27	420	9.62	92.55	0.47

Разликите са статистически доказани при $P < 0.05$, ако нямат еднакви букви

4.2. Достоверност на разликите и статистически характеристики от анализираниите проби за биволско мляко

Разликите между средните стойности и варирането са представени на таблица 4.4. Както е видно, получените средни стойности за скорост на коагулиране вследствие на въздействието на различните ензими и стандартната група са в широк диапазон. Най-висока скорост на коагулиране е постигната при третиране с различните концентрации на ензимите FROMASE 750 (от 1.21

до 2.58 min) и при MAXIREN PREM P (от 1.19 до 1.42 min). Получените стойности и при двата ензима се различават достоверно от контролната и останалите групи. Значително достоверно различаващо се от стандартната група ускорение на времето за коагулиране е постигнато и с високите концентрации на ензима MAXIREN 600. Близки до контролната група са получените стойности при ензима MAXIREN XDS (от 5.9 до 7.04 min) при различните концентрации, а при ензима MAXIREN 180 получените стойности са по-високи от стандарта (от 7.32 до 8.77 min) при различните концентрации.

Таблица 4.4 Средни стойности и вариране на RCT

Enzymes	RCT – Means	RCT – N	RCT – Std.Dev.	RCT – Variance	RCT – Std.Err.
Standart	7.389a	20.00	0.93	0.86	0.21
MAXIREN 600/0.1 ml	6.848c	20.00	0.65	0.42	0.15
MAXIREN 600/0.15 ml	3.225d	20.00	0.60	0.36	0.13
MAXIREN 600/0.20 ml	3.529d	20.00	0.22	0.05	0.05
MAXIREN 600/0.25 ml	2.912d	20.00	0.30	0.09	0.07
FROMASE 750 / 0.08 ml	2.576d	20.00	0.32	0.11	0.07
FROMASE 750 / 0.13 ml	1.483e	20.00	0.19	0.04	0.04
FROMASE 750 / 0.18 ml	1.299e	20.00	0.10	0.01	0.02
FROMASE 750 / 0.23 ml	1.205e	20.00	0.05	0.00	0.01
MAXIREN XDS/ 0.1 ml	7.039a	20.00	1.64	2.70	0.37
MAXIREN XDS/ 0.15ml	6.766c	20.00	0.40	0.16	0.09
MAXIREN XDS/ 0.2 ml	6.899c	20.00	0.59	0.35	0.13
MAXIREN XDS/ 0.25 ml	5.903c	20.00	0.39	0.15	0.09
MAXIREN PREM P/0.22ml	1.419e	20.00	0.21	0.05	0.05
MAXIREN PREM P/0.30 ml	1.236e	20.00	0.05	0.00	0.01
MAXIREN PREM P/0.35 ml	1.190e	20.00	0.06	0.00	0.01
MAXIREN 180 /0.37 ml	8.774b	20.00	0.66	0.44	0.15
MAXIREN 180 /0.40 ml	8.084b	20.00	0.98	0.97	0.22
MAXIREN 180 /0.45 ml	8.011b	20.00	0.52	0.28	0.12
MAXIREN 180 /0.50 ml	7.323a	20.00	0.58	0.33	0.13
All grups	4.496	420.00	2.86	8.20	0.14

Таблица 4.5 Средни стойности и вариране на k₂₀

Enzymes	k ₂₀ – Means	k ₂₀ – N	k ₂₀ – Std.Dev.	k ₂₀ – Variance	k ₂₀ – Std.Err.
Standart	0.408a	20.000	0.270	0.073	0.060
MAXIREN 600/ 0.15 ml	0.293a	20.000	0.061	0.004	0.014
MAXIREN 600/ 0.20 ml	0.314a	20.000	0.214	0.046	0.048
MAXIREN 600/ 0.25 ml	0.279a	20.000	0.090	0.008	0.020
FROMASE 750 / 0.08 ml	0.332a	20.000	0.066	0.004	0.015
FROMASE 750 / 0.13 ml	0.233a	20.000	0.077	0.006	0.017
FROMASE 750 / 0.18 ml	0.249a	20.000	0.075	0.006	0.017
FROMASE 750 / 0.23 ml	0.173b	20.000	0.055	0.003	0.012
MAXIREN XDS/ 0.1 ml	0.718c	20.000	1.547	2.395	0.346
MAXIREN XDS/ 0.15 ml	0.401a	20.000	0.279	0.078	0.062
MAXIREN XDS/ 0.2 ml	0.373a	20.000	0.235	0.055	0.053
MAXIREN XDS/ 0.25 ml	0.324a	20.000	0.059	0.003	0.013
MAXIREN PREM P/0.22 ml	0.263a	20.000	0.084	0.007	0.019
MAXIREN PREM P/0.27 ml	0.225a	20.000	0.077	0.006	0.017
MAXIREN PREM P/0.30 ml	0.233a	20.000	0.092	0.008	0.021
MAXIREN PREM P/0.35 ml	0.188b	20.000	0.067	0.004	0.015
MAXIREN 180 /0.37 ml	0.571a	20.000	0.405	0.164	0.091
MAXIREN 180 /0.40 ml	0.918d	20.000	1.571	2.469	0.351
MAXIREN 180 /0.45 ml	0.462a	20.000	0.274	0.075	0.061
MAXIREN 180 /0.50 ml	0.739c	20.000	0.532	0.283	0.119
MAXIREN 600/0.1 ml	0.474a	20.000	0.305	0.093	0.068
All grups	0.389	420.000	0.548	0.300	0.027

Получените резултати за показателя (време за стягане на коагулума) са представени на таблица 4.5. От таблицата е видно, че достоверно съкращаване на времето за стягане на коагулума е установено при най-високите концентрации на ензима FROMASE 750 / 0.23 ml (0.17 min), както и при най-високата концентрация на ензима MAXIREN PREM P/0.35 ml (0.19 min).

Получените резултати за средните стойности и варирането при показателя α_{30} са представени на таблица 4.6. Достоверно повишаване на твърдостта на коагулума е постигнато единствено при различните концентрации на ензима MAXIREN PREM P с изключение на концентрацията 0.30 ml (от 45.25 до 47.95 mm). Прави впечатление, че при ензима FROMASE 750 са получени близки до стойностите за RCT и k₂₀ стойности с тези на MAXIREN PREM P, но при твърдостта на коагулума са получени недостоверно отличаващи се близки до стойностите на стандартната резултати.

Логично свързано с първите два показателя при ензима MAXIREN 180 са получени достоверно отличаващи се от стандарта по-ниски стойности за твърдост на коагулума (35.00 до 38.55 mm).

Таблица 4.6 Средни стойности и вариране на a_{30}

Enzymes	a_{30} – Means	a_{30} – N	a_{30} – Std.Dev.	a_{30} – Variance	a_{30} – Std.Err.
Standart	43.050a	20.000	10.013	100.261	2.239
MAXIREN 600/ 0.15 ml	43.150a	20.000	9.549	91.187	2.135
MAXIREN 600/ 0.20 ml	39.900a	20.000	9.442	89.147	2.111
MAXIREN 600/ 0.25 ml	41.900a	20.000	8.783	77.147	1.964
FROMASE 750 / 0.08 ml	43.200a	20.000	9.157	83.853	2.048
FROMASE 750 / 0.13 ml	45.100a	20.000	9.679	93.674	2.164
FROMASE 750 / 0.18 ml	42.350a	20.000	9.853	97.082	2.203
FROMASE 750 / 0.23 ml	42.750a	20.000	9.602	92.197	2.147
MAXIREN XDS/ 0.1 ml	43.050a	20.000	10.013	100.261	2.239
MAXIREN XDS/ 0.15 ml	41.050a	20.000	9.355	87.524	2.092
MAXIREN XDS/ 0.2 ml	41.850a	20.000	9.377	87.924	2.097
MAXIREN XDS/ 0.25 ml	42.300a	20.000	9.274	86.011	2.074
MAXIREN PREM P/0.22 ml	46.200b	20.000	10.056	101.116	2.249
MAXIREN PREM P/0.27 ml	45.250b	20.000	10.417	108.513	2.329
MAXIREN PREM P/0.30 ml	43.100a	20.000	9.245	85.463	2.067
MAXIREN PREM P/0.35 ml	47.950b	20.000	9.528	90.787	2.131
MAXIREN 180 /0.37 ml	35.000d	20.000	8.079	65.263	1.806
MAXIREN 180 /0.40 ml	37.900d	20.000	7.636	58.305	1.707
MAXIREN 180 /0.45 ml	40.900a	20.000	7.840	61.463	1.753
MAXIREN 180 /0.50 ml	38.450d	20.000	8.049	64.787	1.800
MAXIREN 600/0,1 ml	38.550d	20.000	9.361	87.629	2.093
All grups	42.045	420.000	9.513	90.506	0.464

4.3. Достоверност на разликите и статистически характеристики от анализиранияте проби за козе мляко

Получените резултати показват възможности за значително ускорение на времето за коагулиране независимо от факта, че козето мляко се характеризира с относително по-кратко време за коагулация в сравнение с кравето и биволското мляко (таблица 4.7). Високо достоверни ($P < 0.001$) са установените разлики за стойностите на признака за контролната група спрямо експерименталните, като се движат в диапазона от 2 до 4 пъти по-кратко време за коагулиране при експерименталните групи.

Установени са достоверни разлики, както между отделните ензими, така и при различните концентрации. Прави впечатление факта, че във всички случаи при опитните групи е постигнато достоверно съкращаване на времето за коагулиране. Най-кратко време е постигнато при най-високата концентрация на ензимите MAXIREN 600/ 0.25 ml, FROMASE 750 / 0.18 и 0.23 ml. Установени са и по-високи стойности на стандартното отклонение и варианса при най-ниските концентрации на използваните ензими. Изключение прави опитната група с различни концентрации от ензима MAXIREN 180, който влияе сравнително по-слабо върху скоростта на коагулация на козето мляко (от 7.33 до 8.58 min).

Таблица 4.7 Описателни статистически характеристики за показателя време за коагулиране (RCT)

Enzymes	Means	N	Std. Dev.	Variance	Std. Err.
Standart	13.51a***	20	0.98	0.96	0.22
MAXIREN 600/0.1 ml	5.83c	20	1.21	1.45	0.27
MAXIREN 600/0.15 ml	5.98c	20	0.40	0.16	0.09
MAXIREN 600/0.20 ml	4.24d	20	0.39	0.15	0.09
MAXIREN 600/0.25 ml	2.62e	20	0.35	0.13	0.08
FROMASE 750 / 0.08 ml	7.33b	20	0.70	0.49	0.16
FROMASE 750 / 0.13 ml	7.04b	20	0.97	0.95	0.22
FROMASE 750 / 0.18 ml	2.91e	20	0.33	0.11	0.07
FROMASE 750 / 0.23 ml	2.71e	20	0.35	0.12	0.08
MAXIREN XDS/ 0.1 ml	8.01b	20	0.77	0.59	0.17
MAXIREN XDS/ 0.15 ml	4.47d	20	0.33	0.09	0.07
MAXIREN XDS/ 0.2 ml	3.14e	20	0.65	0.42	0.15
MAXIREN XDS/ 0.25 ml	3.19e	20	0.57	0.33	0.13
MAXIREN PREM P/0.22 ml	6.76c	20	0.66	0.44	0.15
MAXIREN PREM P/0.27 ml	6.21c	20	0.48	0.23	0.11
MAXIREN PREM P/0.30 ml	4.47d	20	0.38	0.14	0.08
MAXIREN PREM P/0.35 ml	4.66d	20	0.39	0.15	0.09
MAXIREN 180 /0.37 ml	8.58b	20	0.86	0.73	0.19
MAXIREN 180 /0.40 ml	7.93b	20	0.60	0.36	0.13
MAXIREN 180 /0.45 ml	7.55b	20	0.93	0.86	0.21
MAXIREN 180 /0.50 ml	7.33b	20	0.48	0.23	0.11
Mean all grups	5.93	420	2.63	6.90	0.13

Таблица 4.8 Общи статистически характеристики за показателя време за стягане на коагулума - K₂₀

Enzymes	Means	N	Std. Dev.	Variance	Std. Err.
Standart	0.55a	20	0.38	0.14	0.08
MAXIREN 600/0.1 ml	0.64b	20	0.29	0.66	0.03
MAXIREN 600/0.15 ml	0.42a	20	0.28	0.08	0.06
MAXIREN 600/0.20 ml	0.33c	20	0.09	0.01	0.02
MAXIREN 600/0.25 ml	0.30c	20	0.09	0.01	0.02
FROMASE 750 / 0.08 ml	0.71b	20	0.53	0.28	0.12
FROMASE 750 / 0.13 ml	0.34c	20	0.18	0.03	0.04
FROMASE 750 / 0.18 ml	0.29c	20	0.09	0.01	0.02
FROMASE 750 / 0.23 ml	0.31c	20	0.09	0.01	0.02
MAXIREN XDS/ 0.1 ml	0.38c	20	0.25	0.06	0.06
MAXIREN XDS/ 0.15 ml	0.29c	20	0.09	0.01	0.02
MAXIREN XDS/ 0.2 ml	0.26c	20	0.07	0.004	0.02
MAXIREN XDS/ 0.25 ml	0.26c	20	0.10	0.01	0.02
MAXIREN PREM P/0.22 ml	0.48a	20	0.37	0.13	0.08
MAXIREN PREM P/0.27 ml	0.52a	20	0.37	0.14	0.08
MAXIREN PREM P/0.30 ml	0.42a	20	0.31	0.10	0.07
MAXIREN PREM P/0.35 ml	0.36c	20	0.21	0.05	0.05
MAXIREN 180 /0.37 ml	0.50a	20	0.39	0.15	0.09
MAXIREN 180 /0.40 ml	0.50a	20	0.35	0.12	0.08
MAXIREN 180 /0.45 ml	0.50a	20	0.33	0.11	0.07
MAXIREN 180 /0.50 ml	0.51a	20	0.46	0.21	0.10
Mean all grups	0.422	420	0.41	0.17	0.02

Резултатите, свързани с време за стягане на коагулума (таблица 4.8) се различават значително от установените при време за коагулация. Може да се твърди, че времето за стягане на коагулума е определено най-силно повлияно от ензима MAXIREN XDS, където е постигнато и най-значимо достоверно съкращаване на времето за стягане на коагулума (от 0.38 до 0.26 min) дори и при най-ниската концентрация. При експерименталните групи с най-ниски концентрации на ензимите MAXIREN 600 и FROMASE 750 получените стойности са достоверно по-високи от контролната (0.55min) група (0.64 и 0.71min) съответно.

Резултатите от анализа за признака твърдост на коагулума (таблица 4.9) показват положително въздействие върху този важен показател при почти всички ензими при умерени и високи концентрации. Най-високи достоверно отличаващи се от контролната група стойности за твърдост на коагулума са отчетени при ензимите FROMASE 750 / 0.13 ml (43.35 mm), MAXIREN PREM P/0.30, 0.35 ml (43.05 и 43.30 mm), MAXIREN 180 /0.45 ml (42.35 mm), както и FROMASE 750 / 0.23 ml и MAXIREN XDS/ 0.1ml (42.15 mm). Можем да отбележим, че с изключение на MAXIREN 600/0.1ml, MAXIREN XDS/ 0.15ml, MAXIREN XDS/ 0.2 ml и MAXIREN 180 /0.40 ml, чиито стойности са по-ниски и не достоверно отличаващи се от контролната група, то всички останали стойности представят едно положително влияние на различните концентрации на ензимите върху твърдостта на коагулума.

Таблица 4.9 Общи статистически характеристики за показателя време за стягане на коагулума - a_{30}

Enzymes	a_{30} – Means	a_{30} – N	a_{30} – Std.Dev.	a_{30} – Variance	a_{30} – Std.Err.
Standart	36.65a	20	6.64	44.14	1.49
MAXIREN 600/0.1 ml	32.95a	20	11.133	123.95	2.49
MAXIREN 600/0.15 ml	40.40b	20	8.80	77.52	1.97
MAXIREN 600/0.20 ml	43.25c	20	10.03	100.51	2.24
MAXIREN 600/0.25 ml	39.20b	20	10.52	110.59	2.35
FROMASE 750 / 0.08 ml	39.85b	20	7.85	61.61	1.76
FROMASE 750 / 0.13 ml	43.35c	20	8.59	73.82	1.92
FROMASE 750 / 0.18 ml	39.60b	20	8.09	65.52	1.81
FROMASE 750 / 0.23 ml	42.15c	20	9.26	85.82	2.07
MAXIREN XDS/ 0.1 ml	42.15c	20	9.95	99.08	2.23
MAXIREN XDS/ 0.15 ml	36.95a	20	9.25	85.63	2.07
MAXIREN XDS/ 0.2 ml	34.80a	20	14.34	205.64	3.21
MAXIREN XDS/ 0.25 ml	42.45c	20	9.93	98.58	2.22
MAXIREN PREM P/0.22 ml	41.30c	20	10.09	101.80	2.26
MAXIREN PREM P/0.27 ml	40.0b	20	8.55	73.16	1.91
MAXIREN PREM P/0.30 ml	43.05c	20	9.75	95.00	2.18
MAXIREN PREM P/0.35 ml	43.30c	20	10.36	107.38	2.38
MAXIREN 180 /0.37 ml	40.50b	20	10.00	100.05	2.28
MAXIREN 180 /0.40 ml	35.85a	20	11.577	134.03	2.59
MAXIREN 180 /0.45 ml	42.35c	20	9.040	81.71	2.02
MAXIREN 180 /0.50 ml	41.10c	20	10.316	106.41	2.31
All groups	40.06	420	10.040	100.79	0.49

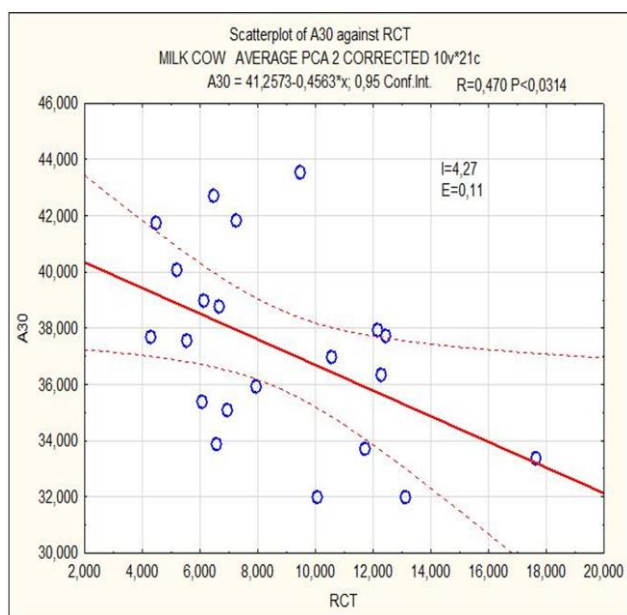
4.4. Възможности за моделиране на измервателния процес

4.4.1. Възможности за моделиране на измервателния процес при краве мляко

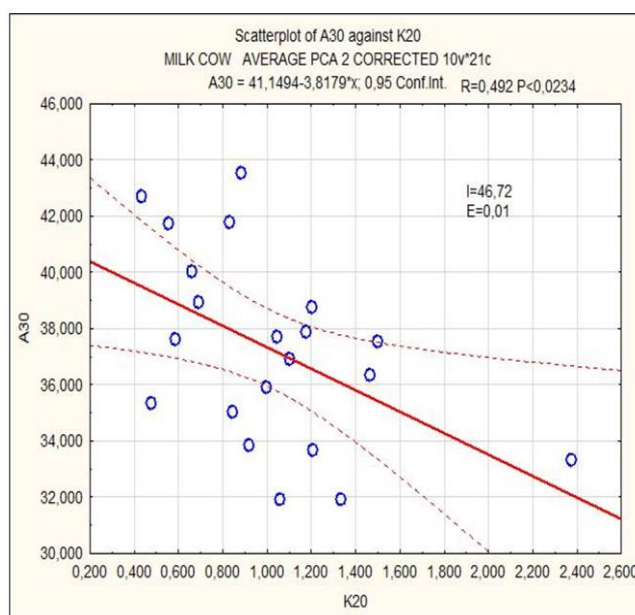
В следствие на проведените изследвания и анализи за краве мляко, бяха установени две уравнения (таблица 4.11 и фиг. 4.1 и фиг. 4.2), които показват достоверно регресионните зависимости между времето за коагулиране на млякото - RCT и твърдостта на коагулима – 0.0314 и времето за стягане на коагулума - k_{20} и твърдостта на коагулима – 0.0234.

Таблица 4.11 Регресионни зависимости на a_{30} от RCT и k_{20} с осреднените стойности

Equation	R^2	SEE	F	P
$a_{30}=41.258-0.456 \text{ RCT}$	0.47	1.8	5.40	0.0314
$a_{30}=41.149-3.818 k_{20}$	0.492	1.7	6.08	0.0234



Фиг. 4.1 Графична регресионна зависимост на a_{30} от RCT с осреднените стойности



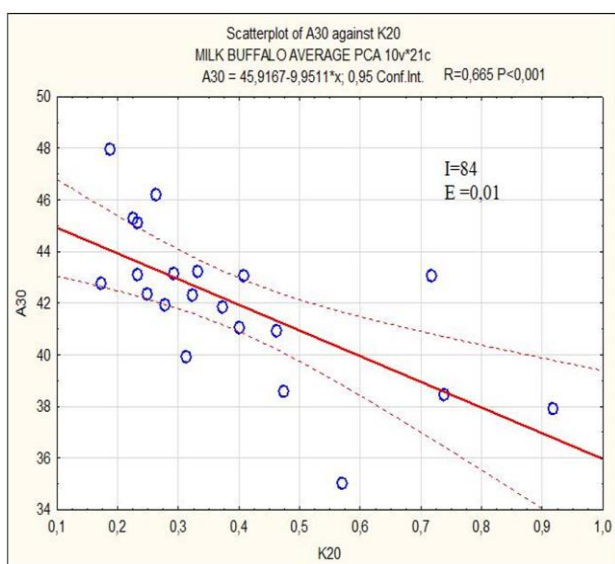
Фиг. 4.2. Графична регресионна зависимост на a_{30} от k_{20} с осреднените стойности

4.4.2. Възможности за моделиране на измервателния процес при биволско мляко

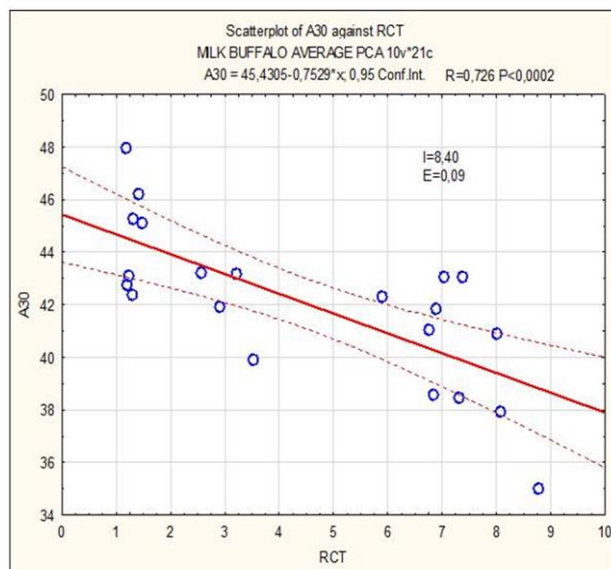
На таблица 4.12, фиг. 4.3 и фиг. 4.4 са представени високо достоверно и много добре доказани регресионни зависимости между твърдостта на коагулума - a_{30} и времето за коагулиране на млякото - RCT, както и между времето за стягане на коагулума - k_{20} и твърдостта на коагулума - a_{30} . Видимо е, че твърдостта на коагулума може да бъде предсказана високо достоверно, чрез останалите показатели, които са обект на измерване. Това дава възможност да се повиши точността на измерване на показателя a_{30} , независимо от стойностите на времето за коагулация и времето за стягане на коагулума.

Таблица 4.12 Регресионни зависимости на a_{30} от RCT и k_{20} с осреднените стойности

Equation	R^2	SEE	F	P
$a_{30} = 45.430 - 0.753 \text{ RCT}$	0.726	0.86	21.24	0.000
$a_{30} = 45.817 - 9.951 k_{20}$	0.665	1.11	15.03	0.001



Фиг.4.3. Графична регресионна зависимост на a_{30} от k_{20} с осреднените стойности



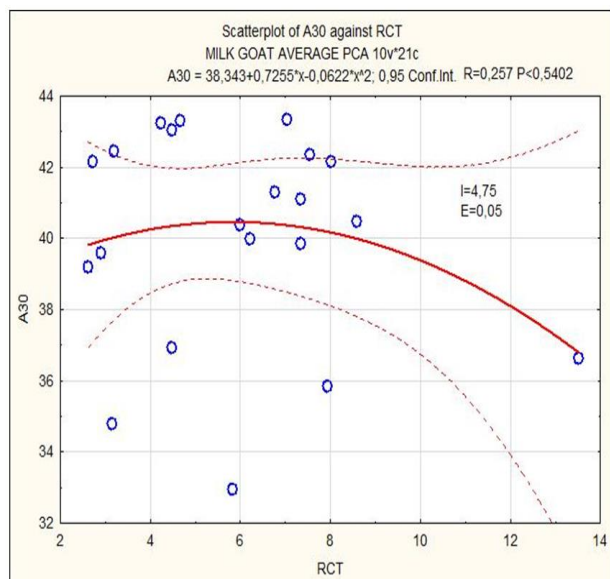
Фиг. 4.4. Графична регресионна зависимост на a_{30} от RCT с осреднените стойности

4.4.3. Възможности за моделиране на измервателния процес при козе мляко

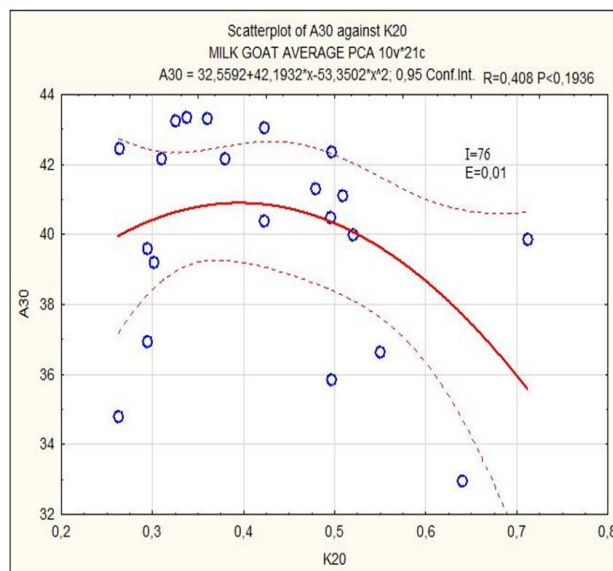
Резултатите от проведените анализи за регресионните зависимости с осреднените стойности при козе мляко между твърдостта на коагулума a_{30} и времето за коагулиране на млякото RCT, както и между времето за стягане на коагулума - k_{20} и твърдостта на коагулума - a_{30} са представени на таблица 4.13. фиг. 4.5 и фиг. 4.6. Видимо е, че не са установени достоверни регресионни зависимости между първите два показателя RCT и k_{20} с показателя a_{30} .

Таблица 4.13 Регресионни зависимости на a_{30} от RCT и k_{20} с осреднените стойности

Equation	R^2	SEE	F	P
$a_{30} = 38.343 + 0.725 \text{ RCT} - 0.0622 \text{ RCT}^2$	0.257	3.3	0.6373	0.5402
$a_{30} = 32.599 + 42.193 * k_{20} - 53.350 * k_{20}^2$	0.408	7.6	1.8010	0.1936



Фиг. 4.5 Графична регресионна зависимост на a_{30} от RCT с осреднените стойности



Фиг. 4.6. Графична регресионна зависимост на a_{30} от k_{20} с осреднените стойности

Този проблем е с голямо значение, когато се изследват млека с по-бавна коагулация (краве и биволско), от гледна точка на статистическия анализ на измерваните проби [28].

Получените резултати показват, че независимо от постигнатото значително ускорение и при трите видове млека за показателя k_{20} - време за стягане на коагулума, то не е постигнато очакваното въздействие за повишаване твърдостта на коагулума при много от експерименталните групи. Това е в синхрон със заключенията на редица автори относно показателя k_{20} , който не може да бъде оценен при проби с дълго време на коагулация, при които стягането на коагулума не позволява постигането на интервал на трептене в рамките на 20 mm за 30 min.

Безспорно установеното от [26, 27, 58, 59] относно взаимосвързаността на показателите на измерване на коагулационната способност на млякото и получените резултати са аргумент в полза на избрания методичен експериментален подход.

Макар, че млякото от дребните преживни (кози) животни коагулира по-рано от кравето мляко и по този начин интервала от времето между добавянето на ензими и постигането на $a_{30} > 1 \text{ mm}$ е по-кратко при млякото от кози, в

съответствие с данни, публикувани от [82]. Освен това стойността k_{20} е много по-кратка за козето мляко, отколкото за краве мляко.

При всички видове твърдостта на коагулума - a_{30} се увеличава до максимум и след това постепенно намалява. Този факт се дължи на синерезата [23], която причинява експулсиране на суроватката от подсирката, дори при липса на стягане на сиренината. Това е така, защото съдовете, използвани за анализ на КСМ, са с малък обем (10 ml).

Най-очевидната разлика между видовете е, че синерезиса обикновено започва много по-рано в млякото на дребните преживни животни, отколкото в млякото на крави. Максималните стойности за твърдост на коагулума - a_{30} се постигат в рамките на 30 min от прибавянето на сирищен ензим, когато се обработва краве мляко. Традиционната настройка на лактодинамографите за анализ от млякото от говеда е предназначено преди всичко да изследва коагулацията и процеса на стягане на подсирката, а не синерезис. Освен това, млякото от крави и кози реагира различно при повишаване на киселинността, температурните промени, добавяне на калций и вариации в концентрацията на сирищния ензим [17].

ИЗВОДИ КЪМ ГЛАВА ЧЕТВЪРТА

1. Аналитично са установени достоверни различия на показателя - скорост на коагулация, постигнати с въздействието на различни ензими и концентрации при трите видове млека.

2. Аналитично са установени достоверни различия на показателя - време за стягане на коагулума - k_{20} , постигнати с въздействието на различни ензими и концентрации при трите видове млека.

3. Аналитично са установени достоверни различия на показателя - твърдост на коагулума - a_{30} , постигнати с въздействието на различни ензими и различна концентрация на ензимите при трите видове млека.

4. Аналитично са установени достоверни регресионни зависимости между показателите: твърдост на коагулума - a_{30} , време за коагулиране RCT и време за стягане на коагулума при краве мляко - k_{20} .

5. Аналитично са установени достоверни регресионни зависимости между показателите: твърдост на коагулума - a_{30} , време за коагулиране - RCT и време за стягане на коагулума при биволско мляко - k_{20} .

6. Не са установени достоверни регресионни зависимости между показателите: твърдост на коагулума - a_{30} , време за коагулиране - RCT и време за стягане на коагулума при козе мляко - k_{20} .

7. Получените резултати могат да се използват, като методични инструменти, както и при оптимизиране на настройките на производствения процес при млека с бавна коагулация, каквито са кравето и биволското мляко.

ГЛАВА 5. ЕКСПЕРИМЕНТАЛНА ПРОВЕРКА

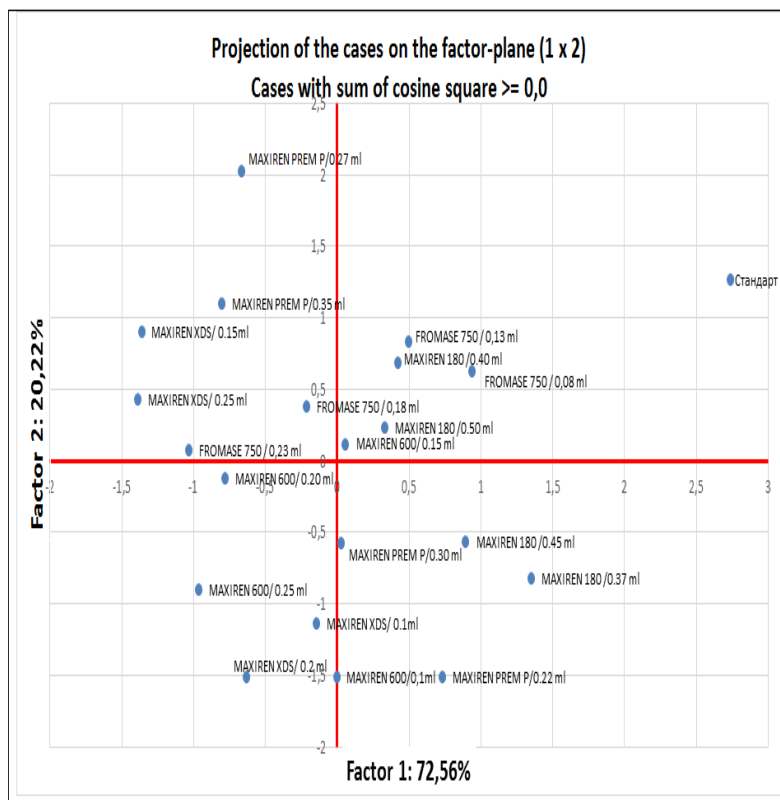
5.1.1. Зависимости и произтичащите от това фактори за различните ензими и за основните параметри, обект на измерване

На таблица 5.5 и фиг. 5.1 са представени PCA на ензимите по показателите характеризиращи коагулационната способност на млякото: време за коагулиране на млякото - RCT, твърдост на коагулума - a_{30} и време за стягане на коагулума - k_{20} . Видно е, че при новото групиране фактор 1 описва 72.56% от варирането, докато фактор 2 - 20.22%. Представените резултати показват разнообразни стойности на двата фактора при различните ензими.

Най-високи положителни стойности са установени при контролната група 2.73785 за фактор 1 и 1.26921 за фактор 2. С положителни стойности и по двата фактора са MAXIREN 600/ 0.15 ml, FROMASE 750 / 0.08 ml, FROMASE 750 / 0.13 ml, MAXIREN 180 /0.40 ml и MAXIREN 180/0.50 ml. Отрицателни и по двата фактора стойности са установени при ензимите MAXIREN 600/0.1, 0.20, 0.25 ml, MAXIREN XDS/ 0.1ml и MAXIREN XDS/ 0.2 ml.

Таблица 5.5 Таблично представяне на PCA на ензимите по показателите: RCT, a_{30} и k_{20}

Enzymes	Factor 1	Factor 2
Standart	2.73785	1.26921
MAXIREN 600/0.1ml	-0.00285	-1.50966
MAXIREN 600/ 0.15 ml	0.05791	0.11709
MAXIREN 600/ 0.20 ml	-0.78091	-0.12375
MAXIREN 600/ 0.25 ml	-0.96682	-0.90448
FROMASE 750 / 0.08 ml	0.9382	0.62246
FROMASE 750 / 0.13 ml	0.49411	0.83508
FROMASE 750 / 0.18 ml	-0.21101	0.37904
FROMASE 750 / 0.23 ml	-1.03127	0.07525
MAXIREN XDS/ 0.1 ml	-0.14712	-1.13498
MAXIREN XDS/ 0.15ml	-1.36077	0.89944
MAXIREN XDS/ 0.2 ml	-0.6307	-1.5143
MAXIREN XDS/ 0.25 ml	-1.38618	0.42897
MAXIREN PREM P/0.22 ml	0.72936	-1.51381
MAXIREN PREM P/0.27 ml	-0.6639	2.02813
MAXIREN PREM P/0.30 ml	0.02736	-0.57515
MAXIREN PREM P/0.35 ml	-0.80229	1.09598
MAXIREN 180 /0.37 ml	1.35147	-0.82389
MAXIREN 180 /0.40 ml	0.42226	0.68198
MAXIREN 180 /0.45 ml	0.89427	-0.56531
MAXIREN 180 /0.50 ml	0.33104	0.23268



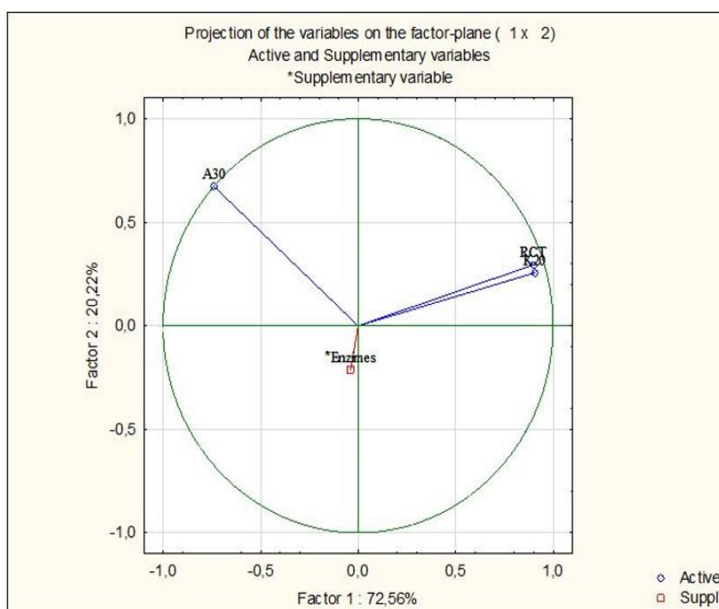
Фиг. 5.1. PCA на ензимите по показателите: RCT, a_{30} и k_{20}

Прави впечатление, че при ензимите, при които се постигна най-висока твърдост на коагулума (FROMASE 750/ 0.23 ml, MAXIREN XDS/ 0.15ml, MAXIREN XDS/ 0.25 ml, MAXIREN PREM P/0.27 ml, MAXIREN PREM P/ 0.35 ml) установените стойности са отрицателни по първи фактор и положителни по втори фактор. Получените резултати са логични, тъй като в случая показателя твърдост на коагулума - a_{30} се използва като групираща променлива.

На таблица 5.6 и фиг. 5.2 са представени резултатите от PCA на показателите: RCT, a_{30} и k_{20} за 21 ензима. Положителни стойности са установени и по двата фактора при показателите: време за коагулиране на млякото - RCT и време за стягане на коагулума - k_{20} . Прави впечатление, че при показателя твърдост на коагулума установените стойности са отрицателни по първи фактор /0.738842/ и положителни по втори фактор /0.673715/. Отрицателни и по двата фактора стойности установихме при ензимите.

Таблица 5.6 Таблично представяне на PCA на показателите: RCT, a_{30} и k_{20} за 21 ензима

Factor-variable correlations (factor loadings), based on correlations (MILK COW) Active and Supplementary variables *Supplementary variable		
	Factor 1	Factor 2
RCT	0.898855	0.294706
a_{30}	-0.738842	0.673715
k_{20}	0.907138	0.25671
*Enzymes	-0.038012	-0.214709



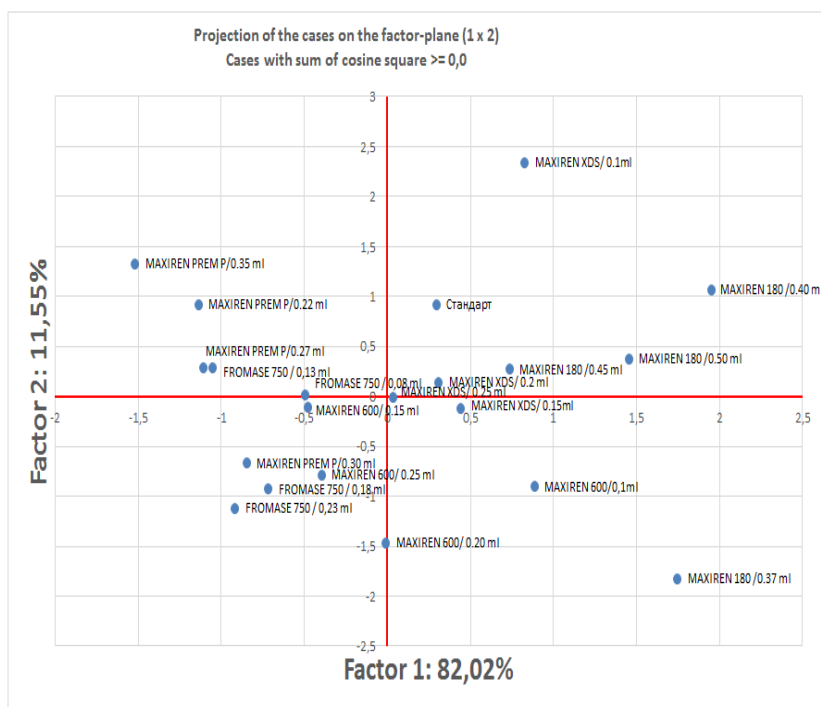
Фиг. 5.2. PCA на показателите: RCT, a_{30} и k_{20} за 21 ензима

5.2.1. Зависимости и произтичащите от това фактори за различните ензими и за основните параметри, обект на измерване

Резултатите от PCA за ензимите по трите показателя са представени на таблица 5.13 и фиг. 5.7. От резултатите е видно, че има твърде големи разлики на въздействие на различните ензими върху процеса на коагулация. Може да се твърди, че има три очертаващи се групи, а именно ензими с отрицателни стойности и по двата фактора - MAXIREN 600, ензими с отрицателни стойности по първи фактор и разнопосочни по втори фактор - FROMASE 750, ензими с преобладаващи положителни стойности и по двата фактора - MAXIREN 180, MAXIREN XDS и контролната група. Прави впечатление, че ензима MAXIREN PREM P е с най-ниски отрицателни стойности по фактор 1 и високи положителни по фактор 2. При този ензим се наблюдава най-голяма скорост на коагулиране и най-ранно време за стягане и твърдост на коагулума. Установените стойности, могат да утвърждават тезата, че независимо от концентрацията ензимите оказват специфично влияние. Безспорно най-високи отрицателни стойности са установени при почти всички концентрации на ензима MAXIREN PREM P, а най-високи положителни стойности са получени при различните концентрации на ензима MAXIREN 180.

Таблица 5.13. Таблично представяне на PCA на ензимите по трите показателя: RCT, a_{30} и k_{20}

Factor scores, based on correlations (MILK BUFFALO AVERAGE PCA)		
Enzymes	Factor 1	Factor 2
Стандарт	0.29645	0.91501
MAXIREN 600/0.1ml	0.88648	-0.90199
MAXIREN 600/0.15 ml	-0.47836	-0.11086
MAXIREN 600/0.20 ml	-0.0101	-1.46266
MAXIREN 600/0.25 ml	-0.39596	-0.79002
FROMASE 750 / 0.08 ml	-0.49754	0.01606
FROMASE 750 / 0.13 ml	-1.05307	0.27821
FROMASE 750 / 0.18 ml	-0.71833	-0.92959
FROMASE 750 / 0.23 ml	-0.91975	-1.11989
MAXIREN XDS/ 0.1 ml	0.82589	2.34697
MAXIREN XDS/ 0.15 ml	0.44075	-0.1137
MAXIREN XDS/ 0.2 ml	0.31051	0.13651
MAXIREN XDS/ 0.25 ml	0.03426	-0.01586
MAXIREN PREM P/0.22 ml	-1.13752	0.91732
MAXIREN PREM P/0.27 ml	-1.10791	0.28787
MAXIREN PREM P/0.30 ml	-0.84616	-0.66984
MAXIREN PREM P/0.35 ml	-1.51655	1.33372
MAXIREN 180 /0.37 ml	1.74575	-1.82529
MAXIREN 180 /0.40 ml	1.95178	1.06963
MAXIREN 180 /0.45 ml	0.73622	0.26469
MAXIREN 180 /0.50 ml	1.45317	0.37371

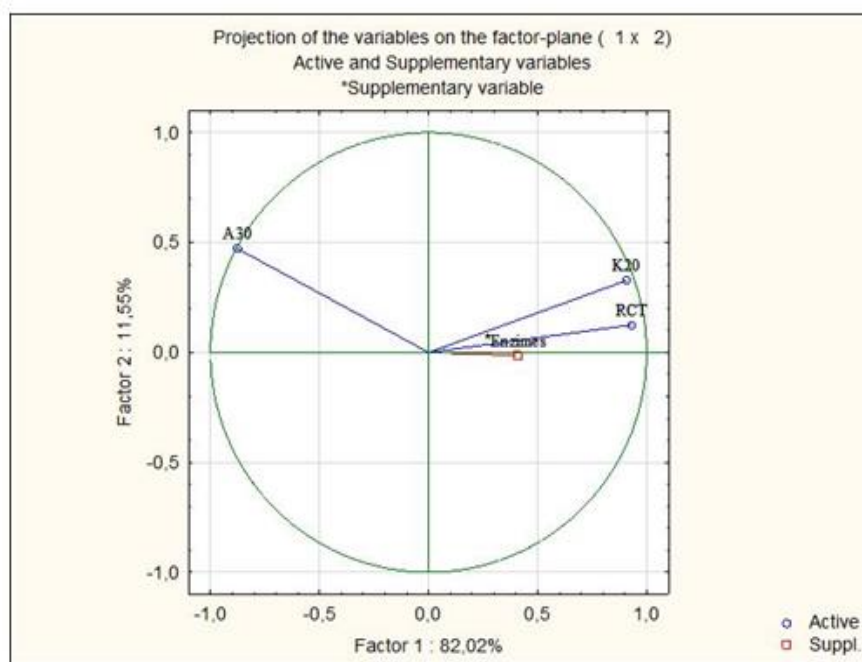


Фиг. 5.7. PCA на ензимите по трите показателя: RCT, a_{30} и k_{20}

PCA на показателите: RCT, a_{30} и k_{20} за 21 ензима са представени на таблица 5.14 и фиг. 5.8. Видно е, че фактор 1 описва 82.02% от варирането, докато фактор 2 - 11.55%. Всички показатели с изключение на a_{30} са с положителни стойности за фактор 1 и фактор 2, където ензимите са отрицателни, но по-скоро близки до 0 (0.013).

Таблица 5.14
Таблично представяне на PCA на показателите: RCT, a_{30} и k_{20} за 21 ензима

Factor-variable correlations (factor loadings), based on correlations (MILK BUFFALO AVERAGE PCA) Active and Supplementary variables *Supplementary variable		
	Factor 1	Factor 2
RCT	0.931799	0.125219
a_{30}	-0.876528	0.472631
k_{20}	0.907788	0.327825
*Enzymes	0.403891	-0.012955



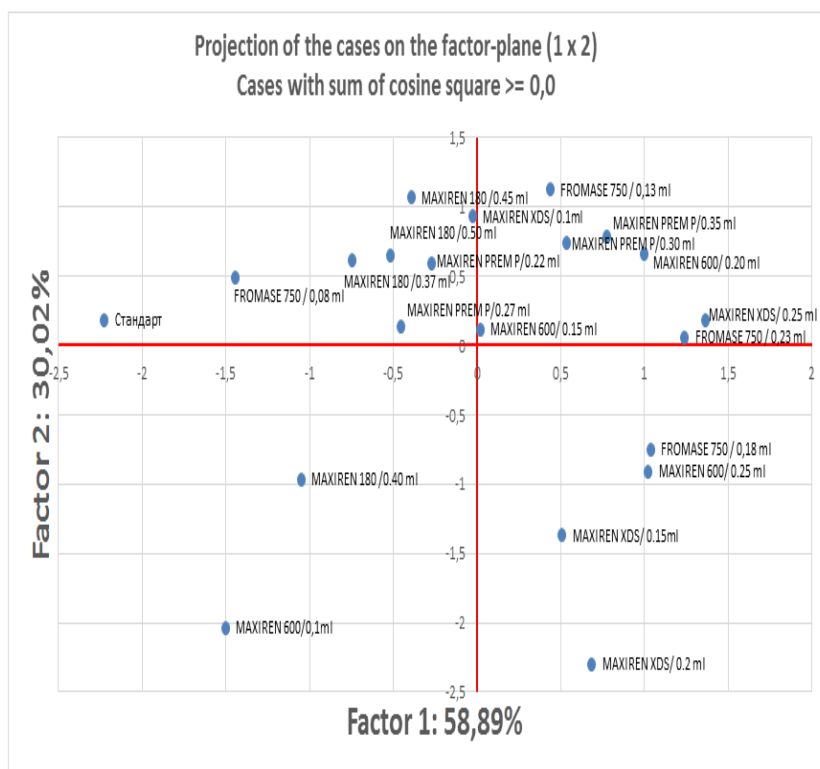
Фиг. 5.8. PCA на показателите: RCT, a_{30} и k_{20} за 21 ензима

5.3.1. Зависимости и произтичащите от това фактори за различните ензими и за основните параметри, обект на измерване

От представените резултати от PCA в таблица 5.21 и фиг. 5.13 е видно, че фактор едно описва 58.89% от варирането, а фактор 2 - 30.02%. Получените резултати показват, че всички ензими и концентрации, при които са постигнати най-високи стойности за твърдост на коагулума - a_{30} са с положителни стойности и по двата фактора. Изключение правят само ензимите MAXIREN XDS/ 0.1ml и MAXIREN PREM P/0.22 и 0.27 ml при които се наблюдават отрицателни стойности за фактор 1 и положителни за фактор 2. Стойности близки до тях са установени и при контролната група. При ензимите със съответните концентрации са установени отрицателни стойности и по двата фактора - MAXIREN 600/ 0.25 ml, FROMASE 750 / 0.18 ml, MAXIREN XDS/ 0.15 и 0.20 ml, MAXIREN 180 /0.40 ml и MAXIREN 600/0.1ml.

Таблица 5.21
Таблично представяне на
PCA на ензимите по
трите показателя:
RCT, a_{30} и k_{20}

Factor scores, based on correlations (MILK GOAT AVERAGE PCA)		
Enzymes	Factor 1	Factor 2
Standart	-2.22726	0.18141
MAXIREN 600/0,1ml	-1.50264	-2.04054
MAXIREN 600/0.15 ml	0.02026	0.11853
MAXIREN 600/0.20 ml	0.99471	0.65994
MAXIREN 600/0.25 ml	1.02376	-0.91113
FROMASE 750 / 0.08 ml	-1.44684	0.48779
FROMASE 750 / 0.13 ml	0.43643	1.12174
FROMASE 750 / 0.18 ml	1.03663	-0.74857
FROMASE 750 / 0.23 ml	1.2404	0.06146
MAXIREN XDS/ 0.1 ml	-0.02463	0.93147
MAXIREN XDS/ 0.15 ml	0.50832	-1.3698
MAXIREN XDS/ 0.2 ml	0.68664	-2.29548
MAXIREN XDS/ 0.25 ml	1.36465	0.17384
MAXIREN PREM P/0.22 ml	-0.26886	0.59053
MAXIREN PREM P/0.27 ml	-0.45219	0.1406
MAXIREN PREM P/0.30 ml	0.54004	0.74658
MAXIREN PREM P/0.35 ml	0.77686	0.78174
MAXIREN 180 /0.37 ml	-0.74664	0.62314
MAXIREN 180 /0.40 ml	-1.05035	-0.96787
MAXIREN 180 /0.45 ml	-0.39277	1.06675
MAXIREN 180 /0.50 ml	-0.51652	0.64787



Фиг. 5.13. PCA на ензимите по 3 показателя:
RCT, a_{30} и k_{20}

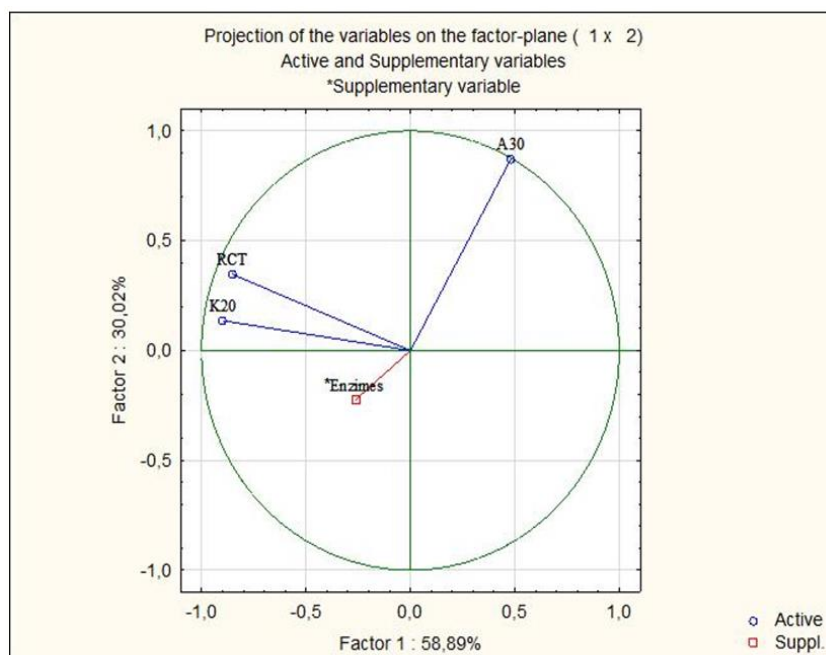
PCA на показателите RCT, a_{30} , k_{20} за 21 ензима са представени на таблица 5.22. и фиг. 5.14. От резултатите е видно, че получените стойности са разнопосочни. Положителни и по двата фактора са стойностите, установени за показателя a_{30} , докато при останалите два признака е установено отрицателно

въздействие по фактор 1 и положително по фактор 2, единствено при двата фактора, описващи въздействието на ензимите имаме получени ниски и отрицателни стойности.

Таблица 5.22

Таблично представяне на PCA на показателите: RCT, a_{30} , k_{20} за 21 ензима

Factor-variable correlations (factor loadings), based on correlations (MILK GOAT AVERAGE PCA) Active and Supplementary variables *Supplementary variable		
	Factor 1	Factor 2
RCT	-0.85322	0.348153
a_{30}	0.48049	0.872363
k_{20}	-0.89879	0.135861
*Enzymes	-0.26516	-0.22543



Фиг. 5.14. PCA на показателите: RCT, a_{30} , k_{20} за 21 ензима

5.4. Обобщен анализ за трите видове изследвани млека

5.4.1. Факторен анализ за влияние на факторите тип на млякото, и вид на ензима, N=1260

От таблица 5.26 е видно, че след направения факторен анализ за влияние на различните фактори върху времето за коагулиране на млякото - тип на млякото и вид на ензима, се установи, че посочените са с високо достоверно влияние. Видно е, че видът на ензима описва основната част на влияние – 50.89%, следван от вида на млякото – 26.29% и общото въздействие на вид животно и ензим – 22.80%.

Таблица 5.26 Влияние на факторите върху RCT

Univariate Tests of Significance for RCT (MILK COW BUFFALO GOAT) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition

	SS	Degr. of - Freedom	MS	F	p	%
Intercept	51353.92	1	51353.92	54828.14	0.0000	
Type of animal milk	3896.3	2	1948.15	2079.95	0.0000	26.29734
Enzymes	7540.48	20	377.02	402.53	0.0000	50.89303
Type of animal milk*Enzymes	3379.55	40	84.49	90.2	0.0000	22.80963
Error	1121.15	1197	0.94			

Твърдостта на коагулума е показател, който е от изключителна важност при сиренарското производство и от него до голяма степен зависи рандемана при производството на сирене. Поради тази причина от особено значение е анализирането на възможността за предсказване на стойността на този показател. Отново видът на ензима описва основната част от варианса – 37.68%. Високо достоверно е влиянието на вида на млякото и различните ензими, а достоверно е влиянието на комплексното въздействие на вида на млякото и ензима (таблица 5.27 и фиг.5.20).

Таблица 5.27 Влияние на факторите върху a_{30}
Univariate Tests of Significance for a_{30} (MILK COW BUFFALO GOAT)
Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition

	SS	Degr. of - Freedom	MS	F	p	%
Intercept	1995087	1	1995087	22287.75	0.0000	
Type of animal milk	4826	2	2413	26.95	0.0000	29.05
Enzymes	6259	20	313	3.5	0.0000	37.68
Type of animal milk* Enzymes	5526	40	138	1.54	0.017288	33.27
Error	107149	1197	90			

За разлика от другите два показателя характеризиращи коагулационната способност на млякото, при показателя k_{20} - времето за стягане на коагулума се установи (таблица 5.28 и фиг. 5.21), че с най-високо достоверно влияние е видът на млякото – 51.31%. Другите два фактора описват съответно – 22.82 и 25.87 %.

Таблица 5.28 Влияние на факторите върху k_{20}
Univariate Tests of Significance for k_{20} (MILK COW BUFFALO GOAT)
Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition

	SS	Degr. of - Freedom	MS	F	P	%
Intercept	466.8108	1	466.8108	1148.215	0.0000	
Type of animal milk	104.3386	2	52.1693	128.321	0.0000	51.31
Enzymes	46.4038	20	2.3202	5.707	0.0000	22.82
Type of animal milk* Enzymes	52.6119	40	1.3153	3.235	0.0000	25.87
Error	486.6446	1197	0.4066			

ИЗВОДИ КЪМ ГЛАВА ПЕТА

1. Опитната постановка при експериментите и с трите видове млека изключва въздействието на химичния състав, съдържанието на сухо вещество и броя на соматични клетки, като фактори които могат да повлияят достоверно върху кинетиката на коагулационния процес.

2. При ензимите, при които се постигна най-висока твърдост на коагулума при експериментите с краве мляко, (FROMASE 750 / 0.23 ml, MAXIREN XDS/ 0.15 ml, MAXIREN XDS/ 0.25 ml, MAXIREN PREM P/0.27 ml, MAXIREN PREM P/0.35ml) установените стойности са отрицателни по първи фактор и положителни по втори фактор.

3. Установените стойности при експериментите с биволско мляко, могат да утвърждават тезата, че независимо от концентрацията ензимите оказват специфично влияние. Безспорно най-високи отрицателни стойности са установени при почти всички концентрации на ензима MAXIREN PREM P, а най-високи положителни стойности са получени при различните концентрации на ензима MAXIREN 180.

4. Получените резултати при експериментите с козе мляко, показват, че всички ензими и концентрации, при които са постигнати най-високи стойности за твърдост на коагулума - a_{30} са с положителни стойности и по двата фактора. Изключение правят само ензимите MAXIREN XDS/ 0.1 ml и MAXIREN PREM P/0.22 и 0.27 ml, при които се наблюдават отрицателни стойности за фактор 1 и положителни за фактор 2. Стойности близки до тях са установени и при контролната група.

5. При резултатите от изследваните три видове млека, експериментално, достоверно е установено нормално разпределение при признака a_{30} .

6. Групирането по въздействието на различните ензими и концентрации е разнообразно и специфично и при трите вида млека. Получените резултати дават основание да се препоръча използването им при необходимост от взаимна заменяемост на ензими в производствения процес.

7. Установените корелационни зависимости за всички млека общо, са умерена положителна между времето за коагулиране на млякото и времето за стягане на коагулума /0.399/. Слаба отрицателна е установената корелация между твърдостта на коагулума и времето за коагулиране на млякото /-0.27/, а между твърдостта на коагулума и времето за стягане на коагулума е отчетена умерена отрицателна корелация / -0.39/.

ПРИНОСИ

1. По експериментални данни за стойностите на показателите: RCT - време за коагулиране на млякото и k_{20} - време за стягане на коагулума, са получени регресионни модели, чрез които е възможно статистически достоверно предсказване на показателя a_{30} - твърдост на коагулума, за определени видове млека.

2. Статистически са открити достоверни разлики във варирането на времето на коагулация при различните видове млека - при използване на различни ензими, и концентрации, и една контролна група стандартен ензим, препоръчан от производителя на биосензора. Получените резултати са приложими за генериране на референтни данни за MIRS калибрация.

3. Създадена е методика за определяне на видове ензими, които да се използват при различните видове млека за постигане на оптимални резултати при настройка на производствения процес.

4. Въз основа на разработената методика са оптимизирани технологичните параметри при използване на млека с бавна коагулация, за които прилагането на досегашните методи е слабо приложимо.

5. Създадената методика е успешно внедрена в практиката в Земеделски институт - Стара Загора.

6. Направен е клъстерен анализ за групиране на ензимите по трите показателя: RCT - време на коагулиране на млякото, k_{20} - време за стягане на коагулума и a_{30} - твърдост на коагулума, в съответствие с разработената методика и са определени групи ензими, с възможност за взаимна заменяемост.

СПИСЪК НА ПУБЛИКАЦИИТЕ ПО ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

1. **Йордан Карачивиев 2018.** МОДЕЛИРАНЕ СКОРОСТТА НА КОАГУЛАЦИЯ НА КРАВЕ МЛЯКО ЧРЕЗ ИЗПОЛЗВАНЕ НА ЕНЗИМИ С РАЗЛИЧНА КОНЦЕНТРАЦИЯ. Годишник на Технически Университет - София, том 68, книга 2, 2018 Proceedings of the Technical University of Sofia, Volume 68, Issue 2, 2018.

2. **Y.G. Karachiviev 2018.** Modeling the meagerment of coagutonnny tyme and curt farming time of goat milk through enzymes with different concentration. 28th International Scientifing symposium "Metrology and Metrology assurance 2018"q PROCEEDINGS, 283-288.

3. **Yordan Karachiviev, TeodoraAngelova, Daniela Yordanova, Vladimir Karabashev 2018.** "Modelling of buffalo milk coagulation kinetics after addition of enzymes at different concentrations by means of mechanical lactodynamography" Vol 6 (9) of International Journal of Current Research and Academic Review (IJCRAR).

4. **Karachiviev, Y., V. Galabov, T. Angelova, D. Yordanova, V. Karabashev. 2020.** Influence of enzymes with different activity on dynamics of milk coagulation parameters. Agricultural science and technology. On press.

SUMMARY

INVESTIGATION OF METHODS AND MEANS FOR ASSESSING THE QUALITY OF MILK WITH BIOSENSORS

Yordan Georgiev Karachiviev

Measuring the coagulation ability of milk with a lactodynamograph of increasing importance, both for the dairy industry and as a reference method related to the modernization of the instrumentation based on medium-length infrared rays. In this regard, overcoming some methodological weaknesses of this method by modeling the main components influencing the measurement process in the direction of achieving improved measurement of curd firmness, as a key feature of milk processing is becoming increasingly important.

The aim of the present study is to establish the possibility of modeling the rennet coagulation time of milk, using different enzymes and concentrations.

According to experimental data on the values of the indicators: RCT - rennet coagulation time of milk and k_{20} – curd firming time, regression models were obtained, through which a statistically reliable prediction of the indicator a_{30} – curd firmness is possible for certain types of milk.

The regression equations established by us can be used to correct the curd firmness (a_{30}) in milk with slow coagulation milk, whose coagulation time exceeds the normally expected typical for this type of milk.

A methodology has been developed to determine the types of enzymes to be used in different types of milk to achieve optimal results in setting up the production process.

Based on the developed methodology, the technological parameters for the use of milk with slow coagulation have been optimized, for which the application of the current methods is poorly applicable.