

3
4
5 IZVEŠTAJ O OCENI ZAVRŠENE DOKTORSKE DISERTACIJE

6
7 I PODACI O KOMISIJI:

8
9 1. Datum i naziv organa koji je imenovao komisiju: Nastavno – naučno veće Fakulteta
10 veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu, na 197. sednici održanoj 26.06.2019. godine.

11
12
13 2. Sastav komisije sa naznakom imena i prezimena svakog člana, zvanja, naziva uže
14 naučne oblasti za koju je izabran u zvanje, godinom izbora u zvanje i naziv fakulteta,
15 ustanove u kojoj je član komisije zaposlen:

- 16 1. dr Dragan Vasilev, vanredni profesor, Higijena i tehnologija mesa, 2016. godine,
17 Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu
18 2. dr Srđan Stefanović, naučni saradnik, Higijena i tehnologija namirnica animalnog
19 porekla, 2015. godine, Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Beograd
20 3. dr Mirjana Dimitrijević, redovni profesor, Higijena i tehnologija mesa, 2019. godine,
21 Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu
22 4. dr Neđeljko Karabasil, redovni profesor, Higijena i tehnologija mesa, 2018. godine,
23 Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu
24 5. dr Slaviša Stajić, docent, Tehnologija animalnih proizvoda, 2016. godine,
25 Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Beogradu

26
27
28 II PODACI O KANDIDATU:

29
30 1. Ime, ime jednog roditelja, prezime: Marija (Andreja) Glišić

31
32 2. Datum rođenja, opština, Republika: 26.02.1986. godine, Smederevska Palanka,
33 Republika Srbija

34
35 3. Datum odbrane, mesto i naziv magistarske teze*:

36
37 4. Naučna oblast iz koje je stečeno akademsko zvanje magistra nauka*:

38
39 III NASLOV DOKTORSKE DISERTACIJE:

40 „Upotreba inulin gel suspenzije i inulin gel emulzije kao zamene za čvrsto masno tkivo u
41 proizvodnji fermentisanih kobasica”

42
43 IV PREGLED DOKTORSKE DISERTACIJE:

44 Doktorska disertacija Marije Glišić napisana je na 183 strane teksta i sadrži sledeća poglavlja:
45 Uvod (2 strane), Pregled literature (33 strane), Ciljevi i zadaci istraživanja (2 strane), Materijal
46 i metode (10 strana), Rezultati ispitivanja (20 strana), Diskusija (36 strana), Zaključci (3
47 strane), Literatura (40 strana) i Prilozi (37 strana). Na početku disertacije dat je kratak sadržaj
48 na srpskom (3 strane) i engleskom jeziku (3 strane). U pisanju disertacije korišćeno je 406
49 referenci. Disertacija je dokumentovana sa 104 tabele (1 u poglavlju Materijal i metode, 5 u
50 poglavlju Rezultati ispitivanja i 98 u poglavlju Prilozi), 11 grafikona i 18 slika (4 u poglavlju
51 Pregled literature, 2 u poglavlju Materijal i metode i 12 u poglavlju Prilozi).

52
53 V VREDNOVANJE POJEDINIH DELOVA DOKTORSKE DISERTACIJE:

54 U poglavlju „Uvod“ kandidat navodi da moderan način života nepovoljno utiče na način
55 ishrane savremenog čoveka i da Svetska zdravstvena organizacija ukazuje na njen značaj u
56 cilju očuvanja zdravlja. Zbog toga se u ishranu uvode novi koncepti kako bi se određenom
57 vrstom hrane, tj. odabirom namirnica i načinom njihovog pripremanja i konzumiranja moglo
58 uticati na poboljšanje opšteg stanja organizma. Meso predstavlja značajan izvor hranljivih
59 materija i čini sastavni deo pravilne i izbalansirane ishrane čoveka. Mast koja se nalazi u
60 mesu takođe je značajna u ishrani ljudi, međutim, preporučeni dnevni unos masti trebalo bi da

1 čini do 30% od ukupnog dnevnog energetskog unosa, pri čemu je potrebno smanjiti unos
2 zasićenih i povećati unos nezasićenih masti, dok *trans* masti nije poželjno koristiti. Meso i
3 proizvodi od mesa mogu da sadrže veliki udeo masti pa čak i neka potencijalno karcinogena
4 jedinjenja, zbog čega industrija mesa, kao i ostale grane prehrambene industrije, počinju sve
5 više da se oslanjaju na koncept „funkcionalne hrane“ i da razvijaju proizvode koji mogu da
6 ostvare pozitivan efekat na zdravlje ljudi. Fermentisane kobasice su proizvodi od mesa koji se
7 ne obrađuju toplotom, usled čega je njihova hranljiva vrednost uglavnom očuvana, a dodatno
8 pružaju i mogućnost upotrebe probiotskih mikroorganizama, tako da predstavljaju proizvode
9 koji mogu biti modifikovani i proizvedeni na način da ispunjavaju sve zahteve koncepta
10 „funkcionalne hrane“.

11
12 U poglavlju „**Pregled literature**“ kandidat daje navode o uticaju ishrane na kvalitet života
13 savremenog čoveka, konceptu funkcionalne hrane i funkcionalnim dodacima, fermentisanim
14 kobasicama i mogućnostima njihove modifikacije u smislu zamene masnog tkiva inulinom i
15 biljnim uljima. Izbalansirana ishrana, naročito sa aspekta unosa i potrošnje energije, ima veliki
16 značaj u prevenciji većine neinfektivnih bolesti kao što su dijabetes, kardiovaskularna
17 oboljenja i različitih vrsta tumora. „Funkcionalna hrana“ je ona koja pored svoje nutritivne
18 vrednosti ima i dodatnu ulogu u prevenciji bolesti i promovisanju zdravlja ljudi. Kao
19 „funkcionalni“ dodatak, oligosaharid inulin je izgrađen od molekula fruktoze povezanih β -(2-1)-
20 d-fruktozil fruktoza veze, što ga čini nesvarljivim u tankom crevu ljudi. Međutim, on se može
21 fermentisati u debelom crevu od strane korisne intestinalne mikrobiote, čime doprinosi
22 njihovom umnožavanju i ostvarivanju pozitivnih efekata na zdravlje. Pored toga, inulin
23 predstavlja dobru zamenu za mast zahvaljujući tome što je bele boje, neutralnog ukusa i
24 mirisa, a pritom ima još i nisku energetsku vrednost. Takođe, inulin može da posluži kao
25 dobra osnova u proizvodnji gelova ispunjenih emulzijama ulja, odnosno kao nosač ulja
26 bogatih n-3 masnim kiselinama, u cilju dobijanja „funkcionalnih“ proizvoda. Interakcija lipida i
27 inulina, koji služi kao nosač ulja, dodatno se može stabilizovati kombinacijom s drugim
28 polisaharidima ili proteinima. Fermentisane kobasice su proizvodi od mesa koji se dobijaju
29 kombinovanim procesima fermentacije, dimljenja, sušenja i zrenja, a pošto se ne obrađuju
30 toplotom poseduju dobar potencijal da budu izrađene kao „funkcionalna hrana“. Pored
31 obogaćenja prebioticima, fermentisane kobasice mogu sadržati i probiotske bakterije u
32 dovoljnom broju kojim bi se omogućio njihov dodatni, „funkcionalni“ efekat u digestivnom
33 traktu ljudi nakon konzumiranja. Tokom poslednje dve decenije, u cilju zadovoljavanja novih
34 preporuka u ishrani i trenutnih potreba i zahteva potrošača, istraživanja u oblasti industrije
35 mesa su usmerena ka reformulisanju postojećih proizvoda od mesa uobičajenog sastava i
36 dizajniranju i razvoju novih proizvoda sa smanjenim sadržajem masti, poboljšanim
37 masnokiselinskim sastavom i povećanim sadržajem vlakana čineći ih „funkcionalnom
38 hranom“. Međutim, izmena sirovinskog sastava fermentisanih kobasica, naročito zamena
39 masnog tkiva gelovima i kremovima koji su slični mastima, nosi i niz tehnoloških problema
40 (veliki kalo, smanjena sposobnost vezivanja vode), kao i brojne nedostatke u senzorskim
41 karakteristikama dobijenih proizvoda (tekstura, boja, aroma). U prethodnim istraživanjima koja
42 su se odnosila na modifikovanje sastava i mogućnosti smanjenja sadržaja čvrstog masnog
43 tkiva uz poboljšanje masnokiselinskog profila u fermentisanim suvim kobasicama, dodavane
44 su različite vrste ulja (maslinovo, sojino, laneno, riblje, ulje semenki grožđa) u tečnom obliku,
45 kao inkapsulirana ulja i emulgovana ulja stabilizovana sojinim izolovanim proteinom. Imajući u
46 vidu da su u većini prethodnih istraživanja kao gelirajuće sredstvo u zamenama za mast u
47 fermentisanim kobasicama korišćeni karagenani za koje novija istraživanja pokazuju da mogu
48 delovati kancerogeno kod laboratorijskih životinja, postoji potreba da se pronađu gelirajuća
49 sredstva koja bi bila nutritivno povoljnija, kao što su inulin i želatin. Inulin u obliku praha ili
50 krema je korišćen kao zamena za masno tkivo u fermentisanim kobasicama u količini od 2 do
51 11,5%. Kao zamene za mast u proizvodima od mesa korišćeni su i gel matriksi u kojima su
52 inkorporirana ulja, gde se kao gelirajuća i stabilišuća sredstva koriste proteini (sojin izolovani
53 protein, želatin) i polisaharidi (alginati, agar, κ -karagenan, inulin). Dodatno poboljšanje
54 sastava fermentisanih kobasica moglo bi se ostvariti korišćenjem odgovarajućih emulgatora
55 sa potencijalnim „funkcionalnim“ svojstvima, kao što je slučaj sa sojinim lecitinom (fosfolipid
56 koji sadrži fosfatidil holin) koji poseduje antioksidativna i antiaterogena svojstva.

57
58 U poglavlju „**Ciljevi i zadaci istraživanja**“ kandidat navodi da je cilj istraživanja doktorske
59 disertacije bio da se ispita mogućnost zamene određenog udela čvrstog masnog tkiva u
60 fermentisanim suvim kobasicama inulin gel suspenzijom i inulin gel emulzijama koje su

1 napravljene od tri vrste biljnih ulja bogatih omega-3 masnim kiselinama, a to su laneno ulje,
2 ulje uljane repice i ulje kukuruznih klica, radi dobijanja proizvoda sa manjim sadržajem masti,
3 odnosno nutritivno povoljnijim masnokiselinskim sastavom i ujedno prihvatljivim senzorskim
4 osobinama. Pored toga, cilj ispitivanja je bio da se utvrdi koje razlike se javljaju u tehnološki
5 značajnim parametrima važnim za bezbednost i održivost proizvoda, hemijskom i
6 masnokiselinskom sastavu, mikroflori i senzorskim osobinama između kontrolnih i
7 modifikovanih kobasica.

8 Shodno ciljevima ispitivanja postavljeni su sledeći zadaci:

- 9 1. Da se ispituju fizičke i fizičko-hemijske karakteristike eksperimentalnih fermentisanih
10 suvih kobasica: kalo, pH vrednost i a_w vrednost u toku proizvodnje i nakon procesa
11 zrenja;
- 12 2. Da se ispita hemijski sastav kobasica na kraju proizvodnje i nakon procesa
13 skladištenja: sadržaj proteina mesa i hidrosiprolina, udeo kolagena u proteinima
14 mesa, sadržaj ugljenih hidrata, vode, pepela, natrijum hlorida, nitrita, ukupnih masti i
15 holesterola;
- 16 3. Da se ispita masnokiselinski sastav gotovih proizvoda;
- 17 4. Da se ispita indeks proteolize kao pokazatelj hidrolitičkih promena na proteinima,
18 odnosno stepena zrenja proizvoda;
- 19 5. Da se ispituju hidrolitičke i oksidativne promene mastima određivanjem kiselinskog
20 i peroksidnog broja, kao i TBARS-vrednosti (Thiobarbituric Acid Reactive
21 Substances-TBARS);
- 22 6. Da se prati broj mikroorganizama u toku proizvodnje i zrenja: broj bakterija mlečne
23 kiseline (BMK), broj bakterija iz familija *Enterobacteriaceae*, *Micrococcaceae* i
24 *Pseudomonas* spp, kao i broj *Lactobacillus casei* i *Staphylococcus carnosus*
25 poreklom iz dodate starter kulture.
- 26 7. Da se ispita boja proizvoda kolorimetrijski prema CIE L*a*b* sistemu;
- 27 8. Da se instrumentalno ispituju parametri teksture, odnosno uradi TPA (Texture Profile
28 Analysis) analiza profila teksture (tvrdoća, adhezivnost, elastičnost, kohezivnost,
29 otpor žvakanju);
- 30 9. Da se ispituju senzorski parametri kvaliteta proizvoda: spoljašnji izgled kobasica,
31 izgled poprečnog preseka, boja i održivost boje, miris, ukus i tekstura;
- 32 10. Da se uradi statistička obrada podataka određivanjem srednjih vrednosti, mera
33 varijacije i statističke značajnosti razlika.

34
35 U poglavlju „**Materijal i metode**“ dati su detalji eksperimentalnog rada:

36 **Materijal**

37
38
39 Za pripremu inulin gel suspenzije korišćena je voda, inulin u prahu proizvođača Chicory
40 product, (Cosucra Groupe Warcoing, Belgija) i svinjski želatin (Dr. Oetker, Srbija). Za
41 pripremu gel emulzija dodatno su korišćene tri različite vrste komercijalnog ulja: laneno ulje
42 (Lučar d.o.o., Srbija), ulje uljane repice (Suncokret d.o.o., Srbija) i ulje kukuruznih klica
43 (Uvita d.o.o., Srbija), dok je sojin lecitin nabavljen od kompanije Tokyo Chemical Industry Co.,
44 Ltd., Tokyo, Japan. Inulin gel suspenzija pripremljena je na sledeći način: Na tehničkoj vagi
45 (model Birotechna SD 4000) sa tačnošću od ± 1 g odmereno je 730 g vode, dodato je 20 g
46 želatina i 250 g inulina. Ova smeša je homogenizovana mešanjem i zagrevanjem na 60°C u
47 blenderu (BOSH ErgoMixx, Germany) na srednjoj brzini u trajanju od 120 s. Na ovaj način
48 dobijen je 1 kg suspenzije.

49 Inulin gel emulzije napravljene su tako što je najpre ulje preemulzifikovano mešanjem 200 g
50 ulja sa 150 g vode i 30 g sojinog lecitina u blenderu do konzistencije slične majonezu.
51 Istovremeno, napravljena je i inulin gel suspenzija mešanjem 350 g vode, 20 g želatina i 250
52 g inulina. Zatim je preemulzija postepeno dodavana inulin suspenziji na sobnoj temperaturi i
53 umešana koristeći blender na srednjoj brzini u trajanju od 180 s. Na ovaj način ukupno je
54 dobijen 1 kg emulzije.

55 Suspenzija i emulzije su najpre ohlađene na sobnoj temperaturi, a zatim zamrznute u
56 sterilnim kesama na temperaturi od -20°C do trenutka upotrebe (ne kasnije od 2 dana).

57 Izrada kobasica

58
59 Za potrebe eksperimenta kako bi se napravile konvencionalne i četiri vrste modifikovanih
60 fermentisanih kobasica korišćeno je goveđe meso prve kategorije, svinjsko meso prve

1 kategorije i leđno masno tkivo svinja (čvrsto masno tkivo – ČMT). Meso je poticalo od svinja
2 koje su melezi rasa jorkšir i landras, starosti 12 meseci i prosečne telesne mase oko 180 kg i
3 goveda rase domaće šareno goveče u tipu Simentalca, a proizvedeno je u lokalnom objektu
4 za klanje papkara koji ima dodeljen izvozni kontrolni broj, zadovoljava ISO standarde koji se
5 tiču menadžmenta kvaliteta i upravljanja bezbednošću hrane, ima uveden HACCP sistem i
6 HALAL standard.

7 Pripremljeno je pet eksperimentalnih grupa kobasica: konvencionalne fermentisane kobasice
8 sa 25% ČMT (K), fermentisane kobasice sa 9% ČMT i 16% inulin gel suspenzije (I),
9 fermentisane kobasice sa 9% ČMT i 16% inulin gel emulzije lanenog ulja (IU), fermentisane
10 kobasice sa 9% ČMT i 16% inulin gel emulzije ulja kukurznih klica (UK) i fermentisane
11 kobasice sa 9% ČMT i 16% inulin gel emulzije ulja uljane repice (UR). Drugi sastojci koji su
12 dodati u svih pet formulacija na 1 kg mešavine su: 23 g soli, 0,32 g natrijum nitrita, 0,25 g
13 starter kulture FLORA ITALIA LC SafePro® koja sadrži *Lactobacillus casei* i *Staphylococcus*
14 *carnosus* (Chr. Hansen, Denmark) i 4 g komercijalne mešavine začina (Čajna nova, Raps
15 GmbH, Austria).

16
17 Nadev kobasica je pripremljen na sledeći način: zamrznute sirovine (svinjsko meso i ČMT kod
18 kontrolnog proizvoda, a kod modifikovanih kobasica dodatno i inulin gel suspenzija, odnosno
19 inulin gel emulzije) su najpre grubo isečene u drobilici, a potom grubo usitnjene u kuteru uz
20 dodatak starter kulture. Potom se u kuter dodaje ohlađeno goveđe meso, nitritna so za
21 salamurenje i začini, a nadev dodatno usitnjava do veličine partikula od oko 3-4 mm. Nadev je
22 pomoću vakuum punilice punjen u veštačke kolagenske omotače dijametra 50 mm (Prima
23 Commerce, Srbija). Nakon toga, kobasice su podvrgnute procesu zrenja i sušenja u
24 kontrolisanim uslovima industrijske proizvodnje tokom 28- dana pod sledećim uslovima:
25 fermentacija u komori za zrenje tokom 48 h pri temperaturi od 24 °C i relativnoj vlažnosti od
26 91%; hladno dimljenje po 8 h tokom tri dana pri temperaturi 21-23°C pri relativnoj vlažnosti od
27 85% i na kraju, kobasice su vraćene u komoru za zrenje na sušenje pri temperaturi od 15 °C i
28 relativnoj vlažnosti od 85% sve do kraja procesa zrenja (28. dan). Na kraju procesa zrenja i
29 sušenja, kontrolne i modifikovane kobasice su skladištene na vazduhu pri temperaturi od
30 4±1°C u trajanju od mesec dana. Uzorci iz svake grupe uzimani su za analizu 0, 7, 14, 21. i
31 28. danproizvodnje i nakon mesec dana skladištenja (58. dan).

32 33 **Metode ispitivanja**

34
35 Iz svake eksperimentne grupe uzimano je po šest nasumično odabranih kobasica prema
36 prethodno navedenoj dinamici (0., 7., 14., 21., 28 i 58. dan) i rađena su fizička (kalo,
37 temperatura), fizičko-hemijska (pH i a_w vrednost) i mikrobiološka ispitivanja (broj bakterija
38 mlečne kiseline, broj bakterija iz familija *Enterobacteriaceae*, *Micrococcaceae* i *Pseudomonas*
39 spp., kao i broj *Lactobacillus casei* i *Staphylococcus carnosus* iz dodatog startera). Na kraju
40 procesa zrenja i sušenja, pored navedenih analiza praćeni su i sledeći parametri: hemijski
41 sastav (sadržaj vode, masti, holesterola, proteina, pepela, hidrokspolina, hlorida i nitrita),
42 masnokiselinski sastav, parametri oksidacije lipida (kiselinski broj, peroksidni broj, TBARS
43 vrednost) i stepena zrenja (indeks proteolize), instrumentalni parametri boje (CIA L* a* b*
44 sistem) i teksture (metoda po Warner Bratzleru) i senzorski parametri kvaliteta (spoljašnji
45 izgled, izgled preseka, boja, miris i ukus, tekstura, konzistencija i ukupna prihvatljivost).
46 Nakon mesec dana skladištenja su ponovljene analize hemijskih parametara koji pokazuju
47 stepen oksidacije lipida.

48 49 **Fizičke metode**

50 Određivanje gubitka mase (kalo) fermentisanih kobasica urađeno je gravimetrijski, merenjem
51 mase pet odabranih uzoraka iz svake grupe tokom procesa zrenja i nakon skladištenja na
52 vagi sa preciznošću od ±1 g. Gubitak mase izražen je u procentima u odnosu na početnu
53 vrednost mase kobasica.

54 55 **Fizičko-hemijske metode**

56 Merenje pH vrednosti rađeno je pomoću digitalnog pH-metra WTW, model 340i, sa
57 kombinovanom elektrodom za proizvode od mesa (WTW-Wissenschaftlich -Technische
58 Werkstätten, GmbH, Weilheim, Nemačka) u skladu sa standardom SRPS ISO 2917:2004. Za
59 merenje a_w vrednosti korišćen je a_w -metar FAsT/1 (GBX Scientific Instruments) prema metodi
60 ISO 21807:2004.

1 2 **Određivanje hemijskog sastava kobasica**

3 Određivanje sadržaja proteina rađeno je prema metodi po Kjeldalh-u (SRPS ISO 937:1992);
4 Određivanje sadržaja ukupne masti prema metodi po Soxhletu (SRPS ISO 1443:1992);
5 Određivanje sadržaja vode prema metodi SRPS ISO 1442:1998; Određivanje sadržaja
6 ukupnog pepela - sagorevanje uzorka pri 550 °C do konstantne mase (SRPS ISO 936:1999);
7 Određivanje sadržaja nitrata po metodi SRPS ISO 2918:1999; Određivanje sadržaja
8 hidroksiprolina (SRPS ISO 3496:2002); Određivanje sadržaja hlorida metodom po Volhardu
9 (SRPS ISO 1841-1:1999); Sadržaj ugljenih hidrata dobijen je oduzimanjem zbira sadržaja
10 proteina, masti, vode i pepela od broja 100. Sadržaj kolagena u proteinima mesa izračunat je
11 množenjem sadržaja hidroksiprolina faktorom 8 i izračunavanjem udela kolagena u ukupnim
12 proteinima mesa. Sadržaj holesterola određen je direktnom saponifikacijom bez prethodne
13 ekstrakcije lipida korišćenjem HPLC/PDA sistema (Waters 2695 Separation module/Waters
14 photodiode array detector, SAD) po metodi Maraschiello i sar. (1996).

15 16 **Određivanje masnokiselinskog sastava kobasica**

17 Nakon ekstrakcije lipida metodom ubrzane ekstrakcije rastvaračima (accelerated solvent
18 extraction - ASE 200 Dionex, Nemačka), metilestri masnih kiselina su pripremljeni
19 transesterifikacijom lipidnog ekstrakta sa trimetilsulfonijum hidroksidom (TMSH) prema metodi
20 SRPS EN ISO 5509/2007. Metilestri masnih kiselina (Fatty Acid Methyl Esters-FAMEs)
21 analizirani su metodom gasne hromatografije na gasnom hromatografu sa plameno-
22 jonizujućem detektorom (GC/FID) Shimadzu 2010 (Kyoto, Japan), na cijanopropil-aril
23 kapilarnoj koloni HP-88 (100m x 0,25 mm x 0,20 µm), a identifikacija je izvršena na osnovu
24 relativnih retencionih vremena, poređenjem sa relativnim retencionim vremenima
25 pojedinačnih jedinjenja u standardu smeše metilestara masnih kiselina Supelco 37
26 Component FAME Mix (Supelco, Bellefonte, SAD). Sadržaj masnih kiselina je izražen kao
27 procentualni udeo (%) od ukupno identifikovanih masnih kiselina.

28
29 **Parametri nutritivnog kvaliteta masti** (aterogeni indeks (AI), trombogeni indeks (TI), polieni
30 indeks (PI) i odnos hipo- i hiper holesterolemičnih masnih kiselina (HH)) izračunat je prema
31 formulama:

$$32 AI = (C12:0 + 4 \times C14:0 + C16:0) / (\Sigma n-3 \text{ PUFA} + \Sigma n-6 \text{ PUFA} + \Sigma \text{MUFA})$$

$$33 TI = (C14:0 + C16:0 + C18:0) / (0,5 \times \Sigma \text{MUFA} + 0,5 \times \Sigma n-6 \text{ PUFA} + 3 \times \Sigma n-3 \text{ PUFA} + \Sigma n-3$$

$$34 \text{ PUFA} / \Sigma n-6 \text{ PUFA})$$

$$35 HH = (C18:1n-9 + C18:2n-6 + C20:4n-6 + C18:3n-3 + C20:5n-3 + C22:6n-3) / (C14:0 + C16:0)$$

36 37 **Mikrobiološka ispitivanja**

38 Određivanje ukupnog broja bakterija mlečne kiseline rađeno je na podlozi MRS-agar (Merck,
39 Nemačka) nakon 72 h inkubacije pod anaerobnim uslovima na 30 °C (ISO 15214:1998);
40 Određivanje ukupnog broja bakterija iz familije *Enterobacteriaceae* rađeno jena podlozi Violet
41 Red Bile Glucose Agar (VRBGA, Merck, Nemačka) nakon 24 h inkubacije na 37 °C (ISO
42 21528-2:2004); Određivanje ukupnog broja *Pseudomonas* spp. Rađeno je na podlozi
43 *Pseudomonas* Agar Base sa C-F-C suplementom (Oxoid®) nakon 48 h inkubacije na 25 °C;
44 Određivanje ukupnog broja bakterija iz familije *Micrococcaceae* rađeno jena podlozi Mannitol
45 Salt Agar (MSA, HiMedia, Indija) nakon 48 h inkubacije na 30 °C. Određivanje broja
46 *Lactobacillus casei* i *Staphylococcus carnosus* rađen je nakon identifikacije karakterističnih
47 kolonija izraslih na MRS-agaru, odnosno MSA-agaru, metodom MALDI-TOF MS (Matrix-
48 assisted laser desorption ionization–time-of-flight mass spectrometry). Ovo ispitivanje je
49 urađeno pomoću uređaja Vitek MS (bioMérieux, Francuska). Priprema izolovanih kolonija
50 urađena je prema uputstvu proizvođača, pri čemu je za kalibraciju uređaja korišćena
51 *Escherichia coli* ATCC® 8739, a za očitavanje rezultata baza podataka VITEK MS V2.0
52 Knowledge Base – Industry Use.

53 54 **Instrumentalno određivanje boje**

55 Boja fermentisanih kobasica na površini i poprečnom preseku ispitivna je korišćenjem
56 kolorimetra Chroma Meter CR-400 (Minolta Co. Ltd, Tokyo, Japan) u skladu sa CIE L*a*b*
57 sistemom (L*-lightness, a*- redness, b*-yellowness). Merenja su izvršena u D-65 osvetljenju
58 iluminacioni sistem 45/0, ploča 8D/ sa standardnim uglom zaklona od 2°. Boja površine
59 proizvoda (sa omotačem) merena je na gornjoj, srednjoj i donjoj trećini površine kobasice, a
60 boja preseka je merena na tri mesta koja su obuhvatila periferni i središnji deo preseka. Ova

1 merenja vršena su na sobnoj temperaturi ($20\pm 2^{\circ}\text{C}$) odmah nakon sečenja uzoraka, a kao
2 izmerena vrednost uzimana je srednja vrednost pomenuta tri merenja.
3
4

5 **Instrumentalno određivanje teksture**

6 Tekstura fermentisanih kobasica izmerena je instrumentalnim metodama po Warner
7 Bratzleru. TPA analiza profila teksture (tvrdoća (g), adhezivnost (g/s), elastičnost (mm),
8 kohezivnost, otpor žvakanju (g x mm)) određena je aparatom Instron 4301 UTM (Instron
9 Corp., High Wycombe, Velika Britanija). Uzorci visine 2 cm i prečnika 2,54 cm uzimani su iz
10 centra svake grupe ispitivanih kobasica. Uzorci su zatim temperirani na sobnoj temperaturi i
11 komprimovani na 50% od početne debljine aluminijumskom kompresionom pločom 75 mm
12 (P/75) i opterećenjem od 250 kg. Pre-test brzina bila je 3 mm/s, test brzina 1 mm/s i post-test
13 brzina 1 mm/s. Merenja su izračunata uz pomoć odgovarajućeg kompjuterskog softvera.
14

15 **Određivanje parametara oksidacije lipida i indeksa proteolize**

16 TBARS (Thiobarbituric Acid Reactive Substances) vrednost je određivana prema metodi
17 Tarladgis i sar. (1964) i Holland (1971); Kiselinski broj prema metodi SRPS EN ISO 660/2011;
18 Peroksidni broj prema metodi SRPS EN ISO 3960/2011; Indeks proteolize izračunat je kao
19 udeo neproteinskog azota u ukupnom sadržaju azota prema Careri i sar. (1993).
20

21 **Senzorska analiza**

22 U senzorskom ispitivanju kobasica učestvovalo je deset obučanih, iskusnih ocenjivača sa
23 Katedre za higijenu i tehnologiju namirnica animalnog porekla Fakulteta veterinarske medicine,
24 Univerziteta u Beogradu, koji su odabrani prema standardu (ISO 8586:2012). Korišćen je
25 petobalni bod sistem ocenjivanja. Od svake grupe kobasica, isečeni komadi debljine 2 mm
26 posluženi su na belim tanjirima kako bi ocenjivači procenili izgled na preseku. Uzorci su
27 obeleženi nasumičnim trocifrenim brojevima. Za ocenjivanje korišćena je skala ocena od 1 do
28 5, sa mogućnošću davanja polubodova (1.5, 2.5, 3.5 i 4.5). Ocena 5 – odlično, tipičan kvalitet,
29 karakterističan izgled i oblik kobasica, uniformnost veličine partikula na preseku, prijatan miris
30 i ukus fermentisanog proizvoda, meka tekstura i svetla i zrela boja proizvoda. Ocena 1-
31 neprihvatljivo, loš kvalitet, vidljivi defekti, neprijatan i užegao ukus, tvrda tekstura, tamna i
32 žućkasta boja. Kobasice koje su ocenjene sa 2.5 i više za svaku karakteristiku smatrane su
33 prihvatljivim. Ocene koje su date za svaku od pet pojedinačnih karakteristika su pomnožene
34 sa odgovarajućim koeficijentima važnosti i to: spoljašnji izgled sa 2, izgled i sastav preseka sa
35 5, boja i održivost boje sa 3, miris i ukus sa 7 i tekstura sa 3. Zbir koeficijenata je 20, i na taj
36 način korigovane ocene predstavljaju udeo (procenat) u ukupnoj prihvatljivosti kobasica.
37 Odnosno, deljenjem ocene ukupne prihvatljivosti proizvoda (zbira korigovanih ocena) sa
38 zbirom koeficijenata važnosti dobijena je ponderisana srednja vrednost ukupne prihvatljivosti
39 proizvoda.
40

41 **Statistička analiza**

42 Najpre su određivani deskriptivni statistički parametri (aritmetička sredina, standardna
43 devijacija, standardna greška, minimalna, maksimalna vrednost i koeficijent varijacije), za
44 ispitivanje značajnosti razlika između srednjih vrednosti dve ispitivane formulacije kobasica
45 korišćen je t-test, a za ispitivanje signifikantnih razlika između tri i više posmatranih
46 formulacija fermentisanih kobasica grupni test, ANOVA, a zatim pojedinačnim Tukey testom
47 ispitane su statistički značajne razlike između kobasica. Značajnost razlika je utvrđena na
48 nivoima od 5% i 1%. Svi dobijeni rezultati su prikazani tabelarno i grafički. Statistička analiza
49 dobijenih rezultata urađena je u statističkom paketu PrismaPad 6.00 (GraphPad Software,
50 San Diego, California USA, www.graphpad.com).
51

52 Poglavlje „**Rezultati ispitivanja**“ je shodno zadacima istraživanja podeljeno u 11
53 potpoglavlja:
54

55 **pH vrednost**

56 Na početku proizvodnog procesa, kobasice sa dodatkom inulin gel suspenzijom (I) su imale
57 statistički značajno manju pH vrednost (5,57) u poređenju sa kontrolom (5,79; $P=0,0001$) i
58 kobasicama sa dodatim inulin gel emulzijama (IU 5,83; UK 5,74 i UR 5,75). U toku procesa
59 zrenja i sušenja, najnižu pH vrednost imale su fermentisane kobasice sa dodatkom inulin gel
60 emulzije lanenog ulja (IU), a najvišu kontrolne kobasice (K). Na kraju tog procesa (28. dan)

1 pH vrednost je bila takođe najnižja kod kod IU kobasica (5,39) kao i kod kobasica sa inulin gel
2 suspenzijom (5,41), dok je kod ostalih proizvoda iznosila od 5,60 (K) do 5,65 (UR). Nakon
3 perioda skladištenja od mesec dana, odnosno 58. dana, najvišu pH vrednost imale su
4 kontrolne kobasice (K) 5,78, a najnižu modificovane kobasice sa dodatkom inulin gel emulzije
5 lanenog ulja (IU) 5,66 (P=0,022).

6 7 **a_w vrednost**

8 Modifikovane kobasice tokom čitavog perioda proizvodnje i skladištenja imale su značajno
9 veću a_w vrednost u odnosu na kontrolne kobasice. Aktivnost vode se 0. dana kretala od 0,949
10 kod kontrolnih kobasica do 0,957 kod kobasica sa inulin gel emulzijom lanenog ulja(IU)
11 (P=0,0004). Kobasice sa dodatim inulin gel emulzijama (IU, UK i UR) pokazuju statistički
12 značajno veću a_w vrednost i u odnosu na kobasice sa dodatkom inulin gel suspenzijom (I), pri
13 čemu je na kraju proizvodnje a_w vrednost kobasica sa emulzijama iznosila od 0,832 (IU) do
14 0,853 (UR), a kod I proizvoda 0,821 (P=0.0001; P=0,0006; P=0.0001, pojedinačno). Na kraju
15 proizvodnje, aktivnost vode kontrolne kobasice je iznosila 0,810 i bila statistički značajno
16 manja od a_w vrednosti svih modificovanih kobasica. Na kraju skladištenja, odnosno 58. dana,
17 najveću a_w vrednost su imale kobasice sa inulin gel emulzijom ulja uljane repice (UR) koja je
18 iznosila 0,806 dok su kontrolne fermentisane kobasice (K) imale najnižu a_w vrednost od
19 0,752, i samo ove dve formulacije kobasica su se statistički značajno razlikovale (P=0,0193).

20 21 **Kalo**

22 Od početka do kraja procesa sušenja kontrolne kobasice su imale najmanji gubitak mase.
23 Kalo kontrolne kobasice na kraju procesa zrenja, odnosno 28. dana, iznosio je 38,6% i
24 statistički je značajno bio manji od kala modificovanih kobasicakoji se kretao od 41,23% kod
25 kobasica sa inulin gel emulzijom ulja kukuruznih klica (UK) (P=0,0099) do 46,48 % kod
26 kobasica sa inulin gel suspenzijom (I) (P=0,0001). Nakon mesec dana skladištenja, odnosno
27 58. dana, kalo kontrolne kobasice je iznosio 39,3% i takođe bio značajno manji u poređenju
28 sa drugim formulacijama kobasica, koji se krateo od 42,44 % kod UK kobasica (P=0,001) do
29 47,33% kod I kobasica (P=0,0001). Najveći gubitak mase od početka do kraja sušenja imale
30 su kobasice sa dodatkom inulin gelsuspenzije (I) koji je značajno bio viši u poređenju sa svim
31 ostalim kobasicama.

32 33 **Hemijski sastav**

34 Na kraju procesa proizvodnje, odnosno 28. dana, sadržaj vode kontrolne kobasice iznosio u
35 proseku 25,98% i pri tome bio značajno manji nego kod modificovanih kobasica, među kojima
36 su kobasice sa inulin gel emulzijom ulja uljane repice (UR) sadržale najviše vode(35,02%), a
37 najmanje IU i I kobasice (30,39% odn. 31,07%) pri čemu je ova razika bila statistički značajna
38 (P=0,0001, odn. P=0,0001). Najviše masti sadržale su kontrolne kobasice (44,37%), a u
39 odnosu na njih statistički značajno manji sadržaj masti uočen je kod svih grupa modificovanih
40 kobasica. Kod modificovanih kobasica procenat masti se kretao od 28,19% kod kobasica sa
41 inulin gel emulzijom uljane repice (UR) (P=0,0001) do 35,36% kod kobasica sa inulin gel
42 emulzijom laneng ulja (IU) (P=0,0001). Sadržaj masti kod kobasica sa inulin gel suspenzijom
43 i sa inuin gel emulzijom ulja kukuruznih klica bio je približan i iznosio je 31,38 odnosno
44 30,33%. Najmanje proteina mesa sadržale su kontrolne kobasice (K) i kobasice sa inulin gel
45 emulzijom lanenog ulja (IU) (24,62% i 24,79%, pojedinačno), pri čemu ova razlika nije bila
46 statistički značajna (P=0,7924). Kod ostalih modificovanih kobasica, sadržaj proteina je
47 iznosio od 27,05% kod kobasica sa inulin gel emulzijom kukuruznih klica (UK), do 27,54%
48 kod kobasica sa inulin gel emulzijom uljane repice (UR), pri čemu je ovaj sadržaj bio statistički
49 značajno veći nego kod kontrolnih kobasica (P=0,003 i P=0,008, pojedinačno). Kontrolne
50 kobasice su sadržale i najmanje ugljenih hidrata (0,1%), dok su kobasice sa dodatkom inulin
51 gel suspenzije (I) sadržale statistički značajno veću količinu ugljenih hidrata koji je iznosio
52 4,74% (P=0,0001). Kobasice sa inulin gel emulzijama su sadržale od 3,99% kod proizvoda sa
53 inulin gel emulzijom uljane repice (UR) do 4,38% kod proizvoda sa inulin gel emulzijom
54 kukuruznih klica (UK), što je statistički značajno veća količina od kontrole (P=0,0001i
55 P=0,0001, pojedinačno). Najmanje pepela su sadržale kontrolne kobasice (4,94%), dok je
56 kod modificovanih kobasica iznosio od 5,19% kod proizvoda sa inulin gel emulzijom
57 kukuruznih klica (UK) (P=0,018) do 5,71% kod proizvoda sa inulin gel suspenzijom (I)
58 (P=0,0001).

59
60

1 **Sadržaj hidroksiprolina, kolagena, NaCl i nitrita**

2 Sadržaj hidroksiprolina je bio približan kod svih eksperimentalnih proizvoda i iznosio je od
3 0,308 % kod kontrolne kobasice do 0,339 % kod kobasice sa inulin gel emulzijom ulja
4 kukuruznih klica (UK). Preračunavanjem sadržaja hidroksiprolina u udeo kolagena u
5 proteinima mesa, dobijeno je da najmanji sadržaj kolagena u proteinima mesa ima kobasica
6 sa inulin gel emulzijom ulja uljane repice (UR) koja je iznosila 9,09%, a najveća kod kobasice
7 sa inulin gel emulzijom lanenog ulja (IU) 10,70% što je statistički značajno veća vrednost
8 ($P=0,0114$). Između ostalih eksperimentalnih kobasica nije utvrđena razlika u sadržaju
9 kolagena u proteinima mesa, koji je iznosio od 9,79 kod kontrolne kobasice do 10,20% kod
10 kobasice sa inulin gel suspenzijom. Sadržaj natrijum hlorida bio je najviši kod kobasica sa
11 dodatkom inulin gel suspenzije i iznosio je 4,53%. To je bio značajno veći procenat
12 kuhinjske soli u poređenju sa ostalim grupama ispitivanih kobasica, a naročito u poređenju sa
13 kontrolnim proizvodom koji je sadržao 4,02% NaCl-a ($P=0,0009$). Sadržaj nitrita kod
14 kontrolnih kobasica (1,86 mg/kg) i kobasica sa dodatkom inulin gel suspenzije (1,82 mg/kg)
15 nije se značajno razlikovao ($P=0,8281$). Međutim, kobasice sa dodatkom inulin gel emulzije
16 sa tri vrste ulja sadržale su statistički značajno veći procenat nitrita u svom sastavu u odnosu
17 na prve dve grupe kobasica, a koji je iznosio od 2,54% kod kobasice sa inulin gel emulzijom
18 ulja uljane repice (UR) do 2,83% kod kobasice sa inulin gel emulzijom ulja kukuruznih klica
19 (UK) ($P=0,0005$ i $P=0,0003$, pojedinačno, u odnosu na kontrolnu kobasicu).

21 **Sadržaj masnih kiselina i holesterola**

22 Rezultati pokazuju da kontrolna kobasica (K) i kobasica sa inulin gel suspenzijom (I) imaju
23 veoma sličan masnokiselinski sastav, kako u pogledu pojedinačnih masnih kiselina, tako i u
24 pogledu odnosa grupa masnih kiselina. Jedino je zapažen statistički značajnovećiodnos n-
25 6/n-3 masnih kiselina ($P=0,0001$) kod kobasice sa inulin gel suspenzijom (13,22) nego kod
26 kontrolne kobasice (11,36). S druge strane, kobasice sa inulin gel emulzijama biljnih ulja
27 sadržale su manje pojedinih zasićenih masnih kiselina, a više mononezasićenih i
28 polinezasićenih masnih kiselina, nego kontrolna kobasica i kobasica sa inulin gel
29 suspenzijom. Od nutritivno značajnijih zasićenih masnih kiselina, najmanje palmitinske
30 kiseline (18,58 g/100g) sadržala je kobasica sa inulin gel emulzijom uljane repice (UR) što je
31 statistički značajno manje od kontrolne kobasice koja je sadržala 24,69 g/100 g ove masne
32 kiseline ($P=0,0001$). Najmanje stearinske kiseline (7,60 g/100g) sadržala je kobasica sa inulin
33 gel emulzijom ulja kukuruznih klica (UK) što je statistički značajno manje od kontrolne
34 kobasice koja je sadržala 10,01 g/100 g ove masne kiseline ($P=0,0001$). Od nezasićenih
35 masnih kiselina, sadržaj oleinske kiseline bio je najveći kod UR kobasica (50,25 g/100 g), što
36 je statistički značajno više u odnosu na kontrolu (44,37 g/100g; $P=0,0001$) i ostale formulacije
37 kobasica. Sadržaj linoleinske kiseline bio je najveći kod UK (20,44 g/100 g), i ujedno statistički
38 značajno veći od kontrolnog proizvoda (11,03 g/100g; $P=0,0001$) kao i drugih grupa kobasica.
39 Najizraženija razlika uočena je u količini α -linoleinske kiseline koje je u najviše bilo u
40 kobasicama u koje je dodato laneno ulje (IU grupa kobasica) i to u količini od 5,74 g/100g, što
41 je statistički veoma značajno više nego u kontrolnom proizvodu (0,46 g/100g; $P=0,0001$). Od
42 ostalih omega-3 masnih kiselina, sadržaj eikosapentaenoične kiseline je bio najveći u
43 kontrolnoj kobasici (K) (0,38 g/100 g), što je značajno više nego u kobasici sa inulin gel
44 suspenzijom (I) (0,18 g/100 g; $P=0,0001$) i veoma značajno više u odnosu na formulacije sa
45 lanenim (IU) (0,05 g/100 g; $P=0,0001$) i uljem kukuruznih klica (UK) (0,06 g/100 g; $P=0,0001$).
46 Kada su u pitanju grupe masnih kiselina, ukupan sadržaj SFA bio je značajno niži u
47 formulacijama kobasica u koje su dodata ulja nego u kontrolnoj i kobasici sa inulin gel
48 suspenzijom. Najmanji sadržaj SFA je utvrđen kod UK (28,68 g/100g) i UR (28,09 g/100g)
49 formulacija, a najveći u kobasicama sa inulin gel suspenzijom (37,52 g/100g) i kontrolnoj
50 kobasici (36,78 g/100g). Količina MUFA bila je najniža u kobasicama sa dodatkom lanenog
51 ulja (IU) (46,47 g/100g) i značajno se razlikovala u odnosu na ostale formulacije, pri čemu je
52 najveći sadržaj MUFA utvrđen kod kobasica sa uljem uljane repice (UR) (53,58; $P=0,0001$).
53 Sadržaj PUFA bio je značajno viši u svim kobasicama sa dodatkom emulzija ulja, naročito u
54 UK formulaciji (23,25 g/100 g), a najmanji u kontrolnoj (12,74 g/100g, $P=0,0001$) i kobasici sa
55 inulin gel suspenzijom (12,72; $P=0,0001$). Kobasice sa uljem kukuruznih klica sadržale su
56 najviše n-6 masnih kiselina (21,35 g/100g), tako da su ovi proizvodi imali i najveći n-6/n-3
57 odnos (19,57). Nasuprot tome, kobasice sa lanenim uljem sadržale su najviše n-3 masnih
58 kiselina (5,89 g/100 g) i ujedno najmanji n-6/n-3 odnos (2,23). Reformulacija proizvoda nije
59 dovela do značajnih promena u sadržaju holesterola ($P=0,5910$) koji se kretao u opsegu od
60 67,65 mg/100 g kod IU kobasica, do 71,39 mg/100 g kod UR formulacije kobasica. Rezultati

1 izračunavanja nutritivnih parametara kvaliteta masti su pokazali da su u odnosu na aterogeni
2 indeks (AI) kontrolne kobasice (0,485), statistički značajno manju AI vrednost imale IU
3 kobasice (0,413; P=0,0001), UK kobasice (0,323; P=0,0001) i UR kobasice (0,306;
4 P=0,0001). Isto važi i za trombogeni indeks (TI) koji je u poređenju sa TI vrednošću kontrolne
5 kobasice (1,068) bio statistički značajno manji kod IU kobasice (0,697; P=0,0001), UK
6 kobasice (0,726; P=0,0001) i UR kobasice (0,341; P=0,0001). Kada je u pitanju
7 hipoholesterolemični/hiperholesterolemični indeks (HH), u poređenju sa kontrolnom
8 kobasicom (2,155) statistički značajno veći HH indeks je utvrđen kod IU kobasice (2,548;
9 P=0,0001), UK kobasice (3,290; P=0,0001) i UR kobasice (3,471; P=0,0001).

10 11 **Parametri oksidacije lipida i indeks proteolize**

12 Vrednost kiselinskog broja bila je veća kod kobasica sa dodatkom inulin gel emulzije sve tri
13 vrste ulja. Najveća vrednost je utvrđena kod kobasice sa dodatkom inulin gel emulzije
14 lanenog ulja koja je 28. dana iznosila 1,47 mg KOH/g i bilaznačajno veća od kiselinskog broja
15 kontrolne kobasice (0,74 mg KOH/g; P=0,0001). U poređenju sa kontrolnom kobasicom,
16 značajno veći kiselinski broj je utvrđen i kod kobasice sa inulin gel suspenzijom (0,99 mg
17 KOH/g; P=0,0001). Nakon mesec dana skladištenja, odnosno 58. dana, kiselinski broj se
18 povećao kod svih kobasica, tako da kobasice iz IU grupe i dalje imaju najveću vrednost od
19 1,93 mg KOH/g, dok kontrolne kobasice imaju najnižu vrednost od 0,91 mg KOH/g.

20 Vrednost peroksidnog broja kod kontrolnih kobasica značajno je bila manja nego kod svih
21 grupa modifikovanih kobasica. Kod kontrolnih kobasica, 28. dana on je iznosio 0,06 mmol/kg,
22 što je značajno manje u odnosu na kobasice sa dodatkom inulin gel suspenzije (P=0,0003)
23 kod kojih je peroksidni broj bio 0,14 mmol/kg. Kod sve tri grupe kobasica sa dodatkom inulin
24 gel emulzija, peroksidni broj pokazuje značajnu statističku razliku u odnosu na kontrolu, a
25 najviši je bio kod UR grupe i iznosio 0,31 mmol/kg (P=0,0001). Peroksidni broj se do 58. dana
26 povećavao kod svih grupa ispitivanih kobasica, s tim što je i dalje najmanji bio kod kontrolnih
27 kobasica, 0,32 mmol/kg, a najveći kod UK kobasica 0,95 mmol/kg.

28 TBARS vrednost je nakon 28. dana iznosila u kontrolnim, I i IU kobasicama od 0,09 do 0,11
29 mg MAL/kg i između njih nisu utvrđene značajne razlike. Kod kobasica sa inulin gel emulzijom
30 ulja kukuruznih klica (UK) kao i uljane repice (UR), ova vrednost je bila niža (0,03 i 0,04 mg
31 MAL/kg, pojedinačno) i značajno se razlikovala u poređenju sa prethodne tri formulacije
32 (P=0,0001 i P=0,0001 pojedinačno, u odnosu na kontrolu). Nakon mesec dana skladištenja
33 TBARS vrednost se povećala kod svih kobasica. Najveća TBARS vrednost je utvrđena kod IU
34 kobasice (1,25 mg MAL/kg) što je statistički značajno više od vrednosti utvrđene u kontrolnoj
35 kobasici (0,87mg MAL/kg; P=0,0001). Nasuprot tome, UK i UR kobasice su imale najmanju
36 TBARS vrednost (0,05 i 0,07 mg MAL/kg, pojedinačno), što je statistički značajno manje nego
37 kod kontrolne kobasice (P=0,0001 i P=0,0001, pojedinačno).

38 Nakon procesa zrenja kod kontrolnih kobasica, kobasica sa dodatkom inulin gel suspenzijom i
39 kobasica sa inulin gel emulzijom lanenog ulja utvrde su veoma približne vrednosti indeksa
40 proteolize, koje su iznosile od 11,60 do 11,76%. U odnosu na njih, indeks proteolize UK
41 (19,18%) i UR (19,62%) kobasica bio viši i statistički se značajno razlikovao od prethodne tri
42 formulacije kobasica (P=0,0001 i P=0,0001; pojedinačno, u odnosu na kontrolu). Nakon
43 skladištenja od mesec dana u kontrolnim kobasicama je uočen porast, dok je u svim
44 reformulisanim proizvodima zabeležen pad indeksa proteolize u odnosu na njegovu vrednost
45 za iste grupe kobasica nakon procesa zrenja. Kod kontrolnog proizvoda ovaj porast je bio za
46 4%, dok se pad u vrednosti indeksa proteolize u modifikovanim fermentisanim kobasicama
47 kretao za oko 1,5%. U poređenju sa kontrolnom kobasicom (15,73%), indeks proteolize je
48 nakon skladištenja bio značajno veći kod UK (18,71%) i UR (17,58%) kobasica (P=0,0001 i
49 P=0,0001, pojedinačno), a kod kobasica I (9,47%) i IU (10,15%) kobasica značajno manji
50 (P=0,0001 i P=0,0001, pojedinačno).

51 52 **Mikrobiološka ispitivanja**

53 Na početku proizvodnje ukupan broj BMK je bio približan kod svih grupa eksperimentalnih
54 kobasica i iznosio od 6,97 (IU) do 7,16 (I) log CFU/g. U toku fermentacije njihov broj se
55 povećavao, a značajne razlike između eksperimentalnih grupa su utvrđene posle 14. dana
56 kada je najveći broj BMK utvrđen kod kobasica sa lanenim uljem (10,09 log CFU/g), a
57 najmanji kod kobasica sa inulin gel suspenzijom (8,84 log CFU/g) (P=0,0062). Od 21. dana,
58 pa do kraja skladištenja, broj BMK se smanjuje kod svih eksperimentalnih grupa kobasica, pri
59 čemu je najmanji broj BMK je utvrđen kod kontrolnih kobasica (7,96 log CFU/g), a najveći kod
60 kobasica sa inulin gel suspenzijom (8,34 log CFU/g) (P=0,0008). Ukupan broj mikrokoka u

1 toku čitavog perioda zrenja i skadištenja se nije značajno menjao i nisu uočene značajne
2 razlike u broju ove vrste mikroorganizama kod sve tri grupe kobasica. Njihov broj se na
3 početku proizvodnje kretao od 6,18 log CFU/g kod I kobasica, do 6,47 kod K kobasica, dok se
4 na kraju skladištenja njihov broj kretao od 5,92 log CFU/g kod K grupe do 6,22 log CFU/g
5 kod I grupe. Broj bakterija iz familije *Enterobacteriaceae* se kretao od 3,62 do 4,20 log CFU/g
6 na početku proizvodnje, pri čemu se u toku fermentacije njihov broj smanjuje kod svih
7 eksperimentalnih grupa, tako da 14. dana iznosi od 2,38 do 2,82 log CFU/g, a nakon toga
8 više nije detektovano prisustvo ovih bakterija. Broj *Pseudomonas* spp. je na početku
9 proizvodnje iznosio od 3,62 do 3,63 log CFU/g, pri čemu se njihov broj smanjivao u toku
10 proizvodnje tako da je 14. dana njihov broj iznosio od 2,67 (K) do 3,04 (IU) log CFU/g., a
11 posle toga više nisu detektovane

12 Broj bakterije *Lactobacillus casei* ujednačen je kod sve tri formulacije i postepeno raste do 14.
13 dana kada je iznosio od 8,30 log CFU/g kod I grupe do 8,83 log CFU/g kod IU grupe. Od 14.
14 dana njihov broj se smanjuje, ali kobasice sa dodatim inulin gel suspenzijom, odnosno inulin
15 gel emulzijom pokazuju nešto veći broj *Lactobacillus casei*, 7,46 log CFU/g, odnosno 7,45 log
16 CFU/g, iako ove razlike u odnosu na kontrolnu grupu ne pokazuju veliku značajnost.

17 Broj bakterije *Staphylococcus carnosus* je ujednačen tokom čitavog perioda zrenja i
18 skladištenja, i njihov rast se uočava samo do 14. dana kada iznosi 6,05 do 6,31 log CFU/g.
19 Nakon ovog perioda njihov broj opada i sličan je onom na početku procesa proizvodnje i
20 iznosi od 5,02 log CFU/g do K grupe do 5,46 log CFU/g kod I grupe.

21 22 **Instrumentalno određivanje boje**

23 Kontrolne kobasice (K) imale su najveću L* vrednost (intenzitet svetlosti) za površinu
24 kobasice koja je iznosila 35,27, dok je ta vrednost kod kobasica sa smanjenim udelom masti
25 bila manja. Kobasice sa dodatim kukuruznim uljem su bile najtamnije na površini (29,48) i
26 njihova L* vrednost je bila značajno manja od ostale četiri formulacije kobasica (P=0,0001 u
27 odnosu na kontrolu). Takođe, kontrolne kobasice imale su najveću L* vrednost i na preseku
28 (48,22), dok su sve modifikovane kobasice imale niže L* vrednosti, koja je bila najmanja kod
29 UK (43,51) i UR (44,99) kobasica (P=0,0001 i P=0,0003, pojedinačno). Intenzitet crvene boje
30 (a* vrednost) površine bio je najveći kod IU kobasice (16,81) i ujedno približan vrednosti kod
31 kontrolne kobasice (16,21), a najmanja a* vrednost je bila utvrđena kod UK kobasice (12,62)
32 što je statistički značajno manje od kontrolne kobasice (P=0,0001). Nasuprot tome, a*
33 vrednost na preseku kobasica bila je najveća kod UK kobasice (20,20) što je značajno više
34 nego kod kontrole koja je imala najmanju a* vrednost na preseku (16,17) (P=0,0001).
35 Intenzitet žute boje (b* vrednost) površine bio je najveći kod kontrolne kobasice (10,19), dok
36 je ova vrednost bila značajno manja kod UK kobasice (7,81; P=0,0002). Nasuprot tome, na
37 preseku je najmanji intenzitet žute boje utvrđen kod kontrolne kobasice (8,10) dok je značajno
38 veća b* vrednost utvrđena kod kobasica sa emulzijama ulja i to kod UK (9,91; P=0,0001), IU
39 (10,57; P=0,0001) i UR kobasica (11,84; P=0,0001).

40 41 **Instrumentalno određivanje teksture**

42 Čvrstoća kontrolne kobasice je bila najveća (8822 g) i nije se značajno razlikovala od
43 kobasice sa inulin gel suspenzijom (8036 g; P=0,1768), dok su kobasice sa inulin gel
44 emulzijama bile statistički značajno mekše, među kojima je najmekša bila kobasica sa
45 emulzijom uljane repice (UR) kod koje je izmerena vrednost 3993 g (P=0,0001 u odnosu na
46 kontrolu). S druge strane, adhezivnost kontrolne kobasice je bila najmanja (-194,90) pri čemu
47 je ovaj parameter bio veći kod svih modifikovanih proizvoda, od kojih je najveću adhezivnost
48 pokazala IU kobasica (-45,42 g/s; P=0,0001 u odnosu na kontrolu). Najveća elastičnost
49 utvrđena je kod kontrolne kobasice (0,52 mm), pri čemu su sve modifikovane kobasice imale
50 značajno manju elastičnost koja je iznosila od 0,41 mm kod I proizvoda (P=0,0001) do 0,44
51 mm kod UK kobasice (P=0,0002). Kohezivnost eksperimentalnih proizvoda je bila približna
52 (od 0,49 kod UR kobasica do 0,53 kod kontrolne i IU kobasice) i bez statistički značajnih
53 razlika. Najveća žvkljivost je izmerena kod kontrolne kobasice (2454 g x mm), dok su kod
54 svih modifikovanih kobasica vrednosti žvkljivosti bile statistički značajno niže u odnosu na
55 kontrolnu grupu i kretale su se u opsegu od 1610 g x mm za I (P=0,0001) do 807 g x mm za
56 UR (P=0,0001) grupu kobasica.

57 58 **Senzorska analiza kobasica**

59 Maksimalnu ocenu (5,00) za spoljašnji izgled dobile su K, I i IU kobasica, dok su UK (4,25) i
60 UR kobasice (4,33) bile slabije ocenjene. Izgled i sastav preseka je najbolje ocenjen kod

1 kobasica sa dodatkom inulin gel suspenzije (4,95), dok je kontrola ocenjena sa 4,75 što nije
2 predstavljalo značajnu razliku između ove dve grupe kobasica ($P=0,180$). Kobasice sa
3 dodatkom inulin gel emulzije ulja imale su niže ocene za izgled preseka, a najlošije je
4 ocenjena UR grupa kobasica 4,25 ($P=0,0226$ u odnosu na kontrolu). Boja i održivost boje je
5 takođe najbolje ocenjena kod I kobasica, dok je kod kontrole bila nešto niža i iznosila je 4,9.
6 Modifikovane kobasice sa inulin gel emulzijama dobile su niže ocene za boju, među kojima je
7 najlošije bila ocenjena UK grupa kobasica (4,33; $P=0,0024$ u odnosu na kontrolu). Miris i ukus
8 su najbolje ocenjeni kod kontrolnih kobasica (4,75), pri čemu su približnu ocenu za ovaj
9 parameter dobile i UK (4,67), I (4,65) i UR kobasice (4,50), a najlošije je ocenjen miris i ukus
10 kod IU (4,10) što predstavlja statistički značajno manju ocenu ($P=0,0011$) u odnosu na
11 kontrolne kobasice. Najveću ocenu za teksturu dobile su kontrolne i kobasice sa dodatkom
12 inulin gel suspenzije (4,85) dok su UR kobasice imale najnižu ocenu za ovaj parameter (4,33),
13 koja je bila statistički značajno manja ($P=0,0063$) od kontrole. Najviše ocene za ukupan
14 senzorski kvalitet dobile su K (4,81) i I kobasice (4,85), što nije predstavljalo statistički
15 značajnu razliku ($P=0,7296$). Najlošiju ukupnu ocenu su dobile UR kobasice (4,40) što je
16 statistički značajno manje od kontrole ($P=0,0031$) i kobasice sa inulin gel suspenzijom
17 ($P=0,0002$).

18
19 U poglavlju „Diskusija“ kandidat kritički razmatra dobijene rezultate i poredi ih sa rezultatima
20 drugih autora.

21
22 U poglavlju „Literatura“ je navedeno 406 referenci.

23 24 25 **VI ZAKLJUČCI ISTRAŽIVANJA (navesti zaključke koji su prikazani u doktorskoj** 26 **disertaciji):**

27 Na osnovu dobijenih rezultata ispitivanja eksperimentalnih fermentisanih kobasica u kojima je
28 deo čvrstog masnog tkiva zamenjen inulin gel suspenzijom i inulin gel emulzijama, kao i
29 njihovog kritičkog sagledavanja, izvedeni su sledeći zaključci:

- 30 1. Modifikacija kobasica dovela je do bržeg opadanja pH vrednosti tokom proizvodnje.
31 Najniže pH vrednosti na kraju procesa proizvodnje utvrđene su kod kobasica sa inulin
32 gel emulzijom lanenog ulja (5,39) i inulin gel suspenzijom (5,41), dok je kod
33 konvencionalne i kobasica sa uljem kukuruznih klica i uljane repice iznosila 5,60-
34 5,65. Ove vrednosti su u granicama uobičajenim za fermentisane suve kobasice i
35 ispunjavaju zahteve propisa koji definiše kvalitet proizvoda od mesa pogledu pH
36 vrednosti ($>5,0$).
- 37 2. Aktivnost vode je bila veća kod modifikovanih kobasica u odnosu na kontrolnu (0,81) i
38 iznosila je na kraju proizvodnje od 0,82 kod kobasica sa inulin gel suspenzijom do
39 0,83, odnosno 0,85 kod kobasica sa inulin gel emulzijama. Ove vrednosti su u
40 granicama uobičajenim za fermentisane suve kobasice.
- 41 3. Kalo je tokom procesa proizvodnje, kao i nakon skladištenja, bio veći kod
42 modifikovanih kobasica (42,44-47,33%) u odnosu na kontrolnu (39,30%), s tim da su
43 najveći gubitak mase imale kobasice sa dodatkom inulin gel suspenzijom.
- 44 4. Ispitivanjem hemijskog sastava utvrđeno je da je sadržaj masti kod modifikovanih
45 kobasica bio je značajno manji (28,19-35,36%), a sadržaj vode (30,39-35,02%),
46 proteina (27,05 do 27,54%) i ugljenih hidrata (3,99-4,74%) veći u odnosu na kontrolu
47 (mast: 24,37%; voda: 25,98%; proteini: 24,62; ugljeni hidrati: 0,1%).
- 48 5. Nisu utvrđene značajne razlike u udelu kolagena u proteinima mesa između
49 eksperimentalnih grupa kobasica (9,09-10,70%), pri čemu svi proizvodi ispunjavaju
50 zahteve propisa koji definiše kvalitet proizvoda od mesa u pogledu ovog parametra
51 ($<15\%$). Sadržaj NaCl-a bio je najviši kod kobasica sa dodatkom inulin gel suspenzije
52 (4,53%), dok je sadržaj nitrata bio viši kod kobasica sa inulin gel emulzijama (2,54-
53 2,83 mg/kg), ali su ove vrednosti u granicama uobičajenim za fermentisane kobasice.
- 54 6. Masnokiselinski sastav kobasica sa inulin gel suspenzijom je bio veoma sličan
55 masnokiselinskom sastavu kontrolnih kobasica, dok je kod kobasica sa inulin gel
56 emulzijama utvrđen značajno manji sadržaj zasićenih masnih kiselina (28,09-33,98
57 g/100g ukupnih masnih kiselina) i značajno veći sadržaj polinezasićenih (18,35-23,25
58 g/100g) i n-3 masnih kiselina (1,10-5,89 g/100g) nego kod kontrolnog proizvoda
59 (36,78; 12,74 i 0,98 g/100g, pojedinačno). Nisu utvrđene značajne razlike u sadržaju
60 holesterola između eksperimentalnih grupa kobasica (67,65-71,39 mg/100g). Sva tri

- 1 indeksa kvaliteta lipidne frakcije (aterogeni indeks, trombogeni indeks i
2 hipoholesterolemični/hiperholesterolemični odnos) bili su značajno povoljniji u
3 kobasicama sa dodatim inulin gel emulzijama u poređenju sa kontrolom i grupom
4 kobasica sa inulin gel suspenzijom.
- 5 7. Vrednosti kiselinskog broja (1,15-1,47 mgKOH/g) i peroksidnog broja (0,21-0,31
6 mmol/kg) ukazuju na to da su procesi lipolize i oksidacije lipida bili intenzivniji kod
7 kobasica sa dodatkom inulin gel emulzija nego kod kontrolnog proizvoda (0,74
8 mgKOH/g; 0,06mmol/kg) i kobasica sa inulin gel suspenzijom (0,99 mgKOH/g;
9 0,14mmol/kg), pri čemu je na kraju skladištenja najveća TBARS vrednost utvrđena
10 kod kobasica sa inulin gel suspenzijom lanenog ulja (1,25 mg MAL/kg).
- 11 8. Indeks proteolize je na kraju zrenja bio približan kod kontrolne i kobasica sa inulin gel
12 suspenzijom i emulzijom lanenog ulja (11,60-11,76%), dok je značajno bio veći kod
13 kobasica sa uljem kukuruznih klica i uljane repice (19,18-19,62%).
- 14 9. Mikrobiološka ispitivanja su pokazala da kod svih eksperimentalnih kobasica
15 dominantnu mikrofloru čine bakterije mlečne kiseline (8,26-8,76 log CFU/g) praćene
16 mikrokokama (6,32-6,45 log CFU/g), što je uobičajeno za fermentisane kobasice.
17 Bakterije koje izazivaju kvar (*Enterobacteriaceae* i *Pseudomonas* spp.) nisu
18 detektovane posle 21. dana proizvodnje. Modifikacija sastava kobasica nije
19 nepovoljno uticala na rast starter kultura *Lactobacillus casei* (7,01-7,46 log CFU/g) i
20 *Staphylococcus canosus* (5,02-5,46 log CFU/g).
- 21 10. Instrumentalnim ispitivanjem boje utvrđeno je da su na preseku sve modifikovane
22 kobasice bile tamnije (L^* = od 43,51 do 45,80) i crvenije (a^* = od 18,40 do 20,20), dok
23 su kobasice sa dodatkom ulja imale intenzivniju žutu boju (b^* = od 9,91 do 11,84) na
24 preseku, u poređenju sa kontrolom (L^* =48,22; a^* =16,17; b^* =8,10).
- 25 11. Instrumentalnim ispitivanjem teksture utvrđeno je da se modifikacijom kobasica
26 smanjuju čvrstoća (3993-5973 g), elastičnost (0,41-0,44 mm) i žvakljivost (807-1610
27 g x mm), a povećava adhezivnost (od -45,42 do -113,40 g/s) u poređenju sa
28 kontrolom (8822g; 0,52 mm; 2454 g x mm; -194,90 g/s), dok kohezivnost nije
29 promenjena (0,49-0,53).
- 30 12. Senzorskom analizom dobijeni su rezultati koji pokazuju da sve grupe
31 eksperimentalnih kobasica predstavljaju proizvode visokog kvaliteta, sa ukupnom
32 ocenom od 4,40 kod kobasice sa emulzijom uljane repice do 4,85 kod kobasice sa
33 inulin gel suspenzijom.

34 **VII OCENA NAČINA PRIKAZA I TUMAČENJA REZULTATA ISTRAŽIVANJA:**

35 Dobijeni rezultati su prikazani tabelarno i grafički i na osnovu toga pravilno i kritički tumačeni.
36 Tekst je napisan koncizno, jasnim i razumljivim stilom. Komisija smatra da su dobijeni rezultati
37 ispitivanja u skladu sa postavljenim ciljem i zadacima istraživanja i da zaključci ove doktorske
38 disertacije proizilaze iz dobijenih rezultata.

39 **VIII KONAČNA OCENA DOKTORSKE DISERTACIJE:**

40 **1. Da li je disertacija napisana u skladu sa obrazloženjem navedenim u prijavi teme?**

41 Doktorska disertacija kandidata Marije Glišić pod naslovom „Upotreba inulin gel suspenzije i
42 inulin gel emulzije kao zamene za čvrsto masno tkivo u proizvodnji fermentisanih kobasica” je
43 napisana u skladu sa obrazloženjem navedenim u prijavi teme.

44 **2. Da li disertacija sadrži sve elemente propisane za završenu doktorsku disertaciju?**

45 Doktorska disertacija kandidata Marije Glišić pod naslovom „Upotreba inulin gel suspenzije i
46 inulin gel emulzije kao zamene za čvrsto masno tkivo u proizvodnji fermentisanih kobasica”
47 sadrži sve bitne elemente koji se zahtevaju za završenu doktorsku disertaciju.

48 **3. Po čemu je disertacija originalan doprinos nauci?**

49 Doktorska disertacija kandidata Marije Glišić pod naslovom „Upotreba inulin gel suspenzije i
50 inulin gel emulzije kao zamene za čvrsto masno tkivo u proizvodnji fermentisanih kobasica”
51 predstavlja originalan doprinos nauci jer rezultati istraživanja potvrđuju da inulin gel
52 suspenzija, kao i inulin gel emulzije lanenog, repičinog i ulja kukuruznih klica mogu uspešno
53 da posluže kao zamena za masno tkivo u fermentisanim kobasicama, pri čemu se dobijaju
54 nutritivno povoljniji proizvodi sa prihvatljivim senzorskim svojstvima.

1 4. Da li je mentor tokom provere originalnosti disertacije utvrdio neopravdano
2 preklapanje teksta sa drugim publikacijama (odgovoriti sa da ili ne): NE
3

4 IX SPISAK NAUČNIH RADOVA SADRŽINSKI POVEZANIH SA DOKTORSKOM
5 DISERTACIJOM U KOJIMA JE DOKTORAND PRVI AUTOR ODNOSNO AUTOR SA
6 NAJVEĆIM DOPRINOSOM:
7

8 Rad u istaknutom međunarodnom časopisu (M22):

9 Marija Glišić, Milan Baltić, Milica Glišić, Dejana Trbović, Marija Jokanović, Nenad Parunović,
10 Mirjana Dimitrijević, Branko Suvajdžić, Marija Bošković, Dragan Vasilev (2019):Inulin-based
11 emulsion-filled gel as a fat replacer in prebiotic- and PUFA-enriched dry fermented sausages.
12 International Journal of Food Science and Technology, 54 (3), 787-797.
13 DOI broj:10.1111/ijfs.13996; IF=2,281
14

15 X PREDLOG:

16 Na osnovu ukupne ocene disertacije, komisija predlaže (odabrati jednu od tri
17 ponuđenih mogućnosti):

- 18 - da se doktorska disertacija prihvati a kandidatu odobri odbrana
19 - ~~da se doktorska disertacija vrati kandidatu na doradu~~
20 - ~~da se doktorska disertacija odbije~~
21
22

23
24 DATUM: 19.08.2019.

POTPISI ČLANOVA KOMISIJE

25
26 **Dr Dragan Vasilev**, vanredni profesor
27 Fakultet veterinarske medicine
28 Univerzitet u Beogradu
29

30 -----
31
32 **Dr Srđan Stefanović**, naučni saradnik
33 Institut za higijenu i tehnologiju mesa
34 Beograd
35

36 -----
37
38 **Dr Mirjana Dimitrijević**, redovni profesor
39 Fakultet veterinarske medicine
40 Univerzitet u Beogradu
41

42 -----
43
44 **Dr Neđeljko Karabasil**, redovni profesor
45 Fakultet veterinarske medicine
46 Univerzitet u Beogradu
47

48 -----
49
50 **Dr Slaviša Stajić**, docent
51 Poljoprivredni fakultet
52 Univerzitet u Beogradu
53

54
55
56