

**НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ
ПОЉОПРИВРЕДНОГ ФАКУЛТЕТА
УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ**

Датум: 31.12.2019.

Предмет: Извештај Комисије о оцени урађене докторске дисертације Стојановић Бранислава, дипл. вет.

Одлуком Наставно-научног већа Пољопривредног факултета Универзитета у Београду, бр. 32/12-7.2. од 27.11.2019. године, именовани смо у Комисију за оцену и одбрану урађене докторске дисертације под насловом: „Миграција токсичних супстанци из металне амбалаже у конзервисане производе од меса, произведене за потребе Војске Републике Србије“, кандидата Стојановић Бранислава, дипл. вет.

На основу прегледа, анализе и оцене докторске дисертације Комисија подноси Научно-наставном већу Пољопривредног факултета следећи

ИЗВЕШТАЈ

1. ОПШТИ ПОДАЦИ О ДИСЕРТАЦИЈИ

Докторска дисертација Стојановић Бранислава, дипл. вет., под насловом „Миграција токсичних супстанци из металне амбалаже у конзервисане производе од меса, произведене за потребе Војске Републике Србије“ написана је на укупно 232 стране штампаног текста. На почетку текста се налази Резиме на српском и енглеском језику са кључним речима. Дисертација садржи следећа поглавља: Увод (стр.1-3), Преглед литературе (стр.4-64), Материјали и методе (стр.65-89), Резултати и дискусија (стр.90-193), Закључци (стр.194-200) и Литература (стр.201-217). На крају текста налазе се Прилози: Скраћенице (стр.218-219), и Табеле са резултатима који нису приказани у главном тексту (стр.220-228), Биографија Кандидата (стр.229), Изјава о ауторству (стр.230), Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада (стр.231) и Изјава о коришћењу (стр.232). Поглавља Преглед литературе, Материјали и методе, Резултати и дискусија имају више подпоглавља. У оквиру дисертације су приказане 33 слике и 74 табеле (од тога 47 у тексту и 27 у прилогу). Цитиран је 231 литературни извор.

2. ПРИКАЗ И АНАЛИЗА ДИСЕРТАЦИЈЕ

У поглављу **Увод** указује се на значај металне амбалаже у осигурању квалитета и безбедности прехранбених производа. Истакнуто је да метална амбалажа која долази у непосредан контакт с храном мора бити произведена по високим хигијенским стандардима, у складу са захтевима прописаним законском регулативом. Указано је да амбалажа не сме реаговати с храном или утицати на сензорна својства упакованог производа. Такође је наглашено да конзервисана храна може бити контаминирана токсичним супстанцама преко сировина, додатака и зачина, у току процеса производње, миграцијом из амбалажног материјала, или секундарном контаминацијом. Као токсичне супстанце од посебног значаја за исправност и квалитет конзервисане

хране истакнути су јони тешких метала и бисфенол А (BPA), које под одређеним условима могу да се нађу у концентрацијама већим од максимално дозвољених вредности. Указано је да је изложеност тешким-токсичним елементима (Cd, Cr, Cu, Hg, Pb, Ni, Sn, Zn, Fe), могућа преко ваздуха, воде, земљишта или хране, и да њихова акумулација у организму може да изазове несагледиве последице, чак и са смртним исходом. Такође је предочено да су штетни ефекти BPA мономера, који се користи у производњи органских превлака за заштиту металне амбалаже од корозије, предмет интересовања научне јавности, с обзиром да он може негативно утицати на ендокрини, неуролошки, имуни и репродуктивни систем људи, уколико је његова концентрација у храни која се конзумира већа од допуштене вредности. Истакнуто је да бројне студије показују да навике у исхрани имају највећи утицај на потенцијално излагање становништва утицају BPA, управо кроз повећано конзумирање конзервисане хране. Из наведених података може се закључити да је одређивање концентрације токсичких супстанци у конзервисаној храни, као и праћење њихове миграције из металне амбалаже у храну, изузетно актуелна проблематика која пружа довољно простора и могућности за нове научне искораке. Истакнуто је да праћење утицаја степена оштећења амбалаже, као и дужине складиштења на различитим температурама, на брзину и степен миграције токсичних супстанци, што је спроведено у оквиру ове докторске дисертације, може дати изузетно корисне податке везане за безбедност и квалитет конзервисане хране. Одређивање степена миграције токсичних супстанци из металне амбалаже у садржај конзервисаних производа до меса, што је био главни циљ ове дисертације, представља важан научни допринос у области безбедности хране у Србији, с обзиром да представља значајан корак у процени хемијског ризика по здравље људи.

Поглавље **Преглед литературе** обухвата 6 подпоглавља у којима Кандидат наводи и дискутује литературне податке који су релевантни за област проучавања ове докторске дисертације. У уводном подпоглављу **Амбалажа и паковање хране**, описане су функције које свака амбалажа за паковање хране мора задовољити, као што су нпр: заштитна - штити храну од механичких оштећења, расипања и утицаја спољашњих фактора (светлости, влаге, кисеоника, микроорганизама, инсеката, глодара); продајна: повећање интензитета продаје и паковање количине хране која одговара потребама купца; употребна: омогућава лагоднију употребу упаковане хране и даје могућност поновне употребе већ коришћене амбалаже; и еколошка функција: подразумева употребу амбалаже произведене од рециклираног материјала, примену повратне амбалаже, употребу биоразградивих материјала и јестиве амбалаже. Истакнуто је да је паковање хране један од најважнијих процеса који утиче на безбедност и одрживост квалитета хране током складиштења и транспорта до малопродаје, и да је функција паковања да заштити храну од различитих загађивача. У уводном подпоглављу Кандидат наглашава да је паковање хране завршна фаза у производњи хране, која треба да омогући храни да безбедно стигне до потрошача, и да су због тога избор адекватне амбалаже и поступка паковања значајани у очувању безбедности и квалитета хране. У другом подпоглављу **Метална амбалажа** описане су многобројне предности металне амбалаже над другим врстама амбалаже: лако обликовање, добра механичка својства, могућност херметичког затварања, пастеризације и стерилизације, као и непропусност за влагу, ваздух, UV-зрачење и микроорганизме. С друге стране, истакнути су и недостаци употребе металне амбалаже од белог лима, као нпр. појава корозије, и услед тога миграција металних јона и одређених органских једињења из конзерве у упаковани садржај, што може довести до промене квалитета, као и нутритивних и органолептичких својстава конзервисане хране. Даље је описано да су лименке од

белог лима, које се најчешће користе за паковање конзервисане хране, заштићене превлакама-лаковима, на бази умрежених полимера, који су по хемијској структури епокси смоле на бази бисфенола А. Указано је да је функција органске превлаке спречавање интеракције садржаја и површине лименке, као и спречавање спољашње и унутрашње корозије. Процес корозије метала је такође описан у овом подпоглављу, и наведени су многобројни фактори који утичу на појаву корозије, као што су: неадекватно нанети заштитни слојеви калаја и лака на челичној основи, неправилна манипулација конзервама након термичке обраде, неодговарајући услови транспорта и складиштења конзерви. Указано је да до унутрашње корозије долази због лошег квалитета металне амбалаже, нарочито заштитне превлаке на унутрашњим површинама, хемијског састава хране, њене рН вредности, присуства адитива у храни (кухињска со, нитрати, нитрити, полифосфати) и присуства кисеоника. Најчешћи фактори који могу да изазову спољашњу корозију су амбијентални услови (температура, влажност ваздуха, услови складиштења и сл.). У трећем подпоглављу **Миграција токсичних супстанци из металне амбалаже у садржај конзерви**, наведено је најпре да термин „миграција“ описује процес дифузије који најчешће настаје услед интеракције амбалажног материјала са храном. Даље је описано да из металне амбалаже у садржај конзерве могу мигрирати токсичне супстанце: тешки-токсични елементи и различита органска једињења, и да је једно од најчешће анализираних органских једињења које може да мигрира из унутрашње превлаке у садржај конзерви бисфенол А. У четвртном подпоглављу **Садржај токсичних, макро и микроелемената у храни упакованој у металну амбалажу**, описано је да су токсичне супстанце природног порекла чести су узрочници загађења хране, али да је далеко веће загађење токсичним супстанцама антропогеног порекла. Указује се да је присуство токсичних супстанци у храни последица: загађења животне средине; присуства загађујућих супстанци у сировинама, зачинима и додацима; контакта са апаратима, прибором и алатима у току производње и промета хране; и миграције из металне амбалаже у садржај. У четвртном подпоглављу су даље набројани токсични елементи (As, Pb, Cd, Hg, Sn), макро- (Na, Mg, K, Ca) и микроелементи (Cr, Mn, Fe, Cu, Zn, Se, Al), и објашњена је њихова физиолошка функција у организму човека. Такође су описани механизми токсичног деловања и екотоксиколошки значај токсичних елемената и дате максимално дозвољене количине токсичних елемената у меду и различитим врстама хране, прописане Правилником о максимално дозвољеним количинама остатака средстава за заштиту биља у храни и храни за животиње и о храни и храни за животиње за коју се утврђују максимално дозвољене количине остатака средстава за заштиту биља, а које се могу наћи у Службеном гласнику РС, бр. 22/2018. У оквиру петог подпоглавља **Садржај бисфенола А у храни упакованој у металну амбалажу и механизам токсичног деловања** приказана су најпре физичко-хемијска својства бисфенола А, а затим је истакнуто да је храна обично контаминирана ВРА преко контакта са материјалима за паковање хране, који садрже епоксидне превлаке. Речено је да део ВРА може остати непромењен (неумрежен), ако су полимеризацијски услови неадекватни, а такав резидуални мономер може мигрирати из полимерне превлаке у храну и напитке. Степен миграције зависи од контактне површине, времена и температуре. Такође је истакнуто да је ВРА ендокрини прекидач, тј. једињење које изазива ендокрини поремећај (омета рад ендокриног и хормонског система), тако што омета синтезу, продукцију, секрецију, метаболизам, везивање, функцију и елиминацију природних хормона. Описано је да ВРА опонаша властите хормоне нашег тела, пре свега естрогена и естрадиола, имитирајући њихову структуру и функцију, са способношћу да се веже и активира исти рецептор као и природни хормон. Нарочито је истакнута чињеница да се ВРА сматра естрогенским

ксенобиотиком који може изазвати стерилитет код жена, умањење квалитета сперме код мушкараца, а исто тако и повећати ризик за обољевање од шећерне болести, различитих врста канцера, гојазности и др. Приказан је и описан велики број научних радова у којима је одређивана концентрација ВРА у прехранбеним производима, а нарочито у конзервисаним производима. Запажено је да су многе студије показале да конзервисана храна садржи веће концентрације ВРА, него храна која се продаје у стакленој или папирној амбалажи а да је најмањи број радова који се односе на садржај ВРА у конзервисаним производима од меса, док су чешће испитивани конзервисани морски плодови и риба. Такође је истакнуто да се производи упаковани у конзерве пресвучене епоксидним смолама сматрају најзначајнијим извором изложености људи дејству ВРА. Даље је наведено да је у Европској Унији (ЕУ) ВРА идентификован као супстанца која изазива забринутост, и да од 2. јануара 2020. године не може бити присутан у термалном папиру у концентрацији већој од 0,02 мас.%. Истакнуто је да је у ЕУ производња бочица за бебе забрањена од 2011. године, а неке чланице ЕУ су још ригорозније – нпр. Француска је забранила употребу свих материјала и посуда за паковање хране на бази ВРА. Даље се у тексту објашњава да је Европска агенција за безбедност хране (ЕФСА) у јануару 2015. године смањила толерабилни (подношљиви) дневни унос ВРА са 50 μg по килограму телесне масе (т.м.) на дан, на 4 $\mu\text{g}/\text{kg.t.m./дан}$ (енгл. Temporary Tolerable Daily Intake: t-TDI). У фебруару 2018. године специфични лимит за миграцију, који се односи на количину ВРА која може да мигрира из пластичног материјала који долази контакт са храном у храну (енгл. specific migration limit, SML), снижен је са 600 $\mu\text{g kg}^{-1}$ на 50 $\mu\text{g kg}^{-1}$, а нова вредност SML постаљена је на основу вредности t-TDI из 2015. године. У нашем домаћем законодавству не постоји регулатива којом се дефинише дозвољена количина ВРА у храни и пићима, нити торелабилни дневни/недељни унос у организам, већ се, за сада, позива на законодавство ЕУ. У шестом подпоглављу **Конзервисани производи од меса** дата је најпре дефиниција поменутих производа, као и прописани захтеви квалитета које они морају да испуњавају. Наводи се да се конзерве од меса дефинишу као производи добијени од меса, полупроизвода од меса, производа од меса, масног ткива, везивног ткива, изнутрица, крви, производа од крви и додатака, који се у херметички затвореним посудама или омотачима обрађују топлотом на температурама пастеризације, кувања или стерилизације. Истиче се да су конзервисани производи од меса једна од стратешких намирница у армијама широм света, захваљујући доброј одрживости и високој хранљивој вредности, а да се производња у Војсци Србије врши према Стандардима одбране. Објашњено је да безбедност конзервисаних производа од меса у највећој мери зависи од поступка топлотне обраде, тј. правилно изведене стерилизације и добре херметичности конзерви, што гарантује добру одрживост на собној температури у току више година. Даље је описано да сензорна својства конзервисаних производа зависе пре свега од квалитета сировина и додатих састојака, технолошког поступка производње, термичке обраде и услова складиштења, а да током вишегодишњег складиштења долази до промена, како на лименкама тако и у садржају конзерви, што нарушава њихов квалитет. На крају су истакнути најважнији микробиолошки, хемијски и физичко-хемијски параметри, који морају бити задовољени да би конзервисани производи од меса били здравствено исправни, као што су: укупан број аеробних бактерија и *Clostridium perfringens* у 1 граму узорка, садржај протеина, масти, воде, скроба, кухињске соли и рН вредност.

У поглављу **Материјали и методе** описани су најпре узорци белог лима, течне и умрежене епокси-фенолне смоле, као и празне лименке коришћене у експериментима у овој дисертацији. Затим су дате карактеристике конзервисаних производа од меса,

произведених за потребе Војске Србије, који су испитивани у овом раду. Описано је да су лименке од белог лима пуњене садржајем од меса, који је произведен по Стандарду народне одбране (СНО), у индустријским објектима различитих произвођача, а затим конзервисане поступком стерилизације и складиштене у типским војним објектима који обезбеђују микроклиматске услове прописане Правилником. Речено је да је Стандардом СНО и осталом техничком спецификацијом дефинисан квалитет и количински однос сировина и додатака који се користе за производњу, квалитет амбалаже, технолошки процес производње, квалитет готовог производа, квалитативни и квантитативни пријем и гарантни рок производа. Конзервисани месни производи - узорци говеђег гулаша (ГГ), свињског паприкаша (СП), месног нареска (МН), јетрене паштете (ЈП) и ћуфти у парадајз сосу (ЋПС), складиштени од 15 дана до 6 година у типским војним објектима (под редовним условима), испитани су на присуство токсичних елемената и бисфенола А. Такође је одређен садржај макро и микроелемената у описаним узорцима, и урађена је њихова сензорна анализа. Даље је у тексту описана припрема конзерви, тј. постизање различитог степена индукованог, контролисаног оштећења на лименкама напуњеним говеђим гулашем и ћуфтама у парадајз сосу, које су коришћене за једногодишње складиштење на 20 и 40 °С. Описано је да је контролисана деформација извршена је са циљем да се да се оштети лак на унутрашњој површини лименке, и тако симулирају потенцијална оштећења која би могла настати услед неправилне манипулације у производним погонима, током транспорта од производње до потрошача, као и приликом манипулације и транспорта на теренским условима. Речено је да се индукованом деформацијом убрзава контакт између метала и садржаја конзерве. Такође је описано да су оштећења индукована на уређају за мерење тврдоће по Rockwell-у, уз примену дијамантског утискивача облика купе. Приказан је начин узорковања – након 3, 6, 9 и 12 месеци складиштења, тј. термостатирања на константној температури од 20 и 40 °С, конзерва је отворана и контакт између амбалаже и хране је прекидан изручивањем садржаја конзерве у стерилну полиетиленску кесу за паковање узорака. За сваки одређени период термостатирања и температуру испитана су по три узорка – конзерва са мањим степеном оштећења (МО), конзерва са већим степеном оштећења (ВО) и контролна, неоштећена конзерва (НО). Речено је да су сви узорци испитани на присуство токсичних супстанци, а такође је одређен садржај макро и микроелемената, микробиолошка исправност и физичко-хемијске особине. Даље је у овом Поглављу набројана сва опрема, као и све хемикалије, лабораторијско посуђе и стандарди који су коришћени у експерименталном раду. Такође су описане све методе и уређаји, као нпр: стереомикроскопија (визуелна контрола индукованих оштећења); скенирајућа електронска микроскопија са енергодисперзионом анализом X-зрака (SEM/EDS, идентификација оштећења лака); FTIR и ¹H NMR спектроскопија (карактеризација хемијске структуре течне и умрежене смоле, тј. лака); ICP-MS (одређивање концентрације токсичних, макро и микроелемената); HPLC-MS (одређивање концентрације бисфенола А), итд. На крају поглавља Материјали и методе описана је статистичка обрада података, која је коришћена у овом раду.

Поглавље **Резултати и дискусија** састоји се из десет подпоглавља, у којима су на јасан и прегледан начин приказани резултати до којих је Кандидат дошао, и то табеларно и графички, уз одговарајућа текстуална тумачења.

Најпре су у прва четири подпоглавља приказани резултати испитивања хемијског састава и механичких карактеристика лима и лименки, затим контролисана деформација лименки и резултати мерења површине оштећења и одређивање

структуре течне и умрежене епоксидне смоле. На основу добијених вредности Кандидат закључује да је дебљина лима на лименкама које су се користиле за производњу конзервисаних производа од меса за потребе Војске Србије била у складу са прописаним вредностима. Кандидат наводи да су нађене просечне вредности наноса калаја у складу са захтеваном вредношћу од $5,6 \text{ g m}^{-2}$, коју је имала Војска Србије, а која је била изнад вредности уобичајене за лименке за цивилну употребу ($2,8 \text{ g m}^{-2}$). Кандидат истиче да маса наноса Sn директно утиче на квалитет и одрживост конзервисаних производа. Измерене вредности наноса лака су такође биле знатно више у односу на нанос лака на лименкама које се производе за цивилне потребе. Кандидат истиче на виша вредност наноса лака са једне стране додатно штити лименку од нежељених утицаја челичне основе на садржај, односно спољашњих утицаја на челичну основу, али са друге стране повећава могућност миграције слободних молекула из епоксидне смоле у садржај конзерве. Даље су приказани резултати стереомикроскопије и EDS анализе индукованих оштећења, са циљем да се оштети лак на унутрашњој површини, али да не дође до перфорације лима. Деформација различитог степена је извршена на узорцима говеђег гулаша и ћуфти у парадајз сосу, који су коришћени у једногодишњем експерименту термостатирања на 20 и 40 °C, да би се испитао утицај како оштећења, тако и температуре, на миграцију токсичних супстанци у садржај. Резултати су показали да је при индуковању оштећења дошло до пуцања и уклањања лака, чиме је омогућен контакт садржаја конзерве са слојем калаја, а вероватно и са челичном основом. Даље је испитана течна, неумрежена смола, која је коришћена за формирање заштитног премаза на белом лиму, методама FTIR и ^1H NMR спектроскопије, како би се детаљније одредио хемијски састав и структура награвљене полимерне превлаке - лака. Кандидат истиче да је уобичајено да се као течна смола, која се користи за формирање заштитне превлаке на лименци за паковање хране, користи смеша две компоненте - линеарног епоксидног олигомера и умреживача, који може да буде на бази вишефункционалних алифатичних и ароматичних амина, анхидрида и фенол-формалдехидних смола. Добијени резултати су потврдили да је полимерни лак на лименкама коришћеним у овом раду био епокси-фенолне структуре, и да се реакција између епоксидне и фенолне компоненте одиграва се током процеса „печења“, тј. умрежавања на температури од 200 °C.

У петом подпоглављу су приказани резултати испитивања концентрације токсичних (As, Pb, Cd, Hg, Sn, Al), макро (Na, Mg, K и Ca) и микроелемената (Cr, Mn, Fe, Cu, Zn и Se) у конзервисаним производима од меса складиштеним у редовним условима. Испитано је пет врста конзервисаних производа од меса – ГГ, СП, МН, ЈП и ЋПС, који су складиштени у периоду од 15 дана до 6 година. Спољашњи изглед конзерви провераван је пре отварања и установљено је да на њима није било видљивих оштећења. Добијени резултати показали су да су токсични елементи били присутни у садржају свих испитиваних врста конзервисаних производа од меса, али не у свим периодима складиштења. Код неких узорака концентрација токсичних елемената је била испод границе детекције методе, а у свим случајевима је била испод максимално дозвољених вредности прописаних домаћом регулативом. Резултати *Shapiro-Wilk* теста показали су нормалну расподелу концентрација анализираних токсичних елемената у односу на средњу вредност, код свих пет врста конзервисаних производа од меса у току испитиваног периода складиштења. Резултати анализе статистичке значајности (*Studentov T-test*) показали су да у току периода складиштења нема статистички значајне промене концентрације токсичних елемената у односу на средњу вредност у свим узорцима испитаних производа од меса, на нивоу значајности од 99 %. Корелација између токсичних елемената код свих узорака анализирана је *Pearson*

Correlation тестом. На основу добијених резултата запажа се да у узорцима ГГ значајно позитивно корелишу Sn и Hg, а у узорцима СП доказана је јака позитивна корелација између Sn и Hg. У узорцима МН, ЈП и ЋПС нема значајних корелација између токсичних елемената. Највиша вредност Cd код ГГ је износила $1,55 \mu\text{g kg}^{-1}$ (након 4 године); код СП била је $2,18 \mu\text{g kg}^{-1}$ (након пет година), док је код МН била $13,28 \mu\text{g kg}^{-1}$ (након три године). Код ЈП вредност вредност за Cd се кретала у распону од $2,48 \mu\text{g kg}^{-1}$ (након једне године) до $35,91 \mu\text{g kg}^{-1}$ (након три године). Код ЋПС концентрација Cd се кретала од $2,00 \mu\text{g kg}^{-1}$ (три године и осам месеци) до $7,00 \mu\text{g kg}^{-1}$ (након девет месеци складиштења). Највећа вредност Cd детектована је код узорака ЈП, што није изненађујуће, с обзиром да је јетра циљни орган за Cd. На основу добијених резултата Кандидат такође закључује да је дужина складиштења утицала на вредности Sn у узорцима свих врста конзервисане хране. Средња вредност концентрације Sn у била је у опсегу од минималних $0,33 \pm 0,19 \text{ mg kg}^{-1}$ у ЈП, до максималних $2,48 \pm 2,52 \text{ mg kg}^{-1}$ у ЋПС. Измерене средње вредности биле су значајно испод максимално прописане вредности за храну у лименој амбалажи од 200 mg kg^{-1} , која је одређена регулативом Републике Србије и Европске Уније. Даље су дискутовани резултати добијени за садржај макроелемената, где се уочава опадање концентрације код свих производа са временом складиштења, са изузетком ЋПС, где се запажа повећање концентрације Na и Ca, односно смањење Mg и K, али без статистичке значајности. Резултати *Shapiro-Wilk* теста показали су нормалну расподелу концентрација макроелемента у односу на средњу вредност у свим узорцима током складиштења. Резултати који се односе на садржај микроелемената у производима складиштеним под регуларним условима показују да је период складиштења утицао на садржај микроелемената у узорцима. Код узорака ГГ вредност Fe је расла током складиштења и након непуне четири године је била врло близу дозвољеној граничној вредности од $30,0 \text{ mg kg}^{-1}$, док су се концентрације осталих микроелемената смањивале. Код узорака МН вредности Fe показују да су узорци са периодом складиштења преко четири године били близу и изнад максимално дозвољене вредности, док су сви узорци ЈП садржали Fe изнад максималне вредности прописане Правилником. Код узорака ЋПС повећавале су се концентрације Mn, Fe, Cu и Zn, односно смањивале концентрације Cr и Se током складиштења. Код свих осталих узорака, осим ЋПС, садржај Zn је опадао током складиштења.

У шестом подпоглављу приказани резултати испитивања утицаја врсте конзервисаног производа од меса, степена оштећења конзерви, периода складиштења и температуре на концентрацију токсичних, макро и микроелемената у узорцима говеђег гулаша и ћуфти у парадајз сосу. Испитивања су вршена у садржају конзерви са различитим степеном оштећења (Н, МО и ВО), након 3, 6, 9 и 12 месеци термостатирања на температури од 20 и 40 °C. Конзерве су пре отварања контролисане и утврђено је да на металној амбалажи и у садржају није било уочљивих сензорних промена. Затим је одређена концентрација токсичних елемената (As, Pb, Cd, Hg, Sn и Al), макроелемената (Na, Mg, K и Ca) и микроелемената (Cr, Mn, Fe, Cu, Zn и Se) у садржају конзерви. Такође су испитане и сировине, зачини и додаци коришћени за припрему производа на присуство токсичних, макро и микроелемената, као и садржај метала у узорцима пре и после процеса стерилизације. Показано је да је концентрација токсичних елемената зависила од врсте производа. Већи број токсичних елемената детектован је у узорцима ЋПС, као и виша концентрација, у поређењу са ГГ. Процес стерилизације је такође утицао на повећање концентрације појединих токсичних елемената у храни, нпр. Al у узорцима ГГ, односно Pb, Sn и Al у узорцима ЋПС, у поређењу са истим узорцима пре стерилизације. Концентрације макро и микроелемената биле су значајно ниже након

стерилизације код обе врсте конзервисаних производа. Испитивање утицаја почетног периода складиштења (15-105 дана) на миграцију метала показало је да у том периоду долази до значајнијег повећања концентрације Sn и Al и смањења концентрације свих макроелемената и неких микроелемената. Концентрација појединих токсичних елемената била је већа код узорака ЋПС, као нпр. Cd, Sn и Al, док је концентрација неких микроелемената била већа код узорака ГГ, као нпр. Fe, Zn и Se. Степен оштећења утицао је на статистички значајно повећање концентрације Sn ($p < 0,05$) и код ГГ и код ЋПС, као и на повећање вредности Al у узорцима ГГ, али без статистичке значајности. Степен оштећења утицао је на повећање концентрације Fe код обе врсте производа, али без статистичке значајности, док на концентрацију осталих микроелемената није имао утицаја. Степен оштећења није утицао на квалитет и микробиолошку исправност конзерви, нити на рН вредност садржаја. Период термостатирања утицао је на статистички значајно смањење ($p < 0,05$) концентрације свих макроелеманата (осим Са у узорцима ГГ), као и на статистички значајно повећање концентрације Fe код узорака ГГ. Током термостатирања у периоду од 12 месеци повећавала се рН вредност садржаја код обе врсте конзерви. Вредност Sn се статистички значајно повећавала на обе температуре и код узорака ГГ и код узорака ЋПС. Код узорака ЋПС је такође дошло до статистички значајног повећања Al и Cd на температури од 20 °C. Производи су до краја експеримента задржали микробиолошку исправност на обе температуре (20 и 40 °C). На основу добијених резултата у овом раду може се закључити да ниво токсичних елемената у конзервисаној храни коју војници имају конзумирају тренутно не представља ризик по њихово здравље и да нема разлога да се мењају навике у исхрани припадника Војске Србије.

У седмом подпоглављу приказани су резултати испитивања бисфенола А у узорцима ГГ и ЋПС. Најпре су испитани узорци складиштени под регуларним условима, у периоду од 4 месеци до 6 година и 6 месеци. Добијени резултати показију да је ВРА нађен у свим испитаним узорцима, са концентрацијама које се крећу од 3,2 до 64,8 $\mu\text{g kg}^{-1}$ за ГГ (просечно 26,2 $\mu\text{g kg}^{-1}$) и са концентрацијама од 21,3 до 31,2 $\mu\text{g kg}^{-1}$ за ЋПС (просечно 25,6 $\mu\text{g kg}^{-1}$). Много веће осцилације су примећене у узорцима ГГ у поређењу са узорцима ЋПС, са најнижом вредношћу ВРА од 3,2 $\mu\text{g kg}^{-1}$, што је испод границе квантификације ($\text{LOQ} = 5 \text{ ppb}$). Највиша ВРА вредност од 64,8 $\mu\text{g kg}^{-1}$ пронађена је у узорку ГГ који је складиштен непуне три године. Ова вредност је била изнад специфичног лимита за миграцију (SML) ВРА из пластичних материјала који долазе у контакт са храном, а који по најновијој ЕУ регулативи, од фебруара 2018. године, износи 50 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Нови SML је смањен 12 пута у односу на стари, који је износио 600 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Узорак ГГ, складиштен нешто више од две године, садржао је ВРА у концентрацији од 44,0 $\mu\text{g kg}^{-1}$, која је близу дозвољене границе од 50 $\mu\text{g kg}^{-1}$, док су сви остали узорци садржали мање од 31,2 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ВРА, што их чини потпуно безбедним за употребу у исхрани војника. Корелација између концентрације ВРА и периода складиштења није уочена у оквиру овог истраживања. Даље су приказани резултати испитивања утицаја степена оштећења конзерви, дужине периода складиштења и температуре на миграцију ВРА током једногодишњег складиштења узорака ГГ и ЋПС на 20 и 40 °C. Садржај ВРА био је већи у узорцима ЋПС (21,0 $\mu\text{g kg}^{-1}$ - 38,0 $\mu\text{g kg}^{-1}$), него у узорцима ГГ (17,0 $\mu\text{g kg}^{-1}$ - 32,9 $\mu\text{g kg}^{-1}$), за све време складиштења на 20 °C и на 40 °C, што указује да је миграција ВРА у ЋПС израженија јер је ова храна киселија у поређењу са ГГ. Киселија средина у ЋПС делује агресивно на епокси-фенолни премаз, што доводи до брже миграције ВРА мономера у храну. Добијени резултати су показали да степен оштећења конзерви није значајно утицао на степен миграције ВРА. Може се закључити да ће се миграција ВРА из превлаке у храну повећавати током складиштења

на топлим местима, имајући на уму да ће ниво ВРА бити виши у киселијој храни. Кандидат даље предочава да су експерименти миграције ВРА у симуланте хране, и месне оброке у почетном периоду складиштења, изведени да би се направила брза претпоставка колика би могла бити вредност концентрације ВРА у храни упакованој у одговарајућу металну амбалажу. Раствори 3% сирћетне киселине, 10% етанола, њихове смеше (3% сирћетна киселина + 10% етанол) и 50% етанола су коришћени као симуланти хране за екстракцију ВРА из лименки од белог лима превучених епоксидном превлаком, које су произведене према специјалним захтевима Војске Србије. Модел раствор 50% етанола у води је симулант који се користи за млеко и дијететске производе, а у оквиру овог рада је изабран због одличне растворљивости ВРА у етанолу. Нађено је да је највећа количина ВРА мигрирала у 50% етанол, али није нађена значајна разлика између стерилизованог узорка ($15 \mu\text{g kg}^{-1}$) и узорака који су грејани на $60 \text{ }^\circ\text{C}$ током 10 дана, односно стерилизовани па затим грејани 10 дана на $60 \text{ }^\circ\text{C}$ ($16 \mu\text{g kg}^{-1}$). Аутор истиче да је 10-дневно грејање на $60 \text{ }^\circ\text{C}$, без претходне стерилизације довољно да екстрахује доступни ВРА из епокси-фенолне превлаке употребом 50 % етанола. Резултати испитивања утицаја процеса стерилизације, као и почетног периода складиштења (15-105 дана) на концентрацију ВРА у узорцима ЋПС, показали су да највећи део ВРА ($\sim 20 \mu\text{g kg}^{-1}$, тј. око 80% ВРА) мигрира у храну током процеса стерилизације, а 20% касније, током дужег складиштења на $20 \text{ }^\circ\text{C}$, док 70% ВРА мигрира у ЋПС за време стерилизације а 30% касније, када се лименке складиште на $40 \text{ }^\circ\text{C}$. Ови резултати су поново потврдили претходне налазе да је количина ВРА нижа у храни која се складишти на $20 \text{ }^\circ\text{C}$, у поређењу са храном која се складишти на $40 \text{ }^\circ\text{C}$. На крају седмог подпоглавља Кандидат закључује да садржај ВРА у конзервисаној храни коју војници имају на менију тренутно не представља ризик по њихово здравље.

У осмом поглављу Кандидат приказује резултате испитивања сензорних својстава пет врста конзервисаних производа од меса, произведених код различитих произвођача, али по истој рецептури за одређену врсту производа. Сви конзервисани производи су складиштени под регуларним условима, у временском периоду до шест година. Резултати дескриптивне анализе стања амбалаже су показали да је већ у току дефинисаног рока употребе (4 године), дошло до промена на конзервама ЈП и ЋПС, и то већ у трећој години. Код конзерви ГГ, мраморираност конзерви и корозија утврђене су у четвртој и након пете године складиштења, док је корозија код СП запажена тек после пет година. Интересантно је да код узорака конзерви ГГ, СП и ЈП након шест година складиштења (година производње 2010) нису утврђене промене на металној амбалажи, што указује да је узрок корозије конзерви са краћим периодом складиштења био неки други фактор, осим дужине складиштења. На основу приказаних резултата Кандидат закључује да код одређених узорака има промена у особинама садржаја већ унутар рока употребе од 4 године. Код ЋПС је већ у другој години складиштења дошло до закишељавања садржаја и згрудвавања прилога, при чему се ове промене продубљују у трећој и четвртој години. У трећој години складиштења јављају се и промене конзистенције код ЈП у смислу појаве лепљивости, а ове промене се продубљују при крају треће и у четвртој години када долази и до издвајања желеа и масти, што је запажено и код МН. Од четврте године складиштења, код свих производа од меса запажа се металан мирис и укус. Једино код конзерви ГГ и СП нису утврђене промене у сензорним својствима најева у току предвиђеног рока употребе (4 године), али су утврђени сензорни недостаци који одступају од захтеваног квалитета. Кандидат истиче да се запажа да у току складиштења долази до сличних сензорних промена код свих врста конзерви, ко што је појава металног укуса садржаја, као и промена боје и

текстуре меса. Метални укус се може објаснити миграцијом јона метала из амбалаже у садржај конзерви. Аутор даље истиче да уколико се упореде оцене појединих особина за један производ који је добијен код различитих произвођача, може се запазити да су често боље оцењени производи из старијих производних партија, у поређењу са новијим. Овакви резултати се могу објаснити тиме да су током одређених година производње коришћене квалитетније сировине него у каснијим годинама, а познато је да од квалитета сировина у великој мери зависе својства производа. Стање амбалаже, која треба да обезбеди добру одрживост производа од меса, такође значајно утиче на њихова сензорна својства. Резултати приказаних испитивања су показали, да су конзерве које су имале најмању оцену за спољашњи изглед амбалаже, имале углавном и ниске оцене за друга сензорна својства, попут боје, ароме и текстуре производа.

У деветом и десетом подпоглављу Резултата и дискусије приказани су резултати микробиолошке анализе, као и резултати хемијске и физичко-хемијске анализе конзервисаних производа од меса. Кандидат истиче да је овај део истраживања имао за циљ да утврди утицај степена оштећења конзерви, дужине и температуре складиштења на микробиолошку исправност и нутритивну вредност испитиваних узорка ГГ и ЋПС. Показано је да су анализирани конзервисани производи од меса са аспекта микробиолошке исправности здравствено безбедни за исхрану припадника Војске Србије, и да су хемијски параметри квалитета били су у оквиру дефинисаних (задатих) вредности за овакву врсту производа код свих испитаних узорка.

У поглављу **Закључци** су представљени најважнији закључци који су правилно изведени и произилазе из анализе добијених експерименталних резултата. На основу испитаних својстава белог лима и лименки закључено је да су својства амбалаже била у складу са одговарајућом регулативом и додатним захтевима које је имала Војска Србије по питању наноса калаја и лака. На основу резултата који се односе на период складиштења конзервисаних производа од меса у редовним условима закључено је да дужина складиштења утиче на: повећање концентрације појединих токсичних елемената (нарочито Sn); смањење концентрације макроелемената код свих врста производа, осим ЋПС; повећање вредности микроелемената код МН и ЈП (осим Se), односно код ЋПС (осим Cr и Se), али без статистичке значајности. Садржај Fe у узорцима МН који су складиштени преко четири године био је близу и изнад дозвољене максималне вредности, док су вредности Fe у свим узорцима ЈП биле изнад дозвољене максималне вредности од $30,0 \text{ mg kg}^{-1}$, прописане одговарајућом регулативом. Такође је закључено да је ВРА присутан у свим испитаним узорцима ГГ и ЋПС, а да је његова концентрација повећана у појединим периодима складиштења. Вредност ВРА у узорцима ГГ кретала се у распону од 3,2 до $64,8 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$, са просечном вредношћу од $26,2 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$. Највиша нађена вредност од $64,8 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$ била је изнад дозвољене границе за миграцију ВРА из пластичних материјала који долазе у контакт са храном у храну, а која износи $50 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$ према најновијој европској регулативи из 2018. године. Узорак ГГ из 2015. године садржао је ниво ВРА од $44,0 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$, који је био близу дозвољене граничне вредности од $50 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$. Количина ВРА, која је мигрирала из епокси-фенолне превлаке у симуланте хране, зависила је од од примењеног симуланта. Највећа количина ВРА је мигрирала у 50% етанол, при чему није нађена значајна разлика између стерилизованог узорка ($15 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$) и узорка који су грејани на $60 \text{ } ^\circ\text{C}$ током 10 дана, односно стерилизовани па затим грејани 10 дана на $60 \text{ } ^\circ\text{C}$ ($16 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$). Закључено је да је грејање у трајању од 10 дана на $60 \text{ } ^\circ\text{C}$, без претходне стерилизације, било довољно да екстрахује доступни ВРА из епокси-фенолне превлаке употребом 50% етанола. У киселим симулантима хране (3% сирћетна киселина и смеша 3% сирћетне киселине са 10% етанола), долазило је до

разарања превлаке унутар лименке и до појаве изражене корозије. До погоршања сензорних својстава није увек долазило са временом складиштења, али је уочена појава металног укуса и мириса код свих узорак након четири године складиштења. Закључено је да су сензорне карактеристике конзервисаних производа зависиле су и од других фактора, попут квалитета употребљених сировина, квалитета металне амбалаже, услова производње, услова складиштења и др. На основу утицаја степена индукованог оштећења конзерви на вредност концентрација токсичних, макро и микроелемената, као и на концентрацију ВРА у узорцима ГГ и ЋПС, током једногодишњег термостатирања, тј. складиштења на различитим температурама (20 °C и 40 °C), закључено је да: а) долази до статистички значајног повећања концентрације Sn код обе врсте производа, као и да се повећава вредност Al у узорцима ГГ, али без статистичке значајности; 2) нема значајније промене у концентрацији макроелемената код обе врсте узорак са степеном оштећења; 3) утиче на повећање концентрације Fe код обе врсте узорак, али без статистичке значајности, док на концентрацију осталих микроелемената нема утицаја; 4) не утиче на садржај ВРА ни код ГГ, нити код ЋПС; 5) не утиче на квалитет и микробиолошку исправност конзерви. Такође је закључено да се вредност Sn статистички значајно повећала на обе температуре термостатирања, и код ГГ и код ЋПС, док су се вредности Cd, Pb и Al статистички значајно повећале на температури од 40 °C код узорак ГГ, односно вредности Al и Cd на температури од 20 °C код узорак ЋПС. Код узорак који су термостатирани на 40 °C садржај ВРА био је значајно виши у поређењу са узорцима термостатираним на 20 °C, и код ГГ и код ЋПС. Микробиолошка исправност испитиваних конзерви није се мењала током једногодишњег термостатирања на температурама од 20 °C и 40 °C.

У поглављу **Литература** на правилан начин наведен је 231 литературни извор који одговара проучаваној проблематици у дисертацији.

У поглављу **Прилози** приказане су табеле са резултатима који се не налазе у главном тексту, биографија Кандидата, изјава о ауторству, изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада и изјава о коришћењу.

3. ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ

Докторска дисертација Бранислава Стојановића, дипл. вет., представља оригинални и самостални научни рад из области Науке о конзервисању и врењу. Дисертација је резултат успешно спроведеног самосталног научног рада Кандидата, који је у сагласности са планом истраживања прихваћеним при пријави дисертације. Кандидат је успешно применио савремене инструменталне и статистичке методе за експериментални део својих истраживања. Добијене резултате правилно је тумачио и коментарисао у складу са расположивим литературним подацима и на основу њих извео правилне и научно доказане закључке.

Одабрана тема истраживања је од посебног научног и практичног значаја, с обзиром да овако опсежно истраживање у области конзервисаних производа од меса до сада у Србији није спроведено, што даје додатни квалитет овој докторској дисертацији, и представља важан научни допринос укупном фонду знања у области квалитета, безбедности и здравствене исправности хране. Наведено истраживање је такође помогло при процени утицаја конзумирања конзервисане хране на здравље војника Републике Србије.

Полазећи од наведених констатација, Комисија позитивно оцењује докторску дисертацију под насловом: „МИГРАЦИЈА ТОКСИЧНИХ СУПСТАНЦИ ИЗ МЕТАЛНЕ АМБАЛАЖЕ У КОНЗЕРВИСАНЕ ПРОИЗВОДЕ ОД МЕСА, ПРОИЗВЕДЕНЕ ЗА ПОТРЕБЕ ВОЈСКЕ РЕПУБЛИКЕ СРБИЈЕ“, кандидата Стојановић Бранислава, дипл. вет., и предлаже Наставно-научном већу Пољопривредног факултета Универзитета у Београду да усвоји ову оцену и омогући Кандидату јавну одбрану.

У Београду
31.12. 2019. године

Чланови Комисије:

др Весна Антић, редовни професор, ментор
Универзитет у Београду-Пољопривредни факултет
Ужа научна област: Хемија

др Тања Петровић, ванредни професор
Универзитет у Београду-Пољопривредни факултет
Ужа научна област: Наука о конзервисању

др Љубица Радовић, научни сардник
Војнотехнички институт, Београд
Ужа научна област: Металуршко инжењерство

др Соња Радаковић, редовни професор
Војномедицинска академија, Београд
Ужа научна област: Хигијена и дијетотерапија

др Драган Василев, ванредни професор
Универзитет у Београду-Факултет ветеринарске медицине
Ужа научна област: Хигијена и технологија меса

др Игор Томашевић, ванредни професор
Универзитет у Београду-Пољопривредни факултет
Ужа научна област: Технологија анималних производа

ПРИЛОГ

Објављени радови Стојановић Бранислава, дипл. вет., у часописима на SCI листи:

1. **Branislav Stojanović**, Ljubica Radović, Dejan Natić, Margarita Dodevska, Gordana Vraštanović-Pavičević, Milica Balaban, Steva Lević, Tanja Petrović, Vesna Antić: "Influence of a storage conditions on migration of bisphenol A from epoxy-phenolic coating to canned meat products", *J. Serb. Chem. Soc.* **84** (4): 377-389 (2019).
<https://doi.org/10.2298/JSC181015100S>
2. **Branislav Stojanović**, Ljubica Radović, Dejan Natić, Margarita Dodevska, Gordana Vraštanović-Pavičević, Milica Balaban, Zdenka Stojanović, Vesna Antić: "Migration of bisphenol A into food simulants and meat rations during initial time of storage", *Packag. Technol. Sci.* **33**: 75–82 (2020).
<https://doi.org/10.1002/pts.2485>

**НАСТАВНО – НАУЧНОМ ВЕЋУ
ПОЉОПРИВРЕДНОГ ФАКУЛТЕТА
УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ**

Датум: 31.12.2019.

Оцена извештаја о провери оригиналности докторске дисертације „Миграција токсичних супстанци из металне амбалаже у конзервисане производе од меса, произведене за потребе Војске Републике Србије“, Кандидата Бранислава Стојановића, дипл. вет.

На основу Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду и налаза у извештају из програма iThenticate реализованог од стране Универзитетске библиотеке од 05.12.2019. године, којим је извршена провера оригиналности докторске дисертације под насловом „Миграција токсичних супстанци из металне амбалаже у конзервисане производе од меса, произведене за потребе Војске Републике Србије“, аутора Стојановић Бранислава, дипл. вет., констатујем да утврђено подударане текста износи 10%. Овај степен подударности последица је описаних поступака и метода, мерних јединица, цитата, личних имена, библиографских података о коришћеној литератури, као и тзв. општих места и података у вези са темом дисертације, и претходно публикованих резултата истраживања проистеклих из ове дисертације, што је у складу са чланом 9. Правилника.

На основу свега изнетог, а у складу са чланом 8. став 2. Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду, изјављујем да извештај указује на оригиналност докторске дисертације, те се прописани поступак припреме за њену одбрану може наставити.

Ментор

др Весна Антић, редовни професор
Универзитет у Београду - Пољопривредни факултет
(ужа научна област Хемија)